



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΕΙΩΝ-  
ΜΕΤΑΛΛΟΥΡΓΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΥΛΙΚΩΝ

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΝΘΕΤΩΝ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ  
ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ-ΥΔΡΟΞΥΔΡΑΤΙΤΗ ΣΕ ΤΙΤΑΝΙΟ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΔΑΝΟΠΟΥΛΟΥ ΕΙΡΗΝΗ**

**ΕΠΙΒΛΕΨΗ:**

**Α.ΤΣΕΤΣΕΚΟΥ**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π

**ΑΘΗΝΑ**

**Οκτώβριος 2015**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μεταλλογνωσίας του Τομέα Μεταλλουργίας και Τεχνολογίας Υλικών της Σχολής Μηχανικών Μεταλλείων και Μεταλλουργών του ΕΜΠ.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην επιτυχή εκπόνηση αυτής της διπλωματικής εργασίας. Ιδιαίτερα θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου:

Στην επιβλέπουσα καθηγήτρια κα. Αθηνά Τσετσέκου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. Την ευχαριστώ θερμά για την ανάθεση αυτού του θέματος αλλά και για τη συνεχή επιστημονική καθοδήγηση. Η ενεργός συνεισφορά και οι επιστημονικές συμβουλές της υπήρξαν πολύτιμες σε όλη τη διάρκεια της εργασίας αυτής.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Δέσποινα Μπρασινίκα, Διδάκτορα Μηχανικό Ε.Μ.Π, για την άψογη συνεργασία μας, τη συνεχή υποστήριξη αλλά και τη βοήθεια που μου προσέφερε στην αντιμετώπιση των δυσκολιών που συνάντησα κατά τη διεξαγωγή της εργασίας αυτής. Ήταν πάντα διαθέσιμη να μου προσφέρει τις γνώσεις και την επιστημονική εμπειρία της. Τέλος την ευχαριστώ για τη βοήθεια στις λήψεις φωτογραφιών από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Βαθιά ευχαριστώ όλα τα μέλη της ομάδας του εργαστηρίου Μεταλλογνωσίας, τόσο για τις πολύτιμες συμβουλές τους στα διάφορα στάδια της εργασίας αυτής, όσο και για τον τρόπο που με υποδέχτηκαν και με βοήθησαν να ενταχθώ στην ερευνητική ομάδα.

Ευχαριστώ την κα. Η. Χαλικιά και τον κ. Δ. Πάνια μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής που δέχτηκαν να με τιμήσουν με την παρουσία τους στην αξιολόγηση της διπλωματικής εργασίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την εργασία αυτή στην οικογένειά μου για την ηθική και οικονομική συμπαράστασή της όλα τα χρόνια των σπουδών μου στο Ε.Μ.Π.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη σύνθετων επικαλύψεων βιομορίων-υδροξυαπατίτη σε υποστρώματα τιτανίου με στόχο την τροποποίηση των επιφανειακών τους ιδιοτήτων και την αύξηση της βιοδραστικότητάς και βιολειτουργικότητάς τους.

Αρχικά, στο θεωρητικό μέρος αναλύεται η έννοια των βιοϋλικών και των επιμέρους κατηγοριών στις οποίες αυτά διακρίνονται με βάση τον τρόπο που αλληλεπιδρούν με το σώμα και τη φύση τους. Ιδιαίτερη αναφορά γίνεται στα βιοϋλικά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, δηλαδή στο βιοπολυμερές κολλαγόνο και στο άλας του φωσφορικού ασβεστίου, τον υδροξυαπατίτη, το οποίο είναι ένα από τα κύρια συστατικά από τα οποία αποτελείται το ανόργανο τμήμα των σκληρών ανθρώπινων ιστών. Επίσης, γίνεται αναφορά στο τιτάνιο, το οποίο είναι το κύριο υλικό που χρησιμοποιήθηκε για τις επικαλύψεις, στην ιστορία του τιτανίου, τη χρήση του στην ιατρική και στα εμφυτεύματα, επειδή έχει πολύ καλές μηχανικές ιδιότητες, αντοχή στη διάβρωση και ιστοσυμβατότητα.

Στη συνέχεια, στο πειραματικό μέρος, τα δοκίμια του τιτανίου υπέστησαν επεξεργασία της επιφάνειάς τους για να επιτευχθεί βέλτιστη πρόσφυση του υδροξυαπατίτη σε αυτά. Πραγματοποιήθηκε, δηλαδή, στα δοκίμια τιτανίου μηχανική και χημική επεξεργασία, σύνθεση οργανοπυριτικού στρώματος για περαιτέρω βέλτιστα αποτελέσματα, μετρήθηκε η τραχύτητα των δειγμάτων και ελέγχθηκε η χημική κατεργασία με το SEM. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη νανοσύνθετου αιωρήματος υδροξυαπατίτη. Με στόχο την ανάπτυξη κρυστάλλων υδροξυαπατίτη με μορφολογία παρόμοια με τον απατίτη του φυσικού οστού, υιοθετήθηκε μία καινοτόμος βιομημητική μέθοδος, η οποία χρησιμοποιεί το κολλαγόνο σε συνδυασμό με τη συνεργιστική δράση του αμινοξέος L-αργινίνη σαν μήτρα για την ανάπτυξη νανοκρυστάλλων υδροξυαπατίτη σε θερμοκρασία 40°C και αλκαλικές τιμές pH. Το βιοπολυμερές κολλαγόνο χρησιμοποιήθηκε με στόχο τη ρύθμιση της διεργασίας πυρήνωσης και ανάπτυξης των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη, ωστόσο η κινητική της κρυσταλλικής ανάπτυξης επηρεάζεται από την παρεμποδιστική δράση που ασκούν τα αμινοξέα. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε η L-αργινίνη, η οποία ενισχύει την ανάπτυξη του υδροξυαπατίτη

αλλά παράλληλα δρα παρεμποδιστικά στη μεγέθυνση των κρυστάλλων του. Τέλος το αιώρημα του νανοσύνθετου υδροξυαπατίτη που παρασκευάστηκε όπως περιγράφεται παραπάνω χρησιμοποιήθηκε για την επικάλυψη των επεξεργασμένων δοκιμίων του τιτανίου. Γι' αυτό τον σκοπό διερευνήθηκαν τρεις διαφορετικοί τρόποι επίστρωσης, είτε με απλή ένσταξη μιας σταγόνας πάνω στην επιφάνεια του δοκιμίου (dropwise), είτε με εμβάπτιση του δοκιμίου μέσα στο αιώρημα (dipping), είτε τέλος με ένσταξη σταγόνας αλλά με παράλληλη περιστροφή του δοκιμίου (spin coating).

Η χημική σύσταση και οι ιδιότητες του αιωρήματος του υδροξυαπατίτη μελετήθηκαν με Περίθλαση Ακτίνων Χ (XRD), Φασματοσκοπία Υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR). Η τελική μορφολογία των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη εξετάστηκε με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων (TEM). Με το SEM ελέγχθηκε η ομοιογένεια και η ποιότητα των τριών διαφορετικών επικαλύψεων καθώς επίσης και το πάχος των επικαλύψεων με τη βέλτιστη ποιότητα. Επιπλέον ελέγχθηκε η αντοχή των επικαλύψεων σε υδατικό περιβάλλον.

Τέλος, παρουσιάζονται η ανάλυση των αποτελεσμάτων των τεχνικών που αναλύθηκαν παραπάνω και ακολουθούν τα συμπεράσματα που προέκυψαν.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>Κεφάλαιο I: Θεωρητικό Μέρος</b> .....	7
1. Εισαγωγή .....	7
2. Βιοϋλικά.....	11
3. Βασικές ιδιότητες βιοϋλικών .....	14
3.1. Κόπωση.....	14
3.2. Μεταβίβαση τάσεων .....	14
3.3. Αντοχή στη διάβρωση.....	15
3.4. Βιοσυμβατότητα .....	16
3.5. Βιοενεργότητα και βιοαπορροφησιμότητα.....	16
4. Εφαρμογές Βιοϋλικών .....	17
4.1. Βιοϋλικά-Σκληροί Ιστοί:.....	17
4.1.1. Ορθοπαιδικές Εφαρμογές .....	17
4.1.2. Οδοντιατρικές Εφαρμογές.....	18
4.2. Βιοϋλικά-Μαλακοί Ιστοί: .....	18
4.2.1. Καθετήρες.....	18
4.2.2. Συμπληρώματα «Χώρου».....	19
4.2.3. Επικάλυψη Τραύματος .....	19
4.2.4. Πρόσθετα Ουροποιητικού Συστήματος.....	20
4.2.5. Λειτουργικοί Μεταφορείς Φορτίου και Εμφυτεύματα Στήριξης.....	20
4.2.6. Αγγειακά Μοσχεύματα.....	20
4.2.7. Πρόσθετα Άκρα.....	21
4.2.8. Όργανα για Ιατρική Χρήση .....	22
5. Είδη Βιοϋλικών.....	22
5.1. Μεταλλικά Βιοϋλικά.....	23
5.1.1. Τιτάνιο .....	25
5.2. Κεραμικά Βιοϋλικά.....	46
5.2.1. Κεραμικά Βιοϋλικά Φωσφορικού Ασβεστίου – Υδροξυαπατίτης.....	47
5.3. Πολυμερή Βιοϋλικά .....	51
5.3.1. Πρωτεΐνες: Γενικά για τις πρωτεΐνες.....	53
5.3.2. Κολλαγόνο.....	54
5.3.3. Αμινοξέα: Γενικά για τα αμινοξέα .....	59
5.4. Σύνθετα Βιοϋλικά .....	62
5.4.1. Σύνθετα υλικά Υδροξυαπατίτη - Πολυμερών .....	63

6. Ανάπτυξη σύνθετων επικαλύψεων υδροξυαπατίτη σε δοκίμια Ti .....	65
<b>Κεφάλαιο II: Πειραματικό Μέρος.....</b>	<b>66</b>
1. Σύνθεση αιωρημάτων υδροξυαπατίτη και ανάπτυξη επικαλύψεων υδροξυαπατίτη σε υποστρώματα τιτανίου .....	66
1.1. Αντιδραστήρια και Εξοπλισμός.....	66
1.2. Μηχανική επεξεργασία των δοκιμίων Ti.....	66
1.3. Χημική επεξεργασία δοκιμίων Ti.....	68
1.4. Σχηματισμός οργανοπυριτικού στρώματος .....	68
1.5. Ανάπτυξη υβριδικών νανοκρυστάλλων υδροξυαπατίτη (HAp) παρουσία βιομορίων.....	69
1.6. Ανάπτυξη επικαλύψεων σε υπόστρωμα τιτανίου .....	72
2. Τεχνικές Χαρακτηρισμού .....	73
2.1. Φασματοσκοπία Περίθλασης Ακτίνων X, (XRD).....	73
2.1.1. Οργανολογία Περιθλασίμετρου Ακτίνων X.....	76
2.2. Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier, FTIR.....	78
2.2.1. Αρχή λειτουργίας του φασματοφωτόμετρου FTIR .....	80
2.3. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων, TEM .....	82
2.4. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM) .....	86
2.4.1. Οργανολογία .....	88
<b>Κεφάλαιο III: Αποτελέσματα και Συζήτηση.....</b>	<b>91</b>
1.Επικαλύψεις Υδροξυαπατίτη σε Δοκίμια Τιτανίου .....	91
1.1. Μέτρηση τραχύτητας δοκιμίων Ti.....	91
1.2. Μελέτη της επιφάνειας των δοκιμίων Ti με Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, SEM .....	93
2. Υβριδικά Αιωρήματα Υδροξυαπατίτη – Βιομορίων .....	95
2.1. Φασματοσκοπία Περίθλασης Ακτίνων X (XRD).....	95
2.2.Φασματομετρία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR).....	97
2.3. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων, TEM.....	99
3. Μελέτη των επικαλύψεων HAp στην επιφάνεια των δοκιμίων Ti.....	101
3.1. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, SEM .....	101
3.1.1. Αντοχή σε Υδατικό Περιβάλλον .....	119
3.1.2. Πάχος επικάλυψης υδροξυαπατίτη σε τιτάνιο.....	121
3.2. Επικαλύψεις υδροξυαπατίτη σε Ti με ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα...	128

3.2.1. Πάχος επικάλυψης υδροξυαπατίτη σε τιτάνιο με ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα .....	131
<b>Κεφάλαιο IV: Συμπεράσματα</b> .....	133
<b>Προτάσεις για Μελλοντική Έρευνα</b> .....	138
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	139

# Κεφάλαιο I: Θεωρητικό Μέρος

## 1. Εισαγωγή

Εξαιτίας της αύξησης του προσδόκιμου μέσου όρου ζωής, καθώς και της συνεχόμενης αύξησης των περιστατικών οστικών καταγμάτων λόγω ατυχημάτων σε νέους ανθρώπους, η ανάγκη για οστικά εμφυτεύματα αυξάνεται συνεχώς. Υπολογίζεται ότι πραγματοποιούνται ετησίως, 1.000.000 περίπου χειρουργικές επεμβάσεις παγκοσμίως, με σκοπό την εισαγωγή εμφυτευμάτων ισχίου και γονάτου, ενώ τα οδοντικά εμφυτεύματα ξεπερνούν κατά πολύ αυτό το νούμερο. Η βελτιστοποίηση των ορθοπεδικών εμφυτευμάτων αποτελεί ένα σημαντικό στόχο, τόσο για την ακαδημαϊκή κοινότητα, όσο και για τη βιομηχανία, δεδομένου ότι η αναμενόμενη διάρκεια ζωής των εμφυτευμάτων αυτών είναι σήμερα 10-15 χρόνια περίπου. Τα ορθοπεδικά εμφυτεύματα πρέπει να χαρακτηρίζονται πλέον εκτός από πολύ καλές χημικές ιδιότητες και βιοσυμβατότητα και από επιπρόσθετες ιδιότητες επαγωγής σχηματισμού οστικού ιστού, με στόχο την επίτευξη μιας γρήγορης και αποτελεσματικής οστεοενσωμάτωσης μακράς διάρκειας. [1]

Μετά από την εισαγωγή αντισηπτικών χειρουργικών τεχνικών και εξαιτίας της επιτυχημένης αντιμετώπισης του προβλήματος των μετεγχειρητικών μολύνσεων, οι οποίες περιόριζαν σημαντικά την επιτυχία των εμφυτευμάτων λόγω επιπλοκών, διαφάνηκε ακόμα περισσότερο η σχέση μεταξύ των ιδιοτήτων των υλικών των εμφυτευμάτων και της επιτυχίας της χειρουργικής εμφύτευσής τους. Η ιστοσυμβατότητα, η αντίσταση στην διάβρωση και η αντοχή, κρίνονταν απαραίτητα χαρακτηριστικά για ένα εμφυτεύσιμο υλικό. Ο χρυσός και ο άργυρος ικανοποιούσαν τα δύο πρώτα κριτήρια, αλλά υστερούσαν σε αντοχή, η οποία ήταν απαραίτητη σε εφαρμογές με υψηλές τάσεις. Μέταλλα όπως ο ορείχαλκος, ο χαλκός και το ασάλι παρουσίαζαν ικανοποιητική αντοχή και κρίνονταν κατάλληλα υλικά για πολλές εφαρμογές, εμφάνιζαν ωστόσο μικρή ιστοσυμβατότητα και προβληματική συμπεριφορά στη διάβρωση. [2]

Το 1930 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά ως υλικό για την κατασκευή εμφυτευμάτων ανοξειδωτος χάλυβας με προσμείξεις χρωμίου (18%) και νικελίου (8%). Το κράμα αυτό παρουσίαζε ικανοποιητική αντοχή και αντίσταση στη διάβρωση, ενώ χαρακτηριζόταν και από αρκετά καλή ιστοσυμβατότητα. Περαιτέρω προσθήκες, μεταλλικών στοιχείων όπως του μολυβδαινίου, βελτίωσαν την αντίσταση



στην διάβρωση και αποτέλεσαν την βάση για το κράμα τύπου 316L, το οποίο χρησιμοποιείται συχνά και στις μέρες μας. Επίσης, κατά την δεκαετία του 30', το κράμα κοβαλτίου-χρωμίου-μολυβδαινίου, το οποίο μέχρι τότε είχε χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή οδοντιατρικών εργαλείων, άρχισε να χρησιμοποιείται ως υλικό εμφυτευμάτων.

Όταν το τιτάνιο έκανε την δυναμική του εμφάνιση στο εμπόριο κατά τα τέλη του 1940, αξιολογήθηκε νωρίς ως ένα σημαντικό εμφυτεύσιμο χειρουργικό υλικό, καθώς κατείχε έναν πολύ καλό συνδυασμό μηχανικών ιδιοτήτων και αντίσταση στη διάβρωση. [3] Τα πρώτα πειράματα σε ζώα απέδειξαν επίσης την εξαιρετική του ιστοσυμβατότητα. Παρ'ότι το τιτάνιο και τα κράματα του προσέφεραν καλύτερη αντίσταση στη διάβρωση και ιστοσυμβατότητα από το ανοξείδωτο ατσάλι και καλύτερες μηχανικές ιδιότητες από το κράμα κοβαλτίου-χρωμίου-μολυβδαινίου, η χρήση του περιορίστηκε αρχικά κυρίως σε συσκευές οι οποίες δέχονταν μικρά φορτία, όπως για παράδειγμα σε θήκες για βηματοδότες και καρδιακές βαλβίδες.

Πολύ έντονο ενδιαφέρον για τη χρήση του κράματος του τιτανίου με αλουμίνιο και βανάδιο (Ti-6Al-4V), για την κατασκευή εμφυτευμάτων ολικών αρθρώσεων, προέκυψε στα τέλη της δεκαετίας του 1970. Ένας από τους λόγους για το έντονο αυτό ενδιαφέρον ήταν, το ότι αναγνωρίστηκε, πως η θραύση λόγω κόπωσης του στελέχους των εμφυτευμάτων που χρησιμοποιούνταν σε ολικές αντικαταστάσεις ισχίου, ήταν η πιο σημαντική εν δυνάμει επιπλοκή της επέμβασης αυτής. Το Ti-6Al-4V, μπορεί να παραχθεί με συμβατικές τεχνικές και είναι άμεσα διαθέσιμο. Χαρακτηρίζεται επίσης από πολύ καλή αντοχή και το σχετικά χαμηλό μέτρο ελαστικότητας του επιτρέπει τη διαμόρφωση εμφυτευμάτων με καλύτερη κατανομή των τάσεων στο οστό. [2] Στις μέρες μας, ίσως περισσότερο από ποτέ, το τιτάνιο θεωρείται ως ένα υλικό “κλειδί” για εφαρμογές βιοϋλικών και είναι γενικά σωστό ότι η σταθερότητα του κατά την διάρκεια μακρών χρονικών περιόδων εμφύτευσης και η ανθεκτικότητα του έναντι της διάβρωσης, οφείλονται στο σταθερό στρώμα οξειδίου που σχηματίζεται στην επιφάνεια του. Λιγότερο γνωστές ιδιότητες της επιφάνειας του οξειδίου του τιτανίου είναι η ικανότητα του να προσροφά πρωτεΐνες και να επάγει τη διαφοροποίηση οστικών κυττάρων. [4] Υπό το φως αυτών των παρατηρήσεων μπορεί να θεωρηθεί εσφαλμένα ότι δεν υπάρχει χώρος ή ανάγκη για περαιτέρω βελτιώσεις των ιδιοτήτων των συσκευών τιτανίου. Στην πραγματικότητα υπάρχουν άλυτα προβλήματα προς λύση και ανάγκες προς

ικανοποίηση. Για παράδειγμα δεν έχει ακόμα πλήρως επιτευχθεί η σταθερότητα μακράς διάρκειας των εμφυτευμάτων αρθρώσεως ισχίου. [5] Επίσης, αποτελεί σημαντικό ζήτημα για την ερευνητική κοινότητα η ανάγκη για βελτιωμένη θεραπευτική απόκριση και αυξημένη ταχύτητα οστεοενσωμάτωσης των οδοντικών εμφυτευμάτων. Χάριν στις εξαιρετικές του ιδιότητες το τιτάνιο πιθανότατα θα συνεχίσει να αποτελεί το προτιμώμενο υλικό για τη κατασκευή εμφυτευμάτων τα οποία δέχονται φορτία, για ορθοπεδικές και οδοντικές εφαρμογές.

Ιστορικά, η επιλογή των βιοϋλικών βασίστηκε στη αρχή της αδράνειας, του ανενεργού, δηλαδή στην πεποίθηση ότι η καλύτερη επίδοση επιτυγχάνεται με την επιλογή υλικών τα οποία δεν αντιδρούν με τους ιστούς του σώματος και χρησιμοποιήθηκαν διάφορα μεταλλικά και βιο-κεραμικά υλικά ανθεκτικά στη διάβρωση. Η ελλιπής κατανόηση της διεπιφάνειας ιστού-βιοϋλικού αποτέλεσε την κύρια αιτία της δυσκολίας αποτίμησης της προσέγγισης αυτής, της χρήσης δηλαδή “ανεργών” υλικών. Για να αποτιμηθεί η επίδοση των “αδρανών υλικών”, η ακόμα περισσότερο, για να ερευνηθούν σοβαρά οι πιθανότητες ελέγχου των χαρακτηριστικών της διεπιφάνειας διαμέσων “ενεργών” αντί “ανεργών” υλικών, είναι πολύ σημαντικός ο καθορισμός της φύσης της διεπιφάνειας και του ρόλου των διαφόρων παραγόντων σχηματισμού της. Η επίδοση εμφυτευμάτων σε επαφή με τον οστικό ιστό εξαρτάται κυρίως από τον “δεσμό” που επιτυγχάνεται στην διεπιφάνεια. Αποτυχία σχηματισμού ενός μηχανικά ισχυρού “δεσμού” και διατήρησης αυτού, όσο το εμφύτευμα “λειτουργεί” κατά τη διάρκεια μηνών ή χρόνων, είναι η κύρια αιτία αστοχίας ορθοπεδικών, οδοντικών και άλλων οστικών εμφυτευμάτων. [6] Η ανάπτυξη οστικού ιστού γύρω από ένα εμφύτευμα οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στο μηχανικό περιβάλλον. Η αλληλεπίδραση των μηχανικών και δομικών ιδιοτήτων του οστού, ενός ετερογενούς, ανισότροπου υλικού, είναι αρκετά πολύπλοκες.

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι η βελτίωση της οστεοενσωμάτωσης εμφυτευμάτων τιτανίου στα οποία μελετήθηκε η τροποποίηση των επιφανειακών ιδιοτήτων τους και η πρόσδωση βιοδραστικότητας μέσω χημικής εναπόθεσης του υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια τους. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε μηχανική και χημική επεξεργασία της επιφάνειας του τιτανίου, για την απομάκρυνση τυχόν οξειδίων και βελτιστοποίηση της τραχύτητας της επιφάνεια του τιτανίου, και στη συνέχεια για ακόμα καλύτερα αποτελέσματα στην πρόσφυση του υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια του τιτανίου αναπτύχθηκε ένα ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα

αιθοξυσιλανίου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε σύνθεση νανο-υδροξυαπατίτη παρουσία του βιοπολυμερούς κολλαγόνο υπό την ταυτόχρονη παρουσία του αμινοξέος L-αργινίνη σε βιομιμητικές συνθήκες θερμοκρασίας (40°C). Τα συγκεκριμένα αντιδραστήρια και συνθήκες επιλέχθηκαν με απώτερο στόχο την παρασκευή νανοκρυστάλλων υδροξυαπατίτη με μορφολογία και μέγεθος όσο το δυνατόν κοντύτερα σε αυτά του υδροξυαπατίτη που απαντάται στο φυσικό οστό. Ενώ η αναλογία μαζών υδροξυαπατίτη/βιοπολυμερές (κολλαγόνο) διατηρήθηκε στο 70/30, που είναι περίπου η αναλογία που απαντάται στα φυσικά οστά.

Η διπλωματική εργασία χωρίζεται σε τρία μέρη: το θεωρητικό, το πειραματικό και τα αποτελέσματα. Το θεωρητικό μέρος περιλαμβάνει στοιχεία βιβλιογραφίας σχετικά με τα βιοϋλικά, εστιάζοντας περισσότερο σε εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία σύνθεσης αιωρήματος υδροξυαπατίτη, τα χρησιμοποιούμενα βιομόρια, τις αρχές λειτουργίας των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν και στοιχεία σχετικά με τον μηχανισμό αντίδρασης σε διαλύματα. Επίσης, αναφέρεται και στο τιτάνιο και τους λόγους για τους οποίους χρησιμοποιείται διεθνώς στην ιατρική. Ακολουθεί σύντομη βιβλιογραφική ανασκόπηση των μεθόδων καθώς και των υλικών που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή εμφυτευμάτων και οστικών υποκατάστατων.

Στο πειραματικό μέρος, περιγράφονται αναλυτικά οι τεχνικές της μηχανικής και της χημικής κατεργασίας στην επιφάνεια του τιτανίου, καθώς και ο σχηματισμός του οργανοπυριτικού υλικού και, τέλος, οι τεχνικές που αναπτύχθηκαν για τη σύνθεση των αιωρημάτων του υδροξυαπατίτη παρουσία βιομορίων, καθώς και τη χημική εναπόθεση επικαλύψεων υδροξυαπατίτη σε δοκίμια τιτανίου. Στη συνέχεια, παρουσιάστηκαν οι πειραματικές τεχνικές που ακολουθήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των αιωρημάτων του υδροξυαπατίτη και των επικαλύψεων στα δοκίμια του τιτανίου. Η σκόνη που προήλθε από το αιώρημα υδροξυαπατίτη που παρήχθη με τη μεθοδολογία αυτή, χαρακτηρίστηκε ως προς τη δομή και τη μορφολογία της μέσω Περίθλασης Ακτίνων Χ (XRD), Φασματοσκοπίας Υπερύθρου με Μετασχηματισμό Fourier (FTIR) και παρατήρησης στο Μικροσκόπιο Διερχόμενης Δέσμης (TEM). Επίσης, μελετήθηκαν μέσω Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Διέλευσης (SEM), οι επικαλύψεις με υδροξυαπατίτη στα δοκίμια τιτανίου.

Στο τελευταίο κομμάτι της διπλωματικής, παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις προαναφερθείσες μεθόδους και

πραγματοποιείται εκτενής συζήτηση των συμπερασμάτων που προκύπτουν τόσο για τη χημική σύσταση και την κρυσταλλικότητα των παραγόμενων υβριδικών υλικών όσο και για τη βιολογική τους συμπεριφορά.

## 2. Βιοϋλικά

Βιοϋλικό κατά τον Williams (1987) είναι ένα υλικό που χρησιμοποιείται στη βιοϊατρική τεχνολογία ή ιατρική συσκευή και το οποίο έρχεται σε επαφή ή αλληλεπιδρά με βιολογικά συστήματα ή βιολογικούς οργανισμούς. [7]

Σαν βιοϋλικά ορίζονται: υλικά μη - φαρμακευτικά που χρησιμοποιούνται σε ιατρικές συσκευές, με σκοπό να αλληλεπιδράσουν με βιολογικά συστήματα. Είναι βιοσυμβατά, βιοαπορροφήσιμα, ένθετα ή χειρουργικά υλικά και μπορούν να είναι μέταλλα, κράματα, πολυμερή, γυαλιά, άνθρακας και σύνθετα υλικά. Τα βιοϋλικά χρησιμοποιούνται σε διάφορες εφαρμογές μέσα στο ανθρώπινο σώμα, όπως σε καθετήρες, τεχνητούς βηματοδότες, τεχνητά εμφυτεύματα για το ισχίο ή το γόνατο, και σε κάθε περίπτωση διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες και αποτελούνται από υλικά κατάλληλα για την κάθε λειτουργία. Μία βασική απαίτηση των βιοϋλικών είναι η ικανότητα να έχουν παρόμοιες μηχανικές, χημικές, βιολογικές και λειτουργικές ιδιότητες με το υλικό, το οποίο θα αντικαταστήσουν. [8] Στα βιοϋλικά μπορεί να δοθεί το σχήμα και οι διαστάσεις του τμήματος που θα αντικαταστήσουν ή μπορούν να διαμορφωθούν κατάλληλα με επικαλύψεις, φιλμ ή με πορώδη επιφάνεια ή να είναι ίνες κλπ. Με βάση αυτές τις απαιτήσεις τα βιοϋλικά δεν είναι απλά αδρανή υλικά, αλλά συνδέονται άμεσα με το βιολογικό περιβάλλον και αντιδρούν χημικά και βιολογικά με τους ιστούς και τα υγρά του σώματος και πρέπει τα προϊόντα αυτών των αντιδράσεων να μην είναι τοξικά για τον οργανισμό. Επίσης μπορούν να συμπεριληφθούν υλικά που να βοηθούν στην διαμόρφωση της μοριακής δομής των βιολογικών μορίων. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται υλικά, όπως το κολλαγόνο, το οποίο βρίσκεται στους συνδετικούς ιστούς, τις πρωτεΐνες των οστών και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καλλυντικό υλικό.

Στόχος των βιοϋλικών είναι η αντικατάσταση ενός οργάνου του σώματος, που έχει αλλοιωθεί από ασθένεια, με ένα αδρανές υλικό, ώστε να αποκατασταθεί η λειτουργία του αντίστοιχου οργάνου χωρίς όμως να τεθεί σε κίνδυνο η ζωή. Το υλικό αυτό ονομάζεται βιοϋλικό εφόσον αντικαθιστά επιτυχώς το φυσιολογικό όργανο και

γίνεται αποδεκτό από τον ανθρώπινο οργανισμό. Στην ουσία γίνεται μεταμόσχευση ενός ιστού ή οργάνου με ένα βιοϋλικό το οποίο θα είναι συμβατό με το βιολογικό περιβάλλον και την λειτουργία του οργανισμού.

Το βιοϋλικό μετά την τοποθέτηση του βρίσκεται σε συνεχή επαφή με τους ζωντανούς ιστούς του οργανισμού στην διεπιφάνεια (interface) και οι ιδιότητες αυτής της διεπιφάνειας βιοϋλικού ιστού παίζουν σπουδαίο ρόλο στην συμβατότητα του βιοϋλικού. Η σταθερότητα και η αντοχή της διεπιφάνειας του υλικού είναι ιδιότητες που πρέπει να είναι γνωστές ώστε να προβλεφθεί η συμπεριφορά των βιοϋλικών. Για τον χαρακτηρισμό ενός υλικού ως βιοϋλικό και της βισυμβατότητας του απαιτούνται συστηματικές μελέτες τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* και σε επίπεδο μεταλλάξεων. Τα καρδιολογικά εμφυτεύματα ή τα ορθοπαιδικά, οφθαλμολογικά, οδοντιατρικά και άλλα πρέπει να μελετώνται και για την αντοχή τους με τον χρόνο, ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την συμπεριφορά τους με την αποδέκτρια περιοχή του οργανισμού και σχετικά με την όλη κατάσταση του ασθενούς.

Τα βιοϋλικά που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία εμφυτευμάτων οστών έχουν αντιμετωπιστεί με ιδιαίτερη προσοχή κατά τις περασμένες δύο δεκαετίες λόγω του μεγάλου αριθμού ασθενών που χρειάζονταν αντικατάσταση κάποιου οστού ή εγχείρηση για την επιδιόρθωση κατεστραμμένου οστού και τα μειονεκτήματα που παρουσιάζει η χρήση ξένων ή διαφορετικών μοσχευμάτων. Εκείνη τη χρονική περίοδο έγινε εμφανές ότι τα βιοϋλικά που εμφυτεύονται σαν μοσχεύματα στα οστά θα πρέπει να διαθέτουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, παρόμοια με αυτά των φυσικών οστών, ώστε να θεωρηθεί επιτυχημένη η εφαρμογή τους, και πιο συγκεκριμένα θα πρέπει να είναι βισυμβατά και να εμφανίζουν καλή οστεογένεση. Θα πρέπει να μπορούν να συντελούν στη διαφοροποίηση των κυττάρων των οστών (osteoinductivity) και να συνθέτουν επίσης τη βάση για τον περαιτέρω σχηματισμό του οστού (osteoconductivity). Επιπλέον ένα υλικό, που χρησιμοποιείται για εμφυτεύματα πρέπει να είναι μακροπορώδης (με πόρους > 100 μm σε μέγεθος), βιοαπορροφήσιμο και να έχει ικανοποιητική μηχανική σταθερότητα. Το ιδανικό βιοϋλικό θα πρέπει να συνδυάζει όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά.

Τα μέταλλα ή κράματα και τα κεραμικά υλικά χαρακτηρίζονται ως σκληρά βιοϋλικά. Τα αδρανή μέταλλα Pt, Ti, Au κ.α. χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά. Τα σκληρά βιοϋλικά είναι δυνατόν μετά από παρέλευση μερικών ετών, συνήθως μετά από πενταετία, λόγω της επαφής με το βιολογικό περιβάλλον του σώματος, που

περιέχει ιστούς, μεμβράνες, πρωτεΐνες και άλλα βιομόρια να αντιδράσουν με αυτά και να σχηματίσουν τοξικές για τον οργανισμό ενώσεις.

Πολλές ανεπιθύμητες αντιδράσεις, κυτταρικές ή ιστοχημικές προκαλούν σοβαρά προβλήματα στα εμφυτεύματα. Οι έρευνες επομένως στρέφονται στον τομέα αυτό και προσπαθούν να κατανοήσουν την χημική, φυσική και δυναμική συμπεριφορά των διεπιφανειών των υλικών αυτών, ώστε να παρασκευάσουν σταθερά βιοϋλικά. Η αλματώδης ανάπτυξη της μοριακής βιολογίας και μοριακής ιατρικής έχει συμβάλλει αρκετά στην βελτίωση των βιοϋλικών. Σήμερα δεν είναι αρκετή η γνώση μόνο των μακρομοριακών ιδιοτήτων των βιοϋλικών, αλλά των αντιδράσεων τους σε μοριακό επίπεδο. Για τη μελέτη των υλικών αυτών απαιτείται η γνώση της σύνθεσης και της δομής της επιφάνειας του βιοϋλικού σε μοριακό επίπεδο. Έτσι οι έρευνες στρέφονται στην ανάλυση του βιοϋλικού και την σε βάθος μελέτη των ιδιοτήτων τους (φυσικοχημικές ιδιότητες, βιολογικές ιδιότητες χημικές αντιδράσεις, κλπ).

Τα βιοϋλικά μπορούν να είναι φυσικά ή συνθετικά υλικά. Τα συνθετικά υλικά όπως ο υδροξυαπατίτης και το φωσφορικό ασβέστιο έχουν χρησιμοποιηθεί εδώ και αρκετά χρόνια στην ορθοπεδική, στην οδοντιατρική και κρανιο-γναθο-χειρουργική.

Συνοπτικά, για να μπορεί να ανήκει στην κατηγορία των βιοϋλικών, ένα οποιοδήποτε μεταλλικό υλικό θα πρέπει να εμφανίζει ορισμένες από τις χαρακτηριστικές ιδιότητες αυτών. Θα πρέπει δηλαδή τα μέταλλα να έχουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά :

- Αποδεκτά από τον ανθρώπινο οργανισμό
- Βιοσυμβατά (το ανοσοποιητικό σύστημα δεν τα αναγνωρίζει σαν ξένες ουσίες εισβολείς και κατ' επέκταση δεν προσπαθεί να τα εξουδετερώσει)
- Βιοαδρανή (δεν αλληλεπιδρούν με όργανα ή ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού και έτσι δεν εμφανίζουν τοξικότητα)
- Βιοαπορροφήσιμα (ο οργανισμός έχει τη δυνατότητα να απορροφήσει σταδιακά τα υλικά αυτά)
- Βιοαποικοδομήσιμα

### **3. Βασικές ιδιότητες βιοϋλικών**

#### **3.1. Κόπωση**

Οι δραστηριότητες της καθημερινής ζωής εισάγουν υψηλές απαιτήσεις στα υλικά που προορίζονται για βιοϊατρικές εφαρμογές, δεδομένου ότι αυτά υφίστανται κυκλικές καταπονήσεις, λόγω των επαναλαμβανόμενων κύκλων φόρτισης-αποφόρτισης. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι αυτό ενός εξηντάχρονου ασθενούς, ο οποίος υποβάλλει ένα εμφύτευμα αντικατάστασης ισχίου σε 34.000.000 κύκλους, σε δύναμη 200 κιλών για αργό περπάτημα και 600 κιλών όταν τρέχει.

Τα σύγχρονα εμφυτεύματα αντέχουν τα μεγάλα φορτία σε μέσου βάρους ασθενείς, όταν αυτά συμβαίνουν περιστασιακά, ωστόσο μπορούν να αστοχήσουν πολύ συχνά λόγω κόπωσης. Ανάλογα με τον τύπο πρόσθεσης, υπάρχει ένα όριο επαναλαμβανόμενων κύκλων φόρτισης που να αντέξει το υλικό χωρίς αστοχία. Σε υπέρβαρα άτομα, είναι υπαρκτός ο κίνδυνος αστοχίας κυρίως μετά από ατύχημα. Η μελέτη των θραυσμένων εμφυτευμάτων αποδίδεται συχνά σε ατέλειες που δημιουργήθηκαν κατά τη χύτευση ή επιφανειακές ατέλειες.

#### **3.2. Μεταβίβαση τάσεων**

Τα τεχνητά εμφυτεύματα δέχονται ένα μέρος από την τάση που επιβάλλεται κατά τη βάρδιση και όλες τις άλλες καθημερινές δραστηριότητες στα σημεία εκείνα των φυσικών οστών με τα οποία συνδέονται τα εμφυτεύματα και που συγκρατούν την πρόθεση. Μία άκαμπτη πρόθεση, επομένως, προφυλάσσει το άνω μέρος του οστού περισσότερο από όσο πρέπει, αφού το υλικό κατασκευής του εμφυτεύματος είναι πιο άκαμπτο από το οστό, με αποτέλεσμα αυτό να μην αναπτύσσεται, να χάνει τα συστατικά του και να εξασθενεί. Σε αυτήν την περίπτωση, η άρθρωση δεν έχει καλή στήριξη πάνω στον εξασθενημένο σκελετό και κινδυνεύει να αστοχήσει.

Στόχος είναι η κατασκευή τεχνητών εμφυτευμάτων από μεταλλικά κράματα με δυσκαμψία ανάλογη του οστού. Τα κράματα τιτανίου έχουν τη χαμηλότερη δυσκαμψία από όλα τα ορθοπεδικά κράματα και για αυτό χρησιμοποιούνται ευρέως. Αξίζει να σημειωθεί ότι, η δυσκαμψία των εμφυτευμάτων δεν εξαρτάται μόνο από το υλικό αλλά και από το σχήμα τους.

Μία προσφάτως χρησιμοποιούμενη τεχνική για την κατασκευή λιγότερο δύσκαμπτων προθέσεων για ολική αρθροπλαστική είναι η Trabecular Metal

Technology. Σύμφωνα με την τεχνική αυτή μία μεταλλική σπογγώδη στρώση από βολφράμιο, που έχει δυσκαμψία παρόμοια με του οστού, τοποθετείται στην επιφάνεια της πρόθεσης, με αποτέλεσμα η μετάβαση από το δύσκαμπτο μέταλλο στο ασθενές οστό να γίνεται με ομαλό τρόπο.

### 3.3. Αντοχή στη διάβρωση

Οι μεταλλικές επιφάνειες όταν έρχονται σε επαφή με τα υγρά του σώματος υφίστανται διάβρωση. Η επιφάνεια τους διαλύεται και τα ιόντα εισέρχονται στην κυκλοφορία των υγρών αυξάνοντας τη συγκέντρωσή τους. Τα ορθοπεδικά κράματα είναι ιδιαίτερος ανθεκτικά στη διάβρωση, ωστόσο αυτή είναι αναπόφευκτη σε δύο περιπτώσεις:

- ✓ Όταν δύο ανόμοια μέταλλα έρχονται σε επαφή, όπως π.χ. στην αρθροπλαστική ισχίου στα σημεία επαφής της μηριαίας κεφαλής με το στέλεχος. Όταν και τα δύο μέρη κατασκευάζονται από κράμα κοβαλτίου – χρωμίου, διάβρωση παρατηρείται περίπου στο 6% των εμφυτευμάτων, ενώ όταν το στέλεχος είναι από κοβάλτιο – χρώμιο και η σφαίρα από κράμα τιτανίου, διάβρωση εντοπίζεται περίπου στο 33% των τεχνητών εμφυτευμάτων.
- ✓ Σε εμφυτεύματα μετάλλου – μετάλλου, φθείρονται οι επιφάνειες των αρθρώσεων με αποτέλεσμα να παράγονται πολύ μικρά τεμαχίδια των μεταλλικών κραμάτων, τα οποία διαλύονται στα υγρά του σώματος.

Αποτέλεσμα αυτών των μηχανισμών είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του τιτανίου, του χρωμίου και του κοβαλτίου στο αίμα και τα ούρα. Τα μέταλλα κοβάλτιο και χρώμιο, ως ιχνοστοιχεία αποτελούν μέρος του ενζυμικού συστήματος, αλλά τα ίδια τα μέταλλα έχουν θεωρηθεί ύποπτα για καρκινογένεση, όταν εντοπίζονται σε μεγάλη συγκέντρωση. Εντούτοις, δεν υπάρχει απτή απόδειξη ότι αυξημένα επίπεδα κοβαλτίου, χρωμίου ή τιτανίου στον ορρό προκαλούν παθολογικές αλλαγές ή τοπικό καρκίνο στους ασθενείς σε μηριαίες προθέσεις.

Το χρώμιο και το κοβάλτιο απεκκρίνονται από τους νεφρούς. Σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια και διαβρωμένες προθέσεις, οι συγκεντρώσεις αυτών των μετάλλων στο αίμα είναι πολύ υψηλές. [9]



### **3.4. Βιοσυμβατότητα**

Τα περισσότερα από τα σύγχρονα κράματα θεωρούνται επαρκώς ανεκτά από τον οστικό ιστό, με καλύτερο το τιτάνιο στην καθαρή του μορφή. Χάρη σε αυτήν την ιδιότητα του, το καθαρό τιτάνιο συχνά χρησιμοποιείται και ως πορώδης επίστρωση στις επιφάνειες των προθέσεων ολικής αρθροπλαστικής ισχίου.

Η παρουσία λεπτών κόκκων που προκαλούνται από τη φθορά, ακόμα και για το καθαρό τιτάνιο, μπορεί να προκαλέσει οστεόλυση, αν αυτοί επικαθήσουν σε ιστούς γύρω από την πρόθεση. Αυτά τα προϊόντα φθοράς μπορεί να αποδώσουν στους ιστούς μαύρο χρώμα, φαινόμενο γνωστό και ως μετάλλωση.

Τα μεταλλικά κράματα που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή τεχνητών αρθρώσεων υφίστανται διάβρωση και απελευθερώνουν ιόντα στο σώμα του ασθενούς. Το κοβάλτιο, το χρώμιο, το νικέλιο αλλά ακόμη και το σχετικά αδρανές τιτάνιο μπορούν να προκαλέσουν αλλεργική ανοσολογική απόκριση, με συνηθέστερη μορφή το δερματικό εξάνθημα. Ωστόσο, δεν υπάρχει μία σαφή ένδειξη αν αυτή η ευαισθησία μπορεί να οδηγήσει σε αστοχία του εμφυτεύματος.

Ενδιαφέρον όμως, παρουσιάζει και η διερεύνηση της συσχέτισης αυτής της δερματικής υπερευαισθησίας με την επιτυχία της επέμβασης. Έως σήμερα, δεν έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος αντίδρασης σε ένα εμφύτευμα τεχνητής άρθρωσης σε ασθενείς με δερματική ευαισθησία. Στατιστικές μελέτες έχουν δείξει ότι πολλοί ασθενείς με δερματική ευαισθησία στα ορθοπεδικά μέταλλα εμφανίζουν καλή λειτουργία της πρόθεσης. [10]

### **3.5. Βιοενεργότητα και βιοαπορροφησιμότητα**

Η βιοενεργότητα αναφέρεται σε υλικά, τα οποία όταν τοποθετηθούν στο ανθρώπινο σώμα αλληλεπιδρούν με τα περιβάλλοντα οστά και σε μερικές περιπτώσεις ακόμα και με τους μαλακούς ιστούς. Αυτό εμφανίζεται μέσω μιας χρονικά εξαρτημένης κινητικής τροποποίησης της επιφάνειας, που προκαλείται από την εμφύτευση τους μέσα στο οστό. Μία αντίδραση ιονοεναλλαγής μεταξύ του βιοενεργού ενθέματος και των υγρών του σώματος που το περιβάλλουν έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας στοιβάδας ενεργού ανθρακικού απατίτη πάνω στο μόσχευμα η οποία είναι χημικά και κρυσταλλογραφικά ισοδύναμη με τη μεταλλική φάση του οστού. Παραδείγματα τέτοιων υλικών είναι συνθετικοί υδροξυαπατίτες

$(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ , γυαλιά και κεραμικά. Παρ'όλο που τα υλικά αυτά θεωρούνταν ότι θα έδιναν την απάντηση σε προβλήματα επισκευής των βιοϊατρικών ενθεμάτων, στην πραγματικότητα δεν χρησιμοποιούνται ως ορθοπεδικά ενθέματα και παράλληλα η χρήση τους στην οδοντιατρική είναι περιορισμένη καθώς έχουν μικρή αντίσταση στη διάβρωση με ρωγμές.

Ο όρος βιοαπορροφησιμότητα αναφέρεται σε υλικά που μετά την τοποθέτηση τους στον οργανισμό διαλύονται (απορροφώνται) και σταδιακά αντικαθίστανται από αυξανόμενο ιστό (όπως οστέινο). Κοινά παραδείγματα τέτοιων υλικών είναι το φωσφορικό τριασβέστιο ( $Ca_3(PO_4)_2$ ) και κάποια συμπολυμερή πολυγλυκολικού και πολυγαλακτικού οξέος. Γενικότερα, τα μέταλλα είναι συνήθως αδρανή, τα κεραμικά μπορεί να είναι αδρανή, ενεργά ή απορροφούμενα και τα πολυμερή μπορεί να είναι αδρανή ή απορροφούμενα. [11]

## **4. Εφαρμογές Βιοϋλικών**

Γενικά οι ιστοί μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες: τους σκληρούς και τους μαλακούς. Σαν σκληρούς ιστούς μπορούμε να αναφέρουμε τα οστά και τα δόντια, ενώ σαν μαλακούς ιστούς μπορούμε να αναφέρουμε το δέρμα, τα αγγεία και τους συνδέσμους.

Ας δούμε λοιπόν πιο αναλυτικά τους διάφορους ιστούς και πώς ομογενή αλλά και σύνθετα υλικά χρησιμοποιούνται για την επούλωση και αντικατάσταση τους, αλλά και για θεραπευτικούς σκοπούς.

### **4.1. Βιοϋλικά-Σκληροί Ιστοί:**

#### **4.1.1. Ορθοπεδικές Εφαρμογές**

Διάφορα βιοϋλικά χρησιμοποιούνται για την επούλωση καταγμάτων, ως εμφυτεύματα σπονδυλικής στήλης, για την αντικατάσταση συνδέσμων όπως μηριαίου-λαγόνιου οστού και γόνατος. [12] Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται βιοϋλικά με τη μορφή δισκίων, βιδών και συνδέσμων. Τα εμφυτεύματα αυτά είναι κατασκευασμένα από ανοξείδωτο ατσάλι και κράματα του τιτανίου ή κοβαλτίου αλλά και από κεραμικά υλικά. Χρησιμοποιούνται επίσης τα πολυμερή PMMA, PP, PE, PET, PU και nylon με ίνες άνθρακα. Συχνά χρησιμοποιούνται και υλικά που

αποικοδομούνται με το χρόνο οπότε χάνουν σταδιακά τις μηχανικές τους ιδιότητες. Τέτοια υλικά δεν χρειάζονται χειρουργική απομάκρυνση. Ως τέτοια χρησιμοποιούνται μήτρες κατασκευασμένες από πολυγαλακτικό οξύ και ίνες γυαλιού με βάση το φωσφορικό ασβέστιο και την πολυγλυκόλη. Πολλές φορές όμως τα υλικά αυτά έχουν ίνες μη αποικοδομήσιμες όπως άνθρακα και πολυαμιδίου προκειμένου να βελτιώσουν τις μηχανικές τους ιδιότητες. [13]

#### **4.1.2. Οδοντιατρικές Εφαρμογές**

Η αντιμετώπιση προβλημάτων των δοντιών είναι από τις συνηθισμένες περιπτώσεις ασθενειών και περιλαμβάνουν από συμπλήρωση κοιλοτήτων (σφράγισμα) μέχρι αντικατάσταση κομματιών ή αλλοιωμένων δοντιών. Αμαλγάματα, χρυσός, ζirkόνια, ακρυλικές ρητίνες και σιλικόνες είναι τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα βιοϋλικά για σφραγίσματα, αλλά και σύνθετα με ρητίνες ως μήτρα και γυαλιά βορίου και σιλικόνες ως συμπληρώματα.

Σε περιπτώσεις που το υπόλειμμα του υγιούς δοντιού είναι μικρό χρησιμοποιούνται θήκες από ανοξείδωτο ατσάλι, κράματα Ni-Cr, Au-Pt, Ti. Στις περιπτώσεις εκείνες που εξαγωγή του δοντιού είναι απαραίτητη, χρησιμοποιούνται οδοντικά εμφυτεύματα αντί για γέφυρες. Πολλά υλικά χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό όμως τα σύνθετα πλεονεκτούν έναντι των μετάλλων και των κεραμικών ως προς την αντοχή στην κόπωση. Όσον αφορά τις γέφυρες, χρησιμοποιούνται τα σχετικά φθηνά και εύχρηστα σύνθετα με μήτρα το PMMA και ίνες γυαλιού. [14, 15, 16]

#### **4.2. Βιοϋλικά-Μαλακοί Ιστοί:**

##### **4.2.1. Καθετήρες**

Οι καθετήρες χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο προκειμένου να τροφοδοτήσουν τον οργανισμό με υγρά όπως θρεπτικά υλικά, ισοτονικό ορό, γλυκόζη, φάρμακα, αίμα, και προϊόντα του αίματος. Χρησιμοποιούνται επίσης για τη συλλογή πληροφοριών όπως αρτηριακή πίεση, μέτρηση της συγκέντρωσης αερίων ( $O_2$ ,  $CO_2$ ) στο αίμα, καθώς και για τη συλλογή δειγμάτων του αίματος για εργαστηριακή ανάλυση. Τα υλικά που συνήθως χρησιμοποιούνται για την εφαρμογή

αυτή είναι PU, SR εξαιτίας της ευκαμψίας τους και της ευκολίας μορφοποίησης τους σε διάφορα μεγέθη και μήκη προκειμένου να μπορούν να εξυπηρετήσουν κάθε μέγεθος. Ένας ιδανικός λοιπόν καθετήρας πρέπει να είναι αρκετά εύκαμπτος προκειμένου να επιτρέπει την κίνηση της φλέβας και του ασθενούς χωρίς να τραυματίζει τη φλέβα και το περίβλημα της. Επιπλέον, καθώς το υλικό έρχεται σε επαφή με το αίμα πρέπει να εξασφαλίζεται η συμβατότητα του με το αίμα, δηλαδή η μη θρομβογεννησιμότητά του και η βακτηριοστατικότητά του προκειμένου να μην προκαλεί η παρουσία του λοιμώξεις από την προσκόλληση στην επιφάνεια του βακτηρίων (Costerton et al., 2004). Τα καινούρια υλικά αποτελούνται από πολυμερή όπως PU, PVC με ίνες Ni-Ti, οπότε ο καθετήρας αποτελείται από λεπτά τοιχώματα και ελεγχόμενη σκληρότητα. [17, 18]

#### **4.2.2. Συμπληρώματα «Χώρου»**

Χρησιμοποιούνται για την αποκατάσταση αισθητικών ατελειών, ιδιαίτερα στο κεφάλι και το λαιμό, ατροφιών και απωλειών χόνδρου που συναντούνται στην οστεοαρθρίτιδα. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται σύνθετα με ίνες άνθρακα και μήτρα: PET, PTFE, PU, SR. Τα υλικά αυτά δεν φαίνεται να προκαλούν ερεθισμούς. [17]

#### **4.2.3. Επικάλυψη Τραύματος**

Σε περιπτώσεις εγκαυμάτων απαιτούνται υλικά για την επικάλυψη του δέρματος που θα είναι εύκαμπτα και ελαστικά. Τα υλικά αυτά πρέπει από τη μια να αποτρέπουν την απώλεια υγρών, ηλεκτρολυτών και βιομορίων καθώς και τη διέλευση βακτηριδίων, από την άλλη όμως πρέπει να είναι σε κάποιο βαθμό διαπερατά προκειμένου να επιτρέπουν αποβολή προϊόντων μεταβολισμού. Επιπλέον πρέπει να απλώνονται στην επιφάνεια του τραύματος χωρίς όμως να προκαλούν νέες πληγές στο νεοσυσταθέντα ιστό ή να αναχαιτίζουν την ανάπτυξη του κατά την απομάκρυνση τους. Πρέπει επίσης να είναι βακτηριοστατικά και να μην επιτρέπουν την ανάπτυξη βακτηρίων. Σύνθετα υλικά ή πορώδεις στοιβάδες από πολυμερή όπως κολλαγόνο, PLLA χρησιμοποιούνται για την αντικατάσταση δέρματος. Επιπλέον συνδυασμοί έμβιας ύλης (όπως καλλιέργειες κυττάρων)- άβιας (όπως σύνθετα πολυμερή)

σχεδιάζονται προκειμένου να βοηθήσουν την έναρξη, επιτάχυνση και έλεγχο παραγωγής νέου δέρματος. [19]

#### **4.2.4. Πρόσθετα Ουροποιητικού Συστήματος**

Τα υλικά που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι PVC, PE, SR, PTFE, nylon. Σε γενικές γραμμές πάντως αστοχούν όταν χρησιμοποιούνται για μεγάλα διαστήματα εξαιτίας της δυσκολίας σύνδεσης του εμφυτεύματος στο ζωντανό σύστημα. Επιπλέον συχνά εμφανίζονται προβλήματα βακτηριακής μόλυνσης και απόφραξης λόγω εναπόθεσης ασβεστίου. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ίνες πολυεστέρα σε gel μεθακρυλικής γλυκόλης όμως, παρότι το υλικό είναι αρκετά υδρόφιλο, δεν έχει λυθεί το πρόβλημα της μικροβιακής προσκόλλησης, του μικρού συντελεστή τριβής και της ελεγχόμενης προσρόφησης κυττάρων και πρωτεϊνών

#### **4.2.5. Λειτουργικοί Μεταφορείς Φορτίου και Εμφυτεύματα Στήριξης**

Οι τένοντες είναι σκληροί ινώδεις ιστοί που εκτείνονται μεταξύ μυών και οστών, ενώ οι σύνδεσμοι είναι συνδετικοί ιστοί μεταξύ οστών. Και οι δύο λοιπόν συγκρατούν τα οστά σε μια σύνδεση διευκολύνοντας τη σταθερότητα και την κίνηση. Μεταφέρουν επίσης δυνάμεις μεταξύ μυών και οστών. Έτσι η αντικατάστασή τους από εμφυτεύματα είναι ιδιαίτερα απαιτητική. Πρέπει να έχει τέτοια ελαστικότητα, όπως ο ιστός που τα περιβάλλει, ώστε να κάμπτονται στην άρθρωση και να μεταφέρουν το φορτίο στο μυ. Σε γενικές γραμμές είναι δύσκολη η σύνδεσή τους με το οστό, η μη αστοχία μετά από μεγάλα διαστήματα και η μη φλεγμονώδης αντίδραση του οργανισμού. Τα υλικά που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι UHMWPE, PP, PET, PTFE και PU με ίνες, άνθρακα, και κολλαγόνου.

#### **4.2.6. Αγγειακά Μοσχεύματα**

Τα αιμοφόρα αγγεία είναι πολύπλοκες, πολύστρωτες δομές που αποτελούνται από ίνες κολλαγόνου, ελαστίνης, λείους μύες και ενδοθηλιακό τοίχωμα. Τα αγγειακά μοσχεύματα χρησιμοποιούνται για να αντικαταστήσουν τμήματα του αγγειακού συστήματος (επιτυχώς για αγγεία διαμέτρου μεγαλύτερης των 5 mm) που λόγω εναποθέσεων αθηρωματικής πλάκας στο εσωτερικό τους δεν επιτρέπουν την ομαλή

κυκλοφορία του αίματος. Έτσι βρίσκουν εφαρμογή σε περίπτωση ανευρύσματος, θρομβοφλεβίτιδας και σε εγχειρήσεις bypass για την αποκατάσταση της κυκλοφορίας του αίματος μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Οι βασικές ιδιότητες που πρέπει να χαρακτηρίζουν αυτά τα υλικά είναι, το πορώδες τους, προκειμένου να ευνοούν την ανάπτυξη του ιστού όχι όμως και την απώλεια αίματος. Για το σκοπό αυτό συμπολυμερίζονται με κολλαγόνο ή ζελατίνη ώστε να καλύπτονται οι πόροι αλλά και να σταθεροποιείται το μόσχευμα. Επιπλέον πρέπει να έχουν καλή διαστολή και αντίσταση στη χαλάρωση καθώς υπόκειται σε συνεχείς παλμούς και στατική πίεση. Πρέπει επίσης κατά την επαφή με το αίμα να μην καταστρέφουν αιμοκύτταρα, να μην προσροφούν πρωτεΐνες και αιμοπετάλια και άρα να μην είναι θρομβογεννητικά. Πρέπει τέλος να επιτρέπουν την ανάπτυξη ενδοθηλιακών κυττάρων στο εσωτερικό τους προκειμένου να μην προκαλούν θρομβώσεις και να ταιριάζει η συμπεριφορά τους κατά τη θλίψη με αυτή των φυσιολογικών ιστών, διαφορετικά παρατηρείται μεγάλη διατμητική τάση και τυρβώδης ροή που μπορεί να προκαλέσει αιμόσταση σε κάποια σημεία και καταστροφή του αρτηριακού τοιχώματος. Προς το παρόν δεν έχει βρεθεί κάποιο υλικό που να πληρεί όλες αυτές τις προϋποθέσεις όμως οι μελέτες στρέφονται σε σύνθετα υλικά με ίνες PU και μήτρα PU, lactic acid και polyethylene glycol (PEG).

#### **4.2.7. Πρόσθετα Άκρα**

Αρχικά τα τεχνητά πόδια φτιάχνονταν από μεταλλικά υλικά ή ξύλο όμως αυτά περιορίζονται λόγω του μεγάλου βάρους, της μικρής διάρκειας λόγω της διάβρωσης και της διόγκωσης εξαιτίας της υγρασίας. Σε αντίθεση με τα υλικά αυτά, τα σύνθετα λόγω του μικρού τους βάρους, της αντίστασης στην διάβρωση και την κόπωση, την καλή απόκριση στα φορτία, την αισθητική τους και την ευκολία στο χειρισμό, εμφανίζονται ως η ιδανική επιλογή για την κατασκευή πρόσθετων άκρων. Τα θερμοπλαστικά πολυμερικά σύνθετα με ίνες άνθρακα ή γυαλιού είναι τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα. Το πιο κρίσιμο σημείο των πρόσθετων άκρων είναι η περιοχή της σύνδεσης με το ελλιπές άκρο. Η καλύτερη διαδικασία είναι αυτή της κατασκευής του αμέσως πριν την εφαρμογή προκειμένου να προσαρμοστεί με τον καλύτερο δυνατό τρόπο. Για το πέλμα χρησιμοποιούνται εποξειδικά με ίνες άνθρακα και σχεδιάζονται να είναι επίπεδα, να προστατεύουν από τα τραντάγματα και να απελευθερώνουν την

ενέργεια που αποθήκευσαν, καθώς το σώμα μετακινείται προς τα εμπρός, συμβάλλοντας σε ομαλότερο βάδισμα. [20, 21, 16, 19]

#### **4.2.8. Όργανα για Ιατρική Χρήση**

Υψηλής τεχνολογίας όργανα χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο για διαγνωστικούς σκοπούς. Τα όργανα αυτά, εξαιτίας του μεγάλου βάρους τους, βρίσκονται πάνω σε μεγάλα μετακινούμενα τραπέζια, τα υλικά από τα οποία κατασκευάζονται είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά, σκληρά αλλά και ελαφρά, ακτινοπερατά και μη μαγνητικά. Έτσι προτιμούνται τα πολυμερικά σύνθετα με ίνες άνθρακα. [22]

### **5. Είδη Βιοϋλικών**

Η κλινική εμπειρία έχει δείξει ότι δεν μπορούν όλα τα υλικά που συνήθως χρησιμοποιούνται σε μηχανικές κατασκευές να χρησιμοποιηθούν και ως βιοϋλικά. Επειδή λοιπόν κανένα υλικό δεν μπορεί να θεωρηθεί απόλυτα αδρανές για τον οργανισμό, πολλοί κατατάσσουν τα βιοϋλικά σε κατηγορίες με βάση την αλληλεπίδραση τους με το όργανο, ιστό-ξενιστή, και αυτές είναι:

- (i) το υλικό απελευθερώνει κάποιες τοξικές ουσίες που περιέχει και αυτές οδηγούν στη νέκρωση του ιστού που το περιβάλλει (τοξικό), [20]
- (ii) το υλικό δεν είναι τοξικό αλλά σταδιακά αναρροφείται και αντικαθίσταται από τον ιστό που το περιβάλλει και που είναι υπό θεραπεία (βιοαποικοδομήσιμο),
- (iii) το υλικό δεν είναι τοξικό και είναι βιολογικά ανενεργό αλλά δεν μπορεί να αποσυντεθεί από τον οργανισμό (βιοσταθερό), [21]
- (iv) το υλικό δεν είναι τοξικό και είναι έντονα δραστικό με τον ιστό που το περιβάλλει, σχηματίζοντας χημικούς δεσμούς που το σταθεροποιούν (πυκνά κεραμικά υδροξυαπατίτη, βιοενεργά γυαλιά, βιοενεργά κεραμικά-γυαλιά και βιοενεργά σύνθετα είναι μερικά παραδείγματα της τελευταίας κατηγορίας) (βιοσύνθετο-βιοενεργό). [23]

Τα βιοϋλικά μπορούν επίσης να καταταχθούν με βάση το υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένα. Έτσι χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες:

(i) μέταλλα και κράματα τους. Τα μέταλλα που με επιτυχία χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά είναι ο χρυσός και το ανοξείδωτο ατσάλι αλλά και τα κράματα τιτανίου και κοβαλτίου. Μεταλλικά εμφυτεύματα και συσκευές βρίσκουν εφαρμογή, στην ορθοπεδική, την οδοντιατρική άλλα και σε καρδιαγγειακά εμφυτεύματα όπως τμήματα τεχνητής καρδιάς, βηματοδότες, προσθετικές βαλβίδες, διάνοικτες στενώσεων, καθετήρες, [14]

(ii) κεραμικά. Τα κεραμικά που χρησιμοποιούνται με επιτυχία είναι: αλούμινα, τιτανία, ζirkόνια, βιοενεργά γυαλιά, άνθρακας και υδροξυαπατίτης, και χαρακτηρίζονται και από την αρκετά καλή βιοσυμβατότητά τους. Χρησιμοποιούνται για την κατασκευή οπτικών γυαλιών και διαγνωστικών συσκευών, στην ορθοπεδική και την οδοντιατρική, [23]

(iii) πολυμερή. Τα πολυμερή χρησιμοποιούνται ευρέως για την κατασκευή βιοϋλικών με ποικίλες βιοϊατρικές εφαρμογές. Εκείνα που χρησιμοποιούνται πιο συχνά είναι τα: πολυαιθυλένιο (PE), πολουρεθάνη (PU), πολυμεθακρυλικός μεθυλεστέρας (PMMA), πολυτερεφθαλικός αιθυλενεστέρας (PET), πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), σιλκόνη (Si), πολυσουλφόνη (PS), πολυλακτικό οξύ (PLA), πολυγλυκολικό οξύ (PGA) αλλά και πολλά ακόμη, [24]

(iv) σύνθετα. Τα σύνθετα φτιάχνονται με συνδυασμούς των τριών πρώτων κατηγοριών. [22]

## **5.1. Μεταλλικά Βιοϋλικά**

Τα μέταλλα χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά χάρη στην άριστη θερμική και ηλεκτρική αγωγιμότητά τους, αλλά και στις μηχανικές τους ιδιότητες. Ο λόγος είναι η ύπαρξη των ελεύθερων ηλεκτρονίων, τα οποία μπορούν γρήγορα να μεταφέρουν ηλεκτρικό φορτίο και θερμική ενέργεια. Τα κινούμενα ελεύθερα ηλεκτρόνια δρουν ως συνδετική δύναμη που συγκρατούν τα θετικά μεταλλικά ιόντα μαζί. Αυτή η επίδραση είναι δυνατή, όπως γίνεται αντιληπτό, από τη διάταξη μέγιστης συμπίκνωσης, έχοντας ως αποτέλεσμα υψηλό ειδικό βάρος και τα υψηλά σημεία τήξης των περισσότερων μετάλλων. Καθώς ο μεταλλικός δεσμός είναι μη κατευθυντικός, η θέση των μεταλλικών ιόντων μπορεί να τροποποιηθεί χωρίς να καταστραφεί η κρυσταλλική δομή οδηγώντας σε ένα στερεό που παραμορφώνεται πλαστικά.



Μερικά μέταλλα χρησιμοποιούνται ως παθητικά υποκατάστατα για σκληρούς ιστούς, όπως για παράδειγμα στην ολική αρθροπλαστική ισχίου και γόνατος, για την υποστήριξη της επούλωσης καταγμάτων με τη μορφή οστεοσυνθετικών πλακών ή κοχλιών, σε συσκευές συγκράτησης της σπονδυλικής στήλης, αλλά και στα οδοντικά εμφυτεύματα χάρη στις άριστες μηχανικές ιδιότητες. Μερικά μεταλλικά κράματα χρησιμοποιούνται με πιο ενεργό ρόλο σε συσκευές όπως οι αγγειακές ενδοπροθέσεις (stents), τα σύρματα καθοδήγησης σε καθετηριασμούς, ορθοδοντικά τόξα και κοχλιακά εμφυτεύματα.

Το πρώτο κράμα μετάλλων που αναπτύχθηκε για ανθρώπινη χρήση ήταν ο κραματοποιημένος βαναδιούχος χάλυβας ο οποίος χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή οστεοσυνθετικών πλακών και κοχλιών, που θα αντικαθιστούσαν θραυσμένα οστά και βίδες. Τα περισσότερα μέταλλα, όπως ο σίδηρος (Fe), το χρώμιο (Cr), το κοβάλτιο (Co), το νικέλιο (Ni), το τιτάνιο (Ti), το ταντάλιο (Ta), το μολυβδαίνιο (Mo) και το βολφράμιο (W), τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για κράματα προκειμένου να κατασκευασθούν εμφυτεύματα, ήταν ανεκτά στο σώμα σε ελάχιστες ποσότητες. Μερικές φορές τα μεταλλικά στοιχεία στις φυσικές τους μορφές είναι σημαντικά για τις λειτουργίες των ερυθροκυττάρων (σίδηρος) ή τη σύνθεση της βιταμίνης B12 (κοβάλτιο), ωστόσο δεν είναι ανεκτά σε μεγάλες ποσότητες. Η βιοσυμβατότητα των μεταλλικών εμφυτευμάτων είναι ένα θέμα στο οποίο επικεντρώνεται σε μεγάλο βαθμό το ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς είναι δυνατόν να διαβρωθούν και σε *in vivo* περιβάλλον, προκαλώντας την καθαυτή αποσύνθεση του εμφυτεύματος που το αποδυναμώνει, αλλά και βλαβερή επίδραση των προϊόντων της διάβρωσης στους περιβάλλοντες ιστούς και όργανα. [25]

Τα μεταλλικά κράματα που κυριαρχούν στην αγορά των τεχνητών αρθρώσεων ισχίου είναι τα κράματα κοβαλτίου-χρωμίου, τιτανίου και ανοξειδωτού χάλυβα. Ο βιοϊατρικός χάλυβας με τις περισσότερες εφαρμογές είναι το κράμα 316L, που αποτελείται περίπου από 65% σίδηρο και 35% άλλα κραματικά στοιχεία. [26, 27] Ενδιαφέρον για βιοϊατρικές εφαρμογές παρουσιάζουν τα χαρακτηριστικά του τιτανίου και των κραμάτων του. Κυριότερο είναι η χαμηλή πυκνότητα,  $4,54 \text{ g/cm}^3$ , αλλά και ο λόγος μηχανικής αντοχής/πυκνότητας, που είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο άλλων μετάλλων. Το τιτάνιο επίσης, παρουσιάζει πολύ καλή αντίσταση στη διάβρωση – καλύτερη και από αυτή του ανοξειδωτού χάλυβα – και είναι αδρανές σε χλωριούχες ενώσεις. [28] Οι ιδιότητες αυτές το καθιστούν ιδανικό για υλικό μιας

διάταξης που θα εμφυτευθεί στο περιβάλλον του οργανισμού. Το σημαντικότερο κράμα κοβαλτίου που χρησιμοποιείται για τα υποκατάστατα των αρθρώσεων του ισχίου είναι το κράμα κοβαλτίου-χρωμίου-μολυβδαινίου. Το κράμα αυτό εμφανίζει πολύ καλές ελαστικές ιδιότητες και υψηλή αντοχή σε χημική διάβρωση, που αποδίδεται στην παρουσία του χρωμίου (παθητικοποίηση). [29, 30]

Τα μεταλλικά κράματα που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή ορθοπεδικών εμφυτευμάτων είναι στερεά διαλύματα κρυστάλλων, τα οποία αρχικά φέρονται σε μορφή τήγματος και στη συνέχεια στερεοποιούνται μέσα σε καλούπια. Κατά τη διάρκεια της απόψυξης και στερεοποίησης, το μεταλλικό κράμα κρυσταλλώνεται και συστέλλεται, οι δε κρύσταλλοι ποικίλλουν σε μέγεθος. Πολύ μεγάλου μεγέθους κόκκοι, όπως αυτοί που σχηματίζονται στα χυτά κράματα κοβαλτίου-χρωμίου, μπορεί να οδηγήσουν σε αστοχία του εμφυτεύματος. Κατά την απόψυξη και συστολή του μεταλλικού υλικού σχηματίζονται κενά μεταξύ των κόκκων (πορώδες). Προκειμένου να επιτευχθούν βέλτιστες μηχανικές ιδιότητες για τα μεταλλικά εμφυτεύματα, το μέγεθος των κόκκων πρέπει να είναι ομοιόμορφο, το πορώδες ελάχιστο και το κράμα να μην έχει ακαθαρσίες. Επειδή είναι σχεδόν ανέφικτο σε πραγματικές συνθήκες να αποφευχθούν όλες αυτές οι ατέλειες, οι κατασκευαστές εφαρμόζουν μηχανική κατεργασία των χυτών κραμάτων για μείωση του πορώδους και απομάκρυνση των προσμίξεων.

Το μεταλλικό υλικό το οποίο μας ενδιαφέρει και θα ασχοληθούμε σε αυτήν την εργασία είναι το τιτάνιο, το οποίο αναλύετε παρακάτω.

### **5.1.1. Τιτάνιο**

Το τιτάνιο είναι ένα εξαιρετικά χρήσιμο κατασκευαστικό υλικό σε μία ευρεία γκάμα εφαρμογών. Έχει πολύ καλή αναλογία αντοχής και βάρους και παρουσιάζει καλή αντίσταση στην διάβρωση. Κατέχει σημαντική θέση στην αεροδιαστημική, στην αεροναυπηγική, στη ναυπηγική, στη χημική βιομηχανία, στη βιομηχανία πετρελαιοειδών, στη βιομηχανία οπλικών συστημάτων, στην αυτοκινητοβιομηχανία και τέλος θα πρέπει να αναφερθεί η σημαντική θέση που κατέχει στην ιατρική. Το τιτάνιο και τα κράματα του επιδέχονται επεξεργασία με τις συνήθεις μεθόδους όπως χύτευση, σφυρηλάτηση, συγκόλληση καθώς και κατεργασίες κοπής όπως διάτμηση, φρεζάρισμα και τórνευση.

Το εύρος των διαθέσιμων κραμάτων τιτανίου είναι αρκετά μεγάλο ώστε να υπάρχει πληθώρα επιλογών, όσον αφορά στη μορφή του υλικού, ανάλογα με τις ιδιαίτερες ανάγκες της εκάστοτε εφαρμογής στο χώρο της ιατρικής. Τα περισσότερα μέταλλα που βρίσκονται στα υγρά του σώματος και τους ιστούς συναντώνται ως σταθερά σύμπλοκα. Η διάβρωση των μεταλλικών ενθεμάτων από τα σωματικά υγρά, έχει σαν αποτέλεσμα να ελευθερώνονται ανεπιθύμητα μεταλλικά ιόντα τα οποία παρεμβαίνουν στις ζωτικές λειτουργίες. Ακόμα και όταν πρόκειται για μικρές συγκεντρώσεις προερχόμενες από πολύ χαμηλού επιπέδου διάβρωση υπάρχει κίνδυνος αποβολής του μοσχεύματος από τον οργανισμό. Το τιτάνιο θεωρείται απόλυτα αδρανές και απρόσβλητο από τη διάβρωση, και κατά συνέπεια απόλυτα βιοσυμβατό.

#### ❖ **Ιστορία του τιτανίου**

Το τιτάνιο ανακαλύφθηκε σαν κράμα μετάλλου από τον William Gregor, έναν ερασιτέχνη γεωλόγο, στην Κορνουάλλη, στην Αγγλία το 1791. Ο Gregor παρατήρησε την παρουσία ενός νέου στοιχείου μέσα στον ιλμενίτη, όταν ανακάλυψε μαύρη άμμο στην κοντινή κοινότητα του Μάνακαν, η οποία εκλύονταν από μαγνήτη. Η ανάλυση της άμμου καθόρισε την παρουσία δύο μεταλλικών οξειδίων, το οξείδιο του σιδήρου (που εξηγεί την έλξη στο μαγνήτη) και ένα ποσοστό 45,25% που αποτελούνταν από ένα άσπρο μεταλλικό οξείδιο, το οποίο δεν μπορούσε να προσδιορίσει. Αντιλαμβανόμενος ότι το μη αναγνωρισμένο οξείδιο, περιείχε ένα μέταλλο που δεν ταίριαζε με τις ιδιότητες οποιουδήποτε άλλου γνωστού στοιχείου μέχρι τότε, εξέθεσε τα συμπεράσματά του στην «Βασιλική Γεωλογική κοινότητα» της Κορνουάλλης και στο γερμανικό επιστημονικό περιοδικό Annalen Crell.

Περίπου την ίδια χρονική περίοδο, ο Franz Joseph Muller, παρήγαγε μία παρόμοια ουσία, την οποία επίσης δεν μπορούσε να προσδιορίσει. Το οξείδιο ( $TiO_2$ ) ανακαλύφθηκε πάλι, ανεξάρτητα το 1795 από τον γερμανό φαρμακοποιό Martin Heinrich Klaproth, σαν ορυκτό στην Ουγγαρία. Ο Klaproth διαπίστωσε ότι περιέλαβε ένα νέο στοιχείο και το ονόμασε τιτάνιο από τους μυθικούς Τιτάνες, τους γιους της θεάς Γης. Αφού πληροφορήθηκε για την προηγούμενη ανακάλυψη του Gregor, έλαβε ένα δείγμα από το Μάνακαν και επιβεβαίωσε ότι περιείχε τιτάνιο.

Οι διαδικασίες που απαιτούνται για να εξαχθεί το τιτάριο από τα διάφορα μεταλλεύματα του είναι επίπονες και δαπανηρές, δεν είναι δυνατό να αναχθεί με τον κοινό τρόπο, δηλαδή με θέρμανση παρουσία άνθρακα, επειδή αυτός παράγει καρβίδιο του τιτανίου. Καθαρό μεταλλικό τιτάριο (καθαρότητας 99,9%) παράχθηκε αρχικά το 1910 από τον Matthew A. Hunter θερμαίνοντας τετραχλωρίδιο του τιτανίου ( $TiCl_4$ ) με νάτριο (Na) μέσα σε ένα χαλύβδινο δοχείο πίεσεως στους 700-800°C, έτσι δημιουργήθηκε η μέθοδος Hunter. Το μέταλλο τιτανίου δεν χρησιμοποιήθηκε εκτός εργαστηρίου μέχρι το 1946 όταν ο William Justin Kroll απέδειξε ότι θα μπορούσε να παραχθεί εμπορικά με την αναγωγή του τετραχλωριδίου του τιτανίου ( $TiCl_4$ ) με μαγνήσιο (Mg) και έτσι δημιουργήθηκε η μέθοδος Kroll. [31]

Αν και η έρευνα συνεχίζεται για να βρεθούν αποδοτικότερες και λιγότερο δαπανηρές διαδικασίες η διαδικασία Kroll χρησιμοποιείται ακόμα για την εμπορική παραγωγή του τιτανίου. Τιτάριο πολύ υψηλής καθαρότητας παράχθηκε σε μικρές ποσότητες όταν οι Anton Eduard van Arkel and Jan Hendrik de Boer ανακάλυψαν την ιωδική μέθοδο (Εικόνα 5.1.1.1.) το 1925. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την αντίδραση με ιώδιο και τη μετατροπή των σχηματιζόμενων ατμών πάνω από ένα πυρακτωμένο νημάτιο σε καθαρό μέταλλο.

Τις δεκαετίες του '50 και '60, η Σοβιετική Ένωση καινοτόμησε χρησιμοποιώντας το τιτάριο στις στρατιωτικές και στις υποβρύχιες εφαρμογές, ως τμήμα προγραμμάτων σχετικών με τον ψυχρό πόλεμο. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1950, το τιτάριο άρχισε να χρησιμοποιείται εκτενώς για στρατιωτικούς λόγους και κυρίως σε εφαρμογές αεροναυπηγικής, ιδιαίτερα σε υψηλής απόδοσης αεριωθούμενα αρχίζοντας από τα αεροσκάφη όπως το F100 Super Sabre και Lockheed A-12. [31]



**Εικόνα 5.1.1.1.:** Κρυσταλλική ράβδος τιτανίου από την ιωδική διαδικασία.

Στις ΗΠΑ, το Υπουργείο Άμυνας αντιλήφθηκε από νωρίς τη στρατηγική σημασία αυτού του μετάλλου και υποστήριξε τις πρόωρες προσπάθειες για την εμπορευματοποίηση του. Κατά τη διάρκεια της περιόδου του ψυχρού πολέμου, το τιτάνιο θεωρήθηκε στρατηγικό υλικό από την Αμερικάνικη κυβέρνηση, και ένα μεγάλο απόθεμα σπογγοειδούς τιτανίου διατηρήθηκε από το Κέντρο Εθνικών Αμυντικών Αποθεμάτων, το οποίο μειώθηκε τελικά το 2005. Σήμερα, ο μεγαλύτερος παραγωγός σε παγκόσμιο επίπεδο, η ρώσικη εταιρία VSMPO – Avisma, υπολογίζεται ότι κατέχει περίπου το 29% του μεριδίου της παγκόσμιας αγοράς.

Το 2006 το Υπουργείο Άμυνας των ΗΠΑ, βράβευσε με 5,7 εκατομμύρια δολάρια μία κοινοπραξία δύο επιχειρήσεων για να αναπτύξουν μία νέα διαδικασία για την παραγωγή μεταλλικής σκόνης τιτανίου. Κάτω από θερμότητα και πίεση, η σκόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να δημιουργήσει ισχυρά και ελαφριά στοιχεία, και χρησιμοποιείται σε μεγάλη γκάμα εφαρμογών, από επενδύσεις τεθωρακισμένων μέχρι αεροδιαστημικά εξαρτήματα, μέσα μεταφοράς και χημικές βιομηχανίες επεξεργασίας.

Συνοψίζοντας, το τιτάνιο μπορεί να θεωρηθεί σχετικά νέο υλικό για την εφαρμοσμένη μηχανική. Ανακαλύφθηκε πολύ αργότερα από τα υπόλοιπα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα μέταλλα, ενώ η εμπορική του εφαρμογή αρχίζει προς το τέλος της δεκαετίας του 1940.

### ❖ Χαρακτηριστικά και ιδιότητες του τιτανίου

Το τιτάνιο είναι ένα γυαλιστερό μέταλλο, με χρώμα άσπρο – αργυροειδές. Στον περιοδικό πίνακα συμβολίζεται με Ti και έχει ατομικό αριθμό 22. Είναι ελαφρύ και ταυτοχρόνως ισχυρό μέταλλο με χαμηλή πυκνότητα, διαθέτοντας εξαιρετική σχέση δύναμης έναντι του βάρους του. Το τιτάνιο σε καθαρή μορφή παρουσιάζει πολύ καλή ολκιμότητα.

Οι εμπορικές κατηγορίες του τιτανίου, οι οποίες έχουν καθαρότητα σε ποσοστό 99,2% παρουσιάζουν μεγάλη αντοχή από 345 έως 540 MPa σε σύγκριση με την αντοχή ενός κοινού χάλυβα, η αντοχή του οποίου κυμαίνεται στα 210 MPa. Ορισμένα κράματα τιτανίου παρουσιάζουν αντοχή που ξεπερνά τα 1000 MPa. Επίσης, το τιτάνιο είναι 60% βαρύτερο από το αλουμίνιο, αλλά δύο φορές πιο ισχυρό από το σύνηθες χρησιμοποιούμενο κράμα αλουμινίου 6061-T6. Παρ'όλα αυτά, το τιτάνιο χάνει την αντοχή του όταν θερμαίνεται πάνω από τους 430°C. [32-33]

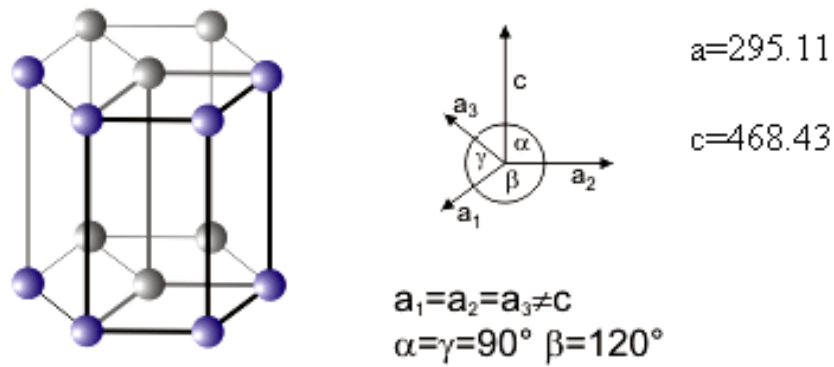
Τέλος, ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό του τιτανίου είναι η χαμηλή θερμική αγωγιμότητα  $21,9 \text{ W}^{-1}\text{m}^{-1}\text{K}^{-1}$  σε σύγκριση με την θερμική αγωγιμότητα του χάλυβα που είναι περίπου  $80 \text{ W}^{-1}\text{m}^{-1}\text{K}^{-1}$ . Η ιδιότητα αυτή αποτελεί βασική αιτία για τη δυσκολία μηχανουργικής κατεργασίας του τιτανίου καθιστώντας το τιτάνιο ως ένα εξαιρετικά δύσκολο κατεργάσιμο υλικό. Οι κυριότερες φυσικές ιδιότητες του τιτανίου φαίνονται στον Πίνακα 1.

<b>ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ</b>	
Φάση	Στερεό
Πυκνότητα	4,506 g/cm <sup>3</sup>
Πίεση υγρού σε m.p.	4,11 g/cm <sup>3</sup>
Σημείο τήξης	1941 K (1668°C)
Σημείο βρασμού	3560 K (3287°C)
Θερμότητα τήξης	14,15 kJ/mol

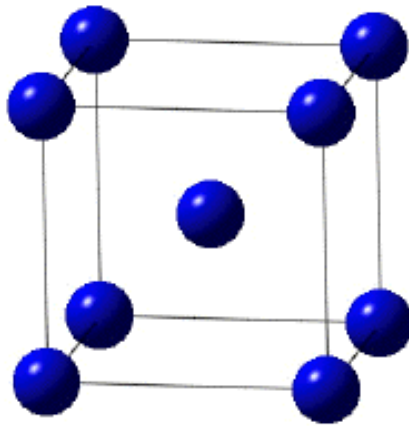
Θερμότητα εξάτμισης	425 kJ/mol
Θερμοχωρητικότητα	(25°C) 25,060 J/mol·K
Μαγνητικά ικανότητα	Παραμαγνητικό
Ειδική ηλεκτρική αντίσταση	(20°C) 0,420 μΩ·m
Θερμική αγωγιμότητα	(300K) 21,9 W/m·K
Θερμική διαστολή	(25°C) 8,6 μm/m·K
Ταχύτητα ήχου	(r.t.) 5090m/s
Μέτρο ελαστικότητας	116 GPa
Μέτρο διάτμησης	44 GPa
Λόγος Poisson	0,32
Σκληρότητα κατά Mohs	6,0
Σκληρότητα κατά Vickers	970 MPa
Σκληρότητα κατά Brinell	716 MPa

**Πίνακας 1.** Φυσικές ιδιότητες του τιτανίου

Το τιτάνιο συναντιέται σε δύο κρυσταλλικές δομές: την εξαγωνική μέγιστης πυκνότητας (α-Ti) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και την χωροκεντρομένη κυβικού πλέγματος δομή (β-Ti), η οποία σχηματίζεται περίπου στη θερμοκρασία των 890°C και είναι σταθερή μέχρι την θερμοκρασία τήξης (Εικόνες 5.1.1.2. και 5.1.1.3.). Τέλος, στη φύση το τιτάνιο συναντιέται ως μίγμα πέντε σταθερών ισοτόπων του, τα οποία είναι: 46Ti (7,95%), 47Ti (7,75%), 48Ti (73,45%), 49Ti (5,51%) 50Ti (5,34%). Είναι επίσης γνωστός και ένα σημαντικός αριθμός τεχνητών ραδιοϊσοτόπων του [32-33].



**Εικόνα 5.1.1.2.:** Εξαγωνική μορφή μέγιστης πυκνότητας του τιτανίου (a-Ti)



**Εικόνα 5.1.1.3.:** Χωροκεντρομένη μορφή του τιτανίου (b-Ti).

#### ❖ Τα κράματα και οι ενώσεις του

*Βασικές πτυχές της μεταλλουργίας του τιτανίου [32-34]*

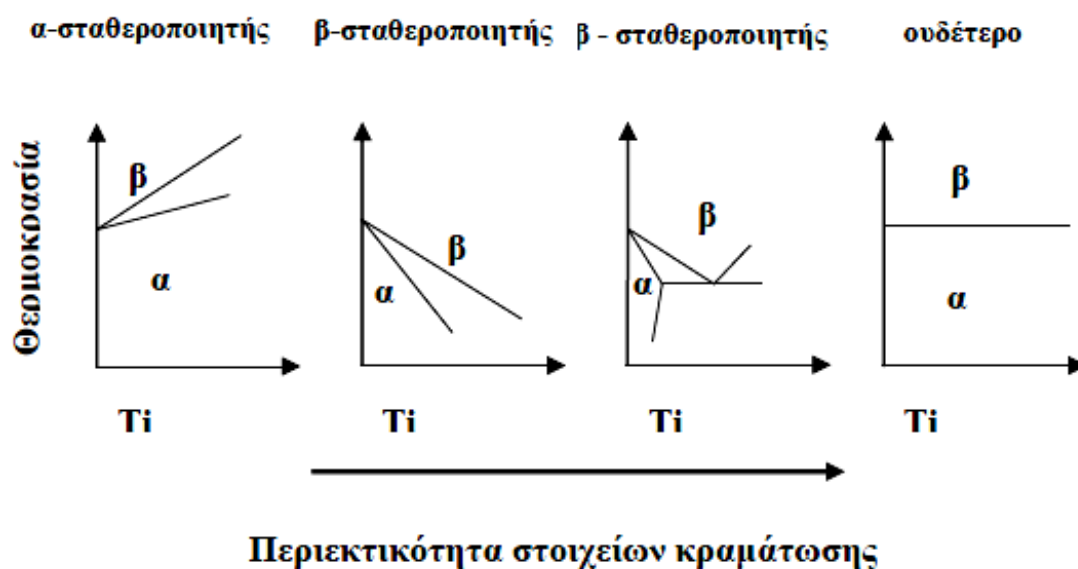
Η ποικιλομορφία της μικροδομής των κραμάτων του τιτανίου είναι αποτέλεσμα του αλλοτροπικού φαινομένου. Το τιτάριο υποβάλλεται σε έναν αλλοτροπικό μετασχηματισμό στους 882°C. Κάτω από αυτήν την θερμοκρασία, παρουσιάζει εξαγωνική μέγιστης πυκνότητας κρυσταλλική δομή (hcp) γνωστή ως φάση α, ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες έχει κυβική χωροκεντρομένη δομή (bcc), γνωστή ως φάση β. Η τελευταία παραμένει σταθερή μέχρι και το σημείο τήξης στους 1670°C. Δεδομένου ότι το τιτάριο είναι ένα μέταλλο μετάπτωσης, με μία μη συμπληρωμένη εξωτερική στοιβάδα ηλεκτρονίων, μπορεί να σχηματίσει στερεά διαλύματα με διάφορα στοιχεία και ως εκ τούτου, η θερμοκρασία ισορροπίας των φάσεων α και β μπορεί να τροποποιηθεί.



Τα στοιχεία κραμάτωσης του τιτανίου κατηγοριοποιούνται σε τρεις κατηγορίες:

Στους α-σταθεροποιητές, στους β-σταθεροποιητές και στα ουδέτερα. Ενώ στοιχεία που αναφέρονται ως α-σταθεροποιητές οδηγούν σε μία αύξηση της θερμοκρασίας αλλοτροπικού μετασχηματισμού, τα στοιχεία που κατατάσσονται στους β-σταθεροποιητές προκαλούν μείωση της θερμοκρασίας μετασχηματισμού. Όταν ένας ευτηκτικός μετασχηματισμός πραγματοποιείται, αυτός ο β-σταθεροποιητής ονομάζεται ευτηκτικός σταθεροποιητής, διαφορετικά καλείται ισόμορφος. Εάν δεν παρατηρηθεί καμία σημαντική αλλαγή στην θερμοκρασία αλλοτροπικού μετασχηματισμού, το στοιχείο κραμάτωσης ορίζεται ως ουδέτερο στοιχείο. Στην Εικόνα 5.1.1.4. παρουσιάζονται διάφορες μορφές από τα διαγράμματα φάσεων σε ισορροπία μεταξύ του τιτανίου και των στοιχείων ανάμιξης του.

Κατά συνέπεια, είναι δυνατό τα κράματα του τιτανίου να έχουν μία τεράστια ποικιλομορφία στις συνθέσεις. Μεταξύ των στοιχείων α-σταθεροποιητών είναι τα μέταλλα των ομάδων IIIA και IVA και τα στοιχεία C, N και O. Αντίθετα τα στοιχεία β-σταθεροποιητών περιλαμβάνουν τα στοιχεία μετάβασης (V, Ta, Nb, Mo, Mg, Cu, Cr, Fe) και τα ευγενή μέταλλα.



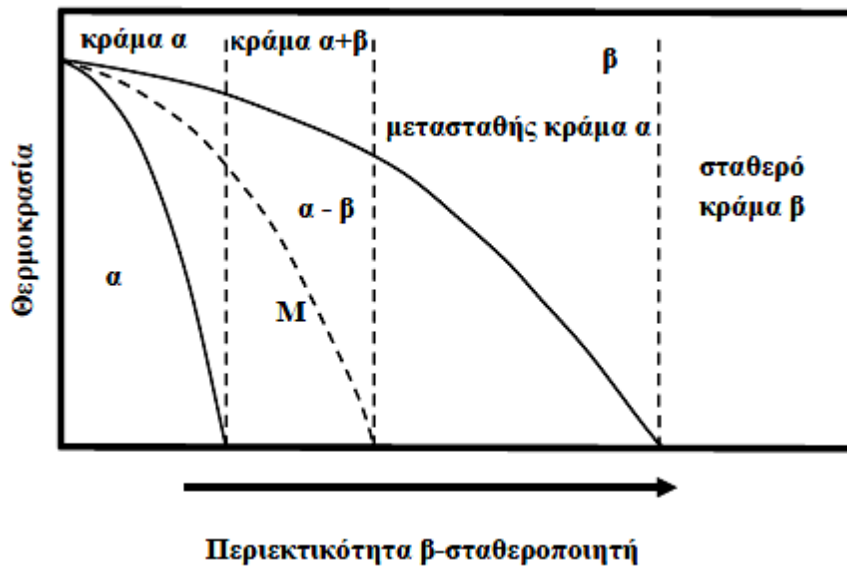
**Εικόνα 5.1.1.4.:** Σχηματική αναπαράσταση των τύπων διαγραμμάτων φάσης μεταξύ του τιτανίου και των στοιχείων κραμάτωσης.

Προσθήκη στοιχείων α και β-σταθεροποιητών στο τιτάνιο εμφανίζουν περιοχές στο αντίστοιχο διάγραμμα φάσεων ισορροπίας, όπου οι φάσεις α και β μπορούν να

συνυπάρξουν. Τα κράματα τιτανίου παρουσιάζουν ποικίλες ιδιότητες, οι οποίες συνδέονται άμεσα με τη χημική σύνθεση και τη μεταλλουργική κατεργασία. Σύμφωνα με τη φύση της μικροδομής τους, τα κράματα του τιτανίου μπορούν να διακριθούν σε  $\alpha$  κράματα,  $\beta$  κράματα και  $\alpha+\beta$  κράματα.

Τα  $\alpha$  κράματα ( $\alpha$ ) διαμορφώνονται ειδικά από το καθαρό, εμπορικό τιτάριο ενώ κράματα που σχηματίζονται με στοιχεία  $\alpha$ -σταθεροποιητών και τα οποία παρουσιάζουν μόνο τη φάση  $\alpha$ , εμφανίζονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τέτοια κράματα παρουσιάζουν υψηλή αντίσταση στον ερπυσμό και έτσι είναι κατάλληλα για εφαρμογές σε υψηλές θερμοκρασίες. Δεδομένου ότι καμία ασταθής φάση δεν παραμένει μετά την ψύξη από υψηλή θερμοκρασία, καμία σημαντική τροποποίηση από την άποψη της μικροδομής και των μηχανικών ιδιοτήτων, δεν είναι δυνατή χρησιμοποιώντας θερμικές επεξεργασίες σε κράματα αυτού του τύπου. Όσον αφορά τις μηχανικές και μεταλλουργικές ιδιότητες τα κράματα ( $\alpha$ ) παρουσιάζουν ένα λογικό επίπεδο μηχανικής αντοχής, υψηλούς συντελεστές ελαστικότητας, αντοχή στη θραύση και χαμηλή ικανότητα σφυρηλάτησης, γεγονός που οφείλεται στη κρυσταλλική δομή hcp.

Τα  $\beta$  κράματα ( $\beta$ ) λαμβάνονται όταν ένα υψηλό ποσοστό στοιχείων των  $\beta$ -σταθεροποιητών προστίθεται στο τιτάριο, τα οποία μειώνουν τη θερμοκρασία του αλλοτροπικού μετασχηματισμού του τιτανίου. Εάν το ποσοστό των  $\beta$ -σταθεροποιητών είναι αρκετά υψηλό για να μειώσει τη θερμοκρασία έναρξης του μαρτενσιτικού μετασχηματισμού (MS), σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τη θερμοκρασία δωματίου, ο σχηματισμός πυρήνα και η αύξηση της φάσης  $\alpha$  θα είναι πολύ περιορισμένη και ως εκ τούτου η μετασταθής φάση  $\beta$  διατηρείται στη θερμοκρασία δωματίου με την επίδραση γρήγορης ψύξης, όπως εικονίζεται και στο Εικόνα 5.1.1.5. Αυτός ο τύπος κράματος τιτανίου μπορεί να υποστεί θερμική επεξεργασία βελτιώνοντας τις μηχανικές του ιδιότητες. Σε μερικές περιπτώσεις, ανάλογα με τις παραμέτρους σύνθεσης και θερμικής επεξεργασίας, η καθίζηση της φάσης  $\omega$  είναι πιθανή. Εντούτοις, η φάση  $\omega$  μπορεί να προκαλέσει θραύση του κράματος τιτανίου και γενικά πρέπει να αποφεύγεται.

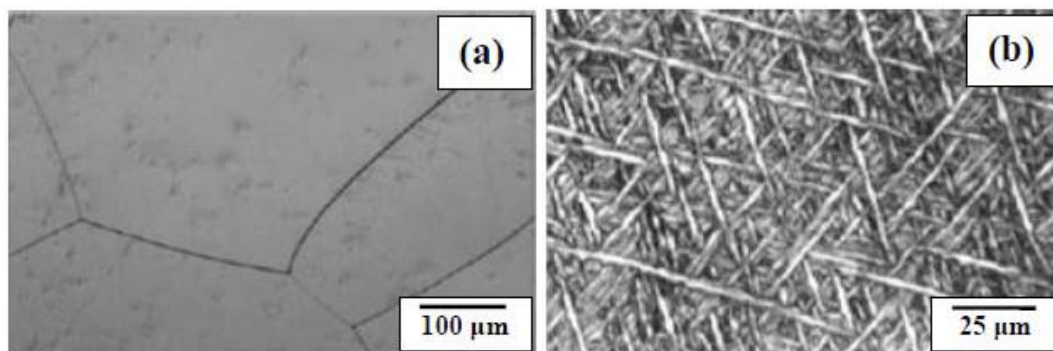


**Εικόνα 5.1.1.5.:** Μερικό διάγραμμα φάσης του τιτανίου και ενός στοιχείο β-σταθεροποιητή.

Τέλος, τα κράματα α+β περιλαμβάνουν στοιχεία κραμάτωσης με αρκετούς α και β σταθεροποιητές για να επεκτείνουν τον τομέα α+β μέχρι τη θερμοκρασία δωματίου. Ο συνδυασμός των φάσεων α και β επιτρέπει να ληφθεί μία βέλτιστη και ισορροπημένη κατάσταση ιδιοτήτων. Τα χαρακτηριστικά και των δύο φάσεων α και β μπορούν να προσαρμοστούν στις απαιτήσεις με την εφαρμογή των κατάλληλων θερμικών και θερμομηχανικών επεξεργασιών. Μια σημαντική ανομοιογένεια όσον αφορά τις μικροδομές μπορεί να προκύψει όταν συγκρίνονται με τα κράματα τύπου α. Το κράμα Ti-6Al-4V είναι ένα κράμα τύπου α+β. Λόγω της μεγάλης του διαθεσιμότητας, την πολύ καλή κατεργασιμότητα και την άριστη μηχανική του συμπεριφορά στις χαμηλές θερμοκρασίες είναι το πιο κοινό και διαδεδομένο κράμα τιτανίου. Η Εικόνα 5.1.1.6. παρουσιάζει τις μικροδομές των κραμάτων τιτανίου β και α+β.

Όπως και στην περίπτωση του σιδήρου (χάλυβες), ο αλλοτροπικός μετασχηματισμός είναι ο κύριος λόγος για την τεράστια ποικιλία στις μικροδομές των κραμάτων του τιτανίου. Οι μικροδομές των κραμάτων του τιτανίου χαρακτηρίζονται από σταθερές και ασταθείς φάσεις. Γενικά, για περιορισμένη περιεκτικότητα σε β-σταθεροποιητές και ανάλογα με τις συνθήκες ψύξης, τα κράματα του τιτανίου παρουσιάζουν μόνο τις φάσεις α και β. Εντούτοις, εάν η θερμοδυναμική ισορροπία δεν επιτευχθεί, οι ασταθείς φάσεις μπορεί να διατηρηθούν και στη θερμοκρασία δωματίου, κυρίως μαρτενσιτικές και φάσεις τύπου ω. Επίσης, όπως έχει αναφερθεί

από διάφορους επιστήμονες, κράματα τιτανίου με στοιχεία β-σταθεροποιητών όπως τα Mo, Nb, Ta και V, μπορούν να διαμορφώσουν δύο τύπους μαρτενσιτικών δομών. Εάν η περιεκτικότητα σε β-σταθεροποιητές θεωρείται χαμηλή, η ταχεία ψύξη οδηγεί στο σχηματισμό δομής του εξαγωνικού μαρτενσίτη, που ονομάζεται α'. Στην αντίθετη περίπτωση, δηλαδή όταν η περιεκτικότητα είναι υψηλή, ο μαρτενσίτης α' υφίσταται παραμόρφωση, χάνει τη συμμετρία του και αντικαθίσταται από τον ορθορομβικό μαρτενσίτη, που συμβολίζεται α''.



**Εικόνα 5.1.1.6.:** Μικροδομές των κραμάτων (α) β Ti-35Nb (wt%) και (b) α+β Ti-6Al-7Nb (wt%) που έχουν ψυχθεί στον αέρα.

Όταν τα κράματα του τιτανίου με στοιχεία β-σταθεροποιητών υποβάλλονται σε ταχεία ψύξη από υψηλή θερμοκρασία, η φάση β μπορεί να μετασχηματιστεί είτε σε μαρτενσιτικές δομές είτε τελικά στη μεταβατικά φάση ω. Η καθίζηση της φάσης ω εμφανίζεται σε περιορισμένο εύρος των στοιχείων κραμάτωσης και μπορεί να προκύψει κατά τη διάρκεια της ψύξης από υψηλή θερμοκρασία (β φάση), θερμικά προσδιοριζόμενη έτσι φάση ω. Ωστόσο, η φάση ω μπορεί επίσης να διαμορφωθεί μετά από γήρανση μιας ταχείας ψύξεως δομής, σε μεσαίες θερμοκρασίες, με συνέπεια την δημιουργία ισόθερμης φάσης ω.

#### ❖ Μηχανικές ιδιότητες

Η μηχανική συμπεριφορά των κραμάτων του τιτανίου συσχετίζεται άμεσα με τη σύνθεση τους και κυρίως με την θερμο-μηχανική επεξεργασία. Στον Πίνακα 2 που ακολουθεί αναγράφονται τα κυριότερα κράματα τιτανίου καθώς και η χρήση αυτών.

ASTM B265	
Βαθμός 1	<p>Ανόθευτο τιτάνιο. Κύρια χρήση σε εναλλάκτες θερμότητα, αεροσκάφη, σε συστήματα αφαλάτωσης και θαλάσσια τμήματα, ανόδους λευκόχρυσου. Παρουσιάζει υψηλή σχηματιστικότητα.</p>
Βαθμός 2	<p>Ανόθευτο τιτάνιο. Χρήση σε τμήματα αεροσκαφών, μηχανές αεροσκαφών, θαλάσσια εξαρτήματα, σε χημικές βιομηχανίες, σε εναλλάκτες θερμότητας, σε συμπυκνωτές. Καλός συνδυασμός της δύναμης σχηματιστικότητας, ολκιμότητας και συγκολλησιμότητας.</p>
Βαθμός 3	<p>Ανόθευτο τιτάνιο. Χρήση στη χημική βιομηχανία. Σε εξαρτήματα για θαλάσσιες κατασκευές, σε σκελετούς και εξαρτήματα κινητήρων αεροσκαφών που απαιτούν αντοχή. Έχουν καλή συγκολλησιμότητα και αντοχή στη διάβρωση.</p>
Βαθμός 4	<p>Η υψηλότερη αντοχή καθαρού τιτανίου. Χρήση στη χημική βιομηχανία, σε εξαρτήματα για θαλάσσιες κατασκευές, σε σκελετούς και εξαρτήματα κινητήρων αεροσκαφών, σε χειρουργικά εμφυτεύματα, σε υψηλής ταχύτητας ανεμιστήρες, αεροσυμπιεστές. Χρησιμοποιείται σε υδραυλικές σωληνώσεις. Παρουσιάζει καλή</p>

	ελατότητα και αντοχή στη διάβρωση σε συνδυασμό με υψηλή αντοχή.
Βαθμός 5	Κράμα τιτανίου με 6% αλουμίνιο, 4% βανάδιο. Δημοφιλής άλφα-βήτα, μέσης αντοχής. Κύριες χρήσεις σε σκελετούς και εξαρτήματα κινητήρων αεριοστρόβιλων, σε εξοπλισμό πυρίμαχων και δοχεία πίεσης όπως περιβλήματα πυραυλοκινητήρων. Χρησιμοποιείται επίσης για χειρουργικές συσκευές και εμφυτεύματα.
Βαθμός 7	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε παλλάδιο από 0,12% έως 0,25%. Παρουσιάζει μεσαία αντοχή και ανώτερη αντίσταση στη διάβρωση.
Βαθμός 9	Άλφα-βήτα κράμα τιτανίου που περιέχει βανάδιο σε ποσοστό 3% έως και 2,5%. Υψηλή αντοχή και αντίσταση στη διάβρωση. Χρήση στην αεροδιαστημική, σε εφαρμογές πετροχημικών, υδραυλικές σωληνώσει και όργανα μέτρησης, τον αθλητισμό, σε υποθαλάσσιες εφαρμογές και δοχεία πίεσης. Συνήθως χρησιμοποιείται σε ψυχρή κατεργασία με ανόπτηση και επαναφορά.
Βαθμός 11	Κράμα τιτανίου με παλλάδιο σε περιεκτικότητα από 0,12% έως και 0,25%. Χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο. Χαμηλή αντοχή. Επιτρεπόμενη περιεκτικότητα του υδρογόνου εξαρτάται από την μορφή. Προσθήκη Pd αυξάνει

	<p>την αντίσταση στη διάβρωση. Παρουσιάζει πολύ καλή συγκολλησιμότητα.</p>
Βαθμός 12	<p>Κράμα τιτανίου που περιέχει μολυβδαίνιο 0,3% και 0,8% νικέλιο. Υψηλής αντοχής, καλός μονωτής και καλά αντίσταση στη φθορά. Χρησιμοποιείται σε κελύφη και εναλλάκτες θερμότητας και σε υδρομεταλλουργικές εφαρμογές. Πολύ καλή συγκολλησιμότητα.</p>
Βαθμός 13	<p>Κράμα τιτανίου που περιέχει 0,5% νικέλιο και 0,05% ρουθίνιο. Χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο.</p>
Βαθμός 14	<p>Κράμα τιτανίου με 0,5% νικέλιο και 0,05% ρουθίνιο. Σταθερό οξυγόνο.</p>
Βαθμός 15	<p>Κράμα τιτανίου με 0,5% νικέλιο και 0,05% ρουθίνιο. Μεσαία περιεκτικότητα σε οξυγόνο.</p>
Βαθμός 16	<p>Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε παλλάδιο 0,04% έως 0,08%. Σταθερό οξυγόνο και μέση αντοχή. Χρησιμοποιείται στη χημική βιομηχανία λόγω της βελτιωμένης αντοχής στη διάβρωση.</p>
Βαθμός 17	<p>Καθαρό τιτάνιο με παλλάδιο από 0,04% έως 0,08%. Χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο και χαμηλή αντοχή.</p>
Βαθμός 18	<p>Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε</p>

	αλουμίνιο 3%, 2,5% βανάδιο και παλλάδιο από 0,04% έως 0,08%.
Βαθμός 19	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 3%, 8% βανάδιο, 6% χρώμιο, 4% ζirkόνιο και 4% μολυβδαίνιο.
Βαθμός 20	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 3%, 8% βανάδιο, 6% χρώμιο, 4% ζirkόνιο και 4% μολυβδαίνιο και παλλάδιο από 0,04% έως 0,08%.
Βαθμός 21	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 3%, μολυβδαίνιο 15%, 2,7% νιόβιο και 0,25% πυρίτιο.
Βαθμός 23	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 6%, 4% βανάδιο.
Βαθμός 24	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 6%, 4% βανάδιο και παλλάδιο από 0,04% έως 0,08%.
Βαθμός 25	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 6%, 4% βανάδιο, νικέλιο από 0,3% έως 0,6% και παλλάδιο από 0,04% έως 0,08%.
Βαθμός 26	Καθαρό τιτάνιο με ρουθίνιο από 0,08% έως 0,14%, σταθερό οξυγόνο και μέση αντοχή. Ανταγωνιστική εναλλακτική λύση στο Βαθμό 7.
Βαθμός 27	Καθαρό τιτάνιο με ρουθίνιο από 0,08% έως 0,14%. Χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο και χαμηλή αντοχή.



Βαθμός 28	Κράμα τιτανίου με περιεκτικότητα σε αλουμίνιο 3%, 2,5% βανάδιο, και ρουθίνιο από 0,08% έως 0,14%. Υψηλής αντοχής με ενισχυμένη αντίσταση στη διάβρωση με εναλλακτική λύση τον Βαθμό 9.
-----------	--

**Πίνακας 2.** Μηχανικές ιδιότητες κραμάτων τιτανίου

Η μηχανική αντοχή των κραμάτων του τιτανίου μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη στοιχείων κραμάτωσης, τα οποία μπορεί να οδηγήσουν στη δημιουργία μιας σταθερής στερεής δομής ή ακόμα και στην καθίζηση άλλων δευτερέων φάσεων. Επίσης, με τη χρήση των διαδικασιών γήρανσης του υλικού, ασταθείς δομές που προέκυψαν από την γρήγορη ψύξη στην περιοχή β μπορεί να προκαλέσουν ιζήματα, τα οποία αυξάνουν αρκετά τη μηχανική αντοχή.

Τα κράματα του τιτανίου παρουσιάζουν πολύ καλή αναλογία αντοχής προς βάρος. Η αναλογία αυτή είναι υψηλότερη από ότι στους περισσότερες χάλυβες. Ενώ το καθαρό τιτάνιο έχει αντοχή μεταξύ 170 MPa (Βαθμίδα 1) και 530 MPa (βαθμίδα 4), τα κράματα τιτανίου μπορούν να παρουσιάσουν τιμές υψηλότερες από 1500 MPa.

Ο συντελεστής ελαστικότητας αντιστοιχεί στην ακαμψία της υλικού και συνδέεται με τον τρόπο που αναπτύσσονται οι δυνάμεις μεταξύ των ατόμων των στοιχείων στη κρυσταλλική δομή. Μία σύγκριση μεταξύ των δύο κρυσταλλικών δομών του τιτανίου έχει οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι η εξαγωνική δομή μέγιστης πυκνότητας (hcp) παρουσιάζει υψηλότερες τιμές συντελεστή ελαστικότητας από την χωροκεντρομένη κυβικού πλέγματος δομή (bcc). Συνεπώς, η προσθήκη στοιχείων σταθεροποιητών τύπου β επιτρέπουν την σταθεροποίηση της φάσης β και έτσι την επίτευξη χαμηλού συντελεστή ελαστικότητας με τιμές κοντά στα 105 GPa, το κράμα του Ti-6Al-4V τύπου α+β παρουσιάζει τιμές μεταξύ 101 και 110 GPa, ενώ κράματα τιτανίου τύπου β μπορεί να παρουσιάσουν πολύ χαμηλές τιμές, γύρω στα 55 GPa. [35]

Η ανάλυση των συστημάτων ολίσθησης σε διάφορες κρυσταλλικές δομές αποκαλύπτουν ότι η πλαστική παραμόρφωση επιτυγχάνεται ευκολότερα στη

κρυσταλλική δομή χωροκεντρομένου κυβικού πλέγματος (bcc) παρά στην εξαγωνική δομή μέγιστης πυκνότητας (hcp). Αυτό μπορεί να εξηγήσει την ενισχυμένη ολκιμότητα της φάσης β σε σύγκριση με τη φάση α. Επιπλέον, η ευκολία της πλαστικής παραμόρφωσης συνδέεται άμεσα με την ελάχιστη απόσταση ολίσθησης, η οποία δίνεται από τη διατομική απόσταση διαιρεμένη από την αντίστοιχη παράμετρο πλέγματος. Εφόσον, η εξαγωνική δομή μέγιστης πυκνότητας (hcp) παρουσιάζει μεγαλύτερη απόσταση ολίσθησης από την δομή του χωροκεντρομένου κυβικού πλέγματος (bcc) είναι δυνατό να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η ολίσθηση των ατομικών επιπέδων ή η πλαστική παραμόρφωση είναι ευκολότερη στη χωροκεντρομένη κρυσταλλική δομή. Ως εκ τούτου, τα κράματα τύπου β παρουσιάζουν την καλύτερη ικανότητα διαμόρφωσης δομής μεταξύ των κραμάτων του τιτανίου.

Τέλος, το τιτάνιο είναι ανθεκτικό σε όξινα διαλύματα (π.χ.  $\text{HNO}_3$  οποιασδήποτε συγκέντρωσης μέχρι το σημείο ζέσεως, βασιλικό νερό,  $\text{H}_3\text{PO}_4 < 30\%$ ,  $\text{H}_3\text{CrO}_4$ , οξαλικό, μυρμηγκικό και γαλακτικό οξύ), αραιά αλκαλικά διαλύματα (π.χ.  $\text{NaClO}$ ), στα περισσότερα διαλύματα αλάτων (χλωριόντα και οξειδωτικά άλατα μέχρι το σημείο ζέσεως π.χ.  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ) και σε διάφορα αέρια ( $\text{Cl}_2$ ,  $\text{ClO}_2$ , αέρας,  $\text{O}_2 < 425^\circ\text{C}$ ,  $\text{N}_2 < 700^\circ\text{C}$ ,  $\text{H}_2 < 750^\circ\text{C}$ ).

Τέλος, το ανθρώπινο σώμα αναγνωρίζει το τιτάνιο και τα κράματα του ως ξενιστές και προσπαθεί να τα απομονώσει περιβάλλοντάς τα σε ινώδεις ιστούς. Παρ'όλα αυτά όμως δεν προκαλούν δυσμενείς αντιδράσεις και είναι ανεκτά από τον οργανισμό. Επίσης, δεν προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις, όπως οι ανοξειδωτικοί χάλυβες, οι οποίοι προκαλούν υπερευαισθησία στους περιβάλλοντες ιστούς.

Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο κράμα τιτανίου είναι το  $\text{Ti}_6\text{Al}_7\text{V}$ , το οποίο έχει πέρα από υψηλή αντοχή και άριστη βιοσυμβατότητα ως χειρουργικό μόσχευμα. Χρησιμοποιείται για την κατασκευή εμφυτευμάτων από το 1986.

Κράματα τιτανίου – νικελίου εμφανίζουν ασυνήθιστες ιδιότητες, δηλαδή μετά από παραμόρφωση του υλικού, μπορεί αυτό να επιστρέψει απότομα στην αρχική μορφή του κατόπιν θερμάνσεως. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται φαινόμενο μνήμης μορφής (shape memory effect, SME). Το κράμα  $\text{TiNi}$  ή  $\text{NiTi}$  σε ισοατομική αναλογία εμφανίζει αυτό το φαινόμενο σε θερμοκρασία δωματίου. Εάν παραμορφωθεί πλαστικά κάτω από αυτή την θερμοκρασία μετασχηματισμού, επιστρέφει στην

αρχική μορφή του όταν ανυψωθεί η θερμοκρασία. Μερικές δυνατές εφαρμογές των κραμάτων με μνήμη μορφής είναι σύρματα για ορθοδοντικές γέφυρες, λαβίδες ενδοκρανιακού ανευρύσματος, συστελλόμενοι τεχνητοί μύες για μία τεχνητή καρδιά και ορθοπεδικά εμφυτεύματα.

Οι σύγχρονες έρευνες επικεντρώνονται στη χρήση νανοκρυσταλλικών κονιαμάτων τιτανίου ως οστέινα ενθέματα. Πρόκειται για ένα εξαιρετικά λεπτόκοκκο υλικό το οποίο είναι εξίσου βιοσυμβατό με το τιτάνιο, αλλά είναι δέκα φορές πιο ανθεκτικό από τα συμβατικά ενθέματα τιτανίου. Με χρήση του υλικού αυτού θα προκύψουν ενθέματα (κυρίως ορθοπεδικά) που θα μοιάζουν ακόμα περισσότερο με τα φυσικά οστά.

#### ❖ Συμπεριφορά στη διάβρωση

Το τιτάνιο παρουσιάζει άριστη αντίσταση στη διάβρωση, που σχετίζεται με το σχηματισμό ενός σταθερού προστατευτικού στρώματος οξειδίων και συγκεκριμένα το σχηματισμό του  $TiO_2$ . Η ικανότητα αντίδρασης του τιτανίου μπορεί να μετρηθεί από το ηλεκτρικό δυναμικό που είναι 1,63V. Μία τέτοια τιμή δείχνει ότι το τιτάνιο έχει υψηλή χημική ικανότητα αντίδρασης και έτσι οξειδώνεται, αναδεικνύοντας το προστατευτικό και λεπτό στρώμα οξειδίων στην επιφάνεια του. Αυτό το στρώμα οξειδίων αδρανοποιεί το τιτάνιο, πράγμα το οποίο οδηγεί σε μία προστασία ενάντια στην περαιτέρω διαδικασία διάβρωσης εφόσον διατηρείται αυτό το στρώμα. Βασικά, ο σχηματισμός λεπτών στρωμάτων αδρανοποίησης στο τιτάνιο δεν σημαίνει τη διακοπή των διαδικασιών διάβρωσης. Σημαίνει ότι το ποσοστό διάβρωσης θα μειωθεί σημαντικά. Επομένως, το τιτάνιο είναι ανθεκτικό στη διάβρωση σε όξινο περιβάλλον αλλά παρουσιάζει μικρή όμως αντίσταση σε αναγωγικά ήπια αντιδραστήρια. Γενικά, η δοκιμή ανοδικής πόλωσης είναι μια αποδοτική μέθοδος για να διαπιστωθεί η συμπεριφορά διάβρωσης ενός μεταλλικού υλικού σε ένα διαβρωτικό περιβάλλον.

#### ❖ Πηγές και κοιτάσματα εξόρυξης τιτανίου

Το τιτάνιο είναι το ένατο κατά σειρά, πιο άφθονο στοιχείο στη γήινη επιφάνεια (0,63% κατά μάζα) και το έβδομο πιο άφθονο μέταλλο. Παρουσιάζεται περισσότερο στους πυριγενείς βράχους και στα ιζήματα που προέρχονται από αυτούς, καθώς επίσης και στους οργανισμούς διαβίωσης και στους φυσικούς οργανισμούς του

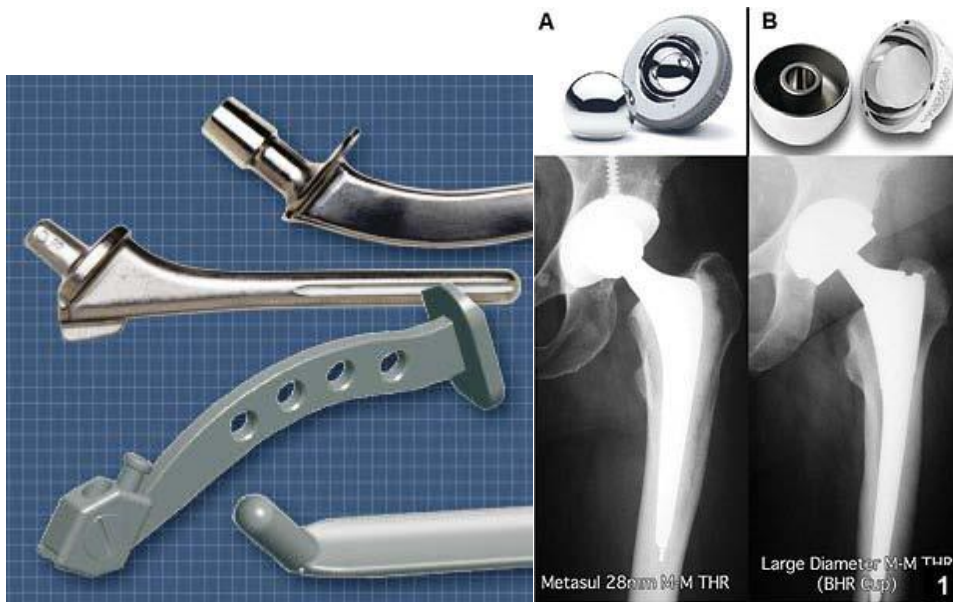
ύδατος. Στην πραγματικότητα, από τους 801 τύπους πύρινων βράχων που αναλύθηκαν από την γεωλογική έρευνα των Η.Π.Α., οι 784 περιείχαν τιτάνιο.

Διανέμεται ευρέως και εμφανίζεται πρώτιστα στα μεταλλεύματα όπως: ανατάσης, μπρουκίτης, ιλμενίτης, περοβισκίτης, ορυκτό διοξείδιο του τιτανίου, τιτανίτης, ορυκτό τιτανίου του ασβεστίου και πολλά επίσης μεταλλεύματα σιδήρου. Από αυτά τα μεταλλεύματα, μόνο το ορυκτό διοξείδιο του τιτανίου ( $TiO_2$ ) και ο ιλμενίτης, έχουν οικονομική σημασία, όμως είναι δύσκολο να βρεθούν σε υψηλή συγκέντρωση. Περισσότερο από το 90% των μεταλλευμάτων τιτανίου που παράγονται προέρχονται από τα αποθέματα μαγματικού και από «νεαρά» εκμεταλλεύσιμα επιφανειακά κοιτάσματα – που βρίσκονται στη γραμμή των ακτών – ιλμενίτη.

Σημαντικές ποσότητες τιτανίου σε ιλμενίτη υπάρχουν στη δυτική Αυστραλία, στον Καναδά, στη Νέα Ζηλανδία, στη Νορβηγία και στην Ουκρανία. Ακόμα, μεγάλες ποσότητες ορυκτού διοξειδίου του τιτανίου εξάγονται από τη Βόρεια Αμερική και τη Νότια Αφρική και συμβάλλουν στην ετήσια παραγωγή, 90.000 τόνων του ορυκτού τιτανίου και των 4,3 εκατομμυρίων τόνων του διοξειδίου του τιτανίου. Τα συνολικά αποθέματα του τιτανίου υπολογίζονται ότι υπερβαίνουν τα 600 εκατομμύρια τόνους. Τιτάνιο περιέχεται επίσης στους μετεωρίτες και έχει ανιχνευθεί στον ήλιο και τα αστέρια. Σεληνιακοί βράχοι που εξετάστηκαν κατά τη διάρκεια της αποστολής του Απόλλο-17, έδωσαν στοιχεία ότι η σελήνη αποτελείται από 12,1%  $TiO_2$ . Τέλος, το τιτάνιο μπορεί να βρεθεί στην ανθρακική τέφρα, στα φυτά ακόμα και στο ανθρώπινο σώμα.

#### ❖ Χρήση τιτανίου

**Ιατρική:** Στην ορθοπαιδική κατασκευή εξαρτημάτων όπως χειρουργικά σύρματα, κοχλίες και περικόχλια, πλάκες και ενδομυελικές ράβδους για την αποκατάσταση σπασμένων οστών, στην βιοϊατρική για την κατασκευή τμημάτων, τα οποία αντικαθιστούν προβληματικές αρθρώσεις π.χ. άρθρωση γονάτου ή γοφού.



**Εικόνα 5.1.1.7.:** Μεταλλικά εμφυτεύματα ισχίου από τιτάνιο.

**Αυτοκινητοβιομηχανία:** Κατασκευάζονται ελατήρια βαλβίδων, βαλβίδες κινητήρων, διωστήρες, έμβολα, στροβιλοσυμπιεστές, τμήματα σε εξαμίσεις κ.λπ.



**Εικόνα 5.1.1.8.:**Μεταλλικά τμήματα κινητήρα από τιτάνιο.

**Αεροναυπηγική:** Η αεροδιαστημική βιομηχανία είναι η μεγαλύτερη ενιαία αγορά για τα προϊόντα τιτανίου και αυτό οφείλεται κυρίως στην εξαιρετική αναλογία δύναμη προς βάρος, στην αντοχή σε υψηλή θερμοκρασία και στη αντοχή στη διάβρωση. Η πιο σημαντική εφαρμογή του τιτανίου είναι σε κινητήρες τζετ, με εκτεταμένη χρήση στο τμήμα του συμπιεστή για την κατασκευή πτερυγίων, κατευθυντήριων πτερυγίων, πλακών κ.λπ.



**Εικόνα 5.1.1.9.:** Αεροσκάφη που περιέχουν εξαρτήματα από τιτάνιο.

Επίσης, χρησιμοποιείται και σε τμήματα των αεροσκαφών που υπόκεινται σε θερμοκρασίες μέχρι 1100 °F. Το τιτάνιο μπορεί να αποτελέσει το 20% - 30% του συνολικού βάρους σε ένα αεροπορικό κινητήρα. Τέλος, το τιτάνιο χρησιμοποιείται και σε κρίσιμα δομικά στοιχεία των αεροσκαφών όπως σκελετούς αεροσκαφών, στο σύστημα προσγείωσης, σε σωληνώσεις κ.α. Η χρήση του είναι ευρέως διαδεδομένη στα περισσότερα εμπορικά και στρατιωτικά αεροσκάφη. Το τιτάνιο χρησιμοποιείται επίσης σε διαστημικά σκάφη.

**Ναυπηγική:** Λόγω της μεγάλης αντοχής του στη διάβρωση που προκαλεί το θαλασσινό νερό, το τιτάνιο χρησιμοποιείται για την κατασκευή ατράκτων, για την κίνηση της προπέλας, εναλλακτών θερμότητας, μονάδων αφαλάτωσης, για την παρασκευή περιβλημάτων σε διάφορες κατασκευές που βρίσκονται μέσα σε ωκεανούς κ.α. Η πρώην Σοβιετική Ένωση είχε αναπτύξει τεχνικές για την κατασκευή υποβρυχίων σε μεγάλο βαθμό από τιτάνιο.



**Εικόνα 5.1.1.10:** Εφαρμογές τιτανίου στην ναυπηγική.

**Χημική βιομηχανία:** Το τιτάνιο χρησιμοποιείται στην χημική βιομηχανία σε μορφή διοξειδίου ( $\text{TiO}_2$ ) του τιτανίου για την παρασκευή πολλών προϊόντων ευρείας χρήσης όπως χρώματα, χαρτί, πλαστικά, τσιμέντο για έντονη λευκότητα, οδοντόκρεμες και πολλά άλλα.

## 5.2. Κεραμικά Βιοϋλικά

Ο όρος κεραμικά αναφέρεται σε θερμικά κατεργασμένα υλικά (με έψηση) τα οποία προέρχονται από αργλικές πρώτες ύλες. Τα κεραμικά υλικά σήμερα καλύπτουν μεγάλο εύρος εφαρμογών στην ιατρική.

Εν αντιθέσει με τα μέταλλα και τα πολυμερή, τα κεραμικά, λόγω της ιοντικής φύσης του δεσμού και του ελαχίστου αριθμού των συστημάτων ολίσθησης, είναι δύσκολο να κοπούν πλαστικά, γεγονός που τα καθιστά μη-όλκιμα και άρα ευπαθή σε χαράξεις ή μικρορωγμές. Στην άκρη της ρωγμής, η τάση μπορεί να είναι πολλές φορές υψηλότερη από την τάση στο υπόλοιπο υλικό με αποτέλεσμα μία συγκέντρωση τάσεων η οποία το αδυνατίζει σημαντικά. Έτσι, τα κεραμικά υλικά έχουν χαμηλή αντοχή σε κόπωση σε σύγκριση με την αντοχή σε συμπίεση.

Τα κεραμικά υλικά είναι γενικά σκληρά και χαρακτηρίζονται από υψηλή αντοχή στη θλίψη, χαμηλή αντοχή στον εφελκυσμό, υψηλές θερμοκρασίες τήξης και χαμηλή ηλεκτρική και θερμική αγωγιμότητα.

Προκειμένου ένα κεραμικό υλικό να χαρακτηριστεί ως βιοκεραμικό πρέπει να συγκεντρώνει τις ακόλουθες ιδιότητες:

- i. Δεν πρέπει να είναι τοξικό.
- ii. Δεν πρέπει να είναι καρκινογόνο.
- iii. Πρέπει να είναι υποαλλεργικό.
- iv. Δεν πρέπει να προκαλεί φλεγμονές.
- v. Πρέπει να είναι βιοσυμβατό.
- vi. Για τη διάρκεια ζωής του στον ξενιστή πρέπει να είναι βιο-λειτουργικό.

Τα κεραμικά που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή εμφυτευμάτων μπορούν να χαρακτηρισθούν ως μη απορροφήσιμα (σχετικά αδρανή), βιοενεργά ή επιφανειακής αντίδρασης (ημι-αδρανή) και βιοδιασπώμενα ή απορροφήσιμα (μη-αδρανή). Η αλούμινα, η ζirkονία, τα νιτρίδια σιλικόνης και τα καρβίδια υπάγονται

στα αδρανή βιοκεραμικά. Στα απορροφήσιμα βιοκεραμικά υπάγονται τα κεραμικά γυαλιού, οι πυκνοί υδροξυαπατίτες, τα φωσφορικά και αργιλικά άλατα του ασβεστίου.

### 5.2.1. Κεραμικά Βιοϋλικά Φωσφορικού Ασβεστίου – Υδροξυαπατίτης

Τα άλατα φωσφορικού ασβεστίου συγκεντρώνουν το ερευνητικό ενδιαφέρον ως προς τη δυνατότητα χρήσης τους ως χειρουργικών εμφυτευμάτων, οδοντικών εμφυτευμάτων, αλλά και ως υλικών πλήρωσης οστικών ελλειμμάτων. Εκτός από τη βιοσυμβατότητα αυτών των υλικών, σημαντικό χαρακτηριστικό είναι η ικανότητά τους να ενισχύουν την ανάπτυξη οστεογενετικών κυττάρων, ενώ η επιφανειακή εναπόθεσή τους, κυρίως υδροξυαπατίτη, σε μεταλλικά προσθετικά υλικά συντελεί στην καλύτερη πρόσδεση του βιοϋλικού με το φυσικό οστό. Παρ' όλα αυτά, στην περίπτωση που η επικάλυψη δεν είναι επιτυχής και υπάρχει αποκόλληση της σκόνης, έχουν αναφερθεί προβλήματα λοίμωξης στους παρακείμενους ιστούς. Για το σκοπό αυτό, η έρευνα εστιάζεται στην ανάπτυξη τεχνικών επικάλυψης.

Τα κεραμικά του φωσφορικού ασβεστίου που είναι διαθέσιμα σήμερα στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται ως εμφυτεύματα στηρίζονται στις παρακάτω ενώσεις:

- Υδροξυαπατίτης ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) (HA)
- Φωσφορικό τριασβέστιο ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) ( $\beta\text{-TCP}$ )
- Διφασικές ενώσεις φωσφορικού ασβεστίου (μίγμα υδροξυαπατίτη και  $\beta\text{-TCP}$ )

Ο υδροξυαπατίτης (HAp) είναι ένα από τα κύρια συστατικά του ανόργανου τμήματος των σκληρών ανθρώπινων ιστών (οστά και δόντια) και αποτελεί ένα από τα συνηθέστερα βιοϋλικά που έχουν μελετηθεί στο πλαίσιο της μηχανικής των οστικών ιστών λόγω της καλής του βιοσυμβατότητας. Μπορεί να σχηματίσει έναν άμεσο χημικό δεσμό με τους περιβάλλοντες ιστούς και είναι οστεαγωγίμο, μη- τοξικό, αντιφλεγμονώδες και δεν προκαλεί ανοσοποιητική αντίδραση. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί αναφορικά με τη χρήση του καθώς η ευθραυστότητά του καθιστά δύσκολη τη μορφοποίησή του. [36, 37, 38]



### ❖ Βιομημητική σύνθεση νανο-υδροξυαπατίτη και επίδραση δενδριτικών πολυμερών

Το οστό θεωρείται ως μία νανο-σύνθεση μετάλλων και πρωτεϊνών και τελευταία ο νανο-HAp έχει ερευνηθεί και αποδειχθεί πως έχει θετική επίδραση στην αλληλεπίδραση κυττάρου-βιοϋλικού. Εντούτοις, η ‘μετανάστευση’ των σωματιδίων νανο-HAp από την περιοχή εμφύτευσης στους περιβάλλοντες ιστούς μπορεί να προκαλέσει βλάβη στον υγιή ιστό. Για να βρεθεί λύση, ερευνήθηκαν συνθέσεις HAp και πολυμερών προς εύρεση υλικού που να διατηρεί τις καλές ιδιότητες του νανο-HAp και να παρεμποδίζει την προαναφερόμενη ‘μετανάστευσή’ του. Μια τέτοια προσπάθεια είναι και η σύνθεση HAp-χιτοζάνης και HAp-κολλαγόνου προς παραγωγή πορωδών ικριωμάτων έπειτα από λυοφιλίωση (freeze drying) του μίγματος.

Ενώ πολυάριθμα κράματα πολυμερών – υδροξυαπατίτη έχουν ερευνηθεί , πολύ λίγα έχουν διεξαχθεί με δενδριτικά πολυμερή και υδροξυαπατίτη. Όπως τελικά φαίνεται, τα δενδριτικά πολυμερή και ιδιαιτέρως τα δενδριμερή έχουν πολλαπλές λειτουργίες, ειδικότερα δε ότι είναι διαθέσιμα για χημικές αντιδράσεις ή σχεδιασμένες αλληλεπιδράσεις. Αυτό το στοιχείο είναι πλεονεκτικό για την ιστική μηχανική (tissue engineering).

Αναλυτικότερα, η ύπαρξη των δενδριμερών πολυμερών προσομοιάζει την ύπαρξη των πρωτεϊνών που υπάρχουν κατά τη φυσική διαδικασία σύνθεσης του οστού. Τα δενδριμερή, σε σύγκριση με τα γραμμικά πολυμερή, παρουσιάζουν το όφελος της ακριβούς αρχιτεκτονικής διάταξης, καθώς είναι μόρια έντονα διακλαδισμένα αποτελούμενα από ένα κεντρικό μόριο, ένα μεγάλο αριθμό κλάδων που αναπτύσσονται από αυτόν και τις τερματικές ομάδες για αυξημένη λειτουργικότητα (functionalization) των μορίων.

Τα δενδριμερή έχουν ακριβές μοριακό βάρος και μέγεθος, σφαιρικό σχήμα και τη δυνατότητα να εγκλείουν στο εσωτερικό τους μεταλλικά ιόντα ή και οργανικά μόρια. Τον σημαντικότερο παράγοντα αποτελεί η ύπαρξη πολλαπλών λειτουργικών ομάδων στην επιφάνεια των μορίων τους, γεγονός που τα καθιστά ιδανικά για τη μελέτη της ρύθμισης βιολογικών διαδικασιών, δίνοντας ταυτόχρονα τη δυνατότητα δημιουργίας μιας διαδικασίας σύνθεσης που προσεγγίζει τη φυσική, όπως αυτή

συμβαίνει εντός βιολογικών συστημάτων, βάσει της δυνατότητας σύνδεσης των λειτουργικών ομάδων με τους αναπτυσσόμενους κρυστάλλους.

Οι πολλαπλές λειτουργίες των δενδριμερών θα μπορούσαν να επιτρέψουν αυξημένη αλληλεπίδραση με τον κεραμικό υδροξυαπατίτη. Μία συμβιωτική αλληλεπίδραση θα ενδυνάμωνε τη μήτρα και θα μπορούσε να βοηθήσει στον περιορισμό της κρυστάλλωσής του. Αυτή η άμορφη εκδοχή του υδροξυαπατίτη μοιάζει πιο πολύ με τον απατίτη που ευρίσκεται φυσικά στο κόκκαλο . Ακόμη, οι αυξημένες αλληλεπιδράσεις ωθούν προς την κατεύθυνση της αύξησης της αντοχής του υδροξυαπατίτη μέσα στο κράμα.

Παρ'όλο που ο έλεγχος της μικροδομής φαίνεται λογικά ως μεγάλη πρόκληση, η βιολογία έχει δώσει ήδη κάποια στοιχεία για να επιτευχθεί αυτό. Η ελεγχόμενη πυρήνωση και η διαδικασία της κρυσταλλικής ανάπτυξης , μετριαζόμενες από τον έλεγχο του μακρομορίου και από την οργάνωση των κυττάρων μπορούν να καταλήξουν στη λήψη ομοιόμορφων προϊόντων.

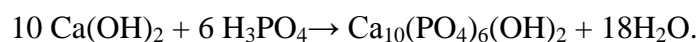
Μονοσακχαρίτες και πολυμερή χρησιμοποιούνται για να επηρεάσουν τη μορφολογία του συνθετικού υδροξυαπατίτη. Ο έλεγχος πάνω στην οργάνωση των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας λυοτροπικές φάσεις και αυτοδιαχειριζόμενες ίνες. Στην πρώτη περίπτωση, αυτό οδήγησε σε κράμα που αποτελείται από εναλλακτικά στρώματα υδροξυαπατίτη και οργανικού υλικού ενώ στη δεύτερη περίπτωση ένα κράμα αποκτήθηκε στο οποίο οι κρύσταλλοι συγκεντρώθηκαν με τον άξονα c κατά μήκος του άξονα των ιών .

#### ❖ Διαδεδομένες τεχνικές παραγωγής υδροξυαπατίτη:

Η σύνθεση του υδροξυαπατίτη μπορεί να γίνει με την εφαρμογή ποικίλων μεθόδων, οι βασικότερες απ' τις οποίες αναλύονται παρακάτω:

- Καταβύθιση-Χημική εναπόθεση

Η πιο διαδεδομένη τεχνική που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του υδροξυαπατίτη είναι η καταβύθιση (wet, aqueous or chemical precipitation). Αυτή η μέθοδος προτάθηκε από τους Yagai Aoki σύμφωνα με τον Bouyer. Οι χρησιμοποιούμενες πρώτες ύλες είναι υδροξείδιο του ασβεστίου και ορθοφωσφορικό οξύ με παραπροϊόντα της αντίδρασης μόνο νερό σύμφωνα με τα παρακάτω:



Η μορφή του παραγόμενου υδροξυαπατίτη εξαρτάται από τον ρυθμό προσθήκης του οξέος και τη θερμοκρασία. Η ίδια μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί με διαφορετικά πρόδρομα συστατικά με απώτερο στόχο την ομογενή κρυστάλλωση υδροξυαπατίτη σε διάλυμα κατάλληλου pH και θερμοκρασίας.

Κατά περίπτωση, τα προϊόντα που προκύπτουν μπορεί να διαφέρουν ως προς τη μορφολογία ή το μέγεθος ανάλογα με την διαδικασία παρασκευής.

- Τεχνική Sol-Gel

Η μέθοδος Sol-Gel είναι πολύ αποτελεσματική για τη σύνθεση νανο-απατίτη, γιατί δίνει την δυνατότητα ελέγχου των παραμέτρων της διαδικασίας. Έχει παρατηρηθεί ότι τα δείγματα υδροξυαπατίτη που παρήχθησαν με αυτή τη μέθοδο είναι αποδοτικά στη βελτίωση της επαφής και της σταθερότητας στη διεπιφάνεια φυσικού-συνθετικού οστού, τόσο σε περιβάλλον *in vitro* αλλά και *in vivo*.

Για τη σύνθεση υδροξυαπατίτη με χρήση sol-gel, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι συνδυασμοί πρόδρομων υλικών-πηγών ασβεστίου και φωσφόρου. Και πάλι η χημική δραστηριότητα και η απαιτούμενη θερμοκρασία για τον σχηματισμό δομής απατίτη εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση των πρόδρομων υλικών.

- Υδροθερμική Τεχνική

Η υδροθερμική τεχνική είναι μια διεργασία που εκμεταλλεύεται αντιδράσεις απλές ή ετερογενούς φάσης σε υδατικό διάλυμα και σχετικά αυξημένες θερμοκρασίες ( $T > 25^\circ\text{C}$ ) και πίεση ( $P > 100 \text{ kPa}$ ) για την κρυστάλλωση κεραμικών υλικών απευθείας από διάλυμα. Με τη χρήση της εν λόγω τεχνικής, ο λόγος Ca/P βελτιώνεται με την αύξηση, είτε της υδροθερμικής πίεσης, είτε της θερμοκρασίας.

- Τεχνική βιομιμητικής απόθεσης

Στην τεχνική αυτή, ένα μετασταθές συνθετικό σωματικό υγρό (SBF) με συνθετικό οργανικό άλας παρεμφερούς σύστασης με αυτής του οργανισμού, διευκολύνει την αυθόρμητη πυρήνωση και ανάπτυξη νανομεγέθους ανθρακούχου υδροξυαπατίτη που μιμείται το φυσικό οστό σε φυσιολογικό pH και θερμοκρασία.

Ο σχηματισμός του στρώματος του απατίτη με βιομιμητική απόθεση σε διαφορετικά βιοϋλικά, έχει αποδειχτεί ότι προωθεί *in vitro* μηχανισμούς που οδηγούν στην δημιουργία ισχυρής πρόσδεσης με το οστό. Πιο συγκεκριμένα, αποδείχτηκε, ότι

προωθεί την *in vitro* κυτταρική διαφοροποίηση και ότι προκαλούσε οστεογεννητική κυτταρική διαφοροποίηση με αποτέλεσμα τη δημιουργία ισχυρής σύνδεσης οστού και σύνθετης μήτρας.

Με τη βιομιμητική αυτή μέθοδο, διάφορα πορώδη εμφυτεύματα μπορούν να επικαλυφθούν με ανθρακούχο υδροξυαπατίτη νανοδιαστάσεων με βύθιση τους σε διάλυμα συνθετικών σωματικών υγρών (SBF). Η φύση των επιστρώσεων υδροξυαπατίτη μπορεί να επηρεάσει την οστεογεννητική κυτταρική διαφοροποίηση της επικάλυψης (osteogenecity), καθώς και τη διαδικασία επανασηματισμού του οστού μέσω της μικροδομής τους, του ρυθμού διάλυσης τους και των ειδικών αλληλεπιδράσεων τους με τα σωματικά υγρά. [39, 40]

### **5.3. Πολυμερή Βιοϋλικά**

Πολυμερή χαρακτηρίζονται τα υλικά που αποτελούνται από πολύ μεγάλα μόρια-αλυσίδες ατόμων άνθρακα, στα οποία συνδέονται διάφορα άτομα ή ρίζες. Γίνεται αντιληπτό ότι τα μακρομόρια αυτά αποτελούνται από ομάδες μονομερών, δηλαδή μικρότερες δομικές μονάδες, που επαναλαμβάνονται κατά μήκος της αλυσίδας, με αποτέλεσμα το μοριακό βάρος να είναι πολύ υψηλό, υπερβαίνοντας κάποιες φορές το ένα εκατομμύριο. Οι αλυσίδες δεν είναι πάντα γραμμικές, αλλά συχνά μπορούν να διακλαδώνονται, να διασταυρώνονται ή να δικτυώνονται σχηματίζοντας τρισδιάστατες δομές. Αυτές οι διαμορφώσεις επιφέρουν αλλαγές στα φυσικά χαρακτηριστικά και τη συμπεριφορά του υλικού.

#### **❖ Διαχωρισμός πολυμερών βιοϋλικών**

Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται ως βιοϋλικά είναι είτε φυσικά είτε τεχνητά. Τα φυσικά πολυμερή, που ανήκουν στην κατηγορία των βιομοριακών υλικών, παράγονται μέσα από βιολογικές διεργασίες και απαντώνται, κατά κύριο λόγο, στο εξωκυττάριο υλικό των συνδετικών ιστών, όπως επί παραδείγματι στους τένοντες, στο δέρμα, στα οστά, στα δόντια και στα αιμοφόρα αγγεία. Αντιπροσωπευτικά δείγματα είναι το κολλαγόνο, η ελαστίνη, το μετάξι, η κερατίνη, η ακτίνη και η μυοσίνη. Λειτουργικός τους ρόλος είναι η μηχανική στήριξη, η εξωτερική προστασία, η θερμική μόνωση, η συστολή και κινητικότητα, μπορεί όμως να έχουν και δομικό ρόλο. Η δομή και οι ιδιότητές τους παρουσιάζουν ιδιαίτερο

ενδιαφέρον και, ως εκ τούτου, αξιοποιούνται και στα τεχνητά εμφυτεύματα στην προσπάθεια μίμησης των φυσικών βιολογικών δομών.

Αρκετά εκτεταμένη, ωστόσο, είναι και η χρήση των τεχνητών πολυμερών ως βιοϋλικών, κυρίως χάρη στην ικανότητά τους να μορφοποιούνται εύκολα και να αποκτούν διάφορες μορφές, όπως νήματα, ράβδοι, ιξώδη υγρά και υμένια. Παρά το γεγονός, όμως, ότι κατασκευάζονται και μορφοποιούνται αρκετά εύκολα, υστερούν σε σχέση με άλλα βιοϋλικά στη συμπεριφορά τους μεσομακροπρόθεσμα.

Οι κυριότερες κατηγορίες τεχνητών πολυμερών με εφαρμογές στα βιοϋλικά είναι το πολυαιθυλένιο, τα πολυαμίδια, ο πολυμεθακρυλικός μεθυλεστέρας, το πολυτετραφθοροαιθυλένιο, οι πολυουρεθάνες και άλλες κατηγορίες.

Οι κυριότερες απαιτήσεις που τίθενται όσον αφορά στη χρησιμοποίηση των πολυμερών ως βιοϋλικών είναι:

- η βιοσυμβατότητα
- οι φυσικές ιδιότητες, δηλαδή η αντοχή, η ελαστικότητα και η σταθερότητα του υλικού
- η ικανότητα μορφοποίησης (με εξώθηση, σε καλούπι ή σχηματισμός ινών)
- η ικανότητα αποστείρωσης (σε αυτόκλειστο, με θερμή ξήρανση, με αέριο αιθυλενοξειδίο και ακτινοβολία).

#### ❖ Σύγκριση φυσικών και τεχνητών πολυμερών:

Στα πλεονεκτήματα των φυσικών πολυμερών συγκαταλέγονται η χημική τους ομοιότητα με μακρομόρια του περιβάλλοντος όπου εμφυτεύονται, το γεγονός ότι δεν προκαλούν φλεγμονές και τοξικές αντιδράσεις και η ικανότητα αποικοδόμησής τους με φυσικό μεταβολικό τρόπο από τον οργανισμό. Τροχοπέδη στην αξιοποίησή τους αποτελούν η ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού εναντίον τους, με εξαίρεση το κολλαγόνο, η διαφοροποίησή τους από ιστό σε ιστό και η απώλεια της δραστικότητάς τους σε θερμοκρασίες πολύ χαμηλότερες από το σημείο τήξεως.

Συγκρινόμενα με τεχνητά υλικά, τα βιομοριακά υλικά, συνήθως, δεν υπερτερούν μεμονωμένα σε κρίσιμα μεγέθη και μηχανικές ιδιότητες, όπως το μέτρο ελαστικότητας, η αντοχή σε εφελκυσμό και η ανθεκτικότητα. Με άλλα λόγια, δεν μπορούν να χαρακτηριστούν ως «υλικά υψηλών επιδόσεων», όμως ως επί το

πλείστον εμφανίζουν χαμηλές πυκνότητες , κυρίως λόγω του τρόπου οργάνωσής τους.

Τα βιοπολυμερή που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία είναι το κολλαγόνο τύπου I (πρωτεΐνες) και αργινίνη (αμινοξέα). Παρακάτω αναλύονται η δομή, η βιοσύνθεση και οι ιδιότητές τους. [41]

### **5.3.1. Πρωτεΐνες: Γενικά για τις πρωτεΐνες**

Τα πεπτίδια είναι αμύδια που σχηματίζονται δια μέσου αντίδρασης των αμινομάδων και καρβοξυλομάδων αμινοξέων. Η αμινομάδα  $-NH_2$  καλείται και πεπτιδικός δεσμός. Με διαφορές μεθόδους τα πεπτίδια σχηματίζουν αλυσίδες οι οποίες με την σειρά τους συνδυάζονται για να σχηματίσουν πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες έχουν πολύ μεγαλύτερο μοριακό βάρος από αυτό των πολυπεπτιδίων και πιο πολύπλοκες δομές. Οι πρωτεΐνες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες τις υδατοδιαλυτές, που είναι αδιάλυτες στο νερό και τις σφαιρικές οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές σε νερό ή υδατικά διαλύματα οξέων, βάσεων ή αλάτων. Οι πρωτεΐνες δομούνται σε πολλά επίπεδα. Η πρωτοταγής δομή των πρωτεϊνών είναι ο τρόπος, με τον οποίο τα άτομα των μορίων της πρωτεΐνης συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας αλυσίδες (covalent bonds). Στην συνέχεια η δευτεροταγής δομή είναι ο τρόπος με τον οποίο αυτές οι αλυσίδες είναι συνδεδεμένες στο χώρο, σχηματίζοντας φύλλα, σφαίρες ή σπείρες με δεσμούς υδρογόνου να συνδέουν διαφορετικές αλυσίδες ή διαφορετικά σημεία της ίδιας αλυσίδας. Οι πρωτεΐνες υφίστανται ακόμα ποιο περίπλοκο δίπλωμα (πτύχωση) το οποίο καλείται τριτοταγής δομή. Ο όρος τριτοταγής δομή περιγράφει το τελικό και λειτουργικό σχήμα που αποκτά η πρωτεΐνη μετά κι από την αλληλεπίδραση των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων (π.χ. σχηματισμός δισουλφιδικών δεσμών μεταξύ δύο κυστεϊνικών καταλοίπων). Στις πρωτεΐνες που αποτελούνται από πολλές πολυπεπτιδικές αλυσίδες που είναι χαλαρά ενωμένες και αυτό αποτελεί τη λεγόμενη "τεταρτοταγή δομή". [14]

### 5.3.2. Κολλαγόνο

#### ❖ Δομή:

Το κολλαγόνο είναι επιμηκής πρωτεΐνη. Η βασική δομική μονάδα του αποτελείται από τρεις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, οι οποίες διαμορφώνονται δεξιόστροφα σε τριπλή έλικα βήματος περίπου 8.6 nm και σχηματίζουν τελικά μία άκαμπτη ράβδο μήκους περίπου 300 nm και μοριακού βάρους 300.000. Σε κάθε περιστροφή της έλικας, απαντώνται περίπου 3 αμινοξέα. [43]

Οι αλυσίδες, ωστόσο, μπορεί να διαφοροποιούνται ως προς το μέγεθος και την ακριβή σύσταση ανάλογα με τον τύπο του κολλαγόνου. Έως σήμερα, έχουν αναγνωριστεί δεκαοκτώ τύποι κολλαγόνου. Στη συγκεκριμένη διπλωματική χρησιμοποιήθηκε κολλαγόνο τύπου I. Το μόριό του αποτελείται από δύο ίδιες αλυσίδες α1(I) και μία α2(I) και ο μοριακός του τύπος παριστάνεται ως α1(I)<sub>2</sub> α2(I). Πολύ σπάνια μπορεί να εμφανιστεί ως τριμερές α1(I)<sub>3</sub> αλυσίδων.

Το κολλαγόνο απαντάται σε οστό, χόνδρο, δέρμα και ουλώδεις ιστούς και έχει άριστες ιδιότητες βιοσυμβατότητας, βιοδιάσπασης και οστεοαγωγιμότητας.

#### ❖ Βιοσύνθεση:

Το κολλαγόνο παράγεται ενδοκυτταρικά, στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο εξειδικευμένων κυττάρων, όπως είναι οι ινοβλάστες, οι οστεοβλάστες, οι χονδροβλάστες και οι οδοντοβλάστες και αυτοσυγκροτείται σε λειτουργικό μόριο στον εξωκυττάριο χώρο.

Η σύνθεσή του περιλαμβάνει την ακόλουθη σειρά αντιδράσεων:

- i. Σχηματισμός των πεπτιδικών αλυσίδων
- ii. Υδροξυλίωση της προλίνης και της λυσίνης
- iii. Προσθήκη σακχάρων, όπως η γλυκόζη και η γαλακτόζη, ομοιοπολικά με τη δράση ειδικών ενζύμων. Ο αριθμός των μονάδων των υδατανθράκων εξαρτάται από τον εκάστοτε ιστό.
- iv. Σχηματισμός της τριπλής έλικας στα ριβοσωμάτια. Το προϊόν είναι μία πρωτεΐνη αρκετά μεγαλύτερη του κολλαγόνου, που καλείται προκολλαγόνο, και είναι το πρόδρομο μόριο του κολλαγόνου.

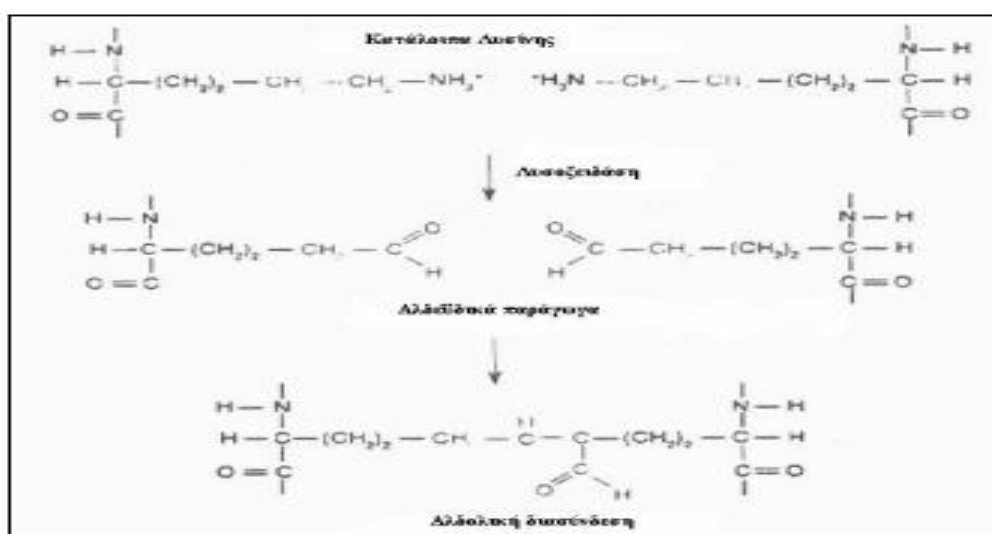
v. Έκκριση των δεσμών του προκολλαγόνου στον εξωκυττάριο χώρο. Εκεί οι πρωτεάσες κόβουν τα μη ελικοειδή άκρα και το προϊόν ονομάζεται τροποκολλαγόνο.

vi. Συγκρότηση των μορίων του τροποκολλαγόνου σε σειρές μετατοπισμένες η μία προς την άλλη, που δίνει ως αποτέλεσμα ινίδια κολλαγόνου. Τα ινίδια σταθεροποιούνται με χιαστούς δεσμούς και συναθροίζονται προς σχηματισμό ινών.

vii. Ισχυροποίηση των ινών κολλαγόνου με τη δημιουργία διασυνδέσεων μέσα στο μόριο ή μεταξύ διαφορετικών μορίων του τροποκολλαγόνου. Οι διασυνδέσεις είναι χιαστοί ομοιοπολικό δεσμοί που σχηματίζονται ανάμεσα στα αμινοξέα της λυσίνης και της υδροξυλυσίνης και σχηματίζουν ένα πλέγμα που αυξάνει την αντοχή και τη χημική αντίσταση του κολλαγόνου.

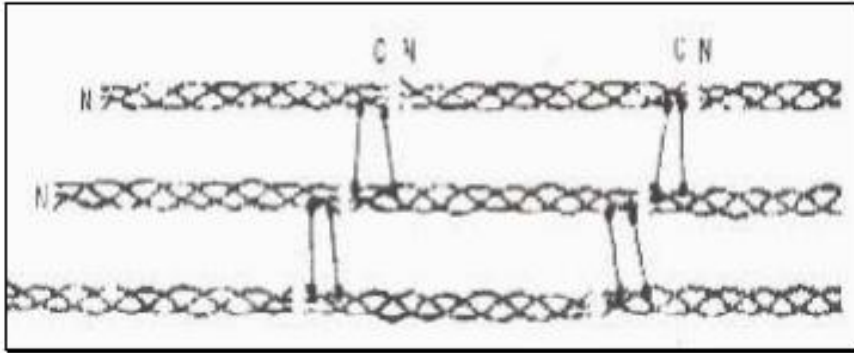
Ενδομοριακά γίνονται μεταξύ των καταλοίπων λυσίνης και υδροξυλυσίνης με τη βοήθεια του ενζύμου λυσοξειδάσης, που καταλύει τη μετατροπή της ε-αμινομάδας της λυσίνης σε αλδεΐδη. Κατόπιν τα αλδεϋδικά παράγωγα δύο καταλοίπων λυσίνης υφίστανται συμπύκνωση, η οποία ονομάζεται αλδολική συμπύκνωση (Εικόνα 5.3.2.1.). [43]

Διαμοριακά γίνονται μεταξύ δύο καταλοίπων υδροξυλυσίνης και ενός καταλοίπου λυσίνης. Σε αυτό το είδος διασυνδέσεων, η αμινοτελική περιοχή ενός μορίου συνδέεται με την καρβοξυτελική ενός άλλου που βρίσκεται στη γειτονική σειρά. Επίσης, έχει βρεθεί και άλλο ένα είδος χιαστού δεσμού με το αμινοξύ ιστιδίνη (Εικόνα 5.3.2.1.). [44]

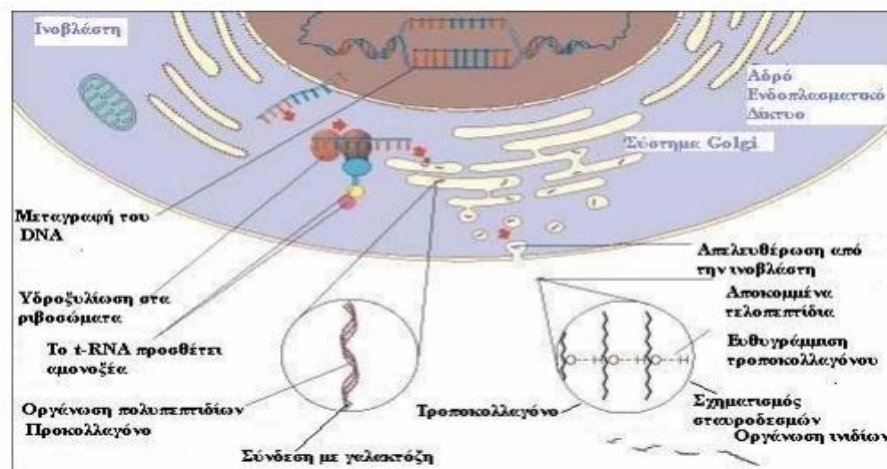


Εικόνα 5.3.2.1.: Σχηματισμός μιας αλδολικής διασύνδεσης από δύο πλευρικές αλυσίδες λυσίνης. [43]





Εικόνα 5.3.2.2.: Διασύνδεση μεταξύ μορίων τροποκολλαγόνου. [43]



Εικόνα 5.3.2.3.: Η βιοσύνθεση του κολλαγόνου στις θέσεις του κυττάρου της ινοβλάστης.

[Medical, site]

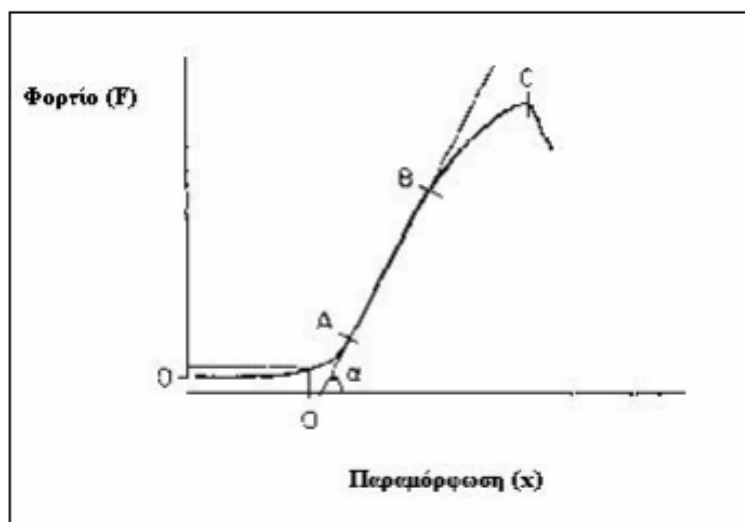
### ❖ Μηχανικές Ιδιότητες:

Το κολλαγόνο είναι το βασικό δομικό στοιχείο των μαλακών και σκληρών ιστών και δίνει ευστάθεια και δύναμη στους οργανισμούς. Είναι ο κύριος φορέας φορτίων σε καίρια σημεία των οργανισμών. Ενδεικτικά αναφέρονται τα αιμοφόρα αγγεία, το δέρμα, οι τένοντες, οι χιτώνες των οφθαλμών και τα οστά.

Οι μηχανικές ιδιότητες των ιστών ποικίλλουν ανάλογα με τον τρόπο οργάνωσης της δομής των ινών, των κυττάρων και της θεμέλιας ουσίας. Η απλούστερη δομή, ως προς τις ίνες κολλαγόνου, περιλαμβάνει παράλληλες ίνες, όπως στην περίπτωση των τενόντων και των συνδέσμων. Ιστοί με κύρια λειτουργία τη διαβίβαση τάσης, όπως οι τένοντες, έχουν παράλληλες ίνες κολλαγόνου, οι οποίες φαίνονται ελαφρώς κυματοειδείς σε κατάσταση ηρεμίας και ευθυγραμμίζονται υπό τάση. Οι σύνδεσμοι έχουν παρόμοια δομή, αλλά πιο άτακτη, με ίνες που συχνά

καμπυλώνονται και άλλοτε εκτείνονται σε οξεία γωνία με την κατεύθυνση κίνησης. Στο δέρμα, η δομή των ινών του κολλαγόνου είναι πιο πολύπλοκη, καθώς εμφανίζονται πολύπλοκα δι- και τρισδιάστατα δίκτυα, ωστόσο η πιο συνήθης κατεύθυνση των ινών είναι παράλληλα με την επιφάνεια. Η δομή των ινών του κολλαγόνου στα αιμοφόρα αγγεία είναι επίσης τρισδιάστατη.

Μία τυπική καμπύλη φόρτισης- παραμόρφωσης για επιμήκυνση υπό σταθερό ρυθμό φόρτισης σε έναν τένοντα έχει την ακόλουθη μορφή:



Εικόνα 5.3.2.4.: Η καμπύλη τάσης-παραμόρφωσης για το κολλαγόνο. [40]

Όπως παρατηρούμε, η καμπύλη έχει τρεις διακριτές περιοχές:

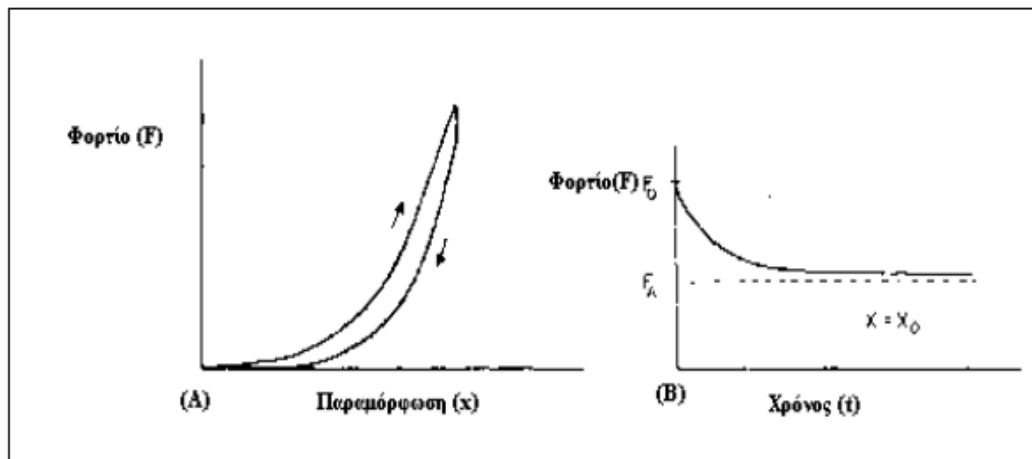
- i. Από το σημείο O έως το A, το φορτίο αυξάνεται εκθετικά αυξανόμενης της παραμόρφωσης.
- ii. Μεταξύ των σημείων A και B, η σχέση είναι γραμμική.
- iii. Στο τελευταίο τμήμα, η σχέση είναι μη γραμμική και καταλήγει σε αστοχία.

Τα σημεία O και A χωροθετούν την περιοχή στην οποία συνήθως λειτουργεί ο ιστός, ενώ οι άλλες δύο περιοχές αντιστοιχούν στο απόθεμα αντοχής (reserve strength) του τένοντα.

Η μέγιστη τιμή φορτίου για τον ανθρώπινο τένοντα που αντιστοιχεί στο σημείο C κυμαίνεται μεταξύ 50 και 100 MPa, ενώ η μέγιστη παραμόρφωση είναι περίπου 10-15%.

Το κολλαγόνο δεν υπακούει εντελώς στο νόμο του Hooke, όμως η κλίση του τμήματος AB του διαγράμματος τάσης- παραμόρφωσης μας δίνει το εφαπτομενικό μέτρο ελαστικότητας Young που είναι περίπου 1.24 GPa.

Αν ο ιστός φορτιστεί με ένα καθορισμένο ρυθμό και το μήκος του κρατηθεί σταθερό, τότε εμφανίζει το φαινόμενο χαλάρωσης τάσης. Το σχήμα που ακολουθεί αποδίδει αυτή τη συμπεριφορά.



**Εικόνα 5.3.2.5.:** Καμπύλες (Α) εφαρμοζόμενου φορτίου- παραμόρφωσης και (Β) χαλάρωσης κολλαγόνου. [40]

Ένα εξίσου σημαντικό χαρακτηριστικό είναι το εξής:

Αν πάρουμε ένα δείγμα ιστού από έναν οργανισμό, το θέσουμε σε δοκιμή ελέγχου φορτίου-παραμόρφωσης για ένα κύκλο φόρτισης και αποφόρτισης με σταθερό ρυθμό, το αφήσουμε μέχρι να ανακάμψει και επαναλάβουμε την ίδια διαδικασία φόρτισης, θα δούμε ότι η καμπύλη θα είναι μετατοπισμένη σε σχέση με την αρχική. Αν η δοκιμή επαναληφθεί αόριστα, τότε διαπιστώνεται ότι η διαφορά μεταξύ των κύκλων μειώνεται ή ακόμη εξαφανίζεται (preconditioned δοκίμιο). Αυτό συμβαίνει λόγω της αλλαγής της εσωτερικής δομής που υφίσταται ο ιστός με την κυκλική φόρτιση. Με επανάληψη των κύκλων τελικά φτάνουμε σε μία στάσιμη κατάσταση, όπου δε λαμβάνει χώρα καμία περαιτέρω αλλαγή αν δε μεταβληθούν και τα όρια της κυκλικής φόρτισης.

Έχει παρατηρηθεί με πολλές διαφορετικές μεθόδους (περίθλαση ακτίνων X σε μικρές γωνίες, ηλεκτρονική μικροσκοπία, φασματοσκοπία Raman κ.ο.κ.) ότι η εφαρμογή τάσης σε ένα ιστό που περιέχει κολλαγόνο επιφέρει αλλαγή της μοριακής

δομής του. Αυτή η μεταβολή οφείλεται κυρίως στην έκταση των ελίκων και την ευθυγράμμιση των μοριακών ατελειών (kinks).

Στους 65°C το κολλαγόνο των θηλαστικών συρρικνώνεται στο ένα τρίτο του αρχικού του μήκους λόγω της κατάρρευσης της κρυσταλλικής του δομής. Δεν δίνει ίχνη σε περίθλαση ακτίνων X και είναι ελαστικό με μέτρο Young περί το 1 MPa [40].

#### ❖ Εφαρμογή ως βιοϋλικού:

Το ιδιαίτερο ενδιαφέρον που εκδηλώνεται για την αξιοποίηση του κολλαγόνου ως βιοϋλικού απορρέει από τα φυσικά χαρακτηριστικά του. Κατ' αρχήν, προκαλεί μειωμένη έως μηδενική ανοσοαντίδραση του οργανισμού έναντί του, γεγονός πολύ σημαντικό για την αποφυγή επιπλοκών. Επίσης, έχει την ικανότητα να διαμορφώνεται αποκτώντας διάφορες μορφές (φύλλα, σπογγώδη υλικά, γέλες (gels), σκόνη και ενέσιμα αιωρήματα), ενώ υπάρχει και η δυνατότητα εγκλωβισμού σε αυτά διαφόρων φαρμάκων, παρέχοντας έτσι τη δυνατότητα για μεγάλο εύρος εφαρμογών με ταυτόχρονη επίτευξη συγκεκριμένων θεραπευτικών στόχων.

Αξιοσημείωτη εφαρμογή του κολλαγόνου είναι η χρησιμοποίησή του ως υλικού επούλωσης πληγών και εγκαυμάτων, καθώς παρουσιάζει υψηλή ικανότητα απορρόφησης των ιστικών εκκριμάτων, διατηρεί την υγρασία του τραυματισμένου ιστού, παρέχει μηχανική προστασία από επιπλέον τραυματισμούς και προστασία από βακτηριακή λοίμωξη, ενώ προάγει την κυτταρική δραστηριότητα και συμβάλλει στην ταχύτερη ανάπτυξη του τραυματισμένου ιστού.

Καθώς, όμως, το κολλαγόνο αποτελεί δομικό υλικό όχι μόνο των μαλακών ιστών, αλλά και των σκληρών, με σημαντικά ποσοστά κολλαγόνου να περιέχονται στα οστά και τα δόντια, άκρως ενδιαφέρουσα είναι η προσπάθεια αξιοποίησής του στα τεχνητά εμφυτεύματα-υποκατάστατα των ιστών αυτών, σε συνδυασμό με άλλα υλικά, προκειμένου να προσομοιαστούν οι φυσικές και μηχανικές ιδιότητες των βιολογικών ιστών.

#### **5.3.3. Αμινοξέα: Γενικά για τα αμινοξέα**

Η αργινίνη ανήκει στην κατηγορία των αμινοξέων. Τα αμινοξέα εκτελούν πολλαπλές χρήσεις μέσα στους οργανισμούς. Κατά βάση είναι τα συστατικά των

πεπτιδίων και των πρωτεϊνών και των λιπιδίων ενώ αρκετά από αυτά λειτουργούν ως νευροδιαβιβαστές. Τα αμινοξέα είναι βασικό μέρος των τροφών που καταναλώνονται από τον άνθρωπο. Από τα αμινοξέα που υπάρχουν συνολικά στην φύση μόνο τα 20 από αυτά, που περιέχονται στον γενετικό κώδικα, καλούνται πρωτεϊνογεννητικά.

Κατηγοριοποιούνται με βάση την χημική δομή και τις ιδιότητες των πλευρικών τους ομάδων και ειδικά την πολικότητά τους ή την τάση τους να αντιδρούν με νερό σε βιολογικό pH κοντά στο 7. Η πολικότητα ποικίλει από μη πολικά και υδρόφοβα σε ισχυρά πολικά και υδροφιλικά που είναι υδατοδιαλυτά. [45]

Τελικά τα αμινοξέα χωρίζονται σε αλιφατικά (γλυκίνη, αλανίνη, βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη), τα θειούχα αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη, αρωματικά (φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, τριπτοφάνη και υστιδίνη), τα ουδέτερα αμινοξέα (σερίνη, θρεονίνη, ασπαραγίνη, γλουταμίνη), τα όξινα (ασπαρτικό οξύ και γλουταμινικό οξύ) και τέλος τα βασικά αμινοξέα λυσίνη και αργινίνη. [46]

Η γνώση των χημικών ιδιοτήτων των αμινοξέων είναι βασική για την κατανόηση της βιοχημείας και των λειτουργιών τους. Για απλούστευση, τα αμινοξέα μελετώνται ως προς τις ιδιότητες τους ομαδικά σύμφωνα με την κατάταξη τους. Ορισμένα αμινοξέα έχουν την δυνατότητα να λειτουργήσουν και σαν οξύ και σαν βάση. Μετά την διάλυση τους σε νερό υπάρχουν «υβριδικά ιόντα». Ένα «υβριδικό ιόν» μπορεί να λειτουργήσει είτε σαν οξύ, ως δότης πρωτονίων, είτε σαν βάση ως δέκτης πρωτονίων.

Ουσίες με αυτήν την διττή φύση λέγονται αμφολύτες. Στα αμινοξέα οι πιο υδρόφιλες ομάδες R είναι αυτές που είναι πιο θετικά ή αρνητικά φορτισμένες. Η Αργινίνη έχει σημαντικό θετικό φορτίο σε φυσιολογικό pH ~7 λόγω της γουανιδικής της ομάδας με  $pK_a = 12,48$ . [47, 45]

#### ❖ Δομή και ιδιότητες της L-Αργινίνης (Arg)

Η Αργινίνη (Αργή) (*S*)-2-Amino-5-guanidino pentanoic acid κατά IUPAC) είναι ένα αμινοξύ με μοριακό τύπο  $C_6H_{14}N_4O_2$  και μοριακή μάζα  $174.2 \text{ g mol}^{-1}$ . Η L μορφή της αποτελεί ένα από τα πιο κοινά φυσικά αμινοξέα.[47] Η αργινίνη αποτελείται από μια αλειφατική ευθεία αλυσίδα 4 ανθράκων, το τέλος της οποίας καλύπτεται από μια σύνθετη γουανιδιομάδα. Εξαιτίας της κλίσης μεταξύ του διπλού δεσμού και των απομονωμένων ζευγών αζώτου, το θετικό φορτίο είναι

απεντοπισμένο, επιτρέποντας το σχηματισμό πολλαπλών δεσμών υδρογόνου. [47, 48] Η γεωμετρία, η διασπορά του φορτίου και η ικανότητα να δημιουργεί δεσμούς υδρογόνου καθιστά την αργινίνη ιδανική περίπτωση για τη σύνδεση αρνητικά φορτισμένων ομάδων. [48]

Με  $pK_a=12,48$  η γουανιδική ομάδα είναι θετικά φορτισμένη σε ουδέτερα, όξινα και ακόμα και στα περισσότερα βασικά περιβάλλοντα και για τον λόγο αυτό προσδίδει στην βασικότητα του αμινοξέος. [47] Η αργινίνη ως βασικό αμινοξύ, έχει πολικές πλευρικές ομάδες γουανιδίνης πλήρως ιονισμένες, δηλαδή θετικά φορτισμένες σε ουδέτερο pH. Έτσι το μόριο της αργινίνης είναι ισχυρά πολικό και για τον λόγο αυτό και ισχυρά βασικό. [49] Λόγω της σύζευξης μεταξύ του διπλού δεσμού και των «μοναχικών» ζευγών αζώτου, το θετικό φορτίο μετατίθεται μεταφέρεται, επιτρέποντας τον σχηματισμό πολλαπλών δεσμών υδρογόνου. [47]

#### ❖ Βιολογική χρήση και εφαρμογές της Αργινίνης στην επιστήμη

Η αργινίνη συντελεί πολλούς ρόλους στην κυτταρική φυσιολογία. Συμμετέχει στην σύνθεση των πρωτεϊνών, στην ενεργοποίηση της κυτταρικής ανάπτυξης, μέσα από την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου και μέσα από τον μεταβολισμό της σε ορνιθίνη και άλλες πολυαμίνες. Λόγω των πολλαπλών του λειτουργιών, παίζει σημαντικό ρόλο στην διαδικασία επούλωσης των τραυμάτων και πολλές έρευνες έχουν αποδείξει ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων αργινίνης οδηγούν στην κανονικοποίηση ή και βελτίωση της επούλωσης τραυμάτων. [50]

Εκτός από την χρήση της για την επούλωση τραυματισμών χρησιμοποιείται και σε άλλες ιατρικές εφαρμογές όπως για βελτίωση της ανοσοποιητικής αντίδρασης και στην νοσηλεία ανθρώπων που παρουσιάζουν χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Ακόμα χρησιμοποιείται σε έρευνες βιοχημείας, στην ιατρική και ως συμπλήρωμα διατροφής. [51]

Στην έρευνα ανάπτυξης νανοσωματιδίων υδροξυαπατίτη, η αργινίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διεύρυνση της βιοδραστικότητας των νανοσωματιδίων με επιφανειακή ενεργοποίηση. Επιπλέον οφέλη για αυτήν την χρήση της είναι το σχετικά χαμηλό κόστος της, η ενδογενής της βιοσυμβατότητα και η ικανότητα της να αλληλεπιδρά με τις επιφάνειες του υδροξυαπατίτη. Παλαιότερες μελέτες που έχουν γίνει, έδωσαν έμφαση στη χρήση των αμινοξέων ως αναστολέων ανάπτυξης της

κρυστάλλωσης του υδροξυαπατίτη και όχι στην χρήση τους ως βοηθητικών μορίων για την παραγωγή νανοσωματιδίων με επιθυμητή λειτουργικότητα. [48]

Από προηγούμενη ερευνητική εμπειρία της ομάδας έχει επιτευχτεί η σύνθεση σταθερών υδάτινων κolloειδών διαλυμάτων από νανοσωματίδια που περιέχουν αργινίνη και υδροξυαπατίτη, με ελεγχόμενο μέγεθος και σχήμα. Από τις συνθήκες παρασκευής τους (συγκεκριμένη μοριακή αναλογία Ca:αμινοξύ) εξασφαλίζεται αποτελεσματική παρεμπόδιση της ανάπτυξης με την απορρόφηση του αμινοξέος κυρίως πάνω στις επιφάνειες που είναι πλούσιες σε ασβέστιο κατά τη διάρκεια των αρχικών σταδίων της κρυστάλλωσης.

Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί σε κolloειδή σταθεροποίηση με ηλεκτροστατική απώθηση μεταξύ των αμινοξέων που είναι επικολημένα στην επιφάνεια, τέτοια ώστε να δημιουργούνται Sol που αποτελούνται από μονοδισπαρμένα λειτουργικά νανοσωματίδια Υδροξυαπατίτη. Η Αργινίνη διευκολύνει τη διαμόρφωση νανοσωματιδίων και πηκτωμάτων και ελέγχει το ιξώδες των διαλυμάτων. Τα αμινοξέα μπορούν να επικάθονται πάνω στη θετικά φορτισμένη επιφάνεια του Υδροξυαπατίτη μέσω της καρβοξυλιομάδας. Ουσιαστικά με την αύξηση της αργινίνης φαίνεται να ευνοείται η ύπαρξη άμορφου προϊόντος. [48]

#### **5.4. Σύνθετα Βιοϋλικά**

Ως σύνθετα βιοϋλικά, χαρακτηρίζονται αυτά τα οποία αποτελούνται από δύο ή περισσότερα συστατικά των τριών πρώτων κατηγοριών, που συνδυάζονται για να επιτευχθούν ειδικές ιδιότητες και που καθένα από τα συμμετέχοντα συστατικά δε μπορεί από μόνο του να επιτύχει. Τα σύνθετα υλικά χαρακτηρίζονται από τη συνύπαρξη δύο τουλάχιστον μακροσκοπικά διακρινόμενων συστατικών, τη μήτρα και την ενισχυτική φάση, η οποία προσδίδει στο υλικό βελτιωμένες μηχανικές κυρίως ιδιότητες. Τα σύνθετα υλικά κατατάσσονται, ανάλογα με τη μορφή του μέσου ενίσχυσης, σε σύνθετα υλικά με ενίσχυση ινών, σύνθετα υλικά με ενίσχυση σωματιδίων και στρωματικά σύνθετα υλικά. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον σε αυτήν την κατηγορία παρουσιάζουν τα σύνθετα βιοϋλικά υδροξυαπατίτη και πολυμερών ή βιοϋάλων.

Η κατασκευή σύνθετων κεραμικών υλικών με βάση τον υδροξυαπατίτη μπορεί να επιφέρει λύση στα προβλήματα ανεπαρκών μηχανικών αντοχών, που

εμφανίζουν τα κεραμικά εμφυτεύματα. Επιπλέον, τα σύνθετα υλικά παρέχουν τη δυνατότητα ελέγχου των βιολογικών ιδιοτήτων του εμφυτεύματος (βιοδραστικότητα, βιοαποικοδόμηση κ.ο.κ.). Σε αυτή την κατεύθυνση, έχουν αναπτυχθεί κεραμικά υλικά ενισχυμένα με μόρια, δίσκους, μονοκρυσταλλικές ίνες, μακριές ίνες, ζirkονία και νανομόρια, προκειμένου να αυξηθεί η μηχανική αξιοπιστία των υλικών και η αντοχή τους στη φθορά. Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται η αντοχή και η δυσθραυστότητα τους. Ωστόσο, διεγείρονται ερωτήματα για το κατά πόσο τα μέσα ενίσχυσης αυτά, επηρεάζουν τη βιοσυμβατότητα του καθαρού υδροξυαπατίτη και σε ποιο βαθμό ευνοούν την αποικοδόμησή του. Σε γενικές γραμμές η βιοδραστικότητα, δηλαδή η ικανότητα πρόσδεσης του υλικού στο οστό, μειώνεται με την προσθήκη ενισχύσεων. Επιπλέον, οι περισσότερες ενισχύσεις προκαλούν αύξηση του μέτρου ελαστικότητας του υλικού, με αποτέλεσμα να φθάνει σε τιμές μεγαλύτερες από αυτές του οστού και το εμφύτευμα να μπορεί να αντέξει σε μεγαλύτερα φορτία.

#### **5.4.1. Σύνθετα υλικά Υδροξυαπατίτη - Πολυμερών**

Μία ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα προσέγγιση για τη βελτίωση της αξιοπιστίας και την ελάττωση της ακαμψίας των βιοϋλικών του υδροξυαπατίτη είναι η ανάπτυξη σύνθετων υβριδικών υλικών υδροξυαπατίτη/πολυμερών. Η πιο ελπιδοφόρα τεχνική σύνθεσης τέτοιων υλικών είναι ο σχηματισμός κρυστάλλων υδροξυαπατίτη απευθείας επάνω σε ίνες κολλαγόνου. Παρά τις χαμηλές μηχανικές ιδιότητες, που εμφανίζει το σύνθετο αυτό υλικό, εμφανίζει δύο σημαντικά πλεονεκτήματα. Αφενός εμφανίζει υψηλότερη επαγωγή της οστεοσύνθεσης από τα συστατικά του, γεγονός που το καθιστά χρήσιμο ως μέσο πλήρωσης μεγάλων οστικών ατελειών και αφετέρου παρουσιάζει την ικανότητα ελεγχόμενης βιοαποικοδόμησης.

Για την αποκατάσταση παθήσεων και τραυματισμών των οστών είναι σημαντική η χρήση κατάλληλων υλικών. Η χρήση φυσικών οστών μπορεί να προκαλέσει προβλήματα μόλυνσης, ενώ τα τεχνητά οστά αντιμετωπίζουν προβλήματα βιοσυγγένειας. Ως λύση προβάλλεται η σύνθεση ενός τεχνητού υλικού, παρόμοιας σύνθεσης, νανοδομής και βιολογικής συμπεριφοράς με του οστού, που θα αντικαθιστά τα φυσικά μοσχεύματα. Πολλοί ερευνητές έχουν εστιάσει το ενδιαφέρον τους στη δημιουργία σύνθετων υλικών υδροξυαπατίτη και κολλαγόνου για να προσεγγίσουν τις μηχανικές ιδιότητες και τη βιοδραστικότητα του φυσικού οστού. Ο



Ten Huisen και οι συνεργάτες του [52] ανέπτυξαν ένα νανοσύνθετο υλικό υδροξυαπατίτη - κολλαγόνου, μέσω της κρυσταλλοποίησης του υδροξυαπατίτη μήτρα του κολλαγόνου και κατέγραψαν την ενίσχυση της μηχανικής συμπεριφοράς του. Παρόμοια μέθοδο ακολούθησαν και άλλοι επιστήμονες, όπως ο Miyamoto και οι συνεργάτες του [53], οι οποίοι έφτιαξαν ένα αυτό-σταθεροποιούμενο τσιμέντο υδροξυαπατίτη ενισχυμένο με κολλαγόνο, το οποίο εμφάνιζε βελτιωμένες ιδιότητες. Τέλος, ο Wang και οι συνεργάτες του [54], καθώς και ο Hsu και οι συνεργάτες του [55], δημιούργησαν σύνθετα υλικά με διασπορά νανοϋδροξυαπατίτη σε μήτρα κολλαγόνου, τα οποία επέδειξαν ικανοποιητικές ιδιότητες βιοσυμβατότητας. Εν τούτοις, οι προσπάθειες αυτές δεν ευδοχώθηκαν κατά το αναμενόμενο, καθώς οι μέθοδοι παρασκευής των σύνθετων υλικών δε λάμβαναν υπ' όψιν την ενεργή συμμετοχή των βιοπολυμερών στον καθορισμό της νανοδομής.

Βασιζόμενοι στις ανωτέρω διαπιστώσεις, ο Kikuchi και οι συνεργάτες του [56,57] προσπάθησαν να κατασκευάσουν ένα σύνθετο υλικό υδροξυαπατίτη/κολλαγόνου με παρόμοια νανοδομή με αυτή του φυσικού οστού, χρησιμοποιώντας ως πρόδρομες ενώσεις ορθοφωφορικό οξύ ( $H_3PO_4$ ) και υδροξείδιο του ασβεστίου ( $Ca(OH)_2$ ). Το υλικό που προέκυψε επέδειξε αυτό-οργανωμένη δομή παρόμοια με το φυσικό οστό, δηλαδή νανοσωματίδια υδροξυαπατίτη, ευθυγραμμισμένα κατά μήκος των ινών κολλαγόνου, λόγω της χημικής αλληλεπίδρασης μεταξύ υδροξυαπατίτη και κολλαγόνου. Δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην πρόωση της αυτο-οργάνωσης, εστιάζοντας στη ρύθμιση του pH και της θερμοκρασίας. Τα τελικά υλικά έδειξαν αντοχή σε κάμψη και βελτιωμένο μέτρο ελαστικότητας, καθώς και πολύ καλή βιοδραστικότητα και βιοσυμβατότητα. Οι ιδιότητες αυτές θα έπρεπε να αρκούν για υλικά-υποκατάστατα οστού, καθώς είναι όμοιες με αυτές του αυτογενούς σπογγώδους οστού, ωστόσο το υλικό υποβλήθηκε και σε *in vivo* δοκιμή, όπου ενσωματώθηκε στη διαδικασία οστικής αναδιοργάνωσης προς την ανάπλαση νέου ιστού. Το εμφύτευμα στην περίπτωση αυτή δεν αναγνωρίστηκε ως ξένο από τα οστεοκύτταρα και δεν προκάλεσε ενεργοποίηση ανοσολογικής αντίδρασης και ως εκ τούτου, θεωρήθηκε κατάλληλο για οστικό μόσχευμα.

## **6. Ανάπτυξη σύνθετων επικαλύψεων υδροξυαπατίτη σε δοκίμια Ti**

Το υλικό το οποίο χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για την ανάπτυξη οστικών και οδοντικών εμφυτευμάτων, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι το τιτάνιο, κυρίως λόγω των εξαιρετικών μηχανικών του ιδιοτήτων. Ωστόσο, το υλικό αυτό εμφανίζει μειονεκτήματα ως προς τη βιοσυμβατότητά του καθώς αποτελεί βιοαδρανές υλικό και κατά την εισαγωγή του στον οργανισμό απομονώνεται από τον περιβάλλοντα ιστό με την ανάπτυξη ενός ινώδους περιβλήματος γύρω από το εμφύτευμα [58, 59, 60]. Κατ' επέκταση πολλές ερευνητικές μελέτες εστιάζουν στην πρόσδοση βιοδραστικότητας και βιολειτουργικότητας στην επιφάνεια των εμφυτευμάτων του τιτανίου [61] κυρίως με την ανάπτυξη μίας βιοσυμβατής επικάλυψης. Η ανάπτυξη λοιπόν, επικαλύψεων από υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια των εμφυτευμάτων τιτανίου, μπορεί να αποτελέσει μία αποτελεσματική τεχνική, διότι ο υδροξυαπατίτης μπορεί εύκολα να προσδεθεί με το φυσικό οστό και να οδηγήσει στην καλύτερη ενσωμάτωση του εμφυτεύματος. [62, 63, 64]

Οι τεχνικές ανάπτυξης επικαλύψεων που έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι και σήμερα δεν έχουν επιφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα, κυρίως είτε λόγω ατελής πρόσφυσης του υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια του εμφυτεύματος ή λόγω της έλλειψης ομοιογένειας των επικαλύψεων που αναπτύσσονται. [65, 66]

Ωστόσο, κατά την ανάπτυξη των επικαλύψεων είναι ιδιαίτερα σημαντικό οι κρύσταλλοι του υδροξυαπατίτη να προσροφηθούν ισχυρά στην επιφάνεια του τιτανίου, ώστε να αποφευχθούν τα φαινόμενα αποκόλλησης της επικάλυψης. Στο πλαίσιο αυτό η επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου υφίστανται μηχανική και χημική επεξεργασία. [67]

## Κεφάλαιο II: Πειραματικό Μέρος

### 1. Σύνθεση αιωρημάτων υδροξυαπατίτη και ανάπτυξη επικαλύψεων υδροξυαπατίτη σε υποστρώματα τιτανίου

#### 1.1. Αντιδραστήρια και Εξοπλισμός

Για την ανάπτυξη επικαλύψεων υδροξυαπατίτη σε υποστρώματα τιτανίου (Ti), χρησιμοποιήθηκε φύλλο τιτανίου καθαρότητας 99%, το οποίο κόπηκε με χρήση δισκοτόμου (Accutom-2, Struers A/S) σε δοκίμια με διαστάσεις 10x10 mm, ενώ το πάχος των δοκιμίων ήταν 1 mm. Η μηχανική επεξεργασία της επιφάνειας των δοκιμίων του Ti πραγματοποιήθηκε με λειαντικά χαρτιά καρβιδίου του πυριτίου (SiC) της εταιρείας Struers A/S και στη συνέχεια με στιλβωτικό πανί σε συνδυασμό με πάστα διαμαντιού (DP-paste) και λιπαντικό 1,2-αιθανοδιόλης (DP-Lubricant Blue), τα οποία παρελήφθησαν όλα από την εταιρεία Struers A/S. Για τη χημική επεξεργασία των δοκιμίων του Ti, χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια: καυστικό νάτριο NaOH 99,99%, πυκνό θειικό οξύ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, καθώς και νιτρικό οξύ 60% HNO<sub>3</sub>, τα οποία προέρχονται όλα από την εταιρεία Sigma-Aldrich, (Germany). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε το (3-χλωροπρόπυλ) τριαθοξυσιλάνιο (>95%), τα οποία παρελήφθησαν επίσης από την εταιρεία Sigma-Aldrich (Germany).

Τέλος, τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση κρυστάλλων υδροξυαπατίτη είναι τα ακόλουθα: διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% από την εταιρεία Sigma-Aldrich, (Germany) και υδροξείδιο του ασβεστίου Ca(OH)<sub>2</sub> σε μορφή σκόνης από την Neolab Migge Laborbedarf-Vertriebs GmbH, (Germany). Τα φυσικά βιοπολυμερή που χρησιμοποιήθηκαν είναι ίνες κολλαγόνου από αχίλλειο τένοντα βοδινού τύπου I, τα οποία παρελήφθησαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich, (Germany), ενώ το βιομόριο που επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί είναι το αμινοξύ L-αργινίνη (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), το οποίο παρελήφθη από την Appli Chem GmbH, (Germany).

#### 1.2. Μηχανική επεξεργασία των δοκιμίων Ti

Κατά την πειραματική διαδικασία αρχικά το φύλλο του τιτανίου κόπηκε με τη βοήθεια δισκοτόμου σε δοκίμια με διαστάσεις περίπου στα 10x10 mm, ενώ το πάχος τους διατηρήθηκε σταθερό 1 mm, όπως αυτό του αρχικού φύλλου τιτανίου. Στη

συνέχεια, τα δοκίμια του τιτανίου υφίστανται μηχανική επεξεργασία της επιφάνειας τους με λείανση και με στίλβωση. Η λείανση πραγματοποιείται για την απομάκρυνση διαφόρων ανωμαλιών και οξειδίων που πιθανόν υπάρχουν στην επιφάνεια των μετάλλων. Ουσιαστικά, με τη λείανση, μειώνεται η τραχύτητα της επιφάνειας του υλικού, ώστε να αποκαλυφθεί η δομή του. Πραγματοποιείται σε ειδικό οριζόντιο περιστρεφόμενο λειαντικό τροχό με μία σειρά από λειαντικά χαρτιά με διαφορετικό μέγεθος κόκκων του χαρτιού, ώστε με κάθε ένα από αυτά να βελτιώνεται η ποιότητα της επιφάνειας. Τα λειαντικά αυτά χαρτιά αποτελούνται από καρβίδιο του πυριτίου, το οποίο θεωρείται ένα πολύ καλό λειαντικό μέσο διότι είναι αδρανές, πολύ σκληρό και με υψηλή αντοχή. Κατά τη διάρκεια της λείανσης στον περιστρεφόμενο δίσκο, υπάρχει και τροφοδοσία νερού, ώστε να αποφεύγεται η αύξηση της θερμοκρασίας λόγω της τριβής μεταξύ χαρτιού και τιτανίου και επιπλέον να απομακρύνονται τα υπολείμματα της λείανσης, που θα μπορούσαν να επιφέρουν αλλοιώσεις στην επιφάνεια των δοκιμίων. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, χρησιμοποιήθηκαν λειαντικά χαρτιά 220, 400, 600, 800, 1000, 1200, 2000 και 4000 grit. Οι γραμμές που σχηματίζονται από τη λείανση, εξαφανίζονται με κάθε νέο χαρτί, εάν το δοκίμιο τοποθετηθεί κάθετα ως προς τις προηγούμενες γραμμές, μέχρι τα 4000 grit όπου πλέον οι γραμμές είναι ελάχιστες γιατί με το χαρτί αυτό πραγματοποιείται προστίλβωση του δοκιμίου.

Μετά τη λείανση τα δοκίμια υφίστανται στίλβωση, μία διαδικασία περαιτέρω βελτίωσης της ποιότητας της επιφάνειας των δοκιμίων. Με τη στίλβωση, οι όποιες γραμμές έχουν μείνει από τη λείανση, απομακρύνονται και το δοκίμιο γίνεται στιλπνό με μεγάλη ανακλαστικότητα, σαν καθρέφτης. Η διαδικασία είναι όμοια με αυτή της λείανσης και πραγματοποιείται σε ειδικό περιστρεφόμενο δίσκο, με τη διαφορά ότι τώρα χρησιμοποιείται ύφασμα στίλβωσης στην επιφάνεια του οποίου απλώνεται κατάλληλη ποσότητα από πάστα διαμαντιού. Η πάστα αυτή έχει πολύ μικρό μέγεθος κόκκων, περίπου στα 0,5 μm. Ως μέσο ψύξης, στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται λιπαντικό με βάση την αιθανόλη και 1,2-αιθανοδιόλη.

Την παραπάνω διαδικασία ακολουθεί έκπλυση των δοκιμίων μέσα σε λουτρό υπερήχων διαδοχικά με απιονισμένο νερό για 20 min, ακετόνη για 20 min, αιθανόλη επίσης για 20 min και τέλος και πάλι με απιονισμένο νερό για 10 min. Η διαδικασία της έκπλυσης πραγματοποιείται για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων από την πάστα διαμαντιού και το λιπαντικό που χρησιμοποιούνται για τη στίλβωση των

δοκιμίων.

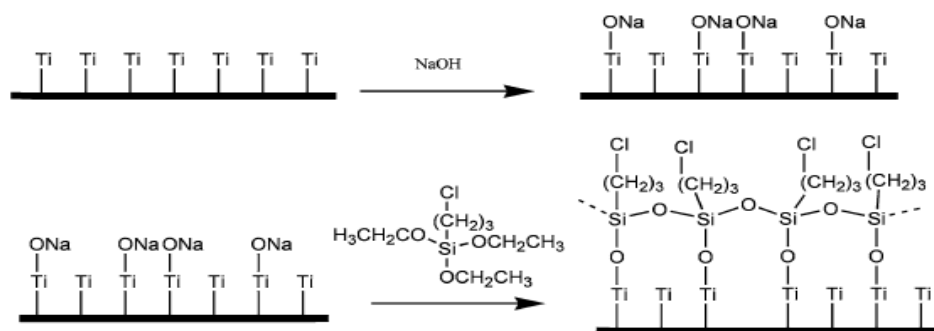
### 1.3. Χημική επεξεργασία δοκιμίων Ti

Αμέσως μετά, τα δοκίμια τιτανίου υπέστησαν χημική επεξεργασία της επιφάνειάς τους με τρεις διαφορετικούς τρόπους. Η χημική προσβολή των δοκιμίων αποσκοπεί στην εμφάνιση της μικροδομής του υλικού. Η χημική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε αρχικά με διάλυμα piranchas [68], δηλαδή συνδυασμό πυκνού θειικού οξέος και 30% διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2SO_4/H_2O_2$ ). Το πυκνό θειικό οξύ τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως και το διάλυμα του υπεροξειδίου του υδρογόνου προστέθηκε σιγά σιγά μέχρι τελική αναλογία 70:30 (v/v  $H_2SO_4/H_2O_2$ ). Τα δοκίμια του τιτανίου παρέμειναν στο διάλυμα αυτό για 10 min και έπειτα ξεπλύθηκαν αρκετές φορές με νερό και τέλος τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο για 24h. Εναλλακτικά, η χημική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με διάλυμα καυστικού νατρίου, NaOH (5M), μέσα στο οποίο τοποθετήθηκαν τα δοκίμια του τιτανίου και παρέμειναν για 24 ώρες στους 60°C σε πυριαντήριο. Μετά τις 24h, τα δείγματα αφαιρέθηκαν από το NaOH και υπέστησαν ξήρανση υπό κενό. Τέλος, τα δοκίμια του τιτανίου υπέστησαν παθητικοποίηση με υδατικό διάλυμα νιτρικού οξέος  $HNO_3$  30% για 30 min. Μετά το πέρας των 30 min και σε αυτήν την περίπτωση τα δοκίμια τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο για 24h. Η χημική κατεργασία της επιφάνειας των δοκιμίων τιτανίου είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανάπτυξη ενός ομοιόμορφου στρώματος υδροξυαπατίτη και για αυτόν τον λόγο τα δοκίμια αμέσως μετά τη χημική τους κατεργασία μελετήθηκαν με Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, SEM.

### 1.4. Σχηματισμός οργανοπυριτικού στρώματος

Μετά τη χημική κατεργασία στην επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου αναπτύσσεται ένα ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμαόπως φαίνεται και στην Εικόνα 1.4.1. [69] Στο σημείο αυτό, να τονιστεί ότι από τις χημικές κατεργασίες που πραγματοποιήθηκαν τα καλύτερα αποτελέσματα απέφερε η κατεργασία με NaOH, οπότε η υπόλοιπη διαδικασία ακολουθήθηκε για τα δείγματα με αυτήν την κατεργασία, στην επιφάνεια των οποίων έχουν αναπτυχθεί δεσμοί Ti-O-Na. Τα δοκίμια τοποθετούνται στη συνέχεια μέσα στο (3-χλωροπρόπυλ) τριαιθοξυσιλάνιο όπου και παραμένουν για 24h υπό ατμόσφαιρα αργού. Οι ομάδες του αιθοξυσιλάνιου

υδρολύονται εύκολα σε σιλανόλες και αντιδρούν με τις ομάδες  $-O^-Na^+$  που έχουν σχηματιστεί στην επιφάνεια του τιτανίου. Αμέσως μετά, η θερμοκρασία αυξάνεται μέχρι τους  $95^\circ C$  και παραμένει στην τιμή αυτή για 24h, ώστε να ολοκληρωθούν οι αντιδράσεις πρόσδεσης του σιλανίου στην επιφάνεια του τιτανίου. Μετά τις 24h τα δοκίμια ξεπλένονται με ακετονιτρίλιο για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων του σιλανίου που δεν αντέδρασαν και ξηραίνονται υπό κενό.



**Εικόνα 1.4.1.:** Σχηματική απεικόνιση πρόσδεσης του οργανοπυριτικού στρώματος στην επιφάνεια των δοκιμών τιτανίου. [69]

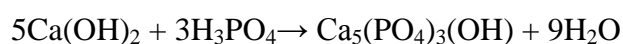
## 1.5. Ανάπτυξη υβριδικών νανοκρυστάλλων υδροξυαπατίτη (HAp) παρουσία βιομορίων

Κατά την πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε βιομιμητική ανάπτυξη νέων υβριδικών βιοϋλικών, αποτελούμενων από νανοκρυστάλλους υδροξυαπατίτη και βιομορίων με αυξημένη βιοσυμβατότητα και βιοδραστικότητα, ικανών να διεγείρουν την κυτταρική απόκριση και οστική ανάπτυξη. Η βιομιμητική προσέγγιση για την παρασκευή φωσφορικών αλάτων του ασβεστίου που αναπτύχθηκε, στοχεύει στην παραγωγή υλικών που να προσομοιάζουν όσο το δυνατόν καλύτερα τις ιδιότητες του απατίτη του φυσικού οστού (δομή, κρυσταλλική σύσταση, μηχανικές ιδιότητες και βιοαποικοδομησιμότητα). Η βιομιμητική αυτή τεχνική συνδυάζει τη μέθοδο της χημικής καταβύθισης με την τεχνική λύματος-πηκτής (sol-gel), καθώς το τελικό παραγόμενο προϊόν που προκύπτει δεν είναι ίζημα, αλλά αιώρημα. Τα οφέλη της συγκεκριμένης υβριδικής τεχνικής έγκεινται στην παραγωγή ελεγχόμενων δομών που προσεγγίζουν τη δομή του βιοαπατίτη των οστών με χρήση σχετικά απλών αντιδραστηρίων.

Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση βρέθηκε ότι ο υδροξυαπατίτης μπορεί να

παρασκευασθεί με μία πληθώρα μεθόδων, ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι παρέχουν συνήθως είτε υλικά με κρυστάλλους στη μικροκλίμακα, που δεν ταυτίζονται με τα μεγέθη σωματιδίων (νανοκλίμακα) που παράγονται στη φύση, είτε με ανώμαλα σχήματα κόκκων σε αντίθεση με τα λεπτά πλακίδια του φυσικού υδροξυαπατίτη, γεγονός που οδηγεί σε τελείως μη ελεγχόμενη βιολογική συμπεριφορά. Όλα αυτά οδήγησαν τις ερευνητικές προσπάθειες προς βιομιμητικές προσεγγίσεις για τη σύνθεση των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη, κατά τις οποίες θα πρέπει να πραγματοποιείται συνεχής έλεγχος της θερμοκρασίας και του pH κατά τη διάρκεια της σύνθεσης.

Επιπλέον, η μίμηση του περιβάλλοντος στο οποίο πραγματοποιείται η φυσική διαδικασία ανάπτυξης των φωσφορικών αλάτων του ασβεστίου, προϋποθέτει η σύνθεση των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη να πραγματοποιείται παρουσία βιοπολυμερών, όπως είναι το κολλαγόνο και η χιτοζάνη, με τελικό στόχο τη ρύθμιση της διεργασίας πυρήνωσης και ανάπτυξης του υδροξυαπατίτη. Εκτός αυτού, η ανάπτυξη των βιοϋλικών πρέπει να εστιάζει στην ικανότητά τους να εισάγουν ορισμένες κυτταρικές αποκρίσεις σε μοριακό επίπεδο, δηλαδή η οστεοενσωμάτωση και η ανάπτυξη του οστού να είναι κατευθυνόμενες διαδικασίες. Με βάση αυτή την αρχή, η σύνθεση των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη έγινε παρουσία βιομορίων (κολλαγόνου και αργινίνης). Όπως η φύση χρησιμοποιεί, μικροποσότητες από οργανικά μακρομόρια για να ρυθμίσει τη μικροδομή των βιοπροϊόντων της, η μίμηση της βιολογικής σύνθεσης στο εργαστήριο παρουσία αμινοξέων, μειώνει τον ρυθμό ανάπτυξης του υδροξυαπατίτη από διαλύματα, λόγω της προσρόφησης του αμινοξέος και τη μείωση των ενεργών κέντρων ανάπτυξής του. Τα αντιδραστήρια που επιλέχθηκαν να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση του υδροξυαπατίτη είναι υδροξείδιο του ασβεστίου,  $\text{Ca(OH)}_2$  και ορθοφωσφορικό οξύ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (85%), ώστε μέσα στο διάλυμα να πραγματοποιηθεί εξουδετέρωση της βάσης και του οξέος με παραγωγή νερού και φωσφορικού άλατος του ασβεστίου (υδροξυαπατίτη), σύμφωνα με την αντίδραση που ακολουθεί.



Οι συγκεντρώσεις των πρόδρομων αντιδραστηρίων υπολογίστηκαν έτσι ώστε να ισχύει η μοριακή αναλογία  $\text{Ca/P}=1/1$ . Δηλαδή, η σύνθεση του υδροξυαπατίτη πραγματοποιήθηκε με περίσσεια φωσφορικού οξέος. Η περίσσεια φωσφορικού οξέος χρησιμοποιείται με σκοπό την εξουδετέρωση επιφανειακών φαινομένων, τα οποία

είναι πιθανό να επηρεάσουν την αναλογία ιόντων και κατ' επέκταση το τελικό προϊόν της αντίδρασης. [70, 71] Επιπλέον, το ορθοφωσφορικό οξύ, εκτός από πηγή φωσφορικών ιόντων για την ανάπτυξη του υδροξυαπατίτη, χρησιμοποιείται και για την διάλυση του κολλαγόνου καθώς οι ίνες του διαλύονται μόνο σε όξινα διαλύματα. Επομένως, η περίσσεια του φωσφορικού οξέος επιδρά και στην επιτυχή διάλυση (ή διασπορά) των βιοπολυμερών.

Η συγκέντρωση του κολλαγόνου κατά τη σύνθεση του υδροξυαπατίτη, υπολογίστηκε σε σχέση με την τελική ποσότητα του υδροξυαπατίτη που παράγεται. Έτσι, επιλέχθηκε μια τελική αναλογία (κατά βάρος), HAp/βιοπολυμερές=70/30, σύμφωνα με τις περιεκτικότητες βιοπολυμερούς (του κολλαγόνου), που συναντώνται στο φυσικό οστό (περίπου 70% κ.β.).

Η συγκέντρωση του αμινοξέος L-αργινίνη υπολογίστηκε σε σύγκριση με τη συγκέντρωση του υδροξειδίου του ασβεστίου και συγκεκριμένα από τη μοριακή αναλογία  $\text{Ca}^{2+}:\text{Arg}$ . Η μοριακή αναλογία ιόντων ασβεστίου-αργινίνης που επιλέχθηκε σε αυτή την εργασία ήταν αυτή με τιμή  $\text{Ca}^{2+}:\text{Arg}=1:1$ , με βάση προηγούμενα ερευνητικά αποτελέσματα του εργαστηρίου.

Τα υδατικό αιώρημα υδροξειδίου του ασβεστίου  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (0,1 M) και το διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (0.06M) παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό. Αρχικά ζυγίστηκαν 0,3112g κολλαγόνο τα οποία τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως που περιέχει 28,4 ml απιονισμένο νερό και 0,5 ml ορθοφωσφορικού οξέος. Οι ίνες κολλαγόνου διαλύθηκαν, υπό έντονη ανάδευση με τη βοήθεια διασπορέα (disperser) σε 9.000 rpm για χρονική διάρκεια 2h, στο διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος έτσι ώστε η αναλογία βάρους HAp/Col στο τελικό εναιώρημα να είναι HAp/Col=70/30. Παράλληλα παρασκευάζεται υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του ασβεστίου,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , προσθέτοντας 0,5372 g  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  σε 28,9 ml απιονισμένου νερού. Μετά, οι ίσοι όγκοι των δύο  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  και  $\text{H}_3\text{PO}_4$ -Col αιωρημάτων προστέθηκαν σταδιακά στάγδην, σε ένα κεντρικό δοχείο αντίδρασης που περιέχει ένα διάλυμα L-αργινίνης, το οποίο έχει παρασκευασθεί ζυγίζοντας 1,26295 g L-αργινίνης και προσθέτοντας 14,45 ml απιονισμένου νερού. Η ποσότητα της L-αργινίνης υπολογίζεται έτσι ώστε η μοριακή αναλογία  $\text{Ca}^{2+}/\text{Arg}$  να ισούται με 1/1. Το δοχείο της αντίδρασης κρατήθηκε στους 40°C σε ένα λουτρό νερού και κάτω από συνεχή ανάδευση. Περαιτέρω, το pH του διαλύματος αντίδρασης ελέγχθηκε με το διάλυμα L-αργινίνης, που εμφάνισαν τιμές pH στην περιοχή 9 έως 10.



Τέλος, ο υδροξυαπατίτης που αναπτύχθηκε με τις παραπάνω συνθήκες σύνθεσης, δηλαδή παρουσία κολλαγόνου, υπό την μοριακή αναλογία Ca/P=1/1, την αναλογία μαζών HAp/Col=70/30 και συγκέντρωση ορθοφωσφορικού οξέος C=0,06M, μελετήθηκε με Περίθλαση Ακτίνων X, (XRD), με Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR) και με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων (TEM) για τον έλεγχο της δομής και της κρυσταλλικής σύστασής του.

### **1.6. Ανάπτυξη επικαλύψεων σε υπόστρωμα τιτανίου**

Αφού πραγματοποιήθηκε, πρώτα, στα δοκίμια τιτανίου μηχανική και χημική επεξεργασία για την βελτίωση της επιφάνειάς τους, ακολούθησε η σύνθεση του αιωρήματος υδροξυαπατίτη, με το οποίο θα επικαλυφθούν τα δοκίμια. Θα πραγματοποιηθούν τρεις διαφορετικοί μέθοδοι επικαλύψεων: a) με απλή ένσταξη μιας σταγόνας πάνω στην επιφάνεια του δοκιμίου (dropwise), b) με εμβάπτιση (dipping) του δοκιμίου μέσα στο αιώρημα και c) με ένσταξη σταγόνας αλλά με παράλληλη περιστροφή του δοκιμίου (spin coating). Πιο αναλυτικά:

Η πρώτη μέθοδος επικαλύψεων είναι με ένσταξη σταγόνων. Σε κάθε δοκίμιο με την βοήθεια μιας μικροπιπέτας εναποτέθηκε στάγδην ο υδροξυαπατίτης που έχει αναπτυχθεί ώστε να δημιουργηθεί ένα στρώμα από το υλικό μας στην επιφάνεια των κάθε δοκιμίων.

Η δεύτερη μέθοδος είναι η εμβάπτιση, στην οποία κάθε δοκίμιο εμβαπτιζόταν για λίγα δευτερόλεπτα μέσα στο δοχείο με το αιώρημα του υδροξυαπατίτη.

Η τρίτη και τελευταία μέθοδος επικάλυψης είναι το spin coating. Στην συγκεκριμένη μέθοδο χρησιμοποιήθηκε ένας οριζόντιος αυτοσχέδιος μηχανισμός όπου τοποθετήθηκαν τα δοκίμια στο κέντρο ενός μηχανήματος, κάθε φορά το καθ'ένα ξεχωριστά, το οποίο περιστρεφόταν και εναποτέθηκε το υλικό του υδροξυαπατίτη με μικροπιπέτα.

Στο τέλος όλα τα δοκίμια με τις τρεις μεθόδους επικαλύψεων θα παρατηρηθούν στο Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM) για να εντοπίσουμε ποια μέθοδος είχε τα καλύτερα αποτελέσματα επικαλύψεων, δηλαδή είχε την καλύτερη πρόσφυση στα δοκίμια, ώστε το τιτάνιο να αποκτήσει τις ιδιότητες που επιθυμούμε.

## 2. Τεχνικές Χαρακτηρισμού

### 2.1. Φασματοσκοπία Περίθλασης Ακτίνων X, (XRD)

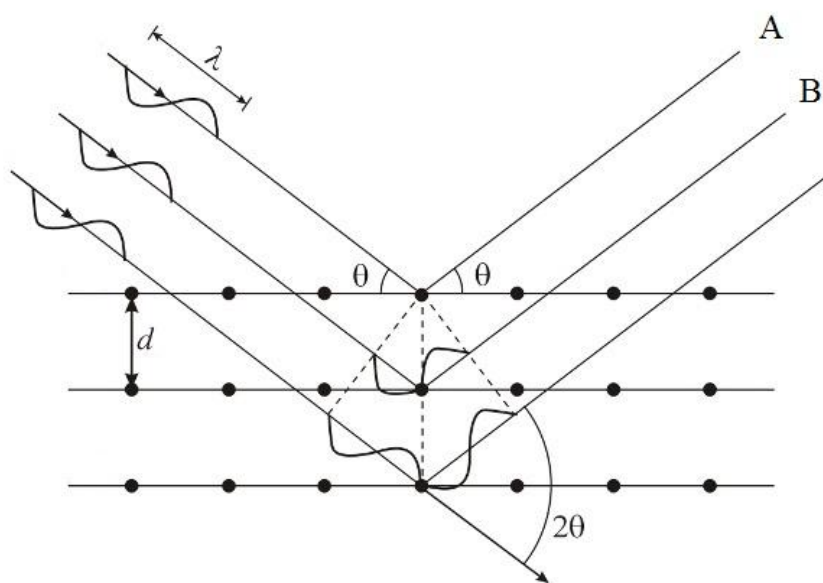
Η ανάλυση με περίθλαση ακτίνων X δίνει πληροφορίες για την τρισδιάστατη (3D) διάταξη των ατόμων ή μορίων σε ένα κρυσταλλικό υλικό. Με την ανάλυση ακτίνων X προκύπτει η κρυσταλλική δομή των υλικών, η οποία συμπληρώνει τη στοιχειομετρική ανάλυση στην ταυτοποίηση μιας ουσίας. Επιπλέον, είναι δυνατή η επακριβής μέτρηση των ενδοατομικών αποστάσεων στο κρυσταλλικό πλέγμα, καθώς και ο προσδιορισμός της πλεγματικής δομής σύνθετων κρυστάλλων αυξημένης δομικής πολυπλοκότητας. Δύναται επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της κινητικής κρυσταλλικών μετατροπών και τον υπολογισμό του μεγέθους στερεών κρυστάλλων. [72]

Όταν ακτίνες X διέρχονται από ένα κρύσταλλο, τότε μέρος της ενέργειάς τους απορροφάται από αυτόν. Η ενέργεια αυτή εκπέμπεται από τον κρύσταλλο, καθώς οι δομικές μονάδες του κρυστάλλου καθίστανται δευτερογενείς πηγές ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. [72] Οι δευτερογενείς ακτίνες X, που οφείλονται στην περίθλαση της πρωτογενούς ακτινοβολίας, είναι είτε σε φάση και συμβάλλουν δημιουργικά στην ενίσχυση της ακτινοβολίας, είτε σε αντίθετη φάση και συμβάλλουν καταστρεπτικά στην απόσβεση της ακτινοβολίας. Λόγω συμμετρίας, το κρυσταλλικό πλέγμα συγκροτείται από παράλληλα επίπεδα, τα κρυσταλλικά επίπεδα, που περιέχουν το ίδιο είδος δομικών μονάδων. Στον κρύσταλλο υπάρχουν πολλές τέτοιες ομάδες κρυσταλλικών επιπέδων, καθεμία από τις οποίες χαρακτηρίζεται από την απόσταση,  $d$ , ανάμεσα σε δύο διαδοχικά παράλληλα επίπεδα. Κατά την περίθλαση των ακτίνων X από τον κρύσταλλο, ανάλογα με τη γωνία πρόσπτωσης ως προς μια ομάδα παραλλήλων επιπέδων, είναι δυνατό να συμβεί ενίσχυση ή απόσβεση των δευτερογενών κυμάτων.

Η διαδρομή της ακτινοβολίας, που προσκρούει στο πρώτο στρώμα των δομικών μονάδων είναι μικρότερη από αυτήν που διασχίζει η ακτινοβολία που προσκρούει στο δεύτερο στρώμα. Προκειμένου οι δευτερογενείς ακτινοβολίες που εκπέμπονται από τον κρύσταλλο να είναι σε φάση μεταξύ τους, θα πρέπει η διαφορά των διαδρομών τους να είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος της ακτινοβολίας, δηλαδή:

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \eta \mu \theta$$

όπου  $n=1, 2, 3, \dots$  και αναφέρεται στα διαδοχικά παράλληλα νοητά κρυσταλλικά επίπεδα, που όλα παράγουν ενισχυτική συμβολή. Η εξίσωση αυτή είναι γνωστή ως νόμος σκέδασης ή συνθήκη του Bragg και συνδέει το μήκος κύματος,  $\lambda$  της ακτινοβολίας, τη γωνία περίθλασης  $\theta$ , και την πλεγματική απόσταση  $d$  μεταξύ των ατόμων σε ένα κρύσταλλο. Οι αποστάσεις  $d$  μεταξύ των διαδοχικών κρυσταλλικών επιπέδων αποτελούν χαρακτηριστικές σταθερές, με βάση τις οποίες μπορεί να γίνει ταυτοποίηση του κρυστάλλου.



**Εικόνα 2.1.1.:** Σχηματική ερμηνεία του νόμου του Bragg.

Ο Max von Laue ήταν ο επιστήμονας που έθεσε τα θεμέλια της τεχνικής του XRD και πρότεινε ότι θα ήταν δυνατό ένας φυσικός κρύσταλλος να αποτελέσει ένα είδος τρισδιάστατου φράγματος περίθλασης των ακτίνων X αφού η διάταξη των ατόμων στον κρύσταλλο μπορεί να θεωρηθεί ως μια σειρά από παράλληλα δικτυωτά επίπεδα, τα οποία ισαπέχουν μεταξύ τους αποστάσεις της τάξης του  $1 \text{ \AA}$ . Ως συνέπεια αυτού, μια δέσμη ακτίνων X θα μπορούσε να υποστεί σκέδαση, να απορροφηθεί και να εκπεμφθεί εκ νέου, από μεμονωμένα άτομα του κρυστάλλου.

Καταλυτικό ρόλο για τη χρησιμοποίησή του XRD παίζει το γεγονός πως εντάσσεται στις μη καταστρεπτικές μεθόδους, δίνει γρήγορα και αξιόπιστα αποτελέσματα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτόπου, *in situ*. Μετρήσεις μπορούν να ληφθούν από κρυστάλλους μερικών μικρών μέχρι σύνολα από κρυστάλλους,

παρόλο που το μέγεθος της περιοχής του δείγματος που θα εξετασθεί σπάνια υπερβαίνει το  $1 \text{ cm}^2$ .

Οι κορυφές ενός φάσματος XRD χαρακτηρίζονται από καθορισμένη θέση σε αυτό, χαρακτηριστική ένταση ανάλογα το υλικό και διαφορετικό σχήμα. Οι εντάσεις των κορυφών σχετίζονται με τον τύπο των ατόμων, τη διεύθυνση τους στον κρύσταλλο και μπορούν επίσης να ποσοτικοποιηθούν και να δώσουν ακριβείς πληροφορίες για το υλικό. Το σχήμα των κορυφών στο φάσμα είναι μια ένδειξη της τελειότητας ενός κρυστάλλου. Ένα κρυσταλλικό υλικό με τη μορφή κόνεως είναι το σύνολο ενός μεγάλου αριθμού κρυστάλλων. Κάθε κρύσταλλος σχηματίζεται από την επαναλαμβανόμενη διεύθυνση στον χώρο της μοναδιαίας κυψελίδας, η οποία αποτελεί το ελάχιστο δομικό στοιχείο ενός κρυστάλλου. Η μοναδιαία κυψελίδα από την άλλη, προκύπτει από τη συμμετρική επανάληψη των ατόμων ή μορίων του υλικού και τα χαρακτηριστικά της είναι μοναδικά για κάθε υλικό. Για να προσδιοριστεί η κρυσταλλική δομή ενός υλικού είναι απαραίτητο να προσδιοριστούν τα χαρακτηριστικά της μοναδιαίας κυψελίδας του κρυστάλλου (διαστάσεις πλευρών και οι μεταξύ τους γωνίες). Για ένα δεδομένο κρυσταλλικό πλέγμα, οι γωνίες περίθλασης των ακτίνων X είναι ίδιες ανεξάρτητα από το περιεχόμενο της μοναδιαίας κυψελίδας, τα άτομα ή τα μόρια δηλαδή από τα οποία αποτελείται και εξαρτώνται μόνο από το σχήμα αυτής. Οι γωνίες περίθλασής λοιπόν δίνουν πληροφορίες σχετικά με τα χαρακτηριστικά της κυψελίδας και του κρυσταλλικού πλέγματος γενικότερα.

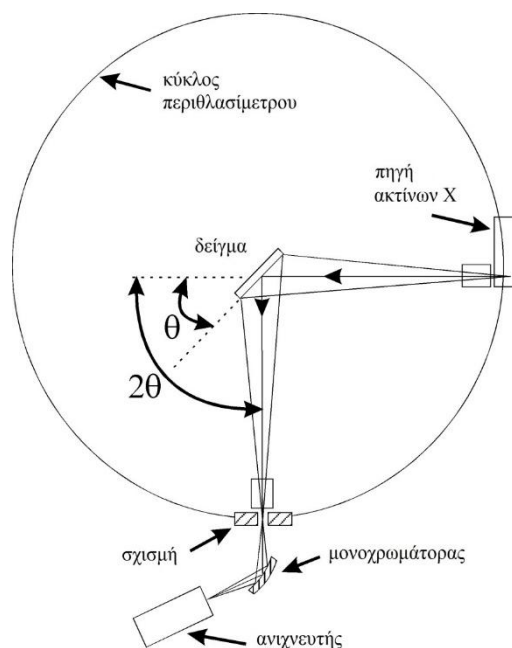
Εκτός από τον προσδιορισμό της κρυσταλλικής δομής, η εν λόγω μέθοδος δίνει πληροφορίες και για τις ενώσεις που υπάρχουν σε ένα υλικό και τις μορφές τους. Πραγματοποιείται δηλαδή και ποιοτική ανάλυση. Μεγάλος αριθμός κρυσταλλογραφικών δεδομένων για τις γνωστές κρυσταλλικές δομές έχουν καταγραφεί σε βάσεις δεδομένων (JCPDS - Powder Diffraction File), και χρησιμοποιούνται ως μέτρο σύγκρισης για τα λαμβανόμενα φάσματα από το υπό εξέταση υλικό. Καταγράφεται η γωνία  $\theta$  και η σχετική ένταση των ισχυρότερων κορυφών και πραγματοποιείται σύγκριση με αυτές τις πιθανές φάσεις, για να προσδιοριστεί η δομή του δείγματος. Παράλληλα με την ποιοτική ανάλυση, πραγματοποιείται και ποσοτική ανάλυση, καθώς η σχετική ένταση των ανακλάσεων δύο ή περισσοτέρων φάσεων στο ίδιο διάγραμμα εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους στο υλικό, οπότε και είναι δυνατό να υπολογιστεί το ποσοστό κάθε φάσης. Τέλος, μέσω του πλάτους των ανακλάσεων της κάθε κρυσταλλικής φάσης

προσδιορίζεται το μέγεθος των κρυσταλλιτών (το μέγεθος των κρυσταλλιτών είναι αντιστρόφως ανάλογο του πλάτους των ανακλάσεων στο διάγραμμα περίθλασης, καθώς όσο μικρότερο είναι το μέγεθός τους, τόσο διευρύνεται η κορυφή).

### **2.1.1. Οργανολογία Περιθλασίμετρου Ακτίνων X**

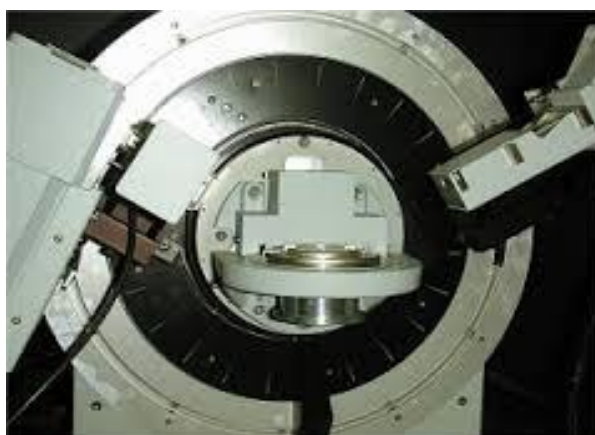
Η πηγή των ακτίνων X είναι μία καθοδική λυχνία (συνήθως λυχνία Cu) συνοδευόμενη από φίλτρο (συνήθως από κρυσταλλικό γραφίτη), ώστε η ακτινοβολία να είναι αυστηρά μονοχρωματική (CuK $\alpha$ ), η οποία διέρχεται από διάφορες διατάξεις εστιασμού και ευθυγράμμισης της δέσμης πριν πέσει στο δείγμα. Η επιλογή του μήκους κύματος γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε να αποφευχθεί το φαινόμενο του φθορισμού. Το δείγμα είναι κονιοποιημένο σε λεπτή και ομοιογενή σκόνη (κοκκομετρία κάτω από 25  $\mu\text{m}$ ) και ο υποδοχέας του δείγματος έχει τη δυνατότητα να περιστρέφεται με σκοπό τη δημιουργία τυχαίων προσανατολισμών των κρυστάλλων.

Έτσι, όταν η δέσμη ακτίνων X διέλθει μέσω του δείγματος, αναμένεται ότι ένας σημαντικός αριθμός των κρυσταλλιτών θα είναι προσανατολισμένος, έτσι ώστε να ικανοποιούν τη συνθήκη του Bragg, για ανάκλαση από κάθε δυνατή απόσταση μεταξύ των κρυσταλλικών επιπέδων. Η περιθλώμενη ακτινοβολία μετά την ευθυγράμμιση της πέφτει πάνω στον ανιχνευτή, ο οποίος περιστρέφεται σε σχέση με το δείγμα με τη διπλή γωνιακή ταχύτητα  $2\theta$ . Ο ανιχνευτής είναι συνήθως ένας απαριθμητής σπινθηρισμού ή ανιχνευτής στερεάς κατάστασης.



**Εικόνα 2.1.1.1.:** Διάγραμμα διάταξης ενός περιθλασίμετρου ακτίνων X.

Τα ακτινογραφήματα που προκύπτουν από τη μέθοδο αυτή έχουν ως τεταγμένη την ένταση των κορυφών σε παλμούς ανά δευτερόλεπτο (cps) και ως τετμημένητη γωνία  $2\theta$  του γωνιομέτρου, ενώ σε κάθε κορυφή αναγράφεται και η κρυσταλλική απόσταση  $d$ . Η ένταση των κορυφών κανονικοποιείται ως προς την ένταση της μεγαλύτερης κορυφής στο φάσμα.



**Εικόνα 2.1.1.2.:** Κοντινή άποψη του περιθλασίμετρου ακτίνων-X.

Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε περιθλασίμετρο ακτίνων X Bruker D8 Focus, το οποίο χρησιμοποιεί καθοδική λυχνία χαλκού με

φίλτρο νικελίου ώστε να προκύπτει μονοχρωματική ακτινοβολία  $\text{CuK}\alpha_1$ . Η περιστρεφόμενη άνοδος είναι τύπου Rigaku και λειτουργεί με τάση 40 kV και 40 mA συνεχές ρεύμα, παράγοντας ακτίνες X με μήκος κύματος 1,54056 Å.

## 2.2. Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier, FTIR

Φασματοσκοπία είναι η μελέτη της αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (φως, ραδιοκύματα, ακτίνες X, κλπ.) με την ύλη. Τα άτομα, που αποτελούνται από ηλεκτρικά φορτισμένους πυρήνες και ηλεκτρόνια, μπορούν και αλληλεπιδρούν με το ταλαντευόμενο ηλεκτρικό και μαγνητικό πεδίο του φωτός και απορροφούν την ενέργεια που μεταφέρει. Η φασματομετρία υπέρυθρου, (IR) βασίζεται στην απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ένωσης, η οποία προκαλεί διεγέρσεις μεταξύ διαφόρων ενεργειακών σταθμών δόνησης και περιστροφής του μορίου, ενώ το μόριο παραμένει στη θεμελιώδη ηλεκτρονική κατάσταση. Ενεργά υπέρυθρες ενώσεις είναι μόνο αυτές στις οποίες οι δονήσεις και οι περιστροφές των ατόμων τους έχουν μία διαρκή διπολική ροπή. Τα λαμβανόμενα φάσματα υπέρυθρου χαρακτηρίζονται έτσι από ταινίες απορρόφησης μικρού εύρους. Η περιοχή της υπέρυθρης ακτινοβολίας υποδιαιρείται στο εγγύς υπέρυθρο (0,75-2,5  $\mu\text{m}$ ), στη θεμελιώδη περιοχή ή απλώς υπέρυθρο (2,5-25  $\mu\text{m}$ ) που είναι η συνηθέστερα χρησιμοποιούμενη, και στο άπω υπέρυθρο (25-1.000  $\mu\text{m}$ ).

Μετράται η απορρόφηση  $A$  ή η διαπερατότητα  $T$  του δείγματος ή η ισχύς της ακτινοβολίας και βάσει αυτών πραγματοποιείται ποιοτική ή/και ποσοτική ανάλυση. Το φάσμα απορρόφησης υπέρυθρου, δηλαδή η απεικόνιση της  $A$  ή της  $T$  συναρτήσει του μήκους κύματος  $\lambda$  ή του κυματάριθμου  $\nu$ , αποτελεί μία θεμελιώδη ιδιότητα κάθε μορίου και χρησιμεύει στη διαλεύκανση της δομής μίας ένωσης, δηλαδή της φύσης των δεσμών των ατόμων που βρίσκονται στο μόριο και της διάταξης τους στο χώρο, δίνοντας το δακτυλικό αποτύπωμα μιας ουσίας. Από την άλλη πλευρά επειδή το ποσό της απορροφούμενης ενέργειας είναι συνάρτηση του αριθμού των υπαρχόντων μορίων, προκύπτουν από το φάσμα IR πληροφορίες και ως προς τη συγκέντρωση ενός συστατικού σε ένα δείγμα, συγκρίνοντας το βάθος μιας χαρακτηριστικής ταινίας απορρόφησης προς το βάθος της ίδιας ταινίας ενός φάσματος που περιέχει γνωστή συγκέντρωση του προς ανάλυση συστατικού.

Ένα μόριο θα απορροφήσει υπέρυθη ακτινοβολία μόνο όταν η διπολική ροπή του μορίου μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της δόνησης, διαφορετικά η δόνηση θεωρείται ανενεργή στο υπέρυθρο. Όσο μεγαλύτερη είναι η μεταβολή της διπολικής ροπής, τόσο ισχυρότερη είναι η απορρόφηση. Οι δονήσεις ενός απλού διατομικού μορίου μπορούν να περιγραφούν με το μοντέλο του απλού αρμονικού ταλαντωτή. Σύμφωνα με την προσέγγιση αυτή, η δύναμη επαναφοράς ενός πυρήνα που έχει μετατοπιστεί από τη θέση ισορροπίας του, περιγράφεται από το νόμο του Hooke. Στην πραγματικότητα, οι δονήσεις των μορίων είναι πολύπλοκες αλλά μπορούν να εκφραστούν σαν άθροισμα των απλών δονήσεων οι οποίες ονομάζονται θεμελιώδεις δονήσεις. Οι θεμελιώδεις κινήσεις αφορούν τις δονήσεις των δεσμών μέσα στο μόριο, όχι όμως τις κινήσεις μεταφοράς (κίνηση του μορίου στον χώρο) και τις κινήσεις περιστροφής του μορίου γύρω από το κέντρο βάρους του. Στις θεμελιώδεις κινήσεις όλα τα άτομα δονούνται με την ίδια συχνότητα, τη θεμελιώδη συχνότητα και διέρχονται από τη θέση ισορροπίας τους ταυτόχρονα. Ένα μόριο που αποτελείται από  $N$  άτομα έχει  $3N-6$  θεμελιώδεις δονήσεις. Στην περίπτωση που το μόριο είναι γραμμικό, οι θεμελιώδεις δονήσεις περιορίζονται στις  $3N-5$ . Το πλήθος των θεμελιωδών δονήσεων καθορίζεται από τη δομή του μορίου, το ατομικό του βάρος και τη σταθερά της δύναμης. Οι πιο συνήθεις τύποι δόνησης είναι τάσης (stretching) και κάμψης (bending). Οι δονήσεις τάσης περιλαμβάνουν τη συνεχή αλλαγή του μήκους του χημικού δεσμού που συνδέει τα δονούμενα άτομα και διακρίνονται σε συμμετρικές και ασύμμετρες. Οι δονήσεις κάμψης χαρακτηρίζονται από αλλαγή της γωνίας μεταξύ δύο δεσμών. Οι δονήσεις κάμψης χωρίζονται επιμέρους σε παραμόρφωσης, αιώρησης, σείσης και συστροφής.

Το φάσμα υπέρυθρου διακρίνεται σε δύο περιοχές, την περιοχή ταυτοποίησης των χαρακτηριστικών ομάδων και την περιοχή ταυτοποίησης ολόκληρου του μορίου. Στην πρώτη περιοχή καλύπτεται το εύρος κυματαριθμών  $4000-1400\text{ cm}^{-1}$ , και παρατηρούνται οι κύριες ζώνες απορρόφησης που προκύπτουν από τη δόνηση ομάδων με δύο μόνο άτομα και με συχνότητα χαρακτηριστική των μαζών τους και της σταθερής δύναμης που τα συνδέει. Στην περιοχή αυτή επιτυγχάνεται η ταυτοποίηση των χαρακτηριστικών ομάδων των μορίων. Στην περιοχή αποτύπωσης (κυματάριθμοι κάτω από  $1400\text{ cm}^{-1}$ ), οι ζώνες απορρόφησης σχετίζονται με τις δονήσεις ολόκληρου του μορίου (αμοιβαία επίδραση των ατόμων μεταξύ τους) και



στην περιοχή αυτή γίνεται η ταυτοποίηση ολόκληρου του μορίου. Η περιοχή αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και για διάκριση ισομερών ενώσεων.

Ένα φάσμα υπέρυθρου μπορεί να χωριστεί στις παρακάτω περιοχές, με βάση τα άτομα ή τις ομάδες των οποίων οι δονήσεις προκαλούν απορρόφηση στο IR:

- ✓ Περιοχή τάσης Υδρογόνου ( $4.000-2.500\text{ cm}^{-1}$ ). Η απορρόφηση στις περιοχές αυτές προκαλείται από δονήσεις τάσεων δεσμών C-H, O-H, N-H και S-H. Η συχνότητα απορρόφησης εξαρτάται από το άτομο με το οποίο συνδέεται το H.
- ✓ Περιοχή τάσεως τριπλού δεσμού ( $2.500-2.000\text{ cm}^{-1}$ ). Στην περιοχή αυτή απορροφούν οι τριπλοί δεσμοί μεταξύ ατόμων άνθρακα και οι τριπλοί δεσμοί μεταξύ ατόμων άνθρακα και αζώτου. Στην ίδια περιοχή απορροφούν και οι δεσμοί  $-C=C=C-$  και  $N=C=O$ .
- ✓ Περιοχή τάσης διπλού δεσμού ( $2.000-1.600\text{ cm}^{-1}$ ). Υπεύθυνες για την απορρόφηση στην περιοχή αυτή είναι οι δονήσεις των δεσμών C=C, C=O και C=N.
- ✓ Περιοχή τάσης και κάμψης απλού δεσμού ( $1.500-700\text{ cm}^{-1}$ ). Στην περιοχή αυτή εμφανίζονται πολλές απορροφήσεις, π.χ. δονήσεις κάμψεως των δεσμών C-H και οι δονήσεις τάσεως και κάμψεως απλών δεσμών που συνδέουν ομάδες, όπως του μεθυλενίου ( $-CH_2-$ ), μεθυλίου ( $-CH_3$ ) και αμινομάδες. Η περιοχή αυτή ονομάζεται περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος, επειδή το φάσμα στην περιοχή αυτή χαρακτηρίζει το μόριο ως σύνολο.

### 2.2.1. Αρχή λειτουργίας του φασματοφωτόμετρου FTIR

Έως το τέλος της δεκαετίας του 1960 τα φασματοφωτόμετρα τα οποία χρησιμοποιούνταν για την καταγραφή φασμάτων απορρόφησης στην περιοχή του υπέρυθρου ήταν φασματοφωτόμετρα διασποράς. Η πηγή υπέρυθρων που χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο είναι ένα κεραμικό SiC στη θερμοκρασία των 1550K. Με την εξέλιξη της τεχνολογίας ο μονοχρωμάτορας αντικαταστάθηκε από το ιντερφερόμετρο Michelson και τη χρήση του μαθηματικού μοντέλου των μετασχηματισμών Fourier. Η ανάλυση κατά Fourier είναι η ανάλυση μιας μαθηματικής συνάρτησης ή μιας πειραματικά λαμβανομένης καμπύλης με τη μορφή μιας τριγωνομετρικής σειράς. Χρησιμοποιείται ως μέθοδος προσδιορισμού των αρμονικών συστατικών ενός πολύπλοκου περιοδικού κύματος. Η μέθοδος βασίζεται στην καταγραφή του φάσματος με συμβολομετρικές μετρήσεις που υπερτερούν των

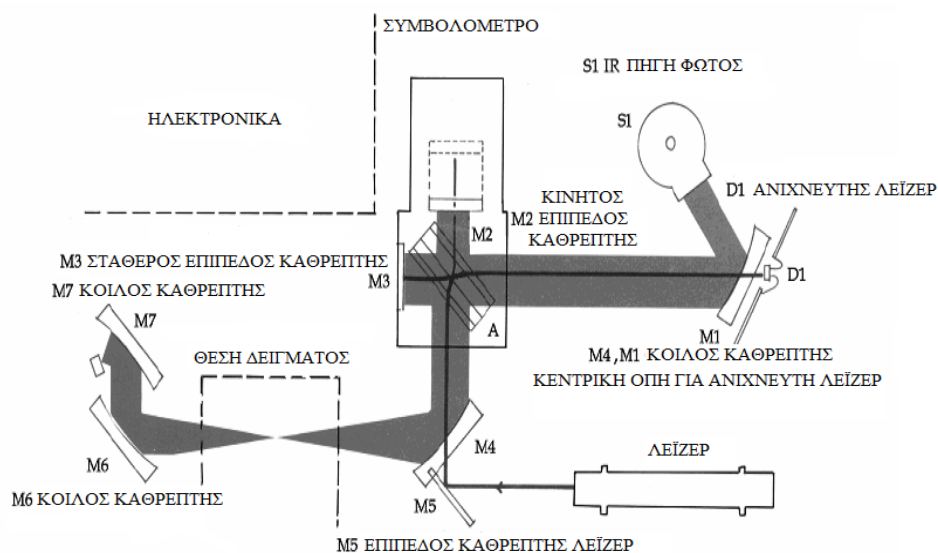
κοινών μηχανισμών σάρωσης του φάσματος. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, το συμβολόμετρο Michelson είναι το σημαντικότερο τμήμα της τεχνικής.

Υπέρυθρη ακτινοβολία προσκρούει στον διαιρέτη δέσμης και χωρίζεται σε δύο ίσα μέρη. Οι δύο δέσμες ανακλώνται στους καθρέπτες και γυρνούν στην πλάκα-διαχωριστή της δέσμης του φωτός, όπου συνενώνονται πάλι σε μια δέσμη φωτός με κατεύθυνση το δείγμα της ουσίας και μετά στον ανιχνευτή. Η μονοχρωματική δέσμη φωτός που εκπέμπεται από την πηγή και συνενώνεται στην πλάκα υπόκειται σε θετική ή αρνητική συμβολή ανάλογα με τις αποστάσεις της από τους καθρέπτες. Εάν οι αποστάσεις αυτές είναι ίσες ή διαφέρουν κατά πολλαπλάσιο του μήκους κύματος της μονοχρωματικής δέσμης, τότε δημιουργείται θετική συμβολή που δίνει μια δέσμη φωτός μεγάλης έντασης. Εάν όμως οι αποστάσεις της πλάκας από τους καθρέπτες είναι μισοί ολόκληροι αριθμοί του μήκους κύματος, τότε οι δέσμες φωτός ανακλώνται στους καθρέπτες, επανέρχονται στην πλάκα και εξουδετερώνονται.

Στη μονάδα συμβολόμετρου, ο ένας καθρέπτης κινείται αργά προς την πλάκα ή απομακρύνεται από αυτήν. Με τον τρόπο αυτό ο ανιχνευτής θα δέχεται ακτινοβολία εναλλασσόμενης έντασης λόγω φαινομένου συμβολής. Η πηγή μπορεί να εκπέμπει μία σειρά από μονοχρωματικές ακτινοβολίες που θα δημιουργήσουν στον ανιχνευτή ένα περίπλοκο μίγμα ακτινοβολιών με εναλλασσόμενες εντάσεις. Με τη βοήθεια του μετασχηματισμού Fourier τα κενά αυτά μετατρέπονται στο κανονικό φάσμα IR. Συνήθως η καταγραφή των σημάτων στον ανιχνευτή γίνεται κάθε 0,001 sec και κάθε πληροφορία συσσωρεύεται σε ένα από τα 1000 σημεία του προγραμματισμένου φάσματος. Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής επεξεργάζεται τις πληροφορίες (εντάσεις απορροφήσεων σε διάφορες συχνότητες), εκτελεί τους μετασχηματισμούς Fourier ταχύτατα και παρουσιάζει κανονικό φάσμα, που έχει αναλυθεί σε 1000 σημεία. Η ικανότητα διαχωρισμού των φασματικών γραμμών για το FTIR στην περιοχή  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  είναι περίπου  $4\text{ cm}^{-1}$ .

Μια παραλλαγή του φασματοφωτόμετρου FTIR περιλαμβάνει την προσθήκη εξαρτήματος μελέτης των δειγμάτων με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance, ATR), σύμφωνα με την οποία η δέσμη της ακτινοβολίας, μέσω κρυστάλλων, προσπίπτει στο δείγμα. Η υπέρυθρη ακτινοβολία διαπερνά το δείγμα με γωνία  $45^\circ$  και μετά από πολλαπλές διαδοχικές ολικές ανακλάσεις διατρέχει το δείγμα. Αποτέλεσμα των πολλαπλών ανακλάσεων είναι η αύξηση του λόγου σήματος προς τον θόρυβο και επομένως η αύξηση της έντασης

των ταινιών του φάσματος ακόμα και για πολύ μικρές συγκεντρώσεις. [73] Η ανάλυση με υπέρυθη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier πραγματοποιήθηκε με φασματοφωτόμετρο Nicolet 6700, το οποίο ήταν εξοπλισμένο με εξάρτημα ATR κρυστάλλων διαμαντιού (Smart Orbit, Thermo Electron Corporation, Madison, WI).

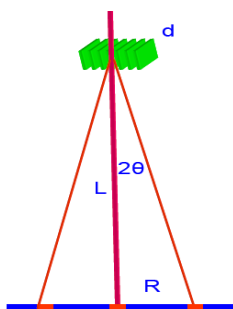


**Εικόνα 2.2.1.1.:** Τυπικό φασματόμετρο FTIR και διάταξη των πηγών, καθρεπτών και ανιχνευτή.

### 2.3. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων, TEM

Το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διερχόμενης δέσμης αποτελείται από ένα ηλεκτρονικό κανόνι για την παραγωγή των ηλεκτρονίων της δέσμης τα οποία επιταχύνονται με μία τάση 100-400 kV. Στη συνέχεια, η δέσμη εστιάζεται από δύο συμπυκνωτές φακούς σε μία συνήθως παράλληλη δέσμη η οποία διέρχεται μέσα από ένα λεπτό δείγμα πάχους περίπου 100 nm. Τέλος το σχηματιζόμενο είδωλο εστιάζεται και μεγεθύνεται από ένα αντικειμενικό και δύο συγκεντρωτικούς φακούς και προβάλλεται είτε σε μία φθορίζουσα οθόνη είτε σε μία συσκευή συζευγμένου φορτίου (CCD). Θα πρέπει να τονιστεί ότι το δείγμα πρέπει να είναι πολύ λεπτό έτσι ώστε τα ηλεκτρόνια να διέλθουν από μέσα του. Συνεπώς τα περισσότερα ηλεκτρόνια σκεδάζονται ελαστικά ή δεν σκεδάζονται καθόλου σε αντίθεση με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης όπου τα ηλεκτρόνια σταματούν μέσα στο δείγμα.

Για να γίνει κατανοητή η αρχή λειτουργίας ενός μικροσκοπίου TEM αναφέρονται οι μηχανισμοί ελαστικής σκέδασης και συγκεκριμένα για κρυσταλλικά δείγματα ο νόμος του Bragg. Στην Εικόνα 2.3.1. παρουσιάζεται σχηματικά η περίθλαση των ηλεκτρονίων της δέσμης από μία ομάδα κρυσταλλικών επιπέδων του δείγματος.

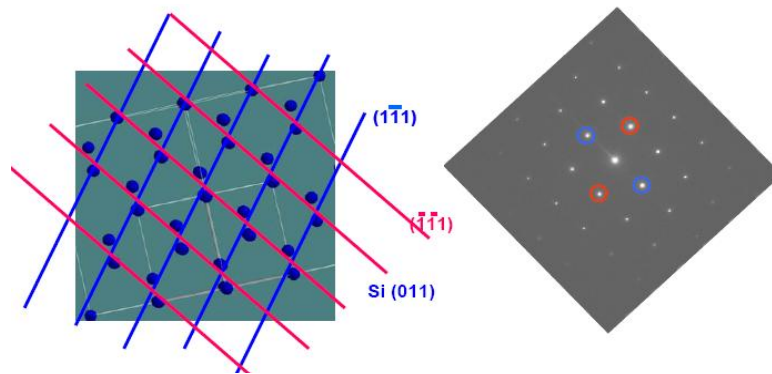


**Εικόνα 2.3.1.:** Σχηματική περίθλαση Bragg στο TEM.

Τα ηλεκτρόνια που ικανοποιούν την συνθήκη Bragg σκεδάζονται κατά γωνία  $2\theta$  και το ίχνος τους είναι μια κηλίδα στην φθορίζουσα οθόνη που απέχει απόσταση  $R$  από τα μη σκεδαζόμενα ηλεκτρόνια. Η γωνία σκέδασης είναι πολύ μικρή ( $\sim \text{mrad}$ ) και κατά συνέπεια  $\sin\theta \approx \tan\theta \approx \theta$ , οπότε ο νόμος του Bragg παίρνει τη μορφή:

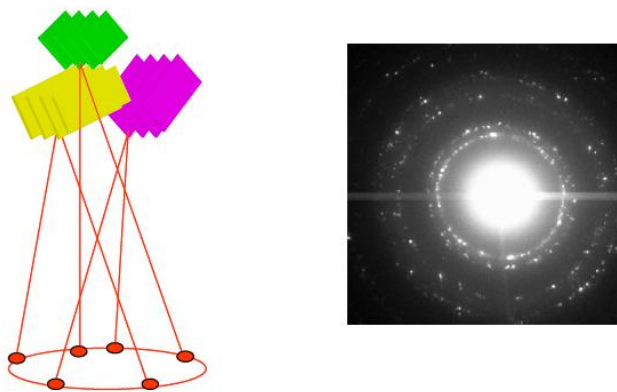
$$R \cdot d = \lambda \cdot L$$

Γνωρίζοντας το μήκος  $L$ , το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων  $\lambda$  και μετρώντας την απόσταση  $R$  από την παραπάνω σχέση είναι δυνατό να υπολογιστεί η πλεγματική απόσταση  $d$  των επιπέδων του υλικού. Στην Εικόνα 2.3.2. παρουσιάζεται μία σχηματική παράσταση ενός μονοκρυστάλλου  $\text{Si}$ , παράλληλα με την διεύθυνση  $[001]$  και η αντίστοιχη εικόνα περίθλασης ηλεκτρονίων λόγω των επιπέδων  $(1-11)$  και  $(-1-11)$  του  $\text{Si}$ . Με αυτό τον τρόπο είναι δυνατό να προσδιοριστεί η κρυσταλλική δομή μίας περιοχής με διαστάσεις μερικά nm ενός υλικού ή η σχετική διάταξη διαφορετικών δομών μέσα σε ένα υλικό.



**Εικόνα 2.3.2.:** Σχηματική αναπαράσταση μονοκρυστάλλου Si και αντίστοιχη εικόνα περίθλασης ηλεκτρονίων.

Εάν το υλικό είναι πολυκρυσταλλικό αντί για κηλίδες περίθλασης έχουμε δακτύλιους εφόσον ομοειδή επίπεδα υλικού έχουν τυχαίο προσανατολισμό όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.3.3.



**Εικόνα 2.3.3.:** Σχηματισμός εικόνας περίθλασης ηλεκτρονίων από πολυκρυσταλλικό υλικό.

Για τον σχηματισμό εικόνας περίθλασης εστιάζεται ο ενδιάμεσος φακός στο πίσω εστιακό επίπεδο του αντικειμενικού φακού και επιλέγεται η περιοχή του δείγματος που θα αναλυθεί με το διάφραγμα επιλογής περιοχής. Εάν ο ενδιάμεσος φακός εστιαστεί στο επίπεδο ειδώλου του αντικειμενικού φακού τότε λαμβάνεται εικόνα του ειδώλου του δείγματος. Σημειωτέον ότι με το διάφραγμα του αντικειμενικού φακού επιλέγεται αν και ποια από τα ηλεκτρόνια που έχουν υποστεί σκέδαση συμμετέχουν στη δημιουργία της εικόνας.

Η αντίθεση (κοντράστ) σε μία εικόνα φωτεινού πεδίου οφείλεται στη σκέδαση των ηλεκτρονίων στα διάφορα σημεία του δείγματος. Σκουρόχρωμες παρουσιάζονται οι περιοχές όπου τα ηλεκτρόνια σκεδάζονται ισχυρότερα. Σε ένα δείγμα που αποτελείται από διάφορα στοιχεία οι περιοχές που περιέχουν τα βαρύτερα στοιχεία σκεδάζουν εντονότερα τα ηλεκτρόνια και φαίνονται πιο σκούρες. Ακριβώς το ίδιο συμβαίνει και όταν το δείγμα έχει διαφορετικά πάχη. Σε ένα κρυσταλλικό δείγμα η σκέδαση Bragg είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας για την εμφάνιση κοντράστ γιατί είναι δυνατό με το διάφραγμα του αντικειμενικού φακού να αποκλειστούν ηλεκτρόνια που έχουν σκεδαστεί κατά Bragg και συνεισφέρουν στην εικόνα.

Η διακριτική ικανότητα του TEM δίνεται από τη σχέση :

$$r = 1.21 \cdot \lambda^{3/4} \cdot C_s^{1/4}$$

όπου  $\lambda$  το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων της δέσμης και  $C_s$  η σφαιρική εκτροπή του αντικειμενικού φακού. Τα σύγχρονα μικροσκόπια TEM έχουν διακριτική ικανότητα 0,15-0,35 nm.

Εάν πραγματοποιηθεί αλληλεπίδραση του αντικειμενικού φακού με ηλεκτρόνια που έχουν σκεδαστεί κατά Bragg σε διαφορετικά κρυσταλλικά επίπεδα είναι δυνατόν να ληφθούν εικόνες στις οποίες το κοντράστ οφείλεται στη διαφορετική φάση των ηλεκτρονίων και ονομάζονται εικόνες υψηλής ευκρίνειας (High Resolution Transmission Electron Microscopy HRTEM). Οι εικόνες αυτές δίνουν πληροφορίες για την περιοδική διάταξη των ατόμων ενός υλικού ως προς μια συγκεκριμένη διεύθυνση.

Τα δείγματα, είτε πρόκειται για υλικά διεσπαρμένα σε διαλύτη είτε πρόκειται για τομές, τοποθετούνται σε ειδικά μικρά πλέγματα (grids) και παρεμβάλλονται στην πορεία της δέσμης των ηλεκτρονίων. Ειδική πάλι επεξεργασία είναι απαραίτητη για τα βιολογικά υλικά που πρέπει να φτάσουν με τη μορφή μιας αφυδατωμένης λεπτής τομής (0.5  $\mu\text{m}$ ) η οποία δεν καταστρέφεται σε υψηλό κενό και που δεν αλλοιώνεται από τη δέσμη των ηλεκτρονίων στην οποία θα παρεμβληθεί.

Μερικές από τις δυνατότητες που παρέχει η τεχνική της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διερχόμενης δέσμης είναι η διερεύνηση της μορφολογίας των υλικών, η μελέτη των διαστάσεων νανοσωματιδίων, η μελέτη των δομικών ιδιοτήτων και της

κρυσταλλικής κατάστασης των υλικών, οι διαφοροποιήσεις στην κρυσταλλικότητα και στη στοιχειομετρία και ο προσδιορισμός χημικά διαφορετικών φάσεων.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Διέλευσης Ηλεκτρονίων JEOL2100 HR (Tokyo, Japan). Τα δείγματα πριν από την ανάλυση διασπείρονται σε αιθανόλη με χρήση υπερήχων και τοποθετούνται σε πλέγμα (grid) χαλκού, το οποίο διαθέτει διάτρητο φιλμ άνθρακα στην επιφάνεια του.



**Εικόνα 2.3.4.:** Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης υψηλής διακριτικής ικανότητας.

#### **2.4. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM)**

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης είναι ένα όργανο που λειτουργεί όπως περίπου και ένα οπτικό μικροσκόπιο μόνο που χρησιμοποιεί δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας αντί για φως, για να εξετάσει αντικείμενα σε λεπτομερή κλίμακα.

Τα ηλεκτρόνια λόγω της κυματικής τους φύσης, μπορούν να εστιαστούν όπως και τα φωτεινά κύματα αλλά σε πολύ μικρότερη επιφάνεια (π.χ. κόκκος υλικού). Η δέσμη ηλεκτρονίων σαρώνει την επιφάνεια του δείγματος με το οποίο αλληλεπιδρά. Από την αλληλεπίδραση αυτή προκύπτουν πληροφορίες σε σχέση με τα άτομα των στοιχείων που απαρτίζουν το εξεταζόμενο υλικό.

Από τα άτομα των στοιχείων εκπέμπονται κυρίως δευτερογενή (secondary) και οπισθοσκεδαζόμενα (backscattered) ηλεκτρόνια καθώς και ακτίνες X. Τα δευτερογενή ηλεκτρόνια είναι αυτά που διεγείρονται από την επιφάνεια του

δείγματος και έχουν χαρακτηριστικό μήκος κύματος. Αυτά συλλέγονται μέσω ανιχνευτή δευτερογενών ηλεκτρονίων που υπάρχει στο μικροσκόπιο. Είναι πολύ χρήσιμα γιατί δίνουν την δυνατότητα σχηματισμού εικόνων που όπως πληροφορούν για την τοπογραφία (ανάγλυφο) του εκάστοτε δοκιμίου. Όπως δίνουν, αναλόγως, επιλεκτικές φωτογραφίες στα όρια των κόκκων.

Από την πρόσπτωση των πρωτογενών ηλεκτρονίων σε κάποιο βάθος από την επιφάνεια του δοκιμίου παίρνουμε σήμα από τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια. Τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια μειονεκτούν γιατί, προερχόμενα από το βάθος του δοκιμίου, απορροφώνται από τη μάζα επειδή είναι χαμηλής ενέργειας. Για τον λόγο αυτό συλλέγονται με άλλο ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται όσο πιο κοντά γίνεται στην επιφάνεια του δοκιμίου και ονομάζεται ανιχνευτής οπισθοσκεδαζόμενων ηλεκτρονίων.

Τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια είναι σημαντικά γιατί μας πληροφορούν για το μέσο ατομικό αριθμό της περιοχής από την οποία προέρχονται. Ο μέσος ατομικός αριθμός που είναι το ημίαθροισμα δύο στοιχείων, δίνει πληροφορίες για τη μέση σύσταση ανάλογα με την αναμενόμενη χημική σύσταση της περιοχής.

Οι πληροφορίες που εξάγουμε για το μέσο ατομικό αριθμό, πιστοποιούνται αργότερα με την μέθοδο χημικής ανάλυσης. Οι εικόνες που παράγονται και οφείλονται στα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια, παρουσιάζουν αντίθεση εικόνας η οποία οφείλεται στο μέσο ατομικό αριθμό. Όσο μικρότερος ατομικός αριθμός, τόσο σκουρόχρωμη αντίθεση, ενώ όσο μεγαλύτερος τόσο ανοιχτόχρωμη αντίθεση. Γενικά αναμένουμε πληροφορίες σχετικά με την ανακατανομή των χημικών στοιχείων.

Η ένταση των εκπεμπομένων ηλεκτρονίων επηρεάζεται από τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας. Έτσι, το SEM δίνει πληροφορίες που αφορούν κυρίως στη μορφολογία και στη σύσταση της επιφανείας. Εφαρμόζοντας ένα σύστημα ανίχνευσης της διασποράς των ενεργειών των ακτίνων X που δημιουργούνται στην επιφάνεια από την προσπίπτουσα δέσμη, μπορεί να γίνει ημιποσοτική στοιχειακή ανάλυση του υλικού.

Επομένως το SEM χρησιμοποιείται για την εξέταση μικροδομής στερεών δειγμάτων και για να δίνει εικόνες υψηλού βαθμού διείδυσης.



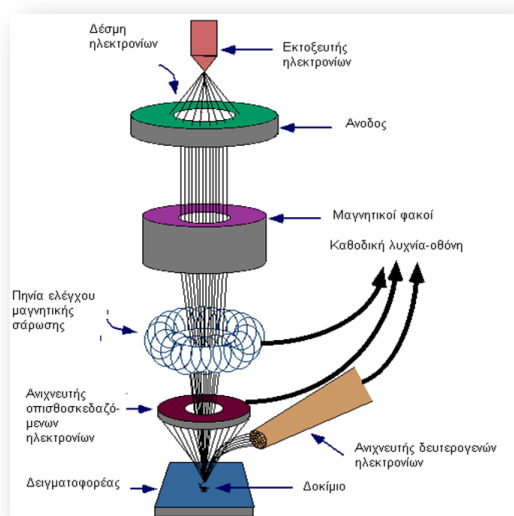
### 2.4.1. Οργανολογία

Όπως προαναφέρθηκε, η λειτουργία του SEM στηρίζεται στις αλληλεπιδράσεις του προς εξέταση δείγματος και της προσπίπτουσας σε αυτό δέσμης ηλεκτρονίων. Οι βασικές διατάξεις που υπάρχουν στο μικροσκόπιο είναι το σύστημα παραγωγής δέσμης ηλεκτρονίων, το σύστημα κατεύθυνσης της δέσμης, το σύστημα πληροφοριών και τέλος το σύστημα κενού.

Τα βασικά στάδια λειτουργίας ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου είναι:

- Σχηματίζεται μια δέσμη ηλεκτρονίων από την πηγή η οποία επιταχύνεται προς το δείγμα μέσω ενός θετικού ηλεκτρικού δυναμικού.
- Χρησιμοποιώντας μεταλλικά ανοίγματα, ηλεκτρομαγνητικούς φακούς και πηνία σύρωσης, επιτυγχάνεται μια λεπτή εστιασμένη μονοχρωματική δέσμη η οποία σαρώνει την επιφάνεια του δείγματος.
- Οι αλληλεπιδράσεις δέσμης δείγματος καταγράφονται από τους ανιχνευτές και μετατρέπονται σε εικόνα.

Τα παραπάνω στάδια ισχύουν για όλους τους τύπους ηλεκτρονικών μικροσκοπίων.



Εικόνα 2.4.1.1.: Σχηματική απεικόνιση λειτουργίας SEM.

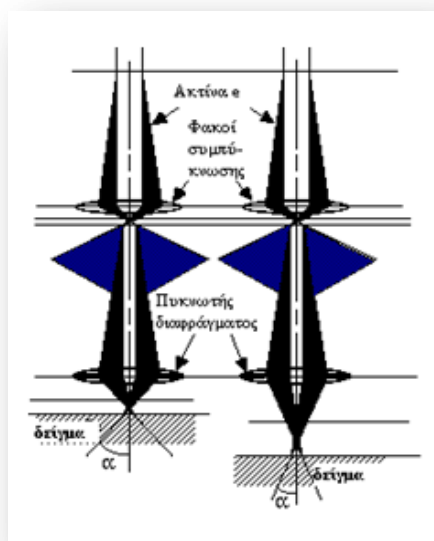
*Πηγή ηλεκτρονίων:*

Τα ηλεκτρόνια παράγονται από ένα νήμα βολφραμίου (υπάρχουν και άλλα υλικά), το οποίο λειτουργεί σαν κάθοδος. Μέσα από το νήμα περνάει ρεύμα (filament

current). Καθώς το ρεύμα αυξάνεται, εκπέμπονται ηλεκτρόνια τα οποία κατευθύνονται προς την άνοδο στην οποία εφαρμόζεται ένα δυναμικό (accelerating voltage).

Τα ηλεκτρόνια επιταχύνονται από την άνοδο και περνούν μέσα από ένα ηλεκτρομαγνητικό φακό συμπύκνωσης (condenser lens) που τα μετατρέπει σε δέσμη (Στάδιο απομεγέθυνσης). Η ισχύς αυτού του φακού καθορίζει την διάμετρο της δέσμης (spot size).

Άλλοι ηλεκτρομαγνητικοί φακοί ελέγχουν την εστίαση της δέσμης πάνω στην επιφάνεια του δείγματος. Τα παρακάτω σχήματα παρουσιάζουν δύο διαφορετικές συνθήκες εστίασης της δέσμης των ηλεκτρονίων: σε μικρή απόσταση εργασίας από το δείγμα (αριστερά) και σε μεγαλύτερη (δεξιά). Και στις δύο περιπτώσεις χρησιμοποιούνται ίδιοι φακοί και με το ίδιο μέγεθος διαφράγματος. Όμως, καθώς μετακινείται το δείγμα μακριά από τους φακούς παρατηρούνται τα εξής:



**Εικόνα 2.4.1.2.:** Συνθήκες εστίασης της δέσμης των ηλεκτρονίων.

- Η απόσταση εργασίας  $S$  αυξάνει.
- Η απομεγέθυνση ελαττώνεται.
- Το μέγεθος του σημείου αυξάνει.
- Η γωνία απόκλισης  $\alpha$  ελαττώνεται.

### *Σύστημα Κενού:*

Κατά τη χρήση του SEM, η στήλη πρέπει να βρίσκεται υπό κενό για να μπορεί να παραχθεί και διατηρηθεί σταθερή η ακτίνα των ηλεκτρονίων. Ειδάλλως τα ηλεκτρόνια συγκρούονται με τα μόρια του αέρα και απορροφώνται. Το κενό επιτυγχάνεται με την χρήση δύο αντλιών και είναι της τάξης των  $2 \cdot 10^{-3}$  Pa.

### *Σύστημα Πληροφοριών:*

Περιλαμβάνει τους διάφορους ανιχνευτές που δέχονται τα σήματα που παράγονται από την αλληλεπίδραση της δέσμης ηλεκτρονίων με το δείγμα και το σύστημα παρουσίασης (μεγέθυνση-παρουσίαση-καταγραφή).

Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι ανιχνευτές δευτερογενών ηλεκτρονίων όπως ο ανιχνευτής Everhart – Thornley (ETD), ο ανιχνευτής ευρέως πεδίου (Large Field Detector, LFD), ο ανιχνευτής σε ατμοσφαιρική πίεση (Gaseous Electron Detector GED), ο ανιχνευτής διόδου στερεάς φάσης (Solid State Electron Detector, SSED) για τα οπισθοσκεδαζόμενα ηλεκτρόνια (BSE), καθώς και ο ανιχνευτής διόδου λιθίου – πυριτίου (SiLi), με τον οποίο ανιχνεύουμε ενεργειακή διασπορά ακτίνων - X (Energy Dispersive Spectrometer, EDS). [74]

Ο τύπος του οργάνου που χρησιμοποιήσαμε είναι JOELJSM-6380, στοιχειακός αναλυτής INCAX-sight της εταιρείας OXFORD instruments.



**Εικόνα 2.4.1.3.:** Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης

## **Κεφάλαιο III: Αποτελέσματα και Συζήτηση**

### **1.Επικαλύψεις Υδροξυαπατίτη σε Δοκίμια Τιτανίου**

Τα δοκίμια του τιτανίου, τα οποία υπέστησαν μηχανική και χημική επεξεργασία της επιφάνειάς τους, πριν από την ανάπτυξη ενός στρώματος υδροξυαπατίτη σε αυτά, εξετάστηκαν ως προς την τραχύτητά τους καθώς και ως προς την ομοιογένεια της επιφάνειάς τους σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας τους. Η επίτευξη μίας ομοιόμορφης επιφάνειας, χωρίς ατέλειες και ασυνέχειες, θεωρείται απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή ανάπτυξη μίας αντίστοιχα ομοιόμορφης επικάλυψης υδροξυαπατίτη. Το στρώμα αυτό του υδροξυαπατίτη, θα εξασφαλίσει τη βιοσυμβατότητα και τη βιολειτουργικότητα του παραγόμενου εμφυτεύματος καθώς θα επιτρέψει την πρόσδεση κυττάρων στην επιφάνειά του, προωθώντας έτσι την ενσωμάτωσή του στον περιβάλλοντα ιστό. Η καταγραφή της τραχύτητας της επιφάνειας των δοκιμίων πραγματοποιήθηκε με προφιλόμετρο τύπου TR230 (VDH Technology, Germany) ενώ η ομοιογένεια εξετάστηκε με παρατήρηση των δοκιμίων με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM).

#### **1.1. Μέτρηση τραχύτητας δοκιμίων Ti**

Όπως αναφέρθηκε και κατά την πειραματική διαδικασία, η μηχανική επεξεργασία της επιφάνειας των δοκιμίων του τιτανίου (με λείανση και στίλβωση) πραγματοποιήθηκε για τη βελτίωση της ποιότητας της επιφάνειάς τους. Έναν δείκτη καταγραφής αυτής της βελτίωσης στην ποιότητα των δοκιμίων, αποτελεί η τραχύτητα της επιφάνειάς τους. Η τραχύτητα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της αλληλεπίδρασης ενός αντικειμένου με το περιβάλλον του. Οι ανώμαλες επιφάνειες φθείρονται πιο γρήγορα και έχουν υψηλότερους συντελεστές τριβής από ό,τι οι λείες επιφάνειες, δεδομένου ότι ανωμαλίες στην επιφάνεια οδηγούν στον σχηματισμό σημείων πυρήνωσης για ρωγμές και διάβρωση. Η τραχύτητα υπολογίζεται από τις κατακόρυφες αποκλίσεις της πραγματικής επιφάνειας από την ιδανική μορφή της και όσο αυτές οι αποκλίσεις είναι μεγάλες η επιφάνεια είναι τραχιά, ενώ εάν είναι μικρές, η επιφάνεια είναι λεία.

Το προφιλόμετρο διαθέτει μία γραφίδα, η οποία διέρχεται από την επιφάνεια του δείγματος, καταγράφει τις κορυφές και τις κοιλάδες της επιφάνειας και τις

μετατρέπει σε μία αριθμητική τιμή Ra, που αποτελεί το μέσο όρο της τραχύτητας, ενώ παράλληλα δίνει και τις τιμές του Rmax, δηλαδή το μέγιστο βάθος της τραχύτητας. Οι τιμές τραχύτητας που καταγράφηκαν για τα δοκίμια του τιτανίου κατά τη διάρκεια της λείανσης και της στίλβωσης της επιφάνειάς τους, παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Οι τιμές αυτές αντιστοιχούν στη μέση τιμή που προκύπτει από τουλάχιστον έξι επαναλήψεις μετρήσεων σε κάθε περίπτωση.

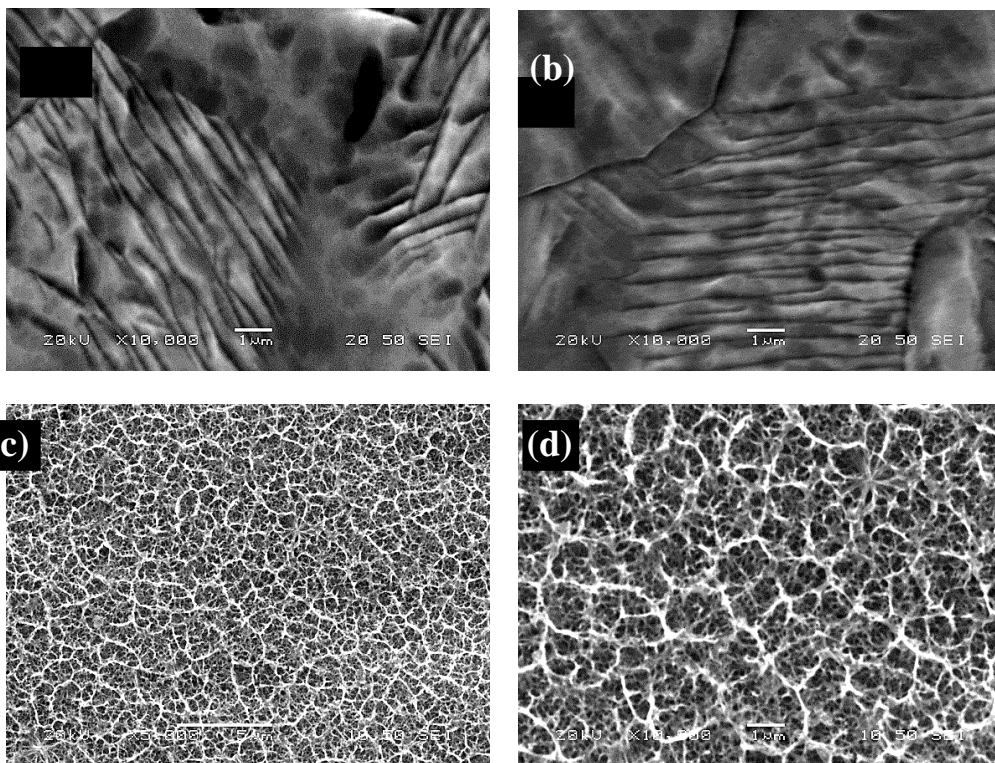
<b>Δείγμα</b>	<b>Μέση τιμή τραχύτητας Ra (μm)</b>	<b>Μέγιστο βάθος τραχύτητας Rmax (μm)</b>
Χωρίς κατεργασία	0,87±0,08	6,89±0,8
Λείανση 220 grit	0,31±0,02	3,16±0,5
Λείανση 400 grit	0,22±0,02	1,98±0,08
Λείανση 600 grit	0,17±0,02	1,11±0,08
Λείανση 800 grit	0,13±0,02	0,98±0,06
Λείανση 1000 grit	0,11±0,02	0,96±0,05
Λείανση 4000 grit	0,09±0,01	0,73±0,03
Στίλβωση 0,5 μm	0,08±0,01	0,71±0,03

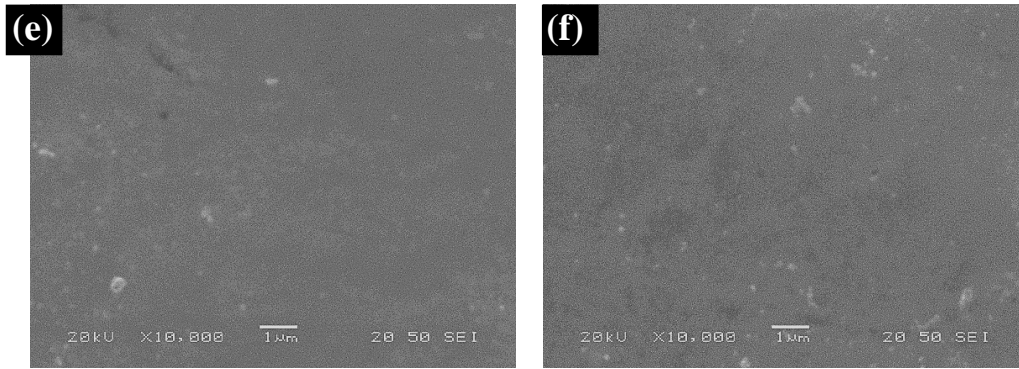
**Πίνακας 3.** Τιμές τραχύτητας και μέγιστου βάθους τραχύτητας των δοκιμίων Ti.

Από τις τιμές αυτές του Πίνακα 3, αποδεικνύεται ότι οι διαδοχικές διαδικασίες της λείανσης και της στίλβωσης, μειώνουν σημαντικά την τραχύτητα των επιφανειών των δοκιμίων του τιτανίου. Η μείωση αυτή της τραχύτητας, αντιστοιχεί σε βελτίωση της ποιότητας της υφής των επιφανειών αυτών.

## 1.2. Μελέτη της επιφάνειας των δοκιμίων Ti με Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, SEM

Στη συνέχεια εξετάστηκαν με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης οι επιφάνειες των δοκιμίων του τιτανίου μετά από τη χημική τους επεξεργασία. Με τον τρόπο αυτό εξετάζεται η επίδραση του εκάστοτε χημικού αντιδραστηρίου στην επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου, καθώς και η μορφολογία που αποκτά το τιτάνιο μετά από τη χημική προσβολή. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν με το SEM, τα δοκίμια του τιτανίου τα οποία υπέστησαν χημική κατεργασία με διάλυμα piranchas, δηλαδή συνδυασμό πυκνού θειικού οξέος και 30% διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2SO_4/H_2O_2$ ) για 10 min, με διάλυμα καυστικού νατρίου, NaOH (5M) για 24 ώρες στους  $60^\circ C$  ή παθητικοποίηση με υδατικό διάλυμα νιτρικού οξέος  $HNO_3$  30% για 30min. Στην Εικόνα 1.2.1. που ακολουθεί, παρατίθενται οι εικόνες του SEM από τα χημικά κατεργασμένα δοκίμια του τιτανίου.





**Εικόνα 1.2.1.:** Εικόνες SEM για δοκίμια τιτανίου με χημική επεξεργασία της επιφάνειάς τους με: (a) και (b) διάλυμα piranchas ( $H_2SO_4/H_2O_2$ ), (c) και (d) διάλυμα καυστικού νατρίου, NaOH (5M), (e) και (f) υδατικό διάλυμα νιτρικού οξέος  $HNO_3$  30%.

Από τις εικόνες αυτές παρατηρείται ότι στην περίπτωση της κατεργασίας της επιφάνειας των δοκιμίων με υδατικό διάλυμα νιτρικού οξέος (Εικόνα 1.e και f) έχει προκύψει μία πλήρως ομοιόμορφη επιφάνεια χωρίς ωστόσο να εμφανίζει κάποια ιδιαίτερη μορφολογία. Η επιφάνεια αυτή είναι αρκετά όμοια με τη μορφή που έχουν οι επιφάνειες των δοκιμίων του τιτανίου μετά από τη στίλβωση. Αντίθετα, στην περίπτωση της χημικής κατεργασίας είτε με το διάλυμα piranchas (Εικόνα 1.a και b) ή με καυστικό νάτριο (Εικόνα 1.c και d), παρατηρείται πολύ διαφορετική μορφολογία. Στην πρώτη περίπτωση, η μορφή της επιφάνειας των δοκιμίων του τιτανίου παρουσιάζει παράλληλες αυλακώσεις. Παρ' όλα αυτά η μορφολογία της επιφάνειας δεν είναι ομοιόμορφη καθώς εμφανίζονται και περιοχές πιο συμπαγείς ή περιοχές με οπές. Μετά από την κατεργασία με καυστικό νάτριο, οι εικόνες του SEM αποκαλύπτουν επιφάνειες με κυψελοειδή μορφή, παρατηρείται δηλαδή ανάπτυξη ενός επιφανειακού πορώδους δικτύου. Αυτό το πορώδες δίκτυο είναι αποτέλεσμα της μερικής διάβρωσης που υφίσταται η επιφάνεια του τιτανίου λόγω των ιόντων  $OH^-$  του αλκαλικού διαλύματος. Η διάβρωση αυτή είναι επιθυμητή καθώς έτσι αυξάνεται η βιοενεργότητα της επιφάνειας και βελτιώνεται η πρόσφυση της επικάλυψης σε αυτήν. [75, 76]

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η χημική κατεργασία των δοκιμίων του τιτανίου με διάλυμα καυστικού νατρίου είναι αυτή που επιφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα για την πρόσδεση της πολυαιθυλενιμίνης και γι' αυτό και τα υπόλοιπα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε δοκίμια έπειτα από χημική κατεργασία με NaOH. Η απουσία του πορώδους επιφανειακού δικτύου, στην περίπτωση της χημικής κατεργασίας με

τους δύο άλλους τρόπους, οδηγεί σε αδυναμία ανάπτυξης του οργανοπυριτικού στρώματος. Σαν αποτέλεσμα οι επικαλύψεις υδροξυαπατίτη που αναπτύχθηκαν σε αυτά τα δοκίμια εμφάνισαν ανομοιομορφία.

## **2. Υβριδικά Αιωρήματα Υδροξυαπατίτη – Βιομορίων**

### **2.1. Φασματοσκοπία Περίθλασης Ακτίνων X (XRD)**

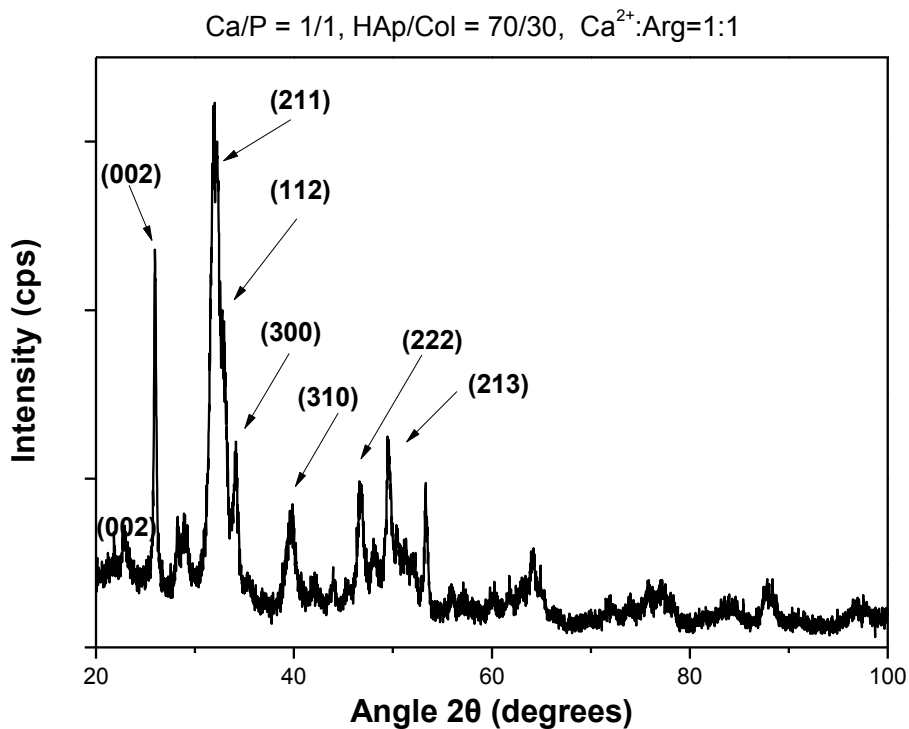
Οι επιστρώσεις που αναπτύχθηκαν σε αυτή την εργασία έγιναν από αιωρήματα που δημιουργήθηκαν με μία βιομιμητική μέθοδο παρουσία κολλαγόνου και L-αργινίνης όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος. Για τον έλεγχο των κρυσταλλικών φάσεων που αναπτύχθηκαν στις σκόνες που προκύπτουν από τα συγκεκριμένα αιωρήματα έγινε περίθλαση ακτίνων X. Η ταυτοποίηση φάσεων πραγματοποιήθηκε συγκρίνοντας τις κορυφές του διαγράμματος που προέκυψε από την ανάλυση με ακτίνες X με αυτές του καθαρού υδροξυαπατίτη (JCPDS 09-0432).

Όπως φαίνεται από το Εικόνα 2.1.1.1., η μόνη φάση που ανιχνεύεται είναι ο εξαγωνικός υδροξυαπατίτης (JCPDS 090432), ενώ δεν εντοπίζονται κορυφές από πρώιμες φάσεις του υδροξυαπατίτη ή άλλα φωσφορικά άλατα του ασβεστίου.

Τα αποτελέσματα αυτά, που προέκυψαν στη παρούσα διπλωματική, έρχονται σε συμφωνία με αντίστοιχα αποτελέσματα που έχουν δημοσιευτεί στην παγκόσμια βιβλιογραφία σχετικά με την ανάπτυξη κρυστάλλων υδροξυαπατίτη παρουσία βιοπολυμερών.

Όπως έχει αποδειχθεί σε πολυάριθμες εργαστηριακές μελέτες, η ανάπτυξη κρυστάλλων υδροξυαπατίτη επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας τη στοιχειομετρική μοριακή αναλογία  $Ca/P= 10/6$ , την αναλογία δηλαδή που συναντάται στον απατίτη του φυσικού οστού. Ωστόσο, στη βιομιμητική σύνθεση που έχει αναπτυχθεί στο εργαστήριο [77] για την ανάπτυξη υδροξυαπατίτη παρουσία κολλαγόνου και L-αργινίνης, καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται χρησιμοποιώντας την μοριακή αναλογία  $Ca/P=1/1$ . Πράγματι, οι χαρακτηριστικές κορυφές στο διάγραμμα XRD των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη που αναπτύσσονται υπό περίσσεια φωσφορικού οξέος, είναι έντονες και πλήρως καθορισμένες, γεγονός που επιβεβαιώνεται και στην παρούσα διπλωματική.





**Εικόνα 2.1.1.1.:** Φάσμα XRD για αιώρημα HAp με Ca/P = 1/1, HAp/Col=70/30, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>C= 0,06M και Ca<sup>2+</sup>:Arg = 1:1.

Αυτό πιθανώς οφείλεται στην ινώδη διαμόρφωση του κολλαγόνου η οποία εμφανίζει δυσκολία στο να διασπαρθεί στο νερό καθότι απαιτείται όξινο περιβάλλον. Συνεπώς η περίσσεια του φωσφορικού οξέος πιθανόν επιδρά θετικά στη διασπορά των ινών του κολλαγόνου στο διάλυμα του ορθοφωσφορικού οξέος, οδηγώντας σε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με αυτά που προκύπτουν από τη στοιχειομετρική μοριακή αναλογία.

Ακόμη προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου έχουν δείξει ότι υπάρχει μία ξεκάθαρη επίδραση του αμινοξέος L-αργινίνη στην ανάπτυξη των νανοκρυστάλλων του υδροξυαπατίτη. Τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X που προέκυψαν εμφανίζουν κορυφές με μικρότερο πλάτος και μεγαλύτερη ένταση στο δείγμα με μοριακή αναλογία Ca<sup>2+</sup>:Arg=1:1 γι' αυτό και επιλέχθηκε η χρήση αυτής της αναλογίας στην παρούσα διπλωματική.

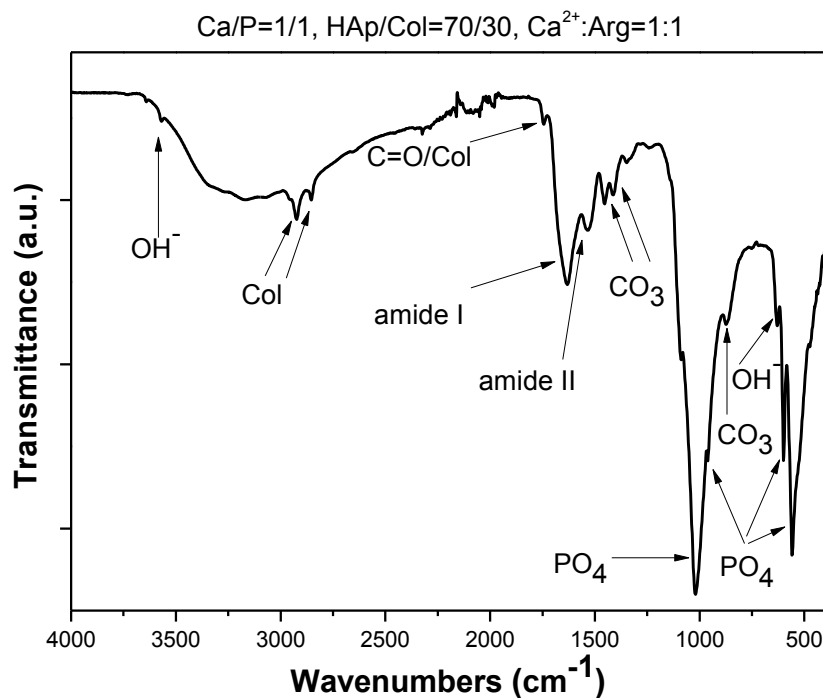
Πράγματι, τα αποτελέσματα του εργαστηρίου έχουν δείξει ότι υπάρχει μία κρίσιμη συγκέντρωση L-αργινίνης, η οποία μπορεί να προστεθεί κατά τη διάρκεια της αντίδρασης σύνθεσης, ώστε να επιτευχθεί η δημιουργία νανοκρυστάλλων υδροξυαπατίτη. Τα υλικά που προέρχονται από αιωρήματα που παρασκευάζονται με τις ίδιες ακριβώς συνθήκες αλλά απουσία του αμινοξέος L-αργινίνη δεν εμφάνισαν

καθόλου τις χαρακτηριστικές κορυφές του υδροξυαπατίτη, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η παρουσία μόνο του κολλαγόνου δεν είναι αρκετή για την ανάπτυξη κρυστάλλων υδροξυαπατίτη, αλλά απαιτείται ο συνδυασμός του με την L-αργινίνη ώστε να επιτευχθεί η διαδικασία πυρήνωσης και ανάπτυξής του. Βιβλιογραφικά έχει αναφερθεί ότι η χρήση της L-αργινίνης παρέχει τη δυνατότητα διαμόρφωσης της τελικής μορφολογίας των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη, καθώς προσδένεται τόσο σε ανιονικές όσο και σε κατιονικές επιφάνειες. Οι γουανιδινικές πλευρικές αλυσίδες του μορίου της αργινίνης ενώνονται με τα φωσφορικά ιόντα ( $\text{PO}_4^{2-}$ ), ενώ παράλληλα οι καρβοξυλικές πλευρικές αλυσίδες ενώνονται με τα ιόντα ασβεστίου ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

## **2.2.Φασματομετρία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)**

Η φασματομετρία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier χρησιμοποιείται για τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των σωματιδίων του υδροξυαπατίτη και των βιοπολυμερών σε μοριακό επίπεδο. Η απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας προκαλεί διεγέρσεις μεταξύ διαφόρων ενεργειακών σταθμών δόνησης και περιστροφής του μορίου και οι διεγέρσεις αυτές καταγράφονται ώστε να προκύψουν τα αντίστοιχα φάσματα.

Αποτελεί μία τεχνική ακόμη, που εφαρμόστηκε για την ανάλυση του αιωρήματος υδροξυαπατίτη που παρασκευάστηκε (Εικόνα 2.2.1.1.) Στο φάσμα μπορεί να εντοπιστεί μία χαρακτηριστική κορυφή περίπου στα  $3569\text{ cm}^{-1}$  η οποία αντιστοιχεί στις συμμετρικές εκτατικές δονήσεις των ιόντων  $\text{OH}^-$ . Η κορυφή αυτή μαζί με την κορυφή που εμφανίζεται στα  $629\text{ cm}^{-1}$  και η οποία αντιστοιχεί στις δονήσεις ταλάντωσης των ομάδων του υδροξυλίου, οφείλονται στην ύπαρξη του υδροξυαπατίτη στο δείγμα που εξετάζεται. [78, 79] Εν συνεχεία, οι κορυφές οι οποίες παρουσιάζονται περίπου στους κυματάρθμους  $1020$ ,  $1046$  και  $1088\text{ cm}^{-1}$  μπορούν να αποδοθούν στις αντι-συμμετρικές εκτατικές δονήσεις  $\nu_3$  των φωσφορικών ομάδων ( $\text{PO}_4$ ), ενώ η κορυφή στα  $961\text{ cm}^{-1}$  αντιστοιχεί στις συμμετρικές εκτατικές δονήσεις  $\nu_1$  των ίδιων φωσφορικών ομάδων. [79, 80]



**Εικόνα 2.2.1.1.:** Φάσμα FTIR για αιώρημα HAp με Ca/P= 1/1, HAp/Col= 70/30 και: (a) H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>C= 0,06M και Ca<sup>2+</sup>:Arg= 1:1.

Επιπλέον, στο φάσμα εντοπίζονται και ευδιάκριτες κορυφές στα 599, 573 και 558 cm<sup>-1</sup>, οι οποίες αντιστοιχίζονται με της δονήσεις κάμψεως ν<sub>4</sub> των φωσφορικών ομάδων (PO<sub>4</sub>). [81, 79, 82] γεγονός που αποδεικνύει ότι το αιώρημα που παρασκευάστηκε αποτελείται από καλά διαμορφωμένους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη. [79]

Επίσης, μπορούν να παρατηρηθούν και οι χαρακτηριστικές κορυφές των αλληλεπιδράσεων των μορίων του κολλαγόνου στους κυματάριθμους 2925 και 2853 cm<sup>-1</sup>, στη ζώνη δηλαδή απορρόφησης του φάσματος υπέρυθρου που εμφανίζονται οι αλειφατικοί δεσμοί (C-H) των οργανικών ενώσεων. Η κορυφή που αντιστοιχεί στο αμίδιο I του κολλαγόνου εντοπίζεται στα 1744 cm<sup>-1</sup> και οφείλεται στις εκτατικές δονήσεις των κορβονυλικών ομάδων (δεσμός C=O), οι οποίες έχουν χαρακτηριστικό εύρος απορρόφησης από 1600 έως 1700 cm<sup>-1</sup> [83]. Η απορρόφηση λόγω εκτατικών δονήσεων από κάθε διπλό δεσμό C=O, εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μονάδων του αμιδίου και τη δύναμη του δεσμού ανάμεσα στο υδρογόνο και στο κορβονυλικό οξυγόνο. Η κορυφή που αντιστοιχεί στο αμίδιο I είναι

αντιπροσωπευτική του περιεχόμενου κολλαγόνου και της δομής του στο φάσμα υπέρυθρου του φυσικού οστού [82]. Η κορυφή στα  $1632\text{ cm}^{-1}$  αντιστοιχεί και αυτή στην περιοχή του αμιδίου I του κολλαγόνου. Παράλληλα, το αμίδιο II του κολλαγόνου μπορεί να αναγνωριστεί από την κορυφή που υπάρχει στα  $1535\text{ cm}^{-1}$ . [84]. Όλες αυτές οι κορυφές αποτελούν σαφή ένδειξη για το περιεχόμενο στο τελικό αιώρημα κολλαγόνο.

Η υπέρυθη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier προσφέρει επίσης ενδείξεις για την ύπαρξη ανθρακικών ιόντων στο δείγμα. Πράγματι, οι κορυφές που εμφανίζονται περίπου στα  $1450$  και  $1410\text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται στις  $\nu_3$  εκτατικές δονήσεις των ανθρακικών  $\text{CO}_3$  ομάδων, ενώ η κορυφή στα  $874\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται στις  $\nu_2$  εκτατικές δονήσεις. [80]

### 2.3. Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων, TEM

Η σκόνη που παράχθηκε από το συγκεκριμένο αιώρημα του υδροξυαπατίτη που παρασκευάστηκε σε αυτή την εργασία εξετάστηκε ως προς το μέγεθος των κρυστάλλων του, τη μορφολογία του και την ομοιογένεια της δομής του με Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης Ηλεκτρονίων, TEM.

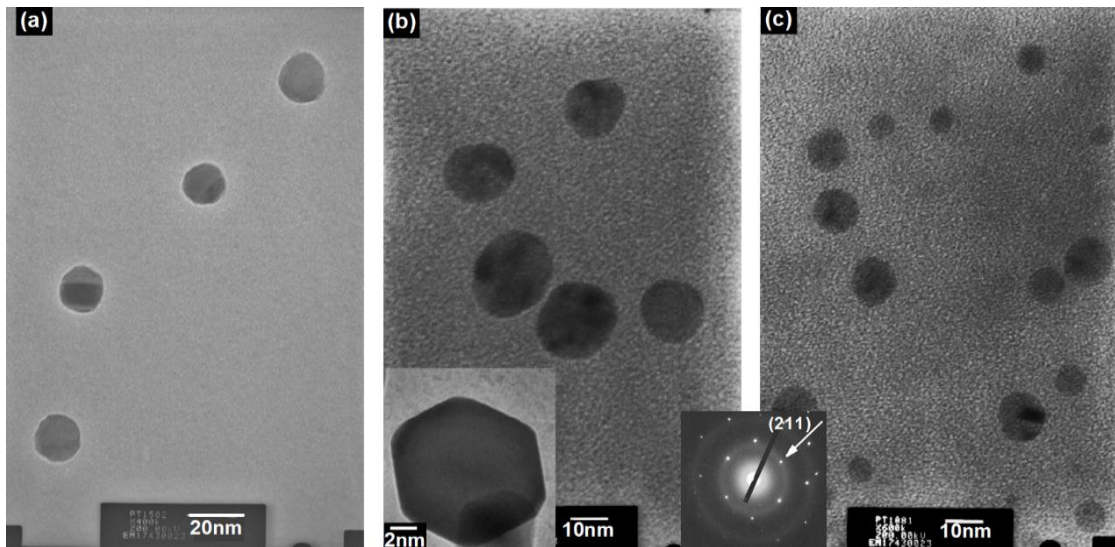
Το μέγεθος των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη είναι ιδιαίτερα κρίσιμη παράμετρος για την ανάπτυξη ενός επιτυχημένου εμφυτεύσιμου υλικού, καθώς επιδρά στη βιωσιμότητά του. Οι νανοκρυστάλλοι του υδροξυαπατίτη ενισχύουν την προσρόφηση, την πρόσδεση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στην επιφάνεια των εμφυτευμάτων και κατ' επέκταση βελτιώνουν τη βιολογική και μηχανική συμπεριφορά των παραγόμενων εμφυτευμάτων. [79, 85]

Έχει αποδειχθεί από πολλούς ερευνητές [86, 87, 88] ότι το φυσικό οστό του ανθρώπου διαθέτει μία ομοιογενή δομή αποτελούμενη από νανοκρυστάλλους υδροξυαπατίτη, των οποίων το μέγεθος κυμαίνεται ανάμεσα σε  $10\text{-}40 \times 10\text{-}40\text{ nm}$ , με την επιμήκη πλευρά να είναι παράλληλη με τον c-άξονα και το πάχος του να διαφοροποιείται μεταξύ  $2$  και  $5\text{ nm}$ . Ωστόσο, οι διαστάσεις και η μορφολογία των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη μεταβάλλονται ανάλογα με την ωριμότητα του εκάστοτε οστού. Παρόλο που η βασική απαίτηση για την ανάπτυξη ενός βιοσυμβατού εμφυτεύματος είναι η ύπαρξη κρυστάλλων υδροξυαπατίτη, αποδεικνύεται ότι τόσο το μέγεθος των κρυστάλλων όσο και η μορφολογία τους επιδρούν σημαντικά στην τελική βιολειτουργικότητα που θα εμφανίσει το εμφύτευμα.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι για τη σύνθεση κρυστάλλων υδροξυαπατίτη, όπως είναι οι αντιδράσεις στερεάς κατάστασης σε υψηλές θερμοκρασίες, οι υγρές - χημικές μέθοδοι, τεχνικές πλάσματος, η υδροθερμική επεξεργασία υδατικών διαλυμάτων σε υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις και οι αντιδράσεις sol – gel. [90, 89] οι οποίες όμως συνήθως αποφέρουν κρυστάλλους υδροξυαπατίτη με μεγάλη διακύμανση στο μέγεθος και τη μορφολογία τους, σε αντίθεση με την ομοιόμορφη νανοκρυσταλλική δομή που συναντάται στον απατίτη του φυσικού οστού.

Στο Εικόνα 2.3.1.1. που ακολουθεί, παρουσιάζονται οι εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης ηλεκτρονίων για τη σκόνη από το συγκεκριμένο αιώρημα του υδροξυαπατίτη που χρησιμοποιήσαμε. Οι εικόνες από το μικροσκόπιο TEM αποδεικνύουν ότι τα νανοσύνθετα υλικά που αναπτύχθηκαν εμφανίζουν πολύ καλά διαμορφωμένη νανοδομή. Το σχήμα τους, όπως φαίνεται από τη μεγαλύτερη μεγέθυνση ενός κρυστάλλου στο σχήμα 9.5.1.2.b, είναι εξαγωνικό σε πλήρη συμφωνία με τους εξαγωνικούς κρυστάλλους του υδροξυαπατίτη που συναντώνται στο φυσικό οστό. Εμφανίζουν πολύ περιορισμένο εύρος διασποράς του μεγέθους των κρυστάλλων και οι κρύσταλλοι είναι λεπτά πλακίδια με μέγεθος περίπου στα 10x10 nm.

Η ανάλυση SAED (Selected area electron diffraction) αυτών των δειγμάτων επιβεβαιώνει την κρυσταλλική σύσταση τους, καθώς παρουσιάζει τους χαρακτηριστικούς δακτυλίους του υδροξυαπατίτη, οι οποίοι αντιστοιχούν στο (211) κρυσταλλογραφικό του επίπεδο.



**Εικόνα 2.3.1.1.:** Εικόνες TEM και αντίστοιχες εικόνες SAED ανάλυσης για αιωρήματα ΗΑρ με ΗΑρ/Col = 70/30, Ca/P = 1/1 Ca<sup>2+</sup>:Arg = 1:1 και H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>C = 0,06. Στην εικόνα (b) έχει προστεθεί μεγαλύτερη μεγέθυνση από ένα κρύσταλλο.

### 3. Μελέτη των επικαλύψεων ΗΑρ στην επιφάνεια των δοκιμίων Ti

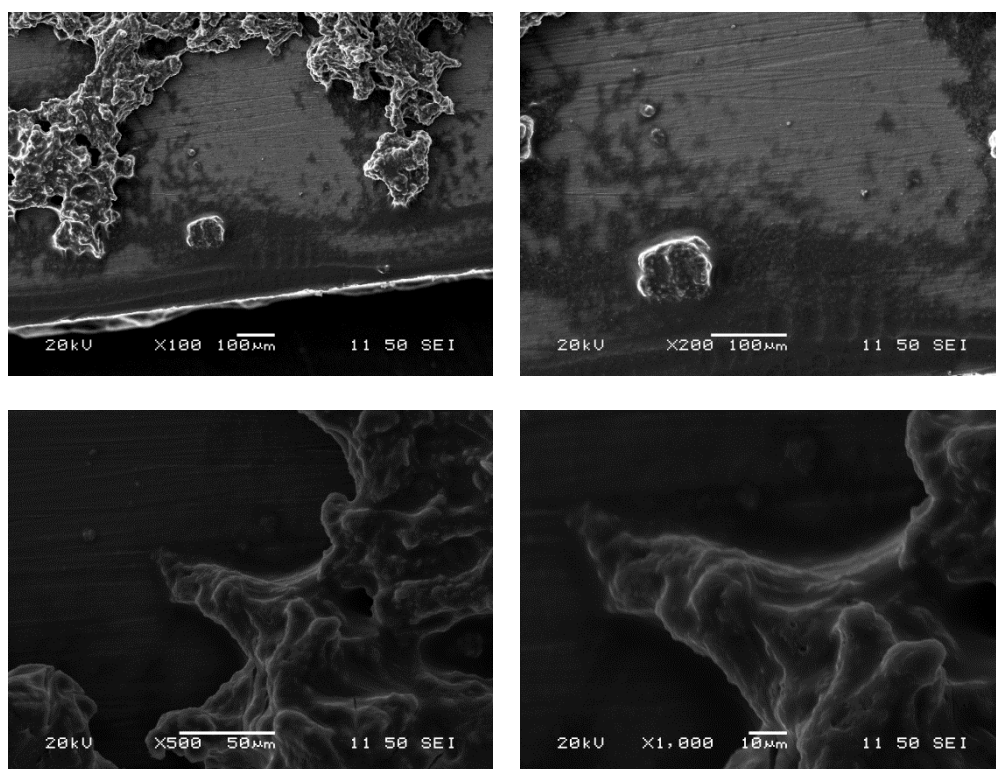
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζεται η ανάλυση της ποιότητας και των χαρακτηριστικών των επικαλύψεων που αναπτύχθηκαν από το αιώρημα που παρουσιάστηκε προηγουμένως σε δείγματα Ti.

#### 3.1. Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, SEM

Βάσει των εικόνων που λήφθηκαν από το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης, με συνθήκες λειτουργίας 20 kV και απόσταση εργασίας 15 mm, έγινε χαρακτηρισμός των δοκιμίων σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν: τρεις κατηγορίες δοκιμίων με διαφορετικά επίπεδα επιφανειακής λείανσης και στίλβωσης: (α) λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί χωρίς χημική κατεργασία, (β) λείανση στα 400 έως 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία NaOH, και (γ) λείανση στα 4000 grit SiC χαρτί με χημική κατεργασία NaOH ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση. Επίσης πρέπει να αναφερθεί ότι η κάθε μια κατηγορία έχει τρεις διαφορετικούς τρόπους επικάλυψης, τους οποίους αναλύσαμε παραπάνω.

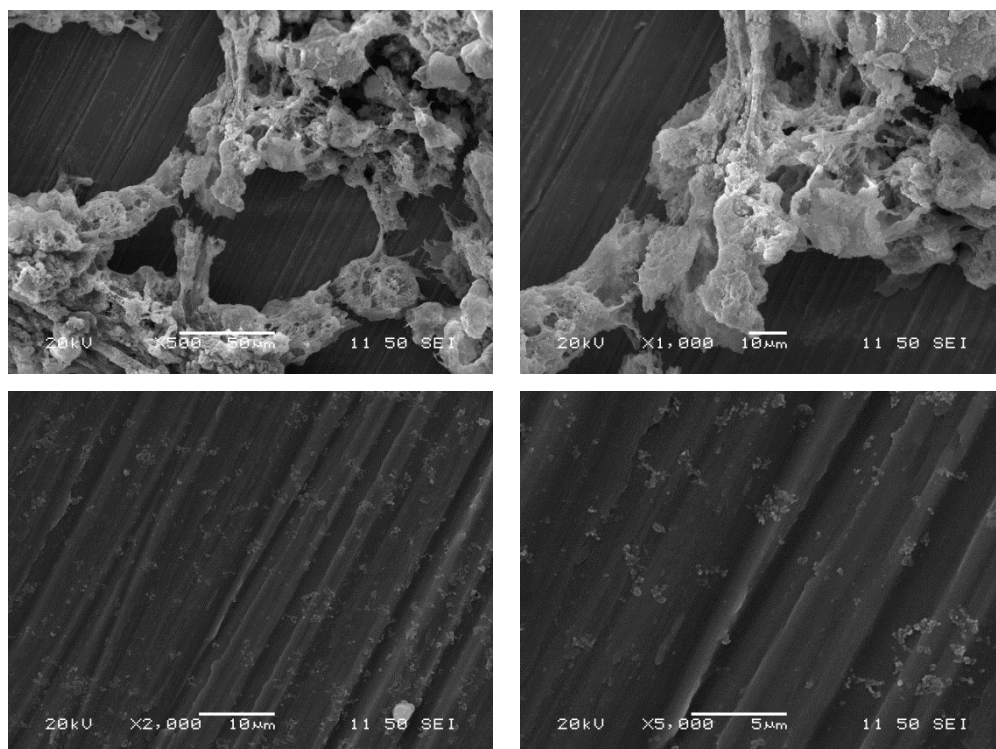
Στις (Εικόνες 3.1.1., 3.1.2., 3.1.3.) παρουσιάζονται οι εικόνες του SEM που λήφθηκαν από τα δοκίμια με επικάλυψη του υδροξυαπατίτη με σταγόνες, με εμφάνιση και με spin coating και λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί χωρίς χημική κατεργασία παρουσία του βιοπολυμερούς κολλαγόνο και του αμινοξέος αργινίνη (L-arginine) σε διάφορες μεγεθύνσεις. Τα συμπεράσματα που εξάγουμε από την παρατήρησή τους είναι τα ακόλουθα:

Στην εικόνα 3.1.1., παρουσιάζεται το δοκίμιο που δεν έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH, απλά έχει υποστεί λείανση στα 400 grit, μετά την επίστρωση με τη μέθοδο των σταγόνων. Παρατηρούμε ότι δεν έχει δημιουργηθεί ένα ομοιογενές στρώμα υδροξυαπατίτη. Χωρίς χημική επεξεργασία δεν μπορεί να γίνει πρόσδεση του υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια του δοκιμίου με αποτέλεσμα ο υδροξυαπατίτης απλά να έχει καθίσει πάνω στο τιτάνιο.



**Εικόνα 3.1.1.:** Δοκίμια με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί χωρίς χημική κατεργασία, με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

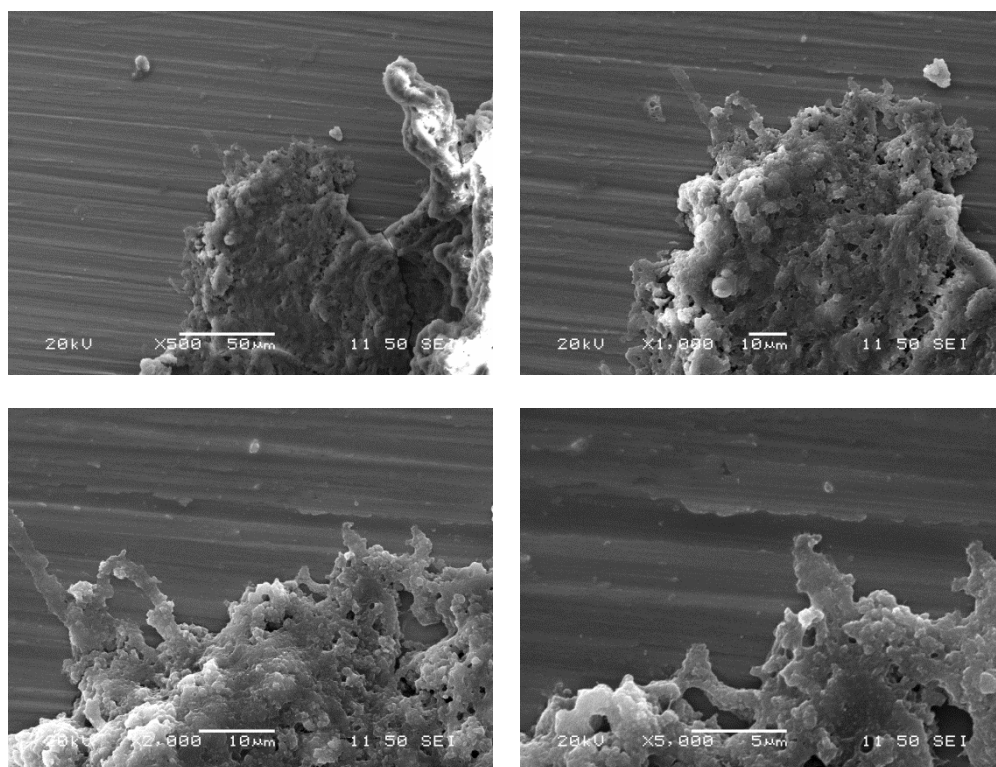
Στην εικόνα 3.1.2., στο δοκίμιο που επίσης δεν έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH και η επικάλυψη έχει γίνει με εμβάπτιση παρατηρείται παρόμοια συμπεριφορά με το δοκίμιο που έχει επικαλυφθεί με τη μέθοδο των σταγόνων, δηλαδή δεν υπάρχει κάποιο πορώδες δίκτυο ώστε να αναπτυχθεί ο υδροξυαπατίτης και να δημιουργηθεί μια ομοιόμορφη επικάλυψη.



**Εικόνα 3.1.2.:** Δοκίμια με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί χωρίς χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης.

Στην εικόνα 3.1.3., στο δοκίμιο παρατηρείται πάλι ότι η επικάλυψη με spin coating, εμφάνισε τα ίδια αποτελέσματα όπως και με τις άλλες δύο μεθόδους που παρουσιάστηκαν πιο πάνω: η επικάλυψη, δηλαδή, είναι ατελής.

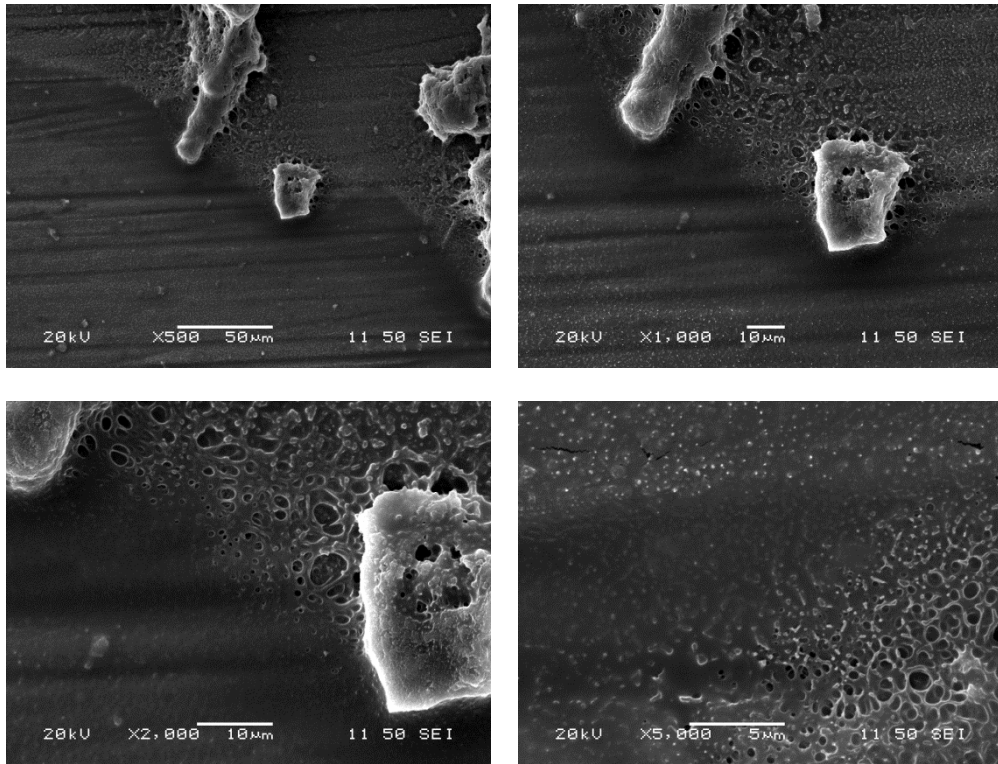




**Εικόνα 3.1.3.:** Δοκίμια με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί χωρίς χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating.

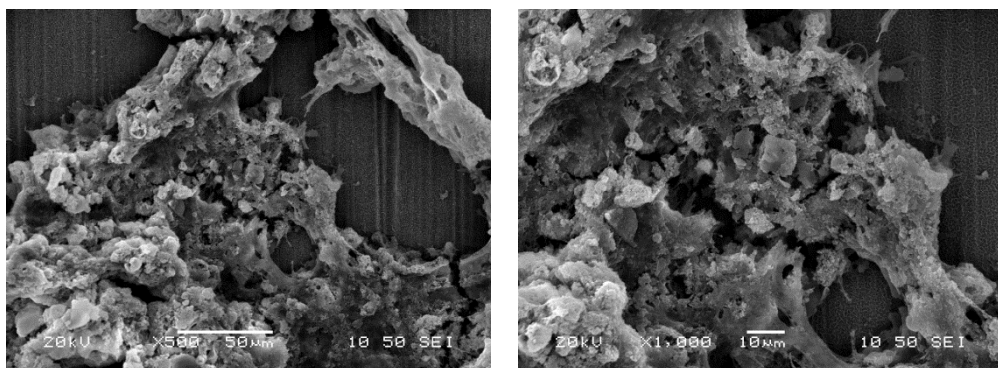
Στις (Εικόνες 3.1.4., 3.1.5., 3.1.6) παρουσιάζονται οι εικόνες του SEM, σε διάφορες μεγεθύνσεις, που λήφθηκαν από τα δοκίμια με τους τρεις ίδιους τρόπους επικαλύψεων του υδροξυαπατίτη δηλαδή με σταγόνες, με εμβάπτιση και με spin coating, λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, αλλά αυτή τη φορά με χημική κατεργασία NaOH. Τα συμπεράσματα που εξάγουμε από την παρατήρησή τους είναι τα ακόλουθα:

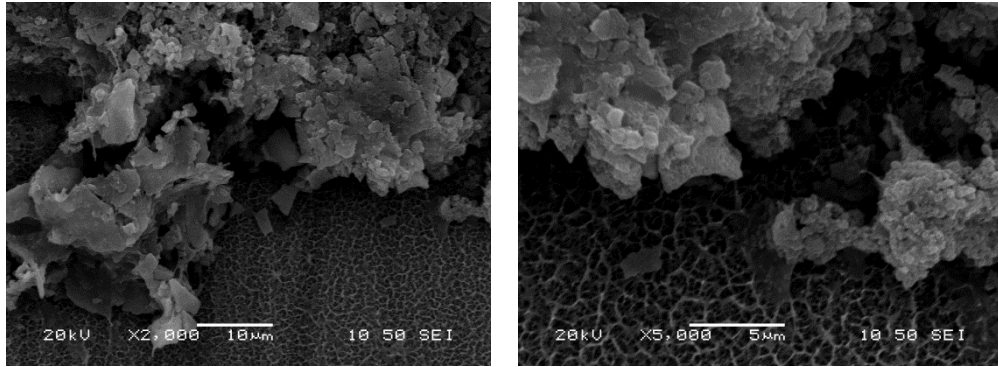
Στην εικόνα 3.1.4., στο δοκίμιο που έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH και επικάλυψη με σταγόνες έχει δημιουργηθεί ένα στρώμα υδροξυαπατίτη, που εμφανίζει όμως ατέλειες και ασυνέχειες. Με τη χημική κατεργασία με NaOH αναπτύχθηκε ένα πορώδες δίκτυο, το οποίο επέτρεψε στον υδροξυαπατίτη, εν μέρει, να επικαλύψει το δοκίμιο.



**Εικόνα 3.1.4.:** Δοκίμια με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων

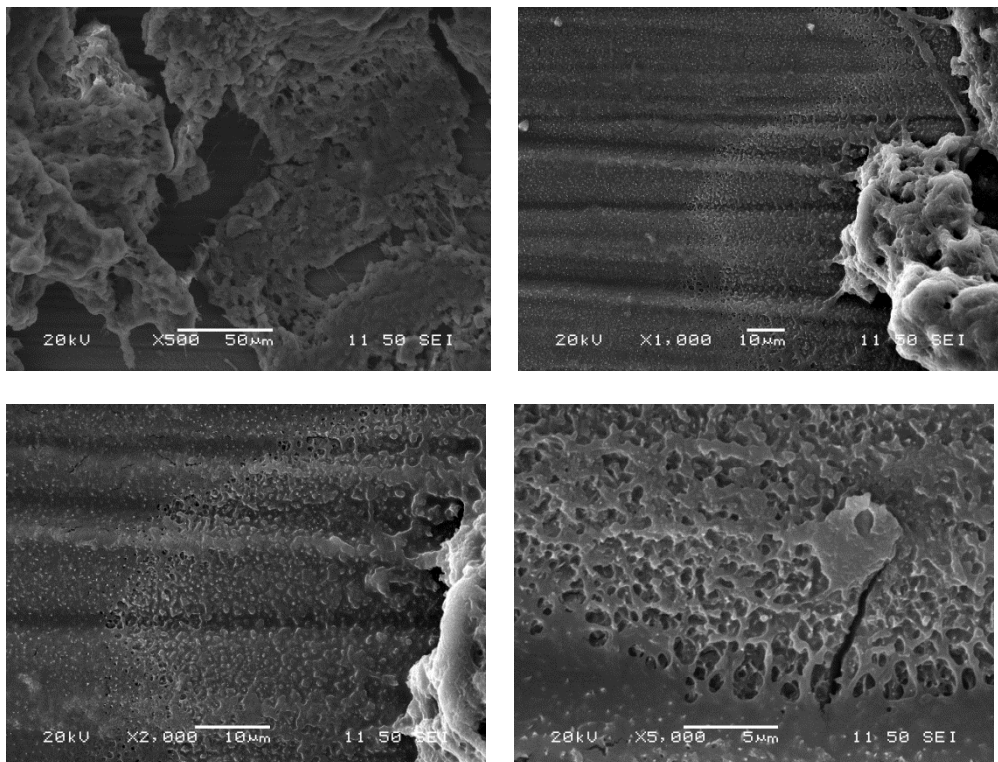
Στην εικόνα 3.1.5., στο δοκίμιο που έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH και έχουμε επικάλυψη με εμφάνιση παρατηρείται ότι ο υδροξυαπατίτης έχει επικαλυφθεί τοπικά, σε πολύ λίγες περιοχές.





**Εικόνα 3.1.5.:** Δοκίμια με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης.

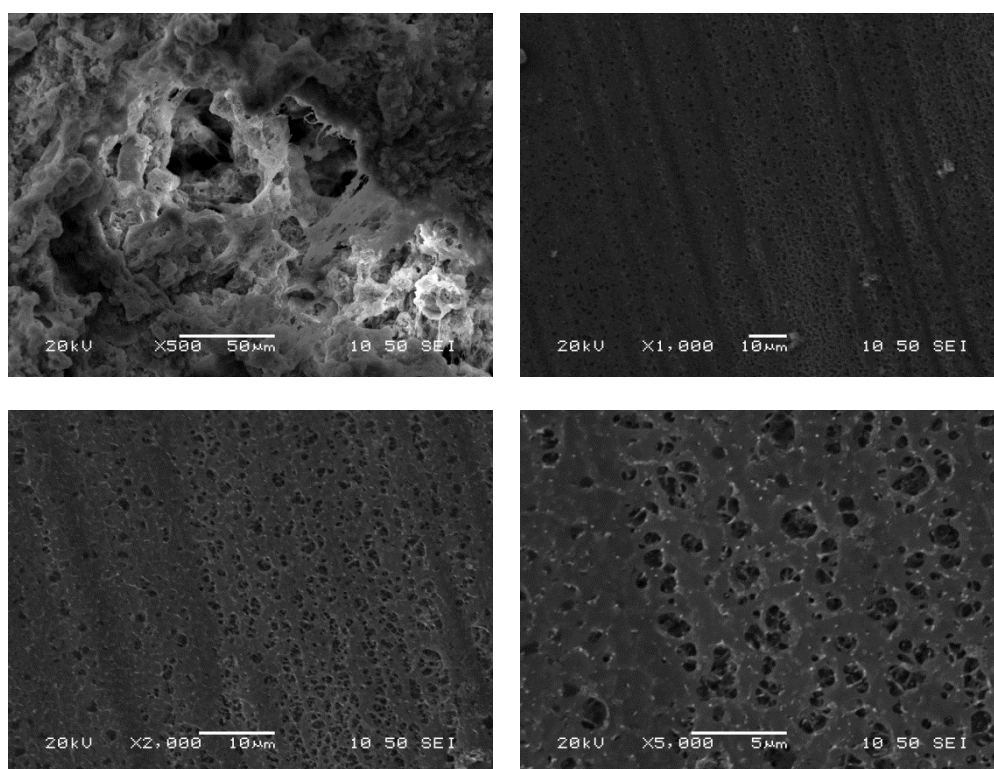
Στην εικόνα 3.1.6., ομοίως στο δοκίμιο που έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH και έχουμε επικάλυψη με spin coating παρατηρούνται τα ίδια φαινόμενα, δηλαδή έχουμε τοπικές επικαλύψεις, σε λίγο μεγαλύτερες περιοχές.



**Εικόνα 3.1.6.:** Δοκίμια με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating

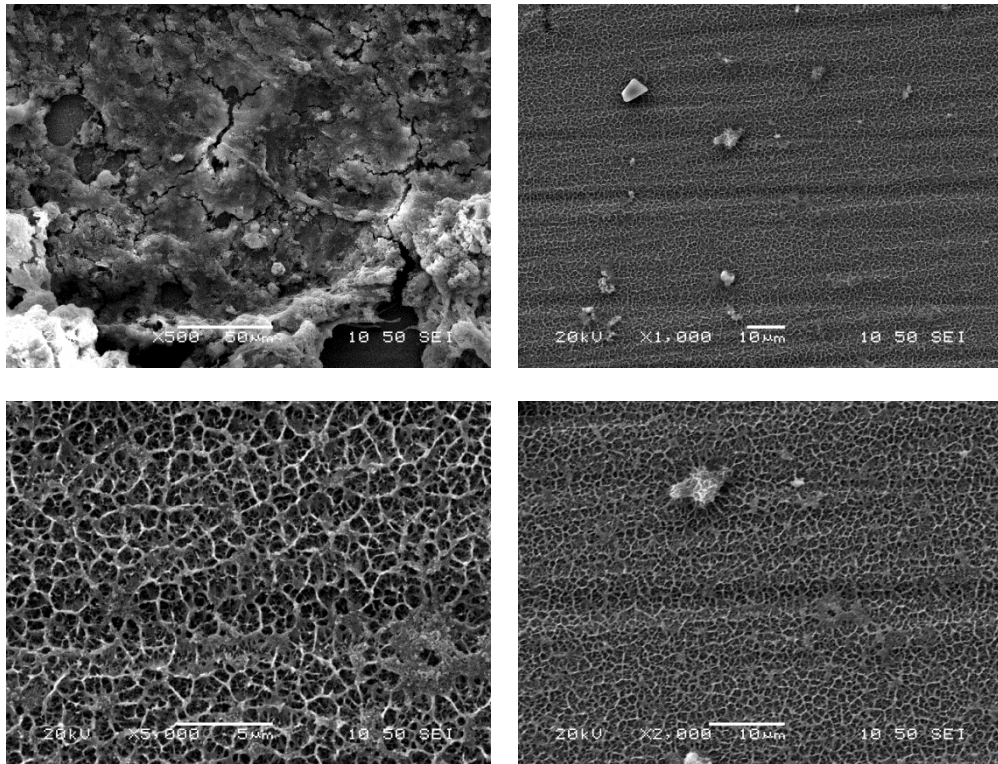
Στις Εικόνες 3.1.7., 3.1.8., 3.1.9. παρουσιάζονται σε διάφορες μεγεθύνσεις οι φωτογραφίες από το SEM που λήφθηκαν από τα δοκίμια με επικάλυψη του υδροξυαπατίτη με σταγόνες, με εμβάπτιση και με spin coating και λείανση στα 800 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία NaOH.

Τα συμπεράσματα που εξάγονται από την παρατήρηση της εικόνας 3.1.7., στο δοκίμιο με χημική επεξεργασία και επικάλυψη με την μέθοδο των σταγόνων, είναι ότι η επικάλυψη που έχει δημιουργηθεί συνεχίζει να έχει ατέλειες αλλά έχει δημιουργήσει ένα λεπτό στρώμα.



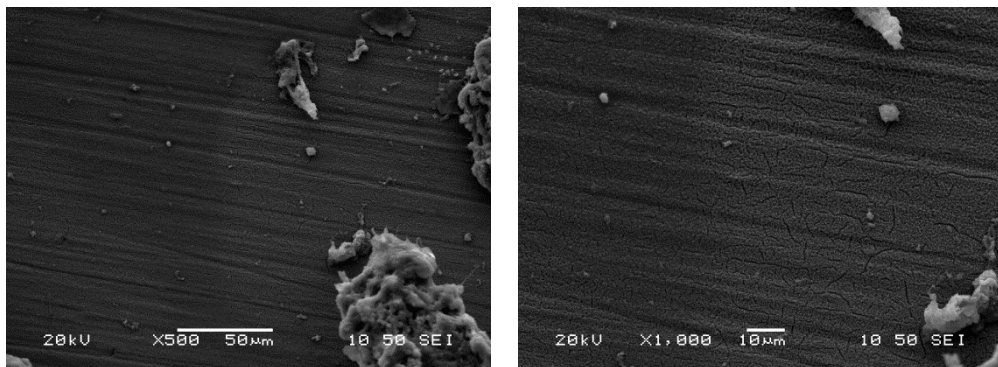
**Εικόνα 3.1.7.:** Δοκίμια με λείανση στα 800 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

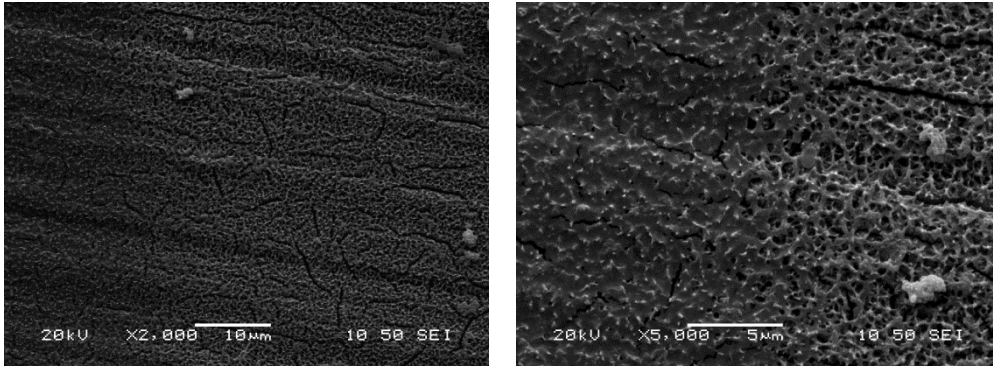
Στην εικόνα 3.1.8., στο δοκίμιο που έχει υποστεί την ίδια χημική κατεργασία με NaOH και το ίδιο επίπεδο λείανσης αλλά η επικάλυψη έχει γίνει με εμβάπτιση παρατηρείται περιορισμένη ανάπτυξη του υδροξυαπατίτη διότι το μεγαλύτερο μέρος του τιτανίου δεν έχει επικαλυφθεί.



**Εικόνα 3.1.8.:** Δοκίμια με λείανση στα 800 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης

Στην εικόνα 3.1.9., στο δοκίμιο που πραγματοποιείται η τρίτη κατά σειρά μέθοδος επικάλυψης με τα ίδια χαρακτηριστικά, το spin coating, παρατηρείται ότι στο δοκίμιο έχει δημιουργηθεί μια ομοιόμορφη στρώση υδροξυαπατίτη. Εμφανίζονται, όμως, κάποιες ρωγμές στο στρώμα του υδροξυαπατίτη.

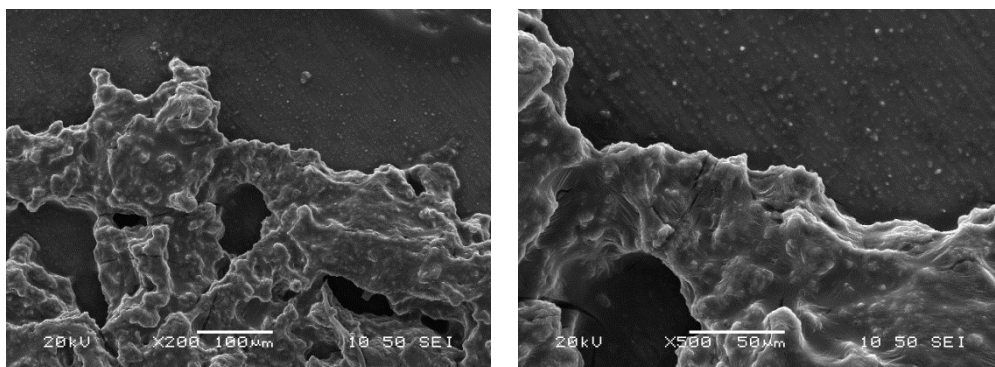


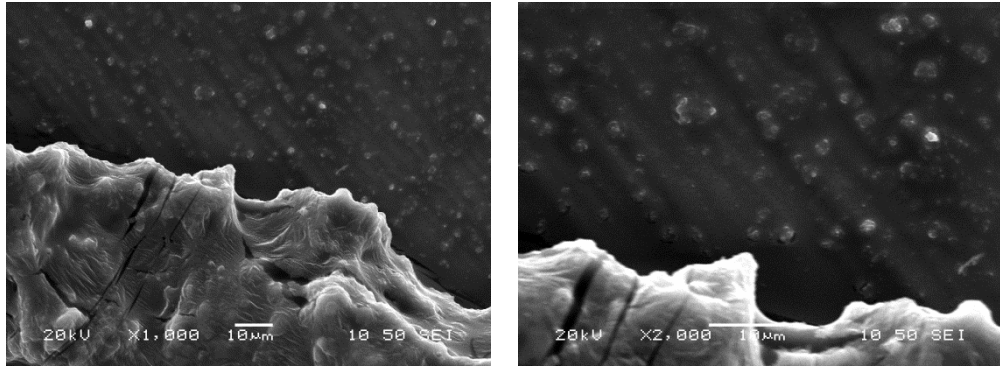


**Εικόνα 3.1.9.:** Δοκίμια με λείανση στα 800 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating.

Στις (Εικόνες 3.1.10., 3.1.11., 3.1.12) παρουσιάζονται οι εικόνες του SEM που λήφθηκαν από τα δοκίμια με επικάλυψη του υδροξυαπατίτη με σταγόνες, με εμφύσηση και με spin coating και λείανση στα 1000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία NaOH σε διάφορες μεγεθύνσεις. Τα συμπεράσματα που εξάγουμε από την παρατήρησή τους είναι τα ακόλουθα:

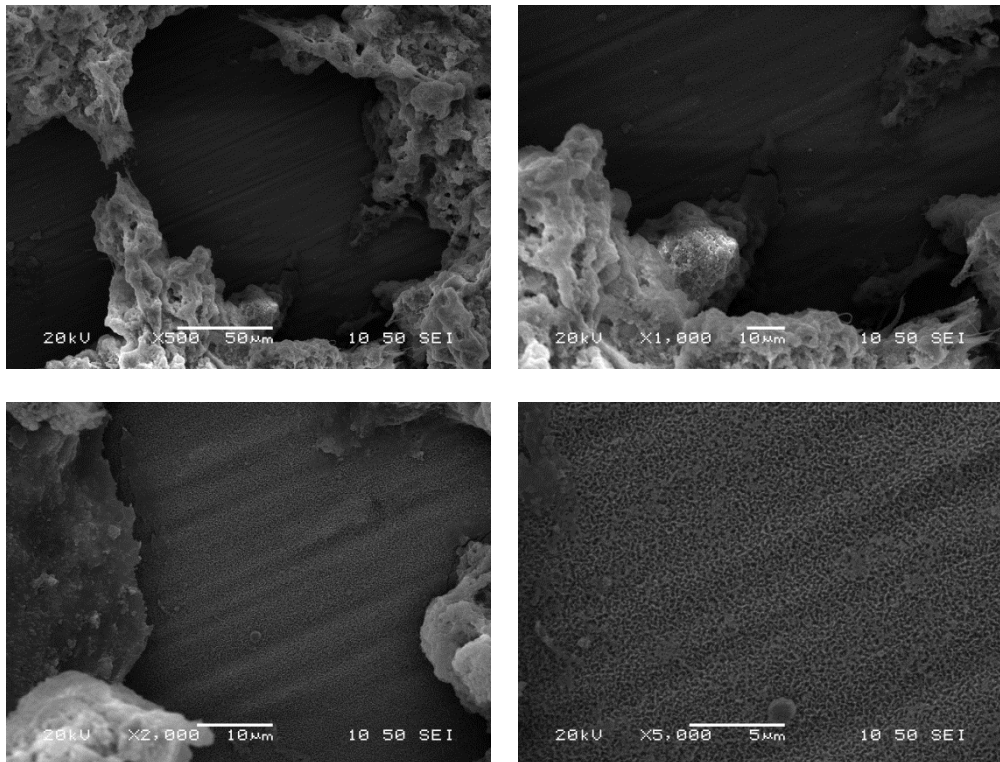
Όσο προχωράει η λείανση των δοκιμίων σε μεγαλύτερο μεταλλογραφικό χαρτί, η τραχύτητα άρα η ποιότητα της επιφάνειας των δοκιμίων θα βελτιώνεται, οπότε στην εικόνα 3.1.10., οι ατέλειες και οι ασυνέχειες των επικαλύψεων έχουν αρχίσει να βελτιώνονται αισθητά στη μέθοδο των σταγόνων. Το δοκίμιο εμφανίζει σχεδόν πλήρη επικάλυψη.





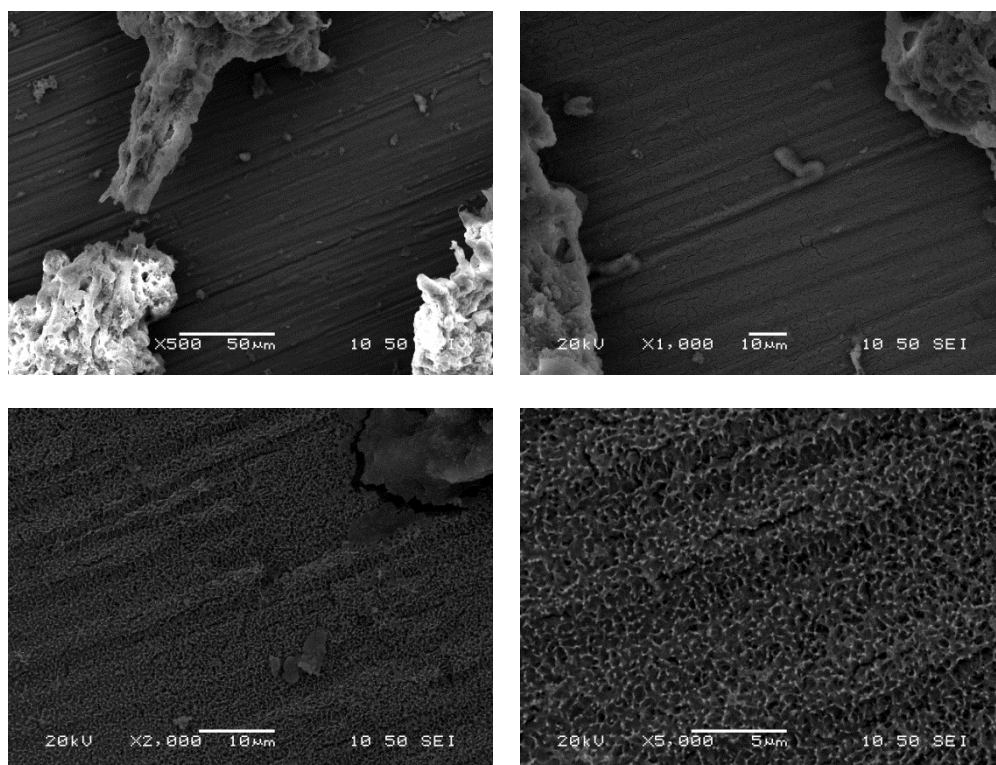
**Εικόνα 3.1.10.:** Δοκίμια με λείανση στα 1000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

Στην εικόνα 3.1.11., ακόμα και στην περίπτωση της εμβάπτισης παρατηρείται βελτίωση της επικάλυψης του υδροξυαπατίτη στο δοκίμιο τιτανίου, που συγκριτικά με τις άλλες μεθόδους δεν έχει εμφανίσει τόσο ομοιόμορφες επικαλύψεις στην επιφάνεια του δοκιμίου.



**Εικόνα 3.1.11.:** Δοκίμια με λείανση στα 1000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης.

Στην εικόνα 3.1.12., στο δοκίμιο που έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH στα 1000 grit μεταλλογραφικού χαρτιού και έχει επικαλυφθεί με spin coating παρατηρείται ότι η επίστρωση έχει καθίσει πάνω στο δοκίμιο ομοιόμορφα δημιουργώντας μια στρώση υδροξυαπατίτη με λιγότερες ατέλειες, αλλά και στη συγκεκριμένη περίπτωση έχουν δημιουργηθεί κάποιες ρωγμές.



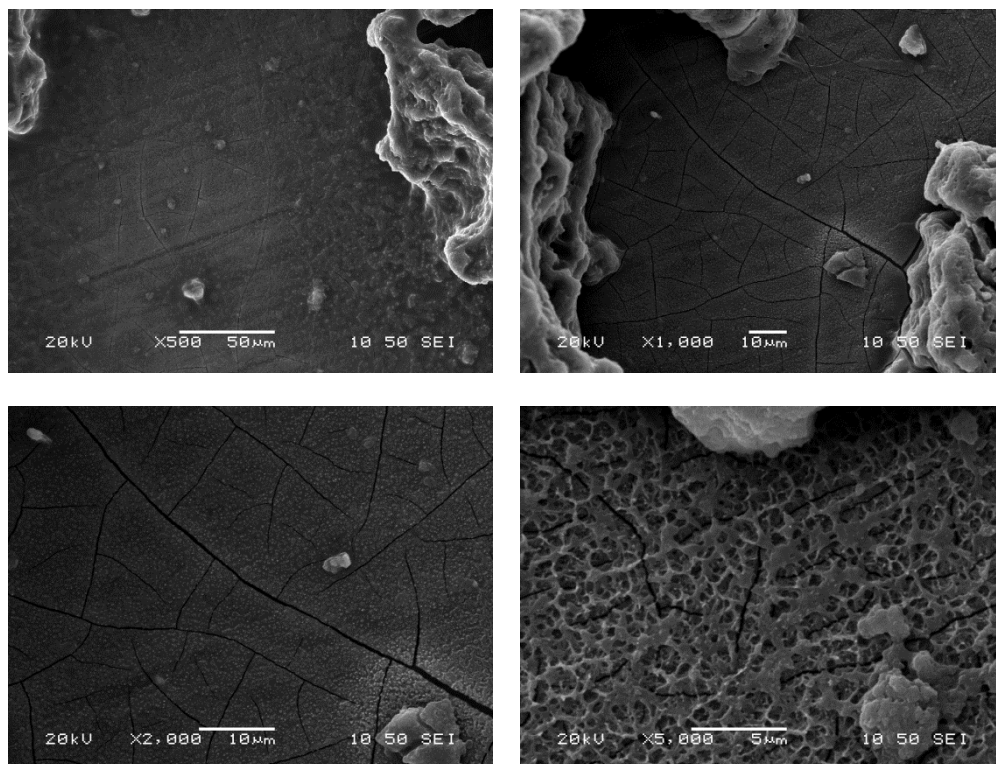
**Εικόνα 3.1.12.:** Δοκίμια με λείανση στα 1000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating

Στις Εικόνες 3.1.13, 3.1.14., 3.1.15. παρουσιάζονται οι φωτογραφίες του SEM που λήφθηκαν από τα δοκίμια με τις τρεις διαφορετικές μεθόδους επικάλυψης του υδροξυαπατίτη και λείανση στα 2000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC)



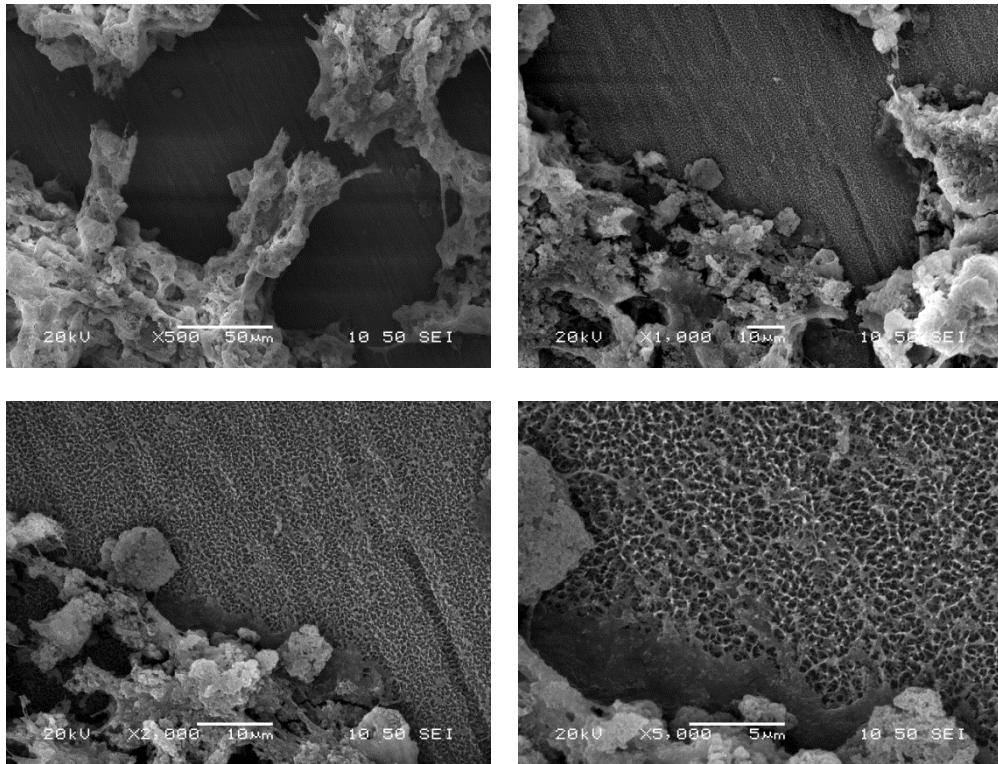
μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία NaOH σε διάφορες μεγεθύνσεις. Τα συμπεράσματα που εξάγονται από την παρατήρησή τους είναι τα ακόλουθα:

Στην εικόνα 3.1.13., παρατηρείται ότι δεν υπάρχουν πια τοπικές επικαλύψεις αλλά έχει δημιουργηθεί ένα ομοιόμορφο στρώμα υδροξυαπατίτη σε όλη σχεδόν την επιφάνεια του δοκιμίου, χωρίς ατέλειες. Παρ'όλα αυτά και σε αυτό το δοκίμιο έχουν δημιουργηθεί μεγαλύτερες ρωγμές στην επικάλυψη, το οποίο έχει επικαλυφθεί με τη μέθοδο σταγόνων.



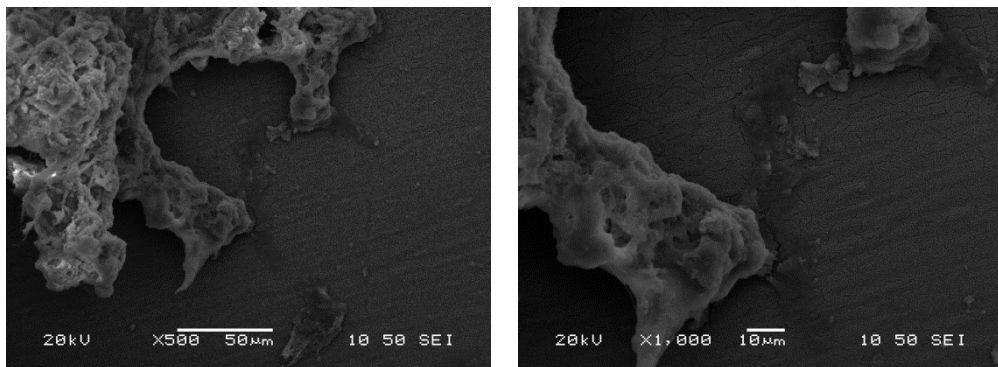
**Εικόνα 3.1.13.:** Δοκίμια με λείανση στα 2000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων

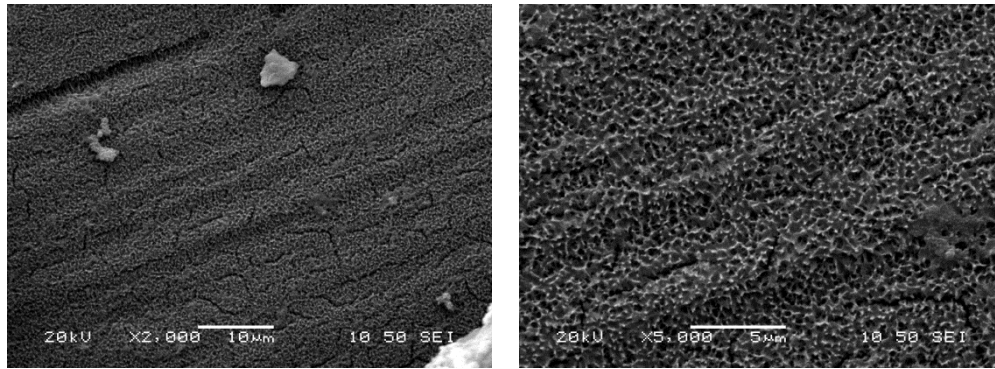
Στην εικόνα 3.1.14., ακόμα και στη μέθοδο της εμβάπτισης παρατηρείται ότι έχουν μειωθεί οι ατέλειες των επικαλύψεων του υδροξυαπατίτη. Επίσης, στη μέθοδο αυτή δεν εμφανίζονται ρωγμές.



**Εικόνα 3.1.14.:** Δοκίμια με λείανση στα 2000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης.

Στην εικόνα 3.1.15., στο δοκίμιο που έχει υποστεί χημική κατεργασία με NaOH και επικάλυψη με spin coating μπορεί να βγει το συμπέρασμα ότι η επικάλυψη είναι ομοιόμορφη σε όλη την επιφάνεια του τιτανίου. Πάλι, όμως, έχουν δημιουργηθεί κάποιες μικρές ρωγμές στην επικάλυψη.

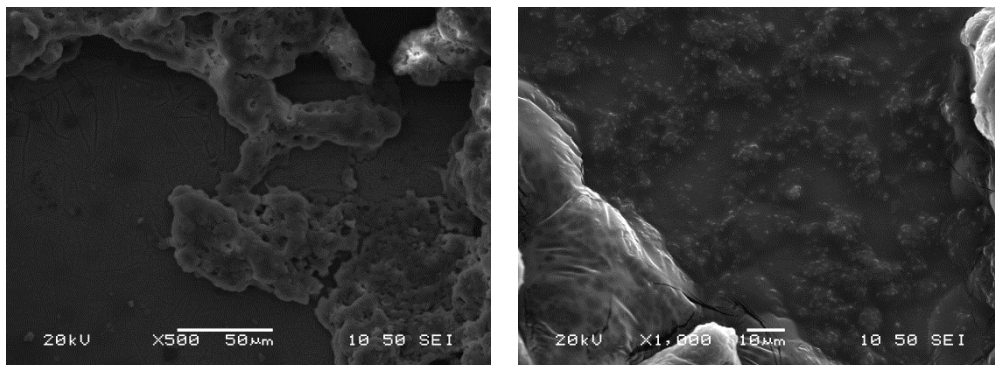


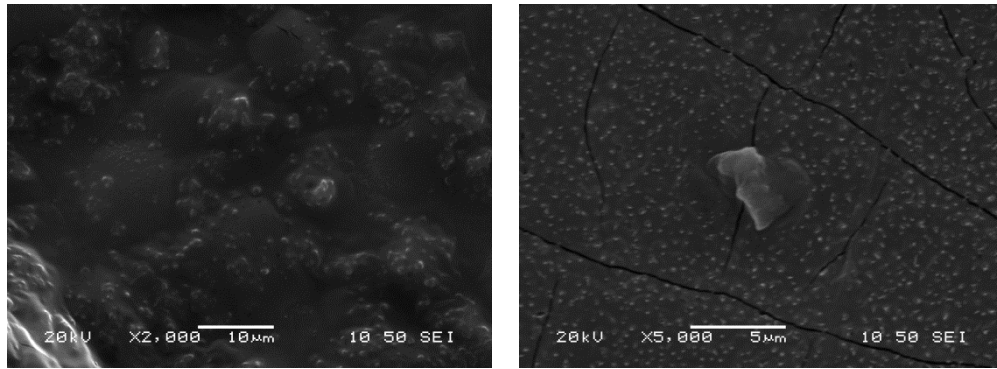


**Εικόνα 3.1.15.:** Δοκίμια με λείανση στα 2000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating.

Στις Εικόνες 3.1.16, 3.1.17, 3.1.18 παρουσιάζονται οι φωτογραφίες του SEM που λήφθηκαν από τα δοκίμια με επικάλυψη του υδροξυαπατίτη με σταγόνες, με εμφύσηση και με spin coating και λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία NaOH σε διάφορες μεγεθύνσεις. Τα συμπεράσματα που εξάγουμε από την παρατήρησή τους είναι τα ακόλουθα:

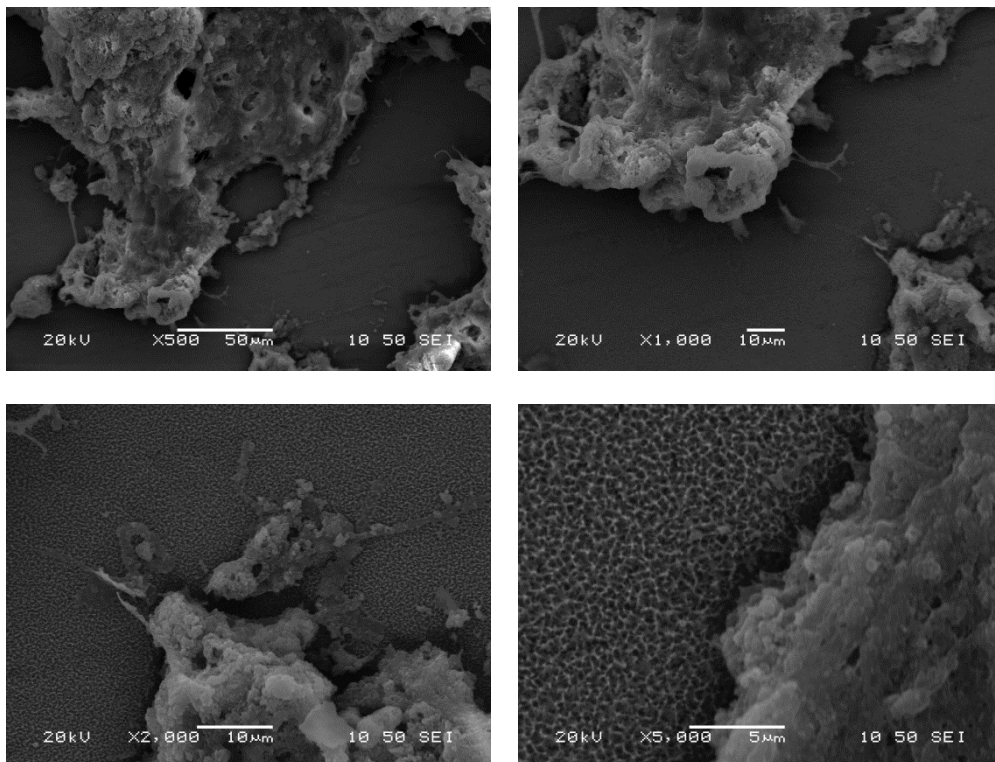
Στην εικόνα 3.1.16., η λείανση του τιτανίου έχει φτάσει στα 4000 grit του μεταλλογραφικού χαρτιού, δηλαδή στην προστίλβωση του δοκιμίου. Επομένως, στην επιφάνεια του δοκιμίου έχουν εξαλειφθεί οι ανωμαλίες και τα οξείδια που μπορεί να υπήρχαν. Έτσι με τη μέθοδο των σταγόνων, στο σημείο αυτό, παρατηρείται ότι η επικάλυψη είναι ομοιόμορφη χωρίς σημαντικές ατέλειες και ασυνέχειες. Και σε αυτήν την περίπτωση εμφανίζονται ρωγμές.





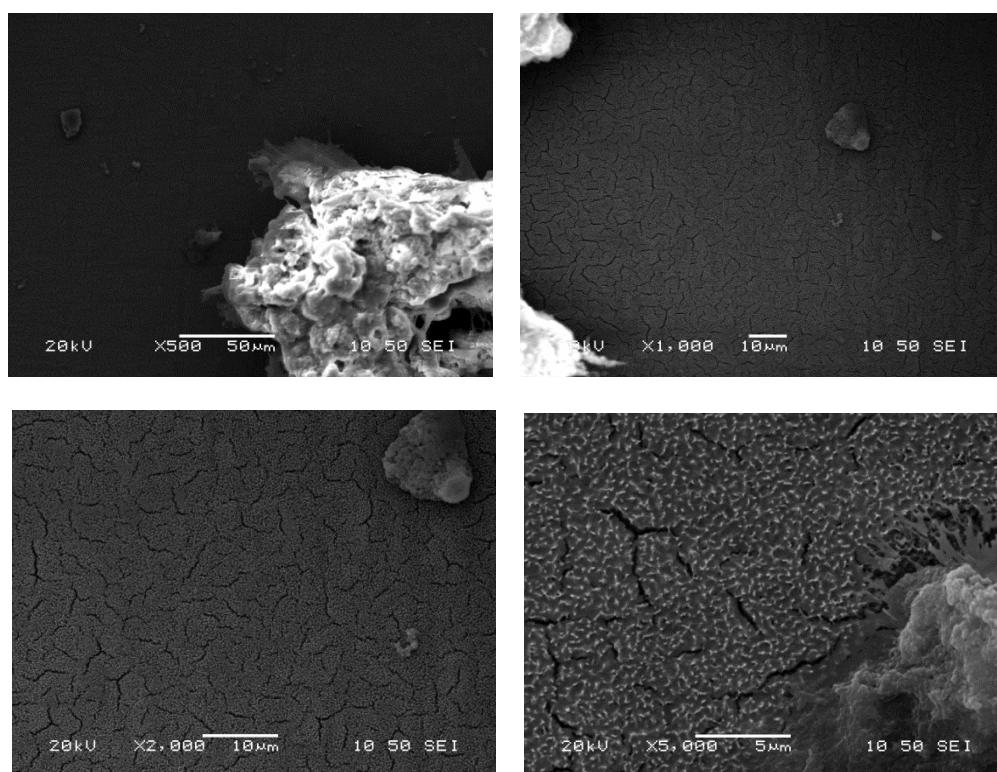
**Εικόνα 3.1.16.:** Δοκίμια με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων

Στην εικόνα 3.1.17., επίσης το δοκίμιο έχει υποστεί προστίλβωση και έχει επικαλυφθεί με τη μέθοδο της εμβάπτισης. Το συμπέρασμα που βγαίνει είναι ότι ο υδροξυαπατίτης έχει επικαλυφθεί ομοιόμορφα. Παραμένουν, όμως, κάποια κενά και το στρώμα που έχει δημιουργηθεί είναι πολύ λεπτό.



**Εικόνα 3.1.17.:** Δοκίμια με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης.

Στην εικόνα 3.1.18., στο δοκίμιο που έχει πραγματοποιηθεί επικάλυψη με spin coating και προστίλβωση παρατηρείται ότι έχει επικαλυφθεί ένα στρώμα υδροξυαπατίτη σε όλη την επιφάνεια του, χωρίς ασυνέχειες. Για ακόμα μια φορά παρατηρούνται ρωγμές στον υδροξυαπατίτη.

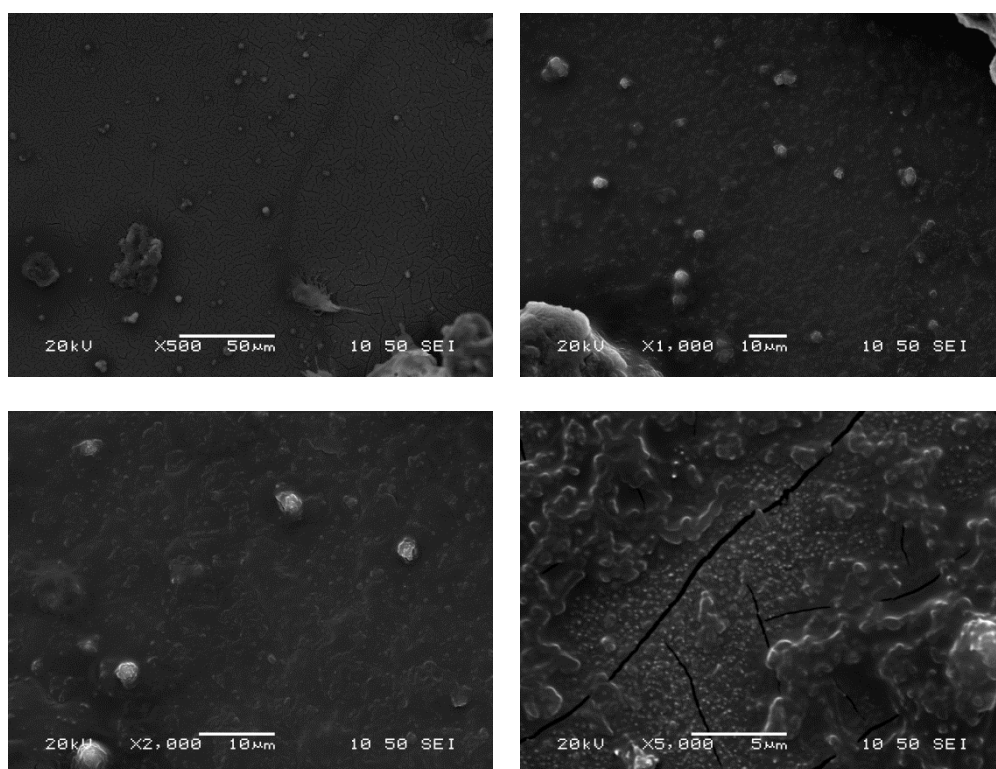


**Εικόνα 3.1.18.:** Δοκίμια με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating.

Στις Εικόνες 3.1.19., 3.1.20., 3.1.21. παρουσιάζονται, σε διάφορες μεγενθύνσεις, οι φωτογραφίες του SEM που λήφθηκαν από τα δοκίμια με επικάλυψη του υδροξυαπατίτη με σταγόνες, με εμβάπτιση και με spin coating, μετά από λείανση στα 4000 grit SiC μεταλλογραφικό χαρτί ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση σε ένα πανί γυαλίσματος με τη χρήση κολλοειδούς SiO<sub>2</sub> (0,04 μm) και χημική

κατεργασία NaOH. Τα συμπεράσματα που εξάγουμε από την παρατήρησή τους είναι τα ακόλουθα:

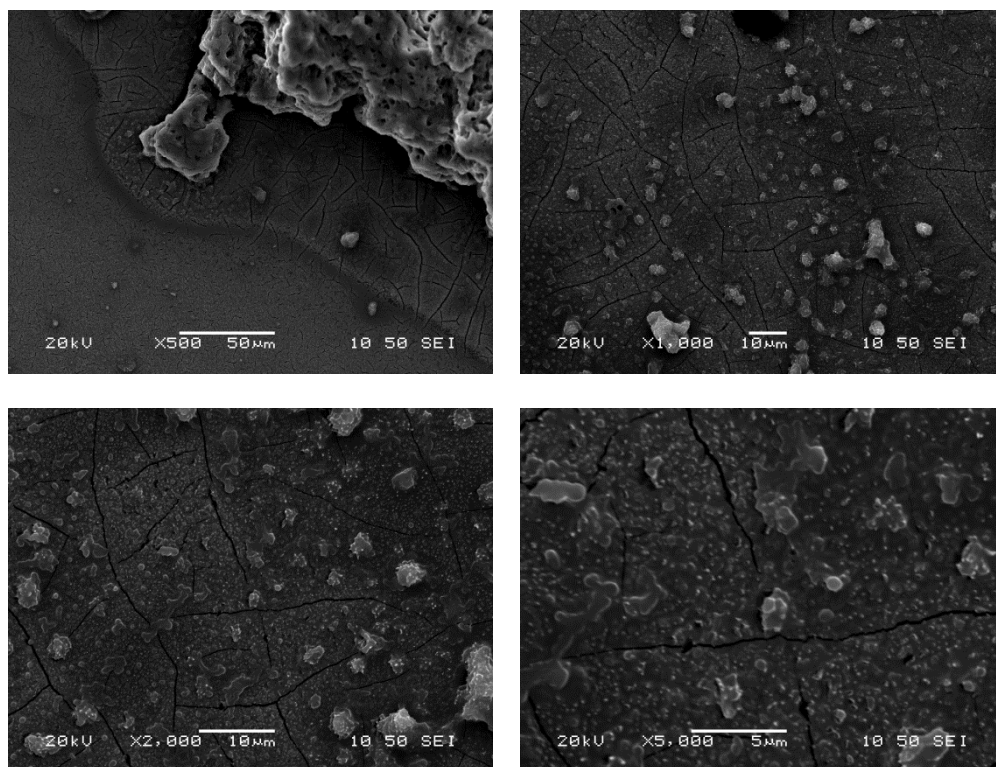
Στην εικόνα 3.1.19., επειδή το δοκίμιο εκτός από λείανση στα 4000 grit μεταλλογραφικού χαρτιού, έχει υποστεί και στίλβωση, έχει τελειοποιηθεί και η επιφάνεια έχει μεγάλη ανακλαστικότητα σαν καθρέφτης. Έτσι στη μέθοδο των σταγόνων παρατηρείται ένα ομοιόμορφο στρώμα υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια του δοκιμίου χωρίς ασυνέχειες, μόνο κάποιες μικρές ρωγμές. Με τη στίλβωση, έχει απομακρυνθεί οποιαδήποτε ανωμαλία ή οξειδίο που μπορεί να υπήρχε στην επιφάνεια και με την χημική κατεργασία έχει δημιουργηθεί ένα πορώδες δίκτυο το οποίο επέτρεψε την πρόσδεση του υδροξυαπατίτη με αποτέλεσμα την ομοιόμορφη επίστρωσή του.



**Εικόνα 3.1.19.:** Δοκίμια με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση με χημική κατεργασία και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

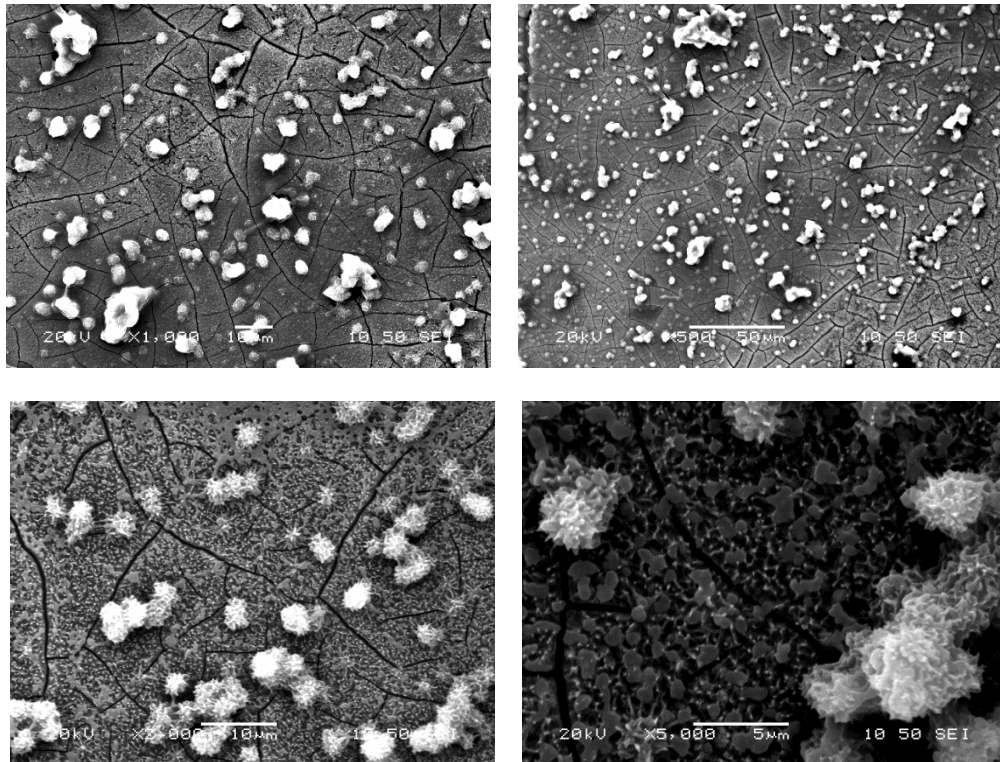
Στην εικόνα 3.1.20., στη μέθοδο της εμβάπτιση, παρατηρείται ότι ο υδροξυαπατίτης έχει σε γενικές γραμμές επικαλυφθεί σχετικά ομοιόμορφα, όμως, σε

τοπικά σημεία εμφανίζονται κενά, τα οποία δεν έχουν επικαλυφθεί. Επίσης, συγκριτικά με τις άλλες μεθόδους η επικάλυψη έχει ατέλειες και ρωγμές.



**Εικόνα 3.1.20.:** Δοκίμια με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση με χημική κατεργασία και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο της εμβάπτισης.

Στην εικόνα 3.1.21., στο δοκίμιο που έχει πραγματοποιηθεί επικάλυψη με spin coating παρατηρείται ότι στην επιφάνεια του δοκιμίου μας έχει δημιουργηθεί ένα ομοιόμορφο δίκτυο υδροξυαπατίτη αλλά στη επικάλυψη έχουν δημιουργηθεί μεγάλες και πυκνές ρωγμές.



**Εικόνα 3.1.21.:** Δοκίμια με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση με χημική κατεργασία και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating.

Τέλος, συγκρίνοντας τις παραπάνω τρεις διαφορετικές μεθόδους επικάλυψης, από τις εικόνες του SEM, τα συμπεράσματα που λήφθηκαν, στα διαφορετικά στάδια λείανσης και τελικής στίλβωσης ακολουθούμενες από χημική κατεργασία καταλήγουν στο ίδιο πράγμα, ότι στη μέθοδο με τις σταγόνες και στο spin coating είχαν δημιουργηθεί ομοιόμορφες επικαλύψεις, με τη μέθοδο των σταγόνων να υπερτερεί ελαφρά. Ειδικά, όσον αφορά τα δοκίμια, που έχουν λειανθεί από τα 1000 grit και μετά, έχουν αρχίσει να εμφανίζουν τα αποτελέσματα που επιθυμούμε. Παρακάτω, θα αναλυθούν και άλλες παράμετροι, για να ελεγχθεί κατά πόσο αυτές οι δύο μέθοδοι επικάλυψης, που θεωρήθηκαν ως βέλτιστες, επιφέρουν στην πραγματικότητα τα επιθυμητά αποτελέσματα.

### 3.1.1. Αντοχή σε Υδατικό Περιβάλλον

Στην προηγούμενη παράγραφο, θεωρήθηκαν ως βέλτιστες μέθοδοι επικαλύψεων, οι οποίες επιφέρουν τα επιθυμητά αποτελέσματα, η μέθοδος των



σταγόνων (dropwise) και η μέθοδος spin coating. Έτσι, μία παράμετρος, που μπορεί να ελεγχθεί, για την ενίσχυση των παραπάνω αποτελεσμάτων είναι η αντοχή των επικαλύψεων σε υδατικό περιβάλλον, των δοκιμίων με τις δύο συγκεκριμένες μεθόδους επικαλύψεων. Θέλοντας να δούμε δηλαδή πόση καλή είναι η πρόσφυση του υλικού στο δοκίμιο όταν έρχεται σε επαφή με το νερό, ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία. Έτσι, μετρήθηκε το αρχικό βάρος κάθε δοκιμίου, το οποίο φαίνεται στον Πίνακα 4. Έπειτα τοποθετήθηκε το κάθε ένα ξεχωριστά μέσα σε νερό για 48h και αφού τα δοκίμια υπέστησαν ξήρανση για κάποιες ώρες, ξαναμετρήθηκε το βάρος για να βρεθεί η διαφορά και η απώλεια του υλικού που υπήρχε εξαρχής, συνεπώς και πόσο καλή πρόσφυση είχε κάνει το υλικό. Για να έχουμε καλύτερα αποτελέσματα υπολογίστηκε η απώλεια σε ποσοστό.

<b>Δοκίμια</b>	<b>Αρχική Μάζα Ti</b>	<b>Τελική Μάζα Ti</b>	<b>Ποσοστό (%) απώλειας</b>
<b>400 (No)D</b>	0,5741 g	0,5698 g	0,43
<b>400 (No)S</b>	0,4838 g	0,4805 g	0,33
<b>400 D</b>	0,3006 g	0,2999 g	0,07
<b>400 S</b>	0,2958 g	0,2949 g	0,09
<b>800 D</b>	0,6617 g	0,6508 g	1,09
<b>800 S</b>	0,4594 g	0,4571 g	0,23
<b>1000 D</b>	0,4152 g	0,4123 g	0,29
<b>1000 S</b>	0,3944 g	0,3925 g	0,19
<b>2000 D</b>	0,4511 g	0,4483 g	0,28
<b>2000 S</b>	0,4492 g	0,4455 g	0,37
<b>4000 D</b>	0,2428 g	0,2408 g	0,2
<b>4000 S</b>	0,2828 g	0,2815 g	0,13
<b>Στίλβωση D</b>	0,3719 g	0,3683 g	0,36
<b>Στίλβωση S</b>	0,4415 g	0,4386 g	0,29

**Πίνακας 4.** Απώλεια Υδροξυαπατίτη σε Υδατικό Περιβάλλον (No=χωρίς χημική επεξεργασία, D=επικάλυση με σταγόνες, S=spin coating).

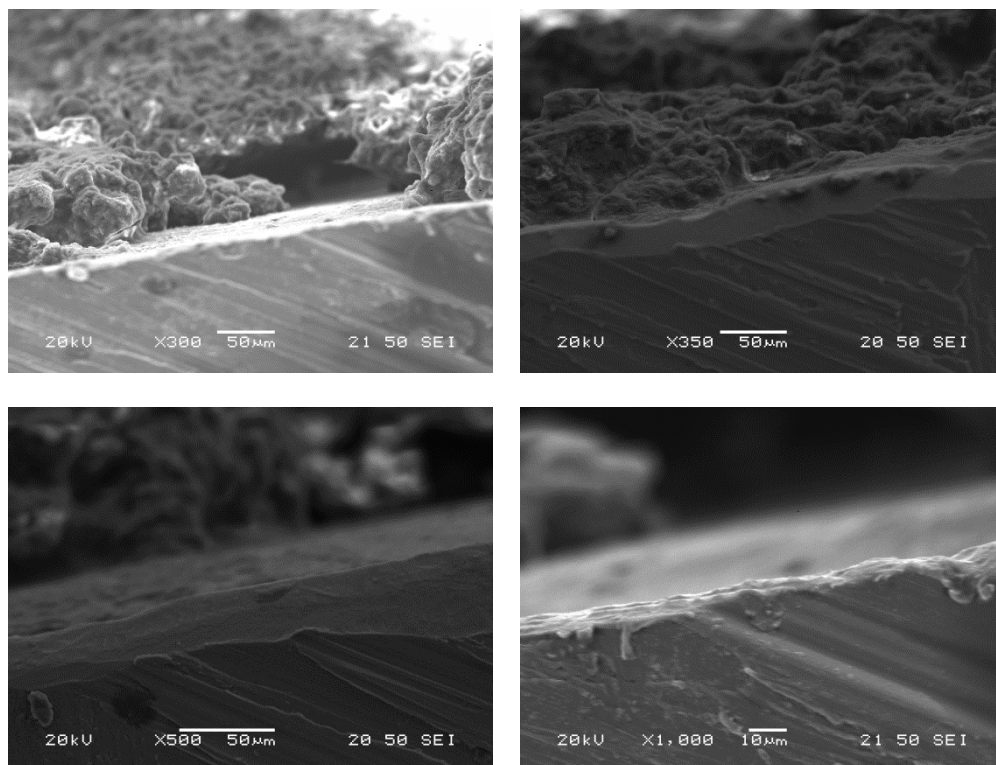
Παρατηρείται ότι η απώλεια του υδροξυαπατίτη στα διάφορα δοκίμια, σε γενικές γραμμές, είναι μικρή. Τα δοκίμια με την μικρότερη απώλεια είναι τα 400 D, 400 S, 4000 S, 1000S και 4000D, η πρόσφυση επομένως σε αυτά τα δοκίμια είναι καλύτερη σε σχέση με τα υπόλοιπα δοκίμια που είχαν μεγαλύτερη απώλεια υδροξυαπατίτη. Επίσης, τις μικρότερες απώλειες είχε η μέθοδος spin coating. Παρ' όλα αυτά, τα ποσοστά δεν εμφανίζουν σημαντικές μεταβολές απώλειας για να πούμε ότι δεν έχει γίνει καλή πρόσφυση του υδροξυαπατίτη, ούτε μπορούμε να θεωρήσουμε τη μέθοδο spin coating καλύτερη από τη μέθοδο των σταγόνων με αυτό τον τρόπο. Συμπεραίνεται, λοιπόν, ότι και οι δύο αυτές μέθοδοι δίνουν καλά αποτελέσματα.

### **3.1.2. Πάχος επικάλυψης υδροξυαπατίτη σε τιτάνιο**

Μια άλλη παράμετρος, που μπορεί να εξεταστεί, είναι το πάχος της επικάλυψης του υδροξυαπατίτη. Με αυτό τον τρόπο, ελέγχεται εν μέρει αν έχει γίνει παντού πρόσφυση του υδροξυαπατίτη, πόσο παχύ ή λεπτό στρώμα έχει δημιουργηθεί και τελικά αν το συμπέρασμα που βγήκε από τις εικόνες του SEM προηγουμένως, επιβεβαιώνεται. Παρακάτω, παρατίθενται οι εικόνες του SEM, οι οποίες λήφθηκαν από κάθετη τομή των δοκιμίων, για τα δοκίμια που έχουν (α) λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί χωρίς χημική κατεργασία, (β) λείανση στα 400 έως 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί με χημική κατεργασία NaOH, και (γ) λείανση στα 4000 grit SiC χαρτί με χημική κατεργασία NaOH ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση. Όλα τα δοκίμια έχουν επικαλυφθεί με την μέθοδο των σταγόνων, η οποία θεωρήθηκε η βέλτιστη μέθοδος επικαλύψεων σύμφωνα με τα συμπεράσματα των εικόνων SEM, από την προηγούμενη παράγραφο.

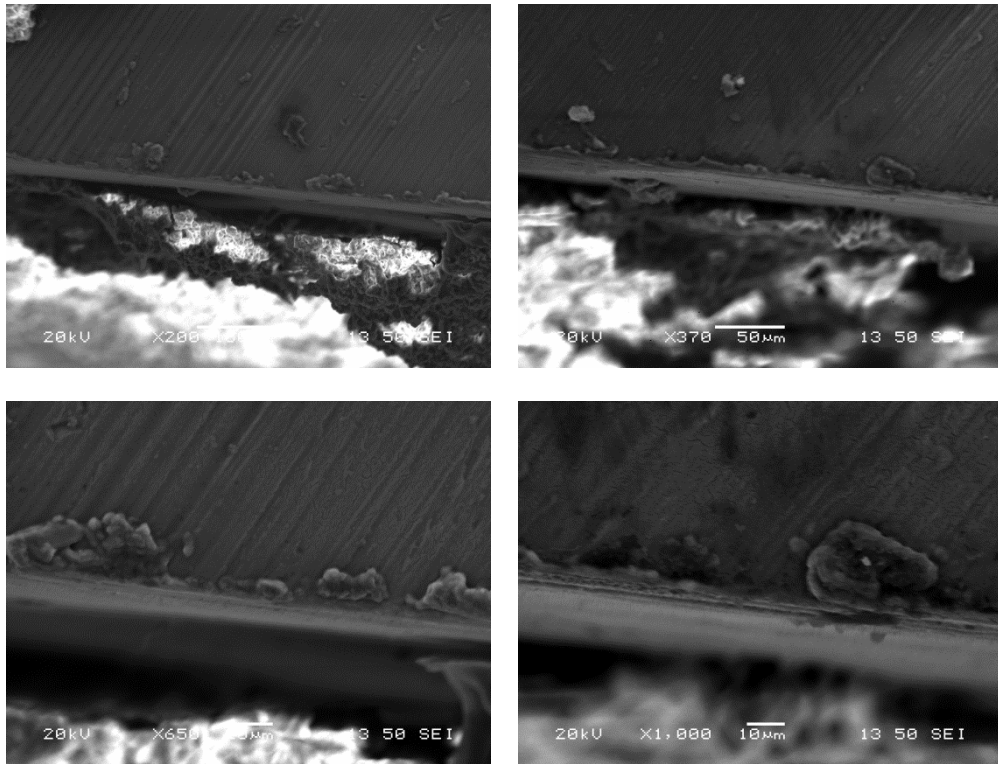
Στην εικόνα 3.1.2.1., παρουσιάζεται το δοκίμιο, το οποίο έχει υποστεί λείανση στα 400 grit χωρίς χημική επεξεργασία. Η επικάλυψη υδροξυαπατίτη έγινε με σταγόνες. Στην περίπτωση αυτή, παρατηρείται ότι ο υδροξυαπατίτης δεν έχει κάνει καμία πρόσφυση στο τιτάνιο, μόνο σε κάποια μικρά τοπικά σημεία φαίνεται να έχει κάνει μια πολύ μικρή πρόσφυση. Γενικότερα, φαίνεται απλά το υλικό να έχει καθήσει

πάνω στο δοκίμιο του τιτανίου το οποίο δεν είχε κάποιο πορώδες δίκτυο για να αναπτυχθεί ο υδροξυαπατίτης. Επομένως, δεν μπορεί να υπολογιστεί κάποιο πάχος από τον υδροξυαπατίτη.



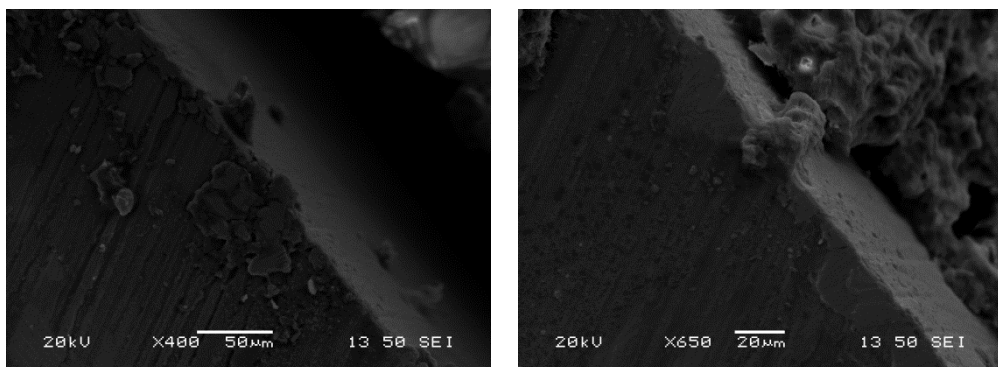
**Εικόνα 3.1.2.1.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, χωρίς χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

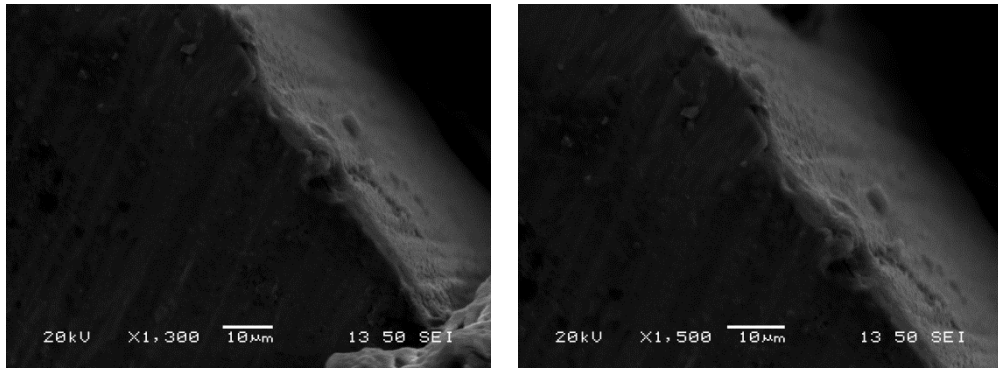
Στην Εικόνα 3.1.2.2., στο δοκίμιο που παρουσιάζεται, το οποίο έχει υποστεί λείανση στα 400 grit και χημική επεξεργασία με NaOH, έχει αρχίσει να δημιουργείται τοπικά ένα λεπτό στρώμα υδροξυαπατίτη. Παραμένει, όμως, ατελής η επικάλυψη γιατί δεν έχει δημιουργηθεί στρώμα υδροξυαπατίτη σε όλη την επιφάνεια του δοκιμίου, αλλά παρουσιάζει μεγάλα κενά. Το πάχος σ' αυτό το δοκίμιο κυμαίνεται περίπου στα 1-2  $\mu\text{m}$ .



**Εικόνα 3.1.2.2.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 400 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, με χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

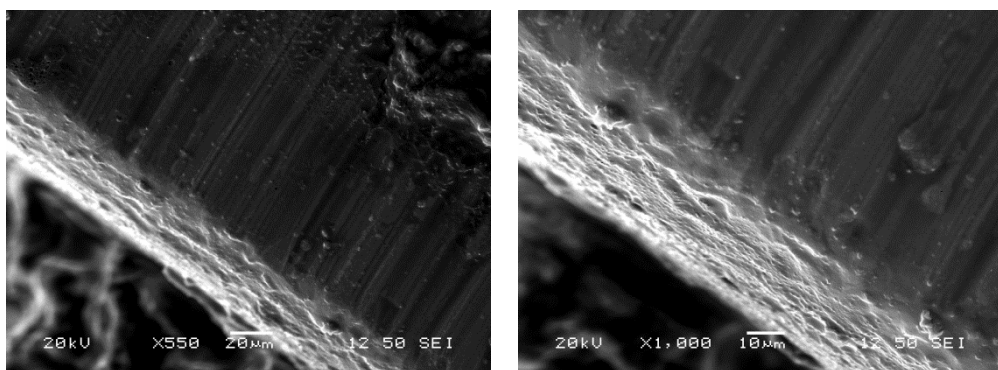
Στην συνέχεια, στην Εικόνα 3.1.2.3., στο δοκίμιο, που έχει υποστεί λείανση 800 grit και χημική κατεργασία με NaOH, παρατηρείται ότι έχει δημιουργηθεί ένα λεπτό στρώμα υδροξυαπατίτη σε μεγάλο μέρος της επιφάνειας του τιτανίου. Παρ' όλα αυτά παρουσιάζονται κάποια κενά. Το πάχος, εδώ, είναι περίπου 2-3 μm.

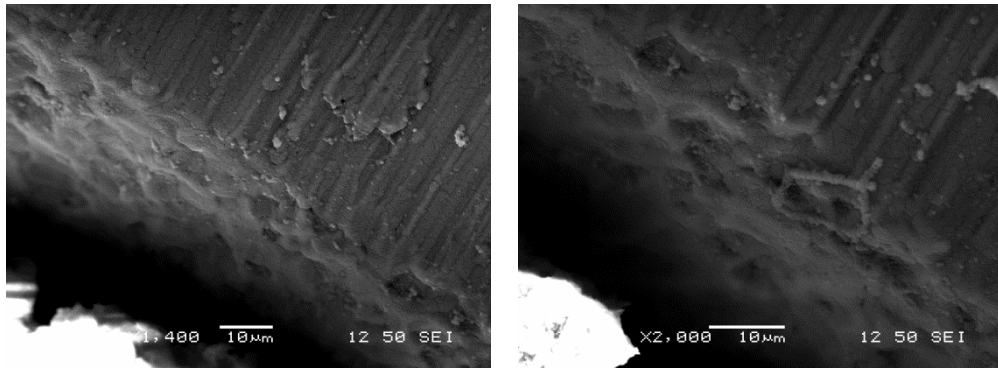




**Εικόνα 3.1.2.3.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 800 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, με χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

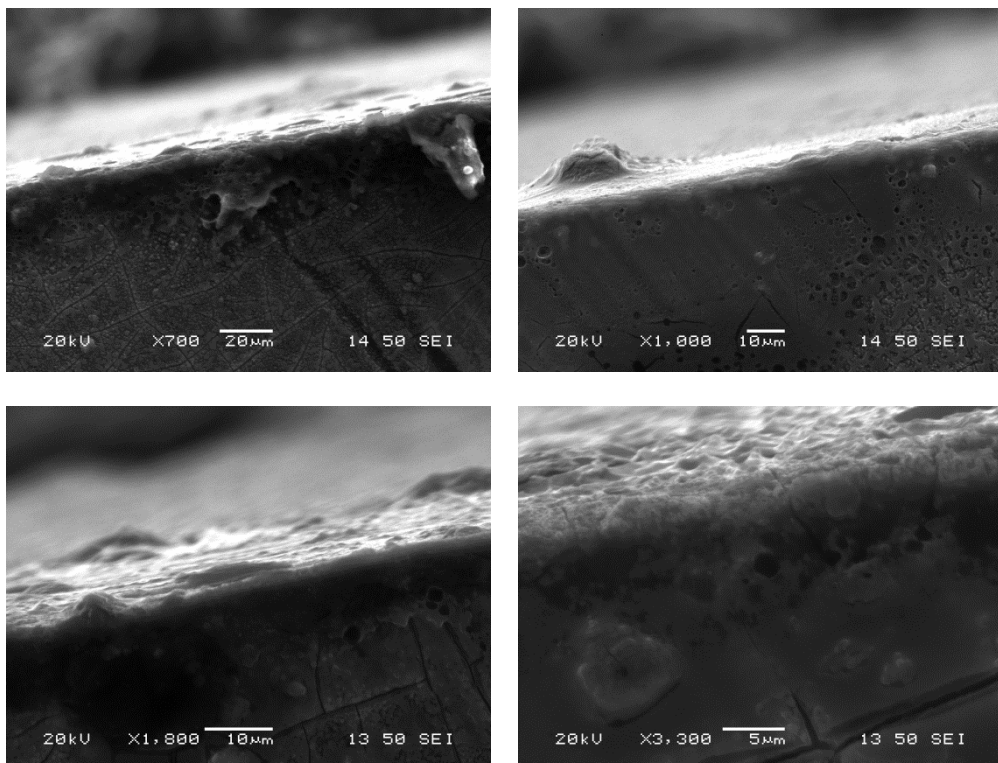
Στο δοκίμιο (Εικόνα 3.1.2.4.) το οποίο έχει υποστεί λείανση στα 1000 grit και χημική κατεργασία με NaOH έχει δημιουργηθεί ένα ομοιόμορφο στρώμα υδροξυαπατίτη σχεδόν σε όλη την επιφάνεια του δοκιμίου. Αυτό δείχνει, ότι χάρις στο πορώδες δίκτυο που είχε δημιουργηθεί με την χημική επεξεργασία, κατάφερε ο υδροξυαπατίτης να αναπτυχθεί και να εμφανίσει ένα ομοιογενές, σχετικά παχύ, στρώμα στην επιφάνεια του τιτανίου. Είναι τόσο ομοιόμορφη η επικάλυψη που έχει γίνει σχεδόν ένα με το τιτάνιο. Παρ' όλα αυτά, παρατηρείται και από την κάθετη τομή, να εμφανίζονται ρωγμές στην επικάλυψη. Το πάχος, στην συγκεκριμένη επικάλυψη, κυμαίνεται στα ~6-7 µm.





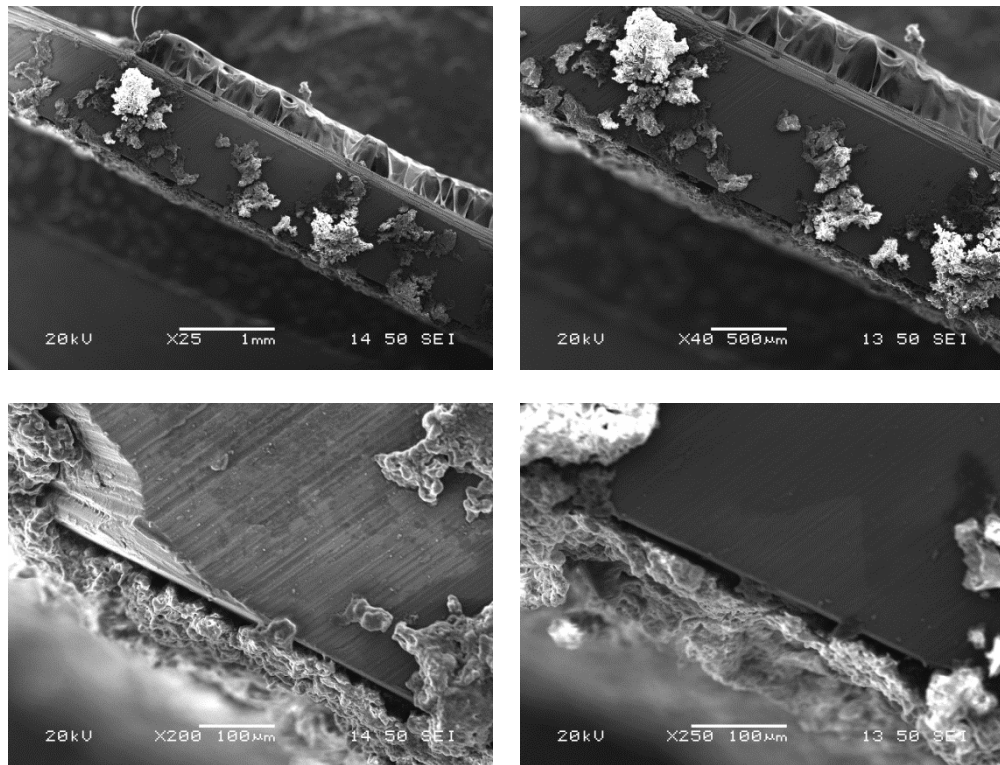
**Εικόνα 3.1.2.4.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 1000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, με χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

Το επόμενο δοκίμιο, στην Εικόνα 3.1.2.5., το οποίο παρατηρήθηκε στο SEM και το οποίο έχει υποστεί λείανση στα 2000 grit και χημική επεξεργασία με NaOH, εμφανίζει, κι αυτό, ένα ομοιογενές στρώμα επικάλυψης υδροξυαπατίτη στο δοκίμιο τιτανίου. Έχει καλύψει σχεδόν όλη την επιφάνεια του δοκιμίου με ένα σχετικά παχύ στρώμα υδροξυαπατίτη, πάχους ~8µm. Τέλος, και σε αυτή την επικάλυψη δημιουργούνται ρωγμές.



**Εικόνα 3.1.2.5.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 2000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, με χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

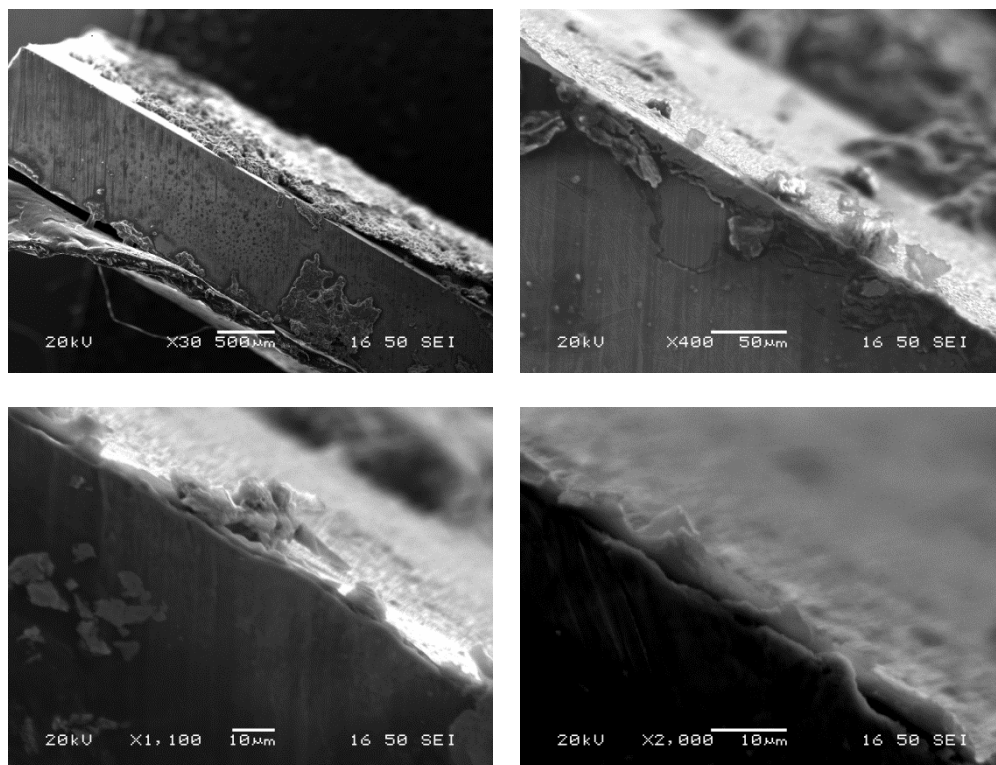
Στην εικόνα 3.1.2.6., στο δοκίμιο, το οποίο έχει υποστεί λείανση στα 4000 grit, το οποίο θεωρείται προστίλβωση, και χημική κατεργασία με NaOH, παρατηρείται ένα ομοιόμορφο στρώμα υδροξυαπατίτη, που παρουσιάζει όμως, κάποια κενά. Στις μεγεθύνσεις x200 και x250, σε κάποια σημεία ο υδροξυαπατίτης φαίνεται σαν να μην έχει κάνει πρόσφυση στο τιτάνιο. Το πάχος του δοκιμίου είναι περίπου 2-3  $\mu\text{m}$ .



**Εικόνα 3.1.2.6.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, με χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

Τέλος, στην εικόνα 3.1.2.7., το δοκίμιο έχει υποστεί λείανση στα 4000 grit, ακολουθούμενη από τελική στίλβωση και χημική κατεργασία με NaOH και παρατηρείται ένα παχύ στρώμα υδροξυαπατίτη ( $\sim 4\mu\text{m}$ ), με σχεδόν πλήρη κάλυψη,

εκτός από τις άκρες του δοκιμίου και σε κάποια άλλα σημεία που εμφανίζονται κάποια κενά. Το δοκίμιο φέρεται να έχει πιο ομοιόμορφη επικάλυψη σε σχέση με το δοκίμιο χωρίς στίλβωση.



**Εικόνα 3.1.2.7.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση, με χημική κατεργασία NaOH και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

Σε αυτό το σημείο, συμπεραίνεται ότι στα δοκίμια τα οποία έχουν λειανθεί στα 1000 grit και 2000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί και χημική επεξεργασία με NaOH, έχει δημιουργηθεί ένα παχύ και ομοιόμορφο στρώμα υδροξυαπατίτη σχεδόν σε όλη την επιφάνεια του δοκιμίου. Σε αντίθεση, με τα δοκίμια, που έχουν λειανθεί στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί και χημική επεξεργασία με NaOH, είτε έχουν υποστεί στίλβωση είτε όχι, τα οποία δεν εμφανίζουν τόσο καλές και ομοιόμορφες επικαλύψεις. Τελικά, τα συμπεράσματα σε αυτήν την παράγραφο επιβεβαιώνουν, εν μέρει, τα προηγούμενα συμπεράσματα, δηλαδή τα δοκίμια, με λείανση στα 1000 grit



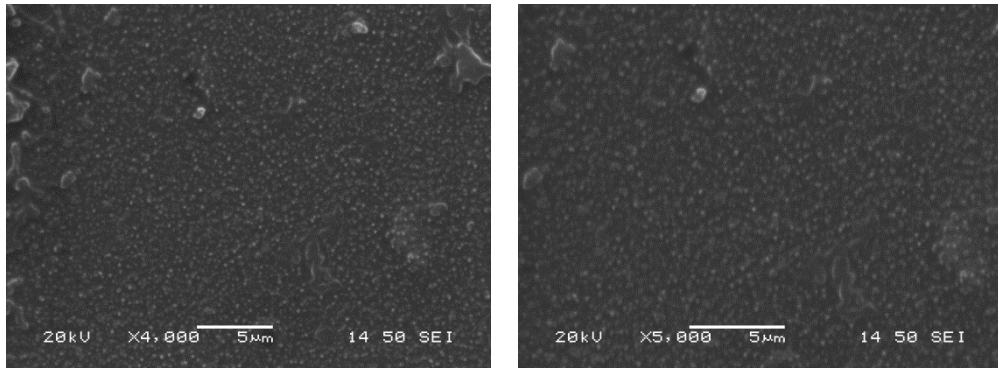
και 2000 grit, επιφέρουν το επιθυμητό αποτέλεσμα. Αυτή η συμπεριφορά θα μπορούσε να αποδοθεί περισσότερο σε χημική πρόσφυση (δημιουργία χημικού δεσμού ανάμεσα στις ελεύθερες ομάδες των οργανικών μορίων και πιθανόν στα υδροξύλια της επιφάνειας των δοκιμίων) και όχι σε μηχανική πρόσφυση. Έτσι η παρουσία ατελειών στην επιφάνεια λόγω αυξημένης τραχύτητας εμποδίζει την ομοιόμορφη ανάπτυξη του στρώματος του υδροξυαπατίτη, ενώ η λείανση στα 4000 grit και η στίλβωση εμποδίζουν την αρχική πρόσφυση του αιωρήματος μειώνοντας πάλι την πρόσφυση του τελικού επιστρώματος.

### **3.2. Επικαλύψεις υδροξυαπατίτη σε Ti με ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα**

Καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι βέλτιστες μέθοδοι επικάλυψης είναι η μέθοδος των σταγόνων και το spin coating και έχοντας απορρίψει τη μέθοδο της εμφάνισης, τα δοκίμια με το οργανοπυριτικό υλικό, τα οποία έχουν λειανθεί μέχρι 4000 grit και έχουν υποστεί στίλβωση, επικαλύφθηκαν με αυτούς τους δύο τρόπους και σχολιάστηκαν τα αποτελέσματα των εικόνων στο SEM.

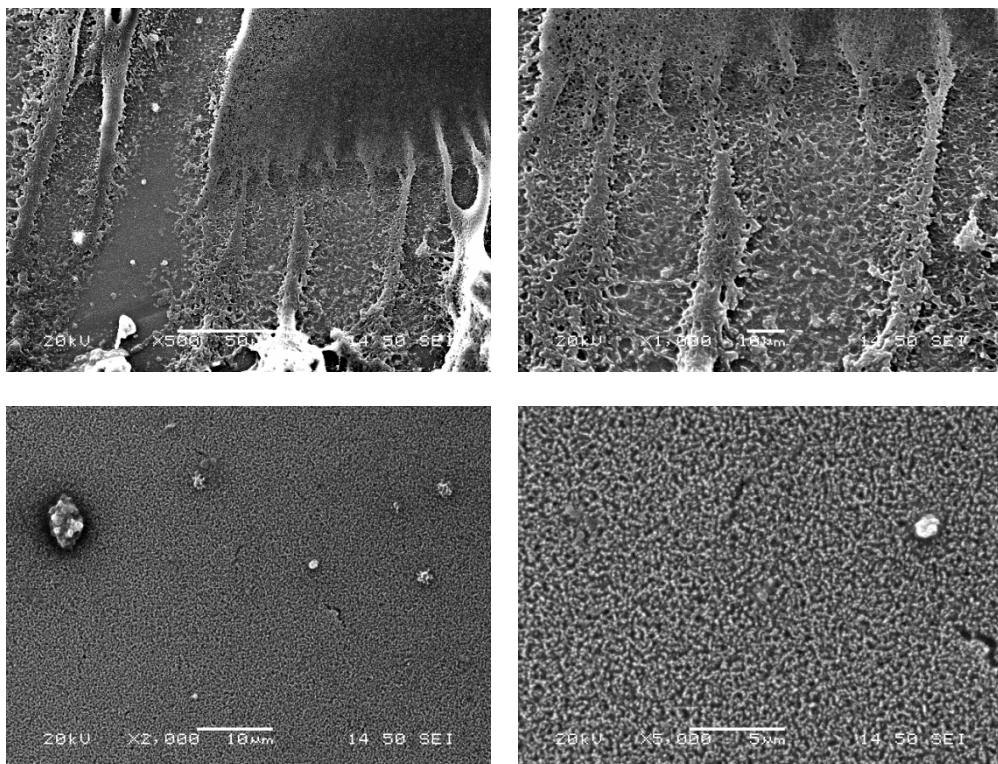
Αρχικά, ελέγχεται αν έχει αναπτυχθεί οργανοπυριτικό στρώμα σε όλη την επιφάνεια των δοκιμίων. Έτσι, με ένα δοκίμιο αναφοράς, το οποίο δεν έχει επικαλυφθεί με υδροξυαπατίτη, αλλά έχει υποστεί λείανση στα 4000 grit, στίλβωση και χημική επεξεργασία με NaOH, ελέγχουμε στο SEM αν έχει δημιουργηθεί οργανοπυριτικό στρώμα.

Όπως, προέκυψε παραπάνω από τις εικόνες του SEM, κατά την χημική επεξεργασία με NaOH έχει αναπτυχθεί ένα πορώδες δίκτυο στην επιφάνεια του δοκιμίου το οποίο επιτρέπει με την σειρά του την ανάπτυξη οργανοπυριτικού στρώματος. Έτσι, λοιπόν, το συμπέρασμα από τις εικόνες του δοκιμίου αναφοράς (εικόνα 3.2.1.) είναι ότι έχει δημιουργηθεί ένα ομοιόμορφο στρώμα οργανοπυριτικού υλικού.



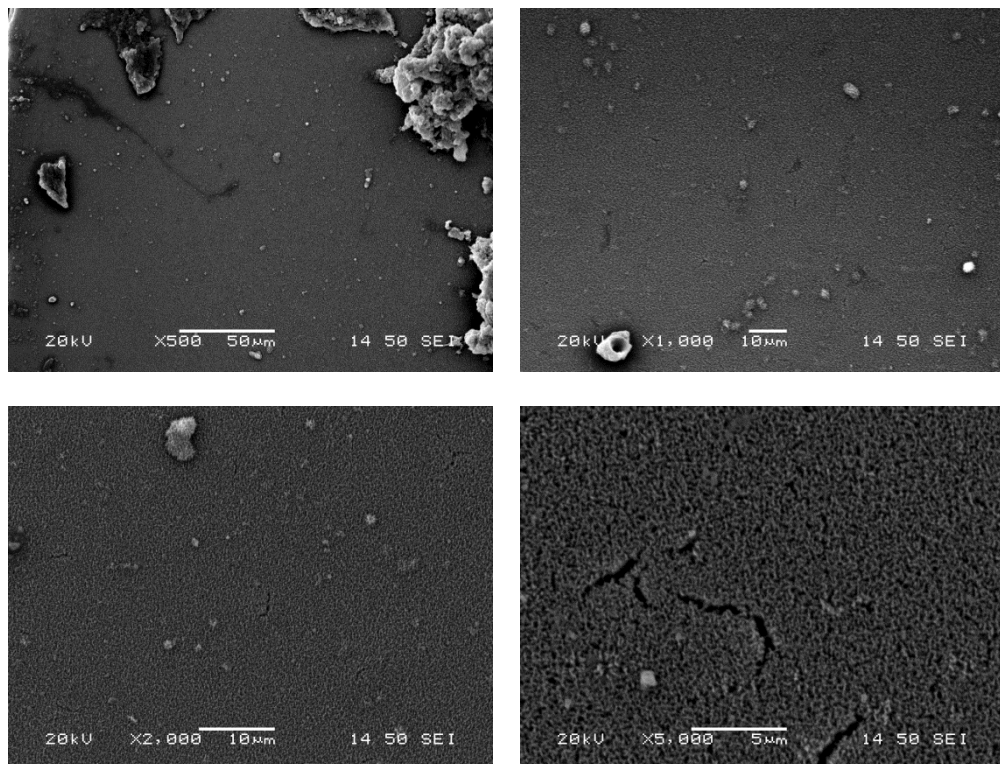
**Εικόνα 3.2.1.(Δοκιμίου Αναφοράς):** Δοκίμιο με λείανση στα 4000 grit, στίλβωση, χημική επεξεργασία με NaOH και ενδιάμεσο οργανοπυριτικό υλικό χωρίς επικάλυψη υδροξυαπατίτη.

Στη εικόνα 3.2.2. η επικάλυψη του δοκιμίου έχει γίνει με την μέθοδο των σταγόνων πάνω στην επιφάνεια του οποίου έχει γίνει πρόσδεση οργανοπυριτικού υλικού. Η επικάλυψη, σε αυτήν την περίπτωση, είναι ομοιόμορφη και σχεδόν πλήρης σε όλη την επιφάνεια του τιτανίου. Επίσης, η επικάλυψη δεν εμφανίζει καθόλου ρωγμές, εν αντιθέσει με τις επικαλύψεις που είδαμε χωρίς το οργανοπυριτικό υλικό.



**Εικόνα 3.2.2.:** Δοκίμιο με λείανση στα 4000 grit, στίλβωση, χημική επεξεργασία με NaOH, ενδιάμεσο οργανοπυριτικό υλικό και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

Τέλος, το δοκίμιο (Εικόνα 3.2.3.) με την μέθοδο του spin coating και ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα παρουσιάζει μια ομοιόμορφη επικάλυψη αλλά με ένα λεπτό στρώμα υδροξυαπατίτη και εμφανίζει κάποιες ρωγμές.



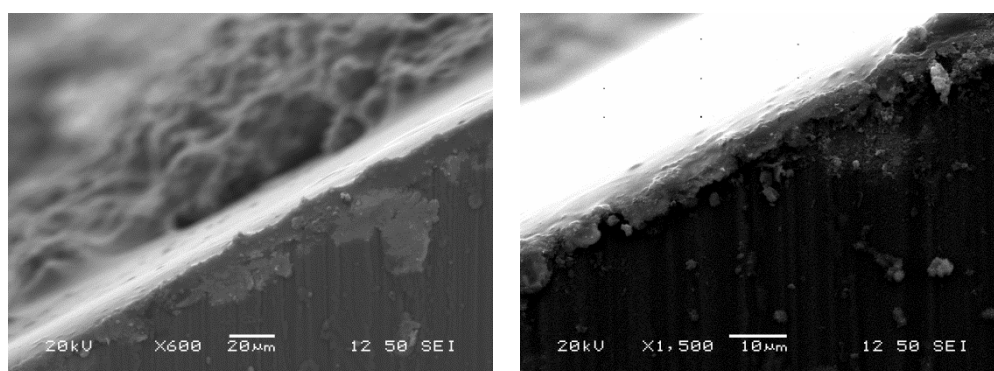
**Εικόνα 3.2.3.:** Δοκίμιο με λείανση στα 4000 grit, στίλβωση, χημική επεξεργασία με NaOH, ενδιάμεσο οργανοπυριτικό υλικό και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο του spin coating.

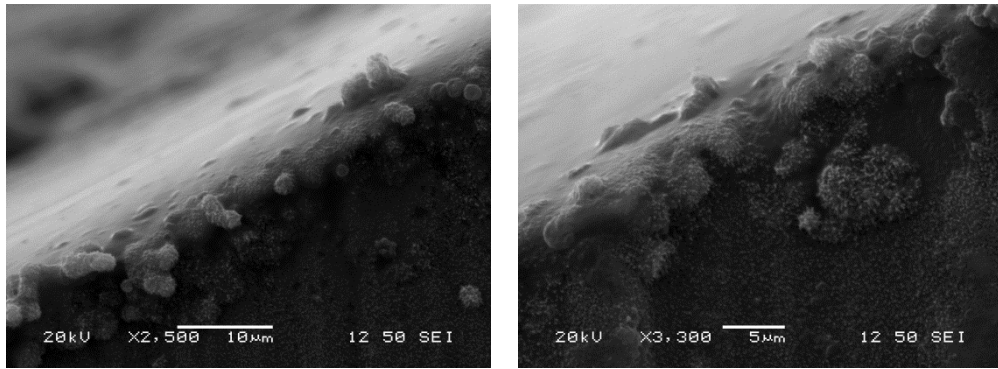
Συμπεραίνουμε, λοιπόν, ότι στην περίπτωση επικάλυψης τιτανίου με υδροξυαπατίτη και ενδιάμεσο οργανοπυριτικό υλικό, η βέλτιστη μέθοδος επικάλυψης, για ακόμα μία φορά, είναι η μέθοδος των σταγόνων. Επίσης, συγκρινόμενη με τις μεθόδους χωρίς την προσθήκη του οργανοπυριτικού ενδιάμεσου στρώματος, η συγκεκριμένη μέθοδος πλεονεκτεί σημαντικά.

### 3.2.1. Πάχος επικάλυψης υδροξυαπατίτη σε τιτάνιο με ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα

Το συμπέρασμα, που λήφθηκε από την προηγούμενη παράγραφο, είναι ότι το δοκίμιο, το οποίο έχει υποστεί λείανση στα 4000 grit, ακολουθούμενο από τελική στίλβωση και ανάπτυξη οργανοπυριτικού στρώματος, με την βέλτιστη επικάλυψη είναι με την μέθοδο της σταγόνας. Σε αυτό το δοκίμιο, λοιπόν, λήφθηκαν εικόνες από το SEM από κάθετη τομή και ελέγχθηκε το πάχος της επικάλυψης ώστε να επιβεβαιωθεί αν όντως η επικάλυψη είναι ομοιόμορφη σε όλο το μήκος της επιφάνειας του δοκιμίου. Τα συμπεράσματα που παρατίθενται, παρακάτω, είναι:

Στην Εικόνα 3.2.1.1., στο δοκίμιο, το οποίο έχει υποστεί την ίδια μηχανική και χημική επεξεργασία με τα προηγούμενα δοκίμια, δηλαδή λείανση μέχρι τα 4000 grit, τελική στίλβωση και χημική επεξεργασία με NaOH και επικάλυψη με την μέθοδο των σταγόνων, αλλά επιπλέον έχει δημιουργηθεί στην επιφάνειά του το ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα, παρατηρείται μια πλήρης επικάλυψη με υδροξυαπατίτη σε όλη την επιφάνεια του τιτανίου και με παρόμοια μορφολογία σε όλη την έκτασή του. Το πορώδες δίκτυο από την χημική επεξεργασία οδήγησε στην σωστή ανάπτυξη του οργανοπυριτικού υλικού, το οποίο οδήγησε με τη σειρά του σε ένα ομοιόμορφο παχύ στρώμα υδροξυαπατίτη. Το πάχος, της επικάλυψης αυτής, κυμαίνεται περίπου 6 μm.





**Εικόνα 3.2.1.1.:** Πάχος δοκιμίου, από κάθετη τομή, με λείανση στα 4000 grit καρβιδίου του πυριτίου (SiC) μεταλλογραφικό χαρτί, ακολουθούμενη από την τελική στίλβωση, με χημική κατεργασία NaOH, ενδιάμεσο οργανοπυριτικό υλικό και με επικάλυψη υδροξυαπατίτη με τη μέθοδο των σταγόνων.

Επομένως, το συμπέρασμα, που λαμβάνεται, επιβεβαιώνει ότι η βέλτιστη μέθοδος στα δοκίμια με λείανση στα 4000 grit, στίλβωση, χημική κατεργασία με NaOH και ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα είναι η μέθοδος των σταγόνων. Η συγκεκριμένη μέθοδος επιφέρει τα καλύτερα αποτελέσματα. Στο δοκίμιο, με αυτήν την μέθοδο, έχει δημιουργηθεί ένα τέλειο ομοιόμορφο παχύ στρώμα υδροξυαπατίτη, σε όλη την επιφάνεια του τιτανίου, που σχεδόν δεν μπορεί κανείς να ξεχωρίσει το τιτάνιο από την επικάλυψη. Συγκρίνοντας αυτό το δοκίμιο, με τα δοκίμια χωρίς το ενδιάμεσο οργανοπυριτικό υλικό (στα 1000 grit και 2000 grit), παρατηρούμε τη σημαντική βελτίωση της επίστρωσης υδροξυαπατίτη με την εφαρμογή του ενδιάμεσου στρώματος. Αυτή η συμπεριφορά θα μπορούσε να αποδοθεί στην ανάπτυξη του οργανοπυριτικού στρώματος, το οποίο βελτίωσε τις συνθήκες της επιφάνειας του τιτανίου.

## Κεφάλαιο IV: Συμπεράσματα

Στη διπλωματική αυτή εργασία αναπτύχθηκαν επικαλύψεις από υδροξυαπατίτη επάνω σε δοκίμια τιτανίου με σκοπό την πρόσδωση βιοδραστικότητας και βιολειτουργικότητας σε εμφυτεύματα αποτελούμενα από τιτάνιο. Στόχος ήταν η δημιουργία εμφυτεύσιμων υλικών, τα οποία θα διατηρούν τις εξαιρετικές μηχανικές ιδιότητες του τιτανίου αλλά παράλληλα θα εμφανίζουν και βελτιωμένη βιολογική συμπεριφορά. Η επιτυχής ανάπτυξη των επικαλύψεων του υδροξυαπατίτη στα δοκίμια του τιτανίου εξαρτάται από την πρόσφυση του υλικού επάνω στην επιφάνεια των δοκιμίων και κατ' επέκταση δόθηκε έμφαση στην επεξεργασία της επιφάνειάς τους, ώστε να αυξηθεί η πρόσφυση του υδροξυαπατίτη σε αυτήν. Για τον λόγο αυτόν, αρχικά, πραγματοποιήθηκε μηχανική επεξεργασία των δοκιμίων του τιτανίου με λείανση και στίλβωση για τη βελτίωση της ποιότητας των επιφανειών τους, ενώ στη συνέχεια τα δοκίμια υπέστησαν χημική επεξεργασία για τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών στην επιφάνειά τους και την αύξηση της βιοενεργότητάς τους. Για την περαιτέρω βελτίωση της πρόσφυσης του υδροξυαπατίτη, αναπτύχθηκε ένα ενδιάμεσο οργανοπυριτικό στρώμα αιθοξυσιλανίου, το οποίο προσδίδει στην επιφάνεια των δοκιμίων ελεύθερα φορτισμένα άκρα στα οποία μπορεί να προσδεθεί στη συνέχεια ο υδροξυαπατίτης.

Τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την επεξεργασία των δοκιμίων του τιτανίου είναι τα ακόλουθα:

- ✓ Η διαδικασία της λείανσης και της στίλβωσης οδήγησαν σε σημαντική μείωση της τραχύτητας της επιφάνειας των δοκιμίων και κατ' επέκταση βελτίωσαν την ποιότητα της επιφάνειας αυτής.
- ✓ Τα βέλτιστα αποτελέσματα όσον αφορά στη χημική επεξεργασία των δοκιμίων του Ti επέφερε η κατεργασία με διάλυμα καυστικού νατρίου, NaOH (5M) για 24 ώρες στους 60°C.
- ✓ Αποδείχθηκε ότι στην περίπτωση αυτή αναπτύσσεται ένα επιφανειακό πορώδες δίκτυο στα δοκίμια του τιτανίου, λόγω της μερικής διάβρωσης που υφίστανται από τα ιόντα OH<sup>-</sup> του αλκαλικού διαλύματος και την ανάπτυξη δεσμών Ti-O-Na.

Στη συνέχεια αναπτύχθηκαν μέσω μίας βιομιμητικής τεχνικής αιωρήματα από υβριδικούς νανοκρύσταλλους υδροξυαπατίτη παρουσία βιομορίων, με τα οποία θα επικαλυφθούν τα δοκίμια του τιτανίου. Συγκεκριμένα, η ανάπτυξη των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη πραγματοποιήθηκε παρουσία του φυσικού πολυμερούς κολλαγόνο σε συνδυασμό με τη συνεργιστική δράση του αμινοξέος L-αργινίνη με αναλογία μαζών υδροξυαπατίτη/βιοπολυμερές=70/30 και μοριακή αναλογία  $Ca^{2+}:Arg=1:1$ . Στόχος ήταν η ρύθμιση της διεργασίας πυρήνωσης και ανάπτυξης των κρυστάλλων του, ώστε να επιτευχθούν φυσικοχημικές ιδιότητες παρόμοιες με αυτές του απατίτη που συναντάται στο φυσικό οστό. Στην προσπάθεια μίμησης του φυσικού περιβάλλοντος, στο οποίο πραγματοποιείται η φυσική διαδικασία ανάπτυξης των φωσφορικών αλάτων του ασβεστίου στον οργανισμό, η σύνθεση του υδροξυαπατίτη πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 40°C και σε αλκαλικές τιμές pH.

Από τη σύνθεση αυτή εξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- ✓ Τα αιωρήματα που αναπτύχθηκαν αποτελούνται από πλακόμορφους κρυστάλλους εξαγωνικού υδροξυαπατίτη με μορφολογία παρόμοια με αυτή των κρυστάλλων του απατίτη του φυσικού οστού.
- ✓ Οι κρύσταλλοι αυτοί εμφανίζουν μικρό εύρος κατανομής μεγέθους, ενώ η μέση τιμή μεγέθους που καταγράφηκε είναι 10x10 nm.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε η ανάπτυξη των επικαλύψεων του υδροξυαπατίτη με τρεις διαφορετικούς τρόπους επίστρωσης ώστε να καθοριστεί η τεχνική που θα επιφέρει τα βέλτιστα αποτελέσματα όσον αφορά τόσο στην ομοιομορφία της επικάλυψης όσο και στην πρόσφυση του υλικού στην επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου. Οι διαφορετικοί τρόποι επίστρωσης περιλαμβάνουν: i) την επικάλυψη με ένσταξη σταγόνας (dropwise), ii) την επικάλυψη με εμβάπτιση (dipping) και iii) την επικάλυψη με ένσταξη σταγόνας και παράλληλη περιστροφή του δοκιμίου (spin coating). Με τους τρεις διαφορετικούς αυτούς τρόπους επικαλύφθηκαν δοκίμια Ti με διαφορετική μηχανική ή/και χημική κατεργασία της επιφάνειάς τους, ώστε να ελεγχθεί εάν η επεξεργασία αυτή επιδρά στην ομοιογένεια της τελικής επικάλυψης.

Τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την ανάλυση των δοκιμίων με το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης αναφέρονται ακολούθως:

- ✓ Κατ' αρχήν, στο δοκίμιο, που λειάνθηκε στα 400 grit και δεν έχει υποστεί χημική επεξεργασία, δεν πραγματοποιήθηκε επικάλυψη από υδροξυαπατίτη. Συνεπώς, αποδεικνύεται ότι η ανάπτυξη του πορώδους δικτύου εξαιτίας της επεξεργασίας με NaOH επιδρά στη δημιουργία επικάλυψης.
- ✓ Γενικά, στα δοκίμια, που έχουν υποστεί λείανση από 400 έως και 800 grit καθώς και χημική επεξεργασία με NaOH, αναπτύχθηκαν ανομοιόμορφες επικαλύψεις με ασυνέχειες και ατέλειες.
- ✓ Στα δοκίμια, στα οποία έχει πραγματοποιηθεί λείανση από 1000 έως και 4000 grit αλλά και χημική επεξεργασία με NaOH, παρατηρήθηκε η ανάπτυξη ενός ομοιόμορφου στρώματος υδροξυαπατίτη σε όλη την επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου.
- ✓ Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις στα δείγματα αυτά εντοπίστηκαν ρωγμές.
- ✓ Παρολ' αυτά η μέθοδος της επικάλυψης με εμβάπτιση δεν οδήγησε στα επιθυμητά αποτελέσματα σε όλες τις περιπτώσεις δοκιμίων του τιτανίου (διαφορετικές μηχανικές ή/και χημικές επεξεργασίες).
- ✓ Η επικάλυψη είτε με ένσταξη σταγόνας ή με spin coating είχε σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη ομοιόμορφων επικαλύψεων στις περισσότερες περιπτώσεις.
- ✓ Ωστόσο, τα δοκίμια που έχουν επικαλυφθεί με τη μέθοδο της ένσταξης παρουσιάζουν περισσότερο ομοιόμορφες επικαλύψεις σε σύγκριση με τα δοκίμια που επικαλύφθηκαν με spin coating. Η διαφορά αυτή εστιάζεται κυρίως στο ποσοστό της επιφάνειας του δοκιμίου που έχει επικαλυφθεί.
- ✓ Στα δοκίμια που επικαλύφθηκαν και με τις δύο τεχνικές (dropwise ή spin coating) παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό απώλειας βάρους σε υδατικό



περιβάλλον δεν ήταν ιδιαίτερα σημαντικό, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η πρόσφυση του υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια του τιτανίου είναι ικανοποιητική.

- ✓ Οι εικόνες του SEM (από κάθετη τομή των δοκιμίων) απέδειξαν ότι στην περίπτωση των δοκιμίων του Ti, που έχουν υποστεί λείανση είτε με 1000 ή με 2000 grit και χημική επεξεργασία με NaOH, επιτεύχθηκε ανάπτυξη ιδιαίτερα ομοιόμορφης επικάλυψης υδροξυαπατίτη. Στην περίπτωση αυτή παρατηρήθηκε εξαιρετική πρόσφυση του υβριδικού υδροξυαπατίτη στην επιφάνεια των δοκιμίων.
- ✓ Το πάχος των επικαλύψεων στα δοκίμια αυτά κυμαίνεται στα 6-8 μm.
- ✓ Στα δοκίμια, στα οποία πραγματοποιήθηκε προ-στίλβωση (λείανση έως 4000 grit) ή στίλβωση, η πρόσφυση του υλικού στην επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου είναι περιορισμένη, παρά το γεγονός ότι στα δοκίμια αυτά αναπτύχθηκαν ομοιόμορφες επιστρώσεις.
- ✓ Συμπεραίνεται ότι για την ανάπτυξη ομοιόμορφης επικάλυψης υδροξυαπατίτη με αυξημένη πρόσφυση του υλικού στην επιφάνεια των δοκιμίων του τιτανίου απαιτείται ο συνδυασμός μηχανικής και χημικής πρόσφυσης.
- ✓ Στα δοκίμια, στα οποία μετά από τη χημική κατεργασία πραγματοποιήθηκε η ανάπτυξη του οργανοπυριτικού στρώματος, επιβεβαιώθηκε η δημιουργία ενός ομοιογενούς στρώματος υδροξυαπατίτη ανεξάρτητα από την τεχνική επίστρωσης που ακολουθήθηκε (dropwise και spin coating).
- ✓ Συγκρίνοντας τις δύο επικαλύψεις, παρατηρείται ότι το δοκίμιο που επικαλύφθηκε με spin coating εμφανίζει ένα λεπτό στρώμα υδροξυαπατίτη με ρωγμές σε αντίθεση με το δοκίμιο που επικαλύφθηκε με ένσταξη σταγόνας, το οποίο δεν εμφανίζει καθόλου ρωγμές.

- ✓ Η παρατήρηση με το SEM της κάθετης τομής των δοκιμίων αυτών, επιβεβαιώνει την ανάπτυξη ενός ομοιόμορφου στρώματος υδροξυαπατίτη με αυξημένη πρόσφυση και πάχος περίπου στα 6 μm.

Συγκεντρωτικά, συγκρίνοντας όλες τις παραπάνω μεθόδους επίστρωσης των δοκιμίων του τιτανίου με τις διαφορετικές κατεργασίες, προκύπτει το συμπέρασμα ότι τα βέλτιστα αποτελέσματα προήλθαν από τα δοκίμια που επικαλύφθηκαν με ένσταξη σταγόνας στις ακόλουθες δύο περιπτώσεις, με τη δεύτερη να υπερτερεί σε ποιότητα: (a) λείανση έως 1000 ή 2000 grit και χημική κατεργασία με NaOH, και (b) λείανση έως 4000 grit, στίλβωση, χημική κατεργασία με NaOH και ανάπτυξη οργανοπυριτικού στρώματος.

## Προτάσεις για Μελλοντική Έρευνα

- ✓ Βελτιστοποίηση της διαδικασίας παραγωγής των υβριδικών επικαλύψεων υδροξυαπατίτη στα υποστρώματα τιτανίου.
- ✓ Μελέτη της βιολογικής συμπεριφοράς των υβριδικών επικαλύψεων του υδροξυαπατίτη στα υποστρώματα τιτανίου, με ανάπτυξη κυτταροκαλλιιεργειών στην επιφάνειά τους.
- ✓ Μελέτη και αναλυτική ποσοτικοποίηση των μηχανικών ιδιοτήτων των παραγόμενων υβριδικών επικαλύψεων υδροξυαπατίτη.
- ✓ Σύγκριση των φυσικοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων των παραγόμενων υβριδικών επικαλύψεων υδροξυαπατίτη με αντίστοιχες επικαλύψεις από διάλυμα προσομοίωσης πλάσματος του ανθρώπινου αίματος (SBF).

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- [1] Ruehle, H. M., EJ, VandeVoode, MH, ed. (2001). European white book on fundamental research in material science (Max-Planck-Institute for research on metal).
- [2] Luckey, Hugh A., Fred Kubli, Jr., Titanium Alloys in Surgical Implants, 3M Orthopedic Products, RMI Company, editors 1983.
- [3] Williams, D. F., Titanium and Titanium Alloys, in Biocompatibility of Clinical Implant Materials, editor 1981.
- [4] Ratner, B. D., A Perspective on Titanium Biocompatibility, in Titanium in Medicine, D. M. Brunette, et. al., editors 2001.
- [5] Brunette, D. M., The effects of implants surface topography on the behavior of cells. Int Joral Maxillofac Implants, 1988.
- [6] Davies, J. E., The Bone-Biomaterial Interface, University of Toronto Press, 1991.
- [7] D.F Williams, Review “Tissue-Biomaterials Interaction”, Journal of Material Science 22 (1987) 3421-3445.
- [8] R.L. Reis and S. Weiner, Learning from Nature How to Design New Implantable Biomaterials: From Biomineralization Fundamentals to Biomimetic Materials and Processing Routes, NATO Science Series, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2004.
- [9] Thomas Learch MD, Amilcare Gentili MD, Deborah Forrester MD, Edward McPherson MD, Hip Arthroplasty: Normal and Abnormal Imaging Appearances, Lakeside Center – Education Exhibits – Space 0101CE-e, 1995.
- [10] Joon B. Park, “Section IV: Biomaterials, Introduction”, In. “The Biomedical Engineering Handbook: Second Edition”, Ed. Joseph D. Bronzino, Boca Raton: CRC Press LLC, 2000.
- [11] Χρήστος Π. Φτίκος, «Επιστήμη και τεχνική των κεραμικών υλικών», Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Ε.Μ.Π., 2005.
- [12] Nakano T, Kan T, Ishimoto T, Ohashi Y, Fujitani W, Umakoshi Y, Hattori T, Higuchi Y, Tane M, Nakajima H, Evaluation of bone quality near metallic implants with and without lotus-type pores for optimal biomaterial design, Mater Trans, 2006.
- [13] Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E, Bone substitutes: An update, Injury, 2005.

- [14] Brunski BJ, Metals 2011.
- [15] U Meyer, HP Wiesmann, Tissue engineering: a challenge of today's medicine, 2005.
- [16] LB Clapp, C Hansch, Identification of amino acids in a protein hydrolysate by paper chromatography, 1960.
- [17] Bose S, Roy, M, Bandyopadhyay, A, Recent advances in bone tissue engineering scaffolds, Trends in Biotechnology, 2012.
- [18] Αγαθόπουλος, Σ. Υλικά της βιοϊατρικής – Βιοϋλικά, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 2001.
- [19] Peppas NA, “Hydrogels” in Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, 2007.
- [20] Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lenons JE, Biomaterials Science: A Multidisciplinary Endeavor in Biomaterials Science, 2004.
- [21] Ratner BD, Hoffman AS, Non-fouling Surfaces in Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, 2004.
- [22] Migliaresi C, Alexander H, 2004.
- [23] Hench LL, Best S, Ceramics, Glasses and Glass-Ceramics, 2004.
- [24] Cooper SL, Visser SA, Hergenrother RW, Lamba NK, Polymers, 2004.
- [25] Park B. Joon, Young Kon Kim, 2000. Metallic Biomaterials. “The Biomedical Engineering Handbook”, 2nd ed.”.
- [26] J.A. Disegil, L. Eschbachz. Stainless steel in bone surgery, Injury 31 (2000) 2-6.
- [27] M.B. Nasab, M.R. Hassan, B.B. Sahari. Metallic biomaterials of knee and hip – a review, Trends in Biomaterials and Artificial Organs 24 (2010).
- [28] M. Long, H.J. Rack. Titanium alloys in total joint replacement—a materials science perspective, Biomaterials 19 (1998) 1621-1639.
- [29] J. Alvarado, R. Maldonado, J. Marxuach, R. Otero. Biomechanics of hip and knee prostheses, Applications of Engineering Mechanics in Medicine, GED, 2003.
- [30] C.V. Vidal, A.I. Munoz. Effect of thermal treatment and applied potential on the electrochemical behaviour of CoCrMo biomedical alloy, Electrochimica Acta 54 (2009) 1798-1809.
- [31] U.S. Department of Transportation Federal Aviation Administration, «Metallic Materials Properties Development and Standardization», January 2003.
- [32] C. Leyens, M. Peters, «Titanium and Titanium Alloys», WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003.

- [33] V. A. Joshi, «Titanium Alloys: An Atlas of Structures and Fracture Feature», Taylor & Francis Group LLC, 2006.
- [34] G. L. James, C. Williams, «Titanium», Springer 2nd edition, 2002.
- [35] F.C. Campbell, «Manufacturing Technology for Aerospace Structural Material» First edition, 2006.
- [36] Lee Bang Hai, Khang Gilson, Lee Ho Jin. 2000. Polymeric Biomaterials. The Biomedical Engineering Handbook, 2nd edition.
- [37] R.Cusco, F. Guitian, S. De Aza, L.Artus, J. Of Eur. Cer. Soc, 18, 1301-1305,1998.
- [38] [Μπουρόπουλος, 2002] Ν. Μπουρόπουλος, Ο. Παύλου, «Εισαγωγή στα Βιοϋλικά», Πανεπιστήμιο Πατρών, 2002.
- [39] Amit Kumar Nayak, “Hydroxyapatite Synthesis methodologies: An overview”, International Journal of ChemTech Research, 2010.
- [40] Fung, Y. C., “Mechanical Properties of Living Tissues 2nd ed.”, 1993.
- [41] Lakes Roderic. 2000. Composite Biomaterials. The Biomedical Engineering Handbook, 2nd edition.
- [42] Wikipedia proteins: <http://en.wikipedia.org/wiki/Protein>.
- [43] [Καφαντάρη, 2000] Ε.Καφαντάρη, «Μελέτη του Κολλαγόνου σε Παθήσεις των Οστών» Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων , 2000.
- [44] Zhou H, Lee J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. Acta Biomaterialia, 2011;7:2769-2781.
- [45] David Nelson, Michael Cox “Lehninger Principles of Biochemistry”, Freeman and Company, 2005.
- [46] J.Koolman, K.H.Roehm, “Color atlas of Biochemistry” Thiem 2nd Edition, 2005.
- [47] Wikipedia arginine :<http://en.wikipedia.org/wiki/Arginine>.
- [48] Καμμένου Μαρία-Ιζόλδη \*ιπλωματική εργασία «Σύνθεση και χαρακτηρισμός νανοσύνθετων βιολογικών Υδροξυαπατίτη – Βιοπολυμερών» Αθήνα 2008.
- [49] Αντώνη Τρακατέλη «Βιοχημεία» 2η έκδοση, εκδοτικός οίκος: Αφών Κυριακίδη.
- [50] Witte M.B.Barbul A., “Arginine Physiology and its implications for wound healing” Wound Repair Regen 2003, 11(6) 419-23.
- [51] New World encyclopedia online <http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Arginine>.

- [52] K. S. TenHuisen, R.I. Martin, M. Klimkiewicz, P.W. Brown. Formation and properties of a synthetic bone composite: Hydroxyapatite–collagen, *J. Biomed. Mater. Res A* 29 (1995) 803-810.
- [53] Y. Miyamoto, K. Ishikawa, M. Takechi, T. Toh, T. Yuasa, M. Nagayama, K. Suzuki. Basic properties of calcium phosphate cement containing atelocollagen in its liquid or powder phases, *Biomaterials* 19 (1998) 707-715.
- [54] R. Z. Wang, F.Z. Cui, H.B. Lu, H.B. Wen, C.L. Ma, H.D. Li. Synthesis of nanophase hydroxyapatite/collagen composite, *J. Mater. Sci. Letters* 14 (1995) 490-492.
- [55] F. Y. Hsu, S.C. Chueh, Y.J. Wang. Microspheres of hydroxyapatite/reconstituted collagen as supports for osteoblast cell growth, *Biomaterials* 20 (1999) 1931-1936.
- [56] M. Kikuchi, T. Ikoma, S. Itoh, H. N. Matsumoto, Y. Koyama, K. Takakuda, K. Shinomiya, J. Tanaka. Biomimetic synthesis of bone-like nanocomposites using the self-organization mechanism of hydroxyapatite and collagen, *Comp. Sci. Technol.* 64 (2004) 819-825.
- [57] M. Kikuchi, S. Itoh, S. Ichinose, K. Shinomiya, J. Tanaka. Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo, *Biomaterials* 22 (2001) 1705-1711.
- [58] L. Jonasova, F.A. Muller, A. Helebrannt, J. Strnad, P. Greil. Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium, *Biomaterials* 25 (2004) 1187–1194.
- [59] S. Nishiguchi, T. Nakamura, M. Kobayashi, F. Miyaji, T. Kokubo. The effect of heat treatment on bone-bonding ability of alkali-treated titanium, *Biomaterials* 20 (1999) 491–500.
- [60] L.L. Hench. Bioceramics, *J. Am. Ceram. Soc.* 81 (1998) 1705–27.
- [61] S.J. Xiao, M. Textor, N.D. Spencer, H. Sigrist. Covalent attachment of cell-adhesive, (Arg-Gly-Asp)-containing peptides to titanium surfaces, *Langmuir.* 14 (1998) 5507–5516.
- [62] M. Jarcho, J.F. Kay, R.H. Gumaer, H.P. Drobeck. Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxyapatite interface, *J. Bioeng.* 1 (1977) 79–92.
- [63] T. Kokubo. Surface chemistry of bioactive glass-ceramics, *J. Non-Cryst. Solids.* 120 (1990) 138-151.
- [64] L.L. Hench. Bioceramics: from concept to clinic, *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 1487-1510.

- [65] C.X. Wang, M. Wang, X. Zhou. Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study, *Biomaterials* 24 (2003) 3069-3077.
- [66] R. Gonzalez McQuire, A. Tsetsekou. Hydroxyapatite-biomolecule coatings onto titanium surfaces, *Surf. Coat. Tech.* 203 (2008) 186-190.
- [67] D.A. Tomalia. Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry, *Prog. Polym. Sci.* 30 (2005) 294–324.
- [68] H.J. Martin, K.H. Schulz, J.D. Bumgardner, K.B. Walters. XPS study on the use of 3-aminopropyltriethoxysilane to bond chitosan to a titanium surface, *Langmuir*. 23 (2007) 6645–51.
- [69] M. Wei, A.J. Ruys, B.K. Milthorpe, C.C. Sorrell. Precipitation of hydroxyapatite nanoparticles: Effects of precipitation method on electrophoretic deposition, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 16 (2005) 319-324.
- [70] C. Liu, Y. Huang, W. Shen, J. Cui. Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11, *Biomaterials* 22 (2001) 301-306.
- [71] G.H. Nancollas, B. Tomazic. Growth of calcium phosphate on hydroxyapatite crystals. Effect of supersaturation and ionic medium, *J. Phys. Chem.* 78 (1974) 2218-2225.
- [72] B.D. Cullity. *Elements of X-ray diffraction*, Addison-Welley publishing company INC., 1978.
- [73] M.W. Urban. *Attenuated total reflectance spectroscopy of polymers: theory and practice*, American Chemical Society, Washington, 1996.
- [74] Χριστίνα Γιαννούλη. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο – Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων και Μεταλλουργών – Τομέας Επιστήμης και Τεχνολογίας των Υλικών – Εργαστήριο Μεταλλογνωσίας - Διπλωματική Εργασία – “Συσχέτιση Μικροδομής και Μαγνητικών Ιδιοτήτων σε Χάλυβες DUPLEX”. Αθήνα, Μάρτιος 2010.
- [75] M. G. Troia, G.E.P. Henriques, M.F. Mesquita, W.S. Frago. The effect of surface modifications on titanium to enable titanium–porcelain bonding, *Dent. Mater.* 24 (2008) 28-33.
- [76] A. Rakngarm, Y. Miyashita, Y. Mutoh. Formation of hydroxyapatite layer on bioactive Ti and Ti–6Al–4V by simple chemical technique, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 19 (2008) 1953-1961.



- [77] Μπρασινίκα Δέσποινα, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο – Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων και Μεταλλουργών – Τομέας Επιστήμης και Τεχνολογίας των Υλικών – Εργαστήριο Μεταλλογνωσίας – Διδακτορική Διατριβή – “Βιομιμητική Ανάπτυξη Σύνθετων Βιοκεραμικών Νανοϋδροξυαπατίτη-Βιοπολυμερών με Ελεγχόμενες Ιδιότητες για Βιολογικές Εφαρμογές”.
- [78] B. M. Chesnutt, Y. Yuan, K. Buddington, W.O. Haggard, J.D. Bumgardner. Composite chitosan/nano-hydroxyapatite scaffolds induce osteocalcin production by osteoblasts in vitro and support bone formation in vivo, *Tis. Eng.* 15 (2009) 2571-2579.
- [79] S. Markovic, L. Veselinovic, M. J. Lukic, L.Karanovic, I. Bracko, N. Ignjatovic, D. Uskokovic. Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: a comparative study of crystal structure and morphology, *Biomed. Mater.* 6 (2011) 045005-045017.
- [80] W. Jie, L. Yubao, C. Weiqun, Z. Yi. A study of nano-composite of hydroxyapatite, *J. Mater. Sci.* 38 (2003) 3303-3306.
- [81] D. M. Liu, T. Troczynski, W.J. Tseng. Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development, *Biomaterials* 22 (2001) 1721-1730.
- [82] M.C. Chang, J. Tanaka. FT-IR study for hydroxyapatite / collagen nanocomposite cross-linked by glutaraldehyde, *Biomaterials* 23 (2002) 4811-4818.
- [83] X. Li, J. Chang. Preparation of bone-like apatite-collagen nanocomposites by a biomimetic process with phosphorylated collagen, *J. Biomed. Mater. Res. A* 85(2008) 293-300.
- [84] A. Boskey, N.P. Camacho. FT-IR imaging of native and tissue-engineered bone and cartilage, *Biomaterials* 28 (2007) 2465-2478.
- [85] M. Peter, N. Ganesh, N. Selvamurugan, S.V. Nair, T. Furuike, H. Tamura, R. Jayakumar. Preparation and characterization of chitosan-gelatin/nanohydroxyapatite composite scaffolds for tissue engineering applications, *Carbohydr. Polym.* 80 (2010) 687-694.
- [86] S. A. Jackson, A. G. Cartwright, D. Lewis. The morphology of bone mineral crystals, *Calcif. Tiss. Res.* 25 (1978) 217-222.
- [87] S. Joschek, B. Nies, R. Krotz, A. Gopferich. Chemical and physicochemical characterization of porous hydroxyapatite ceramics made of natural bone, *Biomaterials* 21 (2000) 1645-1658.

- [88] D. Tadic, M. Epple. A thorough physicochemical characterization of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone, *Biomaterials* 25 (2004) 987-994.
- [89] W.E. Brown, M. Matthew, M.S. Tung. Crystal chemistry of octacalcium phosphate, *Prog. Crystl Growth Charact.* 4 (1981) 59-87.
- [90] W.E. Brown. Crystal structure of octacalcium phosphate, *Nature* 196 (1962) 1048.