



PANNON EGYETEM

VEGYÉSZMÉRNÖKI- ÉS ANYAGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Biomorf hidroxipatit kerámiák és üvegkerámiák előállítása

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

KÉSZÍTETTE:

Jakab Miklós

okleveles anyagmérnök

TÉMAVEZETŐ:

Dr. Eniszné dr. Bódogh Margit

egyetemi docens

Pannon Egyetem

Mérnöki Kar

Műszaki Tudományok Kutató-Fejlesztő Központ

DOI:10.18136/PE.2023.835

2022.

Az értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében készült a Pannon Egyetem

Vegyésszmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskolája keretében

Anyagtudományok és Technológiák tudományágban

Írta: Jakab Miklós

Témavezető: Dr. Eniszné dr. Bódogh Margit

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(témavezető)

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: igen /nem

(bíráló)

Bíráló neve: igen /nem

(bíráló)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Veszprém,

(a Bíráló Bizottság elnöke)

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Veszprém,

(az EDHT elnöke)

Tartalomjegyzék

| | |
|--|----|
| Bevezetés..... | 1 |
| 1. Irodalmi áttekintés | 4 |
| 1.1. A csontintegráció élettani fázisai..... | 5 |
| 1.2. Korszerű csontpótló bioanyagok | 6 |
| 1.2.1. Bioinert anyagok..... | 6 |
| 1.2.2. Bioaktív anyagok..... | 7 |
| 1.2.2.1. Bioüvegek és bioüveg-kerámiák..... | 8 |
| 1.2.2.2. Oldható biokerámiák..... | 12 |
| 1.3. Bevonatok..... | 16 |
| 1.4. Hierarchikusan felépített természetes és mesterséges vázak..... | 18 |
| 1.4.1. A csont szövettani szerkezete | 18 |
| 1.4.2. Mesterséges vázak | 19 |
| 1.5. Bioaktív mágneses nanorészecskék..... | 25 |
| 1.5.1. A vas-oxidok szerkezete | 26 |
| 1.5.2. Az anyagok mágneses tulajdonságai | 27 |
| 1.5.2.1. Szuperparamágneses anyagok..... | 29 |
| 1.5.3. A mágneses nanokompozitok előállítási lehetőségei | 29 |
| 2. Célkitűzés | 32 |
| 3. Vizsgálati módszerek..... | 33 |
| 3.1. Röntgendiffrakciós fázisanalízis..... | 33 |
| 3.2. Röntgenfluoreszcens spektrometria..... | 33 |
| 3.3. Induktív csatolású plazma atomemissziós spektrometria | 33 |
| 3.4. Infravörös spektroszkópia..... | 34 |
| 3.5. Termikus analízis..... | 34 |
| 3.6. Dilatométeres vizsgálatok..... | 35 |
| 3.7. Hajlító és nyomószilárdság meghatározása | 35 |
| 3.8. Vickers-féle mikrokeménység | 35 |
| 3.9. Lézeres szemcseméret analízis | 36 |
| 3.10. Fajlagos felület meghatározása..... | 36 |
| 3.11. Testűrűség és látszólagos porozitás meghatározása | 36 |
| 3.12. Mágneses szuszceptibilitás meghatározása | 37 |

| | | |
|----------|--|-----|
| 3.13. | Színmérés..... | 37 |
| 3.14. | Képkalkotó eljárások | 38 |
| 4. | Vizsgálati eredmények és kiértékelésük..... | 41 |
| 4.1. | Állati eredetű biosablonok..... | 41 |
| 4.1.2. | A bevonatok alapanyagai..... | 43 |
| 4.1.2.1. | Bioüveg fritt..... | 43 |
| 4.1.2.2. | Nagy hidroxapatit tartalmú (H) adalék | 45 |
| 4.1.2.3. | β -whitlockitot tartalmazó (BW) adalék | 46 |
| 4.1.2.4. | α -whitlockitot tartalmazó (AW) adalék | 47 |
| 4.1.3. | Bevonatok felvitele a biosablonok felületére | 50 |
| 4.1.3.1. | Biopolimer segédanyagok hatásának vizsgálata | 51 |
| 4.1.3.2. | A bevonat alapanyagok szemcseméretének optimalizálása..... | 53 |
| 4.1.3.3. | Az alapanyagok hőkezelésekor lejátszódó folyamatok vizsgálata | 56 |
| 4.1.4. | Biomorf kompozitok előállítása és vizsgálata | 62 |
| 4.1.4.1. | A csontok felületén kialakított bevonatok vizsgálata | 63 |
| 4.1.5. | Szimulált testfolyadékban való oldhatóság vizsgálata | 70 |
| 4.1.6. | A bevonatok mikrokeménység vizsgálata | 79 |
| 4.1.7. | Hajlító- és nyomószilárdság vizsgálat | 82 |
| 4.1.8. | Mitokondriális szukcinát-dehidrogenáz alapú (MTT) viabilitás teszt..... | 84 |
| 4.2. | Mágneses hidroxapatit nanokompozitok (MH) előállítása..... | 88 |
| 4.2.1. | Magnetit-hidroxapatit kompozitok tulajdonságai..... | 91 |
| 4.2.1.1. | Az MH nanokompozitok fázisösszetétele..... | 91 |
| 4.2.1.2. | Mágneses tulajdonságok vizsgálata | 95 |
| 4.2.1.3. | A nanokompozitok színingerjellemezőinek vizsgálata..... | 96 |
| 4.2.1.4. | A mágneses kompozitok morfológiájának vizsgálata..... | 98 |
| 4.2.1.5. | Az MH kompozitok viselkedése szimulált testfolyadékban | 100 |
| 5. | Összefoglalás | 103 |
| 6. | Summary..... | 106 |
| | Új tudományos eredmények: a doktori értekezés tézisei | 109 |
| | New scientific results: thesis statements of the doctoral dissertation | 111 |
| | A dolgozat témájához kapcsolódó publikációk jegyzéke..... | 113 |
| | A dolgozat témájához nem kapcsolódó publikációk jegyzéke..... | 114 |

| | |
|---------------------------|-----|
| Irodalomjegyzék..... | 116 |
| Köszönetnyilvánítás | 124 |

KIVONAT

A humán implantológia területén az elmúlt 50 évben sokféle fém és kerámia alapú anyagrendszert dolgoztak ki a különböző okokból fakadó csonthiány pótlására. A megfelelő csontpótló anyag kidolgozásához azonban olyan anyagrendszerek szükségesek, amelyek mellett, hogy megfelelő mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek, a humán szervezet anyagcsere folyamatain keresztül serkenteniük kell az oszteointegrációt. A dolgozat új típusú bioaktív biomorf kompozitok előállításával, fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságainak összetételétől és technológiai paramétereiktől való függésének vizsgálatával foglalkozik. A próbatestek vázának előállításához megfelelően előkészített szarvasmarha csontot használtam, amelynek mikroszerkezete és fázisösszetétele közel azonos az emberi csontszövetével. Önmagukban ezek a biomorf vázak nem rendelkeznek megfelelő mechanikai szilárdsággal, ezért különböző összetételű bioüveg-kerámia bevonatot alakítottam ki a felületükön. Az eltérő oldhatóságú kalcium-foszfátokat tartalmazó bevonattal sikerült növelnem a biosablonok hajlító- és nyomószilárdságát. A bevonatok összetételének megválasztásával szabályozható oldódási sebességgel rendelkező bevonatokat alakítottam ki. A szabványos körülmények között szimulált testfolyadékban végzett vizsgálatok célja a bioaktivitás igazolása, amelyet elektronmikroszkópos és röntgendiffrakciós vizsgálatokkal bizonyítottam. A bioaktív tulajdonságok mellett az általam kialakított bevonatok serkentik a humán HT29 adenokarcinóma sejtek kolonizációját a biomorf vázak felületén.

A dolgozat részét képezi a magnetit-hidroxiapatit nanokompozitok különböző nedveskémiai eljárásokkal történő előállítása, fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságainak vizsgálata. A kísérleti munka célja olyan mágneses anyagrendszer kidolgozása, amely megfelelő biokompatibilitással rendelkezik a különböző orvosbiológiai alkalmazásokhoz. Az eltérő módszerrel előállított társított anyagokat a fázisösszetételük, mágneses szuszceptibilitásuk, mikroszerkezetük, színingerjellemzők alapján jellemeztem és vizsgáltam a szimulált testfolyadékban történő oldhatóságukat. A magnetit-hidroxiapatit nanokompozitok tulajdonságaik meghatározásával összefüggést állapítottam meg a különböző módszerrel előállított anyagrendszerek mágneses tulajdonságai és a magnetithez viszonyított színeltérés között.

ABSTRACT

Over the past 50 years human implantology developed a high number of metal and ceramics-based material systems to reconstruct various bone defects. However, the development of suitable bone graft substitutes requires material systems that, in addition to having adequate mechanical properties, should stimulate osseointegration through the metabolic processes of the human body. This thesis deals with the preparation of new types of bioactive – biomorphic composites and the study of their physical, chemical, and biological properties as a function of composition and technological parameters. Suitably prepared bovine bone with microstructure and phase composition nearly identical to human bone tissue was used for the preparation of scaffolds for the test specimens. By themselves, these biomorphic scaffolds do not have sufficient mechanical strength, so bioglass-ceramic coatings, having different composition on their surface, were developed. By coating the biomorphs with calcium phosphates of different solubilities the flexural and compressive strength of the biomorphs was increased. Solubility of coatings was optimised by the adjustment of their composition. Bioactivity was tested in a simulated body fluid under standard conditions, and was confirmed by electron microscopy and X-ray diffraction. In addition to bioactive properties, the developed coatings also stimulated the colonization of human HT29 adenocarcinoma cells on the surface of biomorphic scaffolds.

The preparation, physical-, chemical-, and biological properties of magnetite-hydroxyapatite nanocomposites by different wet chemistry methods are investigated as part of this thesis. The aim of the experiments is to develop a magnetic material system with biocompatibility suitable for various biomedical applications. Materials prepared by different methods were characterized by their phase composition, magnetic susceptibility, microstructure, colour properties, and their solubility in simulated body fluids. By determining the properties of the magnetite-hydroxyapatite nanocomposites, a correlation was found between the magnetic behaviour and colour coordinates of the materials prepared by different methods.

ABSTRAKT

Im Bereich der Humanimplantologie wurden in den letzten 50 Jahren eine Reihe von Materialsystemen auf Metall- und Keramikbasis entwickelt, um Knochendefekte infolge unterschiedlicher Ursache zu rekonstruieren. Die Entwicklung geeigneter Knochenersatzmaterialien erfordert jedoch Materialsysteme, die neben ausreichenden mechanischen Eigenschaften auch die Osseointegration durch die Stoffwechselprozesse des menschlichen Körpers stimulieren sollten. Diese Arbeit befasst sich mit der Herstellung neuartiger bioaktiver, biomorpher Verbundstoffe und der Untersuchung ihrer physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Zusammensetzung und den technologischen Parametern. Für die Herstellung der Gerüste für die Prüfkörper wurde präparierter Rinderknochen verwendet, dessen Mikrostruktur und Phasenzusammensetzung nahezu identisch mit menschlichem Knochengewebe ist. Da diese biomorphen Gerüste sich alleine keine ausreichende mechanische Festigkeit aufweisen, habe ich eine Bio-Glaskeramik-Beschichtung mit unterschiedlichen Zusammensetzungen auf ihrer Oberfläche entwickelt. Durch die Beschichtung der Biomorphe mit unterschiedlich löslichen Calciumphosphaten konnte ich die Biege- und Druckfestigkeit der Komposite erhöhen. Durch die gezielte Zusammensetzung der Beschichtungen habe ich Beschichtungen mit kontrollierbarer Löslichkeit entwickelt. Tests in einer simulierten Körperflüssigkeit unter Standardbedingungen wurden durchgeführt, um die Bioaktivität zu überprüfen, die durch Elektronenmikroskopie und Röntgenbeugungsstudien nachgewiesen wurde. Die von mir entwickelten Beschichtungen weisen nicht nur bioaktive Eigenschaften auf, sondern stimulieren auch die Ansiedlung menschlicher HT29-Adenokarzinomzellen auf der Oberfläche der biomorphen Gerüste.

Die Arbeit umfasst die Herstellung von Magnetit-Hydroxylapatit-Nanokompositen durch verschiedene nasschemische Verfahren und die Untersuchung ihrer physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften. Ziel der experimentellen Arbeiten ist es, ein magnetisches Materialsystem mit geeigneter Biokompatibilität für verschiedene biomedizinische Anwendungen zu entwickeln. Die mit verschiedenen Methoden hergestellten Materialien wurden anhand ihrer Phasenzusammensetzung, magnetischen Suszeptibilität, Mikrostruktur und Farbschwingungseigenschaften charakterisiert und ihre Löslichkeit in simulierten Körperflüssigkeiten wurde untersucht. Durch die Bestimmung der Eigenschaften der Magnetit-Hydroxylapatit-Nanokomposite konnte ich eine Korrelation zwischen den magnetischen Eigenschaften und den Klarheitsfaktoren der mit verschiedenen Methoden hergestellten Materialsysteme feststellen.

Alkalmazott rövidítések

| | |
|---------------|--|
| A | Atmoszférikus impregnálás |
| AW | α -trikalcium-foszfát tartalmú adalék |
| BW | β -trikalcium-foszfát tartalmú adalék |
| CHA | Karbonát hidroxiapatit ($(Ca_{10}(PO_4,CO_3)_6(OH)_2)$) |
| CT | Számítógépes tömográfia |
| CVD | Gőzfázisú kémiai leválasztás |
| DTA | Differenciál termoanalízis |
| DVK | Direkt vákuumkamrás impregnálás |
| EDS | Energiadiszperzív röntgen spektrométer |
| FT-IR | Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia |
| H | Hidroxiapatit ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) |
| H | Nagy hidroxiapatit tartalmú adalék |
| HV | Vickers-féle mikrokeménység |
| ICP | Induktív csatolású plazma |
| MH | Magnetit-hidroxiapatit nanokompozit |
| MTT | Mitokondriális szukcinát-dehidrogenáz alapú viabilitás teszt |
| N_c | Hálózatképzési fok |
| PLD | Pulzáló lézeres leválasztás |
| PVA | Polivinil-alkohol |
| SBF | Szimulált testfolyadék |
| SEM | Pásztázó elektronmikroszkóp |
| SG | Szol-gél módszer |
| STEM | Pásztázó elektronmikroszkóp, transzmissziós üzemmód |
| TCP | Trikalcium-foszfát ($Ca_3(PO_4)_2$) |
| TEM | Transzmissziós elektronmikroszkóp |
| TG | Termogravimetria |
| XRD | Röntgendiffrakció |
| XRF | Röntgenfluoreszcencia |
| α | Lineáris hőtágulási együttható |
| α -TCP | α -trikalcium-foszfát (α - $Ca_3(PO_4)_2$) |
| β -TCP | β -trikalcium-foszfát (β - $Ca_3(PO_4)_2$) |
| χ | Mágneses szuszceptibilitás |

Bevezetés

A csontpótló eljárások alkalmazásának lehetőségei a szervezetben kialakult funkcionális és/vagy esztétikai defektusok helyreállítására már az őskortól ismertek. Az ókori orvostudomány kiváló eredményeket ért el a különböző testrészek pótlását illetően, azonban releváns módszerekkel nem sikerült igazolni az egyes anyagrendszerek biológiai tulajdonságait, valamint implantátumnak való alkalmazhatóságát. A különböző csontok rekonstrukciója a csontok részletes anatómiájának, alakjuknak, ideg- és vérellátásuknak, környező képletekhez való viszonyuk ismerete nélkülözhetetlen a modern csontpótlási eljárások alkalmazásához (*Bogdán, 2014*). Az első sikeres átültetést John Hunter dokumentálta 1778-ban, miután egy baromfi sarkantyúját ültette annak sérült koponyájának felső részébe. Különböző festékekkel festett szövettani metszetekkel igazolta az implantátum vaszkularizációját, ami növekedésnek indult a beültetést követően. Napjainkban a csontpótló eljárások mintegy 5-10%-a sikertelenül végződik, a beavatkozás közben vagy az azt követően fellépő komplikációk miatt (*Pentlavalli et al., 2018*). Ezek közül a legáltalánosabbak az implantátum helytelen rögzítéséből fakadó hibák, amelyek hipertrófiás vagy atrófiás reakciót válthatnak ki. A hipertrófia esetén az implantátum rögzítése túl merev, a csontszövet nem képes megfelelően erős kötést kialakítani. Az atrófia esetén a kapcsolat túl laza, amit számos tényező befolyásolhat, mint például a kor, nem, csontsűrűség, dohányzás, cukorbetegség, gyulladáscsökkentő szerek és szteroidok használata (*Verdonk et al., 2015*). Mindegyik esetben ismételt beavatkozás szükséges a csont optimális regenerációjához. A balesetek és genetikai rendellenességeken kívül számos olyan betegség fordulhat elő, amelyek következményeként a csont szerkezete, összetétele megváltozik. Ezeknek okai lehetnek a rákos megbetegedések, alacsony csontképződési sebesség és csontritkulás (*Lee et al., 2001*). A várható élettartam növekedésével nőtt az olyan esetek száma, ahol a korral járó csontritkulás okozta rendellenességek fordulnak elő. A legáltalánosabban alkalmazott csontpótlási eljárások az előzőekben bemutatott problémák kezelésére az autograft és az allograft eljárások. Az autograftok alkalmazása a legkedveltebb módszer, mivel ebben az esetben lépett fel a legkevesebb komplikáció a beültetések következtében. Ekkor a beültetés során az egyed olyan csontszövetét használják, amely nincs mechanikai igénybevételnek kitéve, például a csípőcsont tömör és szivacsos állományát. A módszer hátránya viszont, hogy a szövet donorhelyén fertőzésveszély léphet fel és további kezelésekre lehet szükség (*Stevens, 2008*). Az allograftok alkalmazása során egy azonos fajú egyed testrészéből származó szövetet használnak fel a sérült rész pótlására. Ebben az esetben a páciensek naponta szorulnak immunszuppresszív kezelésre,

valamint kompatibilitási problémák merülhetnek fel a beültetést követően (*Basha et al., 2015*). Az említett problémák kiküszöbölésére már számos esetben használtak szintetikus bioanyagokat, amelyek tulajdonságai és felhasználási lehetőségei az előállítási módszertől és összetételétől függően szabályozhatók. A különböző módszerrel előállított biokerámiák és bioüveg-kerámiák bizonyultak az optimális megoldásnak a különböző defektusok kezelésére, mivel a kezelés ideje alatt nem váltanak káros hatást a szervezetre és összetételükből fakadóan segítik a csontképződést. A bioüvegek felületén a testnedvek hatására a fokozatos kalcium kilépést követően megindul a kristályos hidroxikarbonát-apatit képződése is, több részfolyamon keresztül (*Kaur et al., 2014*). Az állati eredetű biokerámiák szintén bioaktív tulajdonságokkal rendelkeznek, azonban a mechanikai tulajdonságaik kedvezőtlenek ahhoz, hogy nagyobb igénybevételnek kitett csontszövet pótlására alkalmazhatóvá váljanak (*Dorozhkin, 2016*). Munkám során a két anyarendszer tulajdonságait kívántam ötvözni, ezáltal olyan kompozitot létrehozni, amelyek jó mechanikai tulajdonságaik mellett bioaktív és biokompatibilis tulajdonságokkal rendelkeznek, valamint összetételétől függően szabályozható a szimulált testfolyadékban való oldhatóságuk.

A következő fejezetben a kutatási munkámhoz kapcsolódó szakirodalom feldolgozását mutatom be. A fejezet magában foglalja az általános csontpótló anyagok és bioaktív mágneses kompozitok tulajdonságait és azok előállítási lehetőségeit, valamint az előállítási módszereknek a szervezetre, összetételre, biológiai és mechanikai tulajdonságaikra gyakorolt hatását. A dolgozat további részében ismertetem az általam előállított bioaktív kompozitok összetételét, szerkezetét, mechanikai és biológiai tulajdonságait.

A csontpótló anyagok előállításához vázként speciálisan előkezelt szarvasmarha csontot használtam, amelynek felületére impregnálással különböző összetételű bioüveg-kerámia bevonatot vittem fel. A bevonat alapanyagául eltérő oldhatóságú kalcium-foszfátokat és bioüveg frittet használtam. A bevonattal rendelkező hőkezelt biosablonoknál vizsgáltam a próbatestek mikroszerkezetét, elemi- és fázisösszetételét. A bevonatok mechanikai tulajdonságokra gyakorolt hatását a mikrokeménység, a hajlító- és nyomószilárdság mérésével határoztam meg. A bioaktivitást szimulált testfolyadékban való oldhatósági vizsgálatokkal igazoltam. A tesztek során vizsgáltam az adalékoknak az oldódás dinamikájára és a mechanikai tulajdonságokra gyakorolt hatását. A biosablonok citotoxicitását mitokondriális szukcinát-dehidrogenáz alapú (MTT) viabilitás teszttel ellenőriztem. Céloom tehát olyan újszerű, biokompatibilis kompozit anyagrendszerek kidolgozása, melyeknek költséghatékony az

előállítás, alapanyagul élelmiszeripari hulladék szolgál és az összetételtől függően szabályozhatók a mechanikai tulajdonságaik és a szimulált testfolyadékban való oldhatóságuk.

A kutatási munkám további részét képezi a speciális orvosbiológiai alkalmazásokhoz használt szuperparamágneses, bioaktív nanokompozit előállítása különböző nedveskémiai módszerekkel. A hidroxipatit/magnetit nanokompozitok előállítása különböző módon lecsapásos módszerrel történt analitikai tisztaságú prekursorok felhasználásával. Vizsgáltam az előállítási módszereknek és a vas-oxid tartalomnak a mikroszerkezetre, elemi- és fázisösszetételre, mágneses szuszeptibilitásra, színinger jellemzőkre és szimulált testfolyadékban való oldhatóságra gyakorolt hatását. A munkám célja tehát ebben az esetben az előállítási körülményektől függő tulajdonságok és összefüggések meghatározása.

1. Irodalmi áttekintés

Az implantátumoknak a teljes felületükön érintkezniük kell a csontszövettel, ez az alapfeltétele a csontok megfelelő integrációjának (*Brånemark. 1977*). A kapcsolat létrejöttét és mértékét számos tényező befolyásolja, amelyek közül az implantátum formája, anyaga és az implantátum felülete a legfontosabbak. A manapság leggyakrabban alkalmazott implantátumok anyaga többnyire körszimmetrikus titán. A beültetés sikerességének a legfontosabb tényezői a biokompatibilitás, optimális terhelés és erőátvitel, műtéti technika, a felület tisztasága és morfológiája (*Albrektsson et al., 1986*).

A biokompatibilitás az anyag azon tulajdonsága, amely a fiziológiai kapcsolatot biztosítja a környező szövetek és az implantátum között. Ide tartozik a biomechanikai funkcióképesség is, ami azt a szilárdságot jelenti, ami lehetővé teszi a beültetett anyag különböző igénybevételekkel szembeni, károsodás mentes ellenállóképességét. A két tulajdonság között bizonyos ellentmondás áll fenn, ugyanis az általánosan alkalmazott bioanyagok esetén a biokompatibilitás növekedésével többnyire romlanak a mechanikai tulajdonságok (*Joób-Fancsaly, 2003*). A biokompatibilis anyagokkal szemben támasztott követelmények a következők: korróziómentesség, csontszövettel megegyező rugalmassági együttható, sterilizálhatóság és jó mechanikai szilárdság. A csontpótló anyag beültetése előtt meg kell tervezni, hogy az implantátumot milyen irányú igénybevétel éri és annak tükrében kell megválasztani az alkalmazott bioanyagot, amely a megfelelő biomechanikai tulajdonságokkal rendelkezik. A műtéti technika lehet egy- vagy kétfázisú, ahol az első fázis során beültetésre kerül az implantátum a csontba, majd a második fázis során a gyógyulási idő elteltével felszabadítják az implantátumot (*Divinyi, 1998*). A beültetendő implantátumok felületének tisztán tartására és a szennyeződések kialakulásának megakadályozására általánosan ultrahangos tisztítást, majd autoklávós sterilizálást alkalmaznak. Ez a tisztítási technika azonban hatással lehet a megmunkált bioanyag szerkezetére, felületi energiájára. A felületi energia növelése érdekében gyakran alkalmaznak gázplazmát, ahol nagy energiájú ionokkal távolítják el a szerves és szervetlen részecskéket. Az implantátumként alkalmazandó anyag megválasztásánál tehát figyelembe kell venni, hogy a tisztítási procedúrákkal szemben ellenálló legyen (*Kawahara et al., 1996*). A csontpótló anyagok felületi érdessége és egyenetlenségei fontos szerepet játszanak a csontintegráció folyamatában. A csont regenerációja gyorsabban következik be, ha porózus felületekkel érintkezik, mivel ekkor nagyobb az a felület, amely a csontszövet benövését lehetővé teszi (*Hulbert et al., 1972*). A felületen lévő makropórusoknak főként a mechanikai kapcsolat kialakításában van szerepük, míg a 100 µm-nél kisebb

mikropórusok serkentik az oszteoblasztok felületre történő migrációját. A csontintegráció szempontjából tehát a csontszövettel megegyező biomechanikai tulajdonságokkal, fizikai és kémiai ellenállóképességgel és optimális felületi érdességgel rendelkező implantátumok alkalmazása előnyös (Joób-Fancsaly, 2003).

1.1. A csontintegráció élettani fázisai

A beültetést követő első két hétben a gyulladós sejtek jelenléte dominál, az erek sérülése következtében vér tölti ki az üregeket. A kialakult fibrines váz biztosítja a sebfelszínnek védelmét és lehetőséget nyújt a csontképző sejtek adhéziójára. Megjelennek a differenciálatlan *mesenchima* sejtekből származó fibroblasztok, amelyeknek a kollagén és egyéb fehérjék termelésében van szerepük. A csontintegráció szempontjából az oszteoblasztok keletkezése döntő fontosságú. Az oszteoblasztok szaporodásának és aktivitásának feltétele a jó vérellátás. A fibroblasztok oszteoblaszttá történő differenciálódásában főként mechanikai és klinikai tényezők játszanak fontos szerepet. Az egyik ilyen paraméter a megfelelő mátrix jelenléte, amely kötőszövetes hegyszövet, de az implantátum felülete is betöltheti a mátrix szerepét. A másik tényező a teljes szöveti nyugalom. Az implantátum mikromozgásai esetén a fibroblasztok kötőszöveti sejtekké alakulnak, aminek az eredménye a kötőszöveti gyulladás. Fontos, hogy csak bioinert, vagy bioaktív anyagot alkalmazzanak, mivel csak ezek biztosítanak zavartalan csontos gyógyulást, mivel nincs korróziós hajlamuk. Az implantátum esetleges korróziója szöveti gyulladáshoz vezet, ami kötőszöveti gyulladást eredményez. A negyedik tényező az implantátum formája, amelynek lehetővé kell tennie a behelyezés utáni rögzítettséget. Ennek feltétele a csontszövet és az implantátum direkt mechanikai kapcsolata. Ha nem jön létre ez a közvetlen kapcsolat, szintén kötőszöveti gyulladás lép fel. A beültetést követő 6-18 hétben az oszteoblasztok oszteocitákká alakulnak, ezáltal az implantátumot mineralizált támasztószövet veszi körül. A 18. héttől a teljes mineralizálódás és alkalmazkodás fázisa következik. Ebben a szakaszban az implantátum körüli csontszövet teljesen átépül, vagyis az implantátum funkcióképesé válik (Divinyi, 1998; Joób-Fancsaly, 2003; Watzek et al., 1993). Az implantációt követően a beültetett anyag részleges bomlása léphet fel, amit biodegradációnak nevezünk. Fontos szempont, hogy sem az implantátum, sem annak metabolitjai nem rendelkezhetnek toxikus hatással a gazdaszervezetre. A szervezetbe kerülő idegen anyag bomlása történhet közvetlenül a testfolyadékok hatására bekövetkező oldódása révén vagy sejtaktivált biológiai lebomlási folyamatok által. Az implantátum felületének nagymértékű degradációja kötőszöveti gyulladást és esetleges kilazulást eredményezhet és erősen romlik a közvetlen mechanikai kapcsolat. Az implantátumok tervezésénél figyelembe

kell venni azoknak a nyomelemeknek a jelenlétét is, amelyek önmagukban is toxikusak lehetnek a környező szövetekre. A beültetett idegen anyag lokálisan (a környező szövetekben) és attól távol (szöveteken, szerveken) is válthat ki nem várt reakciót. Az ólom, arzén, higany és kadmium már kis koncentrációban is károsan hat a szervezetre. Ellentmondásos lehet az amalgám és a fluorapatitok ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) alkalmazása humán gyógyászatban, azonban ezek az anyagok oldhatatlanok, így például a szervezetre káros fluor és higany nem vált ki negatív válaszreakciót a szervezetben (Boch et al., 2007; Dobrádi, 2018). Az előzőekben ismertetett feltételek teljesüléséhez olyan csontpótló anyagrendszerekre van szükség, amelyek egyidejűleg kötést alakítanak ki a szövettel és segítik azok megújulását. A korszerű csontpótló bioanyagok olyan implantátumok, amelyek a biológiai rendszerekkel való közvetlen kapcsolatuk révén kezelik, kiegészítik vagy helyettesítik a test bármely szövetét, szervét vagy funkcióját (Lee et al., 2006). A csontok pótlására szolgáló bioanyagok szerepe, hogy a megfelelő biomechanikai tulajdonságaik mellett segítsék elő az implantátum integrációját a gazdaszervezetbe.

1.2. Korszerű csontpótló bioanyagok

A bioanyagokat négy generáció szerint csoportosítjuk. Az első generációba tartoznak a fémek, amelyek közül a titánt és ötvözeteit alkalmazzák a leggyakrabban, valamint a bioinert kerámiák (pl. alumínium-oxid (Al_2O_3), cirkónium-oxid (ZrO_2)). A második csoportba sorolhatók a bioaktív kerámiák és az oldódó vagy felszívódó polimerek, míg a harmadikba a kompozit vázrendszerek. A negyedik generáció tagjai az oszteogén sejteket tartalmazó polimer-kerámia kompozit anyagok (Basha et al., 2015). A fémek kiváló mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek, azonban gyenge biokompatibilitást mutatnak, valamint gazdaszervezetben bekövetkező korrózió révén toxikus fém ionok szabadulhatnak fel. A bioinert Al_2O_3 kerámiák nagy kopásállósággal rendelkeznek, míg a ZrO_2 kerámiákra a nagyobb hajlítószilárdság jellemző. A kerámiák egy része bioaktív tulajdonságaik mellett kiváló nyomószilárdsággal rendelkezik, nem korrodálnak, meglehetősen tömör a szerkezetük és viszonylag kicsi a törési szilárdságuk. A polimerek alkalmazása előnyös, mivel nem minden esetben szükséges a sérült szövet teljes feltárása, vékonyréteggént és injektálható formában is elérhetők. A biopolimerek hátránya viszont a gyenge mechanikai tulajdonságuk, ezért nem alkalmazhatók terhelésnek kitett szövetek regenerálására. Az implantátum és a környező szövet közötti reakció szerint a csontpótló anyagokat a bioinert és bioaktív csoportba sorolhatjuk (Kaur et al., 2014).

1.2.1. Bioinert anyagok

Az orvosi gyakorlatban alkalmazott implantátumok nagy része a bioinert anyagok csoportjába tartozik, mint például a titán, tantál és alumínium-oxid kerámia. Ezen anyagok felületén

keletkező stabil oxidréteg korróziómentességet eredményez és nincs toxikus hatásuk a gazdaszervezetre. Az implantológiai felhasználóságukat főként a mechanikai tulajdonságaik határozzák meg, ma a titán és ötvözeteik (pl. $TiAl_6V_4$) az orvosi célokra legáltalánosabban használt bioinert fémek (Joób-Fancsaly, 2003). Az alumínium-oxid bázisú biokerámiák alkalmazása azokon a területeken, ahol a csontszövet közvetlenül érintkezik az implantátummal egyre kevésbé használatos, mivel ezek a termékek szinte teljesen tömörek és kicsi a felületi érdességük (Schulte et al., 1980). Alkalmazásuk főleg azokra a területekre terjed ki, ahol egymás felületén elmozdulva, koptató igénybevételnek vannak kitéve. Ilyen felhasználási terület például a csípőízület pótlására alkalmazott gömbcsapágy (De Aza, 2006). Az Al_2O_3 kerámiák alternatívájaként cirkónium-oxid bázisú kerámiákat is fejlesztettek, amelyek nagyobb hajlítószilárdsággal és törési szívósággal rendelkeznek. A biomechanikai tulajdonságok javítása érdekében ittriummal stabilizált tetragonális ZrO_2 kompozitokat fejlesztettek, azonban a tribológiai tulajdonságaik nem olyan kedvezők, mint a korund kerámiáké (De Aza 2006, Dobrádi 2018).

1.2.2. Bioaktív anyagok

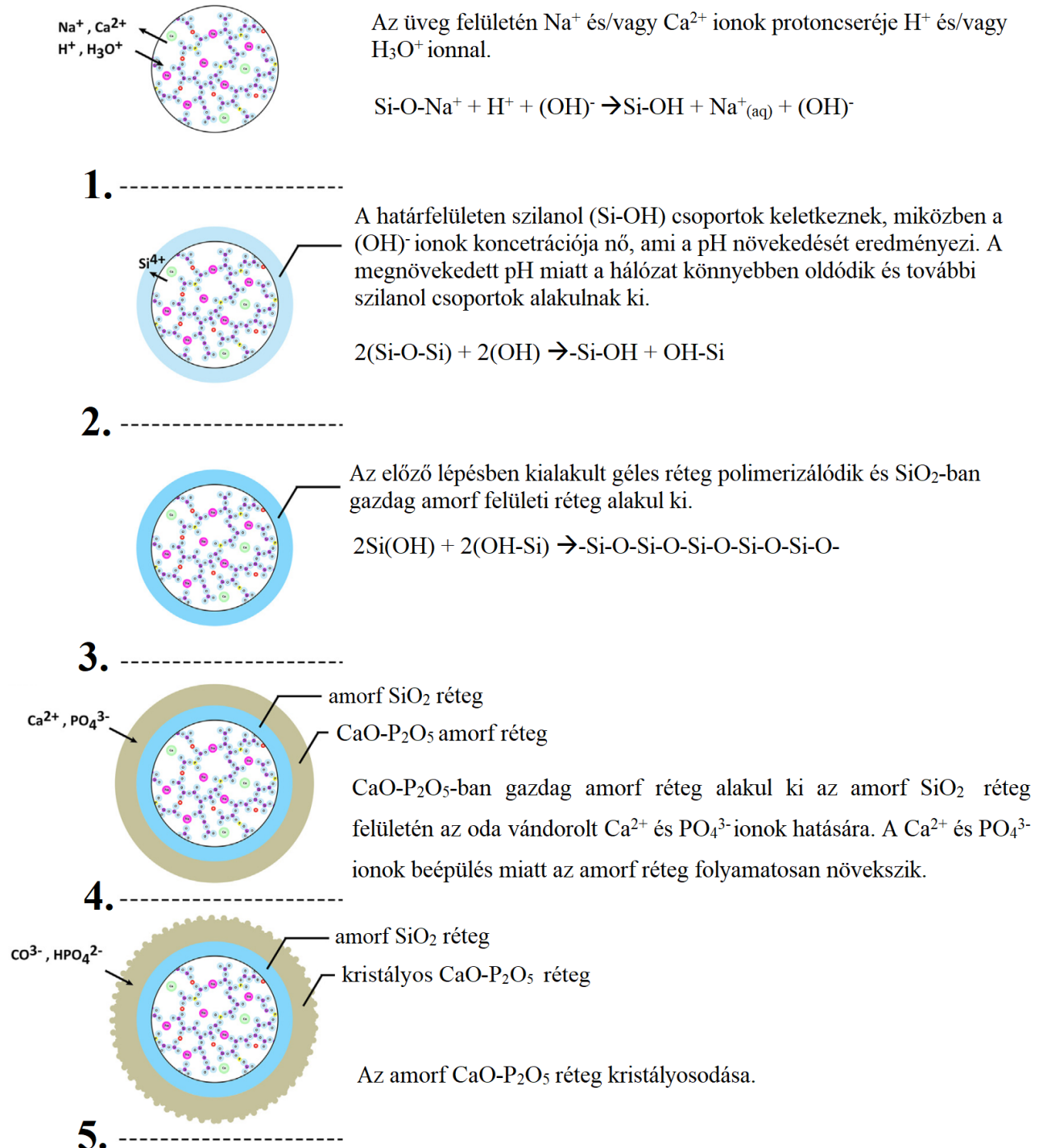
Biológiailag aktívnak nevezünk egy implantátumot, ha az direkt mechanikai és kémiai kapcsolatot alkot a környező csontszövettel. Gyenge mechanikai tulajdonságaik miatt nyomó és hajító igénybevételnek kitétt csontszövetek pótlására önmagukban nem alkalmasak. Szeretlen összetételük nagyban hasonlít az emberi csontszövet összetételéhez és valószínűleg ennek következménye az implantátum és a csontszövet határzónájában bekövetkező bizonyos fokú degradáció (Stevens, 2008; White et al., 2007). A bioaktív anyagok lehetnek felületaktívak, biológiailag oldódók vagy felszívódók. További előnyük a fémekhez képest, hogy a beültetést követően az implantátumból felszabaduló anyagok nem szövetidegenek, ezért nem okoznak gyulladási folyamatokat. A gazdaszervezetben mutatott reakciójuk alapján bekövetkező kioldódásnak és felületi érdességüknek köszönhetően képesek közvetlen mechanikai kötést kialakítani a csontszövettel. Amennyiben makropórusokat tartalmazó bioanyagot alkalmaznak implantátumként, abban az esetben megindul az implantátum vaszkularizációja, ami kedvező anyagcsere folyamatokat biztosít. A mikropórusok pedig a csontképző sejtek kolonizációját serkentik az adott felületen. A bioaktív anyagok karbonát-hidroxiapatit ($(Ca_{10}(PO_4,CO_3)_6(OH)_2, CHA)$) rétegen keresztül alakítanak ki direkt kapcsolatot az élő szövezzel, mivel kémiai összetételük és szerkezetük is megegyezik a humán szeretlen csont komponensekével. A bioaktív anyagok csoportjába tartoznak a hidroxiapatit kerámiák (H), a bioüvegek és a bioüveg-kerámiák. A biológiailag oldódó vagy felszívódó bioanyagok a

testfolyadék hatására folyamatosan oldódnak és optimális esetben a kioldódással azonos sebességgel indul meg az csontképződés az implantátum felületén. Amennyiben ez az oldódás túl gyors, úgy nem alakul ki megfelelő mechanikai kapcsolat az implantátum és a gazdaszervezet között. Az oldható kerámiák összetételével ugyan szabályozható az adott implantátum felszívódása a gazdaszervezetben, azonban figyelembe kell venni a páciens anyagcsere folyamatainak sebességét is, ami sok egyéb tényezőtől függ (Jones *et al.*, 2013; Kaur *et al.*, 2014; Nour *et al.*, 2019).

1.2.2.1. Bioüvegek és bioüveg-kerámiák

A bioaktív anyagok körében a legintenzívebben kutatott terület a Larry L. Hench (Hench *et al.*, 1972) által leírt szilícium oxid, nátrium-oxid, kalcium-oxid és foszfor-pentoxid ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$) bázisú bioüvegek alkalmazhatósága. Ez a kereskedelmi forgalomban Bioglass® 45S5 néven jelent meg, amelynek tömegszázalékos összetétele: 45% SiO_2 , 24,5% Na_2O , 24,4% CaO és 6% P_2O_5 . A bioüvegek előállítása két módszerrel történik. Az egyik esetben az alapanyagokat olvasztás és homogenizálás után grafit vagy acél tégelybe öntik, majd a kívánt alakra formázott üveget utólagosan hőkezelik. A másik esetben az olvadt üveget frittelik, majd az őrlését utólagos formázás és hőkezelés követi. Ezen anyagok bioaktivitása a felületen bekövetkező apatit képződéssel igazolható. Ahogy növekedett az újonnan felfedezett, különböző csoportba tartozó bioanyagok száma, úgy egyre több *in vivo* tesztet végeztek a kutatók, hogy ellenőrizzék az új anyagrendszerek bioaktivitását. Ennek ellenőrzésére korábban kizárólag állatkísérletek végeztek (Kokubo *et al.*, 2006). Kokubo és munkatársai 1992-ben kidolgoztak egy új módszert, ahol az emberi vérplazma szervesen ion koncentrációjával közel megegyező összetételű szimulált testfolyadékot (SBF) használtak az apatit képződés vizsgálatára, ezzel jelentősen csökkentették a szükséges állatkísérletek számát (Kokubo *et al.*, 1992). Kísérleteik során igazolták, hogy azon anyagrendszerek esetén, ahol *in vivo* megindult az apatit képződése, mint például a Bioglass® és a szinterelt hidroxipatit esetén, úgy az általuk fejlesztett szimulált testfolyadékban *in vitro* is képződött apatit. A $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ bázisú üveghez kis mennyiségű Al_2O_3 adagolásakor *in vivo* bioaktivitás tesztet követően nem alakult ki direkt mechanikai kötés az implantátum és a csontszövet között. Az *in vitro* SBF tesztet követően pedig kimutatták, hogy nem indult meg az apatit képződése a felületen (Neo *et al.*, 1993; Ogino *et al.*, 1980). Ezek a vizsgálatok bizonyították a bioüvegek biokompatibilitásának szimulált testfolyadék alkalmazásával történő *in vitro* bizonyítását. A bioüvegek és a csontszövet közötti közvetlen mechanikai kapcsolat kialakulásának feltétele a testfolyadék hatására bekövetkező karbonát-hidroxipatit (CHA) réteg képződése. Ezen a rétegen keresztül

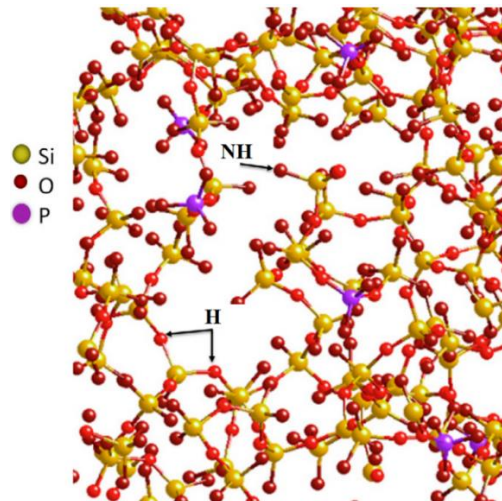
képesek kötődni *in vivo* a csont képződéséhez szükséges fehérjék, kollagén rostok és oszteoblasztok. A karbonát-hidroxiapatit réteg kialakulásának mechanizmusa öt fő lépésre osztható, amelyet az 1. ábra foglal össze (Kokubo *et al.*, 2006; Mozafari *et al.*, 2019).



1. ábra: Az apatit képződés mechanizmusa bioüvegek esetén (Mozafari *et al.*, 2019)

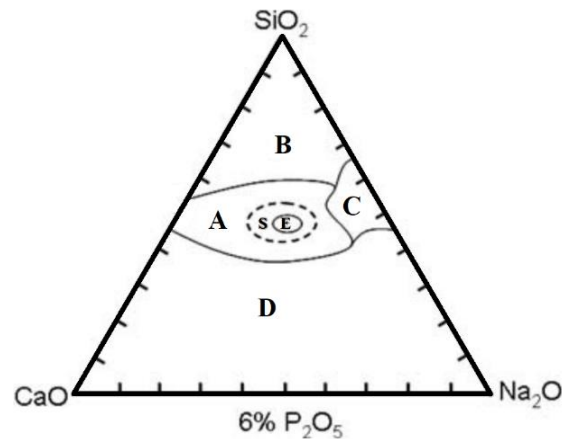
A bioaktív üvegek szerkezete és biológiai tulajdonságai között szoros kapcsolat van. Amennyiben a bioüveg SiO_2 tartalma nagyobb, mint 60 mol%, abban az esetben nem figyelhető

meg az apatit kristályosodása a felületen (Wilson *et al.*, 1981). Az üveget alkotó szilícium tetraéderek Si-O-Si hidakon keresztül kötődnek egymáshoz. A hálózatmódosítók, mint például a Na₂O, CaO, MgO vagy K₂O lokálisan felszakítják ezeket a hidakat és például Si-O-Na⁺ kötéseket alakítanak ki, így nő a nem hídallású oxigének száma. A 2. ábra szemlélteti a bioüveg szerkezetét, ahol *H* jelöli a hídallású oxigén ionokat, míg az *NH* a nem hídallású oxigén ionokat (Cormack *et al.*, 2012; Jones *et al.*, 2013). Az ábrán a jobb átláthatóság érdekében a Ca²⁺ és Na⁺ ionokat nem tüntették fel.



2. ábra: A bioüvegek szerkezete (Cormack *et al.*, 2012)

Amennyiben a hálózatmódosító oxidok mennyisége nagy az adott üvegben, nő az oldhatósága és a biokompatibilitása. A 3. ábrán látható módon a SiO₂-Na₂O-CaO-P₂O₅ üvegeket hat csoportra oszthatjuk, attól függően, hogy az alkalmazásuk során milyen válaszreakciót váltanak ki a szervezetben. Az *A* csoportba tartoznak a kötés kialakítására alkalmas üvegek, a *B* kategória esetén az üvegek reaktivitása túl kicsi, míg a *C* kategóriában túl nagy az üvegek reaktivitása és nem alakul ki megfelelő mechanikai kapcsolat. A *D* mezőbe tartozó összetétel nem képez üveges formát, így kötődés sem jön létre. Az *S* jelű összetételek esetén nem alakul ki megfelelő kötődés, míg az „*E*” a Bioglass[®] összetételét jelöli (Baino *et al.*, 2020).



3. ábra: A bioüvegek összetételi tartományai (Baino et al., 2020)

A bioüvegek összetételéből tehát megadható, hogy a beültetést követően milyen válaszreakciót vált ki a szervezetben. Az összefüggést a biokompatibilitás és az összetétel között az úgy nevezett hálózatképzési fok adja meg. A hálózatképzési fok (N_C) („network connectivity”) a hídállású oxigének és a szilícium ionok számával adható meg, az alábbi összefüggés (1) alapján:

$$N_C = \frac{4[\text{SiO}_2] - 2[\text{M}_2^{\text{I}}\text{O} + \text{M}^{\text{II}}\text{O}] + 6[\text{P}_2\text{O}_5]}{[\text{SiO}_2]} \quad (1)$$

ahol $\text{M}_2^{\text{I}}\text{O}$ és $\text{M}^{\text{II}}\text{O}$ az egy és két vegyértékű hálózatmódosító iont tartalmazó oxidok mennyisége. Korábbi vizsgálatok azt mutatták, ha az N_C értéke 1,8 és 2,6 közötti, akkor az adott összetételű üveg bioaktív (Fitzgerald et al., 2007; Hill, 1996; Jabraoui et al., 2016). A Bioglass® típusú üvegek esetén az $N_C=2,12$, viszont ha $N_C>2,6$ akkor az üveg nem bioaktív, mivel a nem hídállású oxigén ionok hiánya miatt az üveges fázis a testfolyadékok hatására lassan oldódik. Az különböző gyártók által forgalmazott bioüvegek összetételét az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat: A kereskedelmi forgalomban kapható bioüvegek összetétele (m/m%) (Dobrádi, 2018)

| | SiO ₂ | CaO | Na ₂ O | P ₂ O ₅ | K ₂ O | B ₂ O ₃ | CaF ₂ |
|----------------|------------------|------|-------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|
| 45S5 | 45 | 24,5 | 24,5 | 6 | - | - | - |
| 45S5F | 43 | 12,0 | 23,0 | 6 | - | - | 16 |
| 45B15S5 | 30 | 24,5 | 24,5 | 6 | - | 15 | - |
| 45B5S5 | 40 | 24,5 | 24,5 | 6 | - | 5 | - |
| KCP 1 | 45 | 24,5 | - | 6 | 24,5 | - | - |
| 45S5-N | 50 | 24,5 | 19,5 | 6 | - | - | - |
| 45S5-C | 50 | 19,5 | 24,5 | 6 | - | - | - |

A bioüveg-kerámiák összetételükben hasonlítanak a bioüvegekre azzal a különbséggel, hogy csupán 0-10 m/m% Na_2O -t és további módosító- (K_2O , MgO , CaF_2), illetve átmeneti (Al_2O_3) ionokat tartalmaznak. Az összetétel módosításával, valamint az erősítő fázisok irányított kristályosításával jobb mechanikai tulajdonságú bioaktív anyagok állíthatók elő. Megfelelő mennyiségű MgO hozzáadásával és a kétlépcsős hőkezeléssel wollasztonit és apatit, míg CaF_2 hozzáadásával apatit és rétegszilikát (pl. flogopit) kristályosíthatók (De Aza, 2006; Magyarai et al., 2014). A flogopit $((\text{Si}_3\text{AlO}_{10})\text{F}_2\text{Mg}_3(\text{Na},\text{K}))$ és az apatit bioüveg-kerámiák jobb megmunkálhatóságot eredményeznek, míg a wollasztonit ($\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$) szálas szerkezetéből adódóan növeli a mechanikai szilárdságot. Az üvegkerámiák előállítása során mindez az adott összetételű nyers keverék olvasztásával, formázásával, majd két lépcsős utólagos hőkezelésével lehetséges. Az első hőkezelés kb. 400-700 °C-on történik, ahol megindul a kívánt kristályos fázisok nukleációja, majd a második, magasabb hőmérsékletű (kb. 800-1000 °C) hőkezelés során következik a kristályok irányított növekedése. A másik lehetséges előállítási módszer szerint az üvegkerámiákat fritteléssel állítják elő, ahol az örölt frittet formázzák és az ezt követő utólagos hőkezelési eljárásokkal alakítják ki a végső, kívánt kristályos fázisokat tartalmazó szerkezetet. Az általánosan használt bioüveg-kerámiák összetétele közel azonos a Bioglass® összetételével (2. táblázat), vagyis az üvegek hálózatképzési foka közel egyező, így az apatit képződés a korábban leírt folyamatoknak megfelelően történik (De Aza, 2006; Chen et al., 2005).

2. táblázat: Kereskedelmi forgalomban kapható üvegkerámiák összetétele (m/m%) (Dobrádi, 2018)

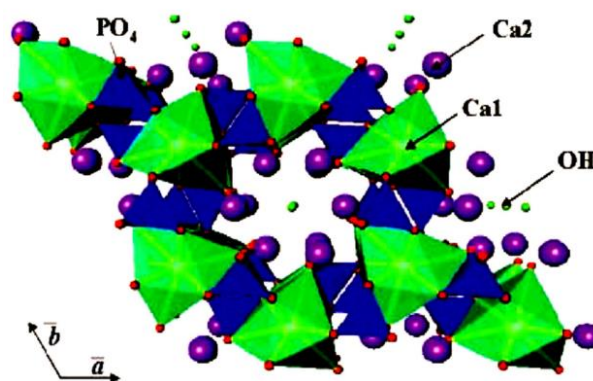
| | SiO_2 | CaO | Na_2O | P_2O_5 | K_2O | MgO | Al_2O_3 | CaF_2 |
|-------------------|----------------|--------------|-----------------------|------------------------|----------------------|--------------|-------------------------|----------------|
| Ceravital® | 40-50 | 30-35 | 5-10 | 10-50 | 0,5-3 | 2,5-5 | 0 | 0 |
| Cerabone® | 34 | 44,7 | 0 | 6,2 | 0 | 4,6 | 0 | 0,5 |
| Ilmaplant® | 44,3 | 31,9 | 4,6 | 11,2 | 0,2 | 2,8 | 0 | 5 |
| Bioverit® | 19-54 | 10-34 | 3--8 | 2-10 | 0 | 2-21 | 8--15 | 3-23 |

1.2.2.2. Oldható biokerámiák

A biológiailag felszívódó kerámiák az implantációt követően ideális esetben teljes mértékben feloldódnak és az oldódás sebességével megegyező ütemben történik az oszteointegráció. Ebben az esetben csak egyszeri műtéti beavatkozás lenne szükséges, mivel a gyógyulási idő elteltével nincs szükség az implantátum felszabadítására. A kezelési idő alatt az implantátum állványként szolgál, amelyet optimális esetben a kezelés végére teljes mértékben az újonnan képződött csontszövet helyettesít. Ebbe a csoportba tartoznak a kalcium-foszfát alapú kerámiák, amelyek kiváló biokompatibilitási, oszteoinduktív és oszteoproduktív tulajdonságaik

mellett gyenge biomechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek. További hátrányuk, hogy a kezelés idejével, az oldódás mértékével egyenes arányban csökkennek a mechanikai tulajdonságaik (Nour *et al.*, 2019). A felszívódó bioanyagok fő képviselői a hidroxiapatit (H), a β -whitlockit (BW, β -Ca₃(PO₄)₂) és az α -whitlockit (AW, α -Ca₃(PO₄)₂) alapú kerámiák. A testfolyadék hatására bekövetkező oldódás sebessége a kerámiák esetén a kalcium és foszfor atomarányától függ. A humán inorganikus csontállomány kb. 70%-ban hidroxiapatitot és 30%-ban amorf kalcium-foszfátot tartalmaz (CaHPO₄·2H₂O, Ca₄H(PO₄)₃·2H₂O, (Ca,Mg)₃(PO₄)₂). A β -whitlockit elméleti Ca/P atomaránya 1,5, a hidroxiapatit esetén pedig 1,67. Azok a kalcium-foszfátok, ahol ez az atomarány kisebb, mint 1,33 nem alkalmazhatók implantátumként, mert túl gyorsan feloldódnak. Az oldódás mértékét befolyásoló további tényezők a gazdaszervezet fiziológiai állapota, az implantátum felülete, makro- és mikroporozitása, a foszfátok szemcsemérete és kristályosodási foka, valamint a kristályszerkezetbe beépülő helyettesítő CO₃²⁻, Mg²⁺, Sr²⁺ és Fe²⁺ ionok mennyisége (Dorozhkin, 2015; Hench, 2013).

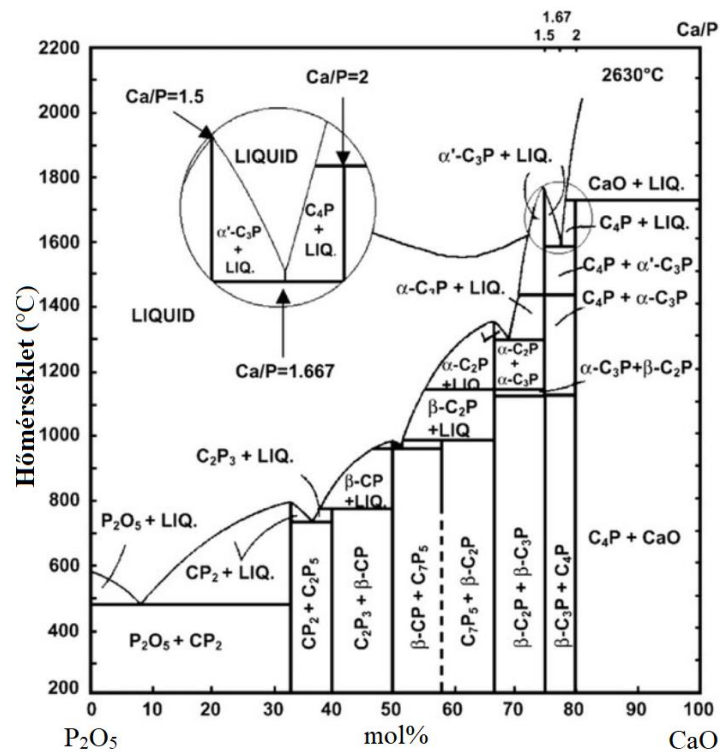
A szintetikus hidroxiapatit (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) hexagonális rácsban kristályosodik, ahol a rácsállandók a=9,432 Å és c=6,881 Å. A 4. ábrán látható módon az apatit vázának stabilitását a hat, spirális elrendezésben elhelyezkedő (PO₄)³⁻ tetraéderek hálózata határozza meg. A Ca²⁺ ionok közül 6 az elemi cellában társul a (OH⁻) csoportokhoz, amelyek a bázissíkok sarkaiban láthatók merőlegesen az alapsíkra és párhuzamosan a c tengellyel (Kaur *et al.*, 2014).



4. ábra: A hidroxiapatit szerkezete (Kaur *et al.*, 2014)

Az emberi csontszövetben található hidroxiapatit számos helyettesítő iont tartalmazhat, például CO₃²⁻, Mg²⁺, Sr²⁺, Fe²⁺, Cl⁻ és F⁻ ionokat, amelyek befolyásolják a HA oldhatósági tulajdonságait. A biológiai apatitok általános képletét a következő formában szokás megadni: (Ca, Mg, Na)₁₀(HPO₄, PO₄, CO₃)₆(OH)₂.

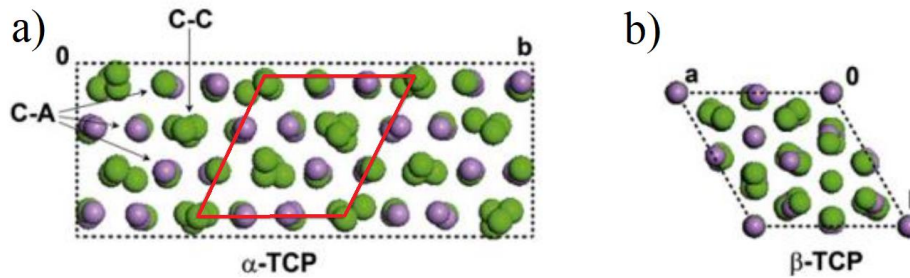
A szintetikus, általában lecsapásos módszerrel előállított hidroxiapatitot széles körben alkalmazzák a csontpótló anyagként, mivel szerkezete közel azonos a humán apatit szerkezetével, ezáltal kiváló biokompatibilitási tulajdonságokkal rendelkezik, azonban szilárdsága kisebb, mint az emberi csontszöveté. A leggyakrabban használt titán alapú bioinert implantátumok bioaktivitást növelő bevonataként is használják, ahol az előállítás során főként plazma-szórással viszik fel a felületre a HA szemcséket (Bigal et al., 1982; Hench, 2013). A trikalcium-foszfát ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, TCP) alapú biológiailag oldódó biokerámiákat kompozit anyagként használják főleg csontcementben, valamint implantátumként szabályozható oldhatóságuk és oszteokonduktív tulajdonságuk miatt (Matsunga et al., 2015). A $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ rendszer fázisdiagramja az 5. ábrán látható (Dorozhkin, 2012).



5. ábra: $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ rendszer fázisdiagramja (Dorozhkin, 2012)

A trikalcium-foszfátnak két polimorf módosulata van, az $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\alpha\text{-TCP}$) és a $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\beta\text{-TCP}$). A $\beta\text{-TCP}$ 1125 °C-ig stabil és e hőmérséklet felett újraképződő átalakulással $\alpha\text{-TCP}$ módosulattá alakul. Az $\alpha\text{-TCP}$ előállítása tehát a $\beta\text{-TCP}$ hevítésével lehetséges, illetve a transzformációs hőmérséklet felett is kristályosítják a megfelelő összetételű prekursorokból. A fázisdiagram alapján 1130 °C felett bekövetkezik a fázisátalakulás. Az $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ gyors hűtéssel metastabil formában megtartható, de oldhatósága nagyobb, mint a $\beta\text{-trikalcium}$ foszfáté és meglehetősen rövid idő alatt kalcium hiányos hidroxiapatittá hidrolizál. Az $\alpha'\text{-TCP}$ polimorf módosulatnak gyakorlati szempontból nincs nagy jelentősége, mivel 1430 °C

hőmérséklet felett stabil és a hőmérséklet csökkenésével α -TCP módosulattá alakul. Az α - és β -TCP kristályszerkezetét a 6. ábra szemlélteti. A 6/a ábrán a vörös színnel jelölt rombusz a hidroxiapatit szerkezetnek megfelelő elemi cellában az OH-oszlopokat kation-kation (C-C) csoportok helyettesítik. Az α és β módosulat közötti szerkezeti különbség, hogy a β -TCP esetén nincsenek C-C oszlopok, helyette kétféle kation-anion (C-A) oszlop figyelhető meg, ahol az A oszlopok $-P-Ca-Ca-P-$, míg a B oszlopok $-P-Ca-Ca-Ca-P-P-$ szekvenciának felelnek meg (Bulina et al., 2021; Carrodegus et al., 2011).



6. ábra: Az α -TCP (a) és a β -TCP (b) elemi cellák, ahol a Ca^{2+} ionokat zöld, a P^{5+} ionokat lila szín jelöli (Carrodegus et al., 2011)

Az azonos kémiai összetétel ellenére a két módosulat szerkezete jelentősen eltér, ami befolyásolja a fiziológiai környezetben mutatott reaktivitásukat. A TCP bázisú kerámiák azonban instabilak vizes közegben a nagy oldhatóságukból adódóan. E tulajdonság kiküszöbölése érdekében különböző két vegyértékű kationokkal (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+}) helyettesítették a β -TCP szerkezetében a Ca^{2+} ionokat. A módosításokkal csökkenthető az oldhatóság a biokompatibilitás megtartása mellett. A trikálcium foszfátok oszteokonduktív tulajdonságuknak köszönhetően anélkül képesek kötést kialakítani a csontszövettel, hogy bekövetkezne a felületen az apatit kristályosodása (Takashi et al., 2001). Ahogy az α - és β polimorf módosulatok oldhatóságára, úgy a termodinamikai egyensúlyra is hatással van a két vegyértékű helyettesítő ionok jelenléte. A magnézium, cink és stroncium ionok növelik a β -TCP módosulat stabilitását. A tiszta α -trikalcium-foszfát előállításánál tehát ügyelni kell arra, hogy a kiindulási anyagok ne tartalmazzanak olyan komponenseket, amelyek stabilizálják a β -TCP módosulatot. A szilícium ion azonban képes helyettesíteni a PO_4^{3-} ionokat, amelyek a polimorf átalakulás hőmérsékletének csökkentésével stabilizálják az α -TCP módosulatot. Az α -trikalcium-foszfát a β -TCP módosulathoz hasonlóan kiváló biokompatibilitási tulajdonságokat mutat, viszont nagyobb az oldhatósága. Adott fázisösszetételű oldódó kerámia kompozitok alkalmazásával viszont szabályozható az adott implantátum felszívódási sebessége. A 3. táblázat foglalja össze a különböző összetételű bioaktív kerámiák oldhatóságát (Carrodegus et al., 2011; Dorozhkin, 2012; Matsunga et al., 2015).

3. táblázat: A kalcium-foszfátok oldhatósága (Dorozhkin, 2012)

| Ca/P atomarány | Vegyület | Képlet | Oldhatóság 25 °C-on (g/l) |
|-------------------|---|--|------------------------------|
| 0,5 | Kalcium-foszfát-monohidrát (MCPH) | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$ | ~18 |
| 0,5 | Monokalcium-foszfát (MCP) | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ | ~17 |
| 1 | Dikalcium-foszfát-dihidrát (DCPD) | $\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$ | ~0,088 |
| 1,33 | Oktakalcium-foszfát (OCP) | $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\text{H}_2\text{O}$ | ~0,0081 |
| 1,5 | α -trikalcium-foszfát (α -TCP) | $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | ~0,0025 |
| 1,5 | β -trikalcium-foszfát (β -TCP) | $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | ~0,0005 |
| 1,67 | Hidroxiapatit (H) | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ | ~0,0003 |
| 1,67 | Fluorapatit (FA) | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ | ~0,0002 |
| 1,67 | Oxiapatit (OA) | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$ | ~0,087 |

Fiziológias pH értékek (7,2-7,4) mellett a kioldódó Ca és P mennyisége az alábbiak szerint csökken: MCPH>MCP>DCPD>OA>OCP> α -TCP> β -TCP>H>FA. A különböző oldhatóságnak köszönhetően a gazdaszervezet anyagcseréjének sebességéhez képest egyénre szabhatók a biológiailag oldódó implantátumok (Dorozhkin, 2012).

1.3. Bevonatok

Az előzőekben ismertetett bioinert anyagok (pl. titán és ötvözetek) nem képesek önmagukban közvetlen kapcsolatot kialakítani a csontszövetrel, ezért különböző segédanyagokat és bevonatolási technikákat fejlesztettek ki annak érdekében, hogy megfelelő biokompatibilitással és felületi érdességgel lássák el a felületet. Bioaktivitást fokozó anyagként főként hidroxiapatitot, wollasztionitot és bioüveget használnak. A bevonat képzésének fő szempontja a megfelelő adhézió az implantátum felülete és a bevonat között az implantációt követő stádiumban is. Az általánosan elterjedt bevonatolási technikák közé tartozik a gőzfázisú kémiai leválasztás (CVD), pulzáló lézeres leválasztás (PLD), szol-gél módszer (SG), folyadék fázisból történő impregnálási módszerek, elektrokémiai leválasztás (ED), elektroforetikus bevonás (EPD), katódporlasztás, plazmaszórás és az elektrosztatikus szórás (ES) (Dobrádi, 2018; Oliver et al., 2019). Hidroxiapatit bázisú bevonatok előállítását a legtöbb esetben plazmaszórással valósítják meg, amivel 30-200 μm vastag bevonat alakítható ki. A bioinert szubsztrátok felülete a legtöbb esetben előkezelést igényel, vagyis tisztítani kell a felületet és megfelelő felületi érdességet kell biztosítani az optimális adhézió érdekében. A homokszórással előkezelt felületre úgy viszik fel a kialakítani kívánt bevonatot, hogy a por halmazállapotú alapanyagot vivógáz segítségével beviszik a plazmasugár belsejébe, majd az olvadt részecskéket a bevonandó felületre szórják. Az így kialakult réteg gátolja a korróziót és növeli a bioinert fémek biokompatibilitását (Garcia et al., 2018; Canas et al., 2019; Oliver et al., 2019).

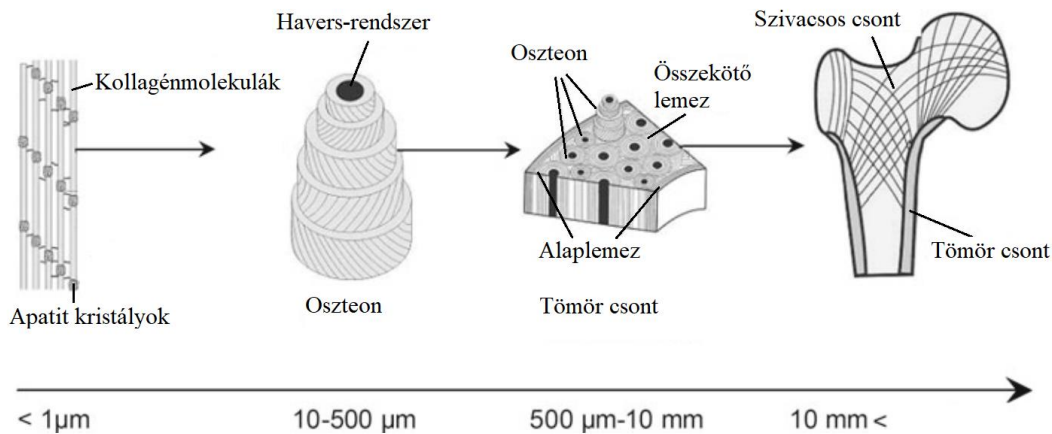
A korábban felsorolt bevonatolási eljárások közül azonban az alapanyagok esetleges degradációja miatt nem mindegyik alkalmazható bioüveg alapú bevonatok kialakítására. A leggyakrabban használt bevonatolási technikák a bioaktív üvegek körében a szol-gél eljárás (SG), az EPD, a PLD és a plazmaszórás. Az SG eljárás előnye, hogy szabályozható a kialakítani kívánt bevonat összetétele és homogenitása, széles összetételi tartományban alkalmazhatók többrétegű, porózus bioüveg bevonat kialakítására. A bevonat létrehozása után ebben az esetben is hőkezelní kell bevont próbatestet, ami szintén gyenge adhéziót eredményezhet a szubsztrát és a bevonat között. Magnézium ötvözetek esetén, 500 °C kezelési hőmérsékleten a kialakított bevonat levált a felületről, feltehetően az eltérő hőtágulási együtthatók miatt (*Shen et al., 2015*). A PLD módszer egyik előnye, hogy vékony (0,05-5 µm) réteg alakítható ki, akár bonyolult geometriájú felületeken is, azonban szükséges a felület előkezelése a bevonatolási eljárás előtt és a kialakult bevonat nem minden esetben egyenletes (*Chang et al., 2011; Garcia et al., 2018*). Az elektroforetikus leválasztás rendkívül sokoldalúan alkalmazható módszer kerámia és polimer bevonatok előállítására. Az EPD módszer során például a bioaktív üvegrészecskéket stabil oldószerben szuszpendálják, majd a töltéssel rendelkező részecskék mozgása és koagulációja révén lerakódnak az elektróda felületén. Az elektroforetikus technikával bonyolult geometriával rendelkező felületeken alakítható ki bevonat akár hőérzékeny anyagok felhasználásával. Az eljárás továbbá lehetővé teszi a porózus, homogén és nagy tisztaságú bevonatok kialakítását (*Avcu et al., 2019*). Számos különböző bevonat hozható létre termikus szórással és a bioüvegek bioaktív tulajdonságai sem változnak a bevonat kialakítását követően, azonban a bevonat és a felület között gyenge adhézió alakul ki (*Pishbin et al., 2013*). A folyadék fázisból történő impregnálás során a szubsztrát felületére megfelelő szemcseméretűre őrölt bioüveg frittet visznek fel, majd utólagosan hőkezelik. Fém szubsztrátok alkalmazása során azonban számolni kell az eltérő hőtágulási együttható okozta adhéziós nehézségekkel, továbbá a hőkezelés során a bevont kívánt felület degradálódhat, ami elősegítheti a fém ionok fokozott kioldódását fiziológiás környezetben. A módszer előnye azonban egyszerűségében rejlik, emellett kedvezőek az előállítás költségei, könnyen kezelhetők és változtathatók az előállítási paraméterek. Bioinert fémek felületén a bioüveg frit összetételének alkalmas megválasztásával kiváló bioaktív tulajdonságokat mutató bevonat alakítható ki. Az eljárás azonban megköveteli, hogy a szubsztrát felülete legyen megfelelően érdes, hogy az impregnálás során a bioüveg frit szemcsék egyenletes tapadjanak a felületre. Továbbá az üveg összetételét úgy kell megválasztani, hogy a hőtágulási együtthatója valamivel kisebb legyen, mint az alapfémé, így nyomófeszültséges bevonatot képez a felületen, ami tovább növeli a mechanikai tulajdonságokat. (*Avcu et al., 2019; Conde et al., 2016*). A módszer

sokoldalúsága, a paraméterek egyszerű optimalása és kedvező anyagi vonzata miatt kutató munkám során folyadék fázisból történő bevonatolási technológiát alkalmaztam. Az optimális bevonat kialakítása érdekében különböző összetételű bioüveg-kerámiákat használtam a bevonat alapanyagaként, amit természetes eredetű kalcium-foszfát hordozóra vittem fel. Az előkísérletek során az egyenletes bevonat kialakítását a biológiai alkalmazásokban általánosan használt bioaktív kitozán, zselatin és polivinil-alkohol hozzáadásával végeztem.

1.4. Hierarchikusan felépített természetes és mesterséges vázak

1.4.1. A csont szövettani szerkezete

A csontok mechanikai tulajdonságait az oszteonok, a csontszövet csőszerű alegységei határozzák meg. A ~10 mm hosszú oszteonok a csont fő terhelési vonalaival párhuzamos lefutásúak, így a csöves csontok esetén például azok hossz tengelyében haladnak. A csontváz csontjai erős közelítéssel, hasonlóak a vasbeton szerkezetéhez, ahol az oszteonokba rendeződött kollagén rostok betonvasaknak, a CaO-P₂O₅ alapú mészsók pedig cementnek és a kavicsnak felelnek meg. Az emberi csontszövet makroszkópikus megjelenésében (7. ábra) tömör (*substantia compacta*) és szivacsos (*substantia spongiosa*) állományból áll. A csontszövet különböző megjelenési formáit a kollagénrostok elrendeződése alapján csoportosíthatjuk. A tömör csontszövet szerkezeti alapeleme az oszteon, ami egy 5-10 µm vastag, koncentrikus héjából felépülő, szűk csatornát magába záró cső. A hosszanti csatornákat nevezik Havers-csatornának, ezekben fut a hajszálér hálózat, amelyeket a Volkmann-csatornák kötik össze és ezek biztosítják a Havers-csatornák érosszekötéseit (*Damjanovich et al., 2007*). Az oszteoblasztok az oszteonok falán keresztül haladó Volkmann-csatornán képesek vándorolni a csontszövet adott régiójába. Az oszteonok falát kollagén rostok erősítik hossz, kereszt vagy váltakozó irányban. A szivacsos csontállomány nem mutat oszteonális elrendeződést, hanem lemezekből és tömör szálakból felépülő szövet, amelyeket bonyolult üregrendszerek zárnak magukba. A csontszövet egyik jellemzője a folyamatos bomlás és felépülés (csontátépülés). Egy felnőtt ember csontrendszerében a *corticalis* állomány 5-10%-a, míg a szivacsos csontszövet akár 20%-a is kicserélődhet évente. Az állandó csontátépülés következtében a törési folyamatokból, orvosi beavatkozástól kialakult csontheg szerkezete is módosul (*Damjanovich et al., 2007, Hamed et al., 2010*).



7. ábra: Az emberi csontszövet szerkezete (Hamed et al., 2010)

A csontok felépítése kémiai szempontból közel azonos, 1/3 rész szervetlen anyagból (hidroxipatit), 1/3 rész szerves anyagból (kollagén) és 1/3 rész vízből áll. A soksejtű szervezetekben a kollagének széles körben elterjedt vázfehérjék, a humán szervezetben szinte mindenütt előfordul: bőr, inak és szalagok. A kollagének szintézise szintén a csontban, az oszteoblasztokban történik. A mikrofibrillumokba rendeződött kollagénmolekulák szerteágazó kollagénhálózatot alakítanak ki. A csontszövet ásványi anyag tartalma a legnagyobb az összes kötő- és támasztószövet közül és a csontok hordozzák a szervezet kalcium tartalmának 99%-át.

1.4.2. Mesterséges vázak

Az implantátum sikeres beépüléséhez szükséges feltételeknek, mint amilyenek például a megfelelő biomechanikai tulajdonságok, szabályozott oldhatóság és biodegradáció, korrózióállóság, szoros illeszkedés és közvetlen mechanikai kapcsolat, a bioüvegek, biokerámiák és a biológiailag oldódó kerámiák teljes mértékben megfelelnek. Tömbségi anyagként való alkalmazásuk esetén a fő hátrányt ezeknél a bioaktív anyagoknál a kis felületi érdesség és tömörség, valamint a gyenge mechanikai tulajdonságok jelentik. Ezeknek a hátrányoknak a kiküszöbölésére számos olyan technikát fejlesztettek ki, melyekkel lehetséges bioanyagok felhasználásával a csont szerkezetével azonos, hierarchikusan felépített vázak előállítását. Eltérő előállítási módszerekkel különböző szilárdsággal és rugalmassággal rendelkező szerkezetek készíthetők attól függően, hogy a szervezet mely részében kerülnek felhasználásra (kötőszövet vagy csontszövet, terhelésnek kitett testrészek).

A vérerek beépüléséhez (vaszkularizációhoz) és az oszteoblasztok migrációjához szükséges megfelelő makro- és mikroporozitással rendelkező háromdimenziós vázak biológiailag aktív anyagokból való előállítását intenzíven kutatott terület. Az egyik ilyen módszer olyan habok készítése, amelyek jól közelítik a humán szivacsos csontállomány szerkezetét. A bioaktív

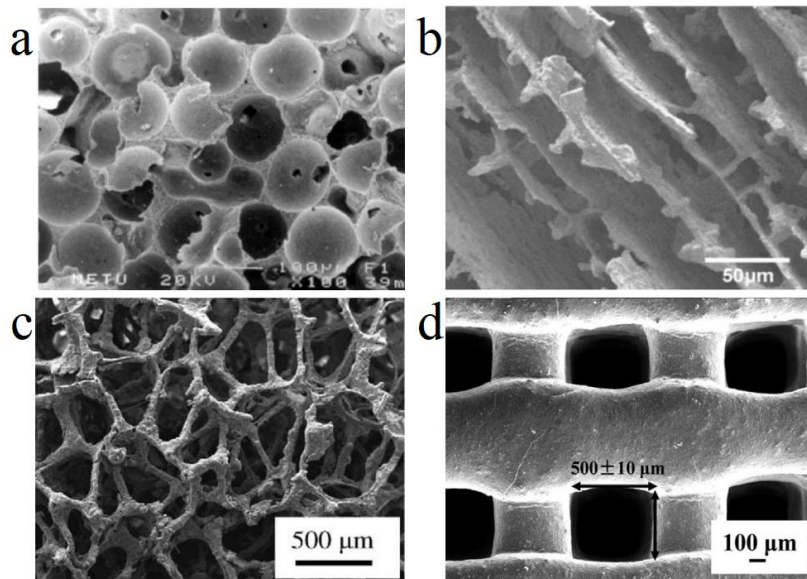
habokat biopolimerekből folyadék/viszkoelasztikus mátrix szilárdításával állítják elő, ahol a kötési folyamat melléktermékeként buborékok keletkeznek, amelyek bezáródnak a megszilárdult mátrixba. A módszer egyik hátránya, hogy az egyenletes pórusméret eloszlást nehéz biztosítani. Csontszövet helyettesítésére szolgáló alkalmazásuk nem lehetséges a gyenge mechanikai tulajdonságaik miatt. A módszer alkalmazása főleg a hidrogéleknél előnyös, ahol a zselatin-metakrilát kompozittal homogén mikroporozitással rendelkező habot állítottak elő (Kretlow *et al.*, 2007). További gyártástechnológiai módszerként említhető a kompozit anyagrendszerekből az adalék szelektív kioldásával vagy a szálhúzással történő vázszerkezetek előállítás, azonban ezeknek a technológiáknak a hátránya, hogy ily módon a csontszövettel megegyező szilárdságú terméket nem lehet készíteni (Kretlow *et al.*, 2007; Lutzweiler *et al.*, 2020).

Szabályozható porozitással rendelkező bioaktív kerámiák legegyszerűbb előállítási módszere az adott szemcseméretű prekursorok préseleése (Singh *et al.*, 2006). A nyomás és a kiindulási szemcseméret megválasztásával szabályozható a kész termék porozitása és szilárdsága (8/a. ábra). Ennek a kevésbé költséges eljárásnak a fő hátránya, hogy a vázak hajlítószilárdsága messze elmarad a természetes csont szilárdságától, továbbá bonyolult geometriájú termékek nem állíthatók elő, még nyomás alatt történő szintereléssel sem (Zhao *et al.*, 2006; Bose *et al.*, 2009). A másik lehetséges előállítási technika során az örölt bioaktív kerámia szemcséket szerves kötőanyaggal keverik össze, majd formába öntik. Miután a köztes termék megszilárdult szintereléssel távolítják el a szerves komponenseket. A szárazanyag:kötőanyag (mint például hidroxiapatit:polimetil-metakrilát) arányával szabályozható a próbatestek porozitása, azonban ebben az esetben is mechanikai tulajdonságból fakadó problémák adódhatnak (Koc *et al.*, 2004).

Fagyasztva szárítással is lehetséges homogén pórusméret eloszlással rendelkező bioaktív kerámiákat előállítani. Az előállítás során a vízzel kevert, adott szárazanyag tartalmú és szemcseméret eloszlással rendelkező kerámia szuszpenziót fagyasztják. A hűtési sebességgel és a fagyasztás hőmérsékletével szabályozható a keverékben kialakuló jég kristályok mérete. A fagyasztás követően a nyomás növelésével és a hőmérséklet emelésével elérhető, hogy a jég szublimáljon a rendszerből és meghatározott porozitással rendelkező terméket képezzen (8/b. ábra). A módszer hátránya, hogy a szárítási fázisban a kialakított szerkezet összeomolhat. Az így kapott termékeknek általában kedvezőtlenek a szilárdsági értékeik (Fu *et al.*, 2008a; Fu *et al.*, 2008b). Chen és munkatársai (Chen *et al.*, 2008) mesterséges úton előállított poliuretán habot impregnáltak bioüveg frittet tartalmazó szuszpenzióval. Számos publikáció született már

hasonló elven történő, a szivacsos csont állomány szerkezetével megegyező vázak előállításáról. A módszer lényege, hogy vákuum alatt impregnálják a porózus szerkezetű poliuretánt, majd a vákuum megszűntét követő hirtelen nyomásnövekedés hatására a bioüveg szemcsék feltöltik a próbatest pórusait. A szárítást követően az így kapott üveg bevonatú szivacsos vázat hőkezeli, miközben távozik a szerves anyag a rendszerből. A folyamatban kapott termék meghatározott porozitással rendelkező szivacsos szerkezetű bioüveg (8/c. ábra). Az így előállított próbatestek látszólagos porozitása 91% feletti, azonban a nyomószilárdságuk nem haladta meg az 1 MPa-t (*Mallick et al., 2014*).

Kiváló biomechanikai szilárdsággal, csontszerű szerkezettel és megfelelő porozitással rendelkező bioanyagok előállítása napjainkban egyre gyakoribb additív gyártástechnológiával történik. Biopolimer alapú vázak előállítására az FDMTM (Fused Deposit Modeling) és SLA (Stereolithography Apparatus) technikákat alkalmazzák leggyakrabban. Az FDM vagy más néven a „szálhúzásos” technika alapja, hogy hőre lágyuló polimert olvasztanak meg egy extrúder segítségével, ami a nyomtató fej alján lévő fűvőkán távozik. A fűvőka X és Y síkban történő mozgása rajzolja a kívánt geometriát, majd egy réteg elkészülése után Z irányban mozdul a nyomtatófej. A Z irányú mozgás határozza meg a nyomtatott próbatest felbontását. A fűvőka rétegről rétegre halad és a folyamat végén így készül el a 3D-s modell (8/d. ábra). A bioanyagok nyomtatásához használt leggyakoribb polimer a politejsav. A próbatestek biokompatibilitásának növelése érdekében hidroxipatit szemcséket kevernek a nyomtatott szálba, ezáltal egy erősített bioaktív váz állítható elő, amelynek geometriája, ezáltal szilárdsága szoftveresen szabályozható (*Han et al., 2021*). Az SLA technológiájú nyomtatók fotopolimereket használnak, amelyek UV fény hatására szilárdulnak. Ebben az esetben az X-Y rétegeket egy lépésben, egy projektor által állítják elő, így a nyomtatás sebessége is gyorsabb. A módszer nagy hátránya, hogy a biológiai célra használható fotopolimerek költsége meglehetősen magas (pl. VeroDentTM) (*Melchels et al., 2009*). Bioinert fémek 3D nyomtatására fejlesztették ki az SLM (Selective Laser Melting) technológiát. A folyamat során fémporokból állítják elő a kívánt 3D modellt úgy, hogy koncentrált, nagy energiájú, pásztázó lézer nyaláb az X-Y, majd Z síkokban pontról pontra haladva összeolvasztja a szemcséket. A nyomtatott próbatest tömörségével szabályozhatók a biomechanikai tulajdonságai. A módszer fő hátrányát a magas beruházási és fenntartási költség mellett, a bioinert kerámiák tulajdonságait ismertető fejezetben (1.2.1 Bioinert anyagok) bemutatott biokompatibilitási problémák jelentik (*El-Hajje et al. 2014; Shipley et al., 2018*).



8. ábra: Különböző eljárással előállított mesterséges váz szerkezetek: a) préselés (*Fu et al., 2008a*), b) fagyasztva szárítás (*Koc et al., 2004*), c) impregnálás (*Chen et al., 2008*), d) 3D nyomtatás (*Shao et al., 2019*)

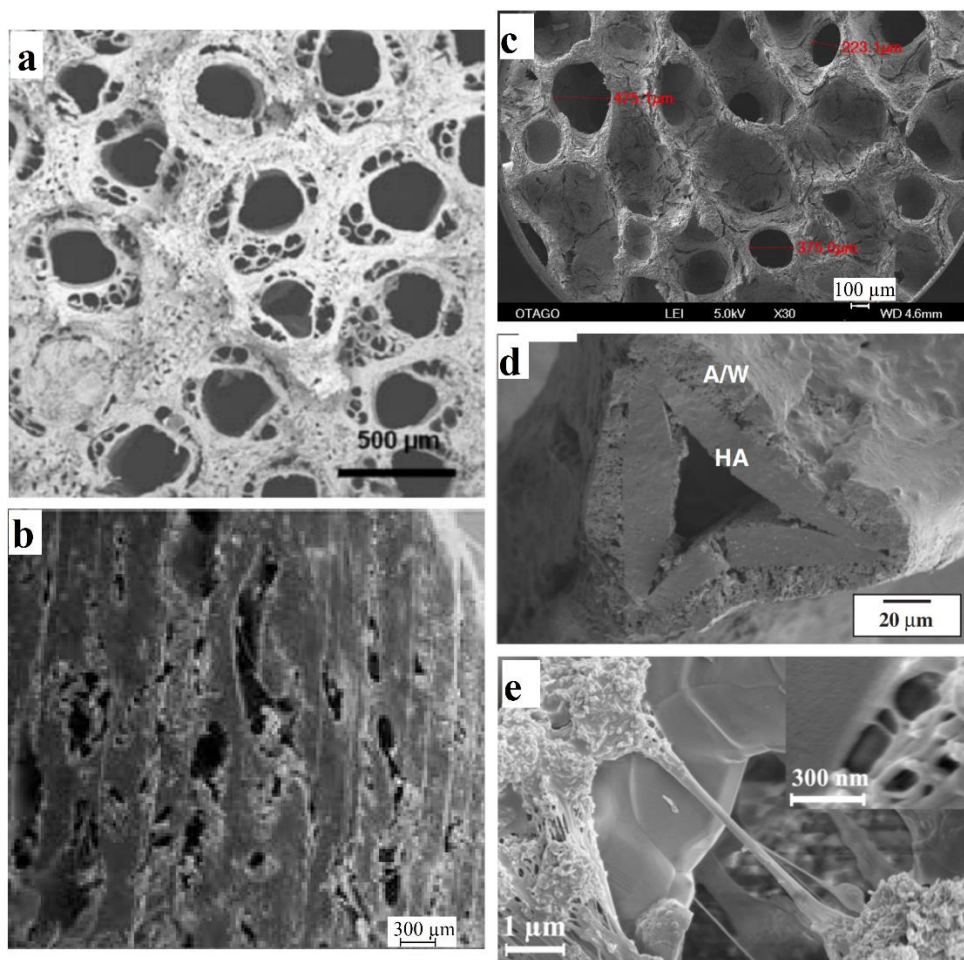
A mesterséges vázak előállításának másik lehetséges módja a természetben előforduló, hierarchikus szövetszerkezettel rendelkező struktúrák másolása. A csont és a fa szerkezete önmagában is kiváló mechanikai tulajdonságokkal rendelkezik komplex felépítésük miatt. Biosablonnak nevezzük azokat a természetes vázakat, amelyeknek a szerkezete lemásolható és átalakítható mesterségesen előállított bioanyagra (9. ábra). A másolási folyamatot biomimetikának nevezzük.

Növényi biosablonok felhasználásával hidroxipatit bázisú vázak előállítása az alábbi részfolyamatok szerint lehetséges. Első lépésként a fa szerkezetéből termikusan vagy extrakcióval a kis molekulatömegű komponenseket el kell távolítani azért, hogy a visszamaradt hierarchikus váz felülete bevonható legyen. A szerkezet termikus módszerrel történő feltárása során inert (nitrogén vagy argon) atmoszférában hevítik a növényi vázat, amelynek célja a lignin eltávolítása. A folyamat végén a cellulóz rostokból képzett szövetszerkezet marad vissza szén formájában. A szénhidrogének eltávolítása Soxhlet-extraktorral vagy szuperkritikus fluidummal történő extrahálással éhetséges (*Eichenseer et al., 2010; Tampieri et al., 2009*). A különböző eljárások lényege, hogy egy olyan váz maradjon vissza, ami később bevonható bioaktív anyaggal. Tampieri és munkatársai (*Tampieri et al., 2009*) termikus úton tárták fel a fenyő és a rattanpálma szerkezetét 1000 °C-on Ar atmoszférában. A bevonatot gőzfázisú Ca lecsapásával vitték fel, majd oxigén atmoszférában való hevítésével kalcium-oxidá alakították. A pirolízisből visszamaradt szén váz az oxigénben történő égetés hatására CO₂ formájában távozott. A visszamaradt CaO vázból CO₂ atmoszférában való hevítésével kalcium-karbonát

(CaCO₃) alapú próbatestet állítottak elő, amelyet kálium-dihidrogén-foszfát (KH₂PO₄) vizes oldatával reagáltattak, így állítva elő hidroxipait alapú vázat. A módszer meglehetősen bonyolult és költséges, az így kapott vázak nyomószilárdsága nem haladta meg az 1 MPa értéket. Eichenseer és munkatársai (*Eichenseer et al., 2010*) a rattanpálmát használták biosablonként, amit 800 °C-on hevítettek N₂ atmoszférában, majd 0,5-1 µm szemcseméretű hidroxipatittal impregnáltak. A szárítást követően oxigén atmoszférában szinterelték 1200 °C-on. Az így előállított próbatestek porozitása 77-80%, nyomószilárdsága pedig 3,02 MPa volt (9/a. ábra). A növényi struktúrára jellemző hierarchikusan felépített szerkezet kialakítása ellenére a biomechanikai tulajdonságok nem kedvezők.

Az állati eredetű sablonoknak azonban számos előnyük van a növényi szerkezetekhez képest, mivel ebben az esetben nem szükséges a szén alapú vázat konvertálni biológiailag aktív alapanyaggá. Állati csontörleménnyel készült porózus bioaktív kerámiákat Dobrádi és munkatársai (*Dobrádi et al., 2015*) állítottak elő hidraulikus préssel, majd szintereléssel. Az adott szemcseméretűre őrölt csontot különböző hőmérsékleten hőkezelték, majd bioüveg fritthez keverték és pasztillákat készítettek. A próbatestek nyomószilárdsága 13-89 MPa, míg a nyílt porozitása 35% alatti volt. Petrici és munkatársai (*Petrici et al., 2015*) szarvasmarha csont alapú vázat vontak be politejsav, polikaprolakton és kollagén fehérjék keverékével, majd sikeresen alkalmazták fogászati implantátumként (9/b. ábra). Az így előállított implantátum sikeresen beépült, amiben kulcsfontosságú szerepet játszottak a bioaktivitást növelő polimerek. A kísérlet bizonyította, hogy az állati eredetű biosablonok önmagukban is kiválóan alkalmazhatók csontpótló anyagként. Ramesh és munkatársai (*Niranjan et al., 2020*) szuperkritikus vízzel fehérjementesített szarvasmarhacsont alapú vázakat állítottak elő, amelynek felületén kitozán alapú bevonatot alakítottak ki impregnálással. A bevonatolási eljárás során 2 m/m%-os kitozán oldatba helyezték a vázakat és 15 percen keresztül ultrahangos fürdőben kevertették, majd tömegállandóságig szárították (9/c. ábra). Kísérleteikkel igazolták, hogy a szuperkritikus vízzel történő extrahálás ugyan rontja az állati eredetű sablonok mechanikai tulajdonságait, azonban kitozán alapú bevonattal stabilabb szerkezet alakítható ki és növeli a Saos-2 típusú humán csontképző sejtek életképességét. Jun és munkatársai (*Jun et al., 2007*) hidroxipatit habokat állítottak elő poliuretán szivacs impregnálásával, majd a hőkezelést követően visszamaradt kalcium-foszfát sablon felületén üvegkerámia bevonatot alakítottak ki. A bevonat kialakításához polivinil-butirál alapú impregnálási segédanyagot használtak és a bioüveg bevonat kialakításához 1100 °C égetési hőmérsékletet használtak 10 perc hőntartással (9/d. ábra). Megfigyelték, hogy az üvegkerámia bevonat jelentősen növelte a

próbatestek nyomószilárdságát, valamint *in vitro* tesztekkel igazolták, hogy az üvegkerámia bevonat jelentősen növeli a hidroxipatit alapú vázak bioaktív tulajdonságait. Esfahani és munkatársai (Roohani-Esfahani *et al.*, 2011) szintén kalcium-foszfát alapú vázakat vontak be nanométeres szemcseméret tartományba eső bioüveg szemcsékkel, amelyhez polikaprolaktont (PCL) adagoltak különböző tömegarányban (10/e. ábra). Kísérleteikkel igazolták, hogy a PCL hatására jól tapadó bevonatot sikerült kialakítani a felületen, amely a hajlítószilárdság vizsgálatok során jelentősen megnyúlt mielőtt levált volna a felületről. A bevonat képlékeny törési felületet mutatott, ami a PCL segédanyagnak köszönhető. Az eltérő módszerrel előállított vázak jellemző porusméreteit, porozitását és nyomószilárdságát a 4. táblázat foglalja össze.



9. ábra: Állati (a) (Petrici *et al.*, 2015) és növényi (b) (Eichenseer *et al.*, 2010) eredetű biosablonok felhasználásával készült mesterséges vázak, valamint (c) kitozánnal (Niranjan *et al.*, 2020), (d) üvegkerámiával (Jun *et al.*, 2007) és (e) polikaprolaktonnal (Roohani-Esfahani *et al.*, 2011) bevont kalcium-foszfát vázak

4. táblázat: A különböző módszerekkel előállított vázak tulajdonságai (Mallick et al., 2014)

| Előállítási módszer | Átlagos pórusméret (μm) | Porozitás (%) | Nyomószilárdság (MPa) |
|---------------------|---|------------------|--------------------------|
| Csont | 1-3500 | 10-90 | 2,0-23,0 |
| Préselés | szabályozható | szabályozható | 0,11-0,23 |
| Fagyasztva szárítás | 8-200 | 30-75 | 2-36 |
| Impregnálás | szemcseméret függő | 50-90 | 0,3-9,3 |
| FDM | >100 | 30-80 | 0,16-15 |
| SLA | >1 | 30-80 | 1,3-56 |
| SLM | >1 | 40-80 | 2,48-130 |
| Növényi biosablon | 0,1-100 | 77-80 | 1-3 |
| Állati biosablon | 1-1000 | 27% | 28 |

1.5. Bioaktív mágneses nanorészecskék

A rákos megbetegedések kezelésében a lokális mágneses lázterápia (hipertermia) áttörést hozhat, amely egy alternatív kezelési lehetőség. A módszer lényege, hogy a mágneses nanorészecskéket változó külső mágneses térbe helyezve a külső térből energiát vesznek fel a részecskék és közvetlen hő formájába adják le a környező sejteknek. Ezt a hőtermelő tulajdonságot használják fel a tumorsejtek ellen, ugyanis ezek a sejtek érzékenyebben reagálnak a magasabb ($42\text{ }^{\circ}\text{C}$) hőmérsékletre és elpusztulnak anélkül, hogy az egészséges sejteket káros hatás érné. A mágneses hipertermia lényege, hogy mesterséges lázat váltson ki, ami a szervezet természetes védekező reakciója. A magas hőmérsékletű állapot előnye, hogy egyes kórokozók és a tumorsejtek számára elviselhetetlen, valamint a láz serkenti a fehérvérsejtek szaporodását (Rácz et al., 2017). A hipertermiás kezelés mellett a mágneses nanorészecskék lehetséges alkalmazási területe lehet a ferromágneses rezonancia, mágneses információátvitel vagy a mágnesesrezonancia-képalkotás (MRI). Ahhoz, hogy a mágneses nanorészecskék orvosi kezelésre alkalmassá váljanak, eleget kell tenni a bioinert és bioaktív anyagokkal szemben már ismert kritériumoknak. A hipertermiás kezelések legfontosabb előnye, hogy jól lokalizált, mivel a mágneses részecskék irányíthatók külső mágneses térrel és ott fejtik ki hatásukat ahol erre szükség van, ezzel elkerülve az emberi szervezet teljes terhelését. Amellett, hogy a lázterápia nem vált ki olyan mellékhatásokat, mint például a kemoterápia (fejfájás, hányinger, allergiás reakciók), alkalmas lehet sebészeti úton nem hozzáférhető daganatok kezelésére is. Az eljárás során alkalmazott nanorészecskék megfelelő koncentrációban nem mérgezők, bár a vas(II)-oxid (FeO) és magnetit (Fe_3O_4) vegyületek a szervezet számára toxikusak lehetnek, ugyanakkor megfelelő biokompatibilis burokkal ellátva ezeket a részecskéket elkerülhető a negatív immunválasz kiváltása. A biokompatibilitást segítő burok egyrészt megvédi a szervezetet a ferromágneses részecskéktől, gátolja a nanorészecskék koagulációját és

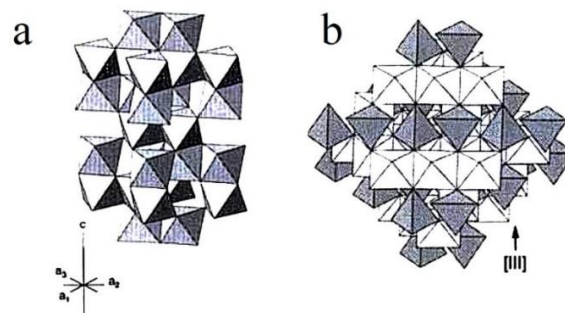
lehetőséget ad gyógyszermolekulák megkötésére is. A tumorsejtek sikeres elpusztításához egy grammnyi sejthez 10 mg vas bejuttatására van szükség, azonban a szervezet maximálisan 4800-6800 mg vas befogadására képes, ami hozzávetőlegesen egy fél emberi agynak megfelelő méretű tumor kezeléséhez szükséges mennyiség (*Pouliquen et al., 1991; Rácz et al., 2017*). Amennyiben a nanorészecskék mérete kisebb, mint 10 nm a veseműködés hatására gyorsan távoznak a szervezetből és könnyen összetapadnak. Ha a méretük meghaladja a 200 nm-t, doménfalak jönnek létre, ami csökkenti a hőtermelés hatékonyságát, ezért a nanorészecskéknek egydoménosnak kell lenniük. Az optimális mérettartomány 10-200 nm, ami kicsinek számít az emberi szervezetben (a vörösvérsejt átmérője 6-8 μm , vastagsága 2-2,5 μm). Nanorészecskék alkalmazásánál kiemelten fontos, hogy a kezelési hőmérséklet nem haladhatja meg a 45 °C-ot, mivel a túlhevítéssel nagyobb károsodás okozható. Olyan anyagok alkalmazása előnyös, aminek Curie-hőmérséklete 44-45 °C, ugyanis ezen hőmérséklet felett elveszítik mágneses tulajdonságaikat és egyidejűleg megszűnik a hőtermelés is (*Fahlvik et al., 1990*).

Az MRI képalkotási mód előnye a röntgentomográfhoz képest, hogy a lágy szövetek vizsgálata során is nagy kontrasztot biztosít. Az MRI módszerben a képelemek egyenként kerülnek mérésre és a következő fizikai tulajdonságok alapján jeleníthetők meg: egy adott fajta mag spinsűrűsége (legtöbbször protonszűrűség) és elektromágneses sugárzás elnyelése révén orientált magspinek kétféle, orientációvesztéshez tartozó relaxációs ideje. A módszer képes lágy szövetek megjelenítésére anélkül, hogy káros sugárzásnak tennék ki a vizsgált régiót (*Damjanovich et al., 2007*). Az eljárás során a vizsgálandó területen egy gerjesztésre kiválasztott mintaszületet jelölnek ki a külső mágneses térrel egyező irányban alkalmazott térerősség gradiens bekapcsolásával. Ha a vizsgált objektumot a rezonanciafeltételnek megfelelő frekvenciájú rádiófrekvenciás térrel sugározzák be, a továbbiakban az objektum adott tengelyére merőleges irányban elhelyezkedő, vékony szeletéből detektálható NMR-jel. A kontraszt növeléséhez hagyományosan gadolinium-alapú anyagokat használnak, azonban a szuperparamágneses vas-oxid részecskékkel a kontrasztjavító hatás fokozható. Az MRI képalkotás során használandó vas-oxid nanorészecskéknek is szükséges módosítani a felületét az előbbieken ismertetett aggregációs hajlam és toxicitás miatt. A vas-oxid részecskék felületi módosítása további felhasználási lehetőséget jelenthet a célzott hatóanyagleadás vagy a mágneses szeparáció területén (*Damjanovich et al., 2007; Fahlvik et al., 1990*).

1.5.1. A vas-oxidok szerkezete

A vas-oxidok szerkezeti alegysége oktaéderes, ahol minden vas (II) (Fe^{2+}), vas(III) (Fe^{3+}) iont hat hidroxid (OH^-)- vagy oxid-ion (O^{2-}) vesz körül. A vas-oxid ásványok eltérő

kristályszerkezete és ebből adódóan eltérő fizikai-kémiai tulajdonságai az oktaéderek csúcson, lapon vagy élen történő eltérő csatlakozásaiból, illetve ezek kombinációiból adódnak. A szerkezetben hexagonális vagy köbös illeszkedés figyelhető meg, amelyben a különböző sorrendben elhelyezkedő oxigén- és a hidroxid-ion rétegek találhatók. A $[\text{Fe}(\text{O},\text{OH})_6]$ oktaéderek eltérő elrendeződéséből adódik a vas-oxidok közötti lényeges eltérés. A $[\text{FeOOH}]$ formák - a goethit ($\alpha\text{-FeOOH}$), akagenit ($\beta\text{-FeOOH}$) és lepidokrokit ($\gamma\text{-FeOOH}$) - kettős láncot alkotnak a $[\text{FeO}_3(\text{OH})_3]$ -oktaéderek élükkel történő összekapcsolásán keresztül, ahol az egyes rétegeket hidrogénkötések kapcsolják össze. A hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) $[\text{FeO}_6]$ oktaéder rétegei lapjaikkal és élükkel kapcsolódnak egymáshoz és az oktaéder térközök két-harmadában a Fe^{3+} -ionok találhatók. A H-kötések hiánya miatt torzulnak az oktaéderek, ami lehetővé teszi a lapon történő csatlakozásukat. A hexagonális tömör oxigénsíkok miatt tömör a hematit szerkezete. A magnetit inverz spinell szerkezetű, vagyis az oktaédes pozíciókat Fe^{3+} és Fe^{2+} ionok foglalják el, míg a tetraédes pozícióban Fe^{3+} -ionok találhatók. A magnetit köbös kristályrendszerben kristályosodik, egyensúlyi morfológiája oktaédes és a szerves anyagokból előállított magnetit általában hasonló szerkezetet mutat. A maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) abban különbözik a magnetit szerkezetétől, hogy Fe vakanciákat tartalmaz. A hiányos spinell szerkezete abból ered, hogy a magnetit Fe-ionjainak 1/9-ed része hiányzik és ez különböző kristályszimmetriákat eredményez (Nyíró-Kósa, 2010; Schwertmann et al., 2000; Towe et al., 1967). A 10. ábra szemlélteti a hematit és a magnetit szerkezetét.



10. ábra: A hematit (a) és a magnetit (b) kristályszerkezeti modellje (Schwertmann et al., 2000)

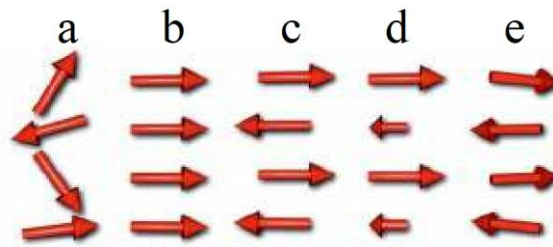
1.5.2. Az anyagok mágneses tulajdonságai

A mágneses szuszceptibilitás (χ_m) előjele és nagyságrendje szerint csoportosíthatjuk az anyagokat mágneses szempontból, ami alapján megkülönböztetünk dia-, para-, ferro-, ferri-, antiferro.- és ferde-antiferromágneses anyagokat. Például a réz, a víz és a higany diamágneses, mágneses szuszceptibilitásuk kicsi és negatív előjelű ($\chi_m = -10^{-6} - -10^{-5}$). Paramágneses a volfram és az oxigén ($\chi_m = 10^{-5} - 10^{-3}$), ferromágneses a vas és a nikkell ($\chi_m = 10^3 - 10^5$). Az elektronspinhez tartozó elemi mágneses momentumokból és a részecskék mozgásából eredő

mikoráramokból keltett momentumból származtatható az anyagok eredő mágneses momentuma. A diamágneses anyagok nem mutatnak mágneses tulajdonságot külső mágneses mező nélkül, mert olyan atomokból épülnek fel, amelyek nem rendelkeznek saját mágneses momentummal. A diamágneses anyagokat mágneses térbe helyezve az elektronok mozgását módosítja a mágneses tér és létrejön egy gyenge, a külső térrel ellentétes irányú mágneses tér. A kialakuló mágnesezettség a külső térrel ellentétes irányú, mert az atomi elektronpályákban a külső mágneses tér hatására bekövetkező változások csökkentik a külső fluxust (*Dunlop et al., 2007; Nyirő-Kósa, 2010*).

Ha az anyagban vannak párosítatlan elektronok, akkor azok momentumai miatt jelenik meg a mágneses tér. Az atomi mágnesek momentumai, amelyek a hőmozgás következtében véletlenszerűen irányulnak, de egy külső mágneses tér rendezheti őket, s ekkor az anyag eredő mágneses momentuma pozitív is lehet. Ezek az anyagok paramágnesesek, amelyek atomjainak eredő mágneses momentuma nem zérus, az atomi mágneses dipólusok a külső mágneses tér irányába állhatnak be és az anyagban a mágneses tér megnő. A mágneses anyagok másik négy csoportjánál a mágneses domének szerkezetétől és külső térben mutatott viselkedésétől függenek a mágneses tulajdonságok. Minden rendezett mágnes paramágnessé válik adott hőmérsékleten, amit a Curie-törvény ír le ferro- és ferrimágneses anyagoknál, az antiferromágneses anyagoknál pedig a Néel-törvény. A Curie-törvény szerint ($\chi_m = C/T$, ahol C anyagi állandó, T pedig a hőmérséklet) a mágneses szuszceptibilitás a hőmérséklettel fordítottan arányos. Az ilyen anyagok a vákuumbeli indukcióhoz képest növelik a mágneses mező indukcióját és a külső mágneses térrel azonos irányban rendeződnek. A ferromágneses anyagok (vas, kobalt, nikkell) a χ_m értéke nagy és a mágnesezettség ugyan függ a térerősségtől, de nem lineárisan. A ferromágneses anyagok hiszterézist mutatnak, vagyis a térerősséget csökkentve az anyag zérus térerősségnél is mágneses lesz. A ferromágnesek permanens mágnesként viselkednek, vagyis a mágnesező áram megszűnte után is megtartják mágnesezettségüket. A mágneses anyagokban erősen hatnak egymásra a szomszédos ionok mágneses momentumai, párhuzamosan ellentétes irányba vagy párhuzamosan egy irányba rendeződnek. Az elemi mágneses momentumok párhuzamosak egymással a ferromágneses anyagokban. Az antiferromágneses ásványok egyenlő nagyságú, de ellentétes irányú alegységeket tartalmaznak, így az eredő mágnesezettségük nulla. A ferrimágnesekben (pl. magnetit) antiferromágneses rendeződés van, de az egyes alegységek nagysága nem egyenlő, ami nagy eredő mágneses momentumot eredményez. A ferde-antiferromágneses anyagokban, mint például a hematit, a spinek kissé kimozdulnak a tökéletes antiparalel helyzetből és kis

eredő mágnesességet mutatnak (11. ábra) (Dunlop *et al.*, 2007; Nyirő-Kósa, 2010; Wang *et al.*, 2005).



11. ábra: Az elektron spinek rendezettségi állapota a) paramágneses, b) ferromágneses, c) antiferromágneses, d) ferrimágneses, e) ferde-antiferromágneses állapotú szerkezetekben (Nyirő-Kósa, 2010)

1.5.2.1. Szuperparamágneses anyagok

A nanoméretű ferro- és ferrimágneses részecskékből álló anyagokat nevezzük szuperparamágneseknek. A magnetit nanokristályok alakja és mérete is befolyásolja a mágnesességet. A 30-120 nm-es mérettartományban egydoménes állapotban vannak a magnetit kristályok. Szuperparamágneses anyagok a 30 nm-nél kisebb kristályok, amelyeknek nincs állandó mágneses momentumuk, a hőmozgás hatására spontán változik a mágneses indukció iránya. A 120 nm-nél nagyobb kristályok több doménből állnak és kisebb fajlagos momentummal rendelkeznek. A részecskék mágneses domén állapota a kristályok alakjától is függ, minél megnyúltabb egy magnetit kristály, annál nagyobb szemcseméret esetén is az egydoménes tartományba tartozik (Dunlop *et al.*, 1997). Ferro- és ferrimágneses anyagok esetén figyelhető meg a szuperparamágnesesség jelensége. A hőmérséklet hatására véletlenszerűen változik meg az elegendően kis méretű (30-120 nm) nanorészecskék mágneszettségének iránya. Néel-féle relaxációs időnek nevezzük a két irányváltás közti eltelt időt, amely szerint a nanorészecskék szuperparamágneses állapotban vannak, ha külső mágneses tér hiányában, a relaxációs időnél hosszabb ideig mérjük a mágneszettséget, nulla értéket kapunk. Ebben az esetben külső mágneses tér alkalmazásával felmágnesezhetőek a részecskék, hasonlóan a paramágneses anyagokhoz, azonban szuszceptibilitásuk jóval nagyobb (Arora, 2018; Marghussian, 2015).

1.5.3. A mágneses nanokompozitok előállítási lehetőségei

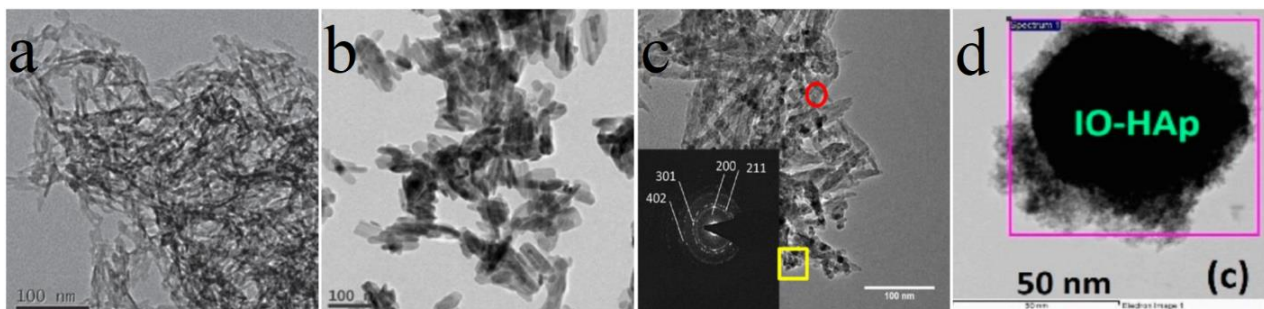
Szabályozott méretű és alakú mágneses nanorészecskék szintetizálására már számos módszert kifejlesztettek, ilyen például a csapadékképződés, a pirolízis, az elektrokémiai és a hidrotermális szintézis. Ezekkel a módszerekkel szuperparamágneses mérettartományba tartozó, oktaéderez vagy szabálytalan morfológiájú vas-oxid nanorészecskéket állítottak elő. A

legegyszerűbb módja a mágneses nanorészecskék előállításának a csapadékképződési reakció, ahol Fe^{2+} - és Fe^{3+} - sók vizes oldatából, lúg hozzáadásával lehet mágneses vas-oxidot szintetizálni. A folyamat végén fekete színű csapadék megjelenése jelzi a magnetit képződését. Az alkalmazott sók típusától, a pH-tól és a Fe^{2+} és Fe^{3+} -ionok arányától függően szabályozható a nanorészecskék alakja, mérete és összetétele (Hou et al., 2009; Iwasaki et al., 2013). Egy másik lehetséges előállítási mód a szuperparamágneses vas-oxid kristályok előállítására a vas(II)-hidroxid ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) oxidatív lúgos hidrolízise. Sugimoto és munkatársai (Sugimoto et al., 1980) $\text{Fe}(\text{OH})_2$ -t oxidáltak kálium-nitráttal (KNO_3) és így állítottak elő magnetit nanorészecskéket. A szemcsék mérete és alakja nagyban függ a reakcióközeg pH- értékétől. A magnetit képződése oxigénmentes környezetben pH=9-14 között várható $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}=1:2$ arány mellett.

Annak érdekében, hogy a mágneses nanorészecskéket megóvják az agglomerációtól és biokompatibilis tulajdonságokkal ruházzák fel őket, gyakran biokompatibilis szerves vagy szervetlen bevonatokat alkalmaznak a csapadékképződési folyamat során. Szegedi kutatók (Tombácz et al., 2008) orvosbiológia alkalmazásokhoz a magnetit nanokristályokat olajsav és mirisztinsav felhasználásával kettős réteggel vonták be. A biokompatibilitás növelése érdekében olyan technikákat kidolgoztak ki, amelyek során a magnetit felületéhez fiziológiailag aktív fehérjéket és peptideket kötnek. A csapadékképződéssel előállított magnetit nanorészecskék OH- csoportokkal és vízmolekulákkal borítottak, amelyek lecserélhetők különböző ligandumokra. Adott aminosavak rögzítése ezáltal lehetséges a magnetitek felületén, így ezek összekapcsoló elemként használhatók az aminosavak specifikus, biomolekulák és magnetit részecskék koagulációjánál.

A hidroxapatittal bevont magnetit nanokristályok ötvözik a szuperparamágneses és a bioaktív tulajdonságokat. A hidroxapatit bevonat kialakítására már számos módszert fejlesztettek ki. Az egyik lehetséges előállítási mód a két lépésben történő csapadékképzési eljárás, ahol Wu és munkatársai (Wu et al., 2019) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -ot reagáltattak foszforsavval 20 percen keresztül argon atmoszférában, így előállítva a hidroxapatit (H) kristályokat. Ezt követően az oldathoz adták $80\text{ }^\circ\text{C}$ hőmérsékleten, 8,0-8,5 pH mellett a vas(II) és vas(III) ionokat úgy, hogy az a szuszpenzióban a Ca/Fe molarány 0,75 legyen. Az előállított kompozitban a magnetit kristályok felületéhez kötött formában jelentek meg az apatit kristályok. Ansar és munkatársai (Ansar et al., 2012) szintén csapadékképződéssel járó reakcióval állítottak elő mágneses hidroxapatitot. A folyamat során vas(II)-klorid ($\text{FeCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) és vas(III)-klorid (FeCl_3) sókat feloldották 1:2 molarányban, savas közegben. A $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ és a $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ prekursorokat szintén

előzetesen feloldották olyan mennyiségben, hogy a Ca/P atomarány az elméleti 1,67 értéknek megfelelő legyen. Az így kapott vas sókat tartalmazó oldatot állandó kevertetés közben a kalcium-nitrát oldatba öntötték, majd az oldat hőmérsékletét 70 °C-ra a pH értékét pedig 11-re állították be 25%-os ammónia oldat hozzáadásával. Ezt követően hozzáadva az ammónium-dihidrogén-foszfát (NH₄)H₂PO₄ oldatot, a kapott, együttes csapadékképződéssel előállított kompozitot egy órán keresztül kevertették 80 °C-on a feleslegben maradt ammónia eltávolítása céljából (12/a ábra). Gopi és társai (Gopi *et al.*, 2012) vas(II)- és vas(III)-kloridot oldottak fel desztillált vízben (1:2 molarányban), majd ultrahangos kevertetés mellett adagolták hozzá a hidroxipatit nanorészecskéket. Miután a pH értékét 8-ra állították be fekete színű csapadék keletkezett, majd a homogenitás növelésének érdekében tovább kevertették (12/b ábra). Zilm és társai (Zilm *et al.*, 2016) nedves kémiai úton kalcium-nitrát és diammonium-hidrogénfoszfát felhasználásával állítottak elő hidroxipatitot (pH=11). Az így kapott apatittal később ioncsere folyamatokat vizsgáltak vas(II)-klorid (FeCl₂), kobalt(II)-klorid (CoCl₂), és mangán(II)-klorid (MnCl₂) sókat tartalmazó oldatok felhasználásával. Iannotti és munkatársai (Iannotti *et al.*, 2017) csapadékképződéses reakcióval állítottak elő kalcium-hidroxid, vas(II)- és vas(III)-klorid felhasználásával, foszforsav csepegtetéssel mágneses hidroxipatit kompozitokat (12/c ábra). Ezt követően a szuszpenziót 45 °C-ra hevítették és 3 órán keresztül kevertették. Mondal és társai (Mondal *et al.*, 2017) vas(III)-klorid-hexahidrát (FeCl₃·6H₂O) prekuzort oldottak fel etilén-glikolban, majd az oldathoz nátrium-acetátot adagoltak állandó kevertetés mellett. Végül nátrium-citrátot adtak az oldathoz és 3 órán keresztül kevertették szobahőmérsékleten, majd 190 °C-on reagáltatták 10 órán keresztül. A reakció során kapott csapadékot mosták, majd szárították. A Fe₃O₄-H kompozit előállításához kalcium-nitrát-tetrahidrát (Ca(NO₃)₂·4H₂O) oldathoz adagolták az előző lépésben előállított magnetit nanokristályokat tartalmazó szuszpenziót, ezt követően pedig a (NH₄)H₂PO₄ oldatot. A magnetit felületén a Ca²⁺ és PO₄³⁻ ionok reakcióját követően kialakult a hidroxipatit bevonat (12/d ábra)



12. ábra: Különböző csapadékképződési reakcióval előállított magnetit-hidroxipatit kompozitok (a-Ansar *et al.*, 2012; b-Gopi *et al.*, 2012; c-Iannotti *et al.*, 2017; d-Mondal *et al.*, 2017)

2. Célkitűzés

Az Anyagmérnöki Intézeti Tanszéken a korábbi években sikeresen állítottak elő szarvasmarha csont felhasználásával bioüveg-kerámia kompozitokat, amelyek kiváló mechanikai és bioaktív tulajdonságokat mutattak. Ezekkel az alapanyagokkal sikeresen alakítottak ki bevonatokat titán alapú szubsztrátumokon plazmaszórással. Ehhez a témához kapcsolódóan kutatási munkám során előkezelt szarvasmarha csontot használok szubsztrátumként, amelynek a felületén bioüveg-kerámia bevonatot kívánok kialakítani impregnálási technológiával. Doktori munkám célja egyrészt bioüveg alapú bevonatok alkalmazásával az állati csont sablon mechanikai tulajdonságainak növelése, másrészt az eltérő oldhatóságú kalcium-foszfát adalékok felhasználásával olyan bevonat kialakítása, amelynek az összetételén keresztül szabályozható a szimulált testfolyadékban való viselkedése. Ezen tulajdonságok mellett az alapanyagok, a kialakított bevonat szerkezete és az alkalmazott impregnálási paraméterek közötti összefüggést kívánom vizsgálni, valamint a próbatestek citotoxicitását szukcinát-dehidrogenáz alapú viabilitás teszttel ellenőrzöm.

A kutatási munkám további célja a mágneses hidroxapatit kompozitok tulajdonságainak előállítási paramétereiktől való függésének meghatározása. A nanokompozitokat nedveskémiai úton állítom elő, a magnetit és hidroxapatit fázisok párhuzamos, illetve két külön lépésben történő lecsapatásával. A doktori munkám ezen részében vizsgálom az előállítási módszernek a mágneses nanokompozitok fázisösszetételére és mikroszerkezetére gyakorolt hatását, az egy- és kétlépésben előállított kompozitok mágneses tulajdonságai és a színinger jellemzői közötti kapcsolatot, a mágneses hidroxapatit kompozitok szimulált testfolyadékban való viselkedését, valamint a bioaktivitás és a mágneses tulajdonságok előállítási paramétereiktől való függését.

3. Vizsgálati módszerek

3.1. Röntgendiffrakciós fázisanalízis

A röntgendiffrakciós (XRD – X-ray diffraction) vizsgálatok lehetővé teszik a kristályos fázisok minőségi és mennyiségi meghatározását. A módszer elvi alapja a reflektált röntgensugarak interferenciája, ahol erősítést csak azokban az irányokban tapasztalunk, ahol a sugarak úthossz különbsége a hullámhossz egész számú többszöröse, egyéb irányokban kioltás tapasztalható. A Bragg-egyenlet (2) adja meg az erősítés geometriai feltételét, ami összefüggést teremt a röntgensugár hullámhossza (λ), a diffrakciós szög (θ) és a rácssíkok távolsága (d) között, ahol n a reflexió rendűségét jelöli:

$$2d \cdot \sin\theta = n\lambda \quad (2)$$

A kristályos fázisok egyedi diffrakciós képet adnak, ami a fázisok minőségi elemzését teszi lehetővé, valamint a mennyiségi meghatározás 10 m/m% ZnO belső standard hozzáadásával, Rietveld-analízis alapján lehetséges (*Brümmer et al., 1984*).

Készülék adatai: Philips PW3710 röntgendiffraktométer, High Score Plus és X'Pert Data Viewer kiértékelő szoftver

3.2. Röntgenfluoreszcens spektrometria

Szilárd és folyadékminták elemi összetételének meghatározására szolgáló analitikai módszer a röntgenfluoreszcens analízis (XRF)). A módszer lényegi különbsége az elektronsugaras gerjesztéshez képest, hogy az XRF mérések során röntgenfotonokkal gerjesztjük a mintában lévő atomokat és az emittált karakterisztikus röntgenfotonok energiáját mérjük. Az egyes fotonok energiájának (hullámhosszának) mérésével minőségi, intenzitásuk meghatározásával pedig mennyiségi analízist végezhetünk akár ppm tartományban. A módszer előnye az elektronmikroszkópban alkalmazott EDS feltétellel szemben, hogy folyadék halmazállapotú minták elemanalízisére is alkalmas (*Brümmer et al., 1984*).

Készülék adatai: Philips Minipal 4, Philips Axios 4400/24

3.3. Induktív csatolású plazma atomemissziós spektrometria

Az induktív csatolású plazma atomemissziós spektrométeres (ICP-AES/ICP-OES – inductively coupled plasma/optical emission spectrometry) analízis során legtöbbször argon plazmát használnak a minta termikus gerjesztésére, atomizációjára. A módszer lehetővé teszi gáz, folyadék és szilárd minták vizsgálatát a kellően nagy energiasűrűségű argon ICP plazmának köszönhetően. Folyadékok esetén különböző porlasztókat, szilárd minták vizsgálatához lézer

ablációs eszközöket vagy grafitcsónakot használnak a minta bevitelére. Közvetlenül az argonba keverve a gáz halmazállapotú minták a plazmába vezethetők. A gerjesztett atomoktól származó emissziót általában oldalirányból figyelik meg. A kijutó fény optikai réseken keresztül a monokromátorba ér, amely a fény hullámhossz szerinti felbontásáról gondoskodik. A mennyiségi analízishez mérik az egyes vonalak intenzitását, amit összehasonlítanak az adott elem ismert koncentrációjú oldatának mérése során kapott intenzitással. A mintában lévő pontos koncentráció a kalibráló egyenes extrapolálásával vagy interpolálásával számítható (Kovács, 2010).

Készülék adatai: Spectroflame Modula E induktív csatolású plazma atomemissziós spektrométer

3.4. Infravörös spektroszkópia

Az infravörös spektroszkópiás vizsgálat (FT-IR – Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia) az infravörös tartományban végbemenő abszorpción alapul. A vizsgált mintát tartalmazó molekulákon belüli funkciós csoportok forgási (rotációs) és rezgési (vibrációs) energiaátmeneteire jellemző az infravörös színtartományban történő elnyelés. A rezgési spektroszkópiai módszerekkel a csoportfrekvenciákon keresztül a molekula felépítéséről és szerkezetéről is információt nyerhetünk. Az infravörös sugárzás és az anyag közti kölcsönhatások során a molekulák rezgési és forgási viszonyai változnak meg. Az infravörös sugárzás a közeli ($12800\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$), közepes ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) és a távoli ($400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$) tartományokra osztható fel. Az analitikai alkalmazások nagy része a közepes IR tartományba esik. A mért abszorbancia a molekula szerkezete mellett minőségi és mennyiségi információt is hordoz (Kristóf, 2000).

Készülék adatai: PerkinElmerSpectrum TWO FT-IR spektrométer

3.5. Termikus analízis

A hevítés hatására lejátszódó tömeg és entalpiaváltozással járó folyamatok vizsgálatára alkalmas módszerek a termoanalitikai vizsgálatok. A termogravimetriás (TG) módszerek a hő hatására bekövetkező tömegváltozással járó folyamatok nyomon követésére alkalmasak. A tömegváltozás sebességéről a DTG görbe ad információt, ahol az esetlegesen átlapoló részfolyamatok jól elkülöníthetők, azok pontos helye jól meghatározható. A DTA görbe pedig a hő hatására bekövetkező exoterm és endoterm folyamatokról nyújt felvilágosítást (Tamás, 1970).

Készülék adatai: MOM Derivatograph Q-1500 D derivatográf, MOM WINDER kiértékelő szoftver

3.6. Dilatométeres vizsgálatok

A hőmérséklet okozta hosszváltozás tájékoztatást ad arról, hogy a vizsgált anyagban hő hatására milyen szerkezeti változások mennek végbe szilárd halmazállapotban. A mérés során a megfelelő l_0 méretű henger alakú próbatestet a készülék mintatartójába helyezve hevítjük és mérjük az adott ΔT hőmérsékletváltozás hatására bekövetkező Δl hossz változást. A lineáris hőtágulási együttható ($\alpha_{\Delta T}$, $\left(\frac{1}{K}\right)$) az alábbi összefüggés szerinte adható meg (*Tamás, 1970*):

$$\alpha_{\Delta T} = \frac{\Delta l}{l_0} \cdot \frac{1}{\Delta T} \quad (3)$$

Készülék adatai: az Anyagmérnöki Intézeti Tanszék által gyártott dilatométer

3.7. Hajlító és nyomószilárdság meghatározása

A meghatározott alakú és méretű próbatestek hajlító és nyomó igénybevétellel szemben mutatott ellenállását az alábbi összefüggések szerint határozhatjuk meg. A hajlítószilárdságot a következő képlet (4) alapján számolhatjuk hasáb alakú próbatestek esetén:

$$\sigma_h (MPa) = \frac{3 P_f L}{2 b h^2} \quad (4)$$

ahol σ_h a hajlítószilárdság értéke MPa-ban, P_f a hajlító erő (N), L az alátámasztás távolsága (mm), b a próbatest szélessége (mm) és h a magassága (mm).

A nyomószilárdság (σ_{ny} (MPa)) az alábbi képlet alapján számolható:

$$\sigma_{ny} (MPa) = \frac{F}{A} \quad (5)$$

ahol F a nyomóerő (N), az A a felület (mm^2) (*Tamás, 1970*).

Készülék adatai: Instron 5967 típusú két oszlopos szilárdságmérő berendezés

3.8. Vickers-féle mikrokeménység

A Vickers-féle mikrokeménység mérés benyomódáson alapuló, gyakorlatilag roncsolásmentes anyagvizsgálati módszer, amelyet széles körben alkalmaznak a keménység és törési szívósság meghatározására. A mérés során egy meghatározott alakú és méretű gyémánt gúlat nyomunk a vizsgálandó minta felületébe adott erővel, majd a gúla által hagyott nyom méretéből kiszámítható a minta keménysége az alábbi összefüggés szerint:

$$HV = 1,854 \cdot \frac{F}{d^2} \quad (6)$$

ahol, F a behatoló test által kifejtett nyomóerő (N), d a gúla által hagyott nyom átlóinak az átlaga (mm) (Tamás, 1970).

Készülék adatai: Wolpert 402M/VD

3.9. Lézeres szemcseméret analízis

A lézersugár elhajlásokon alapú mérési módszer elvi alapja a Fraunhofer-féle elhajlási elv, ami azt mondja ki, hogy a kis részecskék kevés fényt nagy szögtartományban, míg a nagy részecskék a sok fényt kis szögtartományban szórják. A gömb alakúnak feltételezett részecskék átmérőjének a sugárzás hullámhosszához való viszonyától függ a szórt sugárzás térbeli intenzitás eloszlása. A Fraunhofer-féle elhajlási kép egymástól fokozatosan eltávolodó, világos és sötét koncentrikus körökből áll, ami a gömb alakú szemcse szélein elhajlított monokromatikus fénysugarak interferenciája révén alakul ki. A részecske átmérője (d) az alábbi összefüggés szerint határozható meg:

$$R_0 = 1,84 \cdot f \cdot \frac{\lambda}{d} \quad (7)$$

ahol R_0 az első sötét kör sugara, f a fókusztávolság és λ a hullámhossz (Götz *et al.*, 1988).

Készülék adatai: Malvern Zetasizer Nano ZS, Malvern Mastersizer 2000

3.10. Fajlagos felület meghatározása

A különböző anyagrendszerek porozitásának és fajlagos felületének meghatározására elterjedt módszer az egyrétegű adszorpciót feltételező, N_2 adszorpció izotermát rögzítő, 77 K-en végzett BET (Brunauer-Emmett-Teller) módszer. A pórusméret és pórustérfogat a N_2 deszorpció izotermája alapján számolható, szintén 77 K-en a BJH (Barrett-Joyner-Halenda) módszerrel. A minta előkészítési hőmérséklete (kigázosítása) erősen befolyásolja a mérés során kapott eredményeket és a módszer 1,7 nm-nél kisebb pórusok mérésére nem alkalmas (Michot *et al.*, 2006).

Készülék adatai: Quantachrome Autosorb iQ-C-MP

3.11. Testűrűség és látszólagos porozitás meghatározása

Hidrosztatikai módszerrel egy adott próbatest testűrűsége (ρ_t) és látszólagos porozitása (P_L) tömegmérésen keresztül határozható meg, az alábbi összefüggések szerint:

$$\rho_t = \frac{m_{sz}}{m_n - m_v} \cdot \rho_v \quad (8)$$

Ahol ρ_t a próbatest testsűrűsége (g/cm^3), m_{sz} a próbatest száraz tömege (g), m_n a vízzel telített minta tömege (g), m_v a próbatestek felhajtó erővel csökkentett tömege és ρ_v a víz sűrűsége (g/cm^3). A próbatest látszólagos porozitása a következő (9) összefüggés alapján adható meg:

$$P_L = \frac{\rho_t \cdot W}{\rho_v} \quad (9)$$

ahol, P_L a látszólagos porozitás (V/V%), ρ_t és ρ_v a próbatest és a víz sűrűsége (g/cm^3) és W a próbatest vízfelvétele (m/m%), amely a száraz (m_{sz}) és a vízzel telített minta (m_n) tömegből számolható a (10) összefüggés alapján (Tamás, 1970).

$$W = \frac{m_n - m_{sz}}{m_{sz}} \cdot 100 \quad (10)$$

3.12. Mágneses szuszceptibilitás meghatározása

A mágneses tulajdonságokkal rendelkező minták szuszceptibilitásának meghatározása induktivitás mérésen alapuló módszerrel lehetséges. A módszer lényege, hogy felvesszük a tekercs induktivitását a kiválasztott frekvenciatartományban, majd ugyanezt megismételjük úgy, hogy a vizsgálandó minta tölti ki a tekercs belsejét. A mérést alacsony frekvenciatartományon kell végezni, mivel a szuszceptibilitás függ a mérési frekvenciától. A mágneses szuszceptibilitás a következőképpen írható fel:

$$\chi' = \left(\frac{L}{L_0} - 1 \right) \cdot \left(\frac{A_0}{A_S} \right) \quad (11)$$

ahol, χ' a mágneses szuszceptibilitás valós része, L a mintával töltött tekercs induktivitása, L_0 a tekercs induktivitása üres állapotban, A_0 a tekercs keresztmetszete és A_S a minta keresztmetszete. Az adatokat 0 Hz-re interpolálva megkapjuk a minták kezdeti szuszceptibilitását (χ_0) (Guba, 2020).

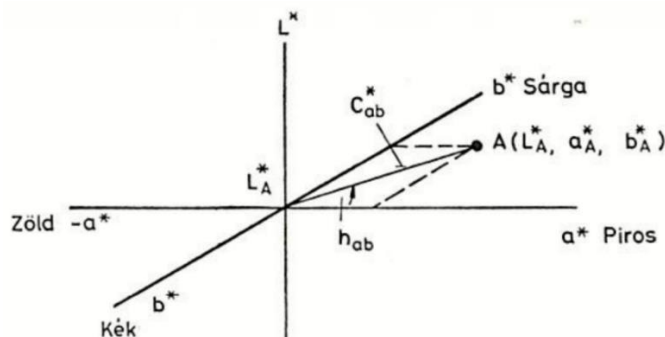
Készülék adatai: Agilent 4284A típusú impedancia analízátor

3.13. Színmérés

Az anyagok színinger jellemzőit a CIELAB-rendszer szerint három értékkel (L^* , a^* , b^*) adhatjuk meg. A színezet jelenti azt, amit a vörös, sárga, narancs, kék és bíbor jelzőkkel, vagy ezek kombinációjával nevezünk meg, s melyek folyamatosan mennek át egymásba. A világossági tényező (L^*) az adott szín világosabb és sötétebb tónusait jelenti. A négy elemi színezet közül az opponens párok (vörös ($+a^*$) – zöld ($-a^*$) és sárga ($+b^*$) – kék ($-b^*$)) és a világossági tényező adják a CIELAB derékszögű színingertér összetevőit.

A CIELAB színingertérben két szín közti számszerű eltérés (ΔE_{ab}^*) az alábbi összefüggés alapján adható meg (Lukács, 1982):

$$\Delta E_{ab}^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (12)$$



14. ábra: Az A színpont jellemzői a CIELAB színingermérő rendszerben (Lukács, 1982)

Készülék adatai: Konica Minolta CM3600d

3.14. Képkalkotó eljárások

Az anyagok felületi mikroszerkezetének vizsgálatára az optikai fénymikroszkópok a legáltalánosabban használt műszerek. Digitális fénymikroszkópok alkalmazásával kiküszöbölhető a fénymikroszkópokra jellemző kis mélységélesség úgy, hogy az objektív folyamatos mozgatása közben az éles képsíkokból rekonstruálunk nagy mélységélességű képet.

Készülék adatai: Keyence VHX 2000 digitális fénymikroszkóp

A fénymikroszkópok egy speciális változatával vizsgálhatjuk a hőmérséklet hatására bekövetkező, alakváltozással járó fizikai és kémiai folyamatokat. Az adott hevítőkamrában 1450°C-ig történő hevítéssel vizsgálhatók az anyagban végbemenő zsugorodási, lágyulási, gázképződéssel járó, szinterelődési és olvadási folyamatokat.

Készülék adatai: Zeiss MHO-2 hevítőkamra

A fénymikroszkópok esetén a felbontást azonban a látható fény hullámhossza korlátozza, ezért a tömbi minták felszínének morfológiájának, felszín közeli rétegeinek nagy felbontású vizsgálatához pásztázó elektronmikroszkóp szükséges (SEM – „scanning electron microscope”). A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok során 100eV-30kV energiájú elektronnyalábot fókuszálunk a minta felületének egy adott pontjába, amely abban a pontban különböző részecskéket vált ki. Az elektron-anyag kölcsönhatása során keletkező jeleket különböző elven működő detektorokkal detektáljuk. Ha a nyalábot a minta felületén mozgatjuk, az adott detektor időben változó jelet észlel és a detektorba érkező jel erősségének megfelelő szürkességi szintű

képpont jelenik meg a megjelenítő egységen. Ilyen értelemben a felvételen minden egyes képpont megfeleltethető a tárgy egy adott pontjának. A detektor megválasztásától függ, hogy az anyag mely fizikai paraméterét jelenítjük meg. A szekunder elektron (SE – secunder electron) detektorokkal a felület morfológiáját, a visszaszórt elektronokkal (BSE – back-scattered electron) rendszámkontrasztos képet kapunk. Az EDS (energiadiszperzív röntgen spektrométer) detektor alkalmazásával a mintán kiválasztott területen vagy pontban lokális összetételmérést is végezhetünk az elektronsugár által kiváltott karakterisztikus röntgenfotonok energiájának és intenzitásának mérésén keresztül, amivel mennyiségi és minőségi analízist is végezhetünk. Lehetőség nyílik EDS detektorok alkalmazásával elemtérkép készítésére is, ha a vizsgált felületen minden egyes képpontban meghatározzuk a minta összetételét és a felületi térrészt alkotó elemeket, s a vizuális megítélés elősegítése érdekében, különböző színnel jelenítjük meg őket. SEM alkalmazásával lehetőségünk van transzmissziós üzemmódban (STEM – scanning transmission electron microscope) is vizsgálni a jellemzően 200 nm-nél kisebb méretű mintákat. A leképezés ebben az esetben analóg az áteső fényt alkalmazó fénymikroszkópokéval, tehát ekkor a mintán áthaladó elektronokkal valódi, nagyított képet kapunk. A pásztázó elektronmikroszkópok alkalmazásával elérhető legnagyobb felbontás 1-2 nm (Pozsgai, 2016).

Készülék adatai: FEI/ThermoFisher Apreo S LoVac pásztázó elektronmikroszkóp, EDAX AMETEK Octane Elect Plus energiadiszperzív röntgenanalizátor

Transzmissziós elektronmikroszkópok (TEM) használatával lehetőségünk van a vizsgált minták atomi szintű leképezésé

re 0,13-0,4 nm pontfeloldással. Az alkalmazott gyorsítófeszültség értéke 80-400 kV között változhat és a nagy felbontású vizsgálatokhoz 10 nm-nél kisebb méretű mintákra van szükség. A leképezés módja lehet világos látóterű (BF – bright field) és sötét látóterű (DF – dark field) attól függően, hogy amplitúdó vagy diffrakció kontrasztos leképezést használunk. Az EDS a TEM-ban is gyakori analitikai feltét, így lehetőségünk van lokális összetétel mérésére is (Pozsgai, 2016).

Készülék adatai: FEI/ThermoFisher Talos F200X G2 transzmissziós elektronmikroszkóp

A röntgensugaras leképezéssel a minták felszíni és belső szerkezete is vizsgálható. A módszer elve, hogy a röntgenfotonok különböző mértékben nyelődnek el az anyagban az összetételtől, vastagságtól és sűrűségtől függően. A minta átvilágításával elnyelődéstől függő kontrasztos 2D-s síkfelvételt kapunk. Ha a minta (vagy a detektor-sugárforrás) forgatásával minden egyes

pontban készítünk egy-egy síkfelvételt, a képpontokból (pixel) térbeli képpontokat (voxel) rekonstruálhatjuk, így előállítva a minta 3D-s modelljét. Így a minta belső struktúrája, zárt- és nyílt porozitása, felülete roncsolásmentesen vizsgálható (*Seeram et al., 2015*).

Készülék adatai: Nikon XT 225 HS röntgentomográf, VGStudio 3.4 rekonstrukciós szoftver

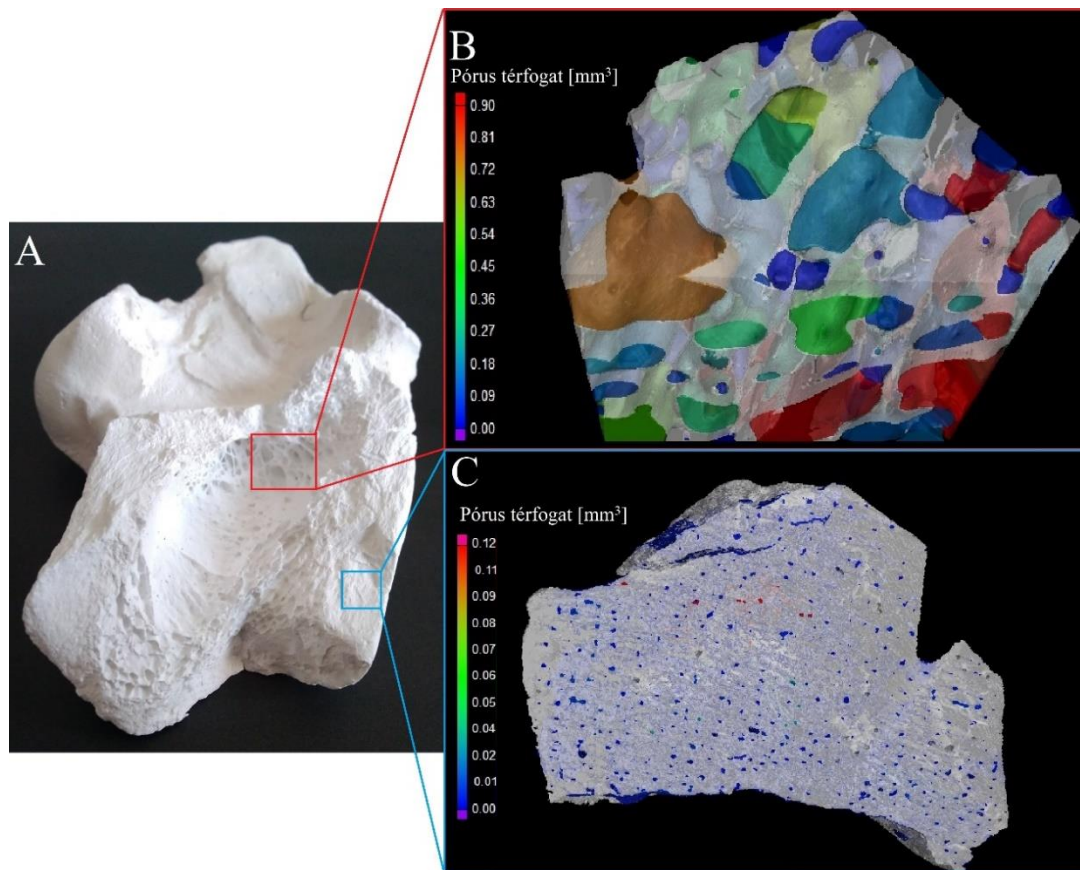
4. Vizsgálati eredmények és kiértékelésük

4.1. Állati eredetű biosablonok

A hierarchikus szerkezettel rendelkező vázak alapjául szolgáló előkezelt szarvasmarha csontokat a magyarországi Alfalox Bt. biztosította a vizsgálatok elvégzéséhez. A ~15 cm hosszúságú és ~5 cm vastagságú lábszárcsontok tartalmazzák mind a szivacsos, mind a tömör csontállományt, így lehetőség nyílt az eltérő szerkezetű vázak részletes vizsgálatára.

A próbatesteket az előkezelés során többszörösen vízben főzték annak érdekében, hogy a zsírokat teljes mértékben eltávolítsák a szerkezetből. A zsírok eltávolítása után tripszint és pepszint tartalmazó reagensbe helyezték a csontokat a fehérjementesítés érdekében. A több napos reakció után a csontokat ismét kifőzték, majd 850 °C-on korund tégelyekben kiégették 1 órás hőntartással, oxigén atmoszférában. Az így kapott vázakat a további vizsgálatokhoz ~20 mm × 5 mm × 5 mm-es hasábokra vágtam gyémánttárcsás vágógép segítségével. Ezt követően ultrahangos kádban, etanolos közegben, háromszori mosással távolítottam el a próbatestek belsejében és annak felületén lévő szemcséket. A mintákat 105 °C-on tömegállandóságig szárítottam és exsikkátorban tároltam a felhasználásig. Az így kapott biosablonok makroszerkezetét a 13/A ábra szemlélteti. A röntgentomográffal készített porozitás elemzés szerint a preparált szivacsos csontállományban (13/B ábra) lévő pórusok mérete meghaladja az 1 mm³-t, míg a tömör csont (13/C ábra) esetén az elemzett térrészben a legnagyobb pórus térfogata 0,12 mm³.

A biosablonok felületén kialakított bevonatok oldódása eltérő oldhatósággal rendelkező biológiailag felszívódó adalékokkal szabályozható. Munkám során csapadékos módszerrel előállított hidroxipatitot (oldhatósága 25 °C-on: 0,0003 g/l), főként β-whitlockitot (oldhatósága 25 °C-on: 0,0005 g/l) tartalmazó hőkezelt szarvasmarha csontőrleményt és α-whitlockitot (oldhatósága: 0,0025 g/l) tartalmazó, magasabb hőmérsékleten hőkezelt csontőrlemény adalékokat használtam. A továbbiakban a hidroxipatit adalékkal készített bevonatokat H-val, a β-whitlockit tartalmúakat BW-vel, míg az α-whitlockitot is tartalmazót AW-vel jelöltem. Az adalékokat F-el jelölt bioüveg frittbe kevertem, ultrahangos homogenizálással.



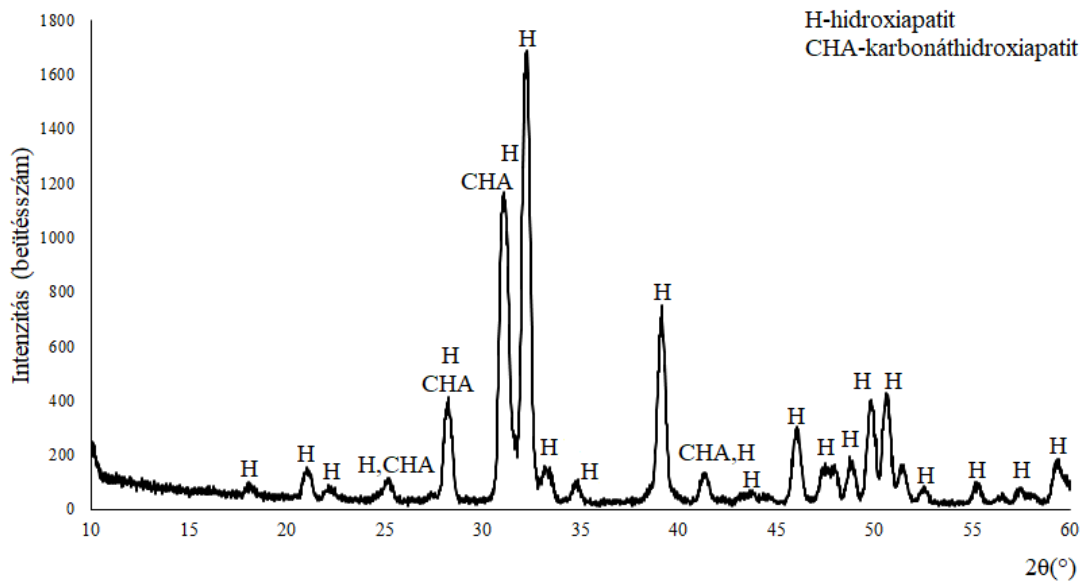
13. ábra: A biosablontként használt szarvasmarha csont szerkezete

A 850°C-on előkezelt szarvasmarha csont energiadiszipatív röntgenanalízissel meghatározott elemi összetételét az 5. táblázat tartalmazza. A mérési adatokból látható, hogy a hidroxiapatit elméleti összetételéhez ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) képest kisebb mennyiségben szilícium, magnézium, nátrium és kálium elemeket is tartalmaz, amelyek természetes nyomelemei a szerves csontállománynak. A Ca/P atomarány az előkezelt csontnál 1,67, ami megegyezik a hidroxiapatit elméleti kalcium-foszfor arányával.

5. táblázat: Az állati eredetű biosablon elemi összetétele

| Kémiai összetétel (m/m%) | | | | | | | |
|--------------------------|------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|------|
| | Na | Mg | Si | P | K | Ca | Ca/P |
| Csont | 3,68 ± 0,3 | 1,56 ± 0,1 | 0,73 ± 0,1 | 34,71 ± 0,6 | 0,46 ± 0,1 | 58,86 ± 0,8 | 1,67 |

A biosablonról készített röntgendiffrakciós felvétel (14. ábra) és Rietveld elemzés azt mutatja, hogy az előkezelt szarvasmarha csont fő fázisai a hidroxiapatit (75,12 m/m%) és a karbonát-hidroxiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4\text{CO}_3)_6(\text{OH})_2$) (6,98 m/m%). A Rietveld analízis szerint 14,9 m/m% amorf hányadot is tartalmaz.



14. ábra: Az előkezelt 850°C-on 1 órás hőntartással égetett szarvasmarhacsontröntgendiffrakciós felvétele

A megfelelő méretűre (~20 mm × 5 mm × 5 mm) darabolt előkezelt szivacsos és tömör vázak hajlítószilárdságának mérése során 10 mm-es alátámasztást alkalmaztam és a csont hosszanti tengelyére (az oszteonok hosszanti növekedési irányára) merőleges terhelőerőknél mértem a próbatestek hajlító és nyomószilárdságát. Az előkezelt tömör csont hajlítószilárdsága ~8 MPa, nyomószilárdsága ~17 MPa, fajlagos felülete pedig 1,94 m²/g. A szivacsos csontállomány hajlítószilárdsága ~2 MPa, nyomószilárdsága mérés határ alatti értéket mutatott (<1 MPa), míg a fajlagos felülete 5,25 m²/g. A szilárdsági tulajdonságokat nagyban befolyásolja a szerves csontállomány (kollagénrostok) eltávolítása és a próbatest mintavételének a helye.

4.1.2. A bevonatok alapanyagai

Az előzőkben ismertetett módon előállított természetes biosablonok felületén különböző kristályos fázisokat tartalmazó bioüveg-kerámia bevonatokat alakítottam ki a biológiai és a mechanikai tulajdonságok módosítása érdekében.

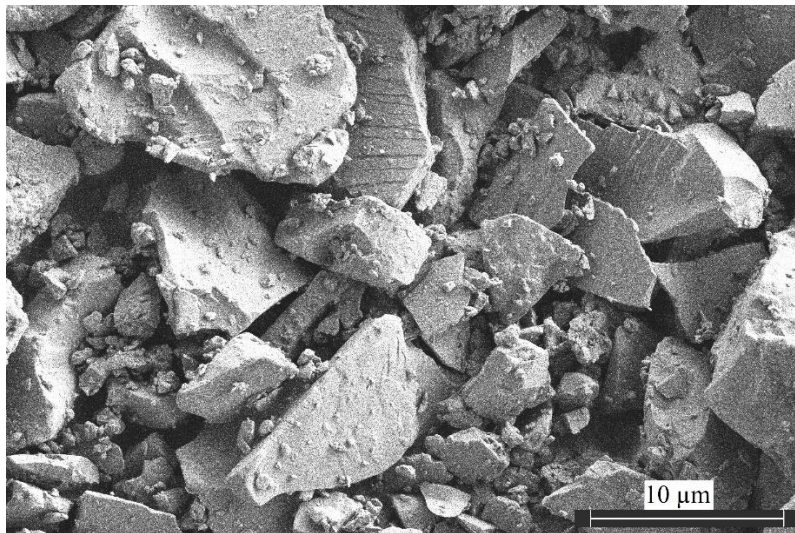
4.1.2.1. Bioüveg fritt

A bioüveg-kerámia bevonatok készítéséhez a 6. táblázatnak megfelelő, a Ceravital® típusú bioüveg-kerámiához hasonló összetételű bázisüveg nyerskeveréket állítottam elő SiO₂ (Reanal), Na₂CO₃ (Merck), CaCO₃ (Reanal), K₂CO₃ (Reanal), P₂O₅ (Reanal) és MgO (Reanal) analitikai tisztaságú vegyszerek felhasználásával.

6. táblázat: A bioüveg fritt elméleti összetétele (m/m%)

| | Nyerskeverék | Ceravital® |
|-------------------------------|--------------|------------|
| SiO ₂ | 45,0 | 40-50 |
| CaO | 30,0 | 30-35 |
| MgO | 2,5 | 2,5-5 |
| Na ₂ O | 3,0 | 5-10 |
| K ₂ O | 0,9 | 0,5-3 |
| P ₂ O ₅ | 16,6 | 10-50 |

A mátrixüveggként használt bioüvegfritt szemcséket a 15. ábra, míg az energiadisziprezív röntgenanalízissel mért elemösszetételét a 7. táblázat foglalja össze. Az atomszázalékos összetétel alapján a bioüveg frittben a Ca és P aránya 2,50.



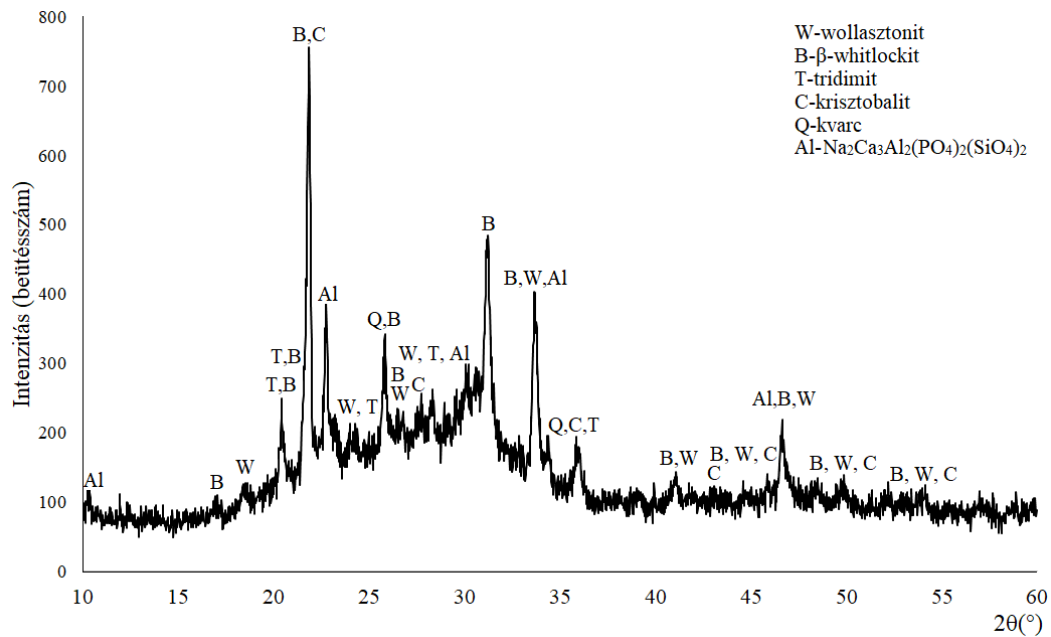
15. ábra: A bioüveg fritt elektronmikroszkópos képe

7. táblázat: A bioüveg fritt összetétele (m/m%)

| | Kémiai összetétel (m/m%) | | | | | | | |
|----------|--------------------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|--------------|------|
| | Na | Mg | Al | Si | P | K | Ca | Ca/P |
| F | 6,01 ± 0,1 | 2,04 ± 0,1 | 2,25 ± 0,1 | 32,51 ± 0,5 | 13,18 ± 0,1 | 1,37 ± 0,2 | 42,65 ± 0,03 | 2,50 |

Az adott összetételű, porcelán golyósmalomban homogenizált nyerskeverék olvasztását korund tégelyben 1300 °C-on végeztem, majd hideg vízbe öntéssel frittelttem. Porcelán golyósmalomban ~27 µm átlagos szemcseméretűre őrölt bioüveg fritt a röntgendiffrakciós fázisösszetétel vizsgálat (16. ábra), és a Rietveld analízis alapján 82 m/m% üveges (amorf) és 18 m/m% kristályos fázist tartalmaz. Kristályos fázisként főként szilícium-dioxid módosulatok (tridimit (2,33 m/m%), krisztobalit (8,79 m/m%) és α-kvarc (2,34 m/m%)), továbbá

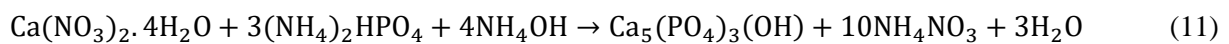
wollasztonit (CaSiO_3) (0,96 m/m%) és β -whitlockit (2,33 m/m%) található benne. Feltehetően a korund téglgy anyagával való reakció eredményeként keletkezett a kis mennyiségű $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Al}_2(\text{PO}_4)_2(\text{SiO}_4)_2$ fázis (Dobrádi, 2018).



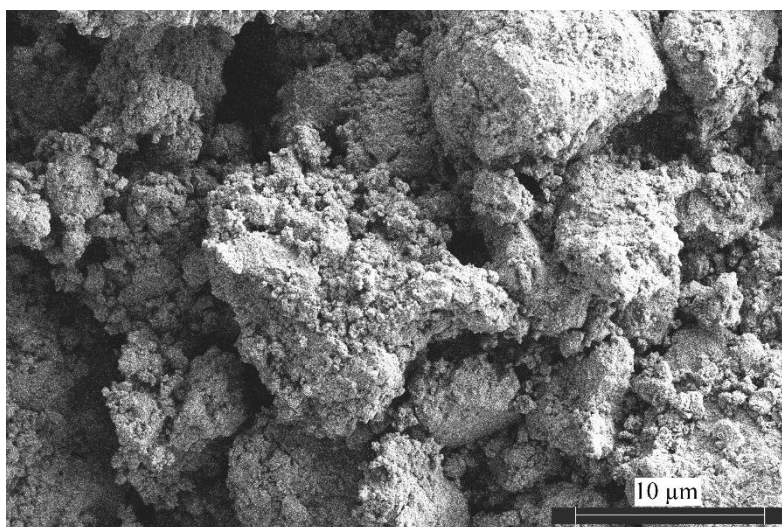
16. ábra: A bioüveg fritt röntgendiffrakciós felvétele

4.1.2.2. Nagy hidroxipatit tartalmú (H) adalék

A várhatóan a legkisebb oldhatóságú, nagy hidroxipatit tartalmú adalékot az alábbi reakcióegyenlet (11) alapján csapadékképződéses reakcióval (Bakó *et al.*, 1992) állítottam elő:

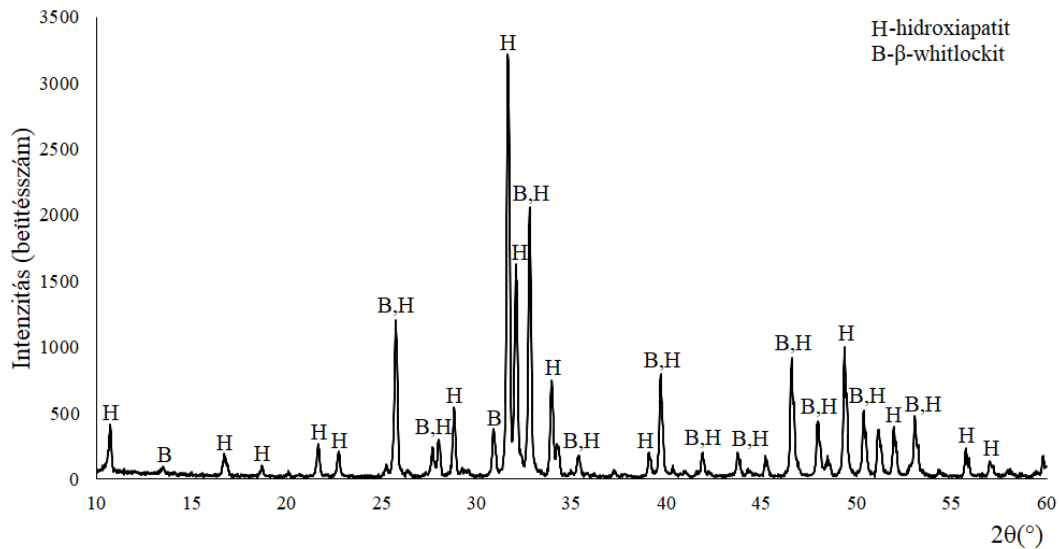


A csapadékos módszerrel előállított hidroxipatit szemcsék morfológiáját a 17. ábra szemlélteti.



17. ábra: A hidroxipatit adalék elektronmikroszkópos képe

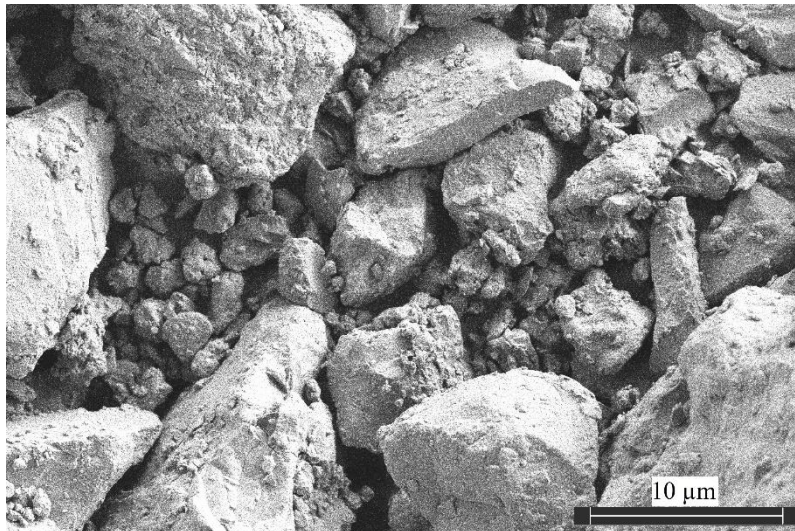
Az így kapott, majd 900 °C-on hőkezelt **H adalék** a röntgendiffrakciós fázisösszetétel vizsgálat szerint (18. ábra), a Rietveld analízissel meghatározva 81,96 m/m% hidroxiapatitot, 6,26 m/m% β -whitlockitot és 11,78 m/m% amorf fázist tartalmaz. Az elektronsugaras energiadiszperzív röntgenanalízis szerint az adalékban a Ca mennyisége 62,37 m/m%, míg a foszfor mennyisége 37,63 m/m%. A Rietveld-analízis alapján a Ca/P atomarány 1,658, míg az EDS elemzés szerint 1,657. Az elméleti 1,67 atomarányhoz képest az eltérés a kis mennyiségű β -whitlockit jelenlétéből adódhat, ahol a Ca/P atomarány 1,5.



18. ábra: A lecsapásos módszerrel előállított, hidroxiapatit röntgendiffrakciós felvétele

4.1.2.3. β -whitlockitot tartalmazó (BW) adalék

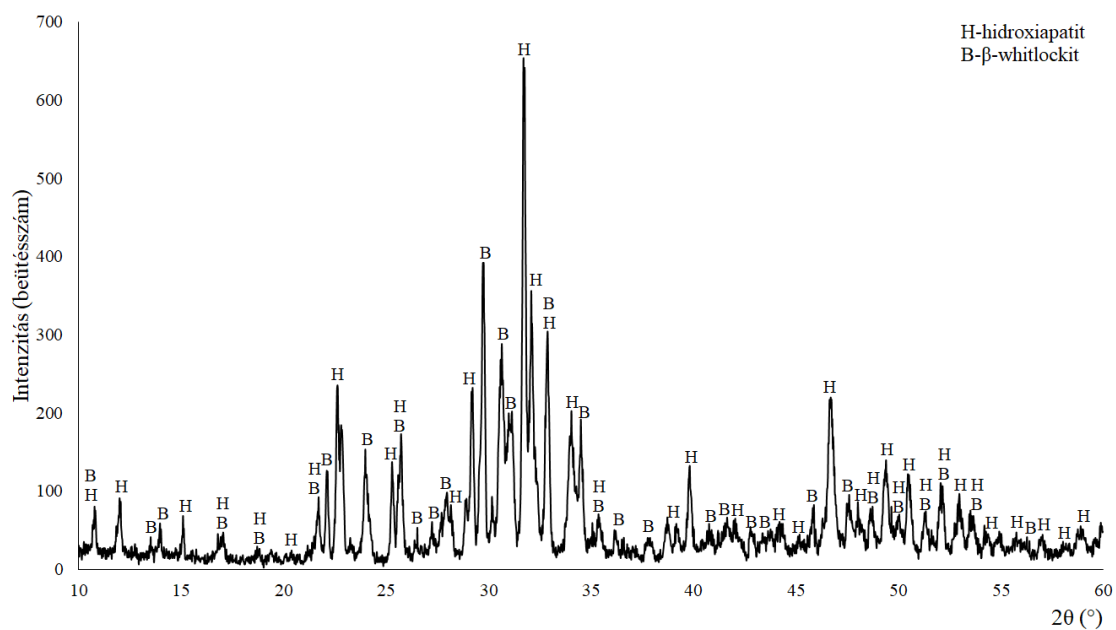
A bioaktív kerámiák fiziológiás környezetben való oldhatósága többek között a fázisösszetétellel befolyásolható. Az eltérő oldhatósággal rendelkező adalékokat az égetési hőmérséklet változtatásával állítottam elő. A **BW adalék** (19. ábra) esetén az előkezelt és őrölt szarvasmarha csontot 965 °C-on hőkezelttem a nagyobb mennyiségű β -whitlockit fázis kialakítása érdekében. A röntgendiffrakciós fázisösszetétel vizsgálat (20. ábra) és a Rietveld elemzés alapján a BW jelű adalékban a hidroxiapatit 12,7 m/m%, a β -whitlockit 68,36 m/m%, míg az amorf fázis 18,94 m/m% mennyiségben van jelen. A BW adalék elemi összetételét a 8. táblázat tartalmazza. A hőkezelés hatására tehát a mintában lévő hidroxiapatit nagy része β -whitlockittá alakult, melynek eredményeként az EDS elemzés alapján a Ca/P atomarány 1,52-re csökkent.



19. ábra: A BW adalék pásztaó elektronmikroszkópos képe

8. táblázat: Az-BW adalék elemösszetétele

| Kémiai összetétel (m/m%) | | | | | | | |
|--------------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
| | Na | Mg | Si | P | K | Ca | Ca/P |
| BW | 2,14 ± 0,2 | 1,69 ± 0,2 | 0,90 ± 0,1 | 37,98 ± 0,5 | 0,10 ± 0,05 | 57,10 ± 0,6 | 1,52 |

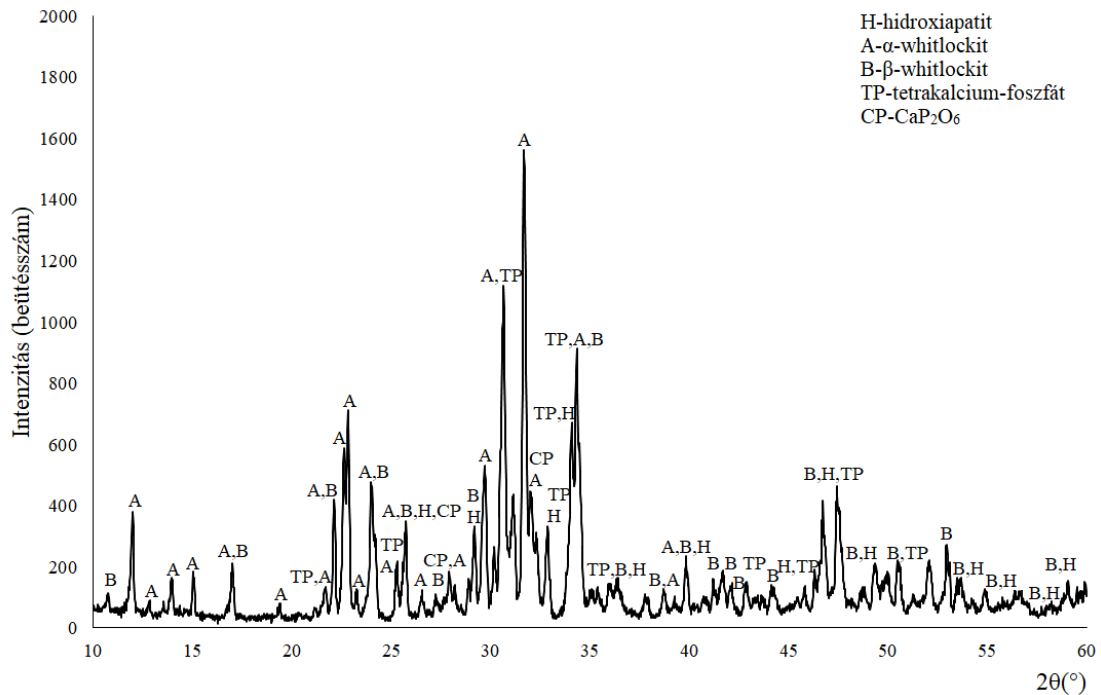


20. ábra: Az BW adalék röntgendiffrakciós felvétele

4.1.2.4. α -whitlockitot tartalmazó (AW) adalék

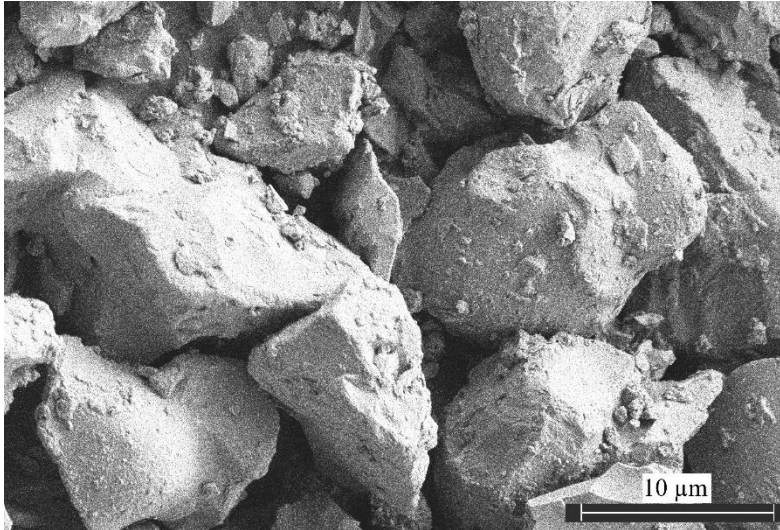
Az AW adalékban jelenlévő α -whitlockit az 1130°C-on lejátszódó β -whitlockit \rightarrow α -whitlockit polimorf módosulat változás révén állítható elő. Munkám során az α -whitlockit tartalmú adalékot az előkezelt csont 1430 °C-ra hevítésével, majd cseppfolyós nitrogénben történő gyors

hűtésével állítottam elő (*Carrodegus et al., 2011*). Az így kapott anyagban az α -whitlockit fázis jelenlétét röntgendiffrakciós vizsgálattal igazoltam. Az 1430 °C-ról való hirtelen hűtéssel sikerült részlegesen stabilizálni az α -whitlockit fázist a β -whitlockit fázis mellett. Ahogy a 21. ábra is mutatja, a H (12,5 m/m%), az α -whitlockit (30,2 m/m%) és a β -whitlockit (11,8 m/m%) mellett megjelennek a nagy hőmérsékleten kialakuló kalcium-foszfát módosulatok, így a tetrakalcium-foszfát ($\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ (TP), 0,4 m/m%,) és az α - CaP_2O_6 ((CP) 14,9 m/m%), valamint az amorf fázis (30,2 m/m%) is.



21. ábra: Az AW jelű adalék röntgendiffrakciós felvétele

A csont nagyhőmérsékletű égetésével előállított AW tartalmú adalékban az energiadisziperzív elemzés alapján (9. táblázat) a Ca/P atomarány 1,44, ami gyorsabb oldódásra utal a H és BW adalékokhoz képest. Az adalék szemcséinek szerkezete a 22. ábrán látható.



22. ábra: Az α -whitlockitot tartalmazó adalék SEM képe

9. táblázat: Az α -whitlockitot tartalmazó AW adalék elemi összetétele

| Kémiai összetétel (m/m%) | | | | | | | |
|--------------------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
| | Na | Mg | Si | P | K | Ca | Ca/P |
| AW | 0,20 ± 0,04 | 1,89 ± 0,2 | 1,10 ± 0,1 | 39,55 ± 0,4 | 0,14 ± 0,05 | 57,12 ± 0,5 | 1,44 |

A kísérleti munka célja az előzőekben ismertetett állati eredetű vázak felületének bioüveg frittből, valamint különböző fázisösszetételű, ezáltal eltérő oldhatóságú biológiailag aktív kerámiai adalékokból készített keverékekkel való bevonása a kedvezőbb mechanikai és bioaktív tulajdonságok elérése céljából. A 10. táblázat a használt adalékok kémiai és fázisösszetételét foglalja össze. Megállapítható, hogy az adott adalékanyagok eltérő fázisösszetétele, ebből adódóan eltérő Ca/P atomaránya a bevonatok oldódási sebességének viszonylag széles tartományban való változtatását teszi lehetővé.

10. táblázat: A bevonat előállítására használt adalékok fázisösszetétele

| Fázisösszetétel (m/m%) | | | | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| Adalék | H | B | A | TP | CP | amorf |
| H | 81,96 | 6,26 | - | - | - | 11,78 |
| BW | 12,70 | 68,36 | - | - | - | 18,94 |
| AW | 12,50 | 11,80 | 30,20 | 0,40 | 14,90 | 30,20 |

4.1.3. Bevonatok felvitele a biosablonok felületére

A biosablonok felületére a különböző összetételű bevonatokat (11. táblázat) impregnálással kívántam felvinni. Az egyenletes vastagságú, homogén bevonat kialakításához kétféle impregnálási technikát alkalmaztam. Ennek során a csapadékos módszerrel előállított, golyósmalomban $\sim 27 \mu\text{m}$ átlagos szemcseméretűre őrlésével kapott hidroxiapatit tartalmú H adalékot használtam. A bevonat kialakításához 5 m/m%, 7,5 m/m% és 12,5 m/m% szárazanyag tartalmú szuszpenziókat készítettem az adalék etanolban szuszpendálásával.

11. táblázat: A bevonatok összetétele

| Minta | Fritt (m/m%) | Adalék (m/m%) |
|----------------|--------------|---------------|
| F | 100 | 0 |
| 70F30H | 70 | 30 H |
| 70F30BW | 70 | 30 BW |
| 70F30AW | 70 | 30 AW |

A szarvasmarha csontból $\sim 10 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ méretű próbatesteket vágtam ki mind a szivacsos, mind a tömör csontállományból, majd ultrahangos kádban háromszori etanolos mosással tisztítottam e sablonokat. Az impregnáláshoz két különböző eljárást választottam:

Az első esetben az előkészített sablonokat az adott szárazanyag-tartalmú szuszpenzióba helyeztem, majd ultrahangos kádban 5 percig tartó impregnálást követően 15, illetve 30 percig atmoszférikus nyomáson a szuszpenzióban állni hagytam. A kezelési idő leteltével a sablonokat csipesszel kiemeltem a szuszpenzióból és exszikkátorban, szobahőmérsékleten 48 órán át szárítottam. A továbbiakban az ezzel a módszerrel előállított mintákat A jelzéssel láttam el.

A második esetben a csont sablonokat szintén a H adalékot tartalmazó szuszpenziókba helyeztem, majd ultrahangos fürdőben 5 percig kezeltem. Ezt követően a csontot és a szuszpenziót tartalmazó üveg tégelyeket vákuum kamrában 30 mbar vákuum értéken tartottam 15, illetve 30 percen keresztül. Az adott idő eltelte után a vákuum kamrában növeltem a nyomást. A hirtelen nyomásnövekedéstől azt vártam, hogy a hidroxiapatit szemcsék feltöltik a sablonok felületén lévő pórusokat és egyenletes bevonatot alakítanak ki a felületen. A módszert a kiértékelésnél VK (vákuum kamra) jelöléssel láttam el.

A bevonat kialakításának sikerességét tömegméréssel ellenőriztem, ahol mértem a minta tömegét a bevonat felvitele előtt és után, majd az egységnyi tömegre vonatkoztatott feltapadt anyagmennyiség alapján választottam ki az impregnálási eljárást. Az eredményeket a 12.

táblázat foglalja össze, ahol a táblázatban megadott jelölések a következőképp értendők pl. A/5/15/SZ – módszer/szárazanyag tartalom (m/m%)/vákuum kezelés ideje (min)/szivacsos (SZ) vagy tömör (T) csont.

12. táblázat: A különböző impregnálási módszerek hatására feltapadt anyagmennyiség

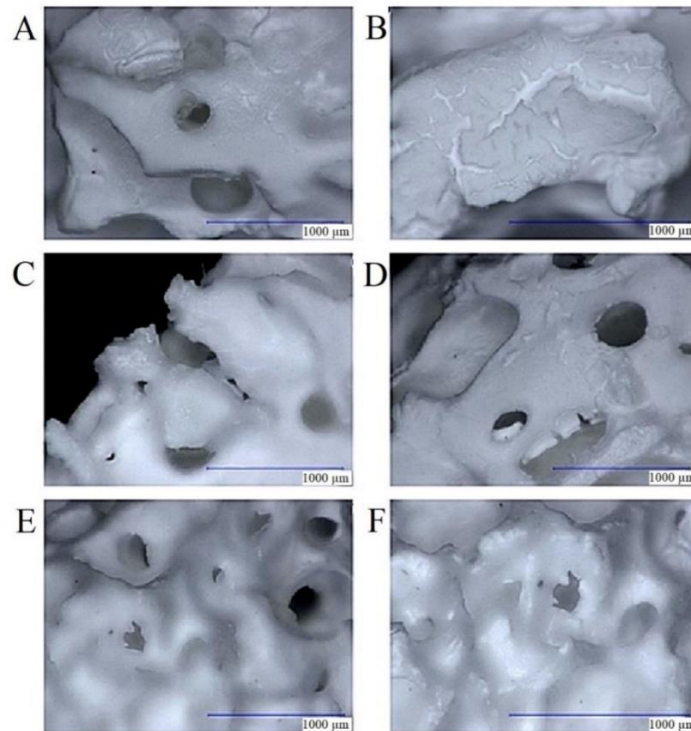
| Impregnálás atmoszférikus nyomáson | | Impregnálás vákuum kamrában | |
|------------------------------------|----------------|-----------------------------|----------------|
| Minta | Bevonat (m/m%) | Minta | Bevonat (m/m%) |
| A/5/15/SZ | 4,07 | VK/5/15/SZ | 7,78 |
| A/5/30/SZ | 1,60 | VK/5/30/SZ | 9,38 |
| A/7.5/15/SZ | 3,76 | VK/7.5/15/SZ | 4,10 |
| A/7.5/30/SZ | 3,14 | VK/7.5/30/SZ | 7,94 |
| A/12.5/15/SZ | 2,86 | VK/12.5/15/SZ | 10,11 |
| A/12.5/30/SZ | 3,62 | VK/12.5/30/SZ | 12,11 |
| A/5/15/T | 0,14 | VK/5/15/T | 4,58 |
| A/5/30/T | 0,24 | VK/5/30/T | 5,42 |
| A/7.5/15/T | 0,48 | VK/7.5/15/T | 7,20 |
| A/7.5/30/T | 0,32 | VK/7.5/30/T | 7,19 |
| A/12.5/15/T | 0,81 | VK/12.5/15/T | 8,09 |
| A/12.5/30/T | 1,43 | VK/12.5/30/T | 9,27 |

Az eredményekből jól látható (12. táblázat), hogy a vákuum kamrás impregnálás során alkalmazott hirtelen nyomásnövelés hatására jóval nagyobb az egységnyi felületre feltapadt anyagmennyiség, továbbá a szárazanyag-tartalommal és az impregnálási idővel növelhető a lerakódott anyag mennyisége. Megfigyelhető az is, hogy a szivacsos szerkezetű sablonok esetén nagyobb az egységnyi felületre feltapadt anyaghányad.

4.1.3.1. Biopolimer segédanyagok hatásának vizsgálata

A felületen kialakított bevonat homogenitásának növelése érdekében bioaktív polimereket, zselatint (Sigma-Aldrich), kitozánt (Sigma-Aldrich) és polivinil-alkoholt (PVA, Sigma-Aldrich, 87-90% hidrolizált, 30-70 kDa molekulatömegű) alkalmaztam segédanyagként. A PVA szuszpenzió készítéséhez 80 °C-ra hevített desztillált vízben oldottam fel a reagenst és 5 m/m%-os oldatot készítettem, míg a kitozán feloldása 1 V/V%-os ecetsav oldatban 50 °C-on történt, majd szobahőmérsékleten tároltam felhasználásig. A zselatin szuszpenziókat közvetlenül a felhasználás előtt készítettem 50 °C-os desztillált vízben. A bevonatokat az előzőekben ismertetett vákuum kamrás módszerrel alakítottam ki az állati eredetű sablonok felületén. A 2,5 m/m%, 5 m/m% és 10 m/m%-os impregnálási segédanyagok oldatával végzett

előkísérletek azt mutatták, hogy amennyiben kevés (2,5 m/m%) a segédanyag, úgy nem alakul ki egyenletes bevonat, 10 m/m%-nál viszont bizonyos esetekben a bevonat vastagsága miatt már a száradást követően elvált a felülettől. Ezért a továbbiakban 5 m/m% szárazanyag-tartalmú szuszpenziókat készítettem, s ezekhez történt a szilárd adalék anyagok 5 m/m%-ban való hozzáadása. Kontrollként 5 m/m% H adalékot tartalmazó etanolos szuszpenziót használtam. A bevonatok kialakítását követően a sablonokat tömegállandóságig szárítottam, majd 700 °C-on 1 órás hőkezeléssel eltávolítottam a szerves anyagokat, 200 °C/óra fűtési sebesség alkalmazásával. A bevonatok morfológiáját fénymikroszkóppal ellenőriztem a szárítás és az égetés után (23. ábra). A segédanyagoknak a felületre feltapadt anyagok mennyiségére gyakorolt hatását tömegméréssel ellenőriztem (12 táblázat).



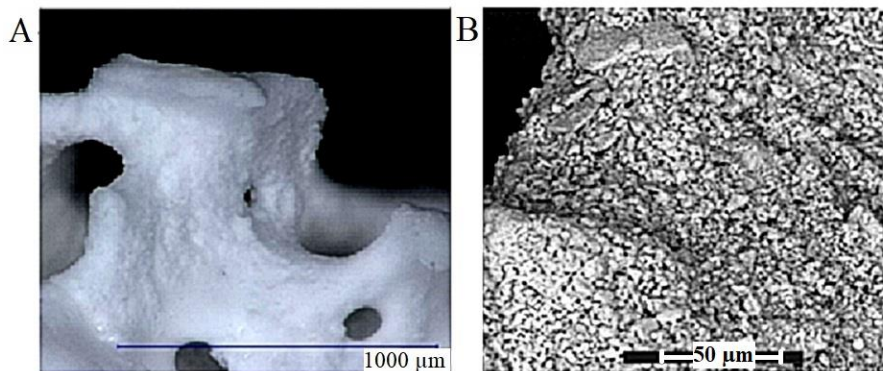
23. ábra: Az impregnálási segédanyagokkal kialakított bevonatok, ahol A) zselatinnal kezelt csont sablon; B) zselatinnal kezelt csont 700 °C-os égetés után; C) PVA bevonattal készült csont sablon; D) a PVA bevonattal készült minta 700 °C-os égetés után; E) kitozánnal bevont csont sablon; F) kitozánnal kezelt csont sablon 700 °C-os égetése után

Az impregnálási segédanyagokkal történő bevonatképzés során azt tapasztaltam, hogy a szobahőmérsékleten szárításkor az előzetes fénymikroszkópos vizsgálatok alapján egyenletes bevonat alakul ki a felületen, ez azonban az alkalmazott hőkezelés hatására esetenként erősen repedezik és elválk a felülettől. A nagyobb fajlagos felületből adódóan a szivacsos szerkezetű csont felületére ebben az esetben is átlagosan több anyag tapadt fel (13. táblázat).

13. táblázat: Az impregnálási segédanyagok hatása a szivacsos (SZ) és a tömör (T) csontok felületére feltapadt 5m/m% H adalékot és 2,5 m/m% impregnálási segédanyagot tartalmazó etanolos bevonat mennyiségére 700 °C-os égetés után

| Minta | Bevonat (m/m%) | Minta | Bevonat (m/m%) |
|-------------|----------------|------------|----------------|
| Etanol/SZ | 6,98 | Etanol/T | 4,08 |
| Zselatin/SZ | 4,68 | Zselatin/T | 2,86 |
| Kitozán/SZ | 2,38 | Kitozán/T | 1,07 |
| PVA/SZ | 4,14 | PVA/T | 0,86 |

Az etanollal készült H adalék tartalmú bevonatok fénymikroszkópos és elektronmikroszkópos vizsgálata során azt tapasztaltam, hogy ahol a felületen a bevonatot képző hidroxipatit szemcsék átlagos szemcsemérete kisebb, mint 10 μm , abban az esetben a kialakult bevonat egyenletes és homogén, nem figyelhetők meg rajta repedések (24. ábra).



24. ábra: Az H-etanol szuszpenzióval impregnált csont fény (A)- és elektronmikroszkópos képe (B)

Az előkísérleteknél kapott eredményekből az látszik, hogy egyenletes bevonat kialakításához nem szükséges impregnálási segédanyag, mivel a szuszpenzióban lévő szemcsék átlagos méretével szabályozható a felületen kialakított bevonat homogenitása.

4.1.3.2. A bevonat alapanyagok szemcseméretének optimalizálása

A szemcseméret-eloszlás hatásának vizsgálatánál a bioaktív bevonatok kialakításához bioüvegfritt és biokerámia adalékok adott összetételű keverékét használtam (11. táblázat).

A bevonatok optimális szemcseméretének beállításához a kiindulási anyagokat Fritsch Pulverisette 6 típusú bolygómalomban cirkónium-dioxid tégelyben őrltem. Az őrlés során etanol közeget és Y_2O_3 -mal stabilizált cirkónium-dioxid tégelyt (űrtartalom: 250 ml) és őrlőtesteket használtam. Az optimális őrlési paraméterek megválasztása során változtattam a szárazanyag:őrlőtest, a folyadék:szárazanyag arányt, a fordulatszámot, az őrlési időt és az

alkalmazott őrlőtestek méretét. Az előkísérletek során 10 mm, 5 mm és 1 mm átmérőjű cirkónium-dioxid őrlőtesteket is alkalmaztam, azonban a kívánt szemcseméretet az 1 mm-es őrlőtestekkel értem el (pl. 20 m/m% szárazanyagtartalmú szuszpenzió előállításához 2 g hidroxipatitot, 10 g etanolt és 40 g 1 mm átmérőjű ZrO₂ őrlőtestet alkalmaztam). A szisztematikusan megtervezett őrlési előkísérletek elvégzése után a 14. táblázatban összefoglalt, optimálisnak ítélt őrlési paraméterekkel folytattam a kísérleteimet.

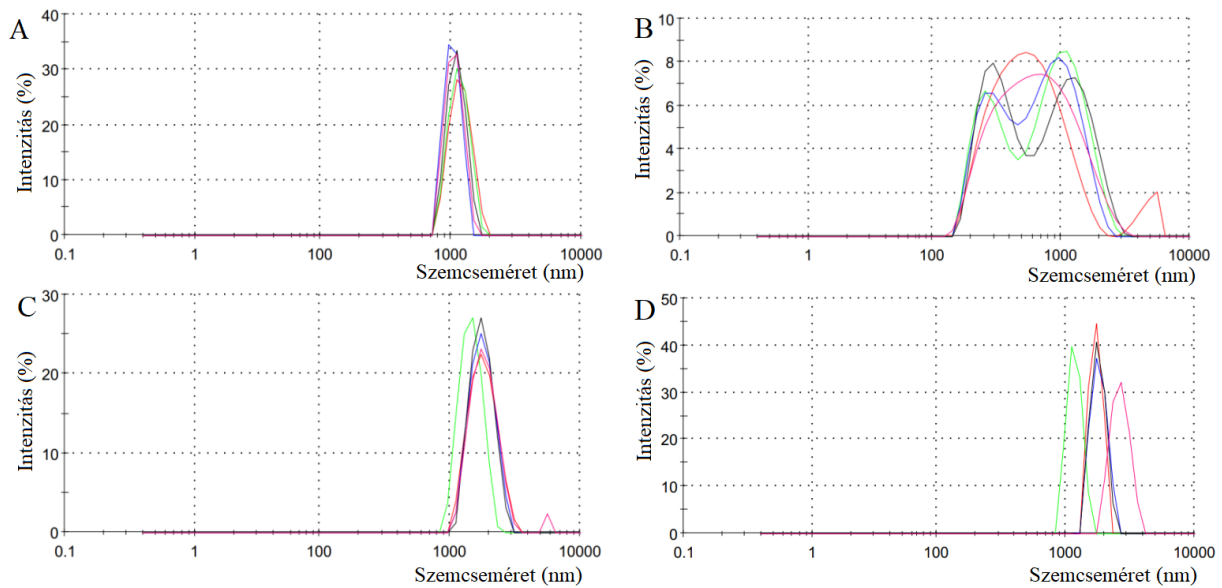
14. táblázat: Optimált őrlési paraméterek

| Minta | Fordulatszám (rpm) | Őrlési idő (min) | Szárazanyag: őrlőtest tömegarány | Őrlőtest átmérő (mm) | Szárazanyag: etanol tömegarány |
|---------|--------------------|------------------|----------------------------------|----------------------|--------------------------------|
| F | 500 | 30 | 1:20 | 1 | 1:2 |
| 70F30H | 600 | 15 | 1:20 | 1 | 2:3 |
| 70F30BW | 600 | 15 | 1:20 | 1 | 2:3 |
| 70F30AW | 600 | 15 | 1:20 | 1 | 2:3 |

A kiindulási, porcelán golyósmalomban őrlött, továbbá ezt követően az optimális őrlési paraméterekkel bolygómalomban őrlött fritt (F) és a különböző adalékokat tartalmazó bevonat anyagok átlagos szemcseméretét a 15. táblázat foglalja össze. A szemcseméret eloszlás eredményeit a 25. ábra foglalja össze, ahol különböző színnel jelöltem a párhuzamos méréseket. Az eredmények azt mutatják, hogy a megfelelő őrlési paraméterek megválasztásával a különböző összetételű adalékok egységes, 5 µm alatti átlagos szemcseméretűre őrlhetők, így impregnálási segédanyag nélkül is kialakítható a biosablonok felületén az egyenletes bevonat (Jakab, et al. 2021).

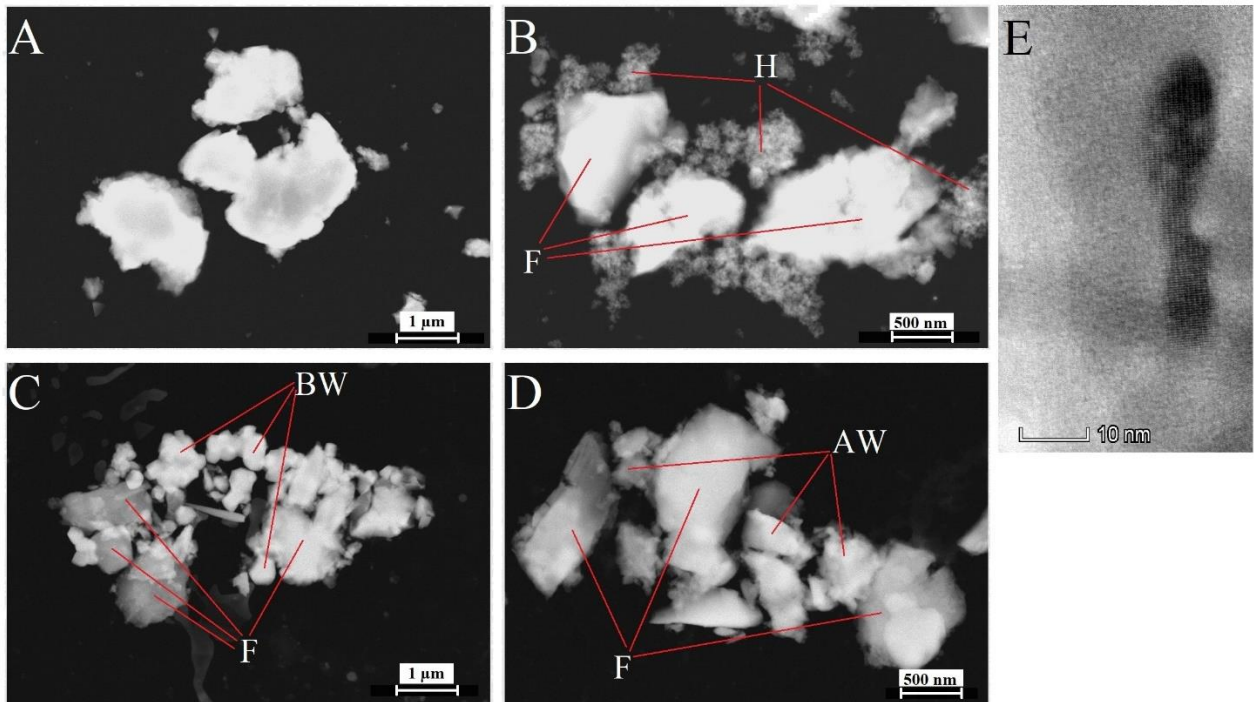
15. táblázat: A fritt és a különböző adalékot tartalmazó bevonat anyagok átlagos szemcsemérete

| Minta | Golyósmalom (µm) | Bolygómalom (µm) |
|---------|------------------|------------------|
| F | 26,87 | 1,02 |
| 70F30H | 30,23 | 1,88 |
| 70F30BW | 34,68 | 2,24 |
| 70F30AW | 26,12 | 2,03 |



25. ábra: A fritt és a különböző adalékot tartalmazó bevonat anyagok szemcseméret eloszlása (A: F, B:70F30H, C:70F30BW, D:70F30AW)

A bolygómalomban őrlött szemcsék méretét és alakját a 25. ábra mutatja be. A felvételeket pásztázó elektronmikroszkópban készítettem STEM üzemmódban. Az adott szemcseméretűre őrlött bevonat anyagokból híg etanolos szuszpenziót állítottam elő, majd 10 μ l-t cseppenttem fel szénhártyával bevont réz mikrostélyra. A 70F30H minta (26/B ábra) esetén a csapadékos módszerrel előállított hidroxiapatit ~30-100 nm átmérőjű kristályokból áll, amelyet a 26/C és 26/E ábra szemléltet. Az α -whitlockit tartalmú adalék (26/D ábra) az őrlés során őrlőtestként viselkedve kisebb szemcseméretűre őrlötte a bioüveget is. A β -whitlockit adalék szemcséi lekerekített morfológiát mutatnak, ami arra utal, hogy ezen szemcsék keménysége kisebb, mint a magasabb hőmérsékleten előállított α -TCP polimorf módosulaté.



26. ábra: Az optimális paraméterekkel őrölt bevonat anyagok (A: bioüveg fritt, B: 70F30H, C: 70F30BW, D: 70F30AW) és az egyedi hidroxipatit kristály TEM képe (E)

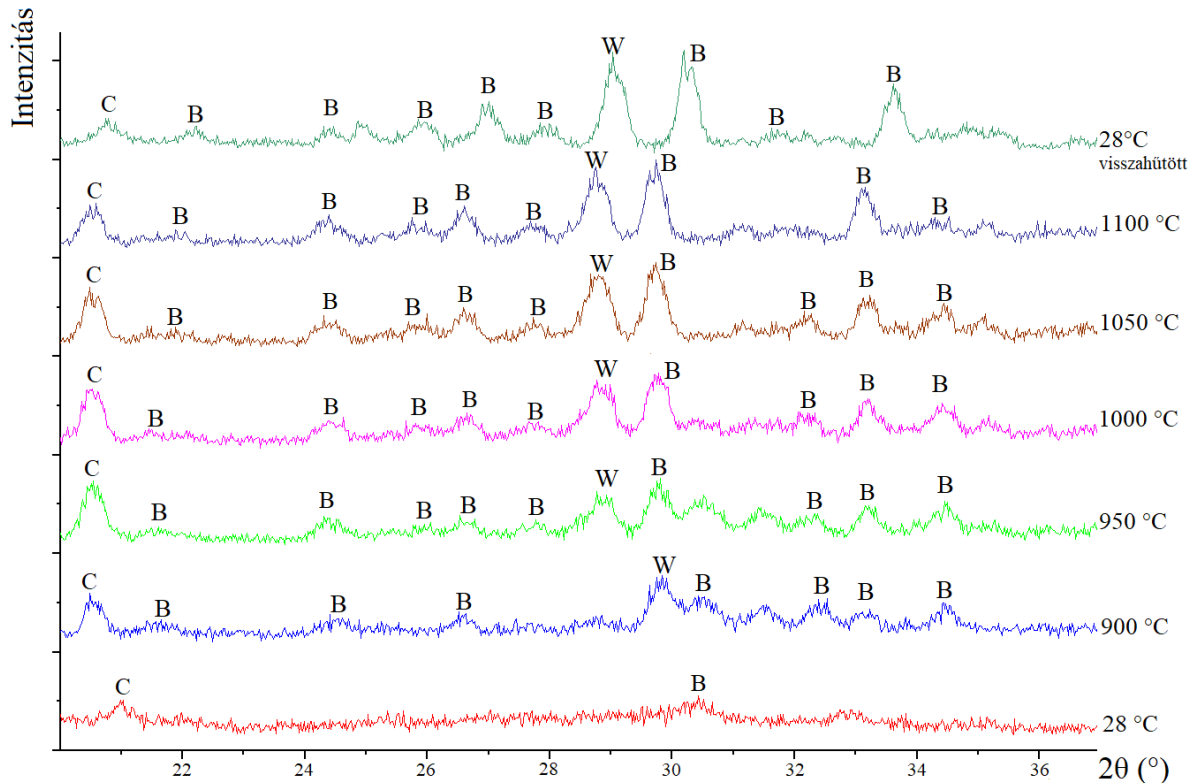
4.1.3.3. Az alapanyagok hőkezelésekor lejátszódó folyamatok vizsgálata

A homogén bioüveg-kerámia bevonat kialakításának a feltétele a szemcseméretén kívül az égetési paraméterek megfelelő megválasztása. A **bioüvegfritt hőkezelése** során lejátszódó **fázisátalakulásokat** hevítőkamrás röntgendiffrakciós felvételeken követhetjük nyomon. Az F jelű mintáról Anton Paar HTK 16 típusú hevítőkamrával készítettem felvételt levegő atmoszférában, 1100 °C csúcshőmérsékletig 1 °C/perc fűtési sebességgel. A felvételek 850, 900, 950, 1000, 1050 és 1100 °C hőmérsékleten készültek $2\theta=20-37^\circ$ szögterületben. A 27. ábra foglalja össze a fázisok jellemző reflexióinak hevítés hatására bekövetkező intenzitás változását.

A kiindulási alapanyagként használt fritt mintában kristályos fázisként csak a krisztobalit (C) és a β -whitlockit (B) azonosítható. A krisztobalit jellemző csúcsának intenzitása a hőkezelések során kismértékben nő, majd 1100 °C-nál kis csökkenés tapasztalható, s a gyorsan visszahűtött mintában a kiindulásihoz hasonló csúcsintenzitás érték adódott.

A 900 °C-os hőkezelés során a megnövekedett krisztobalit csúcs mellett ugyancsak növekvő intenzitással jelentkeznek a B reflexiói is, 950 °C-on pedig megkezdődik a W kristályosodása is. A hőmérséklet növelésekor ez utóbbi két fázis csúcsainak intenzitása 1050 °C-ig nő, s a hőmérséklet 1100 °C-ra történő növelése a jelenlévő fázisok reflexióinak intenzitásában nem

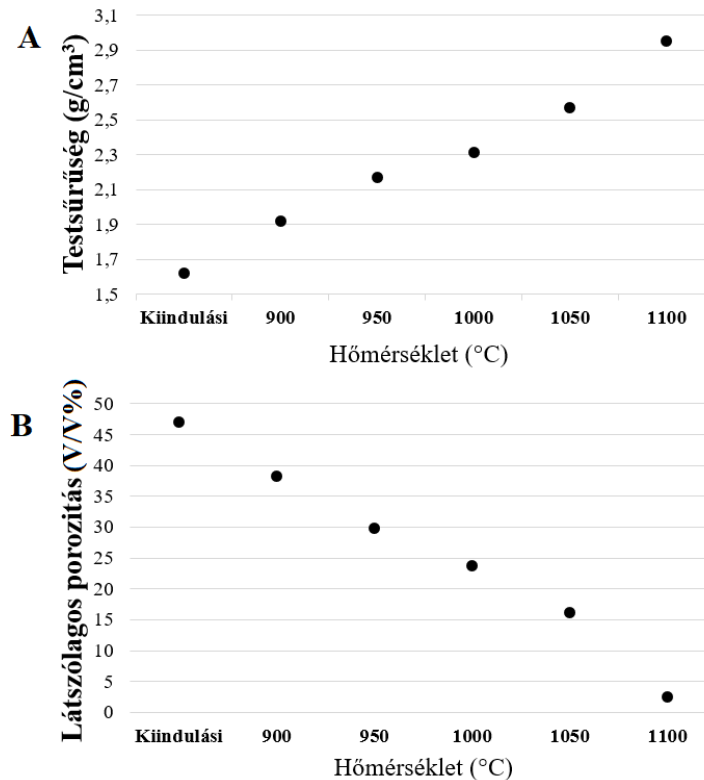
okoz számottevő változást. A 28 °C-ra gyorsan visszahűtött mintában sem tapasztalható számottevő eltérés a W és B fázisok csúcsainak intenzitását illetően, ugyanakkor a krisztobalit jellemző reflexiójának intenzitása a kiindulásihoz hasonló értékűre csökkent. Mindez arra utal, hogy az égetési hőmérséklet 1050 °C-ról 1100 °C-ra növelése a jelenlévő kristályos fázisok mennyiségét nem befolyásolja. A csúcsok kismértékű eltolódása feltehetően a platina mintatartó lemez hőtágulásával függ össze.



27. ábra: A frittben található fő kristályos fázisok intenzitásának változása a hőmérséklet függvényében

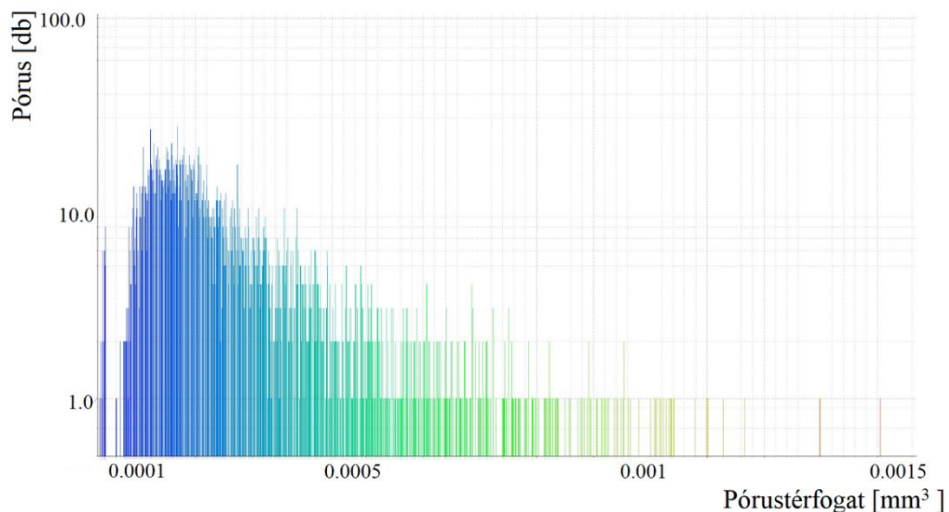
A bevonat kialakításának szempontjából lényeges az állati eredetű biosablon hő hatására bekövetkező **mikroszerkezetének és égetési zsugorodásának** meghatározása. A hő hatására bekövetkező változások vizsgálatához a tömör csontállományból hat darab $\sim 20 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ -es sablont vágtam kézi gyémánttárcsás vágógéppel. Az így kapott próbatesteket 900, 950, 1000, 1050 és 1100 °C hőmérsékleten hőkezelttem 300 °C/óra fűtési sebességgel és 2 óra hőtartással. A testsűrűséget és a látszólagos porozitást hidrosztatikai módszerrel határoztam meg. A vizsgálat során kapott eredményeket a 28. ábra foglalja össze. A mérési eredményekből látható, hogy a tömör csontállomány látszólagos porozitása, ezáltal testsűrűsége is a kiindulási értékhez képest a hőkezelések során jelentősen változik, s az 1100 °C-on végzett hőkezelés után értékük 2,46%, illetve $3,0 \text{ g/cm}^3$. Felhasználás szempontjából a jelentős porozitás csökkenés

nem előnyös, mivel nincs lehetőség a szervezetben a vaszkularizációra, ha zárt a rendszer, valamint az oszteonális hálózat adta mechanikai szilárdság javítás is elvész.

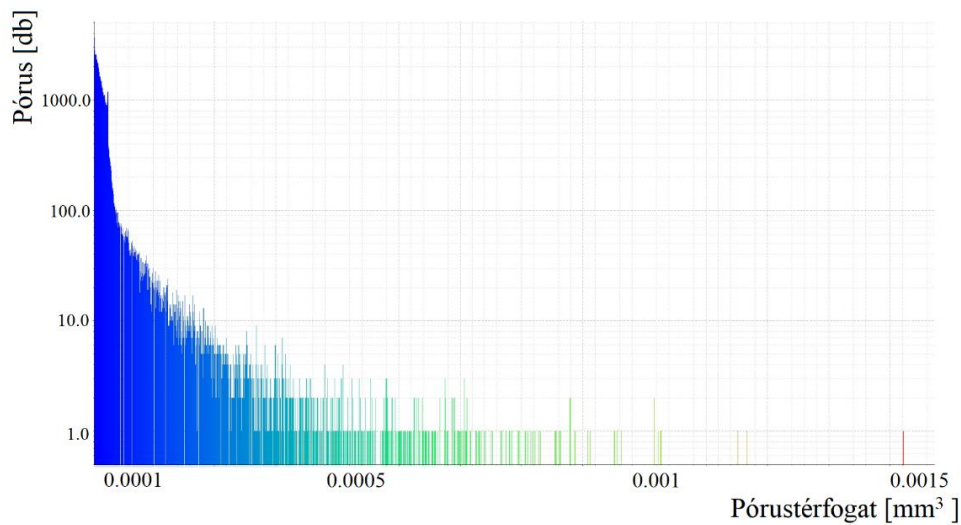


28. ábra: A tömör csont testsűrűségének (A) és látszólagos porozitásának (B) változása az égetési hőmérséklet függvényében

A hőkezelés hatására bekövetkező zsugorodást és pórusméret változást röntgentomográffal is vizsgáltam. A 29. és a 30. ábra foglalja össze az égetés előtt, illetve az adott térfogattal rendelkező pórusok számát. Az eredményekből jól látható, hogy a hőkezelés hatására jelentősen nőtt az $1 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$ alatti pórusok száma, vagyis a biosablon szerkezete tömörebbé vált.



29. ábra: Az állati csont alapú biosablon pórusméret eloszlása égetés előtt

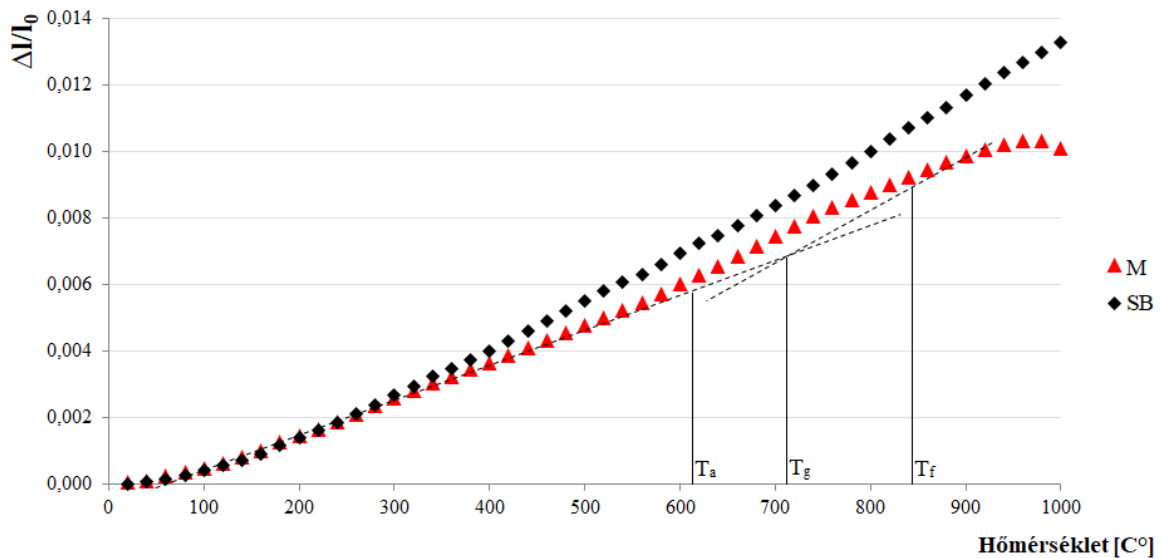


30. ábra: A biosablon pórusméret eloszlása égetés után

A bevonat alapanyagául szolgáló bioüveg fritt és a szarvasmarha csont alapú biosablonok hőtágulási együtthatójának ($\alpha_{\Delta T}$) meghatározását az Anyagmérnöki Intézeti Tanszéken készített, 1000 °C csúcshőmérsékletig használható dilatométerrel határoztam meg. A vizsgálathoz szükséges bioüveg frittet (M – mátrixüveg) egy korund tartalmú, kaolin réteggel bevont grafit csónakban történő 1000 °C-on 2 órás hőntartással végzett égetéssel, majd a próbatest megfelelő henger alakra és méretre ($l_0 = 39,31$ mm, $d = 4,32$ mm) csiszolásával állítottam elő. A szarvasmarha csont hőtágulási együtthatóját 1050 °C-on kiégett, majd $l_0 = 19,77$ mm és $d = 3,78$ mm méretű henger alakúra csiszolt mintán mértem (SB – hőkezelt csont). A mérés során 1000 °C-ig hevítettem a kvarc csőbe helyezett próbatesteket és 20 °C-ként regisztráltam a hőmérséklet hatására bekövetkező hosszváltozást. A hőtágulási együttható értékét az alábbi összefüggés szerint határoztam meg:

$$\alpha_{\Delta T} = \frac{\Delta l}{l_0} \cdot \frac{1}{\Delta T} + \alpha_{kvarc} \quad (13)$$

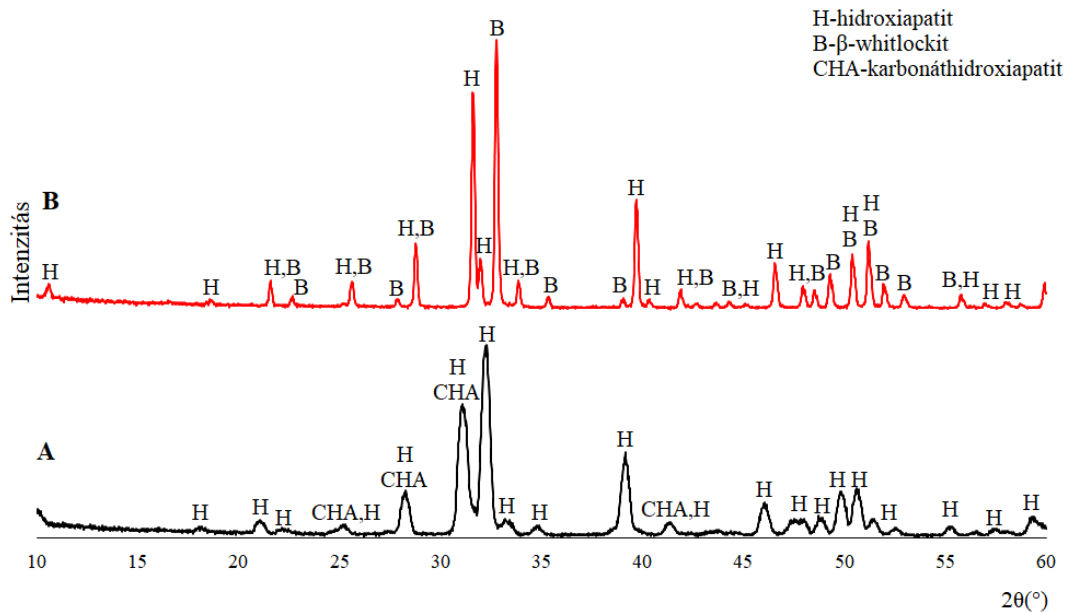
Az egyenletben szereplő ΔT értéke a 31. ábrán bemutatott érintők metszési pontja által meghatározott T_g (705 °C) és a laboratóriumi hőmérséklet (20 °C) különbsége, míg a $\frac{\Delta l}{l_0}$ hányados a T_g hőmérsékleten mért méretváltozást jelenti. A 20-705 °C hőmérsékleti tartományban a bioüveg fritt lineáris méretváltozása $7,403 \cdot 10^{-3} \frac{1}{^\circ C}$, míg a szarvasmarha csont esetén mért érték $8,397 \cdot 10^{-3}$. Az α_{kvarc} értéke a 20-700 °C hőmérsékleti tartományban $\alpha_{kvarc} = 5,7 \cdot 10^{-7} \frac{1}{^\circ C}$ (Tamás, 1970).



31. ábra: A bioüveg fritt és a biosablon hőtágulása a hőmérséklet függvényében (M-mátrixüveg, SB-hőkezelt csont).

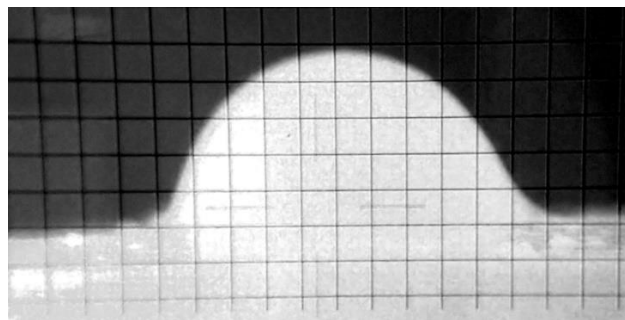
A 13. egyenletnek megfelelően a fritt hőtágulási együtthatója $\alpha_{fritt} = 1,146 \cdot 10^{-5} \frac{1}{\text{°C}}$, a biosablon esetén számolt érték pedig $\alpha_{csont} = 1,292 \cdot 10^{-5} \frac{1}{\text{°C}}$. A csont hőtágulási együtthatója ~11,3%-kal nagyobb, mint a bevonatként használt fritt hőtágulása, így ebben az esetben a bevonat nyomófeszültséges, ami növeli a bevonatolt próbatestek mechanikai szilárdságát. Ebből adódóan az optimális paraméterekkel őrlött szemcséket tartalmazó bevonat szuszpenziókat az 1050 °C-on hőkezelt állati csont biosablonok felületére vittem fel, s hőkezelésüket 1000 °C-on végeztem.

A 32. ábra a szarvasmarha csont fázisösszetételét mutatja a 850 °C-on előkezelt és 1050 °C-on ismételten hőkezelt állapotban. A felvételek az ~20 mm × 5 mm × 5 mm méretűre vágott tömör csontállomány felületéről készültek. Az 1050 °C-on hőkezelt biosablon ásványi összetételét Rietveld analízissel határoztam meg, amely szerint a váz 16,5 m/m% hidroxipatitot, 68,64 m/m% β -whitlockitot és 13,8 m/m% amorf fázist tartalmaz.



32. ábra: Az állati eredetű 850°C-on hőkezelt biosablon fázisösszetétele (fekete vonal) és 1050°C-os ismételt hőkezelés után (piros jelölés)

A homogén bevonat kialakításához fontos szempont, hogy az **üveg olvadék** megfelelően nedvesítse a természetes eredetű szarvasmarha csont felületét. A **nedvesítési szög** meghatározásához ~3 mm élhosszúságú, kocka alakú, préselt próbatesteket helyeztem a tömör csontból előállított alátételre és az üveg olvadási hőmérsékletén felvételeket készítettem a csont felületén kialakult félgömb alakú olvadék fázisról (33. ábra). Az olvadék széléhez húzott érintő egyenes segítségével megadható a csont felülete és az üvegolvadék határfelülete közötti nedvesítési szög.



33. ábra: Bioüveg olvadék a sablon felületén

A különböző átlagos szemcseméretű keverékek nedvesítési szög értékeit a 16. táblázat foglalja össze. Az üveg nedvesítési szöge minden esetben kisebb, mint 90°, tehát az üveg jól nedvesíti a csont felületét. A golyósmalomban történő őrlést követően a bevonat alapanyagainak átlagos szemcsemérete 29,475 μm, míg a bolygó malomban való őrlést követően 1,793 μm. A nagyobb energiájú őrlést követően nagy mértékben csökkent az átlagos szemcseméret, azonban mindez

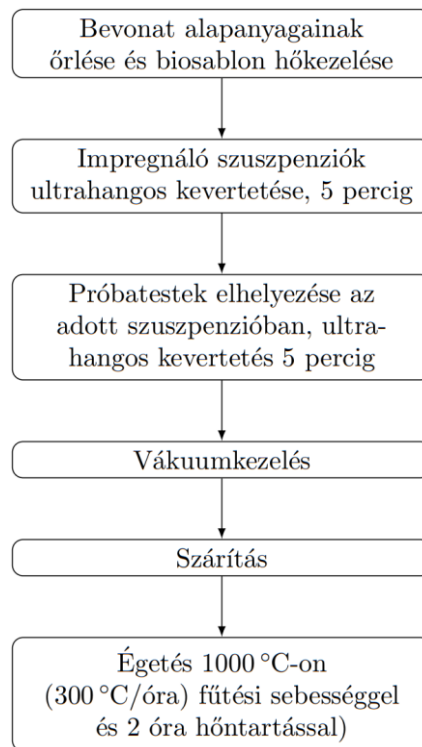
az olvadék nedvesítési szögének ($1,5^\circ - 4,4^\circ$) csak kis mértékű növekedését eredményezte (16. táblázat).

16. táblázat: Különböző szemcseméretű bevonat keverékek esetén mért nedvesítés szög értékek

| Minta | Nedvesítési szög ($^\circ$) | |
|----------------|-------------------------------|-------------|
| | Golyósmalom | Bolygómalom |
| F | 35,0 | 39,4 |
| 70F30H | 36,5 | 39,0 |
| 70F30BW | 36,4 | 40,2 |
| 70F30AW | 38,0 | 39,5 |

4.1.4. Biomorf kompozitok előállítása és vizsgálata

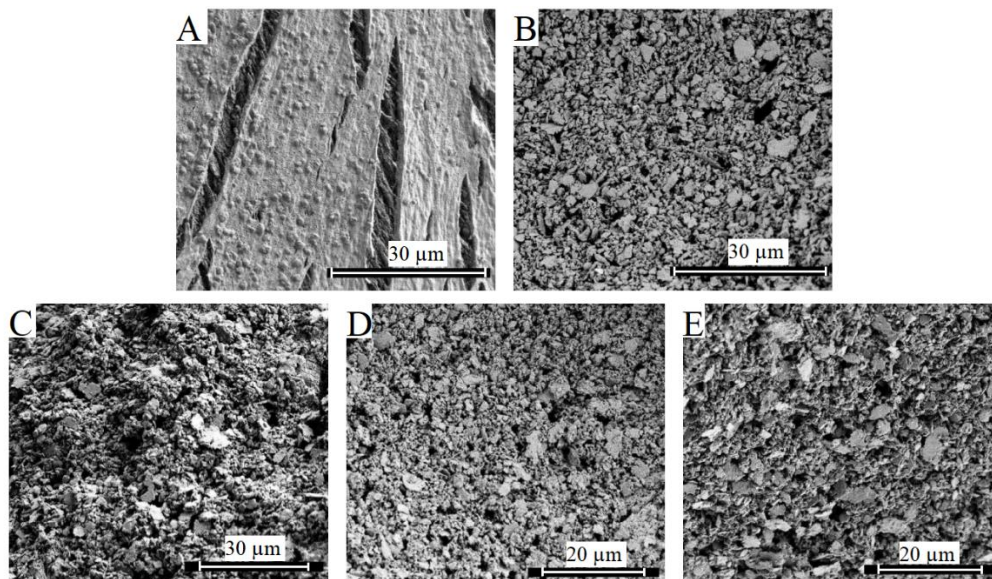
Az előkísérletek során szerzett tapasztalatok alapján a szivacsos és a tömör csontállományból preparált és 1050°C -on hőkezelt biosablonok felületére vákuum kamrás impregnálással vittem fel a bioüvegfrittet, hidroxipatitot, β -whitlockitot és α -whitlockitot tartalmazó szuszpenziókat. A szuszpenziók szárazanyag-tartalmának a bevonat homogenitására gyakorolt hatásának vizsgálata során bebizonyosodott, hogy az $5\text{ m/m}\%$ -nál több adalékot tartalmazó etanolos szuszpenziók esetén lokálisan túl vastag bevonat alakulhat ki, amely a hőkezelés során megrepedhet, ezért a bevonat kialakításához használt keverékek mindegyik esetben $5\text{ m/m}\%$ adalékot tartalmaztak. Az impregnálási folyamat során a hőkezelt, etanolban tisztított sablonokat adott szemcsemérettel és szárazanyag tartalommal rendelkező, ultrahangos kádban előzetesen homogenizált szuszpenzióba helyeztem, majd ultrahangos fürdőben kezeltem 5 percre. Az etanolos szuszpenziót és a biosablont tartalmazó tégelyeket vákuum kamrában 30 mbar nyomáson 30 percre kezeltem. A kezelés után exszikkátorban, szobahőmérsékleten tömegállandóságig szárítottam, majd 1000°C hőmérsékleten, $300^\circ\text{C}/\text{óra}$ fűtési sebességgel 2 órás hőtartással kiégettem. Az előállítási módszer egyes lépéseit a 34. ábrán látható folyamatábra szemlélteti.



34. ábra: A bevonat kialakítására alkalmazott technológia folyamatábrája

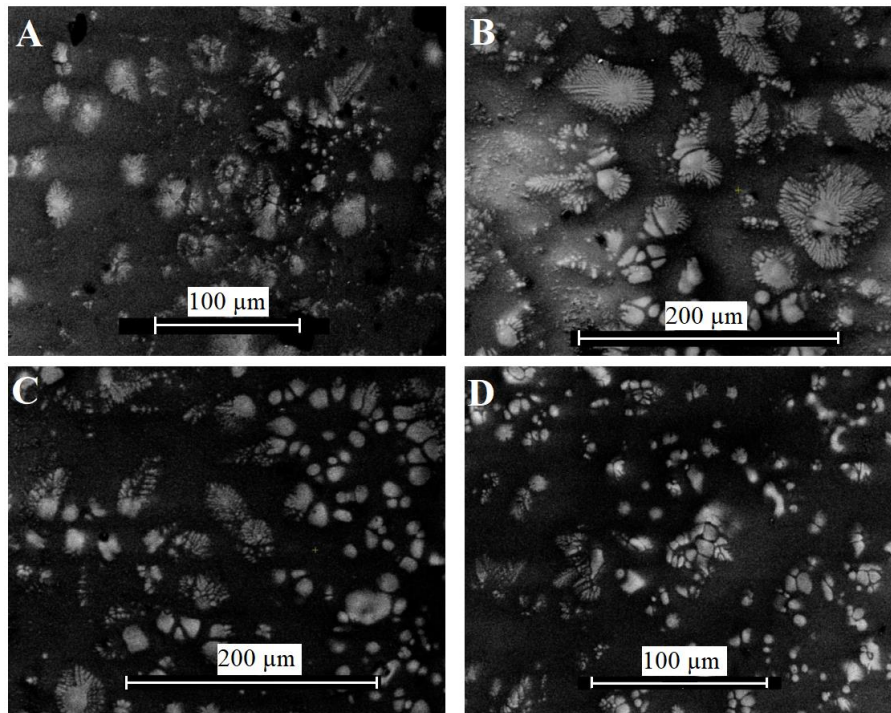
4.1.4.1. A csontok felületén kialakított bevonatok vizsgálata

A csontok felületére feltapadt szemcsék eloszlását és morfológiáját pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltam. A kiindulási 1050 °C-on 2 órás hűntartással hőkezelt csont felületét (35/A ábra) és az impregnálás után kialakult bevonatokat a 35. ábrán bemutatott szekunder elektronos képek szemléltetik.



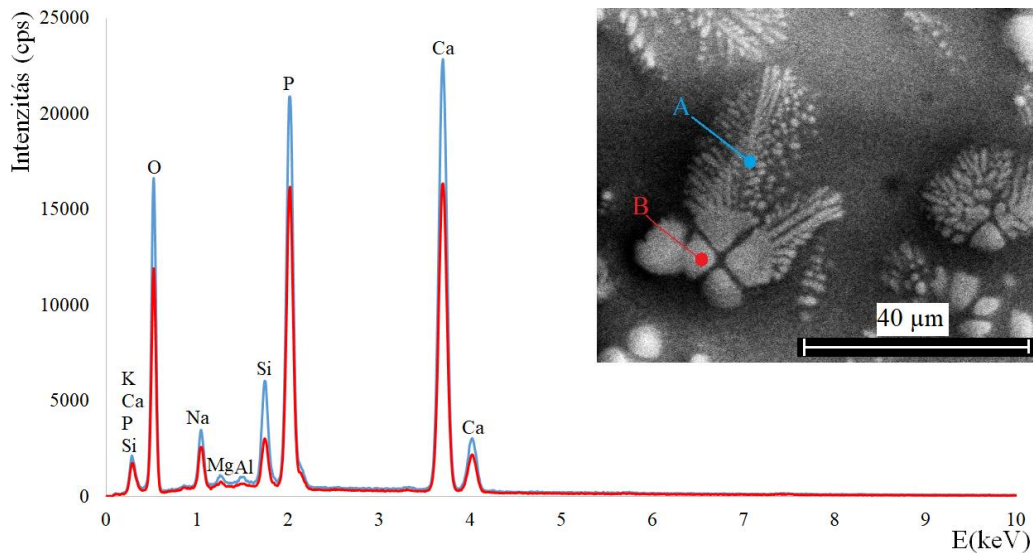
35. ábra: Az 1050 °C-on égetett tömör csont (A) felületére feltapadt (F) bioüvegfritt (B), hidroxipatit (H) tartalmú adalék (C), β -whitlockit (BW) adalékot (D) és α -whitlockit fázist tartalmazó (AW) bevonat (E)

Az 1000 °C-on 2 órás hűntartással végzett hőkezelést követően szintén elektronmikroszkóppal vizsgáltam a mintákon kialakított bevonatot, ahol a visszaszórt elektronos felvételeken jól láthatók az üveges mátrixban jelen lévő, eltérő oldhatósággal rendelkező kristályos fázisok (főként β -whitlockit, valamint hidroxiapatit, α - whitlockit) (36. ábra).



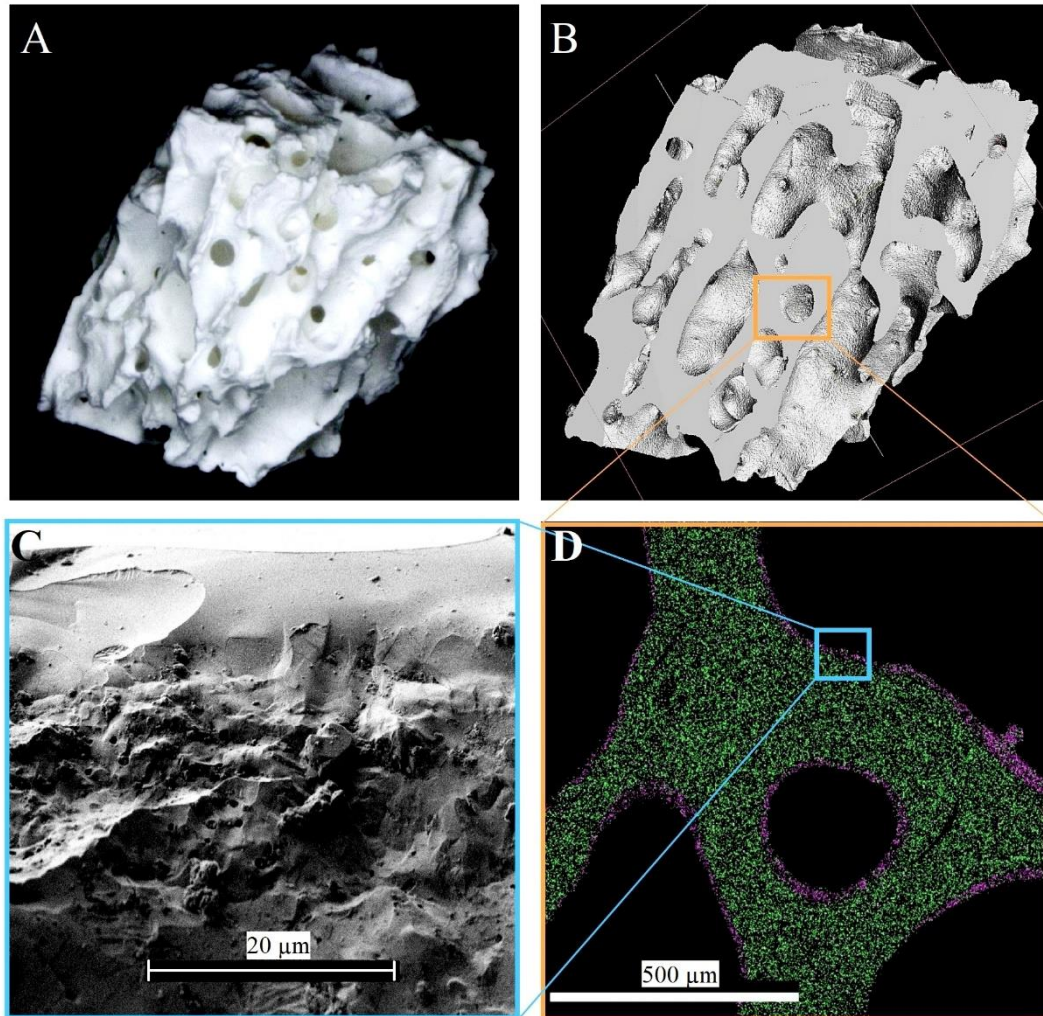
36. ábra: Az 1000°C-on 2 óra hűntartással végzett égetés után kialakult, különböző adalékot tartalmazó bevonatok (A:F, B:70F30H, C:70F30BW, D:70F30AW)

Az elektronsugaras röntgenanalízis szerint a kalcium-foszfátokat tartalmazó bevonatoknál nagyobb mennyiségben képződött dendrites, szálás, lemezes kristályok, a Ca/P atomarányok (37/A pontban: 1,59; 37/B pontban: 1,54) alapján a β -whitlockitéhoz közeli kémiai összetételűek.



37. ábra: A hidroxiapatit tartalmú adalékanyag (B) és annak környezetében kialakult kristályok (A)

A bevonat homogén eloszlásának vizsgálatához a frittet tartalmazó szuszpenzióval impregnált és 1000 °C-on égetett, szivacsos szerkezetű biosablont metil-metakrilát műgyantába ágyaztam és keresztmetszeti csiszolatot készítettem. A 38. ábrán a röntgentomográfia készített szerkezeti kép mutatja azt a metszősíkot, ahol a csiszolat készült (38/B ábra). A szekunder elektronos felvételen jól látható, hogy a bioüveg bázisú bevonat ~15 μm vastag (38/C ábra). A bevonat homogenitásának szemléltetése céljából a 38/B ábrán sárgával jelzett területről elemtérképet készítettem, ahol rózsaszín jelzi a szilíciumot tartalmazó üvegbevonatot és zöld szín a biosablonban, a kalcium mellett jelenlevő foszfort mutatja (38/D ábra).



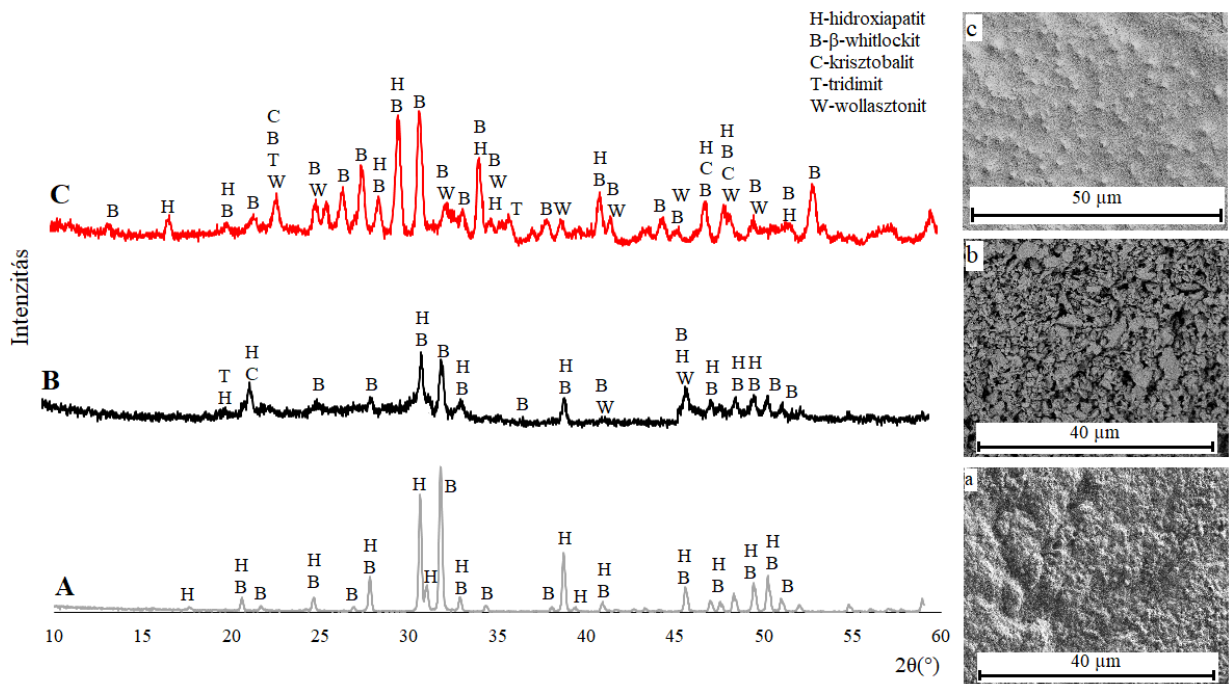
38. ábra: A szivacsos szerkezetű bioüveg frittrel bevont biosablonról fénymikroszkóppal (A), röntgentomográffal (B), pásztázó elektronmikroszkóppal (C) készített felvétel és elemtérkép (zöld szín jelöli a foszfort, míg a rózsaszín a szilíciumot) (D)

Az elemtérkép jól mutatja, hogy a szivacsos szerkezetű sablon külső és belső felületét is jól fedi az impregnálással kialakított bevonat. A bevonat fedésének igazolására N_2 adszorpció-deszorpció módszerrel vizsgáltam a tömör szerkezetű előkezelts csont sablon (SB) fajlagos felületét impregnálás előtt és impregnálás után. Az adalékmentes bioüveg frittrel (F) való bevonat hatására 66%-kal csökkent a fajlagos felület. Az adalékok ugyan hatással voltak a fajlagos felület változására, azonban a 17. táblázatban látható eredmények azt mutatják, hogy az adott üveges bevonatok jól fedik a teljes felületet.

17. táblázat: A biosablon és a bevonattal ellátott biosablonok fajlagos felülete az 1000°C-os 2 órás hőkezelést követően

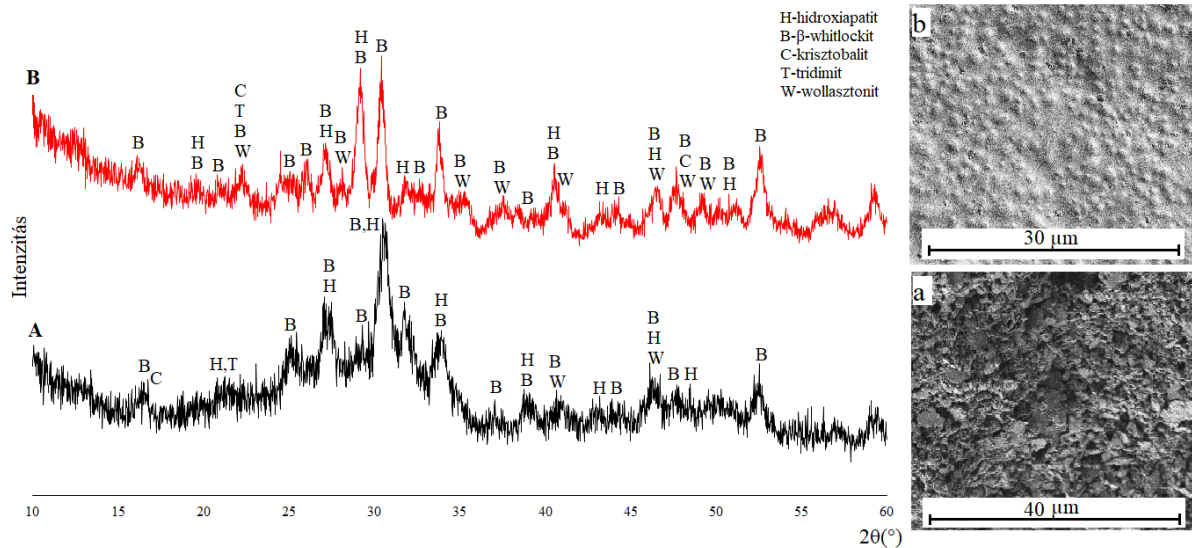
| Minta | Fajlagos felület [m²/g] |
|----------------|---|
| SB | 5,25 |
| F | 1,80 |
| 70F30H | 2,24 |
| 70F30BW | 1,97 |
| 70F30AW | 2,19 |

A felületen kialakult kristályos fázisok minőségi analizéséhez röntgendiffrakciós felvételeket készítettem. A vizsgálathoz ~20 mm × 5 mm × 5 mm méretű hasábokat használtam. A 38. ábra szemlélteti a hőkezelt csont (39/A ábra), a bioüveg frittel (F) bevont tömör csont felületéről (39/B ábra), valamint az 1000 °C-on 2 órás hőntartással végzett hőkezelés után kialakult felületről (39/C ábra) készített röntgendiffrakciós felvételeket. A 39/a, 39/b és 39/c felvételek szemléltetik a vizsgált próbatestek mikroszerkezetét. A felvételen látható, hogy az 1000 °C-on végzett hőkezelés hatására a frittben található hidroxiapatit részben β -whitlockittá alakul, továbbá megkezdődik a bioüvegben a wollastonit kristályosodása. A csúcsok intenzitásának változása és esetleges eltolódása ebben az esetben nagymértékben függ a bevonat vastagságtól és a felület minőségétől, ezért a 38. ábrán feltüntettem a hőkezelt szarvasmarhacsont röntgendiffraktogramját is. Látható, hogy a bevonat alapanyagaként használt fritt esetén is megjelennek a hidroxiapatitra és a β -whitlockitra jellemző reflexiók. Ez a jelenség a 70F30H, 70F30BW és 70F30AW bevonattal ellátott minták esetén is megfigyelhető.



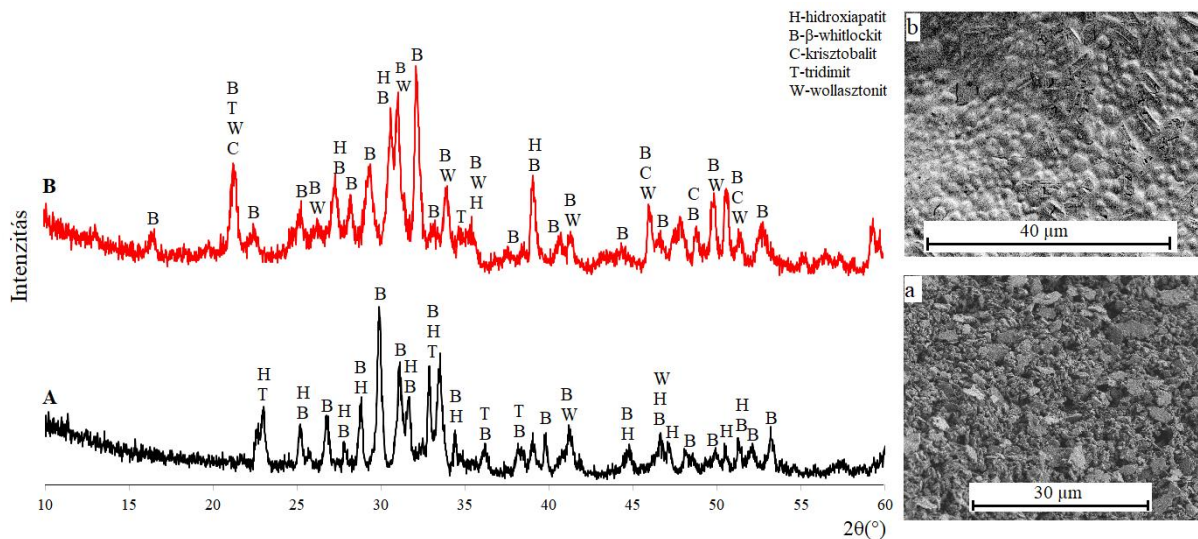
39. ábra: A hőkezelt csont (A) és a bioüveg frittel bevont biosablon röntgendiffrakciós felvétele 1000°C-os 2 órás hűtárással végzett égetés előtt (B) és égetés után (C), valamint a röntgendiffrakcióval vizsgált próbatetek mikroszerkezete (a, b, c)

A hidroxiapatit adalékot tartalmazó 70F30H bevonat esetén (40. ábra) is látható a bevonatban a H tartalom nagy részének - esetlegesen a csont biosablonban lévő hidroxiapatitnak is - a hőkezelés hatására β -whitlockittá való átalakulása, valamint a wollasztonit kristályosodása. A mechanikai szilárdságot kedvezően befolyásoló wollasztonit fázis csúcs intenzitása szintén nőtt, továbbá a hőkezelt mintában is kis intenzitással azonosíthatók a krisztobalit és a tridimit jellemző csúcsai is.



40. ábra: A hidroxiapatit tartalmú (70F30H) bevonattal készült sablon röntgendiffrakciós felvétele 1000°C-on végzett égetés előtt (A) és égetés után (B), valamint az adott diffraktogramhoz tartozó SEM felvételek (a, b)

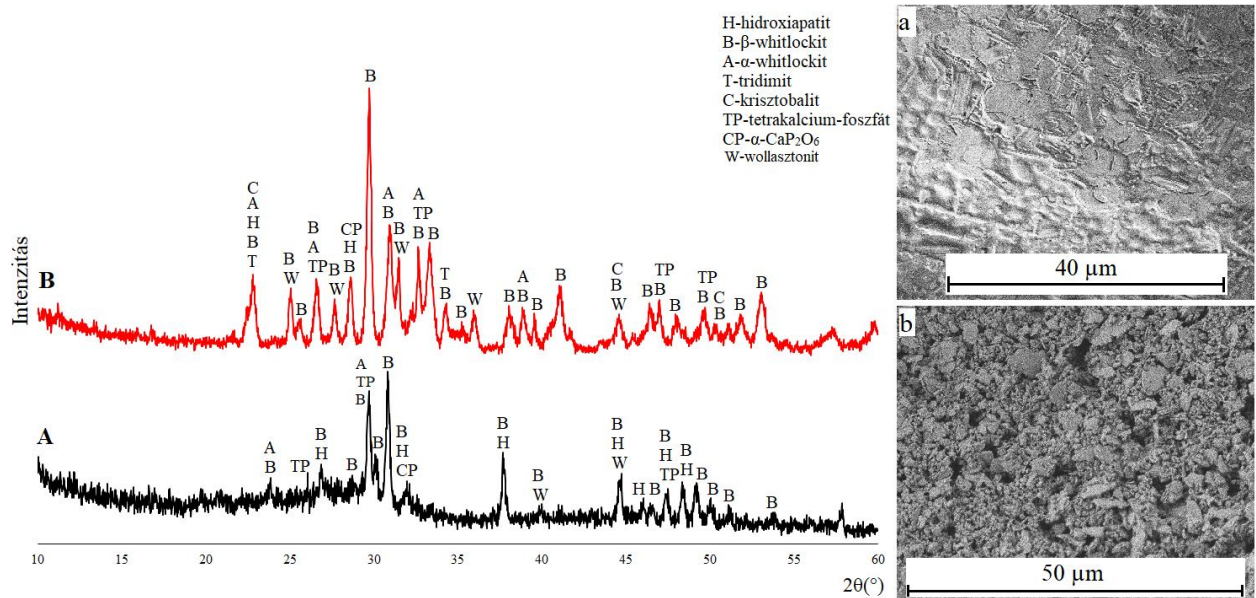
A β-whitlockit adalékot tartalmazó 70F30BW bevonattal készített biosablon fázisösszetétel vizsgálata (41. ábra) is azt mutatta, hogy az adott hőkezelés hatására nőtt a wollasztonit és β-TCP kristályos fázisok csúcsintenzitása, azonban ez esetben a β-TCP fázis csúcsintenzitásának növekedéséhez feltehetőleg a csont biosablonban lévő HA átalakulása is nagyobb mértékben hozzájárult.



41. ábra: A hőkezelt csont tartalmú 70F30BW bevonat-röntgendiffrakciós felvétele 1000 °C-os égetés előtt (A) és égetés után (B), valamint a próbatestek szerkezete (a, b)

Az α-whitlockitot is tartalmazó 70F30AW bevonatról készült fázisanalízis eredményét a 42. ábra foglalja össze. A szárítást követően már láthatók a felvételen az adalékban jelenlévő α-

whitlockit, tetrakalcium-foszfát és az α -CaP₂O₆ fázisok jellemző csúcsai. A hőkezelés hatására a jelenlévő kristályos fázisok csúcsintenzitása jelentősen nőtt, a biosablonban jelenlévő hidroxiapatit nagy része β -whitlockittá alakult.



42. ábra: Az α -TCP fázist tartalmazó (70F30AW) bevonat röntgendiffrakciós felvétele 1000 °C-os hőkezelés előtt (A) és után (B), valamint a vizsgált minták mikroszkópos képe (a, b)

4.1.5. Szimulált testfolyadékban való oldhatóság vizsgálata

Az élő szervezetben mutatott bioaktív tulajdonságok *in vitro* vizsgálatára fejlesztették ki Kokubo és társai (Kokubo et al., 2006) a szimulált testfolyadékban (SBF) való oldhatóság vizsgálati módszerét. Az oldódási vizsgálatok az ISO 23317 szabványnak megfelelően végeztem el. A vizsgálat célja, hogy az impregnálási technológiával előállított bevonatok felületén igazoljam a hidroxiapatit képződését a testfolyadék hatására. Korábbi vizsgálatok során bizonyították, hogy ha a humán vérplazmának megfelelő szervesen ionokat tartalmazó szimulált folyadékban megindul az apatit képződése, akkor a szervezetben is pozitív válaszreakciókat vált ki az adott implantátum. A 18. táblázat tartalmazza a vizsgálat során felhasznált testfolyadék szervesen ion koncentrációját.

18. táblázat: Az SBF ionkoncentrációja (ISO 23317)

| Ion | Koncentráció (mM) |
|--------------------------------|-------------------|
| Na ⁺ | 142,00 |
| K ⁺ | 5,00 |
| Mg ²⁺ | 1,50 |
| Ca ²⁺ | 2,50 |
| Cl ⁻ | 147,80 |
| HCO ₃ ⁻ | 4,20 |
| HPO ₄ ²⁻ | 1,00 |
| SO ₄ ²⁻ | 0,50 |
| pH | 7,40 |

A szimulált testfolyadékot a 19. táblázatban megadott reagensek felhasználásával készítettem el.

19. táblázat: A szimulált testfolyadék összetétele (ISO 23317)

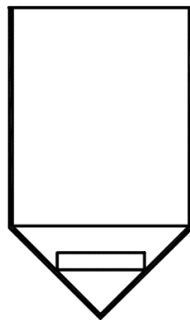
| Sorrend | Reagens | Mennyiség |
|---------|---|-----------|
| 1. | NaCl | 8,035 g |
| 2. | NaHCO ₃ | 0,355 g |
| 3. | KCl | 0,225 g |
| 4. | K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O | 0,231 g |
| 5. | MgCl ₂ ·6H ₂ O | 0,311 g |
| 6. | HCl (1 mol/l) | 39 ml |
| 7. | CaCl ₂ | 0,292 g |
| 8. | Na ₂ SO ₄ | 0,072 g |
| 9. | (CH ₂ OH) ₃ CNH ₂ (TRIS) | 6,118 g |
| 10. | HCl (1 mol/l) | 0-5 ml |

A SBF oldat előállításához 700 ml desztillált vizet melegítettem 36,5 °C ± 1,5 °C hőmérsékletre állandó kevertetés mellett. A testfolyadék előállítása során a hőmérsékletet állandó értéken tartottam és mágneses keveréssel biztosítottam a homogenitását. Az alapanyagokat a 19. táblázatban megadott sorrendben adagoltam a felmelegített desztillált vízbe ügyelve arra, hogy teljes mértékben oldódjon fel az adott reagens a következő adagolása előtt. A trisz-(hidroximetil)-amino-metán ((CH₂OH)₃CNH₂) reagenst úgy adagoltam az oldathoz, hogy közben a pH értéket 7,40-7,45 értéken tartottam. A pH-t a 10. reagensként megjelölt sósavval állítottam be állandó értékre. Ezt követően az oldat mennyiségét 1000 ml-re egészítettem ki desztillált vízzel és 1 M-os HCl oldattal a pH értékét 7,40-re állítottam be. Az oldatot zárt műanyag flakonban 5-10 °C-os hőmérsékleten tároltam a felhasználásig. A próbatestek

bioaktivitásának vizsgálatához a szabványban rögzített módon számoltam ki a szükséges testfolyadék mennyiségét az alábbi (14) egyenlet szerint:

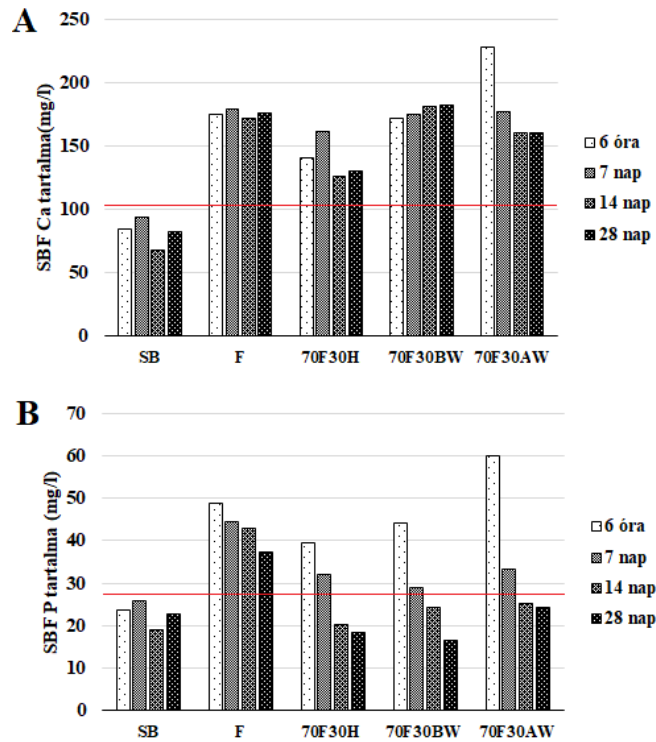
$$v_s = s_a/10 \quad (14)$$

ahol, v_s a felhasznált testfolyadék mennyisége (ml) és s_a a próbatestek átlagos fajlagos felülete (mm^2). A bevont biosablont ezt követően zárt műanyag tárolóegységekbe helyeztem a 43. ábra alapján úgy, hogy lehetőleg a próbatestek minden oldala érintkezzen a szimulált testfolyadékkal.

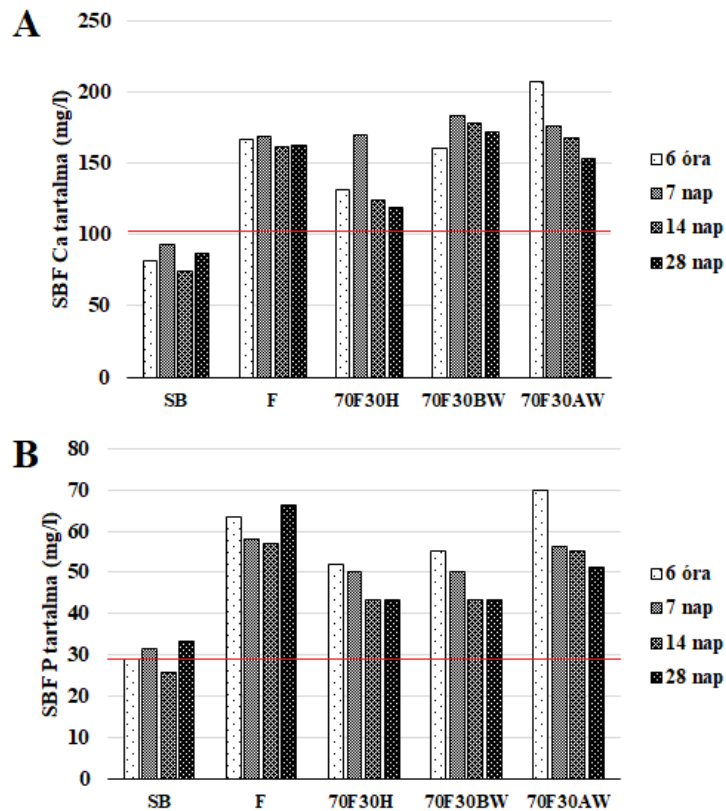


43. ábra: A biosablon elhelyezkedése a műanyag tárolóban (ISO 23317)

A bioaktivitás vizsgálatát 6 óra, 7, 14 és 28 nap elteltével végeztem, ahol kezelési időnként külön tárolóban helyeztem el a mintákat. A kalcium és foszfor mennyiségének kioldódását induktív csatolású plazma atomemissziós spektrometriával (44. ábra) és röntgenfluoreszcens spektrometriával (45. ábra) határoztam meg. A szabványban leírt módon pásztázó elektronmikroszkóppal és röntgendiffrakciós vizsgálattal igazoltam a biosablonok felületén kialakult hidroxipatit jelenlétét. A kioldódás mértékét a SBF kalcium és foszfor tartalmához viszonyítva adtam meg. Az ICP módszerrel mérve a testfolyadék kalcium tartalma 108,4 mg/l, a foszfor tartalom 36,18 g/l, míg XRF mérési módszerrel meghatározva a kiindulási kalcium és foszfor tartalom 106,2 mg/l és 37,45 mg/l. A kiindulási koncentrációkat az ábrákon piros vonallal jelöltem a jobb átláthatóság érdekében. Az ábrázolásnál a kioldódási értékeket adtam meg a bevonat nélküli (SB) csontsablonnal összehasonlítva.



44. ábra: ICP módszerrel mért, egységnyi felületből kioldódott kalcium (A) és foszfor (B) tartalom



45. ábra: XRF módszerrel mért, egységnyi felületből kioldódott kalcium (A) és foszfor (B) tartalom

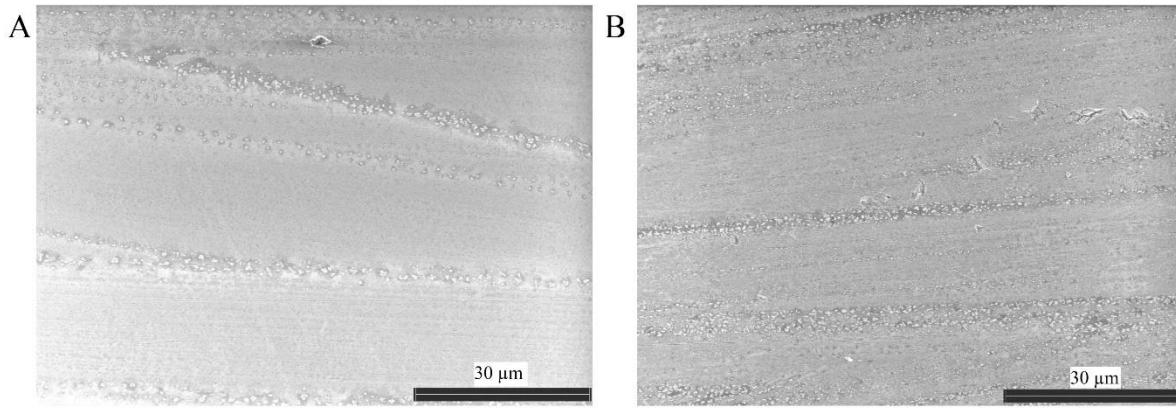
A kioldódás vizsgálatok során azt tapasztaltam, hogy a kioldódási tulajdonságokra jelentős hatást gyakorolnak a biosablon felületén kialakított bevonatok és azok fázisösszetétele. A hőkezelt szarvasmarha csont (BW) az adott vizsgálati intervallumban önmagában nem mutat jelentős bioaktív tulajdonságokat, a testfolyadék kalcium és foszfor tartalma csak kis mértékben változott a kezelése során. A nagy β -whitlockit tartalmú bioüveg fritt bevonat esetén jelentős, az α -whitlockit adalékot tartalmazó bevonatéhoz hasonló kalcium és foszfor kioldódás figyelhető meg, ami kevésbé változik a kezelési idő függvényében. Az ICP módszerrel mért foszfor kioldódás vizsgálatánál ugyan megfigyelhető, hogy 28 nap elteltével csökken a testfolyadék foszfor tartalma, azonban ez nincs összhangban az XRF módszerrel mért eredménnyel.

A hidroxipatit mellett csak kis mennyiségű β -whitlockitot tartalmazó H adalékkal készített bevonat kisebb kalcium kioldódást mutat. Ekkor az első 7 napban nő a kalcium mennyisége a testfolyadékban, utána fokozatosan csökken, míg a foszfor mennyisége folyamatos csökkenést mutat a kezelési idő függvényében, ami arra enged következtetni, hogy az apatit képződés már az oldódási kísérlet első szakaszától kezdve megindul a felületen.

A β -whitlockit adalékot (BW) tartalmazó bevonat esetén a H adalékénál nagyobb mértékű Ca kioldódás tapasztalható, s az XRF módszerrel mért adatok alapján a 7 napos kezelés után itt is csökken a testfolyadékban található Ca és P mennyisége feltehetően a hidroxipatit képződés eredményeként.

Az α -TCP fázist tartalmazó bevonatnál az első 6 óra után jelentős kalcium és foszfor kioldódás figyelhető meg, ami párhuzamosan csökken a kezelési idő függvényében. Az SBF teszt során tapasztalt eltérő kioldódási sebességek az 1.2.2.2 Oldható biokerámiák fejezetben tárgyalt Ca/P atomarányal, illetve a kristályszerkezettel van szoros összefüggésben. A hidroxipatit (Ca/P=1,67) oldhatósága a legkisebb, amit a β -whitlockit (Ca/P=1,5) fázis követ, míg az α -TCP (Ca/P=1,5) fázis oldhatósága a legnagyobb az adalékok közül. Az α - és β -TCP fázis eltérő sebességű oldhatósága, a különböző kristályszerkezettel magyarázható (*Carrodegua et al., 2011*).

A szimulált testfolyadékban történő kioldódás vizsgálata során referenciaként mikroszkópi tárgylemezt használtam, amelynek pásztázó elektronmikroszkópos felvételeit a 46. ábra szemlélteti. Az üveglapok felületén nem tapasztaltam apatit kiválást.



46. ábra: A referencia üveg szekunder elektronos képe SBF kezelés előtt (A) és után (B)

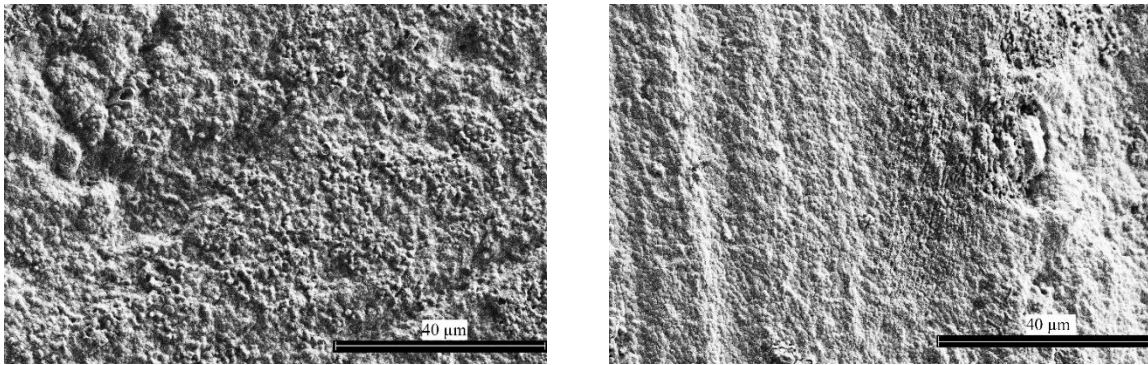
Az üveglap oxidos összetételét a 28 napos SBF kezelés előtt és után a 20. táblázat foglalja össze. A tárgylemez összetétele nem változott, ami arra utal, hogy nem történt meg a módosító ionok kioldódása, valamint nem képződött apatit a felületen.

20. táblázat: A referencia üveglap tömegszázalékos összetétele a szimulált testfolyadékban történő kezelés előtt és után

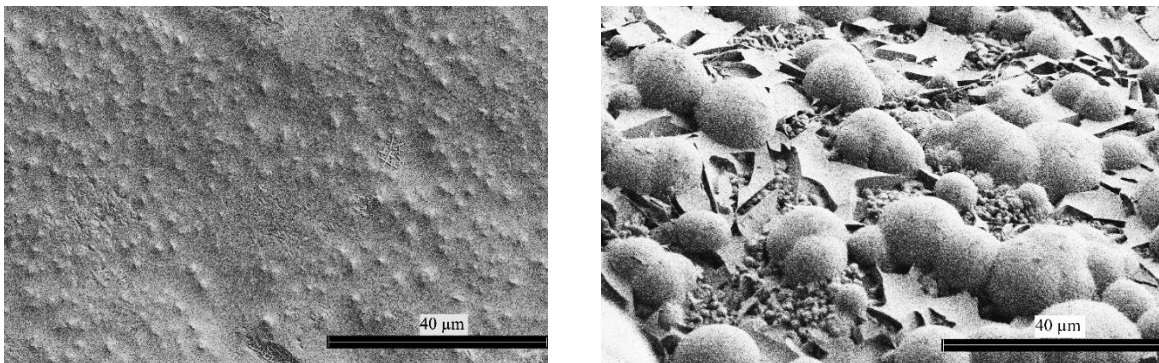
| | Na ₂ O | MgO | Al ₂ O ₃ | SiO ₂ | K ₂ O | CaO |
|--------------------|-------------------|-----------|--------------------------------|------------------|------------------|-----------|
| Kiindulási | 17,34±1,32 | 4,35±0,36 | 1,29±0,14 | 69,17±2,83 | 0,35±0,07 | 7,51±0,26 |
| 28 nap után | 19,23±1,42 | 4,48±0,37 | 1,31±0,13 | 67,06±2,78 | 0,39±0,07 | 7,53±0,24 |

A pásztázó elektronmikroszkópos felvételeken jól látható a testfolyadék hatására képződött apatit a felületen. A szekunder elektronos felvételek azt mutatják, hogy a hőkezelt csont (SB) 28 napos szimulatív testfolyadékban végzett kezelésekor nem alakult ki észlelhető mennyiségű apatit a felületen annak ellenére, hogy a kalcium és foszfor mennyisége a testfolyadékban csökkent a kezelés során (47. ábra). Az adalékmentes bioüveg bevonat esetén a jelentős mennyiségű kalcium és foszfor kioldódás ellenére csak kis mennyiségű apatit képződött a felületen (48. ábra). A hidroxipapatit (49. ábra), β -TCP (50. ábra) adalékok hatására azonban intenzíven megindult a felületen az apatit kristályosodása. A keletkező apatit kristályok mérete az adalék minőségétől függően változik, így a legkisebb (~ 1-5 μ m) kristályok a bioüvegfrittel bevont (F) mintánál képződnek. Ennél nagyobb a keletkező apatit kristályok mérete (~ 5-15 μ m) a H adalékot tartalmazó, valamint az α - (> 40 μ m) és a β -whitockit (~ 20-30 μ m) adalékkal készített mintáknál. Az apatit kristályok keletkezését különböző mértékű repedés képződés kíséri. A legkisebb méretű H kristályokat tartalmazó, legegyszerűsebb, viszonylag kevésbé repedezett bevonat a H adalékkal készített mintánál adódik.

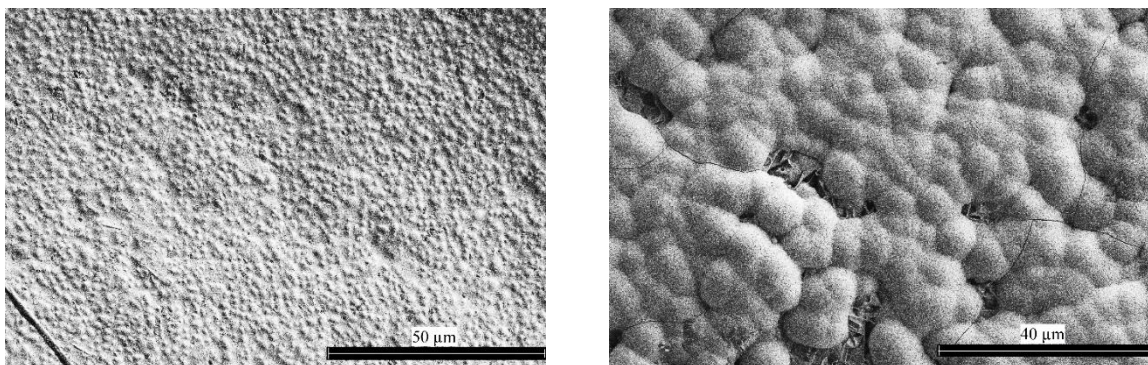
Az α -TCP fázist tartalmazó minta felületén tapasztaltam a legvastagabb apatit réteget (51. ábra), ami erősen repedezett, feltehetőleg az apatitkristályok gyorsabb növekedése okozta feszültség miatt. Egy implantátum gyors oldódása azonban nem kedvező, mivel az újonnan képződő csontszövet nem tud direkt mechanikai kapcsolatot kialakítani a felületen, ami a beültetett anyag kilazulásához vezet, ami később kötőszöveti gyulladást okozhat. A bevonat és a csontszövet közti nagy rugalmassági modulus eltérés (rugalmassági modulusok: H: ~ 100 GPa, csont: 8-17 GPa, üvegkerámiák: 40-55 GPa) ugyancsak feszültségeket, ezáltal repedés képződést okozhat (Mallick *et al.*, 2014).



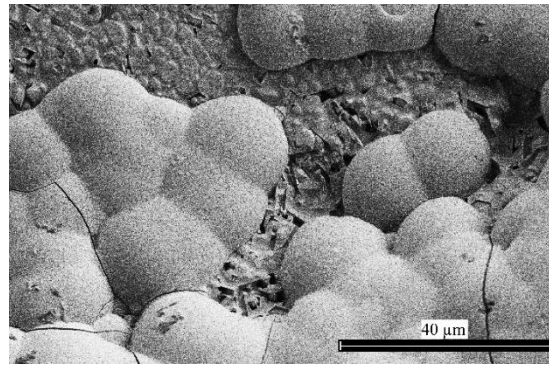
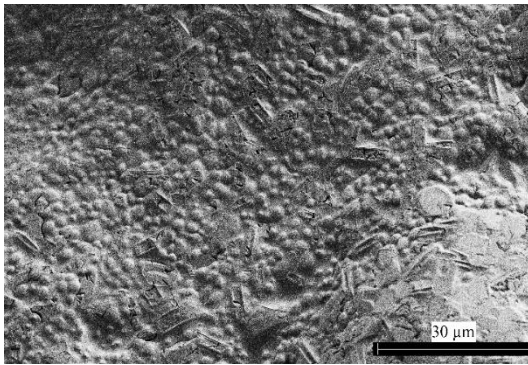
47. ábra: Az 1000 °C-on 2 óra hőntartással hőkezelt szarvasmarha csont felülete a 28 napos SBF kezelés előtt (balra) és után (jobbra)



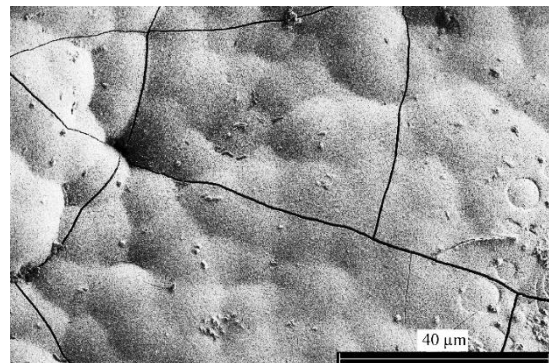
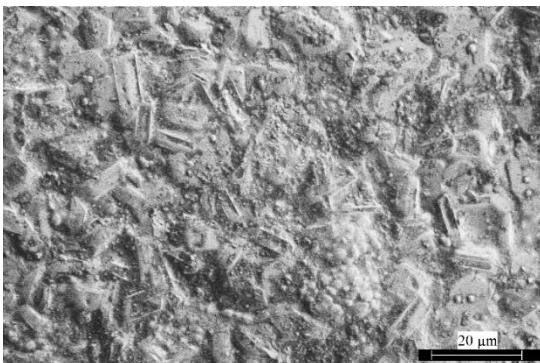
48. ábra: A bioüveg frittel bevont biosablon felülete az SBF kezelés előtt és 28 nap után



49. ábra: A 70F30H jelű bevonat felülete a testfolyadékban való a 28 napos kezelés előtt és után

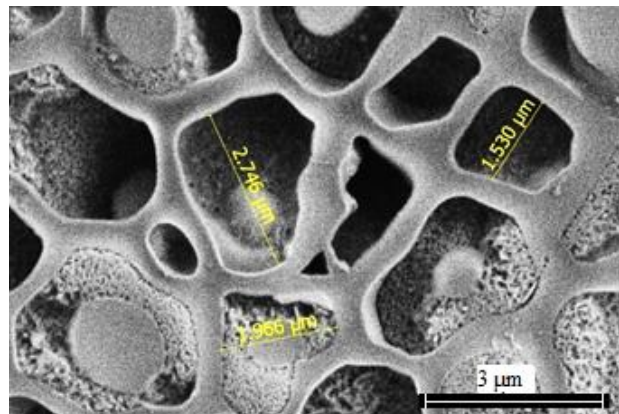


50. ábra: A 70F30BW jelű minta az SBF kezelés előtt és 28 nap után



51. ábra: Az α -whitlockitot tartalmazó bevonat a kezelés előtt és 28 napos kezelés után

Az adalékok kioldódása és az apatit képződése jól látható az 52. ábrán. A SEM felvételt a 70F30AW jelű mintáról készítettem 7 nap kezelési idő után. Látható, hogy az üveg mátrixból kioldódó adalék helyén megindul az apatit képződése.



52. ábra: A 1000 °C-on 2 óra hőntartással égetett 70F30AW jelű minta felületén képződő apatit kristályok

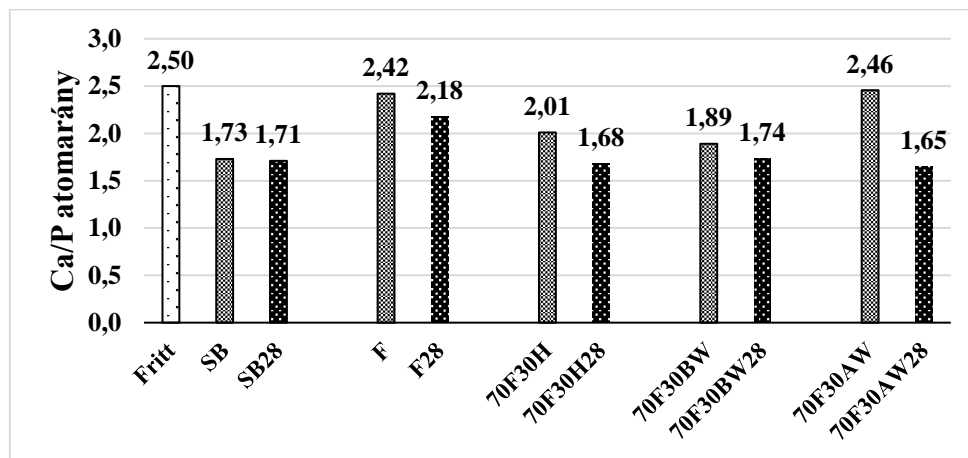
A morfológia vizsgálatok során a felület kalcium és foszfor atomarányát elektronsugaras röntgenanalízissel határoztam meg az SBF kezelés előtt és 28 napos kezelés után. A kiindulási bioüveg fritt Ca/P atomaránya 2,50, a csont felületén kialakított bioüveg bevonat esetén pedig 2,42. A fritt előállításához használt nyerskeverék (21. táblázat) elméleti Ca/P atomaránya 2,29.

A foszfor mennyiségének változásának lehetséges oka az égetés során bekövetkező esetleges párolgás, valamint az bevonatban bekövetkező β -whitlockit kristályosodása.

21. táblázat: A bioüveg fritt elméleti és a felhasználás során mért elemi összetétele

| Kémiai összetétel (m/m%) | | | | | | | | |
|--------------------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|
| | Na | Mg | Al | Si | P | K | Ca | Ca/P |
| Elméleti | 4,10 ± 0,1 | 2,78 ± 0,1 | 0 | 38,81 ± 0,1 | 13,37 ± 0,1 | 1,38 ± 0,1 | 39,55 ± 0,1 | 2,29 |
| Fritt | 8,40 ± 0,2 | 2,69 ± 0,1 | 2,25 ± 0,1 | 34,51 ± 0,1 | 11,18 ± 0,1 | 1,37 ± 0,1 | 42,65 ± 0,1 | 2,50 |
| Bevonat | 10,97 ± 0,2 | 2,58 ± 0,1 | 2,28 ± 0,1 | 29,33 ± 0,1 | 12,96 ± 0,1 | 1,28 ± 0,1 | 40,60 ± 0,1 | 2,42 |

A hőkezelt csont biosablon Ca/P aránya nem változott nagymértékben a szimulált testfolyadék hatására. A bioaktív kerámiákat (H, BW, AW) tartalmazó bevonat esetén viszont a kalcium-foszfor atomarány 1,7 körüli értéket mutat a testfolyadékos kezelést követően, ami közelíti a hidroxipatit elméleti (Ca/P=1,67) arányát. A bevonatok bioaktív tulajdonsága, a felületen a szimulatív testfolyadék hatására a H képződése, tehát ezzel a módszerrel is igazolható. A biosablonok felületén, a 28 napos SBF kezelés előtt (pl. SB) és után (pl. SB28) mért Ca/P atomarányokat az 53. ábra foglalja össze.



53. ábra: A biosablonok felületén mért Ca/P atomarányok

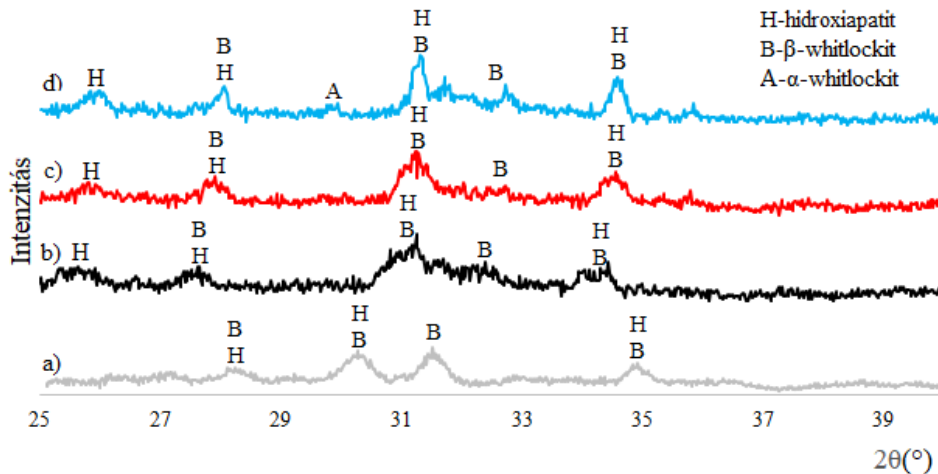
A különböző típusú bevonattal ellátott biosablonok fajlagos felületének BET módszerrel mért változását a 28 napos SBF kezelést követően a 22. táblázat foglalja össze. A legnagyobb mértékben a BW és H adalékot tartalmazó bevonat felülete nőtt – keletkező hidroxipatit kristályok méretétől és a felületi borítottságtól függően - testfolyadékban történő kezelés előtti állapothoz képest, míg a legkisebb változás az adalékmentes bioüveg fritt bevonat esetén figyelhető meg. Mindez igazolja, hogy az alkalmazott adalékokkal növelhető a frittchez és a hőkezelt csonthoz képest a bevonat bioaktivitása. A bevonat nélküli hőkezelt biosablon fajlagos felületét nem mértem, mivel a mikroszkópos felvételek alapján nem történt változás az SBF

kezelés alatt. A bevonattal ellátott mintáknál a fajlagos felület változásának mértéke összhangban van a pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok során kapott eredményekkel, vagyis az újonnan képződött apatit kristályok növelték a próbatestek fajlagos felületét.

22. táblázat: A biosablonok SBF kezelés hatására bekövetkező fajlagos felület változása

| Fajlagos felület [m ² /g] | | | |
|--------------------------------------|-------------------|---------------------------|--------------|
| Minta | SBF kezelés előtt | 28 napos SBF kezelés után | Változás [%] |
| F | 2,35 | 3,16 | 134,6 |
| 70F30H | 2,13 | 5,26 | 246,5 |
| 70F30BW | 1,90 | 5,37 | 283,8 |
| 70F30AW | 2,19 | 4,31 | 197,1 |

Az adalékok hatására kialakult hidroxiapatit jelenlétét röntgendiffrakciós vizsgálattal is igazoltam az ISO 23317 szabvány követelményeinek megfelelően. A felvételeken (54. ábra) jól láthatók a hidroxiapatitra jellemző reflexiók, azonban rosszul kristályosodott formában van jelen, mivel a csúcsok félértékszélessége meglehetősen nagy. A mintákról síkröntgen felvétel készült, azonban a tárgyasztal nem forgatható és matematikai finomítást sem alkalmaztam, ezért a csúcsok kiszélesedésének és pozíció eltolódásának oka - a korábbi tapasztalatoknak megfelelően - lehet a felületi érdesség és a kristályorientáció is.

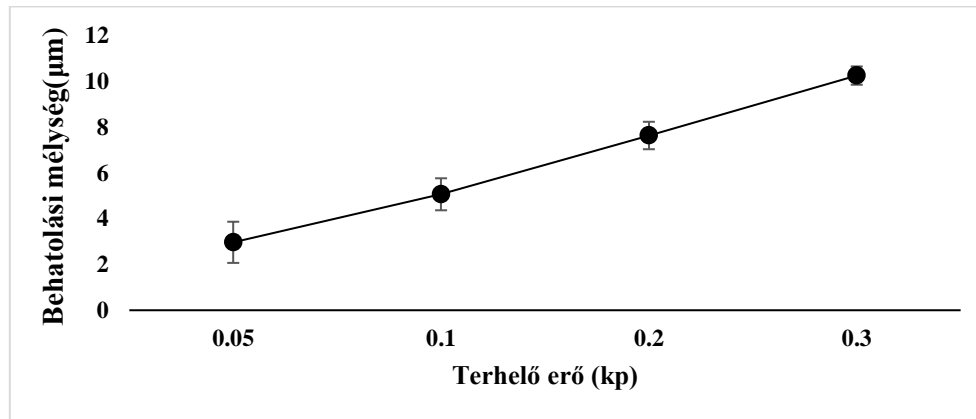


54. ábra: A bevonatokról készült röntgendiffrakciós felvétel (a- 70F30H SBF kezelés előtt, b – 70F30H SBF kezelés után, c – 70F30BW SBF kezelés után, d – 70F30AW SBF kezelés után)

4.1.6. A bevonatok mikrokeménység vizsgálata

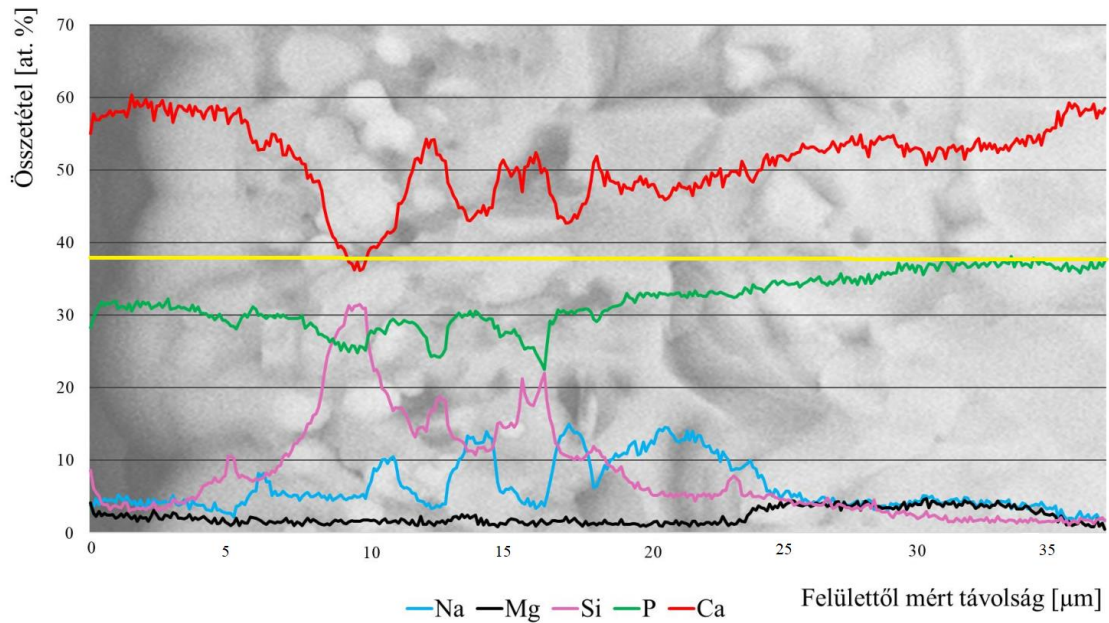
Az implantátumok felületi keménysége határozza meg a szervezetben bekövetkező esetleges koptató igénybevételekkel szembeni ellenállást. Az impregnálási eljárással bevont, hőkezelt

biosablonok felületének mikrokeménységét Wolpert 402M/VD típusú keménységmérő készüléssel mértem. A bevonatok keménységét a hőkezelés után, valamint 6 órás, 7, 14 és 28 napos szimulált testfolyadékban történő kezelést követően határoztam meg. A felületi keménység meghatározásához először mértem a mérés során használt gyémánt gúla behatolási mélységét az adalékmentes üveg (F) bevonaton a terhelő erő függvényében (55. ábra).



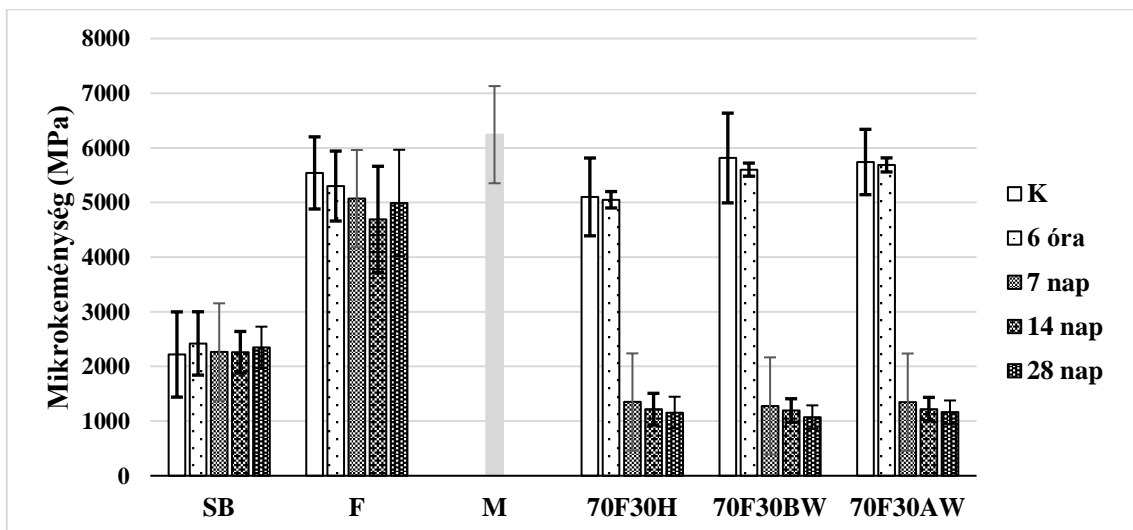
55. ábra: Behatolási mélység a terhelési erő függvényében

A testfolyadékban kialakult apatit réteg befolyásolja a felületi keménységet, ezért a terhelőerőt úgy választottam meg, hogy a gúla képes legyen áthatolni a felületi apatit rétegen. A felületen képződött apatit réteg vastagságát az 56. ábra szemlélteti. A sárga színnel jelölt vonal mentén végzett energiadiszipatív röntgenanalízis vizsgálat során az atomszázalékos összetételeket 0,1 μm-es távolságonként mértem a 28 napig SBF-ban kezelt 70F30H jelű minta keresztmetszeti csiszolatán. Az összetételi diagram háttérben látható visszaszórt elektronos képen balról jobbra haladva látható a felületen kialakult apatit réteg, utána következik a nagyobb szilícium és nátrium tartalmú bioüveg bevonat, végül a tömör csontállomány. A felületen kialakult apatit réteg 4-5 μm, míg a bevonat 10-15 μm vastag. A mikrokeménység meghatározásához 0,05 és 0,2 kp terhelőerőt választottam és 10 párhuzamos mérés átlagolt eredményeit foglaltam össze.



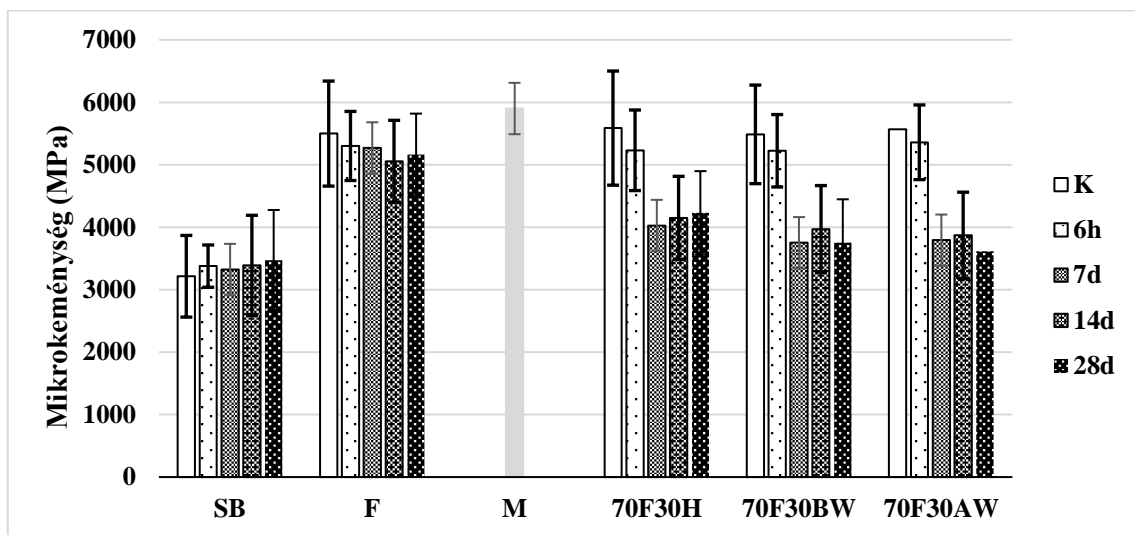
56. ábra: A 70F30HA jelű minta atomszázalékos elemeloszlása a mérési pontok függvényében

A 0,05 kp terhelőerővel mért eredményeket az 57. ábra foglalja össze. A hőkezelt csont keménysége nem változott a bioaktivitás vizsgálata során, a fritt (F) esetén az első 14 napig csökkenés, majd kismértékű növekedés látható, a kiindulási (K) keménység értékhez képest. A bevonatok keménysége azonban a mátrixüveghez (M) képest kis mértékben csökkent. A bioaktív adalékoknál jelentős csökkenés figyelhető meg, a kezelési idő első 7 napja után, ami arra enged következtetni, hogy a felületen már 7 nap után megindult az apatit képződése az adalékok hatására.



57. ábra: A bevonatok mikrokeménysége 0,05 kp terhelőerő mellett

Az 58. ábra a 0,2 kp terhelőerő mellett mért eredményeket foglalja össze az SBF kezelés idejének függvényében. A hőkezelt csont és az adalékmentes üveggel bevont csont keménysége ebben az esetben sem változott jelentősen a kezelés hatására, azonban az adalékoknál ~20%-os csökkenés figyelhető meg 7 napos kezelést követően. A rétegből kioldódott Ca és P ionok hatására változik a szerkezet, ezáltal a keménység, de még mindig nagyobb a keménysége, mint a felületen kialakult H rétegé. A nagyobb terhelőerőnél mért értékek arra engednek következtetni, hogy a felületen kialakult apatit a mélyebb, részben átalakult bevonati rétegekben is befolyásolja a keménység értékeit ezáltal nagyobb vastagságban csökkenhet a felületi keménység. Az adalékoknál mutatkozó kiugró szórás értékek is az adalék szemcséi okozta keménységbeli inhomogenitásra vezethető vissza.



58. ábra: A bevonatok mikrokeménysége 0,2 kp terhelőerő alkalmazásakor

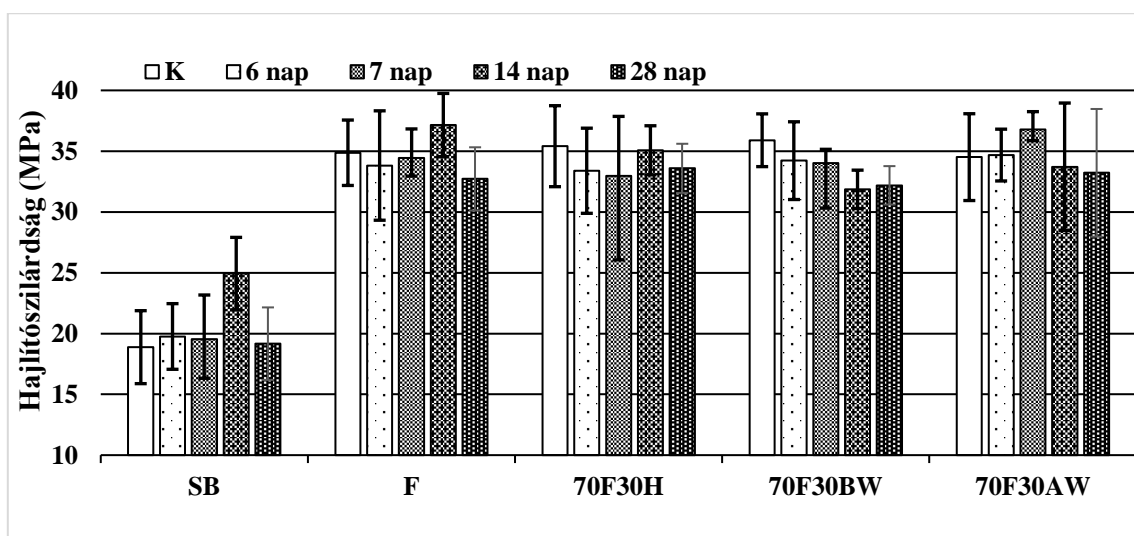
A bioüveg frittel bevont mintánál nem látható jelentős keménység csökkenést ami arra utal, hogy ebben az esetben nem indult meg olyan intenzív apatit képződés, mint az bioaktív kalcium-foszfát adalékot tartalmazó bevonatok esetén. A mikrokeménységmérési eredmények azt mutatják, hogy az adalékok csökkentik a bevonatok keménységét, azonban bioaktivitásuk ezáltal jelentősen növelhető.

4.1.7. Hajlító- és nyomószilárdság vizsgálat

A bioüveg alapú bevonatok kialakításának célja a biokompatibilitás és a megfelelő bioaktivitás mellett a mechanikai tulajdonságok javítása a csont sablonénál kisebb hőtágulási együtthatóval rendelkező, ezáltal nyomófeszültséges üveges bevonat kialakítása révén. A méréseket ~5×10×20 mm méretű tömör csontokból készített, továbbá az adott bevonatokkal ellátott, 1000 °C-on 2 órás hőntartással égetett, valamint a szimulált testfolyadékban kezelt mintákon

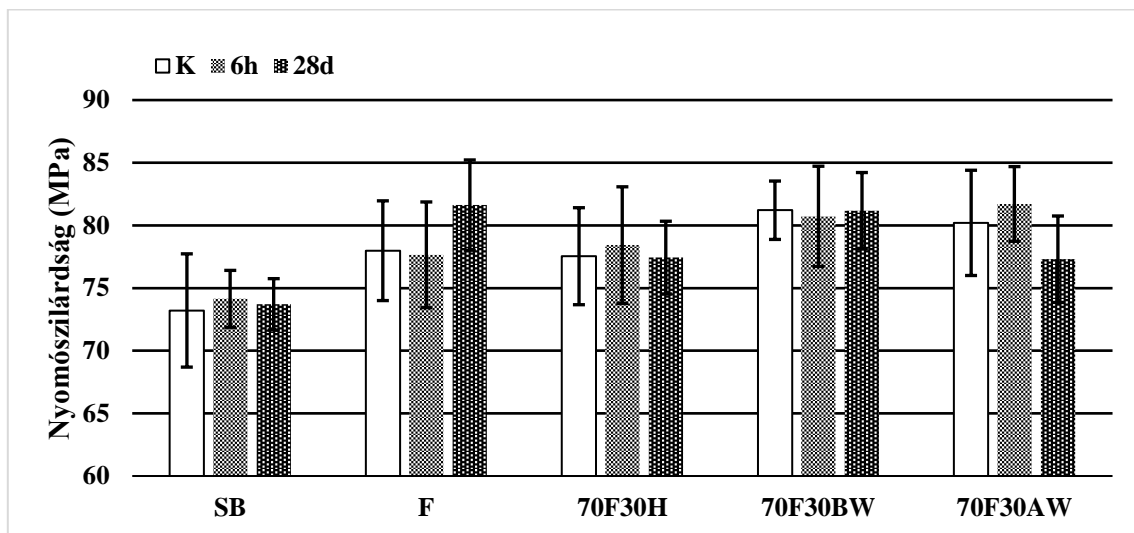
végeztem Instron 5967 típusú kétoszlopos szilárdságmérő berendezéssel 1 mm/perc keretfej mozgási sebesség mellett. Az 59. ábra a kapott hajlítószilárdság értékeket foglalja össze a szimulált testfolyadékban történő kezelési idő függvényében, három-három párhuzamos mérés átlagértékeinek felhasználásával. A hőkezelt csont hajlítószilárdsága ~20 MPa, ami nem változott jelentősen a testfolyadék hatására. A szakirodalmi adatok alapján a tömör csont hajlítószilárdsága 50-150 MPa, a szivacsos szerkezetűé 10-20 MPa, a tömör csont nyomószilárdság értéke 100-230 MPa, míg a szivacsos csontállományé 2-12 MPa (Carter et al., 2007; Novitskaya et al., 2011). Az általam vizsgált mintáknak a szakirodalomban közöltekénél kisebb hajlítószilárdság értéke feltehetően a minta kis méretéből, előkészítéséből adódhat. Az előzőekben (4.1. Állati eredetű biosablonok) ismertetett fehérje- és zsírmentesítő eljárás során, illetve a hőkezelés hatására a natív csontokban erősítő fázisként jelenlévő kollagén fehérjék teljes mértékben eltávoztak a csontszövetből, ezért a hőkezelt tömör csontsablon mechanikai szempontból rideg anyag.

A bevonat azonban nem csak a bioaktivitásra van pozitív hatással, hanem a mechanikai tulajdonságokra is. Az adott bioüvegfritt felhasználásával készített bevonatok alkalmazásával akár duplájára növelhető a csontsablon hajlítószilárdsága, amely csak kis mértékben csökken a testfolyadék hatására. Az adalékok alkalmazásával a hajlítószilárdság értéke lényegesen nem változott és hosszabb (28 napos) szimulatív testfolyadékos kezelés után hasonló hajlítószilárdság értékek adódtak. A mért adatokban jelentkező kisebb eltérések a keverékekben lévő kristályos fázisok lokális inhomogenitására vezethető vissza, amely összhangban van a mikrokeménység mérése során kapott eredményekkel.



59. ábra: Az impregnálással bevont biosablonok hajlítószilárdsága

A nyomószilárdság meghatározásához ~10 mm × 10 mm × 5 mm méretű próbatesteket használtam, ahol a hasáb 10 mm × 10 mm méretű felületén történt a terhelés. A három párhuzamos méréssel kapott eredményeket az 60. ábra foglalja össze. A hőkezelt tömör csont nyomószilárdság értékeit ebben az esetben ~10-15%-kal sikerült növelni bioüveg alapú bevonat alkalmazásával. A legnagyobb nyomószilárdság értékeket az α -whitlockit tartalmú bevonat esetében mértem (81,71 MPa), ami már jól közelíti a szakirodalomban megadott, fehérjéket is tartalmazó tömör csont nyomószilárdságát (100-230 MPa) (Novitskaya, 2011). Az eredmények azonban azt is mutatják, hogy a próbatestek mechanikai tulajdonságait nagyban befolyásolja a biosablon szerkezete, preparálásának helye. A mérések kivitelezése során az oszteonok növekedési irányára merőleges mértem a szilárdságot mindegyik esetben, azonban a csontszövet nem teljesen homogén a teljes hossz tengely mentén. Az eredményekből azonban jól látható, hogy bioüveg bevonat alkalmazásával jelentősen növelhető az adott biosablonok bioaktivitása és mechanikai szilárdsága. Az adalékmentes fritt bevonat alkalmazásával ugyan jó mechanikai szilárdságot értem el, azonban a bioaktivitás teszt során kisebb aktivitást mutatott, mint az adalékot tartalmazó bevonatok. Az α -TCP fázist tartalmazó adalék jó bioaktivitást mutat, azonban a nagy oldhatósága miatt gyorsan kioldódik a bevonat anyagából, így 28 napos szimulatív testfolyadékban történő kezelés után jelentősebb a nyomószilárdság csökkenés. Hasonlóan a mikrokeménység vizsgálatánál is ez a minta rendelkezett 28 napos testfolyadékos kezelés után a legkisebb értékkel.



60. ábra: Az impregnálással bevont biosablonok nyomószilárdsága

4.1.8. Mitokondriális szukcinát-dehidrogenáz alapú (MTT) viabilitás teszt

Az MTT kolorimetriás viabilitás teszt alapja azon biokémiai reakción alapul, hogy a sárga színű MTT reagenst (3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-defenil-tetrazolium bromid) az élő sejtekben

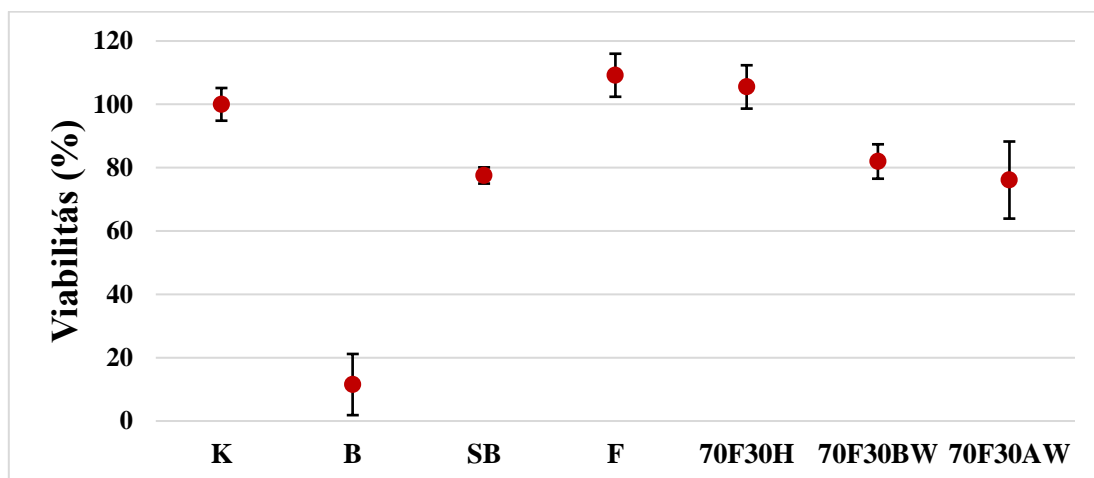
működő mitokondriális szukcinát dehidrogenáz enzim a tetrazólium gyűrű felnyitásával lila színű formazán vegyületté redukálja. Az élő sejtekben keletkező lila kristályok DMSO-dal (dimetil-szulfoxid) vagy egyéb detergenssel történő oldását követően az oldatok 620 nm-es referencia hullámhossz mellett 540 nm-en mért optikai sűrűségének mérésével meghatározható az élő sejtek száma (10^3 - 10^6 sejt/kamra tartományban) (Babos, 2020).

A bioüveggel bevont próbatestek citotoxikus hatásának meghatározásához 96 kamrájú tenyésztőlemezt használtam, kamránként ~10 000 sejtrel. A mérésekhez humán HT29 adenokarcinoma sejt vonalat használtam. A sejteket 37 °C-on, CO₂ bevezetése mellett inkubáltam 24 órán keresztül annak érdekében, hogy a sejteknek lehetőségük legyen a kitapadásra és az adaptálódásra. Ezt követően a kontrollt (próbatest nélküli tápoldatot) és a próbatesteket tartalmazó tápoldatot a sejtekkel együtt további 48 órán keresztül inkubáltam. Próbatestenként 8 párhuzamos mérést végeztem. Az expozíciót követően eltávolítottam a sejtekről a tápoldatot és a biosablonokat a tenyésztőlemezből, majd a megmaradt térfogat 10%-ának megfelelő mennyiségű MTT reagenst tartalmazó PBS oldatot (foszfát puffer) adtam a sejtekhez. A 2 órás inkubációt követően feltártam a sejteket annak érdekében, hogy felszabaduljanak a reakció során képződött formazán kristályok, 20 perces 350 rpm-en történő rázatás mellett. Az így kapott oldatok optikai sűrűségét ELISA readerrel (Thermo Scientific Multiscan Sky) vizsgáltam. A mérési eredményekből kivontam a sejtmentes tápfolyadékra meghatározott referencia értékeket. A vizsgálatot a következő részfolyamatok alapján végeztem el, steril fülkében.

A biosablonokat háromszori etanolos mosással tisztítottam ultrahangos kádban és steril fülke alatt, majd UV-fényben szárítottam közvetlenül a felhasználás előtt. A tenyésztőlemez előkészítéséhez, Bürker-kamrában számoltam a sejteket, majd megfelelő sejt koncentrációjú szuszpenziót készítettem (10 000 sejt/cella) és bemértem a tenyésztőlemez egyes celláiba. 48 órán keresztül, 37 °C-on, CO₂ atmoszférában inkubáltam a sejteket. Az egyes cellák sejt borítottságáról fénymikroszkópos vizsgálattal győződtem meg. 24 óra elteltével 100 µl friss tápoldatot adagoltam minden egyes cellába. A cellákban cseréltem a tápoldatot (200 µl össztérfogat) és hozzáadtam a sejtes médiumhoz a bevont biosablonokat. Majd ismétlem inkubáltam a sejteket 48 órán keresztül 37 °C-on, CO₂ atmoszférában, s 24 óra elteltével 100 µl friss tápoldatot adagoltam a cellákba. 48 óra inkubálást követően cseréltem a médiumot (200 µl friss tápoldatot adtam a sejtekhez), hozzáadtam az MTT reagenst (20 µl, 5 mg/ml koncentrációban a PBS oldatban (25 mg/ml, pH=7,4). Ezt követően 2-4 órán keresztül sötétben inkubáltam, majd eltávolítottam a médiumot és feltártam a sejteket (lebontó oldat: 99,4 ml

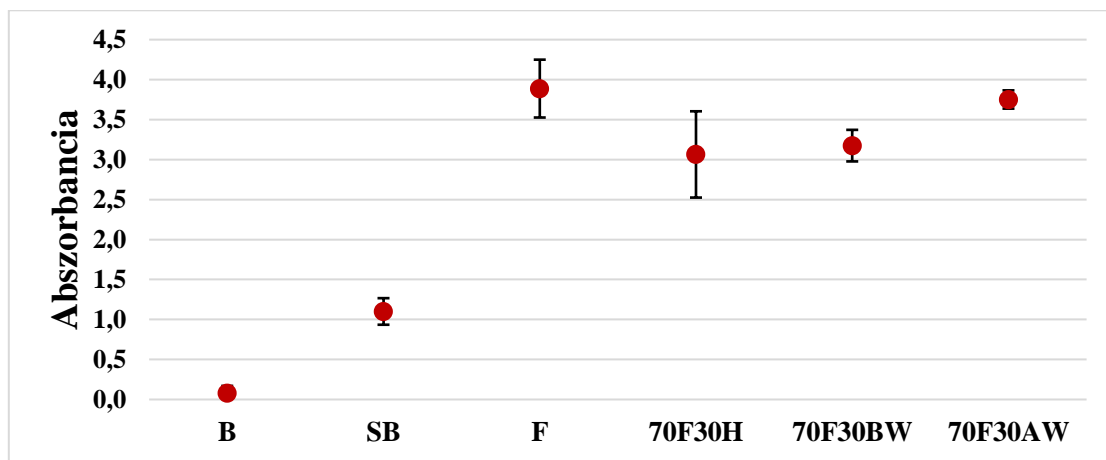
DMSO, 0,6 ml tömény ecetsav és 10 g SDS (nátrium-dodecil-szulfát). A próbatestek eltávolítását követően a fotometriás méréshez 200 µl-ről 500 µl-re hígítottam az oldatokat és 590 nm hullámhosszon mértem az abszorbancia értékeket.

A citotoxicitás meghatározásához a kiindulási 850 °C-on 1 órás hőntartással oxigén atmoszférában hőkezelt szarvasmarha csontot (B), az 1050 °C-on 2 óra hőntartással hőkezelt biosablont (SB), a bioüveggel (F) és a különböző adalékokat tartalmazó bioüvegfrittet bevont csontokat (70F30H, 70F30BW és 70F30AW) használtam fel és mindegyikből 8 párhuzamos mérést végeztem. A kapott viabilitás értékeket az 61. ábra foglalja össze. A próbatestet nem tartalmazó kontrollnál (K) mért abszorbancia értékhez viszonyítva számoltam azokat az abszorbancia értékeket, amelyeket a biosablonokat tartalmazó sejtszuszpenzió abszorbancia mérése során kaptam. Az előkezelt szarvasmarha csont viabilitás értéke azt mutatja, hogy a sejtek nagy része elpusztult az inkubáció során, ami azt jelenti, hogy önmagában nem használható fel az előzőekben (4.1 Állati eredetű biosablonok) leírt módon előkezelt szarvasmarha csont. Valószínűleg olyan reagenst tartalmazott még a csont (pl. foszforsavat), amely önmagában citotoxikus tulajdonságokat mutat. Ezeket a reagenseket hőkezeléssel már sikerült eltávolítani, mivel a hőkezelt csont (SB) viabilitás értéke közel 80%-os. A bioüveg fritt (F) és a H tartalmú bevonat esetén 109,19% és 105,50% viabilitás érték figyelhető meg, ami arra enged következtetni, hogy ezen bevonatok jelentősen csökkentették a citotoxicitást. A főként β -whitlockitot (BW) és α -whitlockitot (AW) tartalmazó adalékoknál a viabilitás értéke 81,59% és 76,09% ami utalhat arra, hogy a $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ különböző polimorf módosulatai a csontsablonéhoz hasonló viabilitással rendelkeznek, gátolják a sejtek szaporodó képességét, vagy a tápoldat hatására lokálisan kioldódott kalcium és foszfor mennyisége volt hatással a sejtek metabolikus folyamataira.



61. ábra: A humán HT29 sejtvonalon végzett teszt során kapott viabilitás értékek

A sejtek feltárását követően azt tapasztaltam, hogy a biosablonok felületén maradtak az MTT reakció során képződött lila formazán kristályok. Ez azt jelenti, hogy a sejtek eltérő affinitással, de kitapadnak a csontsablon, illetve a bevonatokkal ellátott sablonok felületére. Az egységnyi felületre feltapadt sejtek mennyiségét az 62. ábra mutatja be. A méréshez ultrahangos kádban felszabadítottam a felületet a formazán kristályoktól és mértem a visszamaradt szuszpenziók optikai sűrűségét. Az eredményekből látható, hogy a bioüveg fritt hatására nőtt a felületen kitapadt formazán kristályok relatív mennyisége. Az előkezelt és a hőkezelt csontsablonoknál nem tapasztaltam kiugró értékeket, ugyanakkor a bioüveg fritt tartalmú bevonatok alkalmazása ebben az esetben előnyös tulajdonságokkal jár.



62. ábra: A sablonok felületére feltapadt sejtek relatív mennyiségére utaló abszorbancia értékek

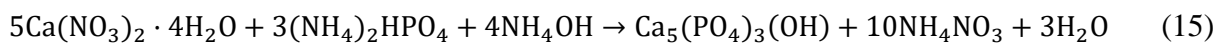
A vákuum kamrában történő impregnálás hatására kialakult bevonat számos előnyös tulajdonsággal ruhazza fel az állati eredetű biosablonokat. Az 5 μm alatti átlagos szemcsemérettel rendelkező szuszpenziókkal sikerült $\sim 10\text{-}15$ μm vastag bevonatot kialakítani a csontok felületén. Az adalékok alkalmazásával szabályozható a bevonatok, így az implantátum oldhatósága, amelyet a szimulált testfolyadékban történő kezelés is igazol. Főként a hidroxipatitot tartalmazó adalék esetén figyelhető meg a bevonat stabil oldódása.

Az adott üveg alapú bevonat a hőtágulási együtthatók vizsgálata alapján nyomófeszültséges réteget képez a sablonok felületén, amelynek hatására akár 30%-kal növelhető a sablonok hajlítószilárdsága és 10%-kal a nyomószilárdsága. Az adalékok hatására ugyan csökken a szilárdság, de figyelembe véve a bioaktív és citotoxikológiai tulajdonságokat a bioüveg frittbe kevert eltérő oldhatóságú kalcium-foszfátok alkalmazása kifejezetten előnyös bevonatként szolgál.

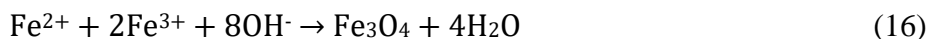
4.2. Mágneses hidroxapatit nanokompozitok (MH) előállítása

A mágneses hidroxapatit kerámiák előállításához két különböző eljárást alkalmaztam. A vizsgálat célja az előállítási paramétereiktől függő mágneses tulajdonságok és a színinger jellemzők közötti összefüggés, valamint a bioaktív tulajdonságok előállítási módszertől való függésének vizsgálata. Az első esetben Ansar és munkatársai által leírt - a későbbiekben egylépcsős eljárásnak nevezett - csapadékképzési módszerrel állítottam elő a hidroxapatit-vas-oxid nanokompozitokat (Ansar *et al.*, 2012). A kísérletek során az alábbi analitikai tisztaságú vegyszereket használtam fel: $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, 99%), FeCl_3 (Reanal, 99%), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -ot (Reanal, 99%), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -ot (Reanal, 99%).

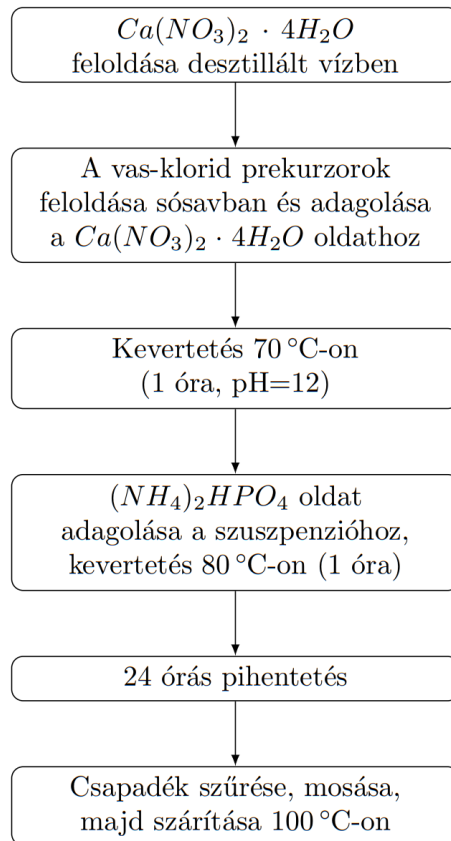
A H képződéséhez szükséges kiindulási anyagok mennyiségét az alábbi reakcióegyenlet alapján számoltam (Bakó *et al.*, 1992):



A mágneses tulajdonság biztosításához szükséges magnetit (Fe_3O_4) képzéséhez a $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ és FeCl_3 prekursorokat 1:2 mólarányban 36 V/V%-os sósavban előzetesen feloldottam gyors kevertetés mellett. A savas közegben lejátszódó magnetit képződés az alábbi reakcióegyenlettel írható fel:



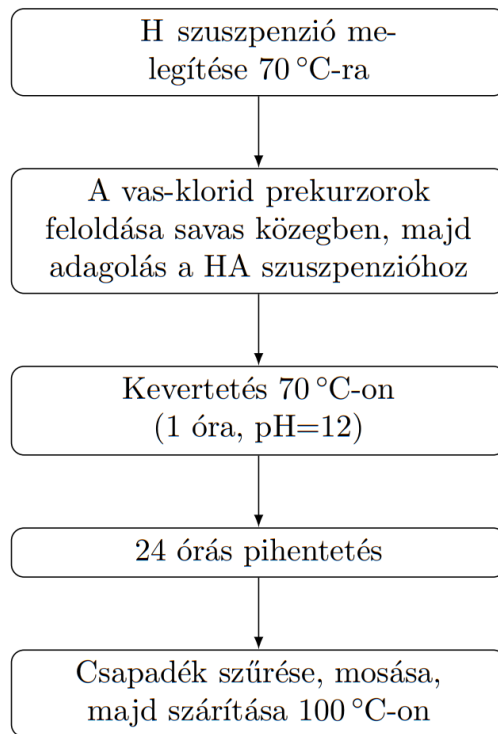
A hidroxapatit képzéséhez a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -ot desztillált vízben feloldottam, majd mágneses keverővel történő kevertetés közben az oldat hőmérsékletét 70°C-ra növeltem. A folyamatos kevertetés közben hozzá adtam a vas prekurozorokat tartalmazó oldatot, s a magnetit kialakulásához szükséges pH=11-12 érték beállítása NH_4OH oldat hozzáadásával történt. A pH növekedésével megindult a magnetit csapadék képződése, amit az oldat sötét színűvé változása jelzett. Ezt követően az oldatot 70 °C-on kevertettem 1 órán át, majd hozzáadtam az apatit képzéséhez szükséges mennyiségű, desztillált vízben feloldott $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -ot. Az oldatban megjelenő fehér színű csapadék jelezte a hidroxapatit kialakulását. A feleslegben lévő ammónia eltávolítása érdekében az oldatot 80 °C-on kevertettem 1 órán keresztül, majd 24 órán át pihentettem. A csapadékot végül leszűrtem, majd többszöri desztillált vizes mosást követően szárítószekrényben 100°C-on szárítottam. Ennek az általunk egylépcsősnek nevezett hidroxapatit mágneses nanokompozit előállítás folyamatábráját a 63. ábra szemlélteti.



63. ábra: Az egylépcsős előállítási módszer fázisai

A képződött hidroxiapatit mennyiségére vonatkoztatva 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 és 40 m/m% vas-oxid tartalmú kompozitokat állítottam elő.

A második esetben a hidroxiapatitot nem $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ és $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ felhasználásával állítottam elő, hanem Gopi és társai (Gopi *et al.*, 2012) által leírt lecsapásos módszerrel előzetesen előállított hidroxiapatit gélhez adtam hozzá a vas-klorid prekursorokat gyors kevertetés mellett. A vas(II)- és vas(III)-klorid sókat az előzőkhöz hasonlóan előzetesen 36 V/V%-os sósav oldatban feloldottam, majd kevertetés közben hozzáadtam a 70 °C-ra hevített H szuszpenzióhoz. Ezt követően a magnetit képződéséhez NH_4OH oldat adagolásával beállítottam a pH=11-12 értéket, majd a szuszpenziót 1 órán keresztül 70 °C-on kevertettem. A feleslegben lévő ammónia eltávolításához a kevertetést 80 °C-on 1 órán keresztül folytattam, majd a szuszpenziót 24 órán át állni hagytam. A reakciót követően leszűrtem a csapadékot és desztillált vízzel mostam, majd tömegállandóságig szárítottam. Az előállítási módszer egyes lépéseit a 64. ábra mutatja be.



64. ábra: A kétlépcsős mágneses hidroxipatit előállítás folyamatábrája

A nanokompozitok jelölésrendszerét a 23. táblázat tartalmazza.

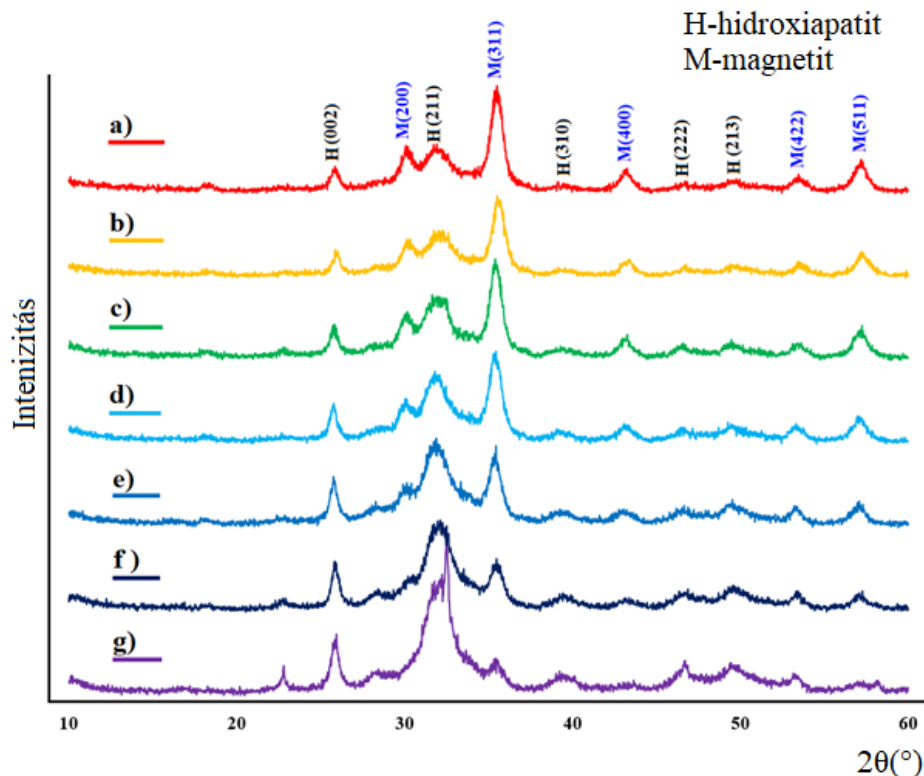
23. táblázat: A különböző módszerekkel előállított magnetit-hidroxipatit kompozitok jelölése

| Minta | Magnetit (m/m%) | Hidroxipatit (m/m%) | Előállítási módszer |
|-------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| 1L5 | 5 | 95 | Egylépcsős |
| 1L10 | 10 | 90 | |
| 1L15 | 15 | 85 | |
| 1L20 | 20 | 80 | |
| 1L25 | 25 | 75 | |
| 1L30 | 30 | 70 | |
| 1L35 | 35 | 65 | |
| 1L40 | 40 | 60 | |
| 2L5 | 5 | 95 | Kétlépcsős |
| 2L10 | 10 | 90 | |
| 2L15 | 15 | 85 | |
| 2L20 | 20 | 80 | |
| 2L25 | 25 | 75 | |
| 2L30 | 30 | 70 | |
| 2L35 | 35 | 65 | |
| 2L40 | 40 | 60 | |

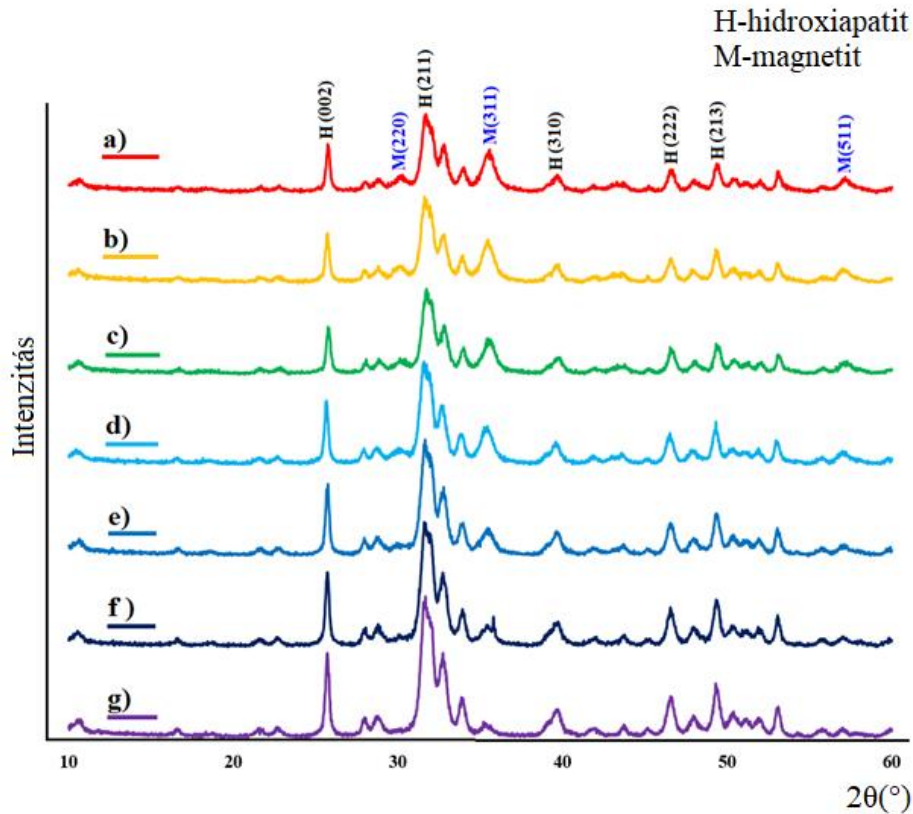
4.2.1. Magnetit-hidroxiapatit kompozitok tulajdonságai

4.2.1.1. Az MH nanokompozitok fázisösszetétele

A különböző eljárással készített nanokompozitok fázisösszetételét röntgendiffrakciós vizsgálattal határoztam meg. Az egylépcsűben előállított kompozitok fázisösszetételét a 65. ábra, a kétlépcsűben előállítottakat pedig a 66. ábra szemlélteti. Az előállítási módszerektől függetlenül, mindegyik minta kizárólag hidroxiapatitot és magnetitet tartalmaz. A hidroxiapatit és a magnetit egyidejű lecsapatása esetén (65. ábra) a magnetit csúcsok a H csúcsokénál nagyobb intenzitással jelentkeznek, s csak 25 m/m% -nál kisebb magnetit tartalomnál (e, f, g) kapunk a magnetit csúcsoknál nagyobb intenzitású H csúcsokat. Az előzetesen lecsapós eljárással előállított H gél felhasználásával készített minták esetén (66. ábra) a H csúcsainak intenzitása minden összetételnél nagyobb a magnetit csúcsok intenzitásánál, s a H:magnetit csúcsok intenzitás aránya az összetételnek megfelelően változik. Mindez arra utal, hogy a H az együtt lecsapós egylépcsűs módszernél a nagyobb vastartalomnál kevésbé kristályosodik, főként amorf formában van jelen, ami magnetit részecskék hidroxiapatittal való borítottságát is befolyásolhatja.



65. ábra: Egylépcsűs módszerrel előállított kompozitok fázisösszetétele (a – 1L40, b – 1L35, c – 1L30, d – 1L25, e – 1L15, f – 1L10, g – 1L5)



66. ábra: Két lépésben előállított kompozitok fázisösszetétele (a – 2L40, b – 2L35, c – 2L30, d – 2L25, e – 2L15, f – 2L10, g – 2L5)

A kristályos és amorf fázisok mennyiségét Rietveld analízissel határoztam meg (24. táblázat). A mennyiségi fázisösszetétel vizsgálat azt mutatta, hogy az egy lépésben előállított mágneses hidroxiapatit kompozitok (MH) magnetit tartalma közel azonos az elméleti vas-oxid tartalommal, a H részlegesen kristályosodott (87-90%), ahogy az amorf fázis mennyisége is mutatja. A két lépésben előállított mintáknál ugyanakkor, a kristályos formában jelenlevő hidroxiapatit fázis mennyisége jól tükrözi az elméleti H mennyiségét és az amorf fázis a rosszul kristályosodott magnetit jelenlétéből adódik. Mindez arra utal, hogy az előállítási módszertől függően szabályozható a kompozitot alkotó fázisok kristályosodásának mértéke, ezáltal az oldhatóság.

23. táblázat: Az eltérő módszerrel előállított kompozitok fázisösszetétele

| Összetétel (m/m%) | | | |
|-------------------|-------|----------|-------|
| Minta | H | Magnetit | Amorf |
| 1L5 | 82,8 | 8,3 | 8,9 |
| 2L5 | 94,6 | 0,2 | 5,2 |
| 1L15 | 70,74 | 21,41 | 7,9 |
| 2L15 | 85,4 | 9,62 | 4,54 |
| 1L30 | 62,6 | 29,6 | 7,8 |
| 2L30 | 72,7 | 15,2 | 12,1 |

A hidroxiapatit előállításától függő rácsparamétereit szintén Rietveld módszerrel határoztam meg és a különböző kompozitoknál kapott értékeket a 24. táblázatban foglaltam össze. Az eredmények azt mutatják, hogy az egy lépésben előállított MH kompozitok esetén a hidroxiapatit *a* rácsállandója az elméleti értékhez képest átlagosan ~3%-kal nagyobb, míg a két lépésben előállított mintáknál a növekedés 1%-nál kisebb értékű. Ebből az látható, hogy a Fe³⁺ ionok képesek nagyobb mértékben beépülni az egylépcsős módszerrel előállított hidroxiapatit rácsszerkezetébe, ahogy Zilm és munkatársai (Zilm *et al.*, 2016) is kimutatták Mn²⁺, Fe³⁺ és Co²⁺ ionok esetén. Ioncsere biztosítja a Fe³⁺ ionok beépülését a hidroxiapatit szerkezetébe, ahol az apatit ioncserére aktív komponense a hexagonális csatorna közepén található, amit a 4. ábrán látható csatorna közepén lévő OH⁻ csoport jelez. Ide [O-Fe³⁺-O]⁻ komplex formában képes beépülni a vas körülbelül 50%-ban, ahogy Pogosova és munkatársai a [O-Cu^{III}-O]⁻ ionok esetén megfigyelték. A Fe³⁺ ionok a PO₄³⁻ csoportok oxigénionjain keresztül kapcsolódnak (Baikie *et al.*, 2009; Pogosova *et al.*, 2015).

24. táblázat: A hidroxiapatit rácsparamétereit

| Rácsállandó | | | | | |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Minta | a [Å] | c [Å] | Minta | a [Å] | c [Å] |
| H (elméleti) | 9,418 | 6,886 | | | |
| 1L5 | 9,494 | 6,859 | 2L5 | 9,436 | 6,889 |
| 1L15 | 9,479 | 6,847 | 2L15 | 9,425 | 6,881 |
| 1L25 | 9,497 | 6,881 | 2L25 | 9,441 | 6,895 |
| 1L30 | 9,527 | 6,870 | 2L30 | 9,442 | 6,894 |
| 1L35 | 9,511 | 6,898 | 2L35 | 9,446 | 6,898 |
| 1L40 | 9,506 | 6,903 | 2L40 | 9,449 | 6,898 |

Az egy- illetve két lépésben előállított kompozitok kristályméretét a Scherrer-egyenlet (17) segítségével határoztam meg:

$$\tau = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (17)$$

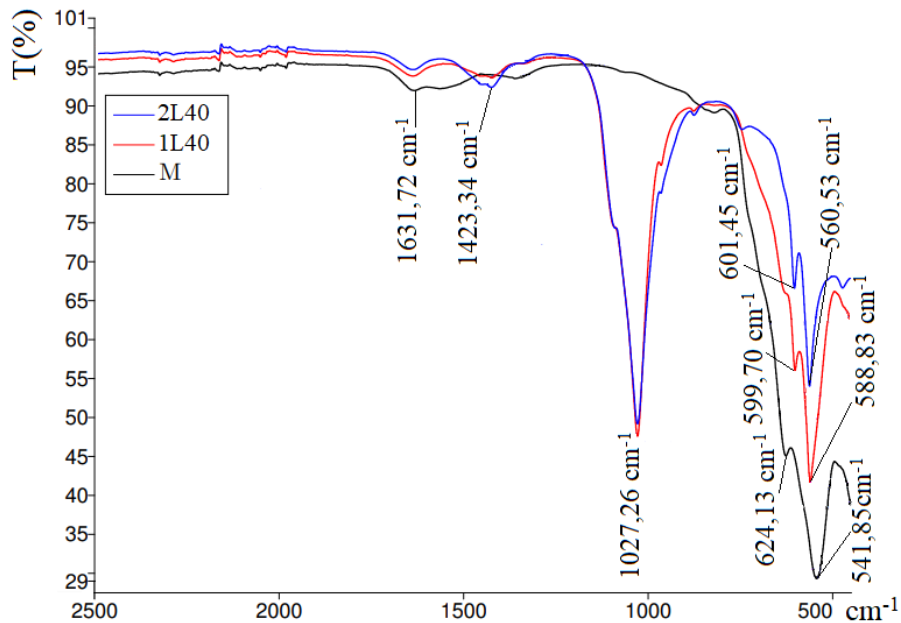
ahol, τ a kristallitok mérete, λ a röntgensugárzás hullámhossza (1,5405 Å), θ a csúcshoz tartozó diffrakciós szög, β a csúcs félértékszélessége radiánban és K konstans (0,9). A 25. táblázatban összefoglalt átlagos kristallit méretekből az látható, hogy az egy lépésben előállított hidroxipatit kristályok mérete a tiszta H-hoz (53,8 nm) képest kisebb (27,3-31,5 nm), viszont a két lépésben előállított nanokompozitok esetén azzal közel azonos (51,1-56,9 nm). A tiszta magnetit kristallit méretéhez (67,5 nm) képest az egy lépésben előállított magnetit mérete 21,4 és 33,0 nm közötti, míg a két lépésben előállított magnetit ennél nagyobb 38,1-56,0 nm, de a tiszta magnetiténál kisebb értékű. Az eredmények azt mutatják, hogy a magnetit szemcsék a 30-120 nm mérettartományba (*Dunlop et al., 2007*) eső, ezáltal egydoménes kristályszerkezetűek, ebből adódóan feltehetően superparamágneses tulajdonságokkal rendelkeznek. Az egylépcsős módszer esetén a hidroxipatit és a magnetit kristallit mérete jelentősen kisebb, mint a kétlépcsős módszerrel előállított kompozitok esetén. Viszont az azonos előállítási módszernél közel azonos a H és a M szemcsék mérete.

25. táblázat: A csapadékképződési módszerrel előállított kompozitok kristallit méretei

| Hidroxipatit | | | | Magnetit | | | |
|--------------|--------|------------------------|---------------------|-------------|--------|------------------------|---------------------|
| Minta | Szög | Félérték- szélesség | Kristallit méret | Minta | Szög | Félérték- szélesség | Kristallit méret |
| | (20) | (20) | (nm) | | (20) | (20) | (nm) |
| H | 25,567 | 0,284 | 53,8 | M | 35,465 | 0,734 | 67,5 |
| 1L5 | 25,842 | 0,583 | 27,3 | 1L5 | 35,373 | 1,1 | 22,8 |
| 1L15 | 25,768 | 0,543 | 31,5 | 1L15 | 35,32 | 1,124 | 21,4 |
| 1L30 | 25,782 | 0,583 | 27,3 | 1L30 | 35,399 | 0,987 | 33,0 |
| 2L5 | 25,685 | 0,284 | 54,6 | 2L5 | 35,316 | 0,823 | 56,0 |
| 2L15 | 25,692 | 0,273 | 56,9 | 2L15 | 35,402 | 0,953 | 38,1 |
| 2L30 | 25,754 | 0,307 | 51,1 | 2L30 | 35,501 | 0,889 | 53,8 |

A különböző módszerrel előállított 40 m/m% vas-oxid tartalmú minták szerkezetét FT-IR módszerrel is vizsgáltam és összehasonlítottam az általam előállított tiszta magnetittel (67. ábra). Az 541,85 cm⁻¹, 588,83 cm⁻¹ és 560,53 cm⁻¹ hullámszám értékeknél megjelenő abszorpciós sáv az Fe²⁺ - O²⁻ funkciós csoportoknak felelnek meg, valamint, amelyek a magnetitre jellemző sávok a 1631,72 cm⁻¹-nél látható sáv mellett. Az 1423,34 cm⁻¹

hullámszámmal a –C-O kötések rezgései láthatók, amelyek az előállítás közben a levegő CO₂ tartalmával történő reakcióból származhat. A hidroxapatitra jellemző asszimetrikus –P-O nyújtási rezgés 1027,26 cm⁻¹ hullámszámmal látható, míg az asszimetrikus –P-O hajlítási rezgés értékek 604,45 cm⁻¹, 599,70 cm⁻¹ hullámszám értékeknél. A 624,13 cm⁻¹-nél lévő váll a vas-oxidban lévő –OH vakanciák hiányát jelöli (Ansar *et al.*, 2012)

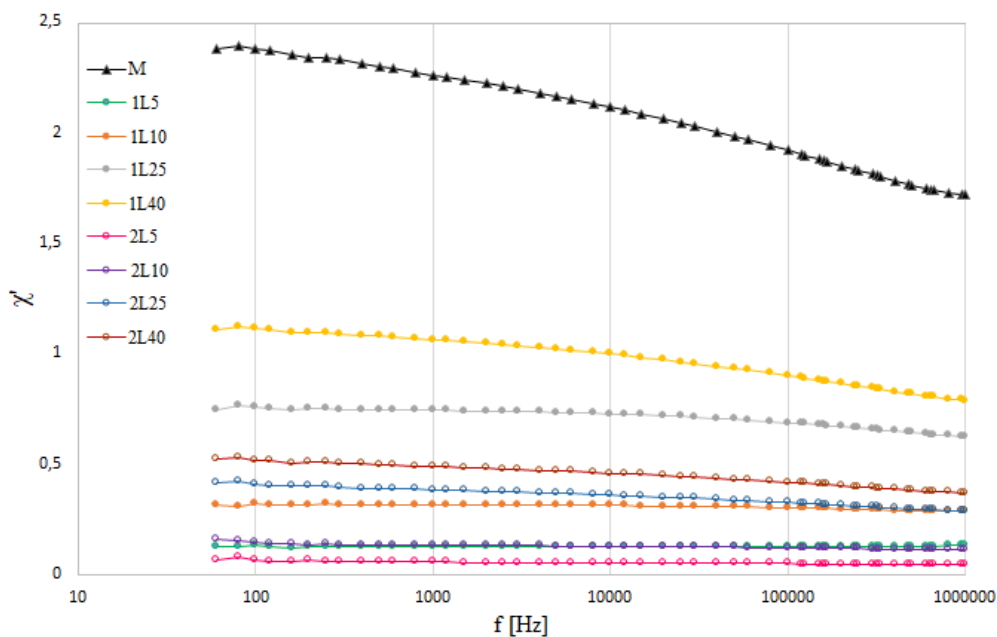


67. ábra: A tiszta magnetit (M) és a 40 m/m% vas-oxid tartalmú minták (1L40, 2L40) FT-IR spektruma

4.2.1.2. Mágneses tulajdonságok vizsgálata

A különböző módszerrel előállított kompozitok mágneses tulajdonságait az egy-, illetve kétlépcsős módszerrel előállított 5, 10, 25 és 40 m/m% vas-oxid tartalmú mintákon vizsgáltam, ahol mértem a mágneses szuszceptibilitást (χ') különböző frekvencia értékeken. Kontrollként, a kísérletek során alkalmazott alapanyagokból előállított tiszta magnetitet állítottam elő. A mérés során kapott pozitív szuszceptibilitás értékek arra utalnak, hogy az eltérő módszerekkel mindegyik esetben szuperparamágneses anyagot sikerült előállítani (68. ábra). A külső mágneses tér megszűnte után a kompozitok elvesztették mágnesezettségüket, ezért ferromágneses tulajdonságokat nem mutatnak. Ez a tulajdonság is igazolja a szemcsék méretét, ugyanis csak a 120 nm-nél nagyobb, több doménes kritályok mutatnak ferromágneses tulajdonságokat. A 5- és 10 m/m% vas-oxid tartalmú, eltérő módszerrel előállított minták esetén a szuszceptibilitás értékekben minimális (0,1) eltérés látható. Azonban, az egy lépésben előállított magnetitek esetén jól látható, hogy a vas-oxid tartalommal nő a minták mágnesezettsége, illetve az is jól látható, hogy az egy lépésben előállított 25 m/m%-os vas-oxid tartalmú mintának nagyobb a szuszceptibilitása, mint a 40 m/m%-os két lépésben előállított

kompozitnak. Mindez összefügg a magnetit részecskék mennyiségével és az előállítási módszertől függő krisztallit mérettel. A Rietveld-elemzés során (23. táblázat) megfigyeltem továbbá, hogy az egy lépésben előállított nanokompozitok esetén a magnetit jobban kristályosodott formában van jelen, ami a mágneses szuszceptibilitás értékekkel is összhangban van. A mágneses tulajdonságok vizsgálata során összehasonlításként mértem a $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ és FeCl_3 prekursorokból előállított tiszta magnetit szuszceptibilitását is. Megfigyelhető, hogy a χ' értéke a magnetit, valamint a nagyobb magnetit tartalmú (40 1L, 25 1L, 40 2L, 25 2L) kompozitok esetén a frekvencia növelésével viszonylag nagyobb mértékben csökken, míg kisebb magnetit tartalomnál kevésbé változik.

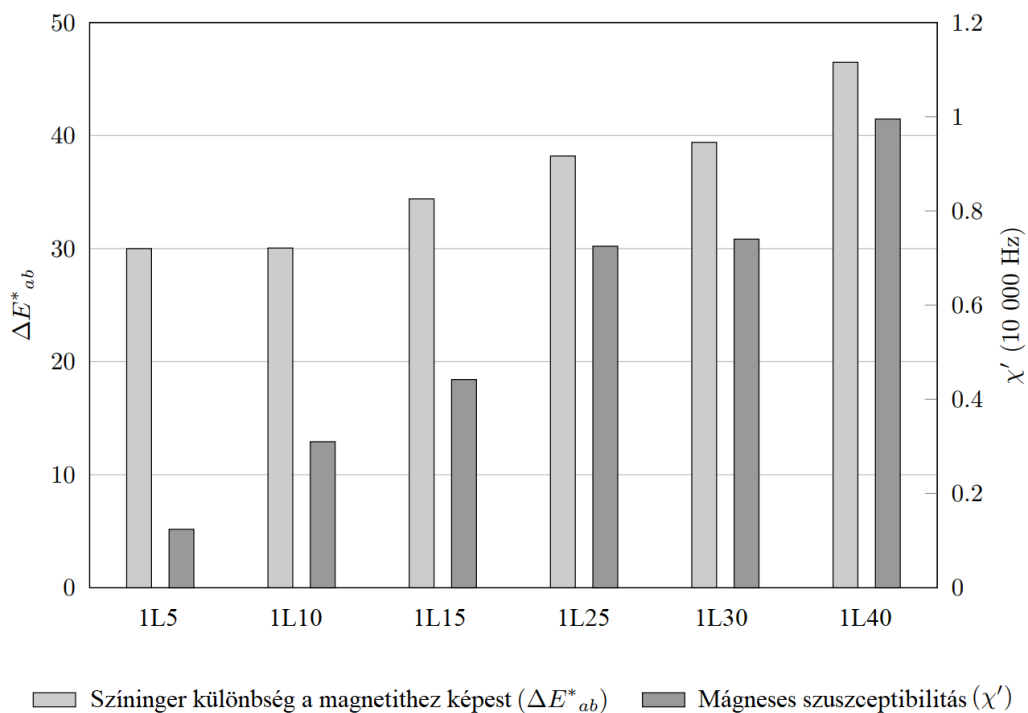


68. ábra: A mágneses szuszceptibilitás változása a frekvencia függvényében

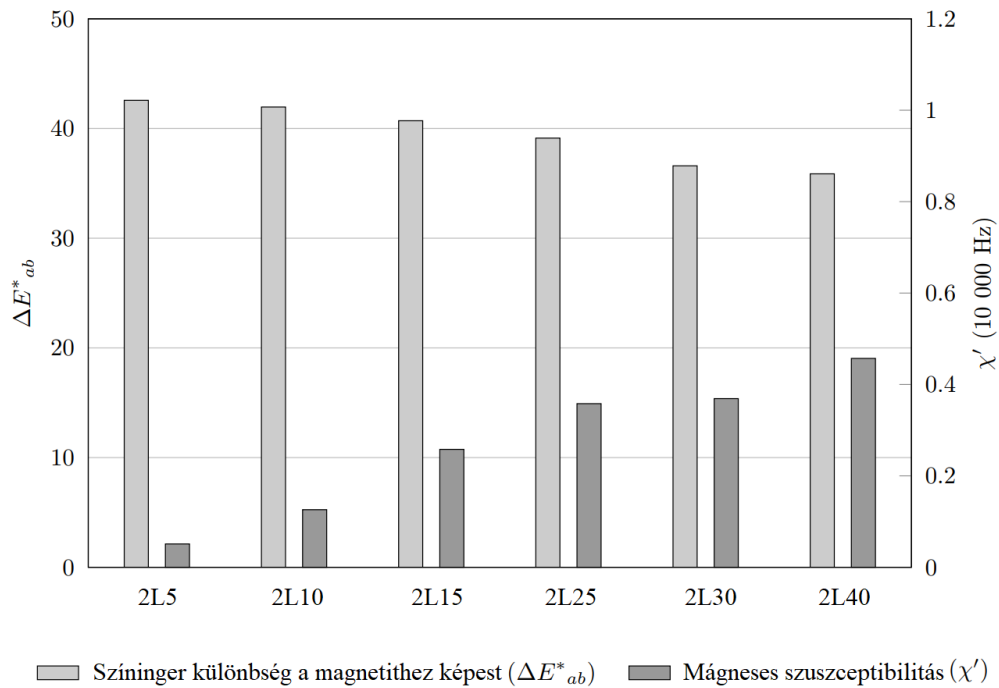
4.2.1.3. A nanokompozitok színingerjellemezőinek vizsgálata

A MH nanokompozitok színingerjellemezőit Konika Minolta CM-3600d típusú fotométerrel határoztam meg. A mérés célja a különböző eljárással előállított mágneses nanokompozitok mágneses tulajdonságai és színingerjellemezői közötti kapcsolat vizsgálata, ami esetlegesen lehetővé teszi az egyszerűbben, könnyebben mérhető színingerter összetevők alapján a mágneses tulajdonságok jellemzését. Az összefüggést a tiszta magnetit színingerjellemezőihöz való összehasonlítás alapján adtam meg. A 69. ábra az egylépcsős módszerrel előállított kompozitok szuszceptibilitását (10 000 Hz-en) és magnetit színétől való ΔE^*_{ab} színeltérését mutatja be. A minták vas-oxid tartalmának növekedésével ΔE^*_{ab} értéke a mágneses szuszceptibilitáshoz hasonlóan növekvő tendencia szerint változik, vagyis egyre jobban közelíti a tiszta magnetit színét a kompozit. A két érték között az egy lépésben előállított minták esetén

egyenes arányosság áll fenn. Ez a tulajdonság előnyös, mivel az így előállított mágneses kompozitok mágneses tulajdonságai jó közelítéssel becsülhetők a színingerjellemzők mérésén keresztül, ami gyors és egyszerű módszer. A 70. ábra a két lépésben előállított kompozitok ΔE^*_{ab} színeltérésének és mágneses tulajdonságainak változását mutatja be a minták összetételének függvényében. Ebben az esetben a mágneses szuszceptibilitás és a ΔE^*_{ab} színeltérés változása között fordított arányosság áll fenn. A színmérés eredményei is alátámasztják azt a megállapítást, hogy az egylépcsős, együttlecsapós módszerrel előállított magnetit-hidroxiapatit nanokompozitoknál a magnetit részecskék mellett kevésbé kristályosodik a hidroxiapatit, mint az előzetesen előállított H gél felhasználásával készített mintáknál.



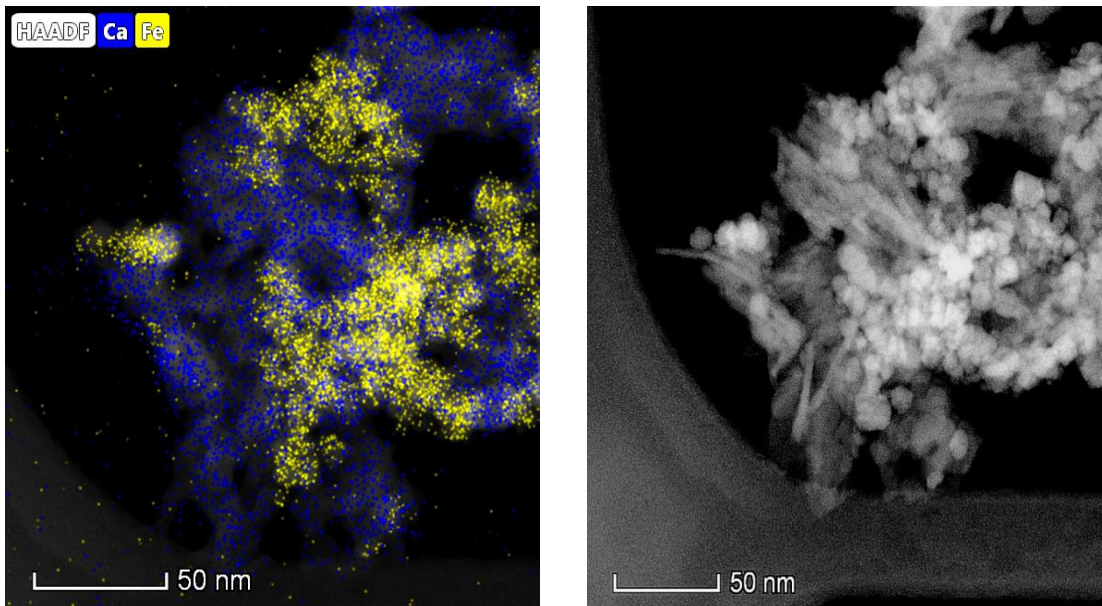
69. ábra: Az egylépcsős módszerrel előállított kompozitok ΔE^*_{ab} színeltérésének és mágneses szuszceptibilitásának változása



70. ábra: A kétlépcsős módszerrel előállított kompozitok ΔE^*_{ab} színeltéréseinek és mágneses szuszceptibilitásának változása

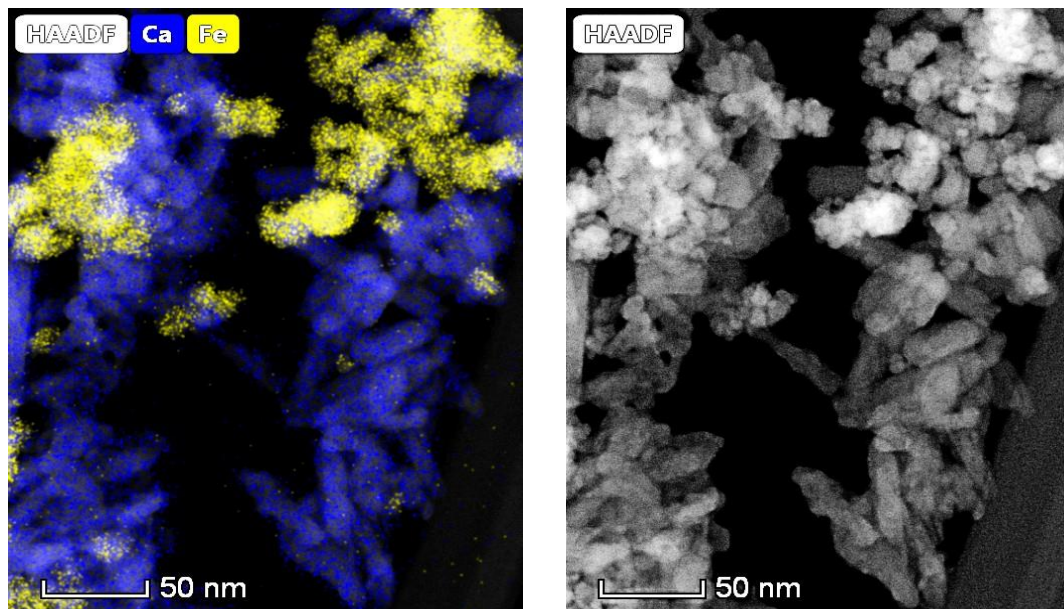
4.2.1.4. A mágneses kompozitok morfológiájának vizsgálata

Az egy- és két lépésben előállított nanokompozitok morfológiáját transzmissziós elektronmikroszkóppal (FEI/ThermoFisher Talos F200X G2) vizsgáltam. Az 1L25 és a 2L25 jelű mintákból híg, etanolos szuszpenziót készítettem, majd 10 μ l-t cseppentettem réz mikrostélyra. A 71. ábrán látható bal oldali elem térképen megfigyelhető, hogy a ~ 30 nm mérettartományban lévő magnetit kristályokat (sárgával jelöltem a Fe atomokat) viszonylag egyenletesen körül veszik finomszemcsés, helyenként vékony tűkristályokat alkotó H szemcsék (kézzel a Ca atomokat jelöltem).



71. ábra: Az 1L25 jelű mintáról készült elemtérkép (balra) és morfológiai felvétel (jobbra)

A 72. ábrán a két lépésben előállított 25 m/m% vas-oxidot tartalmazó 2L25 nanokompozit TEM felvétele látható. Az elemtérképen megfigyelhető, hogy a magnetit és hidroxiapatit kristályok eloszlása kevésbé homogén, a vastagabb oszlopszerű apatit kristályok kevésbé egyenletes bevonatot képeznek a magnetit részecskéken, továbbá az apatit kristályok kevésbé mutatnak tűkristályos, sokkal inkább nagyobb átmérőjű oszlopos megjelenésűek.



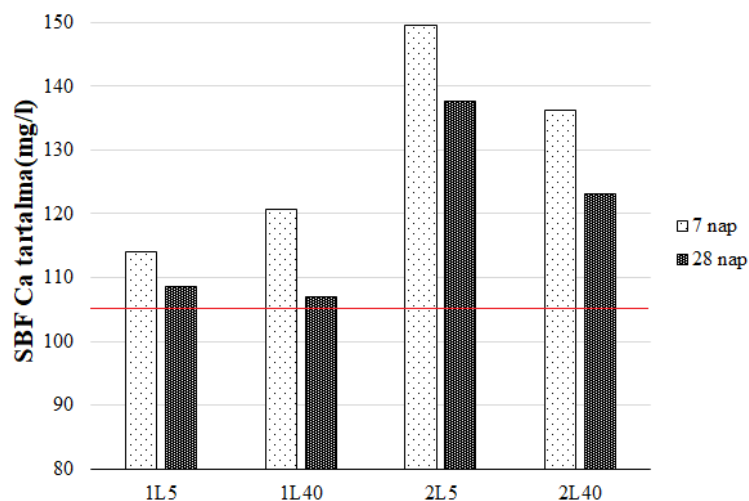
72. ábra: A 2L25 jelű mintáról készült elemtérkép (balra) és morfológiai kép (jobbra)

Az elektronsugaras analízis során mértem a minták kalcium és foszfor arányát, amely az 1L25 minta esetén 1,59, míg a 2L25 kompozitnál 1,63 értékű. Mindez összhangban van az előző

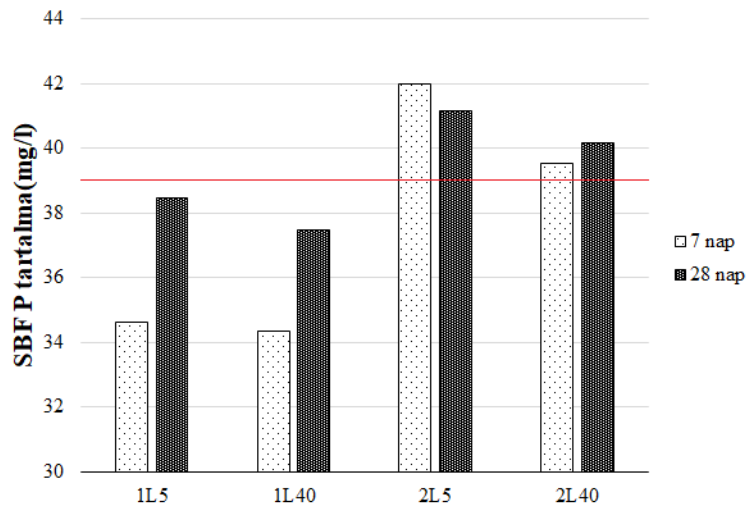
mérési eredményekkel, mely szerint az előzetesen előállított H gélt tartalmazó kompozitokban jobban kristályosodott hidroxipatit van jelen.

4.2.1.5. Az MH kompozitok viselkedése szimulált testfolyadékban

A bioaktivitás vizsgálatot az üveggel bevont biosablonokhoz hasonlóan végeztem, azzal a különbséggel, hogy a MH kompozitoknál 7 és 28 nap elteltével vizsgáltam a kalcium és foszfor kioldódását röntgenfluoreszcens spektroszkópiával. A kioldódást az 5 és 40 m/m% vas-oxid tartalmú mintáknál vizsgáltam állandó 36,5 °C hőmérsékleten, 0,1 g minta/10 cm³ SBF alkalmazásával. A kalcium és a foszfor kioldódását a 73. és 74. ábra mutatja, ahol a szimulált testfolyadék eredeti Ca és P tartalmát piros vonal jelöli. A kétlépcsős eljárással előállított MH kompozitoknál a 7 napos oldódási teszt után nagyobb mennyiségű kalcium kioldódás tapasztalható, mint az egylépcsős módszerrel előállított mintáknál. 28 nap elteltével mindegyik esetben csökken a testfolyadékban lévő kalcium mennyisége, ami arra enged következtetni, hogy a minták felületén megindul az apatit kristályosodása. A kétlépcsős módszerrel előállított (2L5, 2L40) mintáknál a kalciumhoz hasonlóan a foszfor tartalom is nő a 7 napos kezelés hatására, azaz az apatit szemcsékből a foszfor kioldódása. Ugyanakkor az egylépcsős módszerrel készített (1L5 és 1L40) mintáknál csak 28 napos kezelés után figyelhető jelentősebb mennyiségű P kioldódás. A testfolyadék foszfor tartalmának csökkenése (a kalciumhoz hasonlóan) a kalcium-foszfátok képzésében való részvételre utal.

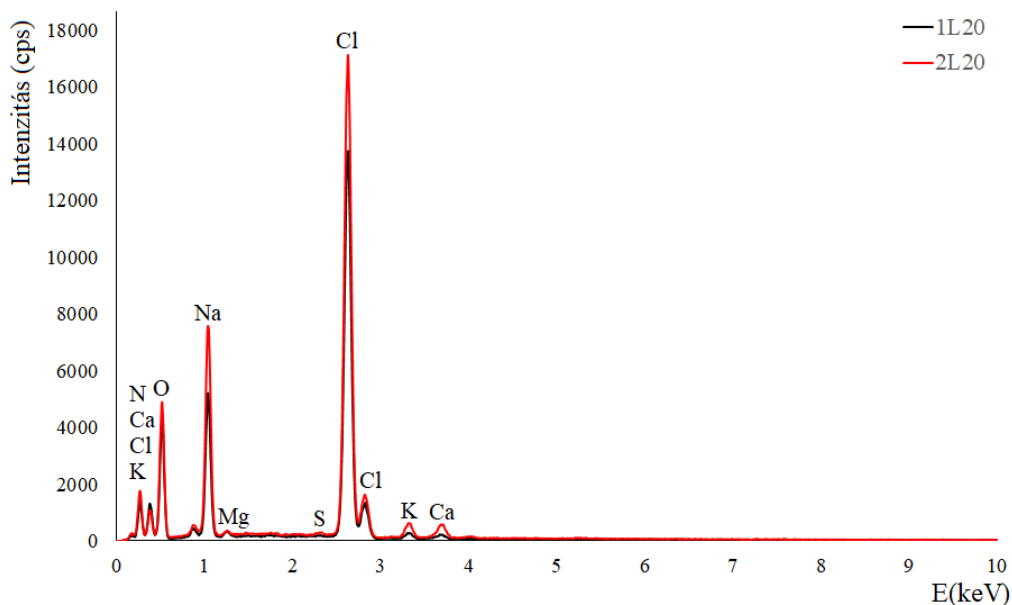


73. ábra: A testfolyadék kalcium tartalma az egy- és két lépésben előállított minták esetén



74. ábra: A testfolyadék foszfor tartalma az egy- és két lépésben előállított minták esetén

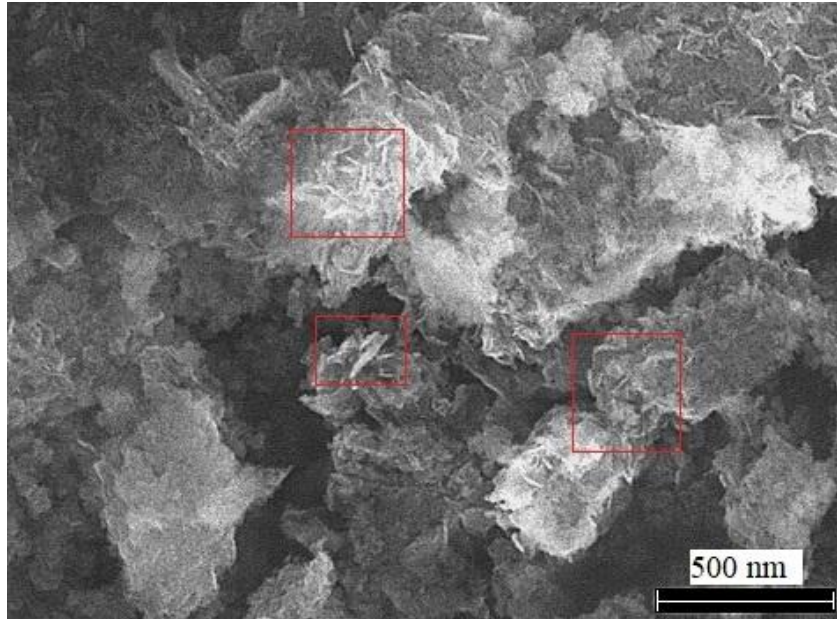
A testfolyadék hatására bekövetkező esetleges vas-oxid kioldódását elektronsugaras röntgenanalízissel ellenőriztem (75. ábra). Az 1L20 és 2L20 minták kezelésére használt, szűrt szimulált testfolyadékot bepároltam és 20 kV gyorsítófeszültség és 1,6 nA sugáráram alkalmazásával elemeztem. Az eredmények azt mutatják, hogy a szűrt testfolyadék az eredeti összetételben megadott (19. táblázat) elemeket tartalmazza. Ebből azt következik, hogy vas nem oldódik ki a 28 napos SBF kezelés alatt.



75. ábra: A bepárolt testfolyadékról készült EDS spektrum a kezelés után

A legnagyobb mértékben (13,1%) az 1L40 jelű kompozit esetén fogyott a kezelés során a testfolyadékban a kalcium mennyisége, vagyis feltehetőleg ennél a mintánál keletkezett a

legtöbb apatit a szemcsék felületén, amit a 76. ábrán piros négyzetekkel jelöltem a jobb láthatóság érdekében.



76. ábra: A 1L 40 minta a 28 napos SBF kezelést követően

A vizsgálatok alapján elmondható, hogy az egy lépésben előállított apatit stabilabb viselkedést mutat a szimulált testfolyadékban annak ellenére, hogy a kétlépcsős módszerrel nagyobb kristályosodottsági fokkal rendelkező hidroxiapatitot sikerült előállítani. A kisebb mértékű oldódásra azonban hatással lehet az egy lépéses előállítás során megfigyelt rácsállandók változása. Az eredmények alapján az egylépcsős eljárással előállított nanokompozitok rendelkeznek kedvezőbb paramágneses és bioaktív tulajdonságokkal. Továbbá az általam leírt recept alapján készült minták mágneses tulajdonságai jól becsülhetők színméréssel, amely a többi analitikai módszerhez képest kedvezőbb költségekkel bíró és gyors vizsgálati módszer.

5. Összefoglalás

Doktori munkám keretében állati eredetű csont, bioüveg és kalcium-foszfátok felhasználásával olyan kompozit anyagrendszert állítottam elő, amely újszerű a kutatás alatt feltárt szakirodalmak alapján. A kísérletek során a biosablonként használt, előkezelt szarvasmarha csont felületére eltérő összetételű, bioüveg alapú bevonatot alakítottam ki, impregnálási módszerrel. Az előállítási paraméterek optimalizálása során szisztematikusan változtattam az impregnálószer minőségét, szárazanyag-tartalmát, a segédanyagok mennyiségét és a bevonatolás körülményeit (alkalmazott diszpergálószer, nyomás, idő). A vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a bevonat sikeres kialakításának kritikus paramétere az alkalmazott bioüveg fritt átlagos szemcsemérete. Megállapítottam, hogy egyenletes eloszlású bevonat, vákuum kamrás módszerrel akkor alakítható ki az adott biosablonok felületén, ha a fritt és az adalékok (H, BW, AW) alapanyagainak átlagos szemcsemérete kisebb, mint 5 μm . Igazoltam, hogy impregnálási segédanyag nélkül homogén bevonat alakítható ki a csontok felületén etanol diszpergálószerként való alkalmazásával, amennyiben optimális átlagos szemcsemérettel rendelkező 5 m/m% szárazanyagtartalmú szuszpenzió kerül felhasználásra.

A megfelelő előállítási paraméterek meghatározását követően eltérő fázisösszetételű és oldhatóságú kalcium-foszfát tartalmú bioüveg-kerámia bevonattal ellátott, csontpótlásra alkalmas kompozitokat állítottam elő. A kísérletek során vizsgáltam a hőkezelt szarvasmarhacsont, a bioüveg frittel (F) és a különböző keverékekkel (70F30H, 70F30BW, 70F30AW) bevont próbatestek elemi- és fázisösszetételét, termikus tulajdonságait, mikroszerkezetét, mechanikai tulajdonságait, bioaktivitását és citotoxicitását. A testsűrűség és a látszólagos porozitás vizsgálata során megállapítottam, hogy az egyenletes bevonat kialakításához szükséges a sablonok előzetes, 1050 °C-on történő hőkezelése. Ekkor a tömör csontállomány testsűrűsége a 81%-kal nő, míg a látszólagos porozitása ~30%-kal csökken. A termikus viselkedés tanulmányozása során megállapítottam, hogy a bevonat nyomófeszültséges réteget képez a sablon felületén, amely nagyban hozzájárul a mechanikai tulajdonságok javításához, valamint bizonyítottam, hogy a bioüveg olvadék jól nedvesíti a sablon felületét. A szimulált testfolyadékban való oldhatósági vizsgálatok során megállapítottam, hogy a bevonatok oldhatósága eltérő és mindegyik bevonat felületén megindult az apatit kristályosodása 7 nap elteltével. Az előzetesen hőkezelt csont felületén nem tapasztaltam apatit képződést. Ez a jelenség arra utal, hogy az alkalmazott bevonatok nagyobb bioaktivitással rendelkeznek, mint az adott biosablon. A legintenzívebb Ca és P kioldódást, valamint apatit képződést a 70F30AW jelű, a legnagyobb oldhatóságú α -whitlockitot legnagyobb

mennyiségben tartalmazó AW adalék bevonatok felületén minta esetén figyeltem meg. Ezzel igazoltam, hogy az adott impregnálási módszerrel és adalékok alkalmazásával szabályozható oldhatóságú bevonat alakítható ki a csontok felületén. A bevonatok mikrokeménységének meghatározása során a bioüveg frittelt bevont mintánál nem tapasztaltam jelentős keménység csökkenést, ami arra enged következtetni, hogy ebben az esetben nem indult meg olyan intenzív apatit képződés, mint az adalékot tartalmazó bioaktív bevonatok esetén. A keménységméréssel igazoltam, hogy ugyan a bioaktív adalékok csökkentik a bevonatok keménységét, azonban bioaktivitásuk jelentősen fokozható. A bioaktív bevonattal ellátott biosablonok nyomó- és hajlítoszilárdságának vizsgálata során megállapítottam, hogy a nyomófeszültséges üveg bevonat alkalmazásával ~30%-kal növelhető a hajlítoszilárdság és ~12%-kal a nyomószilárdság. Megállapítottam, hogy a 28 napos szimulált testfolyadékban történő kezelés nem befolyásolja jelentősen a szilárdsági tulajdonságokat, ami arra utal, hogy az adalékok kioldódása 28 napos kezelés alatt főleg a felületen indul meg. A próbatestek citotoxicitását mitokondriális szukcinát dehidrogenáz alapú viabilitás teszttel ellenőriztem, ahol a sejtek felületre történő kitapadásának hajlamát is vizsgáltam. Megállapítottam, hogy az előkezelt szarvasmarha csont egyszeri hőkezelése is már 70%-kal növeli a sejtek viabilitását, valamint a bioüveg alapú bevonatok jelentősen serkentik a sejtek szaporodó képességét és felületi kolonizációját. Kutatási eredményeimmel igazoltam, hogy a felhasznált biosablon és bevonatolási alapanyagok alkalmasak biomorf kompozitok előállítására. A bevonat összetételének módosításával az adott felhasználási célnak megfelelő tulajdonságú, az élő szervezetbe beültetésre alkalmas bioaktív implantátumok állíthatók elő. A különböző biológiai és mechanikai vizsgálatok során kapott eredményekből látható, hogy a bioüveg alapú bevonat nemcsak növeli a biosablonok keménységét, hajlító- és nyomószilárdságát, hanem bioaktív felület kialakítását is lehetővé teszi.

A kutatómunkám további célja olyan hidroxipatitba ágyazott mágneses vas-oxid nanokompozitok előállítása volt. A nanorészecskék előállítása során két eltérő, nedveskémiai szintézist alkalmaztam. A nanokompozitok tulajdonságát és alkalmazhatóságát a fázisösszetétel, a mágneses tulajdonságok, a szimulált testfolyadékban való oldhatóság és a színinger-jellemzők vizsgálata alapján határoztam meg. A röntgendiffrakciós fáziselemzés eredményei azt mutatták, hogy a különböző eljárással előállított anyagrendszerek kizárólag magnetit és hidroxipatit kristályos fázist tartalmaznak. Az egylépcsős módszer esetén a hidroxipatit és a magnetit átlagos kristálymérete ~30 nm, míg a két lépésben előállított kompozitoknál ~ 55 nm. A rácsállandók meghatározása arra utalt, hogy az egy lépésben

előállított mágneses hidroxapatit kompozitoknál a Fe^{3+} ionok képesek beépülni az apatit rácsszerkezetébe $[\text{O}-\text{Fe}^{3+}-\text{O}]^-$ komplex formájában, tehát a szintézistől függően szabályozható a nanokompozitot alkotó fázisok kristályosodása és kristálymérete, ezáltal az oldhatóságuk. A mágneses tulajdonságok vizsgálata során igazoltam, hogy az egy lépésben előállított MH kompozitok nagyobb mágneses szuszceptibilitás értéket mutatnak, mint az azonos magnetit tartamú kétlépcsős módszerrel készítették. Megállapítottam, hogy a nanokompozitok mágneses szuszceptibilitás értékei és a tiszta magnetittől való színeltérés változása között fordított arányosság áll fenn az egylépcsős szintetizálással előállított nanokompozitok esetén, míg a kétlépcsős módszerrel szintetizálnál egyenes arányosság figyelhető meg. Az eredmények arra utalnak, hogy az előállítási paramétereiktől függően a színingerjellemezők viszonylag egyszerű mérésével következtetni lehet a mágneses tulajdonságokra. Az egy lépésben szintetizált apatit stabilabb viselkedést mutat a szimulált testfolyadékban való oldódáskor. A testfolyadék kalcium tartalma csökkent a 28 napos kezelést követően az egylépcsős és a kétlépcsős kompozitok esetén is, tehát megindult az apatit kristályosodása a szemcsék felületén. Kutatási eredményeim alapján az egylépcsős módszerrel előállított nanokompozitok nagyobb mágnesezettséget és stabilabb viselkedést mutatnak a szimulált testfolyadékban történő kezeléskor. Bizonyítottam, hogy az előállítási módszertől függően a színkoordináták mérésén keresztül következtethetünk a kompozitok mágneses tulajdonságaira.

6. Summary

In my doctoral thesis, animal bone, bio-glass and calcium phosphates was used to produce a composite material system that is novel based on the literature discovered during the research. In the experiments, I developed a bio-glass based coating of different composition on the surface of pretreated bovine bone used as a bio-template, using an impregnation method. The optimization of the preparation parameters involved a systematic variation of the impregnant quality, dry matter content, amount of excipients and coating conditions (dispersant used, pressure, time). The results showed that the average grain size of the applied bio-glass frit is a critical parameter for the successful development of the coating. It was found that a uniformly distributed coating can be formed on the surface of the given biosemplates by vacuum chambering if the average particle size of the frit and the additives (H, BW, AW) is less than 5 μm . I have demonstrated that a homogeneous coating can be formed on the surface of the bones without impregnation adjuvant by using ethanol as a dispersant, provided that a suspension with an optimal average particle size ($\sim 5 \mu\text{m}$) of 5 m/m% dry solids is used. Following the determination of appropriate manufacturing parameters, bio-glass-ceramic composites with different phase compositions and solubilities of calcium phosphate containing bio-glass-ceramic coatings suitable for bone grafting were prepared. The experiments were carried out to investigate the elemental and phase composition, thermal properties, microstructure, mechanical properties, bioactivity and cytotoxicity of the heat-treated bovine bone, bio-glass frits (F) and specimens coated with different blends (70F30H, 70F30BW, 70F30AW). The test of bulk density and apparent porosity showed that a preliminary heat treatment of the templates at 1050 °C is necessary to obtain a uniform coating. This heat treatment increases the bulk density of the bone by $\sim 81\%$, while the apparent porosity decreases by $\sim 30\%$. In studying the thermal behaviour, I found that the coating forms a compressive stress layer on the template surface, which contributes greatly to the improvement of mechanical properties, and I demonstrated that the molten bio-glass wets the surface of the scaffold well. Solubility studies in simulated body fluids showed that the coatings had different solubilities and that apatite crystallization started on the surface of each coating after 7 days. No apatite formation was observed on the surface of the pre-treated bone. This phenomenon suggests that the coatings used have a higher bioactivity than the pretreated scaffold. The most intense Ca and P leaching and apatite formation was observed on the surface of the AW additive coatings (70F30AW), which contained the highest amount of the most soluble α -whitlockite. This demonstrated that a coating with controllable solubility can be formed on the surface of bone with the given

impregnation method and additives. When determining the microhardness of the coatings, no significant decrease in hardness was observed in the sample coated with the bio-glass frits, suggesting that in this case the formation of apatite was not as intense as in the case of bioactive coatings containing additives. By measuring the hardness, I have demonstrated that although bioactive additives reduce the hardness of the coatings, their bioactivity can be significantly enhanced. By examining the compressive and flexural strength of bioactive scaffolds, I found that the application of a compressive glass coating can increase the flexural strength by ~30% and the compressive strength by ~12%. I found that treatment in simulated body fluid for 28 days did not significantly affect the mechanical properties, suggesting that the leaching of additives during 28 days of treatment is mainly initiated at the surface. The cytotoxicity of the test samples was verified by a mitochondrial succinate dehydrogenase-based viability assay, where the propensity of cells to precipitate on the surface was also investigated. I found that even a single heat treatment of pretreated bovine bone increases cell viability by as much as 70%, and that bio-glass-based coatings significantly stimulate cell proliferation and surface colonization. My research results have demonstrated that the bioactive scaffolds are suitable for the production of biomorphic composites. By modifying the coating composition, bioactive implants with properties suitable for implantation in living organisms can be produced for a specific application. The results obtained from various biological and mechanical tests show that the bio-glass based coating not only increases the hardness, flexural and compressive strength of the bioscaffolds, but also allows the formation of a bioactive surface.

Another aim of my research was to prepare magnetic iron oxide nanoparticles embedded in hydroxyapatite. Two different wet chemical synthesis methods were used to prepare the nanoparticles. The properties and applicability of the nanocomposites were determined by examining the phase composition, magnetic properties, solubility in simulated body fluids and the colour coordinates. The results of X-ray diffraction phase analysis showed that the material systems prepared by the different processes contain only magnetite and hydroxyapatite crystalline phases. The average crystallite size of hydroxyapatite and magnetite for the one-step method is ~30 nm, while for the two-step composites the average crystallite size is ~55 nm. The determination of the lattice constants suggested that in the single-step magnetite hydroxyapatite composites, Fe^{3+} ions are able to be incorporated into the apatite lattice structure in the form of an $[\text{O}-\text{Fe}^{3+}-\text{O}]$ complex, thus the crystallization and crystal size of the nanocomposite phases, and thus their solubility, can be controlled depending on the synthesis. Magnetic properties studies have demonstrated that MH composites prepared in one step exhibit higher magnetic

susceptibility values than those prepared by the two-step method with the same magnetite content. I found that there is an inverse proportionality between the magnetic susceptibility values of the nanocomposites and the change in colour deviation from pure magnetite for nanocomposites prepared by the one-step synthesis method, while a straight proportionality is observed for those prepared by the two-step method. The results suggest that, depending on the preparation parameters, magnetic properties can be inferred by relatively simple measurements of the colour finger properties. Apatite synthesized in one step shows more stable behaviour when dissolved in the simulated body fluid. The calcium content of the body fluid decreased after 28 days of treatment for both single-step and two-step composites, thus initiating the crystallization of apatite on the grain surface. Based on my research results, the nanocomposites prepared by the single-step method exhibit higher magnetization and more stable behaviour when treated in the simulated body fluid. I have demonstrated that, depending on the preparation method, the magnetic properties of the composites can be inferred through the measurement of the colour coordinates.

Új tudományos eredmények: a doktori értekezés tézisei

- 1.) Impregnálási módszerrel, segédanyag alkalmazása nélkül elsőként alakítottam homogén bioüveg alapú bevonatot előkezelt szarvasmarha csont felületén. Igazoltam, hogy diszpergálószerként etanolt alkalmazva, 5 µm alatti átlagos szemcseméretű és 5 m/m% szárazanyagtartalmú szuszpenzió az optimális a bevonat készítésére (*Jakab et al. 2021*).
- 2.) A bevonat alapanyagainak termikus tulajdonságainak meghatározásával igazoltam, hogy az általam alkalmazott bioüveg jól nedvesíti a szubsztrátum felületét és a hőkezelés hatására nyomófeszültséges bevonatot képez. Mérési eredményekkel bizonyítottam, hogy a hidroxipatit, β-whitlockit és α-whitlockit kristályos fázist tartalmazó bioüveg bevonatok alkalmazásával növelhető az állati eredetű sablon mikrokeménysege, nyomó- és hajlítószilárdsága (*Jakab et al. 2021*).
- 3.) Kísérletekkel bizonyítottam, hogy az 1,67 Ca/P atomarányú hidroxipatit, az 1,52 Ca/P arányú β-whitlockit és az 1,44 Ca/P arányú α-whitlockit adalékok alkalmazásával szabályozni lehet a Ca és a P kioldódását szimulált testfolyadékban, valamint növelhető a vázak bioaktivitása a bioüveg fritthez és az előkezelt szarvasmarha csonthoz képest (*Jakab et al., 2022*).
- 4.) Szukcinát-dehidrogenáz alapú viabilitás teszttel igazoltam, hogy a biosablonok felületén kialakított bioüveg alapú bevonat csökkenti a citotoxicitást a hőkezelt, fehérjementesített biosablonhoz képest (*Jakab et al. 2021*).
- 5.) Röntgendiffrakciós és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazoltam, hogy a mágneses hidroxipatit kompozitok kristályosodásának mértéke szabályozható az előállítási módszertől függően. Továbbá bizonyítottam, hogy a fázisok együttes lecsapásával a magnetit és a hidroxipatit krisztallitmérete közel azonos, de jelentősen kisebb, mint a két lépésben előállított nanokompozitok esetén (*Jakab et al. 2019*).

- 6.) A mágneses szuszceptibilitás és a színinger jellemzők meghatározásán keresztül igazoltam, hogy a magnetit és a hidroxipatit párhuzamos szintetizálásával előállított nanokompozitok szuszceptibilitása és a magnetithez viszonyított színeltérés változása fordítottan arányos, míg két lépésben történő lecsapáskor egyenes arányosság áll fenn. Kísérleteimmel igazoltam, hogy a CIELAB színingerjellemzők mérésével becsülhető a nanokompozitok előállítási módszertől függő mágneses tulajdonsága (*Jakab et al. 2019*).
- 7.) A szimulált testfolyadékban történő kioldódás vizsgálatokkal igazoltam, hogy a magnetit és a hidroxipatit együttes lecsapásával nagyobb bioaktivitással rendelkező nanokompozit állítható elő (*Jakab et al. 2019*).

New scientific results: thesis statements of the doctoral dissertation

- 1.) I was the first who formed a homogeneous bio-glass based coating on the surface of pretreated bovine bone using an impregnation method without the use of excipients. I have demonstrated that using ethanol as dispersant, a suspension with an average particle size below 5 μm and a dry solids content of 5 m/m% is optimal for the preparation of the coating (Jakab et al. 2021).
- 2.) By determining the thermal properties of the coating materials, I have demonstrated that the bio-glass I use wets the substrate surface well and forms a compressive stress coating upon annealing. I have demonstrated that the application of bio-glass coatings containing hydroxyapatite, β -whitlockite and α -whitlockite crystalline phase can increase the microhardness, compressive and flexural strength of animal-derived template (Jakab et al. 2021).
- 3.) I have demonstrated experimentally that the use of hydroxyapatite with an atomic ratio of 1.67 Ca/P, β -whitlockite with a Ca/P ratio of 1.52 and α -whitlockite with a Ca/P ratio of 1.44 can control the leaching of Ca and P in simulated body fluids and increase the bioactivity of scaffolds compared to bio-glass frit and pretreated bovine bone (Jakab et al., 2022).
- 4.) Using a succinate dehydrogenase-based viability assay, I demonstrated that a bioglass-based coating on the surface of biosheets reduces cytotoxicity compared to a heat-treated, protein-embedded biosheet (Jakab et al. 2021).
- 5.) I have demonstrated by X-ray diffraction and electron microscopy studies that the rate of crystallization of magnetic hydroxyapatite composites can be controlled depending on the preparation method. Furthermore, I have demonstrated that the crystallite size of magnetite and hydroxyapatite produced by co-deposition of phases is nearly the same, but significantly smaller, than that of nanocomposites prepared in two steps (Jakab et al. 2019).

- 6.) Through the determination of magnetic susceptibility and color vibration characteristics, I have demonstrated that the susceptibility of nanocomposites prepared by parallel synthesis of magnetite and hydroxyapatite and the change in color shift relative to magnetite are inversely proportional, while there is a direct proportionality when precipitated in two steps. My experiments have demonstrated that the CIELAB colour coordinate measurements can be used to estimate the magnetic property of nanocomposites as a function of the preparation method (Jakab et al. 2019).

- 7.) Using simulated body fluid precipitation studies, I have demonstrated that co-deposition of magnetite and hydroxyapatite can produce a nanocomposite of higher bioactivity (Jakab et al. 2019).

A dolgozat témájához kapcsolódó publikációk jegyzéke

Idegen nyelvű, külföldi folyóiratban megjelent közlemény:

Jakab, M., Enisz-Bódogh, M., Makó, É., Kovács, K., Orbán, Sz., Horváth, B. (2020) Influence of wet chemical processing conditions on structure and properties of magnetic hydroxyapatite nanocomposites, *Processing and Application of Ceramics*, 14(4), 321-328 (Q3, IF: 1,804, Független hivatkozások száma: 4)

Jakab, M., Enisz-Bódogh, M., Kovács, K., Keil, E., Babos, Gy., Feczko, T. (2021) Structure and properties of bovine bone-glass ceramic composite scaffolds, *Processing and Application of Ceramics*, 15(4), 428-435 (Q3, IF: 1,504, Független hivatkozások száma: 0)

Jakab, M., Enisz-Bódogh, M., Kovács, K. (2022) Apatite forming ability of bioglass coated bovine bone scaffolds, *Processing and Application of Ceramics*, 16(3), 276-282 (Q3, IF: 1,504, Független hivatkozások száma: 0)

Idegen nyelvű poszter

Jakab, M., Enisz-Bódogh, M. (2019) From wood to bone: How to convert wood structures into biomimetic hydroxyapatite scaffolds, *Twenty-first Annual Conference YUCOMAT 2019 & Eleventh World Round Table Conference on Sintering*, ISBN: 978-86-919111-4-0, 146

Jakab, M., Enisz-Bódogh, M. (2019) The production of biomorphous ceramics and glass-ceramics, *5th Conference of the Serbian Society for Ceramic Materials*, ISBN: 978-86-80109-22-0, 46

A dolgozat témájához nem kapcsolódó publikációk jegyzéke

Idegen nyelvű, külföldi folyóiratban megjelent közlemény:

Abdullah, T. A., Juzsakova, T., Rasheed, R., Ali, M., Salman, A. D., Le, P-C, Zsirka, B., Sebestyén, V., Jakab, M. (2022) V2O5, CeO2 and Their MWCNTs Nanocomposites Modified for the Removal of Kerosene from Water, *Nanomaterials*, 12, 189 (Q1, IF: 5,076)

Al-sareji, O. J., Meiczinger, M., Salman, J. M., Al-Juboori, R. A., Hashim, K. S., Somogyi, V., Jakab, M. (2022) Ketoprofen and aspirin removal by laccase immobilized on date stones, *Chemosphere*, 311 (Q1, IF: 8,943)

Boros, A., Varga, Cs., Prajda, R., Jakab, M., Korim, T. (2021) Development of Waste-Based Alkali-Activated Cement Composites, *Materials*, 14, 5815 (Q2, IF: 3,748)

Bódis, E., Jakab, M., Bán, K., Károly, Z. (2022) Functionally Graded Al2O3–CTZ Ceramics Fabricated by Spark Plasma Sintering, *Materials*, 15, 1860 (Q2, IF: 3,748)

Császár, Zs., Juzsakova, T., Jakab, M., Balogh, Sz., Szegedi, Á., Solt, H., Hancsók, J., Farkas, G. (2021) Continuous Flow Friedel–Crafts Alkylation Catalyzed by Silica Supported Phosphotungstic Acid: An Environmentally Benign Process, *Topics in Catalysis* (Q2, IF: 2,47)

Hajba-Horváth, E., Németh, B., Trif, L., May, Z., Jakab, M., Fodor-Kardos, A., Feczkó T. (2022) Low temperature energy storage by bio-originated calcium alginate-octyl laurate microcapsules, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (Q2, IF: 4,755)

Keszei, J. S., Pekker, P., Fehér, Cs., Balogh, Sz., Jakab, M., Nagy, L., Skoda-Földes, R. (2020) Application of sol-gel methods to obtain silica materials decorated with ferrocenyl-ureidopyrimidine moieties. Preparation of hollow spheres and modification of a carbonelectrode. *Microporous and Mesoporous Materials*, 308, 110380 (Q1, IF: 5,34)

Kocsis, G., Szabó-Bárdos, E., Fónagy, O., Farsang, E., Juzsakova, T., Jakab, M., Pekker, P., Kovács, M., Horváth, O. (2022) Characterization of various titanium-dioxide-based catalysts regarding photocatalytic mineralization of carbamazepine also combined with ozonation. *Molecules*, 27, 8041 (Q1, IF: 4,927)

Mersel, A. M., Fodor, L., Pekker, P., Jakab, M., Makó, É., Horváth, O. (2021) Effects of Preparation Conditions on the Efficiency of Visible-Light-Driven Hydrogen Generation Based on Cd_{0.25}Zn_{0.75}S Photocatalysts, *Catalysts*, 11, 1534 (Q2, IF: 4,501)

Nagy, E., Hegedüs, I., Vitai, M., Jakab, M. (2020) Study of Prepared α -Chymotrypsin as Enzyme Nanoparticles and of Biocatalytic Membrane Reactor, *Catalysts*, 10, 1454 (Q2, IF: 3,520)

Wafi, A., Szabó-Bárdos, E., Horváth, O., Makó, É., Jakab, M., Zsirka, B. (2021) Coumarin-based quantification of hydroxyl radicals and other reactive species generated on excited nitrogen-doped TiO₂, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 404, 112913 (Q1, IF: 3,306)

Zsinka, V., Miskolczi, N., Juzsakova, T., Jakab, M. (2022) Pyrolysis-gasification of biomass using nickel modified catalysts: the effect of the catalyst regeneration on the product properties, *Journal of Energy Institute*, 105, 16-24 (Q1, IF: 6,47)

Irodalomjegyzék

- Albrektsson, T.,** Hansson, H. A. (1986) An ultrastructural description of the interface between bone and sputtered titanium or stainless steel surfaces, *Biomaterials*, 4, 167
- Ansar, E. B.,** Ajeesh, M., Yokogawa, Y., Wunderlich, W., Varma, H. (2012) Synthesis and characterization of iron oxide embedded hydroxyapatite bioceramics. *J Am Ceram Soc*, 1-5
- Arora, A.,** (2018) Optical and electric field control of magnetism, PhD dissertation, *Universität Potsdam, Potsdam*
- Avcu, E.,** Bastan, F. E., Abdullah, H. Z., Rehman, M. A. U., Avcu, Y. Y., Boccaccini, A. R. (2019) Electrophoretic deposition of chitosan-based composite coatings for biomedical applications: a review. *Prog Mater Sci*, 103, 69-108
- Babos, Gy.,** Rydz, J., Kawalec, M., Klim, M., Fodor-Kardos, A., Trif, L., Feczko, T. (2020) Poly(3-hydroxybutyrate)-based nanoparticles for sorafenib and doxorubicin anticancer drug delivery. *Int J Mol Sci*, 21, 7312
- Bakó, Z.,** Kotsis, I. (1992) Composition of precipitated calcium phosphate ceramics. *Ceramics International*, 18, 373-378
- Basha, R. Y.,** Sampath, Kumar, T. S., Doble M. (2015) Design of biocomposite materials for bone tissue regeneration, *Materials Science and Engineering*, 57, 452-463
- Baikie, T.,** Pramana, S. S., Ferraris, C., Huang, Y., Kendrick, E., Knight, S. K., Ahmad, Z., White, T. J. (2009) Polysomatic apatites. *Acta Cryst*, B66, 1-16
- Baino, F.,** Yamaguchi, S. (2020) The use of simulated body fluid (SBF) for assessing materials bioactivity in the context of tissue engineering: Review and challenges, *Biomimetics*, 5, 57
- Bigal, F.,** Ghabat, P., Bambert B. G. (1982) An experimental study of ceramic implants in sheeps and clinical applications. 2. *Biosimp*, Lignano
- Boch, P.,** Niepce, J-C. (2007) Ceramic materials: Processes, properties and applications. *ISTE Ltd.*, 514-515
- Bogdán, S.** (2014) Az arc-állcsont régióban történő autológ csontpótlások integrációját befolyásoló tényezők című PhD értekezés. *Semmelweis Egyetem, Budapest*
- Brånemark, P. I.** (1977) Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg*, 16, 1
- Brümmer, O.,** Heydenreich, J., Krebs, H. K., Schneider G. H. (1984) Szilárd testek vizsgálata elektronokkal, ionokkal és röntgensugárázással. *Műszaki Könyvkiadó, Budapest*

- Bulina, V. N.,** Makarova, V. S., Baev, G. S., Matvienko A. A., Gerasimov, B. K., Logutenko, A. O., Bystrov, S. V (2021) A study of thermal stability of hydroxyapatite. *Minerals*, 11, 1310
- Canas, E.,** Sanz, V., Orts, M. J., Sanchez E. (2019) Post deposition heat treatment effect on microstructure of suspension plasma sprayed bioactive glass coatings. *Surf Coat Technol*, 371, 136-142
- Carrodegua, R. G.,** De Aza, S. (2011) α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical application. *Acta Biomater*, 7, 3536-3546
- Carter, C. B.,** Norton, M. G. (2007) Ceramic Materials/Science and Engineering. *Springer*, 632-648
- Conde, A.,** de Damborenea, J. J. (2016) Degradation of vitreous enamel coatings. *Ref Modul Mater Sci Mater Eng*, 3, 2330-2336
- Cormack, A. N.** (2012) The structure of bioactive glasses and their surfaces. *Bio-glasses: an introduction*, Wiley, 65-74
- Chang, J.,** Zhou, Y. L., Zhou, Y. (2011) Surface modification of bioactive glasses. *Bioact Glas*, 29-52
- Chen, B.,** Zhang, T., Zhang, J., Lin, Q., Jiang, D. (2008) Microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite obtained by gel-casting process. *Ceramics International*, 34, 359-364
- Chen, Q. Z.,** Thompson, D. I., Boccaccini, A. R. (2005) 45S5 Bioglass[®]-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27, 2414-2425
- Damjanovich, S.,** Fidy, J., Szöllösi, J. (2007) Orvosi biofizika. *Medicina*, Budapest
- Divinyi, T.** (1998) Fogászati implantológia. *Springer Hungarica Kiadó Kft.*
- De Aza, P. N.** (2006) Progress in bioceramic materials, Ceramics and composite materials. *Nova Science Publishers*, 101-132
- Dobrádi, A.** (2018) Természetes eredetű kalcium-foszfát adalék hatása az apatit-wollasztonit üvegkerámiák tulajdonságaira című PhD értekezés, *Pannon Egyetem, Veszprém*
- Dobrádi, A.,** Enisz-Bódogh, M., Kovács, K., Balczár, I. (2015) Structure and properties of bio-glass-ceramic containing natural bones. *Ceramics International*, 41, 4874-4881
- Dorozhkin, S. V.** (2012) Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates. *Acta Biomater*, 8, 963-977
- Dorozhkin, S. V.** (2016) Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO₄) bioceramics and their biomedical applications. *Ceramics International*, 42, 6529-6554

- Dunlop, D. J., Özdemir, Ö.** (1997) Rock magnetism: Fundamentals and frontiers. *Cambridge University Press, Cambridge*
- Dunlop, D. J., Özdemir, Ö., Schubert, G.** (2007) Magnetizations in rocks and minerals. *Treatise on Geophysics*, 5, 277-336
- Eichenseer, C., Will, J., Rampf, M.** (2010) Biomorphous porous hydroxyapatite-ceramics from rattan (*Calamus Rotang*). *J Mater Sci*, 21, 131-137
- El-Hajje, A., Kolos, C. E., Wang, K. J., Maleksaeedi, S., He, Z., Wiria, E. F., Choong, C., Ruys, J. A.** (2014) Physical and mechanical characterisation of 3D-printed porous titanium for biomedical applications. *J Mater Sci*, 25, 2471-2480
- Fahlvik, A. K., Holtz, E., Leander, P., Schroder, U., Klaveness, J.** (1990) Magnetic starch microspheres, efficacy and elimination, a new organ-specific contrast agent for magnetic resonance imaging. *Invest Radiol*, 25, 113-120
- Fitzgerald, V., Pickup, D. M., Greenspan, D., Sarkar, G., Fitzgerald, J. J., Wetherall, K. M., Moss, R. M., Jones, J. R. Newport, R.** (2007) A neutron and X-Ray diffraction study of Bioglass® with reverse Monte Carlo modelling. *Adv Funct Mater*, 17, 3746-3753
- Fu, Q., Rahaman, M. N., Dogan, F., Bal, B. S.** (2008a) Freeze casting of porous hydroxyapatite scaffolds. I. Processing and general microstructure. *J Biomed Mater Res*, 86, 125-135
- Fu, Q., Rahaman, M. N., Dogan, F., Bal, B. S.** (2008b) Freeze casting of porous hydroxyapatite scaffolds. II. Sintering, microstructure, and mechanical behaviour. *J Biomed Mater Res*, 86, 514-522
- Garcia, E., Miranzo, P., Sainz, M. A.** Thermally sprayed wollastonite and wollastonite-diopside compositions as new modulated bioactive coatings for metal implants. *Ceram Int*, 44, 12896-12904
- Gopi, D., Ansari, M. T., Shinyjoy, E., Kavitha, L.** (2012) Synthesis and spectroscopic characterization of magnetic hydroxyapatite nanocomposite using ultrasonic irradiation. *Spectrochimica Acta Part A*, 87, 245-250
- Guba, S.** (2020) Mágneses kolloidok viselkedése külső elektromágneses terekben című PhD értekezés. *Pannon Egyetem, Veszprém*
- Hamed, E., Lee, Y., Jasiuk, I.** (2010) Multiscale modeling of elastic properties of cortical bone. *Acta Mech*, 213, 131-154
- Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C., Greenlee, J. T. K.** (1972) Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res*, 7, 25-42
- Hench, L. L.** (2013) An introduction to bioceramics. *Imperial College Press, London*
- Hill, R.** (1996) An alternative view of degradation of Bioglass. *J Mater Sci Lett*, 15, 1122-1125

- Hou, C. H.,** Hou, S. M., Hsueh, Y. S., Lin, J., Wu, H. C., Lin, F. H. (2009) The *in vivo* performance of biomagnetic hydroxyapatite nanoparticles in cancer hyperthermia therapy. *Biomaterials*, 30, 3956-3960
- Hulbert. S. F.,** Morisson, S. J., Klawitter, J. J. (1972) Tissue reaction to three ceramics of porous and non-porous structures. *J Biomed Mater Res*, 6, 347-374
- Iannotti, V.,** Adamiano, A., Ausanio, G., Lanotte, L., Aquilanti, G., Coey, J. M. D., Lantieri, M., Spina, G., Fittipaldni, M., Margarisi, G., Trohidou, K., Sprio, S., Montesi, M., Panseri, S., Sandri, M., Iafisco, M., Tampieri, A. (2017) Fe-doping-induced magnetism in nano-hydroxyapatites. *Inorg Chem*, 56, 4446-4458
- Iwasaki, T.,** Nakatsuka, R., Murase, K., Takata, H., Nakamura, H., Watano, S. (2013) Simple and rapid synthesis of magnetite/hydroxyapatite composites for hyperthermia treatments via mechanochemical route. *Int J Mol Sci*, 14, 9365-9378
- Jabraoui, H.,** Vaills, Y., Hasnaoui, A., Badawi, M., Ouaskit, S. (2016) Effect of sodium oxide modifier on structural and elastic properties of silicate glass. *J Phys Chem*, 120, 13193-13205
- Jones, J. R.** (2013) Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomater*, 9, 4457-4486
- Joób-Fancsaly, Á.** (2003) Fogászati implantátumok felületi morfológiájának vizsgálata című PhD értekezés. *Semmelweis Egyetem*, Budapest
- Jun, I-K.,** Song, J.-H., Choi, W.-Y., Koh, Y.-H., Kim, H.-E. (2007) Porous hydroxyapatite scaffolds coated with bioactive apatite-wollastonite glass-ceramics. *J Am Ceram Soc*, 90, 2703-2708
- Kaur, G.,** Pandey, O. M., Singh, K., Homa, D., Scott, B., Pickrell, G. (2014) A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite forming. *J Biomed Mater Part A*, 102A, 254-274
- Kawahara, D. K.,** Ong, J. L., Raikar, G. N., Lucas, L. C., Lemons, J. E., Nakamura, M. (1996) Surface characterization of radio-frequency glow-discharged and autoclaved titanium surface. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 11, 435-442
- Koc, N.,** Timucin, M., Korkusuz, F. (2004) Fabrication and characterization of porous tricalcium phosphate ceramics. *Ceram Int*, 30, 205-211
- Kokubo, T.,** Kushitani, H., Ohtsuki, C., Sakka, S., Yamamuro, T. (1992) Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W, *J Biomed Mater Res*, 24, 721-734
- Kokubo T.,** Takadama, H. (2006) How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27, 2907-2915

- Kovács, M.** (2010) Fluoridion ICP-AES módszerrel történő indirekt meghatározása és a lejátszódó reakciók komplex analitikai vizsgálata című PhD értekezés. *Pannon Egyetem, Veszprém*
- Kretlow, J. D., Klouda, L., Mikos, G. A.** (2007) Injectable matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Adv Drug Deliv*, 59, 263-273
- Kristóf, J.** (2000) Kémiai analízis II., *Veszprémi Egyetemi Kiadó, Veszprém*
- Lee, K-Y., Mooney, D. J.** (2001) Hydrogels for tissue engineering, *Chem. Rev*, 101, 1869-1880
- Lee, K-Y., Park, M., Kim, H. M., Lim, J. Y., Chun, H. J., Kim, H., Moon, S. H.** (2006) Ceramic bioactivity: progresses, challenges and perspectives. *Biomed Mater*, 1(2), R31-R37
- Lukács, Gy.** (1982) Színmérés, *Műszaki Könyvkiadó, Budapest*
- Lutzweiler, G., Halili, N. A., Vrana, N. E.** (2020) The overview of porous, bioactive scaffolds as instructive biomaterials for tissue regeneration and their clinical translation. *Pharmaceutics*, 12, 602
- Magyari, K., Baia, L., Vulpoi, A. L., Simon, S., Popescu, O., Simon, V.** (2014) Bioactivity evolution of the surface functionalized bioactive glasses. *J Biomed Mater Part B Appl Biomater*, 103, 261-272
- Mallick, K. K., Winnett, J.** (2014) 3D bioceramic foams for bone tissue engineering. *Bone Substitut Biomaterials*, University of Warwick, UK
- Marghussian, V.** (2015) Magnetic properties of nano-glass ceramics, *Nano-Glass Ceramics*, 181-223
- Matsunga, K., Kubota, T., Toyoura, K., Nakamura, A.** (2015) First-principles calculations of divalent substitution of Ca^{2+} in tricalcium phosphates. *Acta Biomater*, 23, 329-337
- Melchels, F. P. W., Feijen, J., Grijpma, D. W.** (2009) A poly(D,L-lactide) resin for the preparation of tissue engineering scaffolds by stereolithography. *Biomaterials*, 30, 3801-3809
- Michot, L. J., Villiéras, F.** (2006) Surface area and porosity, *Developments in clay science, handbook of clay science, Elsevier*, 5, 965-978
- Mondal, S., Manivasagan, P., Bharathiraja, S., Santha, M., M. H. H. Kim., Seo, H., K. D. Lee, J. Oh.** (2017) Magnetix hydroxyapatite: a promising multifunctional platform for nanomedicine application. *Int J Nanomed*, 12, 8389-9410
- Mozafari, M., Banijamali, S., Baino, F., Kargozar, S., Hill, G. R.** (2019) Calcium carbonate: Adored and ignored in bioactivity assessment. *Acta Biomater*, 91, 35-47
- Neo, M., Nakamura, T., Ohtsuki, C., Kokubo, T., Yamamuro, T.** (1993) Apatite formation of three kinds of bioactive materials at early stage in vivo: a comparative study by transmission electron microscopy. *J Biomed Mater Res*, 27, 999-1006

- Niranjan, R.,** Jithendra, T. B. R., Stephen, C. M., George, J. D. (2020) Effect of chitosan infiltration on hydroxyapatite scaffolds derived from New Zealand bovine cancellous bones for bone regeneration, *Int J Biomed Macro.*, 160, 1009-1020
- Novitskaya, E.,** Chen, P. Y., Lee, S., Castro-Cesenia, A., Hirata, G., Lubarda, V. A., McKittrick, J. Anisotropy in the compressive mechanical properties of bovine cortical bone and the mineral and protein constituents. *Acta Biomater.*, 7, 3170-3177
- Nyíró-Kósa, I.** (2010) Szintetizált magnetit nanorészecskék méretének és alakjának szabályozása című PhD értekezés, *Pannon Egyetem, Veszprém*
- Oliver, J. N.,** Su, Y., Lu, X., Kuo, P-H., Du, J. (2019) Bioactive glass coatings on metallic implants for biomedical applications. *Bioactive Materials*, 4, 261-270
- Ogino, M.,** Ohuchi, F., Hench, L. L. (1980) Compositional dependence of the formation of calcium phosphate films on bioglass. *J Biomed Mater Res*, 14, 55-64
- Pentlavalli, S.,** McCarthy, O. H., Dunne, J. N. (2018) Hydrogel for Bone Regeneration: An Overview. *Hydrogels – Design, Synthesis and Application in Drug Delivery and Regenerative Medicine*, CRC Press, 102-128.
- Petrici, G.,** Carinci, F., Carusi, G., Epistatus, D., Villa, T., Crivelli, F., Rossi, F., Perale, G. (2015) Composite polymer-coated mineral scaffolds for bone regeneration: from material characterization to human studies. *J Biol Regul Homeo Ag*, 29, 136-148
- Pishbin, F.,** Mourino, V., Gilchrist, J. B., McComb, D. W., Kreppel, S., Salih, V., Ryan, M.P., Boccaccini, A. R. (2013) Single-step electrochemical deposition of antimicrobial orthopaedic coatings based on a bioactive glass/chitosan/nano-silver composite system. *Acta Biomater.*, 9, 7469-7479
- Pogosova, M. A.,** Provotorov, D. I., Eliseev, A. A., Jansen, M., Kazin, P. E. (2015) Synthesis and characterization of the Bi-for-Ca substituted copper-based apatite pigments. *Dyes and Pigments*, 13, 96-101
- Pouliquen, D.,** Le Jeune, J. J., Perdrisot, R., Ermias, A., Jallett, P. (1991) Iron oxide nanoparticles for use as an MRI contrast agent: pharmacokinetics and metabolism. *Magn Res Im*, 9, 275-283
- Pozsgai, I.** (2016) Képzéskészítés, kémiai analízis és szerkezeti vizsgálat a korszerű pásztázó elektronmikroszkópban. *Typotex Kiadó, Budapest*
- Rác, J.** (2017) Mágneses nanorészecske hipertermia című PhD értekezés, *Debreceni Egyetem, Debrecen*
- Roohani-Esfahani, S. I.,** Nouri-Khorasani S., Lu, Z. F., Appleyard, R. C., Zreğat, H. (2011) Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behaviour of composite coated scaffolds. *Acta Biomater.*, 7, 1307-1318

- Schulte, W.,** Heimke, G., D'Hoedt, B. (1980) Enossale Implantate (Frialit-Typ Tübingen) aus Aluminiumoxidkeramik. *Der heutige Stand der Implantologie*, München
- Schwertmann, U.,** Cornell, R. M. (2000) Iron oxides in the laboratory: Preparation and characterization, *Wiley*, Weinheim
- Seeram, E.** (2015) Computed tomography: Physical principles, clinical applications and quality control. *Elsevier*
- Shao, H.,** He, J., Lin, T., Zhang, Z., Zhang, Y., Liu, S. (2019) 3D gel-printing of hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering. *Ceramic International*, 45, 1163-1170
- Shen, S.,** Cai, S., Xu, G., Zhao, H., Niu, S., Zhang, R. (2015) Influence of heat treatment on bond strength and corrosion resistance of sol-gel derived bioglass-ceramic coatings on magnesium alloy. *J Mech Behav Biomed Mater*, 45, 166-174
- Shipley, H.,** McDonnell, D., Culleton, M., Coull, R., Lupoi, R., O'Donnell, G., Trimble, D. (2018) Optimisation of process parameters to address fundamental challenges during selective laser melting of Ti-6Al-4V: A review. *Int J Mach Tool Manuf*, 128, 1-20
- Singh, D.,** Lorenzo-Martin, M. D., Gutierrez-Mora, F., Routbrot, J. L., Case, E. D. (2006) Self-joining of zirconia/hydroxyapatite composites using plastic deformation process. *Acta Biomater*, 2, 669-675
- Stevens, M. M.** (2008) Biomaterials for bone tissue engineering, *Materials Today*, 11, 18-24
- Sugimoto, T.,** Matijevic, E. (1980) Formation of uniform spherical magnetite particles by crystallization from ferrous hydroxide gels. *J Colloid Interf Sci*, 74, 227-243
- Takashi, H.,** Yashima, M., Kakihana, M., Yoshimura, M. (2001) A differential scanning calorimeter study of monoclinic (P2₁/b) ↔ hexagonal (P6₃/m) reversible phase transition in hydroxyapatite. *Thermochim Acta*, 371:53-6
- Tamás, F.** (1970) Szilikátipari laboratóriumi vizsgálatok. *Műszaki Könyvkiadó*, Budapest
- Tampieri, A.,** Sprio, S., Ruffini, A., Celotti, G., Lesci, G. I., Roveri, N (2009) From wood to bone: multi-step process to convert wood hierarchical structures into biomimetic hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *J Mater Chem*, 19, 4973-4980
- Tombácz, E.,** Bica, D., Hajdú, A., Illés, E., Majzik, A., Vékás, L. (2008) Surfactant double layer stabilized magnetic nanofluids for biomedical application. *J Phys.: Condens Matter*, 20
- Towe, K. M.,** Bradley, W. F. (1967) Mineralogical constitution of colloidal „hydrous ferric oxides”. *J Colloid Interf Sci*, 24, 384-392
- Verdonk, R.,** Goubau, Y., Almqvist, F. K., Verdonk, P. (2015) Biological methods to enhance bone healing and fracture repair. *Arthroscopic and Related Surgery*, 31, 715-718

- Wang, C.,** Wang, Z., Qin, Y., Yin, X., Huang, A. (2018) Released volatile organic compounds in southern yellow pine before and after heat treatment, *Int J Environ Res Public Health*, 15, 2579
- Watzek, G.** (1993) Enossale Implantante in der oralen Chirurgie. *Quintessenz*, Berlin
- White, A. A.,** Best, S. M. (2007) Hydroxyapatite-carbon nanotube composites for biomedical applications: A review. *Int J Appl Ceram Techn*, 4(1) 1-13
- Wilson, J.,** Pigott, H. G. Schoen, F.J., Hench, L. L. (1981) Toxicology and biocompatibility of bioglasses. *J Biomed Mater Res*, 15, 805-817
- Wu, K.,** Diqing, S., Liu, J., Saha, R., Wang, J. P. (2019) Magnetic nanoparticles in nanomedicine: a review of recent advances. *Nanotechnology*, 36, 502003
- Zhao, J.,** Xiao, S. G., Lu, X., Wang, J. X., Weng, J. (2006) A study on improving mechanical properties of porous HA tissue engineering scaffolds by hot isostatic pressing. *Biomedical Materials*, 1, 188-192
- Zilm, M. E.,** Chen, L., Sharma, V., McDannald, A., Jain, M., Ramprasad, R., Wei, M. (2016) Hydroxyapatite substituted by transition metals: experiment and theory. *Roy Soc of Chem*

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőm **Dr. Eniszné dr. Bódogh Margit** szakmai iránymutatását, segítségét és türelmét. Köszönöm az Anyagmérnöki Intézeti Tanszéken dolgozó kollégáim áldozatos munkáját és támogatását.

Köszönöm családom és Sarkadi Zsófia töretlen szeretetét, erkölcsi támogatását és gondoskodását.