



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

FACOLTA' DI INGEGNERIA

Corso di Laurea Triennale in Ingegneria Meccanica

**CARATTERIZZAZIONE MICROSTRUTTURALE DI
CAMPIONI RETICOLARI IN LEGA DI TITANIO
FABBRICATI TRAMITE ADDITIVE MANUFACTURING**

**Microstructural Characterization of Titanium Alloy Reticular
Samples Fabricated Through Additive Manufacturing**

Relatore:

Prof.ssa **Santecchia Eleonora**

Studente:

Paoletti Mattia

Correlatore:

Dott.ssa **Gatto Maria Laura**

A.A. 2021 / 2022

INDICE

1. Introduzione	4
1.1. Tissue engineering.....	4
1.2. Scaffolds	5
1.3. Additive manufacturing e leghe di Ti.....	6
1.4. Scopo della tesi.....	11
2. Materiali e Metodi	12
2.1. Oggetto dello studio	12
2.1.1. Approccio allo studio	12
2.2. Preparazione dei campioni metallografici.....	13
2.2.1. Inglobatura	13
2.2.2. Lucidatura	14
2.2.3. Attacco chimico	16
2.3. Studio della microstruttura	17
2.4. Analisi tomografica	18
2.4.1. Acquisizione.....	19
2.4.2. Ricostruzione tomografica (slicing).....	20
2.4.3. Segmentazione (binarizzazione).....	22
2.4.4. Analisi morfometrica	23
2.4.5. Modello 3D	25
3. Risultati e Conclusioni	26
3.1. Microscopia ottica	26
3.2. Microscopia elettronica	29
3.3. Analisi tomografica	31
3.3.1. Parametri di interesse	31
3.3.2. Modello 3D	34
4. Conclusioni Generali	35

1. INTRODUZIONE

1.1. Tissue engineering

Attorno agli anni 70 compare per la prima volta il termine di ingegneria tissutale inteso esclusivamente come la, mera, manipolazione di tessuti e organi.

Nel 1988, però, Durante il 1st Tissue Engineering (TE) Symposium, tenutosi in California, si assiste ad un primo tentativo di coniazione del vero e proprio termine di ingegneria tissutale [1]. È in questa occasione che viene definita come “l’applicazione dei principi e dei metodi dell’ingegneria e delle scienze della vita per comprendere a fondo la relazione che esiste tra struttura e funzione nei tessuti viventi normali e patologici, per lo sviluppo di sostituti biologici che possano ripristinare, mantenere e migliorare la funzione tissutale” (Fox and Skalak, 1988).

La primaria esigenza era quella di definire una nuova branca della ricerca medica che agglomerasse gli innumerevoli risultati ottenuti nelle più distanti discipline scientifiche quali: ingegneria, chimica, biologia, fisica, medicina al fine di ottenere soluzioni applicabili al campo clinico.

La tecnologia proposta, agli inizi, era basata sullo studio di cellule viventi e sistemi innovativi che replicassero le caratteristiche meccaniche, chimiche e fisiche di tessuti e organi reali.

Con l’avanzare degli studi, però, fu da subito evidente che vi era notevole difficoltà nella riproduzione di organi e tessuti equiparabili a quelli reali dettata dallo sviluppo di tessuti bioattivi validi come alternativa agli impianti inerti.

È in questo contesto che venne approfondita l’alternativa degli scaffolds (tradotto letteralmente in italiano: impalcature), strutture che, attualmente, rappresentano la principale risorsa dell’ingegneria tissutale.

Ad oggi, l’ingegneria tissutale, rappresenta un campo interdisciplinare che vede l’applicazione dei principi e dei metodi dell’ingegneria e delle scienze della vita con il fine di soddisfare le esigenze mediche legate a tessuti e organi ricreandoli, ingegnerizzandoli e favorendone la riparazione [2].

1.2. Scaffolds

Con il termine scaffold si intende un supporto tridimensionale poroso realizzato con un materiale biocompatibile e biorassorbibile; in particolare, gli scaffolds per l'ingegneria tissutale dell'osso sono strutture altamente sofisticate studiate per favorire inizialmente l'attacco, l'adesione (spreading) e la proliferazione cellulare, seguite dalla successiva deposizione di nuovo tessuto osseo, che, con il tempo, possa rimpiazzare l'impianto artificiale. Gli studi condotti nell'ambito dell'ingegneria tissutale (settore tuttora in grande espansione) oltre a contribuire allo sviluppo di nuove strutture adattabili alle applicazioni previste, hanno portato ad indagare su quali fossero le qualità funzionali e meccaniche che queste devono possedere per adempiere alle funzioni fisiologiche e soddisfare gli intenti perseguiti.

La porosità e la struttura costituiscono parametri fisici fondamentali nella valutazione di uno scaffold, in quanto da questi dipende la corretta adesione del tessuto cellulare al corpo impiantato.

La porosità consente di combinare efficacemente le proprietà fisiche dello scaffold a quelle dell'osso nella macro e microstruttura; questa varia in relazione all'applicazione di interesse: la dimensione dei pori ottimale per i tessuti duri si aggira intorno ai 100-400 μm [1].

La struttura rappresenta, invece, il principale responsabile delle proprietà meccaniche associabili allo scaffold, difatti lo studio di questo parametro deve essere svolto in funzione dell'applicazione a cui è dedicato l'impianto.

Negli anni sono emerse differenti possibili geometrie di realizzazione, sia bidimensionali che tridimensionali, fino ad arrivare alla possibilità di realizzare strutture variabili nello spazio con celle elementari di dimensioni differenti.

Oltre alle proprietà fisiche che uno scaffold deve soddisfare hanno notevole importanza anche le proprietà chimiche. Da queste dipendono, infatti, fattori fondamentali quali: biocompatibilità, biodegradabilità, ovvero la capacità che ha il materiale di essere successivamente sostituito dalla struttura ossea, e processabilità, ossia la lavorabilità e sterilizzazione del materiale.

Le proprietà chimiche di uno scaffold sono determinate principalmente dal materiale con cui viene realizzato, motivo per il quale lo studio dei materiali applicabili a questo tipo di tecnologia è in continua evoluzione. Dal campo dei polimeri al campo delle leghe

metalliche lo scaffolding rappresenta, ad oggi, una delle migliori alternative finalizzate alla costruzione di impianti per il campo ortopedico.

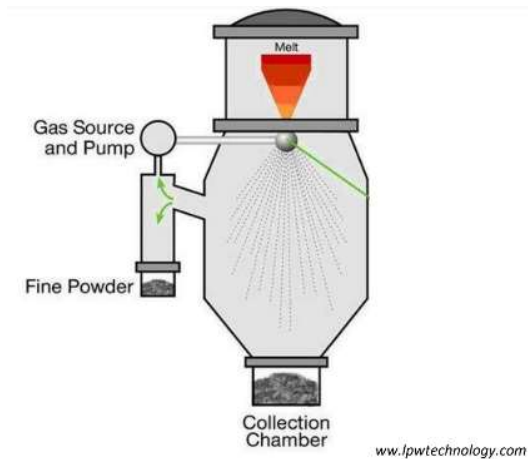
1.3. Additive manufacturing e leghe di Ti

L'additive manufacturing è una tecnologia produttiva innovativa che rappresenta una delle tecnologie abilitanti di quella che viene più comunemente chiamata "quarta rivoluzione industriale" o Industry 4.0.

Lo sviluppo di questa tecnologia fonda le sue radici a partire dagli anni '80 e le prime ricerche da parte del signor Chuck Hull ne vedono l'applicazione nel campo dei polimeri con lo scopo di ottimizzare la produzione industriale. Ben presto, l'evoluzione di questa tecnologia consentì di realizzare anche componenti metallici aprendo, così, le porte alle applicazioni nel campo aeronautico e militare.

Grazie agli studi effettuati negli anni, risultano ormai ben chiare le potenziali e molteplici applicazioni dell'additive manufacturing, una tecnologia che, nel particolare, può essere applicata al campo dell'ingegneria tissutale. Vi è, difatti, una perfetta coesione tra le potenzialità legate alla tecnologia dell'additive manufacturing e la realizzazione di protesi mediante scaffold per il campo ortopedico.

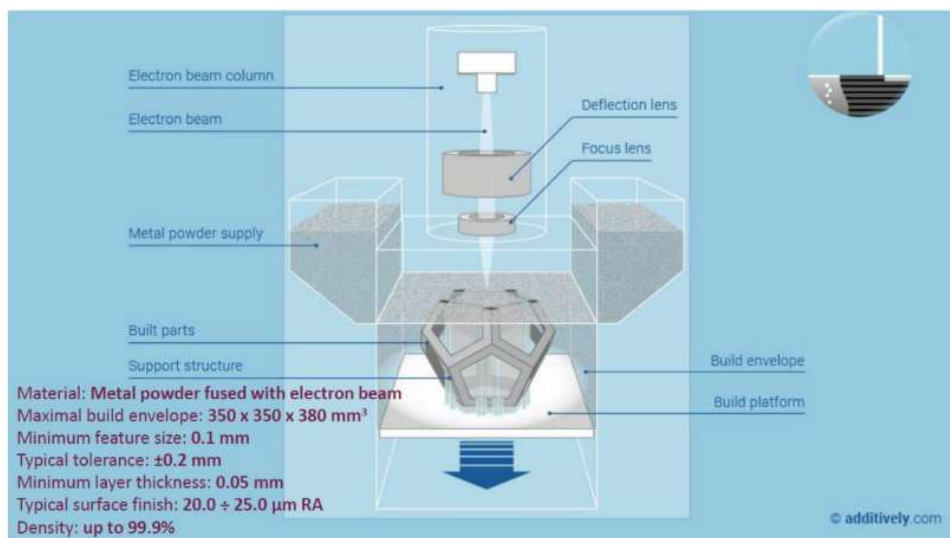
Le tecnologie di stampa nel campo dell'additive manufacturing sono molteplici. L'electron beam powder bed fusion (EB-PBF) ovvero stampa su letto di polvere con fusione a fascio elettronico è, ad oggi, uno dei metodi di stampa più utilizzati nel campo della produzione additiva di materiali metallici. Tale tecnologia sfrutta una fonte di energia termica per fondere e solidificare strati di polvere metallica, in cui le sezioni trasversali vengono fuse selettivamente strato su strato. Il componente stampato viene, dunque, ottenuto dalla sovrapposizione di strati di materiale fuso e solidificato e la polvere metallica non processata può essere recuperata e riutilizzata. Tale polvere viene prodotta mediante processo di atomizzazione. Questo sistema di produzione della polvere metallica (Fig.1) vede l'uso di un crogiuolo che, rilasciando un filamento della lega in questione, permette la collisione di quest'ultimo con un getto di gas inerte ad alta pressione (solitamente Argon). La collisione produce, così, particelle sferiche che, depositandosi e solidificandosi, danno origine alla polvere metallica, la quale viene successivamente immagazzinata in un contenitore sottostante.



(Fig.1) Processo di atomizzazione

Fonte: materiale didattico

Nel particolare, il processo di stampa mediante EB-PBF (Fig.2) vede una sorgente termica di tipo elettronica, motivo per il quale l'atmosfera della camera di stampa deve necessariamente essere controllata, in modo da permettere agli elettroni di raggiungere la zona di impatto. Il processo di stampa parte dalla deposizione di uno strato omogeneo di polvere della lega metallica con cui verrà realizzato il componente. Si procede, poi, con la fusione della polvere nelle zone colpite dal fascio di elettroni che, spostandosi sullo strato depositato, fonde le zone interessate e definite dal modello CAD. Una volta completato lo strato, un coltello distributore procede rilasciando un altro strato omogeneo di polvere. Il processo continua fino al completamento del componente che alla fine sarà immerso in una matrice polverosa. Il pezzo verrà, poi, estratto e ripulito.



(Fig.2) Stampa su letto di polvere con fusione a fascio elettronico

Fonte: materiale didattico

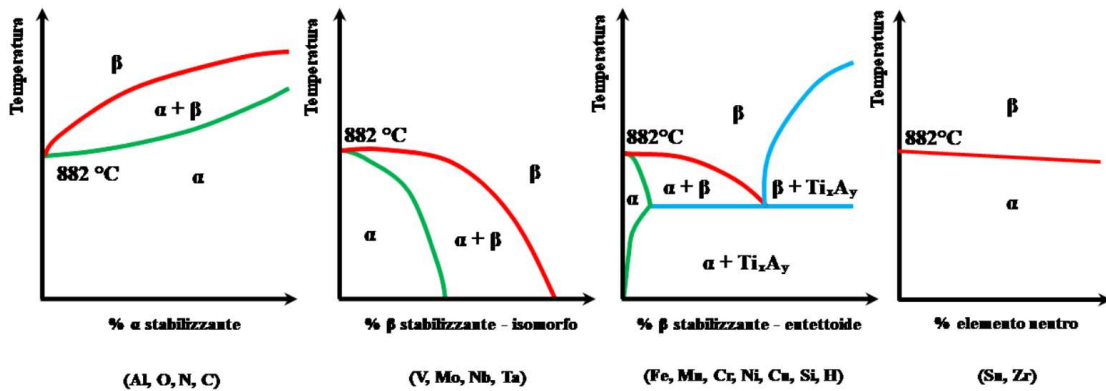
Questa tecnologia di stampa permette di ottenere campioni scaffold compatibili con i requisiti imposti dagli studi, in quanto risulta essere molto precisa e consente di ottenere strutture porose a seconda delle esigenze.

Le leghe di titanio derivano dall'aggiunta di vari elementi chimici al titanio puro.

Il titanio possiede una ottima resistenza meccanica allo snervamento e alla rottura oltre che ad un'eccellente resistenza alle varie forme di corrosione. Ha, inoltre, una densità superiore rispetto ad altri metalli leggeri di interesse strutturale (magnesio e alluminio ad esempio) ma che rimane pari a circa la metà della densità degli acciai. Il titanio possiede, inoltre, coefficienti di conducibilità e dilatazione termica molto bassi.

Per quanto riguarda la struttura cristallina, il titanio ammette una trasformazione di tipo allotropica mediante la quale il reticolo cristallino, passa da una configurazione CCC (Cubica a Corpo Centrato), a temperatura ambiente, ad una configurazione EC (Esagonale Compatto), a temperature di transizione elevate. Tipicamente, per il titanio puro, viene mantenuta una configurazione CCC del reticolo cristallino fino ad una temperatura di 882°C, oltre la quale il reticolo passa ad una struttura di tipo EC.

Gli elementi di lega si classificano in α o β stabilizzanti, in base ai relativi effetti sulla temperatura di transizione α - β o sulla diversa solubilità nelle due differenti fasi. Nelle leghe binarie, ad esempio, la transizione da fase α a β non avviene ad una temperatura ben precisa, come nel caso del titanio puro, ma in un intervallo di temperatura, definito come β -transus, che dipende intrinsecamente dalla quantità di elementi α o β stabilizzanti aggiunti alla lega. Questi possono, difatti, innalzare o abbassare la temperatura di transizione β -transus. In Fig.3 viene riportato un esempio in cui si evidenzia l'effetto dei principali elementi di lega sulla temperatura di transizione β -transus e sulla stabilità delle fasi α e β .



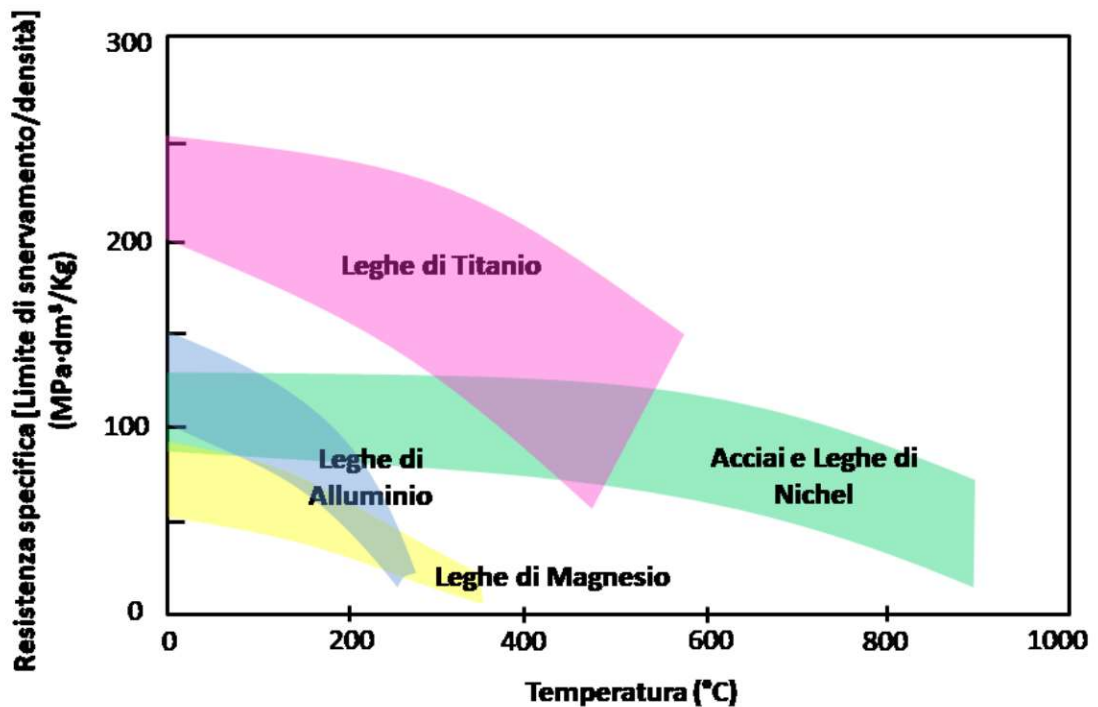
(Fig.3) esempio di differenti tipologie di diagrammi di stato binari

Fonte: [3]

Variando, quindi, il tipo e la quantità di elementi aggiunti (anche detti “alliganti”) è possibile ottenere, a temperatura ambiente, leghe con presenza predominante di fase α piuttosto che di fase β o viceversa, oppure leghe bifasiche che vedono la coesistenza di fase α e fase β . A causa del maggior numero di piani di scorrimento nella struttura CCC (Cubica a Corpo Centrato) della fase β rispetto alla struttura EC (Esagonale Compatta) della fase α , si ha, generalmente, che la fase β del titanio è quella caratterizzata da una maggiore duttilità, mentre la fase α è più forte ma meno duttile. Il titanio bifasico α - β ha, invece, proprietà intermedie.

Le leghe di titanio raggiungono valori di resistenza meccanica, talvolta, superiori a 1200 MPa, con valori di modulo elastico che, in funzione delle fasi presenti e della microstruttura, possono variare dagli 80 ai 145 GPa. In particolare, il modulo elastico incrementa con l’aumento degli elementi interstiziali e dell’alluminio; si ha, poi, un incremento generale della durezza con l’aumento degli elementi β stabilizzanti [3].

In Fig.4 viene riportato, a scopo indicativo, l’andamento della resistenza specifica all’aumentare della temperatura per differenti tipi di materiali metallici.



(Fig.4) resistenza specifica in funzione della temperatura di esercizio delle leghe di titanio a confronto con altre leghe metalliche

Fonte: [3]

La lavorazione delle leghe di titanio con EB-PBF consente di ottenere numerosi benefici sul pezzo finito. Questo risulta, infatti, avere basso peso specifico combinato ad una bassa conducibilità termica. Le proprietà meccaniche risultano, inoltre, eccellenti ed emergono una elevata biocompatibilità ed elevata resistenza alla corrosione. I principali vantaggi delle leghe di titanio sono, difatti, la leggerezza e la biocompatibilità.

Le leghe di Ti-Al, specialmente la lega di Ti-48Al-2Cr-2Nb, sono una classe di leghe metalliche, ormai affermate come ottimali per la produzione di componenti mediante electron beam powder bed fusion (EB-PBF). Componenti in leghe di titanio, realizzati mediante la tecnologia EB-PBF, sono attualmente ampiamente utilizzati per applicazioni biomediche. La lega, più usata per questo tipo di applicazioni risulta essere il Ti6-Al4-V, questa lega ha una buona biocompatibilità soprattutto in casi di contatto diretto con tessuto ed ossa; tuttavia, oltre a presentare scarsa resistenza a taglio, numerosi studi hanno dimostrato come, a causa della presenza del vanadio, talvolta, si incorra in reazioni infiammatorie dovute agli ossidi prodotti [4].

Da recenti pubblicazioni emerge che la lega di Ti-48Al-2Cr-2Nb, tuttavia, possiede proprietà in grado di ridurre questi effetti e di favorire la proliferazione cellulare, motivo per il quale, ad oggi, questa lega è oggetto di numerosi studi e ricerche [5].

1.4. Scopo della tesi

Questo elaborato si pone come obiettivo principale quello di contribuire alla ricerca legata alla stampa 3D delle protesi e delle sue potenziali applicazioni al campo dell'ingegneria tissutale. Nel particolare si studierà la micro e macrostruttura di uno scaffold in Ti-48Al-2Cr-2Nb realizzato tramite fusione a letto di polvere con fascio elettronico (EB-PBF). Verrà, inoltre, approfondita l'influenza delle caratteristiche morfometriche dello scaffold sulle proprietà meccaniche e di biocompatibilità.

2. MATERIALI E METODI

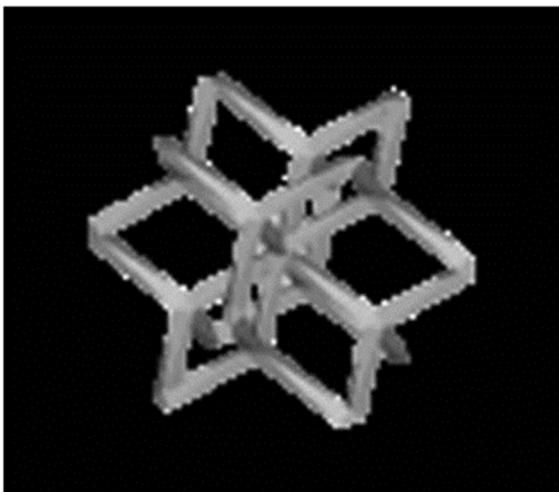
2.1. Oggetto dello studio

Lo studio in oggetto prenderà in analisi uno scaffold in lega biocompatibile di Ti-48Al-2Cr-2Nb realizzata mediante stampa 3D con tecnologia electron beam powder bed fusion (EB-PBF).

Il campione ha forma cubica di lato 1 cm, ed è costituito da celle elementari dodecagonali con dimensione degli strut di 0,29 mm (Fig.5). Il campione ha porosità nominale del 96%.

La macchina di stampa utilizzata è una Arcam A2X, che, in condizioni standard lavora con polveri costituite da particelle di dimensioni 45-150 μm . La temperatura di preriscaldamento della camera è stata fissata a 1050 °C.

Terminata la stampa la pulizia finale del campione è avvenuta con un getto di aria compressa a 4,5 bar.



(Fig.5) Struttura dodecagonale della cella elementare
Fonte [4]



(Fig.6) Scaffold analizzato

2.1.1. Approccio allo studio

Si andrà, dapprima, ad analizzare la microstruttura del campione fornendosi di mezzi quali microscopia ottica ed elettronica. Successivamente verranno investigati parametri morfometrici propri della struttura dello scaffold sfruttando le potenzialità della microtomografia.

2.2. Preparazione dei campioni metallografici

La preparazione dei campioni metallografici ha lo scopo di ottenere dei campioni adatti all'osservazione al microscopio e alla successiva caratterizzazione microstrutturale. La preparazione si compone principalmente di due fasi:

- *Inglobatura*
- *Lucidatura*

La prima consente di ottenere un campione facilmente maneggevole con lo scopo di facilitare l'operazione successiva di lucidatura, fase in cui, invece, si prepara effettivamente il campione per l'osservazione al microscopio.

Alle due fasi principali viene aggiunta la fase di attacco chimico, processo con il quale si mettono in risalto dettagli della superficie metallica che sarebbero altrimenti impossibili da osservare.

2.2.1. *Inglobatura*

La fase di inglobatura del campione può essere eseguita sfruttando il metodo di inglobatura a caldo o a freddo. Nel caso in questione l'inglobatura a caldo è risultata inadatta in quanto ha prodotto un campione in cui, la matrice in resina fenolica, appariva come non polimerizzata e lo scaffold al suo interno risultava disgregato.

Questa procedura si basa, infatti, sulla fase di pressofusione della resina, all'interno della quale è annegato il componente da inglobare. Per eseguire una corretta inglobatura il produttore raccomanda una pressione di 25 KN esercitata per circa 7 minuti ad una temperatura di circa 170° C; tuttavia, lo scaffold in analisi risulta avere una resistenza nominale a compressione di 500 Newton, motivo per il quale il risultato della prima inglobatura ha prodotto un campione completamente disgregato, inadatto, quindi, alla fase successiva di lucidatura.



(Fig.7) Risultato inglobatura a caldo

l'unica alternativa all'inglobatura a caldo risulta, quindi, essere l'inglobatura a freddo, nella quale il campione non viene sottoposto ad alcuno stress termico né meccanico, ma viene immerso all'interno di una forma con una resina bicomponente che, indurendosi, restituisce un campione pronto per passare al processo di lucidatura.

Terminata la fase di inglobatura viene inciso sul retro, attraverso un punzonatore, un riferimento direzionale che tornerà, poi, utile nella fase successiva.



(Fig.8) Fase di inglobatura a freddo

2.2.2. Lucidatura

Lo scopo del processo di lucidatura è quello di ottenere una superficie metallica il più liscia possibile e priva di asperità superficiali o di vuoti evidenti. Consiste nell'assottigliare la parte rimasta in superficie del campione nella matrice in resina tenendo premuto il dischetto su carte abrasive di SiC messe in rotazione da un apposito strumento di lavoro; durante il processo il disco abrasivo è lubrificato mediante un getto d'acqua in modo da favorire lo scorrimento del dischetto sulla superficie aderente e da

limitare l'effetto di surriscaldamento legato all'attrito che si genera tra i due corpi. Il processo viene eseguito manualmente.

Per lucidare adeguatamente un campione è necessario, inizialmente, utilizzare un disco molto abrasivo (caratterizzato, quindi, da una dimensione media dei grani di SiC relativamente grande) per poi procedere con dischi via via più fini, in modo da rendere la superficie sempre più liscia. Per ottenere un risultato ottimale da questo processo è necessario ruotare di 90 gradi il campione ad ogni cambio di dimensione della carta abrasiva, in modo da limitare le incisioni generate sul campione dal passaggio della carta abrasiva precedente. Come riferimento viene presa la freccia precedentemente incisa sul campione dopo la fase di inglobatura.

Si è fatto uso di diversi dischi abrasivi caratterizzati da un valore di densità media dei grani sull'area di 600, 1200, 2000, 4000 [$\mu\text{m}/\text{mm}^2$]. Aumentando questo valore il potere abrasivo della carta diminuisce.



(Fig.9) Fase di lucidatura

La fase di lucidatura viene alternata ad una fase di osservazione preliminare al microscopio ottico al fine di valutare la qualità della superficie e la possibile presenza di incisioni sul campione. Prima di essere osservato al microscopio, il campione viene asciugato con un compressore.

Si continua con la fase di assottigliamento, aumentando progressivamente il valore della carta abrasiva utilizzata, fino ad ottenere una superficie priva di difetti superficiali.



(Fig.10) Campione risultante dalla fase di lucidatura

Una volta terminata la fase di lucidatura, il campione è pronto per la prima osservazione al microscopio ottico.

2.2.3. Attacco chimico

Lo scopo dell'attacco chimico è quello di mettere in evidenza dettagli della microstruttura del materiale, in modo da poter osservare bordi di grano, geminati, linee di flusso e precipitati grossolani.

Consiste nell'esporre la superficie del campione ad una soluzione di acidi in modo da creare un contrasto superficiale che permetta alla luce riflessa di mettere in risalto la morfologia dell'elemento in questione. L'operazione viene svolta all'interno di una cappa chimica che garantisce condizioni ottimali di esercizio e consente di svolgere l'attacco chimico in sicurezza (Fig.11).



(Fig.11) Cappa chimica in cui viene effettuato il processo di attacco chimico

Il tempo di azione dell'acido sul campione assume fondamentale importanza, in quanto una permanenza eccessiva della soluzione sulla superficie potrebbe produrre bruciature, le quali impedirebbero, poi, di eseguire una corretta osservazione del campione al microscopio.

Nel caso in esame il campione è stato sottoposto all'azione di una soluzione acida per circa 20 secondi composta da:

- 2 ml di acido fluoridrico (HF);
- 4 ml di acido nitrico (HNO₃);
- 50 ml di acqua (H₂O).

L'azione dell'acido viene interrotta mediante l'utilizzo di etanolo. Dopo una attenta asciugatura con un getto di aria compressa il campione è pronto per l'osservazione.

2.3. Studio della microstruttura

Lo studio della microstruttura è stato svolto con l'ausilio di un microscopio ottico e di un microscopio elettronico a scansione (SEM).

Nel particolare, sono state effettuate osservazioni al MO prima e dopo l'attacco chimico utilizzando ingrandimenti di: 2.5x1, 10x1, 20x1, 50x1, 100x1.

Le osservazioni al microscopio elettronico a scansione, invece, sono state effettuate dopo attacco chimico e si è resa necessaria la costruzione di un ponte conduttivo sul campione al fine di evitare accumuli di carica che avrebbero impedito la corretta osservazione.

È stato utilizzato un microscopio Tescan VEGA 3 con sorgente di elettroni ad emissione termoionica (Fig.12), una tensione di accelerazione del fascio elettronico di 30 kV e una working distance (WD) variabile da circa 15,78 mm a 17 mm. Le immagini catturate sono state acquisite mediante un rilevatore di elettroni retrodiffusi (BSE, back scattered electrons).



(Fig.12) Microscopio elettronico (SEM) utilizzato per le acquisizioni



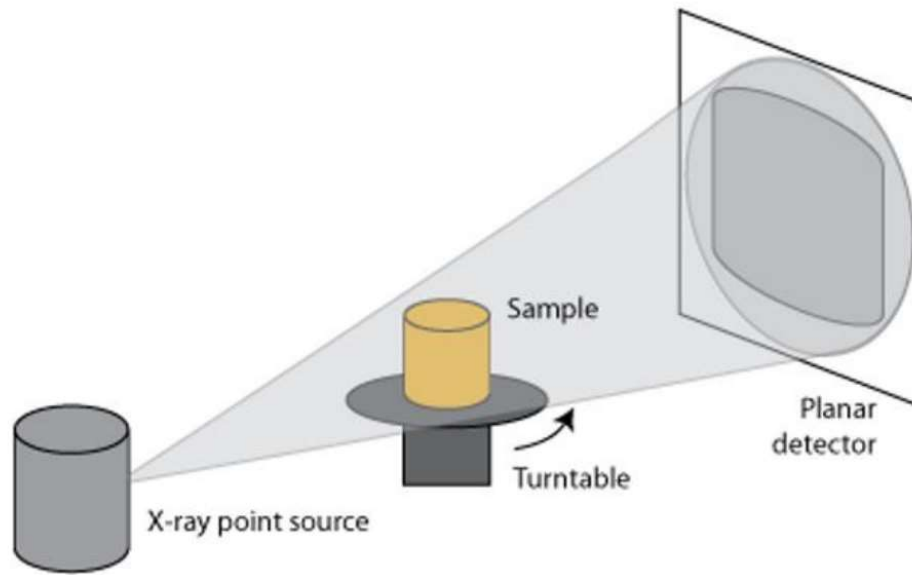
(Fig.13) Fase di introduzione del campione in camera

2.4. Analisi tomografica

“Tomos” in greco tagliare, sezionare. La tomografia microCT è un test non distruttivo che permette di ottenere una immagine tridimensionale ad alta risoluzione, come la combinazione di immagini bidimensionali (dette appunto “slices”, tradotto in italiano “fette”) ottenute successivamente alla scansione del provino rispetto ad un asse di rotazione. L’opportuna manipolazione del modello ottenibile dal tomografo consente di ottenere dati sulla morfometria del provino, altrimenti impossibili da conseguire con i più classici metodi di analisi, motivo per il quale è stato scelto questo metodo per la trattazione.

Un tomografo, come descritto nello schema di funzionamento in Fig.14, è composto da:

- una sorgente di raggi X,
- un filtro (ed eventualmente un collimatore) che permette di focalizzare il fascio di elettroni,
- un mandrino, avente 4 gradi libertà (3 spaziali e uno rotazionale), che consente il posizionamento con precisione micrometrica del campione all’interno dell’area di misurazione,
- un detector



(Fig.14) Principio di funzionamento della microtomografia computerizzata (fonte [6])

l'analisi tomografica si compone di cinque fasi fondamentali:

- *Acquisizione*
- *Ricostruzione tomografica (slicing)*
- *Segmentazione (binarizzazione)*
- *Analisi morfometrica*
- *Modello 3d*

le fasi verranno, di seguito, analizzate nel dettaglio al fine di esplicitare le procedure seguite per l'ottenimento dei risultati.

2.4.1. Acquisizione

L'acquisizione delle informazioni connesse al passaggio dei raggi X attraverso il campione avviene per mezzo di un detector. Il detector è uno schermo contenente una lega di berillio, e permette di convertire il flusso di elettroni che lo colpisce, in un segnale elettrico interpretabile da un calcolatore. Durante l'emissione dei raggi X forniti dalla sorgente, il provino viene fatto ruotare mediante il mandrino a cui è solidale. Ad angoli di rotazione del provino più piccoli (di conseguenza velocità di scansione contenute) corrisponderà una più alta risoluzione dell'immagine CT. Completato il

processo di scansione si ottiene un blocco di immagini che, opportunamente manipolate dal software, nella fase di ricostruzione tomografica, daranno vita ad un unico modello risultante dall'accoppiamento delle immagini ottenute.

L'acquisizione delle scansioni è avvenuta mediante un macchinario tomografico Zeiss Metrotom 1500 (Fig.15), ad una tensione di 199 kV, una corrente di 130 μ A e una pixel size di 11.2 μ m. Viene, Inoltre, interposto un filtro in rame (Cu) tra la sorgente di raggi X e il campione. Il tempo di acquisizione per ogni scansione è pari a 2 s. L'angolo totale di acquisizione è di 360° e si è assunto un angolo di rotazione unitario del mandrino pari a 0.18 gradi per un totale di circa 2000 scansioni ottenute.



(Fig.15) Macchinario tomografico usato per l'analisi

2.4.2. Ricostruzione tomografica (slicing)

Il blocco di scansioni, ottenute dal processo di acquisizione, viene elaborato da un software, dando vita ad un unico modello risultante dalla combinazione delle immagini. Attraverso il processo di slicing, dal modello ottenuto, si ricava un numero scelto di sezioni trasversali, appunto le “slices”.

Il modello è stato ottenuto dalla combinazione di circa 2000 Scansioni.

Quest'ultimo è stato, poi, elaborato dal software di ricostruzione SkyScan NRecon con le seguenti condizioni imposte: smoothing = 3, ring artefacts reduction = 6; beam hardening correction = 30%.

Il programma ha, inoltre, compensato possibili disallineamenti avvenuti durante l'acquisizione.

Il processo ha prodotto un totale di 1177 slices.

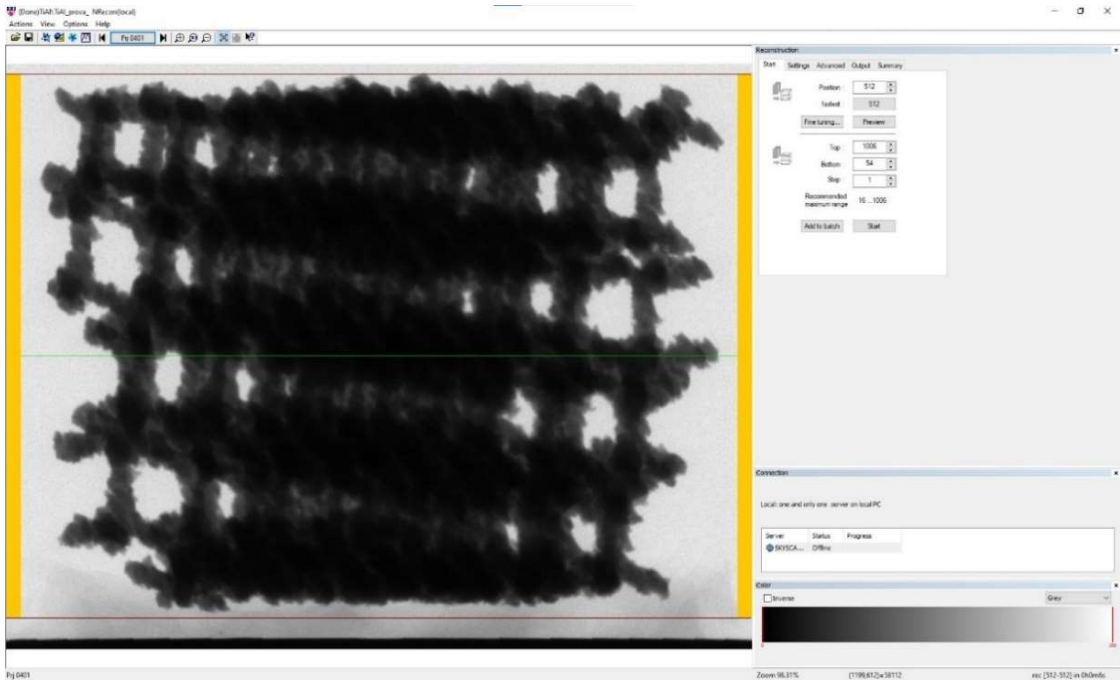
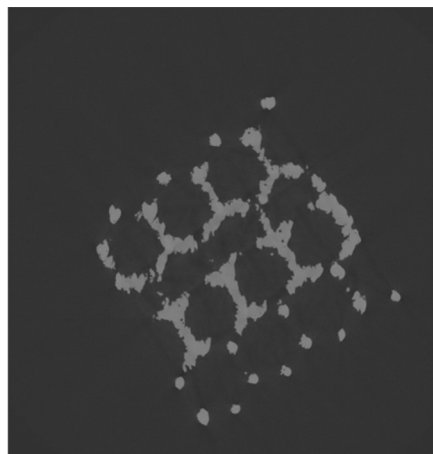


Fig.16) Risultato della combinazione delle scansioni



(Fig.17) Esempio di slice ottenuta dal processo di slicing

2.4.3. Segmentazione (binarizzazione)

La segmentazione è il processo che permette di estrarre oggetti di interesse dalle slices. Tale operazione viene eseguita in due fasi: definizione della ROI (Region Of Interest) in cui si trova l'oggetto e binarizzazione (selezione dell'oggetto).

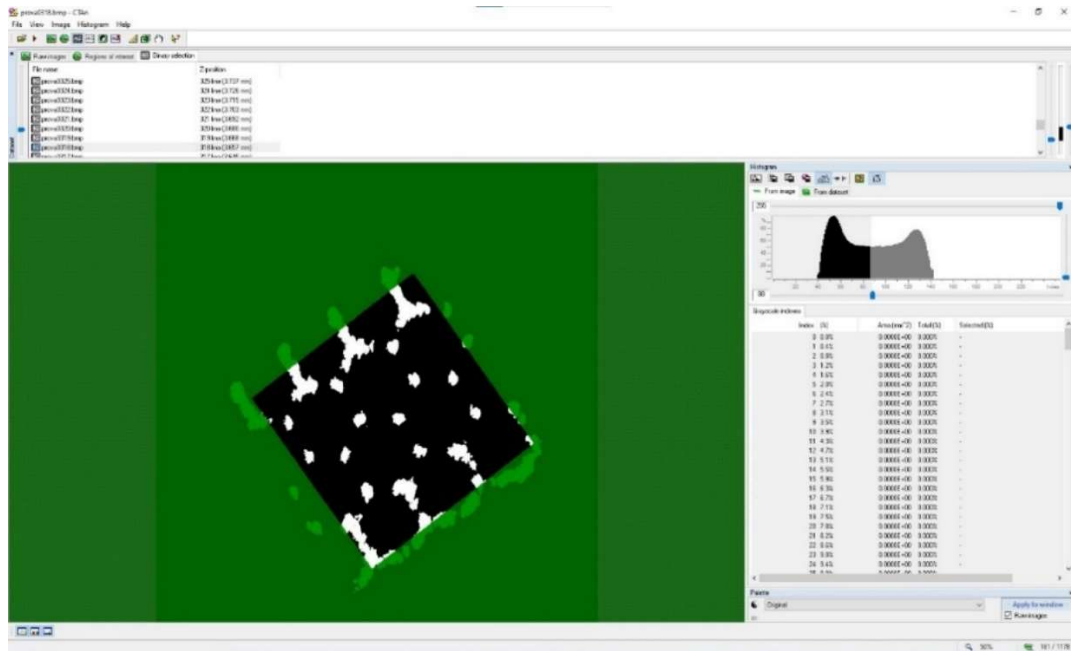
Questa fase è di fondamentale importanza per il calcolo dei parametri di interesse. Si definisce, dapprima, una ROI (Region Of Interest) ossia una zona utile in cui far lavorare il software di calcolo. L'obiettivo di questa fase è selezionare un'area sulle slices che comprenda un volume il più rappresentativo possibile, in modo da limitare gli errori di calcolo.

Si procede, poi, con il processo di binarizzazione che, servendosi di una scala di grigi, permette di identificare la presenza di materiale o meno sul volume ricostruito. Per fare ciò viene definito un "threshold", ovvero una soglia limite di intensità di grigio che delimita la presenza o meno di materiale.

Nell'analisi svolta si è definita una ROI di forma quadrata (come riportato in Fig.18). Ai fini statistici per il calcolo dei parametri, il blocco di 1177 slices ottenuto è stato suddiviso in 3 sotto-stack (201 slices ognuno) in modo da generare 3 VOI (Volume Of Interest) aventi come base comune la ROI creata. Il calcolo dei parametri avverrà separatamente su ogni volume di interesse. Nel particolare si ha:

- VOI 1: da slice 175 a 375
- VOI 2: da slice 380 a 580
- VOI 3: da slice 585 a 785

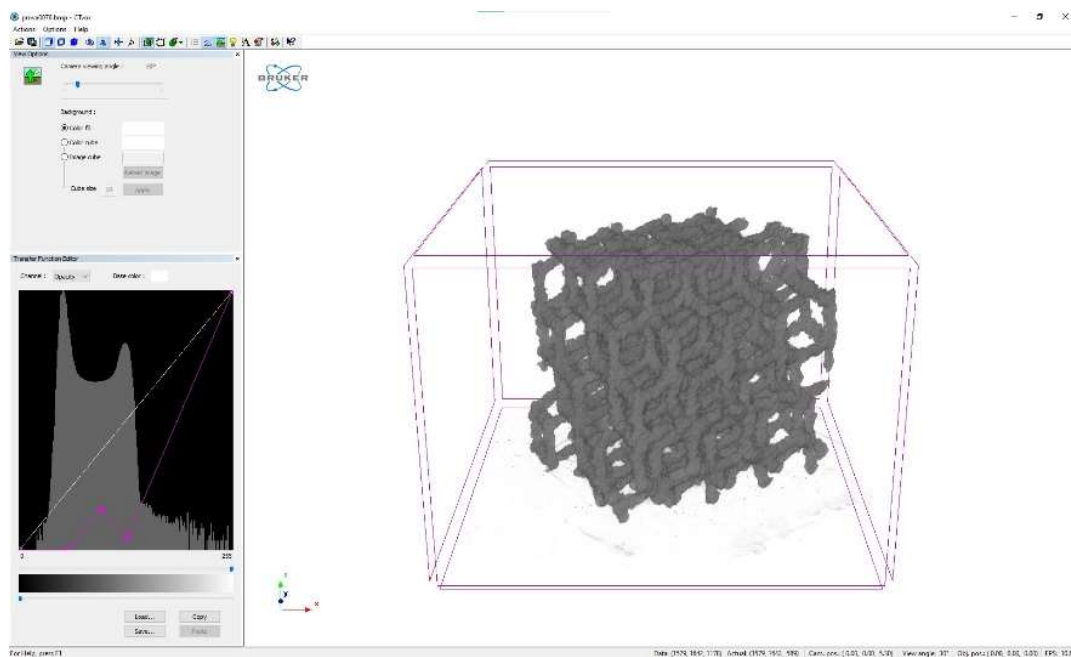
Il threshold è stato fissato ad un valore di 88 su un fondo scala di 255. Viene assegnato il colore bianco al "pieno" e il colore nero al "vuoto".



(Fig.18) Processo di segmentazione: definizione della ROI, binarizzazione (scala di grigi in alto a dx)

2.4.4. Analisi morfometrica

L'analisi morfometrica viene eseguita sul modello digitale risultante dalla combinazione delle slices (Fig.19). Questa fase consente di ottenere svariati parametri morfometrici relativi al provino.



(Fig.19) Modello risultante dalla combinazione delle slices

I parametri morfometrici dello scaffold sono stati esaminati con l'ausilio del software SkyScan CT-analyser (vers. 1.17.7.2). L'analisi è stata svolta per ciascuno dei 3 VOI, ha di conseguenza prodotto 3 blocchi di dati.

I parametri di interesse selezionati sono:

- Structure thickness
- Structure linear density
- Structure separation
- Closed porosity
- Open porosity

Viene riportata per ciascun parametro una breve descrizione [7].

Structure thickness: Lo spessore locale per un punto nel solido. È definito come il diametro della più grande sfera che soddisfa due condizioni: la sfera racchiude il punto ma il punto non è necessariamente il centro della sfera, la sfera è interamente delimitata all'interno delle superfici solide.

Structure linear density: densità lineare della struttura, viene calcolata per una unità di lunghezza in direzione trasversale su un percorso lineare casuale attraverso il VOI.

Structure separation: è sostanzialmente la dimensione dei pori, calcolati mediante binarizzazione, all'interno del VOI.

Closed porosity: è il volume dei pori chiusi espresso in percentuale del totale del solido sommato al volume dei pori chiusi all'interno del VOI. Per “poro chiuso” si intende un insieme connesso di spazio vuoto, completamente circondato, tridimensionalmente, da spazio pieno. Questo parametro morfometrico, nel caso in analisi, indica la percentuale di pori all'interno degli strut. È dovuto al processo di stampa scelto e influenza la densità.

Open porosity: volume dei “pori aperti” espresso in percentuale del VOI sommato al volume dei pori aperti. Per “poro aperto” si intende un qualsiasi spazio situato all'interno di un oggetto solido, o tra oggetti solidi, che ha una qualsiasi connessione tridimensionale con lo spazio esterno all'oggetto o con l'oggetto. Questo parametro è dovuto alla geometria del campione ed è stato definito in fase di progetto dello scaffold.

2.4.5. Modello 3D

Il modello 3D viene ottenuto caricando uno stack di slices in un apposito software, che, elaborandole e combinandole restituisce un modello tridimensionale dello scaffold in analisi.

Nel caso in esame è stato caricato uno stack di 400 slices sul programma di calcolo ImageJ, le slices sono state, poi, binarizzate e, mediante l'uso del Plug in BoneJ, si è ottenuto il modello tridimensionale.

3. RISULTATI E CONCLUSIONI

3.1. Microscopia ottica

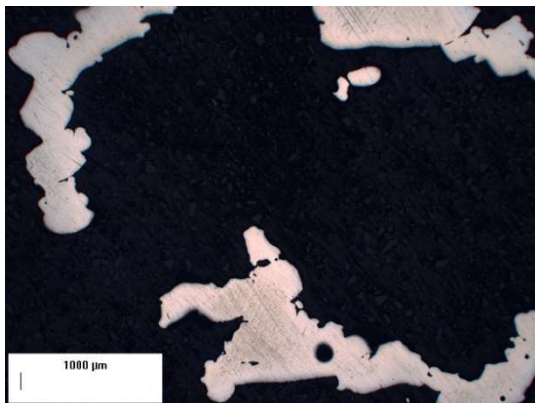
L'acquisizione delle immagini con microscopio ottico è avvenuta sia immediatamente dopo la fase di lucidatura che successivamente alla fase di attacco chimico.

Le immagini vengono sotto riportate:

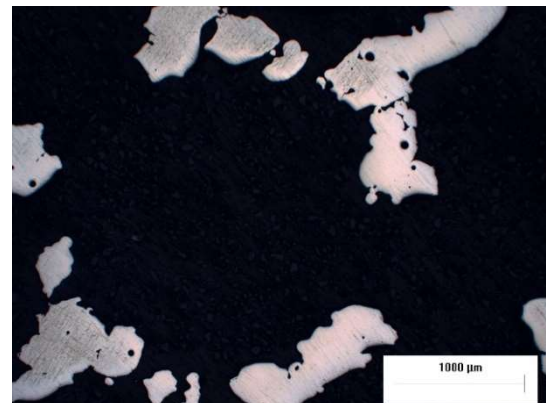
- Dopo lucidatura

Dalla fig.20 e fig.21 si nota chiaramente la struttura della cella elementare dodecagonale dello scaffold, che, difatti, presenta una struttura esagonale lungo la direzione bidimensionale. Si notano, inoltre, numerosi spazi vuoti circolari all'interno degli strut dello scaffold, il che porta a pensare che dall'analisi tomografica risulteranno valori di porosità interna relativamente elevati.

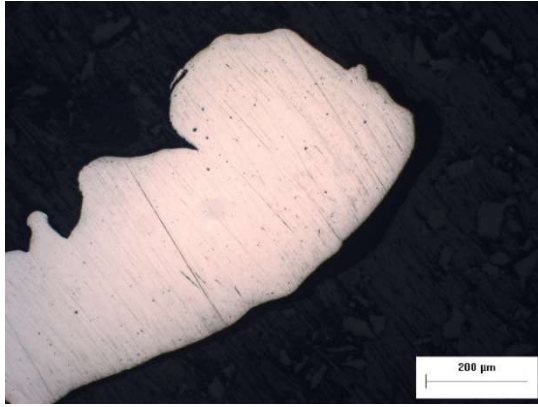
Trovandoci in presenza di una struttura molto porosa, quindi, l'operazione di lucidatura ha prodotto alcuni graffi che è possibile notare in Fig.22, Fig.23 e Fig.24, in quanto potrebbero essersi creati attriti e trascinamenti tra i micropori (pori chiusi) della struttura e i grani di SiC della carta abrasiva. A più elevati ingrandimenti (Fig.24), inoltre, si nota come siano ancora riconoscibili le zone di fusione predilette dal fascio elettronico e dove, invece, il processo di fusione della polvere è risultato meno efficace.



(Fig.20) acquisizione al MO ingrandimento 2.5x1



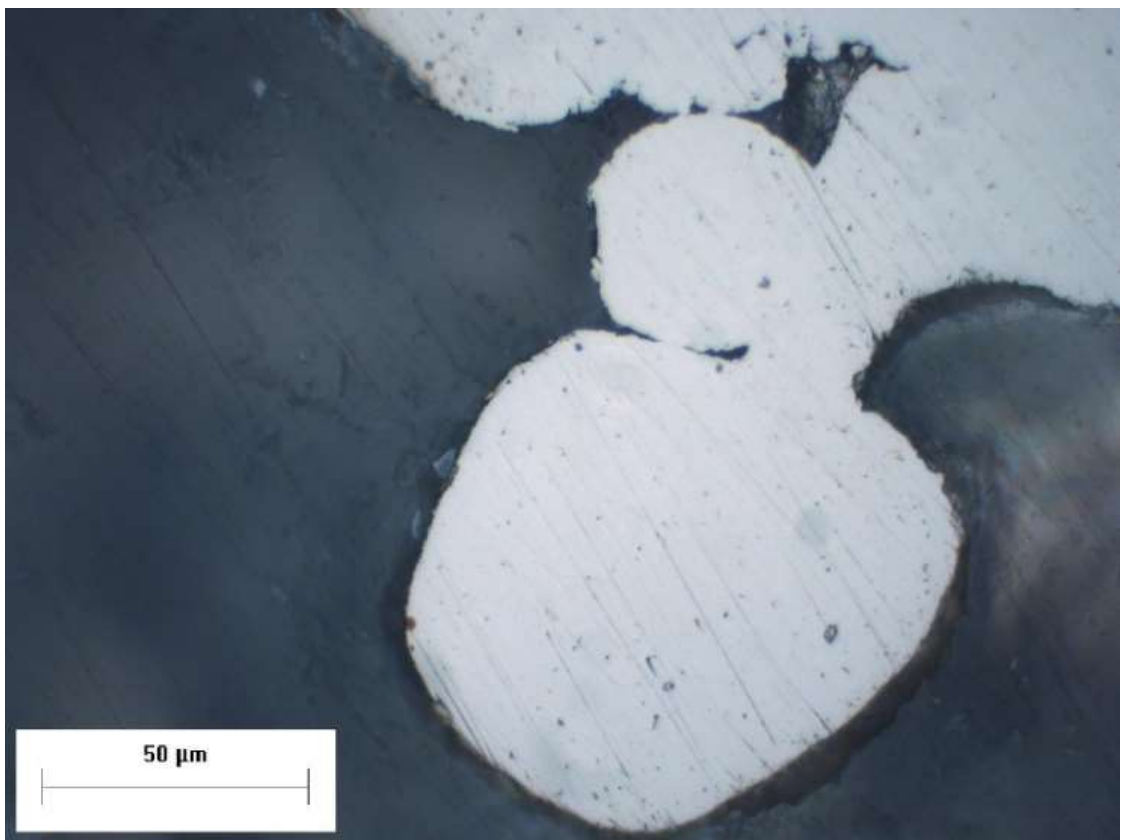
(Fig.21) acquisizione al MO ingrandimento 2.5x1



(Fig.22) acquisizione al MO ingrandimento 10x1



(Fig.23) acquisizione al MO ingrandimento 20x1



(Fig.24) acquisizione al MO ingrandimento 50x1

- Dopo attacco chimico

È ad ingrandimenti superiori che si evidenzia la microstruttura della lega di cui è composto lo scaffold. Come si può notare in fig.25, fig.26, fig.27 vi è una prevalente presenza di fase α_2 (Ti₃Al) e fase γ (TiAl), con zone intermedie composte da una fase di tipo $\gamma+\alpha_2$.

Durante il processo di stampa la lega metallica segue una evoluzione microstrutturale che è stata dimostrata essere la seguente (Mohammad 2017) [8]. La lega inizia a solidificare con la formazione di fase β ma completa la solidificazione come α monofase attraverso una trasformazione peritettica ($L+\beta=\alpha$). Successivamente, quando la lega si raffredda al di sotto della temperatura α transus, si forma una certa quantità di fase γ . Infine, al raggiungimento della temperatura eutettica, la restante fase α si trasforma in una miscela lamellare di fase $\gamma+\alpha_2$.

Nel particolare la struttura a grani coassiali (matrice che appare più chiara nelle immagini) è prevalentemente composta da fase γ . La frazione di volume γ/α_2 all'equilibrio termodinamico è fortemente influenzata dal processo di raffreddamento che la lega subisce durante il processo di stampa mediante EBM [9].

La velocità di raffreddamento, inoltre, influenza pesantemente la distanza tra le lamelle che compongono le varie fasi, che nello studio di questa lega è stato dimostrato avere un valore medio di 0,6 μm [10].

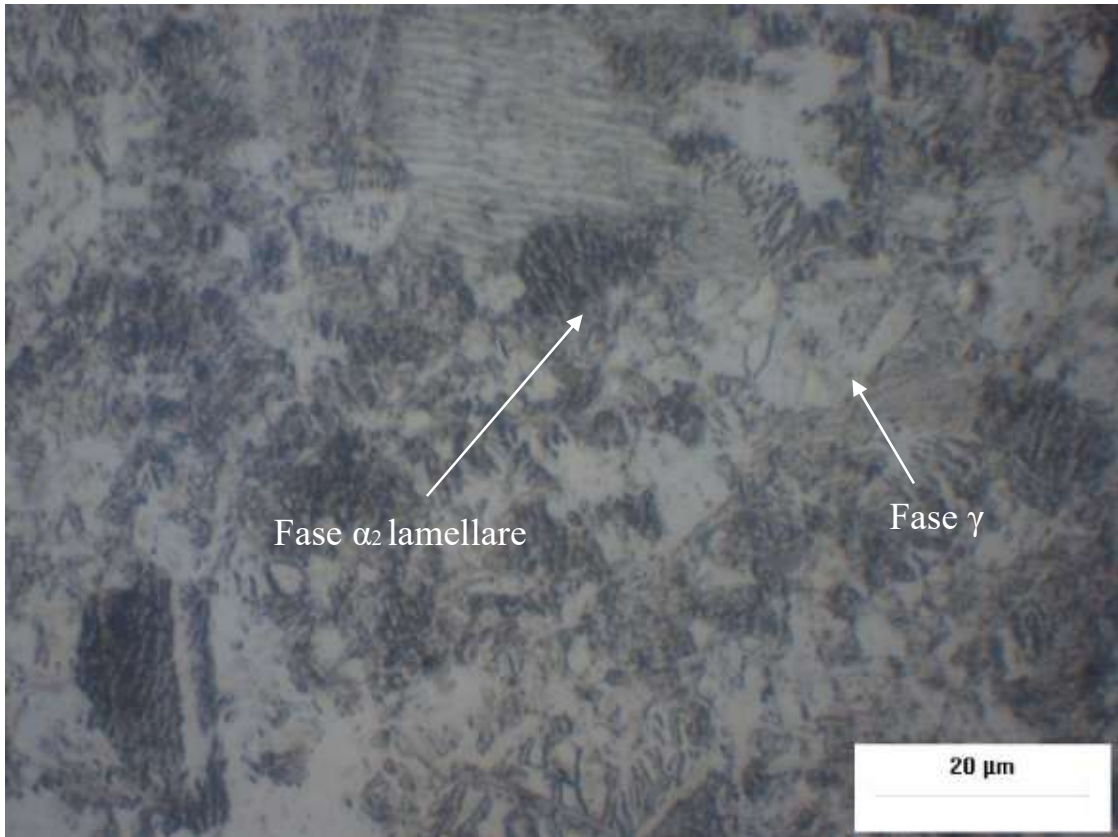
La microstruttura del campione in analisi è paragonabile a quella ottenuta in [10] in cui è descritto un notevole incremento di fase β all'aumentare della temperatura di preriscaldamento della camera.



(Fig.25) Acquisizione al MO, ingrandimento 50x1



(Fig.26) Acquisizione al MO, ingrandimento 50x1

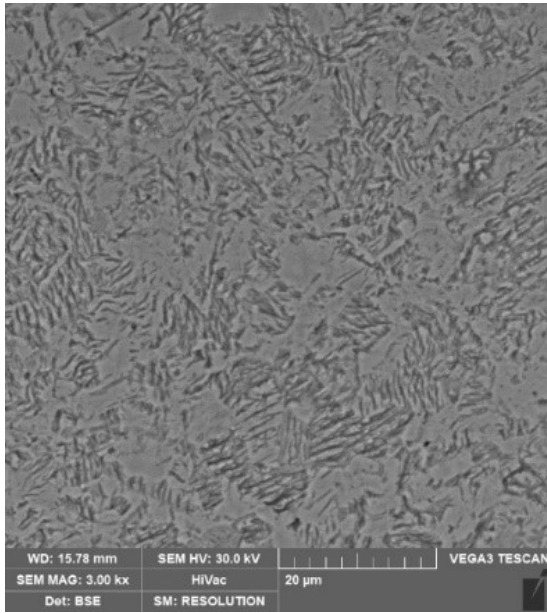


(Fig.27) Acquisizione al MO, ingrandimento 100x1

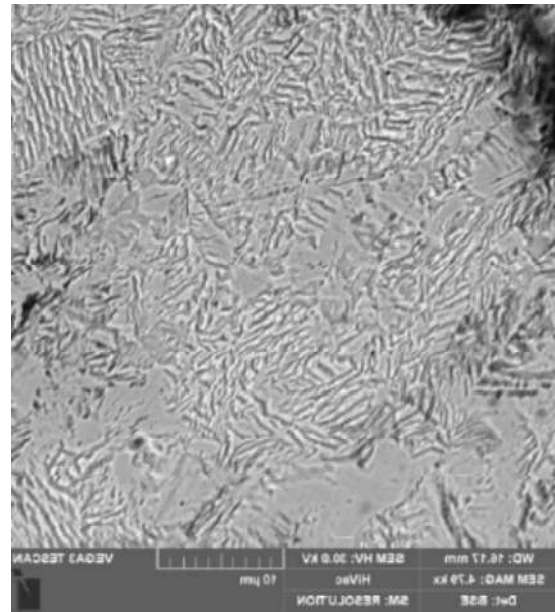
3.2. Microscopia elettronica

Le Fig.28, Fig.29, Fig.30 presentano la classica struttura della lega di Ti-48Al-2Cr-2Nb stampata mediante EBF, con la presenza predominante di una microstruttura lamellare. Come dimostrato in [11] la distanza tra le lamelle che compongono la fase α_2 è influenzata dal preriscaldamento della camera.

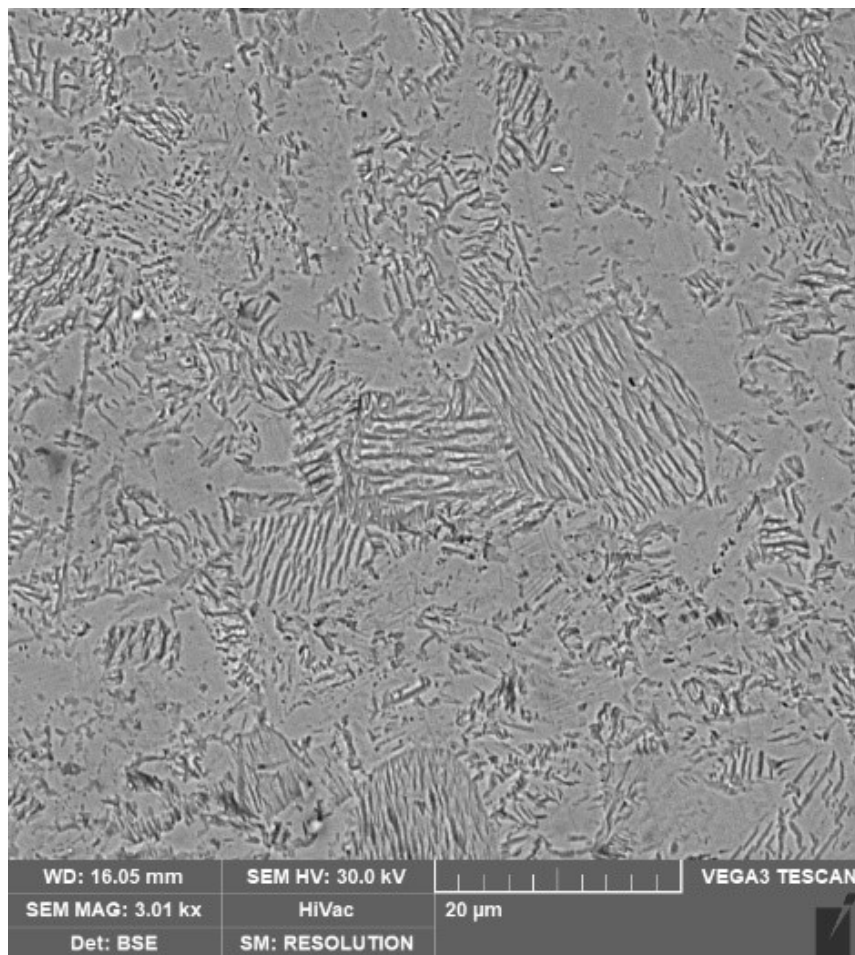
Grani coassiali a struttura lamellare e piccole distanze tra le lamelle portano ad elevata duttilità e buona resistenza meccanica.



(Fig.28) Acquisizione al SEM



(Fig.29) Acquisizione al SEM



(Fig.30) Acquisizione al SEM

3.3. Analisi tomografica

3.3.1. Parametri di interesse

Vengono riportati i tre gruppi di parametri di interesse ottenuti dall'analisi tomografica, ciascuno calcolato sul proprio VOI. Viene, poi, riportato il calcolo di media e deviazione standard dei parametri di interesse:

VOI 1:

Slice 175-375	Unità di misura	Valori
Structure thickness, St.Th.	[mm]	0,36842
Structure linear density, St.Li.Dn.	[1/mm]	0,44765
Structure separation, St.Sp.	[mm]	1,3792
Closed porosity, Po(cl)	[%]	0,085377
Open porosity, Po(op)	[%]	83,494

(Tabella 1) Parametri di interesse VOI 1

VOI 2:

Slice 380-580	Unità di misura	Valori
Structure thickness, St.Th.	[mm]	0,36786
Structure linear density, St.Li.Dn.	[1/mm]	0,44437
Structure separation, St.Sp.	[mm]	1,3870
Closed porosity, Po(cl)	[%]	0,074540
Open porosity, Po(op)	[%]	83,641

(Tabella 2) Parametri di interesse VOI 2

VOI 3:

Slice 585-785	Unità di misura	Valori
Structure thickness, St.Th.	[mm]	0,36709
Structure linear density, St.Li.Dn.	[1/mm]	0,45445
Structure separation, St.Sp.	[mm]	1,4061
Closed porosity, Po(cl)	[%]	0,12133
Open porosity, Po(op)	[%]	83,298

(Tabella 3) Parametri di interesse VOI 3

Calcolo di media e deviazione standard:

Parametri di interesse	Unità di misura	Media	Deviazione standard
Structure thickness	[mm]	0,3678	0,0007
Structure linear density	[1/mm]	0,449	0,005
Structure separation	[mm]	1,391	0,014
Closed porosity	[%]	0,094	0,024
Open porosity	[%]	83,48	0,17

(Tabella 4) Calcolo di media e deviazione standard dei parametri di interesse

Analizzando i parametri ottenuti, si notano degli scostamenti dai valori nominali.

Nel particolare lo spessore medio degli strut (structure thickness) risulta molto maggiore rispetto alla dimensione nominale di progetto (0,3 mm). Il motivo di tale incremento è attribuibile ai limiti legati alla tecnologia di realizzazione. La stampa mediante EB-PBF, pur essendo estremamente precisa, infatti, non arriva a livelli di risoluzione così elevati. L'aumento dello spessore medio degli strut influenza in particolar modo la percentuale di porosità aperta del campione (open porosity) producendo, di conseguenza un notevole decremento della percentuale di porosità totale.

La percentuale di porosità totale del campione, data dalla somma delle percentuali di porosità aperta e chiusa (che, dai dati, risulta molto inferiore rispetto alla porosità aperta), assume un valore di circa 83,5 %. Vi è un grande scostamento tra il valore di

porosità nominale (96%) e il valore di porosità aperta ottenuta dall'analisi ($83,48 \% \pm 0,17 \%$), tuttavia, questo valore rientra all'interno del range ammissibile definito per applicazioni ortopediche e quindi adatto a potenziali applicazioni reali [1].

La structure separation può, nel caso in analisi, essere interpretata come dimensione media dei pori. Questa è data dalla media delle dimensioni di macropori (pori aperti) e micropori (pori chiusi), questi ultimi influenzati prevalentemente dal processo produttivo del campione. Il parametro structure separation risulta, quindi, strettamente correlato alla porosità totale.

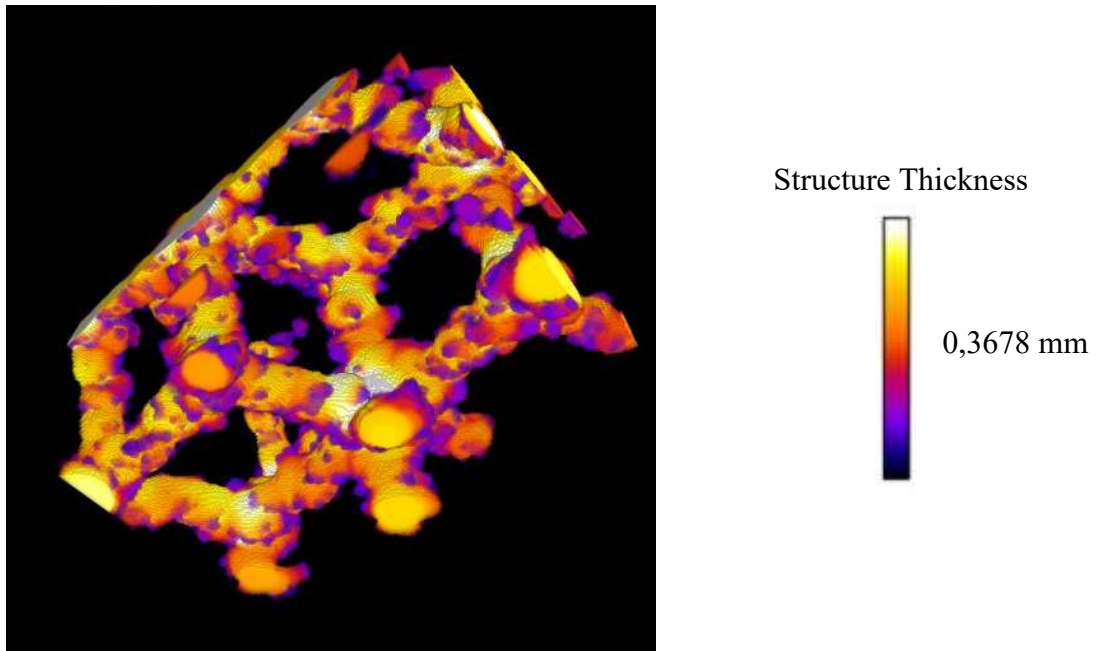
Recenti studi hanno dimostrato, inoltre, come la dimensioni dei micropori assuma fondamentale importanza nelle applicazioni biomediche, in quanto, questi favorirebbero, in ingresso, il passaggio di nutrienti e ossigeno (agevolando, così il processo di spreading cellulare e la sostituzione dell'impianto con tessuto osseo) e, in uscita, l'espulsione di scarti metabolici dal sistema.

Valori elevati di porosità interna, inoltre, diminuiscono drasticamente la densità del materiale.

Nel caso in analisi, avendo una percentuale di porosità interna di $0,094\% \pm 0,024\%$, la densità oscilla tra valori di $99,882\% - 99,93\%$. Diminuisce, quindi, di un valore trascurabile e ricade comunque all'interno di un range per cui il provino può essere considerato come pienamente denso.

3.3.2. Modello 3D

Vengono, sotto, riportati il modello tridimensionale (ottenuto dal processo di elaborazione delle slices mediante il software ImageJ) e la scala cromatica in funzione del parametro structure thickness:



(Fig.31) Modello 3D ottenuto

Dal modello tridimensionale è possibile apprezzare la struttura macroscopica dello scaffold ed in particolare notare come la structure thickness assuma valori più elevati in corrispondenza dei nodi (zona che assume colorazione giallo-bianca) per poi decrescere lungo gli strut (zona arancio) assumendo valore prossimo al valor medio calcolato nella analisi tomografica. Le zone periferiche, invece, assumono una colorazione più scura e sono rappresentative delle particelle satellite dello scaffold.

4. CONCLUSIONI GENERALI

L'analisi del campione si è basata, dapprima, su uno studio approfondito dello stato dell'arte, avvenuto mediante ricerche bibliografiche e attraverso lo studio dei dati forniti dal produttore, in modo da comprendere in che contesto inserire l'analisi e arrivare a conclusioni confrontabili con quanto descritto in letteratura.

Sono stati scelti, poi, i metodi ritenuti più appropriati per lo studio e sono stati ottenuti risultati, sulla micro e macrostruttura, tangibili e coerenti con i dati di partenza.

Il campione in analisi presenta una microstruttura caratterizzata principalmente dalla presenza di fase α_2 (Ti₃Al) e fase γ (TiAl), con zone intermedie composte da una fase di tipo $\gamma+\alpha_2$. La microstruttura si presenta principalmente, composta da grani equiassiali costituiti da lamelle a distanza contenuta tra loro; questo porta a presumere che lo scaffold sia dotato di una buona resistenza meccanica, oltre che ad una elevata duttilità.

La struttura geometrica, sebbene, differente da quella di progetto, in termini di dimensione degli strut e porosità, rientra all'interno di una range ammissibile.

I risultati sono confrontabili con quanto riportato in letteratura, il campione risulta, quindi, consono alle applicazioni biomediche per il campo ortopedico.

BIBLIOGRAFIA:

- [1] [Tesi_Devescovi_Valentina.pdf](#)
- [2] https://it.wikipedia.org/wiki/Ingegneria_tissutale#Storia
- [3] <https://www.tag.it/leghe-di-titanio-introduzione-caratteristiche-applicazioni/>
- [4] Electron Beam Powder Bed Fusion of Ti-48Al-2Cr-2Nb Open Porous Scaffold for Biomedical Applications: Process Parameters, Adhesion, and Proliferation of NIH-3T3 Cells
- [5] Kyziol K, Kaczmarek L, Brzezinka G, et al. Structure, characterization and cytotoxicity study on plasma Surface modified Ti-6Al-4V and γ -TiAl alloys.
- [6] <https://webthesis.biblio.polito.it/secure/12247/1/tesi.pdf>
- [7] [Skyscan CTanalyser parameters.pdf](#)
- [8] A. Mohammad et al. / Materials and Design 133 (2017) 186–194
- [9] Choi RW, Deng YG, McCullough C, Paden B, Mehrabian R. Acta Metall Mater 1990;38(11):2225.
- [10] Characterization of titanium aluminide alloy components fabricated by additive manufacturing using electron beam melting L.E. Murr a,b,* , S.M. Gaytan a,b, A. Ceylan a , E. Martinez a,b, J.L. Martinez a,b, D.H. Hernandez a,b, B.I. Machado a,b, D.A. Ramirez a , F. Medina b , S. Collins c , R.B. Wicker b,d
- [11] Additive Manufacturing of Ti-48Al-2Cr-2Nb Alloy Using Gas Atomized and Mechanically Alloyed Plasma Spheroidized Powders

Ringraziamenti

Vorrei dedicare questo spazio a chi, con dedizione e pazienza, mi ha accompagnato in questi anni di studio contribuendo alla realizzazione di questo elaborato

Un ringraziamento particolare va alla mia relatrice Eleonora Santecchia che sin dalla prima lezione ha saputo trasmettermi passione e curiosità verso la sua materia; ad oggi, contribuiscono a mantenere viva la mia voglia di sapere

Grazie anche alla mia correlatrice Maria Laura Gatto per avermi permesso di entrare a far parte della sua ricerca, per i suoi preziosi consigli e per avermi suggerito puntualmente le giuste modifiche da apportare alla mia tesi

Ringrazio infinitamente la mia famiglia, in particolar modo mia madre Monia e mio padre Diego, senza i loro insegnamenti e senza il loro supporto questo lavoro di tesi non esisterebbe nemmeno

Grazie alla mia fidanzata, ai miei amici per essere sempre presenti

Grazie a tutti coloro che hanno sempre creduto in me.