

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

2022

Kaisa Helminen

**BIOAKTIIVISEN LASIN  
SINTRAUS JA  
OMINAISUUKSIEN  
ANALYSOINTI**



Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bio- ja kemiantekniikka

2022 | 52 sivua

Kaisa Helminen

## Bioaktiivisen lasin sintraus ja ominaisuuksien analysointi

Opinnäytetyön tavoitteena oli valmistaa sintrattuja bioaktiivisia lasikappaleita ja tutkia niiden ominaisuuksia valmistusprosessin optimoimiseksi. Työn toimeksiantajana toimi Bonalive Biomaterials Oy. 'Bonalive' on turkulainen bioaktiivisen lasin lääkinällisiin käyttömahdollisuuksiin keskittynyt yhtiö.

Bioaktiivista lasia käytetään kehon kovakudoksien hoitamiseen, korvaamiseen sekä edesauttamaan sen luonnollista uusiutumista. Bioaktiivisia lasikoostumuksia on useita erilaisia, ja jotkut näistä ovat materiaaleina antimikrobisia kemiallisten ja mekaanisten ominaisuuksiensa vuoksi. Piidioksidipitoinen lasi kykenee muodostamaan lujia sidoksia sitä ympäröivän kudoksen kanssa.

Bioaktiivista lasigranulaa sintrattiin eri parametreillä ja kappaleiden ominaisuuksia vertailtiin optimaalisten prosessiolosuhteiden selvittämiseksi. pH-, kompressio- ja SEM-kuvaustesteillä tutkittiin kappaleiden ominaisuuksia, kuten pH-käyttäytymistä TRIS-puskuriliuoksessa, kappaleen lujuutta sekä sintraantumista ja kiteytymistä. Tulosten perusteella muottimateriaalilla A keskilämpötilassa sintrattu pienikokoinen kappale oli parhaiten sintraantunut, lujin ja reagoi TRIS-puskuriliuoksessa halutulla tavalla. Jatkotutkimuksissa optimoinnin tarkennus esimerkiksi tutkimalla, miten kaikkien kappaleiden ominaisuudet saataisiin yhtäläisiksi, on hyödyllistä.

Asiasanat:

bioaktiivinen lasi, sintraus, pH, kompressio, SEM

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Chemical and Materials Engineering

2022 | 52 pages

Kaisa Helminen

## Process development and manufacture optimisation for bioactive glass

The objective of the thesis project was to manufacture sintered bioactive glass pieces and study their capacities to optimize the production process. The work was commissioned by Bonalive Biomaterials Oy, a Turku based company focused on the medical uses of bioactive glass.

Bioactive glass is used to treat, replace or repair the body's hard tissue. Bioactive glass compositions vary. Some bioactive glass materials are antimicrobial due to their chemical and mechanical properties. Silica-based bioactive glass is capable of forming strong bonds with surrounding tissue.

Bioactive glass granules were sintered with different parameters and the properties of the pieces were compared to find the best possible processing circumstances. pH-, compression- and SEM-picture tests were performed to study the properties of the scaffolds, such as pH development in a TRIS buffer solution, sinter and crystallization degrees, and strength. The obtained results indicate that a small scaffold sintered in medium temperature with mould material A was the best sintered and strongest, and reacted in the TRIS buffer solution as predicted. Further research on process optimization would be useful for the future. Optimization can involve determining more specific parameters for homogenous scaffold quality.

Keywords:

bioactive glass, sintering, pH, compression, SEM

# Sisältö

<b>1 Johdanto</b>	<b>9</b>
<b>2 Biomateriaalit</b>	<b>10</b>
2.1 Biokeraamit	11
2.2 Bioaktiiviset lasit	11
<b>3 Sintrausprosessi</b>	<b>13</b>
3.1 Bioaktiivisen lasin sintraus	14
<b>4 Materiaalit ja menetelmät</b>	<b>15</b>
4.1 Bioaktiivisten lasikappaleiden sintraus	15
4.2 Kemiallinen testi	17
4.3 Visuaalinen SEM-analyysi	18
4.4 Mekaaninen testi	21
<b>5 Tulokset ja tulosten analysointi</b>	<b>24</b>
5.1 Bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusprosessin tulokset	24
5.2 Kemiallisen testin tulokset	28
5.3 Visuaaliset SEM-testien tulokset	35
5.3.1 SEM-läpileikkaustesti	35
5.3.2 SEM-pinnan kiteytymistesti	40
5.4 Mekaanisen testin tulokset	43
<b>6 Loppupäätelmä</b>	<b>45</b>
<b>7 Lähteet</b>	<b>47</b>

## Liitteet

Liite 1. Bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusajomatriisi.

Liite 2. SEM-testin testimatriisi.

Liite 3. Kompressiotestin testimatriisi.

## Kuvat

<b>Kuva 1.</b> Sintrauksen vaikutus kappaleen raekokoon (Kang, 2005) (Suomennos: Tiivistyminen, raekoon suureneminen, tiivistyminen ja raekoon suureneminen.) .....	13
<b>Kuva 2.</b> SEM-laitteisto osissa (Purdue University, Iowa state University, 2019). .....	19
<b>Kuva 3.</b> Sintrattuja bioaktiivisia lasikappaleita kuivuneessa epoksiliimassa .....	20
<b>Kuva 4.</b> Kappaleen hiontaa SEM-kuvauksia varten.....	21
<b>Kuva 5.</b> Pienikokoinen kappale kompressiotestissä .....	22
<b>Kuva 6.</b> Kuva sintratusta pienikokoisesta bioaktiivisesta lasikappaleesta (15 mm $\emptyset$ ) Kappale on sintraantunut hyvin. ....	26
<b>Kuva 7.</b> SEM-läpileikkaus-panoraama-kuvia pienikokoisista sintratuista kappaleista (Ylhäältä alas: matala lämpötila, keskilämpötila, korkea lämpötila. Vasen puoli muottimateriaalissa A sintratut, oikea puoli muottimateriaalissa B sintratut).....	36
<b>Kuva 8</b> Panoraamakuva isokokoisesta korkeassa lämpötilassa muottimateriaalissa B sintratusta pH-testatusta SEM-testikappaleesta .....	37
<b>Kuva 9.</b> pH-testattu bioaktiivinen lasikappale SEM-läpileikkaus-lähi-kuvauksessa. (Kuvan suurennossuhde 1.00 K X).....	38
<b>Kuva 10.</b> pH-testattu bioaktiivinen lasikappale SEM-läpileikkaus-lähi-kuvauksessa. (Kuvan suurennossuhde 2.50 K X).....	38
<b>Kuva 11.</b> SEM-läpileikkaus-lähikuvissa näkyvä kiteytyminen. (Vasen ylä 30 mm $\emptyset$ T2 muotti A, vasen ala 15 mm $\emptyset$ T3 muotti A, oikea ylä 30 mm $\emptyset$ T2 muotti A, oikea ala 15 mm $\emptyset$ T3 muotti B).....	39
<b>Kuva 12.</b> SEM-pintakuva korkeassa lämpötilassa muottimateriaalissa A sintratusta kappaleesta (Kuvan suurennosaste: 50 X).....	40
<b>Kuva 13.</b> SEM-pintakuva matalassa lämpötilassa muottimateriaalissa B sintratusta kappaleesta. (Kuvan suurennosaste: 50 X).....	41

<b>Kuva 14.</b> Pinnan kiteytymistesti lähikuva kiteytymisestä. Kimpaleet tason pinnalla ovat kiteytymistä. (Kuvan suurennosaste: 500 X).....	42
<b>Kuva 15.</b> Pinnan kiteytymistesti lähikuva kiteytymisestä kappaleen pinnalla. Kimpaleet ja epätasaisuus tasojen pinnalla ovat kiteytymistä. (Kuvan suurennosaste: 50 X).....	42

## Kuviot

<b>Kuvio 1.</b> Bioaktiivisten lasikappaleiden muotin sisäisen ja ulkoisen sintrauslämpötilan kehityskäyrä ajan suhteen.....	16
<b>Kuvio 2.</b> Muottimateriaalissa A lämpötilassa T1, T2 ja T3 sintrattujen kappaleiden sisälämpötilakäyrien keskiarvot. (Pisteet kuvaavat asetettuja lämpötiloja; sininen ylin piste T3, keltainen keskimäinen piste T2 ja punainen alin piste T1) .....	27
<b>Kuvio 3.</b> Muottimateriaalissa B lämpötilassa T1, T2 ja T3 sintrattujen kappaleiden sisälämpötilakäyrien keskiarvot. (Pisteet kuvaavat asetettuja lämpötiloja; sininen ylin piste T3, keltainen keskimäinen piste T2 ja punainen alin piste T1) .....	28
<b>Kuvio 4.</b> Isokokoisten kappaleiden (30 mm $\emptyset$ ) pH:n muutos 96 tunnin aikana .	29
<b>Kuvio 5.</b> Keskikokoisten kappaleiden (20 mm $\emptyset$ ) pH:n muutos 96 tunnin aikana .....	30
<b>Kuvio 6.</b> Pienten kappaleiden (15 mm $\emptyset$ ) pH:n muutos 96 tunnin aikana.....	30
<b>Kuvio 7.</b> Matalassa lämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana.....	31
<b>Kuvio 8.</b> Keskilämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana .....	32
<b>Kuvio 9.</b> Korkeassa lämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana.....	32
<b>Kuvio 10.</b> Muottimateriaalissa A sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana.....	33

<b>Kuvio 11.</b> Muottimateriaalissa B sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana.....	34
<b>Kuvio 12.</b> Kappaleiden kompression (MPa) kesto. (T1, T2 ja T3 ilmaisevat sintrauslämpötiloja, T3 on korkein lämpötila. Reunustetut palkit ilmaisevat pH-testattuja kappaleita. A ja B viittaavat sintrauksessa käytettyihin muottimateriaaleihin. Numerosarjat kuten 227 viittaavat valmistuseriin.).....	43

## **Taulukot**

<b>Taulukko 1.</b> Bioaktiivisten lasikappaleiden korkeuden muutokset ennen ja jälkeen sintrauksen	25
--	----

## Käytetyt lyhenteet tai sanasto

A, B	Muottimateriaalit A ja B (todellinen muottimateriaalitieto on luottamuksellista)
T1, T2, T3	Sintrauslämpötilat, T1 matalin (todelliset sintrauslämpötilat ovat luottamuksellista tietoa)
S53P4	Bioaktiivinen lasi tyyppi (Boccaccini ym. 2016.; Bonalive Biomaterials Ltd. 2021.)
SEM	Scanning Electron Microscope
Topografia	Kappaleen pinnan, raekoon ja muotojen tarkka kuvaus (Keskinen, M. 2009.)
TRIS-liuos	TRIS (hydroksimetyyli)aminometaani

# 1 Johdanto

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Bonalive Biomaterials Oy. 'Bonalive' on turkulainen bioaktiiviseen lasiin ja sen lääketieteellisiin sovelluksiin keskittynyt yhtiö. 'Bonalive' valmistaa tuotteita vaurioituneiden tai puuttuvien kovakudosten korvaamiseen, hoitoon sekä edesauttamaan sen luonnollista regeneraatiota. Opinnäytetyön tarkoituksena oli sintrata 'Bonaliven' S53P4 bioaktiivisesta lasigranulasta kappaleita, joiden ominaisuuksia tutkitaan tuotantoprosessin optimoimiseksi.

Koostumuksesta riippuen bioaktiivinen lasi voi luontaisilta ominaisuuksiltaan olla antimikrobista. Tällaisen bioaktiivisen lasin korkea pH ja pintatopografia luovat implantointikohtaan paikallisen bakteereille sopimattoman ympäristön. Materiaali hajoo kehossa tasaisesti stimuloiden uuden luukudoksen syntyä. Käyttömateriaalina bioaktiivinen lasi on suhteellisen uusi lääketieteellisessä hoitokontekstissa, vaikka se on jo yli kolmekymmentä vuotta ollut mukana kliinisissä operaatioissa. Sen ominaisuuksien lisätutkimus on yhä erittäin olennaista ja tärkeää pyrittäessä materiaalin syvempään ymmärtämiseen sekä tiedon laajempaan soveltamiseen regeneratiivisessa lääketieteessä. Tämän lisäksi tuotantoprosessin optimointi on olennaista bioaktiivisen lasin tutkinnassa.

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää mitkä sintrausparametrit tuottavat parhaat sintraantuneet biolasikappaleet, joissa ei ole havaittavissa kiteytymistä. Kiteytyminen vaikuttaa bioaktiivisen lasin reagointiin kehossa. Kappaleita valmistetaan kolmea kokoa, kolmessa eri lämpötilassa, kahdella eri muotilla. Valmistettuja kappaleita tutkitaan kemiallisella pH-, mekaanisella kompressio- ja visuaalisella SEM-läpileikkaustestillä, joiden avulla selvitetään kappaleiden sintraantumisen- ja kiteytymisaste, pH:n kehitys TRIS-puskuriliuoksessa ja lujuus.

## 2 Biomateriaalit

Biomateriaali on laite tai materiaali, joka on valmistettu luonnollisista tai synteettisistä materiaaleista ja kykenee ominaisuuksiensa vuoksi tuottamaan, korvaamaan tai hoitamaan elävää kudosta vaikuttamatta negatiivisesti tämän elävän kudoksen toimintaan. Biomateriaaleja käytetään yhä enemmän etenkin regeneratiivisessa lääketieteessä. Biomateriaalit voidaan jaotella synteettisiin ja biopohjaisiin materiaaleihin, joista synteettisiin kuuluvat esimerkiksi biogeelit, komposiitit ja orgaaniset polymeerit kuten lääkeaineiden annosteluun käytettävät membraaniannostelu polymeerikapselit sekä biokeraamit, kuten bioaktiivinen lasi ja kalsiumfosfaatti. Biologisia, tai biopohjaisia, biomateriaaleja ovat esimerkiksi biopolymeerit kuten kollageeni ja hyaluronihappo. Myös metalleja käytetään yleisesti vielä kovakudoksen tukemiseen, hoitoon ja korvaukseen. (Paakinaho & Kellomäki, 2011) (Vuori, 2020) (Seppälä, et al., 2004)

Biomateriaalien hyödyntämiseen ja valmistamiseen lääketieteessä on asetettu monia säädöksiä, lakeja, vaatimuksia ja standardeja. Standardit voivat koskea esimerkiksi kudosityhteensopivuutta tai riskianalyysijä. (Törmälä, et al., 2003). Materiaalin valinnassa ja valmistuksessa tulee ottaa huomioon, missä ja miten implantin tulee vaikuttaa. Implantoidun biomateriaalin tulee olla stabiili ja kestää kehon olosuhteita, kuten mahdollista korroosiota ja painetta.

Lääketieteessä käytetyt vierassiirteet eli allograftit tarkoittavat yleisesti vierassiirteitä toiselta ihmiseltä. Nämä vierassiirteet voidaan luokitella luonnollisiksi biomateriaaleiksi, vaikka yleisesti biomateriaalin määritelmään kuuluu se, että materiaali on valmistettu tiettyä tarkoitusta varten.

Omakudossiirteitä, kuten kuori- tai hohkaluu, tai verisuonitettuja siirteitä, ei kuitenkaan luokitella biomateriaaleiksi. Allograftien lisäksi ksenograftit eli vieraslajisiirteet ovat kudosityhteensopivissa hyödynnettyjä siirteitä.

Synteettisesti valmistetuilla biomateriaaleilla, joita kutsutaan myös alloplasteiksi pyritään korvaamaan allograftien ja muiden vierassiirteiden käyttö. (Konttinen & Santavirta, 2003).

## 2.1 Biokeraamit

Biokeraamit ovat kiinteiden metallien ja epämetallien yhdisteitä, jotka useimmiten sisältävät etenkin happea. Lääketieteessä käytettävät implantoidut biokeraamit voidaan jaotella reagoimattomiin eli lähes bioinertteihin keraameihin, absorboituviin keraameihin ja bioaktiivisiin keraameihin, kuten biolasi, hydroksiapatiitti ja muut lasikeraamit. (Törmälä, et al., 2003).

Biokeraameja hyödynnetään lääketieteessä kovakudoksen paikkaamiseen, regeneraatioon, lääkeaineiden annosteluun ja esimerkiksi kiinnitettäessä proteesikomponentteja luuhun ilman sementtiä. (Seppälä, et al., 2004) (Konttinen & Santavirta, 2003) Esimerkiksi kalsiumfosfaattisementti on biokeraami, jota käytetään sementtitahnana, tai luun korvikkeena. Yleinen biokeraami, jota hyödynnetään lääketieteessä, on bioaktiivinen lasi. (Konttinen & Santavirta, 2003). Biokeraamien lujuuden vuoksi niitä käytetään kovakudoksen kuten luun paikkaamiseen, hoitoon ja uusiutumiseen. Luun ja biokeraamin, kuten sintratun bioaktiivisen lasin, fyysiset ja mekaaniset ominaisuudet ovat tarpeeksi yhtenevät, jotta bioaktiivista lasia voidaan hyödyntää onnistuneesti luun korvaamiseen. (Konttinen & Santavirta, 2003) (Keskinen, 2019) (Pirhonen, 2001)

## 2.2 Bioaktiiviset lasit

Bioaktiivista lasia pystytään valmistamaan sulamenetelmällä ja sooli-geelimenetelmällä. Valmistus menetelmä vaikuttaa materiaalin biohajoavuuteen. Esimerkiksi piidioksidi eli silika saadaan helposti ja nopeasti biohajoavaksi sooli-geelimenetelmällä ilman muita komponentteja. Jos menetelmän tuottama biohajoavuustahti ei kuitenkaan ole haluttu, sulamenetelmällä valmistettu materiaali on sopivampi. Sooli-geelimenetelmällä voidaan valmistaa myös bioaktiivisia laseja, jotka sisältävät muitakin komponentteja kuin silikaa. (Kaur, 2017) (Törmälä, et al., 2003) (Boccaccini, et al., 2016)

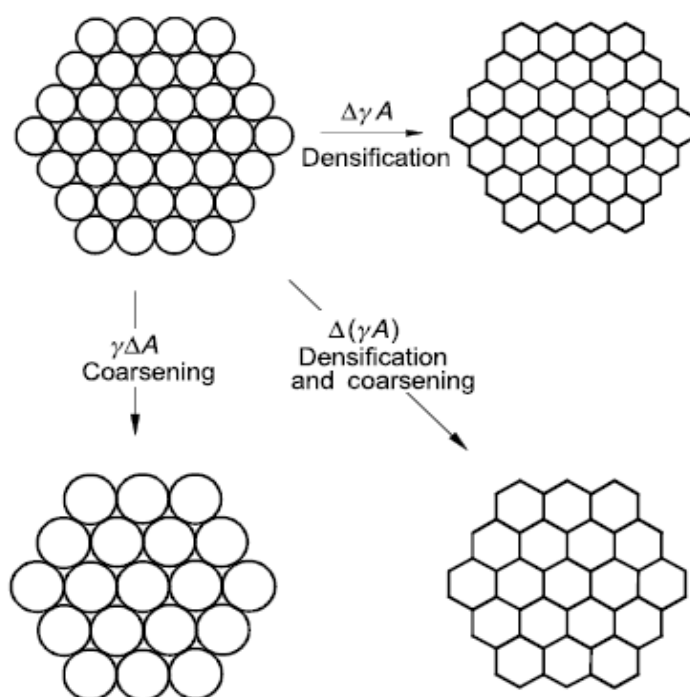
Toisin kuin bioinertit biokeraamit, bioaktiivinen lasi, trikalsiumfosfaatti ja piidioksidi eli silika hajoavat tasaisesti asteittain kehossa, liittyen samalla tukevasti esimerkiksi ympäröivän luukudoksen kanssa ja ehkäissän tulehdusta. (Merolli, et al., 2000) Koostumuksesta riippuen bioaktiivinen lasi voi itsessään olla antimikrobista. Tämä johtuu materiaalin aikaansaamasta paikallisesta korkeasta pH:sta, kun materiaali vapauttaa emäksisiä ioneja ympäristöönsä kehossa. Bioaktiivisen lasin aikaansaaman emäksisyyden lisäksi sen fyysisten ominaisuuksien, kuten siitä irtoavien neulamaisten kiteiden uskotaan luovan antibakteerista ympäristöä vahingoittamalla bakteerisolujen soluseiniä. (Hu, et al., 2008) Tämä paikallinen emäksisyyden kasvu sekä vaikutus osmoottiseen paineeseen tekee ympäristöstä epäsuotuisan bakteereille. (Maheswaran, et al., 2014) (Oksman, 2020) (Boccaccini, et al., 2016). Olennainen bioaktiivisen lasin bioaktiivisuuteen vaikuttava tekijä on piidioksidin eli silikan ( $\text{SiO}_2$ ) pitoisuus lasissa. Piidioksidi mahdollistaa vahvojen sidosten muodostamisen kehon kudoksien kanssa sen pinnalle kehittyvän hydroksiapatiittikerroksen kautta ja toimii näin luukudoksen uusiutumisen ja korvaamisen pohjana. (Kaur, 2017) (Boccaccini, et al., 2016) (Vuori, 2020).

Bioaktiivisen lasin antimikrobisuus yhdistetään yleisesti myös niiden pintatopografiaan, mikä estää bakteerien kiinnittymisen siihen. Pieni partikkelikoko myös kasvattaa materiaalin pinta-alaa, jolloin emäksiset ionit vapautuvat nopeammin, nostaen paikallista pH:ta tehokkaammin. (Hu, et al., 2011) (Jokela, 2018) (Keskinen, 2019) (Boccaccini, et al., 2016).

Bonaliven bioaktiivinen lasigranula S53P4 koostuu kehossa valmiiksi ilmenevistä aineista; piidioksidista ( $\text{SiO}_2$ ), dinatriumoksidista ( $\text{Na}_2\text{O}$ ), kalsiumoksidista ( $\text{CaO}$ ) ja difosforipentoksidista ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). Ollessaan kontaktissa kehon nesteisiin bioaktiivinen lasi vapauttaa ioneja ja muodostaa piidioksidi- eli silikageelipitoisen kerroksen. Tämä kerros toimii kalsiumfosfaatin ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) saostumisen alustana. Kalsiumfosfaatti kiteytyy hydroksiapatiitiksi. Muodostunut hydroksiapatiitti, joka muistuttaa kemiallisilta ja fyysisiltä ominaisuuksiltaan luonnollista muodostuvaa luumineraalia mahdollistaa sitoutumisen luukudokseen. (Bonalive, 2021).

### 3 Sintrausprosessi

Sintraus on materiaalin prosessointimenetelmä, jossa jauheesta tai muusta partikkelista muodostetaan kiinteä kappale kuumuudella ja/tai puristamalla paineella, kuitenkin sulattamatta sitä. Sintratessa materiaalin atomit leviävät hiukkasten rajojen yli ja sulauttavat hiukkaset yhteen muodostaen yhden kiinteän kappaleen. (Moya, et al., 2003) (Kekäläinen & Rajala, 1995) (Kang, 2005). Sintratulle kappaleelle on yleistä tiivistyminen ja siihen liittyvä jonkin suuntainen kutistuneisuus, kun raekoko ja muoto muuttuvat sintratulle kappaleelle ominaisiksi. (Kuva 1.)



**Kuva 1.** Sintrauksen vaikutus kappaleen raekokoon (Kang, 2005) (Suomennos: Tiivistyminen, raekoon suureneminen, tiivistyminen ja raekoon suureneminen.)

Sintrausmenetelmät voidaan jaotella kiinteän aineen sintraukseen ja nestefaasisintraukseen. Sintrattavan jauheen ollessa kiinteää sintrauksen aikana, puhutaan kiinteän aineen sintrauksesta. Nestefaasisintraus tarkoittaa sintrausta, jossa sintrattavan jauheen seassa on nestettä sintraushetkellä. Nestefaasisintraus voidaan edelleen jaotella ohimenevään

nestefaasinsintraukseen ja viskoosivirtaussintraukseen. Ohimenevässä nestefaasisintrauksessa jauheen seassa on nestettä vain osan sintrausajasta. Viskoosivirtaussintrauksessa nesteen tilavuusosuus jauheessa on niin korkea, että tiivistyminen saavutetaan ilman raemuodostumista pelkän seoksen viskoosivirtauksen avulla. Nestefaasisintraus sallii paremman mikrorakenteen hallinnan kuin kiinteän aineen sintraus ja vähentää prosessointikustannuksia, mutta heikentää kuitenkin monia mekaanisia ominaisuuksia. (Dehaghani & Ahmadian, 2015) (Kang, 2005).

Sintrausta käytetään metallien, keraamien, muovien ja muiden materiaalien valmistusprosesseissa. Tämä prosessi pystytään suorittamaan monissa eri lämpötiloissa. Optimaaliseen sintrauslämpötilaan vaikuttavat sintrattavan materiaalin ominaisuudet, kuten sulamispiste. Sintraus suoritetaan tämän pisteen alapuolella. Sintrauslämpötilan valintaan vaikuttavat myös muut ominaisuudet, kuten materiaalin kemiallinen ja mineraalinen koostumus sekä mikrorakenne. (Dehaghani & Ahmadian, 2015) (Kang, 2005) (Oksman, 2020).

### 3.1 Bioaktiivisen lasin sintraus

Bioaktiivista lasia sintratessa kiinteän aineen sintrausmenetelmä on olennainen, sillä lääketieteellisessä käytössä bioaktiivisen lasin mekaaniset ominaisuudet ratkaisevat voiko materiaali toimia kehossa sille tarkoitetulla tavalla.

Nestefaasisintraus heikentäisi materiaalin mekaanisia ominaisuuksia ja saattaisi myös vaikuttaa materiaalin bioaktiivisuuteen. (Kang, 2005) (Jokela, 2018).

Bioaktiivisen lasikappaleen lujuus kasvaa sintrauslämpötilan noustessa. Korkea sintrauslämpötila saattaa kuitenkin aiheuttaa myös kiteytymistä, mikä puolestaan heikentää kappaleen lujuutta. Kiteytyminen vaikuttaa myös bioaktiivisen lasikappaleen kykyyn muodostaa hydroksiapatiittikerros, eli se huonontaa materiaalin bioaktiivisia ominaisuuksia. Näin ollen sintratessa bioaktiivista lasia on tärkeää löytää oikeat sintrausparametrit mahdollisimman lujan ja bioaktiivisen, mutta kiteytymättömän materiaalin tuottoon. (Massera, et al., 2011) (Tancred, et al., 2001) (Kaur, 2017) (Jokela, 2018).

## 4 Materiaalit ja menetelmät

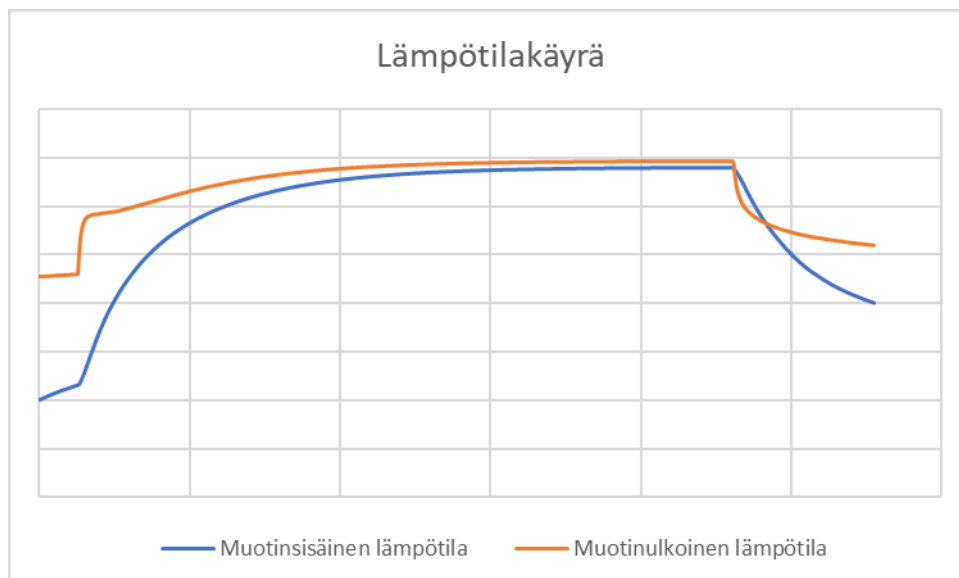
Kemiallisia, visuaalisia ja mekaanisia testejä on suoritettava, jotta ymmärretään paremmin materiaalin käyttäytymistä ja pystytään optimoimaan valmistusprosessi. Mekaanisella kompressiotestillä, visuaalisella SEM-läpileikkaus- ja pinta-analyysillä sekä kemiallisella pH-testillä kyetään selvittämään näitä olennaisia ominaisuuksia. Testien avulla voidaan kuinka erilaiset valmistusparametrit vaikuttavat kappaleeseen.

Opinnäytetyössä käytetyt muottimateriaalit ja sintrauslämpötilat ovat luottamuksellista tietoa, jotka esitetään tässä raportissa koodattuina.

### 4.1 Bioaktiivisten lasikappaleiden sintraus

Bioaktiivisesta lasigranulasta (0,5–0,8 mm) valmistettiin sintraamalla kappaleita kolmessa eri koossa (15 mm Ø, 20 mm Ø, 30 mm Ø), kahdella muottimateriaalilla (A ja B) ja kolmessa eri lämpötilassa; korkea (T3), keski- (T2) ja matala (T1) lämpötila. Jokaiselle eri parametrejä käyttäen valmistetulle kappaleelle valmistettiin lisäksi yksi rinnakkainen kappale. (Liite 1. Bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusajomatriisi.)

Valmistusajojen aikana muottien sisäistä ja ulkoista lämpötilaa tarkkailtiin muottiin asetetuilla termoelementeillä. Ajojen aikana havaituista lämpötiloista muodostettiin lämpötilakäyriä MSExcelin avulla ja näitä verrattiin toisiinsa. Kuvassa 2 havainnollistetaan lämpötilan muutos ajan funktiona muotin sisä- ja ulkolämpötiloille.



**Kuvio 1.** Bioaktiivisten lasikappaleiden muotin sisäisen ja ulkoisen sintrauslämpötilän kehityskäyrä ajan suhteen

Vertaamalla käyriä havaitaan mahdolliset poikkeavuudet ja pystytään tarkastelemaan prosessin yhtäläisyyttä ajojen välillä. Myös huoneenlämpötilaa ja kosteusprosenttia mitattiin joka ajon välissä, jotta saataisiin selville niiden eroavuuksien mahdolliset vaikutukset.

0,5-0,8 mm kokoisia lasigranuloita punnittiin muotteihin kullekin ominainen määrä niin, että korkeuden ja halkaisijan suhde oli kullakin kappalekoolla sama. Granuloiden tiiviin ja tasaisen jakautumisen varmistamiseksi muottia ravisteltiin tasoravistelijalla granuloiden lisäämisen yhteydessä. Sintrausuuni esilämmitettiin lähelle käytettävää sintrauslämpötilaa ja annettiin tasapainottua. Muotti kuljetettiin hitaasti uunin eteistilaan typpikaasuvirtauksen alla. Typpikaasun tarkoituksena on suojata muotteja ja ehkäistä huoneilman mahdollisia vaikutuksia lasiin, sekä syrjäyttää happi, joka voi aiheuttaa oksidoitumista eli muotin palamista. Uunin sisäinen typpivirtaus estää käytetyn muotin palamisen. Kun muotti oli esilämmitetty uunin eteistilassa, se työnnettiin uunin keskelle ja odotettiin, kunnes muotin sisälämpötila oli noussut sintraukselle asetettuun aloituspisteeseen. Kaikkia kappaleita sintrattiin aloituspisteestä yhtä pitkän aikaa tulosten verrattavuuden takaamiseksi.

Sintrausajan kuluttua muotti tuotiin takaisin uunin eteistilaan viilenemään. Kun muotti oli viilennyt, se vedettiin hitaasti typpikaasun saattamana ulos ripeään jäähdtykseen. Muotin nopea jäähdtyys on tärkeää, jotta kappaleen sintraantumisen ei enää jatku ja kiteytymistä ei pääse tapahtumaan. Muotin ripeän viilennyksen jälkeen kappaleiden annettiin kuitenkin jäähtyä rauhassa, jotta mekaaniset ominaisuudet eivät kärsi. Nopea lämpötilamuutos voi esimerkiksi romahduttaa kappaleen ominaisuuksien kannalta kriittisen huokoisen rakenteen.

Kappaleiden paino ja korkeus mitattiin ennen ja jälkeen sintrauksen. Sintrattujen kappaleiden alustava kiteytymistutkimus suoritettiin mikroskooppikuvista. Valmiit kappaleet upotettiin etanoliin, jotta ne säilyisivät testivaiheeseen asti muuttumattomina.

#### 4.2 Kemiallinen testi

Valmistettujen bioaktiivisten lasikappaleiden pH:n käyttäytymistä tutkittiin TRIS-puskuriliuoksen avulla. Isoja (30 mm  $\emptyset$ ) ja keskikokoisia (20 mm  $\emptyset$ ) kappaleita testattiin 1 kappale jokaista erillistä valmistuserää kohden. Pienikokoisia kappaleita (15 mm  $\emptyset$ ) testattiin 3 rinnakkaista kappaletta kutakin erillistä valmistuserää kohden. Sintrauksen mahdollisten vaikutusten havaitsemiseksi punnittiin myös jokaista kappalekokoja vastaava sintraamaton granulamäärä ja upotettiin se samaan suhteeseen puskuriliuosta kuin sitä vastaava kappale.

Ennen pH-mittausta etanolissa säilyneet kappaleet kuivattiin vetokaapissa 3 tuntia ja eksikaattorissa 2 päivää, jotta etanoli haihtuisi kokonaan, eikä pääsisi vaikuttamaan pH-mittaukseen harhaanjohtavasti, esimerkiksi vääristämällä pH-mittauksen tuloksia. Kuivauksen jälkeen kukin kappale punnittiin ja upotettiin TRIS-puskuriliuospurkkeihin, joiden kannet suljettiin liuoksen haihtumisen estämiseksi. TRIS-puskuriliuoksen määrä oli kullekin kappaleelle oma, kun liuosta mitattiin suhteessa kappaleiden massaan, 2 ml/g.

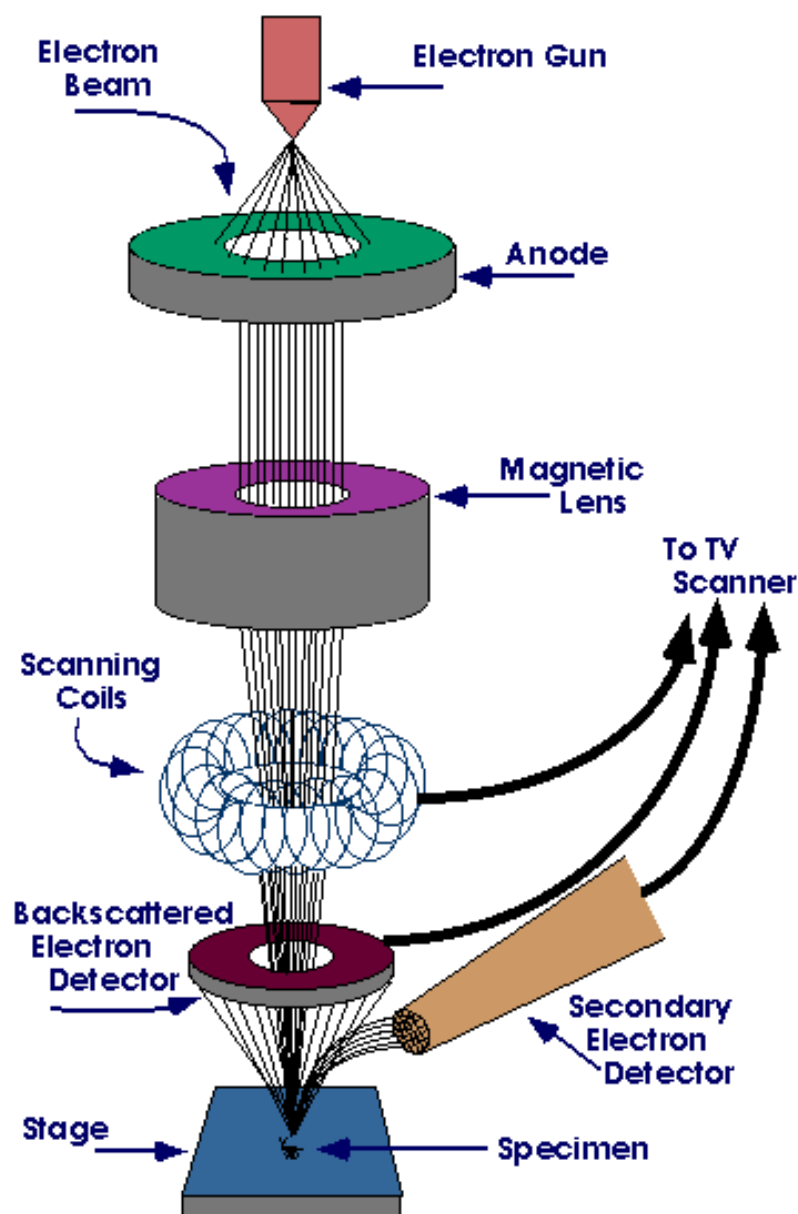
Kappaleiden alku-pH mitattiin TRIS-liuoksen ja sintrattujen kappaleiden ollessa alle 37 °C astetta. Ennen jokaista mittausta purkkia sekoitettiin kääntelemällä,

jotta pH liuoksessa tasaantuisi koko nesteelle. Mittauksen jälkeen purkit laitettiin lämpökaappiin lämpötilaan 37 °C astetta, joka pidettiin vakiona koko mittausjakson ajan. Kappaleiden pH mitattiin samoin 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 ja 96 tunnin kuluttua.

pH-mittauksella tutkittiin, miten valmistetut bioaktiiviset lasikappaleet reagoivat lämpötilaltaan ihmiskehoa vastaavassa TRIS-puskuriliuoksessa ajan kuluessa.

### 4.3 Visuaalinen SEM-analyysi

SEM-lyhenne tulee sanoista Scanning Electron Microscope. SEM-testillä pystytään ottamaan tarkkoja mikroskooppikuvia kappaleista. SEM käyttää elektroneja kuvan muodostamiseen valon sijaan, niinpä pelkkien linssien sijaan laitteistossa hyödynnetään sähkömagneetteja, joiden ansiosta suurennusaste on parempi ja tarkkuus paremmin hallittavissa. Elektronisuihku tuotetaan elektronipistoolilla mikroskoopin yläosaan tyhjiöön. Säde kulkee sähkömagneettisten kenttien ja linssien läpi kohti näytettä. Säteen osuessa näytteeseen näytteestä erittyy elektroneja ja röntgensäteitä. Detektorit keräävät säteet ja elektronit, ja muodostavat niistä kuvan näytölle. (Purdue University, Iowa state University, 2019).



**Kuva 2.** SEM-laitteisto osissa (Purdue University, Iowa state University, 2019).

SEM-läpileikkausanalyysissä testattiin vain iso- ja pienikokoiset kappaleet. Keskikokoisten (20 mm  $\varnothing$ ) kappaleiden tulosten oletettiin osuvan näiden kahden väliin. Iso- ja pienikokoisia kappaleita (30 ja 15 mm  $\varnothing$ ) testattiin yhteensä 12. Jokaista erillistä valmistuserää testattiin siis yksi kappale, pois lukien keskikokoiset kappaleet. Isokokoisia pH-mittauksissa käytettyjä kappaleita testattiin myös 2 kappaletta SEM-läpileikkaustestillä mahdollisen hydroksiapatiittikerroksen havaitsemiseksi. Lisäksi tehtiin SEM-pinta-analyysi

yhteensä 12 kappaleelle iso- ja pienikokoisia kappaleita, jossa kappaleiden pinnat kuvattiin tarkalla mikroskooppipanoraamakuvausella. (Liite 2. SEM-analyysin testimatriisi.)

SEM-analyysiä varten näytekappaleet kuivattiin vetokaapissa yön yli ja eksikaattorissa kolme vuorokautta. Kuivauksen jälkeen kappaleet punnittiin. SEM-läpileikkaustestin kappaleille tehtiin epoksivalu muotteihin, joiden annettiin kuivua yön yli. Seuraavana päivänä kappaleet läpileikattiin ja hiottiin käyttäen P250-, P600-, P1000- ja P2500-karkeita hiomapapereita sekä etanolia. Hionnan jälkeen kappaleet kiillotettiin mikroskooppipanoraamakuvausta varten. Kuvauksissa kappaleista otettiin myös lähikuvia, joista kiteytymistä on parempi tarkastella.



**Kuva 3.** Sintrattuja bioaktiivisia lasikappaleita kuivuneessa epoksiliimassa



**Kuva 4.** Kappaleen hiontaa SEM-kuvauksia varten

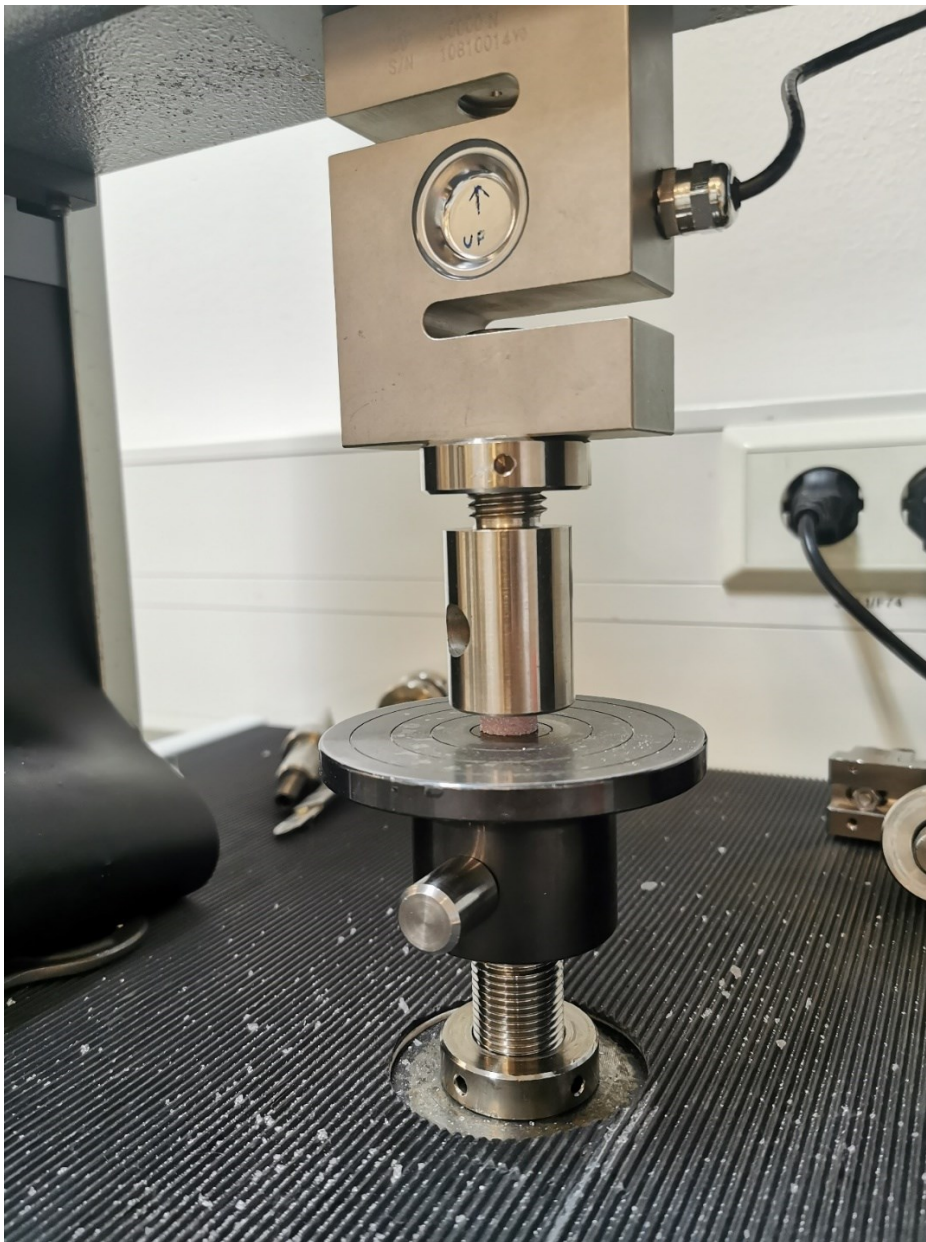
Läpileikatuista ja kiillotetuista kappaleista otettiin tarkat mikroskooppinoraamakuvat, joiden avulla pystyttiin tarkastelemaan kappaleiden sintraantumisasetta ja kiteytymistä. SEM-pinnan kiteytymistestin kappaleet kuvattiin ilman epoksivalua tai leikkausta. Kuvista tarkasteltiin muun muassa pinnan kiteytymisasetta.

#### 4.4 Mekaaninen testi

Mekaanisella kompressiotestillä tutkittiin kappaleen lujuutta. Kutakin erillistä valmistuserää testattiin 3 rinnakkaista kappaletta puristamalla kappaletta kokoon puristusnopeudella 1 mm/min. Näin selvitettiin, millaisia eroja eri sintrauslämpötilat ja mahdolliset kiteytymiset tuovat kappaleen lujuuteen. Kompressiotestissä testattiin yhteensä 54 sintrattua bioaktiivista lasikappaletta. Näiden kappaleiden lisäksi tutkittiin TRIS-puskuriliuokseen upottamisen vaikutuksia kappaleen lujuuteen testaamalla yhteensä 6 pH-testissä käytettyä kappaletta. (Liite 3. Kompressiotestin testimatriisi.)

pH-testeissä käytetyistä kompressiotestattaviksi kappaleiksi valittiin vain ääriämpötilojen (T1 ja T3) kappaleita jokaisesta muottikoosta ja materiaalista. Isoja kappaleita ei kuitenkaan ollut tarpeeksi, joten isoista kappaleista vain keskilämpötilan (T2) kappaleet testattiin.

Kompressiotestiä varten valitut kappaleet kuivattiin vetokaapissa yön yli ja eksikaattorissa neljä vuorokautta. Kappaleet asetettiin kompressioalustalle puristettaviksi, kunnes ne murtuivat.



**Kuva 5.** Pienikokoinen kappale kompressiotestissä

Tietokone muodosti kunkin kappaleen paineensietokynnystä vastaavan käyrän. Käyriä ja kappaleiden suurimpia paineensietokykyjä pinta-alaa kohden kuvaavia lujuusarvoja (MPa) vertaillaan, jotta saadaan selville millä sintrausparametreillä lujin kappale on tuotettu ja miten paljon kukin sintrausparametri vaikuttaa lujuuteen.

## 5 Tulokset ja tulosten analysointi

Tässä kappaleessa analysoidaan bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusprosessissa havaittuja tuloksia, ja kemiallisen pH-testin, visuaalisten SEM-testien ja mekaanisen kompressiotestin tuloksia.

### 5.1 Bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusprosessin tulokset

Sintrattujen bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusprosessin yhteydessä mitattiin kappaleiden paino ja korkeus ennen ja jälkeen sintrauksen. Iso- ja keskikokoisilla kappaleilla korkeus laski noin 21 % kappaleen alkukorkeudesta. Pienikokoisilla kappaleilla tämä kutistuvuus oli noin 17 %.

Muottimateriaali A aiheutti enemmän korkeuden laskua kuin muottimateriaali B. Ero on selkeä etenkin pienikokoisilla kappaleilla, jossa muottimateriaalissa A sintrattujen kappaleiden korkeuden muutos on kaksi kertaa niin suuri kuin muottimateriaalilla B sintrattujen kappaleiden. Tämä muottimateriaalin vaikutus korkeuteen näkyy myös isommissa kappaleissa. Isommissa kappaleissa ero muottimateriaalien A ja B vaikutuksessa olleiden kappaleiden korkeudessa ei ole suuri, mutta tukee aiempaa huomiota muottimateriaalin vaikutuksesta korkeuteen.

Kappaleiden korkeuden lasku viittaa granulan tiiviimpään pakkautumiseen sintrauksen aikana. Jokaisessa sintrauserässä käytetään muotin mukana samasta materiaalista valmistettua kantta, mikä varmistaa sen, että kutistuminen tapahtuu pääasiassa korkeussuunnassa. Muottimateriaali A vaikuttaa tiivistävän kappaleet tehokkaammin, mikä on tyypillistä sintraantuneelle kappaleelle. Toisaalta liiallinen tiivistyminen voi aiheuttaa muutoksia lopullisten kappaleiden haluttuun huokoisuusasteeseen.

**Taulukko 1.** Bioaktiivisten lasikappaleiden korkeuden muutokset ennen ja jälkeen sintrauksen

Muotti	Lämpötila	Korkeuden lasku (%)	Korkeuksien keskihajonta (%)
<b>Pienikokoiset kappaleet (15 mm <math>\emptyset</math>)</b>			
<b>A</b>	T1	20	5
	T2	24	4
	T3	26	4
<b>B</b>	T1	9	5
	T2	11	4
	T3	11	5
<b>Keskikokoiset kappaleet (20 mm <math>\emptyset</math>)</b>			
<b>A</b>	T1	21	3
	T2	24	2
	T3	25	1
<b>B</b>	T1	19	3
	T2	22	3
	T3	18	3
<b>Isokokoiset kappaleet (30 mm <math>\emptyset</math>)</b>			
<b>A</b>	T1	20	3
	T2	23	2
	T3	25	2
<b>B</b>	T1	20	4
	T2	20	3
	T3	18	3

Minkäänkokoisten kappaleiden paino ei muuttunut merkittävästi sintrauksen aikana. Kokoluokkien väliset erot alku- ja loppupainossa osuvat luonnolliseen virhemarginaaliin. Tämän eron kappaleiden alku- ja loppupainoissa voi aiheutua esimerkiksi kappaleista lohkeavat minimaaliset palat tai ravisteluprosessin yhteydessä häviävät granulahiukkaset. Pienimmässä muottikoossa on kuitenkin huomattavissa suurin ero kappaleiden alku- ja loppupainoissa. Tämä saattaa johtua pienikokoisten kappaleiden muottien mallista, mikä eroaa isompien kokojen muottimalleista, tai siitä että granulan koko suhteessa kappaleen kokoon on pienikokoisissa kappaleissa suurempi, jolloin yksittäisten granuloiden irtoamisella olisi suurempi merkitys.

Alustavista mikroskooppikuvista pystyy näkemään, kuinka sintrauslämpötilalla on vaikutusta kiteytymisasteeseen. Kuvista on alustavasti nähtävissä kuinka korkean lämpötilan kappaleet ovat kiteytyneet enemmän kuin matalan lämpötilan kappaleet. Kuvissa kiteytyminen näkyy kappaleiden mattapintaisuutena ja valkoisuutena vaaleanpunaisen ja kiiltävän värityksen sijaan. Alustavien mikroskooppikuvien perusteella keski- ja matalan lämpötilan kappaleilla ei kuitenkaan ole silminnähtävää eroa kiteytymisasteessa.

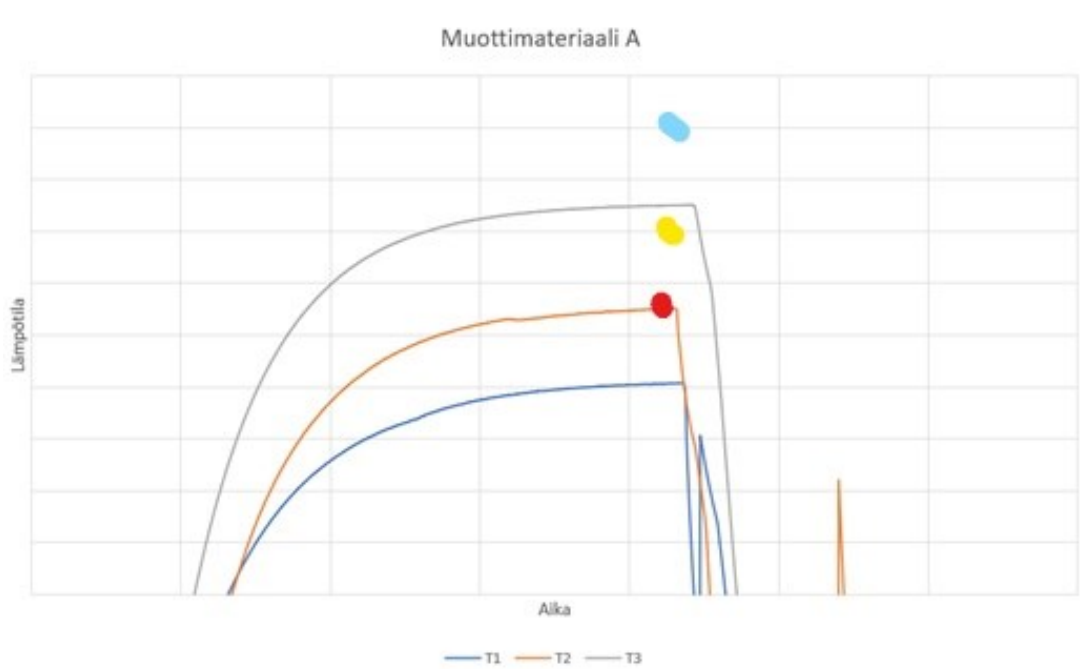


**Kuva 6.** Kuva sintratusta pienikokoisesta bioaktiivisesta lasikappaleesta (15 mm  $\emptyset$ ) Kappale on sintraantunut hyvin ja kiteytyminen on vähäistä.

Sintrauksen aikana mitattujen muotin sisäistä ja ulkoista lämpötilan kehitystä kuvaavat käyrät eivät poikenneet suuresti toisistaan valmistusajojen välillä.

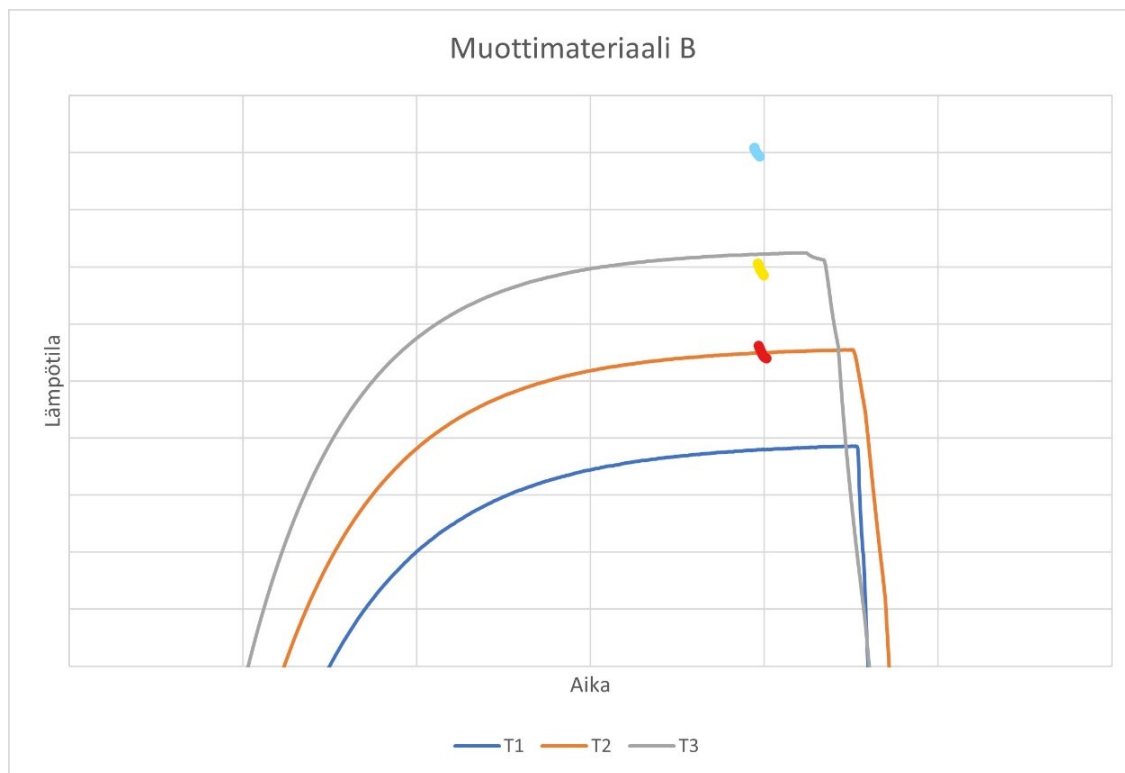
Voidaan siis sanoa, että lämpötilan käyttäytyminen on sama kaikilla valmistusajoilla.

Muotin sisäinen lämpötila ei millään parametreilla saavuta asetettua sintrauslämpötilaa. Kuvio 2 ja 3 kuvaavat muottimateriaaleilla A ja B lämpötiloissa T1, T2 ja T3 sintrattujen kappaleiden sisälämpötilakäyrien keskiarvoja. Lämpötilakäyrän T1 asetettu sintrauslämpötila on punaisen (alimman) pisteen kohdalla, T2 asetettu sintrauslämpötila keltaisen (keskimmäisen) pisteen kohdalla ja T3 sinisen (ylimmän) pisteen kohdalla. Kuten kuvioista on nähtävissä kummallakin muottimateriaalilla lämpötilasta riippumatta muotin korkein sisälämpötila jää asetetusta sintrauslämpötilasta vajaaksi. Tämä voi johtua systeemiin asetetusta typpi-atmosfääristä, liian alhaisesta sintraamisen aloitukseen määritetystä lämpötilasta tai esimerkiksi sintrausajan pituudesta. On kuitenkin todennäköistä, ettei asetettua lämpötilaa pystytä ikinä saavuttamaan. Erot lämpötilakäyriä muottimateriaalien A ja B välillä ovat miltei olemattomat. Näin ollen voidaan todeta, ettei muottimateriaalilla ole vaikutusta muotin sisäisen lämpötilan kehitykseen sintrauksen aikana.



**Kuvio 2.** Muottimateriaalissa A lämpötilassa T1, T2 ja T3 sintrattujen kappaleiden sisälämpötilakäyrien keskiarvot. (Pisteet kuvaavat asetettuja

lämpötiloja; sininen ylin piste T3, keltainen keskimmäinen piste T2 ja punainen alin piste T1)



**Kuvio 3.** Muottimateriaalissa B lämpötilassa T1, T2 ja T3 sintrattujen kappaleiden sisälämpötilakäyrien keskiarvot. (Pisteet kuvaavat asetettuja lämpötiloja; sininen ylin piste T3, keltainen keskimmäinen piste T2 ja punainen alin piste T1)

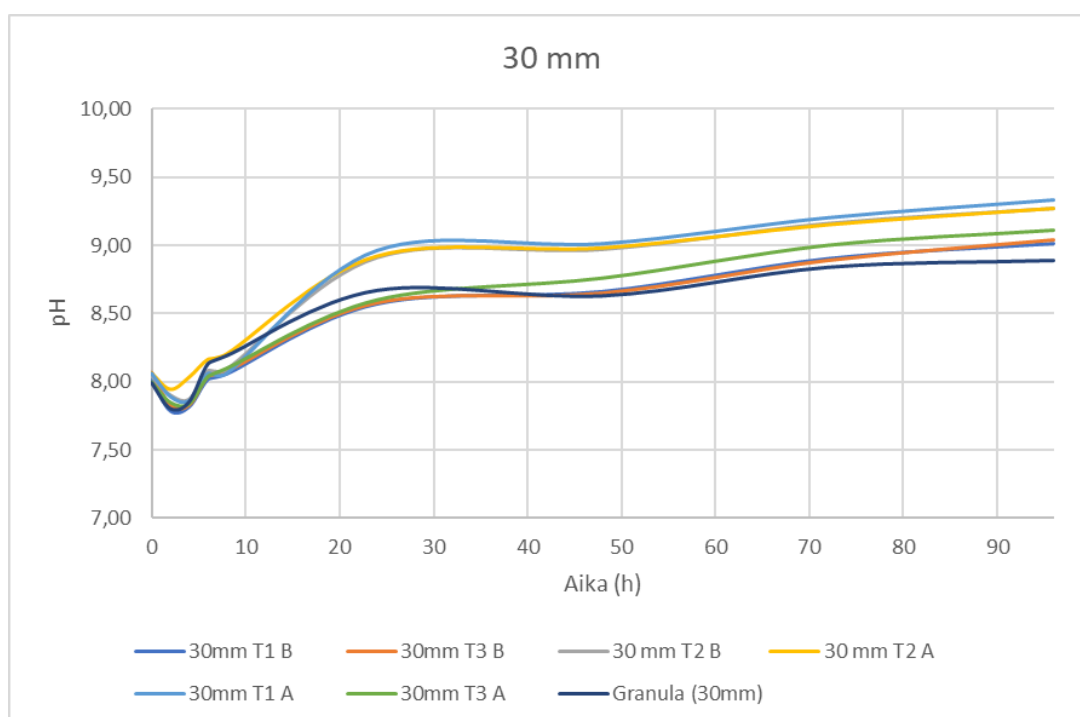
## 5.2 Kemiallisen testin tulokset

Kappaleiden pH-arvoa TRIS-puskuriliuoksessa tarkasteltiin 5 päivän ajan. Mittaustulokset taulukoitiin ja niistä muodostettiin kuvaajat.

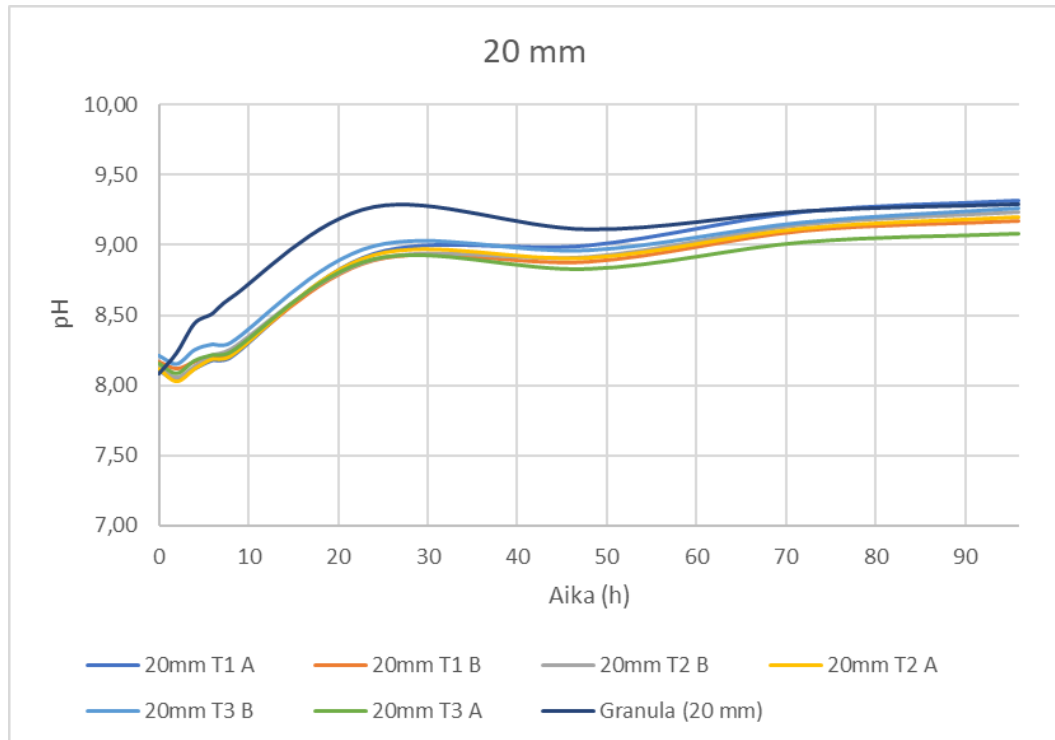
Kuten voidaan olettaa, sintratun kappaleen koolla ei pH-mittauksien mukaan ole juurikaan vaikutusta pH:n nousun kehitykseen, kun puskuriliuoksen volyyymi on suhteutettu kappaleen painoon. Vaikka kappaleen ominaispinta-alalla ja sillä, miten puskuriliuos saavuttaa sisäisiä rakenteita on merkitystä, tulokset eivät viittaa suuriin eroihin kappaleiden välillä, eli kappaleet ovat suhteellisen yhdenmukaisia huokoisuusasteeltaan.

Vain kuvioiden 4, 5 ja 6 kontrollisarjat Granula (x mm) poikkeavat merkittävästi, sillä nämä ilmaisevat sintraamattoman lasigranulan pH:n kehitystä TRIS-liuoksessa 96 tunnin kuluessa. Pienempään kokoon edetessä granulan ja sintratun kappaleen pH:n kehitys eroavat enemmän. Granulan aiheuttama pH on korkeampi kuin sintratun kappaleen, sillä kappaletta vastaavan granulamäärän kokonaispinta-ala on suurempi kuin sitä vastaavan sintratun kappaleen. Näin ollen kappaletta vastaavasta granulamäärästä irtoaa siis enemmän emäksisiä ioneja kuin sintratusta kappaleesta, mikä nostaa pH:ta tehokkaammin. Eroa ison granulamäärän ja pienen granulamäärän pH:n kehityksessä ei pitäisi olla. Erotus voi kuitenkin johtua esimerkiksi ison granulamäärän pakkaantumisesta pohjalle, jolloin sen kaikkea pinta-alaa ei saada hyödynnettyä, tai mittauksen yhteydessä suoritettua ravistelun tehottomuudesta ja sensorin liiallisen alhaisesta asemasta liuoksessa.

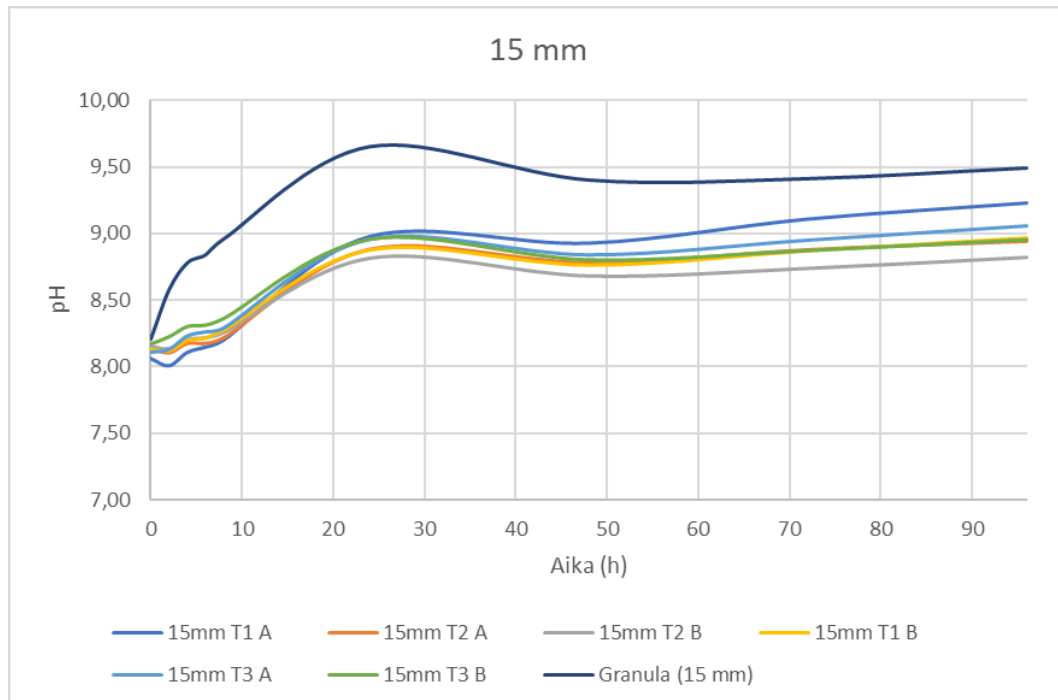
Kuvissa näkyvät muut sarjat ilmaisevat sintrattujen kappaleiden pH:n kehitystä 96 tunnin kuluessa. Isokokoisten sintrattujen kappaleiden pH:n kehitys on hajanaisin, pienempiin kokoihin edetessä hajonta tasaantuu.



**Kuvio 4.** Isokokoisten kappaleiden (30 mm  $\emptyset$ ) pH:n muutos 96 tunnin aikana



**Kuvio 5.** Keskikokoisten kappaleiden (20 mm  $\emptyset$ ) pH:n muutos 96 tunnin aikana

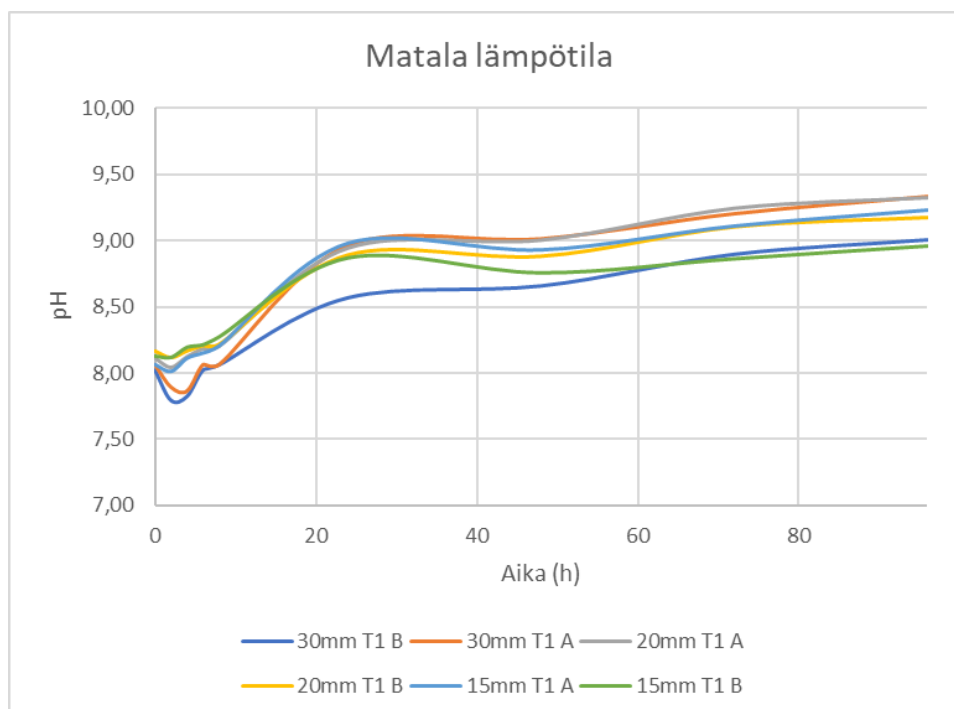


**Kuvio 6.** Pienten kappaleiden (15 mm  $\emptyset$ ) pH:n muutos 96 tunnin aikana

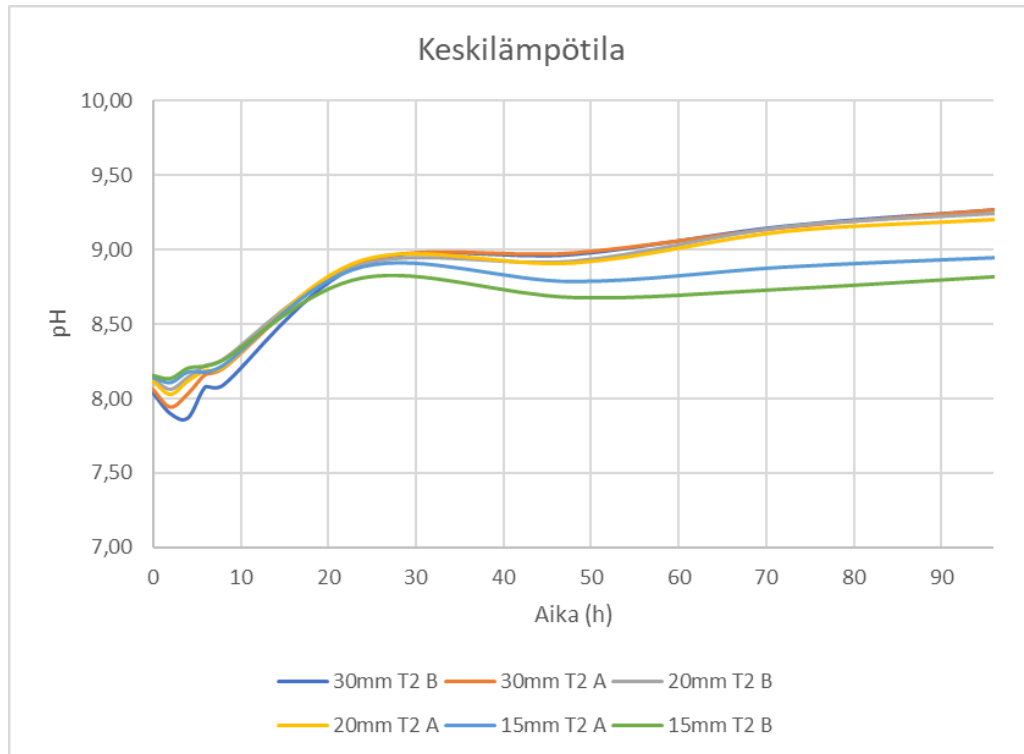
Myös sintrattujen kappaleiden sintrauslämpötilan vaikutusta pH:n kehitykseen tutkittiin. Kuviot 7, 8 ja 9 esittävät lämpötilakohtaiset pH:n kehitykset 96 tunnin aikana. Kuvien perusteella korkeassa lämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n hajonta koko 96 tunnin ajalta on pienin. Keskilämpötilassa sintrattujen kappaleiden sarjojen keskihajonta kullekin mittauspisteelle on pienin.

Lämpötilojen välillä ei kuitenkaan ole havaittavissa suuria eroja pH:n kehityksen tai käyrien hajonnan suhteen. Keskilämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n kehityksen pieni eroavaisuus matalan ja korkean lämpötilan sintrauksien pH:n kehitykseen saattaa olla artefakti, eli mittauksessa tapahtuneista virheistä johtuva vääristävä tulos. Ero käyrien välillä on kuitenkin niin pieni, että voidaan todeta, ettei kappaleen sintrauslämpötila vaikuta pH:n kehitykseen huomattavasti.

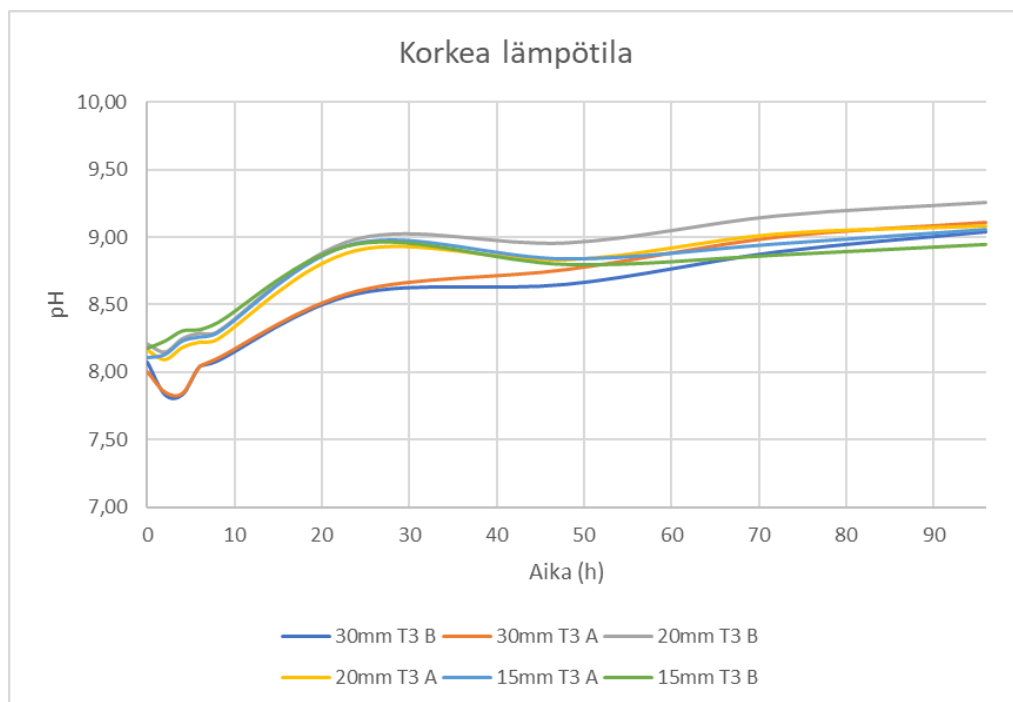
Kappaleen koolla ja sintratessa käytetyllä lämpötilalla ei siis ole suurta vaikutusta pH:n kehitykseen 96 tunnin aikana. Korkeampi sintrauslämpötila on kuitenkin hyvä kappaleiden yhdenmukaisen pH:n kehityksen takaamisen kannalta.



**Kuvio 7.** Matalassa lämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana

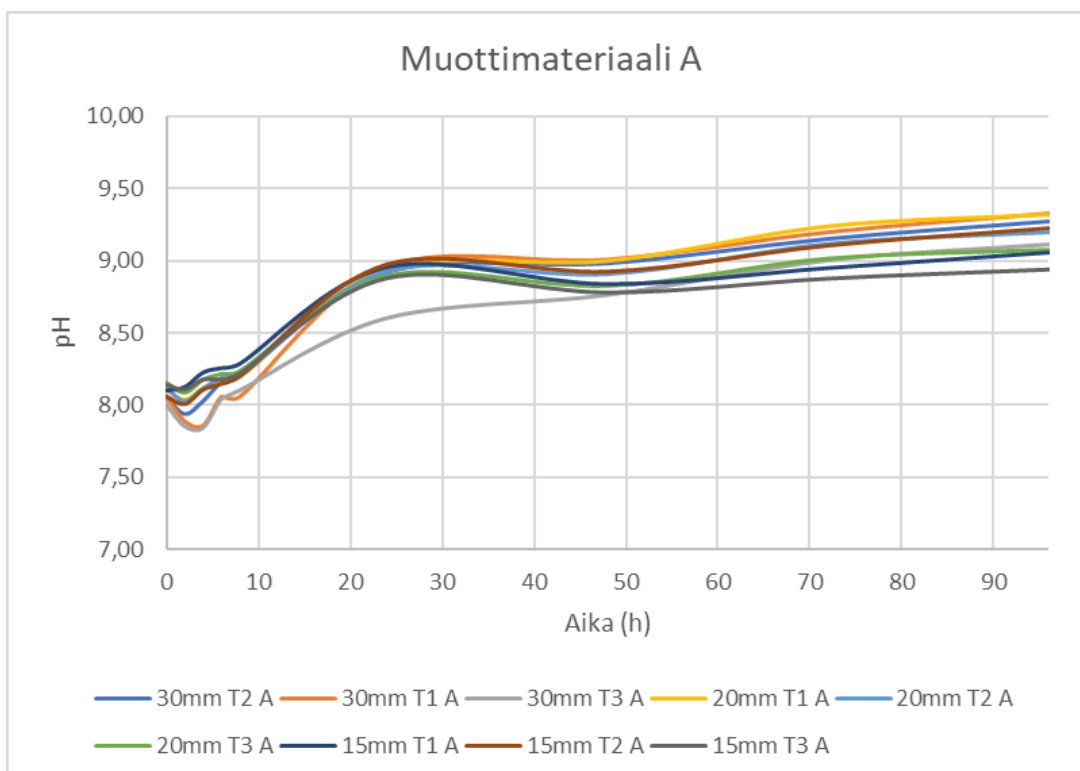


**Kuvio 8.** Keskilämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana

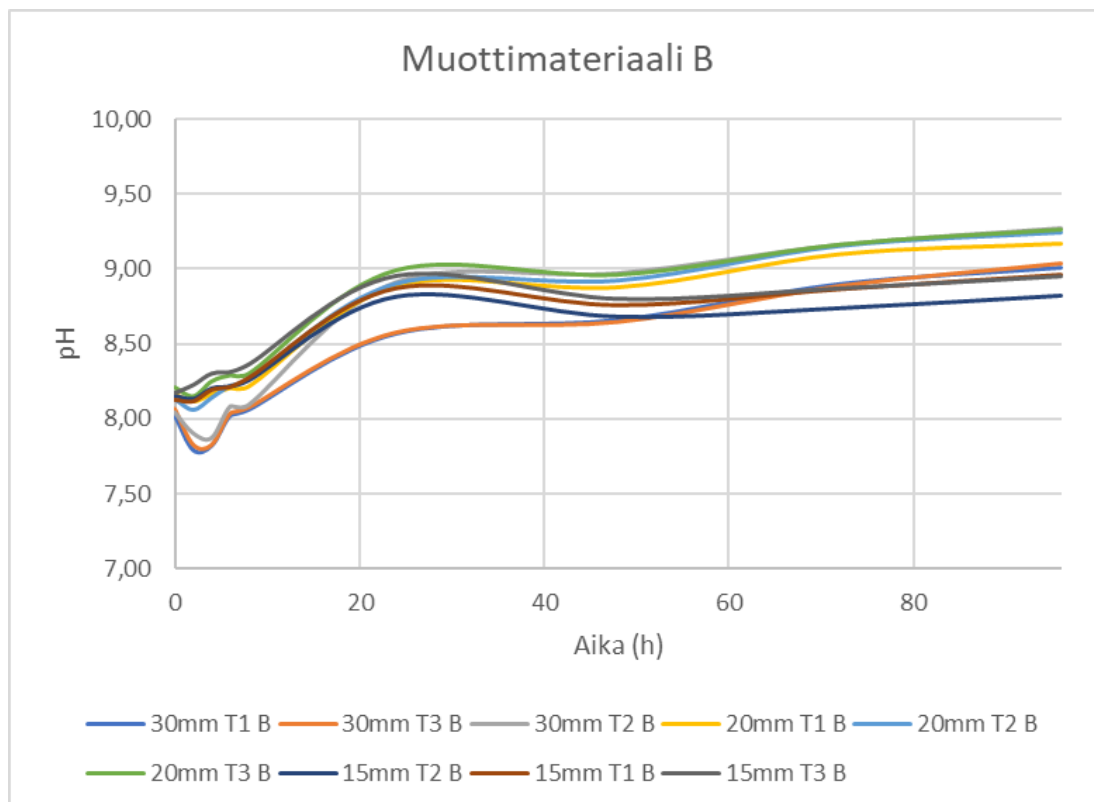


**Kuvio 9.** Korkeassa lämpötilassa sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana

Muottimateriaalien vaikutusta pH:n kehitykseen tarkastellessa on kuitenkin selvemmin nähtävissä, kuinka muottimateriaali A aiheuttaa vähemmän hajontaa kappaleiden kesken. Katso kuviot 10 ja 11. Muottimateriaalien pH:n käyrät ovat hyvin yhtenevät, muottimateriaalilla B on kuitenkin havaittavissa enemmän hajontaa kappaleiden pH:n kesken kuin materiaalilla A. Tulosten perusteella muottimateriaali A vaikuttaa paremmalta kappaleiden väliseen yhtenäiseen pH:n kehitykseen. Pienen näytemäärän vuoksi ehdottomia johtopäätöksiä ei kuitenkaan voida vetää.



**Kuvio 10.** Muottimateriaalissa A sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana.



**Kuvio 11.** Muottimateriaalissa B sintrattujen kappaleiden pH:n muutos 96 tunnin aikana.

Kappaleen koosta, käytetystä sintrauslämpötilasta tai muottimateriaalista riippumatta sintratut bioaktiiviset lasikappaleet reagoivat TRIS-puskuriliuoksessa yhtäläisesti. Kuten kuvioista 4–11 on nähtävissä, noin 24 tunnin kohdalla pH:n ripeä nousu saavuttaa huippunsa. Tämän jälkeen noin 48 tuntiin asti pH on vakio tai jopa laskee hieman. 48 tunnista eteenpäin pH lähtee taas nousuun, mutta hitaammin kuin aika periodin alussa. 72 tunnin kohdalla pH:n nousu hidastuu entisestään, mutta jatkuu 96 tuntiin asti. Keskimäärin sintrattujen bioaktiivisten lasikappaleiden pH nousee pH-arvosta 7.75–8.25 pH-arvoon 8.75–9.30, eli noin 1 pH-yksikön 96 tunnin kuluessa. Tällainen pH-käyrän käyttäytyminen bioaktiivisen lasin pH:n kehitystä mitatessa ei ole tyypillistä. Tyypillisesti käyrä on suljetussa systeemissä jatkuvasti nouseva, johtuen lasimateriaalista jatkuvasti vapautuvista ioneista. Ajoittainen pH:n lasku voidaan olettaa artefaktiksi tai muuksi virheelliseksi mittausolosuhteeksi, jonka vuoksi suljettuun systeemiin on esimerkiksi päässyt muita tekijöitä vaikuttamaan

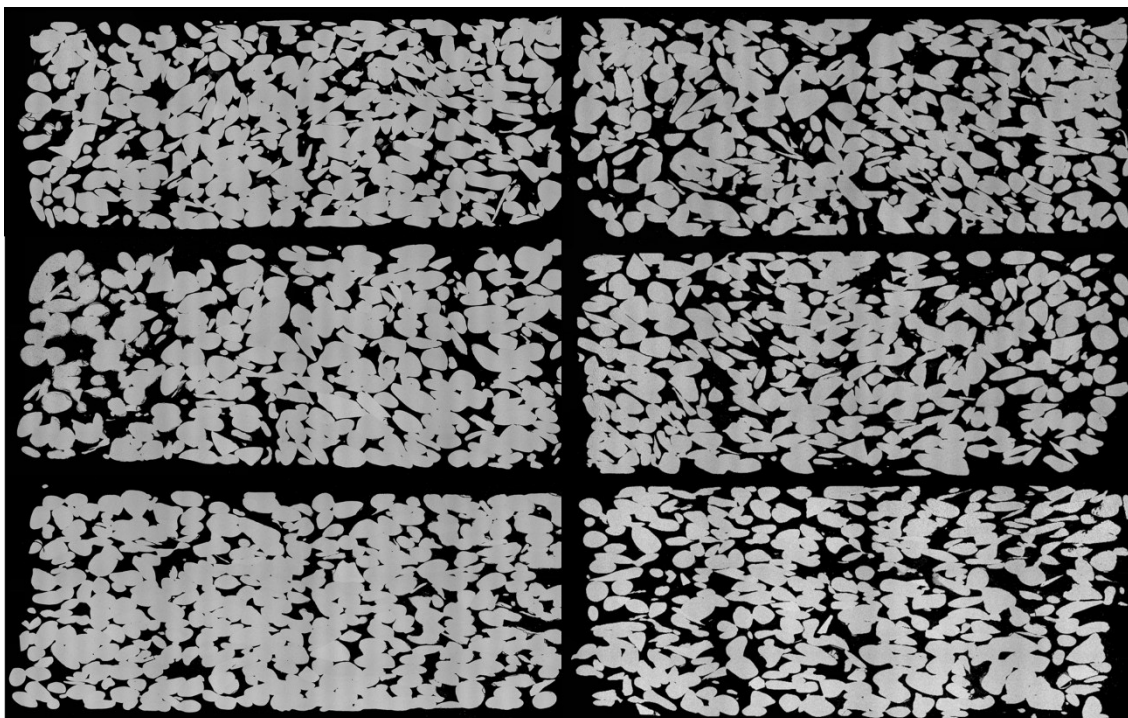
tuloksiin. Aiempien tutkimusten perusteella pH:n kehitys on nousevaa. (Jokela, 2018) (Oksman, 2020) (Vuori, 2020). Aiemmissä tutkimuksissa granulakoko, muottimateriaalit ja muut sintrausparametrit ovat olleet miltei vastaavat.

### 5.3 Visuaaliset SEM-testien tulokset

SEM-testien kuvista on mahdollista arvioida kappaleiden kiteytymis- ja sintraantuneisuusasteita sekä mahdollista kertynyttä hydroksiapatiittikerrosta.

#### 5.3.1 SEM-läpileikkaustesti

Läpileikattujen kappaleiden SEM-kuvien perusteella muottimateriaalilla A valmistetut kappaleet ovat sintraantuneet paremmin kuin muottimateriaalilla B valmistetut kappaleet, joissa ilmenee enemmän kiteytymistä. Sintraantumisaste kuitenkin nousee selkeästi kummankin muottimateriaalin kohdalla siirryttäessä korkeampaan lämpötilaan. Hyvin sintraantuneissa kappaleissa lasipartikkelit ovat pyöreämpiä ja muodostavat enemmän sekä paksumpia fuusioita viereisiin partikkeleihin. Kappaleet näyttävät siis yhtenäisemmiltä ja sintraantumiselle ominainen tiivistyminen sekä partikkelikoon kasvu on nähtävissä.

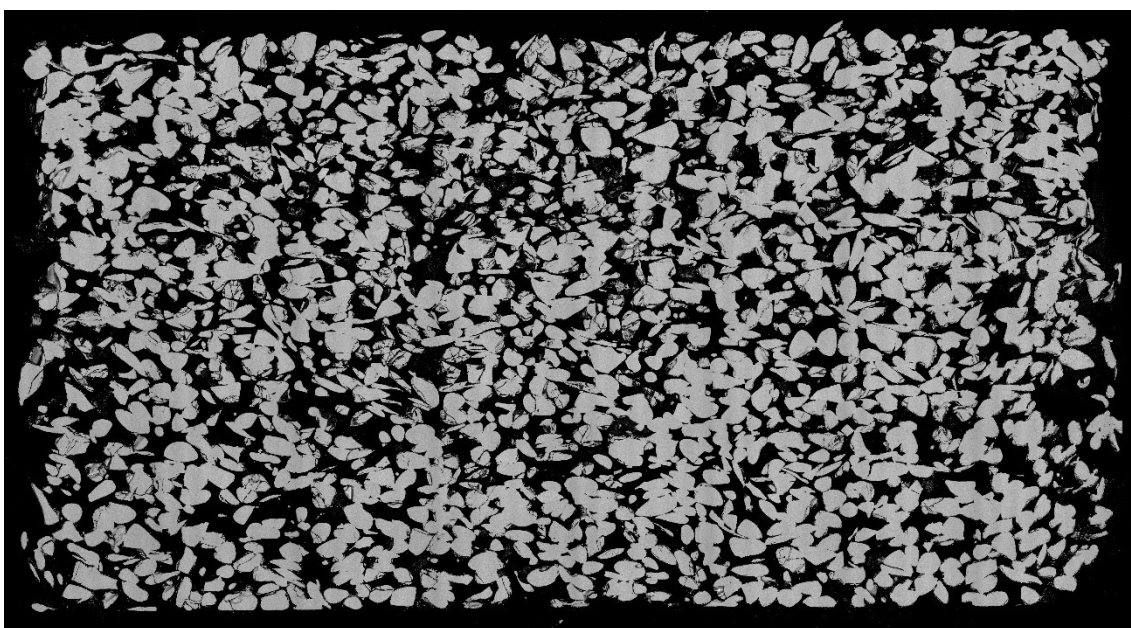


**Kuva 7.** SEM-läpileikkaus-panoraama-kuvia pienikokoisista sintratuista kappaleista (Ylhäältä alas: matala lämpötila, keskilämpötila, korkea lämpötila. Vasen puoli muottimateriaalissa A sintratut, oikea puoli muottimateriaalissa B sintratut)

Kappaleen koolla ei vaikuta olevan merkitystä sintraantumisasasteeseen. Kuvista kuitenkin huomaa pienikokoisen kappaleen sintraantuneisuuden helpommin kuin ison kappaleen, sillä partikkelit kuvassa ovat isompia ja niitä on vähemmän. Kyseistä kuvaa ei ole otettu mukaan raportointiin. Kummallakin muottimateriaalilla, ja kullakin koolla, muottimateriaalissa B matalassa lämpötilassa sintratut kappaleet ovat vähiten sintraantuneet ja eniten kiteytyneet. Tällaisissa kuvissa partikkelit ovat kulmikkaampia ja erillään toisistaan. (Kuva 7. Oikea puoli, yläkulma.)

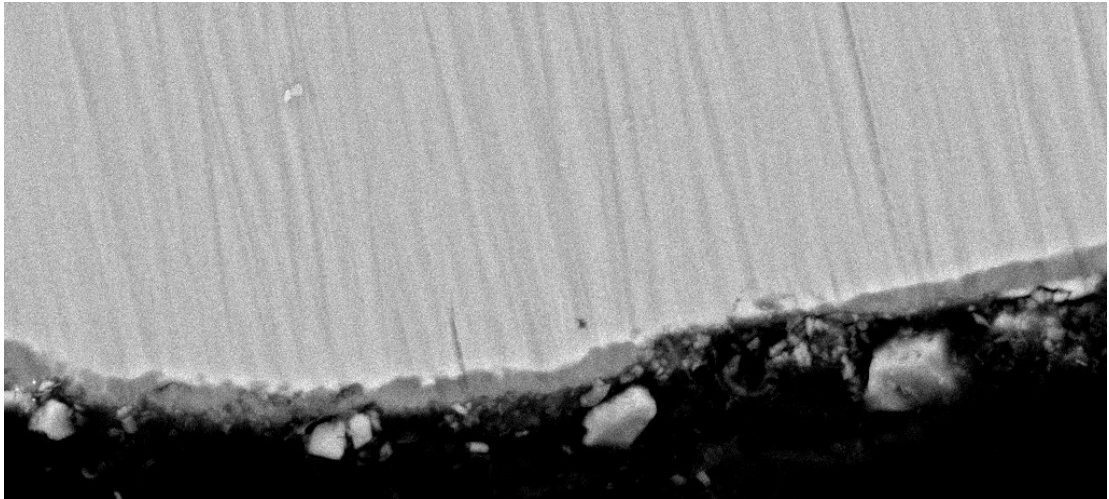
Verrattaessa pH-testissä käytettyjen isokokoisten kappaleiden SEM-panoraama-kuvia muihin SEM-testikappaleiden panoraamakuviin, eroavaisuudet ovat pieniä. pH-testatut SEM-testi kappaleet voivat näyttää panoraamakuviissa hieman kiteytyneiltä, tai ainakin kiteytyneemmiltä kuin vastaavat vain leikkaustestin yhtäläisten parametrien kappaleet. Tämä johtunee

siitä, että kappaleiden ollessa TRIS-puskuriliuoksessa 96 tuntia niiden bioaktiivisuuteen liittyvät reaktiot ovat jo lähteneet käyntiin, aiheuttaen muutoksia niiden kappaleiden pinnalla ja niiden ulkonäössä. Vaikka immersio puskuriliuoksessa ei aiheuta kiteytymistä, siluettimaisessa SEM-läpileikkaukskuvauksessa reaktiot, kuten hydroksiapatiittikerroksen muodostumisen alkaminen piidioksidi- eli silikarikkaalla kerroksella, voivat näyttää samanlaisilta kuin kiteytyminen, vaikkeivat ne sitä ole. (Kuva 8)

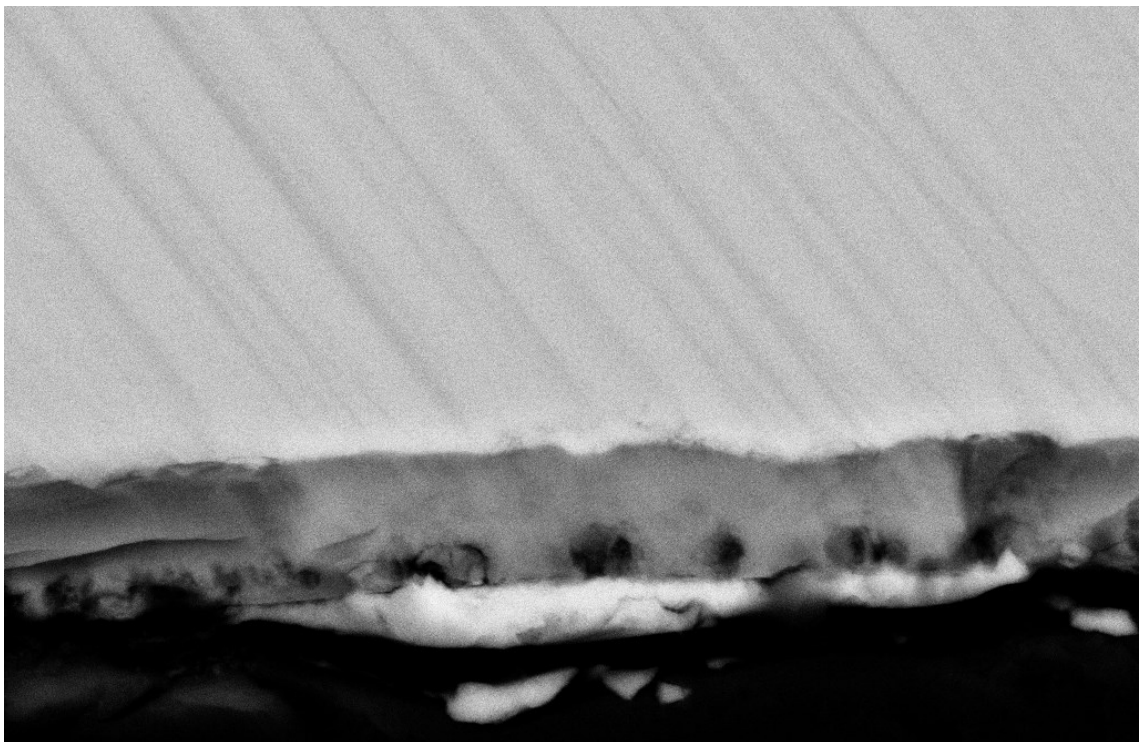


**Kuva 8** Panoraamakuva isokokoisesta korkeassa lämpötilassa muottimateriaalissa B sintratusta pH-testatusta SEM-testikappaleesta

Puskuriliuoksessa immersoituja SEM-läpileikkauksnäytekappaleiden pinnalla oli havaittavissa piirikkaan kerroksen päälle muodostunut vaalea hydroksiapatiittikerros. Näytekappaleiden määrä oli kuitenkin vähäinen, joten varmoja johtopäätöksiä tästä ei voida luoda. Kuvassa 9 näkyvä tumman harmaa alue kappaleen reunassa on puskuriliuoksessa reagoiessa muodostunut piirikas kerros, jonka pinnalle hydroksiapatiittikerros muodostuu. (Fagerlund, et al., 2012) Kuvan 9 oikeassa reunassa näkyvä pieni vaalea kerros tummanharmaan piirikkaan kerroksen päällä näyttää muodostuvalta hydroksiapatiittikerrokselta. Vastaava silikarikas kerros ja hydroksiapatiittikerros on nähtävissä myös kuvassa 10 selvemmin.



**Kuva 9.** pH-testattu bioaktiivinen lasikappale SEM-läpileikkaus-lähi-kuvauksessa. (Kuvan suurennossuhde 1.00 K X)



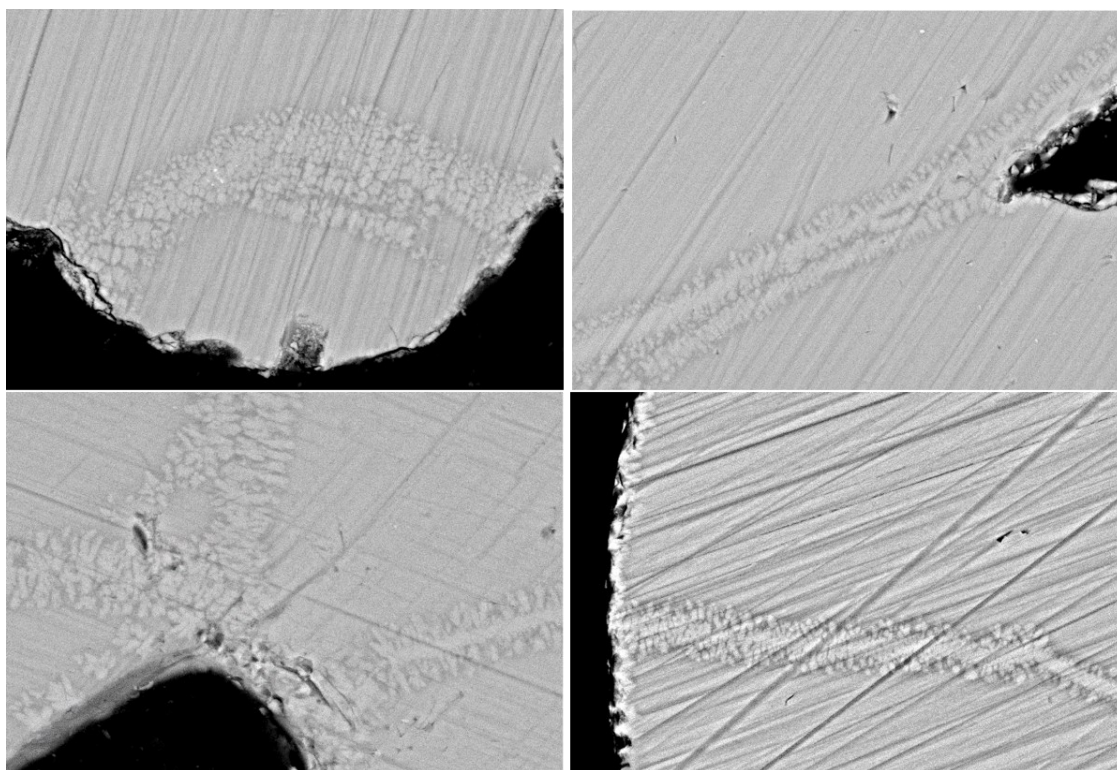
**Kuva 10.** pH-testattu bioaktiivinen lasikappale SEM-läpileikkaus-lähi-kuvauksessa. (Kuvan suurennossuhde 2.50 K X)

Kuvassa 10 ohut valkoinen kerros tummanharmaan kerroksen päällä on piirikkaan kerroksen päälle muodostunutta hydroksiapatiittia. (Fagerlund, et al.,

2012) Tämä kertoo siitä, että kappaleiden bioaktiivisuuteen liittyvät reaktiot ovat käynnistyneet puskuriliuoksessa.

Kuvissa 7, 8, 9 ja 10 näkyvät irralliset hiukkaset ovat hionnan ja kiillotuksen yhteydessä hajonneita granuloita. Granuloiden hajoaminen hionnan yhteydessä voi johtua liiallisesta voimankäytöstä tai liian karheasta ja kuivasta hionta-alustasta.

SEM-läpileikkaus-lähikuvissa kiteytyminen lasissa näkyy epätasaisena, säikeisenä ja vaaleana linjana. Kuvassa 11 säikeiset linjat kappaleen reunoilta sisään ovat kiteytymistä. Lähikuvien perusteella korkeammassa lämpötilassa sintratut isokokoiset kappaleet ovat kiteytyneet enemmän kuin muut.

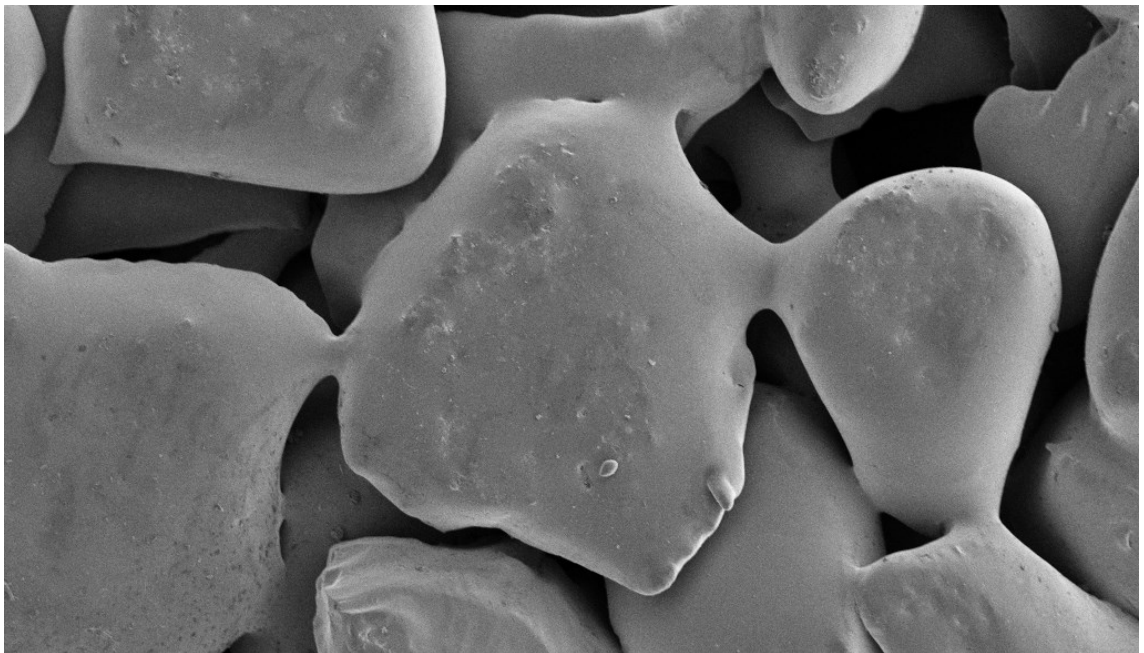


**Kuva 11.** SEM-läpileikkaus-lähikuvissa näkyvä kiteytyminen. (Vasen ylä 30 mm  $\varnothing$  T2 muotti A, vasen ala 15 mm  $\varnothing$  T3 muotti A, oikea ylä 30 mm  $\varnothing$  T2 muotti A, oikea ala 15 mm  $\varnothing$  T3 muotti B)

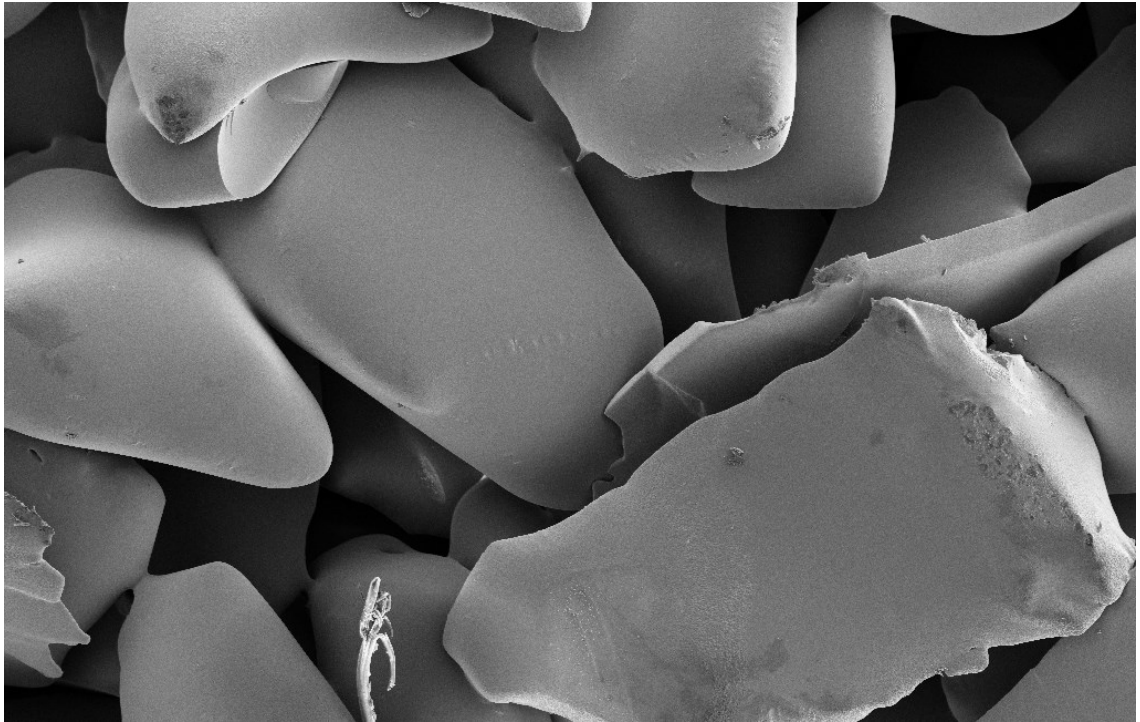
### 5.3.2 SEM-pinnan kiteytymistesti

Pinnan kiteytymistestiin valittujen kappaleiden SEM-kuvien perusteella vaikuttaa siltä, että korkeampi lämpötila tuottaa paremman sintraantumisasteen.

Kulmikkautensa ja vähäisten sidosten vuoksi muottimateriaalin B kappaleiden granulat näyttävät kuvien perusteella kulmikkaammilta, eli mahdollisesti kiteytyneemmiltä kuin muottimateriaalin A kappaleiden granulat. (Kuvat 12 ja 13) Parhaiten sintraantuneen kappaleen näyttäisi tuottaneen muottimateriaali A sintratessa korkeassa lämpötilassa.



**Kuva 12.** SEM-pintakuva korkeassa lämpötilassa muottimateriaalissa A sintratusta kappaleesta (Kuvan suurennosaste: 50 X)

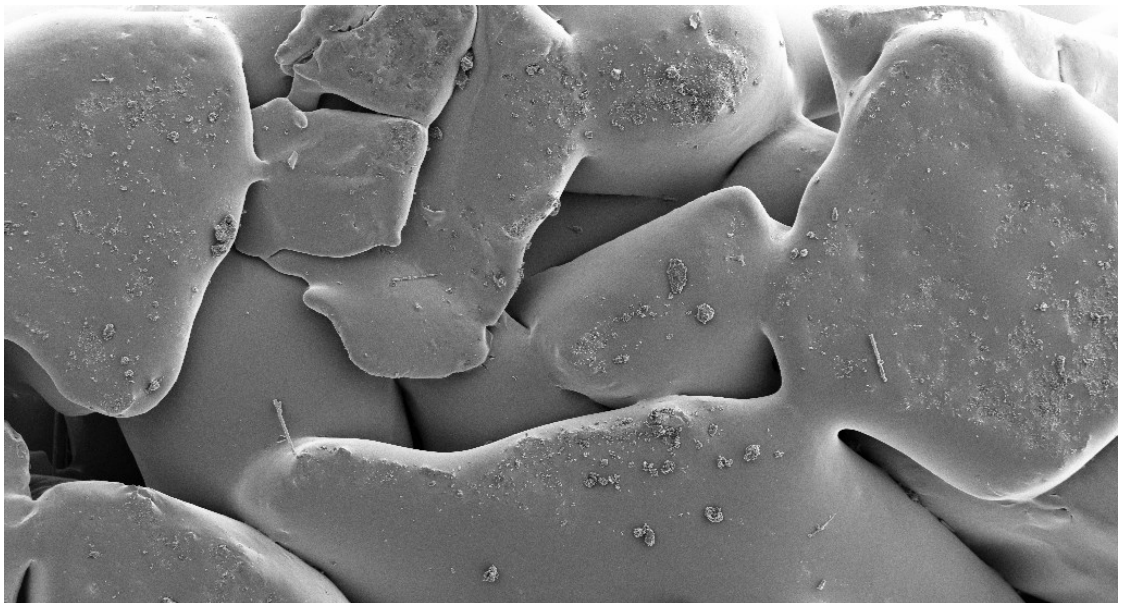


**Kuva 13.** SEM-pintakuva matalassa lämpötilassa muottimateriaalissa B sintratusta kappaleesta. (Kuvan suurennosaste: 50 X)

Pinnan kiteytymistestissä kuvattujen kappaleiden lähikuvissa kiteytyminen näkyy pinnan epätasaisuutena. Suurimmassa osassa pinnan kiteytymistestin SEM-lähikuvia näkyy jonkin asteista kiteytymistä. Tämä eroavaisuus SEM-läpileikkaus-lähikuviin verraten johtuu materiaalin eli bioaktiivisen lasin S53P4 luonteesta, jonka vuoksi kiteytyminen alkaa kappaleen pinnalta ja etenee sisemmäs.



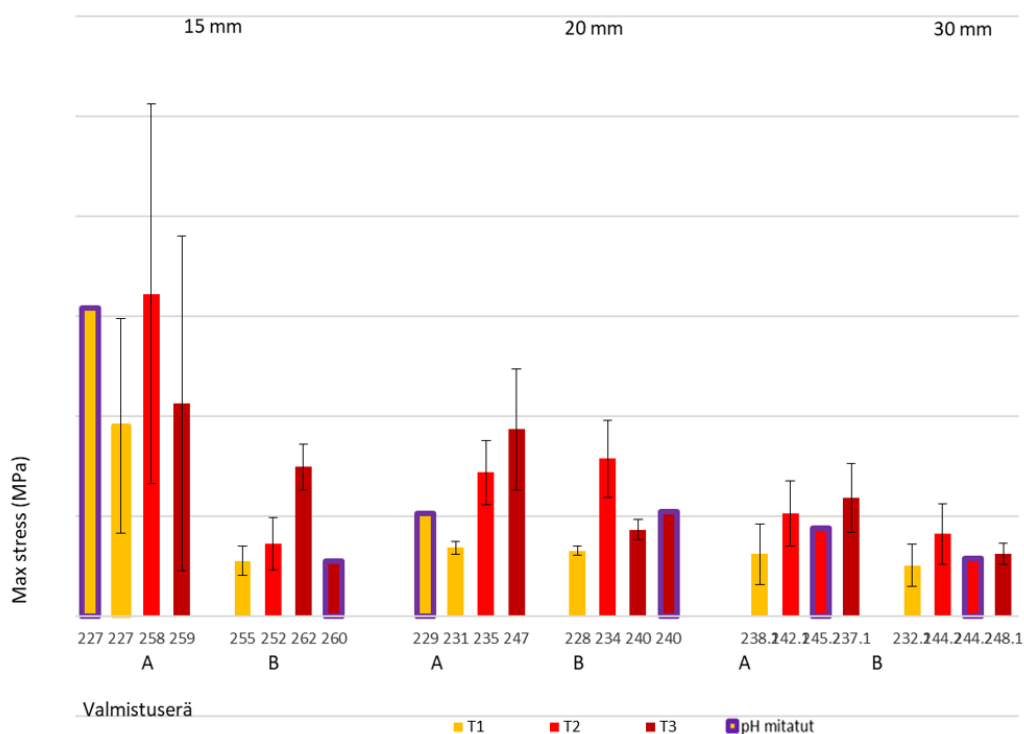
**Kuva 14.** Pinnan kiteytymistesti lähikuva kiteytymisestä. Kimpaleet tason pinnalla ovat kiteytymistä. (Kuvan suurennosaste: 500 X)



**Kuva 15.** Pinnan kiteytymistesti lähikuva kiteytymisestä kappaleen pinnalla. Kimpaleet ja epätasaisuus tasojen pinnalla ovat kiteytymistä. (Kuvan suurennosaste: 50 X)

## 5.4 Mekaanisen testin tulokset

Mekaanisella kompressiotestillä mitattiin sintrattujen bioaktiivisten lasikappaleiden lujuutta. Testien tulosten perusteella muottimateriaali A tuottaa keskimäärin lujempia kappaleita kuin muottimateriaali B. Muottimateriaalin vaikutus kappaleen lujuuteen on suurin pienikokoisilla kappaleilla. Muottimateriaalissa A valmistettujen kappaleiden suurempi lujuus osoittaa, että muottimateriaalilla A sintrattujen kappaleiden sintraantumisaste on suurempi kuin muottimateriaalissa B sintrattujen kappaleiden. Myös SEM-läpileikkaus- ja pinnan kiteytymistestin kuvat tukevat tätä tulosta. Kuviosta 12 näkyy, kuinka pienikokoiset muottimateriaalilla A valmistetut kappaleet kestävät kompressiota paremmin kuin isompikokoiset kappaleet sintrauslämpötilasta riippumatta.



**Kuvio 12.** Kappaleiden kompression (MPa) kesto. (T1, T2 ja T3 ilmaisevat sintrauslämpötiloja, T3 on korkein lämpötila. Reunustetut palkit ilmaisevat pH-testattuja kappaleita. A ja B viittaavat sintrauksessa käytettyihin muottimateriaaleihin. Numerosarjat kuten 227 viittaavat valmistuseriin.)

Teoriassa korkeamman lämpötilan tulisi tuottaa lujempia kappaleita. Kuten kuvioista 12 huomaa, tämä ei kuitenkaan käytännössä aina toteudu. Vaikka useassa eri valmistuserässä korkeammassa lämpötilassa sintrattu kappale on lujempi kuin matalammassa lämpötilassa sintrattu kappale, keskilämpötilassa sintratut kappaleet ovat monesti kestävämpiä kuin korkeassa lämpötilassa sintratut kappaleet. Keskilämpötilassa sintrattuja kappaleita heikkommat korkeassa lämpötilassa sintratut kappaleet muottimateriaalilla A johtuvat luultavimmin kiteytymisen aiheuttamasta rakenteen heikentymisestä. Kuvion 12 perusteella voidaan todeta, että pienikokoisissa kappaleissa keskilämpötilassa sintraaminen tuottaa lujempia kappaleita kuin muut lämpötilat. Muilla parametreillä valmistettujen kappaleiden suhteet viittaavat samaan. Tästä voidaan päätellä, että keskilämpötila sintraa kappaleen lujaksi, eikä aiheuta koostumusta heikentävää kiteytymistä yhtä lailla kuin korkea lämpötila.

pH-testeissä käytetyistä kappaleista (upotettuna TRIS-puskuriliuoksessa 96 tuntia) muottimateriaalissa A sintratut kappaleet ovat keskimäärin lujempia kuin muottimateriaalissa B sintratut kappaleet. pH-testeissä käytetyt kappaleet eivät eroa lujuudeltaan muista vastaavista kappaleista olemalla niitä huomattavasti heikompia tai lujempia. Pienikokoisissa kappaleissa ero pH-testattujen ja vastaavien testaamattomien kappaleiden välillä on suurempi kuin isokokoisissa. Matalassa lämpötilassa sintrattu kappale, joka on päässyt reagoimaan TRIS-puskuriliuoksessa, on lujempi kuin reagoimaton kappale. Korkeassa- ja keskilämpötilassa sintrattu ja pH-testattu kappale on kuitenkin heikompia kuin vastaava pH-testaamaton kappale. pH-testattuihin kappaleisiin verrattavia testikappaleita on kuitenkin niin vähän ja tulokset ovat niin epätasaisia, ettei pH-vaikutuksesta lujuuteen voida tehdä luotettavia päätelmiä.

Keskimäärin pienikokoiset (15 mm  $\emptyset$ ) kappaleet kestävät enemmän painetta per pinta-ala (MPa) kuin isompikokoiset (20 ja 30 mm  $\emptyset$ ) kappaleet. Suhteessa kappaleen pinta-alaan lujimpia kappaleita ovat muottimateriaalissa A keskilämpötilassa sintratut pienikokoiset kappaleet. Kappaleiden välinen paineensieto vaihteli 0,5–5,0 kN välillä.

## 6 Loppupäätelmä

Kemiallisesta pH-testistä, visuaalisesta SEM-läpileikkaustestistä ja mekaanisesta kompressiotestistä saatujen tulosten perusteella voidaan vetää seuraavia päätelmiä työstä. Muottimateriaalissa A korkeassa lämpötilassa sintrattu kappale tuottaa sintraantumisasteeltaan ja lujuudeltaan parhaat kappaleet, jotka reagoivat TRIS-puskuriliuoksessa halutulla tavalla nostaen pH:ta. Pienikokoisissa kappaleissa keskilämpötilassa muottimateriaalissa A sintrattu kappale vaikuttaa lujemmalta kuin korkeassa lämpötilassa sintrattu kappale. Tämä saattaa johtua korkean lämpötilan aiheuttamasta kappaleen kiteytymisestä. Suuren hajonnan vuoksi tulos on kuitenkin epävarma. Lisätutkimuksia tarvitaan, jotta kyseinen epäyhtäläisyys saadaan ratkaistua.

Keskimäärin ominaisuuksiltaan toivotuimmat kappaleet pH-, SEM- ja kompressiotestin mukaan ovat muottimateriaalissa A keski- ja korkeassa lämpötilassa sintratut kappaleet. Näin ollen muottimateriaalissa B matalassa lämpötilassa sintratut kappaleet ovat kiteytyneimpiä, huonosti sintraantuneita ja heikoimpia kaikista kappaleista.

Muottimateriaalilla A sintrattujen kappaleiden kutistuneisuus, eli korkeuden lasku, oli suurempi kuin materiaalilla B sintrattujen kappaleiden, kappaleet muottimateriaalissa A ovat siis tiivistyneet enemmän kuin materiaalissa B sintratut. Granuloiden tiivistyminen kertoo hyvästä sintraantumisasteesta, mikä selittää muottimateriaalilla A sintrattujen kappaleiden lujuuden.

SEM-kuvien perusteella muottimateriaalissa B sintratut kappaleet ovat vähemmän sintraantuneet kuin muottimateriaalissa A sintratut, tukien siis kompressiotestin tuloksia muottimateriaalin vaikutuksesta kappaleiden lujuuteen. Muottimateriaalilla ja sintrauslämpötilalla on siis merkittävä vaikutus kappaleen sintraantumis- ja kiteytyneisyysasteeseen sekä lujuuteen. Työssä käytetyillä sintrausparametreillä pH:n kehitys TRIS-puskuriliuoksessa on suhteellisen yhtäläistä kaikilla kappaleilla. Näin ollen tässä työssä käytetyt kappaleen sintrausparametrit eivät vaikuta merkittävästi kappaleen pH:n kehitykseen.

Kappaleiden koon ja muodon vaikutuksia sintraantuneisuusasteisiin eri parametreillä tulisi jatkossa tutkia lisää. Luuimplantointiin käytettävien biomateriaali-implanttien koko ja muoto, sekä niiden kehon sisäisen vaikutusalueen olosuhteet voivat vaihdella. On tärkeää selvittää, löytyykö erimuotoisille ja -kokoisille kappaleille erilaiset optimaaliset sintrausparametrit ja pystytäänkö isokokoisien kappaleen lujuus saamaan yhtä kestäväksi kuin pienikokoisen käyttämällä parametrejä, joita tässä opinnäytetyössä ei testattu. Myös kappaleiden kutistuvuuden, kuten korkeuden laskun, ennakointia on hyvä tutkia lisää. Kappaletta implantoidessa kehoon tarkat mitat ovat oleellisia implantin toimivuuden kannalta. Näin ollen liialti kutistunut kappale, tai vaihtoehtoisesti liian iso kappale ei ole optimaalinen lääketieteellisten sovellusten kuten implantoinnin kannalta, sovellusalueesta riippuen. Olisi myös hyödyllistä selvittää millaisia parametrejä käyttäen muottimateriaalin B tulosten saaminen muottimateriaalin A kanssa yhtäläisiksi olisi mahdollista. Miten esimerkiksi hapen vaikutus muottiin ja siinä sintrattavaan kappaleeseen sekä lämmönjohtavuudesta johtuvat erot saataisiin tasaannutettua säätämällä muita sintrausparametrejä. Yhä parempien tulosten saavuttamiseksi lisätutkimukset voivat myös keskittyä esimerkiksi tarkentamaan optimaalista sintrauslämpötilaa valitsemalla lämpötilat tässä tutkimuksessa käytetyn keski- ja korkean lämpötilan ylä- ja alapuolelta ( $\pm 5$  °C). Näin saataisiin selville, kuinka tarkka optimaalinen sintrauslämpötila on vai löytyykö jokin rajattu lämpötila-alue, jossa tulokset ovat hyvin yhtäläiset.

## 7 Lähteet

**Boccaccini, Brauer & Hupa, 2016.** *Bioactive glasses, fundamentals, technology and applications.* Cambridge: Royal society of chemistry.

**Bonalive, 2021.** s.l.: Bonalive Biomaterials Ltd..

**Dehaghani, M. T. & Ahmadian, M., 2015.** Effect of sintering temperature and time on the mechanical properties of Co-Cr-Mo/58S bioglass poprus nanocomposite. *Bulletin of materials science*, 10 10, 38(1), pp. 1239-1246.

**Fagerlund, S. ym., 2012.** Phase composition and in vitro bioactivity of porous implants made of bioactive glass S53P4. *Acta Biomaterialia*, 8(6), pp. 2331-2339.

**Hu, S., Chang, J. & Liu, M., 2008.** Study of antibacterial effect of 45S5 bioglass. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 3 9, 20(1), pp. 281-286.

**Hu, S., Ning, C. & Zhou, Y., 2011.** Antibacterial activity of silicate bioceramics. *Journal of Wuhan University of technology: Mater.Sci.Ed.*, 30 4, 26(1), pp. 226-230.

**Jokela, 2018.** *Thermal properties and in vitro dissolution of bioactive borosilicate glasses*, s.l.: Tampereen teknillinen yliopisto.

**Kang, S.-J. L., 2005.** *Sintering, densification, grain growth and microstructure.* Oxford: Elsevier Butterworth-Heinemann.

**Kaur, G., 2017.** *Bioactive glasses, potential biomaterials for future therapy.* Patiala: Thapar University.

**Kekäläinen & Rajala, 1995.** 6. toim. s.l.:University of Art and Design Helsinki UIAH, Department of Ceramics and glass.

**Keskinen, 2019.** *Biokeraamien antibakteeriset ominaisuudet*, s.l.: Tampereen yliopisto.

**Konttinen & Santavirta**, 2003. *Ortopediassa ja traumatologiassa käytetyt biomateriaalit*, Helsinki: Lääkelaitos.

**Maheswaran, A. ym.**, 2014. Structure, dielectric and bioactivity of P2O5-CaO-Na2O-B2O3 bioactive glass. 22 6, 117(1), pp. 1323-1327.

**Massera, Fagerlund, Hupa, L. & Hupa, M.**, 2011. Crystallization mechanism of the bioactive glasses, 45S5 and S53P4. 95(2), pp. 607-613.

**Merolli, A., Leali, P. T., Guidi, P. L. & Gabbi, C.**, 2000. Comparison in in-vivo response between a bioactive glass and a non-bioactive glass. *Journal of Materials Science, Materials in Medicine*, 4, 11(1), pp. 219-222.

**Moya, Baudin & Miranzo**, 2003. Sintering. Teoksessa: *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. 3rd toim. Madrid: Academic Press, Encyclopedia of physical science and technology, pp. 865-878.

**Oksman**, 2020. *Manufacturing and characterization of sintered S53P4 scaffolds*, s.l.: Tampereen yliopisto.

**Paakinaho & Kellomäki**, 2011. *Kudosteknologian biomateriaalit*, Tampere: Tampereen teknillinen yliopisto.

**Pirhonen**, 2001. *Luuta korvaavat materiaalit*. FI, Patenttiro FI20010873A.

**Purdue University, Iowa state University**, 2019. *Scanning electron microscope*. [Online]

Available at:

<https://www.purdue.edu/ehps/rem/laboratory/equipment%20safety/Research%20Equipment/sem.html>

[Haettu 28 4 2022].

**Seppälä, ym.**, 2004. Uudet polymeeripohjaiset biomateriaalit. *Aikakauskirja Duodecim: Terveys, tiede ja tulevaisuus*, Issue 10, pp. 1203-9.

**Tancred, D. C., Carr, A. J. & McCormack, B.,** 2001. The sintering and mechanical behaviour of hydroxyapatite with bioglass additions. *Journal of materials Science, Materials in medicine*, 12(1), pp. 81-93.

**Törmälä, P. ym.,** 2003. *Yleiskatsaus terveydenhuollon laitteissa ja tarvikkeissa käytettyihin biomateriaaleihin.* Helsinki, Lääkelaitos.

**Vuori,** 2020. *Bioaktiivisten huokoisten lasikappaleiden valmistus ja niiden ominaisuuksien karakterisointi,* s.l.: Turun ammattikorkeakoulu.

## Bioaktiivisten lasikappaleiden valmistusajomatriisi

Ajo	Koko	Muotti	Lämpötila
1	pieni	A	matala
2	pieni	A	matala
3	pieni	A	keski
4	pieni	A	keski
5	pieni	A	korkea
6	pieni	A	korkea
7	pieni	B	matala
8	pieni	B	matala
9	pieni	B	keski
10	pieni	B	keski
11	pieni	B	korkea
12	pieni	B	korkea
13	Keskikokoinen	A	matala
14	Keskikokoinen	A	matala
15	Keskikokoinen	A	keski
16	Keskikokoinen	A	keski
17	Keskikokoinen	A	korkea
18	Keskikokoinen	A	korkea
19	Keskikokoinen	B	matala
20	Keskikokoinen	B	matala
21	Keskikokoinen	B	keski
22	Keskikokoinen	B	keski
23	Keskikokoinen	B	korkea
24	Keskikokoinen	B	korkea
25	iso	A	matala
26	iso	A	matala
27	iso	A	keski
28	iso	A	keski
29	iso	A	korkea
30	iso	A	korkea
31	iso	B	matala
32	iso	B	matala
33	iso	B	keski
34	iso	B	keski
35	iso	B	korkea
36	iso	B	korkea

## SEM-testin testimatriisi

SEM-läpileikkaustesti			
tunniste	muotti	koko	lämpötila
227	A	pienikokoinen	T1
253	A	pienikokoinen	T2
259	A	pienikokoinen	T3
255	B	pienikokoinen	T1
252	B	pienikokoinen	T2
262	B	pienikokoinen	T3
238.2	A	isokokoinen	T1
242.2	A	isokokoinen	T2
237.2	A	isokokoinen	T3
232.2	B	isokokoinen	T1
241.1	B	isokokoinen	T2
239.1	B	isokokoinen	T3

pH-testatut SEM-läpileikkaustestiin			
tunniste	muotti	koko	lämpötila
246.1	A	isokokoinen	T1
239.2	B	isokokoinen	T3

SEM-pinnankiteytymistesti			
tunniste	muotti	koko	lämpötila
227	A	pienikokoinen	T1
253	A	pienikokoinen	T2
259	A	pienikokoinen	T3
255	B	pienikokoinen	T1
252	B	pienikokoinen	T2
262	B	pienikokoinen	T3
238.2	A	isokokoinen	T1
242.2	A	isokokoinen	T2
237.2	A	isokokoinen	T3
232.2	B	isokokoinen	T1
244.1	B	isokokoinen	T2
239.1	B	isokokoinen	T3

## Kompressiotestin testimatriisi

Kompressiotestin kappaleet			
nro	muotti	koko	lämpötila
1	A	pieni	matala
2	A	pieni	matala
3	A	pieni	matala
4	A	pieni	keskilämpötila
5	A	pieni	keskilämpötila
6	A	pieni	keskilämpötila
7	A	pieni	korkea
8	A	pieni	korkea
9	A	pieni	korkea
10	B	pieni	matala
11	B	pieni	matala
12	B	pieni	matala
13	B	pieni	keskilämpötila
14	B	pieni	keskilämpötila
15	B	pieni	keskilämpötila
16	B	pieni	korkea
17	B	pieni	korkea
18	B	pieni	korkea
19	A	keskikokoinen	matala
20	A	keskikokoinen	matala
21	A	keskikokoinen	matala
22	A	keskikokoinen	keskilämpötila
23	A	keskikokoinen	keskilämpötila
24	A	keskikokoinen	keskilämpötila
25	A	keskikokoinen	korkea
26	A	keskikokoinen	korkea
27	A	keskikokoinen	korkea
28	B	keskikokoinen	matala
29	B	keskikokoinen	matala
30	B	keskikokoinen	matala
31	B	keskikokoinen	keskilämpötila
32	B	keskikokoinen	keskilämpötila
33	B	keskikokoinen	keskilämpötila
34	B	keskikokoinen	korkea
35	B	keskikokoinen	korkea
36	B	keskikokoinen	korkea
37	A	iso	matala
38	A	iso	matala
39	A	iso	matala
40	A	iso	keskilämpötila
41	A	iso	keskilämpötila
42	A	iso	keskilämpötila
43	A	iso	korkea
44	A	iso	korkea
45	A	iso	korkea
46	B	iso	matala
47	B	iso	matala
48	B	iso	matala

pH ja kompressiotestin ka		
nro	muotti	koko
1	A	pieni
2	B	pieni
3	A	keskikokoinen
4	B	keskikokoinen
5	A	iso
6	B	iso