



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2013 00856

(22) Data de depozit: 18.11.2013

(41) Data publicării cererii:
30.07.2015 BOPI nr. 7/2015

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA "ALEXANDRU IOAN
CUZA" DIN IAȘI, BD. CAROL I, NR.11, IAȘI,
IS, RO

(72) Inventatori:
• OLARIU CRISTINA ȘTEFANIA,
STR. RIPA GABLENA NR. 10B, ET. 2, AP. 8,
IAȘI, IS, RO;

• CIUCHI IOANA VERONICA,
STR. MIHAI EMINESCU NR. 56,
SAT BURUIENEȘTI, COMUNA DOLJEȘTI,
NT, RO;
• MITOȘERIU LILIANA,
STR. OCTAV BĂNCILĂ NR.7, BL. CL 12,
SC.B, ET.6, AP.24, IAȘI, IS, RO;
• CIOMAGA CRISTINA ELENA,
STR. TITU MAIORESCU NR. 24, SC. A,
ET. 1, AP. 5, IAȘI, IS, RO

(54) **METODĂ TEHNICĂ DE DETERMINARE A FACTORULUI DE
UMPLERE VOLUMICĂ A FAZEI MINERALE DIN
BIOCOMPOZITELE OSOASE**

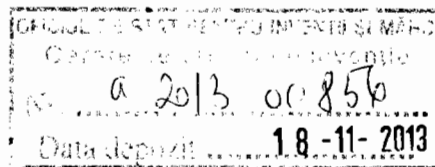
(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase. Metoda conform invenției constă din: determinarea porozității unei probe osoase, determinarea caracteristicilor dielectrice ale probei, determinarea caracteristicilor dielectrice ale fazelor: organică (colagenul) și anorganică (hidroxiapatita) din structura

osoasă, utilizând eșantioane standard de colagen și hidroxiapatită, neporoase, și utilizarea formulei Bruggeman pentru determinarea fracției volumice a părții anorganice (hidroxiapatita) a probei studiate.

Revendicări: 1
Figuri: 4



**Titlul Invenției:****Metodă tehnică de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase**

Autori: Cristina Stefania Olariu, Ioana Veronica Ciuchi, Liliana Mitoseriu, Cristina Elena Ciomaga

Facultatea de Fizica, Univ. „Al. I. Cuza” din Iasi, Bv. Carol I no. 11, Iasi 700506, Romania

Descriere:

Invenția se referă la o metodă neinvazivă experimental-teoretică folosită pentru determinarea factorului de umplere volumică a fazei minerale din interiorul biocompozitelor osoase folosind un model de camp efectiv (Bruggeman).

Determinarea factorului de umplere volumică a oaselor este folosită pentru descrierea structurii trabeculare a osului, ca parametru de evaluare a gradului de demineralizare a acestuia și de monitorizare a osteoporozei [Wu et al., 2005; Nazarian et al., 2008]. Procedeele presupune cunoașterea mărimii fracției volumice a porilor interiori precum și a proprietăților dielectrice ale compozitelor osoase și ale componentelor principale ale osului. Problema pe care o rezolvă metoda tehnică propusă spre brevetare se rezumă la determinarea neinvazivă și neradiativă a factorului de umplere volumic al componentelor fazice ale unui biocompozit osos. Invenția prezintă avantajul că este o metodă prietenoasă și nedistructivă, singurele informații necesare fiind proprietățile dielectrice ale osului și ale componentelor principale ale acestuia. Este o metodă de determinare analitică nouă, diferită de metodele uzuale.

Stadiul actual al metodelor folosite pentru determinarea densității minerale osoase presupune utilizarea radiațiilor electromagnetice (X sau Gamma) pentru efectuarea de teste: Single Photon Absorptiometry (SPA), Dual Photon Absorptiometry (DPA), Single Energy X-ray Absorptiometry (SXA), Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA), Quantitative Computed Tomography (QCT), Quantitative UltraSound (QUS). Toate aceste metode sunt invazive și radiative atât pentru personalul care face măsurătorile cât și pentru probele supuse testării.

Scopul invenției este dezvoltarea unei metode tehnice de determinare a fazei minerale din structura osoasă ce poate fi utilă în biofizică la studiul structurii osului, precum și în arheologie, pentru înțelegerea fenomenului de degradare a oaselor și determinarea de noi metode specifice de conservare a acestora. Deteriorarea osului presupune pierderea în timp a componentelor organice (apă, celule organice, colagen) dar și a substanței anorganice, prin dizolvarea cristalelor originale și recristalizarea lor [Berna et al. 2003; Stiner et al., 1995]. Se pot determina foarte ușor, folosind doar

măsurători dielectrice și de porozitate, fracțiile volumice de substanță organică și inorganică pierdute precum și factorii ce influențează aceste pierderi [Lazenby et al., 2011; Mkukuma et al., 2008]. Determinarea fracției volumice a fazei minerale din interiorul osului poate ajuta la stabilirea cu aproximație a vârstei subiectului de la care a fost prelevată proba osoasă [Ding et al., 1997; Havaladar et al., 2012]., întrucât fracția volumică a fazei minerale, a celei organice precum și a porilor variază odată cu vârsta. La nivel structural, oasele sunt compozite formate dintr-o fază organică (Colagen de tipul I), o fază anorganică (cristale minerale de hidroxiapatită), apă și pori [Martini et al., 2003]. Structura osoasă suferă un proces de transformare continuă în procesul de creștere, vindecare sau îmbătrânire. Există o continuă modificare a raportului dintre componentele organice și cele anorganice ale osului, arhitectura, geometria și proprietățile structurale ale osului fiind determinate de acest raport al acestor faze [Nather et al., 2005; Viguet – Carrin et al., 2006].

Metoda de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase se bazează pe măsurători de permitivitate electrică și pe folosirea aproximației de mediu efectiv (modelul Bruggeman). Din punct de vedere electric, orice mediu compozit este considerat ca fiind suma fazelor individuale, fiecare dintre ele contribuind cu gradul său de influență proporțional cu fracțiile de volum corespunzătoare asupra produsului final. Modelul Bruggeman descrie caracteristicile dielectrice ale compozitelor di- și multi-fazice, considerând materialul compozit ca o sumă de mai multe faze distincte tratate în mod simetric [Bruggeman D. A. G., 1935; Karkkainen et al., 2000]. Ținând cont de faptul că acest model descrie proprietățile dielectrice ale compozitelor di- și multi-fazice, cunoscând proprietățile dielectrice ale fazelor constituente și fracția volumică a porilor compozitelor, se poate folosi metoda Bruggeman inversă, pentru a determina rapoartele volumice ale fazelor constituente ale unui compozit prin măsurarea nedistructivă a caracteristicilor dielectrice.

Metoda presupune realizarea următoarelor faze:

Faza 1: *Uscarea în atmosferă controlată a probelor osoase:* Se realizează într-un cuptor cu temperatură controlată, la temperaturi ușor sub 100°C, pentru evaporarea apei din structura probelor osoase.

Faza 2: *Determinarea porozității osului.* Porii sunt considerați o fază distinctă în componența osului alături de fazele organică (colagenul) și anorganică (hidroxiapatita) ale osului. Se utilizează o balanță de precizie și se determină masa probei osoase prin determinări de densitate (metoda Archimede).

Faza 3: *Determinarea caracteristicilor dielectrice ale probei.* Se utilizează un Analizor de Impedanță în domeniul de frecvențe 1 – 10⁶ Hz. La frecvențe mici ale câmpului electric apar fenomene datorate interfețelor (fenomene de tip Maxwell – Wagner [Wagner K. W., 1914; Hamon B. V., 1953]) și proceselor de difuzie ale ionilor mobili care se suprapun peste caracteristicile intrinseci ale materialului. În domeniul de frecvențe cuprins între 10kHz – 1MHz valorile permitivității dielectrice

reale ale osului se stabilizează, ele datorându-se doar caracteristicilor intrinseci ale probei. Pierderile dielectrice ale probelor măsurate sunt în de obicei în acest domeniu foarte scăzute.

Faza 4: Determinarea caracteristicilor dielectrice ale fazelor componente de Colagen și Hydroxyapatită. Se fac măsurători dielectrice utilizând esantioane standard de colagen și de hidroxiapatită, neporoase [Neagu et al., 2010; Gittings et al., 2009; Bowen et al., 2006].

Faza 5: Utilizarea modelului Bruggeman pentru determinarea fracției volumice a hidroxiapatitei din structura osoasă. Utilizând aproximația Bruggeman, fracția volumică a părții anorganice a probei studiate (Hidroxiapatita) se obține în funcție de permitivitatea dielectrică a celor trei faze constituente ale osului și de fracția volumică a porilor. Se folosesc datele dielectrice determinate în domeniul de frecvență 10kHz – 1MHz. Utilizând această metodă de determinare macroscopică nedistructivă a factorului de umplere volumică se determină cu o foarte bună acuratețe volumul fazei cristaline din interiorul probelor studiate.

Acest Brevet își propune să certifice această metodă tehnică de determinare macroscopică a fracției volumice a fazei cristaline din structura osoasă. Metoda presupune recoltarea probelor și urmarea fazelor descrise anterior. Determinarea fracției volumice a porilor precum și măsurătorile dielectrice ale probei osoase oferă toate informațiile necesare în vederea determinării cu precizie a fracției volumice a fazei cristaline a osului. Această informație ne permite evaluarea cantitativă a stării osului și apoi, evaluarea stării de degradare.

Se prezintă în continuare un exemplu de aplicare a metodei de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase:

Faza 1: Uskarea în atmosferă controlată a probelor osoase: Se face într-un cuptor cu temperatură controlată, pentru a nu depăși valoarea de 100°C. **Figura 1** prezintă un exemplu de esantion osos studiat.

Faza 2: Determinarea porozității osului: Se utilizează o balanță de precizie și se determină masa probei osoase m_{aer} . Prin inserarea rapidă într-un vas gradat cu apă distilată se determină volumul osului V_o . Se determină densitatea reală a probei (**Formula (1)**). Considerând că apa distilată umple în totalitate golurile datorate porilor de aer din probă, se determină masa din apă a probei m_{sub} . Se determină densitatea materiei dense a probei ρ_{mat} (**Formula (2)**). Utilizând relațiile lui Arhimede, se determină volumul porilor și apoi fracția volumică a acestora în raport cu volumul total al probei f_p (**Formula (3)**).

Faza 3: Determinarea caracteristicilor dielectrice ale probei: Se utilizează un Analizor de Impedanță în domeniul de frecvențe $1 - 10^6$ Hz și se determină partea reală a permitivității dielectrice precum și

tangenta de pierdere prezentate în **Figura 2**. În domeniul de frecvențe cuprins între 10kHz – 1MHz valorile permitivității dielectrice reale ale osului se stabilizează, ele datorându-se doar caracteristicilor intrinseci ale probei (sub 0.1).

Faza 4: Determinarea caracteristicilor dielectrice ale fazelor componente de Colagen și Hidroxiapatită: Se fac măsurători dielectrice utilizând probe de Colagen și de Hidroxiapatită pure, neporoase, sau se pot lua aceste date din literatura de specialitate [Neagu et al., 2010; Gittings et al., 2009; Bowen et al., 2006]. În **Figura 3** sunt prezentate caracteristicile dielectrice măsurate în laborator ale Colagenului de tip I care se găsește în structura oaselor. Valoarea părții reale a permitivității dielectrice a Hidroxiapatitei a fost luată din literatura de specialitate ca fiind $\epsilon_{HA} = 45$ în acest domeniu de frecvențe ([Gittings et al., 2009; Bowen et al., 2006]).

Faza 5: Utilizarea modelului Bruggeman de Aproximație Efectivă a Mediului pentru determinarea fracției volumice a Hidroxiapatitei din structura osoasă: Se utilizează aproximația Bruggeman pentru un compozit trifazic (**Formula (4)**). Frația volumică a părții anorganice a probei studiate (Hidroxiapatita) se obține în funcție de permitivitatea dielectrică a celor trei faze constituente ale osului: a hidroxiapatitei ϵ_{HA} , a colagenului ϵ_C , a porilor ϵ_p precum și a probei osoase ϵ_B . Frația volumică a porilor f_p este deja determinată la Faza 2. Se ține cont de faptul că suma fracțiilor volumice ale celor trei faze componente ale osului (pori, colagen și hidroxiapatita) este 1. Se folosesc datele dielectrice determinate în domeniul de frecvență 10kHz – 1MHz. Utilizând această metodă de determinare macroscopică nedistructivă a factorului de umplere volumică a fazei minerale din interiorul biocompozitelor osoase se determină cu o foarte bună acuratețe volumul fazei cristaline din interiorul probelor studiate.

Acknowledgement: Acest brevet a fost realizat în cadrul centrului de cercetare RAMTECH (162/15.06.2010 of POS CCE-A2-O2.1.2).

Bibliografie:

- [1] J. S-S. Wu, H-C. Lin, J-P. Hung, J-Horng. Chen, *Effects of Bone Mineral Fraction and Volume Fraction on the Mechanical Properties of Cortical Bone*, Journal of Medical and Biological Engineering, vol 26, no.1, pp. 1-7, 2005
- [2] A. Nazarian, D. Von Stechow, D. Zurakowski, R. Muller, B. D. Snyder, *Bone Volume Fraction Explains the Variation in Strength and Stiffness of Cancellous Bone Affected by Metastatic Cancer and Osteoporosis*, Calcified Tissue International, vol. 83, pp. 368 – 379, 2008
- [3] F. Berna, A. Matthews, S. Weiner, *Solubilities of bone mineral from archaeological sites: the recrystallization window*, Journal of Archaeological Science, vol. 31, pp. 867 – 882, 2004

- [4] M. C. Stiner, S. L. Kuhn, S. Weiner, O. Bar-Yosef, *Differential Burning, Recrystallization, and Fragmentation of Archeological Bone*, Journal of Archaeological Science, vol. 22, pp. 223 – 237, 1995
- [5] R. A. Lazenby, M. M. Skinner, J. J. Hublin, C. Boesch, *Metacarpal Trabecular Architecture Variation in the Chimpanzee (Pan troglodytes): Evidence for Locomotion and Tool-Use?*, American Journal of Physical Anthropology, vol. 144, pp. 215 – 225, 2011
- [6] L. D. Mkukuma, C. T. Imrie, J. M. Skakle, D. W. L. Hukins, R. M. Aspden, *Thermal stability and structure of cancellous bone mineral from the femoral head of patients with osteoarthritis or osteoporosis*, Annals of Rheumatic Diseases, vol. 64, pp. 222 – 225, 2005
- [7] M. Ding, M. Dalstra, C. C. Danielsen, J. Kabel, I. Hvid, F. Linde, *Age variations in the properties of human tibial trabecular bone*, The Journal of Bone and Joint Surgery, vol. 79-B, no. 6, 1997
- [8] R. Havaladar, S. C. Pilli, B. B. Putti, *Effects of Ageing on Bone Mineral Composition and Bone Strength*, IOSR Journal of Dental and Medical Sciences, vol. 1, no. 3, pp. 12-16, 2012
- [9] D. A. G. Bruggeman, *Berechnung verschiedener physikalischer Konstanten von heterogenen Substanzen*, Annalen der Physik, vol. 24, pp. 636-679, 1935
- [10] K.K. Karkkainen, A. H. Sihvola, K. I. Nikoskinen, *Effective Permittivity of Mixtures: Numerical Validation by the FDTD Method*, IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing, vol. 38, no. 3, pp. 1303 – 1309, 2000
- [11] F. H. Martini, M. J. Timmons, M. P. McKinley, *Human Anatomy*, 6th Edition, Prentice Hall, New Jersey, ISBN: 978-0321-586-483, 2003
- [12] A. Nather, H. J. C. Ong, Z. Aziz, *Structure of Bone, Bone Grafts and Bone Substitutes – Basic Science and Clinical Applications*, WorldSciBook, eISBN: 9789812775337, 2005
- [13] S. Viguet – Carrin, P. Garnero, P. D. Delmas, *The role of collagen in bone strength*, Osteoporosis International, vol. 17, pp. 319 – 336, 2006
- [14] Wagner K W , *Arch. Elektrotech.* , vol. 2, pp. 371, 1914
- [15] B. V. Hamon, *Maxwell-Wagner Loss and Absorption Currents in Dielectrics*, Aust. J. Phys., vol. 6, pp. 304, 1953
- [16] A. M. Neagu, I. V. Ciuchi, L. P. Curecheriu, L. Mitoseriu, *Impedance Spectroscopy Characterization of Collagen Samples*, Journal of Advanced Research in Physics, vol. 1, no. 1, pp. 011006 – 1 – 4, 2010
- [17] J. P. Gittings, C. R. Bowen, I. G. Turner, A. C. E. Dent, F. R. Baxter, J. B. Chaudhuri, *Dielectric Properties of Hydroxyapatite Based Ceramics*, 4M2008 Fourth International Conference on MultiMaterial Micro Manufacturing, pp. 157 – 160, 2008
- [18] C. R. Bowen, J. Gittings, I. G. Turner, F. Baxter, J. B. Chaudhuri, *Dielectric and Piezoelectric Properties of Hydroxyapatite-BaTiO₃ Composites*, Applied Physics Letters, vol. 89, pp. 132906 – 132909, 2006

[19] I.V. Ciuchi, C.S. Olariu, L. Mitoseriu, *Determination of bone mineral volume fraction using impedance analysis and Bruggeman model*, Mater. Sci. & Eng. B (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mseb.2013.04.001>

Revendicare independentă

Metodă tehnică de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase

Autori: Cristina Stefania Olariu, Ioana Veronica Ciuchi, Liliana Mitoseriu, Cristina Elena Ciomaga

Facultatea de Fizica, Univ. „Al. I. Cuza” din Iasi, Bv. Carol I no. 11, Iasi 700506, Romania

Metoda tehnică de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase caracterizată prin determinarea porozității, ale caracteristicilor dielectrice ale probei și ale fazelor constituate și utilizarea formulei Bruggeman de aproximație de câmp efectiv pentru un compozit trifazic în vederea determinării factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitul osos.

FIGURI

Metodă tehnică de determinare a factorului de umplere volumică a fazei minerale din biocompozitele osoase

Autori: Cristina Stefania Olariu, Ioana Veronica Ciuchi, Liliana Mitoseriu, Cristina Elena Ciomaga

Facultatea de Fizica, Univ. „Al. I. Cuza” din Iasi, Bv. Carol I no. 11, Iasi 700506, Romania

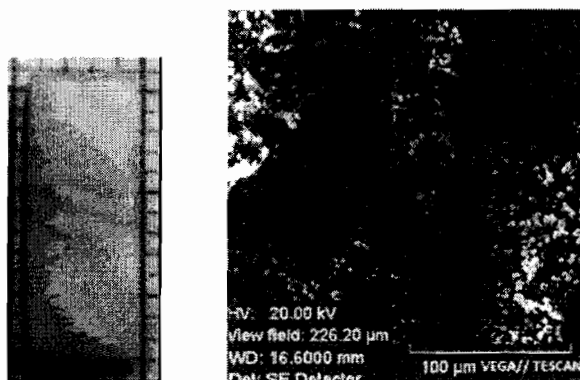


Figura 1. Exemplu de esantion osos si microstructura acestuia (SEM).

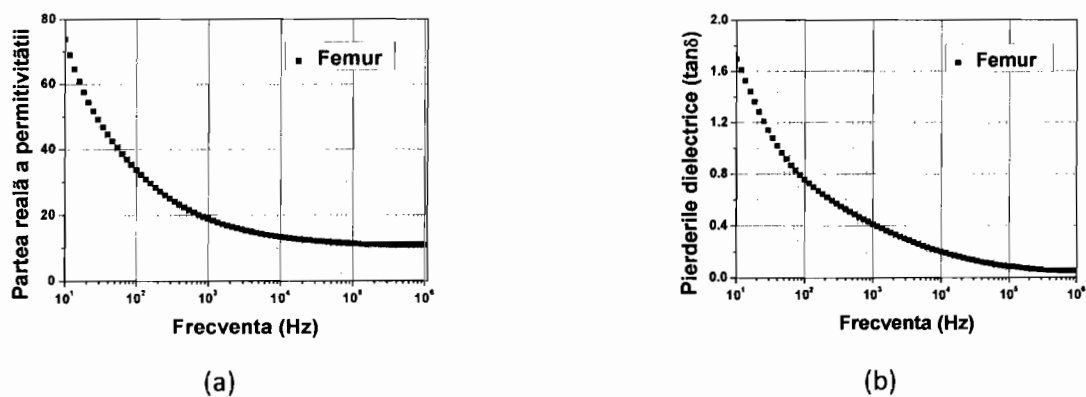


Figura 2. Caracteristicile dielectrice în domeniul de frecvențe 1 – 1MHz ale probei studiate, măsurate (femur) la temperatura camerei (a) partea reală a permitivității dielectrice, (b) pierderile dielectrice.

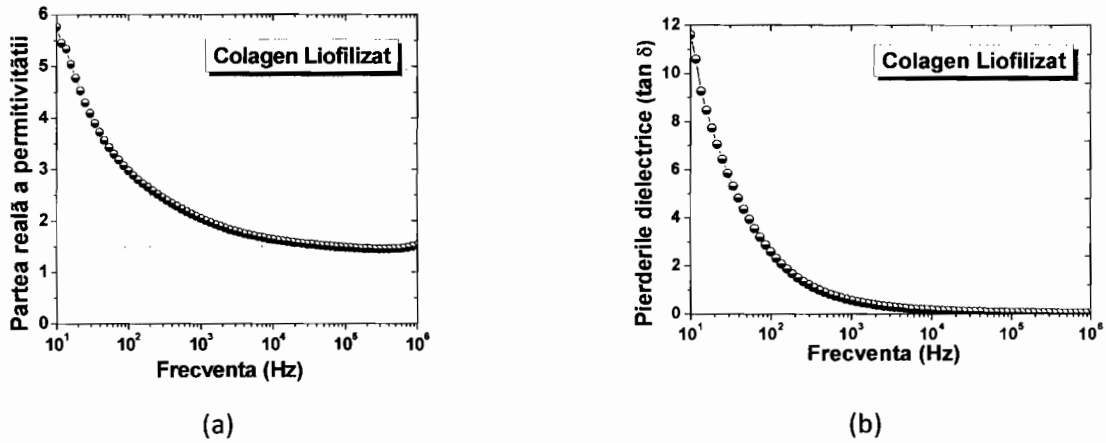


Figura 3. Caracteristicile dielectrice in domeniul de frecvențe 1 – 1MHz ale colagenului de tip I liofilizat, măsurate la temperatura camerei (a) partea reală a permitivității dielectrice (b) pierderile dielectrice.

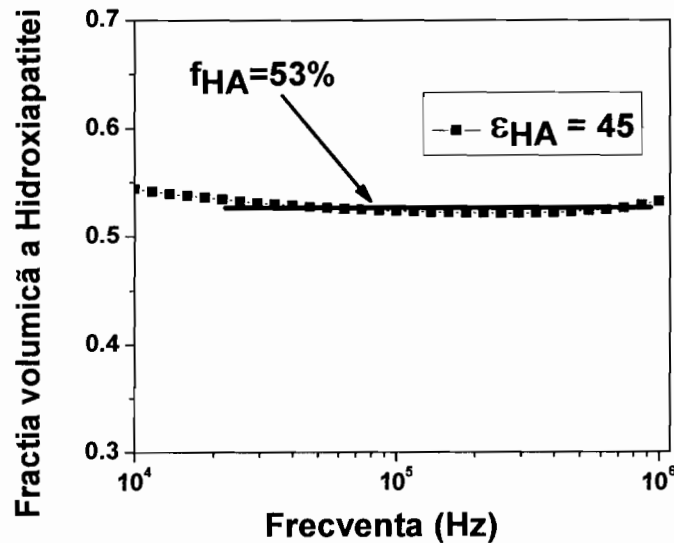


Figura 4. Frația volumică a fazei minerale (Hidroxiapatita) determinată folosind formula Bruggeman de aproximare efectivă a mediului pentru un compozit trifazic. (Valoarea pentru permitivitatea Hidroxiapatitei a fost luată din literatura de specialitate ca fiind 45 in acest domeniu de frecvențe [Gittings et al., 2009; Bowen et al., 2006]).

Formule utilizate:

$$(1) \quad \rho_{\text{sam}} = \frac{m_{\text{aer}}}{V_0}$$

$$(2) \quad \rho_{mat} = \rho_{apa} \frac{m_{aer}}{m_{aer} - m_{sub}}$$

$$(3) \quad f_p = 1 - \frac{\rho_{smp}}{\rho_{mat}}$$

$$(4) \quad f_{HA} = \frac{\frac{\epsilon_C - \epsilon_B}{\epsilon_C + 2\epsilon_B} + f_p \frac{\epsilon_p - \epsilon_B}{\epsilon_p + 2\epsilon_B}}{\frac{\epsilon_C - \epsilon_B}{\epsilon_C + 2\epsilon_B} - \frac{\epsilon_{HA} - \epsilon_B}{\epsilon_{HA} + 2\epsilon_B}}$$