



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV MATERIÁLOVÝCH VĚD A INŽENÝRSTVÍ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING

OBROBITELNÉ BIOKERAMICKÉ PĚNY PŘIPRAVENÉ METODOU GELOVÉHO LITÍ

MACHINABLE BIOCERAMIC FOAMS PREPARED BY GELCASTING
METHOD

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. Přemysl Šťastný

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. Ing. Martin Trunec, Dr.

BRNO 2016

Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav materiálových věd a inženýrství
Student: **Bc. Přemysl Šťastný**
Studijní program: Aplikované vědy v inženýrství
Studijní obor: Materiálové inženýrství
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martin Trunec, Dr.**
Akademický rok: 2015/16

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č. 111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

Obrobitelné biokeramické pěny připravené metodou gelového lití

Stručná charakteristika úkolu:

Práce se bude zabývat přípravou a vlastnostmi porézních podpůrných struktur (anglicky nazývaných bioscaffolds) pro regeneraci kostní tkáně. Tyto porézní podpory budou připraveny ve formě keramické pěny na bázi fosforečnanů vápenatých s osteoinduktivními vlastnostmi. Vzhledem k tvarové rozmanitosti kostních defektů po úrazu nebo zhoubném onemocnění roste potřeba individualizace připravených porézních implantátů, které vhodně vyplňují poškozenou oblast kosti. Připravené porézní pěny budou proto hodnoceny také z hlediska snadného opracování do požadovaného tvaru pomocí CNC frézování.

Cíle diplomové práce:

Cílem práce bude vyvinout metodu gelového lití pro přípravu obrobitelných keramických porézních bloků na bázi fosforečnanů vápenatých a popsat jejich strukturu a vybrané vlastnosti.

Seznam literatury:

Rahaman, M. N. (2003): Ceramic Processing and Sintering, CRC Press, Boca Raton
Shen. Z. J., Kosmač, T (2013): Advanced Ceramic for Dentistry. Butterworth-Heinemann, Waltham
Kokubo, T. (2008): Bioceramics and their clinical application. CRC Press, Boca Raton.
Studart, A. R., Gozenbach, U. T., Terwood, E. a Gauckler, L. J. (2006): Processing Routes to Macroporous Ceramics: A Review, Journal of the American Ceramic Society

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2015/16

V Brně dne 5. 11. 2015

Prof. Ing. Ivo Dlouhý, CSc doc.
ředitel ústavu

Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá vývojem systému pro přípravu individualizovaných bioscaffoldů připravených obráběním HA pěny připravené pomocí metody gelového lití a konsolidované epoxidovou reakcí. Diplomová práce navazuje na bakalářskou práci *Moderní metody přípravy porézní biokeramiky*. Rešeršní část je rozšířena a doplněna o nejnovější poznatky z oblasti zlepšení bioaktivity porézních keramických náhrad. Experimentální část práce popisuje samotný vývoj systému pro přípravu individualizovaných scaffoldů od přípravy vodné HA suspenze, přípravy porézních keramických bloků sloužících jako polotovar pro obrábění až po finální obrábění HA bloků. Zároveň byla změřena tlaková pevnost připravené keramické pěny a byly provedeny testy povlakování vybraných vzorků polyfosforečnanem vápenatým za účelem zlepšit biologickou interakci implantátu s tělem pacienta. Povlakované vzorky byly poskytnuty k testům in-vivo partnerské univerzitě v Pekingu v rámci projektu *FP7-NMP-2013-EU-China: "Bioscaffolds"*

Klíčová slova: Suspenze, gelové lití, bio-scaffolds, frézování, povlakování

Diploma thesis is focused on development of method for preparation individualized bioscaffolds prepared by milling of HA foam prepared by gel casting method and consolidated via epoxy curing reaction. Diploma thesis continues in bachelor thesis *Modern processing methods of porous bioceramics*. Literature search is filled in the newest knowledge from the field of bioactivity enhancement of scaffolds. Experimental part of diploma thesis described development of system for individualized scaffold manufacturing from HA suspension preparation, preparation of ceramic blocks used as material for machining to final blocks machining. Pressure strength of foam were evaluated, too. Chosen samples were coated with calcium polyphosphate coating for biological response enhancement. Coated samples were given for in-vivo test to partner university in Beijing under the terms of project *FP7-NMP-2013-EU-China: "Bioscaffolds"*

Key words : Suspensions, gel-casting, bio-scaffolds, milling, coating

Bibliografická citace

ŠŤASTNÝ, Přemysl. *Obrobitelné biokeramické pěny připravené metodou gelového lití*. Brno 2016. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav materiálových věd a inženýrství. s. 81. Vedoucí diplomové práce prof. Ing. Martin Trunec, Dr.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma *Obrobitelné biokeramické pěny připravené metodou gelového lití* vypracoval samostatně s použitím odborné literatury a pramenů, uvedených na seznamu, který tvoří přílohu této práce.

Datum

Přemysl Šťastný

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat prof. Ing. Martinu Truncovi, Dr. za jeho odborné vedení a za čas, který strávil při recenzi této diplomové práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Zdence Skálové za pomoc při provádění experimentů. Mé díky patří také přítelkyni a rodině za podporu v průběhu studia.

Obsah

Abstrakt	3
Bibliografická citace.....	4
Prohlášení	5
Poděkování	6
Obsah.....	7
1 Úvod.....	9
2 Teoretická část	10
2.1 Koloidní suspenze.....	10
2.1.1 Mezičásticové silové působení v koloidních suspenzích a jejich stabilita	10
2.1.2 Reologie koloidních suspenzí	17
2.1.3 Způsoby konsolidace koloidních suspenzí	21
2.2 Metody výroby porézní keramiky	28
2.2.1 Přímé napěňování	28
2.3 Obrobitelnost keramických materiálů	30
2.3.1 Přístup „Bottom-up“	31
2.3.2 Přístup „Top-down“	31
2.4 Porézní biokeramické podpůrné systémy	35
2.4.1 Materiály na bázi fosforečnanu vápenatého pro výrobu scaffoldů.....	35
2.4.2 Vliv porozity, velikosti pórů a propojů na růst nové tkáně	41
2.4.3 Zlepšení biologické odezvy scaffoldů	45
3 Cíle práce	49
4 Experimentální část.....	50
4.1 Složení a příprava keramických suspenzí.....	50
4.2 Reologická měření suspenzí a TGA analýza.....	51
4.3 Příprava porézních vzorků, sušení a tepelné zpracování.....	51
4.4 Vyhodnocení struktury a mechanických vlastností jednotlivých sad vzorků.	52
4.5 Obrábění porézních keramických bloků.....	53
4.6 Povlakování porézních vzorků polyfosforečnanem vápenatým.....	53
5 Výsledky experimentů a jejich diskuze	55
5.1 Reologie suspenzí	55
5.2 TGA analýza vysušených vzorků	56
5.3 Řízené sušení	57
5.4 Získané porézní struktury a jejich vyhodnocení.....	58
5.5 Praskání vzorků po vyžihání.....	65
5.6 Tlaková pevnost HA pěny	66

5.7	Obrábění porézních bloků	68
5.8	Povlakování porézních vzorků polyfosforečnanem vápenatým	70
6	Závěr	72
7	Příloha	73
8	Použitá literatura	76

1 Úvod

Porézní keramiky na bázi fosforečnanu vápenatého jsou široce užívaným materiálem pro regeneraci defektů v kostech vzniklých úrazem či operativním odstraněním nádorů. Díky specifickému tvaru vakantních míst vzniklých během úrazu či léčby je výhodné disponovat technologií, kterou lze specifický tvar implantátu vyrobit v dostatečně krátkém časovém intervalu s co nejmenšími náklady. Tento přístup bývá označován jako výroba implantátů na míru („custom-made proceses“).

Jednou z možností je výroba implantátu pomocí metod SFF (solid free-form fabrication). Společným jmenovatelem těchto metod je schopnost výroby implantátu bez omezení tvaru s přesně řízenou porozitou, velikostí a tvarem pórů. Hlavní nevýhodou metod SFF je jejich časová a finanční náročnost.

Nevýhody metod SFF lze eliminovat metodou, která bude rychlejší a technologicky jednodušší. Na rozdíl od metod SFF, kde je tvar získáván kladením jednotlivých vrstev na sebe, lze uplatnit opačný přístup. Žádaný tvar implantátu lze získat obráběním keramického bloku víceosým frézováním s využitím technologie CAD/CAM. Porézní strukturu, kterou bude možno obrábět, lze připravit pomocí přímého napětování keramické suspenze.

Idea přípravy implantátu je následující. Předem připravené porézní keramické bloky budou ve stavu vhodném pro obrábění. V případě potřeby bude pomocí CT skenu vyroben 3D počítačový model vakantního místa a ten bude posléze pomocí CAD/CAM technologie a víceosého CNC centra obrobena do žádaného tvaru. S dostupností technologie není spojen výraznější problém, jelikož již dnes medicína služeb víceosého obrábění hojně využívá při výrobě přesných zubních náhrad, kdy šablonou je otisk (či 3D sken) zubů postiženého.

Rychlost, flexibilita a dostupnost technologie bude mít pozitivní vliv na zkrácení výrobního času porézního implantátu, úměrně tomu bude zkrácena i samotná léčba pacienta.

Z pohledu vývoje a výzkumu je potřeba vytvořit technologii pro výrobu porézních bloků zaručující jejich neměnnou jakost. Pro připravené bloky je nutno navrhnout a ověřit podmínky obrábění, které zaručí dostatečnou rozměrovou a tvarovou přesnost implantátu. Posledním, ale neméně důležitým úkolem je pomocí anorganických povlaků zlepšit biologické vlastnosti HA pěny se zaměřením na osteoinduktivní odezvu materiálu.

2 Teoretická část

2.1 Koloidní suspenze

Koloidní suspenze představují jeden z možných vstupů pro přípravu pokročilých keramických materiálů. Termín koloidní označuje systémy, kde jsou pevné částice rozptýleny v rozpouštědle s nízkou molekulovou hmotností (voda, alkohol). Velikost rozptýlených částic se pohybuje od 1 nm do 1 μ m. Malá velikost rozptýlených částic má za následek jejich velký měrný povrch. Se zmenšujícím se poloměrem částic roste význam van der Waalsových sil. Velký měrný povrch vede k vysoké reaktivitě koloidní suspenzí. Díky specifickému chování mají koloidní suspenze velký význam při přípravě technicky vyspělých keramických materiálů. Stabilní suspenze s homogenně rozptýlenými částicemi umožňuje vytvořit keramické polotovary s homogenní strukturou a rovnoměrnou distribucí keramických částic. Uplatnění koloidní suspenze nacházejí i v jiných oblastech lidské činnosti: medicína (cílená léčiva), chemie (výroba barev, laků, katalyzátorů atd.), potravinářství (výroba trvanlivého mléka)[1, 2].

Široká oblast použití koloidních suspenzí vede k nutnosti porozumět těmto systémům a umět popsat efekty, které můžeme v těchto systémech pozorovat.

Výrobu pokročilých keramických materiálů pomocí koloidních suspenzí lze rozdělit do několika stadií. Prvním stadiem je samotná syntéza prášku. Jednotlivé částice musí mít velikost, která spadá do oblasti použitelné pro přípravu koloidních suspenzí. Dalším krokem je vytvoření stabilní koloidní suspenze. Zde je nezbytné dobře porozumět silám, které v koloidních systémech existují a výrazně ovlivňují jejich stabilitu. Třetím krokem je konsolidace suspenze do požadovaného tvaru, blízkého žádanému výrobku. Předposledním krokem je sušení keramického polotovaru a odstranění pojiv. V tomto kroku dochází jak k velké změně rozměru keramického polotovaru, tak i ke vzniku vnitřních napětí. Napětí zapříčiňují vznik trhlin. Nehomogenity, trhliny a další vady, které vznikají v tomto kroku, jsou často neodstranitelné a zůstávají i v hotovém keramickém výrobku, případně vedou k jeho destrukci v posledním kroku – slinování. Slinování (spékání, vypalování) keramického polotovaru je proces, při kterém se jednotlivá zrna spojují, probíhá intenzivní difuze, která vede na jedné straně k růstu velkých zrn a na straně druhé k zániku těch s podkritickou velikostí [2].

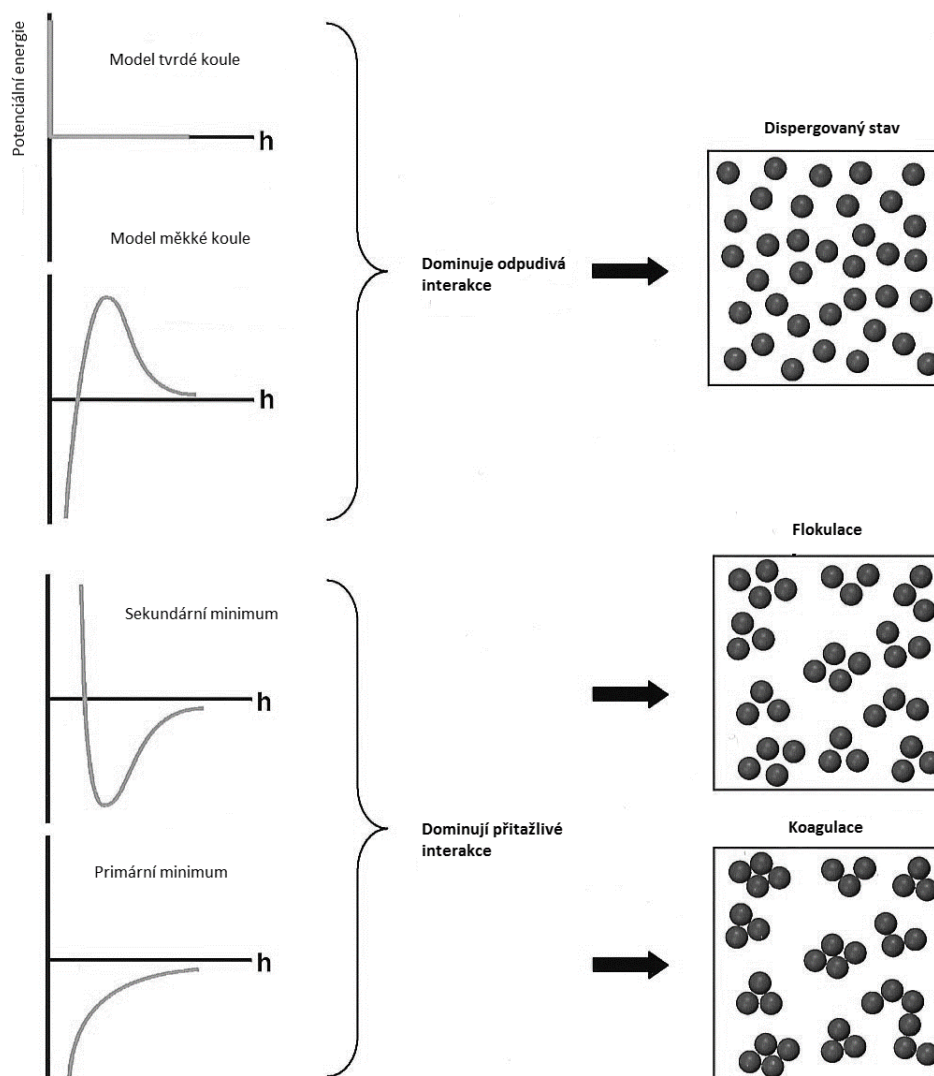
Výroba keramických dílců na základě koloidních suspenzí je známa po tisíce let. Záznamy sahají až do dob Mezopotámie, starověkého Egypta, Číny, Řecka a Říma. Zde šlo o systémy na bázi vodných suspenzí jílu [2].

Základy moderních způsobů výroby keramických součástí (slip casting, extrudování, filter pressing atd.) mokrou cestou sahá do 18. – 19. století. Ve dvacátém století se objevují první snahy popsat vodné suspenze jílu z hlediska působících sil a fyzikálních jevů, které se v těchto systémech uplatňují [2].

2.1.1 Mezičásticové silové působení v koloidních suspenzích a jejich stabilita

Pečlivým zkoumáním a pochopením sil působících mezi koloidními částicemi lze síly ovlivňovat a měnit. Ovlivněním působících sil lze řídit stabilitu suspenze. Pokud se částice v objemu suspenze neshlukují, lze prohlásit, že mezi jednotlivými částicemi dochází k interakci, která se navenek projevuje jako interakce odpudivá. V případě, že se částice shlukují, ale lze je od sebe oddělit (například mechanickým promícháváním suspenze), lze konstatovat, že na křivce průběhu potenciální energie mezičásticového působení se vyskytuje sekundární minimum. V případě existence sekundárního minima částice vytváří shluky (klastry), a to v případě, že objem pevné fáze je menší než kritický bod gelace ϕ_g . Pokud je objem pevné fáze

větší než ϕ_g za daných podmínek (teplota, pH..), dochází ke vzniku gelu. Gel, v daném případě reverzibilní síť pevných částic, je držen pohromadě jen slabými fyzikálními silami. V případě výskytu primárního minima dochází ke koagulaci, tj. vzniku pevných shluků či gelu (pokud $\phi > \phi_g$). V tomto případě se jedná o ireverzibilní proces. Charakteristické průběhy potenciální energie pro jednotlivé stavy koloidní soustavy jsou uvedeny na Obr. 2.1 [2, 3].



Obr. 2.1 Charakteristický průběh potenciální energie pro jednotlivé stavy soustavy [2]

Potenciální energie systému je v oblasti koloidní chemie a fyziky vztažena na tepelnou energii reprezentovanou součinem $k_B \cdot T$. První člen k_B reprezentuje Boltzmannovu konstantu ($1,381 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$) a T reprezentuje absolutní teplotu soustavy. I když se zdá, že pro teplotu 298 K je hodnota součinu zanedbatelně malá, ukazuje se, že v oblasti koloidních částic má její velikost významný vliv na stabilitu suspenzí [4].

Celková stabilita suspenze je dána rovnicí (1) popisující celkový mezičásticový potenciál:

$$V_{\text{Total}} = V_{\text{VDW}} + V_{\text{ELECT}} + V_{\text{STERIC}} + V_{\text{STRUCT}}, \quad (1)$$

kde V_{VDW} je přitažlivá potenciální energie vycházející z Van der Waalsových interakcí, V_{ELECT} je odpudivá potenciální energie vycházející z elektrostatické interakce mezi shodně

nabitými povrchy částic, V_{STERIC} je odpudivá potenciální energie vycházející ze vzájemného působení částic s adsorbovaným polymerem a konečně V_{STRUCT} , potenciální energie, která může být jak přitažlivá, tak odpudivá. Vzniká díky přítomnosti neadsorbovaných polymerních částic. Tato část celkové potenciální energie V_{Total} způsobuje jak stabilizaci, tak destabilizaci suspenze a její průběh není monotónní, tudíž v praxi se tato část potenciální energie nedá bezpečně využít ke stabilizaci suspenze a člen V_{STRUCT} by měl být minimalizován [2, 3].

První dva členy v rovnici (1) jsou základem tzv. DVLO teorie. Tato teorie dokáže předpovědět stabilitu suspenze v polárních rozpouštědlech [2, 5].

Van der Waalovy (vdW) síly

Síly byly pojmenovány po Nizozemském vědci Johannesu Diderikovi van der Waalsovi. Jako první popsal odlišnosti v chování ideálních a reálných plynů. Sestavil stavovou rovnici, která bere v potaz vzájemné působení molekul plynu a vliv tohoto působení na výsledný tlak plynu v uzavřené nádobě [6].

VdW síly jsou vždy přítomné a ve většině případů přitažlivé. Jejich význam klesá s šestou mocninou vzdálenosti středů interagujících atomů nebo molekul. Díky Brownovu pohybu zapříčiňujícímu stálý a neuspořádaný pohyb částic, který vede k jejich srážkám, nabývají tyto síly v koloidních systémech na významu. Zapříčiňují shlukování částic suspenze, tudíž její nestabilitu. Pokud chceme suspenzi stabilizovat, musíme vdW síly eliminovat pomocí odpudivých sil [2, 6].

Jednotlivé složky vdW sil lze rozdělit na:

1. Složka Keesomova. Tato složka vychází ze vzájemné interakce dipól - dipól
2. Složka Debayova. Tato složka vychází z interakce dipól - indukovaný dipól.
3. Disperzní Londonova složka. Tato složka vychází z interakce dočasný dipól – dočasný dipól [7].

Nejvýznamnější složkou je složka disperzní, Londonova. Tato složka je vždy přítomna, bez ohledu na to, zda se v soustavě vyskytují permanentní dipóly, či ne. Síla vzniká díky permanentnímu pohybu elektronového obalu kolem kladného jádra atomu. V určitých okamžicích dochází k neúplné kompenzaci náboje atomového jádra a vzniká dočasný dipól, který může reagovat s dalším dočasným dipólem v okolí atomu. Disperzní složka vdW síly hraje významnou roli v jevech jako je adsorpce, smáčení, či povrchovém napětí. Pro disperzní síly je charakteristické to, že mohou být jak přitažlivé, tak odpudivé a nelze toto chování jednoduše předpovědět. Složky vdW síly obsahující v interagující dvojici dipól mají tendenci soustavu uspořádat. Disperzní složka má tuto snahu také, nicméně výrazně slabší než zbylé dvě. Disperzní složka není aditivní. Interakční potenciál disperzní složky lze matematicky popsat rovnicí (2) :

$$w(r) = -\frac{3}{2} \frac{\alpha_{o1}\alpha_{o2}}{(4\pi\epsilon_0)^2} \frac{I_1 I_2}{(I_1 + I_2)} \frac{1}{r^6}, \quad (2)$$

kde α je polarizovatelnost, ϵ permitivita vakua, I ionizační potenciál a r je vzdálenost středů částic. Stejně jako zbývající dvě složky, tak i velikost disperzního potenciálu klesá s šestou mocninou vzdálenosti dočasných dipólů [6].

Celkový průběh vdW potenciálu pro dvě kulové částice lze popsat rovnicí (3):

$$V_{vdw} = -\frac{A}{6} \left(\frac{2R_1 R_2}{h^2 - (R_1 + R_2)^2} + \frac{2R_1 R_2}{h^2 - (R_1 - R_2)^2} + \ln \frac{h^2 - (R_1 + R_2)^2}{h^2 - (R_1 - R_2)^2} \right), \quad (3)$$

kde h je vzdálenost mezi středy částic, R jsou poloměry částic a A je Hamakerova konstanta.

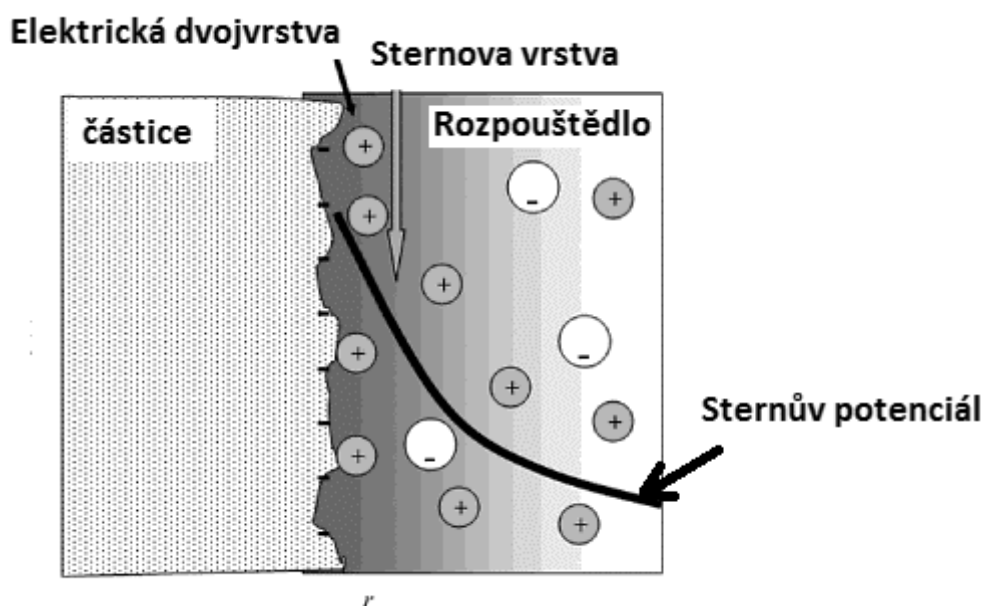
Celkovou vdW sílu mezi dvěma kulovými částicemi při velkém přiblížení těchto částic lze vyjádřit rovnicí (4) :

$$F_{vdw} = -\frac{AR}{12h^2}. \quad (4)$$

Kde h je vzdálenost mezi povrchy.

Nutno podotknout, že pro jednotlivé tvarové konfigurace dvou interagujících objektů se výraz pro vdW sílu mění [2, 3, 8].

Elektrostatické síly



Obr 2.2 Elektrická dvojvrstva na rozhraní částice rozpouštědlo a průběh Sternova potenciálu v okolí částice [4]

Elektrostatické síly v případě koloidních systémů se stejným typem rozptýlených částic můžeme považovat vždy za síly odpudivé. Vznik elektrostatické odpudivé síly je podmíněn vznikem elektrické dvojvrstvy (Obr 2.2).

Elektrická dvojvrstva vzniká vložení částice do rozpouštědla. Po vložení může nastat řada dějů (specifická adsorpce iontů, odloučení povrchových skupin, ...). Těmito procesy vzniká na povrchu částice nabitá vrstva, která je kompenzována vrstvou opačně nabitých iontů z rozpouštědla.

Průběh elektrického potenciálu v závislosti na vzdálenosti od povrchu částice nemůže být vyjádřen exaktně. Existuje několik modelů, které průběh elektrického potenciálu popisují. Nejkomplexnější z nich je tzv. Sternův potenciál, jehož průběh je schematicky zakreslen v obrázku Obr 2.2. Ionty mezi povrchem částice a tzv. Sternovou vrstvou se podobají deskovému kondenzátoru. V této části se uvažuje, že potenciál klesá lineárně. Za Sternovou vrstvou se nachází rozhraní, na kterém se ionty blíže povrchu drží u částice při jejím pohybu a ionty za tímto rozhraním částici již nenáleží. Potenciál měřený na tomto rozhraní se nazývá ζ potenciálem a absolutní hodnota tohoto potenciálu má mimořádný vliv na stabilitu koloidní

suspenze. Koloidní suspenze je považována za stabilní, pokud $|\zeta| > 60$ mV. Za Sternovou vrstvou dochází k prudkému poklesu elektrostatického potenciálu. Konstanta poklesu je známa jako Debyeova délka κ^{-1} (v délkových jednotkách), která je definována podle rovnice (5) :

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{k_b.T.\varepsilon}{e^2.\sum_{i=1}^n C_i.Z_i^2}}, \quad (5)$$

kde Z je valence iontu, c je koncentrace iontů, e elementární náboj, ε permitivita, k_b Boltzmanova konstanta, T absolutní teplota a n je počet iontů [4].

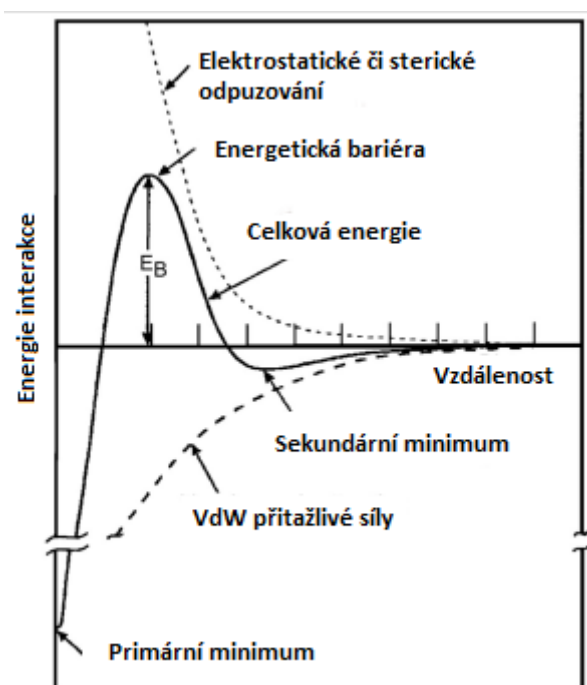
Celkový elektrostatický potenciál je v případě tenké dvojvrstvy dán vztahem (6):

$$V_{ELECT} = 2. \pi. \varepsilon. R. \Psi_0^2. \ln(1 + \exp(-\kappa. h)), \quad (6)$$

Kde Ψ_0 je povrchový potenciál. Lze si povšimnout, že ve stínění jsou účinnější vícemocné ionty, např. Ca^{2+} , než ionty jednomocné. Se vzrůstající koncentrací soli v rozpouštědle je také stínění částice efektivnější [2, 4].

Dvě částice spolu interagují, pokud dojde k jejich přiblížení do vzdálenosti rovné několiknásobku Debayovy délky. Jelikož každá nabitá částice krytá vrstvou opačně nabitých iontů se jeví navenek elektricky neutrální, není vlastní interakce dvou částic interakcí čistě elektrostatickou, ale velká část působící síly má původ v osmotických jevech vyplývajících z nedostatku opačně nabitých iontů v mezeře mezi interagujícími částicemi.

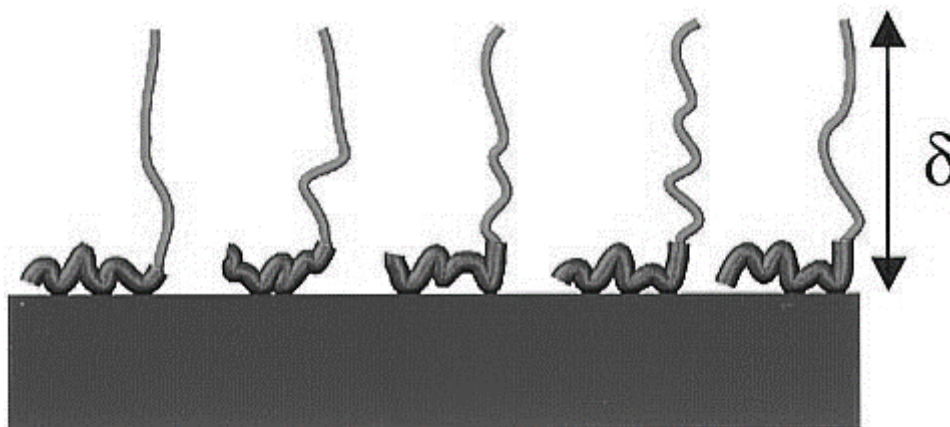
Teorie, která spojuje průběh potenciální energie vyplývající z vdW interakcí a průběh potenciální energie vyplývající z elektrostatických interakcí, se nazývá DVLO. Celkový průběh potenciální energie v závislosti na vzdálenosti dvou částic (s uvážením vlivu sterické potenciální energie) je na Obr. 2.3 [2, 4].



Obr. 2.3 Celkový průběh potenciální energi při interakci dvou částic [3]

Sterické síly

Stabilitu všech suspenzí nelze jednoduše řídit pomocí elektrické dvojvrstvy v blízkosti jejího povrchu, jelikož i malá změna pH či koncentrace iontů v rozpouštědle vede ke značné změně v chování suspenze. Z tohoto důvodu je vhodné využít dalšího jevu, který nastává nejčastěji při adsorpci dlouhých polymerních řetězců na povrch částice. Tím je vznik tzv. sterických odpudivých sil. Silové působení vzniká, když se dvě částice přiblíží na vzdálenost menší než je vzdálenost 2δ , kde δ je tloušťka vrstvy tvořená adsorbovaným polymerem (viz Obr. 2.4).



Obr. 2.4 Tloušťka polymerní vrstvy na povrchu částice δ [2]

V rozmezí vzdáleností $\delta < h < 2\delta$ je sterický potenciál V_{STER} určen rovnicí (7):

$$V_{STER} = \frac{32 \cdot \pi \cdot R \cdot k_b \cdot T \cdot \phi_2^a \cdot (0,5 - \chi)}{5 \cdot v_1 \cdot \delta^4} \left(\delta - \frac{h}{2} \right)^6, \quad (7)$$

kde ϕ_2^a je průměrný objemový zlomek segmentů polymeru v adsorbované vrstvě (stanovený na 0,37 pro pseudohomopolymerní model), v_1 je molární objem rozpouštědla a χ je Florry-Hugginsovův parametr charakterizující kvalitu rozpouštědla vycházející z Florry – Hugginsovy teorie. Za dobré je považováno rozpouštědlo, které má parametr $\chi < 0,5$ vzhledem k typu adsorbovaného polymeru [2]. Odpudivá síla v tomto případě je osmotického charakteru [8].

V případě přiblížení částic na vzdálenost $h < \delta$ dochází k výraznému elastickému působení stlačení adsorbovaných polymerů a potenciál V_{STER} je určen součtem $V_{STERmix}$ a $V_{STER,el}$ určených rovnicemi (8), (9):

$$V_{STERmix} = \frac{4 \cdot \pi \cdot \delta^2 \cdot R \cdot k_b \cdot T \cdot \phi_2^a \cdot (0,5 - \chi)}{v_1} \left(\frac{h}{2\delta} - 0,25 - \ln \left(\frac{h}{\delta} \right) \right) \quad (8)$$

$$V_{STER,el} = \frac{2 \rho_2 \cdot \pi \cdot \delta^2 \cdot R \cdot k_b \cdot T \cdot \phi_2^a \cdot (0,5 - \chi)}{M_2^a} \left(\frac{h}{\delta} 6 \ln \left(\frac{3 - \frac{h}{\delta}}{2} \right) + 3 \left(1 - \frac{h}{\delta} \right) \right), \quad (9)$$

kde M_2^a je molekulární hmotnost adsorbovaného polymeru a ρ_2 je jeho hustota [4, 9].

Často se můžeme setkat s použitím polyelektrolytů, které kombinují elektrostatickou a sterickou stabilizaci. V praxi jde o polymery, jenž nesou ionizovatelnou skupinu. Adsorbce polymeru na povrch je dostatečně silná v případě, že částice a ionizovatelná skupina mají opačný náboj. V závislosti na množství adsorbovaného polymeru může dojít jak ke flokulaci suspenze (malé množství adsorbátu vedoucího k propojení částic neadsorbovanými polymerem), tak i ke vzniku odpudivé síly při dostatečné adsorbci. Jak adsorbci a desorbci polymeru, tak i tloušťku adsorbované vrstvy a její vlastnosti lze řídit změnou pH či změnou koncentrace iontů

v rozpouštědle. Pokud je δ malé, potom převažuje elektrostatická interakce, pokud neadsorbované konce polymerních řetězců volně „vlají“ v rozpouštědle, zvětšuje se δ a narůstá význam sterického odpuzování [2, 9]. Při využití polyelektrolytu je důležité to, že dochází k odstranění primárního minima na křivce průběhu potenciální energie a sekundární minimum je pouze mělké [8].

Depletační síly

Depletační síly vznikají díky existenci neadsorbovaných polymerů či velmi jemných částic v suspenzi. Depletační síly mohou být jak přitažlivé, tak odpudivé a i malé množství neadsorbovaných částic může způsobit velkou změnu v chování suspenze. Koncentrace depletantu klesá se zmenšující se vzdáleností částic a narůstá s jejich rostoucí vzdáleností. V závislosti na tzv. poloměru depletantu $2a_d$ je potenciál mezi částicemi kladný nebo záporný, popřípadě nulový (viz. rovnice (10), (11), (12)).

$$4a_d > h; V_{STRUCT} = 0 \quad (10)$$

Pokud: $4a_d > h > 2a_d$;

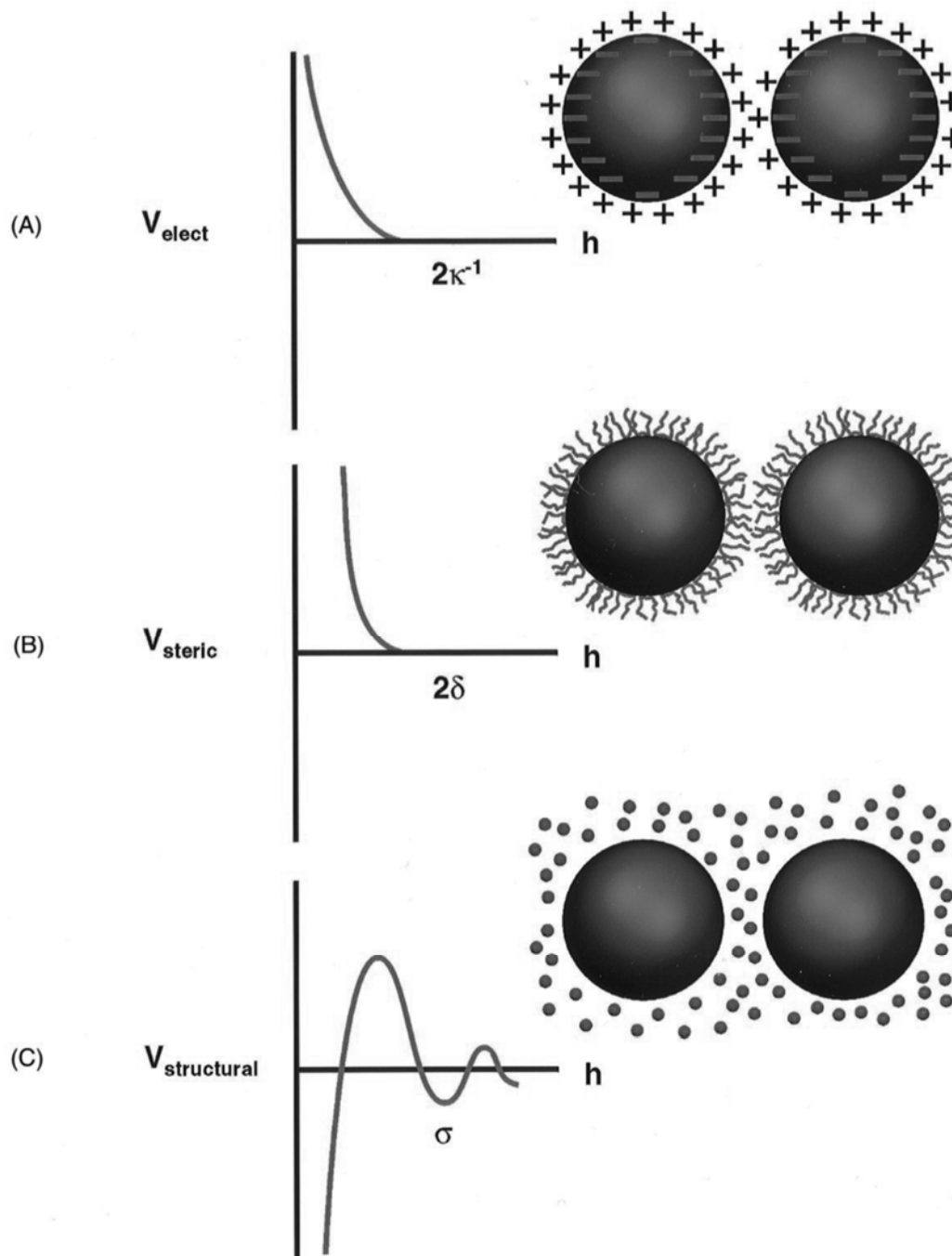
$$V_{STRUCT} = \frac{R \cdot k_b \cdot T \cdot \phi_{dep}^2}{10 \cdot a_d} (12 - 45\lambda + 60\lambda^2 - 30\lambda^3 + 3\lambda^5) \quad (11)$$

Pokud: $2a_d < h$;

$$V_{STRUCT} = -\frac{3 \cdot R \cdot k_b \cdot T \cdot \phi_{dep}}{2 \cdot a_d} + \frac{R \cdot k_b \cdot T \cdot \phi_{dep}^2}{10 \cdot a_d} (12 - 45\lambda + 60\lambda^2), \quad (12)$$

kde ϕ_{dep} je objemový zlomek depletantu a $\lambda = (h - 2a_d) / 2a_d$. Praktické využití depletační stabilizace je problematické. Důvodem je závislost typu síly (odpudivá či přitažlivá) na vzdálenosti částic, kterou lze řídit jen stěží [2].

Grafické znázornění průběhu potenciální energie jednotlivých typů silových působení v závislosti na charakteristické vzdálenosti od jádra částice je znázorněno na Obr. 2.5.



Obr. 2.5 A) Průběh potenciální energie elektrostatického působení částic v závislosti na Debyeově délce B) Závislost potenciální energi sterického působení částic na tloušťce vrstvy adsorbovaného polymeru C) Průběh potenciální energie depletačního působení v závislosti na velikosti depletantu [2]

2.1.2 Reologie koloidních suspenzí

Reologie je vědní obor, který se zabývá deformací a tečením hmoty, na kterou je aplikováno silové působení. Reologické zkoumání suspenzí nám nepřímou podhaluje jejich vnitřní strukturu a vhodnost jejího použití pro danou technologii. Výsledné vlastnosti suspenze

jsou dány mnoha faktory: objemem pevných částic, jejich velikostí, tvarem, typem rozpouštědla [10].

Většina suspenzí, které nacházejí uplatnění v keramickém průmyslu, se vyznačují vysokým objemovým obsahem pevných částic, typicky kolem 60%. Tyto systémy není sice těžké popsat modelem pevných koulí. Problém nastává v okamžiku, kdy jsou do suspenze přidány technologické přísady jako aditiva, pojiva či plnidla. V té chvíli nelze použít model interakce pevných koulí a celý popis systému se stává obtížnějším [4].

Vlastní způsob měření veličin jako zdánlivá viskozita η , mez kluzu při smykovém namáhání τ_y , mez kluzu v tlaku P_y či viskoelastických vlastností (ztrátový modul G'' a elastický modul G') se liší. V případě viskózního chování hmoty se aplikují dynamická měření určená hlavně ke zjištění zdánlivé viskozity a její změny s rostoucím aplikovaným smykovým namáháním. V případě viskoelastické odpovědi hmoty lze použít jak statická měření, tak i oscilační dynamická měření. I když jsou tyto dva typy měření ekvivalentní, poskytují odlišné informace o zkoumané látce [8].

Viskózní odezva látky

Při viskózní odezvě látky na aplikované zatížení je vztah mezi působícím napětím a zdánlivou viskozitou určen rovnicí (13):

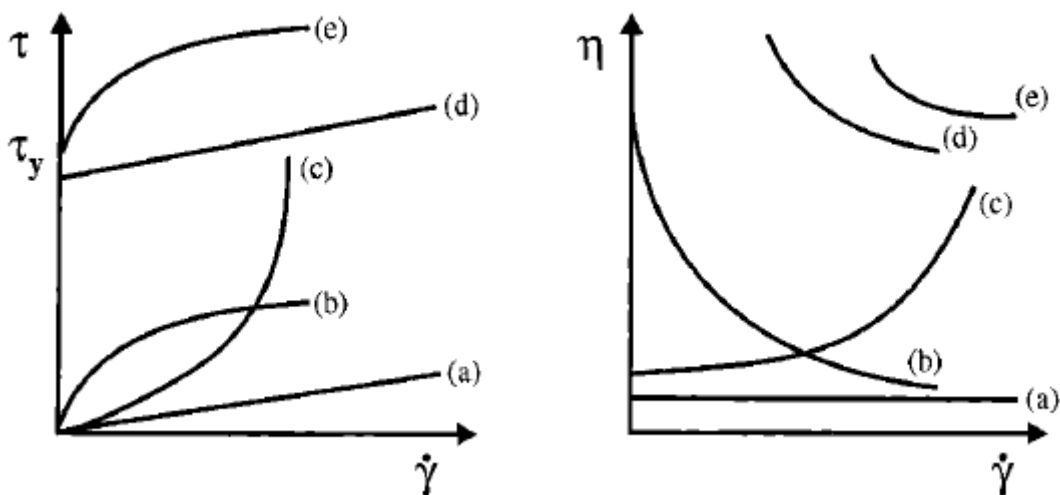
$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} , \quad (13)$$

kde $\dot{\gamma}$ je rychlost smykové deformace.

Viskózní odezva se může projevit několika typy chování. Nejjednodušší odezvou je již zmíněné Newtonské chování látky, kdy je poměr mezi smykovým napětím a rychlostí deformace konstantní. Dále může látka vykazovat pseudoplastické chování charakteristické poklesem viskozity při vzrůstající rychlosti deformace. Toto chování je typické pro kapalné systémy s vyšším obsahem pevných částic (keramické suspenze, barvy, laky) [4]. Jev je vysvětlován tak, že látka, která je v klidu, vykazuje určitou vnitřní strukturu. Při působení vnějšího napětí dochází k porušení této struktury. Porušení má za následek snížení viskozity [11]. Pokud látka začíná téct až po dosažení určitého mezního napětí a růst viskozity po dosažení tohoto napětí je konstantní, je látka nazývána jako Binghamská kapalina. Kapalina, u které dochází k růstu viskozity se vzrůstající hodnotou rychlosti smykové deformace, se označuje jako dilatantní. V objemu kapaliny dochází při deformaci ke vzniku uspořádané struktury. Díky tomu viskozita narůstá.

Kromě časově nezávislých jevů existují i jevy časově závislé. Prvním z nich je tixotropie. Při tomto jevu dochází ke snížení viskozity látky po určité době od aplikace vnější deformace. Často se tixotropie dává do souvislosti s pseudoplastickým chováním látky. Lze říci, že zatímco odezva vnitřní struktury na působící deformaci v případě pseudoplastických látek je okamžitá, tak při tixotropním chování dochází k časovému zpoždění. Opakem tixotropního chování je chování reopexní [11].

Závislost smykového napětí resp. viskozity na rychlosti smykové deformace je zakreslena na Obr. 2.6.



Obr. 2.6 a) Newtonská kapalina b) Pseudoplastická odezva c) Dilatantní odezva d) Binghamská kapalina e) Pseudoplastická odezva s počáteční mezí kluzu [4]

Viskoelastická odezva látky

Viskoelastická odezva je charakteristická pro koncentrované koloidní suspenze ($\phi > 0,1$). Toto chování může být charakterizováno pomocí statických či dynamických (oscilačních) měření [4, 8].

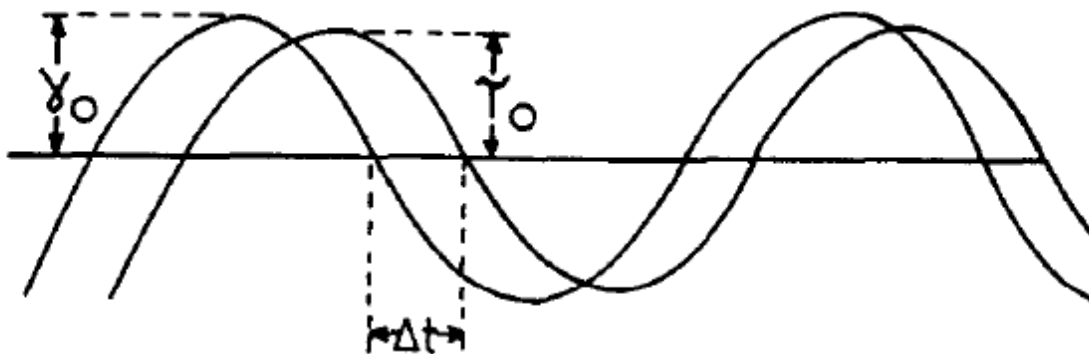
Při statickém měření je zjišťována napěťová či deformační odezva látky po rychlé aplikaci deformace či napětí. Jde o tzv. creepová měření, kde výsledkem je creepová či relaxační odezva látky. Tato odezva je popisována pomocí různých modelů (např. Maxwellův či Kelvinův) [8].

Během dynamických oscilačních měření je látka podrobena změnám smykové deformace (či napětí), které má harmonický charakter, nejčastěji sinusový, a amplituda výchylky je malá. Malá výchylka zaručí, že během cyklického zatěžování nedojde k poškození vnitřní struktury látky. Tímto měřením může být tato struktura, popřípadě její vývoj, popsán. Amplituda deformace a napětí osciluje se shodnou frekvencí f . Nicméně dochází k fázovému posuvu mezi těmito dvěma veličinami (Obr. 2.7). Fázový posuv je zapříčiněn zpožděnou časovou odezvou napětí na změnu deformace, či naopak. Pro ideálně elastickou látku bude tento posuv δ roven 0° . Pro ideálně viskózní látku bude $\delta = 90^\circ$. V rozmezí $0 < \delta < 90^\circ$ se chování látky označuje jako viskoelastické [8].

K popisu viskoelastického chování se používá veličina G^* - komplexní modul. Komplexní modul se skládá ze dvou složek, ztrátového modulu G'' a elastického modulu G' . Vztah mezi G^* a G'' lze vyjádřit vztahem (14) :

$$G^* = G' + iG''; \quad (14)$$

$$kde G' = |G^*|. \cos\delta \text{ a } G'' = |G^*|. \sin\delta$$



Obr. 2.7 Fázový posuv mezi křivkou deformace a napětí [[8]]

G' je měřítkem elastické energie, zatímco G'' je měřítkem energie disipované v podobě viskózního toku.

Tangentu fázového posuvu lze definovat vztahem (15):

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (15)$$

Dynamickou viskozitu lze definovat podílem (16):

$$\eta' = \frac{G''}{\omega}, \quad (16)$$

kde $\omega = 2\pi f$, ω je úhlová frekvence a f je frekvence kmitů.

Komplexní modul je frekvenčně závislá charakteristika, její frekvenční závislost lze nalézt v literatuře [8]. Proměřením celého spektra frekvencí lze získat relaxační charakteristiku vzorku. Z této charakteristiky lze získat mnohé reologické parametry jako je vysokofrekvenční modul, či viskozita pro nulovou deformaci [8].

Vliv typu interakce částic na reologii suspenzí

Rozlišujeme dva modely interakce mezi částicemi v suspenzích.

Prvním typem interakce je tzv. interakce tvrdých koulí. Tato interakce je charakteristická tím, že částice na sebe silově nepůsobí, dokud nejsou v těsném kontaktu, $h = 0$. Modelem tvrdých koulí lze přesně popsat jen velmi málo reálných suspenzí a model je použitelný zejména pro elektrostaticky stabilizované suspenze s vysokou iontovou koncentrací s tenkou elektrickou dvojrůstvou. U suspenzí popsatelných modelem tvrdých koulí lze dosáhnout vysokého objemového podílu pevných částic [4].

K popisu viskozity zředěných suspenzí lze použít Einsteinův vztah (17):

$$\eta_{rel} = 1 + 2,5 \cdot \phi \quad (17)$$

Pro vyšší objemová procenta než $\phi > 0,05$ je nutno využít vztahů uvedených v [12].

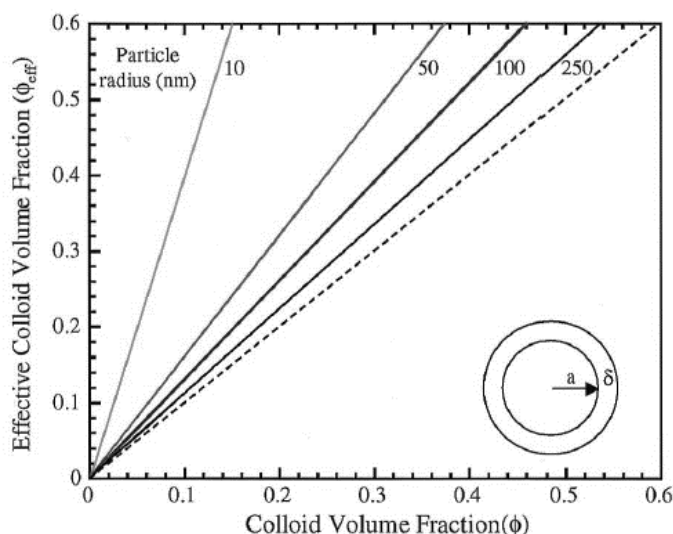
Druhým modelem je model měkkých koulí. Pro tento model je charakteristické, že k interakci mezi částicemi dochází v určité, nenulové vzdálenosti $h > 0$ povrchů interagujících částic. Tento model lze uplatnit na většinu stericky stabilizovaných suspenzí a na suspenze stabilizované elektrostaticky, pokud je tloušťka elektrické dvojrůstvy nezanedbatelná. Pro

výpočet viskozity suspenzí lze uplatnit vztah (17) s tím rozdílem, že je nutno definovat ϕ_{eff} , což je obsah pevných částic v suspenzi s uvažováním objemu, který je tvořen „měkkou vrstvou“ v okolí částice. Pro kulové částice jednoho typu lze psát (18) :

$$\phi_{eff} = \left(1 + \frac{\delta}{R}\right)^3, \quad (18)$$

kde δ je tloušťka měkké vrstvy a R je poloměr částice [4].

Přítomnost měkké vrstvy kolem částic může negativně ovlivnit množství pevných částic v objemu suspenze (Obr. 2.8).



Obr. 2.8 Efektivní objemový podíl pevných částic jako funkce objemového podílu pro model měkkých koulí, kde $\delta = \text{konst}$. Čárkovaná čára je závislost pro systém, který se chová podle modelu pevných koulí [4]

Flokulované suspenze

Flokulovaná suspenze vzniká v případě, že se na křivce potenciální energie vyskytuje primární či sekundární minimum. Převládající přitažlivé síly zapříčiní vznik shluků jednotlivých keramických částic. V případě mělkého sekundárního minima se jedná o proces reverzibilní. V případě existence hlubokého primárního minima se jedná o proces ireverzibilní.

Flokulace může být dosaženo pomocí destabilizace suspenze (změnou pH či iontové koncentrace u elektrostaticky stabilizovaných suspenzí, desorbce polymeru u stericky stabilizovaných suspenzí, nárůstem množství pevných částic v objemu suspenze nad kritický objemový podíl ϕ_{gel}). Pro flokulované suspenze je typické pseudoplastické chování.

Popis reologie flokulovaných suspenzí [8, 13] je klíčový v případě výroby keramických součástí pomocí tlakové filtrace sedimentace, centrifugace apod [14, 15].

2.1.3 Způsoby konsolidace koloidních suspenzí

Konsolidací koloidní suspenze rozumíme proces, při kterém získáme z tekuté suspenze polotovar svým tvarem blízký žádanému tvaru součásti. Polotovar musí mít dostatečnou manipulační pevnost, aby bylo možno jej vyjmout z formy a dále s ním volně manipulovat bez poškození jeho tvaru. V současné době existuje celá řada technik konsolidace koloidních suspenzí.

Metody konsolidace lze rozdělit podle způsobu, kterým je konsolidace dosaženo na:

1. Konsolidaci odstraněním tekutiny
2. Konsolidaci tokem částic
3. Konsolidaci gelací

Pozornost bude věnována konsolidaci pomocí gelace, která bude dále využívána v praktické části diplomové práce.

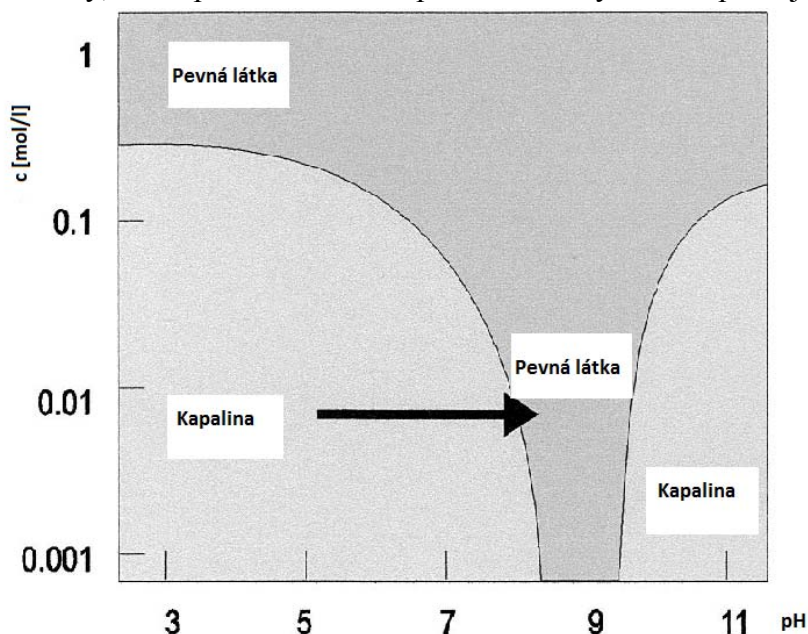
Konsolidace gelací

Konsolidace koloidních suspenzí pomocí gelace je postup, během kterého dochází k přímé přeměně tekuté fáze na fázi pevnou. Veškeré rozpouštědlo obsažené v suspenzi je přítomno i v její zgelované formě. Konsolidace gelací je vhodná jak pro hutné, tvarově složité díly, tak i pro porézní struktury. Je nutno poznamenat, že hnací silou vývoje metod založených na gelaci suspenze je jejich cenová dostupnost (na rozdíl od injekčního vstřikování) a do určité míry jednodušší technologie výroby [9]. Zgelované polotovary lze díky houževnatosti a pevnosti gelu obrábět [16, 17, 18].

Z pohledu reprodukovatelnosti technologie je zásadní zaručit dostatečnou rychlost přechodu suspenze – gel. Dostatečná rychlost konsolidace zajistí rovnoměrné rozložení keramických částic v objemu tělesa a zabrání vzniku nehomogenit způsobených např. působením gravitačních sil [9]. Dalším problémem u těles vzniklých gelací je sušení. Během sušení dochází k odstraňování rozpouštědla ze struktury. Odstranění vede ke smrštění, které má za následek vznik vnitřních napětí. Výsledkem může být vznik trhlin a prasklin ve struktuře [19].

Vznik gelu je podmíněn vznikem dostatečně pevných vazeb v suspenzi. Pevnost gelu musí zajistit zachování tvaru polotovaru po vytažení z formy. Lze rozlišit základní dva typy vazeb. Vazby fyzikálního původu [20, 23] a vazby chemického původu. V keramické technologii je tendence využívat spíše chemických vazeb. Důvod je prostý, takto vzniklé gely jsou mnohem pevnější.

Vznik fyzikálního gelu je podmíněn destabilizací suspenze a převládnutím přitažlivých sil. Bývá uváděno, že vznik fyzikálního gelu je procesem reverzibilním. K destabilizaci suspenze může docházet změnou pH, nejlépe in-situ. Tento přístup zaručí homogenitu vzniklé struktury, která při samostatném přidávání látky měnící pH a jejím rozmíchávání nemusí být



Obr. 2.9 Vliv změny koncentrace soli a změny pH na stav suspenze Al_2O_3 . [24]

zaručena. [20, 21] Alternativní možností je změna koncentrace soli [22] či změna teploty suspenze [23]. Vliv změny pH a změny koncentrace soli na stabilitu koloidní soustavy je patrný z Obr. 2.9.

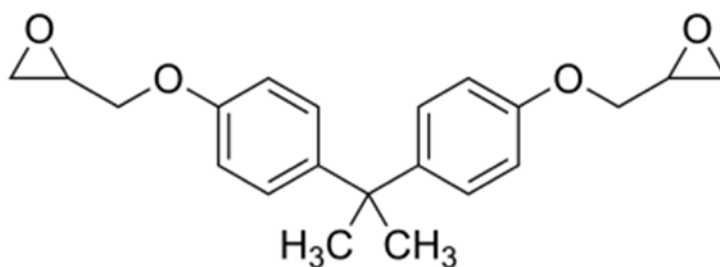
Vznik chemického gelu znamená vznik pevných chemických vazeb mezi aditivy přidanými do suspenze a vytvořením polymerní sítě, ve které zůstanou zachyceny rozptýlené keramické částice. Velmi často se pro konsolidaci suspenze pomocí chemické gelace používají roztoky polymerů či monomerů. Tyto jsou po přidání „cross-linkeru“ spojovány do dlouhých řetězců, které se dále propojují v polymerní síť. Pro vlastní vznik polymerní sítě je důležitá funkčnost monomeru vyšší než dva [24-27]. Další možností je gelace epoxidovou reakcí či využitím látek na bázi polysacharidů [28-30]. Rozpuštěním látek na bázi polysacharidů (agar, albumin, škrob) ve vodě vede k jejich bobtnání a vzniku gelové struktury [31].

Praktická část této práce bude zaměřena na porézní keramické materiály získané metodou gelového lití a napěňováním in-situ s využitím gelace epoxidového systému, proto bude následující část zaměřena právě na problematiku chemických gelů vzniklých epoxidovou reakcí.

Epoxidová gelace má proti gelaci monomerů na bázi akrylamidů několik nesporných výhod.

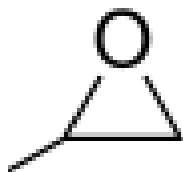
1. Akrylamidové monomery využívané např. v [27] jsou neurotoxické
2. Polymerizace akrylamidových monomerů je radikálová reakce inhibovaná přítomností kyslíku, tudíž je gelaci nutno provádět v atmosféře N_2 . To činí technologickou operaci náročnější a dražší [29].
3. Vyšší pevnost v ohybu a vyšší houževnatost epoxidových systémů při obsazích epoxidu vyšších než 20hm% [30].

Objev epoxidu se datuje do roku 1909, kdy ruský vědec Prileschajew nechal reagovat olefiny s kyselinou benzoovou za vzniku epoxidů. Epoxidy se začaly ve větší míře využívat kolem roku 1947. Ze začátku byly využívány zejména při povrchových úpravách jako součást nátěrových hmot. Později byla objevena schopnost epoxidů velmi dobře přilnout k většině podkladů. Tato vlastnost předurčila epoxidy pro použití v oblasti adheziv a lepidel. První průmyslově vyráběné epoxidové pryskyřice byly připravovány reakcí epichlorhydrinu a bisfenolu A. Reakcí těchto dvou látek je možno připravit diglycidyl ether bisfenolu A (Obr. 2.10) [33].



Obr. 2.10 Diglycidyl ether bisfenolu A

Předložka epoxy je slovem označujícím látku, ve které je atom kyslíku vázán na dva další, většinou uhlíkové atomy. Právě tato (nesymetrická) skupina, kde je vazba kyslíku na uhlík poměrně slabá, vede k tomu, že jejím štěpením může dojít k řadě adičních a polymeračních reakcí. Polymerační reakce vedou ke vzniku pevné polymerní sítě. Polymerní síť je příčinou vzniku gelové struktury. K vytvoření polymerní sítě je potřeba, aby látka obsahovala více než jednu epoxidovou skupinu (Obr. 2.11) [33].



Obr. 2.11 Charakteristická epoxidová skupina C_2H_3O

Reakce, nazývaná jako „ring-opening reaction“, při které dochází ke štěpení vazby C – O, je iontového charakteru a dochází k ní v polárních rozpouštědlech. Štěpná reakce je exotermní. Při reakci velkého množství epoxidové pryskyřice se síťující látkou musí docházet k chlazení systému, aby nedošlo k tepelné degradaci. Látky běžně používané jako tvrdidla patří do skupiny aminů, kyselin, fenolů či alkoholů, tedy skupin látek s reaktivním vodíkovým atomem. Některé epoxidy podstupují polymerační reakci bez tvrdidla a vytvrzení probíhá reakcí epoxidových skupin mezi sebou. Většina typů epoxidů reaguje za pokojových teplot, nicméně zvýšením teploty rychlost vytvrzovací reakce většinou roste [33]. Systémy využívané pro konsolidaci keramických suspenzí často využívají reakci amino skupiny s epoxy skupinou [34].

Pro získání stechiometrického poměru epoxydové pryskyřice a tvrdidla je nutno znát epoxidové a (v případě reakcí s aminy) aminové číslo. Respektive epoxidovou ekvivalentní hmotnost a aminovou ekvivalentní hmotnost. Ekvivalentní epoxidovou hmotnost lze získat ze vztahu (19) [33].

$$m_{ekv.}^{epoxy} = \frac{M_{epoxy}}{\text{počet epoxy skupin}}, \quad (19)$$

kde M_{epoxy} je molekulová hmotnost molekuly epoxidové pryskyřice.

Ekvivalentní aminovou hmotnost lze získat ze vztahu (20):

$$m_{ekv.}^{amin} = \frac{M_{amin}}{\text{počet amin.skupin}}, \quad (20)$$

kde M_{amin} je molekulová hmotnost tvrdidla obsahujícího aminovou skupinu.

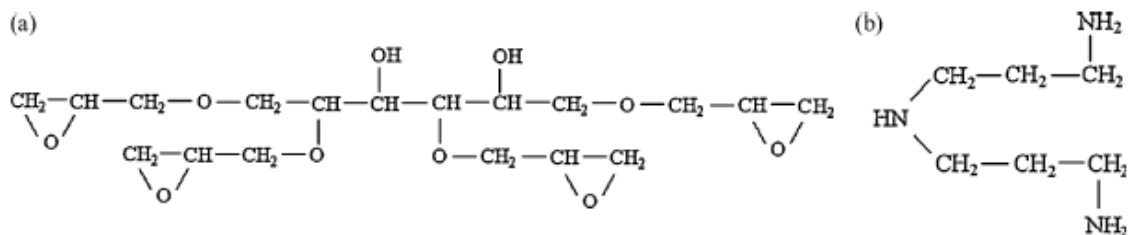
Stechiometrický poměr je potom dán poměrem (21):

$$\frac{m_{ekv.}^{amin}}{m_{ekv.}^{epoxy}} \quad (21)$$

Epoxidové či aminové číslo lze získat jako (22):

$$E_n(A_n) = \frac{100}{m_{ekv.}^{epoxy}(m_{ekv.}^{amin})} \quad (22)$$

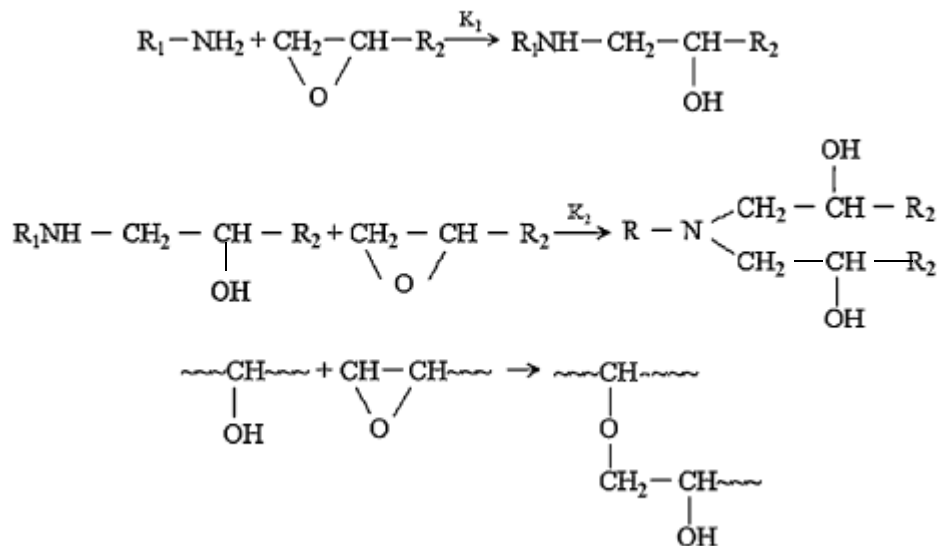
Pro konsolidaci keramických suspenzí bývají používány ve vodě rozpustné epoxidové systémy. Jedním z často používaných systémů je epoxydová pryskyřice sorbitol polyglycidyl ether (SPGE) a tvrdidlo 3,3'-iminodipropylamine (IDPA) [35] případně dipropylentriamin (DPTA) [36]. Struktura SPGE a DPTA je na Obr. 2.12.



Obr. 2.12 a) struktura molekuly SPGE b) struktura molekuly DPTA [35]

Polymerizační reakce mezi SPGE a DPTA je tzv. „ring-opening“ reakcí (Obr. 2.13), která probíhá ve třech krocích. Tato reakce je podobná pro všechny dále popisované epoxidové systémy. V prvním kroku dochází k reakci primární aminové a epoxidové skupiny. Dojde rozštěpení epoxidové skupiny a její linearizaci. Poté dochází k reakci sekundární aminové skupiny s epoxidovou skupinou a vzniká hydroxidová skupina. Ta v konečné fázi vede k propojení epoxidových molekul a vzniku třídimenzionální sítě. V průběhu reakce dochází ke změně tekutého systému na systém tvořený gelem [34, 35, 36].

Vhodnost epoxidového systému založeného na epoxidové pryskyřici SPGE je nicméně diskutabilní. Rozpustnost SPGE je nižší než 10 hm% a zároveň má poměrně vysokou viskozitu (5 Pa.s). Tyto parametry redukovat jeho možné použití v oblasti vyšších hmotnostních obsahů epoxidu. Z tohoto důvodu byly zkoumány epoxidové systémy s vyšší rozpustností epoxidové pryskyřice a nižší viskozitou (Obr. 2.14) [38].



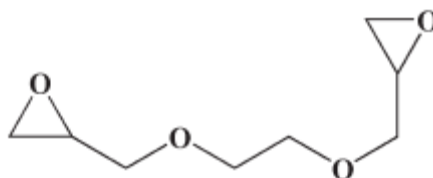
Obr. 2.13 Reakce epoxidové pryskyřice s tvrdidlem obsahujícím aminovou skupinu. Reakce vede ke vzniku 3D sítě [35]

Epoxidová pryskyřice	Zkratka	Rozpustnost Viskozita	
		(%)	(mPa · s)
Ethylenglycol diglycidyl ether	EGDGE	> 15	20
Polyethylene glycol diglycidyl ether	PEGDGE	> 15	46
Glycerol polyglycidyl ether	GPGE	14–15	152
Resorcinol diglycidyl ether	RDGE	~9	216

Obr. 2.14 Ve vodě rozpustné epoxidové pryskyřice [38]

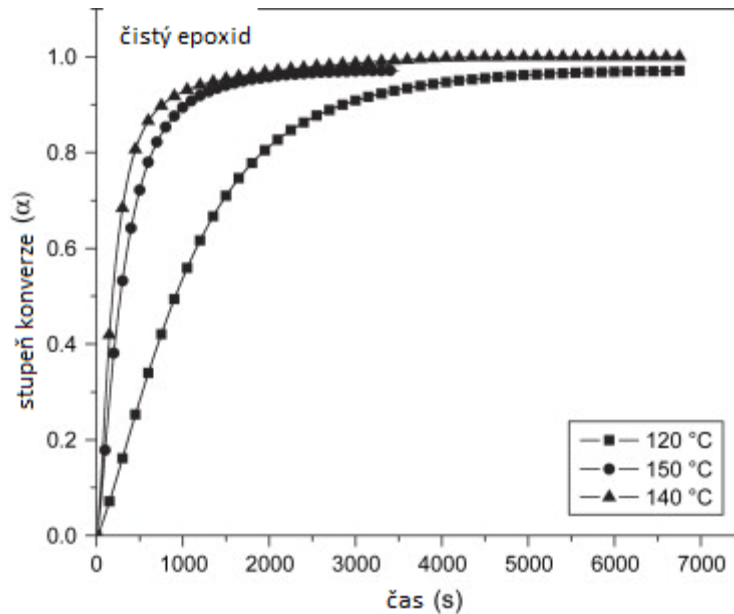
Nejvhodnější volbou z hlediska viskozity a rozpustnosti jsou epoxidové pryskyřice EGDGE a PEGDGE. Jako vytvrzovací látka je používán již zmiňovaný DPTA. V praktické části diplomové práce je využit systém obsahující právě EGDGE + DPTA, který podle [38] vykazuje nejlepší reologickou i mechanickou odezvu.

Molekula EGDGE je schematicky vyobrazena na Obr. 2.15 .



Obr. 2.15 Schematické znázornění molekuly EGDGE

Rychlost vytvrzování epoxidové pryskyřice vykazuje teplotní závislost [34]. Reakční rychlosti při vytvrzování termosetů, mezi které epoxidové pryskyřice patří, rostou se vzrůstající teplotou. Během reakce, při které dochází ke spojování monomerů za vzniku 3D sítě roste i teplota skelného přechodu T_g (tato teplota se přímo vztahuje k stupni zesítnění [40]). Při překročení T_{gmax} pro daný systém dochází k dosažení nižšího stupně konverze epoxidu (Obr. 2.16) [39].



Obr. 2.16 Závislost stupně konverze (zesítnění) na reakční teplotě. Pro daný epoxidový systém je $T_{gmax} \sim 135^\circ\text{C}$ [[39]]

Se vzrůstajícím stupněm zesítnění epoxidu se mění i mechanismus vzniku 3D sítě. Zatímco při nízkých stupních zesítnění je reakce plně pod kontrolou chemických reakcí, kdy krátké polymerní řetězce epoxidu jsou převážně lineární a mobilní. Mobilita umožňuje natáčení reaktivních skupin a prodlužování polymerních řetězců. Se vzrůstajícím stupněm zesítnění se zhoršuje mobilita dlouhých a rozvětvených řetězců, které se navíc spojují a začínají vytvářet 3D síť. V této fázi se začíná uplatňovat difuze a reakce se zpomaluje. Kinetiku reakce při vyšších stupních zesítnění nelze popsat pouze exponenciální závislostí vycházející z Arrheniovy rovnice, ale pro úplný popis systému bývá zaváděn difuzní faktor $f(\alpha)$ [39, 40].

Se vzrůstající teplotou ovšem neroste rychlost reakce do nekonečna. Při překročení určité teploty dochází k poškození vznikajících vazeb v epoxidové síti a dochází k destrukci struktury. Pro jednotlivé epoxidové systémy lze odhadnout energii, která je pro takovou destrukci nutná [40].

Rychlost gelace lze odhadnout i nepřímou pomocí reometrického oscilačního měření. Suspenze je podrobena sinusovému zátěžnému cyklu a jsou zaznamenávány průběhy veličin popisovaných v kapitole reologie koloidních suspenzí. Zásadní je průběh elastického modulu G' a jeho případný průsečík se ztrátovým modulem G'' . Tento průsečík lze (s uvažováním zjednodušení [41]) prohlásit za bod gelace, tedy místo, kde elastická složka komplexního modulu G^* začíná převažovat nad viskózní složkou.

2.2 Metody výroby porézní keramiky

Využití porézních keramických materiálů je v současné průmyslové praxi široké. Časté jsou aplikace keramických filtrů roztavených kovů [42], horkých plynů, katalyzátorů [43] pro různorodé chemické reakce, tepelných a protihlukových izolátorů [44]. Tyto aplikace využívají zejména vysokého bodu tání keramických materiálů, nízkého koeficientu teplotní roztažnosti, vysoké chemické odolnosti a malé tepelné vodivosti. Jako protiváha zmiňovaným kladným vlastnostem stojí zejména křehkost porézních struktur a s tím spojená jejich nespolehlivost při mechanickém namáhání.

Důležitým a rozrůstajícím se odvětvím, ve kterém nachází své uplatnění keramické materiály obecně, a nejen ty porézní, je tkáňové inženýrství. Určité druhy keramik mají tu vlastnost, že jsou lidskému tělu vlastní a tudíž tzv. biokompatibilní. Tato biokompatibilita ve spojení s velkým měrným povrchem předurčuje porézní struktury k vytvoření „biologických katalyzátorů“ sloužícím pro vývoj nové tkáně.

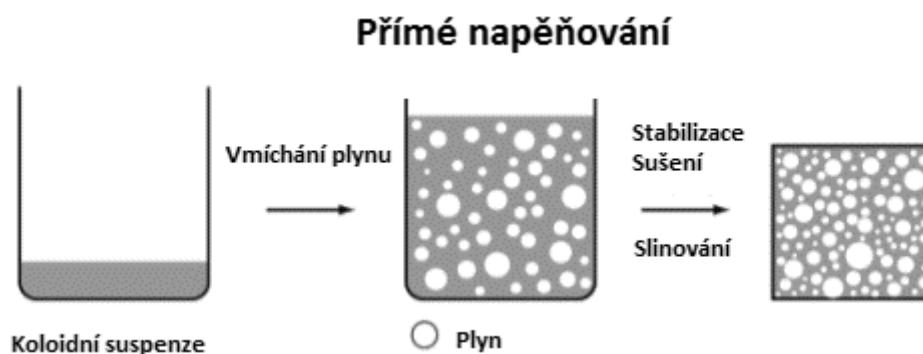
S rostoucí poptávkou po keramických porézních strukturách byly vytvořeny metody jejich výroby. Po zvládnutí technologických úskalí lze jednotlivými metodami získat struktury lišící se zejména velikostí, tvarem, distribucí a celkovou porozitou struktury. Metody lze rozdělit na [45]:

1. Metody replikační
2. Metoda odstranitelného pórotvorného materiálu
3. Metody „solid free-form fabrication“ (SFF)
4. Metody přímého napěňování

Podobně jako u způsobů konsolidace bude i v této kapitole věnován prostor pouze poslední zmiňované technologii tj. metodám přímého napěňování. Přímé napěňování suspenze bylo použito při technologii výroby porézních pěn v experimentální části práce. Přehled ostatních metod je rešeršně zpracován v [1].

2.2.1 Přímé napěňování

Přímé napěnění suspenze je zdánlivě nejjednodušší a nejlevnější cesta, která vede k vytvoření porézní struktury ve formě pěny. Pórovitost struktury je dána množstvím plynu zachyceného v suspenzi během míchání, šlehání, probublávání plynem apod. (Obr. 2.17). Největším technologickým problémem je termodynamická nestabilita pěny. Nestabilita vede k degradaci struktury a tím i k degradaci vlastností výsledného produktu.



Obr. 2.17 Zjednodušený technologický průběh přímého napěňování [9]

Stabilita pěny

Pěna získaná přímým napěněním suspenze je termodynamicky nestabilní strukturou, která podléhá odvodňování, koalescenci a Ostwaldovu zrání. Tyto procesy, pokud nejsou dostatečně potlačeny, vedou v krátkém časovém úseku k absolutnímu kolapsu pěny. Fyzikální procesy probíhající ve vlhké pění vedou ke snížení celkové energie systému a jsou změnami z fyzikálního pohledu neodvratnými a z pohledu přírodních zákonů nezbytnými.

Odvodňováním se myslí separace plynné a kapalně fáze v pění. Stékání kapaliny spárami mezi jednotlivými bublinkami ke dnu nádoby. Tento proces vede ke vzniku husté pěny na povrchu kapaliny. Pěna podléhá Plateauovým zákonům a snaží se zaujmout stabilní konfiguraci.

Z pohledu fyziky vede reorganizace k snížení potenciální energie rozhraní [9, 46].

Koalescence pěny nastává ve chvíli, kdy jsou stěny mezi dotýkajícími se bublinkami natolik slabé, že dochází k jejich protrhávání a slívání bublin v jednu. Koalescence je řízena zejména působením přitažlivých vdW sil, které tlačí bubliny k sobě. Jedinou možností, jak koalescenci zastavit (resp. dostatečně potlačit) je překonat přitažlivé vdW síly silami odpudivými (např. sterické, elektrostatické). Síly potlačující vliv vdW sil se do systému zavedou přidáním surfaktantů či koloidních částic [9, 46].

Pěna, třebaže dostatečně odolná proti stékání a koalescenci, podléhá fyzikálnímu jevu, za jehož podstatou stojí kapilární tlak. Tímto jevem je Ostwaldovo zrání. Během Ostwaldova zrání dochází ke změně ve velikosti bublin. Malé bublinky zanikají a velké se zvětšují. Celé vysvětlení tohoto jevu souvisí s tlakem uvnitř bublin. Tlak je popsán Laplaceovou rovnicí (23):

$$P = \frac{2\gamma}{R}, \quad (23)$$

kde P je tlak uvnitř bubliny, γ je povrchové napětí a R je poloměr zakřivení bubliny. Jak je z rovnice zřejmé, s klesajícím poloměrem R bubliny roste tlak v jejím nitru. V případě, že se poblíž nachází bublina o větším poloměru, malá bublina ji „cítí“. V zájmu zachování rovnováhy je snaha tlaky vyrovnat. Malá bublina postupně zaniká a velká se zvětšuje. Pokud budeme uvažovat, že největší bublinou v pění je samotná atmosféra, potom musí v případě vlhké pěny po čase dojít k její destrukci a vyrovnání tlaku s okolní atmosférou [46].

Popsaným jevům lze alespoň částečně bránit přidáním koloidních částic či surfaktantů.

Stabilizace pěny pomocí koloidních částic

Proces stabilizace vlhké pěny pomocí koloidních částic je znám víc než jedno století. V současné době se používá k výrobě superstabilních pěn.

Proces stabilizace je založen na adsorbci částečně lio(hydro)fóbních částic na rozhraní kapalina-plyn. Z energetického hlediska je velmi výhodné nahradit část vysokoenergetického rozhraní pevná látka-kapalina méně energeticky náročným rozhraním pevná látka-plyn právě prostřednictvím koloidních částic. Poloha částic na mezifázovém rozhraní je řízena rovnováhou povrchových napětí na jednotlivých rozhraních. Silně liofóbní částice jsou z větší části obklopeny plynnou fází (kontaktní úhel $> 90^\circ$), zatímco slabě liofóbní částice jsou obklopeny fází kapalnou (kontaktní úhel $< 90^\circ$). Právě kontaktní úhel umožňuje stanovit rozptýlenou fází a kontinuální fází. Uvažujme směs kapalina-plyn 1:1. Pokud je kontaktní úhel $< 90^\circ$ dochází primárně ke vzniku směsi plyn v kapalině (pěna). Pokud je kontaktní úhel $> 90^\circ$ dochází primárně ke vzniku směsi kapalina v plynu (mlha) [9].

Energie uchycení částic na rozhraní kapalina-plyn je popsána vztahy (24) a (25) [45]:

$$G = \pi r^2 \gamma_{LG} (1 - \cos \theta)^2 \text{ pro } \theta < 90^\circ \quad (24)$$

$$G = \pi r^2 \gamma_{LG} (1 + \cos \theta)^2 \text{ pro } \theta > 90^\circ \quad (25)$$

Uchycení částic na rozhraní je tak silné, že je na rozdíl od stabilizace pomocí surfaktantů téměř nereverzibilním procesem. Stabilita takové pěny se dá počítat v řádu dnů [9].

Stabilizace pomocí surfaktantů

Z minulé podkapitoly by se mohlo zdát, že stabilizace suspenze pomocí koloidních částic je nevhodnější metodou stabilizace vlhké pěny, neboť stabilizační účinek je dlouhý a lze korigovat i velikost pórů. Nicméně pro některé aplikace, jako jsou právě aplikace v oblasti tkáňového inženýrství, je zapotřebí získat strukturu vykazující póry navzájem propojené s propoji o velikosti minimálně 150 μm . Takové struktury je jednodušší dosáhnout jinou metodou stabilizace a tou je stabilizace vlhké pěny pomocí surfaktantů.

Stabilizací pomocí surfaktantů se rozumí přítomnost amfifilních molekul v keramické suspenzi. Amfifilní molekuly se vyznačují obojakým chováním. Molekula amfifilní látky (lipidy, proteiny, oxidy, ethery, kopolymery...) je tvořena hydrofilní částí (hlavou) a částí hydrofóbní (ocasem). Ve vodném prostředí tvoří povrchově aktivní látky (PAL) micely. Při vzniku pěny se PAL váží na mezifázové rozhraní kapalina-plyn a snižují jeho povrchové napětí. Snižováním povrchového napětí dochází ke snížení celkové energie systému a systém se stává stabilnějším [46]. Nevýhodou proti stabilizaci pomocí koloidních částic je fakt, že vazba amfifilní molekuly na rozhraní je řádově slabší. Vazba PAL na rozhraní je procesem reverzibilním a stabilita pěny není tak vysoká jako při stabilizaci koloidními částicemi. Řádově se dá mluvit o minutách či desítkách minut, během kterých je nutné pěnu konsolidovat, aby si zachovala strukturu podobnou té, kterou měla po napěnění [9]. Díky reverzibilitě vazby molekul PAL na rozhraní lze vytvořit struktury s otevřenou porozitou s propoji většími než 150 μm požadovanými při aplikaci v oblasti tkáňového inženýrství pro struktury sloužící k regeneraci tkáně kostí. Reverzibilita vazby PAL umožňuje desorbci surfaktantu v určitých místech během konsolidace a vznik propojů mezi jednotlivými póry.

2.3 Obrobitelnost keramických materiálů

Přes všechny pozitivní vlastnosti keramických materiálů, jako je jejich tvrdost, chemická a tepelná stálost či malá teplotní roztažnost, jsou díky iontovým a kovalentním

vazbám keramické materiály prakticky plasticky nedeformovatelné. Pohyb dislokací v keramických materiálech je možný až při vysokých teplotách. Znemožněný pohyb dislokací se odráží na jejich obrobiteľnosti [47]. Obecně jsou keramické materiály ve strojírenské technologii považovány za neobrobiteľné konvenčními technologiemi třískového obrábění s definovanou geometrií břitu (soustružení, vrtání, frézování). Obrábění keramických materiálů se ve většině případů omezuje na „kosmetické“ úpravy povrchu pomocí lapování a broušení. Velkým problémem spojeným s obráběním je vrubová citlivost keramik. Rýhy vznikající po obrábění na obroběném povrchu fungují jako efektivní koncentrátoři napětí a často vedou ke vzniku prasklin a lomů. Proto je snaha vyrábět keramické dílce jednoduchého tvaru, které je možno vyrobit přímo, bez nutnosti tyto díly dále obrábět [48].

V průmyslové praxi ovšem existují aplikace, ve kterých se složitějším tvarům součástí nejde vyhnout. Jedná se například o katalyzátory, náhrady zubů, kloubů, biokeramické podpůrné systémy (scaffolds). Problémem zejména v medicínských aplikacích je, že tvar kloubů a zubů je pro každého jedince unikátní. Pokud je cílem co nejlépe uspokojit požadavky pacienta, je nezbytné vyrábět keramickou náhradu na míru. Jedná se tedy o kusovou výrobu a vyrábění forem pro injekční vstříkávání nebo jiné technologie by bylo značně neefektivní, a to jak finančně, tak i časově. Potom nezbyvá než unikátní, geometricky složitý tvar získat jinou cestou.

2.3.1 Přístup „Bottom-up“

Myšlenka výroby přístupem „bottom-up“, který do češtiny lze volně přeložit jako „od jednoduchého ke složitějšímu“, spočívá v postupném vytváření složité struktury po vrstvách. Na myšlence vrstvení jsou založeny všechny metody SFF. Postup se sestává z výroby 3D modelu ve vhodném softwaru, jeho rozdělení na tenké řezy, vytvoření řídicího kódu pro 3D tiskárnu či jinou metodu SFF a postupného nanášení vrstev [9, 16].

Tento přístup se zdá být velmi rozumným pro přípravu složitých dílů z materiálů, které nejde konvenčně obrábět, mezi které keramika spadá. Nicméně přináší spoustu problémů. Pro vlastní tisk je potřeba vytvořit keramický inkoust či pastu s homogenní obsahem keramických částic. A již tento krok je vcelku obtížný. Pokud se podaří připravit vlastní hmotu pro vrstvení, nastává problém se soudržností jednotlivých vrstev a jejich delaminací. Po vytištění je nutno se zbavit pojiv a změkčovadel, které jsou obsaženy ve vytištěné hmotě. Jejich vypalování je pomalé, při zvýšení rychlosti vypalování dochází ke vzniku trhlin vinou objemové roztažnosti vznikajícího plynu. Povrch vytištěné součásti nebývá kvalitní a vyznačuje se schodovitou strukturou, která ve svém důsledku dává vzniknout vrubům na povrchu. Vruby na povrchu negativně ovlivňují mechanické charakteristiky součásti. Zlepšení kvality povrchu vede ke snížení tloušťky nanášené vrstvy, což má za následek prodloužení výrobního času a prodražení celé operace [16].

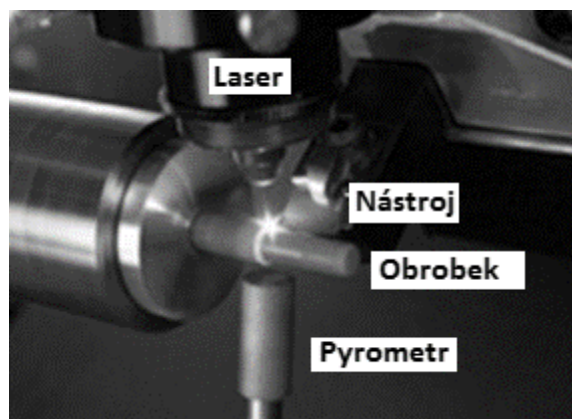
2.3.2 Přístup „Top-down“

Myšlenka „Top-down“, tedy volně přeloženo „od kusu materiálu k hotovému dílu“ je základní myšlenkou obrábění. Z kusu kvalitně připraveného materiálu (ocel, dřevo, keramika) se postupným odebíráním materiálu získají požadované geometrické rozměry součásti se všemi tolerancemi a požadovanou kvalitou povrchu. Aplikací tohoto přístupu se lze zbavit problémů spojených s delaminací, stupňovitým povrchem a do jisté míry i s problematikou odstranění aditiv z keramického polotovaru. Problémem zůstává tvrdost a křehkost keramik ve slinutém stavu. Nicméně lze využít stavu předslinutého či neslinutého. Potom je potřeba uvážit přídavky na jednotlivé rozměry vyplývající z objemového smrštění při slinování. Obráběním neslinutých keramik se lze teoreticky do jisté míry zbavit vrubů vznikajících po obrábění. Během

slinování dojde k jejich částečnému odstranění, stejně tak i k odstranění malých prasklinek [16]. Nicméně „Top-down“ přístup je v oblasti keramik často spojen pouze s empirickými zkušenostmi. Hodnoty posuvů, rychlosti obrábění a hloubka úběru nejsou definovanými parametry, jako tomu je například v případě ocelí.

Obrábění keramik ve slinutém stavu

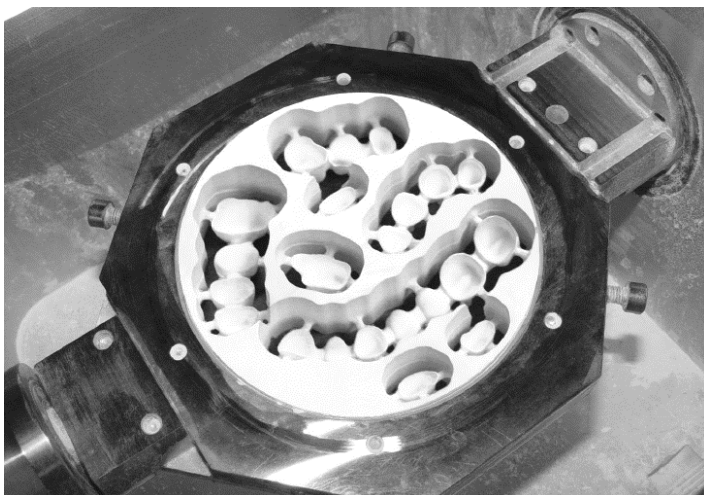
Obrábění keramiky ve stavu slinutém je velmi komplikované, a pokud to jde, je snaha se mu vyhnout. Opotřebenění nástrojů je v případě obrábění slinutých keramik enormní a často se dá hovořit spíše o obrábění nástroje obrobkem. Pokud je nezbytné keramiku ve slinutém stavu opracovávat, provádí se zejména její broušení, lapování, popřípadě se užijí nekonvenční metody obrábění. Jednou z možností, jak lze konvenčně obrábět keramický materiál ve slinutém stavu, je tzv. „Laser-assisted machining“. Při tomto způsobu obrábění je obrobek nahříván laserem před řezným nástrojem (Obr. 2.18). Za vysoké teploty je umožněn pohyb dislokací a lze obrábět i oxidické keramiky soustružením a frézováním [49]. Obrábění biokeramiky na bázi HA se věnuje např. [50]. Jedna z možností, jak zlepšit obrobitelnost HA keramiky (a keramiky obecně) je vytvoření sklokeramického kompozitu. Obrobitelné materiály na této bázi jsou již dostupné. Limitují je ovšem jejich mechanické vlastnosti. Jejich nejčastější využití je v oblasti izolací (tepelných i elektrických) [51, 52].



Obr. 2.18 Laser-assisted machining [49]

Obrábění keramik v předslinutém stavu

Obrábění keramiky v předslinutém stavu přináší výhodu v podobě lepší obrobitelnosti materiálu. Předslinutý materiál se vyznačuje dostatečnou pevností a při tom nedosahuje tvrdosti



Obr. 2.19 Obrobené dentální korunky před závěrečným slinováním [53]

slinuté keramiky. Obrábění keramik v předslinutém stavu je poměrně dobře zvládnutá technologická operace zejména při přípravě implantátů pro dentální chirurgii. Keramické zubní náhrady a korunky jsou téměř výhradně obráběny v předslinutém stavu s následujícím doslinováním. Pro přesnou výrobu dentálních náhrad je s úspěchem užíváno CAD/CAM technologie (Obr. 2.19). Při užití předslinutého polotovaru je nicméně nutné počítat se smrštěním během doslinování. Proto je důležité znát koeficient smrštění, který může být různý v různých směrech [53, 54, 55]. Předslinuté polotovary jsou komerčně dostupné a výrobce deklaruje jejich čistotu a vnitřní homogenitu s vyloučením vnitřních vad. Předslinuté polotovary již neobsahují žádná pojiva. Ta jsou odstraněna během předslinovací operace [56].

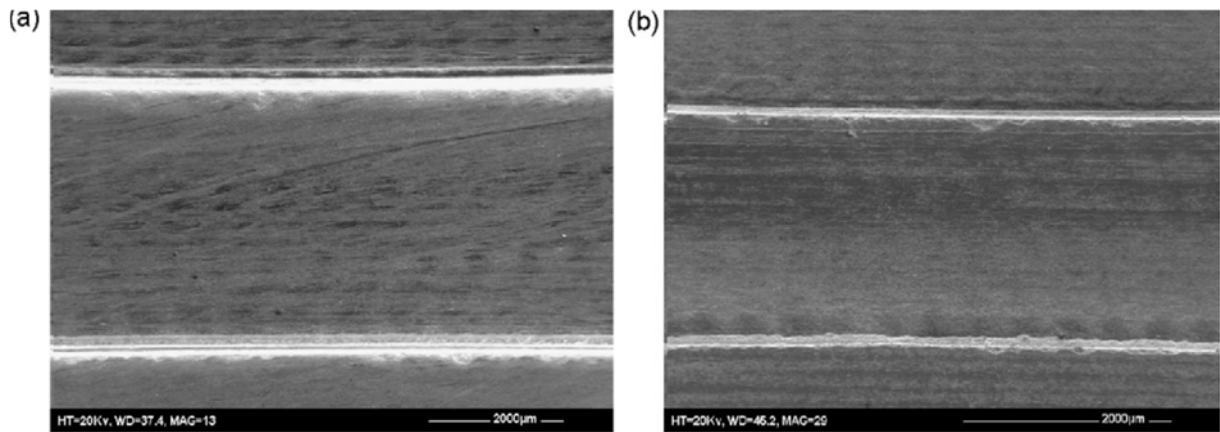
Obrábění keramik v neslinutém stavu

Obliba keramických materiálů v průmyslu roste a se zvětšujícím se zájmem rostou i požadavky na přesnost a tvarovou složitost keramických dílů. Z hlediska strojní technologie by bylo přínosné obrábět keramické polotovary metodami dobře známými a popsány jako je frézování, soustružení a vrtání. Jednou z možností je obrábět keramiky ve slinutém či předslinutém stavu. Nicméně výrobní operace se prodlužuje, opotřebení rezných nástrojů je velké a rezné odpory vznikající při samotném obrábění jsou často na hranici možností jak obráběcích nástrojů, tak strojů. Způsob, jak tyto jevy zmenšit či téměř eliminovat, je obrábění keramických materiálů v neslinutém stavu tzv. „green machining“ [18].

Obrábění keramických materiálů v neslinutém stavu konvenčními technologiemi s sebou přináší řadu problémů. K bezchybné a precizní obráběcí operaci je nutno obrobek pevně uchytit v obráběcím stroji. Uchycení neslinutého keramického polotovaru bývá často komplikované díky jeho malé pevnosti, zvláště pak, pokud se jedná o materiál získaný pomocí lisování s malým množstvím použitých pojiv. Obráběcí operace může být prováděna jak za sucha, tak za mokra – závisí na tom, jestli a jaký typ pojiva se v materiálu vyskytuje. Každopádně přítomnost keramických částic vede k vysokému abrazivnímu opotřebení nástroje a s tímto opotřebením je třeba počítat (platí i pro obrábění ve slinutém či předslinutém stavu). Vznik výmolu na čele nástroje může vést k nárůstu rezných odporů do té míry, že dochází k destrukci obrobku [57]. Obrábět keramický materiál lze jak nástroji z HSS, tak i s nástroji na bázi WC. Ukazuje se ovšem, že odolnost nástrojů na bázi WC je vyšší [18]. Lze se domnívat, že případný povlak na karbidickém nástroji rezné podmínky dále zlepší. Tříska, která se tvoří při obrábění keramik, se většinou značně liší od třísky vznikající při obrábění ocelí. Nelze definovat její geometrii a jedná se spíše o částice ve tvaru malých vloček [57].

Z literatury lze uvést několik příkladů systémů, které bylo možné s většími či menšími úspěchy obrobek konvenčními technologiemi v neslinutém stavu [16] se zabývá obráběním keramiky na bázi Al_2O_3 (55 obj. %), který byl získán metodou gelcastingu.

Práce [18] se zabývá obráběním keramiky Al_2O_3 konsolidované pomocí polymerace monomerů MAM:MBAM v poměru 6:1. Vzorky ve tvaru disků o rozměrech 30 mm v průměru 10 mm na výšku s obsahem pojiva 15, 22,5 a 30% byly použity pro obrábění broušením a vrtáním. Vzorky ve tvaru kvádrů o rozměrech 65x13x5 mm byly užity pro obrábění nesousledným frézováním. Z výsledků vyplynulo, že pro vrtání a frézování je vhodné používat nástroje na bázi WC, které vykazují nižší opotřebení než nástroje z HSS. Při broušení se se zvyšujícím se obsahem pojiva zhoršuje životnost brusných kotoučů, které jsou zanášeny a při vysokých rychlostech obrábění může dojít vinou tepla produkovaného třením až k hoření pojiva. Obrábění frézováním přinášelo problém v podobě vzniku „chippingu“ na hranách (Obr. 2.20).



Obr. 2.20 Mikrofotografie obrobene keramické plochy pomocí frézování. A) systém konsolidovaná pomocí albuminu a sacharózy, B) systém konsolidovaný pomocí PVA-PVB. Kvalita povrchu keramiky konsolidované pomocí PVA-PVB je mnohem lepší s menším odlupováním materiálu na hranách (tzv. „chipping“). [18]

Ke zlepšení obrobitelnosti systémů konsolidovaných pomocí polymerace monomerů přispívá i práce [17]. Zlepšení obrobitelnosti je dosaženo vytvořením „dvojitého systému“, tzn. konsolidace je dosaženo polymerací monomerů AM-MBAM a gelací systému na bázi alginátu sodného.

2.4 Porézní biokeramické podpůrné systémy

Během úrazů, v následku zhoubných či nezahubných nádorů nebo působením času na lidský organismus se lékařská praxe setkává s potřebou nahradit chybějící části lidského skeletálního systému. Jednou z možností bylo v minulosti, a stále ještě je, použití kostních štěpů. Nicméně kostní štěp znamená další chirurgický zákrok do již tak oslabeného těla (při autotransplantaci) či potřebu vhodného dárce.

Kolem roku 1960 se začaly vyvíjet porézní biokeramické systémy, ang. „scaffolds“ (toto označení bude používáno i v dalším textu). Hnací motorem výzkumu byla potřeba lékařské praxe získat materiál, kterým lze chybějící kostní tkáň nahradit bez dalšího operativního zákroku spojeného se získáním štěpu, či s časovou prodlevou během hledání vhodného dárce. Během následujících 55 let došlo k významnému posunu od materiálů, které se v těle chovají inertně, až k materiálům podporujícím uchycení kostních buněk a růst nové tkáně. Důležitou kategorií tvoří porézní keramiky na bázi fosforečnanu vápenatého. Následující kapitola objasní vliv fosforečnanových keramik na vznik nové kostní tkáně. Roli porozity a velikosti pórů při vytváření kostní tkáně. Komplexnější informace o problematice, definici biokeramických materiálů atp. jsou k nalezení v [1].

2.4.1 Materiály na bázi fosforečnanu vápenatého pro výrobu scaffoldů

Postupně se při vývoji keramických scaffoldů přešlo z konceptu založeného na principu zaplnění vakantního místa inertním keramickým implantátem na filozofii založenou na použití materiálu, který s okolní tkání reaguje a umožňuje její opětovný vznik. Pro tyto účely se jeví jako vhodný materiál na bázi fosforečnanu vápenatého. Takové materiály mohou být v prostředí lidského těla stabilní (hydroxyapatit, HA) nebo se mohou rozpouštět (α či β fosforečnan vápenatý, TCP). Fosforečnanové keramiky, zejména potom hydroxyapatit, jsou materiály lidskému tělu vlastní, neboť HA je přirozenou anorganickou složkou lidské kosti. Existují samozřejmě i jiné keramické materiály jako Al_2O_3 či ZrO_2 , které lze označit za bioinertní, nicméně z důvodu zaměření práce na fosforečnanové keramiky nebudou keramiky na jiné bázi dále rozebírány.

Pro představu o rozsahu skupiny fosforečnanových keramik je přiložen obrázek Obr. 2.21. Zajímavé jsou zejména údaje o rozpustnosti jednotlivých keramik v kyselém prostředí. Degradace fosforečnanu v kyselém prostředí je základním mechanismem při vývoji postupně degradujících scaffoldů [58].

Klinická praxe využívá nejčastěji čisté HA [59] nebo TCP [60] keramiky, případně dvoufázové či trojfázové keramiky $HA+\alpha TCP$, βTCP [61] či $HA+\alpha TCP+\beta TCP$ [62]. Přidáním TCP se sleduje možnost vytvořit vstřebatelný materiál. Reaktivita (rozpustnost) vzrůstá s rostoucím poměrem TCP/HA ve struktuře scaffoldu. Pokud se jedná o materiál se složením $\alpha TCP + \beta TCP$, rozpustnost řídí αTCP jako rychleji rozpustný materiál [58].

Hydroxyapatit, HA

Hydroxyapatit (Obr. 2.22) je látka s chemickým vzorcem $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, $\text{Ca}/\text{P} = 1,67$, častěji ovšem uváděná jako $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Důvodem je obsah dvou základních jednotek v elementární krystalické buňce. Jako minerál krystalizuje hydroxyapatit v hexagonální struktuře. Skupiny OH bývají často nahrazovány atomy F, Cl, CO_3 [63, 64, 66].

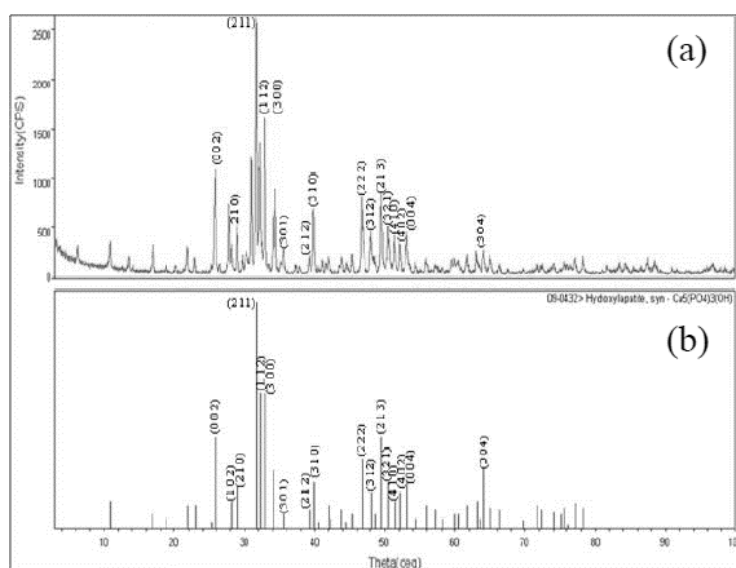
Molární poměr Ca/P	Chemický název (eng.) a používané zkratky	Chemický vzorec	Rozpustnost při 25°C -log Ks	Rozpustnost při 25°C g/l	Stabilní rozsah pH při 25°C
0.5	Monocalcium phosphate monohydrate (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.14	~18	0.0–2.0
0.5	Monocalcium phosphate anhydrous (MCPA or MCP)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.14	~17	[6]
1.0	Dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), mineral brushite	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6.59	~0.088	2.0–6.0
1.0	Dicalcium phosphate anhydrous (DCPA or DCP), mineral monetite	CaHPO_4	6.90	~0.048	[6]
1.33	Octacalcium phosphate (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	96.6	~0.0081	5.5–7.0
1.5	α -Tricalcium phosphate (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	25.5	~0.0025	[6]
1.5	β -Tricalcium phosphate (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	28.9	~0.0005	[6]
1.2–2.2	Amorphous calcium phosphates (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n = 3 - 4.5$; 15%–20% H_2O	[6]	[6]	~5–12 [4]
1.5–1.67	Calcium-deficient hydroxyapatite (CDHA or Ca-def HA) [6]	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	~85	~0.0094	6.5–9.5
1.67	Hydroxyapatite (HA, HAp or OHAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	116.8	~0.0003	9.5–12
1.67	Fluorapatite (FA or FAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	120.0	~0.0002	7–12
1.67	Oxyapatite (OA, OAp or OXA) [6]	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	~69	~0.087	[6]
2.0	Tetracalcium phosphate (TTCP or TetCP), mineral hilgenstockite	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	38–44	~0.0007	[6]

Obr. 2.21 Existující keramiky na bázi fosforečnanu vápenatého [58]

Hydroxyapatit lze v laboratorních podmínkách syntetizovat několika způsoby: precipitace, hydrolizní metody, reakce v tuhém stavu, hydrotermální reakce a sol-gel syntézy.

Hydroxyapatit je fází, která se jeví jako stabilní při kontaktu s vodnými roztoky při $\text{pH} > 4,3$. Všechny vysokoteplotní fáze keramik na bázi fosforečnanu vápenatého se při teplotě 37°C a kontaktu s vodou či tělními tekutinami mění právě na HA [64].

Hydroxyapatit se často vyskytuje i ve své nestechiometrické formě, kterou lze zapsat jako $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6-x(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$, kde x je v rozsahu 0 až 1. Poměr Ca/P leží v rozsahu 1,5 až 1,67. Nestechiometrická forma HA obsahuje kationtové Ca^{2+} a aniontové OH^- vakance v základní krystalové struktuře HA [65, 66].



Obr. 2.22 a) Difrakční vzor nanokrystalického HA, b) rentgenový difrakční vzor z knihovny difrakčních vzorů odpovídající HA

Mezi čistým, laboratorně připraveným stechiometrickým HA a biologickým HA lze nalézt rozdíly, které lze shrnout následovně [64]:

1. HA vyskytující se v kostech je obvykle Ca^{2+} deficitní substituovaný CO_3^{2-} . Kromě CO_3^{2-} obsahuje biologický apatit další minoritní prvky jako Mg, Na, K a stopové prvky Sr, Ba atp. Tyto prvky mají za následek změnu mřížkových parametrů a tím pádem i změnu vlastností HA krystalu.
2. Existují velké mikrostrukturální odlišnosti mezi biologickým hydroxyapatitem a syntetickou HA keramikou. Například u biologického HA byl zjištěn preferentní růst zrn ve směru (001), zatímco syntetický HA je mnohem více isotropní. Specifická orientace biologického HA má za následek vysokou pevnost kostí.
3. Biologický HA obsahuje organický materiál a svou podstatou jde vlastně o kompozitní materiál. U kostí se jedná až o 25 hm% organického materiálu. Organická fáze se vyskytuje především po hranicích zrn HA a má velký vliv na chemické, fyzikální i biologické vlastnosti HA. Z organických látek je největší měrou zastoupen kolagen typu I.

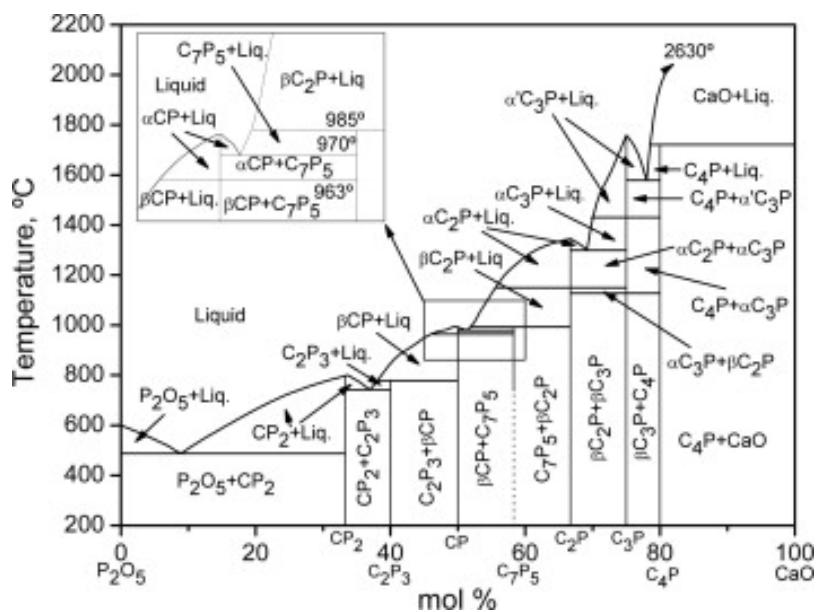
I přes malou rozpustnost HA v přítomnosti vody či tělních tekutin lze HA keramiku zařadit mezi osteokonduktivní materiál. Při implantaci HA dochází k biologicko-chemickým reakcím na rozhraní HA/tkáň. Při styku s tělními tekutinami dochází ke zvýšení buněčné aktivity. Současně dochází k uvolnění Ca^{2+} , HPO_4^{2-} a PO_4^{3-} iontů do okolního prostředí. Povrch HA se tak postupně mění a dochází k precipitaci uhličitanového HA na povrchu implantátu. Díky nízké rozpustnosti je ovšem precipitace uhličitanového HA (HCA) pomalá, závislá na krystalické struktuře syntetického HA a kinetice jeho rozpouštění. Nicméně vznik uhličitanového hydroxyapatitu, který je spojen s původní organickou hmotou, vede k pevné fixaci implantátu v těle. Pevná biologická fixace je s výhodou využívána pro upevnění kloubních náhrad apod [65, 66].

Fosforečnan vápenatý

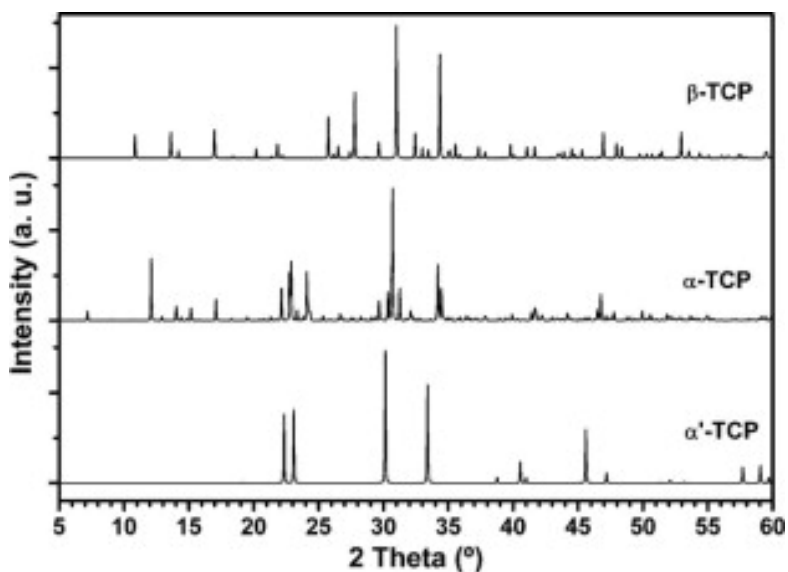
Fosforečnan vápenatý (trikalciemfosfát, TCP) je anorganická látka s chemickým vzorcem $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Jako krystalický materiál má tři polymorfni formy α , α' a β (α , α' jsou vysokoteplotní modifikace). β -fáze krystalizuje v romboedrické mříži, α -forma je monoklinická a α' hexagonální. Hustota jednotlivých forem klesá postupně od nízkoteplotní fáze až po fázi vysokoteplotní. Vysokoteplotní forma α' nemá praktické využití, neboť je stabilní pouze za teplot vyšších než 1430°C a při ochlazování se mění na fázi α . β -fáze je stabilní při pokojové teplotě a při teplotách nad $\sim 1250^\circ\text{C}$ se mění na fázi α . Fázi α lze během chladnutí stabilizovat i při pokojových teplotách. Fázový diagram soustavy $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ se všemi modifikacemi TCP je na Obr. 2.23 [67].

Jednotlivé fáze TCP lze od sebe spolehlivě rozpoznat například pomocí RTG difrakce (viz obr. Obr. 2.24). Navzdory stejnému chemickému složení se α a β fáze liší zejména svojí hustotou a rozpustností v přítomnosti tělních tekutin. Z těchto dvou fází je v přítomnosti tělních tekutin stabilnější fáze β . Tato se využívá pro výrobu porézních granulí a výplní, které postupně v těle degradují a jsou nahrazeny vlastní kostní tkání [67].

Fáze α je využívána zejména ve formě jemného prášku pro přípravu kostních cementů. Rozpustnost je silně závislá na okolním prostředí a vzrůstá s klesajícím pH prostředí. Rozpustnost α fáze lze řídit několika způsoby: změnou kontaktní plochy mezi α fází a rozpouštědlem, užití inhibitoru rozpouštění α fáze či modifikací povrchu (kalcinací [68] či mletím [69]).



Obr. 2.23 Fázový diagram soustavy P_2O_5 -CaO [67]

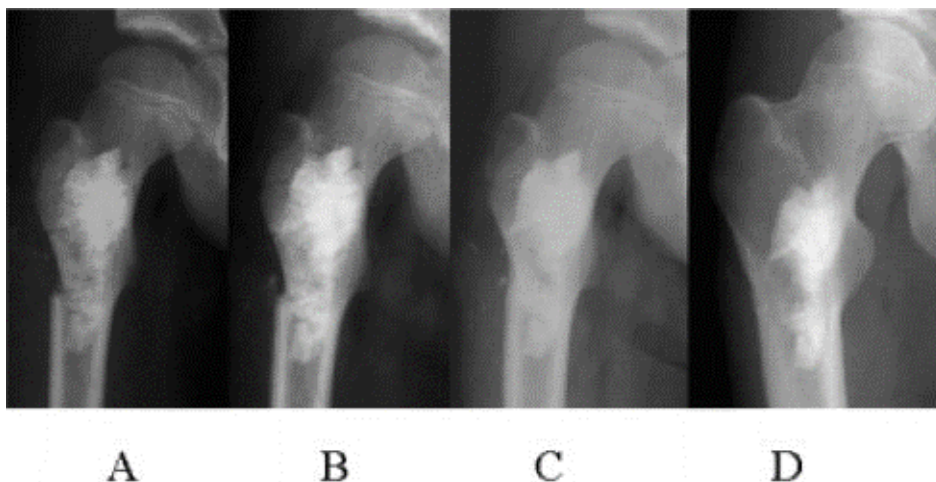


Obr. 2.24 Difrakční vzory jednotlivých fází TCP [67]

Biologická odezva na HA, α a β TCP

Klinicky bylo ověřeno, že HA díky své malé rozpustnosti není vhodným materiálem pro výrobu biodegradabilních kostních náhrad. Díky své osteokonduktivitě a biokompatibilitě umožňuje uchycení implantátu na místě a vznik nové tkáně alespoň v blízkosti povrchu (Obr. 2.25). Při použití HA nedochází k zánětlivým reakcím či intoxikaci tkáně. U pacientů s HA implantátem lze po operaci na RTG snímcích pozorovat místa bez kontrastu, které odpovídají mezerám mezi jednotlivými porézními granulami. Transparentní místa se po uplynutí 10 až 16 měsíců ztrácí, což je spojováno se vznikem kostní tkáně mezi jednotlivými

granulemi, nicméně kostní tkáň neproniká do objemu porézního implantátu. Při kontrole u jednoho pacienta byla například po 2 letech od implantace zjištěna deformovaná oblast v místě HA náhrady. Ta je spojena s nedostatečným prorostením kostní tkáně do objemu implantátu a jeho mechanickým poškozením [70].



Obr. 2.25 RTG snímek 9-ti letého chlapce po operaci kostní cysty v oblasti kyčelního kloubu. A) Stav po operaci, výrazně bílá oblast ukazuje místo vyplněné granulemi HA, B) snímek po 8 měsících, stále patrné granule HA, C) po 16 měsících došlo k částečnému spojení jednotlivých granulek, D) po 100 měsících je patrné spojení jednotlivých granulek v kompaktní blok, nicméně není pozorována degradace implantátu [70]

Použití β -TCP, ať ve formě granulek či ve formě scaffoldu vede k jejich postupnému vstřebání a zaplnění místa novou kostní tkání (Obr. 2.26). Průměrná doba pro vstřebání implantátu se pohybuje kolem 9 týdnů. V průměru po 12 měsících lze pomocí magnetické rezonance zjistit, že u pacientů došlo k téměř úplné náhradě implantátu kostí. Pouze v pár případech byl patrný zbytek implantátu. Užití β -TCP nevedlo k zánětlivým projevům v místě implantace ani k intoxikaci okolní tkáně [70].

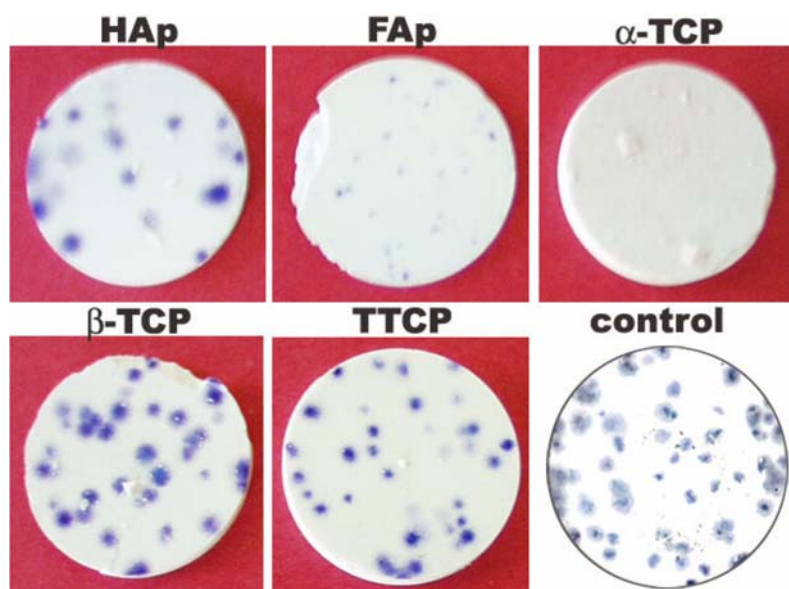


Obr. 2.26 RTG snímek 17-ti letého chlapce, A) po implantaci, jsou zřetelná místa vyplněná TCP implantáty B) po 36 měsících od operace došlo téměř k úplnému vstřebání implantátu [70]

Jak je uvedeno v [70], pokud srovnáme implantáty vyrobené z HA a β -TCP, lze jednoznačně říct, že z hlediska vstřebatelnosti jsou jednoznačně lepším materiálem β -TCP. V případě HA došlo téměř vždy k uchycení implantátu pevnou vazbou k hostitelské kostní tkáni, nicméně nedochází k prorostení kostní tkáně do objemu implantátu. Implantáty z β -TCP byly ve všech případech alespoň částečně vstřebány a nahrazeny novou tkání. Biodegradabilita a vstřebatelnost je dána zejména čistotou β -TCP a velikostí pórů. Ideální se ukazuje velikost pórů 200-600 μm propojené navzájem okénky s průměrným rozměrem 150 μm . Užití implantátu z β -TCP má nesporné výhody proti užití HA a v klinické praxi má své místo při léčbě kostních defektů a jejich remodelaci [70].

Materiály na bázi α -TCP jsou v praxi využívány zejména pro výrobu kostních cementů. Jedná se o jeden z nejběžnějších materiálů pro přípravu cementů. Při reakci s vodním prostředím dochází k přeměně α -TCP na CDHA (calcium-deficient HA). [71] Nebo se využívá jako jedna ze složek multikomponentních scaffoldů [61].

Zajímavý pohled do problematiky vhodné volby materiálu pro přípravu biokompatibilního scaffoldu vnáší článek [72]. Zabývá se srovnáním fosforečnanových keramik z hlediska jejich cytotoxicity. Jmenovitě jde o fluorapatit (FAP), HA, α a β TCP a tetrakalcium fosforečnan (TTCP). Z jednotlivých materiálů byly vytvořeny disky o průměru 12 mm. Tyto byly sterilizovány po dobu 20' při 121 °C. Následně byly osazeny buňkami V79 (plicní fibroblastické buňky čínského křečka). Po uplynutí stanovené doby byly buňky zabity metanolem a obarveny barvivem, které odhalilo rozsah kolonizace povrchu jednotlivých pelet. Výsledky byly následující (Obr. 2.27). Na Fap a α -TCP se stěží objevily kolonie buněk. Nejlépe dopadly pelety z TTCP, poté pelety z β -TCP a HA. Zároveň nebyly nalezeny žádné kultury volně ve zbylém mediu, ve kterém byly buňky smáčeny. To poukazuje na silnou adhezi buněčných kolonií k podkladu. Špatné výsledky α -TCP jsou nejspíše zapříčiněny poklesem pH.



Obr. 2.27 Kontrolní vzorky jednotlivých typů biokompatibilních keramik podrobené cytotoxickému testu. Modré oblasti jsou oblasti kolonizované buňkami [72]

Při přeměně α -TCP na CDHA dochází k vývinu kyseliny fosforečné. pH samotné kultury buněk V79 je 7,12 a pH prostředí, ve kterém byla kultivována kolonie buněk na peletě, dosahuje hodnoty 6,76, což je hodnota prokazatelně nejnižší ze všech testovaných vzorků. Z jiných prací je znám fakt, že nízká hodnota pH působí negativně na rozvoj buněk savců. Nejvyšší zdánlivá

cytotoxicita α -TCP je tudíž dávana do souvislosti se změnou pH. Vysoká cytotoxicita FAP je zapříčiněna nejspíše uvolněním F^- iontů do prostředí. Z výsledků lze usuzovat, že pro použití v oblasti scaffoldů je vhodné uvažovat o použití β -TCP, který z výše uvedených testů vychází jako velmi dobře buňkami snášený materiál a ve srovnání s HA je v těle postupně rozpouštěn.

2.4.2 Vliv porozity, velikosti pórů a propojů na růst nové tkáně

Stavba keramického scaffoldu je rozhodujícím faktorem pro vývin nové kostní tkáně. Optimální struktura scaffoldu nebyla dosud definována a v literatuře se často nachází rozporuplné informace týkající se vlivu porozity, velikosti, distribuce a tvaru pórů na biologickou odezvu.

Charakterizace struktury scaffoldu

Jednou z důležitých veličin pro popis struktury scaffoldu je jeho porozita. Porozitu lze měřit například pomocí Archimédova zákona či rtuťovou porozimetrií.

Pomocí Archimédova zákona lze podle rovnice (26) určit:

$$\rho_{rel} = \frac{m_s \cdot \rho_{teor}}{m_{nas} - m_{arch}} \cdot \rho_{H_2O} \cdot 100\% , \quad (26)$$

kde ρ_{rel} je relativní hustota materiálu vyjádřená v procentech hustoty hutného materiálu, m_s je hmotnost vysušeného vzorku, ρ_{teor} je hustota hutného materiálu vzorku, m_{nas} je hmotnost vzorku nasyceného kapalinou, m_{arch} je Archimédova hmotnost nasyceného vzorku a ρ_{H_2O} je hustota vody při teplotě měření.

Dále lze ze známých hmotností lze určit otevřenou π_o a uzavřenou π_u porozitu vzorku ze vztahu (27), resp. (28) :

$$\pi_o = \frac{m_{nas} - m_s}{m_{nas} - m_{arch}} \cdot 100\% \quad (27)$$

$$\pi_u = \frac{m_s - m_{arch}}{m_{nas} - m_{arch}} \cdot 100\% - \rho_{rel} \quad (28)$$

Pomocí rtuťové porozimetrie lze měřit jak poréznost vzorku, tak i velikost pórů. Vzorek je pro měření umístěn do měřicí cely a postupně zaplňován rtuťí s postupným nárůstem tlaku. S narůstajícím tlakem klesá poloměr pórů, které mohou být rtuťí zaplněny podle rovnice (29) [73]:

$$p = \frac{2 \cdot \sigma \cdot \cos\theta}{r} , \quad (29)$$

kde p je tlak v cele, σ je povrchové napětí, θ je kontaktní úhel a r je poloměr póru. Otevřená resp. uzavřená porozita je potom určena ze vztahů (30) a (31):

$$\pi_o = \frac{V_{int.}}{V_{scaf.}} \cdot 100 \quad (30)$$

$$\pi_u = \Pi - \pi_o, \quad (31)$$

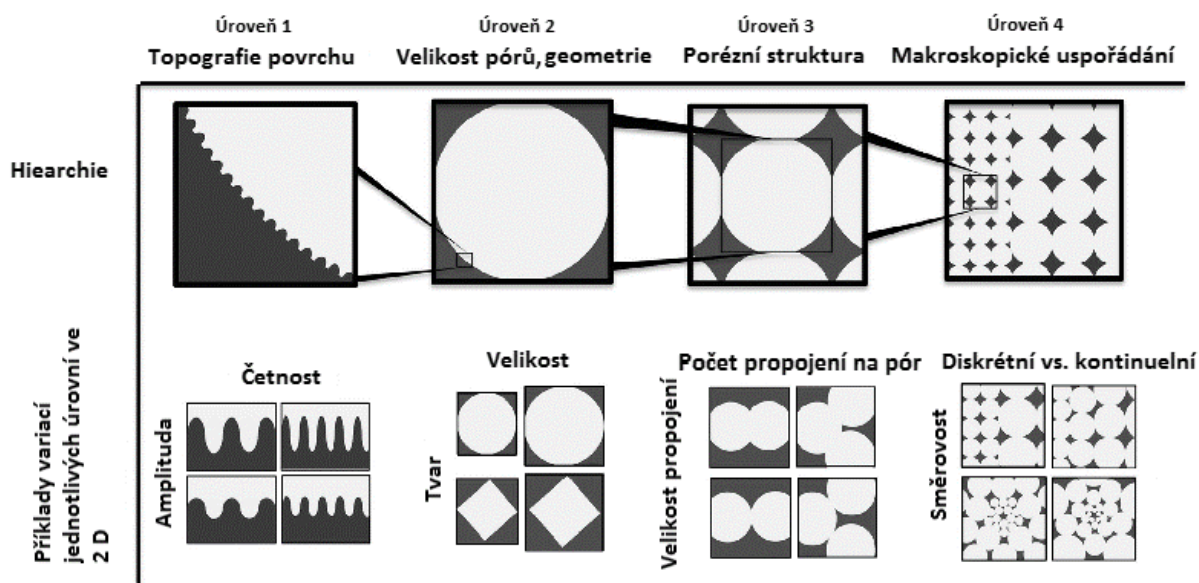
kde $\Pi = 1 - \rho_{scaff} / \rho_{mat.}$, $V_{int.}$ je celkový objem rtuťí do cely a V_{scaff} je objem scaffoldu, ρ_{scaff} je zdánlivá hustota scaffoldu a $\rho_{mat.}$ je reálná hustota materiálu scaffoldu.

Nicméně sama hodnota poréznosti vzorku příliš přesně materiál nepopisuje. Z důvodů, o kterých bude pojednáno později v této kapitole, je dobré mít alespoň představu o velikosti a distribuci jednotlivých pórů a 3D struktuře materiálu. Je nutné brát v potaz, že u porézních struktur získaných metodou přímého napěňování lze jen těžko jedním parametrem odhadnout

velikost pórů a propojení mezi nimi. V takovýchto případech se jedná o statistickou úlohu, ve které má každá veličina jistou distribuci a rozptyl. Představu o distribuci a velikosti pórů lze získat například vyhodnocením fotografií pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). 3D strukturu materiálu lze získat pomocí počítačové tomografie, nicméně kvantifikace výsledků z počítačové tomografie je v případě otevřené poréznosti problematická [73].

Vliv topografie povrchu na biologickou odezvu scaffoldu

Mikrotopografie povrchu, myšleno drsnost povrchu a jeho mikroporozita ($< 10 \mu\text{m}$), je první úrovní při popisu struktury porézního materiálu (viz Obr. 2.28).



Obr. 2.28 Hierarchální popis porézní struktury [74]

Vliv mikroporozity na vznik nové kostní tkáně a aktivitu buněk je často rozporován, nicméně in-vivo studie dávají ve většině případů za pravdu názoru, že mikroporozita má v implantovaných scaffoldech pozitivní vliv na uchycování buněk. Vyšší mikroporozita vzorku pozitivně ovlivňuje osteoinduktivní schopnosti scaffoldu.

Vliv mikroporozity a struktury povrchu shrnuje [75] následovně:

1. Případná zdánlivá cytotoxicita fosforečnanových keramik může být způsobena nevhodným tvarem a velikostí zrna. Zakulacená malá zrna (velký měrný povrch) vede k zlepšení buněčné aktivity.
2. Buňky se na podkladu uchycují pomocí filopodií. Větší mikroporozita povrchu znamená více vhodných míst k jejich uchycení a s tím spojená snazší migrace buněk a propojení jednotlivých pórů. Jednoznačnost tohoto tvrzení není ovšem stoprocentní a tento jev je nutno dále zkoumat. Vliv mikroporozity na mechanickou pevnost scaffoldu je menší než v případě makroporozity.

Kromě vysvětlení vlivu mikroporozity podaném v [75] se lze setkat s názorem, že primárně má mikroporozita vliv na adhezi specifických proteinů na povrch. Uchycení proteinů na povrchu má za následek přímé ovlivnění aktivity buněk a jejich zvýšenou snahu se na povrchu uchytit. Nicméně nebylo jednoznačně prokázáno zvýšení aktivity alkalické fosfatázy (ALP) se zvyšující se mikroporozitou a drsností povrchu. Tento výsledek naznačuje, že mikroporozita a drsnost povrchu nemá přímý vliv na další množení buněk na povrchu. Zdá se,

že zvýšená drsnost povrchu dokonce do jisté míry brzdí zvýšenou odezvu ALP. Tento fenomén je vysvětlován jako zpoždění díky delšímu „zabydlování se“ buněk na povrchu [74, 76].

Parametry charakterizující mikroporozitu a drsnost povrchu scaffoldu jsou v současné době jen nepřesně definované a jejich vliv na biologické a mechanické vlastnosti není přesně znám. Výsledky prací shrnutých v [74] naznačují přínos mikrostruktury na biologickou odezvu materiálu. Řízením prostorové distribuce drsnosti a mikroporozity lze řídit směr preferenčního uchycování buněk na povrchu porézní struktury [76].

Vliv velikosti pórů a jejich geometrie na růst kostní tkáně

Velikost a tvar pórů hraje klíčovou roli při vzniku a formování tkáně uvnitř keramického scaffoldu. Minimální velikost pórů je často diskutovaným tématem. Všeobecně uznávaným faktem je, že velikost pórů by neměla klesnout pod 100 μm , ale osteogenezi prokazatelně urychlují až póry o průměru větším než 300 μm . Větší průměr pórů a propojů mezi nimi vede k vyšší permeabilitě struktury a většímu potenciálu vaskularizace vznikající tkáně. Nicméně narůstající porozita vede k zhoršení mechanických vlastností scaffoldu [74].

Pokud se ve struktuře vyskytují například trojúhelníkové či více úhelníkové póry, dochází v počátku k přednostnímu růstu tkáně v rozích, zatímco tkáň na plochách „stojí“. Bez ohledu na počáteční geometrii póru dochází po určité době k jejich zakulacení rostoucí tkání (Obr. 2.29). Pouze pokud mají póry všude stejné zakřivení (kulové póry), dochází ke stejnoměrnému růstu tkáně od začátku [77].

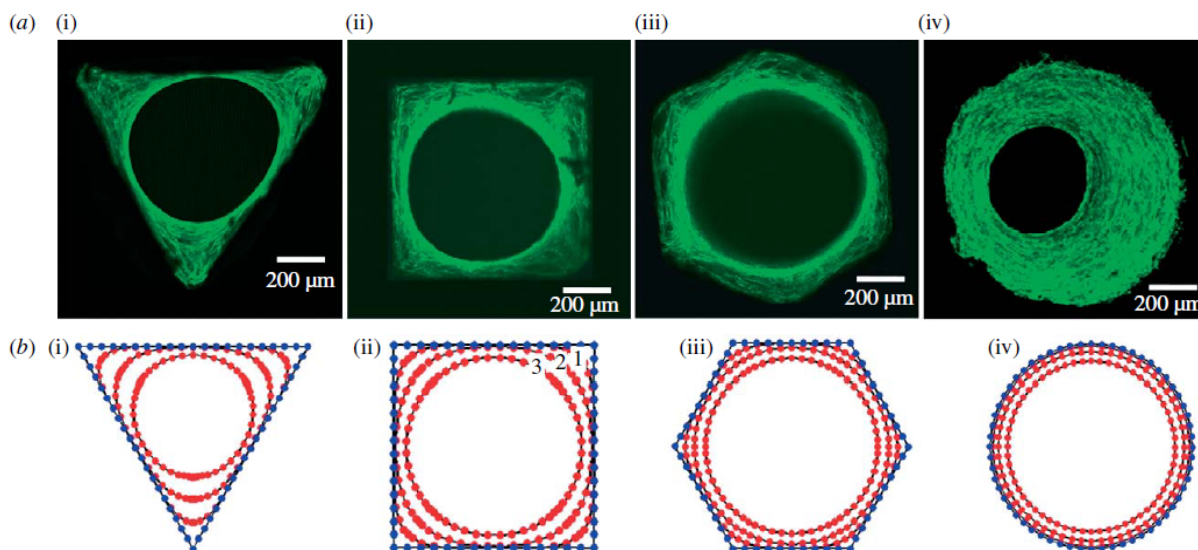
Studie publikovaná v [77] potvrzuje vliv velikosti pórů, jejich geometrie a zakřivení na růst tkáně. HA implantát s dutinami ve tvaru trojúhelníku, čtverce, šestiúhelníku a kruhu byl osazen preosteoblastickými buňkami a kultivován ve vhodných podmínkách. Výsledky byly porovnány s matematickým modelem růstu tkáně. Výsledky jednoznačně potvrdily závislost rychlosti tvorby tkáně na zakřivení. Ačkoli byla rychlost vzniku tkáně různá pro různě zakřivená místa, střední přírůstek tkáně za čas byl vyhodnocen jako stejný pro všechny tvary pórů a významně závisí jen na obvodu struktury v řezu. Čím je menší obvod struktury v průřezu, tím rychlejší je nárůst tkáně v kterémkoli časovém okamžiku pokusu. Potenciální vysvětlení může spočívat v hypoxickém stavu, díky respirační aktivitě buněk. Je známo, že exogenní hypoxický stav zvyšuje proliferaci např. endoteliálních buněk. U kostních buněk se tuto teorii ovšem nepodařilo prokázat. Pravděpodobnější je mechanismus beroucí v potaz orientaci aktinových vláken. Tato vlákna jsou v zakřivených oblastech orientována rovnoběžně s povrchem, zatímco na rovných površích jsou aktinová vlákna uspořádána náhodně (Obr. 2.30). Uspořádání aktinových vláken v zakřivených oblastech vede k napětí v tkáni. Odpovědí tkáně na napětí je její růst. Rovnoměrně zakřivená struktura stimuluje růst tkáně mechanickým napětím.

Porézní síť a požadavky na její strukturu

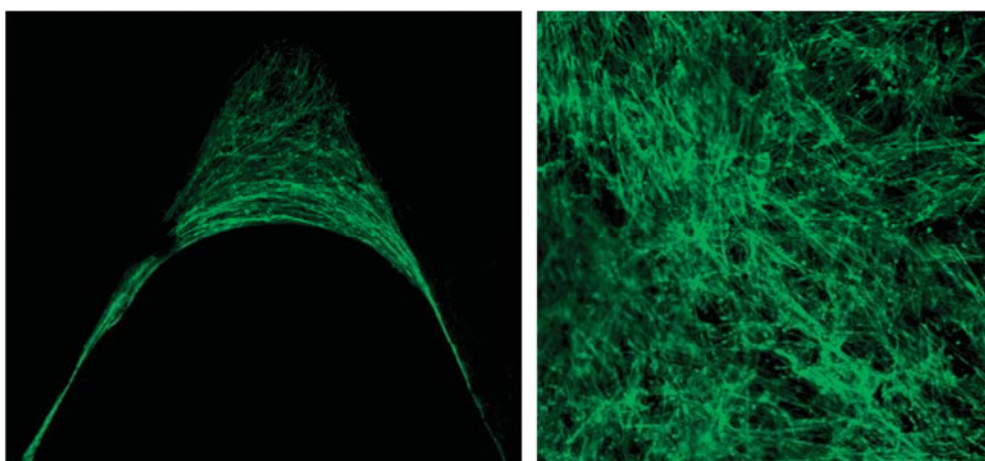
Jednotlivé póry spojené propoji vytváří 3D strukturu. Vzniklá struktura se stává kostrou pro vytvoření nové tkáně. 3D strukturu scaffoldu lze více či méně dobře popsat pomocí parametrů porozity, velikosti a distribuce pórů. Porozitu lze slovně popsat jako propojenou, uzavřenou či slepou (končící slepě uvnitř struktury). Prostupnost struktury pro buňky a živiny je popsána dvěma parametry, propojeností a křivolakostí. Propojenost popisuje prostupnost struktury pro částice konečné velikosti a křivolakost popisuje hloubku a rozvětvení cest, kterými může objekt konečné velikosti procházet. Křivolakost je definována jako poměr nejkratší cesty mezi dvěma body k délce reálné cesty mezi těmito body [74].

Křivolakost struktury má vliv zejména na proudění kapalných medií strukturou. S rostoucí křivolakostí klesá proudění živin. Zcela náhodně orientovaná struktura propojených pórů zpomaluje infiltraci buněk. Proti této skutečnosti jde fakt, že s rostoucí křivolakostí narůstá počet pre-osteoblastických buněk a zrychluje se jejich růst [74].

Kvantitativní vyjádření křivolakosti struktury je u scaffoldů vytvořených přímým napěňváním složité a jedinou možností je vyhodnocení struktury pomocí NMR s použitím vhodného softwaru [74].



Obr. 2.29 a) Zeleně zvýrazněná tkáň v konfokálním laserovém skenovacím mikroskopu. Z obrázku je zřetelný dominantní růst tkáně v oblastech s větší křivostí (roh) b) Matematický model predikující růst tkáně, přesně odpovídá experimentálním výsledkům [77]



Obr. 2.30 Vlevo: aktinová vlákna orientovaná rovnoběžně s volným povrchem tkáně zapřičiňují tahové napětí v tkáni, napětí stimuluje růst tkáně. Vpravo: aktinová vlákna rostoucí na nezakřivené ploše nevykazují uspořádanost a mechanické napětí v tkáni je nulové, tkáň není mechanicky stimulována k růstu [77]

Zajímavý je fakt, že buňky mohou procházet propoji menšími, než jsou buňky samotné. Limitujícím faktorem je deformace jejich jader. Propoje v průměru menší než 75 μm způsobují příliš velkou deformaci jader buněk a tudíž nepřístupnost pórů pro kostní tkáň. V případě, že je povrch implantátu odstíněn od jeho středu díky nevhodné geometrii a velikosti propojů, nedochází k prorostení tkáně z povrchu do objemu scaffoldu [74].

2.4.3 Zlepšení biologické odezvy scaffoldů

Směr vývoje scaffoldů se postupně přesouvá k multikomponentním fosforečnanovým systémům ve spojení s polymerními látkami jako jsou chitosan, kolagen, polyfosforečnan a polymerní křemičitan (biosilika). Polymerní látky jednak zvětšují volný povrch pro uchycení buněk (chitosan, kolagen), stimulují aktivitu osteoblastických buněk, inhibují osteoklastické buňky a poskytují místo pro adhezi specifických růstových hormonů. Zároveň jsou zásobárnou stavebních látek pro mineralizaci kosti (polyfosforečnan) a brání zánětlivým procesům svojí antibakteriální povahou (chitosan).

Chitosan

Chemicky je chitosan derivátem chininu. Jedná se o lineární polysacharid N-acetyl-D-glukosamin. Po celulóze je to na zemi nejrozšířenější polysacharid spojený 1,4- β -glykosidickou vazbou. V přírodě se nejvíce vyskytuje v kutikulách mořských korýšů a v pokožce hub. Krystalická forma je za normálních podmínek při neutrálním pH nerozpustná ve vodných rozpouštědlech. Rozpouští se v kyselém prostředí. Díky kationtové povaze reaguje a elektrostaticky na sebe váže molekuly aniontové povahy. Typickými představiteli jsou glycoaminoglykany (GAG), proteoglykany atp. Velká pozornost je věnována právě možnosti vazby mezi chitosanem a GAG, neboť pomocí GAG jsou vázány růstové hormony. Rychlost degradace chitosanu je v tělních podmínkách inverzně spojen se stupněm jeho krystalinity. U chitosanu nebývají pozorovány odmítavé reakce těla. Velkým pozitivem je antibakteriální účinek, zejména proti bakteriím rodu *streptococcus* [78].

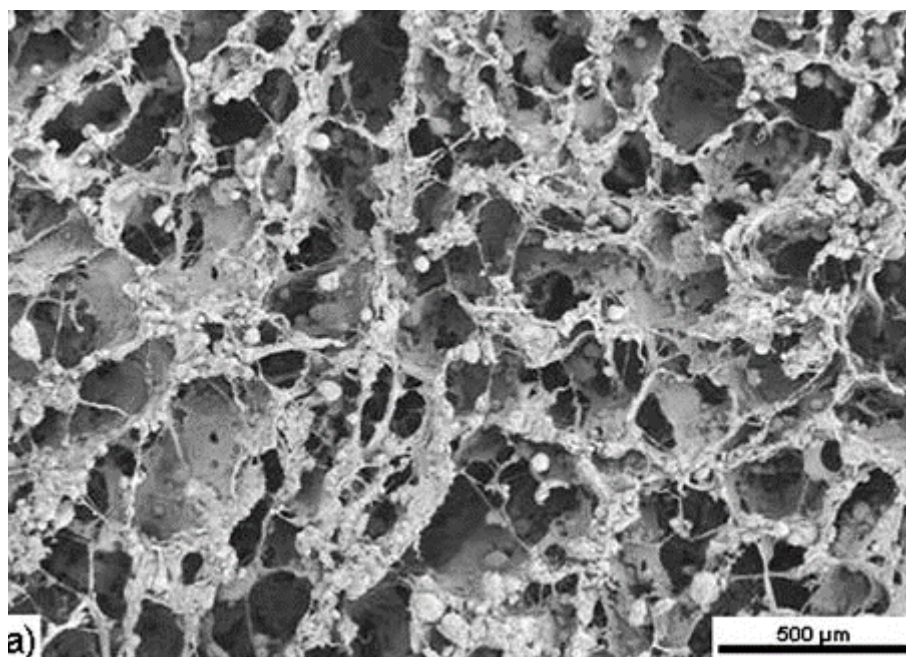
Kompozitní scaffoldy s chitosanem se vyskytují ve dvou formách. Jednou z možností je porézní chitosanová síť vyplňující póry fosforečnanového scaffoldu. [79] Druhou možností je chitosanový scaffold s dispergovanými částicemi fosforečnanových keramik [80] (HA, TCP ...). V obou případech dochází ke zlepšení mechanických charakteristik scaffoldu. V obou případech chitosan pozitivně působí na uchycení buněk ve struktuře, nicméně odezva ALP není statisticky významná. Z této skutečnosti lze usuzovat, že chitosan nemá vliv na další dělení osteoblastických buněk. Zároveň se ukazuje, že chitosan v kombinaci s fosforečnanovou keramikou zlepšuje proliferaci kostních buněk více než samostatné scaffoldy tvořené chitosanem.

Kolagen

Kolagen je ve vodě nerozpustná látka bílkovinné povahy. V zásadě jsou důležité čtyři základní typy kolagenu. Z těch nejběžnější je kolagen I. typu, který se nachází v kostech, zubech a pokožce. Molekula kolagenu se skládá ze tří řetězců smotaných dohromady v levotočivou šroubovici. Jeden řetězec je tvořen fibrily, jednotlivé fibrily mají tloušťku 1,6 nm s délkou asi 300 nm. Tyto fibrily se splétají v mikrofibrily s průměrem cca 100 nm. Tato se dále splétají do vláken s tloušťkou v řádu mikrometrů, které tvoří jednotlivá vlákna vytvářející zmíněnou trojšroubovici. Zajímavostí je, že kolagen se řadí mezi „chytré materiály“. Mechanické vlastnosti vláken závisí na jeho mechanickém zatížení [81].

Kolagen představuje přirozená místa pro uchycení buněk osteoblastického typu. Kolagen podporuje diferenciaci progenitorových buněk. V těle je kolagen štěpen pomocí enzymu kolagenázy produkované osteoklastickými buňkami. Kolagenová síť tvoří matici, na které dochází k precipitaci HA [81].

Kolagen ve spojení s fosforečnanovým scaffoldem představuje kombinaci místa pro uchycení osteoblastických buněk (kolagen) v kombinaci se zdrojem látek nutných pro vznik pevné kostní tkáně (fosforečnanová keramika). Tyto scaffoldy lze připravit podobně jako ty chitosanové. Jedna z možností je vytvořit kolagenový scaffold s rozptýlenými fosforečnanovými částicemi (Obr. 2.31), druhá možnost je fosforečnanový scaffold a v něm vytvořená kolagenová struktura. Kolagen díky své houževnatosti vylepšuje mechanické vlastnosti fosforečnanových scaffoldů [82].



Obr. 2.31 Kolagen/HA scaffold vyrobený pomocí vymrazování při teplotě -30°C [82]

Bio-silica

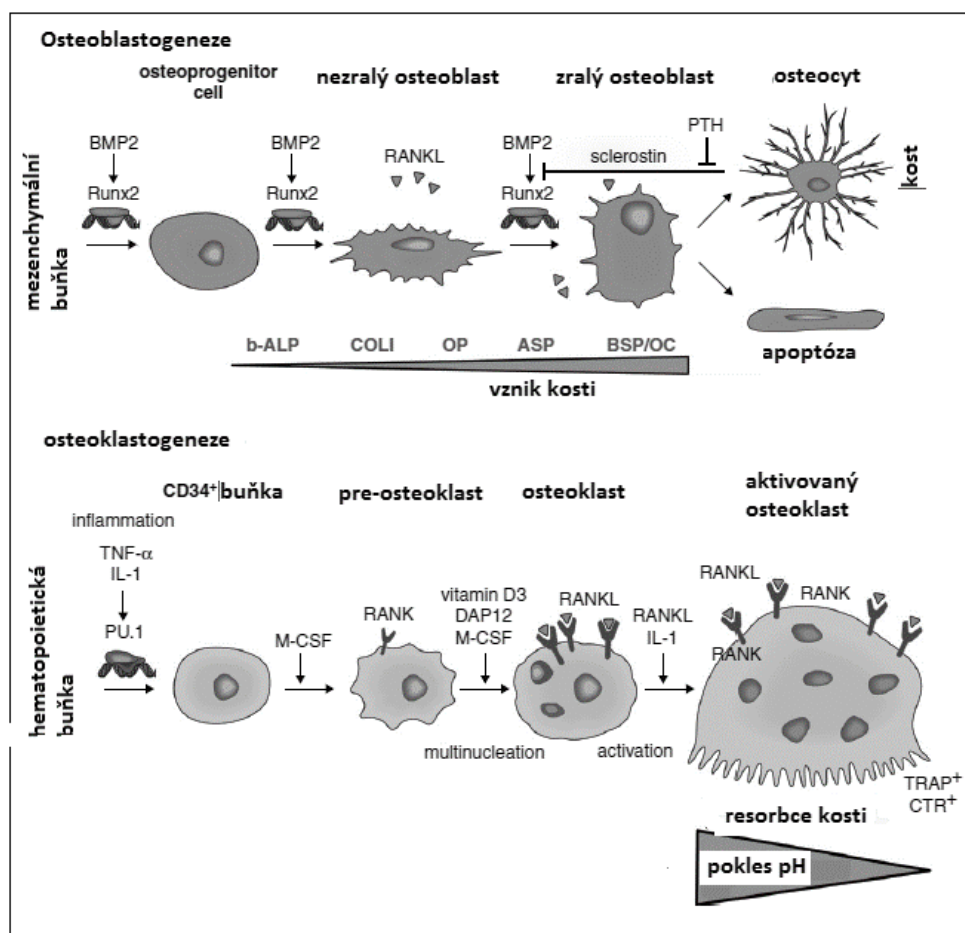
Chemicky se jedná o amorfní hydrát oxidu křemičitého vytvořený enzymatickou reakcí. Katalyzátorem reakce je enzym silikatein. V přírodě se vyskytuje zejména v podobě anorganické složky skeletálního systému hub. Pro porozumění vlivu biosiliky na vznik kostní tkáně je důležité alespoň elementárně uvést proces, kterým je kostní tkáň vytvářena, a to na úrovni enzymů a hormonů reakci řídících [83].

Ve zdravé lidské kostní tkáni je v rovnováze činnost osteoblastů a osteoklastů. Osteoblastické buňky se diferencují z mezenchymálních kmenových buněk. Osteoklasty pochází z hematopoietických kmenových buněk. Rovnováha mezi nimi je recipročně řízena působením látek vylučovaných těmito buňkami. Diferenciace a proliferace osteoblastických buněk je řízena Runx2 faktorem. Samotný Runx2 podléhá kontrole morfogenetického proteinu 2 (BMP2). Tyto faktory způsobují transkripci několika genů řídících vznik enzymů a proteinů. Mezi ně patří specifická kostní alkalická fosfatáza (b-ALP), kolagen I. typu (COL1),

osteopontin (OP) a v pozdějších stádiích vývoje aktivátor receptoru NF-kB, RANKL a další. Osteoblastické buňky vytvářejí HA. Pokud jsou osteoblastické buňky zachyceny v kostní hmotě může dojít k jejich přeměně na osteocyty, popřípadě podstoupí apoptózu. Vzniklé osteocyty vylučují sclerostin, který působí jako antagonistka k BMP2 [83].

Osteoklasty podstupují diferenciaci za přítomnosti M-CFS (macrophage colony-stimulating factor) a RANKL, který je vytvářen osteoblastickými buňkami. RANKL je vázán na receptory RANK na povrchu pre-osteoklastu a umožňuje jeho zrání. Zrání osteoklastů lze zabránit zahlcením receptorů RANKL osteoprotogerinem (OPG). Názorně je celý proces zrání osteoblastů a osteoklastů zobrazen na Obr. 2.32 [83].

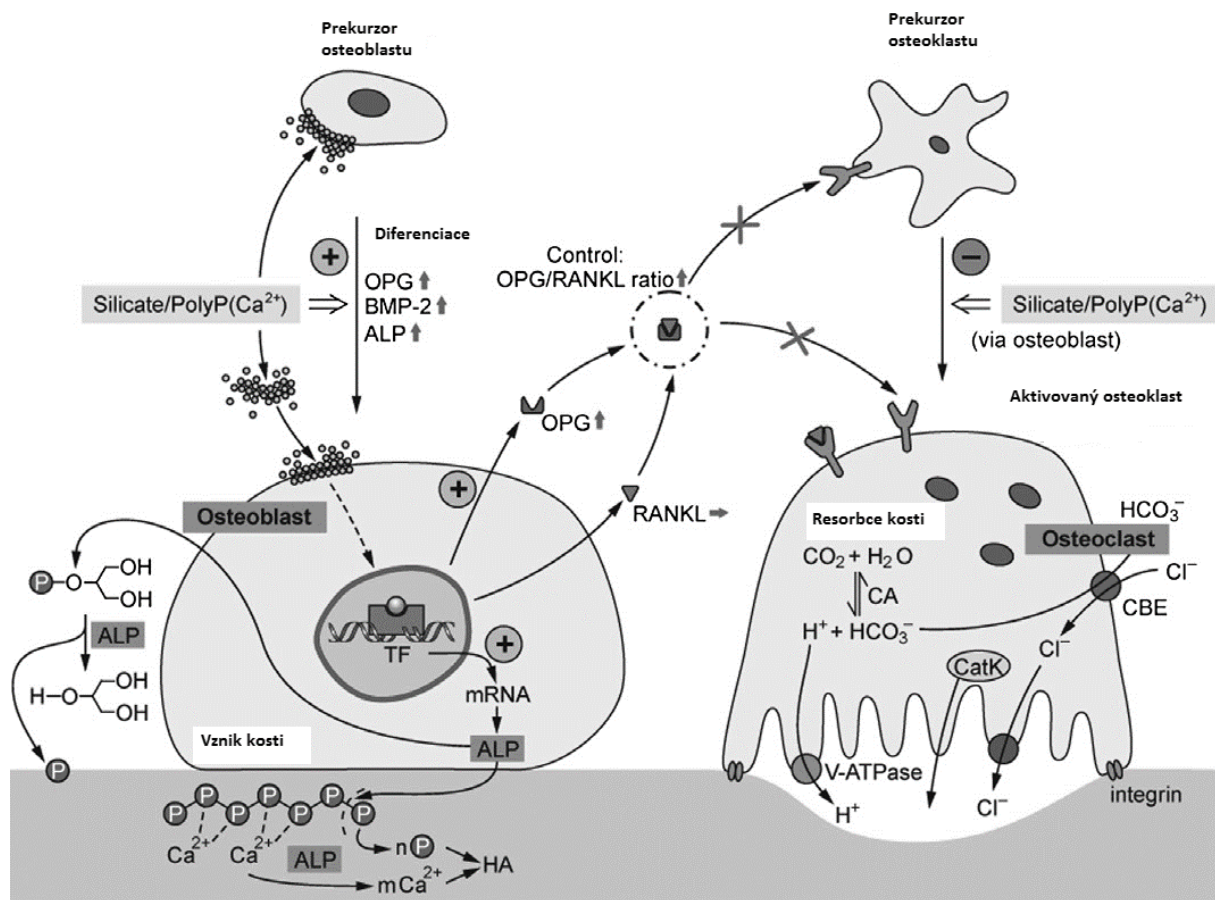
Zahlcení receptorů RANK pomocí OPG potlačuje činnost osteoklastů a vede k vychýlení rovnováhy ve směru vzniku tkáně. Experimentálně bylo zjištěno, že poměr OPG/RANKL lze ovlivnit několika cestami (hormony na bázi prostaglandinů, vitamín D2) [83]. Kromě těchto možností byl popsán výrazný posuv poměru OPG/RANKL ve prospěch OPG působením biosiliky [84].



Obr. 2.32 Průběh osteoblastogeneze a osteoklastogeneze [83]

Polyfosforečnan

Amorfní polyfosforečnan vápenatý $[\text{CaPO}_3]_n$ je chemická sloučenina syntetizovaná v živých organismech biogenicky. Osteoblastické buňky disponují enzymy schopnými štěpit energeticky bohaté fosforečnanové vazby, tímto enzymem je enzym b-ALP. Zvýšená hodnota enzymu vždy poukazuje na zvýšenou osifikaci v dané oblasti. Štěpením polyfosforečnanu se získávají fosforečnanové a vápenaté ionty. Oby typy iontů jsou využity pro výstavbu tvrdé kostní tkáně tvořené převážně HA. Laboratorně byla zjištěna výrazná odezva buněk na přítomnost polyfosforečnanu vápenatého v prostředí, projevující se aktivitou ALP. Dále je prokázán pozitivní vliv polyfosforečnanu vápenatého na zvýšení hladiny OPG a BMP-2. Lze tedy konstatovat, že podobně jako v případě biosiliky, užití polyfosforečnanu vede ke zvýšení buněčné aktivity osteoblastů a v konečném důsledku zrychlení vzniku kostní tkáně. Souhrnný vliv biosiliky a polyfosforečnanu na proces osifikace je zřejmý z obrázku [85].



Obr. 2.33 Schematické shrnutí vlivu biosiliky a polyfosforečnanu na utváření a resorbci kostní tkáně [85]

3 Cíle práce

Hlavním cílem práce je příprava individualizovaných keramických 3D náhrad („scaffoldů“) sloužících pro regeneraci kostní tkáně. Jako porézní bioaktivní materiál pro přípravu individualizovaného scaffoldu bude použita HA pěna konsolidovaná epoxidovou reakcí. Hlavního cíle bude dosaženo realizací dílčích cílů definovaných následovně:

- Příprava vodné HA suspenze vhodné pro přípravu keramické pěny pomocí metody přímého napěňování
- Příprava porézních keramických bloků sloužících jako polotovar pro obrábění
- Popis struktury a vlastností slinutých keramických pěn a posouzení vhodnosti jejich použití pro přípravu individualizovaných 3D náhrad
- Studium obrobitelnosti HA pěny pomocí víceosého frézování
- Povlakování scaffoldů v polyfosforečnanu vápenatém s cílem zlepšit osteoinduktivní vlastnosti implantátu

4 Experimentální část

Experimentální část diplomové práce popisuje metody použité při přípravě a hodnocení porézních struktur na bázi HA. Porézní struktury je dosahováno pomocí přímého napěňování vodné HA suspenze a získaná keramická pěna je před tepelným zpracováním konsolidována epoxidovou reakcí. Postup výroby pěny s nejlepšími výsledky bude využit pro přípravu porézních bloků určených k testům obrábění.

4.1 Složení a příprava keramických suspenzí

Pro přípravu scaffoldů byly připraveny keramické suspenze se složením 32,5 obj.% HA (vztaženo k celkovému objemu suspenze) a 20 či 15 hm.% epoxidu v kapalně fázi. Pro přípravu suspenze byly použity následující chemikálie:

1. Kalcinovaný HA prášek ($4.7 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ po kalcinaci $1000^\circ\text{C}/3\text{h}$) (tri-calcium phosphate extra pure, $66 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, Riedel-de Haen, Německo)
2. Deionizovaná voda
3. Quetol 651 (EGDGE, Electron microscopy sciences, Hatfield, USA), epoxidová pryskyřice
4. DPTA (dipropylentriamin, Sigma-Aldrich CHEMIE, Německo), tvrdidlo na bázi aminů
5. Darvan 821A (R.T. Vanderbilt Company, USA), disperzant.
6. Triton X 100 (Sigma-Aldrich, USA), povrchově aktivní látka, napěňovadlo, dávkování $22,77 \mu\text{l}/\text{g}_{\text{susp}}$.

Postup přípravy se sestával z odměření a odvážení jednotlivých složek dle vypočteného složení. Pro suspenzi obsahující 32,5 obj.% HA a 20 hm.% epoxidu bylo složení dle tabulky 1. Suspenze obsahující 32,5 obj.% HA a 15 hm.% epoxidu měly složení dle tabulky 2.

Tabulka 1 Suspenze 32,5obj%,20hm% epoxidu v kapalně fázi

Složení	HA	H2O	EGDGE	DPTA	DARVAN
obj.%	32,50	53,89	9,19	3,39	1,03
hm.%	59,92	31,34	6,16	1,86	0,72

Tabulka 2 Suspenze 32,5obj%,15hm% epoxidu v kapalně fázi

Složení	HA	H2O	EGDGE	DPTA	DARVAN
obj.%	32,50	57,12	6,83	2,52	1,03
hm.%	60,03	33,28	4,59	1,38	0,72

Na vahách byla odvážena deionizovaná voda. Do deionizované vody byla pipetou přidána epoxidová pryskyřice Quetol 651 a disperzant Darvan 821A. Roztok byl míchán na elektromagnetických míchačkách rychlostí 250 ot./min po dobu 5 minut. Po uplynutí doby nutné k homogenizaci roztoku byl roztok přelit do atritoru (Union Process, HD01/HDDM CE, USA). K roztoku bylo přidáno 800g kuliček ZrO_2 o průměru 1 mm. Následně byl za stálého míchání 300 ot./min přidáván kalcinovaný HA. Mlecí nádoba byla během procesu mletí chlazená průtokem vody kolem nádoby (teplota vody $\sim 16^\circ\text{C}$). Po přidání veškeré navážky kalcinovaného HA byly otáčky zvýšeny na 500 ot./min. Suspenze byla mleta po dobu 3 hodin. Výsledná velikost keramických částic v suspenzi byla 213 nm. Po uplynutí tří hodin byla

suspenze slita přes síto. Hmotnostní výtěžek byl zaznamenán a suspenze byla umístěna na elektromagnetickou míchačku. Suspenze byla míchána konstantními otáčkami (200 ot./min) až do dalšího zpracování.

Před dalším zpracováním musela být suspenze dohotovena. Do odváženého množství bylo dopočítáno množství napěňovačů Triton X100 (22,77 μ l/g_{susp}) a ekvivalentní množství tvrdidla DPTA (přidáváno v uvedeném pořadí). Po přidání DPTA se začala počítat doba zpracovatelnosti suspenze.

4.2 Reologická měření suspenzí a TGA analýza

K získání informací o rychlosti tuhnutí suspenze, době zpracovatelnosti, změnám reologických vlastností během stárnutí suspenze a rychlosti tuhnutí epoxidu při aplikaci vyšší teploty byla provedena série oscilačních měření na reometru HAAKE-MARS II, USA. Oscilační reometrické měření umožňuje popsat průběh epoxidové reakce a změnu kapalně suspenze na gel. Tato změna byla charakterizována pomocí modulu G' . Pro měření byl reometr osazen diskovým měřicím modulem PP 35. Velikost měřicí mezery byla nastavena na 1 mm. Dohotovení suspenze spočívalo v odebrání cca 15 ml předpřipravené suspenze, přidání napěňovačů a tvrdidla. Po přidání napěňovačů byla suspenze 5 minut míchána na elektromagnetických míchačkách otáčkami 200 ot./min. Po uplynutí 5 minut bylo pipetou přidáno dopočítané množství tvrdidla a míchání pokračovalo 30 sekund. Po uplynutí 30 sekund bylo 1 010 μ l suspenze pipetováno a přemístěno na měřicí disky reometru. Měření bylo zahájeno u všech vzorků před uplynutím 140 sekund od přidání DPTA. Měření probíhalo po dobu 180 minut.

TGA analýza byla provedena na zgelovaných a vysušených vzorcích primárně z potřeby zjistit teplotu, při níž dochází k oxidaci epoxidu a jeho odstranění ze struktury. TGA měření bylo provedeno na přístroji TG 96 CS. Oxidační atmosférou byla směs plynů (20% O₂ + 80% N₂), rychlost ohřevu 1°C/min, maximální teplota 600°C, proudění atmosféry 50ml/min.

4.3 Příprava porézních vzorků, sušení a tepelné zpracování

Pro přípravu porézních vzorků byla bez výjimky použita 21-24h stará HA suspenze. Z předpřipravené suspenze bylo odebráno množství cca 30 – 40 ml. Toto množství bylo na vahách (Sartorius Entris 623i-1s, Velká Británie) zváženo. Po zvážení bylo do suspenze dopočítáno množství napěňovačů a tvrdidla. Po přidání napěňovačů byla suspenze míchána 5 minut na elektromagnetických míchačkách rychlostí 200 ot./min. Následovalo přidání dopočítaného množství tvrdidla. Po přidání tvrdidla do suspenze následovala prodleva nutná k rovnoměrnému smísení látek. Pro různé sady vzorků byly zvoleny různé časy prodlev před vlastním napěňováním suspenze spojené s případným předehřevem suspenze. Po uplynutí stanovené prodlevy byla suspenze napěňována ručním mixérem (Baumix M200, Švýcarsko). Napěňování probíhalo po dobu 3 minut otáčkami 12000 ot/min s použitím diskového nástavce na mixování. Získaná pěna byla přelita do připravených forem (ϕ 40x25 mm pokud nebude uvedeno jinak). Formy byly předem lehce vymazány parafinovým olejem sloužícím jako separační činidlo, v některých případech byly předebrány. Formy obsahující napěněnou suspenzi byly přemístěny do klimatizační komory (Weiss, WK3-180/40, Německo). Teplota v klimatizační komoře byla nastavena v závislosti na typu vzorku na požadovanou hodnotu pro gelaci. Relativní vlhkost ve všech případech dosahovala hodnoty 98 %. Po uplynutí doby nutné ke gelaci systému (16 – 40 min v závislosti na teplotě) byly vzorky vytaženy a umístěny do prázdného exikátoru. V exikátoru byly vzorky ponechány do vychladnutí na laboratorní teplotu. Poté byly z formiček vytaženy a zváženy. Poté byly vzorky přemístěny do klimatizační komory k řízenému sušení.

V počáteční fázi byly vzorky sušeny v klimatizační komoře při 20°C a relativní vlhkosti 98 %. Během sušení byla prováděna kontrolní vážení pro stanovení hmotnostního úbytku. Z hmotnostního úbytku byl stanoven procentuální úbytek vody ve struktuře. Jako hmotnost vzorku obsahujícího 100 % vody ve struktuře byla uvažována hmotnost vzorku zjištěná po jeho konsolidaci a vychladnutí v exikátoru. Po dosažení hranice ~50 % vody ve struktuře byl režim sušení přepnut na 20°C a 80 % relativní vlhkosti. Při dosažení ~20 % vody ve struktuře vzorku bylo řízené sušení ukončeno a vzorky byly vytaženy a volně dosychaly v laboratoři po dobu minimálně 48 hodin. Během této doby poklesl obsah vody na ~10 % v závislosti na podmínkách v laboratoři (vlhkost a teplota).

Vysušené vzorky byly nejdříve vyžháný při teplotě 1000°C po dobu 1h. Během této operace byla ze struktury odstraněna pojiva, surfaktanty a napěňovač. Po žhací operaci byly vybrané vzorky předslinuty či slinovány (Terronic a.s., KPZ 3/1, ČR) při teplotách 1150°C či 1250°C. (Tabulka 3)

Tabulka 3 Režimy tepelného zpracování vysušených HA pěn

Režim	Ohřev	Výdrž	Chladnutí
Žihání 1000°C	20-500°C 0,8°C/min 500-1000°C 2°C/min	1000°C/1h	1000-20°C 10°C/min
Předslinutí 1150°C	100-780°C 10°C/min 780-1150°C 5°C/min	1150°C/1h	1150-800°C 5°C/min
Slinování 1250°C	100-780°C 10°C/min 780-1150°C 5°C/min 1150-1250°C 2°C/min	1250°C/2h	1250°C-900°C 5°C/min

4.4 Vyhodnocení struktury a mechanických vlastností jednotlivých sad vzorků

Průměrná porozita vzorků byla stanovena pomocí archimédovy metody s využitím vah (RADWAG, XA110/X, USA) a aparatury pro měření nasákavosti. Slinuté vzorky byly před vlastním měřením sušeny v sušárně při teplotě 120°C po dobu 24 hodin.

Distribuce velikosti pórů a propojů byla stanovena měřením průměru pórů a propojů na fotografiích pořízených na rastrovacím elektronovém mikroskopu (Philips, SEM XL 30, USA) při zvětšení 20x. Měření bylo uskutečněno v programu Adobe Photoshop CS6. Byly měřeny průměry pórů a propojů v pixelech. Hodnota v pixelech byla posléze přepočtena na hodnotu v μm pomocí měřítka na fotografiích. Pro každou sadu bylo uskutečněno minimálně 80 měření průměru pórů a propojů na 3 různých fotografiích. Výsledky byly zpracovány v podobě grafů relativních četností, relativních objemových četností a relativních plošných četností. Grafy byly zpracovány v programu Microsoft EXCEL 2010.

Určení mechanických vlastností se omezilo na měření pevnosti porézních struktur v tlaku. Tělesa pro měření pevnosti v tlaku byla válcového tvaru s poměrem výška/průměr v rozmezí 1,55-1,68. Pevnost byla měřena na servo-elektrické zkušební stroji INSTRON 8862, USA. Rychlost zatěžování byla 0,5mm/min. Z výsledků byla určena střední hodnota pevnosti a s ohledem na křehkou povahu materiálu byly výsledky zpracovány i do podoby weibullova grafu a byla určena weibullova pevnost a weibullův modul HA pěny. Výsledky byly porovnány s pevnostmi pěn konsolidovaných pomocí akrylamidového gelu.

4.5 Obrábění porézních keramických bloků

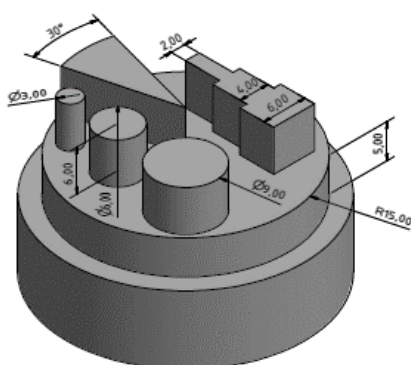
Pro testy obrábění byla vytvořena testovací sada vzorků o průměru $\phi d=40\text{mm}$ a výšce $h=17\text{mm}$. Vzorky byly vystaveny rozdílnému tepelnému zpracování. Od každého typu vzorku byla vytvořena i varianta napuštěná parafinovým voskem (R-54/56, Slovnaft, Slovensko). Pro testy obrábění byly užity vzorky vysušené, předslinuté při 1150°C a slinuté při 1250°C . Obrábění bylo provedeno na obráběcím centru DMG Sauer ultrasonic 20, Německo. Pro obrábění byla použita dvoubřitá fréza s diamantovým povlakem HITACHI D-EPDB-2010-10. Parametry obrábění jsou uvedeny v tabulce 4. Napuštění struktury parafinovým voskem probíhalo ponořením vzorku předehřátého na 90°C do parafinu o stejné teplotě po dobu 10 minut. Po vytažení byly vzorky ochlazeny za současné rotace vzorku kolem horizontální a vertikální osy vzorku. Rotace zajišťovala rovnoměrné rozložení parafinu v objemu vzorku.

Tabulka 4 Parametry frézování HA vzorků

	Posuv X-Y [mm]	Posuv Z [mm]	Řezná rychlost [mm/min]	Otáčky [ot/min]
Hrubování	0,5	0,25	2500	28 000
Finiš	0,25	Spirála	3000	28 000

Ze vzorků napuštěných parafinem byl po obrábění před závěrečným slinováním ve dvou krocích parafin odstraněn. První krok se sestával z ohřevu napuštěného vzorku na teplotu 85°C , kdy došlo k částečnému vytečení parafinu ze struktury. V druhém kroku následovalo žihání při teplotě 1000°C (viz. tabulka 3).

Všechny vzorky byly obrobena do stejné podoby (Obr. 4.1). Podoba vzoru byla zvolena s ohledem na posouzení možnosti obrobení hran a jemných detailů. Vzorky byly posouzeny vzájemným porovnáním po frézování a závěrečném slinutí. Zároveň byl stanoven koeficient smrštění pro jednotlivé varianty vzorků v intervalu obrobení - závěrečné slinování. Smrštění bylo považováno za izotropní. Měření bylo provedeno posuvným měřidlem.



Obr. 4.1 Vzor použitý pro obrábění HA pěn

4.6 Povlakování porézních vzorků polyfosforečnanem vápenatým

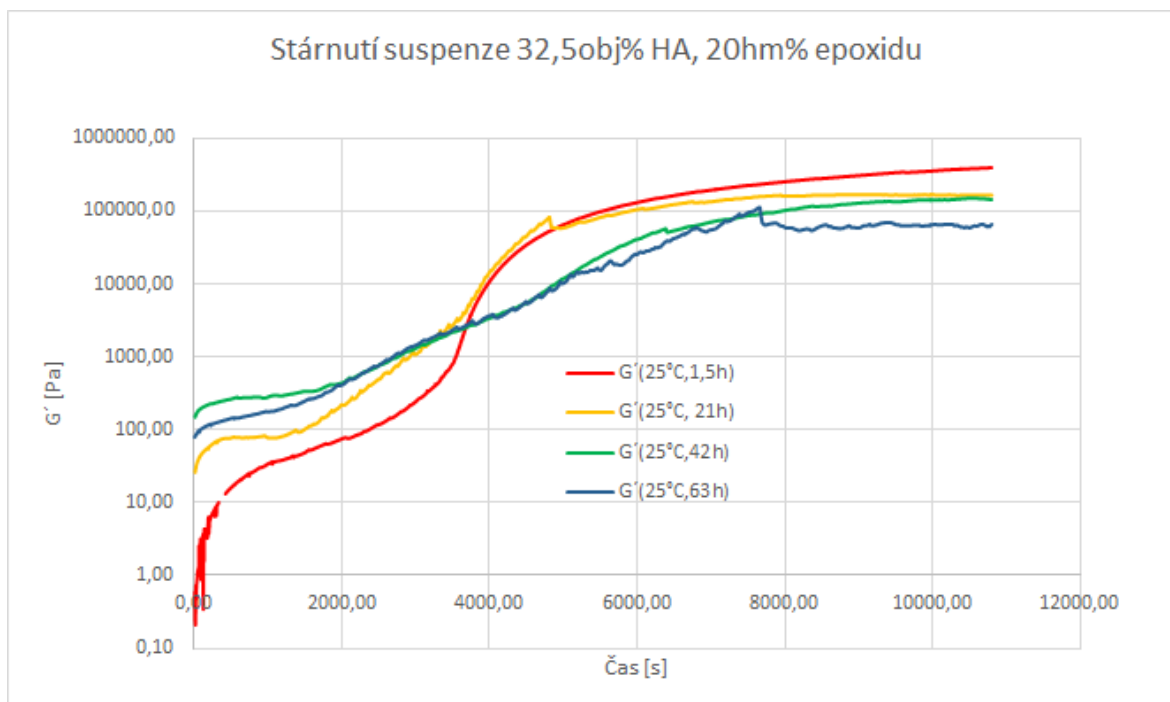
Na základě informací o bioaktivitě polyfosforečnanu vápenatého uvedených v [83] byl na vzorcích HA pěny proveden experiment za účelem zlepšení biologických vlastností HA scaffoldu. S ohledem na téměř nulovou rozpustnost polyfosforečnanu vápenatého ve vodě byl povlak získán dvoustupňovým povlakováním. V prvním kroku byl připraven roztok polyfosforečnanu sodného (Sodium polyphosphate extra pure, Merck KGaA, Německo) v deionizované vodě o koncentraci $c_{\text{NaPO}_3} = 0,25\text{mol/l}$. Připravené porézní HA vzorky byly po dobu 30 minut vakuovány a poté byly zality roztokem polyfosforečnanu sodného. Zalité vzorky byly ve vakuu ponechány po dobu 30 minut. Po uplynutí doby potřebné k rovnoměrnému

smočení vzorku byly vzorky přemístěny do sušárny a sušeny při 50°C po dobu 12-ti hodin. V druhé fázi byl připraven roztok dihydrátu chloridu vápenatého (Calcium chloride dihydrate, >99%, Sigma-Aldrich, Německo) v deionizované vodě o koncentraci $c_{\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}} = 0,125 \text{ mol/l}$. Vysušené porézní vzorky byly opět vakuovány po dobu 30 minut. Po uplynutí této doby byly zality roztokem chloridu vápenatého. Při zalévání byl proud roztoku chloridu vápenatého veden mimo polohu vzorků, aby bylo zabráněno odplavení vrstvy polyfosforečnanu sodného z povrchu. Po zalití vzorků následovala 30 minutová prodleva nutná k reakci polyfosforečnanu sodného s roztokem chloridu vápenatého. Při této reakci došlo k nahrazení sodných iontů v řetězci za ionty vápenaté a vzniku kompaktní vrstvy nerozpustného polyfosforečnanu vápenatého na vzorcích. Takto připravené vzorky byly odeslány k testům in-vivo na partnerskou univerzitu v Pekingu.

5 Výsledky experimentů a jejich diskuze

5.1 Reologie suspenzí

Reologická měření byla provedena pouze pro suspenzi obsahující 32,5obj% HA s 20hm% epoxidu. Na základě reologických měření byla zjištěna změna charakteristik suspenze v závislosti na jejím stáří (Obr 5.1). Jako charakteristika popisující tuto změnu byl zvolen

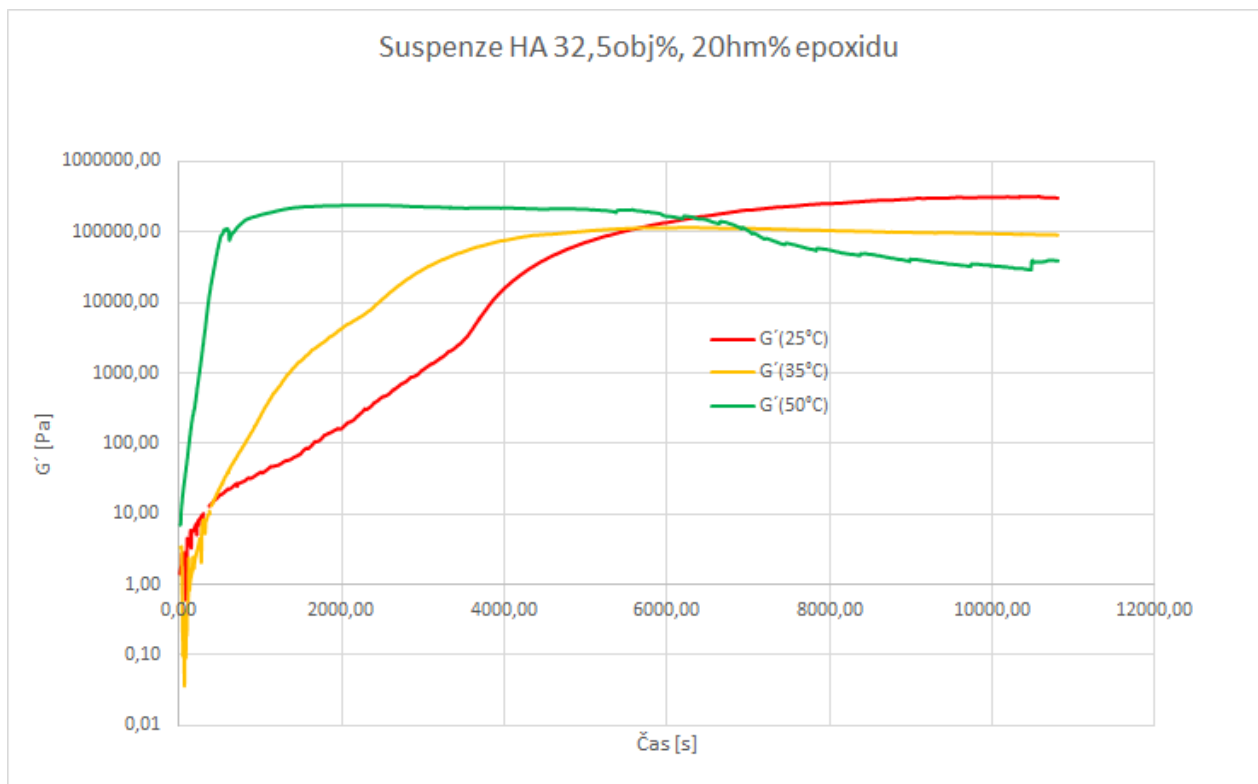


Obr 5.1 Vliv stáří suspenze na její reologii, pilovitý průběh je způsoben usmýkáváním se vzorku od měřící hlavy reometru

elastický modul G' popisující změnu elastické odezvy suspenze. Stárnutí suspenze vedlo ke zvýšení počáteční hodnoty G' z hodnot v jednotkách pascalů až na hodnoty v řádu stovek pascalů pro vystárnuté suspenze. Nejvyšší tuhost systému byla naměřena pro nejčerstvější měřenou suspenzi (stáří 1,5h). Se vzrůstající stáří suspenze byla výsledná tuhost nižší. Pokles tuhosti lze částečně vysvětlit odtrháváním měřeného vzorku od oscilační hlavy reometru. Při úplném usmýknutí od měřící hlavy dochází ke skokovému poklesu měřených charakteristik. Z poklesu směrnice křivek G' lze usuzovat na pokles rychlosti epoxidové reakce u starších suspenzí. Snížení reakční rychlosti lze přičíst degradaci epoxidové pryskyřice v suspenzi skladované při laboratorní teplotě $\sim 22^\circ\text{C}$ (doporučené skladování epoxidové pryskyřice výrobcem $2-4^\circ\text{C}$).

Suspenze používané pro přípravu porézních struktur byly staré 21-24h. Při stáří 21h se na křivce $G'(25^\circ\text{C})$ vyskytuje cca patnáctiminutová počáteční prodleva. Tuto prodlevu lze považovat za údobí zpracovatelnosti suspenze. Po překročení této doby dochází k rychlému nárůstu G' korespondující se vznikem epoxidové sítě v objemu suspenze.

Výrazný vliv na rychlost epoxidové reakce má teplota reakčního prostředí, což je ve shodě např. s prací [36] (Obr. 5.2). Se vzrůstající teplotou se zrychluje nárůst G' , korespondující se změnou kinetiky reakce. Zvyšující teplota zkracuje zpracovatelnost suspenze a urychluje její

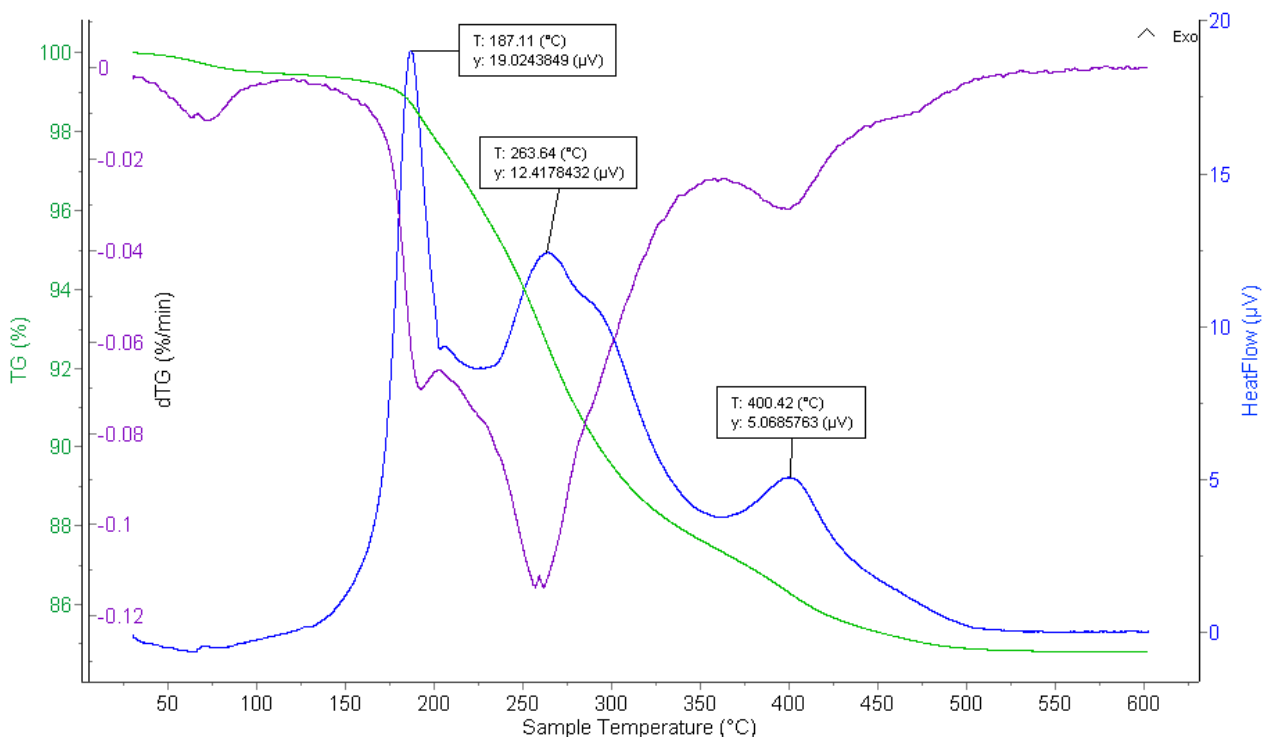


Obr. 5.2 Vliv teploty prostředí na rychlost epoxidové reakce, prudký pokles křivky G' pro 50°C je způsoben odtržením měřeného vzorku od měrných ploch reometru, stáří suspenze 21h

tuhnutí. Zvýšením teploty lze urychlit ztuhnutí připravené pěny a zamezit tak její přílišné degradaci. Rostoucí teplota reakčního prostředí snižuje i výslednou naměřenou tuhost gelu. Vysvětlení se nabízí dvě. Snižování tuhosti může korespondovat s rychlejším odparem vody ze struktury gelu při vyšší teplotě reakce. K potlačení tohoto jevu byla měřicí zóna přiklápěna plastovým příklopem. Nicméně odpar vody byl pozorován jako orosení poklopu. Druhou možností je dosažení nižšího stupně konverze při vyšší teplotě reakce (viz.[39]). Výsledek bude pravděpodobně superpozicí obou jevů.

5.2 TGA analýza vysušených vzorků

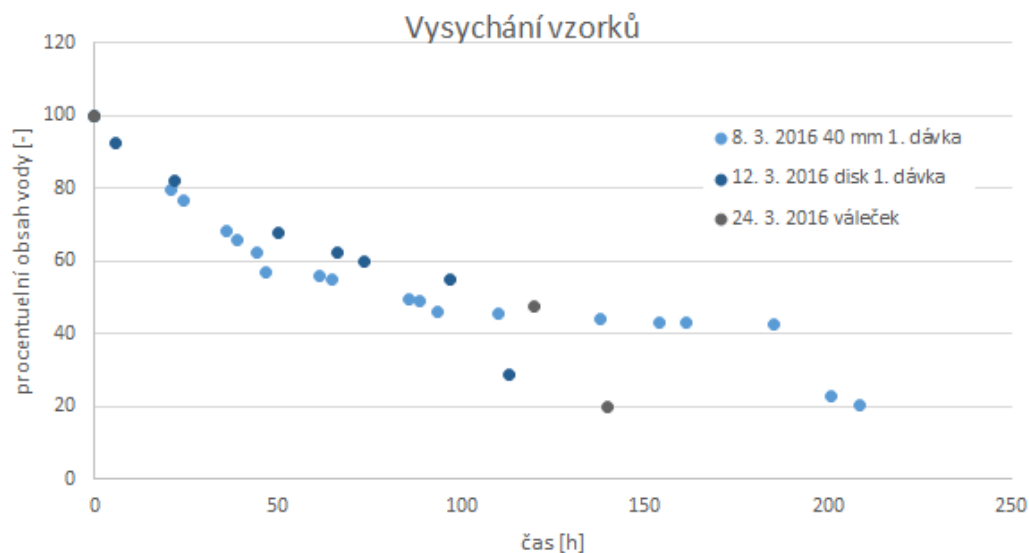
Během TGA analýzy byla naměřena čtyři lokální minima na křivce dTG (Obr. 5.3). První minimum při teplotě $\sim 60^\circ\text{C}$ koresponduje s odparem vlhkosti ze struktury vzorku. Další minima se nacházejí v intervalu $150 - 450^\circ\text{C}$. Lokální minima hmotnostního úbytku spojená s odstraněním epoxidového gelu se nacházejí při teplotách $187,11^\circ\text{C}$, $263,64^\circ\text{C}$ a $400,42^\circ\text{C}$. Tepelné zabarvení reakce ukazuje na reakci exotermickou. Lze předpokládat, že v intervalu $150 - 450^\circ\text{C}$ dochází k několikastupňové oxidaci epoxidového gelu a meziproductů vznikajících při jeho spalování, které vede až k jeho úplnému odstranění ze struktury vzorku.



Obr. 5.3 TGA analýza porézního vzorku s 20hm% epoxidu (v kapalně fázi)

5.3 Řízené sušení

Průběh sušení byl nelineární. K úbytku prvních 20 % vody dochází během prvních 22 hodin. Další průběh sušení se zpomaluje a dosažení 50 % vody ve struktuře trvá přibližně 90 - 100 hodin. Po dosažení ~50 % byla snížena relativní vlhkost v klimatizační komoře na 80 %. Po snížení relativní vlhkosti na 80 % docházelo k dalšímu prudkému poklesu obsahu



Obr. 5.4 Úbytek vody v různě velkých vzorcích (typ H) (ϕ d 40x25 mm, disk ϕ d 100x17 mm, váleček ϕ d20x60 mm)

vody ve struktuře. Dvacetiprocentního obsahu vody ve struktuře bylo dosaženo po 20-25 hodinách od změny relativní vlhkosti. Po dosažení ~20 % vody ve struktuře vzorků bylo řízené

sušení ukončeno a v intervalu následujících 48 hodin došlo k poklesu vody ve struktuře na 9-11 %.

Významný vliv tvaru a velikosti vzorku na vysychání nebyl pozorován (Obr. 5.4). To lze vysvětlit otevřenou porézní strukturou vzorku a jeho vysokou permeabilitou. Největší tloušťka materiálu je stěna póru. Ta je pro všechny vzorky jednoho typu nezávisle na jejich velikosti stejná. Drobné odchylky lze vysvětlit nepřesností při zjištění obsahu vody ve struktuře vzorků před umístěním vzorků do klimatizační komory.

5.4 Získané porézní struktury a jejich vyhodnocení

Bylo získáno několik sad porézních vzorků, jejichž příprava se lišila v době prodlevy po přidání tvrdidla do suspenze, teplotě konsolidace a obsahu epoxidové pryskyřice ve struktuře. Získané struktury se vzájemně odlišovaly svojí morfologií a porozitou. Přehled jednotlivých postupů je uveden v tabulce 5. Bližší popis jednotlivých sad vzorků bude uveden v dalším textu.

Stáří všech použitých suspenzí bylo 24_{-3}^{+0} h.

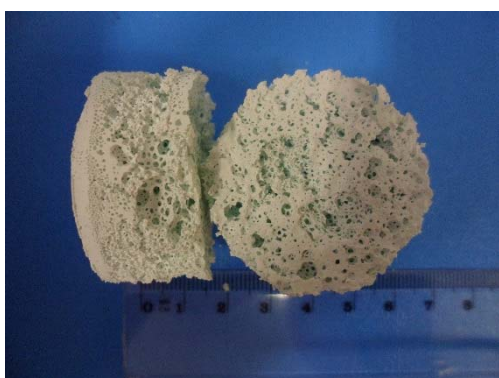
Tabulka 5 Přehled jednotlivých sad HA pěn a vyhodnocení jejich porozity, velikosti porů a propojů s jejich směrodatnými odchylkami

Označení	Epoxid [hm%]	T _{před} [°C]	T _{gel} [°C]	τ _{idle} [min]	τ _{gel} [min]	Porozita [%]	Ø \bar{d} [um]	Ø \bar{d}_{prop} [um]
A	20	22	50	0,5	16	82,1±1,7	639±227	208±92
B	20	35	50	5	16	76,1±0,5	271±124	85±42
C	15	22	50	0,5		Nevyhodnoceno		
D	15	35	50	5		Nevyhodnoceno		
E	20	35	35	5	40	74,0±2,3	227±77	81±25
F	20	22	35	12	40	73,2±0,4	387±153	78±31
G	20	22	35	7	40	81,7±0,4	570±143	140±46
H	20	22	35	2	40	82,6±0,5	621±169	139±60

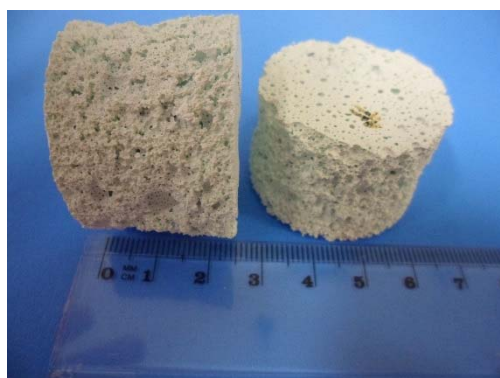
T_{před}-teplota předeřevu suspenze, T_{gel}-teplota prostředí při gelaci, τ_{idle}-časová prodleva po přidání DPTA před napěňováním, τ_{gel}- doba po kterou vzorek geloval při řízené teplotě Ø \bar{d} - průměrná velikost porů stanovená z fotografií, Ø \bar{d}_{prop} -průměrná velikost propojů stanovená z fotografií

HA 32,5obj%, 15hm% epoxidu

Sada vzorků pod označením C a D v tabulce 5. Suspenze obsahovala 15hm% epoxidu. Výsledky lze vidět na Obr. 5.5 a Obr. 5.6. Struktura získaných vzorků byla po konsolidaci drobná. Rozložení pórů bylo značně nehomogenní. Vzorky ze sady C byly degradované více než v případě sady D, kdy byl aplikován předehřev suspenze a konsolidace při zvýšené teplotě 50°C. Vzorky nebylo možno ani po uplynutí 40 minut při 50 °C (sada D) odstranit z formy. Odstranění z formy bylo možné až po částečném vyschnutí vzorků druhý den. Takto získané vzorky měly malou pevnost a drobily se. Nedostatečné mechanické vlastnosti byly připsány nedostatečnému množství epoxidového pojiva v suspenzi a po zvýšení obsahu pojiva na 20hm% nebyly tyto problémy u dalších sad vzorků pozorovány. Další zpracování a vyhodnocení vzorků ze sady C a D nebylo provedeno.



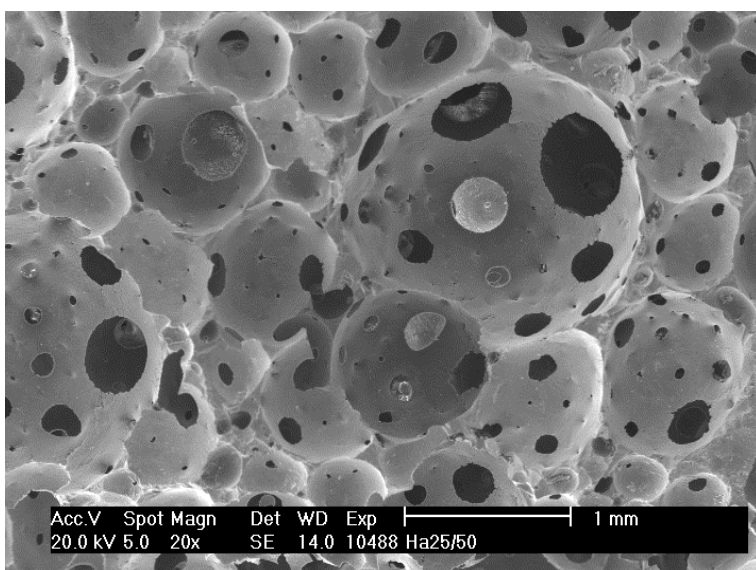
Obr. 5.6 Vzorky sada C



Obr. 5.5 Vzorky sada D

HA 32,5obj%, 20hm%epoxidu, 30s/22/50°C

Jedná se o sadu vzorků A (tabulka 5). Vzorky obsahovaly 20hm% epoxidu v kapalné fázi. Suspenze nebyla předehřívána. Po přidání tvrdidla byla zařazena třicetisekundová prodleva potřebná k homogenizaci tvrdidla v objemu suspenze. Napěňování probíhalo 3 minuty. Vzorky byly konsolidovány při 50°C. Během konsolidace docházelo k nafukování



Obr. 5.7 Vzorek sada A, SEM, zvětšení 20x

vzorků. Nafouknutí vzorků lze vysvětlit rozpínáním plynu uzavřeného v objemu vzorku. Po 16 minutách při 50°C byly vzorky tuhé a bylo je možno vytáhnout z forem. Vzorky byly řízeně sušeny a poté vyžháný při 1000°C. Následně byly vybrané vzorky slinuty a byla změřena jejich porozita, velikost a distribuce pórů. Struktura pěny je zachycena na Obr. 5.7.

Z grafu relativní četnosti pórů lze vyčíst poměrně rovnoměrné rozmístění pórů v oblasti 260 – 980 μm se zvýšenou četností v intervalu 500 – 620 μm (všechny grafy přiloženy v příloze práce). Z grafu relativní četnosti propojů je zřejmé, že většina propojů leží v oblasti intervalů 100 - 250 μm . Z relativního objemového zastoupení pórů ve struktuře je patrné, že i přes svou nižší četnost hrají v objemovém obsazení struktury větší roli velké póry. Stejná je situace i v případě plošné četnosti propojů.

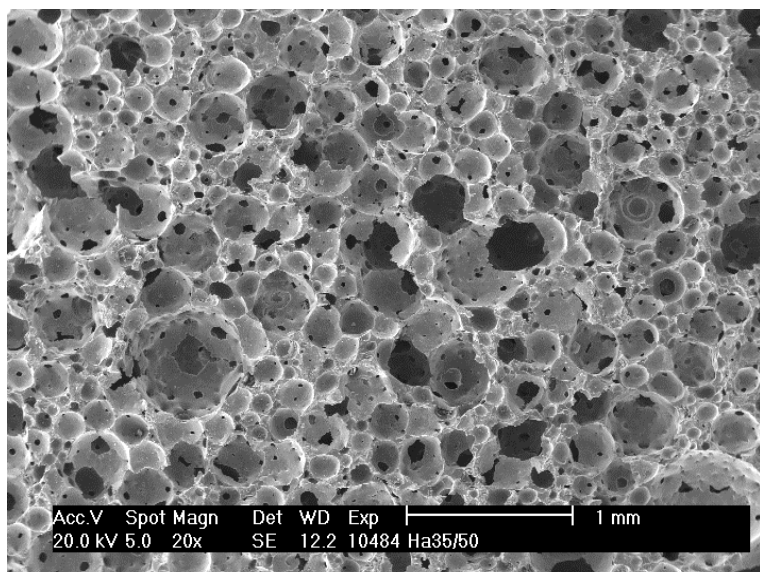
Otevřená porozita vzorků byla stanovena na 82,1 %.

Vysoká porozita vzorků odpovídá požadavkům kladeným na materiály určené pro výrobu porézních implantátů. Nicméně vzorky sady A ve svém objemu obsahovaly příliš velké množství pórů s velikostí nad 600 μm . Tato hodnota je na horní hranici intervalu velikosti pórů (v literatuře uváděno ~200 -600 μm) označovaného jako vhodná velikost pórů z hlediska osteokonduktivity porézního implantátu. Z tohoto důvodu nebyl postup A vybrán pro přípravu porézních HA bloků určených k výrobě individualizovaných scaffoldů.

HA 32,5obj%, 20hm%epoxidu, 5min/35/50°C

Jedná se o sadu vzorků s označením B v tabulce 5. Při výrobě vzorků sady B byl na suspenzi s napěňovadlem aplikován předehřev na teplotu 35°C. Během předehřevu byla kádinka se suspenzí zakryta, aby bylo zabráněno odpařování vody ze suspenze. Po dosažení teploty 35°C bylo přidáno tvrdidlo. Po přidání byla aplikována pětiminutová prodleva před napěňováním. Takto ošetřenou suspenzi nebylo možno dostatečně napěnit. Během konsolidace bylo zaznamenáno nafukování vzorků jako v předchozím případě u sady A. Po řízeném vysušení byly vybrané vzorky žháný a následně slinuty. Na vybraných slinutých vzorcích bylo provedeno vyhodnocení struktury (Obr. 5.8).

Většina pórů byla situována v poměrně úzkém rozmezí 130 – 310 μm . Relativní objemová četnost ovšem ukazovala, že velká část objemu byla tvořena póry většími než 610 μm (grafy přiloženy v příloze). Z obrázku struktury si lze povšimnout malého množství propojů.



Obr. 5.8 Struktura vzorku sady B, SEM, zvětšení 20x

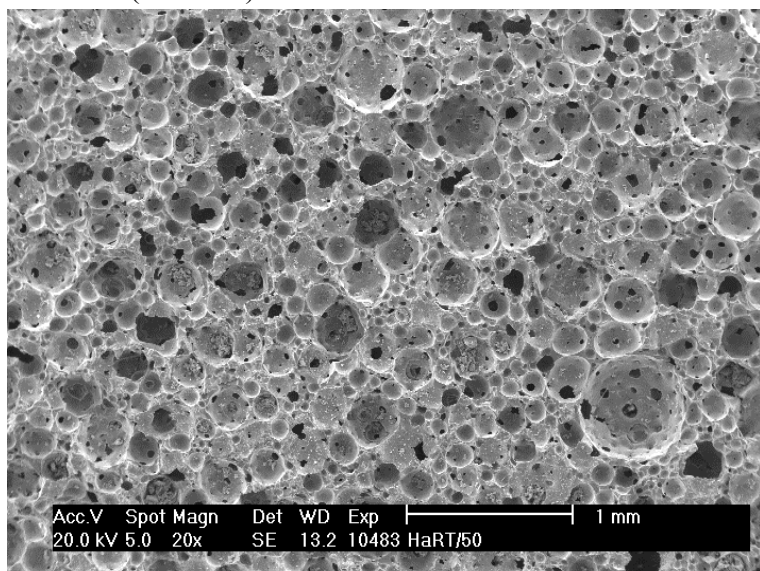
Většina propojů ležela v rozmezí 50 – 100 μm . Relativní plošná četnost propojů poměrně dobře korespondovala s jejich relativní množstevní četností.

Naměřená porozita odpovídala horšímu napěněním suspenze při zpracování (76,1 %).

Lze konstatovat, že předeheřev suspenze urychluje epoxidovou reakci a rapidně zkracuje její zpracovatelnost. Výsledná struktura pěny svojí porozitou, velikostí pórů a propojů neodpovídala struktuře požadované pro přípravu individualizovaných porézních náhrad.

HA 32,5obj%, 20hm%epoxidu, 5min/35/35°C

Jedná se o sadu vzorků s označením E podle tabulky 5. Jednalo se o úpravu postupu B. Teplota konsolidace byla snížena na 35°C, což znamenalo prodloužení doby konsolidace na 40 minut. Opakoval se problém s napěňováním jako v případě sady B. Snížení teploty konsolidace vedlo k odstranění problému s nafukováním vzorků. Po vysušení byly vybrané vzorky vyžihány. Vybrané vyžihané vzorky byly slinuty a byla vyhodnocena jejich struktura (Obr. 5.9).



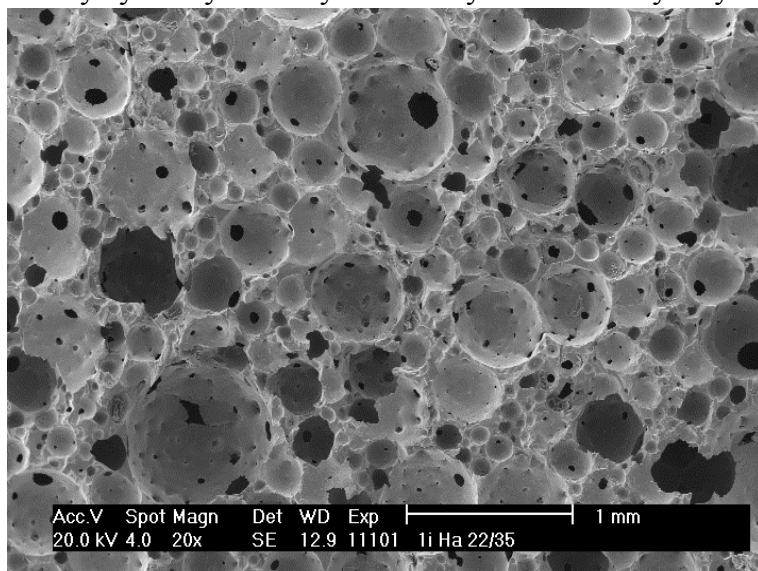
Obr. 5.9 Struktura sady vzorků E, SEM zvětšení 20x

Struktura vzorků byla velmi podobná sadě B. Většina pórů se nacházela v rozmezí 120 – 300 μm (grafy přiloženy v příloze). Relativní objemová četnost poměrně dobře odpovídala tomuto rozložení s drobným posunem k vyšším hodnotám. U sady E byl zjištěn menší vliv velkých pórů na objemové zastoupení ve struktuře. Tento výsledek byl spojen s eliminací nafukování vzorků. Většina propojů ležela velikostně v intervalu 60 – 100 μm . Relativní plošná četnost propojů byla mírně posunuta k vyšším hodnotám. Opticky byla struktura tvořena drobnými póry, které byly mezi sebou málo propojeny. Porozita vzorků byla stanovena na 74 %.

Sada vzorků E byla porozitou, velikostí pórů a propojů velmi blízká sadě vzorků B a ze stejných důvodů jako sada B byla shledána nevhodnou pro výrobu porézních bioscaffoldů.

HA 32,5obj%, 20hm%epoxidu, 12min/22/35°C

Jedná se o sadu vzorků s označením F v tabulce 5. U těchto vzorků byl vzhledem k předchozím výsledkům vynechán předehřev suspenze. Vynechání předehřevu zachovalo patnáctiminutové období zpracovatelnosti suspenze po přidání tvrdidla. Po přidání tvrdidla byla zařazena dvanáctiminutová prodleva před napěňováním. Spolu s třemi minutami napěňování a časem potřebným k odlití suspenze po jejím napěnění byl zcela vyčerpán čas pro zpracování suspenze a po odlití do forem a přemístění do klimatizační komory předehřáté na 35°C došlo k okamžité konsolidaci pěny. Konsolidace pěny trvala 40 minut. Po vysušení byly vybrané vzorky vyžihány a slinuty. Na slinutých vzorcích byla vyhodnocena jejich struktura (Obr. 5.10)



Obr. 5.10 Struktura sady vzorků F, SEM, zvětšení 20x

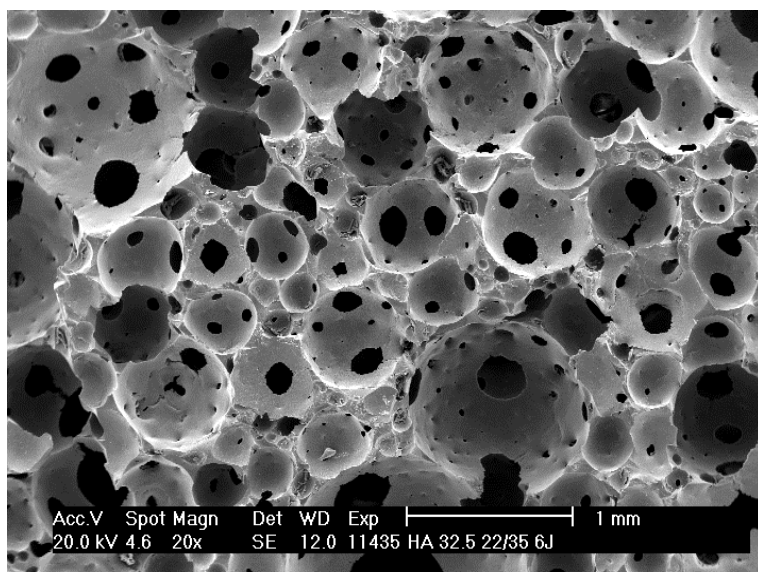
Většina pórů měla velikost v rozmezí 200 – 500 μm . Relativní objemová četnost byla posunuta směrem k větším pórům (440 – 560 μm) a významně se ve struktuře projeví pory v rozmezí 860 – 920 μm . Velikost většiny propojů se pohybovala v rozmezí 40 – 100 μm . Relativní plošná četnost propojů je mírně posunuta k vyšším hodnotám. Z fotografie struktury je vidět, že množství propojů je nízké. Tuto skutečnost lze vysvětlit vyčerpáním času pro zpracovatelnost suspenze. Po překročení tohoto cca patnáctiminutového období dochází k rozvoji epoxidové reakce a degradace struktury a vznik propojů není možný.

Porozita struktury byla stanovena na 73,2 %.

Malá velikost propojů a jejich nízký počet spolu s nízkou porozitou struktury nevyhovovaly požadavkům kladeným na strukturu porézního bioscaffoldu.

HA 32,5obj%, 20hm%epoxidu, 7min/22/35°C

Jedná se o sadu vzorků G v tabulce 5. Na rozdíl od sady F byla zkrácena prodleva po přidání tvrdidla na 7 minut. Spolu se třemi minutami napěňování zbývalo ještě cca 5 minut doby zpracovatelnosti suspenze, při kterých mohla struktura lehce degradovat. Zbývající čas pro degradaci byl zkrácen umístěním vzorků do teploty 35°C. Vybrané vysušené vzorky byly vyžihány. Vybrané vyžihané vzorky byly slinuty a byla vyhodnocena jejich struktura (Obr. 5.11).



Obr. 5.11 Struktura sada G, SEM, zvětšení 20x

Zkrácení prodlevy po přidání tvrdidla vedlo i přes okamžitý přesun vzorků po jejich napětění do klimatizační komory k možnosti rozsáhlejší degradace pěny a vytvoření větších propojů mezi póry.

Většina pórů se nacházela v intervalu 440 – 710 μm (grafy přiloženy v příloze). Relativní objemová četnost pórů korespondovala s jejich početní četností s maximem v intervalu 620 – 710 μm . Velikost propojů se zkrácením prodlevy výrazně vzrostla. Maximum relativní početní četnosti se nachází v rozmezí 85 – 145 μm . Relativní plošná četnost propojů byla poměrně rovnoměrně rozložena v rozmezí 115 – 330 μm . Pórovitost struktury byla stanovena na 81,7 %.

Vzhledem k velikosti pórů, propojů, jejich distribuci, porozitě a celkovému vzhledu struktury lze konstatovat, že strukturu vzorků sady G by šla použít pro přípravu porézních bioscaffoldů. Nicméně pro konečnou výrobu individualizovaných porézních bioscaffoldů byla zvolena dále popsána varianta H.

HA 32,5obj%, 20hm%epoxidu, 2min/22/35°C

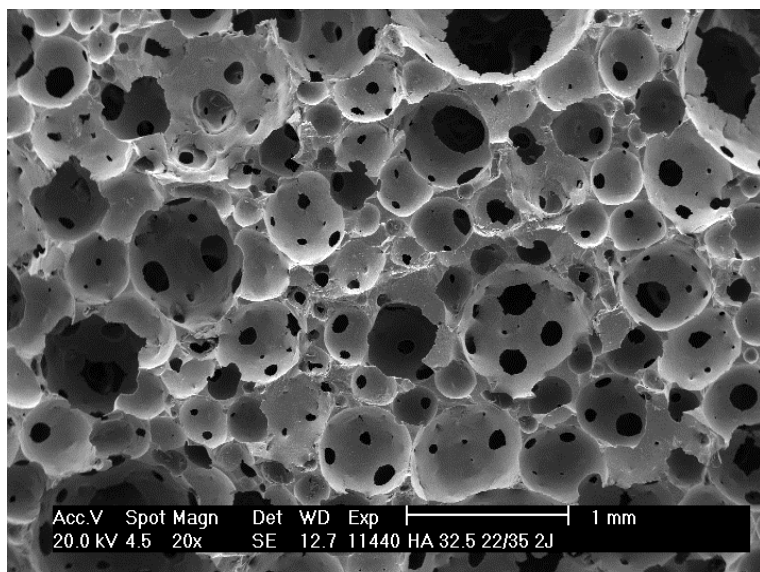
Jedná se o sadu vzorků H v tabulce 5.

U sady vzorků H byla zkrácena doba prodlevy po přidání tvrdidla před napěňováním na dvě minuty. Po konsolidaci byly vybrané vzorky vyžihány. Vybrané vyžihané vzorky byly slinuty a byla vyhodnocena jejich struktura (Obr. 5.12).

Jako v předchozím případě zkrácení prodlevy vedlo ke zvětšení velikosti propojů mezi póry.

Velikost pórů se pohybovala v rozmezí 460 - 640 μm . Relativní objemová četnost pórů odpovídala relativní početní četnosti pórů. Velikost propojů se ve většině pohybovala v rozmezí 85 – 175 μm . Plošná četnost byla posunuta k vyšším hodnotám (115 – 175 μm u většiny propojů). Porozita struktury byla stanovena na 82,4 %.

Vzorky sady H svými parametry nejvíce odpovídali představám o správné struktuře pro výrobu bioscaffoldů.



Obr. 5.12 Struktura sady H, SEM, zvětšení 20x

Následnou optimalizací postupu H (předehřev forem na 35°C před odlitím suspenze a zvládnutí procesu napěňování) byl zlepšen povrch vzorků a eliminována přítomnost občasně se vyskytujících pórů o velikosti přesahující 1 mm ve struktuře před vlastní konsolidací. Optimalizací procesu bylo možno produkovat porézní bloky o stále stejné jakosti. Technologie výroby sady H byla shledána vhodnou pro přípravu individualizovaných porézních bioscaffoldů. Pro výrobu porézních bloků určených k obrábění byl bez výjimky použit postup H.

5.5 Praskání vzorků po vyžhání

Ačkoli nebyly praskliny ve vysušených vzorcích pozorovány, docházelo u vzorků bez ohledu na způsob výroby, k praskání po žhání (1000°C/1h). Praskliny zapříčiňovaly rozpad vzorku na několik částí. Pro všechny popraskané vzorky byla společná morfologie prasklin, charakteristickým znakem bylo hvězdčovitě větvení ze středu porézního bloku směrem k jeho okrajům (Obr. 5.13). V některých případech praskliny nedosahovaly povrchu vzorku a byly patrné až po jeho rozříznutí.



Obr. 5.13 Vlevo vzorek h=20 mm, vpravo vzorek h=17mm bez prasklin

Praskliny se vyskytovaly výhradně u vzorků, které byly před žiháním vyšší než 17 mm. K eliminaci vzniku prasklin stačilo zmenšit výšku porézního vzorku po jeho vysušení před dalším tepelným zpracováním.

Vysvětlení vzniku prasklin ve struktuře může být následující. Povrch vzorku vysychá rychleji než střed. Ve chvíli, kdy začne vysychat a smršťovat střed vzorku, dochází k brzděnému smrštění vlivem vyschlé povrchové vrstvy. Brzděné smrštění indukuje napětí ve středu porézního bloku. Indukované napětí je uvolněno při tepelné degradaci epoxidu. Odstranění epoxidu ze struktury při žihání spolu s uvolněním vnitřního napětí vyvolá vznik prasklin. Ke vzniku prasklin může přispívat i případná nehomogenita vzorku. Tuto teorii podporuje i fakt popsáný v předchozím odstavci, kdy k eliminaci vzniku prasklin stačilo snížit výšku vzorku pod 17 mm. Odříznutí či odbroušení vzorku nejspíše umožnilo částečnou relaxaci vnitřních napětí ve vzorku pod hranici nutnou ke vzniku trhlin.

K ověření teorie o kritické výšce vzorku byla připravena sada různě vysokých vzorků o stejném průměru $\phi 40\text{mm}$. Část vzorků byla zabroušena na výšku 15 a 17 mm. Celkově šest vzorků každého typu bylo žiháno při teplotě $1000^\circ\text{C}/1\text{h}$. Ani v jednom případě se trhliny v objemu vzorků nevyskytovaly. Souběžně připravená sada obsahující vzorky o výšce 19 a 22 mm (6 kusů od každého typu) trhliny v objemu vzorků bez výjimky obsahovala.

Z výsledků shrnutých v předchozím odstavci byla bezpečná výška vzorků stanovena na 17 mm. Vzorky o této výšce a standardním průměru 40 mm (cca 35 po vysušení) byly použity pro testy obrobitelnosti keramické pěny. Problematika praskání vyšších vzorků v rámci této práce vyřešena nebyla.

5.6 Tlaková pevnost HA pěny

Před měřením byla mezi styčné plochy vzorku a měřicího přístroje vložena silikonová podložka o tloušťce cca 2 mm. Podložení styčných ploch zajistilo rovnoměrné rozložení síly na čela vzorku v případě nedokonalé planparalelnosti styčných ploch. Naměřené výsledky spolu s dříve získanými výsledky pro pěnu konsolidovanou akrylamidovým gelem jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6 Pevnostní charakteristiky HA pěn

	Střední pevnost [MPa]	Weibullova pevnost [MPa]	Weibullův modul [MPa]
HA_32,5_ akr.	1,87±0,23	1,97	8,70
HA_30_ akr.	0,85±0,23	0,95	3,29
HA_32,5_ epoxid	0,58±0,14	0,64	4,47

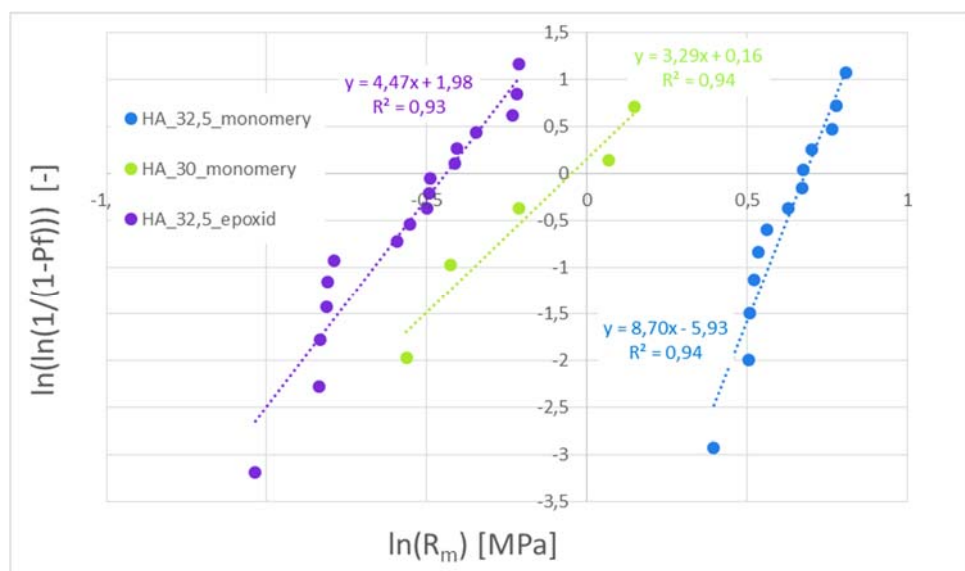
Tlaková pevnost pěny připravené pomocí epoxidové reakce byla výrazně nižší než tlaková pevnost pěny připravená získaných polymerací monomerů (Obr. 5.14). Pokles pevnosti dosahuje 48 % při porovnání weibullové pevnosti pro vzorky s obsahem keramických částic 32,5 %. Pevnost epoxidové pěny lze přisuzovat vyšší průměrné porozitě vzorků (tabulka 7). Je známo, že se vzrůstající porozitou pevnost keramických pěn klesá. Zvláštní je velký rozptyl naměřených pevnostních dat v závislosti na relativní hustotě vzorků (Obr. 5.15). Teoreticky by u vzorků s vyšší relativní hustotou měla vzrůstat i pevnost. Nicméně z Obr. 5.15 lze pozorovat spíše konstantní úroveň pevnosti, nezávislou na relativní hustotě zkoušeného vzorku. Možnou příčinou je nevhodná struktura vzorků pro měření tlakové pevnosti. U některých vzorků došlo k nadměrné degradaci struktury na povrchu. Výsledkem byly velké póry na povrchu zasahující hluboko do struktury vzorku. Povrchová degradace byla způsobena interakcí separačního

činnidla a tuhnuocí pěny. Degradovaný povrch vysvětluje o 3,5 % vyšší poréznotst vzorků určenou pomocí výpočtu než v případě průměrné poréznotstí určené Archimédovou metodou (86,1 % vs. 82,6 %). Nicméně tato teorie nebyla prohlídkou jednotlivých použitých vzorků potvrzena a nebylo možno jednoznačně potvrdit vliv degradovaného povrchu na pevnost.

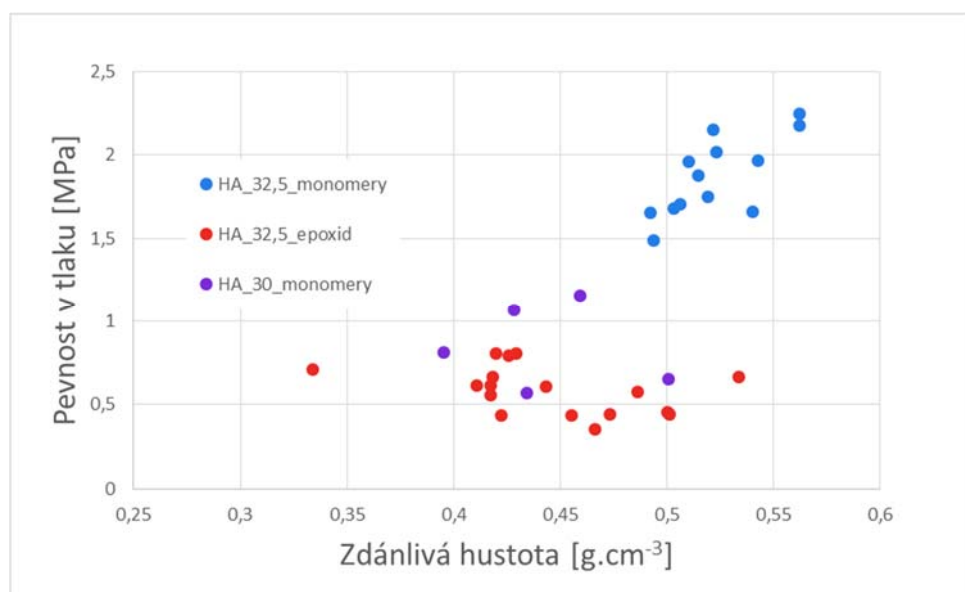
Jediné uspokojivé vysvětlení by byla přítomnost trhlin vzniklých při sušení a tepelném zpracování vzorků pro tlakovou pevnost. Lze předpokládat, že takto vzniklé trhliny mohly být pro všechny vzorky podobné (díky jejich stejnému zpracování) což by korelovalo s konstantní pevností vzorků bez ohledu na relativní hustotu. Přítomnost trhlin nebylo možno ze vzorků po provedení zkoušky prokázat.

Tabulka 7 Průměrná relativní hustota a průměrná poréznotst vzorků použitých pro měření pevností v tlaku

	Průměrná relativní hustota [g.cm ⁻³]	Průměrná poréznotst vzorků [%]
HA_32,5_mon.	0,52±0,02	83,5
HA_30_mon.	0,44±0,04	86,1
HA_32,5_epoxid	0,44±0,05	86,1



Obr. 5.14 Weibullová závislost tlakové pevnosti vzorků HA pěn



Obr. 5.15 Závislost pevnosti na relativní hustotě vzorků

5.7 Obrábění porézních bloků

Obrobitelnost různě předpřipravených keramických bloků byla vyhodnocena po jejich obrobení na víceosém frézovacím centru. K posouzení schopnosti obrobit jemné strukturální detaily byl vytvořen vzor společný pro všechny obráběné vzorky (viz. Obr. 4.1). Obrobené vzorky byly vzájemně srovnány ve slinutém stavu. Ze vzájemného srovnání byly vybrány varianty s nejlepšími výsledky, která budou použity pro výrobu individualizovaného scaffoldu.

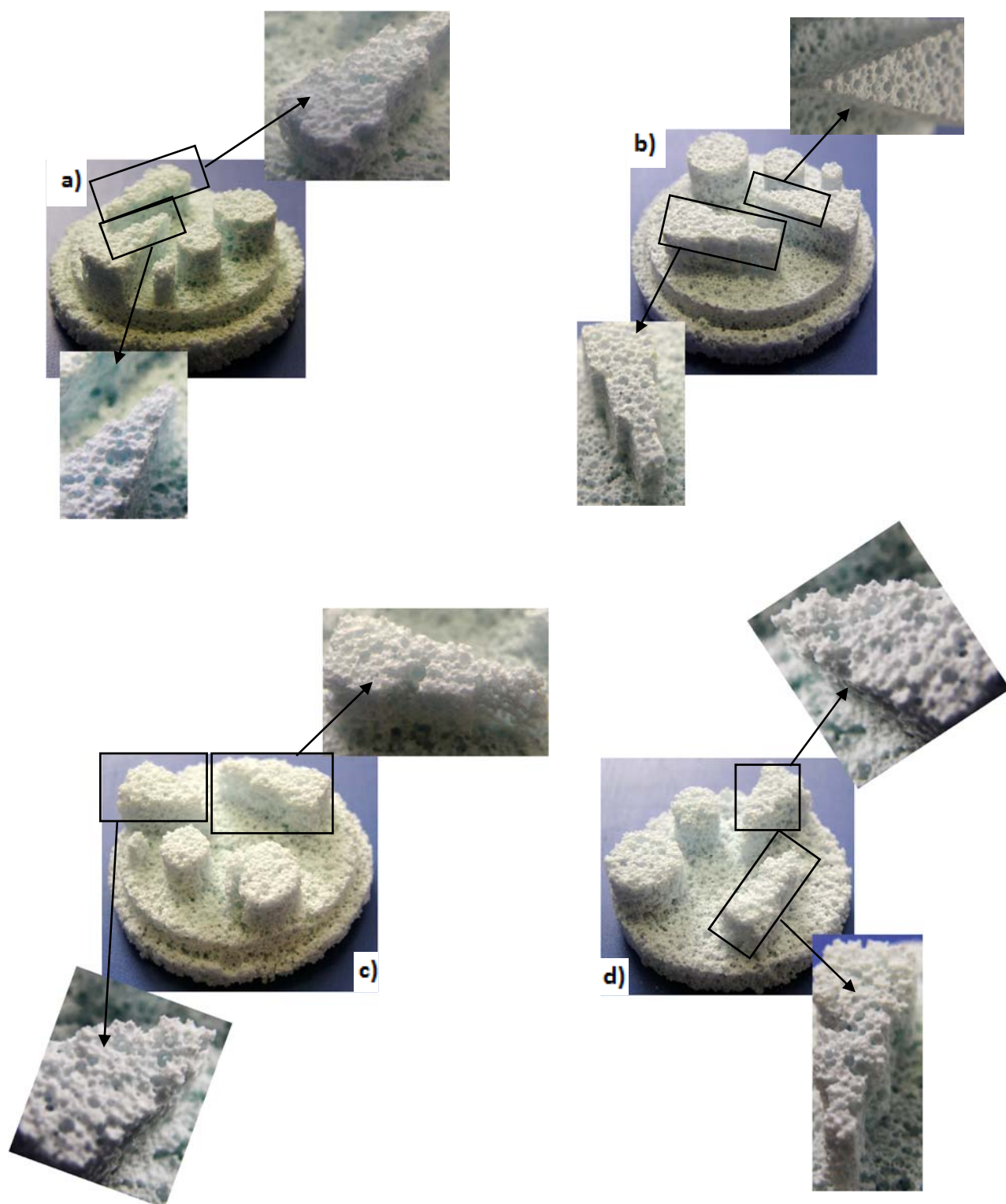
Pouze vysušený vzorek byl obroben s uspokojivými výsledky. Všechny tvary na vzoru (Obr. 4.1) byly obrobeny. Ostrost hran a rohů byla poměrně dobrá. Po obrábění nebyly na vzorku patrné žádné praskliny. Vzorek byl bez dalších problémů slinut. Po slinutí je obrobený vzor méně přesný než v případě parafinem napuštěného vzorku (Obr. 5.16 a).

Vysušený vzorek napuštěný parafinem byl obroben s nejlepším výsledkem. U takto připraveného vzorku jsou detaily obrobeny s největší precizností. Parafinový povlak zvýšil houževnatost vzorku a umožnil obrobení hran a rohů bez vydrolování. Problém se vyskytl při obrábění vertikálních ploch obrobku. Směs parafinu a keramického prachu byla vtlačena do pórů materiálu. Po odstranění vosku a vyžihání zůstává část pórů ucpána. Po slinutí obráběný vzor vyhodnocen jako nejlepší a to i přes problém s částečným ucpáním pórů při obrábění (Obr. 5.16 b). Problém s ucpáním lze nicméně řešit pootočením vzorku při obrábění svislých stěn, či vykloněním nástroje při obrábění.

Vzorek předslinutý na 1150°C byl obráběn s neuspokojivými výsledky. Struktura předslinutého vzorku byla příliš křehká a při obrábění docházelo k destrukci hran, rohů i celých částí obráběného vzorku. Vzorek byl slinut a jeho výsledný vzhled byl shledán neuspokojivým (Obr. 5.16 c).

Vzorek předslinutý na 1150°C napuštěný parafinem byl obroben s poměrně dobrým výsledkem. Nicméně při odstraňování parafinu došlo k destrukci struktury způsobené jeho objemovou roztažností.

Obrábění vzorku slinutého na 1250°C. Podobně jako u vzorku předslinutého, nepřineslo obrábění uspokojivé výsledky. Struktura slinutého vzorku byla příliš křehká a při obrábění se ulamovaly kusy o velikosti až 1 mm. Rohy a hrany vzorku byly oddrobené a jemné detaily na vzorku byly zničeny (Obr. 5.16 d).



Obr. 5.16 a) vysušený vzorek po závěrečném slinutí b) parafinem napuštěný vysušený vzorek po závěrečném slinutí c) Předslinutý vzorek po slinutí d) slinutý vzorek

Ze vzájemného porovnání vyšel nejlépe vysušený parafinem napuštěný vzorek a vzorek pouze vysušený. Na vysušeném vzorku se hůře dosahovalo detailů menších než 1 mm. Oba dva způsoby byly vyhodnoceny kladně a budou využity pro obrábění vzorků do tvaru daného skutečným defektem.

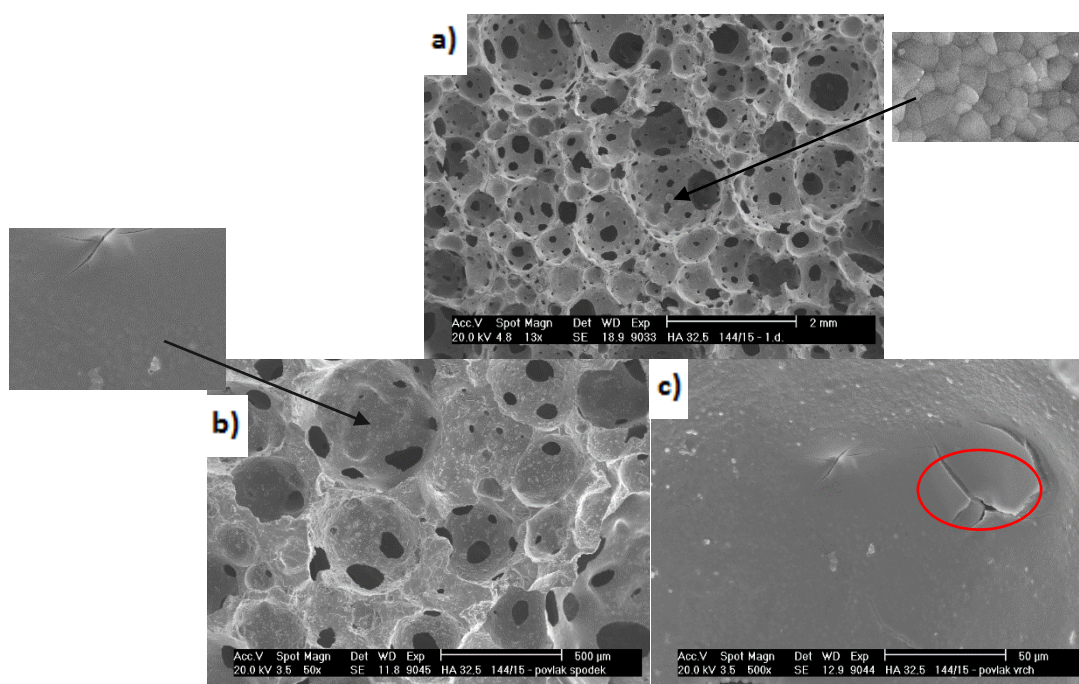
Pro jednotlivé typy vzorků byly stanoveny koeficienty lineárního smrštění (tabulka 8). Smrštění bylo uvažováno jako izotropní. Koeficienty izotropního smrštění HA pěny budou využity pro určení přídavek na smrštění při obrábění reálných defektů. Díky znalosti koeficientů smrštění bude možno vyrobit implantát o velikosti odpovídající reálnému defektu.

Tabulka 8 Koeficienty smrštění jednotlivých vzorků s jejich směrodatnou odchylkou

Typ vzorku	Koeficient smrštění [-]
Vysušený	1,26±0,00
Vysušený napuštěný parafinem	1,26±0,01
Předslinutý 1150°C	1,15±0,00

5.8 Povlakování porézních vzorků polyfosforečnanem vápenatým

Povlakování HA scaffoldu mělo za úkol zlepšit bioaktivitu použitého keramického materiálu a posunout biologickou interakci z oblasti osteokonduktivní do oblasti



Obr. 5.17 a) nepovlakovaná HA pěna s detailem struktury při zvětšení 1500x b) povlakovaná pěna s detailem struktury při zvětšení 1500x c) povlakovaná HA pěna při zvětšení 500x s označeným místem EDS analýzy

osteoinduktivní. Povlak na HA scaffoldu byl vytvořen dvoustupňovým procesem popsáným v experimentální části práce. Přítomnost povlaku byla potvrzena pomocí SEM. Povlak je jasně patrný na stěnách pórů (Obr. 5.17b). V některých místech docházelo k vytvoření silnější vrstvy povlaku. Při sušení v těchto místech povlak praskal (Obr. 5.17c). V místech silnější vrstvy byla provedena EDS analýza povlaku, tak aby nebylo získané chemické složení povlaku ovlivněno podkladovým materiálem. Provedená analýza potvrdila výskyt fosforečnanu vápenatého.

Vyhodnocení změny bioaktivních vlastností bude provedeno srovnáním biologické odezvy povlakovaných a nepovlakovaných scaffoldů poskytnutých k testům *in-vivo* partnerské univerzitě v Pekingu v rámci projektu *FP7-NMP-2013-EU-China: "Bioscaffolds"*.

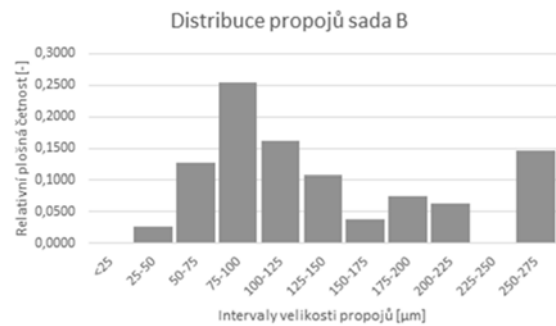
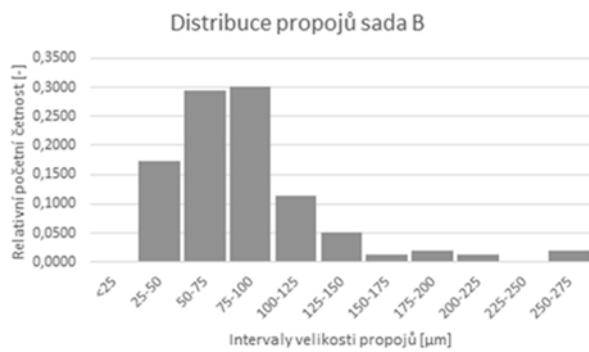
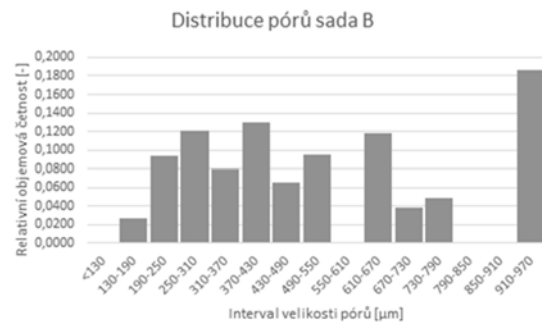
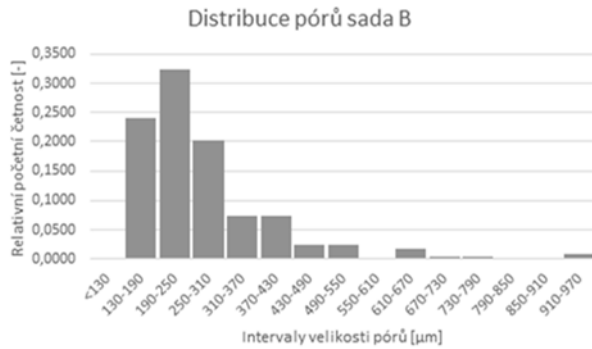
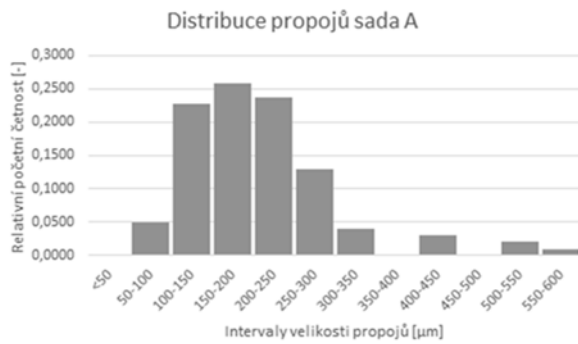
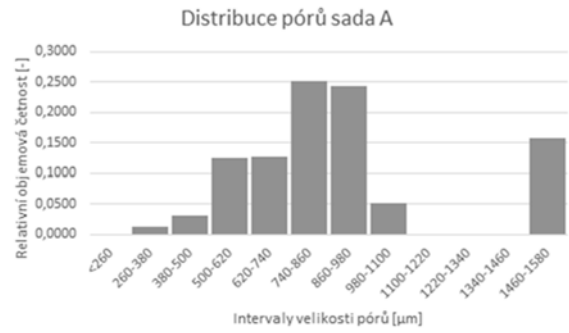
6 Závěr

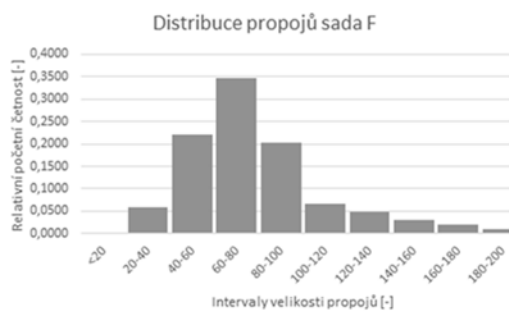
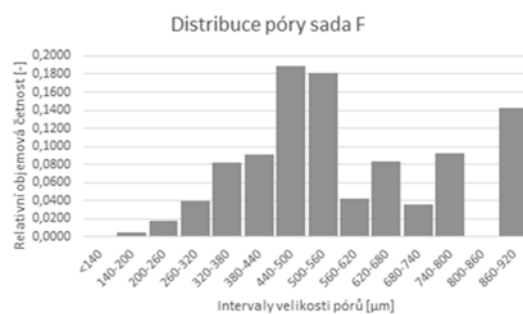
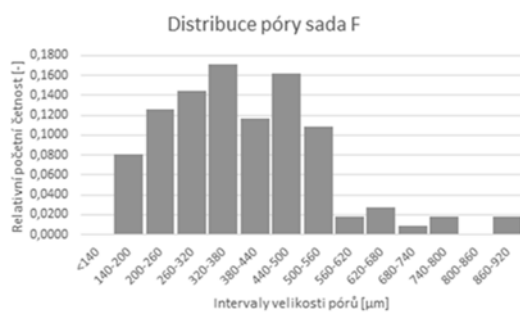
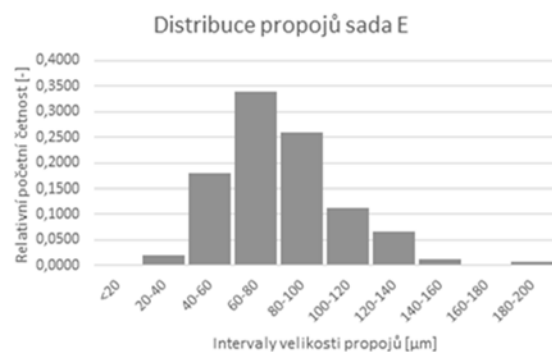
V rámci diplomové práce byl vyvinut systém přípravy individualizovaných bioscaffoldů připravených obráběním HA pěny připravené metodou gelového lití a konsolidované epoxidovou reakcí. Nejlepších výsledků bylo dosaženo obráběním HA pěny obsahující 32,5obj% HA a 20hm% epoxidu v kapalně fázi. Pěna byla získána přímým napěňováním keramické suspenze tyčovým mixérem otáčkami 12 000 ot./min. Zpracovatelnost suspenze při teplotě 22°C byla přibližně 15 minut. Pro dostatečně rychlou konsolidaci pěny se ukázalo vhodné umístit napěněné vzorky do sušárny vytopené na 35°C s relativní vlhkostí 98%. Získanou pěnu charakterizuje vysoká ($82,6\pm 0,5\%$) porozita s průměrnou velikostí pórů 621 ± 169 μm a průměrnou velikostí propojů 139 ± 60 μm . Takto připravené vzorky byly použity pro testy obrábění. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při obrábění vysušeného dále tepelně nezpracovaného polotovaru. Dostatečná houževnatost struktury v tepelně nezpracovaném stavu umožnila obrábět jemné strukturní detaily bez nebezpečí jejich vylomení. Další zvýšení houževnatosti a zvýšení přesnosti obrábění bylo docíleno napuštěním struktury parafinovým voskem. Vypočítané koeficienty lineárního smrštění lze, při uvažování izotropního chování materiálu, použít pro rozměrové kompenzace nutné pro výrobu rozměrově přesných implantátů. Na vybraných vzorcích byl vytvořen povlak polyfosforečnanu vápenatého, u kterého se předpokládá zlepšení biologických vlastností scaffoldu. Povlakované vzorky byly poskytnuty k testům in-vivo partnerské univerzity v Pekingu v rámci projektu *FP7-NMP-2013-EU-China: "Bioscaffolds"*. Pevnost pěny získané pomocí výše popisovaného systému byla bohužel výrazně nižší než v případě systému konsolidovaného pomocí akrylamidového gelu. Vysvětlení nižší pevnosti pěn připravených v rámci diplomové práce spolu s problematikou praskání větších vzorků bude cílem dalšího výzkumu. Potlačení praskání vzorků v důsledku nerovnoměrného schnutí bude řešeno pomocí osmotického sušení vzorků v roztoku polyethylenglykolu. Předpokládá se, že eliminace trhlin přispěje ke zvýšení tlakové pevnosti scaffoldů.

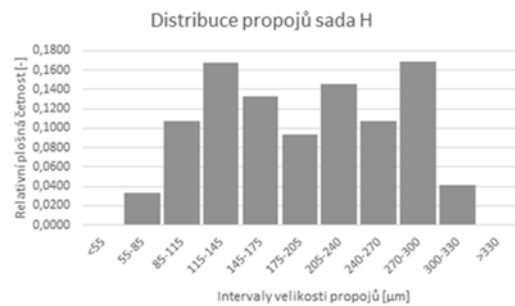
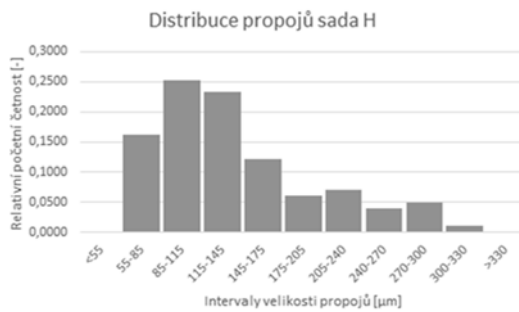
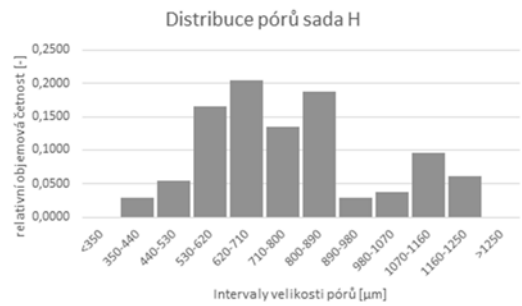
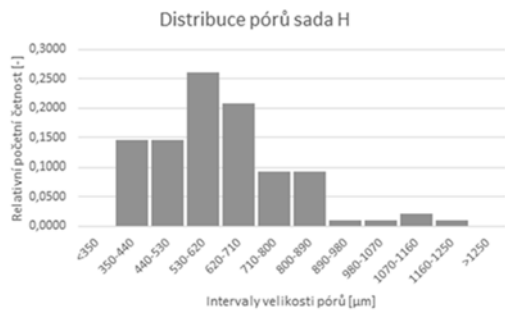
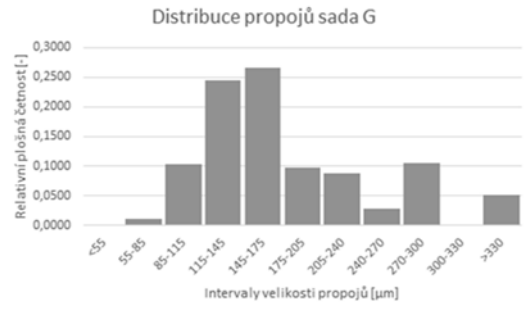
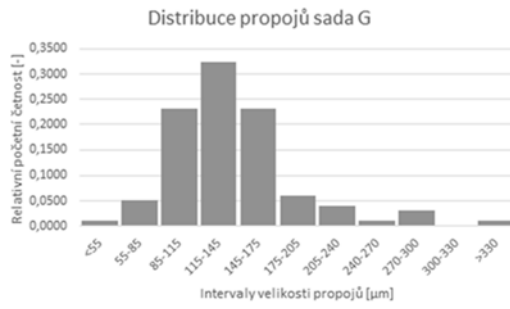
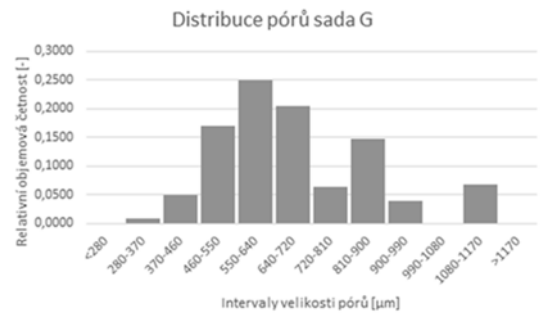
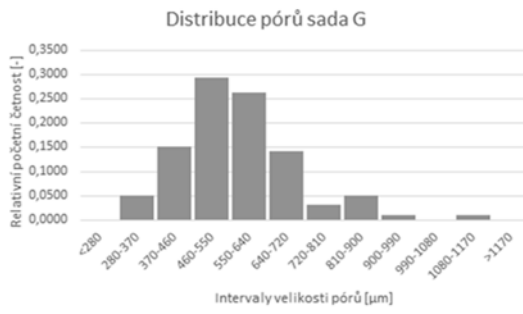
Lze konstatovat, že systém gelového lití vyvinutý v rámci diplomové práce lze použít pro další výzkum v oblasti přípravy individualizovaných obrobitelných porézních biokeramických scaffoldů. Pozornost dalšího výzkumu bude zaměřena na přípravu kompozitních scaffoldů na bázi HA+kolagen, HA+polyfosforečnan vápenatý, HA+kolagen+polyfosforečnan vápenatý. V dalším kroku bude provedena úplná, či částečná náhrada HA za β -TCP. Vývoj kompozitního scaffoldu bude kopírovat trend výroby scaffoldů aktivně podporujících uchycení a vývoj kostní tkáně spojený s postupnou degradací scaffoldu v těle pacienta.

7 Příloha

Grafy relativních četností, relativních objemových a relativních plošných četností







8 Použitá literatura

- [1] ŠŤASTNÝ, Přemysl. *Moderní metody přípravy porézní biokeramiky*. Brno 2014. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav materiálových věd a inženýrství. s. 48. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Martin Trunec, Dr.
- [2] LEWIS, Jennifer A. *Journal of the American Ceramic Society. Colloidal processing of ceramics*. 2000, roč. 83, s. 2341 -2359
- [3] TRUNEC, Martin, MACA, Karel. *Advanced Ceramic Processes. Advanced Ceramics for Dentistry*. Elsevier, 2014, s. 123
- [4] MEWIS, J, WAGNER, Norman Joseph. *Colloidal suspension rheology*. New York: Cambridge University Press, 2012, xxi, 393 p. ISBN 05-215-1599-8.
- [5] Derjaguin, B. (1939) *A theory of interaction of particles in presence of electric double-layers and the stability of lyophobic colloids and disperse systems*, *Acta Phys. Chim.*, 10, 333-346.
- [6] ISRAELACHVILI, Jacob N. *Intermolecular and surface forces*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2011, xxx, 674 p. ISBN 978-0-12-375182-9.
- [7] van der Waals forces. (2015). In *Encyclopædia Britannica*. Dostupné z: <http://www.britannica.com/science/van-der-Waals-forces>
- [8] TADROS, Th. F. *Correlation of viscoelastic properties of stable and flocculated suspensions with their interparticle interactions*, *Advanced in colloid and interface science*, 1996
- [9] SIGMUND, Wolfgang M., BELL, Nelson S., BERGSTRÖM, Lennart. *Novel Powder-Processing Methods for Advanced Ceramics. Journal of the American Ceramic Society*. 2004, roč. 83, č. 7, s. 1557-1574
- [10] PASQUINO, Rosana, *Rheology of viscoelastic suspensions*, Ph.D thesis
- [11] BARNES, Howard A. *Thixotropy*. *J. Non-Newtonian Fluid Mech.*, 70: 3. Retrieved 2011-11-30
- [12] KRIEGER, M. *Rheology of monodisperse lattice*, *Adv. Colloid interface sci.*, 1972
- [13] LESTER, D.R., M. RUDMAN a P.J. SCALES. *Macroscopic dynamics of flocculated colloidal suspensions. Chemical Engineering Science*. 2010, **65**(24): 6362-6378. DOI: 10.1016/j.ces.2010.09.006. ISSN 00092509.
- [14] Holmqvist, C. and Dahlkild, A. (2008), *Consolidation of sheared, strongly flocculated suspensions*. *AIChE J.*, 54: 924–939. doi: 10.1002/aic.11419
- [15] Scales, P. J., Kumar, A., van Deventer, B. B. G., Stickland, A. D. and Usher, S. P. (2015), *Compressional dewatering of flocculated mineral suspensions*. *Can. J. Chem. Eng.*, 93: 549–552. doi: 10.1002/cjce.22137
- [16] SU, B, S DHARA a L WANG. *Green ceramic machining: A top-down approach for the rapid fabrication of complex-shaped ceramics. Journal Of The European Ceramic Society* [online]. ELSEVIER SCI LTD, 2008, **28**(11): 2109-2115
- [17] HE, Rj, Rb ZHANG, XL ZHU, K WEI, Zl QU, Ym PEI a Dn FANG. *Improved Green Strength and Green Machinability of ZrB₂-SiC Through Gelcasting Based on a Double Gel Network. Journal Of The American Ceramic Society* [online]. WILEY-BLACKWELL, 0140n. 1., **97**(8): 2401-2404

- [18] KAMBOJ, Rk, S DHARA a P BHARGAVA. Machining behaviour of green gelcast ceramics. *Journal Of The European Ceramic Society* [online]. ELSEVIER SCI LTD, 0030n. 1., **23**(7): 1005-1011
- [19] GILISSEN, R, J.P ERAUW, A SMOLDERS, E VANSWIJGENHOVEN a J LUYTEN. Gelcasting, a near net shape technique. *Materials and Design* [online]. 2000, **21**(4): 251-257
- [20] GAUCKLER, L.J., Th. GRAULE a F. BAADER. Ceramic forming using enzyme catalyzed reactions. *Materials Chemistry and Physics*. 1999, **61**(1): 78-102.
- [21] BINNER, J.G.P., A.M. MCDERMOTT, Y. YIN, R.M. SAMBROOK a B. VAIDHYANATHAN. In situ coagulation moulding: a new route for high quality, net-shape ceramics. *Ceramics International*. 2006, **32**(1): 29-35.
- [22] VELAMAKANNI, Bhaskar V., Jeanne C. CHANG, Fred F. LANGE a Dale S. PEARSON. New method for efficient colloidal particle packing via modulation of repulsive lubricating hydration forces. *Langmuir*. 1990, **6**(7): 1323-1325.
- [23] DAHAN, Elianne a Pudupadi R. SUNDARARAJAN. Thermoreversible Physical Gels of Poly(dimethylsiloxane) without Cross-Links or Functionalization. *Langmuir*. 2013, **29**(27): 8452-8458.
- [24] GRAULE, T.J and GAUCKLER TJ. *Direct coagulation casting - A new green shaping technique I. Processing principles*, Industrial ceramics, Vol. 16, No. 1, 1996, 31-35
- [25] PADILLA, S., S. SÁNCHEZ-SALCEDO, M. VALLET-REGÍ, R.M. SAMBROOK a B. VAIDHYANATHAN. Bioactive and biocompatible pieces of HA/sol-gel glass mixtures obtained by the gel-casting method: a new route for high quality, net-shape ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2005, **75A**(1): 63-72.
- [26] RAMAY, Hassna Rehman, Miqin ZHANG, M. VALLET-REGÍ, R.M. SAMBROOK a B. VAIDHYANATHAN. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods: a new route for high quality, net-shape ceramics. *Biomaterials*. 2003, **24**(19): 3293-3302.
- [27] SEPULVEDA, Pilar, F. S. ORTEGA, Murilo D. M. INNOCENTINI, Victor C. PANDOLFELLI a B. VAIDHYANATHAN. Properties of Highly Porous Hydroxyapatite Obtained by the Gelcasting of Foams: a new route for high quality, net-shape ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2000, **83**(12): 3021-3024.
- [28] MAO, Xiaojian, Shunzo SHIMAI, Manjiang DONG, Shiwei WANG a B. VAIDHYANATHAN. Investigation of New Epoxy Resins for the Gel Casting of Ceramics: a new route for high quality, net-shape ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2008, **91**(4): 1354-1356.
- [29] MAO, Xiaojian, Shunzo SHIMAI a Shiwei WANG. Gelcasting of alumina foams consolidated by epoxy resin. *Journal of the European Ceramic Society*. 2008, **28**(1): 217-222.
- [30] XIE, Rui, Kechao ZHOU, Xueping GAN, Dou ZHANG a J. SMIALEK. Effects of Epoxy Resin on Gelcasting Process and Mechanical Properties of Alumina Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2013, **96**(4): 1107-1112.
- [31] GHOMI, H., M.H. FATHI, H. EDRIS, Dou ZHANG a J. SMIALEK. Fabrication and characterization of bioactive glass/hydroxyapatite nanocomposite foam by gelcasting method. *Ceramics International*. 2011, **37**(6): 1819-1824.
- [32] POCZEK, Marek, M.H. FATHI, H. EDRIS, Dou ZHANG a J. SMIALEK. Hydroxyapatite foams produced by gelcasting using agarose. *Materials Letters*. 2008, **62**(6-7): 1055-1057.
- [33] MAY, Clayton A. *Epoxy resins: chemistry and technology*. 2nd ed., rev. and expanded /. New York: M. Dekker, c1988, x, 1242 p. ISBN 08-247-7690-9.

- [34] EHLERS, Jan-Eric, Nelson G. RONDAN, Lam K. HUYNH, Ha PHAM, Maurice MARKS a Thanh N. TRUONG. Theoretical Study on Mechanisms of the Epoxy–Amine Curing Reaction. *Macromolecules*. 2007, **40**(12): 4370-4377.
- [35] CHEN, Biqin, Dongliang JIANG, Jingxian ZHANG, Manjiang DONG, Qingling LIN, Gabriel GROENINCKX, Paula MOLDENAERS a Sabu THOMAS. Gel-casting of β -TCP using epoxy resin as a gelling agent. *Journal of the European Ceramic Society*. 2008, **28**(15): 2889-2894.
- [36] MAO, Xiaojian, Shunzo SHIMAI, Shiwei WANG, Manjiang DONG, Lingling JIN, Gabriel GROENINCKX, Paula MOLDENAERS a Sabu THOMAS. Rheological characterization of a gelcasting system based on epoxy resin. *Ceramics International*. 2009, **35**(1): 415-420.
- [37] MAO, Xiaojian, Shunzo SHIMAI, Manjiang DONG, Shiwei WANG, Lingling JIN, Gabriel GROENINCKX, Paula MOLDENAERS a Sabu THOMAS. Gelcasting of Alumina Using Epoxy Resin as a Gelling Agent. *Journal of the American Ceramic Society*. 2007, **90**(3): 986-988.
- [38] MAO, Xiaojian, Shunzo SHIMAI, Manjiang DONG, Shiwei WANG, Lingling JIN, Gabriel GROENINCKX, Paula MOLDENAERS a Sabu THOMAS. Investigation of New Epoxy Resins for the Gel Casting of Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2008, **91**(4): 1354-1356.
- [39] THOMAS, Raju, Sebastien DURIX, Christophe SINTUREL, Tolib OMONOV, Sara GOOSSENS, Gabriel GROENINCKX, Paula MOLDENAERS a Sabu THOMAS. Cure kinetics, morphology and miscibility of modified DGEBA-based epoxy resin – Effects of a liquid rubber inclusion. *Polymer*. 2007, **48**(6): 1695-1710.
- [40] Gao, J. and Li, Y. (2000), Curing kinetics and thermal property characterization of a bisphenol-S epoxy resin and DDS system. *Polym. Int.*, 49: 1590–1595.
- [41] LAIREZ, D., M. ADAM, J. R. EMERY a D. DURAND. Rheological behavior of an epoxy/amine system near the gel point. *Macromolecules*. 1992, **25**(1): 286-289.
- [42] GAUCKLER, L. J., M. M. WAEBER, C. CONTI a M. JACOB-DULIERE. Ceramic Foam For Molten metal Filtration: A Review. *JOM*. 1985, **37**(9): 47-50.
- [43] PATCAS, Florina Corina, Gerardo Incera GARRIDO, Bettina KRAUSHAAR-CZARNETZKI a M. JACOB-DULIERE. CO oxidation over structured carriers: A comparison of ceramic foams, honeycombs and beads. *Chemical Engineering Science*. 2007, **62**(15): 3984-3990.
- [44] SCHEFFLER, ed. by Michael a Paolo COLOMBO. *Cellular ceramics: structure, manufacturing, properties and applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. ISBN 978-352-7313-204.
- [45] STUDART, Andre R., Urs T. GONZENBACH, Elena TERVOORT a Ludwig J. GAUCKLER. Processing Routes to Macroporous Ceramics: A Review. *Journal of the American Ceramic Society*. 2006, **89**(6): 1771-1789.
- [46] FIALA, Jaroslav a Ivo KRAUS. *Povrchy a rozhraní*. Vyd. 1. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2009, 299 s. ISBN 978-80-01-04248-9.
- [47] CONGLETON, J a N.J PETCH. Dislocation movement in the brittle fracture of alumina. *Acta Metallurgica*. 1966, **14**(10): 1179-1182.
- [48] *Efektivní obrábění keramiky zesílené vlákny* [online]. 2009, (10) [cit. 2015-08-19]. Dostupné z: <http://www.mmspektrum.com/clanek/efektivni-obrabeni-keramiky-zesilene-vlakny.html>
- [49] SAMANT, Anoop N. a Narendra B. DAHOTRE. Laser machining of structural ceramics—A review. *Journal of the European Ceramic Society*. 2009, **29**(6): 969-993.

- [50] CHELULE, K.L, T.J COOLE a D.G CHESHIRE. An investigation into the machinability of hydroxyapatite for bone restoration implants. *Journal of Materials Processing Technology*. 2003, **135**(2-3): 242-246.
- [51] *Goodfellow* [online]. [cit. 2015-08-19]. Dostupné z: <http://www.goodfellow-ceramics.com/>
- [52] *Accuratus* [online]. [cit. 2015-08-19]. Dostupné z: <http://accuratus.com/index.htm>
- [53] BEUER, F., J. SCHWEIGER a D. EDELHOFF. Digital dentistry: an overview of recent developments for CAD/CAM generated restorations. *BDJ*. 2008-5-10, **204**(9): 505-511.
- [54] FILSER, F., P. KOCHER a L.J. GAUCKLER. Net-shaping of ceramic components by direct ceramic machining: an overview of recent developments for CAD/CAM generated restorations. *Assembly Automation*. 2003, **23**(4): 382-390.
- [55] DENRY, I, J KELLY a L.J. GAUCKLER. State of the art of zirconia for dental applications: an overview of recent developments for CAD/CAM generated restorations. *Dental Materials*. 2008, **24**(3): 299-307.
- [56] *CAD/CAM blocks* [online]. [cit. 2015-08-19]. Dostupné z: <http://www.dentalcompare.com/Restorative-Dentistry/4871-CAD-CAM-Blocks/>
- [57] NG, S.H., J.B. HULL a J.L. HENSHALL. Machining of novel alumina/cyanoacrylate green ceramic compacts. *Journal of Materials Processing Technology*. 2006, **175**(1-3): 299-305.
- [58] DOROZHKIN, Sergey. Calcium Orthophosphate-Based Bioceramics. *Materials*. 2013, **6**(9): 3840-3942.
- [59] HIRABAYASHI, Shigeru, KUMANO, Kiyoshi. Contact of hydroxyapatite spacers with split spinous processes in double-door laminoplasty for cervical myelopathy. *Journal of Orthopaedic Science*. 1999, roč. 4, č. 4, s. 264-268.
- [60] SAKAMOTO, Michiko a Toshio MATSUMOTO. Development and Evaluation of Superporous Ceramics Bone Tissue Scaffold Materials with Triple Pore Structure A) Hydroxyapatite, B) Beta-Tricalcium Phosphate. *Bone Regeneration*. InTech, 2012, **6**(9): 3840-3942.
- [61] LEGEROS, R. Z., S. LIN, R. ROHANIZADEH, D. MIJARES a J. P. LEGEROS. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. **14**(3): 201-209.
- [62] MENDONÇA, Flavia, L.H.L. LOURO, Jose B. DE CAMPOS, Marcelo H. PRADO DA SILVA a J. P. LEGEROS. Porous Biphasic and Triphasic Bioceramics Scaffolds Produced by Gelcasting. *Key Engineering Materials*. 2008, **361-363**(3): 27-30.
- [63] KOSTORZ, Edited by Gernot. *High-tech ceramics: viewpoints and perspectives*. London: Academic Press, 1989. ISBN 01-242-1950-0
- [64] CAO, Wanpeng, HENCH, Larry L. Bioactive materials. *Ceramics International*. 1996, roč. 22, č. 6, s. 493-507
- [65] REY, C., C. COMBES, C. DROUET a D. GROSSIN. Bioactive Ceramics: Physical Chemistry. *Comprehensive Biomaterials*. Elsevier, 2011
- [66] LEGEROS, Racquel Z., C. COMBES, C. DROUET a D. GROSSIN. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics: Physical Chemistry. *Clinical Materials*. Elsevier, 1993, **14**(1): 65-88.
- [67] CARRODEGUAS, R.G. a S. DE AZA. A-Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 2011, **7**(10): 3536-3546.

- [68] BOHNER, Marc, Reto LUGINBÜHL, Christian REBER, Nicola DOEBELIN, Gamal BAROUD a Egle CONFORTO. A physical approach to modify the hydraulic reactivity of α -tricalcium phosphate powder. *Acta Biomaterialia*. 2009, **5**(9): 3524-3535
- [69] CAMIRÉ, C.L., U. GBURECK, W. HIRSIGER a M. BOHNER. Correlating crystallinity and reactivity in an α -tricalcium phosphate. *Biomaterials*. 2005, **26**(16): 2787-2794.
- [70] . OGOSE, Akira, Tetsuo HOTTA, Hiroyuki KAWASHIMA, Naoki KONDO, Wenguang GU, Takeshi KAMURA a Naoto ENDO. Comparison of hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2005, **72B**(1): 94-101.
- [71] BOHNER, Marc. Reactivity of calcium phosphate cements. *Journal of Materials Chemistry*. 2007, **17**(38): 3980-.
- [72] TAMAI, Masato, Ryusuke NAKAOKA a Toshie TSUCHIYA. Cytotoxicity of Various Calcium Phosphate Ceramics. *Key Engineering Materials*. 2006, **309-311**(38): 263-266.
- [73] KARAGEORGIU, V a D KAPLAN. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 2005, **26**(27): 5474-5491.
- [74] GARIBOLDI, Maria Isabella a Serena M. BEST. Effect of Ceramic Scaffold Architectural Parameters on Biological Response. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2015, **3**(27)
- [75] BIGNON, A., J. CHOUTEAU, J. CHEVALIER, G. FANTOZZI, J.-P. CARRET, P. CHAVASSIEUX, G. BOIVIN, M. MELIN a D. HARTMANN. Effect of micro- and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2003, **14**(12): 1089-1097.
- [76] DELIGIANNI, Despina D, Nikoleta D KATSALA, Petros G KOUTSOUKOS, Yiannis F MISSIRLIS, J.-P. CARRET, P. CHAVASSIEUX, G. BOIVIN, M. MELIN a D. HARTMANN. Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomaterials*. 2000, **22**(1): 87-96.
- [77] RUMPLER, M., A. WOESZ, J. W.C DUNLOP, J. T VAN DONGEN, P. FRATZL, P. CHAVASSIEUX, G. BOIVIN, M. MELIN a D. HARTMANN. The effect of geometry on three-dimensional tissue growth. *Journal of The Royal Society Interface*. 2008, **5**(27): 1173-1180.
- [78] DI MARTINO, Alberto, Michael SITTINGER a Makarand V. RISBUD. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*. 2005, **26**(30): 5983-5990.
- [79] ZHANG, Yong, Miqin ZHANG a Makarand V. RISBUD. Three-dimensional macroporous calcium phosphate bioceramics with nested chitosan sponges for load-bearing bone implants: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2002, **61**(1): 1-8.
- [80] KONG, Lijun, Yuan GAO, Wenling CAO, Yandao GONG a ZHANG. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan composite scaffolds: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2005, **75A**(2): 1-8.

- [81] CHANG, Shu-Wei, Markus J. BUEHLER, Wenling CAO, Yandao GONG, Nanming ZHAO a Xiufang ZHANG. Molecular biomechanics of collagen molecules: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Materials Today*. 2014, **17**(2)
- [82] WAHL, Denys A., Eleftherios SACHLOS, Chaozong LIU, Jan T. CZERNUSZKA, Nanming ZHAO a Xiufang ZHANG. Controlling the processing of collagen-hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2007, **18**(2): 201-209.
- [83] WANG, Xiaohong, Heinz C SCHRÖDER, Matthias WIENS, Hiroshi USHIJIMA a Werner EG MÜLLER. Bio-silica and bio-polyphosphate: applications in biomedicine (bone formation). *Current Opinion in Biotechnology*. 2012, **23**(4): 570-578.
- [84] SCHRÖDER, H.C., X.H. WANG, M. WIENS, B. DIEHL-SEIFERT, K. KROPF, U. SCHLOBMACHER a W.E.G. MÜLLER. Silicate modulates the cross-talk between osteoblasts (SaOS-2) and osteoclasts (RAW 264.7 cells): Inhibition of osteoclast growth and differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2012, **113**(10): 3197-3206.
- [85] MÜLLER, Werner E.G., Xiaohong WANG, Bärbel DIEHL-SEIFERT, Klaus KROPF, Ute SCHLOßMACHER, Ingo LIEBERWIRTH, Gunnar GLASSER, Matthias WIENS a Heinz C. SCHRÖDER. Inorganic polymeric phosphate/polyphosphate as an inducer of alkaline phosphatase and a modulator of intracellular Ca² level in osteoblasts (SaOS-2 cells) in vitro. *Acta Biomaterialia*. 2011, **7**(6): 2661-2671.