



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

## POKROČILÁ KERAMIKA PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

ADVANCED CERAMICS FOR TISSUE ENGINEERING

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jan Vojtíšek

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Eva Bartoníčková, Ph.D.

BRNO 2016



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: FCH-BAK0969/2015 Akademický rok: 2015/2016  
Ústav: Ústav chemie materiálů  
Student(ka): Jan Vojtíšek  
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)  
Studijní obor: Chemie, technologie a vlastnosti materiálů (2808R016)  
Vedoucí práce: Ing. Eva Bartoničková, Ph.D.  
Konzultanti:

### Název bakalářské práce:

Pokročilá keramika pro tkáňové inženýrství

### Zadání bakalářské práce:

Cílem práce je studium keramických materiálů, jak z oblasti pokročilé, tak i tradiční keramiky vhodných pro tkáňové inženýrství.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2016

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Jan Vojtíšek  
Student(ka)

-----  
Ing. Eva Bartoničková, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Josef Jančář, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou keramických materiálů vhodných pro tkáňové inženýrství. Uměle vytvořené náhrady lidské tkáně můžeme rozdělit do několika generací. Patří tam inertní, bioaktivní a bioresorbovatelné materiály. Resorbovatelné náhrady se připravují z materiálů, které nahradí hostitelskou tkáň, např. hydroxyapatit. HA se může připravit několika způsoby, které jsou rozděleny na dvě hlavní skupiny (suchá a mokrá cesta). Pro lepší využití v medicíně se používají keramické pěny, které se nejčastěji připravují pěněním in situ nebo replikační technikou. Experimentální část se zabývá přípravou hydroxyapatitového prášku a optimalizací postupu. Vzorky byly charakterizovány IČ a Ramanovou spektrometrií, XRD analýzou a sledována velikost částic na SEM. In situ pěněním byly připraveny pěny z  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , čistého HA a kompozitu (v poměrech 50 – 50, 75 – 25 a 90 – 10). Byla měřena jejich porozita stereolupou, objemová hmotnost a sledování slinutí SEM mikroskopii.

## **ABSTRACT**

This bachelor's thesis deals issues of ceramics materials suitable for tissue engineering. An artificial substitute for human tissue can be divided to several generations. This include inert, bioactive and bioresobable materials. Resorbable substitutions are prepared from materials, which could substitute host tissue, for example hydroxyapatite. HA can be prepared in different ways (dry and wet way). To better application in medicine, ceramics foams prepared by in situ foaming or replication technique are using. Experimental part of this paper deals preparing of hydroxyapatite powder and process optimization. Samples was characterized by IR and Raman spectrometry, XRD analysis and particle size was studied by SEM. Ceramics foams was prepared by in situ foaming from  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , HA and composites (in ratio 50 – 50, 75 – 25, 90 – 10). Porosity was evaluated by stereomicroscope, density and level of sintering was studied by SEM microscopy.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Syntéza, precipitace, in situ pění, suspenze, hydroxyapatit, kompozit, slinování, porozita, nanočástice

## **KEYWORDS**

Synthesis, precipitation, in situ foaming, suspension, hydroxyapatite, composite, sintering, porosity, nanoparticles

VOJTÍŠEK, J. *Pokročilá keramika pro tkáňové inženýrství*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 60 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Bartoníčková, Ph.D.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vykonal samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### **Poděkování**

Chtěl bych poděkovat především mé skvělé vedoucí bakalářské práce Ing. Evě Bartoníčkové, Ph.D. za odborné vedení, také čas, který mi byl věnován, předávání informací a korekturu této práce. Dále také mé díky patří i ostatním pracovníkům Fakulty chemické za jejich ochotu a pomoc při práci.

## OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	CÍL PRÁCE.....	8
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
3.1	Biomateriál.....	9
3.1.1	I. generace.....	9
3.1.2	II. generace.....	10
3.1.3	III. generace.....	11
3.2	Zpracování a příprava.....	12
3.2.1	Příprava a tvarování.....	12
3.2.2	Sušení a výpal.....	13
3.3	Metody přípravy keramických pěn.....	14
3.3.1	Metoda pění in situ.....	15
3.3.2	Replikační metoda.....	16
3.3.3	Metoda „obětování“ dispergovaných polymerních částic.....	17
3.3.4	Další metody příprav.....	17
3.4	Apatity.....	18
3.4.1	Hydroxyapatit.....	19
3.4.2	Metody příprav hydroxyapatitu.....	20
3.4.3	Příprava HA suchou cestou.....	20
3.4.4	Příprava HA mokrou cestou.....	20
3.5	Testy bioaktivity.....	22
3.5.1	In vivo.....	22
3.5.2	In vitro.....	22
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	24
4.1	Stanovení čistoty $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .....	24
4.2	Syntéza hydroxyapatitu.....	24
4.3	Pěny.....	27
4.3.1	Test napěňování.....	27
4.3.2	$\text{Al}_2\text{O}_3$ pěny.....	27
4.3.3	Hydroxyapatitové pěny.....	29
4.3.4	Kompozitní pěny.....	30
4.4	Testování a charakterizace.....	30

4.4.1	Turbidimetrie .....	30
4.4.2	Reologie suspenzí .....	31
4.4.3	Infračervená spektrometrie .....	31
4.4.4	Ramanova spektrometrie .....	32
4.4.5	Rentgenová analýza .....	32
4.4.6	Mikroskopie .....	32
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	34
5.1	Stanovení čistoty $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .....	34
5.2	Syntéza hydroxyapatitu.....	34
5.3	Pěny.....	42
5.3.1	Test napěňování .....	42
5.3.2	Žárová mikroskopie .....	44
5.3.3	$\text{Al}_2\text{O}_3$ , HA a kompozitní pěny .....	45
5.3.4	Stereolupa .....	46
5.3.5	Skenovací elektronový mikroskop.....	48
5.3.6	Objemová hmotnost měřena pyknometricky .....	51
5.3.7	Metoda trojího vážení za využití Archimedova zákona .....	52
6	ZÁVĚR.....	54
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	56
8	Seznam použitých zkratk a symbolů .....	60
9	Přílohy .....	61

# 1 ÚVOD

Opěrná soustava člověka, ačkoli je velmi odolná, může někdy vlivem úrazů, nemocí nebo opotřebení, přijít o životně důležitou část. V takovém případě je třeba původní tkáň nahradit vhodným implantátem. První pokusy o nahrazení tkáně se datují na roky dávne před Kristem, ale intenzivní vývoj tato oblast medicíny zažila až v druhé polovině 20. století. Nedostižitelnost výroby kopie původní kostní tkáně je v posledních letech vylepšována oborem tkáňového inženýrství. To nepoužívá pouze inertní náhrady, vyrobené z kovů, jako například titan nebo chirurgická ocel. Mimo to se také rozvíjí kompozitní náhrady, které jsou vyrobeny z inertního kovu s povrchovou úpravou. Na takové náhrady se nanáší keramická vrstva. Ta z inertního kovu dělá bioaktivní náhradu, díky zlepšení kompatibility v místě náhrady. Keramická část mívá pěnovou strukturu, která oproti hutné keramice má nesporné výhody. Bioaktivita spočívá ve vrůstání hostitelské tkáně do pórů náhrady, dojde k fixaci a stabilizaci implantátu. Pro přípravu keramických pěn existuje několik technik příprav. Keramická suspenze se může napěňovat in situ, tedy přímým napěněním, replikací atd. Negativem těchto pěn jsou jejich špatné mechanické vlastnosti, jako je křehkost a pevnost. Nejnovější kategorií u implantovaných materiálů jsou bioresorbovatelné náhrady. Jeden z nejvíce zkoumaných materiálů je hydroxyapatit. Tato látka, která je z 60 % obsažena v lidské kosti se zdá jako vhodným materiálem pro náhradu původní tkáně. Časté využívání této náhrady brzdí, tak jako keramiku, její špatné mechanické vlastnosti. Možné použití je v místech, které nemají opěrnou a nosnou funkci nebo při přípravě kompozitní náhrady. Hydroxyapatit je přírodní minerální látka, která se dá syntetizovat velkým množstvím postupů a různými technikami příprav. V případě použití jakéhokoli materiálu, který je vhodný svými požadavky jako náhrada, je třeba provést testování materiálu na jeho toxicitu a interakci s tkání. Prvotním přístupem je testování in vitro. To se dělá v laboratorním skle a využívá se buněčných roztoků a tkání, pro sledování reakce s implantovaným materiálem. Dalším krokem je testování in vivo. Tyto testy spočívají v implantování do zvířete nebo člověka, který vytváří testovací prostředí [1, 2, 3, 4].

## 2 CÍL PRÁCE

Bakalářská práce se zaměřuje na studium keramických materiálů, jak z oblasti pokročilé, tak i tradiční keramiky vhodných pro tkáňové inženýrství. Cílem práce bylo:

- rešerše na téma přípravy pěnové tradiční i pokročilé keramiky
- syntéza hydroxyapatitového prášku a jeho charakterizace
- příprava napěněných vzorků na bázi oxidu hlinitého, hydroxyapatitu a kompozitů
- sledování porozity a změn po slinutí



## 3 TEORETICKÁ ČÁST

### 3.1 Biomateriál

Biomateriálem nazýváme synteticky vytvořené látky schopné nahradit části lidského těla. Nejčastější příčiny těchto zásahů do lidského organismu je klesání kostní hustoty nebo zranění. Proces klesání hustoty kostí je výsledkem snížení činnosti osteoblastů (kostních buněk). S postupujícím časem respektive věkem jsou tyto buňky méně produktivní a snižuje se pevnost kostí (zlomeniny, zhroucení páteře). Záznamy o činnosti nahrazování tkáně anorganickými látkami jsou 2 000 let staré, nicméně většina těchto implantátů se setkala s neúspěchem, vzhledem k reakci materiálů s živou tkání [1, 2].

Biomateriály se začaly nejvíce rozvíjet a studovat v druhé polovině 20. století. Do té doby se náhrady přebíraly z různých průmyslových oblastí. Dnešní lékařství, které při chirurgických zákrocích jako endoprotézy kloubů, čtených zlomenin kostí, skoliózy a jiných problémů pohybového aparátu, už využívá klinicky vyvíjené náhrady. Hlavním cílem při vývoji implantátu je samozřejmě mechanická tuhost, nízký modul pružnosti či lomu a náhrada tkáně by měla být co nejlepší biologickou šablonou lidského těla. V případě velkých rozdílů, jak tvarových, tak i chemických, by takto voperovaná náhrada způsobovala velké změny a problémy. Rozvoj se z implantátu kostí, zubů a jiných tvrdých tkání rozvinul na oblasti jako umělé srdeční chlopně, tepny a kožní transplantáty, což nazýváme jako tkáně měkké [3, 4].

Základní vlastnosti, které musí materiál splňovat, abychom ho nazývali biomateriálem, jsou bioinertnost, biokompatibilita a biofunkčnost. Funkčnost materiálů, který by měl být náhradou živé tkáně, musí splňovat požadavky mechanických vlastností jako je únavová pevnost, pevnost v tahu a Youngův modul. Z fyzikálního hlediska je nejdůležitější povrch, odolnost proti korozi a oxidaci. Kompatibilita je definována jako snášenlivost živé tkáně na implantát. Takový materiál po voperování do těla nezpůsobuje negativní odezvy na svém povrchu ani nemá negativní dopad na hostitele.

Hlavní směry rozdělení materiálů používaných pro tkáňové implantáty se dělí podle reakce s živou, hostitelskou tkání. Tyto 3 generace, na sebe navazují vývojově, nicméně i přes výzkum a vývoj nejnovějších technologií se stále zkoumá i generace první, protože z těchto poznatků pak můžou dále pracovat biomateriály nové.

#### 3.1.1 I. generace

Do této kategorie patří materiály, které nazýváme bioinertní. U tohoto směru je nejdůležitější, aby splňovaly základní mechanické, chemické a fyzikální vlastnosti. Musí být biokompatibilní, netoxické a bez imunitní reakce hostitele na cizí těleso. Patří sem kovy a bioinertní keramika. Kovy se používají pro jejich mechanické požadavky při aplikacích na místech, jako jsou kyčle. Zejména slitiny titanu, které z leteckého průmyslu našly díky svým vynikajícím biomedicínským vlastnostem uplatnění i v medicíně. Jsou vynikající v ortopedii z důvodu jejich pevnosti a nízkému modulu pružnosti. Titan vykazuje velmi rychlou pasivaci a rychle tvoří na svém povrchu film oxidu. Tímto dějem nedochází ke kontaktu titanu s hostitelskou tkání. Další velmi používané jsou implantáty z nerezové oceli, která disponuje velmi nízkou cenou, dostupností a dobrým zpracováním. Speciální slitina Ni-Ti, která svou schopností obnovit tvar po plastické deformaci, má obrovský modul pružnosti a elasticitu se dá využít jako fixační prostředek do dlouhých kostí, obratlů a zlomenin.

Nicméně svým složením a následným uvolňováním Ni do lidského těla způsobuje alergie a toxicitu, která může přejít až ke vzniku karcinomu. Implantáty na bázi Ni-Ti jsou v Evropě a v USA zakázány, nicméně výzkum stále pracuje na nalezení směsi kovů, která by měla stejné mechanické vlastnosti a pro organismus by nebyla škodlivá. I když se implantát prakticky nehýbe, dochází k relativním posunům a následným vznikům neadhezivních vláknitých struktur. Tímto dochází ke zhoršení funkce implantátu. Na množství pohybu pak závisí velikost vláknité kapsle a následným klinickým selháním implantovaného místa [4, 5]. Neabsorbující keramika ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$ ) patří mezi inertní materiály a prakticky nemá v čase chemické změny, při expozici s tělní tekutinou. Dále má vysokou tvrdost, odolnost proti opotřebení a skvělé biokompatibilní vlastnosti. Výhodou oproti kovovým implantátům má inertní keramika ve větší pórovitost a tím dochází k větší stabilizaci materiálu. Vrůstáním tkáně do implantátu tak vzniká daleko větší mezifázová plocha, což snižuje pohyb implantátu ve tkáni (biologická fixace). Její použití je stejně rozmanité jako u kovů, např. protézy kloubů, stabilizace čelisti a zubních můstků [2, 6].



Obr. 1: Inertní náhrada původního zubního kořene titanovým šroubem [7]

### 3.1.2 II. generace

Zde hovoříme o bioaktivních a bioresorbovatelných materiálech. Kostní apatit tvoří v těle přírodní, minerální vápenatou tkáň, kterou se snažíme bioaktivními náhradami co nejpřesněji napodobit. Bioaktivní materiál vyvolá tvorbu chemické vazby mezi implantátem a tkání. Patří zde apatity, bioskla, sklokeramické a kompozitní materiály. U bioaktivní keramiky hovoříme o hydroxyapatitech ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), což je struktura podobná biologickému apatitu. Hydroxyapatit (HA) je biokonduktivní materiál s osteokonduktivními vlastnostmi. Využití je např. při povlakování implantátů (kyčelních kloubů). Bioaktivní sklo, které vyvinul pan L. L. Henche, obsahující  $\text{SiO}_2$  s příměsí  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  a  $\text{P}_2\text{O}_5$  ve správném poměru dává materiál s vysokou reaktivitou vůči tělní tekutině a vytváří vazbu s tvrdou i měkkou tkání. Neprospěch této náhrady je velmi nízká mechanická pevnost, nízká houževnatost v lomu [8]. Ta se dá zvýšit tepelným zpracováním a následnou přeměnou na sklené krystalky. Výsledkem tohoto děje je sklokeramický produkt.

Sklokeramika, která je bioaktivní anorganická polykrystalická látka tvořena dvěma krystalickými fázemi – apatit ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) a wollastonit ( $\text{CaSiO}_3$ ). Tímto dosáhneme lepších mechanických vlastností [3]. Kompozity, které patří do biomateriálů druhé generace, jsou složeny z 2 a více chemicky odlišných fází (kov, keramika, polymer). Tento typ materiálu se vyznačuje jedinečnými vlastnostmi jako je pevnost, houževnatost a odolnost proti únavě. Implantát může kombinací fází dosáhnout vynikající biokompatibility, což je ale spojeno s náročností na výrobu. Zde se snažíme zamezit vadám v produktu, což by mělo při voperování do organismu a následným mechanickým poškozením, kvůli vadnému kusu, celkem vážné následky. Kompozitní materiály můžeme rozdělit na bioinertní (kov / kov), bioaktivní (kov / biosklo, keramika) a bioresorbovatelné.

Za resorbovatelné biomateriály považujeme takové, které postupně degradují v čase a nahrazují hostitelskou tkáň. Mezi látky, které tvoří tyto materiály, patří vápenaté soli, fosforečnany ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 = \text{TCP}$  – tricalcium phosphate) a uhličitany. Komplikující na tomto je, že degradace implantátu může být rychlejší než nahrazování hostitelskou tkání. Nežádoucí je také resorpce tkáně v závislosti na typu tkáně a věku člověka, kterému byla implantována náhrada tkáně. V neposlední řadě musí být směs látek metabolicky přijatelná, jinak by to mělo velmi nežádoucí vlivy na hostitele [2, 8].



*Obr. 2: Náhrada kyčelního kloubu ze slitiny titanu a keramickou povrchovou úpravou [9]*

### **3.1.3 III. generace**

Tato technologie, která se rozvíjí v posledních dvou desítkách let, se nazývá tkáňové inženýrství. Hlavním cílem je oprava a náhrada poškozené tkáně. První případy tohoto směru byly s kožními náhradami po popálení, kde základ implantátu tvořil kolagenový kompozit, který pomáhal k regeneraci a reparaci kůže. Moderní tkáňové inženýrství pracuje na opravách chrupavek, kostí, šlach, jater, ale i srdečního svalu. Tkáňové inženýrství pracuje s biologicky odbouratelnými kompozity a polymery na bázi kyseliny polymléčné a kyseliny polyglykolové. Chirurg biopsií odebere buňky, které jsou klinicky rozmnoženy. Za pomoci přírodního materiálu, keramiky nebo kompozitu jsou buňky chirurgicky dopraveny na místo, kde je třeba původní tkáň nahradit. Tato metoda má rychlý vývoj, nicméně zatím se jedná ve většině případů pouze o klinické testy a rozvoj tohoto odvětví [3, 8].

## 3.2 Zpracování a příprava

Se zvyšujícím se množstvím a uplatnění keramických materiálů rostou nároky na jejich použití a také požadavky na výsledné produkty. Měly by být co nejdokonalěji homogenní, což znamená mít co nejjemnější prášek, který má dobrou distribuci částic a prakticky bez trhlin a defektů po slinování. Jedním z důležitých věcí jak připravit kvalitní keramiku je odstranění aglomerátů. I přes míchání směsi, se můžou stále vyskytovat aglomeráty, které následně negativně ovlivňují reologii, slinování a zhoršují celkové vlastnosti připraveného materiálu [10].

### 3.2.1 Příprava a tvarování

Pro optimalizaci přípravy a dosažení požadovaných vlastností keramiky je zapotřebí různá granulometrie výchozích látek. Tradiční stavební materiály se spokojí s průměrnou velikostí zrna v řádu 1 000 – 5 000  $\mu\text{m}$ , zatímco moderní a pokročilé keramické technologie využívají částice menší než 1  $\mu\text{m}$ . Nejběžnějším dosažením granulometrie je mletí, za různých podmínek. Mezi nejčastěji používané typy patří mletí v kulových mlýnech s mlecími tělesy z různých materiálů. Mletí se může provádět za sucha, kdy jsou mlýny nebo mlecí tělesa povlakovány pryží pro zabránění omelu z aparatury. Mletí za mokra se provádí v suspenzi za přítomnosti média na vodné či nevodné bázi, do kterých se mohou přidávat aditiva (např. pro zvýšení obsahu meliva a zároveň snížení obsahu média). Mokřým mletím můžeme dosáhnout jemnosti až v řádu nanometrů. Pro přípravu pokročilé keramiky se používá častěji příprava srážením z roztoků nebo metodou sol-gel. Tímto způsobem můžeme dosáhnout přesnějšího chemického složení ve směsi bez příměsí, velmi malé velikosti a požadovaného tvaru částic [11].



Obr. 3: Metody tvarování keramiky [10]

Pro tvarování keramiky máme několik možností přípravy. Při lisování za sucha můžeme pracovat se směsí o vlhkosti maximálně 18 % vody a přidávají se organické lisovací přísady (pojiva). Při izostatickém lisování se materiál tvaruje až v procesu slinování.

Plastické tvarování ze směsi suspenze, se provádí nejčastěji v kalolisech, kde se těsto zbaví vody na požadovanou vlhkost. Do směsi, která se dále používá na tvarování plastickou technikou, se přidávají pomocné látky, tzv. plastifikátory. Jsou to organická pojiva, které zajišťují správnou reologii směsi, pevnost a schopnost se při slinování extrahovat. Nejčastěji používanými způsoby plastického tvarování jsou injekční vstřikování, vytlačování a válcování.

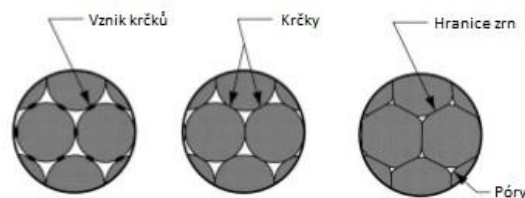
Mokrý tvarování pracuje na suspenzi voda – keramika, kde je velmi důležitý parametr dispergace prášku. Ovlivňuje reologii, viskozitu a stabilitu. Určujeme dva druhy stabilizace, kinetická, která je funkcí stupně disperze a souvisí s velikostí částic. Koagulační stabilita je úměrná velikosti elektrického náboje částice, který závisí na koncentraci elektrolytu ve směsi. Tato stabilita se zvyšuje koloidními látkami. Koagulace částic v roztoku nastane v takovém případě, když se začne snižovat difúzní dvojvrstva na micelle keramické částice. Na těchto částicích se zvyšuje působení Van der Waalsových sil a dochází k aglomeraci v suspenzi. Tato situace se nazývá izoelektrický stav, kdy převažují přitažlivé síly nad odpudivými. Další důležitou vlastností je viskozita (ovlivněna teplotou) a reologické vlastnosti, které se dají ovlivnit koagulačními činidly, přísady elektrolytu nebo ztekucujícími látkami. Mezi ztekucující přísady se řadí polyfosforečnany (hexametafosforečnan sodný), amonné a sodné soli citronové nebo polyakrylové kyseliny. Lití do sádrových forem, je způsob přípravy keramiky za mokra, který vyžaduje suspenzi s velmi nízkou viskozitou a mezí toku. Přidávají se stabilizační látky a odlévá se do sádrových forem, které udržují tvar a absorbují vodu. Vzniká střeš, jakožto filtrační, kapilární přepážka pro odtok vody. Dalšími variantami lití jsou lití pod tlakem, což má za výhodu rychlejší tvorbu střeš a zvyšování pevnosti a výsledných vlastností. Metoda přímé konsolidace je výroba, při které se pracuje se suspenzí a není zapotřebí snižovat obsah vody ve směsi. U tohoto lití se udržuje vyšší homogenita a není potřeba používat porézní keramické formy, což je cenově výhodnější. Posledním typem zpracování za mokra je tape casting (keramické fólie), kdy se vytváří tenké keramické desky, které se pak zpracovávají povlakováním a lepením. Takto se fólie vrství a používá se v hybridních integrovaných obvodech, dielektrika kondenzátorů a v polovodičích [11].

### 3.2.2 Sušení a výpal

Sušení je proces, při kterém se snižuje obsah vody v suspenzi za pomoci tepla. Směs nejčastěji obsahuje vodu volnou, a vázanou mechanicky nebo chemicky (hydráty). Tento proces by neměl mít za následek změnu chemického složení výsledku. Při odstraňování vody a aditiv, jako jsou pojiva, nesmí dojít k vytvoření defektů, které jsou způsobeny smršťováním. Ke smrštění může dojít rychlým sušením nebo příliš velkými teplotními šoky. Proto se sušení rozděluje do prohřívání (rostoucí rychlost), konstantní rychlosti, která je určena v souladu se sušeným materiálem atd., klesající rychlosti a rovnovážný stav, což je bráno jako konec [12].

Výpal je důležitý a finální krok celého výrobního procesu. Při vysoké teplotě probíhá v keramickém polotovaru tvorba mikrostruktury, dochází k přeměně modifikace a rekrystalizaci. Tvoří se tavenina (kapalná fáze) a dojde ke slnutí materiálu. Celý proces můžeme rozdělit do několika základních kroků (ohřev až chlazení). Začátek výpalu (ohřev), kde se z polotovaru vypařuje voda a materiál křehne. Druhá část ohřevu dosáhne elastických vlastností materiálu, dosahuje se optimální teploty výpalu a dojde k nevratné deformaci (záleží na vypalované keramice). Dochází ke spojení dvou makroskopických částic v jedno těleso, při teplotě blízké se k hranici bodu tání a vzniku taveniny. Zpočátku se tvoří krček mezi zrny, kde nedochází ke smrštění materiálu a následným spojením, smrštěním a ucelením v jeden kompaktní keramický celek. Základní silou při tomto procesu je energie volného povrchu částic. Dochází ke snížení Gibbsovy energie způsobené vznikem krčků (kontakty mezi částicemi) a vzniku rozhraní tuhá fáze – tuhá fáze.

Při těchto tepelných operacích a s tím souvisejícím zmenšováním poloměru zakřivení povrchu se zde vyskytují konvexní a konkávní povrchy. Konkávní povrch nám ovlivňují tahová napětí, zatímco konvexní povrch je ovlivněn tlakovým napětím. Koncentrační gradient řídí pohyb difundujících částic, molekul či atomů. V krystalických fázích zajišťuje transport hmotnosti difúze vakancí (deformace v krystalické mřížce) vyvolaná gradientem jejich koncentrace mezi konkávním povrchem krčků a vnitřkem částic (objemová difúze) nebo konvexním povrchem (povrchová difúze). Poslední částí je chlazení, kde vypálená keramika křehne vlivem klesající teploty. Tyto tři body můžeme popsat jako kritické, protože každý materiál se při výpalu chová jinak. Teplota pro optimální výpal musí stoupat pomalu a kontinuálně, jinak by mohlo dojít k porušení a deformaci výsledku (taktéž u chlazení). Stejně tak doba výpalu je důležitým časovým údajem, aby materiál ve výsledku měl co nejlepší mechanické vlastnosti a bez trhlin, prasklin, či jiných vad [11, 12, 13].



Obr. 4: Schéma procesu slinování [upraveno z 14]

### 3.3 Metody přípravy keramických pěn

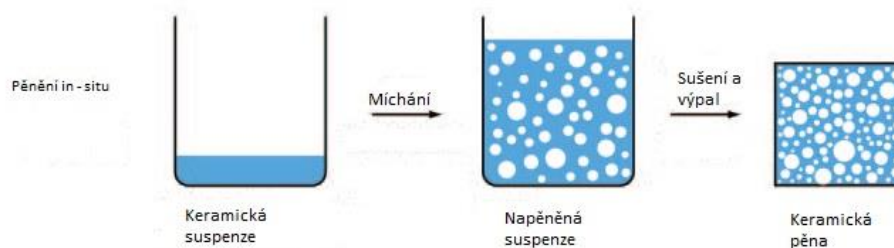
Keramické porézní materiály v posledních letech zažívají obrovský rozvoj, vzhledem k jejím velkým výhodám v materiálovém výzkumu. Aby mohl materiál být makroporézním musí splňovat požadavky jako velikost pórů od 400 nm do 4 mm a pórovitostí 20 – 97%. Keramika se specifickou pórovitostí má velkou výhodu oproti tradiční, husté keramice. Využívají se výhradně kvůli jejím mnohem nižším hmotnostem, kde je zároveň zapotřebí velká pevnost.

Dalšími vlastnostmi jako nízká tepelná vodivost, nízká hustota, vysoká pevnost se dají využít v mnoha odvětvích technologií a mají tedy mnoho využití. Velmi často se používají k filtracím kapalin, či tavenin, čištění vod od bakterií, jako filtry pevných částic v dieslových motorech a jako plynové filtry. V novějších technologiích se využívá keramických pěn v kostním tkáňovém inženýrství jako štěpy a náhrady kostí. V elektrochemii se dá využívat dále jako piezoelektrikum v ultrazvukových snímačích. Jedna z dalších a velkých odvětvích je výroba žáruvzdorných materiálů, využívané jako tepelné izolanty. K různým vlastnostem a složení výsledných produktů je potřeba dojít rozdílnými metodami příprav [15, 16, 17].

### 3.3.1 Metoda pění in situ

Jde o metodu přímého napění, kde se vnáší vzduch přímo do keramické suspenze, nejčastěji mechanicky. Nejdůležitějším krokem u tohoto pění je následné udržení struktury pórovitosti. Poté se keramika slinuje. Pórovitost je úměrná množství plynu, které se v průběhu zpracování dostane do suspenze. Velikost pórů je úměrně stabilitě keramické suspenze. Množství organických nebo syntetických látek se u této metody licích suspenzí (casting) se výrazně snižuje. Speciálním odvětvím těchto licích technik je metoda gelcasting, která funguje na principu smíchání koncentrované keramické suspenze a roztoku monomeru. Po odlití do formy a vzniku zesíťované struktury se rozpouštědlo zvýšením teploty odpaří. Tento fakt výrazně usnadňuje výrobní proces, který nemusí zahrnovat pyrolýzu. Strukturu napění můžeme udržet například povrchově aktivními látkami, což mohou být třeba amfifilní molekuly s dlouhými řetězci a biomolekuly podobné lipidům a proteinům, které dobře stabilizují mokré pěny. Zpomalují růst bublin, kdy adsorbují na jejím povrchu. Tyto látky dokážou stabilizovat materiál pouze po nějakou dobu. Po překročení se pěna zhroutí. Pro případy delšího udržení napění se přidávají surfaktanty (povrchově aktivní látky). Tyto příměsi mají různé funkce jak upevnit strukturu a napění. Mohou to být disperganty nebo koagulanty. Mezi stabilizátory napění a udržení vzduchu v napěněné suspenzi se můžou používat například želatina nebo tuhnutí agenty, do kterých patří například hlinitanové cementy. Tento tuhnutí agent má hlavní využití v žárobetonech. Principem je chemický proces, po kterém následuje rychlé ztvrdnutí. Je to způsobeno rychlou reakcí s vodou (hydratací) a stabilizací tvaru [18]. Takto napěněné keramiky dosahují velikosti pórů v rozmezí od 35  $\mu\text{m}$  do 1,2 mm a pórovitostí 40-95 %. Dalším způsobem jak připravit pěnu přímým napěním je pomocí stabilních částic. Tyto částice mají přizpůsobivý povrch a v posledních letech se dokázalo, že dobře dokáží stabilizovat plyn v suspenzi na rozhraní voda – vzduch. Tímto postupem se minimalizuje destabilizaci a udržení napěněného materiálu po dobu hodin, na rozdíl od stabilizace povrchově aktivními látkami, které udrží pěnu po dobu několika minut. Používáním koloidních částic vede k velké stabilizaci a vytvoření makroporézní keramiky, o velikosti pórů o mnoho nižší než u jiných technik příprav. Vnášení plynu u této metody přípravy může být buď mechanický, vstřikováním plynu nebo chemickou reakcí, která má jako vedlejší produkt plyn. Dosažitelná hodnota velikosti pórů je přibližně 10  $\mu\text{m}$  a pórovitost přibližně 85 – 90 %. Tyto produkty vykazují velmi dobré mechanické vlastnosti oproti dále zmíněným technikám. Stabilita pěny není moc dobrá, protože je tam velké rozhraní mezi kapalinou a plynem. Probíhají tam fyzikální procesy, které vedou k destabilizaci. Tyto mechanismy, jako odvodnění, srůstání a Oswaldovo zrání mají za následek, že při kombinaci suspenze během několika sekund ztratí vzduch, který v ní byl. Odvodnění je proces, který odděluje plyn a kapalnou fázi od sebe gravitací. Plynná složka stoupá vzhůru a hustá keramická část sedimentuje. Srůstání je zapříčiněno nedostatečnou stabilitou bublin, u kterých dochází ke spojení. Oswaldovo zrání je rozdíl Laplaceova tlaku mezi jednotlivými bublinkami v suspenzi a poté dochází ke snižování stupně disperzity [17, 19].



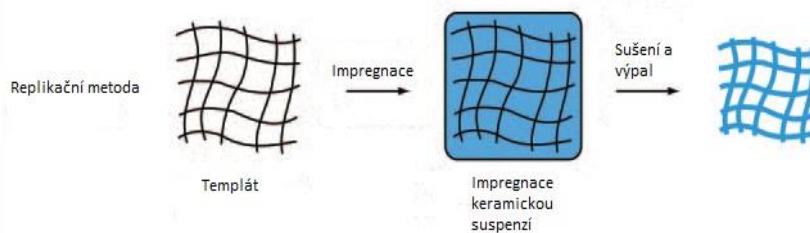


Obr. 5: Metoda pěnění in – situ [upraveno ze 17]

### 3.3.2 Replikační metoda

Tato technika, která našla světlo světa v roce 1960 pod rukama pana Schwarzwaldera a Somerse a začalo se využívat polymerní houby pro přípravu keramických pórovitých výrobků. Výrobní technologie takto vytvořené keramiky spočívá v namáčení polymeru v keramické suspenzi, vyválním přebytečné suspenze, aby byla pěna pokryta tenkou vrstvou suspenze, teplotním zpracováním, které způsobí rozklad organického templátu a slinováním, což vede k vytvoření keramického skeletu. Celý postup musí být sladěn k tomu, aby byl postup výroby schopen vytvořit správný produkt o požadovaných vlastnostech. Od materiálu polymeru, vlastností keramické suspenze a tepelné operace. Jedna z nejdůležitějších operací je pyrolýza templátu tak, aby nedošlo k porušení keramického skeletu. Tato operace zajišťuje co nejdokonalejší spálení organické části za teploty 300 – 800 °C. K tomu se vztahuje i správné zvolení materiálu, z jakého je templát složen (polyurethan, polystyren) a také vlastnosti keramické suspenze (distribuce částic, homogenita), což se dá ovlivnit přísadami, které zlepšují vlastnosti a interakci suspenze s pěnou. Nejčastěji to bývají pojiva a změkčovadla, která vážou suspenzi k polymerní pěně a snižují vzniklý tlak při výpalu, který je na vzpěrách polymerního templátu. Pojiva mohou být například koloidní orthofosforečnan hlinitý nebo draselné a sodné silikáty. Dalšími aditivami do keramické suspenze mohou být tixotropní nebo zahušťovací přísady, což jsou látky zajišťující dostatečné povlakování templátu suspenzí a zajišťují správnou viskozitu. Tixotropní látky způsobují snížení viskozity a to způsobí možný přechod z pevné fáze do kapalné a zpět, za působení mechanické energie. Mohou to být jíly nebo koloidní oxid křemičitý. Poslední a velmi důležitou operací je slinování probíhající za teplot 1 100 – 1 700 °C, což závisí na charakteristice slinovaného materiálu. Tato metoda přípravy keramických pěn nám může zajistit produkt o pórovitosti 40 – 95 % a rozměrech pórů od 200 μm – 3 mm. Nevýhodou metody je nutná položka v průběhu výrobního procesu a tou je pyrolýza, při níž může často docházet k praskání vzpěr. Možnosti zmírnění této komplikace se může templát impregnovat v suspenzi opakovaně. Dalšími možnými materiály, které by se daly použít jako templát jsou přírodní zdroje. Například korály, nebo dřevo. Dřevo má anizotropní zarovnané póry a velkou mechanickou pevnost. Dá se využít u filtrace kapalin nebo horkých plynů [16, 17].





Obr. 6: Metoda pění replikací [upraveno ze 17]

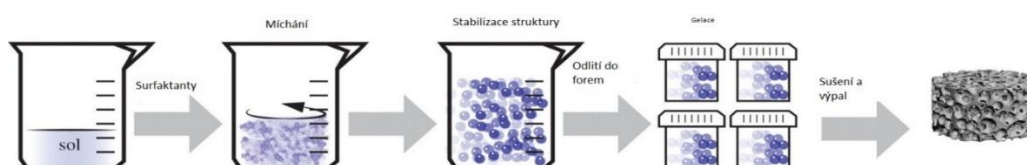
### 3.3.3 Metoda „obětování“ dispergovaných polymerních částic

Tato metoda, která je odvětvím techniky replikace, je založena na vytvoření dvoufázové keramické suspenze. Částice keramiky jsou rozmíchány do roztoku a dále jsou přidány polymerní částice, které se musí co nejdokonaleji rozmístit. U této metody dochází k lepším výsledkům morfologie, než u replikační metody. Máme několik způsobů této techniky jak připravit keramickou pěnu. Může to být lisováním práškových směsí dvou složek, kterými jsou polymerní materiál a keramický prášek. Dalším způsobem je příprava dvoufázové suspenze připravené za mokra a následným vylitím do formy. Způsob odstraňování polymeru z kompozitu závisí na typu pórů a na materiálu, který je přidán do suspenze. Jako dispergovaná látka do keramiky nemusí být pouze polymer, ale mohou se přidávat i přírodní, jiné syntetické a organické látky, soli nebo kapaliny. Syntetické a přírodní látky, které se přidávají do směsi, musí podléhat pyrolýze o teplotě 200 - 600 °C. Pro kompletní rozklad organických látek a únik veškerých přebytečných plynů je potřeba pyrolýza velmi dlouhá. Míra vyhoření musí být upravena na optimálních 20 mg/min, aby bylo zabráněno praskání tenkých vzpěr a produktu jako celku. Odstraňování nevýhod je možné vnášením kapalných pórotvorných látek jako jsou voda a oleje a pevných látek, snadno sublimujících (naftalen). Díky těmto aditivům je možná pyrolýza za mírnějších podmínek a tedy snižování namáhání při tepelných úpravách [16, 17]. Obětovanými materiály, jako jsou soli a kovy se extrahují chemickou cestou více, než termickou. Soli opakovaným promýváním vodou a kovové částice nejčastěji agresivními činidly a kyselým louhováním. Extrakce by měla být úměrně rychlá k tomu, aby se pěna nezhroutila. Těkavé olejovité emulze, přidávané do keramických suspenzí mají velkou výhodu ve snadné dispergaci, jednoduchost rozptýlit olej na velmi malé částice a podmínkách pyrolýzy, které mohou díky těkavosti probíhat za nižších teplot. Tato metoda, která nám nabízí mnoho postupů a různá složení má výhody oproti ostatním metodám přizpůsobivostí pórů, jejich distribucí díky mnoho variantám obětovaného materiálu a velkou mechanickou pevností. Pórovitost je možná od 20 do 90 % a velikost pórů od 1 do 700 μm, což záleží na velikosti obětovaného materiálu [17].

### 3.3.4 Další metody příprav

Mezi další metody přípravy keramických pěn patří sol – gel metoda. Takto připravená pěna vzniká z koloidní suspenze přeměnou na porézní gel, který se teplotní operací stane pevným materiálem. Liší se to od tradičního postupu přidáním monomerního roztoku na začátku syntézy. Pevná fáze se smíchá s povrchově aktivní látkou (tuhnoucím agentem) a rozmícháno v rozpouštědle. Rozpouštědlem nejčastěji bývá čistá voda nebo v kombinaci s ethanolem.

Vzniká sol (pevné částice v kapalině), roztok je míchán a vzniká pěnová struktura. Díky přidávkám tuhnoucího agentu dochází k hydrolytické reakci a stabilizaci pěny. Pevné částice se k sobě shlukují a ustaluje se struktura. Toto je spojeno se zvyšováním viskozity systému a vzniku gelu. Sušením zbavíme pěnu rozpouštědla a vypálením za určité teploty se struktura stabilizuje [20].



Obr. 7: Příprava keramické pěny technikou sol – gel [upraveno z 20]

Freeze drying je moderní metoda, kterou dokážeme připravit materiál až o 97% porozitě. Principem je dispergace prášku v roztoku s povrchově aktivní látkou, celý systém je umístěn do výměníku tepla a roztok se zamrazí a dochází k lyofilizaci. Lyofilizace je metoda sušení materiálů, na principu sublimace při relativně nízkém tlaku. Nedochozí k přechodům kapalně fáze do plynné a tímto se vyhýbáme nejkritičtějšímu bodu příprav keramických pěn a to je poškození struktury pěny při tradičním sušení. Touto metodou získáme suchý vzorek o makroporézní struktuře s řízenou pórovitostí [21].

### 3.4 Apatity

Apatity v mineralogii se označuje skupina 3 základních minerálů: hydroxyapatit, fluorapatit a chlorapatit. Apatity obecně se v přírodě vyskytují jako sloučeniny s nestechiometrickým složením. Stechiometrický apatit má molový poměr  $Ca/P=1,67$ . Z tohoto poměru jasně vyplývá, že standardní a nejčastější základní složení apatitů je s obsahem vápníku a fosforu. Mimo tyto základní sloučeniny, se mezi apatity řadí skupiny tuhých roztoků s obecným vzorcem  $M_{10}(XO_4)_6Z_2$ . Nejčastějším kationtem v poloze M, jak již bylo zmíněno, je  $Ca^{2+}$ , který ale může být nahrazen např. Sr, Ba, Mn nebo Mg. Poloha X může být obsazena atomy s tetraedrickou koordinací, nejčastější ve formě  $PO_4^{3-}$  skupiny. Možnými substituenty jsou  $AsO_4^{3-}$ ,  $CrO_4^{3-}$  nebo  $MnO_4^{3-}$ . Namísto sloučeniny Z (v obecném vzorci apatitu) se vyskytují 3 skupiny, ionty  $OH^-$ ,  $F^-$  nebo  $Cl^-$ , což rozděluje apatity na 3 základní skupiny, co jsou uvedeny na začátku kapitoly. Trojice těchto apatitů jsou velmi důležitou stavební jednotkou u rostlin a živočichů. V opěrné soustavě savců, tedy kostech, je obsah apatitů uváděn okolo 60 % a v zubní sklovině až 90 %. Kolagen, který je v kostech zastoupen asi 5 – 8 % ovlivňuje pružnost kosti [22, 23].

Bohužel keramiky vytvořené z apatitů se nedají srovnat se zdravou kostí. Lomová houževnatost a jiné mechanické parametry jsou mnohem nižší a proto se takto vytvořené implantáty mohou využívat pouze v místech s menší zátěží a v malých rozměrech. Častějším využitím je povlakování inertních transplantačních kovů a s tím je spojena větší interakce mezi implantovanou částí a původní tkání [22].

### 3.4.1 Hydroxyapatit

Hydroxyapatit (HA) se vzorcem  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$  je nejvíce zkoumaným fosfátem a nejstabilnější krystalickou fází kalcium fosfátových solí. V přírodě se vyskytuje jako minerál různých barev (bílá, šedá, zelená). Toto je dáno příměsí v minerálech, protože čistý prášek HA je bílý. Nejčastější krystalografický systém, ve kterém se hydroxyapatit vyskytuje, je hexagonální mřížka, někdy v monoklinickém. Tato látka je procentuálně nejvíce obsaženou anorganickou složkou v tvrdých tkáních člověka. Proto je to také látka, která v posledních létech je nejčastěji využívána jako biomateriál pro náhradu původní tkáně člověka a věnuje se tomu velká pozornost. HA má vynikající biokompatibilní vlastnosti, není pro organismus toxický a ani nevyvolává zánětlivé reakce. Používá se jako kompozit s kovy pro své dobré fixační vlastnosti s živou tkání. Používá se velmi často v lékařských aplikacích jako náhrada kostních defektů, implantáty do sluchového ústrojí nebo jako nositel léčiva. V průmyslu se používá v elektrotechnice jako iontový vodič, v chromatografii nebo jako filtr [22, 23, 24, 25].



Obr. 8: Hydroxyapatit [26]

Nanohydroxyapatit musí mít alespoň jeden rozměr menší než je 100 nm. Částice takových rozměrů má vysokou povrchovou aktivitu, lepší vstřebatelnost v lékařských aplikacích a lepší vlastnosti při slinování (snížení vzniku trhlin) [24].

Rozlišujeme dva základní směry získávání hydroxyapatitu, syntetický a přírodní. Přírodní HA se může získat z korálů a hovězích kostí. I přesto, že některé korály, s přesně definovanou velikostí pórů, které se dají využít například pro implantáty, kde je dobré, aby měkké tkáně vrůstaly do pórů a zajistily lepší uchycení náhrady hostitelskou tkání, nejsou přírodní apatity příliš vhodné pro využití v chirurgickém odvětví. Největší obtíží u takovýchto potencionálních zdrojů pro implantáty jsou nežádoucí příměsí v minerálu. Takové příměsí nebo stopové prvky mohou způsobit snížení mechanických vlastností nebo při obsahu těžkých kovů, jako Pb, Hg, Cu nebo Cr. Tyto prvky, které mohou být obsaženy v apatitu třeba jen ve velmi malých koncentracích, by v těle způsobily velmi nepříjemné reakce a otravy hostitelské tkáně [22].

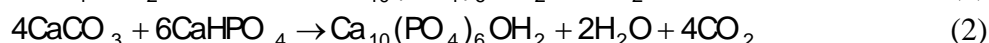
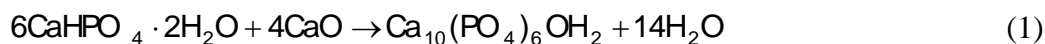
Z těchto důvodů se nejčastěji používá HA synteticky vytvořený. Zvyšování počtu syntéz v posledních létech sebou nese nové metody příprav. Nové technologie výroby HA nám umožňují lepší kontrolu morfologie, chemické struktury prášků neobsahující fázové nečistoty. Částice mají definovanou velikost a tvar a zabrání se nežádoucí aglomeraci [24].

### 3.4.2 Metody příprav hydroxyapatitu

Existuje velké množství metod příprav syntetického HA, zahrnující různé postupy, techniky a chemické reakce. Máme 5 základních rozdělení. Příprava suchou a mokrou cestou, vysokoteplotními procesy, z biogenních zdrojů nebo kombinací předešlých postupů. Nejčastější technikou přípravy je jednoznačně precipitace, dále kombinace metod a hydrotermální metodou [24].

### 3.4.3 Příprava HA suchou cestou

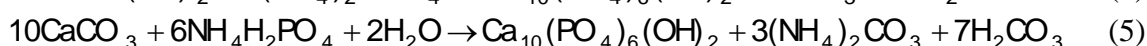
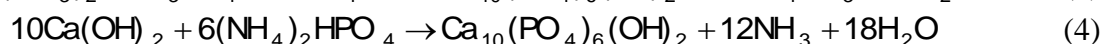
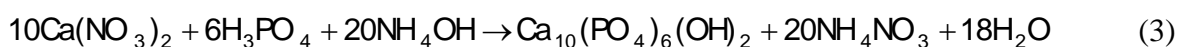
Je to metoda, která nevyužívá rozpouštědla. Využívá se při výrobě prášku ve větším množství, z důvodu jednodušší přípravy, ale výsledek není moc dobrý. Suchá cesta má dvě odvětví. Syntéza v tuhé fázi, což je jednoduchý princip mletí surovin, následná kalcinace při vysoké teplotě, dosahujících 1 000 °C. Nevýhoda této jednoduché metody je heterogenita ve fázovém složení spojená s malou difuzí iontů. Druhým směrem je mechanochemická metoda, což je vyšší stupeň předchozího směru. Vylepšení spočívá v jednoduchosti. Příprava nanokrystalické struktury s dobře definovaným práškem se mele v planetárním mlýnu a dá se ovlivnit mlecími tělesy, atmosférou, dobou mletí, rychlostí otáček a také přidávkem organického média [24]. Hydroxyapatit mechanochemickou metodou lze připravit podle těchto rovnic:



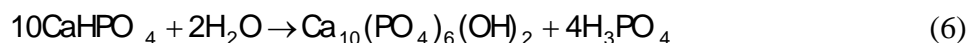
### 3.4.4 Příprava HA mokrou cestou

Mokrý cesta, na rozdíl od suché, ve které mají krystaly nepravidelný tvar, je častěji používána, částice mají přesnější morfologii, což závisí na reakčních parametrech. Jako prostředí pro reakci se mohou použít organické roztoky nebo voda (nejčastěji). Dále můžeme syntézu HA mokrou cestou ovlivnit teplotou, chemikáliemi, kterými se bude syntéza provádět nebo postupem. Mezi mokré cesty se řadí precipitace, hydrolytická metoda, metoda sol-gel, hydrotermální, emulzní a sonochemická.

Precipitace je nejjednodušší způsob jak připravit hydroxyapatit nano rozměrů. Syntéza se provádí za laboratorní teploty, pH = 4,2, kdy je produkt nejméně rozpustný. Jednoduchost metody je v postupu, kdy se pouze přikapávají roztoky do vhodného prostředí za stálého míchání, roztok se nechá uzrát (doba zrání rozhoduje o velikosti částic) a výsledný prášek se vhodnou metodou rozdělí od kapalin sedimentací a pokud se fáze nerozdělují tak se roztok centrifuguje. Následně se připravený hydroxyapatit suší. Pro získání jehličkovitých částic se syntetizuje v stechiometrickém poměru a pro získání kulovité morfologie se musí roztok přesytit. S vyššími nároky na čistotu monokrystalu se musí pracovat při nižším pH a za zvýšené teploty [24, 27]. Amoniakální roztok se do reakce přidává z důvodu úpravy pH. Precipitací lze připravovat HA dle podle rovnic:



Hydrolytická metoda pracuje na principu vodné hydrolýzy [24]. Probíhá rozpuštěním Ca / P solí a následným srážením, např. podle rovnice:



Sol-gel je technika mokré cesty, která má výhodu v míchání molekul reaktantů, což zajišťuje lepší chemickou homogenitu prášku. Pracuje se za nízké teploty, přičemž produkt je stechiometrický, má velký povrch a bioresorbovatelnost HA připraveného touto metodou je velmi blízký biologickému apatitu. Velkou nevýhodou je tvorba CaO, který velmi negativně ovlivňuje biokompatibilitu prášku a druhou nevýhodou je náročnost procesu při odstraňování CaO. Roztok musí velmi dlouho zrát za laboratorní teploty, dále se zgeluje, suší a extrahují rozpouštědla. Doba zrání je klíčová při syntéze, protože při urychlení zrání se veškeré nečistoty z roztoku nedostanou [24, 28].



Hydrotermální metoda je velmi často používanou metodou. Reakce probíhá ve vodném roztoku za vysoké teploty a tlaku. Probíhá chemické srážení a následné zrání za vysoké teploty. Tato teplota bývá nad teplotou varu rozpouštědla, proto je nutné provádět syntézu v autoklávu. Získáme nanočástice HA s pravidelnou strukturou, nicméně reaktor a celý proces dělá tento postup drahou metodou. Emulzní metodou připravíme hydroxyapatit o přesné morfologii, velikosti a distribuce nanočástic. Mikroemulze je základ celé techniky, což je termodynamicky stabilní směs dvou dispergovaných nemísitelných kapalin (voda a organická aktivní látka). Proces závisí na povrchu aktivní látky a její koncentraci. Micela, která vznikne v roztoku je reakčním prostředím pro vznik HA a její velikost, respektive stupeň disperze v roztoku určuje výslednou velikost prášku micel. Sonochemická metoda je založena na reakci aktivované ultrazvukem [24, 29].

Vysokoteplotní procesy jsou syntézy za zvýšených teplot. Základním principem je spálení prekurzorů. Klíčovým rysem je rychlé vytvoření nanočástic HA s velkou čistotou. Je to jednoduchý a levný způsob výroby homogenního prášku, probíhající v redoxní reakci s organickým palivem. Výsledkem po spálení jsou aglomeráty z velmi malou velikostí částic. Pyrolýza, jakožto druhý směr vysokoteplotního způsobu přípravy HA, oproti suché nebo mokré cestě, příliš neklade důraz na kvalitu a zpracování prvotních složek. Pyrolýza (sprejová) využívá ultrazvukového generátoru k vypaření prekurzorů, které jsou pak obohaceny palivem a kyslíkem a vstupují do hořáku, kde podléhají pyrolýze. Velikost vypařených kapiček v aerosolu je pak rozhodující pro velikost vzniklého HA. Z biogenních zdrojů připravený prášek, úplně nebo aspoň částečně by mohl mít lepší přijetí organismem, z důvodu větší shody s původní tkání. Poslední výzkumy poukazují na zdroje, které by se daly využít, pro takto vyráběný hydroxyapatit. Měly by to být extrakty z přírodních minerálů v bioodpadu, extrahování ze skořápek vajec, skelety z mořských organismů a syntézy pomocí biomembrán. Tyto metody, které nejsou znám příliš dlouho, pravděpodobně budou mít více pozornosti v blízké budoucnosti [24].

I přes to, že nanočástice hydroxyapatitu vykazují vynikající mechanické vlastnosti, které by byly ideální pro lékařské účely, např. pro jeho dobrou adhezi osteoblastů, se zatím moc nevyužívá. Výroba nanočásticového HA je velmi náročný proces, buď z hlediska velmi přísných a nákladných reakčních podmínek a výsledný hydroxyapatit je kvalitní nebo příprava hydroxyapatitu s fázovými nečistotami a velkou distribucí částic při snadnějším výrobním procesu, což vylučuje použití v lékařství [24].

### **3.5 Testy bioaktivity**

Každá nová chemická látka musí projít řadou testování, pokud se chce aplikovat ve zdravotnictví, farmacii nebo oborech směřovaných k interakci s lidským tělem. Nejdůležitějším údajem k takovýmto chemikáliím je toxicita a s tím spojená veškerá rizika při manipulaci s danou látkou. Nejznámější 2 typy testovacích metod jsou in vivo a in vitro metody [30].

#### **3.5.1 In vivo**

Tato technika testování chemických látek, v přesném překladu „v živém“, je starší způsob, kdy se využívá laboratorních zvířat a případně lidí, jako testovací prostředí. Pozoruje se reakce organismu na látku, zejména z hlediska toxikologie, dále se sledují metabolické děje nebo se zjišťují akutní toxicity, což je bráno jako velká výhoda testování touto cestou. Největší využití, jak již bylo zmíněno, je sledování a testování toxických účinků na živý organismus, pro biomedicínské a vzdělávací účely nebo pro genetické výzkumy. Nicméně v posledních letech se zlepšující se technickou vyspělostí je tato metoda velmi omezována a to především kvůli velké nevýhodě tohoto směru a tím je jednoznačně humanita. Za jeden rok se pro testování použije zvířat v řádech milionů. Nejčastějšími laboratorními zvířaty bývají myši, potkani a králíci, dále také psi a opice. Navíc posuzování toxicity chemických látek u zvířat je obtížné, protože zvířata vykazují velké rozdíly oproti reakci v lidském těle [30]. Pro uvedení příkladu testování in vivo, byla použita polyurethanová pěna s vrstvou hydroxyapatitu, která byla voperována do králíka a po dobu 2 měsíců pozorována. Po prvním měsíci došlo k fixaci pěny na původní tkáň a na konci testování došlo k růstu osteoblastů mezi kostí a implantovanou hydroxyapatitovou pěnou, což je velmi dobrý důkaz toho, jak je vzorek bioaktivní, a protože nedošlo k nežádoucím reakcím na implantát, tak je to také biokompatibilní materiál [31].

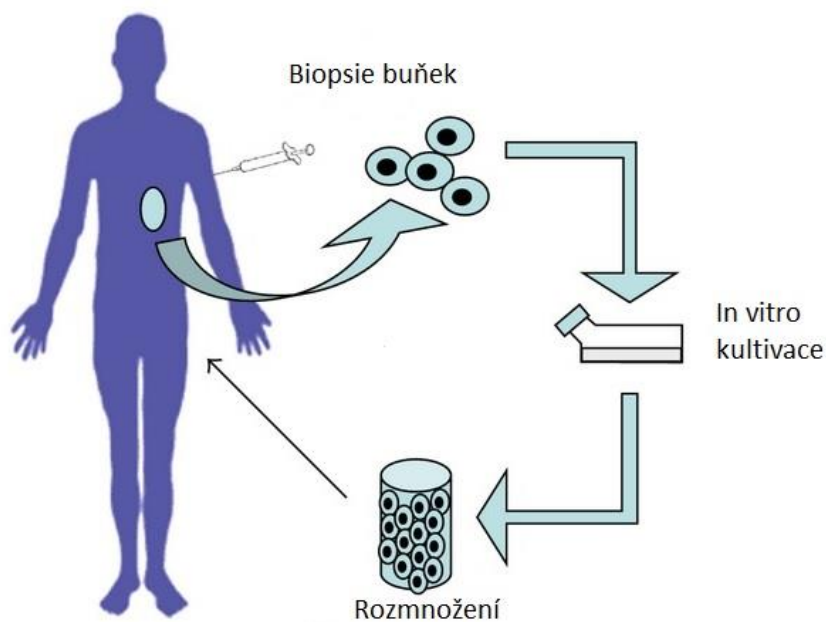
#### **3.5.2 In vitro**

Tento směr („ve skle“), se vyvinul zejména kvůli etice a humanitě vůči zvířatům, které jsou nezbytné pro předešlý směr. Z toho vyplývá, že není nutnost testů na celých zvířatech, ale pouze s odběrem buněk nebo tkáně z živočichů nebo bez odběru. Nejčastěji se využívají bakterie, buňky nebo tkáň. To je důležité pro zkoumání expozice a následné vyhodnocení poškození nebo vlivů chemické látky na cílovou oblast.

Tato metoda je časově a také finančně přívětivější, nicméně ve srovnání s testováním in vivo nemůžeme do měření zahrnout celkové chování organismu. Například hormonální ovlivnění, vliv sliznicí a biochemickými reakcemi [32]. Příklad testovacích postupů je z izolovaných buněk a orgánů, kdy se tímto postupem velmi blížíme k testování in vivo, nicméně jak již bylo zmíněno, není toto testování ovlivněno imunitními reakcemi [30].

Jejich alternativami, například pomocí testovacích baterií, kdy se předpovídá koncový bod toxicity, což je výsledek studie, se zjištěním nebezpečnosti látky (úmrtnost, ovlivnění reprodukovatelnosti nebo fyziologické a biochemické změny). Tkáňové testy zaměřené na cílová místa, cytotoxicita, organotypické testy, kdy se vypěstují buněčné moduly co nejvíce podobné orgánům. Metabolické testy měří změny ve spektru buněk pomocí biochemických procesů nebo také kožními podrážděními [30, 32].

Jedním z nejnovějších metod v odvětví in vitro je simulace v 3D. Tato metoda využívá nosiče, což může být porézní biokompatibilní materiál, který simuluje tkáň. Jde o lepší kopii těla a napodobení a vlivu prostředí a tekutin. Dosažené výsledky mají předpověď buněčných reakcí v reálném organismu [33].



Obr. 9: Schématické zobrazení tkáňového inženýrství biopsií buněk, kultivací in vitro, jejich rozmnožení a implantace [upraveno z 34]

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Použité chemikálie:  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{KBr}$ , Basf foam GA 285, Nabalox 325, Dolapix ET 86, Schäumungsmittel

Praktická část této bakalářské práce se zabývá syntézou hydroxyapatitu precipitační metodou a podmínkami, kterými by se dala ovlivnit velikost částic a morfologie připraveného prášku. Dále se zaměřuje na přípravu pěn ze suspenze metodou pění in situ z čistého  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , čistého hydroxyapatitu a kompozitu. Dále stanovení nejlepšího procentuálního plnění suspenze pevnou fází, jejich stabilizace, optimalizování výpalu vzorků, jejich testování na složení, chování při slinutí a pórovitost.

### 4.1 Stanovení čistoty $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

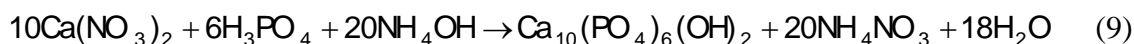
Pro ověření čistoty použité chemikálie byl proveden termický rozklad, aby byla zjištěna čistota vápníku ve formě  $\text{CaO}$ , která je posléze důležitá pro další postupy v bakalářské práci. Na analytických vahách bylo do keramických kelímků naváženo přibližně 1,5 g tetrahydrátu dusičnanu vápenatého. Dusičnan vápenatý byl pálen v muflové peci dvě hodiny na teplotu 1 000 °C, kde proběhl rozklad podle rovnice:



Poté byl vážen hmotnostní úbytek a stanovena čistota vápníku v chemikálii.

### 4.2 Syntéza hydroxyapatitu

Tato práce se zabývá syntézou hydroxyapatitu precipitační metodou tak, aby byla velikost částic dosažena co nejlíže k oblasti nanorozměrů. Syntéza HA byla prováděna podle rovnice:



Byla nasyntetizovaná řada prášků s různým množstvím přídavku hydroxidu amonného, aby mohl být stanoven nejlepší postup pro ideální velikost částic a čistoty hydroxyapatitu. Roztoky byly připravovány s konstantní hmotností  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  dle stechiometrického množství napočítaného na 1 g připraveného prášku a rozpuštěno v 15 ml vody. Do tohoto roztoku byl přidán stechiometrický objem kyseliny fosforečné v 15 ml vody a přikapáván roztok amoniaku o koncentraci 1,5 ml  $\text{NH}_3$  ve 20 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Začalo se s roztokem bez přídavku amoniaku a bylo připraveno 11 roztoků, u kterých byl měřen turbidimetrem Hach 2100 Q zákal vznikající sraženiny. Při vysokých koncentracích, které již nebyly měřitelné, byly roztoky ředěny.





*Obr. 10: Laboratorní přenosný turbidimetr Hach 2100Q*

Bylo změřeno pH výsledného roztoku se sraženinou po 30 minutovém stárnutí a roztoky byl promyty tak, aby výsledné pH supernatantu bylo přibližně neutrální. Sedimentací, u roztoků o nižším pH a centrifugací (z důvodu špatné sedimentace koloidních částic v roztoku) u alkalických roztoků byly odděleny fáze od sebe a produkty sušeny. Připravené produkty byly zvaženy a analyzovány. Infračervená spektrometrie byla první použitá analýza prášků, která byla prováděna na přístroji Nicolet IS 10, kterou se stanovuje přesné chemické složení. Měření je prováděno průchodem IČ paprsku vylisovanou tabletou vzorku. Jako referenční srovnávací tableta se používá čisté KBr. Byly připraveny vzorky v tabletovači z rozetřených prášků o hmotnosti 0,3 g v poměru 1:500 KBr.



*Obr. 11: Tabletovač pro výrobu lisovaných tablet*

Pro měření krystalinity a fázového složení byla použita XRD analýza. Tato metoda byla prováděna na přístroji Empyrean od firmy Panalytical. Dále byla provedena Ramanova spektrometrie, která je podobně jako IČ spektrometrie a dává nám informaci o chemickém složení. Analýza byla prováděna na přístroji SOL 2 Nanofinder. Jako poslední bylo pomocí skenovacího elektronového mikroskopu Zeiss EVO CS10 pozorována morfologie prášků. Pro předcházení nejasností v práci je 1-9 a  $V_{HA}$  pouze označení vzorků.

*Tab. 1: Přehled hmotností a objemů reaktantů pro přípravu hydroxyapatitu*

Označení	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [g]	$\text{H}_3\text{PO}_4$ [ml]	$\text{NH}_3$ [ml]
1 - 9	4,708 + 15 ml $\text{H}_2\text{O}$	0,8 + 15 ml $\text{H}_2\text{O}$	1,5 + 20 ml $\text{H}_2\text{O}$
$V_{HA}$	94,204 + 50 ml $\text{H}_2\text{O}$	16 + 50 ml $\text{H}_2\text{O}$	75 + 300 ml $\text{H}_2\text{O}$

Pro následující přípravy hydroxyapatitových pěn byl připraven velký batch  $V_{HA}$  prášku. Příprava 2x 20 g vycházela z předchozího stanovení.



*Obr. 12: Reaktor pro syntézu hydroxyapatitu*

Roztok amoniaku byl nalit do reaktoru a roztoky kyseliny fosforečné společně s dusičnanem vápenatým byly přikapávány z nálevek přibližně 30 minut, za stálého míchání na otáčky 440 ot. /min. Roztok po přikapávání reaktantů stárnul za intenzivního míchání 2 hodiny a poté bylo změřeno pH, které bylo silně alkalické. Roztok se sraženinou byl promyt 4x destilovanou vodou a 1x ethanolem a bylo dosaženo pH přibližně 7,5. Pro kontrolu připraveného prášku byly opět provedeny analýzy XRD, Ramanovou a infračervenou spektrometrií.

## 4.3 Pěny

### 4.3.1 Test napěňování

Pro přípravu keramických pěn pěněním in situ je potřeba povrchově aktivní látky, které dokážou vytvořit napěněnou strukturu v suspenzi. Pro stanovení nejlepšího pěnidla byl proveden test, kde byla měřena schopnost napěnit vodu a také stabilita připravené pěny.

Byly použity 3 komerční pěnidla (Dolapix ET 86, Basf foam GA 285 a Schäumungsmittel). Test byl proveden ve 40 ml vody, kde byla měněna koncentrace povrchově aktivní látky. Měřilo se v množství 0,25; 0,5; 1, 2 a 5 hm. % pěnidla ve vodě. Roztok byl intenzivně míchán na magnetické míchačce po dobu 5 minut, byla zaznamenána výška kapalně fáze a po 15 minutách byla zaznamenána změna výšky hladiny, respektive stabilita pěny v čase. Výsledky byly evaluovány pomocí obrazové analýzy v softwaru ImageJ.



Obr. 13: Zobrazení testu napěnění

### 4.3.2 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pěny

Při přípravě pěny in situ z keramické suspenze je kamenem úrazu hmotnostní procento pevné složky, aby bylo možno pěnu připravit. Také musí být dostatečně stabilní při sušení, aby zachovala svůj tvar až do procesu slinování. Byly připraveny řady vzorků v koncentracích 60 hm. %, 65 hm. % a 70 hm. % pevné složky Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, které byly odlévány do hliníkových forem. Byla pozorována schopnost přípravy pěny ze suspenze a jejich stabilita. Dále byla měřena suspenze z hlediska míry homogenity a chování částic v dané koncentraci pevné fáze pomocí Zetasizeru Malvern Nano ZS.



Obr. 14: Ukázka 60% napěněného korundu v hliníkové formě

Byly připraveny keramické pěny z  $\text{Al}_2\text{O}_3$  o plnění 65 hm. % pevné složky, 34,75 hm. % vodné složky a 0,25 hm. % pěnidla Schäumungsmittel. Pevné fáze suspenze byly zhomogenizovány a zbaveny aglomerátů na magnetické míchačce. Po zhomogenizování bylo přidáno pěnidlo. Následovalo intenzivní míchání po dobu 5 minut, napěněná suspenze byla odlita do formy a vzorky byly vloženy do exikátoru.

Poté byly pěny vloženy do sušárny na 50 °C po dobu 4 hodin. Následně byla teplota zvednuta na 80 °C na 10 hodin a nakonec 3 hodiny na 105 °C. Teploty byly zvedány postupně, protože sušení je kritický stupeň v pracovním postupu při přípravě pěn, vzhledem k možnosti zhroucení při rychlém odpařování vody. Pro dobré slinutí byla dohledána experimentální hodnota výpalu uvedena výrobcem, která je 1 750 °C. Výpal připravených keramických pěn byl proveden v superkantalové peci Clasic 5014. Byl nastaven na teplotu 1 550 °C po dobu 4 hodin, přičemž teplota byla zvedána v intervalu 3 °C/min. Chladnutí pece bylo nastaveno na stejný krok jako zahřívání. Nižší teplota slinutí byla z důvodů maximálních teplotních možností pece. Připravené vypálené vzorky byly sledovány pod stereolupou, kde byla změřena porozita a skenovacím elektronovým mikroskopem byla pozorována mikrostruktura. Dále byla změřena objemová hmotnost (OH), relativní hustota a také porozita pěn. Objemová hmotnost byla měřena pyknometricky a vypočtena podle vzorce:

$$OH_{\text{vzorek}} = \frac{m_{\text{vzorek}}}{m_{\text{pyk.+voda}} - (m_{\text{pyk.+vzorek+voda}} - m_{\text{vzorek}})} \cdot \rho_{\text{voda}} \quad (10)$$

Metoda trojího vážení při využití Archimedova zákona (podle normy ISO EN 5017 2013) je počítána podle:

$$\rho_{\text{rel}} = \frac{\frac{m_{\text{vzorek}}}{m_{\text{nasáklývz.}} - m_{\text{Archim}}}}{\rho_{\text{suspenze}} \cdot \rho_{\text{voda}} \cdot 100} \quad (11)$$

$$V_{\text{Otevrena p.}} = \frac{m_{\text{nasáklývz.}} - m_{\text{vzorek}}}{m_{\text{nasáklývz.}} - m_{\text{Archim}} \cdot 100} \quad (12)$$

$$V_{\text{Uzavrena p.}} = \frac{m_{\text{vzorek.}} - m_{\text{Archim}}}{m_{\text{nasáklývz.}} - m_{\text{Archim}} \cdot 100 - \rho_{\text{rel}}} \quad (13)$$

Vzorky byly u tohoto stanovení dány do nádoby určené pro hustotní stanovení na analytických vahách, vloženy do exikátoru a 45 minut membránovou vývěvou odvakouovány. Po této době byla miska naplněna vodou tak, aby byly vzorky celé ponořeny a opět bylo vývěvou 45 minut vakuováno. Následně je aparatura odpojena od vývěvy, regulačním kohoutem vyrovnán tlak na atmosférický a necháno odstát opět po dobu 45 minut.



*Obr. 15: Foto aparatury pro měření objemové hmotnosti a porozity a analytické váhy s aparaturou pro hustotní stanovení*

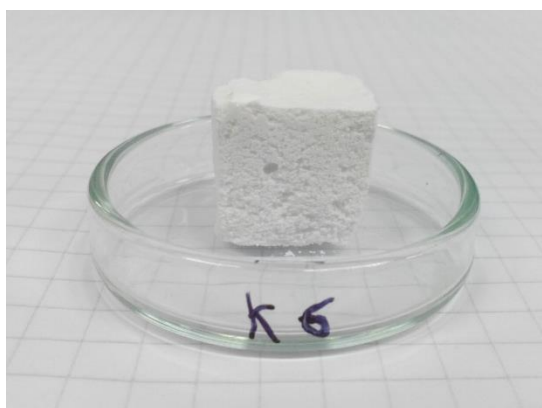
Poté je nádoba s vodou a vzorky přemístěna do analytických vah, kde je umístěn místo standardního vážícího systému aparatura pro měření hustoty. V této aparatuře je prvně umístěn vzorek na síto, kde se vzorek měří ještě pod hladinou, odečte se hmotnost a po vytažení z kapaliny je pěna měřena na horní vážící ploše a opět je odečtena hmotnost.

### **4.3.3 Hydroxyapatitové pěny**

V navázání na přípravu korundových pěn, byla připravena sada vzorků z čistého hydroxyapatitu. Nejlepší hmotnostní procento pevné složky je 55 hm. % podílu prášku hydroxyapatitu, 44,75 hm. % vody a 0,25 hm. % pěnidla Schäumungsmittel. Následně byly suspenze napěněny a sušeny ve stejném režimu, jako vzorky předešlé. Pro zjištění hmotnostních změn byly zváženy vysušené pěny před a po výpalu. V superkantalové peci byly páleny vzorky ve 2 sadách podle odlišné teploty výpalu. První teplota byla stanovena vzhledem k experimentálnímu stanovení teploty slinování připraveného čistého HA na žárovém mikroskopu Hesse INSTRUMENTS EM-201 (sledování tvarových změn prášků a definování teplotních bodů – teplota slinutí). Tato teplota je rovna 1175 °C. Druhá sada vzorků se vypálila při teplotě slinutí čistého hydroxyapatitu, která je rovna 1250 °C. U připravených pěn byla pyknometricky měřena objemová hmotnost a porozita Archimedovou metodou, stejně jako u pěn Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Dále byla zkoumána porozita na stereolupě a pomocí skenovacího elektronového mikroskopu bylo sledována míra slinutí. Také byla měřena suspenze na míru homogenity a distribuce částic.

#### 4.3.4 Kompozitní pěny

Jako u předešlého pění čistého korundu a HA, je třeba najít ideální hmotnostní podíl pevné složky v suspenzi. U kompozitních pění byly provedeny 3 různé poměry mezi složkou  $\text{Al}_2\text{O}_3$  a připraveného hydroxyapatitu. Pro první sadu vzorků v poměru 50 - 50 (HA - korund) bylo experimentálně určeno jako optimální 60 hm. % plnění. Na magnetické míchačce bylo zhomogenizováno 30 hm. % složky korundu, 30 hm. % HA ve vodě o hm. 39,78% a napěněno 0,25 hm. % povrchově aktivní látkou. Další poměr je 75 - 25 (HA - korund) s obsahem 55 hm. % pevné fáze a jako třetí sada byl poměr 90 - 10 (HA - korund) se stejným procentem pevné složky. Připravené napěněné suspenze byly opět odlity do hliníkových forem a sušeny na stejný teplotní režim. Teploty slinování pro tyto vzorky byly opět dvě, jako u HA pěn (1175 a 1250 °C). U všech připravených kompozitů byly provedeny testy na porozitu a objemovou hmotnost. Dále byly provedeny žárové zkoušky pro vzorky suchých podílů v poměrech (50 - 50, 75 - 25). Všechny vzorky byly měřeny pod stereolupou pro sledování velikosti pórů. Jako poslední byly proměřeny vzorky v poměru 50 - 50 a 90 - 10 na elektronovém mikroskopu, aby se vyhodnotila interakce mezi částicemi korundu a prášku hydroxyapatitu po procese slinování.



Obr. 16: Kompozitní pěna bez formy, po sušení

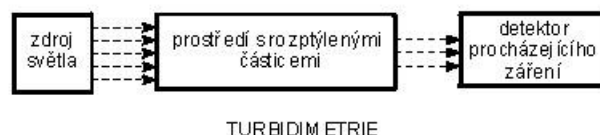
#### 4.4 Testování a charakterizace

Testovací metody můžeme rozlišit na testy, které se provádí v průběhu přípravy. Mezi takové patří například měření turbidimetrie nebo reologie suspenzí. Tyto testy se provádí pro charakterizaci suspenze. Po přípravě, tedy po vysušení prášků, vypálení keramických vzorků, pěn či jiných úpravách se provádí testy, kterými zjišťujeme fázové složení, krystalická mřížka prášků, jejich morfologie nebo složení chemické. Tyto charakterizace se provádí infračervenou spektrometrií, Ramanovým spektrometrem, rentgenovou diffrakcí nebo mikroskopy.

##### 4.4.1 Turbidimetrie

Turbidimetrie je metoda založena na rozptylu světla (Tyndallův rozptyl) částicemi obsažených v roztocích suspenzí nebo koloidů. Měří se záření prošlé vzorkem, respektive úbytek světelného toku, který byl vyslán ze zdroje. Nejdůležitějšími parametry částic je jejich velikost a tvar. Metodou se měří koncentrace rozptýlené látky v roztoku. Nejkritičtější momentem měření je sedimentace částic, které může nastat dříve, než proběhne samotné měření [35, 36].





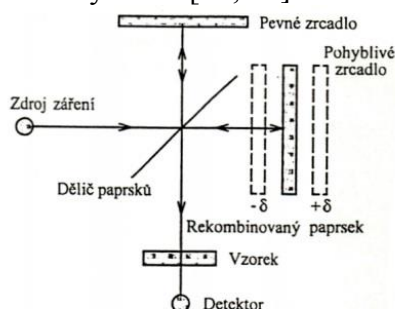
Obr. 17: Schéma měření průchodu světla turbidimetrem [37]

#### 4.4.2 Reologie suspenzí

Disperzní systémy jsou směsi vody a pevných látek. Tyto suspenze mohou být nízkoviskózní až po plastická tělesa. Licí suspenze obsahují podíl pevné fáze až do 70 % a tuhá tělesa až 85 %. Reologie suspenze znamená tok a deformace hmoty vlivem vnějších mechanických sil. Reologie je ovlivněna viskozitou, koncentrací rozptýlených částic, jejich velikostí a tvarem. Viskozita, jako důležitý doplněk k reologii je mírou vnitřního odporu a ovlivněna koncentrací a teplotou. Nejčastěji používaným přístrojem na měření keramických suspenzí bývá rotační reometr. Měříme sílu, která je nutná vynaložit k rotaci tělesa v suspenzi. Stav, kdy suspenze přestává být tekutá a dochází k limitnímu uspořádání částic a jen se přes sebe převalují. Toto nazýváme dilatance. Ztekuovací zkoušky suspenzí se provádí ve Fordově kelímku (výtokový pohár) a měří se objemový průtok na základě rozdílu tlaků na začátku a na konci kelímku [12, 38].

#### 4.4.3 Infračervená spektrometrie

Metoda infračervené spektrometrie (IČ) využívá absorpci infračerveného záření z molekul. Dochází jen ke změnám vibrací dipólového momentu, protože energie použitého záření není vysoká. Při absorpci záření dojde pouze ke změně rotace, která je kolem těžiště a ke změnám vibrací. Vibrace elektronů probíhá chováním vazby jako pružiny. Při měření sledujeme závislost transmitance, popřípadě absorbance na vlnočtu absorbovaného záření. Každý atom má svou specifickou velikost vibrace a rotace a proto se dá dobře využít knihoven, což jsou počítačové databáze, pro porovnávání naměřených hodnot a vyhodnocení analýzy. Měří se např. FTIR spektrometrem (Fourierova transformace), který využívá Michelsův interferometr. Ten zeslabuje nebo zesiluje záření ze zdroje. Po průchodu interferometrem jde paprsek do děliče (z čistého KBr), následně do pevného zrcadla a odráží se nazpátek. Druhá část paprsků prochází do pohyblivého zrcadla, opět se odrazí a setkává se s první částí paprsku, dochází k interferenci a prochází vzorkem. Následně se paprsek detekuje a matematickým přepočtem (Fourierova transformace) se signál vyhodnotí. Metoda je dobrá pro analýzu vícesložkového systému [35, 36].



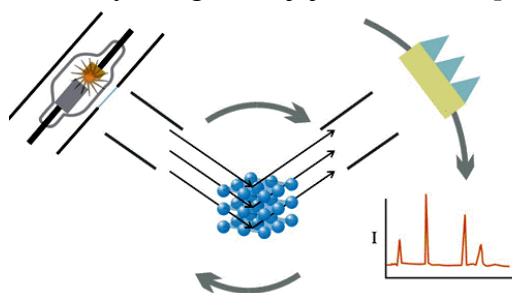
Obr. 18: Schéma infračerveného spektrometru s Michelsonovým interferometrem [39]

#### 4.4.4 Ramanova spektrometrie

Ramanova spektrometrie pracuje na principu měření rozptýleného záření po průchodu molekulami vzorku. Rozptyl nastává při interakci vzorku s monochromatickým zářením v oblasti VIS (viditelná oblast) a blízké IČ oblasti. Dojde ke změně rotace a vibrace v molekulách, kdy je část energie rozptýlena a část zůstane pohlcena v molekule. Oproti infračervené spektrometrii dochází ke změnám polarizovatelnosti, což je schopnost přesouvání nábojů elektronu vlivem elektrického pole. V Ramanově rozptylu dochází k pohlcení části energie molekulou. Při rozkmitání molekuly přijetím fotonu se nevrací na stejnou energetickou hladinu a mění svůj rotační a vibrační stav. U této metody je zapotřebí v přístrojích silných zdrojů záření, protože Ramanův rozptyl je slabý signál. Nejčastěji se používá rtuťová výbojka nebo laser (plynový – He/Ar nebo He/Kr). Detektory bývají zpravidla fotonásobiče a signál se měří v úhlu 90 nebo 180 stupňů na dopadající záření. Opět se může měřit vzorky o všech skupenstvích. Tato metoda je dobrým doplňkem k IČ spektrometrii [35, 36].

#### 4.4.5 Rentgenová analýza

Principem této metody je přechod valenčních elektronů. Dochází k vyražení elektronu z atomového obalu rychlým elektronem. Vzniká díra, která bývá ihned zaplněna elektronem z vyšší energetické hladiny. Přebytná energie bývá uvolněna ve formě fotonu rentgenového záření. Rozdíly energií se zobrazují ve formě čárového spektra. Zdrojem RTG záření bývají katodové lampy a pomocí velkého napětí, tudíž i velké energie dodané elektronům, je směřován na anodu. XRF (X - ray fluorescence spektrometry) je typ přístroje, ve kterém jsou atomy vzorku ionizovány primárním rentgenovým zářením, dochází k rychlému zaplnění slupek s elektrony a při tomto zaplňování se vyzařuje charakteristické rentgenové záření. Touto metodou se sleduje fluorescence tohoto záření. XRD (Rentgenová difrakční analýza) je metoda k určování struktury pevných látek. Dochází k pružným srážkám záření s elektrony atomů vzorku. Výsledkem měření je difraktogram, kde nás zajímá poloha, intenzita a tvar. Sledováním rozptylu a následné interakci záření na pravidelném uspořádání atomů vzorku můžeme určit chemické složení, krystalografii a jejich strukturu [35, 40].



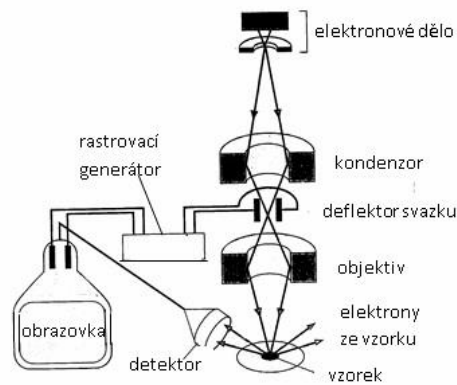
Obr. 19: Princip měření difrakce paprsků od vzorku [40]

#### 4.4.6 Mikroskopie

Je to metoda sledování materiálu s mnohonásobným zvětšením. Závisí to na rozlišovací schopnosti daného mikroskopu a jeho typu, na měřeném materiálu a velikosti částic. Optické mikroskopy jsou tvořené soustavou čoček, osvětlením a jsou schopny zvětšit obraz až 1 000x. Tato metoda je nejjednodušším způsobem měření a specifikování povrchu.



Další a jeden z nejpoužívanějších mikroskopů je elektronový mikroskop. Používá se svazek elektronů o krátké vlnové délce a jsou urychleny elektronovým polem. Tato metoda má vynikající rozlišovací schopnost. Dostaneme informace o struktuře a krystalografii. TEM (transmisní elektronový mikroskop) je přístroj, kterým se dá analyzovat vnitřní struktura vzorku a atomů. Vrstva měřeného materiálu musí být dostatečně tenká, aby mohlo dojít k průchodu elektronů skrz. SEM (scanning electron microscope) je skenovací mikroskop, který analyzuje povrch v řádcích. Můžeme analyzovat povrchy se zvětšením až 1 000 000x. Z důvodu vodivosti elektronů mezi katodou a anodou musí být vzorky vodivé, případně povlakovány uhlíkem nebo zlatem pomocí plazmatu. Po dopadu primárních elektronů jich část projde vzorkem a jsou uzemněny. Druhá část naráží do vzorku a dojde k pružné srážce a dochází k odražení elektronu (BSE). Při nepružné srážce dochází k vyražení elektronu z atomu předáním energie. Vyražený elektron nazýváme sekundárním elektronem. Místo, kde byl elektron vyražen, je zaplněno elektronem z vyšší vrstvy a dochází k vyzáření energie ve formě fotonu. Za pomoci elektromagnetických čoček detekujeme sekundární elektrony, které nám dávají informace o povrchu vzorku a také BSE, které nám dávají informace o prvkovém složení [38, 41, 42].



Obr. 20: Schéma skenovacího elektronového mikroskopu [43]

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Stanovení čistoty $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Čistota chemikálie byla stanovována z důvodu ověření obsahu vápenaté složky v chemikálii. Termický rozklad tetrahydrátu dusičnanu vápenatého probíhal podle rovnice a výpočtů:



$$M_{[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]} = 236,15 \text{ g/mol}$$

$$M_{(\text{CaO})} = 56,0774 \text{ g/mol}$$

$$\begin{array}{ll} 1,4387 \text{ g} \dots\dots\dots x \text{ g} & 0,3418 \text{ g} \dots\dots\dots 100\% \\ 236,15 \text{ g} \dots\dots\dots 56,0774 \text{ g} & 0,3416 \text{ g} \dots\dots\dots x\% \\ x = \frac{1,4387 \cdot 56,0774}{236,15} = 0,3416 \text{ g} & x = \frac{0,3416 \cdot 100}{0,3418} = 99,94\% \end{array}$$

Tab. 2: Tabulka hmotností při stanovení čistoty

Navážka [g]	Po rozkladu [g]	Množství CaO [g]	Čistota [%]
1,4387	0,3418	0,3416	99,94

Čistota základní chemikálie stanovením CaO je přibližně rovna 100 %. Při dalším použití při stechiometrických navážkách tedy není potřeba uvažovat s přepočty.

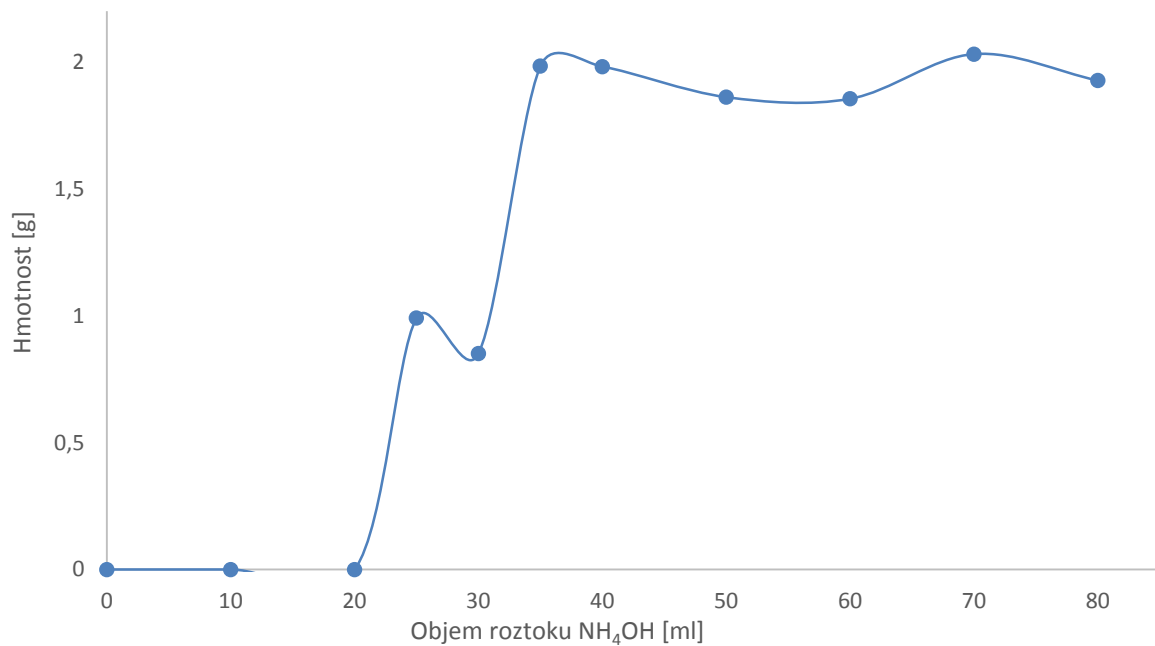
### 5.2 Syntéza hydroxyapatitu

Příprava precipitační metodou bývá ovlivněna reakčními podmínkami, kterými se dá měnit chemické složení, tvar, velikost částic aj. Proto byla připravena řada hydroxyapatitových prášků precipitační metodou, u které bylo dodrženo stejných reakčních podmínek s měnícím se objemem amoniaku. Ovlivníme tak jejich morfologii, množství sraženiny a rozměry vzniklých částic.

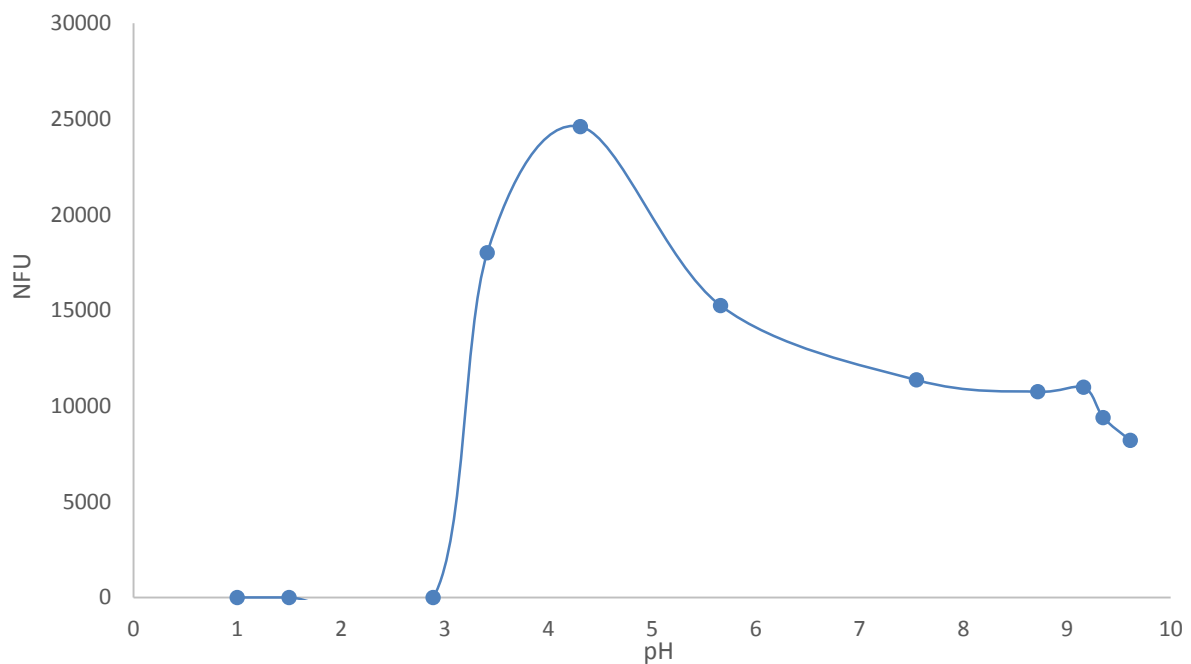
Tab. 3: Závislost přídavku amoniaku na vznikajícím prášku

Označení vzorku	Přídavek $\text{NH}_3$ [ml]	pH	NFU	m [g]
1	0	1	1,69	0
2	10	1,5	1,5	0
3	20	2,89	1,89	0
3,5	25	3,41	18000	0,9914
4	30	4,31	24600	0,8513
4,5	35	5,66	15250	1,9842
5	40	7,55	11360	1,9823
6	50	8,72	10750	1,862
7	60	9,16	10980	1,8556
8	70	9,35	9400	2,0319
9	80	9,61	8200	1,9276

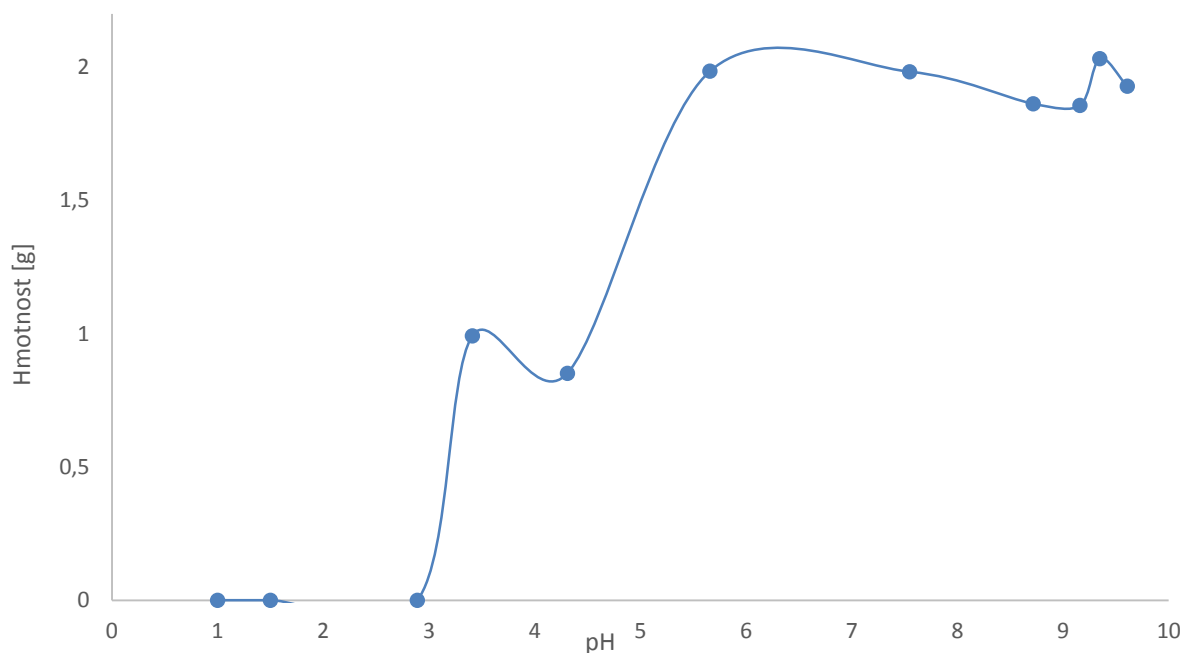
Na zvyšujícím se množství přídavku amonného roztoku lze pozorovat rostoucí zakalení roztoku, které pak klesá z důvodu zvyšující se aglomerace částic. K této aglomeraci dochází pravděpodobně se snižováním velikosti částic sraženiny a jejich shlukováním. Dalším ukazatelem toho, že nejde o snižování množství vzniku precipitátu je také hmotnost výsledného prášku. Míra precipitace od vzorku 4,5 je stejná. Hodnoty jsou zatíženy chybou díky ztrátám při promývání a centrifugaci sraženiny, sušení a ulpění na stěnách Petriho misky. Pro lepší představení závislosti přidaného množství amoniaku na hmotnosti, pH a NFU je znázorněno v následujících grafech.



*Obr. 21: Závislost množství přidaného roztoku NH<sub>4</sub>OH na vzniklém množství prášku*



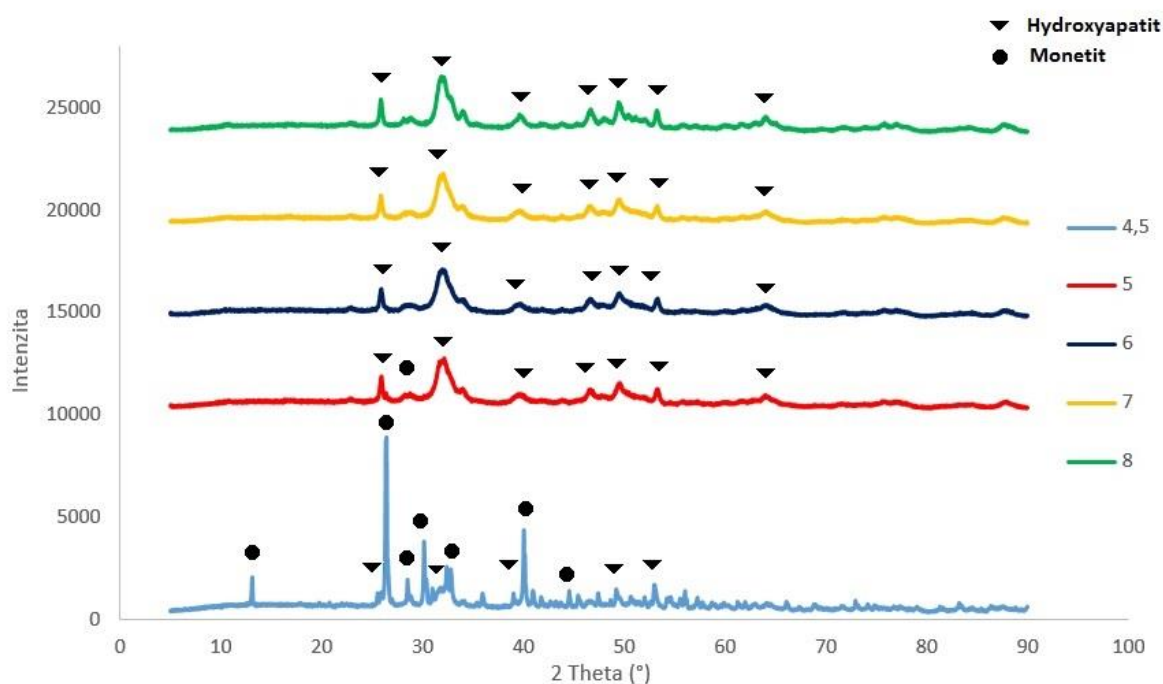
*Obr. 22: Závislost pH reakčního prostředí na NFU roztoku*



Obr. 23: Závislost pH reakčního prostředí na vzniklém množství prášku

Z grafu závislosti přidaného hydroxidu amonného na vzniklém množství sraženiny můžeme pozorovat míru hydrolyzy a precipitaci produktu. Výsledkem je vliv pH reakčního prostředí na vznikající sraženinu. Z výsledků tedy lze předběžně říci, že roztoky 4 - 7 přibližně vykazují nejlepší odezvy na reakční prostředí respektive pH, na množství vzniklého prášku a zároveň zákal a aglomeraci.

Pro stanovení nejlepšího postupu při přípravě HA byly provedeny testy pomocí XRD, infračervenou a Ramanovou spektrometrií a také elektronovým skenovacím mikroskopem.

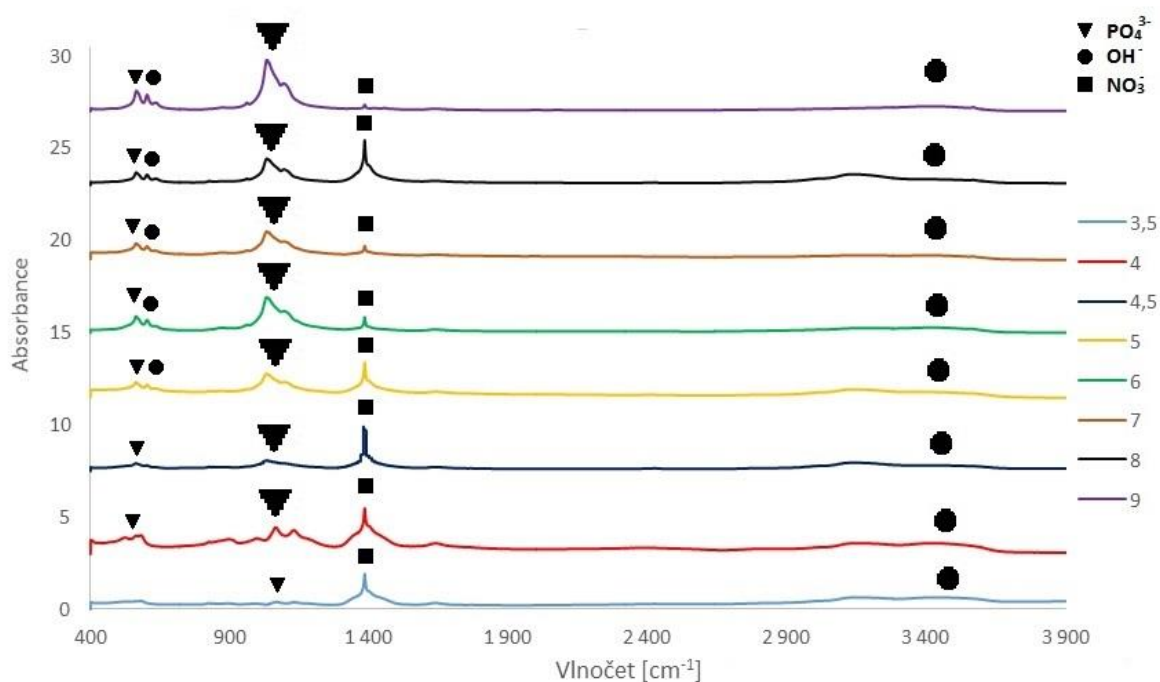


Obr. 24: Rentgenogram připravených prášků pomocí XRD

Tab. 4: – Fázové složení závislé na změně reakčních podmínek syntézy HA

Označení vzorku	Monetit (CaHPO <sub>4</sub> ) [hm. %]	Hydroxyapatit [Ca(PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (OH)] [hm. %]
4,5	87	13
5	18	82
6	0	100
7	0	100
8	0	100

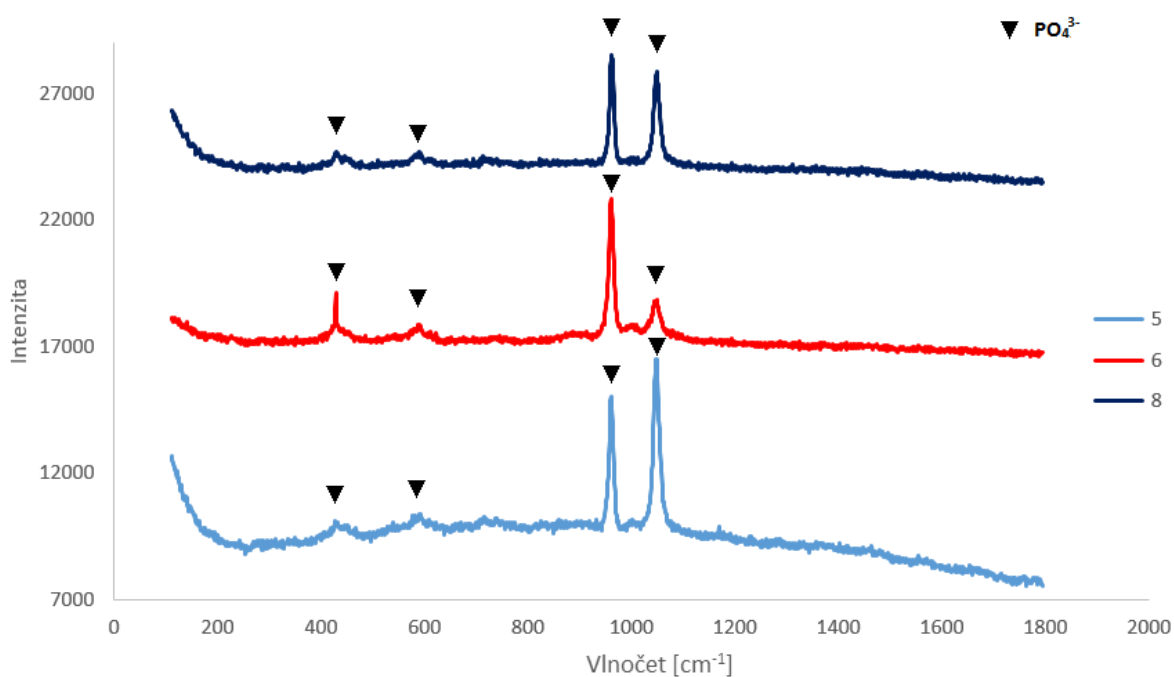
Podle grafu a hodnot z nich vyčtených lze pozorovat měnící se fázové složení s rostoucím pH roztoku. U prášků s nižším přidavkem amoniaku se vyskytuje především monetit a se zvyšujícím se objemem amoniaku vzniká žádoucí hydroxyapatit. Dalším důležitým výsledkem tohoto měření je velikost částice, což lze pozorovat na změně šířky píků. Je to způsobeno širokou distribucí částic hydroxyapatitu.



Obr. 25: Infračervené spektrum nasyntetizovaných prášků

Spektrum IČ prováděno u připravených vzorků nám zobrazuje změny chemického složení s měnícími se reakčními podmínkami. Každá skupina má ve spektru svoje dané píky v charakteristických vlnočtech. Tyto píky a získané hodnoty jsou srovnávány s databázemi (knihovny), kde nalezneme spektra většiny chemických látek. Pro skupinu  $\text{PO}_4^{3-}$  jsou charakteristické vlnočty  $1087$ ,  $962$  a  $571 \text{ cm}^{-1}$ . Hydroxidové skupiny se ve spektru zobrazují ve vlnočtech  $3570$  a  $631 \text{ cm}^{-1}$ . Z důvodu špatného promytí sraženiny se ve spektru zobrazuje také pík  $\text{NO}_3^-$ , který je společně s hydroxyapatitem vedlejší produkt  $(\text{NH}_4\text{NO}_3)$  reakce. Hydroxyapatit se podle spekter vytvářel nejlépe ve vzorcích 5 – 9.

Jako další metoda a pro ověření správnosti měření bylo provedeno měření Ramanovou spektrometrií.

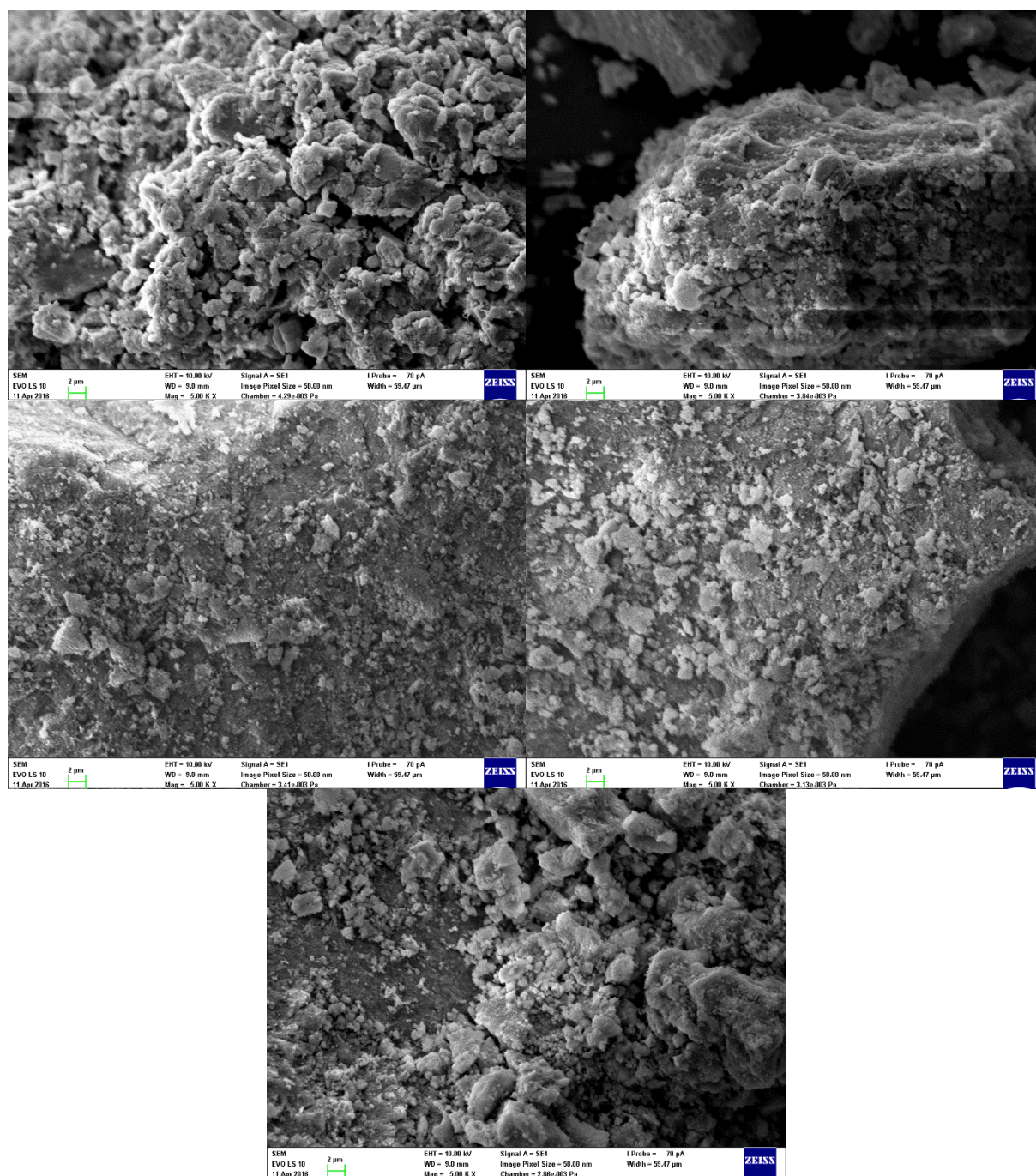


Obr. 26: Ramanovo spektrum nasyntetizovaných prášků

Kontrola měření infračervené spektrometrie byla provedena měřením na Ramanově spektrometru. Píky o vlnočtu  $1047$ ,  $960$ ,  $594$  a  $430 \text{ cm}^{-1}$  odpovídají tetraedrické skupině  $\text{PO}_4^{3-}$ . Tento výsledek je dobrou kontrolou krystalografie připravených prášků.

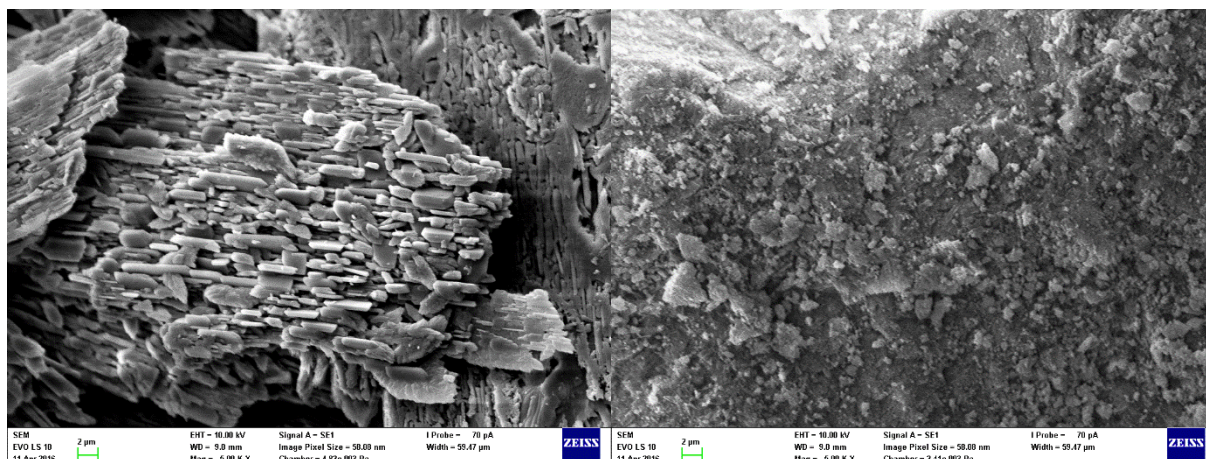


Jako poslední byly vzorky pozorovány skenovacím elektronovým mikroskopem.



Obr. 27: Snímky ze SEM pro srovnání velikosti částic prášků:  
a) 4.5, b) 5, c) 6, d) 7, e) 8, přibliženo 5 000x

Z fotek pořízených na SEM mikroskopu lze při tomto přiblížení (5 000x) potvrdit snižující se rozměry vzniklých částí doprovázeno rostoucí aglomerací. U obrázku a) a b) lze pozorovat podle měřítka na fotce, že se velikost částice pohybuje v rozměrech mikrometrů. U prášku 6 pozorujeme, i přes velkou aglomeraci, rozměry jednotlivých částic, které se pohybují v řádu nanometrů. Vzorek 7 se pohybuje na rozmezí  $\mu\text{m}$  a prášek 8 má částice velikosti  $\mu\text{m}$ . Pro srovnání jsou vloženy snímky nepoužitého vzorku, který byl složen větší částí z monetitu. SEM mikroskopem byla vyfocena monetitová částice, která se výrazně odlišuje od částice připraveného HA.



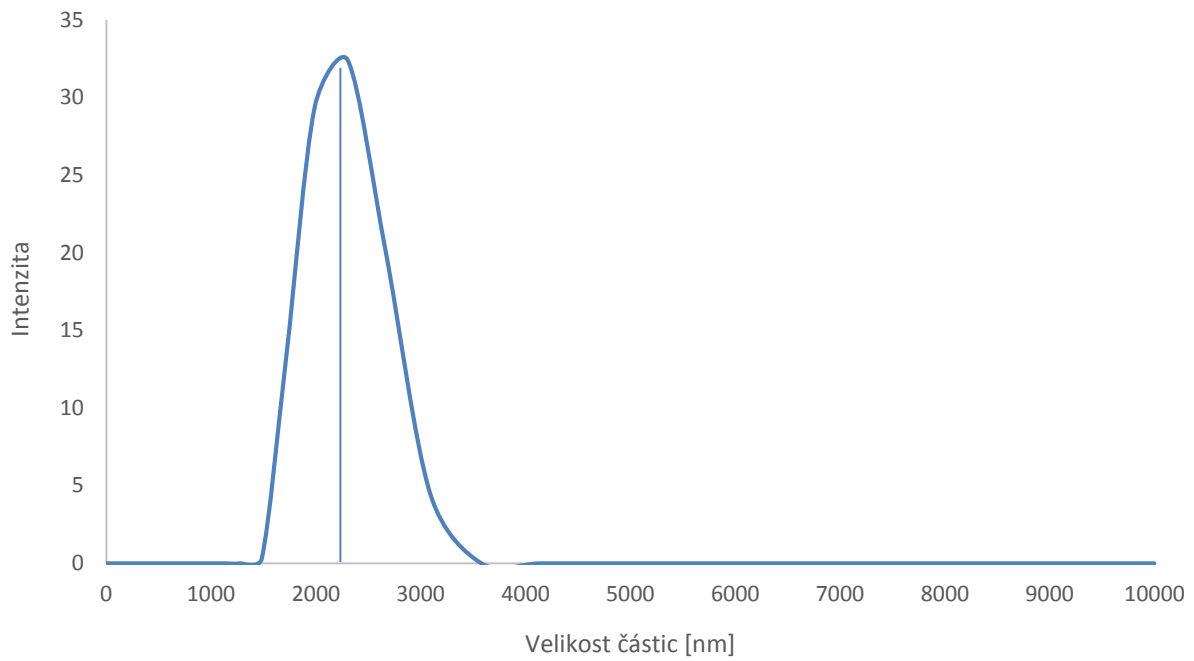
Obr. 28: Srovnání snímků částic monetitu a HA ze SEM mikroskopu:  
a) monetit, b) hydroxyapatit, přibliženo 5 000x

Ze získaných výsledků, vyhodnocených grafů a porovnaných obrázků můžeme určit neoptimálnější podmínky a množství reaktantů pro přípravu čistého hydroxyapatitu, s rozměry v řádu nanometrů a bez fázových nečistot. Dále můžeme pozorovat silnou aglomeraci syntetizovaného prášku, zejména u vzorku 6. Tento problém silného shlukování je problémem všech práškových materiálů v rozměrech nano.

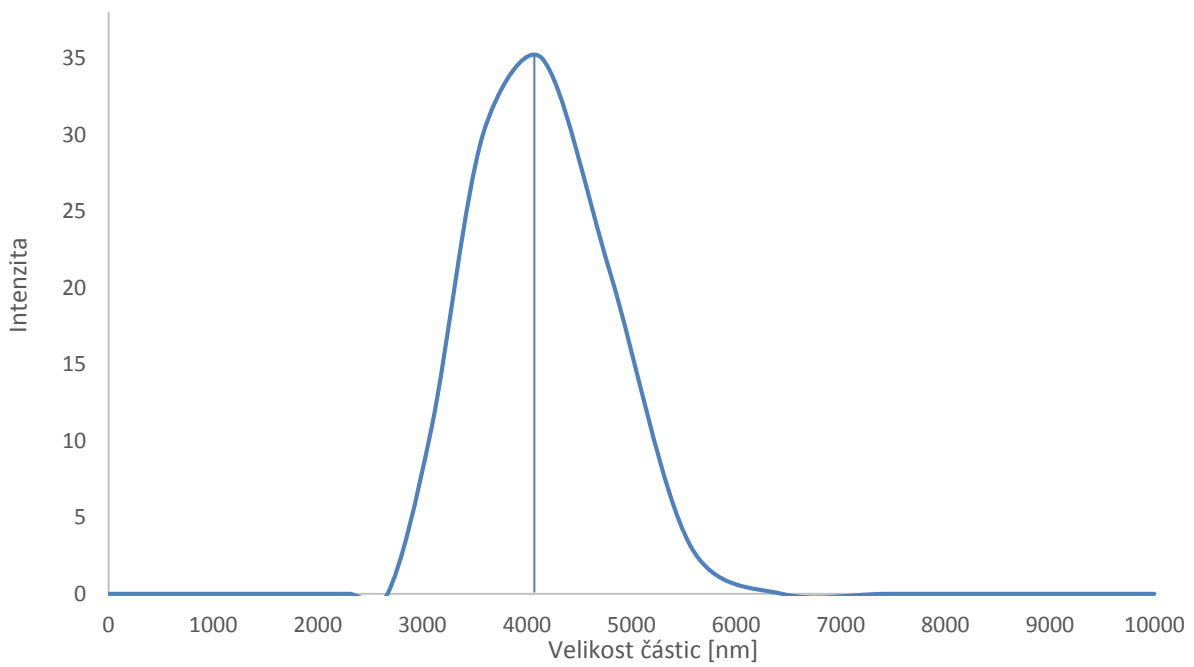
Pro další syntézu bylo postupováno podle reakčního postupu jako u vzorku 6. Podle tohoto byly nasyntetizovány dva velké batche prášku  $V_{\text{HA}}$ . Tyto prášky byly opět testovány XRD, Ramanovou a IČ spektrometrií. Pro srovnání byla provedena XRD analýza obou prášků  $V_{\text{HA}}$ , které podle výsledků jsou identické. Tento výsledek je dobrý pro dobrou reprodukovatelnost syntézy se stejnými výsledky. Spektra byly porovnány s polohou píků prášku 6 a také došlo ke shodě. Skenovací elektronový mikroskop potvrdil velkou aglomeraci, s malými částicemi.

Dále byla změřena velikost částic v suspenzích. Suspenze  $\text{Al}_2\text{O}_3$  byla měřena v 65 hm. % podílu pevné fáze a HA v hm. 55%, stejně jako u přípravy pěn. Z důvodu příliš velké koncentrace, bylo třeba ředit suspenzi vodou 11x.





*Obr. 29: Grafické vyjádření velikosti částic komerčního Nabalox 325*



*Obr. 30: Grafické vyjádření velikosti částic nasyntetizovaného  $V_{HA}$*

Z grafu zobrazujícího velikost částic komerčního Nabalox 325, měřených na Zetasizeru, lze vyčíst, že se částice pohybují v rozmezí 1,5 – 3,5  $\mu\text{m}$ . Maximum píku je přibližně na hodnotě 2,2  $\mu\text{m}$ . Tato hodnota se shoduje s technickým listem komerčního korundu. Připravený prášek hydroxyapatitu  $V_{\text{HA}}$  má rozptyl hodnot od 2,5 – 6  $\mu\text{m}$  a střední hodnota je přibližně 4,1  $\mu\text{m}$ . Vysoká hodnota má za příčinu chování částic nasyntetizovaného hydroxyapatitu, které aglomerují. Z grafů jde poznat změna tvaru píku způsobené nano rozměry, kde komerční Nabalox 325 má úzkou distribuci velikosti částic oproti široké distribuci hydroxyapatitu.

## 5.3 Pěny

### 5.3.1 Test napěňování

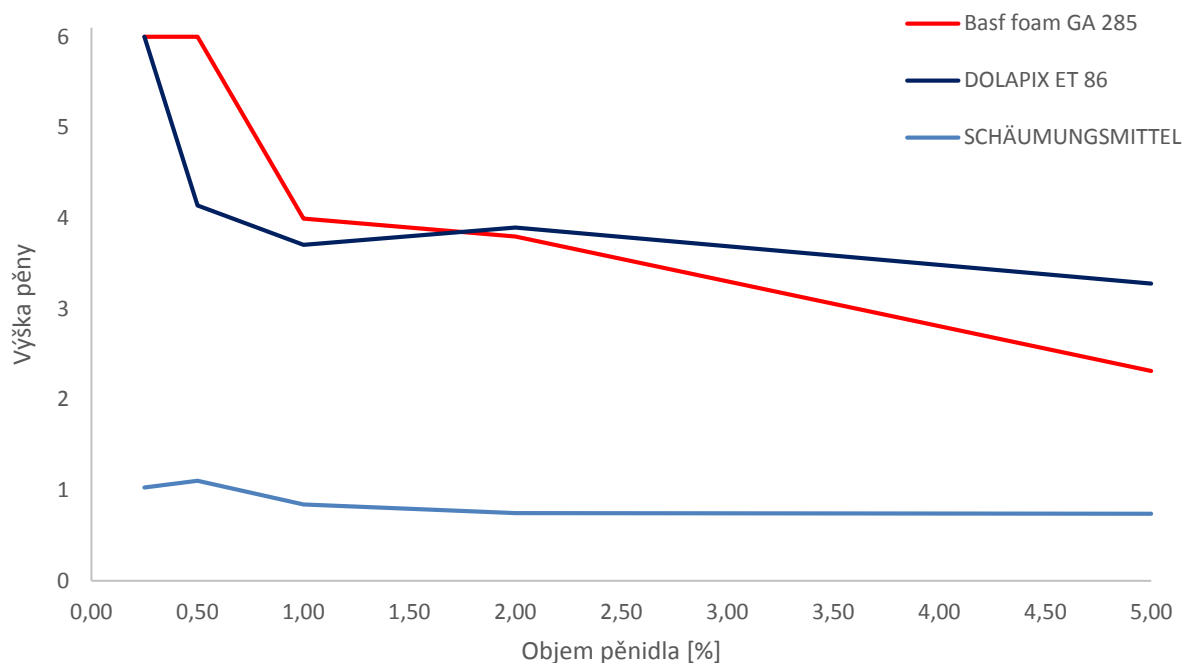
K přípravě keramických pěn ze suspenze je potřeba optimální povrchově aktivní látku, v dobré koncentraci. Proto byl proveden test komerčních pěnidel in situ pěněním na magnetické míchače. Povrchově aktivní látky, které budou přidávány do suspenze, jsou závislé také na prostředí, ve kterém působí. Proto byly vyzkoušeny 3 pěnidla, které byly přidávány v pěti koncentracích. Výsledky byly vyhodnocovány z fotografií pomocí softwaru ImageJ.

Tab. 5: Tabulka pěnidel a výšky napěnění v různých koncentracích

pěnidlo	BASF foam GA 286					Dolapix ET 86					Schäumungsmittel				
	0,25	0,5	1	2	5	0,25	0,5	1	2	5	0,25	0,5	1	2	5
výška kapalně fáze po napěnění [cm]	X	X	3,88	3,51	1,54	X	3,9	3,5	3,6	3,1	0,2	0,10	0	0	0
procentní vyjádření kapalně fáze po napěnění [%]	X	X	64,7	58,4	25,7	X	65,1	57,8	60,8	51,6	3,32	1,7	0	0	0
výška kapalně fáze po 15 minutách [cm]	X	X	4,0	3,80	2,3	X	4,1	3,7	3,9	3,3	1,03	1,10	0,84	0,75	0,74
procentní vyjádření kapalně fáze po 15 minutách [%]	X	X	66,6	63,3	38,6	X	69,0	61,8	64,9	4,6	17,1	18,4	14,1	12,5	12,3

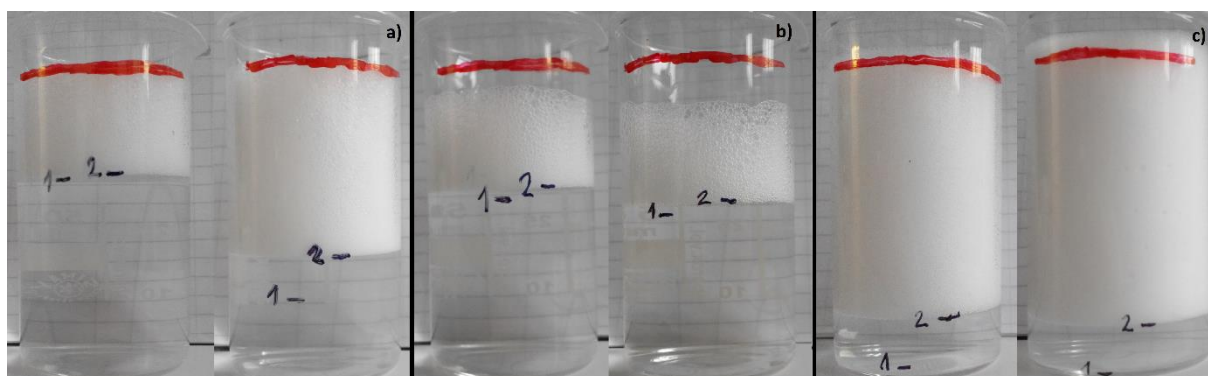
Poznámka k tabulce: X označuje koncentraci pěnidla, která nebyla schopna napěnění.

Pro přehlednost výsledků byl vytvořen graf schopnosti povrchově aktivních látek na přidaném objemovém procentu.



Obr. 31: Závislost objemového procenta povrchově aktivní látky na schopnosti napěnění

Z výsledků zobrazených v grafu jde jednoznačně určit nejlepší povrchově aktivní látku Schäumungsmittel, která již při koncentraci 0,25 hm. % pěnidla vykazuje výborné napěnění. U dalších dvou jde pozorovat neschopnost pění při nízkých koncentracích a něco lepších výsledků při koncentraci 5 hm. %. Pro další práci bylo používáno pěnidlo Schäumungsmittel, při koncentraci 0,25 hm. %. Zvyšování podílu již nevedlo k příliš lepším výsledkům a větší stabilizaci pěny.

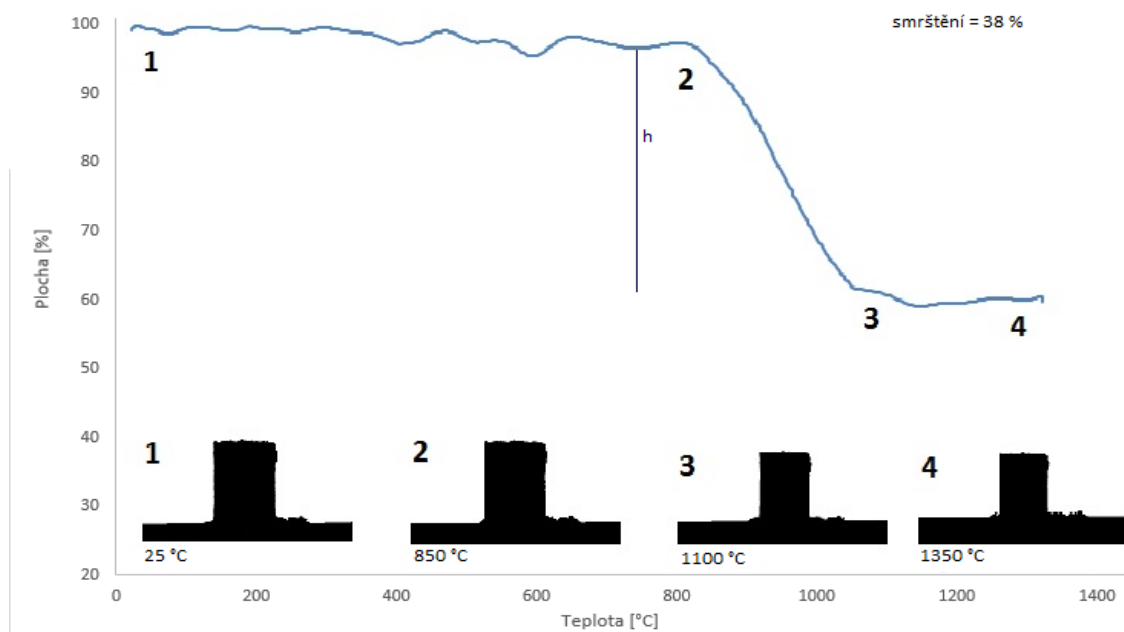


Obr 32: Foto napění a) Basf foam GA 285 (1 a 5 hm. %), b) Dolapix ET 86 (1 a 5 hm. %), c) Schäumungsmittel (0,25 a 1 hm. %)

Z fotografií lze potvrdit předchozí vyhodnocení výsledků pění. Dolapix ET 86, oproti ostatním nedokázal ani stabilizovat pěnu. Schäumungsmittel vytváří hustou stabilní pěnu, proto byl dále používán při napěňování suspenze.

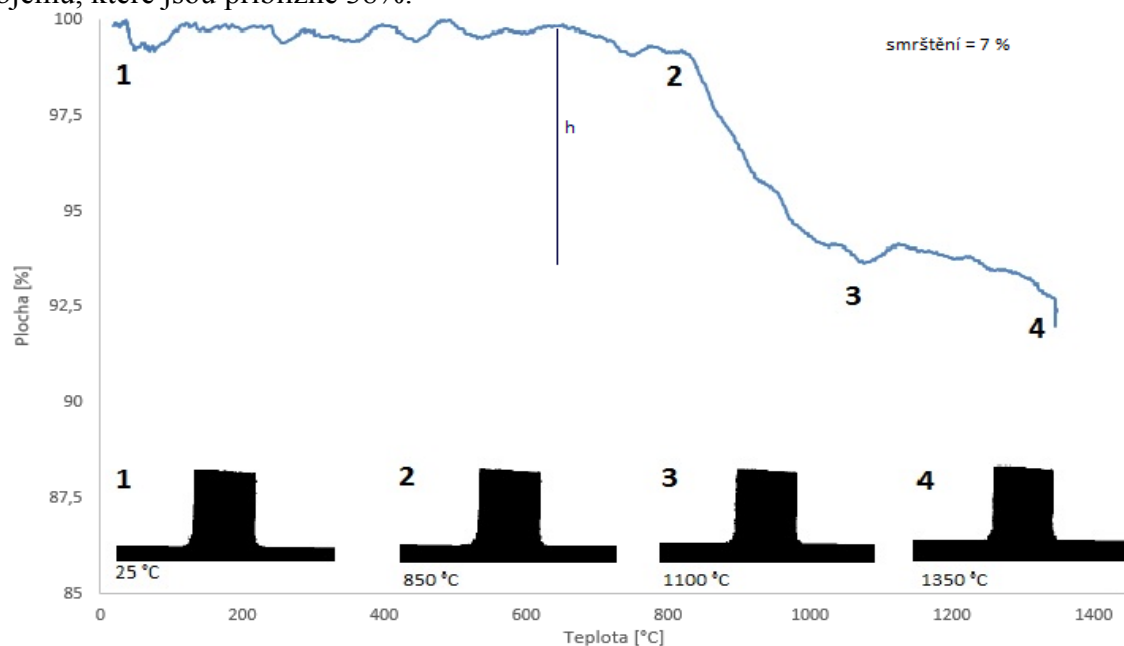
### 5.3.2 Žárová mikroskopie

Pro přesnější postup v další části práce, byly charakterizovány prášky žárovou mikroskopií. Toto měření bylo provedeno pro experimentální stanovení teploty slinutí připraveného hydroxyapatitu. Dalším stanovení bylo měření objemového smrštění. Kompozity 50 – 50 a 75 – 25 a HA byly opticky snímány a byla měřena plocha práškové tablety, která se teplotou měnila. Výsledkem bylo zjištění objemových změn.



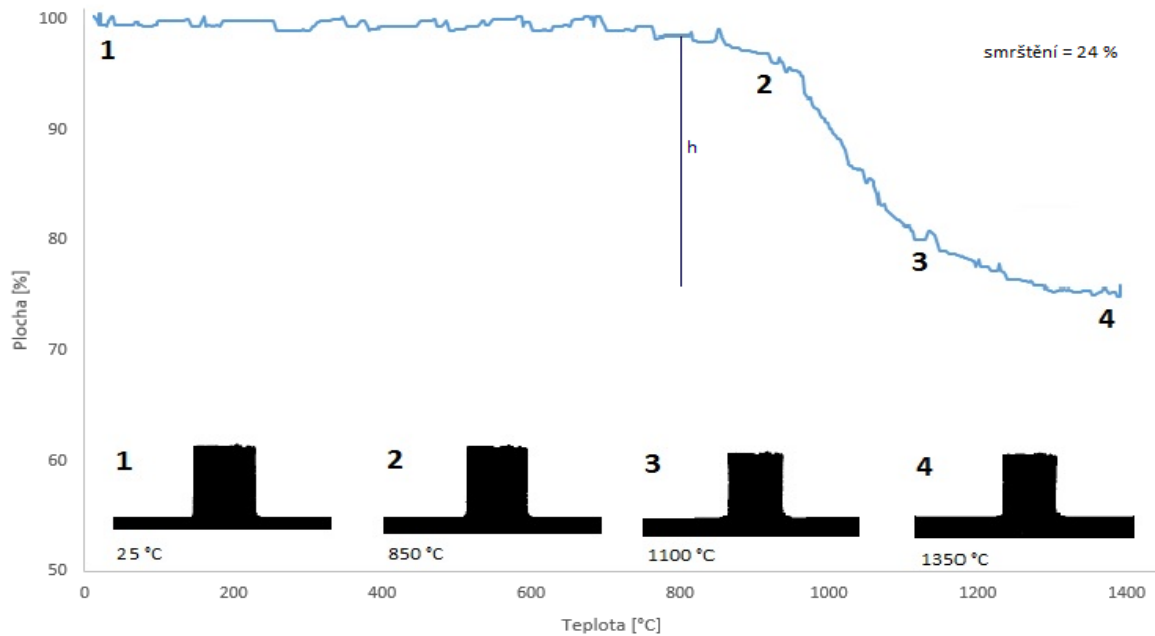
Obr. 33: Závislost teploty na změně plochy slinovaného HA prášku žárovým mikroskopem

Z výsledků jde vyčíst teplota slinutí o teplotě 1175°C. Dále dochází k výrazným změnám objemu, které jsou přibližně 38%.



Obr. 34: Závislost teploty na změně plochy slinovaného kompozitního prášku v poměru 50 – 50 žárovým mikroskopem

Při měření kompozitu 50 – 50 sledujeme velký rozdíl oproti zmenšení objemu hydroxyapatitu. U tohoto vzorku bylo objemové smrštění 7 %. Tato výrazná změna je zapříčiněna velkým podílem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , u kterého je teplota slinutí výrazně vyšší než hydroxyapatitu.



Obr. 35: Závislost teploty na změně plochy slinovaného kompozitního prášku v poměru 75 – 25 žárovým mikroskopem

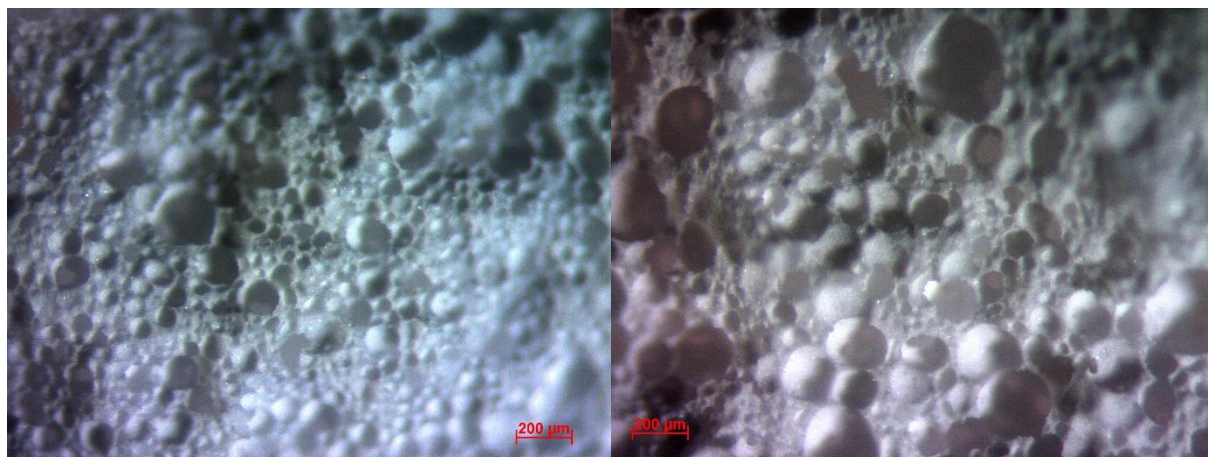
Změna poměru složek u pěny 75 – 25 je důvodem zvýšení objemové změny o 24 %.

### 5.3.3 $\text{Al}_2\text{O}_3$ , HA a kompozitní pěny

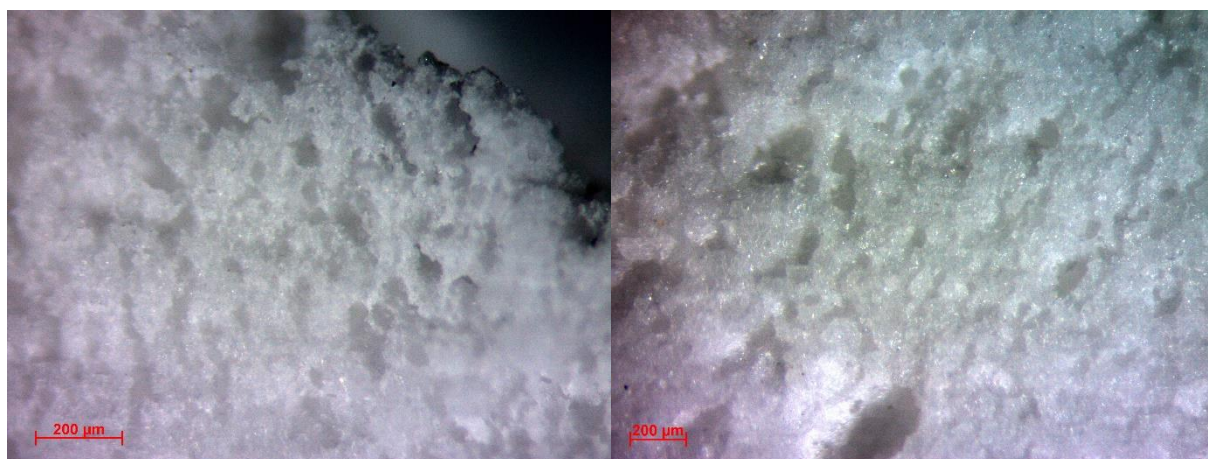
Pokračování v testování pěnidel byla příprava pěn z korundových, hydroxyapatitových a kompozitních suspenzí.  $\text{Al}_2\text{O}_3$  v 65 hm. % plnění, HA v plnění 55 hm. % a tři kompozity v 60 a 55 hm. % plnění pevnou fází. Pěny byly připraveny na magnetické míchače a odlity do hliníkových forem. Dále byly sušeny, odformovány a v superkantolové peci slinuty dle teploty získané z měření žárovou mikroskopií a z literatury. Tyto vzorky byly zkoumány pod stereolupou, skenovacím elektronovým mikroskopem pro sledování velikosti pórů, změn po slinování a interakcí mezi částicemi korundu a hydroxyapatitu. Dále byla měřena objemová hmotnost pyknometrem, porozita. Připravené pěny hydroxyapatitu byly zváženy po vysušení a hmotnosti byly porovnány s hmotnostmi po vypálení. Tyto hmotnosti se od sebe lišily minimálně, z čehož vyplývá, že teplotní program sušení připravených napěněných suspenzí byl zvolen vhodně. Došlo k vypaření většiny přebytečné vody a dobré stabilizaci pěny. Dalším skvělým výsledkem při přípravě pěn ze suspenze je fakt, že nebylo potřeba přidání stabilizátoru nebo koagulačních látek pro udržení napěněné struktury (např. hlinitanovým cementem).



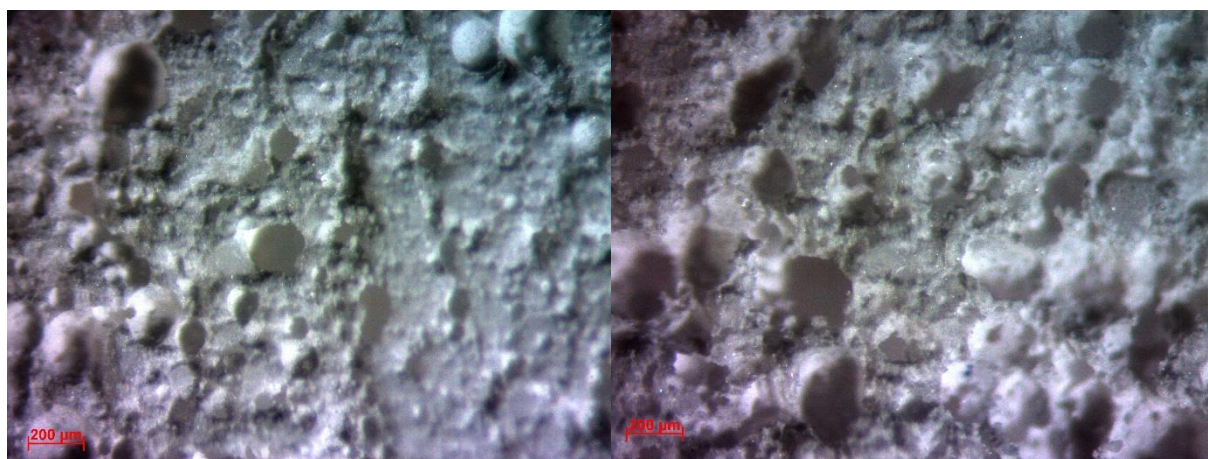
### 5.3.4 Stereolupa



*Obr. 36: Napěněný čistý  $Al_2O_3$  pod stereolupou*

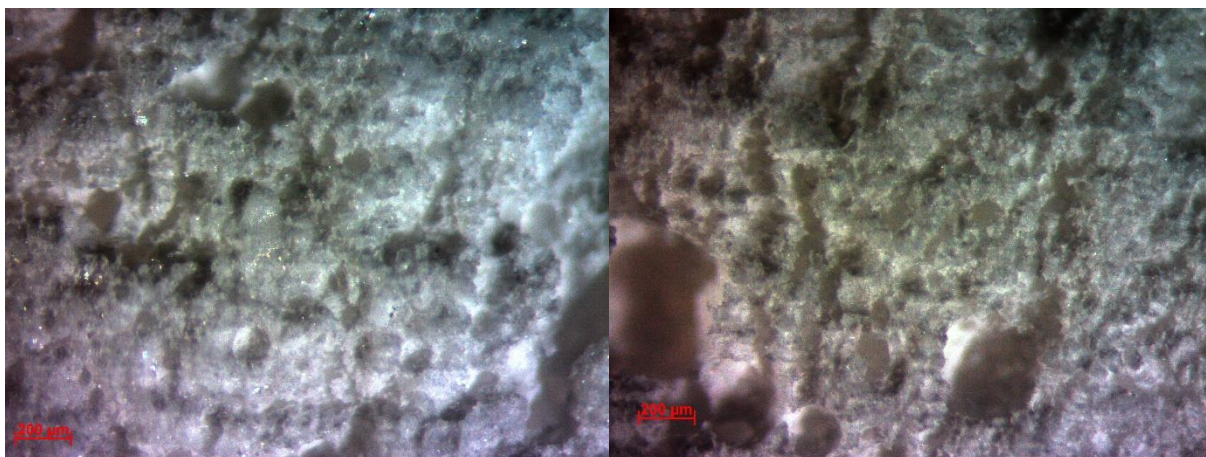


*Obr. 37: Napěněný čistý HA pod stereolupou: a) 1175 °C, b) 1250 °C*

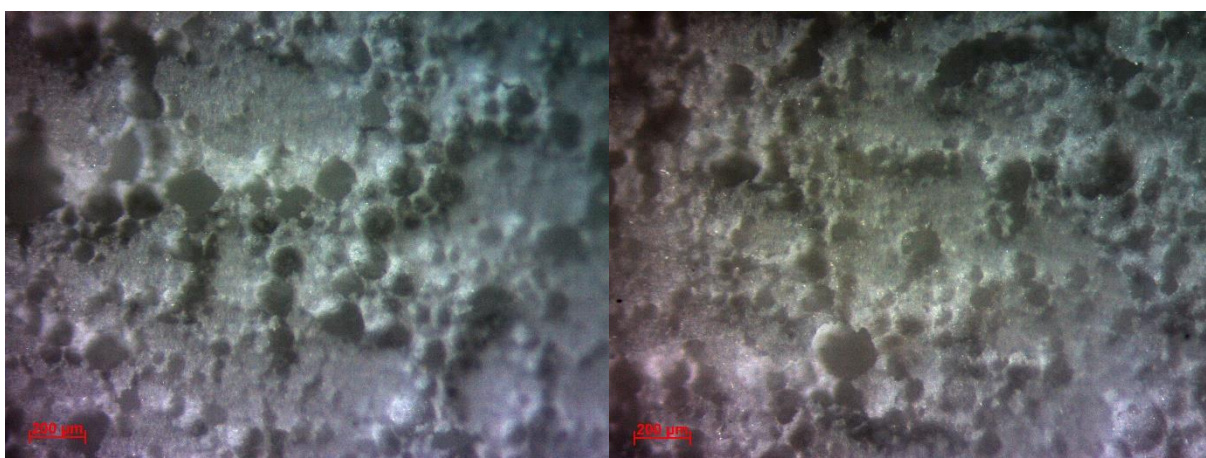


*Obr. 38: Napěněný kompozit v poměru 50 – 50 pod stereolupou: a) 1175 °C, b) 1250 °C*





*Obr. 39: Napěněný kompozit v poměru 75 – 25 pod stereolupou: a) 1175 °C, b) 1250 °C*



*Obr. 40: Napěněný kompozit v poměru 90 – 10 pod stereolupou: a) 1175 °C, b) 1250 °C*

Stereolupou byly vzorky snímány s přibližním 32x. Fotky byly vyhodnocovány pomocí softwaru ImageJ a byly měřeny průměry pórů průsečíkovou metodou, zaznamenána průměrná velikost póru, největší a nejmenší pór a zapsáno do tabulky. Ze snímků lze pozorovat změny chování částic v pění a změny velikosti pórů. U větších částic korundu se vytvořily velké, pravidelné póry, které byly snadno vyhodnoceny z fotek. Oproti vzorkům z HA, které jsou tvořeny z malých částic, a které se při napěnění chovaly jinak. Netvořily pravidelnou strukturu jako korundové pěny a přiblížení stereolupy nebylo dostatečné pro lepší měření velikosti pórů.

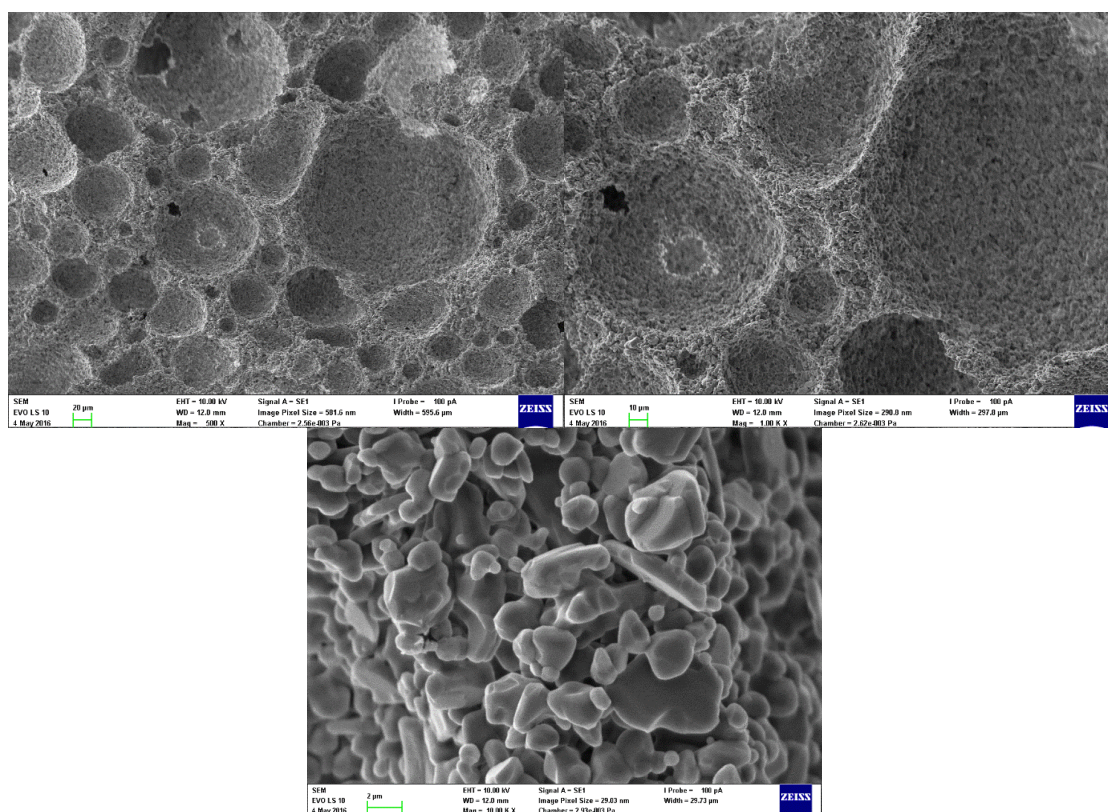
Tab. 6: Tabulka rozměrů pórů připravených pěn

Pěny	Průměr pórů [μm]	Největší pór [μm]	Nejmenší pór [μm]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	60,1	212,4	12,3
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (2)	72,9	192,8	11,1
HA - 1175 °C	22,1	76,1	2,0
HA - 1250 °C	27,6	101,2	3,1
K - 50/50 - 1175 °C	58,1	243,2	6,3
K - 50/50 - 1250 °C	60,3	238,3	3,0
K - 75/25 - 1175 °C	57,7	150,4	3,1
K - 75/25 - 1250 °C	60,1	306,1	19,8
K - 90/10 - 1175 °C	67,5	182,0	16,8
K - 90/10 - 1250 °C	62,4	185,5	19,4

Z výsledků uvedených v tabulce můžeme potvrdit zmenšení velikosti pórů u pěn připravených z hydroxyapatitu, zatímco ostatní pěny vykazují přibližně stejné průměrné hodnoty. Z fotek a z tabulky vyplývá, že při přípravě pěn z korundu dochází k vytváření pravidelných pórů. Dále také při vytváření kompozitních pěn je dobrý korund jako výztuž hydroxyapatitu, protože při porovnání pěn z čistého HA a kompozitu 90 – 10, který má pouze 10 % Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, má pěna kompozitu pravidelné a větší póry.

### 5.3.5 Skenovací elektronový mikroskop

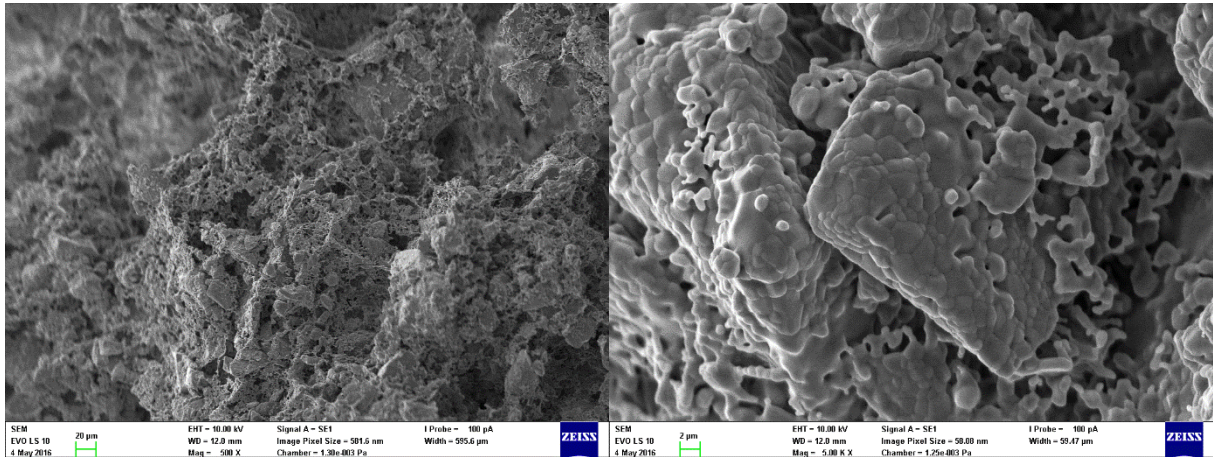
Dalším krokem při pozorování připravených vzorků bylo měření skenovacím elektronovým mikroskopem. Kompozit 75 – 25 nebyl sledován.



Obr. 41: Snímky Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pěny ze SEM mikroskopu: a) 500x, b) 1 000x, c) 10 000x

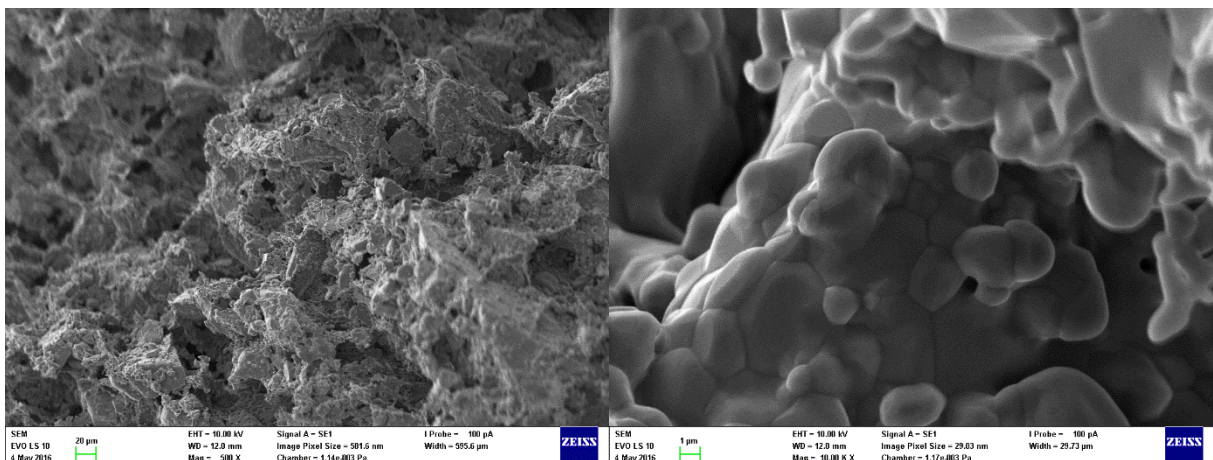


U snímků korundu můžeme potvrdit výsledky získané ze stereolupy, že v pěně vznikly pravidelné a velké póry. U přiblížení 10 000x sledujeme jednotlivé částice Nabaloxu 325, u kterých nedosažením teploty slinutí pouze začaly vznikat krčky, ale nedošlo ke slinutí v jeden celek.



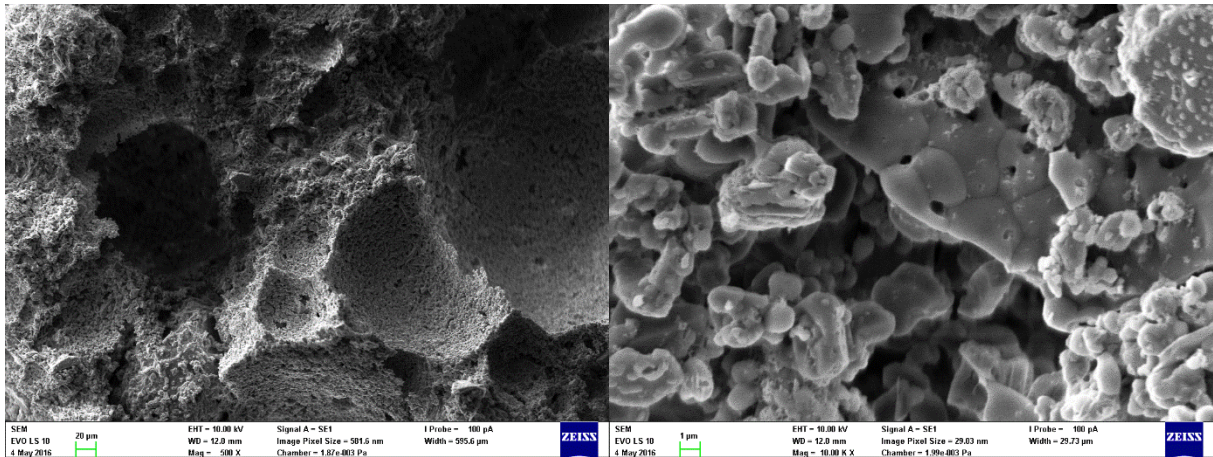
*Obr. 42: Snímky čisté HA pěny slinuté při teplotě 1175 °C ze SEM mikroskopu:  
a) 500x, b) 5 000x*

Hydroxyapatitová pěna při teplotě 1175 °C podle snímků téměř slinula v jeden kompaktní celek, ale můžeme potvrdit výsledky stereolupy, že tyto vzorky nedosahovaly pravidelného napěnění.



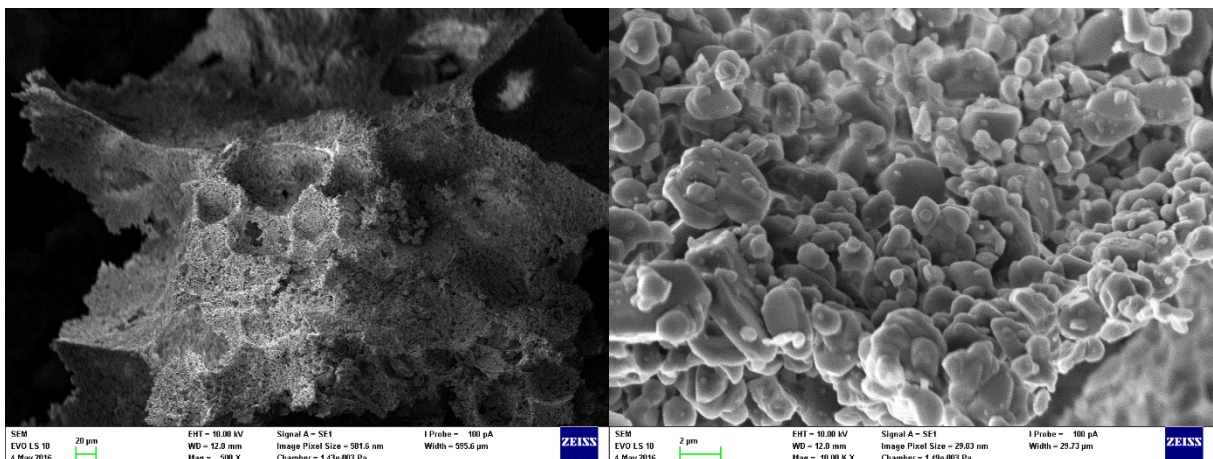
*Obr. 43: Snímky čisté HA pěny slinuté při teplotě 1250 °C ze SEM mikroskopu:  
a) 500x, b) 10 000x*

Slinutí při teplotě 1250 °C nic na struktuře pěny nezměnilo. Při přiblížení 10 000x jdou hezky vidět slinuté částice v jeden celek.



Obr. 44: Snímky kompozitní pěny 50 - 50 slinuté při teplotě 1175 °C ze SEM mikroskopu:  
a) 500x, b) 10 000x

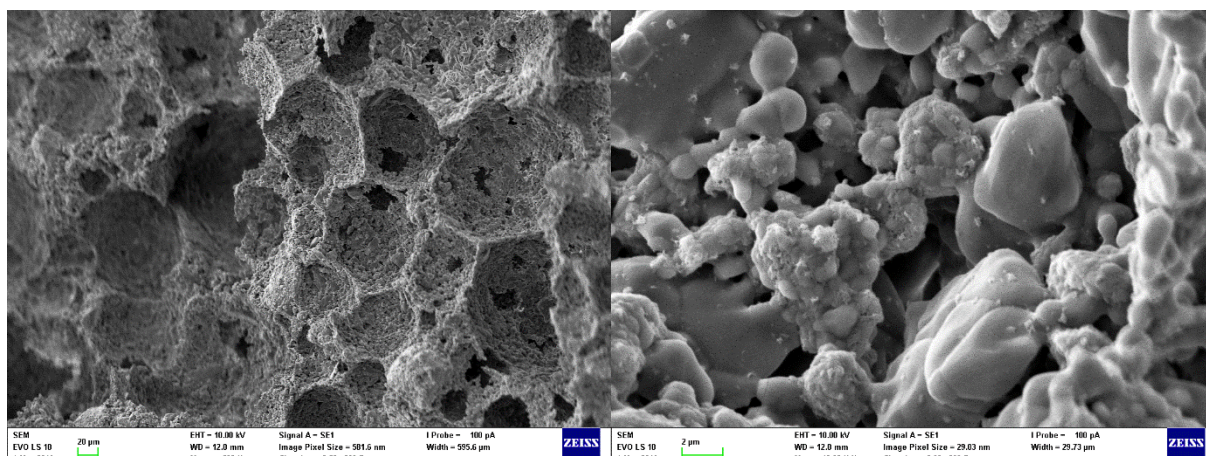
U kompozitu se složením 50 – 50 jde vidět vzájemné působení částic  $\text{Al}_2\text{O}_3$  a HA. Hydroxyapatit sline do jedné částice, zatímco korundové částice jsou rozlišeny výrazným rozhraním od sebe. Ze snímku, který je přiblížen 500x pozorujeme změnu pórovitosti, která při pění kompozitní suspenze narostla a póry jsou větší.



Obr. 45: Snímky kompozitní pěny 50 - 50 slinuté při teplotě 1250 °C ze SEM mikroskopu:  
a) 500x, b) 10 000x

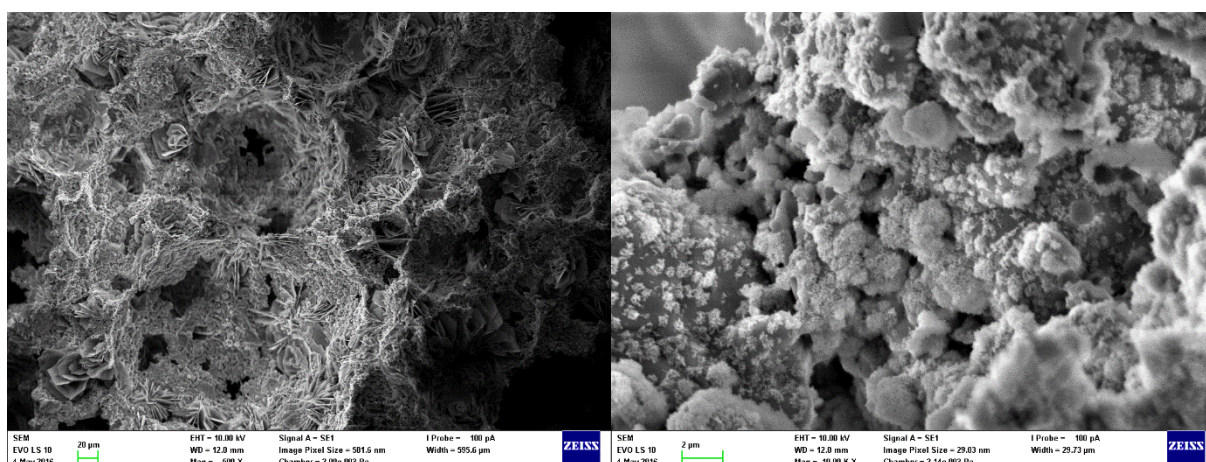
Teplota 1250 °C pro tento kompozit nic příliš nemění. Opět jsou póry pravidelnější a na neslinutých částicích korundu jsou spojeny mnohem menší částice hydroxyapatitu.





Obr. 46: Snímky kompozitní pěny 90 - 10 slinuté při teplotě 1175 °C ze SEM mikroskopu:  
a) 500x, b) 10 000x

Kompozit 90 – 10 má viditelně velké a pravidelné póry, které jsou podle přiblížení složeny opět ze slinutého HA a korundu, na kterém se pouze začínají vytvářet krčky.



Obr. 47: Snímky kompozitní pěny 90 - 10 slinuté při teplotě 1250 °C ze SEM mikroskopu:  
a) 500x, b) 10 000x

Na snímku přiblíženém 10 000x jsou viditelné nanočástice hydroxyapatitu na korundu. Na snímku vlevo jsou viditelné změny ve struktuře pěny. Byla provedena XRD analýza a SEM prvková analýza těchto změn. Výsledkem je potvrzení vzniku hibbonitu (aluminátové fáze  $CA_6$ ), které bylo pravděpodobně způsobeno při vysokoteplotní reakci, kde se ionty vápníku, které jsou v tomto vzorku ve velkém množství, vyvázaly a zreagovaly s malým množstvím hliníku. Hibbonit vzniká již při nízkých teplotách, kterých bylo dosaženo při slinování kompozitní pěny [44]. Záznam z analýzy je v přílohách.

### 5.3.6 Objemová hmotnost měřena pyknometricky

Stejně jako velikost pórů je také objemová hmotnost důležitým údajem o tom, jak byla suspenze napěněna. Pro srovnání napěněné objemové hustoty s hustotami suspenzí je uvedena následující tabulka.

Tab. 7: Přehled objemových hmotností prášků

	Obsah HA [%]	$\rho$ [g/cm <sup>3</sup> ]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0	3,99
HA	100	3,16
Kompozit 50 - 50	50	3,52
Kompozit 75 - 25	75	3,33
Kompozit 90 - 10	90	3,22

Tab. 8: Přehled hmotností a objemových hmotností připravených pěn měřených pyknometrem

Pěna	Suchý vzorek [g]	Pyknometr + pěna + voda [g]	Pyknometr + voda [g]	Hustota vody [g/cm <sup>3</sup> ]	Objemová hmotnost [g/cm <sup>3</sup> ]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,8397	58,5590	57,9257	0,9989	1,5232
HA - 1175 °C	1,1575	58,5553	57,9257	0,9989	2,1902
HA - 1250 °C	1,9345	58,8955	57,9257	0,9989	2,0030
K - 50/50 - 1175 °C	1,8819	58,7883	57,9120	0,9980	1,8677
K - 50/50 - 1250 °C	1,4315	58,4459	57,9257	0,9989	1,5691
K - 75/25 - 1175 °C	1,4548	58,5044	57,9257	0,9989	1,6587
K - 75/25 - 1250 °C	0,7254	58,2155	57,9120	0,9980	1,7159
K - 90/10 - 1175 °C	1,7463	58,7653	57,9120	0,9980	1,9516
K - 90/10 - 1250 °C	1,8955	58,8025	57,9120	0,9980	1,8823

Tímto měřením můžeme opět potvrdit výsledky ze stereolupy a skenovacího elektronového mikroskopu. Nejlépe napěněný Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> je potvrzen na výpočtu objemové hmotnosti a srovnáním s hustotou suspenze. Hydroxyapatit je naproti tomu s objemovou hmotností nejhůře. Přidávkem korundu a napěnění kompozitu je opět patrné snížení objemové hmotnosti a tedy k vyztužení pěny částicemi Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

### 5.3.7 Metoda trojího vážení za využití Archimedova zákona

Metoda trojího vážení je zdokonalené normované měření objemové hustoty a porozity materiálů. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce.

Tab. 9: Přehled hmotností, objemových hmotností a porozity připravených pěn měřených metodou trojího vážení za využití Archimedova zákona

Pěna	Suchý vzorek [g]	Hmotnost nasáklého vzorku [g]	Objemová hmotnost [g/cm <sup>3</sup> ]	Hustota suspenze [g/cm <sup>3</sup> ]	Relativní hustota [g/cm <sup>3</sup> ]	Objem otevřených pórů [%]	Objem uzavřených pórů [%]	Skutečná porozita (%)
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,8433	3,3638	0,9081	3,9900	22,8000	75,1000	2,1000	77,2000
HA-1175 °C	1,4638	1,6203	1,7086	3,1560	54,1000	18,3000	27,5000	45,9000
HA-1250 °C	1,9352	2,4462	1,6746	3,1560	53,1000	44,3000	2,6000	46,9000
K-50/50-1175 °C	1,7767	2,8443	1,0792	3,5240	30,6000	65,0000	4,4000	69,4000
K-50/50-1250 °C	1,4784	2,7960	0,8243	3,5240	23,4000	73,7000	3,0000	76,6000
K-75/25-1175 °C	2,6716	2,9032	1,4131	3,3300	42,4000	12,3000	45,3000	57,6000
K-75/25-1250 °C	0,7161	1,4215	0,7387	3,3300	22,2000	73,0000	4,9000	77,8000
K-90/10-1175 °C	1,6417	2,5015	1,1206	3,2230	34,8000	58,9000	6,4000	65,2000
K-90/10-1250 °C	1,8972	2,7709	1,1897	3,2230	36,9000	54,9000	8,2000	63,1000

Oproti měření objemové hmotnosti pyknometricky je tato metoda mnohem přesnější v zaplnění všech pórů. Snížení hodnoty objemové hmotnosti je z důvodu odvakování vzorků, čímž dojde k zaplnění všech pórů. Porozita čistého napěněného korundu je velmi dobrá a opět došlo k vyztužení kompozitů.

## 6 ZÁVĚR

Práce se zabývá přípravou hydroxyapatitového prášku precipitací a optimalizací postupu pro syntézu. Reakčními podmínkami se dá ovlivnit morfologie, množství a rozměry vzniklého produktu. S měnícím se množstvím amonného roztoku byla připravena řada vzorků. Ta byla charakterizována IČ a Ramanovou spektrometrií, XRD analýzou a sledována velikost částic na skenovacím elektronovém mikroskopu.

Cílem této práce bylo studium keramických materiálů použitelné pro tkáňové inženýrství. Hydroxyapatit byl připraven optimálním postupem, který vycházel z výsledků analýz a obsahoval pouze čistý HA. Vhodně zvolenými podmínkami bylo zabráněno vzniku jiných fázových složení. Spektrálními metodami a srovnáním s databází byla zjištěna odezva pouze  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{OH}^-$  a  $\text{NO}_3^-$  skupin. Fosforečnanová a hydroxidová skupina jsou odezvy na správné chemické složení. Dusičnany ve vzorku jsou obsaženy díky nedokonalému promytí sraženiny. SEM mikroskopem byly pozorovány částice, které byly připraveny v nanorozměrech. Nežádoucí aglomerace, pozorována již na snímcích ze skenovacího mikroskopu, byla potvrzena při měření distribuce velikosti částic Zetasizerem. Příprava hydroxyapatitu byla úspěšně několikrát provedena, se stejnými výsledky chemického a fázového složení a se stejnou morfologií, což je dobré pro reprodukovatelnost syntézy. Dalším cílem byla příprava keramických pěn in situ pěněním. Byly připraveny pěny z  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , čistého HA a kompozitů (v poměrech 50 – 50, 75 – 25 a 90 – 10). Při napěňování keramické suspenze je největší komplikací hmotnostní procento pevné fáze. Bylo vyzkoušeno několik vzorků, s různými koncentracemi pevných podílů. Nejlepší hmotnostní procento pevné fáze u pěn z korundu bylo 65 hm. %. Napěněný hydroxyapatit byl připravován z 55 hm. %. Kompozitní pěny měly neoptimálnější plnění při 60 hm. % (50 -50) a 55 hm. % (75 -25, 90 – 10). Slinování, jakožto poslední krok přípravy keramické pěny, bylo prováděno při dvou teplotách. První sada byla při teplotě slinutí čistého HA nalezená v literatuře, která je 1250 °C a druhá teplota byla stanovena z připraveného prášku HA, která byla měřena žárovou mikroskopií a experimentálně stanovena na 1175 °C. Stereolupou a skenovacím elektronovým mikroskopem byly sledovány průměrné velikosti pórů a míra slinutí. Hydroxyapatitová pěna, vzhledem k nanorozměrům částic, napěnila nepravidelně. Velikost pórů se rovnala přibližně 20  $\mu\text{m}$  a částice téměř slinuly v jeden celek. Ze snímků rozdílných teplot slinování můžeme říct, že rozdíly teplot výpalu nezpůsobily viditelné rozdíly. Výsledky objemové hmotnosti a porozity ukázaly uspokojivé výsledky. Korundové pěny neslinuly, z důvodu nízké teploty výpalu, nicméně vykazují pravidelnou pórovitost, s velkými póry a velmi dobrý výsledek objemové hmotnosti. Kompozity, oproti čistému hydroxyapatitu vykazují mnohem lepší výsledky. Korund, jako materiál zlepšující mechanické vlastnosti kompozitu dává těmto vzorkům pravidelnou pórovitost a póry jsou velké. Objemová hmotnost se oproti čisté HA pěně snížila a naopak porozita byla zvýšena. SEM mikroskopem byla sledována míra slinutí, která u kompozitních pěn byla dobrá pouze u částic hydroxyapatitu, ale pro částice  $\text{Al}_2\text{O}_3$  byly teploty slinutí kompozitů příliš nízké. Nicméně jako nejlepší připravený napěněný vzorek bych určil hydroxyapatitovou pěnu, která vykazovala dobré výsledky a také kompozit (90 – 10). Tato pěna obsahovala nejmenší množství korundové výztuže, ale velkou porozitu, nízkou objemovou hmotnost a velké póry. Dobrým výsledkem této části práce je, že při přípravě

keramických pěn in situ pěněním bylo vhodně zvoleno hmotnostní procento pevné fáze, bez použití koagulantů či stabilizátorů napěnění.

Pro označení keramických pěn jako vhodné pro tkáňové inženýrství, by měly být vzorky podrobeny testům in vitro, kde by se měřila schopnost povrchu pěny poskytnout dostatečnou adhezi pro buňky a osteoblasty.



## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] RATNER, Buddy D. a Stephanie J. BRYANT. Biomaterials: Where We Have Been and Where We Are Going. *Annual Review of Biomedical Engineering* [online]. 2004, 6(1), 41-75 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027. ISSN 1523-9829. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027>
- [2] HENCH, Larry L. Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society* [online]. 1998, 81(7), 1705-1728 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1111/j.1151-2916.1998.tb02540.x. ISSN 00027820. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1151-2916.1998.tb02540.x>
- [3] WANG, Min. Developing bioactive composite materials for tissue replacement. *Biomaterials* [online]. 2003, 24(13), 2133-2151 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00037-1. ISSN 01429612. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961203000371>
- [4] NAVARRO, M, A MICHIARDI, O CASTANO a J.A PLANELL. Biomaterials in orthopaedics. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. 2008, 5(27), 1137-1158 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1098/rsif.2008.0151. ISSN 1742-5689. Dostupné z: <http://rsif.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsif.2008.0151>
- [5] BARRÈRE, F., T.A. MAHMOOD, K. DE GROOT a C.A. VAN BLITTERSWIJK. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Materials Science and Engineering: R: Reports* [online]. 2008, 59(1-6), 38-71 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1016/j.mser.2007.12.001. ISSN 0927796x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927796X07001234>
- [6] THAMARAISELVI, T. V. a S. RAJESWARI. Biological Evaluation of Bioceramic Materials - A Review [online]. 2004 [cit. 2016-04-25]. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.470.4214&rep=rep1&type=pdf>
- [7] [Http://www.dental-office.cz](http://www.dental-office.cz) [online]. [cit. 2016-04-25]. Dostupné z: <http://www.dental-office.cz/cs/poskytovana-pece/zubni-implantaty.html>
- [8] URBAN, Karel a Zdeněk STRNAD. Bioaktivní sklokeramika nahrazující kost: Neživé náhrady srůstající s živou tkání. *Vesmír* 79 [online]. 2000 [cit. 2016-04-25]. Dostupné z: <http://www.cts.cuni.cz/vesmir>
- [9] [Http://www.obklinika.cz](http://www.obklinika.cz) [online]. [cit. 2016-04-25]. Dostupné z: <http://www.obklinika.cz/ortopedie#lightbox>
- [10] TRUNEC, Martin. Nové technologie tvarování pokročilé keramiky, její možnosti a rizika. *Siliklátová společnost ČR*. 2004,2004, 14. ISSN 1212-3188.
- [11] HANYKÝŘ, Vladimír a Jiří HAVRDA. Speciální technologie keramiky I. Praha: VŠCHT Praha, 1991.
- [12] PTÁČEK, Petr. Praktikum z preparativních a testovacích metod II.: soubor návodů pro laboratorní cvičení ze zkušebních metod keramických materiálů a surovin používaných v jejich výrobě. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. ISBN 978-80-214-4435-5.

- [13] ŠATAVA, Vladimír. Fyzikální chemie silikátů II. 1. Praha: VŠCHT v Čs. redakci VN MON, 1987.
- [14] [Http://www.slideshare.net](http://www.slideshare.net) [online]. [cit. 2016-04-25]. Dostupné z: <http://www.slideshare.net/nakulrtm/class16-40989637>
- [15] BARTONICKOVA, Eva, Petr PTACEK, Tomas OPRAVIL, Frantisek SOUKAL, Jiri MASILKO, Radoslav NOVOTNY, Jiri SVEC a Jaromir HAVLICA. Mullite-based refractories fabricated by foam casting. *Ceramics International* [online]. 2015, 41(10), 14116-14123 [cit. 2016-04-26]. DOI: 10.1016/j.ceramint.2015.07.032. ISSN 02728842. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272884215013188>
- [16] MONTANARO, Laura, Y JORAND, G FANTOZZI a A NEGRO. Ceramic Foams by Powder Processing. *Journal of the European Ceramic Society* [online]. Great Britain, 1998(18), 12 [cit. 2016-04-26].
- [17] 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* [online]. 2006, 89(6), 1771-1789 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1111/j.1551-2916.2006.01044.x. ISSN 0002-7820. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1551-2916.2006.01044.x>
- [18] NOURI-KHEZRABAD, M., M.A.L. BRAULIO, V.C. PANDOLFELLI, F. GOLESTANI-FARD a H.R. REZAIE. Nano-bonded refractory castables. *Ceramics International* [online]. 2013, 39(4), 3479-3497 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.ceramint.2012.11.028. ISSN 02728842. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272884212012837>
- [19] INNOCENTINI, Murilo D. M., Pilar SEPULVEDA, Vania R. SALVINI, Victor C. PANDOLFELLI a José R. COURY. Permeability and Structure of Cellular Ceramics: A Comparison between Two Preparation Techniques. *Journal of the American Ceramic Society* [online]. 1998, 81(12), 3349-3352 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1111/j.1151-2916.1998.tb02782.x. ISSN 0002-7820. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1151-2916.1998.tb02782.x>
- [20] MARTIN, R. A., S. YUE, J. V. HANNA, P. D. LEE, R. J. NEWPORT, M. E. SMITH a J. R. JONES. Characterizing the hierarchical structures of bioactive sol-gel silicate glass and hybrid scaffolds for bone regeneration. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* [online]. 2012, 370(1963), 1422-1443 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1098/rsta.2011.0308. ISSN 1364-503x. Dostupné z: <http://rsta.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsta.2011.0308>
- [21] THONGPRACHAN, N., K. NAKAGAWA, N. SANO, T. CHARINPANITKUL a W. TANTHAPANICHAKOON. Preparation of macroporous solid foam from multi-walled carbon nanotubes by freeze-drying technique. *Materials Chemistry and Physics* [online]. 2008, 112(1), 262-269 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2008.05.067. ISSN 02540584. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254058408003337>

- [22] HUDECOVÁ, I. Ondrejková-J. Hojerová-D.; KOVAŘÍK, A. Kaszonyi-A. Koreňová-P.; PALOU, M. SPOLOČNÁ BUDÚCNOSŤ CHÉMIE A BIOLÓGIE.
- [23] ELLIOTT, J. C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. New York: Elsevier, 1994. ISBN 04-448-1582-1.
- [24] SADAT-SHOJAI, Mehdi, Mohammad-Taghi KHORASANI, Ehsan DINPANA-KHOSHARGI a Ahmad JAMSHIDI. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia* [online]. 2013, 9(8), 7591-7621 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.04.012. ISSN 17427061. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706113001840>
- [25] TRIPATHI, Garima a Bikramjit BASU. A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations. *Ceramics International* [online]. 2012, 38(1), 341-349 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.ceramint.2011.07.012. ISSN 02728842. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272884211006481>
- [26] <Http://www.amtech.com.pk> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.amtech.com.pk/biomat.html>
- [27] MOBASHERPOUR, I., M. Soulati HESHJIN, A. KAZEMZADEH a M. ZAKERI. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2007, 430(1-2), 330-333 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.jallcom.2006.05.018. ISSN 09258388. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925838806005305>
- [28] HANYKÝŘ, Vladimír. *Technologie keramiky*. 1. vyd. Hradec Králové: Vega, 2000. ISBN 80-900-8606-3.
- [29] GIRIJA, E.K., G. Suresh KUMAR, A. THAMIZHAVEL, Y. YOKOGAWA a S. Narayana KALKURA. Role of material processing on the thermal stability and sinterability of nanocrystalline hydroxyapatite. *Powder Technology* [online]. 2012, **225**, 190-195 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.powtec.2012.04.007. ISSN 00325910. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032591012002380>
- [30] BHANUSHALI, M., V. BAGALE, A. SHIRODE, Y. JOSHI a V. KADAM. An in-vitro toxicity testing - a reliable alternative to toxicity testing by reduction, replacement and refinement of animals. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences* [online]. 2010, 1(1), 15-31 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.5138/ijaps.2010.0976.1055.01002. ISSN 09761055. Dostupné z: <http://www.arjournals.org/ijaps1/ijaps.2010.0976.1055.01002.pdf>
- [31] BIZARI, D, F MOZTARZADEH, M RABIEE, M TAHRIRI, F BANAFATIZADEH, A ANSARI a K KHOSHROO. Development of biphasic hydroxyapatite/dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) bone graft using polyurethane foam template: in vitro and in vivo study. *Advances in Applied Ceramics* [online]. 2013, 110(7), 417-425 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1179/1743676111Y.0000000052. ISSN 1743-6753. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1743676111Y.0000000052>

- [32] LAPENNA, Silvia; GABBERT, Silke; WORTH, Andrew. Training Needs for Toxicity Testing in the 21st Century: A Survey-informed Analysis. *Altern Lab Anim*, 2012, 40.6: 313-320.
- [33] PAMPALONI, Francesco, Emmanuel G. REYNAUD a Ernst H. K. STELZER. The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2007, 8(10), 839-845 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1038/nrm2236. ISSN 1471-0072. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrm2236>
- [34] <https://www.researchgate.net/> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/225294023\\_fig1\\_Basic-scheme-of-tissue-engineering-A-biopsy-is-carried-out-to-extract-cells-from-the](https://www.researchgate.net/figure/225294023_fig1_Basic-scheme-of-tissue-engineering-A-biopsy-is-carried-out-to-extract-cells-from-the)
- [35] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [36] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-718-4365-2.
- [37] <https://is.mendelu.cz> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/index.pl?cast=52957>
- [38] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 4. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. ISBN 80-708-0475-0.
- [39] <https://web.natur.cuni.cz> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/analchem/pprakt/ftir.pdf>
- [40] <http://www.chempoint.cz> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/rentgenova-difrakcni-analyza-na-praskovych-vzorcich>
- [41] <http://www.fzu.cz> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>
- [42] <http://www.chempoint.cz> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/videt-znamena-vedet>
- [43] <http://mmp.vfu.cz> [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: [http://mmp.vfu.cz/opvk2014/?title=teorie-biologie\\_tisk&lang=cz&teorie=yes&ukoly=yes](http://mmp.vfu.cz/opvk2014/?title=teorie-biologie_tisk&lang=cz&teorie=yes&ukoly=yes)
- [44] VISHISTA, K., F. D. GNANAM a H. AWAJI. Sol-Gel Synthesis and Characterization of Alumina-Calcium Hexaaluminate Composites. *Journal of the American Ceramic Society* [online]. 2005, 88(5), 1175-1179 [cit. 2016-05-18]. DOI: 10.1111/j.1551-2916.2005.00330.x. ISSN 0002-7820. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1551-2916.2005.00330.x>

## **8 Seznam použitých zkratk a symbolů**

TCP – trikalcium fosfát

HA - hydroxyapatit

IČ – infračervená spektrometrie

FTIR – Fourierova transformace infračerveného záření

VIS – viditelná oblast spektra

RTG – rentgenové záření

XRF – rentgeno fluorescenční analýza

XRD – rentgenová difrakční analýza

TEM – transmisní elektronový mikroskop

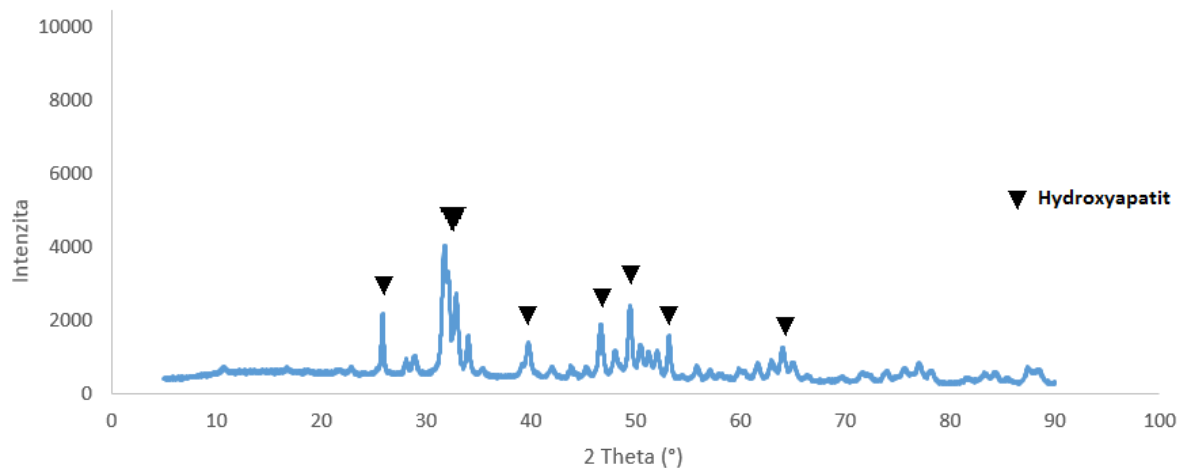
SEM – skenovací elektronový mikroskop

BSE – detekované odražené elektrony z pružné srážky

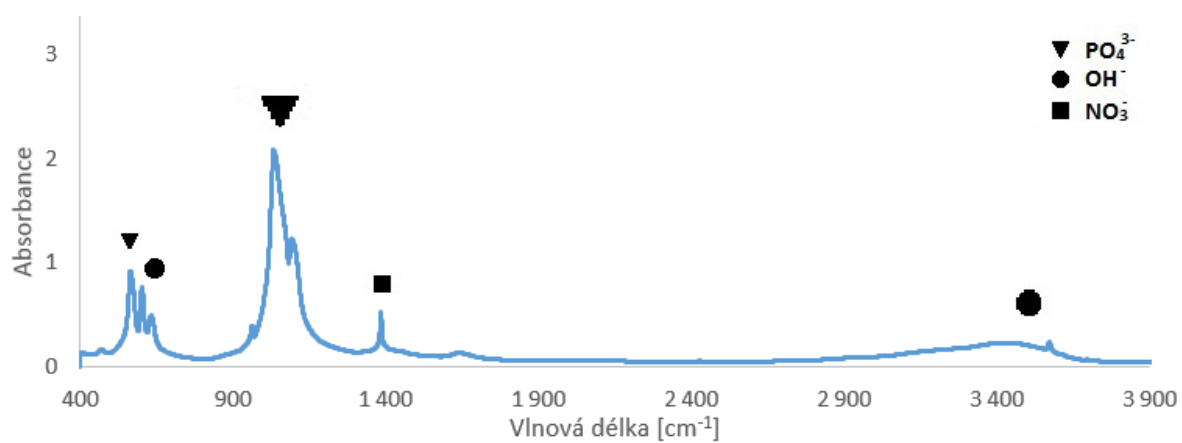
NFU – nefelometrický jednotka zákalu

OH – objemová hmotnost

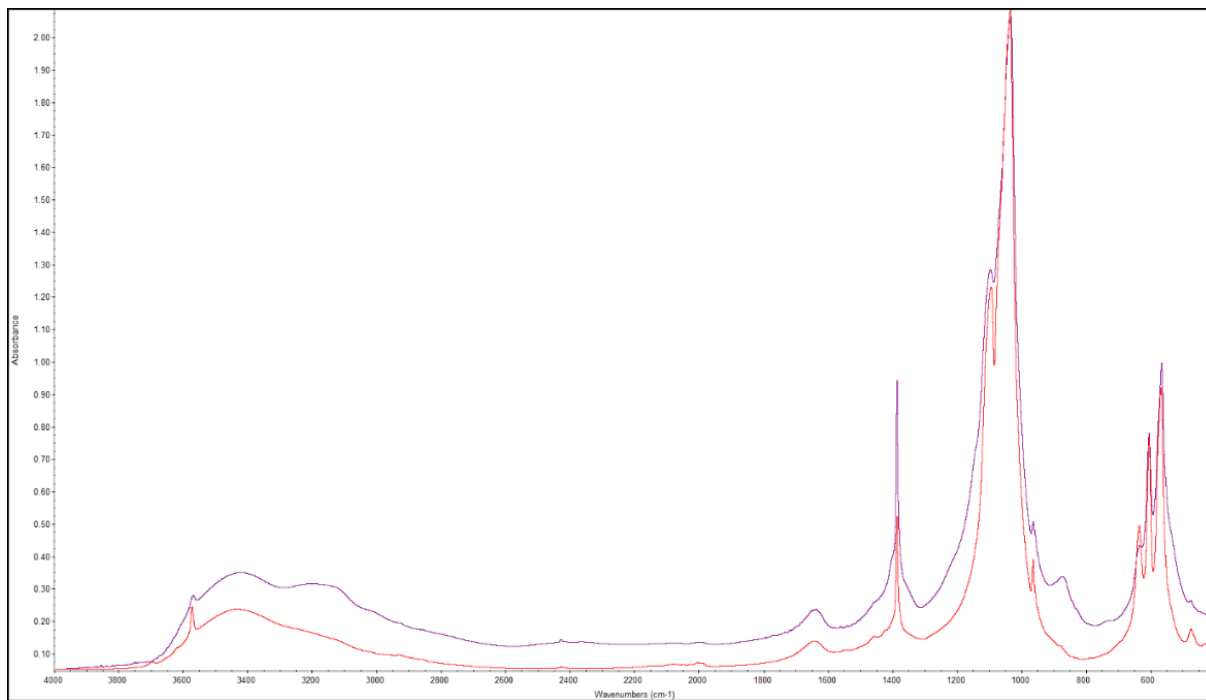
## 9 Přílohy



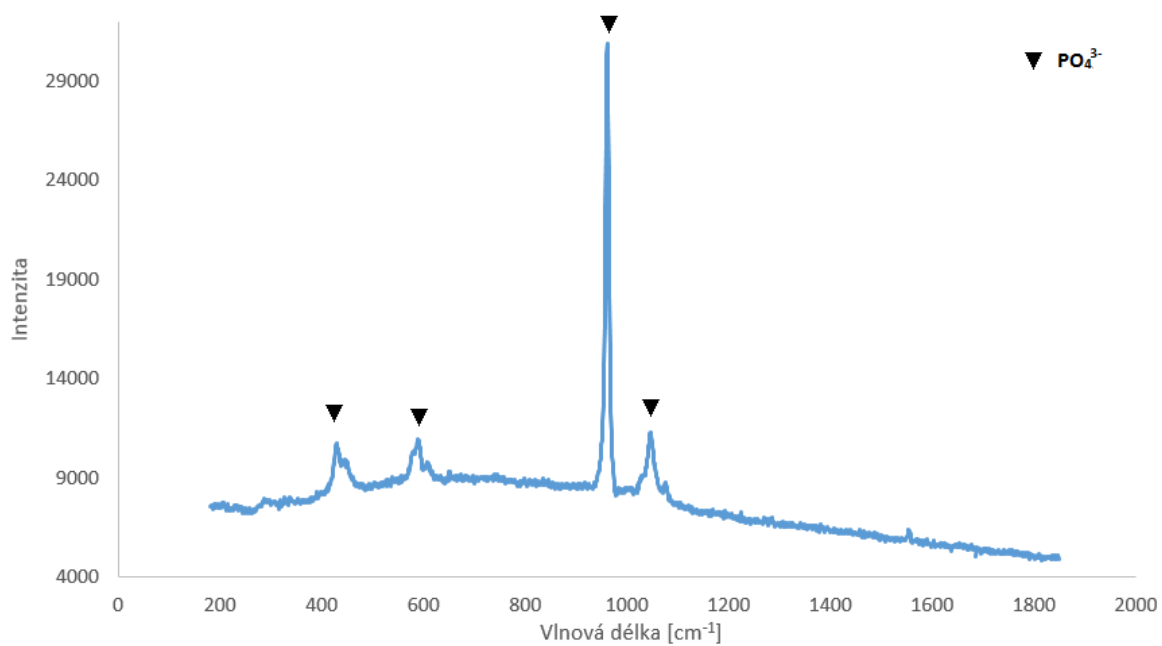
Obr. 48: Kontrolní rentgenogram chemického složení prášku  $V_{HA}$



Obr. 49: Kontrola nasyntetizovaného prášku  $V_{HA}$  infračervenou spektrometrií

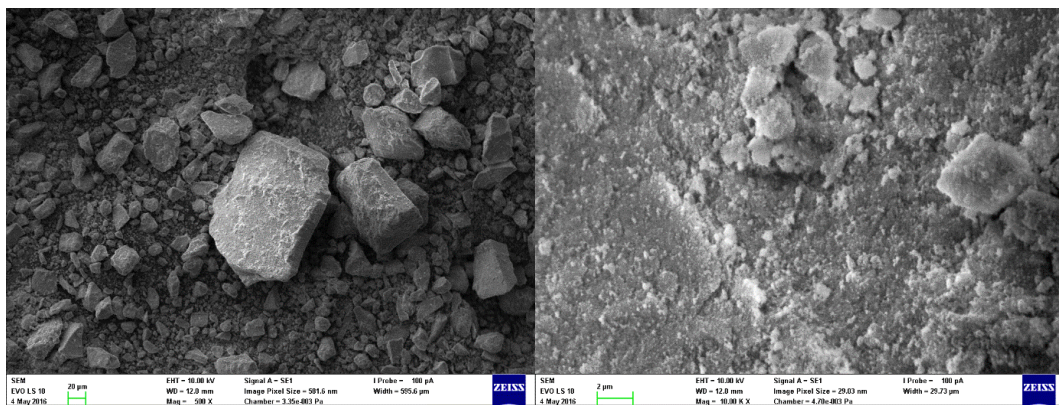


Obr. 50: Srovnání připravených prášků 6 a  $V_{HA}$  IČ spektrometrií

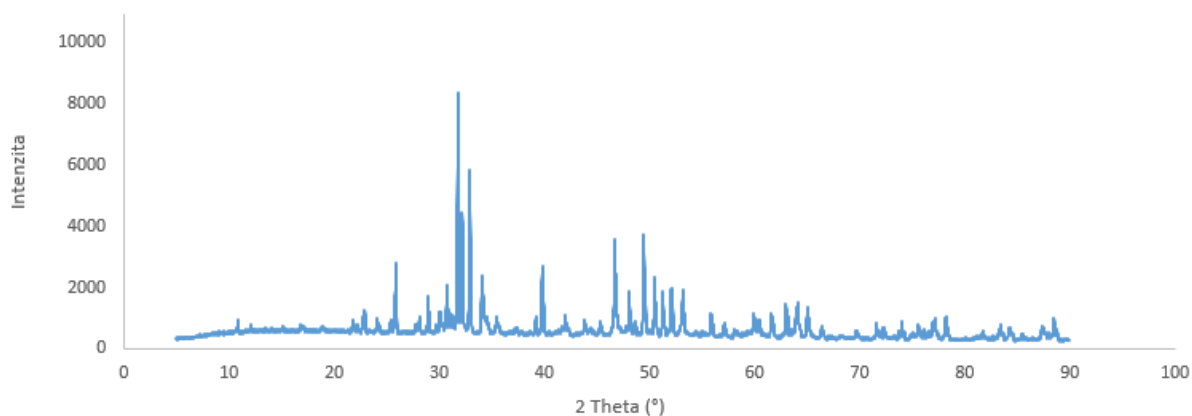


Obr. 51: Kontrola prášku  $V_{HA}$  Ramanovou spektrometrií

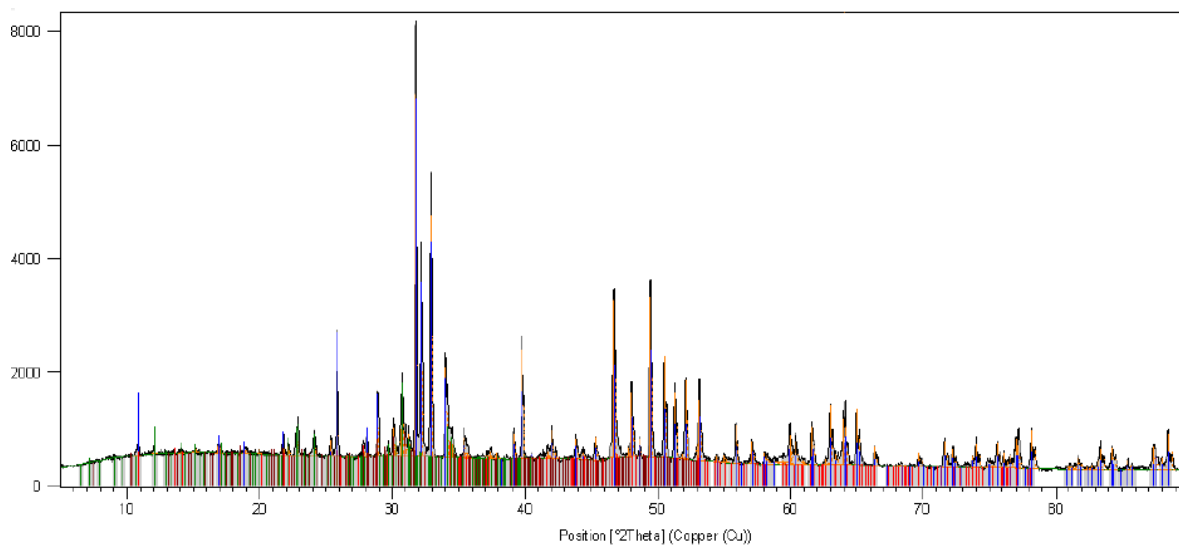




Obr. 52: Snímky  $V_{HA}$ : a) 500x, b) 10 000x

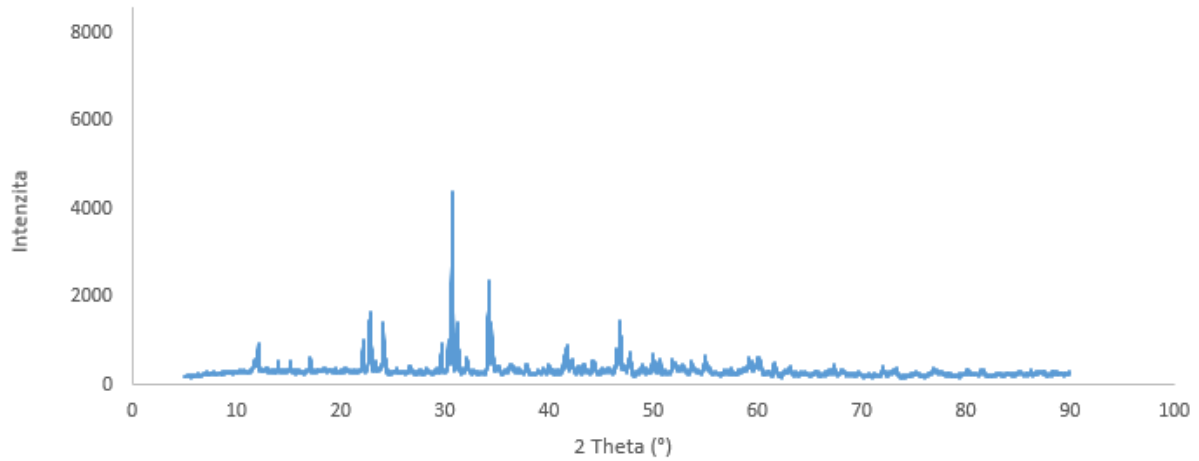


Obr. 53: Rentgenogram  $V_{HA}$  po slinutí při teplotě 1175 °C

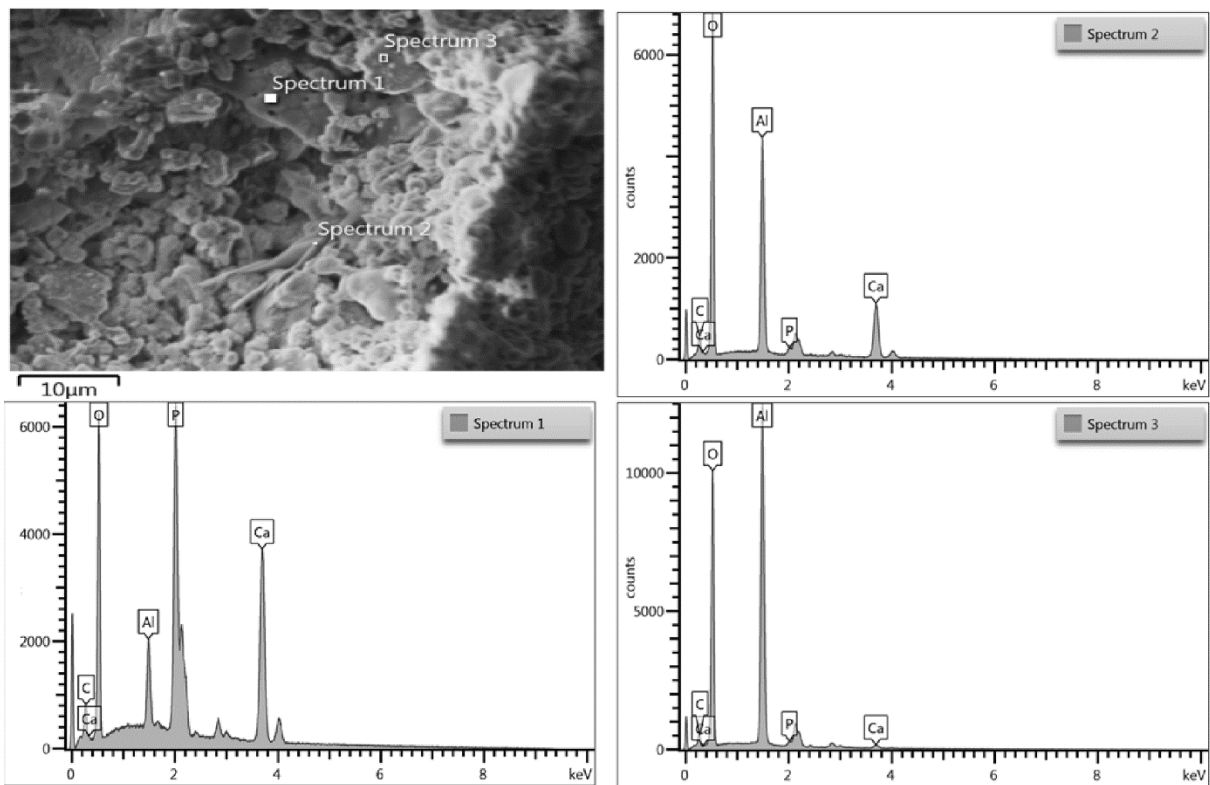


Peak List
$Ca_5(P_2O_7)_3(OH)$ ; Calcium Phosphate Hydroxide; Hydroxylapatite, syn; SQ: 63 [%]; Hexagonal; F63/m
$Ca_3(P_2O_7)_2$ ; Calcium Phosphate; SQ: 20 [%]; Monoclinic; P21/a
$Ca_2.993H_0.014(P_2O_7)_2$ ; Calcium Hydrogen Phosphate; Whitlockite, syn; SQ: 3 [%]; Rhombohedral; R3c
$Ca_4(P_6O_{19})$ ; Calcium Phosphate; Troemelite, syn; SQ: 6 [%]; Anorthic; P-1

Obr. 54: Záznam z XRD a změny fázového složení hydroxyapatitu po slinutí



Obr. 55: Rentgenogram kompozitu 90 - 10 po slinutí při teplotě 1250 °C



Obr. 56: Analýza kompozitní pěny 90 – 10 slinuté při teplotě 1250 °C pomocí SEM měření prvkového složení