



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV MATERIÁLOVÝCH VĚD A INŽENÝRSTVÍ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING

ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚPRAVA POVRCHU

BIOKERAMICKÝCH MATERIÁLŮ

ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF BIOCERAMIC MATERIALS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Šimon Achberger

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. David Salamon, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Ústav: Ústav materiálových věd a inženýrství
Student: **Šimon Achberger**
Studijní program: Aplikované vědy v inženýrství
Studijní obor: Materiálové inženýrství
Vedoucí práce: **doc. Ing. David Salamon, Ph.D.**
Akademický rok: 2021/22

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

Antibakteriální úprava povrchu biokeramických materiálů

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Biokeramické materiály jsou v současné době široce používány pro zátěžové aplikace a kostní výplně. Tyto materiály mohou být hutné i porézní a jsou obecně dobře přijímány lidským organismem. Nicméně přetrvávajícím problémem při implementaci jsou bakteriální infekce, které mohou zabránit přijetí implantátu nebo kostní výplně. Cílem této práce je zpracovat rešerši a experimentálně otestovat vybrané techniky antibakteriální úpravy povrchu.

Cíle bakalářské práce:

- 1) Zpracování aktuální literární rešerše shrnující možnosti antibakteriální povrchové úpravy implantátů s keramickým povrchem.
- 2) Experimentální otestování přípravy antibakteriálních povrchů a jejich charakterizace.

Seznam doporučené literatury:

ELBOURNE, A., R. J. CRAWFORD and E. P. IVANOVA. Nano-structured antimicrobial surfaces: From nature to synthetic analogues. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2017, 508, 603-616 [cit. 2021-10-29]. ISSN 00219797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2017.07.021

WANG, M. and T. TANG. Surface treatment strategies to combat implant-related infection from the beginning. *Journal of Orthopaedic Translation* [online]. 2019, 17, 42-54 [cit. 2021-10-29]. ISSN 2214031X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jot.2018.09.001

DICKSON, M. N., E. I. LIANG, L. A. RODRIGUEZ, N. VOLLEREAUX and A. F. YEE. Nanopatterned polymer surfaces with bactericidal properties. *Biointerphases* [online]. 2015, 10(2) [cit. 2021-10-29]. ISSN 1934-8630. Dostupné z: doi:10.1116/1.4922157

HASAN, J., H. K. WEBB, V. K. TRUONG, et al. Selective bactericidal activity of nanopatterned superhydrophobic cicada *Psaltoda claripennis* wing surfaces. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2013, 97(20), 9257-9262 [cit. 2021-10-29]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-012-4628-5

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2021/22

V Brně, dne

L. S.

prof. Ing. Ivo Dlouhý, CSc.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

ABSTRAKT

Implantačné zákroky sú spojené s rizikom infekcie spôsobenej napadnutím povrchu implantátu baktériami. Proliferácii baktérií efektívne bránia antibakteriálne povrchy, ich zavedenie je však zdravotne a technologicky náročné. Z literatúry vieme, že jedinečné baktericídne schopnosti vykazuje ihlicovitá topografia krídiel cikád. V tejto práci boli pomocou tepelného spracovania v hydrotermálnych podmienkach pripravené povrchy s rôznymi topografiami. Cieľová topografia zistená z literatúry bola tvorená ihlicami s priemerom 60–215 nm a dĺžkou 200–300 nm. Pozitívny vplyv na tvorbu tenkých ihlíc mala relatívna hustota vzoriek 85%, dĺžka tepelného spracovania 12 hod a pH prostredia 4 a 5,6. Kvantita zmeny topografie bola úmerná obsahu β -trikalciumpfosfátu.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

biokeramika, baktericídny povrch, hydrotermálna syntéza, hydroxyapatit, vápenatý fosforečnan

ABSTRACT

Implant surgery carries a risk of infection caused by bacterial contamination of the implant surface. An effective way to inhibit proliferation of bacteria is via antibacterial surfaces, however, their usage is medically and technologically difficult. Previous research shows that cicada wing topography exhibits unique bactericidal properties. In this thesis, various topographies were fabricated using heat treatment under hydrothermal conditions. The goal was to produce a surface covered by high aspect ratio structures with 60–215 nm width and 200–300 nm length. A relative density of 85%, 12 hrs long heat treatment and solution pH 4 and 5,6 had a positive effect on formation of thin surface structures. Quantity of morphological changes was proportional to β -tricalcium phosphate content.

KEY WORDS

bioceramic, bactericidal surface, hydrothermal synthesis, hydroxyapatite, calcium phosphate

Bibliografická citácia

ACHBERGER, Šimon. *Antibakteriální úprava povrchu biokeramických materiálů*. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139868>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav materiálových věd a inženýrství. Vedoucí práce David Salamon.

Prehlásenie

Prehlasujem, že predložená bakalárska práca je pôvodná a spracoval som ju samostatne s použitím uvedenej literatúry. Prehlasujem, že citácia použitých prameňov je úplná, a že som vo svojej práci neporušil autorské práva.

V Brne dňa 15.5.2022

.....

Podpis autora

Pod'akovanie

Rád by som poďakoval doc. Ing. Davidovi Salamonovi, Ph.D. za vedenie, mnohé konzultácie a usmerňovanie experimentálnej časti bakalárskej práce. Poďakovať by som chcel aj M.Sc. Malihe Siddiqui za množstvo času stráveného zaškolením na použitých zariadeniach, za rady a za pomoc pri analyzovaní vzoriek pomocou SEM a XRD.

OBSAH

1 Úvod.....	9
2 Ciele práce.....	10
3 Teoretická časť.....	11
3.1 Biokeramika z hľadiska interakcie s organizmom	11
3.2 Najvýznamnejšie biokeramické materiály.....	13
3.3 Oblasti využitia biokeramiky.....	17
3.4 Antibakteriálne povrchy	17
3.5 Testovanie baktericídnosti a delenie baktérií	21
3.6 Hydrotermálna syntéza hydroxyapatitu.....	22
4. Experimentálna časť.....	24
4.1 Príprava hutných vzoriek.....	24
4.2 Meranie hustoty	26
4.3 Tepelné spracovanie v hydrotermálnych podmienkach	26
4.4 SEM analýza.....	28
4.5 XRD analýza.....	29
5 Výsledky.....	30
5.1 Základné hutné vzorky	30
5.2 Tepelné spracovanie vzoriek práškov.....	30
5.3 Tepelné spracovanie hutných vzoriek	32
6 Diskusia	36
6.1 Základné biokeramické vzorky	36
6.2 Tepelné spracovanie vzoriek práškov.....	36
6.3 Tepelné spracovanie hutných vzoriek	38
6.4 Možnosti ďalšieho výskumu.....	41
7 Záver.....	42
Zoznam použitej literatúry	43
Zoznam skratiek	46
Zoznam obrázkov.....	47

1 ÚVOD

Napriek technologickej, zdravotnej a finančnej náročnosti implantačných operácií nie je infekcia spojená s implantáciou ojedinelá a postihuje približne 1-10% pacientov podľa typu implantátu. Tento typ infekcie je ťažko liečiteľný a zvyčajne končí náročnými reoperáciami. Veľké množstvo výskumov sa venuje možnostiam, ako predísť infekcii spojenej s implantáciou. Táto snaha je dodatočne komplikovaná faktom, že antibiotiká, dodnes najbežnejší spôsob antibakteriálnej ochrany, prestávajú byť účinné kvôli stále bežnejším vysoko odolným baktériám.

Vzniká preto potreba vyvinúť povrchy, ktoré budú brániť infekcii inými spôsobmi. *Ivanova et. al.* [1] objavili jedinečné baktericídne účinky u topografie krídiel cikád. Účinnosť tejto topografie nie je závislá na chemickom zložení a nepoškodzuje ľudské bunky. Je preto teoreticky možné vytvoriť povrch, ktorý bude vďaka vhodnému chemickému zloženiu zvyšovať bioaktivitu implantátu a súčasne brániť infekcii.

Najväčšou problematikou vytvorenia takéhoto povrchu je nájdenie metódy, ktorá spoľahlivo a za prijateľnú cenu pokryje celý povrch implantátu baktericídnu vrstvou.

Na úpravu povrchu implantátov sa s cieľom zvýšiť ich bioaktivitu dnes často používa hydroxyapatitový povlak. Jednou z metód syntézy hydroxyapatitu je hydrotermálna syntéza, ktorou sa dajú získať hydroxyapatitové kryštály rôznych tvarov a rozmerov.

Hydrotermálna metóda už bola vo výskume úspešne použitá na úpravu povrchu biomateriálov [2; 3], článkov o hydrotermálnom spracovaní povrchov obsahujúcich hydroxyapatit je však nedostatok. V tejto práci bolo hydrotermálne tepelné spracovanie vzoriek vápenatých fosforečnanov nastavované tak, aby vzniknutá rekryštalizovaná topografia čo najviac napodobovala baktericídnu topografiu krídiel cikád.

Hydroxyapatitový povrch imitujúci topografiu krídiel cikád by za nízke výrobné náklady bránil infekcii, podporoval ujetie implantátu a bol od výroby sterilný. Našiel by využitie u ortopedických implantátov, dentálnych implantátov a potenciálne i v iných oblastiach vyžadujúcich antibakteriálne povrchy.

2 CIELE PRÁCE

Cieľom teoretickej časti práce bolo spracovať aktuálnu literárnu rešerš zhrnújúcu možnosti antibakteriálnej povrchovej úpravy implantátov s keramickým povrchom.

Cieľom experimentálnej časti práce bolo otestovať prípravu antibakteriálnych povrchov a charakterizovať ich.

3 TEORETICKÁ ČASŤ

3.1 Biokeramika z hľadiska interakcie s organizmom

Biomateriál je v periodiku *Biomaterials* definovaný ako materiál vytvorený na usmernenie terapeutickú alebo diagnostickú procedúru pomocou interakcie s živým organizmom. Môže tak robiť sám o sebe alebo ako súčasť komplexného systému. [4]

Súčasťou biomateriálov je aj biokeramika. Biokeramika je názov pre keramiku určenú mimo iného na opravu alebo obnovenie chorých alebo poškodených častí ľudského tela, hlavne v ortopedických a dentálnych aplikáciách. Všeobecne sa dnes vo veľkej časti využívajú mimo keramických implantátov aj implantáty na báze kovových, hlavne titánových zliatin a polymerov. Biokeramika má však aj u nich veľký význam ako materiál povrchovej úpravy. [5]

Pre naplnenie funkcie implantátu s ním telo musí byť schopné vytvoriť pevnú väzbu. Každý materiál v tele vyvolá nejakú reakciu, z toho nie všetky sú však žiadané a niektoré nevedú k vytvoreniu pevnej väzby. Tvorba väzby s telom je ovplyvnená chemickým zložením a štruktúrou keramiky. [5]

Keď je do tela vsadené cudzie tuhé teleso, môže vyvolať imunitnú reakciu, ktorou sa telo snaží toto teleso vylúčiť. Počas tohto procesu je cudzie teleso obalené vrstvou bunecného tkaniva. Príznakom tejto reakcie je tvorba tzv. obrích buniek. Potlačenie imunitnej reakcie liekmi je problematické, pretože je nimi pacient vystavený zvýšenému riziku iného ochorenia. [6]

Táto reakcia je dôvodom delenia biokeramiky podľa interakcie s organizmom. Ak je keramika príliš inertná, vytvorí sa okolo nej spomínaný tkanivový obal, ktorý sa pri zaťažení môže oddeliť od implantátu a začať trieť, čo je nežiadany dej, ktorý vedie k strate funkcie implantátu aj okolitého tkaniva. Hladký povrch implantátu taktiež sťažuje jeho uchytenie. V oboch prípadoch je možné implantát povrchovo upraviť, aby sa zvýšila jeho bioaktivita – biologická aktivita vedúca k vytvoreniu väzby s telom. Alternatívou je osadiť implantát v tele tak pevne, že nebude nestávať relatívny pohyb medzi implantátom a okolitým tkanivom. [5]

Iné typy biokeramiky pre uchytenie využívajú svoju prirodzenú bioaktivitu, vhodnú štruktúru či rozpustnosť. [5]

Biokeramika sa teda delí podľa spôsobu interakcie s telom na bioinertnú, vstrebateľnú, bioaktívnu a poréznu. [5]

3.1.1 Bioinertná biokeramika

Bioinertná biokeramika je charakteristická nízkou chemickou aj biologickou interakciou s organizmom. Dosiahnuť nulovú reakciu tela na implantát je nemožné, u bioinertnej keramiky sa však z chemického hľadiska jedná o zanedbateľnú čiastku. V tele sa prakticky nerozpúšťa, jej vlastnosti sú teda relatívne stále. Aj vďaka tomu sa dá z únavového hľadiska táto keramika považovať za spoľahlivú v rádoch desiatok rokov – čo je vo väčšine prípadov dostatočná doba. Hlavným zastupiteľom takejto keramiky je keramika na báze oxidu hlinitého a oxidu zirkoničitého. Takáto keramika má v porovnaní s kosťou skvelé mechanické vlastnosti, čím sa kompenzuje fakt, že keramika na rozdiel od kosti nemá schopnosť regenerácie. [5]

Častý problém u bioinertnej keramiky nastáva práve kvôli jej dobrým mechanickým vlastnostiam. Bioinertná keramika má výrazne vyšší modul pružnosti ako kompaktná kosť. Kvôli tomu je po implantácii záťaž odvádzaná z kosti na implantát. Na to kosť reaguje postupným znižovaním hustoty (osteopéniou). Tento proces sa nazýva záťažové krytie (*stress shielding*). [7]

Bioinertná keramika sa vo veľkej miere používa na výrobu náhrad kĺbov, kde je hladký povrch žiadaný [5]. U náhrad kĺbov využívajúcich polyméry môže dochádzať vplyvom odierania k uvoľňovaniu materiálu, čo vedie k infekcii a nutnosti nákladnej reoperácie.

Ako už bolo spomenuté, u inertnej keramiky je problematické uchytenie s telom práve kvôli absencii chemických a biologických väzieb. Preto je jej použitie podmienené pevným mechanickým prepojením alebo povrchovou úpravou, prípadne zmenou chemického zloženia.

Celkovo sa bioinertná keramika využíva tam, kde sú prioritné mechanické vlastnosti, a to hlavne také, ktoré by nedosiahla keramika na báze kovových zliatin.

3.1.2 Vstrebateľná biokeramika

Z hľadiska rozpustnosti je vstrebateľná alebo rozpustná biokeramika opakom bioinertnej. V organizme sa ľahko rozpúšťa a jej rozpustenie nespôsobuje zdravotné komplikácie.

Vstrebateľná biokeramika má obmedzené, ale dôležité využitia. Po odstránení nádorov kostného tkaniva býva využívaná ako náhrada predošlej kosti – nová kosť postupne nahrádza implantát počas toho, ako sa rozpúšťa. [5]

Pri používaní vstrebateľnej biokeramiky je kľúčovou vlastnosťou rýchlosť rozpúšťania. Príliš rýchle rozpustenie keramiky by viedlo k strate funkčnosti implantátu.

Najčastejšie používané materiály pre výrobu vstrebateľnej biokeramiky sú vápenaté fosforečnany. Keďže sú jednou zo stavebných látok kostí a zubov, nie sú po rozpustení v tele nebezpečné.

3.1.3 Bioaktívna biokeramika

Zjednodušene bioaktívna keramika, nie je tak rozpustná ako vstrebateľná biokeramika, ale ani inertná ako bioinertná keramika. Rozpúšťa sa čiastočne a chemicky reaguje s telom, vďaka čomu je umožnená tvorba stabilných väzieb medzi telom a implantátom. [5]

Bioaktívna keramika všeobecne nemá tak dobré mechanické vlastnosti ako bioinertná, čo znemožňuje jej použitie na konštrukciu zaťažovaných častí implantátov. Napriek tomu je však kľúčovou súčasťou biokeramiky. Bioaktívna keramika sa rozsiahlo využíva pre povrchovú úpravu implantátov, uľahčujúc tak ich uchytenie v tele.

Príkladom bioaktívnej keramiky je keramika na báze hutného hydroxyapatitu (ďalej skrátene HAP) a iných vápenatých fosforečnanov.

V literatúre je často bioaktívna keramika označovaná ako vstrebateľná a naopak. Rozdiel medzi týmito dvoma typmi biokeramiky nie je jasne definovaný a rozlišujú sa hlavne podľa účelu použitia.

3.1.4 Porézna biokeramika

Porézna biokeramika na rozdiel od predošlých typov nie je charakteristická svojím chemickým zložením, ale svojou štruktúrou. Póry v biomateriáloch umožňujú prerastenie živým tkanivom, umožňujúc tak pevné prepojenie medzi implantátom a telom. Je pri tom dôležité zachovať optimálne rozmery pórov. Ideálna veľkosť pórov pre spojenie implantátu s ľudskou kosťou je 300-600 μm , čo súvisí s priemernou veľkosťou základnej jednotky kompaktnej kosti, tzv. osteónu, ktorý má veľkosť približne 223 μm . Tvorba príliš veľkých pórov však nie je tak dôležitá ako vytvorenie prepojenej porozity, ktorá umožní hlbokú penetráciu ľudskými bunkami a vytvorenie krvného obehu. Za zmienku stojí, že súčasná komerčne dostupná porézna biokeramika má porozitu približne 70 obj.%. [8]

Základnými požiadavkami pre poréznu biokeramiku sú teda otvorená a prepojená makroporozita.

Spojenie poréznej biokeramiky s telom je síce výhodné, ale nesie so sebou viacero komplikácií. Ak nastane relatívny pohyb medzi implantátom a telom, vytvorený krvný obeh môže byť poškodený, čo vedie k zdravotným komplikáciám. Výrazne väčší merný povrch poréznej biokeramiky navyše urýchľuje jej prípadnú koróziu – toto je však problematickejšie u kovových implantátov než u keramických. [5]

Príkladom poréznej biokeramiky je porézny HAP. Porézne kovové implantáty môžu byť tiež pokryté vrstvou HAP pre zvýšenie bioaktivity. [5]

Podľa *Doremus et al.* [6] nachádza porozita u biokeramiky využitie len ak je bioinertná a nedokáže vytvoriť väzbu s telom iným spôsobom; bioaktívna keramika vytvára dostatočne silnú väzbu s telom, ktorá nepotrebuje byť posilnená porozitou.

3.2 Najvýznamnejšie biokeramické materiály

3.2.1 Oxid hlinitý

Prvým široko využívaným biokeramickým materiálom bol hutný oxid hlinitý (Al_2O_3) s čistotou >99,5 hm.%. Vďaka vysokej pevnosti, nízkemu koeficientu trenia, vysokej koróznej odolnosti a odolnosti voči únavovému a nárazovému opotrebeniu mal využitie nielen ako náhrada kĺbov, ale aj ako dentálna náhrada. Ako prímes sa v ňom používal oxid horečnatý (MgO), ktorý bráni nadmernému rastu zrna počas slinovania. Jemnejšie zrno zlepšuje vlastnosti polykrystalického oxidu hlinitého. Ideálna veľkosť zrna je < 4 μm . Príliš vysoká koncentrácia slinovacích prímiesí spôsobuje oslabenie hraníc zrna a zníženie odolnosti voči opotrebeniu. [5]

Najvýraznejší rozdiel medzi keramikou z oxidu hlinitého a živej kosti je v module pružnosti, pozri tabuľka 3.1, čo spôsobuje nežiadané záťažové krytie, hlavne u starších pacientov s osteoporózou či reumatoidnou artritídou. [5]

V dnešnej dobe sa už oxid hlinitý ako biomateriál nepoužíva. Namiesto neho sa používa oxid zirkoničitý a kompozity týchto dvoch oxidov kvôli lepším mechanickým vlastnostiam.

3.2.2 Oxid zirkoničitý

Oxid zirkoničitý (ZrO_2) našiel využitie ako biomateriál nielen vďaka svojej chemickej stabilite a dobrým mechanickým vlastnostiam, ale aj vďaka výrazne nižšiemu modulu pružnosti ako oxid hlinitý. Je to polymorfný materiál kryštalizujúci v troch kryštalických mriežkach: monoklinickej ($<1170^\circ C$), tetragonálnej ($1170-2370^\circ C$) a kubickej ($>2370^\circ C$). Zmena z kubickej a tetragonálnu mriežku je sprevádzaná značnou zmenou objemu, čo spôsobuje popraskanie materiálu. Preto sa vo výrobe keramiky z oxidu zirkoničitého využívajú prímеси čiastočne stabilizujúce kubickú fázu. Z viacerých prísad (MgO , CaO) sa pre lekárske účely najviac osvedčilo ytrium, resp. roztok $ZrO_2-Y_2O_3$, pretože na rozdiel od MgO u Y_2O_3 nehrozí vytvorenie inklúzií horčíkových silikátov a slinovacia teplota je nižšia o niekoľko stoviek $^\circ C$. V čiastočne stabilizovanom oxide zirkoničitom sa okrem kubickej fáze, ktorá tvorí väčšinu objemu, nachádzajú aj precipitáty monoklinickej a tetragonálnej fáze. [9]

V systéme $ZrO_2-Y_2O_3$ je možné dosiahnuť za pokojovej teploty štruktúru tvorenú čisto tetragonálnou metastabilnou fázou. V tomto prípade je obsah Y_2O_3 3 mol.%. Táto tetragonálna fáza sa pri starnutí rozpadá na monoklinickú, čo vedie k zhoršeniu mechanických vlastností. Starnutie sa dá spomaliť zjemnením zrna a zvýšením koncentrácie stabilizačného oxidu. [9]

Keramika z oxidu zirkoničitého obtierajúca sa o inú keramiku z oxidu zirkoničitého vykazuje veľmi zlú oteruvzdornosť, až 5000-krát horšiu ako keramické články z oxidu hlinitého. To znemožňuje použitie oxidu zirkoničitého pre súčasnú náhradu dvoch protichodných častí kĺbu. Kombinácia oboch oxidov sa ukázala byť perspektívnou – vykazuje o rád nižšie poškodenie obtieraním ako čistý oxid hlinitý [9]. Kombinácia oxidu zirkoničitého s iným materiálom umožňuje jeho využitie na výrobu guľových hláv náhrad kĺbov.

	$Al_2O_3 > 99,8\text{hm.}\%$	$ZrO_2 + 3 \text{ mol.}\% Y_2O_3$	Kompaktná kosť
Hustota [g/cm^3]	$>3,93$	>6	1,6-2,1
Tvrdosť podľa Vickersa [HV]	2300	1200	-
Medza pevnosti v tlaku [MPa]	4500	2000	100-230
Medza pevnosti v ohybu [MPa]	595	900-1200	50-150
Modul pružnosti [GPa]	400	210	7-30
K_{IC} [$MPa \cdot m^{\frac{1}{2}}$]	5-6	7-10	2-12

Tabuľka 3.1: Porovnanie vlastností oxidu hlinitého, oxidu zirkoničitého a kompaktnej kosti [9; 5]

3.2.3 Kompozity ZrO_2 a Al_2O_3

Metastabilita oxidu zirkoničitého je spojená s viacerými prípadmi jeho zlyhania. Aj preto sa začali v ortopédii používať kompozity ZrO_2 a Al_2O_3 , ktoré v mnohom vykazujú lepšie mechanické vlastnosti. Tieto kompozity sú známe ako ATZ (*Alumina-Toughened Zirconia*), v ktorom je dominantnou fázou oxid zirkoničitý, a ZTA (*Zirconia-Toughened Alumina*), v ktorom je dominantnou fázou oxid hlinitý. [8]

ATZ aj ZTA vykazujú spomalenie kinetiky fázovej transformácie oxidu zirkoničitého. U ZTA je však v prípade zlyhania oxidu zirkoničitého vďaka vysokému obsahu stabilnej fáze oxidu hlinitého znemožnené šírenie degradácie materiálu. [8]

Všeobecne sa ATZ vyznačuje svojou lomovou húževnatosťou, kým u ZTA je dominantnou vlastnosťou tvrdosť. V prípade ATZ zvykne byť fáza oxidu zirkoničitého stabilizovaná ytriom, podobne ako u čistého oxidu zirkoničitého. [8]

Najlepší kompromis mechanických vlastností je dosiahnutý pridaním približne 17 obj.% ZrO₂ do Al₂O₃ matrice. [8]

3.2.4 Vápenaté fosforečnany

Vápenaté fosforečnany tvoria dôležitú podskupinu bioaktívnych a rozpustných biomateriálov. Chemickým zložením sú veľmi blízke až identické s kompaktnou kosťou. V ľudskom tele sú štandardne stabilné dva vápenaté fosforečnany: CaHPO₄·2H₂O (dihydrát dikalcium fosfátu, skrátene DCPD alebo DCP) pri pH <4,2; Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ (hydroxyapatit, skrátene HAP) pri pH >4,2. Pri vyšších teplotách je stabilný aj Ca₃(PO₄)₂ (β-trikalciumfosfát, ďalej skrátene β-TCP). [5; 10]

Vápenatý fosforečnan	Skratka	Chemický vzorec	Kryštalová mriežka
Hydroxyapatit	HAP	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	hexagonálna
α-trikalciumfosfát	α-TCP	Ca ₃ (PO ₄) ₂	monoklinická
β-trikalciumfosfát	β-TCP		romboédrická
Dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého	DCPD/DCP	CaHPO ₄ ·2H ₂ O (dihydrát)	monoklinická

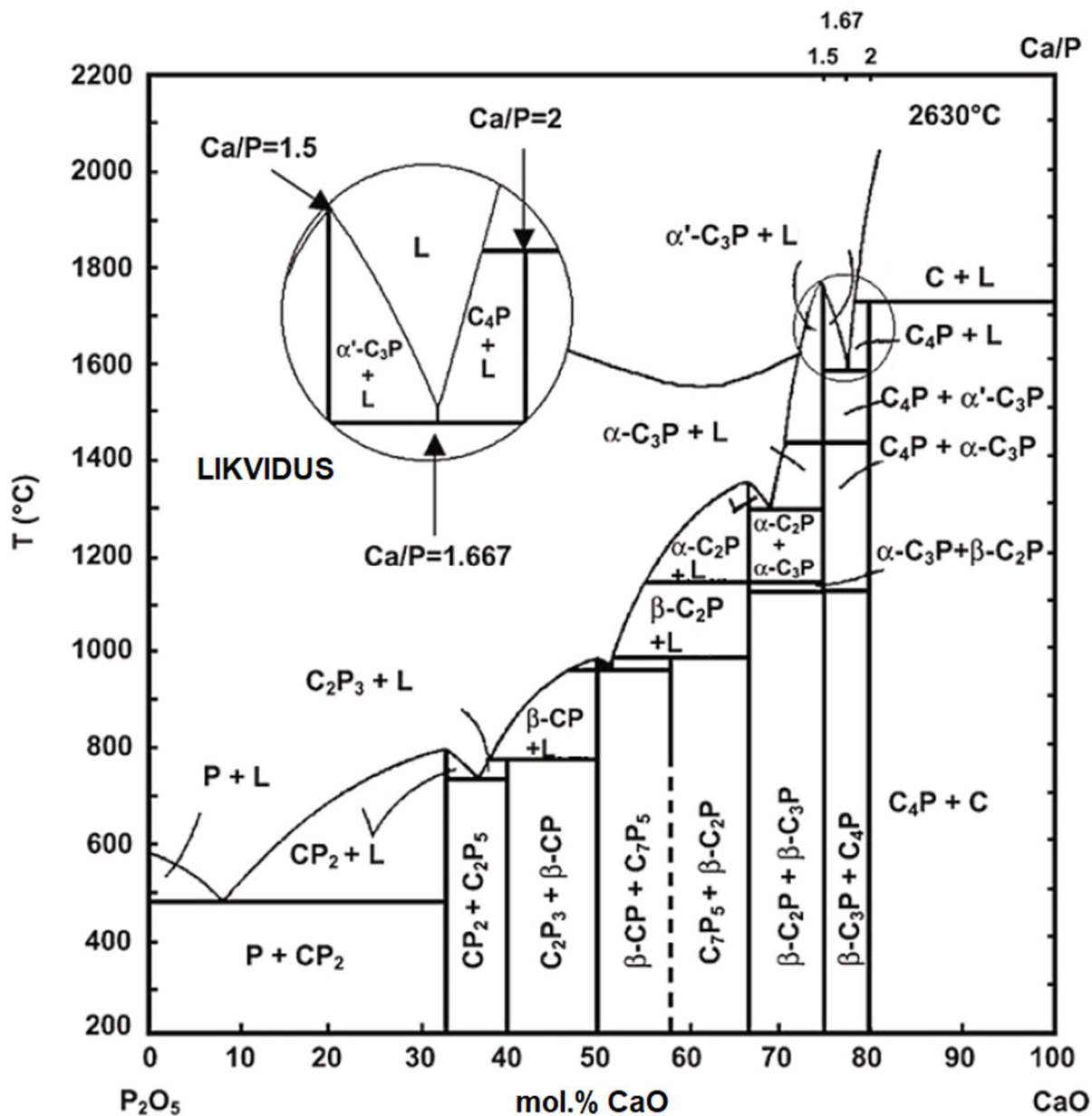
Tabuľka 3.2: Dôležité vápenaté fosforečnany

Biokeramika na báze vápenatých fosforečnanov sa skladá z rozličných pomerov HAP a β-TCP, prípadne α-TCP. Tento pomer je daný deficitom vápniku pred slinovaním (čím menej vápniku, tým menej HAP) a slinovacou teplotou. [10]

Dôležitou vlastnosťou vápenatých fosforečnanov je ich sklon k porozite, a to nielen preto, lebo ovplyvňuje mechanické vlastnosti, ale aj preto, lebo sa z týchto materiálov často vyrába porézna keramika. Porozita je pri tom ovplyvňovaná zvolenou výrobnou metódou a slinovacou teplotou. [10]

Keďže je β-TCP rozpustnejší ako HAP, všeobecne platí, že na výrobu vstrebateľnej keramiky je vhodnejší vyšší pomer β-TCP/HAP. Pri výskume resorpcie vápenatých fosforečnanov však bolo zistené, že vyššiu resorpciu ako čistý β-TCP má kompozit s pomerom β-TCP/HAP 27/25. [10]

Vápenaté fosforečnany pre zlé mechanické vlastnosti nie sú vhodné ako zaťažovaná časť implantátov. Nachádzajú využitie ako kostná výplň, ako nosný materiál pre antibiotiká a ako materiál povrchovej úpravy iných implantátov: vápenaté fosforečnany zvyšujú drsnosť ich povrchu a zabezpečujú, že povrch bude bioaktívny. [10] [11]



Obrázok 3.1: Fázový diagram P_2O_5 – CaO . V diagrame značí $C=CaO$ a $P=P_2O_5$. Príklad: β -TCP ($Ca_3(PO_4)_2$) sa dá rozpisat' ako $3CaO \cdot P_2O_5$, t.j. β - C_3P . [8]

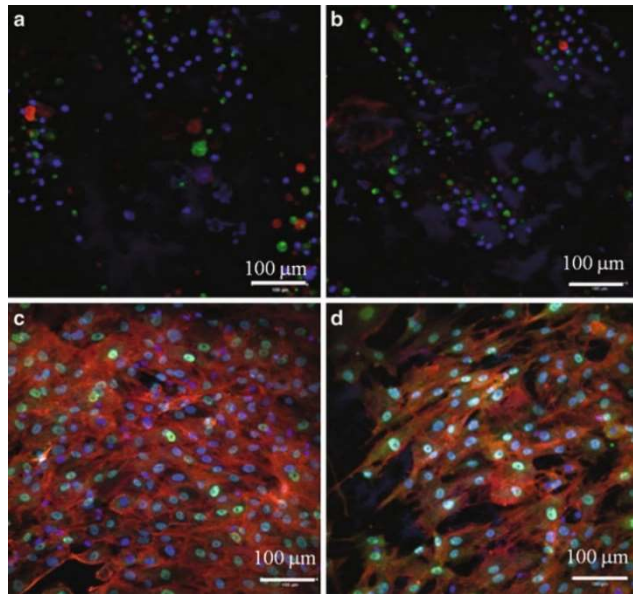
3.2.5 Porcelány

Porcelán má dlhé dejiny využitia v zubnom lekárstve. Vďaka za to svojej jednoduchšej príprave a priaznivému vzhľadu – dentálny porcelán je priehľadný a opticky podobný zubom. Je možné doňho pridávať prímеси, ktoré zvyšujú jeho pevnosť či menia jeho odtieň. Dentálny porcelán nie je citlivý na malé zmeny v chemickom zložení, je dobre formovateľný a vypaľuje sa relatívne rýchlo a za nízkych teplôt. Hlavný rozdiel medzi dentálnym a bežným porcelánom je, že dentálny porcelán neobsahuje kremenný piesok (alebo ho obsahuje veľmi málo) a tvorí ho zväčša živec. Typicky je zložený z 95 hm.% živca a 5 hm.% ílu, t.j. jeho chemické zloženie je 17 hm.% K_2O , 19 hm.% Al_2O_3 a 64 hm.% SiO_2 . Nevýhodou dentálneho porcelánu je jeho krehkosť. [6]

3.3 Oblasti využitia biokeramiky

Vďaka svojim mechanickým a chemickým vlastnostiam je väčšina typov biokeramiky predurčená k tvorbe zubných, kĺbných a kostných náhrad, existujú však výnimky.

Ortopedické aplikácie s nosnou funkciou zastupuje keramika na báze oxidu zirkoničitého, ATZ, ZTA a kompozitov polyetylénu a HAP. Dentálne implantáty sa podobne vyrábajú z oxidu zirkoničitého a HAP, pre túto aplikáciu sú skúmané aj bioaktívne sklá. Podobné materiály sa používajú aj pre iné opravy ústnej dutiny a pre účely otolaryngológie. Kostné výplne zastupuje rozpustná biokeramika z vápenatých fosforečnanov, vápenatých solí a fosfátových solí. Na účely operácií chrbtice sa využíva keramika z HAP a kompozitov bioaktívnych skiel. [12; 8]



Obrázok 3.2: Prilnutie ľudských buniek na horčikovú zliatinu bez HAP povlaku (a, b) a s HAP povlakom (c,d) [8]

Z biokeramiky sa dajú vyrábať aj perkutánne zariadenia či ortopedické fixačné zariadenia, umelé šľachy a umelé srdcové chlopne. [12]

Dôležité využitie biokeramiky je v oblasti povrchovej úpravy implantátov k zlepšeniu vytvorenia väzby s telom pomocou HAP a iných vápenatých fosforečnanov, bioaktívnych skiel a ich kompozitov. [12]

3.4 Antibakteriálne povrchy

Po tom, ako sa implantát stane súčasťou tela, nie sú ľudské bunky jediné, ktoré sa snažia na jeho povrchu uchytiť. Baktérie sa taktiež snažia obsadiť povrch implantátu. Ak sa baktérie uchytia na povrchu implantátu a je im umožnené dostatočne sa rozmnožiť, môžu vytvoriť tzv. biofilm, t.j. súvislú bakteriálnu kolóniu. Z biofilmu baktérie napádajú okolité tkanivo, čo vedie k zdravotným komplikáciám. Celý tento proces sa označuje ako infekcia. [13]

Aby sa infekcii zabránilo, využíva sa mnoho fyzikálnych či chemických princípov k vytvoreniu tzv. antibakteriálneho povrchu. Antibakteriálne povrchy môžu spôsobiť smrť baktérií pri kontakte s nimi, čo sa bližšie nazýva baktericídnosť. Iné metódy blokujú prvú fázu infekcie tým, že zabraňujú baktériám prilnúť na povrch implantátu. Takéto povrchy sú označované ako antiadhezívne. Slovo antibakteriálny teda zahrňuje viacero odlišných možností ochrany. [13]

U baktericídnych metód pri tom nie je vždy kľúčové zneškodniť všetky baktérie – pre predídeniu infekcii stačí zneškodniť také množstvo, aby sa zabránilo tvorbe uceleného biofilmu. Baktericídne povrchy koncentrujúce sa na zabránenie tvorby biofilmu sa bližšie označujú ako antibiofilmné, kým povrchy brániace proliferácii prilnutých baktérií sa označujú ako kontaktne-zabíjajúce (*contact killing*). Ďalšia baktericídna metóda je založená na

vyučovaní baktericídnych látok (antibiotík) z povrchu, tieto povrchy sú tzv. vylučujúco-zabijajúce (*release killing*). [13]

V dnešnej dobe nie je využívanie antibakteriálnej povrchovej úpravy u implantátov rozšírené pre problematické uchytenie upraveného povrchu, vysoké náklady výroby povrchu a častej toxicity antibakteriálnych povrchov. U nanášaných povrchov môže nastať degradačné odlupovanie povrchu od implantátu, čo nielenže vytvára nové, vhodnejšie podmienky pre uchytenie baktérií, ale nesie so sebou aj zdravotné komplikácie spojených s prítomnosťou odlúpnutých cudzorodých teliesok. [13]

3.4.1 Chemicky baktericídne povrchy

U týchto povrchov sa na povrch upevňujú antibakteriálne látky – antibiotiká, antimikrobiálne peptidy alebo kovové ióny. Upevňovanie prebieha pomocou kovalentných väzieb medzi povrchom a antibakteriálnou látkou, ktorých tvorba je dosiahnutá vhodným ošetrovaním povrchu. Toto je možné napr. u polymérnych povrchov. [13]

Výhodou nanášania antibakteriálnych látok je možnosť ich lokálneho upevnenia tam, kde je najpravdepodobnejší výskyt infekcie. [13]

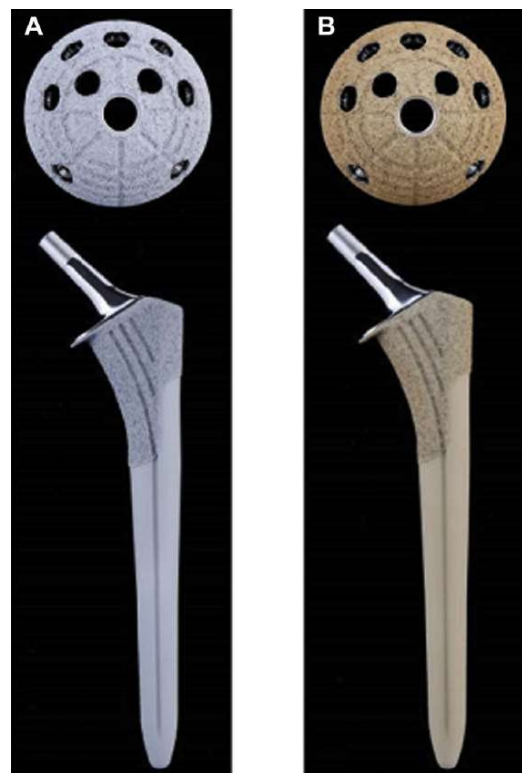
Povrchy dopované kovovými iónmi

Kovové ióny s antibakteriálnym účinkom sú hlavne ióny striebra, zinku a medi. I keď sú veľmi účinné, je u nich možné uvoľňovanie do okolia, čo je pre telo toxické. Je preto potrebné použiť vhodnú koncentráciu iónov. Ďalšou nevýhodou je, že ióny sú efektívne len proti niektorým druhom baktérií a je preto nutné ich kombinovať s inými metódami antibakteriálnej ochrany. [13]

Povrchy dopované antibiotikami

Antibiotiká sú síce účinné voči širokej škále baktérií, je s nimi ale spojená hrozba vyvinutia antibiotickej odolnosti u baktérií. Napriek tomu antibiotiká ostávajú byť dôležitou metódou ochrany proti infekcii. Vďaka možnosti lokálneho použitia antibiotík je ich efektivita zvýšená a možnosť vytvorenia antibiotickej rezistencie u baktérií je nižšia ako u iných, plošnejších použití. Navyše je možné kombinovať odlišné typy antibiotík pre dosiahnutie úplnej ochrany proti grampozitívnym aj gramnegatívnym baktériám. Antibiotikami sa dajú nasýtiť keramické povrchy napríklad z HAP. Takto nasýtené povrchy sa v literatúre označujú ako vylučujúco-zabijajúce (*release-killing*). [13]

U povrchov nasýtených antibiotikami je kľúčové vhodné nastavenie uvoľňovania antibiotík. V mnohých prípadoch dochádza k nežiadanej nárazovej uvoľneniu účinnej látky, čo má toxické účinky na okolité tkanivo a môže vytvoriť vhodné podmienky pre špecifické baktérie odolné voči antibiotikám. Nastaviť pomalé uvoľňovanie antibiotík je však veľmi náročné,



Obrázok 3.3: Klasický HAP povlak (A) a povlak obsahujúci oxid strieborný (B) [22]

keďže antibiotiká sa začínajú uvoľňovať hneď po vložení implantátu do tela. Navyše sa časový úsek, kedy sú vylučované antibiotiká, nemusí prekryvať s časom kedy stále hrozí infekcia v okolí implantátu. Napríklad HAP povrchy klasicky vylučujú antibiotiká len po dobu dvoch dní, čo je často nedostatočné. [13]

Doba vylučovania antibiotík sa dá predĺžiť viacerými spôsobmi. Antibiotiká môžu byť na povrch nanášané vo vrstvách rôsolu, v ktorom sú rozpustené. Antibiotiká tiež môžu byť vsadené do nanotrubičiek na povrchu, z ktorých sú vylučované pomalšie. Difúznou bariérou pre antibiotiká tiež môže vytvoriť porézny oxid kremičitý, ktorý vylučuje antibiotiká po dobu až 9 dní. Možno najambicióznejšou metódou je naviazanie antibiotík do systému hydrogélu a viacvrstvových metylénových reťazcov citlivých na ultrazvuk. Tento systém dokáže vylučovať antibiotiká po externej aktivácii ultrazvukom. [13]

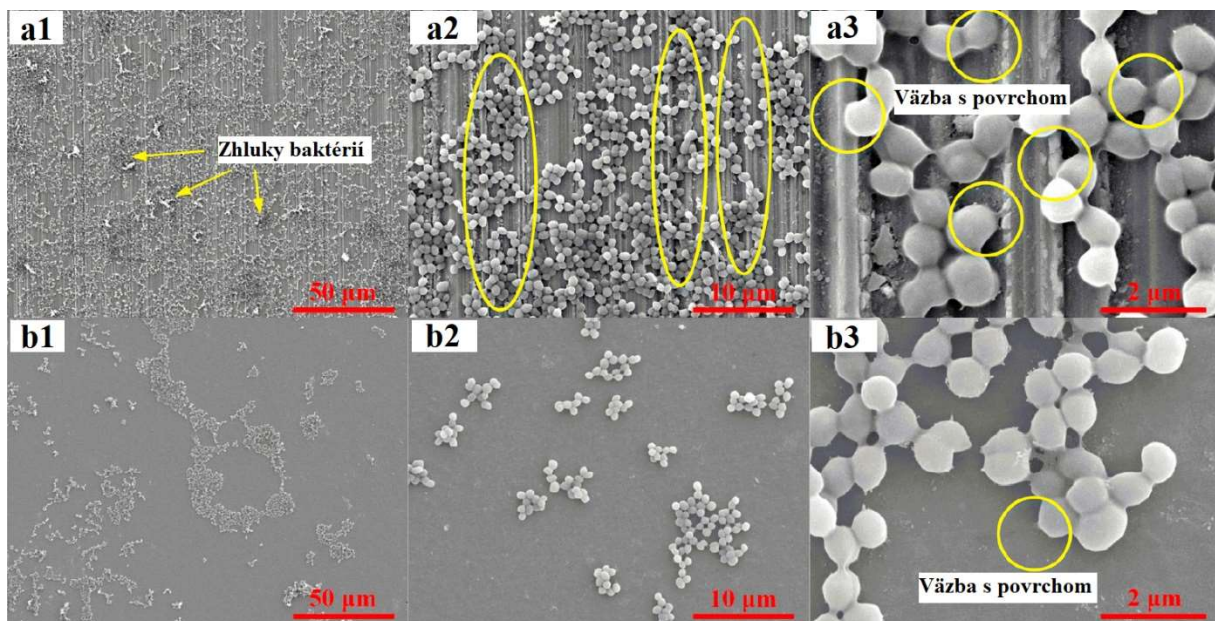
3.4.2 Antibiofilmné povrchy

U niektorých baktericídnych metód založených na chemickom princípe je napriek antibakteriálnemu charakteru stále prítomná hrozba rozmnoženia baktérií natoľko, že sa vytvorí biofilm, ktorý znižuje efektívnosť antibakteriálnych látok. Existujú však enzýmy, ktoré napádajú väzby medzi baktériami a zabraňujú tak tvorbe biofilmu, zvyšujú tak účinnosť antibakteriálnych látok. [13]

Po rozložení biofilmu sa baktérie môžu začať šíriť po tele a roznášať infekciu. Preto by sa mali antibiofilmné enzýmy používať v kombinácii s antibakteriálnymi látkami ako napr. antibiotiká. [13]

3.4.3 Antiadhezívne povrchy

Antiadhezívne povrchy zabraňujú prilnutiu baktérií a tým aj prvej fázi infekcie. Schopnosť baktérií prilnúť na povrch je pri tom ovplyvnená dvoma hlavnými faktormi: povrchovou morfológiou, resp. drsnosťou povrchu a zrnitosťou.



Obrázok 3.4: Účinok drsnosti povrchu na prilnutie baktérií *S. Aureus*: brúsený povrch (a1-a3), hladko leštený povrch (b1-b3) [14]

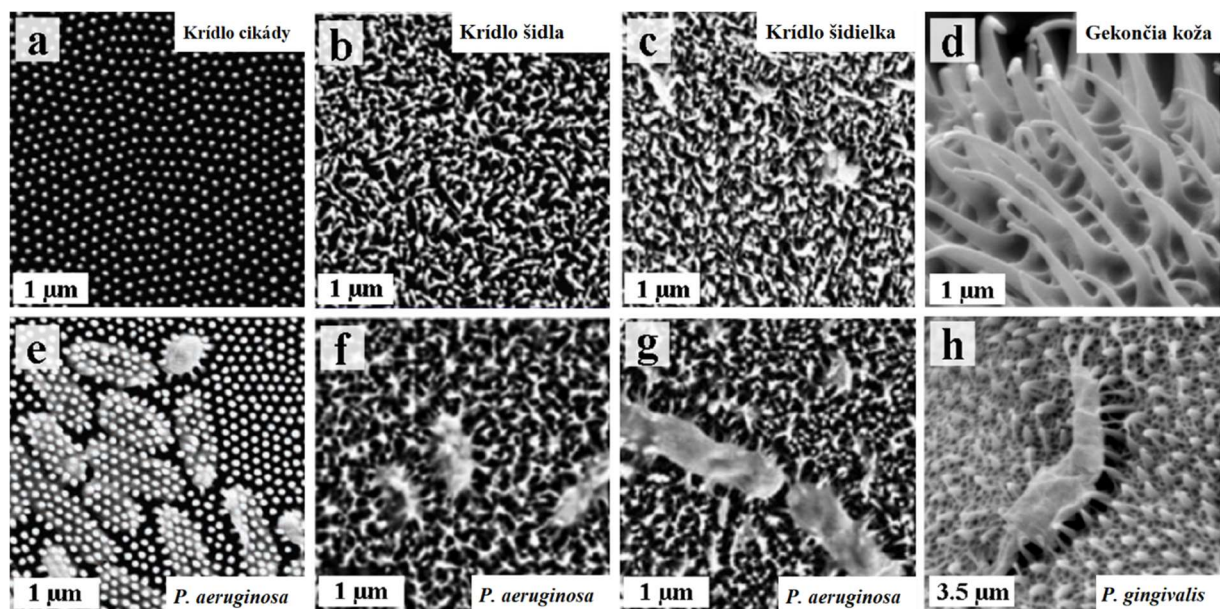
Bolo dokázané, že silno hydrofóbne aj hydrofilné povrchy dokážu baktériám sťažiť alebo až znemožniť prilnutie. Predpokladá sa, že tieto povrchy baktérie odpudzujú a že vzduch uväznený na povrchu znižuje možnosť interakcie s tuhým povrchom. [13]

Najefektívnejšie sa ukázali byť hydrofóbne povrchy s uhlom zmáčania približne 90°. [13]

Nevýhodou týchto povrchov je, že zabraňujú prilnutiu aj telových buniek, čím sťažujú až znemožňujú uchytenie implantátu. Preto je u implantátov využívajúcich túto metódu dôležité použiť dodatočnú povrchovú úpravu pre zvýšenie bioaktivity, inak môže dôjsť k vytvoreniu tkanivového vaku okolo implantátu a strate funkčnosti. [13]

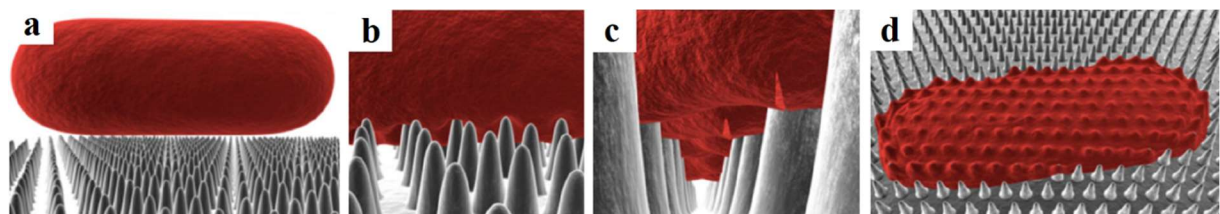
3.4.4 Baktericídna topografia

U krídiel niektorého hmyzu a iných prírodných povrchov boli odhalené baktericídne účinky. Táto baktericídnosť je spôsobená topografiou daných povrchov a nie je závislá na chemickom zložení. Existuje mnoho článkov venujúcich sa tomuto fenoménu [15; 16; 17] a topografiu sa podarilo aj úspešne fabrikovať na polymernom povrchu [18].



Obrázok 3.5: SEM snímky krídiel cikády (a), krídla šidla (b), krídla šidielka (c), gekončej kože (d), inokulovaných baktérií *Pseudomonas aeruginosa* (e-g), *Porphyromonas gingivalis* (h) [15]

Po prilnutí baktérie na povrch sa baktéria musí prispôbiť topografii povrchu a deformuje sa. Táto deformácia zaťažuje bunkovú stenu baktérie. Ak zaťaženie prekročí medznú hodnotu, bunková stena baktérie sa pretrhne, čo vedie k jej lýze [15]. Celý proces je vyobrazený na obrázku 3.6.



Obrázok 3.6: Schematické zobrazenie prilnutia baktérie na krídlo cikády: priblíženie baktérie (a), prvotná adhézia (b), pretrhnutie bunkovej steny (c), lýza (d) [15]

Aby bol povrch materiálu baktericídny mechanickým princípom nezávisle na chemickom zložení, musí spĺňať špecifickú geometriu. Povrch musí byť pokrytý piliermi, ktoré majú rozmery v rádoch nanometrov, podobne ako u krídiel cikád. V prípade krídiel cikád dosahujú baktericídny účinok nanopiliere vysoké 200 nm, s priemerom 100 nm pri základni a 60 nm pri vrchole; vzdialenosť jednotlivých pilierov je 170 nm (stred od stredu) [15]. Baktericídny účinok sa dá dosiahnuť v menšej miere s väčšími rozmermi nanopilierov, výrazný účinok majú piliere vysoké 300 nm, s priemerom 190 nm a vzdialenosťou 320 nm medzi stredmi pilierov. Oproti hladkému povrchu majú mierny účinok aj nanopiliere aj výškou 300 nm, priemerom 215 nm a vzdialenosťou 595 nm medzi stredmi pilierov [18]. Najrozhodujúcejšie geometrické vlastnosti pre dosiahnutie baktericídneho účinku sú:

- a) Pomer rozmerov nanopilierov (*aspect ratio*) – povrch musí byť pokrytý prvkami s vysokým pomerom výšky a strany (priemeru) podstavy [15] [18]. Zdá sa, že tento pomer musí byť rovný aspoň približne 3;
- b) Priemer nanopilieru – tenšie nanopiliere vyvíjajú na prilahlé baktérie väčšie napätie, čo vedie k ľahšej penetrácii buncenej steny a smrti baktérie. Dôležitejší je pri tom priemer pri vrchole nanopilieru [18];
- c) Množstvo nanopilierov na jednotku povrchu – pri väčších nanopilieroch alebo malom množstve nanopilierov na jednotku povrchu sú niektoré baktérie schopné prispôbiť svoju orientáciu topografii povrchu tak, aby prežili. Prispôbenie orientácie je však baktériám znemožnené, pokiaľ sú nanopiliere mnohonásobnejšie menšie ako baktérie a pokiaľ sú nanopiliere husto posadené. [18]

V porovnaní s inými sú veľmi efektívne nanopiliere replikujúce krídla cikády s rozmermi: výška 210 nm, priemer 70 nm, vzdialenosť medzi stredmi nanopilierov 170 nm, vzdialenosť medzi nanopiliermi 100 nm [18]. Pomer výšky a priemeru je 3, počet nanopilierov na plochu je $40 \mu\text{m}^{-2}$.

3.5 Testovanie baktericídnosti a delenie baktérií

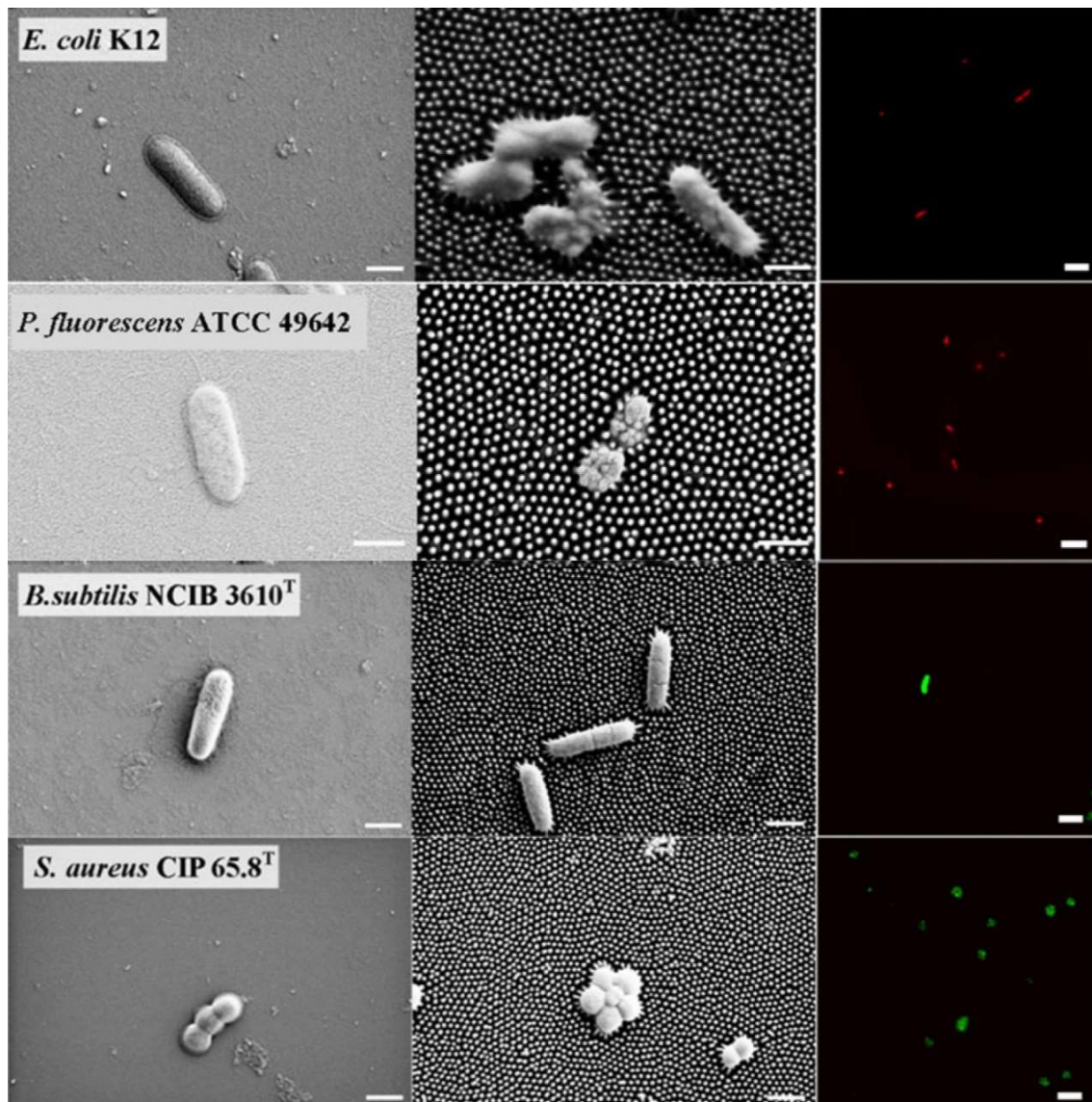
Baktérie sa podľa Gramovho farbenia rozdeľujú na grampozitívne (napr. *B. subtilis*, *S. aureus*) a gramnegatívne (napr. *E. coli*, *P. fluorescens*). Grampozitívne baktérie v bunkovej stene obsahujú vrstvy peptidoglykanu, čo zapríčiňuje, že ich povrch je oproti gramnegatívnym baktériám relatívne rigidný. [15]

Grampozitívne baktérie sú vďaka svojej tvrdej bunkovej stene výrazne odolnejšie voči baktericídny účinkom nanopilierov. Voči gramnegatívnym baktériám je naopak baktericídna topografia veľmi účinná, pozri obrázok 3.7. Preto je potrebné testovať baktericídny povrchu oddelene pre gramnegatívne a grampozitívne baktérie. Niektoré štúdiá testovanie grampozitívnymi baktériami úplne vynechávajú. [15]

Morfológia baktérií tiež ovplyvňuje interakciu s baktericídny povrchom. Baktérie sa podľa tvaru delia na paličky (*rod-shaped bacteria*) a koky (*spherical bacteria*). Paličkám je vďaka ich tvaru umožnené prispôbovanie svojej orientácie tvaru baktericídnej topografie tak, aby prežili [18]. Povrchy je preto vhodné testovať pre oba typy tvaru baktérií.

Baktérie určené na testovanie sa namnožia v roztoku fosfátu a inkubujú sa na testovanom povrchu v diskretných časových intervaloch. Baktérie sa inkubujú aj na skle, aby sa mohli porovnať ich odlišné reakcie. Pre vyhodnotenie sa môže použiť konfokálna laserová skenovacia

mikroskopia (*confocal laser scanning microscopy*) [16], prípadne sa baktérie môžu pozorovať skenovacou elektrónovou mikroskopiou (SEM). [15]



Obrázok 3.7: SEM snímky baktérií inkubovaných na skle (vľavo) a na krídlach cikád (v strede); snímky z konfokálnej laserovej mikroskopie (vpravo); živé baktérie sú zvýraznené zelenou, mŕtve červenou. Mierka SEM - 1 μm , mierka konfokálnej laserovej mikroskopie - 5 μm [16]

3.6 Hydrotermálna syntéza hydroxyapatitu

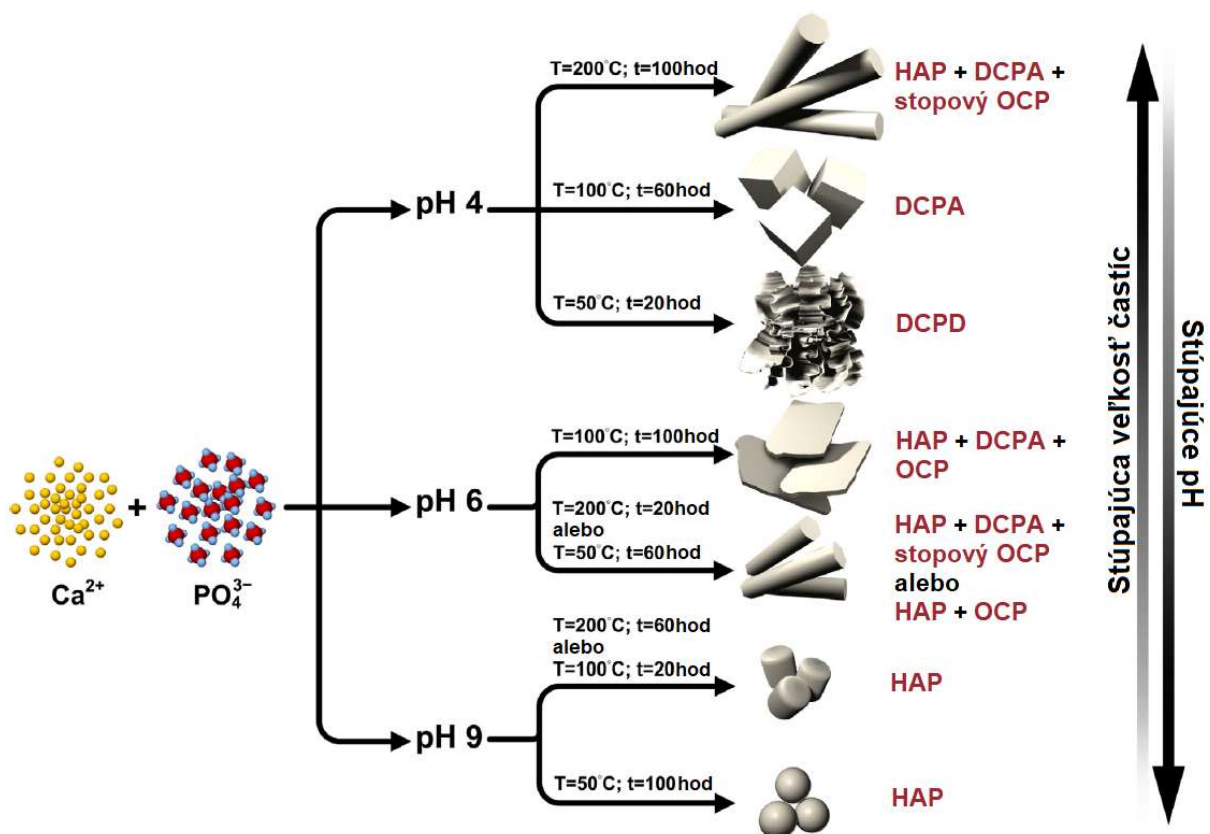
Povrch implantátov zvykne byť pokrytý vrstvou HAP pre zlepšenie bioaktivity. Existuje viacero metód nanášania tejto vrstvy. Jednou z nich je biomimetická metóda, ktorá spočíva v nukleácii a raste HAP v simulovanej telovej tekutine pri teplote 37°C. Táto metóda je však veľmi zdĺhavá a vytvorenie súvislej HAP vrstvy môže trvať niekoľko týždňov. [19]

Rýchlejšia je hydrotermálna metóda [19], pri ktorej nukleácia a rast HAP prebieha za hydrotermálnych podmienok – v horúcej kvapaline, skoro vždy vode, s teplotou zvyčajne viac ako 100 °C, typicky s tlakom pár vyššími ako atmosférický tlak.

Tvarom HAP vzniknutého hydrotermálnou metódou sa zaoberá viacero článkov orientovaných na syntézu HAP [11; 20; 21]. Hydrotermálna metóda je jedna z najvhodnejších metód na syntézu tyčinkovitého HAP. Najvyšší vplyv na tvar má pri tom teplota a pH okolitého roztoku, ale aj dĺžka doby syntézy a prítomnosť organických prímiesí. S rastúcou teplotou sa zvyšuje aj fázová čistota HAP. [11; 21]

Bolo dokázané, že dĺžka HAP častíc stúpa s klesajúcim pH. Pri vysokých hodnotách pH je umožnený vznik iných útvarov ako tyčínok, pozri obr. 3.8. Pri poklese pH na 4 je zas možné získať komplikovanejšie 3D útvary. [11]

Celkovo je však tvar HAP získaného touto metódou neuniformný a ťažko kontrolovateľný, čo je hlavnou nevýhodou hydrotermálnej metódy. [11]



Obrázok 3.8: Účinok pH, teploty a dĺžky hydrotermálneho spracovania na fázu, morfológiu a veľkosť častíc vápenatých fosforečnanov. HAP = hydroxyapatit, DCPA = anhydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého, DCPD = dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého, OCP = oktakalciumfosfát [11]

4. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Experimentálna časť tejto práce je zameraná na prípravu antibakteriálneho povrchu na vzorkách fabrikovaných z prášku vápenatých fosforečnanov. Na úpravu povrchu bolo použité tepelné spracovanie za hydrotermálnych podmienok. Metódy fabrikácie vzoriek a parametre hydrotermálneho tepelného spracovania (ďalej skrátene HTS) boli optimalizované pre dosiahnutie povrchovej topografie čo najpodobnejšej baktericídnej povrchovej topografii krídiel cikád.

4.1 Príprava hutných vzoriek

Hutné vzorky boli fabrikované z HAP prášku od firmy Sigma-Aldrich s.r.o. Prášok bol pred použitím kalcinovaný po dobu 1 hod. na teplote 800 °C, čo je teplota odporúčaná výrobcom, pre odstránenie nečistôt. U vybraných vzoriek bol do suspenzie pridaný uhličitan vápenatý.

Na tvarovanie vzoriek boli použité metódy suspenzného liatia, jednoosé lisovanie a izostatické lisovanie. Názvy vzoriek a ich príslušné metódy tvarovania sú v tabuľke 4.1.

Vzorka	Metóda tvarovania	Pridaný CaCO ₃
S	suspenzné liatie	nie
U-Ca	jednoosý lis	áno
U	jednoosý lis	nie
C	izostatický lis	nie
C-Ca	izostatický lis	áno

Tabuľka 4.1: Prehľad základných vzoriek. Prvé písmeno značí použitú metódu tvarovania, prípona Ca značí prídanie uhličitanu vápenatého.

4.1.1 Suspenzné liatie

Metódou suspenzného liatia boli tvarované vzorky dvoch rôznych chemických zložení. Vzorky S boli odliate zo suspenzie obsahujúcej 20 obj.% HAP. Do suspenzie použitej na prípravu vzoriek U-Ca bolo pridaných 1,6 g uhličitanu vápenatého, čím bol dosiahnutý obsah uhličitanu približne 5 hm.% po vysušení suspenzie. Presné chemické zloženie suspenzií sa nachádza v tabuľke 4.2. Polyvinylalkohol slúžil ako spojivo, destilovaná voda ako rozpúšťadlo, Dolapix ako disperzant častíc a oktanol ako odpeňovač. Cukor bol pridaný pre spevnenie výslednej štruktúry.

Vzorka	S	U-Ca
Látka	Hmotnostný zlomok (hm.%)	Hmotnostný zlomok (hm.%)
Hydroxyapatit	43,5	34,5
Polyvinylalkohol	1,1	1,2
Destilovaná voda	50,9	57,3
Dolapix CE64	2,0	2,2
Oktanol	0,1	0,1
Cukor (Sacharóza)	2,6	2,9
Uhličitan vápenatý	-	1,8

Tabuľka 4.2: Chemické zloženie použitých suspenzií

Do pripravených suspenzií boli pridané zirkonové guľičky ako miešacie médium a suspenzie boli minimálne 24 hod. miešané. Premiešaná suspenzia bola 2 minúty odvzdušňovaná aby boli odstránené vzdušné bubliny. Po odvzdušnení bola suspenzia odliata do plastových foriem. Odliate vzorky S schli 4 dni, vzorky U-Ca schli 5 dní.

Vzorky U-Ca boli po vysušení dodatočne lisované. Lisované vzorky sú opísané nižšie.

4.1.2 Jednoosé lisovanie

Jednoosým lisom boli tvarované vzorky s pridaným uhličitanom vápenatým a vzorky z kalcinovaného HAP prášku, t.j. U-Ca, C-Ca, U, C.

Vzorky s uhličitanom vápenatým boli najprv odliate zo suspenzie, pozri kapitola Suspenzné liatie. Po vyschnutí boli vzorky manuálne pomleté na jemný prášok. Prášok bol precedený cez sito s veľkosťou oka 0,099 mm.

Vzorky z čistého kalcinovaného HAP prášku neboli dodatočne upravované.

Lisovací set sa skladal z razidla a dvoch razníkov s priemerom 16 mm. Set bol pred každým použitím očistený etanolom a lubrikovaný roztokom polyvinylalkoholu v etanole. Potom bolo do razidla vložených 0,5 g prášku. Zložený set bol nasledovne vložený do jednoosého lisu Brio Hranice, BSML 21 – MT 20 a stlačený na 10 MPa.

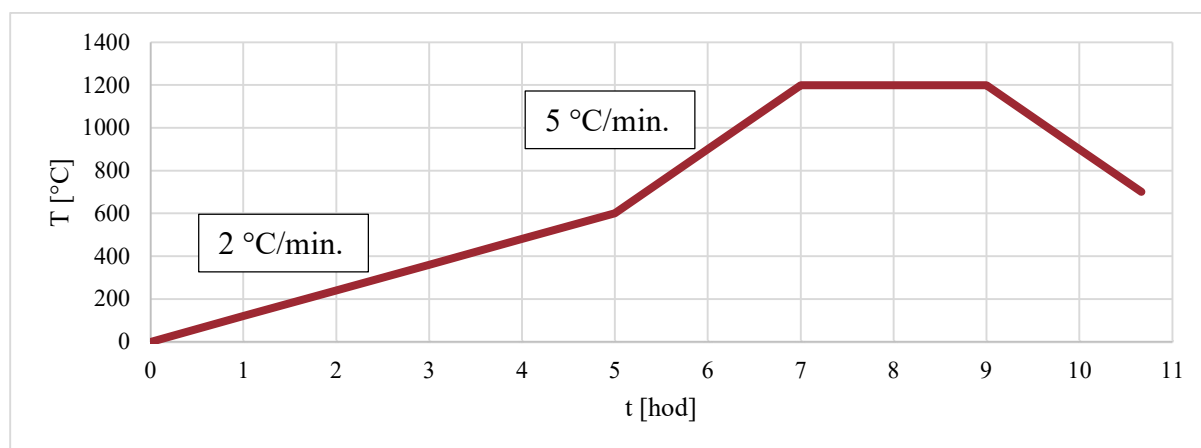
4.1.3 Izostatické lisovanie

Vzorky C a C-Ca boli po tvarovaní jednoosým lisom dodatočne lisované v studenom izostatickom lise (CIP) metódou mokrého vaku.

Vzorky boli s odstupmi vložené do elastickej formy, ktorá bola nasledovne evakuovaná a uzatvorená. Pre bezpečnosť vzoriek boli použité tri vrstvy formy. Forma so vzorkami bola vložená do izostatického lisu P/O/ WEBER Laborpresstechnik, KIP 300 E a stlačená na 250 MPa.

4.1.4 Slinovanie

Všetky vzorky boli slinované na teplote 1200°C po dobu 120 minút v slinovacej peci. Použitý teplotný režim je popísaný v grafe 4.1.



Graf 4.1: Teplotný režim slinovania

4.2 Meranie hustoty

Hustota slinovaných vzoriek bola zistená pomocou Archimedovej metódy podľa normy ČSN EN 623-2 [22]. Proces bol nasledujúci: vzorky boli sušené pod iónovou lampou po dobu 30 minút a odvážené na vzduchu (m_1). Nasledovne boli vzorky umiestnené v kadičke 30 minút vakuované. Do vakuovanej kadičky bola potom napustená destilovaná voda a 60 minút sa nechala zatiecť do všetkých pórov vzorku. Po 30 minútach po napustení vody bola kadička vyňatá z vákua. Vzorky boli odvážené vo vode (m_2). Nakoniec boli vzorky osušené papierom a odvážené druhýkrát na vzduchu (m_3). Všetky merania boli opakované trikrát a vo výpočtoch bol použitý aritmetický priemer meraní pre zvýšenie presnosti merania.

Relatívna hustota bola zistená pomocou nasledujúceho vzťahu:

$$\rho_{rel.} = \left(\frac{m_1}{m_3 - m_2} \right) \frac{\rho_{H_2O}}{\rho_{teor.}} \cdot 100\% \quad (3.1)$$

Kde: $\rho_{rel.}$ [%] je relatívna hustota vzorky,
 m_1 [g] je hmotnosť vzorku po úplnom vysušení,
 m_2 [g] je hmotnosť vzorku vo vode,
 m_3 [g] je hmotnosť vzorku po vysušení zvonka,
 ρ_{H_2O} [g/cm³] je hustota vody pri teplote merania,
 $\rho_{teor.}$ [g/cm³] je hustota 100% HAP – 3,18 g/cm³.

Hustotu vody pri teplote merania bola zistená zo vzťahu:

$$\rho_{H_2O} = \frac{(0,997 \quad ,9984)}{5 \cdot (T_{H_2O} - 20)} + 0,9984 \quad (3.2)$$

Kde: ρ_{H_2O} [g/cm³] je hustota vody pri danej teplote,
 T_{H_2O} [K] je teplota vody pri meraní.

U sérii vzoriek S bola meraná hustota troch odlišných vzoriek. V tomto prípade sú zistené hodnoty aritmetickým priemerom jednotlivých vzoriek.

4.3 Tepelné spracovanie v hydrotermálnych podmienkach

Povrch vzoriek bol upravený pomocou hydrotermálneho tepelného spracovania (HTS). Za hydrotermálnych podmienok dochádza k fázovým a morfológickým zmenám vápenatých fosforečnanov. Parametre HTS boli optimalizované pre dosiahnutie povrchovej morfológie približujúcej sa baktericídnej povrchovej morfológii opísanej v teoretickej časti práce.

4.3.1 Vzorky práškov

Pred tým, ako bol pomocou HTS upravený povrch hutných vzoriek, bola skúmaná zmena hmotnosti, morfológické zmeny a fázové zmeny použitých práškov v hydrotermálnych podmienkach. Skúmaný bol východzí HAP prášok a kalcinovaný HAP prášok.

Roztok použitý na HTS bol pripravený z destilovanej vody a roztoku kyseliny dusičnej s koncentráciou 1 M HNO_3 . Roztok kyseliny bol pomaly pridávaný do destilovanej vody za stáleho miešania magnetickým miešadlom. Súčasne bolo merané pH pomocou pH elektródy. Roztok kyseliny bol pridávaný, dokým nebolo pH znížené na 4.

1 g nekalcinovaného HAP prášku od firmy Sigma-Aldrich s.r.o. bol umiestnený v teflónovej nádobke spolu s 19 g zriedeného roztoku kyseliny dusičnej s pH 4. Tým bola dosiahnutá koncentrácia HAP 5 hm.% a koncentrácia rozpúšťadla 95 hm.%. Rovnakým spôsobom bol pripravený kalcinovaný HAP prášok.

Teflónové nádoby boli vložené do samostatných autoklávov, ktoré boli pevne uzatvorené. Obe zložené sústavy boli v konvenčnej peci tepelne spracované na teplote 180 °C po dobu 12 hod. Rovnaký teplotný režim bol použitý u povrchovej úpravy hutných vzoriek.

Po ukončení cyklu boli teflónové nádoby opatrne vyňaté z autoklávov a ich obsah bol prefiltrovaný cez separátne filtračné papiere. Filtračný zvyšok bol dôkladne vysušený v digestore a odvážený. Morfológia a chemické zloženie boli dodatočne skúmané pomocou SEM analýzy a XRD analýzy.

4.3.2 Hutné vzorky

Štrnásť základných hutných vzoriek bolo podrobených HTS v roztokoch s rôznymi hodnotami pH a v destilovanej vode. Dĺžka HTS jedenástich vzoriek bola 12 hod, tri vzorky boli tepelne spracované po dobu 48 hod. Prehľad vzoriek, pH kvapalného prostredia a dĺžka HTS je v tabuľke 4.3.

Teplota HTS bola pre všetky vzorky rovnaká – 180 °C.



Obrázok 4.1: Použité autoklávy (a), rozložený autokláv (b)

Vzorka	pH	Dĺžka spracovania [hod]
S-4	4,0	12
U-Ca-4	4,0	12
U-4	4,0	12
C-4	4,0	12
C-Ca-4	4,0	12
U-6,1	6,1	12
C-6,1	6,1	12
C-Ca-6,1	6,1	12
U-5,6	5,6	12
C-5,6	5,6	12
C-Ca-5,6	5,6	12
U-5,6-48	5,6	48
C-5,6-48	5,6	48
C-Ca-5,6-48	5,6	48

Tabuľka 4.3: Prehľad tepelne spracovaných vzoriek. Písmená v označení priradujú vzorku k jej označeniu pred HTS, pozri tabuľka 4.1. Prvé číslo v označení značí pH použité u HTS. Prípona 48 značí, že dĺžka HTS bola 48 hodín.

Podobne ako pri spracovaní práškových vzoriek v hydrotermálnych podmienkach boli najprv pripravené roztoky, v ktorých prebieha HTS. Roztoky boli pripravené pridávaním 1 M roztoku HNO₃ do destilovanej vody za stáleho miešania magnetickým miešadlom a súčasného merania pH pomocou pH elektródy. Roztok HNO₃ bol pridávaný, dokým nebola dosiahnutá požadovaná hodnota pH.

Pomocou pH elektródy bolo za stáleho miešania magnetickým miešadlom zmerané aj pH destilovanej vody, ktorá bola použitá v HTS.

Takto boli pripravené kvapalné prostredia pre HTS s tromi rozličnými hodnotami pH: 4; 5,6 a 6,1.

Vzorky boli oddelene umiestnené v samostatných teflónových nádobkách tak, aby v jednej nádobke neboli rôzne typy základných vzoriek.

Do nádobiek boli pridané roztoky alebo destilovaná voda v takom množstve, aby základná vzorka tvorila 5 hm.% obsahu nádoby a kvapalné prostredie 95 hm.% obsahu nádoby.

Teflónové nádoby boli pevne uzatvorené v samostatných autoklávoch a umiestnené v konvenčnej peci, kde boli vzorky tepelne spracované na teplote 180 °C po dobu 12 hodín. Tri vzorky boli tepelne spracovávané 48 hodín.

Po ukončení HTS boli vzorky opatrne vyňaté zo sústavy a vysušené v digestore.

Vzorky boli pred HTS a po konečnom vysušení odvážené pre pozorovanie zmien hmotnosti.

4.4 SEM analýza

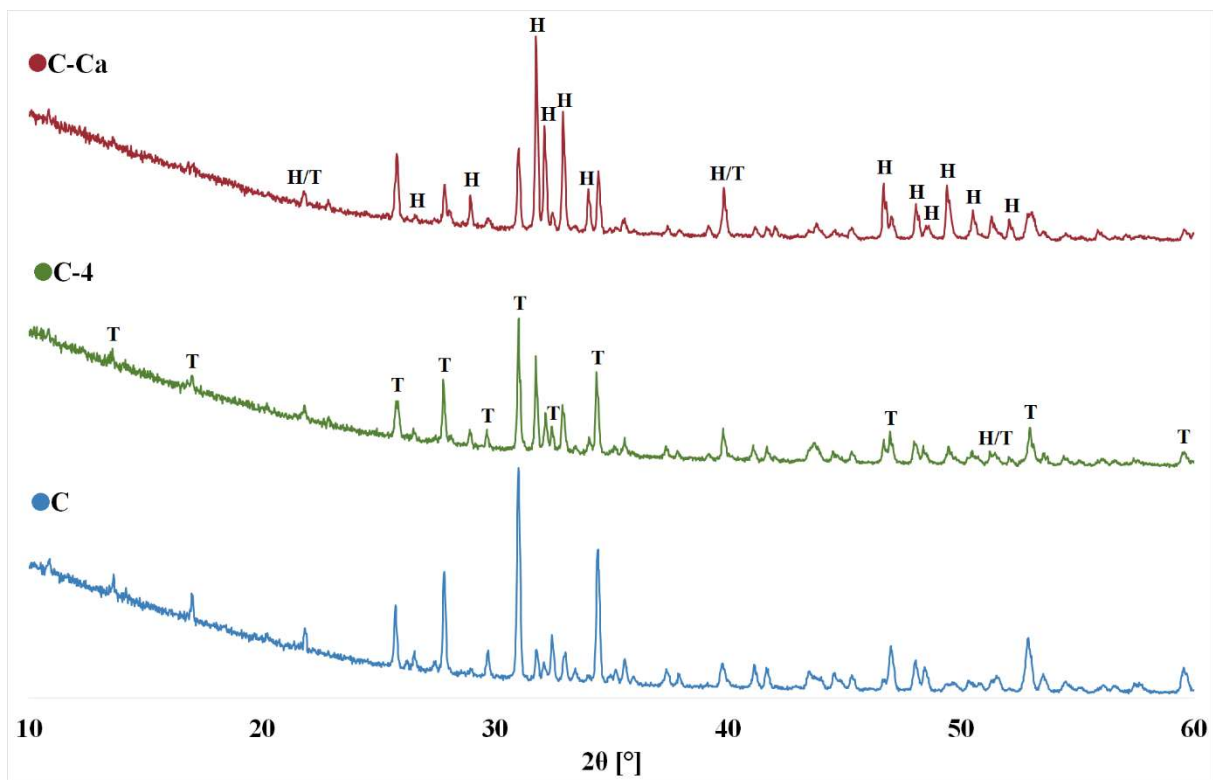
Povrch vzoriek po pred a po HTS bol sledovaný skenovacími elektrónovými mikroskopmi FEI Verios 460L a TESCAN LYRA3 XMH, u oboch bol použitý mód SE (*secondary electrons*). Povrch vzoriek, u ktorých pre nedostatočnú vodivosť povrchu nebolo možné dosiahnuť kvalitných snímok, bol dodatočne pouhličený.

U modelu FEI Verios 460L bolo použité urýchľovacie napätie 5 kV pre nepouhličené vzorky, u pouhličených vzoriek bolo použité urýchľovacie napätie 10 kV. Modelom TESCAN LYRA3 XMH boli mikroskopované iba pouhličené vzorky a bolo použité urýchľovacie napätie 10 kV.

Dokopy bolo pozorovaných 19 hutných vzoriek, z toho 5 základných vzoriek pred HTS a 14 vzoriek po HTS. Boli tiež pozorované 4 vzorky práškov, z toho 2 v základnom stave a 2 po HTS.

4.5 XRD analýza

Pre určenie fázového zloženia vzoriek pred a po HTS bol použitý difraktometer Rigaku SmartLab 3 kW s medenou anódou. Použitý mód bol *Bragg-Brentano Measurement*. Vzorky boli analyzované v skenovacej pozícii od 10° do 90° po $0,02^\circ$ krokoch. Dáta boli vyhodnotené porovnaním s Medzinárodným Centrom Difrakčných Dát (*International Center for Diffraction Data*), skrátene ICDD, pomocou softvéru HighScore Plus. Porovnaním nameraných dát s dátami z ICDD bolo určené fázové zloženie.



Graf 4.2: Příklad difrakčných dát. Vzorky C, C-4 a C-Ca. Dôležité vrcholy sú označené písmenom: H pre HAP, T pre β -TCP. Nejednoznačné vrcholy sú označené H/T.

5 VÝSLEDKY

V tejto kapitole budú zhrnuté výsledky zistené u základných biokeramických vzoriek, u rozpúšťaných biokeramických práškov a u modelových biokeramických povrchov vytvorených pomocou hydrotermálneho tepelného spracovania (HTS).

Fabrikovaných bolo päť typov základných vzoriek z kalcinovaného HAP prášku a HAP suspenzie s pridaným uhličitanom vápenatým. Na základných vzorkách bola meraná relatívna hustota, povrch bol analyzovaný pomocou SEM a fázové zloženie bolo analyzované difraktometrom.

Rozpúšťaný bol prášok z kalcinovaného HAP a pôvodného neupraveného HAP prášku. U práškov bola pozorovaná hmotnosť pred a po HTS, t.j. rozpustnosť prášku, štruktúra prášku bola analyzovaná SEM a fázové zloženie bolo analyzované difraktometrom.

Pomocou SEM bolo analyzovaných päť povrchov pred HTS a štrnásť modelových povrchov po HTS. Fázové zloženie vybraných povrchov bolo analyzované difraktometrom.

5.1 Základné hutné vzorky

Hutné vzorky boli fabrikované zhutnením keramickej suspenzie alebo keramického prášku pomocou metód suspenzného liatia, jednoosého lisovania a izostatického lisovania a nasledovného slinovania.

Hustota slinovaných vzoriek bola meraná Archimedovou metódou podľa normy ČSN EN 623-2 [22]. Relatívna hustota vzoriek je uvedená v tabuľke 5.1.

Vzorka	Relatívna hustota [%]
S	94,2
U-Ca	81,0
U	85,0
C	95,4
C-Ca	92,1

Tabuľka 5.1: : Relatívna hustota slinovaných vzoriek vzťahnutá na teoretickú hustotu HAP – 3,18 g/cm³

Najvyššia hustota bola dosiahnutá u izostaticky lisovaných vzoriek C z kalcinovaného HAP prášku. Podobne vysoká hustota bola dosiahnutá u suspenzne liatych vzoriek S bez pridaného uhličitanu vápenatého.

Výrazne nižšiu relatívnu hustotu mali vzorky zhutnené jednoosým lisovaním. Najnižšiu hustotu mali jednooso lisované vzorky U-Ca s pridaným uhličitanom vápenatým.

5.2 Tepelné spracovanie vzoriek práškov

Dva prášky vápenatých fosforečnanov boli podrobené HTS pre sledovanie hmotnostných, morfológických a fázových zmien.

Meranie hmotnosti bolo vykonané pred HTS a po HTS a dodatočnom vysušení. Nameraná hmotnosť práškov pred a po tepelnom spracovaní je v tabuľke 5.2.

Prášok	Hmotnosť pred HTS [g]	Hmotnosť po HTS [g]	Príbytok hmotnosti [%]
Pôvodný	1,01	1,39	38
Kalcinovaný	1,00	1,29	29

Tabuľka 5.2: Zmena hmotnosti použitých práškov

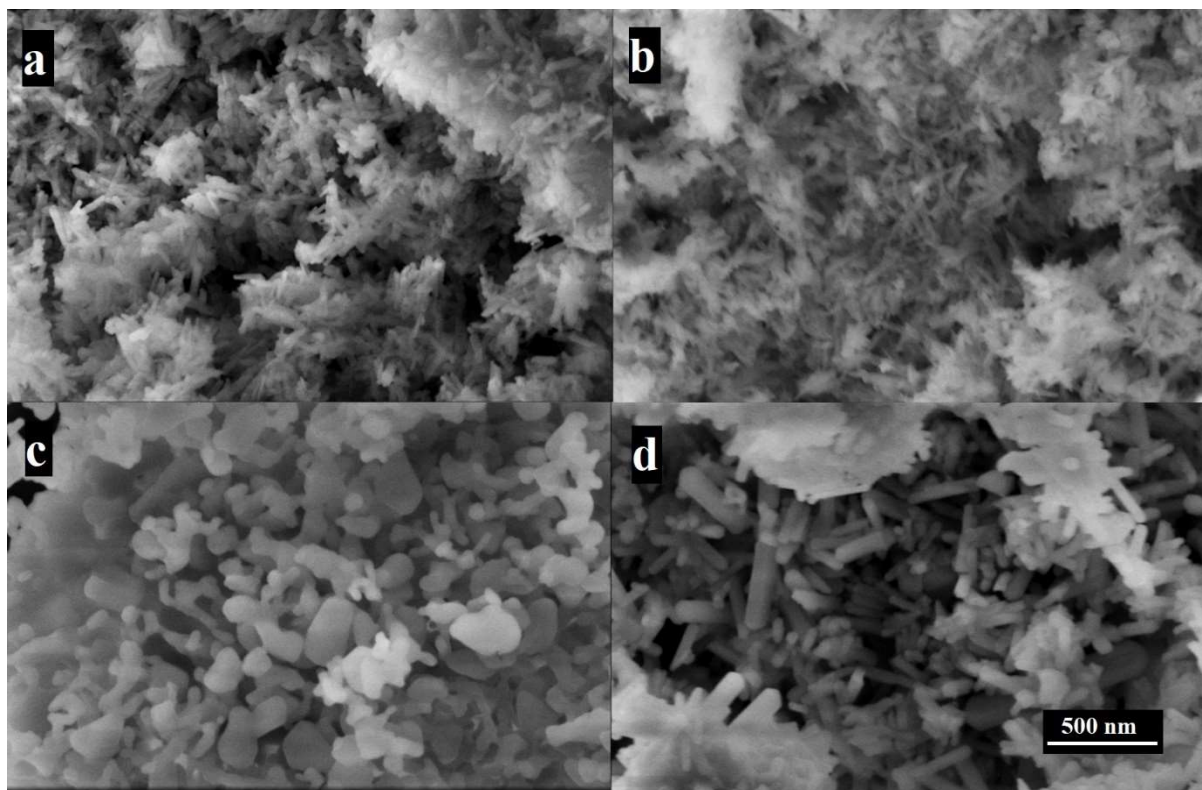
Hmotnosť po tepelnom spracovaní bola u oboch práškov vyššia ako hmotnosť pred tepelným spracovaním.

Fázové zloženie práškov bolo analyzované röntgenovým difraktometrom. Fázové zloženie zistené porovnaním dát s ICDD je v tabuľke 5.3.

Prášok	Fázové zloženie pred tepelným spracovaním		Fázové zloženie po tepelnom spracovaní	
	HAP [%]	β -TCP [%]	HAP [%]	β -TCP [%]
Pôvodný	100	-	92	8
Kalcinovaný	67	33	84	16

Tabuľka 5.3: Fázové zloženie vzoriek práškov pred a po HTS

Mikroštruktúra práškov pred a po HTS bola pozorovaná SEM. Získané snímky sú na obrázku 5.1.



Obrázok 5.1: SEM snímky vzoriek práškov. a – pôvodný prášok pred HTS, b – pôvodný prášok po HTS. c – kalcinovaný prášok pred HTS, d – kalcinovaný prášok po HTS.

U pôvodného HAP prášku nebola po HTS sledovaná výrazná zmena morfológie. Kalcinovaný prášok mal pred tepelným spracovaním globulárnu morfológiu, počas tepelného spracovania

povrch prášku rekryštalizoval na morfológiu podobnú pôvodnému HAP prášku, ale s väčšími kryštálmi.

5.3 Tepelné spracovanie hutných vzoriek

Fázové zloženie vzoriek bolo analyzované röntgenovým difraktometrom. Analyzované boli vzorky pred HTS, po HTS v roztoku s pH 4 a po HTS v roztoku s pH 5,6 a dobou HTS 48 hod. Výsledky analýzy sú v tabuľke 5.4.

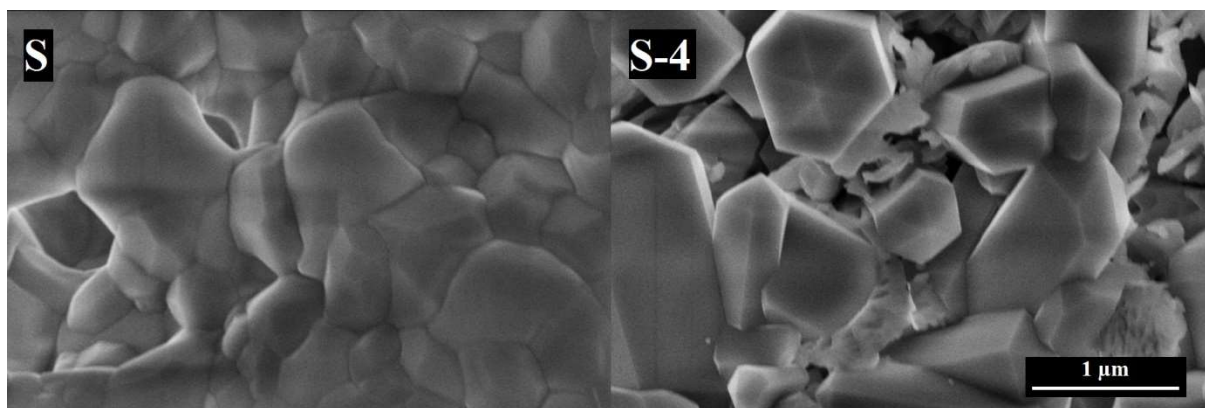
Vzorka	Fázové zloženie pred HTS		Fázové zloženie po HTS	
	HAP [%]	β -TCP [%]	HAP [%]	β -TCP [%]
S-4	-	100	4	97
U-Ca-4	53	47	85	15
U-4	9	91	48	52
C-4	8	92	30	70
C-Ca-4	60	40	63	37
U-5,6-48	9	91	100	-
C-5,6-48	8	92	46	54
C-Ca-5,6-48	60	40	69	31

Tabuľka 5.4: Fázové zloženie hutných vzoriek pred a po HTS

Zmena hmotnosti po HTS bola u všetkých hutných vzoriek zanedbateľná.

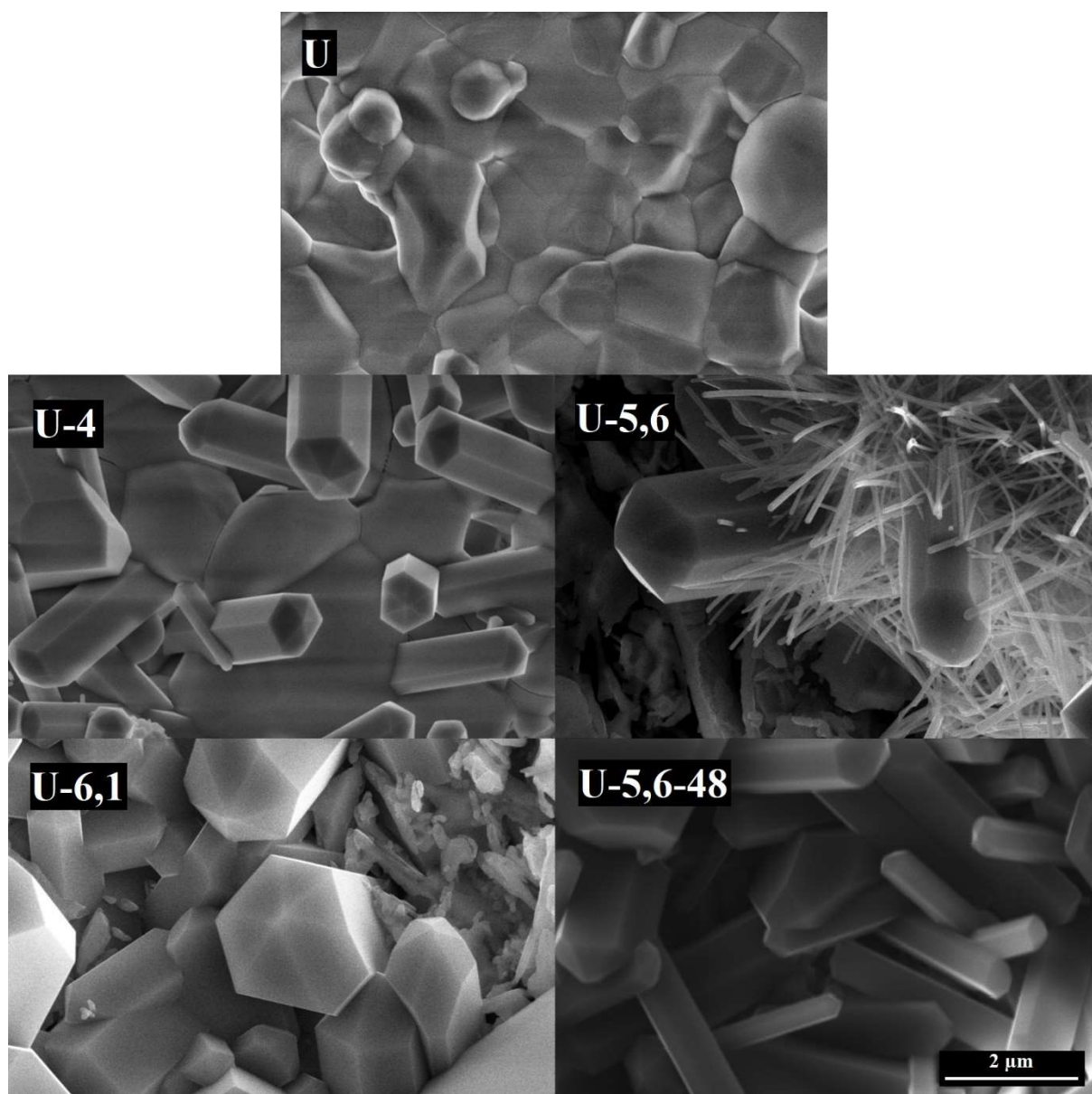
Povrch hutných vzoriek pred a po HTS bol pozorovaný SEM. Snímky mikroštruktúr sú na obrázkoch 5.2–5.6.

U všetkých vzoriek bola uniformita veľkosti kryštálov veľmi nízka.



Obrázok 5.2: SEM snímky vzoriek S a S-4

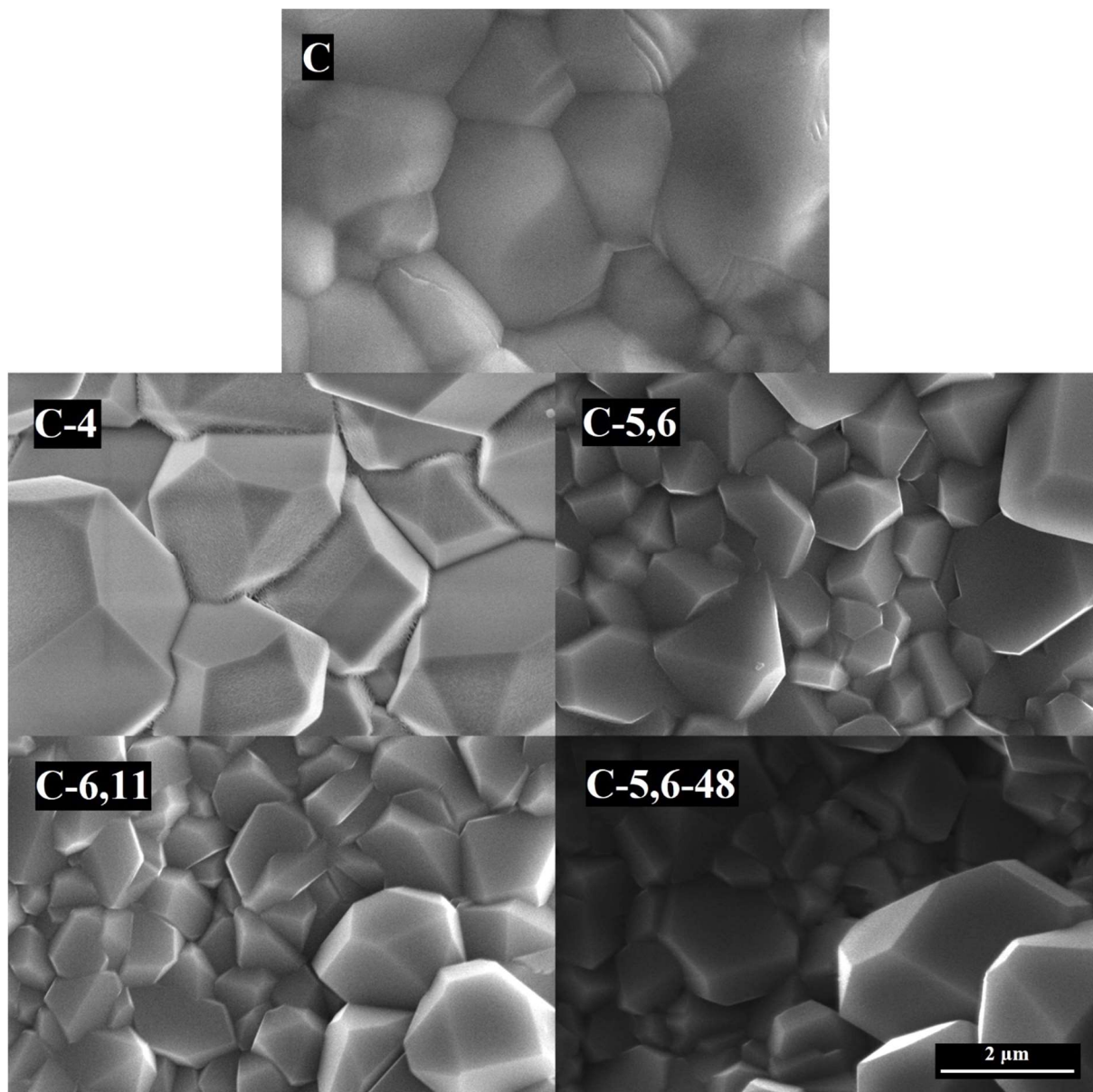
Na povrchu vzorky S-4 sa nachádzali prevažne kryštály s pomerom dĺžky a šírky blížiacim sa 1, niektoré kryštály boli dlhšie. Pokrytie povrchu kryštálmi bolo neúplné, často bol viditeľný pôvodný povrch.



Obrázok 5.3: SEM snímky vzoriek U, U-4, U-5,6, U-6,1 a U-5,6-48

U vzoriek U-4, U-5,6 a U-6,1 vznikali najdlhšie kryštály, špecificky na vzorke U-5,6 boli ojedinele kryštály s rádovo menším priemerom ako u ostatných vzoriek. Kryštály na vzorke U-6,1 mali nižší pomer dĺžky a priemeru ako U-4 a U-5,6. U vzorky U-4 bol vo výraznej miere viditeľný pôvodný povrch, u vzoriek U-5,6 a U-6,1 bolo pokrytie vyššie.

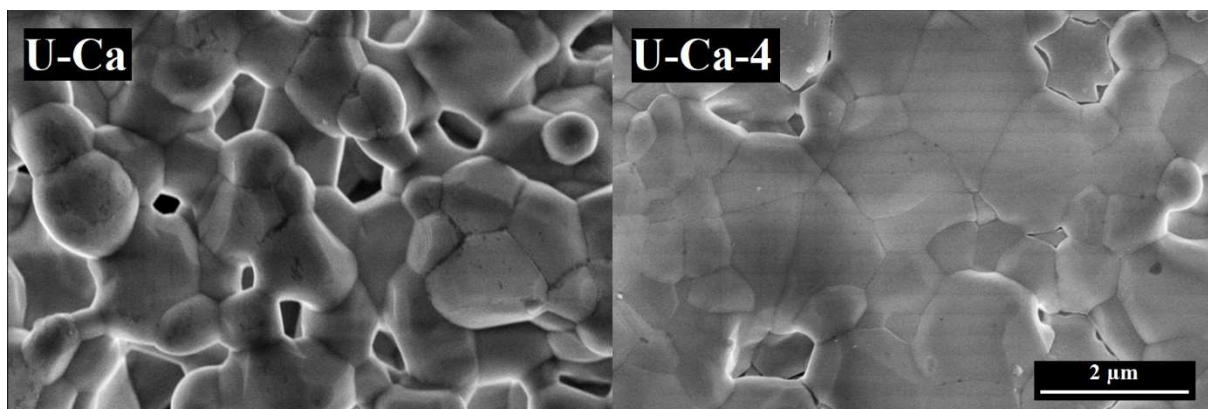
U vzorky U-5,6-48 bolo pozorované úplné pokrytie HAP kryštálmi a zvýšená heterogenita veľkosti kryštálov. Neboli nájdené oblasti s viditeľným pôvodným povrchom. Značnú časť povrchu pokrývali veľké kryštály s nízkym pomerom dĺžky a priemeru. Priestor medzi nimi bol vyplnený menšími, podlhovastými kryštálmi, avšak výrazne hrubšími ako malé kryštály u vzorky U-5,6.



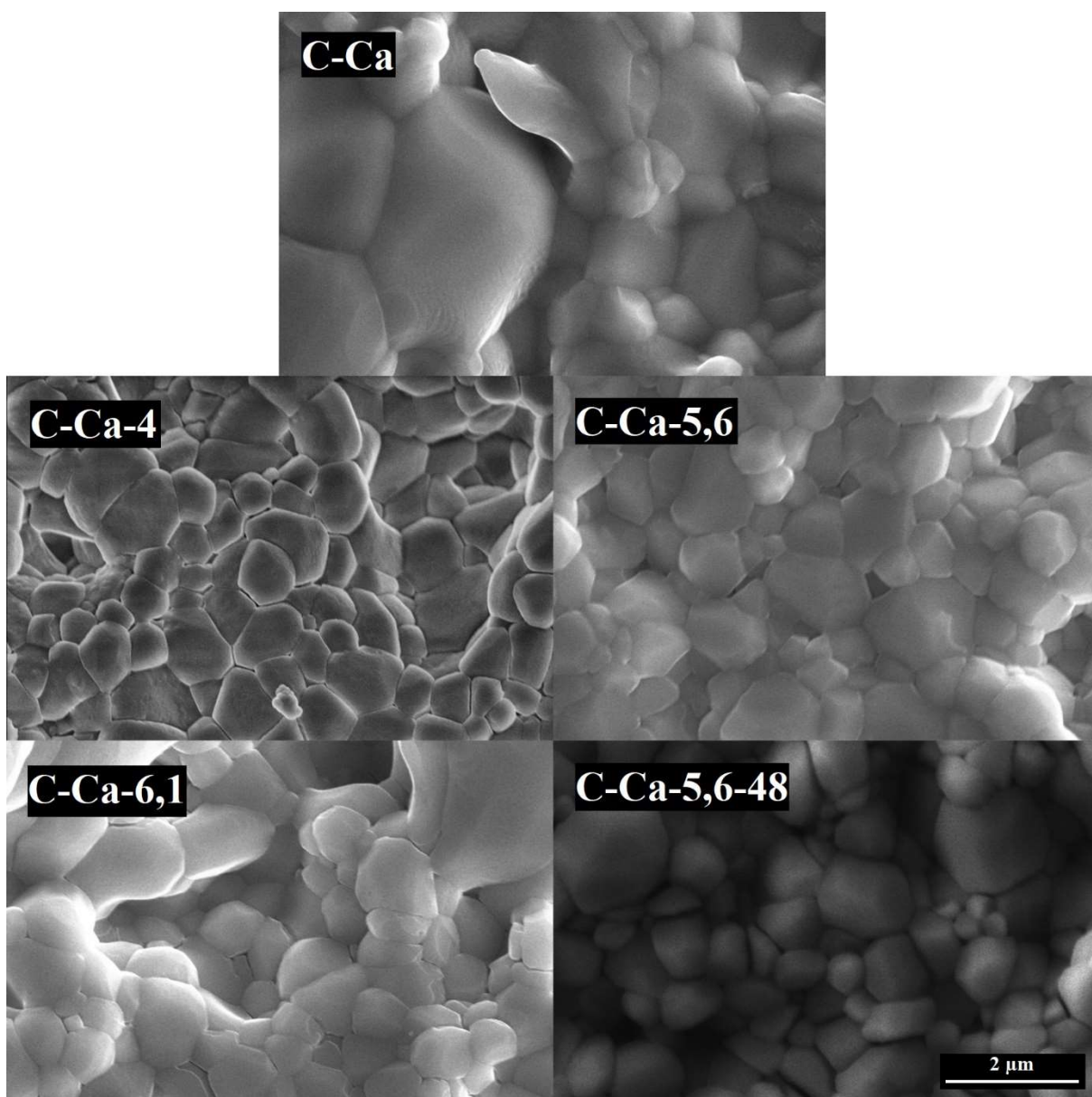
Obrázok 5.4: SEM snímky vzoriek C, C-4, C-5,6, C-6,1 a C-5,6-48

Vzorky C-4, C-5,6 a C-6,11 boli pokryté kryštálmi, ktorých pomer dĺžky a šírky sa blíži 1. Uniformita veľkosti kryštálov je nízka. Ojedinele je viditeľný pôvodný povrch.

U vzorky C-5,6-48 boli pozorované podobné vlastnosti ako u vzorky U-5,6-48; nemožno však hovoriť o prítomnosti podlhovastých kryštálov. Povrch bol pokrytý veľkými kryštálmi, priestor medzi nimi bol vyplnený menšími kryštálmi, u oboch bol pomer dĺžky a šírky blízky 1. Pokrytie povrchu kryštálmi bolo úplné.



Obrázok 5.5: SEM snímky vzoriek U-Ca a U-Ca-4



Obrázok 5.6: SEM snímky vzoriek C-Ca, C-Ca-4, C-Ca-5,6, C-Ca-6,1 a C-Ca-5,6-48

U vzoriek U-Ca-4, C-Ca-4, C-Ca-5,6, C-Ca-6,1 a C-Ca-5,6-48 neboli pozorované výrazné morfológické zmeny.

6 DISKUSIA

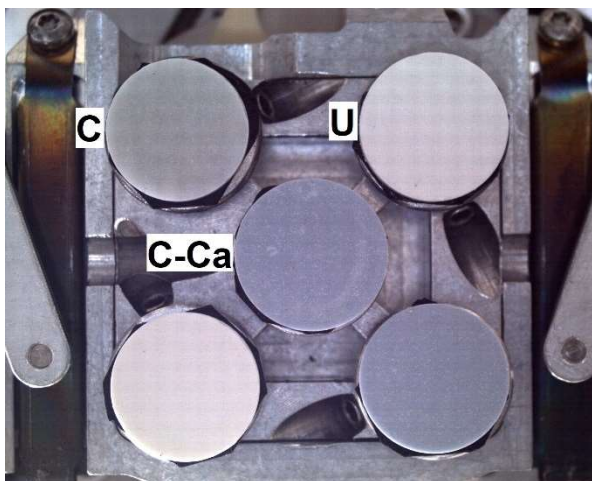
Hlavným cieľom experimentálnej časti bolo vytvoriť povrch s baktericídnu topografiou s podobnými prvkami ako topografia krídiel cikád. Povrch vzoriek vápenatých fosforečnanov bol upravený pomocou hydrotermálneho tepelného spracovania (HTS). Počas HTS na povrchu vzoriek nastali fázové a morfológické zmeny. Kvôli nedostatku literatúry opisujúcej morfológické zmeny na povrchoch vápenatých fosforečnanov v hydrotermálnych podmienkach boli podmienky HTS porovnávané s článkami o syntéze HAP. Tie poskytujú presné informácie o hydrotermálnych podmienkach pre tvorbu ihlicovitého HAP s podobnými rozmermi ako prvky baktericídnej topografie. V tejto bakalárskej práci sa predpokladalo, že konkrétne hydrotermálne podmienky budú mať podobné účinky na povrch hutných vzoriek obsahujúcich HAP a β -TCP spracovaných HTS ako na tvar syntetizovaného HAP, resp. že rozmery povrchových prvkov na hutných vzorkách budú za daných hydrotermálnych podmienok podobné ako rozmery syntetizovaného HAP.

6.1 Základné biokeramické vzorky

Vzorky tvarované izostatickým lisovaním mali v porovnaní s ostatnými vyššiu relatívnu hustotu a podobnú relatívnu hustotu dosahovala vzorka S tvarovaná suspenzným liatím. Nevýhodou metódy suspenzného liatia je však heterogenita hustoty v objemu vzorky. Okrem toho sa nepodarilo suspenzným liatím fabrikovať diskové vzorky, ktoré sú vhodnejšie na testy baktericídnosti vďaka ucelenému rovnému povrchu.

Jednooso lisované vzorky s pridaným uhličitanom vápenatým mali najnižšiu relatívnu hustotu, výrazne nižšiu ako jednooso lisované vzorky bez uhličitanu vápenatého. Dodatočné zníženie hustoty je opodstatniteľné tým, že počas slinovania sa z uhličitanu vápenatého uvoľňuje oxid uhličitý, ktorý môže zvyšovať porozitu pri unikanií zo vzorky.

Mimo odlišnej relatívnej hustoty a fázového zloženia mali vzorky i odlišný odtieň, pozri obrázok 6.1. Hlavne u izostaticky lisovaných vzoriek s pridaným uhličitanom vápenatým bolo voľným okom pozorovateľné modré sfarbenie. Pravdepodobným dôvodom je nízka porozita a vysoký obsah HAP.



Obrázok 6.1: Odlišné sfarbenie vzoriek

6.2 Tepelné spracovanie vzoriek práškov

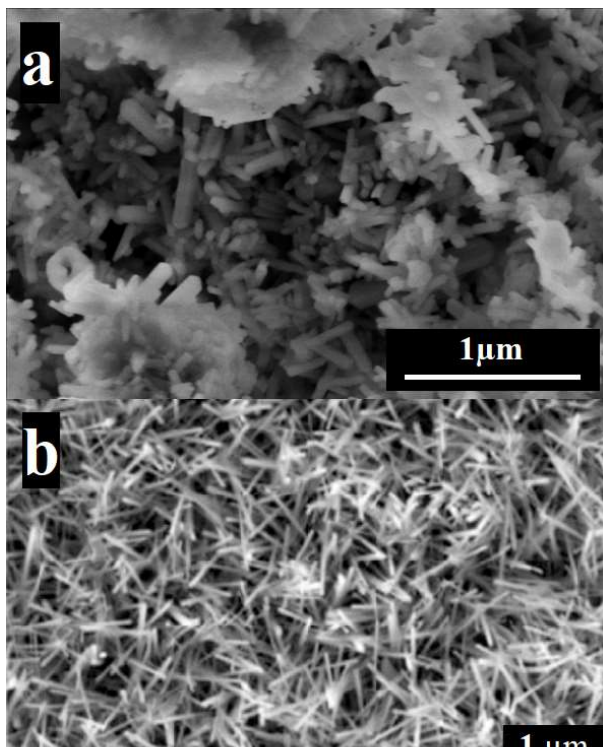
Vzorky práškov boli sledované pre upresnenie transformácií, ktoré prebiehajú na povrchu vzoriek počas tepelného spracovania. Pôvodný, nekalcinovaný HAP prášok bol skúmaný, aby bol zistený vplyv kalcinácie a tým pádom vyššieho obsahu HAP na zmeny počas HTS.

Bolo predpokladané, že hmotnosť po HTS bude u oboch práškov nižšia alebo rovnaká ako hmotnosť pred HTS, pretože HAP a β -TCP sú do nízkej miery rozpustné vo vode. Výsledná

zmena hmotnosti však bola kladná, prášky po HTS mali výrazne vyššiu hmotnosť. Pôvodný prášok zvýšil svoju hmotnosť o 38%, kalcinovaný prášok o 29%.

Možným vysvetlením tohto výsledku je, že prášky počas HTS reagujú s vodou do takej miery, že nastane výrazná zmena hmotnosti. Fázová analýza ukazuje, že fázové zloženie práškov sa počas HTS zmenilo, nie však dostatočne na takto výraznú zmenu hmotnosti. Pravdepodobnejšie vysvetlenie preto je, že zmena hmotnosti je spôsobená uväznením vody v prášku a nepresnosťou merania.

Pomocou SEM boli sledované morfológické zmeny práškov. Štruktúra pôvodného prášku pred a po HTS je veľmi podobná, je preto ťažké určiť, či počas HTS nastala zmena, alebo či prášok rekryštalizoval do podobnej štruktúry. U kalcinovaného prášku naopak nastala výrazná zmena morfológie.



Obrázok 6.2: Porovnanie mikroštruktúry kalcinovaného prášku po HTS (a) a baktericídnej mikroštruktúry termálne oxidovanej titánovej zliatiny (b)

Prvky topografie oxidovanej titánovej zliatiny majú dĺžku približne 1 μm a priemer približne 0,1 μm . Kryštály na povrchu kalcinovaného prášku majú dĺžku rádovo 0,3 μm a priemer rádovo 0,08 μm . Odlišná dĺžka zapríčiní výrazný rozdiel v pomere dĺžky a priemeru: okolo 12 pre oxidovanú titánovú zliatinu v porovnaní s približne 4 pre kalcinovaný prášok. Bolo ale dokázané, že účinná baktericídna topografia má pomer dĺžky a priemeru 3 [18]. V prípade, že prvky topografie túto hodnotu presiahnu, sa zdá byť rozhodujúcejším faktorom priemer prvkov, ktorý je u kalcinovaného prášku po HTS a oxidovanej titánovej zliatiny podobný.

Rozpustnosť práškov vápenatých fosforečnanov a ich tepelné spracovanie v hydrotermálnych podmienkach by bolo vhodné v budúcom výskume preskúmať viac pre kompletnejšie pochopenie zmien, ktoré nastávajú počas HTS.

Pôvodný HAP prášok obsahoval podľa fázovej analýzy iba HAP, kým u kalcinovaného prášku bol výrazný i obsah β -TCP. Dá sa preto predpokladať, že prítomnosť β -TCP umožňuje morfológické zmeny. β -TCP je rozpustnejší ako HAP a vo vodnom prostredí β -TCP reaguje na HAP. Toto sa využíva napríklad v hydrolytickej syntéze HAP, kde hrá pH podobne dôležitú úlohu ako v hydrotermálnej syntéze. [11]

Morfológia po HTS v oboch prípadoch nesie pre napodobenie baktericídnej topografie dôležité znaky – je zložená z podlhovastých kryštálov smerujúcich zväčša von z povrchu. Podobná topografia fabrikovaná v inom výskume imitujúcom baktericídnu topografiu krídiel cikád pomocou termálnej oxidácie titánovej zliatiny vykazovala baktericídne vlastnosti [23].

Porovnanie morfológie kalcinovaného prášku po HTS a účinnej baktericídnej topografie vytvorenej *Sjöström et al.* je na obrázku 6.2.

6.3 Tepelné spracovanie hutných vzoriek

Pomocou HTS bola menená morfológia povrchu základných vzoriek. Snaha bola vytvoriť povrch, ktorý by obsahoval baktericídne topografické prvky. Hlavné faktory, ktoré ovplyvňovali vzniknutú morfológiu sú: relatívna hustota základnej vzory, fázové zloženie základnej vzorky – z toho hlavne obsah β -TCP, pH roztoku a dĺžka HTS. Pridanie CaCO_3 malo nepriamy vplyv na morfológiu vďaka vplyvu na obsah β -TCP. Dôležitým faktorom ovplyvňujúcim výslednú morfológiu by mala byť aj teplota HTS. V tejto bakalárskej práci bola použitá teplota HTS konštantná aby mohol byť sledovaný vplyv ostatných faktorov. Vplyv teploty by mohol byť upresnený v ďalšom výskume.

6.3.1 Vplyv relatívnej hustoty

Relatívna hustota mala vplyv na fázové zloženie vzoriek a na morfológiu po HTS. U vzoriek U a C bolo pozorované, že nižšia relatívna hustota, resp. vyššia porozita je spojená s vyššou zmenou β -TCP na HAP počas HTS. Vyššia porozita pravdepodobne urýchľuje proces premeny β -TCP kvôli zvýšeniu plochy rozhrania vzorky a roztoku.

Vzorka	Relatívna hustota [%]	Príbytok HAP počas HTS (pH 4 a 12 hod) [%]	Príbytok HAP počas HTS (pH 5,6 a 48 hod) [%]
U	85,0	39	91
C	95,4	22	38

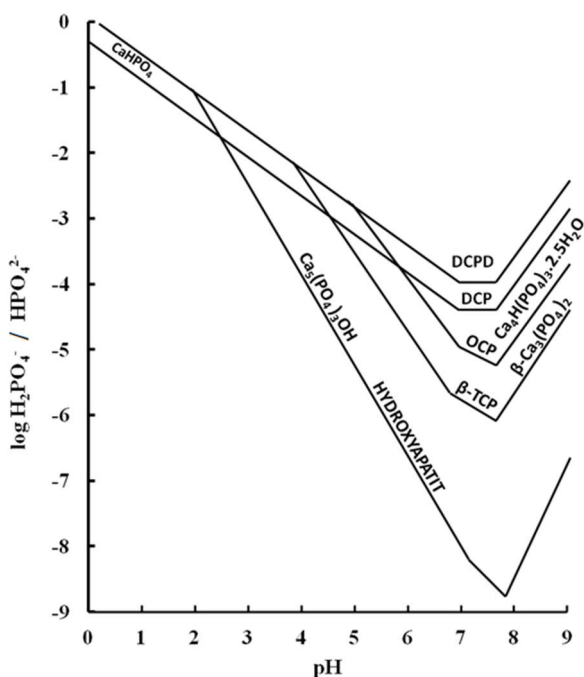
Tabuľka 6.1: Vplyv relatívnej hustoty na príbytok HAP počas HTS

Zvýšená porozita so sebou nesie nevýhodný vedľajší účinok zhoršených mechanických vlastností, tie ale nehrajú dôležitú úlohu, keďže HAP v prípade implantátov netvorí nosnú časť. V budúcnosti bude na vyhotovenie testov antibakteriálnych účinkov potrebný rovný povrch, porozita preto nemôže obmedziť túto vlastnosť.

6.3.2 Vplyv zloženia

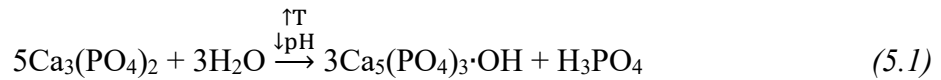
Ako bolo predpokladané v kapitole 6.2 Tepelné spracovanie vzoriek práškov, vyšší obsah β -TCP má pozitívny vplyv na zmenu morfológie, pretože β -TCP má vyššiu rozpustnosť ako HAP (pozri graf 6.1) a β -TCP počas HTS reaguje na HAP. Ako prvá tento predpoklad naplnila vzorka S, zložená podľa fázovej analýzy čisto z β -TCP. Zmena morfológie počas HTS bola pozorovateľná na značnej časti povrchu. Naopak najnižší obsah β -TCP mali vzorky s pridaným uhličitanom vápenatým, u ktorých nenastala žiadna výrazná zmena morfológie.

Na povrchu vzoriek S, U a C po HTS sa často nachádzali oblasti čiastočne rozpustených pôvodných zrn, niekedy s viditeľnými



Graf 6.1: Závislosť rozpustnosti vybraných vápenatých fosforečnanov na pH [21]

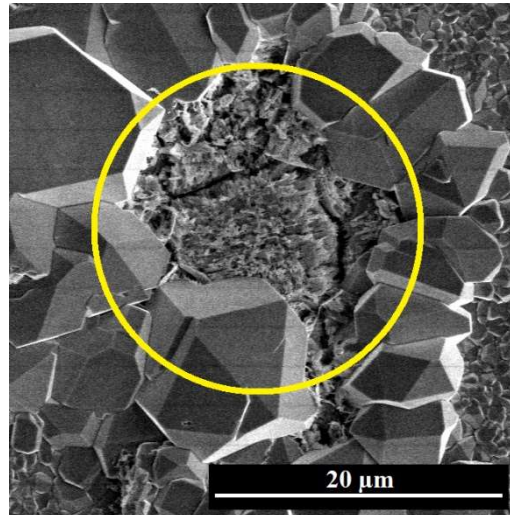
hranicami zrn ako na obrázku 6.3 u vzorky C-6,1. Je to dôkazom, že zmena morfológie nastáva rozpustením β -TCP a jeho reakciou na HAP. Menej stabilný β -TCP sa uvoľňuje zo zrn a zanecháva po sebe dierovú morfológiu. Nasledovne reaguje s vodou za vzniku HAP. Najjednoduchší spôsob, ako reakciu zapísať, je:



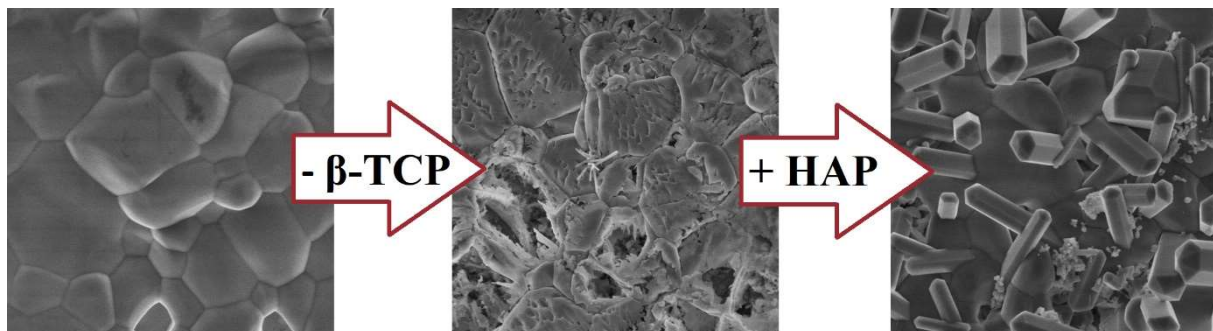
Vznikajúci HAP nukleuje a rastie na povrchu vzorky. Celý proces je ilustračne znázornený na obrázku 6.4.

Vedľajším produktom reakcie je kyselina fosforečná, pH roztoku by preto malo počas HTS klesať. Táto teória však nebola potvrdená a je témou pre dodatočný výskum.

Uhličitan vápenatý bol pridaný do vzoriek aby stabilizoval HAP a podporil jeho tvorbu. Z literatúry vieme, že uhličitan vápenatý je jedným z reaktantov syntézy HAP [11] a že mimo toho uhličitan vápenatý môže spôsobiť vznik ihlicovitých štruktúr [8]. Pridanie uhličitanu vápenatého výrazne zvýšilo obsah HAP po slinovaní vďaka jeho stabilizácii, uhličitan vápenatý však nemal priaznivý účinok na zmenu mikroštruktúry počas HTS. V budúcom výskume by bolo možné preskúmať vplyv iných koncentrácií uhličitanu vápenatého na zmenu mikroštruktúry.



Obrázok 6.3: Oblasť čiastočne rozpusteného zrna na vzorke C-6,1



Obrázok 6.4: Schematické znázornenie morfolologickej zmeny počas HTS

6.3.3 Vplyv pH

pH roztoku hrá kľúčovú úlohu v rozpúšťaní vápenatých fosforečnanov a ich kryštalizácií do ihlicovitých tvarov. Ako bolo rozoberané v kapitole 3.6 Hydrotermálna syntéza hydroxyapatitu, pH má vplyv na tvar a veľkosť kryštálov vznikajúcich v roztoku. Zároveň pri použití nižšieho pH môže byť do istej miery skrátená doba tepelného spracovania, príliš nízke pH však môže spôsobiť úplné rozpustenie vzorky.

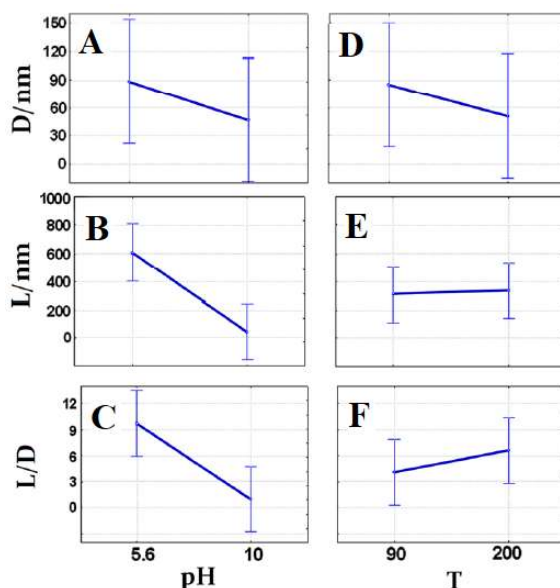
Väčšina vzoriek bola tepelne spracovaná v roztoku s pH 4. Ďalšie vzorky boli tepelne spracované v roztoku s pH 5,6 a v destilovanej vode s pH 6,11 kvôli predpokladu, že vyššie pH

spôsobí kryštalizáciu tenších kryštálov. Tento predpoklad vyplýval z článku od *Sadat-Shojai et al.* [21], v ktorom bol experimentálne zistený vplyv parametrov hydrotermálnej syntézy na rozmery častíc HAP: s klesajúcim pH sa zvyšuje priemer, dĺžka a pomer dĺžky a priemeru HAP častíc.

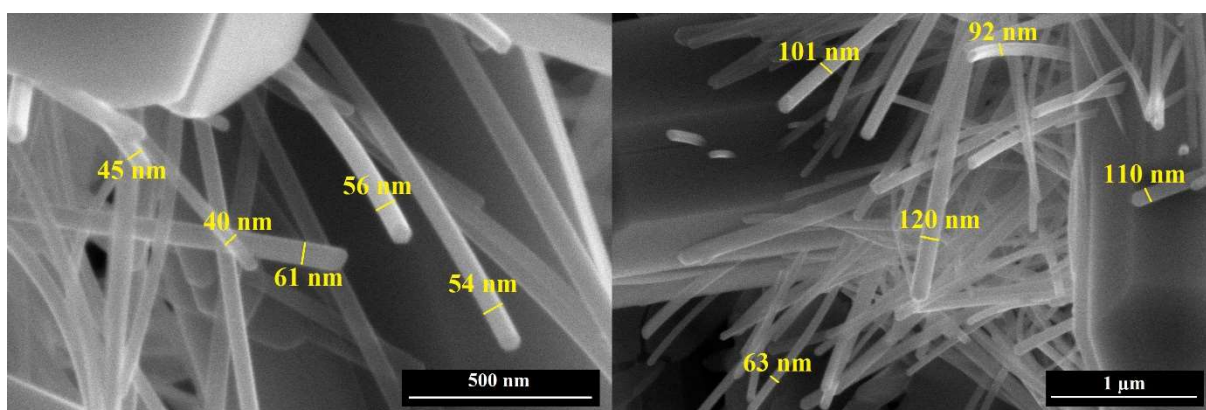
Keďže má ideálny základný prvok baktericídnej topografie priemer 70 nm, výšku 210 nm a pomer dĺžky a priemeru 3 [18], bola zvolená hodnota pH 5,6, čo je krajná hodnota skúmaná v spomínanom článku o syntéze HAP. Závislosti rozmerov HAP častíc na hydrotermálnych podmienkach ktoré uvádza *Sadat-Shojai et al.* sú v grafe 6.2.

Závislosť pozdĺžnosti HAP kryštálov na pH je viditeľná na sérii vzoriek U. To potvrdzuje, že vplyv pH je u HTS do istej miery podobný syntéze HAP. Na vzorkách C a C-Ca nenastala výrazná zmena morfológie v závislosti na pH.

Na vzorke U-5,6 dodatočne vyrástli výnimočne dlhé a tenké kryštály, ktoré sa od kryštálov na ostatných vzorkách líšia vo viacerých aspektoch. Za prvé pokrývajú len malú časť povrchu, zvyšok povrchu je pokrytý kryštálmi podobným tým na vzorke U-6,1. Za druhé vyrastajú z väčších kryštálov, čo bolo mimo tejto vzorky pozorované len u vzorky S-4. Obyčajne kryštály vyrastajú z pôvodného zrna. To môže značiť, že mechanizmus vzniku malých kryštálov na vzorke U-5,6 je iný ako u iných kryštálov. Je tiež možné, že malé kryštály na vzorke U-5,6 sú inej fázy ako zvyšok povrchu, to sa však pre nízke pokrytie povrchu týmito kryštálmi nedá zistiť pomocou XRD analýzy.



Graf 6.2: Vplyv pH na priemer (A), dĺžku (B), pomer dĺžky a priemeru (C) a vplyv teploty na priemer (D), dĺžku (E), pomer dĺžky a priemeru (F) HAP kryštálov získaných hydrotermálnou syntézou [18]



Obrázok 6.5: Malé kryštály na vzorke U-5,6 so zvýraznenými vybranými priermi

Malé kryštály vzorky U-5,6 majú zo všetkých najvyšší potenciál mať antibakteriálne účinky. Ich pomer dĺžky a priemeru je vyšší ako 3 a ich priemer pri špičke sa pohybuje v rozmedzí približne 40–120 nm, zdieľajú tak základné geometrické vlastnosti s baktericídou topografiou krídiel cikád. Ich reprodukovateľnosť je však otázna. Pre plné využitie týchto malých kryštálov treba v budúcom výskume zistiť, ako nastaviť HTS tak, aby pokryli väčšinu povrchu.

6.3.4 Vplyv dĺžky HTS

Ako posledný bol sledovaný účinok dĺžky HTS. Väčšina vzoriek bola tepelne spracovávaná 12 hodín, u posledných troch vzoriek bola dĺžka HTS 48 hodín. Syntéza HAP hydrotermálnou metódou môže trvať 24 hodín [20] alebo až 100 hodín [24]. Dlhšia doba HTS bola preto zvolená pre zistenie jej vplyvu na morfológiu.

Predĺžením HTS tiež bola skúmaná možnosť, že malé kryštály nájdené u vzorky U-5,6 pri predĺžení času reakcie pokryjú väčšiu časť povrchu vzorky. Preto bol pre 48 hodinové HTS použitý roztok s pH 5,6, rovnako ako u vzorky U-5,6.

Použitie dlhšieho HTS zvýšilo pokrytie povrchu kryštálmi. Oblasti, kde bol u 12-hodinového HTS viditeľný pôvodný povrch, boli pokryté novými, menšími kryštálmi. U vzorky U-5,6-48 mali tieto novšie kryštály podlhovastý charakter, u vzorky C-5,6-48 mali podobný tvar ako väčšie, staršie kryštály.

U vzorky U-5,6-48 neboli po 48-hodinovom HTS nájdené malé kryštály podobné kryštálom na vzorke U-5,6, nemožno ich teda fabrikovať za týchto hydrotermálnych podmienok.

U vzorky C-Ca-5,6-48 napriek dlhšej dobe HTS nenastali výrazné zmeny morfológie. Vplyv uhličitanu vápenatého na morfológiu získanú pomocou HTS je teda naďalej otvorený výskumu.

Dlhšia doba HTS pri teplote 180 °C a pH 5,6 nemá pozitívny účinok pre dosiahnutie baktericídnej topografie. Perspektívnou oblasťou pre výskum je vplyv kratšej doby HTS na zmenu morfológie.

6.4 Možnosti ďalšieho výskumu

Výskum baktericídnych topografií získaných metódou HTS môže pokračovať viacerými smermi. pH je jedným z najdôležitejších faktorov ovplyvňujúcich morfológiu HTS povrchov, nepodarilo sa však zvoliť také pH, aby vznikla cieľová topografia. Vplyv pH je potrebné sledovať po kratších diskretných úsekoch. Ďalšou perspektívnou oblasťou je sledovanie vplyvu pH nižšieho ako 4.

Druhým najdôležitejším faktorom HTS, ktorý v tejto práci nebol skúmaný, je teplota. Ako je vidieť v grafe 6.2, so stúpajúcou teplotou klesá priemer vznikajúcich HAP častíc, čo je pre napodobenie baktericídneho povrchu žiadané. Maximálna pracovná teplota autoklávov použitých v tejto práci je 230°C, čo značne obmedzuje skúmanie vplyvu vyšších teplôt na HTS. Ponúka sa preto využitie iných vysokotlakových nádob.

Nízky objem použitých autoklávov je taktiež potenciálnou nevýhodou. Koncentrácia reaktantov v roztoku má tiež vplyv na tvar syntetizovaných HAP častíc [21]. Bolo by preto v budúcom výskume vhodné zistiť, či je koncentrácia reaktantov dôležitá aj u HTS.

Pre dosiahnutie baktericídneho povrchu je potenciálne možné využiť i samotnej syntézy HAP, kde by hutný substrát vložený do roztoku bol podkladom pre nukleáciu HAP. Táto obdoba hydrotermálneho spracovania by mohla byť potenciálne lepšie kontrolovateľná a umožnila by pokrytie povrchov neobsahujúcich vápenaté fosforečnany, napr. titánové zliatiny [3].

Pre dodatočný výskum sú otvorené aj samotné testy baktericídnosti potenciálne baktericídnych povrchov.

7 ZÁVER

Teoretická časť tejto bakalárskej práce zhrňuje poznatky o najpoužívanejšej biokeramike a o metódach ochrany jej povrchu proti baktériám. Jednou z týchto možností je ochrana pomocou baktericídnej topografie imitujúcej krídla cikád. Veľmi účinná topografia je zložená z pilierov s výškou 210 nm a priemerom 70 nm [18].

Z rešerše vyplýva, že baktericídna topografia má oproti ostatným typom ochrany dve dôležité výhody. Za prvé jej účinnosť nie je závislá na chemickom zložení a za druhé nemá negatívny vplyv na ľudské bunky. To znamená, že baktericídna topografia môže byť pri správnej voľbe materiálu súčasne baktericídna aj bioaktívna. Nevýhodou baktericídnej topografie je technologická a ekonomická náročnosť pokrytia veľkých povrchov.

Syntézou hydroxyapatitu v hydrotermálnych podmienkach je možné vytvoriť ihlice s rozmermi podobnými pilierom baktericídnej topografie. Hydrotermálna metóda je veľmi technologicky jednoduchá, jej značnou nevýhodou je však náročnosť presného ovládania tvaru a rozmerov vznikajúcich štruktúr.

V experimentálnej časti boli hutné hydroxyapatitové vzorky tepelne spracovávané v hydrotermálnych podmienkach tak, aby ich povrch čo najviac napodoboval baktericídnu topografiu krídiel cikád. Boli použité vzorky s odlišnou relatívnou hustotou a s odlišným obsahom β -trikalciumfosfátu. Hydrotermálne tepelné spracovanie prebiehalo v roztokoch s pH 4 a 5,6 a v destilovanej vode s pH 6,11. Doba tepelného spracovania bola 12 hod a 48 hod.

Počas hydrotermálneho tepelného spracovania povrch niektorých vzoriek rekryštalizoval do pilierovitej štruktúry, čo vytvára analógiu medzi metódou syntézy hydroxyapatitu a metódou tepelného spracovania vzoriek vápenatých fosforečnanov v hydrotermálnych podmienkach. Pilierovité kryštály smerovali von z povrchu v náhodných smeroch. V inom výskume [23] bolo dokázané, že podobná topografia vytvorená inou metódou má antibakteriálne účinky.

Žiadnu vzorku sa nepodarilo z väčšiny pokryť topografiou, ktorá by mala rozmery rádovo sa zhodujúce s cieľovou baktericídnu topografiou. Potenciálne baktericídnu topografiu mala na malej časti povrchu iba jedna vzorka spracovaná v pH 5,6 po dobu 12 hodín.

Hlavným zistením tejto bakalárskej práce je, že vytvorenie prvkov podobných baktericídnej topografii pomocou hydrotermálneho tepelného spracovania je možné. Ďalej bolo zistené, že morfológické zmeny na povrchu substrátov vápenatých fosforečnanov sú priamo úmerné obsahu β -trikalciumfosfátu, a že pre vytvorenie povrchových štruktúr s vysokým pomerom dĺžky a priemeru je vhodná relatívna hustota vzoriek približne 85% a pH roztokov 4 a 5,6.

Ďalší výskum v tejto oblasti by sa mohol zaoberať vplyvom kratšej doby hydrotermálneho tepelného spracovania, vplyvom odlišných teplôt hydrotermálneho tepelného spracovania a intenzívnejšiemu sledovaniu vplyvu pH, aby mohla byť vytvorená potenciálne baktericídna morfológia. Taká morfológia by mohla byť nasledovne podrobená testom baktericídnosti.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] IVANOVA, Elena P, Jafar HASAN, Hayden K WEBB et al. Natural Bactericidal Surfaces: Mechanical Rupture of *Pseudomonas aeruginosa* Cells by Cicada Wings. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* [online]. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2012, **8**(16), 2489-2494 [cit. 2022-05-17]. ISSN 1613-6810. Dostupné z: doi:10.1002/sml.201200528
- [2] ANSAR, E.B, K RAVIKUMAR, S SURESH BABU, F.B FERNANDEZ, Manoj KOMATH, Bikramjit BASU a P.R HARIKRISHNA VARMA. Inducing apatite pre-layer on titanium surface through hydrothermal processing for osseointegration. *MATERIALS SCIENCE & ENGINEERING C-MATERIALS FOR BIOLOGICAL APPLICATIONS* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2019, **105**, 110019-110019 [cit. 2022-05-14]. ISSN 0928-4931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2019.110019
- [3] CALIXTO DE ANDRADE, Mônica, Maria Regina TAVARES FILGUEIRAS a Tsuneharu OGASAWARA. Hydrothermal nucleation of hydroxyapatite on titanium surface. *Journal of the European Ceramic Society* [online]. Oxford: Elsevier Ltd, 2002, **22**(4), 505-510 [cit. 2022-05-13]. ISSN 0955-2219. Dostupné z: doi:10.1016/S0955-2219(01)00311-9
- [4] *Biomaterials*. Oxford: Elsevier Ltd. ISSN 0142-9612.
- [5] HENCH, Larry L. Bioceramics. *Journal of the American Ceramic Society* [online]. Manuscript No. 190448. Received December 30, 1997; approved May 15, 1998. Westerville, Ohio: American Ceramics Society, 1998, **81**(7), 1705-1728 [cit. 2022-01-03]. ISSN 0002-7820. Dostupné z: doi:10.1111/j.1151-2916.1998.tb02540.x
- [6] DOREMUS, R.H. Bioceramics. *Journal of materials science* [online]. LONDON: CHAPMAN HALL LTD, 1992, **27**(2), 285-297 [cit. 2022-02-08]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/BF00543915
- [7] IBRAHIM, Hamdy, Sajedeh Nasr ESFAHANI, Behrang POORGANJI, David DEAN a Mohammad ELAHINIA. Resorbable bone fixation alloys, forming, and post-fabrication treatments. *Materials Science & Engineering C* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2017, **70**(1), 870-888 [cit. 2022-01-19]. ISSN 0928-4931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2016.09.069
- [8] *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*. 1st ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2016. ISBN 978-3-319-12459-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-12460-5
- [9] PICONI, C a G MACCAURO. *Zirconia as a ceramic biomaterial*. 1-25. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(98)00010-6
- [10] LEGEROS, R Z, S LIN, R ROHANIZADEH, D MIJARES a J P LEGEROS. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *Journal of materials science. Materials in medicine* [online]. Dordrecht: Kluwer Academic

- Publishers, 2003, **14**(3), 201-209 [cit. 2022-01-20]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1023/A:1022872421333
- [11] SADAT-SHOJAI, Mehdi, Mohammad-taghi KHORASANI, Ehsan DINPANAHHOSH DARGI a Ahmad JAMSHIDI. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta biomaterialia* [online]. OXFORD: Elsevier Ltd, 2013, **9**(8), 7591-7621 [cit. 2022-02-08]. ISSN 1742-7061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2013.04.012
- [12] HENCH, Larry L. *Bioceramics: From Concept to Clinic*. 1487-1510. Dostupné z: doi:10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x
- [13] WANG, Minqi a Tingting TANG. Surface treatment strategies to combat implant-related infection from the beginning. *Journal of orthopaedic translation* [online]. Singapore: Elsevier (Singapore) Pte Ltd, 2019, **17**, 42-54 [cit. 2022-01-03]. ISSN 2214-031X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jot.2018.09.001
- [14] LU, Ange, Yan GAO, Tan JIN, Xichun LUO, Quanren ZENG a Zhentao SHANG. *Effects of surface roughness and texture on the bacterial adhesion on the bearing surface of bio-ceramic joint implants: An in vitro study*. 6550-6559. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2019.11.139
- [15] ELBOURNE, Aaron, Russell J CRAWFORD a Elena P IVANOVA. Nano-structured antimicrobial surfaces: From nature to synthetic analogues. *Journal of colloid and interface science* [online]. United States: Elsevier Inc, 2017, **508**, 603-616 [cit. 2021-11-28]. ISSN 0021-9797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2017.07.021
- [16] HASAN, Jafar, Hayden K WEBB, Vi Khanh TRUONG et al. Selective bactericidal activity of nanopatterned superhydrophobic cicada *Psaltoda claripennis* wing surfaces. *Applied microbiology and biotechnology* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, **97**(20), 9257-9262 [cit. 2022-03-13]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-012-4628-5
- [17] TRIPATHY, Abinash, Prosenjit SEN, Bo SU a Wuge H BRISCOE. Natural and bioinspired nanostructured bactericidal surfaces. *Advances in colloid and interface science* [online]. Netherlands: Elsevier B.V, 2017, **248**, 85-104 [cit. 2022-04-18]. ISSN 0001-8686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2017.07.030
- [18] DICKSON, Mary Nora, Elena I LIANG, Luis A RODRIGUEZ, Nicolas VOLLEREAUX a Albert F YEE. Nanopatterned polymer surfaces with bactericidal properties. *Biointerphases* [online]. United States: American Vacuum Society, 2015, **10**(2), 021010-021010 [cit. 2021-11-28]. ISSN 1934-8630. Dostupné z: doi:10.1116/1.4922157
- [19] CALIXTO DE ANDRADE, Mônica, Maria Regina TAVARES FILGUEIRAS a Tsuneharu OGASAWARA. *Hydrothermal nucleation of hydroxyapatite on titanium surface*. 505-510. Dostupné z: doi:10.1016/S0955-2219(01)00311-9

- [20] ZHANG, Xing a Kenneth S VECCHIO. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite rods. *Journal of crystal growth* [online]. Amsterdam: Elsevier B.V, 2007, **308**(1), 133-140 [cit. 2022-04-04]. ISSN 0022-0248. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcrysgr.2007.07.059
- [21] SADAT-SHOJAI, Mehdi, Mohammad ATAI a Azizollah NODEHI. Design of experiments (DOE) for the optimization of hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2011, **22**(3), 571-582. Dostupné z: doi:10.1590/S0103-50532011000300023
- [22] ČSN EN 623-2: *Speciální technická keramika. Monolitická keramika. Všeobecné a strukturální vlastnosti. Část 2: Stanovení hustoty a pórovitosti*. Praha: Český normalizační institut, 1995.
- [23] SJÖSTRÖM, Terje, Angela H NOBBS a Bo SU. Bactericidal nanospikes surfaces via thermal oxidation of Ti alloy substrates. *Materials letters* [online]. Elsevier B.V, 2016, **167**, 22-26 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0167-577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2015.12.140
- [24] SADAT-SHOJAI, Mehdi, Mohammad-taghi KHORASANI a Ahmad JAMSHIDI. Hydrothermal processing of hydroxyapatite nanoparticles—A Taguchi experimental design approach. *Journal of crystal growth* [online]. Amsterdam: Elsevier B.V, 2012, **361**, 73-84 [cit. 2022-05-12]. ISSN 0022-0248. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcrysgr.2012.09.010

ZOZNAM SKRATIEK

hm.% – Hmotnostné percentá

obj.% – Objemové percentá

mol.% – Molárne percentá

HAP – Hydroxyapatit

β -TCP – β -trikalciumfosfát

α -TCP – α -trikalciumfosfát

ATZ – Alumina-Toughened Zirconia

ZTA – Zirconia-Toughened Alumina

CIP – Cold Isostatic Sress

SEM – Skenovací Elektronový Mikroskop

XRD – X-Ray Diffraction Analysis

HTS – Hydrotermálne Tepelné Spracovanie

ICDD – International Center for Diffraction Data

ZOZNAM OBRÁZKOV

Obrázok 3.1: Fázový diagram P_2O_5 -CaO [10]	16
Obrázok 3.2: Prilnutie ľudských buniek na horčíkovú zliatinu bez HAP povlaku (a, b) a s HAP povlakom (c,d) [10].....	17
Obrázok 3.3: Klasický HAP povlak (A) a povlak obsahujúci oxid strieborný (B) [22]	18
Obrázok 3.4: Účinok drsnosti povrchu na prilnutie baktérií <i>S. Aureus</i> : brúsený povrch (a1-a3), hladko leštený povrch (b1-b3) [13]	19
Obrázok 3.5: SEM snímky krídla cikády (a), krídla šidla (b), krídla šidielka (c), gekončej kože (d), inokulovaných baktérií <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (e-g), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (h) [14]	20
Obrázok 3.6: Schematické zobrazenie prilnutia baktérie na krídlo cikády: priblíženie baktérie (a), prvotná adhézia (b), pretrhnutie bunkovej steny (c), lýza (d) [14]	20
Obrázok 3.7: SEM snímky baktérií inkubovaných na skle (vľavo) a na krídlach cikád (v strede); snímky z konfokálnej laserovej mikroskopie (vpravo) [15]	22
Obrázok 3.8: Účinok pH, teploty a dĺžky hydrotermálneho spracovania na fázu, morfológiu a veľkosť častíc vápenatých fosforečnanov [11].....	23
Obrázok 4.1: Použité autoklávy (a), rozložený autokláv (b).....	27
Obrázok 5.1: SEM snímky vzoriek práškov	31
Obrázok 5.2: SEM snímky vzoriek S a S-4	32
Obrázok 5.3: SEM snímky vzoriek U, U-4, U-5,6, U-6,1 a U-5,6-48	33
Obrázok 5.4: SEM snímky vzoriek C, C-4, C-5,6, C-6,1 a C-5,6-48	34
Obrázok 5.5: SEM snímky vzoriek U-Ca a U-Ca-4.....	35
Obrázok 5.6: SEM snímky vzoriek C-Ca, C-Ca-4, C-Ca-5,6, C-Ca-6,1 a C-Ca-5,6-48	35
Obrázok 6.1: Odlišné sfarbenie vzoriek	36
Obrázok 6.2: Porovnanie mikroštruktúry kalcinovaného prášku po HTS (a) a baktericídnej mikroštruktúry termálne oxidovanej titánovej zliatiny (b).....	37
Obrázok 6.3: Oblasť čiastočne rozpusteného zrna na vzorke C-6,1	39
Obrázok 6.4: Schematické znázornenie morfologickej zmeny počas HTS	39
Obrázok 6.5: Malé kryštály na vzorke U-5,6 so zvýraznenými vybranými priermi.....	40