

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

FAKULTA PEDAGOGICKÁ

KATEDRA CHEMIE

**PULSNÍ LASEROVÁ DEPOZICE TITANÁTU
VÁPENATÉHO PRO ZVÝŠENÍ BIOAKTIVITY
TITANOVÝCH POVRCHŮ**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Bára Petrusová

Chemie se zaměřením na vzdělávání – Prohlubující modul

Vedoucí práce: doc. Ing. Tomáš Křenek, Ph.D.

Plzeň 2020

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

V Plzni, 31.7.2020

.....

vlastnoruční podpis

Velice ráda bych na tomto místě poděkovala několika lidem. Na prvním místě bych chtěla moc poděkovat svému vedoucímu práce doc. Ing Tomáši Křenkovi, Ph.D. za ochotu při odborném vedení, cenné rady a trpělivost především v době před odevzdáním bakalářské práce. Další poděkování patří Ing. Věře Jandové, Ph.D. z Ústavu chemických procesů AV ČR za změření SEM/EDX a za výsledky z této analýzy. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Petru Mikyskovi z Geologického ústavu AV ČR za měření XRD analýzy a za výsledná spektra a také Theresia Stich za poskytnutí výsledků z analýzy buněčné aktivity. Ráda bych také poděkovala všem učitelům z FPE ZČU za získání odborných znalostí a také bych ráda poděkovala všem z NTC. Děkuji také rodině a přátelům za trpělivost a podporu při studiu a tvorbě této práce.

Obsah

1	Úvod	1
2	Teoretická část	2
2.1	Biomateriály	2
2.2	Využití biomateriálů	2
2.2.1	Klasifikace biomateriálů podle interakce s živou tkání	3
2.2.2	Klasifikace biomateriálů podle druhu materiálu	3
2.3	Kompozitní biomateriály	4
2.4	Polymerní biomateriály	4
2.4.1	Příklad polymerů využívaných jako biomateriály	5
2.5	Keramické biomateriály	7
2.5.1	Bioinertní keramika	8
2.5.2	Bioaktivní keramika	9
2.5.3	Biologicky rozložitelná keramika	9
2.6	Kovové biomateriály	10
2.6.1	Nerezové oceli	11
2.6.2	Slitiny na bázi kobaltu	13
2.6.3	Slitiny na bázi Ti	14
2.7	Biomateriály na bázi Ti	15
2.7.1	Vlastnosti a struktura	15
2.7.2	Komerčně čistý titan (Cp-Ti)	16
2.7.3	α a pseudo- α slitiny	16
2.7.4	α - β slitiny	17
2.7.5	β slitiny	18
2.8	Rozhraní Ti implantátu a kosti	18
2.8.1	Titanát vápenatý	19
2.9	Pulsní laserová ablace	19
2.9.1	Laser	19
2.9.2	Princip PLA	20
2.10	Analytické metody	21
2.10.1	SEM/EDX	21
2.10.2	XRD	21
3	Praktická část	22
3.1	Popis aparatury	22

3.1.1	Laser.....	22
3.1.2	Vakuový reaktor	23
3.1.3	Fokusované záření	23
3.2	Laserová ablace	23
3.2.1	Postup Laserové ablace.....	23
3.2.2	Vzorky získané laserovou ablací	24
3.3	SEM/EDX	25
3.3.1	Základní informace o měřicím zařízení	25
3.3.2	SEM/EDX analýza.....	25
3.4	XRD	27
3.4.1	Základní informace o měřicím zařízení	27
3.4.2	XRD analýza.....	27
3.5	Buněčná aktivita.....	29
4	Závěr.....	31
5	Resumé	33
6	Seznam použité literatury	34

1 Úvod

Biomateriály jsou nedílnou součástí nejen medicíny, ale také mnoha dalších vědních disciplín např. chemie, biologie a materiálového inženýrství. Z tohoto důvodu je výzkum a vývoj těchto materiálů velice důležitý. Biomateriály jsou využívány na výrobu kostních implantátů, náhrad kloubů, různých spojovacích materiálů (šrouby, kostní destičky, dráty, stehy), kontaktních čoček a také tenkých vrstev na povrchu implantátů. Mimo jiné jsou z těchto materiálů vyráběny různé medicínské pomůcky a nástroje.

Nerezové oceli, titan a jeho slitiny a slitiny kobaltu patří mezi nejvíce užívané kovové materiály pro výrobu kostních implantátů. Z těchto vyjmenovaných kovů je v dnešní době titan a jeho slitiny nejlepším biomateriálem pro implantáty. Vynikající biokompatibilita titanu, jeho korozní odolnost a nižší tuhost jsou důvody jeho oblíbenosti při výrobě implantátů. V současné době se mnoho vědeckých skupin snaží o vytvoření bioaktivního titanového implantátu, na kterém rychleji roste kostní tkáň. Tento výzkum zahrnuje různé metody úprav povrchů a nanášení různých tenkých vrstev na povrch implantátů. Dalším předmětem vývoje je vytvořit takový materiál, který by vykazoval podobné hodnoty modulu pružnosti a mechanické vlastnosti jako nahrazovaná kost.

Cílem vývoje a výzkumu biomateriálu je vytvořit takový materiál, který by vykazoval podobné vlastnosti nahrazované části a nevyvolal žádné nežádoucí reakce lidského organismu.

V teoretické části se nejprve věnuji zmapování současného stavu v oblasti implantačních materiálů. V další části jsem popsala stručně princip laseru a princip pulsní laserové ablace, která je součástí mé praktické části bakalářské práce. Na závěr teoretické části jsem stručně shrnula analytické metody použité pro charakterizaci vzorků.

V rámci praktické části byla vytvořena bioaktivní vrstva mikro/nanočástic na bázi CaTiO_3 na hladkém a texturovaném substrátu pomocí laserové ablace. V úvodu praktické části se věnuji popisu používané aparatury, laseru a také stručnému popisu postupu pulzní laserové ablace. V následující části jsem charakterizovala laserově deponovaný materiál. Na závěr jsem přiložila výsledky testování buněčné aktivity získaných materiálů.

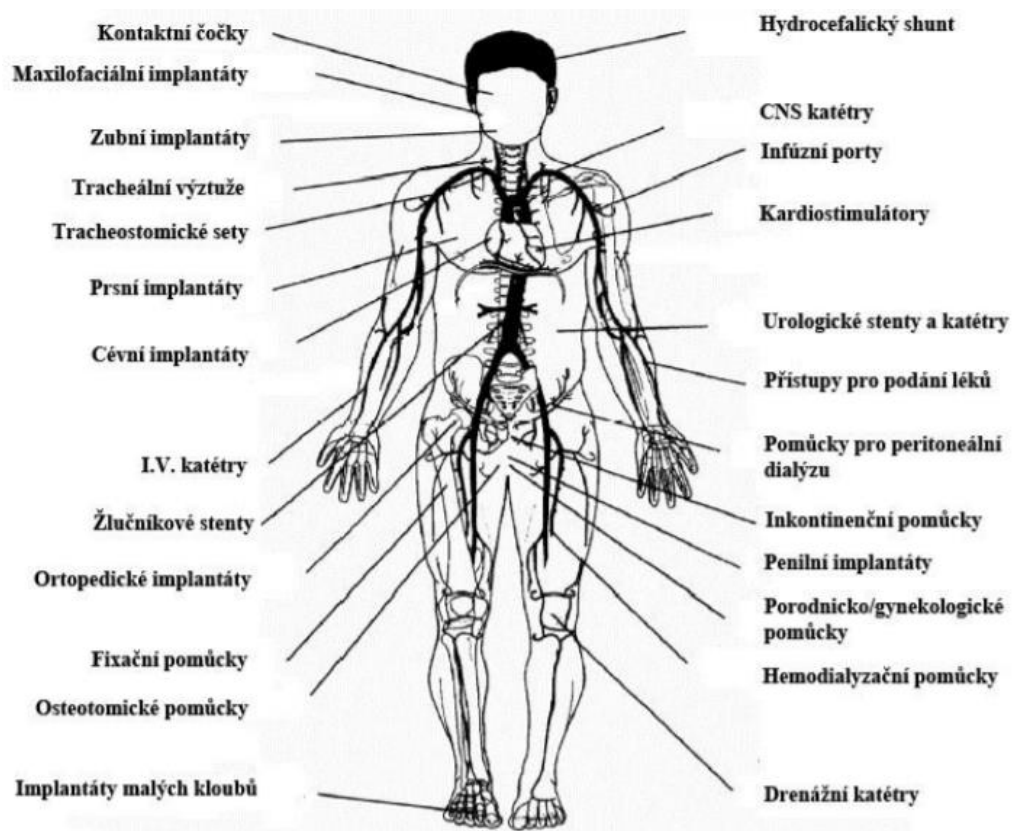
2 Teoretická část

2.1 Biomateriály

Biomateriál lze definovat jako syntetický nebo neživý přírodní materiál, který je využíván pro medicínské účely.¹ Tyto materiály jsou využívány k vytvoření náhrady části lidského těla způsobem bezpečným, spolehlivým, ekonomicky a fyziologicky akceptovatelným.²

2.2 Využití biomateriálů

Využití biomateriálů v medicíně je velice rozsáhlé. Shrnutím jejich aplikací je tento přiložený obrázek.



Obr.1 - Příklady použití biomateriálů v lidském těle²

2.2.1 Klasifikace biomateriálů podle interakce s živou tkání

Biomateriály můžeme podle biokompatibility rozdělit na 3 skupiny: Bioinertní biomateriály, bioaktivní biomateriály a bioresorbovatelné biomateriály.

Bioinertní biomateriály jsou materiály, které se vyznačují žádnou nebo minimální reakcí se sousedící tkání v lidském organismu. Mezi bioinertní biomateriály patří nerezová ocel, titan, alumina atd.

Bioaktivní biomateriály v lidském organismu reagují se sousední kostí a některých případech i s měkkou tkání. Díky výměně iontů mezi bioaktivním implantátem a tělními tekutinami dochází k tvorbě bioaktivní vrstvy na povrchu implantátu. Mezi tyto biomateriály patří hydroxyapatit, sklokeramika a bioskla.

Bioresorbovatelné biomateriály se začnou v lidském organismu rozpouštět a pomalu nahrazují tkáň např. kost. Příkladem tohoto typu biomateriálu jsou kopolymery kyseliny polymléčné a polyglykolové atd. ³

2.2.2 Klasifikace biomateriálů podle druhu materiálu

Biomateriály, které jsou využívány pro medicínské účely můžeme rozdělit do čtyř základních kategorií.

- Kompozitní biomateriály
- Polymerní biomateriály
- Keramické biomateriály
- Kovové biomateriály ⁴

Tabulka 1 obsahuje výhody, nevýhody a také příklady využití vyjmenovaných skupin biomateriálů.

Materiál	Výhody	Nevýhody	Příklady využití
Polymery	Pružné	Nejsou pevné	Stehy, krevní cévy a jiné měkké tkáně, jamka kyčelního kloubu
	Snadná výroba	Deformace s časem	
		Možná degradace	
Kovy	Pevné	Možná koroze	Náhrady kloubů, zubní implantáty, šicí dráty, kostní destičky a šrouby
	Tvářitelnost	Vysoká hustota	
		Složité výroba	
Keramika	Velmi biokompatibilní	Křehké	Zubní a ortopedické implantáty
		Málo odolné	
Kompozit	Pevné	Složité výroba	Kostní cement a zubní pryskyřice
	Výroba na míru		

Tabulka 1 – Rozdělení materiálů používaných v lidském těle²

2.3 Kompozitní biomateriály

Kompozitní materiály jsou pevné látky, které obsahují ve své struktuře dvě nebo více různých fází. Pojem kompozit se používá převážně pro materiály, ve kterých jsou jednotlivé fáze rozlišitelné v atomovém měřítku a jejichž vlastnosti se liší od homogenního materiálu. Za kompozitní materiály můžeme považovat sklolaminát, další zesílené plasty a kost. Slitiny kovů, anebo ocel s částicemi karbidu nepovažujeme za kompozity. Za přírodní kompozity můžeme označit dřevo, kost, dentin, chrupavku a kůži.²

2.4 Polymerní biomateriály

Obecně můžeme říct, že polymer je makromolekulární látka, která je tvořena základními stavebními jednotkami neboli monomery. V polymerech se může opakovat pouze jediný monomer, ale ve většině případů je jich obsaženo více. Monomery se mohou v polymeru pravidelně střídát, anebo mohou být řazeny náhodně.⁵

Biopolymery můžeme rozdělit na:

- Přírodní (chitosan, karagen, alginát atd.)
- Syntetické (akryly, polyamidy, polyestery, polyethylen atd.)

Syntetické polymerní biomateriály mají široké uplatnění v medicíně. Jsou z nich vyrobeny např. jednorázové potřeby, protetické materiály, dentální materiály, implantáty, obvazy, polymerní systémy pro dodání léčiv atp. Dále jsou využívány ve tkáňovém inženýrství. Přírodní biopolymery se používají jako systémy pro regeneraci tkání a dodávání léků.

Výhodou syntetických polymerních biomateriálů je jejich snadná zpracovatelnost do různých tvarů (film, fólie, vlákna atd.), sekundární zpracovatelnost, ekonomická výhodnost a dostupnost s požadovanými mechanickými a fyzikálními vlastnostmi. Velkou nevýhodou syntetických biomateriálů je ve většině případů chybějící biokompatibilita. Jejich použití je často doprovázeno zánětlivými reakcemi.⁶

2.4.1 Příklad polymerů využívaných jako biomateriály

Polyvinylchlorid (PVC)

PVC je pevný amorfnní polymer. Díky vysoké viskozitě jeho taveniny je jeho zpracování problematické. PVC obsahuje tepelné stabilizátory, které zabraňují tepelné degradaci, lubrikanty, které zabraňují přilnavosti na kovové povrchy a také usnadňují tok taveniny během zpracování, a také obsahuje změkčovadla, která zlepšují flexibilitu. PVC se používá například na výrobu sáčků na krev a roztoky, intravenózních setů, hadic, kanyl a dialyzačních přístrojů.⁶

Polyethylen (PE)

PE můžeme rozdělit na 5 typů: Vysokohustotní PE (HDPE), nízkohustotní PE (LDPE), lineárně nízkohustotní PE (LLDPE), polyethylen s velmi nízkou hustotou (VLDPE) a polyethylen s ultra vysokou molekulovou hmotností (UHMWPE). Vysokohustotní PE je lineární vysoce krystalický polymer vznikající polymerací za nízkých teplot (60-80 °C) a nízkého tlaku (~ 980kPa) za použití kovových katalyzátorů. LDPE je vysoce rozvětvený polymer s nižší krystalinitou, který je polymerován za vysokých teplot (150-300 °C) a tlaku v rozmezí 98 MPa-294 MPa a za pomoci iniciátorů volných radikálů. LLDPE a VLDPE jsou lineární polymery, které se polymerizují za nízkých teplot a tlaků za použití kovových katalyzátorů s komonomery. HDPE se používá na výrobu farmaceutických lahví, netkaných textilií atd. Z LDPE se vyrábí např. flexibilní obaly, netkané jednorázové a laminované fólie. LLDPE se používá na výrobu sáčků kvůli své odolnosti proti propíchnutí. Z VLDPE se vyrábí extrudované zkumavky. UHMWPE je využíván na výrobu ortopedických implantátů především pro nosné aplikace (acetabulární pohár, tibiální plošina a patelární povrchy kolenních kloubů).

Polypropylen (PP)

PP je polymerován za přítomnosti stereospecifického katalyzátoru Ziegler-Natta. PP vyniká svojí vysokou pevností v ohybu a odolností vůči prasknutí. PP se používá na výrobu jednorázových injekčních stříkaček, membrány oxygenátoru, různých obalů, stehů, umělých vaskulárních štěpů, netkaných textilií atd.⁶

Polymethylmetakrylát (PMMA)

PMMA je amorfní materiál, který je považován za nejvíce biokompatibilní polymer, který má velmi vysokou odolnost vůči zředěným zásadám a jiným anorganickým roztokům. PMMA lze lisovat, povrchově upravovat a také plazmaticky leptat výbojem. PMMA má široké využití v lékařství. Je využíván pro výrobu krevních pump a rezervoárů, intravenózních setů, membrán pro dialýzu krve, kontaktních a implantovatelných očních čoček, protéz a pro výrobu kostního cementu.⁶

Polyestery

Polyethyltereftalát (PET) je nejdůležitějším a často využívaným polyesterem v lékařství díky svým vlastnostem. PET je vysoce krystalický hydrofobní polymer s vysokou teplotou tání a odolností vůči hydrolyze ve zředěných kyselinách. Je používán na výrobu umělých vaskulárních štěpů, stehů a také na výrobu chirurgických sítěk. PET je vysoce krystalický hydrofobní polymer s vysokou teplotou tání.⁶

Fluorouhlíkové polymery

Mezi nejznámější fluorouhlíkové polymery patří Teflon neboli polytetrafluorethylen (PTFE). V tomto odstavci se budeme bavit právě o této sloučenině. Teflon se vyrábí z tetrafluorethylenu za vysokého tlaku a v přítomnosti peroxidového katalyzátoru. Při této reakci je také použita přebytečná voda, která odvádí teplo. Teflon má vysokou hustotu, vysokou krystalinitu, nízký modul pružnosti, nízkou pevnost v tahu a také velmi nízké povrchové napětí. Tavenina teflonu je velice viskózní, z tohoto důvodu nelze teflon vstříkovat. Teflon se zpracovává ve formě prášků, které se slinují za teploty vyšší než 327 °C a za vysokého tlaku. Z teflonu se vyrábí katétry a také umělé vaskulární štěpy.⁶

Kaučuky

Pro implantáty byli využívány silikonové, přírodní a syntetické kaučuky. Přírodní kaučuk se získává převážně z latexu stromu kaučukovník brazilský (*Hevea brasiliensis*). Takto získaný kaučuk má stejný chemický vzorec jako cis 1,4-polyisopren a také je kompatibilní s krví v čisté formě. Díky zasíťování lze vytvořit gumu, která má vynikající kompatibilitu s krví oproti syntetickým kaučukům. Pro výrobu implantátů jsou syntetické kaučuky využívány jen zřídka.

Silikonové kaučuky pro medicínské využití obsahují jako základní jednotku dimethylsiloxan, který je polymerován kondenzační polymerací za přítomnosti octanu cínatého jako katalyzátoru.

Polyurethanové kaučuky se používají na potahování implantátů. Hlavními přednostmi polyuretanů jsou odolnost vůči olejům a chemikáliím a také jeho pevnost.⁶

Biodegradabilní polymery

Do skupiny biologicky rozložitelných polymerů patří např. poly(mléčná kyselina) (PLA), poly(glykolová kyselina) (PGA), poly(mléčná-co-glykolová kyselina (PLGA) atd. Tyto tři vyjmenované polymery se řadí do biologicky resorbovatelných polyesterů, které patří do skupiny poly(alfa-hydroxykyselin). Degradace těchto polymerů probíhá nescifickým hydrolytickým štěpením esterových vazeb. PLA se hydrolyzuje na kyselinu mléčnou, která je běžnou součástí metabolismů v lidském organismu. Degradací PGA vzniká kyselina glykolová. Tato kyselina může vstoupit do citrátového cyklu anebo může být vyloučena močí. PLGA je velice zajímavý materiál, jehož doba degradace může být v řádu týdnů až roků. Tato doba je řízena změnou poměrů monomerů a také podmínkami zpracování. Tento materiál je vhodný pro tkáňové inženýrství a také pro systémy dodávání léčiv. Z PGA mohou být vyrobeny vstřebatelné stehy, síťky a další chirurgické výrobky. PLA je díky své vysoké pevnosti v tahu vhodný biomateriál pro nosné aplikace např. fixace zlomenin kostí.⁶

2.5 Keramické biomateriály

Obecně můžeme keramické materiály definovat jako anorganický nekovový polykrystalický materiál, který je obvykle složen z křemičitanů, hliníkokřemičitanů, oxidu křemičitého a dalších oxidů (např. MgO, Al₂O₃) Surovinami pro výrobu keramiky jsou jíly, křemenný písek, živce a vápenec.⁵

Keramické biomateriály jsou v medicíně využívány především pro své vlastnosti jako je inertnost v těle, jejich tvarovatelnost a poréznost, vysokou pevnost v tlaku a jejich vynikající odolnost vůči opotřebením. Keramika se využívá pro výrobu kyčelních protéz, kolenních kloubních náhrad, kostních štěpů, zubních a ortopedických implantátů, povlaků pro zlepšení biokompatibility kovových implantátů. Použití keramických biomateriálů je omezeno jejich křehkostí a nízkou pevností v tahu.

Fosfátová biokeramika vyniká svojí vysokou biokompatibilitou a integrací kostí. Tento materiál je nejpodobnější minerální složce kosti. Keramika na bázi fosforečnanu vápenatého je využívána v mnoha medicínských aplikacích jako např. zubní implantáty, léčba kostních defektů, léčba zlomenin, úplné kloubní náhrady. Hydroxyapatit je používán jako potahový materiál pro implantáty z nerezové oceli, titanu a jeho slitin.⁷

Keramické biomateriály můžeme rozdělit na:

- Bioinertní
- Bioaktivní
- Biologicky rozložitelné⁶

2.5.1 Bioinertní keramika

Tato keramika si v lidském organismu udržuje své vlastnosti jak fyzikální, tak mechanické. Je odolná vůči korozi a opotřeбенí. Příkladem bioinertní keramiky jsou oxidy hliníku, zirkoničitá keramika a hlinítky vápenaté. Bioinertní keramika se používá pro výrobu kostních destiček, šroubů a femorální hlavy. Tento typ keramiky také našel své uplatnění v neimplantovatelných aplikacích, jako jsou např. ventilační trubice, sterilizátory.⁶

Alumina (Al_2O_3)

Hlavními surovinami, z kterých je možné získat vysoce čistý oxid hlinitý, jsou bauxit a nativní korund. Kalcinací hydroxidu hlinitého ($\text{Al}(\text{OH})_3$) může být připravena alumina α . Podle specifikací ASTM musí mít alumina pro implantáty obsah čistého oxidu hlinitého 99,5 % a obsah oxidu křemičitého a oxidů alkalických kovů (většinou oxid sodný) méně než 0,1 %.

Použití oxidu hlinitého ve zdravotnictví už trvá více než 25 let. Hlavními vlastnostmi aluminy jsou vysoká tvrdost, odolnost vůči otěru a inertnost vůči vnitřnímu prostředí v lidského organismu. Tyto vlastnosti zařazují tento materiál mezi ideální materiály pro náhradu kloubů. Oblíbenou aplikací tohoto materiálu je totální endoprotéza kyčelního kloubu. Protéza z tohoto materiálu byla prohlášena za lepší než kovová protéza.⁶

Zirkonia (ZrO₂)

Surovinou pro výrobu čistého oxidu zirkoničitého je zirkon (ZrSiO₄). Některé mechanické vlastnosti jsou shodné a některé dokonce lepší než u oxidu hlinitého. Zirkonia je samozřejmě biokompatibilní stejně jako alumina. Tento materiál může být použit při výrobě femorální hlavy a acetabulárního poháru při totální endoprotéze kyčelního kloubu. Hlavní nevýhodou oxidu zirkoničitého je jeho oslabení v přítomnosti vlhkosti a také zvýšené teploty. Nejvyšší pevnost v ohybu a lomovou houževnatost má stabilizovaný oxid zirkoničitý, což je ZrO₂ s oxidem Yttria.²

2.5.2 Bioaktivní keramika

Bioaktivní keramiku můžeme také nazvat jako povrchově reaktivní keramiku. Tento materiál po implantaci vytvoří silné vazby s okolní tkání. Bioaktivní keramika se používá na potahování kovových protéz, kde tento povlak poskytuje silnější vazbu s okolní tkání. Mezi bioaktivní keramiku patří hustá neporézní skla, Bioglass, Cerevital a hydroxyapatit.⁶

Sklokeramika

Sklokeramika pro implantáty je materiál na bázi oxidu křemičitého s oxidem fosforečným nebo bez něj. Sklokeramika je vyráběna řízenou krystalizací skel, která byla vyvinuta v 60. letech. Sklokeramika je polykrystalická keramika s vynikajícími mechanickými a tepelnými vlastnostmi. Pro výrobu implantátu jsou využívány sklokeramiky Bioglass a Ceravital. Při tvorbě sklokeramiky je podstatná nukleace a růst malých krystalů. Teplota pro nukleaci skla je mnohem nižší než teplota tání.⁶

2.5.3 Biologicky rozložitelná keramika

Tento typ keramiky se po implantaci za nějaký čas rozloží uvnitř lidského organismu. Rozsah degradace se liší a závisí na daném materiálu. Většina bioresorbovatelných keramik je na bázi fosforečnanu vápenatého kromě Biocoralu a dihydrátu síranu vápenatého. Příkladem tohoto typu keramiky jsou fosforečnan-hlinitan vápenatý, corallin, hydroxyapatit, fosforečnan vápenatý.⁶

Fosforečnan vápenatý

Fosforečnan vápenatý se využívá k výrobě umělé kosti a také pro výrobu pevných nebo porézních povlaků na implantáty. V závislosti na faktorech jako je poměr Ca/P, přítomnost vody nečistot a teplota může fosforečnan vápenatý krystalizovat na soli

hydroxyapatit a β -whitlockit (β fáze fosforečnanu vápenatého). Ve vlhkém prostředí a při teplotách nižších <900 °C je vyšší pravděpodobnost, že se vytvoří hydroxyl- nebo hydroxyapatit. V suchém prostředí a za vyšších teplot je pravděpodobnější, že se vytvoří β -whitlockite. Obě tyto formy jsou velmi kompatibilní s tkání a jsou využívány v granulované formě anebo ve formě pevného bloku jako náhražky kostí. Hydroxyapatit je velice podobný minerální fázi kostí a zubů.

Syntetické polykrystalické fosforečnany mají odlišné mechanické vlastnosti, což je způsobeno změnou struktury a výrobními procesy. Nejdůležitější vlastností hydroxyapatitu je jeho vynikající biokompatibilita. Bylo pozorováno, že po implantaci hydroxyapatitových částic nebo porézních bloků se tvoří nové lamelární houbovitě kosti do 4 až 8 týdnů.⁶

2.6 Kovové biomateriály

Kovy mají vhodnou elektrickou a tepelnou vodivost a mechanické vlastnosti (houževnatost, plasticita). Díky těmto vlastnostem jsou kovy využívány jako biomateriály. Kovové biomateriály jsou složeny z jednoho nebo více kovových prvků např. Fe, Ni, Al, Cu, Zn a Ti. V některých případech jsou v tomto typu biomateriálu obsaženy nekovové prvky jako C, N, O.^{6,8}

Lidské tělo dokáže v malém množství tolerovat většinu kovů (Fe, Cr, Co, Ni, Ti, Ta, Nb, Mo, W), které jsou používány pro výrobu slitin pro výrobu implantátů. Některé kovy jako např. Fe a Co jsou pro lidský organismus nezbytné a díky tomu je tělo toleruje ve vyšším množství.⁶

Kovy jsou nejčastěji využívaným materiálem pro nosné kostní implantáty. Kovové biomateriály mají v medicíně široký rozsah využití – od jednoduchých drátů, šroubů a destiček pro fixaci zlomenin až po částečné a úplné kloubní protézy. Z kovů jsou také vyráběny chirurgické nástroje. Nejčastěji využívanými kovy na implantáty jsou nerezavějící oceli, čistý Ti, slitiny Ti a slitiny Co. V tabulce 2 jsou uvedeny hustoty některých kovových materiálů⁴

Materiál	Hustota (g/cm ³)
Ti a jeho slitiny	4,5
Nerezová ocel 316L	7,9
CoCrMo	8,3
CoNiCrMo	9,2

Tabulka 2 – Hustota vybraných kovových materiálů⁶

2.6.1 Nerezové oceli

Nerezové oceli jsou slitiny železa a dalších legujících prvků. Obsah chrómu je minimálně 10,5 %. Toto množství zaručuje odolnost vůči rzi v čistém prostředí. Korozní odolnost tohoto typu ocelí je dána vytvářením tenké povrchové vrstvy oxidu chromitého Cr₂O₃, jejíž tloušťka se pohybuje kolem 2nm. Pokud chceme zvýšit korozní odolnost můžeme zvýšit obsah chrómu nad stanovené minimum. Dalším prvkem, který zlepšuje korozní odolnost je nikl. Pro zlepšení mechanických a fyzikálních vlastností je možné přidat další legující prvky jako je například molybden a dusík. Molybden zlepšuje odolnost vůči důlkové korozi. Dusík také zlepšuje odolnost vůči důlkové korozi a také zlepšuje mechanickou pevnost. Uhlík je obsažen v rozmezí od 0,03 % až do 1 %.⁴

Nástroje a další zdravotnické pomůcky, které přijdou do kontaktu s lidskou tkání pouze přechodně, se vyrábějí z nerezové oceli komerční kvality. Nerezové oceli využíváme pro výrobu implantátů musí splňovat specifické požadavky a musí být vhodné pro dlouhodobý kontakt s lidskou tkání. Pro výrobu těchto ocelí jsou potřeba speciální výrobní technologie jako je vakuové tavení, vakuové obloukové přetavování nebo elektro-struskové přetavování.⁴

První nerezovou ocelí, která byla používána na výrobu implantátů, byla ocel 18-8 (typ 302). Tato ocel je oproti vanadiové oceli odolnější vůči korozi a je také pevnější. Náhradou této oceli byla ocel 18-8sMo (ocel typu 316). Tato ocel obsahuje malé procento molybdenu, který zlepšil odolnost vůči korozi, a to především ve slané vodě. V 50- letech minulého století došlo ke snížení množství uhlíku z 0,08 % na maximální množství 0,03 %. Tato změna byla provedena pro lepší korozní odolnost v chloridovém roztoku. Tento typ oceli dostal název 316L nerezová ocel. V příložené tabulce 3 nalezneme složení oceli 316L.²

Prvek	Složení v hmot. %
Uhlík	0,030
Mangan	2,00
Fosfor	0,025
Síra	0,010
Křemík	0,75
Chró	17,00 - 19,00
Níkl	13,00 - 15,00
Molybden	2,25 -3,00
Dusík	0,10
Měď	0,50

Tabulka 3 – Složení nerezové oceli 316L ²

Klasifikace nerezových ocelí

Oceli můžeme klasifikovat do 4 základních skupin: martenzitické, feritické, austenitické a duplexní nerezové oceli ⁴

Martenzitické nerezové oceli

Slitiny Fe-Cr mající po tepelném zpracování tetragonální prostorově středěnou krystalovou strukturu. Tyto oceli obsahují 10,5 až 18 % chrómu a až 1,2 % uhlíku. Samozřejmě mohou obsahovat další legující prvky jako např. křemík, wolfram a vanad. Mezi vlastnosti toho typu ocelí patří feromagnetismus odolnost vůči korozi v mírném prostředí a vytvrditelnost tepelným zpracováním. Přidáním malého množství niklu můžeme dosáhnout lepší korozní odolnosti a zvýšené houževnatosti. Díky vysoké tvrdosti až 97 HRB jsou tyto oceli vhodné pro stomatologické a chirurgické nástroje, jako jsou např. kostní kyvety, dláta, zubní frézy, skalpely, kleště a hemostaty. ⁴

Feritické nerezové oceli

Slitiny Fe-Cr mající prostorově centrovanou kubickou strukturu. Chrómu je v těchto ocelích zastoupen minimálně 11 % a maximálně 30 %. Feritické oceli nelze vytvrdit tepelným zpracováním, jako předešlou skupinu ocelí. Využití tohoto typu je ve zdravotnictví velice omezené. Využívají se např. na upevňovací prvky, vodící kolíky a kliky nástrojů. ⁴

Austenitické nerezové oceli

Tato skupina nerezových ocelí je považována za největší z hlediska počtu slitin a jejich využití. Tyto slitiny obsahují 16-26 % chrómu, maximálně 35 % niklu a až 15 %

manganu. Austenitické oceli obdobně jako feritické nemohou být tepelně zpracované. Ve vyžáhaném stavu jsou nemagnetické. Kalení je u tohoto typu prováděno pouze za studena. Důležitými vlastnostmi jsou vynikající kryogenní vlastnosti, dobrá pevnost při vysokých teplotách a také odolnost vůči oxidaci. Přidáním molybdenu, mědi, křemíku, hliníku, titanu a niobu můžeme zlepšit některé vlastnosti. Tyto oceli vynikají svou dobrou tvarovatelností, která je zlepšena vyšším obsahem niklu. Tato skupina oceli je používána na výrobu neimplantovatelných zdravotnických nástrojů, u kterých je důležitá odolnost proti korozi a pevnost. Těmito nástroji jsou např. kanyly, dentální otiskové podložky, podkožní jehly a parní sterilizátory. ⁴

Duplexní nerezové oceli

Dvoufázové slitiny Fe-Cr-Ni obsahující obvykle stejné podíly feritické a austenitické fáze ve své struktuře. Obsah uhlíku v těchto ocelích nepřesahuje 0,03 %. Obvyklými legujícími prvky jsou molybden, dusík, wolfram a měď. Chrom je v tomto typu zastoupen 20-30 % a nik 5-8 %. Duplexní nerezové oceli se vyznačují dobrou pevností, která je dvakrát větší než u austenitických ocelí. Dále také u nich nalezneme lepší houževnatost, odolnost v tahu, vynikající korozní odolnost, odolnost proti praskání a odolnost vůči korozi v tahu. Tyto oceli naleznou své využití především v průmyslu, ale díky svým vlastnostem mohou časem naleznout svá využití i v biomedicíně. ⁴

2.6.2 Slitiny na bázi kobaltu

Tyto slitiny jsou často označovány jako slitiny Co-Cr. V zásadě můžeme slitiny kobaltu rozdělit na dva typy. Prvním typem je slitina CoCrMo, která se vyrábí odléváním a je do dnes využívána ve stomatologii a při výrobě umělých kloubů. Druhým typem je za tepla kovaná slitina CoNiCrMo, která se používá pro výrobu dříků např. u kolenních a kyčelních protéz kloubů. ⁶

Americká společnost pro testování a materiály (ASTM) doporučuje pro použití v podobě implantátů 4 typy slitin Co-Cr. Patří mezi ně odlévaná slitina CoCrMo(F75) a 3 kované slitiny CoCrWNi(F90), CoNiCrMo(F562) a CoNiCrMoWFe(F563). Z těchto slitin jsou v současnosti nejvíce používané 2 slitiny, odlévaná slitina CoCrMo a kovaná slitina CoNiCrMo. V příložené tabulce 4 jsou uvedena složení všech těchto slitin. ^[6]

Prvek	CoCrMo (F75)		CoCrWNi (F90)		CoNiCrMo		CoNiCrMoWFe (F563)	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Cr	27,0	30,0	19,0	21,0	19,0	21,0	18,00	22,00
Mo	5,0	7,0	—	—	9,0	10,5	3,00	4,00
Ni	—	2,5	9,0	11,0	33,0	37,0	15,00	25,00
Fe	—	0,75	—	3,0	—	1,0	4,00	6,00
C	—	0,35	0,05	0,15	—	0,025	—	0,05
Si	—	1,00	—	1,00	—	0,15	—	0,50
Mn	—	1,00	—	2,00	—	0,15	—	1,00
W	—	—	14,0	16,0	—	—	3,00	4,00
P	—	—	—	—	—	0,015	—	—
Si	—	—	—	—	—	0,010	—	0,010
Ti	—	—	—	—	—	1,0	0,50	3,50
Co	Zůstatek							

Tabulka 4 – Chemické složení vybraných slitin Co ⁶

Dvěma základními prvky těchto slitin jsou chróm a kobalt, které společně tvoří tuhý roztok do 65 % Co. Molybden se přidává pro vznik jemnějších zrn, které napomáhají k vyšší pevnosti pro odlévání nebo kování. ⁶

Kovaná slitina F562 obsahuje asi 35 % Co a Ni. Její korozní odolnost v mořské vodě, která obsahuje Cl⁻ ionty, je vysoká. Pevnost můžeme zvýšit zpracováním za studena. Avšak u tohoto zpracování se objevu problém, především při výrobě velkých zařízení. Proto se pro výrobu velkých implantátů z této slitiny využívá kování za tepla. ⁶

Abrazivní opotřebení u odlévané slitiny F75 a u kované slitiny F562 je podobné a pohybuje se okolo hodnoty 0,14mm/rok. Tato hodnota byla zjištěna pomocí simulačních testů. Slitina F562 se nedoporučuje pro nosné povrchy kloubních náhrad z důvodu vnitřních třecích vlastností se sebou samým nebo jinými materiály. Vhodnými aplikacemi této slitiny jsou implantáty, které vyžadují dlouhou životnost bez vzniku únavové trhliny nebo prasknutí. Mechanické vlastnosti, které jsou vyžadovány u slitin na bázi kobaltu, jsou zvýšená pevnost doprovázena sníženou odolností v tahu. Kované i odlévané slitiny disponují vynikající korozní odolností. ⁶

2.6.3 Slitiny na bázi Ti

Tomuto druhu slitin se budu věnovat v samostatné kapitole.

2.7 Biomateriály na bázi Ti

Titan patří mezi nízkohustotní prvky, jehož hustota se pohybuje přibližně na 60% hustoty železa. Pomocí legování a procesů tváření lze zvýšit jeho pevnost. Titan a jeho slitiny, které se využívají pro výrobu implantovatelných zařízení, mají vynikající biokompatibilitu, která je doprovázena žádnou, anebo velmi malou reakcí těchto materiálů s tkání kolem implantátu. Titan je odolný vůči korozi díky své pasivní vrstvě oxidů titanu, která se vytváří na jeho povrchu. Díky svým skvělým vlastnostem jako je například vynikající biokompatibilita, nižší tuhost a skvělá korozní odolnost je titan a jeho slitiny používán jako biomateriál častěji než nerezové oceli a slitiny na bázi kobaltu.⁴

2.7.1 Vlastnosti a struktura

Titan se vyskytuje ve dvou alotropních modifikacích. Při nízkých teplotách do teploty alotropické transformace (855 °C) se titan vyskytuje v krystalové struktuře hexagonálně těsně uspořádané HCP (α fáze). Při teplotě nad 855 °C se vyskytuje v kubické prostorově centrované krystalové struktuře BCC (β fáze). Teplota transformace $\alpha \rightarrow \beta$ je velmi ovlivněna intersticiálními prvky. Tyto prvky můžeme rozdělit na α stabilizátory, které transformační teplotu zvyšují, a na β stabilizátory, které ji snižují. Mezi α stabilizátory patří kyslík, dusík a uhlík a mezi β stabilizátory patří vodík. Teplota alotropické transformace může být také ovlivněna legujícími prvky anebo nečistotami.⁴

Slitiny titanu můžeme na základě jejich mikrostruktury rozdělit do čtyř kategorií: α , pseudo- α , α - β nebo β . Tyto kategorie si rozebereme v následující kapitole.

Mikrostruktura a vlastnosti slitin titanu mohou být také ovlivněny legujícími prvky. Tantal, vanad, molybden a niob patří mezi β izomorfní prvky, což znamená, že mají podobné fázové vztahy jako BCC titan. S těmito prvky titan nevytvoří intermetalické sloučeniny. Chrom, železo, měď, nikl, palladium, kobalt, mangan a některé další přechodné prvky vytvoří s titanem eutektoidní systém. Tyto prvky jsou málo rozpustné v titanu a také snižují jeho transformační teplotu. Obvykle se přidávají do slitin společně s β izomorfními prvky, aby došlo ke stabilizaci B fáze a předcházelo se tvorbě intermetalický sloučenin, které by se mohly objevit při dalším zpracování. Zirkonium a hafnium jsou prvky, které patří mezi α i β izomorfní prvky titanu. Cín a hliník se dobře rozpouští v α i β fázích a také ovlivňují transformační teplotu. Hliník tuto teplotu výrazně zvyšuje a cín jí mírně snižuje.⁴

Hliník, cín a Zirkonium jsou prvky, které jsou společně běžně přidávány do slitin α a pseudo- α . V α - β slitinách jsou tyto prvky rozděleny přibližně stejným podílem mezi α a β fází. Většina komerčních slitin obsahuje alespoň jeden z těchto prvků. Důvodem je jejich rozpustnost v obou fázích α a β a také výrazně zlepšují pevnost tečení ve fázi α . Železo chrom a další prvky se v některých případech přidávají do slitin α - β bohatých na β nebo do slitin β . Je to z důvodu jejich stabilizujících účinku a také zlepšují vytvrditelnost a odezvu na tepelné zpracování. Nikl Molybden, palladium a ruthenium zlepšují korozní odolnost nelegovaného titanu v daných mediích. ⁴

2.7.2 Komerčně čistý titan (Cp-Ti)

Čistý titan obsahuje kolem 98,9 až 99,6 % Ti. Jedná se v podstatě o veškery α titan, který se vyznačuje relativně nízkou pevností a vysokou tažností. Tento typ materiálu je využíván zejména kvůli své vynikající korozní odolnosti v aplikacích, kde není potřeba vysoká pevnost. Cp-Ti můžeme rozdělit do 4 stupňů podle jejich čistoty a obsahu intersticiálních prvků. Mez kluzu se pohybuje v hodnotách od 170 MPa do 480 MPa. Tato hodnota závisí na obsahu kyslíku a železa v daném stupni. Vyšší obsah kyslíku také způsobuje vyšší hodnotu meze únavy. Např. pokud Cp-Ti obsahuje 0,085 % kyslíku hodnota meze únavy je přibližně 88,2 MPa. V tabule č.5 je uvedeno složení a některé vlastnosti.

Cp-Ti je využíván pro výrobu pouzder kardiostimulátorů, zubní implantáty, obličejové implantáty a také šrouby a svorky pro operace páteře. ⁴

Stupeň čistoty	Mez pevnosti (MPa)	Mez kluzu (MPa)	Prodloužení v %	N (max)	C (max)	H (max)	Fe (max)	O (max)
1	240	170	24	0,03 %	0,08 %	0,015 %	0,20 %	0,18 %
2	340	280	20	0,03 %	0,08 %	0,015 %	0,30 %	0,25 %
3	450	380	18	0,05 %	0,08 %	0,015 %	0,30 %	0,35 %
4	550	480	15	0,05 %	0,08 %	0,015 %	0,30 %	0,40 %

Tabulka 5 – Tahové vlastnosti a chemické složení komerčně čistého Ti ⁴

2.7.3 α a pseudo- α slitiny

Slitiny α obsahující hliník cín a zirkonium jsou používané pro vysokoteplotní i kryogenní aplikace. Oproti slitinám α - β a β mají tyto slitiny vyšší odolnost vůči tečení za vysokých teplot. Pomocí tepelného zpracování nelze zvýšit pevnost těchto slitin narozdíl od α - β a β slitin. Po zpracování za studena je potřeba slitiny žíhat nebo rekrytalizovat, aby došlo k odstranění pnutí. Slitiny α mají dobrou svařitelnost, horší kujnost a užší

rozsah teplot kování než slitiny α - β , β . Horší kujnost má za důsledek vyšší poréznost nebo vznik povrchových trhlin vyvolaných napětím. Kvůli těmto problémům je potřeba do procesu kování zahrnout redukční kroky a časté opakované ohřívání. ⁴

Slitiny α obsahující malé množství β stabilizátorů jsou někdy nazývána jako super- α , anebo pseudo- α slitiny. Jedná se např. o slitiny Ti-8Al-1Mo-1 V nebo Ti-6Al-2Nb1Ta-0,8Mo. Přestože tyto slitiny obsahují β fázi, skládají se převážně z α fáze a chovají se jako α slitiny než jako α - β slitiny. Tyto dva typy slitin nejsou využívány pro biomedicínské účely z důvodu nízké pevnosti. Pro aplikace, kde není potřeba vysoká pevnost, ale vysoká korozní odolnost jsou využívány materiály Cp-Ti. ⁴

2.7.4 α - β slitiny

Tento typ slitin obsahuje α stabilizátory nebo prvky rozpustné v α fázi a také β stabilizátory. Pro zlepšení pevnosti je možné využít rozpouštěcí žíhání a stárnutí. Rozpouštěcí žíhání je prováděno za vysoké teploty ve dvojfázovém α - β poli poté dochází ke zchlazení vhodným činidlem (např. voda, olej, ...). Po žíhání následuje proces stárnutí. Teplota při stárnutí se pohybuje v rozmezí 480 až 650°C. Rozpouštěcí žíhání a následné stárnutí může zvýšit pevnost až o 50 %. Slitiny s nízkým obsahem β stabilizátorů (např. Ti-6Al-4V) jsou špatně kalitelné, proto je potřeba rychlého zchlazení, aby došlo k významnému zpevnění této slitiny. Se zvyšujícím se obsahem β stabilizátoru se zlepšuje jejich kalitelnost. Některé slitiny se středním obsahem β stabilizátorů mohou být pomocí kalení zpevněny pouze na povrchu. Tvrdost a pevnost jádra může být nižší až o 20 %. Pro požadovanou změnu mechanických vlastností je důležité vybrat správné počáteční podmínky (složení slitiny, teplota žíhání a podmínky stárnutí). ⁴

V současné době jsou pro medicínské účely využívány 4 slitiny. Nejvíce využívanými slitinami jsou slitiny Ti-6Al-4V a Ti-6Al-4V ELI. Tyto slitiny jsou používány pro totální náhradu kyčelního a kolenního kloubu. Slitiny Ti-6Al-7Nb a Ti-5Al-2.5Fe jsou podobné Ti-6Al-4V jen neobsahují vanad, který je považován za toxický prvek z důvodu jeho biokompatibility. Ti-6Al-4V je používán na výrobu femorálních kyčlí, stehenních fixačních desek, komponentů páteře a spojovacích materiálů, jako jsou šrouby, hřebíky, tyče a dráty. Posledním materiálem využívaným v medicíně je Ti-3Al-2.5V, který je významný díky své vynikající tvarovatelnosti za studena. Je používán pro výrobu hadiček a stabilizačních tyček. Tabulka č. uvádí vlastnosti slitin využívaných pro medicínské účely. ⁴

2.7.5 β slitiny

Titanové slitiny β obsahují vyšší množství β stabilizátorů a zároveň obsahují méně stabilizátoru α než α - β slitiny. Tyto slitiny jsou velice dobře kalitelné a také mohou být tvářeny za studena. Stárnutí je prováděno po rozpouštěcím žíhání při teplotách 450–650 °C, kdy dochází k transformaci části β fáze na α fázi. Při stárnutí se tvoří α fáze jako dispergované části v β fázi. Díky tomuto procesu lze zvýšit pevnost na srovnatelnou anebo dokonce i vyšší úroveň než u α - β slitin po stárnutí. Oproti α - β slitinám mají β slitiny vyšší hustotu, nižší pevnost v tečení a také nižší mez tahu po procesu stárnutí. Slitiny po rozpouštěcím žíhání mají dobrou tažnost a houževnatost, nízkou pevnost a jsou velice dobře tvářitelné. V β slitinách se objevují niob, zirkon, molybden tantal a železo jako legující prvky. Biokompatibilita všech těchto prvků je dobrá až excelentní. Tyto slitiny neobsahují vanad, který je považován za toxický a vykazuje nepříznivé účinky na tkáň. β slitiny, které mají nejnižší elastický modul ze všech dosud vyvinutých slitin pro kovové implantáty jsou založeny na systému Ti-Nb-Zr-Ta.⁴

2.8 Rozhraní Ti implantátu a kosti

Biomateriály na bázi titanu jsou upřednostňovány díky své inertnosti a biokompatibilitě. Při implantaci bioinertního implantátu vyrobeného např. ze slitin kobaltu může dojít k přirozené reakci organismu, který vytvoří kolem tohoto materiálu pouzdro. Organismus dává tímto najevo, že považuje tento implantát za cizí těleso. Tato reakce přispívá k uvolňování permanentních implantátů, což není žádoucí. U titanových implantátů dochází k úzkému včlenění do hostitelské kosti.

U titanového implantátu můžeme jeho inertnost ovlivnit chemickou aktivací anebo nanesením tenké bioaktivní vrstvy na implantát. Při chemické aktivaci dochází na povrchu slitin Ti k iontové výměně, při které se vytvoří titanát např. Na_2TiO_3 . K další iontové výměně dochází mezi titanátem a okolním roztokem, kdy dojde k tvorbě vápníku a fosforu na povrchu titanového implantátu. Díky těmto minerálům dochází k včlenění implantátu do kosti. Pokud je implantát potažen povlakem TiO_2 dochází k včlenění již 8 týdnů po implantaci. U implantátu bez povrchové úpravy byl kontakt mezi kostí a implantátu zjištěn až po půl roce.

Na implantátu je možné vytvořit tenkou vrstvu bioaktivních mikro nebo nanočástic například metodami plazmatické depozice, laserové ablace nebo metodou chemické plynné depozice.

Titan se využívá primárně pro trvalé implantáty, anebo pro krátkodobé, které musí být odstraněny před vznikem kostní vazby mezi implantátem a kostí. ⁸

2.8.1 Titanát vápenatý

Chemický vzorec titanátu vápenatého je CaTiO_3 . Jedná se o pevnou anorganickou látku s orthorombickou (kosočtverečnou) mřížkou. ⁹

Vytvoření tenké vrstvy titanátu vápenatého na titanu, je vynikající metoda úpravy implantátu pro usnadnění tvorby nových kostních buněk na implantátu. U potkanů, kterým byl implantován titan s vrstvou CaTiO_3 , nevznikla žádná těžká zánětlivá reakce na tento implantát a docházelo k nové tvorbě kostí. Díky tomu můžeme říct, že vrstva CaTiO_3 je biokompatibilní a je vhodná pro využití jako biomateriál. U titanu potaženého vrstvou CaTiO_3 bylo zjištěno, že je aktivnější než titan bez této úpravy. ¹⁰

2.9 Pulsní laserová ablace

2.9.1 Laser

Slovo laser pochází z anglického Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, což v překladu znamená zesilování světla stimulovanou emisí záření. Laser je zdroj monochromatického vysoce koherentního paprsku, který může být ve viditelné, ultrafialové nebo infračervené oblasti spektra. Tento paprsek se vytvoří díky stimulované emisi záření atomů, molekul, iontů nebo elektronů, které jsou buzeny vnějším zdrojem energie.

Laser je složený ze 4 hlavních částí: Aktivní prostředí, rezonátor, zdroj záření a laserový paprsek. Aktivní prostředí může být tvořeno pevnou látkou s příměsemi, kapalinou i směsí plynů. Látka tvořící aktivní prostředí obsahuje dělené kvantové energetické hladiny elektronů. Rezonátor zesiluje světlo laseru. Jedná se o dvě zrcadla, jedno propustné a druhé polopropustné, která jsou vzájemně na sebe kolmá a zároveň jsou kolmá na osu laseru. Zdroj záření dodává energii elektronům v aktivním prostředí, díky tomu dochází k excitaci elektronů. Zdrojem záření může být např. výbojka, chemická reakce nebo jiný laser. Laserový paprsek, který vychází z aktivního prostředí můžeme označit za monochromatický neboli jednobarevný a koherentní neboli rozbíhavý.

Principem laseru je vynucená neboli stimulovaná emise záření. Elektrony v látce aktivního prostředí nejprve excitují na horní energetickou hladinu, na které se neudrží a přeskočí na pracovní hladinu. Díky impulzu stimulujícího fotonu dojde k deexcitaci, která

je spojená s emisí stejného fotonu. Důsledkem tohoto vznikají identické fotony vyzařované stejným směrem.¹¹

2.9.2 Princip PLA

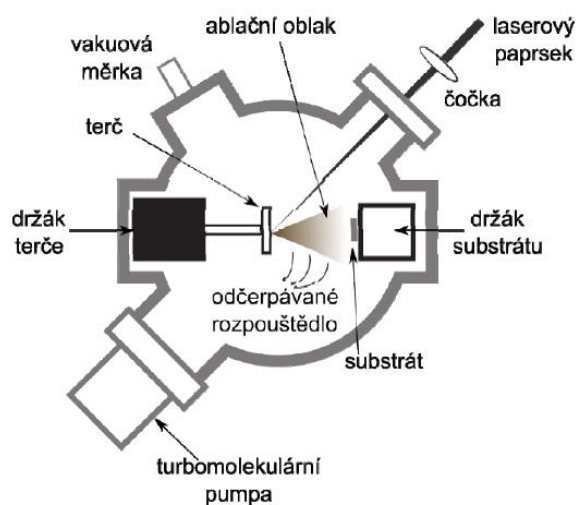
PLA je nejstarší a také nejpoužívanější technologie laserové depozice anorganických a organických materiálů.

Hlavními částmi ablačního systému jsou vakuová depoziční komora, držák podložek umožňující ohřev, přesné měření teploty, terč a laser. Na obr. 2 je zobrazeno schéma PLA aparatury. Při PLA jsou používány vysoce energetické lasery, které pracují v pulsním režimu.

Fokusovaný paprsek z laseru dopadá na materiál terče, který je díky vysoké hustotě záření převeden na plazmatický obláček, který je tvořen nejen molekulami deponovaného materiálu ale také z různých fragmentů, iontů, elektronů atd. Tento obláček poté následně kondenzuje na podložce pod terčem. Tato kondenzace je doprovázena chemickými reakcemi, při kterých vzniká u stabilních materiálů vrstva o stejném stechiometrickém složení jako v materiálu terče. Kvalitu, tloušťku a plochu ablační vrstvy může ovlivnit mnoho parametrů a faktorů: parametry laseru, interakce laseru s terčem, interakce plazmového obláčku s okolním prostředím a s podložkou, materiál podložky, režim růstu vrstvy.

Proces PLA můžeme stručně popsat ve třech krocích:

1. Terč absorbuje fotony laserového paprsku a dojde k vypaření povrchové vrstvy materiálu terče.
2. Dochází k přesunu vypařených částic ve formě plazmového obláčku směrem k podložce. Dochází také k interakci částic s okolním prostředím.
3. Dochází ke kondenzaci částic a růstu vrstvy na povrchu podložky.^{12,13}



Obr.2 – Schéma PLA aparatury¹³

2.10 Analytické metody

2.10.1 SEM/EDX

SEM

SEM neboli skenovací elektronová mikroskopie je metoda, kterou získáme obraz vnější morfologie materiálu. SEM obraz je získáván narážením jemně zaostřeného paprsku elektronů na povrch pevného vzorku. Signál je přijímán nad povrchem, uložen do počítače a poté převeden do výsledného obrazu. Přístroje SEM k vytvoření výsledného obrazu detekují zpětně rozptýlené a sekundární elektrony.¹⁴

EDX

EDX neboli energiově disperzní spektrometrie je metoda používaná pro analýzu prvkového složení vzorku. Tato metoda je založena na detekci charakteristického RTG záření, které vznikne interakcí elektronového svazku s povrchem analyzovaného vzorku. Výsledkem energiově disperzní spektrometrie je EDX spektrum, které nám pomůže určit prvkové složení a množství těchto prvků ve vzorku.

Detektorem jsou pevnolátkové křemíkové detektory, ve kterých je dopadem RTG záření vyvolán vznik elektron-děrových párů. Mez detekce EDX je v řádu desetin procenta hmotnostního obsahu prvku ve vzorku.¹⁵

2.10.2 XRD

Rentgenová difrakce ve zkratce XRD je analytická metoda, která napomáhá určovat krystalickou strukturu krystalických látek. Krystalická látka se díky pravidelnému uspořádání chová při interakci s RTG zářením jako optická mřížka při interakci s viditelným světlem, kdy vzniká na stínítku interferenční obrazec.

Pro XRD je potřebný zdroj RTG záření, vzorek a vhodný detektor. Tyto tři nezbytné části jsou umístěny v polohovacím zařízení nazývaném jako difraktometr. V laboratorních podmínkách je jako zdroje RTG využívána vakuovaná trubice emitující rentgenový paprsek. Detektorem, který zachycuje difraktované fotony, může být fotografický papír, scintilační detektor anebo polovodičový detektor. Výsledkem XRD je difrakční obrazec. Díky matematickému zpracování získáme přítomné krystalické fáze a jejich hmotnostní podíl v analyzovaném vzorku.¹⁶

3 Praktická část

3.1 Popis aparatury

3.1.1 Laser

Laser Q-smart 850, který byl používán pro laserovou ablací, je pulsní pevnolátkový Nd: YAG laser. Základní parametry laseru jsou vypsány v tabulce. K tomuto zařízení je možné přidávat moduly díky, kterým lze dosahovat vyšších vlnových délek. Díky této vlastnosti lze laser snadno upravit pro vlnové délky: 1064 nm, 532nm, 355 nm, 266nm, 213nm. V tabulce 6 jsou uvedeny parametry laseru a na obr. 3 je vyfotografován popisovaný laser. Díky svým rozměrům a snadnému používání je vhodný pro laboratorní použití.¹⁷

Parametr	Hodnota
Základní vlnová délka [nm]	1064
Doba trvání pulsu [ns]	> 10
Opakovací frekvence [Hz]	10-15
Průměr paprsku [mm]	5-10
Energie pulsu při 1064 nm [mJ]	850
Energie pulsu při 532 nm [mJ]	430
Energie pulsu při 355 nm [mJ]	230
Energie pulsu při 266 nm [mJ]	100
Energie pulsu při 213 nm [mJ]	20
Odchylka paprsku [mrad]	max. 0,5

Tabulka 6 – Parametry laseru Q-smart 850¹⁷



Obr.3 – Laser Q-smart 850¹⁷

3.1.2 Vakuový reaktor

Vakuový reaktor je složen ze 3 základních částí: vakuová komora, vstupní okénka a těsnicí kroužky. Vakuová komora je vyrobena z pyrexového skla odolného vůči teplotním šokům. Vstupní okénka jsou z borosilikátového skla, které je transparentní pro naši vlnovou délku 355 nm. Těsnicí kroužky jsou vyrobeny z fluorouhlíkového kaučuku. Délka vakuové komory je 15 cm a průměr je 2,5 cm.

3.1.3 Fokusované záření

Záření vycházející z laseru je o vlnové délce 355 nm a energii 230 mJ. Poté dojde k zaostření paprsku, který poté dopadá na užší oblast s vyšší energií.

3.2 Laserová ablace

3.2.1 Postup Laserové ablace

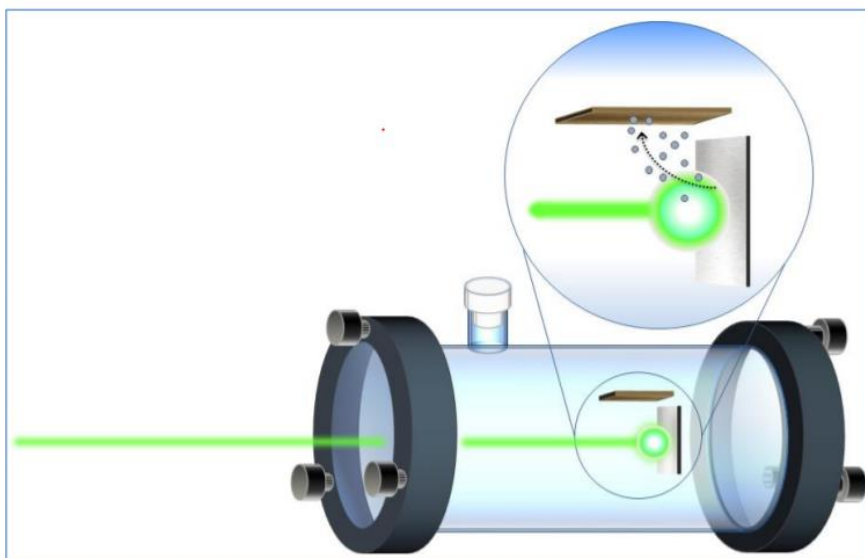
Laserová ablace je prováděna při vlnové délce 355 nm a tlaku 10^{-2} Pa po dobu 5 minut.

Nejprve se lisováním vytvoří tableta CaTiO_3 , která se poté využívá jako terč. Terč se umístí do držáku do aparatury a nad něj se umístí titanový substrát v kolmé pozici. Poté je potřeba uzavřít vakuovou komoru pomocí krycího sklíčka.

Vakuová komora se v dalším kroku uchytlí do držáku a nejprve se pomocí olejové vývěvy sníží tlak na 10 Pa a následně je pomocí turbomolekulární vývěvy dosažen tlak 10^{-2} Pa. Po dosažení tohoto tlaku je vývěva vypnuta.

Následuje umístění komory tak, aby byl terčík od laseru vzdálen 15 cm. Zkontroluje se, jestli paprsek laseru prochází komorou do středu terčíku. Velice důležité je také zkontrolovat, jestli se odražené světlo nevrací zpět do laseru. Tento krok je velmi důležitý, protože by mohlo dojít ke zničení laseru. Po zapnutí laserového paprsku odměříme 5 minut, kdy laserovou ablaci zastavíme. Vypneme laser a vyjmeme substrát z komory a umístíme ho do sáčku pro následnou charakterizaci.

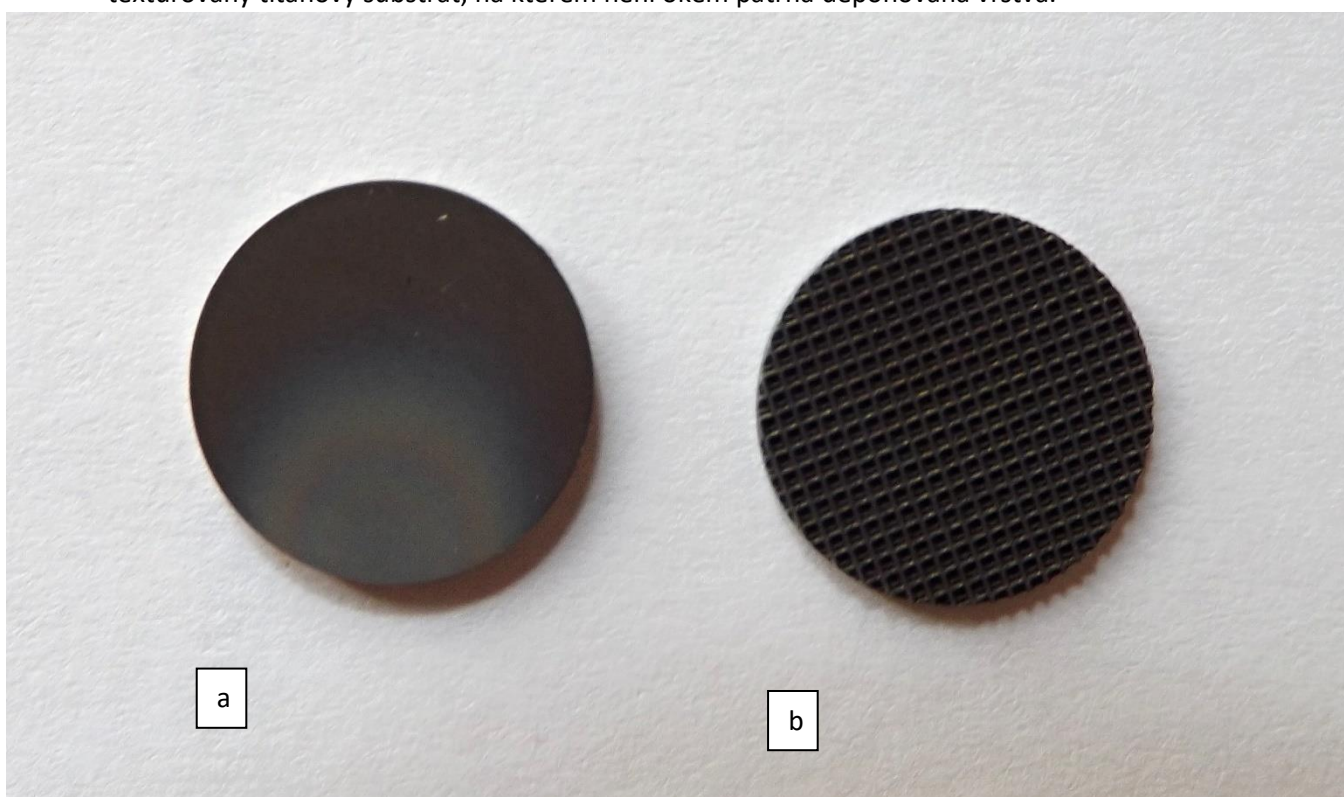
Na obr. 4 je zobrazeno schéma laserové ablace ve vakuu.



Obr.4 – Schéma laserové ablace ve vakuu ¹⁸

3.2.2 Vzorky získané laserovou ablací

Na obrázku č. 5 jsou vyfoceny titanové substráty po provedení pulsní laserové ablace. Na obrázku 5a se nachází substrát s hladkým povrchem, na kterém je viditelná barevná interferenční nanometrická vrstva pokrývající spodní část substrátu. Na obrázku 5b se nachází texturovaný titanový substrát, na kterém není okem patrná deponovaná vrstva.



Obr. 5 - Titanové substráty po pulsní depozici CaTiO_3 : a – hladký substrát, b – texturovaný substrát

3.3 SEM/EDX

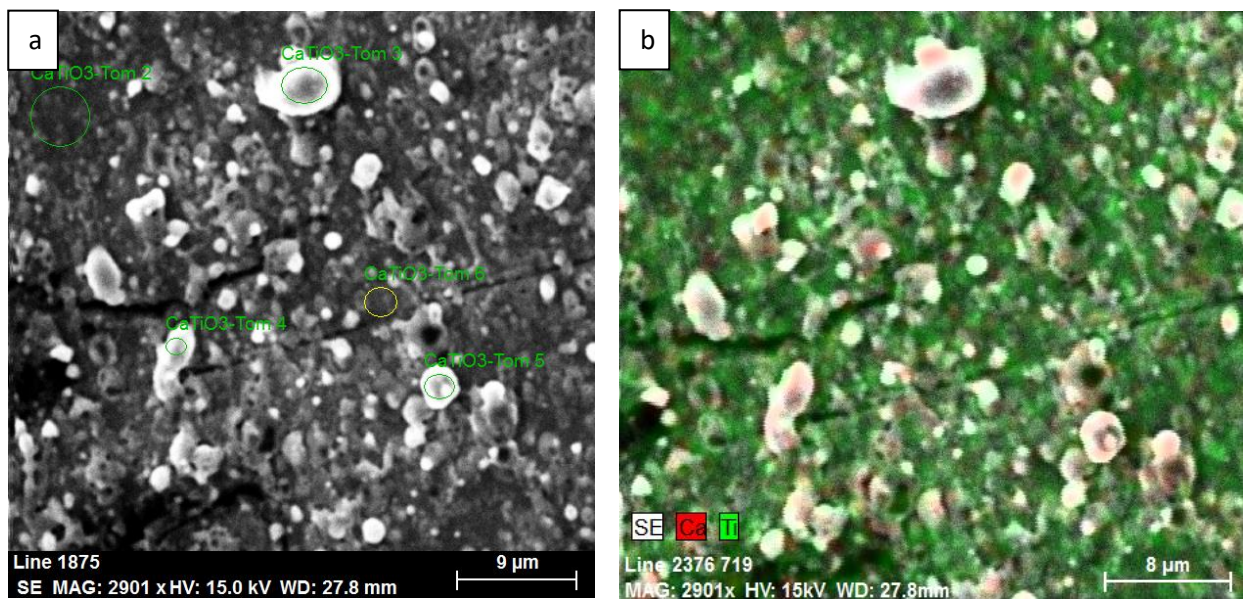
3.3.1 Základní informace o měřícím zařízení

Obrázky skenovací elektronové mikroskopie byly pořízeny pomocí mikroskopu SEM Tescan – Indusem (Bruker Quantax), který je vybavený detektorem EDAX.

3.3.2 SEM/EDX analýza

Analýza SEM/EDX byla naměřena paní Ing. Věrou Jandovou, Ph.D. z Ústavu chemických procesů AV ČR.

Na obr. 6 je patrné, že velikost deponovaných částic se pohybuje v rozmezí desítek nm až po jednotky μm . Částice jsou globulární a na některých částicích je zřetelná jejich pórovitost, která může být způsobena hygroskopickými vlastnostmi daného materiálu. Při ablaci dojde k odpaření vody a díky tomu vzniknou pórovité částice CaTiO_3 . Na hladkém titanovém substrátu jsou lépe čitelná povrchová struktura deponovaného substrátu. V tabulce 7 jsou uvedeny hmotnostní procenta obsažených prvků. Vysoký obsah Ti je způsoben Ti substrátem.

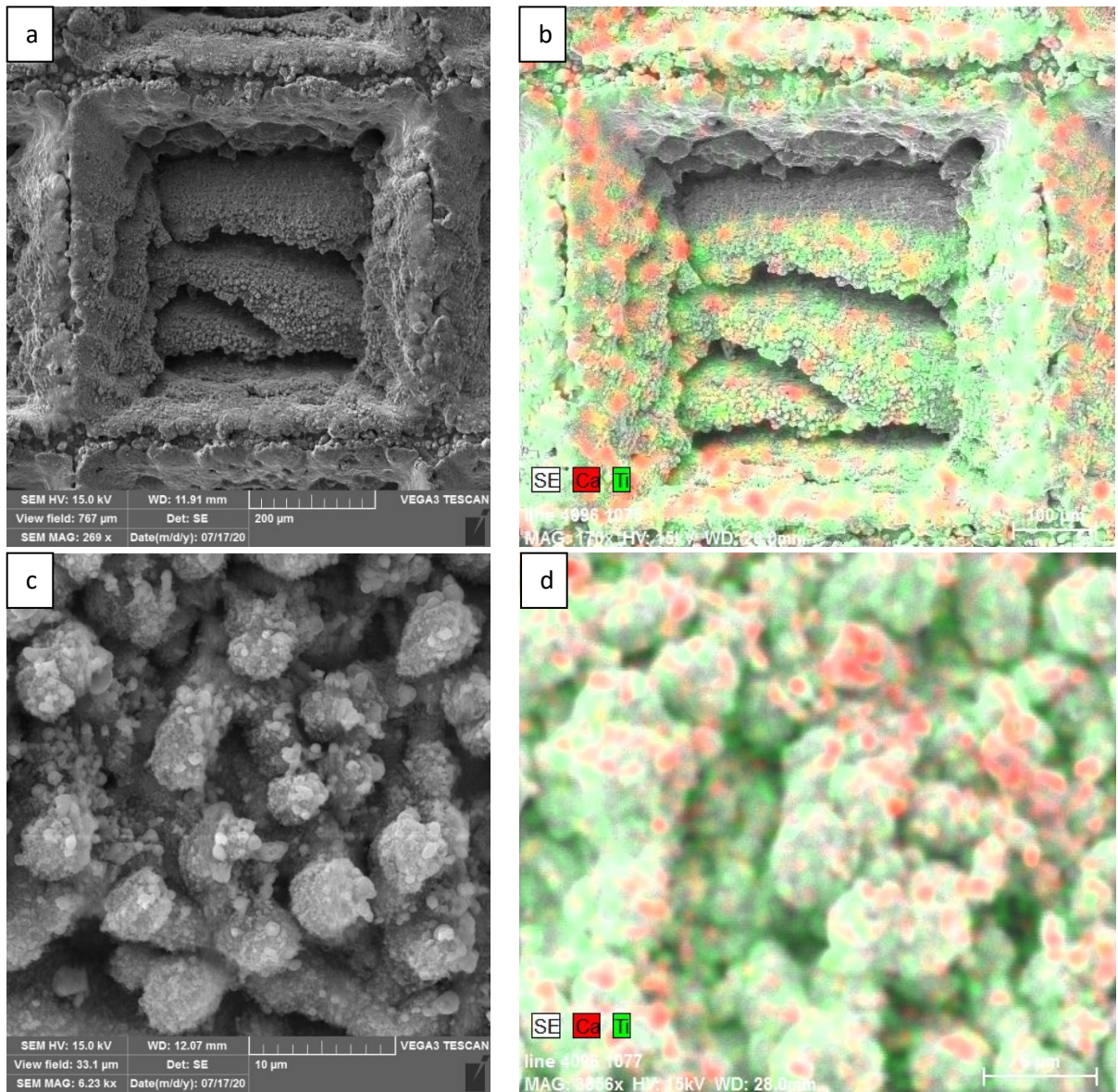


Obr 6 Analýza SEM/EDX vrstvy CaTiO_3 na hladkém titanovém substrátu

Prvek	Hmotnostní %
C	2,01
O	31,43
Al	36,35
Ca	10,26
Ti	47,20

Tabulka 7: Hmotnostní procenta obsažených prvků na hladkém titanovém substrátu

Na obr. 7 jsou zobrazeny výsledky analýzy SEM/EDX na texturovaném titanovém substrátu, kde není možné, tak dobře rozlišit deponované částice CaTiO_3 . Přítomnost CaTiO_3 dokazuje elementární mapping zobrazující obsah Ca (Obr. 7b, 7d). V příložené tabulce 8 jsou uvedeny hmotnostní procenta z prvkové analýzy.



Obr. 7 – Analýza SEM/EDX vrstvy CaTiO_3 na texturovaném titanovém substrátu

Prvek	Hmotnostní %
C	2,82
O	42,67
Al	36,35
Ca	5,57
Ti	48,93

Tabulka 8: Hmotnostní procenta obsažených prvků na texturovaném titanovém substrátu

3.4 XRD

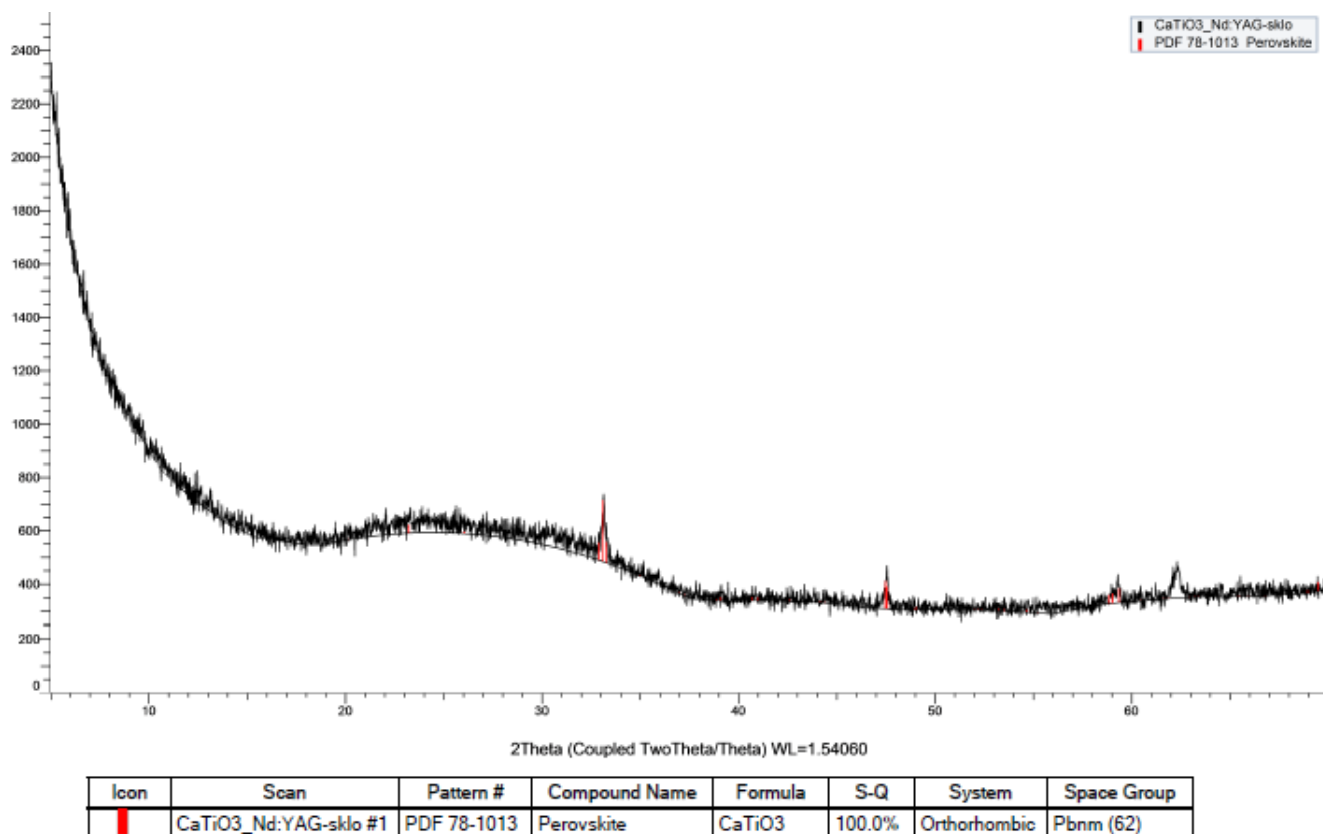
3.4.1 Základní informace o měřícím zařízení

Rentgenová difrakce byla provedena na difraktometru Bruker D8 Discover, který je vybaven lineárním LynxEye detektorem a fokusovacím germaniovým primárním monochromátorem typu Johansson. Fáze byly identifikovány pomocí softwaru Diffrac.Eva v4.5.0 (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Německo; 2010–2018).

3.4.2 XRD analýza

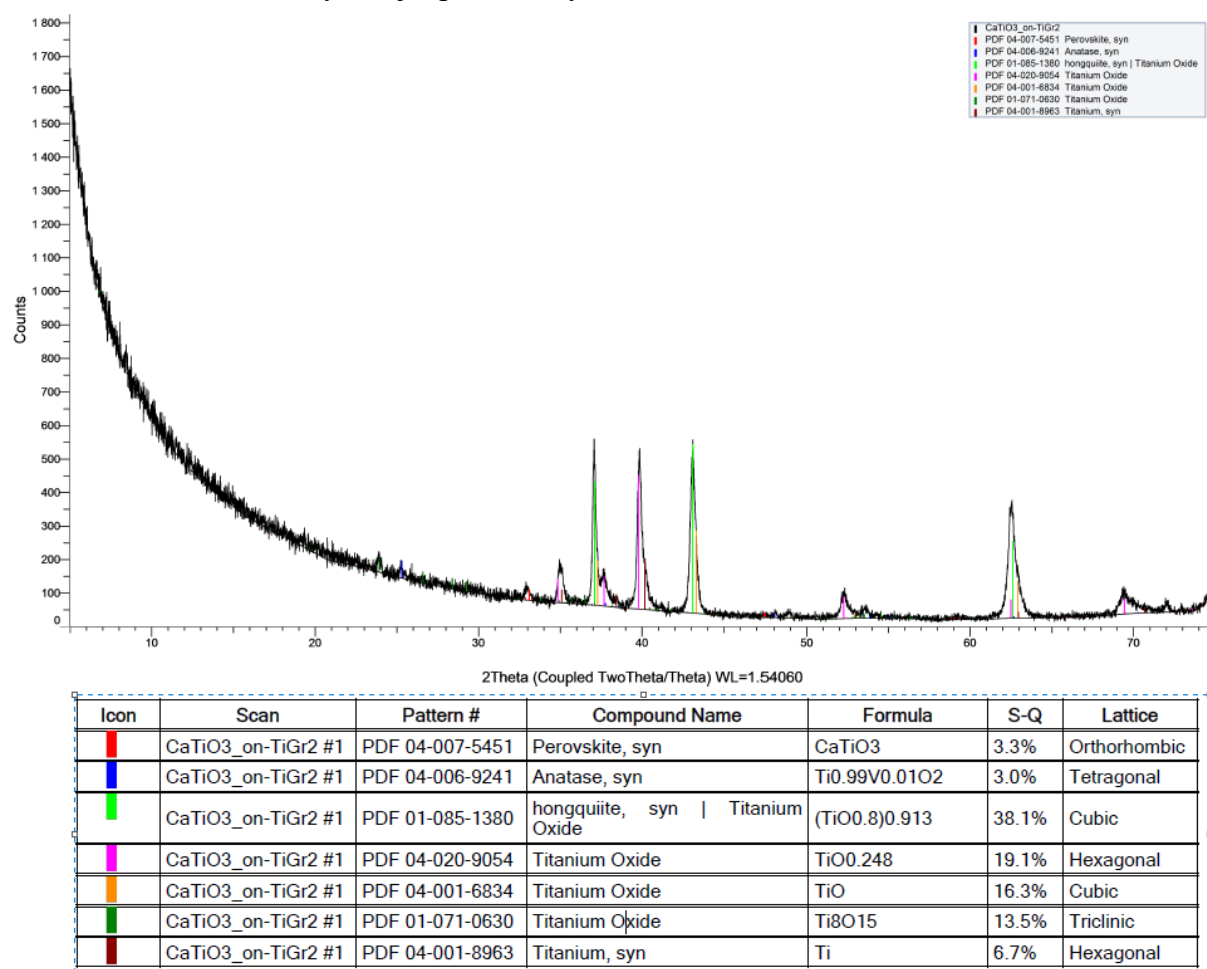
XRD analýza byla naměřena panem Mgr. Petrem Mikyskem z Geologického ústavu AV ČR.

Na přiloženém obrázku 8 je XRD spektrum CaTiO_3 deponovaného na sklo. Z této analýzy je zřejmé, že po depozici ve vakuu vzniká na povrchu substrátu tenká vrstva z částic titanátu vápenatého s orthorombickou krystalickou mřížkou (viz tabulka v obr. 8).



Obr. 8 - XRD analýza CaTiO_3 na skle

Na obr. 9 je zobrazeno spektrum XRD analýzy CaTiO_3 na texturovaném titanovém substrátu. Z tohoto spektra je patrná přítomnost krystalického titanátu vápenatého na povrchu substrátu. Další fáze, které toto spektrum zobrazuje jsou oxidy titanu, které se nachází pod deponovanou tenkou vrstvou. Přítomnost krystalického CaTiO_3 v deponovaných částicích dokazuje, že během termodynamicky nerovnovážných stavů pulsní laserové ablace nedochází k výrazné amorfizaci CaTiO_3 . Krystalické fáze bioaktivních materiálů vykazují zpravidla vyšší bioaktivitu.



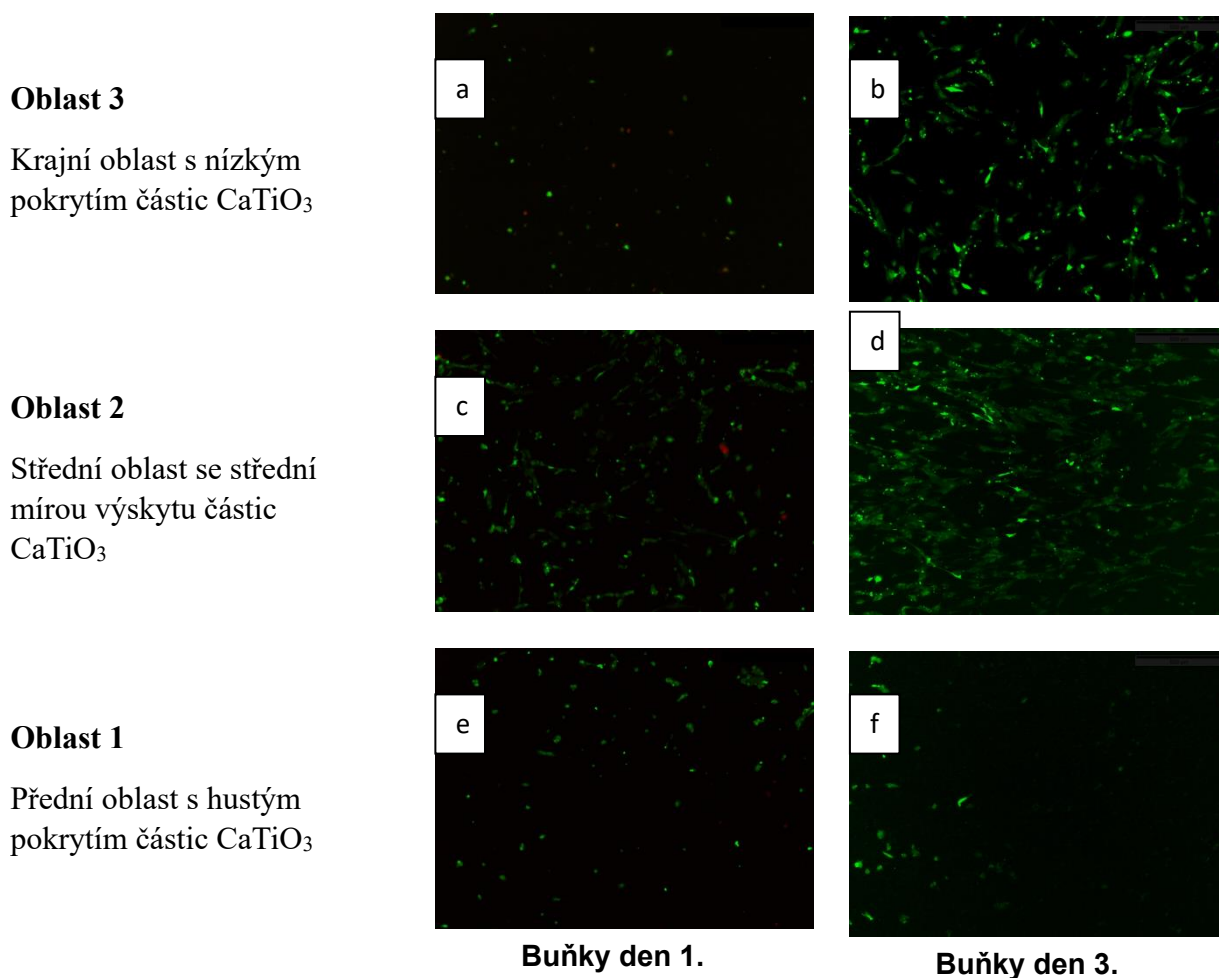
Obr. 9 - XRD analýza CaTiO_3 na texturovaném titanovém substrátu

3.5 Buněčná aktivita

Buněčná aktivita byla analyzována paní Theresia Stich z Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie Regensburg, Experimentelle Unfallchirurgie.

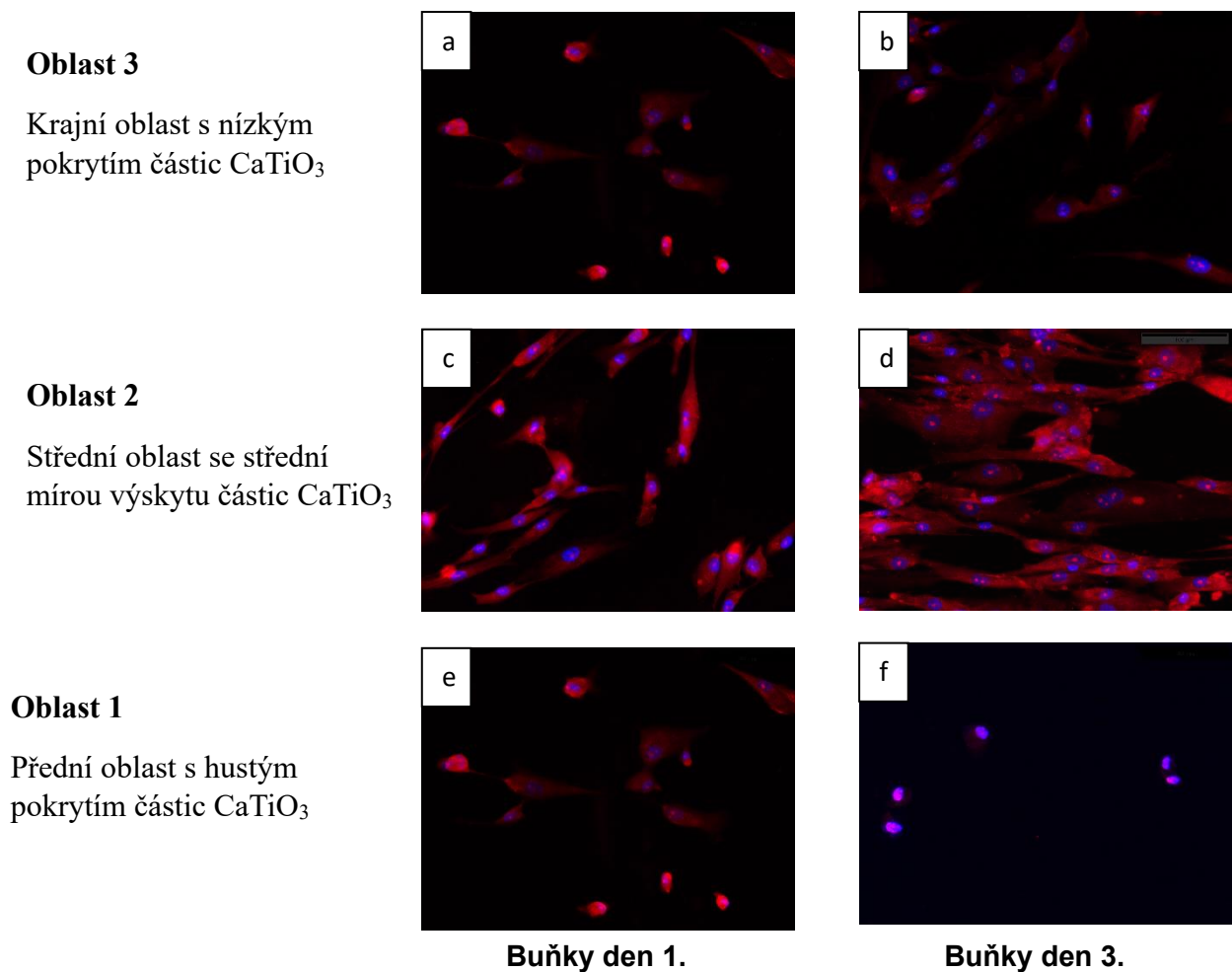
Při testování buněčné aktivity byl substrát rozdělen na tři oblasti s různou mírou pokrytí částic CaTiO_3 . Zelená barva na snímcích znázorňuje živé buňky a červená barva znázorňuje buňky zemřelé. Obr. 10 znázorňuje výsledky testů buněčné aktivity po prvním a po třetím dni. Z porovnání je patrné, že nejvíce živých buněk se vyskytuje v oblasti se střední mírou pokrytí částic CaTiO_3 . Z tohoto výsledku je zřejmé, že nejvhodnější oblastí pro růst kostních buněk je právě střední oblast se střední mírou výskytu částic.

V krajní oblasti s nízkým výskytem částic CaTiO_3 je vyšší výskyt živých buněk než u přední oblasti s hustým výskytem CaTiO_3 . Z tohoto je zřejmé, že kostním buňkám nevyhovuje souvislá tenká vrstva CaTiO_3 v přední oblasti.



Obr. 10 – **Analýza buněčná aktivita:** a – oblast 3 den první, b – oblast 3 den třetí, c – oblast 2 den první, d – oblast 2 den třetí, e – oblast 1 den první, f – oblast 1 den třetí

Na obr. 11 jsou zobrazeny 20x přiblížené oblasti s různou mírou pokrytí s částicemi CaTiO_3 . Modře jsou zobrazena buněčná jádra a červeně jsou zobrazena aktinová vlákna. Na obrázcích 11a a 11b si můžeme všimnout malého výskytu buněk a malého růstu buněk během 3 dní. Na obrázcích 11c a 11d je dobře viditelné, že oblast se střední mírou výskytu částic CaTiO_3 je nejlepší oblast pro růst a vývoj kostních buněk. Na obrázcích 11e a 11f si můžeme všimnout minimálního výskytu buněk a minimálního růstu.



Obr. 11 – Analýza buněčné aktivity 20x přiblížené: a – oblast 3 den první, b – oblast 3 den třetí, c – oblast 2 den první, d – oblast 2 den třetí, e – oblast 1 den první, f – oblast 1 den třetí

4 Závěr

Titanové slitiny jsou v současnosti považovány za nejvhodnější materiály pro kostní náhrady. Tyto slitiny vynikají vhodným poměrem mezi nízkou hustotou a vysokou pevností, mají také vhodnější tuhost než stále ještě nepoužívanější slitiny kobaltu. Povrch Ti slitin je bioinertní a mnoho studií se věnuje snaze zvýšit bioaktivitu Ti povrchů, aby docházelo k lepšímu včlenění kosti do implantátu

Tato bakalářská práce se věnuje zvýšení bioaktivity titanových povrchů pomocí pulsní laserové ablace CaTiO_3 . V rámci experimentální práce jsem provedla pulsní laserovou depozicí titanátu vápenatého na hladký a texturovaný titanový povrch. V experimentální části jsem charakterizovala deponovaný materiál pomocí výsledků z analytických metod (SEM/EDX, XRD). Pomocí analýzy SEM/EDX byla zjištěna velikost částic CaTiO_3 , která se pohybuje v rozmezí od jednotek nm až po desítky μm . Částice jsou globulární a pórovité, tato struktura je vhodná pro růst kostních buněk. Analýzou XRD byla zjištěna přítomnost CaTiO_3 na povrchu substrátu, což dokazuje zachování bioaktivní krystalické struktury CaTiO_3 při laserové depozici. Důležitou charakteristikou deponovaného materiálu je analýza buněčné aktivity. Překvapivě není nejlepší oblastí pro vývoj a růst nových kostních buněk oblast s hustou mírou pokrytí částic titanátu vápenatého. Nejvhodnější oblastí pro buňky je oblast se střední mírou výskytu částic titanátu vápenatého.

Výzkum a vývoj biomateriálu je důležitou součástí mnoha vědeckých oborů. Je důležité se snažit vytvořit takové materiály, které dokonale nahradí části lidského těla a nevyvolají nežádoucí reakce lidského organismu.

Tuto práci podpořil projekt n. 201 "Pokročilé porézní biomateriály funkcionalizované kmenovými buňkami pro zvýšení osseointegrace implantátů: MATEGRA " realizovaný v rámci Programu IN-TERREG V-A: Přeshraniční spolupráce mezi Českou republikou a Spolkovou republikou Německo, Bavorsko, evropský cíl: přeshraniční spolupráce 2014–2020.

5 Resumé

Tato bakalářská práce se zabývá pulsní laserovou depozicí titanátu vápenatého na titanové povrchy. Teoretická část obsahuje zmapování současného stavu v oblasti implantačních materiálů. Dále je v teoretické části stručně popsán princip laseru a pulsní laserové ablace. Na závěr teoretické části jsou charakterizovány analytické metody použité v experimentální části bakalářské práce. Cílem experimentální části je vytvoření bioaktivní vrstvy mikro/nanočástic na bázi CaTiO_3 na hladkém a texturovaném povrchu pomocí laserové ablace. V další části je charakterizován laserově deponovaný materiál pomocí SEM/EDX a XRD. Na závěr je shrnuta analýza buněčné aktivity mikro/nanočástic CaTiO_3 .

Klíčová slova

Biomateriály, titan, slitiny titanu, titanát vápenatý, pulsní laserová depozice, buněčná aktivita

Resumé

This bachelor thesis is focused on pulsed laser deposition of calcium titanate onto titanium surfaces. Theoretical part includes summary of the state of art in the field of implant materials. Moreover, theoretical part continues with brief description of laser basics and laser ablation. In the end of the theoretical part analytical methods used in this work are characterized. The aim of the experimental part consists in formation of bioactive micro/nanosized coat based on CaTiO_3 on smooth and textured titanium surfaces using laser ablation. Deposited materials are characterized with SEM/EDX and XRD. In conclusion testing of cell activity of ablatively prepared CaTiO_3 micro/nanoparticles has been described.

Keywords

Biomaterials, titanium, titanium alloys, calcium titanate, pulsed laser deposition, cell activity

6 Seznam použité literatury

1. WINKLER, T., F. A. SASS, G. N. DUDA a K. SCHMIDT-BLEEK. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone & Joint Research* [online]. 2018, 7(3), 232-243 DOI: 10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R1.
2. PARK, Joon Bu a Roderic S. LAKES. *Biomaterials: an introduction*. 3rd ed. New York: Springer, c2007. ISBN 978-0-387-.
3. HENESS, Greg a Besim BEN-NISSAN. Innovative bioceramics. Institute of Materials Engineering Australasia Ltd. 2004, vol. 27, pp. 104-114.
4. DAVIS, J. R. *Handbook of materials for medical devices*. Materials Park, OH: ASM International, c2003. ISBN 087170790X.
5. Kolektiv VŠCHT. *Slovník chemických pojmů* [online]. Praha, 2014. Dostupné také z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-007/chemicky_slovník.pdf
6. PARK, Joon Bu a Joseph D. BRONZINO. *Biomaterials: principles and applications*. Boca Raton: CRC Press, c2002. ISBN 0-8493-1491-7.
7. RAGHAVENDRA, Gowdolla Malegowd, Kokkarachedu VARAPRASAD a Tippabattini JAYARAMUDU. Biomaterials. *Nanotechnology Applications for Tissue Engineering* [online]. Elsevier, 2015, 2015, s. 21-44 [cit. 2020-01-09]. DOI: 10.1016/B978-0-323-32889-0.00002-9. ISBN 9780323328890. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323328890000029>
8. CHEN, Qizhi a George THOUAS. *Biomaterials: a basic introduction*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, [2015]. ISBN 148222769X.
9. Calcium Titanate. *Wikipedia, the free encyclopedia* [online]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Calcium_titanate
10. OHTSU, Naofumi, Kenji SATO, Aya YANAGAWA, et al. ATiO₃ coating on titanium for biomaterial application—Optimum thickness and tissue response. *Journal of biomedical materials research*. 2006, , 305-315. DOI: 10.1002/jbm.a.31136.
11. Příspěvatelé WikiSkript, *Laser* [online], , c2020, Datum poslední revize 19. 06. 2020, 12:48 UTC, [citováno 21. 07. 2020] <<https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Laser&oldid=439559>>

12. JELÍNEK, Miroslav. *Laserová depozice tenkých vrstev* [online]. In: . České vysoké učení technické v Praze: Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, 2005. Dostupné z: <https://portal.cvut.cz/wp-content/uploads/2017/04/HP2005-24.pdf>
13. KOPECKÝ, Dušan, Martin VRŇATA a Jitka KOPECKÁ. LASEREM INDUKOVANÁ DEPOZICE ORGANICKÝCH MATERIÁLŮ. *Chemické listy*. 2015, **2015**(109), 183–190.
14. SKOOG, Douglas A., F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Principles of instrumental analysis*. Seventh edition. Australia: Cengage Learning, [2018]. ISBN 978-1-305-57721-3.
15. Energiově disperzní spektrometrie (EDS). *MATCA* [online]. © 2020. Dostupné z: <https://matca.cz/technologie/analyticke-metody/eds/>
16. PALA, Zdeněk a Andrea ŠTĚPÁNKOVÁ. *Rentgenová difrakce pomáhá poznávat materiály a struktury* [online]. In: . Dostupné z: <https://jaderka.fjfi.cvut.cz/uploaded/files/ptrtgkipl.pdf>
17. Q-Smart. *OptiXs* [online]. © 2020. Dostupné z: <https://www.optixs.cz/lasery-28k/pulsni-lasery-52k/q-smart-58p#parametry>
18. ŠORM, Martin. *Pulsní laserová depozice nanostrukturovaných biomateriálů na bázi titanu a hydroxyapatitu*. Plzeň, 2015. Diplomová práce. ZČU. Vedoucí práce doc. Ing. Tomáš Křenek, Ph.D.