

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA STROJNÍ

Studijní program: N0715A270014 - Materiálové inženýrství
a výrobní technologie

Studijní specializace: Bez specializace

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Sklo-keramické porézní kostní náhrady na bázi fosforečnanu
vápenatého**

Autor: Bc. Kamila DOLEŽALOVÁ

Vedoucí práce: Ing. Tomáš Kovářik, Ph.D.

Akademický rok 2021/2022

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta strojní

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Kamila DOLEŽALOVÁ**
Osobní číslo: **S19N0130P**
Studijní program: **N0715A270014 Materiálové inženýrství a výrobní technologie**
Téma práce: **Sklo-keramické porézní kostní náhrady na bázi fosforečnanu vápenatého**
Zadávací katedra: **Katedra materiálu a strojírenské metalurgie**

Zásady pro vypracování

1. Úvod do biokeramiky
2. Porézní keramické materiály
3. Fosforečnan vápenatý
 - 3.1. Chemicko-fyzikální vlastnosti, struktura a použití
 - 3.2. Využití v lékařství
4. Motivace
5. Praktická část
 - 5.1. Chemikálie a vstupní suroviny
 - 5.2. Experiment
 - 5.3. Charakterizace
6. Závěr a diskuze

Rozsah diplomové práce: **50-60 stran**
Rozsah grafických prací: **fotodokumentace, obrázky**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

BESIM, Ben-Nissan. *Advances in Calcium Phosphate Biomaterials*, Springer Berlin Heidelberg (2014).
doi: 10.1007/978-3-642-53980-0.

HABRAKEN, Wouter. et al. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? *Materials Today* .2016, 19, 2. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2015.10.008>.

ELIAZ, Noam, METOKI, Noah. Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials* 2017, 10, 334. <https://doi.org/10.3390/ma10040334>.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Tomáš Kovářik, Ph.D.**
Katedra materiálu a strojírenské metalurgie

Konzultant diplomové práce: **Doc. Ing. Petr Duchek, CSc.**
Katedra materiálu a strojírenské metalurgie

Datum zadání diplomové práce: **15. října 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **27. května 2022**

L.S.

Doc. Ing. Milan Edl, Ph.D.
děkan

Ing. Josef Odehnal, Ph.D.
vedoucí katedry

Prohlášení o autorství

Předkládám tímto k posouzení a obhajobě diplomovou práci zpracovanou na závěr studia na Fakultě strojní Západočeské univerzity v Plzni.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a pramenů uvedených v seznamu, který je součástí této diplomové práce.

V Plzni dne:

.....
podpis autora

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucímu práce panu Ing. Tomáši Kováříkovi, Ph.D. za cenné rady, vedení a pomoc při zpracování této práce. Dále děkuji pracovníkům z CPB NCT za pomoc při přípravě experimentálního materiálu a provádění analytických hodnocení. Paní Ing. Věře Jandové, Ph.D. z ÚCHP AV ČR tímto děkuji za provedení analýzy XRD a panu Ing. Zdeňku Tišlerovi Ph.D za provedení porozimetrie v rámci projektu “Katalytické procesy pro efektivní využití uhlíkatých energetických surovin” (kód projektu LM2018119) finančně podpořeným Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky z prostředků účelové podpory velkých infrastruktur.

ANOTAČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

AUTOR	Příjmení Bc. Doležalová	Jméno Kamila	
STUDIJNÍ OBOR	N0715A270014 - Materiálové inženýrství a výrobní technologie		
VEDOUcí PRÁCE	Příjmení (včetně titulů) Ing. Kovářík, Ph.D.	Jméno Tomáš	
PRACOVISŤE	ZČU - FST -KMM		
DRUH PRÁCE	DIPLOMOVÁ	BAKALÁŘSKÁ	Nehodící se škrtněte
NÁZEV PRÁCE	Sklo-keramické porézní kostní náhrady na bázi fosforečnanu vápenatého		

FAKULTA	strojní	KATEDRA	KMM	ROK ODEVZD.	2022
----------------	---------	----------------	-----	--------------------	------

POČET STRAN (A4 a ekvivalentů A4)

CELKEM	54	TEXTOVÁ ČÁST	54	GRAFICKÁ ČÁST	-
---------------	----	---------------------	----	----------------------	---

STRUČNÝ POPIS	Diplomová práce je rozdělena na teoretickou a experimentální část. Teoretická část zahrnuje popis keramických biomateriálů se zaměřením na porézní keramické materiály, jejich vlastnosti a techniky výroby. Jsou zde popsány druhy fosforečnanu vápenatého, jejich chemicko-fyzikální vlastnosti a využití v lékařství. Experimentální část obsahuje metodiku přípravy sklokeramického porézního substrátu modifikovaného fosforečnanem vápenatým. Chemicko-fyzikální vlastnosti připraveného porézního materiálu jsou popsány a diskutovány na základě výsledků analytických metod, jakými jsou reometrie, TMA, TGA, SEM, XRD, XRF, mechanické testování a MIP.
KLÍČOVÁ SLOVA	porézní keramika, kostní náhrady, fosforečnan vápenatý, napěňování geopolymerní matrice, β -TCP

SUMMARY OF DIPLOMA (BACHELOR) SHEET

AUTHOR	Surname Bc. Doležalová	Name Kamila	
FIELD OF STUDY	N0715A270014 - Material Science and Manufacturing Technology		
SUPERVISOR	Surname (Inclusive of Degrees) Ing. Kovářik, Ph.D.	Name Tomáš	
INSTITUTION	ZČU – FST - KMM		
TYPE OF WORK	DIPLOMA	BACHELOR	Delete when not applicable
TITLE OF THE WORK	Porous glass-ceramics bone tissue scaffolds based on calcium phosphate.		

FACULTY	Mechanical Engineering	DEPARTMENT	KMM	SUBMITTED IN	2022
----------------	------------------------	-------------------	-----	---------------------	------

NUMBER OF PAGES (A4 and eq. A4)

TOTALLY	54	TEXT PART	54	GRAPHICAL PART	-
----------------	----	------------------	----	-----------------------	---

BRIEF DESCRIPTION	<p>The diploma thesis is divided into the theoretical and experimental parts. The theoretical part contains the description of ceramic biomaterials, with a focus on porous ceramic materials, their properties and manufacturing techniques. The types of calcium phosphate, their chemical-physical properties and their use in medicine are described here. The experimental part comprises the methodology of the preparation of glass-ceramic porous substrate modified with calcium phosphate. Chemical-physical properties of the prepared porous material are described and discussed using analytical methods such as rheometry, TMA, TGA, SEM, XRD, XRF, mechanical testing and MIP.</p>
KEY WORDS	Porous ceramic, bone tissue scaffold, calcium phosphate, foaming of geopolymer matrix, β -TCP

Obsah

Seznam použitých zkratk	9
Seznam obrázků	10
Seznam tabulek	10
Úvod	11
1 Biokeramika	12
1.1 Definice biomateriálů	12
1.2 Definice biokeramiky	12
1.3 Bioinertní keramika	13
1.3.1 Alumina	14
1.3.2 Zirkonia	14
1.3.3 Pyrolytický uhlík	15
1.4 Bioaktivní keramika	15
1.4.1 Bioaktivní skla a sklo-keramika	16
1.5 Bioesorbovatelná keramika	17
2 Porézní keramické materiály	18
2.1 Vlastnosti a chemické složení kosti	18
2.2 Charakterizace porézní keramiky	19
2.3 Požadavky na porézní keramické materiály pro medicínské účely	20
2.4 Techniky výroby	20
2.4.1 Přímé pění	20
2.4.2 Konsolidace škrobu	21
2.4.3 Metoda vypalování organické fáze	22
2.4.4 Metoda repliky polymerní pěny	22
2.4.5 Rapid prototyping	23
2.4.6 Techniky napěňování geopolymerních matric	23
3 Fosforečnan vápenatý	25
3.1 Chemicko-fyzikální vlastnosti, struktura a použití	25
3.1.1 Dihydrogenfosforečnan vápenatý monohydrát (MCMP)	26
3.1.2 Hydrogen fosforečnan vápenatý (DCPA, DCPD)	26
3.1.3 Bis(hydrogenfosforečnan)tetrakis(fosforečnan) oktavápenatý pentahydrát (OCP)	27
3.1.4 Fosforečnan vápenatý (TCP)	27
3.1.5 Amorfni fosforečnan vápenatý (ACP)	28
3.1.6 Hydroxyapatit s deficitem vápníku CDHA	29
3.1.7 Hydroxyapatit	29
3.1.8 Bisfosforečnan-oxid tetravápenatý (TTCP)	30
3.2 Využití v lékařské praxi	31
4 Analytické metody v experimentálním programu	32
4.1 Měření chemického a fázového složení	32
4.2 Měření viskozity	32
4.3 Hodnocené morfologie	33

4.4	Termická analýza	33
4.5	Rtuťová intruzní porozimetrie.....	34
5	Motivace experimentálního programu.....	35
6	Experimentální program	36
6.1	Chemikálie a vstupní suroviny	36
6.2	Příprava porézního materiálu	36
6.3	Charakterizace geopolymerních částic	37
6.3.1	Reometrie.....	37
6.3.2	Hodnocení povrchové morfologie	38
6.3.3	Tepelné zpracování a termické vlastnosti	40
6.3.4	Hodnocení morfologie a porozity SEM	43
6.3.5	Analýza fázového složení	44
6.3.6	Hodnocení porozity – rtuťová porozimetrie	46
6.3.7	Hodnocení mechanických vlastností.....	46
7	Diskuse výsledků	48
	Závěr.....	50
	Reference.....	51

Seznam použitých zkratk

DDS	Drug Delivery Systems - systémy cíleného podání léků
PSZ	Partially Stabilized Zirkonia - částečně stabilizovaný oxid zirkoničitý
Y-TZP	Yttrium-Tetragonal Zirconia Polycrystals - Yttriem stabilizovaný tetragonální oxid zirkoničitý
I _B	Index bioaktivity
BCP	Dvoufázový fosforečnan vápenatý
TCP	Trikalciumfosfát
SLA	Stereolitografie
SLS	Selective laser sintering
MCPM	Dihydrogenfosforečnan vápenatý monohydrát
DCPA	Hydrogenfosforečnan vápenatý
DCPD	Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát
OCP	Bis(hydrogenfosforečnan)tetrakis (fosforeč-nan) oktavápenatý pentahydrát
α-TCP	α-fosforečnan vápenatý
β-TCP	β-fosforečnan vápenatý
ACP	Amorfní fosforečnan vápenatý
CDHA	Hydroxyapatit s deficitem vápníku
HA	Hydroxyapatit
TTCP	Bisfosforečnan-oxid tetravápenatý
CaP	Fosforečnan vápenatý (obecné označení)
XRF	X-ray fluorescence - Rentgenová fluorescenční spektrometrie
XRD	X-ray crystallography - Rentgenová krystalografie
SEM	Skenovací Elektronové Mikroskopy
TMA	Termomechanická Analýza
TGA	Termogravimetrická Analýza
MIP	Mercury Intrusion Porosimetry - Rtuťová intruzní porozimetrie
MK	Metakaolin
FS	Fumed Silica – amorfní oxid křemičitý
PTFE	Polytetrafluoretylen

Seznam obrázků

Obrázek 1 Dentální implantáty z polykrystalické aluminu	14
Obrázek 2 Femorální hlavice a vložka z kompozitu oxidu hlinitého a oxidu zirkoničitého	15
Obrázek 3 Umělý kloub pro náhradu kloubu prstů ruky s povlakem z pyrolytického uhlíku.....	15
Obrázek 4 Umělá srdeční chlopeč s povlakem z pyrolytického uhlíku	15
Obrázek 5 Diagram chemické složení pro vytvoření vazby na kost	17
Obrázek 6 Hierarchická struktura kosti.....	19
Obrázek 7 Příklady morfologie porézní keramiky: a) honeycomb; b) morfologie s otevřenými póry; c) bublinková morfologie s uzavřenými póry	19
Obrázek 8 Schematické znázornění výroby keramické pěny metodou repliky polymerní pěny.....	22
Obrázek 9 Krystalická struktura α -TCP a β -TCP.....	28
Obrázek 10 Schematické znázornění struktury HA	30
Obrázek 11 Schematické znázornění průběhu experimentálního a analytického programu diplomové práce	35
Obrázek 12 Schematické znázornění přípravy modifikovaných geopolymerních kuliček	37
Obrázek 13 Graf viskozity v závislosti na smykové rychlosti	38
Obrázek 14 a) graf termomechanické analýzy, b) snímky vzorku D3 před TMA a c) po TMA.....	41
Obrázek 15 a) graf termogravimetrické analýzy, b) snímky vzorků před TGA a c) po TGA.....	42
Obrázek 16 Vzorky D1 – D4 po tepelném zpracování.....	42
Obrázek 17 Fázové složení částic před tepelným zpracováním	45
Obrázek 18 Fázové složení částic po tepelném zpracování	45
Obrázek 19 Graf celkového intruzního objemu	46

Seznam tabulek

Tabulka 1 Příklad keramických biomateriálů	13
Tabulka 2 Typy fosforečnanu vápenatého	25
Tabulka 3 Chemické a fyzikální vlastnosti TCP	27
Tabulka 4 Chemické složení metakaolinu [hmot. %]	36
Tabulka 5 Chemické složení připravených D1 – D4 v hmot. %	37
Tabulka 6 Hodnoty viskozity při smykové rychlosti 100 s^{-1}	38
Tabulka 7 Makro snímky napěněných částic při zvětšení 20x a 50x.....	39
Tabulka 8 Snímky SEM	43
Tabulka 9 Rtuťová porozimetrie	46
Tabulka 10 Výsledné hodnoty zkoušky tlakem	47

Úvod

Biomateriály mají obrovský význam pro současnou medicínu a péči o pacienty. Prodlužování lidského věku spojené se stárnutím a degradací tkáně a orgánů, společně s pokroky medicíny, jsou jedny z hlavních příčin potřeby vyrábět a vyvíjet stále nové biomateriály. Tento fakt je také spojen s každoročním nárůstem provedených zákroků, týkajících se především standartních chirurgických a ortopedických operací zapříčiněných nemocí či úrazem, ale také rostoucí popularitou estetické medicíny.

Oblast výzkumu biomateriálů a zdravotních zařízení je zásadní pro všechnu zdravotní technologii. V současnosti jsou biomateriály zastoupeny mnoha druhy materiálů. Běžně jsou používány například ve formě kovových implantátů, polymerních šicích materiálů a keramických zubních náhrad. Cílem výzkumné činnosti biomateriálů je však vyvinout materiál, který se svými vlastnostmi a strukturou co nejdříve podobá přirozené tkáni.

Jedna z aplikací biomateriálů jsou tzv. „scaffoldy“ neboli kostní náhrady. Scaffoldy se nejčastěji využívají v případech, kdy dojde k poškození části kosti a musí být nahrazena. Pro výrobu scaffoldů lze použít mnoho druhů polymerních nebo keramických materiálů. V kosti se však přirozeně vyskytuje fosforečnan vápenatý, tvořící její minerální složku (cca 60 %). Jeho přítomnost v kostech byla objevena již v roce 1769. V 19. století poté začal být zkoumán syntetický fosforečnan vápenatý a jeho možné využití v medicínské praxi. Od té doby se objevily aplikace fosforečnanu vápenatého pro regeneraci kostní tkáně v podobě kostních cementů, implantátů a povlakovacích technologií, z nichž některé byly později zkomercializované a dnes jsou běžně užívány. Jelikož se fosforečnan vápenatý přirozeně vyskytuje v kostní tkáni, jeho využití jako biomateriálu přináší velké výhody [1] [2].

Cílem této diplomové práce je prozkoumat možnost přípravy vysoce porézního sklo-keramického materiálu na bázi Al-Si matrice, modifikované práškovým fosforečnanem vápenatým. Záměrem je připravit porézní anorganický kompozitní materiál, který svými chemicko-fyzikálními vlastnostmi splňuje parametry bioaktivního scaffoldu. V experimentálním programu budou připraveny čtyři druhy materiálu, které budou následně analyzovány s cílem charakterizace chemicko-fyzikálních vlastností.

1 Biokeramika

1.1 Definice biomateriálů

Materiály v přímém kontaktu s biologickým systémem (např. lidským tělem), sloužící k jeho částečnému nahrazení nebo zlepšení jeho funkce, se nazývají biomateriály. Základní vlastností biomateriálu je biokompatibilita. Biokompatibilita je schopnost materiálu vykonávat danou funkci v prostředí hostitele s vhodnou odezvou pro konkrétní aplikaci. Tyto materiály nesmí iritovat okolní struktury, vzněcovat abnormální zánětlivé reakce, způsobovat alergické reakce a nesmí působit karcinogenně na okolní tkáň. Pokud je biomateriál navržen tak, že bude biodegradovat v prostředí *in vivo*¹, produkty degradace nesmí být pro okolní tkáň toxické [3].

Biomateriály nacházejí uplatnění ve sféře protetiky, tkáňové regenerace, zdravotních zařízení a také zařízení pro cílené doručování a distribuci léčiv v lidském těle. Vhodnost materiálu pro konkrétní aplikaci je posuzována z hlediska kompatibility s hostitelskou tkání a požadovanou délkou strukturální integrity pro danou aplikaci. Nezbytné pro správné fungování a kompatibilitu implantátu jsou adekvátní mechanické vlastnosti (pevnost, tuhost, únavové vlastnosti), odpovídající hustota materiálu a optické vlastnosti (oftalmologie, dermatologie a stomatologie). Dále také možnost sterilizace, výrobitelnost a vhodný design implantátu. Úspěšnost implantátu však také závisí na faktorech, jakými je technika chirurga, kondice a zdravotní stav pacienta, rehabilitace a pacientova následná aktivita [3, 4].

Pro jednoduchý přehled o vlastnostech a použití materiálu se biomateriály dělí dle typu materiálu na:

- kovové,
- keramické,
- polymerní,
- kompozitní.

Dále lze biomateriály dělit podle interakce s živou tkání na:

- bioinertní – materiály téměř nereagující s okolní tkání, implantát je zapouzdřen a zachovává se jeho tvar a struktura (fibrointegrace), např. korozi-vzdorná ocel, slitiny titanu, alumina, polyethylen, ...,
- bioaktivní – materiál napodobující biologické funkce tkáně, tvoří přímé pevné vazby s okolní tkání (osteokonduktivita), např. hydroxyapatit, bioaktivní skla (Bioglass®), biopolymery, ...,
- bioreabsorbovatelné – materiál nahrazující část tkáně, který se v důsledku metabolických procesů následně rozkládá a je nahrazen regenerovanou tkání, např. trikalciumpfosfát, oxid vápenatý, uhličitán vápenatý, rozložitelné polymery... [5].

1.2 Definice biokeramiky

Keramické materiály jsou anorganické polykrystalické sloučeniny, tvořené různým podílem iontové a kovalentní vazby. Na rozdíl od kovových vazeb se elektrony v těchto vazbách nacházejí mezi jednotlivými ionty/atomy a nedochází k jejich volnému pohybu. Důsledkem je pro keramiku typická velmi špatná tepelná a elektrická vodivost, avšak dobrá

¹ *in vivo* – v živém organismu

korozní odolnost. Díky silné kovalentní a iontové vazbě je také keramika velmi tvrdá, křehká a citlivá na trhliny a defekty [6].

Biokeramika se přirozeně nachází v lidském těle v podobě kostí, zubů a další kalcifikované tkáně. Relativní inertnost vůči prostředí lidského těla, biokompatibilita, vysoká tvrdost a estetický vzhled vedou k použití biokeramiky v lékařské praxi. Biokeramika je používána nejčastěji pro rekonstrukce a regeneraci nemocných nebo poškozených částí kostní tkáně. Konkrétními příklady jsou dentální implantáty, povlaky kovových implantátů, výplně kostí, scaffolds (tkáňové nosiče) a otologické implantáty [5, 7].

Nevýhodou použití keramiky jsou její křehkost, relativně obtížná reprodukovatelnost výrobků v sérii, vysoká teplota slinování a vysoká cena dokončovacích procesů pro dodržení požadovaných tolerancí. Vlastnosti keramiky jsou silně závislé na mikrostruktuře a výrazně se mění i pouze s malými změnami v postupu přípravy. Typickými vadami při výrobě jsou nežádoucí porozita, mikrotrhliny, nehomogenní distribuce fází a přítomnost nečistot. Sloučeniny a fáze přítomné na hranicích zrn představují potenciálně nebezpečná místa, ve kterých mohou vznikat koncentrátoři napětí. Výskyt těchto oblastí vede ke zvýšenému riziku nebezpečného šíření trhliny a k tvorbě křehkého lomu [5, 7].

Rozdělení biokeramiky

Biokeramiku lze rozdělit dle interakce s živou tkání na bioinertní, bioaktivní a bioresorbovatelnou. Příklady biokeramiky používané v medicínské praxi jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1 Příklad keramických biomateriálů [5]

Interakce s tkání	Keramika	Chemický vzorec
Bioinertní	Alumina	Al_2O_3
	Zirkonia	ZrO_2
	Pyrolytický uhlík	C
Bioaktivní	Bioglass® - biosklo	$SiO_2-Na_2O-CaO-P_2O_5$
	Ceravit® - biosklo	$SiO_2-Na_2O-CaO-P_2O_5-MgO-K_2O$ + další
Bioresorbovatelné	Hydroxyapatit	$Ca_{10}O(PO_4)_6(OH)_2$
	Fosforečnan vápenatý	$Ca_3(PO_4)_2$

1.3 Bioinertní keramika

Bioinertní keramika je biokompatibilní materiál, který vykazuje pouze minimální interakce s hostitelskou tkání. Materiál po implantaci zachovává své mechanické a strukturní vlastnosti a dochází k jeho fibrointegraci². Nejběžněji používanými materiály je oxid hlinitý (alumina), oxid zirkoničitý (zirkonia) a jednofázový kalcium aluminum-silikát. Kromě těchto materiálů je také používán pyrolytický uhlík pro aplikace, kde dochází ke styku s krví nebo jako vlákno pro kompozitní materiály [5].

Zásadními vlastnostmi těchto materiálů je vysoká pevnost, tvrdost, biokompatibilita, korozní odolnost a vysoká odolnost proti opotřebení. Nevýhodou použití bioinertní keramiky je její křehkost a nízká tažnost. Mezi keramickými biomateriály má keramika na bázi oxidu hlinitého nejlepší mechanické vlastnosti, avšak tažnost má stále nižší než kovové biomateriály.

² vytvoření tenké vrstvy vaziva mezi implantátem a ostatní tkání

I přesto, že jsou tyto materiály biokompatibilní, organismus může reagovat s povrchem implantátu řadou biochemických procesů. Výsledkem může být pokrytí implantátu kolagenovými vlákny, která mohou časem způsobit i selhání implantátu. Nicméně u typických aplikací bioinertní keramiky se tato reakce nepovažuje za problém [5, 6].

1.3.1 Alumina

Alumina (Al_2O_3) používaná v lékařství musí obsahovat alespoň 99,5 % Al_2O_3 s požadavkem na obsah křemičitých a alkalických oxidů nižší než 0,1 %. Nejčastěji je využívána polykrystalická alumina, jejíž mechanické vlastnosti jsou závislé hlavně na čistotě, velikosti zrna a porozitě. Pro dentální aplikace je možné využít také monokrystalickou aluminu, avšak v dnešní době je často nahrazována kompozitními materiály [5].

Nejčastějším způsobem výroby materiálů na bázi oxidu hlinitého je slinování v teplotním rozmezí 1600 – 1700 °C. Při výrobě se používá malé množství oxidu hořečnatého (<0,5 % MgO). Vzniká hlinitan hořečnatý (MgAl_2O_4), který limituje velikost zrna výsledného materiálu. Standardně je používána alumina s velmi jemným zrnem <4 μm a modulem elasticity 380 GPa. Větší velikostí zrna dochází ke zhoršení mechanických vlastností, při výrobě je tedy třeba důkladné kontroly výrobního procesu [5].

Alumina může být využita pro hlavice a jamky endoprotéz kyčelního a kolenního kloubu, zubní implantáty (obrázek 1), zubní korunky, implantáty středoušní kůstky, ventilační trubice, sterilizační zařízení a tzv. „DDS - Drug Delivery Systems“ (systémy cíleného podání léků) [5].



Obrázek 1 Dentální implantáty z polykrystalické aluminu [8]

1.3.2 Zirkonia

Oxid zirkoničitý (ZrO_2) neboli zirkonia je polymorfní materiál, který při vysokých teplotách prochází výraznými objemovými změnami. Při teplotě 1170 °C dochází k fázové transformaci monoklinické krystalové struktury na tetragonální. Tato transformace je doprovázena smrštěním přibližně 5 %. K další fázové transformaci dochází při teplotě 2370 °C. Tetragonální krystalová struktura se mění na stabilní kubickou. Oxid křemičitý se z důvodu vysoké teploty potřebné pro stabilizaci krystalové struktury používá ve stavu částečné stabilizace (Partially Stabilized Zirkonia – PSZ). Pro částečnou stabilizaci oxidu zirkoničitého za nižší teploty se používá přibližně 6 mol% oxidu yttritího (Y_2O_3). Pro stejný účel mohou být použity také oxid vápenatý (CaO) nebo oxid hořečnatý (MgO) [3, 5].

Pro biomedicínské využití se nejčastěji používá Yttriem stabilizovaný tetragonální oxid zirkoničitý (Yttrium-Tetragonal Zirconia Polycrystals – Y-TZP). Y-TZP má téměř dvakrát lepší vrubovou houževnatost a pevnost než alumina. Díky výtečné biokompatibilitě a otěruvzdornosti je keramika na bázi oxidu zirkoničitého vhodná pro výrobu femorálních hlavice endoprotéz (obrázek 2) a náhrad meziobratlových plotének. Při správné implantaci je výsledná životnost implantátu závislá především na kvalitě výroby a následně na aktivitě příjemce [3, 5].



Obrázek 2 Femorální hlavice a vložka z kompozitu oxidu hlinitého a oxidu zirkoničitého [9]

1.3.3 Pyrolytický uhlík

Pyrolytický uhlík je biokompatibilní bioinertní materiál, který lze připravit termální dekompozicí uhlovodíků (metan, propan, ethylen, ...) bez přítomnosti kyslíku. Pyrolytický uhlík má dobrou pevnost, odolnost proti otěru a trvanlivost. Velmi významnou vlastností je odolnost proti koagulaci (srážení krve) na rozhraní povrchu materiálu a tkáně. Díky těmto vlastnostem nachází uplatnění jako povlakovací materiál při výrobě umělých srdečních chlopní (obrázek 3), malých kloubů (obrázek 4) nebo meziobratlových plotének [5].



Obrázek 3 Umělá srdeční chlopeň s povlakem z pyrolytického uhlíku [10]



Obrázek 4 Umělý kloub pro náhradu kloubu prstů ruky s povlakem z pyrolytického uhlíku [11]

1.4 Bioaktivní keramika

Bioaktivní keramika je schopna v závislosti na čase tvořit po implantaci přímou pevnou vazbu s okolní tkání, aniž by došlo ke vzniku vazivové vrstvy jako u bioinertní keramiky. Okolní tkáň je také schopna prorůstat do pórů a velmi pevně fixovat implantát. Schopnost vytvoření pevné vazby mezi implantátem a tkání je dána indexem bioaktivity, který je definován jako čas nutný pro vytvoření chemické vazby na alespoň 50 % povrchu materiálu. Na základě indexu bioaktivity (I_B) mohou být bioaktivní materiály klasifikovány do dvou skupin:

- A třída – $I_B > 8$, materiál, který se chová nejen jako matrice umožňující růst kosti (osteokonduktivita), ale také zvyšuje proliferaci kostních buněk, takovýto materiál je nazýván osteoproduktivní, vyvolává extra- a intracelulární odpověď na rozhraní materiálu,
- B třída – $8 > I_B > 0$, materiál, který se chová pouze osteokonduktivně, vyvolává pouze extracelulární odpověď [5].

Materiály třídy B jsou schopné navázat spojení pouze s tvrdou tkání. Aby byl biomateriál třídy B považován za osteokonduktivní, musí být opatřen růstovými proteiny, které diferencují prekurzory kostní tkáně na osteogenní buňky, tím způsobují množení kostních buněk a růst kosti. Osteoproduktivní materiály způsobují rychlejší tvorbu matrice z již vzniklých kostních buněk, zvyšují rychlost proliferace existujících osteoprogenitorních buněk, ale nezpůsobují diferenciaci prekurzorové kostní buňky na osteogenní [5].

Nejběžnějšími zástupci bioaktivní keramiky jsou fosforečnan vápenatý, bioaktivní skla a sklokeramické biomateriály. Tyto materiály jsou vyráběny ve formě prášku, porézní struktury, husté struktury, injektovatelné směsi nebo jako povlaky na substrátech. Mají výtečnou biokompatibilitu, ale mechanické vlastnosti mají v porovnání s bioinertní keramikou horší [5].

Nejčastěji se tyto materiály využívají jako povlaky kovových implantátů, pro výplně kostních defektů při nemocech, projevujících se úbytkem kostní tkáně, pro rekonstrukce zubních defektů nebo jako náhrady středoušních kůstek [4, 5].

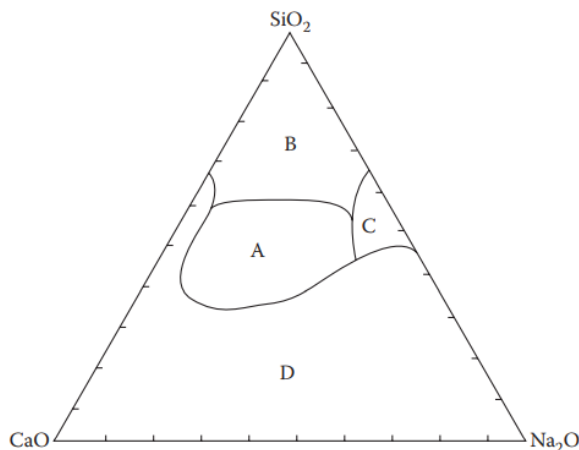
1.4.1 Bioaktivní skla a sklo-keramika

Základem bioaktivního skla je oxid křemičitý (SiO_2), jehož podíl je < 60 hmot. %. Dalšími složkami jsou Na_2O , CaO , a P_2O_5 . Většina bioaktivních skel je vyráběna ve složení 45S5, kde 45 reprezentuje 45 hmot.% SiO_2 a 5 představuje molární podíl Ca a P 5:1. Oxid fosforečný způsobuje vysokou bioaktivitu skla. Příkladem je materiál 45S4 Bioglass®, který patří dle bioaktivity do třídy A s $I_B = 12,5$. Při použití nižšího podílu Ca a P nedochází k vytvoření dobré vazby s kostní tkání. Vytvoření vazby lze také zabránit přidáním 3 hmot. % Al_2O_3 do 45S5 [5].

Pro výrobu polykrystalické sklo-keramiky se používá proces kontrolované krystalizace skla. Formování sklo-keramiky je ovlivněno nukleací a růstem malých krystalů ($< 1 \mu\text{m}$ průměr). Pro dosažení této mikrostruktury jsou přidávána malá množství Cu, Ag, Au, Pt, TiO_2 , ZrO_2 nebo P_2O_5 . Nukleace probíhá za teplot mnohem nižších, než je teplota tavení. Během procesu se dynamická viskozita taveniny udržuje v rozmezí 10^{11} až 10^{12} Poise po dobu 1 - 2 hodin. Pro získání větší frakce mikrokystalů je materiál dále zahříván na odpovídající teplotu pro maximální růst krystalů. Krystalizace je obvykle vyšší než 90 % s velikostí zrna 0,1 – 1 μm . Tato zrna jsou mnohem menší než u konvenční keramiky [4, 5].

Křemičitá bioaktivní sklo-keramika s nízkým obsahem alkálií (0-5 hmot. %) je nazývána Ceravital®. Malé množství Al_2O_3 , Ta_2O_5 , TiO_2 , Sb_2O_3 nebo ZrO_2 obsažené v Ceravital® zlepšuje schopnost nukleace a proliferace buněk a usnadňuje vytvoření pevné vazby s tkání. Ceravital® patří dle bioaktivity do třídy B s $I_B = 5,6$ [4, 5].

Nevýhodou vícefázové sklo-keramiky je její křehkost a limitace složení pro lepší mechanické vlastnosti. Jak je vidět na obrázku 5 pro systém na bázi $\text{SiO}_2\text{--CaO--Na}_2\text{O}$ s 6 % P_2O_5 dochází jediné v oblasti A k vytvoření pevného spoje mezi implantátem a kostí. Z tohoto důvodu bioaktivní skla nejsou užívaná pro implantáty namáhané velkým zatížením, ale jsou využívány například jako výplně kostního cementu, dentální výplňové kompozity nebo jako povlakovací materiál [4, 5].



Obrázek 5 Diagram chemické složení pro vytvoření vazby na kost; A – spojení implantátu s kostí v 30 dnech, B – reaktivita je příliš nízká, nedochází k vytvoření vazby, C- reaktivita příliš vysoká, nedochází k vytvoření vazby, D – spojením se neformuje sklo, netvoří vazbu [4]

1.5 Bioresorbovatelná keramika

Bioresorbovatelná keramika je materiál určený k biochemickému rozkladu na fragmenty ve fyziologickém prostředí a k následné absorpci endogenních tkání. Rozložené fragmenty keramiky jsou následně vyloučeny metabolickou cestou, aniž by došlo k pro tělo škodlivým účinkům. V průběhu postupného rozkladu je keramika nahrazována příslušnou tkání a tím dochází k její regeneraci a obnovení normální činnosti. Degradace materiálu je dána chemickým složením, fyzikální formou a krystalinitou materiálu [4, 5].

Většina keramiky na bázi fosforečnanu vápenatého je resorbovatelná a biodegradabilní při expozici fyziologickému prostředí. Rychlost resorpce je závislá na poměru Ca/P, se snižující se velikostí poměru, se rychlost zvyšuje. Rozpustnost lze také zvýšit příměsí iontů Sr^{2+} a Mg^{2+} , nebo snížením krystalinity, velikosti zrna a hustoty. Resorbovaná keramika je použita organismem k tvorbě nové tkáně. Výběr vhodného materiálu závisí na vztahu mezi rychlostí resorpce keramiky a rychlostí regenerace poškozené tkáně. Nejčastěji využívanými materiály jsou hydroxylapatit (HA) a trikalcium fosfát (TCP). Kompozitní materiál z HA a TCP, nazývaný dvoufázový fosforečnan vápenatý (BCP), se využívá pro rychlou regeneraci kosti a její rychlejší formaci. BCP se postupně rozpouští v těle a díky uvolňování vápenatých a fosforečných iontů slouží jako substrát pro formování nové kosti. Díky svým vlastnostem je BCP možné použít také v systémech pro cílené podání léků [5].

2 Porézní keramické materiály

Porézním materiálem je nazýván materiál, který obsahuje velké množství pórů (> 50 %) a jehož póry jsou navrženy speciálně pro dosažení požadovaných vlastností materiálu. Přírodními keramickými porézními materiály jsou například korál, kost nebo pemza. První vývoje pokročilé porézní keramiky, také nazývané jako celulární keramika, začali již v 70. letech minulého století [5, 12].

V oblasti medicínské praxe nachází uplatnění primárně jako materiál pro výrobu kostních náhrad tzv. scaffoldů, případně pro systémy cíleného podání léků. Scaffoldy jsou používány pro nahrazení kostní tkáně, která musela být v důsledku nemoci nebo úrazu odstraněna a při nemocech doprovázených úbytkem kostní tkáně. Při návrhu keramického scaffoldu je cílem vytvoření komponenty, která bude co nejdříve napodobovat strukturu a vlastnosti přírodní kosti [5, 13].

2.1 Vlastnosti a chemické složení kosti

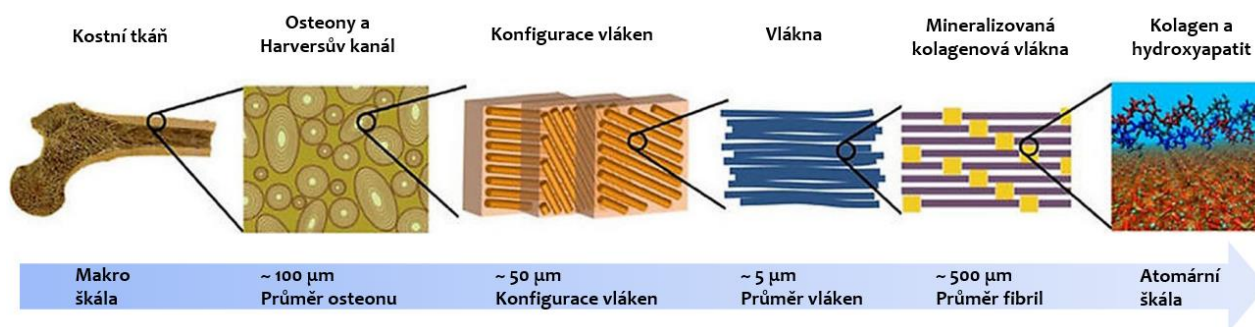
„Kost je bílá, tvrdá pojivová tkáň, specializovaná pro podpůrnou a ochrannou funkci.“ Kostní matrix se skládá z buněk a mezibuněčné hmoty, obsahující minerální hmotu, která kosti dodává potřebnou tvrdost a pevnost. Hierarchická struktura kosti je znázorněna na obrázku 6. Buňky, které mohou za vytvoření kosti, se nazývají osteoblasty. Jejich účelem je produkce prekursorů kosti, kterými se kompletně obklopují a mění se v osteocyty. Osteocyty se podílejí na uvolňování minerálů ze základní hmoty a tím regulují hladinu Ca v tělních tekutinách. Osteocyty se mohou zpětně proměnit v osteoblasty. Buňky jsou uloženy v dutinách základní hmoty [14].

Mezibuněčná hmota kosti se skládá z osteoidů ve formě svazku kolagenových vláken a základní amorfni hmoty. V mezibuněčné hmotě je uložena minerální složka kostí v podobě krystalů solí. Poměr jednotlivých solí v základní hmotě kosti se nemění. V kostním popelce se vyskytuje přibližně 85 % kalcium-fosfátu (většinou ve formě hydroxyapatitu), 10 % kalcium-karbonátu a 5 % ostatní soli [1].

Poměr mezi osteoidem a minerální složkou se v průběhu života mění. Kostí novorozence obsahují přibližně 48 % minerální složky, v dospělosti je to 60 %. To je také důvod, proč jsou kosti ve stáří křehčí [1].

Podle struktury dělíme kostní tkáň na lamelární a vláknitou (tvořena nepravidelným pletivem). Vlákniatá kost se nachází u člověka v neonatálním období, v dospělosti je jen ve stěně nitroušního labyrintu, švech lebeční kosti a při úponech svalů. Dle typu tkáně lze kost dělit na hutnou (*substantia compacta*) a houbovitou (*substantia spongiosa*) kostní tkáň. Podle umístění kosti se liší poměr přítomného druhu kostní tkáně. Zpravidla je povrch kostí tvořen compactou a jádro kosti spongiosou. U dlouhých kostí je tělo kosti a povrch kloubní hlavičky tvořen compactou, nitro kloubní hlavičky spongiosou [1].

Mechanické vlastnosti kosti jsou vysoce anizotropní a závisí na tvaru a druhu kostní tkáně. Experimentálním testováním lze zjistit přibližnou nosnost kostí při statickém namáhání. V axiálním směru je nosnost kosti stehenní přibližně 760 kg a kosti holenní až 1350 kg. V průběhu života nosnost kostí klesá přibližně o 10 - 20 %. Při tahové namáhání jsou tyto hodnoty ještě vyšší. Pevnost kosti v radiálním směru je asi poloviční než při zatěžování v axiálním směru. Pevnost při torsii je ze všech nejnižší [1].

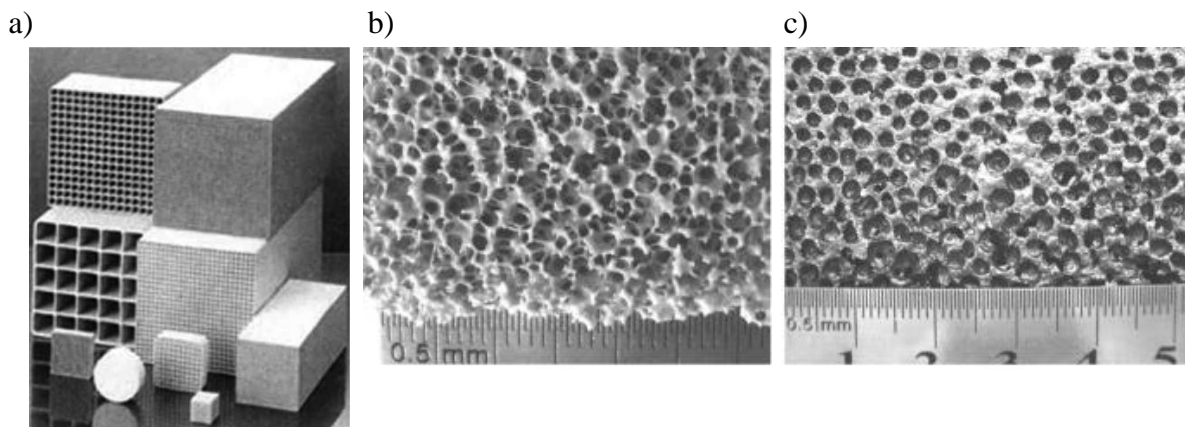


Obrázek 6 Hierarchická struktura kosti [2]

2.2 Charakterizace porézní keramiky

Dle množství přítomných pórů porézní materiály dělí na materiály s nízkou, střední, nebo vysokou porozitou. Materiály s nízkou a střední porozitou obvykle obsahují uzavřené póry, které mohou být považovány za vadu materiálu [12].

Materiály s vysokou porozitou lze klasifikovat dle morfologie pórů do tří skupin. První skupina je tvořena materiály, které vykazují dvourozměrné uspořádání ve formě pole, tvořeného polygony. Tvar póru při průřezu je trojúhelník, čtyřúhelník nebo šestiúhelník. Tato struktura je podobná hexagonální struktuře včelí plástve, a proto je dle anglického názvu označována jako tzv. „honeycomb“ (obrázek 7 a)). Další typ morfologie je tvořen podobnou strukturou jako „honeycomb“, avšak na průřezu lze pozorovat kruhový nebo eliptický tvar póru. Pevná fáze tvoří trojrozměrné síťoví s otevřenými póry, které jsou vzájemně propojeny (obrázek 7 b)). Posledním druhem je bublinkovitá morfologie. Pevná fáze tvoří stěnu póru, který má kulovitý, elipsoidní nebo mnohostěnný tvar (obrázek 7 c)) [12].



Obrázek 7 Příklady morfologie porézní keramiky: a) honeycomb; b) morfologie s otevřenými póry; c) bublinková morfologie s uzavřenými póry [12]

U porézní keramiky lze póry pokládat za funkční část materiálu. Obecně je porézní keramika dle druhu morfologie dělena na „honeycomb“ a keramickou pěnu. Keramická pěna může být tvořena trojrozměrným síťovím s otevřenou porozitou nebo bublinkovitou morfologií. Některé formy keramické pěny obsahují, jak uzavřené, tak otevřené póry [12].

Porézní struktury mají nízkou objemovou hmotnost, nízkou tepelnou vodivost a v závislosti na velikosti a propojení pórů také propustnost tekutin, která je pro porézní materiály

s otevřenou pórovitostí velká. Dle velikosti pórů lze keramiku klasifikovat na mikroporézní (< 2 nm), mezoporézní (2 – 50 nm) a makroporézní (> 50 nm) [12].

Pro medicínské aplikace porézní keramiky, jakým je scaffold, je užívána morfologie s otevřenými vzájemně propojenými póry, do kterých vrůstá nově vytvořená tkáň. Toto spojení scaffoldu a tkáně je nazýváno biologickou fixací. Minimální velikost pórů scaffoldu musí být větší než 100 μm a tím umožňovat vrůstání kostní tkáně, transport živin a cévní zásobení tkáně vedoucí k rychlejší regeneraci. Avšak se zvětšující se porozitou se drasticky snižují mechanické vlastnosti a zvyšuje se velikost povrchu scaffoldu. Další hrozbou je také možnost infiltrace bakteriální infekce v prázdných oblastech [5, 1].

2.3 Požadavky na porézní keramické materiály pro medicínské účely

Funkcí scaffoldu je tvořit dočasnou podporu pro poškozené tkáně, vyžadující rekonstrukci. Porézní scaffold může být osazen buňkami, nová tkáň pak vrůstá do porézního scaffoldu podobnou rychlostí jako se scaffold ve fyziologickém prostředí rozkládá a postupně je nahrazen novou tkání. Aby tento proces byl úspěšným, musí scaffold splňovat určité požadavky z hlediska jeho vlastností a struktury [1].

Struktura scaffoldu musí být třírozměrná a podporovat interakce buněk tím, že poskytuje cestu k transportu živin, kyslíku a umožňuje růst a rozvoj tkání a kapilár. Aby bylo dosaženo těchto funkcí scaffoldu, póry musí být vzájemně propojeny a struktura musí být schopna podporovat strukturální zatížení, které se běžně vyskytuje u člověka. Scaffold a jeho vlastnosti pro konkrétní použití mohou být modifikovány s ohledem na místo použití. Mechanické vlastnosti a struktura kostí se v jednotlivých částech těla liší, a tak i pro různá místa je třeba volit scaffold s vhodnou pórovitostí a mechanickými vlastnostmi. Použité materiály musí vykazovat vysoký stupeň čistoty a nevyvolávat zánětlivé reakce. Vstupní chemikálie/suroviny a kostní náhrady i produkty jejich interakce v biologickém prostředí musí být (dlouhodobě) netoxické. Keramické materiály mající požadovanou bioaktivitu umožňující regeneraci a růst kostní tkáně jsou fosforečnany vápenaté, konkrétně hydroxyapatit (HA), tri-kalcium fosfát (TCP) a jejich dvoufázová kombinace. Vhodnost použití závisí především na množství a velikosti pórů a rychlosti degradace. Horní limit porozity je stanoven požadovanými mechanickými vlastnostmi pro danou aplikaci [1, 15].

2.4 Techniky výroby

Mechanické vlastnosti porézní keramiky jsou přímým výsledkem porézní struktury. Celková porozita, velikost pórů, tvar, orientace společně s tvarem a mikroporozitou v tuhé fázi jsou faktory, které jsou ovlivněny způsobem výroby. Mezi techniky výroby porézní keramiky pro medicínské využití patří metody, které jsou často převzaté z jiných oblastí zpracování materiálu. Příkladem je přímé pění, slinování práškového substrátu s vypařitelnými aditivami, technika obětní šablony nebo technika repliky. Různé techniky jsou vhodné pro různé velikosti tvary a množství scaffoldů [15].

2.4.1 Přímé pění

Vysoce porézní struktury může být dosaženo pomocí disperze plynu ve formě bublinek do keramické suspenze nebo koloidních roztoků a následné solidifikace. Touto metodou lze získat materiál s velikostí pórů v rozmezí 20 μm – 2000 μm . Techniky pění jsou založeny na dvou přístupech:

- začlenění externího plynu do suspenze mechanickým napěněním, vstřikováním proudu plynu nebo zavedením aerosolového hnacího plynu

- vývoj plynu *in situ* [15].

Rozhodujícím krokem této metody je stabilizace a tuhnutí mokré pěny. V intervalu tuhnutí pěny může docházet ke změnám tvaru bublin, z kulovitěho tvaru na tvar mnohostěnu. Pro zachování buněčné morfologie a zabránění kolapsu pěnové struktury před slinováním lze využít povrchově aktivní látky, které snižují povrchové napětí na rozhraní plynu a kapaliny. Povrchově aktivní látky však neposkytují permanentní formu stabilizace, proto je třeba použít další mechanismus stabilizace [15].

Inkorporace vzduchových bublin je možné dosáhnout například mícháním keramické suspenze s vodným roztokem peroxidu vodíku (H_2O_2), následným odlitím směsi do formy a uložením do pece vyhřáté na 60 °C. Při této teplotě se peroxid vodíku rozkládá a je uvolněn kyslík, který formuje bubliny. Pro získání krystalické struktury, bioaktivního skla nebo kalcium-fosfátového scaffoldu je poté materiál slinován při teplotě odpovídající danému materiálu. Změnou množství peroxidu vodíku a tepelného procesu lze modifikovat množství a velikost pórů [15].

Alternativou této metody je napěnění polymerizací organického monomeru *in situ*. Vodná keramická suspenze s velkým podílem pevných látek musí dále obsahovat organický monomer (např. akrylát) rozpustný ve vodě, iniciátor a katalyzátor, který řídí polymerizaci. Polymerizace suspenze by měla začít během odlévání do formy. Po ukončení polymerizace je surové těleso dostatečně pevné a je možné jej vyjmout z formy a přesunout do pece pro sušení, vypálení polymeru a slinování. Výsledkem je keramická hmota s vyšší pevností, díky menšímu množství defektů, ale také s porézní strukturou, která je nehomogenní a nedostatečně propojená. Na velikost a množství pórů má vliv množství katalyzátoru, pH a teplota. Další výhodou této metody je možnost vyrábět tvarově komplexní scaffoldy bez nutnosti následného obrábění [15].

Další alternativou je metoda sol-gel, které se skládá z formování anorganické koloidní suspenze (sol) a její gelace v kontinuální kapalnou fázi (gel) pro vytvoření trojrozměrné struktury. Při sol-gel procesu je nejprve připraven sol, který se skládá z prekurzorů (např. soli), organických rozpouštědel (nejčastěji alkoholy), destilované vody a dalších přídavných látek, které modifikují konečné vlastnosti. Následně je směs mechanicky napěňována intenzivním mícháním a odlita do formy. Smícháním dochází k hydrolyze čili rozkladu prekurzorů za pomoci vody. Dále pak k polykondenzaci, při které spolu reagují dvě částečně hydrolyzované molekuly nebo jedna částečně hydrolyzovaná molekula s nezreagovanou molekulou prekurzoru. Na výslednou strukturu a rychlost celého procesu má významný vliv pH výchozího roztoku. Pokud je prostředí kyselého charakteru, dochází ke vzniku dlouhých řetězců, které se spojují a vzájemně proplétají, čím menší je tedy velikost pH, tím je hydrolyza rychlejší. Naopak v zásaditém prostředí vznikají krátké rozvětvené řetězce, které se shlukují do tzv. clusterů. Spojováním jednotlivých clusterů vznikají vazby mezi molekulami, a tím dochází ke gelaci (fáze stárnutí). Další fází je sušení při nízké teplotě pro odpaření přebytečného rozpouštědla a nakonec slinování. Výsledkem je struktura obsahující propojené makropóry (10–500 μm) vhodná pro vrůstání tkáně [15, 16, 17].

2.4.2 Konsolidace škrobu

Tato metoda používá granule škrobu získané z kukuřice, brambor nebo rýže jako pojivo a prostředek pro vytvoření pórů pro výrobu porézní keramiky. Hlavními výhodami této procesní techniky je nízká cena a šetrnost k životnímu prostředí [15].

Základem pro tuto techniku je suspenze z granulí škrobu, keramického prášku a destilované vody, která je neustále míchána a udržovaná při teplotě 60 – 80 °C. Při této teplotě

dochází absorpci vody a bobtnání škrobu. Výsledkem je suspenze gelovitého charakteru, která je po ztuhnutí tepelně zpracována pro odstranění organické fáze a slinování keramické matrice. Další výhodou této techniky jsou velmi malé změny rozměrů při tuhnutí a slinování. Tato metoda byla experimentálně použita pro výrobu porézních bioaktivních skel, jejichž mechanické vlastnosti se velmi podobají spongiózní kosti. Nevýhodou však je, že výsledná porozita je poměrně nízká (asi 40 obj. %) s velmi málo propojenými póry. A proto je v současnosti uvažováno a experimentálně testováno použití další polymerní fáze společně s granulami škrobu pro výrobu porézních bioaktivních skel [15].

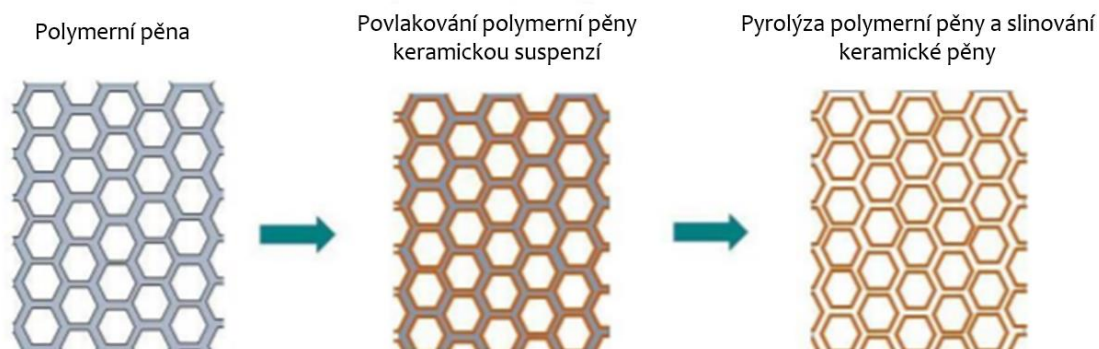
2.4.3 Metoda vypalování organické fáze

Při aplikaci této metody je keramický prášek míchán s pevnými částicemi syntetické či přírodní organické fáze (polymethylmethakrylát, rýžové lusky, ...). Směs je poté lisovaná a je získáno tzv. „green body“, které je následně tepelně zpracováno za vysokých teplot. Při ohřátí na vysoké teploty dochází k pyrolýze organické fáze a ke slinutí anorganické fáze, čímž vzniká pórovitá struktura. Protože slinování keramické fáze vyžaduje mnohem vyšší teploty než pyrolýza organické fáze, je nutné před samotným slinováním částečně zpevnit materiál, aby při vyšších teplotách nedošlo ke zhroucení vlivem příliš rychlého odstranění organické fáze. Z toho důvodu jsou do směsi začleněna pojiva [15].

Touto metodou může být dosaženo keramické pěny, s jak otevřenou, tak uzavřenou pórovitostí v závislosti na množství organické fáze. Nicméně propojenost pórů je obvykle nízká, protože je obtížné udržení homogenní distribuce organické fáze. Pro získání vysoce porézní struktury je potřebné velké množství organické fáze, jejíž pyrolýzou, ale vzniká velké množství plynu, které může způsobit praskliny. Při výrobě vysoce porézní struktury je z tohoto důvodu vyžadována velmi přísná kontrola výrobního procesu [15].

2.4.4 Metoda repliky polymerní pěny

Metoda repliky je založena na impregnaci syntetické (např. polyuretan) či přírodní (mořská houba) struktury s otevřenou pórovitostí, keramickou suspenzí nebo roztokem s prekurzory (obrázek 8). Struktura polymerní pěny je obalena tenkou vrstvou keramické suspenze a stlačena pro odstranění přebytečné suspenze. Poté se nechá zaschnout a následně je pěna tvořící šablonu pyrolýzována a keramický povlak slinován. Výsledný tvar je dutý a totožný s počáteční strukturou pěny [15].



Obrázek 8 Schematické znázornění výroby keramické pěny metodou repliky polymerní pěny [18]

Nejdůležitějším krokem je vytvoření uniformního povlaku na počáteční struktuře. Zásadními faktory jsou reologie impregnační suspenze a její adheze k polymerní pěně. Keramická suspenze by měla být dostatečně tekutá, aby byla zaručena penetrace pěny, zároveň musí být dostatečně viskózní, aby nedošlo k odtoku keramické suspenze. Pokud ale nedojde k dostatečnému odtoku přebytečné suspenze, vznikne struktura obsahující určité množství uzavřených pórů [15].

Metoda repliky polymerní pěny je jednou z nejčastěji využívaných metod výroby keramiky pro použití jako scaffold v tkáňovém inženýrství. Tuto metodu lze použít pro jakýkoliv keramický materiál, který je možný rozptýlit do suspenze. Struktura získaná touto metodou se jeví jako nejlepší pro nahrazení kostní tkáně, jelikož se nejvíce podobá struktuře spongiosní kosti. Další klíčovou výhodou této metody je možnost přizpůsobení počátečního tvaru polymerní pěny dle velikosti defektu kosti a potřeb pacienta [15].

2.4.5 Rapid prototyping

Rapid prototyping je skupina technologií založená na vytváření trojrozměrných objektů pomocí postupného přidávání materiálu po tenkých vrstvách. Těmito technologiemi je možné vytvořit scaffoldy s předem definovanou vnitřní strukturou (velikost, množství, rozložení pórů) a tvarem přímo z 3D modelu, vytvořeného pro konkrétního pacienta. Nevýhodou těchto technologií je poměrně vysoká cena a nutnost rozsáhlé optimalizace postupu pro jakýkoliv nový materiál. Takto vytvořené materiály však mohou dosahovat velmi dobrých mechanických vlastností [15].

Stereolitografie (SLA) je prvním zástupcem této skupiny technologií. SLA používá směs keramických prášků a fotovytvrditelného monomeru. UV laserový svazek ozáří povrch práškové směsi podle průřezu profilu 3D modelu a vytvrdí vrstvu monomeru. Následující vrstva je vytvořena přímo na předchozí, nanesením vrstvy prášku a jeho vytvrzením. Materiál, který není vytvrzený je odstraněn a výsledný objekt poté musí být slinován za odpovídající teploty [15].

Selective laser sintering (SLS) je technologie založená na postupném slinování tenkých vrstev keramického prášku za pomoci CO₂ laseru. Laserový paprsek přesně kopíruje jednotlivé vrstvy 3D modelu a ke slinování dochází pouze v předem určených místech [15].

Třetí možností je 3D tisk, při kterém je tiskovou hlavou nanášeno pojivo na bázi škrobu nebo vody na vrstvu keramického prášku v souladu s profilem 3D objektu. Opakovaným nanášením vrstvy keramického prášku a pojiva dochází k vytvoření 3D objektu, z něhož je proudem vzduchu odstraněn přebytečný keramický prášek. Objekty se poté slinují za vysokých teplot a pyrolýzou dochází k odstranění pojiva [15].

2.4.6 Techniky napěňování geopolymerních matic

Geopolymer je označení pro materiál, který vzniká anorganickou polykondenzací (tzv. geopolymerace) postupným rozpouštěním alumino-silikátové látky. V alkalickém prostředí dochází k depolymerizaci silikátů/hlinitanů a tím ke strukturálním změnám, které vyvolávají polykondenzaci následovanou tvorbou tuhé alumino-silikátové struktury. Chemické složení geopolymerů také umožňuje tepelným zpracováním transformovat převážně amorfní strukturu na různé krystalické formy. Pro syntézu porézních geopolymerů lze použít mnoho konvenčně využívaných metod přípravy porézních keramických materiálů (metoda repliky, přímé pěnění, ...) nebo metody založené na jejich kombinaci [19, 20].

Porézní geopolymery si v posledních letech zasloužily velké pozornosti vzhledem k množství zajímavých vlastností a charakteristik, jakými jsou výborná tepelná stabilita, mechanická pevnost, odolnost vůči působení kyselin, nízké smrštění, nízká tepelná vodivost, relativně nízké náklady na produkci a šetrnost k životnímu prostředí. Geopolymery běžně nacházejí uplatnění ve stavebnictví a při čištění odpadních vod (filtry, membrány a iontové adsorbenty) [19, 20].

3 Fosforečnan vápenatý

Dle chemického názvosloví je fosforečnan vápenatý látka, skládající se z vápenatých kationtů a fosforečnanových aniontů. V odborné literatuře je však pod pojmem fosforečnan vápenatý označována skupina minerálů obsahující kationty Ca^{2+} společně s ortofosfátovými PO_4^{3-} , metafosfátovými PO_3^- , nebo pyrofosfátovými $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ anionty a občas s ionty vodíku H^+ nebo hydroxidu OH^- [2, 21].

Fosforečnan vápenatý (dále jen CaP) tvoří hlavní anorganický materiál přibližně 60 % kostí lidského těla a až 90 % zubů. Fosforečnanové ionty jsou dále v lidském těle zapojeny do velkého množství substancí, jakými jsou například proteiny, kyselina nukleová nebo adenosin tri-fosfát (ATP), čímž ovlivňují fyziologické procesy v celém organismu. Neméně důležité jsou vápenaté ionty, které stimulují stárnutí kostní buňky pomocí formování oxidu dusíku a vyvolávají růst kostní tkáně [2, 21].

CaP je biokompatibilní, osteokonduktivní, osteoinduktivní a také bioaktivní. Základním mechanismem bioaktivity je částečná rozpustnost a uvolňování iontů *in vivo*, za zvyšování lokální koncentrace iontů fosforu a vápníku a precipitace biologického apatitu na povrchu materiálu. Na základě rychlosti degradace *in vivo* a rychlosti formování nové tkáně se určuje vhodný typ materiálu pro konkrétní použití [21, 22].

Kritickým problémem omezujícím využití CaP jsou mechanické vlastnosti. Náhrady kyčelního kloubu jsou průměrně zatěžovány silou odpovídající třem tělesným hmotnostem (3000 N), v případě dynamické činnosti může být zatížení až desetinásobkem tělesné hmotnosti. A proto potenciální biomateriály a biokeramika musí být odolné velkému množství různých podmínek a zatížení. V případě samotného CaP však jsou mechanické vlastnosti nedostačující, CaP je křehký, má malou vrubovou houževnatost a poměrně nízkou pevnost v tahu (6-10 MPa). Tyto materiály však mají dobrou pevnost při zatížení tlakem, lepší než přírodní kost. Vzhledem k těmto vlastnostem je předurčena možná aplikace pouze na nezátěžové implantáty jako jsou implantáty středoušních kůstek, výplně kostních defektů v orálních kavitách a kostře, scaffoldy nebo pro povlaky kovových dentálních a ortopedických implantátů. [21].

3.1 Chemicko-fyzikální vlastnosti, struktura a použití

V tabulce 2 jsou uvedeny typy CaP, které se liší v závislosti na molárním poměru Ca/P a stupni hydratace pro klinické použití a biomedicínské aplikace.

Tabulka 2 Typy fosforečnanu vápenatého [21]

Molární poměr Ca/P	Název	Zkratka	Vzorec	Krystalová struktura
0,5	Dihydrogenfosforečnan vápenatý monohydrát	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Triklinická
1,0	Hydrogenfosforečnan vápenatý	DCPA	CaHPO_4	Triklinická
1,0	Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Monoklinická
1,33	Bis(hydrogenfosforečnan)tetrakis (fosforečnan) oktavápenatý pentahydrát	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Triklinická

1,5	α -fosforečnan vápenatý	α -TCP	α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Ortorombická /Monoklinická
1,5	β -fosforečnan vápenatý	β -TCP	β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Romboedrická
1,2 – 2,2	Amorfní fosforečnan vápenatý	ACP	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$ $n = 3-4,5, 15-20\% \text{H}_2\text{O}$	-
1,50 – 1,67	Hydroxyapatit s deficitem vápníku	CDHA	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}$ $x(\text{OH})_{2-x}$ $(0 < x < 2)$	Hexagonální
1,67	Hydroxyapatit	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Monoklinická /Hexagonální
2,0	Bisfosforečnan-oxid tetravápenatý	TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	Monoklinická

Z hlediska rozpustnosti při neutrálním pH lze typy CaP seřadit od nejvíce rozpustného po nejméně rozpustný v tomto pořadí:

$\text{MCPM} > \text{TTCP} > \alpha\text{-TCP} > \text{DCPD} > \text{DCPA} > \text{OCP} > \beta\text{-TCP} > \text{CDHA} > \text{HA}$ [22].

3.1.1 Dihydrogenfosforečnan vápenatý monohydrát (MCMP)

MCMP je nejvíce kyselá a ve vodě rozpustná fáze CaP. Nevytváří živé organismy, avšak i přesto je MCMP používáno jako komponenta několika samotvrdnoucích cementů. MCMP má triklinickou krystalovou strukturu a může být připraven částečnou neutralizací kyseliny fosforečné hydroxidem vápenatým, následované vypařováním vody za nízké teploty. Hydratovaný fosforečnan vápenatý krystalizuje jako destičky protáhlé podél osy triklinické struktury. MCPM je označen jako potravinářská přísada E341 a často se přidává do zubních past. Čistý MCPM však není biokompatibilní s kostí kvůli své kyselosti [21].

3.1.2 Hydrogen fosforečnan vápenatý (DCPA, DCPD)

Neutralizace kyseliny fosforečné hydroxidem vápenatým v poměru 1:1 při $\text{pH} = 3-4$ vede ke vzniku fosforečnanů vápenatých. Existují dvě krystalické formy: dihydrát DCPD (Brushite) a bezvodý DCPA (připraven ohřátím po neutralizaci na $80\text{ }^\circ\text{C}$) [21].

Bezvodý DCPA je méně rozpustný než DCPD a může být krystalizován z vodného roztoku při $100\text{ }^\circ\text{C}$. DCPA se přirozeně nevyskytuje v kosti, ale používá se v kostních cementech jako zdroj vápníku a fosforu ve výživových doplncích, jakými jsou například cereálie a také v zubní pastě [21].

DCPD je nejjednodušeji syntetizovaná sloučenina CaP. Je biokompatibilní, biodegradabilní, osteokonduktivní a lze je přeměnit na ($\text{pH} < 6$), OCP ($\text{pH} \approx 6-7$) nebo CDHA ($\text{pH} > 7$). DCPD má monoklinickou krystalovou strukturu. Krystaly se skládají z paralelně uspořádaných vrstev řetězců CaPO_4 , mezi nimiž jsou molekuly vody. *In vivo* se přeměňuje na CDHA nebo se rozkládá a je nahrazen kostní tkání. DCPD se může vyskytovat v lidském těle v kyselém prostředí ve formě patologické kalcifikace (např. zubní kámen, ledvinové kameny). V medicíně se DCPD používá v CaP cementech jako prostředek pro remineralizaci zubu, také se přidává do zubní pasty pro ochranu a jako jemný leštící prostředek. Pokud se velké množství DCPD *in vivo* přemění na CDHA může vzhledem k velkému množství uvolněné kyseliny při této reakci docházet k závažným zánětlivým reakcím [21].

3.1.3 Bis(hydrogenfosforečnan)tetrakis(fosforečnan) oktavápenatý pentahydrát (OCP)

OCP tvoří počáteční fázi při formaci zubní skloviny a kostní tkáně, která vzniká následnou precipitací a postupnou hydrolyzou OCP. V prostředí in vivo plní podstatnou roli při vzniku apatitických biomateriálů. OCP krystalizuje v triklinické krystalové soustavě, ale stejně tak jako u HA je struktura tvořena střídavě apatitovou a hydratovanou vrstvou. OCP je v porovnání s HA méně stabilní a snadno u něj dochází k hydrolyze na hydroxyapatit s deficitem vápníku (CDHA) během 6 hodin. V porovnání s DCPD obsahuje OCP pětkrát méně vody, tím je částečně způsobena menší rozpustnost OCP [21].

OCP se přirozeně vyskytuje ve formě zubního a ledvinového kamene. V medicíně se používá jako implantát pro kostní defekty ve formě povlaku jiných materiálů nebo jako přísada biokompozitů a samovyvrditelných směsí [21].

3.1.4 Fosforečnan vápenatý (TCP)

Aniont PO_4^{3-} se vyskytuje pouze ve velmi malých množstvích při $\text{pH} < 11$, i přesto je však možná precipitace fosforečnan vápenatých solí díky jejich velmi malé rozpustnosti. Termín TCP je v tomto případě používán pouze pro konkrétní fáze s chemickým složením $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ a s poměrem Ca/P blízkým 1,5. Krystalický TCP se formuje pouze při vysokých teplotách a je obecně známo, že nelze získat čistý krystalický TCP precipitací z vodného roztoku. α -TCP lze považovat za vysokoteplotní fázi β -TCP, obvykle připravovanou zahřátím β -TCP na 1125°C a velmi rychlým ochlazením, aby se předešlo reverzní transformaci. β -TCP lze připravit při teplotách $900 - 1100^\circ\text{C}$ [2, 21].

Přestože α -TCP a β -TCP mají stejné chemické složení, liší se v rozpustnosti, krystalické struktuře a hustotě (viz tabulka 3). Krystalická struktura α -TCP a β -TCP je schematicky znázorněna na obrázku 9.

Tabulka 3 Chemické a fyzikální vlastnosti TCP [21]

	Rozpustnost při 25°C [g/L]	Hustota [g/cm^3]	Krystalická struktura
α -TCP	0,0025	2,814 ³	Ortorombická / monoklinická
β -TCP	0,0005	3,067 ³	Romboedrická

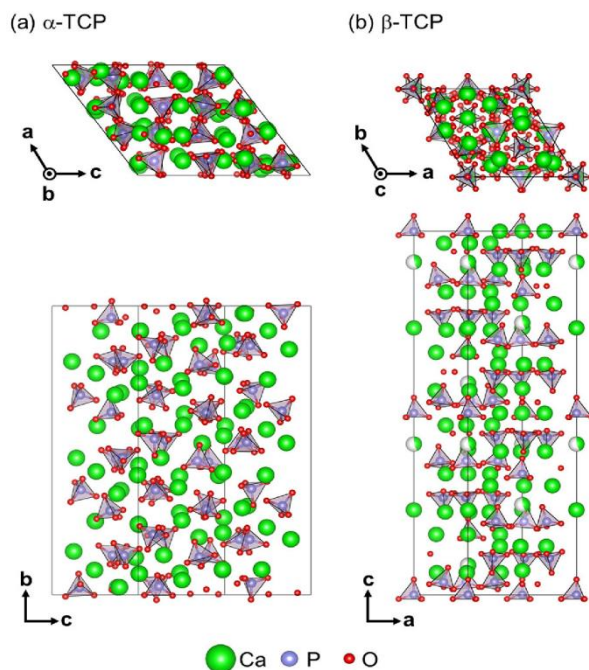
V přítomnosti vlhkosti je TCP za pokojové teploty stabilní, ale studie ukázaly, že ve vodném prostředí je stabilita krystalické mřížky β -TCP vyšší než stabilitu α -TCP, čímž je daná i vyšší reaktivita α -TCP ve vodném prostředí, způsobující hydrolyzu na CDHA [2, 21].

α -TCP se i přesto, že se nikdy nevyskytuje při biologické kalcifikaci, používá jako komponenta CaP cementů. Hlavní nevýhodou použití čisté α -TCP je vysoká rychlost resorpce, vyšší než rychlost formování nové kosti [21].

β -TCP krystalizuje v romboedrické krystalické soustavě, jejíž krystalová mřížka obsahuje 21 jednotek $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. β -TCP nemůže být krystalizován z vodného roztoku. Hořčíkem stabilizovaný β -TCP (Withlockite) lze identifikovat v patologických kalcifikacích jakými jsou zubní kámen, artritidou postižená chrupavka nebo ledvinové kameny. β -TCP může být syntetizován tepelnou dekompozicí CDHA při teplotě vyšší než 800°C nebo interakcí kyselého CaP (např. DCPA) a báze (např. CaO). Mimo jiné β -TCP může být získán precipitací v organickém médiu (například ethylenglykol) za relativně nízké teploty 150°C . β -TCP lze

také připraven i tzv kalcinací kostí³, takto připravený je často nazýván kostní popel. V medicíně je běžně aplikován jako součást CaP kostních cementů nebo jiných biokeramických kostních a zubních náhrad. V kombinaci s HA tvoří tzv. BCP (dvoufázový fosforečnan vápenatý), často používaný jako scaffold [2, 21].

Čistý β -TCP je často součástí zubní pasty jako jemně leštící složka nebo lze nalézt ve výživových doplňcích pod označením E341 dle Evropské klasifikace. β -TCP je považován za osteokonduktivní a osteoinduktivní látku, která ve vodných iontových roztocích může vyvolat precipitaci vrstvy apatitu [21].



Obrázek 9 Krystalická struktura α -TCP a β -TCP [41]

3.1.5 Amorfni fosforečnan vápenatý (ACP)

ACP představuje speciální druh CaP, který má proměnlivé chemické složení, ale fyzikální vlastnosti podobné sklu. Chemické složení ACP silně závisí na pH roztoku a koncentraci směsných roztoků (molární poměr Ca/P). Podle teploty zpracování lze ACP rozdělit do dvou skupin: 1) nízkoteplotní ACP, 2) vysokoteplotní ACP [21].

Nízko teplotní ACP se často vyskytuje jako přechodná, meziproductová fáze, vznikající při precipitaci jiných CaP ve vodném roztoku. Předpokládá se, že ACP se tvoří na začátku precipitace z důvodu nižší povrchové energie, než mají ostatní stabilnější CaP. Stupeň amorfizace ACP se zvyšuje společně se zvyšujícím se pH roztoku a zvyšující se koncentrací Ca^{2+} a PO_4^{3-} . Naopak nepřetržitě míchání vysrážených částic ACP při zvýšených teplotách v matečném roztoku vede ke zpomalení rekrystalizace a ke vzniku více krystalického CaP, například CDHA [21].

Biologicky iontově substituovaný ACP lze nalézt v patologických kalcifikacích měkkých tkání (např. kalcifikace srdeční chlopně). V lékařství se ACP používá jako přísada kostních cementů nebo materiál pro dentální aplikace. V kyselém prostředí ústní dutiny se

³ proces tepelného zpracování pevné chemické sloučeniny za vysoké teploty pod bodem tání za nepřítomnosti nebo omezení přístupu vzduchu za účelem odstranění nečistot, těkavých látek anebo k tepelnému rozkladu

mohou kompozitní materiály na bázi ACP podílet na remineralizaci zubní skloviny. Biokompozitní látky obsahující ACP se také používají v zubních pastách, bělících gelech, ústních vodách nebo také v nápojích jako remineralizační činidlo [21, 23].

3.1.6 Hydroxyapatit s deficitem vápníku CDHA

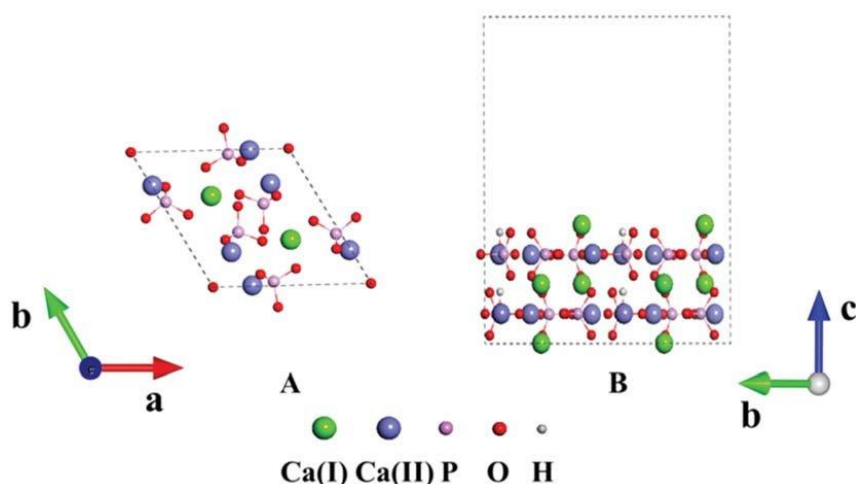
CDHA lze snadno připravit současným přidáváním vápníku a roztoku ortofosforečnanu do vroucí vody a jejím následným varem po dobu několika hodin. Během tohoto procesu dochází k restrukturalizaci původního ACP a transformaci na CDHA. Z tohoto důvodu existuje mnoho podobností ve struktuře, vlastnostech a aplikaci CDHA a ACP aglomerovaného v alkalickém roztoku s $\text{pH} > 8$ [21].

Druhým způsobem syntézy je hydrolyza α -TCP. Při zahřátí nad $700\text{ }^\circ\text{C}$ se suchý CDHA s molárním poměrem $\text{Ca/P} = 1,5$ transformuje na β -TCP. V případě, že molární poměr je $1,5 < \text{Ca/P} < 1,67$ vzniká směs β -TCP a HA. Vlivem nedostatku stechiometrie se čistý CDHA přirozeně nevyskytuje. Obvykle obsahuje jiné ionty a s vodou tvoří biologický apatit. Veškeré komerčně dostupné cementy na bázi CaP obsahují CDHA [21].

3.1.7 Hydroxyapatit

Stechiometrický HA má chemický vzorec $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, avšak běžně je také uváděn vzorec $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, který označuje složení základní hexagonální buňky ze dvou molekul. HA je nejstabilnější, a tím i nejméně rozpustným druhem CaP. I přesto, že povrch u HA není vysoce rozpustný, poskytuje nukleační místa pro precipitaci krystalů apatitu v tělesných tekutinách a kultivačním médiu nasyceným Ca a P ionty. HA tvoří silnou chemickou vazbu s kostní tkání a je považován za dobrý materiál pro kostní štěpy. HA je nejen označován jako bioaktivní, ale také jako osteokonduktivní, netoxický materiál, jehož krystalová struktura je velmi podobná struktuře skutečného kostního minerálu s dostatečným množstvím uhličitanové substance (CO_3^{2-}) [2, 21].

Chemicky čistý HA krystalizuje v monoklinické krystalové soustavě, při teplotách nad $250\text{ }^\circ\text{C}$ však dochází k transformaci na hexagonální krystalovou strukturu. Hydroxidové ionty v hexagonální HA jsou v porovnání s monoklinickou soustavou více neuspořádané v každé řadě a směřující dolů nebo nahoru do další vrstvy. Tím je indukováno napětí v hexagonální mřížce, které je kompenzované substitucemi nebo iontovými vakancemi. Hexagonální struktura HA je takto při teplotě okolí stabilizována. Hexagonální HA je tedy častou formou CaP v biologii a medicíně. Struktura hexagonálního HA je znázorněna na obrázku 10 [2, 21].



Obrázek 10 Schematické znázornění struktury HA [42]

HA je osteokonduktivní, ale není osteoinduktivní materiál, avšak pro zlepšení jeho vlastností lze využít iontové substituce. Například aniontová substituce uhličitanu za fosfát byla v provedených výzkumech prokázána pro zvýšení rozpustnosti, a tím i bioaktivity HA, zatímco substitucí fluoridu za hydroxid dochází ke zvýšení stability HA. Navíc také kationtová substituce hořčíku za vápník má potenciálně příznivé účinky v podobě poskytování stopových prvků [2, 21].

HA je běžným materiálem tvořící kosti a zuby obratlovců, šupiny ryb a zuby některých druhů měkkýšů. Na počátku 20. století bylo také objeveno, že rozemletá kost je podobná geologickému HA. Následnými studii bylo však prokázáno, že poměr Ca/P v biomineralizovaných tkáních se může velmi významně lišit vlivem iontových substitucí a vakancí. HA je považován za konečný minerál tvořící kostní tkáň, všechny ostatní fáze jsou označeny jako vedlejší nebo prekurzorové fáze, přeměňující se na termodynamicky stabilní HA při vysokém pH [2, 21].

Pevnost HA se zvyšuje rostoucím poměrem Ca/P, přičemž maximální hodnoty dosahuje při poměru Ca/P $\sim 1,67$ a při Ca/P $> 1,67$ dochází k prudkému poklesu pevnosti. Pevnost také téměř exponenciálně klesá se zvyšující se porozitou. Změnou geometrie pórů je však možné pevnost ovlivnit. Neslinitý HA je obvykle špatně krystalický a často nestechiometrický, podobající se CDHA. Dobře krystalický HA lze připravit z vodných roztoků. Čistý stechiometrický HA se v biologických systémech nikdy nevyskytuje. Avšak vzhledem k chemickému složení a fázové podobnosti s biologickým minerálem tvořící kost má HA významné uplatnění například při opravě defektů dlouhých kostí a kostí lebky, při složitých zlomeninách kostí, jako protéza středoušních kůstek, v zubní chirurgii nebo pro systémy cíleného doručování a distribuci léčiv v lidském těle. Syntetický HA je často využíván také pro povlaky ortopedických a zubních implantátů nebo jako leštící složka v zubních pastách. Mimo jiné byla také prokázána schopnost nanočástic HA infiltrovat demineralizovanou kolagenovou matici zuboviny a tím i možnost jak remineralizovat zubovinu. [2, 21]

3.1.8 Bisfosforečnan-oxid tetravápenatý (TTCP)

TTCP je nejvíce bazický CaP, jehož rozpustnost ve vodě je však vyšší než u HA a není ho možné precipitovat z vodného roztoku. TTCP lze syntetizovat pouze v pevném stavu při teplotě vyšší, než je $1300\text{ }^{\circ}\text{C}$. TTCP je metastabilní ve vlhkém prostředí. V přítomnosti vodní páry dochází k hydrolyze za vzniku HA a $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Reakce tedy musí probíhat v suché atmosféře nebo ve vakuu [21].

TTCP se nejčastěji vyskytuje jako vedlejší produkt plazmou stříkaných povlaků HA, kde vzniká teplem rozkladem HA na TTCP a α -TCP a CaO. TTCP se jen velmi zřídka používá ve stomatologii. V kombinaci s DCPA nebo DCPD se používá pro výrobu samotuhnoucích kostních cementů nebo jako přísada biokompozitů [21].

3.2 Využití v lékařské praxi

Z chemického hlediska jsou CaP soli obsahující ionty H_2PO_4^- , $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, nebo PO_4^{3-} . Z těchto tří jsou pouze $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ a PO_4^{3-} ionty přirozeně se vyskytující v anorganické minerální fázi kostí a zubů. Materiály na bázi CaP mají tedy vynikající biologické vlastnosti a jsou vhodné pro substituci kostní tkáně zejména v ortopedických a dentálních aplikacích. CaP je běžně užíváno v lékařské praxi ve formě povlaků, scaffoldů, cementů a past [21, 22, 23].

Jedna z nejdůležitějších konkrétních aplikací CaP je bezcementová kyčelní endoprotéza. Povlakování dřívku CaP umožňuje formování spoje kost-kost a osteokondukci implantátu. Tato technika je často také aplikována na dentální implantáty. Pro tvorbu povlaků se nejčastěji používá technika povlakování sol-gel a elektrodepoziční metody. V současnosti je výzkum v oblasti povlaků nejvíce soustředěn na povlaky kovových implantátů, jejichž účelem je prevence koroze v lidském těle a zvýšení bioaktivity povrchu implantátu zlepšením adheze buněk a povrchové reaktivity. Další zkoumanou schopností povlaku na bázi CaP je možnost současně fungovat také jako zásobník růstových faktorů a antibakteriálních činidel pro rychlejší zhojení a regeneraci kosti a okolní tkáně [2, 21].

Pro aplikace, kde není vhodné použití CaP povlaků, lze použít kostní cementy. Kostní cementy jsou syntetické, organické nebo anorganické materiály, používané pro vyplnění dutin nebo k vytvoření mechanické fixace při implantaci. V kostních cementech jsou často začleněny také polymery jako například chinin, kolagen nebo polyetylen glykol, díky kterým je možné ovlivnit rychlost tuhnutí, viskozitu, porozitu, mechanické vlastnosti a rychlost degradace. Rychlost tuhnutí cementu musí poskytnout chirurgovi dostatek času pro implantaci, ale musí být dostatečně rychlá, aby nedocházelo k zbytečnému prodloužení při operaci (deformace při zasychání, trhliny). Při klinických aplikacích je cement používán ve formě pasty nebo je ručně vytvářen chirurgem. Použití cementů na bázi CaP je limitováno v důsledku rozdílu mezi rychlostí degradace cementu a rychlostí regenerace kosti, omezeného vrůstáním buněk vzhledem k velikosti pórů, nedostatečné mechanické pevnosti a možné zánětlivé reakci [2, 21].

Materiály na bázi CaP jsou také jedny z nejvhodnějších materiálů pro použití jako scaffoldy nebo výplně kostních dutin při rekonstrukčních operacích lebečních kostí. CaP je v lidském těle resorbován buněčnými procesy, zajišťující nejen resorpci průvodního materiálu a formování nové kosti, ale také zamezující problémům s biokompatibilitou. Ionty vápníku a fosforu mají přímý vliv na kostní buňky tím, že spouštějí osteokonduktivní reakce a umožňují zhojení kosti již v jednom roce po implantaci. Pro výplně dutin kostí lebky je z hlediska relativní nereaktivnosti a dostatečné mechanické pevnosti nejčastěji používán HA [2, 22].

Další aplikací CaP v zubním lékařství jsou zubní pasty a žvýkačky. Bylo prokázáno, že nanočástice CaP jsou schopné částečně remineralizovat demineralizovanou zubovinu, mají bělicí efekt a pomáhají redukovat citlivost zubů. Nanočástice CaP jsou také známé jako dobrý absorbent pro mnoho biomolekul a mohou sloužit pro jejich transport skrz membránu buňky například při genové terapii (DNA, RNA) [21].

4 Analytické metody v experimentálním programu

4.1 Měření chemického a fázového složení

Rentgenová fluorescenční spektrometrie

Rentgenová fluorescenční spektrometrie (XRF z angl. X-ray fluorescence) je analytická metoda, sloužící ke zjištění chemického složení. Principem této metody je využití interakce částic o vysoké energii (RTG záření) s atomy analyzovaného materiálu, kdy dochází k vysokoenergetické ionizaci atomu a vyražení elektronu. Následně dochází k zaplnění prázdného místa elektronem z vyšší energetické hladiny. Během tohoto procesu se uvolňuje energie ve formě fluorescenčního záření. Hodnota uvolněné energie je rovna energetickému rozdílu mezi hladinami. Množství vyzářené energie je charakteristické pro jednotlivé prvky [24].

Analýza chemického složení v experimentálním programu byla provedena na přístroji RIGAKU Supermini200. Jedná se o vysoce výkonný sekvenční spektrometr pro analýzu prvků pevných látek, kapalných látek, prášků, slitin a tenkých filmů ve vakuu nebo atmosféře helia. Spektrometr používá 200 W palladiovou diodu, rentgenovou trubici s napětím 50 kV a zirkoniovým primárním filtrem [25].

Rentgenová krystalografie

Rentgenová krystalografie (XRD z angl. X-ray crystallography) je technologie zaměřená na analýzu krystalových struktur a atomových vzdáleností anorganických a organických materiálů. Rentgenová difrakce je založena na konstruktivní interferenci monochromatických RTG paprsků a vzorku. RTG paprsky jsou generovány v katodové trubici, následně jsou filtrovány za vzniku monochromatického záření. Pokud jsou splněny podmínky Braggova zákona, vytváří interakce dopadajících paprsků se vzorkem konstruktivní interferenci a difraktovaný paprsek. Bragův zákon ($\lambda=2d \sin \theta$) dává do souvislosti vlnovou délku elektromagnetického záření (λ) s difrakčním úhlem (θ) a vzdáleností mřížky (d) v krystalickém vzorku. Difraktované rentgenové paprsky jsou pak detekovány a lze z nich získat trojrozměrnou mapu elektronové hustoty v základní buňce. Na základě naměřených hodnot lze poté srovnáním se standarty identifikovat minerál [26].

V experimentálním programu byla XRD analýza provedena na RTG difraktometru X'Pert PRO automatic od společnosti Philips. Jedná se o přístroj se stacionární centrálně umístěnou Cu rentgenku a ultrarychlý polovodičový detektor PIXcel s vysokým rozlišením [27].

4.2 Měření viskozity

Reologie je studium zabývající se vztahem mezi napětím, deformací a rychlostí deformace v materiálu. Základní veličinou definovanou při reologické analýze je viskozita, určující míru vnitřního odporu materiálu vůči tečení. Dle druhu zatížení rozlišujeme smykovou a elongační viskozitu. Podle druhu měření rozeznáváme vzájemně závislé dynamickou a kinemickou viskozitu. Reologickou analýzou lze měřit a predikovat důsledky různé koncentrace látek, chemického složení a fázového složení na vlastnosti materiálu [28].

Přístroj pro měření reologických vlastností se nazývá reometr. V reometru je zkoušený materiál umístěn do příslušné geometrické konfigurace (souosé válce, kužel-deska,...), kterou je aplikováno namáhání, řízeno okolní prostředí a měřeno napětí a rychlosti deformace. Reometry mohou být kapilární nebo rotační. Kapilárními reometry je měřen tlak v kapiláře, kterou je vytlačován materiál ze zásobníku. Rychlost posunu pístu a tlak v kapiláře pak slouží

jako podklady pro výpočet smykové deformace a smykové viskozity. Oproti tomu u rotačního reometru jsou měřeny otáčky a krouticí moment vyvolaný rotačním pohybem mezi dvěma kruhovými deskami. Z těchto hodnot lze následně spočítat smykovou deformaci a viskozitu [29].

V experimentálním programu byl použit reometr ARES-G2 od společnosti TA Instruments. Jedná se o rotační reometr primárně určený pro výzkum a vývoj materiálů. Má vyhrazený akutátor pro kontrolu deformace, převodník torzního vyvážení a převodník vyrovnání síly pro nezávislá měření smykového a normálového napětí. [28]

4.3 Hodnocené morfologie

Pro primární morfologickou charakterizaci mikrostruktury povrchů pevných předmětů se běžně využívají skenovací elektronové mikroskopy (SEM). Jedná se o typ elektronového mikroskopu, který využívá velmi malé vlnové délky elektronového svazku k dosažení velké rozlišovací schopnosti. Fokuseovaný elektronový svazek stimuluje emisi vysokoenergetických zpětně odražených elektronů a nízkoenergetických sekundárních elektronů z povrchu vzorku [30].

Zpětně odražené elektrony pocházejí z hloubky vzorku (několik μm pod povrchem) a silně reagují se vzorkem. Počet zpětně odražených elektronů dopadajících na detektor je úměrný jejich protonovému číslu. Tato závislost zpětně odražených elektronů na atomovém čísle pomáhá rozlišovat mezi různými fázemi a poskytuje jejich zobrazení. Snímky zpětně odražených elektronů vykazují vysokou citlivost na rozdíly v atomovém čísle, čím vyšší je atomové číslo, tím jasnější je materiál na obrázku [30].

Sekundární elektrony pocházejí z hloubky několika nm od povrchu vzorku, jsou velmi citlivé a poskytují topografické informace. Sekundární elektrony jsou výsledkem nepružných interakcí mezi primárním elektronovým paprskem a vzorkem, mají nižší energii než zpětně odražené elektrony [30].

V experimentálním programu byl využit řádkovací elektronový mikroskop JCM-5000 NeoScopeTM. Tento přístroj může pracovat v režimu nízkého i vysokého vakua a bez výměny objektivu je schopen dosáhnout zvětšení 20 000x [31].

4.4 Termická analýza

Metody termické analýzy slouží k měření teplotních a časových průběhů fyzikálních a chemických vlastností materiálu. Z výsledků termických analýz je možné určit, k jakým strukturním změnám dochází při změně teploty (teplota skelného přechodu, změny skupenství, krystalizace, transformace apod.), dále lze určit termomechanické vlastnosti (roztažnost, koeficient roztažnosti, smrštění, skelný přechod apod.), ale také například teplotní stabilitu v různých prostředích [32, 33].

Termomechanická analýza

Termomechanická analýza (TMA) je analýza sledující deformaci vzorku při statickém namáhání jako funkce času nebo teploty. Zatížení může být aplikováno v režimech komprese, ohybu nebo tahu, dále může být aplikováno buď statické nebo dynamické zatížení. Analýza TMA byla v experimentu provedena na termomechanickém analyzátoru TA Instruments Q400 TMA. Tento přístroj je schopen měřit v rozmezí teplot od $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$, s přesností 15 nm a možností aplikace zatížení až 1 N [32].

Termogravimetrická analýza

Při termogravimetrické analýze (TGA) jsou pozorovány změny hmotnosti materiálu jako funkce teploty nebo času. Při TGA je vzorek zahříván a průběžně vážen v inertní atmosféře. Během analýzy jsou vznikající produkty odčerpávány a zaznamenává se změna hmotnosti. Na základě teplotního režimu lze TGA rozdělit na dynamickou (teplota se neustále zvyšuje), statickou (teplota je konstantní) a kvazistatickou (zahřívání v teplotních intervalech) [33].

Analýza TGA byla provedena na zařízení TA Instruments Q500 TGA, který se vyznačuje vysokým teplotním limitem pro TGA analýzu. Horním limitem pro měření změn hmotnosti je teplota 1000°C s maximální rychlostí ohřevu 50°C/min. Měření lze provádět v atmosféře vzduchu či dusíku. Maximální hmotnost vzorku je 200 mg, obvyklá provozní hmotnost vzorku je však 10 – 15 mg. Automatický vzorkovník je schopen pojmout až 16 vzorků při jednom měření [34].

4.5 Rtuťová intruzní porozimetrie

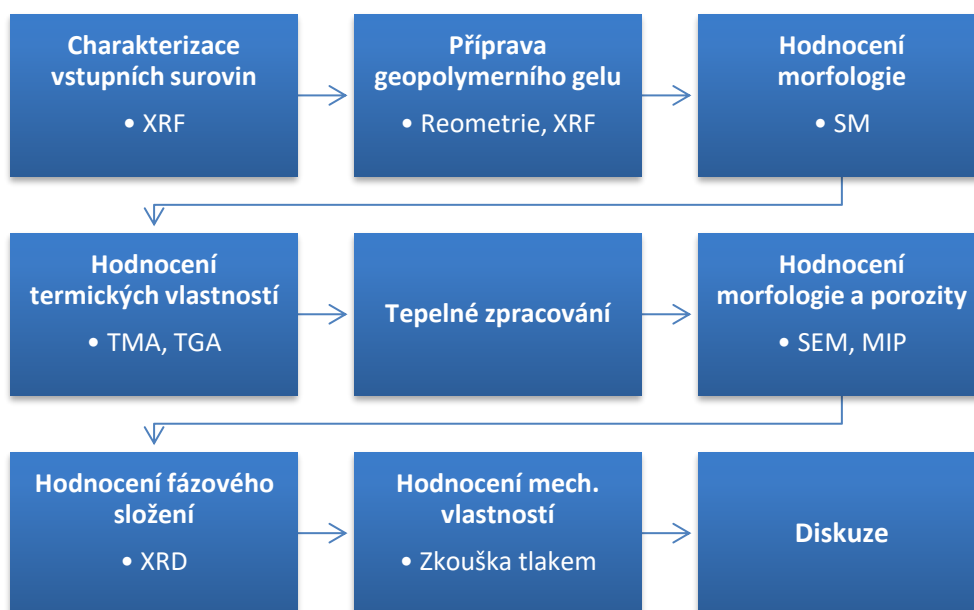
Rtuťová intruzní porozimetrie (MIP z anglického „Mercury Intrusion Porosimetry“) je analytická technika používaná pro hodnocení poréznosti, distribuce, velikosti a objemu pórů k charakterizaci široké škály pevných a práškových materiálů. Principem této techniky je využití tlaku k postupnému zaplňování pórů rtutí. Rtuť je nesmáčivá intruzní kapalina díky vysokému povrchovému napětí, je však stálá i za vysokého tlaku. Při rtuťové porozimetrii je kapilára definovaných rozměrů zaplněna analyzovaným materiálem a poté je za pomoci tlakové komory vtlačována rtuť, která postupně zaplňuje póry od největších po nejmenší. Průměr pórů lze vypočítat na základě aplikovaného tlaku na základě fyzikálních vlastností nesmáčivé kapaliny (kontaktní úhel, povrchové napětí). Přístroje na měření porozimetrie umožňují používat tlaky v rozmezí přibližně 1 – 60 000 psi, což koreluje s měřením velikosti pórů v rozmezí od 250 μm do 3 nm [35, 36].

V experimentálním programu byl použit intruzní porozimetr AutoPore IV 9510 od společnosti Micromeritics Instrument Corporation s rozsahem tlaku 1- 60 000 psi [37].

5 Motivace experimentálního programu

Cílem této diplomové práce je prozkoumat možnost přípravy vysoce porézního sklo-keramického materiálu na bázi Al-Si matrice, modifikované práškovým fosforečnanem vápenatým. Záměrem je připravit porézní anorganický kompozitní materiál, který svými chemicko-fyzikálními vlastnostmi splňuje parametry bioaktivního scaffoldu.

Průběh experimentálního programu je znázorněn na obrázku 11. Nejprve proběhne popis a charakterizace vstupních surovin. Dále bude připraven modifikovaný geopolymerní gel, u kterého budou studovány reologické vlastnosti. Následně budou z geopolymerního gelu vyrobeny částice v podobě dutých kuliček, u kterých bude rentgenovou fluorescencí (XRF) stanoveno chemické složení. Připravené duté kuličky budou světelnou mikroskopií hodnoceny z hlediska makroskopické morfologie. Proběhne hodnocení termických vlastností vyrobených kuliček s využitím termomechanické analýzy (TMA) a termogravimetrické analýzy (TGA). Na základě výsledků těchto analýz bude stanoven režim optimálního tepelného zpracování a budou vytvrzeny zkušební vzorky. Po tepelném zpracování proběhne charakterizace struktury (SEM), porozity (SEM, MIP) a hodnocení fázového složení připravených vzorků před a po tepelném zpracování (XRD). Na připravených vzorcích bude provedena zkouška tlakem na univerzálním trhacím přístroji. V závěru práce budou interpretována získaná data a diskutovány výsledky měření.



Obrázek 11 Schematické znázornění průběhu experimentálního a analytického programu diplomové práce

6 Experimentální program

6.1 Chemikálie a vstupní suroviny

Pro přípravu geopolymerního gelu byl jako hlinito-křemičitý prekurzor použit metakaolin Boltin white (MK). Chemické složení metakaolinu bylo zjištěno XRF analýzou na spektrometru RIGAKU Supermini200 a je uvedené v tabulce 4. Prášková složka byla míchána s vodným roztokem křemičitanu sodného (Na_2SiO_3) s křemičitým modulem 1,6 (59,6 hm.% H_2O).

Další křemičitou surovinou byl amorfní oxid křemičitý o vysoké čistotě (FS - angl. „fumed silica“) od výrobce OCI Company Ltd.. Chemické složení uvedené výrobcem v technickém listu je v tabulce 4.

Poslední použitou surovinou byl fosforečnan vápenatý ve formě prášku od firmy Sigma-Aldrich. Jednalo se o β -trikalcium fosfát (β -TCP) s chemickým vzorcem ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) a molárním poměrem Ca/P 1,5. Čistota prášku uvedená výrobcem je $\geq 96,0 \%$ [38].

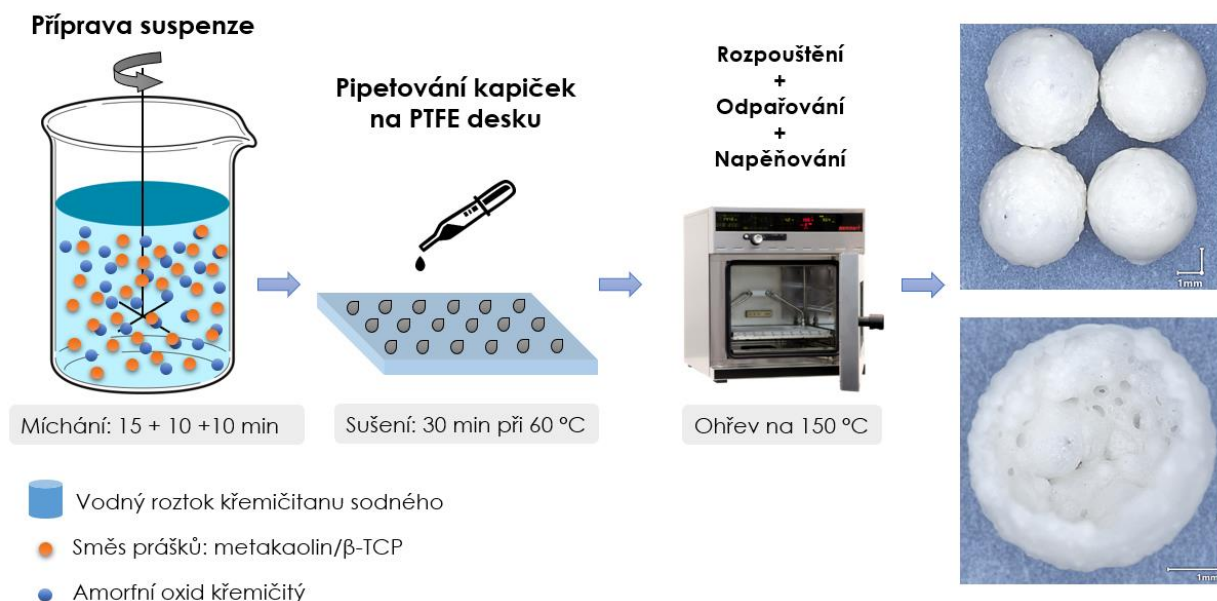
Tabulka 4 Chemické složení metakaolinu [hmot. %]

	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	TiO_2	K_2O	CaO	Ostatní prvky (<0,01 %)	Ztráta žháním
MK	52,9	44,9	0,84	0,52	0,44	0,24	0,16	5 %
FS	> 99,8	< 0,05 %,	-	-	-	-	< 0,003 % (MgO, TiO_2)	0,67 %

6.2 Příprava porézního materiálu

Pro přípravu porézního sklo-keramického materiálu byla použita technika napěňování geopolymerní matrice, schematicky znázorněna na obrázku 12. Nejprve byla připravena suspenze z metakaolinu a vodného roztoku křemičitanu sodného v poměru hmotností 1:5, která byla míchána laboratorní míchačkou po dobu 15 min při frekvenci 500 ot/min. Do suspenze byl dále přidán FS v poměru ke zbylé suspenzi 1:12 a suspenze byla znovu míchána po dobu 10 min při stejné frekvenci. Nakonec byl přidán ve čtyřech různých poměrech β -TCP a směs byla znovu promíchána po dobu 10 min při stejné frekvenci. Za účelem zkoumání vlivu množství β -TCP na vlastnosti porézního materiálu byli připravené celkem čtyři modifikované geopolymerní gely s poměrem β -TCP vůči zbytku suspenze 1/1,5/2/2,5:13.

Připravený gel byl ve formě kapiček manuálně pipetován na PTFE desky. Kapičky byly na PTFE deskách sušeny při teplotě $60 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut v laboratorní sušárně. Půlkulovité částice v semiplastickém stavu byly po sušení sejmuty z PTFE desek a napěňovány v laboratorní sušárně při teplotě $150 \text{ }^\circ\text{C}$. K napěňování docházelo vlivem souběhu několika efektů: odpařování vody, chemickým uvolňování plynného vodíku částečnou redukcí molekul vody v alkalickém prostředí a vlivem kontinuálního rozpouštění oxidu křemičitého, tj. tvorby neutrální formy $\text{Si}(\text{OH})_4$. Současně také docházelo ke zvyšování viskozity a postupnému vytvrzování napěňovaných kuliček [39].



Obrázek 12 Schematické znázornění přípravy modifikovaných geopolymerních kuliček

Chemické složení připravených směsí zjištěných pomocí XRF analýzy na spektrometru RIGAKU Supermini200 je uvedeno v tabulce 5. V závislosti na množství β -TCP byly hmoty označeny D1 - D4, kde D1 obsahovalo nejmenší množství β -TCP.

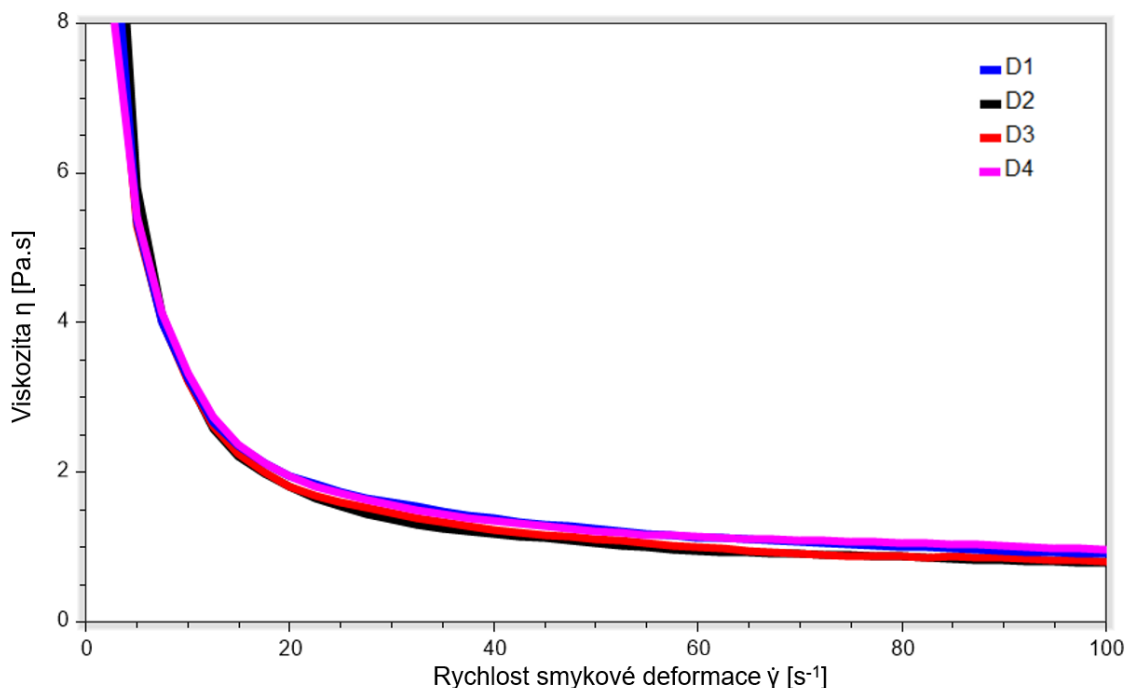
Tabulka 5 Chemické složení připravených D1 – D4 v hmot. %

	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Na ₂ O	CaO	P ₂ O ₅	TiO ₂	K ₂ O	Fe ₂ O ₃	MgO
D1	55.61	11.81	16.71	7.36	7.74	0.23	0.19	0.31	-
D2	52.22	11.00	16.01	9.73	10.30	0.14	0.17	0.31	0.14
D3	49.43	10.40	15.52	11.70	12.20	-	0.14	0.30	0.19
D4	45.94	9.80	14.71	14.10	14.90	0.14	0.11	0.31	-

6.3 Charakterizace geopolymerních částic

6.3.1 Reometrie

Pro stanovení viskozity, vzhledem ke zpracovatelnosti modifikovaných geopolymerních hmot, byla provedena tři měření viskozity (pro každou sérii) na rotačním reometru ARES-G2. Výsledné porovnání průběhu viskozit je zobrazené na obrázku 13. Pro doplnění grafického hodnocení jsou v tabulce 6 uvedené hodnoty viskozity při smykové rychlosti 100 s⁻¹.



Obrázek 13 Graf viskozity v závislosti na smykové rychlosti]

Tabulka 6 Hodnoty viskozity při smykové rychlosti 100 s^{-1}

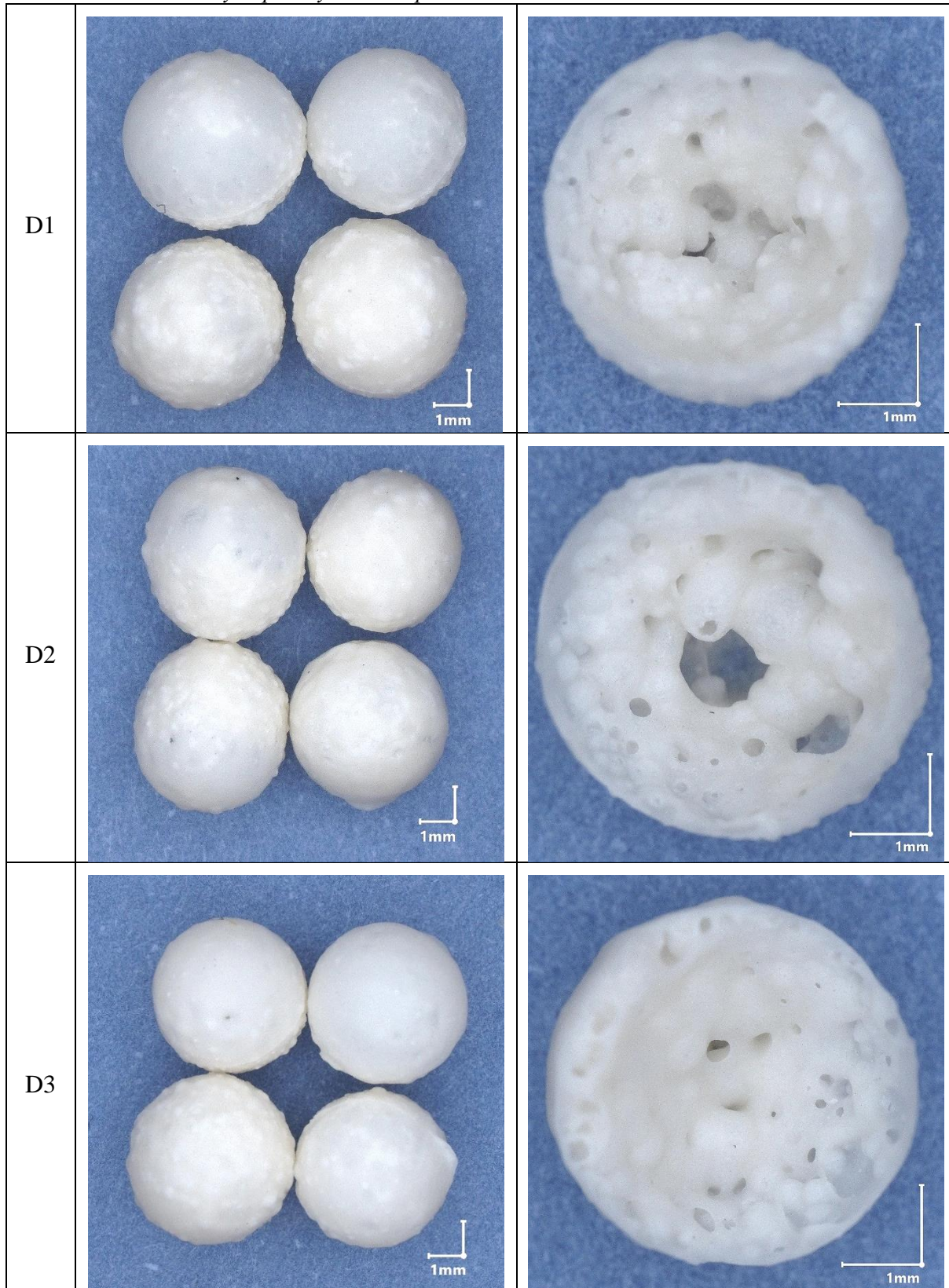
	D1	D2	D3	D4
Viskozita [Pa·s]	0,9151	0,8014	0,8089	0,9602

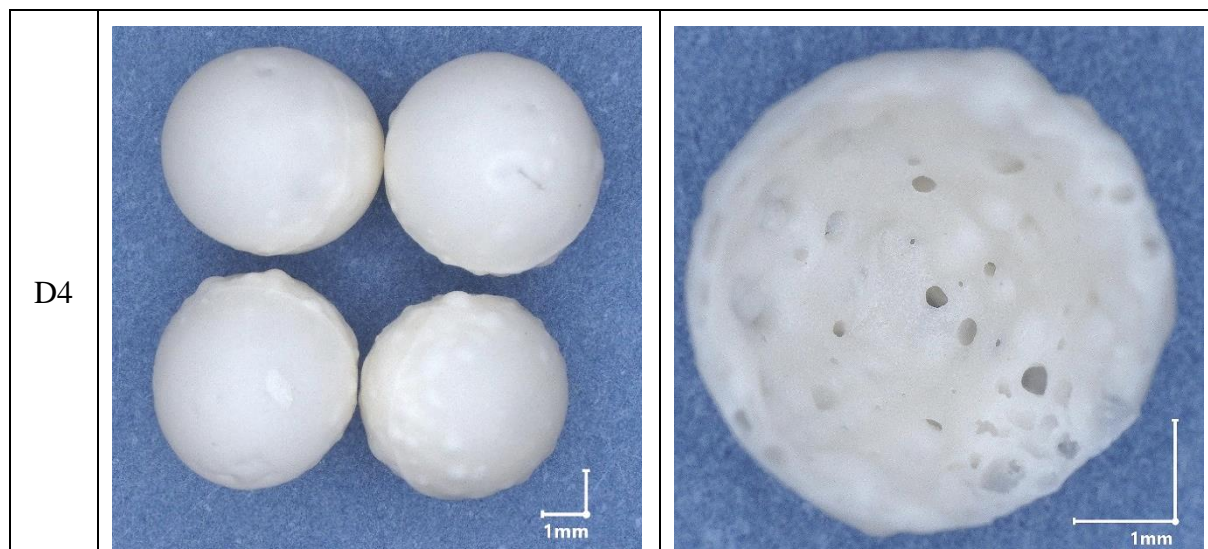
Z grafu i tabulky výsledků je zřejmé, že všechny připravené modifikované hmoty měly velmi podobný průběh i hodnoty viskozity, i přesto, že rozdíl v procentuálním podílu β -TCP v gelu v porovnání D1 a D4 byl přibližně 10 %. Na základě výsledků reometrie nebyl vzhledem ke zpracovatelnosti gelu stanoven limit pro maximální množství β -TCP v experimentální směsi.

6.3.2 Hodnocení povrchové morfologie

Hodnocení povrchové morfologie, po napěnění modifikovaných geopolymerních kuliček, probíhalo na digitálním světelném mikroskopu KEYENCE VHX-7000 series. Analyzované kuličky vyobrazené na snímcích v tabulce 7 byly duté a měly kulovitý tvar. Velikost kuliček se pohybovala v rozmezí 3 – 5 mm. Povrch kuliček byl zvrásněný a u některých kuliček obsahoval otevřené póry. Ze snímků zobrazující řez byla patrná porozita stěn dutých kuliček s kombinací uzavřených a vzájemně propojených otevřených pórů. Tloušťka stěn se pohybovala v řádech desetin milimetru. U vzorku D1 se vnitřní povrch jevil jako více členitý, s přibývajícím množstvím β -TCP se členitost postupně snižovala.

Tabulka 7 Makro snímky napěněných částic při zvětšení 20x a 50x





6.3.3 Tepelné zpracování a termické vlastnosti

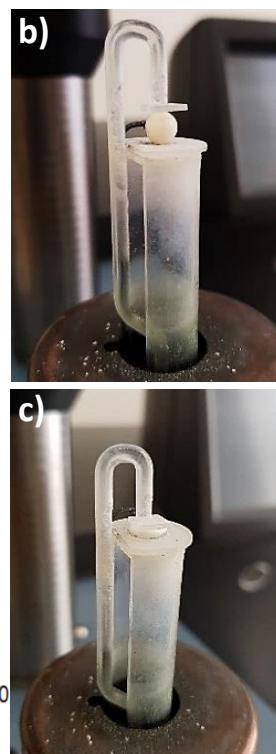
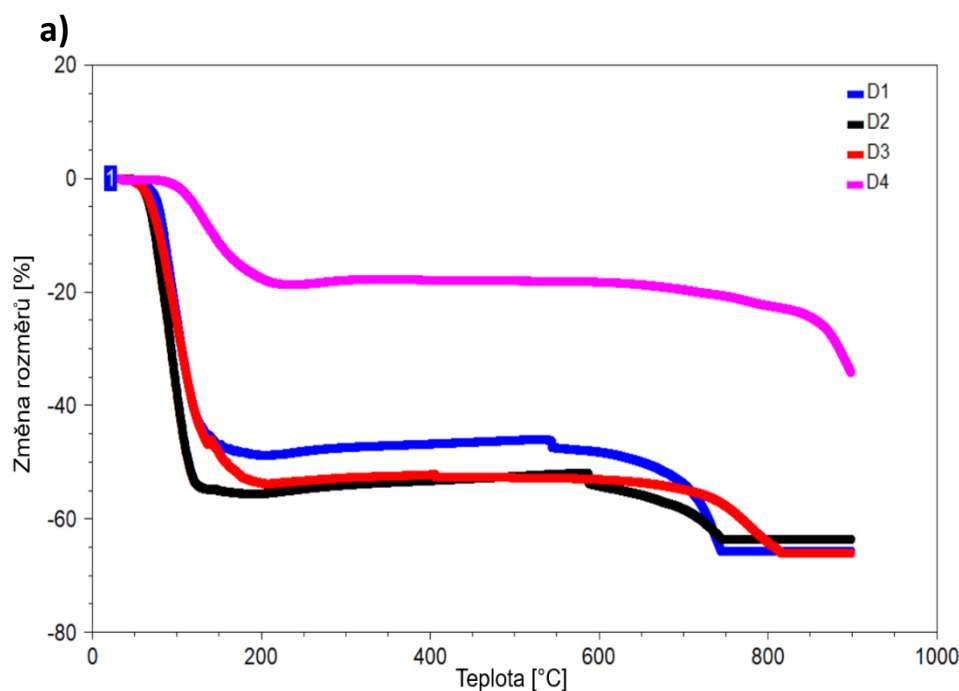
Pro zjištění termických vlastností a množství obsažené vlhkosti připravených kuliček byly provedeny termomechanická a termogravimetrická analýza.

Termomechanická analýza

Termomechanická analýza vzorků D1 – D4 byla provedena na přístroji TA Instruments Q400. Při TMA bylo pro zajištění polohy kuliček během měření aplikováno zatížení $F=0,05N$. Měření probíhalo v intervalu teplot od 30 do 900 °C při rychlosti ohřev 5 °C/min. Průběh TMA a snímky vzorku D3 před a po analýze jsou zobrazeny na obrázku 14.

Z grafu TMA je patrné, že v teplotním rozmezí od 60 °C do 200 °C docházelo u všech analyzovaných vzorků k největším objemovým změnám, způsobených odpařováním vlhkosti z povrchu a pórů vzorků. Při teplotách nad 550 °C docházelo u všech vzorků k dalším objemovým úbytkům, v případě D1 a D2 až do teploty 750 °C, u D3 při teplotě 800 °C a u vzorku D4 se úbytek až do konečné teploty měření 900 °C nezastavil. Tyto úbytky lze vysvětlit tím, že u částic docházelo k postupnému natavování povrchu a k objemovému smrštění. U vzorků D1-D3 lze také pozorovat v poslední části grafu konstantní průběh křivek, způsobený zborcením struktury duté kuličky, které je možné pozorovat v intervalu teplot 750 – 900 °C a na obrázku 14 c). Jak je patrné z grafu u vzorku D4 jako u jediného k tomuto zborcení nedošlo.

U vzorků D1 – D3 došlo ke změně rozměru (smrštění v ose měření) o přibližně 50 %. V případě D4 došlo k rozměrové změně o přibližně 20 %. Jedním z důvodů výrazně menšího smrštění mohl být nižší procentuální obsah vodného roztoku křemičitanu sodného, tj. vyšší podíl práškové složky. Dalšími důvody mohly být také rozdíly v morfologii povrchu, velikosti přítomných pórů a v podílu otevřené a uzavřené porozity vzorku.

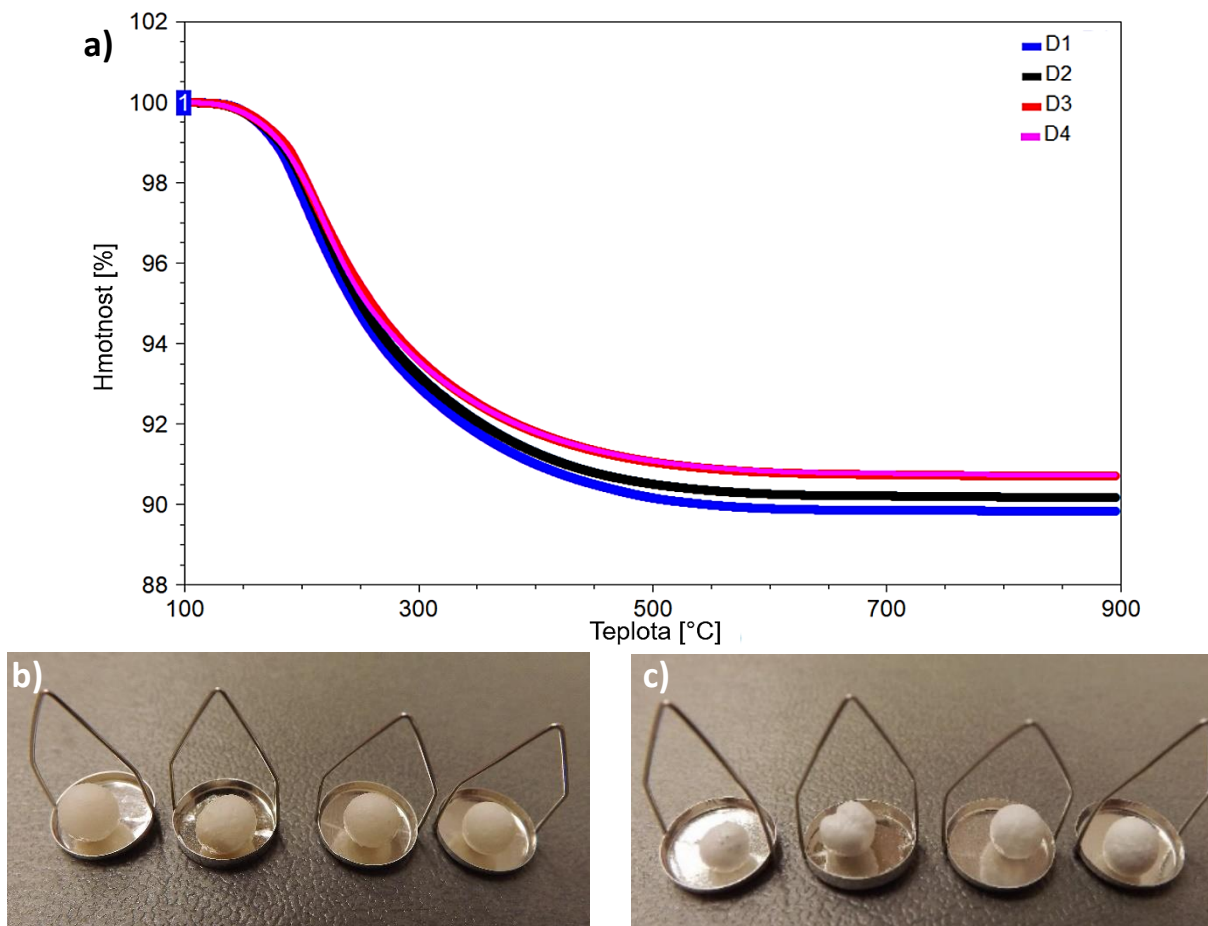


Obrázek 14 a) graf termomechanické analýzy, b) snímky vzorku D3 před TMA a c) po TMA

Termogravimetrická analýza

Termogravimetrická analýza byla provedena na přístroji TA Instruments Q500. Měření probíhalo v atmosféře vzduchu při teplotách od 30 °C do 900 °C a rychlosti ohřevu 10 °C/min. Grafické znázornění průběhu analýzy je vyobrazené na obrázku 15, společně se snímky vzorků před a po analýze.

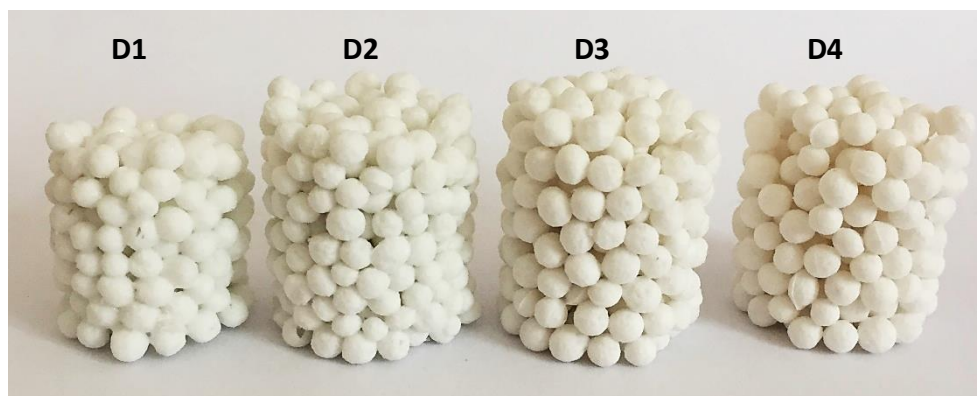
Z grafu TGA je patrné, že změna hmotnosti všech vzorků má podobnou kinetiku. U všech vzorků docházelo při intervalu teplot 100 – 600 °C ke změně hmotnosti, způsobené odpařováním vody v pórech a vody vázané ve vodném roztoku křemičitanu sodného. Kontinuální úbytek hmotnosti nad teplotou 400 °C může být také způsoben postupnou dehydroxylací nezreagované metakaolinové složky. Při teplotách nad 600 °C již k výraznému úbytku hmotnosti nedocházelo. Přibližný úbytek pro vzorky D3 a D4 byl 9 %, pro vzorek D2 9,5 % a pro vzorek D1 10 %.



Obrázek 15 a) graf termogravimetrické analýzy, b) snímky vzorků před TGA a c) po TGA

Tepelné zpracování

Na základě výsledků termických analýz byla zvolena teplota pro tepelné zpracování dutých kuliček na teplotu 850 °C, kdy dochází k natavení i částic hmoty D4. Částice o velikosti v rozmezí 3,4 – 4,7 mm byly tepelně zpracovány ve formě z žáruvzdorné pěny (Sibral), do které byly volně vsypány. Tepelné zpracování probíhalo v atmosféře vzduchu s rychlostí ohřevu 10 °C/min. Po dosažení teploty 850 °C vzorky pozvolna chladly v peci. Výsledkem jsou vzorky zobrazené na obrázku 16.



Obrázek 16 Vzorky D1 – D4 po tepelném zpracování

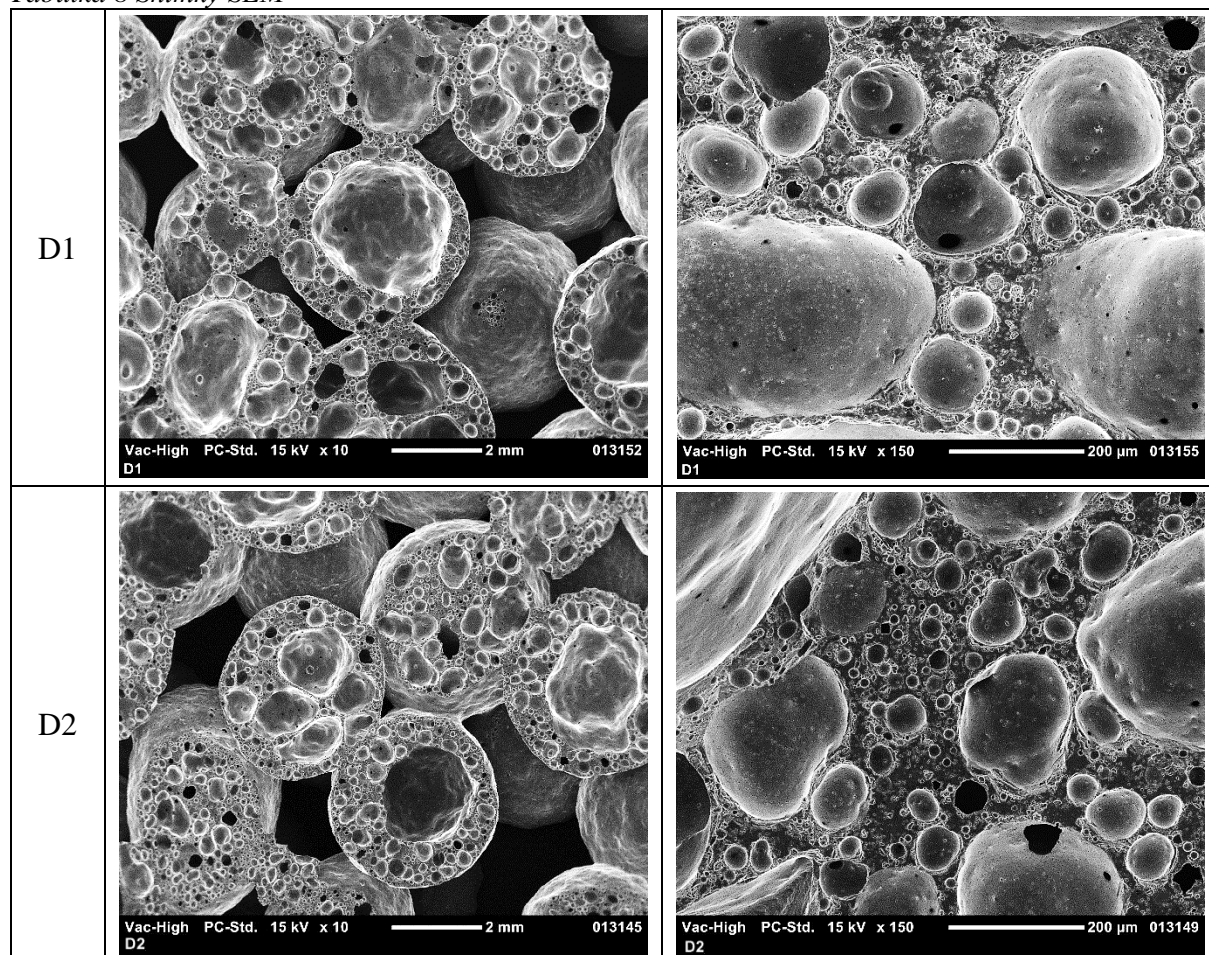
6.3.4 Hodnocení morfologie a porozity SEM

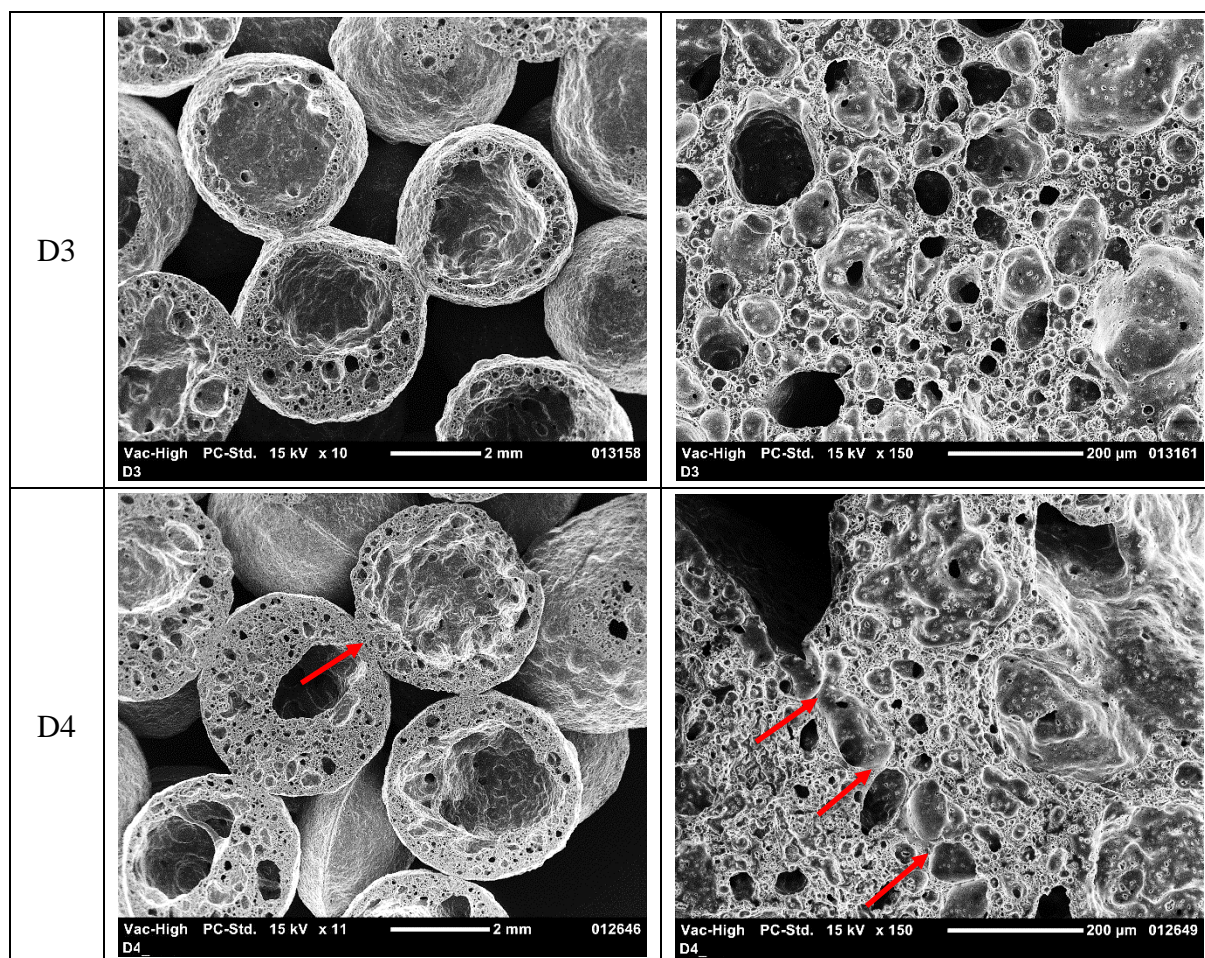
Po tepelném zpracování byla hodnocena porozita na řádkovacím elektronovém mikroskopu JCM-5000 NeoScope™. Vzorky byly uříznuty na metalografické pile, následně byly očištěny v sonifikační lázni obsahující destilovanou vodu a čisticí prostředek (1,5 hod.) a nakonec sušeny v laboratorní sušárně. Snímky ze SEM jsou zobrazeny v tabulce 8. Pro každý vzorek jsou uvedeny snímky celých kuliček a detail rozhraní.

Na snímcích lze pozorovat kuličky obsahující jeden velký centrální pór i kuličky s většími póry v oblasti středu a další porozitu ve stěnách částice. U vzorků D1 a D2 převažovalo větší množství kuliček obsahující více větších pórů místo jednoho centrálního. Stěny všech kuliček měly nepravidelnou tloušťku pohybující se v řádech stovek μm . Vnitřní i vnější povrch byl zvrásněný, u vzorků D3 a D4 se na snímcích jeví jako více členitý. Ze snímků je patrné, že velikost pórů se s přibývajícím podílem β -TCP snižovala. U kuliček vzorku D1 se vyskytovaly póry v řádek stovek μm , kdežto u D4 spíše v desítkách μm .

Hranice jednotlivých kuliček jsou u D1, D2 a D3 slinuté, na snímcích nelze rozeznat přesné rozhraní. U vzorku D4 lze poznat „kontaktní“ zónu rozhraní (označeno červenou šipkou) kuliček tím, že obsahuje póry větší velikosti, než je velikost pórů v okolí a tyto póry tvoří řadu a jsou vzájemně propojené.

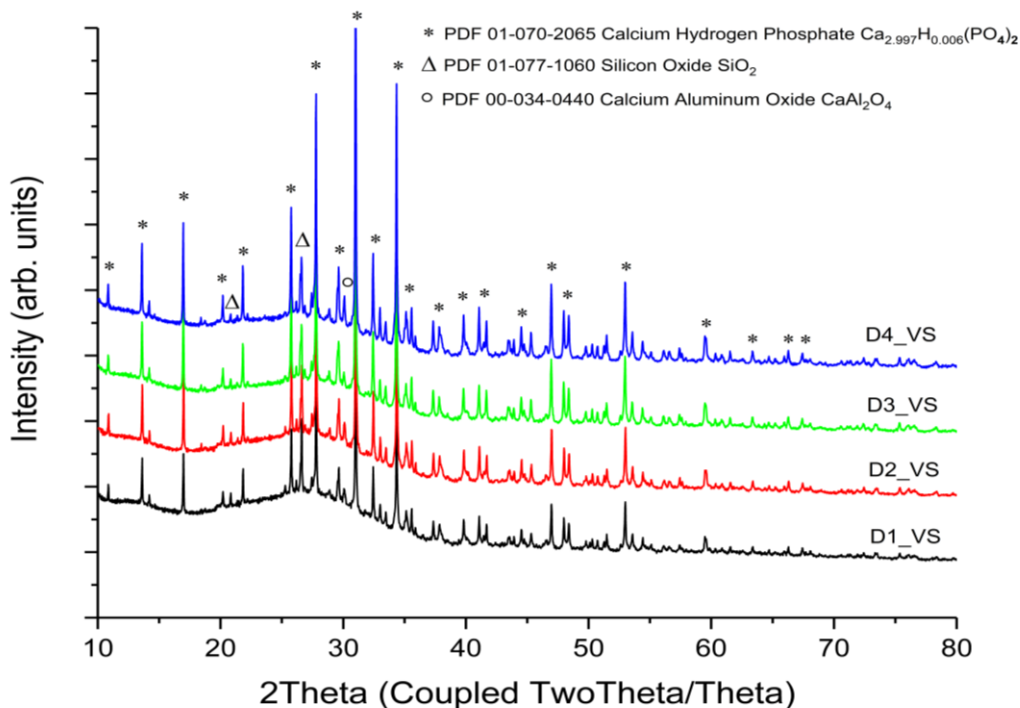
Tabulka 8 Snímky SEM



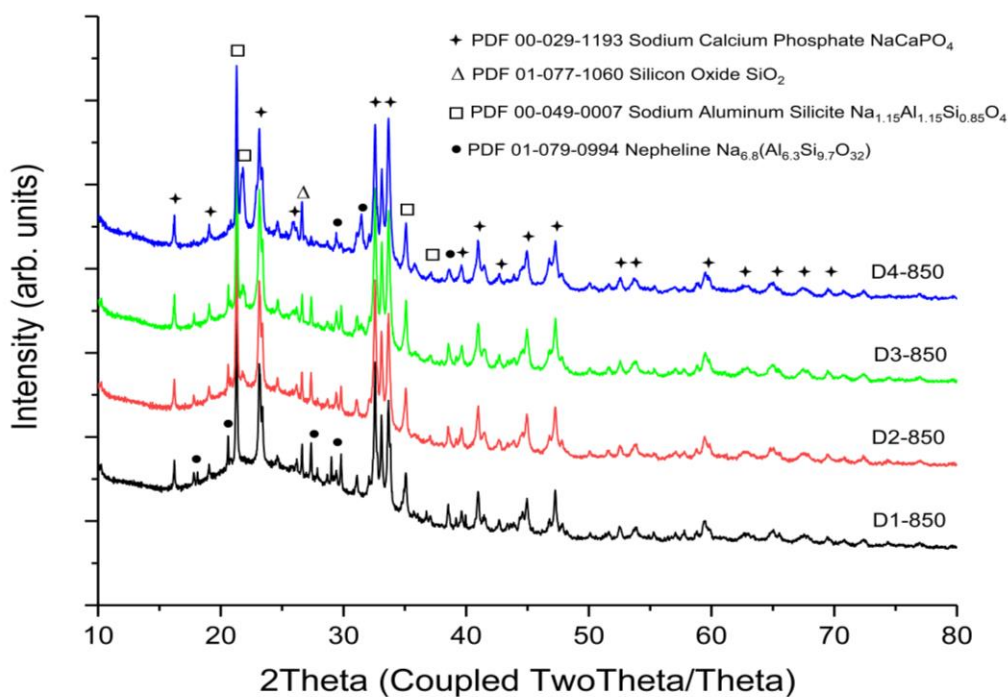


6.3.5 Analýza fázového složení

Rentgenovou difrakční analýzou na přístroji Philips X'Pert PRO automatic bylo zkoumáno fázové složení kuliček před a po tepelném zpracování. Difrakční analýzou byla prokázána přítomnost oxidu křemičitého, hydrogen fosforečnanu vápenatého a oxidu vápenato hlinitého (obrázek 17). Podíl alkálií ve formě sodných iontů vedl po tepelném zpracování u všech sérií ke krystalizaci sodno-vápenatých a sodno-hlinitých fází (obrázek 18). Z difrakčních profilů je možné pozorovat, že s klesajícím množstvím alkálie a vyšším podílem β -TCP v gelu před napěněním, dochází ke zvýšení podílu krystalické fáze. Dále je patrné, že oxid křemičitý zůstal po tepelném zpracování ve formě oxidu křemičitého, ale také došlo k jeho interakci s dalšími krystalickými fázemi s výjimkou hydrogen fosforečnanu vápenatého.



Obrázek 17 Fázové složení částic před tepelným zpracováním



Obrázek 18 Fázové složení částic po tepelném zpracování

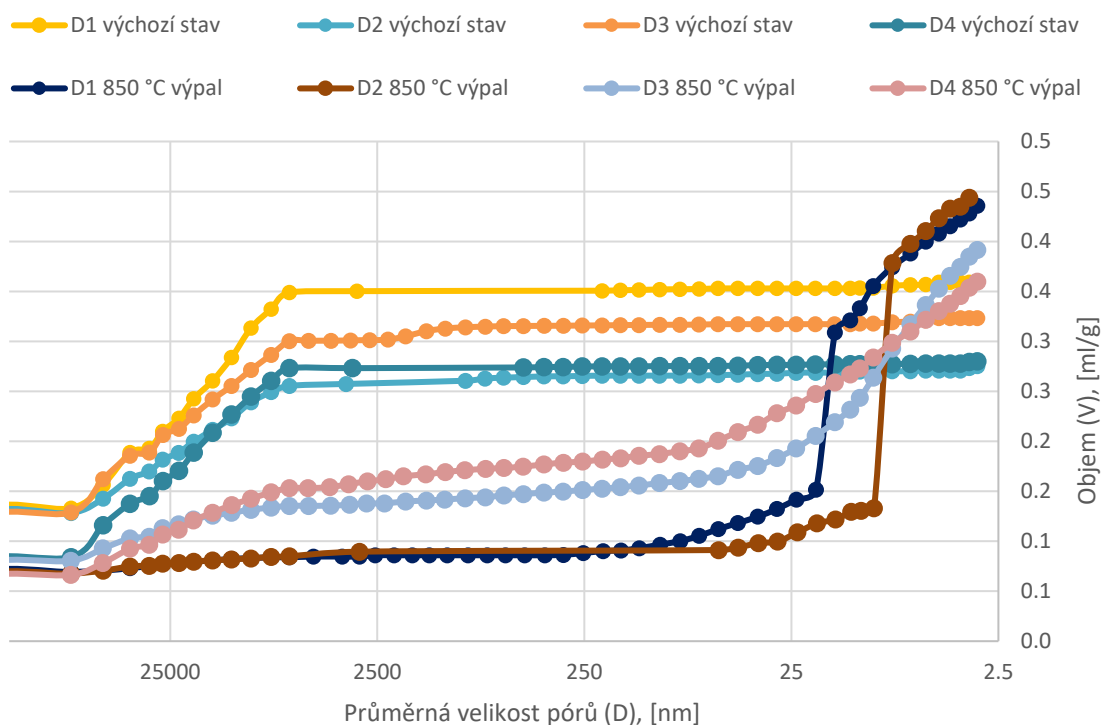
6.3.6 Hodnocení porozity – rtuťová porozimetrie

Pro zhodnocení množství a velikosti pórů bylo provedeno měření pomocí rtuťové porozimetrie. Výstupem této analýzy je tabulka 9 udávající porozitu a graf zobrazující kumulativní křivku popisující přítomnost, distribuci a velikost pórů (obrázek 19). Výsledky rtuťové porozimetrie jsou hodnoceny v celkovém rozsahu od 3 nm do 150 μm . Z tabulky udávající porozitu je zřejmé, že celková porozita je u vzorku s největším podílem β -TCP nejmenší.

Z grafu lze vyčíst, že ve stavu před tepelným zpracováním, je podíl pórů v rozsahu od desítek μm do 2,5 nm stabilní. Naproti tomu tepelným zpracováním dochází skokově v celém rozsahu k poklesu koncentrace pórů. Tento vývoj lze vysvětlit postupným procesem viskózního toku matrice a kolapsem většího počtu velmi malých pórů (od jednotek nm po μm) během tepelného zpracování porézních vzorků. Z pohledu porozity lze vyhodnotit, že největší odpor proti zániku pórů vykazoval vzorek D4, u kterého také nejhůře docházelo ke slinování.

Tabulka 9 Rtuťová porozimetrie

	D1 (850 °C)	D2 (850 °C)	D3 (850 °C)	D4 (850 °C)
Porozita [%]	45.4	46.4	42.9	41.4



Obrázek 19 Graf celkového intruzního objemu

6.3.7 Hodnocení mechanických vlastností

Pro zhodnocení mechanických vlastností vzorků D1-D3 byla provedena univerzální tlaková zkouška. Vzorek D4 neměl dostatečnou manipulační pevnost, měl velmi nízkou integritu a již při vyjmutí z formy po tepelném zpracování se některé kuličky uvolnily. Zkouška byla provedena vždy na 15 nestandardních zkušebních tělesech o průměru 25 mm a výšce 28 mm, která byla zatěžována zkušební rychlostí 0,05 MPa/s. Jak je patrné z tabulky 10, tak s přibývajícím množstvím β -TCP docházelo ke snižování odolnosti v tlaku. Tento vývoj lze

vysvětlit nižším stupněm propojení jednotlivých kuliček, tj. natavením povrchu během tepelného zpracování. Variační koeficient naměřených hodnot pro jednotlivé série se pohybuje v rozmezí ~ 20-30 %. Vysoká variabilita výsledků pevnosti v tlaku je způsobena nízkou homogenitou rozložení jednotlivých kuliček ve formě. Duté kuličky byly volně sypány do formy připravené z izolační pěnové vaty Sibrál. Nízká rozměrová stabilita žáruvzdorné pěny tak nedovolovala zhutnění dutých kuliček ve formě.

Tabulka 10 Výsledné hodnoty zkoušky tlakem

	Odolnost v tlaku [MPa]	Standartní odchylka [MPa]	Variační koeficient [%]
D1	2,70	0,87	32,14
D2	1,53	0,27	17,49
D3	0,57	0,14	25,10

7 Diskuse výsledků

V předložené diplomové práci byla prozkoumána možnost přípravy vysoce porézního sklo-keramického materiálu na bázi Al-Si matrice, modifikované práškovým fosforečnanem vápenatým. Záměrem bylo připravit porézní anorganický kompozitní materiál, který svými chemicko-fyzikálními vlastnostmi splňuje parametry bioaktivního scaffoldu. Pro přípravu byla použita technika napěňování geopolymerní matrice. Surovinami pro výrobu byl metakaolin, vodný roztok křemičitanu sodného, amorfni oxid křemičitý a fosforečnan vápenatý (β -TCP).

Celkem byly připraveny 4 druhy geopolymerních hmot, ve kterých se měnilo množství β -TCP. Vzorky byly označeny D1 – D4, kde vzorek D1 obsahoval nejmenší množství β -TCP. Pro připravené hmoty byla nejprve provedena analýza chemického složení (XRF) a reometrie. Reometrickým měřením byla stanovena viskozita, která měla pro všechny hmoty velmi podobný průběh i hodnoty. Vzhledem ke zpracovatelnosti hmot, tak nebyly na základě reometrie stanoveny hraniční hodnoty pro množství β -TCP a je patrné, že i přes to, že dochází ke změně poměru jednotlivých surovin, nedocházelo k výrazným rozdílům ve viskozitě.

Z hlediska mikrostrukturního hodnocení lze konstatovat, že všechny kuličky byly duté, měly kulovitý tvar, porézní stěny a velikost přibližně 3 - 5 mm. Porozita kuliček byla složena z kombinace otevřených a uzavřených pórů. Tloušťka stěny se pohybovala v řádech desetin milimetrů. U vzorku D1 byla pozorována největší členitost vnitřního povrchu, která se však u vzorků s vyšším množstvím β -TCP zmenšovala. Nicméně dosažení víceúrovňové porozity u porézních kuliček ve výchozím stavu představovalo dobrý předpoklad pro přípravu porézního vzorku s různým podílem otevřené a uzavřené pórovitosti.

Následně byly provedeny termické analýzy TMA a TGA. Z těchto analýz bylo zjištěno, že u všech vzorků dochází k největším objemovým změnám při teplotách do 200 °C, vlivem odpařování vlhkosti obsažené v pórech. K dalšímu smrštění dochází při teplotách nad 550 °C, kdy dochází k natavení kuliček, a tím zmenšení jejich objemu. U vzorků D1 – D3 došlo k celkovému smrštění o přibližně 50 %, u vzorku D4 jen o 20 %, což lze vysvětlit vyšším podílem práškové složky. Vyšší tepelná stabilita vzorku D4 je pravděpodobně způsobena i přítomností vyššího podílu malých pórů ve stěně duté kuličky (jednotky μm) a vyšší kompaktností povrchu kuliček (hladší povrch). U vzorku D4 (s nejmenším podílem alkalické složky), jako u jediného vzorku, nedošlo během TMA analýzy ke zborcení struktury. Termickou analýzou TGA bylo zjištěno, že u všech vzorků dochází k úbytku hmotnosti do teploty 600 °C vlivem odpařování vody a pravděpodobně také dodatečnou dehydroxylací nezreagované metakaolinové složky při teplotách nad 400 °C.

Na základě provedených termických analýz byla zvolena teplota tepelného zpracování v atmosférické peci na 850 °C, a to z toho důvodu, že při této teplotě dochází k slinování i hmoty D4. Při tepelném zpracování byly vytvořeny válečky sestávající z geopolymerních dutých kuliček, u kterých bylo následně provedeno hodnocení porozity a morfologie.

Ze snímků SEM bylo zjištěno, že u tepelně zpracovaných vzorků D1 a D2 se častěji vyskytovaly kuličky obsahující ve středové oblasti více pórů, oproti tomu u kuliček D3 a D4 se jednalo spíše o jeden centrální pór. Se zvyšujícím se podílem β -TCP také docházelo ke zmenšování velikosti pórů. Na základě výsledků termomechanické analýzy lze také konstatovat, že u vzorku D4 jako u jediného nedošlo k dostatečnému slinování kuliček. Na rozhraní se vyskytovaly větší vzájemně propojené póry tvořící „kontaktní“ zónu. U ostatních vzorků tento jev nebyl patrný.

Rentgenovou difrakční analýzou bylo prokázáno, že podíl alkálií ve formě sodných iontů vedl po tepelném zpracování u všech sérií ke krystalizaci sodno-vápenatých a sodno-hlinitých fází. Se zvyšujícím se podílem β -TCP docházelo ke zvýšení podílu krystalické fáze.

Rtuťovou porozimetrií byly zjištěny hodnoty porozity, kde D1 byla 45,4 %, D2 byla 46,4 %, D3 byla 42,9 % a D4 byla 41,4 %. Na základě této analýzy také bylo zjištěno, že před vypálením je podíl pórů stabilní, ale po tepelném zpracování dochází k poklesu koncentrace pórů, vlivem slinutí (postupný viskózní tok matrice), kdy největší odpor proti kolapsu pórů byl u vzorku D4, který měl největší množství β -TCP a také u něj nedošlo k dostatečnému natavení povrchu.

Univerzální tlakovou zkouškou byly hodnoceny mechanické vlastnosti. Vzorek D4 vykazoval nedostatečnou manipulační pevnost, protože nedošlo k plnému natavení rozhraní kuliček, což také bylo identifikováno na snímcích SEM. U vzorků D1-D3 bylo zkouškou tlakem zjištěno, že s přibývajícím množstvím β -TCP dochází ke snižování odolnosti proti namáhání tlakem. Výsledné hodnoty odolnosti proti namáhání v tlaku jsou D1 $\sim 2,7 \pm 0,87$ MPa, D2 $\sim 1,53 \pm 0,27$ MPa a D3 $\sim 0,57 \pm 0,14$ MPa.

Závěr

V diplomové práci se podařila úspěšná příprava porézních substrátů tvořených geopolymerní maticí modifikovanou různým podílem práškovým fosforečnanem vápenatým. Bylo prokázáno, že různým podílem β -TCP lze efektivně ovlivnit chemicko-fyzikální vlastnosti hlinito-křemičité hmoty a řídit tak morfologii povrchu, vnitřní porozitu a tepelnou stabilitu výsledných porézních struktur.

Pro zhodnocení byly v experimentálním programu využity analytické metody XRF, reometrie, TMA, TGA, světelná mikroskopie, SEM, XRD, mechanická zkouška tlakem a rtuťová intruzní porozimetrie (MIP). Na základě popisu termických vlastností dutých kuliček byla zvolena optimální teplota tepelného zpracování porézních vzorků, popsány chemicko-fyzikální vlastnosti připraveného materiálu a vliv množství β -TCP na tyto vlastnosti.

V experimentálním programu bylo prokázáno, že množství β -TCP v připravených hmotách nemělo výrazný vliv na zpracovatelnost materiálu. I přesto, že viskozita hmot byla velmi podobná, výsledné struktury a termické vlastnosti připravených porézních materiálů se prokazatelně lišily. Bylo zjištěno, že s přibývajícím množstvím β -TCP a zmenšujícím se podílem alkalické složky se zvyšuje podíl krystalických sodno-vápenatých a sodno-hlinitých fází po tepelném zpracování. Bylo prokázáno, že se zvětšujícím se podílem β -TCP dochází k menším objemovým změnám porézních kuliček, které vykazují (po tepelném zpracování) nižší porozitu s podílem menších pórů. U vzorku s největším množstvím β -TCP se snižuje celková kompaktnost vzorku po tepelném zpracování. Porézní kuličky vytvářejí spojitou pevnou fázi, ale krčky, vzniklé natavením povrchu, jsou příliš tenké a dochází lehce k jejich porušení během manipulace se vzorky.

Zajímavým řešením pro další experimenty může být zachování cca. 10% podílu β -TCP v hlinito-křemičité hmotě (stav D4), ale zvýšit teplotu výpalu na ~ 900 až 950 °C. Lze očekávat intenzivnější propojení stěn porézních kuliček vlivem tepelného slinování povrchu a výrazné zlepšení mechanické integrity připravených vzorků.

V diplomové práci se podařilo ověřit koncept techniky přípravy netradičních porézních materiálů kombinací napěnění a částečného natavení. Lze konstatovat, že připravené porézní anorganické kompozity splnily (z pohledu materiálové-chemie) předpoklady pro potenciální bioaktivní „scaffoldy“. Tento závěr lze podložit i předběžnými výsledky adheze a proliferace buněk MG-63 (lidský osteosarkom), které prokázaly netoxicitu materiálu a rozvoj buněčné aktivity již po 24 hodinách a dále po 168 hodinách na porézním povrchu vzorků.

Reference

- [1] HAMMEL, E.C. , IGHODARO, O.L.-R., OKOLIN, O.I. Processing and properties of advanced porous ceramics: An application. *Ceramics International*. [online] č. 40 (2014), edice 10, s. 15358-15370. ISSN 0272-8842. [cit. 10.12.2021] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.06.095>.
- [2] JEONG, J., KIM, J.H., SHIM, J.H., et al. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomaterial Research*. [online] č. 23 (2019) [cit. 19.9.2021]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0149-3>.
- [3] BÁRTOLO, P., BIDANDA, B. *Bio-Materials and Prototyping Applications in Medicine*. New York: Springer, 2008, s. 1-14. ISBN: 9780387476827.
- [4] WONG, J.Y., BRONZINO, J.D., PETERSON, D.R. *Biomaterial, Principle and practice*. Boca Raton: CRC Press, 2013. ISBN: 9781439872512.
- [5] THOMAS, S., BALAKRISHNAN, P., SREEKALA, M.S. *Fundamental Biomaterials: Ceramics*. Duxford: Elsevier Science, 2018. ISBN: 9780081022047.
- [6] DEE, K.C., PULEO, D.A., BIZIOS, R., *An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2002. ISBN: 9780471253944.
- [7] PARK, J., LAKES, R.S. *Biomaterials: An Introduction*. New York: Springer, 2007. 3. vyd. ISBN: 9780387378794.
- [8] RATNER, B.D. , HOFFMAN, A.S., SCHOEN, F.J., LEMONS, J.E. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Oxford: Academic Press, 2013. 3. ed. ISBN: 9780123746269.
- [9] *OrthoCeramics: Chapter 2. Ceramic Hip Designs, Manufacturing, and Reliability*. [online] Implant Research Center, ©2020 [cit. 28.1.2022]. Dostupné z: <https://biomed.drexel.edu/orthoceramics/Encyclopedia/chapter2.html>.
- [10] *Bicarbon Aortic Valves | LivaNova*. [Online] [cit. 28.1.2022] Dostupné z: https://livanovamediaproduct.azureedge.net/livanova-media/livanova-public/media/resources01/ous_only_livanova_bicarbon_family_ic0870001130-o.pdf?ext=.pdf.
- [11] *PyroCarbon MCP Total Joint | Smith & Nephew*. [Online]. [cit. 28.1.2022] Dostupné z: <https://www.smith-nephew.com/professional/products/trauma/handandwrist/pyrocarbon-mcp-total-joint/>.
- [12] LIU, P.S., CHEN, G.F. *Porous Material: Processing and Applications*. Oxford: Elsevier, 2014. ISBN: 9780124077881.
- [13] SÁENZ, A., RIVERA-MUÑOZ, E., BROSTOW, W., CASTAÑO, V.M.. Ceramic Biomaterials: An Introductory Overview, *Journal of Materials Education*. [online] sv. 21, s. 297-306. [cit. 12.11.2021] Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/234840640_Ceramic_biomaterials_An_introductory_overview
- [14] ČIHÁK, R. *Anatomie 1*. 3. upravené a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2011. s. 21-22. ISBN: 9788024738178

- [15] BAINO, F., NOVAJRA, G., VITALE-BROVARONE, C. Bioceramics and Scaffolds: A Winning Combination for Tissue Engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. [online] č. 3; 202 (2015). [cit. 8.12.2021] Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00202>.
- [16] BRINKER, C.J., SCHERER, G.W. *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Boston: ACADEMIC PRESS, INC, 1990. ISBN: 9780080571034.
- [17] CARTER, C.B. *Sols, Gels, and Organic Chemistry*. In: *Ceramic Materials*. New York: Springer, 2007. ISBN: 9780387462707.
- [18] SUTYGINA, A., BETKE, U., HASEMANN, G., SCHEFLER, M. Manufacturing of Open-Cell Metal Foams by the Sponge Replication Technique. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 882. [online] (2020). [cit. 19.9.2021] Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/882/1/012022>
- [19] KOVÁŘÍK, T., HÁJEK, J., HERVERT, T., et al. Silica-based geopolymer spherical beads: Influence of viscosity on porosity architecture. *Cement and Concrete Composites*. [online] č. 124 (2021), [cit. 11.2.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2021.104261>.
- [20] KOVÁŘÍK, T., HÁJEK, J. Porous geopolymers: processing routes and properties. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*. [online] 2020. [cit. 26.2.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/613/1/012048>
- [21] ELIAZ, N., METOKI, N. Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials*. [online] č. 10; 334 (2017). [cit. 12.2.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma10040334>
- [22] KUCKO, N.W, HERBER, R.P., LEEUWENBURGH, S.C.G., JANSEN, J.A. Chapter 34 - Calcium Phosphate Bioceramics and Cement. *Principles of Regenerative Medicine (Third Edition)*, Leiden, Academic Press, 2019, s. 591-611. ISBN 9780128098806. [cit. 29.1.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00034-5>.
- [23] HABARAKEN, W., HABIBOVIC, P., EPPLE, M., BOHNER, M. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future?. *Materials Today*. [online] č. 19; 2 (2016). s. 69-87. ISSN 1369-7021. [cit. 30.1.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2015.10.008>.
- [24] *XRF Explained* [online]. [cit. 18.4.2022]. Dostupné z: <https://www.spectro.com/xrf-principle#:~:text=The%20principle%20of%20XRF&text=A%20primary%20X%20ray%20C%20typically,and%20fluorescence%20radiation%20is%20emitted>
- [25] Rikagu, „Supermini200 | Rikagu Global Website,“ [online]. [cit. 2.4.2022] Dostupné z: <https://www.rigaku.com/products/wdxrf/supermini200>
- [26] Dutrow, B. L., Clark, C. M. „X-ray Powder Diffraction (XRD),“ [online]. [cit. 20.4.2022] Dostupné z: [https://serc.carleton.edu/msu_nanotech/methods/XRD.html#:~:text=X%20ray%20powder%20diffraction%20\(XRD\)%20is%20a%20rapid%20analytical,average%20bulk%20composition%20is%20determined](https://serc.carleton.edu/msu_nanotech/methods/XRD.html#:~:text=X%20ray%20powder%20diffraction%20(XRD)%20is%20a%20rapid%20analytical,average%20bulk%20composition%20is%20determined)

- [27] „Spectroscopy and Diffraction | Philips X'Pert 1 X-ray Diffractometer,“ [online]. [cit. 20.4.2022] Dostupné z: [https://www.utwente.nl/en/mechlab/spectroscopy_and_diffraction/Philips%20X%27Pert%201%20X-ray%20Diffractometer.whlink/..](https://www.utwente.nl/en/mechlab/spectroscopy_and_diffraction/Philips%20X%27Pert%201%20X-ray%20Diffractometer.whlink/)
- [28] BROCH-ARES-G2-2017-EN. [Online] TA Instruments, [cit. 8.4.2022] Dostupné z: <https://www.tainstruments.com/wp-content/uploads/BROCH-ARES-G2-2017-EN.pdf>
- [29] Stárnutí polymerních materiálu - aneb jak nám může pomoci reologie. [online] Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v.v.i., [cit. 8.4.2022] Dostupné z: https://www.ih.cas.cz/files/uploads/4_verejnost/1_verejnost/Reologie_starnuti.pdf.
- [30] T. F. Scientific, „Scanning Electron Microscopy | Principles of Scanning Electron Microscopy,“ [online]. [cit. 20.4.2022] Dostupné z: [https://www.thermofisher.com/cz/en/home/materials-science/learning-center/applications/scanning-electron-microscope-sem-electron-column.html#:~:text=Scanning%20electron%20microscopes%20\(SEMs\)%20use,lense%20in%20the%20electron%20column.](https://www.thermofisher.com/cz/en/home/materials-science/learning-center/applications/scanning-electron-microscope-sem-electron-column.html#:~:text=Scanning%20electron%20microscopes%20(SEMs)%20use,lense%20in%20the%20electron%20column.)
- [31] J. Ltd., „JCM-5000 NeoScope™ Table Top SEM,“ [online]. [cit. 21.4.2022] Dostupné z: <https://www.jeol.co.jp/en/products/detail/JCM-5000.html>.
- [32] TA Instruments, „TMA Q400 brochure,“ [online]. [cit. 18. 4. 2022]. Dostupné z: <http://www.tainstruments.com/pdf/literature/TMAQ400.pdf>.
- [33] C. LibreTexts, „Thermogravimetric analysis (TGA),“ [online]. [cit. 20.4.2022] Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Courses/Franklin_and_Marshall_College/Introduction_to_Materials_Characterization__CHM_412_Collaborative_Text/Thermal_Analysis/Thermogravimetric_analysis_\(TGA\)](https://chem.libretexts.org/Courses/Franklin_and_Marshall_College/Introduction_to_Materials_Characterization__CHM_412_Collaborative_Text/Thermal_Analysis/Thermogravimetric_analysis_(TGA)).
- [34] TA Instruments Q500| AMSED | Western WASHINGTON University. [online] Western WASHINGTON University, [cit. 8. 4. 2022] Dostupné z: <https://amsec.wvu.edu/tainstruments-q500#:~:text=The%20TA%20Instruments%20Q500%20TGA,of%2050%C2%B0C%20Fmin.>
- [35] P. T. Labs, „Mercury Intrusion Porosimetry,“ [online]. [cit. 21.4.2022] Dostupné z: <https://www.particletechlabs.com/analytical-testing/gas-adsorption-and-porosimetry/mercury-intrusion-porosimetry..>
- [36] M. V. M. DUDÁK, „Rtuťová porozimetrie,“ [online]. [cit. 20.4.2022] Dostupné z: <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010367/RP.pdf?redirected>.
- [37] „AutoPore™ IV Series,“ [online]. [cit. 20.4.2022] Dostupné z: https://www.micromeritics.com/Repository/Files/AutoPore_IV_Series_Mercury_Porosimeters.pdf..
- [38] MERCK, „Calcium phosphate purum p.a., = 96.0 KT calc. as Ca₃(PO₄)₂ 7758-87-4,“ [Online]. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sigald/21218>. [Přístup získán 2 4 2022].
- [39] PRUD'HOME, E., MICHAUD, E., JOUSSEIN, C. et al. Silica fume as porogent agent in geo-materials at low temperature. *Journal of the European Ceramic Society*, č. 7

- (2010), sv. 10, s. 1641-1648. ISSN 0955-2219. [cit. 21.4.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2010.01.014>
- [40] MATSUNAGA, K., KUBOTA, T., TOYOURA, K., NAKAMURA, A. First-principles calculations of divalent substitution of Ca(2+) in tricalcium phosphates. *Acta biomaterialia*. [online] č. 23 (2015), s. 329-337. [cit. 27.2.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.05.014>.
- [41] WANG, X., ZHANG, L., LIU, Z., et al. Probing the surface structure of hydroxyapatite through its interaction with hydroxyl: A first-principles study. *RSC Advances*. [online] č. 8 (2018). str. 3716-3722. [cit. 28.2.2022] Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C7RA13121F>.