



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ  
ÚSTAV MATERIÁLOVÝCH VĚD A INŽENÝRSTVÍ  
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING  
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING

# SYNTÉZA BIOKERAMICKÝCH MATERIÁLŮ NA BÁZI HYDROXYAPATITU

SYNTHESIS OF BIO CERAMIC MATERIALS BASED ON HYDROXYAPATITE

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Bc. PAVLA KOČICOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

Ing. KLÁRA ČÁSTKOVÁ, Ph.D.

BRNO 2013

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Ústav materiálových věd a inženýrství

Akademický rok: 2012/2013

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

student(ka): Bc. Pavla Kočicová

který/která studuje v **magisterském navazujícím studijním programu**

obor: **Materiálové inženýrství (3911T011)**

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

### **Syntéza biokeramických materiálů na bázi hydroxyapatitu**

v anglickém jazyce:

### **Synthesis of bioceramic materials based on hydroxyapatite**

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Tématem práce je syntéza fosforečnanů vápenatých, respektive hydroxyapatitu. Bude studován vliv reakčních podmínek na morfologii částic. Produkt syntézy bude charakterizován pomocí fázových a strukturních analýz.

Cíle diplomové práce:

Cílem práce je příprava nanočásticového hydroxyapatitu s definovaným fázovým složením a morfologií.

Seznam odborné literatury:

1. S.M. Best , A.E. Porter , E.S. Thian , J. Huang: Bioceramics: Past, present and for the future, Journal of the European Ceramic Society 28 (2008) 1319–1327
2. M.P. FERRAZ, F.J. MONTEIRO<sup>1</sup>, C.M. MANUEL: Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies, Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics 2004; 2: 74-80
3. Amit Kumar Nayak, Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview, International Journal of ChemTech Research, Vol.2, No.2, pp 903-907, April-June 2010

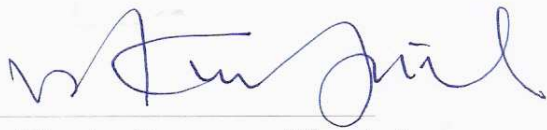
Vedoucí diplomové práce: Ing. Klára Částková, Ph.D.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2012/13.

V Brně, dne 23.10.2012



  
prof. Ing. Ivo Dlouhý, CSc.  
Ředitel ústavu

  
prof. RNDr. Miroslav Doupovec, CSc., dr. h. c.  
Děkan

## ABSTRAKT

Práce se zabývá precipitační syntézou nanočásticového hydroxyapatitu s cílem posoudit vliv reakčních podmínek na morfologii částic. Teoretická část je zaměřena na obecnou charakterizaci biomateriálů, biokeramik a fosforečnanů. Dále se konkrétně zabývá hydroxyapatitem, jeho charakteristikou a možnými syntézami.

Experimentální část práce popisuje precipitační syntézu hydroxyapatitu. Syntézy probíhaly při reakční teplotě 0-80 °C, při pH = 8-11, při době stárnutí 0-24 h, v přítomnosti povrchově aktivní látky (PAL) a chelatačního činidla a při post-precipitačním hydrotermálním nebo ultrazvukovém zpracování. K popisu připravených prášků byla využita rastrovací elektronová mikroskopie (SEM), transmisní elektronová mikroskopie (TEM), rentgenová difrakce (XRD), laserová difrakce (LD) a analýzy specifického povrchu (BET).

Precipitační syntézou byly připraveny čisté prášky hydroxyapatitu nebo směs hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého. Morfologie částic HA byla silně ovlivněna reakční teplotou – se zvyšováním teploty vznikaly rozměrnější částice s jasnější morfologií, většinou ve tvaru tyčinek. Na morfologii částic HA mělo značný vliv post-precipitační hydrotermální zpracování, které způsobilo vznik kulovitých nebo mírně podlouhlých částic. Reakční prostředí voda/etanol mělo vliv na morfologii částic – inhibovalo jejich růst.

## ABSTRACT

The thesis deals with the precipitation synthesis of nanoparticle hydroxyapatite with goal to study the influence of reaction conditions on the morphology of the particles. The theoretical part is focused on biomaterials, bioceramics and phosphates characterization. Further the work is focused on hydroxyapatite, its characteristics and possible synthesis in particular.

The synthesis of hydroxyapatite precipitation is described in the experimental part. Syntheses were performed at a reaction temperature of 0-80 °C at pH = 8-11, at the aging time of 0-24 h, in the presence of surfactant and the chelating agent and with the post-precipitation hydrothermal or ultrasonic treatment. For characterization of the prepared powders, scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), X-ray diffraction (XRD), laser diffraction (LD) and the analysis of the specific surface area (BET) were used.

Pure hydroxyapatite powders or a mixture of hydroxyapatite and tricalcium phosphate were prepared by precipitation syntheses. HA particle morphology was strongly affected by the reaction temperature – with increasing temperature the larger particles with a clearer morphology were formed, mostly in the rod shape. Post-precipitation hydrothermal treatment had a significant influence on the morphology of HA particles – it caused the formation of spherical or slightly elongated particles. The reaction medium of water/ethanol significantly affected the particle morphology – it inhibited the particle growth.

## KLÍČOVÁ SLOVA

precipitace, hydroxyapatit, fosforečnan, morfologie, nanočástice

## KEYWORD

precipitation, hydroxyapatite, phosphate, morphology, particles

KOČICOVÁ, P. *Syntéza biokeramických materiálů na bázi hydroxyapatitu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2013. 87 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Klára Částková, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty strojního inženýrství VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího práce a děkana FSI VUT v Brně.

V Brně 24.5.2013

.....

Pavla Kočicová

## PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí mé práce Ing. Kláře Částkové Ph.D. za její odbornou pomoc, vstřícnost, trpělivost a množství cenných rad.

Dále bych chtěla poděkovat všem, kteří mi pomáhali s tvorbou diplomové práce a celé mé rodině a příteli za podporu v průběhu mého studia.

## OBSAH

|                                                    |           |
|----------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. ÚVOD .....</b>                               | <b>6</b>  |
| <b>2. CÍLE PRÁCE .....</b>                         | <b>7</b>  |
| <b>3. LITERÁRNÍ PŘEHLED PROBLEMATIKY .....</b>     | <b>8</b>  |
| 3.1. BIOMATERIÁLY .....                            | 8         |
| 3.2. BIOKERAMICKÉ MATERIÁLY .....                  | 13        |
| 3.3. FOSFOREČNANY .....                            | 18        |
| 3.4. HYDROXYAPATIT .....                           | 24        |
| 3.5. SYNTÉZY HYDROXYAPATITU .....                  | 28        |
| <b>4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>                | <b>49</b> |
| 4.1. EXPERIMENTÁLNÍ MATERIÁL .....                 | 49        |
| 4.2. METODICKÁ ČÁST EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI .....     | 50        |
| <b>5. VÝSLEDKY EXPERIMENTU A DISKUZE .....</b>     | <b>56</b> |
| <b>6. ZÁVĚRY .....</b>                             | <b>65</b> |
| <b>7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>            | <b>66</b> |
| <b>8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....</b> | <b>70</b> |
| <b>9. SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ .....</b>           | <b>72</b> |
| <b>10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA KE KAPITOLE 5 .....</b>    | <b>75</b> |

## 1. ÚVOD

Hydroxyapatit je díky své vynikající biokompatibilitě a bioaktivitě jedním z nejvíce zkoumaných ortofosfátů vápenatých. Biomedicínské aplikace hydroxyapatitu jsou výrazně limitovány jeho špatnými mechanickými vlastnostmi. Hydroxyapatit je využíván zejména v kompozitních materiálech, jako částicový materiál pro výplně nebo jako povlak implantátů z mechanicky odolnějších materiálů. Dále je hydroxyapatit využíván jako katalyzátor v organických syntézách nebo při čištění vody. Hydroxyapatit je možné připravovat různými metodami syntéz, z nichž jednou z nejpoužívanějších je syntéza precipitační.

Tato práce je zaměřena na studium precipitačních syntéz fosforečnanu vápenatého, respektive hydroxyapatitu, s cílem posoudit vliv reakčních podmínek na morfologii částic.

## **2. CÍLE PRÁCE**

Cílem práce je příprava nanočásticového hydroxyapatitu s definovaným fázovým složením a morfologií.

### 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED PROBLEMATIKY

#### 3.1. BIOMATERIÁLY

Biomateriál je hmota, povrch nebo konstrukce, která se vzájemně ovlivňuje s biologickým systémem. Biologický materiál je materiál, jako např. kůže, kosti nebo tepny, který je produkován biologickým systémem. Biomateriálová věda tedy zahrnuje základy medicíny, biologie, chemie, tkáňového inženýrství a materiálových věd. Tyto vědy a jejich vývoj značně ovlivňují úlohu biomateriálů. Na biomateriály jsou kladeny výrazně vyšší nároky v porovnání s materiály, které jsou ve styku s organismem přes určitou bariéru (př. kůže), protože jsou přímo v kontaktu s fyziologickým prostředím a živou tkání. [1-4]

Biomateriály mohou být získány z přírody nebo synteticky v laboratořích. Při syntetické přípravě je možno využít rozmanitých chemických přístupů s použitím kovových složek nebo keramiky.

Při aplikaci do lidského těla musí biomateriály splňovat tyto podmínky a požadavky:

- biokompatibilitu
- biofunkčnost
- technické a ekonomické požadavky.

Biokompatibilita vyjadřuje snášenlivost lidské tkáně na příslušný implantát nebo jinou látku vyskytující se v biologickém prostředí. Je to důležitá podmínka, kdy si organismus vytváří protilátky pro svoji ochranu. Pokud nevznikne nebezpečí infekce a imunitní reakce organismu, tak organismus nový materiál v těle přijme. Biokompatibilita souvisí s chováním biomateriálů v různých prostředích v rámci rozmanitých chemických a fyzikálních podmínek. I přes neuvedení kde nebo jak má být daný materiál použit, tak mají své specifické vlastnosti, které jsou pro ně charakteristické, viz níže. [1, 5]

Postupný vývoj poznatků o tom, jak biomateriály interagují s lidským tělem, určuje klinický úspěch lékařských zařízení (např. kardiostimulátor nebo kyčelní náhrady). Moderní lékařské zařízení a protézy jsou často vyrobeny z více než jednoho materiálu, takže nemusí být dostačující mluvit o biokompatibilitě konkrétního materiálu. S biokompatibilitou jsou nejčastější problémy, které musí být vyřešeny ještě před tím, než je produkt uveden na trh a používán v klinické praxi. Všechny výrobní společnosti jsou povinny zajistit sledovatelnost svých produktů tak, že pokud je objeven vadný výrobek, může být dohledán a nahrazen. [1, 5]

Tyto materiály také nesmí být toxické, alergenní, imunogenní a karcinogenní, nejsou-li navrženy jako tzv. „inteligentní“ doručovací systémy léčiv, které by například ničili cílové rakovinotvorné buňky. Aby byly biomateriály co nejvíce efektivní, je potřeba pochopit stránku dějů anatomie a fyziologie. Dalším faktorem je závislost na konkrétních anatomických oblastech implantace. Je proto důležité už při návrhu, aby se zajistilo, že se realizace bude komplementárně hodit a bude mít příznivý vliv na konkrétní anatomické oblasti činnosti. Je také důležité vzít v úvahu dobrý zdravotní stav pacienta a kvalifikovaného lékaře, který operaci provádí. [1, 2]

## DĚLENÍ BIOMATERIÁLŮ

Dělení biomateriálů podle reakce živé tkáně na určitý implantát:

- bioinertní
- bioaktivní
- resorbovatelná (vstřebatelná).

Bioinertní materiály jsou materiály, které s organismem nijak nereagují. Pokud dojde ke snížené akceptovatelnosti tkáně na implantát, vznikne na fázovém rozhraní vrstva fibrózního tkaniva, které obaluje implantát bez ohledu na to, je-li implantát ve spojení s měkkou nebo tvrdou tkání. Za určitou dobu vznikne kolem implantátu vazivové pouzdro z kostních buněk (tzv. osteoblasty). Do této skupiny materiálů zahrnujeme např.  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Y}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ . [2, 5]

Bioaktivní materiály jsou materiály, které jsou trvale umístěny v organismu, ne v přítomnosti fibrózních vaziv. Tvoří rozhraní mezi resorbovatelnými a inertními materiály. Používají se v aplikacích v kontaktu s kostí. U těchto materiálů nedochází ke vzniku fibrózního rozhraní, ale dochází zde k vytvoření přímé vazby mezi kostní tkání a implantátem. Mezi tyto materiály patří: biosklo, bio-aktivní sklo-keramika a anorganicko-organické kompozity (např. anorganická složka – hydroxyapatit, organická složka – polymethylmethakrylát). [2, 5]

Resorbovatelné materiály jsou materiály, které jsou odstranitelné buněčnou aktivitou nebo rozpuštěním v biologickém prostředí bez výskytu metabolicky škodlivých látek. Při jejich aplikaci očekáváme omezený účinek v závislosti na čase. Nedochází k tvorbě fibrózního rozhraní. Hlavní funkcí těchto materiálů je poskytnutí „stavebního“ materiálu v procesu regenerace kostní tkáně. Při regeneraci kostní tkáně se postupně vstřebává implantovaný materiál. Mezi tuto skupinu materiálů patří např. fosforečnany, sírany, uhličitany, trikalciemfosfát, bioskla a další. [2, 5]

Dělení biomateriálů podle materiálové povahy:

- keramika
- kovy
- polymery
- kompozity
- přírodní materiály.

### Keramické biomateriály

Významnost keramik je stále rostoucí díky jejich biokompatibilitě, odolnosti proti korozi a hlavně z důvodu, že značná část kostí jsou samy o sobě minerální fáze. Nevýhodou je zejména její křehkost. Příkladem těchto keramik mohou být např. kalciumfosfátová keramika, uhlík, aj. Hlavní aplikace těchto materiálů jsou: části zubů, povlékání kostních plniv, lékařské nástroje a zařízení. [2, 6]

### Kovové biomateriály

Kovy jsou používány zejména pro svoji houževnatost, vysokou mechanickou odolnost vůči opotřebení a nárazům. Nevýhodou je nízká biokompatibilita, koroze ve fyziologickém prostředí a to, že jejich mechanické vlastnosti jsou velmi odlišné od mechanických vlastností biologických tkání. Příkladem těchto materiálů mohou být Ti a jeho slitiny, nerez, Au, Ag, Co-Cr slitiny, aj. Aplikace kovových biomateriálů je zejména jako svorky, povlaky, zubní implantáty, pletivo pro obličejové rekonstrukce a další. [2, 6]

### Polymerní biomateriály

Jednu z nejvýznamnějších výhod pro použití polymerních biomateriálů je jejich jednoduchá produkce a nízká hustota. Nevýhodou může být nízká mechanická odolnost a snadná odbouratelnost. Mezi tyto materiály patří: PMMA, nylon, polyetylen, silikonová pryž, teflon, aj. Požívají se jako stehy, artérie, srdeční chlopně, zubní implantáty, uši, nosy, kontaktní čočky, prsní implantáty a mnoho dalších. [2, 6]

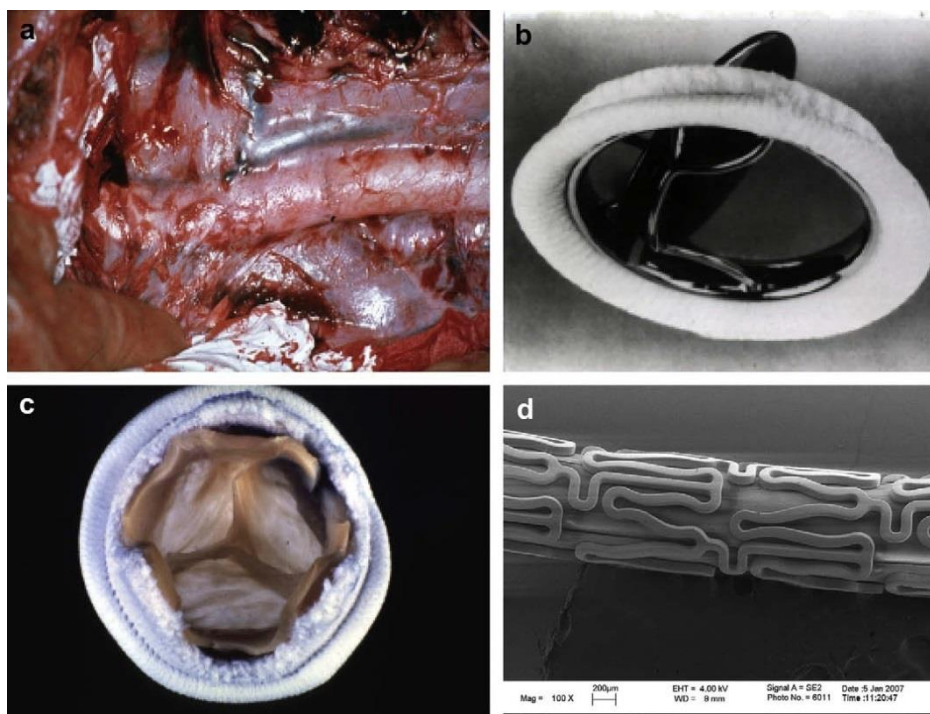
### Kompozitní biomateriály

Kombinují vhodné vlastnosti keramických, kovových, polymerních a přírodních materiálů, mají dostatečnou pevnost, vysokou biokompatibilitu, korozní odolnost, jsou inertní a je možné je vyrobit na míru. Nedostatkem těchto materiálů je zejména nedostatečná hustota a obtížná výroba. K těmto materiálům patří: uhlíkové kompozity, kostní cementy, atd. Jejich aplikace je zejména jako zubní náhrady, kostní cementy, srdeční chlopně, kolenní implantáty, umělé kloubové spojení, kyčelní klouby a další. [2, 6]

### Přírodní materiály

Tyto materiály jsou preferovány pro jejich dostupnost v lidském těle, a protože je eliminován problém s odmítnutím implantovaného materiálu lidským tělem. Tato eliminace odmítnutí je vyšší v případě, když použitý přírodní materiál pochází ze samotného pacienta. Nevýhodou je možnost nepřijetí hostitelem. Patří sem kolagen, lidské tkáně, kyselina hyaluronová, štěpy aj. Přírodní materiály jsou používány pro náhrady tvrdých a měkkých tkání, cévní štěpy, srdeční chlopně, šlachy, vazy a mnoho dalších. [6]

Příkladem využití těchto rozličných materiálů přímo v praxi můžeme vidět na obr. 1.

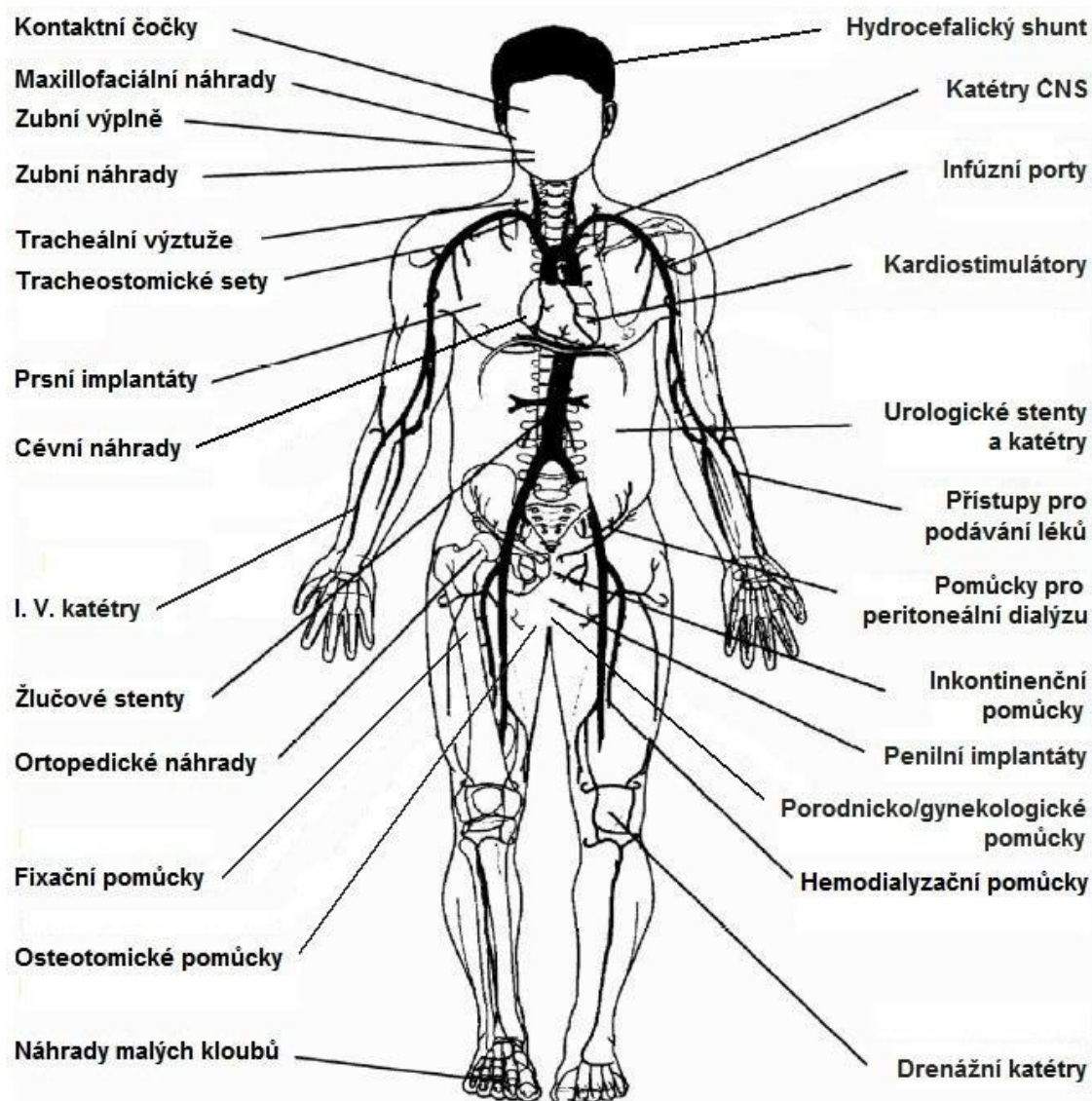


Obr. 1: a) vaskulární štěp z polyetylentereftalátu nebo z polytetrafluorethylenu; b) mechanická srdeční chlopeň tvořená základní částí ze slitiny na bázi Ti nebo Co-Cr, dále uhlíkem jako je pyrolytický karbon a šicím kroužkem z polyetylentereftalátu; c) bioprotézní srdeční chlopeň z přírodní prasečí srdeční chlopně nebo z osrdečníku s polymerem nebo kovem jako šicím kroužkem; d) intravaskulární stent (výztuž) buď ze samoroztažných slitin s tvarovou pamětí jako je slitina na bázi Ni a Ti nebo z plasticky deformovatelných slitin jako je nerezavějící ocel. [7]

## POUŽITÍ:

V současnosti jsou tyto materiály často používány pro medicínské aplikace, ve kterých tvoří buď celou část živé struktury anebo tvoří část biomedicínského zařízení, které vykonává, rozšiřuje nebo plně nahrazuje přírodní funkci po předpokládaný časový interval. V současnosti se využívají v mnoha aplikacích díky rozvoji současných látek a vývoji nových materiálů. Současné použití biomateriálů se diametrálně liší od situace před desítkami let. V minulosti využití biomateriálů nenastalo prakticky až do příchodu vývoje sterilní chirurgické techniky a obecně byly tehdejší chirurgické zákroky neúspěšné zejména z důvodu výskytu infekcí. [1, 2, 7]

Mezi biomateriály můžeme zařadit autoštěpy, alloštěpy nebo xenoimplantáty používané jako transplantační materiál. Dále jsou používány zejména například pro kloubní náhrady, srdeční chlopně, cévní protézy, kostní pojiva, kostní desky, umělé vazy a šlachy, umělé tkáně, zubní implantáty, kontaktní čočky, prsní implantáty, jako dopravce léků (dlouhotrvající uvolňování léčiv na požadovaném místě v těle) a další. Názorný přehled použití můžeme vidět na obr. 2. [1, 2, 3, 5]



Obr. 2: Použití biomateriálů na lidském těle. [8]

## VÝVOJ:

Neustálý vývoj a výzkum biomateriálů je nezbytný z důvodu prokázání významného využití v medicíně. Nutnost potřeby velkého množství peněz pro výzkumné zařízení a vývoj nových produktů značně ztěžuje studium těchto materiálů. Materiáloví vědci v současnosti věnují více a více pozornosti anorganickému procesu krystalizace s organickou maticí přirozeně se vyskytujících sloučenin. Tento proces obvykle probíhá při okolní teplotě a tlaku. Zajímavé je, že důležité organismy, kterými se tyto krystalické minerály tvoří, jsou schopny trvale produkovat složité struktury. Pochopení procesů, ve kterých jsou schopny živé organismy regulovat růst krystalických minerálů, může vést k významným vědeckým pokrokům a novým technikám pro syntézy kompozitních materiálu v rozměrech nano. [1, 5]

Veškeré požadavky na biomateriály jsou významné, protože se z těchto materiálů vyrábí produkty, které jsou umístěny v lidském těle. Aby nedocházelo k nežádoucím reakcím implantátu s lidskou tkání, je nutné, aby se vlastnosti těchto materiálů kontrolovaly. V závislosti na materiálu existuje také několik standardů pro testování materiálových vlastností včetně biokompatibility:

- United States or European Pharmacopoeia (USP, EP)
- International Organization for Standardization (ISO)
- Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI)
- American Society for Testing of Materials (ASTM)
- National Institute of Standards and Technology (NIST) a další. [9]

Obecně platí, že materiály, ze kterých jsou kontaktní produkty, musí být ověřeny v průmyslu uznávanou normou, jako jsou lékopisy (úřední seznamy schválených léků), Food and Drug Administration (FDA) nebo standardy např. pro nerezové ocele. [9]

### 3.2. BIOKERAMICKÉ MATERIÁLY

#### KERAMIKA

Keramika je slovo, které vzniklo z řeckého slova „keramos“ a ve starověkém Řecku znamenalo hlínu a hrnčířské výrobky.

V současnosti je keramika definována jako anorganický, žáruvzdorný, nekovový nebo uhlíkový materiál, který je uměle vyrobený. Tento pojem se často zužuje na anorganické nekovové materiály, převážně v krystalickém stavu, které jsou vyrobeny slinováním za vysokých teplot z výchozí práškové suroviny. [5, 10]

#### BIOKERAMIKA

Biokeramika, nebo také biomedicínská keramika, může být definována jako biomateriál keramického původu. Tento druh keramiky je používán pro obnovu a nahrazení nemocných nebo poškozených částí muskuloskeletálního systému (systém týkající se kostí a svalů). Odborná oblast biokeramik je relativně mladá (1970), ale mnoho materiálů nových není. Vědní disciplína, zabývající se touto problematikou je založena na znalostech materiálového a biologicko-klinického výzkumu a pozorování. Je to tedy multidisciplinární odvětví. [4, 5, 10]

Tyto materiály zahrnují polykrystalické materiály, skla, sklo-keramiky nebo keramikou plněné bioaktivní kompozity. Všechny tyto druhy mohou být vyráběny buď jako porézní materiály, nebo v kompaktní (hutné) objemové formě, jako granule nebo ve formě povlaků. [11]

Obecně lze říci, že biokeramika vykazuje vysokou biokompatibilitu, vysokou korozní odolnost, vysokou odolnost proti tlaku a nízkou elektrickou a teplotní vodivostí. Mezi její další významné vlastnosti patří i to, že je biologicky odbouratelná, netoxická, vykazuje také dobré tribologické vlastnosti, které charakterizují lepší snesitelnost zátěže a při pohybu vykazují menší otěruvzdornost. Mezi její nedostatečné vlastnosti patří nízká pevnost v tahu, obtížná výroba a nízká houževnatost. Mechanické vlastnosti vybraných biokeramik jsou zobrazeny na v tab. 1. [3-6]

TABLE 1 Mechanical Properties of Ceramic Biomaterials [4]

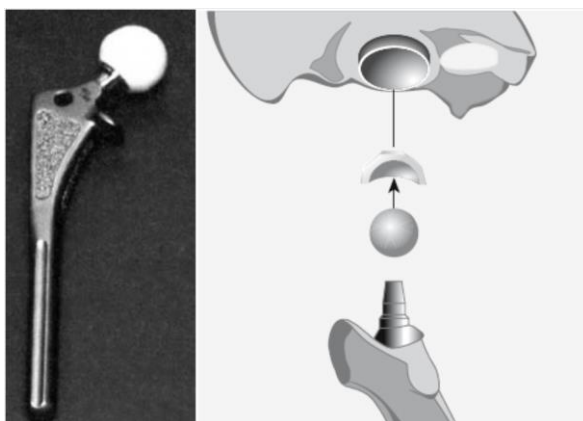
|                    | Young's<br>Modulus,<br>E (GPa) | Compressive<br>Strength,<br>$\sigma_{\text{UCS}}$ (MPa) | Tensile<br>Strength,<br>$\sigma_{\text{UTS}}$ (MPa) |
|--------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Alumina            | 380                            | 4500                                                    | 350                                                 |
| Bioglass-ceramics  | 22                             | 500                                                     | 56–83                                               |
| Calcium phosphates | 40–117                         | 510–896                                                 | 69–193                                              |
| Pyrolytic carbon   | 18–28                          | 517                                                     | 280–560                                             |

I přes některé nevýhody, je jejich charakteristiky (uvedené výše) dělají velmi vhodnými pro použití jako implantáty. Keramika používaná při výrobě implantátů může být rozdělena podle toho, jak materiál keramického implantátu působí na živou tkáň:

- a) neabsorbovatelná keramika (relativně inertní) – př. oxid hlinitý, oxid zirkoničitý, nitrid křemíku a další;
- b) bioaktivní nebo povrchově reaktivní keramika (částečně inertní) – př. sklo-keramiky, hydroxyapatity a další;
- c) biodegradabilní nebo resorbovatelná keramika (neinertní) – př. fosforečnany vápenaté, hlinitany a další. [5, 12]

Ad a):

Jako příklad neabsorbovatelné bioinertní keramiky jsou uvedeny oxid hlinitý  $\text{Al}_2\text{O}_3$  a oxid zirkoničitý  $\text{ZrO}_2$ . Tyto keramiky prodělávají malé nebo vůbec žádné chemické změny během dlouhých časových intervalů vystavování tělních tekutin.  $\text{Al}_2\text{O}_3$  se vyznačuje kombinací excelentních biokompatibilních vlastností, vysokou tvrdostí a vynikající odolností proti opotřebení. Má mnoho aplikací jako implantační materiál zejména jako kolenní protézy, kotníkové klouby, lokty, ramena, zápěstí a prsty. Příklad použití této keramiky je na obr. 3. [4, 13]



Obr. 3: Užití  $\text{Al}_2\text{O}_3$  jako stehenní kulička kyčelního kloubu. [4]

Keramika ze  $\text{ZrO}_2$  má oproti  $\text{Al}_2\text{O}_3$  vyšší lomovou houževnatost, větší pevnost v ohybu a nižší Youngův modul. Nejčastější použití této keramiky je pro zubní náhrady – viz obr. 4. [4]



Obr. 4: Ilustrační obrázek zubního můstku ze  $\text{ZrO}_2$ . [14]

#### Ad b):

Bioaktivní skla (bioskla) jsou zajímavou třídou materiálů. Všechny bioskla jsou skla strukturálně založená na křemíku se základní stavební jednotkou  $\text{SiO}_4^{4-}$ . Tato skla mohou být vyrobena s různým složením vykazující velmi odlišné vlastnosti. Příkladem je sodno-vápenato-křemičité sklo ( $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  s přídavkem  $\text{P}_2\text{O}_5$  nebo  $\text{B}_2\text{O}_3$ , které zlepšují pevnost). Bioskla se využívají v oblasti náhrad lidských částí těla protézami, zejména v náhradách tvrdých tkání. Takovéto protézy jsou biokompatibilní, ale mechanické vlastnosti nejsou přímo ideální (zejména pevnost). Uplatňují se v menších ortopedických a dentálních protézách. [12]

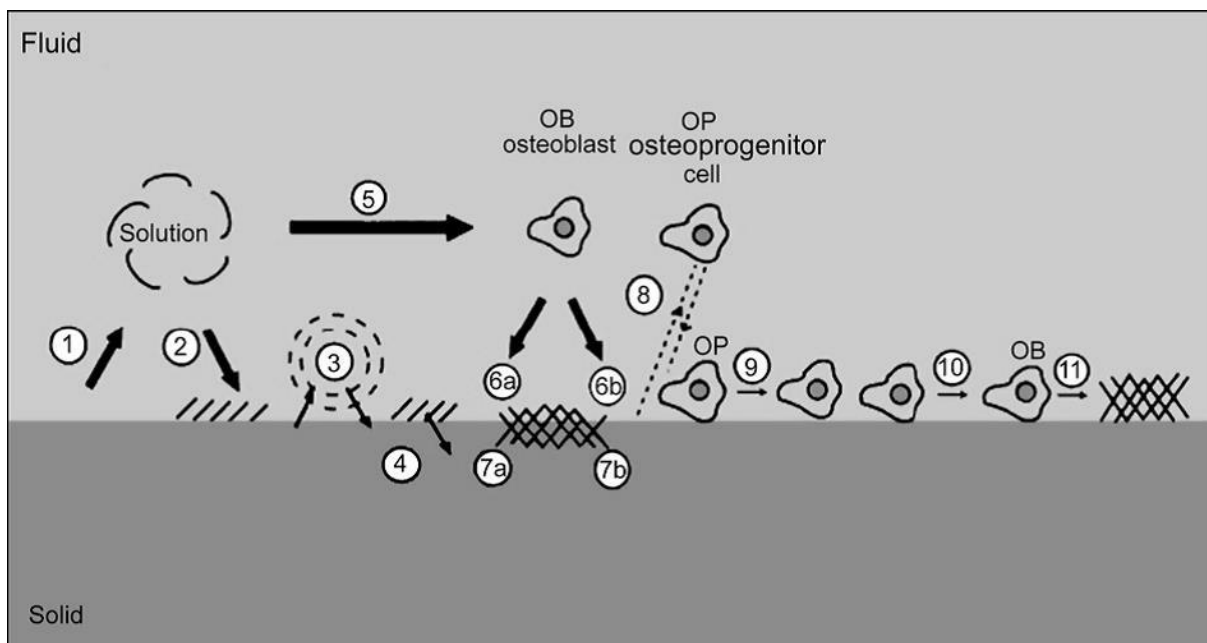
Bioaktivní sklo-keramiky jsou materiály, které jako první aktivně reagovaly s tkání a vyvolávaly jejich vnitřní opravy a regenerační potenciál. Sklo-keramiky mají lepší mechanické vlastnosti, dobrou biokompatibilitu, bioaktivitu, dlouhodobou stabilitu a nejsou toxické. Tyto vlastnosti jim umožňují použití jako umělé kosti a zubní implantáty. Typickými zástupci těchto materiálů jsou např.: Cerabone<sup>R</sup> A-W (sklo-keramika obsahující oxyfluorapatit a wollastonit) a Ceravital<sup>R</sup> (používá se při operacích středního ucha). [4, 13, 15]

#### Ad c):

Takzvaná resorbovatelná keramika je zajímavou skupinou keramik používaných jako implantáty. V lidském organismu působí po daný časový interval a rozpouští se v něm bez vzniku metabolicky škodlivých látek. Využívají se zejména v procesech obnovování kostních tkání, kde je jejich prioritní funkcí opatření „stavebního materiálu“. Nedochází k tvorbě fibrózního rozhraní a implantáty zvětšují tok iontů, které jsou nutné pro vlastní tvorbu kostních tkání. Mezi tyto materiály patří keramiky na bázi vápenatých solí (jako jsou sírany, uhličitany, fosforečnany), trikalciumfosfátu ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), bioskla nebo prášky monetitu ( $\text{CaHPO}_4$ ). [12, 16]

Biokeramické materiály mohou být tedy použity jako náhrady kloubů nebo tkání, dále můžou být využity pro povlékání kovových implantátů ke zvýšení jejich biokompatibility. Stejně tak můžou mít funkci jako obnovitelné mřížky poskytující dočasnou strukturu a kostru, které jsou rozpustné, anebo vyměnitelné, zatímco tělo obnovuje poškozené tkáně. Některé typy biokeramik mají dokonce schopnost doručování léčiv. Dále jsou tyto materiály potřeba ke zmírnění bolesti a obnovení funkcí nemocných nebo poškozených kalcifikovaných tkání (kostí a zubů) těla. Hlavním přispěvatelem k potřebě náhradních částí těla je postupné zhoršování všech tkání s rostoucím věkem. Kosti jsou mimořádně náchylné ke zlomeninám u starších lidí, protože s věkem dochází ke snižování hustoty a pevnosti kostí. [10]

Povrchová reaktivita je jednou ze společných charakteristik biokeramik. To přispívá k jejich schopnosti vazby kostí a jejich posilujícího účinku vytváření kostní tkáně. Během implantace existuje reakce mezi materiálem a tkání, která vede k časově závislým změnám v povrchových charakteristikách implantovaného materiálu i okolní tkáně. Tento sled událostí při reakci mezi biokeramikou a okolním biologickým prostředím je zobrazen na obr. 5. [10]

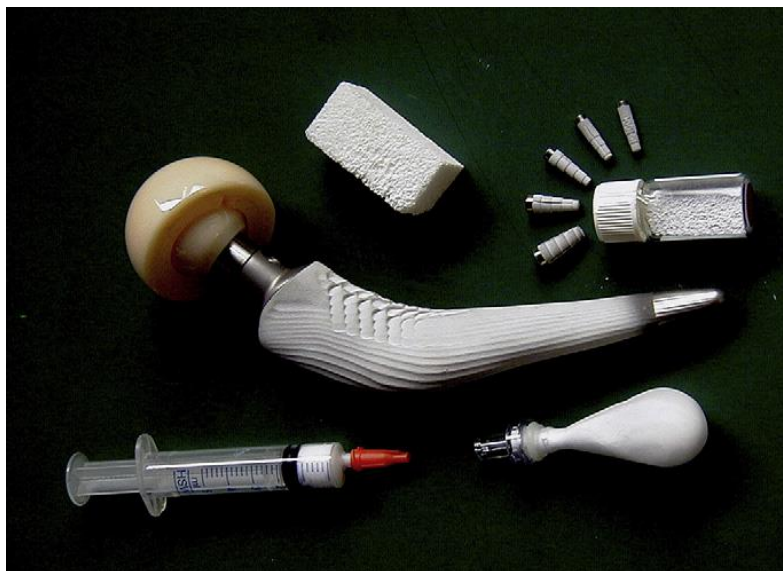


Obr. 5: Schematický diagram zobrazující události, ke kterým dochází mezi biokeramickým materiálem a okolním biologickým prostředím: 1) rozpouštění biokeramiky; 2) precipitace z roztoku; 3) iontová výměna a strukturální přeskupení na rozhraní biokeramika/tkáň; 4) vnitřní difúze z vrstvy povrchového rozhraní do biokeramiky; 5) roztokem zprostředkovaný dopad na buněčnou aktivitu; 6) depozice s integrací do biokeramiky; 8) chemotaxe k biokeramickému povrchu; 9) upevnění buněk a šíření; 10) diferenciacie buněk; 11) tvorba mimobuněčné matrice. [10]

Velkou výzvou je také obkládání lékařských aplikací biokeramickými materiály, které v lidském těle nahrazují poškozené kosti. Takovýto materiál plní určenou úlohu po zbytek let pacientova života. Protože průměrná délka lidského života je 80+ let a hlavní potřeba pro náhradní části začíná kolem 60 let, implantované biokeramiky musí vydržet po 20 let a více. Tento náročný požadavek výdrže je předpokladem pro použití obzvláště tvrdých keramických materiálů. Tyto materiály musí vydržet tyto podmínky: korozivní solné roztoky za teploty 37°C a nestálé, víceosé a cyklické mechanické zatěžování. [10]

Reakce lidského organismu na přítomnost implantátu v těle je podmíněna zvláště vlastnostmi a povahou použitého materiálu implantátu. Z materiálového hlediska je významná chemická povaha materiálu – tedy druh atomů a vazby mezi nimi, a struktura (charakter) jeho povrchu. Při této reakci se uvolňují ionty, které umožňují snadné doplnění biogenních prvků ve fyziologickém prostředí lidského organismu. K těmto prvkům patří  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  a také ionty jako  $\text{Ti}^{2+}$  a  $\text{Al}^{3+}$ , které obsahují pro lidskou tkáň minimální množství toxicity. Jedním z nejvýznamnějších nedostatků aplikací biokeramických implantátů do živého organismu „in vivo“ je vyšší modul pružnosti na rozdíl od lidské kosti. Jinak můžeme vlastnosti biokeramiky srovnat s kortikulárními mechanickými vlastnostmi kosti člověka. Elastickou nesourodost mezi kostí a keramickým implantátem nazýváme „stress shielding“. Tato nesourodost může vést až k aseptickému uvolnění implantátu nebo popřípadě k jeho vylomení. Z tohoto důvodu je nezbytné, aby vlastnosti materiálu byly co nejvíce analogické k vlastnostem lidské tkáně. [5]

V současnosti se objevuje tendence, že by mohly být všechny důležité orgány (kromě centrální nervové soustavy a mozku) postupně nahrazeny uměle vytvořenými analogiemi. S ohledem na vhodné vlastnosti biokeramik i jejich nedostatky uvedené výše, dochází ke kombinaci těchto materiálů s kovy nebo polymery a tak vznikají neustále nové a nové univerzální kompozitní biomateriály. Několik příkladů použití komerční biokeramiky na bázi ortofosfátu vápníku jsou zobrazeny na obr. 6. [5]

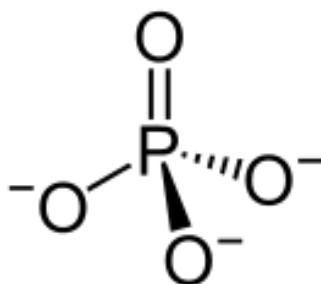


Obr. 6: Příklady komerční biokeramiky na bázi orthofosfátu vápníku. [10]

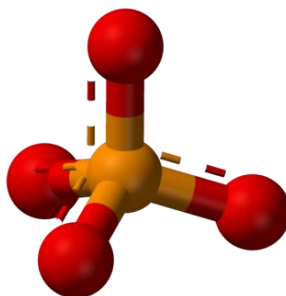
### 3.3. FOSFOREČNANY

Fosforečnany, nazývané také fosfáty, jsou v anorganické chemii soli kyseliny fosforečné. V organické chemii jsou fosforečnany estery kyseliny fosforečné. Organické fosforečnany jsou důležité v biochemii, biogeochemii nebo ekologii. Anorganické fosforečnany se uplatňují zejména pro získávání fosforu, který se používá v zemědělství a průmyslu. [17]

Iont fosforečnanu je polyatomový iont s empirickým vzorcem  $PO_4^{3-}$  a molární hmotností 94,97 g/mol. Skládá se z jednoho centrálního atomu fosforu obklopeného čtyřmi atomy kyslíku v čtyřbokém uspořádání. Základní prostorový vzorec fosforečnanu je zobrazen na obr. 7 a na obr. 8 vidíme 3D zobrazení tohoto uspořádání iontu fosforečnanu. [17]



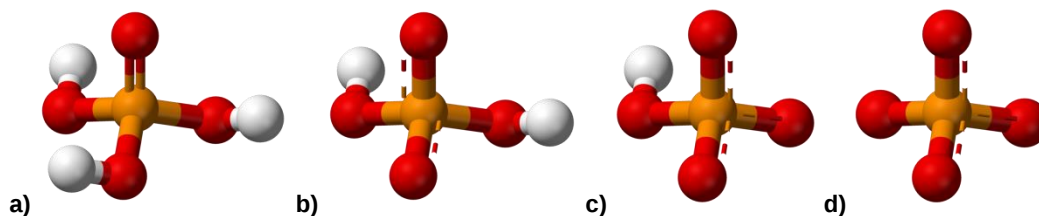
Obr. 7: Základní prostorový vzorec fosforečnanu. [17]



Obr. 8: Zobrazení uspořádání iontu fosforečnanu v 3D. [17]

Iont fosforečnanu nese záporný trojsymetrický náboj a je spojený se základem iontu hydrogen fosforečnanu,  $HPO_4^{2-}$  je spojen se základem  $H_2PO_4^-$  a iont dihydrogen fosforečnanu je spojen zase se základem  $H_3PO_4$  kyseliny fosforečné. Soli fosforečnanů se tvoří, když se pozitivně nabití ionty vážou na negativně nabité ionty kyslíkových atomů vytvářející iontovou sloučeninu. Mnoho fosforečnanů není rozpustných ve vodě za standardních podmínek teploty a tlaku. Sodíkové, draselné, rubidiové, cesiové a amonné fosforečnany jsou všechny rozpustné ve vodě. Většina dalších fosforečnanů jsou jen slabě rozpustné nebo nerozpustné ve vodě. Hydráty a dihydráty fosforečnanů jsou zpravidla pouze mírně rozpustnější než odpovídající fosforečnany. Pyrofosforečnany jsou ve většině případů ve vodě zcela rozpustné. [17]

Vodné fosforečnany existují ve čtyřech formách. Při silně zásaditých podmínkách převládají ionty fosfátu  $PO_4^{3-}$ , zatímco v podmínkách slabě zásaditých převládá iont hydrogen fosforečnanu  $HPO_4^{2-}$ . V slabě kyselých podmínkách je nejčastější iont dihydrogen fosforečnanu  $H_2PO_4^-$  a v silně kyselých podmínkách se vyskytuje hlavně iont trihydrogen fosforečnanu  $H_3PO_4$ . Schématické znázornění těchto iontů vidíme na obr. 9. [17]



Obr. 9: Schéma iontů fosforečnanů: a)  $H_3PO_4$ , b)  $H_2PO_4^-$ , c)  $HPO_4^{2-}$ , d)  $PO_4^{3-}$ . [17]

V biologických systémech jsou fosforečnany nalezeny jako volné ionty fosforečnanů a jsou nazývány anorganické fosforečnany, aby se rozlišily od fosforečnanů vázaných v různých esterech fosforečnanů.

Anorganické fosforečnany jsou obecně označovány  $P_i$  a fyziologické (neutrální) pH primárně obsahuje směs iontů  $HPO_4^{2-}$  a  $H_2PO_4^-$ . Tyto fosforečnany mohou být vytvořeny hydrolýzou pyrofosforečnanů, které jsou označovány jako  $PP_i$ , viz rovnice (1). [17]



Fosforečnany jsou nicméně nejčastěji nacházeny ve formě adenosin fosfátů:

- adenosin monofosfát (AMP)
- adenosin difosfát (ADP) a
- adenosin trifosfát (ATP). [17]

Dále ve formě DNA a RNA a také mohou být uvolněny při hydrolýze ATP nebo ADP. Podobné reakce existují pro další nukleosid difosfáty a trifosfáty, obsahující vysoké množství energie, která jim poskytuje jejich důležitou funkci ve všech živých organismech. Obecně jsou nazývány jako fosfáty s vysokou energií a můžeme je nalézt např. v tkáních svalů. [17]

Přidávání a odebrání fosforečnanů z proteinů ve všech buňkách je rozhodující strategie v regulování metabolických procesů. Fosforečnany jsou také užitečné ve zvířecích buňkách jako ukládací látka. Důležitý výskyt fosforečnanů v biologických systémech je jako strukturní materiál kostí a zubů. Tyto struktury jsou tvořeny z krystalického fosforečnanu vápenatého ve formě hydroxyapatitu. Další možností výskytu těchto látek je například vnější kostra hmyzu, která je tvořena chitinem obsahující krystalický fosforečnan vápenatý jako zpevňující materiál. [17]

## ORTOFOSFOREČNAN VÁPENATÝ

Podle definice všechny fosforečnany vápenaté obsahují tři hlavní chemické prvky: vápník (oxidační číslo -2), fosfor (oxidační číslo +5) a kyslík (oxidační číslo -2). Ortofosfátová skupina ( $PO_4^{3-}$ ) je strukturálně odlišná od meta ( $PO_3^-$ ), pyro ( $P_2O_7^{4-}$ ) a poly ( $(PO_3)_n^{n-}$ ). Tato část práce se zabývá pouze ortofosforečnanem vápenatým. Chemické složení mnoha ortofosforečnanů vápenatých obsahuje také vodík, a to buď jako kyselý ortofosfátový iont, jako např.  $HPO_4^{2-}$  nebo  $H_2PO_4^-$ , a nebo jej může obsahovat jako součást vody - např. v ( $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ ). [18]

Tyto látky jsou většinou mírně rozpustné ve vodě, ale všechny se rozpouštějí v kyselinách. Molární poměr vápníku a fosforu (Ca/P) a rozpustnost jsou významnými parametry pro odlišení jednotlivých fází. Přehled existujících fosforečnanů vápenatých a jejich základní vlastnosti jsou shrnuty v tab. 2. Obecně lze říci, že čím nižší poměr Ca/P, tím jsou fáze fosforečnanu vápenatého více kyselé a více rozpustné. Mezi těmito sloučeninami jsou použitelné pro biomedicínské aplikace pouze ty, které mají poměr Ca/P větší jak 1. Sloučeniny s poměrem menším jak 1 nejsou vhodné pro implantaci do lidského těla, protože jejich rozpustnost a kyselost je příliš vysoká. TTCP sám o sobě také není vhodný, vzhledem k jeho kyselosti. Nicméně pro medicínské aplikace může být použit v kombinaci s dalšími ortofosforečnany vápenatými nebo jinými chemikáliemi. [10, 18]

Tab. 2.: Existující ortofosforečnany vápenaté a jejich hlavní vlastnosti. [18]

| MOLÁRNÍ<br>POMĚR<br>Ca/P | NÁZEV SLOUČENINY                                       | VZOREC                                                     | ROZPUSTNOST<br>ZA T = 25 °C,<br>-log( $K_{sp}$ ) |
|--------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 0,5                      | Monocalcium phosphate monohydrate (MCPM)               | $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$                                 | 1,14                                             |
| 0,5                      | Monocalcium phosphate anhydrous (MCPA)                 | $Ca(H_2PO_4)_2$                                            | 1,14                                             |
| 1,0                      | Dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), mineral brushite | $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$                                      | 6,59                                             |
| 1,0                      | Dicalcium phosphate anhydrous (DCPA), mineral monetite | $CaHPO_4$                                                  | 6,90                                             |
| 1,33                     | Octacalcium phosphate (OCP)                            | $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5H_2O$                        | 96,6                                             |
| 1,5                      | $\alpha$ -Tricalcium phosphate ( $\alpha$ -TCP)        | $\alpha-Ca_3(PO_4)_2$                                      | 25,5                                             |
| 1,5                      | $\beta$ -Tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP)          | $\beta-Ca_3(PO_4)_2$                                       | 28,9                                             |
| 1,2 – 2,2                | Amorphous calcium phosphate (ACP)                      | $Ca_xH_y(PO_4)_n \cdot nH_2O$ , n = 3 - 4,5; 15-20% $H_2O$ | Není přesně naměřeno.                            |

|            |                                                       |                                                                                     |         |
|------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1,5 – 1,67 | Calcium-deficient hydroxyapatite (CDHA) <sup>e</sup>  | $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}; (0 < x < 1)$ | ~85,1   |
| 1,67       | Hydroxyapatite (HA)                                   | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$                                        | 116,8   |
| 1,67       | Fluorapatite (FA)                                     | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$                                           | 120,0   |
| 2          | Tetracalcium phosphate (TTCP), mineral hilgenstockite | $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$                                                | 38 – 44 |

Krystalografické údaje vybraných fosforečnanů jsou sumarizované v tab. 3. Je všeobecně známo, že krystalizace mnoha fosforečnanů vápenatých zahrnuje vytváření metastabilní fáze prekursorů, která se následně rozpustí, s pokračujícím precipitačním procesem. Z tohoto důvodu se komplexní přechodné fáze mohou zúčastnit krystalizačního procesu. Kromě toho, „in vivo“ („in vivo“ = uvnitř živého těla) přítomnost malých peptidů, proteinů a anorganických aditiv jiných než vápník a fosfor mají značný vliv na krystalizaci – vzniká tak obtížný předpoklad pro vytvoření možné fáze. [18]

Tab. 3: Krystalografické údaje vybraných ortofosforečnanů vápenatých. [18]

| SLOUČENINA    | KRYSTALOGRAFICKÁ SOUSTAVA     | PARAMETRY JEDNOTKOVÉ BUŇKY                                                                                                                      |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DCPD          | monoklinická                  | $a = 5,812(2), b = 15,180(3), c = 6,239(2) \text{ \AA}, \beta = 116,42(3)^\circ$                                                                |
| DCPA          | triklinická                   | $a = 6,910(1), b = 6,627(2), c = 6,998(2) \text{ \AA}, \alpha = 96,34(2)^\circ, \beta = 103,82(2)^\circ, \gamma = 88,33(2)^\circ$               |
| OCP           | triklinická                   | $a = 19,62(4), b = 9,523(2), c = 6,835(2) \text{ \AA}, \alpha = 90,15(2)^\circ, \beta = 92,54(2)^\circ, \gamma = 108,65(1)^\circ$               |
| $\alpha$ -TCP | monoklinická                  | $a = 12,887(2), b = 27,280(4), c = 15,219(2) \text{ \AA}, \alpha = 126,20(1)^\circ$                                                             |
| $\beta$ -TCP  | romboedrická                  | $a = b = 10,4183(5), c = 37,3464(23) \text{ \AA}, \alpha = 120^\circ$                                                                           |
| HA            | monoklinická nebo hexagonální | $a = 9,84214(8), b = 2a, c = 6,8814(7) \text{ \AA}, \alpha = 126,20(1)^\circ, a = b = 9,4302(5), c = 6,8911(2) \text{ \AA}, \alpha = 120^\circ$ |
| FA            | hexagonální                   | $a = b = 9,367, c = 6,884 \text{ \AA}, \alpha = 120^\circ$                                                                                      |

Studie tvorby apatitových minerálů jsou složité, protože existuje několik možností vytvoření několika fází fosforečnanu vápenatého. Nejméně rozpustný, hydroxyapatit (HA), je přednostní forma za neutrálních nebo zásaditých podmínek. V kyslejších roztocích jsou přítomny fáze jako „brushite“ (DCPD = dihydrát fosforečnanu vápenatého) a fosforečnan oktavápenatý (OCP). Dokonce pod ideálními precipitačními podmínkami HA nejsou precipitáty ve většině případů stechiometrické, což naznačuje vytvoření vápníkem deficitního apatitu. Oba DCPD i OCP jako možné prekursor, mohou způsobovat vznik apatitu. K tomu může dojít počáteční precipitací DCPD a nebo OCP a následnou transformací na více apatické fáze. Ačkoli DCPD a OCP jsou často detekovány během „in vitro“ („in vitro“ = mimo tělo) krystalizace, „in vivo“ studie tvorby kostí zřídka kdy zachycují přítomnost těchto kyselých fází fosforečnanu vápenatého. V posledním případě je situace složitější, protože je přítomno velké množství iontů a molekul, které mohou být zahrnuty do krystalové mřížky nebo mohou být adsorbovány na povrchu krystalu. V biologických apatitech, DCPD a OCP jsou obvykle nalezeny pouze během patologických kalcifikací, kdy je hodnota pH často relativně nízká. V normální „in vivo“ kalcifikaci tyto fáze nejsou nalezeny, což naznačuje, zapojení dalších prekursorů nebo tvorbu počáteční amorfni fáze fosforečnanu vápenatého (ACP) s následnou transformací na apatit. [18]

Živé organismy využívají neuvěřitelné metody k vytváření různých vysoce výkonných materiálů. Doposud bylo odhaleno přes 60 odlišných anorganických minerálů biologického původu. Mezi ně patří také ortofosforečnan vápenatý, které jsou výjimečně důležité, protože jsou nejdůležitější anorganickou složkou tvrdých tkání obratlovců. Ve formě ne stechiometrické, iontově substituční a vápníkem deficitní hydroxyapatit (často nazývaný jako „biologický apatit“) je přítomen např. v kostech, zubech, jeleních parozích, v šlachách savců a poskytuje jim stabilitu orgánů, tvrdost a funkčnost. [19]

Biologická mineralizace (nebo biomineralizace) je proces „in vivo“ tvorby anorganických minerálů. Biologicky formovaný ortofosforečnan vápenatý je obvykle nanokrystalický. I podle mnoha publikací jsou rozměry biologického apatitu v kalcifikovaných tkáních obvykle v rozmezí několika stovek nanometrů, s malými stavebními bloky na nanometrové úrovni. Například desítky až stovky nanometrických krystalů ortofosforečnanu vápenatého v kolagenní matici jsou kombinované se samo-sestavených struktur při tvorbě kostí a skloviny. Současné pokroky naznačují, že toto je přirozený výběr, protože nanostrukturální materiály poskytují schopnost specifických interakcí s proteiny. Je prokázáno, že nanorozměrový ortofosforečnan vápenatý může napodobit rozměry složek tvořící kalcifikované tkáně. Tak můžou být ortofosforečnany, díky jejich zvýšené biokompatibilitě, využity v biomineralizaci a jako biomateriály. [19]

Hlavní hnací silou využití ortofosforečnanů jako materiály kostních náhrad je jejich podobnost s minerálním složením savčích kostí a zubů. V důsledku toho, kromě toho, že jsou netoxické, jsou biokompatibilní, nejsou přijímány jako cizí materiál v lidském těle a nejdůležitější je, že jeví bioaktivní chování a začleňují se v živých tkáních podobným aktivním procesem jako v průběhu přetvoření zdravé kosti. Biokeramiky na bázi ortofosforečnanu vápenatého však mají špatné mechanické vlastnosti, které jim nedovolují využití přímo v nosných oblastech, jako jsou například umělé zuby nebo kosti. Proto se tyto materiály používají nejčastěji jako nenosné kostní implantáty jako jsou např. součásti pro chirurgii středního ucha, plniva kostních defektů v ústní a ortopedické chirurgii, ale také jako povlaky zubních implantátů a kovových protéz. [10, 19]

Tyto materiály jsou v současné době intenzivně studovány různými fyzikálně-chemickými technikami a analyzovány chemickými metodami. Další rozvoj biomateriálů na základě fosforečnanů vápenatých bude zřejmě těžit především z nanotechnologie, která nabízí unikátní přístup k překonání nedostatků mnoha konvenčních materiálů. Například nanorozměrové keramiky mohou vykazovat značnou houževnatost před porušením přispěním fáze hranic zrn. V roce 1987 Karch a spol. [47], uvedli ve své práci, že křehká keramika se zrny o velikost v řádu nano, je schopna velké plastické deformace (až 100 %). Kromě toho, nanostrukturní keramiky mohou být slinovány za nižší teploty, čímž jsou sníženy problémy související s vysokou teplotou slinovacího procesu. Tak nanorozměrové a nanokrystalické biokeramiky, na bázi fosforečnanu vápenatého, zjevně reprezentují slibnou třídu ortopedických a dentálních implantátů se zlepšenými biologickými a biomechanickými vlastnostmi. [19]

### 3.4. HYDROXYAPATIT

Jedním z několika typů ortofosfátů vápenatých je také hydroxyapatit, který je díky své excelentní biokompatibilitě a bioaktivitě nejvíce zkoumaným fosfátem. [21]

Hydroxyapatit, nebo také hydroxylapatit (zkratka HA) je matný, v přírodě se vyskytující minerál, který můžeme nalézt v různých barvách: v bezbarvé, bílé, šedé, žluté, zelenkavé anebo hnědé. Krystaly hydroxyapatitu jsou zobrazeny na obr. 10. Čistý hydroxyapatitový prášek je bílý (viz obr. 11).

Jedná se o přirozenou formu vápníku a fosforu – tedy apatitu s chemickým vzorcem  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ . Jelikož krystalová jednotka obsahuje dvě molekuly, je chemický vzorec obvykle psán ve formě:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Pojmeme apatit je v mineralogii označována skupina třech minerálů: hydroxyapatit, chlórapatit a fluórapatit, které jsou nazvány podle přítomnosti iontů  $\text{OH}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$  v mřížce krystalu. Pro apatity obecně platí, že jsou to chemické sloučeniny se vzorcem  $\text{M}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Z}_2$ , kde  $\text{M}^{2+}$  je kov s anionty  $\text{XO}_4^{3-}$  a  $\text{Z}^-$ . Polohu M můžou zastupovat velké kationty s koordinací 7 až 9, jako jsou např. Ca, Ba, Sr, Mg a Pb. Poloha X obsahuje atomy s koordinací tetraedrickou, jako jsou: P, V, Si, S, As. A polohu Y zastupují anionty koordinované 3 kationty X jako např. OH, O, Cl, F. V důsledku toho má hydroxyapatit molekulární strukturu, ve které M je vápník ( $\text{Ca}^{2+}$ ), X je fosfor ( $\text{P}^{5+}$ ) a Z zastupuje hydroxylovou skupinu ( $\text{OH}^-$ ), jak již bylo uvedeno výše. [5, 6, 22, 23]



Obr. 10: Krystaly hydroxyapatitu na matečné hornině. [23]

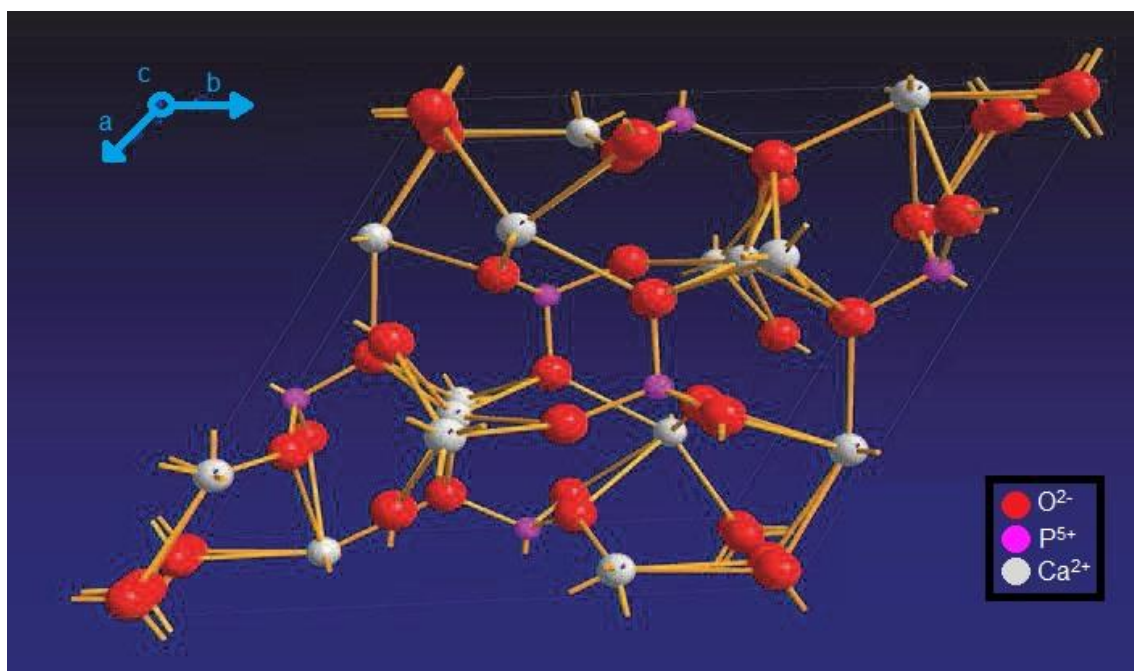


Obr. 11: Synteticky připravený prášek HA.

HA krystalizuje převážně v hexagonálním krystalografickém systému, ale výjimečně také v monoklinickém. Hexagonální systém patří do prostorové skupiny vykazující hexagonální rotační symetrii a rovinu souměrnosti s mřížkovými parametry  $a = b = 0,9430 \text{ nm}$  a  $c = 0,6891 \text{ nm}$  (viz tab. 2). Monoklinická struktura vykazuje prostorovou skupinu s mřížkovými parametry  $a = 0,984 \text{ nm}$ ,  $b = 0,2 \text{ nm}$ ,  $c = 0,688 \text{ nm}$  a úhel  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$  (viz tab. 2). Krystalová struktura HA je zobrazena na obr. 12. [10]

Ve více stabilní monoklinické formě se řady fosfátových iontů nachází podél osy  $a$  s vápníkem a hydroxidovými ionty umístěnými mezi fosforečnanovými skupinami. Ionty vápníku jsou umístěny ve dvou trojúhelnících kolem dvou hydroxidových iontů a nachází se buď nad, nebo pod rovinami vápníkových iontů. Řady hydroxidových iontů jsou orientovány střídavě nahoru a dolů. [18]

Hexagonální forma HA, se obvykle nalézá v biologických apatitech, má strukturu podobnou monoklinické formě HA, ale s kolonami vápníku a hydroxidových skupin umístěných v paralelních kanálech. V těchto kanálech se může snadno objevit iontová substituce, což může představovat mnoho změn nalezených v přírodních apatitech. V hexagonálních HA jsou hydroxidové ionty více neuspořádané uvnitř každé vrstvy v porovnání s monoklinickou formou, kde směřují ve struktuře buď nahoru, nebo dolů. Tato indukovaná napětí jsou kompenzována substitucí nebo iontovými vakancemi; hexagonální HA je proto málokdy stechiometrická fáze. Stechiometrický hydroxyapatit vykazuje atomový poměr vápníku k fosforu 1,67. [6, 18]



Obr. 12: Krystalová struktura HA. [24]

Povrchové vrstvy HA jsou kompozičně odlišné od souhrnného složení. Vytváření povrchových vrstev je důsledkem proměnlivého složení sloučeniny HA:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  do  $\sim\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$  existují při poměru  $\text{Ca}/\text{P}$  od 1,67 pro stechiometrické složení HA a do  $\sim 1,5$  pro vápníkem deficitní HA. Poměr  $\text{Ca}/\text{P} = 1,52$  byl odhadnut z výsledných dat NMR (NMR = nukleární magnetická rezonance), což naznačuje, že povrch nanokrystalického hydroxyapatitu s tloušťkou povrchu 1 nm

nemá nic společného s objemovým složením. Jedním z důsledků této proměnlivosti složení je, že pouze jedno složení HA (poměr Ca/P) se rozpouští shodně (roztok a pevná fáze mají stejný poměr Ca/P). Složení HA, které mají odlišný poměr Ca/P od shodně se rozpouštějícího, tvoří povrchové vrstvy. Udržení rovnováhy stechiometrického HA s vodou je výsledkem ve formaci povrchových vrstev s Ca/P menším než 1,67. Obecně platí, že pro složení pevné fáze HA s poměrem Ca/P větším než 1,52 se tvoří ne-stechiometrické povrchové vrstvy a Ca/P v roztoku bude vyšší než na povrchové vrstvě. Pro složení pevné fáze s poměrem Ca/P nižším než 1,52 to bude opačně. [18]

#### VLASTNOSTI HYDROXYAPATITU:

Obecně biokeramiky mají špatné mechanické vlastnosti, které jim nedovolují použití v nosných oblastech, jako jsou přímo umělé zuby nebo kosti. Díky křehkosti HA, se objemové implantáty používají jen ve velmi malých rozměrech a jsou umístěny pouze do míst s nízkým mechanickým zatížením (např. v oblasti chirurgie středního ucha, výplně kostních defektů nebo v orální a ortopedické chirurgii) nebo jsou využívány ve formě kompozitu jako povlaky dentálních implantátů a kovových protéz. Níže jsou uvedeny vybrané vlastnosti hydroxyapatitu:

- lomová houževnatost: nepřesáhne hodnotu  $\sim 1,0 \text{ MPam}^{1/2}$  (lidská kost: 2 – 12  $\text{MPam}^{1/2}$ )
- lomová energie: 2,3 – 20  $\text{J/m}^2$ , jestliže je v mokřém prostředí Weibullův modul nízký ( $\sim 5 - 12$ )
- pevnost v ohybu hustého HA: 38 – 250 MPa
- pevnost v tlaku hustého HA: 120 – 900 MPa
- pevnost v tahu hustého HA: 38 – 300 MPa
- pevnost v ohybu porézního HA: 2 – 11 MPa
- pevnost v tlaku porézního HA: 2 – 100 MPa
- pevnost v tahu porézního HA:  $\sim 3$  MPa; (pevnost se zvyšuje téměř exponenciálně s rostoucí porózitou, porézní HA-biokeramika je mnohem méně odolná lomu v porovnání s hustou HA-biokeramikou)
- Youngův (elastický) modul hustého HA: 35 -120 GPa (zubní sklovina:  $\sim 74$  GPa, zubovina:  $\sim 21$  GPa, kompaktní kost:  $\sim 18 - 22$  GPa)
- hustá HA-biokeramika vykazuje za teplot 1000 – 1100 °C superplasticitu s deformačním mechanismem založeným na pokluzu po hranicích zrn. [5, 10]

Při teplotách pohybujících se kolem 1300 °C dochází u hydroxyapatitu k procesu rozkladu. Tento proces působí negativně na jeho mechanické vlastnosti a zhušťování. Zvyšuje se také náchylnost k pozvolnému růstu trhlinek a k materiálové biodegradaci. Vysokou rozpustnost hydroxyapatitových biokeramik a omezenou stabilitu můžeme vyřešit pomocí substituce hydroxylové skupiny OH, ve struktuře apatitu, ionty fluóru ( $\text{F}^-$ ) a tak se vytvoří tuhý roztok hydroxyfluórapatitu (HFA). HFA není tolik rozpustný a je termicky stálější v porovnání s HA. [25]

## VYUŽITÍ HYDROXYAPATITU

Navzdory tomu, že biokeramiky obecně jsou významně limitovány mechanickými vlastnostmi, jsou biokeramiky na bázi ortofosforečnanů vápenatých dostupné v různých fyzikálních podobách: prášek, částice, granule, hutné bloky, porézní lešení, formy vhodné pro injekce, samo-sestavná pojiva, povlaky implantátů anebo kompozitní složky různého původu (přírodního, biologického nebo syntetického). Hydroxyapatit se využívá nejvíce v medicínské oblasti. Nejčastěji se HA používá ve formě částic sférického tvaru, s rozměry kolem 0,5 až 2 mm. Jedna z dalších nejpoužívanějších forem hydroxyapatitové objemové biokeramiky jsou keramické tělíska ve tvaru destiček. Tyto destičky se používají při operacích po úrazech v maxilofaciální chirurgii (týkající se horní čelisti a tváře). Dále je můžeme využít například pro náhradu kostního tkaniva a také pro jeho rekonstrukci. Pro uvedené účely jsou významné hlavně fyzikální a mechanické vlastnosti tělísek, jejich tvar a možnost individuálního přetvarování řezáním a broušením dle potřeby. Dalším použitím HA je oční protéza s mnohem lepšími vlastnostmi v porovnání s běžnými protézami – svaly oka, které jsou navázány na tento implantát, který se označuje jako tzv. „bio-oko“, mají stejnou schopnost se pohybovat, jako svaly zdravého oka. Mezi další aplikace patří použití HA jako katalyzátoru v organických syntézách nebo jako katalyzátor při čištění vody, kde z vody odstraňuje těžké kovy. Částice hydroxyapatitu se v současnosti také používají jako výplně nebo se využívají v kompozitních materiálech, kde zvyšují jejich biokompatibilitu. [10, 25]

### 3.5. SYNTÉZY HYDROXYAPATITU

Hydroxyapatit (HA)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  s poměrem  $\text{Ca/P} = 1,67$  je jednou z nejdůležitějších složek kostí a zubů. Je široce používán v oblasti biomedicíny díky jeho chemické a strukturní podobnosti k minerálním částem lidských kostí. Z tohoto důvodu je v posledních letech v oblasti výzkumu HA věnováno podstatné úsilí, a to zejména přípravě a kontrole morfologie částic prášků hydroxyapatitu. Cílem vědeckého výzkumu je zlepšení mechanických a biologických vlastností hydroxyapatitu s využitím nanotechnologie. Dalším významným cílem současného výzkumu syntéz hydroxyapatitového prášku je také biokeramika vytvořená ze synteticky připraveného prášku HA, která je jedinečnou a nadějnou třídou ortopedických a dentálních implantátů nebo jiných specifických aplikací. [17, 21, 22]

HA prášek může být získán různými syntetizačními metodami a to buď tzv. mokřými metodami jako jsou: hydrotermálními syntézy, mikrovlnné syntézy, sol-gel syntézy, mikroemulsní nebo emulzní syntézy, anebo metodou nazývanou reakce v pevné fázi. Nicméně nejčastěji používanou metodou je mokrá chemická precipitační metoda. V tab. 4 je shrnuto několik technik přípravy HA. Typ zvoleného způsobu zpracování a použitých reakčních podmínek syntézy ovlivňuje morfologii, distribuci velikosti částic, stupeň krystaličnosti, fázovou čistotu, specifický měrný povrch a porozitu výsledného HA prášku. Chemicky syntetizované částice HA mohou mít rozmanitou morfologii, jako např.: kuličky, jehličky, tyčinky, vlákna nebo destičky. [26, 27, 29]

Tab. 4: Příklad metod přípravy HA. [30]

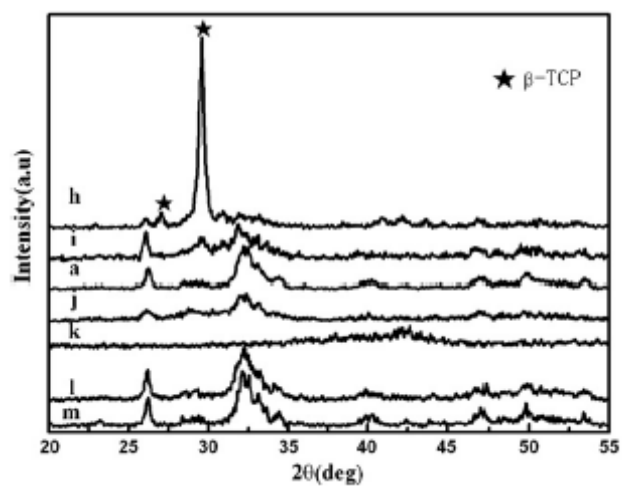
| Metoda                | Výchozí materiály                                                                                            | Podmínky                                                                | Poznámky                                                                                                |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mokrá chemická metoda | $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$<br>$\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{H}_3\text{PO}_4$ | $\sim 100^\circ\text{C}$<br>pH: 7-12                                    | $\text{Ca/P} < 1,67$ , dobré nepravidelné krystaly s malou krystalinitou, nehomogenní                   |
| Hydrotermální metoda  | HA připraven mokrou chemickou metodou, další kalcium fosfáty                                                 | $100-200^\circ\text{C}$ (1-2 MPa)<br>$300-600^\circ\text{C}$ (1-2 kbar) | $\text{Ca/P} = 1,67$ , homogenní, pravidelné jednotlivé krystaly nebo velké krystaly                    |
| Sol-gel metoda        | Gel + $\text{Ca}^{2+} + \text{PO}_4^{3-}$                                                                    | $\sim 60^\circ\text{C}$<br>pH: 7-10                                     | Velké krystaly monetitu( $\text{CaHPO}_4$ ), brushit( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), OCP |
| Reakce z pevné fáze   | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaCO}_3$<br>$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{CaCO}_3$            | $900-1300^\circ\text{C}$                                                | $\text{Ca/P} < 1,67$ , velká velikost zrn, nepravidelné formy, nehomogenní                              |
| Vypalovací metoda     | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{PO}_4^{3-} \cdot \text{CaF}_2$ ,<br>$\text{CaCl}_2$                  | $1650^\circ\text{C}$                                                    | Velké krystaly s mřížkovým pnutím                                                                       |
| Toková metoda         | $\text{CaF}_2$ , $\text{CaCl}_2$ , $\text{Ca}(\text{OH})_2$                                                  | $1325^\circ\text{C}$ (Fap, ClAp),<br>HA                                 | Velké krystaly s malým mřížkovým pnutím                                                                 |

## PRECIPITAČNÍ METODA

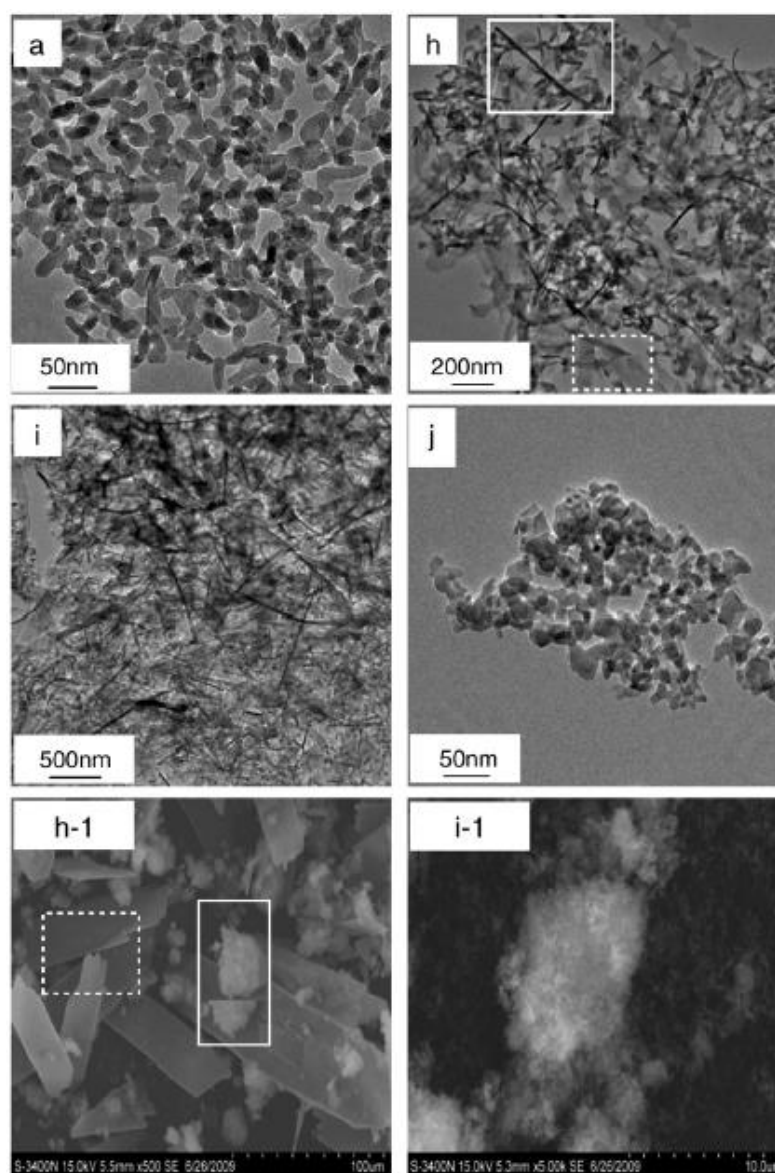
Precipitační proces je jednou z nejčastěji publikovaných metod přípravy HA a je pro přípravu prášku hydroxyapatitu nejpoužívanější. Tento způsob přípravy je velmi jednoduchý, má nízké náklady (vzhledem k jeho jednoduchým experimentálním postupům, nízké pracovní teplotě, vysokému zisku čistého produktu a levným zařízením) a může být vhodný pro průmyslovou produkci. Na vlastnosti výsledného prášku hydroxyapatitu a jeho následnou aplikaci může mít vliv mnoho faktorů, jako jsou například: výchozí použité materiály, hodnota pH, teplota, čas stárnutí, přítomnost povrchově aktivní látky, rychlost míchání a další. Výsledná suspenze po precipitační reakci může být použita ve formě suspenze pro povrchové povlékání, po sušení jako objemový materiál nebo ve formě prášku s kontrolovanou morfologií, který se připravuje např. prostřednictvím atomizačního nebo sprejového sušení. Tento způsob přípravy HA má mnoho výhod uvedených výše, ale má také nevýhody jako například to, že u částic vytvořených touto metodou je nižší kvalita povrchu zhoršující se s rostoucí velikostí částic, široká distribuce částic a tvorba aglomerátů. [31, 32, 33]

### *Příklady precipitačních metod v publikovaných článcích:*

Wang a jeho kolegové [26] připravili precipitační metodou částice HA. Jako zdroj vápníku použili tetrahydrát dusičnanu vápenatého ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) a jako zdroj fosforu hydrogen fosforečnan diamonný ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ). Počáteční hodnota pH reakčního roztoku byla nastavena na hodnoty 8, 9, 10 a 11 roztokem hydroxidu amonného ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). Ve všech případech byl molární poměr Ca/P roven 1,67. Teplota jednotlivých experimentů byla 25 °C, 40 °C, 60 °C nebo 80 °C. Pomocí RTG difrakce (XRD) byla určena krystalová fáze výsledného prášku a stupeň krystaličnosti (viz obr. 13). Metodou Fourierovy transformační infračervené spektroskopie (FTIR) byla analyzována typická skupina HA. Morfologie částic HA byla studována transmisí elektronovou mikroskopií (TEM) a rastrovací elektronovou mikroskopií. Z výsledků jednotlivých analýz bylo zjištěno, že počáteční hodnota pH a reakční teplota hrají významnou roli ve fázové formaci hydroxyapatitu a jeho krystalickém tvaru, která je způsobena různými morfologiemi HA. V uvedených experimentech se vyskytly fáze  $\beta$ -TCP a HA. Při hodnotě pH menší než 9 vznikly nanorozměrové částice HA ve tvaru drátků a při hodnotě pH vyšší než 10 vznikl čistý HA, s částicemi vypadající jako kuličky. Při pH 10 a různých reakčních podmínkách byly získány částice rozličného tvaru (kuličky, tyčinky, částice podobající se lístkům bambusu) a s různým stupněm krystaličnosti. Vliv hodnoty pH na morfologii částic HA je uveden na obr. 14.

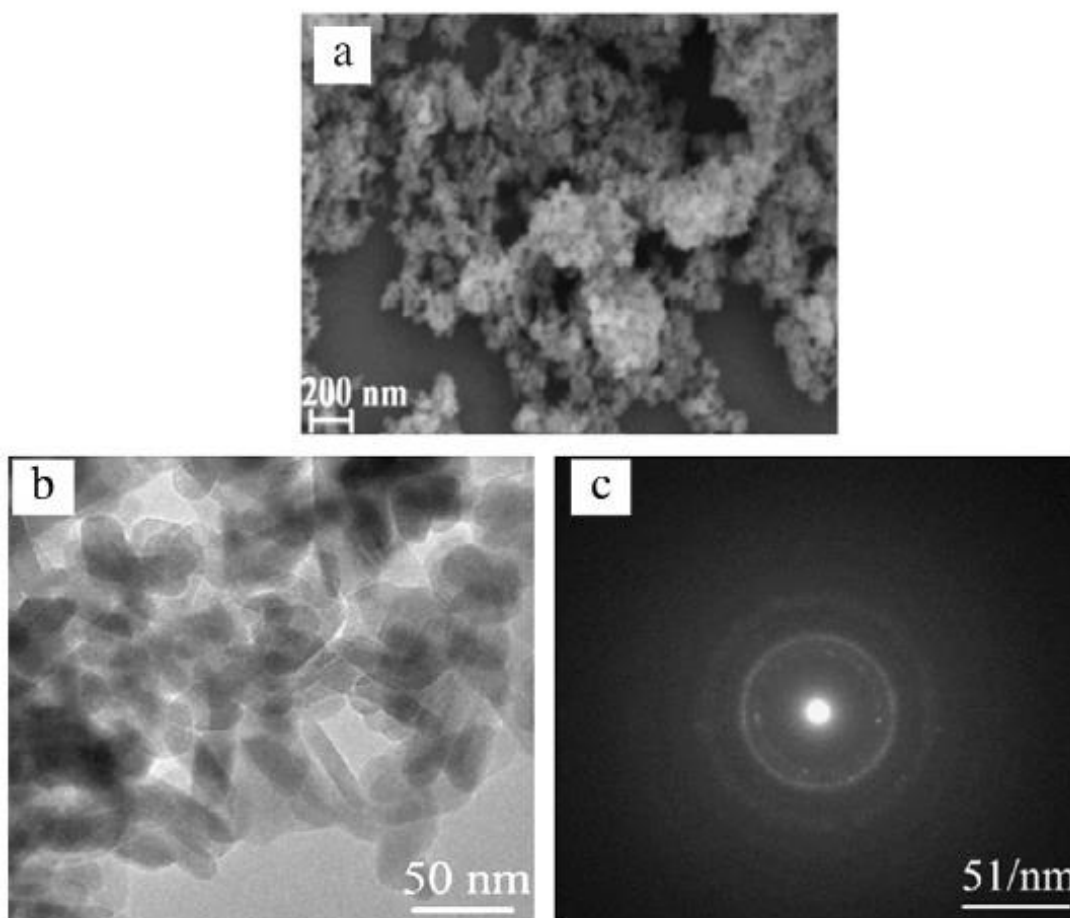


Obr. 13: RTG spektra vzorků HA. [26]



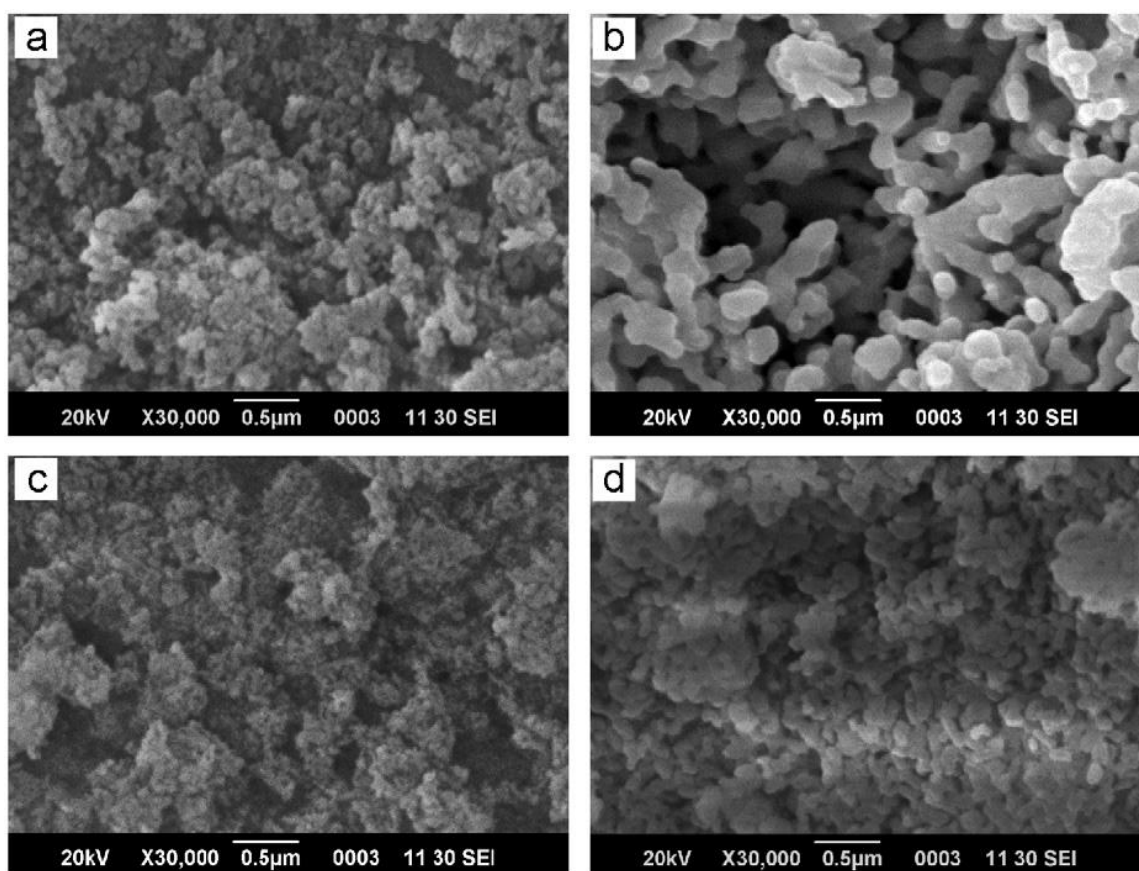
Obr. 14: TEM and SEM snímky vzorků HA připraveného za různých počátečních hodnot pH: a) pH 10, h) a h-1) pH 8, i) a i-1) pH 9, j) pH11. [26]

Girija a spol. [32] použili pro přípravu nanokrystalického HA také konvenční precipitační metodu. Jako výchozí materiály použili tetrahydrát dusičnanu vápenatého, hydrogen fosforečnan diamonný a roztok amoniaku pro regulaci hodnoty pH. Prášek byl charakterizován pomocí XRD a morfologie částic byla pozorována pomocí TEM a SEM. Z výsledku RTG analýzy bylo stanoveno, že precipitační metodou byl připraven nanokrystalický HA. Ze snímků z rastrovací elektronové mikroskopie bylo zjištěno, že částice hydroxyapatitu tvořily velké aglomeráty složené z malých částic. Morfologie individuálních částic nemohla být přesně rozpoznatelná z důvodu jejich extrémně malé velikosti, ale s využitím TEM se podařilo určit tvar i velikost částic. Ze spektra SEAD (Selected Area Electron Diffraction – vybrané plochy elektronové difrakce) bylo prokázána polykrystalická povaha vzorku. Snímky ze SEM, TEM a SAED jsou zobrazeny na obr. 15.



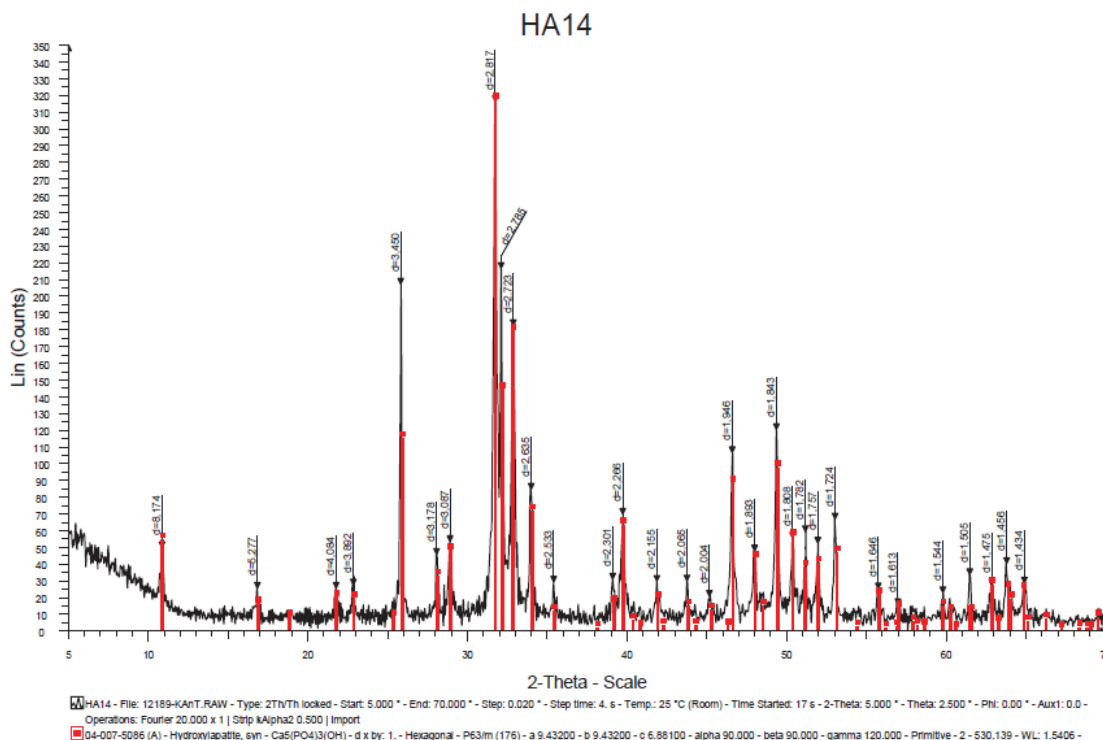
Obr. 15: a) SEM, b) TEM a c) SAED snímky HA vytvořeného precipitační reakcí. [32]

Také M. Khalid a jeho spolupracovníci [29] vytvořili hydroxyapatitový prášek precipitační syntézou, jak bez povrchově aktivní látky, tak i s povrchově aktivní látkou. V prvním případě byly částice HA syntetizovány pomocí  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  jako zdroj vápníku a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  jako zdroj fosforu. Pro úpravu hodnoty pH byl použit roztok amoniaku. Výsledný precipitát byl označen jako „NoSurf“. V druhém případě byl použit CTAB (cetyltrimethylammonium bromid) jako povrchově aktivní látka, která byla přidána do roztoku  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Jinak se postup syntézy nelišil od prvního případu. Výsledný precipitát byl označen jako „Surf“. Po syntézách byly oba vzorky tepelně zpracovány v peci na teplotu  $900^\circ\text{C}$  po dobu 3 hod na vzduchu (označení vzorku „NoSurf-900C“, „Surf-900C“). Z analýzy vzorků pomocí SEM bylo zjištěno, že povrchově aktivní látka měla významný vliv, jak na vznik čistého HA (bez  $\beta$ -TCP), tak na změnu morfologie částic od kulovitých až po mírně protáhlé částice – viz obr. 16. Tepelné zpracování vzorků způsobilo zvýšení průměrné velikosti zrna stejně jako stupeň krystaličnosti HA prášku.

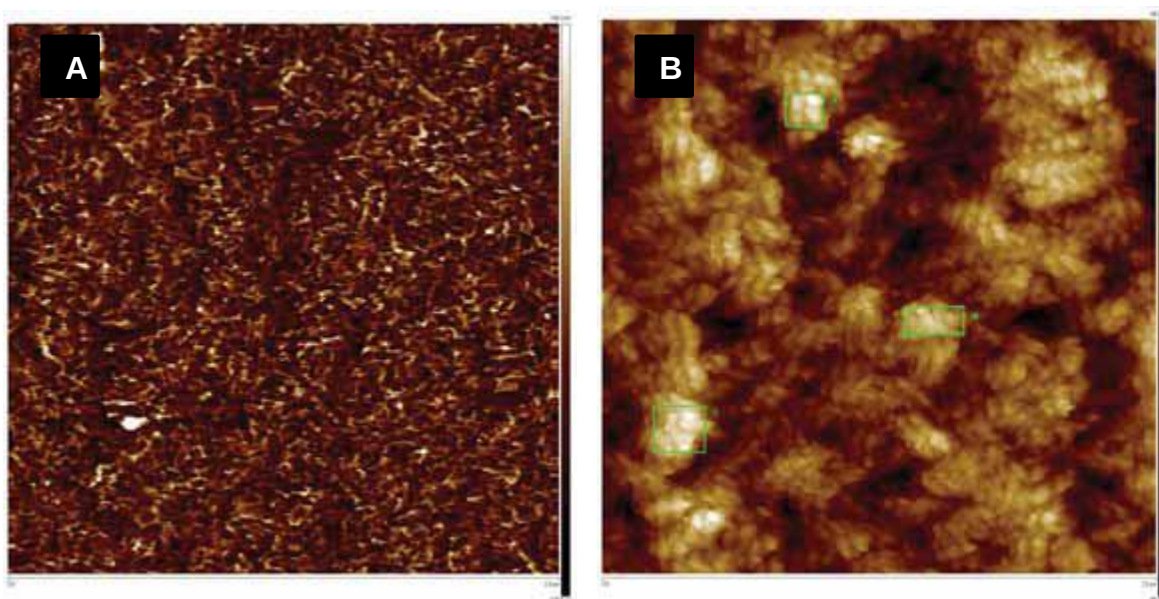


Obr. 16: SEM snímky ukazující morfologii a mikrostrukturu částic HA před a po tepelném zpracování: a) „NoSurf“, b) „NoSurf-900C“, c) „Surf“, d) „Surf-900C“. [29]

Dědourková a spol. [28] připravili nanočástice HA chemickou precipitační metodou s využitím  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a roztokem amoniaku jako regulátor hodnoty pH. Výsledné částice byly analyzovány pomocí AFM (atomic force microscopy), XRD a FTIR. Spektra FTIR a XRD difraktogramy potvrdily strukturu HA – obr. 17. Na obr. 18 jsou zobrazeny snímky z AFM, ze kterých je vidět, že částice HA jsou v rozměrech nano (v průměru 30-50 nm), jsou kulovitěho tvaru a mohou tvořit aglomeráty.

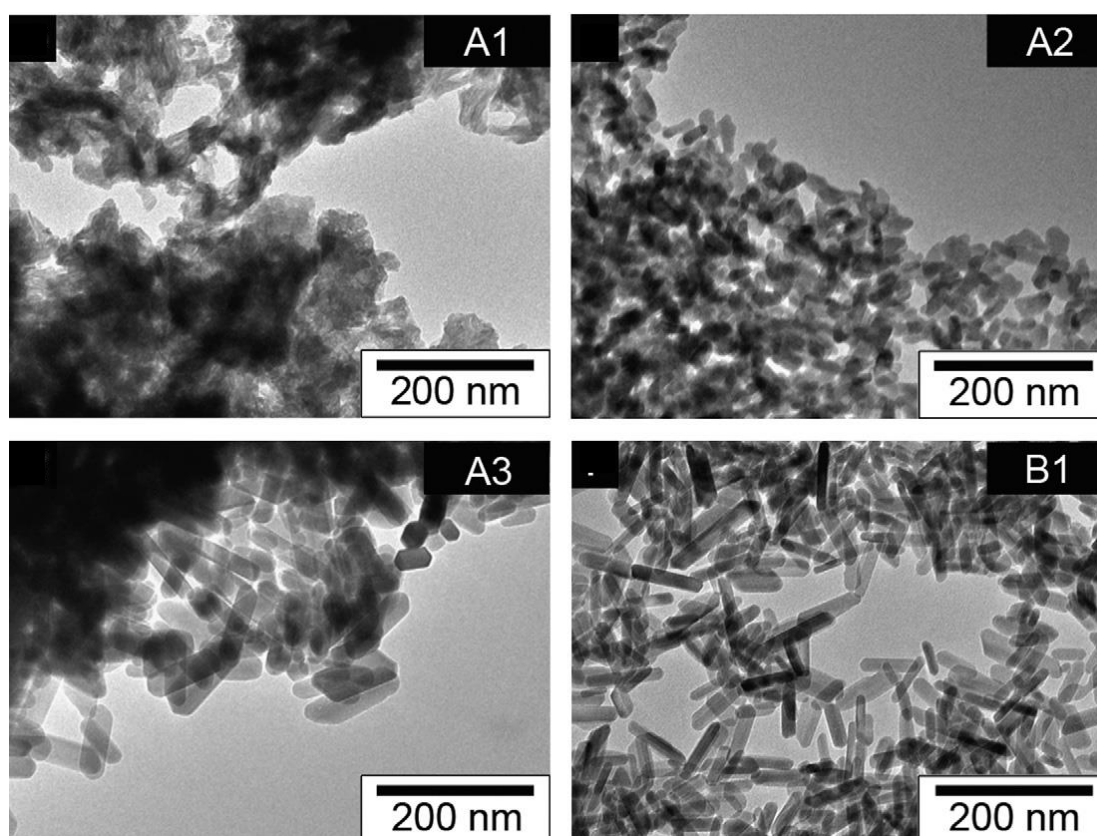


Obr. 17: RTG difratogram prášku nanorozměrového HA. [28]



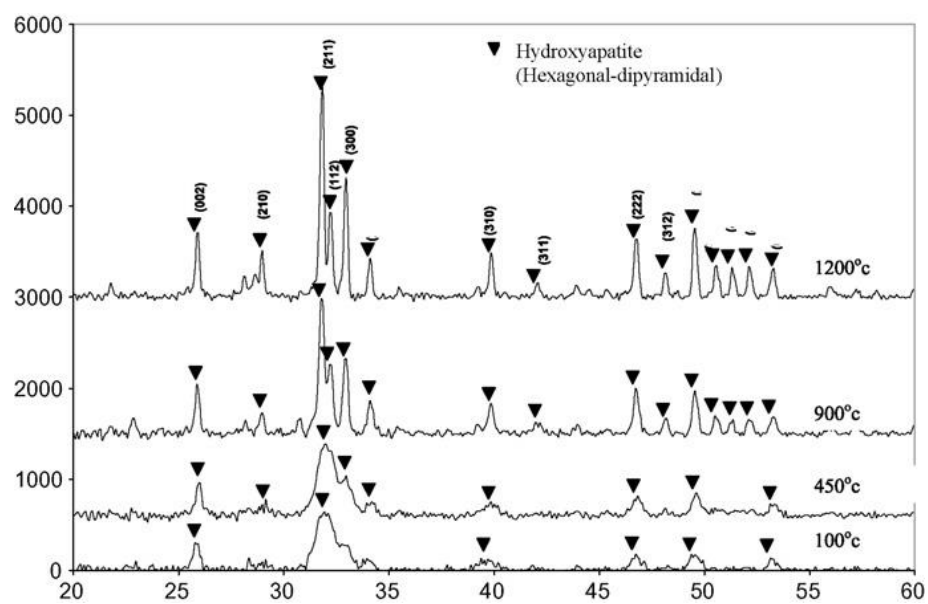
Obr. 18: A: AFM snímek nanočástic HA o velikosti 30-50 nm, B: AFM snímek aglomerátů HA nanočástic. [28]

Siddharth P. Pathi a spol. [34] použili pro přípravu nanočástic hydroxyapatitu precipitační metodu s následným hydrotermálním stárnutím precipitátu. Jako výchozí suroviny použili vápenaté soli ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ), soli fosforečnanů ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) a pro regulaci hodnoty pH použili  $\text{NH}_4\text{OH}$ , nebo použili jako výchozí látky soli chloridu vápenatého ( $\text{CaCl}_2$ ), fosforečnanu sodného ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) a pH bylo modifikováno pomocí  $\text{NaOH}$ . Tvar a morfologie částic vytvořeného HA byla charakterizována pomocí TEM. Krystaličnost a fázové složení bylo zjištěno pomocí RTG difrakce (XRD). Částice HA vytvořené precipitační reakcí byly malé, nedokonale krystalické, nicméně po hydrotermálním zpracování byly částice pravidelnější, větší fasetové a více protáhlé s bližší velikostí distribuce zrn – viz obr. 19. Analýzou RTG difrakce bylo prokázáno, že všechny syntetizované částice byly čistý HA.

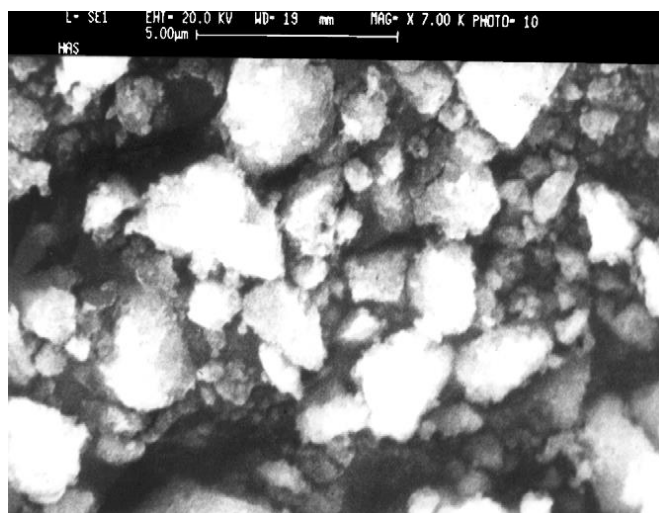


Obr. 19: Snímky z TEM různých HA částic syntetizovaných z  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  s hydrotermálním stárnutím po dobu 0 h – A1, 0,5 h – A2 a 72 h – A3 a částice syntetizované z  $\text{CaCl}_2$  a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  se stárnutím po dobu 1,5 h – B1. [34]

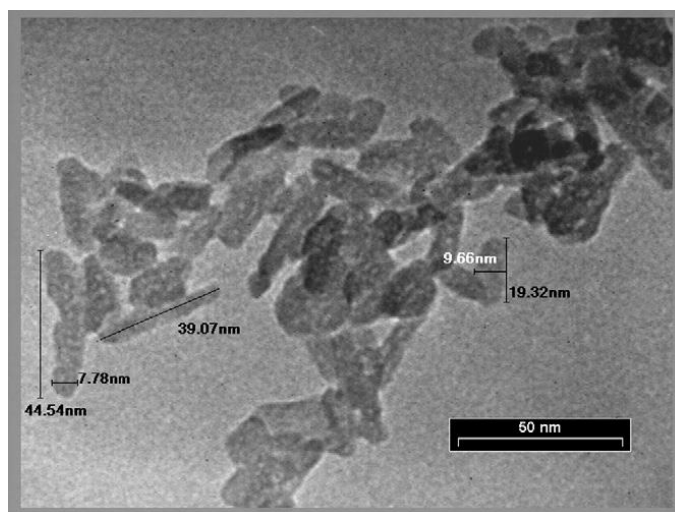
Precipitační syntézou HA se zabývali také výzkumníci Mobasherpour a jeho kolegové [27], kteří připravili touto metodou z roztoku  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , roztoku  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a roztoku amoniaku (čínidlo pro úpravu hodnoty pH) částice hydroxyapatitu. Prášky HA byly následně tepelně zpracovány kalcinací při teplotách 100, 450, 900 a 1200 °C po dobu 1 h. Částice byly následně analyzovány metodami FTIR, XRD, TEM a SEM. FTIR analýza potvrdila strukturu hydroxyapatitu. Z XRD analýzy vyplynulo, že s rostoucí teplotou kalcinace se postupně zvětšují píky HA, což je zobrazeno na obr. 20. Ze snímků z TEM a SEM před kalcinací byly pozorovány částice kulovitěho tvaru s velikostí částic v oblasti 8-20 nm. Po kalcinaci se částice HA zvětšily (40-50 nm) a měly nepravidelný hexagonální tvar – viz obr. 21, obr. 22 a obr. 23.



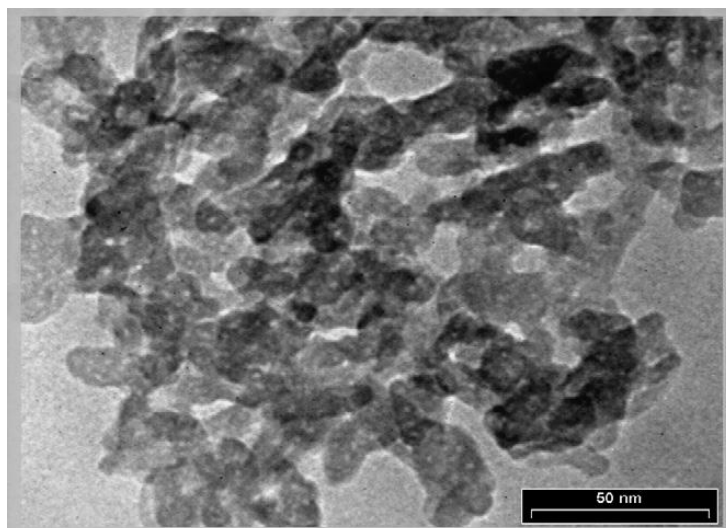
Obr. 20: XRD spektra tepelně zpracovaného hydroxyapatitu pro různé teploty. [27]



Obr. 21: SEM snímek částic HA po kalcinaci na 1200 °C po dobu 1 h. [27]

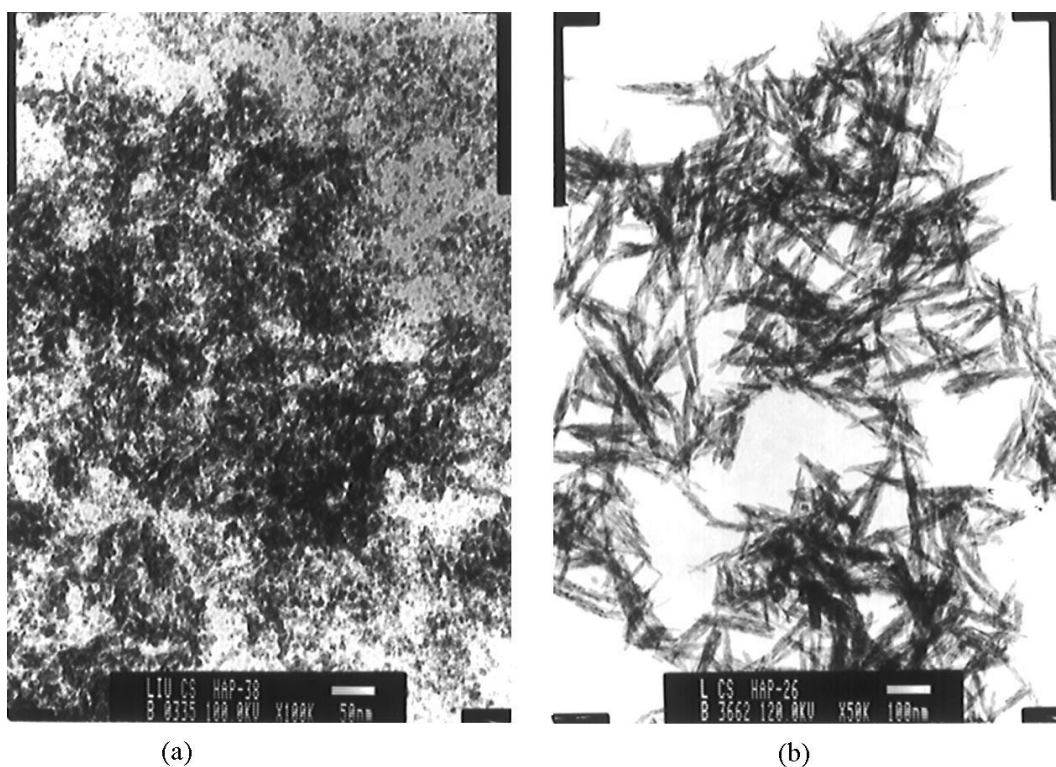


Obr. 22: TEM snímek prášku HA před tepelným zpracováním. [27]



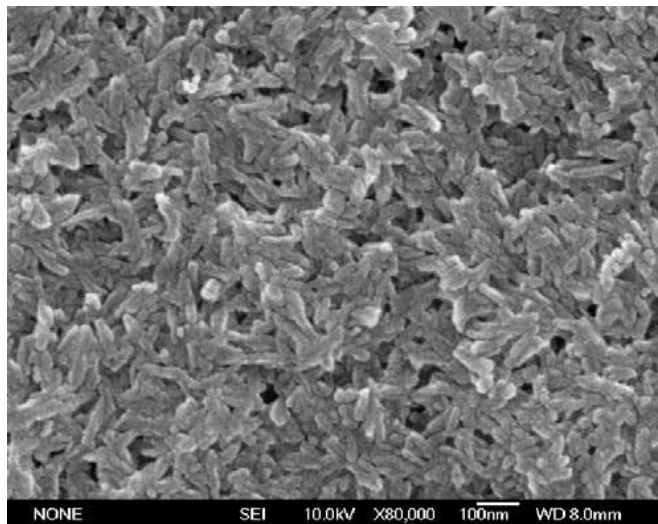
Obr. 23: TEM snímek prášku HA po tepelném zpracování. [27]

Changsheng Liu a spol. [35] využili pro přípravu hydroxyapatitu také precipitační reakcí z vodného roztoku  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Precipitace probíhala za podmínek hodnoty pH pohybující se přibližně v oblasti 10 až 11, za různých reakčních teplot a různých reakčních časů. Výsledné částice HA byly analyzovány pomocí analýzy FTIR, XRD a TEM. Jak můžeme vidět na obr. 24, reakční teplota značně ovlivnila morfologii částic výsledného HA. Za teploty 15 °C měly částice velikost menší než 10 nm a za teploty 60 °C vznikaly jehlicovité krystaly dlouhé až 100 nm.



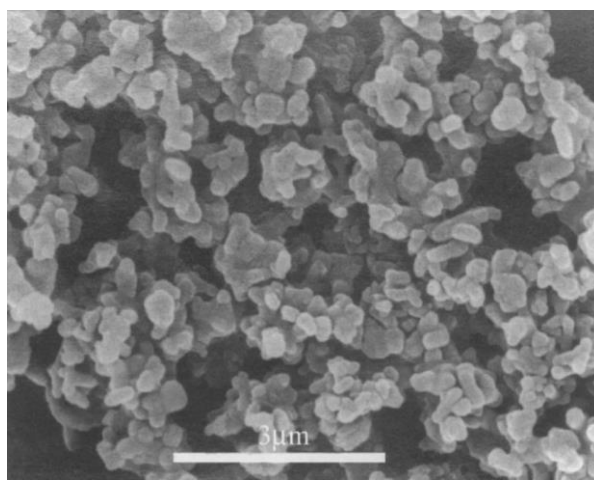
Obr. 24: Vliv reakční teploty na morfologii HA: a) 15 °C, b) 60 °C. [35]

Přípravu hydroxyapatitu uvedli ve své práci i vědci Chen Shaoqiang a spol. [36]. Jako výchozí materiály použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a pro změnu hodnoty pH až do 12 použili  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Pro charakterizaci částic připraveného HA byly využity analýzy XRD a SEM. XRD analýza potvrdila přítomnost HA a ze snímku ze SEM (obr. 25) byla zjištěna vločkovitá morfologie částic.



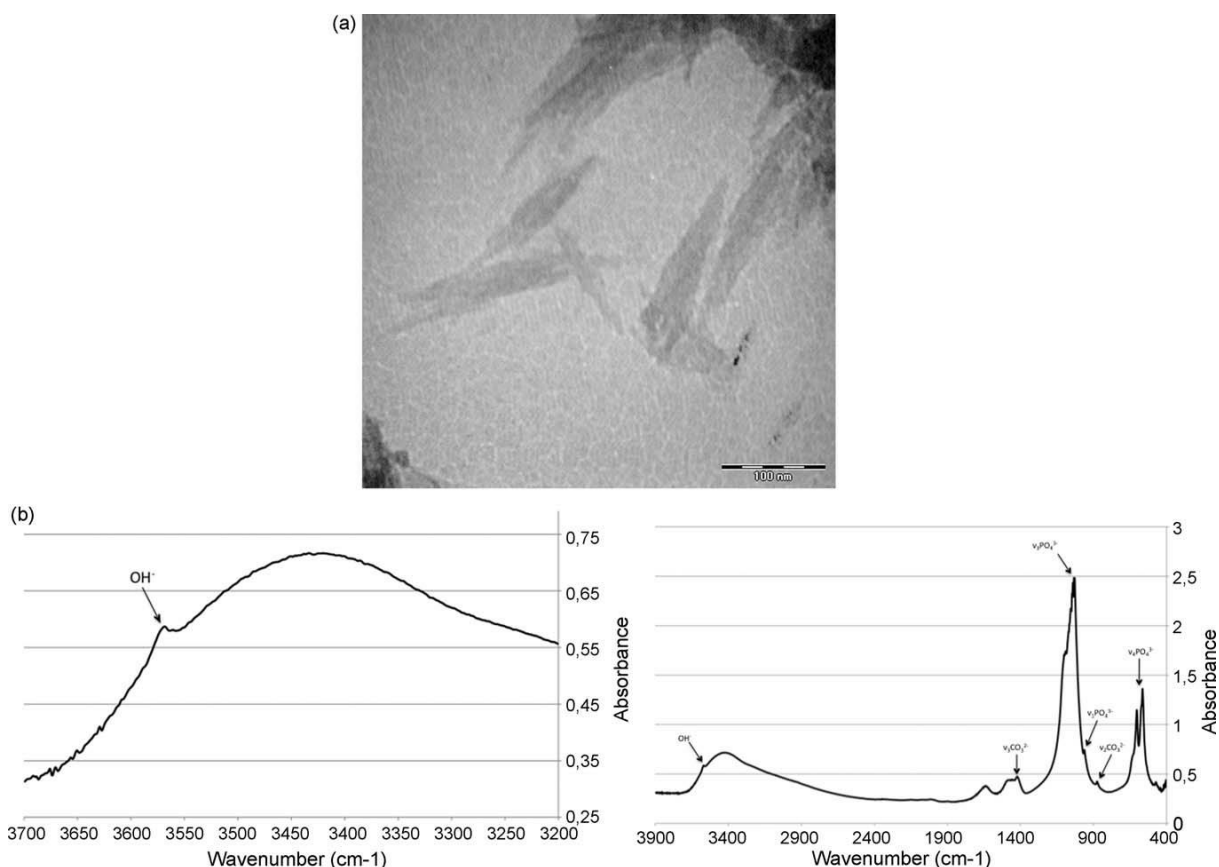
Obr. 25: Snímek ze SEM vločkovitého hydroxyapatitu. [36]

Vědci L. M. Rodríguez-Lorenzo a jeho spolupracovníci [37] využili pro přípravu nanokrystalického hydroxyapatitu taktéž precipitační metodu. Jako výchozí látky použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a pro regulaci hodnoty pH použili hydroxid amonný. Reakční podmínky byly: rychlost tečení 22 ml/min, rychlost míchání 500 r.p.m., teplota 90 °C, reakční čas 24 h, čas stárnutí 24 h za teploty 25 °C, pH 10. Prášek HA byl charakterizován pomocí XRD, FTIR a SEM. Ze spektra IR a XRD precipitovaného vzorku odhalila strukturu apatitu a indikovala, že nebyly přítomny cizí fáze. Hodnota poměru Ca/P byla vypočtena na 1,67, což je stechiometrický poměr hydroxyapatitu. Morfologická charakteristika prášku byla získána pomocí SEM. Obr. 26 zobrazuje částice prášku HA tvořené plochými částicemi se zaoblenými hranami.



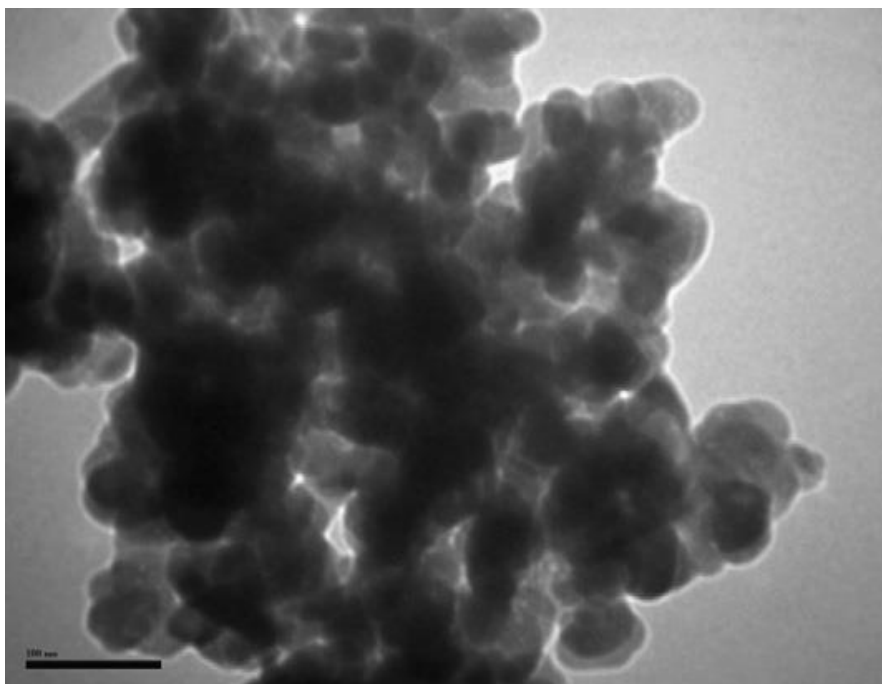
Obr. 26: Snímek SEM prášku HA. [37]

Precipitační reakcí za pokojové teploty k přípravě nanorozměrového hydroxyapatitu se zabývali ve své publikaci S. Catros a spol. [38]. Pro vytvoření HA použili roztok kyseliny fosforečné ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), roztok hydroxidu vápenatého ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) a k regulaci hodnoty pH na hodnotu 10 použili roztok hydroxidu sodného. Výsledný prášek byl charakterizován pomocí TEM, metodou FTIR a XRD. Analýza morfologie (s využitím TEM) odhalila 50 až 100 nm dlouhé tyčinkovité krystaly, což je zobrazeno na obr. 27 a). Analýza FTIR (obr. 27 b)) ukázala specifické píky pro skupiny prezentující krystaly hydroxyapatitu a XRD analýza (obr. 27 c)) byla kompatibilní s hydroxyapatitem nasyceným uhlíkem.

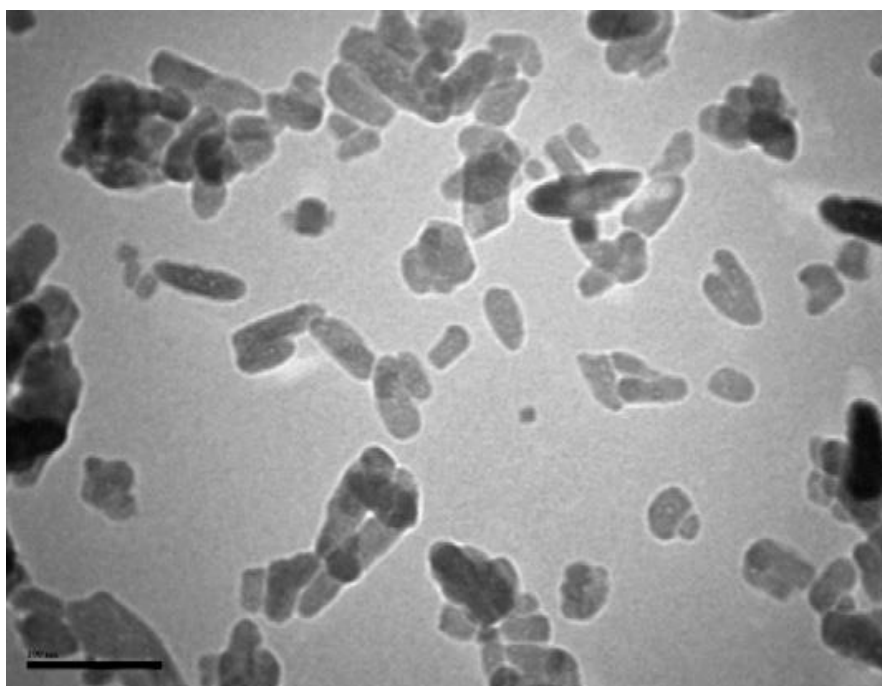


Obr. 27: a) snímek TEM připraveného nanokrystalického HA; b) FTIR diagramy nanokrystalického HA. [38]

Iyyappan a Wilson [39] připravili nanorozměrové částice hydroxyapatitu syntézou, kde jako výchozí látky použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a povrchově aktivní látku (triton X-100) jako organický modifikátor. Hodnota pH byla regulována pomocí  $\text{NH}_3$ . Krystalická fáze, chemické složení, plošný obsah a morfologie připravených vzorků byla charakterizována pomocí XRD, FTIR, BET a TEM. Výsledné částice HA byly v rozměrech nano a jestliže byly připraveny bez povrchově aktivní látky, tak měly kuličkovitou morfologii (obr. 28), jestliže byly připraveny s povrchově aktivní látkou, tak měly tyčinkovitou morfologii, viz obr. 29. Z výsledků analýz je také zřejmé, že povrchově aktivní látka triton X-100 redukuje velikost částic hydroxyapatitu.



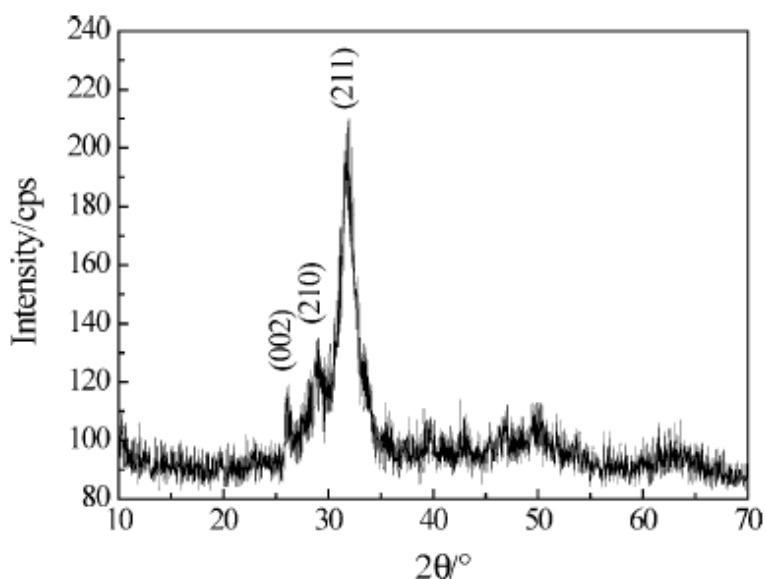
Obr. 28: Snímek TEM hydroxyapatitu syntetizovaného bez použití tritonu X-100. [39]



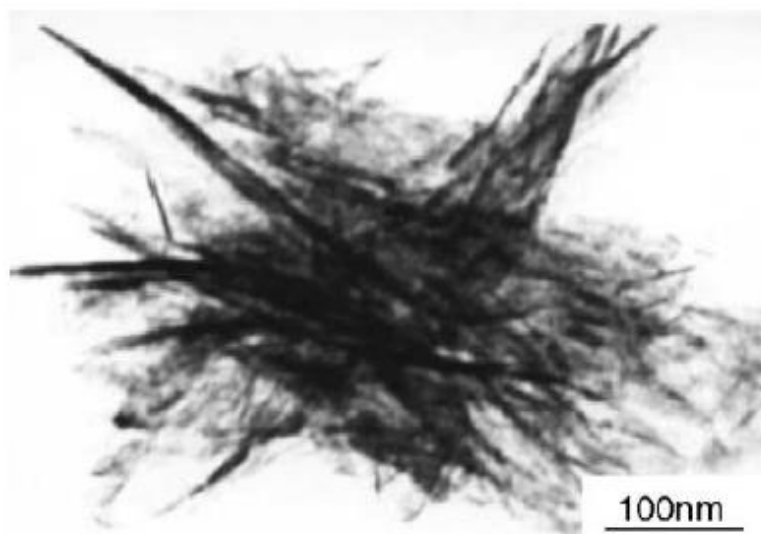
Obr. 29: Snímek TEM hydroxyapatitu syntetizovaného s použitím tritonu X-100. [39]

*Příklady precipitačních metod v přítomnosti ultrazvuku v publikovaných člancích:*

Přípravou nanokrystalického hydroxyapatitu precipitační reakcí s využitím ultrazvukového ozařování se ve své práci zabývali výzkumníci Li-yun Cao, Chuan-bo Zhang a Jian-feng Huang [40]. Jako výchozí látky použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  a  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ . Precipitační reakce probíhala za teplot v rozmezí 333 – 363 K (60 – 90 °C), ozařování ultrazvukem probíhalo 1 – 4 h a k regulaci hodnoty pH na hodnotu v okolí pH 7 byl použit 12 hm%  $\text{NH}_2\text{CONH}_2$ . Výsledný prášek HA byl charakterizován pomocí XRD a TEM. Z XRD analýzy bylo zjištěno, že tato metoda byla vhodná pro přípravu prášku HA a při reakčním čase ozařování 3 h a teplotě 363 K byl získán téměř jednofázový HA – viz obr. 30. Z analýzy TEM byla zjištěna jehličkovitá morfologie částic, která je zobrazena na obr. 31.

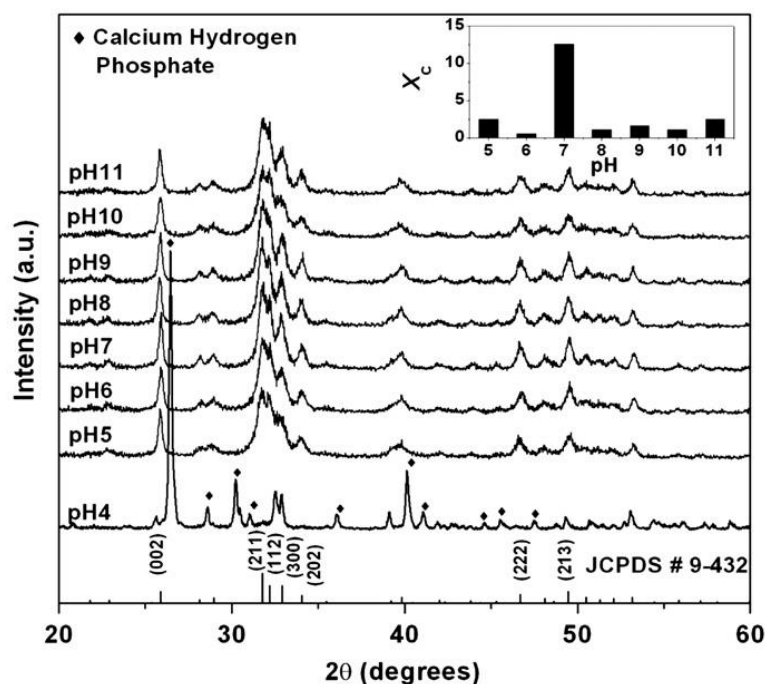


Obr. 30: XRD spektrum připraveného prášku HA (T = 363 K, působení US – 3 h). [40]

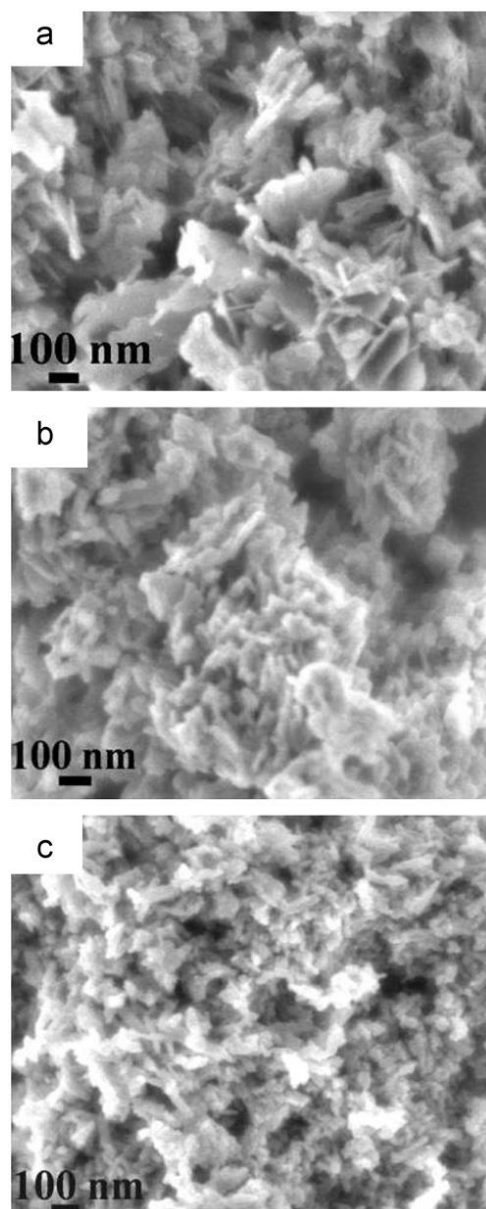


Obr. 31: Snímek z TEM připraveného prášku HA (T = 363 K, působení US – 3 h). [40]

Dále se precipitační reakcí nanokrystalického hydroxyapatitu v přítomnosti ultrazvukového pole zabývali Suchittra Inthong a spol. [41]. Ve svém článku použili pro přípravu HA roztok hydrogen fosforečnanu vápenatého a roztoku dusičnanu vápenatého. Hodnota pH směsi byla regulována hydroxidem amonným a pohybovala se v rozmezí 4 až 11. Ultrazvuková sonda byla ponořena do roztoku a teplota tohoto roztoku v průběhu celé precipitace byla udržována na 48 °C. Výsledné částice HA byly analyzovány pomocí XRD a SEM. Na obr. 32 jsou zobrazena RTG spektra připraveného prášku HA za různých hodnot pH. Tato spektra ukázala, že kromě vzorku s pH 4, vznikl u všech vzorků čistý hydroxyapatit a vzorek s hodnotou pH 7 má největší krystaličnost. S měnící se hodnotou pH se výrazně měnila také morfologie částic – čím vyšší hodnota pH, tím se tvar částic měnil z destičkovitého na kulatý, viz obr. 33.



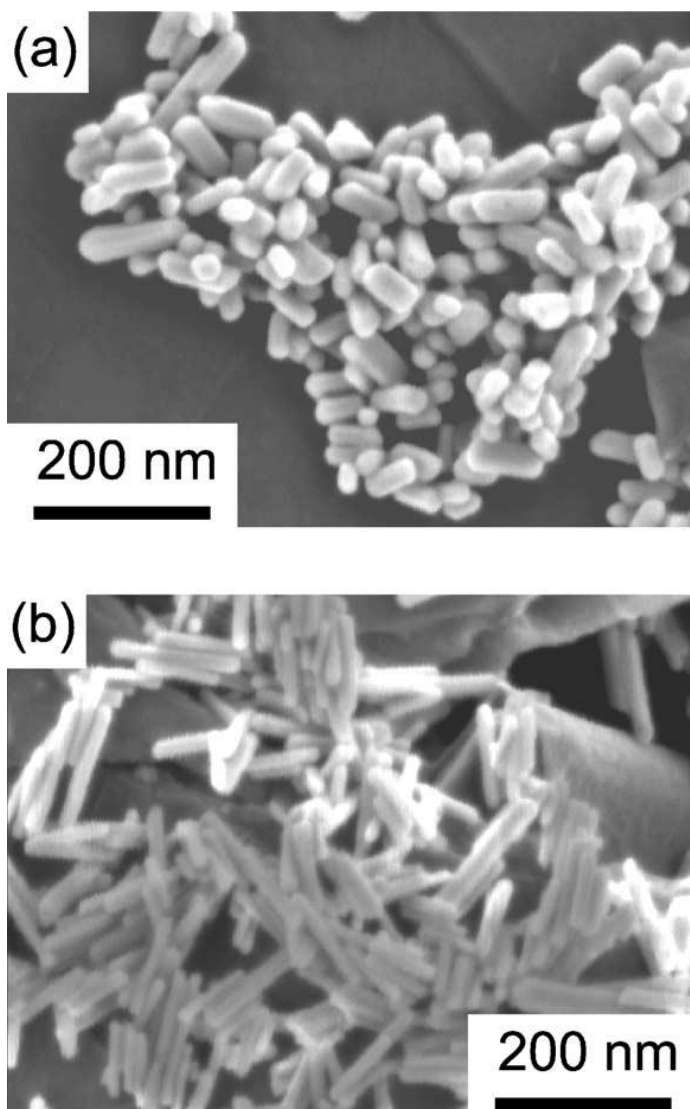
Obr. 32: RTG spektra prášku HA a vložené zobrazení stupně krystaličnosti HA při různých hodnotách pH (pravý horní roh). [41]



Obr. 33: Snímky SEM prášků HA připravených při různých hodnotách pH: a) pH 5, b) pH 7, c) pH 11. [41]

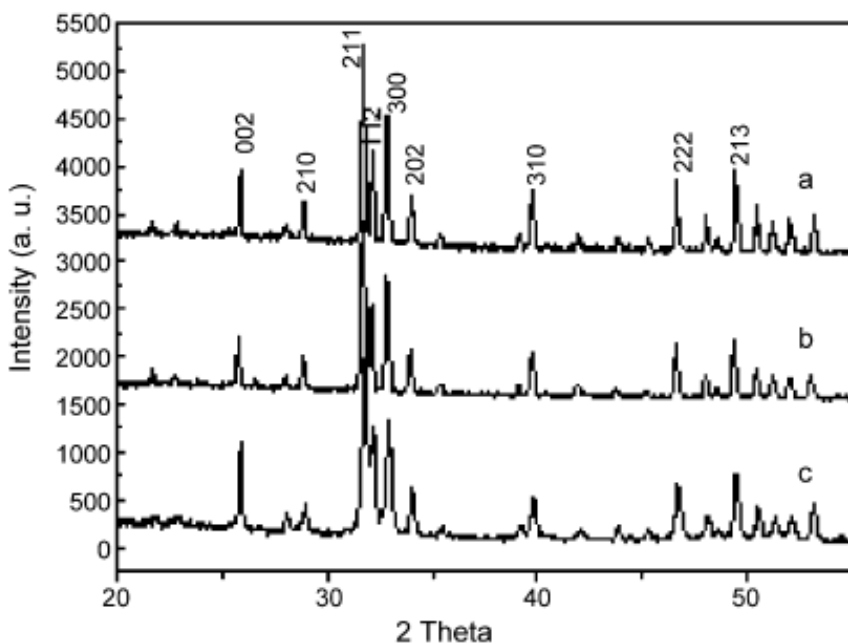
*Příklady hydrotermálních metod v publikovaných člancích:*

Syntézu hydroxyapatitu pomocí hydrotermální metody použili ve své publikaci např. Richard E. Riman a spol. [42]. Jako výchozí látky použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  a  $\text{HNO}_3$ . Molární Ca/P poměr byl mezi 1,25 a 1,67. Hodnota pH při pokojové teplotě byla nastavena v oblasti mezi hodnotami 2 až 10 pomocí  $\text{HNO}_3$  a  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Suspenze byla v teflonovém reaktoru ohřata na 50 a 200 °C po dobu 24 h. Rychlost míchání byla nastavena na 100 a 1500 rpm. Byly provedeny experimenty, při kterých bylo do suspenze přidáno 1 hm% KCl anebo byla výsledná suspenze odstředěna a dispergována v 60 obj% 2-propanolu ve vodě. Produkt hydrotermální syntézy byl charakterizován pomocí XRD, TEM a dalšími analýzami. Z XRD analýzy bylo zjištěno, že všechny připravené prášky byly čistý HA a byly dobře krystalické. Krystaly prášku HA syntetizované v 50 obj% 2-propanolu měly poměr stran v oblasti mezi 2 a 3 a průměr mezi 20 až 40 nm. (obr. 34 a)). Krystaly HA syntetizované při přítomnosti 1 hm% KCl byly naopak pravidelnější, nanorozměrové jehličkovité morfologie (rozměr okolo 20 x 100 – 160 nm, poměr stran mezi 5 – 8, obr. 34 b)). U výsledného prášku HA byla také určena oblast specifického povrchu, která se pohybovala v rozmezí mezi 44 a 136 m<sup>2</sup>/g.

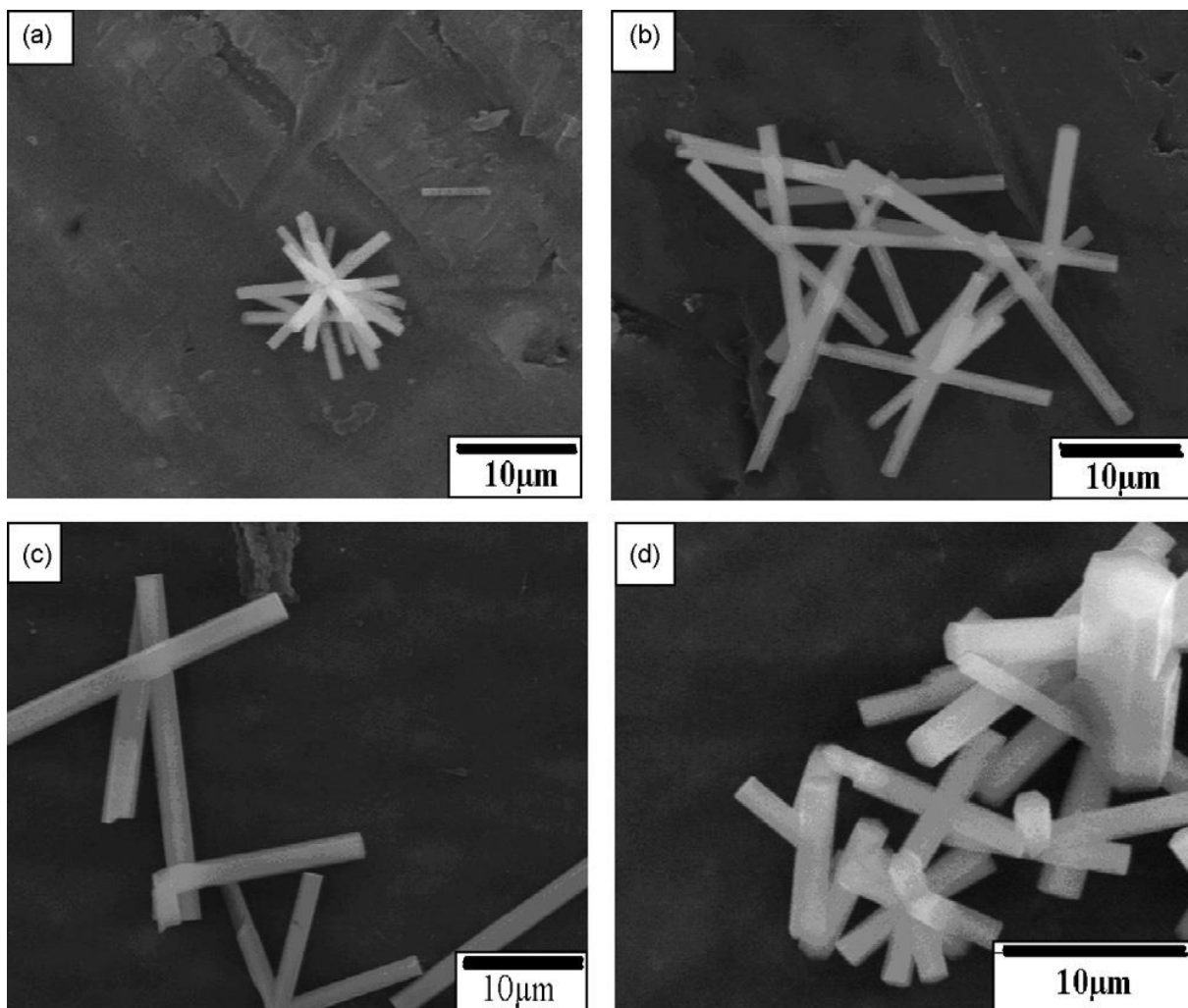


Obr. 34: Krystaly HA připraveného hydrotermální syntézou za teploty 200 °C po dobu 24 h, hodnota pH 10: a) prášek krystalizovaný v 50 obj% 2-propanolu v H<sub>2</sub>O, b) prášek krystalizovaný s 1 hm% KCl. [42]

Zhu a spol. [43] připravili hydroxyapatit syntézou za hydrotermálních podmínek s užitím etylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA) jako komplexní (chelatační) činidlo. Jako výchozí látky použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ , EDTA,  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  a KOH. Molární poměr EDTA/Ca = 1. Hodnota pH byla regulována vodným roztokem KOH na hodnoty 12,9; 11,4 a 9,7. Hydrotermální zpracování probíhalo za různých reakčních časů v teflonovém reaktoru za teplot 100, 120, 160 a 200 °C. Výsledný produkt syntézy byl charakterizován pomocí SEM a XRD. Z analýz bylo zjištěno, že vznikl čistý hydroxyapatit s krystaly podobající se hranolkům. Bylo zjištěno, že za teploty kolem 160 °C, nízké hodnoty pH, dostatečné reakční době a vhodným molárním poměrem EDTA/Ca byly prioritně vytvářeny velké HA hranolky. Na obr. 35 jsou zobrazena RTG spektra připravených produktů a na obr. 36 je zobrazena morfologie výsledných částic vzniklých syntézou při různé reakční teplotě.

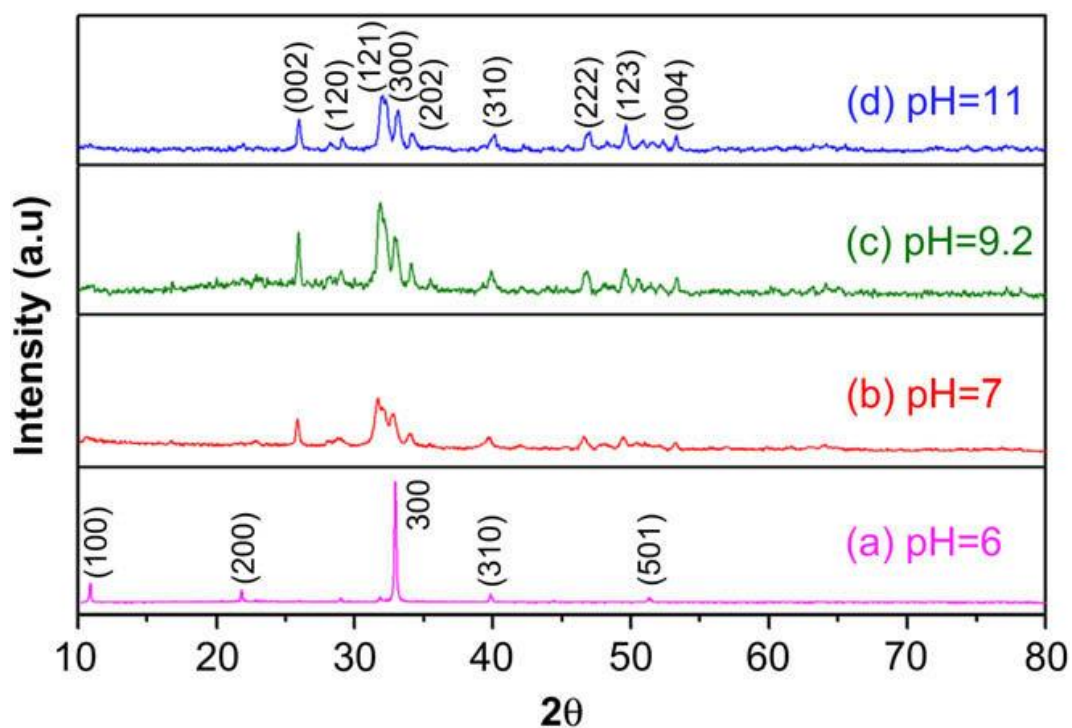


Obr. 35: RTG spektra připravených produktů po reakční době 12 h za teploty: a) 200 °C s pH 12,9; b) 160 °C s pH 12,9 a c) 200 °C s pH 11,4 a molárním poměrem EDTA/Ca = 0,8. [43]

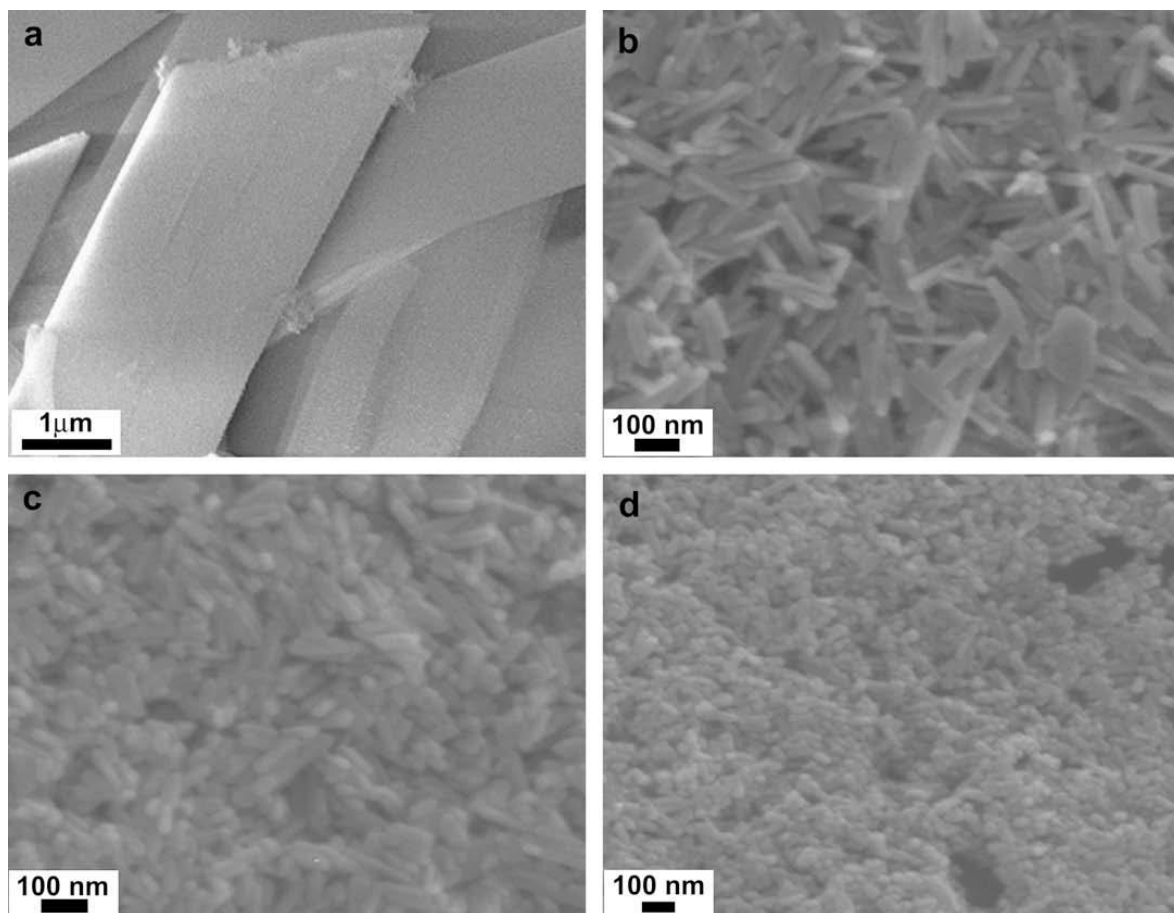


Obr. 36: Snímek SEM získaného produktu HA za hodnoty pH 12,9, reakčním čase 12h a teploty: a) 100 °C, b) 120 °C, c) 160 °C a d) 200 °C. [43]

Výzkumníci B. Viswanath a N. Ravishankar [21] použili pro přípravu hydroxyapatitu hydrotermální metodu zahrnující ohřev vodného roztoku  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  v teflonovém reaktoru za různých teplot po dobu působení 4 h. Hodnota pH se pohybovala v rozmezí od 6 až do 11 a teplota se měnila od pokojové teploty až po teplotu 150 °C. Pro charakterizaci částic výsledného produktu byly použity metody jako XRD, SEM, TEM a další. Studium rentgenové difrakce bylo použito pro ověření fázové formace a XRD spektrum je zobrazeno na obr. 37. Syntetizovaný HA byl charakterizován také pomocí SEM. Tato analýza odhalila morfologii krystalů HA syntetizovaných za různých hodnot pH: při pH 6 (obr. 38 a)) byly získány dvou dimenzionální pásy hydroxyapatitu, při pH 7 tyčinkovité krystaly spolu s podílem destičkovitých krystalů (obr. 38 b)), při pH 9 byly získány kompletně tří dimenzionální tyčinkovité krystaly (obr. 38 c)) a při pH 11 byly hlavním podílem krystalů HA částice přibližně kuličkovité morfologie (obr. 38 d)).

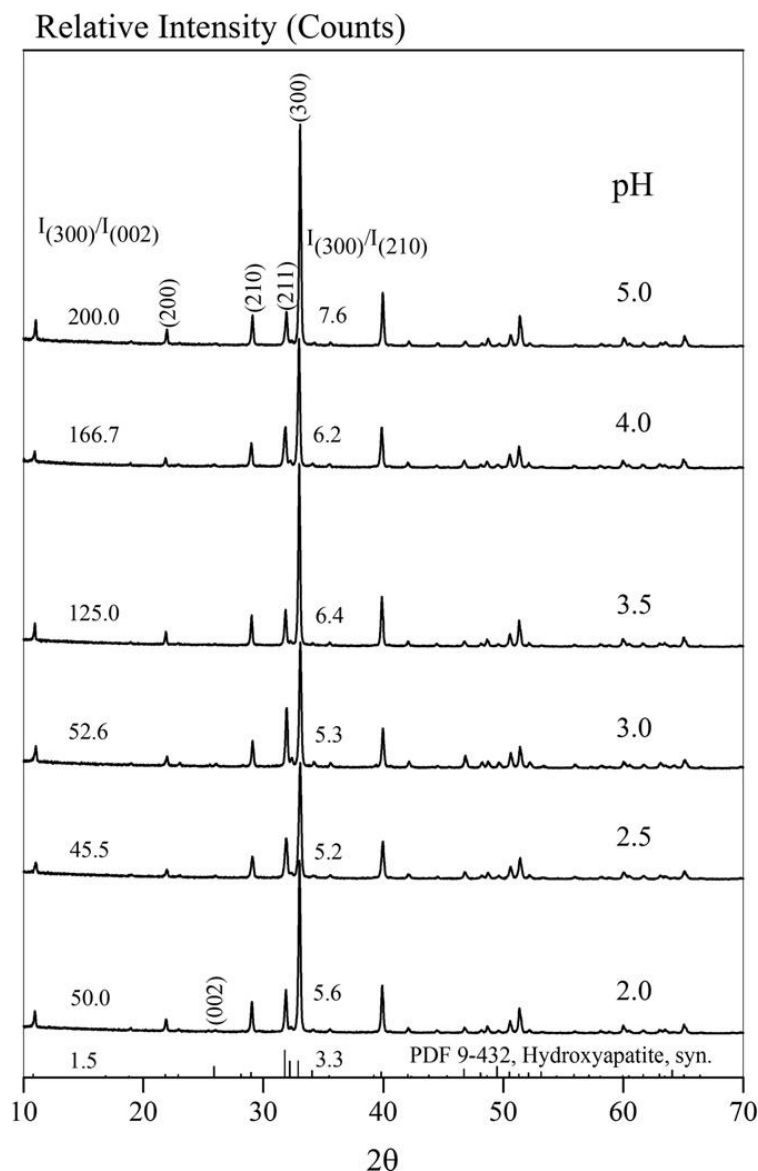


Obr. 37: XRD spektra HA syntetizovaného za teploty 423 K a při odlišných hodnotách pH – a) pH 6, b) pH 7, c) pH 9,2 a d) pH11. [21]

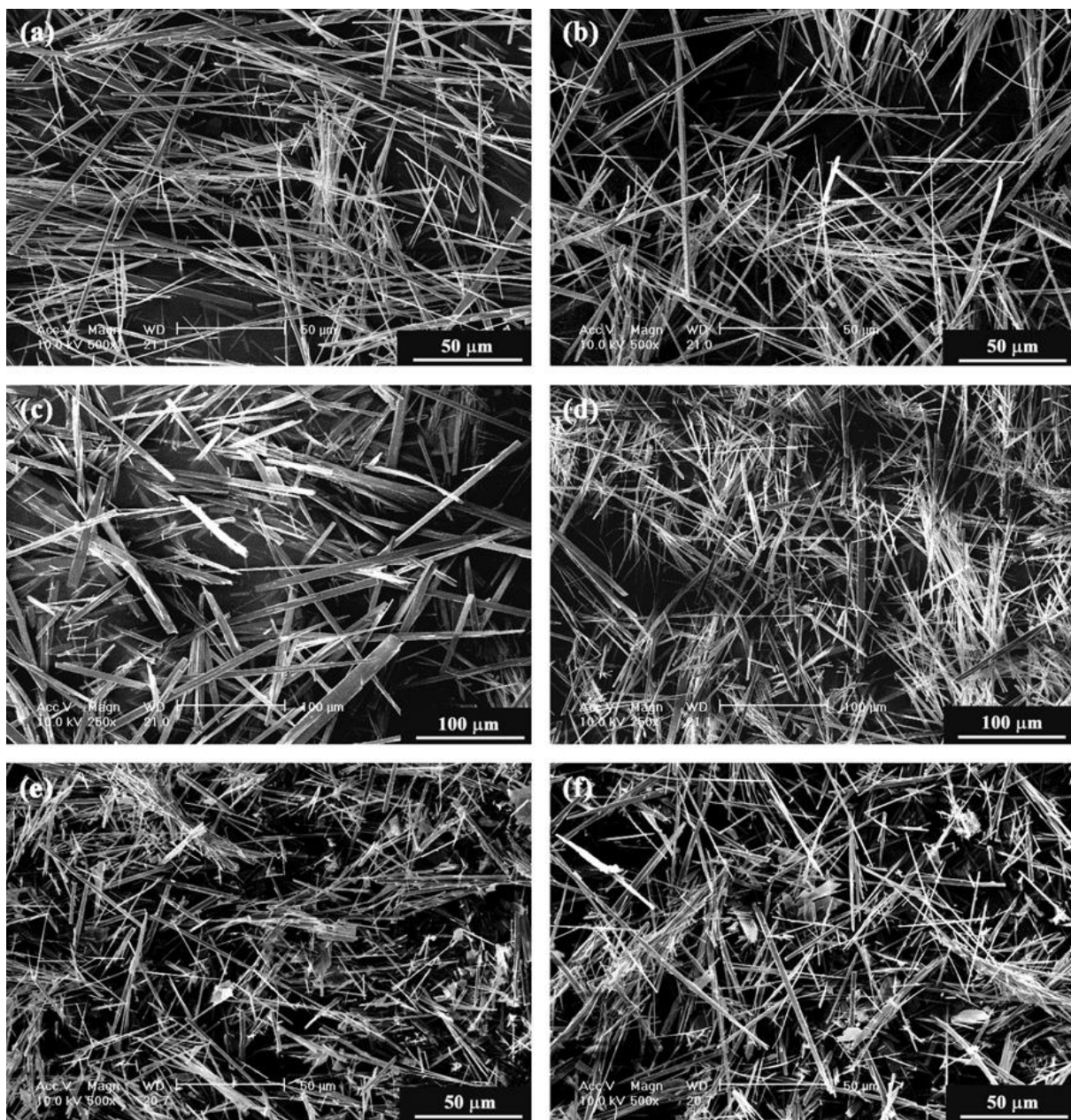


Obr. 38: Snímky SEM zobrazující morfologii připraveného HA za podmínek syntézy: teplota 423 K, hodnoty pH: a) pH 6, b) pH 7, c) pH 9,2 a d) pH11. [21]

Hydrotermální homogenní precipitací hydroxyapatitu se ve své publikaci zabývali H. Zhang a B. W. Darvell [44]. Jako zdroje Ca a  $\text{PO}_4$  použili  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  v  $\text{HNO}_3$ . Počáteční koncentrace  $\text{PO}_4$  ( $i[\text{P}]$ ) byla různá pro získání poměru  $i\text{Ca}/\text{P}$  1; 1,33; 1,5; 1,67; a 2 pro každý  $i[\text{Ca}]$ . Počáteční hodnota pH byla nastavena před reakcí na 2; 2,5; 3; 3,5; 4; a 5 s  $0,1 \text{ molL}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  nebo 1:1 hydroxidem amonným. Hydrotermální proces probíhal ve vysokotlakém reaktoru o obsahu 100 ml při teplotě  $180^\circ\text{C}$  po dobu 10 h. Výsledný produkt, byl charakterizován pomocí XRD, FTIR, SEM a TEM. Spektrum XRD připraveného produktu (HA) s poměrem  $i\text{Ca}/\text{P} = 1,67$  a s různými hodnotami pH jsou zobrazeny na obr. 39. Všechna XRD spektra vycházela pro syntetický HA dobře – nebyly přítomny žádné další fáze. Morfologie částic hydroxyapatitu závisela, jak na poměru  $i\text{Ca}/\text{P}$ , tak i na koncentraci  $i[\text{Ca}]$ . Byly získány whiskery (krystaly protáhlého tvaru) s jednotnou morfologií (obr. 40 a), b)), širší laťkovité krystaly (obr. 40 c)), whiskery s průměrnou délkou  $105 \mu\text{m}$  (obr. 40 d)) a nahromaděné nepravidelné destičkovité částice provázející whiskery (obr. 40 e), f)).



Obr. 39: Spektra XRD připraveného HA za teploty  $180^\circ\text{C}$  a  $i\text{Ca}/\text{P} = 1,67$ . [44]



Obr. 40: Snímky ze SEM připraveného HA za různých koncentrací  $[Ca]$  ( $mmolL^{-1}$ ) a různého poměru  $iCa/P$ . a)  $[Ca] = 52$ ,  $iCa/P = 2$ ; b)  $[Ca] = 33$ ,  $iCa/P = 1,33$ ; c)  $[Ca] = 21$ ,  $iCa/P = 1,33$ ; d)  $[Ca] = 21$ ,  $iCa/P = 1$ ; e)  $[Ca] = 52$ ,  $iCa/P = 1$ ; f)  $[Ca] = 63$ ,  $iCa/P = 1,5$ . [44]

Z uvedených výsledků je vidět, že existuje široké spektrum parametrů ovlivňující morfologii částic hydroxyapatitu připravených precipitačními syntézami. Precipitace z dusičnanu vápenatého a hydrogenfosforečnanu amonného je jednou ze základních procesně jednoduchých metod přípravy a díky možným variacím reakčních podmínek ovlivňující morfologii byla na základě této rešerše vybrána pro naše experimenty. Různé reakční teploty, hodnoty pH, doba stárnutí, reakční prostředí nebo post-precipitační podmínky mohou výrazně ovlivnit velikost a tvar připravených částic. Cílem této práce je prostudovat možnosti přípravy různých morfologií částic za účelem jejich dalšího využití pro přípravu kompozitů keramika/keramika/polymer, kdy tvar a velikost částic může ovlivnit nejen fyzikální, ale i biologické vlastnosti kompozitního materiálu.

## 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

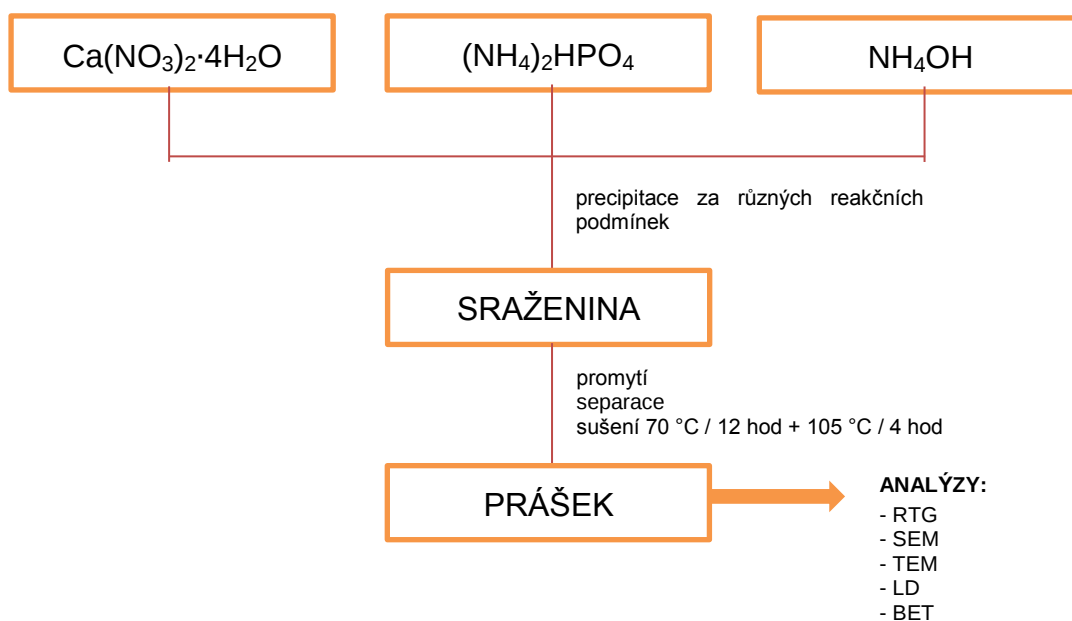
### 4.1. EXPERIMENTÁLNÍ MATERIÁL

POUŽITÉ CHEMIKÁLIE:

- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (AppliChem Gmbh, Germany)
- $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (LACHEMA, a.s., odštěpný závod Neratovice, ČR)
- $\text{NH}_4\text{OH}$  (PENTA, ČR)
- Triton X-100 (SIGMA – ALDRICH, USA)
- Hexadecyltrimethylammonium bromid, CTAB (Fluka BioChemika, Switzerland)
- Ethylendiamintetraoctová kyselina, EDTA (Fluka Chemika, Switzerland)
- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (lihovar Kojetín, laboratorně čištěný - VUT Brno, ČR)
- $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$  (lihovar Kojetín, laboratorně čištěný - VUT Brno, ČR)
- De-ionizovaná voda

## 4.2. METODICKÁ ČÁST EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI

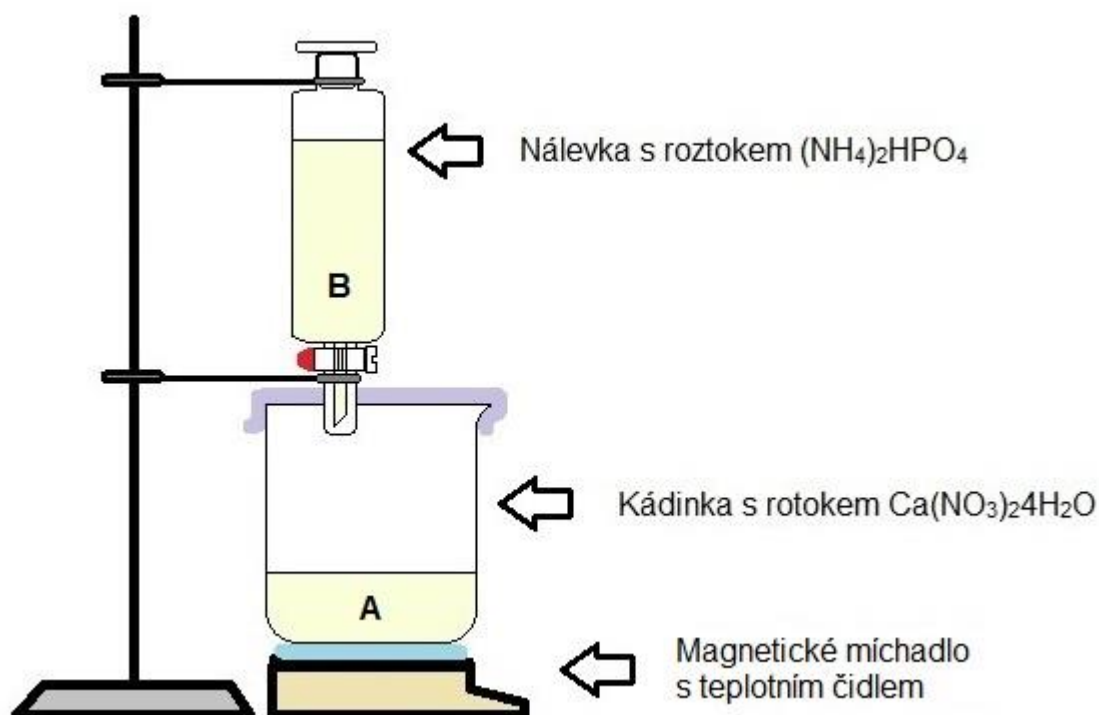
Tato diplomová práce se zabývá přípravou nanokrystalického hydroxyapatitu (HA). Byla použita precipitační syntéza probíhající při různých reakčních podmínkách: teplota, hodnota pH, doba stárnutí, typ rozpouštědla, přítomnost povrchově aktivní látky nebo chelatačního činidla a post-precipitační zpracování (hydrotermální zpracování, přítomnost ultrazvuku (US)). Schéma přípravy HA precipitační metodou je uvedeno na obr. 41.



Obr. 41: Schéma syntézy HA.

### SYNTÉZA HYDROXYAPATITU

Základem precipitačních reakcí bylo srážení hydroxyapatitu z vodného nebo vodně-alkoholického roztoku tetrahydrátu dusičnanu vápenatého a vodného nebo vodně-alkoholického roztoku hydrogen fosforečnanu amonného. Hodnota pH byla regulována hydroxidem amonným. Celkem bylo provedeno 38 syntéz. Jednoduché schéma reakčního zařízení pro použitou metodu je zobrazeno na obr. 42.



Obr. 42: Schéma reakčního zařízení pro syntézu HA.

Hydroxyapatit byl připraven smícháním roztoků dusičnanu vápenatého a hydrogen fosforečnanu amonného v navážkách odpovídající molárnímu poměru HA  $\text{Ca/P} = 1,67$ . První roztok (roztok A) byl složen z 35,42 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 500 ml deionizované vody a daného množství  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Tento roztok byl umístěn na magnetickém míchadle s regulovatelnou teplotou a teplotním čidlem. Druhý roztok (roztok B) se skládal z 11,89 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , 300 ml deionizované vody a daného množství  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Roztok B byl nalit do nálevky a po dosažení požadované teploty roztoku A byl do něj přikapáván rychlostí „po kapkách“, která se pohybovala mezi 8 až 14 ml/min. Po smíchání obou roztoků vznikla bílá sraženina, která byla míchána ještě po danou dobu za různých podmínek (teplota, přítomnost US, hydrotermální zpracování). Následně se sraženina obvykle nechala cca 24 hod stárnout. Po dané době stárnutí byla suspenze opakovaně promyta de-ionizovanou vodou do získání neutrální hodnoty pH a poté byla suspenze ještě dvakrát promyta etanolem k odstranění zbylých nečistot. Po tomto důsledném promytí byla sraženina vysušena v sušárně na 70 °C po dobu 12 hodin a pak na 105 °C po dobu 4 hodin. U vzorků vytvořených v přítomnosti PAL byla provedena také kalcinace na 1000 °C a to z důvodu zjištění, jestli povrchově aktivní látka neměla vliv na morfologii částic až po tepelném zpracování kalcinací.

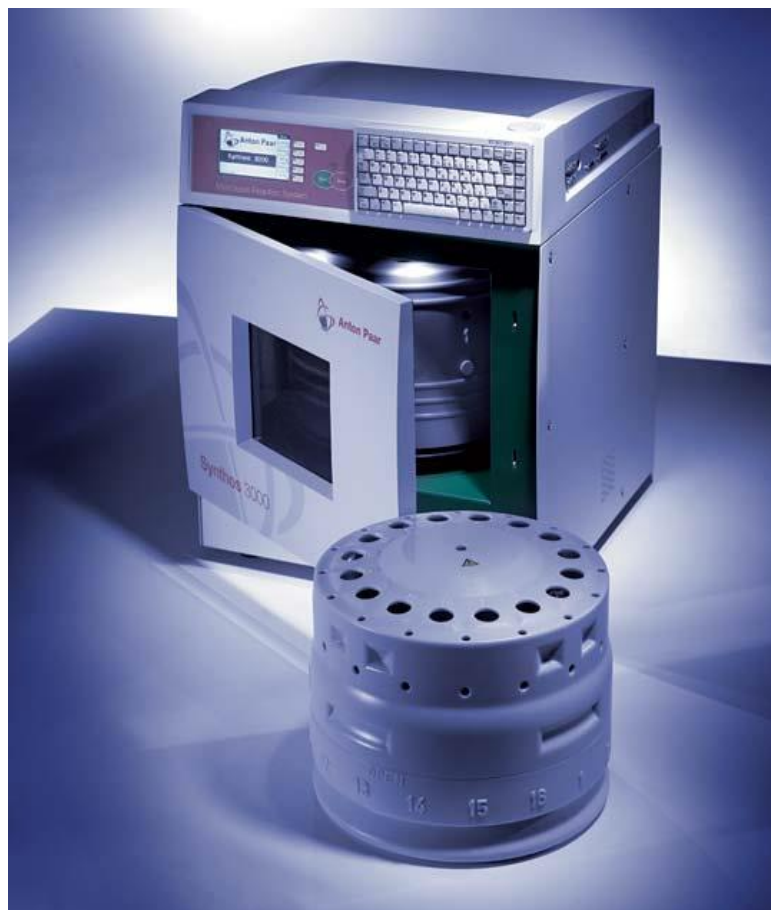
V několika případech byl také použit jiný druh rozpouštědla a to směs deionizované vody a etanolu v poměru 1/1. A v případě precipitace s přítomností povrchově aktivní látky (PAL) nebo chelatačního činidla, byla tato látka přidána do směsi roztoku A (roztok tetrahydrátu dusičnanu vápenatého) v navážkách: 5 hm% tritonu z celkové hmotnosti, 1 hm% CTAB z celkové hmotnosti a EDTA v množství 1/1 jako molární poměr  $\text{Ca/EDTA}$ . Hydrotermální zpracování probíhalo buď na přístroji RADAN (Česká republika, maximální teplota 150 °C), viz obr. 43 nebo na přístroji

ANTON PAAR Syntheses 3000 (Rakousko, maximální teplota 200 °C), viz obr. 44. Ultrazvukové zpracování probíhalo v lážňovém ultrazvukovém reaktoru RADAN (Česká republika) viz obr. 45.

Shrnutí použitých povrchově aktivních látek, chelatačních činidel a reakčních podmínek jednotlivých syntéz je uvedeno v tabulce tab. 5.



Obr. 43: Hydrotermální reaktor RADAN, ČR.



Obr. 44: Hydrotermální reaktor ANTON PAAR Synthesizer 3000, Rakousko.



Obr. 45: Lázňový ultrazvukový reaktor RADAN, ČR.

Tab. 5: Podmínky syntéz nanokrystalického HA.

| Syntéza | REAKČNÍ PODMÍNKY        |        |    |                          |                              |                     |
|---------|-------------------------|--------|----|--------------------------|------------------------------|---------------------|
|         | Rozpouštědlo            | T [°C] | pH | PAL / CHELATAČNÍ ČINIDLO | Post-precipitační zpracování | t <sub>st</sub> [h] |
| 1       | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | -                        | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 2       | H <sub>2</sub> O        | 50     | 10 | -                        | míchání: 50 °C/1 h           | 24                  |
| 3       | H <sub>2</sub> O        | 80     | 10 | -                        | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 4       | H <sub>2</sub> O        | 0      | 10 | -                        | míchání: 0 °C/1 h            | 24                  |
| 5       | H <sub>2</sub> O        | 20     | 8  | -                        | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 6       | H <sub>2</sub> O        | 50     | 8  | -                        | míchání: 50 °C/1 h           | 24                  |
| 7       | H <sub>2</sub> O        | 80     | 8  | -                        | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 8       | H <sub>2</sub> O        | 0      | 8  | -                        | míchání: 0 °C/1 h            | 24                  |
| 9       | H <sub>2</sub> O        | 20     | 11 | -                        | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 10      | H <sub>2</sub> O        | 50     | 11 | -                        | míchání: 50 °C/1 h           | 24                  |
| 11      | H <sub>2</sub> O        | 80     | 11 | -                        | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 12      | H <sub>2</sub> O        | 0      | 11 | -                        | míchání: 0 °C/1 h            | 24                  |
| 13      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | Triton                   | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 14      | H <sub>2</sub> O        | 80     | 10 | Triton                   | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 15      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | CTAB                     | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 16      | H <sub>2</sub> O        | 80     | 10 | CTAB                     | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 17a     | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | -                        | HZ 150 °C/4 h                | 24                  |
| 17b     | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | -                        | míchání, US – 1h             | 24                  |
| 18      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | -                        | HZ 150 °C/12 h               | 24                  |
| 19      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | -                        | HZ 200 °C/3 h                | 24                  |
| 20      | H <sub>2</sub> O        | 80     | 10 | -                        | HZ 200 °C/3 h                | 24                  |
| 21      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | Triton                   | HZ 200 °C/3 h                | 24                  |
| 22      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | CTAB                     | HZ 200 °C/3 h                | 24                  |
| 23      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | -                        | míchání: 20 °C/1 h           | 0                   |
| 24      | H <sub>2</sub> O        | 50     | 10 | -                        | míchání: 50 °C/1 h           | 0                   |
| 25      | H <sub>2</sub> O        | 80     | 10 | -                        | míchání: 80 °C/1 h           | 0                   |
| 26      | H <sub>2</sub> O        | 0      | 10 | -                        | míchání: 0 °C/1 h            | 0                   |
| 27      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | EDTA                     | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 28      | H <sub>2</sub> O        | 80     | 10 | EDTA                     | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 29a     | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | EDTA                     | HZ 150 °C/~5 h               | 24                  |
| 29b     | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | EDTA                     | míchání, US – 1h             | 24                  |
| 30      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | EDTA                     | HZ 200 °C/3 h                | 24                  |
| 31      | H <sub>2</sub> O        | 20     | 10 | EDTA                     | HZ 150 °C/12 h               | 24                  |
| 32      | H <sub>2</sub> O/etanol | 20     | 10 | -                        | míchání: 20 °C/1 h           | 24                  |
| 33      | H <sub>2</sub> O/etanol | 50     | 10 | -                        | míchání: 50 °C/1 h           | 24                  |
| 34      | H <sub>2</sub> O/etanol | 80     | 10 | -                        | míchání: 80 °C/1 h           | 24                  |
| 35      | H <sub>2</sub> O/etanol | 0      | 10 | -                        | míchání: 0 °C/1 h            | 24                  |
| 36      | H <sub>2</sub> O/etanol | 20     | 10 | -                        | HZ 150 °C/12 h               | 24                  |

Triton – povrchově aktivní látka, CTAB = Hexadecyltrimethylammonium bromide (povrchově aktivní látka); EDTA = ethylendiamintetraoctová kyselina (chelatační činidlo); HZ – hydrotermální zpracování; US – zpracování v přítomnosti ultrazvuku

## ANALÝZY PRÁŠKŮ

Prášky připravené uvedenými syntézami byly analyzovány využitím rastrovací elektronové mikroskopie (SEM), transmisní elektronové mikroskopie (TEM), rentgenové práškové analýzy (XRD), laserové difrakce (LD) a metody měření specifického povrchu pevných látek (BET).

### Analýza mikrostruktury

Morfologie připravených prášků hydroxyapatitu byla charakterizována pomocí rastrovací elektronové mikroskopie na přístroji XL 30 (firma Philips). Pro tuto analýzu byly připraveny vzorky ze suspenzí jednotlivých produktů, které byly dispergovány v etanolu a následně byly pokoveny vrstvou Au/Pd nebo jen vrstvou Au.

Další metodou charakterizace morfologie částic byla transmisní elektronová mikroskopie na přístroji MORGAGNI 268 D. Vzorky byly nanесeny na měděnou mřížku s formvarovou vrstvou.

### Analýza fázového složení

S využitím metody rentgenové práškové difrakce bylo studováno fázové složení výsledných prášků. Tato metoda byla prováděna na rentgenovém difraktometru Rigaku SmartLab ve středovém fokusačním uspořádání s využitím záření  $\text{CoK}\alpha$ . Naměřená spektra byla přepočtena pomocí Rietveldova algoritmu.

### Analýza distribuce velikosti částic

Metodou laserové difrakce na přístroji HORIBA LA-950 byla stanovena distribuce velikosti částic nebo aglomerátů. Pro rozrušení velkých aglomerátů byl použit interní ultrazvuk.

### Analýza měření specifického povrchu

Specifický povrch výsledných prášků byl určen metodou BET (Brunauerova, Emmetova a Tellerova teorie) na přístroji Quantachrome Chembet – 3000. Vzorky byly temperovány při teplotě 473 K a měření probíhalo při teplotě 77 K adsorpcí dusíku. Z hodnoty měrného povrchu byl, za předpokladu kulového tvaru částic, vypočítán průměr částice dle vzorce:

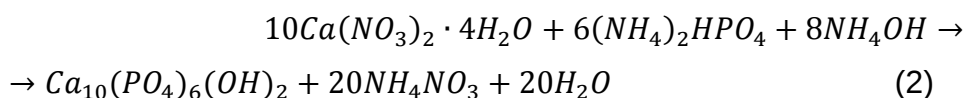
$$D = \frac{6}{\rho \cdot \text{BET}}$$

kde: D...průměrná velikost částice [ $\mu\text{m}$ ]  
 $\rho$ ...teoretická hustota [ $\text{g}/\text{cm}^3$ ]  
BET... měrný povrch částice [ $\text{m}^2/\text{g}$ ].

Bylo počítáno s hodnotou teoretické hustoty hydroxyapatitu  $3,16 \text{ g}/\text{cm}^3$ .

## 5. VÝSLEDKY EXPERIMENTU A DISKUZE

Pro přípravu hydroxyapatitu byla zvolena precipitační reakce podle rovnice (2):



Shrnutí výsledků analýz produktů připravených touto precipitační reakcí za různých podmínek je uvedeno v tab. 6.

### VLIV TEPLOTY A HODNOTY pH NA MORFOLOGII ČÁSTIC HA

Při pH 10 byly připraveny precipitační syntézou prášky při teplotách 0 °C, 20 °C, 50 °C a 80 °C (VZOREK 1 až 4). Na obr. 46 je zobrazeno RTG difrakční spektrum hydroxyapatitu připraveného při teplotě 20 °C. Stejný výsledek – čistý jednofázový produkt hydroxyapatit byl zjištěn v celém rozsahu reakčních teplot (viz tab. 6). Na snímcích ze SEM a TEM (obr. 47, 48) je zobrazena morfologie výsledných částic. Rozměry částic se pohybovaly v rozmezí od cca 20 nm až do cca 500 nm. Velikost a tvar částic se měnily v závislosti na teplotě, kdy za nižších teplot byly částice menší, mírně protáhlého zaobleného tvaru, oproti částicím vzniklých za vyšších teplot, které byly výrazně větší a měly tvar tyčinek. Z TEM snímků na obr. 48 je možné předpokládat, že tyčinkovité částice připravené při 80 °C původně vznikly tzv. Ostwaldovým hrubnutím z podlouhlých částic, srovnatelných s těmi připravenými při 20 °C. Ty jsou organizovány do tyčinkovitých útvarů o srovnatelných velikostech jako výsledné tyčinkovité částice připravené při 80 °C, které mají již jasnou a ucelenou mikrostrukturu. Podlouhlé částice jsou tedy pravděpodobně primárním tvarem částic při nukleaci a krystalizaci HA a jejich zcelení v tyčinky pak probíhá s teplotou a časem.

Při pH 8 byly připraveny prášky při teplotách 0 °C, 20 °C, 50 °C a 80 °C (VZOREK 5 až 8). Z RTG analýz (viz tab. 6) je zřejmé, že vznikl čistý hydroxyapatit. Na obr. 46 je vidět RTG spektrum hydroxyapatitu připraveného při 20 °C. Na snímcích ze SEM (obr. 49) je zobrazena morfologie výsledných částic, která byla srovnatelná s morfologií částic připravených při pH = 10. Rozměry částice se pohybovaly v rozmezí od cca 50 nm až do cca 500 nm. Velikost a tvar částic se měnily v závislosti na teplotě, kdy za nižších teplot vznikly částice kulovitého nebo mírně protáhlého tvaru, a se vzrůstající teplotou vznikaly větší podlouhlejší a povrchově homogennější tyčinkovité částice.

Při pH 11 byly připraveny prášky při teplotách 0 °C, 20 °C, 50 °C a 80 °C (VZOREK 9 až 12). Z RTG analýz uvedených v tab. 6 je vidět, že ve všech případech vznikl čistý hydroxyapatit. RTG spektrum hydroxyapatitu připraveného při 20 °C je zobrazeno na obr. 46. Na snímcích ze SEM (obr. 50) je zobrazena morfologie výsledných částic, které mají opět tvar a velikost při daných teplotách srovnatelné s předešlými částicemi HA připravenými při pH = 8 a 10. Rozměry částic se pohybovaly v rozmezí od cca 50 nm až do cca 500 nm. Velikost i tvar částic se měnily v závislosti na teplotě, kdy při nízkých teplotách vznikaly menší kulovité a mírně protáhlé částice, a při vyšších teplotách byly částice větší, hladší a ve tvaru tyčinek.

Laserovou difrakcí nebylo možné zjistit přímo velikost primárních částic z důvodu jejich přirozené aglomerace, ale byla tak zjištěna velikost aglomerátů daných částic. Z grafů distribuce velikosti částic HA připravených za teplot 0 °C, 20 °C, 50 °C, 80 °C a střední hodnotě pH 10 (obr. 51), nižší 8 (obr. 52) nebo vyšší hodnotě pH 11 (obr. 53) bylo zjištěno, že při vyšších reakčních teplotách byla distribuce velikosti aglomerátů v rozmezí od 0,1 až 3,4  $\mu\text{m}$ , zatímco při teplotách nižších byla distribuce velikosti částic v rozmezí 7,1 až 10,2  $\mu\text{m}$ . Z těchto výsledků lze říci, že velmi malé částice, které vznikaly při nižších teplotách, vytvářely větší aglomeráty, zatímco větší částice, které vznikaly při vyšších teplotách, tvořily aglomeráty slaběji vázané nebo menší. To odpovídá základní teorii o interakci koloidních částic v závislosti na jejich velikosti [45]. Z těchto výsledků můžeme také vyvodit, že hodnota pH neměla na rozdíl od reakční teploty na distribuci velikosti aglomerátů částic výrazný vliv.

Analýzou BET bylo zjištěno, že specifický povrch se vzrůstající teplotou klesal, tzn. velikost částic se zvětšovala (viz tab. 6). Měrný povrch částic připravených při pH 10 se pohyboval v rozmezí 121,8-41,9  $\text{m}^2/\text{g}$ , částic připravených při pH=8 v rozmezí 72,7-39,7  $\text{m}^2/\text{g}$  a měrný povrch částic připravených při pH=11 byl naměřen od 116,8 do 43,4  $\text{m}^2/\text{g}$ . Při vyšších hodnotách pH (pH = 10-11) tedy vznikaly částice s větším měrným povrchem než při pH nižším (pH = 8). Za předpokladu kulových částic byly hodnoty měrného povrchu použity k výpočtu průměru částic (viz tab. 6), které se pohybovaly při pH = 10 v rozmezí 0,016  $\mu\text{m}$  až 0,045  $\mu\text{m}$ , při pH = 8 v rozmezí 0,026  $\mu\text{m}$  až 0,048  $\mu\text{m}$  a při pH = 11 od 0,016  $\mu\text{m}$  do 0,044  $\mu\text{m}$ . V případě částic kulových až podlouhlých (připravených při 0-50 °C) se velikosti vypočítané z BET shodují s velikostmi stanovenými pomocí SEM nebo TEM. V případě tyčinkovitých částic (připravených při 80 °C) jsou vypočtené velikosti menší než velikost viditelná na SEM snímcích, což je dáno právě nekulovým tvarem částic, případně vyšší porozitou povrchu částic.

Z uvedených výsledků je možné shrnout, že hodnota pH neměla zásadní vliv na morfologii částic hydroxyapatitu – na jejich velikost a tvar na rozdíl od výsledků práce Wanga [26], kdy počáteční hodnota pH významně ovlivňovala morfologii částice (viz kapitola 3.5). Hodnota pH také neměla v našem případě vliv na fázové složení a krystalinitu produktu.

Výrazný vliv na morfologii měla reakční teplota. Se zvyšováním teploty od 0 °C na 80 °C vznikaly od kulovitých až podlouhlých částic rozměrnější částice s jasnější morfologií, většinou tyčinkovitých útvarů. Shodné výsledky závislosti morfologie částic HA (připraveného za stejných výchozích látek) na teplotě uvedli ve své publikaci také Liu a spol. [35]. Odlišné výsledky – při vyšší teplotě vznikly zaoblené částice, uvedli ve své publikaci Rodríguez-Lorenzo a spol. [37] (viz kapitola 3.5). Syntézy však byly prováděny po delší reakční čas (24 h), což mohlo způsobit tuto odlišnost.

## VLIV STÁRNUTÍ NA MORFOLOGII ČÁSTIC HA

Při pH 10 byly připraveny prášky za teploty 0 °C, 20 °C, 50 °C a 80 °C, které nebyly nechány stárnout (ihned po precipitaci byly promyty a separovány, VZOREK 23 až 26).

Z RTG analýz (viz tab. 6) připravených prášků je vidět, že čistý hydroxyapatit při precipitaci bez stárnutí nevznikl. Ve všech případech byla zjištěna směs hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého (viz obr. 54). Doba stárnutí tedy podporuje vznik čistého hydroxyapatitu, a pokud produkt po vysrážení nebyl ponechán stárnout, nedošlo k vysrážení všech reaktantů podle předpokládané reakce (2) a vedle hydroxyapatitu vznikl fosforečnan vápenatý s molárním poměrem Ca/P = 1,5.

Na snímcích ze SEM a TEM (obr. 55, 56) jsou zobrazeny morfologie částic výsledných produktů syntéz. Velikost částic se pohybovala v rozmezí od cca 50 nm až po cca 400 nm. Ze SEM snímků je vidět, že při teplotách 20 °C a 50 °C vznikaly tyčinkovité částice a při teplotách 0 °C a 80 °C vznikaly kulovité částice. Je však nutno uvést, že tvar a velikost částic připraveného HA za teploty 80 °C byly pomocí SEM špatně viditelné a mohla tedy nastat chyba v interpretaci. Z TEM snímku, kde jsou viditelné podlouhlé částice HA (připravené při 20 °C, bez stárnutí) uspořádané do tyčinkovitých útvarů, je možné usoudit na podobnou mikrostrukturu s částicemi, které byly stárnuty 24 h (obr. 48 – VZOREK 1). Méně přehledná mikrostruktura je patrně způsobena přítomností dvou fází a tedy dvou různých morfologií částic. Je tedy možné říci, že doba stárnutí 0 h a 24 h neměla výrazný vliv na morfologii částic HA.

Z analýzy laserovou difrakcí byla určena distribuce velikosti aglomerátů výsledných produktů syntéz, která se pohybovala od 2,1 až po 7,2 μm. Nejmenší hodnota velikosti distribuce se vyskytovala u částic připravených za teploty 80 °C a největší hodnota se vyskytovala u částic připravených za teploty 0 °C a 20 °C. Výsledky jsou srovnatelné s výsledky analýz částic připravených stárnutím, což potvrzuje srovnatelnou morfologii těchto částic.

## VLIV POST-PRECIPITAČNÍHO ZPRACOVÁNÍ NA MORFOLOGII ČÁSTIC HA

Pro studium post-precipitačního zpracování byly zvoleny tyto reakční podmínky: teploty 20 °C, 80 °C a pH 10, kdy pH = 10 bylo zvoleno jako střední hodnota ve škále neovlivňující morfologii ani fázové složení, a teploty 20 °C a 80 °C jako dvě hodnoty poskytující výrazně odlišné morfologie. Post-precipitační zpracování bylo provedeno pomocí hydrotermálního zpracování při 150 °C a 200 °C/3-12 h nebo pomocí ultrazvukového zpracování.

Podle výsledků RTG analýz (viz tab. 6) byl těmito metodami připraven čistý hydroxyapatit (VZOREK 17a, 17 b, 18, 19). Krystalinita hydrotermálně zpracovaných vzorků (obr. 57) byla vyšší než vzorků zpracovaných ultrazvukově, což bylo způsobeno vyšší reakční teplotou při hydrotermálním zpracování.

Na snímcích ze SEM a TEM (obr. 58, 59, 60, a 61) jsou zobrazeny morfologie výsledných produktů měnící se od kulovitého tvaru částic, přes mírně protáhlé částice připravené hydrotermálně až po částice ve tvaru tyčinek připravené v přítomnosti ultrazvuku.

Při hydrotermálním zpracování při 150 °C/ 4 h, 150 °C/12 h nebo 200 °C/3 h (obr. 58, 59 a 60) vznikly částice mírně protáhlého až kulovitěho tvaru. Velikost těchto částic byla v rozmezí 30 až 100 nm. S rostoucím časem a teplotou získávaly zaoblené nepravidelné částice pravidelnější tvar blízký kulovitému a to bez rozdílu při jaké teplotě probíhalo srážení (20 °C nebo 80 °C – VZOREK 19 a 20) a tedy bez ohledu na původní tvar a velikost částic. Vysoké teploty a tlaky při hydrotermálním zpracování patrně způsobily rozpad původně podlouhlých částic uspořádaných do tyčinkovitých útvarů (20 °C) nebo tyčinkovitých částic (80 °C) na původní podlouhlé částice, které se pak za daných podmínek mírně zvětšily na velikost do 100 nm (viz obr. 59). Je tedy zřejmé, že hydrotermální zpracování mělo výrazný vliv na morfologii částic HA.

Při ultrazvukovém zpracování vznikaly částice tyčinkovitěho tvaru (obr. 61) o velikosti v rozmezí od 50 nm po 200 nm. Morfologie je shodná s morfologií částic připravených bez ultrazvukového zpracování (viz obr. 47 – VZOREK 1). Ultrazvukové zpracování nemělo tedy vliv na morfologii částic HA.

Z analýzy laserovou difrakcí byla určena distribuce velikosti aglomerátů výsledných produktů. Střední velikost aglomerátů vzniklých při ultrazvukovém zpracování byla 7,4  $\mu\text{m}$ , což je srovnatelná hodnota s velikostí aglomerátu částic bez ultrazvukového zpracování (5,8  $\mu\text{m}$ ). Při hydrotermálním zpracování byla distribuce velikosti aglomerátů částic HA v rozmezí od 1,4 až po 2,1  $\mu\text{m}$ . Malé rozpětí velikostí aglomerátů koreluje s malým rozdílem ve velikosti částic připravených HA při různých teplotách a časech. Tyto hodnoty potvrzují předchozí výsledky, že větší částice (větší jak 50 nm) poskytují relativně malé aglomeráty.

Z těchto výsledků je zřejmé, že na morfologii částic hydroxyapatitu má značný vliv post-precipitační hydrotermální zpracování, které způsobuje, že výsledné tvary částic byly kulovité nebo mírně podlouhlé a zvyšovalo krystalinitu HA produktu. Oproti tomu ultrazvukové zpracování nemělo na morfologii výsledných produktů a jejich krystalinitu nebo fázové složení žádný vliv.

## VLIV POVRCHOVĚ AKTIVNÍCH LÁTEK A CHELATAČNÍHO ČINIDLA NA MORFOLOGII ČÁSTIC HA

Pro studium vlivu povrchově aktivní látky (TRITON a CTAB) a chelatačního činidla (EDTA) byly zvoleny tyto reakční podmínky: teplota 20 °C a 80 °C a hodnota pH 10, z důvodů stejných jako v případě post-precipitačního zpracování.

V přítomnosti povrchově aktivní látky Tritonu byly precipitační syntézou připraveny prášky (VZOREK 13, 14), které podle RTG analýzy byly čistý hydroxyapatit (viz tab. 6). RTG spektrum prášku HA připraveného za teploty 20 °C je zobrazeno na obr. 62. Porovnáním s RTG spektrem HA připraveného za stejných podmínek bez PAL (obr. 46 – pH 10) je zřejmé, že byla spektra srovnatelná a PAL Triton neměla vliv na fázové složení a krystalinitu produktu.

Na snímcích ze SEM (obr. 63) je zobrazena morfologie výsledných částic. Částice byly ve tvaru podlouhlých částic a tyčinek a s rostoucí teplotou se zvětšovaly. Velikost částic se pohybovala v rozmezí cca od 100 nm až do 500 nm. Porovnáním snímků SEM hydroxyapatitu připraveného za stejných podmínek s Tritonem a bez Tritonu (obr. 63 a obr. 47), bylo zjištěno, že PAL Triton, neměla vliv na morfologii částic HA.

Z analýzy laserovou difrakcí byla určena distribuce velikosti aglomerátů výsledných produktů. Menší aglomeráty o velikosti kolem 2,4  $\mu\text{m}$  vznikaly při vyšší reakční teplotě a při nižší teplotě vznikaly aglomeráty větší o velikosti cca 6,3  $\mu\text{m}$ . Z těchto výsledků vyplývá, že větší částice aglomerovaly méně a menší částice aglomerovaly do větších aglomerátů ve shodě s předchozími výsledky.

Při teplotách 20 °C a 80 °C, hodnotě pH 10 a v přítomnosti povrchově aktivní látky CTAB byly připraveny prášky (VZOREK 15 až 16), které byly podle RTG analýzy (viz tab. 6) čistý hydroxyapatit. RTG spektrum prášku HA připraveného za teploty 20 °C je zobrazeno na obr. 64. Srovnáním RTG spekter prášků HA připraveného za stejných podmínek bez PAL a v přítomnosti Tritonu (obr. 46 – pH 10 a obr. 64) je zřejmé, že difrakční píky spektra vykazují u prášku připraveného s CTAB vyšší intenzitu a ostrost, což je znakem vyššího stupně krystalinity produktu.

Na snímcích ze SEM (obr. 65) je zobrazena morfologie částic HA připraveného s CTAB. Tvar částic se s rostoucí teplotou měnil od podlouhlých částic po tyčinkovité částice s velikostí v rozmezí cca 100 nm až 500 nm. Porovnáním snímků SEM hydroxyapatitu připraveného za stejných podmínek s CTAB a bez (obr. 65 a obr. 47), bylo zjištěno, že PAL CTAB, nemá výrazný vliv na morfologii částic HA, morfologie částic bylo při 20 °C až 80 °C srovnatelné.

Z analýzy laserovou difrakcí byla určena distribuce velikosti aglomerátů částic výsledných produktů. Byly naměřeny aglomeráty o velikosti kolem 7,1  $\mu\text{m}$ , které vznikaly při nižší reakční teplotě a při vyšší teplotě vznikaly aglomeráty o velikosti cca 10,9  $\mu\text{m}$ . Tyto podobně velké aglomeráty naznačují menší, více aglomerované částice, které většinou vznikaly za nižších teplot (20-50 °C). Větší částice připravené při 80 °C dle předchozích výsledků netvořily tak velké aglomeráty, v tomto případě patrně aglomerovaly silněji.

HA připravené v přítomnosti PAL byly spolu se stejně připraveným HA, ale bez PAL, kalcinovány na 1000 °C s cílem porovnat vliv PAL na růst částic při slinovacích teplotách. Dle literatury v publikaci M Khalida a jeho spolupracovníků [29] (viz kapitola 3.5) prášky připravené v přítomnosti PAL vykazovaly mnohem menší růst při 900 °C než ty připravené bez PAL. Ze snímků SEM na obr. 66 však tento vliv není možné potvrdit. Částice se zvětšily při 1000 °C ve všech případech srovnatelně na 0,5 až 1  $\mu\text{m}$  a nevykazovaly žádné jiné rozdíly. Tyčinkovitý nebo podlouhlý tvar částic se tepelným zpracováním nezachoval.

PAL Triton a CTAB byly také použity při syntéze HA (20 °C, pH 10) s post-precipitačním hydrotermálním zpracováním při 200 °C/3 h. Připravené prášky byly podle RTG analýzy čistý jednofázový HA (viz tab. 6). Na snímcích ze SEM (obr. 67) je zobrazena morfologie těchto částic, která byla kulovitěho tvaru o velikosti částic kolem 100 nm. Hydrotermální proces opět ovlivnil morfologii částic a pravděpodobně v jeho průběhu došlo k rozpadu podlouhlých útvarů na jednotlivé částice, které pak rovnoměrně rostly na danou velikost. Přítomnost PAL však vliv na morfologii hydrotermálně zpracovaných částic výrazný vliv nemělo. Vzniklé částice měly srovnatelnou morfologii s částicemi hydrotermálně zpracovanými a připravenými bez PAL (obr. 59 – VZOREK 19).

Při teplotách 20 °C a 80 °C, hodnotě pH 10 a v přítomnosti chelatačního činidla EDTA (VZOREK 27 a 28) nedošlo k vysrážení žádného produktu z důvodu nízké reakční teploty, která nebyla dostatečná pro rozpad vápenatého komplexu. Vápenatý komplex Ca-EDTA je zobrazen na obr. 68. Ten vzniká reakcí EDTA v přítomnosti

vápenaté soli a s jeho pomocí je možné kontrolovat precipitaci a tím růst krystalů (pomalým uvolňováním iontů vápníku z vápenatého komplexu Ca-EDTA v roztoku fosforečnanu a následné reakci na HA) [45, 46]. Podle Zhu a spol. [43] (viz kapitola 3.5) bylo možné připravit HA v přítomnosti EDTA už při teplotách kolem 100 °C za vzniku krystalů velkých až 10 μm. Tento typ HA morfologie je efektivní při separaci biopolymerů, jako jsou proteiny, enzymy nebo BSA (albumin kravského séra).

Podobný výsledek – nevysrážení produktu byl zjištěn v přítomnosti ultrazvuku, kdy jeho působení nebylo dostatečné pro narušení komplexu a vysrážení hydroxyapatitu (VZOREK 29b). Také hydrotermální zpracování při teplotě 150 °C po dobu ~5 a 12 h (VZOREK 29a a 31) nebylo účinné. K vysrážení produktu došlo pouze při hydrotermálním zpracování na 200 °C po dobu 3 h (VZOREK 30). Výtěžek však nepřesahoval 50 hm% a fázová analýza ukázala (viz tab. 6), že kromě hydroxyapatitu byla v produktu přítomna další fáze – fosforečnan vápenatý. Hydrotermální podmínky (200 °C/3 h) nebyly dostačující ke kompletnímu vysrážení reaktantů, což způsobilo vznik vícefázového produktu a jeho malý výtěžek.

Na snímcích ze SEM a z TEM (obr. 69 a 70) je zobrazena morfologie výsledného produktu. Produkt byl tvořen podlouhlými krystaly s náznakem hexagonálního tvaru s velikostí přesahující 5 μm.

Z výsledků lze shrnout, že povrchově aktivní látky (TRITON a CTAB) neměly při syntézách významný vliv na morfologii a fázové složení produktů. Na rozdíl od výsledků Iyyappana a Wilsona [42], kteří ve své publikaci uvedli, že povrchově aktivní látka Triton měla vliv na morfologii a velikost částic HA (viz kapitola 3.5). Chelatační činidlo EDTA bylo za našich podmínek nevhodné pro přípravu čistého hydroxyapatitu, což mohlo být kromě nedostatečné teploty a času způsobeno také nevhodným poměrem Ca/EDTA, který ovlivňuje intenzitu kompletace [43].

## VLIV PROSTŘEDÍ NA MORFOLOGII ČÁSTIC HA

Při teplotách 0 °C, 20 °C, 50 °C a 80 °C, pH 10, a při post-precipitačním hydrotermálním zpracování při 150 °C/12 h byly připraveny prášky (VZOREK 32 až 36) srážením ve směsi voda/etanol (1/1). Podle výsledků RTG analýz (viz tab. 6) byl připraven čistý hydroxyapatit (při teplotách 0, 50, 80 °C) nebo směs hydroxyapatitu s fosforečnany vápenatými (při 20 °C).

Na snímcích ze SEM (obr. 71) jsou zobrazeny výsledné morfologie částic. Jejich tvar se měnil od kulovitých a podlouhlých částic až po tyčinkovité částice. Velikost částic se pohybovala v rozmezí od 40 nm až do 400 nm. TEM snímek (obr. 72) detailněji ukazuje morfologii částic směsi HA a fosforečnanu vápenatého, kdy základ tvořily podlouhlé částice, pravděpodobně HA, uspořádané do tyčinek. Mikrostruktura je podobně jako v případě částic připravených bez stárnutí méně přehledná s hůře definovatelnými tvary, avšak zde není tak výrazný vliv teploty na růst částic, i při teplotě kolem 80 °C nedošlo k tak významnému zvětšení částic, jak v případě precipitace ve vodném prostředí (viz obr. 47).

Rozpouštědlo voda/etanol bylo také použito pro přípravu HA (za teploty 20 °C, pH 10) s post-precipitačním hydrotermálním zpracováním při 150 °C/12 h. Připravený prášek byla podle RTG analýzy (viz tab. 6) směs hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého. Na snímku ze SEM (obr. 73) je zobrazena morfologie těchto částic,

která byla kulovitého, podlouhlého a tyčinkovitého tvaru. Hydrotermální proces neměl výrazný vliv na morfologii částic. Porovnáním SEM snímků (obr. 71 – VZOREK 32 a obr. 73) částic připravených s hydrotermálním zpracováním a bez, bylo vidět, že částice po hydrotermálním zpracování byly pouze mírně zaoblenější, ale jejich velikost se nelišila od částic připravených bez hydrotermálního zpracování.

Z analýzy laserovou difrakcí byla určena distribuce velikosti aglomerátů HA, která se pohybovala v rozmezí od 10,9 do 12,5  $\mu\text{m}$ . Velikost aglomerátů byla tedy srovnatelná, což odpovídá i srovnatelným velikostem částic na SEM snímcích na obr. 71 a 72 a odpovídá velikosti aglomerátů podobně velikých částic připravených precipitací při nižších teplotách.

Z výsledků je zřejmé, že použití reakčního prostředí směsi vody a etanolu mělo vliv jak na morfologii, tak na fázové složení. Směs etanol/voda inhibovala, na rozdíl od publikovaných výsledků Wang [26], růst částici a to i za relativně vysokých teplot při hydrotermálním zpracování. Vodně alkoholické prostředí také ovlivnilo fázové složení a díky zvýšení rozpustnosti vápenaté soli a/nebo fosforečnanů nedošlo při nižších teplotách k jejich úplnému vysrážení a ke vzniku vícefázového produktu.

Tab. 6: Výsledky analýz produktů syntéz.

| VZOREK             | morfologie<br>částic<br>(SEM, TEM)    | RTG<br>ANALÝZA | STŘ.<br>VELIKOST<br>[ $\mu\text{m}$ ] | SS <sub>BET</sub><br>[ $\mu\text{m}$ ] | D <sub>BET</sub><br>[ $\mu\text{m}$ ] |
|--------------------|---------------------------------------|----------------|---------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| 1: pH 10, T=20 °C  | podlouhlé<br>částice                  | HA             | 5,8                                   | 121,8                                  | 0,016                                 |
| 2: pH 10, T=50 °C  | tyčinkovité<br>částice                | HA             | 11,0                                  | 115,0                                  | 0,017                                 |
| 3: pH 10, T=80 °C  | tyčinkovité<br>částice                | HA             | 1,6                                   | 41,9                                   | 0,045                                 |
| 4: pH 10, T=0 °C   | podlouhlé<br>částice                  | HA             | 10,2                                  | 76,7                                   | 0,025                                 |
| 5: pH 8, T=20 °C   | podlouhlé<br>částice                  | HA             | 6,4                                   | 72,3                                   | 0,026                                 |
| 6: pH 8, T=50 °C   | tyčinkovité<br>částice                | HA             | 6,5                                   | 72,7                                   | 0,026                                 |
| 7: pH 8, T=80 °C   | tyčinkovité<br>částice                | HA             | 3,4                                   | 39,7                                   | 0,048                                 |
| 8: pH 8, T=0 °C    | podlouhlé<br>částice                  | HA             | 9,4                                   | 68,8                                   | 0,028                                 |
| 9: pH 11, T=20 °C  | podlouhlé<br>i tyčinkovité<br>částice | HA             | 6,3                                   | 90,4                                   | 0,021                                 |
| 10: pH 11, T=50 °C | tyčinkovité<br>částice                | HA             | 7,3                                   | 59,2                                   | 0,032                                 |
| 11: pH 11, T=80 °C | tyčinkovité<br>částice                | HA             | 1,9                                   | 43,4                                   | 0,044                                 |
| 12: pH 11, T=0 °C  | podlouhlé<br>částice                  | HA             | 7,1                                   | 116,8                                  | 0,016                                 |

|                                                   |                                     |          |      |   |   |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------|----------|------|---|---|
| <b>13:</b> pH 10, T=20 °C, Triton                 | tyčinkovité částice                 | HA       | 6,3  | - | - |
| <b>14:</b> pH 10, T=80 °C, Triton                 | tyčinkovité částice                 | HA       | 2,4  | - | - |
| <b>15:</b> pH 10, T=20 °C, CTAB                   | tyčinkovité částice                 | HA       | 7,1  | - | - |
| <b>16:</b> pH 10, T=80 °C, CTAB                   | podlouhlé i tyčinkovité částice     | HA       | 10,9 | - | - |
| <b>17a:</b> pH 10, T=20 °C, HZ: 150 °C/4 h        | kulovité částice                    | HA       | 1,6  | - | - |
| <b>17b:</b> pH 10, T=20 °C, US                    | podlouhlé i tyčinkovité částice     | HA       | 7,4  | - | - |
| <b>18:</b> pH 10, T=20 °C, HZ: 150 °C/12 h        | kulovité částice                    | HA       | 1,4  | - | - |
| <b>19:</b> pH 10, T=20 °C, HZ: 200 °C/3 h         | kulovité částice                    | HA       | 1,6  | - | - |
| <b>20:</b> pH 10, T=80 °C, HZ: 200 °C/4 h         | kulovité částice                    | HA       | 2,1  | - | - |
| <b>21:</b> pH 10, T=20 °C, Triton, HZ: 200 °C/3 h | kulovité částice                    | HA       | 1,4  | - | - |
| <b>22:</b> pH 10, T=20 °C, CTAB, HZ: 200 °C/3 h   | kulovité částice                    | HA       | 2,2  | - | - |
| <b>23:</b> pH 10, T=20 °C, bez stárnutí           | tyčinkovité částice                 | HA + TCP | 7,2  | - | - |
| <b>24:</b> pH 10, T=50 °C, bez stárnutí           | podlouhlé i tyčinkovité částice     | HA + TCP | 5,5  | - | - |
| <b>25:</b> pH 10, T=80 °C, bez stárnutí           | kulovité částice                    | HA + TCP | 2,1  | - | - |
| <b>26:</b> pH 10, T=0 °C, bez stárnutí            | kulovité částice                    | HA + TCP | 6,3  | - | - |
| <b>27:</b> pH 10, T=20 °C, EDTA                   | -                                   | -        | -    | - | - |
| <b>28:</b> pH 10, T=80 °C, EDTA                   | -                                   | -        | -    | - | - |
| <b>29a:</b> pH 10, T=20 °C, EDTA, HZ: 150 °C/~5 h | -                                   | -        | -    | - | - |
| <b>29b:</b> pH 10, T=20 °C, EDTA, US              | -                                   | -        | -    | - | - |
| <b>30:</b> pH 10, T=20 °C, EDTA, HZ: 200 °C/3 h   | podlouhlé krystaly ve tvaru hranolů | HA + TCP | -    | - | - |

|                                                                                  |                                       |          |      |   |   |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------|------|---|---|
| <b>31:</b> pH 10, T=20 °C,<br>EDTA,<br>HZ: 150 °C/12 h                           | -                                     | -        | -    | - | - |
| <b>32:</b> pH 10, T=20 °C,<br>rozp.: H <sub>2</sub> O/etanol                     | tyčinkovité<br>částice                | HA + TCP | 12,7 | - | - |
| <b>33:</b> pH 10, T=50 °C,<br>rozp.: H <sub>2</sub> O/ etanol                    | podlouhlé<br>i tyčinkovité<br>částice | HA       | 10,9 | - | - |
| <b>34:</b> pH 10, T=80 °C,<br>rozp.: H <sub>2</sub> O/etanol                     | podlouhlé<br>i tyčinkovité<br>částice | HA       | 11,0 | - | - |
| <b>35:</b> pH 10, T=0 °C,<br>rozp.: H <sub>2</sub> O/etanol                      | podlouhlé<br>i tyčinkovité<br>částice | HA       | 12,5 | - | - |
| <b>36:</b> pH 10, T=20 °C,<br>HZ: 150 °C/12 h,<br>rozp.: H <sub>2</sub> O/etanol | podlouhlé<br>i tyčinkovité<br>částice | HA + TCP | 9,4  | - | - |

Triton – povrchově aktivní látka, CTAB = Hexadecyltrimethylammonium bromide (povrchově aktivní látka); EDTA = ethylendiamintetraoctová kyselina (chelatační činidlo); HZ – hydrotermální zpracování; US – zpracování v přítomnosti ultrazvuku HA – hydroxyapatit, TCP – fosforečnan vápenatý, BET – metoda měření specifického povrchu;  $SS_{BET}$  – měrný povrch;  $D_{BET}$  – průměr částic HA.

## 6. ZÁVĚRY

Precipitačními syntézami z dusičnanu vápenatého a hydrogenfosforečnanu amonného v přítomnosti hydroxidu amonného byl za různých reakčních podmínek (20-80 °C, pH = 8-10, doba stárnutí 0-24 h, přítomnost ultrazvuku nebo přítomnost PAL nebo chelatačního činidla) připraven nanočásticový hydroxyapatit. Velikost částice se většinou pohybovala od 20 nm do 500 nm, v případě použití chelatačního činidla vznikaly částice o velikosti několika mikrometrů. Částice byly aglomerovány do útvarů o velikosti 1,4  $\mu\text{m}$  až 12,7  $\mu\text{m}$ . Měrný povrch částic připravených při 0-80 °C, pH = 8-10 a při stárnutí 24 h se pohyboval v rozmezí 0,016 m<sup>2</sup>/g až 0,048 m<sup>2</sup>/g.

Reakční teplota 0-80 °C měla výrazný vliv na morfologii částic. Při teplotách 0-20 °C vznikaly malé částice o velikosti do 50 nm většinou kulovitého nebo mírně protáhlého tvaru. Se zvyšováním teploty až na 80 °C vznikaly rozměrnější částice s velikostí až 500 nm a s jasnější morfologií, většinou tyčinkovitých útvarů. Teplota precipitace neměla vliv na fázové složení produktu.

Hodnota pH v rozmezí 8-11 neměla zásadní vliv na fázové složení a krystalinitu produktu, stejně tak na morfologii částic hydroxyapatitu – na jejich velikost a tvar.

Doba stárnutí podporovala vznik čistého hydroxyapatitu a růst částic. Bez stárnutí produktu po precipitaci vznikal vícefázový produkt – směs hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého. Post-precipitační hydrotermální zpracování významně ovlivnilo tvar a velikost hydroxyapatitových částic, vznikaly částice pravidelnějšího kulovitého tvaru o velikosti kolem 30 nm až 100 nm. Hydrotermální zpracování zvýšilo krystalinitu produktu.

Povrchově aktivní látky (TRITON a CTAB) neměly při syntézách významný vliv na morfologii a fázové složení produktů. Chelatační činidlo EDTA bylo za našich podmínek nevhodné pro přípravu čistého hydroxyapatitu.

Použití reakčního prostředí směsi voda/etanol inhibovalo růst částic produktu a to i při hydrotermálním zpracování při 150 °C/12 h. Hydroxyapatit bylo možné ve směsi alkohol/voda připravit pouze precipitací při teplotách vyšších jak 50 °C.

## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Biomaterial. *Wikipedia, the free encyclopedia* [online]. 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Biomaterial>.
- [2] MATLÁK, Jiří. *Polymerní biokompatibilní materiály*. Brno, 2011. Bakalářská práce. VUT, Fakulta strojního inženýrství, Ústav materiálových věd a inženýrství. Vedoucí práce Ing. EVA NOVOTNÁ, Ph.D., Paed IGIP.
- [3] PARIDA, Patitapabana, Ajit BEHERA a Suash Chandra MISHRA. Classification of Biomaterials used in Medicine. *International Journal of Advances in Applied Sciences (IJAAS)*. 2012, Vol. 1, No. 3, pp. 31-35. ISSN 2252-8814.
- [4] Dostupné z: <http://cc.usst.edu.cn/Download/08ca3750-76a2-4f04-ba7c-1ca33286fe00.pdf>, [cit. 2013-03-09].
- [5] DOBOŠ, Petr. *Příprava biokeramických materiálů pro medicínské aplikace*. Brno, 2010. Bakalářská práce. VUT, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů. Vedoucí práce doc. Dr. Ing. MARTIN PALOU.
- [6] SÁENZ, Alejandro, Eric RIVERA-MUÑOZ, Witold BROSTOW a Victor M. CASTAÑO. Ceramic biomaterials: an introductory overview. *Journal of Materials Education*. 1999, Vol. 21, 5-6, s. 297 - 306. Dostupné z: <http://www.unt.edu/LAPOM/>
- [7] WILLIAMS, David F. On the nature of biomaterials. *Biomaterials*. 2009, Volume 30, Issue 30, Pages 5897-5909. ISSN 0142-9612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.07.027.
- [8] Park, J., Lakes, R. S.: *Biomaterials An Introduction*, Springer, e-ISBN 978-0-387-37880-0, 2007.
- [9] GROSSKINSKY, Ulrich. Biomaterial regulations for tissue engineering. *Desalination*. 2006, Volume 199, Issues 1-3, Pages 265-267. DOI: 10.1016/j.desal.2006.03.172.
- [10] DOROZHUKIN, Sergey V. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*. 2010, Volume 31, Issues 7, Pages 1465-1485. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.11.050.
- [11] BEST, S.M., et. al., Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*. 2008, Volume 28, Issue 7, Pages 1319-1327. ISSN 0955-2219. DOI: 10.1016/j.jeurceramsoc.2007.12.001.
- [12] URBAN, Karel, STRNAD, Zdeněk. Bioaktivní sklokeramika nahrazující kost: Neživé náhrady srůstající s živou tkání. *Vesmír*. 1. 1. 2000, č. 79, s. 130-133. Dostupné z WWW:<<http://www.cts.cuni.cz/vesmir>>.
- [13] THAMARAISELVI, T. V. a S. RAJESWARI. Biological Evaluation of Bioceramic Materials. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*. 2004, Vol 18, č. 1, pp 9-17. ISSN 0971-1198.
- [14] Mudr. Jindřich Pipek: S úsměvem jde všechno lépe. *Implantáty Pipek* [online]. 2009 [cit. 2013-04-15]. Dostupné z: <http://www.implantaty-pipek.cz/protetika.p6.html>.
- [15] BEST, S. M., et. al., Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*. 2008, Volume 28, Issue 7, Pages 1319-1327. ISSN 0955-2219.

- [16] MAJLING, Ján; PLESCH, Gustav. Technológia špeciálných anorganických materiálov. 2002. Bratislava: Vydavateľstvo STU, 2002. 248 s.
- [17] Phosphate. *Wikipedia, the free encyclopedia* [online]. 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphate>
- [18] Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution. *PMC* [online]. 2009 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2743557/>
- [19] DOROZHUKIN, Sergey V. Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomaterialia*. March 2010, Volume 6, Issue 3, Pages 715-734. ISSN 1742-7061. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.10.031.
- [20] Karch J., Birringer R., Gleiter H., Ceramics ductile at low temperature. *Nature* 1987; 330:556–8.
- [21] VISWANATH, B. a N. RAVISHANKAR. Controlled synthesis of plate-shaped hydroxyapatite and implications for the morphology of apatite phase in bone. *Biomaterials*. 2008, Volume 29, Pages 4855-4863. ISSN 0142-9612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.001.
- [22] Hydroxylapatit. *Wikipedie, otevřená encyklopedie* [online]. 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Hydroxylapatit>.
- [23] Hydroxylapatite. *Wikipedia, the free encyclopedia* [online]. 2013 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxylapatite>.
- [24] Eric M. Rivera-Muñoz (2011). Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization, Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges, Prof. Reza Fazel (Ed.), ISBN: 978-953-307-309-5, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/biomedical-engineering-frontiers-and-challenges/hydroxyapatite-based-materials-synthesis-and-characterization>.
- [25] PALOU, Martin, et al. *Spoločná budúcnosť chémie a biológie* [online]. Vyd.1. Bratislava: STU Bratislava, 2006 [cit. 2010-04-29]. Dostupné z WWW: <[http://www.fchpt.stuba.sk/docs/doc/pedagogika/chemia\\_a\\_biologia.pdf](http://www.fchpt.stuba.sk/docs/doc/pedagogika/chemia_a_biologia.pdf)>. ISBN 80-227-2456-4.
- [26] WANG, Peipei, Caihong LI, Haiyan GONG, Xuerong JIANG, Honsqiang WANG a Kaixing LI. Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process. *Powder Technology*. 10 November 2010, Volume 203, Issue 2, Pages 315-321. ISSN 0032-5910. DOI: 10.1016/j.powtec.2010.05.023.
- [27] MOBASHERPOUR, I., M. Soulati HESHAJIN, A. KAZEMZADEH a M. ZAKERI. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. *Journal of Alloys and Compounds*. March 2007, Volume 430, Issues 1 - 2, Pages 330-333. ISSN 0925-8388. DOI: 10.1016/j.jallcom.2006.05.018.
- [28] DĚDOURKOVÁ, T., J. ZELENKA, M. ZELENKOVÁ, L. BENEŠ a L. SVOBODA. Synthesis of sphere-like nanoparticles of hydroxyapatite. *Procedia Engineering*. 2012, Volume 42, Pages 1816-1821. ISSN 1877-7058. DOI: 10.1016/j.proeng.2012.07.576.
- [29] KHALID, M., M. MUJAHID, S. AMIN, R.S. RAWAT, A. NUSAIR a G.R. DEEN. Effect of surfactant and heat treatment on morphology, surface area and crystallinity in hydroxyapatite nanocrystals. *Ceramics International*. January 2013, Volume 39, Issue 1, Pages 39-50. ISSN 0272-8842. DOI: 10.1016/j.ceramint.2012.05.090.

- [30] PARK, Joon. *Bioceramics: Properties, Characterizations, and Applications*. Iowa City (USA): Springer, 2008. ISBN 978-0-387-09544-8.
- [31] CENGİZ, Burcu, Yavuz GOKCE, Nuray YILDIZ, Zeki AKTAS a Ayla CALIMLI. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. *Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles*. June 2008, Volume 322, Issues 1 - 3, Pages 29-33. ISSN 0927-7757. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2008.02.011.
- [32] GIRIJA, E.K., G. Suresh KUMAR, A. THAMIZHAVEL, Y. YOKOGAWA a S. Narayana KALKURA. Role of material processing on the thermal stability and sinterability of nanocrystalline hydroxyapatite. *Powder Technology*. July 2012, Volume 225, Pages 190-195. ISSN 0032-5910. DOI: 10.1016/j.powtec.2012.04.007.
- [33] PANG, Y.X. a X. BAO. Influence of temperature, ripening time and calcination on the morphology and crystallinity of hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of the European Ceramic Society*. September 2003, Volume 23, Issue 10, Pages 1697–1704. ISSN 0955-2219.
- [34] P. PATHI, Siddharth, Debre D. W. LIN, Jason R. DORVEE, Lara A. ESTROFF a Claudia FISCHBACH. Hydroxyapatite nanoparticle-containing scaffolds for the study of breast cancer bone metastasis. *Biomaterials*. 2011, Volume 32, Issue 22, Pages 5112 - 5122. ISSN 0142-9612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.03.055.
- [35] LIU, Changsheng, Yue HUANG, Wei SHEN a Jinghua CUI. Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11. *Biomaterials*. 2001, Volume 22, Issue 24, Pages 301 - 306. ISSN 0142-9612.
- [36] SHAOQIANG, Chen., et. al., Hydroxyapatite coating on porous silicon substrate obtained by precipitation process. *Applied Surface Science*. 2004, Volume 230, Issues 1-4, Pages 418-424. ISSN 0169-4332. DOI: 10.1016/j.apsusc.2004.03.203.
- [37] RODRÍGUEZ-LORENZO, L.M., M. VALLET-REGÍ a J.M.F. FERREIRA. Fabrication of hydroxyapatite bodies by uniaxial pressing from a precipitated powder. *Biomaterials*. 2001, Volume 22, Issue 6, Pages 583-588. ISSN 0142-9612.
- [38] CATROS, S., et. al., Physico-chemical and biological properties of a nano-hydroxyapatite powder synthesized at room temperature. *IRBM*. 2010, Volume 31, Issue 4, Pages 226-233. ISSN 1959-0318. DOI: 10.1016/j.irbm.2010.04.002.
- [39] IYYAPPAN, E. a P. WILSON. Synthesis of nanoscale hydroxyapatite particles using triton X-100 as anorganic modifier. *Ceramics International*. 2013, Volume 39, Issue 1, Pages 771–777. ISSN 0272-8842.
- [40] CAO, Li-yun, Chuan-bo ZHANG a Jian-feng HUANG. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles in ultrasonic precipitation. *Ceramics International*. 2005, Volume 31, Issue 8, Pages 1041-1044. ISSN 0272-8842. DOI: 10.1016/j.ceramint.2004.11.002.
- [41] S. Inghong, et. al., Physical properties and bioactivity of nanocrystalline hydroxyapatite synthesized by a co-precipitation route, *Ceramics International* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.10.129>.
- [42] RIMAN, Richard E., et. al., Solution synthesis of hydroxyapatite designer particulates. *Solid State Ionics*. 2002, Volume 151, Issues 1-4, Pages 392-402. ISSN 0167-2738.

- [43] ZHU, Ronghai., et. al., Morphology control of hydroxyapatite through hydrothermal process. *Journal of Alloys and Compounds*. 2008, Volume 457, Pages 555-559. ISSN 0925-8388. DOI: 10.1016/j.jallcom.2007.03.081.
- [44] ZHANG, Hongquan a Brian W. DARVELL. Morphology and structural characteristics of hydroxyapatite whiskers: Effect of the initial Ca concentration, Ca/P ratio and pH. *Acta Biomaterialia*. 2011, Volume 7, Issue 7, Pages 2960-2968. ISSN 1742-7061. DOI: 10.1016/j.actbio.2011.03.020.
- [45] HIEMENZ, Paul C. a Raj RAJAGOPALAN. Buchcover Principles of colloid and surface chemistry Principles of colloid and surface chemistry. In: *Principles of colloid and surface chemistry | Paul C. Hiemenz, Raj Rajagopalan | digital library BookOS* [online]. 1997 [cit. 2013-05-17]. 3rd. ISBN 0-8247-9397-8. Dostupné z: <http://de.bookos.org/book/436777/fa694e>.
- [46] ROEDER, Ryan K, et. al., Kinetic Effects on Hydroxyapatite Whiskers Synthesized by the Chelate Decomposition Method. *Journal of the American Ceramic Society*. 2006, Volume 89, Issue 7, pages 2096-2104. DOI: 10.1016/j.1551-2916.2006.01067.x.
- [47] KANDORI, Kazuhiko, et. al., Texture and Formation Mechanism of Fibrous Calcium Hydroxyapatite Particles Prepared by Decomposition of Calcium–EDTA Chelates. *Journal of the American Ceramic Society*. 1997, Vol. 80, Issue 5, pages 1157-1164. DOI: DOI: 10.1111/j.1151-2916.1997.tb02958.x.
- [48] CHOI, Bong-Seok., et. al., Effects of EDTA on morphology of hydroxyapatite prepared by hydrothermal method. *Journal of the Korean Crystal Growth and Crystal Technology*. 2011, Vol. 21, No. 2, s. 75-81. eISSN: 2234-5078.

## 8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

SEM – rastrovací elektronová mikroskopie  
TEM – transmisní elektronová mikroskopie  
XRD – RTG difrakce  
LD – laserová difrakce  
BET – Brunauerova, Emmetova a Tellerova teorie = metoda měření specifického povrchu  
PMMA – polymethylmethakrylát  
USP, EP – United States or European Pharmacopoeia  
ISO – International Organization for Standardization  
AAMI – Association for the Advancement of Medical Instrumentation  
ASTM – American Society for Testing of Materials  
NIST – National Institute of Standards and Technology  
FDA – Food and Drug Administration  
AMP – adenosin monofosfát  
ADP – adenosin difosfát  
ATP – adenosin trifosfát  
DNA – deoxyribonukleová kyselina  
RNA – ribonukleová kyselina  
TTCP – tetracalcium phosphate  
MCPM – monocalcium phosphate monohydrate  
MCPA – monocalcium phosphate anhydrous  
DCPD – dicalcium phosphate dihydrate  
DCPA – dicalcium phosphate anhydrous  
OCP – octacalcium phosphate  
 $\alpha$ -TCP –  $\alpha$ -Tricalcium phosphate  
 $\beta$ -TCP –  $\beta$ -Tricalcium phosphate  
ACP – amorphous calcium phosphate  
CDHA – calcium-deficient hydroxyapatite  
HA – hydroxyapatite  
FA – fluorapatite  
NMR – nukleární magnetická rezonance  
FTIR – metoda Fourierovy transformační infračervené spektroskopie  
SEAD – Selected Area Electron Diffraction  
CTAB – cetyltrimethyl ammonium bromid  
AFM – atomic force microscopy  
 $t_{st}$  – doba stárnutí  
T – reakční teplota

EDTA – etylendiamintetraoctová kyselina

HZ – hydrotermální zpracování

US – zpracování v přítomnosti ultrazvuku

## 9. SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

### SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Mechanical properties of ceramic biomaterials. [4]

Tab. 2.: Existující ortofosforečnany vápenaté a jejich hlavní vlastnosti. [18]

Tab. 3: Krystalografické údaje vybraných ortofosforečnanů vápenatých. [18]

Tab. 4: Příklad metod přípravy HA. [30]

Tab. 5: Podmínky syntéz nanokrystalického HA.

Tab. 6: Výsledků analýz produktů syntéz.

### SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: a) vaskulární štěp z polyetylentereftalátu nebo z polytetrafluorethylenu; b) mechanická srdeční chlopeň tvořená základní částí ze slitiny na bázi Ti nebo Co-Cr, dále uhlíkem jako je pyrolytický karbon a šicím kroužkem z polyetylentereftalátu; c) bioprotézní srdeční chlopeň z přírodní prasečí srdeční chlopně nebo z osrdečníku s polymerem nebo kovem jako šicí kroužek; d) intravaskulární stent (výztuž) buď ze samoroztažných slitin s tvarovou pamětí jako je slitina na bázi Ni a Ti nebo z plasticky deformovatelných slitin jako je nerezavějící ocel. [7]

Obr. 2 Použití biomateriálů na lidském těle. [8]

Obr. 3: Užití  $\text{Al}_2\text{O}_3$  jako stehenní kulička kyčelního kloubu. [4]

Obr. 4: Ilustrační obrázek zubního můstku ze  $\text{ZrO}_2$ . [14]

Obr. 5: Schematický diagram zobrazující události, ke kterým dochází mezi biokeramickým materiálem a okolním biologickým prostředím: 1) rozpouštění biokeramiky; 2) precipitace z roztoku; 3) iontová výměna a strukturální přeskupení na rozhraní biokeramika/tkáň; 4) vnitřní difúze z vrstvy povrchového rozhraní do biokeramiky; 5) roztokem zprostředkovaný dopad na buněčnou aktivitu; 6) depozice s integrací do biokeramiky; 8) chemotaxe k biokeramickému povrchu; 9) upevnění buněk a šíření; 10) diferenciaci buněk; 11) tvorba mimobuněčné matrice. [10]

Obr. 6: Příklady komerční biokeramiky na bázi orthofosfátu vápníku. [10]

Obr. 7: Základní prostorový vzorec fosforečnanu. [17]

Obr. 8: Zobrazení uspořádání iontu fosforečnanu v 3D. [17]

Obr. 9: Schéma iontů fosforečnanů: a)  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , b)  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , c)  $\text{HPO}_4^{2-}$ , d)  $\text{PO}_4^{3-}$ . [17]

Obr. 10: Krystaly hydroxyapatitu na matečné hornině. [23]

Obr. 11: Synteticky připravený prášek HA.

Obr. 12: Krystalová struktura HA. [24]

Obr. 13: RTG spektra vzorků HA. [26]

Obr. 14: TEM and SEM snímky vzorků HA připraveného za různých počátečních hodnot pH: a) pH 10, h) a h-1) pH 8, i) a i-1) pH 9, j) pH11. [26]

Obr. 15: a) SEM, b) TEM a c) SAED snímky HA vytvořeného precipitační reakcí. [32]

Obr. 16: SEM snímky ukazující morfologii a mikrostrukturu částic HA před a po tepelném zpracování: a) „NoSurf“, b) „NoSurf-900C“, c) „Surf“, d) „Surf-900C“. [29]

Obr. 17: RTG difraktogram prášku nanorozměrového HA. [28]

Obr. 18: A: AFM snímek nanočástic HA o velikosti 30-50 nm, B: AFM snímek aglomerátů HA nanočástic. [28]

- Obr. 19: Snímky z TEM různých HA částic syntetizovaných z  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  a  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  s hydrotermálním stárnutím po dobu 0 h – A1, 0,5 h – A2 a 72 h – A3 a částice syntetizované z  $\text{CaCl}_2$  a  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  se stárnutím po dobu 1,5 h – B1. [34]
- Obr. 20: XRD spektra tepelně zpracovaného hydroxyapatitu pro různé teploty. [27]
- Obr. 21: SEM snímek částic HA po kalcinaci na 1200 °C po dobu 1 h. [27]
- Obr. 22: TEM snímek prášku HA před tepelným zpracováním. [27]
- Obr. 23: TEM snímek prášku HA po tepelném zpracování. [27]
- Obr. 24: Vliv reakční teploty na morfologii HA: a) 15 °C, b) 60 °C. [35]
- Obr. 25: Snímek ze SEM vločkovitého hydroxyapatitu. [36]
- Obr. 26: Snímek SEM prášku HA. [37]
- Obr. 27: a) snímek TEM připraveného nanokrystalického HA; b) FTIR diagramy nanokrystalického HA. [38]
- Obr. 28: Snímek TEM hydroxyapatitu syntetizovaného bez použití tritonu X-100. [39]
- Obr. 29: Snímek TEM hydroxyapatitu syntetizovaného s použitím tritonu X-100. [39]
- Obr. 30: XRD spektrum připraveného prášku HA ( $T = 363 \text{ K}$ , působení US – 3 h). [40]
- Obr. 31: Snímek z TEM připraveného prášku HA ( $T = 363 \text{ K}$ , působení US – 3 h). [40]
- Obr. 32: RTG spektra prášku HA a vložené zobrazení stupně krystaličnosti HA při různých hodnotách pH (pravý horní roh). [41]
- Obr. 33: Snímky SEM prášků HA připravených při různých hodnotách pH: a) pH 5, b) pH 7, c) pH 11. [41]
- Obr. 34: Krystaly HA připraveného hydrotermální syntézou za teploty 200 °C po dobu 24 h, hodnota pH 10: a) prášek krystalizovaný v 50 obj% 2-propanolu v  $\text{H}_2\text{O}$ , b) prášek krystalizovaný s 1 hm% KCl. [42]
- Obr. 35: RTG spektra připravených produktů po reakční době 12 h za teploty: a) 200 °C s pH 12,9; b) 160 °C s pH 12,9 a c) 200 °C s pH 11,4 a molárním poměrem  $\text{EDTA}/\text{Ca} = 0,8$ . [39]
- Obr. 36: Snímek SEM získaného produktu HA za hodnoty pH 12,9, reakčním čase 12h a teploty: a) 100 °C, b) 120 °C, c) 160 °C a d) 200 °C. [39]
- Obr. 37: XRD spektra HA syntetizovaného za teploty 423 K a při odlišných hodnotách pH: a) pH 6, b) pH 7, c) pH 9,2 a d) pH 11. [21]
- Obr. 38: Snímky SEM zobrazující morfologii připraveného HA za podmínek syntézy: teplota 423 K, hodnoty pH: a) pH 6, b) pH 7, c) pH 9,2 a d) pH 11. [21]
- Obr. 39: Spektra XRD připraveného HA za teploty 180 °C a  $i\text{Ca}/\text{P} = 1,67$ . [44]
- Obr. 40: Snímky ze SEM připraveného HA za různých koncentrací  $[\text{Ca}]$  ( $\text{mmolL}^{-1}$ ) a různého poměru  $i\text{Ca}/\text{P}$ : a)  $[\text{Ca}] = 52$ ,  $i\text{Ca}/\text{P} = 2$ ; b)  $[\text{Ca}] = 33$ ,  $i\text{Ca}/\text{P} = 1,33$ ; c)  $[\text{Ca}] = 21$ ,  $i\text{Ca}/\text{P} = 1,33$ ; d)  $[\text{Ca}] = 21$ ,  $i\text{Ca}/\text{P} = 1$ ; e)  $[\text{Ca}] = 52$ ,  $i\text{Ca}/\text{P} = 1$ ; f)  $[\text{Ca}] = 63$ ,  $i\text{Ca}/\text{P} = 1,5$ . [44]
- Obr. 41: Schéma syntézy hydroxyapatitu.
- Obr. 42: Schéma reakčního zařízení pro syntézu HA.
- Obr. 43: Hydrotermální reaktor RADAN, ČR.
- Obr. 44: Hydrotermální reaktor ANTON PAAR Syntheses 3000, Rakousko.
- Obr. 45: Lázňový ultrazvukový reaktor RADAN, ČR.
- Obr. 46: RTG spektra prášků HA připravených za teploty 20 °C a různých hodnot pH (VZOREK 1, 5 a 9).
- Obr. 47: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10.
- Obr. 48: TEM snímky HA připraveného za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10.
- Obr. 49: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 8.

Obr. 50: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 11.

Obr. 51: Distribuce velikosti aglomerátů HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10.

Obr. 52: Distribuce velikosti aglomerátů HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 8.

Obr. 53: Distribuce velikosti aglomerátů HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 11.

Obr. 54: RTG spektra prášku HA připravených za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10, bez stárnutí (VZOREK 23 a 25).

Obr. 55: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10 a bez stárnutí.

Obr. 56: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a bez stárnutí (VZOREK 23).

Obr. 57: RTG spektra HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 s post-precipitačním zpracováním ultrazvukem nebo hydrotermálně (VZOREK 17b, 17a).

Obr. 58: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a různé doby HZ při 150 °C.

Obr. 59: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C a 80 °C, pH 10 a HZ při 200 °C/3 h.

Obr. 60: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a HZ 200 °C/3 h (VZOREK 19).

Obr. 61: SEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a v přítomnosti US/1 h.

Obr. 62: RTG spektrum prášku HA připraveného za teploty 20 °C, hodnoty pH 10, s přítomností povrchově aktivní látky – Tritonem a dobou stárnutí 24 h (VZOREK 13).

Obr. 63: SEM snímky HA připraveného za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10 a PAL Tritonem.

Obr. 64: RTG spektrum HA připraveného za teploty 20 °C, hodnoty pH 10, s přítomností povrchově aktivní látky – CTAB a dobou stárnutí 24 h (VZOREK 15).

Obr. 65: SEM snímky HA připraveného za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10 a PAL CTAB.

Obr. 66: SEM snímky kalcinovaného HA na 1000 °C připraveného za teplot 20 °C, pH 10, bez PAL, s PAL Tritonem a CTAB.

Obr. 67: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, PAL Triton a CTAB a HZ 200 °C/3 h.

Obr. 68: Vznik vápenatého komplexu reakcí chelatačního činidla EDTA s vápenatou solí. [47]

Obr. 69: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, chelatačního činidla EDTA a HZ 200 °C/3 h (VZOREK 30).

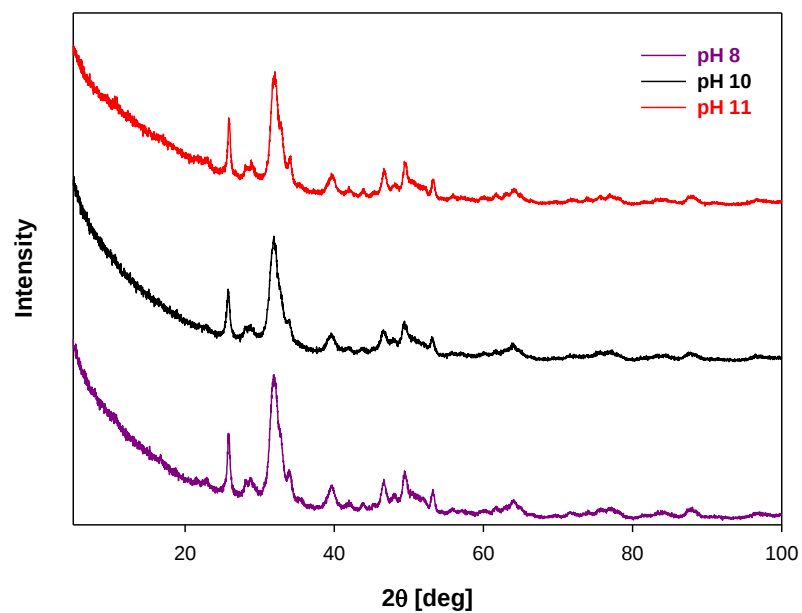
Obr. 70: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, chelatačního činidla EDTA a HZ 200 °C/3 h (VZOREK 30).

Obr. 71: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10, v prostředí H<sub>2</sub>O/etanol.

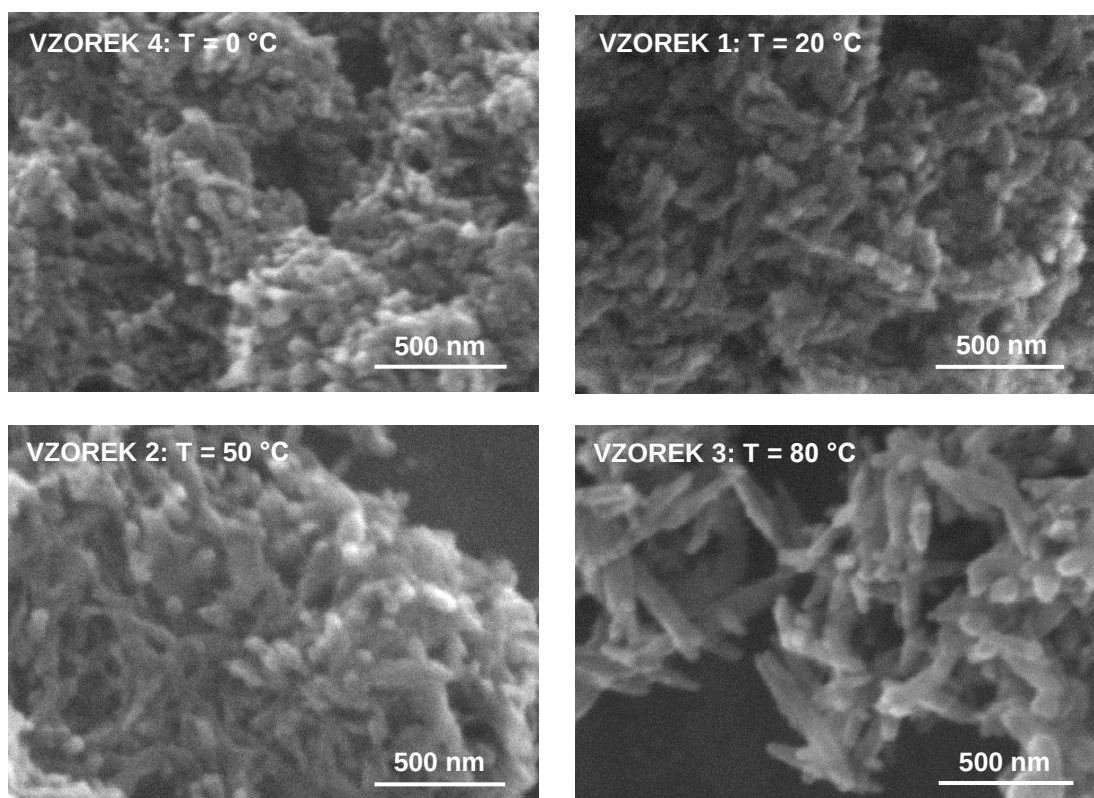
Obr. 72: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, v prostředí H<sub>2</sub>O/etanol (VZOREK 32).

Obr. 73: SEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, v prostředí H<sub>2</sub>O/etanol, HZ 150 °C/12 h (VZOREK 36).

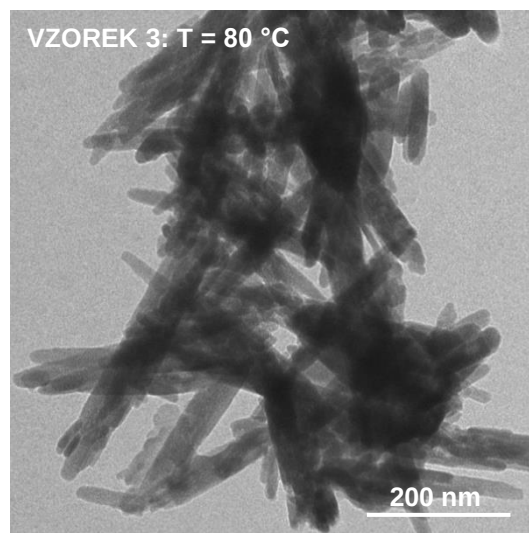
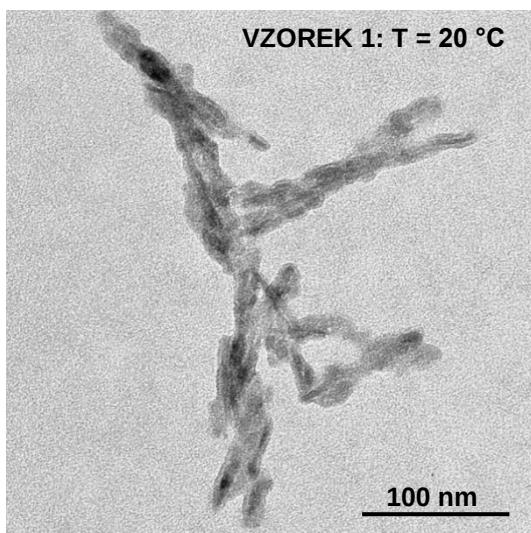
## **10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA KE KAPITOLE 5**



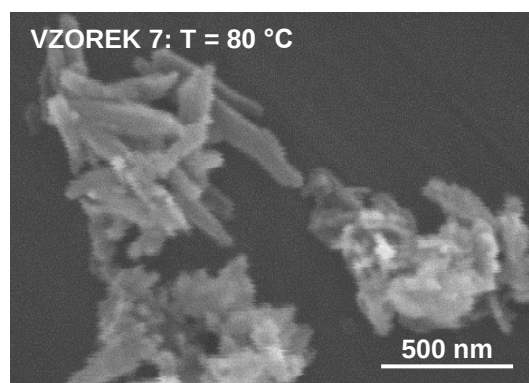
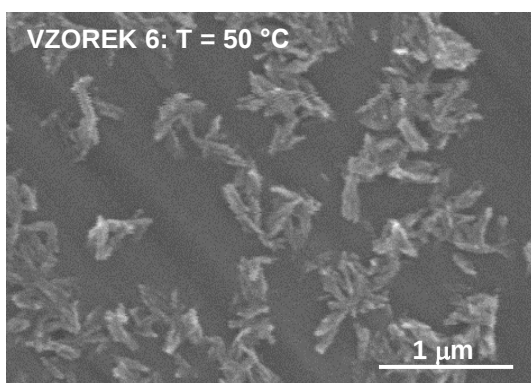
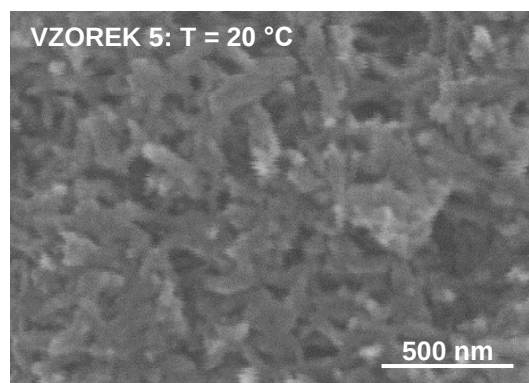
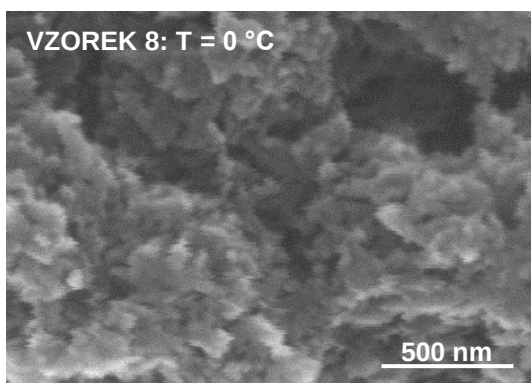
Obr. 46: RTG spektra prášků HA připravených za teploty 20 °C a různých hodnot pH (VZOREK 1, 5 a 9).



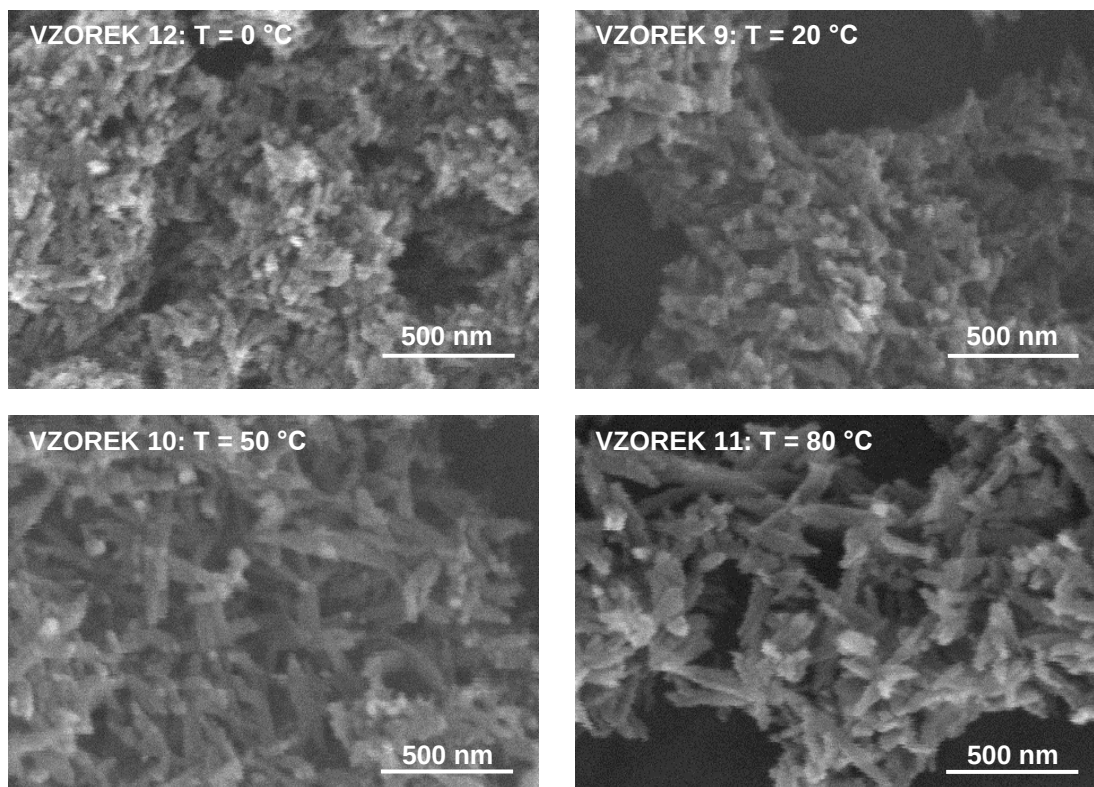
Obr. 47: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10.



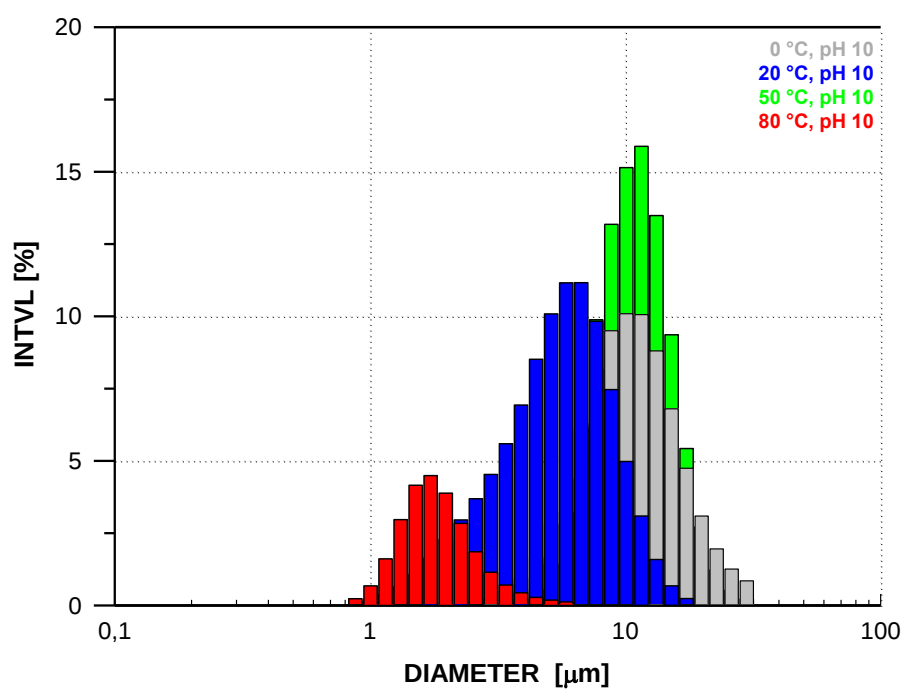
Obr. 48: TEM snímky HA připraveného za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10.



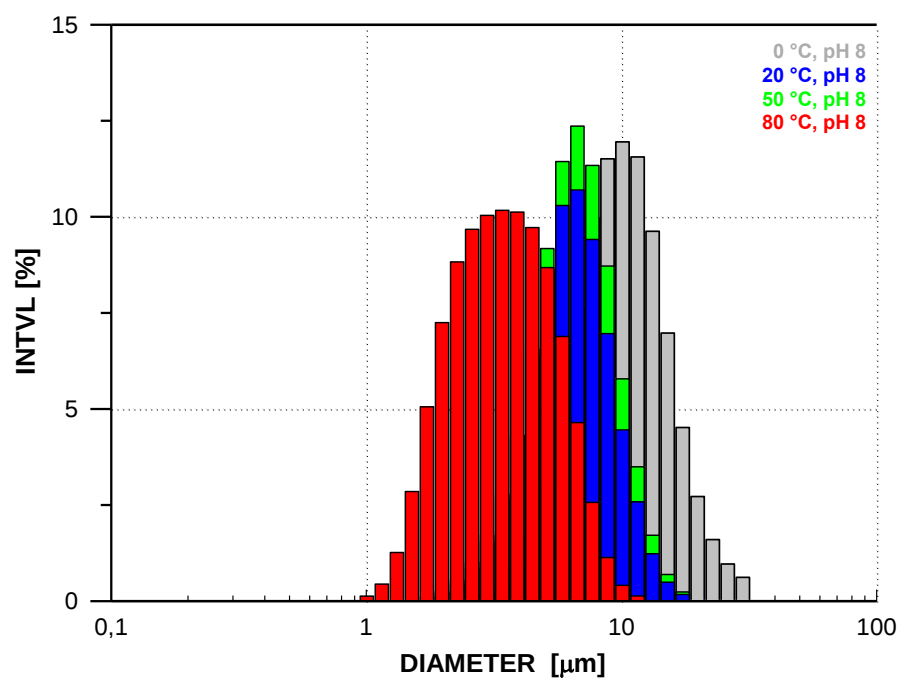
Obr. 49: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 8.



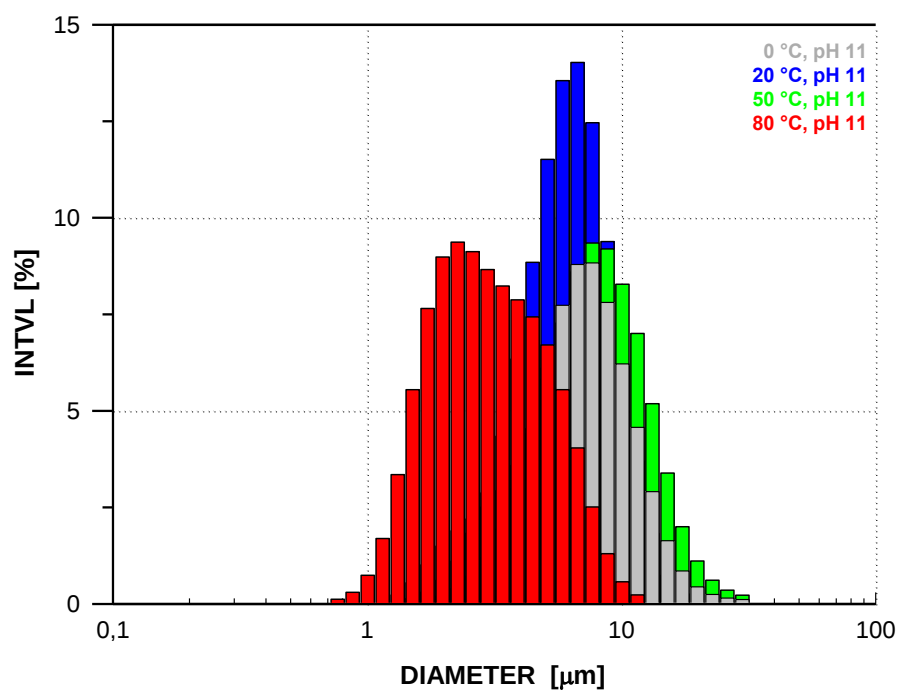
Obr. 50: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 11.



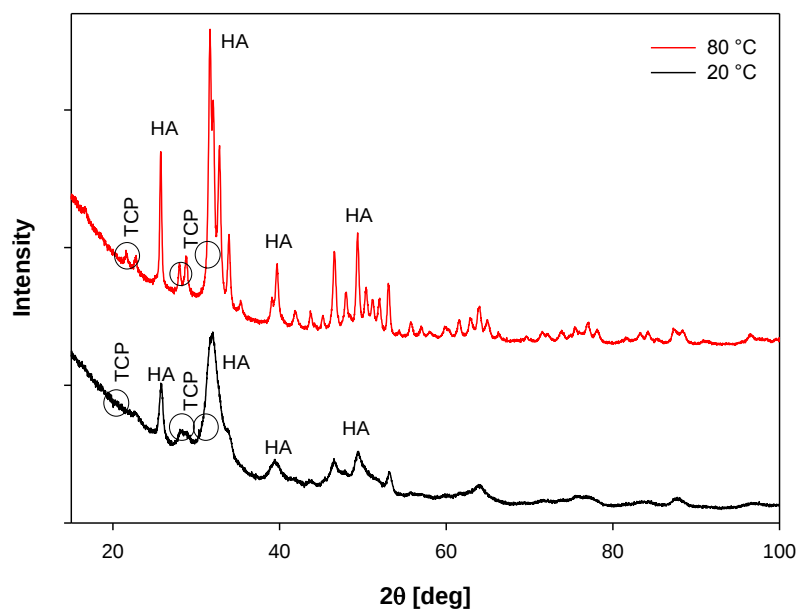
Obr. 51: Distribuce velikosti aglomerátů HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10.



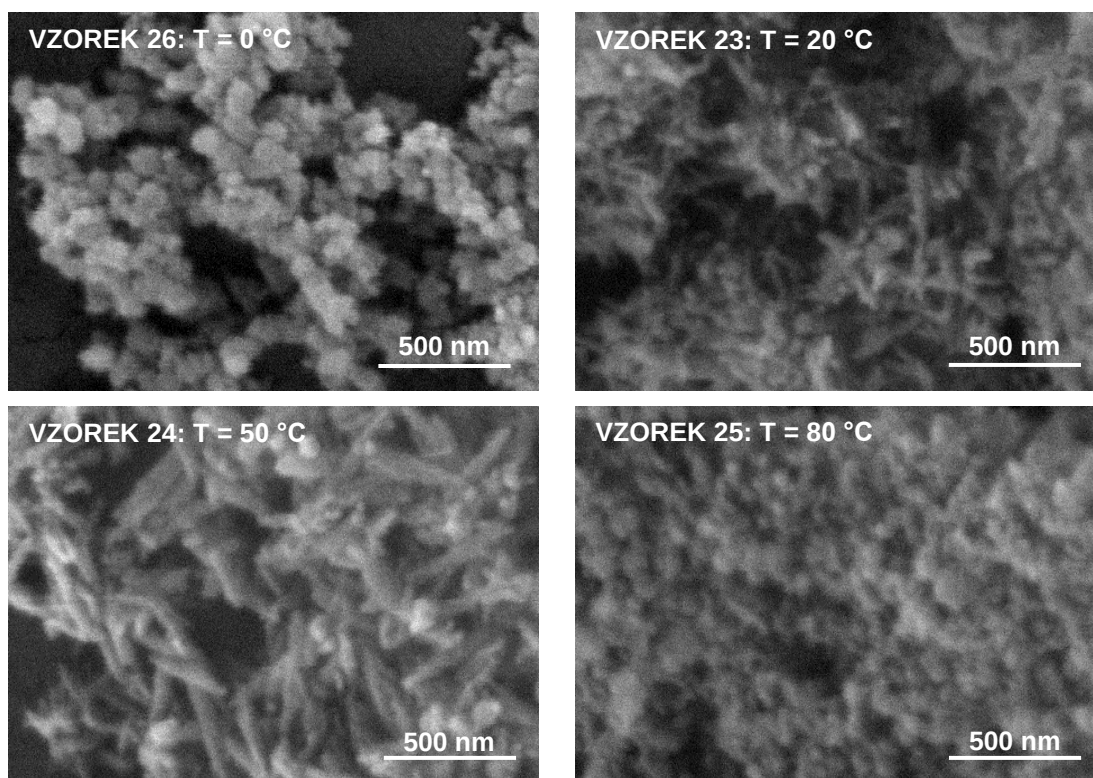
Obr. 52: Distribuce velikosti aglomerátů HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 8.



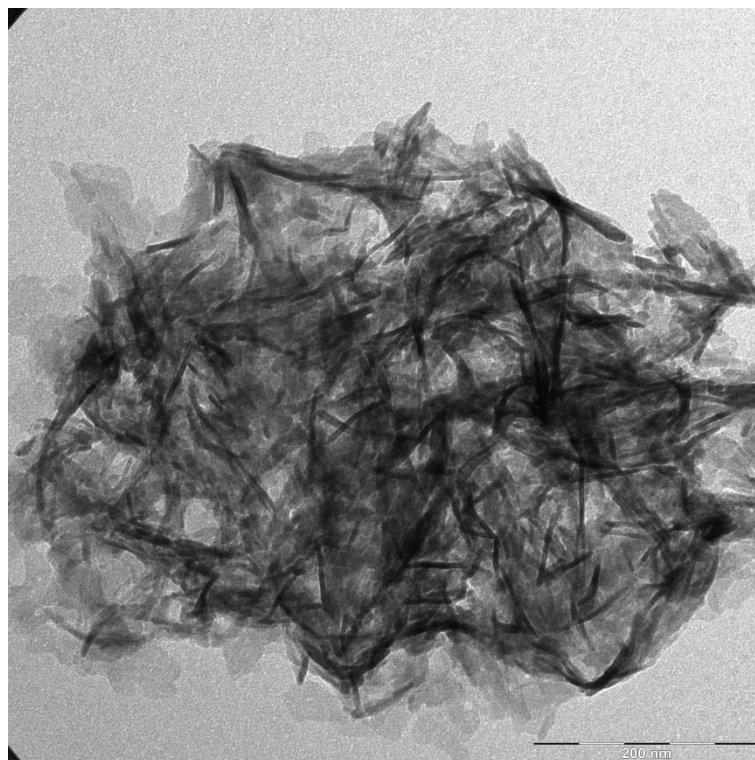
Obr. 53: Distribuce velikosti aglomerátů HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 11.



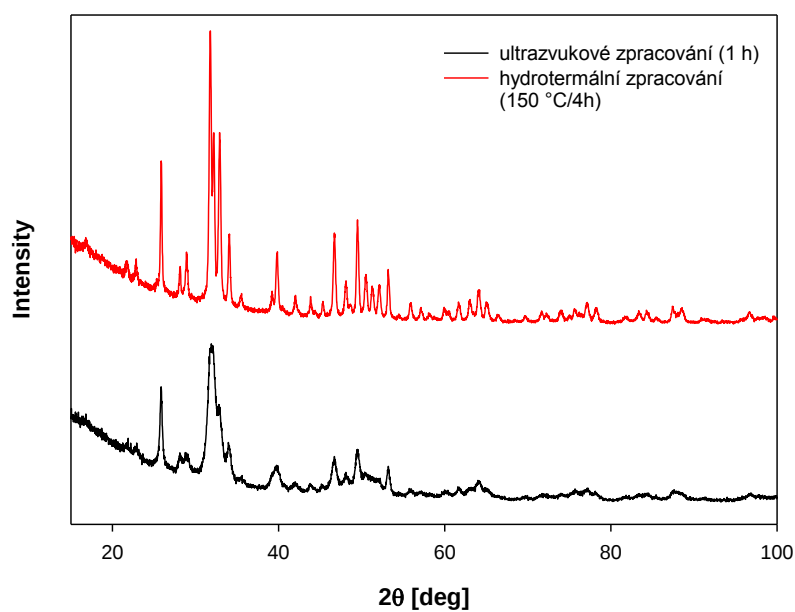
Obr. 54: RTG spektra prášku HA připravených za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10, bez stárnutí (VZOREK 23 a 25).



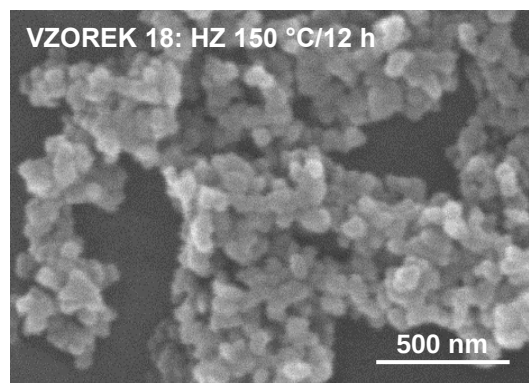
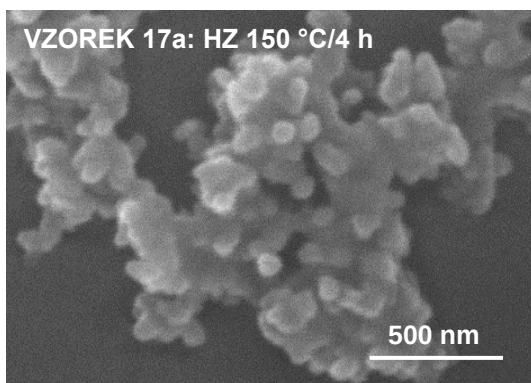
Obr. 55: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10 a bez stárnutí.



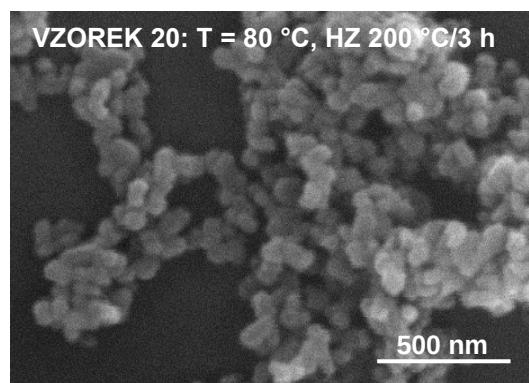
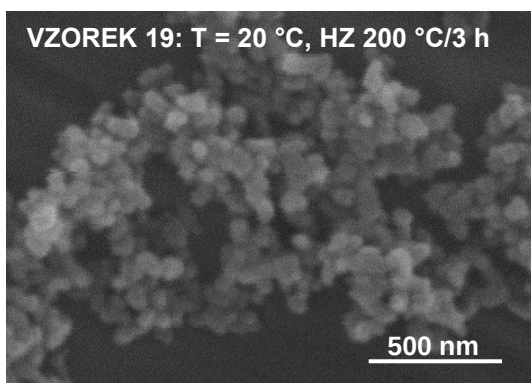
Obr. 56: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a bez stárnutí (VZOREK 23).



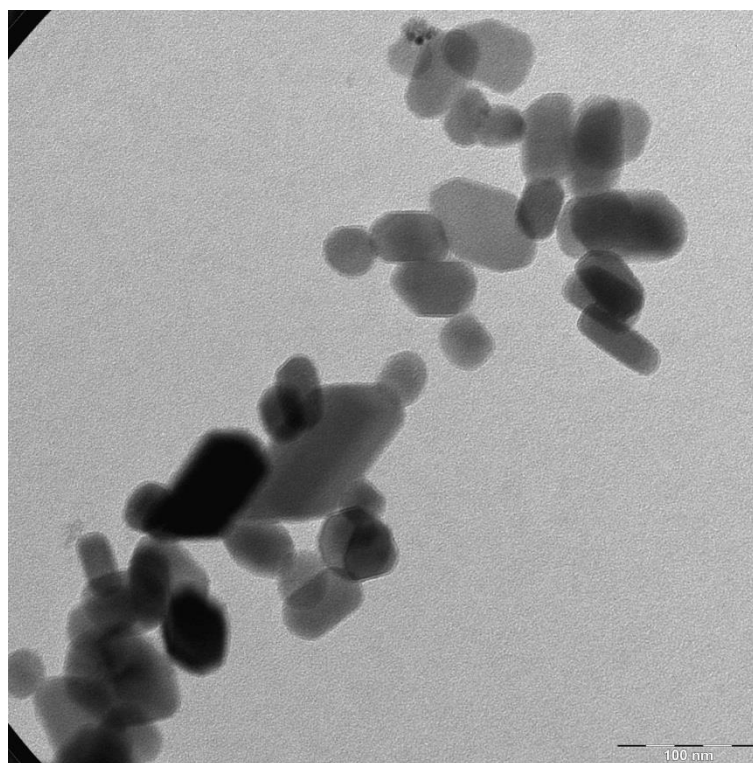
Obr. 57: RTG spektra prášků HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 s post-precipitačním zpracováním ultrazvukem nebo hydrotermálně (VZOREK 17b, 17a).



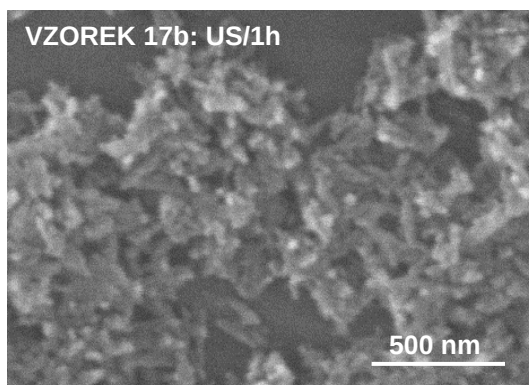
Obr. 58: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a různé doby HZ při 150 °C.



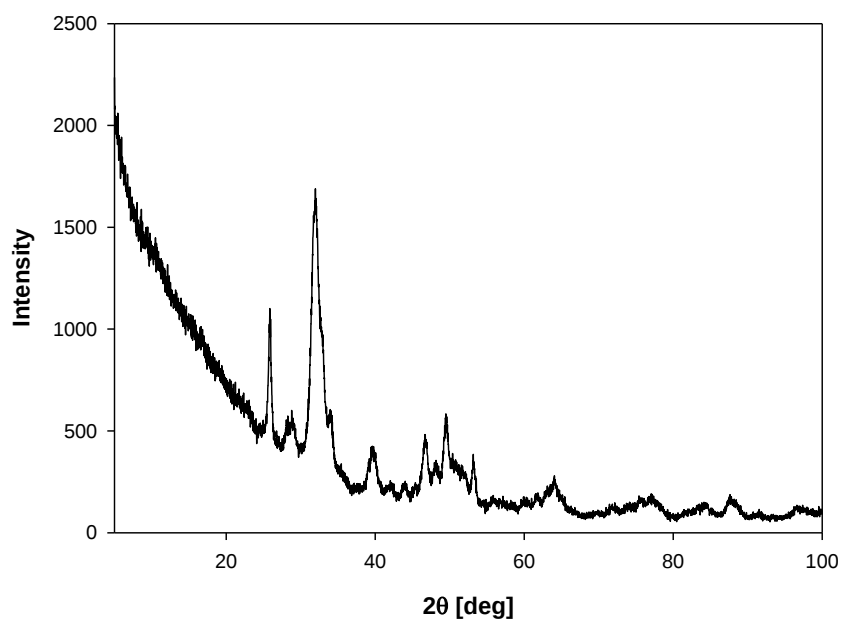
Obr. 59: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C a 80 °C, pH 10 a HZ při 200 °C/3 h.



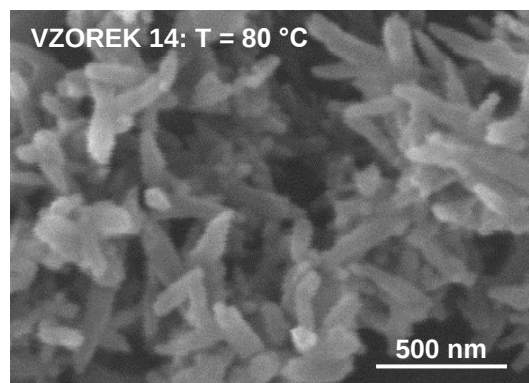
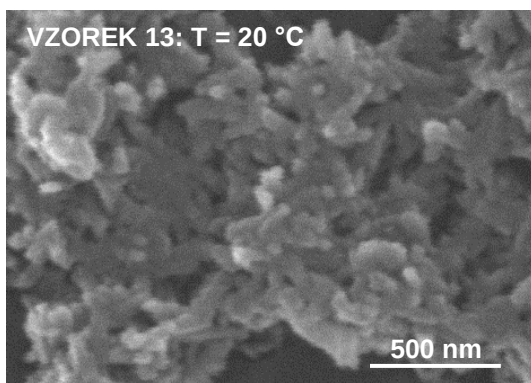
Obr. 60: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a HZ 200 °C/3 h (VZOREK 19).



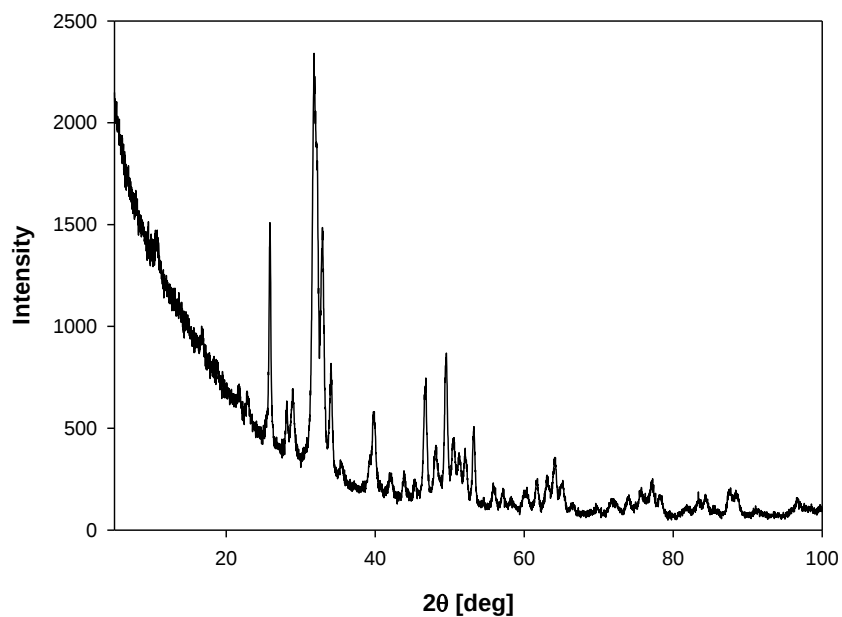
Obr. 61: SEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10 a v přítomnosti US/1 h.



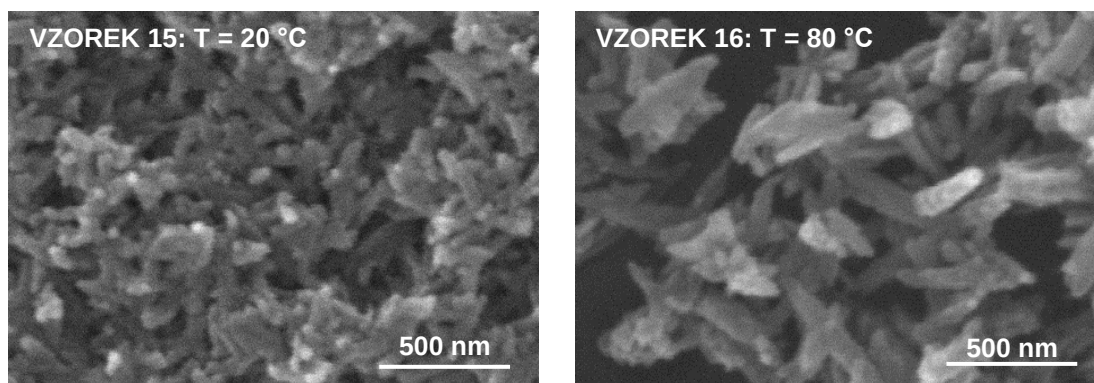
Obr. 62: RTG spektrum prášku HA připraveného za teploty 20 °C, hodnoty pH 10, s přítomností povrchově aktivní látky – Tritonem a dobou stárnutí 24 h (VZOREK 13).



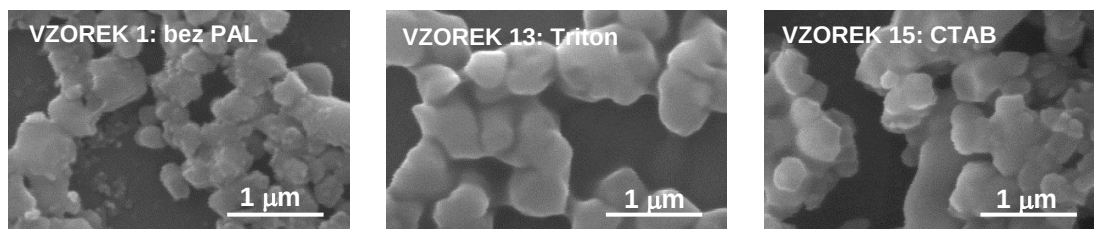
Obr. 63: SEM snímky HA připraveného za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10 a PAL Tritonem.



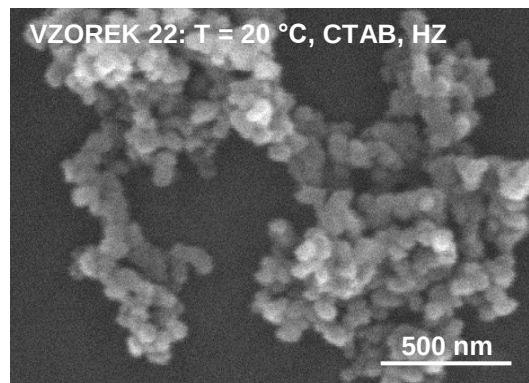
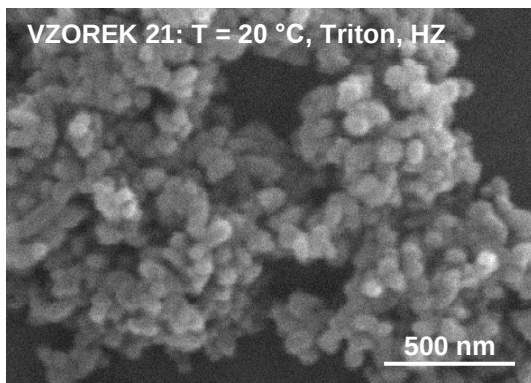
Obr. 64: RTG spektrum prášku HA připraveného za teploty 20 °C, hodnoty pH 10, s přítomností povrchově aktivní látky – CTAB a dobou stárnutí 24 h (VZOREK 15).



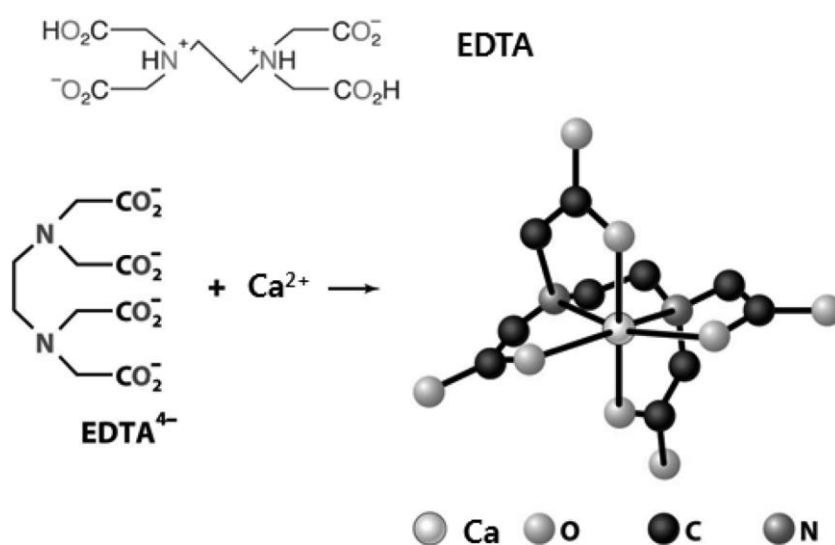
Obr. 65: SEM snímky HA připraveného za teplot 20 °C a 80 °C, pH 10 a PAL CTAB.



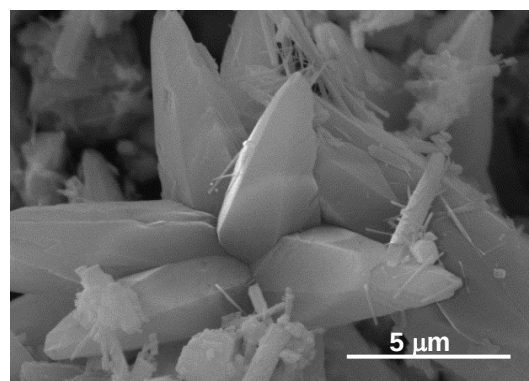
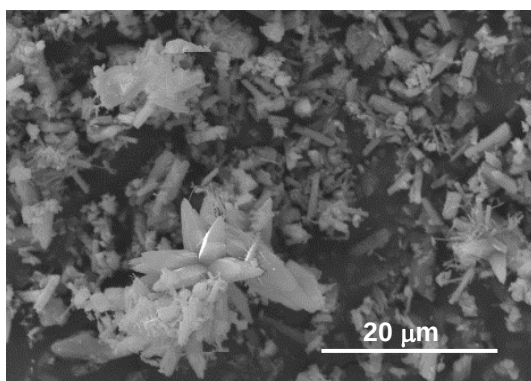
Obr. 66: SEM snímky kalcinovaného HA na 1000 °C připraveného za teplot 20 °C, pH 10, bez PAL, s PAL Tritonem a CTAB.



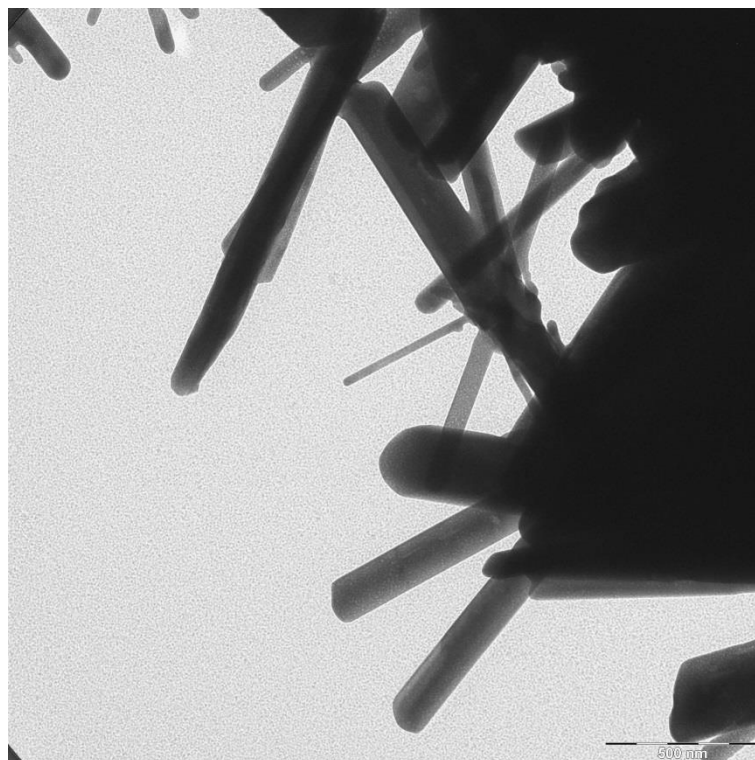
Obr. 67: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, PAL Triton a CTAB a HZ 200 °C/3 h.



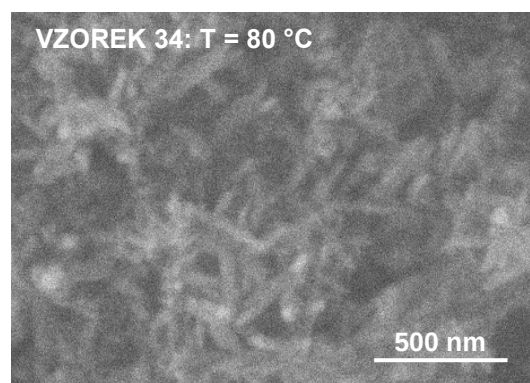
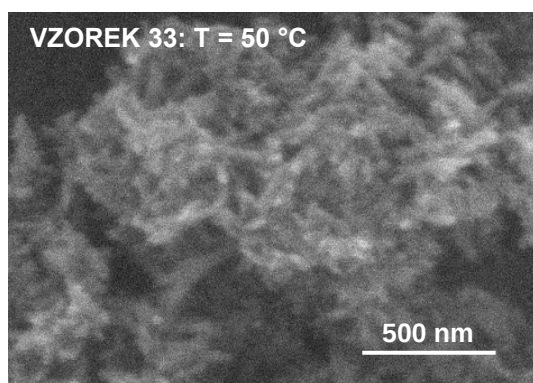
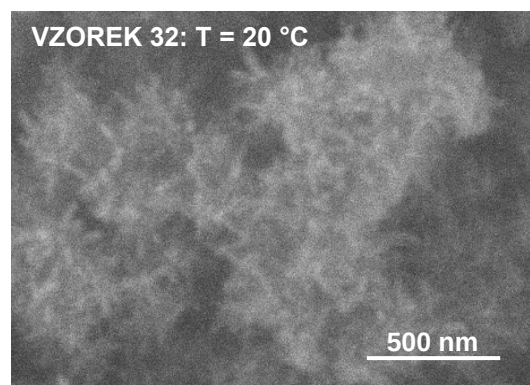
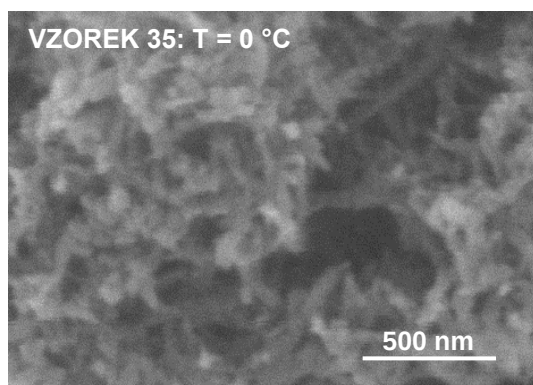
Obr. 68: Vznik vápenatého komplexu reakcí chelatačního činidla EDTA s vápenatou solí. [48]



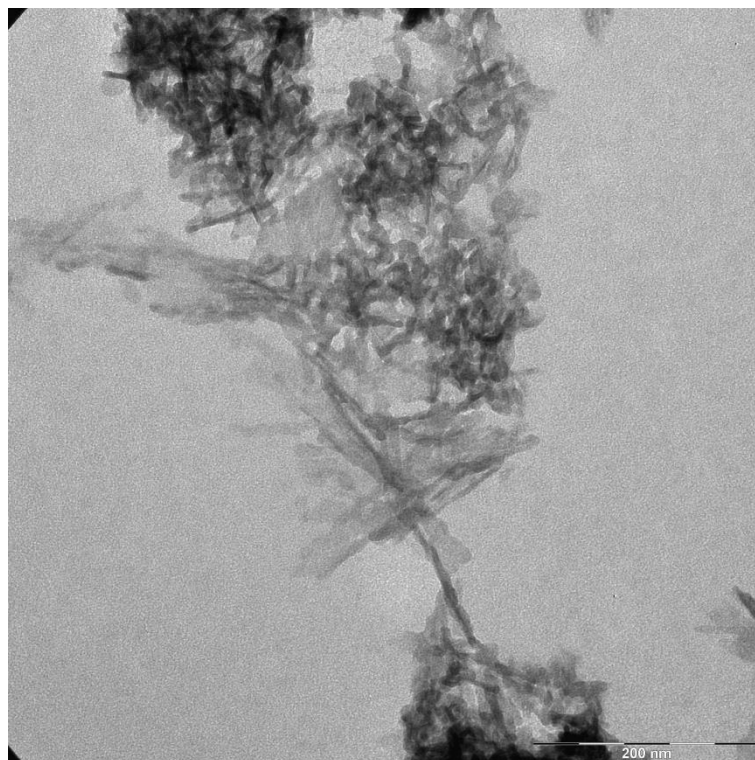
Obr. 69: SEM snímky HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, chelatačního činidla EDTA a HZ 200 °C/3 h (VZOREK 30).



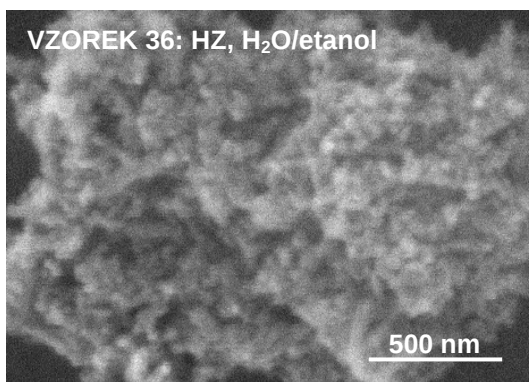
Obr. 70: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, chelatačního činidla EDTA a HZ 200 °C/3 h (VZOREK 30).



Obr. 71: SEM snímky HA připraveného za teplot 0 °C až 80 °C, pH 10, v prostředí H<sub>2</sub>O/etanol.



Obr. 72: TEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, v prostředí H<sub>2</sub>O/etanol (VZOREK 32).



Obr. 73: SEM snímek HA připraveného za teploty 20 °C, pH 10, v prostředí H<sub>2</sub>O/etanol, HZ 150 °C/12 h.