

Obsah

Přehled použitých zkratk a symbolů.....	4
1. Pojmy biomateriál a biokompatibilita.....	5
2. Teoretický úvod do problematiky kovových biomateriálů	7
2.1. Nerezové oceli	7
2.2. Typy a složení nerezových ocelí	8
2.3. Vlastnosti nerezových ocelí.....	8
2.4. Technologie výroby implantátu z nerezových ocelí.....	9
2.5. Slitiny na bázi kobaltu	9
2.6. Typy a složení slitiny na bázi kobaltu	10
2.7. Vlastnosti slitin na bázi kobaltu.....	10
2.8. Výroba implantátu ze slitin na bázi Co	11
3. Titan	12
3.1. Čistý Ti	13
3.2. Titanové slitiny ($\alpha + \beta$).....	14
3.3. Slitiny na bázi β -Ti	17
3.4. Slitiny Ni-Ti.....	18
3.5. TiO.....	18
4. Hydroxyapatit	19
4.1. Základní informace.....	19
4.2. Příprava HAp.....	20
4.2.1. Metoda pevného stavu.....	21
4.2.2. Mechanicko-chemická metoda.....	22
4.2.3. Konvenční chemická precipitace	22
4.2.4. Metoda Sol-gel	24
4.2.5. Metoda přípravy z biogenních zdrojů	24
5. Nanostrukturovaný diamant.....	25
6. Současný stav depozice HAp a Ti	29
7. Návrh vlastního řešení	30
7.1. Popis celé koncepce.....	30
8. Laserová technika	31
8.1. Princip laseru	31
8.2. Vlastnosti laserového záření.....	33
8.3. Dělení laserů	33
8.4. Aplikace laserů	33

8.5.	Použitý laser	34
9.	Metody charakterizace deponovaných povrchů.....	35
9.1.	Konfokální mikroskopie	35
9.1.1.	Princip	35
9.1.2.	Základní specifikace používaného zařízení.....	35
9.2.	Ramanova spektroskopie	35
9.2.1.	Princip	35
9.2.2.	Základní specifikace používaného zařízení.....	35
9.3.	SEM/EDX.....	36
9.3.1.	Princip SEM	36
9.3.2.	Princip EDX	36
9.3.3.	Základní specifikace používaného zařízení.....	36
9.4.	XRD.....	36
9.4.1.	Princip	36
9.4.2.	Základní specifikace používaného zařízení.....	36
9.5.	Analyzátor velikosti částic a molekul (Zetasizer)	37
9.5.1.	Princip	37
9.5.2.	Základní specifikace používaného zařízení.....	37
9.6.	HRTEM	37
9.6.1.	Princip	37
9.6.2.	Základní specifikace použitého zařízení	37
10.	Experimentální část/shrnutí výsledků	38
10.1.	Návrh vlastního řešení experimentu – Laserová ablace	38
10.1.1.	Laserová depozice ve vakuu.....	38
10.1.2.	Laserová depozice ve vodě.....	39
10.1.3.	Popis použitých vstupních materiálů.....	40
10.1.4.	Vzorky získané laserovou ablací ve vakuu a ve vodě	41
10.2.	Analýza SEM/Mapping	42
10.2.1.	Titan (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vakuu).....	42
10.2.2.	HAp (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vakuu).....	45
10.2.3.	HAp (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě).....	48
10.2.4.	HAp + nD (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě).....	51
10.2.5.	Ti (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě)	54
10.2.6.	TiO (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě).....	56
10.3.	Ramanova spektroskopie	58

10.3.1.	Peaky známe z literatury.....	58
10.3.2.	Spektrum TiO (500 pulzů, připravený ve vakuu).....	60
10.3.3.	Spektrum Ti (1000 pulzů, připravený ve vakuu).....	61
10.3.4.	Spektrum HAp+nD (1000 pulzů, připravený ve vodě)	62
10.4.	HRTEM.....	63
11.	Závěr.....	65
11.1.	Porovnání způsobů přípravy a její optimalizace	65
11.2.	Zmapování morfologie jednotlivých vzorků	65
11.3.	Popsání chemického složení a typů vazeb	66
11.4.	Potvrzení amorfnní povahy titanové vrstvy	66
11.5.	Shrnující tabulka	67
11.6.	Poděkování.....	67
12.	Použité zdroje.....	68

Přehled použitých zkratk a symbolů

ASTM = z anglického American Society for Testing and Materials, česky Americká společnost pro testování a materiály

CVD = z anglického Chemical Vapor Deposition, česky Chemická depozice z plynné fáze

Doxorubicin = název pro léčivo používané k léčbě rakoviny metodou chemoterapie

EDX = z anglického Energy-Dispersive X-ray spectroscopy (popř. EDS), česky Energiově disperzní spektroskopie

HAp = Hydroxyapatit

(HR)TEM = z anglického (High-Resolution) Transmission Electron Microscopy, česky Transmisní elektronový mikroskop (s vysokým rozlišením)

HVOF = High Velocity Oxygen Fuel, česky Vysokorychlostní nástřik plamenem

In vitro = latinský překlad „ve skle“, v praxi znamená mimo živé tělo, ve zkumavce

In vivo = latinská překlad „v živém“, v praxi znamená v živém nebo na živém těle, zaživa

LASER = z anglického Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, česky zesilování světla stimulovanou emisí

MASER = z anglického Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation, česky zesilování mikrovln stimulovanou emisí

nD = nanodiamant

Nd:YAG = Laser s nosným prostředím, které tvoří ionty neodymu Nd³⁺. To je dotováno yttrium aluminium granátem.

Osseointegrace = vrůstání do kostí, vytváření přímého spojení kost - implantát

PEI800 = anglicky low-molecular-weight polyethylenimine, česky polyethylenimin s nízkou molekulovou hmotností

Protein ABC – zkratka slov ATP Binding Cassette, česky ABC transportní protein

PVD = z anglického Physical Vapour Deposition, česky Fyzikální depozice z plynné fáze

SEM = z anglického Scanning Electron Microscopy, česky Řádkovací elektronová mikroskopie

siRNA = z anglického small interfering RNA, označení pro skupinu dvouvláknových RNA

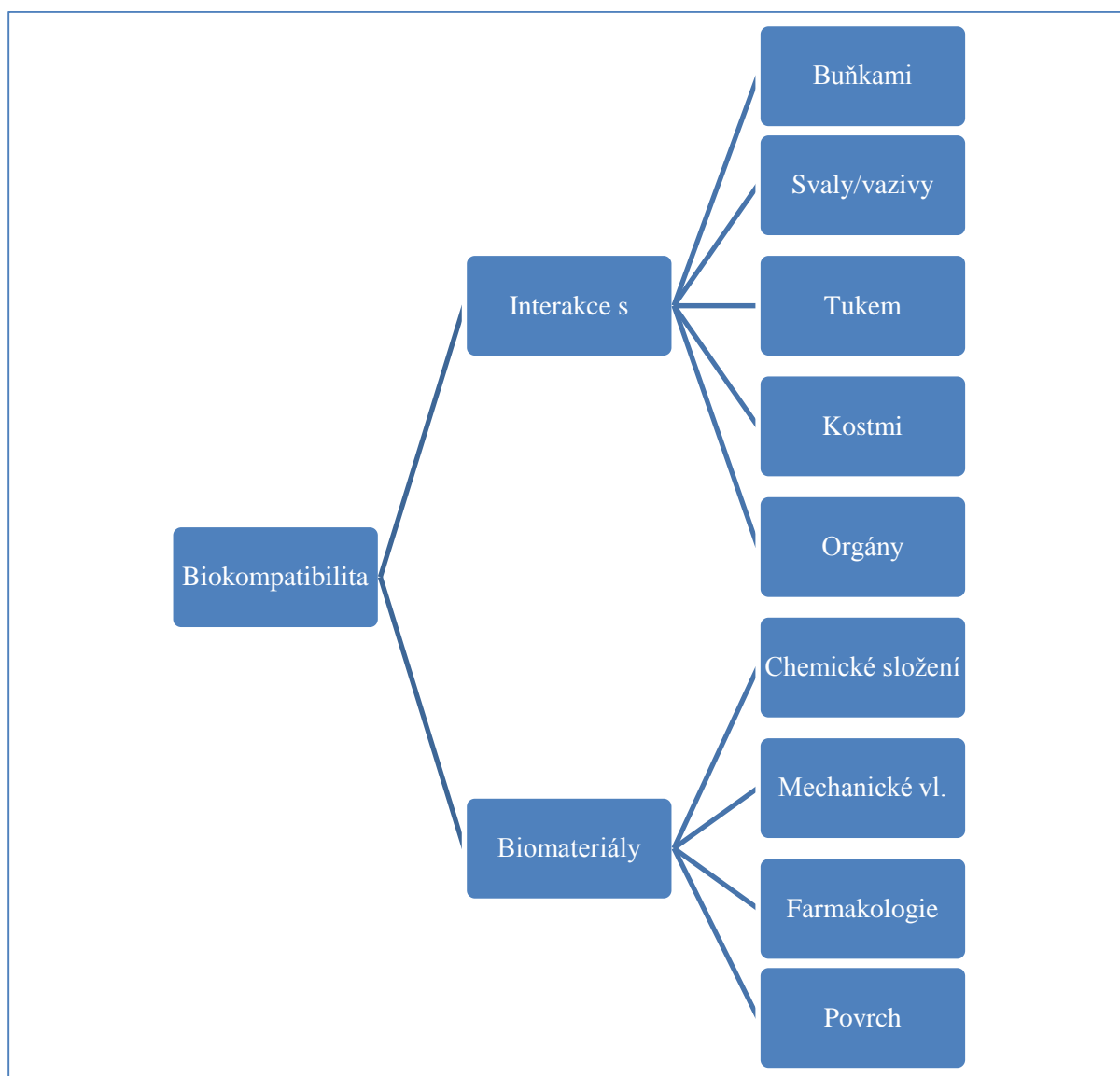
XRD = z anglického X-Ray Diffraction, česky Rentgenová difrakce

1 μm = 10⁻⁶ m

1 nm = 10⁻⁹ m

1. Pojmy biomateriál a biokompatibilita

Biomateriál lze definovat jako jakýkoli materiál, který je použit jako náhrada části lidského těla způsobem bezpečným, spolehlivým, ekonomickým a fyziologicky akceptovatelným. Úspěch biomateriálu nebo implantátu je vysoce závislý na čtyřech hlavních faktorech: vlastnosti, biokompatibilita implantátu, zdravotní stav příjemce a na zkušenostech lékaře, který operuje a sleduje další vývoj implantátu. Pojem biokompatibilita se může rozložit do několika podčástí, které ji definují. Strom těchto vlastností je vidět na Obrázku 1. Mezi další faktory, které jsou klíčové pro biomateriál (ty, jež nejsou zmíněné v diagramu), patří koroze, degradace, depozice proteinů, zapouzdření, vznik krevní sraženiny, vápenatění, uvolnění toxických látek, zkrěhnutí, rozklad buněk nebo systematická reakce.[1]



Obrázek 1 - Schématická ilustrace pojmu biokompatibilita [1]

Dále je pro splnění biokompatibility je nutné dodržet tyto podmínky:

- 1) Přijetí implantátu tkání
- 2) Farmakologická přijatelnost (tzn. netoxické, nezpůsobující alergii, neimunogenní, nekarzinogenní)
- 3) Chemicky inertní a stálé (žádná degradace v závislosti na čase)
- 4) Adekvátní mechanické vlastnosti
- 5) Adekvátní únavové vlastnosti
- 6) Patříčná váha a hustota
- 7) Poměrně nedrahé, reprodukovatelné a co nejnázve vyrobiteľné pro velkovýrobu

V Tabulce 1 jsou popsány výhody, nevýhody a použití čtyř hlavních skupin umělých (člověkem vytvořených) materiálů, které jsou používány pro implantáty. Rekonstituované (přírodní) materiály jako je kolagen, byly a jsou stále také používány pro náhrady (např. arteriální stěny, srdeční chlopně a kůže). [1]

Materiál	Výhody	Nevýhody	Příklad použití
Polymery			
<ul style="list-style-type: none"> • Nylon • Silikon • Kaučuk • Polyester • Polytetrafluoretylen 	<ul style="list-style-type: none"> • Odolné • Snadno vyrobiteľné 	<ul style="list-style-type: none"> • Málo pevné • Časem se ničí • Mohou degradovat 	<ul style="list-style-type: none"> • Stehy • Cévy • Pouzdro u náhrady kyčelního kloubu
Kovy			
<ul style="list-style-type: none"> • Ti a jeho slitiny • Cr-Co slitiny • Nerezová ocel 	<ul style="list-style-type: none"> • Pevné • Houževnaté • Tvárné 	<ul style="list-style-type: none"> • Koroze • Hustota • Složitá výroba 	<ul style="list-style-type: none"> • Kloubní náhrady • Destičky a šrouby pro zlomeniny • Dráty paceru
Keramika			
<ul style="list-style-type: none"> • Zirkonkorund • Fosforečnan vápenatý (Hydroxyapatit) 	<ul style="list-style-type: none"> • Velmi biokompatibilní 	<ul style="list-style-type: none"> • Křehký • Neodolný • Slabý při napětí 	<ul style="list-style-type: none"> • Zubní a ortopedické implantáty
Kompozity			
<ul style="list-style-type: none"> • Karbonové vlákna • Pojiva 	<ul style="list-style-type: none"> • Pevné • Na míru 	<ul style="list-style-type: none"> • Těžce vyrobiteľné 	<ul style="list-style-type: none"> • Pojivo mezi implantátem a kostí

Tabulka 1 – Rozdělení materiálů používaných v lidském těle [1]

2. Teoretický úvod do problematiky kovových biomateriálů

Kovy byly používány v mnoha formách jako implantáty. První člověkem vyvinutý materiál konkrétně pro člověka byla Shermanova ocel, obsahující jako hlavní leguru především vanad. Používala se zejména k výrobě destiček a šroubů používaných při frakturách kostí. Většina kovů používaná pro výrobu implantátů (např. Fe, Cr, Co, Ni, Ti, Ta, Mo a W) může být tolerovaná lidským tělem v malých množstvích. Někdy jsou tyto kovy, přítomny ve své přírodní formě, základem funkce buněk (Fe) nebo syntézy vitamínu B12 (Co) a také za zasíťování elastinu v aortě (Cu). Ale stále platí, že pokud jsou takto přítomny, jejich množství je velmi nízké. Biokompatibilita kovů je výraznou vlastností, protože v prostředí lidského těla dochází ke korozním procesům. Následky koroze zahrnují úbytek materiálu, což zhoršuje mechanické vlastnosti implantátu, ale pravděpodobně ještě důležitější je fakt, že produkty koroze unikají do okolní tkáně. Výsledky takových úniků jsou nežádoucí a velmi rizikové. V tomto oddílu budou popsány kovy, které se používají pro výrobu implantátů. [1]

2.1. Nerezové oceli

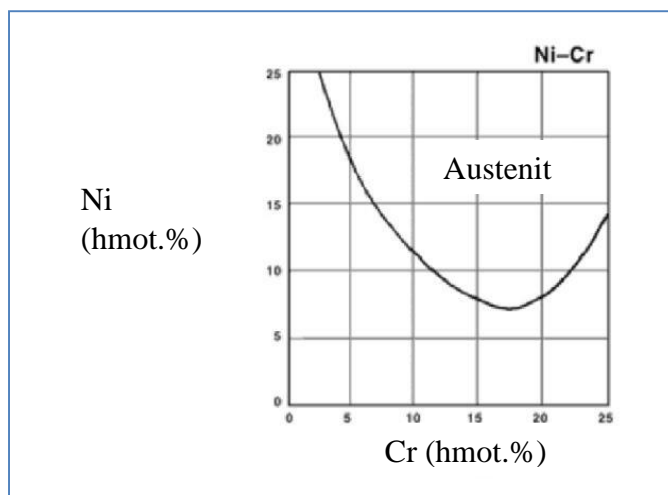
První použitou ocelí z této skupiny použitou pro výrobu implantátu byla ocel s označení 18-8 (označení 302 v moderní podobě značení). Tato ocel je pevnější ve srovnání s běžnou ocelí a také odolnější vůči korozi. Tento typ oceli se však dnes již nepoužívá. Pozdějším zástupce byla 18-8sMo, kde molybden způsobuje větší odolnost vůči korozi a to především ve slané vodě. Tato slitina se vžila pod označením nerezová ocel 316. V padesátých letech dvacátého století bylo množství uhlíku sníženo z 0,08 na 0,03 hmot. % pro ještě lepší korozní odolnost v chloridových zásadách, takto upravená dostala označení 316L (písmeno L značí Low Carbon, tedy nízký obsah uhlíku). Její chemické složení je vidět z Tabulky 2. [1]

Prvek	Hmot. %
Uhlík	max. 0,030
Mangan	max. 2,00
Fosfor	max. 0,025
Síra	max. 0,010
Silicon	max. 0,75
Chróm	17,00 – 19,00
Nikl	13,00 – 15,00
Molybden	2,25 – 3,00
Dusík	max. 0,10
Měď	max. 0,50

Tabulka 2 – Zastoupení prvků v nerezové oceli 316L [1]

2.2. Typy a složení nerezových ocelí

Chrómová představuje jeden z hlavních komponentů nekorodujících ocelí. Minimální efektivní koncentrace chrómu je 11 hmot. %. Chrómová je velmi reaktivní prvek, ale samotný nebo jeho slitiny mohou být pasivovány a tak získat výjimečnou odolnost proti korozi. Podle ASTM (neboli American Society of Testing and Materials) je doporučeno používat spíše typ 316L pro výrobu implantátů. Dalším významným prvkem je Ni, který slouží ke stabilizaci austenitické fáze za pokojové teploty a mimo jiné slouží ke zlepšení korozní odolnosti. Austenitická fáze a její stabilita může být ovlivněna jak Cr, tak Ni. To je vidět i na Obrázku 2. [1]



Obrázek 2 – vliv Cr a Ni na tvorbu austenitické fáze [1]

2.3. Vlastnosti nerezových ocelí

V Tabulce 3 je k vidění souhrn mechanických vlastností. Jak je patrné z tabulky, existuje velký rozsah vlastností závisející především na zvoleném tepelném zpracování (pro získání měkčích materiálů) nebo na způsobu kalení (za účelem vyšší pevnost a tvrdosti). [1]

Slitina	Mez kluzu [MPa]	Mez pevnosti [MPa]	Prodloužení [%]	Tvrdość HRB
316L - F138 (trubková)				
žíhaná	190	490	40	---
tvářená za studena	690	860	12	---
tažená za studena	---	860	---	---
316 - F139 (plech)				
žíhaná	190	490	40	95
tvářená za studena	690	860	10	---

Tabulka 3- Mechanické vlastnosti nerezových ocelí [1]

Avšak je nutné věnovat pozornost budoucího umístění v lidském těle, protože navzdory výše zmíněné odolnosti proti korozi se ve vysoce namáhaných částech těla nebo v oblastech vysoké spotřeby kyslíku tato vlastnost výrazně zhoršuje. I tak jsou tyto slitiny vhodné pro dočasné použití jako např. destičky, šrouby a hřeby používané při zlomeninách. [1]

2.4. Technologie výroby implantátu z nerezových ocelí

U způsobu výroby je důležité věnovat pozornost tepelnému zpracování, a to především takovému, které může zavinit vznik karbidu chromičitého CrC_4 po hranicích zrn, které vyčerpá chrom a uhlík ze zrn, což způsobuje korozi. Ze stejného důvodu nejsou implantáty z austenitických ocelí svařovány. [1]

Dalším problémem objevujícím se u tepelného zpracování může být distorze, která se však snadno vyřeší stejným zahříváním. Dalším nežádoucím efektem tepelného zpracování je formace oxidů na povrchu, které musí být odstraněny buďto chemickou cestou (za pomoci kyseliny) nebo mechanicky (opískování). Po odstranění této složky je implantát vyleštěn na lesklý či matný povrch. Následuje očištění, odmaštění a pasivace v kyselině dusičné (dle standardu ASTM F86). Před samotným balením probíhá opětovné čištění a sterilizace. [1]

2.5. Slitiny na bázi kobaltu

Tyto materiály nesou nejčastěji označení jako slitiny Co-Cr. V zásadě jsou dvojího druhu: prvním zástupcem je slitina CoCrMo (F75), která je obvykle odlévána. Druhou slitinou je Co-NiCrMo (F562), ta je kovaná za tepla. Slitina na odlévání, tedy CoCrMo, bývala a je až do současnosti používána v zubním lékařství a pro výrobu umělých kloubů. Kovaná slitina Co-NiCrMo se používá pro drátky protéz, které jsou extrémně namáhané (jako např. kolenní a kyčelní klouby). Mechanické vlastnosti kobaltových slitin jsou patrné z Tabulky 4.[1]

Slitina	Mez kluzu [MPa]	Mez pevnosti [MPa]	Min. prodloužení [%]	Únavová pevnost
Co28Cr6Mo (F75) odlévána	450	655	8	310
Co20Cr15W10Ni (F90) žíhaná	310	860	30	---
Co28Cr6Mo (F1537) žíhaná	517	897	20	---
tvářená za tepla	700	1000	12	---
tvářené za středních teplot	827	1172	12	---
Co35Ni20Cr10Mo (F562) žíh.	241	793	50	340

Tabulka 4 - Mechanické vlastnosti kobaltových slitin [1]

2.6. Typy a složení slitiny na bázi kobaltu

Seznam dle ASTM obsahuje 4 slitiny, které jsou doporučeny pro použití v podobě implantátů. Jsou to odlévaná slitina CoCrMo (označení F75), kovaná slitina CoCrWNi (F90), kovaná slitina CoNiCrMo (F562) a kovaná slitina CoNiCrMoWFe (F563). V současnosti jsou široce používány pouze dvě z výše uvedených v oblasti implantátů. Jsou to odlévaná slitina CoCrMo a kovaná slitina CoNiCrMo. Jak je patrné z Tabulky 5, jsou tyto dvě slitiny odlišné z hlediska složení. [1]

Prvek	Co28Cr6Mo (F75) odlévaná		Co20Cr15W10Ni (F90) kovaná		Co28Cr6MO (F1537) kovaná		Co35Ni20Cr10Mo (F562)	
	min	max	min	max	min	max	min	max
Cr	27,0	30,0	19,0	21,0	26,0	30,0	19,0	21,0
Mo	5,0	7,0	---	---	5,0	7,0	9,0	10,5
Ni	---	2,5	9,0	11,0	---	1,0	33,0	37,0
Fe	---	0,75	---	3,0	---	0,75	9,0	10,5
C	---	0,35	0,05	0,15	---	0,35	---	0,025
Si	---	1,0	---	1,00	---	1,0	---	0,15
Mn	---	1,0	---	2,0	---	1,0	---	0,15
W	---	0,20	14,00	16,0	---	---	---	---
P	---	0,02	---	0,04	---	---	---	0,15
S	---	0,01	---	0,03	---	---	---	0,01
N	---	0,25	---	---	---	0,25	---	---
Al	---	0,3	---	---	---	---	---	---
Bo	---	0,01	---	---	---	---	---	0,015
Ti	---	---	---	---	---	---	---	0,015
Co	Vyvážený zůstatek							

Tabulka 5 - Chemické složení kobaltových slitin [1]

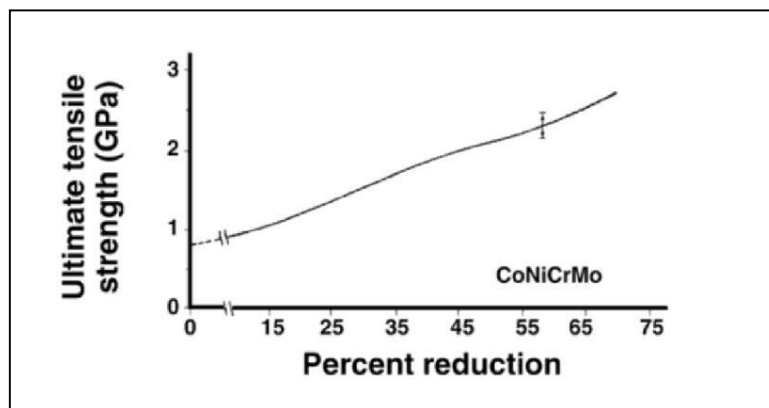
2.7. Vlastnosti slitin na bázi kobaltu

Dva základní prvky slitin na bázi kobaltu tvoří tuhý roztok od 65 hmot. % Co a zbytek tvoří Cr. Molybden se přidává pro zjemnění zrna, což vyústí ve větší pevnost po odlití nebo po kování.

Jedna z nejslibnějších kovaných slitin na bázi Ni je slitina CoNiCrMo, původně nesoucí označení MP35N, která obsahuje přibližně 35 hmot. % Co a také Ni. Slitina má vysokou odolnost proti korozi ve slané vodě (tedy v roztoku obsahující chloridové ionty) pod napětím. Zpracováním za studena se může značně zvýšit pevnost (Obrázek 3 na následující straně). Nicméně při výrobě zvláště velkých zařízení jako je např. implantát pro kyčelní náhradu, je zpracování za studena velmi složité. Proto pro výrobu těchto implantátů z těchto slitin může být zvoleno jen kování za tepla. [1]

Abrázivní opotřebení je u obou slitin podobné a pohybuje se okolo 0.14 mm/rok (tato hodnota je z orientačního testovacího měření pro kloubní náhradu). Taková hodnota opotřebení by

mohla být nepřijatelná z hlediska současných protéz. To znamená, že výše zmíněné slitiny nejsou doporučeny pro nosné plochy jakýchkoli kloubních náhrad, kvůli jejich frikčnímu koeficientu vůči sobě samým nebo vůči jinému materiálu. Vyšší únavová pevnost a mez pevnosti v tahu dělá z kované slitiny CoNiCrMo vhodnou volbu pro aplikace vyžadující dlouhodobou práci bez vzniku únavové trhliny nebo prasknutí. Jako takovou aplikaci lze zmínit náhradu kyčelního kloubu. Tato výhoda se velmi oceňuje, protože pokud implantát praskne a je potřeba jej vyndat a vyměnit za jiný. Je totiž poměrně složitou operací odstranit poškozený dřík připevněný hluboko do dřevnatého kanálu femuru (stehenní kosti). [1]



Obrázek 3 - Vliv na mez pevnosti CoNiCrMo množstvím tváření zastudena [1]

Mezi základní charakteristiku mechanických vlastností požadovaných od slitin na bázi Co je jako v případě ostatních slitin stoupající pevnost doprovázena snižující se tvárností. Obě slitiny, jak tvářená, tak odlévaná disponují vynikající odolností vůči korozi.

Modul pružnosti se pohybuje u slitin na bázi kobaltu v rozmezí 220 až 234 GPa. Tyto hodnoty jsou vyšší než u ostatních materiálů, jako např. nerezové oceli. Zpracování za studena a tepelné zpracování mají pouze nepatrný efekt na modul pružnosti, zato podstatný na pevnost a tvrdost. Rozdíly v modulu pružnosti mohou mít nějaké důsledky pro různé druhy zatížení kostí, protože není jasně stanoveno, jaký dopad má vzrůstající modul pružnosti. Vždy, když je požadováno snížení tuhosti, je možné nahradit tyto slitiny za slitiny na bázi Ti. Ty mají totiž hodnoty modulu pružnosti a hustoty o zhruba polovinu nižší. [1]

2.8. Výroba implantátu ze slitin na bázi Co

Slitina CoCrMo je částečně citlivá na zpevňující pochody, nemohou být proto zahrnuty do procesu výroby, jako je tomu u jiných slitin. Namísto toho je slitina odlévána metodou ztraceného vosku (nebo přesným litím). Důležitá je kontrola teploty formy, protože teplota přímo ovlivňuje velikost zrna. Při vyšších teplotách, zrno hrubne a to má za následek snížení pevnosti slitiny. Při zpracování za vyšších teplot se také tvoří větší karbidy s vyšší vzájemnou vzdáleností, což způsobí, že výsledný materiál je méně křehký. [1]

3. Titan

Titan je znám jako prvek asi 220 let. Ale až v posledních 60 letech dosáhl strategického významu. V tomto čase stoupl komerční využití titanových slitin ve Spojených státech amerických z 0 na 23 milionů kg/ročně. Tento enormní nárůst má na svědomí Dr. Wilhelm J. Kroll a jeho vývoj relativně bezpečné, ekonomicky příznivé metody produkce titanu ve 30. letech minulého století. Tento proces zahrnoval redukci chloridu titaničitého ($TiCl_4$), nejprve sodíkem a vápníkem, později s hořčíkem v inertní ochranné atmosféře. Výzkum Krolla a dalších pokračoval i v období druhé světové války. Titan pro komerční využití se začal vyrábět ve Spojených státech amerických v roce 1956. Také vývoj slitin na bázi titanu byl velice rychlý a tak již v padesátých letech 20. století by objeven pozitivní vliv přidání hliníku. Tak se začaly široce používat Ti-6Al-4V a Ti-5Al-2.5Sn. [2]

Rychlý průmyslový nárůst titanu svědčí o vysoké pevnosti a korozní odolnosti tohoto kovu. S hustotou asi 55% hustoty oceli jsou slitiny titanu široce používány pro součástky vystavené vysokému zatížení v leteckém průmyslu, kde operují za nízkých a středně zvýšených teplot. Titan je také odolný proti korozi, díky pasivační vrstvě stabilních oxidů, kterou vytváří. To dělá z titanu ideální kov na použití v aplikacích, jako jsou např. implantáty v lékařském průmyslu. Především se jedná o použití v ortopedickém průmyslu (kloubní náhrady a fixace zlomenin). Také zcela výhradní postavení mají v oblasti dentálních implantátů, což je další z aplikací vyžadující materiál s výbornými únavovými vlastnostmi. [2]

Na stoupající tendenci použití titanu v medicíně, kromě jeho mechanických a únavových vlastností, měla vliv i jeho odolnost vůči korozi in vivo (v živé tkáni). Ta se především uplatňuje za pomoci pasivační vrstvy TiO_2 , která se utváří velmi rychle. Další vlastností je nižší hodnota modulu pružnosti ve srovnání s ostatními kovovými biomateriály (100 – 110 GPa v porovnání 200 – 230 GPa) a především pak tendence tzv. osseointegrace (tj. růst nových vrstev kostní tkáně na rozhraní kost/implantát po velmi krátkém časovém období). Poslední zmíněná vlastnost představuje značnou výhodu pro trvalé implantáty na rozhraní kostní tkáně. [2]

Čistý titan je tvořen kubickou prostorově středěnou mřížkou (fáze β) nad teplotou $883^\circ C$ (β tranzitní teplota) a hexagonální těsně uspořádanou (fáze α) za teplot nižších. [2]

Přidáním prvků jako Al, N, O a C se stabilizuje fáze α . U fáze β se prvky dělí do dvou typů, β -izomorfní (Mo, V, Nb a Ta) a β -eutektoidní (Fe, W, Cr, Si, Ni, Co, Mn a H). Slitiny titanu β -izomorfní stále víc přitahují zájem pro aplikace v oblasti implantátu pro jejich nízký modul pružnosti, což umožňuje aby tyto slitiny byly vhodně zpracovány. Prvky jako Sn a Zr, které byly nalezeny ve slitinách Ti, jsou považovány jako prvky neutrální s žádným zásadním stabilizačním efektem ani na α či β fázi. [2]

Největší nevýhodou titanových slitin je její velice nízká odolnost proti opotřebení. To z nich dělá nevhodné slitiny pro spoje, resp. povrchy, které musí čelit velkému zatížení. Tuto vlastnost lze zlepšit pomocí modifikace povrchu. Toho může být dosaženo iontovou implantací (N^+) nebo vytvořením TiN filmu na povrchu s využitím jedné z procedur PVD (Physical Vapor Deposition). Z pohledu designu je dnes již možné např. u kyčelního kloubu sestavit implantát z několika dílů z různých materiálů. Jednou z těchto kombinací může být kombinace Al_2O_3 pro hlavičku a slitina Ti pro dřík. Tak se docílí výhodných vlastností u obou částí, odolnost proti opotřebení u hlavičky a dobrých mechanických a únavových vlastností u dříku. Stále však může nastávat problém ve vlastním kontaktu mezi hlavičkou a dříkem. V jejich relativním pohybu totiž stále může docházet k otěru. [2]

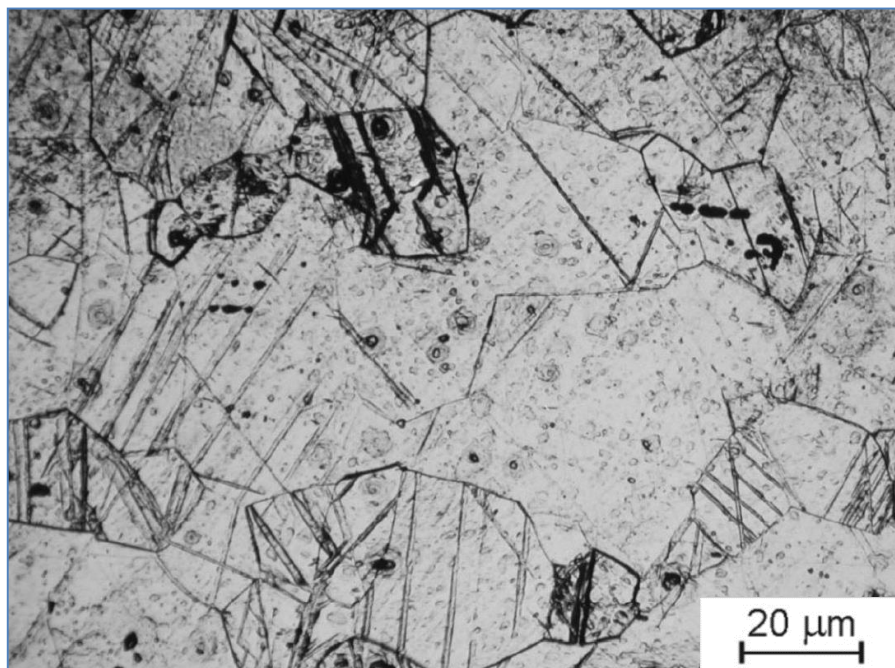
3.1. Čistý Ti

Čistý Ti může obsahovat malé množství intersticiálních prvků, jako jsou O, N a H. Zatímco množství jsou skutečně hodně nízké, mohou i tak zpevnit skrze mechanismus intersticiálního zpevňování mřížku titanu. Čistý Ti je dostupný ve čtyřech stupních. Stupeň I má nejnižší obsah O a nejnižší mez kluzu, ale nejlepší kujnost. Stupeň IV naopak disponuje vysokým procentem O a vysokou mez kluzu a nízkou tažností. Stupeň III a IV jsou používány při výrobě implantátů pro osteosyntézu (léčba fraktur a spojení páteře), ale mechanické vlastnosti (zejména nízká únavová pevnost) brání použití pro kloubní náhrady. Chemické složení je patrné z Tabulky 6. [2]

Stupeň čís- toty	O (max)	N (max)	H (max)	Mez kluzu [MPa]	Mez pev- nosti [MPa]	Prodloužení [%]
1	0,18	0,03	0,015	170	240	24
2	0,25	0,03	0,015	275	345	20
3	0,35	0,05	0,015	380	450	18
4	0,40	0,05	0,015	483	550	15

Tabulka 6 - Chemické složení čistého Ti (všechny hodnoty maximální povolená %) [2]

Z hlediska integrace do kosti, tedy vrůstání, je čistý Ti zvláště atraktivní. Tomu se děje díky zabudování iontů OH^- dovnitř pasivační vrstvy TiO_2 , což má za následek reakci vzniklého zhydroxylovaného povrchu s minerální fází kosti ($\text{Ca}^{2+} + (\text{PO}_4)^{3-}$). Vliv na zpevnění materiálu z čistého Ti má jemnozrnnost struktury, intersticiální prvky kyslík a dusík a také mechanické tváření samotné. Obrázek 4 představuje snímek z řádkovací elektronové mikroskopie. Je zde patrná jedna fáze. Dále jsou velmi dobře rozpoznatelná jednotlivá zrna a některé hranice zrn vykazují morfologii vzniklou po růstu dvojčatěním. [2]



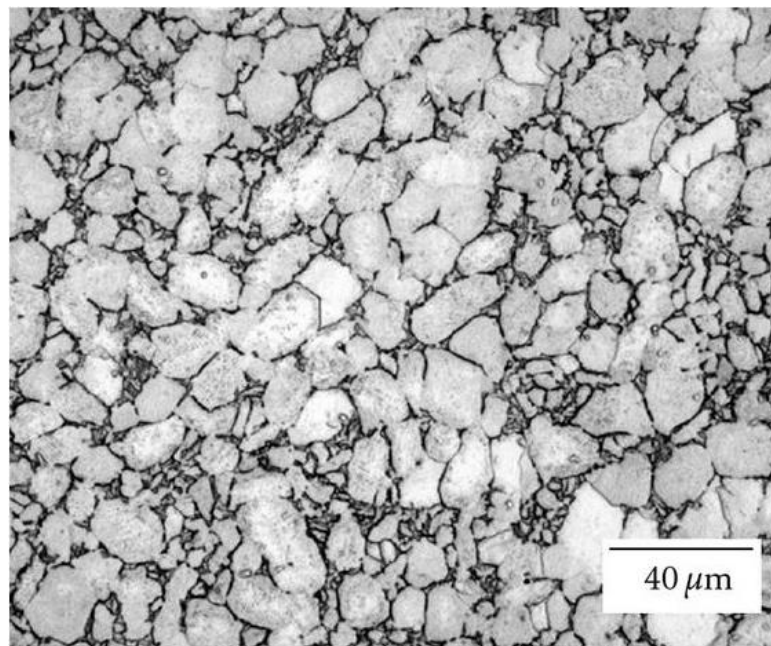
Obrázek 4 - Snímek čistého Ti (SEM) [2]

3.2. Titanové slitiny ($\alpha + \beta$)

Vytvořením slitiny Ti skládající se ze dvou fází ($\alpha + \beta$) vzrostou hodnoty mechanických vlastností (mez kluzu, mez pevnosti i mez únavy) oproti čistému Ti. Stále jsou zachovány výborná korozní odolnost a tendence k osseointegraci, znovu díky povrchové vrstvě TiO_2/OH , která se tvoří velmi rychle. Slitiny Ti ($\alpha + \beta$) jsou nejdéle používané především pro aplikace přenášející namáhání. Mezi hlavní zástupce patří Ti6Al4V, Ti6Al7Nb a Ti5Al2.5Fe. Všechny tři alternativy vykazují podobné vlastnosti a všechny se chovají stejně při použití v klinické praxi. Tyčový (skladový) materiál je vyráběn mletím za současného žíhání, čímž získá materiál vysokou únavovou pevnost (Tabulka 7). Výsledná struktura po této operaci je patrná z Obrázku 5, na kterém světlé oblasti představují fázi α a tmavé oblasti jsou tvořené fází β . [2]

Slitina	E [GPa]	Mez kluzu [MPa]	Mez pevnosti [MPa]	Prodloužení [%]	Mez únavy (10^7)
Slitiny ($\alpha + \beta$)					
Ti-6Al-4V	110	860	930	10-15	610-625
Ti-6Al-7Nb	105	795	860	10	500-600
Ti-5Al-2.5Fe	110	820	900	6	580
Na bázi β					
Ti-12Mo-6Zr-2Fe (TMZF)	74-85	1000-1060	1060-1100	18-22	525
Ti-15Mo-2.8Nb-0.2Si-0.26	83	945-987	980-1000	16-18	490
Ti-35.5Nb-7.3Zr-5.7Ta (TNZT)	55-66	793	827	20	265
Ti-13Nb-13Zr	79-84	863-908	973-1037	10-16	500

Tabulka 7 - Mechanické vlastnosti Ti slitin [2]

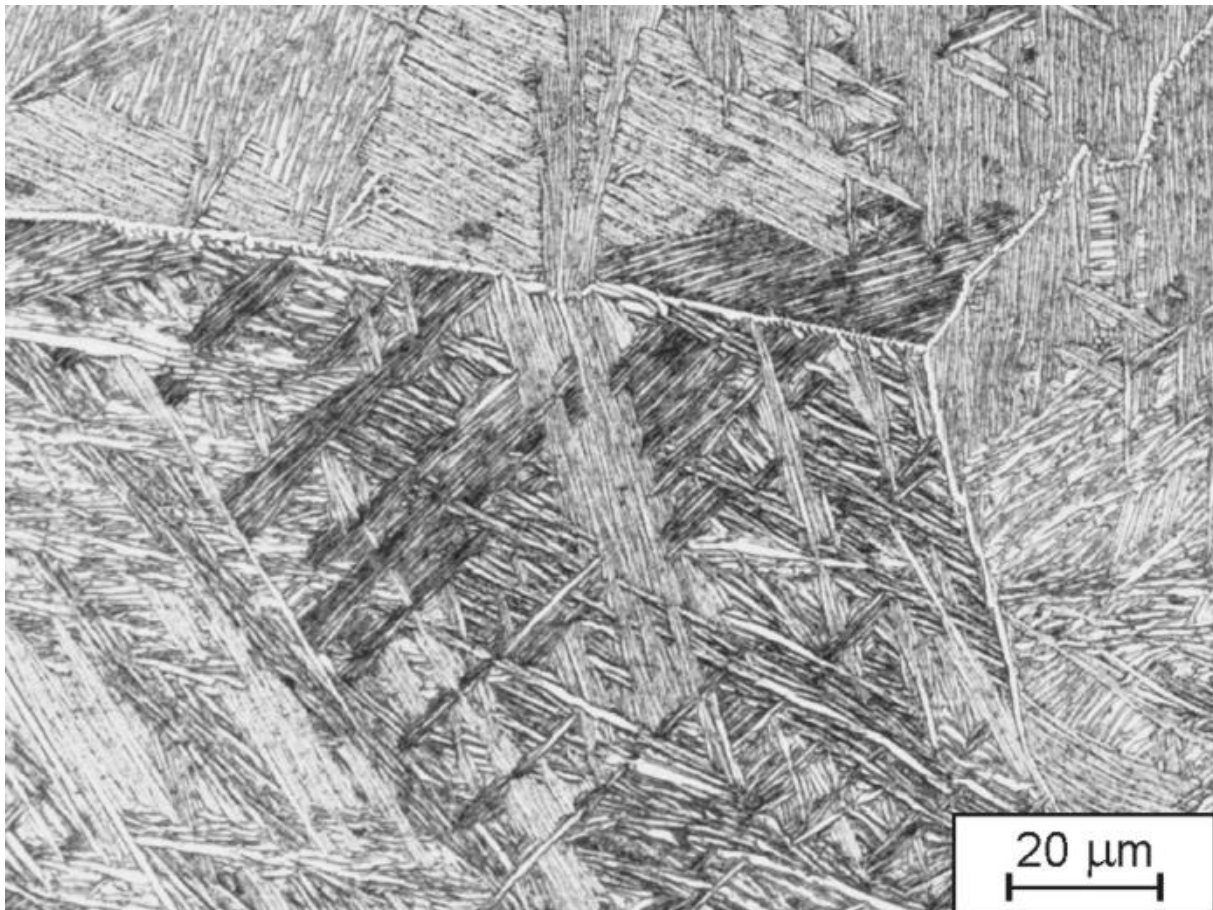


Obrázek 5 - Mikrostruktura Ti-6Al-4V po žihání za současného mletí [3]

To vše v kombinaci s korozní odolností znamená, že tyto materiály mají obecně lepší vlastnosti než ostatní kovové biomateriály. Mechanické vlastnosti Ti slitin ($\alpha + \beta$) jsou, a především únavová pevnost, závislé na velikosti a rozmístění regionů fází α a β . Díky žihání za současného mletí je výsledná struktura tvořena malými, rovnoosými α zrní obklopenými částicemi fáze β . Tato mikrostruktura (původně vyvinutá pro letecké/kosmické aplikace) disponuje odolností proti vzniku iniciační únavové trhliny a vysokou únavovou (vysokocyklovou) pevností. Žihání za současného mletí zahrnuje mechanické zpracování slitiny do požadované formy při teplotě těsně pod β -tranzitní teplotou, rychlé ochlazení (kalení do vody) na pokojovou teplotu a poté rekrystalizační žihání při teplotě okolo 750 °C. Výsledkem zakalení je formace fáze α a metastabilní fáze α' a zbytková fáze β . Tvorba fáze α' se řídí mechanismem martenzitické přeměny. Žihání při teplotě 750 °C, mimo rekrystalizace mechanicky zpracované struktury, také transformuje fázi α' na stabilní α . Množství, rozložení a velikost α i β fáze je závislá na rozsahu mechanické deformace během zpracování komponentu u teploty β -tranzitní a na teplotě žihání. Dosažená únavová pevnost může být vyšší než 650 MPa (10^7 cyklu). [2]

Výjimečná korozní odolnost Ti6Al4V činí z tohoto materiálu atraktivní volbu pro formování ortopedických implantátů s vysokou plochou povrchu disponující porézní vrstvou nebo jinak povrchově vytvořenou texturou. Výroba je buďto slinováním prášku Ti nebo slitin Ti nebo depozicí Ti. Proces vytvoření porézního povrchu slinováním materiálu na bázi Ti zahrnuje slinování ve vakuu nebo v jiné neoxidační atmosféře při teplotě 1250 °C po dobu 1 hodiny a pak následuje ochlazení v peci až na pokojovou teplotu. Výsledkem tohoto tzv. β žihání je mikrostruktura sestávající se ze struktury ($\alpha + \beta$), lamelárně uspořádané do kolonií uvnitř původního β zrna. Díky vysoké teplotě žihání (více jak 250 °C nad ($\alpha + \beta$) trans teplotou) se vytváří velká β zrna (Obrázek 6). Kolonie, které se tvoří napříč celou strukturou, jsou tvořeny lamelami α a β fáze. Tyto lamely jsou odlišně orientovány, ale všechny mají obecnou krystalografický vztah α k β (tj. lamely v každé kolonii jsou tvořeny v jedné rovině). Přítomnost kolonií a hranic těchto kolonií se podílí na zpevnění slitiny. Nicméně, únavová pevnost β žiháných vzorků je nižší než u vzorků žiháných za současného mletí (přibližně 550 MPa u β žihání a 620 MPa u

žihání za současného mletí). Daleko větší důsledek na snížení únavové pevnosti je účinek porézní vrstvy jako takové. Může se tak snížit únavová pevnost až o třetinu (tj. z cca 600 MPa až na 200 MPa). To je způsobeno citlivostí na vznik únavových trhlin. Tuto citlivost mají obecně kovy s mřížkou hexagonální těsně uspořádanou, ale platí to právě především pro titan a slitiny obsahující α fázi Ti. Spojení porézní vrstvy se základním materiálem působí totiž jako koncentrátor napětí a tak se může snadno v těchto místech iniciovat trhlina. Proto použití slitiny Ti6Al4V s porézní vrstvou musí být navrženo a používáno s ohledem na snížení únavové zátěže. Některé náhrady kyčelního kloubu jsou vyrobeny s pórovitým povrchem po celém povrchu až na boční představec, který je nejvíce mechanicky zatěžován (a kde by docházelo k přednostnímu vzniku únavové trhliny). Depozice titanu za použití plasmy, která vytvoří texturu na povrchu, je vhodná pro fixaci implantátů nevyužívající kostní cement. Touto metodou je možné změnit povrch tak, že jádro vytvořené žiháním za současného mletí není zatíženo vysokou teplotou a tudíž nedochází ke změně jeho mikrostruktury. I tak ale hrozí stejný pokles únavové pevnosti, jako u předchozí metody, v případě, že nově vzniklý povrch je nerovnoměrný a vznikají tak oblasti s vysokým povrchovým napětím. [2]



Obrázek 6 – Kolonie Ti-6Al-4V [4]

3.3. Slitiny na bázi β -Ti

Tyto slitiny v rámci jejich chemického složení jsou obohaceny prvky, které stabilizují fázi β . Nejsilnější účinek má v tomto ohledu Mo. Typické zástupce β -Ti slitin a jejich mechanické vlastnosti jsou popsány v Tabulce 7. Obecně lze říci, že zatímco modul pružnosti u titanu a jeho slitin ($\alpha + \beta$) je značně nižší než u materiálů jako CoCrMo nebo nerezová ocel (cca 110 GPa oproti 220 GPa, resp. 200 GPa), i tak stále platí, že mají 5x až 10x vyšší než modul pružnosti u kostí (10 – 20 GPa). Díky tomuto rozdílu vzniká problematika, že v důsledku fixace implantátů dochází k odstínění napětí od kosti. Tento jev hrozí u čistého Ti nebo ($\alpha + \beta$) Ti slitin. Slitiny na bázi β , pokud jsou vhodně zpracovány, mají mnohem nižší modul pružnosti (hodnoty okolo 44 – 51 GPa pro nástroje kalené ve vodě a za studena kované, např. Ti-13Nb-13Zr). Pokud jsou správně zpracovány, vykazují dobrou tvárnost, vysokou prokalitelnost, vynikající korozní odolnost, menší citlivost na změnu tvaru (vruby) než ($\alpha + \beta$) Ti slitiny. [2]

β -Ti slitiny jsou charakteristické svou stálostí fáze β během ochlazování z teploty nad β -transitní teplotou. Uvažováním pseudobinárního fázového diagramu Ti se stabilizátory fáze β , metastabilní fáze β je stálá při ochlazování z teploty vyšší než β -trans, pokud se množství přídavných stabilizujících prvků mezi body β_c a β_s . Pokud je množství vyšší než β_s , potom dochází k vytvoření rovnovážné struktury. Metastabilní struktura je charakteristická nízkým modulem pružnosti (55 – 75 GPa) ale také nízkou únavovou pevností (okolo 265 GPa při 10^7 kmitu, to platí pro Ti-35Nb-5Ta-7Zr). [2]

Jak již bylo zmíněno výše, žiháním se metastabilní β struktura přemění ve směs ($\alpha + \beta$) fází, kde část α fáze částečně precipituje a tím zvýší pevnost, ale také dochází ke zvýšení hodnot modulu pružnosti dosahujících nebo přesahujících 100 GPa. Záleží na množství a formě α fáze. [2]

Ti-13Nb-13Zr je příkladem tzv. near β -Ti slitiny. Kalení do vody a potlačení β trans teploty (<575 °C) způsobí vznik jehlicového α' martenzitu. Ten má mřížku šesterečnou těsně uspořádanou a tato slitina vykazuje modul pružnosti mezi hodnotami 64 – 77 GPa (viz Tabulka 7). Následné žihání do oblasti ($\alpha + \beta$), tj. výdrž 6 hodin na teplotě 500 °C, způsobí zhrubnutí jehlicového α' martenzitu a precipitaci jemné fáze β . Díky tomu má výsledná struktura vyšší modul pružnosti (81 GPa), která je důsledkem precipitačního stárnutí. Při tváření za studena martenzické α' fáze je možné dosáhnout materiálu s ještě s nižším modulem pružnosti (okolo 45 GPa), s pevností dokonce vyšší než u předchozího případu, kde bylo použito kalení a následné žihání, a to při zachování tvárnosti. Pro dosažení povrchu s vyšší hodnotou tvrdosti a tudíž i jeho odolnosti proti otěru může být použito stárnutí (na teplotě 500 °C) v prostředí obsahující oxidy. To má za následek tvorbu tvrdé oxidické vrstvy na povrchu a také intersticiální vytvrzení podpovrchových oblastí (difúzní vytvrzování). [2]

3.4. Slitiny Ni-Ti

Tento typ slitiny, někdy označované jako Nitinol, je v současnosti využíván v ortopedii, ve stomatologii a v kardiovaskulárních aplikacích. Tyto materiály disponují tvarovou pamětí, stejně tak výbornou korozní ochranou díky pasivační povrchové vrstvě TiO_2 . Další vlastností je tzv. pseudoelasticita (Youngův modul pružnosti je mezi 28 – 41 GPa pro martenzitickou fázi). Díky tomu tyto slitiny přitahují v současné době značnou pozornost na poli biomateriálů. Zkoušky in vivo ukázaly, že materiál je biokompatibilní, přestože obsahuje vysoké procento Ni. Nicméně existuje jistá obava z hlediska dlouhodobého užívání takových implantátů, protože dokonce menší množství uvolněných niklových iontů je na hranici použití v lidské tkáni. Vydané zprávy však ukazují, že se správným zpracováním a s korozní odolností srovnatelnou s 316L, je dosažitelné používání takových implantátů. V tomto případě se jedná o použití na fixace kostí na určitou krátkou dobu. [2]

Paměťový efekt je zapříčiněn termoelastickou martenzitickou transformací, která se vyskytuje právě u tohoto typu slitin Ni-Ti. Zchlazením z vysoké teploty dochází k transformaci z austenitické fáze (uspořádaná intermetalická sloučenina s deformovanými kubickými prostorově středěnými mřížkami – což je výsledkem uspořádání atomů Ni a Ti nazvaného jako tzv. mřížková struktura B2) na martenzit. Přeměna je izotermická s velmi úzkou zónou teplot mezi M_s a M_f . Teplota takové přeměny je závislá na konkrétním složení slitiny. Intermetalická sloučenina Ni-Ti má, na rozdíl od jiných intermetalických sloučenin, poměrně široký rozsah rozpustnosti pro přebytky Ni nebo Ti, ale i pro další prvky. To umožňuje přizpůsobování teplot pro transformaci – tzn. teplot M_s , M_f , A_s a A_f . [2]

3.5. TiO

Monoxid titanu patří mezi látky, které jsou studovány velkým množstvím spektroskopických metod. Excitované stavy plynného TiO patří mezi nejlépe charakterizované přechodné kovy dvouatomových molekul. [5]

Monoxid titanu byl navržen pro svoji výbornou elektrickou vodivost k metalizaci (stříkání kovu), která je aplikována při výrobě mikroelektronických povrchových vrstev. Pro svůj nízký elektrický odpor a výborné ochranné vlastnosti se může použít i proti vnitřní difúzi hliníku či křemíku. Tento materiál je zajímavý svojí strukturou a vlastnostmi, jako jsou fyzikální, elektrické, magnetické a optické. Při pokojové teplotě je TiO nestechiometrická pevná sloučenina s vlastnostmi kovu, která je složena ze dvou různých polymorfů. Obsahuje asi 15 % strukturálních vakancí, které jsou dány poměrem koncentrace vakancí titanu a kyslíku. Vakance titanu mají významný vliv na energetickou stabilitu TiO. [5]

TiO je látka, která se obtížně vyrábí. Výsledná forma TiO je nepravidelná, je ve tvaru malých kousků. Laserovou ablací pevného Ti terče ve vodě lze připravit TiO. Tato metoda je jednoduchá, rychlá a ekologicky přijatelná pro syntézu nových nanočástic. TiO filmy lze získat redukcí (slinováním nebo napařováním) TiO_2 s Ti, obloukovou fúzí Ti a TiO_2 , reaktivním iontovým paprskem nebo magnetronovým napařováním Ti v plynné atmosféře O_2/Ar . Dále mohou být TiO filmy připraveny pulzní laserovou ablací Ti v atmosféře CO nebo laserovou ablací TiO_2 v přítomnosti argonu. Monoxid titanu lze připravit i řízenou oxidací čistého titanu. [5]

4. Hydroxyapatit

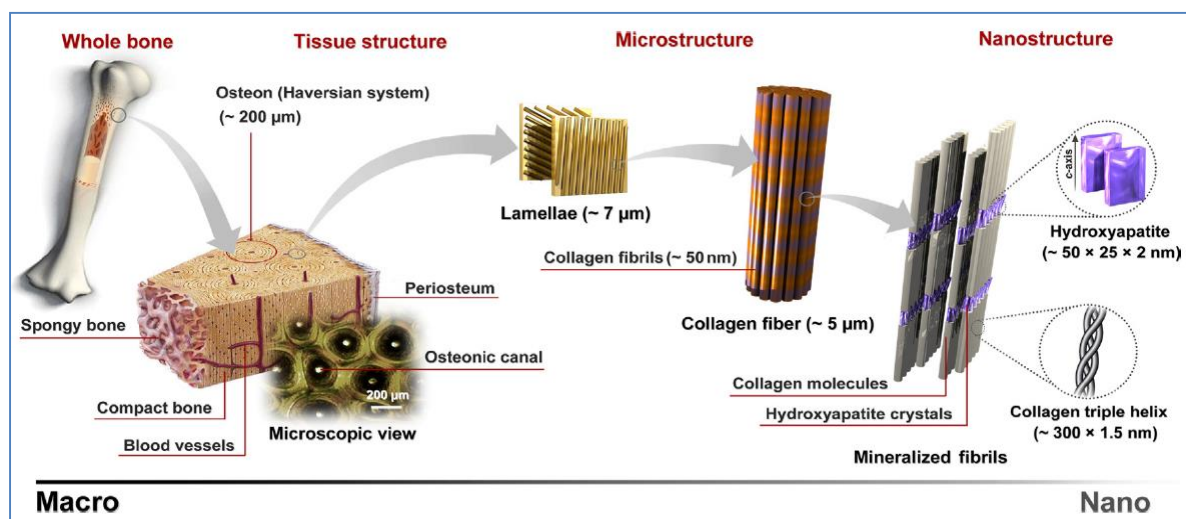
4.1. Základní informace

Fosforečnany vápenaté jsou sloučeniny důležité napříč obory (v chemii, biologii, medicíně a v geologii). První pokusy určit jejich složení začaly v 18. století díky Berzeliusovi. O století později představil Hausen nápad o různých krystalových fázích fosforečnanů vápenatých. Směs těchto fází byla pojmenována jako apatity a toto pojmenování je platné i dnes. Nejdůležitější fosforečnany vápenaté, které se vyskytují ve vodných roztocích za teploty okolí, je možné vidět v Tabulce 8, seřazeny podle klesající rozpustnosti. Tzv. amorfni fosforečnan vápenatý (s anglickou zkratkou ACP) v tomto seznamu chybí, a to protože to není další fáze, ale směs mikrokryсталů jiných známých fosforečnanů vápenatých. [6]

Typ molekuly	Poměr Ca/P	Název
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.50	Hydrát dihydrogenfosforečnanu vápenatého
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$	0.50	Dihydrogenfosforečnan vápenatý
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.00	Dihydrát dihydrogenfosforečnanu vápenatého
α - a β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50	Fosforečnan vápenitý
$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$	1.33	Octakalcium fosfát
$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	1.67	Hydroxyapatit (HAP)

Tabulka 8 - Typy fosforečnanů [6]

Hydroxyapatit (mající zkratku a dále označený pouze jako HAp) je nejstabilnější sůl fosforečnanu vápenatého za normálních teplot v rozsahu pH mezi 4 a 12. Jedná se o látku vzbuzující velký zájem jako katalyzátor, nabízí využití v průmyslu hnojiv a jako produkty ve farmacii. Dále aplikace bílkovinné chromatografie, procesy úpravy vody, příprava biokompatibilních materiálů a zejména proto, že je hlavní anorganickou součástí kalcifikované tvrdé tkáně (např. kosti a zuby) obratlovců. Jak je patrné z Obrázku 7 na struktuře tkáně (Tissue structure), která reprezentuje část celé kosti (Whole bone), je vidět houbovitá část kosti (Spongy bone) a kompaktní část kosti (Compact bone). [7]



Obrázek 7 - Hierarchální struktura typické kosti za různých délkových měřítek [7]

Osteom je složen z lamel, které jsou tvořeny fibrily kolagenu. Při ještě detailnějším pohledu je zřejmé, že jednotlivé fibrily se skládají z molekul kolagenu a právě HAp. Rozměry jsou přibližně v desítkách nanometrů a tloušťka se udává okolo 2 nm. Je-li tedy keramika na bázi HAp implantována, na povrchu se utváří vrstva bez vazivové tkáně obsahující nauhličený apatit a přispívá k vytvoření vazby mezi implantátem a živou tkání, vedoucí k rychlejší stabilizaci implantátu a k lepší vzájemné fixaci. [7]

HAp je také tvořen patologicky jako výsledek funkčních nesrovnalostí, které vedou k artritidě chrupavky, k tvorbě ledvinových či žlučových kamenů nebo jako kalcifikace transplantovaných srdečních chlopní. Z tohoto důvodu je velký zájem na získání umělých, extra čistých, velmi jemných krystalů HAp pro fyzikálně-chemické studie in vitro a in vivo, pro aplikaci v medicíně a chirurgii (např. implantáty středního ucha, rekonstrukční náhrady kostí). [7]

Již bylo připraveno několik metod na získání krystalů HAp (viz oddíl 4.2. Příprava HAp). V zásadě syntéza krystalů HAp z velmi přesyceného roztoku je výhodná díky své nízké ceně a jednoduchosti, ale následující stávající metody vedou pouze k produktům s nestechiometrickým poměrem. Úchylnka z těchto hodnot je dána přítomností vakancí v mřížce nebo zasubstituovanými ionty. Mezi ně patří uhličitany, vodíky fosfátu, draslík, sodík, dusičnany a chloridy, které se obvykle zavedou společně s reaktanty do systému nově vznikající látky. Stupeň znečištění těmito ionty anebo utvářením nedostatečného množství HAp trpí výsledná sloučenina významnými změnami krystalografické mřížky v porovnání s morfologií HAp se stechiometrickým poměrem. Obtíže při přípravě umělého HAp z vodných roztoku je způsoben především vysokou afinitou tohoto materiálu k některým iontům, komplexní povahou systému vápník-fosforečnan a taky svou úlohu sehrávají kinetické parametry. Tyto parametry, závislé na podmínkách experimentu, převáží nad parametry termodynamickými. Tvorba umělého HAp probíhá skrze vylučování prvotní fáze z přesyceného roztoku a vznikají prekursor, jako jsou fosforečnan vápenatý a octakalcium fosfát. Stopy po těchto prekursorech mohou být nalezeny ve výsledném produktu přípravy HAp, což do značné míry také ovlivňuje jeho kvalitu. [7]

4.2. Příprava HAp

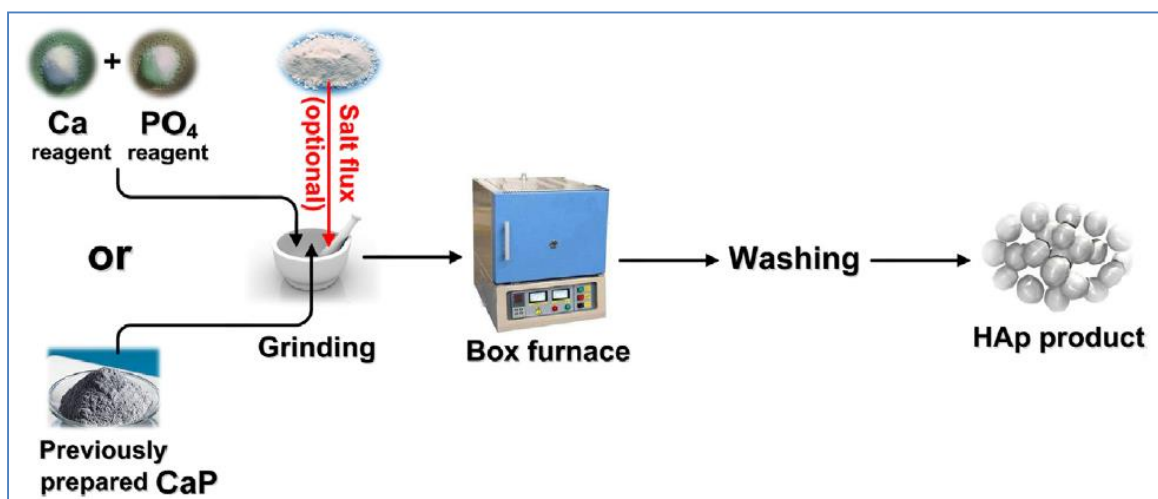
Za posledních deset let bylo vyvinuto mnoho metod pro přípravu nanočástic HAp. Tyto metody zahrnují různé typy způsobu chemické syntézy. Každá metoda se ještě může rozvinout do několika podskupin. S touto velkou různorodostí je dnes poměrně obtížné zvolit tu správnou metodu. Všechny metody lze rozdělit do pěti skupin: Suché metody (2 podskupiny), mokré (6 podskupiny), příprava za vysoké teploty (2 podskupiny), syntéza založená na biogenních zdrojích a kombinace výše uvedených. V Tabulce 9 jsou vidět tyto skupiny včetně podskupin. V tomto oddíle bude popsáno pět různých metod získání HAp a také morfologie vzniklých nanočástic, včetně jejich velikosti a typu přípravy k jejich dosažení. [7]

Skupina	Jednotlivé metody
Suché metody	Metoda pevného stavu (zkratka ss) Mechanochemická metoda (mch)
Mokrý metody	Chemická precipitace (α) Metoda hydrolyzy (hl) Metoda sol-gel (sg) Hydrotermální metoda (hth) Emulzivní metoda (em) Sonochemická metoda (sch)
Příprava za vysoké teploty (ht)	Metoda spalování Metoda pyrolýzy Syntéza založená na biogenních zdrojích (bs) Kombinovaná metoda (cp)

Tabulka 9 - Metody přípravy HAp [7]

4.2.1. Metoda pevného stavu

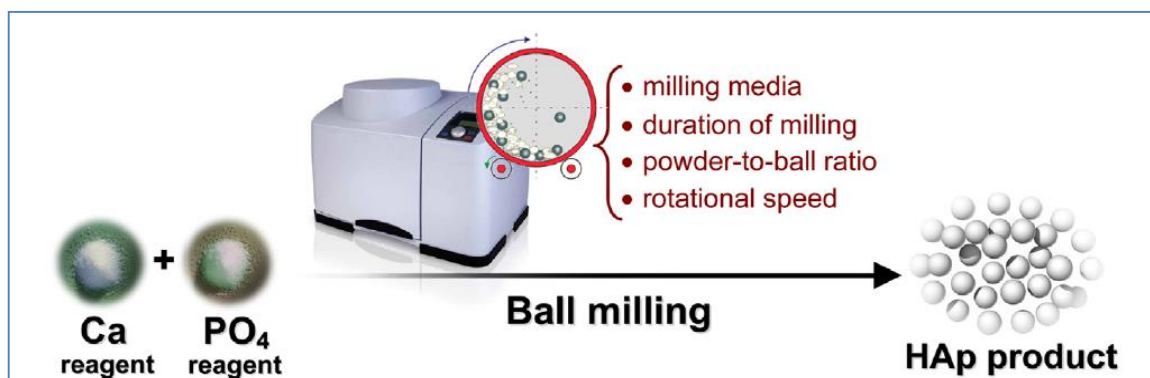
Tato metoda patří mezi ty jednodušší a tak je možné uplatnit jí pro hromadnou výrobu. Schéma procesu je na Obrázku 8. Jako prekursorů slouží fosforečnany nebo vápínek, popř. je možné využít předem připravené soli CaP. Následuje mletí a následná kalcinace za vysokých teplot následovaná proplachem. Jako nevýhoda této metody je vysoká heterogenita výsledného produktu a nízký koeficient difúze iontů uvnitř pevné fáze. [7]



Obrázek 8 – Příprava metodou pevného stavu [7]

4.2.2. Mechanicko-chemická metoda

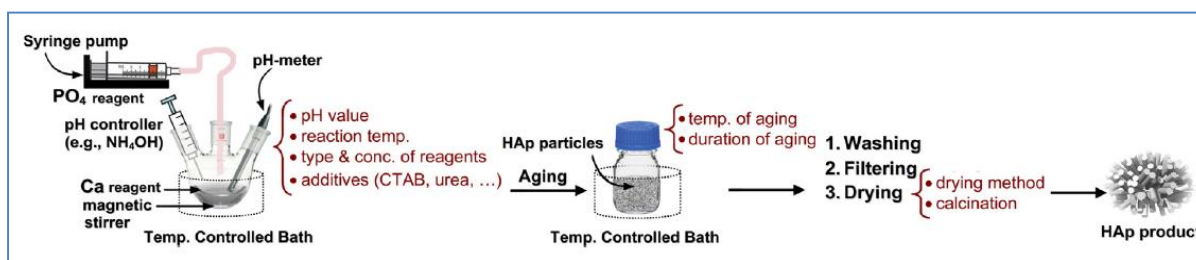
Tato metoda, někdy také označována jako mechanické žíhání, je jednoduchá výrobní metoda suchou cestou pro přípravu pokročilé keramiky jako jsou nanokrystalové slitiny a keramika. Oproti metodě pevného stavu dosahuje velmi jemné uspořádané struktury. To je dané tím, že dochází k rozrušení povrchově vázaných druhů částic v důsledku tlaku, a tak nastává zlepšení termodynamických a kinetických reakcí mezi pevnými látkami. Díky této metodě je navíc možné připravit HAp s vhodných stechiometrickým poměrem. Schéma metody je patrné z Obrázku 9. [7]



Obrázek 9 – Příprava mechanicko-chemickou metodou [7]


4.2.3. Konvenční chemická precipitace

Ze všech typů mokřích metod je konvenční chemická precipitace nejsnazší cestou, jak získat HAp v rozměru nano. Celá precipitace je založená na faktu, že při pokojové teplotě a pH 4,2, je HAp nejméně rozpustný a zpravidla nejstabilnější fází CaP ve vodném roztoku. Nicméně samotná precipitace bývá obvykle prováděna za pH vyšších hodnot a teploty mezi zmíněnou pokojovou a mezi bodem varu. Na Obrázku 10 jsou zřejmé kroky celého procesu. Jsou zde vidět parametry ovlivňující celou prvotní reakci (pH, reakční teplota, typ a koncentrace reaktantů, aditiva). Následuje stárnutí za atmosférického tlaku (101,325 kPa) anebo se tento krok vynechá a následuje rovnou oplach, filtrace a sušení. [7]



Obrázek 10 - Příprava metodou konvenční precipitace [7]

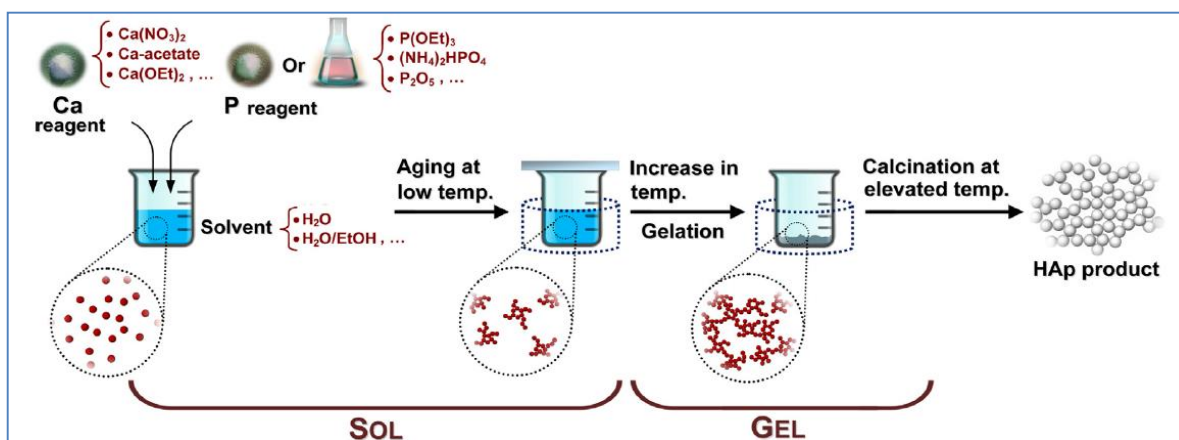
Všechny parametry zmíněné výše mají vliv na morfologii vzniklých nanočástic. Pochopitelně i typ zvolené metody. Následující tabulka (Tabulka 10) ukazuje jakých morfologií nanočástic HAp je možné dosáhnout. Tabulka také znázorňuje, kterými metodami lze těchto tvarů docílit (názvy metod jsou uvedeny jako zkratky, vysvětlení zkratk viz Tabulka 9). [7]

Tvar	Jméno v literatuře	Přibližná velikost	Metoda syntézy
	Nepravidelný, bez- tvarý, koule	5 nm–200 μm	ss, mch, cc, hl, sg, hth, em, sch, ht, bs, cp
	Koule, mikro kuličky, míč	10 nm–1000 μm	mch, cc, sg, hth, em, sch, ht, bs, cp
	Tyče, jehly, trubky, vlákno	Délka: 10 nm-150 μm , Průměr: 3 nm-50 μm , poměr: 2-1200	ss, mch, cc, hl, sg, hth, em, sch, ht, bs, cp
	Deska, vločka, list	Délka: 40 nm-50 μm , šířka: 20 nm, 35 μm , tloušťka: 5 nm-3 μm	cc, hth, bs, cp
	Svazky Nanoprutů	Organizované nano pruty o průměru 10 nm-13 μm a délce 200 nm-75 μm	cc, hl, hth, bs, cp
	Pampeliška, chryzan- téma, květ,	1-8 μm (organizované nano pruty o průměru 80 až 500 nm a o délce 600 nm-5 μm)	hth, em, bs, cp
	List, vločka, plech, deska	800 nm-10 μm (organi- zované nanodestičky o tloušťce 20-100 nm)	cc, hl, cp
	Květina	700 nm-60 μm (organi- zované okvětní lístky 20 nm až 10 μm široké a 180 nm-50 μm dlouhé)	cc, hth, bs
	Porézní mikrosféry, mezoporézní koule	0,5-7 μm (pórů 20-150 nm)	hth, cp
	Samostatně sestavené nano pruty	1,5 – 2,5 μm (organizo- vané nano pruty o prů- měru 100-150 nm a délce 1-2 μm)	cp
	Činka	2-3 μm (organizované nanočástice o velikosti 50 nm)	cc

Tabulka 10- Typy nanostruktur HAp [7]

4.2.4. Metoda Sol-gel

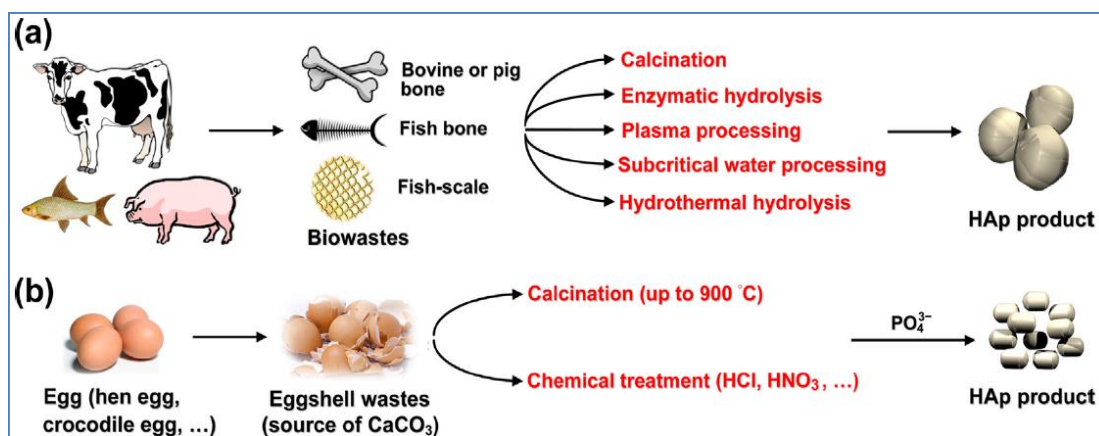
Metoda Sol-gel byla jednou z prvně navržených metod pro mokrou syntézu HAp. Tato metoda nabízí výhodu směšování reaktantů na úrovni molekul, což má za následek zlepšení chemické homogenity výsledného produktu. Formace za nízkých teplot a vznik roztoku připravovaných krystalů jsou dalšími důležitými výhodami tohoto procesu. Zatímco pro ostatní metody mokrou cestou jsou doporučovány teploty okolo 1000 °C, u metody Sol-gel dostačují teploty i o několik stovek stupňů nižší. Celý proces je k vidění na Obrázku 11. Ve fázi roztoku reakce mezi vápníkem a prekursorem fosforečnanu probíhá pomalu. To je také důvod, proč je vyžadována dlouhá prodleva během periody stárnutí. Kromě toho tepelné zpracování bylo určeno jako kritický krok celého procesu právě v tom, zdali se bude tvořit čisté HAp. Studie In vitro ukázaly, že bioresorbovatelnost HAp připraveného metodou Sol-gel je vyšší než u metod suchých a navíc je bližší přirozenému biologickému stavu. [7]



Obrázek 11 - Příprava metodou Sol-gel [7]

4.2.5. Metoda přípravy z biogenních zdrojů

Keramika typu HAp získaná částečně nebo zcela z biogenních zdrojů je dle předpokladu lépe přijatá živými orgány, v důsledku její fyzikálně-chemické podobnosti k lidské kosti. Existuje 5 různých zdrojů, mezi něž patří kosti zvířat, skořápky vajíček či lastury mořských živočichů. Některé z příkladů procesů získávání biogenního zdroje ukazuje Obrázek 12. [7]

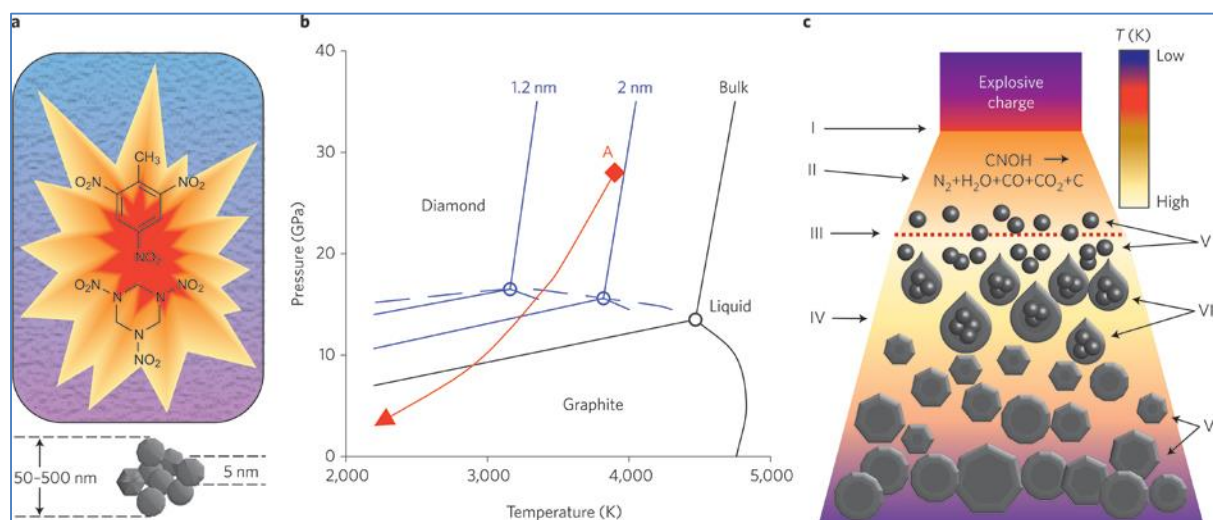


Obrázek 12 - Příprava pomocí Biogenních zdrojů pro výrobu HAp [7]

5. Nanostrukturovaný diamant

Nanodiamanty, o velikosti v rozmezí od 1 do 100 nm, představují jednu z posledních a velmi inovativních forem chemických látek na bázi nanouhlíku. Nanostrukturovaný diamant (dále označován také jako nD) se stále častěji využívá v oblasti medicíny a biotechnologických procesech. To zejména kvůli jeho specifickým vlastnostem jako biokompatibilita, velmi malý rozměr částic a také vynikající schopnost povrchu chemicky interagovat. Všechny tyto vlastnosti předurčují nanodiamanty jako dokonalé intracelulární nosiče bioaktivních látek. Za pomoci konfokální mikroskopie bylo například prokázáno, že nanodiamant je schopen proniknout do buňky cytoplazmatu. [8]

Tyto nanočástice, které mohou být syntetizovány uměle výbuchem, chemickým nanášením par (CVD) nebo postupem za vysoké teploty a vysokého tlaku (high-temperature high-pressure procedure), se vyznačují chemickou stabilitou, octahedrání symetrií, pevnou konstrukcí mřížky, velkou plochou a nízkými výrobními náklady. Z mnoha druhů příprav nanodiamantu se jeví jako nejzajímavější příprava detonací (Obrázek 13). Tento proces je poměrně variabilní a tak lze snadno modifikovat. Navíc mohou být vytvořené různé molekuly a biosloučeniny za pomoci elektrostatických a/nebo hydrofobní interakce, popř. kovalentní vazby. Pro přípravu nanodiamantů se používá uzavřená kovová komora s atmosférou obsahující N_2 , CO_2 a také kapalnou či tuhou H_2O . Příkladem sloučenin použitých pro vlastní explozi je směs o poměru 60 hmot. % TNT ($C_6H_2(NO_2)_3CH_3$) a 40 hmot. % hexogenu ($C_3H_6N_6O_6$). Dále je na Obrázku 13 patrný fázový diagram znázorňující nejstabilnější fázi uhlíku, kterou je grafit při nízkých tlacích a diamant při vysokých tlacích. Obě fáze mají teplotu tání nad 4500 K (přesný bod teploty tání pro každou fázi je závislý na tlaku). Fázový diagram pro uhlík o nanorozměrech je shodný, jen tekutá fáze se nachází v nižších teplotách. Během detonace tlak i teplota okamžitě



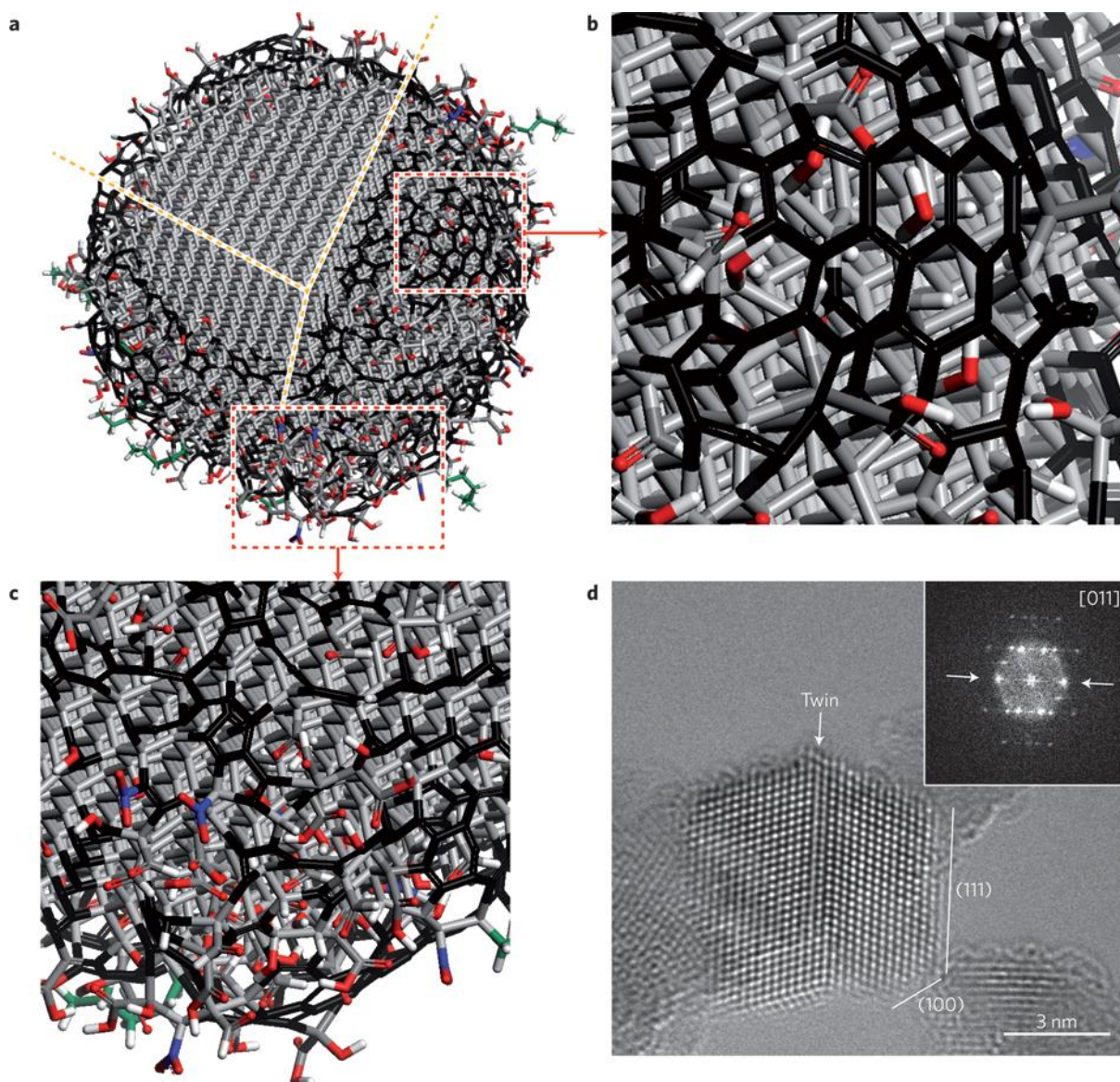
Obrázek 13 – a – schéma výbuchu; b – binární diagram uhlík/grafit; c – schéma šíření detonační vlny [9]

vzrůstají a rychle dosahují Jouguetova bodu (bod A). Pak dochází k poklesu obou veličin a nejprve ke vzniku shluků tekutého uhlíku o velikostí 1-2 nm. S klesající teplotou a tlakem (průběh znázorněn červenou čarou) uhlíkové atomy kondenzují do nanoshluků, které se pak dále sdružují do větších kapiček a následně krystalizují. Když tlak překoná hranici rovnováhy diamant-grafit, je růst diamantu nahrazen formováním grafitu. Jako poslední v Obrázku 13 je schéma šíření detonační vlny, které znázorňuje: (I) čelo rázové vlny způsobené explozí; (II) oblast chemické reakce, ve které se rozkládají výbušné molekuly; (III) rovina nazvaná Chapman-Jouguet (kde tlak a teplota odpovídají bodu A v Obrázku 13b, s uvedením podmínek, kdy

reakce a uvolněná energie jsou v podstatě kompletní); (IV) expanze produktů detonace; (V) formování uhlíkových nanoshluků; (VI) vysrážení do tekutých nanokapek; a (VI) krystalizace, růst a aglomerace nanodiamantů. [9]

Z dalších zdrojů také vyplývá, že připravené nanodiamanty, funkcionalizované nebo ne, mohou být v široké míře využity pro biotechnologické a lékařské aplikace. Zejména pokud byly vyvinuty jako nosiče biomolekul (DNA, RNA, proteiny) nebo léků je možné přenést např. léčiva dovnitř vlastních buněk, popř. organismů. Tento jev umožňuje vysoká kompatibilita mezi nanodiamantem samotným a fyziologií a strukturou buněk. Nanodiamant je také méně toxický než jiné známé formy uhlíku (tj saze, fullereny, uhlíkové nanotrubičky). Obecně nevyvolává významný oxidační stres nebo apoptózu během buněčné léčby (pojem apoptóza je jeden z hlavních typů programované buněčné smrti). [10]

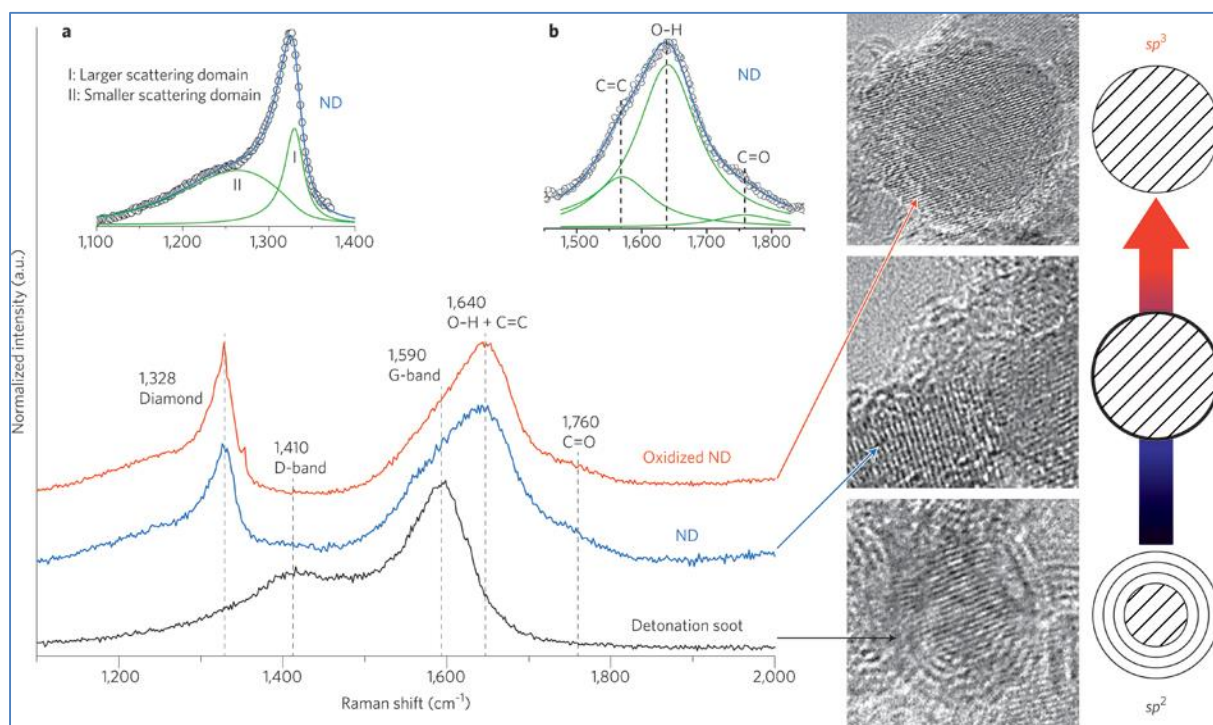
Na Obrázku 14 je patrné schéma modelu znázorňující strukturu jednoho zhruba 5 nm velkého nD po oxidačním čištění. Vlastní jádro nD je pokryto vrstvou povrchových funkčních skupin, které stabilizují částice, přičemž jsou ukončena volně visícími vazbami. Povrch může být také



Obrázek 14 – a, b, c; Stavba a detail stavby nanodiamantu; d – ukázka uspořádanosti mřížky nD (TEM) [9]

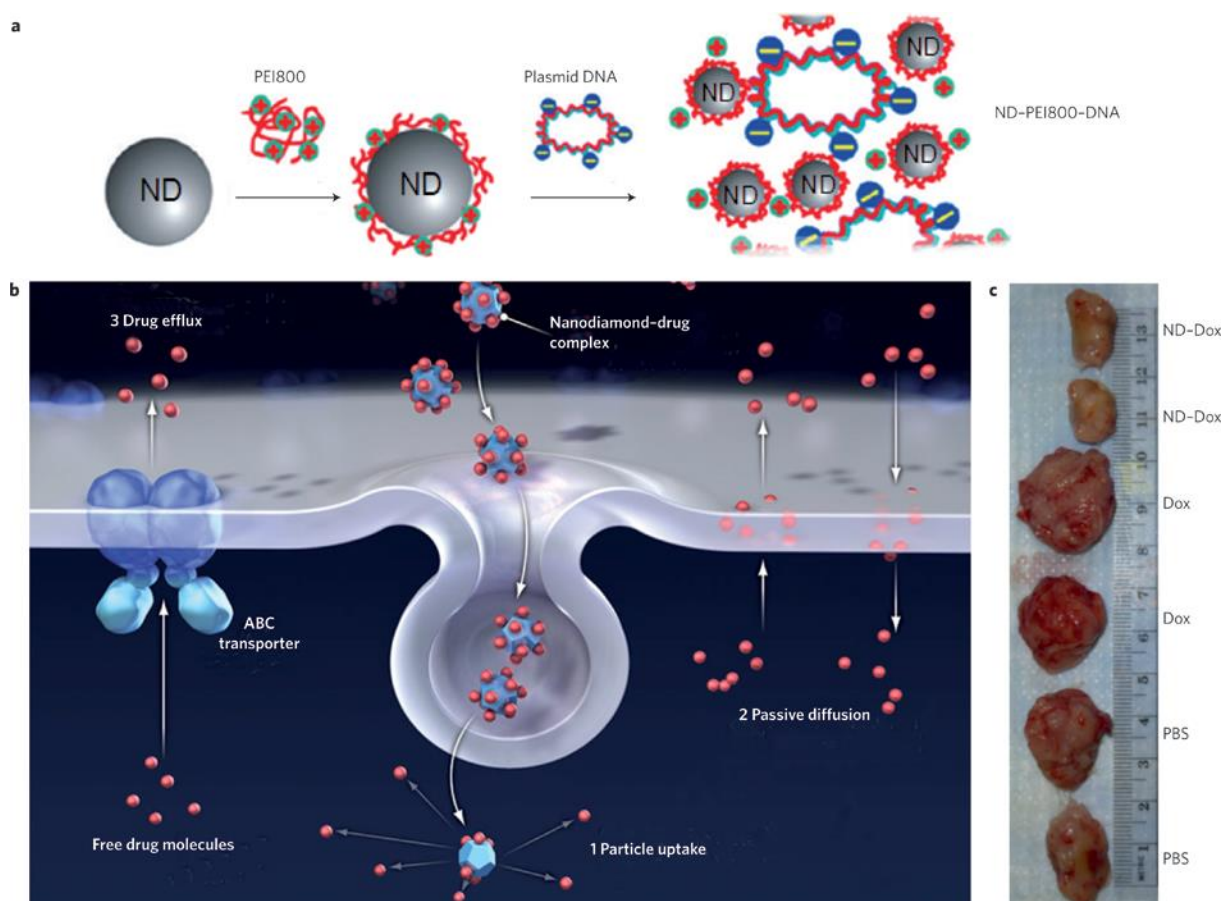
stabilizován konverzí sp^3 uhlíku sp^2 uhlíku. Model je doplněn o řez podél tmavě oranžové čáry pro znázornění vnitřní diamantové struktury částice. Dílčí obrázky 14b, c, jsou přibližné pohledy dvou regionů nD (pohled na „visící“ částice). Na posledním Obrázku 14d, je ukázka toho, jak každý nD vykazuje velmi uspořádanou strukturu. Některé nD jsou ve tvaru hranolů, mnohem častěji však vykazují kulatý tvar jako na obrázku 14a. [9]

Na dalším obrázku (Obrázek 15) jsou snímky z transmisního elektronového mikroskopu zobrazující saze (dole), čištěný nD (uprostřed) a zoxidovaný nD (nahore). Diamantová jádra se v detonančních sazích jeví jako zcela pokrytá grafitickými obálkami. Tento jev potvrzuje i Ramanova spektroskopie (černá čára), kde se nachází výrazné G-pásmo grafitu v hodnotách Ramanova posuvu $1,590\text{ cm}^{-1}$, ale neobjevuje se zde peak diamantu. Čištěný nD je částečně pokryt vrstvou grafitu, takže peak indikující diamant je možné vidět na hodnotě $1,328\text{ cm}^{-1}$ v Ramanově spektru (modrá čára). Tato tenká vrstva je odstraněna oxidací na vzduchu, takže Ramanovo spektrum pro zoxidovaný nD vykazuje velmi ostrý a jasný peak pro nD (červená čára). [9]



Obrázek 15 – Ramanova spectra sazí, nD a vyčištěného nD doplněné o snímky TEM [9]

Na dalším schématu (Obrázek 16) je ukázka jednotlivých efektů nD při léčbě tumorů. Na Obrázku 16a je ukázka, jak lze elektrostaticky připojit DNA na nanodiamant. Prvním krokem je pokrytí negativně nabitých karboxylovaných nanodiamantů pozitivně nabitými molekulami s označením PEI800. Obdobný postup pomocí elektrostatického navázání na nanodiamant byl použit také pro siRNA. Obrázek 16b ukazuje schéma interakce navrhovaného mechanismu nanodiamant-Dox (doxorubicin) a buňky: 1, Endocytóza komplexů nD-léčivo. 2, Difuze volných molekul léčiva skrze membránu buňky. 3, Transportní protein ABC zajišťující odvod volných molekul léčiva ven z buňky, kdežto komplexy nanodiamant-léčivo jsou schopné uvnitř buňky setrvat a dodávat stabilní, letální dávku do tumoru. Poslední Obrázek 16c je fotografie tumorů (rakoviny prsu) po léčbě nD-Dox (nahore), pouze Dox (uprostřed) a pomocí PBS (dole). Pro každou léčbu jsou zobrazeny dva reprezentativní vzorky. Větší velikost tumorů u léčby pouze Dox a PBS znázorňuje sníženou schopnost Dox inhibovat růst nádoru z důvodů extrémní odolnosti rakoviny prsu vůči chemoterapii. V porovnání pak zjevně nižší velikost tumorů za použití léčby nD-Dox. [9]



Obrázek 16 – Schématické znázornění absorpce nD a výsledné efekty při léčbě tumorů [9]

6. Současný stav depozice HAp a Ti

Dosud známých metod povlakování HAp na titan nebo jeho slitiny je mnoho. Jako příklady je možno uvést technologii plasma-spray [11], tepelné povlakování [12], mikrovlnné povlakování [13], mikro-arc oxidace [14], metoda sol-gel [15], elektrolyticky [16], elektronovým paprskem [17], slinováním [18] a dalšími. Všechny výzkumy během posledních 20 let měly za cíl vylepšit biomateriálům jejich biologické, chemické a mechanické vlastnosti, které lépe vyhovují podmínkám klinického využití.

Existuje několik druhů kompozic a stupňů krystalinity HAp a kostního minerálu. Kostní minerál, označený jako $(Ca, M)_{10}(PO_4, Y)_6(OH, X)_2$, je typický nedostatkem vápníku a přítomností uhličitanů (kde za M je možné dosadit Mg, Na, K a za Y Cl, F reprezentující kovové, resp. halogenové ionty). Je také známo, že nahrazení iontů křemičitanu za ionty fosforečnanu zvýší buněčnou aktivitu osteoblastů, což vede k vyšší míře přilnavosti kostních buněk a k novotvoření HAp povlaků vedoucích k lepší apozici k bioimplantátům povlakovaných HAp. Byly také provedeny pokusy, ve kterých byla snaha připravit a prozkoumat HAp s nahrazením uhličitanu C-HAp anebo jiný případ, ve kterém bylo vynaloženo úsilí o inkorporaci křemíku a vytvoření Si-HAp. Další vylepšení vazby HAp-Ti přinesla metoda mikro-arc oxidace HAp-Ti a také plasma-spray technologie, která byla schopna připravit HAp-TiO₂. Tyto povlaky byly původně zamýšleny pro vylepšení mechanické odpovědi po žihání. Tvorba TiO₂ složky nebo rozhraní zlepšuje adhezi mezi povlakem HAp a Ti substrátem a vede k lepší osseointegraci na implantátu s povlakem HAp. Takové příznivé zapojení titanu v ukládání HAp-TiO₂ vrstev bylo např. zaznamenáno u metody sol-gel [15], u mikrovlnné technologie [13] a elektrochemické technologie [19] a u slinování za vysoké teploty [18].

Procesy pro výrobu biokompatibilní slitiny Ti využívající laser jsou např. kontinuální laserové záření [20], pulzní laserové depozice [21] a pulzní laserové ošetření povlaků HAp získaných nástřikem za pomoci plazmy [22]. Jejich potenciál pro výrobu biokompatibilních povlaků Ti je srovnatelný s jinými technikami. Pulzní laserové depozice poskytuje dobře řízený růst HAp při nízkých teplotách depozice, ale mají, jako ostatní způsoby využívající vysoké energie, některé nevýhody. Například, amorfní HAp povlaky mají dobrou přilnavost k Ti, ale podstupují rychlou degradaci in vivo, a naproti tomu krystalické HAp povlaky, jež jsou vhodnější pro biomedicínské využití, mají často horší přilnavost na Ti a stechiometrický poměr poněkud odlišný od původně zamýšleného HAp (ten je 1,67, viz Tabulka 8).

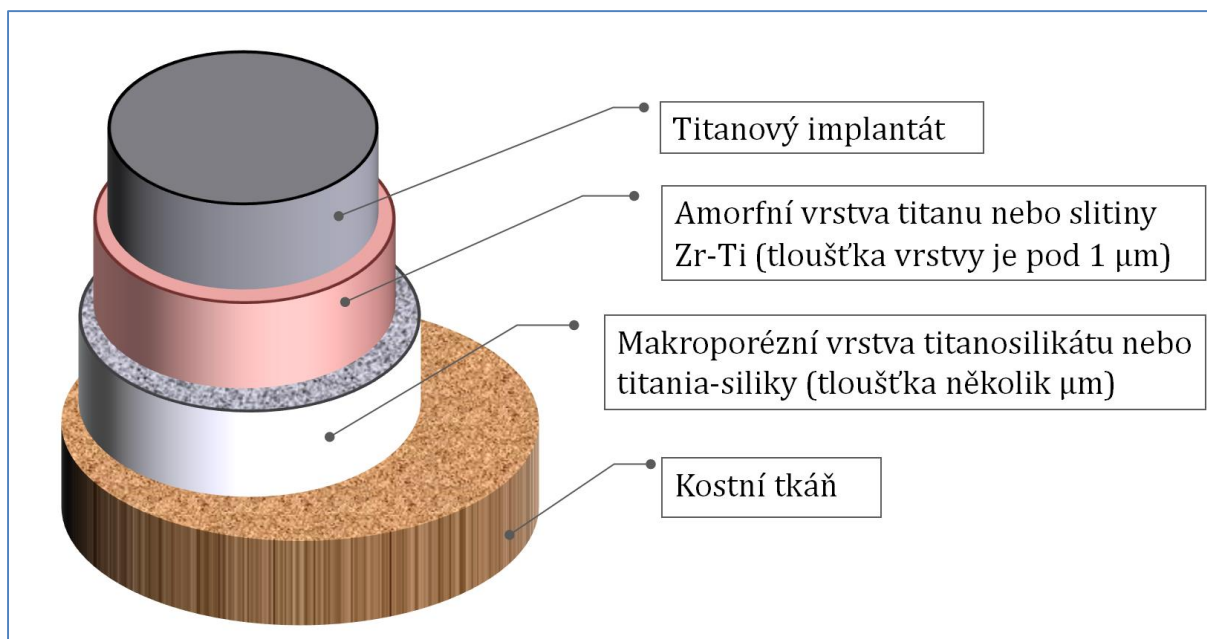
Rozsáhlý výzkum tedy ukazuje, že výroba povlaku krystalického HAp s nízkým obsahem uhličitanu a křemíku, který silně přilne k titanovému implantátu, přitahuje zájem a další zlepšení těchto vrstev je velkou výzvou.

7. Návrh vlastního řešení

Tato práce si klade za cíl přispět svojí experimentální částí výsledky, které by pomohly k nové koncepci připevnění HAp k implantátu z titanu. Celý návrh spočívá ve vytvoření vrchní trojrozměrné makroporézní vrstvy titanosilikátu nebo titania-siliky obsahující nanokrystalické částice HAp a spodní vrstvy na bázi titanu nebo slitiny Zr-Ti v amorfním stavu, která bude sloužit jako „oboustranně lepící film“ mezi pórovitou vrstvou a vlastním implantátem. Úkolem této práce má být snaha vytvoření titanové amorfni vrstvy vytvořené laserovou ablací. Dalším cílem je snaha vytvoření nanočástic HAp a TiO vhodných k inkorporaci do porézní vrstvy.

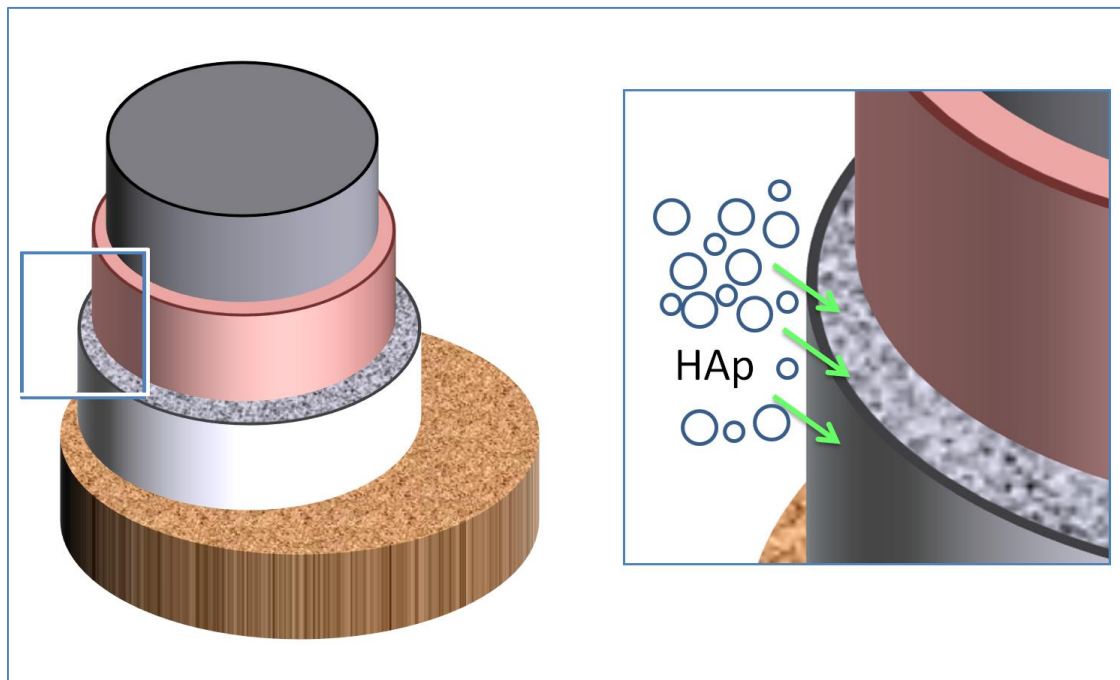
7.1. Popis celé koncepce

Navrhovaný způsob spočívá v přichycení zdánlivě přírodních nanokrystalků HAp (jako zárodky rostoucí HAp fáze) do třídimenzionální vrstvy titanosilikátu nebo titania-siliky. Mezi implantátem z titanu a touto makroporézní vrstvou je potřeba vytvořit pevné spojení. To by měla zaručit vrstva amorfniho titanu, popř. amorfni slitiny Zr-Ti. Celé schéma (pozn. nerespektuje poměr tloušťky jednotlivých vrstev a je pouze ilustrativní) je patrné z Obrázku 17.



Obrázek 17 – Schéma jednotlivých vrstev na titanovém implantátu v kostní tkáni

Spodní vrstva z amorfniho titanu na povrchu vlastního implantátu bude disponovat pravděpodobně vysokou tuhostí a vysokým modulem pružnosti (kovy v amorfním stavu takové vlastnosti vykazují). Navíc lze předpokládat, že díky amorfniomu stavu se bude chovat jako ideální mezivrstva, v podstatě jako „oboustranná lepící páska“. Porozita druhé vrstvy sama o sobě zlepší osseointegraci. Dále se dá očekávat, že přilnavost obou nově vzniklých vrstev k sobě bude přítomna na základě chemické reaktivity obou vrstev. Nanokrystaly HAp budou synteticky připraveny a jejich inkorporace (Obrázek 18) do makroporézní vrstvy bude provedena depozicí velmi přesyceného roztoku. Nanočástice HAp připravené synteticky budou mít velikost mezi 50 až 100 nm. Touto velikostí se velmi blíží nanokrystalům přírodního HAp v kosti, což dle předpokladu napomůže ještě rychlejšímu vrůstání kosti do vrchní struktury vytvořené na implantátu.



Obrázek 18 - Vlastní inkorporace

Přínosem této práce bude snaha o vytvoření titanové amorfni vrstvy vytvořené laserovou ablací. Další část experimentální práce bude věnována pulzní laserové depozici HAp. V případě obou deponovaných materiálů bude prováděna optimalizace depozičních parametrů (vlnová délka laserového paprsku, energie pulzu, tlak inertního plynu) a bude zkoumán její vliv na chemické a fázové složení nově vzniklých materiálů. Ty budou analyzovány pomocí SEM/EDX, XRD, Ramanovy spektroskopie, Zetasizer, HRTEM.

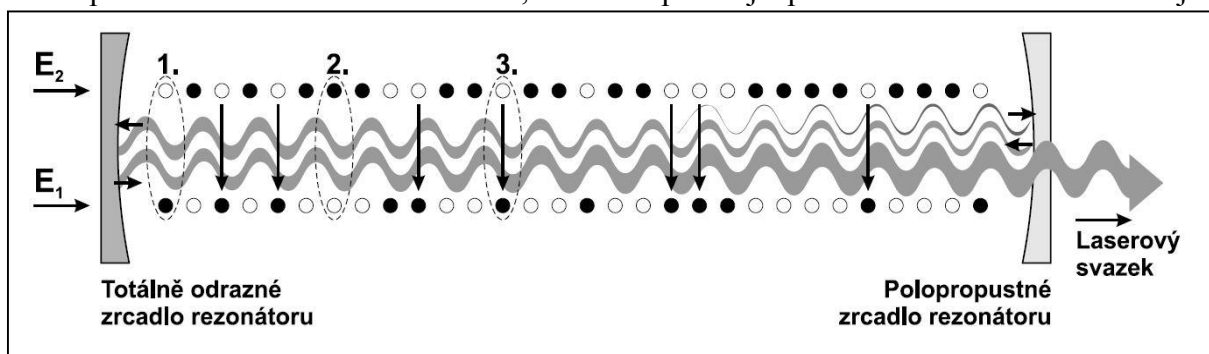
8. Laserová technika

8.1. Princip laseru

Laserům, které jsou dnes známé a používané v širokém spektru lidských činností, předcházela vývoj dlouhý asi 60 let. V padesátých letech minulého století vznikl totiž nový obor známý jako kvantová elektronika. Díky principu stimulované emise záření začínají vznikat první zařízení generující a zesilující elektromagnetické záření. Mimochodem stimulovaná emise byla předpovězena už v roce 1917 Albertem Einsteinem. V již zmíněných padesátých letech se poprvé objevuje název MASER, což je anglický název vytvořený z počátečních písmen popisného názvu „Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation“. Do českého jazyka se tento název dá přeložit jako „zesilování mikrovln stimulovanou emisí“. O pár let později, konkrétně v roce 1958, je navrženo zařízení zesilující a generující na obdobném principu záření z optické spektrální oblasti. Název optický MASER byl rychle nahrazen dnes používaným LASER, kde L nahradilo M a jeho význam je v anglickém jazyce Light, tedy světlo. [23]

Všechny fyzikální systémy mají tendence zaujímat tzv. rovnovážný stav, neboli takový stav s nejmenší možnou energií. Tento stav je možné pojmenovat jako základní. Pokud atom převedeme do vyššího energetického stavu, přijímá tato částice energii o velikosti rozdílu energie vyššího a základního stavu. To platí i naopak.

Dále je podstatné, že lasery jsou zařízení pracující se světelnými spektry. Nezbytné je tedy popsat, že elektromagnetické záření sahá od radiových vln až po záření gama. U dlouhovlnných částí spektra má záření charakter vlnění, čemuž odpovídají specifické vlastnosti. Se zkracující



Obrázek 19 - Princip generace laserového záření [24]

se vlnovou délkou (tzn. zvyšující se frekvenci) se charakter mění a je výhodnější na záření nahlížet jako na proud částic, tzv. fotonů. Tento pohled bude využit pro popsání principu laseru. Nachází-li se atom v proudu fotonů, může dojít k interakci pouze tehdy, jestliže je energie E rovna rozdílu energetických hladin v atomu. Energie fotonu se přemění na vnitřní energii atomu (ten excituje na vyšší hladinu) Tento jev se nazývá absorpce. Pokud bude atom přecházet na nižší energetickou hladinu, dojde k tzv. emisi fotonu, neboli uvolnění částice. [23, 24]

Pro lepší představu poslouží Obrázek 19, který názorně ukazuje dvě energetické hladiny 1 a 2, dále v bodě (1.) základní stav kvantové soustavy (např. už zmíněných atomů), v bodě (2.) excitovaný stav a v bodě (3.) stimulovanou emisi, díky které získáváme fotony jednoho směru a fáze, jež jsou důležité pro tvorbu paprsku laseru. Celý děj probíhá uvnitř válcového prostoru, který je ohraničen dvěma zrcadly. Jedno je totálně odrazné, druhé polopropustné, tudíž vychází výsledný paprsek, a to tehdy pokud se spontánní emise stane zanedbatelnou vůči emisi stimulované (příčinou tohoto jevu je tzv. inverze populace, což lze popsat jako přítomnost více kvantových soustav v excitovaném stavu). Zjednodušeně lze říci, že pokud se získá dostatek fotonů o stejném směru a fázi, laserový svazek prostoupí polopropustné zrcadlo. Celý tento proces probíhá v tzv. aktivním prostředí, což je prostor, v němž se nachází dostatek kvantových soustav schopných excitovat na vyšší hladinu. Jedná se o shluky molekul, atomů či iontů. Aktivní prostředí dělíme na pevnolátkové, kapalně a plynné nebo plazmatické. [23, 24]

8.2. Vlastnosti laserového záření

Laserové záření je specifické a velmi se liší od běžných světelných zdrojů. V následujících bodech budou shrnuty základní vlastnosti laserového záření:

1. Koherentní záření
Tento jev se vyznačuje pevným fázovým vztahem vln emitovaných z různých míst aktivního prostředí.
2. Extrémně vysoké hustoty výkonu
Těchto vysokých hodnot je docíleno v důsledku toho, že se záření nešíří všemi směry, ale v úzkém svazku, který je tzv. fokusován na dané místo.
3. Vysoká přesnost frekvence – tzv. monochromaticnost
Vlivem zanedbatelných fázových nerovností je laserové záření koherentní, neboli je zde vysoká přesnost frekvence záření.
4. Optický výkon pulzních laserů
Při použití pulzních laserů lze uvolnit energii a tím uvolnit výkon o hodnotách od 1010 až do 1013 W. [24]

8.3. Dělení laserů

Dle režimu generace se dělí přístroje na kontinuální a pulzní lasery. Jak už z názvu vyplývá, kontinuální po zapnutí stále vypouští laserový svazek. Kdežto pulzní uvolní svazek na velmi krátkou dobu. Druhý zmíněný můžeme dále dělit na lasery pracující v režimu volné generace, lasery pracující v režimu spínání zisku a na lasery pracující v režimu synchronizace módů (délka pulzu v pořadí vyjmenovaných podskupin: 10^{-4} s, 10^{-8} s a 10^{-12} s). Nabízí se mnoho dalších dělení, které však není, až na výjimku rozdělení dle aktivního prostředí, nutné dále rozvádět. Jak již bylo zmíněno výše, aktivní prostředí laseru (neboli jakou kvantovou soustavou disponují) a jeho dělení je následující: Pevnolátkové, kapalně a plynné nebo plazmatické. Vzhledem k zaměření práce postačí, pokud budou popsány lasery pevnolátkové. Jejich aktivní prostředí má charakter pevného skupenství. Obecně lze říci, že se toto prostředí skládá z matrice a dopantů, kde matici tvoří krystalické či amorfní prostředí a jako dopující příměs se používá vhodný iont. Kombinací bylo vyzkoušeno mnoho, avšak funkčních a efektivních tolik není. Je dobré zmínit známý červeně zářící laser, kde nosné prostředí (matici) tvoří safír, jež dotuje chrom – rubín. Technicky dobře zvládnutý a dnes patrně nejrozšířenější je laser označený zkratkou Nd:YAG. Ten je charakteristický nosným prostředím, které tvoří ionty neodymu Nd³⁺ dotovaný yttrium aluminium granátem. [23, 24]

8.4. Aplikace laserů

Krom námi použité metody laserové ablace, mají lasery široké využití. Ať už v oční chirurgii nebo jako prostředek pro přenášení dat v optických mechanikách počítačů či DVD přehrávačů. [24]

8.5. Použitý laser

Přístroj, se kterým bude prováděna laserová ablace, je pevnolátkový Nd:YAG laser. Důležité parametry jsou k vidění v Tabulce 11. Jedná se o modulární laser, kde lze snadno přidávat či odebrat moduly vyšších harmonických frekvencí, modul OPO a to vše jednoduše, přímo uživatelem (Fotografie laseru na Obrázku 20). Lze tedy snadno změnit konfiguraci laseru a mít výstup na 1064 nm, 532 nm, 355 nm, 266 nm či 213 nm. Lasery nabízejí energie až 850 mJ na 1064 nm. Laser není rozměrný, a proto se hodí pro práci v laboratoři. [25]

Parametr	Hodnota	
Opakovací frekvence [Hz]	10	
Vlnová délka [nm] Energie [mJ]	1064	850
	532	430
	355	230
	266	100
	213	20
Délka pulzu [ns]	6	
Odchylka paprsku [mrad]	<0,5	

Tabulka 11 - Parametry laseru Q-smart 850 [25]



Obrázek 20 - Použitý laser Q-smart 850 [25]

9. Metody charakterizace deponovaných povrchů

Analýzy pro zkoumání nových povrchů budou stručně popsány – vyjma základních, jako optická mikroskopie – v této kapitole.

9.1. Konfokální mikroskopie

9.1.1. Princip

Obraz v konfokálním mikroskopu není tvořen najednou ale bod po bodu, tedy řádkováním. Za využití laseru jakožto zdroje bodového světla a dvou clonek dochází k získání obrazu. Celý obraz je pak zpracováván řádkováním bod po bodu třemi způsoby: rozmítání laserového paprsku, příčný posuv vzorku před objektivem, posuv objektivu nad vzorkem. Mezi možnosti aplikace patří přesné 3D zobrazování a měření pro rozměrovou a tvarovou analýzu částic, charakteristika materiálových povrchů vytvořených technologií vodních paprsků a dalšími desintegracími metodami (analýza drsnosti povrchu, měření objemu, měření ploch a vzdáleností, geometrická analýza a další). [26]

9.1.2. Základní specifikace používaného zařízení

Specifikace jsou následující: Rozlišení 0,12 μm , maximální výška vzorku 100 mm, maximální hmotnost vzorku 10 kg, celkové zvětšení 120x až 14400x, zorné pole 2560x2560 – 21x21 μm , motorizovaný x-y křížový stolek 150x100 mm.

9.2. Ramanova spektroskopie

9.2.1. Princip

Využívá se laserového paprsku, který interaguje s elektrony zkoumaného materiálu. Tyto elektrony vyexcitují do virtuální roviny a zkoumaným hlediskem je vracející se vlnová délka laserového paprsku (a posun od původní frekvence), která je buďto stejná, nenese žádnou analytickou informaci, anebo je jiná a ta informuje o rozdílech jednotlivých kvantových hladin. Tomuto jevu říkáme Ramanův.

Této metody využíváme při analýze vzorků při identifikaci jednotlivých chemických vazeb v konkrétním bodě právě na změně vlnové délky. [27]

9.2.2. Základní specifikace používaného zařízení

Ramanův spektrometr "DXR Raman microscope" s rozsahem měření 50 - 3000 cm^{-1} . Pro měření byl použit zelený excitační laser o vlnové délce 532 nm, výkon laseru 1 mW, velikost spotu podle zvětšení (zvětšení 10x = spot o průměru 2.1 mikrometru, 50x = 1.1 mikrometru, 100x = 0,7 mikrometru).

9.3. SEM/EDX

9.3.1. Princip SEM

Přístroj určený k pozorování povrchů a ke stanovení morfologie zkoumaného vzorku. Jedná se o analogii k optickému mikroskopu, ale s tím rozdílem, že obraz utváří odraz tzv. sekundárních elektronů (tím pádem se jedná o nepřímou metodu). Tato metoda disponuje velkou hloubkou ostrosti. [28]

9.3.2. Princip EDX

Pokud je ozářen materiál elektrony, vzniká též rentgenové záření, které je vyvoláno působením elektronů a materiálu. Při zásahu primárních elektronů jsou z vnitřních slupek atomů vyraženy elektrony, jež jsou nahrazeny atomy z vyšších energetických hladin a rozdíl této energie se projeví ve formě záření. Pro každý prvek toto záření dosahuje specifických hodnot energie, podle níž se poté určuje zastoupení prvků ve vzorku. [29]

9.3.3. Základní specifikace používaného zařízení

Elektronový mikroskop Quanta 200 od firmy FEI s energiovým analyzátozem (EDS) od firmy EDAX k určování prvkového složení. Mikroskop má termoemisi wolframový zdroj elektronů a dokáže v režimu ESEM zkoumat i nevodivé vzorky včetně změření jejich složení pomocí EDS s korekcí na pohltivost prostředí v nízkém vakuu a ESEM režimu.

9.4. XRD

9.4.1. Princip

Zde dochází k interakci rentgenového záření a atomů zkoumaného vzorku. Při průchodu krystalem dochází k difrakci a ta částečně dopadá na stínítko, které je připojeno k analytické jednotce. Syntézou více výsledků dostáváme mapu elektronové hustoty. Díky pravidelnému periodickému uspořádání atomů v krystalické fázi dochází po rozptylu a následné interferenci rentgenového záření ke vzniku difrakčních maxim, které jsou poté vyhodnoceny. Jako výstupy z této analýzy slouží krystalické složení a možné je také studovat mikrostrukturu. [30]

9.4.2. Základní specifikace používaného zařízení

Automatický práškový difraktometr Bruker AXS D8 Discover s kobaltovou RTG lampou. Pro měření se využívá nesymetrická geometrie, kdy je RTG lampa nastavena na pevný úhel vzhledem k povrchu vzorku a pohyb vykonává pouze detektor. Lampa je navíc vybavena polykapilárou, která fokusuje primární RTG svazek na kruhovou stopu o průměru 0.5 mm. Difraktované záření je snímáno plošným, pozičně citlivým detektorem HI-STAR. Integrací plošných záznamů podél radiálního profilu lze získat stejný difraktogram jako při použití symetrické Bragg-Brentano geometrie.

9.5. Analyzátor velikosti částic a molekul (Zetasizer)

9.5.1. Princip

Využívá se dynamického rozptylu světla pro měření velikosti částic a molekul. Tato technika měří šíření částic pohybujících se Brownovým pohybem a převádí tento jev na velikost a distribuci velikosti částic za pomoci vztahu Stokes - Einstein . Bezkontaktní technologie zpětného rozptylu vyniká vysokou citlivostí. [31]

9.5.2. Základní specifikace používaného zařízení

Zařízení Zetasizer Nano ZS je schopné rozeznat částice od 0,3 nm. Celkově potom citlivost tohoto přístroje činí od 0,3 nm do 10 μm . Minimální objem vzorku je 12 μL a citlivost na koncentraci částic v roztoku je 0,1 mg/mL. [31]

9.6. HRTEM

9.6.1. Princip

Tato metoda dokáže zobrazit jednotlivé atomy uspořádané v krystalové mřížce materiálu. Vysokorozlišovací TEM přináší informace o uspořádání atomů v krystalové mřížce a o poruchách, které se v krystalu běžně vyskytují. [32]

9.6.2. Základní specifikace použitého zařízení

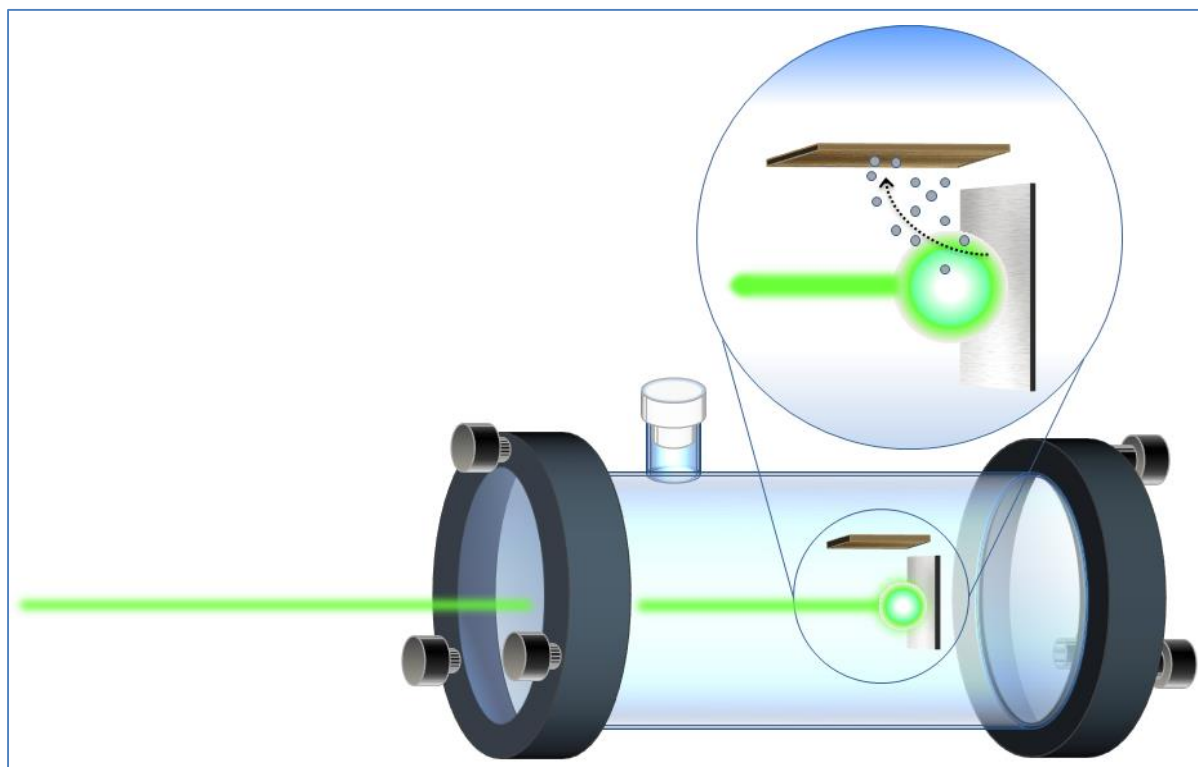
Použité zařízení má název JEOL JEM 3010. Jedná se o HRTEM operující na napětí 300 kV (s katodou LaB₆) s připojeným energeticky disperzním rengenovým (EDX) detektorem Oxford Instruments INCA. Snímky jsou pořizovány na Gatan, CCD kameru s rozlišením 1024x1024 pixelů využívající software Digital Micrograph. [33]

10. Experimentální část/shrnutí výsledků

10.1. Návrh vlastního řešení experimentu – Laserová ablace

10.1.1. Laserová depozice ve vakuu

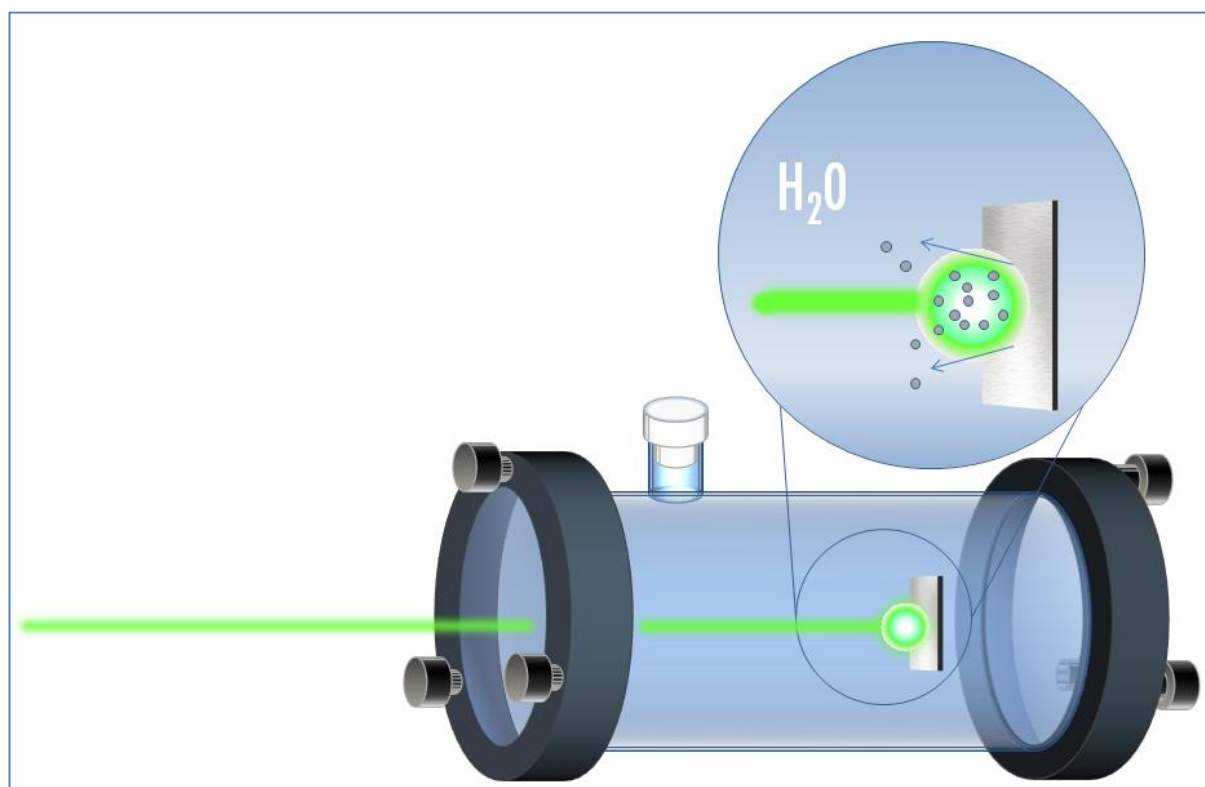
První variantou je laserová depozice ve vakuu (Obrázek 21). V prvním kroku je z kyvety vyčerpáván vzduch turbomolekulární vývěvou. Když je dosaženo tlaku o hodnotách v řádu 10^{-1} Pa, čerpání vzduchu je zastaveno. Terčík se upevní do přípravku tak, že svou čelní stranou je natočen naproti dopadu laserového paprsku. Nad ním se v kolmé pozici nachází měděný substrát. Před vlastním experimentem je nutné nastavit kyvetu do správně vzdálenosti od laseru, tak aby místo dopadajícího paprsku bylo v ohniskové vzdálenosti a dopadající energie byla co možná nejvíce lokalizovaná. Vlastní proces laserové depozice začíná dopadem laserového paprsku na titanový terčík, kde dochází k velmi rychlému ohřevu a tím k vytvoření atomů a iontů ablaovaného terčíku v plynné fázi, jejich následné kondenzaci a tvorbě nanočástic nebo tenkých vrstev. To se děje na povrchu substrátu, kam částice doputují díky nízkému tlaku okolí (viz detail Obrázku 21). Vzhledem k nízkému okolnímu tlaku nejsou částice omezeny v růstu a tak na substráty dopadají částice i o velikosti desítek μm . Jako terčíky byly použity Ti, TiO, HAp, a HAp s nD. Pro každý terčík byly zvoleny stejné podmínky, tzn. 1000 pulzů s frekvencí 10 Hz. Tyto podmínky byly změněny u tablet HAp (potažmo HAp s nD), kde kvůli jejich rozpadu a možnosti propálení skrz byla zvolena varianta pouze 500 pulzů. Vlnová délka laserového záření byla zvolena 355 nm s energií pulzu 230 mJ. Po dokončení stanoveného počtu ozáření se laser vypne a z kyvety se vyjmou pinzetou jak terčík, tak substrát. Substrát s nově vzniklou vrstvou částic pak podstoupí potřebné analýzy.



Obrázek 21 – Schéma laserové depozice ve vakuu

10.1.2. Laserová depozice ve vodě

V tomto případě se v prvním kroku opět terčík v přípravku umístí do kyvety. Poté se opět celá kyveta připraví do ohniskové vzdálenosti. Celá kyveta se napustí demineralizovanou vodou za pomoci injekční stříkačky. Následuje vlastní laserová ablace (Obrázek 22). Po dopadu laserového paprsku se částice uvolňují rovnou do vody, kde dochází k jejich solidifikaci. Nově vznikající částice jsou v důsledku okolní vody omezeny v růstu, a tak mají poměrně uniformní velikost (zpravidla od 10 do 100 nm). Tomu se děje především z toho důvodu, že tlak okolní vody má vliv na vlastní plazmu, která vzniká v kavitační bublině a tak je velmi intenzivní co do hustoty energie. Tato kavitační bublina navíc vytváří velké tlaky a omezuje růst nově vznikajících útvarů. V neposlední řadě voda funguje jako ochlazovací médium, které proces ochlazení urychluje, a tím omezuje růst. Po vlastním procesu expozice laserového záření je vzniklý roztok vody a částic (zvaný koloid) nakapán na měděný substrát. Substrát s dvěma nebo třemi kapičkami koloidu je pak umístěn do sušárny, kde při teplotě 96 °C dochází k odpaření vody z koloidu. Tento proces je nutné opakovat alespoň pětkrát. Na substrátu pak zůstanou pouze částice z koloidu. Ideální variantou by bylo odpařování ve vakuu bez přítomnosti cizích částic, v případě této práce však bylo zvoleno řešení s klasickou sušárnou pro chemické laboratoře. Tím došlo ke kontaminaci substrátu (později prokázáno analýzou Mapping). Vakuové způsob odpaření by byl nákladný jak z hlediska financí, tak času.



Obrázek 22 – Schéma laserové depozice ve vodě

10.1.3. Popis použitých vstupních materiálů

V tomto oddíle budou popsány vstupní materiály, které byly použity jako terčíky.

10.1.3.1. Ti

Pro terčíky titanu byly použity folie od Stream Chemicals. Čistota je deklarována jako 99,5%. Analýzou XRD byla potvrzena šesterečná morfologie.

10.1.3.2. TiO

Monoxid titanu ve formě pelet je dodáván společností Stream Chemicals v čistotě 99,9%. Označení tohoto materiálu je CAS#12137-20-1.

10.1.3.3. HAp

Peleta HAp byla připravena smícháním komerčně dostupného HAp prášku (od společnosti Sigma-Aldrich) a SiO₂ v demineralizované vodě s kyselinou citrónovou. SiO₂ s komerčním názvem Bindzil® 2040 funguje v tomto případě jako pojivo. Velikost částic SiO₂ jsou 3 nm (v průměru).

10.1.3.4. HAp+nD

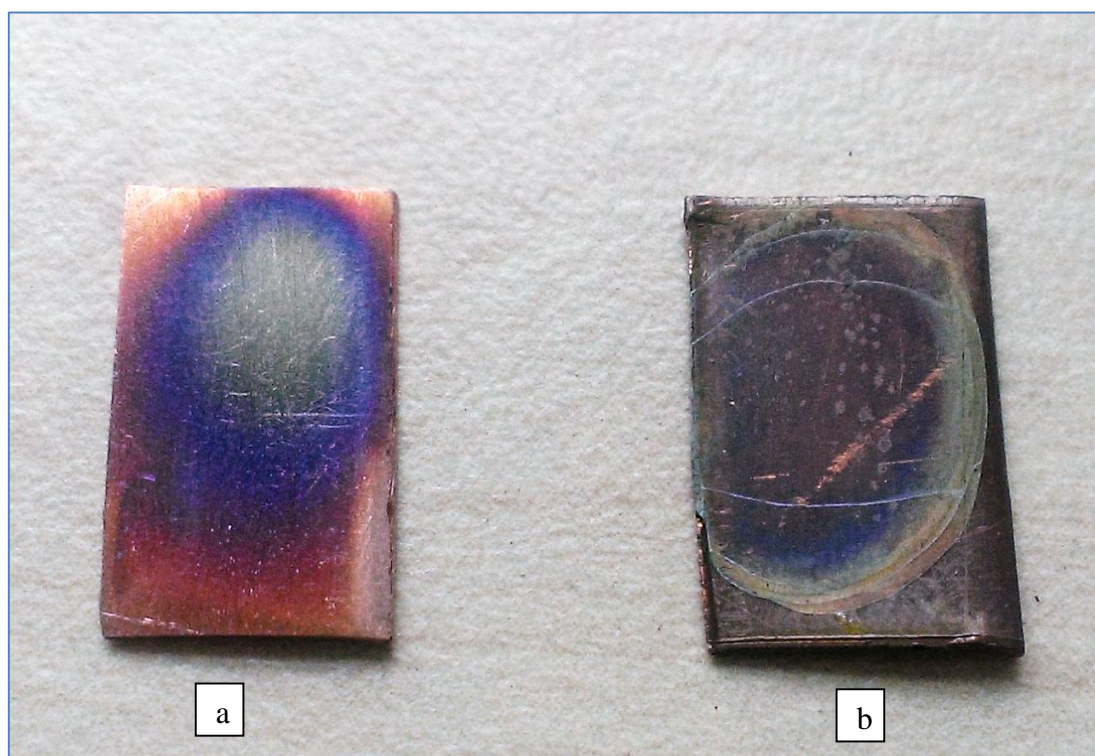
Jedná se o stejné pelety jako v případě čistých HAp. Dochází však ještě k přidání 9 hm. % nD. Poměry jednotlivých látek jsou patrné z Tabulky 12.

Látka	Množství
ddH ₂ O	38.74g
HAp	62.57g (33 obj. % - ve vztahu k vodě)
SiO ₂	2.09g (1 hm. % - ve vztahu k prášku) <ul style="list-style-type: none">• 1 hm. % = 0,62g nanočástic SiO₂ v roztoku• 30% tvoří nanočástice SiO₂ v roztoku
Kyselina citrónová	2.03g (0.5 mg/m ² HAp)
Pokud varianta HAp+nD	+ 9 hm. % nD

Tabulka 12 - Poměry v roztoku pro přípravu HAp, popř. HAp+nD

10.1.4. Vzorky získané laserovou ablací ve vakuu a ve vodě

Na Obrázku 23 je ukázka toho, jak vypadají substráty po provedení experimentu. V levé části Obrázku 23 je substrát s depozitem Ti (vzorek a) získaný pulzní laserovou depozicí ve vakuu. Je patrná barevná vrstva, která pokrývá téměř celý substrát. Oproti tomu vzorek s označením b je příkladem toho, jak vypadá substrát po nakapávání a vysušení koloidu. Tento konkrétní vzorek byl připraven z tablety HAp+nD. Jsou patrné stopy po hranicích kapek, než došlo jejich odpaření. U všech vzorků byla provedena obrazová analýza řádkovacím elektronovým mikroskopem, dále také funkce Mapping, která barevně rozliší jednotlivé prvky, které se na snímku nachází. K těmto snímkům se pak vztahují i tabulky s hmotnostními i atomovými procenty jednotlivých prvků zastoupených v právě nasnímané oblasti. Tabulka je také doplněna o údaj chyby měření pro dané prvky.

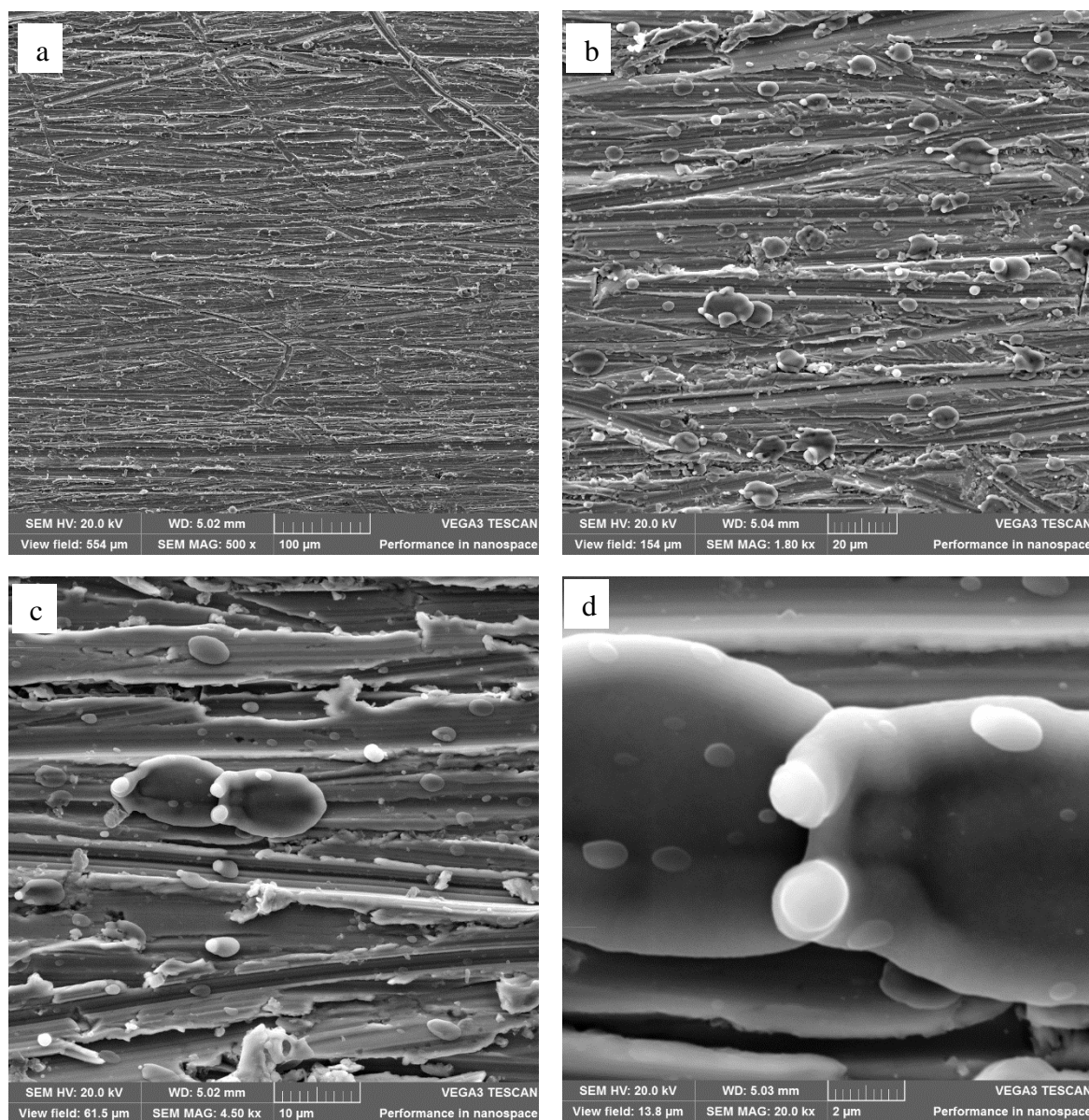


Obrázek 23 – Ukázka substrátů po provedení experimentu (a – Ti, b – HAp+nD)

10.2. Analýza SEM/Mapping

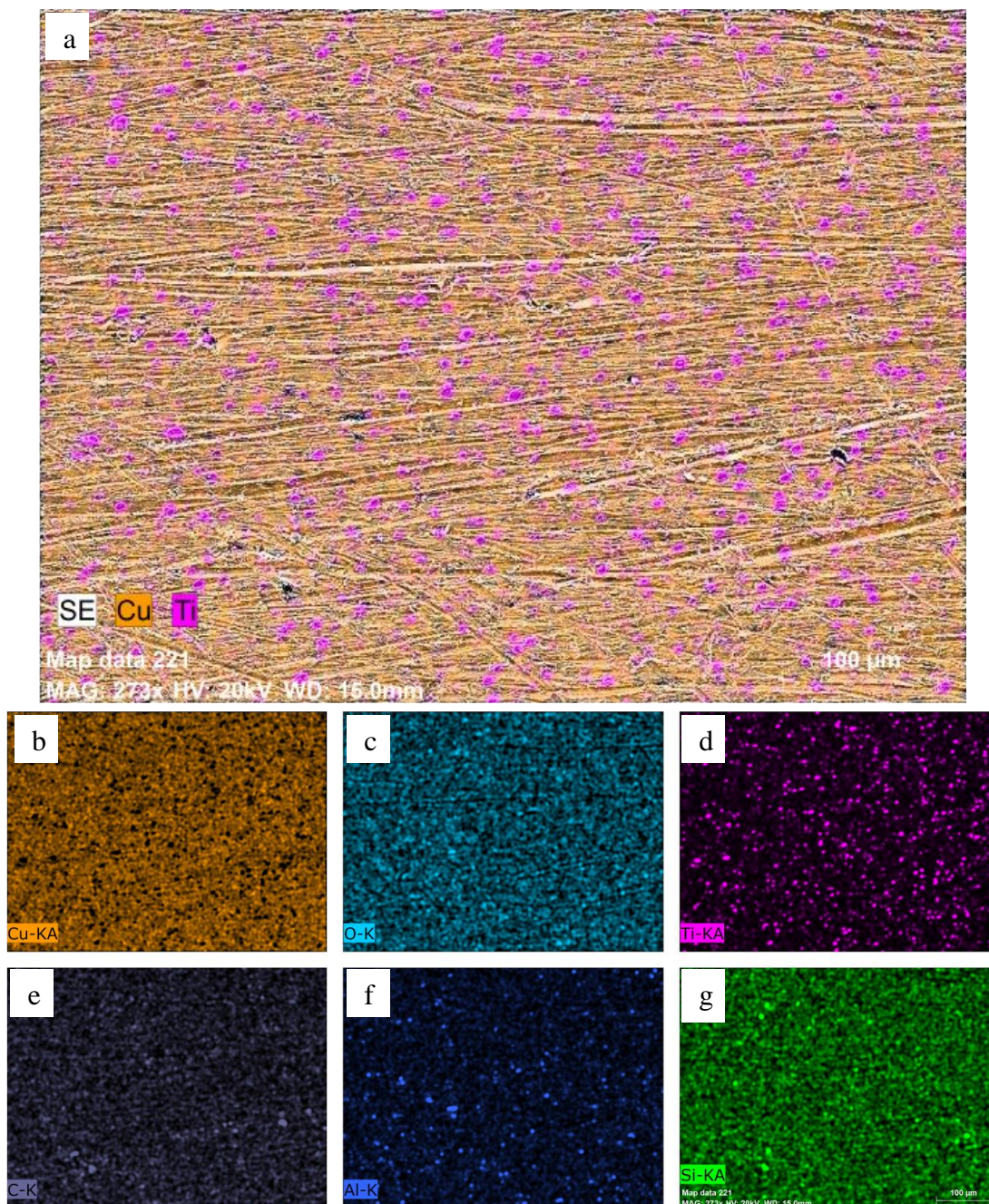
10.2.1. Titan (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vakuu)

Vzhledem k povaze tvorby částic během laserové depozice ve vakuu je i morfologie těchto částic specifická a odlišná oproti depozici ve vodě. Kvůli velmi nízkému tlaku v kyvetě (tlak v řádech 10^{-1} Pa) není růst částic omezen. To má za následek mnohem větší rozptyl velikosti tvořících se částic. Na Obrázku 24a je pohled na substrát s částicemi, ale především pohled na Obrázek 24b ukazuje vyšší zastoupení částic o větší velikosti až $15\mu\text{m}$. Morfologie těchto částic je kulovitá až nepravidelná. Částice se také mají tendenci stékat (Obrázek 24c a 24d). Na detailním Obrázku 24d jsou také viditelné malé částice o velikosti od 10 nanometrů. Není zde náznak pórovité struktury, pouze občasný výskyt malých částic zachycených na větších. Lze předpokládat, že k solidifikaci (vzhledem k jejich „nateklé“ morfologii) dochází až po dopadu na substrát. To převážně u částic větších $10\mu\text{m}$.

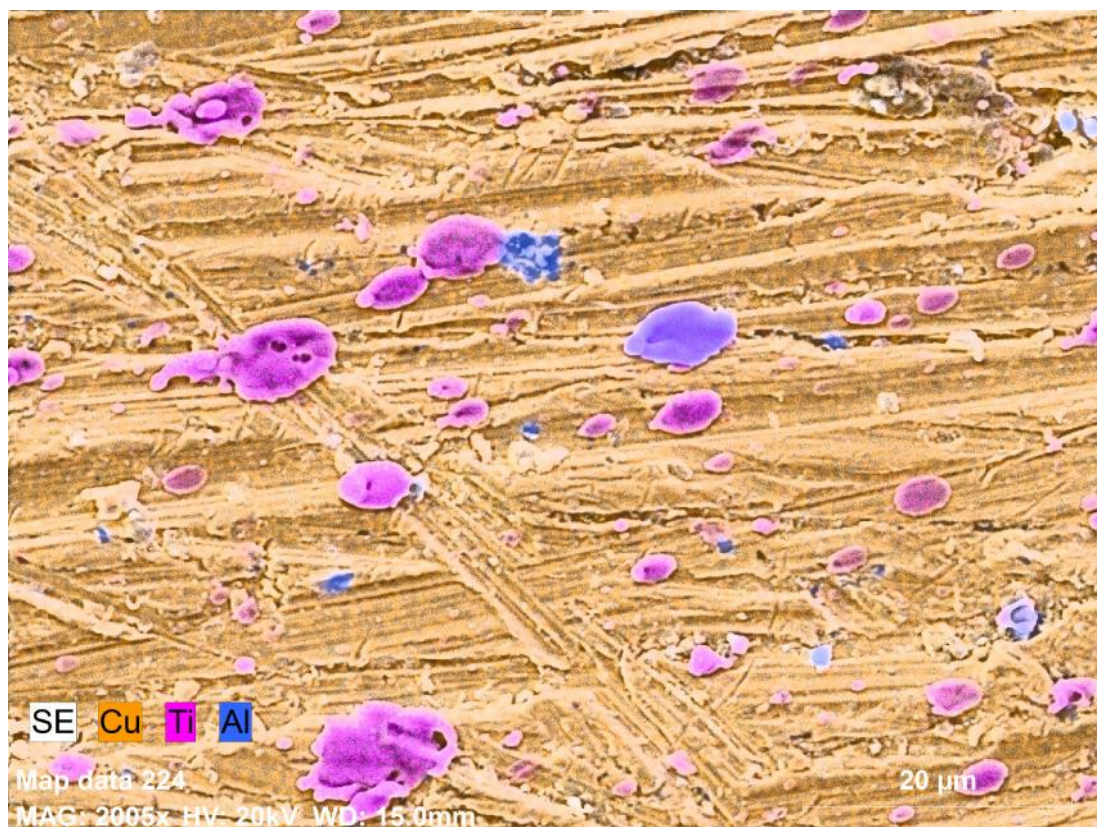


Obrázek 24 – Snímek SEM Titan připraven ve vakuu; a – pohled na substrát; b – detailní pohled na substrát; c – Pohled na „slitou“ částici o velikosti $\pm 25\mu\text{m}$; d – Detail částice a dalších menších částic

Celkový pohled s pomocí analýzy Mapping na substrát (Obrázek 25a) ukazuje velmi husté pokrytí titanovými částicemi. To je potvrzeno i na snímku, který vyznačuje pouze titan (Obrázek 25d), kde titan je zvýrazněn růžovou barvou na černém pozadí. Na detailním snímku analýzy Mapping na Obrázku 26 jsou dobře rozeznatelné jednotlivé částice vzniklé laserovou depozicí. Barevné rozlišení zviditelňuje částice od 1 μm . Největší částice dosahují velikosti zhruba 10 μm a mají kulovitý tvar mírně protažený v jednom směru. Je pravděpodobné, že směr protažení vzniká při dopadu a to v jeho směru. Na substrátu se nachází i hliníková částice. Původ přítomnosti hliníku je pravděpodobně v důsledku přípravy substrátu brusným papírem.



Obrázek 25 – Mapping Titanu (Vakuum). a – Snímek částic na substrátu; b – zvýraznění mědi; c – zvýraznění kyslíku; d – zvýraznění titanu; e – znázornění uhlíku; f – znázornění hliníku; g – znázornění křemíku



Obrázek 26 – Mapping vzorku Ti

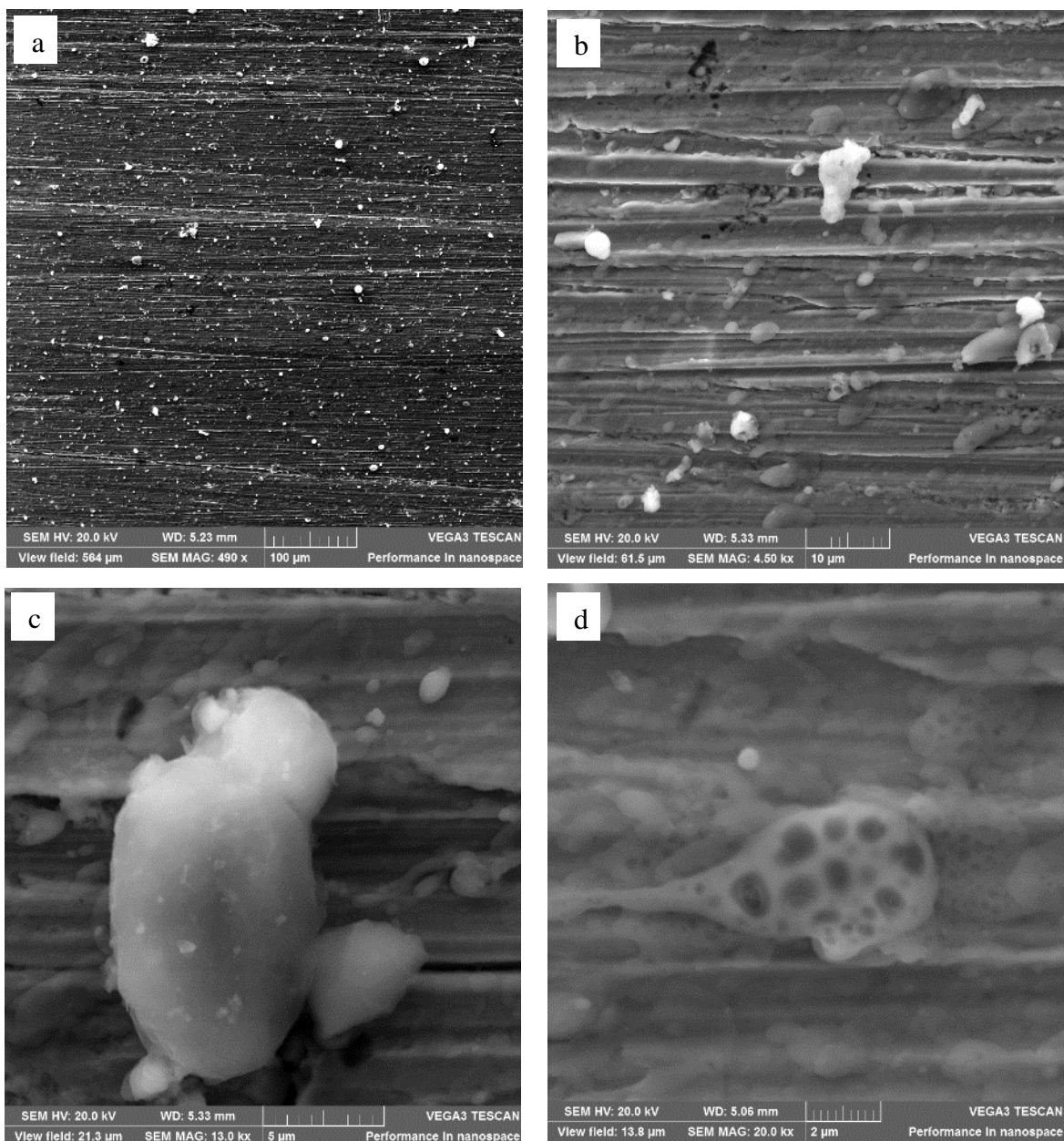
V Tabulce 13 je k vidění procentuální zastoupení prvků. Poměrně vysoké hodnoty byly naměřeny u titanu. A to 12,48 hm. %, resp. 11,26 at. %. Další prvky v tomto případě nejsou tak důležité, za zmínku stojí pouze velmi nízké zastoupení hliníku (0,52 hm. %).

Prvek	[hm. %]	[at. %]	Chyba (3 sigma) [hm. %]
Měď	75,23	51,18	5,29
Kyslík	6,12	16,52	1,92
Titan	12,48	11,26	0,97
Uhlík	5,58	20,09	1,89
Hliník	0,52	0,84	0,14
Křemík	0,07	0,1	0,08
Σ %	100	100	

Tabulka 13 - Procentuální zastoupení prvků (Ti)

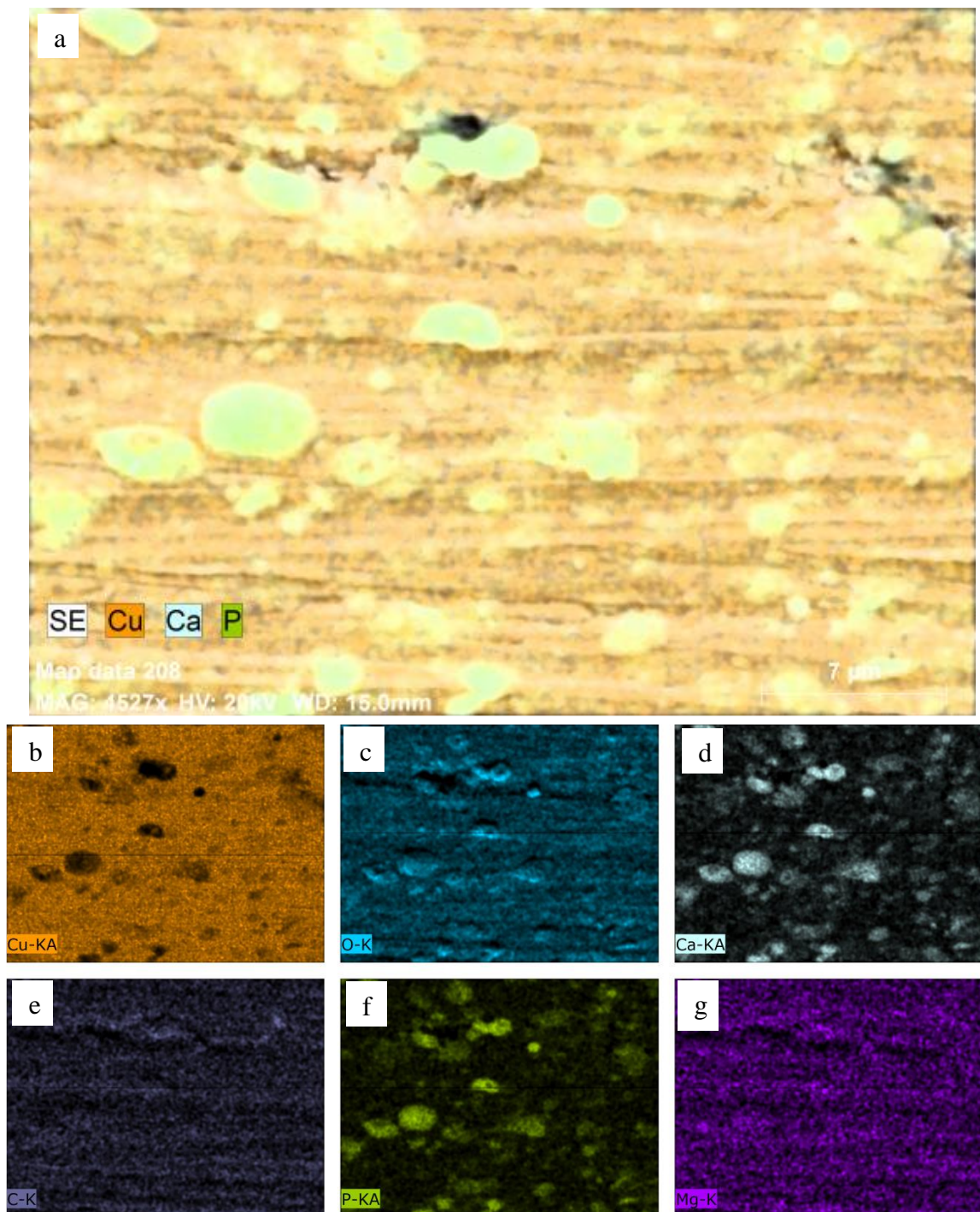
10.2.2. HAp (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vakuu)

U vzorků HAp se objevuje podobnost morfologie jako u titanu připraveného ve vakuu. Na celkovém pohledu (Obrázek 27a) na substrát jsou patrné jednotlivé částice HAp v pravidelném rozmístění po celém povrchu substrátu s velikostí jednotlivých částic do cca 15 mikrometrů. Detailnější pohled (Obrázek 27b) poté ukazuje právě podobně nateklý charakter částic a protažení částic v určitém směru, který opět lze pravděpodobně přisuzovat jejich rozstříknutí na substrát při jejich dopadu ještě v kapalném stavu. Detailní záběr (Obrázky 27c) také ukazují větší částici s menšími částicemi na svém povrchu. V okolí této zhruba 15 mikrometrů velké částice se nacházejí menší částice (velikost těchto částic řádově od stovek nm). Zajímavou morfolozií má i částice na posledním Obrázku 27d. Ta vykazuje pórovitou strukturu s póry o velikosti maximálně 1 mikrometru. V okolí této částice jsou další s totožnou morfolozií, avšak méně viditelné.



Obrázek 27 - Snímek SEM HAp připraven ve vakuu. a – pohled na substrát; b – detailní pohled na substrát; c – Pohled na částici o velikosti $\pm 25 \mu\text{m}$; d – Detail pórovité částice a dalších menších částic

Při pohledu na výsledky analýzy Mapping jsou na substrátu patrné částice HAp, které na prvním snímku svojí barvou mají tendenci splývat se substrátem (Obrázek 28a). Přesto díky selektivnímu vyznačení prvků na Obrázku 28b až 28g pod hlavním snímek lze konstatovat, že dva základní prvky HAp, tedy fosfor i vápník, jsou právě v místech částic přítomné. Lze tedy tvrdit, že HAp zůstává pravděpodobně určité formě nezměněn. Minimálně z pohledu faktu, že nedochází k odloučení ani jednoho ze základních prvků.



Obrázek 28 - Mapping HAp (Vakuum). a – Snímek částic na substrátu; b – zvýraznění mědi; c – zvýraznění kyslíku; d – zvýraznění vápníku; e – znázornění uhlíku; f – znázornění fosforu; g – znázornění horčíku

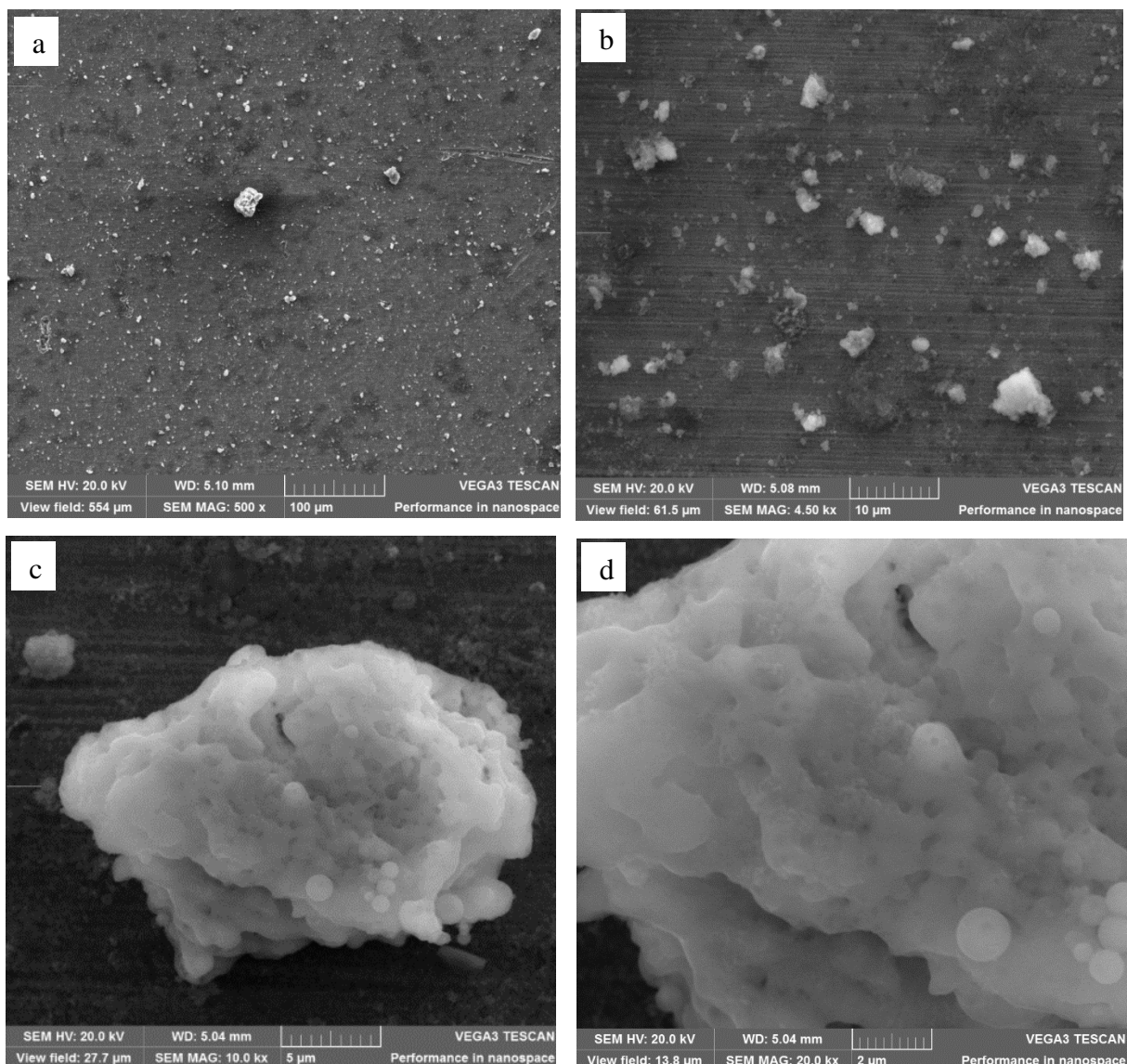
Tabulka 14 potvrzuje zastoupení jak fosforu, tak také vápníku. Přítomnost kyslíku a uhlíku lze opět vysvětlit tím, že se vzorky bylo manipulováno na vzduchu. U kyslíku se však může jednat i o původ z OH⁻ skupiny obsaženou v HAp. Další prvky, které se v tabulce vyskytují, se na vzorku pravděpodobně objevily díky odpařování v sušárně a jsou považovány za nečistoty.

Prvek	[hm. %]	[at. %]	Chyba (3 sigma) [hm. %]
Měď	74,05	46,98	5,51
Kyslík	11,02	27,77	3,33
Vápník	6,59	6,63	0,6
Uhlík	3,67	12,31	1,31
Fosfor	3,7	4,81	0,46
Hořčík	0,39	0,65	0,13
Hliník	0,34	0,5	0,12
Křemík	0,21	0,31	0,1
Síra	0,03	0,04	0,08
Σ %	100	100	

Tabulka 14 - Procentuální zastoupení prvků (HAp)

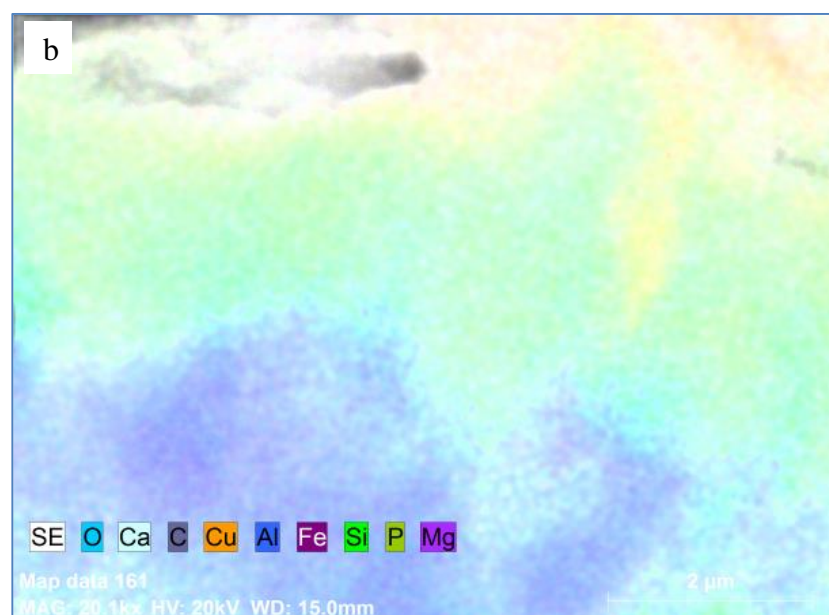
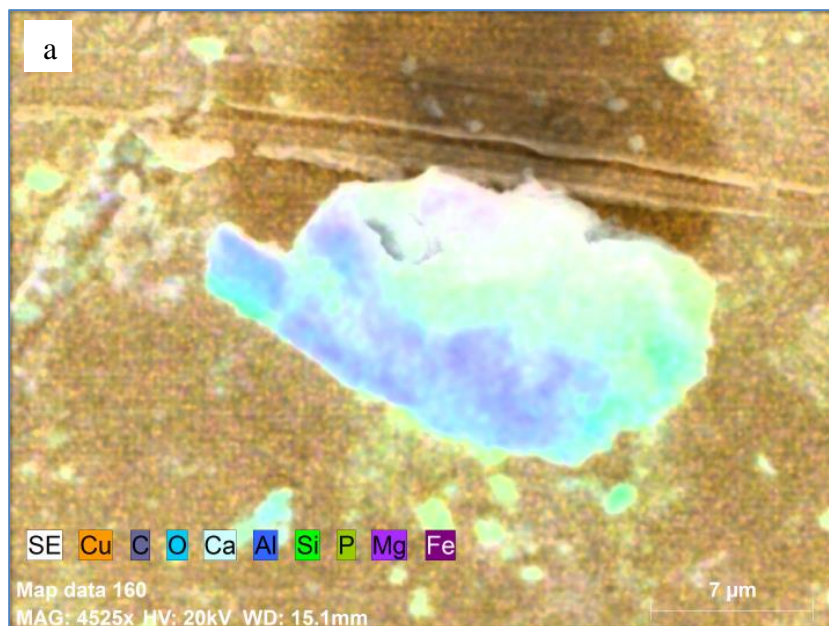
10.2.3. HAp (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě)

Prvním analyzovaným vzorkem připraveným ve vodě je HAp. Na snímcích je patrný výskyt částic HAp v poměrně pravidelném rozložení po celém substrátu (Obrázek 29a a Obrázek 29b). Velikost těchto částic se pohybuje nejčastěji v jednotkách μm . Větší útvary tvoří částice velké až $40 \mu\text{m}$. Morfologie částic je možné popsat jako nedokonalé kulovité útvary. Na Obrázku 29c je patrná částice o velikosti asi $25 \mu\text{m}$. Jsou zde vidět malé částice kulovitého tvaru, pravděpodobně HAp. Lze předpokládat, že tyto velké částice vznikají růstem malých částic a jejich shlukováním. Pravděpodobně i proto se zde vyskytují tmavší místa, která by mohly značit pórovitou strukturu. Ty jsou především patrné na Obrázku 29d, kde mezi jednotlivými částicemi jsou tmavší oblasti. Oproti laserové depozici ve vakuu zde není přítomen „nateklý“ tvar částic. Tento jev bude potlačen v důsledku rychlého ochlazení okolní vodou.



Obrázek 29 – Snímek SEM vzorku HAp. a – pohled na substrát; b – detailní pohled na substrát;
c – Pohled na částici o velikosti $\pm 25 \mu\text{m}$; d – Detail částice a její pórovité struktury

Analýza Mapping ukázala výskyt jednotlivých prvků právě na jedné z částic větší velikosti (Obrázek 30a). V tomto případě je částice velká zhruba 20 μm . Další menší částice obsahující především vápník jsou přichycené přímo na substrátu. Světle modrá až bílá barva indikuje vápník, barva do tmavší zelené potom fosfor (nejvíce patrné na pravém okraji velké částice). Z toho je možné usuzovat, že částice (obsažené v koloidu po laserové ablací a následném odpaření tohoto roztoku) se zachytávají přímo na substrátu nejen jednotlivě, ale také přes sebe tak, že tvoří větší celky. Na dalším Obrázku 30b je ještě více přiblíženo rozložení prvků, kde nejzajímavějším místem se nachází horní polovina snímku. Zde je patrný fosfor (zelená barva) zvolna přecházející do bílé barvy, tedy do oblasti s výskytem vápníku. Přítomnost obou prvků ve společném blízkém okolí je zajímavý výsledek i z toho pohledu, že při laserové depozici nedošlo k jejich separaci, potažmo k jejich úplnému vymizení.



Obrázek 30 – Mapping HAp. a – Snímek částice $\pm 20 \mu\text{m}$; b – Detailní snímek depozitu

K předchozímu snímku (Obrázek 30a) se váže i následující Tabulka 15 s vyjádřením množství jednotlivých prvků v hmotnostních i atomárních procentech. Vápník je zde zastoupen 11,66 at. % a fosfor pak 1,93 at. %. Prvky jako kyslík a uhlík se zde objevují v důsledku vystavení vzorku na vzduchu. U kyslíku opět může jeho přítomnost značit OH⁻ skupiny z HAp. Železo nebo hořčík jsou nečistoty, které mohou být v přítomné ve vysoušecím zařízení.

Prvek	[hm. %]	[at. %]	Chyba (3 sigma) [hm. %]
Kyslík	36,05	48,64	11,59
Vápník	21,65	11,66	1,98
Uhlík	13,72	24,67	4,67
Měď	11,76	3,99	1,03
Hliník	4,52	3,61	0,73
Železo	5,23	2,02	0,5
Křemík	2,88	2,22	0,45
Fosfor	2,77	1,93	0,4
Horčík	1,41	1,25	0,31
Σ %	100	100	

Tabulka 15 - Procentuální zastoupení prvků (HAp)

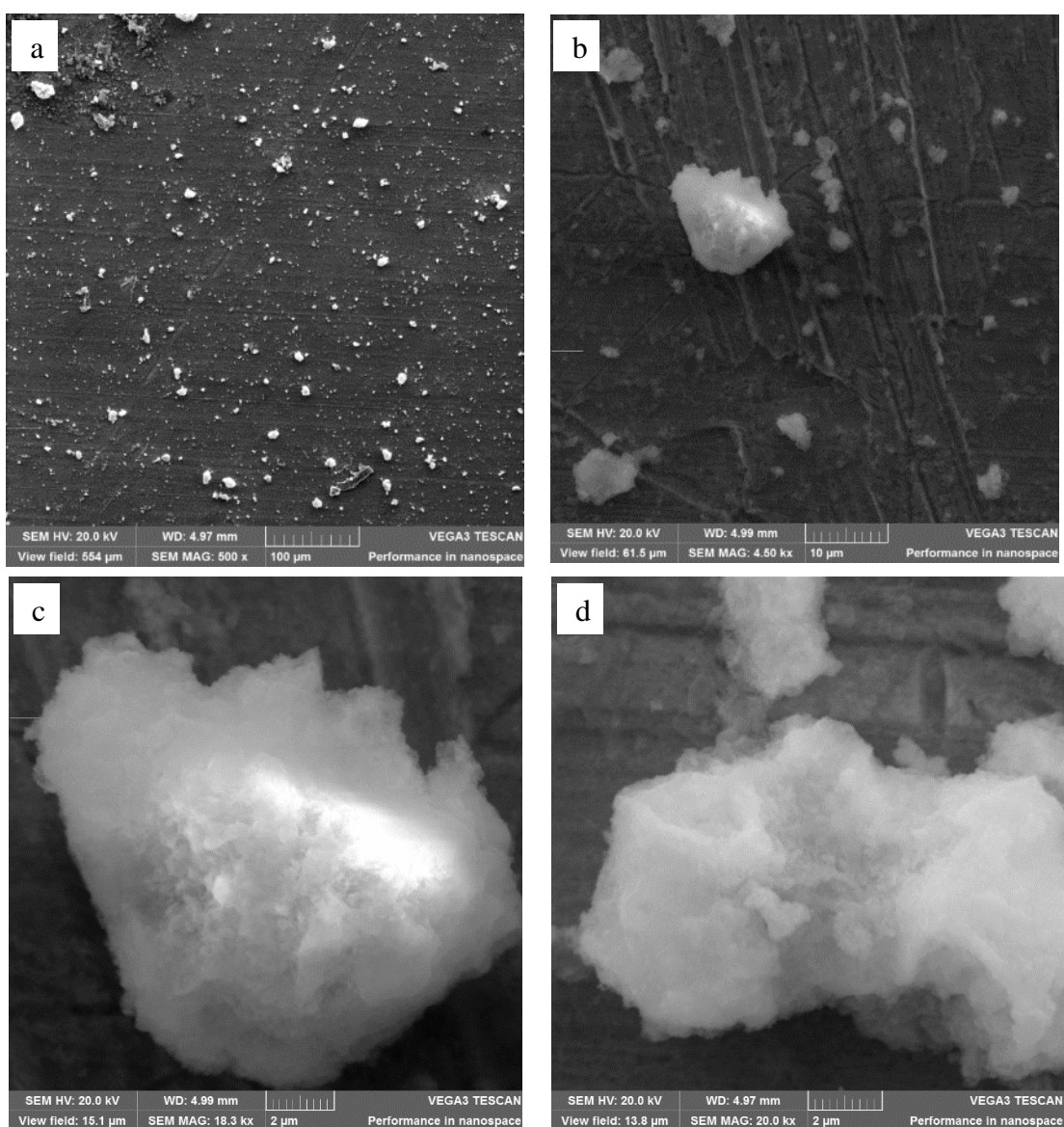
Při znalosti procentuálního zastoupení vápníku a fosforu pro výchozí tabletu a také obě varianty přípravy je zajímavé porovnání poměrného zastoupení těchto prvků vůči sobě. V původním HAp byl poměr Ca:F = 5:3. Při pohledu do Tabulky 15 je zřejmé, že při využití pulzní laserové depozice ve vodě je procentuální zastoupení 11,66 at. % pro Ca a 1,93 at. % pro P. Z toho vyplývá poměr přibližně 6:1. Při přípravě vzorku ve vakuu jsou hodnoty pro Ca 6,63 at. % a pro P potom 4,81 at. % (viz Tabulka 14). Po zaokrouhlení lze zaznamenat jako poměr jako 6,6:4,8. Při porovnání poměrů je zjevné, že vzorek připravený ve vodě je velmi ochuzen o fosfor, a tím dochází k velké nerovnováze stechiometrického poměru. Pravděpodobným důvodem může být rozpouštění HAp ve vodě. Při přípravě vzorku ve vakuu také došlo k jistému ochuzení o fosfor, ale nikoli tak výrazně jako při přípravě ve vodě. Z tohoto pohledu se jako výhodnější metoda přípravy jeví pulzní laserová depozice ve vakuu. Pro přehlednost ještě shrnutí tohoto porovnání v Tabulce 16.

Vzorek	Poměr C:P
Původní HAp (Terčík)	5:3 (1,666)
Vzorek HAp (voda)	6:1 (6,04)
Vzorek HAp (vakuum)	6,6:4,8 (1,375)

Tabulka 16 - Poměry C:P u jednotlivých vzorků

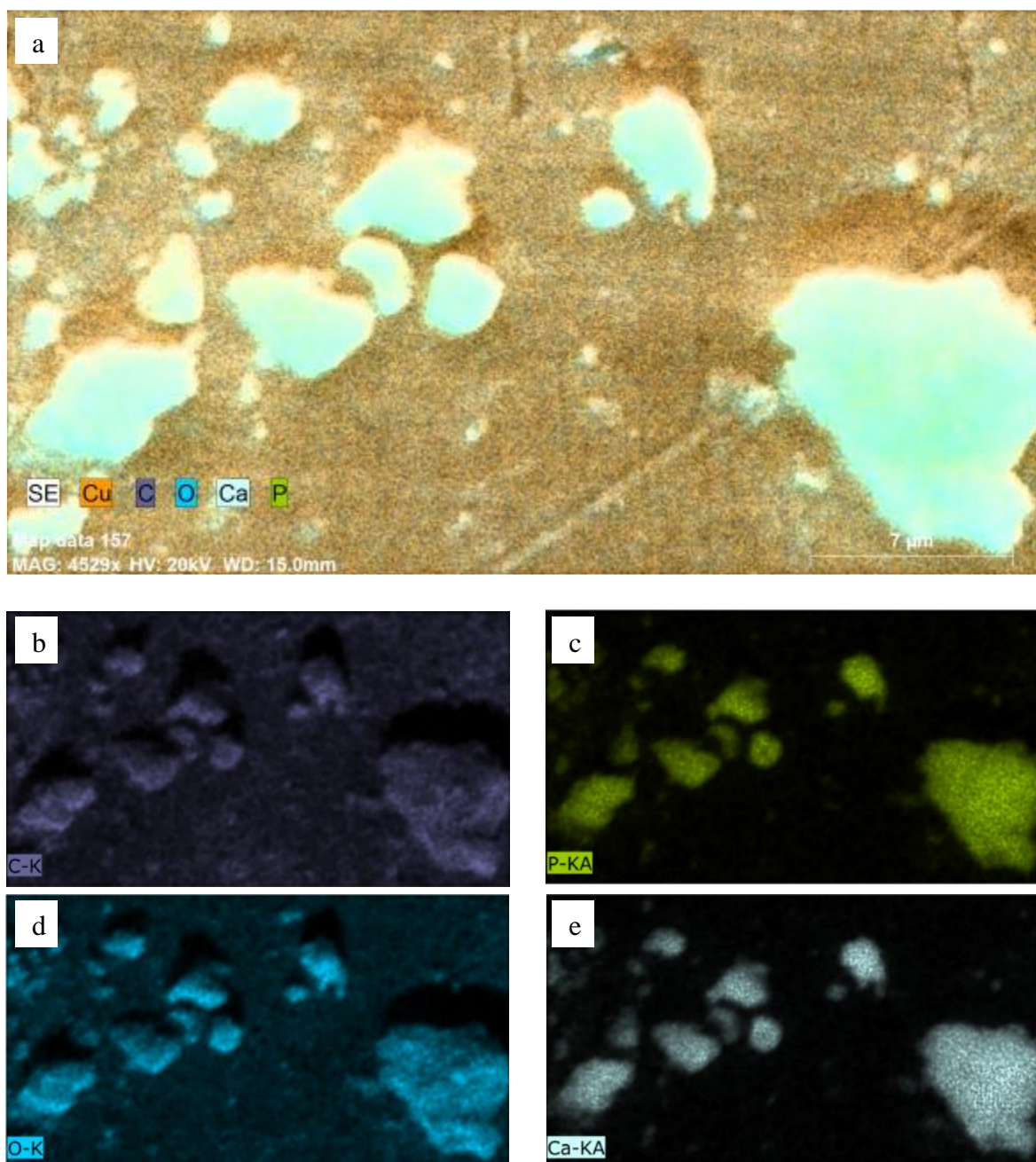
10.2.4. HAp + nD (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě)

V tomto případě bylo do tablety HAp přidáno 9 hm. % nD. Takto pozměněná tableta byla opět vystavena působení pulzům laseru. Částice odpařené z koloidu na substrátu jsou patrné na Obrázku 31a. Je zde patrná vysoká podobnost jako u čistého HAp (H_2O). Částice opět pokrývají poměrně rovnoměrně celý substrát. Jejich velikost je od 10 nanometrů do desítek mikrometrů. Je ovšem dobré poznamenat, že tyto velké částice jsou opět složené s menších. To je především patrné ze dvou detailních snímků (Obrázek 31c, d). Oproti předchozímu případu částic pouze HAp, je zde méně tmavých míst, které značí porézní charakter těchto větších částic. Některá tmavší místa jsou patrná na Obrázku 31c, ale např. na Obrázku 31d jsou dvě větší světlá místa, kde tmavší místa nejsou. Na tomto snímku jsou také patrné jednotlivé částice v okolí velké částice. Nachází se především v levém horním rohu snímku.



Obrázek 31 – Snímek SEM vzorku HAp + nD. a – pohled na substrát; b – detailní pohled na substrát; c – Pohled na částici o velikosti $\pm 20 \mu\text{m}$; d – Detail jiné částice

Analýza Mapping substrátu s částicemi HAp a Nd ukazuje, že je zde opět výskyt předpokládaných prvků, tedy především vápníku, fosforu a v tomto případě i uhlíku (Obrázek 32a). I pro tento Mapping byla využita funkce zvýraznění jednotlivých prvků (Obrázek 32b až 32e). Zde je vidět že částice pokrývající substrát jsou složeny právě z vápníku, fosforu a také uhlíku. Kyslík (Obrázek 32d) se zde nachází z již zmíněných důvodů.



Obrázek 32 – Mapping HAp a nD. a – Snímek částic na substrátu; b – zvýraznění uhlíku; c – zvýraznění fosforu; d – zvýraznění kyslíku; e – znázorněné vápníku.

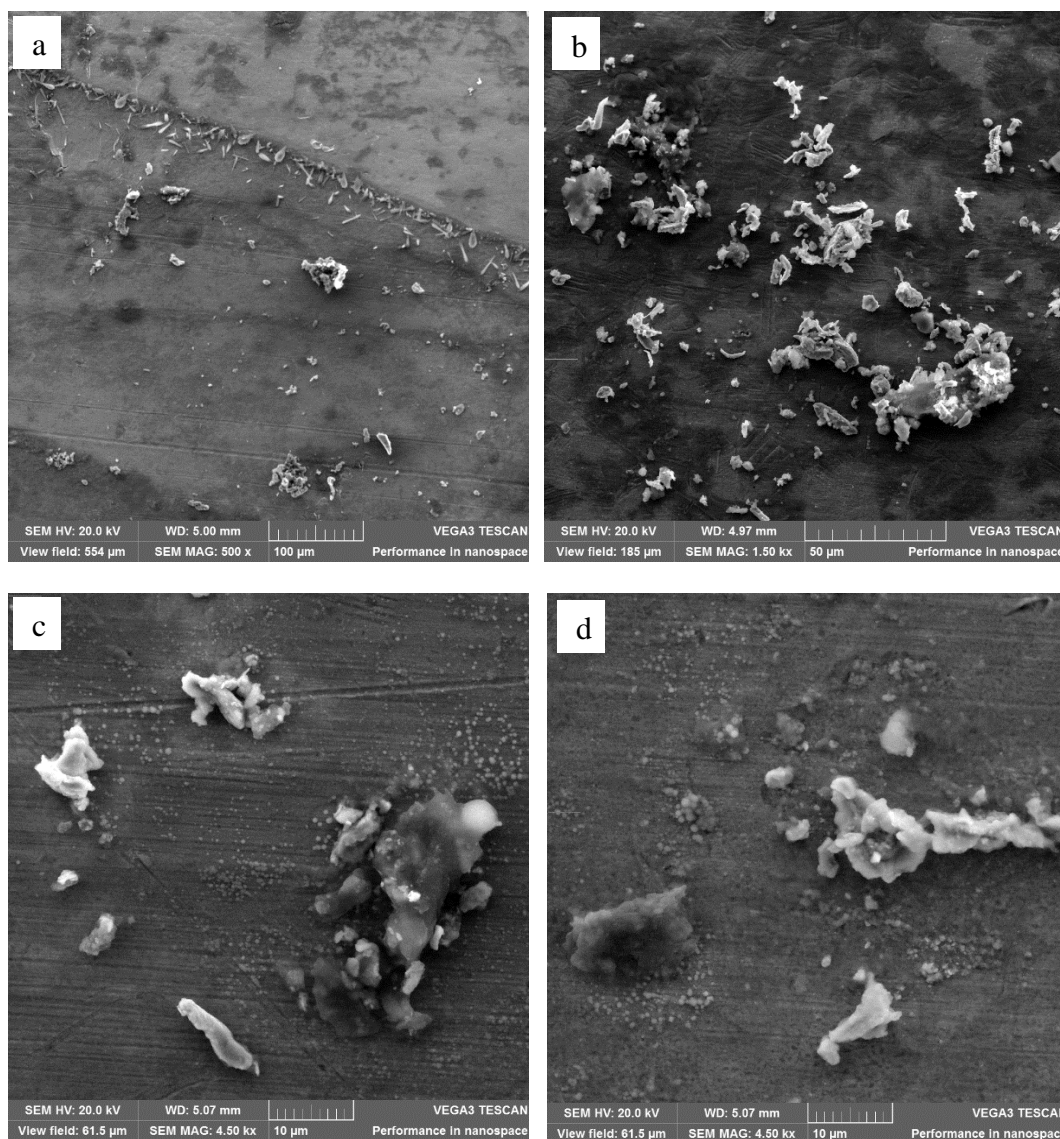
V Tabulce 17 je popsáno jednotlivé složení prvků k Obrázku 32a. Je zde patrný vyšší obsah uhlíku, který je s velkou pravděpodobností způsobem přidáním 9 hm. % do tablety HAp. Výskyt vápníku a fosforu se pohybuje v nižších hodnotách, ale jak je z analýzy Mapping patrné, tyto prvky se zde vyskytují v poměrně slušném pokrytí. Je tedy možné, že tyto prvky budou ve velmi tenkých vrstvách. Při porovnání s předchozími výsledky je také důležité zmínit výrazné ochuzení o vápník, kterého se v tomto konkrétním měření detekovalo dokonce méně než fosforu.

Prvek	[hm. %]	[at. %]	Chyba (3 sigma) [hm. %]
Měď	77,57	42,17	6,01
Uhlík	15,31	44,04	4,83
Kyslík	5,75	12,42	1,86
Vápník	0,67	0,58	0,13
Fosfor	0,58	0,65	0,14
Hliník	0,07	0,09	0,09
Křemík	0,03	0,04	0,08
Σ %	100	100	

Tabulka 17 – Procentuální zastoupení prvků (HAp + nD)

10.2.5. Ti (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě)

Na snímcích (Obázky 33a až 33d) se nachází substrát pokrytý částicemi, které dosahují velkých rozměrů. To především je patrné z Obrázku 33a a 33b. Díky analýze Mapping jsou tyto částice znázorněny jako chemicky cizorodé a je nutno považovat je za nečistoty. Mnohem zajímavější z pohledu výskytu titanových částic jsou Obrázek 33c a Obrázek 33d. Na prvním snímku (Obrázek 33c) jsou patrné malé částice. Dobře viditelné jsou v levém dolním rohu snímku. Tyto částice dosahují maximálně několika set nanometrů, ale většina z nich je ještě menší velikosti. Stejně tak jsou tyto drobné částice viditelné na Obrázku 33d. Dodatečné měření na zařízení Zetasizer, které měří velikost částic, potvrdilo, že částice z tohoto koloidu měly velikost od 10 nm až po 100 nm (průměrná velikost 50 nm). Lze předpokládat, že částice, které na snímcích Obrázek 33c a Obrázek 33d dosahují větších velikostí, jsou spojením více menších částic v jednu větší. Tyto částice (malé i větší) mají kulovitý tvar a objevují se po skupinách na určitých místech substrátu. Titan se objevuje ve formě malých částic i na nečistotách, tento je jev ale spíše ojedinělý.



Obrázek 33 – Snímek SEM vzorku Ti. a – pohled na substrát; b – detailní pohled na substrát; c – Detail s jasně viditelnými částicemi Ti; d – Detail s jasně viditelnými částicemi Ti (jiná oblast)

Na snímku z analýzy Mapping (Obrázek 34) je možné rozeznat růžová pole znázorňující titan, která ve velké míře pokrývají značnou část měděného substrátu. Protože se jedná o částice ve velikosti do 100 nm, je tato indikace velmi jemná a také procentuální zastoupení v Tabulce 18 se jeví jako nižší. I přesto je pokrytá velká oblast. Na snímku jsou dále patrná místa s větší hustotou/koncentrací titanu a to především v pravé horní části snímku. Také v tomto případě se na substrátu objevily nečistoty z již zmíněných důvodů. Na nich se kromě titanu objevuje také hliník a křemík. Křemík se dále nahodile objevuje i na jiných místech snímku.



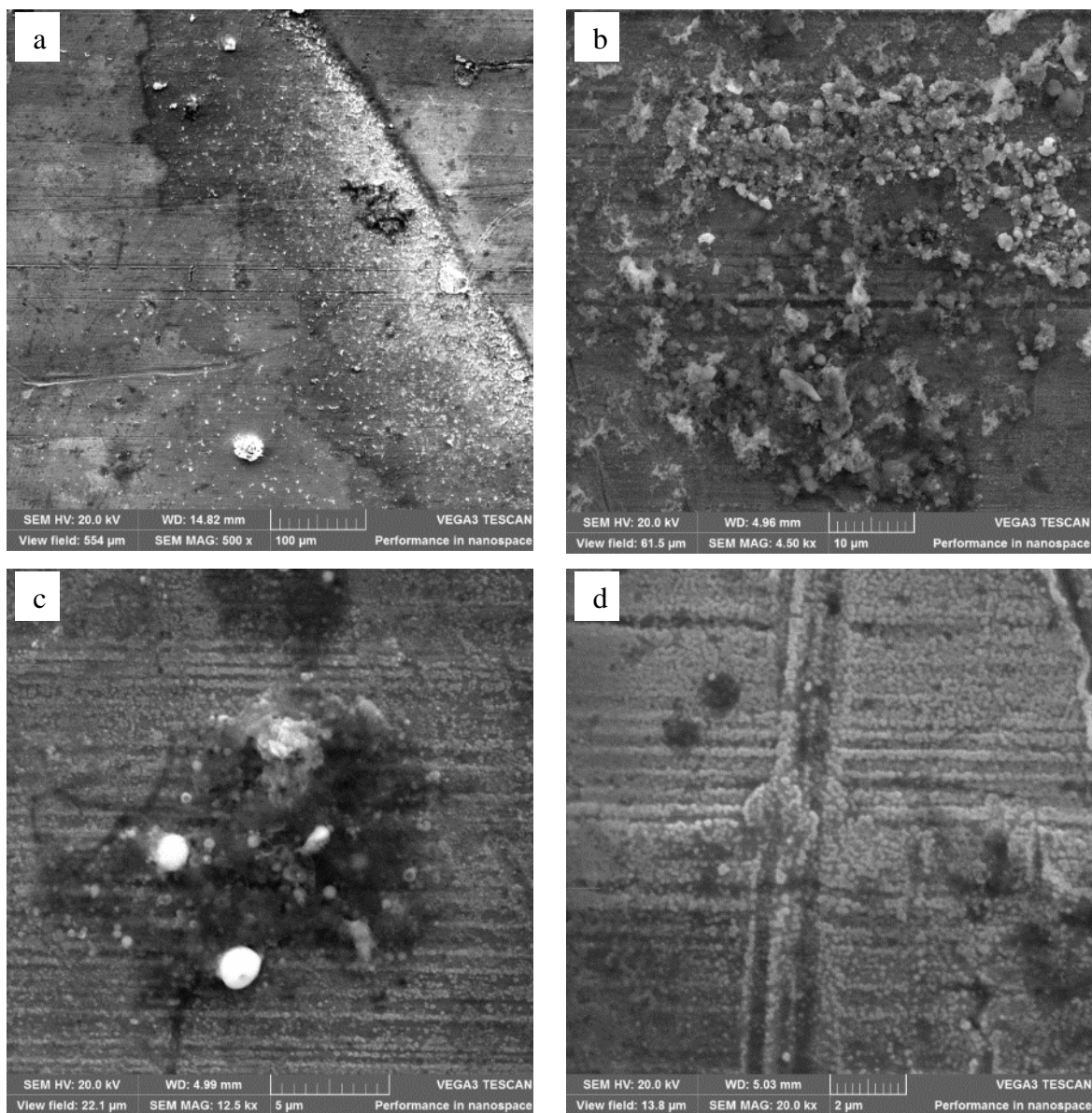
Obrázek 34 – Mapping vzorku Ti

Prvek	[hm. %]	[at. %]	Chyba (3 sigma) [hm. %]
Měď	71,43	36,15	5,28
Uhlík	16,81	45,02	4,82
Kyslík	7,17	14,41	2,1
Chlór	0,36	0,32	0,11
Titan	0,57	0,38	0,12
Železo	0,79	0,45	0,13
Křemík	0,77	0,88	0,16
Vápník	0,49	0,39	0,11
Hliník	1,13	1,35	0,22
Σ %	100	100	

Tabulka 18 - Procentuální zastoupení prvků (Ti)

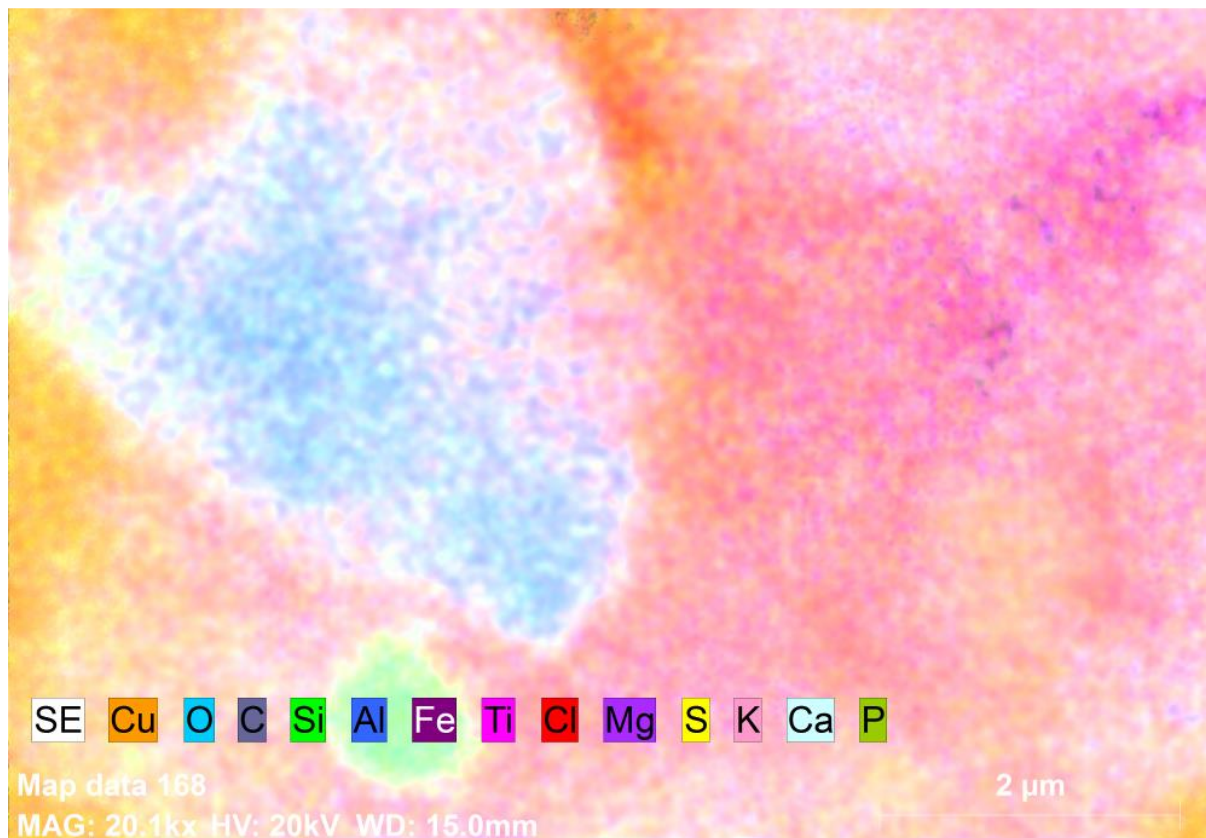
10.2.6. TiO (připraveno pulzní laserovou depozicí ve vodě)

Vzorek s částicemi monoxidu TiO je vidět na Obrázku 35a až 35d. Rozložení částice není dobře zřetelné. Na vzorku se nachází velké množství nečistot a tak asi nejprůkaznějším snímkem je Obrázek 35d, na němž je možné vidět velmi souvislé pokrytí kulovitými částicemi pravděpodobně TiO. Jedná se o velmi jemné rozložení částic o velikosti maximálně desítek nanometrů. Jejich růst kopíruje povrch substrátu. Ze všech čtyř substrátů, na kterých docházelo k odpařování koloidů, bylo právě na tomto největší počet částic, u kterých je velmi složitá interpretace a je nutné je považovat pouze jako nečistoty. A to hlavně s přihlédnutím na jejich chemické složení, tzn. na jejich netitanový charakter. To potvrzuje i analýza Mapping na následující straně, kde je patrný mnohem větší výskyt cizorodých prvků (např. síra, hořčík nebo chlór). Opět je velmi pravděpodobné, že k přítomnosti těchto nečistot došlo z důvodů odpařování koloidu v zařízení, které nemá vakuový ohřev.



Obrázek 35 – Snímek SEM vzorku TiO. a – pohled na substrát; b – detailní pohled na substrát; c – Detail oblasti s nečistotou a částicemi TiO; d – Detail s jasně viditelnými částicemi TiO (jiná oblast)

Detailní snímek z analýzy Mapping (Obrázek 36) v této oblasti ukazuje vysoké pokrytí substrátu titanem. Ten je opět znázorněn růžovou barvou. Velmi uniformní pokrytí je v pravé části snímku, zatímco nalevo od této oblasti se nachází oblast s vápníkem a dále menší oblast s křemíkem. Pohled do Tabulky 19 ukazuje vyšší procentuální zastoupení kyslíku, uhlíku a titanu. U kyslíku a uhlíku však je nutné započítat i chybu, která je 8.66%, resp. 10.04%.



Obrázek 36 – Mapping vzorku TiO

Prvek	[hm. %]	[at. %]	Chyba (3 sigma) [hm. %]
Měď	18,29	5,62	1,61
Kyslík	26,28	32,07	8,66
Uhlík	30,51	49,6	10,04
Křemík	2,26	1,57	0,38
Hliník	2,28	1,65	0,41
Železo	1,57	0,55	0,21
Titan	14,03	5,72	1,29
Chlór	0,61	0,33	0,14
Hořčík	2,66	2,13	0,53
Vápník	0,85	0,42	0,15
Σ %	100	100	

Tabulka 19 - Procentuální zastoupení prvků (TiO); Prvky s obsahem pod 0,5 hm. % vynechány

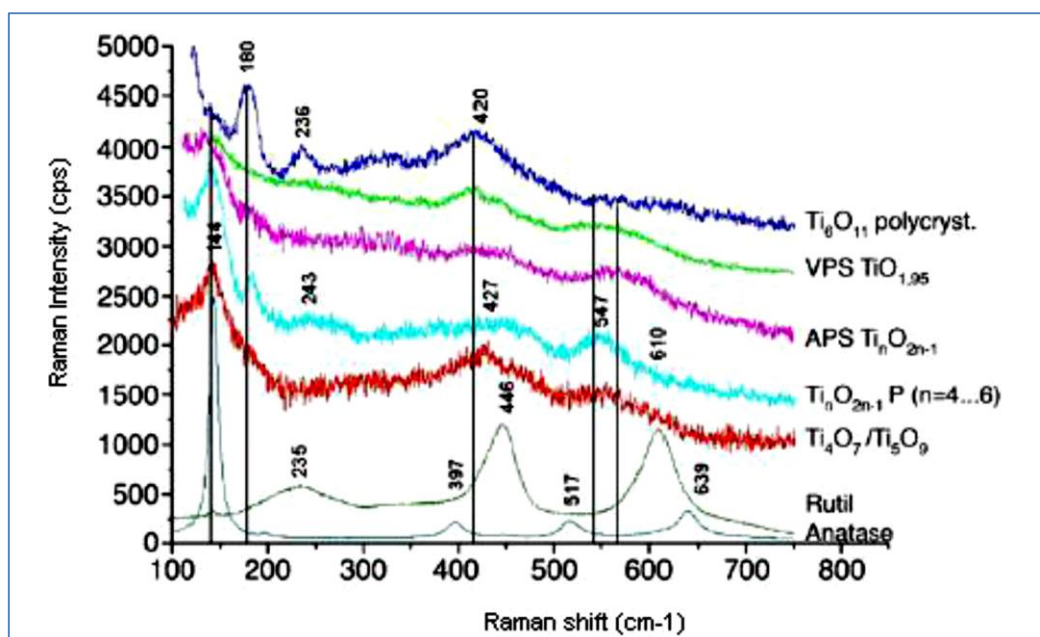
10.3. Ramanova spektroskopie

Hlavním cílem této analýzy je důkaz přítomnosti chemických vazeb v nově vzniklých površích. Jednotlivé typy vazeb jsou charakteristické svými vrcholy (peaky) v grafu a tak je v úvodu této části přidána také informace o potenciálních chemických vazbách, které by se mohly v daném případě vyskytnout. U této analýzy tedy dochází k porovnání již známých peaků s těmi nově naměřenými.

10.3.1. Peaky známe z literatury

Možné oxidy titanu

Při pohledu na Obrázek 37 je patrné, že druhů vazeb přítomných oxidů je mnoho. Prvním je polykrystalický Ti_6O_{11} s peaky o hodnotách 180 cm^{-1} , 236 cm^{-1} a 420 cm^{-1} (v grafu označen tmavě modrou barvou). Pro oxid $TiO_{1,95}$ potom 420 cm^{-1} (v grafu označen tmavě zelenou). Pro Ti_nO_{2n-1} je charakteristický peak o hodnotě 144 cm^{-1} (označen růžovou barvou). Další oxid Ti_nO_{2n-1} ($n = 4 \dots 6$) má vrcholky křivky v pozicích 144 cm^{-1} , 243 cm^{-1} , 547 cm^{-1} (v grafu označen světle modrou). Poslední barevně odlišený červenou barvou oxid Ti_4O_7/Ti_5O_9 má specifické peaky o hodnotách 144 cm^{-1} , 427 cm^{-1} , 547 cm^{-1} . Dalšími modifikacemi oxidu TiO_2 jsou rutil a anatas. Rutil má peaky v pozicích 236 cm^{-1} , 446 cm^{-1} , 610 cm^{-1} . Poslední anatas potom 144 cm^{-1} , 397 cm^{-1} , 517 cm^{-1} , 639 cm^{-1} . [5]



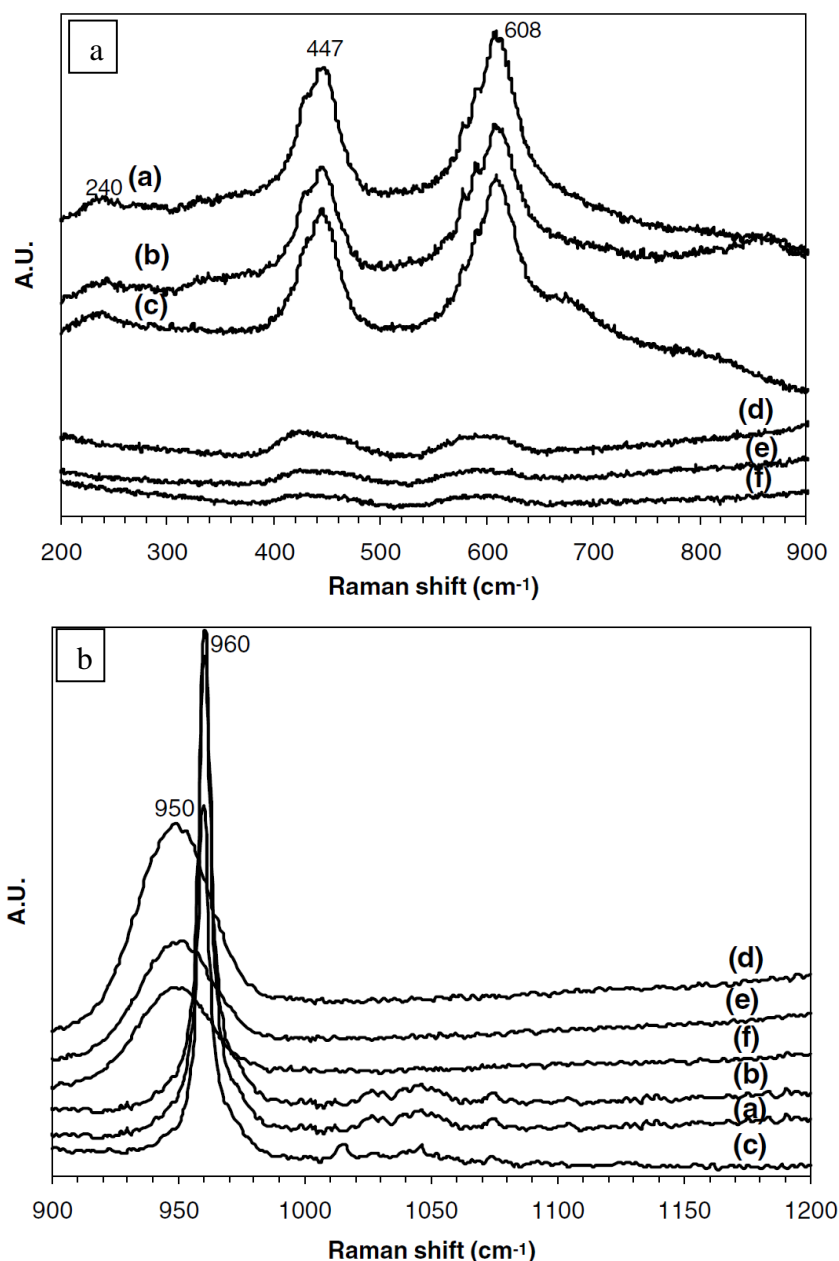
Obrázek 37 – Známé peaky TiO [5]

Uhlík

Velmi často se na grafech Ramanovy spektroskopie vyskytuje dvojice peaků, která je charakteristická pro uhlík. Ramanův posuv okolo hodnoty 1350 cm^{-1} je charakteristický pro neuspořádaný uhlík (Peak D) a hodnota okolo 1580 cm^{-1} (peak G) je typická pro grafit nebo vazbu sp^2 . [34]

HAp

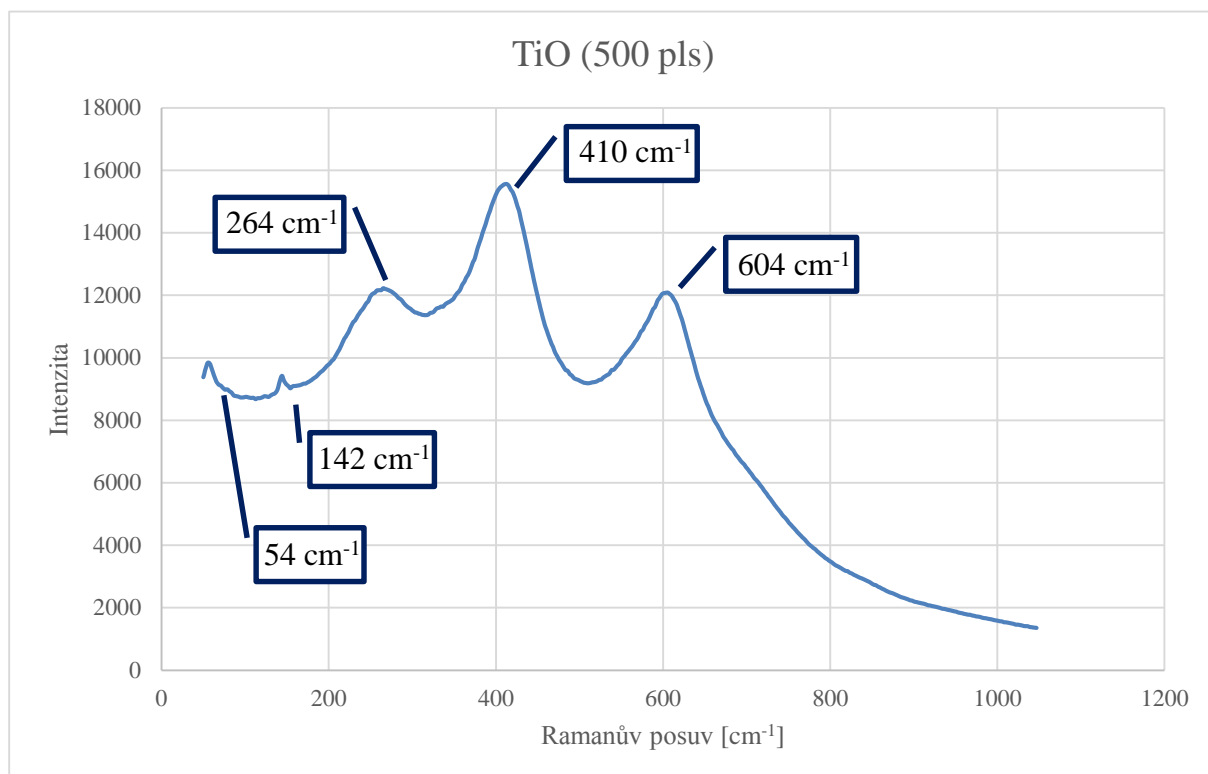
Pro zjištění hodnot peaků specifických pro HAp byl zvolen odborný článek, kde byla popsána metoda nástřiku HVOF (vysokorychlostní nástřik plamenem) právě hydroxyapatitu. Tento článek byl vybrán záměrně kvůli teplotnímu ovlivnění HAp a právě jisté podobnosti tepelného ovlivnění vzorku. Následující grafy (Obrázek 38a, b) znázorňují HAp ve dvou intervalech od 200 cm^{-1} do 900 cm^{-1} a od 900 cm^{-1} do 1200 cm^{-1} . V prvním intervalu jsou peaky o hodnotách 447 cm^{-1} a 608 cm^{-1} . Dále je patrné, že pro tři měření (d, e, f) vzorku bez následné tepelné úpravy, nejsou peaky tak výrazné. V druhém intervalu je pak charakteristický peak 950 cm^{-1} pro vzorky bez tepelné úpravy, resp. 960 cm^{-1} s tepelnou úpravou. [35]



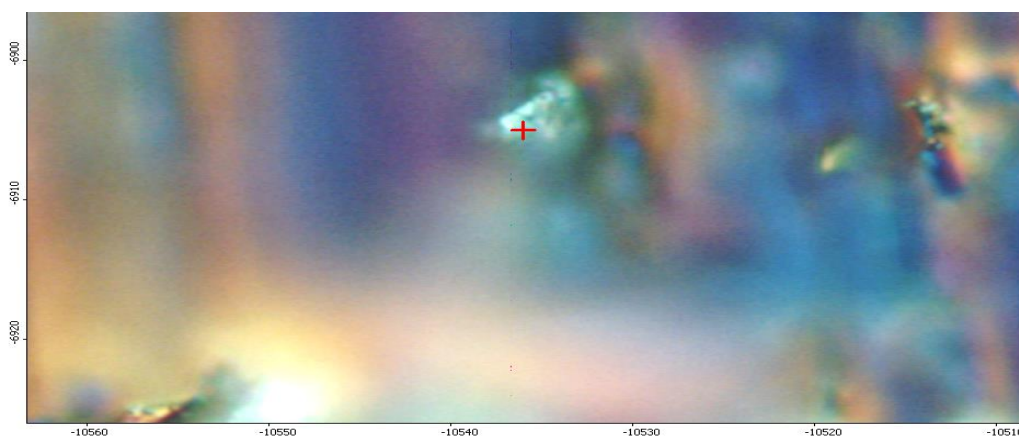
Obrázek 38a, b – Dva regiony se známými peaky HAp [35]

10.3.2. Spektrum TiO (500 pulzů, připravený ve vakuu)

Na následujícím spektru (Obrázek 39) je vidět Ramanovo spektrum pro vzorek TiO připravený ve vakuu, s počtem 500 pulzů. Zde jsou velmi patrné peaky Ramanovo posuvů. A to s hodnotami 54 cm^{-1} , 142 cm^{-1} , 264 cm^{-1} , 410 cm^{-1} a 604 cm^{-1} . Peaky 142 cm^{-1} , 264 cm^{-1} , 410 cm^{-1} a 604 cm^{-1} naznačují pravděpodobně výskyt oxidu TiO_2 , známého také jako rutil. Charakteristické peaky pro rutil se vyskytují v těchto hodnotách s výjimkou peaku 410 cm^{-1} . Charakteristický peak pro rutil má hodnotu vyšší (446 cm^{-1}). Tyto posuvy mohou být zapříčiněny velkým vnitřním napětím, které mohou ovlivnit chování vazby. Obrázek 40 zobrazuje měřenou oblast. [5]



Obrázek 39 - Ramanovo spektrum pro vzorek TiO (vakuum)

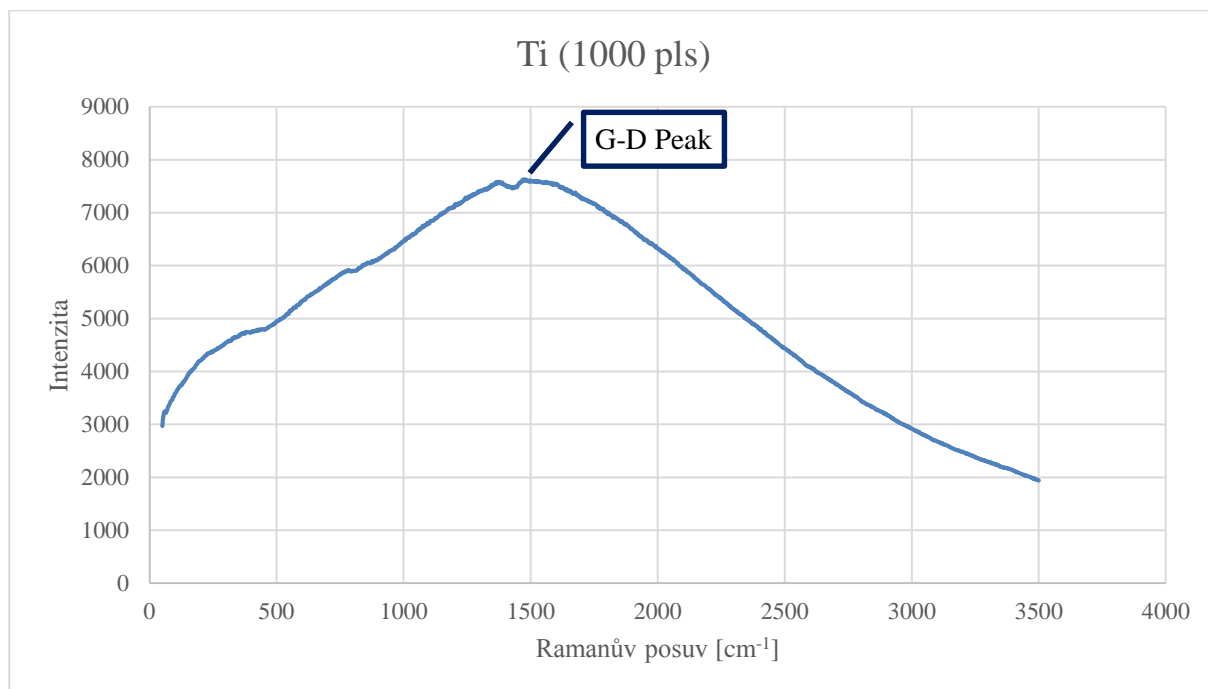


Obrázek 40 – místo analýzy; TiO (vakuum)

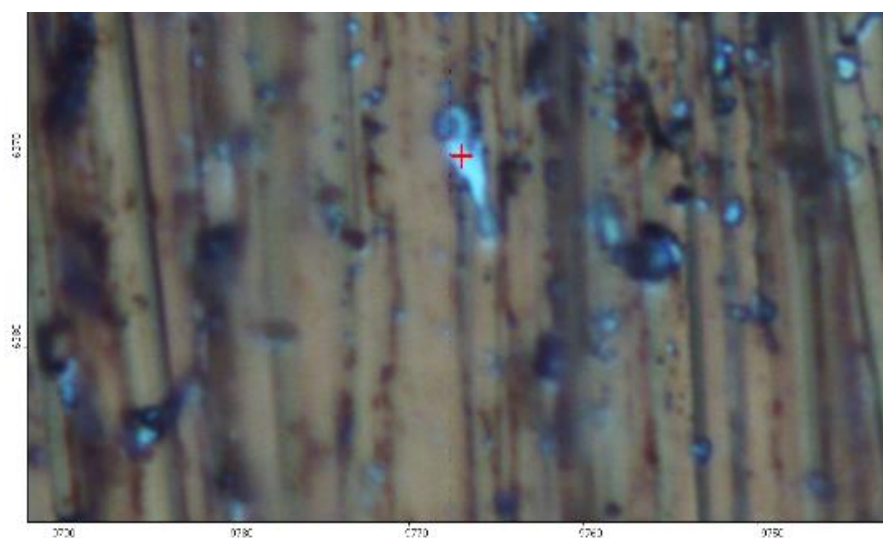
10.3.3. Spektrum Ti (1000 pulzů, připravený ve vakuu)

V případě většiny čistých kovů je Ramanova spektroskopie specifická tím, že se v grafu nevykytují žádné peaky. To platí také konkrétně pro titan. V tomto případě však jde spíše o vyvrácení přítomnosti oxidů titanu, které by mohly vznikat během vlastní depozice. Proto lze přihlížet k již popsaným peakům z předchozí podkapitoly 10.3.1. o TiO.

Na grafu (Obrázek 41) pro depozit čistého titanu připravený ve vakuu se nachází křivka bez viditelných peaků. Lze tedy konstatovat, že v daném místě, které bylo měřeno, se nachází pravděpodobně čistý titan. V grafu se objevuje pouze náznak G-D peaku, specifického pro grafit. Na Obrázku 42 je možné vidět místo, které bylo vybráno pro analýzu. [34]



Obrázek 41 - Ramanovo spektrum pro vzorek Ti (vakuu)

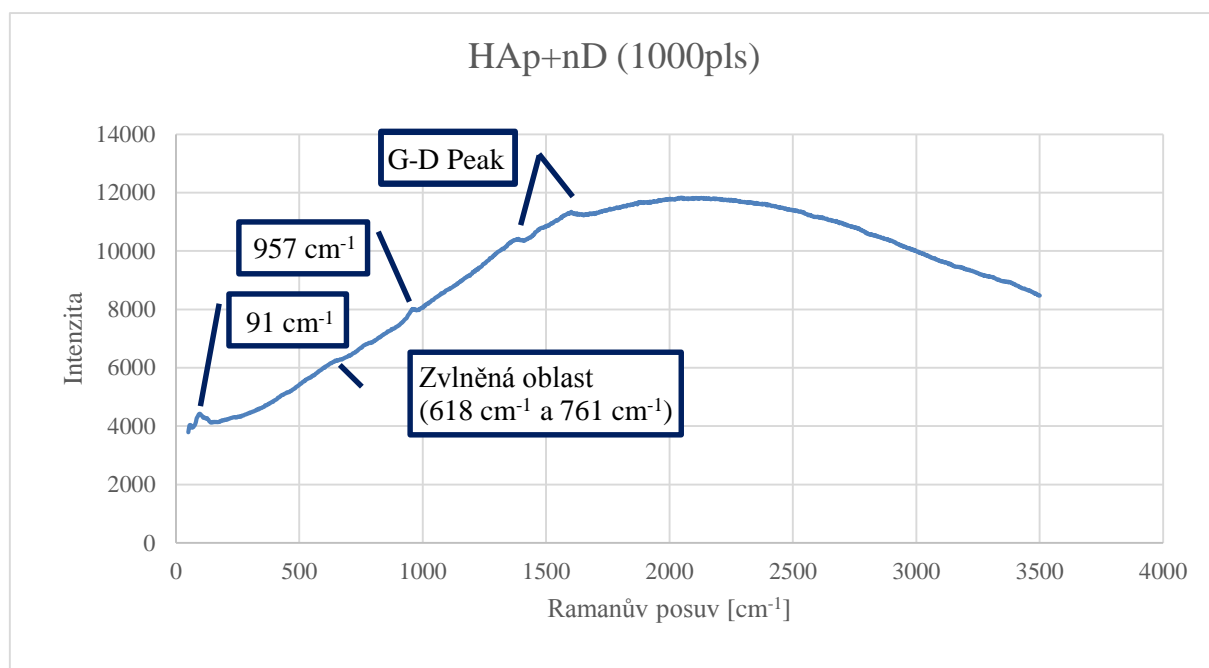


Obrázek 42 - místo analýzy; Ti (vakuu)

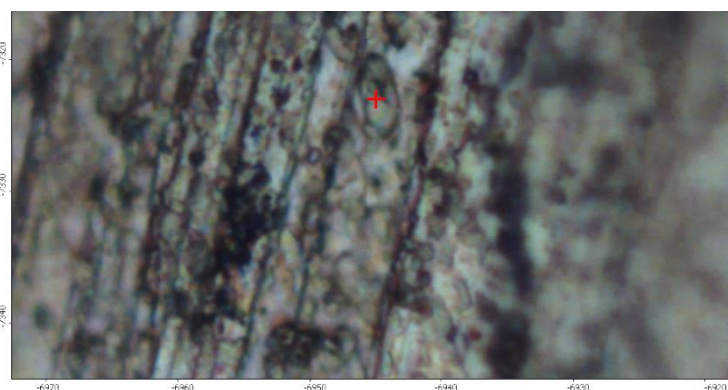
10.3.4. Spektrum HAp+nD (1000 pulzů, připravený ve vodě)

U tohoto spektra (Obrázek 43) je jsou patrné peaky 91 cm^{-1} , 957 cm^{-1} a potom G-D peak. Velmi nevýrazné, přesto přítomné jsou dva peaky v oblasti nazvané jako „zvlněná oblast“. Tyto peaky mají hodnotu 618 cm^{-1} a 761 cm^{-1} . Pokud se porovnají tyto peaky s již zmíněnými z odborného článku, lze konstatovat dvě tvrzení. Peak s hodnotou 957 cm^{-1} je charakteristickým peakem HAp a i nevýrazný peak v oblasti 618 cm^{-1} může velmi pravděpodobně náležet HAp. Peak 91 cm^{-1} a 761 cm^{-1} se neshoduje s peaky v literatuře a tak ani jeden nelze považovat za peak HAp. Měřená oblast je pak vidět na Obrázku 44. [35]

Důležitou poznámkou je také fakt, že přítomnost vazby sp^3 , typické pro nD, je spojená s výskytem peaku o hodnotě 1332 cm^{-1} . Tento peak se v tomto případě na křivce nenachází. V grafu se nachází D peak pro uhlík s hodnotou 1353 cm^{-1} . Ten je považován za nečistotu. Nepřítomnost nD na Ramanově spektru je silně vázaná na výběr místa. Předpokládá se, že se nD na vzorku nachází, pouze nebyla zaměřena oblast s jeho výskytem. Tento předpoklad se váže také k výsledkům procentuálního zastoupení prvků, kde vzorek HAp+nD vykazoval vyšší procento zastoupení uhlíku než čistý HAp (44,04 at. % pro HAp+nD a 24,67 at. % u HAp). [34]



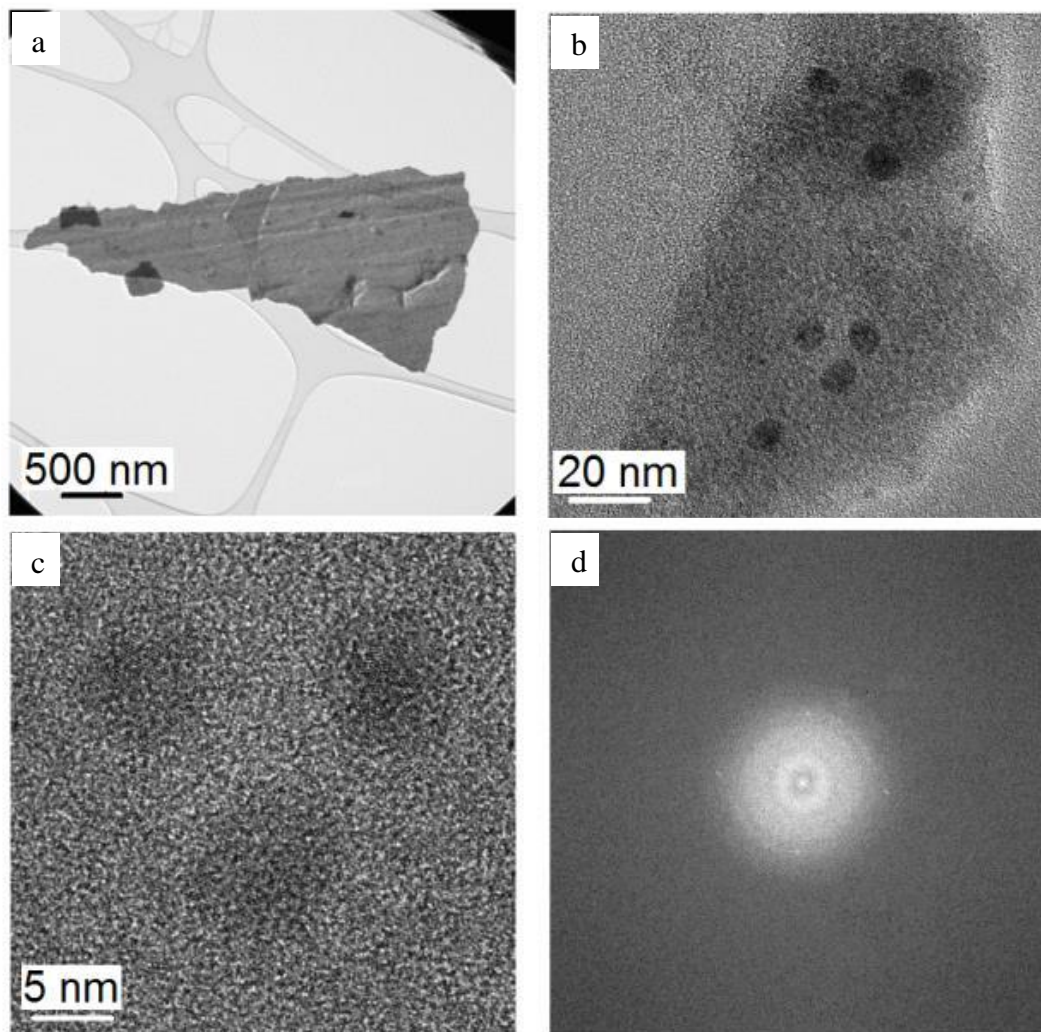
Obrázek 43 - Ramanovo spektrum pro vzorek HAp+nD (voda)



Obrázek 44 - místo analýzy; HAp+nD (voda)

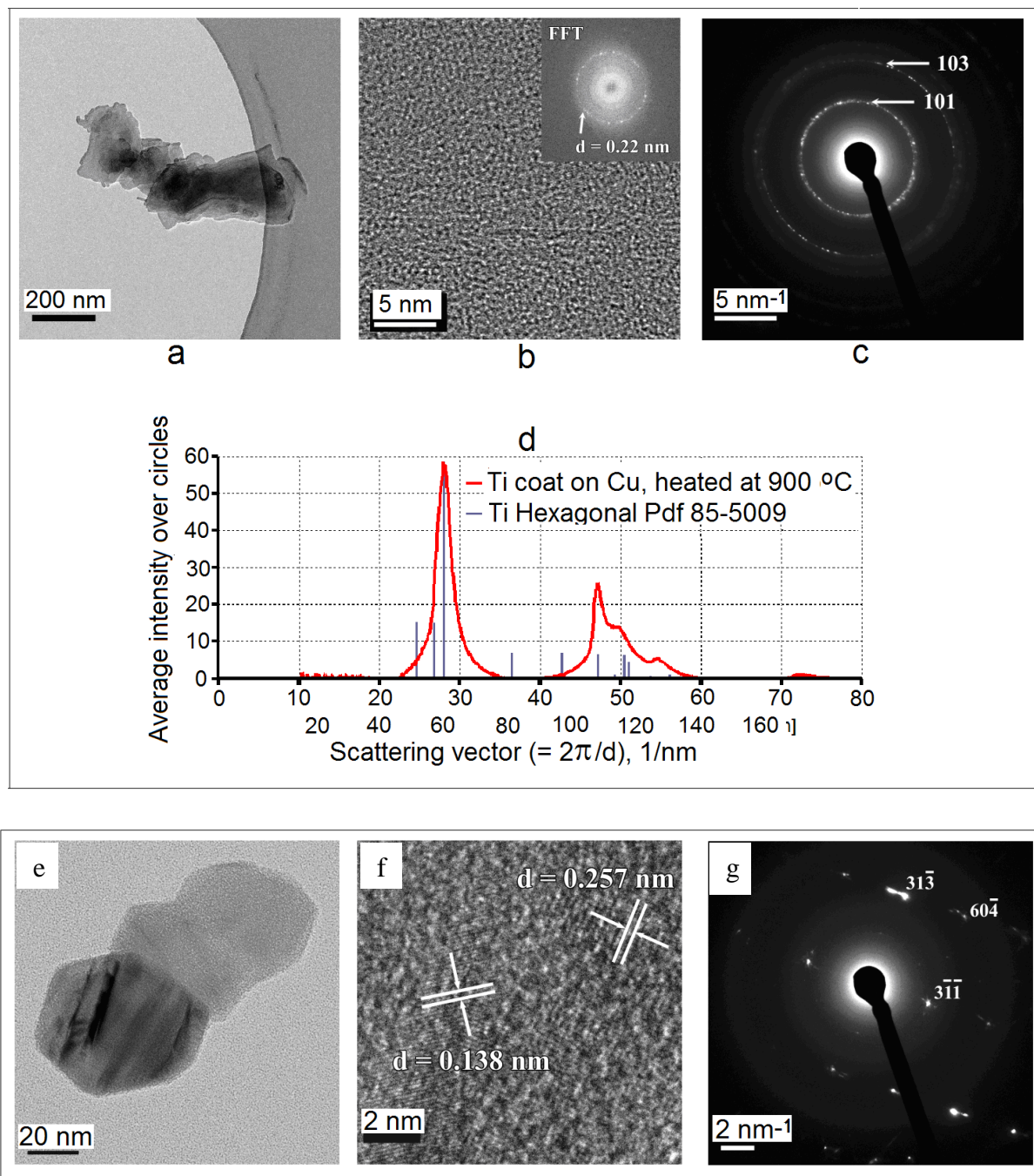
10.4. HRTEM

Pro velmi důležitý výsledek, a to jestli je či není titan v amorfní podobě, bylo nutné vzorek zanalyzovat na transmisioním elektronovém mikroskopu s vysokým rozlišením. Pouze tato metoda je schopna prokázat přítomnost amorfni fáze s vysokou pravděpodobností. Následující snímky (Obrázek 45a až 45d) znázorňují odebranou část povrchu vzniklého laserovou depozicí titanu ve vakuu. Na detailním pohledu (45b a 45c) je patrná velmi zrnitá struktura. Zrnitost bez náznaku uspořádanosti je charakteristická právě pro materiály v amorfni formě. Tento jev je potvrzen i nepřítomností difrakcí (Obrázek 45d). Lze konstatovat, že HRTEM analýza indukuje amorfni regiony se zárodky nanokrystalickými zrnky oxidů titanu (TiO_x , $\text{TiO}_{0.89}$, $\text{TiO}_{1.04}$ and TiO). Vakuové zahřívání této struktury až na $800\text{ }^\circ\text{C}$ nevedlo k žádné morfologické ani fázové změně a tak lze prohlásit, že takto připravené vzorky jsou i velmi teplotně stabilní. K určitým morfologickým a fázovým změnám došlo až při teplotě $900\text{ }^\circ\text{C}$. To je zásadní rozdíl od jiných možných příprav (např. kuličkové mletí) [36], u kterých dochází k tvorbě krystalové mřížky už za teploty 600 K . Pravděpodobně bylo amorfni struktury dosaženo díky velmi náhlému poklesu teploty a solidifikaci uvolněných částic s vysokou energií, dále také nárazy na již vzniklé μm útvary na substrátu. I z dlouhodobého hlediska za pokojové teploty jsou tyto povrchy stabilní v amorfni fázi (a to i déle než rok). [37]



Obrázek 45 - Snímky z analýzy HRTEM; a - celkový pohled na vzorek; b- detailní pohled; c- velmi detailní pohled na amorfni strukturu; d - stopa bez difrakcí [37]

Po zahřátí na teplotu 900 °C začíná docházet k uspořádání struktury, to je patrné z Obrázku 46. Amorfni struktura je stále dominantní, ale začíná se vytvářet viditelný rastr (ještě více patrný díky pomocným úsečkám na Obrázku 46b). Jedná se o nanozrna hexagonálního Ti a monoklinického TiO₂. Doprovodným potvrzujícím jevem je výskyt difrakcí, které potvrzují jmenované podoby titanu. [37]



Obrázek 46 – Vzorok před a po zahřátí; a – celkový pohled na vzorek; b – pohled na amorfni strukturu s již uspořádanými regiony; c – elektronová difrakce Ti a TiO₂ potvrzené grafem d; d – graf značící přítomnost Ti a TiO v krystalickém stavu; e – bližší pohled na vzorek Ti; f – struktura s pomocnými linkami, vyznačující uspořádanou strukturu; g – difrakce potvrzující přítomnost uspořádané struktury [37]

11. Závěr

Tato kapitola shrne celou práci a to v určitých logických celcích.

11.1. Porovnání způsobů přípravy a její optimalizace

Vzorky byly připraveny dvojím způsobem pulzní laserové depozice. Po zpracování a vyhodnocení vzorků lze udělat obecné závěry o vlastnostech povrchů, které byly připraveny tou či onou variantou. Příprava za pomoci pulzní laserové depozice ve vakuu přináší následující výsledky. Vrstva vzniká během vlastního procesu pulzní laserové depozice dopadem částic na měděný substrát. Díky nízkému okolnímu tlaku (10^{-1} Pa) vykazují nově vzniklé částice poměrně široký rozsah velikostí (od 10 nm po desítky μm). Touto variantou byla úspěšně připravena vrstva amorfního titanu. Druhá možnost přípravy je pulzní laserová depozice ve vodě. Ta je specifická velkou hustotou plazmatu v kavitační bublině a uniformní velikostí nově vzniklých částic. Oba tyto výsledky jsou způsobené vyšším tlakem okolní vody a také rychlým ochlazením v tomto prostředí. Vzniklý koloid je nutné nakapat na substrát a odpařit. Tato varianta přípravy je výhodná především pro částice HAp, které by se inkorporovaly do porézní vrstvy. Důvodem je příznivá velikost částic od 10 do 100 nm (potvrzená analýzou na přístroji Zetasizer). V obou případech se jako ideální podmínky přípravy jeví 1000 pulzů s frekvencí 10 Hz. Při použití HAp, resp. HAp + nD je možné ubrat počet pulzů, tak aby nedošlo k propálení. Druhou možností je pohybující se (např. rotující) terčik. Pro depozici ve vakuu bylo zjištěno, že tlaky v řádu 10-1 Pa jsou postačující. Dalším parametrem byla vlnová délka o hodnotě 355 nm a s tím související energie pulzu s hodnotou 230 mJ.

Příprava pro skutečné implantáty by kvůli nízkým objemům, které lze touto metodou získat, směřovala primárně na malé výrobky. Jako ideální pro prvotní zkoušení se jeví titanové šrouby používané ve stomatologii.

11.2. Zmapování morfologie jednotlivých vzorků

Morfologie titanových částic po laserové depozici ve vakuu je charakteristická nepravidelným, nateklým charakterem. Ten je způsoben pravděpodobně rozstříkáním těchto částic při dopadu na substrát. Tomu odpovídá i podobná orientace protažení. Velikost částic je od 10 nm, ale vyskytují se zde i útvary velké desítky μm . Tyto útvary jsou buď jedna individuální částice, nebo a častěji jde o shluky menších částí. Morfologie HAp připraveného ve vakuu je obdobná jako u Ti připraveného v tomto prostředí. Částice HAp vykazují také protažení v jednom směru, dále jsou zde menší částice přichycené na větších. Rozdílný charakter měly některé částice, které vykazovaly pórovitou strukturu. Póry v těchto částicích mají velikost v řádu nm. Oba substráty (Ti a HAp) připravené ve vakuu vykazovaly husté pokrytí částicemi.

Příprava povrchů pulzní laserovou depozicí ve vodě neměla ve všech případech (HAp, HAp + nD, Ti, TiO) podobné výsledky. Substrát s částicemi HAp vykazoval dobré pokrytí a rozmanitost velikosti částic. Nejmenší částice měly velikost v řádu desítek nm, ale objevovaly se zde i částice velké 25 μm . Takto velké částice byly složeny z menších. Tímto složením navíc došlo k vytvoření pórovité struktury. Ta se na snímcích z analýzy SEM projevila jako tmavší místa. U vzorku HAp+nD se morfologie částic podobala částicím z předchozího případu (pouze HAp). Jediným rozdílem se ukázal být nižší počet póru v utvořených větších částicích. Velmi odlišná

situace byla u vzorků s titanem. U vzorku Ti se ukázala přítomnost velkých cizorodých částic, ale také přítomnost jemných malých částic Ti. Ty se vyskytovaly po skupinách mnoha částic na různých místech substrátu. Tyto částice dosahují velikosti několika desítek nm. V některých případech došlo také k jejich přichycení na nečistoty. Měření Zetasizer bylo prokázána průměrná velikost částic 50 nm. U TiO₂ připraveného ve vodě se při analýze objevila místa s velmi souvislým pokrytím substrátu velmi jemnými částicemi (řádově desítky nm). Substrát také vykazoval mnoho nečistot.

11.3. Popsání chemického složení a typů vazeb

Analýza Mapping u většiny vzorků potvrdila výskyt předpokládaných prvků. Jistě stojí za zmínku poměrně vysoká čísla zastoupení titanu jak u TiO₂ (příprava ve vodě) tak u čistého Ti (vakuum). Hodnoty byly 14,03 hm. %, resp. 12,48 hm. %. Dále se u vzorků vyžadujících odpaření koloidů ukázal vliv prostředí sušárny přítomností mnoha nežádoucích prvků.

Dalším výsledkem je také změna stechiometrického poměru u dvojice prvků Ca a F u vzorků HAp a to v závislosti na metodě přípravy, která byla zvolena. V původním HAp byl poměr Ca:F = 5:3. U přípravy ve vodě byl poměr vypočítán jako přibližně 6:1. Při přípravě vzorku ve vakuu jsou hodnoty po zaokrouhlení 6,6:4,8. Při porovnání poměrů je zjevné, že vzorek připravený ve vodě je velmi ochuzen o fosfor, a tím dochází k velké nerovnováze stechiometrického poměru. Pravděpodobným důvodem může být rozpouštění HAp ve vodě. K jistému ochuzení došlo i při přípravě vzorku ve vakuu. Ale toto ochuzení nebylo tak výrazné jako při přípravě ve vodě. Závěrem lze poznamenat, že z hlediska zachování obou prvků v daném poměru se jeví příprava ve vakuu jako lepší (nikoli ideální).

Za využití analýzy Ramanova spektroskopie bylo zjištěno, že vzorky s titanovými částicemi připravené ve vakuu obsahují titan v čistém stavu, nenavázaný na oxidy. Tvorba oxidů se přitom jeví jako pravděpodobná. Tento výsledek je ovšem pozitivní z hlediska budoucí přípravy titanových vrstev. Oxidy mohou být totiž zárodky případné krystalizace, pokud je dosaženo amorfni struktury. Při porovnání s literaturou se pak pravděpodobně potvrdil výskyt TiO₂ ve formě rutilu u vzorků, kde jako terčik bylo zvoleno TiO₂. V posledním případě Ramanova spektroskopie u hydroxyapatitu naznačila jeho možný výskyt ve zvoleném místě díky shodně několika peaků s peaky již naměřenými v jiné práci.

11.4. Potvrzení amorfni povahy titanové vrstvy

Pro posouzení zda nově vzniklá titanová vrstva je skutečně amorfni byla provedena analýza HRTEM. Díky snímkům z této analýzy, které vykazovali nahodilou zrnitou strukturu bez známky uspořádanosti, lze konstatovat, že bylo dosaženo amorfni struktury. V ní se vyskytují i nanozrna krystalických oxidů TiO₂, ale i tak lze shrnout strukturu za primárně amorfni. V tomto stavu je navíc stálá za pokojové teploty dlouhodobě, a pokud dochází k jejímu zahřívání, nevykazuje žádné morfologické změny až do teploty 800 °C. Tyto změny začínají až při teplotě 900 °C právě krystalizací hexagonálního Ti a oxidů TiO₂. V místech zárodků nanozrn začíná docházet k uspořádání struktury do pravidelných pásů.

Pokud se však srovnají výsledky teplotní stability takto připravené vrstvy s jinými metodami (např. kuličkové mletí [36]), vykazují vrstvy vzniklé laserovou depozicí ve vakuu největší teplotní stabilitu. Unikátním výsledkem je také sama skutečnost, že se amorfni titan nachází v chemicky čistém stavu a ne jako slitina, která obecně amorfizuje snadněji.

11.5. Shrnující tabulka

Následující Tabulka 20 shrne předešlou diskuzi v jednotlivých bodech.

Přehled dosažených výsledků	
Vzorky získané laserovou depozicí ve vakuu	Vzorky získané laserovou depozicí ve vodě
<ul style="list-style-type: none">• U čistého Ti dosaženo amorfni struktury• Amorfni struktura Ti teplotně odolná do 800 °C ve vakuu• Vznik nanočástic Ti, HAp• Souvisle pokryté depozity Ti	<ul style="list-style-type: none">• Uniformní nanočástice Ti (v průměru 50nm) TiO (v průměru 90nm)• Členité μm částice HAp utvořené z menších nm částic (porezita)• Částečný rozklad HAp ve vodném prostředí
Dosažené cíle	
<ul style="list-style-type: none">• Vytvořené částice Ti, TiO jsou vhodné pro pokrytí implantátu (příprava ve vakuu)• Koloid s HAp a TiO je vhodný pro případné vyplnění póru (příprava ve vodě)	
Další směřování výzkumu	
<ul style="list-style-type: none">• Pro vzorky HAp nutné další zkoumání případného rozkladu (amorfizace)• Snaha o vytvoření (druhé) porézní vrstvy• Přesun k in vitro, in vivo experimentům	

Tabulka 20 - Shrnující tabulka

11.6. Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval několika lidem. V první řadě děkuji svému vedoucímu práce Ing. Tomášovi Křenkovi, Ph.D. za ochotu při odborných konzultacích, jeho přístupu při práci v laboratoři a také diskuzích na dané téma. Dále bych jmenovitě rád poděkoval: Ing. Marii Netrvalové za pomoc a ukázkou měření Ramanovi spektroskopie a také za výsledná spektra; Ing. Rostislavovi Medlínovi za výsledky z analýz SEM/EDX a HRTEM. Souhrnně pak děkuji subjektu Nové technologie - výzkumné centrum (NTC) a také firmě Matex.

Tato diplomová práce vznikla za podpory projektu Technologické agentury ČR - program ALFA, číslo projektu TA04020860.

12. Použité zdroje

- [1] LAKES, Joon Park; R.S. Biomaterials: an introduction. 3. ed. New York [u.a.]: Springer, 2010. ISBN 978-144-1922-816.
- [2] Biomedical materials. New York: Springer, 2009, s. 41-81. ISBN 0387848711.
- [3] YEOM, JONG-TAEK, JEOUNG HAN KIM, JAE-KEUN HONG, NHO-KWANG PARK A CHONG SOO LEE. PREDICTION OF MICROSTRUCTURE EVOLUTION IN HOT BACKWARD EXTRUSION OF Ti-6Al-4V ALLOY. JOURNAL OF METALLURGY [ONLINE]. 2012, VOL. 2012, s. 1-6 [CIT. 2015-03-23]. DOI: 10.1155/2012/989834.
- [4] SIENIAWSKI, Jan, Ryszard FILIP a Waldemar ZIAJA. The effect of microstructure on the mechanical properties of two-phase titanium alloys. Materials & Design [online]. 1997, vol. 18, 4-6, s. 361-363 [cit. 2015-03-23]. DOI: 10.1016/s0261-3069(97)00087-3.
- [5] JANDOVÁ, Věra. *Laserová karbotermální redukce monoxidu titanu*. Praha, 2012. Disertační práce.
- [6] KOUTSOPOULOS, S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. Journal of Biomedical Materials Research. 2002-12-15, vol. 62, issue 4, s. 600-612. DOI: 10.1002/jbm.10280. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.10280>
- [7] Sadat-Shojai, Mehdi, Mohammad-Taghi Khorasani, Ehsan Dinpanah-Khoshdargi a Ahmad Jamshidi. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. Acta Biomaterialia. 2013, vol. 9, issue 8, s. 7591-7621. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.04.012. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706113001840>
- [8] GISMONDI, Angelo, Giacomo REINA, Silvia ORLANDUCCI, Francesca MIZZONI, Stefano GAY, Maria L. TERRANOVA a Antonella CANINI. Nanodiamonds coupled with plant bioactive metabolites: A nanotech approach for cancer therapy. *Biomaterials* [online]. 2015, vol. 38, s. 22-35 [cit. 2015-05-18]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.057.
- [9] MOCHALIN, Vadym N., Olga SHENDEROVA, Dean HO a Yury GOGOTSI. The properties and applications of nanodiamonds. *Nature Nanotechnology*. 2011, 7(1): 11-23. DOI: 10.1038/nnano.2011.209. ISSN 1748-3387. Dostupné také z: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nnano.2011.209>
- [10] GISMONDI, Angelo, Giacomo REINA, Silvia ORLANDUCCI, Francesca MIZZONI, Stefano GAY, Maria L. TERRANOVA a Antonella CANINI. Nanodiamonds coupled with plant bioactive metabolites: A nanotech approach for cancer therapy. *Biomaterials* [online]. 2015, vol. 38, s. 22-35 [cit. 2015-05-18]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.057.

- [11] DEGROOT, K. A R. GEESINK, C.P. KLEIN, P. SEREKIAN. Plasma sprayed coatings of hydroxylapatite. *J. Biomed Mater. Res.* 21 (1987) 1375-1381.
- [12] OKIDO, M. A K. KURODA, M. ISHIKAWA, R. ICHINO, AND O. TAKAI, Hydroxyapatite coating on titanium by means of thermal substrate method in aqueous solutions, *Solid State Ionics* 151 (2002) 47–52.
- [13] SIDDHARTHAN, A. A T.S. KUMAR, S.K. SESHADRI, In situ composite coating of titania–hydroxyapatite on commercially pure titanium by microwave processing. *Surf. Coat. Technol.* 204 (2010) 1755–1763.
- [14] Y.YAN, F A Y.-L. SHI, J.-H. NI, n-SiO₂ Embedded HA/TiO₂ Composite Coatings Deposited on Pure Titanium Substrate by Micro-Arc Oxidation, Ch.13 in *Implant Dentistry - The Most Promising Discipline of Dentistry*, I. Turkyilmaz (ed.), In Tech, 2011.
- [15] KIM, H. W. A Y. H. KOH, L. H. LI, S. LEE, H. E. KIM, Hydroxyapatite coating on titanium substrate with titania buffer layer processed by sol-gel method, *Biomaterials*, 25 (2004) 2533–2538.
- [16] LIN, C. M. A S. K. YEN, Characterization and bond strength of electrolytic HA/TiO₂ double layers for orthopedic applications, *J. Mater. Sci., Mater. Med.* 15 (2004) 1237-1246.
- [17] KIM, D. H. A Y. M. KONG, S. H. LEE, H.-E. KIM, I.-S. LEE, S.-J. HEO, J.-Y. KOAK, Composition and crystallization of hydroxyapatite coating layer formed by electron beam deposition, *J. Am. Ceram.Soc.* 86 (2003) 186–188.
- [18] WE, M. A A. J. RUYS, M. V. SWAIN, B. K. MILTHORPE, C. C. SORRELL, Hydroxyapatite-coated metals: interfacial reactions during sintering, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 16 (2005) 101-106.
- [19] ISHIZAWA, H. A M. OGINO, Thin hydroxyapatite layers formed on porous titanium using electrochemical and hydrothermal reaction. *J. Mater. Sci.* 31 (1996) 6279–6284.
- [20] WANG, X. A P. LI, Z. XU, X. SONG, H. LIU, Laser transmission joint between PET and titanium for biomedical application. *J. Mater. Process. Technol.* 210 (2010) 1767-1771.
- [21] COTELL, C.M., Pulsed laser deposition and processing of biocompatible hydroxylapatite thin films. *Appl. Surf. Sci.* 69 (1993) 140-148.
- [22] CHEANG, P. A K.A. KHOR, L.L. TEOH, S.C. TAM, Pulsed laser treatment of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings. *Biomaterials* 17 (1996) 1901-1904.
- [23] ENGST, P. a M. HORÁK. *Aplikace laserů*. Praha: Nakladatelství technické literatury, n.p., 1989, s.9–45
- [24] ŠULC, J.: *Lasery a jejich aplikace*, 2002, s.1–6
- [25] Q-smart (850 mJ). *Quantel Lasers* [online]. 2015 [cit. 2015-05-18]. Dostupné z: <http://www.quantel-laser.com/products/item/q-smart-850-mj-.html>

- [26] Confocal Scanning Laser Microscope OLS3000/3100, User's manual, Ver. 5.0, 2007
- [27] GARDINER, D, P GRAVES a H BOWLEY. Practical Raman spectroscopy. New York: Springer-Verlag, c1989, viii, 157 p. ISBN 03-875-0254-8.
- [28] GOLDSTEIN, I. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. 3rd ed. New York: Kluwer, 2003, xix, 689 s. ISBN 03-064-7292-9.
- [29] HULL., A. A New Method of X-Ray Crystal Analysis. *Physical Review*. 1917, roč. 10, č. 6, s. 661-696. ISSN 0031-899x. DOI: 10.1103/PhysRev.10.661. Dostupné z: <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.10.661>
- [30] Rentgenová difrakční analýza. In: [online]. 2012 [cit. 2012-06-15]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/rentgenova-difrakcni-analyza-xrd>
- [31] Zetasizer Nano Z: Dedicated zeta potential analyzer. *Malvern* [online]. 2015 [cit. 2015-05-18]. Dostupné z: <http://www.malvern.com/en/products/product-range/zetasizer-range/zetasizer-nano-range/zetasizer-nano-z/>
- [32] JÄGER, A a V GÄRTNEROVÁ. Elektronovým mikroskopem do nitra materiálů aneb jak vypadá jejich struktura. [online]. 2008 [cit. 2012-06-15]. Dostupné z: <http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>
- [33] KŘENEK, T., R. FAJGAR, R. MEDLÍN, M. KLEMENTOVÁ, F. NOVOTNÝ a V. DŘÍNEK. Fabrication of Cu_xGe_y Nanoplatelets. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2011-09-01, vol. 11, issue 9, s. 8279-8283. DOI: 10.1166/jnn.2011.5080. Dostupné z: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article>
- [34] MONA, J., J.-S. TU, T.-Y. KANG, Cheng-Yen TSAI, E. PEREVEDENTSEVA a C.-L. CHENG. Surface modification of nanodiamond: Photoluminescence and Raman Studies. *Diamond and Related Materials* [online]. 2012, vol. 24, s. 134-138 [cit. 2015-05-20]. DOI: 10.1016/j.diamond.2011.12.027.
- [35] LI, H, B.S NG, K.A KHOR, P CHEANG a T.W CLYNE. Raman spectroscopy determination of phases within thermal sprayed hydroxyapatite splats and subsequent in vitro dissolution examination. *Acta Materialia* [online]. 2004, vol. 52, issue 2, s. 445-453 [cit. 2015-05-20]. DOI: 10.1016/j.actamat.2003.09.046.
- [36] Y.Y. Li, C. Yang, W.P. Chen, X.Q. Li, M. Zhu, Oxygen-induced amorphization of metallic titanium by ball milling. *J. Mater. Res.* 22 (2007) 1927-1932.
- [37] URBANOVÁ, M., D. POKORNÁ, J. KUPČÍK, R. MEDLÍN, T. KŘENEK a J. POLA. IR and near IR laser ablative deposition of amorphous titanium coats containing nanocrystalline grains of titanium and titanium suboxides. *Infrared Physics & Technology* [online]. 2014, vol. 67, s. 237-244 [cit. 2015-04-20]. DOI: 10.1016/j.infrared.2014.07.035.