

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE
FAKULTA STROJNÍ
ÚSTAV MATERIÁLOVÉHO INŽENÝRSTVÍ



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Ca/P bioaktivní povlaky na titanových slitinách

Ca/P bioactive layers on titanium alloys

AUTOR: Tomáš Krupka

STUDIJNÍ PROGRAM: Výroba a ekonomika ve strojírenství

VEDOUCÍ PRÁCE: Ing. Zdeněk Tolde

PRAHA 2019

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Krupka** Jméno: **Tomáš** Osobní číslo: **409556**
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**
Zadávací katedra/ústav: **Ústav materiálového inženýrství**
Studijní program: **Výroba a ekonomika ve strojírenství**
Studijní obor: **Technologie, materiály a ekonomika strojírenství**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Ca/P bioaktivní povlaky na titanových slitinách

Název bakalářské práce anglicky:

Ca/P bioactive layers on titanium alloys

Pokyny pro vypracování:

Cíl práce: Vypracovat postup přípravy povlaku Ca/P na titanových slitinách, připravit, změřit a vyhodnotit Ca/P povlak připravený metodou smáčení v simulované tělní tekutině (SBF). Zároveň provést vyhodnocení změny morfologie povrchu z měření na elektronovém mikroskopu

1. Literární rešerše na téma titanové slitiny ve zdravotnictví, Ca/P povlaky a jejich využití, 2. Návrh experimentu, 3. Experiment, 4. Vyhodnocení, porovnání výsledků, 5. Závěry

Seznam doporučené literatury:

Monika Šupová, et. al.; The comprehensive in vitro evaluation of eight different calcium phosphates: Significant parameters for cell behavior, J Am Ceram Soc. 2018;1–23.

Noam Eliaz, Noah Metoki; Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications, Materials 2017, 10, 334;

XU L., et. al.; Microstructure and dry wear properties of Ti-Nb alloys for dental prostheses, Trans. Nonferrous Met. Soc. China 19, 2009, s639-644

Norma: Srovnání chování povrchů implantátů při testu bioaktivity dle ISO 23317

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) bakalářské práce:


Ing. Zdeněk Tolde, Ph.D., ústav materiálového inženýrství FS

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) bakalářské práce:

Datum zadání bakalářské práce: **01.04.2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **26.07.2019**

Platnost zadání bakalářské práce: _____



Ing. Zdeněk Tolde, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce



prof. RNDr. Petr Špatenka, CSc.
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry




prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student bere na vědomí, že je povinen vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v bakalářské práci.

25.4.2019

Datum převzetí zadání



Podpis studenta

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně a to výhradně s použitím pramenů a literatury, uvedených v seznamu citovaných zdrojů.

V Praze dne:

.....
Podpis

Anotace

Bakalářská práce na téma Ca/P bioaktivní povlaky na titanových slitinách shrnuje současné poznání v oblasti bioaktivních materiálů, zejména titanových slitin. A jejich úpravy povrchů a využití povrchových vrstev pro dosažení zvýšení bioaktivity, osteointegrace a dosažení lepší adheze pro následný bioaktivní povlak. Jeho způsoby výroby a metoda nanášení. Zvláště pak Ca/P povlaky a hydroxiapatit. Dále se práce zabývá vlastní výrobou Ca/P povlaku metodou vaření a máčení v simulované tělní tekutině na slitinách CP Ti, Ti6Al4V a Ti39Nb. Závěr práce tvoří porovnání metod nanášení pro jednotlivé slitiny a přínos anodické oxidace na stimulaci depozice bioaktivního povlaku.

Klíčová slova

Biomateriály, Titan, Titanové slitiny, slitina Ti6Al4V, slitina Ti39Nb, Bioaktivní povlakování, Ca/P povlak, Hydroxiapatit,

Annotation

The bachelor thesis on subject Ca / P bioactive coatings on titanium alloys summarizes current knowledge in the field of bioactive materials, especially titanium alloys. Their surface treatments and use of surface layers to increase bioactivity, osteointegration and to achieve better adhesion for subsequent bioactive coating. Its production and application methods. Especially Ca/P coatings and hydroxiapatite. The thesis also deals with the production of Ca/P coating by the method of cooking and soaking in simulated body fluid on CP Ti, Ti6Al4V and Ti39Nb alloys. Conclusion of this work is comparison of deposition methods for individual alloys and contribution of anodic oxidation to stimulation of deposition of bioactive coating.

Keywords

Biomaterials, Titanium, Titanium alloys, alloy Ti6Al4V, alloy Ti39Nb, Bioactive coating, Ca/P coating, Hydroxiapatit

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval mému vedoucímu práce Ing. Zdeňku Toldemu za odbornou pomoc při přípravě procesu, za cenné rady a odborné připomínky, kterými mě obohatil v průběhu tvorby mé bakalářské práce.

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Biomateriály.....	10
3	Titan.....	11
3.1	Vlastnosti Titanu.....	11
3.2	Rozdělení Ti-alfa a Ti-beta.....	11
3.2.1	Ti- α	12
3.2.2	Ti- $\alpha+\beta$	12
3.2.3	Ti- β	12
3.3	Používané slitiny v medicíně.....	13
4	Povrchové úpravy titanových slitin.....	15
4.1	Mechanické metody.....	15
4.2	Chemické metody.....	15
4.2.1	Chemické ošetření pomocí kyseliny.....	15
4.2.2	Alkalické ošetření.....	15
4.2.3	Anodická oxidace.....	16
5	Bioaktivní povlakování.....	17
5.1	Biokeramika.....	17
5.1.1	Kalcium fosfát.....	18
5.1.2	Hydroxyapatit (HA).....	18
5.2	Způsoby nanášení bioaktivních HA povlaků.....	19
5.2.1	Plasmové napařování.....	19
5.2.2	Metoda Sol-gel.....	20
5.2.3	Pulzní laserová depozice.....	21
5.2.4	Biomimetická depozice.....	21
5.2.5	Izostatické lisování.....	21
6	Experimentální část.....	22
6.1	Postup přípravy vzorků.....	22
6.2	Anodická oxidace vzorků.....	23
6.3	Nanesení bioaktivního povlaku.....	24

6.4	Vyhodnocování experimentu	24
7	Výsledky a diskuze	26
7.1	Označení vzorků	26
7.2	Vyhodnocení oxidických vrstev	27
7.2.1	Anodicky oxidovaný Ti6Al4V	27
7.2.2	Anodicky oxidovaný CP Ti	28
7.2.3	Anodicky oxidovaný Ti39Nb	29
7.3	Vyhodnocení povlaku CA/P	29
7.3.1	Bioaktivní povlak na Ti6Al4V	29
7.3.2	Bioaktivní povlak na CP Titan grade 2	32
7.3.3	Bioaktivní povlak Ti39Nb	34
8	Závěr	36
9	Seznam použité literatury	37
10	Seznam použitých obrázků	41
11	Seznam tabulek	43

1 Úvod

Titan a jeho slitiny jsou díky svým vlastnostem, jako jsou výborná korozní odolnost, vysoká měrná pevnost, a hlavně biokompatibilita, významnými materiály v oblasti bioaplikací. Nově vyvíjené titanové slitiny β které vykazují relativně nízký modul pružnosti (až $E = 50$ GPa) jsou na rozdíl od klasických korozivzdorných ocelí AISI 316L ($E = 200$ GPa) a titanové $\alpha+\beta$ slitiny Ti6Al4V ($E = 101-110$ GPa), které jsou momentálně nejpoužívanějšími materiály při implantologii, mnohem vhodnější díky svému modulu pružnosti blízcímu se lidské kosti ($E = 10-50$ GPa). Což vede k lepšimu rozložení napětí mezi implantátem a kostí. Při nedostatečném rozložení dochází přenosu napětí na implantát a nezatěžovaná kost atrofuje.

Důležitým faktorem pro funkčnost implantátu je jeho osteointegrace. Titan, jakožto bioinertní materiál, nevyvolává žádnou biologickou odezvu a tím není srůst s kostí ideální. Proto se na titanové implantáty nanášejí různé bioaktivní povlaky, nejčastěji povlaky kalcium fosfátů, hlavně pak Hydroxiapatitu (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Ten je svým složením podobný apatitu obsaženém v kosti. Po osazení implantátu se povlak chová jako lešení pro nově rostoucí kostní buňky a dále je resorbován a nahrazován novými kostními buňkami. Pro nanášení HA povlaku se využívá různých metod. Tím dokážeme kontrolovat vlastnosti, jako tloušťku, adhezi, propustnost, pórovitost a odolnost proti otěru. Adheze mezi povlakem a implantátem hraje důležitou roli, a proto se používají předpřípravy povrchu před samotným povlakováním. Nejběžnějšími jsou mechanické úpravy, jako broušení, leštění, otryskávání, nebo chemické metody jako ošetření kyselinou, anodická oxidace nebo alkalické ošetření.

Cíle bakalářské práce

Tato práce se bude zabývat přípravou Ca/P povlaků na titanových slitinách. V teoretické části bude přehled současných poznatků v oblasti využití Ca/P povlaků v praxi. Dále způsoby výroby Ca/P a přípravy jeho povlaků jako úvod pro praktickou část. V praktické části bude cílem připravit Ca/P povlak na alfa, beta a alfa+beta titanové slitině a provést jejich charakteristiku po morfologické stránce a z mikroskopického pozorování.

2 Biomateriály

Biomateriál je jakákoliv látka, syntetická nebo přírodní, která může být použita jako systém nebo část systému, který léčí, rozšiřuje, nebo nahrazuje jakoukoli tkáň, orgán nebo funkci těla. [1] Biomateriály najdeme mezi všemi třemi hlavními zástupci materiálů, a to mezi kovy, keramikou a polymery. [2] Požadavky pro tyto materiály jsou non-toxicita, vysoká korozní odolnost, vhodné mechanické vlastnosti, vysoká odolnost proti opotřebení a u kostních protetik osteointegrace, což je schopnost srůstu s kostí. Základní vlastností biomateriálů je biokompatibilita, což je schopnost fungování v živém organismu. Biomateriály dělíme dle jejich reakce s tkáněmi. [3]

Biotolerantní materiál sice uvolňuje látky do živého organismu, ale nepřekračuje toxickou koncentraci a vede pouze k malým reakcím. Tělem bude tento materiál přijat a v reakci na něj se vytvoří na rozhraní adhezivní vrstva pojivové tkáně. Patří mezi ně například akrylátové sklo (polymethylmethakrylát, PMMA), chirurgická nerezová ocel (AINSI 316L) a slitiny hořčíku. [2]

Bioinertní materiál neuvolňuje žádné toxické složky a ani nevykazuje žádné pozitivní interakce s živou tkání. Mezi tyto materiály patří například hliník, zirkon, titan, několik alotropií uhlíku včetně uhlíkových nanotrubic a diamantu, slitiny titanu a tantalu. [2]

Bioresorbční (biodegradační) materiál je ten, který se uvnitř tkáně rozpouští anebo je resorbován a pomalu nahrazen rostoucí tkání. [2]

Bioaktivní materiál vyvolává v systému žádoucí reakce. Od degradace určitého druhu buněk po osteointegraci.

Principy a standardy pro užívání biomateriálů jsou uvedené v ISO-10993. Nejčastěji užívané jsou bioinertní materiály, ale v poslední době jsou již požadavky na tyto materiály větší, a proto logickým vývojem pro tyto materiály je to, že ne jenom neškodí, ale i pomáhají buněčné aktivitě. Tyto Bioaktivní materiály jsou nejčastěji nanášeny jako povlak bioinertních materiálů. [4]

3 Titan

Titan jako prvek byl objeven 1790, ale až na začátku 19. stoléní se ho podařilo izolovat jako čistý kov. I přes svojí relativně složitou a drahou výrobu (polotovary přibližně 4krát dražší než ocel) nachází díky svým vlastnostem využití v mnoha strojírenských odvětvích, např. letectví a kosmonautika, automobilový průmysl a lékařství. V poslední době i proniká na pole sportovních pomůcek (golfové hole, baseballové pálky apod.) [5] [6]

3.1 Vlastnosti Titanu

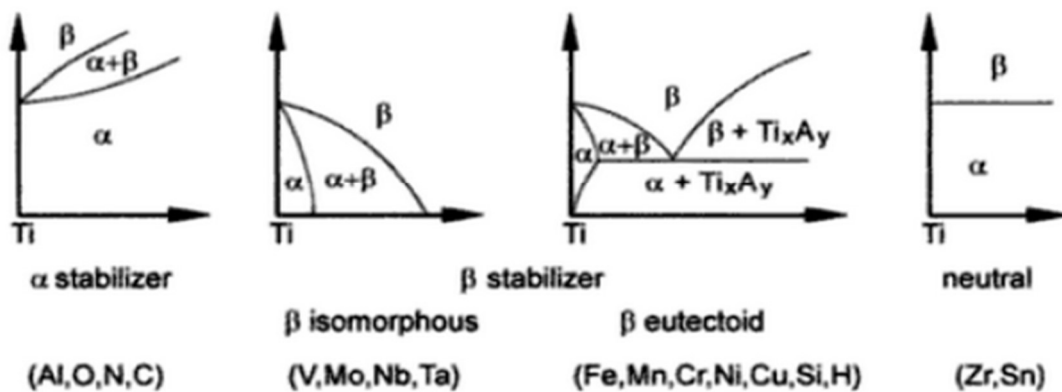
Titan se řadí mezi lehké polymorfní kovy. Čistý titan má nízkou hustotu ($4505 \text{ Kg}\cdot\text{m}^{-3}$). Nízkou elektrickou a tepelnou konduktivitou, dobrou tvářitelnost za tepla a svařitelnost. Výbornou stálost až bodu tavení ($1668 \text{ }^\circ\text{C}$). Korozní odolnost v oxidačních prostředích (např. v 70 % HNO_3 až do $200 \text{ }^\circ\text{C}$ [7]), čehož se využívá pro využití v lékařství. Výhodou je i ochranná vrstva TiO_2 , která brání další oxidaci, ale za vysokých teplot se vrstva rozpadá a titan se stává vysoce reaktivním.

Druh titanu	Mez pevnosti R_m [MPa]	Tažnost A [%]	Tvrdość HB
Ti, 99,5	290	30	120
Ti, 99,2	390	28	200
Ti, 99,1	490	25	225
Ti, 99,0	610	20	265

Tabulka 1: Druhy a mechanické vlastnosti chemicky čistého titanu [7]

3.2 Rozdělení Ti-alfa a Ti-beta

Titan má dvě krystalické struktury, a to Ti- α v centrálně středěné kubické mřížce (BCC) a Ti- β v centrálně středěné hexagonální s nejtěsnějším uspořádáním (HCP). BCC se vyskytuje pouze za vysokých teplot (nad $882 \text{ }^\circ\text{C}$). Přidáním různých legujících prvků je možno za běžných teplot docílit stabilizaci titanové slitiny v různých fázích. Slitiny teda běžně dělíme na Slitiny α , β , Near α , $\alpha+\beta$. Někdy se uvádí i slitina Near β . [7] [8]



Obr. 1: Vliv legujících a intersticiálních prvků na fázové složení titanových slitin. [9]

3.2.1 Ti- α

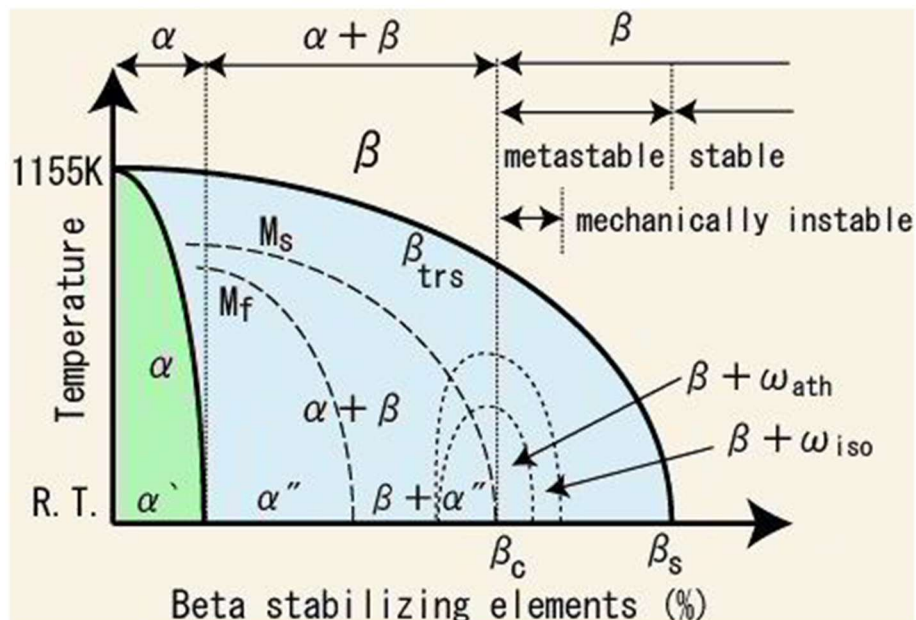
Mezi α -stabilizátory patří prvky AL, O, N, C. Ty zvyšují teplotu, v které je Alfa fáze stabilní. Slitiny alfa jsou za vysokých teplot strukturálně stabilní a odolávají creepu a vysokoteplotní oxidaci až do 600 °C a za nízkých teplot, až -200 °C, mají velkou houževnatost. Dobrá svařitelnost vychází z faktu, že alfa slitiny nejsou moc citlivé na tepelné zpracování. [8]

3.2.2 Ti- $\alpha+\beta$

Slitina Titanu $\alpha+\beta$ je tvořena směsí α -stabilizátorů a β -stabilizátorů přidaných do Titanu. Posunutím prvků slitin dále od α fáze, dosáhneme vysoce výrazné β fáze při tepelném ošetření. To nám zajistí zachování značného množství netransformované β fáze i po zchlazení. Širokou škálu mikrostruktury $\alpha+\beta$ slitin dokážeme kontrolovat různými parametry termomechanického zpracování. [8]

3.2.3 Ti- β

Mezi β -stabilizátory patří např. V, Nb, Mo, Ta. Obsah legujících prvků přesahuje 20 %. To zvyšuje hustotu těchto slitin. Metastabilní a stabilní β slitiny jsou nejuniverzálnější ze všech skupin titanových slitin. Pro použití v lékařství jsou zajímavé svým chemickým složením, nízkým modulem pružnosti v tahu, výbornou korozní odolností. [10]



Obr. 2: Fázový diagram titanových slitin. Vysvětlivky: Temperature–teplota, Beta stabilizing elements–beta stabilizátory, metastable–metastabilní, stable–stabilní, mechanically instable – mechanicky nestabilní [21]

3.3 Používané slitiny v medicíně

Titan a jeho slitiny jsou momentálně nejatraktivnější kovové materiály pro biomedicínské využití v traumatologii a kloubních implantátech. Slitina titanu $\alpha+\beta$ Ti-6Al-4V byla dlouhou dobu nejpoužívanější v oblasti biomedicíny. V poslední době se ale od ní upouští kvůli toxicitě Vanadu a Hliníku a je nahrazen jinými prvky, např. Nb nebo Fe. Slitiny bez V např. Ti-6Al-7Nb, Ti-5Al-2,5Fe nebo zcela netoxické Ti-15Sn-4Nb-2Ta-0,2Pb a Ti-15Zr-4Nb-4Ta-0,2Pb. Další nevýhodou, kvůli které se upouští od slitiny Ti-6Al-4V a titanových slitin $\alpha+\beta$ obecně, je jejich vyšší modul pružnosti v tahu E ve srovnání se slitinami β . Jedním z cílů vývoje materiálů pro medicínskou implantologii je dosáhnout hodnoty E co nejblíže hodnotám skutečné kosti. Řešením tohoto problému je vývoj nových β slitin s netoxickými prvky jako Nb, Ta, Zr. Momentálně vyvinuté nebo vyvíjené β slitiny dosahují modulu pružnosti v tahu mezi 55 až 85 GPa. Což je stále více než u kosti (10-40 GPa). [11]

Slitina	Typ slitiny	Pevnost v tahu	Modul pružnosti v tahu
		[MPa]	[GPa]
CP Ti grade 1	α	240	102,7
Ti-6Al-4V	$\alpha+\beta$	860-965	101-110
Ti-6Al-7Nb	$\alpha+\beta$	90-1050	114
Ti-5Al-2,5Fe	$\alpha+\beta$	1020	112
Ti-15Sn-4Nb-2Ta-0,2Pb			
Žíháno	$\alpha+\beta$	860	89
Stárnuto	$\alpha+\beta$	1109	103
Ti-15Zr-4Nb-4Ta-0,2Pb			
Žíháno	$\alpha+\beta$	715	94
Stárnuto	$\alpha+\beta$	919	99
Ti-13Nb-13Zr			
Stárnuto	β	973-1037	79-84
Ti-15Mo			
Žíháno	β	874	78
Ti-15Mo-5Zr-3Al			
Stárnuto	β	1060-100	80
Ti-35,3Nb-5,1Ta-7,1Zr	β	596,7	55
Kost			
			10-40

Tabulka 2: Mechanické vlastnosti vybraných titanových slitin [11]

4 Povrchové úpravy titanových slitin

Povrch hraje u biomateriálů velice důležitou roli, jelikož zde dochází k hlavní interakci s biologickým prostředím a tkáněmi. Ze samotné výroby je přirozený povrch titanu zoxidovaný, má kontaminovaný povrch, vnitřní pnutí nebo je plasticky deformovaný, a to není optimální pro využití. A proto se titan povrchově upravuje. Různá využití si žádají s ohledem na daná specifika různé povrchové úpravy. [12]

4.1 Mechanické metody

Mechanické modifikace povrchu jsou obrábění, broušení, leštění a otryskávání. Toto provádíme pro dosažení specifické topografie a drsnosti povrchu, odstranění povrchové kontaminace a zlepšení povrchové adheze. Tyto metody většinou předcházení dalšímu povlakování. [12] [13]

4.2 Chemické metody

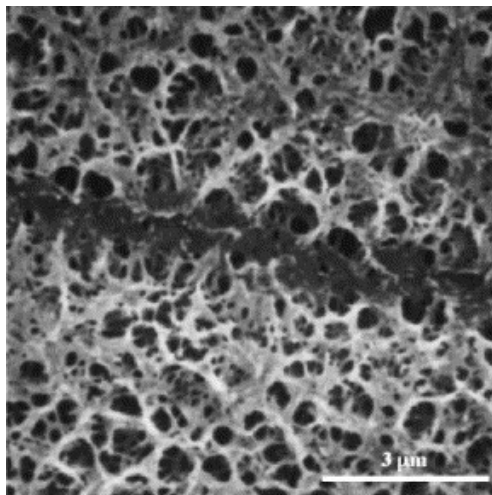
Chemické metody zahrnují chemické ošetření povrchu i elektrochemické ošetření povrchu jako anodická oxidace, metoda sol-gel, chemické napařování (CVD) a biochemické modifikace.

4.2.1 Chemické ošetření pomocí kyseliny

Chemické ošetření pomocí kyseliny se primárně provádí k odstranění oxidů a kontaminací na povrchu a přípravě povrchu pro další operace. Používáme směs kyseliny dusičné (HNO_3) a fluorovodíku (HF). Odebírá se při tom asi 10 nm oxidické vrstvy.

4.2.2 Alkalické ošetření

Toto ošetření se provádí jako aktivace povrchu, kdy vytvářím pórovitý povrch pro zlepšení biokompatibility a snížení modulu pružnosti. Standardní postup pro ošetření je, že se začne ponořením v 5-10 molárním roztoku Hydroxidu sodného (NaOH) nebo Hydroxidu draselného po dobu 24 h. Následuje opláchnutí destilovanou vodou a ultrasonické čištění po dobu 5 minut. Schnutí 24 h ve 40 °C a následně zahřátí na 600-800 °C po 1 h. [8] [12]



Obr. 3: Pórovitý povrch po alkalickém a tepelném ošetření [12]

4.2.3 Anodická oxidace

Anodická oxidace je již dlouhou dobu osvědčená, univerzální a cenově dostupná metoda tvorby ochranných protikorozních vrstev. Proces zahrnuje elektrodovou reakci v kombinaci s elektrickým polem vedeným kovem a difuzi iontů oxidu tvořící film na povrchu anody. Jako elektrolyt se používají zředěné kyseliny (kyselina sírová H_2SO_4 , kyselina fosforečná H_3PO_4 , Kyselina octová atd.). Během procesu oxidace dochází k uvolnění iontu Ti^{4+} a elektronů ze základního materiálu.



Při katodové reakci nastává rozpad H_2O na vodík a hydroxidové anionty.

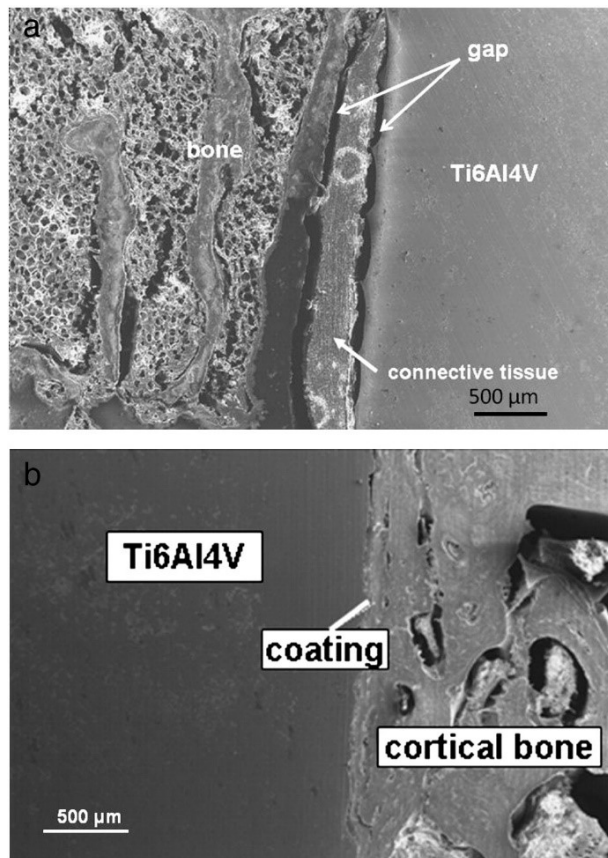


V elektrolytu dochází k formaci vrstvy oxidů na povrchu titanu. Chemické reakce tvorby oxidu titaničitého a hydroxidu titaničitého jsou uvedeny níže.



5 Bioaktivní povlakování

Povrch hraje důležitou roli v odezvě a integraci biologického prostředí a implantátu, a proto je bioaktivní povlakování používáno pro zlepšení biokompatibility a osteointegrace.



Obr. 4: Odezva kostní tkáně na materiál (a) Odezva kostní tkáně na bioinertní materiál a tvorba neadhezivní vrstvy mezi kostní tkání, pojivovou tkání bioinertním materiálem. (b) Odezva bioaktivního povlaku. Vysvětlivky: bone-kost, connective tissue-pojivová tkáň, gap-mezera, coating-povlak, cortical bone-kortikální kost [2]

Jednou skupinou povlaků jsou Bioaktivní skla (BGs). Vysoce využívány jsou kvůli své dobré osteokonduktivitě, kontrolované biodegradaci a schopnosti aktivace osteogenních genů. Bioaktivní sklo vykazuje vysokou bioaktivitu skrz disociaci iontů vápníku, fosforu a křemíku. [14]

5.1 Biokeramika

Další skupinou povlaků je biokeramika. Pro redukci otěru a koroze jsou používány bioinertní tvrdé keramické povlaky založené na Nitridu titanu, nitridu zirkonu. Dále také silikony a uhlík ve formě diamantu. Mezi bioaktivní keramiku řadíme Calcium fosfáty, která jsou široce užívaná pro jejich vysokou biokompatibilitu a bioaktivní vlastnosti, které stimulují osteointegraci. [14]

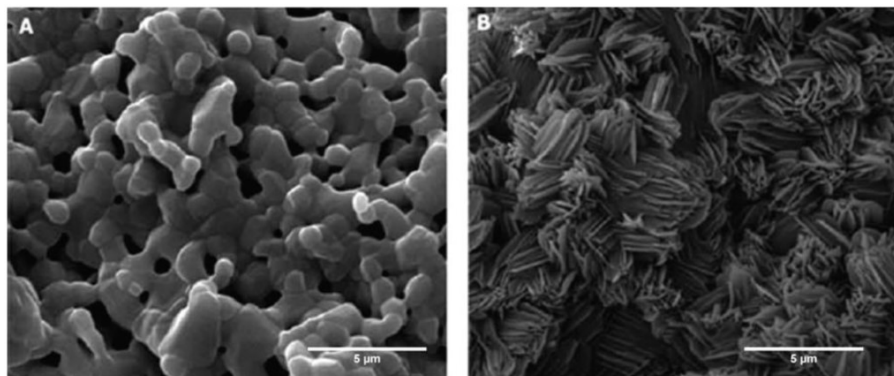
5.1.1 Kalcium fosfát

Kalcium fosfát (CaP) je hlavní komponent kosti a biokompatibilní a biodegradující biomateriál, a proto je používán hlavně při rekonstrukční kostní chirurgii. Také skýtá možnost implantace léků do povrchu a následného cíleného doručení na místo. [15] Kalcium fosfáty se vyskytují v různých sloučeninách a v různých poměrech kalcia ku fosfátu. Rodina fosforečnanů vápenatých je klasifikována jejich molárním poměrem Ca/P od 0,5 do 2. Hlavní minerální fází tvrdých tkání je Hydroxiapatice (HA), který se nejčastěji využívá pro povlakování implantátů s molárním poměrem Ca/P 1,67. Pouze některé sloučeniny ale dokáží být přeměněny na HA. Zejména se jedná o β -TCP (beta Trikalcium fosfát) používaný v kostních cementech, poměr Ca/P 1,5. Trikalcium fosfát má lepší tkáňovou kompatibilitu a je rozpustnější než HA. Dikalcium fosfát dihydrogen (DCPD) je metastabilní za fyziologických podmínek, vstřebává se lépe než HA a poměr Ca/P má 1. [16] [17]

5.1.2 Hydroxyapatit (HA)

Hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ je člen skupiny chemicky rozdílných, ale strukturálně identických sloučenin se vzorcem $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$ ($\text{M} = \text{Ca}, \text{Pb}, \text{Cd}, \text{Sr}, \text{La}, \text{Ce}, \text{K}, \text{Na}, \text{Z} = \text{P}, \text{V}, \text{As}, \text{Cr}, \text{Si}, \text{C}, \text{Al}, \text{S}, \text{X} = \text{OH}, \text{Cl}, \text{F}, \text{CO}_3, \text{H}_2\text{O}$). [2]

Hydroxyapatite je osteoinduktivní materiál, což znamená že svojí přítomností a působením vyvolává růst kostních buněk. Stejně jako ostatní kalcium fosfáty i HA formuje na svém povrchu vrstvu carbonate-hydroxyapatit (CO-HA) krátce po implantování in vivo (do živého organismu). To je výsledek iontové výměny vápníku a fosfátových iontů z implantátu, a zároveň depozice proteinů z fyziologického prostředí na HA. Výsledná vrstva na HA je známa jako carbonate-hydroxyapatite (CO-HA), a ten je podobný apatitu obsaženého v kosti. Nová apatitová vrstva se chová jako lešení pro osteoblasty (kostní buňka) a je dále resorbována osteoklasty (kostní buňka) a přeměněna na novou kostní tkáň. [18]



Obr. 5: Resorbce HA povlaku osteoklasty: (A)- HA lešení před vložením do fosfátového fyziologického roztoku, (B)- HA po 2 týdnech ve fosfátovém fyziologickém roztoku a depozice apatitových krystalů na povrchu [18]

Výsledky vykazují u HA povlaků zlepšení osteointegrace. V některých případech ale není změna patrná. Tyto nesrovnalosti ve výsledcích jsou připisovány odlišnými faktory ze strany chirurga i pacienta při klinických testech. Základním mechanismem neúspěchu HA povrchu je špatná vazba mezi povlakem a implantátem. Ztráta vazby mezi povlakem a implantátem vede k mikro posuvům implantátu, a tím ke zvýšenému opotřebení a produkci volných částic. [19]

5.2 Způsoby nanášení bioaktivních HA povlaků

Pro nanášení HA povlaků se používá velká škála metod a tím se dokáží kontrolovat a zlepšovat charakteristiky povlaku jako síla adheze a spolehlivost.

Mezi základní metody patří plasma napařování, metoda sol-gel, pulzní laserová depozice, elektroforetická depozice, biomimetická depozice, lontové napařování, izostatické lisování. [20]

5.2.1 Plasmové napařování

Plasma napařování funguje na principu tavení keramického prášku pomocí tepla z ionizovaného inertního plynu (plasma). Poté je roztavený prášek sprejován na povrch. [20] [21]

Plasma napařování byla první metodou používanou pro nanesení HA povlaku díky své jednoduchosti a nízké ceně. Navíc riziko termální degradace povlaku je nižší než u jiných vysokoteplotních metod díky tomu, že plyn v plasmě je inertní a cíl je možné držet relativně chladný. Nicméně plasmové napařování vykazuje slabou adhezi mezi povlakem základním materiálem. Nedávné studie

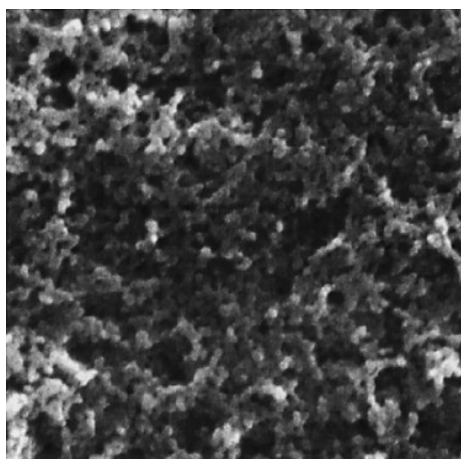
prokázaly dobrou adhezi mezi nově tvořenou kostí a HA povlakem, a také rychlou kostní obnovou. [20]

5.2.2 Metoda Sol-gel

Sol-gel proces zahrnuje formaci pevného materiálu, hlavně anorganického nekovového materiálu z roztoku. Metoda sol-gel je jedna z nejjednodušších technik tvorby tenkých povlaků na sklo a kov. Sol-gel povlak může být použit pro optické, elektronické, magnetické nebo chemické funkce. Výhodou je možnost tvarování komplexnějších geometrických tvarů v gelovém stavu, jako povlaky, vlákna, zrna, prášek, kuličky. Nicméně nevýhodou je vysoká propustnost, odolnost proti otěru a těžká kontrola porozity, což ztěžuje využití v hromadné výrobě. [14]

Stručný popis metody sol-gel: [20]

- I. Produkce homogenního roztoku prekurzorů v organickém rozpouštědle, které může být smícháno s činidlem použitým v dalším kroku nebo vodou.
- II. Změna roztoku na „sol“ formu použitím činidla. Voda je použita pro oxidy keramiky.
- III. Kondenzace „solu“ na gel polykondenzací.
- IV. Přeměna gelu do vybraného tvaru jako např. povlak.
- V. Vypálení tvarovaného gelu na požadovaný keramický materiál při teplotě 200-800 °C.



Obr 6: HA povlak pod elektronovým mikroskopem při vypálení na 800 °C po dobu 10 min. [20]

5.2.3 Pulzní laserová depozice

Proces zahrnuje použití vysoce výkonného laseru pro odpařování povlakového materiálu, ten je vypuzen a kondenzuje na součásti. Pulzní laserová depozice umožňuje přesnou kontrolu parametrů růstu hydroxiapatitu za nízkých teplot a schopnost produkce vysoce krystaliního HA povlaku. [20]

5.2.4 Biomimetická depozice

Jedná se o metodu máčení v simulované tělní tekutině, která je složením, pH a koncentracemi iontů podobná krevní plazmě. Depozice probíhá na povrchu díky rozdílům v pH a izoelektrickému bodu. Používají se různé modifikace simulované tělní tekutiny (SBF). Klasická SBF a prakticky totožným iontovým složením jako lidská plasma, 1,5SBF s jeden a půl násobkem iontové koncentrace oproti plasmě nebo Ca/P vápenaté roztoky. Vlastní nanesení probíhá při teplotách kolem 37 °C po dobu od jednotek až po desítky hodin. Tato metoda je výhodná díky nízké teplotnímu procesu, kdy není základní materiál teplotně namáhán. Tuto metodu lze využít jak pro nanášení povlaku, tak pro simulaci testů in-vivo. [22] [23]

5.2.5 Izostatické lisování

Izostatické lisování za tepla je technologie využívající teploty a tlaku ke zhuštění keramických prášků na povrchu součásti. Tato metoda je používána na pevné materiály, jelikož je u ní vytvářen tlak na součást v rozmezí 100-320 MPa a teplota až 2000 °C. Největší výhodou je možnost dodržení přesné tloušťky a tvaru povlaku a její mechanická konzistence. [20]

6 Experimentální část

6.1 Postup přípravy vzorků

Pro tento experiment byly vybrány tři zástupci biomedicínských slitin titanu. Za slitiny Ti α , CP Titan grade 2 a slitiny $\alpha+\beta$ Ti6Al4V a jako zástupce slitin β byl vybrán Ti39Nb (39 hmotnostního procenta Nb ve slitině, připravovaná sléváním a následným kováním a žíháním). Pro potřeby porovnání bylo potřeba 6 vzorků od každé slitiny. Vzorky CP Ti a Ti6Al4V byly dodané firmou Prospan s.r.o. a Ti39Nb firmou UJP Praha a.s..

Ti grade 2 (hmotnostní %) Udávané výrobcem									
%	C	N	O	H	Fe	Al	V	Nb	Ti
Max	0,08	0,03	0,25	0,015	0,3	-	-	-	Bal.

Tabulka 3: Chemické složení Ti grade 2

Ti6Al4V									
%	C	N	O	H	Fe	Al	V	Nb	Ti
Min	-	-	-	-	-	5,5	3,5	-	Bal.
Max	0,08	0,05	0,2	0,125	0,4	6,75	4,5	-	Bal.

Tabulka 4: Chemické složení Ti6Al4V [9]

Ti39Nb (hmotnostní %) není známo									
%	C	N	O	H	Fe	Al	V	Nb	Ti
Min	-	-	-	-	-	-	-	38	Bal.
Max	-	-	-	-	-	-	-	40	Bal.

Tabulka 5: Chemické složení Ti39Nb

Pro relevantní výsledky a dosažení dobré adheze mezi následnými vrstvami bylo potřeba vzorky podrobit metalografickému výbrusu, jenž byl proveden následujícím postupem. Vzorky byly zalisovány za tepla lisovací hmotou na bázi fenolové pryskyřice s dřevěným práškem jako plnivem do „puků“ (od firmy Cloeren Technology GmbH) pro lepší manipulaci při broušení a leštění. Vlastní broušení probíhalo brusnými papíry s hrubostí v tomto pořadí: 80, 180, 220, 600, 1000. Následovalo leštění leštící pastou OP-S Non Dry (viz Příloha 1) po dobu 20 min. Po vyleštění byly vzorky vylámané z lisovací hmoty.



Obr. 8: Zařízení pro zalisování za tepla

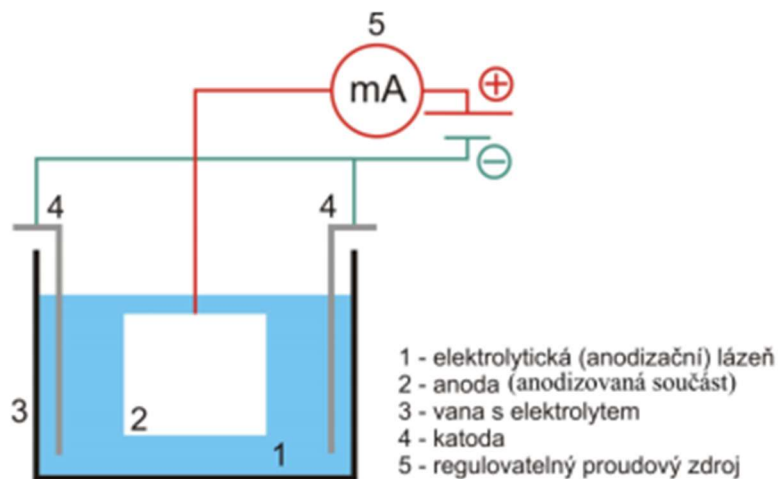


Obr 7: Zalisované vzorky

6.2 Anodická oxidace vzorků

Oxidace byla provedena na polovině vzorků a druhá byla ponechána v základním stavu. Před započítím oxidace byly vzorky ultrazvukově čištěny v acetonu po dobu 5 minut. Příprava elektrolitu proběhla smícháním 224,5 ml H_2SO_4 a 1 l demineralizované vody, a poté doředěním demineralizovanou vodou do 4 litrů výsledného elektrolitu. Tím byl vytvořen 1 molární roztok H_2SO_4 .

Vzorky byly navázány na titanové drátky zavěšeny na anodu a ponořeny do elektrolitu. Počáteční napětí na zdroji napětí NES SZ 20 110/400-19 (výrobce: NES Nová Dubnice s.r.o.) bylo nastaveno na 1V se zvyšováním o 1V/s až do výsledného proudu 30 V. Vzorky byly oxidovány po dobu jedné hodiny.



Obr. 9: Schéma oxidačního zařízení [26]

6.3 Nanesení bioaktivního povlaku

Pro vytvoření Calcium fosfátového povlaku byla vybrána metoda vaření a máčení v simulované tělní tekutině (SBF – simulated body fluid). Jedná se modifikovanou metodu biomimetické depozice, v našem případě byly použity jiné časy a teploty depozice.

Simulovaná tělní tekutina byla připravena rozpuštěním tablety Phosphate buffered saline firmy Sigma (viz Příloha 2) v 200 ml demineralizované vody.

Vaření v SBF bylo provedeno na jednom vzorku oxidovaném a jednom neoxidovaném od každé slitiny. Pomocí Buncenova hořáku byla SBF se vzorky ponechána za stálého varu po dobu 1 hodiny. Následně byly vyjmuty a ultrazvukově čištěny po dobu 5 min v Acetonu.

Na jednom vzorku oxidovaném a jednom neoxidovaném od každé slitiny bylo provedeno máčení v roztoku SBF po dobu 3 týdnů za pokojové teploty. Zbytek vzorků byl ponechán jako referenční.

6.4 Vyhodnocování experimentu

Pro vyhodnocení výsledných povlaků a vrstev byl použit elektronový mikroskop JEOL JSM-7600F a to v nastavení paprsků SEI – zpětně odražené elektrony. Kdy zachycujeme odražené elektrony pod úhlem a tím dostáváme lepší představu o struktuře a tvaru povrchu. Nebo nastavení LEI – zpětně odražené elektrony, kdy zachycujeme odražené elektrony kolmo. Toto nastavení je lepší pro zachycení plošných obrazců, jako jsou zrna nebo fázové rozdíly.

Pro chemickou analýzu bylo použito metody elektronově disperzní spektrometr (EDS). Což je metoda založená na detekci charakteristického rentgenového záření vysílaného atomy vzorku vybuzenými dopadem svazku elektronů o kinetických energiích od jednotek do stovek keV. Touto metodou lze vytvořit chemické lineární skeny nebo 2D chemické mapy povrchu. [24]

7 Výsledky a diskuze

7.1 Označení vzorků

Vzorky jsou označené výrobními čísly na zadní straně a rozděleny dle způsobu nanesení HA povlaku nebo ponechání jako referenční.

Slitina	Výrobní označení	Pracovní označení	Oxidováno	Vařeno	Máčeno	Ref.
CP Ti grade 2	16-00033	Ti-N-V		X		
	16-00025	Ti-N-R				X
	16-00019	Ti-N-M			X	
	16-00362	Ti-O-M	X		X	
	16-00067	Ti-O-R	X			X
	16-00024	Ti-O-V	X	X		
Ti6Al4V	16-00368	TiAlV-N-R				X
	16-00232	TiAlV-N-V		X		
	16-00480	TiAlV-N-M			X	
	16-00153	TiAlV-O-V	X	X		
	16-00023	TiAlV-O-M	X		X	
	16-00018	TiAlV-O-R	X			X
Ti39Nb	47/13	TiNb-N-V		X		
	25/13	TiNb-N-R				X
	58/13	TiNb-N-M			X	
	5/13	TiNb-O-R	X			X
	18/13	TiNb-O-M	X		X	
	66/13	TiNb-O-V	X	X		

Tabulka 6: Označení vzorků

7.2 Vyhodnocení oxidických vrstev

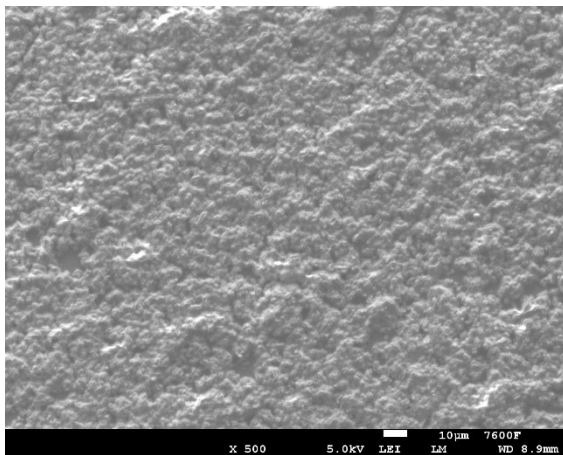
Vzorky po anodické oxidaci změnilly jak barvu, tak i morfologii povrchu. Rozdílné zbarvení u vzorků stejných slitin je zřejmě způsobeno rozdílnou pozicí v anodické lázni nebo nedostatečným stykem mezi vzorkem a uvazovacím drátkem. Poloha vzorků během oxidace nebyla zaznamenána, tudíž nelze porovnat, jak pozice vzhledem ke katodě ovlivňuje výslednou tloušťku a podobu vrstvy.



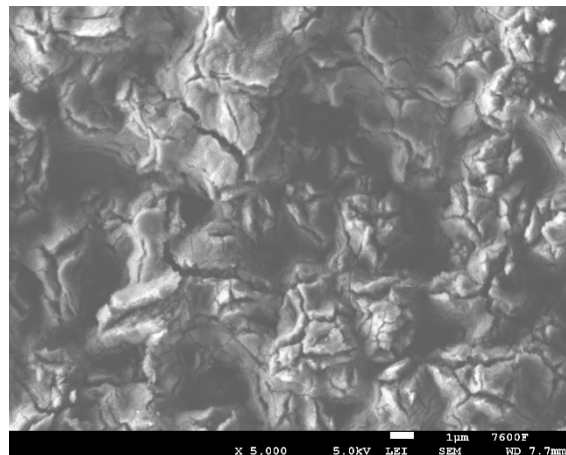
Obr. 10: Vzorky po anodické oxidaci

7.2.1 Anodicky oxidovaný Ti6Al4V

Z pozorování elektronovým mikroskopem vyplynulo že oxidická vrstva u Ti6Al4V dosáhla výrazně větší tloušťky než u druhých dvou slitin a utvořila celistvou vrstvu s ideální povrchovou drsností, jak je vidět na obr. 12, která disponuje dobrou adhezí pro další využití. Při bližším zkoumání bylo zjištěno, že zřejmě došlo k pnutí v povrchu a následnému popraskání oxidické vrstvy na mikroskopické úrovni viz obr.11. V příloze 11 jsou k nahlédnutí další snímky v různých zvětšeních.



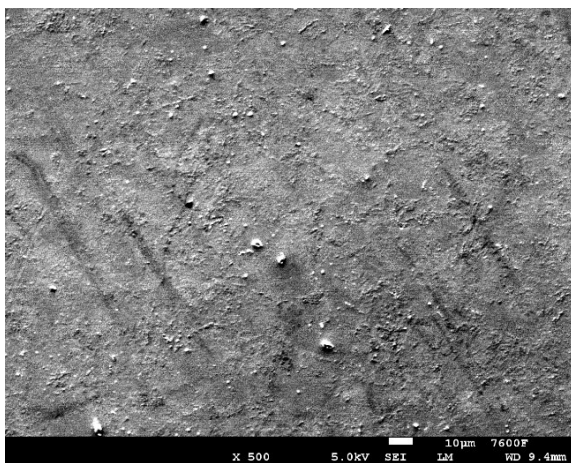
Obr. 12: TiAlV-O-R_500x



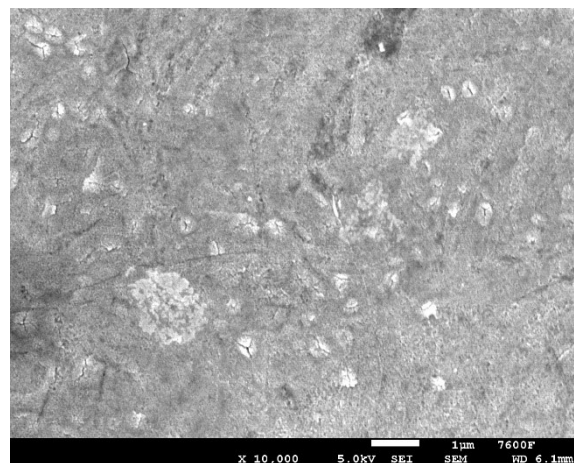
Obr. 11: TiAlV-O-R_5000x

7.2.2 Anodicky oxidovaný CP Ti

V tomto případě bylo dosaženo celistvé vrstvy, ale na rozdíl od Ti6Al4V není povrch tak homogenní. Popraskání vrstvy se vyskytuje pouze lokálně v místech, kde došlo k pnutí a prasknutí. V příloze 3 jsou k nahlédnutí další snímky v různých zvětšeních.



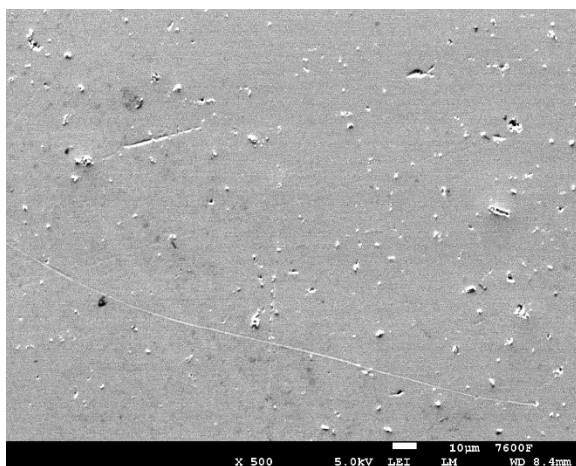
Obr. 13: Ti-O-R_500x



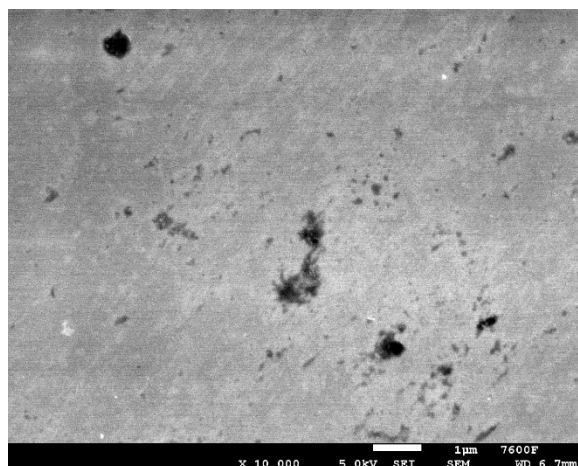
Obr. 14: Ti-O-R_10 000x

7.2.3 Anodicky oxidovaný Ti39Nb

U oxidace Ti39Nb bylo dosaženo celistvé oxidické vrstvy a na rozdíl od předchozích dvou vzorků nedošlo k nárůstu pnutí a popraskání vrstvy. Na obr. 19 jsou vidět vady zřejmě způsobeny mechanickým porušením způsobeným základního materiálů při přípravě a následného nedostatečného překrytí oxidickou vrstvou. V příloze 8 jsou k nahlédnutí další snímky v různých zvětšeních.



Obr. 19: TiNb-O-R_500x



Obr. 16: TiNb-O-R_10 000x

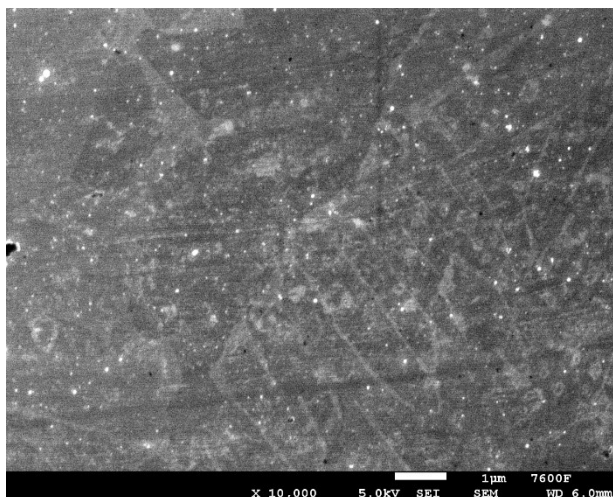
7.3 Vyhodnocení povlaku CA/P

Z chemických analýz a pozorování na elektronovém mikroskopu je zřejmé že na povrchu vzorků vznikl nebo spíše ulpěl povlak CA/P. Není zřejmé, zda se opravdu jedná o povlak Hydroxiapatitu nebo jinou přidruženou sloučeninu. V přílohách jsou k nahlédnutí obrázky ve větším formátu a různých zvětšeních.

7.3.1 Bioaktivní povlak na Ti6Al4V

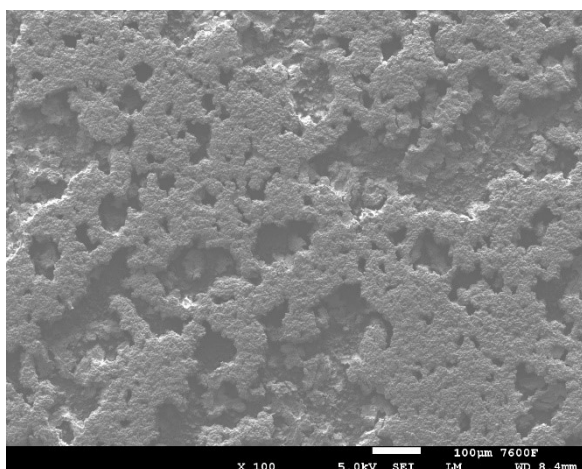
Metoda vaření v SBF

Povlak vytvořený vařením na neoxidovaném vzorku není na obrázcích na první pohled patrný, ani při velkém zvětšení. Jediné, co je patrné jsou světlá místa na povrchu. Při zobrazení elektronovým mikroskopem jsou různé prvky zobrazeny různým odstínem. Pravidlem je, že světleji se zobrazují prvky s nižším atomovým číslem. Tudíž můžeme pouze odhadovat, zda se jedná o Ca/P, anebo spíše pozůstatky leštící pasty, jak naznačily chemické analýzy u dalších vzorků, a v ní obsaženém křemíku.

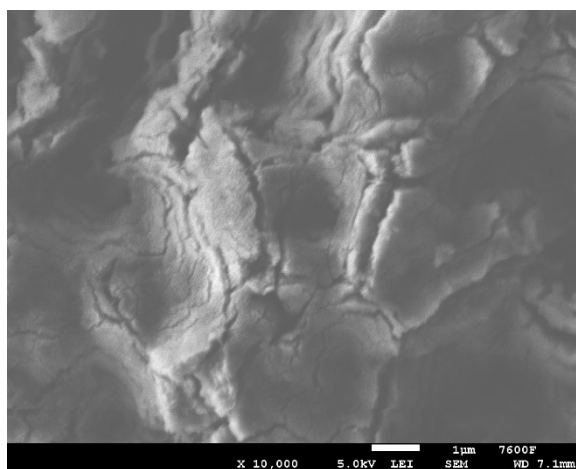


Obr. 21: TiAlIV-N-V_10 000x

Na oxidovaném vzorku při zvětšení 100x na obr. 21 je patrné že souvislá oxidická vrstva vytvořená v předešlém kroku byla poničena a části vrstvy se oddělily. Na větším zvětšení na obr. 22 jsou patrné nerovnosti na popraskané oxidické vrstvě, které nejsou na referenčním vzorku, a tudíž by se mělo jednat o vysrážený Ca/P, jejich přítomnost potvrzuje chemická analýza viz příloha 16.



Obr. 22: TiAlIV-O-V_100x



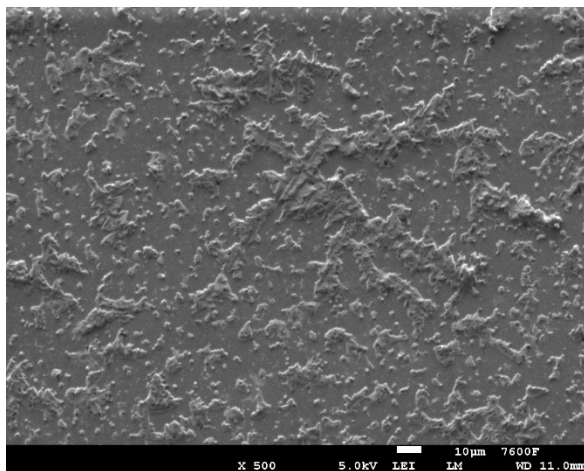
Obr. 23: TiAlIV-O-V_10 000x

Metoda máčení v SBF

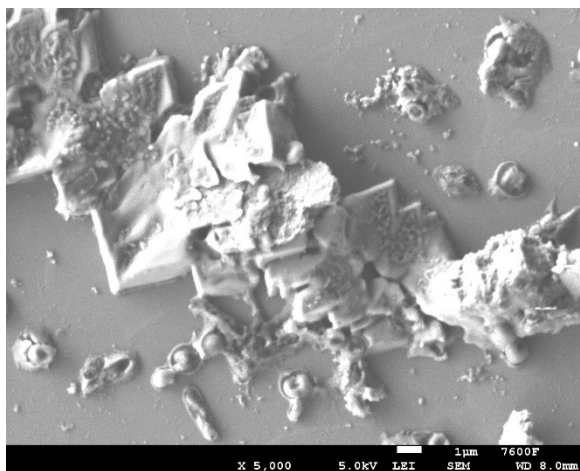
Při metodě máčení bylo oproti vaření na vzorku vysráženo výrazně větší množství povlaku.

Na neoxidovaném vzorku obr. 24 je dobře vidět, jak je základní povrch pokryt vysráženými útvary, sice nesouvisle, ale pokrývají značnou část povrchu. Při zvětšení 5 000x na obr. jsou v útvarech přítomny kulovité částičky, zřejmě z nedokonale rozpuštěné tablety SBF. Díky tomu lze předpokládat, že zárodky krystalů se navážou na tyto nerozpuštěné částice a od nich začínají růst. Chemická

analýza, viz příloha 17, provedena na bodu přímo na vysráženém útvaru ukazuje, že útvary na povrchu mají značné procentuální zastoupení sodíku a chlóru. Oba jsou zastoupeny v SBF.

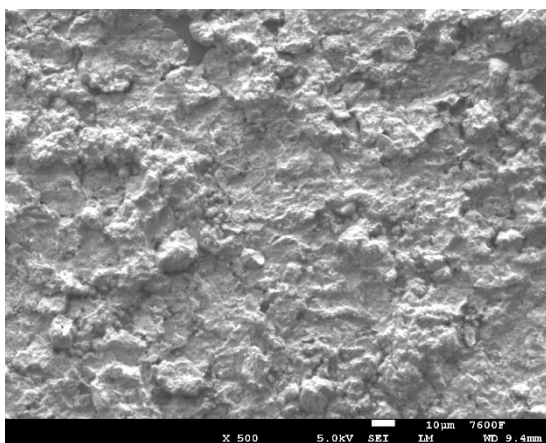


Obr. 25: TiAlV-N-M_500x

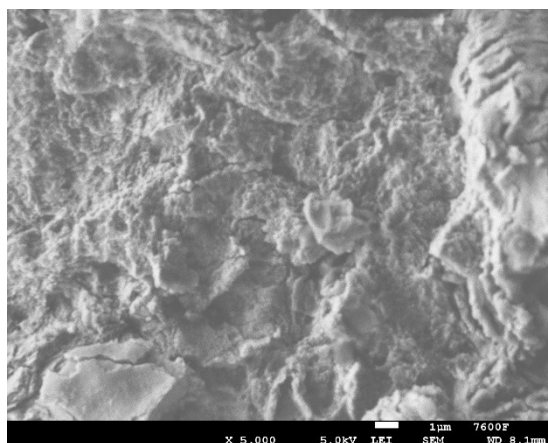


Obr. 24: TiAlV-N-M_5 000x

U oxidovaného vzorku v porovnání s neoxidovaným, vysrážené útvary vytvořily téměř souvislý povlak. Tím zřejmě překryli i nerozpuštěné částice SBF, a proto již nejsou na snímcích patrné. Chemická analýza, viz příloha 18, ukazuje to samé co u neoxidovaného vzorku pouze s tím rozdílem, že ve zkoumané ploše je přítomen i fosfor a kalcium.



Obr. 26: TiAlV-O-M_500x

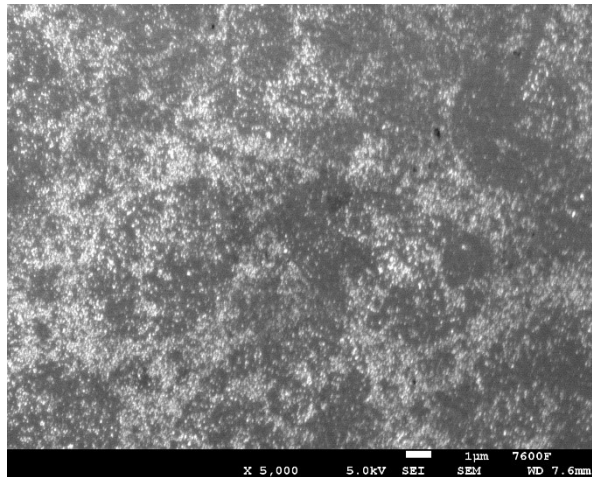


Obr. 27: TiAlV-O-M_5 000x

7.3.2 Bioaktivní povlak na CP Titan grade 2

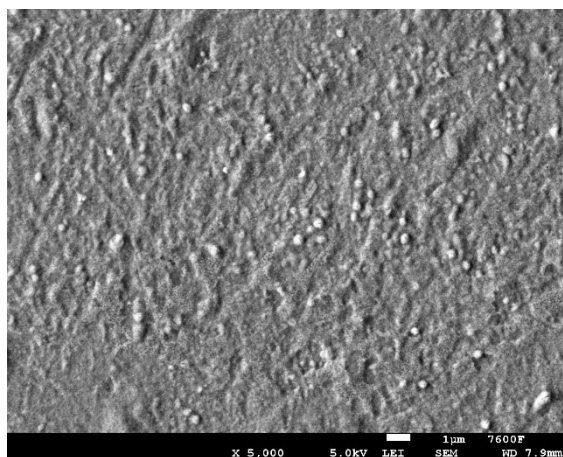
Metoda vaření v SBF

Vzorek vařený bez oxidické vrstvy vykazuje velmi podobné výsledky jako vzorek TiAlV, a proto ani zde nemůžeme s jistotou říci, jestli se jedná o vysrážený Ca/P nebo pozůstatky leštící pasty. Jediná změna je v četnosti světlých míst.



Obr. 28: Ti-N-V_5 000x

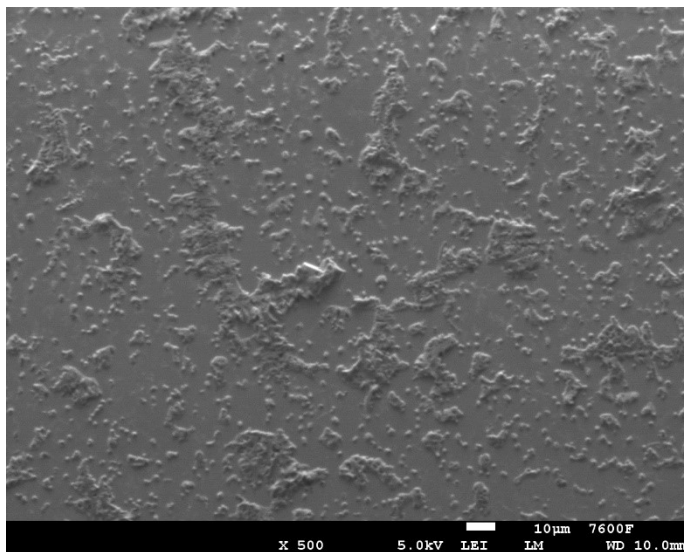
Stejně tak u oxidovaného vzorku. Vzorek vykazuje prakticky stejné výsledky vysrážení jako vzorek TiAlV, a to pouze na mikroskopické úrovni. Změna oproti TiAlV je, že oxidická vrstva u Ti nebyla tak silná, a tudíž nedošlo k jejímu porušení.



Obr. 29: Ti-O-V_5 000x

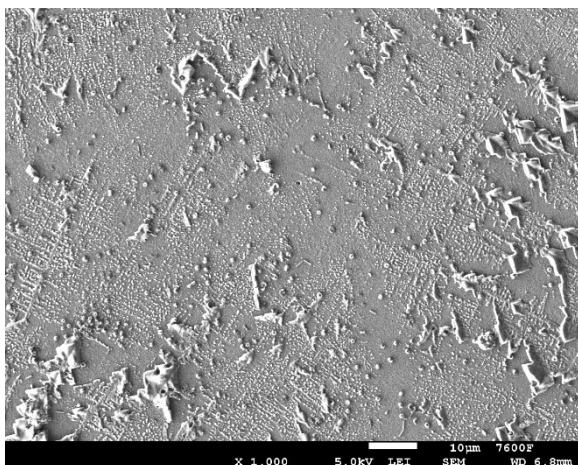
Metoda máčení v SBF

U neoxidovaného vzorku jsou vzorky poměrně shodné s TiAlV pouze výskyt útvarů na povrchu není tak četný.

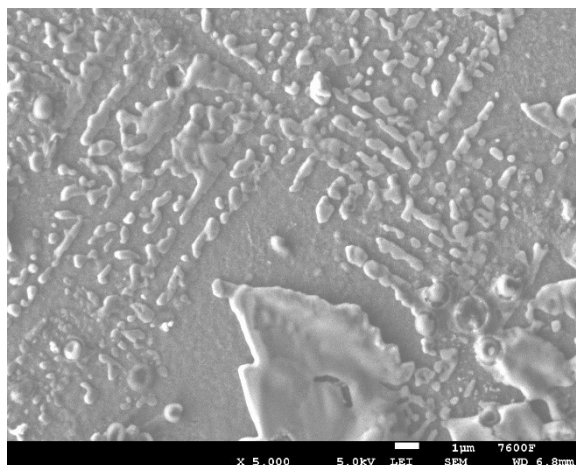


Obr. 30: Ti-N-M_500x

V tomto případě oxidovaný vzorek není tak odlišný od vzorku neoxidovaného, jak je to u TiAlV, spíše je podobný neoxidovanému vzorku výše. Útvary vysrážené na povrchu jsou v porovnání se vzorkem výše četnější a uspořádané do na sebe kolmých řad. Změna výsledku oproti ostatním oxidovaným vzorkům a následná podobnost s neoxidovanými by mohla být zapříčiněna v tomto případě tenčí oxidickou vrstvou a jejím menším vlivem na následný povlak.



Obr. 31: Ti-O-M_1 000x

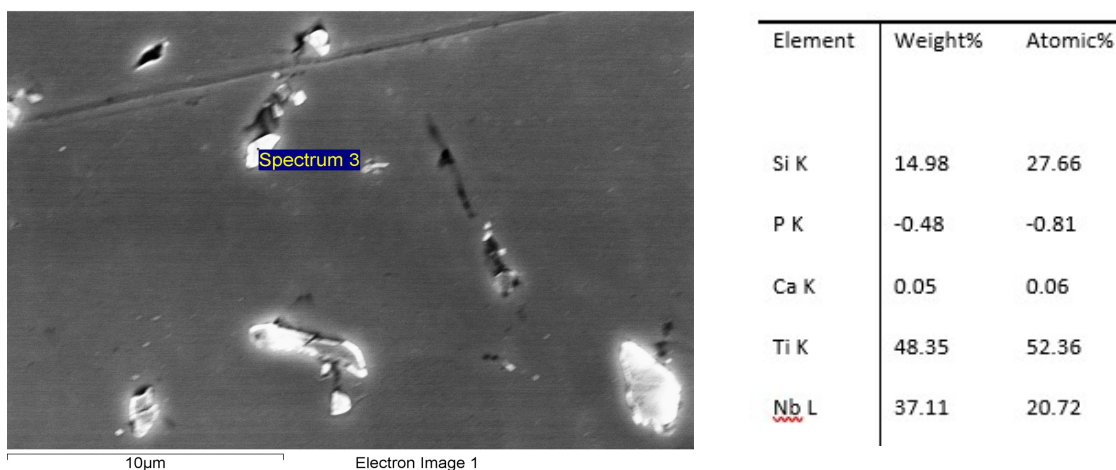


Obr. 32: Ti-O-M_5 000x

7.3.3 Bioaktivní povlak Ti39Nb

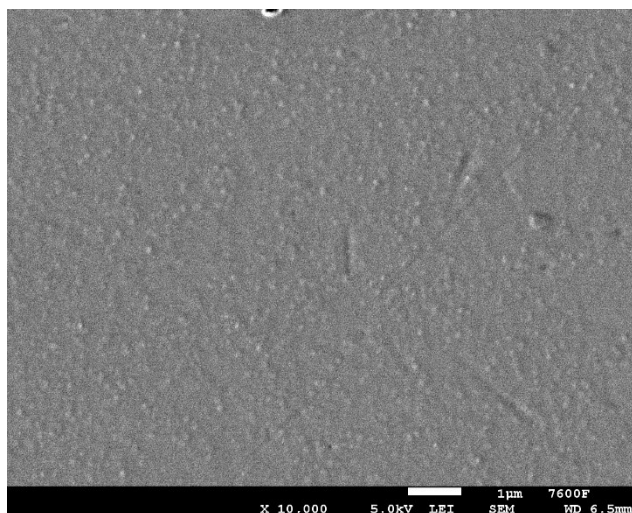
Metoda vaření v SBF

Neoxidovaný vzorek vykazuje stejné výsledky jak předchozí dvě slitiny. Zde byla provedena chemická analýza, viz příloha 19, přímo světlého bodu, který by měl značit prvek s nižším atomovým číslem. Z ní je patrné, že Křemík je zde zastoupen ve velkém míře. To lze vysvětlit jako pozůstatky leštící pasty. Z plošné chemické analýzy vyplynulo, že fosfor a kalcium zde prakticky nejsou.



Obr. 33: Chem. analýza TiNb-N-V

Stejně tak oxidovaný vzorek. Výsledky shodné s výsledky Ti slitiny. Zde jsou ale dobře viditelné výstupky na mikrosnímcích.

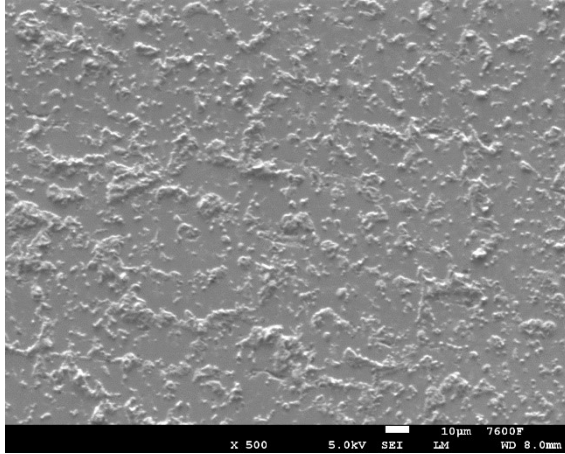


Obr. 34: TiNb-O-V_10 000x

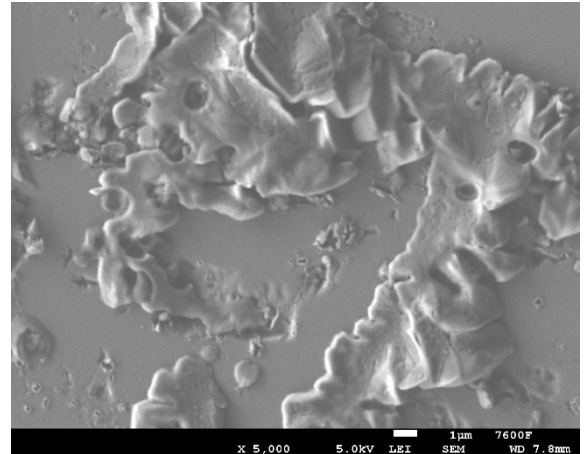
Metoda máčení v SBF

Z důvodu vysoké podobnosti výsledků u neoxidovaných vzorků bylo měření u TiNb vynecháno.

Oxidovaný vzorek vykazuje podobný styl vysrážených útvarů jako neoxidový vzorek TiAlV a oba vzorky Ti. Chemická analýza toto potvrdila, viz příloha 20.



Obr. 36: TiNb-O-M_500x



Obr. 35: TiNb-O-M_5 000x

8 Závěr

Cílem této práce bylo v teoretické části seznámení s problematikou využití kalcium fosfátových (Ca/P) povlaků na titanových slitinách. Způsoby jejich výroby a metody nanášení povlaků.

Experimentální část byla zaměřena na přípravu kalcium fosfátového povlaku na zástupcích z řad biomedicínských titanových slitin (Ti grade 2, Ti6Al4V, Ti39Nb).

Poměrná část těchto vzorků byla anodicky oxidována. Z pozorování na elektronovém mikroskopu vyplynulo, že nejsilnější vrstva se vytvořila na slitině Ti6Al4V, u vrstvy došlo k pnutí v anodické vrstvě a následnému popraskání. U Ti a Ti39Nb byly vrstvy tenké ale souvislé po celém povrchu.

Pro přípravu bioaktivního povlaku bylo použito metody vaření a máčení v roztoku simulované tělní tekutiny (SBF). Vaření v SBF probíhalo po dobu jedné hodiny. Po pozorování a provedení chemické analýzy metodou elektronově disperzní spektrometr (EDS) bylo zjištěno, že na površích neoxidovaných vzorků se nenachází žádné stopy Ca/P, a u anodicky oxidovaných vzorků byly zjištěny vysrážené mikroskopické částičky Ca/P. Zjištěn byl také negativní vliv vaření na silnou oxidickou vrstvu u Ti6Al4V, kdy došlo k lokálním porušením a odtržení vrstvy.

Máčení probíhalo po dobu tří týdnů za pokojové teploty. Při vyhodnocení bylo zjištěno, že jak na oxidovaných, tak neoxidovaných vzorcích se vysráželo množství útvarů, které obsahovali jak Ca/P, tak také Sodík a Chlor, které jsou obsaženy v SBF. Pouze u oxidovaného vzorku Ti6Al4V byl povrch pokryt souvislou vrstvou.

Při vyhodnocení experimentu byl závěr takový, že metoda vaření není efektivní pro nanášení povlaku, jak pro základní materiál, tak pro anodicky oxidovaný. A navíc může dojít k poničení anodické vrstvy. Metoda máčení vzešla jako účinnější a vhodná pro různé slitiny. Tenká anodická vrstva pouze přispěla k menšímu nárůstu množství vysrážených útvarů. Výrazně odlišnější byl povlak, který vznikl na silné oxidické vrstvě Ti6Al4V, kde byl povlak prakticky souvislý. Jako pokračování experimentu je navržena chemická analýza povrchu například metodou XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy), pro zjištění přesného složení útvarů na povrchu.

9 Seznam použité literatury

- [1] MILLER, Benjamin Frank a Claire Brackman KEANE. *Encyclopedia and dictionary of medicine, nursing, and allied health*. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1987. ISBN 00-301-1507-8.
- [2] HEIMANN, Robert B. Structure, properties, and biomedical performance of osteoconductive bioceramic coatings. *Surface and Coatings Technology*. 2013, **233**, 27-38. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2012.11.013. ISSN 02578972. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897212011474>
- [3] CHEN, Qizhi a George A. THOUAS. Metallic implant biomaterials. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2015, **87**, 1-57. DOI: 10.1016/j.mser.2014.10.001. ISSN 0927796X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927796X14001077>
- [4] SIVAKUMAR, R. On the relevance and requirements of biomaterials. *Bulletin of Materials Science*. 1999, **22**(3), 647-655. DOI: 10.1007/BF02749981. ISSN 0250-4707. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02749981>
- [5] MACEK, Karel. *Nauka o materiálu*. Vyd. 2. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2002. ISBN 80-010-2543-8.
- [6] MACEK, Karel a Petr ZUNA. *Strojírenské materiály*. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2003. ISBN 80-010-2798-8.
- [7] PTÁČEK, Luděk. *Nauka o materiálu I. 2.*, opr. a rozš. vyd. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2003. ISBN 80-720-4283-1.
- [8] DONACHIE, Matthew J. *Titanium: a technical guide*. 2nd ed. Materials Park: ASM International, 2004. ISBN 08-717-0686-5.
- [9] LÜTJERING, G. a J. C. WILLIAMS. *Titanium*. 2nd ed. New York: Springer, 2007. ISBN 978-354-0713-975.
- [10] NĚMEC, Milan a Jaroslav PROVAZNÍK. *Slévárenské slitiny neželezných kovů*. V Praze: České vysoké učení technické, 2008. ISBN 978-80-01-04116-1.

- [11 NIINOMI, Mitsuo. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering: A*. 1998, **243**(1-2), 231-236. DOI: 10.1016/S0921-5093(97)00806-X. ISSN 09215093. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092150939700806X>
- [12 LIU, X, P CHU a C DING. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2004, **47**(3-4), 49-121. DOI: 10.1016/j.mser.2004.11.001. ISSN 0927796X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927796X0400124X>
- [13 RUPPRECHT, S. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomson P (Hrsg): Titanium in medicine. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*. 2002, **6**(3), 203-203. DOI: 10.1007/s10006-002-0383-6. ISSN 1432-9417. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10006-002-0383-6>
- [14 DOMÍNGUEZ-TRUJILLO, C., F. TERNERO, J.A. RODRÍGUEZ-ORTIZ, S. HEISE, A.R. BOCCACCINI, J. LEBRATO a Y. TORRES. Bioactive coatings on porous titanium for biomedical applications. *Surface and Coatings Technology*. 2018, **349**, 584-592. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2018.06.037. ISSN 02578972. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897218306121>
- [15 VERRON, E., J.M. BOULER a J. GUICHEUX. Controlling the biological function of calcium phosphate bone substitutes with drugs. *Acta Biomaterialia*. 2012, **8**(10), 3541-3551. DOI: 10.1016/j.actbio.2012.06.022. ISSN 17427061. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706112002796>
- [16 HABRAKEN, Wouter, Pamela HABIBOVIC, Matthias EPPLE a Marc BOHNER. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future?. *Materials Today*. 2016, **19**(2), 69-87. DOI: 10.1016/j.mattod.2015.10.008. ISSN 13697021. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136970211500317X>
- [17 KOVACH, Ildyko, Sabine KOSMELLA, Claudia PRIETZEL, Christian BAGDAHN a Joachim KOETZ. Nano-porous calcium phosphate balls. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015, **132**(132), 246-252. DOI:

10.1016/j.colsurfb.2015.05.021. ISSN 09277765. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776515003197>

- [18] WONGWITWICHOT, P, J KAEWSRICHAN, K.H CHUA a B.H.I
RUSZYMAH. Comparison of TCP and TCP/HA Hybrid Scaffolds for
Osteoconductive Activity. *The Open Biomedical Engineering Journal*.
2010, **4**(1), 279-285. DOI: 10.2174/1874120701004010279. ISSN 1874-
1207. Dostupné také z:
<https://openbiomedicalengineeringjournal.com/VOLUME/4/PAGE/279/>
- [19] REIKERÅS, Olav a Ragnhild B GUNDERSON. Failure of HA coating
on a gritblasted acetabular cup: 155 patients followed for 7-10 years.
Acta Orthopaedica Scandinavica. 2009, **73**(1), 104-108. DOI:
10.1080/000164702317281503. ISSN 0001-6470. Dostupné také z:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/000164702317281503>
- [20] MOHSENI, E., E. ZALNEZHAD a A.R. BUSHROA. Comparative
investigation on the adhesion of hydroxyapatite coating on Ti-6Al-4V
implant: A review paper. *International Journal of Adhesion and
Adhesives*. 2014, **48**, 238-257. DOI: 10.1016/j.ijadhadh.2013.09.030.
ISSN 01437496. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143749613001681>
- [21] LIU, Xiao-mei, Ding-yong HE, Zheng ZHOU, Guo-hong WANG,
Zeng-jie WANG, Xu WU a Zhen TAN. Atmospheric Plasma-Sprayed
Hydroxyapatite Coatings with (002) Texture. *Journal of Thermal Spray
Technology*. 2018, **27**(8), 1291-1301. DOI: 10.1007/s11666-018-0768-
1. ISSN 1059-9630. Dostupné také z:
<http://link.springer.com/10.1007/s11666-018-0768-1>
- [22] BIGI, Adriana, Elisa BOANINI, Barbara BRACCI, Alessandro
FACCHINI, Silvia PANZAVOLTA, Francesco SEGATTI a Luigina STURBA.
Nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium: a new fast
biomimetic method. *Biomaterials*. 2005, **26**(19), 4085-4089. DOI:
10.1016/j.biomaterials.2004.10.034. ISSN 01429612. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961204009548>

- [23 FORSGREN, Johan, Fredrik SVAHN, Tobias JARMAR a Håkan
] ENGQVIST. Formation and adhesion of biomimetic hydroxyapatite
deposited on titanium substrates. *Acta Biomaterialia*. 2007, 3(6), 980-
984. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.10.034. ISSN 17427061.
Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706107000530>
- [24 GOLDSTEIN, Joseph. *Scanning electron microscopy and x-ray
] microanalysis*. 3rd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum
Publishers, 2003. ISBN 978-0-306-47292-3.
- [25 ABDEL-HADY, Mohamed. Texturing Tendency in β -Type Ti-
] Alloys. *Recent Developments in the Study of Recrystallization*. InTech,
2013. DOI: 10.5772/53588. ISBN 978-953-51-0962-4. Dostupné také z:
<http://www.intechopen.com/books/recent-developments-in-the-study-of-recrystallization/texturing-tendency-in-type-ti-alloys>
- [26 REMEŠOVÁ, M. *Anodická oxidace hliníku a jeho slitin*. Brno:,
] 2013. 40 s. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství.
Vedoucí práce Ing. Ladislav Čelko, Ph.D.

10 Seznam použitých obrázků

Obr. 1: Vliv legujících prvků na fázové složení titanových slitin. [9].....	12
Obr. 2: Fázový diagram titanových slitin [21]	13
Obr. 3: Pórovitý povrch po alkalickém a tepelném ošetření [12]	16
Obr. 4: Odezva kostní tkáně na materiál [2]	17
Obr. 5: Resorbce HA povlaku osteoklasty [18].....	19
Obr. 6: HA povlak pod elektronovým mikroskopem [20].....	20
Obr. 7: Zalisované vzorky	23
Obr. 8: Zařízení pro zalisování za tepla.....	23
Obr. 9: Schéma oxidačního zařízení [26].....	24
Obr. 10: Vzorky po anodické oxidaci	27
Obr. 11: TiAlV-O-R_5000x	28
Obr. 12: TiAlV-O-R_500x.....	28
Obr. 13: Ti-O-R _500x	28
Obr. 14: Ti-O-R _10 000x	28
Obr. 17: TiNb-O-R_10 000x.....	29
Obr. 16: TiNb-O-R_500x	29
Obr. 19: TiNb-O-R_500x	29
Obr. 20: TiAlV-N-V_10 000x.....	30
Obr. 21: TiAlV-O-V_100x.....	30
Obr. 22: TiAlV-O-V_10 000x.....	30
Obr. 23: TiAlV-N-M_5 000x	31
Obr. 24: TiAlV-N-M_500x.....	31
Obr. 25: TiAlV-O-M_500x.....	31
Obr. 26: TiAlV-O-M_5 000x	31
Obr. 27: Ti-N-V_5 000x.....	32
Obr. 28: Ti-O-V_5 000x.....	32
Obr. 29: Ti-N-M_500x	33
Obr. 30: Ti-O-M_1 000x.....	33
Obr. 31: Ti-O-M_5 000x.....	33
Obr. 32: Chem. analýza TiNb-N-V	34
Obr. 33: TiNb-O-V_10 000x.....	34

Obr. 34: TiNb-O-M_5 000x	35
Obr. 35: TiNb-O-M_500x.....	35

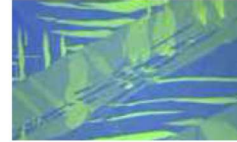
11 Seznam tabulek

Tabulka 1: Druhy a mechanické vlastnosti chemicky čistého titanu [7]	11
Tabulka 2: Mechanické vlastnosti vybraných titanových slitin [11].....	14
Tabulka 3: Chemické složení Ti grade 2.....	22
Tabulka 4: Chemické složení Ti6Al4V [9]	22
Tabulka 5: Chemické složení Ti39Nb	22
Tabulka 6: Označení vzorků	26

Příloha 1

OP-S NonDry/OP-S

OP-S NonDry/OP-S is especially suited for polishing of very ductile metals like refractory metals, aluminium, titanium*, tungsten, copper and other materials such as silicon. It can also be used with the addition of reagents, normally used for the etching of the material in question. This increases the chemical activity, thus shortening the actual polishing time.
*For the preparation of titanium we recommend using regular OP-S.



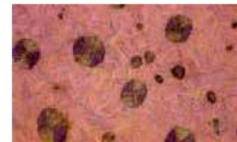
ZnCuTi alloy.
Polarized Light
with sensitive
tint plate, 200x.

Method 1	Plane Grinding	Fine Grinding	Diamond Polishing	Diamond Polishing	Oxide Polishing
Surface	MD-Gekko	MD-Plan	MD-Dac	MD-Mol	MD-Chem
Abrasive	SiC # 220	DP-Suspension, P - 9 µm	DP-Suspension, P - 6 µm	DP-Suspension, P - 1 µm	OP-S NonDry/OP-U
Lubricant	Water	DP-Lubricant, Blue	DP-Lubricant, Blue	DP-Lubricant, Red	-

Method 2	Plane Grinding	Fine Grinding	Diamond Polishing	Diamond Polishing	Oxide Polishing
Surface	MD-Piano 220	MD-Plan	-	MD-Mol	MD-Chem
Abrasive	Diamond	DiaPro Plan	-	DiaPro Mol	OP-S NonDry
Lubricant	Water	-	-	-	-

OP-U NonDry/OP-U

OP-U NonDry/OP-U is less aggressive than OP-S NonDry and suitable for all materials. Best results can be achieved with heterogeneous non-ferrous materials and composites. Different phases are evenly polished, resulting in samples with a very good planeness.



Austempered
ductile iron, Pol.
Light, etched
with 3 % Nital,
200x.

Method 1	Plane Grinding	Fine Grinding	Diamond Polishing	Diamond Polishing	Oxide Polishing
Surface	MD-Gekko	MD-Largo	MD-Dur	MD-Mol	MD-Chem
Abrasive	SiC # 320	DP-Suspension, P - 9 µm	DP-Suspension, P - 6 µm	DP-Suspension, P - 3 µm	OP-U NonDry/OP-U
Lubricant	Water	DP-Lubricant, Blue	DP-Lubricant, Blue	DP-Lubricant, Red	-

Method 2	Plane Grinding	Fine Grinding	Diamond Polishing	Diamond Polishing	Oxide Polishing
Surface	MD-Fuga	MD-Largo	MD-Dac	MD-Nap-T	MD-Chem
Abrasive	SiC # 320	DiaPro Allegro/Largo	DiaPro Dac	DiaPro Nap-R	OP-U NonDry
Lubricant	Water	-	-	-	-

Polishing cloths for oxide polishing

Depending on the materials to be polished, different polishing cloths are used. MD- or DP-Nap-T is mostly used for softer materials with normal oxide polishing suspension whereas MD- or OP-Chem is better suited for harder materials, and for polishing with active oxide polishing suspension.

Overview	OP-S NonDry / OP-S	OP-U NonDry / OP-U
Purpose	For very ductile materials like refractory metals and other non-ferrous metals, Ceramics,	For heterogeneous materials like composites Carbon- and low alloy steels.
Abrasive	Colloidal silica	Colloidal silica
Grain size	0.04 µm	0.04 µm
Concentration	Ready to use	Ready to use
pH	Alkaline (pH: 9,8)	Alkaline (pH: 9,8)
Addition of additives	Yes e.g. acid (acetic acid), alkaline (potassium hydroxide), oxidation (hydrogen peroxide) and lubricating (glycerine). Use an acidic solution to increase chemical activity.	No In general no, but hydrogen peroxide and ammonia can be added in limited quantities.

Příloha 2

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:
Phosphate buffered saline - tablet

Product Number: **P4417**

MDL: MFCD00131855

TEST	Specification
Total Tablet Weight	1814.5 - 2005.5 mg/tab
Appearance	White
Form	Round Tablet
Diameter	5/8 inches
Dissolution Time	≤ 10.00 min
pH	7.20 - 7.60
Note

Dissolution Time and pH test results from a solution of one tablet in 200 ml of purified water.

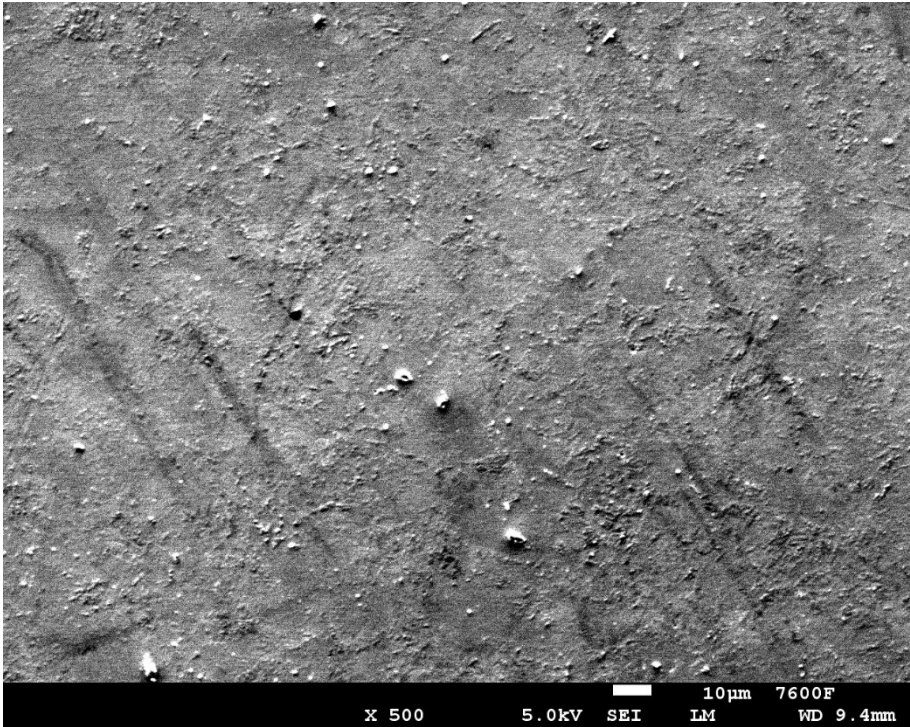
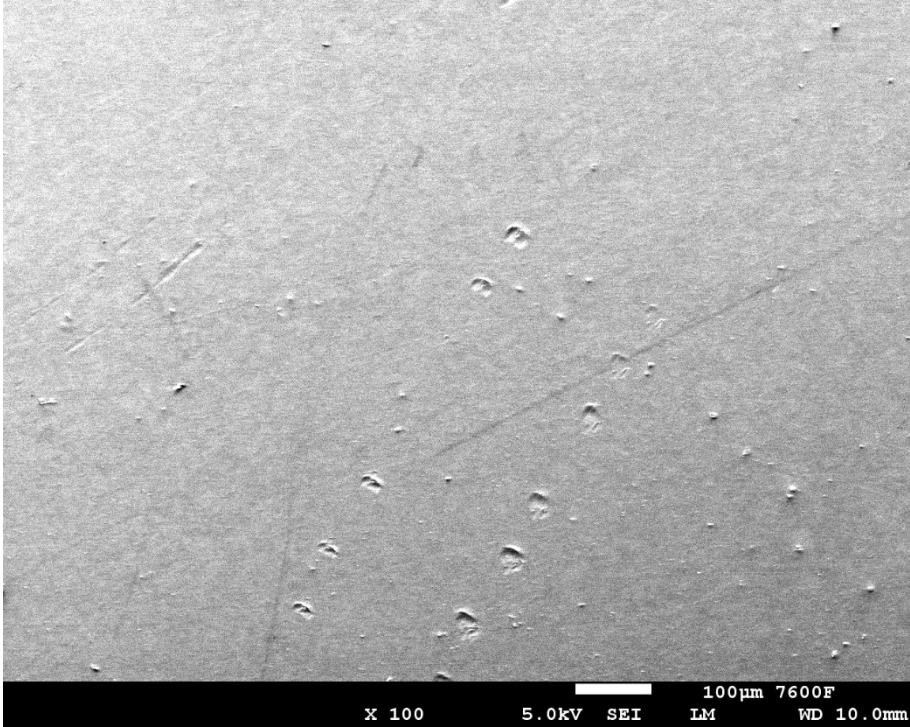
Specification: PRD.2.ZQ5.10000006798.000

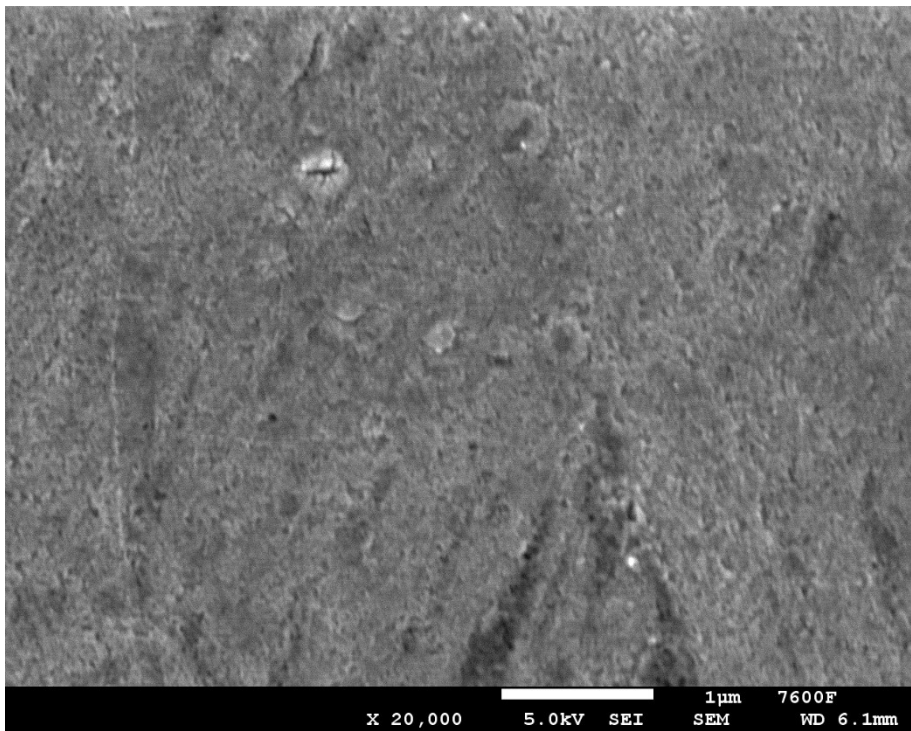
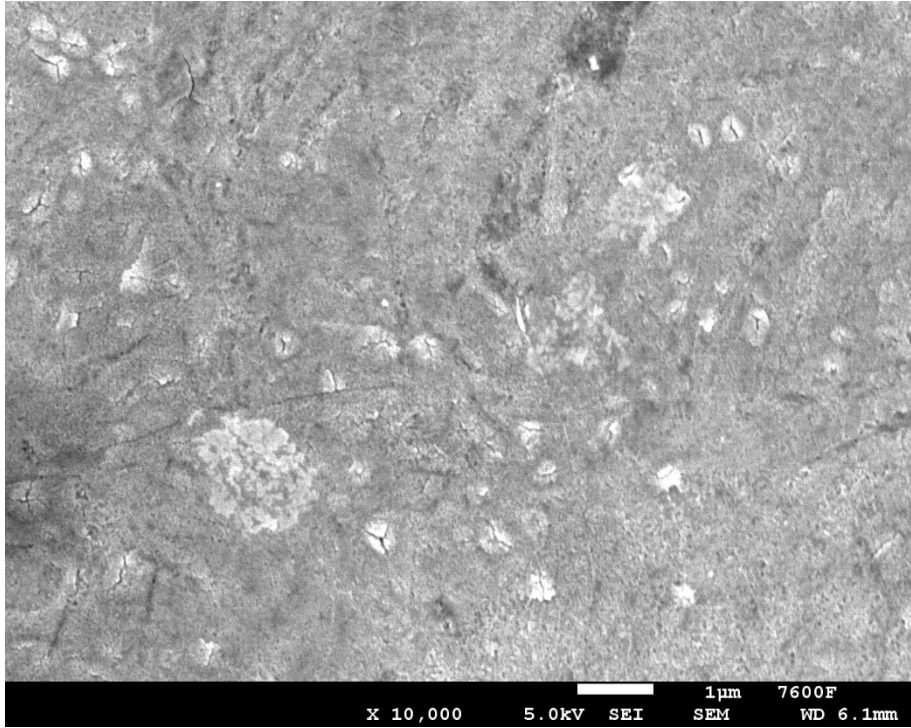
Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

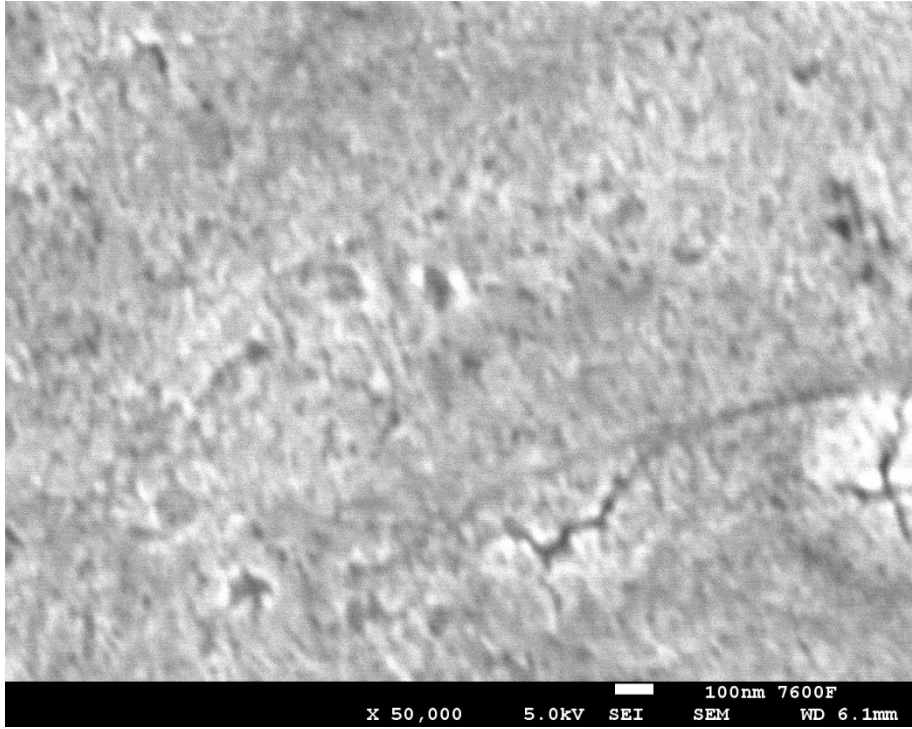
Příloha 3

CP Ti grade 2-oxidovaný

Ti-O-R







X 50,000

5.0kV

SEI

SEM

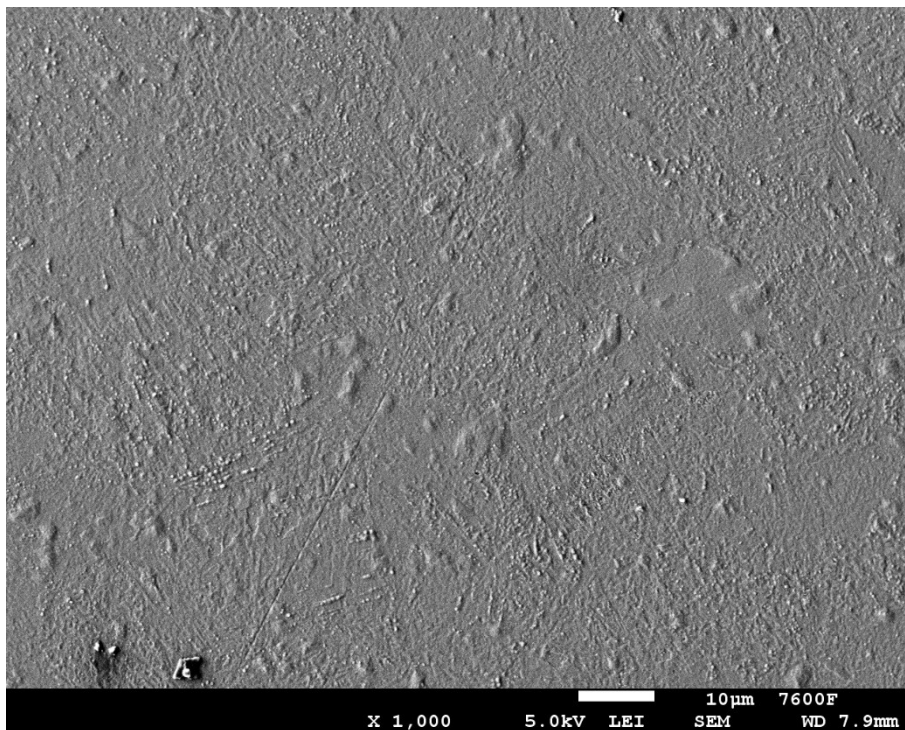
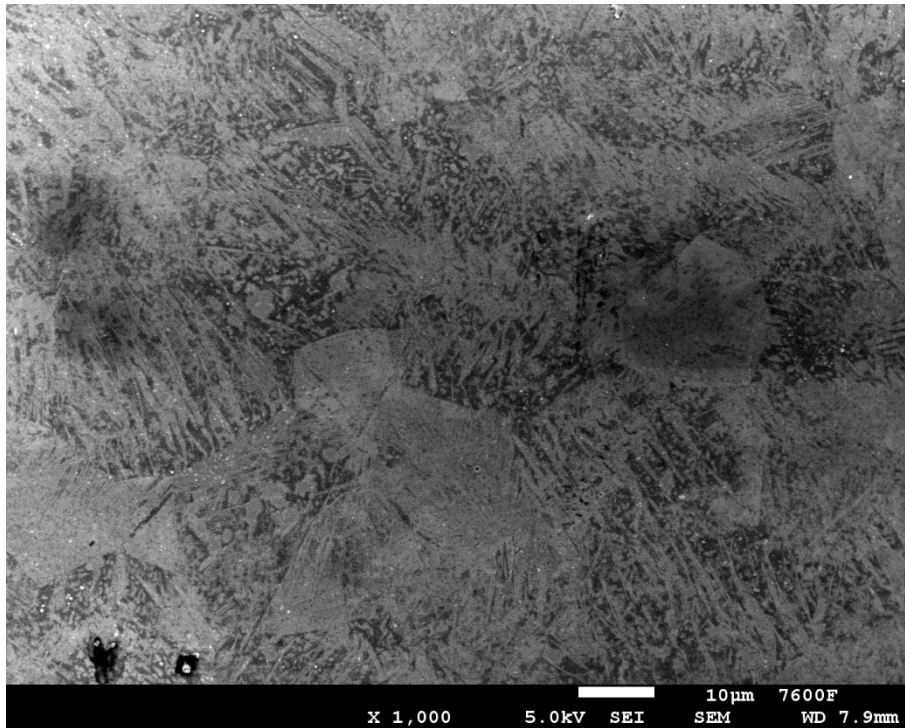
WD 6.1mm

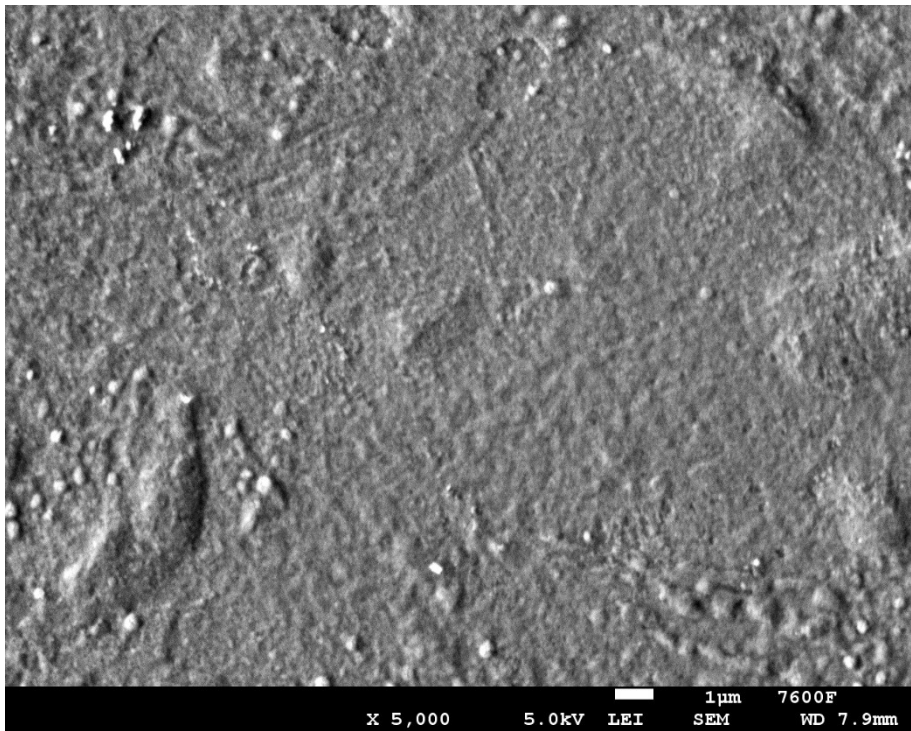
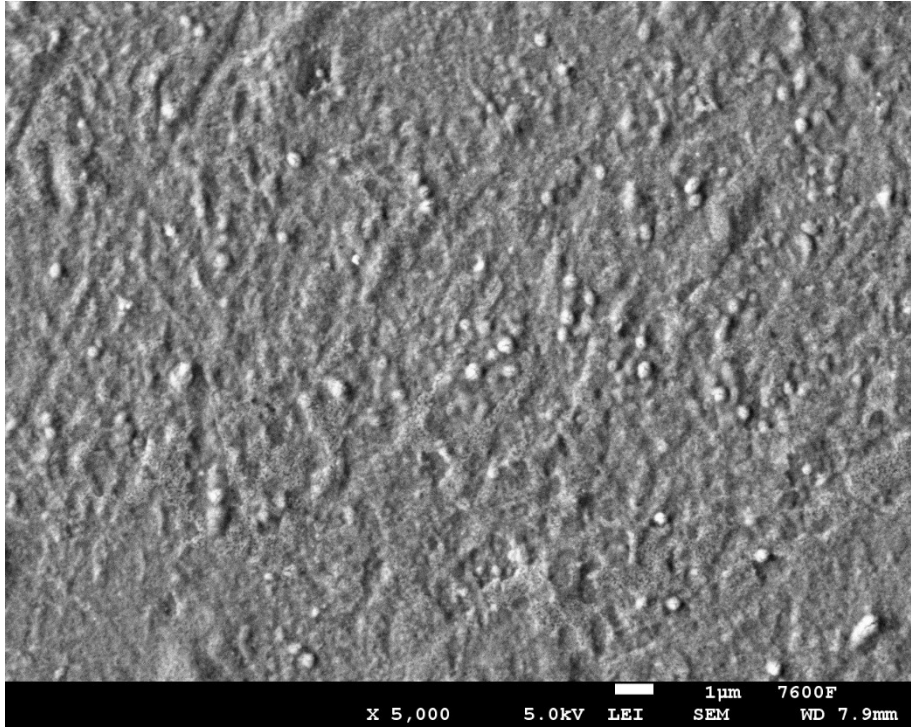
100nm 7600F

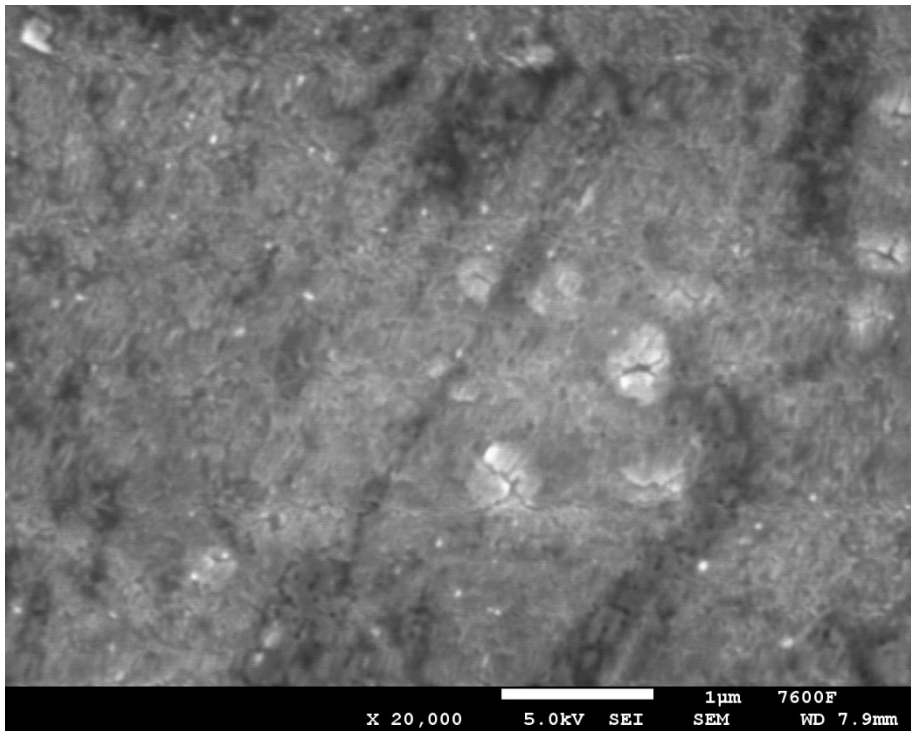
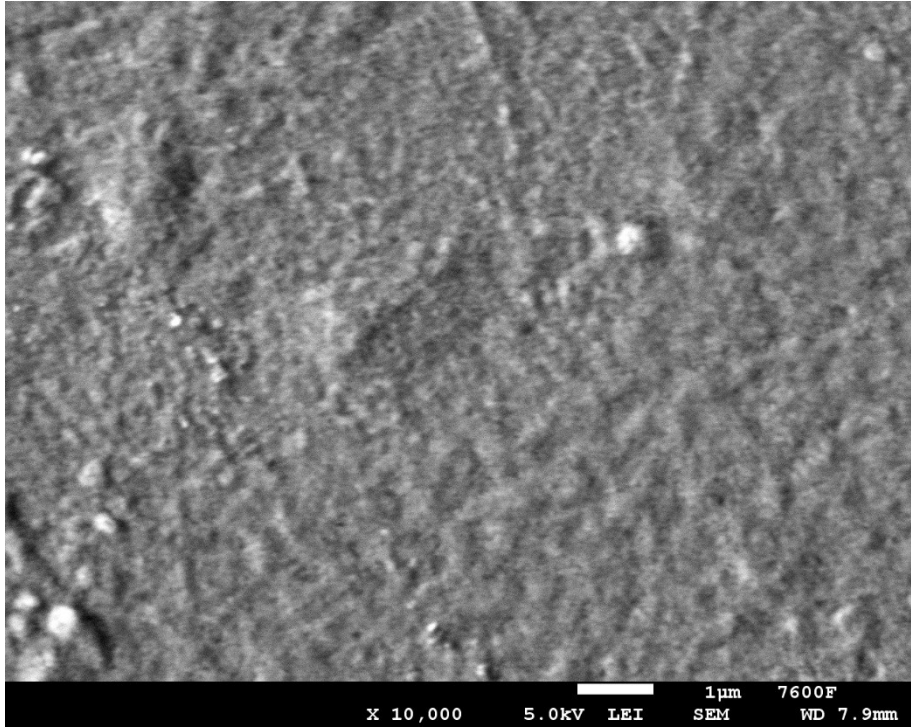
Příloha 4

CP Ti grade 2 – oxidovaný – vařený

Ti-O-V



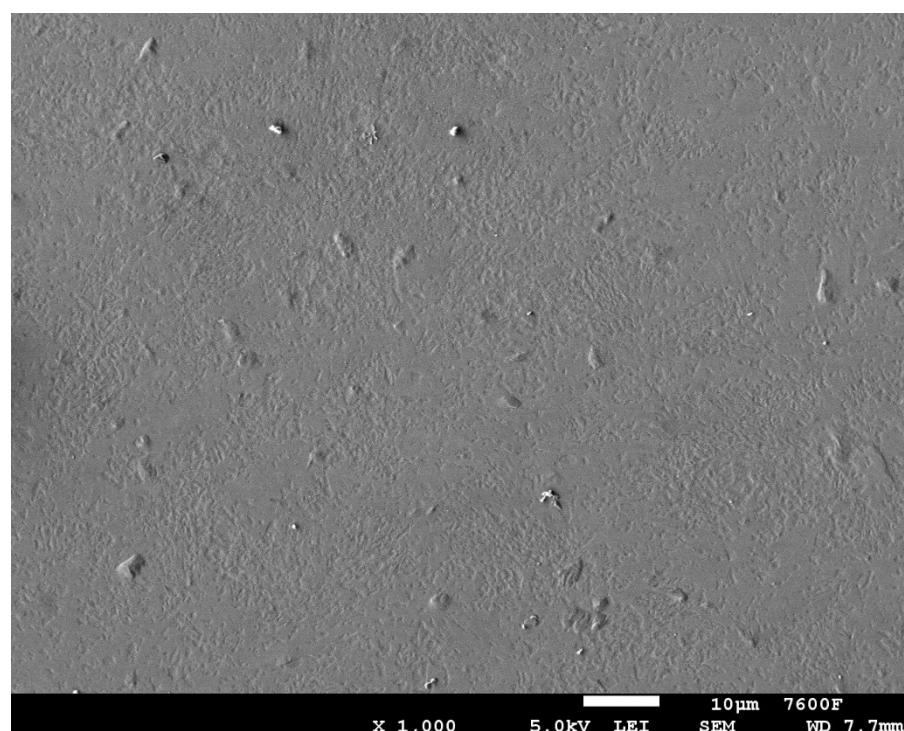
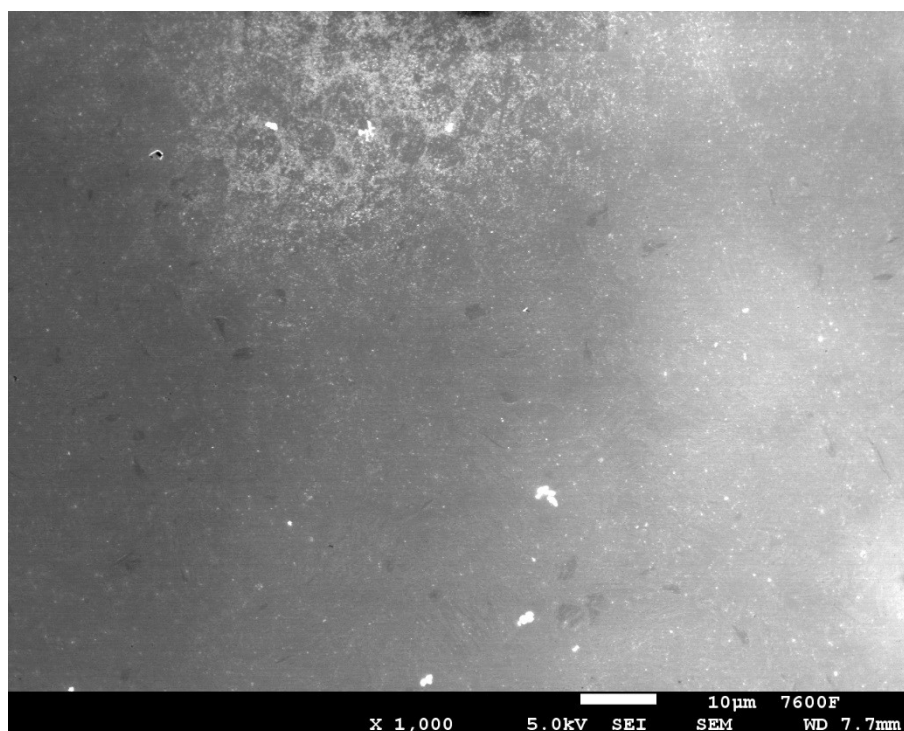


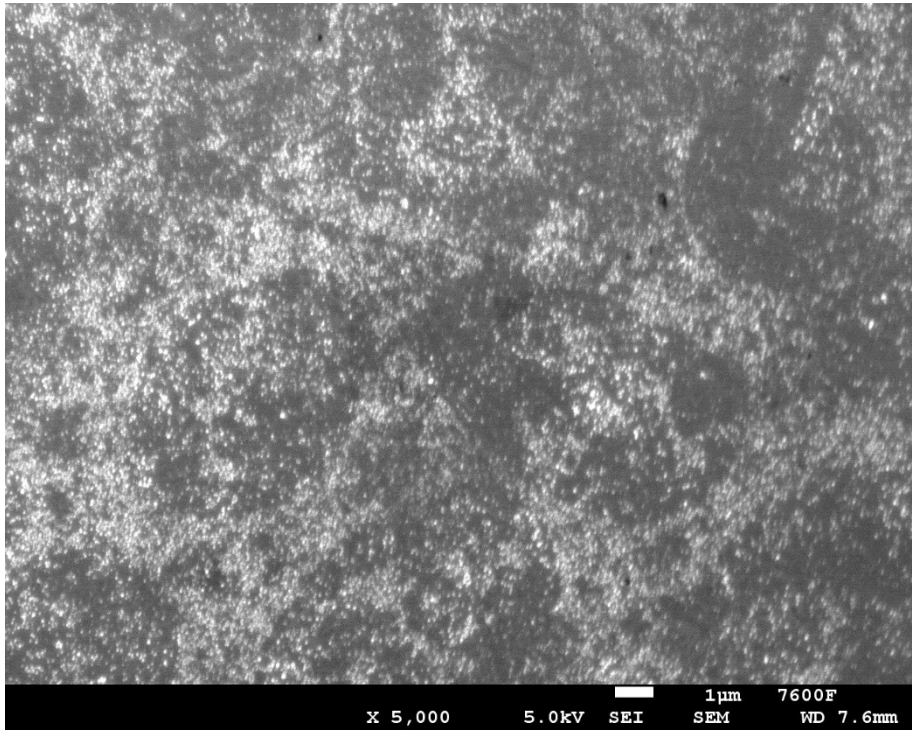
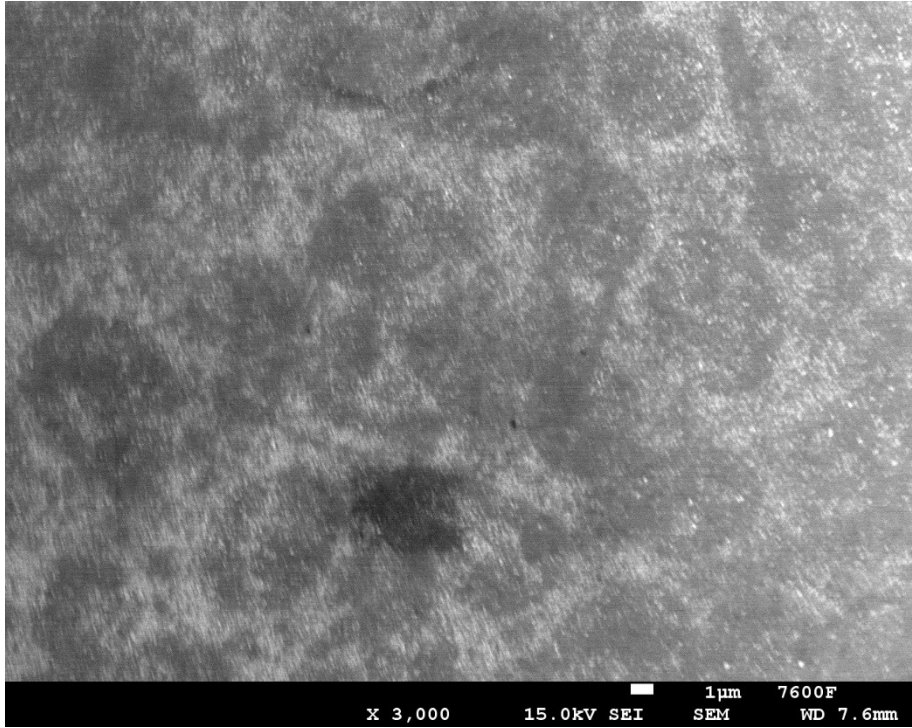


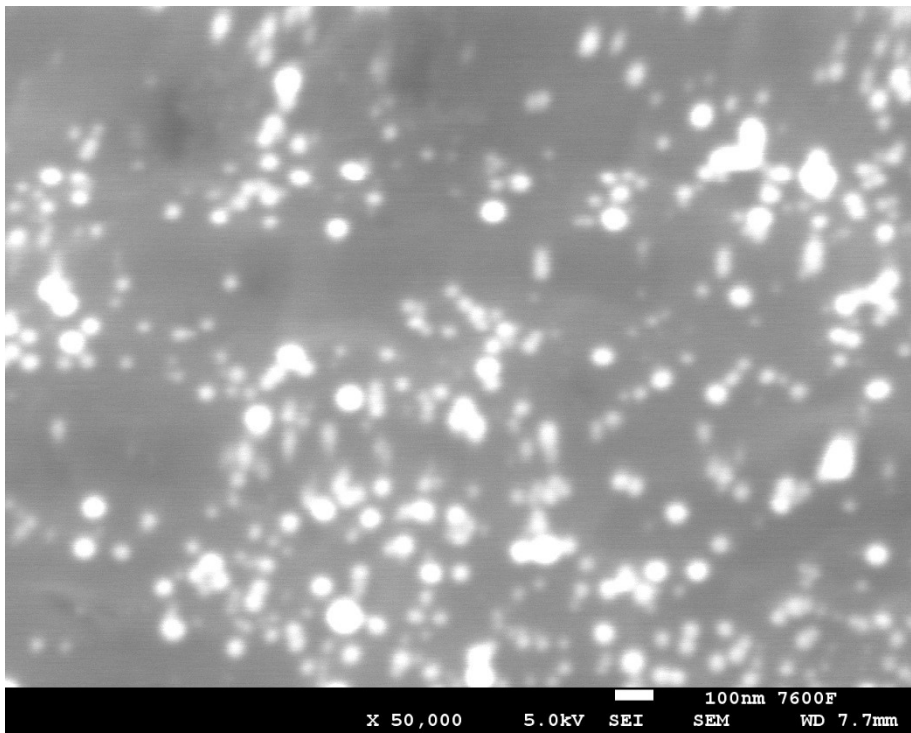
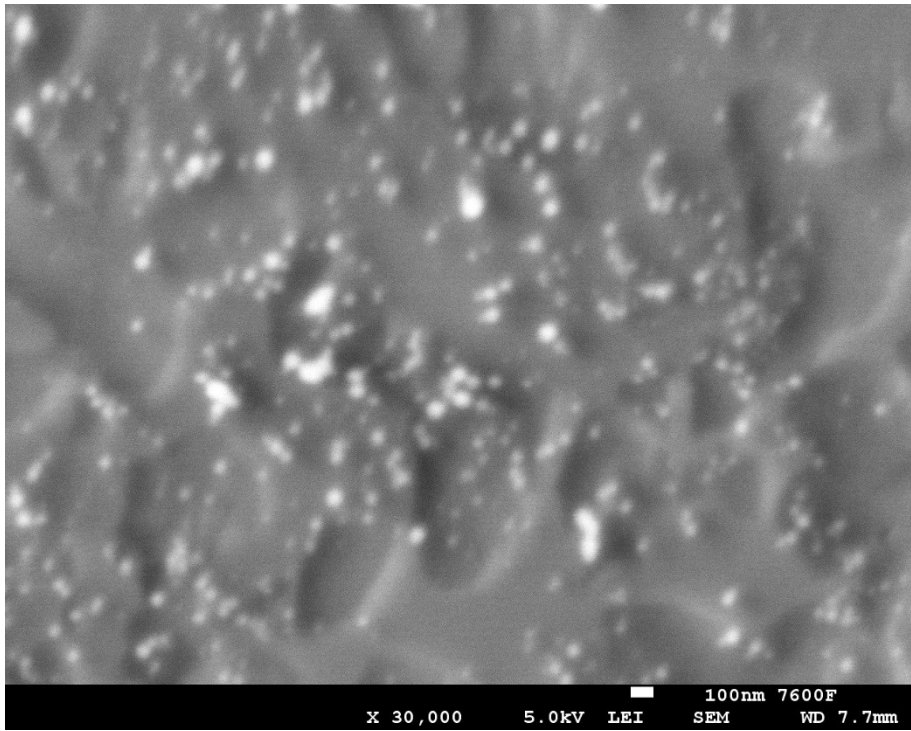
Příloha 5

CP Ti grade 2-neoxidovaný-vařený

Ti-N-V



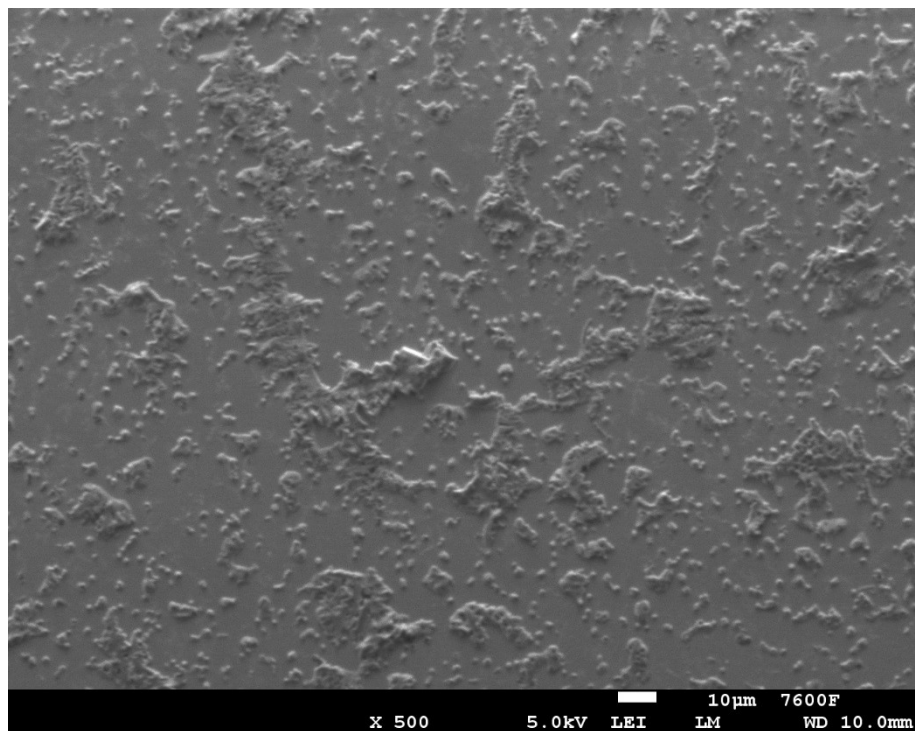
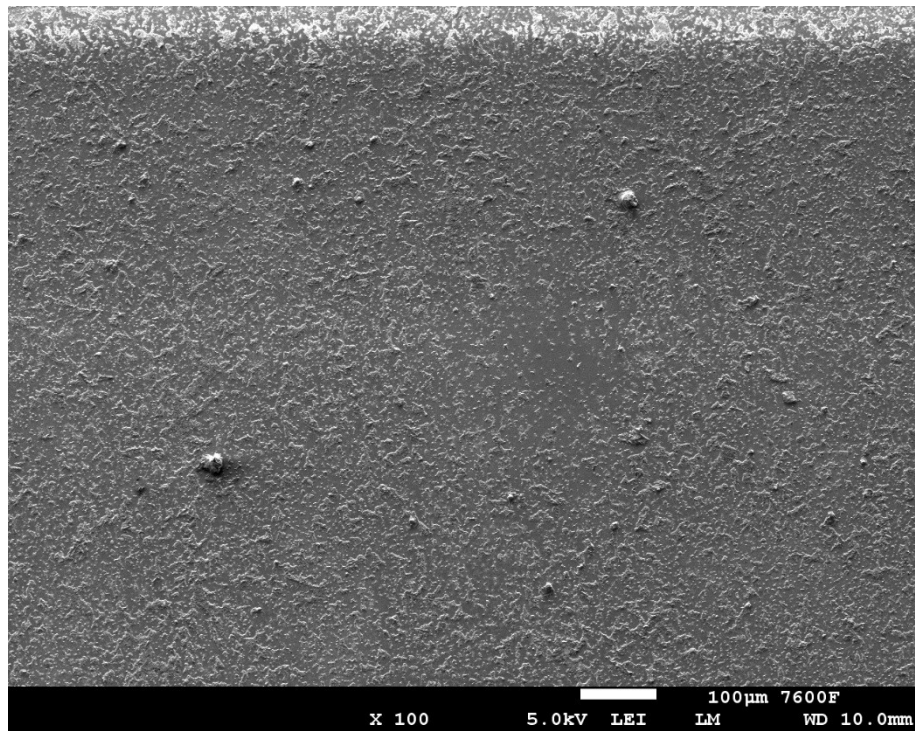


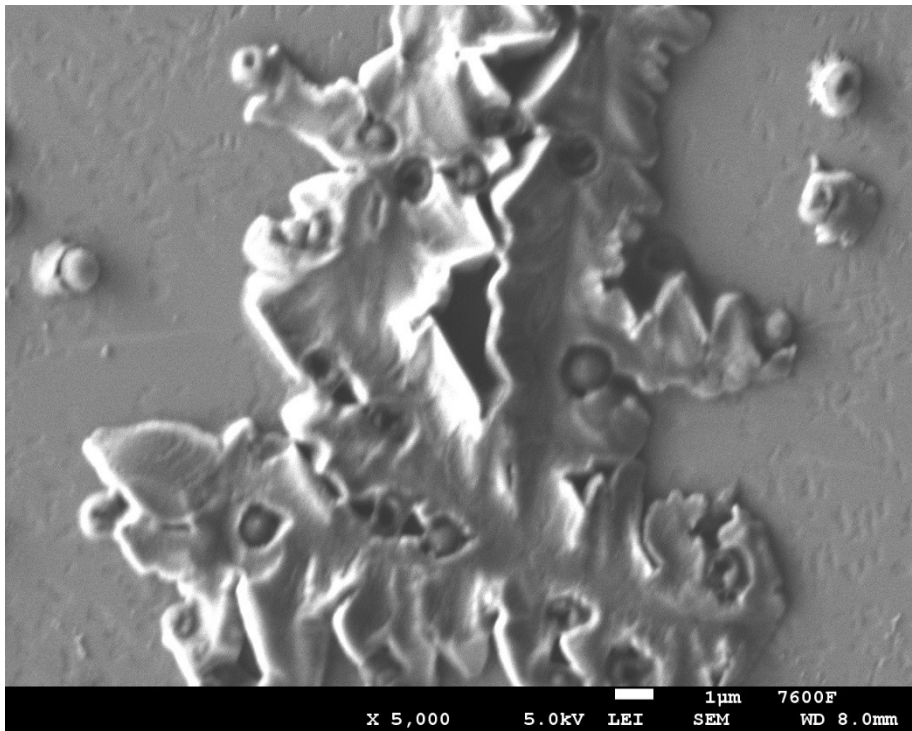
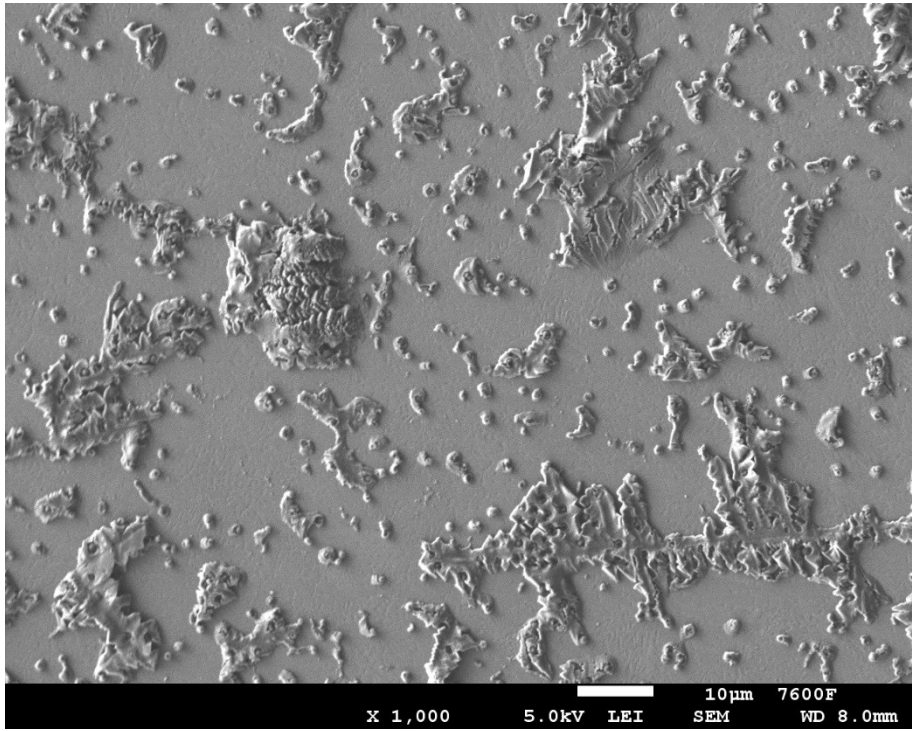


Příloha 6

CP Ti grade 2–neoxidovaný-máčený

Ti-N-M

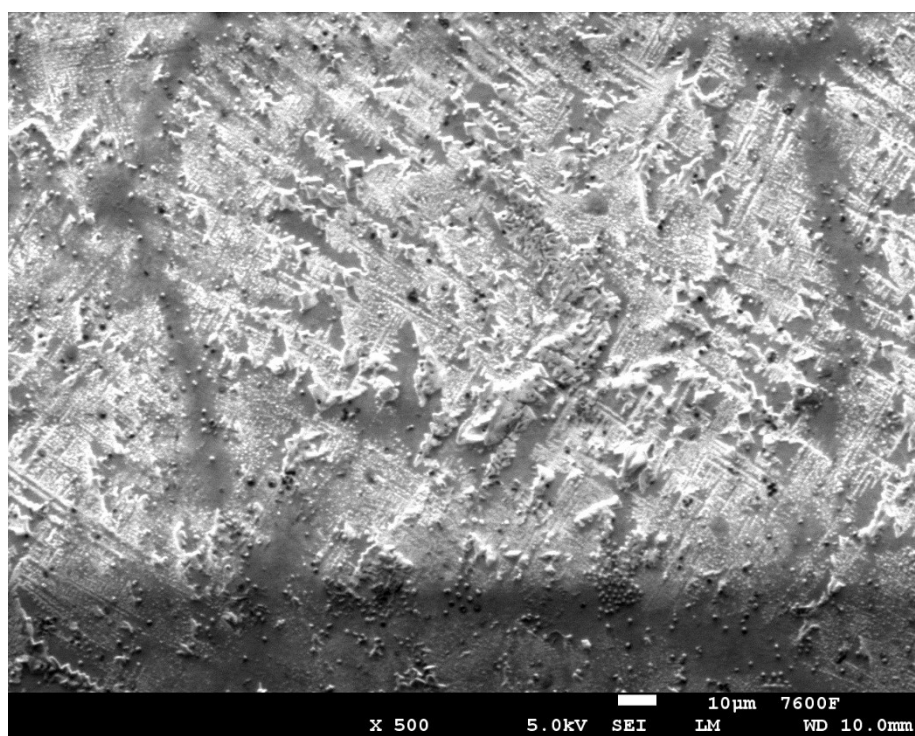
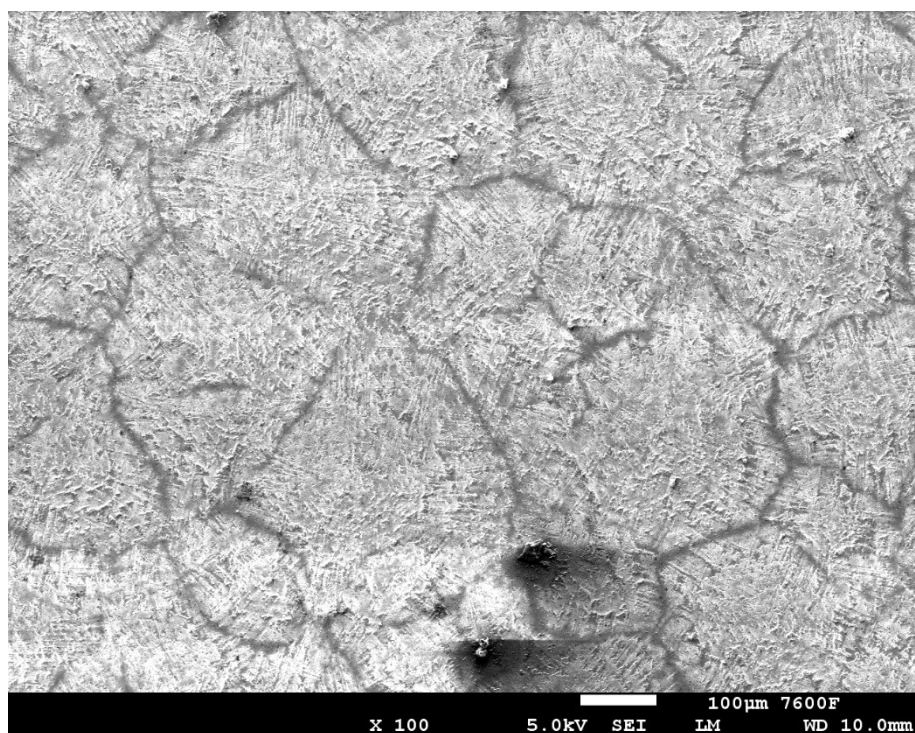


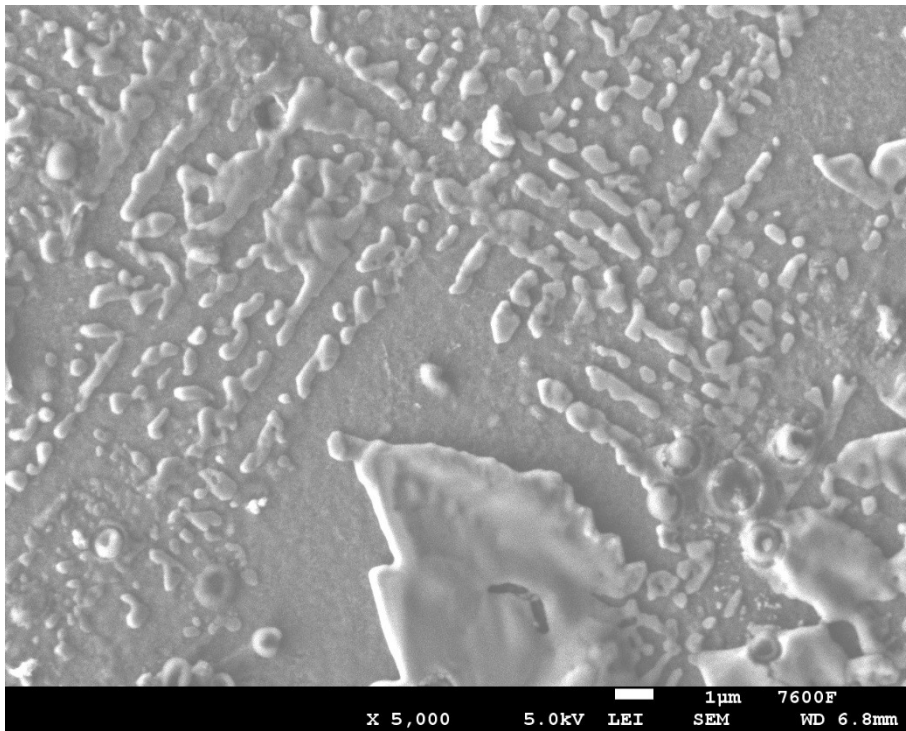
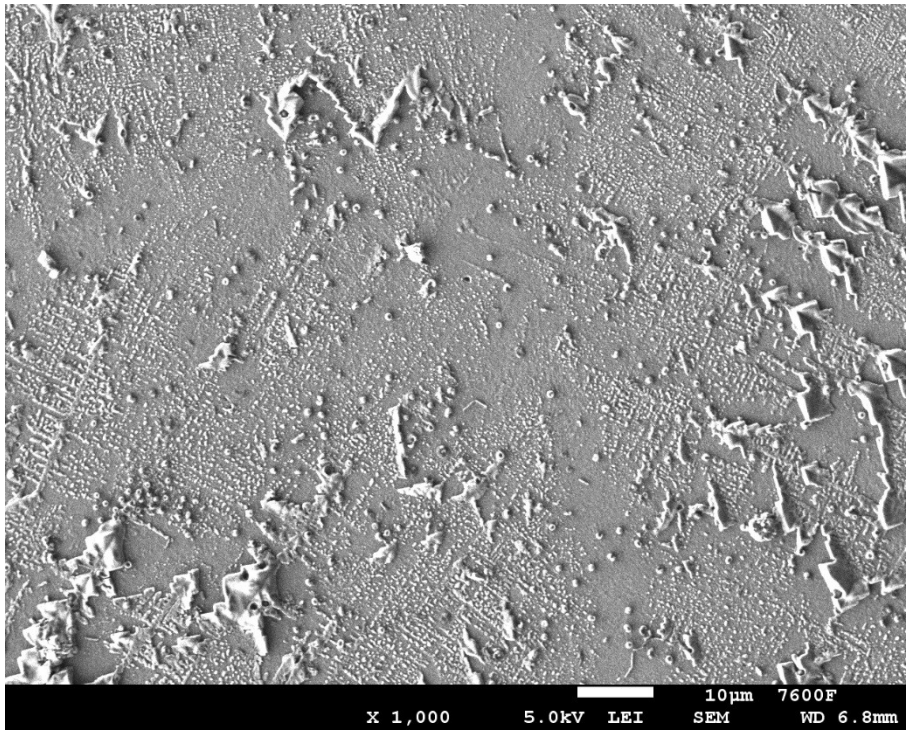


Příloha 7

CP Ti grade 2-oxidovaný-máčený

Ti-O-M

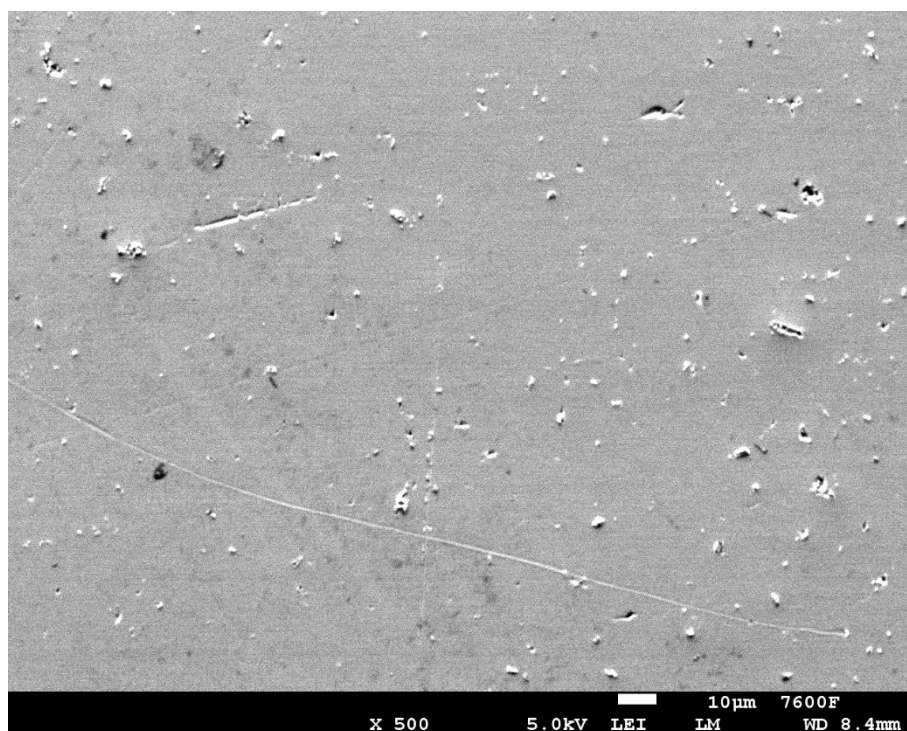
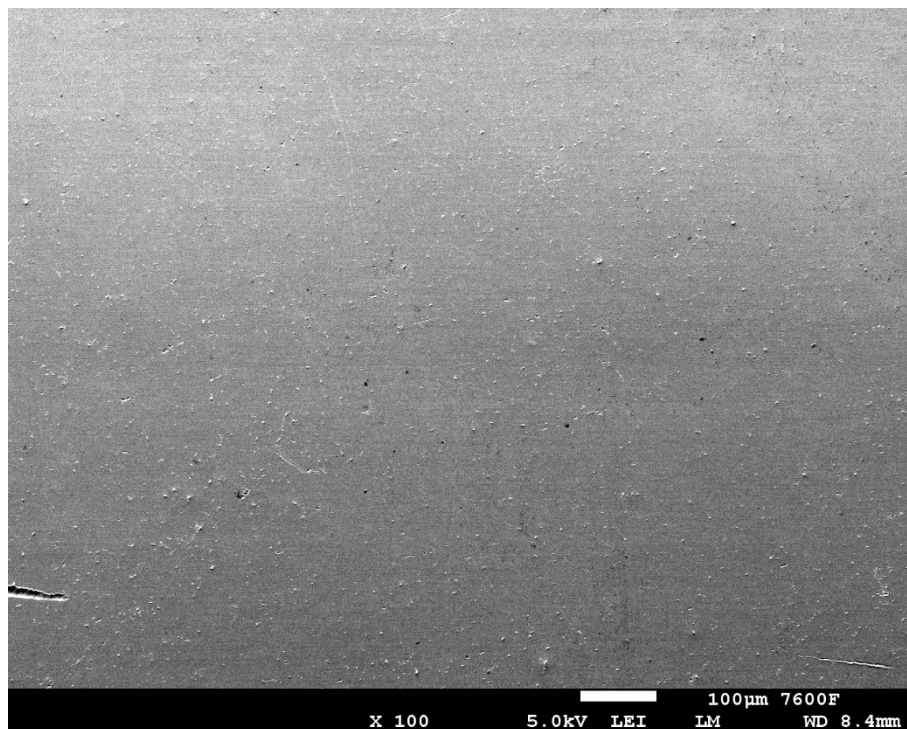


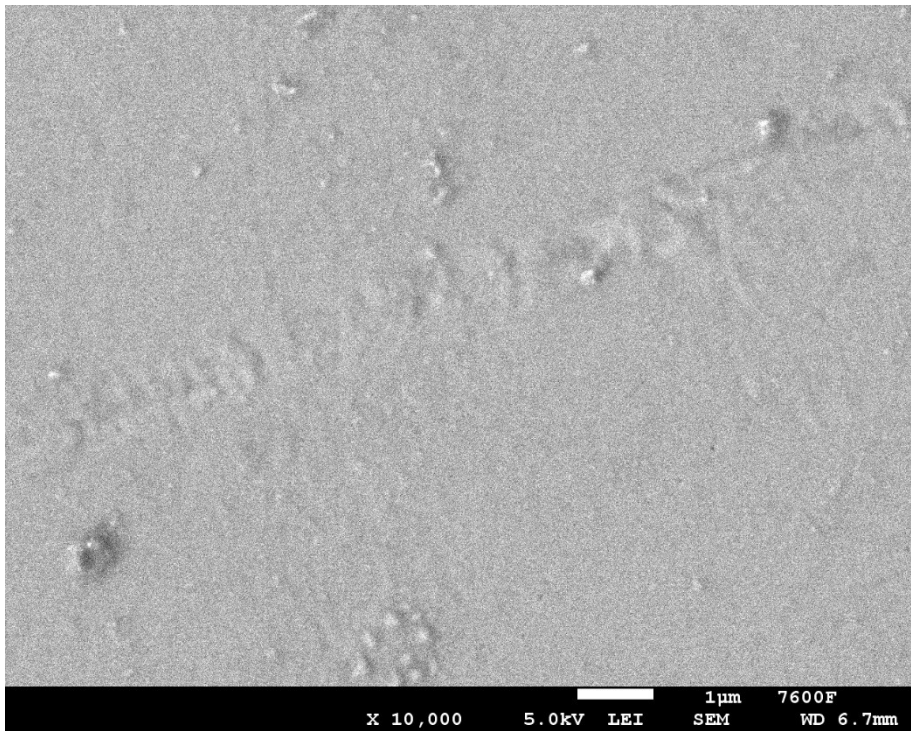
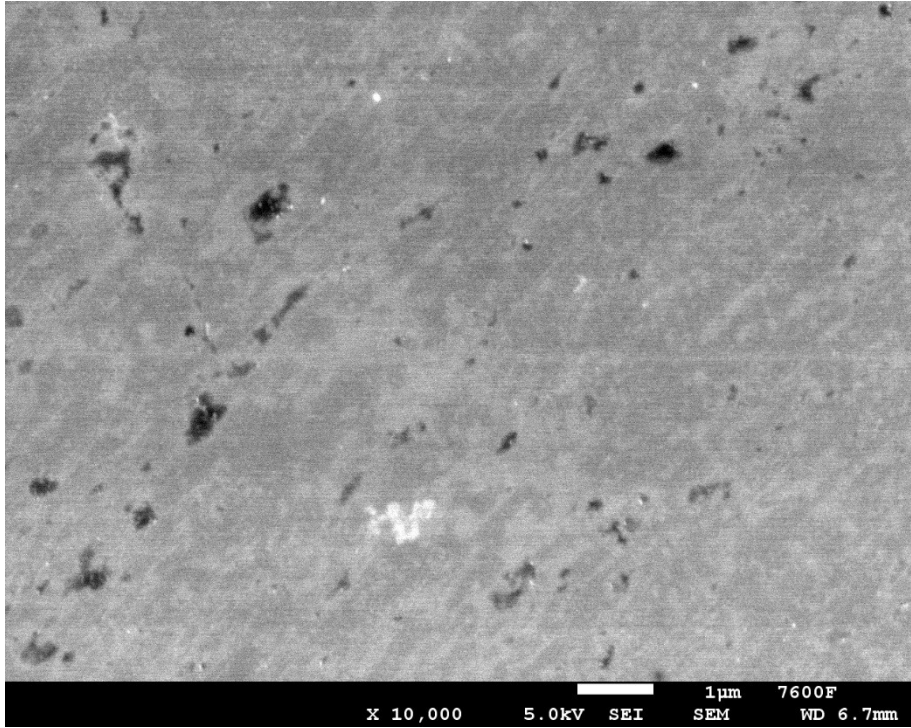


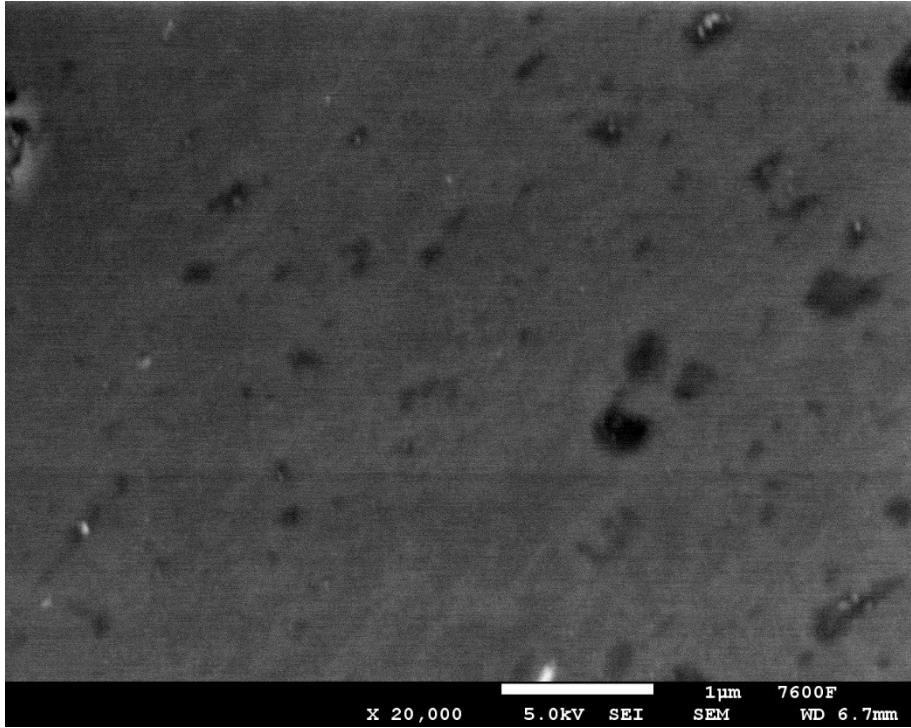
Příloha 8

Ti39Nb–oxidovaný

TiNb-O-R



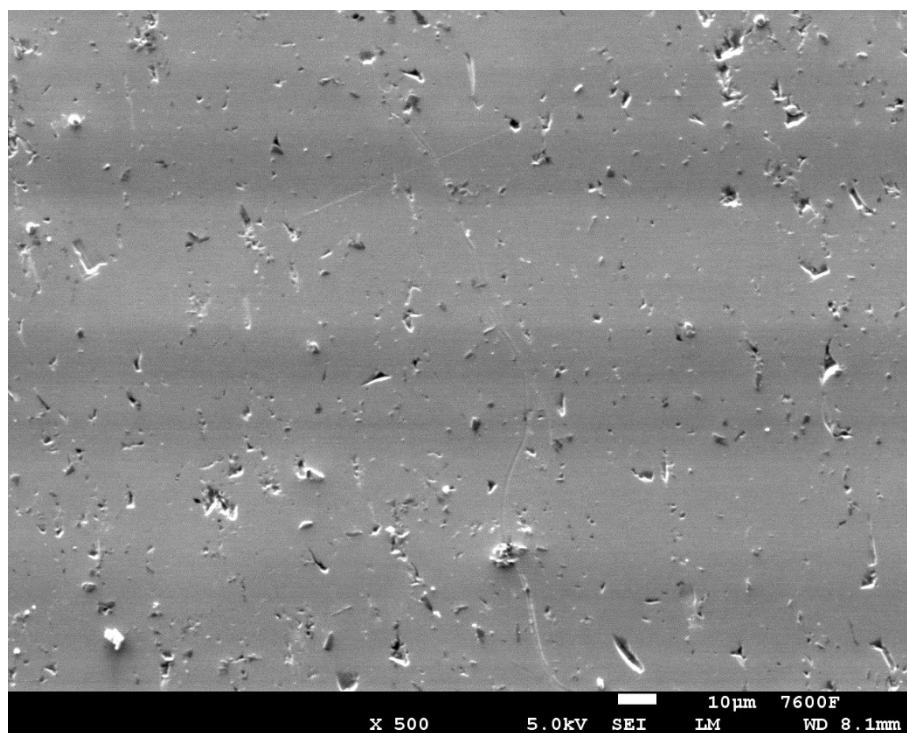
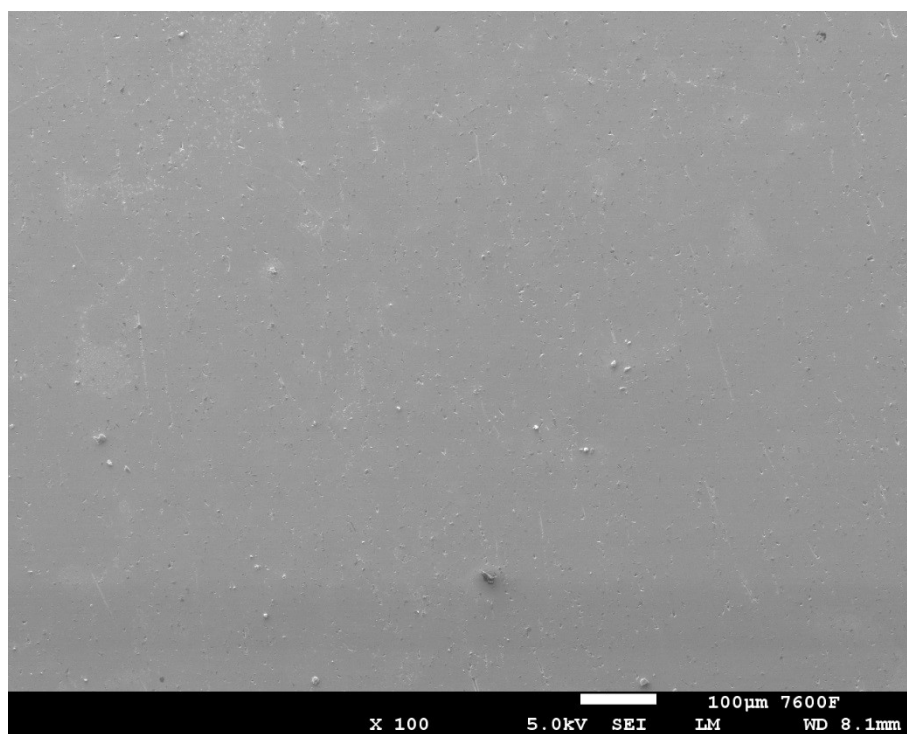


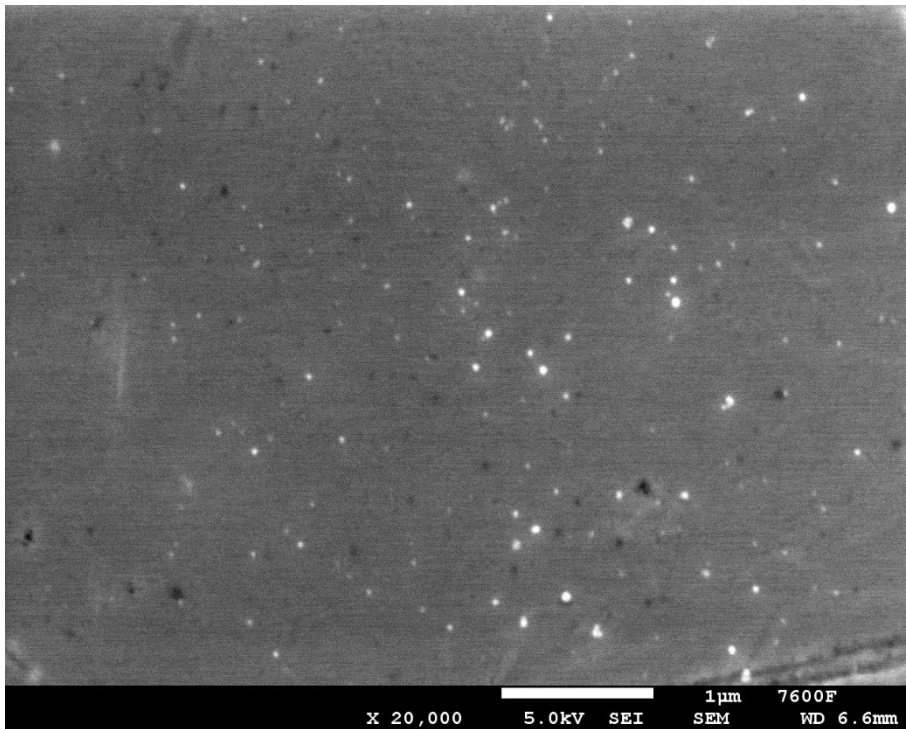
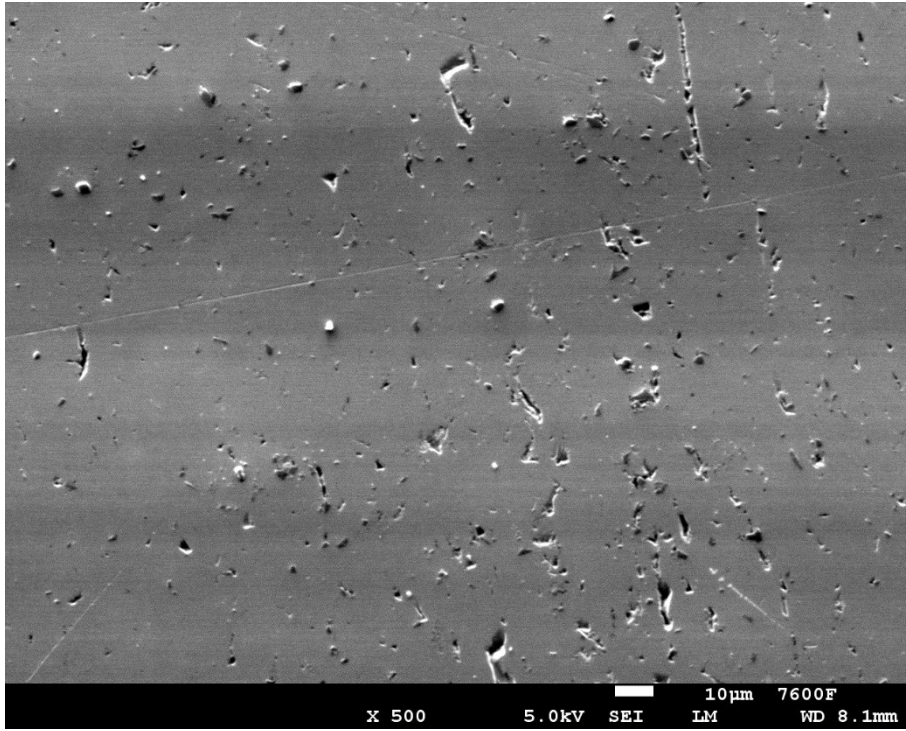


Příloha 9

Ti39Nb–neoxidovaný-vařený

TiNb-N-V

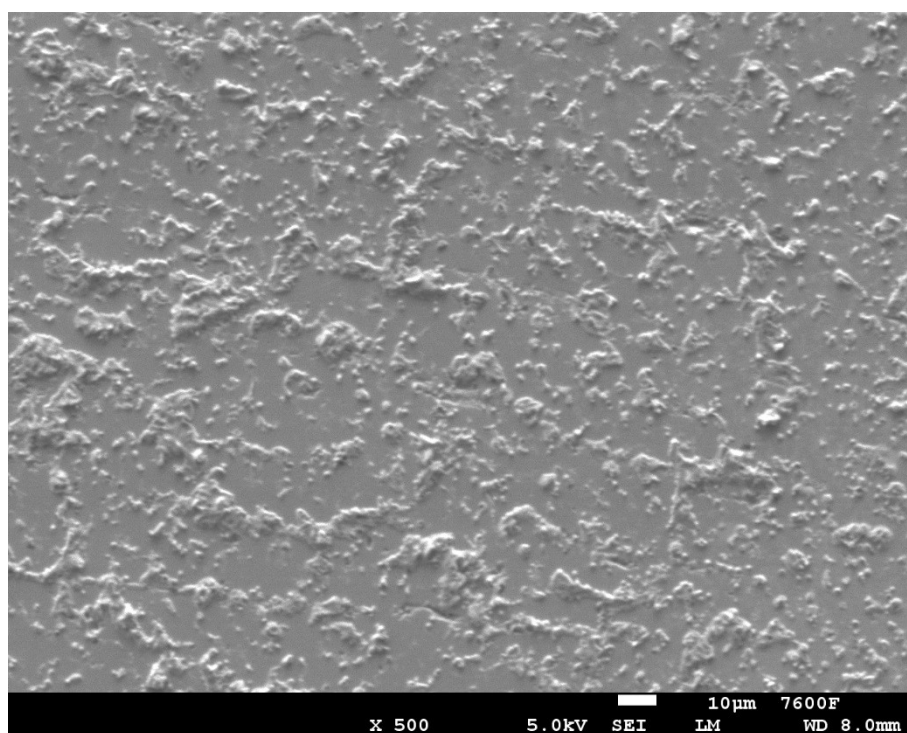
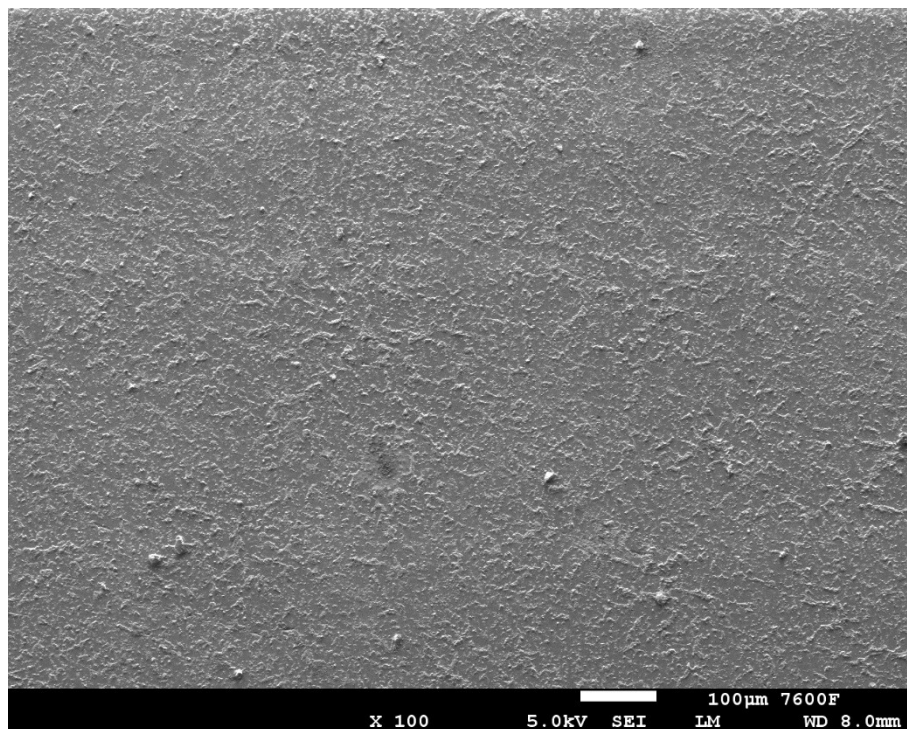


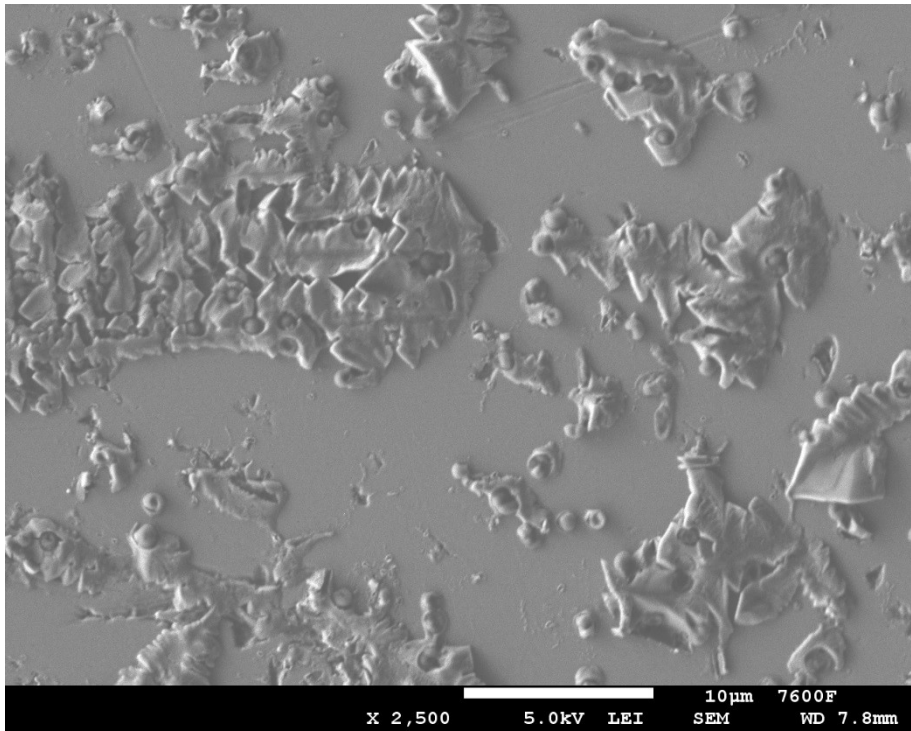
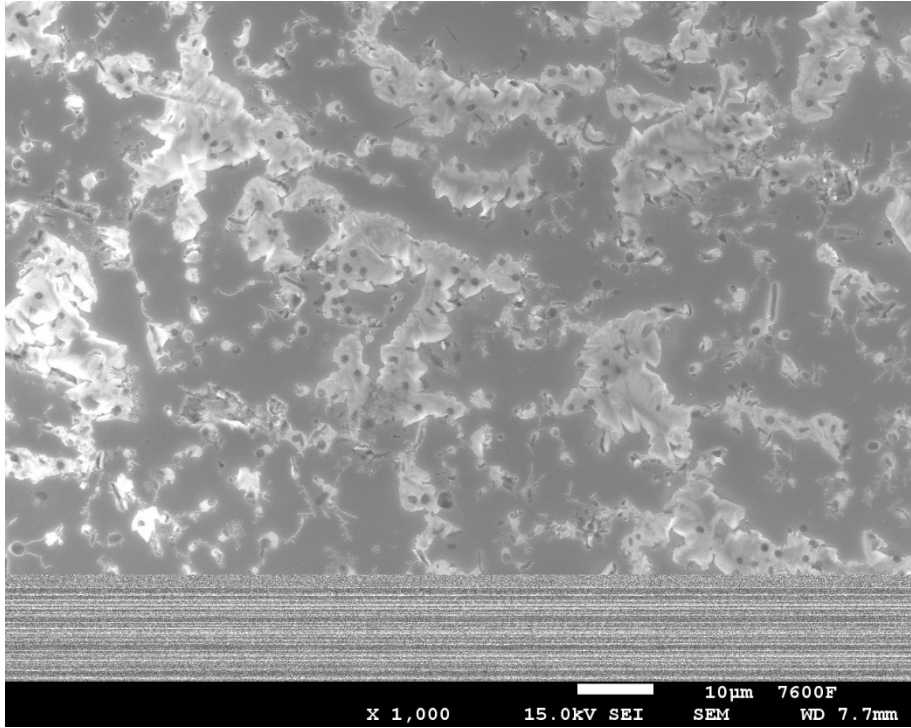


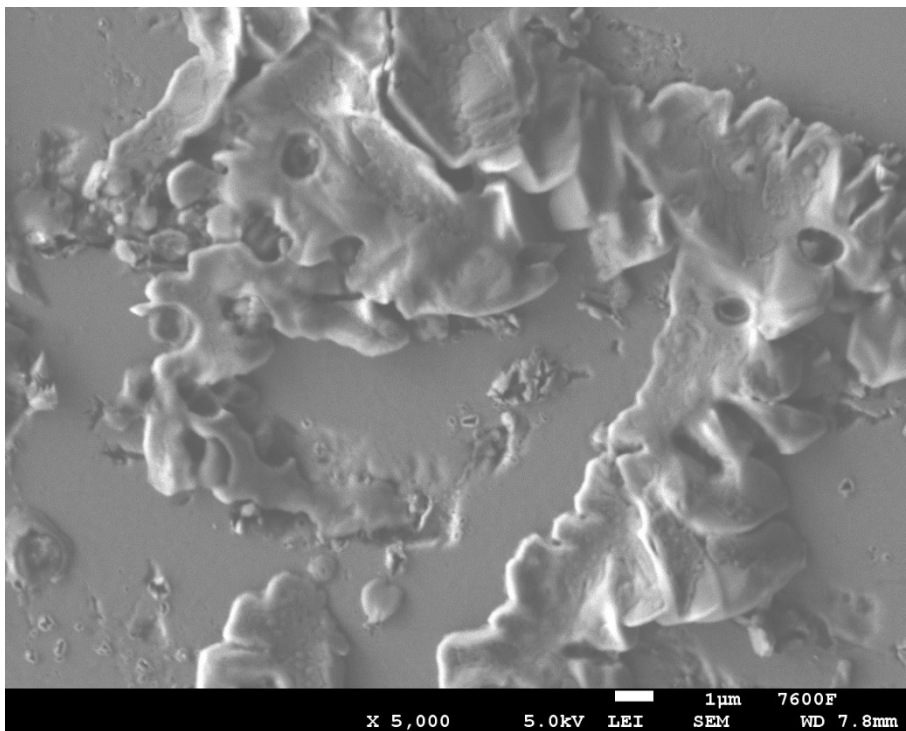
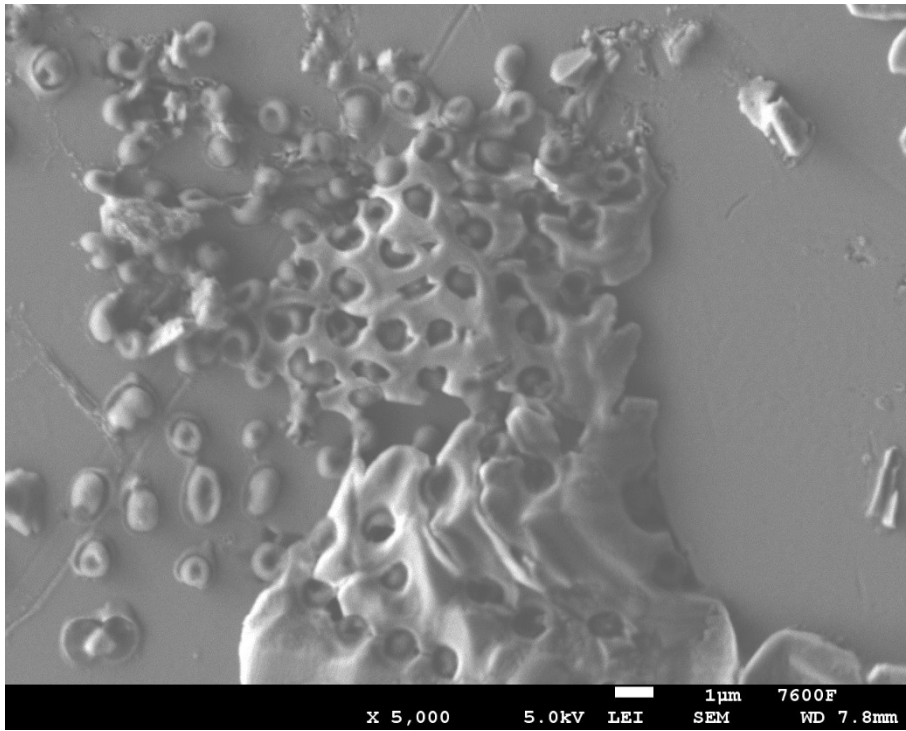
Příloha 10

Ti39Nb–oxidovaný-máčený

TiNb-O-M



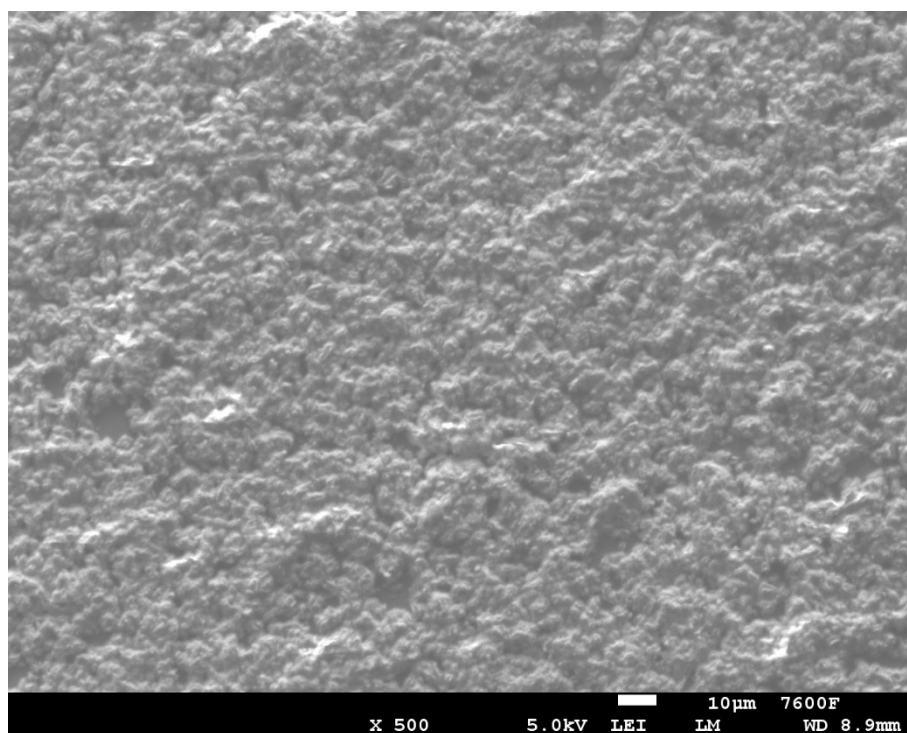
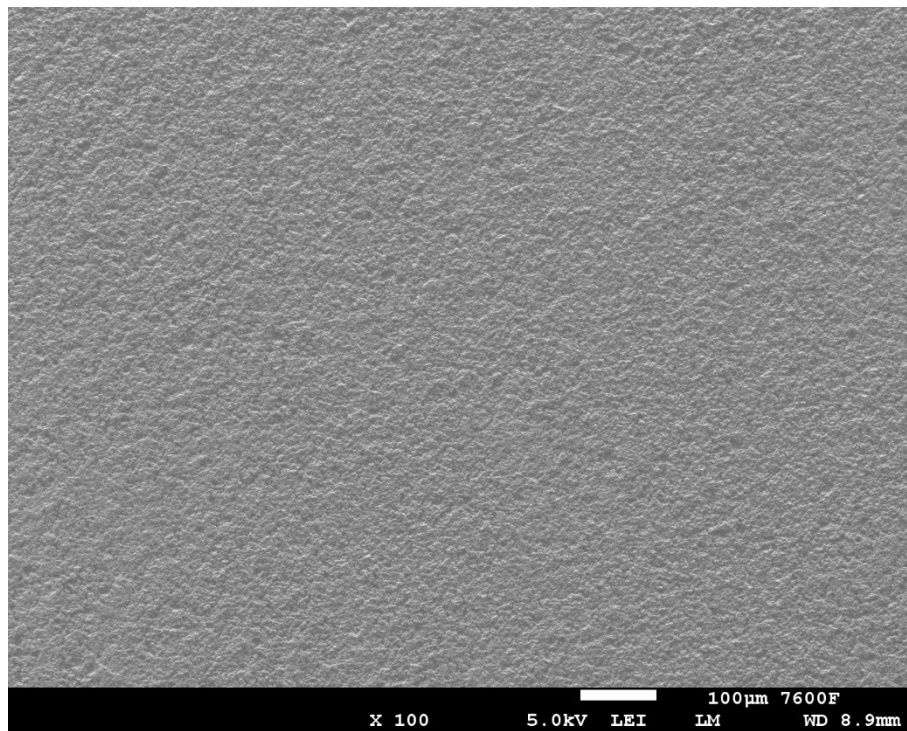


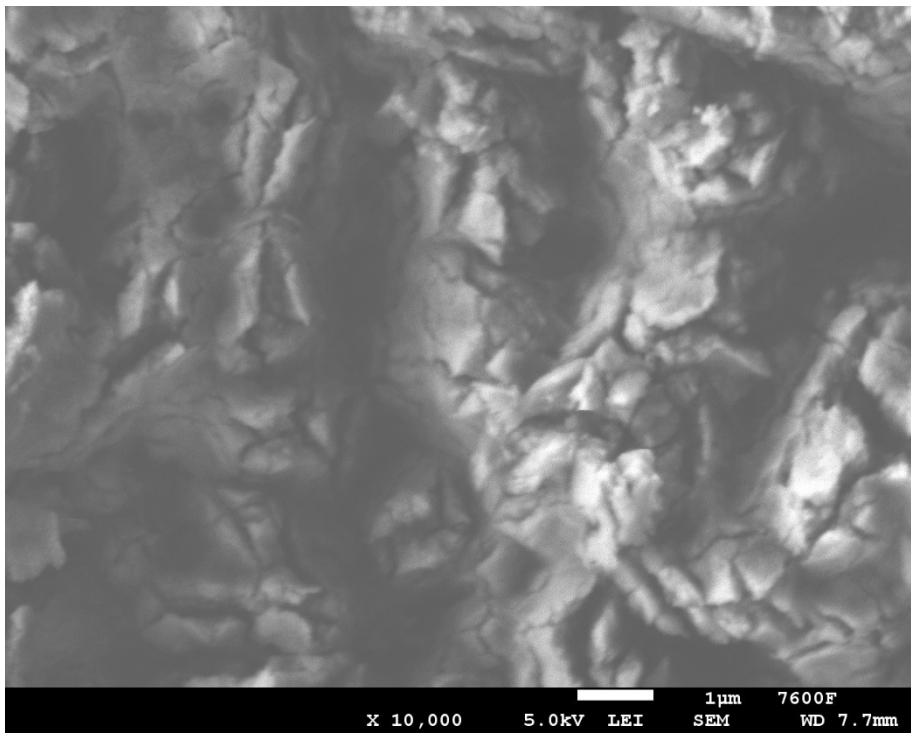
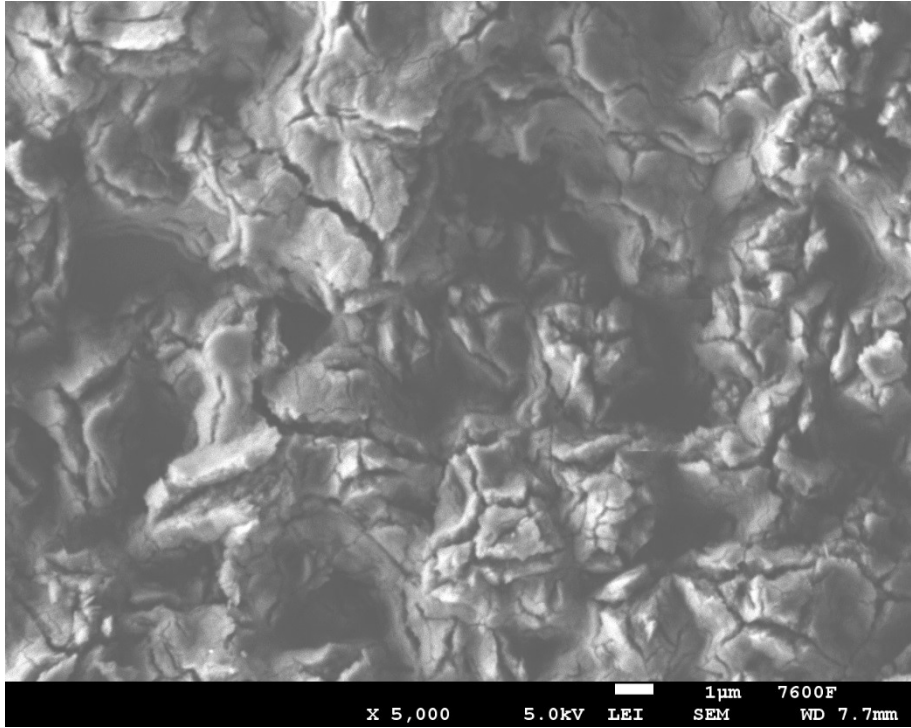


Příloha 11

Ti6Al4V–oxidovaný

TiNb-O-R

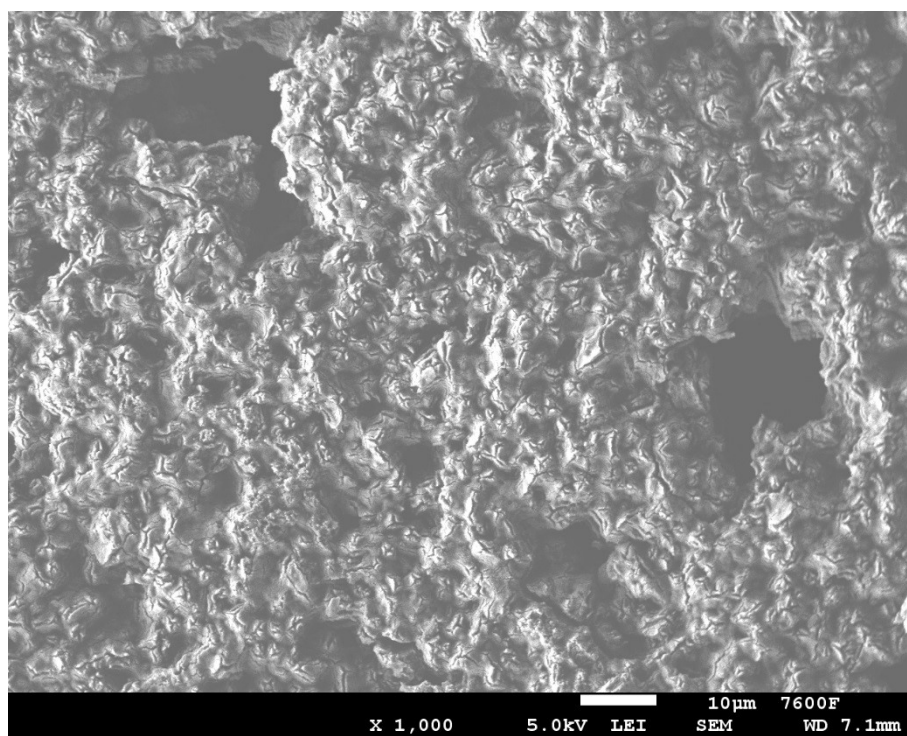
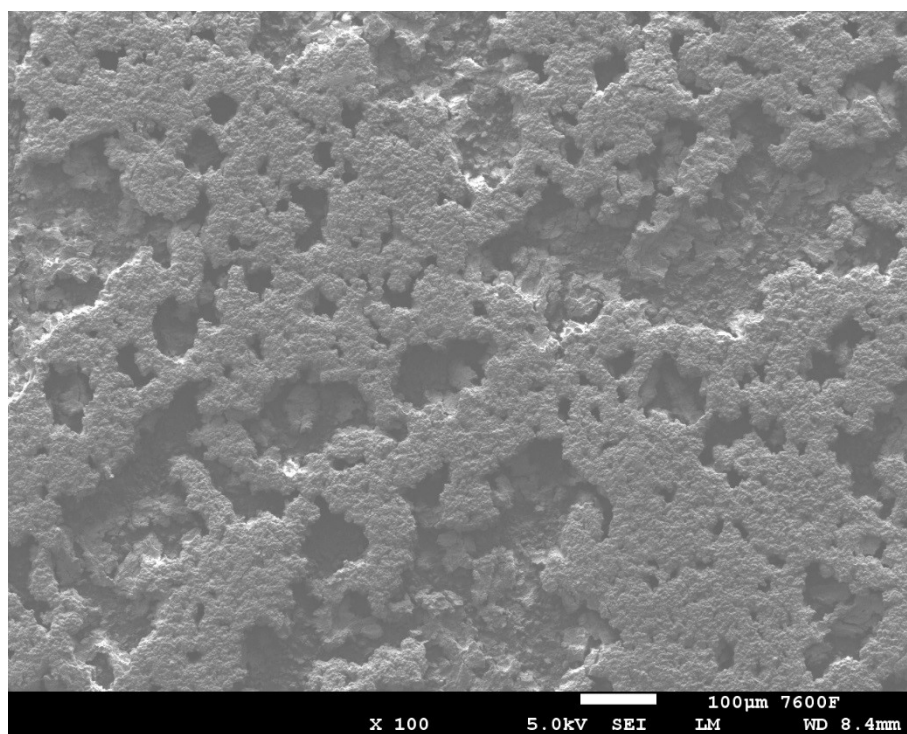


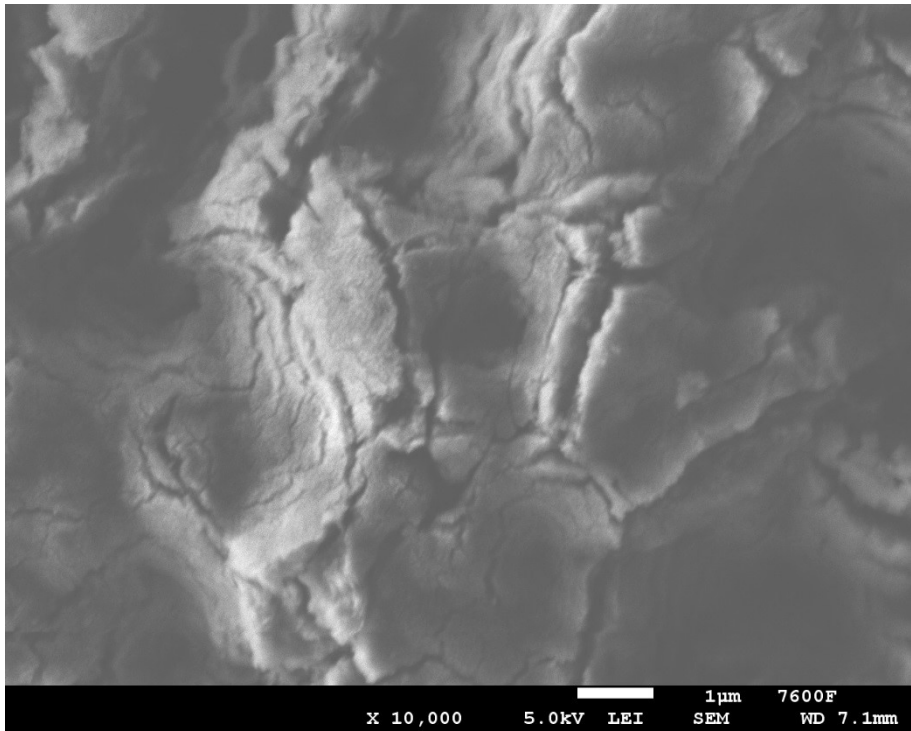
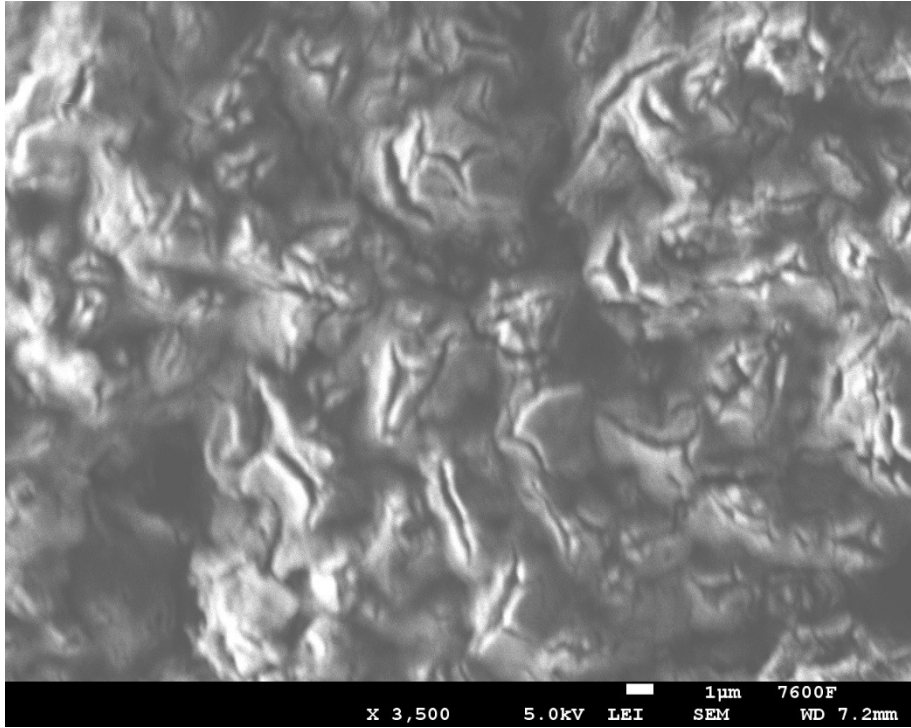


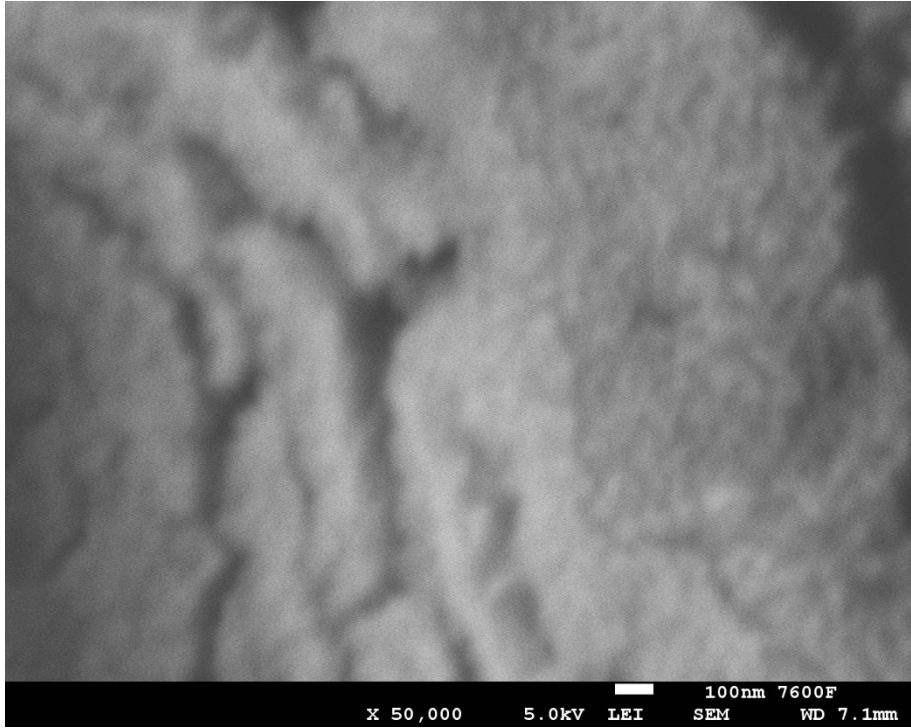
Příloha 12

Ti6Al4V–oxidovaný–vařený

TiNb-O-V







X 50,000

5.0kV

LEI

SEM

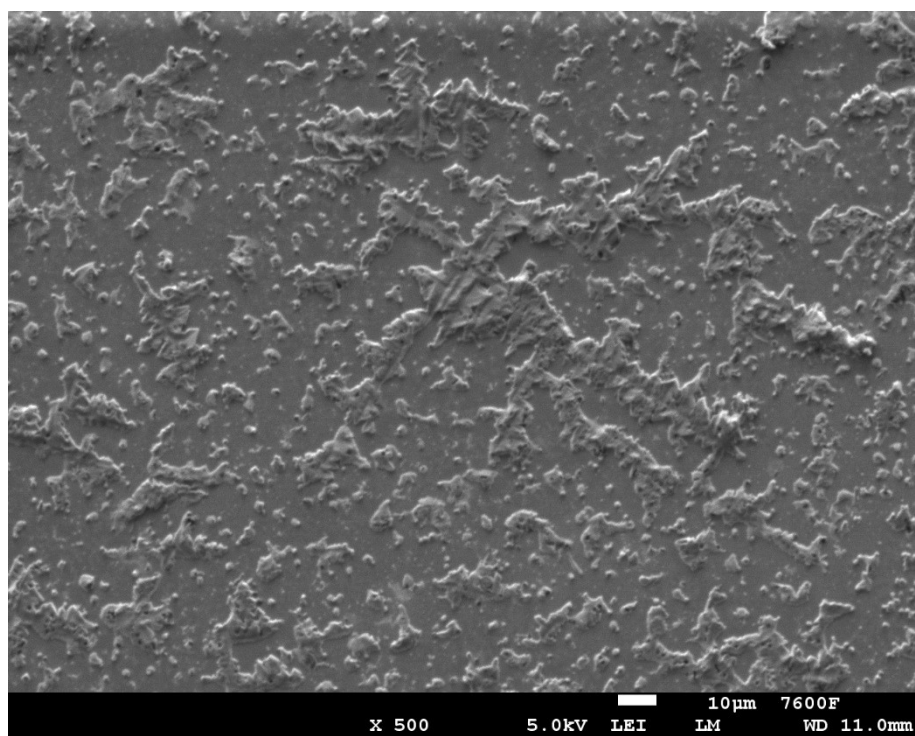
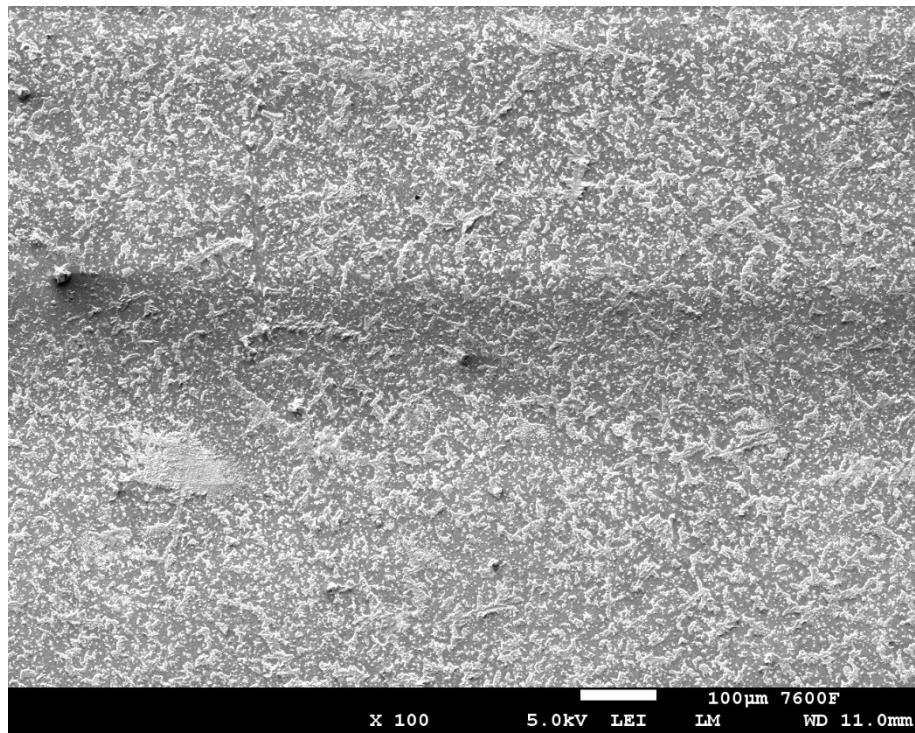
100nm 7600F

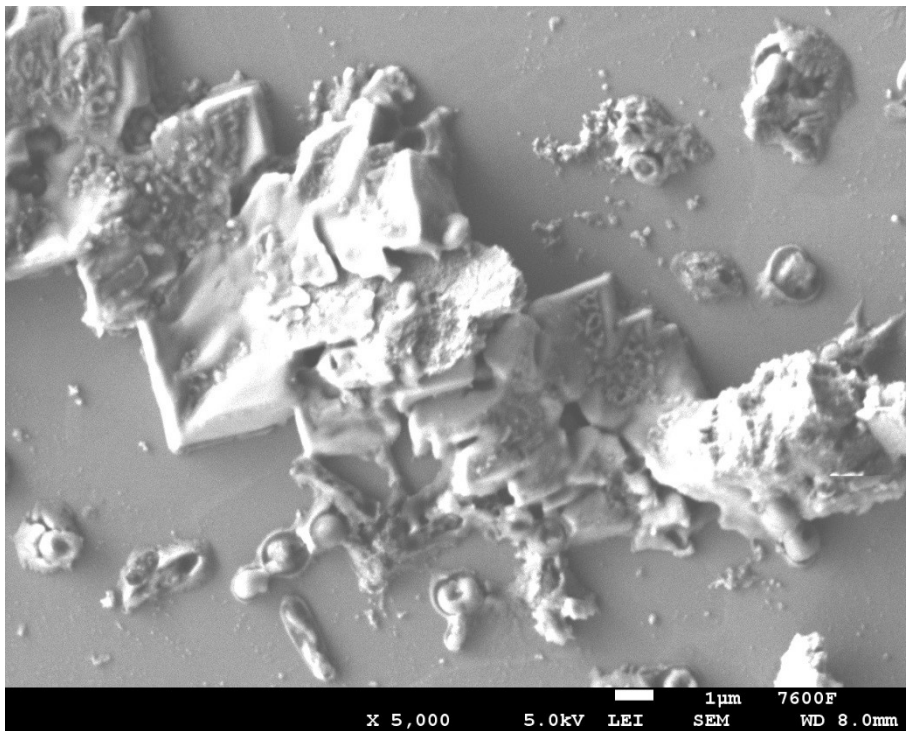
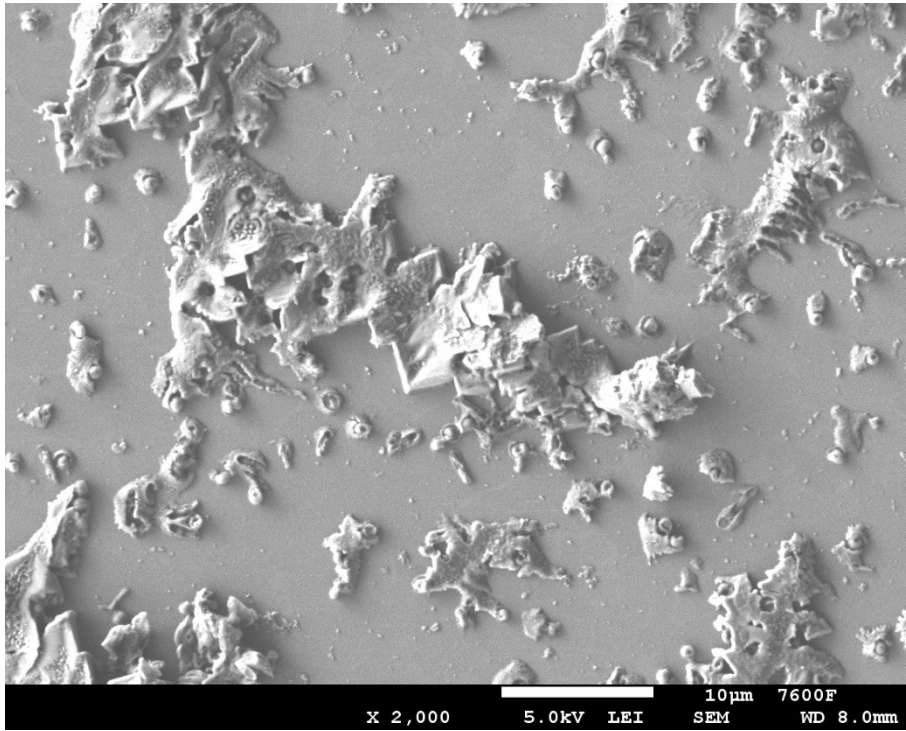
WD 7.1mm

Příloha 13

Ti6Al4V–neoxidovaný-máčený

TiNb-N-M

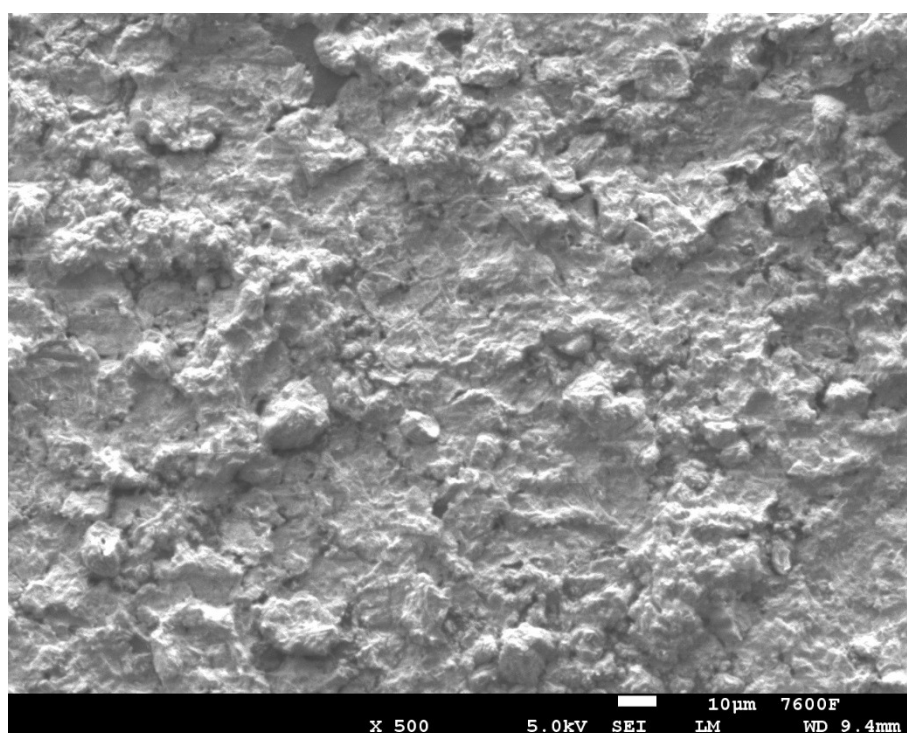
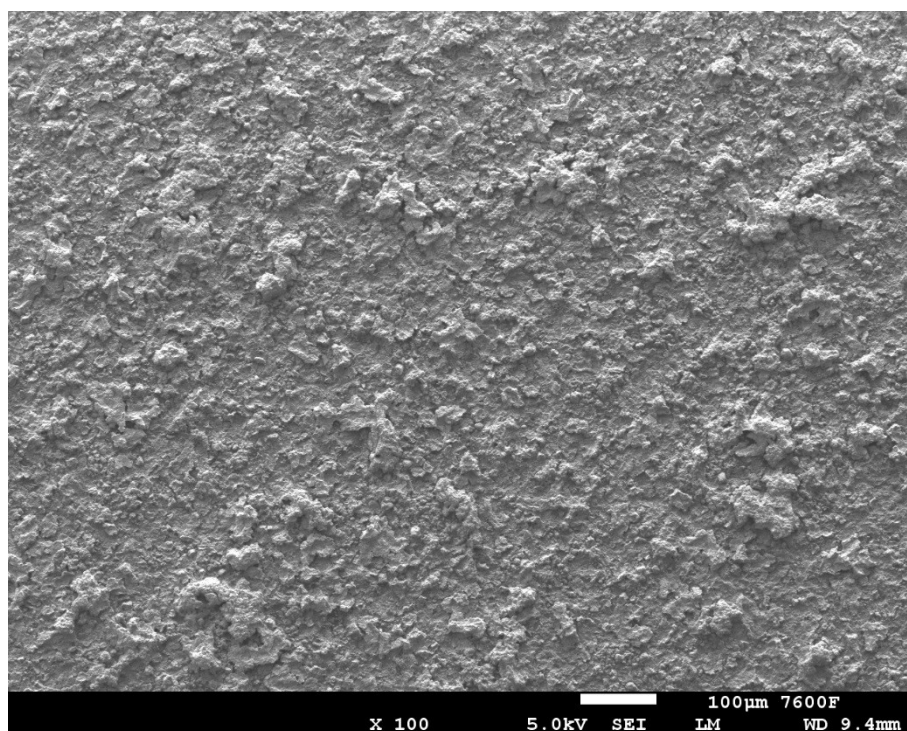


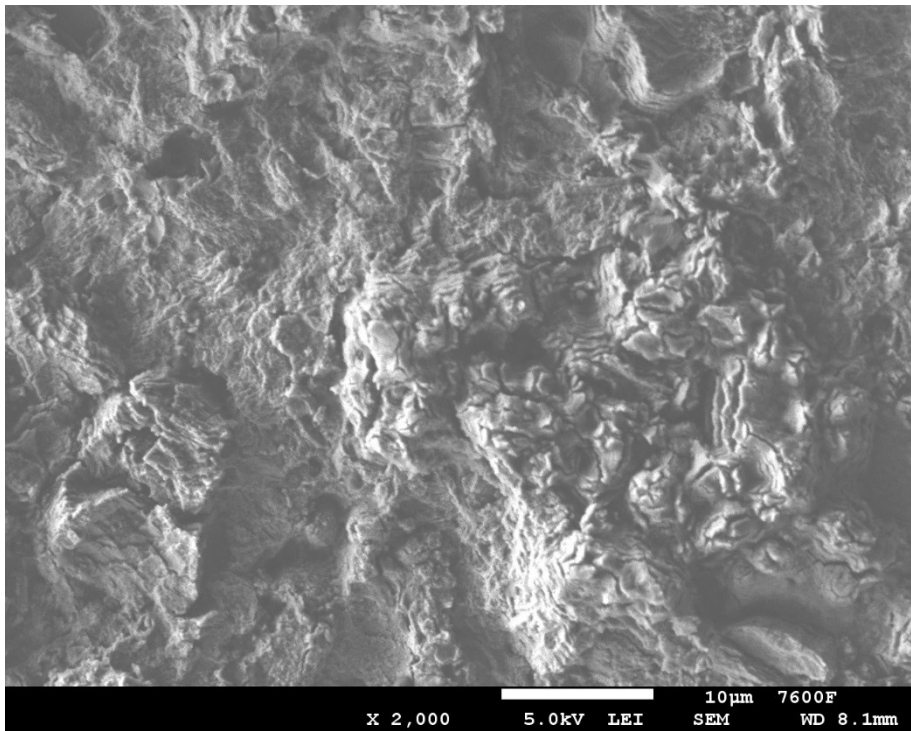
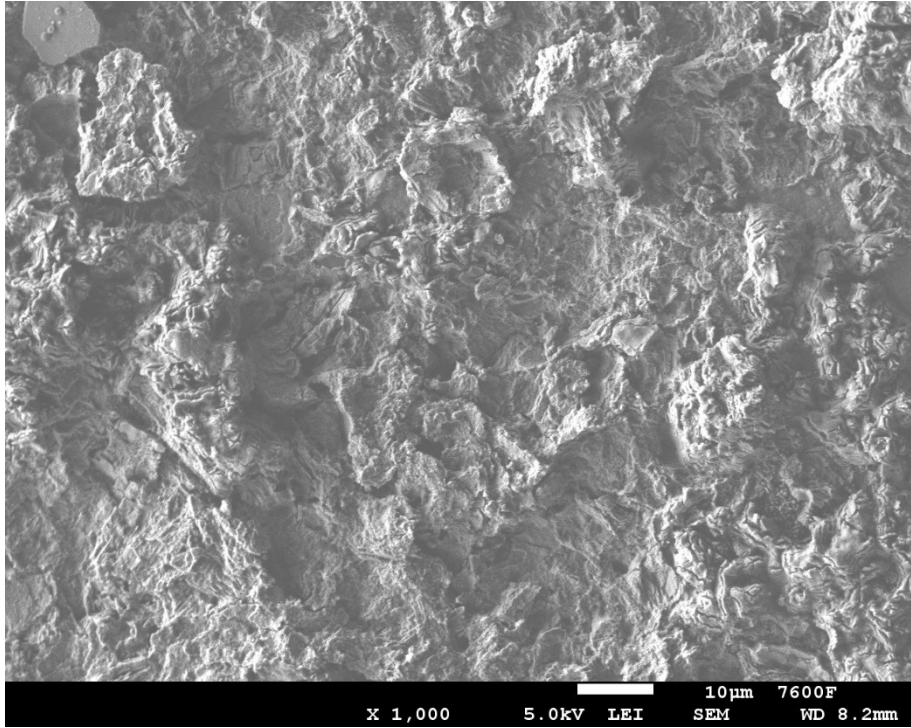


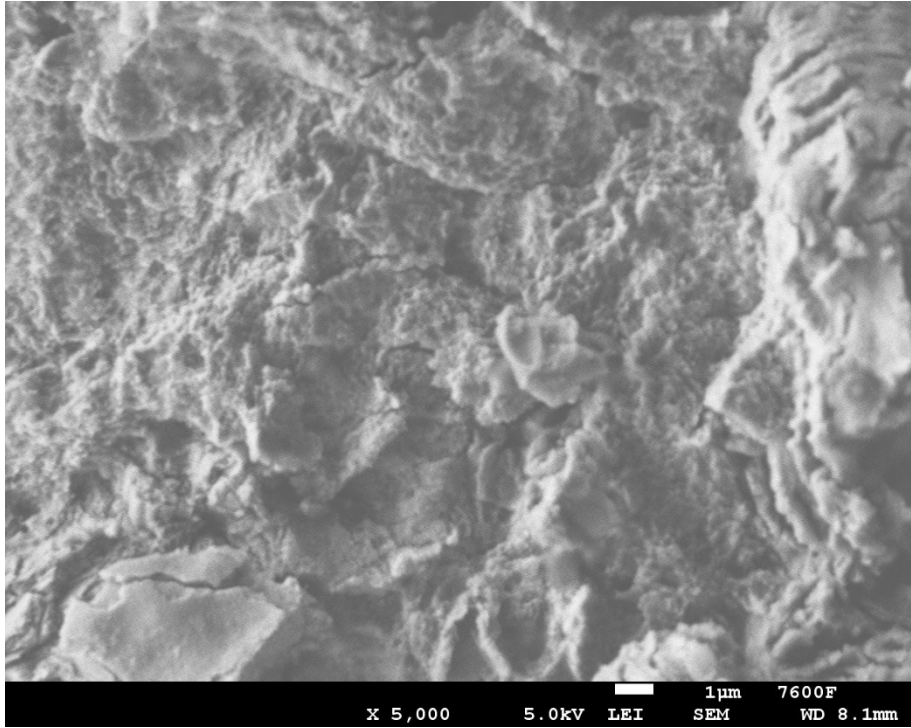
Příloha 14

Ti6Al4V–oxidovaný-máčený

TiNb-O-M







X 5,000

5.0kV

LEI

1µm
SEM

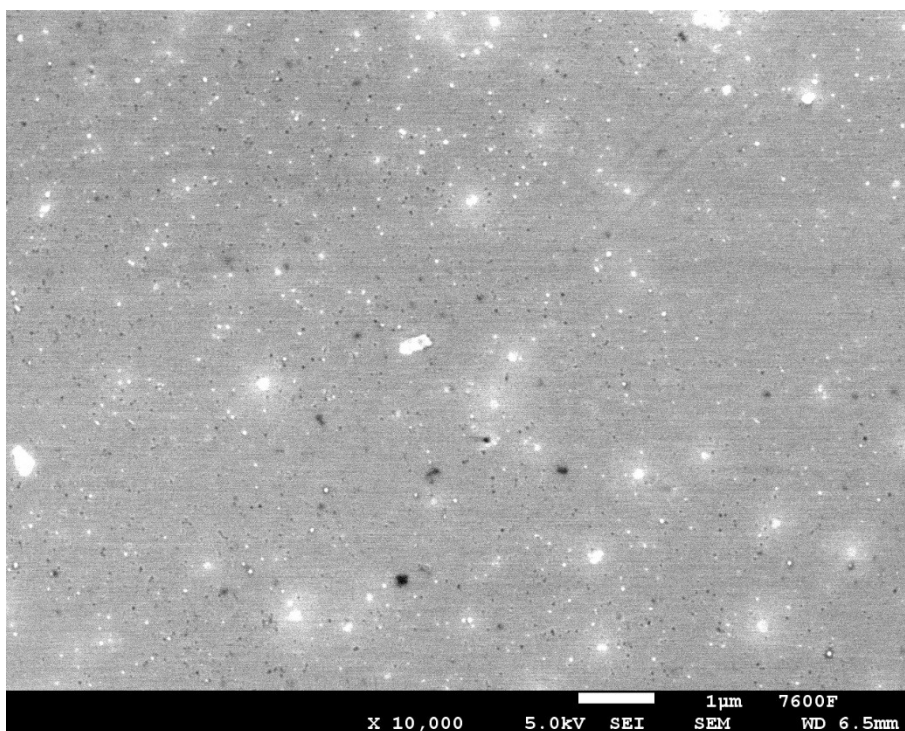
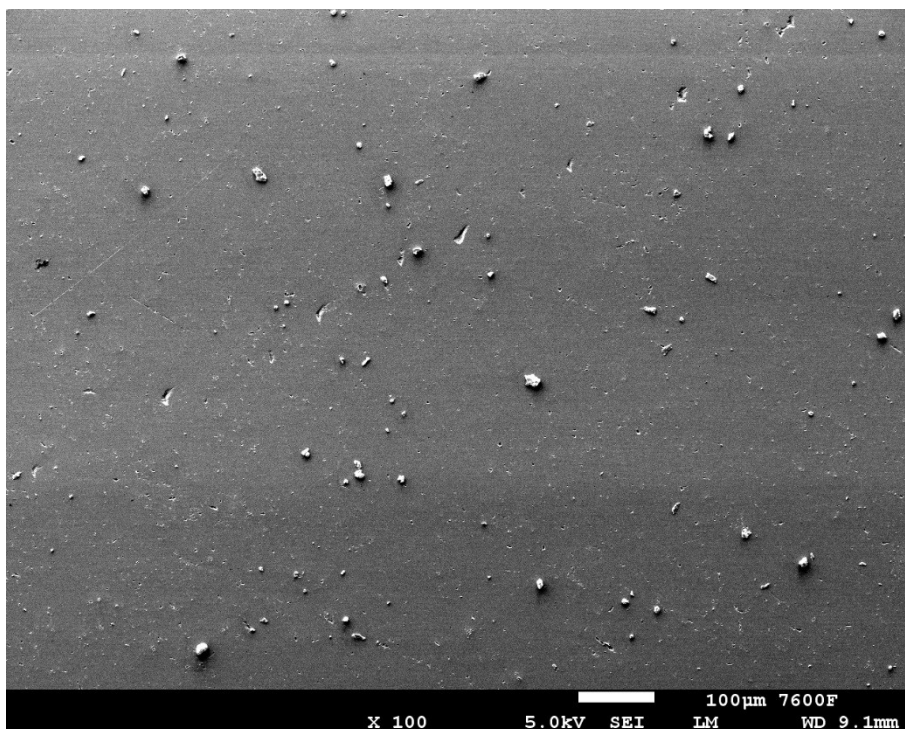
7600F

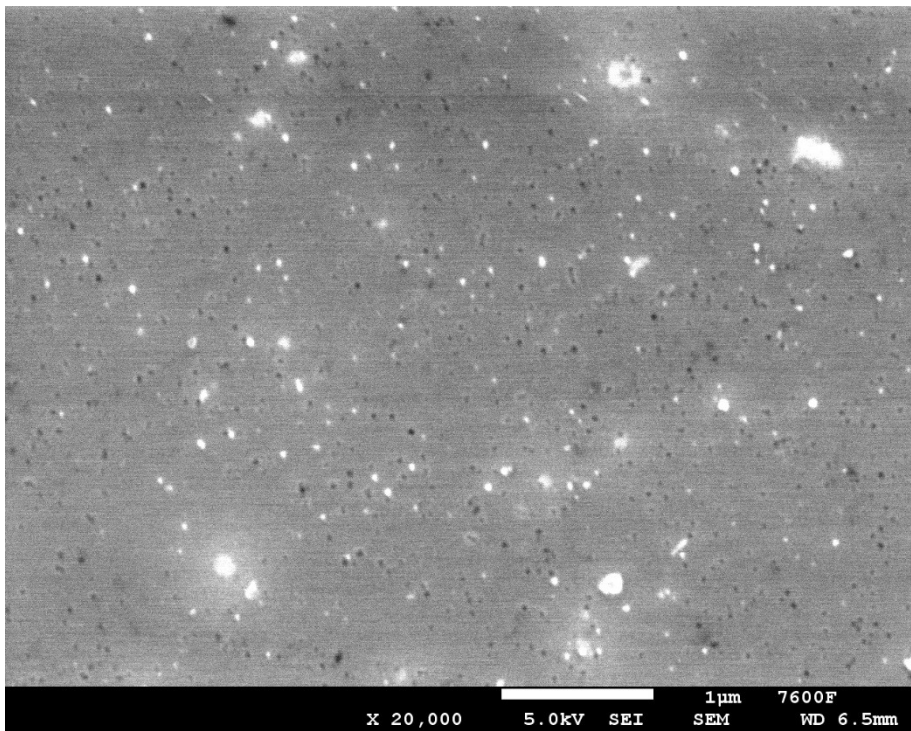
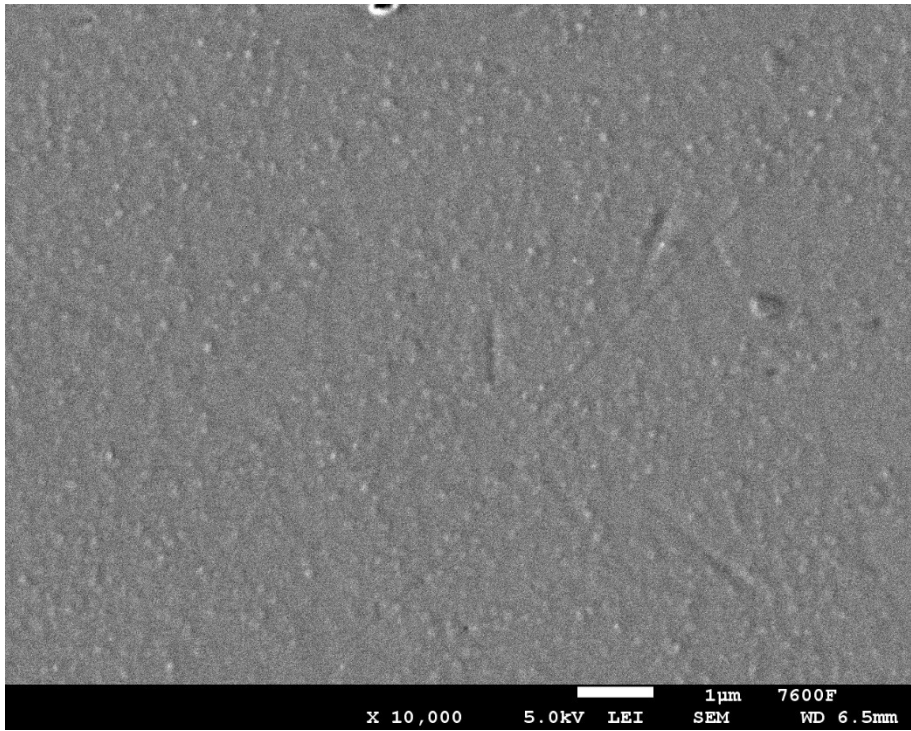
WD 8.1mm

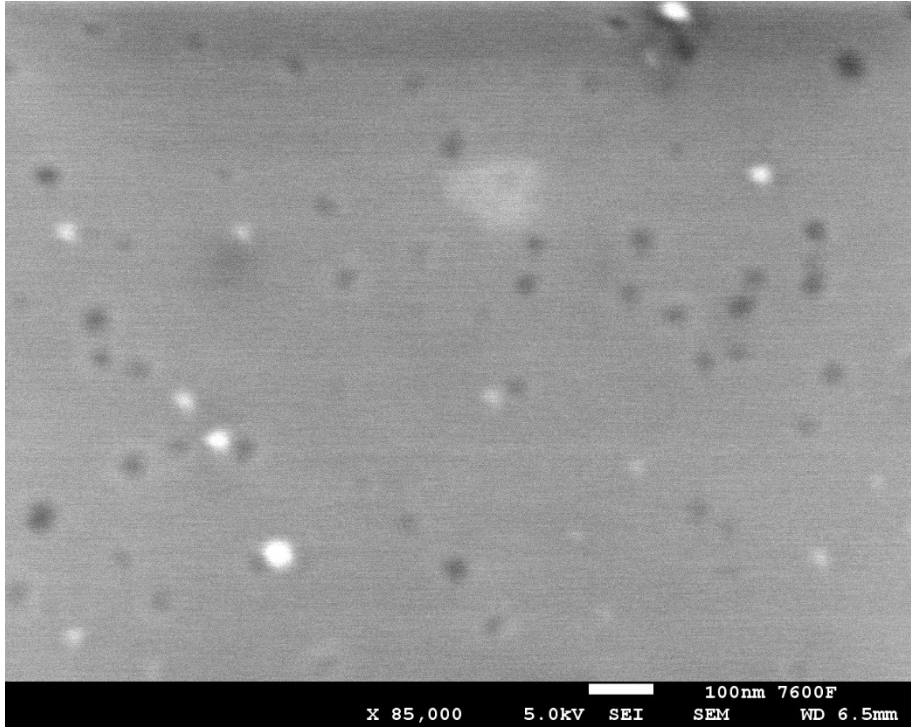
Příloha 15

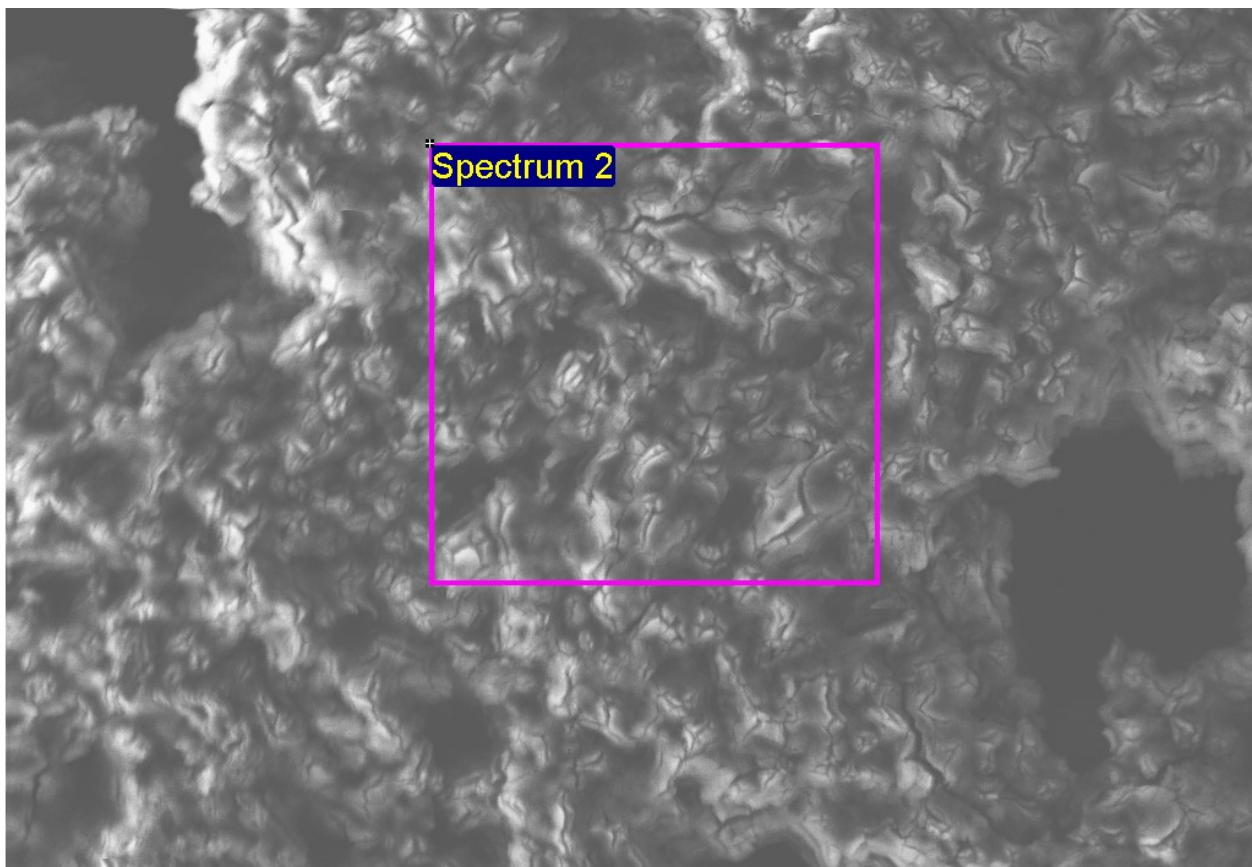
Ti39Nb–oxidovaný-vařený

TiNb-O-V









40µm

Electron Image 1

Spectrum processing :

Peaks possibly omitted : 2.628, 6.133, 8.760, 9.128 keV

Processing option : All elements analyzed (Normalised)

Number of iterations = 2

Standard :

Al Al₂O₃ 1-Jun-1999 12:00 AM

P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

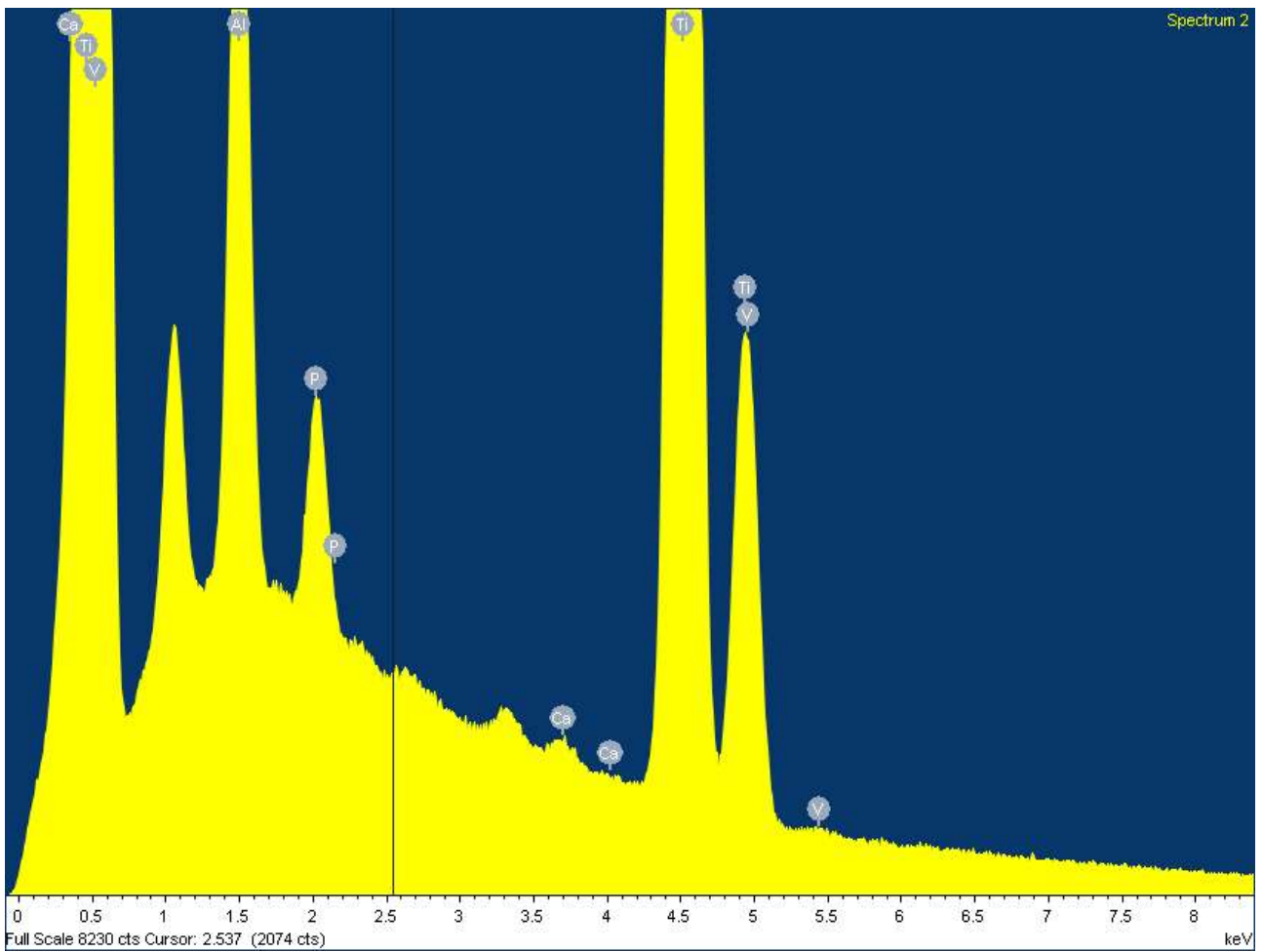
Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

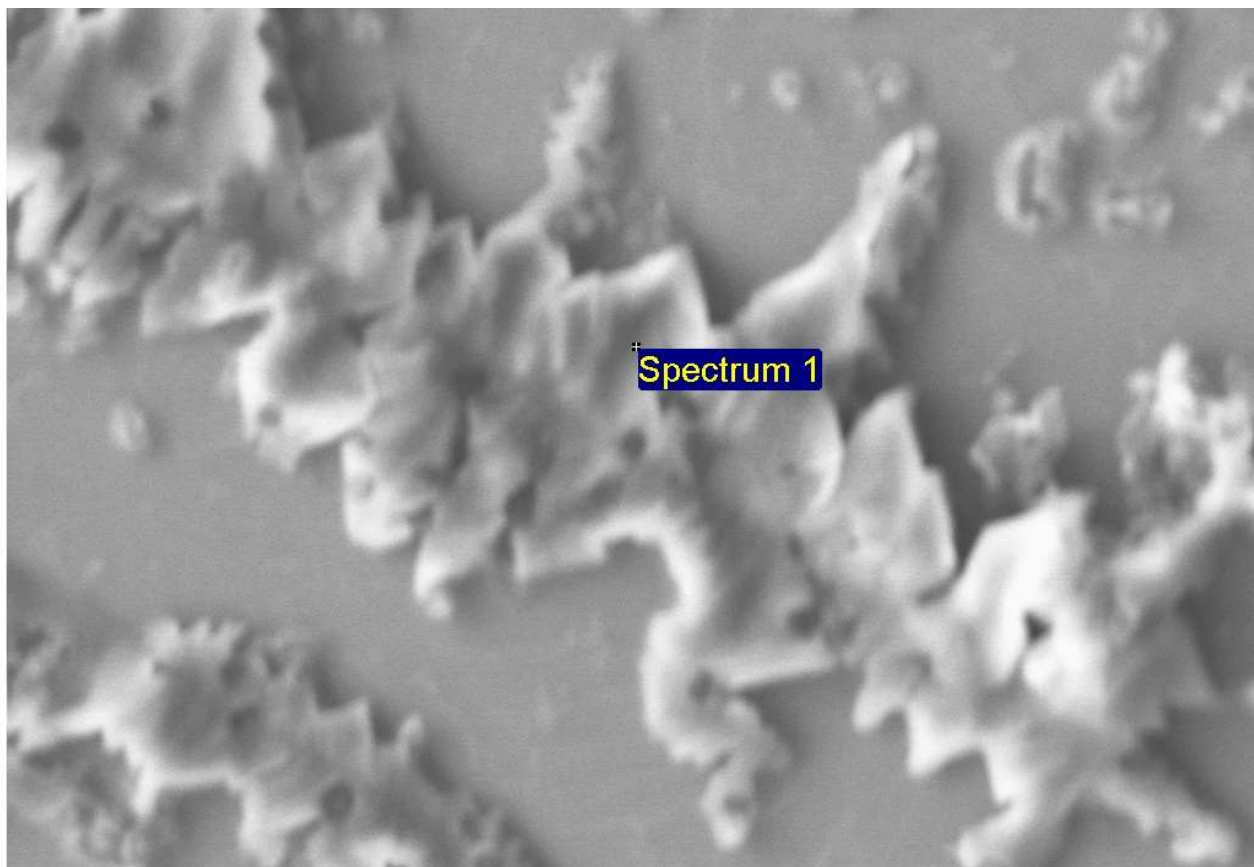
Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

V V 1-Jun-1999 12:00 AM

Comment:

Element	Weight%	Atomic%
Al K	9.06	14.82
P K	2.83	4.03
Ca K	0.36	0.40
Ti K	86.36	79.55
V K	1.39	1.20
Totals	100.00	





20µm

Electron Image 1

Spectrum processing :

Peaks possibly omitted : 2.028, 3.316, 6.056, 6.402, 6.908, 7.242, 7.673, 7.968, 8.410, 8.786, 9.164, 9.587, 9.890, 10.280, 10.820, 11.240, 11.385, 11.860, 13.271, 13.722, 14.172 keV

Processing option : All elements analyzed (Normalised)

Number of iterations = 4

Standard :

Na Albite 1-Jun-1999 12:00 AM

Al Al₂O₃ 1-Jun-1999 12:00 AM

Cl KCl 1-Jun-1999 12:00 AM

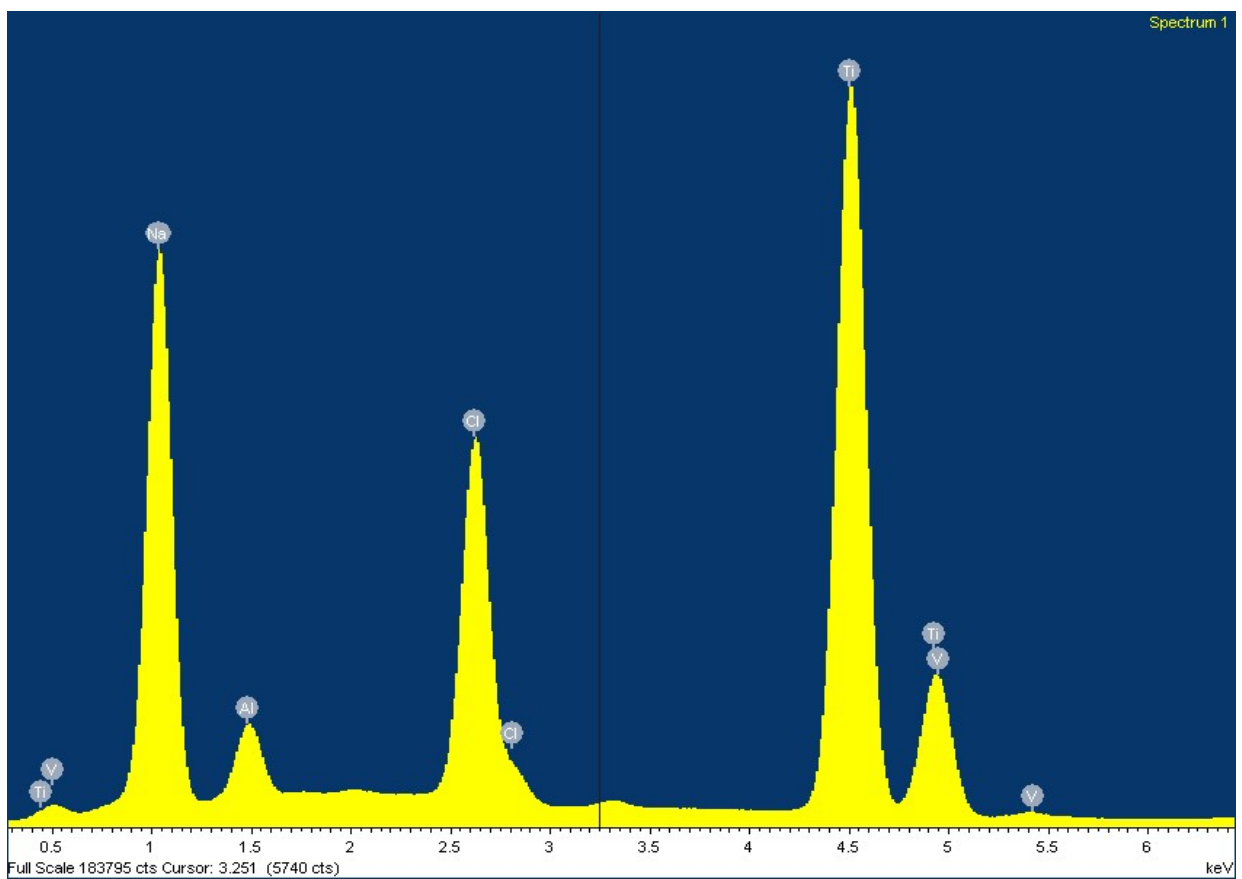
Comment:

INCA

Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

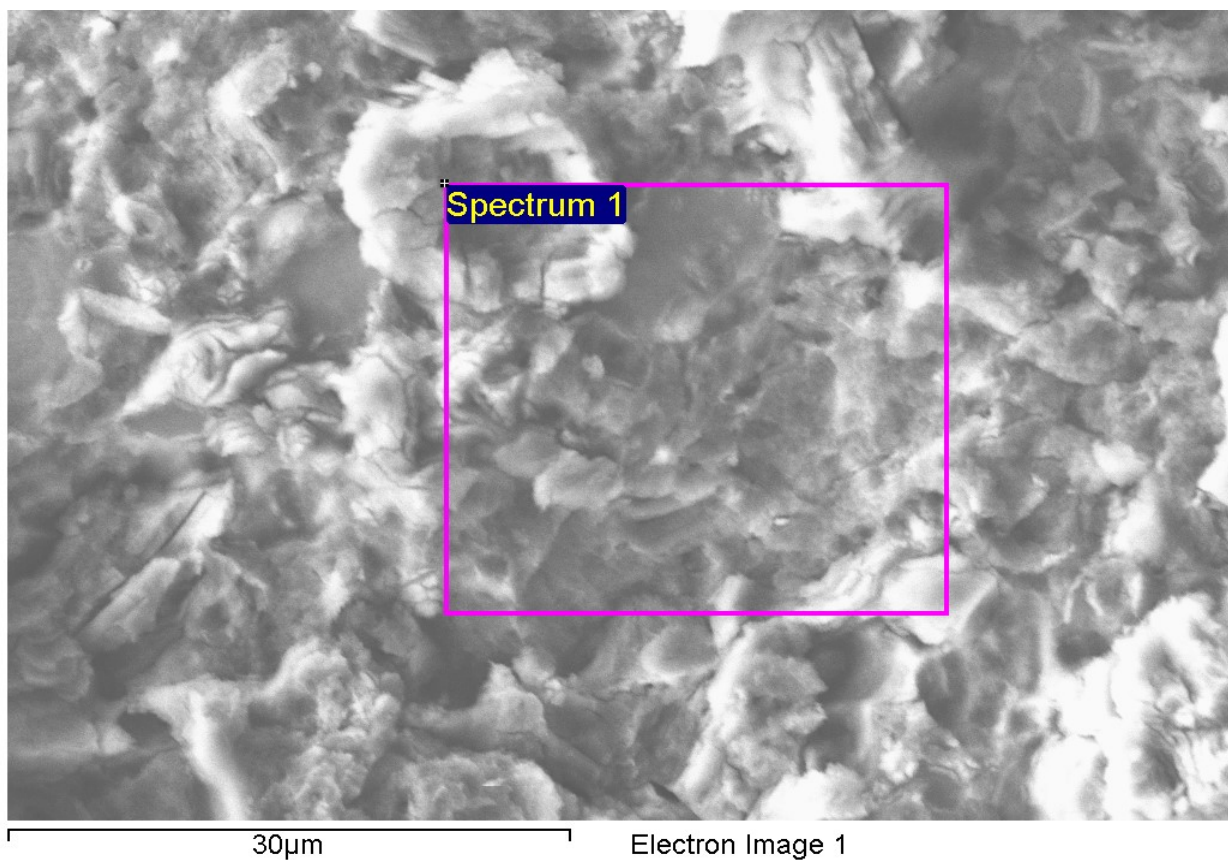
V V 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	Weight%	Atomic%
Na K	24.16	37.96
Al K	2.44	3.26
Cl K	13.71	13.97
Ti K	55.20	41.63
V K	4.48	3.18
Totals	100.00	



Comment:





Spectrum processing :

Peaks possibly omitted : 8.799, 9.132 keV

Processing option : All elements analyzed (Normalised)

Number of iterations = 3

Standard :

Na Albite 1-Jun-1999 12:00 AM

Al Al₂O₃ 1-Jun-1999 12:00 AM

P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

Cl KCl 1-Jun-1999 12:00 AM

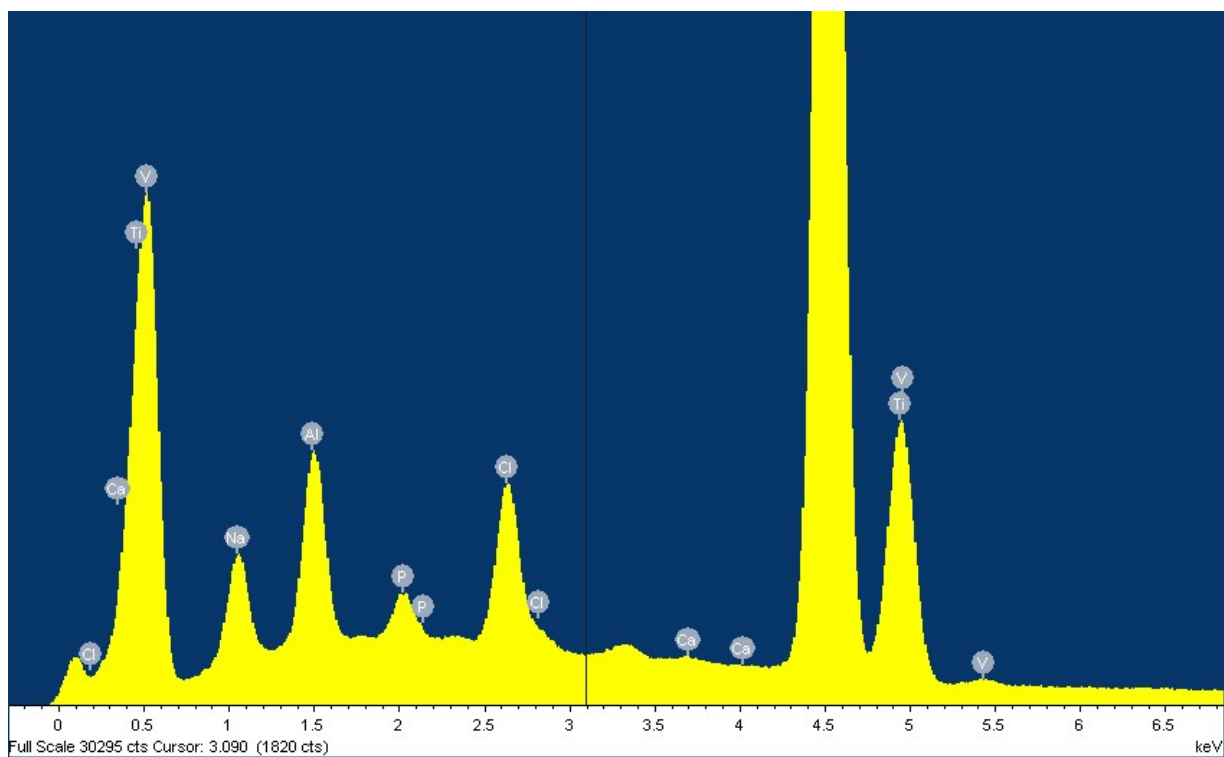
Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

V V 1-Jun-1999 12:00 AM

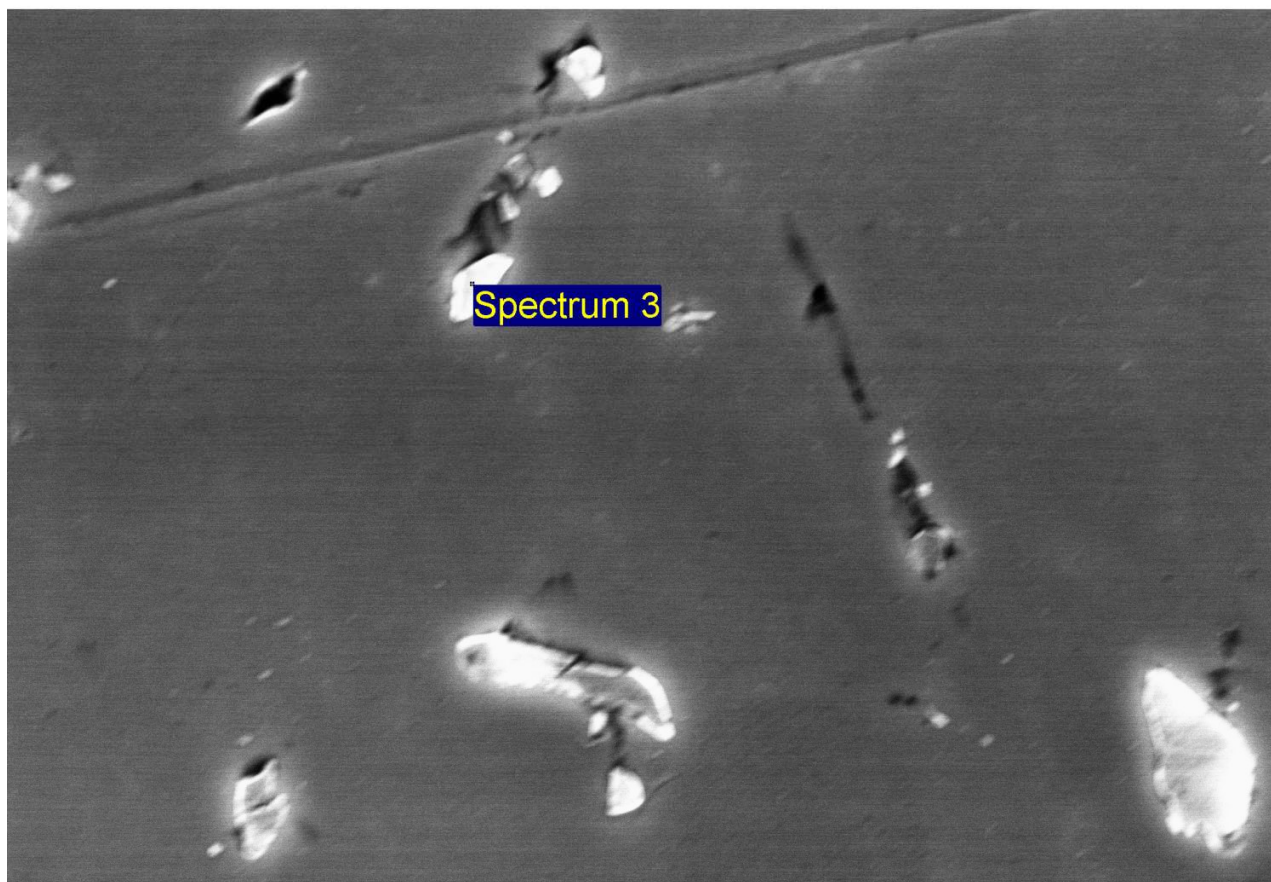
Comment:

Element	Weight%	Atomic%
Na K	4.02	7.64
Al K	4.25	6.88
P K	1.12	1.58
Cl K	4.20	5.17
Ca K	0.18	0.19
Ti K	82.80	75.57
V K	3.45	2.96
Totals	100.00	



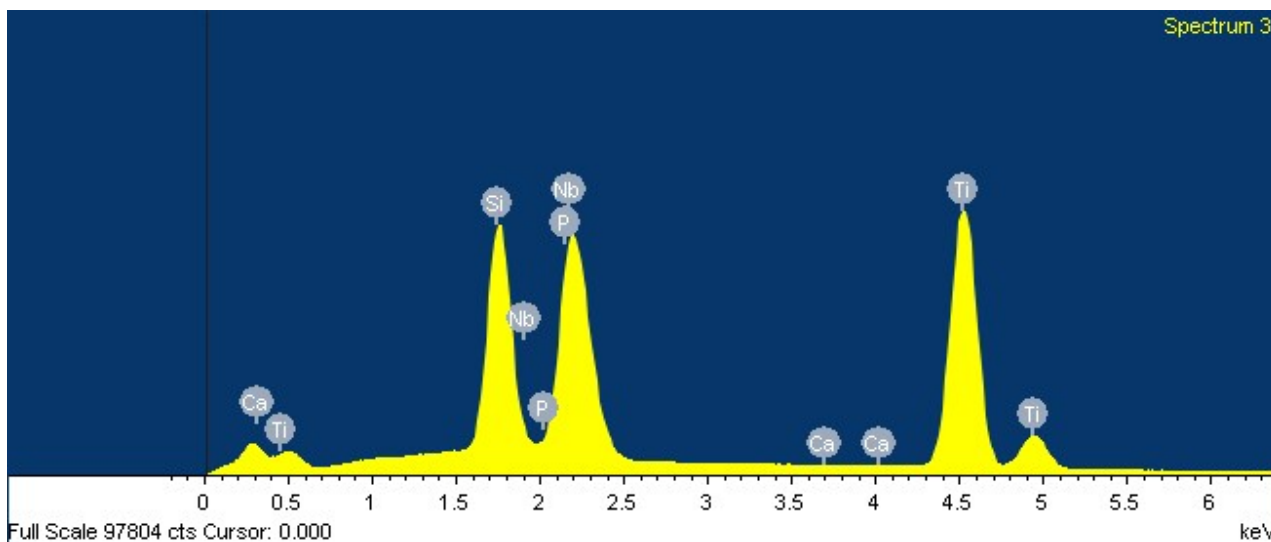
Comment:





10µm

Electron Image 1



Comment:



Spectrum processing :

Peaks possibly omitted : 1.011, 6.388, 9.160 keV

Processing option : All elements analyzed (Normalised)

Number of iterations = 3

Standard :

Si SiO2 1-Jun-1999 12:00 AM

P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

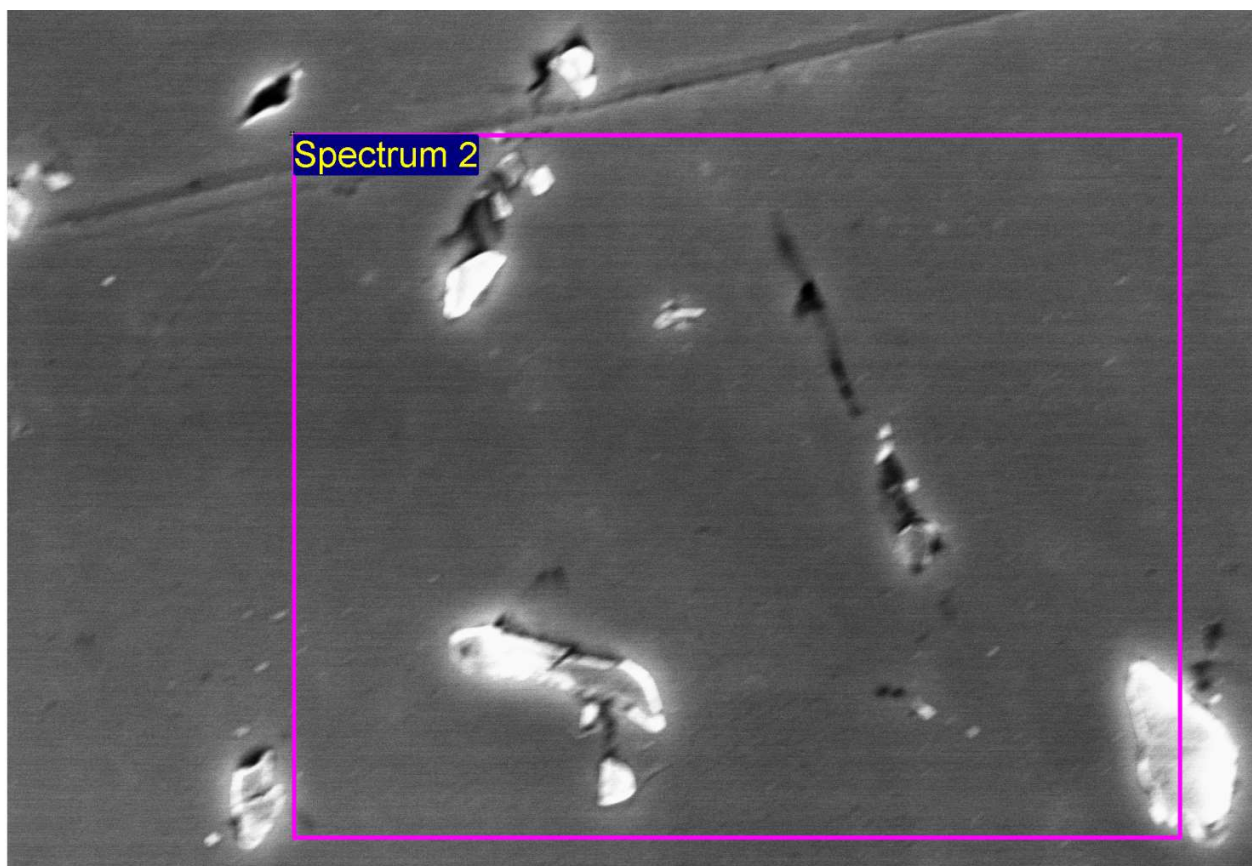
Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Nb Nb 1-Jun-1999 12:00 AM

Element	Weight%	Atomic%
Si K	14.98	27.66
P K	-0.48	-0.81
Ca K	0.05	0.06
Ti K	48.35	52.36
Nb L	37.11	20.72
Totals	100.00	

Comment:



10µm

Electron Image 1

Spectrum processing :

Peaks possibly omitted : 0.988, 8.830, 9.162 keV

Processing option : All elements analyzed (Normalised)

Number of iterations = 2

Standard :

P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

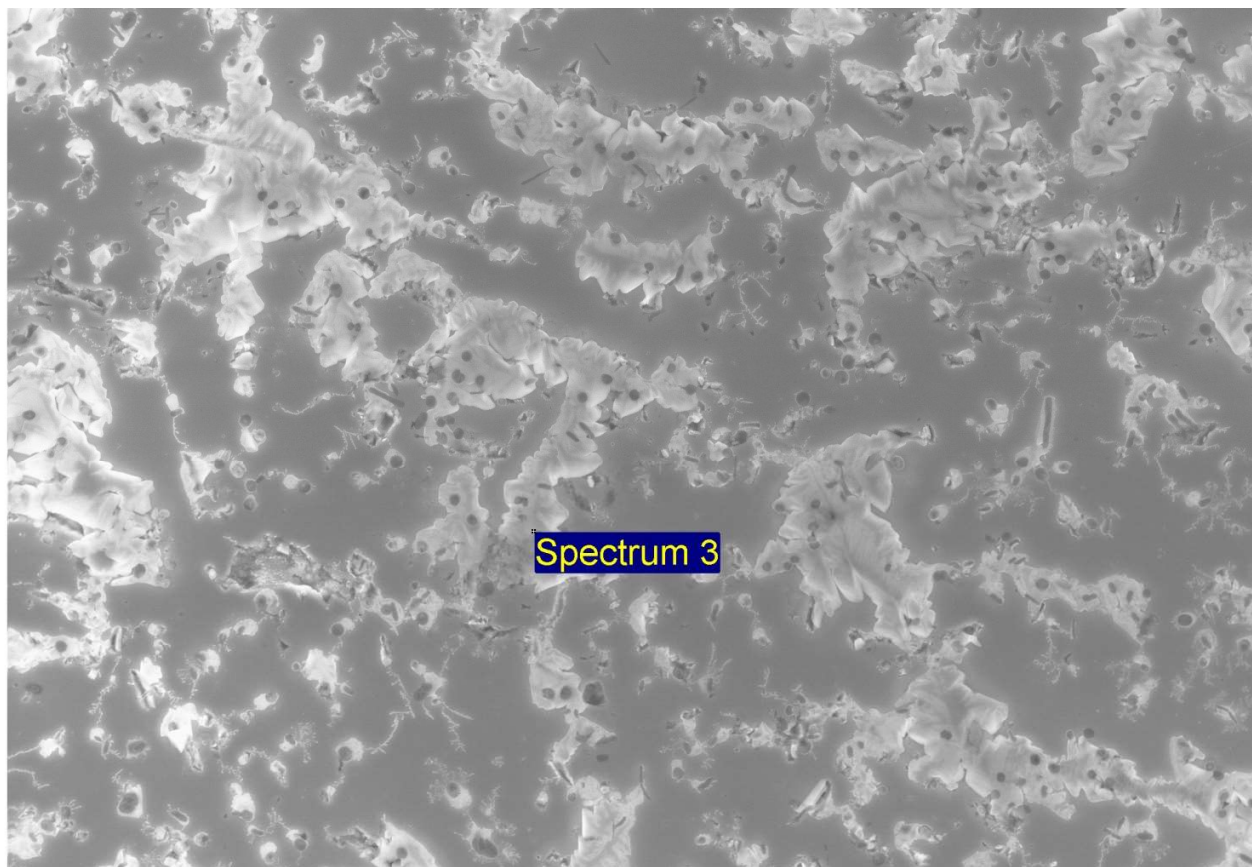
Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Nb Nb 1-Jun-1999 12:00 AM

Comment:

Element	Weight%	Atomic%
P K	-0.97	-1.90
Ca K	-0.01	-0.02
Ti K	59.14	74.67
Nb L	41.84	27.24
Totals	100.00	



60µm

Electron Image 1

Spectrum processing :

Peaks possibly omitted : 6.461, 6.820, 7.220, 7.501, 8.350, 8.775, 9.144 keV

Processing option : All elements analyzed (Normalised)

Number of iterations = 3

Standard :

Na Albite 1-Jun-1999 12:00 AM

Si SiO2 1-Jun-1999 12:00 AM

P GaP 1-Jun-1999 12:00 AM

Ca Wollastonite 1-Jun-1999 12:00 AM

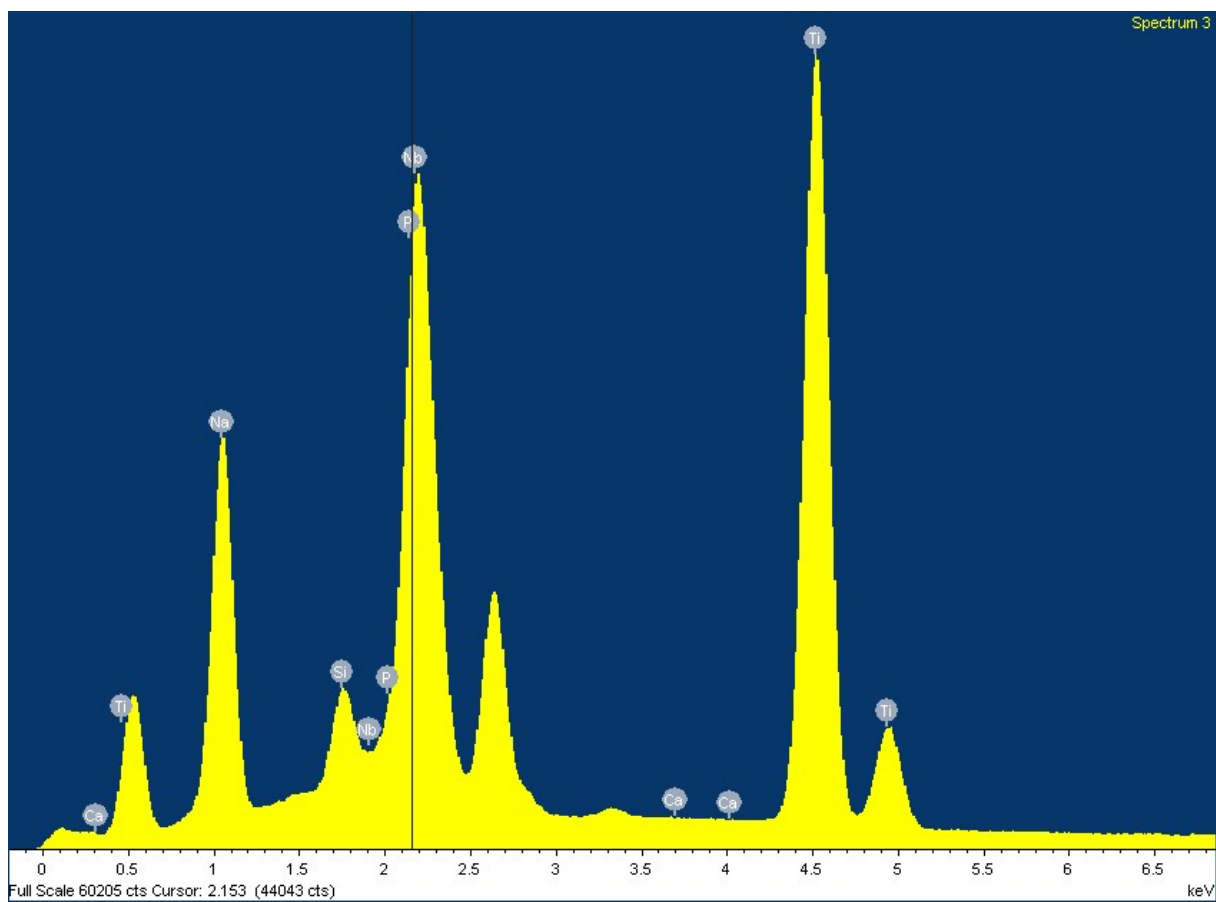
Ti Ti 1-Jun-1999 12:00 AM

Nb Nb 1-Jun-1999 12:00 AM

Comment:



Element	Weight%	Atomic%
Na K	13.47	28.21
Si K	2.32	3.98
P K	1.22	1.90
Ca K	0.04	0.05
Ti K	47.02	47.25
Nb L	35.93	18.62
Totals	100.00	



Comment:

