

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2022

Bc. Nikola Kostková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Studium rozpouštění brushitu ve fyziologickém prostředí  
Diplomová práce

2022

Bc. Nikola Kostková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Nikola Kostková**  
Osobní číslo: **C19587**  
Studijní program: **N0512A130006 Analýza biologických materiálů**  
Téma práce: **Studium rozpouštění brushitu ve fyziologickém prostředí**  
Téma práce anglicky: **The Study Of Brushite Dissolution In Physiological Environment**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

Teoretická část: proveďte literární rešerši v souvislosti se zadaným tématem.

Experimentální část: syntetizujte brushit a proveďte jeho charakterizaci zejména pomocí rentgenové difrakce a termické analýzy. Stanovte rozpustnost brushitu v roztoku kyseliny chlorovodíkové a v syntetické moči. Studujte rozpouštění brushitu v roztoku kyseliny chlorovodíkové a v syntetické moči pomocí kalorimetru s tepelným tokem a získané výsledky analyzujte.

Rozsah pracovní zprávy: **35 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:  
Podle pokynů vedoucí diplomové práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Pavla Honcová, Ph.D.**  
Katedra anorganické technologie  
Konzultant diplomové práce: **Ing. Galina Sádovská, Ph.D.**  
Katedra anorganické technologie  
Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2021**  
Termín odevzdání diplomové práce: **6. května 2022**

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.** v.r.  
děkan

L.S.

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.** v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Studium rozpouštění brushitu ve fyziologickém prostředí jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnici Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Pardubicích dne 5. května 2022

Bc. Nikola Kostková

## PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto cestou poděkovala svojí vedoucí diplomové práce paní doc. Ing. Pavle Honcové, Ph.D. za velmi ochotný a přátelský přístup, cenné poznatky, odborný dohled při práci v laboratoři a nejvíce za čas, který mi po celou dobu věnovala. Dále bych chtěla poděkovat paní Ing. Galině Sádovské, Ph.D. a paní Olze Erbenové za výpomoc při měření. Velké poděkování patří také rodičům a přátelům, kteří mě podporovali po celý čas mého studia.

Diplomová práce vznikla za podpory projektu Modernizace praktické výuky a zkvalitnění praktických dovedností v technicky zaměřených studijních programech, reg. číslo CZ.02.2.67/0.0/0.0/16\_016/0002458 operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání. Tento projekt je spolufinancován Evropskou unií.



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



## **ANOTACE**

Diplomová práce se zabývá studiem rozpouštění brushitu. Teoretická část je zaměřena na mechanismus vzniku močových kamenů, popisuje skupinu ortofosforečnanů vápenatých, do které patří i brushit, a vysvětluje vlastnosti brushitu, především termické vlastnosti a rozpustnost, a také metody jeho charakterizace. V experimentální části se práce zaměřuje na syntézu brushitu a jeho charakterizaci. Hlavní částí této práce je stanovení rozpustnosti a určení změny entalpie rozpouštění brushitu v kyselině chlorovodíkové a syntetické moči. Všechny výsledky jsou diskutovány v poslední části této práce.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

brushit, močové kameny, fosforečnany vápenaté, rozpustnost, kalorimetrie

## **TITLE**

The Study of Brushite Dissolution in Physiological Environment

## **ANNOTATION**

The diploma thesis deals with the study of brushite dissolution. The theoretical part is focused on the mechanism of urinary stones formation, describes the group of calcium orthophosphates, which includes brushite, and explains the properties of brushite, especially thermal properties and solubility, as well as methods for its characterization. In the experimental part, the work is focused on the synthesis of brushite and its characterization. The main part of this work is the determination of the solubility and the determination of the change in enthalpy of brushite dissolution in hydrochloric acid and artificial urine. All results are discussed in the last part of this work.

## **KEYWORDS**

brushite, urinary stones, calcium phosphates, solubility, calorimetry

# OBSAH

Úvod.....	17
1 Teoretická část .....	18
1.1 Močové kameny .....	18
1.1.1 Mechanismus vzniku .....	19
1.1.2 Rizikové faktory .....	22
1.1.3 Metabolické abnormality .....	24
1.1.4 Léčba.....	24
1.2 Fosforečnany vápenaté.....	25
1.3 Brushit.....	28
1.3.1 Termické vlastnosti brushitu.....	30
1.4 Rozpustnost.....	31
1.5 Metody charakterizace látek .....	33
1.5.1 Rentgenová difrakční analýza.....	33
1.5.2 Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie.....	34
1.5.3 Kalorimetrie .....	36
1.5.4 Atomová absorpční spektrometrie .....	42
2 Experimentální část.....	45
2.1 Použité chemikálie .....	45
2.2 Syntéza brushitu .....	45
2.3 Charakterizace brushitu.....	46
2.3.1 Rentgenová difrakční analýza.....	46
2.3.2 Velikost částic.....	46
2.3.3 Hustota a tepelná vodivost.....	46
2.3.4 Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie.....	47
2.4 Příprava syntetické moči .....	48
2.5 Stanovení rozpustnosti brushitu .....	48



2.5.1	Zjednodušený odhad rozpustnosti .....	48
2.5.2	Rozpustnost v rozpouštěcí nádobě.....	49
2.5.3	Přesné stanovení koncentrace metodou AAS .....	50
2.6	Rozpouštění brushitu pomocí kalorimetru C80 .....	51
2.6.1	Rozpouštění v HCl.....	51
2.6.2	Rozpouštění v syntetické moči .....	54
3	Výsledky a diskuze .....	57
3.1	Charakterizace brushitu.....	57
3.1.1	Rentgenová difrakční analýza.....	57
3.1.2	Velikost částic.....	58
3.1.3	Hustota a tepelná vodivost.....	58
3.1.4	Optická mikroskopie.....	60
3.1.5	Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie.....	60
3.2	Stanovení rozpustnosti brushitu .....	65
3.2.1	Zjednodušený odhad rozpustnosti .....	65
3.2.2	Rozpustnost v rozpouštěcí nádobě.....	66
3.2.3	Stanovení koncentrace Ca metodou AAS.....	68
3.3	Kalorimetrie .....	71
3.3.1	Rozpouštění v HCl.....	72
3.3.2	Rozpouštění v syntetické moči .....	75
3.3.3	Změna entalpie rozpouštění v závislosti na pH .....	79
4	Závěr .....	81
5	Seznam použité literatury .....	83

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Schéma tvorby kamenů od nukleace po klinický kámen. Každý proces je modulován bilancí promotorů nebo inhibitorů.....	19
Obrázek 2: Fyzikálně-chemické mechanismy tvorby ledvinových kamenů .....	22
Obrázek 3: Patogeneze ledvinových kamenů .....	23
Obrázek 4: Nález BRU kamenů v pravé ledvině metodou CT.....	25
Obrázek 5: Změny pH iontových koncentrací v rovnováze pro roztoky kyseliny fosforečné. Rozdílné pH mění relativní koncentrace čtyř protonovaných forem fosforečné kyseliny, a tím jak chemické složení, tak množství krystaly fosforečnanu vápenatého.....	26
Obrázek 6: A – schéma vazby mezi atomy v jedné z vrstev o složení $\text{CaPO}_4$ . B – síly vazby v krystalové struktuře BRU.....	29
Obrázek 7: Krystalová struktura BRU. Čtyřstěny představují skupiny $\text{PO}_4^-$ , největší kuličky představují atomy Ca, střední kuličky atomy O a nejmenší atomy H.....	29
Obrázek 8: Fyzický vzhled BRU .....	30
Obrázek 9: Diagram rozpustnosti, kde se koncentrace vápníku mění v závislosti na pH v roztocích nasycených různými solemi .....	32
Obrázek 10: Grafická prezentace Braggova zákona.....	34
Obrázek 11: XRD záznam BRU – měřený vzorek (modrá křivka) a záznam z databáze (černá křivka) .....	34
Obrázek 12: Termická analýza brushitu a identifikace teplot fázových transformací (červeně křivka DSC a hodnoty jsou uvedeny na ose y vlevo, modře křivka TGA je zobrazena a hodnoty jsou uvedeny na ose y vpravo).....	36
Obrázek 13: A – Kalorimetr C80 od firmy Setaram; B– průřez kalorimetru; C – průřez prostoru cely s termočláňkovými prstenci .....	39
Obrázek 14: Reverzní míchací cela .....	40
Obrázek 15: Schéma kalibrační jednotky .....	41
Obrázek 16: Kalibrační křivka – naměřená (černá) a upravená (červená) .....	41
Obrázek 17: Schéma atomového absorpčního spektrometru.....	42
Obrázek 18: Kalibrační křivka získaná metodou AAS.....	44
Obrázek 19: A a B – víčko s otvory pro teploměr, elektrodu a zpětnou hadičku, C – skleněná nádoba s celou pro rozpouštění BRU.....	49
Obrázek 20: Difraktogram BRU – syntetizovaný vzorek a karta z databáze .....	57

Obrázek 21: Záznam z měření velikosti částic syntetizovaného BRU .....	58
Obrázek 22: Snímek optického mikroskopu – typický tvar krystalů připraveného BRU .....	60
Obrázek 23: Závislost hmotnosti vzorku na teplotě termogravimetrické analýzy pro rychlost ohřevu 10 K/min, včetně její derivace dTG a vyhodnocení hmotnostních úbytků .....	61
Obrázek 24: Závislost tepelného toku na teplotě z DSC pro rychlost ohřevu 10 K/min, včetně vyhodnocení pozorovaných píků .....	61
Obrázek 25: TGA křivka BRU .....	62
Obrázek 26: dTG křivka BRU .....	62
Obrázek 27: Porovnání závislostí efektu 1 u metod TGA a DSC .....	65
Obrázek 28: Závislost koncentrace vápníku (vápníková elektroda) na čase při stanovení rozpustnosti BRU ve vodě.....	67
Obrázek 29: Závislost koncentrace vápníku (vápníková elektroda) na čase při stanovení rozpustnosti BRU v moči .....	68
Obrázek 30: Kalibrační křivka metody AAS pro stanovení koncentrace Ca ve vodě.....	68
Obrázek 31: Kalibrační křivka metody AAS pro stanovení koncentrace Ca v moči .....	70
Obrázek 32: Rozpouštění 25, 20, 15 a 10 mg BRU v HCl při 30 °C v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV .....	73
Obrázek 33: Rozpouštění 20, 15 a 10 mg BRU v moči při 30 °C v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV .....	75
Obrázek 34: Porovnání rozpouštění BRU v moči a HCl .....	77
Obrázek 35: Rozpouštění 30, 25 a 20 mg BRU v moči při 37 °C v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV .....	78
Obrázek 36: Porovnání rozpouštění BRU v moči při obou teplotách v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV .....	79
Obrázek 37: Závislost změny entalpie na pH .....	80

Tabulka 1: Nejběžnější ortofosforečnany vápenaté.....	27
Tabulka 2: Hodnoty rozpustností nejběžnějších ortofosforečnanů vápenatých ve vodě.....	32
Tabulka 3: Seznam použitých chemikálií.....	45
Tabulka 4: Roztoky pro výrobu syntetické moči, koncentrace jednotlivých látek v jednotkách mol/l a v g/500 ml.....	48
Tabulka 5: Stanovení parametrů pro rozpouštění v HCl v kalorimetru C80.....	52
Tabulka 6: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 25 mg při 30 °C.....	52
Tabulka 7: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 20 mg při 30 °C.....	52
Tabulka 8: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 15 mg při 30 °C.....	53
Tabulka 9: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 10 mg při 30 °C.....	53
Tabulka 10: Stanovení parametrů pro rozpouštění v umělé moči v kalorimetru C80.....	54
Tabulka 11: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 20 mg při 30 °C.....	54
Tabulka 12: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 15 mg při 30 °C.....	54
Tabulka 13: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 10 mg při 30 °C.....	55
Tabulka 14: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 30 mg při 37 °C.....	55
Tabulka 15: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 25 mg při 37 °C.....	55
Tabulka 16: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 20 mg při 37 °C.....	55
Tabulka 17: Mřížkové parametry z XRD analýzy.....	58
Tabulka 18: Naměřené hodnoty pro získání hustoty: hmotnost prázdného odměrného válce a naplněného vzorkem, hmotnost vzorku ve válci $\Delta m$ , sypný a setřesný objem vzorku, sypná a setřesná hustota BRU.....	59
Tabulka 19: Hodnoty efuzivity a koeficientu tepelné vodivosti pro uvedenou teplotu.....	59
Tabulka 20: TGA/DSC parametry efektu 1 při fázové přeměně BRU.....	63
Tabulka 21: TGA/DSC parametry efektu 2 při fázové přeměně BRU.....	63
Tabulka 22: TGA/DSC parametry efektu 3 při fázové přeměně BRU.....	64
Tabulka 23: Aktivační energie z křivek TGA a DSC.....	65
Tabulka 24: Výsledky odhadu rozpustnosti a stanovení parametrů pro měření v HCl.....	66
Tabulka 25: Výsledky odhadu rozpustnosti a stanovení parametrů pro měření v moči.....	66
Tabulka 26: Naměřené absorbance a koncentrace Ca ve vodě metodou AAS.....	69
Tabulka 27: Rozpustnost BRU ve vodě při 25 a 37 °C.....	69
Tabulka 28: Naměřené absorbance a koncentrace Ca v moči metodou AAS.....	70
Tabulka 29: Rozpustnost BRU v moči při 25 °C, kde je koncentrace původní stanovená metodou AAS přepočítaná s ohledem na odchylku kontrolních vzorků; součin rozpustnosti a jeho logaritmus.....	71

- Tabulka 30: Výsledky rozpouštění 25 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....73
- Tabulka 31: Rozpouštění 20 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....73
- Tabulka 32: Rozpouštění 15 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....74
- Tabulka 33: Rozpouštění 10 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....74
- Tabulka 34: Rozpouštění 20 mg BRU ve 4 ml moči při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....76
- Tabulka 35: Rozpouštění 15 mg BRU ve 4 ml moči při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....76
- Tabulka 36: Rozpouštění 10 mg BRU ve 4 ml moči při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....76
- Tabulka 37: Rozpouštění 30 mg BRU ve 4 ml moči při 37 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....78
- Tabulka 38: Rozpouštění 25 mg BRU ve 4 ml moči při 37 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....78
- Tabulka 39: Rozpouštění 20 mg BRU ve 4 ml moči při 37 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD .....79

## SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	atomová absorpční spektrometrie
BRU	brushit
CaOc	octan vápenatý
CaOx	šřavelan vápenatý
CaP	fosforečnan vápenatý
CAS	identifikační číslo chemikálie
CT	výpočetní tomografie
DCPA	hydrogenfosforečnan vápenatý, monetit
DCPD	dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého
dRTA	distální renální tubulární acidóza
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
dTG	derivační termogravimetrická křivka
ESWL	extrakorporální litotrypse rázovou vlnou
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
FL-AAS	plamenová atomová absorpční spektrometrie
HA	hydroxyapatit
hCG	choriový gonadotropin
HCL	dutá katodová lampa
HCl	kyselina chlorovodíková
MCPA	dihydrogenfosforečnan vápenatý
MCPM	monohydrát dihydrogenfosforečnanu vápenatého
PHA	precipitovaný hydroxyapatit
PHPT	primární hyperparathyreóza

PNL	perkutánní nefrolitotomie
RTA	renální tubulární acidóza
RTG	rentgen
TGA	termogravimetrická analýza
TTCP	tetrakalcium fosfát
URS	ureteroskopická litotrypse
XRD	rentgenová difrakční analýza
<i>A</i>	plocha pod křivkou [ $V \cdot s$ ]
<i>Abs</i>	absorbance [nm]
<i>C<sub>p</sub></i>	tepelná kapacita [ $J \cdot kg \cdot K^{-1}$ ]
<i>c</i>	koncentrace [mol/l]
<i>d</i>	mezirovinná vzdálenost [nm]
<i>E</i>	aktivační energie [J/g]
<i>e</i>	efuzivita [ $W \cdot s^{1/2} \cdot m^{-2} \cdot K^{-1}$ ]
$\Delta H$	změna entalpie [J/g]
$\Delta H_{prům}$	průměrná změna entalpie [J/g]
<i>K</i>	proporcionální faktor
<i>K<sub>s</sub></i>	součin rozpustnosti [(mol/l) <sup>2</sup> ]
<i>K<sub>sp</sub></i>	produkt termodynamické rozpustnosti [(mol/l) <sup>2</sup> ]
<i>k</i>	koeficient tepelné vodivosti [ $W \cdot m^{-1} \cdot K^{-1}$ ]
<i>k<sub>k</sub></i>	kalibrační konstanta [W/V]
<i>l</i>	tloušťka vrstvy [cm]
<i>m</i>	hmotnost [g]

$m_{pr}$	hmotnost prázdné nádoby [g]
$m_{roz}$	hmotnost naplněné nádoby [g]
$m_w$	hmotnost naplněné nádoby vodou [g]
$\Delta m$	změna hmotnosti [g]
$n$	řád interference
$P$	příkon [mW]
$Q$	teplo [J]
$R$	molární plynová konstanta [ $\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ]
$R^2$	koeficient determinace
SD	směrodatná odchylka
$r$	rozsah [mV]
$T$	teplota [ $^{\circ}\text{C}$ ]
$T_{exp}$	známá teplota [ $^{\circ}\text{C}$ ]
$T_p$	teplota maxima píku [ $^{\circ}\text{C}$ ]
$\Delta T$	změna teploty [ $^{\circ}\text{C}$ ]
$t$	čas [s]
$U$	napětí [V]
$V$	objem [ml]
$\beta$	rychlost ohřevu [K/min]
$\varepsilon$	molární absorpční koeficient [ $\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]
$\lambda$	vlnová délka [nm]
$\rho$	hustota [ $\text{kg}/\text{m}^3$ ]
$\theta$	difrakční úhel [ $^{\circ}$ ]



## ÚVOD

Ledvinové a močové kameny jsou onemocněním, které sužuje lidstvo už od počátku civilizace. Paleopatologie dokumentuje jejich výskyt v dochovaných mumiích z dob před 7000 lety po celém světě. Ledvinové a močové kameny jsou běžné v průmyslově vyspělých zemích, vyskytují se u 6 % žen a až 15 % mužů [1, 2].

Ledvinové a močové kameny se vyskytují v ledvinové pánvičce, močovodu nebo močovém měchýři. Kalcifikace se může vyskytovat i roztroušeně po celém ledvinovém parenchymu (nefrokalcinóza). Přítomnost kamenů může vést k obstrukci ledvinových cest. Průchod kamene způsobuje ledvinovou koliku, která je spojena se silnou bolestí [3].

Navzdory mnoha výzkumům jsou procesy podílející se na tvorbě kamenů stále nedostatečně pochopeny. Patogeneze jejich tvorby je vícestupňový proces, jenž zahrnuje nukleaci, růst krystalů, agregaci a jejich retenci. Různé látky v těle mají vliv na jeden nebo více z výše uvedených kamenotvorných procesů, a tím mohou tvorbu podporovat, nebo jí předcházet. Tvorbu kamenů ovlivňují močové promotory, jako je vápník, urát, cystin a sodík, a močové inhibitory, například hořčík, citrát a nefrokalcin. Akutní renální koliku může vyvolat dehydratace a snížený výdej moči, zvýšený příjem bílkovin, náročné fyzické cvičení a různé léky [2, 4, 5].

Akutní terapie zahrnuje kompletní úlevu od bolesti, rehydrataci a podporu diurézy. Dlouhodobá léčba zahrnuje edukaci pacientů s ohledem na dietu a příjem tekutin, kontrolu kalciurie, substituci citrátu a léčbu jakékoli základní infekce močových cest nebo metabolické abnormality. Kameny menší než 5 mm procházejí spontánně, zatímco větší kameny velké až 2 cm je nejvhodnější léčit mimotělní litotrypsí rázovou vlnou [2].

Dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), jinak také známý pod minerálním názvem brushit (BRU), se řadí do skupiny ortofosforečnanů. Rozpouští se rychleji než většina ostatních vápníkových minerálů, včetně dalších fází fosforečnanů vápenatých, uhličitanů vápenatých a šřavelanů vápenatých. V lidském těle může tato pohotová tvorba a rozpouštění hrát významnou roli při určitých onemocnění, jako jsou právě ledvinové a močové kameny. Je považován za jeden z možných prekurzorů biologických apatitů, neboť byl detekován u několika patologických kalcifikací zahrnujících močové kameny, zubní kameny a zvápenatělé aortální chlopně [6, 7].

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Močové kameny

Jak již bylo zmíněno v úvodu, onemocnění ledvinovými či močovými kameny, známá také jako nefrolitiáza nebo urolitiáza, jsou jedním z nejstarších onemocnění, která medicína zná. Jsou způsobena přítomností kamenů a kalcifikací v močovém traktu. Ačkoli se většina kamenů zpočátku tvoří v ledvinách, nejsou vyloučeny mechanismy tvorby kdekoli v proximálních částech močových cest za přítomnosti vrozených urogenitálních abnormalit, močových obstrukcí a infekcí. Urolitiáza vzniká, když krystaly, ze kterých se kámen skládá, přesycují moč, protože jsou přítomny ve vysoké koncentraci, a začnou se shromažďovat a krystalizovat v parenchymu ledvin a vznikají ledvinové kameny. Tyto krystaly se mohou agregovat a dále se zvětšovat s potenciálem migrovat do močovodu a stát se symptomatickými. Pokud kámen způsobuje obstrukci a neumožňuje průchod moči močovodem, může vzniknout i hydronefróza [8, 9, 10].

Hlavní složky matrice kamenů tvoří 2–3 % jejich celkové suché hmotnosti a sestávají z makromolekul obecně přítomných v moči. Jedná se o látky v množství 64 % bílkovin, 10 % cukrů (vyjma aminocukrů), 5 % hexosaminu, 10 % vázané vody a zbytek jako anorganický popel [5].

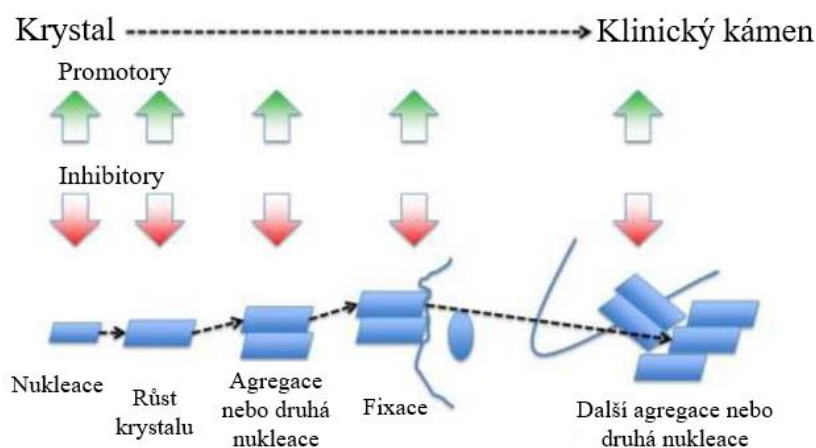
Ledvinové kameny lze obecně rozdělit na vápenaté a nevápenaté. Nejběžnějšími typy jsou šťavelany vápenaté (CaOx) a fosforečnany vápenaté (CaP). Podle mineralogického složení se rozlišuje především pět typů ledvinových kamenů, mezi které patří CaOx (65,9 %), karbapatit (15,6 %), urát (12,4 %), struvit (2,7 %) a brushit (1,7 %). CaOx a urátové kameny vykazují vyšší výskyt u mužů, zatímco vyšší procento karbapatitových a struvitových kamenů je pozorováno u žen [10].

Bez ohledu na typ kamene se u pacientů vyskytuje podobná řada příznaků, od asymptomatických po kriticky závažné. Onemocnění má pozvolný až náhlý nástup jednostrannou kolikovou bolestí břicha či boku, která může narůstat, ale i ustoupit. Dalšími příznaky jsou hematurie, nevolnost, zvracení a zvýšená teplota. U pacientů s těžkou infekcí nebo dokonce sepsí je často přítomna hemodynamická nestabilita. Analýza moči s mikroskopií může poukázat nejen na hematurii, ale i na +/- leukocytární esterázu, +/- dusitany a bílé krvinky, hCG v moči (u žen v reprodukčním věku), kyselinu mléčnou, hemokultury a další. Bez řádné léčby mohou ledvinové kameny vyvrcholit v trvalé funkční

poškození ledvin. Odhaduje se, že tato onemocnění za život potkají 1–15 % jedinců. Urolitiáza má 50% recidivitu během 5–10 let a 75% během 20 let [8, 10].

### 1.1.1 Mechanismus vzniku

Bez ohledu na typ je tvorba kamenů komplexní a vícestupňový proces, který zahrnuje přesycení moči (supersaturaci), nukleaci krystalů, jejich růst a agregaci do velikosti, která může interagovat s nějakou intrarenální strukturou. Dochází k retenci v ledvinách nebo ledvinovém sběrném systému a další agregaci nebo sekundární nukleaci za vzniku klinického kamene. Tento proces je zaznamenán na obrázku 1. Krystaly se tvoří buď v renální tubulární tekutině, nebo v renální intersticiální tekutině, která je přesycena těmito složkami [10, 11].



Obrázek 1: Schéma tvorby kamenů od nukleace po klinický kámen. Každý proces je modulován bilancí promotorů nebo inhibitorů [11]

#### 1) Supersaturace

Tvorba ledvinových kamenů je důsledkem zvýšeného přesycení moči s následnou tvorbou krystalických částic. Přesycení je hnací silou pro krystalizaci v roztocích, jako je moč. Když se sůl přidá do rozpouštědla, rozpouští se v rozpouštědle tak dlouho, dokud se nedosáhne konkrétní koncentrace, za kterou již není další rozpouštění možné. V tomto okamžiku se říká, že rozpouštědlo je nasyceno solí. Pokud se přidá více soli, krystalizuje v roztoku za předpokladu, že se teplota a pH nezmění. Koncentrace, při které je dosaženo nasycení a začíná krystalizace, se nazývá produkt termodynamické rozpustnosti ( $K_{sp}$ ), resp. součin rozpustnosti ( $K_s$ ) [5, 12].

## 2) Nukleace

Nukleace je počáteční krok při přeměně z kapalné fáze na pevnou v přesyceném roztoku. Volné ionty v roztoku se sdružují do mikroskopických částic. Nuklea tvoří první krystaly, které se nerozpouštějí a mají charakteristický mřížkový tvar. Krystalizace může nastat jak v mikroprostředí roztoku v určitých částech nefronu, tak i na povrchích, jako jsou buňky a extracelulární matrix. V moči se jádra obvykle tvoří na existujících povrchích, což je proces nazývaný heterogenní nukleace. Saturace nutná pro heterogenní nukleaci je mnohem menší než pro homogenní nukleaci. Jakmile je jádro vytvořeno a ukotveno, může krystalizace nastat při nižších chemických hnacích silách, než je zapotřebí pro vytvoření iniciačního jádra [5, 11].

## 3) Růst krystalů

Jakmile krystalové jádro dosáhne kritické velikosti a relativní hodnota přesycení zůstane nad 1, celková volná energie se sníží přidáním nových krystalových složek do jádra. Tento proces se nazývá růst krystalů. Růst krystalů je jedním z předpokladů pro tvorbu částic, a tím tedy i pro tvorbu kamenů [5].

## 4) Agregace

Pojem agregace znamená, že dochází ke spojování krystalů, které se tvoří ve volném roztoku, do větších vícesložkových částic. Může také zahrnovat fenomén sekundární nukleace nových krystalů na povrchu již vytvořených krystalů. Struktura kamenů naznačuje, že jeden nebo druhý z těchto procesů musí proběhnout, aby kámen dorostl do klinicky významné velikosti. Ledvinové kameny jsou následkem agregace krystalů a organické matrice, která slouží jako pojivo. Organická matrice obsahuje proteiny, lipidy, polysacharidy a další materiál pocházející z buněk. Jedná se o nejdůležitější krok při tvorbě ledvinových kamenů [5, 11].

### **1.1.1.1 Fyzikálně-chemický mechanismus vzniku kamenů**

Přesycení moči a krystalizace jsou hnací silou pro intrarenální precipitaci krystalů a jsou způsobeny především dědičnými nebo získanými chorobami spojenými s poruchou funkce ledvin. Přesycení moči a krystalizace jsou navíc ovlivněny pH moči a specifickými koncentracemi přebytečných látek, včetně CaOx, CaP, močových kyselin a urátů, aminokyselin (cystein), purinů a léků (např. amoxicilin, sulfamethoxazol). Kromě toho je tvorba a vývoj krystalů ovlivněna modulátorovými molekulami, které jsou známé jako receptory, promotory a inhibitory [10, 13, 14].

### **a) Promotory**

Řada receptorů či jejich funkcí hraje významnou roli v interakci krystal-buňka, která je uznávána jako nejdůležitější proces pro retenci krystalů v ledvinách. Proteiny, glykosaminoglykany (jako je CD44), nukleolin, hyaluronová kyselina, protein tepelného šoku 90 a další působí jako modulátory tvorby kamenů. Ionty vápníku, šřavelanu, urátů a fosforečnanů jsou hlavními promotory tvorby krystalů, neboť podporují krystalizaci složek kamenů či jejich agregaci aktivací několika mechanismů. Vyšší koncentrace v séru působí jako promotor v litogenezi, která je přímo regulována receptorem citlivým na vápník prostřednictvím různých drah. Urátové a fosfátové ionty podporují heterogenní nukleaci a zvyšují přichycení krystalů k epitelům. Vysoce alkalická moč může také podporovat precipitaci a nukleaci krystalů CaOx. Lysozym a laktoferin jsou dva nejnověji identifikované proteiny, které podporují růst CaOx monohydrátu prostřednictvím zvýšení rychlosti postupu vrstvy na povrchu krystalů [10, 11, 15].

### **Kyselina močová a uráty**

Zdá se, že urát monosodný přímo redukuje produkt tvorby šřavelanu vápenatého. Mechanismus tohoto účinku je pravděpodobně způsoben jeho antagonistickým účinkem na látky v moči, které zvyšují produkt tvorby, konkrétně ten, který lze připsat mukopolysacharidům. Krom tohoto efektu může docházet k podpoře heterogenní nukleace kyselinou močovou nebo urátem sodným a posílení vazby šřavelanu vápenatého na buňky [11].

### **pH moči**

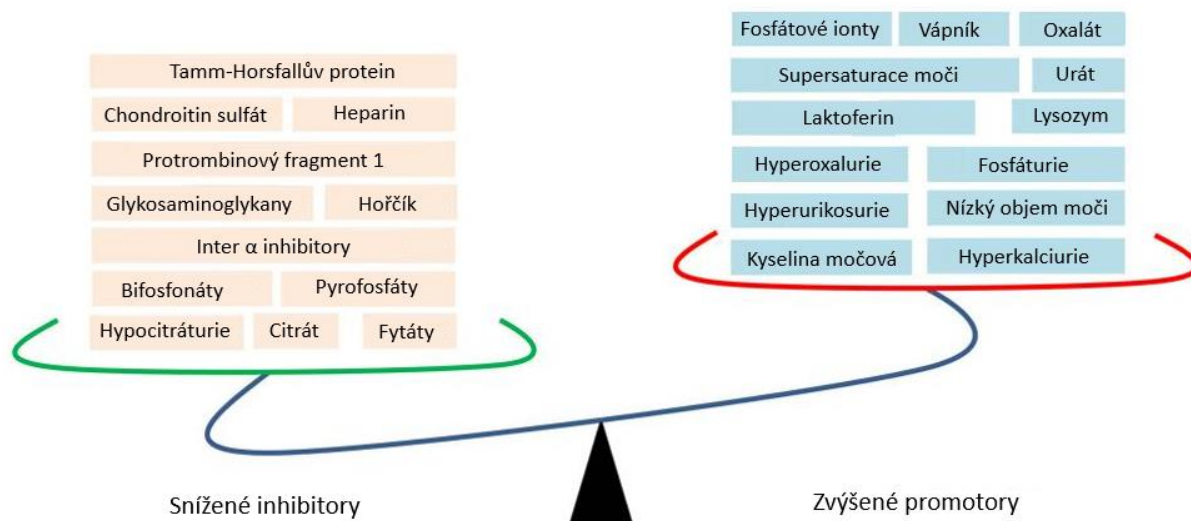
Systémový acidobazický stav a pH moči mají zásadní vliv na schopnost ledvin vylučovat nebo reabsorbovat metabolity a rozpuštěné látky, které přispívají k riziku tvorby močových kamenů. Změny pH moči mohou být způsobeny genetickými variantami nebo mutacemi v transportních cestách, způsobem životního stylu, nebo metabolická onemocnění. Nevhodně kyselá nebo zásaditá moč ovlivňuje rozpustnost různých metabolitů a solí [15].

Kyselé pH moči vede nejen k precipitaci krystalů cystinu a kyseliny močové, a tudíž i ke vzniku kamenů, ale i ke zvýšení krystalizace šřavelanu vápenatého v důsledku heterogenní krystalizace. Alkalická moč zase snižuje rozpustnost produktů fosforečnanu vápenatého, protože podporuje krystalizaci kamenů obsahujících vápník a fosfát [11, 15].

## b) Inhibitory

Normální moč obsahuje četné inhibitory, které působí jak kompetitivně, tak v kooperaci, a následně snižují krystalizaci a inhibují agregaci krystalů nebo adhezi k buňkám tubulárního epitelu. Tyto inhibitory lze rozdělit do tří skupin: anionty, kationty kovů a makromolekuly. Anionty, jako je citrát, mohou velmi účinně inhibovat růst krystalů při koncentracích nad 0,1 mmol/l. Kovové kationty, jako je hořčík, inhibují růst a agregaci krystalů, což je synergické s citrátem v kyselém prostředí. Makromolekuly jsou neúčinnějšími inhibitory růstu krystalů. Přesněji řečeno, Tamm-Horsfallův protein, urinární protrombinový fragment a nefrokalcin jsou schopny inhibovat růst krystalů, agregaci a adhezi k tubulárním buňkám [5, 10, 16].

Existuje však konkurence mezi přesycením a inhibitory krystalizace. V důsledku zvýšeného množství promotorů a sníženého množství inhibitorů je pozorována tvorba krystalů a výskyt ledvinových kamenů. Předpokládá se, že snížené inhibitory (levý panel na Obr. 2) a zvýšené promotory (pravý panel na Obr. 2) hrají zásadní roli při tvorbě ledvinových kamenů [10, 17].



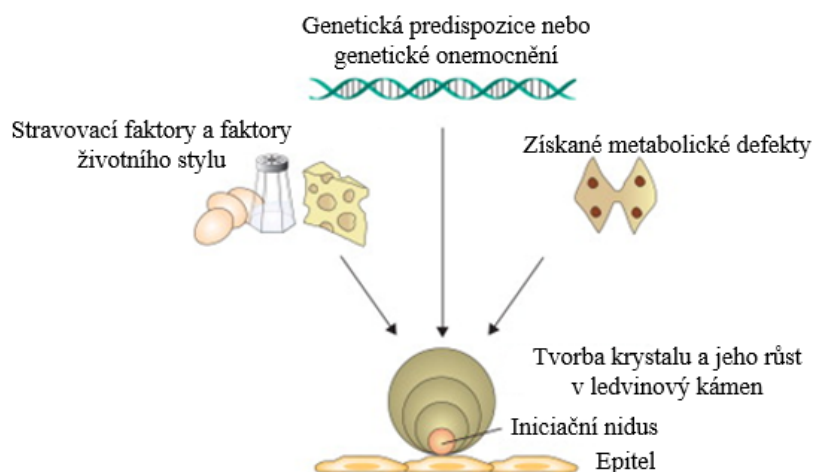
Obrázek 2: Fyzikálně-chemické mechanismy tvorby ledvinových kamenů [10]

### 1.1.2 Rizikové faktory

Rizikové faktory pro vznik onemocnění močových cest jsou ovlivněny složením moči. U každého typu kamene přítomného v těle bylo pozorováno několik rozdílných parametrů. Pro přítomnost jakéhokoli kamene je typický snížený denní objem moči (< 1 litr), zatímco u zdravých jedinců je denní objem moči > 2 litry. Naopak dochází ke zvýšení osmolality moči nad průměrnou fyziologickou hodnotu 600 mmol/kg. V závislosti na typu kamenů dochází ke

zvýšení či snížení pH, které se fyziologicky pohybuje v rozmezí 5,8–6,2. Zvyšuje se denní vylučování vápníku (nad fyziologickou hodnotu 240 mg), sodíku (nad 200 mmol), amoniaku a sulfátů [18, 19].

Změna složení moči může být způsobena mnoha faktory, například stravou, prostředím nebo systémovým onemocněním (Obr. 3). Některé faktory lze modifikovat, jiné nikoli. Rizikové faktory lze rozdělit na nedietní, dietní a močové [18].



Obrázek 3: Patogeneze ledvinových kamenů [19]

U nedietních faktorů hraje hlavní roli rodinná anamnéza s genetickou predispozicí, neboť mezi nejčastější rizikové faktory patří diabetes, obezita, dna, hypertenze, Crohnova choroba, chronické onemocnění ledvin, hypertyreóza, primární hyperparathyreóza (PHPT), sarkoidóza a renální tubulární acidóza (RTA) [18].

Dále to jsou environmentální expozice, které mají jedinci žijící v teplejších podnebních, nebo jedinci pracující při vyšších teplotách. Souvisí to s kombinací faktorů, mezi které patří ztráta vody a zvýšená expozice vitamínu D [18].

U dietních faktorů je složení moči ovlivněno příjmem potravy a prostředím. Ke vzniku onemocnění močovými kameny mohou totiž přispívat faktory, jako je nízký příjem tekutin, dieta s nízkým obsahem vápníku nebo dieta s vysokým obsahem živočišných bílkovin a sodíku. Riziko tvorby kamenů navíc zvyšuje i užívání některých léků [18].

Močové faktory znamenají, že tvorba močových kamenů úzce souvisí se složením moči, nízkým objemem, koncentrací a pH. Stavů jako hyperkalciurie, hyperoxalurie a hypocitraturie zvyšují koncentraci těchto iontů v moči, což může zapříčinit tvorbu kamenů,

jakmile se moč přesyťí. Trvale nízké pH podporuje srážení kyseliny močové a je spojeno s tvorbou kamenů z kyseliny močové [18].

### 1.1.3 Metabolické abnormality

Metabolické abnormality jsou běžné především u pacientů postižených BRU konkrementy. Jedná se o hyperkalciurii, distální renální tubulární acidózu (dRTA) a primární hyperparathyreózu [20].

Kalciurie je obecně považována za nejčastější identifikovatelný metabolický rizikový faktor nefrolitiázy. Přispívá také k osteopenii a osteoporóze. Pacienti s ledvinovými kameny a hyperkalciurií mají průměrnou hustotu vápníku v kostech o 5 až 15 % nižší než normálně. Hyperkalciurie může být také definovaná jako denní vylučování více než 4 mg vápníku na kilogram tělesné hmotnosti močí [21].

Distální renální tubulární acidóza je charakterizována poruchou schopnosti okyselovat moč v distálních tubulech z důvodu poruchy sekrece kyseliny močové, tedy v důsledku snížení čisté sekrece  $H^+$  v distálním nefronu. Následkem je zhoršená regenerace  $HCO_3^-$ , úbytek  $K^+$  v ledvinách a trvale alkalické pH moči ( $>5,3$ ) a je často doprovázena hypokalémií, nízkou hladinou  $NH_4^+$  v moči a hypocitraturií. Na rozdíl od proximální RTA se často vyskytuje nefrokalcinóza a nefrolitiáza [22, 23].

Primární hyperparathyreóza je běžná endokrinní porucha, která se vyznačuje hyperkalcémií a zvýšenými nebo nepřiměřeně normálními hladinami parathromonu v séru. Kromě mírné hyperkalcémie se může PHPT projevit osteoporózou a hyperkalciurií, stejně jako zlomeninami obratlů a nefrolitiázou. Paratyreoidektomie je definitivní léčbou PHPT, ale bývá indikována spíše u pacientů se symptomatickým onemocněním [24, 25].

### 1.1.4 Léčba

Léčba urolitiázy je založena na stavu pacienta a zahrnuje jak medikamentózní léčbu, tak chirurgické zákroky. Asymptomatická onemocnění obvykle nevyžadují akutní zásah a lze je v průběhu času monitorovat rutinním vyšetřením, jako je ultrazvuk a analýza moči. Kameny menší než 5–6 mm mohou spontánně vymizet (přibližně 86 % kamenů samovolně vymizí během 30–40 dní), či je možné je léčit medikací. Vhodnou medikací je užití protizánětlivých léčiv. Větší kameny vyžadují invazivnější techniky. První možností je extrakorporální litotrypsie rázovou vlnou (ESWL), kde jsou rázové vlny za pomoci rentgenu (RTG) přenášeny přes kůži pacienta a zaostřeny na kámen, aby byl kámen rozbit na menší kusy. Další možností je perkutánní nefrolitotomie (PNL), při které je provedena incize



v oblasti boku a zavedení teleskopu do ledviny k umožnění fragmentace konkrementu a jeho odstranění z těla pacienta. Dále je možné využít ureteroskopickou litotrypsi (URS), zavést teleskop do močovodu nebo ledviny a rozbít kámen pomocí laseru [8, 26].

Existuje však unikátní forma kamene, jenž se litotrypsi rázovou vlnou nedostatečně fragmentuje. Jedná se o brushitový kámen, který je vysoce recidivující, obzvláště tvrdý a odolný vůči ESWL. Pacienti s BRU kameny vyžadují agresivní intervenci, komplexní metabolické vyšetření a dlouhodobé sledování. Pacienti musí podstupovat invazivnější ošetření, jako je PNL nebo URS. Bylo zjištěno, že vyšetřením výpočetní tomografie (CT) (Obr. 4) lze predikovat složení tohoto konkrementu. Proto je důležité přezkoumat i radiologický vzhled BRU kamenů, aby bylo možné identifikovat specifické charakteristické znaky [26, 27].



Obrázek 4: Nález BRU kamenů v pravé ledvině metodou CT [20]

## 1.2 Fosforečnany vápenaté

Existují tři hlavní skupiny fosforečnanů vápenatých, a to [28]:

- ortofosforečnany na bázi  $\text{PO}_4^{3-}$
- metafosforečnany na bázi  $\text{PO}_3^-$
- pyrofosforečnany na bázi  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$

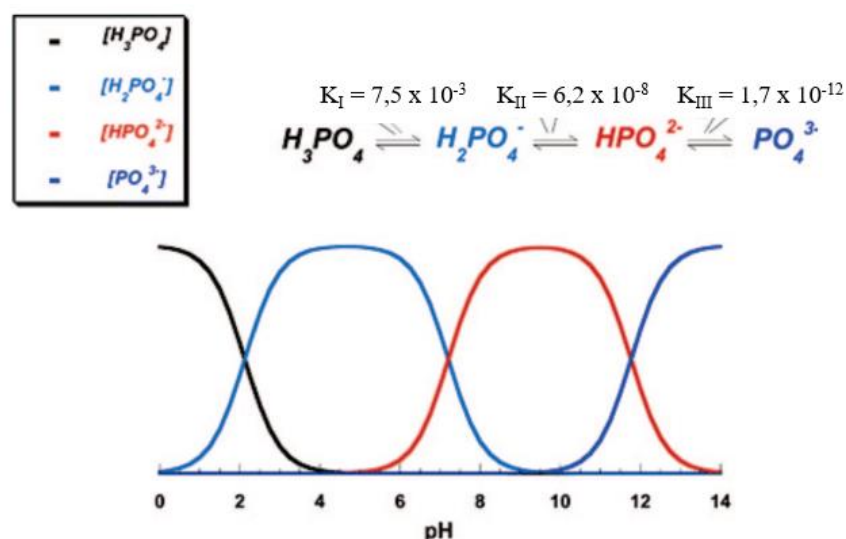
Podle definice se všechny ortofosforečnany vápenaté skládají ze tří hlavních chemických prvků: vápník (oxidační stav +2), fosfor (oxidační stav +5) a kyslík (redukční stav -2). Chemické složení mnoha ortofosforečnanů vápenatých zahrnuje vodík buď jako

kyselý ortofosforečnanový anion, jako je  $\text{HPO}_4^{2-}$ , nebo  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , anebo ve formě zabudované vody, jako je dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  [29, 30].

Atomové uspořádání ortofosforečnanů vápenatých je vybudováno kolem sítě ortofosforečnanových  $\text{PO}_4^{3-}$  skupin, které poskytují stabilitu celé struktury. Většina ortofosforečnanů vápenatých je ve vodě málo rozpustná, všechny jsou však snadno rozpustné v kyselinách, ale nerozpustné v alkalických roztocích. Všechny chemicky čisté ortofosforečnany vápenaté jsou krystaly bílé barvy a střední tvrdosti. Jejich přírodní minerály jsou však vždy zbarveny nečistotami, z nichž nejrozšířenější jsou ionty Fe, Mn a prvků vzácných zemin [30–33].

Nejdůležitějšími parametry ortofosforečnanů vápenatých jsou iontový poměr Ca/P, zásaditost/kyselost a rozpustnost. Všechny tyto parametry silně korelují s pH roztoku. Čím nižší je molární poměr Ca/P, tím je ortofosforečnan kyslejší a rozpustnější ve vodě [29, 30].

Rovnováhy mezi kinetickými a termodynamickými faktory jsou velmi důležité. Vliv pH na tvorbu fosforečnanů vápenatých je spojen s vlastnostmi roztoků obsahujících fosforečnany. Kvůli rovnováze v těchto systémech ovlivňují změny pH relativní koncentrace čtyř protonových forem kyseliny fosforečné (Obr. 5), a tedy jak chemické složení, tak množství CaP, které se tvoří přímým srážením. Tato komplexní rovnováha činí kontrolu a předpověď precipitace CaP mnohem obtížnější [29].



Obrázek 5: Změny pH iontových koncentrací v rovnováze pro roztoky kyseliny fosforečné. Rozdílné pH mění relativní koncentrace čtyř protonovaných forem fosforečné kyseliny, a tím jak chemické složení, tak množství krystaly fosforečnanu vápenatého [29]

Ortofosforečnany vápenaté jsou důležité v geologii, biomineralizaci, živočišném metabolismu a tvoří strukturně a chemicky různorodou třídu minerálů. Přírodní ortofosforečnany jsou hlavní surovinou pro výrobu hnojiv obsahujících fosfor a geologicky se vyskytují v různých oblastech většinou jako ložiska apatitů. Největší světová naleziště přírodních apatitů se nacházejí v Rusku, Brazílii a Zambii, zatímco největší světová naleziště přírodních fosforitů se nacházejí v Maroku, Rusku, Kazachstánu, USA, Číně, Austrálii a také v oceánech. Většina přírodních ortofosforečnanů vápenatých se vyskytuje ve formě malých polykrystalických struktur, větší krystaly jsou vzácné. Biologicky vytvořené ortofosforečnany vápenaté jsou hlavními minerálními složkami kostí a zubů a je velký zájem o pochopení fyzikálních mechanismů, které jsou základem jejich růstu, rozpouštění a fázové stability. Vzhledem k jejich chemickému složení podobnému tvrdým tkáním, vysoké biokompatibilitě a biologické aktivitě byly syntetické CaP rozsáhle studovány pro použití v biomedicině, například jako povlaky kovových implantátů a syntetické náhražky pro opravu kostí [29, 30, 33, 34].

Některé fosforečnany vápenaté jsou uvedeny v následující tabulce 1 včetně jejich zkratk, poměru vápníku a fosforu Ca/P a chemického vzorce.

Tabulka 1: Nejběžnější ortofosforečnany vápenaté [28]

Sloučenina	zkratka	Ca/P	vzorec
monohydrát dihydrogenfosforečnanu vápenatého	MCPM	0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
dihydrogenfosforečnan vápenatý	MCPA	0,5	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého	DCPD	1	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
hydrogenfosforečnan vápenatý	DCPA	1	$\text{CaHPO}_4$
fosforečnan vápenatý	TCP	1,5	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Hydroxyapatit	HA	1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
tetrakalcium fosfát	TTCP	2	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$

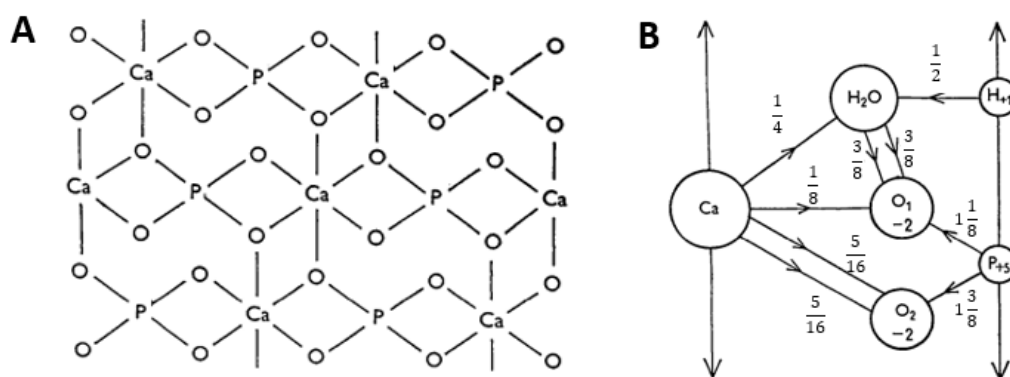
CaP konkrementy jsou velmi heterogenní skupinou, protože mají mnohočetné krystalické formy. Na rozdíl od CaOx kamenů jsou tyto kameny závislé na pH a jsou také závislé na vápníku. Jejich společnými litogenními faktory jsou pH vyšší než 6 a hyperkalciurie, obojí různého stupně, což má za následek různé chemické složení, krystalické fáze a morfologii. Nejběžnějšími fosforečnany vápenatými, které se podílejí na onemocnění močových cest, jsou dahllit a brushit. Přestože oba minerály obsahují vápník

a fosfáty, jsou to zcela odlišné druhy kamenů. S výjimkou BRU, který tvoří velké krystaly, všechny fáze fosforečnanu vápenatého tvoří drobné nanokrystaly o velikosti menší než 15 nm [27, 35].

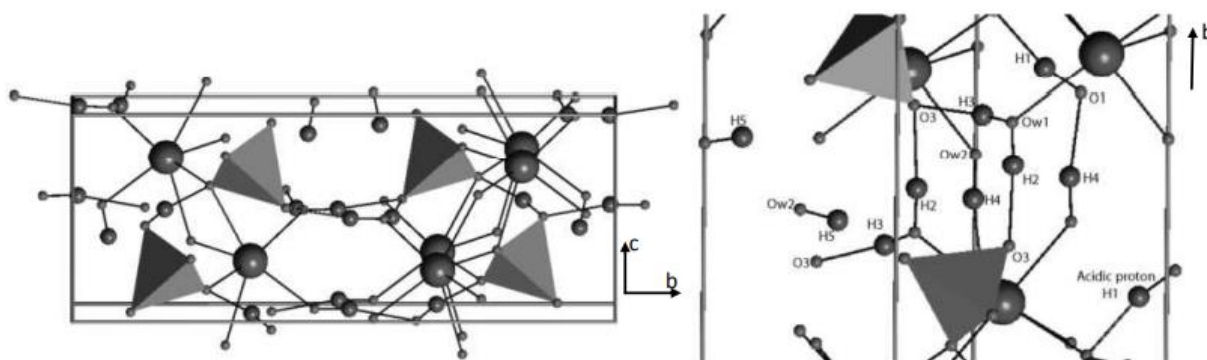
### 1.3 Brushit

Brushit, neboli dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého, je hydratovaný minerál se vzorcem  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . BRU krystalizuje v monoklinickém krystalovém systému s parametry mřížky  $a = 5,812 \text{ \AA}$ ,  $b = 15,180 \text{ \AA}$ ,  $c = 6,239 \text{ \AA}$  a  $\beta = 116,42^\circ$ . Jeho struktura obsahuje kompaktní vrstvy skládající se z paralelních řetězců se střídajícími se atomy vápníku a fosforu (Obr. 6 A). Atomy fosforu mají čtyřnásobnou koordinaci tvořící fosfátové tetraedry ( $\text{PO}_4$ ), zatímco atomy vápníku mají osminásobnou koordinaci ( $\text{CaO}_8$ ). Šest atomů kyslíku z  $\text{CaO}_8$  polyedru je vázáno na fosfátové skupiny a zbývající dva patří molekulám vody, které drží vrstvy pohromadě. Kyselý proton je vázán na atom kyslíku nejdelší vazbou P–O v polyedru  $\text{PO}_4$ . Vrstvy uvnitř BRU jsou rovnoběžné s osou  $c$  a jsou drženy pohromadě vodíkovými vazbami. Atomy vodíku ve dvou molekulách vody tvoří silné vazby s atomy kyslíku ve fosfátových skupinách, slabé vodíkové vazby existují mezi atomem vodíku ze skupiny P–OH a kyslíkem z molekul vody a také mezi molekulami vody (Obr. 6 B). Molekuly vody ve struktuře BRU nejsou totožné a připomínají molekuly vodní páry s úhly H–O–H vazeb  $106,6^\circ$  a  $105,4^\circ$ . Jedna molekula vody má téměř lineární vodíkovou vazbu s úhly  $175,7^\circ$  a  $173,3^\circ$  a druhá  $167,3^\circ$  a  $165,8^\circ$  (Obr. 7). Tyto vodíkové vazby mezi vrstvami se jako první přerušují, jakmile molekuly vody začnou opouštět krystalovou strukturu během procesu dehydratace [36–38].

Protože BRU obsahuje vodní vrstvy jako součást svojí krystalové struktury, očekávají se na rozhraní BRU a vody speciální vlastnosti. Toto rozhraní se skládá ze dvou vodních dvojvrstev s různými vlastnostmi uspořádání. První je vysoce uspořádaná a lze ji považovat za součást krystalické struktury BRU. Druhá vodní dvojvrstva překvapivě nevykazuje žádné uspořádání v rovině, ale vykazuje pouze vrstvení v kolmém směru [29].



Obrázek 6: A – schéma vazby mezi atomy v jedné z vrstev o složení  $\text{CaPO}_4$ . B – síly vazby v krystalové struktuře BRU [37]



Obrázek 7: Krystalová struktura BRU. Čtyřstěny představují skupiny  $\text{PO}_4^-$ , největší kuličky představují atomy Ca, střední kuličky atomy O a nejmenší atomy H [38]

Brushit je považován za prekursor hydroxyapatitu. Pokud se brushit nepřemění na hydroxyapatit, vznikají BRU kameny. Tyto kameny představují 1,7 % z celkového množství močových kamenů a 14,4 % z CaP kamenů. Ve svém počátečním stadiu tvoří velké tyčinkovité krystaly, poté se vyvíjejí směrem k mírně drsnému povrchu nebo připomínajícímu zelí s bělavým nebo béžovým povrchem a radiální krystalizaci s lokálně soustřednými vrstvami (Obr. 8). BRU kameny jsou jasně Ca a pH závislé a jsou pozorovány u pacientů s výraznou hyperkalcemií a pH moči nad 6. Nízký objem moči, pH moči v rozmezí 6,5 až 6,8 a zvýšené vylučování vápníku a fosfátu ledvinami jsou považovány za rizikové faktory pro tvorbu BRU kamenů. BRU nefrolitiáza se obvykle vyskytuje jako idiopatická, ale zajímavé je, že konkrementy tohoto typu byly pozorovány u nejméně 14 % pacientů s primární hyperparatyreózou. Identifikace BRU mezi CaP konkrementy je významná, protože BRU konkrementy se liší od běžných karbapatitových konkrementů. Mezi močovými fosfátovými kameny má největší hustotu a tvrdost právě BRU. Bylo prokázáno, že brushit kvůli své tvrdosti špatně reaguje na rozpad mimotělní litotrypsií rázovou vlnou, tudíž se

obtížně odstraňuje a má obzvláště vysokou aktivitu a míru recidivy. Bohužel existuje omezený výzkum etiologie a patofyziologie tvorby BRU kamenů [27, 35, 39].



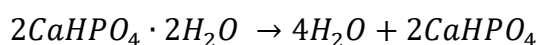
Obrázek 8: Fyzický vzhled BRU [35]

BRU má biologický význam. Byl navržen jako meziprodukt při mineralizaci kostí a rozpouštění skloviny v kyselinách. V lékařství se používá ve formě cementu a jako meziprodukt pro remineralizaci zubů. Přidává se do zubní pasty pro ochranu před zubním kazem (spolu se sloučeninami obsahující fluor), ale i jako jemný leštící prostředek [29, 30].

V laboratorním měřítku lze BRU syntetizovat jak ve vodném, tak i nevodném prostředí. Vznik BRU pomocí reakčního zdvojeného izoperibolického kalorimetru sledoval Váca (2003) [40] a Flégrová (2021) [41]. Váca [40] sledoval vliv příměsí na vznik pevného BRU a kromě změny entalpie sledované reakce také odhaloval vliv příměsí na rozpustnost BRU s tím, že se vodné prostředí blížilo svou iontovou silou fyziologickému prostředí lidského těla. Při iontové síle 0,3 mol/l (dosaženo přídatkem NaCl) byla stanovena molární entalpie vzniku BRU  $-76,5$  kJ/mol pro  $25$  °C a  $-58,3$  kJ/mol pro  $37$  °C. Flégrová [41] sledovala vznik BRU kalorimetricky tak, že k vysrážení použila dvě soli (octan vápenatý a dihydrogenfosforečnan amonný), aby se vyhnula neutralizační reakci, která s sebou nese velké množství tepla a mohla by rušit stanovení entalpie srážení BRU. Bohužel průběh všech sledovaných reakcí měl komplexní charakter (přítomnost endotermních i exotermních dějů), takže získané hodnoty entalpie byly zatíženy větší chybou.

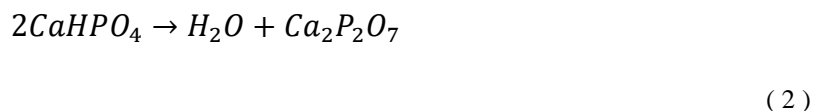
### 1.3.1 Termické vlastnosti brushitu

První transformace při zahřívání BRU nastává při  $\sim 196$  °C, kdy BRU ztrácí dvě molekuly vody a přeměňuje se na monetit ( $\text{CaHPO}_4$ ) dle rovnice (1). Teoretická ztráta hmotnosti pro tuto dehydrataci BRU je 20,93 % [42, 43].



(1)

Při vyšších teplotách kolem 436–677 °C dochází k dalšímu rozkladu s vylučováním vody. Toto zahřívání má za následek ztrátu  $\frac{1}{2}$  H<sub>2</sub>O z monetitu a vede ke tvorbě  $\gamma$ -pyrofosfátu ( $\gamma$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), jak lze vidět v rovnici (2). Teoretická ztráta hmotnosti pro tento krok je 5,2 % [42, 43].



Pyrofosfáty jsou sloučeniny s dichromátovou strukturou a v závislosti na teplotě vzplanutí mohou existovat ve třech různých formách. Při ~813 °C vzniká  $\beta$  forma, která se nakonec při ~1293 °C změní na  $\alpha$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Tato forma není příliš stabilní a v mnoha případech se během ochlazování přeměňuje zpět na  $\beta$  formu. Bod tání je identifikován při teplotě 1380 °C [42].

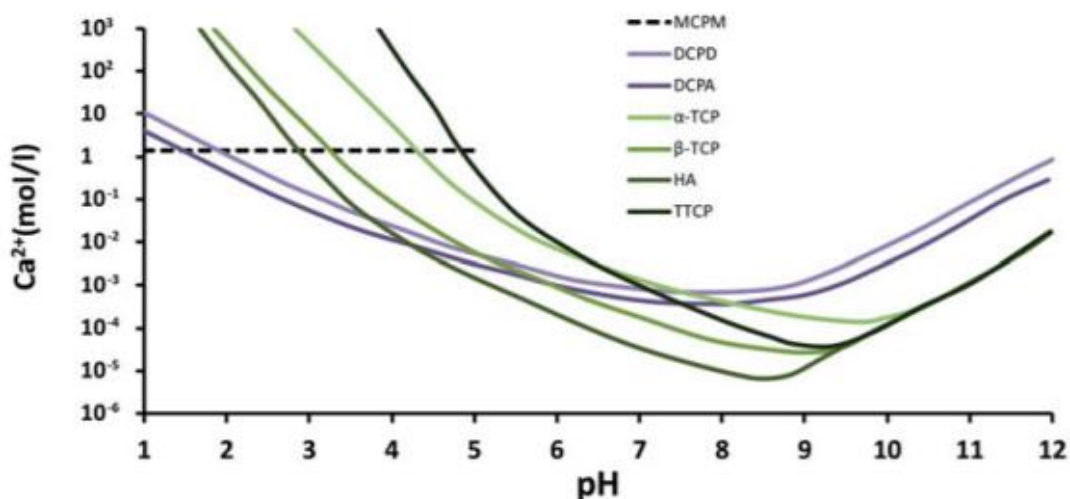
V teplotním rozsahu 514–819 °C je dále ještě pozorována ztráta hmotnosti 4,01 % [43].

## 1.4 Rozpustnost

Rozpustnost je jednou z důležitých vlastností solí fosforečnanu vápenatého. Jedná se o vlastnost, která určuje směr mnoha reakcí, jako je rozpouštění, srážení, hydrolyza a fázové transformace. Rozpustnost fosforečnanu vápenatého hraje hlavní roli i v biologických procesech, které zahrnují tvorbu a resorpci tvrdých tkání, stejně jako patologické kalcifikace [44].

Rozpustnost BRU je ovlivněna pH a za kyselých podmínek je dobře rozpustný. Nicméně jakmile se pH blíží k neutralitě, rozpustnost BRU klesá o několik řádů. Za mírně kyselých podmínek je BRU nejméně rozpustným typem fosforečnanu vápenatého, ale jak se pH zvyšuje, ostatní typy, jako je hydroxyapatit, se nakonec stávají méně rozpustnými než BRU. Při pH 4,6–7 je BRU termodynamicky méně stabilní než hydroxylapatit, trikalcium fosfát a oktakalcium fosfát, ačkoli kinetické faktory mohou vést k preferenční tvorbě BRU [45, 46].

Rozpustnost fosforečnanů vápenatých v závislosti na pH lze vidět na obrázku 9. Hydroxyapatit (HA) je nejméně rozpustný při neutrálním až zásaditým pH, zatímco bezvodý hydrogenfosforečnan vápenatý (monetit, DCPA) je nejméně rozpustný při kyselém pH. Precipitovaný hydroxyapatit (PHA) se liší od normálního HA tím, že má nižší krystalinitu a poměr Ca/P. To je spojeno s vyšší rozpustností než u vysoce krystalického HA [27].

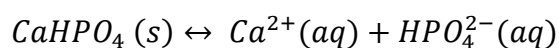


Obrázek 9: Diagram rozpustnosti, kde se koncentrace vápníku mění v závislosti na pH v roztocích nasycených různými solemi [28]

Tabulka 2: Hodnoty rozpustností nejběžnějších ortofosforečnanů vápenatých ve vodě

Sloučenina	zkratka	$-\log(K_{sp})$ při 25 °C	zdroj
monohydrát dihydrogenfosforečnanu vápenatého	MCPM	velmi rozpustný	[44]
dihydrogenfosforečnan vápenatý	MCPA	velmi rozpustný	[44]
dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého	DCPD	6,59	[47]
hydrogenfosforečnan vápenatý	DCPA	6,90	[48]
fosforečnan vápenatý	TCP	$\alpha$ 25,5 $\beta$ 28,9	[49] [50]
Hydroxyapatit	HA	58,4	[51]
tetrakalcium fosfát	TTCP	38,0	[52]

Rozpustnost je definovaná jako maximální množství rozpouštěné látky, které být může v momentě rovnováhy rozpuštěno v rozpouštědle. Rovnováha je stav, ve kterém jsou koncentrace produktů a reaktantu pro proběhnutí reakce konstantní. Konstanta produktu rozpustnosti popisuje rovnováhu mezi pevnou látkou a jejími složkami v roztoku. Hodnota konstanty určuje stupeň, do kterého se sloučenina může disociovat ve vodě. Čím vyšší je  $K_{sp}$ , tím je sloučenina rozpustnější.  $K_{sp}$  se používá k popisu nasyceného roztoku iontových sloučenin [53].



(3)



$$Ka = a_{Ca^{2+}} \cdot a_{HPO_4^{2-}} \quad (4)$$

$$K_{sp} = [Ca^{2+}] \cdot [HPO_4^{2-}] = c^2 \quad \rightarrow \quad c = \sqrt{K_{sp}} \quad (5)$$

## 1.5 Metody charakterizace látek

Brushit je velmi jemná krystalická látka, pro kterou existuje řada charakterizačních metod, ze kterých bylo v této diplomové práci využito stanovení hustoty, tepelné vodivosti a velikosti částic, optická nebo elektronová mikroskopie, rentgenová difrakční analýza (XRD), termogravimetrická analýza (TGA) a diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) a také kalorimetrie Calvetova typu. V podkapitolách níže jsou však popsány jen významnější z nich.

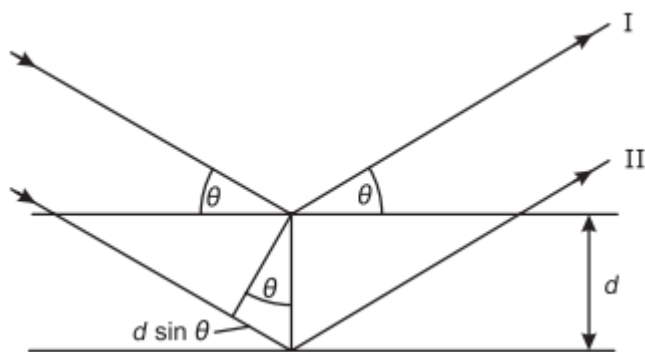
### 1.5.1 Rentgenová difrakční analýza

Rentgenová difrakce je technika pro analýzu atomové nebo molekulové struktury materiálů. Jedná se o nedestruktivní metodu a neúčinněji pracuje s materiály, které jsou zcela nebo částečně krystalické. Jednou z nejvyžívanějších XRD metod je prášková rentgenová difrakce, protože analyzovaný materiál je ve formě prášku [54].

Difrakční analýza začíná emisí rentgenového záření z katodové trubice nebo rotačního terčíku, který je následně zaostřen na vzorek. Sběrem difraktovaných RTG paprsků lze analyzovat strukturu vzorku. Rentgenové záření je forma elektromagnetického záření, jehož vlnové délky jsou měřitelné při 10 nm–1 pm. Monochromatické rentgenové záření o vlnové délce  $\lambda$  se rozptyluje na atomech studované látky. Ke konstruktivní interferenci dochází ve směru daným úhlem  $\theta$ . Závislost úhlu  $\theta$  na mezivinné vzdálenosti  $d$  a vlnové délce  $\lambda$  je dána Braggovým zákonem (Obr. 10), viz rovnice (6).

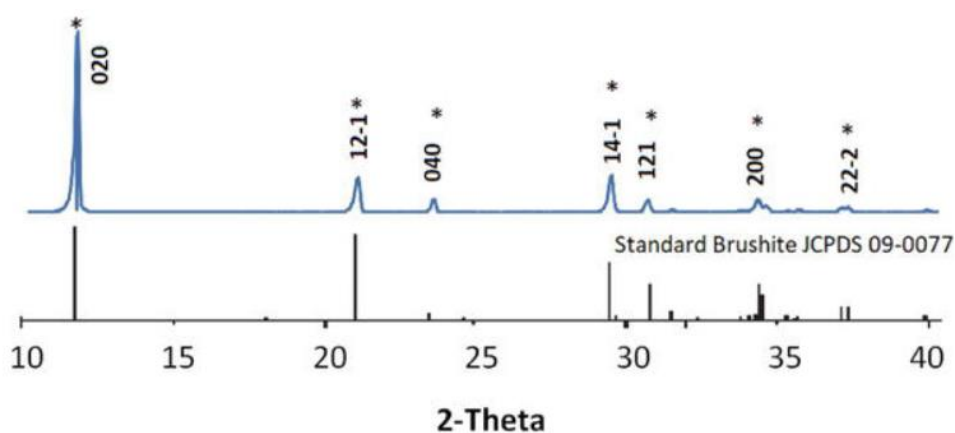
$$n \lambda = 2d \sin\theta \quad (6)$$

kde  $n$  je řád interference,  $\lambda$  je vlnová délka RTG záření,  $d$  je mezivinná vzdálenost a  $\theta$  je difrakční úhel [54, 55].



Obrázek 10: Grafická prezentace Braggova zákona [56]

Skenováním vzorku ve zvoleném rozsahu  $2\theta$  úhlu by mělo být dosaženo všech možných směrů difrakce mřížky. Identifikace vzorku je dosažena porovnáním získaného rentgenového difrakčního záznamu s obrázcí referenční databáze (Obr. 11) [55, 56].



Obrázek 11: XRD záznam BRU – měřený vzorek (modrá křivka) a záznam z databáze (černá křivka) [36]

### 1.5.2 Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie

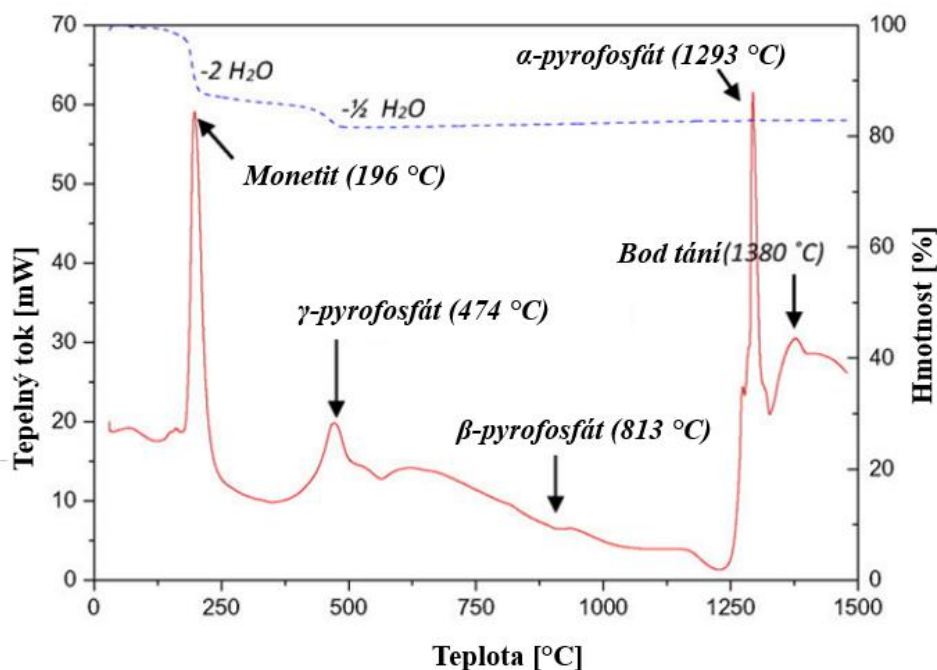
Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie jsou dvě nejrozšířenější techniky termické analýzy a kalorimetrie pro charakterizaci krystalických a amorfních materiálů, včetně farmaceutických materiálů [57].

TGA je experimentální technika, při které se měří hmotnost vzorku jako funkce teploty neizotermních experimentů nebo funkce času při izotermních experimentech. Přístroj používaný k takovým měřením se nazývá termogravimetrický analyzátor. Výsledky měření se obvykle zobrazují jako TGA křivka, ve které je vynesena hmotnost oproti teplotě nebo času.

Další užitečnou a doplňkovou prezentací je první derivace této křivky s ohledem na teplotu nebo čas. To ukazuje rychlost, s jakou se hmotnost mění, a je známá jako derivační termogravimetrická křivka (dTG). Ke změnám hmotnosti dochází, když vzorek ztrácí svoji hmotnost několika různými způsoby (rozklad, dehydratace, ...), nebo reaguje s okolní atmosférou a můžeme pozorovat i nárůst hmotnosti (adsorpce, ...). To vytváří tzv. schody v křivce TGA (modrá křivka na Obr. 12) nebo vrcholy v křivce dTG. Mezi časté efekty patří [58]:

- Odpařování těkavých složek; sušení; desorpce a adsorpce plynů, vlhkosti a jiných těkavých látek
- Oxidace kovů ve vzduchu nebo kyslíku
- Oxidační rozklad organických látek ve vzduchu nebo kyslíku
- Tepelný rozklad v inertní atmosféře za vzniku plynných produktů
- Heterogenní chemické reakce
- Feromagnetické materiály

U DSC se měří tepelný tok, ke kterému dochází mezi vzorkem a referentním materiálem, pokud je vzorek zahříván, ochlazen nebo izotermicky udržován na konstantní teplotě. Tepelný přechod může být způsoben fázovou transformací nebo chemickou reakcí. Fázové transformace, jako je tání, krystalizace, dehydratace a další, jsou spojeny se změnou entalpie. Tepelné děje, jako je tavení, dehydratace nebo desolvatace přímo souvisejí s krystalovou strukturou materiálu, a proto poskytují základní informace týkající se krystalické struktury vzorku. DSC tedy umožňuje detekovat endotermické a exotermické jevy, určovat teploty charakterizující počátek, konec a vrchol píku či z plochy píku určovat měrnou tepelnou kapacitu (červená křivka na Obr. 12) [57, 59].



Obrázek 12: Termická analýza brushitu a identifikace teplot fázových transformací (červeně křivka DSC a hodnoty jsou uvedeny na ose y vlevo, modře křivka TGA je zobrazena a hodnoty jsou uvedeny na ose y vpravo) [42]

Kalibrace teploty a tepelného toku je nezbytná pro minimalizaci systematické chyby přístroje. Jako kalibrační látky se používají kovy, jako je indium, bismut, cín a zinek. Pro tyto zmíněné kovy se zaznamenává proporcionální faktor  $K$  a odpovídající teplota tání ke vzniku křivky  $K$ - $T$ , jež je poté použita ke korekci naměřených údajů. Pro dosažení lepší přesnosti kalibrace teploty je upřednostňována malá navážka vzorku (5–10 mg), neboť vzniklý pík je užší, a tím se zvyšuje přesnost [60].

### 1.5.3 Kalorimetrie

Technika DSC popsaná v předchozí podkapitole má sice mnoho výhod, ale také mnoho nevýhod v momentě, kdy je potřeba pracovat s větším množstvím vzorku, zkoumat interakce plynu nebo kapaliny, simulovat míchání nebo reakce mezi dvěma či více složkami, pracovat s vyšší citlivostí. V tomto momentě může skvěle posloužit jiný typ kalorimetru. Kalorimetrie je již po staletí známá jako velmi účinná metoda v přírodních vědách, protože téměř každý děj je spojen se změnou tepla. Přesné měření tepelné kapacity, tepla tání, reakčního tepla, spalného tepla a dalších veličin vytvořilo základ pro pokrok v termodynamice a klasické fyzikální chemii [61, 62].

Kalorimetrie je soubor technik, jejichž princip spočívá v měření tepla. V minulosti byl pojem teplo spojován s různými pojmy. V dnešní době se však obvykle již nemluví o různých

energiích (např. tepelná energie, kinetická energie), které spolu existují v látce nebo systému nezávisle na sobě, ale pouze o jedné jediné energii, a to vnitřní energii, která se vyskytuje právě v různých formách energie. Proto lze formu energie známou jako teplo chápat pouze jako spojenou se změnou energie. Teplo je spojeno s tepelným tokem, tzn., že teplo je množství energie vyměněné v daném časovém intervalu ve formě tepelného toku. Kalorimetry jsou přístroje používané pro měření tohoto tepla [62].

Kalorimetry lze klasifikovat na základě různých kritérií. Existuje mnoho způsobů klasifikace, kde je každá klasifikace určena k seskupení a popisu kalorimetrů se specifickými vlastnostmi. Lze však říct, že slouží především jako pomocná indikace a v každé klasifikaci existují určité kalorimetry, které není možné jednoznačně zařadit do určité kategorie. Jednou z klasifikací je rozdělení kalorimetrů do dvou skupin [62, 63]:

#### I. Adiabatické kalorimetry

Zde je teplotní gradient mezi vnitřní komorou kalorimetru a jeho pláštěm roven 0 ( $\Delta T=0$ ). Při kalorimetrickém měření nedochází k přenosu tepla mezi kalorimetrickou komorou a pláštěm.

##### a. Adiabaticko-izotermické kalorimetry

- kalorimetry pracující s konstantní teplotou

##### b. Adiabaticko-neizotermické kalorimetry (jednoduše adiabatické)

- mění se teplota pláště

#### II. Neadiabatické kalorimetry

Zde je teplotní gradient mezi vnitřní komorou kalorimetru a jeho pláštěm odlišný od nuly ( $\Delta T \neq 0$ ). Dochází tedy k přenosu tepla mezi kalorimetrickou komorou a pláštěm.

##### a. Neadiabaticko-izotermické kalorimetry

- izoperibolické kalorimetry (kalorimetry, co pracují s konstantní teplotou a obsahují izotermický obklopující plášť)

##### b. Neadiabaticko-neizotermické kalorimetry

- kalorimetry, kde dochází k výměně tepla mezi komorou a pláštěm, tzn., že se v čase mění teplota pláště (např. skenovací kalorimetr)

Další možností klasifikace je rozdělení do 4 skupin, v nichž lze provést další klasifikace dle jiných praktických kritérií, a to [62]:

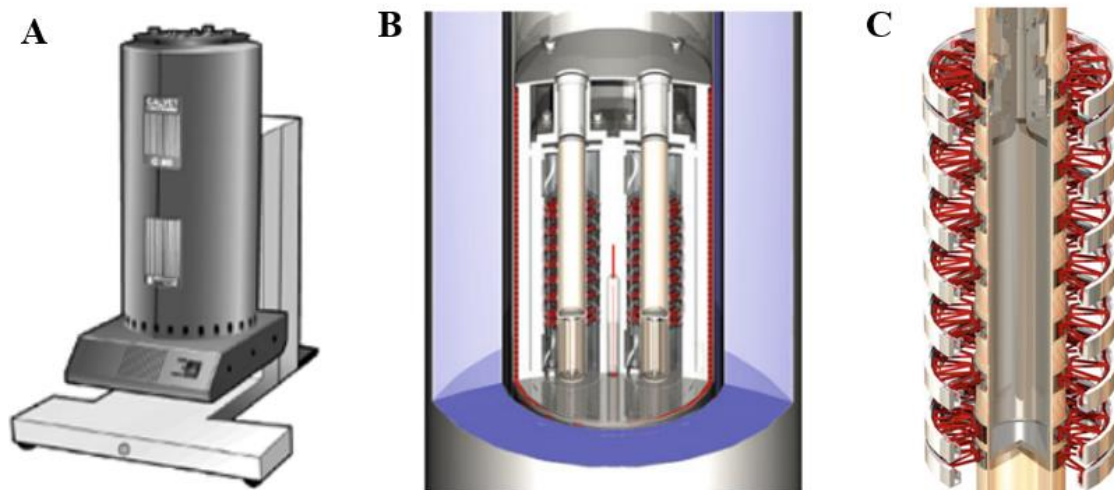
#### I. Izotermické kalorimetry

##### a. Kalorimetry fázových přeměn

- b. Izotermní kalorimetry s elektrickou kompenzací
- II. Kalorimetry s řízenou výměnou tepla mezi vzorkem a okolím
  - a. Izoperibolické kalorimetry s nekontrolovanou výměnou tepla
  - b. Izoperibolické kalorimetry s kontrolovanou výměnou tepla
  - c. Izoperibolické průtokové kalorimetry
  - d. Kalorimetry s lineární změnou teploty okolí
  - e. Kalorimetry s nelineární změnou teploty okolí
- III. Adiabatické kalorimetry
  - a. Kalorimetry s tepelně izolovaným vzorkem
  - b. Kalorimetry s nulovým teplotním rozdílem vůči okolí
  - c. Kvazi-adiabatické kalorimetry s náhlými tepelnými jevy
- IV. Ostatní kalorimetry
  - a. Reakční kalorimetry
  - b. Speciální kalorimetry

### 1.5.3.1 Kalorimetr Calvetova typu

Principem tohoto typu kalorimetru je analýza rozdílu rychlosti tepelného toku ve vzorku a v referentním vzorku, zatímco jsou vystaveny změnám teploty (zahřátí nebo ochlazení). U kalorimetru Calvetova typu jsou nejdůležitější částí termoelektrické články, které zajišťují výkony Calvetova 3D detektoru. Kalorimetr (Obr. 13 A) je postaven z kovového vysoce vodivého bloku se dvěma dutinami obsahujícími termočlánky (Obr. 13B). Dvě cely (měrná a referentní) jsou vloženy do vyhřívaného bloku, který fixuje teplotu kalorimetru. Vzorek v měřicí cele je umístěn přímo do středu měřicí zóny, kde je obklopen devíti soustřednými prstenci, z nichž každý obsahuje 38 termočlánků (Obr. 13 C). Signál dodávaný termočlánky je přímo úměrný rozdílu tepelného toku vyměňovaného mezi články a kalorimetrickým blokem. Energie uvolněná nebo spotřebovaná během reakce se vyhodnocuje integrací signálu (vyjádřeného ve V/s) děleného koeficientem citlivosti kalorimetru (vyjádřeným ve V/mW). Vzhledem k vysoké tepelné setrvačnosti může tento kalorimetr pracovat s nízkými rychlostmi ohřevu pohybujícími se mezi 0,001 °C/min a 2,0 °C/min [61, 64].



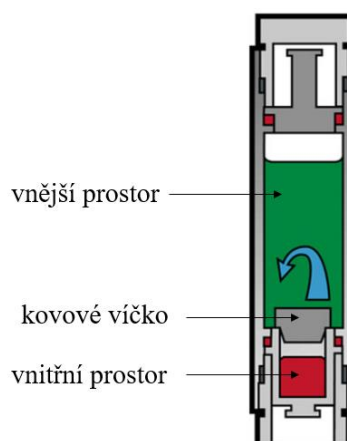
Obrázek 13: A – Kalorimetr C80 od firmy Setaram; B– průřez kalorimetru; C – průřez prostoru cely s termočláňkovými prstenci [61, 65]

Dle Calvetova principu bylo navrženo mnoho různých kalorimetrů s různými teplotními rozsahy, od malých po velké objemy, s velkou rozmanitostí citlivosti. Kalorimetr C80 (vyrobený firmou SETARAM) je všestranným nástrojem v oblasti katalytických výzkumů, protože pracuje v různých kalorimetrických režimech [61]:

- Skenovací kalorimetrie
- Plynová adsorpční kalorimetrie
- Kapalinová adsorpční kalorimetrie
- Míchací a reakční kalorimetrie
- Perkolační kalorimetrie
- Tlaková kalorimetrie

### Míchací a reakční kalorimetrie

Míchací cela využívající otočného mechanismu je rozdělena na dva prostory (vnitřní a vnější), které jsou odděleny kovovým víčkem. Do cely jsou umístěny dva materiály – do vnitřního prostoru prášek, do vnějšího prostoru kapalina (může být i naopak, nebo to mohou být dvě kapaliny) (Obr. 14). Otáčením celého kalorimetru se dosáhne smísení obou složek, přičemž kovové víčko funguje jako míchadlo. Cela je opatřena kovovou tyčinkou, díky níž se s celou jednodušeji manipuluje při vkládání do přístroje a vytahování z přístroje [61].



Obrázek 14: Reverzní míchací cela [61]

## Kalibrace

Předmětem kalibrace kalorimetru jsou dvě naměřené hodnoty, a to ověření, do jaké míry odpovídá zaznamenaná teplota skutečné teplotě testované látky, a stanovení kalibrační konstanty pro teplo nebo tepelný tok. Pro kalibraci teploty se většinou využívá tání čistých kovů [62, 66].

Kalibrace jakéhokoli kalorimetrického detektoru je klíčovým parametrem jeho správného fungování a u Calvetova detektoru se používá tzv. Jouleův efekt neboli elektrická kalibrace. K provedení elektrické kalibrace pomocí Jouleova jevu se používá elektrický systém znázorněný na obrázku 15. Kalibrační jednotka se skládá z kalibračních cel (měrná a referentní), elektrického systému zajišťujícího definovaný příkon topného tělíska v měrné kalibrační cele po stanovenou dobu a software. Klasická kalibrace spočívá v generování známého množství energie přes odpor. Kalibrace se provádí pomocí řady přesných tepelných pulsů dle rovnice (7):

$$Q = P \cdot t \quad (7)$$

kde  $Q$  je teplo,  $P$  je příkon kalibrační cely a  $t$  je čas [64, 66].

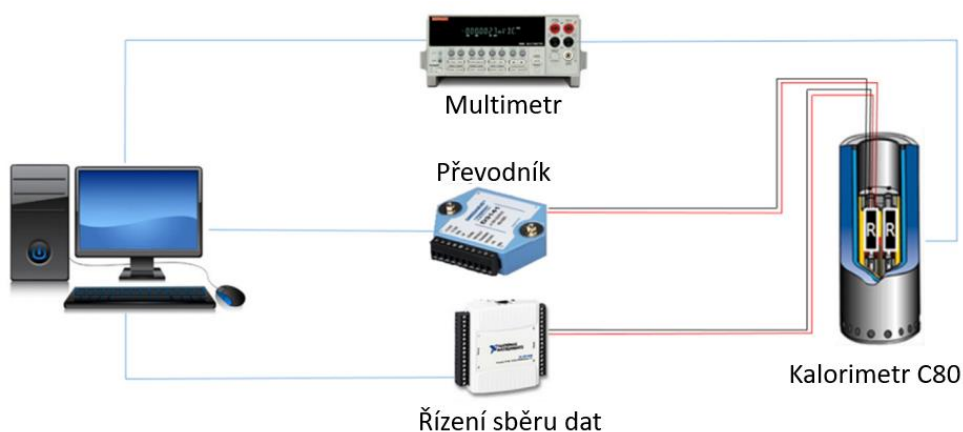
Vzhledem k manuálnímu nastavování rozsahu výstupního napětí mezi měrnou a referentní celou (v rámci této diplomové práce byl použit starší typ přístroje) vztah pro výpočet kalibrační konstanty  $k_k$  zahrnuje i rozsah:



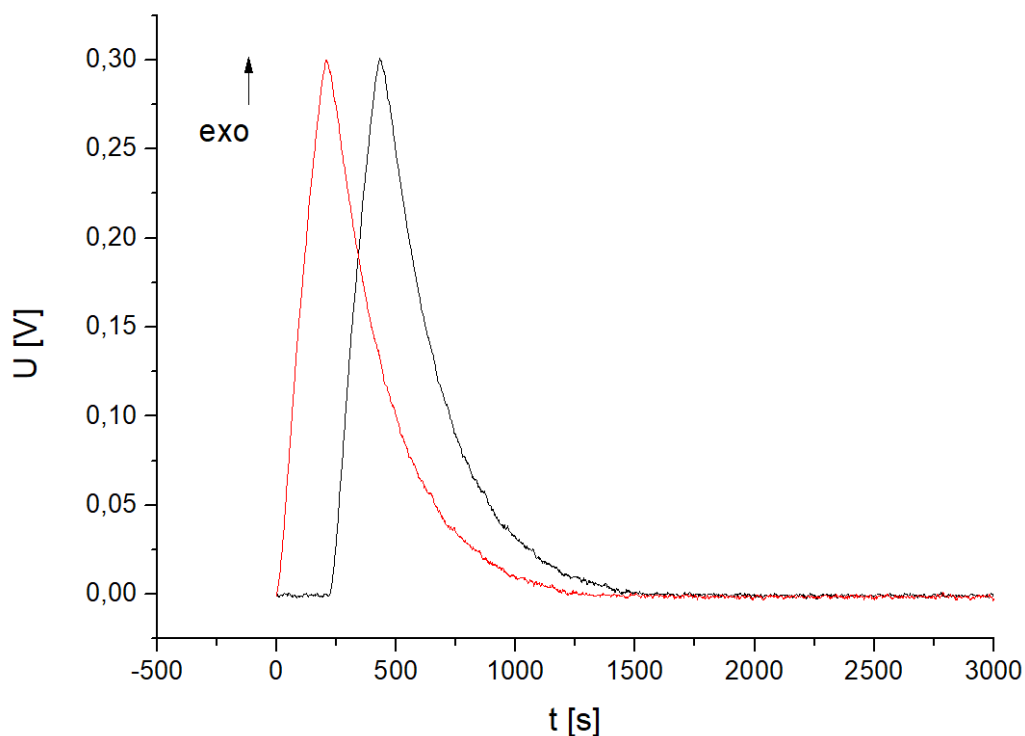
$$k_k = \frac{Q}{r \cdot |A|}$$

(8)

kde  $Q$  je teplo,  $r$  je rozsah a  $A$  je plocha pod pozorovaným píkem na výstupním signálu. Ukázka kalibrační křivky je znázorněna na obrázku 16. Jelikož se jedná o dodání tepla do systému, orientace plochy kalibrační křivky udává směr exotermní reakce. V tomto případě bude plocha pod kalibrační křivkou kladná, ale výsledná změna entalpie bude mít záporné znaménko [66].



Obrázek 15: Schéma kalibrační jednotky [64]



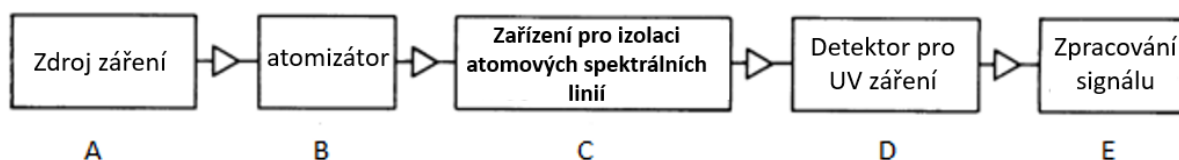
Obrázek 16: Kalibrační křivka – naměřená (černá) a upravená (červená)

### 1.5.4 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je velmi citlivá metoda elementární analýzy, která umožňuje stanovení prvků v různých vzorcích na úrovni jednotek ppm. Jev atomové absorpce zahrnuje měření intenzity elektromagnetického záření po jeho průchodu vzorkem obsahující plynné atomy [67].

Identifikace prvků se provádí čtením spekter vzniklých při excitaci vzorku po ozáření. Výbojka s dutou katodou emituje charakteristické záření. Tento paprsek je elektronicky nebo mechanicky pulzován. Atomy analytu v základním stavu, které v experimentálních podmínkách převažují, absorbují ultrafialové nebo viditelné záření, snižují intenzitu dopadajícího paprsku a přecházejí na vyšší energetické hladiny. Monochromátor izoluje daný spektrální interval a umožňuje záření dopadat na detektor. Metody AAS měří množství energie ve formě fotonů světla, které jsou absorbovány vzorkem. Detektor měří vlnové délky transmitovaného světla a porovnává je s vlnovými délkami, které původně prošly vzorkem. Změny absorbovaných vlnových délek jsou integrovány. Energie potřebná k tomu, aby elektron opustil atom, je známá jako ionizační energie a je specifická pro každý chemický prvek. Když se elektron v atomu pohybuje z jedné energetické hladiny na druhou, je emitován foton s energií  $E$  [68, 69].

Základní části atomového absorpčního spektrometru jsou schematicky znázorněny na obrázku 17. Vybavení přístroje AAS zahrnuje A – zdroj světla (dutá katodová lampa HCL) vydávající specifické vlnové délky světla, které jsou ideálně absorbovatelné pouze analytem, B – atomizátor sloužící k přeměně vzorků na plynné atomy, které mohou absorbovat světlo z HCL, C a D – detekční systém sloužící k izolaci a kvantifikaci sledovaných vlnových délek, E – počítačový systém pro řízení provozu přístroje a zpracování dat. Vzorky se nejčastěji převádějí na vodné roztoky digesčními postupy, aby se minimalizovaly interference a poskytovaly optimální přesnost a správnost [67, 69].



Obrázek 17: Schéma atomového absorpčního spektrometru [69]

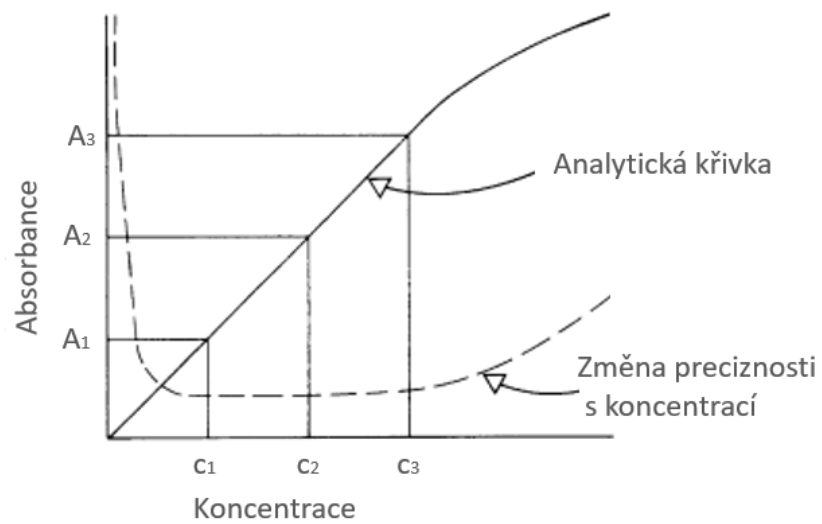
Nejběžnější atomizátory v AAS jsou s atomizací v plameni (FL-AAS), který byl rovněž využit v experimentální části této diplomové práce, anebo elektrotermickou atomizací (ET-AAS). Hlavními výhodami FL-AAS v běžném plameni vzduch-acetylen jsou nízké provozní náklady a dobrý analytický výkon. Za nevýhody této analytické metody lze považovat omezení jednorvkové detekce a úzký rozsah lineární odezvy. FL-AAS se používá pro analýzu potravin, aby se zabránilo možným spektrálními nebo polyatomárními interferencím, které se mohou objevovat v plazmových technikách. Kromě toho se FL-AAS běžně používá k identifikaci prvků alkalických zemin a kovů alkalických zemin (K, Ca, Na a Mg) [70].

V plamenovém atomizátoru se roztok vzorku rozprašuje proudem plynného oxidantu, mísí se s plynným palivem a unáší se do plamene, kde dochází k atomizaci. V plameni pak probíhá komplexní soubor vzájemně propojených procesů. První je desolvatace, při které se rozpouštědlo odpaří za vzniku jemně rozptýleného pevného molekulárního aerosolu. Aerosol se pak odpaří za vzniku plynných molekul. Disociace většiny těchto molekul vytváří atomový plyn. Některé atomy v plynu ionizují za vzniku kationtů a elektronů. Další molekuly a atomy jsou produkovány v plameni jako výsledek interakcí paliva s oxidantem a s různými složkami ve vzorku. Část molekul, atomů a iontů je také excitována teplem plamene za vzniku atomových, iontových a molekulárních emisních spekter. Při tolika složitých procesech je atomizace považována za nejkritičtější krok v plamenové spektroskopii, který omezuje přesnost takových metod [71].

Koncentrace je vypočítána na základě Lambert-Beerova zákona (rovnice 9). Absorbance je přímo úměrná koncentraci absorbovaného analytu. Koncentrace ve vzorku se obvykle stanovuje z kalibrační křivky (Obr. 18) získané pomocí standardů o známé koncentraci sledované složky dle rovnice (9):

$$Abs = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (9)$$

kde  $Abs$  je absorbance,  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient,  $c$  je koncentrace absorbující látky a  $l$  je tloušťka vrstvy [68].



Obrázek 18: Kalibrační křivka získaná metodou AAS [69]

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

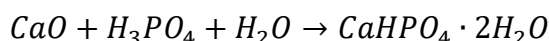
### 2.1 Použité chemikálie

Tabulka 3: Seznam použitých chemikálií

chemický vzorec	výrobce	čistota (obsah)	CAS
HCl	Lach-Ner, s.r.o.	Normanal	017-002-02-x
CaO	Lach-Ner, s.r.o.	96 %	1305-78-8
85% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o.	84–87 %	015-011-00-6
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 10H <sub>2</sub> O	Lachema N.P. Brno	p. a.	7664-93-9
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	Lach-Ner, s.r.o.	100,5	10034-99-8
NH <sub>4</sub> Cl	Lach-Ner, s.r.o.	100,0	12125-02-9
KCl	Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o.	99,5	7447-40-7
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Lach-Ner, s.r.o.	99,4	13472-35-0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	Lach-Ner, s.r.o.	99,2 %	10039-32-4
NaCl	Lach-Ner, s.r.o.	100,03 %	7647-14-5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Lach-Ner, s.r.o.	30 % p.a.	7722-84-1
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> v HNO <sub>3</sub>	Merck KGaA	standardní roztok	7732-18-5
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Lach-Ner, s.r.o.	pH (5 % v H <sub>2</sub> O)	10035-04-8
LaCl <sub>3</sub> · 7H <sub>2</sub> O	VWR Chemicals	99 %	10025-84-0

### 2.2 Syntéza brushitu

Syntéza brushitového prášku byla provedena při laboratorní teplotě podle následující rovnice:



(10)

Pro syntézu byly připraveny dva roztoky. První roztok byl připraven rozpuštěním 2,8 g CaO v 1900 ml destilované vody a druhý roztok smícháním 3,4 ml 85% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve 100 ml destilované vody. Tyto roztoky byly smíchány v jeden, který byl po vzniku pevné fáze následně přefiltrován pomocí filtračního papíru přes Büchnerovu nálevku, poté byl pevný produkt promyt destilovanou vodou a ethanolem. Následně byl celý filtrační papír přenesen na hodinové sklo a usušen přes noc při laboratorní teplotě. Přibližný výtěžek BRU byl

8 gramů. Suchý precipitát byl dále charakterizován příslušnými metodami a používán pro další analýzy.

## **2.3 Charakterizace brushitu**

### **2.3.1 Rentgenová difrakční analýza**

Krystalová struktura a čistota syntetizovaného materiálu byla analyzována rentgenovou difrakcí za použití přístroje Rigaku Miniflex 600 s monochromatickým zářením  $\text{CuK}\alpha$  a polovodičovým detektorem D-TEX Ultra High Speed 1D. Rozsah skenování byl nastaven od  $5^\circ$  do  $80^\circ$ , tudíž data byla sbírána po dobu 7,5 minut s rychlostí skenování  $10^\circ/\text{min}$ .

Na speciální podložní sklíčko s vybroušenou jamkou byla nanесena vrstva brushitového prášku tak, aby pokrývala celou plochu jamky. Podložní sklíčko se vzorkem bylo přeneseno do XRD analyzátoru. Získané výsledky byly porovnány s databází difraktogramů PDF-2, v tomto případě s kartou pro BRU č. 01-072-0713.

### **2.3.2 Velikost částic**

Měření distribuce velikosti částic bylo provedeno na přístroji Mastersizer 2000/MU od výrobce Malvern Instruments využívajícího rozptylu laserového paprsku. Metody dynamického rozptylu světla mohou využívat různé modely rozptylu světla pro výpočet distribuce velikosti částic. K tomu je potřeba znát vztah mezi velikostí částic a rozložením intenzity světla. K získání tohoto vztahu se používá Fraunhoferova nebo Mieho teorie rozptylu. Teorie popisující vztah mezi malými částicemi a světlem se nazývá Lorenz-Mieho teorie. Fraunhoferový model platí pouze pro neprůhledné sférické částice, jejichž průměr je mnohem větší než světlo použité k získání difrakčních dat (tj.  $> 10 \mu\text{m}$ ). Pro použití Mieho teorie je nutné znát index lomu studovaného materiálu [72].

Přístroj byl před analýzou 3x promyt destilovanou vodou a 3x promyt ethanolem. Navážka BRU 0,05 g byla smíchána se 40 ml ethanolu, následně byla suspenze vložena do ultrazvukové lázně na 1 minutu. Pro získání hodnoty zatemnění  $12,5 \% \pm 0,5 \%$  bylo odpipetováno určité množství této suspenze do 800 ml ethanolu, který byl hadičkou hnán do přístroje, kde docházelo k rozptylu světla na částicích BRU.

### **2.3.3 Hustota a tepelná vodivost**

Pro výpočet hustoty je třeba znát objem a hmotnost vzorku, a tak měření proběhlo pomocí odměrných válců pro stanovení sypného a setřesného objemu a analytické váhy pro

stanovení hmotnosti použitého vzorku. Tři 5ml odměrné válce o známé hmotnosti byly po naplnění práškem BRU znovu zváženy a rozdíl hmotností poskytl hmotnost samotného BRU. Z objemu tohoto volně sypaného vzorku byla získána sypaná hustota BRU. Pro vypočtení setřesné hustoty byly použity objemové údaje získané třepáním odměrných válců tak dlouho, dokud se hladina vzorku ve válci neustálila. Hustota byla určena dle vzorce:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (11)$$

kde  $\rho$  je hustota,  $m$  je hmotnost a  $V$  objem.

Stanovení koeficientu tepelné vodivosti proběhlo na přístroji TCi (C-Therm). Prvně se musela ověřit kalibrace senzoru, ta proběhla nanesením destilované vody na senzor a jejím proměření (hodnota odpovídala očekávané velikosti koeficientu tepelné vodivosti). Po kalibraci byl použit nástavec, do kterého byl rozmístěn brushit tak, aby pokryl senzor po celé jeho ploše. Do systémového nastavení byla zadána tepelná kapacita brushitu (zjištěná z literatury [73]), tj.  $1145 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$  pro teplotu  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , a hodnota setřesné hustoty brushitu (zjištěná experimentálně). Přístroj měřil efuzivitu, z níž byla softwarem automaticky vypočtena vodivost na základě vztahu:

$$k = \frac{e^2}{\rho \cdot C_p} \quad (12)$$

kde  $k$  je koeficient tepelné vodivosti,  $e$  je efuzivita a  $C_p$  je tepelná kapacita.

#### **2.3.4 Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie**

Tepelný rozklad BRU byl proveden pomocí simultánní termogravimetrické analýzy a diferenční skenovací kalorimetrie na přístroji TGA/DSC Labsys od výrobce Setaram. Přibližně 7,4 mg vzorku bylo zahříváno v otevřeném korundovém kelímku rychlostí 2, 5 a 10 K/min až do teploty  $1000 \text{ }^\circ\text{C}$  v atmosféře argonu o průtoku 50 ml/min, přičemž byly zaznamenávány průběhy chemických reakcí probíhající při rozkladu. Křivky získané z této analýzy byly vyhodnoceny softwarem přístroje a v programu OriginPro, kde po odečtení základní linie byly získány hmotnostní úbytky, počáteční a konečné teploty reakcí, teplotní maxima píků a nakonec vypočtena aktivační energie.

## 2.4 Příprava syntetické moči

Syntetická moč byla připravena podle studie Grases et al (1994) [74], a to smícháním roztoků 1 a 2 připravených navážením různých látek v množstvích uvedených v tabulce 4:

Tabulka 4: Roztoky pro výrobu syntetické moči, koncentrace jednotlivých látek v jednotkách mol/l a v g/500 ml

roztok	chemikálie	$c$ [mol/l]	$c$ [g/500 ml]
1	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$	0,0193	3,10915
1	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,0059	0,72960
1	$\text{NH}_4\text{Cl}$	0,0867	2,31885
1	KCl	0,1630	6,07595
2	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,0154	1,20130
2	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	0,0156	2,79350
2	NaCl	0,2230	6,51605

Do odměrné baňky o objemu 0,5 l byly naváženy soli dle tabulky 4 a byla přidána destilovaná voda, ovšem ne do plného objemu. Poté byly roztoky 1 a 2 smíchány. Bylo změřeno pH a následně upraveno na pH  $\sim 2,002$ , a to přidáním 800  $\mu\text{l}$  HCl (ředěné 1:1). Po úpravě pH byl roztok přelit do odměrné baňky o objemu 1 litru a doplněn destilovanou vodou na přesný objem. Přidáním kapky peroxidu vodíku byla zajištěna stabilita roztoku pro skladování při pokojové teplotě.

Pro roztok moči byla určena i jeho hustota pomocí 3 pyknometrů, kdy byl každý pyknometr zvážen prázdný ( $m_{pr}$ ), naplněný močí ( $m_{roz}$ ) a naplněný destilovanou vodou ( $m_w$ ) o známé teplotě ( $T_{exp}$ ) a hustotě ( $\rho_{vo}$ ). Ze známých údajů pro vodu mohly být podle rovnice (11) vypočteny skutečné objemy pyknometrů a na základě toho pak i hustota moči. Stanovení proběhlo při pokojové teplotě.

## 2.5 Stanovení rozpustnosti brushitu

Rozpustnost BRU byla stanovena dvěma postupy uvedenými v následujících podkapitolách.

### 2.5.1 Zjednodušený odhad rozpustnosti

Prvním z nich je velmi zjednodušený odhad rozpustnosti, kdy bylo vybrané množství BRU rozpouštěno v definovaném množství HCl nebo moči a pouze opticky sledováno, zda

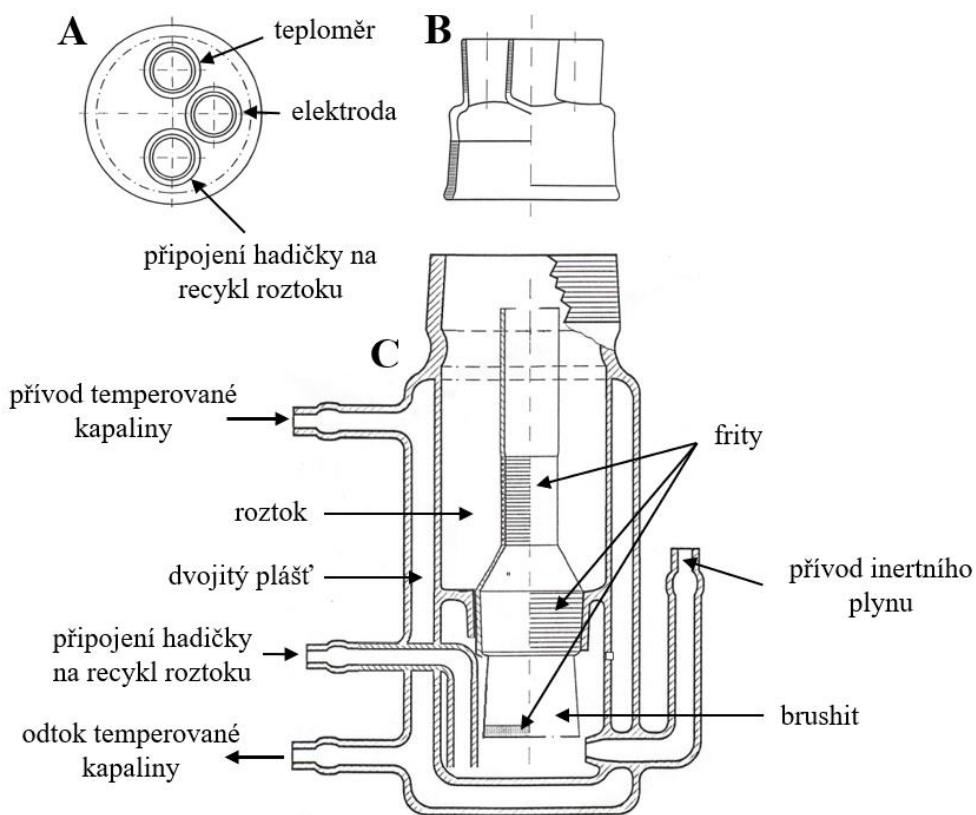


došlo k úplnému rozpuštění BRU, nebo je v systému stále přítomna pevná látka. Použitý objem HCl byl 2 ml a syntetické moči 4 ml.

### 2.5.2 Rozpustnost v rozpouštěcí nádobě

Druhý postup stanovení rozpustnosti byl založen na pomalém obtékání pevného BRU roztokem při definované teplotě po dobu potřebnou pro ustavení rovnováhy a následným přesným stanovením koncentrace vápníku v roztoku.

Pro stanovení rozpustnosti BRU byla použita dvouplášťová skleněná nádoba se čtyřmi otvory (Obr. 19 C) – pro přívod plynu, odvod rozpouštědla a dva pro průtok temperované vody mezi pláští nádoby; a celou s vrchní a spodní fritou, na kterou byl vložen pevný BRU. Frity slouží jako polopropustné přepážky umožňující průchod kapaliny, ale zadržující pevný BRU. Vrchní strana nádoby byla přiklopena zátkou s teploměrem a iontově selektivní vápničkovou elektrodou (Obr. 19 A, B). Celý tento systém byl udržován při konstantní teplotě jak průtokem vody mezi dvěma pláští, tak i částečným ponořením do vodní lázně vyhřívané na teplotu 25 °C. Teplota byla konstantní s přesností  $\pm 0,2$  °C.



Obrázek 19: A a B – víčko s otvory pro teploměr, elektrodu a zpětnou hadičku, C – skleněná nádoba s celou pro rozpouštění BRU.

Prvně byla provedena kalibrace pH metru, pro kterou byla použita stejná kalibrační řada, jako pro následné měření koncentrace BRU rozpuštěného ve vodě metodou AAS, a to ze standardu  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  obsahující vápník o koncentraci 1000 mg Ca/1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$  a kyselinu dusičnou o koncentraci 0,5 mol/l. Body pro kalibrační křivku byly sestaveny o koncentracích 5, 10, 20 a 25 mg Ca/1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .

Pro rozpouštění BRU ve vodě byl do cely navážen zhruba pětinasobek takového množství BRU, které bylo vypočteno z hodnot součinu rozpustnosti, jež ve své práci uvádí Marshall et al (1969) [75]. Tyto navážky se tedy pohybovaly kolem 40 mg BRU. Pro stanovení rozpustnosti BRU v moči byl navážen nadbytek množství BRU, který byl určen na základě předběžných testů rozpustnosti, viz tabulka 10, a sice 800 mg. Cela byla umístěna do skleněné nádoby, kde díky zábrusu na obou dílech došlo k oddělení vrchní a spodní části nádoby. Do vrchní části bylo přidáno 100 ml rozpouštědla (destilovaná voda nebo umělá moč), ve kterém byla umístěna okalibrovaná vápničková elektroda zaznamenávající změny koncentrace a teploměr. Rozpouštědlo následně prostupovalo vrchní fritou cely přes její vnitřní část obsahující pevný BRU a poté přes spodní fritu do spodní části nádoby, odkud bylo rozpouštědlo již obohacené BRU přečerpáváno pomocí tlaku dusíku, který hadičkou na recykl vracel roztok zpět do vrchní části nádoby. Tento neustále se opakující proces trval několik hodin, dokud nedošlo k nasycení, tzn. k dosažení takové koncentrace, kdy další rozpuštění BRU již nebylo možné. Získanými hodnotami byla závislost koncentrace vápníku na čase, které zaznamenával program pH metru, a po vynesení těchto hodnot do grafu bylo očekáváno viditelné ustálení koncentrace v momentě, kdy došlo k nasycení.

Tato analýza probíhala, jak již bylo zmíněno, se dvěma typy rozpouštědel – destilovanou vodou a syntetickou močí při 25 °C. Elektroda byla mezi měřeními uchovávána v 0,1M roztoku  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

### **2.5.3 Přesné stanovení koncentrace metodou AAS**

Pro měření koncentrace vápníku obsaženého ve vzorku roztoku nasyceného BRU, jenž byl rozpouštěn v destilované vodě při 25 °C, byla připravena kalibrační řada ze standardu  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  obsahující vápník o koncentraci 1000 mg Ca/1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$  a kyselinu dusičnou o koncentraci 0,5 mol/l. Body pro kalibrační křivku byly vybrány o koncentracích 5, 10, 20 a 25 mg Ca/1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Pro analýzu byl použit atomový absorpční spektrometr GBC 906 AAS s atomizací v plameni, na kterém vždy byly proměřeny nejdříve kalibrační roztoky a následně roztok s BRU vypuštěný z rozpouštěcí nádoby, jehož překapávání trvalo přibližně

24 hodin. Jako slepý pokus posloužila destilovaná voda. Každý vzorek byl proměřen 3x. Měření byly získány hodnoty absorbancí a jejich závislost na koncentraci v mg/l.

Měření vzorků získané rozpouštěním v moči probíhalo obdobně, pouze byla použita jiná kalibrační řada, a to o koncentracích 60, 100, 160 a 200 mg Ca/1000 ml umělé moči, připravena rovněž ze standardního roztoku  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Umělá moč byla připravena dle návodu v kapitole 2.4. Vzorek získaný 24hodinovým překapáváním byl ještě 10x naředěn, aby bylo umožněno jeho měření v rozsahu hodnot kalibrace. Vzhledem ke vzniklým precipitacím fosfátů po přidání moči ke standardu bylo nutné před měřením do každého kalibračního roztoku, slepého pokusu a vzorku přidávat  $\text{LaCl}_3$ .  $\text{LaCl}_3$  váže fosfátové ionty, což umožňuje přesné měření vápníku nezávisle na koncentraci fosfátů. Roztok  $\text{LaCl}_3$  byl připraven navážením 12,5 g pevného  $\text{LaCl}_3$  a rozpuštěním ve 250 ml destilované vody. Jeho přírůstek činil 500  $\mu\text{l}$  na 50 ml kalibračního roztoku, slepého pokusu nebo vzorku. Pro ověření správnosti výsledků uvedeného postupu byl měřen ještě kontrolní vzorek, u něhož byla známá přesná koncentrace vápníku. Každý vzorek byl opět proměřen 3x.

## 2.6 Rozpuštění brushitu pomocí kalorimetru C80

Měření tepla vzniklého rozpouštěním BRU probíhalo na kalorimetru C80 od výrobce Setaram Instrumentation. BRU byl rozpouštěn za izotermních podmínek v kyselině chlorovodíkové (HCl) při 30 °C a v syntetické moči při 30 a 37 °C.

### 2.6.1 Rozpuštění v HCl

Po předběžných testech rozpustnosti a stanovení navážek brushitu do cel kalorimetru C80 mohlo začít měření rozpouštěcího tepla. Do vnitřního prostoru měrné cely bylo naváženo množství brushitu dle tabulky 5 (od 25 do 10 mg) a do vnějšího prostoru byly naváženy 4 g roztoku HCl o koncentraci 0,1 mol/l (k přípravě roztoku byl použit normal). Do referentní cely byla navážena pouze HCl, a to v množství odpovídající měrné cele. Tyto cely byly nejdříve vloženy na několik minut do termostatu vyhřívaného na 30 °C pro ustálení teploty (předehřátí) a následně do kalorimetru, který se také musel postupně nechat ustálit, až mohl být nastaven zvolený rozsah výstupního napětí potřebný pro měření. Toto ustalování trvalo více než hodinu. Po ustálení signálu kalorimetru bylo spuštěno míchání, kde došlo k promíchání složek vnitřních a vnějších prostředí cel, zatímco program MATLAB zaznamenával data. Získaná data v podobě výstupního napětí v závislosti na čase byla dále upravována v programu OriginPro pro získání plochy pod křivkou  $A$ , která přepočtem přes kalibrační konstantu dává hodnotu tepla  $Q$  a z toho pak změnu entalpie  $\Delta H$  rozpouštění.

Tabulka 5: Stanovení parametrů pro rozpouštění v HCl v kalorimetru C80

teplota [°C]	navážka [mg]	rozsah [mV]
30	25	1; 0,5
	20	0,25
	15	0,25; 0,1
	10	0,1

Tabulka 6: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 25 mg při 30 °C

25 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
Měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (HCl)	vnitřní prostor (HCl)	vnější prostor (HCl)
1	25,02	4002,79	24,85	4002,52
2	25,04	4002,79	24,99	4001,82
3	25,03	3999,85	24,92	4004,32
4	25,04	4000,69	24,99	4000,54
5	24,98	4000,27	25,05	4000,43

Tabulka 7: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 20 mg při 30 °C

20 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (HCl)	vnitřní prostor (HCl)	vnější prostor (HCl)
1	20,06	3999,93	20,26	3999,86
2	20,09	3999,90	19,87	4000,01
3	20,03	3999,97	20,21	3999,68
4	20,04	4000,25	20,05	3999,98
5	20,14	4000,09	20,15	3999,98
6	20,01	3999,87	20,12	4000,14

Tabulka 8: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 15 mg při 30 °C

15 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (HCl)	vnitřní prostor (HCl)	vnější prostor (HCl)
1	15,03	4001,52	14,97	4001,39
2	15,06	4000,22	15,10	4000,40
3	15,15	4000,06	14,96	4000,17
4	15,05	4000,02	15,07	4000,07
5	15,01	4000,02	14,95	4000,24
6	15,07	4000,04	14,88	4000,17
7	15,08	3999,97	14,99	4000,06
8	15,07	3999,60	14,99	4000,18
9	15,03	4000,01	15,17	4000,14
10	15,07	4000,09	14,98	4000,09
11	14,98	3999,99	14,88	3999,96
12	15,11	3999,94	15,05	4000,00

Tabulka 9: Skutečné navážky BRU a HCl pro měření 10 mg při 30 °C

10 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (HCl)	vnitřní prostor (HCl)	vnější prostor (HCl)
1	10,04	4000,30	9,90	4000,38
2	10,05	3999,97	10,21	3999,95
3	10,06	4000,34	9,98	4000,00
4	10,00	4000,12	10,07	4000,03
5	10,01	4000,19	10,11	3999,96
6	10,00	4000,06	10,26	3999,81
7	10,01	3999,91	9,82	4000,09

V tabulkách 6–9 jsou uvedeny navážky BRU a HCl do měrné i referentní cely pro všechna provedená měření. Jak je z uvedených hodnot patrné, hmotnost BRU byla navažována s chybou nepřesahující  $\pm 0,15$  mg a hmotnost HCl s chybou nepřesahující 2,8 mg. Zároveň byl dodržen i poměr hmotností v referentní cele, a to s chybou nepřesahující  $\pm 0,26$  mg ve srovnání s BRU a 4,47 mg pro srovnání HCl v měrné a referentní cele.

## 2.6.2 Rozpouštění v syntetické moči

Na základě výsledku odhadu rozpustnosti byly zvoleny navážky BRU do cel pro měření pomocí kalorimetru C80 (Tab. 10). Následně byl proveden téměř stejný postup jako v podkapitole 2.6.1, pouze místo HCl bylo do cel váženo stejné množství umělé moči a měření probíhala i při fyziologické teplotě 37 °C. Získaná data byla také vyhodnocena v programu OriginPro.

Tabulka 10: Stanovení parametrů pro rozpouštění v umělé moči v kalorimetru C80

teplota [°C]	navážka [mg]	rozsah [mV]
30	20	0,25
	15	0,1
	10	0,1
37	30	0,25
	25	0,25
	20	0,25

Tabulka 11: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 20 mg při 30 °C

20 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (moč)	vnitřní prostor (moč)	vnější prostor (moč)
1	20,06	3999,94	19,99	4000,00
2	20,02	3999,93	19,98	4000,05
3	20,04	3999,95	20,01	3999,92
4	20,07	3999,93	19,93	3999,98

Tabulka 12: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 15 mg při 30 °C

15 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (moč)	vnitřní prostor (moč)	vnější prostor (moč)
1	15,00	4000,09	15,00	4000,11
2	15,01	4000,08	15,01	4000,02
3	15,05	4000,07	15,02	4000,01

Tabulka 13: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 10 mg při 30 °C

10 mg 30 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (moč)	vnitřní prostor (moč)	vnější prostor (moč)
1	10,01	4000,05	9,97	3999,99
2	9,99	3999,95	9,81	3999,96
3	10,03	4000,00	9,92	3999,92
4	9,99	4000,03	10,12	3999,98

Tabulka 14: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 30 mg při 37 °C

30 mg 37 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (moč)	vnitřní prostor (moč)	vnější prostor (moč)
1	30,02	4000,03	30,10	4000,06
2	30,03	4000,01	30,02	4000,08
3	30,08	4000,10	30,11	4000,09

Tabulka 15: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 25 mg při 37 °C

25 mg 37 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (moč)	vnitřní prostor (moč)	vnější prostor (moč)
1	25,06	4000,06	25,06	4000,02
2	25,03	4000,01	24,93	3999,91
3	25,03	3999,97	24,97	3999,98

Tabulka 16: Skutečné navážky BRU a umělé moči pro měření 20 mg při 37 °C

20 mg 37 °C	skutečná navážka [mg]			
	měrná cela		referentní cela	
měření	vnitřní prostor (BRU)	vnější prostor (moč)	vnitřní prostor (moč)	vnější prostor (moč)
1	20,08	3999,95	20,05	3999,92
2	20,04	3999,97	20,07	3999,90
3	19,99	4000,04	19,96	4000,11

V tabulkách 11–16 jsou uvedeny navážky BRU a moči do měrné i referentní cely pro všechna provedená měření. Z hodnot je patrné, že hmotnost BRU byla navažována s chybou nepřesahující  $\pm 0,08$  mg a moč s chybou nepřesahující 0,1 mg. Zároveň byl dodržen i poměr hmotností v referentní cele, a to s chybou nepřesahující  $\pm 0,18$  mg ve srovnání s BRU a 0,1 mg pro srovnání moči v měrné a referentní cele.



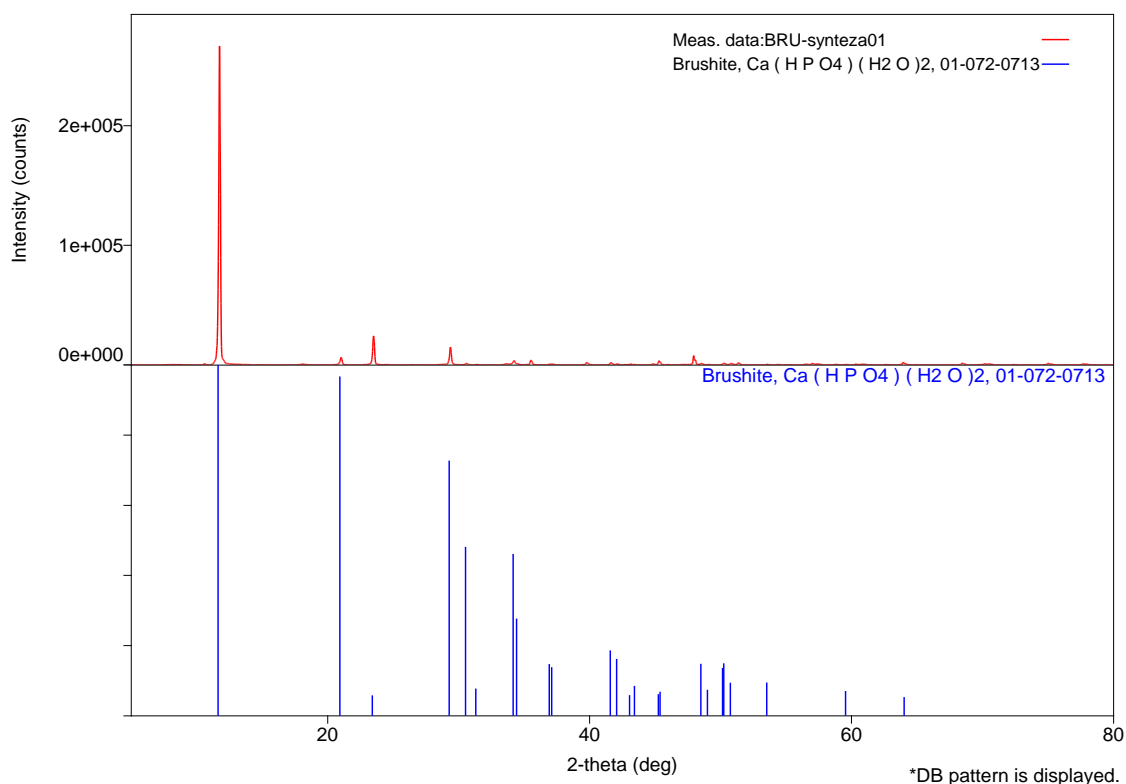
## 3 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 3.1 Charakterizace brushitu

Vzorek BRU připravený postupem uvedeným v kapitole 2.2 byl nejprve charakterizován pomocí několika metod dříve, než byl použit pro kalorimetrická měření a stanovení rozpustnosti ve vybraných roztocích. Nejdůležitější otázkou bylo, zda se jedná o čistý BRU, a dále pak šlo o porovnání jeho vlastností s vlastnostmi uvedenými v literatuře.

#### 3.1.1 Rentgenová difrakční analýza

Získaný záznam z XRD analýzy je uveden na obrázku 20, kde je rovněž k porovnání přidán referenční difraktogram z databáze (karta BRU č. 01-072-0713). Porovnává se především shoda 3 nejintenzivnějších difrakčních píků a jejich intenzity. Jak je z obrázku 20 patrné, pozice difrakčních linií odpovídají kartě z databáze, pouze poměr linií je jiný, což znamená, že připravený vzorek má nerovnoměrné zastoupení všech orientací krystalitů. To je způsobeno větší velikostí zrn, protože syntetizovaný brushit nebyl rozetřen na úplně jemný prach, aby nedošlo k porušení jeho struktury a uvolnění vody.



Obrázek 20: Difraktogram BRU – syntetizovaný vzorek (červeně) a karta z databáze (modře)

XRD analýzou byly získány i mřížkové parametry stanovené látky. Jak již bylo uvedeno v teoretické části, BRU krystalizuje v monoklinickém krystalovém systému a stanovené parametry mřížky jsou uvedeny v tabulce 17.

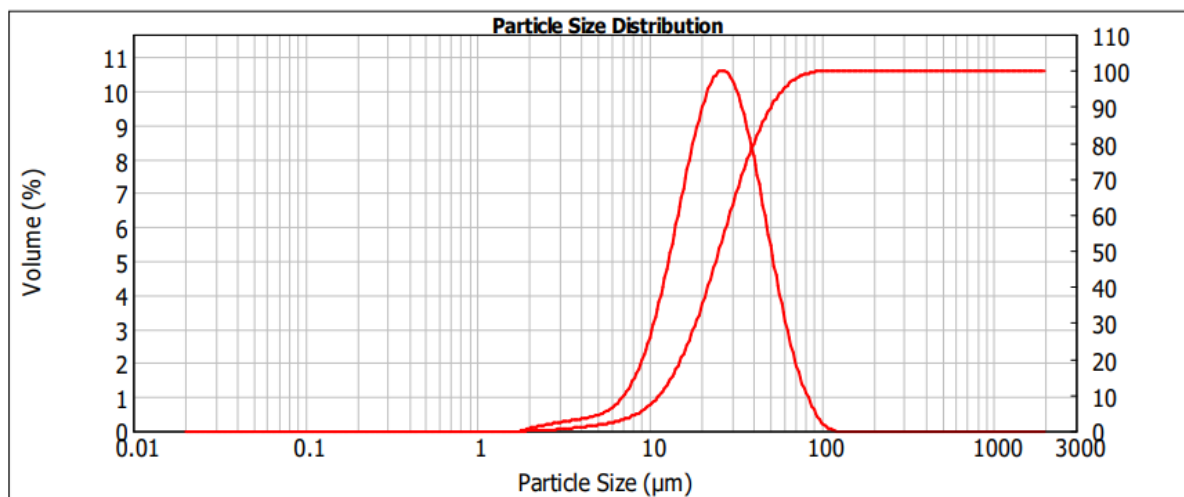
Tabulka 17: Mřížkové parametry z XRD analýzy

a [Å]	b [Å]	c [Å]	$\beta$ [°]
5,817825	15,195214	6,245253	116,43

Vzhledem ke shodě naměřených a referenčních píků, absenci XRD linií případných příměsí a velké blízkosti získaných mřížkových parametrů s údaji uvedenými v kapitole 1.3 lze říct, že tento syntetizovaný fosforečnan vápenatý můžeme považovat za čistý BRU.

### 3.1.2 Velikost částic

Záznam získaný z měření distribuce velikosti částic BRU na přístroji Mastersize 2000/MU (Malvern Instruments) je prezentován na obrázku 21. Měření probíhalo se zatemněním 12,11 %. Ze získaných hodnot  $d(0,1)=11,414 \mu\text{m}$ ,  $d(0,5)=25,261 \mu\text{m}$  a  $d(0,9)=50,674 \mu\text{m}$  lze konstatovat, že 10 % částic bylo menší a 90 % částic bylo větších než 11,414  $\mu\text{m}$ , 50 % částic bylo menší a 50 % částic bylo větší než 25,261  $\mu\text{m}$  a 90 % částic bylo menší a 10 % větší než 50,674  $\mu\text{m}$ . Jedná se tedy o vzorek s poměrně malou velikostí částic.



Obrázek 21: Záznam z měření velikosti částic syntetizovaného BRU

### 3.1.3 Hustota a tepelná vodivost

Další metodou charakterizace BRU bylo stanovení hustoty. Byla stanovena jak hustota sypná, tak hustota setřesná. Měření bylo provedeno ve 3 odměrných válkách, výsledná hodnota je průměrem těchto 3 měření. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 18.

Tabulka 18: Naměřené hodnoty pro získání hustoty: hmotnost prázdného odměrného válce a naplněného vzorkem, hmotnost vzorku ve válci  $\Delta m$ , sypný a setřesný objem vzorku, sypná a setřesná hustota BRU

	m [g]		$\Delta m$ [g]	V [ml]		$\rho$ [g/ml]	
	prázdný	naplněný		Sypný	setřesný	sypná	setřesná
1	37,18168	37,60510	0,42342	5	2,3	0,08468	0,18409
2	36,76020	37,16841	0,40821	5	2,1	0,08164	0,19439
3	36,66872	37,08909	0,41037	5	2,2	0,08207	0,18653
průměr						<b>0,08280</b>	<b>0,18830</b>

Výsledná hodnota sypné hustoty byla 0,0828 g/ml, což odpovídá 82,8 kg/m<sup>3</sup>, a výsledná hodnota setřesné hustoty byla 0,1883 g/ml, tj. 188,3 kg/m<sup>3</sup>. Hodnota setřesné hustoty byla použita pro výpočet tepelné vodivosti.

Měření efuzivity při pokojové teplotě blízké 25 °C provedené na přístroji TCI od firmy C-Term bylo přímo přepočítáno na hodnotu koeficientu tepelné vodivosti pomocí hustoty a hodnoty tepelné kapacity, jež program vypočetl sám dle rovnice (12). Do nastavení byla zadána hustota, k čemuž byla použita hodnota setřesné hustoty uvedená v předchozím odstavci (188,3 kg/m<sup>3</sup>), a tepelná kapacita (1145 J·K<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>) uvedená v kapitole 2.3.3. Záznam z měření je uveden v tabulce 19.

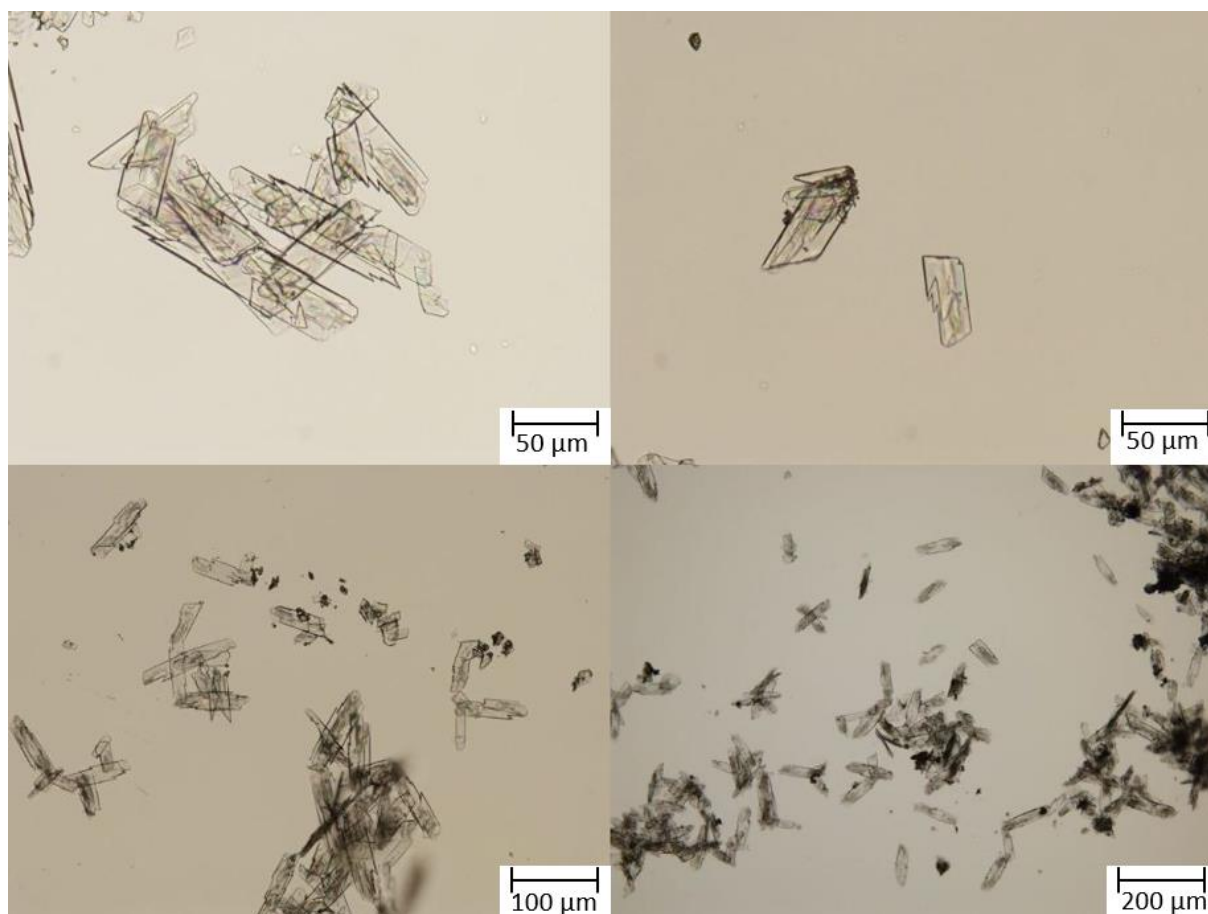
Tabulka 19: Hodnoty efuzivity a koeficientu tepelné vodivosti pro uvedenou teplotu

	efuzivita [W·s <sup>1/2</sup> ·m <sup>-2</sup> ·K <sup>-1</sup> ]	vodivost [W·m <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> ]	teplota [°C]
1	69,44	0,0462	25,25
2	69,30	0,0462	25,29
3	65,39	0,0453	26,02
4	70,27	0,0464	25,30
5	64,93	0,0452	26,02
6	69,66	0,0463	25,32
7	70,01	0,0464	25,34
8	69,08	0,0461	25,32
9	70,09	0,0464	25,33
10	65,42	0,0453	26,15
11	68,42	0,0460	25,36
12	64,10	0,0450	26,24
13	69,75	0,0463	25,42
14	65,02	0,0452	26,28
15	69,12	0,0462	25,42
průměr	<b>67,8</b>	<b>0,0460</b>	<b>25,6</b>
SD	2,28	0,0005	0,4

Byla získána průměrná hodnota koeficientu tepelné vodivosti brushitu  $0,046 \pm 0,0005 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  při teplotě  $25,6 \pm 0,4 \text{ }^\circ\text{C}$ . V práškové podobě se tedy jedná o látku s velmi nízkou hodnotou koeficientu tepelné vodivosti.

### 3.1.4 Optická mikroskopie

Optický mikroskop (Olympus BX51) byl použit ke zkoumání velikosti a tvaru krystalů BRU při různém zvětšení. Krystaly mají tvar destiček, které jsou přes sebe naskládány ve vícero vrstvách. Dle získaných obrázků lze vidět, že se jedná o tenké krystaly a jejich velikost je přibližně  $100 \text{ }\mu\text{m} \times 30 \text{ }\mu\text{m}$ , některé krystaly jsou však polámané, a tak se jejich velikost liší. Vzhledem k rychlému průběhu vzniku krystalů při srážení BRU také docházelo k prorůstání krystalů navzájem, jak je z obrázku 22 patrné.

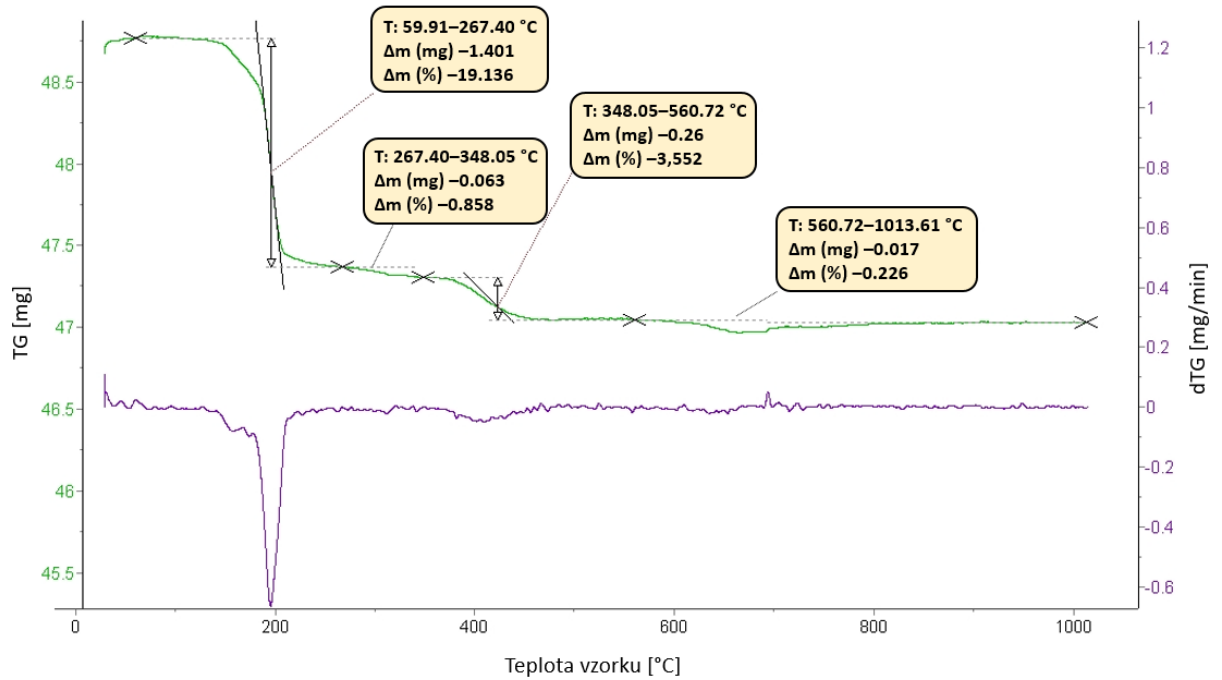


Obrázek 22: Snímek optického mikroskopu – typický tvar krystalů připraveného BRU

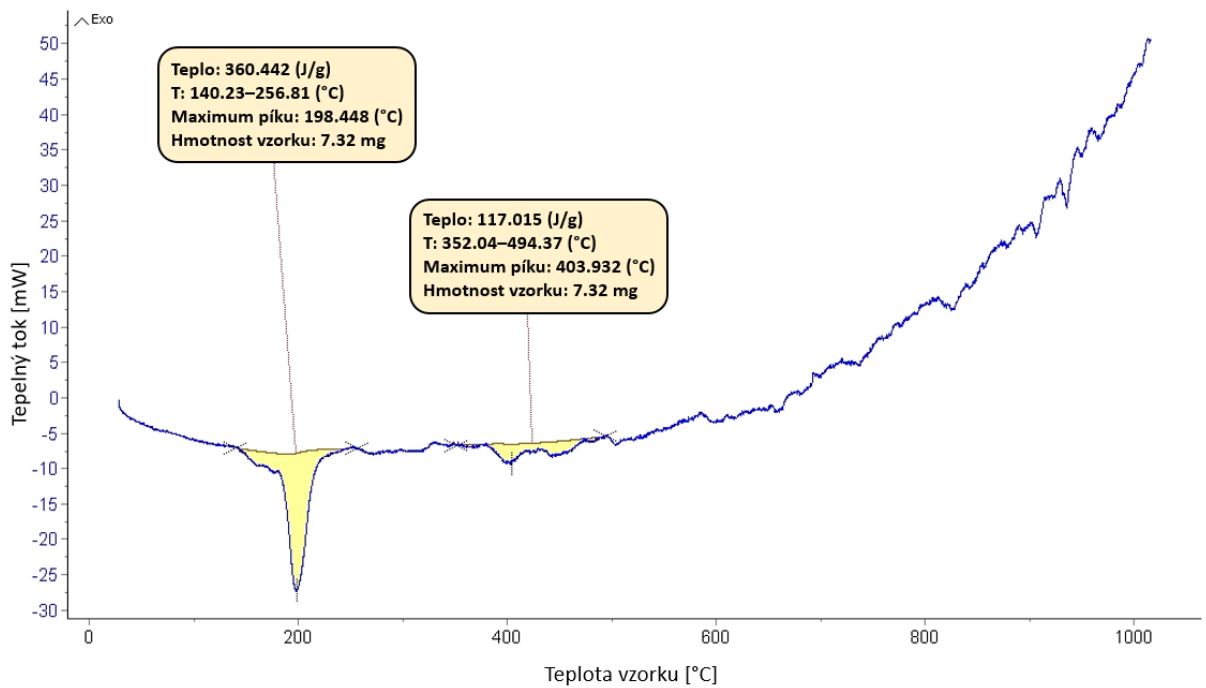
### 3.1.5 Termogravimetrická analýza a diferenciální skenovací kalorimetrie

Analyzátor LabSys evo (Setaram) se schopností provádět jak termogravimetrickou analýzu (Obr. 23), tak i diferenciální skenovací kalorimetrii (Obr. 24) současně, byl použit pro zkoumání reakcí a fázových změn BRU, ke kterým dochází během zahřívání materiálu.

Experimenty byly prováděny v teplotním rozsahu od 25 do 1000 °C za použití inertního plynu argonu s průtokem 50 ml/min a s rychlostí ohřevu 2, 5 a 10 K/min.

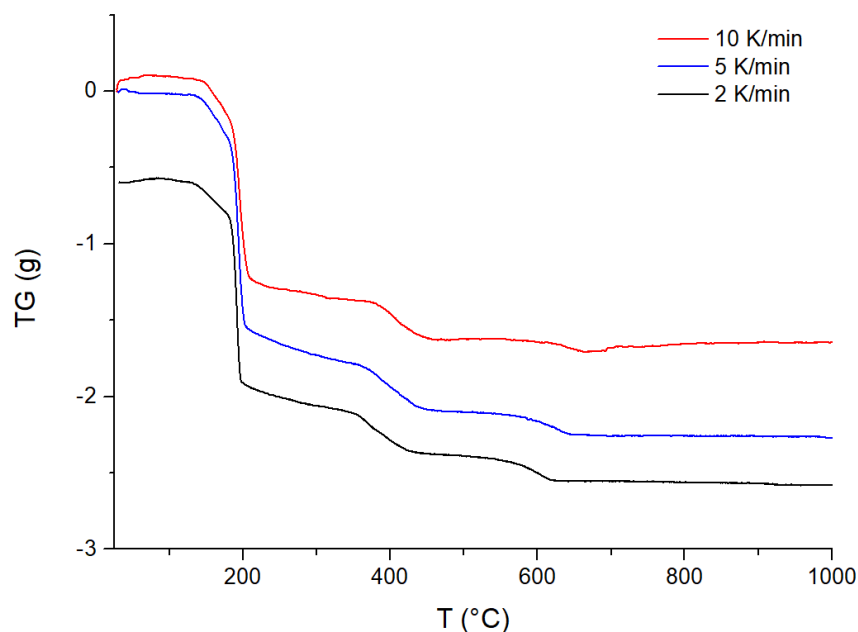


Obrázek 23: Závislost hmotnosti vzorku na teplotě termogravimetrické analýzy pro rychlost ohřevu 10 K/min, včetně její derivace dTG a vyhodnocení hmotnostních úbytků

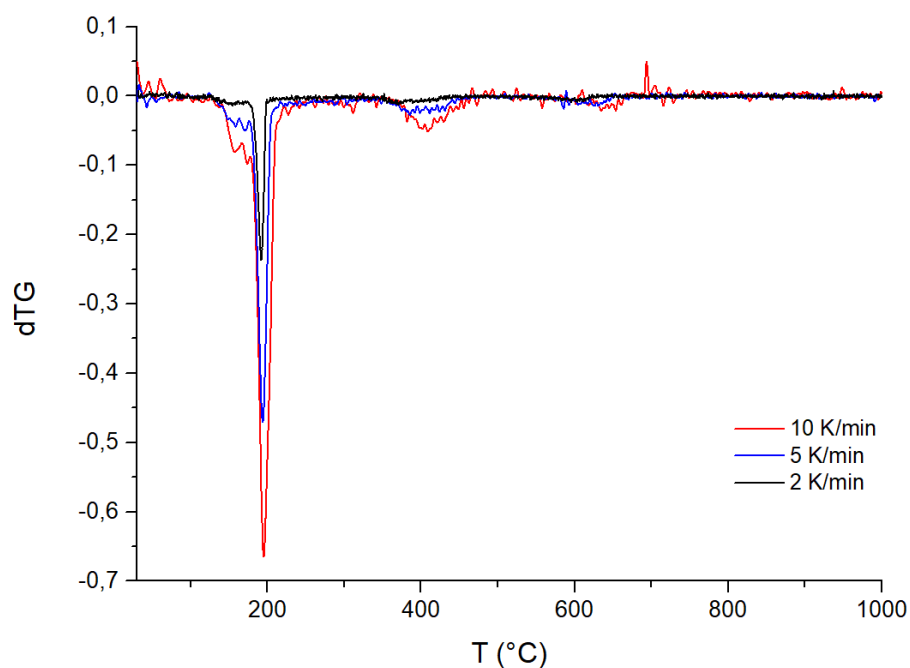


Obrázek 24: Závislost tepelného toku na teplotě z DSC pro rychlost ohřevu 10 K/min, včetně vyhodnocení pozorovaných píků

Po provedení termogravimetrické analýzy při všech třech rychlostech ohřevu, tj. 2, 5 a 10 K/min, byly získány 3 křivky, u každé z nich byly viditelné 3 efekty rozkladu doprovázené hmotnostním úbytkem. Závislosti byly poupraveny (posun počáteční hodnoty hmotnosti vzorku), aby bylo možné lepší porovnání křivek jednotlivých rychlostí ohřevu (Obr. 25). Po následné derivaci byl získán nový graf (dTG), z něhož byly odečteny teploty maxima  $T_p$  všech sledovaných píků (Obr. 26).



Obrázek 25: TGA křivka BRU



Obrázek 26: dTG křivka BRU

BRU obsahuje dvě molekuly vody ve své mřížce a molekuly vody adsorbované na svém povrchu. Jak ukazuje přítomnost vrcholů, k první ztrátě hmoty (efekt 1) došlo během zahřívání v rozmezí 68,9 až 314 °C. Část chemicky vázané vody se uvolnila při přeměně BRU na monetit CaHPO<sub>4</sub> při 193,7 °C Teoretický úbytek hmoty má být při této reakci 20,93 %, naměřený úbytek byl v průměru všech 3 rychlostí ohřevu 20,26 % (tab. 20). Později došlo k přeměně na pyrofosforečnan vápenatý Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (efekt 2) při ~398,5 °C. Tentokrát došlo k úbytku hmoty 4,2 %, a to v důsledku ztráty ½ H<sub>2</sub>O, namísto teoretické 5,2 % (tab. 21). Pyrofosfáty se dále rozkládaly při zahřívání mezi teplotami 526,4–1011,6 °C (efekt 3). Teplotní maximum zde bylo 628 ± 7 °C a naměřený hmotnostní úbytek je zapsán v tabulce 22 a činil 1,6 % (teor. má být 4,01 %). Tento efekt již však splýval se šumem natolik, že nebylo možné jej dobře identifikovat. Hůře stanovitelné hodnoty u efektů byly určeny alespoň přibližně s větší chybou. Charakteristické parametry DSC a termogravimetrické analýzy pro všechny použité rychlosti ohřevu jsou uvedeny v tabulkách 20–22.

Tabulka 20: TGA/DSC parametry efektu 1 při fázové přeměně BRU

rychlost ohřevu [K/min]	TGA				DSC			
	rozsah T [°C]		$\Delta m$ [%]	$T_{p1dTG}$ [°C]	rozsah T [°C]		$\Delta H$ [J/g]	$T_{p1}$ [°C]
	poč.	konc.			poč.	konc.		
2	81,2	295,1	-20,1	191,9	170,6	192,3	368,8	192,4
5	65,5	301,4	-20,7	193,9	129,4	232,4	327,0	195,5
10	59,9	348,1	-20,0	195,3*	140,2	256,8	360,4	198,4
průměr	68,9	314,9	-20,26	193,7	146,7	257,8	352,1	195,4

\* Efekt 1 při rychlosti ohřevu 10 K/min se skládal ze dvou menších efektů, hodnoty však byly sečteny.

Tabulka 21: TGA/DSC parametry efektu 2 při fázové přeměně BRU

rychlost ohřevu [K/min]	TGA				DSC			
	rozsah T [°C]		$\Delta m$ [%]	$T_{p2dTG}$ [°C]	rozsah T [°C]		$\Delta H$ [J/g]	$T_{p2}$ [°C]
	poč.	konc.			poč.	konc.		
2	295,1	511,7	-4,5	382 ± 7*	302,0	485,4	269,4	408,6
5	301,4	536,8	-4,6	405 ± 5	344,7	456,6	118,3	409,9
10	348,1	560,7	-3,6	408,6	352,0	494,4	117,0	403,9
průměr	314,9	536,4	-4,2	398,5	332,9	478,8	168,2	407,5

\* Teplotní maximum s odchylkou z důvodu splývání se šumem

Tabulka 22: TGA/DSC parametry efektu 3 při fázové přeměně BRU

rychlost ohřevu [K/min]	TGA				DSC			
	rozsah $T$ [°C]		$\Delta m$ [%]	$T_{p3dTG}$ [°C]	rozsah $T$ [°C]		$\Delta H$ [J/g]	$T_{p3}$ [°C]
	poč.	konc.			poč.	konc.		
2	511,7	1016,4	-2,6	$610 \pm 7$				
5	536,8	1004,8	-1,9	$629 \pm 7$				
10	560,7	1013,6	-0,2	$645 \pm 7$				
průměr	536,4	1011,6	-1,6	$628 \pm 7$				

Při porovnávání vzniklých efektů při všech rychlostech ohřevu, tj. 2, 5 a 10 K/min, lze konstatovat, že ačkoli byly úbytky hmotnosti při rychlosti ohřevu 10 K/min nejvíce vzdáleny teoretickým hodnotám, jedná se o nejvhodnější volbu rychlosti ohřevu. Vzniklé efekty bylo totiž možné dobře identifikovat a zaznamenat jejich začátek a konec, zatímco u nižších rychlostí ohřevu byly efekty příliš malé, takže poté splývaly se šumem. Obzvláště třetí efekt u rychlosti ohřevu 2 K/min byl špatně čitelný. Nicméně u všech rychlostí ohřevu je jisté, že analyzovanou látkou je právě BRU.

Protože byly využity různé rychlosti ohřevu, můžeme odhadnout jeden z kinetických parametrů, a sice aktivační energii. Aktivační energie byla vypočtena Kissingerovou metodou na základě vztahu, kde se využívá posunu teploty odpovídající maximu píku  $T_p$  s rychlostí ohřevu:

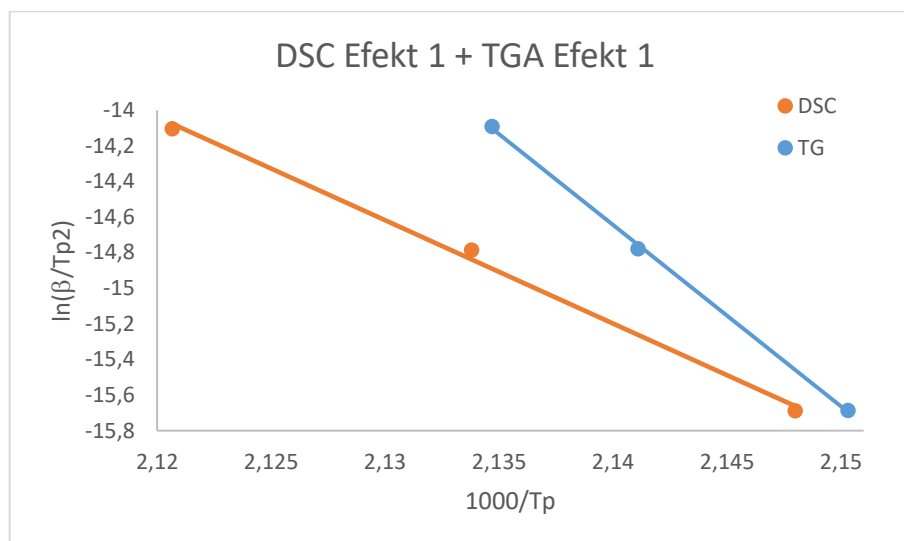
$$\ln\left(\frac{\beta}{T_p^2}\right) = -\frac{E}{R} \cdot \frac{1}{T_p} \quad (13)$$

kde  $E$  je aktivační energie,  $R$  je molární plynová konstanta,  $T_p$  je teplota maxima píku a  $\beta$  je rychlost ohřevu. Aktivační energii tedy určíme ze směrnice přímky, která prokládá lineární závislost  $\ln(\beta/T_p^2)$  na  $1/T_p$ . Parametry přímek prokládající experimentální data pro výpočet aktivační energie jsou shrnuty v tabulce 23. Aktivační energie z DSC dat byla stanovena pouze pro první sledovaný efekt, pro efekt 2 a 3 to nebylo možné, protože nebyla zřetelná teplota maxima píku  $T_p$ . Aktivační energie byla stanovena pro všechny 3 efekty z dTG dat. Z porovnání hodnost aktivační energie z TGA a DSC dat u efektu 1 je patrné, že se obě velmi liší (viz Obr. 27). Aktivační energie efektu 2 a 3 stanovených pouze z TGA jsou si pak velmi blízké a jsou téměř poloviční než pro efekt 1.



Tabulka 23: Aktivační energie z křivek TGA a DSC

		směrnice	úsek	R <sup>2</sup>	E [kJ/mol]
Efekt 1	DSC	-58,027	108,980	0,9967	482,4
	TG	-101,940	203,500	0,9994	847,5
Efekt 2	TG	-22,313	17,651	0,8882	185,5
Efekt 3	TG	-35,530	23,271	0,9996	295,4



Obrázek 27: Porovnání závislosti efektu 1 u metod TGA a DSC

## 3.2 Stanovení rozpustnosti brushitu

Rozpustnost BRU byla stanovena zjednodušenou metodou pro rozpouštění v HCl při teplotě 25 °C a pro rozpouštění v syntetické moči při teplotě 25 a 37 °C. Dále pak byla rozpustnost stanovena přesně pomocí speciální nádoby s vnitřním prostorem pro uložení pevné látky k promývání roztok a jeho následnou analýzou AAS, a to pro rozpouštění BRU ve vodě a v syntetické moči při teplotě 25 °C. Podrobnosti k oběma postupům jsou uvedeny v následujících podkapitolách.

### 3.2.1 Zjednodušený odhad rozpustnosti

Odhad rozpustnosti BRU byl proveden tak, že se pouze okem posuzovalo, zda se přesně navážené množství látky rozpustilo v definovaném množství kapaliny.

Při laboratorní teplotě bylo rozpouštěno 60, 30, 20 a 15 mg BRU ve 2 ml 0,1M HCl. Podle výsledku zkoušky rozpustnosti (Tab. 24) byly stanoveny navážky pro rozpouštění v kalorimetru C80.

Tabulka 24: Výsledky odhadu rozpustnosti a stanovení parametrů pro měření v HCl

zkouška rozpustnosti ve 2 ml 0,1M HCl		
teplota [°C]	navážka [mg]	rozpuštění
25	60	NE
25	30	NE
25	20	NE
25	15	ANO

Pro rozpouštění v syntetické moči byl rovněž proveden odhad rozpustnosti, tentokrát ale při dvou teplotách – při laboratorní teplotě 25 °C a při 37 °C, což se přibližuje tělesné teplotě. Při laboratorní i tělesné teplotě se zkoušelo rozpustit 35, 30 a 25 mg ve 4 ml syntetické moči a výsledky byly rozdílné, jak je vidět z hodnot uvedených v tabulce 25. Na základě těchto výsledků byly opět stanoveny navážky pro rozpouštění v kalorimetru C80.

Tabulka 25: Výsledky odhadu rozpustnosti a stanovení parametrů pro měření v moči

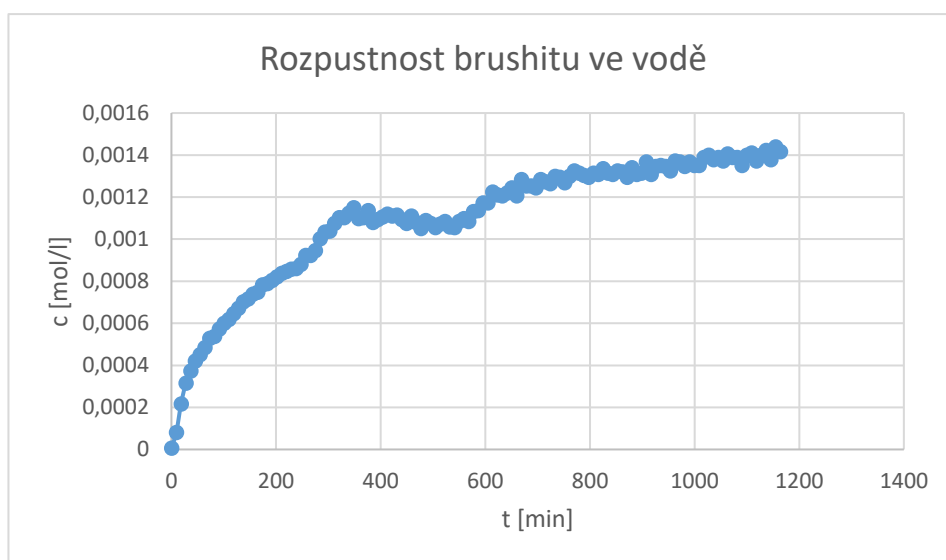
zkouška rozpustnosti ve 4 ml syntetické moči		
teplota [°C]	navážka [mg]	rozpuštění
25	35	NE
25	30	NE
25	25	ANO
37	35	NE
37	30	ANO
37	25	ANO

Na základě metody odhadu rozpustnosti je patrné, že rozpustnost BRU v HCl a moči při teplotě 25 °C jsou blízké, i když je brushit v HCl rozpustnější. Proto (a z časových důvodů) bylo přesné stanovení rozpustnosti BRU provedeno pouze ve vodě a v syntetické moči při teplotě 25 °C.

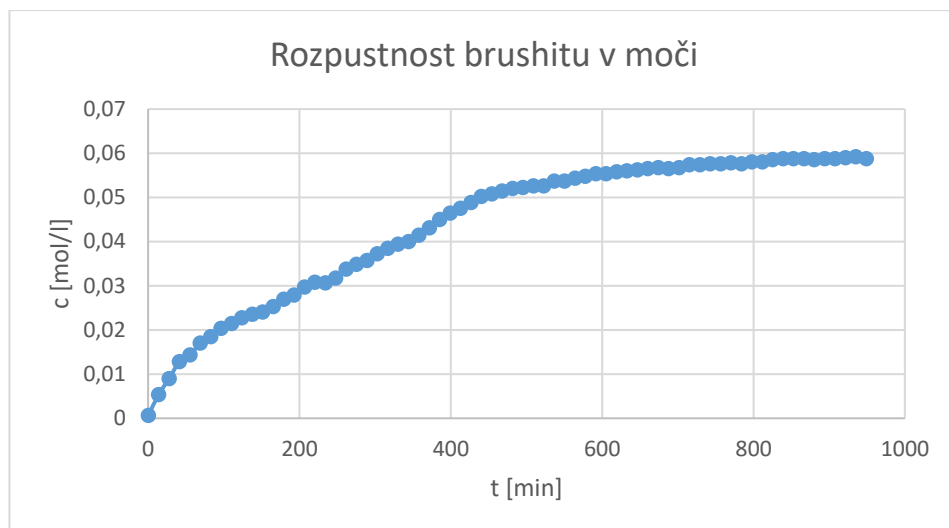
### 3.2.2 Rozpustnost v rozpouštěcí nádobě

Přesné stanovení rozpustnosti BRU proběhlo dle postupu uvedeném v kapitole 2.5.2. Byly rozpouštěny celkem 4 vzorky BRU ve vodě a 3 vzorky v moči. Navážka BRU pro rozpouštění ve vodě se pohybovala kolem 40 mg/100 ml vody a navážka pro rozpouštění

v moči kolem 800 mg/100 ml moči. Všechny navážky byly v nadbytku, tudíž při každém experimentu došlo k maximálnímu nasycení roztoku a na fritě ve vnitřním prostoru aparatury zůstal přebytečný nerozpuštěný BRU. Naměřené hodnoty koncentrací pomocí vápníkové elektrody v závislosti na čase jsou uvedeny na obrázcích 28 a 29. Cílem měření bylo sledování ustálení koncentrace při dosažení maximálního nasycení, ale i přesto, že byla vápníková ISE elektroda nakalibrovaná, nedošlo k ustálení na očekávané koncentraci. Proto bylo toto měření použito jen jako indikace ukončení experimentu a přesná koncentrace vápníku pro veškeré vzorky byla stanovena metodou AAS. V grafech 28 a 29 však můžeme vidět, že rozpouštění nebyl krátký proces. Rozpouštění ve vodě trvalo přibližně 20 hodin a rozpouštění v moči, kde se očekával vzhledem k velkému množství vzorku, mnohem delší průběh, bylo kratší a trvalo přibližně 16 hodin. Tento výsledek vypovídá o tom, že rozpustnost BRU v kyselé moči je mnohem větší a rychlejší než rozpustnost ve vodě.



*Obrázek 28: Závislost koncentrace vápníku (vápníková elektroda) na čase při stanovení rozpustnosti BRU ve vodě*



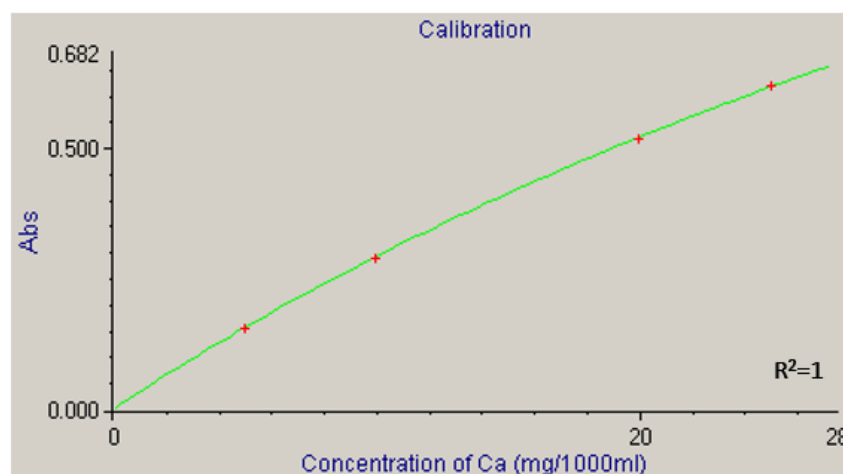
Obrázek 29: Závislost koncentrace vápníku (vápníková elektroda) na čase při stanovení rozpustnosti BRU v moči

### 3.2.3 Stanovení koncentrace Ca metodou AAS

Pro metodu AAS byl použit získaný nasycený roztok BRU ve vodě nebo moči při 25 °C, v němž byla dále měřena koncentrace Ca metodou AAS. Po proměření připravené kalibrační řady byl zkontrolován její koeficient determinace ( $R^2$ ) a následně samotný roztok. Výsledky koncentrace Ca byly přístrojem naměřeny v jednotkách mg/l, kvůli porovnání s hodnotami z literatury byly však přepočítány na jednotky mol/l.

#### Koncentrace Ca ve vodě

Celkem byly změřeny 4 vzorky, každému z nich předcházelo měření kalibrační řady, jež je znázorněna na obrázku 30, kde je vidět velmi dobré proložení všech bodů. Výsledky z měření vzorků jsou uvedeny v tabulce 26.



Obrázek 30: Kalibrační křivka metody AAS pro stanovení koncentrace Ca ve vodě

Tabulka 26: Naměřené absorbance a koncentrace Ca ve vodě metodou AAS

Vzorek	<i>Abs</i>	<i>c</i> Ca [mg/l]	<i>c</i> Ca [mol/l]
1	0,75	19,94	$4,98 \times 10^{-4}$
2	0,50	16,33	$4,08 \times 10^{-4}$
3	0,43	15,89	$3,96 \times 10^{-4}$
4	0,43	15,89	$3,97 \times 10^{-4}$
průměr	0,53	17,01	$4,35 \times 10^{-4}$
SD	0,15	1,97	$0,49 \times 10^{-4}$

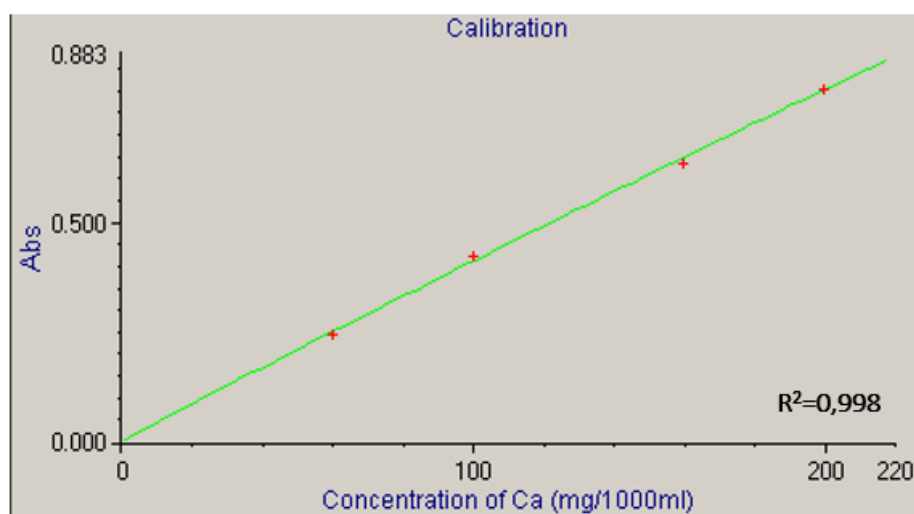
Nutno dodat, že koncentrace Ca v jednotkách mol/l na základě stechiometrie odpovídá i koncentraci BRU. Proto mohlo následně dojít k porovnání s různými studii zabývajícími se rozpustností BRU, z nichž jsou jednotlivé koncentrace BRU včetně hodnot  $K_{sp}$  a  $-\log(K_{sp})$  zaznamenány v tabulce 27. V porovnání s ostatními studii je koncentrace stanovena v rámci této diplomové trochu nižší než údaje z literatury. Avšak v porovnání se studií Marshal et al (1969) [75], na jejímž základě byla v tomto experimentu stanovována navážka BRU, je rozdíl mezi koncentracemi pouhých 5,0 %.

Tabulka 27: Rozpustnost BRU ve vodě při 25 a 37 °C

Rozpustnost BRU ve vodě						
25 °C, $-\log(K_{sp})$	37 °C, $-\log(K_{sp})$	25 °C, $K_{sp}$ [(mol/l) <sup>2</sup> ]	37 °C, $K_{sp}$ [(mol/l) <sup>2</sup> ]	25 °C, <i>c</i> [mol/l]	37 °C, <i>c</i> [mol/l]	zdroj
<b>6,72</b> <b>±0,006</b>		<b><math>1,89 \times 10^{-7}</math></b> <b>±0,024 × 10<sup>-7</sup></b>		<b><math>4,35 \times 10^{-4}</math></b> <b>±0,49 × 10<sup>-4</sup></b>		Tato práce
6,68		$2,10 \times 10^{-7}$		$4,58 \times 10^{-4}$		[76]
6,68		$2,08 \times 10^{-7}$		$4,56 \times 10^{-4}$		[77]
6,68		$2,10 \times 10^{-7}$		$4,58 \times 10^{-4}$		[75]
6,59	6,73	$2,57 \times 10^{-7}$	$1,87 \times 10^{-7}$	$5,07 \times 10^{-4}$	$4,32 \times 10^{-4}$	[29]
6,59	6,63	$2,56 \times 10^{-7}$	$2,37 \times 10^{-7}$	$5,06 \times 10^{-4}$	$4,87 \times 10^{-4}$	[46]
	6,65		$2,24 \times 10^{-7}$		$4,73 \times 10^{-4}$	[78]
	6,66		$2,19 \times 10^{-7}$		$4,68 \times 10^{-4}$	[79]
	6,65		$2,24 \times 10^{-7}$		$4,73 \times 10^{-4}$	[80]
	6,65		$2,20 \times 10^{-7}$		$4,69 \times 10^{-4}$	[81]

## Koncentrace Ca v moči

Pro stanovení koncentrace Ca v moči byla rovněž proměřena kalibrační řada obohacená o roztok  $\text{LaCl}_3$ , aby se zabránilo precipitaci fosfátů v plameni, které jsou obsaženy v moči. Kalibrační řada o koncentracích 60, 100, 160 a 200 mg/l je na obrázku 31. V tabulce 28 jsou shrnuty naměřené absorbance a koncentrace tří vzorků. Koncentrace byla převedena také na jednotky v mol/l, aby bylo možné porovnání s hodnotami rozpustností BRU ve vodě. Při přepočtu však nesmělo být opomenuto ředění vzorku. Jak je z hodnot v tabulce 28 zřejmé, a bylo to patrné i v testech odhadu rozpustnosti, je rozpustnost BRU v moči výrazně vyšší než ve vodě.



Obrázek 31: Kalibrační křivka metody AAS pro stanovení koncentrace Ca v moči

Tabulka 28: Naměřené absorbance a koncentrace Ca v moči metodou AAS

Vzorek	Abs	c Ca [mg/l]	c Ca [mol/l]
1	0,77	1533,91	$3,83 \times 10^{-2}$
2	0,65	1623,43	$4,05 \times 10^{-2}$
3	0,68	1690,60	$4,22 \times 10^{-2}$
průměr	0,70	1615,98	$4,03 \times 10^{-2}$
SD	0,06	78,61	$0,2 \times 10^{-2}$

Vzhledem k tomu, že pro stanovení koncentrace BRU v moči není dostupná žádná literatura, se kterou by bylo možné výsledky porovnat (a také s ohledem na přídavek  $\text{LaCl}_3$ ), byly proměřeny kontrolní vzorky o známé koncentraci a byla porovnána tato známá koncentrace s koncentrací naměřenou. Na základě tohoto zjištění byla stanovena chyba

měření. Společně s prvním vzorkem byl změřen i kontrolní vzorek se známou koncentrací 1,389 g/l, avšak naměřená koncentrace činila 1,198 g/l. Jedná se o odchylku 13,71 %. Se vzorkem 2 a 3 byl současně změřen kontrolní vzorek o známé koncentraci 1,424 g/l. Po změření na AAS byl získán výsledek 1,369 g/l. Zde je odchylka měřené a žádané hodnota rovna 3,82 %. Pokud zohledníme tuto odchylku měření a odstraníme ji přepočtem (původní stanovenou koncentraci zvýšíme o uvedenou odchylku), získáme následující data o rozpustnosti BRU uvedená v tabulce 29.

Tabulka 29: Rozpustnost BRU v moči při 25 °C, kde je koncentrace původní stanovená metodou AAS přepočítaná s ohledem na odchylku kontrolních vzorků; součin rozpustnosti a jeho logaritmus

Vzorek	c BRU [mol/l] při 25 °C		$K_{sp}$ [(mol/l) <sup>2</sup> ] 25 °C	-log( $K_{sp}$ ) 25 °C
	původní	přepočtená		
1	$3,83 \times 10^{-2}$	$4,43 \times 10^{-2}$	$1,87 \times 10^{-3}$	2,73
2	$4,05 \times 10^{-2}$	$4,21 \times 10^{-2}$	$1,77 \times 10^{-3}$	2,75
3	$4,22 \times 10^{-2}$	$4,39 \times 10^{-2}$	$1,93 \times 10^{-3}$	2,71
<b>průměr</b>	<b><math>4,03 \times 10^{-2}</math></b> <b><math>\pm 0,2 \times 10^{-2}</math></b>	<b><math>4,34 \times 10^{-2}</math></b> <b><math>\pm 0,2 \times 10^{-2}</math></b>	<b><math>1,88 \times 10^{-3}</math></b> <b><math>\pm 0,08 \times 10^{-3}</math></b>	<b>2,73</b> <b><math>\pm 0,02</math></b>

Metoda AAS tedy potvrzuje skutečnost zjištěnou předchozí metodou odhadu rozpustnosti, neboť na základě získaných dat lze říct, že koncentrace BRU v moči byla o dva řády vyšší než ve vodě, z čehož vyplývá, že i rozpustnost BRU v moči o pH ~2,002 je větší. Jak již bylo uvedeno u odhadu rozpustnosti, rozpustnost BRU v HCl je ještě o něco vyšší než v syntetické moči (důležitý poznatek pro stanovení množství BRU pro kalorimetrické experimenty).

### 3.3 Kalorimetrie

Jak již bylo uvedeno v kapitole 1.3, přímé kalorimetrické studium srážení BRU přináší nejednoznačné výsledky stanovení změny entalpie srážení. Pozorované tepelné změny probíhající při vzniku BRU nejsou jednoduchým dějem, a není zřejmé, jaké další procesy děje kromě krystalizace se podílely na studovaném systému (neutralizace, zředování) [40, 41]. Nicméně můžeme využít základního fyzikálního předpokladu, a sice že změna entalpie krystalizační reakce je stejná jako změna entalpie rozpouštění, jen se liší znaménkem. Tohoto je možné využít, když nelze jednoduše stanovit teplo krystalizace, ale je možno stanovit tepelné zabarvení rozpouštění BRU. To je tedy důvod, proč bylo studováno rozpouštění BRU

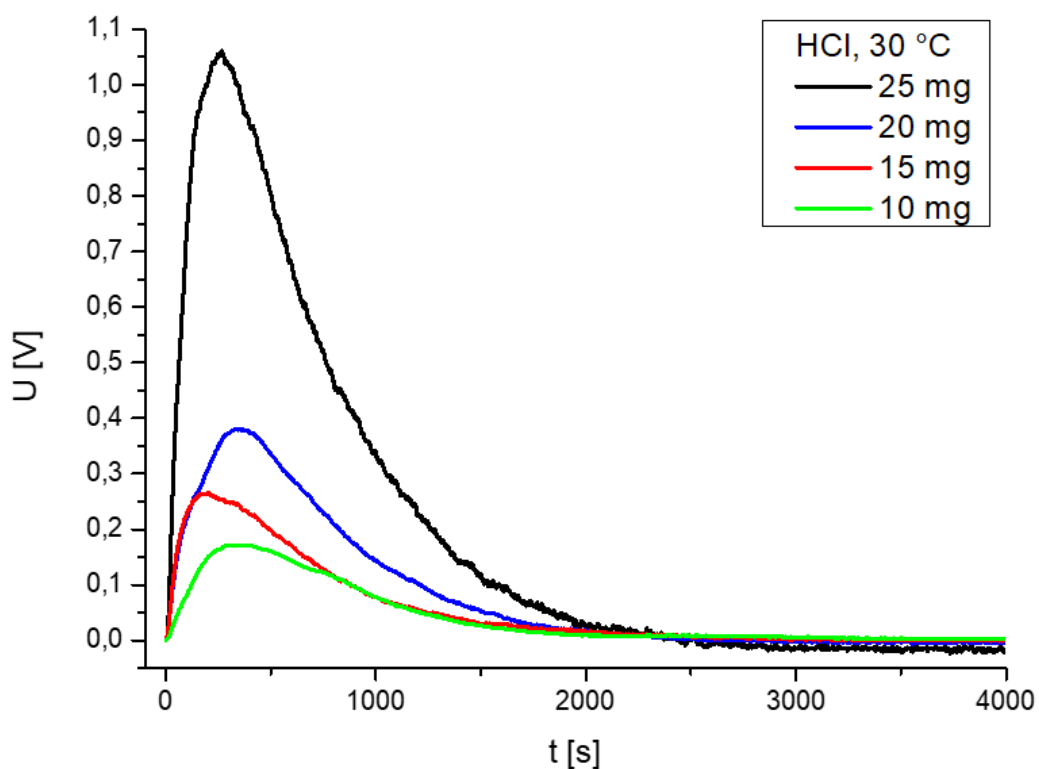
v různých prostředích za různých teplot. A rovněž bylo cílem se co nejvíce přiblížit fyziologickým podmínkám prostředí vzniku močových kamenů.

Aby mohla být kvantifikována entalpie rozpouštění zkoumaného BRU, všechna měření byla provedena za izotermních podmínek (30 a 37 °C) v kalorimetru Calvetova typu (C80 Setaram). BRU byl rozpouštěn v 0,1M HCl (pH=1) a syntetické moči (pH=2,002), kdy každá navážka při určité teplotě byla rozpouštěna alespoň 3x. Získané křivky měly závislost napětí na čase a dále byly upravovány v programu OriginPro, kde došlo k výpočtu plochy  $A$ . Pomocí plochy, rozsahu a kalibrační konstanty bylo možné stanovit reakční teplo  $Q$  a změnu entalpie  $\Delta H$ . Kalibrační konstanty pro dané teploty byly použity z práce Vařeková V. (2021) [82], a to 34,27 W/V pro 30 °C a 35,26 W/V pro 37 °C. Kalibrační křivka je znázorněna na obrázku 16 a z orientace píku lze vidět, že kladná plocha pod píkem odpovídá exotermnímu ději.

### 3.3.1 Rozpouštění v HCl

Rozpouštění BRU v HCl proběhlo pouze při 30 °C, ale se 4 různými navážkami. Dle navážky byl určen i rozsah měření (1; 0,25; 0,1 mV), protože čím menší je navážka, tím menší je i pozorované teplo reakce. Výsledky měření jsou pro všechny studované navážky BRU zobrazeny na obrázku 32, kde byly všechny rozsahy měření pro lepší porovnání přepočítány na stejnou hodnotu. Jak lze na obrázku vidět, čím větší byla navážka, tím větší byla i plocha pod křivkou. Ačkoli reprodukovatelnost dle vizuální stránky není úplná, protože tvary jednotlivých křivek nejsou totožné, všechny píky jsou exotermní, tzn., že došlo k uvolnění energie a očekávaná změna entalpie  $\Delta H$  bude mít zápornou hodnotu. Také doba rozpouštění se s rostoucím množstvím rozpouštěného BRU mírně zvyšuje, i když maximum křivky pro 15 mg je výrazně dříve než pro ostatní navážky. Všechny hodnoty navážek, ploch, tepel a entalpií jsou uvedeny v tabulkách 30–33.





Obrázek 32: Rozpouštění 25, 20, 15 a 10 mg BRU v HCl při 30 °C v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV

Tabulka 30: Výsledky rozpouštění 25 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru  $SD$

30 °C, 25 mg						
Měření	rozsah [mV]	$A$ [V.s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	$SD \Delta H$ [J/g]
1	1	108,92	3,73	-149,18	-143,65	4,24
2	0,5	208,82	3,58	-142,89		
3	0,5	202,85	3,48	-138,87		

Tabulka 31: Rozpouštění 20 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru  $SD$

30 °C, 20 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V.s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	$SD \Delta H$ [J/g]
1	0,25	326,21	2,79	-139,32	-139,52	5,68
2	0,25	316,86	2,71	-135,13		
3	0,25	348,22	2,98	-148,87		
4	0,25	316,82	2,71	-134,78		

Tabulka 32: Rozpouštění 15 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD

30 °C, 15 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V.s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	SD $\Delta H$ [J/g]
1	0,25	154,70	1,33	-88,19	-133,51	40,29
2	0,25	203,46	1,74	-115,75		
3	0,25	172,33	1,48	-97,45		
4	0,25	246,29	2,11	-140,21		
5	0,25	153,38	1,31	-87,55		
6	0,25	368,55	3,16	-209,53		
7	0,25	222,07	1,90	-126,17		
8	0,25	284,61	2,44	-161,80		
9	0,1	384,08	1,32	-87,57		
10	0,1	544,51	1,87	-123,83		
11	0,1	827,82	2,84	-189,38		
12	0,1	770,20	2,64	-174,69		

Tabulka 33: Rozpouštění 10 mg BRU ve 4 ml HCl při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD

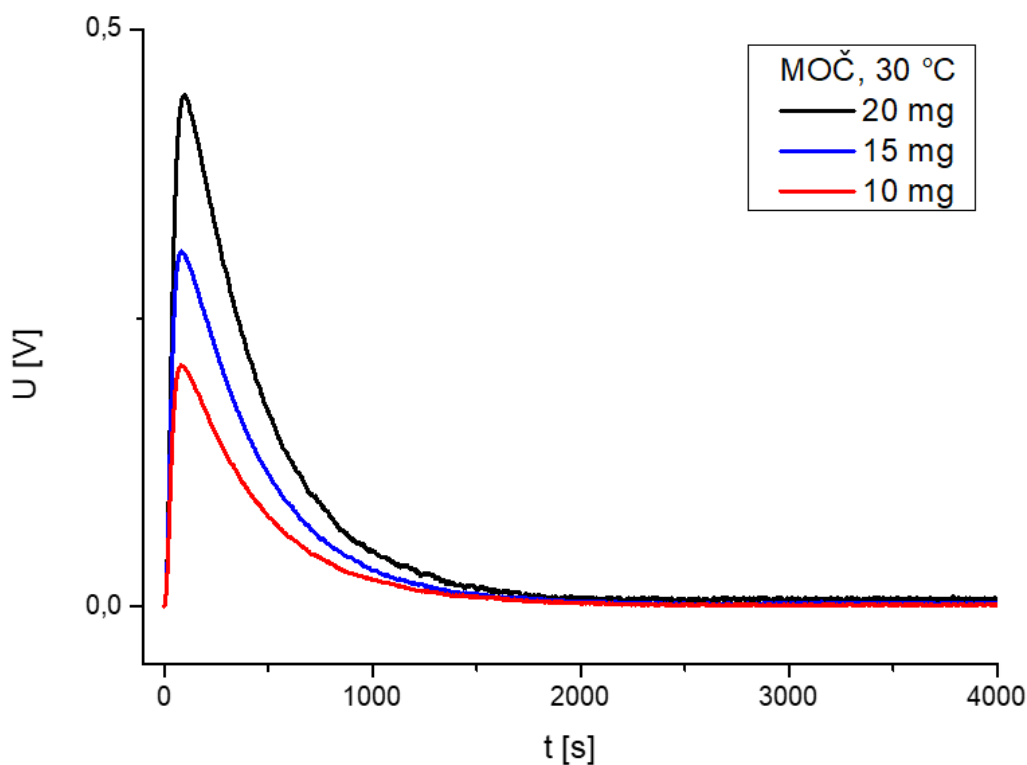
30 °C, 10 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V.s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	SD $\Delta H$ [J/g]
1	0,1	505,19	1,73	-172,44	-137,01	35,08
2	0,1	285,23	0,98	-97,26		
3	0,1	504,61	504,61	-171,90		
4	0,1	395,70	397,70	-136,29		
5	0,1	217,41	0,75	-74,43		
6	0,1	425,74	1,46	-145,90		
7	0,1	469,80	1,61	-160,84		

Předpokládá se, že čím menší je navážka, tím jednodušeji se rozpustí v daném objemu kapaliny. Ne však v tomto případě. Malé navážky (10 a 15 mg) nedávaly v tomto experimentu stejnou a mnohdy ani podobnou plochu pod křivkou, tudíž byly zaznamenány i velké odchylky  $\Delta H$ . Proto byl pro tyto dvě navážky proveden velký počet měření. Možným důvodem této skutečnosti byl vznik vzduchových bublin uvnitř cely při míchání pevné a kapalné látky, a tak nedošlo k dokonalému smísení BRU a HCl.

Celková průměrná hodnota  $\Delta H$  činila  $-138,4 \pm 4,3$  J/g.

### 3.3.2 Rozpouštění v syntetické moči

Rozpouštění v syntetické moči probíhalo při teplotě 30 a 37 °C, pouze navážky byly odlišné, neboť i pro BRU platí obecné pravidlo, že s vyšší teplotou se zvyšuje rozpustnost (odpovídá to i testům odhadu rozpustnosti). Rozpouštění bylo v obou případech bezproblémové, a proto byly pro každou navážku provedeny nejvíce 4 měření. Souhrnný graf závislosti výstupního napětí kalorimetru na čase pro všechny studované navážky a stejný rozsah signálu je uveden na obrázku 33. Jak je z obrázku patrné, pro rozpouštění BRU v moči při teplotě 30 °C byla vysoká reprodukovatelnost, všechny píky měly stejný tvar (viz Obr. 33). Výrazný a rychlý nárůst křivky a ostré maximum dokládá rychlý průběh rozpouštění, což je rozdíl oproti rozpouštění v HCl (Obr. 34). Při rozpouštění v moči je také vyšší maximum křivky než pro HCl a dochází k rychlejšímu ustalování signálu po reakci. Všechny sledované reakce byly exotermního charakteru a jejich výsledná hodnota  $\Delta H$  je tedy záporná (tabulky 34–36). Nejmenší odchylka změny entalpie při daných navážkách byla při měření 3 vzorků s navážkou 15 mg, avšak průměrnými hodnotami  $\Delta H$  se všechny navážky blízce podobaly a celková průměrná hodnota  $\Delta H$  pro rozpouštění BRU v moči při 30 °C byla vypočítána jako  $-85,3 \pm 0,7$  J/g.



Obrázek 33: Rozpouštění 20, 15 a 10 mg BRU v moči při 30 °C v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV

Tabulka 34: Rozpouštění 20 mg BRU ve 4 ml moči při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD

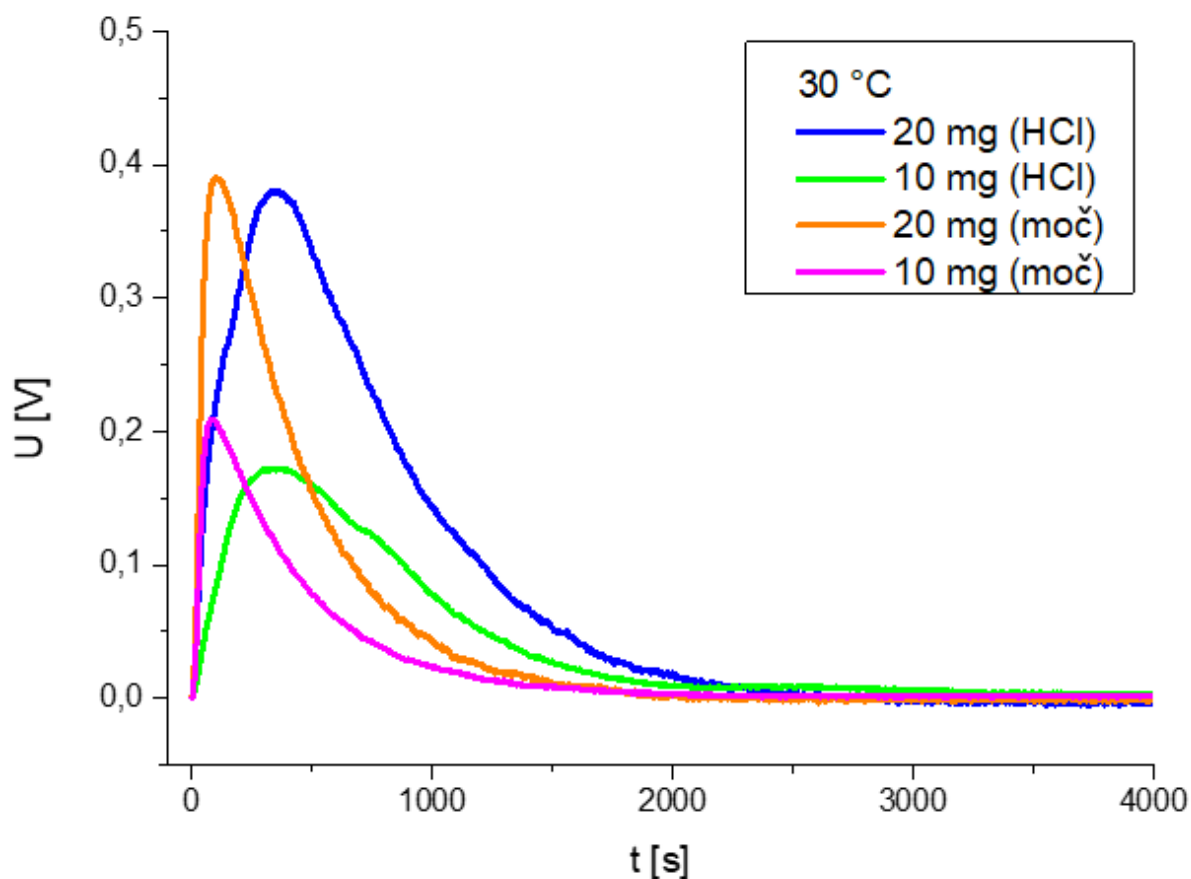
30 °C, 20 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V·s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	SD $\Delta H$ [J/g]
1	0,25	210,75	1,81	-90,01	-85,09	3,66
2	0,25	202,84	1,74	-86,80		
3	0,25	194,46	1,67	-83,26		
4	0,25	188,09	1,61	-80,29		

Tabulka 35: Rozpouštění 15 mg BRU ve 4 ml moči při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD

30 °C, 15 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V·s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	SD $\Delta H$ [J/g]
1	0,1	373,13	1,28	-85,25	-86,10	1,43
2	0,1	385,96	1,32	-88,12		
3	0,1	372,92	1,28	-84,92		

Tabulka 36: Rozpouštění 10 mg BRU ve 4 ml moči při 30 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru SD

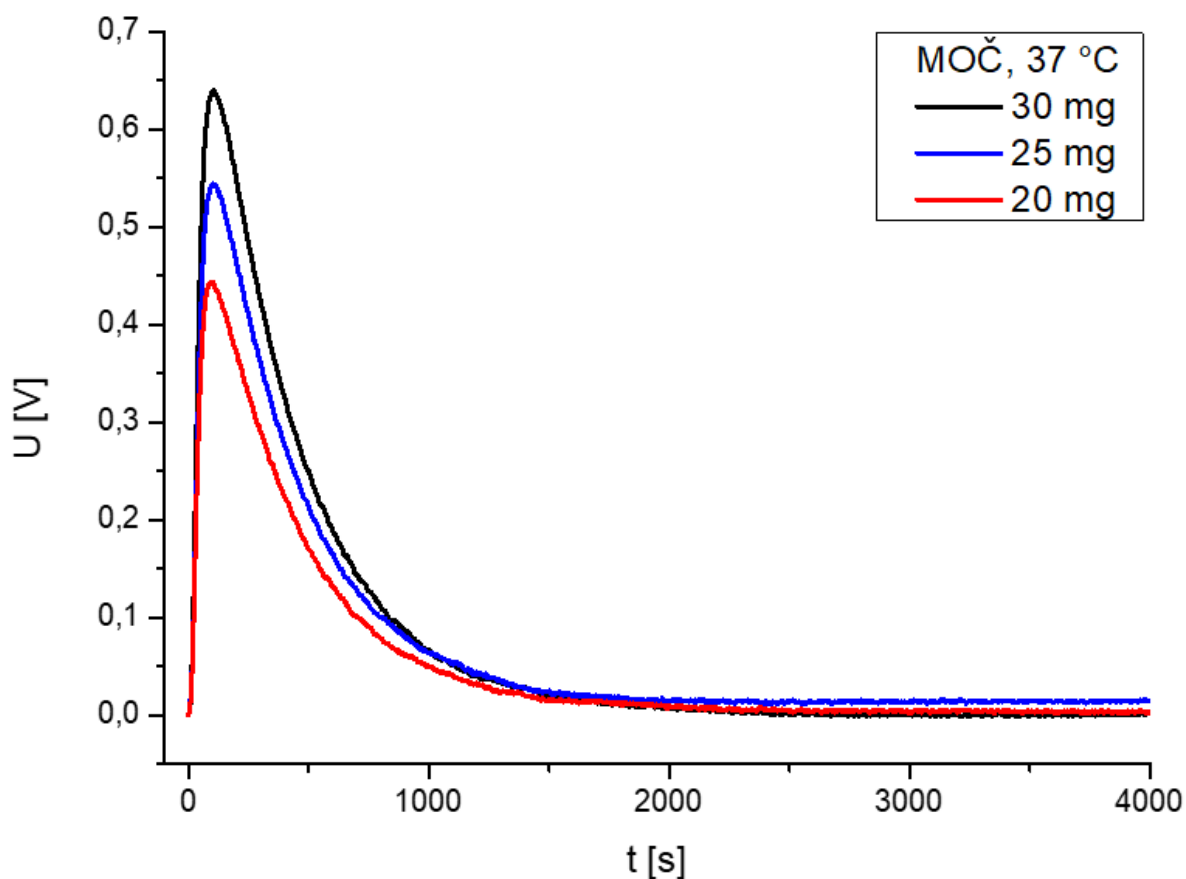
30 °C, 10 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V·s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	SD $\Delta H$ [J/g]
1	0,1	265,84	0,91	-91,01	-84,66	4,13
2	0,1	249,54	0,86	-85,60		
3	0,1	235,93	0,81	-80,61		
4	0,1	237,30	0,81	-81,40		



Obrázek 34: Porovnání rozpouštění BRU v moči a HCl

Rozpouštění BRU v syntetické moči při 37 °C bylo nejlépe reprodukovatelným experimentem. Souhrn křivek pro jednotlivé navážky BRU je uveden na obrázku 35. Opět je vidět rychlý nárůst výstupního signálu s ostrým maximem podobně, jako tomu bylo u teploty 30 °C. Jedná se tedy o rychlé rozpouštění. Srovnání křivek rozpouštění BRU v syntetické moči při 30 a 37 °C je uvedeno na obrázku 36. Protože při vyšší teplotě byly použity vyšší navážky BRU, je v obrázku uvedena pouze jediná společná navážka 20 mg. Jak je z obrázku patrné, křivka pro 30 °C je trochu nižší a k jejímu ustálení dochází v kratším čase než pro teplotu 37 °C, což se projeví i na výsledném vypočítaném teple.

Pro měření rozpustnosti BRU v syntetické moči při 37 °C byly získány z jednotlivých měření hodnoty  $\Delta H$  s nejmenšími odchylkami mezi jednotlivými měřeními každé navážky (Tab. 37–39) ve srovnání s předchozími experimenty a celkový průměr  $\Delta H$  pro rozpouštění BRU v syntetické moči při teplotě 37 °C je  $-94,1 \pm 1,3$  J/g.



Obrázek 35: Rozpouštění 30, 25 a 20 mg BRU v moči při 37 °C v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV

Tabulka 37: Rozpouštění 30 mg BRU ve 4 ml moči při 37 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru  $SD$

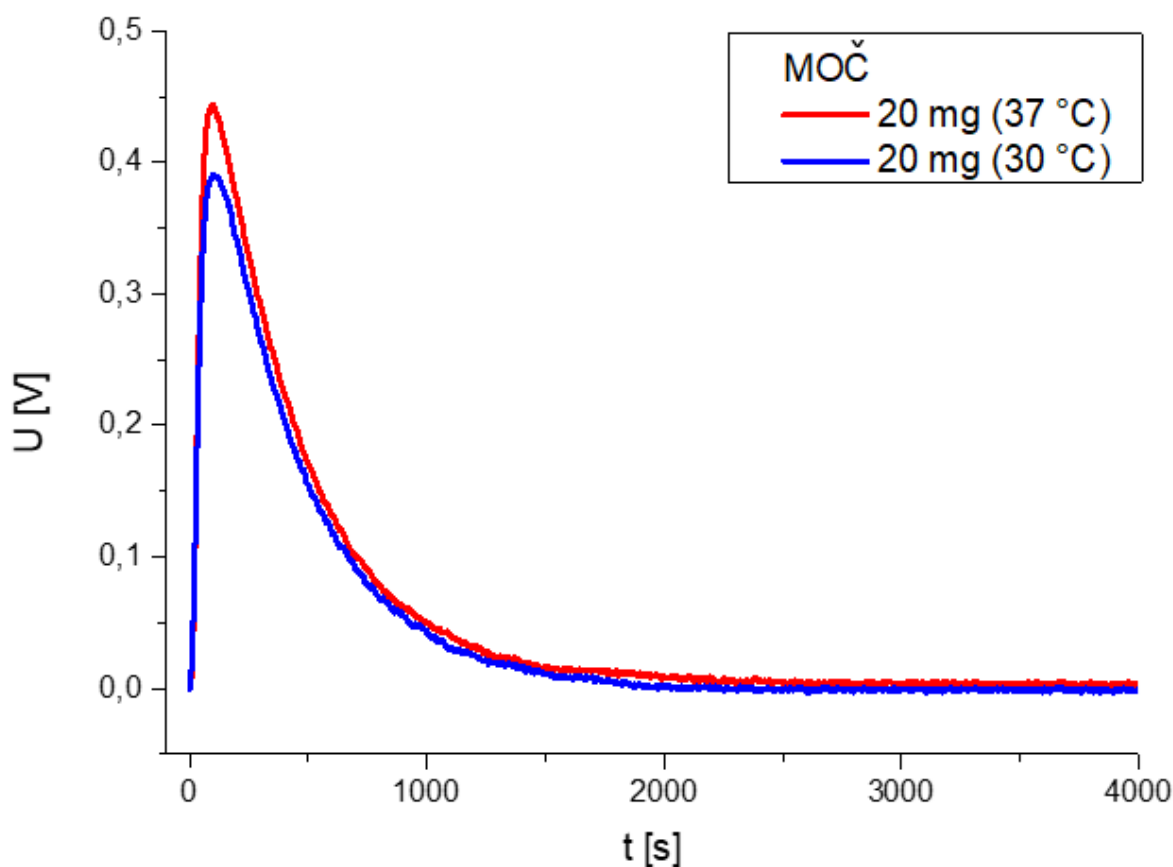
37 °C, 30 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V·s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	$SD \Delta H$ [J/g]
1	0,25	312,10	2,75	-91,64	-92,45	0,87
2	0,25	313,56	2,76	-92,04		
3	0,25	319,60	2,82	-93,66		

Tabulka 38: Rozpouštění 25 mg BRU ve 4 ml moči při 37 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru  $SD$

37 °C, 25 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V·s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	$SD \Delta H$ [J/g]
1	0,25	265,10	2,34	-93,25	-94,04	0,73
2	0,25	266,51	2,35	-93,86		
3	0,25	269,77	2,38	-95,01		

Tabulka 39: Rozpouštění 20 mg BRU ve 4 ml moči při 37 °C, nastavený rozsah zesilovače, získaná plocha píku  $A$ , množství tepla na objem cely  $Q$ , změna entalpie BRU  $\Delta H$ , směrodatná odchylka průměru  $SD$

37 °C, 20 mg						
měření	rozsah [mV]	$A$ [V·s]	$Q$ [J]	$\Delta H$ [J/g]	$\Delta H_{prům}$ [J/g]	$SD \Delta H$ [J/g]
1	0,25	215,41	1,90	-94,56	-95,72	1,53
2	0,25	222,54	1,96	-97,89		
3	0,25	214,80	1,89	-94,72		

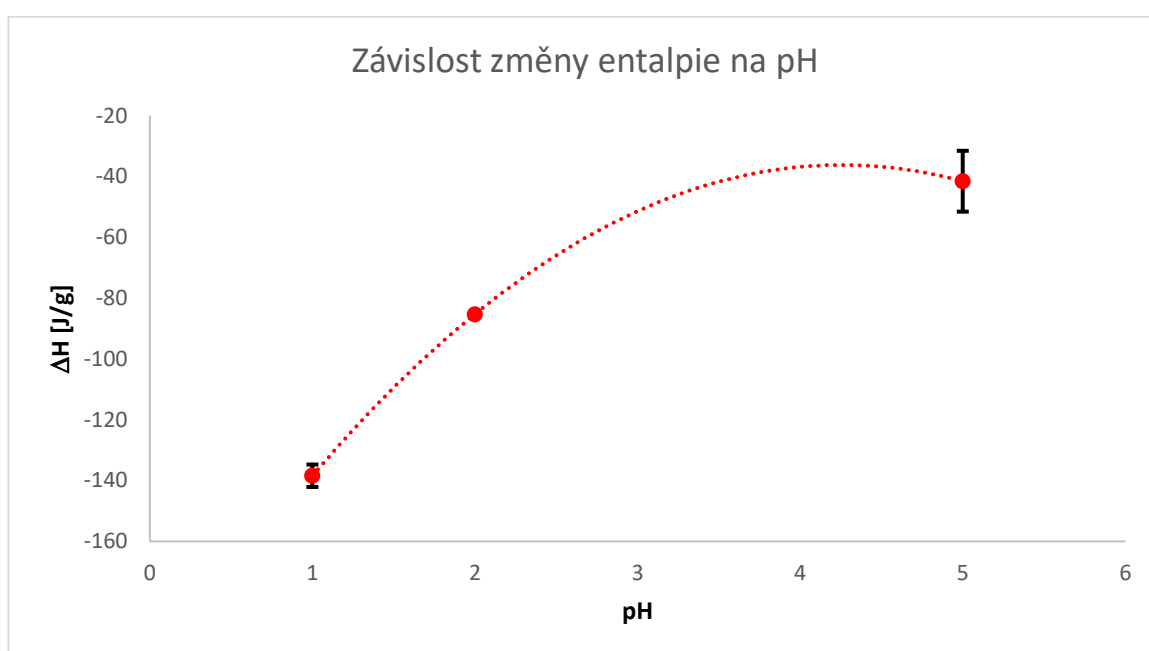


Obrázek 36: Porovnání rozpouštění BRU v moči při obou teplotách v kalorimetru C80 při rozsahu výstupního signálu 0,25 mV

### 3.3.3 Změna entalpie rozpouštění v závislosti na pH

V teoretické části této práce v kapitole 1.4 na obrázku 9 je uvedena závislost rozpustnosti fosforečnanů vápenatých na pH, která také souvisí se vznikem a transformací jednotlivých fosforečnanů. V této diplomové práci byla převážně měřena entalpie rozpouštění BRU, a to v HCl a syntetické moči, které se také liší v pH (kromě jiného, např. iontové síly).

Jak je z výsledků uvedených v předchozích kapitolách zřejmé, hodnota  $\Delta H$  se mění v závislosti na pH. Ke zjištění, k jak velké změně vlivem pH dojde, byl sestaven graf uvedený na obrázku 37. Na obrázku jsou uvedeny celkem 3 hodnoty, z toho 2 získané v této diplomové práci, kde prvním bodem je průměrná hodnota  $\Delta H$  získaná rozpouštěním BRU v HCl s nejkyseljším pH (pH 1). Druhým bodem je průměr hodnot  $\Delta H$  získaný rozpouštěním BRU v moči o pH ~2. Třetím bodem je průměrná hodnota  $\Delta H$  ze srážení BRU (zde došlo následně k otočení znaménka k získání hodnoty pro rozpouštění, které je opačným dějem srážení) v roztoku CaOc a NH<sub>4</sub>P o pH ~5, kterou ve své práci stanovila Flégrová H. (2021) [41]. V grafu jsou rovněž zakresleny i chybové úsečky. Závislost sice není lineární, ale je zřetelné, že s rostoucím pH změna entalpie roste.



Obrázek 37: Závislost změny entalpie na pH



## 4 ZÁVĚR

Cílem práce byla syntéza BRU a studium jeho rozpouštění v 0,1M kyselině chlorovodíkové a syntetické moči s pH ~2. Syntetizovaný brushit byl charakterizován XRD analýzou, stanovením velikosti částic, hustoty a tepelné vodivosti a termickou analýzou TGA/DSC. Dále byla u BRU stanovena rozpustnost v HCl, syntetické moči a vodě, a to zjednodušeným odhadem a dále pomocí speciální rozpouštěcí nádoby, kde byla ověřena přesná koncentrace rozpuštěného BRU metodou AAS. V poslední řadě byla zkoumána změna entalpie rozpouštění BRU v HCl a syntetické moči pomocí kalorimetru C80.

- Získaný difraktogram syntetizovaného BRU se shodoval s kartou BRU (č. 01-072-0713) z databáze. Syntetizovaný BRU měl parametry mřížky  $a = 5,82 \text{ \AA}$ ,  $b = 15,20 \text{ \AA}$ ,  $c = 6,25 \text{ \AA}$  a  $\beta = 116,43^\circ$ .
- Měření velikosti částic ukázalo, že syntetizovaný BRU má poměrně malou velikost částic, protože 10 % částic bylo menší než  $11,4 \text{ \mu m}$ , 50 % částic bylo menší než  $25,3 \text{ \mu m}$  a 90 % částic bylo menší než  $50,7 \text{ \mu m}$ .
- Sypná hustota syntetizovaného BRU byla  $82,8 \text{ kg/m}^3$  a setřesná hustota byla vyšší, a to  $183 \text{ kg/m}^3$ . Tepelná vodivost BRU při laboratorní teplotě byla  $0,046 \pm 0,0005 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ .
- Metodou TGA/DSC byly porovnávány 3 rychlosti ohřevu (2, 5 a 10 K/min), přičemž u všech rychlostí ohřevu se objevily 3 efekty, které definovaly hmotnostní úbytky (TGA) a změny tepla (DSC) při fázových přeměnách BRU. První fázová přeměna si vyžádala průměrnou ztrátu hmotnosti 20,3 % a došlo ke změně entalpie  $\Delta H=352,1 \text{ J/g}$ . Při druhé fázové přeměně došlo k průměrné ztrátě hmotnosti 4,2 % se změnou entalpie  $\Delta H=168,2 \text{ J/g}$ . Poslední fázová přeměna přinesla ztrátu hmotnosti 1,6 %, přičemž již nebylo možné stanovit entalpickou změnu této přeměny. Aktivační energie z dTG křivky byla stanovena pro všechny 3 efekty, a to v pořadí s rostoucí teplotou  $847,5 \text{ kJ/mol}$ ,  $115,5 \text{ kJ/mol}$  a  $295 \text{ kJ/mol}$ . Z DSC dat bylo možné stanovit aktivační energii pouze u prvního efektu ( $482,4 \text{ kJ/mol}$ ).
- Předběžný odhad rozpustnosti ukázal, že při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  je schopno se rozpustit 30 mg BRU v 0,1M HCl, ale 40 mg již ne. V syntetické moči se však při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  toto množství (30 mg) rozpustit nedokázalo. Toto množství se dokázalo rozpustit až při zvýšené teplotě na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Z této skutečnosti vyplývá, že rozpustnost BRU v HCl je vyšší než v syntetické moči, avšak rozdíl není nijak velký.

- Rozpouštěním BRU ve speciální rozpouštěcí nádobce bylo zjištěno, že rozpustnost v syntetické moči při 25 °C je mnohem vyšší než ve vodě. Rozpouštění v obou roztocích byl zdlouhavý proces, kdy rozpouštění ve vodě trvalo přibližně 20 hodin a v syntetické moči 16 hodin. Metodou AAS byla stanovena přesná koncentrace brushitu rozpouštěného ve vodě i moči. V destilované vodě byla průměrná koncentrace  $4,4 \times 10^{-4} \pm 0,5 \times 10^{-4}$  mol/l ( $-\log(K_{sp})=6,72 \pm 0,01$ ) a v moči o dva řády vyšší, a sice  $4,3 \times 10^{-2} \pm 0,2 \times 10^{-2}$  mol/l ( $-\log(K_{sp})=2,73 \pm 0,02$ ).
- Změna entalpie BRU byla stanovována jeho rozpouštěním v 0,1M HCl při teplotě 30 °C a rozpouštěním v syntetické moči při teplotách 30 a 37 °C. V HCl byly rozpouštěny 4 navážky (stanoveny na základě předběžných odhadů rozpustnosti), a to v množství 25, 20, 15 a 10 mg/4 ml HCl. Ačkoli předběžné odhady rozpustnosti ukázaly, že rozpustnost v HCl je vyšší než v syntetické moči, bylo zjištěno, že proces rozpouštění BRU při malých navážkách (15 a 10 mg) v kalorimetru neprobíhal dobře. Celková průměrná změna entalpie  $\Delta H$  zde byla  $-138,4 \pm 4,3$  J/g. V syntetické moči se všechny navážky rozpouštěly rychle (20, 15 a 10 mg pro 30 °C a 30, 25 a 20 mg pro 37 °C). Průměrná hodnota  $\Delta H$  při 30 °C činila  $-85,3 \pm 0,7$  J/g a průměrná hodnota  $\Delta H$  při 37 °C byla  $-94,1 \pm 1,3$  J/g. Všechny reakce byly exotermního charakteru.

## 5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] EKNOYAN, Garabed. History of Urolithiasis. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism* [online]. 2004, 2(3), 177-186. ISSN 1534-8644. Doi: 10.1385/BMM:2:3:177.
- [2] BIHL, Geoffrey a Anthony MEYERS. Recurrent renal stone disease—advances in pathogenesis and clinical management. *The Lancet* [online]. 2001, 358(9282), 651-656. ISSN 01406736. Doi: 10.1016/S0140-6736(01)05782-8.
- [3] WILKINSON, Hahnzel. Clinical investigation and management of patients with renal stones, *Annals of Clinical Biochemistry* [online]. 2001, 38(3), 180–187. Doi: 10.1258/0004563011900623.
- [4] HILL, Michael G., Erich KÖNIGSBERGER a Peter M. MAY. Mineral precipitation and dissolution in the kidney. *American Mineralogist* [online]. 2017, 102(4), 701-710. ISSN 0003-004X. Doi: 10.2138/am-2017-5778.
- [5] AGGARWAL, Kanu Priya, Shifa NARULA, Monica KAKKAR a Chanderdeep TANDON. Nephrolithiasis: Molecular Mechanism of Renal Stone Formation and the Critical Role Played by Modulators. *BioMed Research International* [online]. 2013, 1-21. ISSN 2314-6133. Doi:10.1155/2013/292953.
- [6] BOANINI, Elisa, Francesca SILINGARDI, Massimo GAZZANO a Adriana BIGI. Synthesis and Hydrolysis of Brushite (DCPD): The Role of Ionic Substitution. *Crystal Growth & Design* [online]. 2021, 21(3), 1689-1697. ISSN 1528-7483. Doi:10.1021/acs.cgd.0c01569.
- [7] GIOCONDI, Jennifer L., Bassem S. EL-DASHER, George H. NANCOLLAS a Christine A. ORME. Molecular mechanisms of crystallization impacting calcium phosphate cements. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* [online]. 2010, 368(1917), 1937-1961. ISSN 1364-503X. Doi:10.1098/rsta.2010.0006.
- [8] THAKORE, Palak, Terrence H. LIANG. Urolithiasis. In: StatPearls [Internet]. 2021. PMID: 32644527.
- [9] KIRKALI, Ziya, Rebekah RASOOLY, Robert A. STAR a Griffin P. RODGERS. Urinary Stone Disease: Progress, Status, and Needs. *Urology* [online]. 2015, 86(4), 651-653. ISSN 00904295. Doi:10.1016/j.urology.2015.07.006.

- [10] WANG, Zhu, Ying ZHANG, Jianwen ZHANG, Qiong DENG a Hui LIANG. Recent advances on the mechanisms of kidney stone formation (Review). *International Journal of Molecular Medicine* [online]. 2021, **48**(2). ISSN 1107-3756. Doi:10.3892/ijmm.2021.4982.
- [11] RATKALKAR, Vishal N. a Jack G. KLEINMAN. Mechanisms of Stone Formation. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism* [online]. 2011, **9**(3-4), 187-197. ISSN 1534-8644. Doi:10.1007/s12018-011-9104-8.
- [12] CARVALHO, M. a Y. NAKAGAWA. Urinary supersaturation and recurrence in nephrolithiasis, *International Brazilian Journal of Urology*. 1999, vol. 25, pp. 475–479.
- [13] DAUDON, Michel, Vincent FROCHOT, Dominique BAZIN a Paul JUNGERS. Drug-Induced Kidney Stones and Crystalline Nephropathy: Pathophysiology, Prevention and Treatment. *Drugs* [online]. 2018, **78**(2), 163-201. ISSN 0012-6667. Doi:10.1007/s40265-017-0853-7.
- [14] RODGERS, Allen L. Physicochemical mechanisms of stone formation. *Urolithiasis* [online]. 2017, **45**(1), 27-32. ISSN 2194-7228. Doi:10.1007/s00240-016-0942-1.
- [15] WAGNER, Carsten a Nilufar MOHEBBI. Urinary pH and stone formation. *Journal of Nephrology* [online]. 2010, 23(16), 165-169. Doi: 10.5167/uzh-45805.
- [16] CHUNG, Jihae, Ignacio GRANJA, Michael G. TAYLOR, Giannis MPOURMPAKIS, John R. ASPLIN a Jeffrey D. RIMER. Molecular modifiers reveal a mechanism of pathological crystal growth inhibition. *Nature* [online]. 2016, **536**(7617), 446-450. ISSN 0028-0836. Doi:10.1038/nature19062.
- [17] ROBERTSON, William G. Do 'inhibitors of crystallisation' play any role in the prevention of kidney stones? A critique. *Urolithiasis* [online]. 2017, 45(1), 43–56. Doi: 10.1007/s00240-016-0953-y.
- [18] CORBO, Jill a Jessica WANG. Kidney and Ureteral Stones. *Emergency Medicine Clinics of North America* [online]. 2019, **37**(4), 637-648. ISSN 07338627. Doi: 10.1016/j.emc.2019.07.004.
- [19] MOE, Orson W. Kidney stones: pathophysiology and medical management. *The Lancet* [online]. 2006, **367**(9507), 333-344. ISSN 01406736. Doi:10.1016/S0140-6736(06)68071-9.

- [20] KRAMBECK, Amy E., Shelly E. HANDA, Andrew P. EVAN a James E. LINGEMAN. Brushite stone disease as a consequence of lithotripsy? *Urological Research* [online]. 2010, **38**(4), 293-299. ISSN 0300-5623. Doi:10.1007/s00240-010-0289-y.
- [21] LESLIE, Stephen W. a Hussain SAJJAD. Hypercalciuria. In: StatPearls [Internet]. 2021 (Last Update 2022).
- [22] RING, Troels, Sebastian FRISCHE a Søren NIELSEN. Clinical review: Renal tubular acidosis – a physicochemical approach. *Critical Care* [online]. 2005, **9**(6). ISSN 13648535. Dostupné z: doi:10.1186/cc3802.
- [23] PALMER, Biff F., Ellie KELEPOURIS a Deborah J. CLEGG. Renal Tubular Acidosis and Management Strategies: A Narrative Review. *Advances in Therapy* [online]. 2021, **38**(2), 949-968. ISSN 0741-238X. Doi:10.1007/s12325-020-01587-5.
- [24] WALKER, Marcella D. a Shonni J. SILVERBERG. Primary hyperparathyroidism. *Nature Reviews Endocrinology* [online]. 2018, **14**(2), 115-125. ISSN 1759-5029. Doi:10.1038/nrendo.2017.104.
- [25] ZHU, Catherine Y., Cord STURGEON a Michael W. YEH. Diagnosis and Management of Primary Hyperparathyroidism. *JAMA* [online]. 2020, **323**(12). ISSN 0098-7484. Doi:10.1001/jama.2020.0538.
- [26] Brushite Kidney Stones: A Registry and Database of Clinical and Laboratory Findings. *National Library of Medicine: ClinicalTrials.gov* [online]. NCT00169663, 2005. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00169663>.
- [27] SIENER, Roswitha, Linda NETZER, Albrecht HESSE a Jeff M. SANDS. Determinants of Brushite Stone Formation: A Case-Control Study. *PLoS ONE* [online]. 2013, **8**(11). ISSN 1932-6203. Doi: 10.1371/journal.pone.0078996.
- [28] UNOSSON, Johanna. Physical Properties of Acidic Calcium Phosphate Cements Department of Engineering Sciences, Applied Materials Sciences, Uppsala University Sweden. ISSN 1651-6214. ISBN 978-91-554-9081-2.
- [29] WANG, Lijun a George H. NANCOLLAS. Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution. *Chemical Reviews* [online]. 2008, **108**(11), 4628-4669. ISSN 0009-2665. Doi:10.1021/cr0782574.

- [30] DOROZHKIN, Sergey V. Calcium orthophosphates. *Biomatter* [online]. 2014, **1**(2), 121-164. ISSN 2159-2535. Doi:10.4161/biom.18790.
- [31] CANTELAR, E, G LIFANTE, T CALDERÓN, R MELÉNDREZ, A MILLÁN, M.A ALVAREZ a M BARBOZA-FLORES. Optical characterisation of rare earths in natural fluorapatite. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2001, **323-324**, 851-854. ISSN 09258388. Doi:10.1016/S0925-8388(01)01159-8.
- [32] RIBEIRO, H. B., K. J. GUEDES, M. V. B. PINHEIRO, S. GREULICH-WEBER a K. KRAMBROCK. About the blue and green colours in natural fluorapatite. *Physica status solidi* © [online]. 2005, **2**(1), 720-723. ISSN 1610-1634. Doi:10.1002/pssc.200460274.
- [33] DOROZHKIN, Sergey V. a Matthias EPPLE. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed Engl* [online]. 2002, **41**(17):3130–46. Doi: 10.1002/1521-3773(20020902)41:17<3130::aid-anie3130>3.0.co;2-1.
- [34] LU, Bing-Qiang, Tom WILLHAMMAR, Ben-Ben SUN, Niklas HEDIN, Julian D. GALE a Denis GEBAUER. Introducing the crystalline phase of dicalcium phosphate monohydrate. *Nature Communications* [online]. 2020, **11**(1). ISSN 2041-1723. Doi:10.1038/s41467-020-15333-6.
- [35] DAUDON, Michel, Arnaud DESSOMBZ, Vincent FROCHOT, Emmanuel LETAVERNIER, Jean-Philippe HAYMANN, Paul JUNGERS a Dominique BAZIN. Comprehensive morpho-constitutional analysis of urinary stones improves etiological diagnosis and therapeutic strategy of nephrolithiasis. *Comptes Rendus Chimie* [online]. 2016, **19**(11-12), 1470-1491. ISSN 16310748. Doi:10.1016/j.crci.2016.05.008.
- [36] ISSA, Khalil, Abdulaziz ALANAZI, Khalid A. ALDHAFEERI, Ola ALAMER a Mazen ALSHAAER. Brushite: Synthesis, Properties, and Biomedical Applications. BEN SMIDA, Youssef a Riadh MARZOUKI, ed. *Crystallization and Applications* [online]. IntechOpen, 2022, 2022-3-30. ISBN 978-1-83969-316-8. Doi:10.5772/intechopen.102007.
- [37] BEEVERS, C. A. The crystal structure of dicalcium phosphate dihydrate,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . *Acta Crystallographica* [online]. 1958, **11**(4), 273-277. ISSN 0365-110X. Doi:10.1107/S0365110X58000670-
- [38] DOSEN, A. a R. F. GIESE. Thermal decomposition of brushite,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  to monetite  $\text{CaHPO}_4$  and the formation of an amorphous phase. *American Mineralogist* [online]. 2011, **96**(2-3), 368-373. ISSN 0003-004X. Doi:10.2138/am.2011.3544.

- [39] KRAMBECK, Amy E., Shelly E. HANDA, Andrew P. EVAN a James E. LINGEMAN. Profile of the Brushite Stone Former. *Journal of Urology* [online]. 2010, **184**(4), 1367-1371. ISSN 0022-5347. Doi:10.1016/j.juro.2010.05.094.
- [40] VÁCA, Tomáš. *Studium krystalizace brushitu v simulovaném fyziologickém prostředí*. Pardubice, 2003. Diplomová práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Ing. Galina Sádovská, Ph.D.
- [41] FLÉGROVÁ, Hana. *Studium vzniku brushitu*. Pardubice, 2021. Diplomová práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Doc. Ing. Pavla Honcová, Ph.D.
- [42] ANASTASIOU, A.D., C.L. THOMSON, S.A. HUSSAIN, et al. Sintering of calcium phosphates with a femtosecond pulsed laser for hard tissue engineering. *Materials & Design* [online]. 2016, **101**, 346-354. ISSN 02641275. Doi:10.1016/j.matdes.2016.03.159.
- [43] FROST, Ray L. a Sara J. PALMER. Thermal stability of the 'cave' mineral brushite  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – Mechanism of formation and decomposition. *Thermochimica Acta* [online]. 2011, **521**(1-2), 14-17. ISSN 00406031. Doi: 10.1016/j.tca.2011.03.035.
- [44] CHOW, L.C. Solubility of Calcium Phosphates. CHOW, L.C. a E.D. EANES, ed. *Octacalcium Phosphate* [online]. Basel: KARGER, 2001, 2001, s. 94-111. Monographs in Oral Science. ISBN 3-8055-7228-X. Doi:10.1159/000061650.
- [45] JOHNSON, Mats S.-A. a George H. NANCOLLAS. The Role of Brushite and Octacalcium Phosphate in Apatite Formation. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* [online]. 1992, **3**(1), 61-82. ISSN 1045-4411. Doi:10.1177/10454411920030010601.
- [46] FERREIRA, A, C OLIVEIRA a F ROCHA. The different phases in the precipitation of dicalcium phosphate dihydrate. *Journal of Crystal Growth* [online]. 2003, **252**(4), 599-611. ISSN 00220248. Doi:10.1016/S0022-0248(03)00899-6.
- [47] GREGORY, Thomas M., Edgard C. MORENO a Walter E. BROWN. Solubility of  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in the system  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  at 5, 15, 25, and 37.5 °C. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry* [online]. 1970, **74A**(4). ISSN 0022-4332. Doi:10.6028/jres.074A.036.
- [48] MCDOWELL, H. *Solubility of  $\text{CaHPO}_4$  and ion pair formation*. 1968. PhD Thesis. Howard University.

- [49] FOWLER, B. O. a S. KURODA. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcified Tissue International* [online]. 1986, **38**(4), 197-208. ISSN 0171-967X. Doi:10.1007/BF02556711.
- [50] GREGORY, T.M., E.C. MORENO, J.M. PATEL a W.E. BROWN. Solubility of  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  in the system  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  at 5, 15, 25, and 37 °C. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry* [online]. 1974, **78A**(6). ISSN 0022-4332. Doi:10.6028/jres.078A.042.
- [51] MCDOWELL, H., T.M. GREGORY a W.E. BROWN. Solubility of  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  in the System  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  at 5, 15, 25, and 37 °C. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry* [online]. 1977, **81A**(1). ISSN 0022-4332. Doi:10.6028/jres.081A.017.
- [52] MATSUYA, S., S. TAKAGI a L. C. CHOW. Hydrolysis of tetracalcium phosphate in  $\text{H}_3\text{PO}_4$  and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . *Journal of Materials Science* [online]. 1996, **31**(12), 3263-3269. ISSN 0022-2461. Doi:10.1007/BF00354678.
- [53] Relationship Between Solubility and  $K_{sp}$ . In: *Chemistry: Libre Texts* [online]. 2022. Dostupné z: <https://chem.libretexts.org/@go/page/24306>.
- [54] What is X-Ray Diffraction (XRD). In: *SciMed Ltd.* [online]. Dostupné z: <https://www.scimed.co.uk/education/what-is-x-ray-diffraction-xrd/>.
- [55] BUNACIU, Andrei A., Elena gabriela UDRIȘTIOIU a Hassan Y. ABOUL-ENEIN. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2014, **45**(4), 289-299. ISSN 1040-8347. Doi:10.1080/10408347.2014.949616.
- [56] ERMERICH, Martin a Detlef OPPER. *X-ray powder diffraction: XRD for analyst* [online]. PANalytical B. V. Almelo, the Netherlands, 2013. ISBN 978-90-809086-0-4.
- [57] BYRN, Stephen R, George ZOGRAFI a Xiaoming Sean CHEN. Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetric Analysis. *Solid State Properties of Pharmaceutical Materials* [online]. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017, 2017-07-14, s. 124-141. ISBN 9781119264408. Doi:10.1002/9781119264408.ch10
- [58] WAGNER, Matthias. Thermogravimetric Analysis. *Thermal Analysis in Practice* [online]. München: Carl Hanser Verlag GmbH & Co., 2017, 2017-12-11, s. 162-186. ISBN 978-1-56990-643-9. Doi:10.3139/9781569906446.010.



- [59] WAGNER, Matthias. Differential Scanning Calorimetry. *Thermal Analysis in Practice* [online]. München: Carl Hanser Verlag GmbH & Co., 2017, 2017-12-11, s. 66-143. ISBN 978-1-56990-643-9. Doi:10.3139/9781569906446.007.
- [60] XU, Xiankun, Ghazal DEHGHANI, Juexiao NING a Peiwen LI. Basic properties of eutectic chloride salts NaCl-KCl-ZnCl<sub>2</sub> and NaCl-KCl-MgCl<sub>2</sub> as HTFs and thermal storage media measured using simultaneous DSC-TGA. *Solar Energy* [online]. 2018, **162**, 431-441. ISSN 0038092X. Doi: 10.1016/j.solener.2018.01.067.
- [61] AUROUX, Aline, ed. *Calorimetry and Thermal Methods in Catalysis* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013. Springer Series in Materials Science. ISBN 978-3-642-11953-8. Doi:10.1007/978-3-642-11954-5.
- [62] SARGE, Stefan M., Günther HÖHNE a Wolfgang HEMMINGER. *Calorimetry: fundamentals, instrumentation and applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2014. ISBN 978-3-527-32761-4.
- [63] Classification of calorimeters Methods of determination of heat effects. *Theory of Calorimetry* [online]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004, s. 85-137 [cit. 2022-04-06]. Hot Topics in Thermal Analysis and Calorimetry. ISBN 1-4020-0797-3. Dostupné z: doi:10.1007/0-306-48418-8\_3.
- [64] BARALE, Sébastien, Luc VINCENT, Grégory SAUDER a Nicolas SBIRRAZZUOLI. Deconvolution of calorimeter response from electrical signals for extracting kinetic data. *Thermochimica Acta* [online]. 2015, **615**, 30-37. ISSN 00406031. Doi:10.1016/j.tca.2015.07.007.
- [65] MARABI, Alejandro, Guy MAYOR, Alois RAEMY, Isabelle BAUWENS, Johanna CLAUDE, Adam S. BURBIDGE, Rony WALLACH a I. Sam SAGUY. Solution calorimetry: A novel perspective into the dissolution process of food powders. *Food Research International* [online]. 2007, **40**(10), 1286-1298. ISSN 09639969. Doi: 10.1016/j.foodres.2007.08.007.
- [66] BĚLINA P., Ž. DOHNALOVÁ, H. DROBNÁ, P. HONCOVÁ, P. KALEDOVÁ, P. KOŠTÁL, K. LUXOVÁ, L. SVOBODA a P. ŠULCOVÁ. Návody pro laboratoře syntézy a charakterizace materiálů. Univerzita Pardubice, 2020. 183 s. ISBN 978-7560-331-9.

- [67] BUTCHER, D.J. ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY | Interferences and Background Correction. *Encyclopedia of Analytical Science* [online]. Elsevier, 2005, 2005, s. 157-163. ISBN 9780123693976. Doi:10.1016/B0-12-369397-7/00025-X.
- [68] *Atomic absorption spectroscopy*. 258 s. Editor Muhammad Akhyar FARRUKH. Rijeka: in Tech, 2012. ISBN 978-953-307-817-5.
- [69] VAN LOON, Jon C. General Principles. *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy* [online]. Elsevier, 1980, 1980, s. 1-76. ISBN 9780127140506. Doi:10.1016/B978-0-12-714050-6.50006-1.
- [70] GONZÁLVEZ, Ana a Miguel DE LA GUARDIA. Mineral Profile. *Food Protected Designation of Origin - Methodologies and Applications* [online]. Elsevier, 2013, 2013, s. 51-76. Comprehensive Analytical Chemistry. ISBN 9780444595621. Doi:10.1016/B978-0-444-59562-1.00003-7.
- [71] SKOOG, Douglas A., F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Principles of instrumental analysis*. Seventh edition. Boston: Cengage Learning, 2018. ISBN 978-1-305-57721-3.
- [72] ETZLER, Frank M. a Richard DEANNE. Particle size analysis: A comparison of various methods ii. *Particle & Particle Systems Characterization* [online]. 1997, **14**(6), 278-282. ISSN 09340866. Doi:10.1002/ppsc.19970140604.
- [73] VIEILLARD, Philippe a Yves TARDY. Thermochemical Properties of Phosphates. NRIAGU, Jerome O. a Paul B. MOORE, ed. *Phosphate Minerals* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1984, 1984, s. 171-198. ISBN 978-3-642-61738-6. Doi:10.1007/978-3-642-61736-2\_4.
- [74] GRASES, F., A. COSTA-BAUZ a M. KROUPA. Studies on calcium oxalate monohydrate crystallization: influence of inhibitors. *Urological Research* [online]. 1994, **22**(1), 39-43. ISSN 0300-5623. Doi:10.1007/BF00431547.
- [75] MARSHALL, Robert W. a George H. NANCOLLAS. Kinetics of crystal growth of dicalcium phosphate dihydrate. *The Journal of Physical Chemistry* [online]. 1969, **73**(11), 3838-3844. ISSN 0022-3654. Doi:10.1021/j100845a045.

- [76] CHRISTOFFERSEN, M.R. a J. CHRISTOFFERSEN. The kinetics of crystal growth and dissolution of calcium monohydrogen phosphate dihydrate. *Journal of Crystal Growth* [online]. 1988, **87**(1), 51-61. ISSN 00220248. Doi:10.1016/0022-0248(88)90343-0.
- [77] LIU, Sung-Tsuen a G.H. NANCOLLAS. The kinetics of dissolution of calcium sulfate dihydrate. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* [online]. 1971, **33**(8), 2311-2316. ISSN 00221902. Doi:10.1016/0022-1902(71)80205-1.
- [78] MORENO, Edgard C., Walter E. BROWN a Glen OSBORN. Solubility of Dicalcium Phosphate Dihydrate in Aqueous Systems. *Soil Science Society of America Journal* [online]. 1960, **24**(2), 94-98. ISSN 03615995. Doi:10.2136/sssaj1960.03615995002400020009x.
- [79] MORENO, Edgard C., Thomas M. GREGORY a Walter E. BROWN. Solubility of  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and formation of ion pairs in the system  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$  at 37.5 °C. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry* [online]. 1966, **70A**(6). ISSN 0022-4332. Doi:10.6028/jres.070A.047.
- [80] DANIELE, Pier G., Carmelo. RIGANO a Silvio. SAMMARTANO. Ionic strength dependence of formation constants. Solubility of calcium oxalate monohydrate and calcium hydrogenphosphate dihydrate in aqueous solution, at 37 °C and different ionic strengths. *Analytical Chemistry* [online]. 1985, **75**, 245–251. ISSN 0003-2700.
- [81] ZHANG, Jingwu a George H. NANCOLLAS. Interpretation of dissolution kinetics of dicalcium phosphate dihydrate. *Journal of Crystal Growth* [online]. 1992, **125**(1-2), 251-269. ISSN 00220248. Doi:10.1016/0022-0248(92)90339-K.
- [82] VAŘEKOVÁ, Vanessa. *Studium rozpouštění newberyitu*. Pardubice, 2021. Diplomová práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Doc. Ing. Pavla Honcová, Ph.D.