



# Charakterizace užitečných vlastností tenkých vrstev a zhodnocení jejich chování při kontaktu s biologickým materiálem

## Diplomová práce

*Studijní program:*

N3963 Biomedicínské inženýrství

*Studijní obor:*

Biomedicínské inženýrství

*Autor práce:*

**Bc. Kristýna Kůtková**

*Vedoucí práce:*

Ing. Totka Bakalova, Ph.D.

Katedra materiálu





## Zadání diplomové práce

# Charakterizace užitečných vlastností tenkých vrstev a zhodnocení jejich chování při kontaktu s biologickým materiálem

*Jméno a příjmení:* **Bc. Kristýna Kůtková**  
*Osobní číslo:* D19000029  
*Studijní program:* N3963 Biomedicínské inženýrství  
*Studijní obor:* Biomedicínské inženýrství  
*Zadávající katedra:* Fakulta zdravotnických studií  
*Akademický rok:* **2020/2021**



## **Zásady pro vypracování:**

### **Cíle práce:**

1. Cílem práce bude posouzení vhodnosti a oblasti využití tenkých vrstev se zastoupením prvků C, Ti, Zr, a Cu.
2. Cílem práce bude zhodnotit fyzikálně-mechanické vlastnosti nanosených tenkých vrstev, porovnat je s vlastnostmi základního materiálu a následně vybrat vhodný povrch po modifikaci pro konkrétní aplikaci. Tenké vrstvy budou hodnoceny na základě provedených experimentů v laboratořích a dosažených výsledků testů pro fyzikální a mechanické vlastnosti.
3. Výstupem kvalifikační práce bude navrhnout vhodnou modifikaci tenkým povlakem s požadovanými vlastnostmi povrchu pro konkrétní aplikaci (např.: s lepší odolností proti otěru, s dobrými kluznými vlastnostmi anebo kombinací zkoumaných vlastností). Dalším výstupem může být vytvoření článku do odborného periodika.

### **Výzkumné předpoklady:**

1. Předpokládáme, že různé typy tenkých vrstev budou mít odlišné mechanické a fyzikálně-chemické vlastnosti (např.: adheze, nanotvrdost, třecí kluzné vlastnosti, odolnost proti otěru, morfologie, drsnost povrchu, smáčivost atd.).
2. Předpokládáme, že vytipujeme vhodné vrstvy, které zajistí požadované vlastnosti povrchu pro konkrétní aplikaci (např.: snížení bakteriální adheze k povrchu, zvýšení odolnosti povrchu v daném prostředí, zlepšení kluzné vlastnosti povrchu aj.).
3. Předpokládáme, že některé ze zkoumaných vrstev budou tvořit účinnější bariéru mezi podkladovým materiálem a lidským tělem, tj. budou bránit iontům těžkých kovů (Ni, Cr, Co) v kontaktu s pacientem, což prokážou experimenty vyluhovatelností a pak následně vytipujeme vhodné tenké vrstvy pro danou aplikaci.

### **Metoda:**

Výzkumná.

### **Technika práce, vyhodnocení dat:**

Technika práce: zkoumání povrchů pomocí přístrojů.

Vyhodnocení dat: data budou zpracována pomocí tabulek a grafů.

### **Místo a čas realizace výzkumu:**

Místo: Katedra materiálu.

Čas: září 2020 – březen 2021.

### **Vzorek:**

Vzorkem je 5 různých typů tenkých vrstev (se zastoupením prvků C, Ti, Zr, Cu) nanosených na austenitickou ocel a podkladový materiál (substrát).

### **Rozsah práce:**

70-90 stran (tzn. 1/3 teoretická část, 2/3 výzkumná část).

Rozsah grafických prací:  
Rozsah pracovní zprávy:  
Forma zpracování práce:  
Jazyk práce:

tištěná/elektronická  
Čeština



### Seznam odborné literatury:

- [1] NAVRÁTIL, Leoš a Jozef ROSINA. Medicínská biofyzika. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2019. ISBN 978-80-271-0209-9.
- [2] SEDLÁČEK, Vladimír. Povrchy a povlaky kovů. Praha: České vysoké učení technické, 1992. ISBN 80-01-00799-5.
- [3] BAKALOVA, Totka, et al. Biocompatibility of Surfaces of TiCN Thin Films. In: Defect and Diffusion Forum. Trans Tech Publications Ltd, 2016. s. 64-68. ISBN 978-303835720-9.
- [4] LEDRAPPIER, F., HOUZE, L.; HEAU, C.; GERSTENBERGER, J. Tenké povlaky pro snížení ztrát třením: Tribologie povlaků typu DLC, Metal 2008, Hradec nad Moravicí.
- [5] BAKALOVA, Totka, et al. Study of surface morphology, structure, mechanical and tribological properties of an AlSiN coating obtained by the Cathodic Arc Deposition method. In: Superlattices and Microstructures, 2017, 09, s. 402-413. DOI 10.1016/j.spmi.2017.05.022.
- [6] GAO, X, M. FRAULOB a G. HAIAT. Biomechanical behaviours of the bone-implant interface: a review. Journal of The Royal Society Interface [online]. 2019, 16(156). DOI 10.1098/rsif.2019.0259. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6685012/>
- [7] KŘEPELKA, Jaromír. Přehled použití tenkých vrstev. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta. Olomouc, 2014.
- [8] ZHANG, Mengqi et al. Mechanical Properties and Biocompatibility of Ti-doped Diamond-like Carbon Films. ACS Omega [online]. 2020, 5(36), 2470-1343. DOI 10.1021/acsomega.0c01715. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7495474/>
- [9] BAKALOVA, Totka, et al. Influence of Bias Voltage and CH<sub>4</sub>/N<sub>2</sub> Gas Ratio on the Structure and Mechanical Properties of TiCN Coatings Deposited by Cathodic Arc Deposition Method. Journal of Materials Engineering and Performance. 1. vyd. New York: Springer New York LLC, 2019, roč. 28, č. 1. S. 343 – 354. ISSN 1059-9495.
- [10] KAVÁNOVÁ, Anna, et al. Evaluation of Changes In The Utility Properties of A Base Material After The Application of Thin Coatings Of Wc/C, Tic/C and A Carbon-Based Coating: Ta-C. Nanocon 2019 – Proceedings 11th International Conference on Nanomaterials – Research & Application. Ostrava: Tanger, Ltd., 2020. S. 244 – 250. ISBN 978-80-87294-95-6, ISSN 2694-930X.
- [11] VAITHILINGAM, Vijay et al. Biomineralization of osteoblasts on DLC coated surfaces for bone implants. Biointerphases [online]. 2018, 13(4). DOI 10.1116/1.5007805.

Vedoucí práce: Ing. Totka Bakalova, Ph.D.  
Katedra materiálu

Datum zadání práce: 1. září 2020  
Předpokládaný termín odevzdání: 30. června 2021

L.S.

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA  
děkan

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci 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.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

21. července 2021

Bc. Kristýna Kůtková

## **Poděkování**

Ráda bych tímto velice poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Totce Bakalové, Ph.D., za odborné vedení, věcné připomínky a také za trpělivost a ochotu, kterou při zpracování této diplomové práce měla. Mé poděkování patří též firmě SHM Šumperk za přípravu a dodání vzorků tenkých vrstev. Dále bych ráda poděkovala Ing. Lucii Svobodové, Ph.D. a Ing. Simoně Knoppové za pomoc při biologických testech. V nepolehčí řadě patří můj dík všem zaměstnancům Technické univerzity v Liberci, kteří se podíleli a věnovali svůj čas pomoci při měření vlastností tenkých vrstev.

Srdečné poděkování patří také celé mé rodině a nejbližším přátelům, jejichž podpora mě motivovala po celou dobu studia.

## Anotace

Jméno a příjmení autora: Bc. Kristýna Kůtková

Instituce: Technická univerzita v Liberci

Název práce: Charakterizace užitečných vlastností tenkých vrstev a zhodnocení jejich chování při kontaktu s biologickým materiálem

Vedoucí práce: Ing. Totka Bakalova, Ph.D

Počet stran: 78

Počet příloh: 4

Rok obhajoby: 2021

Anotace:

Tenké vrstvy, které přichází do kontaktu s buněčným materiálem, musí splňovat mnoho požadavků a zejména nesmí ohrožovat živý organismus. V průběhu řešení diplomové práce jsou hodnoceny různé typy tenkých vrstev se zastoupením prvků Ti, Zr, Cu a C za účelem vybrat vhodnou modifikaci povrchu s přijatelnými mechanickými a fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Cílená modifikace povrchu tenkými vrstvy zajistí eliminaci vzniku zánětu nebo zamezí negativní reakci těla na cizí těleso (implantát). Zároveň je snaha najít vhodnou modifikaci povrchu s antibakteriálními vlastnostmi, který může být vhodný pro medicínské aplikace.

Zkoumané tenké vrstvy jsou nanášeny vakuovými metodami a následně jsou podrobeny hodnocení adheze, nanotvrdosti, třecích vlastností nebo například zvýšení/snížení proliferace buněk na jejich povrchu. Struktura a homogenita připravených vrstev je hodnocena pomocí rastrovací, konfokální mikroskopie či mikroskopie atomárních sil. Odolnost tenkých vrstev vůči otěru a charakterizace jejich kluzných vlastností je provedena na tribometru z firmy Anton Paar. Sledovanou bakteriální populací je kmen *Escherichia Coli* nebo *Micrococcus Luteus*. Cílem práce je nalézt tenkou vrstvu, která nebude vyvolávat nežádoucí odezvu organismu a bude odolávat mechanickým a fyzikálně-chemickým vlivům, a tudíž by mohla být vhodná i pro následné použití pro biomedicínské aplikace.

Klíčová slova: tenké vrstvy, mechanické a tribologické vlastnosti, opotřebení, biokompatibilita

## Annotation

Name and surname: Bc. Kristýna Kůtková

Institution: Technická univerzita v Liberci

Title: The Characterization of utility properties of thin layers and evaluation of their behavior in contact with biological material

Supervisor: Ing. Totka Bakalova, Ph.D

Pages: 78

Apendix: 4

Year: 2021

Annotation:

Thin layers, which come in contact with cellular material, have to fulfill many requirements and especially must not endanger live organisms. Different thin layers with the representation of Ti, Zr, Cu and C, are evaluated to find suitable surface modification with suitable mechanical and physical-chemical traits. Targeted modification of the surface with thin layers ensures elimination of inflammation formation or eliminating negative body reactions to foreign objects (implant). Simultaneously there is an effort to find an appropriate surface modification with antibacterial features which can be suitable for medical devices.

Researched thin layers are applied by vacuum methods and then subjected to evaluation of adhesion, nanohardness, friction features or for example high/low cell proliferation on their surface. The structure and homogeneity of prepared layers are evaluated by scanning, confocal microscopy or atomic force microscopy. The durability of thin layers to abrasion and characterization of their sliding features are done with an Anton Paar tribometer. The tracked bacterial populations are *Escherichia Coli* or *Micrococcus Luteus*. The thesis's target is finding an appropriate layer, which can not cause any unwanted organism feedback, resist mechanical and physical-chemical influences, and therefore could be suitable even for subsequent usage in biomedical applications.

Keywords: thin layers, mechanical and tribological properties, wear and tear, biocompatibility

# Obsah

Seznam použitých symbolů .....	11
Seznam použitých zkratek .....	12
1. Úvod.....	13
2. Teoretická část .....	14
2.1 Tenké vrstvy.....	14
2.1.1 Definice tenkých vrstev .....	14
2.1.2 Použité prvky (vrstvy se zastoupením Ti, Zr, Cu, C).....	14
2.1.2.1 Austenitická ocel DIN1.4404 (AISI 316 L).....	15
2.1.2.2 Vrstva DLC .....	15
2.1.2.3 Vrstva ta-C .....	16
2.1.2.4 Vrstva TiCuN .....	16
2.1.2.5 Vrstvy ZrCu .....	17
2.1.3 Mechanické vlastnosti tenkých vrstev .....	17
2.1.3.1 Tvrdost .....	17
2.1.3.2 Zbytkové pnutí .....	19
2.1.3.3 Meze kluzu .....	19
2.1.4 Fyzikálně-chemické vlastnosti tenkých vrstev .....	19
2.1.4.1 Emise.....	20
2.1.4.2 Drsnost .....	20
2.1.4.3 Tloušťka vrstvy .....	22
2.1.4.4 Smáčivost povrchu .....	23
2.1.4.5 Adheze vrstvy.....	24
2.1.5 Morfologie a strukturoskopie tenkých vrstev.....	25
2.1.5.1 Analýza morfologie a strukturoskopie .....	27
2.2 Základní technologie nanášení tenkých vrstev .....	28
2.2.1 Předdepoziční procesy .....	28
2.2.2 Metoda CVD .....	29
2.2.3 Metoda PVD.....	30
2.3 Charakterizace třecích vlastností tenkých vrstev .....	31
2.3.1 Druhy tření.....	31
2.3.2 Druhy opotřebení .....	33
2.3.3 Tribologie .....	34

2.4	Chování tenkých vrstev s buněčným materiálem.....	35
2.4.1	Biokompatibilita .....	35
2.4.2	Hemokompatibilita .....	36
2.4.3	Antibakteriální povrchy .....	37
2.4.3.1	Obecné vlastnosti bakteriální buňky .....	37
2.4.3.2	Mikroskopie a hodnocení vlastností buněk.....	39
2.5	Aplikace a použití tenkých vrstev v medicíně .....	40
2.5.1	Oblasti aplikace tenkých vrstev se zastoupením prvků Ti, Zr, Cu, C .....	40
3.	Výzkumná část.....	42
3.1	Cíle a výzkumné předpoklady.....	42
3.2	Metodika výzkumu.....	42
3.2.1	Přehled použitých tenkých vrstev .....	42
3.2.2	Depozice tenkých vrstev.....	43
3.2.3	Výzkum a analýza výzkumných dat.....	44
3.2.3.1	Chemické složení tenkých vrstev .....	44
3.2.3.2	Morfologie a drsnost povrchu .....	45
3.2.3.3	Tloušťka tenké vrstvy .....	48
3.2.3.4	Rentgenová difrakce.....	49
3.2.3.5	Měření smáčivosti (kontaktního úhlu) .....	51
3.2.3.6	Nanotvrdost tenkých vrstev.....	52
3.2.3.7	Scratch test .....	54
3.2.3.8	Tribologie tenkých vrstev .....	55
3.2.3.9	Krevní testy .....	59
3.2.3.10	Biologické experimenty .....	60
4.	Diskuze .....	62
5.	Návrh doporučení pro praxi .....	68
6.	Závěr .....	69
	Seznam použité literatury .....	71
	Seznam obrázků.....	76
	Seznam tabulek.....	77
	Seznam grafů .....	77
	Seznam příloh .....	78



## Seznam použitých symbolů

Symbol	Jednotka	Význam symbolu a jednotky
A	[mm <sup>2</sup> ]	velikost plochy vtisku [milimetr na druhou]
E	[eV]	energie [elektronvolt]
e <sub>max</sub>	[m]	rameno valivého odporu [metr]
F	[C·mol <sup>-1</sup> ]	Faradayova konstanta
F <sub>n</sub>	[N]	přítlačná síla [newton]
H	[N·mm <sup>-2</sup> ]	tvrdost [newton/milimetr na druhou]
L	[kg]	velikost zátěže [kilogram]
L <sub>c1</sub> , L <sub>c3</sub>	[N]	kritická hodnota (adheze vrstev) [newton]
m	[kg]	hmotnost [kilogram]
M <sub>m</sub>	[kg·mol <sup>-1</sup> ]	molární hmotnost [kilogram/mol]
θ	[°]	kontaktní úhel (úhel smáčení) [stupeň]
r	[m]	poloměr [metr]
R	[Ω]	elektrický odpor [ohm]
Ra, Sa	[nm]	průměrná drsnost povrchu [nanometr]
U	[V]	elektrické napětí [volt]
μ	[-]	součinitel tření [-]
Y <sub>GS</sub>	[N·m <sup>-1</sup> ]	povrchové napětí (plyn- pevná látka) [newton/metr]
Y <sub>LG</sub>	[N·m <sup>-1</sup> ]	povrchové napětí (kapalina-plyn) [newton/metr]
Y <sub>LS</sub>	[N·m <sup>-1</sup> ]	povrchové napětí (kapalina- pevná látka) [newton/metr]
t	[°C]	teplota [stupeň Celsia]

## Seznam použitých zkratek

Zkratka	Význam
AFM	mikroskopie atomárních sil
atd.	a tak dále
CVD	Chemical Vapour Deposition chemická depozice z plynné fáze
DLC	Diamond Like Carbon diamantu podobný uhlík
G-	grampozitivní
G-	gramnegativní
ISO	International Organization for Standardization
KTJ	kolonie tvořící jednotky
např.	například
PVD	Physical Vapour Deposition fyzikální depozice z plynné fáze
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
ta-C	amorfní uhlík
TiCuN	titan-měď nitrid
TiN	nitrid titanu
tzv.	tak zvané
ZrCu	zirkon-měď

# 1. Úvod

Nezastupitelnou součástí dnešní medicíny, je také výroba tělních implantátů. Ty se vyrábějí z austenitické oceli DIN1.4404 (levný a dostupný materiál). I přes všechny její skvělé mechanické vlastnosti může docházet k negativním reakcím těla pacienta na implantát, například z důsledků uvolňování iontů. Deset až patnáct procent všech pacientů trpí více či méně silnou alergií na těžké kovy, především na nikl, chrom a kobalt. Nerespektování netolerance kovů může u pacientů vyvolávat alergické reakce všeho druhu. Klasické implantáty s obsahem alergenních kovů tak pak nemohou dobře a dlouhodobě fungovat. Aby se tomuto předešlo, nanáší se různými vakuovými metodami na podkladovém materiálu (např. austenitická ocel) tenké vrstvy (se zastoupením prvků Ti, Zr, Cu, C). Tyto tenké vrstvy vynikají potřebnými mechanickými a fyzikálně-chemickými vlastnostmi, kterými v rámci DP budou zkoumány pomocí moderních přístrojů, jako jsou konfokální mikroskop, rastrovací elektronový mikroskop, mikroskop atomárních sil či tribometru.

Kromě fyzikálních a chemických vlastností musí tenké vrstvy vykazovat také jistou mírou biokompatibility a antibakteriální vlastností. Materiál nesmí vyvolávat alergickou reakci v těle pacienta (cílem je vytvořit biokompatibilní, bioinertní, bioinaktivní povrch). Zároveň by měl eliminovat přilnavost škodlivých bakterií na povrch implantátu (musí vykazovat antibakteriální a biocidní vlastnosti). Pouze tak lze předejít tvorbě zánětu, a tím zhoršení stavu pacienta.

Cílem práce bude zhodnotit užité vlastnosti nově navržených různých typů tenkých vrstev se zastoupením prvku Ti, Cu, Zr, C, které budou porovnány s vlastnostmi základního materiálu. Na základě získaných výsledků bude možné zvolit vhodnou tenkou vrstvu pro využití v různých oblastech medicíny (tělní implantáty, ortopedické aplikace, zubní implantáty a jiné).

## 2. Teoretická část

### 2.1 Tenké vrstvy

#### 2.1.1 Definice tenkých vrstev

Tenké vrstvy, nebo také jak je v některých literárních zdrojích nazýváno filmy, jsou struktury, které mají tloušťku od několika desítek nanometrů až po mikrometry. Jestliže má vrstva tloušťku větší, pak ji nazýváme povlakem. Tyto tenké vrstvy jsou obvykle nanášeny na základní materiál, kterému se také jinak říká substrát. Obecně lze říci, že tyto tenké vrstvy chrání před nepříznivými vlivy, jako jsou například opotřebení, koroze, či zvyšují užité vlastnosti, například tvrdost, smáčivost, kluzné vlastnosti atd. Vlastnosti substrátu i tenkých vrstev jsou značně rozdílné, ať už se jedná o mechanické, chemické nebo fyzikální. [12, 14]

Tenké vrstvy jsou na základní materiál nanášeny vakuovými metodami. Ty se liší podle typu depozicí na chemické, fyzikální a iontovou implantaci. Je třeba dbát na to, aby byl povrch před nanášením vrstvy pořádně očištěn a odmaštěn. Proto se před samotným nánosem vrstvy provádí předdepoziciční procesy. Detailněji se tomu budeme věnovat v následujících kapitolách. [13, 15, 18]

Podle způsobu přípravy rozlišujeme 3 typy tenkých vrstev. Jedná se o monovrstvy, multivrstvy a vrstvy gradientní. Pro vytvoření monovrstvy, nebo také jednovrstvého povlaku, je třeba nejprve nanést na základní povrch tzv. přechodovou vrstvu. Tím docílíme vyšší tvrdosti, které chceme dosáhnout například u řezných nástrojů. Zároveň se výrazně zvýší adheze vrstvy k substrátu. Ještě lepší odolnosti a tvrdosti lze dosáhnout nanášením multivrstvy. Jedná se o vícevrstvý povlak, který se skládá minimálně z 10 vrstev o tloušťce přibližně 10 nm. [12]

#### 2.1.2 Použité prvky (vrstvy se zastoupením Ti, Zr, Cu, C)

V této diplomové práci se zaměřujeme na tenké vrstvy se zastoupením čtyř známých prvků - uhlík, titan, zirkon a měď. První dvě vrstvy, se kterými jsem pracovala, jsou vrstvy uhlíkového typu - DLC a ta-C. Třetí vrstvou je poněkud neobvyklá vrstva TiCuN. Následně jsem svou pozornost věnovala skupině 3 vrstev

ZrCu. Tyto vrstvy se lišily poměrem mědi a zirkonia. Všechny tyto vrstvy byly nanášeny na austenitickou ocel DIN1.4404.

### **2.1.2.1 Austenitická ocel DIN1.4404 (AISI 316 L)**

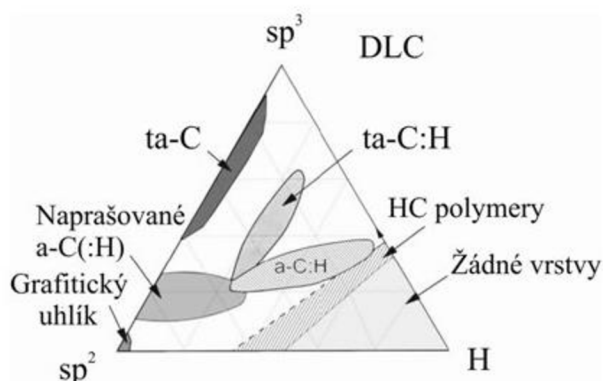
Nedílnou součástí dnešní medicíny je celosvětově dostupná nerezová chirurgická ocel s označením AISI 316L. Ta je složena zejména z chromu (16-18 %), niklu (10-15 %) a molybdenu (2-3 %). Obvykle obsahuje několik málo procent manganu (0-2 %), křemíku (0-1 %) a nepatrné množství (v rámci několika setin %) síry a fosforu. Austenitická ocel 316L je také charakteristická pro svůj nízký obsah uhlíku (méně než 0,03 %), díky čemuž je mimořádně odolná vůči korozi a vůči senzibilizaci (srážení karbidů na hranici zrn). [41, 42]

Tato austenitická ocel má výbornou tvarovatelnost i mechanické a fyzikální vlastnosti. Je nemagnetická, takže nehrozí problém s rušením jiných citlivých zařízení (např. kardiostimulátorů). Jedná se o velice houževnatý materiál s vyšším napětím při přetržení a pevností v tahu. Pro medicínu je důležitá také její odolnost vůči kyselému prostředí. [46]

### **2.1.2.2 Vrstva DLC**

První tenkou vrstvou, kterou se v této diplomové práci zabýváme, je vrstva DLC. Zkratka DLC znamená Diamond Like Carbon, v překladu diamantu podobný uhlík. Jedná se o uhlíkatou vrstvu metastabilní formy amorfního uhlíku. Tato vrstva je složena zejména z grafitického uhlíku, diamantového uhlíku a vodíku v různých poměrech. Na obrázku 1 můžeme vidět ternární fázový diagram, který zobrazuje rozdělení DLC vrstev podle zastoupení vodíku a podle vazeb atomů uhlíku. Blíží-li se vrstva bodu  $sp^3$ , odpovídá to diamantové vazbě atomů. Pokud je blíže bodu  $sp^2$ , jedná se o grafitový typ vazby. I podle tohoto rozdělení můžeme pak DLC vrstvy řadit do dvou skupin - hydrogenované DLC (a-C:H) povlaky a bezvodíkové DLC povlaky (taC a a-C). Kromě poměru vodíku,  $sp^2$  a  $sp^3$  vazeb, se tyto skupiny vrstev liší také procesem výroby. Hydrogenované DLC vrstvy jsou získané za použití nosiče vodíku či uhlíku, který

je rozkládán v plazmě. Pro získání bezvodíkové DLC je třeba grafitového targetu pro obloukové napařování či laserové rozrušení. [4, 16, 20]



Obr. 1 Ternární fázový diagram DLC vrstev [20]

DLC jsou vrstvy s relativně nízkou teplotou depozice a vykazují se velice zajímavými fyzikálními a mechanickými vlastnostmi. Kromě extrémní tvrdosti mají DLC vrstvy také velice dobré kluzné vlastnosti (nízký koeficient tření), čímž snižují i adhezivní opotřebení. [16]

### 2.1.2.3 Vrstva ta-C

Vrstva ta-C se řadí do skupiny bezvodíkových DLC vrstev. Jedná se o tetraedrický amorfní uhlík, který se svou strukturou blíží struktuře diamantu, protože podíl  $sp^3$  vazeb přesahuje 50 %. Tento typ vrstvy je často vytvářen laserovým napařováním či magnetronovým napařováním. I když vrstvy ta-C obvykle vykazují velice zajímavé tribologické vlastnosti, jejich aplikační potenciál je omezen z důvodu nízké lomové houževnatosti a křehkosti, což vede ke krátké životnosti vrstvy. Přesto jsou často používány například jako ochranné vrstvy. [16, 36]

### 2.1.2.4 Vrstva TiCuN

Titan je velmi častým prvkem používaným v biomedicíně. Jeho slitiny s nitridem vykazují velice vysokou míru biokompatibility, chemickou inertnost, pevnost

a odolnosti vůči korozi. Vrstvy TiN jsou často používané jako modifikace povrchu zubních implantátů. Abychom dosáhli také antibakteriálních vlastností, přidává se do této vrstvy také měď. Měď je jedním ze stopových prvků našeho organismu. Její příměsí vzniká tenká vrstva titan-měď nitrid. Díky ní se zvýší nejen odolnost vůči cizorodým organismům, ale také tvrdost a odolnost vůči opotřebení. Tento typ vrstvy je velmi často tvořen magnetronovým naprašováním. [23, 33]

### **2.1.2.5 Vrstvy ZrCu**

Tenké vrstvy tvořené zirkoniem a mědí se od předchozích podstatně liší. Jedná se totiž o amorfní kovové slitiny, někdy známe pod názvem kovové sklo. Kovové sklo představuje zvláštní třídu kovových slitin, pro které je charakteristická amorfní atomová struktura. Díky ní mají vynikající mechanickou pevnost a vysokou odolnost vůči opotřebení a korozi. Avšak při vytavení do teplot vyšších jak 200 °C, tyto vrstvy mají tendenci křehnout. Vzhledem ke vzniku homogenních vrstev bez hranic zrn, jsou tyto tenké vrstvy vhodné pro výrobu řezných nástrojů. [80]

Nejčastější způsob deponování kovového skla je metoda PVD. Ve výzkumné části práce se budeme věnovat 3 vrstvám o různých poměrech zirkonia a mědi. To značně ovlivňuje jejich vlastnosti.

## **2.1.3 Mechanické vlastnosti tenkých vrstev**

### **2.1.3.1 Tvrdost**

Abychom porovnali funkčnost a kvalitu jednotlivých tenkých vrstev, jsou každá z nich vystavena různým typům vnějšího působení. Jedním z nich je působení mechanické. Základní fyzikální vlastností materiálu je tvrdost. Tvrdost je definována jako odolnost materiálu vůči vnikání druhého tělesa. Její výsledek závisí na typu materiálu, velikosti zatížení a typu indentoru, který na něj působí. Tvrdost se obecně značí písmenem  $H$ . Jako jednotka se uvádí  $N \cdot mm^{-2}$ , ale vzhledem k tomu, že je lehce zaměnitelná s jednotkou pevnosti, uvádí se pevnost také jako bezrozměrná veličina. [32]

Pro hodnocení tvrdosti se používají tzv. zkoušky tvrdosti. Ty lze dělit podle způsobu porušení povrchu na statické (také se označují jako zkoušky vnikající, protože je při nich identor vlačován kolmo k měřenému povrchu), dynamické (také nazývány jako rázové, protože dochází k proniknutí identoru do povrchu rázem) a poslední typem je tzv. vrypová zkouška, při které dochází k porušení povrchu vlivem ostrého nástroje. V praxi se nejčastěji používají zkoušky statické, protože jsou jednoduché a mají nejvyšší přesnost. Mezi nejznámější z nich patří Rockwellova zkouška, Knoopova zkouška a Vickersova zkouška. Tyto zkoušky se liší zejména ve tvaru identoru a velikosti jeho zatížení. [50]

**Rockwellova zkouška** – vychází z české technické normy ČSN 42 0373. V této zkoušce tvrdosti se používá diamantový identor ve tvaru kužele nebo ocelová kulička. Diamantový kužel má vrcholový úhel  $120^\circ$  a zaoblený poloměr 0,2 mm. V případě ocelové kuličky je průměr 1,5875 mm. Při této zkoušce je zatížení rozděleno na dvě fáze. Při prvním předběžném zatížení je používána zatěžovací síla 100 N. Následuje zkušební zatížení, při kterém identor působí silou 1400 N. Celkového zatížení 1500 N je dosaženo podle normy za 3 až 6 sekund. Poté je zatěžovací síla zmenšována zpět na hodnotu 100 N. Při tomto zatížení se hodnotí přírůstek hloubky vtisku. Rockwellova zkouška je jednoduchá, rychlá a nezpůsobuje rozsáhlá poškození povrchů, protože vytvořený důlek je velice malý. [49, 50]

**Knoopova zkouška** – je nejčastější metodou pro měření mikrotvrdosti pro tenké a křehké materiály. Identor má tvar čtyřbokého jehlanu, který je vyroben z diamantu. Poměr stran jehlanu je 7 : 1 a velikost úhlů  $130^\circ$  a  $175,5^\circ$ . Pro správnost měření je třeba dbát na ostrost hran a řádného očištění měřeného povrchu. Avšak na rozdíl od Rockwella a Vickerse je hloubka vtisku velice mělká, což může způsobovat problémy při vyhodnocování přírůstku. [49]

**Vickersova zkouška** – vychází z české technické normy ČSN 42 0374. Stejně jako u Knoppa má identor tvar čtyřbokého, nyní však rovnostranného jehlanu s vrcholovým úhlem  $139^\circ$ . Hloubka vtisku pak odpovídá  $1/7$  délky úhlopříčky. Zatěžovací síla identoru se pohybuje v rozpětí 10–1000 N, přičemž je doba zatížení 10 až 180 sekund. Tato metoda je velice přesná a minimálně závislá na zatížení, nicméně v porovnání s Knoopovou zkouškou není tak citlivá. [49, 50]



### **2.1.3.2 Zbytkové pnutí**

Mechanické vlastnosti tenkých vrstev závisí už na způsobu jejich zpracování, výrobním procesu a podmínkách během něj. Pnutí, jakož to důsledek působení vnějších sil, vzniká vlivem tepelného zpracování, obrábění, lití, svařování a tuhnutí. Pnutí vzniká vlivem fázových přeměn a elastických a plastických deformací, které nejsou homogenní. Důležitou hodnotou je velikost zbytkového pnutí. Zbytkové pnutí je napětí, které je v povrchu uloženo bez působení vnějších sil. Lze ho určit analytickými metodami nebo experimentálně. Mezi nejčastější metody patří měření deformace, relaxace pnutí. Zbytkové pnutí je možné také určit pomocí ultrazvuku či rentgenového tenzometru. [26]

### **2.1.3.3 Meze kluzu**

V neposlední řadě se při určování mechanických vlastností tenkých vrstev apeluje na měření pevnosti a meze kluzu povrchových vrstev. Však určování těchto vlastností je už poněkud obtížnější. Mez kluzu můžeme chápat jako počátek plastické deformace materiálu, což je důležitá informace pro použití v praxi. Pokud budeme na vrstvu působit vyšším napětím než je mez kluzu, dojde k narušení povrchu materiálu a ztrátě funkčnosti. [2]

### **2.1.4 Fyzikálně-chemické vlastnosti tenkých vrstev**

Fyzikální vlastnosti tenkých vrstev se odvíjí zejména od atomového uspořádání a chemického složení. Jak už to tak bývá, vše souvisí se vším, takže nesmíme opomenout také optické, geometrické a elektrické vlastnosti, které rovněž ovlivňují výsledné chování tenké vrstvy. [26]

Já bych v následujících kapitolách ráda zmínila vlastnosti jako je emise, drsnost tloušťka vrstvy, její smáčivost a adhezi. Pro ověření chemického složení tenkých vrstev se používá například SEM, díky kterému zjistíme procentuální zastoupení jednotlivých prvků.

### 2.1.4.1 Emise

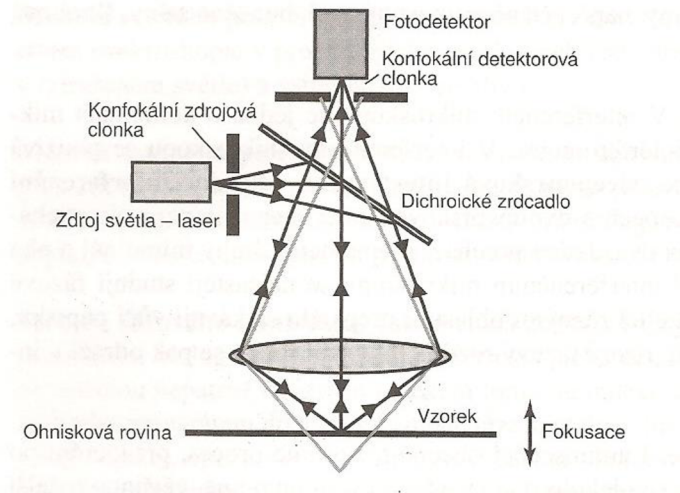
Základní fyzikální vlastnost, kterou tenká vrstva vykazuje, je emise. Rozlišujeme emisi tepelnou a sekundární. Při tepelné emisi dochází k uvolnění elektronů vlivem zvýšení teploty vrstvy – ohřevu. Sekundární emise je způsobena dopadem primárních elektronů, které dokáží uvolnit elektrony uložené v povrchové vrstvě. Vrstva, která se účastní sekundární emise, je poměrně malá. Měří obvykle okolo 100 nm. Při srážce primárního elektronu s povrchem může dojít k přechodu elektronů na vyšší elektronovou hladinu, popřípadě mají-li dostatečnou energii, mohou povrch zcela opustit. Sekundární emise má svůj význam například v elektronice (při stavbě fotonásobičů s vysokým zesílením). [2]

### 2.1.4.2 Drsnost

Podle funkce dané vrstvy chceme, aby vykazovala určité geometrické vlastnosti. V některých případech, jako například v optice, potřebujeme, aby byl povrch dokonale hladký. V jiných případech naopak. Přesto vše každý povrch vykazuje jistou míru nerovnosti, která je daná výstupky a prohlubněmi, které vznikly při přípravě povrchu, obrábění či vlivem vnějších změn. Nerovnost povrchu má 2 složky – vlnitost (složka s největší roztečí nerovností) – označuje se W-profil a drsnost (složka s nejmenší roztečí nerovností) – označuje se jako R-profil. Profil obsahující obě nerovnostní složky označujeme jako základní P-profil. [34]

Kromě profilometrů lze nerovnosti povrchu zobrazit konfokálním mikroskopem. Konfokální mikroskop zpracovává obraz elektronicky. Díky němu lze sledovat obraz v rovinách nad i pod rovinou zaostření, čímž umožňuje získat trojrozměrný obraz. Zdrojem světla je laserový paprsek, což vede k lepší rozlišovací schopnosti, než má světelný mikroskop. Na obrázku 2 je znázorněn princip konfokálního mikroskopu. Laserový paprsek, který osvětluje vzorek, je fokusován na clonku, která je díky objektivu zobrazená na vzorek (průměr zobrazovaného bodu je dán rozlišovací schopností objektivu). K tomuto objektivu se pak vrací odražený nebo rozptýlený paprsek, který po jeho průchodu vytváří další obraz bodové clonky (lokalizovaná před fotonásobičem díky děliči paprsků). [1, 14]

„Zde se nachází druhá konfokální bodová clona blokující detekci záření pocházejícího z míst vzorku mimo rovinu, do které je mikroskop právě zaostřen. Obraz celé zaostřené roviny pak získáme jejím rastrováním bod po bodu způsobem, který je v zásadě podobný tomu, jakým svazek elektronů vytváří obraz na televizní obrazovce.“ [81, str. 1]



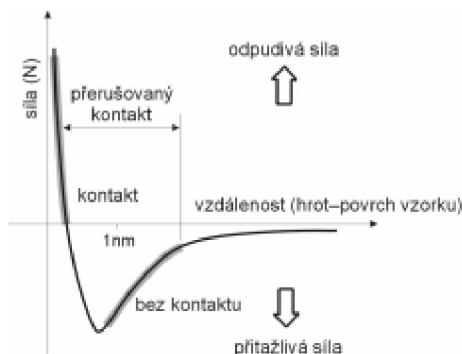
Obr. 2 Princip laserové konfokálního mikroskopu [1]

Výsledkem konfokálního mikroskopu je mimo jiné soubor dat vypovídající o drsnosti povrchu. ČSN EN ISO 25178-73 určuje několik parametrů, které udávají informace o vzorku. Mezi nejčastější patří například:

- $S_a$  – průměrná aritmetická výška (průměrná drsnost povrchu),
- $S_q$  – průměrná kvadratická výška povrchu (standardní úchylka rozdělení výšek),
- $S_p$  – největší výška výstupku (výška největšího výstupku od nulové hladiny),
- $S_v$  – největší hloubka prohlubně (výška mezi největší prohlubní a nulovou hladinou),
- $S_z$  – největší výška (výška mezi největší prohlubní a největším výstupkem).

Poslední metodou, kterou zde zmíním pro měření drsnosti povrchu, je měření pomocí AFM, což je zkratka z anglického Atomic Force Microscopy, v překladu mikroskop atomárních sil. Princip této metody spočívá v detekci Van der Waalsových sil, které působí mezi atomy vzorku a sondou mikroskopu. Této sondě se říká cantilever. Cantilever je umístěn na pružném ramínku v těsné blízkosti vzorku (desetiny až jednotky nm). AFM může pracovat ve dvou základních režimech – kontaktní a bezkontaktní. Při kontaktním módu na hrot cantileveru působí odpudivé Van der Waalsovy síly o velikostech  $10^{-7}$  N, a to jen několik desetin nanometrů nad vzorkem. V případě bezkontaktního módu jsou vzdálenosti mezi hrotem cantileveru řádově

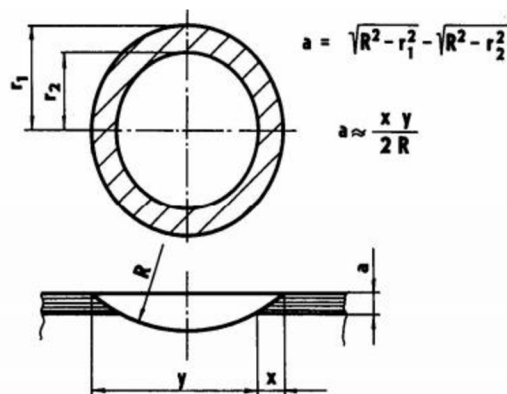
jednotky až desítky nm, přičemž na něj působí přitažlivé Van der Waalsovy síly o velikostech  $10^{-12}$  N. Na obrázku 3 je znázorněná závislost celkové síly na vzdálenosti hrotu cantileveru. [30, 39]



Obr. 3 Závislost celkové síly na vzdálenosti hrotu cantileveru [39]

### 2.1.4.3 Tloušťka vrstvy

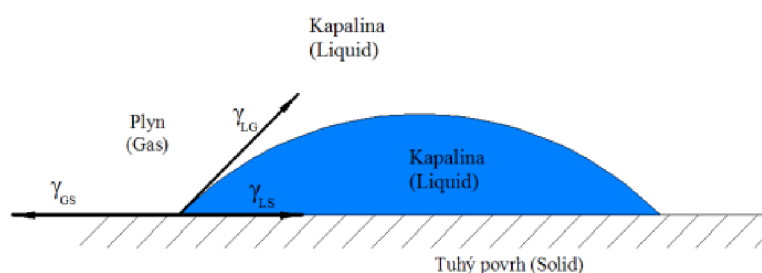
Tloušťka vrstvy je jednou z nejdůležitějších vlastností tenkého povlaku. Může například ovlivnit životnost a účinnost řezných nástrojů. Jedna z nejpoužívanějších metod se nazývá Kalotest (dána normou ČSN EN ISO 26423). Jedná se o rychlou a jednoduchou metodu. Princip spočívá ve vybroušení kulového vrchlíku do vzorku (až na hranici substrátu) pomocí ocelové kuličky potřené diamantovou pastou. Kulička obvykle o průměru 25 mm vytvoří ve vzorku stopu ve tvaru mezikruží, kterou lze následně vyhodnotit. Na obr. 4 vidíme princip stanovení tloušťky pomocí metody kalotest. [32]



Obr. 4 Stanovení tloušťky vrstvy pomocí kalotestu [32]

## 2.1.4.4 Smáčivost povrchu

Smáčivost je definována jako schopnost kapaliny přilnout k nějakému pevnému povrchu. To vyplývá z mezimolekulárních interakcí. Mírou smáčivosti je tzv. úhel smáčení (kontaktní úhel)  $\theta$ . Jedná se o úhel, který svírá tečna k povrchu kapky vycházející z místa styku kapky s rozhraní. Obecně leží mezi dvěma mezifázovými rozhraními. Těmi jsou kapalina-pevná látka ( $\gamma_{LS}$ ), kapalina-plyn ( $\gamma_{LG}$ ), popřípadě mezifázové rozhraní plyn-pevná látka ( $\gamma_{GS}$ ). [47, 48]



Obr. 5 Smáčivost kapalina na pevném povrchu [47]

Vztah mezi těmito mezifázovými rozhraními a kontaktním úhlem  $\theta$  popisuje Youngova rovnice:

$$\gamma_{GS} - \gamma_{LS} = \gamma_{LG} \cos \theta. \quad \text{Rovnice 1 (47, str. 12)}$$

Z této rovnice lze následně vyjádřit velikost úhlu smáčení:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{GS} - \gamma_{LS}}{\gamma_{LG}} \quad \text{Rovnice 2 (47, str. 12)}$$

Podle velikosti kontaktního úhlu můžeme následně určit, zdali je povrch smáčivý či nikoli. Zlomovým úhlem je úhel  $90^\circ$ . Pokud je úhel smáčení menší než  $90^\circ$ , je povrch dobře smáčivý a nazýváme ho hydrofilní. Pokud je úhel smáčení větší nebo roven  $90^\circ$ , nazýváme ho hydrofobní a jedná se o povrch, který není dobře smáčivý. V případě, že se kapalina na pevném povrchu rozteče, tudíž naměřený úhel smáčivosti  $\theta$  bude nulový, setkáváme se s jevem, který se nazývá dokonalé smáčení. Všechny tyto případy máme znázorněny na obrázku 6. [47]



Obr. 6 Velikost kontaktního úhlu [48]

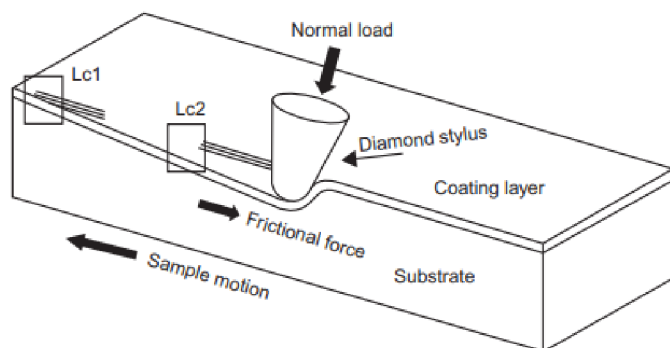
Smáčivost (velikost úhlu smáčení na rozhraní) je obvykle určena pomocí dynamické kapkové metody. Nesmíme opomenout, že ji ovlivňuje mnoho aspektů. Smáčivost je určena drsností povrchu (hladký povrch smáčí hůře než drsný), absorpcí povrchu či jeho chemickou nehomogenitou. [47, 48]

### 2.1.4.5 Adheze vrstvy

Adheze je jednou z nejdůležitějších vlastností při depozicích tenkých vrstev. Při jejich vytváření se velice apeluje na předdepoziční přípravy substrátu (např. chemické čištění substrátu, iontové čištění substrátu, stripping), aby se prodloužila životnost tenkých vrstev, a aby nedocházelo k jejich degradacím. [32]

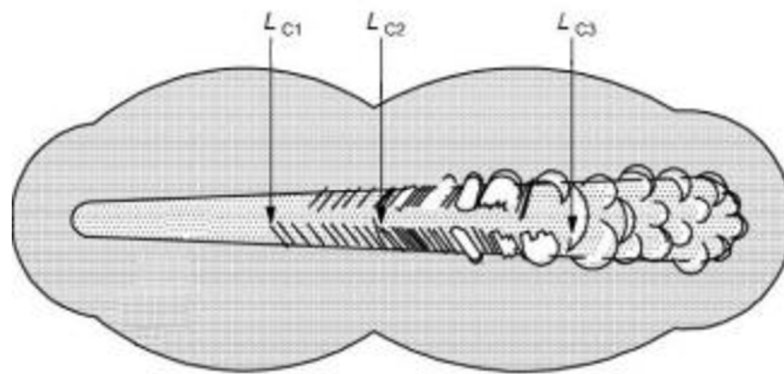
Adheze je důležitá, protože určuje schopnost přilnutí tenké vrstvy k základnímu materiálu, a tak správně plnit zamýšlený účel. Pro určení míry adheze se používají tzv. scratch testy. Jedná se o typ vrypových zkoušek, při kterých je pomocí indentoru vytvořen vryp, který je předmětem pozorování.

Metodiky měření přilnavosti povrchů přísně odpovídají normám ISO. Jednou z nich je norma ISO 20502, která se hodnocení adheze keramických povlaků. [37, 38]



Obr. 7 Princip scratch testu [38]

Princip scratch testu spočívá, stejně jako u statických zkoušek tvrdosti, v zatěžování diamantového indentoru s kuželovitým tvarem (stejně jako u Rockwella). Ten se ale v tomto případě pohybuje kolmo k povrchu vzorku s konstantním nebo progresivním zatížením. Po vytvoření vrypu se rýha hodnotí jejím přímým pozorováním pomocí mikroskopu. To však vede k tomu, že je hodnocení velice subjektivní, tudíž by mělo být prováděno pro skupinu vzorků pouze jednou osobou. Cílem je určení hodnoty  $L_C$ , což je kritické zatížení, při němž dochází k porušení povrchů. V závislosti na typu materiálu se určují obvykle tři hodnoty kritického zatížení. [38, 40]



Obr. 8 Vyhodnocení kritické síly zatížení  $L_C$  [40]

První velice důležitou hodnotou je hodnota  $L_{C1}$ , která odpovídá prvnímu narušení povrchu tenké vrstvy. Hodnota  $L_{C2}$  odpovídá stavu, kde se na sledovaném povrchu nachází 50 % tenké vrstvy a 50% substrát. Obvykle nás však více zajímá hodnota  $L_{C3}$ , při které dochází k úplnému odstranění tenké vrstvy a indentor se dotýká substrátu. [35]

Výsledky scratch testu mohou být ovlivněny mnoha faktory. Dělí se na vnější a vnitřní. Vnitřní faktory jsou obvykle vlastnosti přístroje. Výsledek ovlivňuje rychlost vrypu, rychlost zatížení, poloměr hrotu indentoru a v neposlední řadě také kalibrace přístroje. Mezi vnější faktory se řadí například drsnost povrchu, či jiné fyzikální a mechanické vlastnosti povlaků i substrátu. [40]

### 2.1.5 Morfologie a strukturoskopie tenkých vrstev

Morfologie (tvar povrchu) a vnitřní struktura jsou nezbytnou informací tenkých vrstev, které mohou ovlivnit mnoho jejich vlastností (tvrdost, drsnost, přilnavost bakterií k povrchu). Struktury tenkých vrstev úzce souvisí s řízeným nanášením

materiálů v uzavřeném prostoru bez vzduchu (ve vakuu) různými fyzikálními metodami.

Vnitřní struktury obecně rozdělujeme na amorfni, monokrystalické a polykrystalické. Amorfni látky nemají pravidelnou strukturu. Uspořádání částic (včetně rozložení rovnovážných poloh atomů) je neperiodické, chaotické až náhodné. Pravidelné uspořádání částic je omezeno na  $10^{-8}$  m. Monokrystalické a polykrystalické látky se vykazují pravidelným uspořádáním částic. Krystalické látky jsou obvykle energeticky výhodnější než látky amorfni. Monokrystalaly jsou látky s pravidelným geometrickým tvarem. Ten je dán jejich uspořádáním, které se v prostoru pravidelně opakuje. Typickým příkladem monokrystalu je diamant. Většina vyskytujících se pevných látek, jsou polykrystalaly. Jejich struktura je tvořena velkým počtem malých nepravidelně uspořádaných krystalů, které nazýváme zrna. Tato zrna mají rozměry od desítek mikrometrů až po několik milimetrů. I přes nepravidelné uspořádání jednotlivých zrn je vnitřní struktura částic pravidelná. Dále může být vnitřní struktura izotropní nebo anizotropní. Polykrystalické látky i amorfni jsou považovány za izotropní. Ty jsou charakteristické stejnými vlastnostmi ve všech směrech krystalu (fyzikální, mechanické, optické). Monokrystalaly mají typicky anizotropní vlastnost, to znamená, že některé vlastnosti jsou různé v různých směrech. [65]

Struktury tenké vrstvy mohou být také homogenní nebo heterogenní. Častým problémem struktur tenkých vrstev je tvorba trhlin a dislokací, které se mohou pohybovat. Cílem je vytvořit tzv. kompozity. Jedná se o vrstvy s heterogenní strukturou, které v sobě zahrnuje fáze o různých mechanických vlastnostech. Mezi kompozitní vrstvy patří již zmíněná multivrstva, sloupcovitá vrstva a nanokompozit. Multivrstva je charakteristická pravidelným střídáním vrstev z různých materiálů o tloušťkách několik nanometrů. Její vlastnosti jsou ovlivněny druhem materiálu, počtem vrstev a jejich tloušťkou. Obecně však zamezují šíření trhlin či dislokacím. Další možná kompozitní vrstva je tvořena sloupcovitou strukturou. Ta je tvořena krystalickými zrny, která jsou protáhlá ve směru růstu vrstvy. Tyto sloupce mají průměr obvykle okolo několika nanometrů. Mezi těmito sloupci se nachází amorfni matrice. Třetí kompozitní strukturou je nanokompozit. Nanokompozit je stejně jako sloupcovitá struktura tvořen zrna, mezi nimiž je amorfni matrice. Tato zrna mají velikost okolo desítek nanometrů. U tohoto typu vrstev je pravděpodobnost šíření trhliny také omezena, protože je šíření mezi jednotlivými zrny problémové. [66, 67]



### 2.1.5.1 Analýza morfologie a strukturoskopie

Morfologii povrchu lze vyhodnocovat pomocí různých metod. Mezi nejčastější patří mikroskopie atomárních sil, kterou jsme blíže popsali v kapitole o měření drsnosti. Další možností je rastrovací (skenovací) elektronová mikroskopie (SEM). SEM umožňuje zobrazit detaily povrchu vrstev s rozlišovací schopností 1 nm, včetně 3D zobrazení. Jedná se o nepřímou metodu, protože výsledný obraz je tvořen až sekundárním signálem. Hlavní částí tohoto mikroskopu je zdroj elektronů. Tyto zdroje mohou být termoemisní nebo autoemisní. Mezi termoemisní se řadí například wolframové vlákno či krystal  $\text{LaB}_6$ . Při použití autoemisního zdroje dochází k tzv. studené emisi. Příkladem autoemisního zdroje je Schottkyho zdroj (monokrystalický drát z wolfranu vypletený do tvaru hrotu s ploškami). Elektrony následně letí směrem k anodě, která zakřivuje jejich trajektorii, a zároveň je urychluje. Následně prochází do zbylých částí zařízení. Další součástí SEM je optická soustava složená z elektromagnetických čoček. Ty mají tvar prstence, který je vyroben z velice čistého železa a zasazen v cívkách. Když paprsek elektronů doletí k měřenému vzorku, začne docházet k interakcím s jeho atomy, což se stane zdrojem různých signálů. Tyto signály zaznamenávají různé typy detektorů (detektor RTG záření, detektor zpětně odražených elektronů). V prostoru, kde se pracuje s primárními elektrony, musí být udržováno dokonalé vakuuum. [68, 69]

Mikrostrukturu tenkých vrstev lze vyhodnocovat pomocí rentgenové difrakce. Tato metoda využívá elektromagnetické vlnění o krátkých vlnových délkách  $0,1 \times 10^{-10}$  –  $100 \times 10^{-10}$ , které jsou charakteristické pro rentgenové záření. Tyto vzdálenosti odpovídají meziatomovým vzdálenostem většiny pevných látek, proto se záření při dopadu na pevnou látku ohýbá na elektronech jednotlivých atomů (dochází k difrakci). Díky tomu je možné zobrazit vnitřní strukturu pevných látek, včetně polohy atomů, úhlů v krystalické mřížce a vazebných délek. Všechny RTG difraktometry pracují na principu Braggova zákona s různými geometriemi a podobami. Výsledkem je difraktogram. Jedná se o závislost intenzity rozptýleného rentgenového záření a součtu úhlů dopadu a rozptylu (detektor se otáčí s úhlovou rychlostí  $2 \times$  větší než je úhlová rychlost vzorku). [70]

## 2.2 Základní technologie nanášení tenkých vrstev

### 2.2.1 Předdepoziční procesy

Mezi nejpoužívanější povlakovací metody patří CVD (Chemical Vapour Deposition), PVD (Physical Vapour Deposition) a iontová implantace. Než je však daná tenká vrstva nanášena, je třeba odstranit původní vrstvu, pokud tam je, a základní materiál pečlivě očistit, aby došlo ke správnému přilnutí vrstvy nové. Tyto procesy nazýváme předdepoziční a mají velký vliv na adhezi nové vrstvy. Řadí se sem úprava řezných hran, chemické a iontové čištění povrchu před samotnou depozicí. [12, 18]

Ošetření v podobě úpravy řezných hran se využívá zejména u řezných nástrojů. Vlivem procesu broušení se mohou na povrchu vyskytnout defekty, což vede k nesprávnému přilnutí povrchové vrstvy. Zároveň se na řezných hranách koncentruje napětí, které opět může vést k porušení tenké vrstvy. Proto se tyto řezné hrany po nabroušení kartáčují, otryskávají, omílají nebo honují, což zvyšuje jejich životnost. V metodě otryskávání dochází k očištění podkladového materiálu vlivem rychle se proudícího vzduchu (až 700 km/h), který je obohacený o abrazivo (přírodní oxidy, diamantový prášek, kovová či syntetická abraziva). Abraziva se také využívají v metodě omílání. K tomu se využívají kartáče s různými typy vláken, které se liší svou tvrdostí. [13]

Jestliže budeme chtít povrch zbavit prachu či organických nečistot, přikloníme se k chemickému čištění. Zde se využívají alkoholy na ropné bázi či příměsí mastných kyselin. Při silném znečištění se využívají aromatické uhlovodíky, jako je benzen či toluol. Při chemickém čištění se pracuje s toxickými a hořlavými látkami, proto je třeba být obezřetní. Po očištění je třeba povrchy ještě vysušit. K tomu se nejčastěji využívají vakuové sušičky. [13]

Při iontovém čištění je přivedeno na substrát záporné přepětí. Přivedené ionty odstraňují mikro nečistoty. Tento proces má dvě fáze. Při první dochází k ionizaci atomů plynu, jako je například argon. Povrch je čištěn doutnavým výbojem. Následuje čištění nízkonapěťovým elektrickým obloukem, což je druhá fáze procesu. U této metody je třeba myslet na to, že pokud provádíme čištění po delší čas či s větší energií, může docházet k odprášení nejen nečistot, ale i samotného povrchu. [13]

Jak jsem již na začátku zmínila, používá-li se nějaký nástroj opakovaně, občas je třeba před nanášením nové tenké vrstvy odstranit vrstvu původní. Tomuto procesu

se říká stripping a liší se povrchem, ze kterého vrstvu odstraňujeme. Pokud je substrátem rychlořezná ocel můžeme tenkou vrstvu odpovlakovat anodickým rozpouštěním v nějakém hydroxidovém elektrolytu. Odstranění vrstvy pak trvá v rámci několika minut v závislosti na tloušťce vrstvy. Pokud bychom chtěli, lze tuto dobu odvodit z druhého Faradayova zákona pro elektrolýzu:

$$m = \frac{M_m}{F \cdot \nu} \cdot Q = \frac{M_m}{F \cdot \nu} \cdot I \cdot t, \text{ kde}$$

$m$  je hmotnost,  $M_m$  je molární hmotnost vyloučené látky,  $F$  je Faradayova konstanta ( $F = e \cdot N_A = 9,6487 \cdot 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),  $\nu$  je počet elementárních nábojů potřebných k vyloučení 1 molekuly a  $Q$  je přenesený náboj. V odvozeném vzorci je pak  $Q$  vyjádřeno jako součin elektrického proudu  $I$  a času  $t$ . [31]

V případě povrchů ze slinutých karbidů se jako rozpouštědlo používají roztoky na bázi peroxidů a hydroxidů vodíku. Tyto rozpouštědla však značně narušují povrch substrátu, což vede k tomu, že je třeba ostří nástroje znovu přebrousit.

## 2.2.2 Metoda CVD

Při metodě CVD je tenká vrstva vytvářena chemickou reakcí vhodných plynů. Systém pro vytváření povlaků se skládá z ovládací a řídicí jednotky, směšovací komory (zajišťuje směšování plynů a dávkování), reaktivní komory (v ní probíhá proces povlakování), systému vakuových vývěv a zásobníku pracovních plynů. Aby povrch dosáhl dobré adheze tenké vrstvy, musí být před samotným procesem řádně očištěn (mechanické čištění, ultrazvukové čištění, odmaštění). Proces povlakování probíhá ve dvou fázích – nejprve je povrch v reaktivní komoře bombardován atomy argonu, aby se očistil, následně je nanášena samotná vrstva. Pro průběh reakce je třeba vysoká teplota (až kolem  $1000^\circ\text{C}$ ), což ovšem vede k tomu, že se snižuje tvrdost substrátů. Proto se tato metoda používá nejčastěji při vytváření vícevrstvých povlaků a na materiály jako je keramika nebo slinuté karbidy, kterým vysoká teplota nevadí. Standartní rychlost nárůstu vrstvy je okolo  $1\text{--}3 \mu\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$ . Celková tloušťka vrstvy, která se depozicí z par chemickou cestou vytvořena, pak dosahuje tloušťky okolo  $2\text{--}5$  mikrometrů. [18, 21, 82]

### 2.2.3 Metoda PVD

Do fyzikální depozice řadíme – PVD – napařování, PVD – napařování a iontovou implantaci. Podstatou PVD je buď odpaření materiálu budoucí vrstvy ve vakuu, rozprašení materiálu ve výboji za nízkého tlaku (menší než 0,7 Pa) či bombardování povrchu ionty o vysoké energii. Ve všech případech PVD metod lze dosáhnout tloušťky vrstvy pouze několika mikrometrů. [21, 83]

Při metodě napařování dochází k odpařování materiálu z terče (targetu), který je zahříván či připojen ke zdroji stejnosměrného či střídavého napětí, a následné kondenzaci. Proces povlakování probíhá ve vakuové komoře o tlaku  $10^{-3}$ – $10^{-8}$  Pa. Dle způsobu ohřevu lze PVD napařování rozdělit na indukční, obloukové, odporové, elektronovým paprskem a laserem. Vzhledem k tomu, že proces kondenzace není ve všech místech komory stejný, může dojít k nerovnoměrnému nanesení vrstvy. Pokud nechceme, aby byla nějaká část substrátu tenkou vrstvou pokryta, vkládá se mezi něj a terč tzv. maska, která brání pokrytí po celém povrchu. [18, 21, 84]

Druhá z metod PVD je napařování. Díky elektrickému výboji (nejčastěji doutnavý výboj) ve vakuu dochází k odpaření libovolného materiálu z targetu. Při této metodě není třeba tak vysokých teplot jako u PVD napařování. Systém pro PVD napařování se skládá z katody (kterou je target s libovolným materiálem, který má být nanesen), vakuové komory, zdroje napětí, odprašovacího plynu, držáku na substrát, sady vývěv. Jako anoda je použit elektrický výboj, který vznikne ve vakuové komoře. Dle způsobu ohřevu pak můžeme PVD napařování rozdělit na diodové, magnetové, doutnavým výbojem rovinné diody a triodou. V této práci jsou uhlíkaté vrstvy nanášeny magnetovým napařováním. Tento proces probíhá za vysokého vakua v komoře s pracovním plynem (nejčastěji argonem), kdy je na terč s námi zvoleným materiálem připojen ke zdroji napětí. Toto napětí zapálí v argonu doutnavý výboj, jehož ionty následně začnou bombardovat substrát. Doutnavý výboj způsobí odprašování terče a na substrátu začne vznikat tenká vrstva. Pro zvýšení ionizace argonu (zlepšení rozprašování materiálu na terči), je pod terč umístěn silný magnet, který je chlazený vodou. To zefektivňuje celý proces nanášení povlaku i na velkých plochách. [18, 84]

V iontové implantaci dochází po určitou dobu k bombardování povrchu ionty, které mají vysokou energii (tuto energii lze zvyšovat urychlovacím napětím). Energie iontů, které jsou urychleny, dosahuje až 100 keV. Ta je úměrná hloubce průniku, který je

při této energii okolo 100 nm. Výhodu iontové implantace vidím v tom, že lze aplikovat jakékoli ionty na jakýkoli povrch při teplotě, kterou si také můžeme libovolně volit. Nicméně je při procesu třeba povrch chladit, protože dochází k ohřevu vlivem dopadajících iontů. Ty dopadají přímo do struktury vzorku, takže v této metodě nedochází ke změně rozměrů ani kvality. Nevýhodou této metody je, že svazek dopadající na základní materiál tvoří pouze bodovou vrstvu. Pokud bychom chtěli vrstvu nanést na větší plochu, musel by být svazek rozptýlen. Iontová implantace se využívá zejména k vytváření gradientních vrstev. V praxi je tato metoda nanášení vrstev používá hlavně pro svou odolnost. Vrstvy vytvořené iontovou implantací dokáží dlouhodobě odolávat opotřebení, proto se často používají např. na endoprotézy. [18, 21]

## 2.3 Charakterizace třecích vlastností tenkých vrstev

### 2.3.1 Druhy tření

Tření je výsledek interakce mezi molekulami dvou povrchů, které se dotýkají. Třecí síla je způsobena dvěma faktory, nicméně oba souvisí s mikronerovnostmi povrchů. Jedná se o molekulární a mechanické působení. Při molekulárním působení dochází k adhezi. Mezi dvěma povrchy probíhá difuze atomů a molekul. Vzhledem k tomu, že tyto povrchy jsou nerovné, vznikají na nich mikrosvary. Třecí síla vzniká také z důvodu mechanického působení. V tomto případě působí na soustavu další síla, která způsobuje abrazi či pružné a plastické deformace. Původce těchto sil jsou většinou částice, které se dostanou mezi dva dotýkající se povrchy. Vzájemným působením povrchů při pohybu se zabývá tribologie. [26]

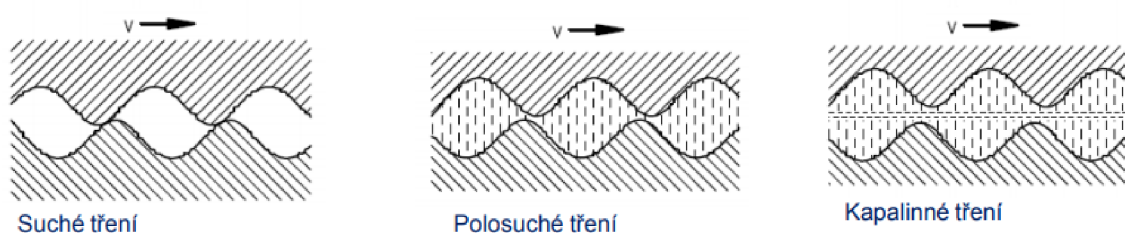
Z hlediska pohybu (rychlosti či druhu) rozlišujeme několik druhů tření. Jestliže se jednotlivé povrchy nepohybují, hovoříme o tření statickém. Pokud jsou dva povrchy vůči sobě v pohybu, nazýváme toto tření dynamické. Dále dělíme tření na vnitřní a vnější. Vnitřní tření, jak už z názvu vyplývá, působí uvnitř těles a způsobuje útlum chvění nebo zvuku. My se zaměříme na tření vnější. To se podle druhu pohybu rozděluje na kluzné a valivé.

**Kluzné tření** – velikost kluzného, nebo také smykového tření, závisí na materiálu kluzných ploch, kvalitě povrch, relativní rychlosti pohybu, ale také i na teplotách dotýkajících se ploch. Důležitou veličinou pro výpočet třecí síly je součinitel tření  $f$ .

Ten je definován jako podíl třecí síly  $F_t$ , která působí proti směru pohybu a přitlačnou silou  $F_n$ , která je na ni kolmá. Tento vztah je označován jako Coulombův zákon. [26]

$$f = \frac{F_t}{F_n} \quad \text{Rovnice 4 (26, str. 27)}$$

Rozlišujeme tři typy kluzného tření v závislosti na prostředí mezi kluznými plochami – suché, polosuché a kapalné. K suchému tření dochází mezi plochami bez jakéhokoli mazání. Při tomto typu tření se obě plochy značně zahřívají, opotřebovávají a zadírají. Polosuché tření, jinak také nazýváno mezní, je mezi plochami, které byly namazány, ale ne dostatečně. Může docházet k opotřebení kluzných ploch. Poslední prostředí, které může mezi dvěma povrchy být, je kapalné. Kluzné plochy se v tomto případě výrazně neopotřebovávají na rozdíl od předešlých. [27]



Obr. 9 Druhy kluzného tření [27]

**Valivé tření** - lépe než valivé tření, je lepší definovat ho jako valivý odpor, protože k žádnému tření nedochází. Valivý odpor vzniká mezi podložkou a tělesem s kruhovým průřezem. Toto těleso je charakterizováno poloměrem  $r$ . [28]

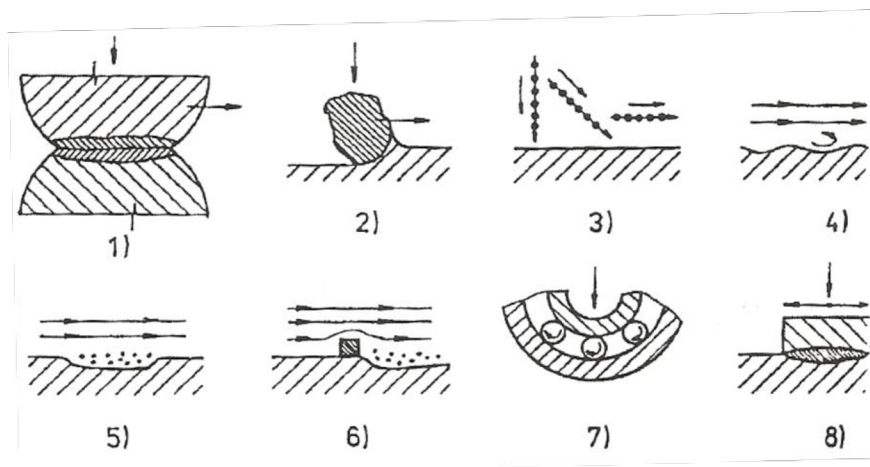
Protože se nejedná o dokonale tuhé těleso, dochází při tomto jevu k deformacím. Síla valivého odporu je definována vzorcem,

$$Fr = N \cdot \mu_r = N \cdot \frac{e_{max}}{r}, \quad \text{Rovnice 5 (26, str. 27)}$$

kde  $N$  je, jako v případě kluzného tření, přitlačná síla a  $\mu_r$  je součinitel valivého tření, který je dán poměrem ramene valivého odporu  $e_{max}$  a poloměru tělesa  $r$ . [26]

### 2.3.2 Druhy opotřebení

Opotřebení, nebo také otěr, je přirozený důsledek dvou pohybujících se těles, které se dotýkají. Při opotřebení dochází k přenosu energie. Při opotřebení může působit jeden nebo i více mechanismů. V této diplomové práci si podle vnějších změn rozdělíme 6 různých typů opotřebení, které můžeme vidět na obrázku. [2]



Obr. 10 Druhy opotřebení – 1 - adhezivní, 2 - abrazivní, 3 a 4 – erozivní, 5 a 6 – kavitační, 7 - únavové, 8 - vibrační [26]

**Adhezivní opotřebení** - o adhezivním opotřebení hovoříme, pokud se o sebe třou dva materiály a částice jednoho z nich se vytrhávají, opadávají, popřípadě se přenáší na druhý z nich. Mezi plochami působí meziatomové síly, které se snaží materiály obou ploch spojit do jedné. Tento typ opotřebení se nejčastěji vyskytuje u kovových materiálů. Adhezivní opotřebení závisí na tvrdosti materiálu, délky kluzné dráhy a na zatížení povrchu. Podle Kregelskijho rozlišujeme 5 stupňů deformace v okolí dotyku nerovností. Nejintenzivnější forma je zadírání. Při zadírání je povrch poškozován do hloubky, a to nejen v mikrooblastech, ale i makrooblastech. [26]

**Erozivní opotřebení** - je způsobené proudícím kapalinou nebo plynem. Ta unáší částice, které naráží na povrch, a tím ho postupně narušují. Na povrchu zanechávají stopu po dopadu. Pokud na povrch dopadají částice opakovaně, opotřebení má vlastnosti únavového zatěžování. Míra erozivní opotřebení je závislá zejména na podmínkách nárazu (tím je myšleno, jakou rychlostí a pod jakým úhlem částice narazí na povrch) a vlastnosti média a částic (bereme v potaz velikost a tvar částic, z jakého materiálu částice jsou – jejich tvrdost, popřípadě teplotu a chemické složení media). Erozivní opotřebení také závisí na úhlu dopadu částic. Pokud je tento úhel

veliký, vznikají protažené vtisky. Při malých úhlech vznikají mikrorýhy a materiál je z povrchu postupně oddělován. [2, 26]

**Abrazivní opotřebení** - vzniká, pokud nerovnosti prvního či tvrdšího povrchu oddělují částice toho druhého. Míra opotřebení závisí na stejných podmínkách jako opotřebení adhezivní, tj. míra zatížení, délka kluzných ploch atd. Podle Chruščeva se mohou na oddělení částic z povrchu materiálu podílet tři mechanismy. V prvním případě může vlivem rýhování vzniknout tzv. tříška, val nebo nárůstek. Co vznikne, je závislé na úhlu, který je mezi porušovaným materiálem a abrazivní částicí. [26]

**Kavitační opotřebení** – *„Kavitační opotřebení způsobují dynamické účinky vyvolané vznikem a zánikem bublin vyplněných sytou párou v kapalině v místech, kde náhle klesne tlak kapaliny pod tlak syté páry a opět stoupne na tlak syté páry.“* [26, cit. 1. 12. 2020] Kavitační opotřebení působí hlavně mechanicky. Při zániku kavitačních bublin jsou vyvolané tlakové rázy, které mohou narušovat povrch tělesa. Ty mohou být kombinovány i s vnějšími vlivy, jako jsou tepelné, elektrické či elektrochemické. [2]

**Únavové opotřebení** - je projevem opakovaného působení třecí síly mezi dvěma tělesy, za působení velikých kontaktních tlaků. Časem může docházet k uvolňování částic a porušení geometrie tělesa. Pokud je těleso zakřivené, únavové opotřebení se projevuje intenzivněji. V tomto případě hovoříme o kontaktní únavě. V praxi je únavové opotřebení často doprovázeno opotřebením abrazivním. [26]

**Vibrační opotřebení** - jak už z názvu vyplývá, vibrační opotřebení (nebo je také někdy nazýváno jako třecí únava či vibrační koroze) je způsobené kmitavým pohybem mezi tělesy. Kmitavý pohyb je charakterizován amplitudou (ta nesmí být větší než 0,075 mm, pak už se jedná o opotřebení adhezivní), frekvencí a proměnným zatížením. To může být bodové, čárové nebo plošné. Jak jsem už zmínila u amplitudy, vibrační opotřebení lehce přejde do jiného typu opotřebení. Také jeho charakteristické projevy jsou kombinací různých typů opotřebení. Projevuje se adhezí, abrazí a oxidací. Vibrační opotřebení probíhá vždy v oxidačním prostředí. [26]

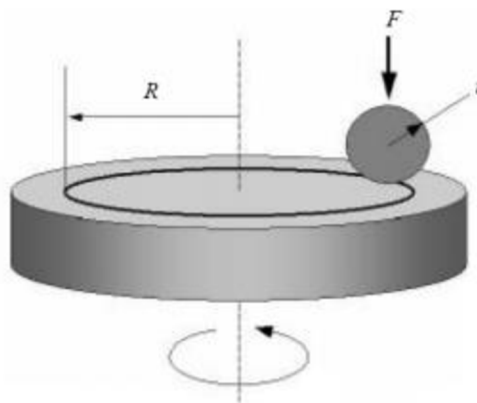
### 2.3.3 Tribologie

Tribologie je vědní obor, zabývající se vzájemným kontaktem dvou povrchů, zejména pak tření, opotřebení a mazání. Při přímém kontaktu dvou či více povrchů, při



němž je alespoň jeden z nich v pohybu, dochází vlivem tření k erozi, korozi a následným ztrátám materiálu z povrchu. Aby se předešlo k opotřebení těchto povrchů, lze mezi ně nanést mazivo, které zlepšuje kluzné vlastnosti povrchů. Cílem je vytvořit či upravit povrchové vrstvy pomocí maziva tak, aby byly hodnoty tření v ideálním případě nulové, v praxi, aby se nule co nejvíce blížily.

Jednou z nejčastějších metod pro tribologickou zkoušku je metoda PIN-on-DISC. „Měření PIN-on-DISC spočívá ve vlačování pevně uchyceného zkušebního těliska (pinu) ve tvaru kuličky nebo hrotu z libovolného materiálu předem definovanou silou (zátěží 1–10 N) do zkušebního vzorku, který se otáčí danou rychlostí.“ [32, str. 32]



Obr. 11 Princip tribologického měření [32]

Výstupem tribologické zkoušky je průběh koeficientu tření v čase. Koeficient tření a rozsah opotřebení je závislý na mnoha parametrech. Mezi ně patří vstupní parametry, jako jsou velikost zatěžovací síly (konstantní nebo proměnné), velikost styčné plochy, vlastnosti prostředí (mazivo či jiné médium), počet cyklů (dáno dobou měření či délkou dráhy). Na druhou stranu to jsou vlastnosti měřeného vzorku a použitého pinu, jako je použitý materiál, stav a jejich kvalita, jejich mechanické a fyzikální vlastnosti nebo teploty povrchu. Po ukončení zkoušky se následně hodnotí vlastnosti vytvořené stopy – její tvar, šířka, hloubka, okolí, struktura, doba vzniku a jiné. [4, 32]

## 2.4 Chování tenkých vrstev s buněčným materiálem

### 2.4.1 Biokompatibilita

Má-li být implantát příznivý pro lidské tělo, musí vykazovat určitou míru biokompatibility. Jedná se o schopnost materiálu snášet biologické prostředí.

Biokompatibilitu lze posoudit například pomocí testů cytotoxicity, alergických a toxikologických reakcí, karcinogenních či mutagenních reakcí nebo podle rozsahu a kvality biodegradace. [6, 72]

Z hlediska biologické tolerance můžeme materiály vykazující biokompatibilitu rozdělit do tří skupin – materiály biotolerantní, bioinertní a bioaktivní. Biotolerantní materiály jsou takové, které je schopna snést i živá tkáň. Pokud je do těla vpraven implantát z biotolerantního materiálu, při jeho vhojování dochází ke vzniku vazivové vrstvy mezi kostí a implantátem. První materiály byly tvořeny z drahých kovů, jako je platina nebo zlato. Ty však byly pro vysokou cenu a špatné mechanické vlastnosti brzy nahrazeny nerezavějící ocelí na bázi Cr-Ni. I ta ale měla nevýhodu, a to v podobě karcinogenity niklu a chromu. Proto byla později nahrazena slitinami na bázi Co, se kterými se pracuje i dnes. [71]

Bioinertní materiály jsou biologicky neaktivní a plně tolerantní pro tkáň. Při jejich vhojování nedochází ke vzniku vazivové vrstvy. Do této skupiny se řadí titan a jeho slitiny, aluminiumoxidová a zirkoniumoxidová keramika a uhlíkové materiály. Bioinertní materiály jsou vhodné pro aplikace v medicíně. Kombinují uspokojivé mechanické vlastnosti a dostatečnou biokompatibilitou. [71]

Bioaktivní materiály jsou biologicky reaktivní. Jsou vyvíjeny ve snaze dosáhnout, co nejvyšší biokompatibility. Při jejich použití dochází k fyzikálně-chemickému spojení mezi kostí a implantátem (tzv. biointegraci). Mezi nejčastější materiály této skupiny se řadí hydroxyapatitová keramika, bioaktivní sklokeramika a bezesporu také titan. [71]

## **2.4.2 Hemokompatibilita**

Specifickým druhem biokompatibility je tzv. hemokompatibilita. Ta zkoumá reakce mezi použitým materiálem a krví. Hodnotí se zejména krevní koagulace, vznik trombů a hemolýza (rozpad červených krvinek). Krev má na rozdíl od jiných tkání v těle jiné složení a probíhají zde zcela jiné reakce a procesy. Z toho vyplývá, že i materiál, který je považován za biokompatibilní, nemusí být jednoznačně hemokompatibilní. Mezi nejčastější testy posouzení hemokompatibility patří test hemolýzy (stanovení hemolytických vlastností materiálu – s přímým nebo nepřímým kontaktem s krví) či BK test (Test částečného tromboplastinového času (PTT) – provádí se v případě, kdy se zdravotnický prostředek dostává do přímého styku s cirkulující krví). [73]

### 2.4.3 Antibakteriální povrchy

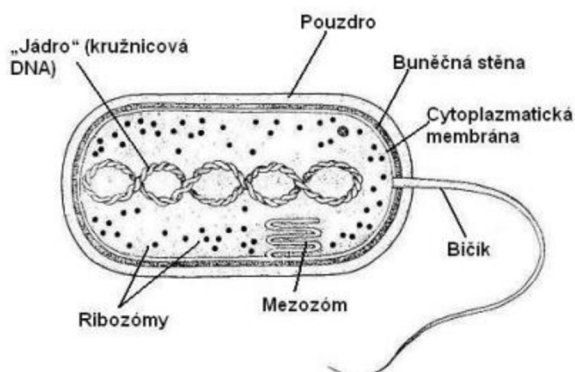
Kromě mechanických, fyzikálních a chemických vlastností, se rovněž věnuje velká pozornost tomu, aby nanosená vrstva vykazovala antibakteriální účinek. Pokud je do těla vloženo cizí těleso (implantát), naše tělo na něj může reagovat různě (imunitní odpověď může být neutrální, negativní nebo až dokonce nekrotická). Reakce se projevuje útlumem imunitní odpovědi tkání v místě, kde se cizí těleso nachází. Na povrch vloženého materiálu (implantát nebo medicínský nástroj) začnou adhezovat/ulpívat bakterie, které se mohou dále množit a vytváří tzv. biofilm. Větší množství bakteriálních buněk může vést k infekcím a následně ke vzniku zánětů, abscesů a sepsí. Pokud dojde ke vzniku biofilmu, tak jsou problémy ještě závažnější. Bakterie v biofilmu mají větší odolnost proti dezinfekčním metodám, odolávají vyšší koncentraci antibiotik, vyšší teplotě apod. Jednou z možností, jak předcházet adhezi buněk k povrchu a tvorbě biofilmu, je použití prvků, které vykazují antibakteriální, antiadhezivní nebo hydrofobní vlastnosti. [29]

#### 2.4.3.1 Obecné vlastnosti bakteriální buňky

Bakterie jsou jednobuněčné organismy, které vznikly na naší planetě asi před 3 miliardami let. V průběhu evoluce se začaly lišit způsobem života, tvarem a také velikostí. Dnes mají bakterie velikost v řádech několika mikrometrů. Liší se také prostředím, ve kterém jsou schopni se rozmnožovat. Některé bakterie rostou při teplotách okolo 0 °C, jiné potřebují teploty vyšší, organismy sídlící uvnitř nebo na povrchu lidského těla potřebují teplotu okolo 37 °C. Zásadní je také hodnota pH prostředí, osmotický tlak okolí, ale i obsah iontů a živin (zdroj uhlíku, kyslíku, dusíku, fosforu aj.). [14]

Jak jsem v úvodu zmínila, bakterie se liší nejen svou velikostí, ale také tvarem. Podle něho rozdělujeme bakterie na koky, což jsou bakterie s kulovitým tvarem těla, a tyčky. Tyčky jsou dále pravidelné nebo nepravidelné. Mohou být kyjovitého tvaru, rohlíčkovitého či se vývrtkovitě stáčet. Mimo to mohou za určitých podmínek tvořit vlákna, což je příklad *Escherichia coli*, která je součástí našeho organismu. „*Aerobní sporující bakterie jsou bacily, anaerobní klostridia (vypadají jako vřeteno - closter).*“ [14, s. 17]

Na obrázku vidíme strukturu prokaryotické (bakteriální) buňky. Ta je evolučně starší než eukaryotická. Buňka je obalena několika vrstvami, má nepravé jádro a množí se buněčným dělením.



Obr. 12 Bakteriální (prokaryotická) buňka [22]

**Buněčná stěna** – určuje tvar bakteriální buňky. Jedná se o pevný obal, který funguje jako permeabilní membrána. Je silná asi 20 nm a tvořena z peptidoglykanů. [23] Obecně rozlišujeme podle typu buněčné stěny dvě skupiny bakterií – gram-pozitivní ( $G^+$ ) a gram-negativní ( $G^-$ ). Nejen, že se tyto buněčné stěny liší svoji tloušťkou ( $G^+$  mají buněčnou stěnu silnější než  $G^-$ ), ale i zbylým složením vrstvy. Buněčná vrstva  $G^+$  bakterie je složena z peptidoglykanů a teichoových kyselin. U  $G^-$  bakterií na peptidoglykany přiléhá druhá lipidová membrána, která je tvořena z lipoproteinů a lipopolysacharidů. Od typu buněčné stěny se pak odvíjí citlivost na antibiotika či na různé druhy patogenů. Většina bakterií mají stěnu gramnegativní, včetně *Escherichia coli*. [43]

**Cytoplazmatická membrána** – jedná se vrstvu pod buněčnou vrstvou. Cytoplazmatická membrána je semipermeabilní vrstva tvořená zejména z fosfolipidů a bílkovin. Její funkce je přenos látek dovnitř a ven z buňky. Tomu napomáhají bílkovinní přenašeči. [24]

**Cytoplazma** – je viskózní roztok, který vyplňuje vnitřní prostor buňky a vytváří vhodné prostředí pro buněčné organely.

**Nepravé jádro** – neboli nukleoid je tvořeno jednou molekulou dvouvláknového DNA stočenou do kružnice, které není ohraničena žádnou membránou. V jednom bodě je připevněno k cytoplazmatické membráně, což souvisí s dělením buněk. Zabírá asi 20 % vnitřního prostoru buňky. [24]

**Ribozomy** – jsou malé váčky v cytoplazmě, které slouží zejména k syntéze bílkovin. Každý ribozom jsou tvořeny dvěma podjednotkami zejména z rRNA a proteinů. [25]

**Mesozom** – vychlípenina v cytoplazmatické membráně, která pravděpodobně souvisí s buněčným dělením. [25]

**Bičík** – vlákno sloužící k pohybu buněk. Může být pouze jeden nebo i více. Tato vlákna tvoří molekuly bílkovin - flageliny. [24]

### 2.4.3.2 Mikroskopie a hodnocení vlastností buněk

Morfologii bakterií zkoumáme mikroskopickými metodami. Ne vždy jsou bakterie pomocí mikroskopů vidět, proto se často obarvují. V praxi se využívá Gramovo barvení. Tím můžeme odlišit, zdali je bakterie gramopozitivní nebo gramonegativní. Obecně se pro zobrazování bakterií používají různé druhy mikroskopů.

**Optická mikroskopie** – jedna ze základních metod využívající světelný mikroskop. Ten je schopen zobrazit vzorky v rozměrech 0,2 mm – 0,2  $\mu\text{m}$ . Skládá ze tří spojených optických soustav - osvětlovací soustava, okulár a objektiv. Velikost zvětšení, kterého můžeme dosáhnout je dána součinem zvětšením objektivu (největší až 150 $\times$ ) a zvětšením okuláru (nejčastěji 10 $\times$ ). [1]

Sledovaný vzorek se umístí před ohnisko objektivu. Objektiv vytváří obraz zvětšený a skutečný a vzniká za ohniskem okuláru. Ten pak obraz opět zvětší. Výsledný obraz pozorovaný pomocí optického mikroskopu je zvětšený, neskutečný a převrácený. [1]

**Fluorescenční mikroskopie** – fluorescenční mikroskop je druh optického mikroskopu, který slouží k zobrazení organických a anorganických struktur a fyziologie buněk. Pracuje na principu fluorescence, kde dochází k absorpci světelné energie (v podobě fotonů) a následně je za několik nanosekund později část této energie emitována (také ve formě fotonu). Při tomto ději dochází ke ztrátě části energie, proto má absorbovaný foton větší energii, tudíž kratší vlnovou délku než foton emitovaný. Rozdíl mezi těmito vlnovými délkami nazýváme Stokesův posuv. [44]

Mezi základní části fluorescenčního mikroskopu patří zdroj světla (rtuťová nebo xenonová výbojka), systém filtrů a zrcadel (oddělují emitované a excitované paprsky – dichroické zrcadlo, odráží či propouští vybraný paprsek, filtrují nežádoucí složky

světla) a objektiv s okulárem. Dále jsou doplněny o CCD kameru, která je schopná pořádit snímky pozorovaného vzorku. Pro lepší zobrazení struktur se vzorky obarvují fluorescenčními barvivy (fluorochrom, fluorescenční sonda). [45]

**Skenovací elektronová mikroskopie** – častou metodou pro zobrazování buněk je pomocí elektronového mikroskopu. Ten místo světla pracuje s elektrony emitovaných elektronovou tryskou ve vakuu. To vede k vyššímu možnému zvětšení vzorku, což ale samozřejmě závisí na kvalitě optické soustavy a vlastnosti zdroje.

Elektronová mikroskopie se ještě rozděluje na transmisní elektronovou mikroskopii (TEM) a rastrovací elektronovou mikroskopii (REM nebo také SEM). Transmisní elektronová mikroskopie na rozdíl od rastrovací elektronové mikroskopie provádí pozorování vzorku pomocí prošlých elektronů (tzn. můžeme vidět vnitřní strukturu buněk). Pokud budeme chtít pozorovat biologický vzorek rastrovací elektronovou mikroskopii, pak je třeba nanést na vzorek vodivou vrstvu (například). Vodivá vrstva umožňuje odvádět nahromaděný náboj (aby nedošlo ke zkreslení obrazu) a umožní pozorování povrchu vzorku (tj. struktury a morfologie). [1, 14]

## **2.5 Aplikace a použití tenkých vrstev v medicíně**

Kromě strojírenství a automobilového průmyslu, mají tenké vrstvy široké zastoupení také v mnoha oborech medicíny. Musí být použity povrchy, které budou odolávat každodennímu namáhání a zároveň budou vykazovat, co nejmenší opotřebení. Takovéto vrstvy jsou vhodné například pro kloubní implantáty či dentální náhrady. Povrchy, které budou antibakteriální či budou zabraňovat usazování krevních trombů (tzv. antitrombinový povrch), lze využít například pro kardiovaskulární implantáty, například pro srdeční chlopně. Důležitou podmínkou však je, že za žádných okolností nesmí uvolňovat ionty, které by mohly vyvolat nežádoucí imunitní odpověď. [36, 11]

### **2.5.1 Oblasti aplikace tenkých vrstev se zastoupením prvků Ti, Zr, Cu, C**

Mezi nejčastější podkladové materiály používané v medicíně je austenitická ocel AISI 316L. Tato vrstva sama o sobě nedokáže odolávat každodennímu zatížení, proto

se na ni nanáší tenká vrstva, která dle použití může zlepšovat tvrdost, kluzné vlastnosti, snižovat opotřebenění či adhezi bakterií.

Jedním z vhodných prvků pro použití v medicíně je uhlík. Jeho škála využití je velice široká. Lze ho použít ve formě grafitu, kde má velice dobré kluzné vlastnosti, tak i ve formě diamantu, který vyniká svou tvrdostí. Mimo to je uhlík netoxický, biokompatibilní a hemokompatibilní. Z toho důvodu se často používá ve formě tenkých vrstev (DLC, ta-C) pro aplikace, které přijdou do přímého kontaktu s tělem pacienta. Konkrétní použití je například povrchová vrstva kloubních náhrad (prstní kloub, kyčelní) či antikoagulační povlaky srdečních chlopní. Navíc se zjistilo, že příměsí dalších prvků (titan, chrom) do uhlíkaté vrstvy se mohou zlepšit také antibakteriální vlastnosti těchto vrstev. [36, 60, 74]

Dalším častým chemickým prvkem používaným v medicíně je titan. Nalézt ho můžeme v různých oblastech medicíny, a to zejména pro svou bioinertnost, korozivzdornost, protizánětlivost, pevnost, odolnost vůči opotřebenění a v neposlední řadě i dostupnost. Používá se ve formě čistého titanu a jeho slitin (Ti6Al4V). Tvoří významnou část materiálů používaných při konstrukci ortopedických a dentálních implantátů. Zajímavou slitinou titanu je také nitinol (Ni-Ti). Jedná se o slitinu titanu s tvarovou pamětí. Ta nachází uplatnění například v traumatologii a ortopedii (fixace zlomenin kostí a páteře), v ortodoncii (výroba rovnátek a nástrojů na kořenové kanálky) či v kardiovaskulární chirurgii (výroba stentů). [75, 76]

Měď je důležitý stopový prvek pro lidský organismus. V medicíně se používá, protože účinně likviduje bakterie a viry zachycené na svém povrchu, v porovnání s materiálem ze stříbra levněji a několikanásobně rychleji. Z toho důvodu jsou z mědi vyrobené kličky a madla v nemocnicích. Tento prvek se však používá i jako příměs do tenkých vrstev, kdy povlaku s dobrými kluznými vlastnostmi a ošetrivostí, dokáže zlepšit také antibakteriální vlastnosti. Mimo to se prokázalo, že materiály obsahující měď, podporují hojení zlomenin kostí (osteogenní vlastnost). [77, 78]

Za poslední desetiletí se rozšířilo použití zirkonia. Díky jeho výhodným fyzikálním, biologickým, estetickým a korozním vlastnostem má své zastoupení jak v ortopedických, tak i zubních aplikacích. Kloubní náhrady obsahující zirkonium prokázaly vynikající odolnost vůči opotřebenění. V případě zubních náhrad roste zájem také o jejich estetiku. Z tohoto důvodu jsou keramické náhrady na bázi zirkonia čím dál častější. Používají se jako celokeramické korunky či endoseální implantáty. [79]

## **3. Výzkumná část**

### **3.1 Cíle a výzkumné předpoklady**

Hlavním cílem práce je posouzení mechanických, chemických, fyzikálních a antibakteriálních vlastností tenkých vrstev se zastoupením prvků C, Ti, Zr, a Cu ve srovnání se základním materiálem. Získané výsledky následně zhodnotíme a navrhneme nejvhodnější použití v různých oblastech medicíny.

Předpokládáme, že tenké vrstvy budou mít odlišné mechanické a fyzikálně-chemické vlastnosti, z čehož vyplývá, že se budou lišit i výsledky biologických experimentů. Předpokládáme, že ze získaných výsledků budeme schopni vytipovat konkrétní aplikace pro použití tenkých vrstev, což umožní dosáhnout lepších výsledků v navržených oblastech použití.

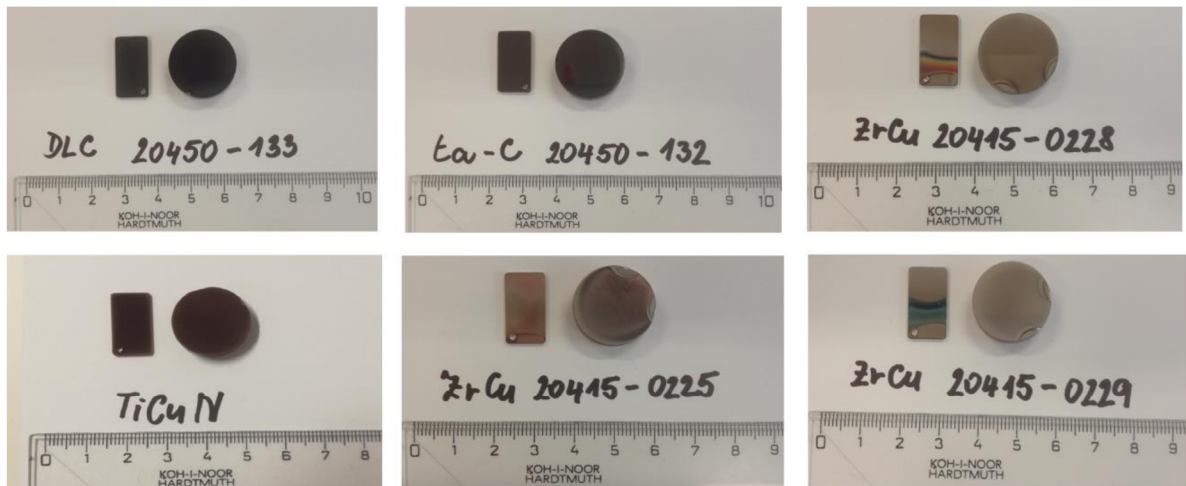
### **3.2 Metodika výzkumu**

Vlastnosti tenkých vrstev byly hodnoceny na různých pracovištích Technické univerzity v Liberci (Laboratoř tribologie, Laboratoř mikrobiálních technik, Laboratoř mikroskopie, Laboratoř tvorby a hodnocení tenkých vrstev). Výzkum probíhal od září 2020 do března 2021.

#### **3.2.1 Přehled použitých tenkých vrstev**

V diplomové práci jsme pracovali celkem se šesti typy tenkých vrstev – DLC, ta-C, TiCuN a tři vrstvy ZrCu s různými poměry zirkonu a mědi. Obecné vlastnosti jsou popsány v teoretické části. Všechny tyto vrstvy byly nanесeny na austenitickou ocel AISI 316L. Od každé vrstvy jsme měli k dispozici vždy dva typy vzorků. Větší z nich byl válcovitého tvaru o průměru 20 mm a výšce 5 mm. Ty jsme využívali zejména na mechanické a fyzikální zkoušky. Druhý typ vzorku byl obdélníkového tvaru o tloušťce 1 mm a rozměrech 18×10 mm, který byl využíván na biologické zkoušky. Přehled tenkých vrstev můžeme vidět na obrázku 13.





Obr. 13 Přehled použitých tenkých vrstev

### 3.2.2 Depozice tenkých vrstev

Tenké povlaky byly vytvořeny českou společností SHM Šumperk. Vrstva DLC byla připravována magnetonovým napařováním z grafitové katody v atmosféře z argonu a acetylénu. Obecně lze říci, že kvalita tenké vrstvy se odvíjí od průběhu celého procesu.

Vrstva tvořena ta-C byla vytvořena procesem magnetonového napařování. Jedná se o vrstvu, která má strukturu nejvíce podobnou diamantu. Aby tomu tak bylo, musí obsahovat více než 50 %  $sp^3$  vazeb. Aby vrstva dobře přilnula, bylo třeba substrát očistit pomocí iontů  $Cr^+$ . Pro lepší vlastnosti tenké vrstvy byla nanášena mezivrstva CrN.

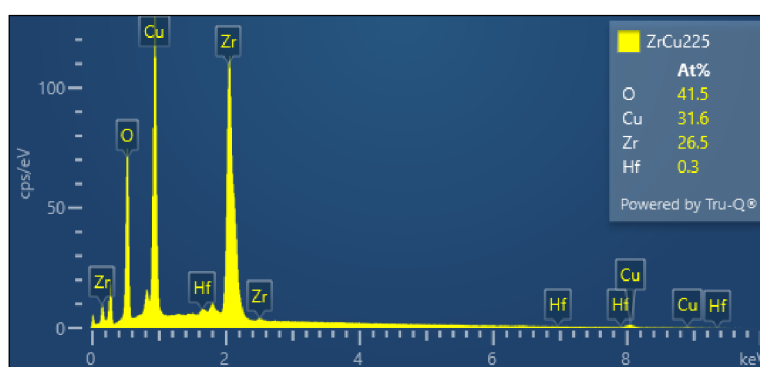
Vrstva TiCuN měla číslo procesu 20415-0240. Vrstva byla připravována kombinací magnetonového napařování Cu a obloukového napařování Ti. Cílem bylo vytvořit stechiometrickou vrstvu (tzn., že koncentrace Ti a Cu bude stejný), což se také povedlo. Výstupní zpráva společnosti SHM Šumperk uvádí koncentraci Ti 49,7 % a Cu 49 %.

Poslední skupinou vrstev jsou vrstvy ZrC, které jsou známé jako kovové vrstvy s amorfní strukturou. Zkoušeny byly vrstvy ze 3 procesů, které se lišily hodnotou napětí a teploty. První proces 20415-0228 probíhal při teplotě 400 °C a napětí 50 V. Druhé dvě vrstvy byly vytvářeny při podstatně nižších teplotách (okolo 50 °C). U všech třech procesů byla doba depozice 30 minut. I při vytváření kovových skel je cílem vytvořit stechiometrické vrstvy s koncentrací 50/50. Literatura uvádí, že v této koncentraci jsou vrstvy nejvíce strukturně stabilní.

### 3.2.3 Výzkum a analýza výzkumných dat

#### 3.2.3.1 Chemické složení tenkých vrstev

Experimentální část jsme začali ověřením chemického složení tenkých vrstev. K tomu jsme využili rastrovací elektronový mikroskop CARL ZEISS Ultra Plus, jehož součástí je i elektronově disperzní spektrometr, který umožňuje určit prvkové složení povrchů. Při experimentu jsme použili urychlovací napětí 5 kV. Díky němu jsme získali spektrum charakterizující procentuální zastoupení jednotlivých prvků ve vrstvě. Jedno ze spekter, konkrétně spektrum tenké vrstvy ZrCu, je zobrazeno na obrázku 14.



Obr. 14 Chemické zastoupení prvků vrstvy ZrCu 20415-0225

V tabulce 1 můžeme vidět procentuální zastoupení jednotlivých prvků. Můžeme vidět, že ve vrstvě DLC a ta-C dominuje pouze C, a to téměř ve 100 %. Přestože jsme mysleli, že je vrstva TiCuN stechiometrická, SEM ukázal, že podíl Cu a Ti není stejný. Podobné výsledky jsme získali i u vrstev ZrCu, kde je vždy vyšší podíl mědi.

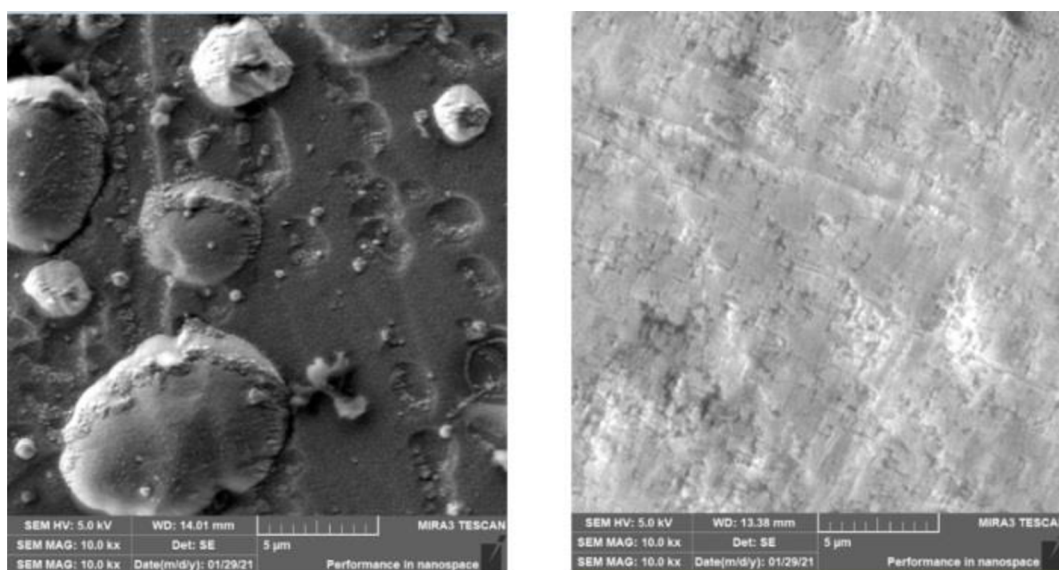
Tab. 1 Chemické složení tenkých vrstev

Vrstva/Prvek [%]	Fe	Cr	Ni	Mo	C	O	Ar	N	Ti	Cu	Zr
AISI 316L	68,3	17,8	10,5	1,2	-	-	-	-	-	-	-
DLC 20415-133	-	-	-	-	96,8	3,0	0,2	-	-	-	-
ta-C 20415-132	-	-	-	-	96,8	-	3,2	-	-	-	-
TiCuN 20415-0240	-	-	-	-	-	11,8	-	27,8	28,9	31,2	-
ZrCu 20415-0225	-	-	-	-	-	41,5	-	-	-	31,6	26,5
ZrCu 20415-0228	-	-	-	-	-	12,1	-	-	-	56,2	31,2
ZrCu 20415-0229	-	-	-	-	-	23,3	-	-	-	43,5	32,8

### 3.2.3.2 Morfologie a drsnost povrchu

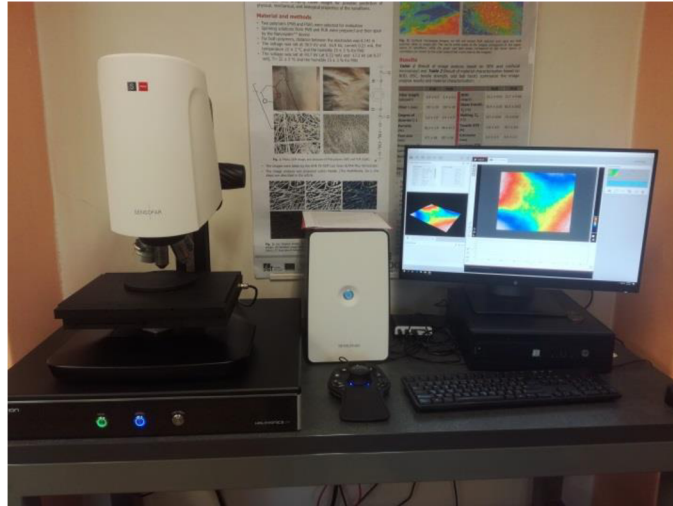
Než jsme přešli k měření drsnosti povrchu, zaměřili jsme se na morfologii povrchu. Tu jsme zkoumali na stejném přístroji, jako chemické složení tenkých vrstev (rastrovací elektronový mikroskop CARL ZEISS Ultra Plus), včetně stejného urychlovacího napětí 5 kV.

Při zkoumání jsme zjistili, že povrch DLC a ta-C je značně „zrýhovatělý“ a obsahuje velice drobná zrna o velikostech několika málo desetin  $\mu\text{m}$  až 1  $\mu\text{m}$ . Povrch vrstvy TiCuN je na rozdíl od ostatních výrazně nerovný, můžeme však vyloučit přítomnost jakýkoliv útvarů (zrn). Zcela naopak tomu bylo u skupiny vrstev amorfního skla ZrCu. Ty obsahovaly relativně velká zrna o rozměrech 1  $\mu\text{m}$  až po 10  $\mu\text{m}$ , která vznikla během procesu výroby. Obrázek číslo 15 zobrazuje morfologii povrchu ZrCu 20415-0225 a TiCuN. U vrstvy ZrCu můžeme vidět, že zrna z povrchu odpadávají a zůstávají po nich na površích krátery různých velikostí.



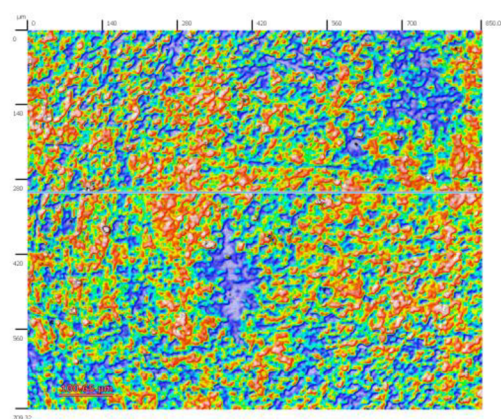
Obr. 15 Povrch ZrCu 225 (vlevo) a TiCuN (vpravo) zobrazený pomocí SEM

Drsnost tenkých vrstev jsme zkoumali dvěma způsoby. Nejprve jsme zhodnotili povrch vzorků pomocí konfokálního mikroskopu S neox & SensoSCAN 6.5, a pak pomocí AFM (JPK instrument).



Obr. 16 Konfokální mikroskop S neox & SensoSCAN 6.5

Konfokální mikroskop je složen ze tří částí - systémové jednotky, elektronického kontroléru a hlavního kontroléru, kterým byl počítač. Veškeré ovládání probíhalo v softwaru SensoSCAN. Nejpodstatnější je hlídat v softwaru správný výběr objektivu tak, aby se shodoval s tím, který byl nastaven na mikroskopu. Samotná práce s konfokálním mikroskopem je snadná. Volili jsme vhodné zaostření, intenzitu osvětlení a následně provedli sken. Výsledkem byl 2D obraz celého povrchu vzorku, který jsme následně převáděli do 3D obrazu pro lepší zobrazení nerovností povrchu. Skenovali jsme celkem na třech různých místech o ploše  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ . Na obrázku číslo 17 můžeme vidět příklad 2D zobrazení povrchu, v tomto případě vrstvy TiCuN.



Obr. 17 Zobrazení drsnosti povrchu pomocí konfokální mikroskop – vrstva TiCuN

Výsledkem měření je soubor dat, který nás informuje o minimálních, maximálních a průměrných výškách nerovností na povrchu tenkých vrstev. Přehled hodnot průměrné

aritmetické výšky  $S_a$  (průměrné drsnosti povrchu) a maximální výšky  $S_z$  (výšky mezi nejnižší prohlubní a nejvyšším výstupkem) je zobrazený v Tabulce 2. Detailní data nalezneme v příloze.

Tab. 2 Drsnost povrchu tenkých vrstev – konfokální mikroskop

Typ tenké vrstvy	AISI 316L	DLC 20415-134	ta-C 20415-132	TiCuN 20415-0240	ZrCu 20415-0225	ZrCu 20415-0226	ZrCu 20415-0227
Průměrná hodnota $S_a$ [nm]	60,9	66,3	65,4	84,1	130,0	84,4	98,3
Směrodatná odchylka $S_a$	3,1	1,7	1,9	5,8	2,9	3,9	2,3
Průměrná hodnota $S_z$ [nm]	451,7	510,9	472,4	630,7	2110,0	1467,2	1978,2
Směrodatná odchylka $S_z$	13,7	20,9	14,8	12,3	8,5	12,9	277,8

Z výsledku je zřejmé, že největší průměrnou drsnost povrchu ( $S_a$ ) měla vrstva ZrCu 225 ( $130 \pm 3$  nm). Naopak mezi nejhladší vrstvy patřila vrstva DLC a ta-C, které měli drsnost kolem  $65 \pm 2$  nm. Drsnost povrchu je dána zejména procesem nanášení.

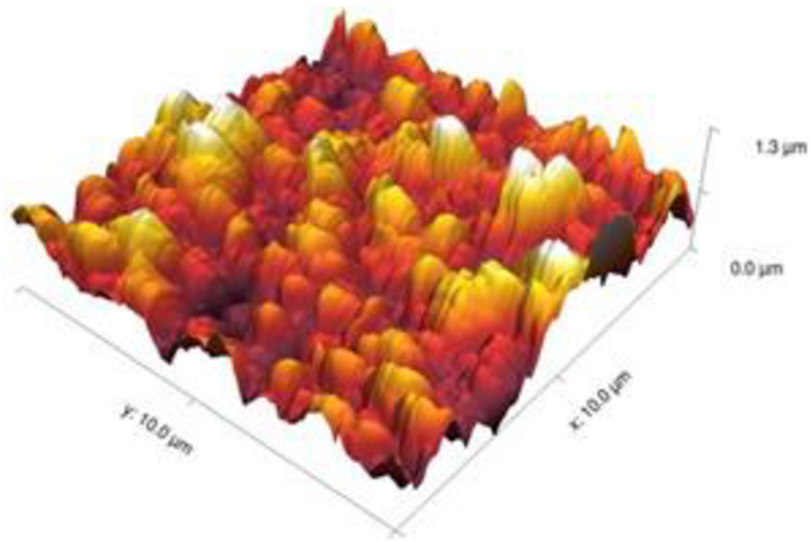
Druhou metodou měření drsnosti povrchu je měření na AFM, neboli mikroskopu atomárních sil. AFM, který mají v Laboratoři mikroskopie, je od dodavatele JPK instrument. Skládá se z kamery, zdroje světla, hrotu s cantilevrem. Nežli jsme na něm začali pracovat, bylo ho třeba zkalibrovat. Následné nastavování parametrů skenu probíhalo přes software JPK NanoWizard Control. Tam se kromě vymezení a velikosti skenovací plochy, nastavoval také mód skenu a jeho frekvence. My jsme pracovali v kontaktním módu se skenovací frekvencí 0,4 Hz. Plochu skenu měla rozměry  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  s rozlišením  $512 \times 512$  pixelů, přičemž jsme ji snímali třikrát vždy v jiném místě vzorku. Úprava získaných obrazů pak probíhala v programu Gwyddion. Ten nám dovolil převod do 3D obrazu (obrázek 18), nastavení nulové hladiny, změnu kontrastu a uložení výsledných hodnot drsnosti.

Tab. 3 Drsnost povrchu tenkých vrstev - AFM

Typ vrstvy	AISI 316L	DLC 20415-133	ta-C 20415-132	TiCuN 20415-0240	ZrCu 20415-0225	ZrCu 20415-0228	ZrCu 20415-0229
Průměr $R_a$ [nm]	3,0	21,6	15,7	160,8	157,8	228,9	180,5
Směrodatná odchylka $R_a$	1,1	1,4	4,6	12,6	33,3	118,7	11,2



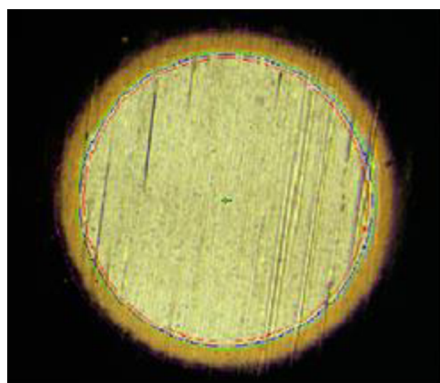
V tabulce 3 jsou zobrazeny výsledky měření drsnosti z mikroskopu atomárních sil. Detailní data nalezneme v příloze B. Hodnoty  $Ra$  jsou průměrnou hodnotou drsnosti (obdobně, jako hodnoty  $Sa$  u konfokálního mikroskopu). Můžeme vidět, že se tyto hodnoty relativně liší. Zejména u austenitické oceli je hodnota na konfokálním mikroskopu 20× vyšší než u mikroskopu atomárních sil. Je však třeba myslet na to, že u AFM měříme z mnohem menší plochy, než u konfokálního mikroskopu.



Obr. 18 – Mikroskop atomárních sil – TiCuN 3D

### 3.2.3.3 Tloušťka tenké vrstvy

Tloušťka vrstvy byla hodnocena pomocí metody zvané kalotest. Vzorek s tenkou vrstvou jsme pevně zafixovali do těla přístroje, zatímco kovová kulička s diamantovou pastou (se zrnky diamantu o velikosti 1,5 μm) byla pouze volně položena tak, aby se dotýkala našeho vzorku. Pomocí rotujícího pohybu byl do tenké vrstvy vybroušen kulový vrchlík, který byl následně vyhodnocován pomocí optického mikroskopu Carl Zeiss Axio Imager a jeho softwaru. V něm se hodnotí parametry vnějšího a vnitřního mezikruží a následně je tloušťka vrstvy dopočítávána.



Obr. 19 Měření tloušťky vrstvy – kalotest a Obr. 20 Vyhodnocení tloušťky vrstvy ZrCu

Tab. 4 Tloušťka tenkých vrstev

Vrstva	Tloušťka vrstvy [ $\mu\text{m}$ ]
DLC 20415-139	2,54
ta-C 20415-132	1,22
TiCuN 20415-0240	1,41 – SHM Šumperk
ZrCu 20415-0225	2,39 – SHM Šumperk
ZrCu 20415-0228	3,15 – SHM Šumperk
ZrCu 20415-0229	3,64 – SHM Šumperk

Vybroušení kulové vrchlíku u vrstev DLC a ta-C nebyl v celku žádný problém, proto i zhodnocení tloušťky těchto vrstev bylo relativně snadné. U skupiny vrstev ZrCu to bylo již obtížnější. Vrstvy nebylo možné téměř nijak narušit. Nakonec se nám to povedlo pouze u vrstvy ZrCu 225, kde jsme naměřili tloušťku 4,85  $\mu\text{m}$ . Ta ale nebyla shodná s tloušťkou, která byla naměřena firmou SHM Šumperk, což může být dané metodou měření a subjektivitou během něj. Hodnoty tloušťky tenkých vrstev se pohybují v rozmezí 1,22 – 4,85  $\mu\text{m}$  (SHM Šumperk 1,41 – 3,64  $\mu\text{m}$ ).

### 3.2.3.4 Rentgenová difrakce

Měření rentgenové difrakce bylo provedeno na univerzitě Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem (UJEP), v rámci projektu Výzkumné infrastruktury NanoEnviCz,

podporovanou Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, č. LM2018124., za což velice děkujeme panu Ing. Petru Ryšánkovi, Ph.D.

Rentgenová analýza nám stanovuje strukturní charakteristiky tenkých vrstev a případně také rozmístění částic v krystalové mřížce. Měření bylo prováděno na rentgenovém difraktometru PANalytic X'Pert. Pro analýzu tenkých vrstev bylo použito záření  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1,54051 \cdot 10^{-10}$  m) s pozičně citlivým 1D detektor X'Celerator. Pro tenké vrstvy je obvykle dán fixní nízký úhel dopadu rentgenového záření. V tomto případě byl úhel dopadu záření  $\omega = 0,5^\circ$ . Pro zvýšení intenzity difraktovaného svazku bylo do dopadajícího svazu instalováno Goebelovo zrcadlo, které vytváří paralelní svazek záření. Difraktogram byl snímán v úhlové oblasti  $2\theta$  20-80°. Difrakční analýza byla zaměřena na fázové složení, krystalinitu a preferovanou orientaci tenkých vrstev. Fázové složení bylo zkoumáno pomocí programu Highscore.

Difraktogram vrstvy DLC nám zobrazuje, že difrakční maxima jsou velice rozšířená a mají relativně nízkou intenzitu. To může být pravděpodobně důsledek malé velikosti primárních krystalů či pnutí, které vzniklo uvnitř vzorku. Jedinou rozpoznatelnou krystalickou fází byl uhlík s texturou ve směru roviny.

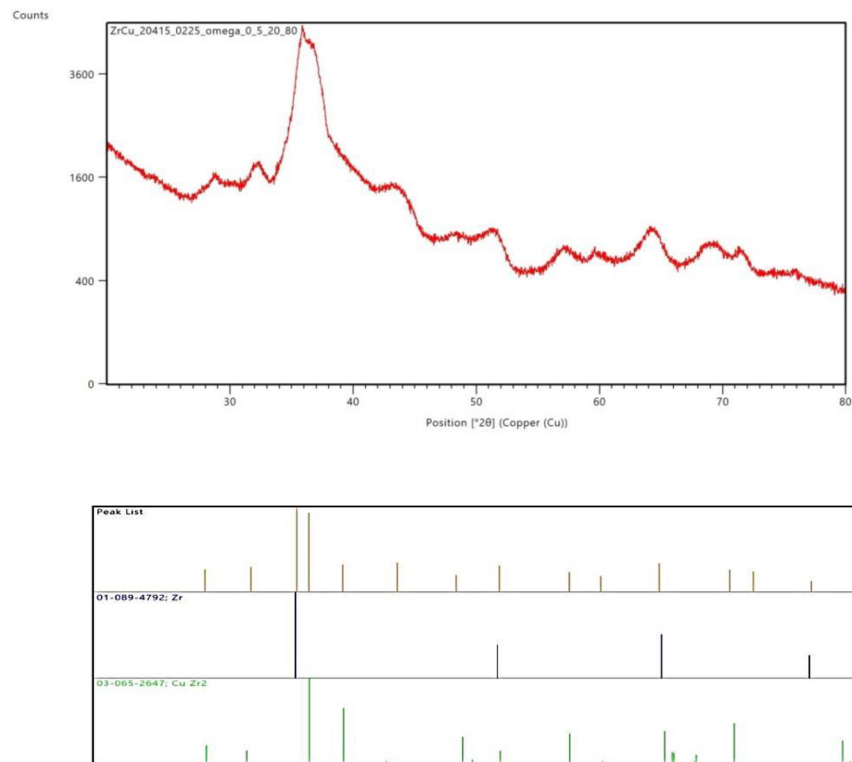
Stejný difrakční záznam jsme zaznamenali také u vrstvy ta-C. Rovněž byla rozpoznána pouze jedna krystalická fáze, kterou je uhlík.

Rozšířená difrakční maxima měla i vrstva TiCuN. To je dáno velice malou velikostí primárních krystalů. V této vrstvě jsme zaznamenali dvě krystalické fáze a to měď a TiN, který měl texturu ve směru rovin.

Velmi malou velikost krystalů měly také vrstvy typu kovového skla ZrCu 020415-225 a ZrCu 20415-0229. Obě vrstvy měly difrakční maxima výrazně rozšířená a byly zaznamenány dvě krystalické fáze, a to zirkon a  $\text{CuZr}_2$ . Spojité a čárové spektrum vrstvy ZrCu 20415-0225 je zobrazené na obrázku 21 a 22.

Rozdíl byl u poslední vrstvy ZrCu 0228. Difrakční maxima měla nízkou intenzitu i rozšíření jako u předchozích vrstev, ale byly identifikované jiné krystalické fáze. Těmi jsou  $\text{Cu}_8\text{Zr}_3$  a  $\text{ZrCu}_2$ . Fáze  $\text{Cu}_8\text{Zr}_3$  má velmi malou velikost krystalitů a maxima této fáze nejsou téměř rozlišena.

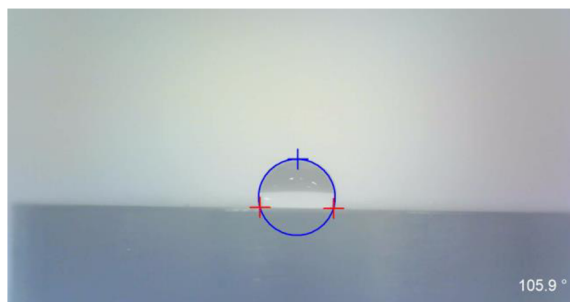




Obr. 21 a Obr. 22 Difraktogram tenké vrstvy ZrCu 20415-0225

### 3.2.3.5 Měření smáčivosti (kontaktního úhlu)

Ve výzkumné části diplomové práce jsme se mimo jiné věnovali také měření kontaktního úhlu a výpočtu povrchové energie. K hodnocení kontaktního úhlu jsme použili přístroj *See Scan*. Na povrch jsme nanесли kapku destilované vody o objemu 3  $\mu\text{l}$ . Kontaktní úhel smáčení mezi vodou a povrchem je snímán pomocí kamery a přenášen do počítače, kde je úhel analyzován a zpracováván.

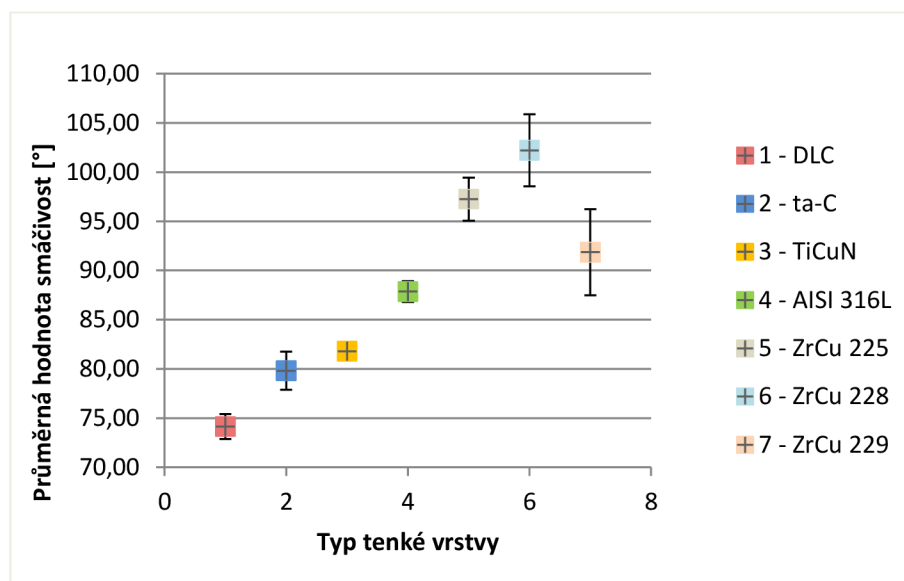


Obr. 23 Smáčivost vrstvy ZrCu 228

Tab. 5 Výsledky měření kontaktního úhlu kapky destilované vody (3  $\mu$ l)  
s povrchy

Typ vrstvy	AISI 316L	DLC 20415-133	ta-C 20415-132	TiCuN 20415-0240	ZrCu 20415-0225	ZrCu 20415-0228	ZrCu 20415-0229
Průměr [°]	87,85	74,14	79,81	81,80	97,26	102,22	91,86
Směrodatná odchylka	1,06	1,26	1,94	0,62	2,20	3,66	4,37

Kapka destilované vody je nanášena celkem 5 $\times$  na různých místech povrchu a výsledky následně průměrujeme. Všechny tři vrstvy ZrCu mají průměrný kontaktní úhel větší než 90°. Proto lze tyto vrstvy považovat za hydrofobní. Vrstva TiCuN a uhlíkaté vrstvy DLC a ta-C mají úhel menší než je mezní úhel 90°, proto tyto povrchy, spolu se základním substrátem, považujeme za hydrofilní. Pro lepší přehled jsem hodnoty kontaktních úhlů zapsala do grafu 1. Všechna data z měření nalezneme v příloze C.



Graf 1: Měření kontaktních úhlů s kapkou destilované vody o objemu 3  $\mu$ l

### 3.2.3.6 Nanotvrдость tenkých vrstev

Měření nanotvrđosti tenkých vrstev probíhalo za použití přístroje značky CSM. Tento přístroj používá indentor typu Berkovitch, který je schopen zatížit tenké vrstvy

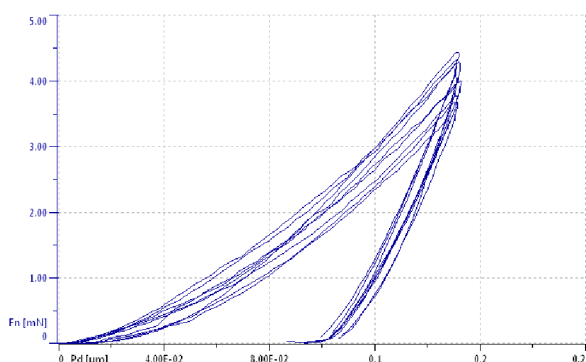
v rozsahu od 1 do 500 mN. Rovněž obsahuje i mikromodul, který umožňuje měření pomocí indentoru typu Vickers v rozsahu do 10 N.

Před začátkem měření bylo třeba stanovit hloubku vtisku. Ta musela být nastavena v souvislosti s předpokládanou tloušťkou vrstvy tak, abychom se během měření nedostali na základní materiál. Pro měření se obvykle volí hloubka do 10% tloušťky vrstvy. Na každém vzorku jsme provedli 10 měření. Výsledkem byly hodnoty vtiskové tvrdosti, tvrdosti podle Vickerse a hodnoty vtiskového a redukovaného modulu pružnosti. Tyto hodnoty byly následně statisticky zpracovány. V tabulce číslo 6 a 7 jsou uvedeny hodnoty měření nanotvrdosti.

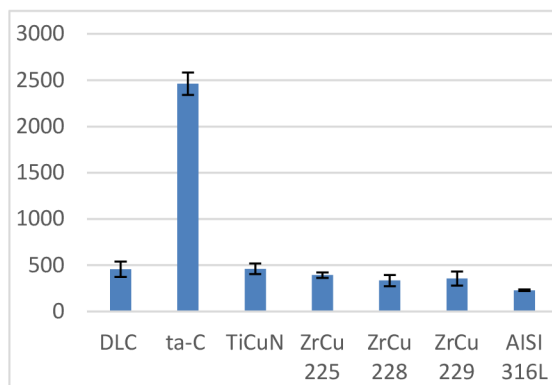
Tab. 6 a Tab. 7 Přehled naměřených hodnot nanotvrdosti

Typ tenké vrstvy	DLC	ta-C	TiCuN
Vtisková tvrdost $H_{IT}$ [MPa]	4613,4 ± 688,4	26581,4 ± 1293,3	4924,3 ± 454,7
Tvrdost podle Vickerse $HV_{IT}$ [VH]	456,3 ± 81,9	2461,7 ± 119,8	460,8 ± 56,9
Vtiskový modul pružnosti $E_{IT}$ [GPa]	52,3 ± 4,4	267,7 ± 7,6	196,0 ± 19,7
Redukovaný modul pružnosti $E^*$ [GPa]	55,8 ± 8,0	287,4 ± 11,1	232,7 ± 28,6

Typ tenké vrstvy	ZrCu 225	ZrCu 228	ZrCu 229
Vtisková tvrdost $H_{IT}$ [MPa]	4356,1 ± 313,8	3236,4 ± 64,3	3955,9 ± 926,7
Tvrdost podle Vickerse $HV_{IT}$ [VH]	393,5 ± 30,2	334,3 ± 59,5	356,4 ± 77,7
Vtiskový modul pružnosti $E_{IT}$ [GPa]	96,6 ± 7,6	126,0 ± 13,4	121,7 ± 22,6
Redukovaný modul pružnosti $E^*$ [GPa]	104,4 ± 6,3	131,9 ± 14,8	109,3 ± 25,8



Graf 2: Zatížení tenké vrstvy ZrCu 228



Graf 3: Přehled výsledných hodnot (nanotvrdost podle Vickerse)

Pro lepší přehled výsledných hodnot jsme je zpracovali do grafu 3. Už na první pohled si všimneme relativně vysokých hodnot odchylek. Svými výslednými hodnotami

se od ostatních zcela odlišuje vrstva ta-C, jejíž hodnota nanovrdosti podle Vickerse je více než 2000 VH. Zbytek vrstev dosahuje hodnot v rozmezí od 300 do 500 VH.

### 3.2.3.7 Scratch test

Scratch test je vrypová zkouška, která slouží ke stanovení adheze vrstev k substrátu. K této zkoušce jsme použili přístroj značky *BRUKER*, který je schopen zatížit povrch v rozsahu od 5 mN do 220 N. Míra zatížení musela nastavena individuálně pro každý vzorek (v rozsahu od 60 – 120 N).

Tab. 8 – 13: Adheze tenkých vrstev při narůstajícím zatížení 2–80 N.

DLC		
	$L_{c1}$ [N]	$L_{c3}$ [N]
1	15,5	50,2
2	9,7	35,9
3	12,0	46,3
4	11,8	57,9
Průměr	12,3	47,6
Směrodatná odchylka	2,4	9,2

ta-C		
	$L_{c1}$ [N]	$L_{c3}$ [N]
1	14,6	39,3
2	15,7	40,7
3	10,0	42,4
4	13,1	49,7
Průměr	13,4	43,0
Směrodatná odchylka	2,5	4,6

TiCuN		
	$L_{c1}$ [N]	$L_{c3}$ [N]
1	14,2	43,9
2	11,9	51,3
3	15,4	48,4
Průměr	13,8	47,9
Směrodatná odchylka	1,8	3,7

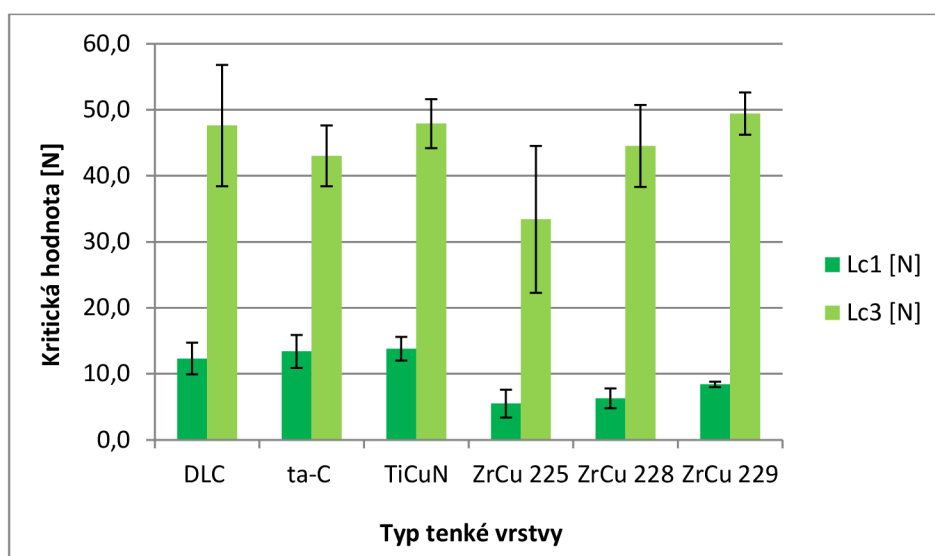
ZrCu 225		
	$L_{c1}$ [N]	$L_{c3}$ [N]
1	7,7	23,0
2	5,2	45,1
3	3,5	32,2
Průměr	5,5	33,4
Směrodatná odchylka	2,1	11,1

ZrCu 228		
	$L_{c1}$ [N]	$L_{c3}$ [N]
1	5,7	35,6
2	7,2	49,8
3	7,8	46,8
4	4,6	45,6
Průměr	6,3	44,5
Směrodatná odchylka	1,5	6,2

ZrCu 229		
	$L_{c1}$ [N]	$L_{c3}$ [N]
1	8,1	51,6
2	8,6	47,1
Průměr	8,4	49,4
Směrodatná odchylka	0,4	3,2

Pro porovnání výsledků vrstev jsme vybrali kontinuální zatížení 2 až 80 N. Pro vyhodnocení vrypu jsme použili optický mikroskop, s jehož pomocí jsme vryp nafotili a následně analyzovali míry kritického zatížení. Ve vrypu jsme vždy

zaznamenávali 2 kritické hodnoty –  $L_{c1}$  a  $L_{c3}$ . Hodnota  $L_{c1}$  odpovídá prvnímu narušení povrchu tenké vrstvy. Hodnotu  $L_{c3}$  jsme označili v místě, kde se indentor už začal dotýkat substrátu. Hodnota  $L_{c2}$  by odpovídala místu ve vrypu, ve kterém by bylo 50 % vrstvy a 50 % substrátu. Mimo toho byl výsledkem této zkoušky záznam průběhu normálové síly, akustické emise a koeficientu tření. V sadě tabulek číslo 8–13 můžeme vidět hodnoty kritických zatížení všech vrstev. Pro lepší přehled jsme tyto tabulky zpracovali do grafu 4.



Graf 4: Kritické hodnoty tenkých vrstev -  $L_{c1}$  a  $L_{c3}$

Z grafu je patrné, že první tři vrstvy mají lepší adhezi než skupina vrstvy amorfního skla ZrCu. Jejich povrchy se začaly narušovat již při zatížení okolo 5 N. U ostatních vrstev tomu bylo až při zatížení vyšším než 12 N. Vyjma vrstvy ZrCu 225 jsme třetích kritický hodnoty dosáhli až při zatížením vyšším než 40 N, u vrstev DLC, TiCuN a ZrCu 229 dokonce až 45 N. Nejlepší adhezivní scratch test prokázal u vrstvy TiCuN. Nejhorší pak u vrstvy ZrCu 225. Je však třeba připomenout, že při vyhodnocení scratch testu záleží na individuálním pohledu na naměřená data.

### 3.2.3.8 Tribologie tenkých vrstev

Měření třecích vlastností a opotřebení probíhalo v Laboratoři tribologie. K tomu jsme použili Tribometr pro suché a kapalně prostředí od firmy *Anton Paar*. Přístroj umožňuje měření dle norem ASTM G99 (ASTM G99-95), ASTM G133 a DIN 50324.

Obsahuje několik režimů měření, jako například *Pin-on-Disc*, *Ball-on-Disc* nebo *Lineární vratný tribologický test*. Tribometr je složen z rotačního modulu s rozsahem otáček od 0,1 do 500 ot/min (volitelný až 1500 ot/min) s maximálním točivým moment 450 N.mm. Dále je možné nastavit velikost normálová síla  $F_N$  (velikost zatížení) v rozsahu od 0,5 do 60 N. Mimo jiné tribometr obsahuje komoru pro teplotní testy s mazivy s ohřevem kapaliny do 100 °C a komoru pro měření v rozsahu -100 ÷ +450°C.

Pro náš experiment jsme si zvolili metodu *Ball-on-Disc*. Vzorek byl v tomto případě pevně zafixován do rotujícího disku a byl zatěžován pevně uchycenou keramickou kuličkou. Pro tribologickou zkoušku jsme nastavovali ujetou dráhu, nikoli čas experimentu (doba otáčení). Zatížení jsme zvolili na hodnotu 10 N. U skupiny vrstev ZrCu bylo toto zatížení příliš velké. Téměř okamžitě docházelo k destrukci tenké vrstvy. Proto jsme následně snížili velikost zatížení na hodnotu 3 N. V tabulce 14 jsou shrnuty použité parametry tribologického experimentu. Po ukončení tribologické zkoušky jsme ještě oba povrchy (vzorek i kuličku) vyhodnotili pomocí konfokálního mikroskopu.

Tab. 14: Parametry tribologického experimentu

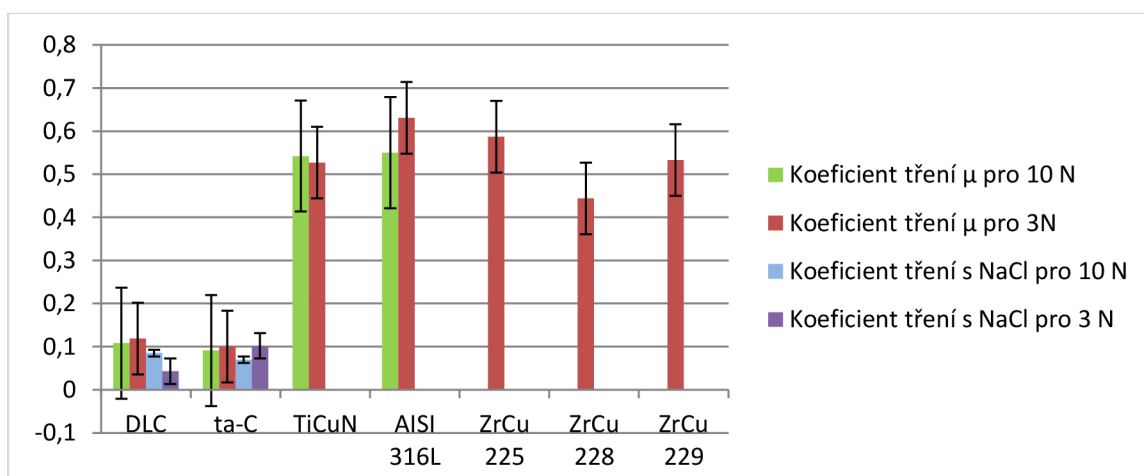
Materiál kuličky	keramika Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Materiál disku	DLC, ta-C, TicuN, Zrcu 225, ZrCu 228, ZrCu 229
Zatížení	3 a 10 N
Průměr kuličky	6,00 mm
Rychlost otáčení	60 ot/min
Ujetá dráha	při 3N (100 m), při 10N (150 m)
Teplota vzduchu	22,6 °C
Vlhkost vzduchu	41 ± 2 %

Tab. 15 – 16: Střední hodnoty koeficientu tření tenkých vrstev

Zatížení 10 N						
Typ tenké vrstvy	DLC bez NaCl	DLC s NaCl	ta-C bez NaCl	ta-C s NaCl	TiCuN	AISI 316L
Koeficient tření $\mu$	0,108	0,085	0,091	0,070	0,542	0,550
Směrodatná odchylka $\mu$	0,021	0,004	0,007	0,011	0,185	0,060

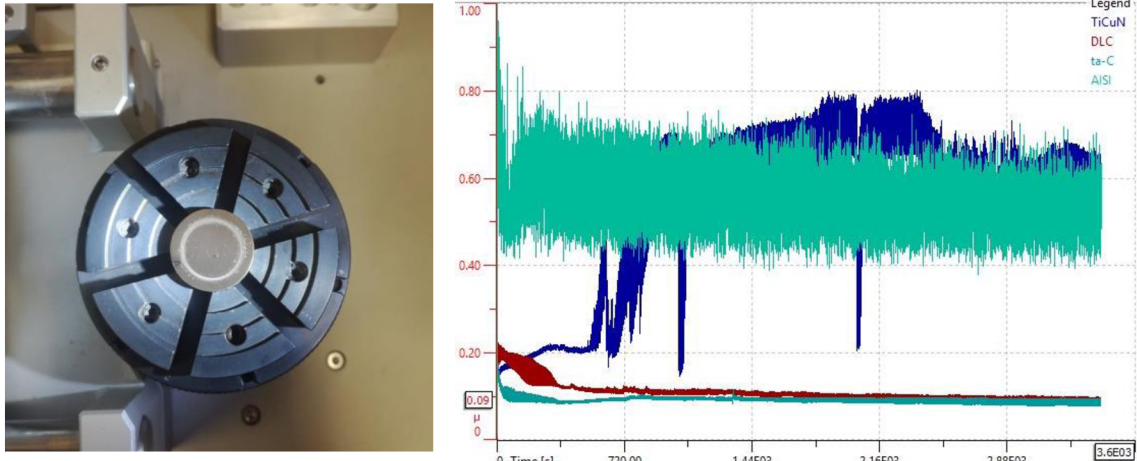
Zatížení 3 N						
Typ tenké vrstvy	DLC bez NaCl	DLC s NaCl	ta-C bez NaCl	ta-C s NaCl	TiCuN	AISI 316L
Koeficient tření $\mu$	0,119	0,043	0,100	0,102	0,527	0,631
Směrodatná odchylka $\mu$	0,018	0,003	0,011	0,027	0,277	0,089

Zatížení 3 N			
Typ tenké vrstvy	ZrCu 225	ZrCu 228	ZrCu 229
Koeficient tření $\mu$	0,587	0,444	0,533
Směrodatná odchylka $\mu$	0,111	0,076	0,094



Graf 5: Hodnoty koeficientu tření tenkých vrstev

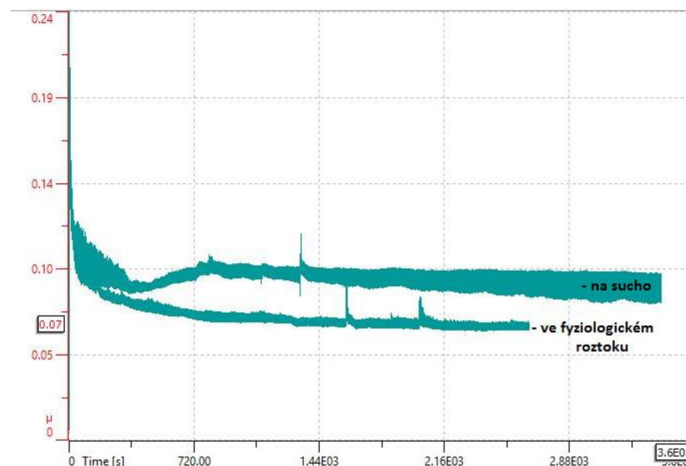
V tabulkách 15–16 jsou zpracovány hodnoty měření. Pro lepší přehled jsme dané hodnoty zpracovali také do grafu 5. Nejlepší třecí vlastnosti na suchu projevila vrstva ta-C. Jak při 3 N, tak i při 10 N nepřesáhla hodnotu koeficientu tření 0,1. Nízký koeficient tření má také druhá uhlíkatá vrstva DLC. Největší koeficient tření, když opomeneme základní materiál, měla vrstva TiCuN (10 N). Jak jsem již zmínila, skupinu vrstev ZrCu nebylo možné měřit při zatížení 10 N. Povrch vrstvy začal okamžitě praskat a hrnout se. Směrodatné hodnoty jsme naměřili až při zatížení 3 N. Hodnoty koeficientu tření této skupiny vrstev se pohybovali v rozmezí 0,4 ÷ 0,6. Na obrázku 24 vidíme kruhovou dráhu na vzorku DLC po provedení metody ball-on-disk. Na Grafu 6 jsou znázorněny průběhy koeficientu tření v čase pro vrstvy DLC, ta-C, TiCuN a AISI 316 L při zatížení 10 N.



Obr. 24: Vzhled vzorku po provedení metody ball-on-disk

Graf 6: Závislost koeficientu tření vrstev na čase při zatížení 10 N

Protože pro vrstvy DLC a ta-C vyšly velice hezké hodnoty při měření na sucho, rozhodli jsme se ještě provést tribologické měření těchto vrstev ve fyziologickém roztoku (0,9 % chlorid sodný od značky Braun). Pro vrstvu DLC se při měření ve fyziologickém roztoku se zatížením 10 N výrazně snížil koeficient tření. Pro zatížení 3 N se pokles koeficientu tření mezi tenkou vrstvou a keramickou kuličkou snížil o více než polovinu na hodnotu 0,04. Pokles tření při měření ve fyziologickém roztoku jsme zaznamenali i u vrstvy ta-C, ale pouze při zatížení 10 N. Na grafu 7 můžeme vidět rozdíl průběhu koeficientu tření pro vrstvu ta-C měřenou na sucho a ve fyziologickém roztoku při zatížení 10 N.



Graf 7: Závislost koeficientu tření na čase pro vrstvu ta-C (na sucho a ve fyziologickém roztoku)



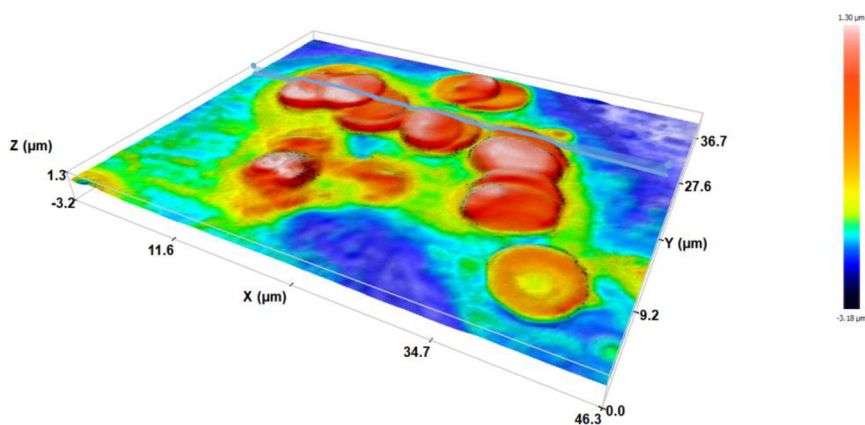
### 3.2.3.9 Krevní testy

Jedním z testů, který by šel zařadit do biologických experimentů, byla interakce povrchu tenkých vrstev s lidskou krví. Hlavním cílem zjistit, zdali povrchy vzorků nějakým způsobem naruší tvary a celistvost krevních elementů, zejména erytrocytů.



Obr. 25 Odběr krve z prstu

Jak už bylo řečeno, jako médium byla použita lidská krev, kterou jsme odebrali z mého prstu (který byl předtím dezinfikován) pomocí sterilní jednorázové lancety. Kapka krve, o velikosti přibližně okolo 1  $\mu\text{l}$ , byla rozetřena po povrchu vzorku tak, aby vytvořila co nejslabší film. Pokud by byla vrstva krve moc silná, ztěžovalo by to hodnocení, protože by červené krvinky nebyly dobře rozlišitelné. Krev jsme nechali na povrchu vzorku volně zaschnout. Následně jsme vzorek hodnotili pomocí konfokálního mikroskopu. Na obrázku 26 můžeme vidět 3D zobrazení erytrocytů, v tomto případě interagující s uhlíkatou vrstvou DLC, o které je známo, že je velice biokompatibilní.



Obr. 26 Interakce erytrocytů s vrstvou DLC

Při hodnocení interakcí krve s tenkými vrstvami jsme se zaměřovali na to, zdali si krvinky zachovaly celistvost, svůj bikonkávní tvar a v neposlední řadě jsme měřili jejich velikost. Obrázky všech interakcí tenkých vrstev s erytrocyty nalezneme v příloze D. U vrstev DLC a ta-C téměř nedošlo k poškození erytrocytů. Také si zachovaly celistvost, a s tím související průměr okolo 7,5  $\mu\text{m}$ . U vrstvy TiCuN lze jednotlivé krvinky také rozlišit, ale už lehce zvětšují svůj průměr na 8–10  $\mu\text{m}$  a nelze rozpoznat bikonkávní tvar buňky. Erytrocyty na povrchu vrstev ZrCu byly zcela poškozené. Není však jasné, zadali je to způsobenou „pouze“ nerovností povrchu (povrchy jsou nerovné, obsahují výstupky a díry), kdy by bylo smykové tření mezi krvinkou a povrchem tak velké, že by došlo k roztržení krvinky či je to způsobené jinými vlivy (chemické reakce, povrchové napětí aj.).

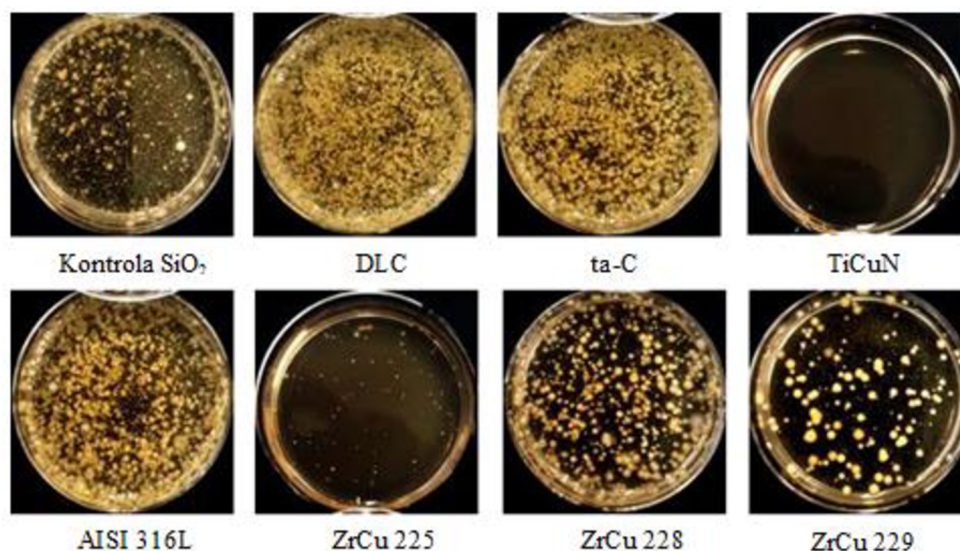
Po odborných konzultacích jsme došli k závěru, že by za zničením krvinek mohlo stát několik různých faktorů. Jedním z nich je chemické složení vrstvy. Erytrocyt je složen z 60 % z vody a ze 40 % ze sušiny, z čehož je 95 % hemoglobin bohatý na železo. Jednou z možností je tedy chemická reakce mezi železem a prvky zirkonu či mědi obsažené ve vrstvě. Druhá více pravděpodobná teorie je založena na nábojovém působení na membránu buňky. Pozitivně nabitě nanočástice mohou vyvolat strukturální změny v lipidové dvojvrstvě červené krvinky. To může vést ke změně mikroviskozity membrány. Pokud se mikroviskozita zvýší, může dojít k popraskání erytrocytů. Aby se tato teorie potvrdila, bylo by vhodné provést měření na jinak polárním povrchu.

### **3.2.3.10 Biologické experimenty**

Pro biologický experiment jsme si zvolili metodu stěrů (dle ČSN 11737-1 – Sterilizace výrobků pro zdravotní péči, Mikrobiologické metody). V první řadě bylo třeba vytvořit bakteriální populace. Ty jsme získali otiskem prstů naší ruky na krevní agar a nechali jsme je při teplotě 37 °C a po dobu 48 hodin kultivovat. Po uplynutí doby jsme z povrchu krevního agaru vybrali 2 populace, které jsme při těchto testech používali.

Před zahájením pokusu bylo třeba povrch vzorku zbavit nečistot. K tomu jsme použili etanol. Očištěný vzorek jsme nechali volně osušit. Mezitím jsme si vytvořili bakteriální inokulum o koncentraci  $2,4 \times 10^9$ – $2,7 \times 10^9$  KTJ/ml. Do něj jsme po dobu 5 sekund ponořili sterilní tyčinku a následně jsme s ní potírali vzorek po dobu

30 sekund. Bakteriální médium jsme nechali na vzorku působit po dobu 10 minut za přesně definovaných podmínek (teploty 37 °C a relativní vlhkosti nejméně 90%). Následně jsme vzorek otřeli novou sterilní tyčinkou, kterou jsme tentokrát předtím ponořili do fyziologického roztoku pro účinnější odstranění bakterií. Povrch jsme stírali po dobu 30 sekund. Poté byla tato tyčinka vložena do nové zkumavky s fyziologickým roztokem, ve které následovalo vytřepání bakterií. V první řadě byl vzorek po dobu 10 minut a teplotě 37 °C třepán s rychlostí 230 ot/min. Následně byla zkumavka po dobu 5 minut ultrazvukována, a poté ještě minutu vortexována při teplotě 25 °C. Po vytřepání bakterií do kapaliny jsme přenesli 1 ml na agarovou živnou půdu, kde jsme následně hodnotili hodnocení životaschopných bakterií. Měření bylo prováděno v triplikátu. Získané výsledky jsme zdokumentovali (Obr. 27), abychom mohli provést hodnocení bakteriálních kolonií přítomných v agaru.



Obr. 27: Výsledky Petriho misek

K hodnocení počtu kolonií (plochy kolonií) byl využit automatizovaný programový kód v prostředí Matlab, který vytvořila paní doktorka Lucie Svobodová. Při nahrání fotografií do Matlabu jsou předzpracovány tak, že pozadí je přiřazena černá barva a bakteriální kolonie se zobrazí do barvy bílé/žluté/béžové. Následuje obrazová analýza. V každém obraze byl hodnocen počet a plocha KTJ, přičemž nám byly výsledkem tyto parametry, pro které jsme provedli základní statistické vyhodnocení (průměr, odchylka):

- Celkový počet kolonií (jako parametr „počet detekovaných KTJ“).
- Suma vypočítaných kolonií (jako parametr „počet vypočtených KTJ“).

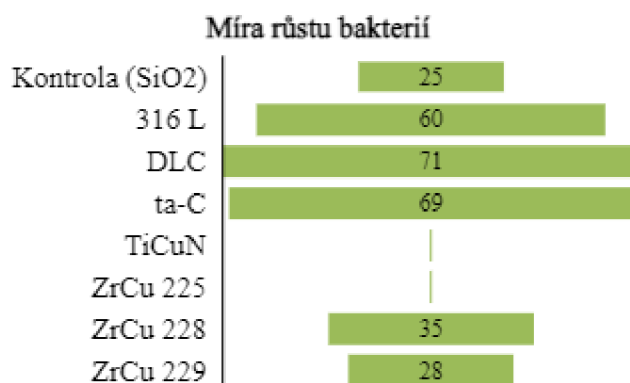
- Plocha, kterou zaujímají KTJ v Petriho misce (jeli hodnota 100 % = plně porostlé Petriho miska, v případě, že bude výsledek 0 % = prázdná Petriho misky (tzn. počet KTJ = 0).

Tab. 17: Metoda stěrem (dle Norem ČSN 75 7841 a ČSN 11737-1)

20210609	Označení	Nr. detected obj.CFU [n]	Nr. counted obj.CFU [n]	% in the imageCFU [%]
09.06.2021	Kontrola (SiO2)	558	587	25
	316 L	914	1057	60
	DLC	1211	1532	71
	ta-C	1062	1221	69
	TiCuN	4	4	0
	ZrCu 225	37	37	0
	ZrCu 228	768	815	35
	ZrCu 229	699	730	28

Pro lepší přehled jsme výsledky z tabulky 17 zpracovali do grafu číslo 8.

Graf 8: Míra růstu bakterií po metodě stěrem



Ze získaných výsledků můžeme říci, že i když jsou uhlíkaté vrstvy DLC a ta-C biokompatibilní pro lidské tělo (jeho buňky), jsou rovněž příznivé pro bakterie. Tyto vrstvy vykazují velice nízkou odolnost vůči bakteriím. Opakem jsou vrstvy TiCuN a jedna z vrstev ZrCu ze skupiny amorfního skla. Je obecně známo, že vrstvy na bázi titanu často vykazují antibakteriální účinky, proto jsou často používané v medicíně při výrobě implantátů. U vrstvy ZrCu 225 pozorujeme, že se na ni také bakterie téměř netvořily. Předpokládáme úzkou souvislost s výsledky krevních testů, kde byla vrstva ZrCu 225 jediná z vrstev, která zcela narušila elistvost tvaru červených krvinek. Výsledky u skupiny vrstev ZrCu by mohly být dány rovněž poměrem Zr a Cu, kde u vzorku ZrCu 225 je procentuální rozdíl mezi těmito prvky nejmenší, zatímco u vrstvy ZrCu 228 největší. Roli by v tom mohl hrát i poměr kyslíku ve vrstvě.

## 4. Diskuze

V této diplomové práci jsme pracovali s šesti tenkými povlaky nanesenými na austenitickou ocel AISI 316L. Těmito vrstvami byly uhlíkaté vrstvy DLC a ta-C, vrstva TiCuN a skupina vrstev ZrCu. Každá z těchto skupin vrstev se odlišovala specifickými vlastnostmi. Nyní se je pokusím porovnat se srovnatelnými experimenty z jiných prací a výzkumů.

**Chemické složení** – chemické složení vrstev DLC a ta-C se ve srovnání s jinými výzkumy nijak neliší. V těchto vrstvách vždy převažuje uhlík (98-100 %) bez ohledu na způsob procesu. Co však mohou parametry procesu ovlivnit, jsou výsledné vlastnosti. Kromě tloušťky vrstvy, se mohou lišit nanotvrdostí, mírou adheze či opotřebení. V článku [60] do vrstvy DLC během procesu přidali chrom, což zlepšilo jeho adhezivní a antibakteriální vlastnosti.

U vrstvy TiCuN jsme registrovali podobný obsah mědi a titanu okolo 30 %. Vrstva titan-měď nitrid není v literatuře tak často zmiňována, tzn. je málo zkoumána. Častěji se setkáme s vrstvou, kde je měď nahrazovaná uhlíkem. Vrstva titankarbonitrid je pro svou tvrdost a houževnatost často používaná ve strojírenském průmyslu.

Vrstvy ZrCu 225, ZrCu 228 a ZrCu 229, se liší poměrem mědi a zirkonu. Největší obsah mědi má vrstva ZrCu 228 (56,2 %), nejmenší naopak vrstva ZrCu 225 (31,6 %). U ní jsme navíc registrovali veliký poměr kyslíku (41,5 %), který je daný porézností vrstvy (po ukončení procesu povlakování je povrch vrstvy do určité hloubky nasycen kyslíkem).

**Drsnost povrchu** – v této diplomové práci jsme ve srovnání s jinými výzkumy naměřili relativně vysokou průměrnou aritmetickou výšku povrchu. V diplomové práci [61] se drsnost povrchu vrstvy DLC pohybuje v rozmezí od 0,8 do 1,3 nm, což je více než u nás (66,3 nm), přičemž základní materiál i parametry procesu byly téměř stejné. V diplomové práci [62] se jako důvod zvýšené drsnosti povrchu uhlíkaté vrstvy nanesenou na chirurgickou ocel AISI 316L uvažuje vliv procesu vylučování karbidů.

Vrstvu TiCuN bylo třeba po procesu nanášení očistit. Během něj se totiž vytvořili na povrchu píky, které zvýšily průměrnou aritmetickou výšku povrchu o necelých 30 nm. Po očištění jsme se dostali z průměrné hodnoty 111 nm na hodnotu 84 nm.

Při hodnocení morfologie vrstev ZrCu byla na elektronovém mikroskopu patrná velká zrna, která měla tendenci odpadávat. To způsobilo i relativně vysoké hodnoty drsnosti povrchu od 84 nm do 130 nm.

**Smáčivost povrchu** – při porovnávání měření kontaktního úhlu velice záleží na povrchové úpravě (zdali byl povrch leštěn pastami) a typu použitého média (voda, ethylenglycol). Podle výsledků úhlu můžeme pak tenké vrstvy rozdělit na hydrofobní a hydrofilní. Lékařské nástroje mají obecně nízkou smáčivost. To se nám potvrdilo i u vrstvy DLC, která je v medicíně často využívána. Spolu s vrstvou ta-C mají menší smáčivost než základní materiál (chirurgická ocel AISI 316L). Správnost výsledků se potvrdila i při srovnání se článkem [10], kde hodnota smáčivosti pro ta-C vyšla zcela totožně, a to 79°.

Smáčivost vrstvy TiCuN ovlivnily píky stejně, jako tomu bylo při měření drsnosti. Předtím než byla vrstva očištěna, zdála se jako hydrofobní s průměrným úhlem smáčivosti okolo 135°. Po očištění jsme získali hodnotu kontaktního úhlu 81°, čímž jsme zjistili, že je povrch hydrofilní.

Hydrofobní chování se projevilo u skupiny vrstev ZrCu. Tam se hodnoty kontaktního úhlu pohybovaly v rozmezí od 92° do 122°. Vzhledem k tomu, že jsou výsledky kontaktního úhlu dopočítávány programem, je omezena chyba měření daná člověkem.

**Nanotvrdost** - u uhlíkatých vrstev ta-C a DLC jsme zaznamenali veliký rozdíl mezi hodnotami tvrdosti. Obecně hodnota nanotvrdosti ta-C je několika násobně vyšší než u ostatních vrstev. Nízká hodnota nanotvrdosti DLC je ve článku [61] odůvodněna nerovnoměrným nanosením vrstvy. Při vyhodnocení tohoto měření je nutno přihlížet k velikým odchylkám.

**Scratch test** – u tohoto měření byly tenké vrstvy kontinuálně zatěžovány silou od 2 do 80 N. U prvních třech vrstev (DLC, ta-C a TiCuN) jsme naměřili první narušení vrstvy (první kritickou mez) okolo 13-14 N. Na substrát se indentor dostal při zatížení přibližně 45 N. Ve článku [10] se uvádí kritická hodnota  $L_{c1}$  okolo 20 N, zde se však lišil základní materiál (W.Nr. 1.7131 and W.Nr. 1.2379).

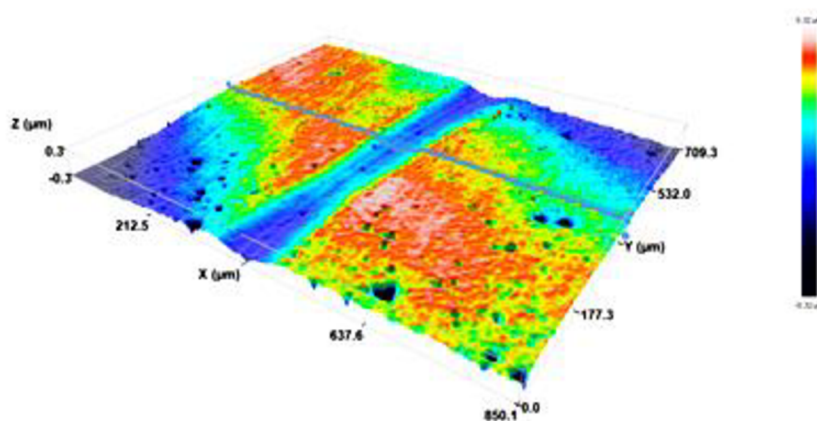


Skupina vrstev ZrCu vykazuje podstatně nižší adhezi vrstev k základnímu materiálu. Její hodnota se od 5 do 8 N. Kritickou hodnotu  $L_{c3}$  mají až na vrstvu ZrCu 225 (která je menší) obdobnou jako ostatní vrstvy.

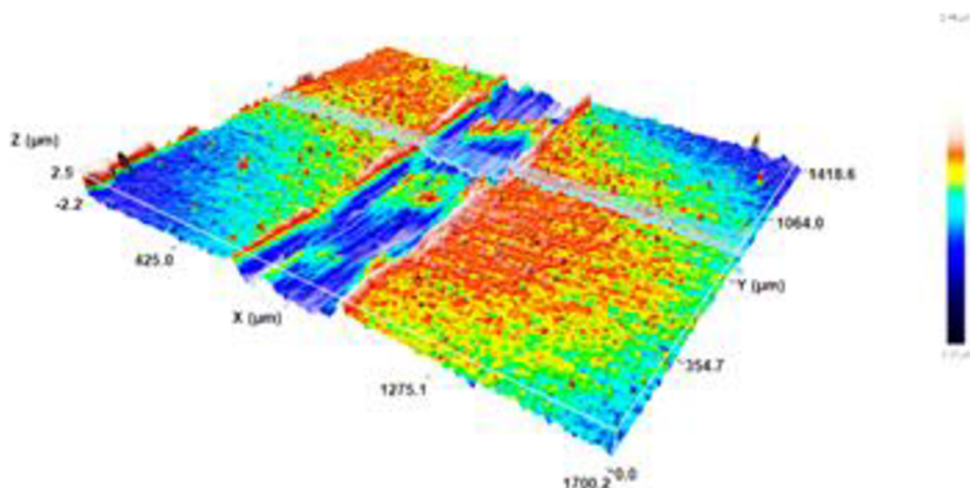
**Tribologie** – v této diplomové práci jsme se zabývali opotřebením vrstev jak na sucho, tak i v kapalném prostředí, konkrétně ve fyziologickém roztoku (to jsme však prováděli u vrstev s dobrým koeficientem tření na sucho – DLC, ta-C). O vrstvách DLC a ta-C bylo z literatury [10, 60] známé, že disponují velice dobrými kluznými vlastnostmi, což se nám i během měření potvrdilo. U DLC jsme naměřili hodnotu koeficientu tření  $0,11 \pm 0,02$ , u vrstvy ta-C ještě menší  $0,091 \pm 0,007$ . Měření v kapalném prostředí se hodnoty koeficientu tření ještě snížily. Při zhodnocení pomocí konfokálního mikroskopu jsme zjistili, že vrstva není nijak zásadně narušená a opotřebená. Keramická kulička se nedostala ani na základní materiál.

Vrstva TiCuN měla při ztížení 10 N naměřený stejný koeficient tření srovnatelný se základním materiálem  $0,55 \pm 0,06$ . Ten jsme porovnali s měřením ze článku [63], kde byla použita stejná kulička, přičemž koeficient tření vyšel  $0,64 \pm 0,02$ .

Vrstvy ZrCu dobré kluzné vlastnosti moc nemají. Vrstva se při vyšším zatížení nedala měřit, protože začala praskat a drobit se. Naměřili jsme ji pouze při zatížení 3 N. Koeficient tření se pohyboval v rozmezí 0,44–0,59.



Obr. 28 Hodnocení opotřebení tenké vrstvy DLC



Obr. 29 Hodnocení opotřebení tenké vrstvy ZrCu 225

Na obrázku 27 a 28 můžeme vidět porovnání opotřebení vrstvy DLC a ZrCu 225 po tribologii pomocí konfokálního mikroskopu. Hned na první pohled si všimneme rozdílné šířky opotřebení. U vrstvy DLC byla průměrná šířka opotřebené dráhy 120  $\mu\text{m}$ . U vrstvy ZrCu 225 můžeme vidět větší dráhu opotřebení s průměrnou šířkou 416  $\mu\text{m}$ . V průběhu měření se vrstva drolila a hrnula se před kuličkou. Její zbytky jsme pod konfokálním mikroskopem zaznamenali také.

**Krevní testy** – testem hemokompatibility jsme se nechali inspirovat v bakalářské práci vypracované na Technické univerzitě v Liberci z roku 2021 [64], s tím rozdílem, že se věnovala nitridy titanu, zirkonu a chrom-titan nitridu nanesenými na austenitickou ocel AISI 316L. Závěrem této práce bylo, že poškození krevních buněk bylo převážně mechanické o reliéf povrchu. V naší práci jsme vzali v úvahu nábojového působení na membránu a chemickému složení. Nicméně abychom byli schopni relevantních závěrů, bylo by třeba se této problematice věnovat více a doplnit o další testy.

**Biologické testy** – v této diplomové práci jsme pro prezentaci a popis metodiky zvolili metodu stěrem dle Normy ČSN 75 7841 a ČSN 11737-1. Pro porovnání byly na těchto vzorcích provedeny ještě biologické testy dle Normy (JIS Z2801:2000), které však nebyly natolik průkazné. Jejich výsledky jsou zobrazeny v tabulce 18.



Tab. 18. Výsledky biologických testů podle Normy (JIS Z2801:2000)

20210615	Označení	Nr. detected obj.CFU [n]	Nr. counted obj.CFU [n]	% in the imageCFU [%]
15.06.2021	Kontrola (SiO2)	231	290	45
	316 L	94	140	18
	DLC	121	150	15
	ta-C	254	291	27
	TiCuN	0	0	0
	ZrCu 225	2	2	0
	ZrCu 228	0	0	0
	ZrCu 229	0	0	0

Vrstvy DLC a ta-C jsou velice biokompatibilní, takže nemohou prokazovat dobré antibakteriální vlastnosti. Ve článku číslo [60] popisují přidání chromu do vrstvy DLC během procesu nanášení (kombinace pulzního laserového nanášení (PLD) a magnetonového rozprašování), díky čemuž se zlepšila nejen adheze vrstvy, ale i bakteriální vlastnosti povrchu (zkoumané pomocí bakterií *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*), což má pro použití v medicíně veliký význam.

Vrstva TiCuN prokázala velice dobré antibakteriální vlastnosti. Článek číslo [56] prokázal, že příměs mědi do vrstvy TiN, výrazně zlepšila antimikrobiální aktivitu pro *Staphylococcus aureus* i *E. coli*. Kromě antibakteriálních vlastností vykazuje tato vrstva také dobré antikorozi vlastnosti. Obecně slitiny titanu už mají v medicíně velké zastoupení. V časopise *iScience* vyšla studie [64], která se zabývala komplikacemi po implantaci ortopedických pomůcek. Ukázala, že titan a jeho slitiny mohou předcházet vzniku komplikací, zejména infekce kloubů. Pokud by se povedlo zlepšit kluzné vlastnosti, určitě to je jedna z možností pro použití v praxi.

Dobré antibakteriální vlastnosti jsou předností skupiny vrstev ZrCu. Nejvíce odolná vůči bakteriím je tenká vrstva ZrCu 225 (31,6 % Cu). Antibakteriální aktivita může být způsobena uvolňováním iontů Cu na povrchu. Obecně jsou tyto vrstvy známé právě svou odolností vůči korozi a výbornou plastickou deformací. Pokud se tyto vlastnosti dají dohromady s odolností vůči bakteriím, může to být velmi lákavé pro povlakové vrstvy lékařských přístrojů.

## 5. Návrh doporučení pro praxi

Tenkové vrstvy jsou v dnešní době nezbytnou součástí široké škály medicínských aplikací. Své uplatnění nacházejí nejen jako povlakové vrstvy implantabilních součástí, ale i pro chirurgické nástroje a zařízení. V této diplomové práci jsme se zabývali šesti tenkými vrstvami, přičemž některé z nich mají veliký potenciál pro použití v praxi, a to nejen v oblasti medicíny.

Vrstva DLC a ta-C vyniká svými kluznými vlastnostmi, odolností vůči opotřebení a biokompatibilitou. Už dnes se hojně využívá jako povlakový materiál pro tělní implantáty, zejména v ortopedii.

Vrstva TiCuN má velice dobré antibakteriální vlastnosti. Vhodné by bylo například použití jako ochranné povrchy medických přístrojů.

Skupina vrstev své uplatnění v praxi stále hledá. V čem vidím velikou nevýhodu těchto vrstev, je nízká odolnost vůči opotřebení. Na druhou stranu jejich antibakteriální vlastnosti jsou velice dobré. V praxi bych je určitě nedoporučovala pro aplikace, při kterých budou v kontaktu s tělem pacienta. Velice vhodné by byly pro drobné součástky medicínských přístrojů (kliky, přenosové úchyty aj.), u kterých se předpokládá nízká adheze bakterií, a nebudou nadměrně namáhány, což nebude vyvolávat větší opotřebení povrchu.

Nicméně před uvedením do praxe bych určitě navrhovala u těchto vrstev provést další testy a měření, jako je například odolnost vůči cytotoxicita či testy adheze tkáňových buněk v dlouhodobějším časovém horizontu. Hlavně je potřeba zapracovat na podmínkách povlakování, které mohou výrazně ovlivnit následné mechanické a fyzikální vlastnosti nově vytvořených povrchů.

## 6. Závěr

V této diplomové práci jsme si stanovili čtyři cíle. Prvním cílem bylo posouzení vhodnosti a oblasti využití tenkých vrstev se zastoupením prvků C, Ti, Zr, a Cu. Tento cíl byl splněn v teoretické části práce, kde jsme se věnovali obecnému vzorci chování těchto prvků v různých slitinách. Poslední kapitolu jsme pak věnovali použití těchto prvků v medicíně. Uplatnění mají zejména ve formě tenkých vrstev, které se aplikují na tělní implantáty pro různé obory medicíny (ortopedie, kardiologie, gynekologie).

My jsme s těmito prvky pracovali ve formě šesti tenkých vrstev nanesených na austenitickou ocel AISI 316L. Těmi to vrstvy byly DLC a ta-C obsahující převážně uhlík, TiCuN a skupina tří vrstev ZrCu s různým poměrem mědi a zirkonu. Tato skupina vrstev je zvláštní v tom, že se jedná o skupinu amorfních kovových skel. Tyto tenké vrstvy byly použity pro splnění druhého cíle diplomové práce. Druhým cílem bylo zhodnotit fyzikálně-mechanické vlastnosti nanesených tenkých vrstev, porovnat je s vlastnostmi základního materiálu. Tyto vlastnosti byly hodnoceny na základě provedených experimentů v laboratořích. Na tenkých vrstvách byla měřena například tvrdost materiálu, adheze tenké vrstvy k základnímu materiálu, tribologie (otěruvzdornost a koeficient tření) a mimo jiné i biologické a krevní experimenty.

Vrstvy DLC a ta-C vynikají zejména nízkou drsností povrchu a dobrým koeficientem tření, jak v suchém, tak i v kapalném prostředí (fyziologický roztok). Tyto vrstvy neprokázaly nijak silné antibakteriální účinky a při krevních testech měli nejlepší z výsledků. Vrstva ta-C měla několikanásobně vyšší tvrdost než ostatní vrstvy. Z tohoto důvodu by byla vhodná jako potahový materiál na chirurgické nástroje. Pro dobré třecí vlastnosti a biokompatibilitu jsou tyto vrstvy vhodné pro tělní implantáty zejména v oboru ortopedie a kardiologie.

Vrstva TiCuN byla ve všech mechanických a fyzikálních testech průměrná. Vynikajících výsledků dosáhla v biologickém experimentu. Prokázala výborné antibakteriální účinky. Tuto vrstvu bych doporučovala aplikovat v případech, kdy je třeba spojit tvrdost, odolnost vůči opotřebení a zároveň odolnost vůči cizorodým organismům.

Poslední skupina vrstev ZrCu byla něčím novým. V praxi se obecně ještě amorfni kovovými slitinami příliš nesetkáme. Tyto vrstvy měly nízkou adhezi a špatnou odolnost vůči tření. Také jsou na rozdíl od ostatních hydrofobní. Tribologii při zatížení

10 N nešlo ani naměřit. Zajímavá je pro nás vrstva ZrCu 225, která vykazuje velice silný antibakteriální účinek, ale až do takové míry, že při krevních testech byly erytrocyty na této vrstvě zcela zničeny/roztrhány. Skupina ZrCu je skupinou vrstev, které své uplatnění v praxi teprve hledají. Abychom si byli jistí správností jejich použití v medicíně, doporučovala bych provést další testy, jako je například cytotoxicita, či jiné druhy mikrobiálních interakcí.

## Seznam použité literatury

- [1] NAVRÁTIL, Leoš a Jozef ROSINA. *Medicínská biofyzika*. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2019. ISBN 978-80-271-0209-9.
- [2] SEDLÁČEK, Vladimír. *Povrchy a povlaky kovů*. Praha: České vysoké učení technické, 1992. ISBN 80-01-00799-5.
- [3] BAKALOVA, Totka, et al. Biocompatibility of Surfaces of TiCN Thin Films. In: *Defect and Diffusion Forum*. Trans Tech Publications Ltd, 2016. s. 64-68. ISBN 978-303835720-9.
- [4] LEDRAPPIER, F., HOUZE, L.; HEAU, C.; GERSTENBERGER, J. Tenké povlaky pro snížení ztrát třením: Tribologie povlaků typu DLC, Metal 2008, Hradec nad Moravicí.
- [5] BAKALOVA, Totka, et al. Study of surface morphology, structure, mechanical and tribological properties of an AlSiN coating obtained by the Cathodic Arc Deposition method. In: *Superlattices and Microstructures*, 2017, **109**, s. 402-413. DOI 10.1016/j.spmi.2017.05.022.
- [6] GAO, X, M. FRAULOB a G. HAÏAT. Biomechanical behaviours of the bone–implant interface: a review. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. 2019, **16**(156). DOI 10.1098/rsif.2019.0259. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6685012/>
- [7] KŘEPELKA, Jaromír. *Přehled použití tenkých vrstev*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta. Olomouc, 2014.
- [8] ZHANG, Mengqi et al. Mechanical Properties and Biocompatibility of Ti-doped Diamond-like Carbon Films. *ACS Omega* [online]. 2020, **5**(36), 2470-1343. DOI 10.1021/acsomega.0c01715. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7495474/>
- [9] BAKALOVA, Totka, et al. Influence of Bias Voltage and CH<sub>4</sub>/N<sub>2</sub> Gas Ratio on the Structure and Mechanical Properties of TiCN Coatings Deposited by Cathodic Arc Deposition Method. *Journal of Materials Engineering and Performance*. 1. vyd. New York: Springer New York LLC, 2019, roč. 28, č. 1. S. 343 – 354. ISSN 1059-9495.
- [10] KAVÁNOVÁ, Anna, et al. Evaluation of Changes In The Utility Properties of A Base Material After The Application of Thin Coatings Of Wc/C, Tic/C and A Carbon-Based Coating: Ta-C. *Nanocon 2019 – Proceedings 11th International Conference on Nanomaterials – Research & Application*. Ostrava: Tanger, Ltd., 2020. S. 244 – 250. ISBN 978-80-87294-95-6, ISSN 2694-930X.
- [12] GRUNZEL, Martin. *Metody depozice tenkých vrstev pomocí nízkoteplotního plazmatu*. České Budějovice, 2013. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta, Katedra aplikované fyziky a techniky. Dostupné také z: [https://theses.cz/id/dywyo1/Diplomov\\_prce.pdf](https://theses.cz/id/dywyo1/Diplomov_prce.pdf)
- [13] PODANÝ, Pavel a Antonín KŘÍŽ. Předdepoziční procesy při výrobě tenkých vrstev. METAL. 2006.
- [14] SCHIDLER, Jiří. *Mikrobiologie: Pro studenty zdravotnických oborů*. 2. vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.
- [15] COUFALOVÁ, Adéla. *Posouzení biokompatibility tenkých vrstev nanosených metodou PVD napařování elektrickým obloukem a jejich funkcionalizace*. Liberec, 2018. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií. Dostupné také z: <https://www.kch.tul.cz/studium/tema/posouzeni-biokompatibility-tenkych-vrstev-nanesenych-metodou-pvd-naparovani-elektrickym>

- [16] HUBÁČEK Tomáš a Václav ŠVORČÍK. Příprava a vlastnosti uhlíkových vrstev. *Chemické listy*. 2016, 110, 430–439. Dostupné také z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2016\\_06\\_430-439.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2016_06_430-439.pdf)
- [17] NAVRÁTIL, Leoš et al. *Medicínská biofyzika*. 2. vyd. Praha: Grada, 2019. ISBN 978-80-271-0209.
- [18] DAĐOUREK, Karel. *Vybrané technologie povrchových úprav*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní, katedra materiálu, 2007. ISBN 978-80-7372-168-8.
- [19] CHRISTÓBAL, A. B. et al. Electrochemical stripping of hard ceramic chromium nitride coatings. *Thin Solid Films* [online]. 2005, 484(1-2), 238-244 [cit. 2021-01-26]. ISSN 00406090. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040609005002518#!>
- [20] LOUDA, Martin. DLC povlaky pro vysoce namáhané nástroje. *Průmyslové spektrum: Výroba a technologie, Výzkum, vývoj a inovace*. 2013, 6. Dostupné také z: <https://www.mmspektrum.com/clanek/pouziti-dlc-povlaku-nejen-v-automobilovem-prumyslu>
- [21] ZEMAN, Lubomír. *Vstřikování plastů: teorie a praxe*. Praha: Grada, 2018. ISBN 978-80-271-06141.
- [22] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ J. *Encyklopedie hydrobiologie* [online]. 2007 [cit. 2020-12-19]. Dostupné také z: <http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/u1fig3.html>
- [23] PENG, Cong, Yanhui ZHAO, Shujing JIN, et al. Antibacterial TiCu/TiCuN Multilayer Films with Good Corrosion Resistance Deposited by Axial Magnetic Field-Enhanced Arc Ion Plating. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2018, 11(1), 125-136. ISSN 1944-8244
- [24] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnolog*. 3. vyd. Praha: Academia nakladatelství Akademie věd České republiky, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6
- [25] CHATRNÁ, Vendula. *Charakterizace vybraných bakteriálních kmenů získaných během evolučních experimentů*. Diplomová práce. Brno, 2020. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Dostupné také z: [https://dspace.vutbr.cz/xmlui/bitstream/handle/11012/191047/final\\_thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.vutbr.cz/xmlui/bitstream/handle/11012/191047/final_thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [26] KRAUS, Václav. *Povrchy a jejich úpravy*. Plzeň: Západočeská univerzita, 2000. ISBN 80-7082-668-1.
- [27] SVOBODOVÁ, Magdaléna. *Součásti točivého a přímočarého pohybu: Součásti točivého a přímočarého pohybu*. [online] Střední průmyslová škola a Vyšší odborná škola technická Brno, 2012. Dostupné také z: [http://domes.spssbrno.cz/web/DUMy/SPS,%20MEC,%20CAD/VY\\_32\\_INOVACE\\_14-02.pdf](http://domes.spssbrno.cz/web/DUMy/SPS,%20MEC,%20CAD/VY_32_INOVACE_14-02.pdf)
- [28] ZDRÁHAL, Jindřich. *Fyzika jinak: Mechanika*. [online] Martin Koláček - E-knihy jedou, 2018.
- [29] GALLO, Josef et al. Silné antibakteriální vlastnosti kovového povrchu modifikovaného nanotubicemi titanu a nanostříbrem. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2019, 86, 101-117. DOI 10.1089/jmf.2018.0024. Dostupné také z: [http://www.achot.cz/dwnld/achot\\_2019\\_2\\_110\\_117.pdf](http://www.achot.cz/dwnld/achot_2019_2_110_117.pdf)
- [30] KUBÍNEK, Roman et al. *Biologické aplikace AFM*. Olomouc. Dostupné také z: <http://docplayer.cz/6744951-Biologicke-aplikace-afm.html>
- [31] SEDLÁK, Bedřich a Ivan ŠTOLL. *Elektrina a magnetismus*. Praha: Karolinum Press, 2017. ISBN 9788024631462.
- [32] PAKULA, Daniel. *Tribologické vlastnosti PVD a CVD vrstev deponovaných na keramických řezných nástrojích*. [online] Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta strojní - Katedra materiálu a strojírenské metalurgie, 19. 6. 2015. Dostupné také z: [https://www.opi.zcu.cz/tenke\\_vrstvy\\_fel\\_1.pdf](https://www.opi.zcu.cz/tenke_vrstvy_fel_1.pdf)

- [33] Li, Jet et al. Tribological properties characterization of Ti/Cu/N Thin films prepared by DC magnetron sputtering on titanium alloy. *Surface and Coatings Technology*, 2016, **294**, 30–35. DOI 10.1016/j.surfcoat.2016.03.043
- [34] PLACATA, Jiří. Předepisování struktury povrchu. Investice do rozvoje vzdělávání: Kreslení výrobních výkresů [online]. 2012, [cit. 15. 4. 2021].
- [35] TLILI, Brahim, et al. Hardness and scratch response of PVD multilayer coatings. In: *3ème Congrès International Conception et Modélisation des Systèmes Mécaniques*. 2009, 3–7. Dostupné také z: [https://www.researchgate.net/publication/280893770\\_Hardness\\_and\\_scratch\\_response\\_of\\_PVD\\_multilayer\\_coatings](https://www.researchgate.net/publication/280893770_Hardness_and_scratch_response_of_PVD_multilayer_coatings)
- [36] ALANAZI, Ali S. Medical Application of Diamond-like Carbon (DLC) Coating - A Review. *International Journal of Clinical & Medical Informatics*. 2018, **2**(1), 74–82. ISSN: 2582-2268. Dostupné také z: <http://www.tridhascholars.org/pdfs/medical-application-of-diamond-like-carbon-dlc-coating-a-review-ijcmi-1-1010.pdf>
- [37] LI, J. a W. BERES. Scratch Test for Coating/Substrate Systems – A Literature Review. *Canadian Metallurgical Quarterly* [online]. 2013, **46**(2), 155-173 [cit. 2021-1-12]. ISSN 0008-4433. Dostupné také z: doi:10.1179/cmqr.2007.46.2.155
- [38] KALIDINDI, Ramachandra S.R. a Raghavan SUBASRI. Sol-gel nanocomposite hard coatings. *Anti-Abrasive Nanocoatings* [online]. Elsevier, 2015, 2015, s. 105-136 [cit. 2021-3-15]. ISBN 9780857092113.
- [39] VOLESKÝ, Lukáš. Mikroskopie skenující sondou. Podklady pro výuku - vznikl za podpory projektu CZ.1.07/1.1.22/02.0006.
- [40] URBÁŠEK, Jan. *Měření tvrdosti a vrypové odolnosti pomocí univerzálního tribometru*. Brno, 2017, Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta strojního inženýrství. Ústav konstruování. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/11012/66295>.
- [41] HRYNIEWICZ, T., R. ROKICKI a K. ROKOSZ. Corrosion Characteristics of Medical-Grade AISI Type 316L Stainless Steel Surface After Electropolishing in a Magnetic Field. *CORROSION*. 2008, **64**(8), 660-665. ISSN 0010-9312.
- [42] SANDMEYER STEEL COMPANY. An Austenitic Stainless Steel Containing Molybdenum Which is More Corrosion Resistant than the Conventional 304/304L Stainless Steel. 2014. Dostupné také z: <https://www.sandmeyersteel.com/images/316-316l-317l-spec-sheet.pdf>
- [43] KUSLOVIC, A., A. VANILSSEN a R. NILSTREM. *Lékařská mikrobiologie I: Patogeny a lidský mikrobiom*. Cambridge Stanford Books, 2020. ISBN 9781005237967.
- [44] SMITH, Ian et al. Fluorescence Microscopy. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2014, **2014**(10), ISSN 1559-6095. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4711767/>
- [45] DAVIDSON, M. W. a M. ABRAMOWITZ. Optical Microscopy. In: HORNÁK, J. *Encyclopedia of Imaging Science and Technology*. New York: Wiley-Interscience, 2002. Dostupné také z: <https://micro.magnet.fsu.edu/primer/pdfs/microscopy.pdf>
- [46] Stainless Steel - Grade 316L - Properties, Fabrication and Applications (UNS S31603). *Azo materials*. 2004. Dostupné také z: <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2382>
- [47] HOLUB, Jiří. *Smáčivost povrchu vůči kapalinám a druhá viskozita kapalin*. Brno, 2010. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Energetický Ústav. Dostupné také z: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=29171](https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=29171)

- [48] BARTKOVÁ H. a P. KLUSOŇ. Stanovení povrchové smáčivosti tenkých vrstev a odbourávání povrchově vázaných nečistot. *Chemie a chemické technologie*. Dostupné také z: <http://old.vscht.cz/kot/resources/studijni-materialy/labchcht-001/n150013-b6.pdf>
- [49] Tvrdost [online]. 2017. Dostupné také z: <http://www.merenitvrdosti.cz/pdf/tvrdost.pdf>
- [50] JAREŠ, Vojtěch. *Základní zkoušky kovů a jejich teorie*. Praha: Academia, 1966.
- [60] JELINEK, Miroslav et al. Chromium-doped DLC for implants prepared by laser-magneton deposition. *Materials Science and Engineering: C*. 2015, **46**, 381-386. ISSN 09284931.
- [61] BLAŽEK, Tomáš. *Studium vlastností tenkých vrstev a jejich aplikace v medicíně*. Liberec, 2015. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní. Dostupné také z: <https://dspace.tul.cz/bitstream/handle/15240/17375/hodnocen%C3%AD%2Bvedouc%C3%ADho-Bc.%2BBla%C5%BEk.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- [62] FURMANEK, Ilona. *Vliv teploty oceli na AISI 316L na tvorbu uhlíkové vrstvy v procesu RF PACVD*. Liberec, 2008. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní.
- [63] HOURANI, Sana Al. *Tenké vrstvy pro medicínské a environmentální aplikace*. Liberec, 2020. Bakalářská práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií. Dostupné také z: [https://dspace.tul.cz/bitstream/handle/15240/159794/Bakalarska\\_prace\\_2020\\_Sana\\_AlHourani.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://dspace.tul.cz/bitstream/handle/15240/159794/Bakalarska_prace_2020_Sana_AlHourani.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [64] QUINN, James et al. Titanium for Orthopedic Applications: An Overview of Surface Modification to Improve Biocompatibility and Prevent Bacterial Biofilm Formation. *IScience*. 2020, **23**(11). ISSN 25890042. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004220309421>
- [65] REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. Krystalické a amorfni látky. *Fyzika.jreichl.com [online]*. © 2006 – 2021 [cit. 2021-05-21]. Dostupné také z: <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/622-krystalicke-a-amorfni-latky>
- [66] KROKER, Michael. *Příprava a charakterizace nanolaminátních tenkých vrstev*. Brno, 2018. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav fyzikální elektroniky.
- [67] VOEVODIN, Andrey A et al. Nanostructured Thin Films and Nanodispersion Strengthened Coatings. *NATO Science Series: Mathematics, Physics and Chemistry*. 2004, 155. ISBN 978-1-4020-2222-7.
- [68] REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. Skenovací elektronový mikroskop. *Fyzika.jreichl.com [online]*. © 2006 – 2021 [cit. 2021-05-25]. Dostupné také z: <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/1675-skenovaci-elektronovy-mikroskop>
- [69] ŠAFÁŘOVÁ, Klára. *Skenovací (rastrová) elektronová mikroskopie*. Olomouc, 2016. Centrum pro výzkum nanomateriálů. Investice do rozvoje vzdělání. Dostupné také z: [http://nanosystemy.upol.cz/download/2009/12-ws/safarova\\_sem.pdf](http://nanosystemy.upol.cz/download/2009/12-ws/safarova_sem.pdf)
- [70] VÁVRA, Václav a Jiří PINKAS. Identifikace materiálů pomocí metod rentgenové práškové difrakce. Brno, 2010. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Dostupné také z: [https://www.sci.muni.cz/chemsekcce/c8870/pdf/Uloha10\\_RTG.pdf](https://www.sci.muni.cz/chemsekcce/c8870/pdf/Uloha10_RTG.pdf)
- [71] ŠIMŮNEK, Antonín. *Dentální implantologie*. 3. vyd. Hradec Králové: ARTILIS 2017. ISBN 978-80-906794-0-5
- [72] MAXDORF. Biokompatibilita. *Lekarske.slovniky.cz [online]*. © 1998-2021 [cit. 2021-06-03] Dostupné také z: <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/biokompatibilita>



- [73] HASIRCI, Vasif a Nesrin HASIRCI. *Hemocompatibility* [online]. New York: Springer New York, 2018, 173–186, [cit. 2021-06-02] DOI 10.1007/978-1-4939-8856-3\_12. Dostupné také z: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8856-3\\_12](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8856-3_12)
- [74] JECH, Vladimír et al. *Využití tenkých uhlíkových vrstev v medicíně*. Průmyslové spektrum: Výroba a technologie, Výzkum, vývoj a inovace. 2012, 11. Dostupné také z: <https://www.mmspektrum.com/clanek/vyuziti-tenkych-uhlikovych-vrstev-v-medicine>
- [75] MORAVEC, Hynek et al. Modifikace povrchu titanu pro medicínské aplikace. *Chemické listy*. 2014, 108, 40 – 45. Dostupné také z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014\\_01\\_40-45.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_01_40-45.pdf)
- [76] JONÁKOVÁ, Miroslava. Medicinální použití titanu. Pardubice, 2017. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Dostupné také z: [https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/69054/JonakovaM\\_MedicinalniPouziti\\_PN\\_2017.pdf?sequence=1](https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/69054/JonakovaM_MedicinalniPouziti_PN_2017.pdf?sequence=1)
- [77] WANG, Peng et al. Biological applications of copper-containing materials. *Bioactive Materials*, 2021, 6(4), 916–927. DOI 10.1016/j.bioactmat.2020.09.017. Dostupné také z: [https://www.researchgate.net/publication/346132965\\_Biological\\_applications\\_of\\_copper-containing\\_materials](https://www.researchgate.net/publication/346132965_Biological_applications_of_copper-containing_materials)
- [78] SHEN, Xinkun et al. Antibacterial and Osteogenic Functionalization of Titanium With Silicon/Copper-Doped High-Energy Shot Peening-Assisted Micro-Arc Oxidation Technique. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020, 8. ISSN 2296-4185. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7580868/>
- [79] CHEN, Yen-Wei et al.. Zirconia in biomedical applications. *Expert Review of Medical Devices*. 2016, 13(10), 945-96]. ISSN 1743-4440. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17434440.2016.1230017?journalCode=ierd20>
- [80] MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT. Novel nanostructured ZrCu thin film metallic glasses with superior mechanical properties and thermal stability. *Mpie.de* [online]. © 2021 [cit 2021-04-20]. Dostupné také z: [https://www.mpie.de/3871627/novel\\_thin\\_film\\_metallic\\_glasses](https://www.mpie.de/3871627/novel_thin_film_metallic_glasses)
- [81] Konfokální mikroskop. [online] *Vesmír* 74, 508, 1995/9 [cit. 5. 3. 2021]. Dostupné také z [www: http://www.vesmir.cz/clanek/konfokalni-mikroskop](http://www.vesmir.cz/clanek/konfokalni-mikroskop)
- [82] ŘASA, J., P. POKORNÝ a V. GABRIEL. *Strojírenská technologie 3 - 2. díl*. 2. vyd. Praha: Scientia, 2005, 221 s. ISBN 80-718-3336-3.
- [83] JÍLEK Mojmir et al. Moderní PVD povlaky pro řezné aplikace a tváření. *Průmyslové spektrum: Výroba a technologie*, 2004, 6. Dostupné také z: <https://www.mmspektrum.com/clanek/mereni-vlastnosti-povlaku-na-nastrojich>
- [84] HUMÁR, A. *Materiály pro řezné nástroje*. 1.vyd. Praha: MM publishing, s.r.o., 2008, 235 stran, ISBN 978-80-254-2250-2.

## Seznam obrázků

Obr. 1 Ternární fázový diagram DLC vrstev [20].....	16
Obr. 2 Princip laserové konfokálního mikroskopu [1] .....	21
Obr. 3 Závislost celkové síly na vzdálenosti hrotu cantileveru [39] .....	22
Obr. 4 Stanovení tloušťky vrstvy pomocí kalotestu [32].....	22
Obr. 5 Smáčivost kapalina na pevném povrchu [47].....	23
Obr. 6 Velikost kontaktního úhlu [48].....	24
Obr. 7 Princip scratch testu [38] .....	24
Obr. 8 Vyhodnocení kritické síly zatížení $L_C$ [40] .....	25
Obr. 9 Druhy kluzného tření [27] .....	32
Obr. 10 Druhy opotřebení [26] .....	33
Obr. 11 Princip tribologického měření [32].....	35
Obr. 12 Bakteriální (prokaryotická) buňka [22] .....	38
Obr. 13 Přehled použitých tenkých vrstev [autor] .....	44
Obr. 14 Chemické zastoupení prvků vrstvy ZrCu 20415-022524 [autor].....	44
Obr. 15 Povrch ZrCu 225 a TiCuN zobrazený pomocí SEM [autor] .....	45
Obr. 16 Konfokální mikroskop S neox & SensoSCAN 6.5 [autor] .....	46
Obr. 17 Zobrazení drsnosti povrchu pomocí konfokálního mikroskopu [autor].....	46
Obr. 18 – Mikroskop atomárních sil – TiCuN 3D [autor] .....	48
Obr. 19 Měření tloušťky vrstvy – kalotest [autor] .....	49
Obr. 20 Vyhodnocení tloušťky vrstvy ZrCu [autor].....	49
Obr. 21 a Obr. 22 Difraktogram tenké vrstvy ZrCu 20415-0225 [autor] .....	51
Obr. 23 Smáčivost vrstvy ZrCu 228 [autor] .....	51
Obr. 24: Vzhled vzorku po provedení metody ball-on-disk [autor] .....	58
Obr. 25 Odběr krve z prstu [autor] .....	59
Obr. 26 Interakce erytrocytů s vrstvou DLC [autor] .....	59
Obr. 27: Výsledky Petriho misek [Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.] .....	61
Obr. 28 Hodnocení opotřebení tenké vrstvy DLC [autor] .....	65
Obr. 29 Hodnocení opotřebení tenké vrstvy ZrCu 225 [autor].....	66

## Seznam tabulek

Tab. 1 Chemické složení tenkých vrstev .....	46
Tab. 2 Drsnost povrchu tenkých vrstev – konfokální mikroskop.....	48
Tab. 3 Drsnost povrchu tenkých vrstev – AFM.....	48
Tab. 4 Tloušťka tenkých vrstev .....	49
Tab. 5 Výsledky měření kontaktního úhlu kapky destilované vody s povrchy .....	52
Tab. 6 a Tab. 7 Přehled naměřených hodnot nanovrzdosti .....	53
Tab. 8 – 13: Adheze tenkých vrstev při narůstajícím zatížení 2–80 N.....	54
Tab. 14: Parametry tribologického experimentu .....	56
Tab. 15 – 16: Střední hodnoty koeficientu tření tenkých vrstev.....	58
Tab. 17: Metoda stěrem (dle Norem ČSN 75 7841 a ČSN 11737-1).....	62
Tab. 18. Výsledky biologických testů podle Normy (JIS Z2801:2000).....	67

## Seznam grafů

Graf 1: Měření kontaktních úhlů s kapkou destilované vody o objemu 3 $\mu$ l.....	52
Graf 2: Zatížení tenké vrstvy ZrCu 228.....	53
Graf 3: Přehled výsledných hodnot (nanotvrdość podle Vickerse).....	53
Graf 4: Kritické hodnoty tenkých vrstev - $L_{c1}$ a $L_{c3}$ .....	55
Graf 5: Hodnoty koeficientu tření tenkých vrstev .....	57
Graf 6: Závislost koeficientu tření vrstev na čase při zatížení 10 N.....	58
Graf 7: Závislost koeficientu tření na čase pro vrstvu ta-C .....	58
Graf 8: Míra růstu bakterií po metodě stěrem.....	62

## **Seznam příloh**

Příloha A: Výsledky měření drsnosti povrchu pomocí konfokální mikroskop .....	80
Příloha B: Výsledky měření drsnosti povrchu pomocí mikroskopu atomárních sil (AFM) .....	81
Příloha C: Výsledky měření kontaktního úhlu .....	82
Příloha D: Výsledky interakcí erytrocytů s tenkými vrstvami .....	83

## Příloha A: Výsledky měření drsnosti povrchu pomocí konfokální mikroskop

DLC 20415-133	Sa [nm]	Sz [nm]
	67,98	534,50
	64,53	494,51
	66,55	503,80
<b>Průměr</b>	<b>66,35</b>	<b>510,94</b>

ZrCu 20415-0225	Sa [nm]	Sz [nm]
	129,00	2100,60
	133,40	2112,10
	127,70	2117,40
<b>Průměr</b>	<b>130,03</b>	<b>2110,03</b>

ta-C 20415-132	Sa [nm]	Sz [nm]
	67,52	489,51
	63,78	465,99
	64,95	461,92
<b>Průměr</b>	<b>65,41</b>	<b>472,47</b>

ZrCu 20415-0228	Sa [nm]	Sz [nm]
	88,36	1471,42
	84,58	1477,48
	80,48	1452,74
<b>Průměr</b>	<b>84,48</b>	<b>1467,21</b>

TiCuN 20415-0240	Sa [nm]	Sz [nm]
	110,20	904,00
	111,60	989,30
	111,20	915,50
<b>Průměr</b>	<b>111,00</b>	<b>936,27</b>

ZrCu 20415-0229	Sa [nm]	Sz [nm]
	95,69	2132,49
	99,82	2144,72
	99,61	1657,48
<b>Průměr</b>	<b>98,38</b>	<b>1978,23</b>

AISI 316L	Sa [nm]	Sz [nm]
	57,33	446,91
	62,75	467,24
	62,64	441,01
<b>Průměr</b>	<b>60,91</b>	<b>451,72</b>

## **Příloha B: Výsledky měření drsnosti povrchu pomocí mikroskopu atomárních sil (AFM)**

Typ tenké vrstvy	AISI 316L	DLC	ta-C
Ra [nm]	2,74	23,40	20,21
	4,22	20,88	16,20
	2,05	20,80	10,92
Průměr Ra [nm]	3,00	21,69	15,78
Směrodatná odchylka	1,11	1,48	4,66

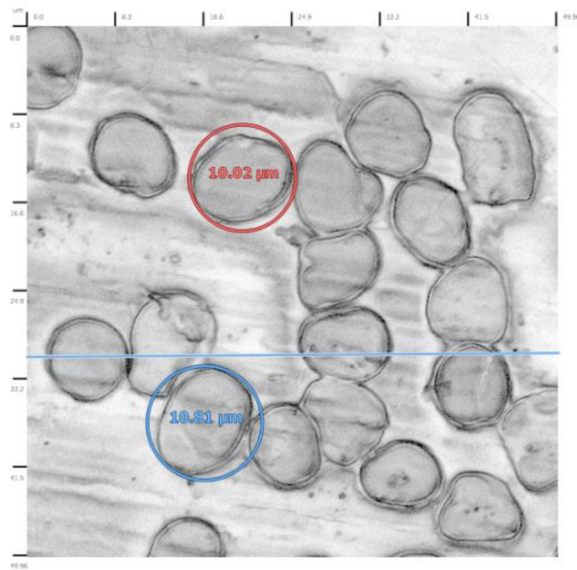
Typ tenké vrstvy	TiCuN	ZrCu 225	ZrCu 228	ZrCu 229
Ra [nm]	156,90	153,10	352,00	179,20
	150,70	193,30	219,70	170,00
	175,00	127,10	115,10	192,30
Průměr Ra [nm]	160,87	157,83	228,93	180,50
Směrodatná odchylka	12,63	33,35	118,72	11,21

## Příloha C: Výsledky měření kontaktního úhlu

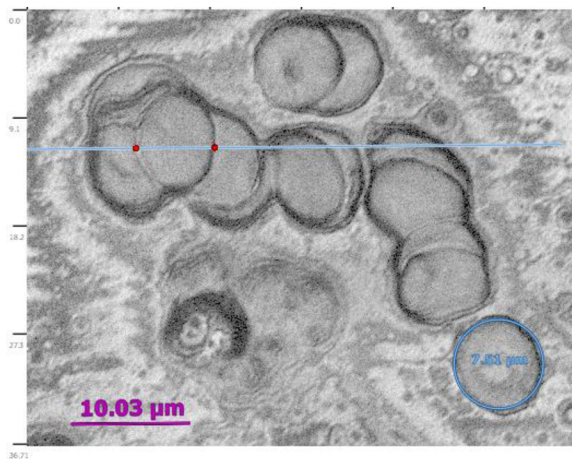
Typ tenké vrstvy	AISI 316L	DLC	ta-C
úhel [°]	88,088	73,805	83,014
	89,065	75,811	79,842
	88,102	73,534	79,016
	86,14	74,958	77,795
	87,871	72,592	79,407
Průměr	87,85	74,14	79,81
Směrodatná odchylka	1,06	1,26	1,94

Typ tenké vrstvy	TiCuN	ZrCu 225	ZrCu 228	ZrCu 229
úhel [°]	81,6	101,007	106,303	86,213
	82,3	95,767	105,933	95,443
	82,1	95,667	99,318	95,638
	80,8	97,297	98,612	93,801
	82,2	96,564	100,941	88,182
Průměr	81,80	97,26	102,22	91,86
Směrodatná odchylka	0,62	2,20	3,66	4,37

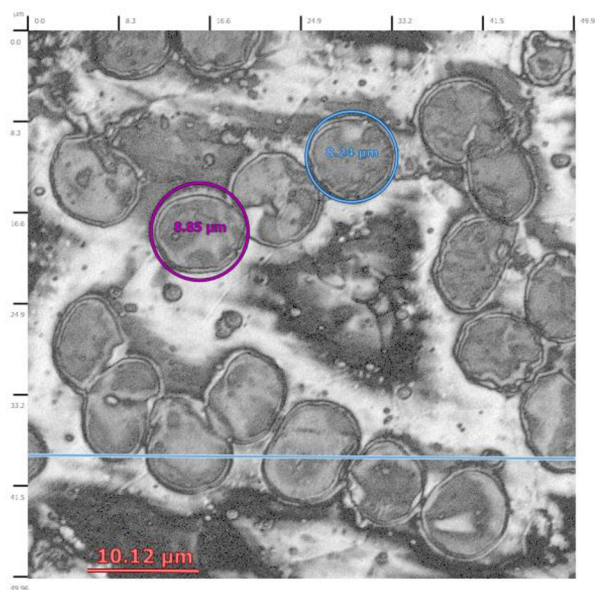
## Příloha D: Výsledky interakcí erytrocytů s tenkými vrstvami



Interakce erytrocytů se  
substrátem AISI 316L

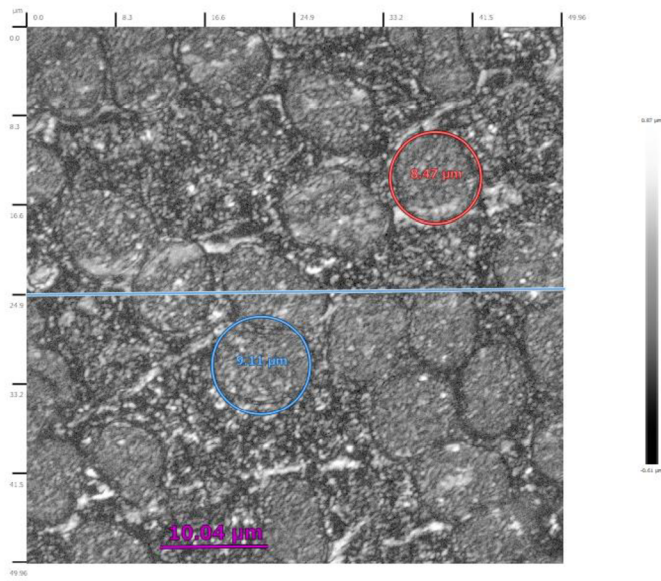


Interakce erytrocytů s DLC

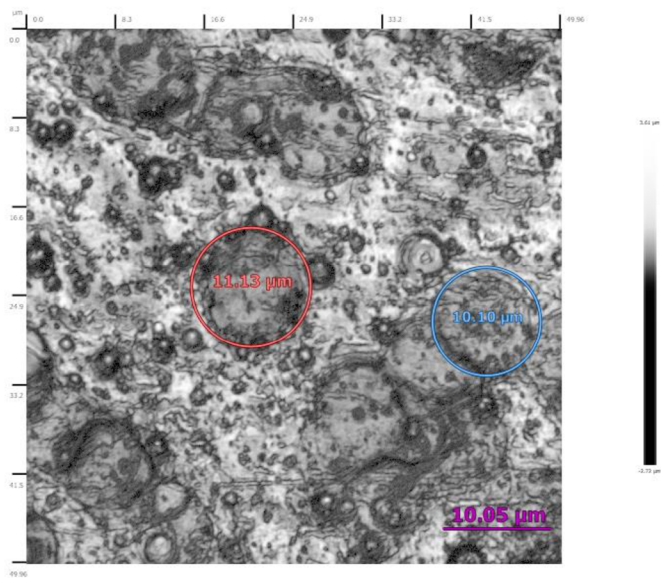


Interakce erytrocytů s ta-C

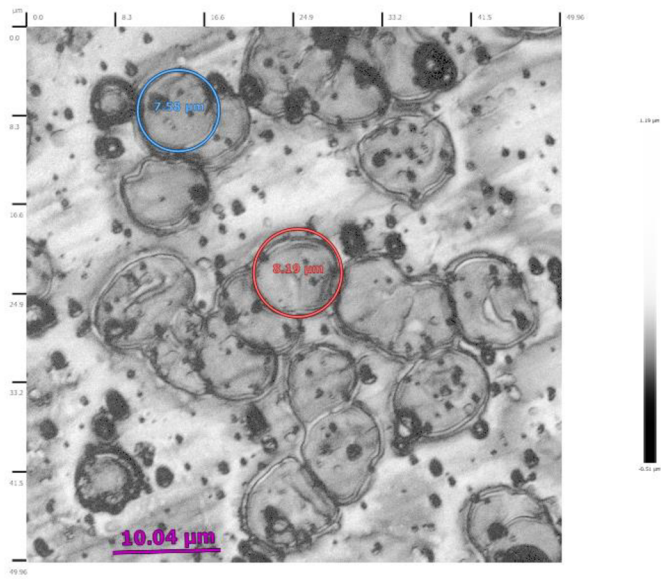




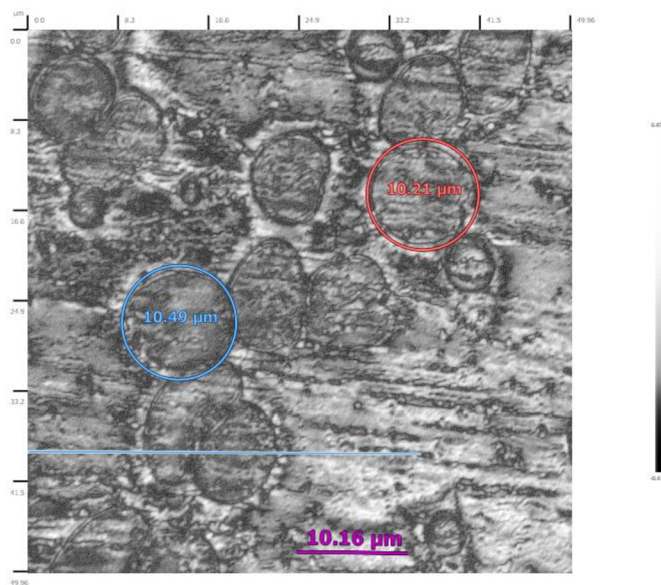
Interakce erythrocytů s TiCuN



Interakce erythrocytů s ZrCu 225



Interakce erythrocytů s ZrCu 228



Interakce erythrocytů s ZrCu 229