



# Tenké vrstvy pro biomedicínské a environmentální aplikace

## Bakalářská práce

*Studijní program:*

B3944 Biomedicínská technika

*Studijní obor:*

Biomedicínská technika

*Autor práce:*

**Sana Al Hourani**

*Vedoucí práce:*

Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Katedra materiálu

*Konzultanti práce:*

Ing. Totka Bakalova, Ph.D.

Katedra materiálu

Ing. Anna Kavánová

Katedra materiálu



## Zadání bakalářské práce

# Tenké vrstvy pro biomedicínské a environmentální aplikace

*Jméno a příjmení:* **Sana Al Hourani**  
*Osobní číslo:* D18000051  
*Studijní program:* B3944 Biomedicínská technika  
*Studijní obor:* Biomedicínská technika  
*Zadávající katedra:* Fakulta zdravotnických studií  
*Akademický rok:* **2019/2020**

## **Zásady pro vypracování:**

### **Cíle práce**

1. Navrhnout metody/postupy pro studium parametrů a vlastností tenkých vrstev (testy sterilizace, otěru-vzdornosti, tvrdosti aj.)
2. Provést charakterizaci povrchu tenkých vrstev (stanovit drsnost, složení, strukturu, hydrofobicitu aj.).
3. Navrhnout metody/postupy pro hodnocení interakce povrchu s biologickým prostředím (např. krev, sliny, pot aj.), případně i s bakteriálními buňkami (výběr testovacího organismu).
4. Experimentálně ověřit stabilitu tenkých vrstev v různém biologickém prostředí (např. vliv pH, teploty aj.).
5. Posoudit a stanovit shody/rozdílnosti dosažených výsledků s odbornou literaturou.

### **Výzkumné předpoklady / výzkumné otázky:**

1. Předpokládáme, že různé typy tenkých vrstev budou mít jiné fyzikálně-chemické vlastnosti; a tyto vlastnosti budou silně ovlivňovat interakci s biologickým prostředím (sorpci biomolekul, zvýšení/snížení proliferace buněk na povrchu materiálu aj.).
2. Předpokládáme, že nalezneme podmínky (typ vrstvy), které povedou ke snížení bakteriální adheze k povrchu, čehož následkem je eliminace vzniku zánětu nebo vyloučení negativní reakce těla na cizí těleso (implantát).
3. Shodují se dosažené laboratorní výsledky s výsledky v odborných publikacích?
4. Dosáhlo se snížení proliferace bakteriálních buněk na povrchu modifikovaných tenkých vrstev?
5. Jsou zvolené metody charakterizace povrchu průkazné?

### **Metoda práce:**

Kvalitativní

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

Metodou výzkumu bude realizace srovnávacího experimentu. Měření fyzikálních, chemických a mechanických parametrů (optická mikroskopie, AFM, SEM, konfokální mikroskopie, scratch testy apod.). Stanovení biologické odezvy (korozní testy, kultivační testy aj.). Základní statistické vyhodnocení experimentů.

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

tištěná/elektronická  
Čeština



## Seznam odborné literatury:

1. PETKOV, Nikolay et al. Cathodic Arc Deposition of TiCN Coatings Influence of the C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> Ratio on the Structure and Coating Properties. *Journal of Nano Research*. 2018, **51**, 78-91. ISSN 1661-9897.
2. PETKOV, Nikolay et al. Influence of Coating Deposition Parameters on the Mechanical and Tribological Properties of TiCN Coatings. *Journal of Nano Research*. 2017, **49**, 98-107, ISSN 1661-9897.
3. NARAYAN, Roger. Nanostructured surfaces in biomaterials. In: K. JURCZYK a M. U. JURCZYK. Nanostructured materials for biomedical application. Poland: *Elsevier*, 2018, s. 79-195. ISBN 978-0-08-100716-7.
4. VERESCHAKA, Alexey A. et al. Working efficiency of cutting tools with multilayer nano-structured Ti-TiCN-(Ti,Al)CN and Ti-TiCN-(Ti,Al,Cr)CN coatings: Analysis of cutting properties, wear mechanism and diffusion processes. *Surface and Coatings Technology*. 2017, **332**, 198-213. DOI 10.1016/j.surfcoat.2017.10.027. ISSN 02578972
5. SHAH, Arman et al. Surface Modification on Titanium Alloy for Biomedical Application. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. *Elsevier*, 2018. DOI 10.1016/B978-0-12-803581-8.10484-9.
6. SHAH, Arman, S.N.F. ISMAIL, Mas Ayu HASAN a Rosdi DAUD. *Surface Modification on Titanium Alloy for Biomedical Application. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier, 2018. DOI 10.1016/B978-0-12-803581-8.10484-9.
7. QIN, Yanfang et al. Structure and wear characteristics of TiCN nanocomposite coatings fabricated by reactive plasma spraying. *Surface and Coatings Technology*. 2018, **342**, 137-145. DOI 10.1016/j.surfcoat.2018.02.108.
8. DE ASSUMPCAO PEREIRA-DA-SILVA, Marcelo a Fabio A. FERRI. Scanning Electron Microscopy. Nanocharacterization Techniques. *Elsevier*, 2017, s. 1-35. DOI 10.1016/B978-0-323-49778-7.00001-1.
9. WALTHER, Thomas. Transmission Electron Microscopy of Nanostructures. *Microscopy Methods in Nanomaterials Characterization*. Elsevier, 2017, s. 105-134. DOI 10.1016/B978-0-323-46141-2.00004-3.
10. MORIARTY, Thomas et al. 4.8 Bacterial Adhesion and Biomaterial Surfaces. *Comprehensive Biomaterials II*. Elsevier, 2017, s. 101-129. DOI 10.1016/B978-0-08-100691-7.00106-3.
11. OZKAN, Alper D. et al. Atomic force microscopy for the investigation of molecular and cellular behavior. *Micron*. 2016, **89**, 60-76. DOI 10.1016/j.micron.2016.07.01.
12. WARCHOLINSKI, B., A. GILEWICZ, Z. KUKLINSKI a P. MYSLINSKI. Hard CrCN/CrN multilayer coatings for tribological applications. *Surface and Coatings Technology*. 2010, **204**(14), 2289-2293. DOI 10.1016/j.surfcoat.2009.12.019.

Vedoucí práce: Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.  
Katedra materiálu

Konzultanti práce: Ing. Totka Bakalova, Ph.D.  
Katedra materiálu  
Ing. Anna Kavánová  
Katedra materiálu

Datum zadání práce: 2. září 2019  
Předpokládaný termín odevzdání: 30. června 2020

L.S.

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

V Liberci dne 31. ledna 2020

## Prohlášení

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

Jsem si vědoma toho, že na mou bakalářskou 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 bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou 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 bakalářská 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.

15. listopadu 2020

Sana Al Hourani

Vážená paní  
Sana Al Hourani  
D18000051  
Jurkovičova 969/6  
149 00 Praha

Vyřizuje/linka: Čermáková/485 353 194

V Liberci dne 05. října 2020  
č. j.: TUL - 20/8511/033176-001

### Vyjádření k žádosti o ponechání zadání bakalářské práce

Vážená paní Al Hourani,

na základě Vaší žádosti ze dne 24. 09. 2020, zaevidované pod č. j.: TUL - 20/8511/033176 Vám sděluji, že **souhlasím** s ponecháním zadání bakalářské práce a s prodloužením termínu odevzdání do 30. 06. 2021.

S pozdravem

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



## **Poděkování**

Ráda bych tímto poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Ing. Lucii Svobodové, Ph.D., za odborné vedení, za pomoc, věcné připomínky a rady při zpracování této práce. Mé poděkování patří též Ing. Totce Bakalové, Ph.D., za vstřícnost při konzultacích, cenné rady a spolupráci při získávání údajů pro výzkumnou část práce. Oběma také děkuji za lidský přístup, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovaly. Taktéž bych chtěla poděkovat všem zaměstnancům Technické univerzity v Liberci, kteří mi věnovali svůj čas a pomohli mi či poradili v průběhu měření. V neposlední řadě patří obrovské poděkování mé rodině za podporu během studia.



## **Anotace**

<b>Autorka:</b>	Sana Al Hourani
<b>Instituce:</b>	Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií
<b>Název práce:</b>	Tenké vrstvy pro biomedicínské a environmentální aplikace
<b>Vedoucí práce:</b>	Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.
<b>Počet stran:</b>	73
<b>Počet příloh:</b>	4
<b>Rok obhajoby:</b>	2021

**Anotace:** Bakalářská práce se zabývá posouzením vlastností tenkých vrstev nanesených na austenitickou ocel s cílem snížit adhezi nežádoucích bakterií na povrchu a zároveň zachovat biokompatibilitu pro environmentální nebo biomedicínské aplikace (využití pro tělní implantáty, ortopedické aplikace, zubní implantáty apod.). Teoretická část je věnována popisu tenkých vrstev (TiN, ZrN, TiCrC, TiCrN, TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50), metodám přípravy pomocí Arc PVD a jejich charakterizaci. Praktická část popisuje testování vlastností vrstev se zaměřením na hodnocení struktury povrchu, chemického složení, bakteriální adheze, hemokompatibility a tribologických vlastností. Výsledkem práce je návrh metod a postupů pro studium parametrů a vlastností tenkých vrstev a návrh metod pro hodnocení interakce povrchu s biologickým prostředím. Cílem práce je najít vhodné vrstvy s určitými vlastnostmi, které budou splňovat požadavky pro aplikace v konkrétní oblasti medicíny.

**Klíčová slova:** tenké vrstvy, Arc PVD, biokompatibilita, tribologické vlastnosti, drsnost povrchu

## **Annotation**

**Author:** Sana Al Hourani

**Institution:** Technical University of Liberec, Faculty of Health Studies

**Title:** Thin films for biomedical and environmental applications

**Supervisor:** Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

**Pages:** 73

**Appendix:** 4

**Year:** 2021

**Annotation:** The bachelor thesis deals with the assessment of thin layers properties applied to austenitic steel. The aim of the work is to reduce the adhesion of unwanted bacteria on the surface while maintaining biocompatibility for environmental or biomedical applications (e.g. body implants, orthopedic applications, dental implants, etc.). The theoretical part is devoted to the description of thin films (TiN, ZrN, TiCrC, TiCrN, TiCrCN\_20 and TiCrCN\_50), methods of preparation using Arc PVD and their characterization. The practical part describes the testing of layer properties with a focus on the evaluation of surface structure, chemical composition, bacterial adhesion, hemocompatibility and tribological properties. The result of the work is to propose methods and procedures for the study of thin layers parameters and properties and to propose methods for evaluating the interaction of the surface with the biological environment. The aim of the work is to find suitable layers with certain properties, which will fulfill requirements for application in specific field of medicine.

**Keywords:** thin layers, Arc PVD, biocompatibility, tribological properties, surface roughness

# Obsah

<b>Seznam použitých zkratek a symbolů .....</b>	<b>10</b>
<b>1 Úvod .....</b>	<b>14</b>
<b>2 Teoretická část .....</b>	<b>15</b>
2.1 Tenké vrstvy .....	15
2.1.1 TiN .....	15
2.1.2 ZrN .....	15
2.1.3 TiCrC .....	16
2.1.4 TiCrN .....	16
2.1.5 TiCrCN .....	16
2.2 Metody povlakování .....	17
2.3 Metody hodnocení tenkých vrstev .....	20
2.3.1 Mikroskopické metody hodnocení .....	21
2.3.1.1 Mikroskopie atomárních sil (AFM) .....	21
2.3.1.2 Skenovací elektronový mikroskop (SEM) .....	24
2.3.1.3 Konfokální mikroskopie .....	25
2.3.2 Metody hodnocení mechanických vlastností .....	26
2.3.2.1 Tribologie (třecí vlastnosti) .....	26
2.3.3 Hodnocení biologické kompatibility a hemokompatibility .....	28
<b>3 Výzkumná část .....</b>	<b>30</b>
3.1 Cíle a výzkumné předpoklady .....	30
3.2 Metodika výzkumu .....	30
3.2.1 Popis studovaných vzorků .....	30
3.2.2 Hodnocení drsnosti povrchu tenkých vrstev .....	32
3.2.3 Hodnocení chemického složení tenkých vrstev .....	34
3.2.4 Hodnocení tribologických vlastností tenkých vrstev .....	35
3.2.5 Testy biologické interakce .....	36
3.2.6 Testy hemokompatibility .....	37
3.3 Analýza výzkumných dat .....	38
3.3.1 Analýza drsnosti povrchu tenkých vrstev .....	38
3.3.2 Analýza struktury a chemického složení tenkých vrstev pomocí SEM .....	41

3.3.3	Tribologické vlastnosti tenkých vrstev .....	43
3.3.4	Analýza biocidních vlastností tenkých vrstev .....	46
3.3.5	Analýza interakce tenkých vrstev s krevními buňkami .....	47
3.4	Analýza výzkumných cílů a předpokladů, hypotéz či výzkumných otázek ..	49
3.4.1	Hodnocení drsnosti povrchu tenkých vrstev .....	49
3.4.2	Hodnocení struktury a chemického složení tenkých vrstev .....	50
3.4.3	Hodnocení tribologických vlastností tenkých vrstev .....	50
3.4.4	Hodnocení biocidních vlastností tenkých vrstev.....	52
3.4.5	Hodnocení interakce tenkých vrstev s krví .....	53
<b>4</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>55</b>
<b>5</b>	<b>Návrh doporučení pro praxi.....</b>	<b>60</b>
<b>6</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>61</b>
	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>63</b>
	<b>Seznam tabulek .....</b>	<b>69</b>
	<b>Seznam obrázků.....</b>	<b>70</b>
	<b>Seznam grafů.....</b>	<b>72</b>
	<b>Seznam příloh.....</b>	<b>73</b>
	<b>Přílohy</b>	

## Seznam použitých zkratek a symbolů

°C	stupeň Celsia
μm	mikrometr; 1 μm = 0,000001 m (metru)
3D	trojdimenzionální/trojrozměrný
AFM	Atomic Force Microscopy (mikroskopie atomárních sil)
AISI	American Iron and Steel Institute (Americký institut pro železo a ocel)
aj.	a jiné
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	oxid hlinitý
apod.	a podobně
ASTM	American Society for Testing and Materials (Americká společnost pro testování a materiály)
cca	cirka (přibližně)
Cr	chrom
CrCN	karbonitrid chromu
CrN	nitrid chromu
CVD	Chemical Vapour Deposition (Chemická depozice z plynné fáze)
CXI	Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace
č. j.	číslo jednací
č.	číslo
ČSN	Československá státní norma
DC	Direct Current (stejnoseměrný proud)
DIN	Deutsche Industrie-Norm (německá národní norma)

E. coli	Escherichia coli
EDS	energievě disperzní spektroskopie
ESEM	environmentální skenovací elektronová mikroskopie
eV	elektronvolt; $1 \text{ eV} = 1,602 \ 176 \ 634 \times 10^{-19} \text{ J}$
$F_N$	přítláčná síla působící kolmo ke směru pohybu
FS	Fakulta strojní
$F_t$	třecí síla působící proti směru pohybu
FZS	Fakulta zdravotnických studií
$\text{g/cm}^3$	gram na centimetr krychlový
Gram-	gramnegativní
Gram+	grampozitivní
HV	Vickers Hardness Value (jednotka tvrdosti podle Vickerse)
KNL	Krajská nemocnice Liberec
m	metr
MCF	McFarland Unit (McFarlandův zákalový stupeň)
mj.	mimo jiné
ml	mililitr; $1 \text{ ml} = 0,001 \text{ l}$ (litru)
mm	milimetr; $1 \text{ mm} = 0,001 \text{ m}$ (metru)
N	newton
např.	například
Ni	nikl
nm	nanometry; $1 \text{ nm} = 0,000000001 \text{ m}$ (metru)
Obr.	obrázek

ot./min	otáček za minutu
Pa	pascal
PCA	Plate Count Agar (GTKA – glukóza, trypton, kvasničný extrakt, agar)
pH	Potential of Hydrogen (potenciál vodíku)
popř.	popřípadě
PVD	Physical Vapour Deposition (fyzická depozice z plynné fáze)
Ra	střední aritmetická výchylka
RF	Radio Frequency (radiová frekvence)
rpm	Revolutions per Minute (otáček za minutu)
S. aureus	Staphylococcus aureus
S <sub>a</sub>	průměrná aritmetická výška
SEM	Scanning Electron Microscope (Skenovací elektronová mikroskopie)
S <sub>p</sub>	maximální výška vrcholu
S <sub>v</sub>	maximální hloubka dna
S <sub>z</sub>	maximální výška
Tab.	Tabulka
Ti	titan
TiCN	karbonitrid titanu
TiCrC	karbid chromu titanu
TiCrCN	karbonitrid chromu titanu
TiCrN	nitrid chromu titanu
TiN	nitrid titanu
tj.	to je, to jest

TUL	Technická univerzita v Liberci
tzn.	to znamená
tzv.	takzvaný
UV	ultrafialové záření
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy (Rentgenová fotoelektronová spektroskopie)
ZrN	nitrid zirkonu
$\mu$	koeficient tření



# 1 Úvod

Protetické pomůcky využívané v biomedicině slouží jako náhrada poškozených částí lidského těla. Mezi nejčastěji využívané kovové materiály patří AISI 316-L nerezová austenitická ocel ČSN 10088-1 1.4404. Její cena je ve srovnání s jinými kovovými biomateriály nízká, má přijatelnou biokompatibilitu, příznivé mechanické vlastnosti a je odolná vůči korozi. Tato ocel se využívá jako materiál pro implantáty použitelné pro výrobu umělých kloubů, kostních desek, kardiovaskulárních a koronárních stentů, částí srdečních chlopní a také pro zubní implantáty a ortodontické dráty. Ve srovnání například s kostí je méně pružná a vzhledem ke své velké hustotě i o dost těžší. (1)

Další nevýhodou je, že prostředí lidského organismu je pro kov celkem agresivní a může začít docházet k poškození povrchu implantátu. Každý kovový element, který se uvolní, nemusí způsobovat problémy, ale prvky jako jsou např. nikl a chrom, které jsou v austenitické oceli značně obsaženy, mohou u pacienta vyvolat alergie nebo záněty, a to kvůli jejich toxickým účinkům. (2)

Biomateriály, které v dnešní době v medicíně používáme, nebyly původně vytvořeny pro medicínské účely. Většina z nich byla určena pro strojní průmysl. Příkladem je využití titanových slitin či karbonu v automobilovém průmyslu. Tyto sloučeniny se ukázaly být vhodným materiálem i pro využití uvnitř lidského těla, a to díky svým mechanickým a jiným vlastnostem, kdy lidské tělo materiál více či méně akceptuje. (2)

Avšak ve většině případů povrch materiálu kvůli svému chemickému složení a dalším aspektům není vhodný pro použití v biologickém prostředí, a tudíž je cílem povrch modifikovat, například nanesením tenké vrstvy. Aplikace tenkých vrstev má i další výhody: prodloužení funkčnosti, omezení negativní reakce pacienta (snížení toxicity), zvýšení odolnosti vůči korozi a opotřebení. (3)

## 2 Teoretická část

### 2.1 Tenké vrstvy

Označením tenká vrstva rozumíme vrstvu, která se pohybuje v rozmezí od několika desítek nanometrů až do řádu mikrometrů a je nanесena na základní materiál, který označujeme jako substrát. Tenké vrstvy mají široké využití, např. v elektrotechnickém průmyslu, ve strojírenství, v dekoraci a v biomedicině. V biomedicině je hlavní využití při pokrytí povrchu materiálů, jelikož v mnoha případech bývají samotné substráty pro tělo toxické, a proto potřebují být pokryty tenkou vrstvou, která není pro organismus škodlivá a zároveň zlepšuje mechanické vlastnosti materiálu a jeho životnost.

V rámci předkládané práce jsme vybrali vrstvy TiN, ZrN, TiCrC, TiCrN a TiCrCN. Odůvodnění výběru těchto vrstev jsme uvedli dále v textu.

#### 2.1.1 TiN

Tyto vrstvy se díky svým charakteristickým vlastnostem řadí mezi nejčastěji a nejdéle využívané. Jsou výhodné jak z ekonomického hlediska, tak i svými vlastnostmi, mezi které patří například to, že mají velmi vysokou odolnost proti opotřebení, vysokou tvrdost, nízký koeficient tření a zvyšují houževnatost nástroje. Vyznačují se také nízkou reakcí s kovovými materiály, odolností vůči korozi a vysokou biokompatibilitou, a z tohoto důvodu se s nimi můžeme setkat hlavně jako s povlaky na ortopedických implantátech, kloubních šroubech a kyčelních náhradách. Můžeme je nalézt v různých odstínech barvy od žluté až po hnědou. Děje se tak z důvodu obsahu dusíku, který je přítomný v zařízení během povlakování. (4)

#### 2.1.2 ZrN

Jedná se o vrstvy, které mají velmi podobné vlastnosti jako TiN, ale s tím rozdílem, že již nejsou tak ekonomicky výhodné. Jde o značně dražší povlak, který se díky své barvě využívá velmi často v dekorativním povlakování. Zatímco TiN je spíše barvou podobný

mosazi, tak ZrN je těžce rozeznatelný od barvy zlata. Jedná se o přibližně 30 % tvrdší povlak než TiN, vykazuje vyšší kluzné vlastnosti a za vyšších teplot má lepší chemickou a tepelnou stabilitu. Nástroje, které jsou povlakovány tenkou vrstvou ZrN, vydrží až o 1 000 % déle než nástroje nepovlakované a jejich adheze k podkladu je jedna z nejvyšších. Dále jsou materiály pokryty touto vrstvou velmi odolné proti opotřebení. Jedná se o variantu, která je žádoucí u pacientů, kteří trpí alergií na kovový materiál. (5)

### **2.1.3 TiCrC**

Povlaky z karbidu chromu jsou široce využívány v mechanickém průmyslu díky své odolnosti vůči korozi, mechanickým vlastnostem a relativně nízké ceně. Tento typ vrstev je velice odolný vůči oxidaci při vysokých teplotách. Využití je však omezené v důsledku jeho malé tvrdosti. V kombinaci s titanem, který má naopak tvrdost velmi vysokou, je tento problém vyřešen. Karbid chromu titanu má ale velmi nízkou tendenci k adhezi k povrchu. (6)

### **2.1.4 TiCrN**

Kombinace TiN a CrN způsobuje zvýšení tvrdosti materiálu, a z tohoto důvodu má vrstva velmi vysokou ošetrivost. Zbarvení této tenké vrstvy je do světle zlaté, a to z důvodu obsahu vnější povrchové vrstvy TiN. Jednou z výhod je, že se jedná o jednu z nejlevnějších modifikací substrátu na trhu, a tudíž je velice výhodná pro případy, kdy je nutné materiál pokrýt levně a zároveň tak, aby byl odolný vůči opotřebení. Kombinace je známá také pro svou dobrou odolnost proti korozi a oxidaci. Nástroje, na kterých jsou využity tyto povlaky, nalezneme většinou při chirurgické operaci a pro frézování za použití procesní kapaliny. (7)

### **2.1.5 TiCrCN**

Vrstvy s CrCN jsou známé především svým nízkým koeficientem tření a vysokou přilnavostí k povrchu. Dále má tato vrstva velmi vysokou lomovou houževnatost, což

znamená, že materiály pokryté takovou vrstvou jsou odolné proti zlomení v případě, že je v materiálu přítomna nějaká prasklina. Kombinací Ti s CrCN vzniká materiál odolný proti opotřebení. (8)

## 2.2 Metody povlakování

Cílem povrchové modifikace je zvýšení kvality používaného materiálu. Povrchové úpravy ovlivňují životnost materiálu, provozní spolehlivost, využitelnost a nároky na údržbu. Pokud není povrchová ochrana dostatečná, může znehodnotit i velmi dobrý materiál. Povrchová ochrana ovlivňuje nejen funkčnost výrobků, ale i jejich vzhled.

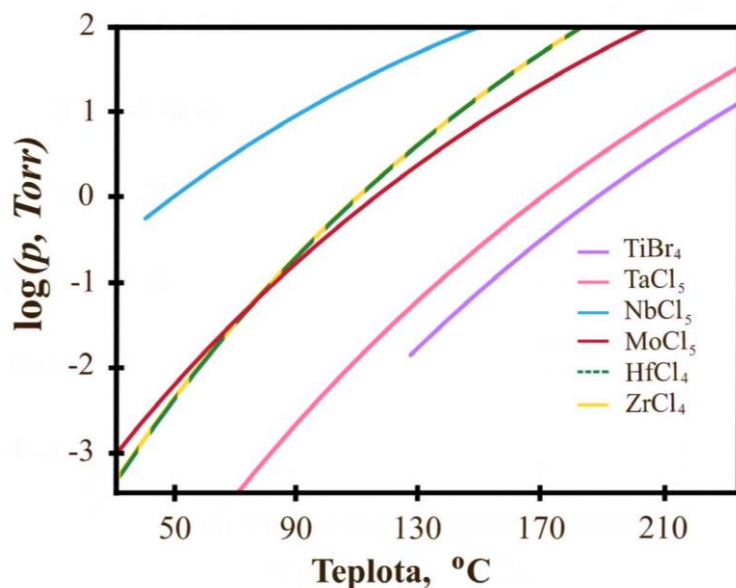
I když vzhledově narušená zařízení jsou ještě funkčně využitelná, tak klesá jejich prodejnost.

V České republice se aplikují povlaky na více než 600 milionů m<sup>2</sup> kovových povrchů ročně. Průměrná životnost aplikované vrstvy činí 6 let. (9)

Existuje celá řada metod povlakování. Jaká metoda povlakování bude využita, se rozhoduje podle požadovaných mechanických a fyzikálních vlastností materiálu. Mezi tyto vlastnosti patří například i korozní odolnost. K metodám povlakování řadíme například nastříkávání povrchové vrstvy, navařování, plátování, elektrolytické vylučování a další. Základními technologiemi povlakování tenkých tvrdých vrstev, které se využívají v biomedicině, jsou CVD a PVD metoda. (9)

Chemical Vapour Deposition (CVD) je metoda povlakování, kde se využívají chemické reakce k vytvoření vrstev. U této metody se využívají hlavně halogenidy přechodných kovů. Většinou se jedná o kapaliny s nízkou teplotou varu z důvodu využití ve vakuu ve formě páry. (10)

Křivky bodů varu některých halogenidů znázorňuje Obr. 1.



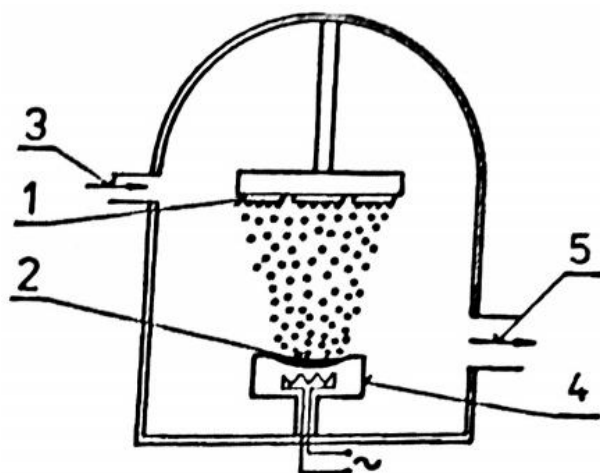
Obr. 1 Křivky bodů varu některých halogenidů  
(přeloženo a vybarveno z předlohy 10, s. 102)

Vznik vrstvy probíhá pomocí těkavých výchozích látek, které mezi sebou na povrchu materiálu, který chceme pokrýt, reagují. Proces probíhá za vysoké teploty, minimální teplota bývá kolem 750 °C, což bývá ve většině případů nevýhoda, jelikož mnoho technických materiálů za takovéto teploty začne přicházet o svou tvrdost a další mechanické vlastnosti nebo začne dokonce tát. Celý tento proces probíhá ve vzduchotěsném reaktoru. (10)

Physical Vapour Deposition (PVD) je častěji využívaná metoda povlakování, kde se využívají fyzikální děje k vytvoření vrstvy. Proces povlakování probíhá například formou napařování nebo napařování. (10)

Metoda napařování probíhá tak, že se materiál budoucí vrstvy (tzv. target) nejprve odpaří. Jedná se buď o var, nebo sublimaci, záleží, zda materiál byl v kapalně či pevné fázi. (9) Po odpaření, páry materiálu kondenzují na povrchu cílového povrchu (substrátu). Pro odpařování se využívá vysoké vakuum s cílem zrychlit vypařování a potlačit oxidaci. (10)

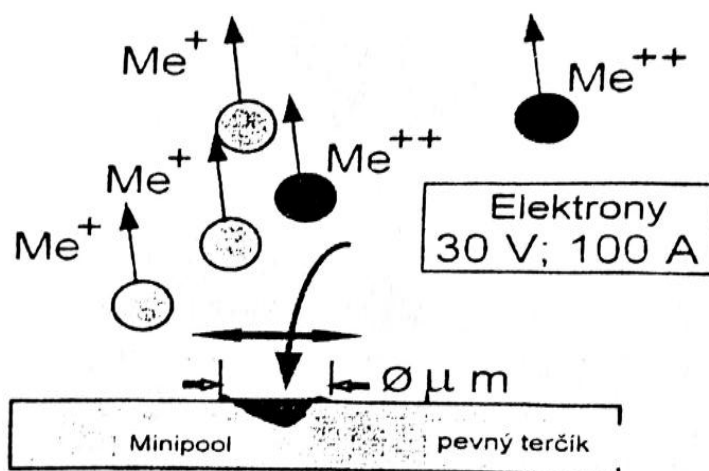
Princip metody napařování ve vakuu znázorňuje Obr. 2.



Obr. 2 Princip napařování ve vakuu / 1. napařované předměty, 2. vypařovaný kov, 3. neutrální plyn, 4. výparník, 5. napojení vakuového čerpadla (9, s. 137)

U metod napařování existuje několik způsobů přípravy. Nejjednodušší a nejčastěji využívaným způsobem je příprava elektrickým odporovým ohřevem. Při tomto způsobu napařování je materiál vložen do nádoby, tzv. lodičky. Tento způsob je aplikován za nízké teploty, a tak se jako zdroj tepla využívá například elektronové dělo (silný elektronový paprsek) či elektrický oblouk. (10) Princip napařování pomocí elektrického oblouku znázorňuje Obr. 3.

V předkládané bakalářské práci jsme použili metodu napařování, která se nazývá Arc PVD, což je obloukové odpařování. Díky obloukovému výboji je možné intenzivní vypařování materiálu katody. (9) Bohužel tato metoda může mít negativní dopad na vytvářený povlak, jelikož se na něm mohou vytvářet kapénky, které ovlivňují vlastnosti povlaku. (10)



Obr. 3 Princip napařování s nízkotlakým elektrickým obloukem, kde Me jsou ionty odpařovaného kovu (10, s. 104)

Forma naprašování je založena na principu, kde se z desky (target) pomocí elektrického výboje, který se vytváří ve vakuu, odpraší nanášený materiál. Nejčastěji se jedná o doutnavý výboj. (10)

Existuje mnoho metod naprašování, jejich přehled jsme znázornili v Tab. 1.

Tab. 1 Přehled fyzikálních metod naprašování (10, s. 138)

	<b>Napařování</b>	<b>Naprašování</b>
<b>Způsob získávání deponovaných částic</b>	odpařování terče: odporovým ohřevem elektronovým svazkem obloukovým výbojem laserem	rozprašování terče: DC výbojem RF výbojem
<b>Použitá atmosféra</b>	vakuum popř. reaktivní plyn	argon, xenon, popř. reaktivní plyn
<b>Pracovní tlak</b>	$10^{-3}$ Pa	0,1 až 10 Pa
<b>Transport částic</b>	přímá cesta na substrát s minimem srážek	rozptyl částic vlivem srážkového procesu
<b>Energie částic</b>	0,2 až 1,0 eV	0,1 až 100 eV
<b>Adheze</b>	dobrá (závislá na teplotě substrátu)	velmi dobrá
<b>Druh substrátu</b>	kovy, keramika, sklo	kovy, keramika, sklo, plasty
<b>Druh povlaku</b>	kovy, keramika, slitiny	kovy, keramika, slitiny, sloučeniny

### 2.3 Metody hodnocení tenkých vrstev

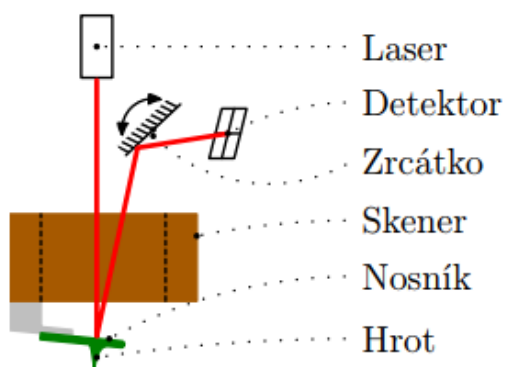
Metody hodnocení tenkých vrstev se odvíjejí od toho, co chceme na dané vrstvě sledovat. V této práci se zabýváme pouze nejzákladnějšími metodami hodnocení, mezi které patří chemické složení vrstvy, povrchová struktura a tribologické vlastnosti. Dále můžeme sledovat tvrdost, tloušťku, povrchové napětí a další charakterizace vrstvy.

### 2.3.1 Mikroskopické metody hodnocení

Pro určení chemického složení vrstvy využíváme skenovací elektronovou mikroskopii. Při sledování morfologie povrchu lze použít mikroskop atomárních sil či konfokální mikroskop.

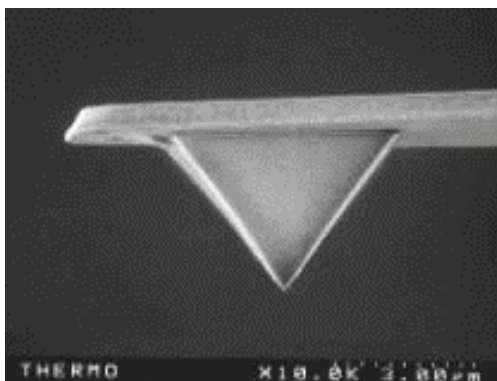
#### 2.3.1.1 Mikroskopie atomárních sil (AFM)

Zkratka AFM vychází z anglického názvu Atomic Force Microscopy. Tuto mikroskopickou metodu využíváme pro trojrozměrné zobrazení povrchu. Schéma metody znázorňuje Obr. 4 níže. Metoda funguje na principu skenování povrchu postupně bod po bodu pomocí ostrého hrotu, a z tohoto důvodu jsme schopni docílit velmi vysokého rozlišení. Hrot je umístěn na konci raménka (tzv. kantilévru), viz Obr. 5, který je dlouhý několik mikrometrů, jeho špička má průměr kolem 10 nm. Hrot i raménko jsou většinou zhotoveny ze stejného materiálu, ale disponují jinou funkcí. Hrot snímá atomární sílu a raménko umožňuje předávat informace o síle do okolí. Ohyb a odklon raménka je způsoben vzájemným působením mezi hrotem a povrchem vzorku. Raménko je ovlivněno působením několika druhů sil, mezi tyto síly patří van der Waalsova síla a odpudivá síla. (11) Závislost meziatomových sil na vzdálenosti hrotu od povrchu vzorku znázorňuje Obr. 6.

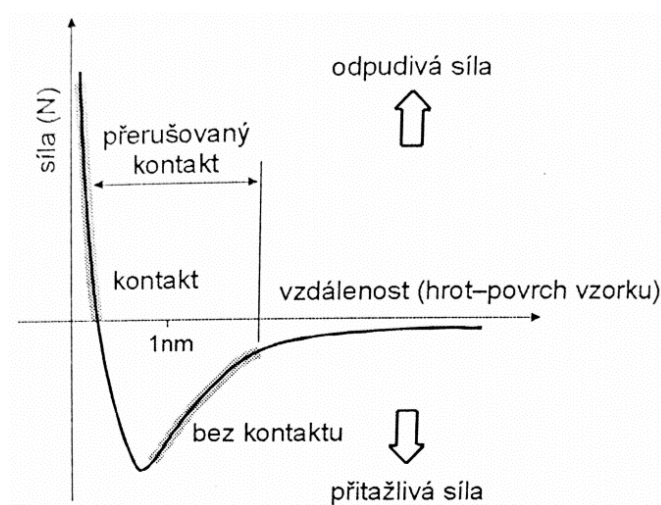


Obr. 4 Schéma AFM mikroskopie atomárních sil (12)





Obr. 5 Snímek raménka s hrotem při AFM mikroskopii (13)



Obr. 6 Závislost meziatomových sil na vzdálenosti hrotu od povrchu vzorku pro AFM mikroskopii (11)

Výhodou AFM mikroskopie je, že se vzorek nemusí nijak předem upravovat, lze s ním dokonce pracovat i v kapalném prostředí, což je výhodou při sledování biologických vzorků, které většinou bývají uchovávány například ve fyziologickém roztoku.

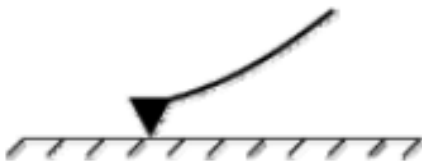
Samozřejmě má tato metoda i své nevýhody, mezi které patří například nízká rychlost snímání, vysoké riziko ulomení hrotu (tj. vyšší cena měření). Dále může hrot svojí velkou blízkostí u vzorku způsobit deformaci obrazu tím, že se může lehce znečistit nebo zachytit o vzorek.

Existuje několik režimů, které pro snímání povrchu můžeme použít:

a) Kontaktní režim (Obr. 7)

Při tomto režimu hrot lehce skenuje povrch vzorku a udržuje od vzorku vzdálenost menší než několik desetin nm. Mezi kantilévrem a vzorkem dochází ke vzájemnému silovému působení. Toto působení má dopad na ohnutí raménka s hrotem. Síla, ke které

dochází mezi hrotem a povrchem, je zde odpudivá. Díky tomu, že zde dochází k přímému kontaktu, tak je tento typ režimu značně vhodný pro zkoumání tvrdších materiálů. (11)

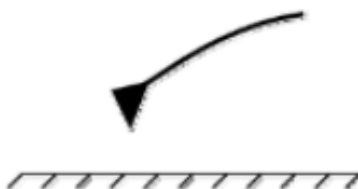


Obr. 7 Znárodnění kontaktního režimu pro AFM mikroskopii (14)

b) Bezkontaktní režim (Obr. 8)

Během tohoto typu režimu kmitá raménko s hrotem v těsné blízkosti sledovaného povrchu. Hrot je vzdálen od vzorku řádově v jednotkách až desítkách nm. Síla, která působí mezi atomy vzorku a hrotu, je přitažlivá. Jedná se o sílu velikosti přibližně  $10^{-12}$  N. (15)

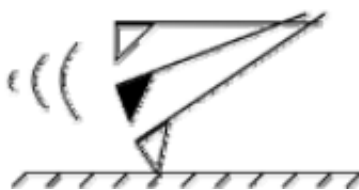
Vzhledem k takto malé velikosti síly je nekontaktní režim vhodný pro měření měkkých a elastických testovaných materiálů. Může však zobrazovat i drsnější vzorky, ale v tomto případě bude měření probíhat výrazně pomaleji. Příznivé je, že zde nenastane znečištění či poškození povrchu studované látky. Nevýhodou je, že s použitím tohoto režimu nelze dosáhnout tak velkého rozlišení, a to z důvodu, že se na vzájemném působení podílí vyšší počet atomů. (11)



Obr. 8 Znárodnění bezkontaktního režimu pro AFM mikroskopii (14)

c) Poklepový režim (Obr. 9)

Jedná se o propojení kontaktního a bezkontaktního režimu. Tento typ se velice podobá nekontaktnímu režimu, ale s tím rozdílem, že je zde mnohem větší kmit, a tím pádem dochází k občasnému dotyku kantilévru a vzorku. Tento režim je výhodnější než kontaktní režim z důvodu, kdyby hrozilo poškození povrchu vzorku přílišným třením, a zároveň je výhodnější než režim nekontaktní v případě, kde je nutné snímat větší plochu. Nevýhodou tohoto režimu je, že hrot nelze udržet ve střední vzdálenosti nad povrchem a stále přeskakuje. Z tohoto důvodu rozlišení není tak kvalitní. (11)



Obr. 9 Znázornění pokleповého režimu pro AFM mikroskopii (14)

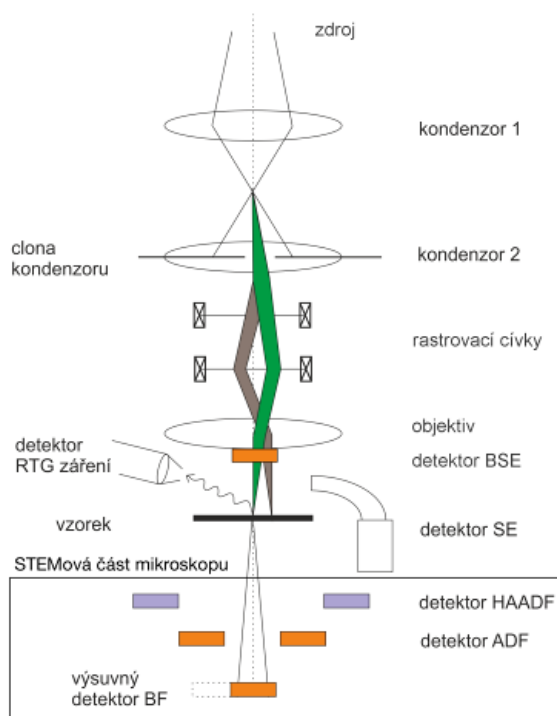
### 2.3.1.2 Skenovací elektronový mikroskop (SEM)

Díky rastrovací elektronové mikroskopii jsme schopni pozorovat a charakterizovat testovaný materiál z hlediska jeho morfologie povrchu, strukturní organizace a chemického složení. Výsledkem bývá dvourozměrný obraz, kde vše můžeme vidět velmi detailně díky velké hloubce ostrosti, kterou tento typ mikroskopu disponuje. Obraz se zde vytváří postupně skenováním povrchu pomocí svazku elektronů, které dopadají na všechna místa vzorku postupně; odražený paprsek se posléze převede na viditelný obraz. (16) Princip rastrovací elektronové mikroskopie znázorňuje Obr. 10.

V konstrukci SEM mikroskopu se nacházejí nad vzorkem čočky, které soustředí elektronový svazek do úzkého místa na preparátu. Komora, kam se testovací vzorek vkládá, je ale větší, jelikož jsou kolem vzorku umístěny detektory. Tato komora je odvětrávaná, jelikož elektrony mohou cestovat vzduchem pouze na malou vzdálenost. U rastrovací mikroskopie rozlišujeme čtyři skupiny elektronů, které opouštějí povrch vzorku: zpětně odražené elektrony, které udávají informace o charakteru povrchu materiálu a o složení. Jejich rozlišovací schopnost činí 50–200 nm. Sekundární elektrony, které udávají informace především o topografii povrchu. Rozlišovací schopnost činí 5–15 nm. Dále Augerovy elektrony, které jsou vyráženy ze vzorku, a pomocí údajů o jejich energii lze učinit kvalitativní analýzu, kterou jinak nazýváme prvková analýza, a jako poslední elektrony primární, jejichž proud projde elektronovou čočkou a poté se vytvoří obraz. (16)

U tohoto typu mikroskopu není nutné, aby byl vzorek průhledný; pro elektrony je potřeba pouze vzorek, který je elektricky vodivý. Z tohoto důvodu u kovů stačí pouze vzorky řádně očistit, aby obraz nebyl zkreslený, a u nevodivých nebo biologických vzorků je nutné na vzorek nanést vrstvu vodivého materiálu (nejčastěji se používá napařování zlatem). Dále je také možnost přepnutí na speciální mód zvaný ESEM

(environmentální SEM), kdy se komora pomalu napouští plynem, který napomáhá vybíjení náboje. (17)



Obr. 10 Princip rastrovací elektronové mikroskopie (18, s. 13)

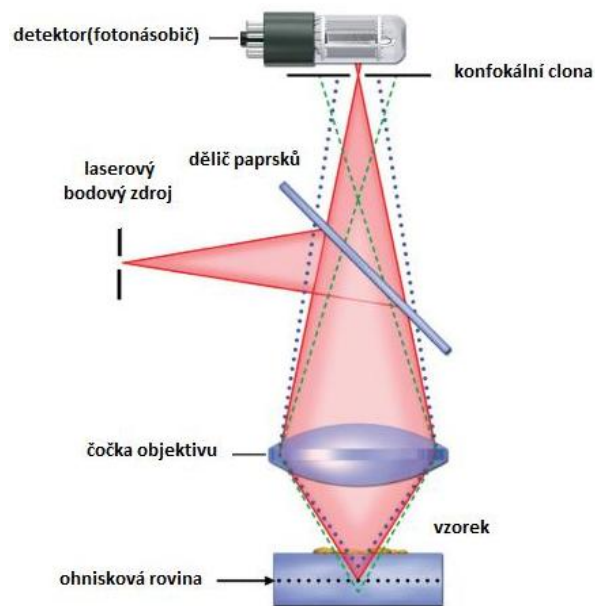
### 2.3.1.3 Konfokální mikroskopie

Mezi hlavní výhody konfokální mikroskopie patří možnost konstrukce 3D obrazů, vysoké rozlišení a vysoká hloubka ostrosti, která nám umožňuje pozorování i na těch nejdrušnějších površích. (15)

Princip konfokální mikroskopie spočívá v odstranění nežádoucího rozptýleného světla mimo zaostření a zvýšení kontrastu oblasti, která je zaostřena objektem. (15) Vyššího kontrastu je dosaženo tím, že konfokální mikroskopie místo UV záření využívá laserový paprsek, což umožňuje i provedení optických řezů, díky kterým pak pomocí softwaru můžeme převést skenovaný obraz do trojrozměrné podoby. (19)

Konfokální mikroskop se skládá z fluorescenčního mikroobalu, několika laserových světelných zdrojů, konfokální skenovací hlavy s optickým a elektronickým zařízením a počítače, který obsahuje software pro zpracování a analýzu obrazu. Skenovací hlava obsahuje následující aparáty: vstupy z jednoho nebo více externích zdrojů laserového světla, sadu fluorescenčních filtrů, mechanismus rastrového skenování založený

na galvanometru, jeden nebo více otvorů s proměnnou dírkou pro generování konfokálního obrazu a detektory fotonásobičů pro různé fluorescenční vlnové délky, viz Obr. 11. (19)



Obr. 11 Princip konfokální mikroskopie (přeloženo do českého jazyka) (19, s. 270)

### 2.3.2 Metody hodnocení mechanických vlastností

Mezi metody hodnocení mechanických vlastností tenkých vrstev patří zkouška tribologie, které se v této práci věnujeme, ale dále sem také patří například kalotest, který určuje tloušťku tenké vrstvy, a zkouška tvrdosti tenké vrstvy.

#### 2.3.2.1 Tribologie (třecí vlastnosti)

Tribologie se zabývá zkoumáním dvou materiálů, které jsou ve vzájemném kontaktu při pohybu. Oba materiály na sebe působí a vytváří mezi sebou tření a následné opotřebení. (20) Tribometr pro měření třecích charakteristik (Obr. 12) mazaných a nemazaných kontaktů v širokém rozsahu otáček a zatížení nám umožňuje seznámit se s problematikou třecí dvojice a míry opotřebení při kontaktu dvou materiálů při tření na sucho nebo s lubrikantem. Přístroj umožňuje měření dle norem ASTM G99, ASTM G133 a DIN 50324. (21)



Obr. 12 Tribometr pro suché i kapalné prostředí (zdroj vlastní)

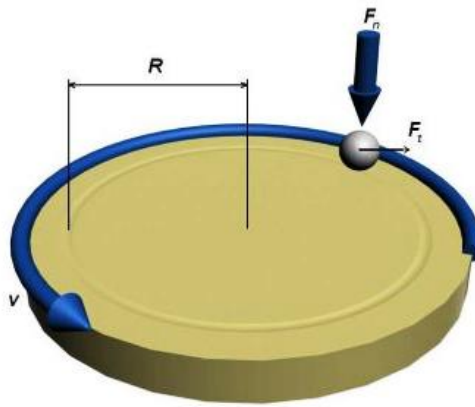
Tribologický systém pro testování kluzných vlastností lze efektivně využít při testování železných a neželezných kovů, polymerů, keramiky, papíru, kompozitu, tenkých a tlustých povlaků, jakož i pevných maziv, mazacích kapalin, olejů a tuhých maziv. K dispozici jsou tribologické testovací režimy *Pin-on-Disc*, *Ball-on-Disc* a *Lineární vratný tribologický test*. (21)

Pro experimenty se nejčastěji používá metoda *Ball-on-Disc* (Obr. 13), kde  $F_t$  značí třecí sílu působící proti směru pohybu,  $F_n$  je přítláčná síla působící kolmo ke směru pohybu,  $R$  značí poloměr stopy opotřebení,  $v$  značí směr pohybu. Principem zkoušky je vtlačování pevně uchyceného tělíska (kuličky) s definovaným zatížením do zkušebního vzorku (disku). Vzorek se přitom otáčí předem stanovenými otáčkami a vykonává předem stanovený počet rotačních cyklů nebo jede určitou délkou dráhy.

Zařízení je opatřeno citlivým senzorem polohy, ke kterému je uchycen držák s vloženým tělískem (pin nebo kulička). Koeficient tření mezi tělískem a diskem je vyhodnocován z měření působících sil. (21)

Tribologickou zkouškou můžeme hodnotit:

- průběh koeficientu tření v závislosti na počtu cyklů,
- velikost a charakter opotřebení tělíska,
- velikost a charakter vytvořené tribologické stopy na vzorku.



Obr. 13 Princip metody *Ball-on-Disc* (22)

Tření je definováno jako odpor proti vzájemnému pohybu dvou těles v oblasti jejich styku. Třecí síla  $F_t$  závisí na koeficientu tření  $\mu$  a zátěžné síle  $F_N$ . Základní vztah mezi jednotlivými veličinami je dán rovnicí:

$$\mu = \frac{F_t}{F_N} \quad \text{Rovnice 1 (20)}$$

kde:  $F_t$  [N] – je třecí síla působící proti směru pohybu,

$F_N$  [N] – je přítláčná síla působící kolmo ke směru pohybu,

$\mu$  – je koeficient tření.

V medicíně je využití tribologie velice důležité především z důvodu hodnocení interakce a hodnocení životnosti biomateriálu. Cílem testování je snížení častého nahrazování implantátů, a tudíž i vyšší kvalita života pacienta. Tribologické testy nám říkají, k jakému tření a opotřebení dochází mezi dvěma povrchy. Toto je důležité především u kloubních implantátů, kde dochází k velkému tření a opotřebení kloubních povrchů, hodnotit můžeme také vliv přítomnosti synoviální tekutiny (množství, složení apod.) v kloubu. (23)

### 2.3.3 Hodnocení biologické kompatibility a hemokompatibility

Biokompatibilita je schopnost materiálu snést biologické prostředí (jako například okolí tkání pacienta apod.). Materiál dle odpovědi organismu klasifikujeme jako toxický, bioinertní, bioaktivní nebo bioresorbovatelný. (24) Jako toxický materiál označujeme takový, který způsobuje smrt nebo poškození okolní tkáně.

Bioinertní materiál znamená, že je materiál netoxický a biologicky neaktivní. Materiály bioaktivní jsou takové, které jsou sice netoxické, ale biologicky aktivní a mezi materiálem a hostitelskou tkání vznikají mezifázové vazby. Jako bioresorbovatelné označujeme materiály, které jsou netoxické, ale zcela vstřebatelné a nahrazeny hostitelskou tkání. Biokompatibilní materiál nesmí být toxický, karcinogenní a neměl by vyvolávat alergie. (25)

Existuje mnoho testů biologické kompatibility. Patří sem například sledování antibakteriálních vlastností povrchu materiálu. Mezi nejjednodušší testy patří test biocidity pomocí modifikovaného Kirby-Bauerova testu, kde antibakteriální vlastnost vzorků určujeme pomocí měření „halo“ zón. Hemokompatibilita je specifický druh biokompatibility, který je nezbytné sledovat u materiálu, který bude v kontaktu s krví. Materiál, který není hemokompatibilní může způsobovat krevní sraženiny a hemolýzu (rozpad červených krvinek). Materiál, u kterého je prokázáno, že je biokompatibilní, nemusí být hemokompatibilní, jelikož složky v krvi a procesy, které v ní probíhají, jsou natolik odlišné od ostatních procesů v jiných tkáních, že se tento problém řeší samostatně. (26) Pokud chceme prokázat hemokompatibilitu vzorku, tak nejčastěji využíváme testy hemolýzy.

Testy jsou hodnoceny buď výluhem z materiálu (dále hodnoceny spektrofotometricky), nebo testy krevní srážlivosti, kde vystavíme vzorek do kontaktu s celým krevním sérem a sledujeme krevní destičky. Vždy vzorky vyhodnocujeme a porovnáváme s materiály, u kterých víme, že hemolýzu nezpůsobují. Testy mohou být prováděny i kontaktním postupem, kdy buňky vystavíme přímo působení sledovaného materiálu. (27)



## **3 Výzkumná část**

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

Cílem práce je navrhnout metody a postupy pro studium parametrů a vlastností tenkých vrstev. Provedeme charakterizaci povrchu tenkých vrstev, kde stanovíme drsnost, složení a strukturu vrstev. Navrhne metody pro hodnocení interakce povrchu s biologickým prostředím a bakteriálními buňkami.

K těmto experimentům jsme si vybrali jako biologické prostředí krev a bakteriální buňky kmene *Escherichia coli*. Dále experimentálně ověříme stabilitu tenkých vrstev v různém biologickém prostředí za vlivu pH a teploty. Ke konci práce posoudíme a stanovíme shody a rozdílnosti dosažených výsledků s odbornou literaturou.

Předpokladem je, že různé typy tenkých vrstev budou mít jiné fyzikálně-chemické vlastnosti a tyto vlastnosti budou silně ovlivňovat interakci s biologickým prostředím. Dále také, že nalezneme podmínky (typ vrstvy), které povedou ke snížení bakteriální adheze k povrchu, čehož následkem je eliminace vzniku zánětu nebo vyloučení negativní reakce těla na cizí těleso (implantát).

### **3.2 Metodika výzkumu**








Výzkum jsme realizovali na různých pracovištích. Využili jsme laboratoř mikroskopie a tribologie na Katedře materiálu FS Technické univerzity v Liberci, Laboratoř biologie a molekulární biologie CxI TU v Liberci a také laboratoře FZS TU v Liberci, a to v době mezi listopadem 2019 a zářím 2020.

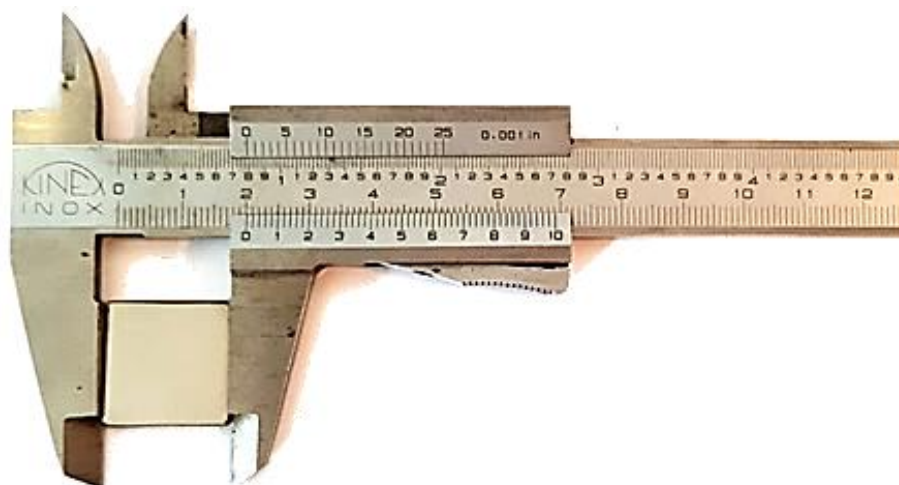
#### **3.2.1 Popis studovaných vzorků**

V rámci této bakalářské práce zkoumáme 6 různých vrstev nanesených na austenitickou chirurgickou ocel AISI 316 L. Tenké vrstvy byly nanесeny na podklad pomocí metody Arc PVD (Cathodic Arc Deposition), která využívá obloukové odpařování.

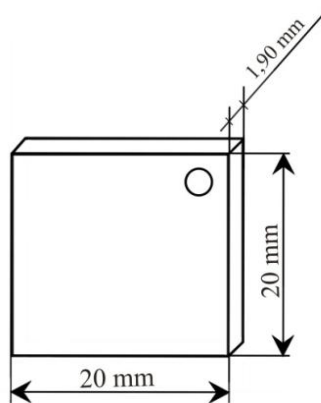
Pro porovnání jsme u některých experimentů testovali i vzorek samotné austenitické oceli. Fotodokumentace jednotlivých vzorků je zaznamenána v Tab. 2.

Tab. 2 Fotodokumentace jednotlivých vzorků tenkých vrstev

<b>AISI 316L</b>		
		
<b>TiN</b>	<b>ZrN</b>	<b>TiCrC</b>
		
<b>TiCrN</b>	<b>TiCrCN_20</b>	<b>TiCrCN_50</b>
		



Obr. 14 Měření parametrů AISI 316 L pomocí posuvného měřítka – ostatní vrstvy mají stejné rozměry (zdroj vlastní)



Obr. 15 Schéma s parametry vzorků  
(zdroj vlastní)

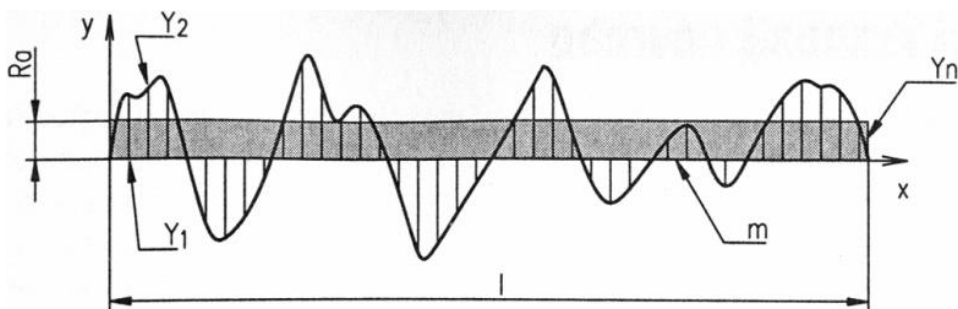
### 3.2.2 Hodnocení drsnosti povrchu tenkých vrstev

Struktura povrchu a jeho kvalita má značný vliv na délku životnosti a spolehlivosti materiálu. Součástí struktury povrchu je drsnost povrchu, která vzniká při výrobě materiálu. K drsnosti povrchu se váže odolnost povrchu vůči opotřebení, korozi a tření, které vzniká při kontaktu povrchu s okolním prostředím.

K vyhodnocení drsnosti povrchu tenkých vrstev jsme využili dvou metod – konfokální mikroskopie a mikroskopie atomárních sil. Toto bylo učiněno s cílem porovnání dosažených výsledků hodnocení drsnosti povrchu tenkých vrstev. U mikroskopie atomárních sil jsme použili metodu dotykovou, zatímco u konfokální mikroskopie jsme použili metodu bezkontaktní.

#### a) Konfokální mikroskopie

U měření na konfokálním mikroskopu SENSOFAR S Neox jsme mohli sledovat hned několik důležitých parametrů. Nejznámější metodou hodnocení drsnosti povrchu je střední aritmetická výchylka  $Ra$ . Princip výpočtu je znázorněn na Obr. 15 a v rovnici 2. S vývojem měřících technik nyní můžeme charakterizovat i trojrozměrný povrch pomocí speciálně navržených parametrů (Tab. 3), které vykazují detailnější povrchovou charakterizaci. Plošné parametry drsnosti povrchu (Obr. 16) jsme definovali dle normy ČSN EN ISO 25178.



Obr. 16 Princip výpočtu drsnosti povrchu (28)

$$R_a = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i| = \frac{|y_1| + |y_2| + |y_3| + \dots + |y_{n1}|}{n} \quad \text{Rovnice 2 (28)}$$

Tab. 3 3D parametry povrchové struktury

<b>S<sub>a</sub> [μm]</b>	průměrná aritmetická výška (průměrná drsnost povrchu)
<b>S<sub>q</sub> [μm]</b>	průměrná kvadratická výška povrchu (standardní odchylka rozdělení výšek nebo RMS drsnost povrchu)
<b>S<sub>sk</sub> [-]</b>	šikmost rozdělení výšek (3. statistický moment, posuzuje symetrii křivky rozdělení výšek)
<b>S<sub>ku</sub> [-]</b>	špičatost (4. statistický moment, posuzuje plochost křivky rozdělení výšek)
<b>S<sub>p</sub> [μm]</b>	maximální výška vrcholu (výška mezi střední rovinou a nejvyšším výstupkem)
<b>S<sub>v</sub> [μm]</b>	maximální hloubka dna (výška mezi nejnižší prohlubní a střední rovinou)
<b>S<sub>z</sub> [μm]</b>	maximální výška (výška mezi nejnižší prohlubní a nejvyšším výstupkem)

V práci se zabýváme pouze dvěma parametry – průměrnou aritmetickou výškou  $S_a$  a maximální výškou  $S_z$ .

#### Aritmetický průměr výšky pozorovaného povrchu $S_a$

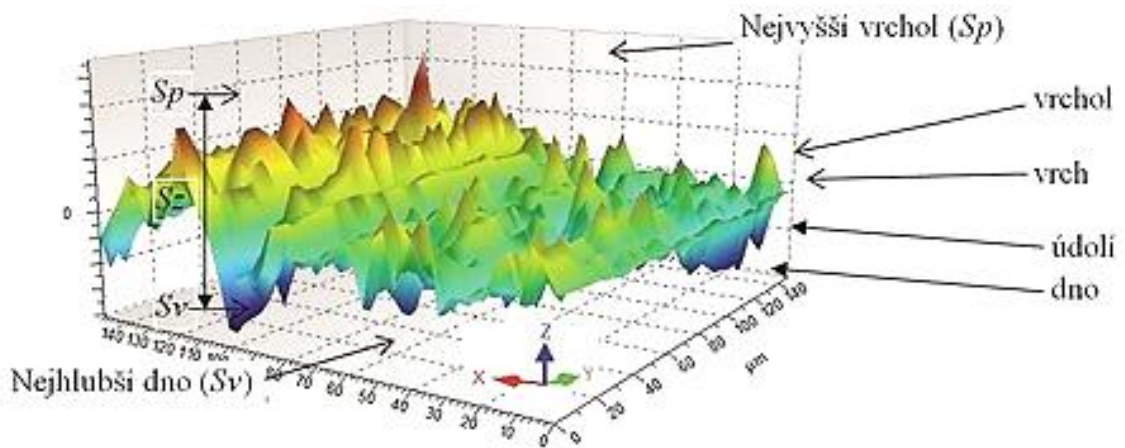
Jedná se o aritmetický průměr ordinálních dat v absolutní hodnotě předem definované oblasti A. Je dána vztahem:

$$\frac{1}{A} \iint_A |z(x, y)| dx dy \quad \text{Rovnice 3 (29)}$$

#### Maximální výška pozorovaného povrchu $S_z$

Je definovaná jako součet maximální hodnoty výšky vrcholu  $S_p$  a maximální hodnoty hloubky dna uvnitř předem definované plochy  $S_v$ . (27)

$$S_z = S_p + S_v \quad \text{Rovnice 4 (29)}$$



Obr. 17 Schéma výškových parametrů povrchové textury (30)

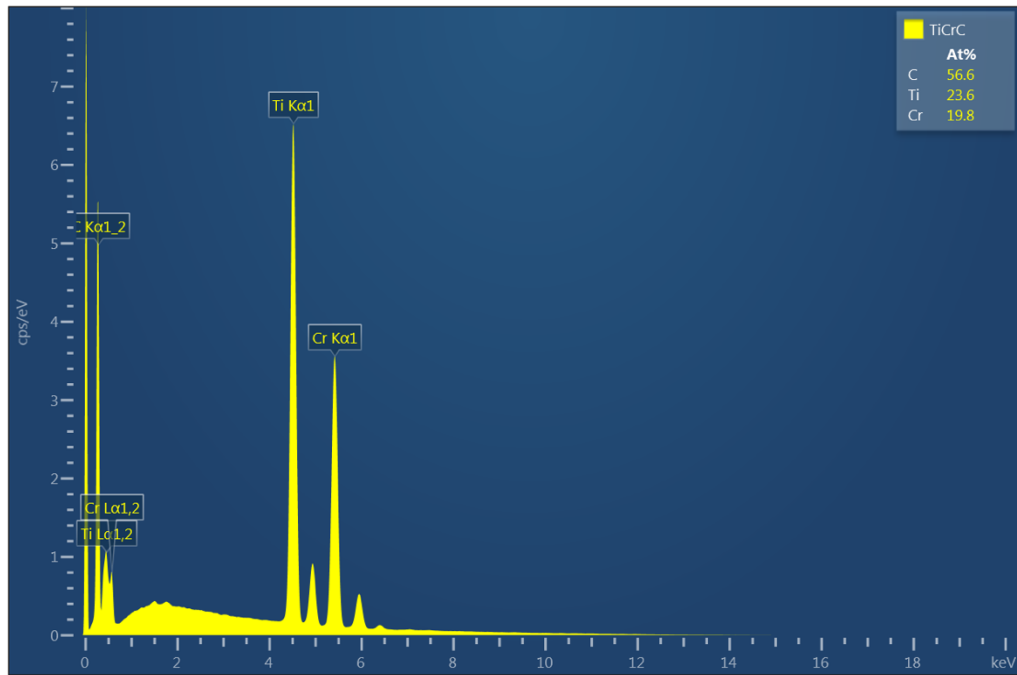
K měření drsnosti povrchu jsme použili objektiv se zvětšením 20×. Měření probíhalo na pěti místech povrchu vzorku. Výsledky z měření jsou uvedeny v tabulkách v příloze A.

#### b) Mikroskopie atomárních sil

Při měření drsnosti povrchu na mikroskopu atomárních sil jsme použili přístroj JPK Nanowizard 3. Velikost skenované plochy na povrchu vzorků byla  $10 \times 10 \mu\text{m}$ . Hodnocení probíhalo v tzv. kontaktním režimu. Naměřená data jsme zpracovali v softwaru Gwyddion 2.50, kde jsme vytvořili 3D model povrchu zkoumaných vzorků.

### 3.2.3 Hodnocení chemického složení tenkých vrstev

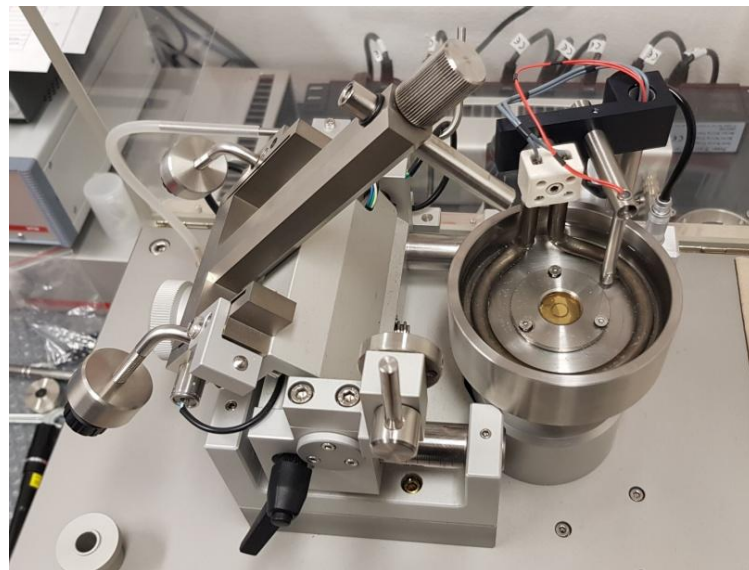
Hodnocení chemického složení tenkých vrstev jsme provedli pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu Carl Zeiss ULTRA Plus s využitím plošné EDS analýzy (Obr. 18), který má v sobě zavedený mikroanalytický systém Oxford. K zobrazení jsme využili sekundární elektrony. Zvolili jsme různá zvětšení při urychlovacím napětí 5 kV.



Obr. 18 Energiově-disperzní spektrum chemického složení vzorku TiCrC pomocí SEM

### 3.2.4 Hodnocení tribologických vlastností tenkých vrstev

Hodnocení tribologických vlastností vrstev jsme provedli pomocí tribometru TRB3 pro suché i kapalně prostředí značky Anton PAAR za použití fyziologického roztoku, který jsme nalili do vaničky přístroje (Obr. 19).



Obr. 19 Znárodnění upevnění třecí dvojice (tenká vrstva a kulička z materiálu  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) a měřicího přístroje

Kapalinou, kterou jsme do přístroje použili, byl fyziologický roztok, je to z důvodu přiblížení se prostředí lidského těla. Teplotu fyziologického roztoku jsme nastavili na 37 °C pro simulaci obvyklé tělesné teploty.

Během testu jsme teplotu udržovali konstantní. V průběhu experimentu jsme použili zatížení 10 N. Rychlost otáčení vzorku, který jsme upevnili v držáku, činila 60 rpm (otáček za minutu), délka ujeté dráhy byla 100 m.

Kulička (protitěleso), kterou jsme při experimentu použili, byla z keramického materiálu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  o poloměru 6 mm (tvrdość: < 1 500 (HV10), teplotní odolnost: < 1 900 °C, měrná hmotnost: 3,860 g/cm<sup>3</sup>).

Po ukončení experimentu jsme pomocí konfokálního mikroskopu SENSOFAR S Neox zkoumali míru opotřebení povrchu vrstvy testovaného vzorku a povrchu kuličky (protitělesa).

### 3.2.5 Testy biologické interakce

Pro stanovení biocidity vzorků jsme použili metodu modifikovaného Kirby-Bauerova testu, kde se antibakteriální vlastnost vzorků určuje pomocí měření „halo“ zón, které se po 24 hodinách kontaktu bakterií s povrchem vytvoří v těsné blízkosti testovaného vzorku. Pokud vzorek vykazuje antibakteriální vlastnosti, pak je šířka „halo“ zóny výraznější. „Halo“ zóna je vzdálenost (udávaná například v mm) od hranice vzorku až do místa prvního růstu bakterií (na agarovém podkladu v Petriho misce). Větší vzdálenost vzorku od prvního růstu bakterií (vyšší hodnota „halo“ zóny) odpovídá významnějším antibakteriálním účinkům.

Výsledek tak není jednoznačně kvantitativní, ale spíše kvalitativní, a má smysl ve srovnávacích experimentech (porovnání s kontrolním vzorkem).

Pro experimentální činnost jsme zvolili bakteriální kmen *Escherichia coli*. Tento bakteriální kmen je nejčastěji používaným, a tedy i nejvíce probádaným mikroorganismem současné doby, výsledky získané v rámci této práce bude jednoduché srovnat s výsledky ostatních autorů. Tento kmen jsme také vybrali z důvodu jeho přirozeného výskytu v lidském organismu, není silně patogenní a je nenáročný na podmínky kultivace. Agarové plotny jsme připravili vylitím sterilního PCA agaru

(plate count agar), jenž jsme připravili dle návodu (6,3 g PCA v 300 ml destilované vody) do plastové Petriho misky (průměr 90 mm). Sterilizace PCA agaru proběhla v autoklávu při teplotě 121 °C, tlaku cca 210 kPa, po dobu 10 minut.

V den inokulace jsme z agarové plotny (připravena dříve) stírali bakterie do fyziologického roztoku pomocí mikrobiologické kličky, kterou jsme předem opálili plamenem pro dosažení sterilizace nástroje. Požadovaný zákal média s bakteriemi byl 0,8 MCF, což jsme vyhodnotili pomocí spektrofotometru Densi La Meter II. Po dosažení požadované koncentrace jsme bakterie pomocí mikrobiologické kličky rozetřeli na sterilní agarové plotny. Poté jsme do jednotlivých misek položili námi testované vzorky, které jsme předem sterilizovali v UV sterilizační kabině Clean view box od firmy Cleaner Scientific. Každý vzorek jsme sterilizovali po dobu 5 minut z obou stran. Následně jsme naočkované agarové plotny se vzorky umístili do termostatu při teplotě 37 °C. Po 24 hodinách inkubace jsme vzorky vyjmuli z termostatu, nafotili a určili jsme „halo“ zóny. Celé měření jsme provedli v duplikátu.

### **3.2.6 Testy hemokompatibility**

Při testování hemokompatibility jsme použili dohromady 8 vzorků. Vzorky, na kterých jsou nanesené testované tenké vrstvy, ocel AISI 316 L (detaily jsme popsali výše) a standardní podložní myté mikroskopické sklíčko (sodnodraselné sklo).

Podložní sklíčko jsme použili pouze v tomto testu, a to jako kontrolní vzorek (k porovnání účinků tenkých vrstev), jelikož sklo je inertní a biologicky neaktivní materiál, u něhož nepředpokládáme žádnou reakci s krevními buňkami. Pro test jsme použili reálnou lidskou krev (poskytl anonymní dobrovolný dárce). Osoba byla ženského pohlaví, neužívá žádné léky, které by vedly k hemokoagulaci či měly jiný vliv na krev, je nekuřačka a netrpí žádnou nemocí, pro kterou by byla sledována. Krev jsme aplikovali na povrch jednotlivých vzorků, kde jsme ji rozetřeli tak, aby se vytvořila tenká vrstva buněk na povrchu. Cílem bylo vytvoření mono-vrstvy tak, aby se buňky vzájemně nepřekrývaly, jelikož pak by nebylo možné sledovat vliv přímého kontaktu buňky s povrchem. Krevní buňky jsme zafixovali přirozeně (při 25 °C po dobu 10 minut). Po fixaci jsme vzorky sledovali na konfokálním mikroskopu při zvětšení 150×. Na mikroskopu jsme sledovali interakci krevních buněk a jednotlivých vzorků.



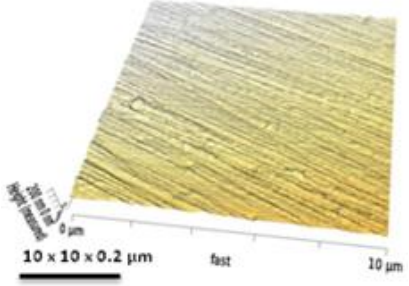
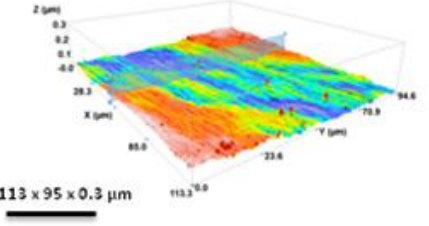
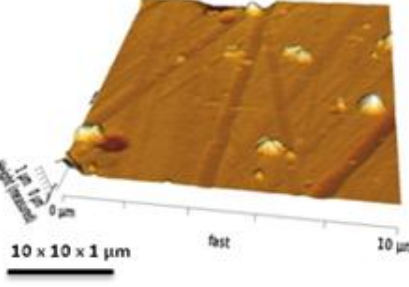
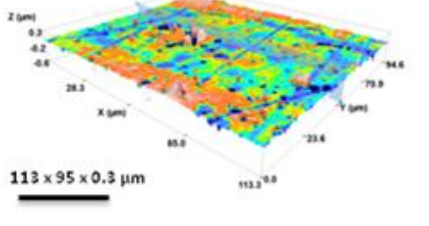
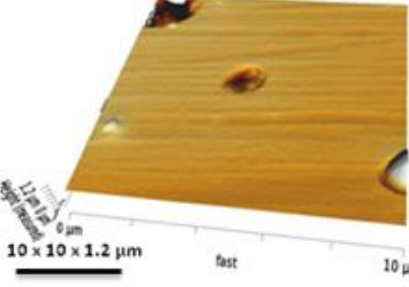
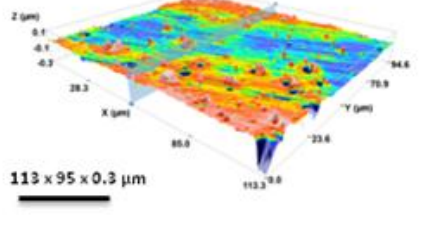
### 3.3 Analýza výzkumných dat

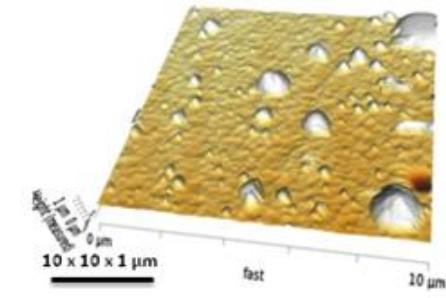
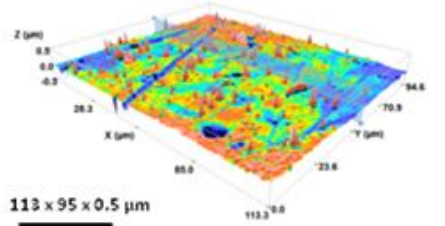
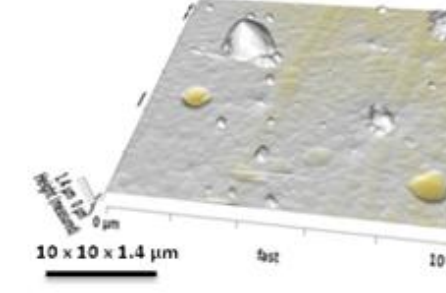
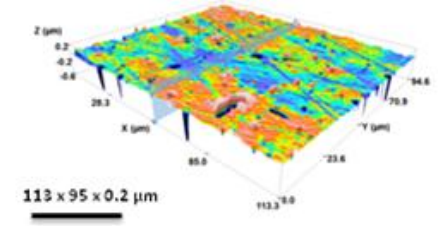
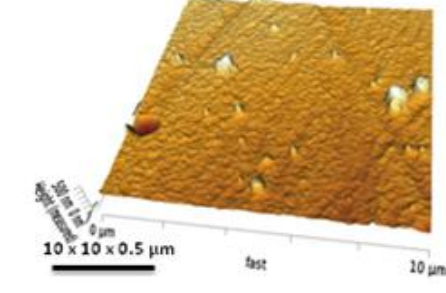
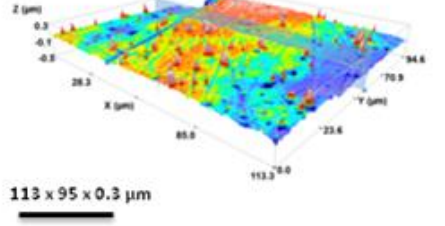
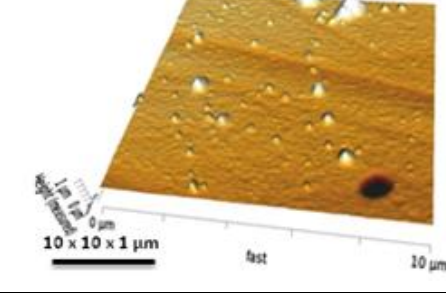
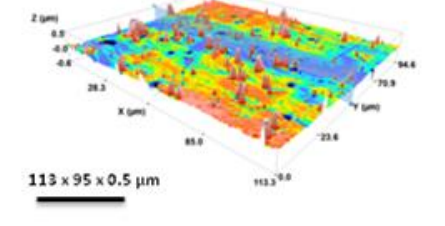
V této podkapitole předkládáme výsledky výzkumného šetření, jejichž prezentace je podpořena fotografiemi, které jsme pořídili během experimentu, fotografiemi z mikroskopu a zpracováním dat do tabulek a grafů.

#### 3.3.1 Analýza drsnosti povrchu tenkých vrstev

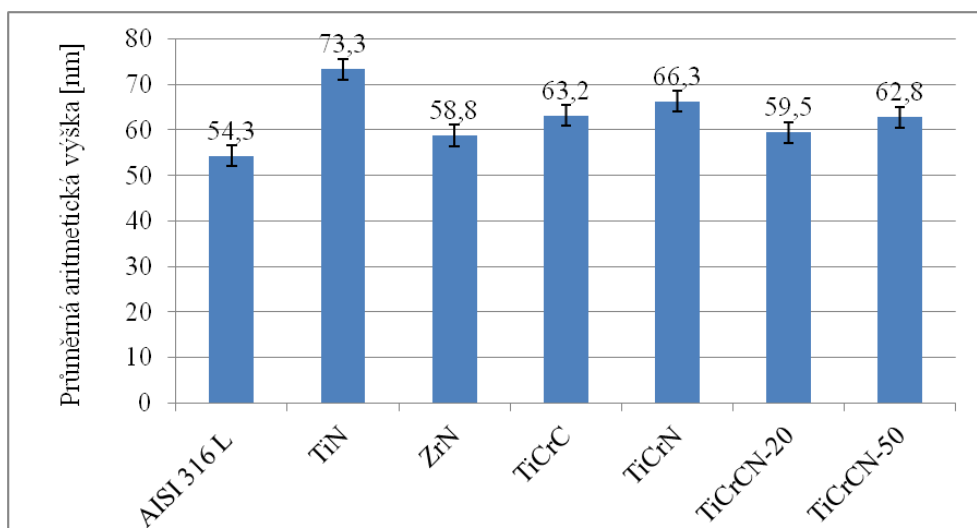
V průběhu měření jsme porovnali dvě metody hodnocení morfologie povrchu – AFM a konfokální mikroskopie, viz Tab. 4.

Tab. 4 Mikroskopická pozorování povrchů vzorků

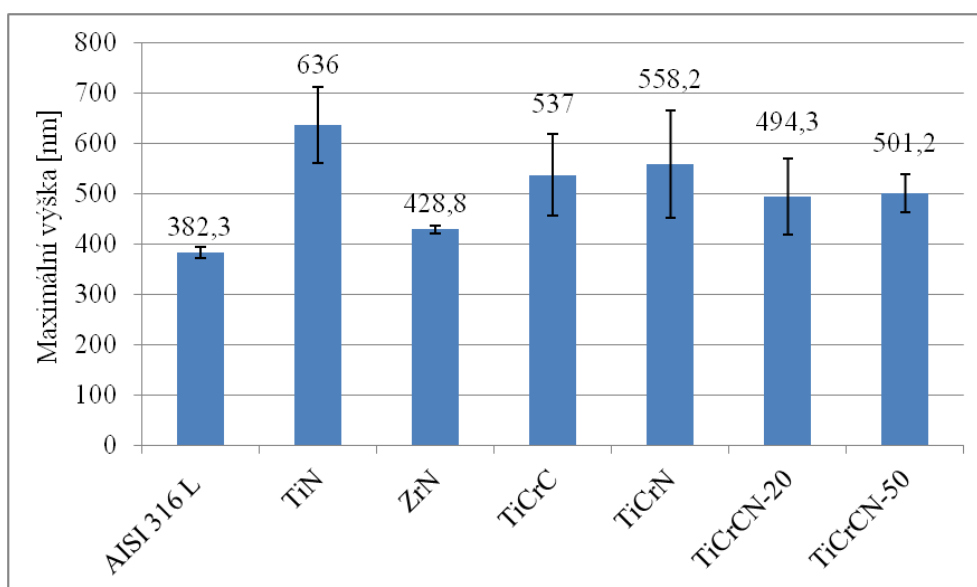
Vzorek	3D profil – AFM	3D profil – konfokální mikroskopie
AISI_316L		
TiN		
ZrN		

Vzorek	3D profil – AFM	3D profil – konfokální mikroskopie
TiCrC		
TiCrN		
TiCrCN_20		
TiCrCN_50		

Na následujících grafech, Graf 1 a Graf 2, jsou znázorněny průměrné hodnoty výškových parametrů s příslušnou směrodatnou odchylkou. Na každém povrchu jsme provedli měření 3× a z naměřených dat jsme vypočítali průměrnou hodnotu a směrodatné odchylky. Tabulky s příslušnými daty jsou v příloze A.

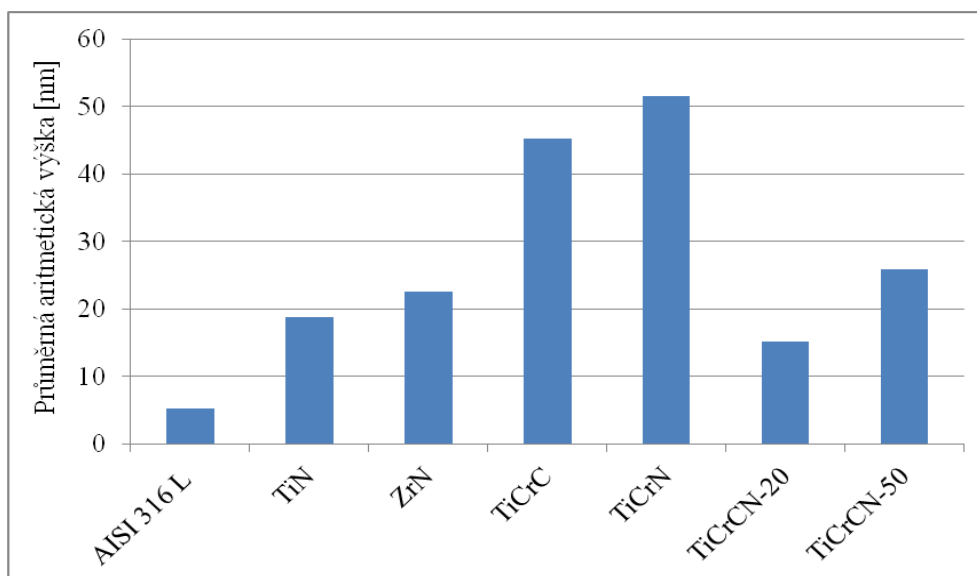


Graf 1 Vyhodnocení drsnosti povrchu průměrné aritmetické výšky pomocí konfokálního mikroskopu

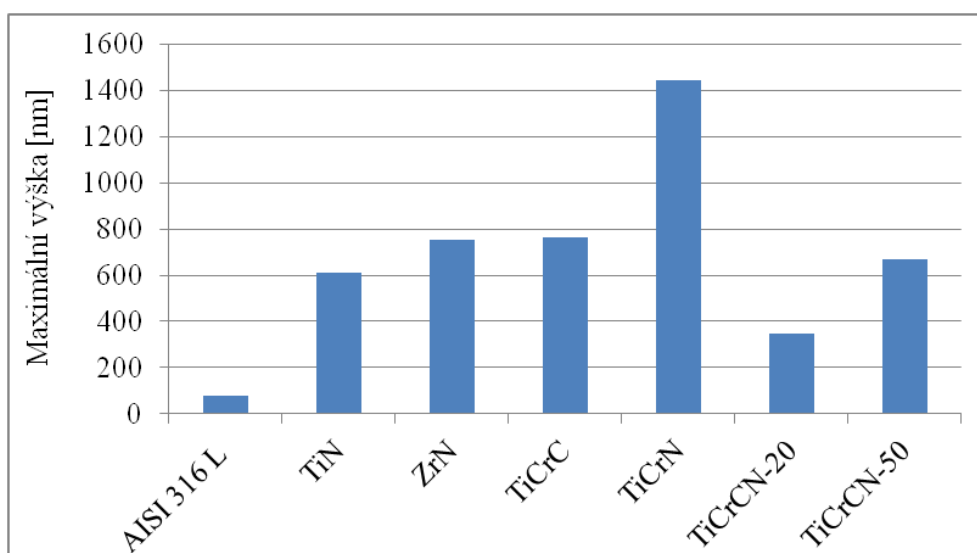


Graf 2 Vyhodnocení drsnosti povrchu maximální výšky pomocí konfokálního mikroskopu

Následující grafy, Graf 3 a Graf 4, jsou vyhodnocením průměrné aritmetické výšky a maximální výšky z AFM mikroskopie. Na každém povrchu jsme provedli měření pouze jednou, z důvodu větší časové náročnosti než u konfokálního mikroskopu. Tabulky s příslušnými hodnotami jsou součástí přílohy B.



Graf 3 Vyhodnocení drsnosti povrchu průměrné aritmetické výšky pomocí AFM mikroskopu

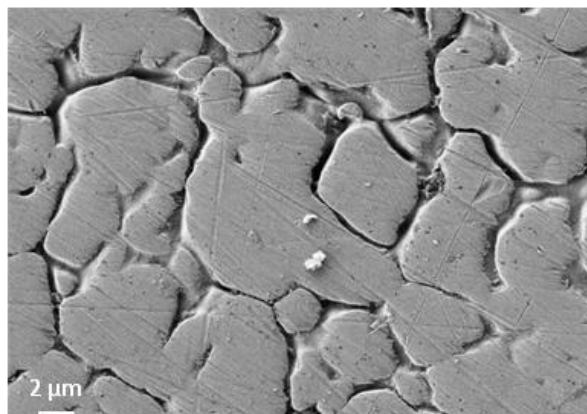


Graf 4 Vyhodnocení drsnosti povrchu maximální výšky pomocí AFM mikroskopu

### 3.3.2 Analýza struktury a chemického složení tenkých vrstev pomocí SEM

Na následujících obrázcích (Obr. 20, Obr. 21 a Obr. 22) můžeme vidět snímky ze skenovacího mikroskopu, které nám ukazují morfologii vrstvy, a v tabulce (Tab. 5) zastoupení jednotlivých prvků v každém vzorku v atomárních procentech.

**AISI316L**

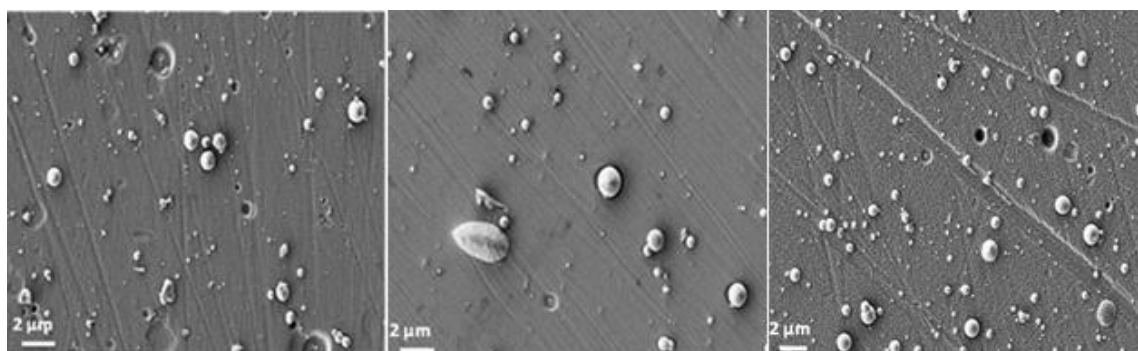


Obr. 20 Struktura povrchu AISI316 L bez aplikovaného povlaku (velikost měřítka odpovídá 2 μm)

**TiN**

**ZrN**

**TiCrC**

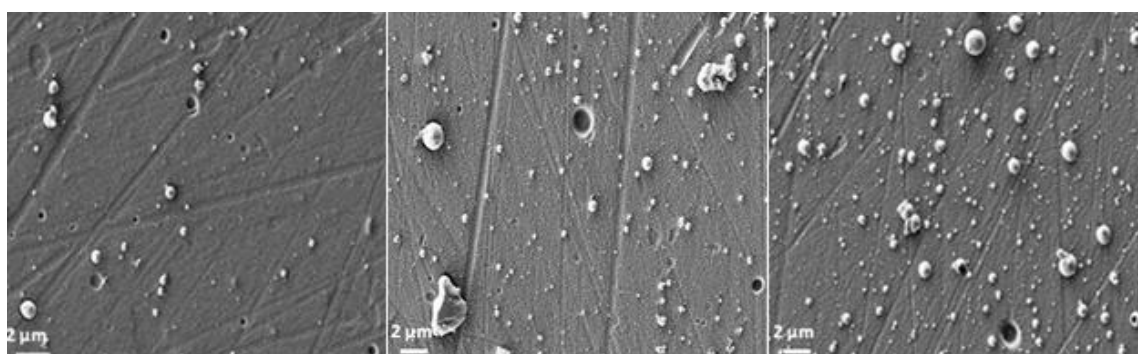


Obr. 21 Morfologie povrchu vrstev TiN, ZrN a TiCrC (velikost měřítka odpovídá 2 μm)

**TiCrN**

**TiCrCN\_20**

**TiCrCN\_50**



Obr. 22 Morfologie povrchu vrstev TiCrN, TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50 (velikost měřítka odpovídá 2 μm)

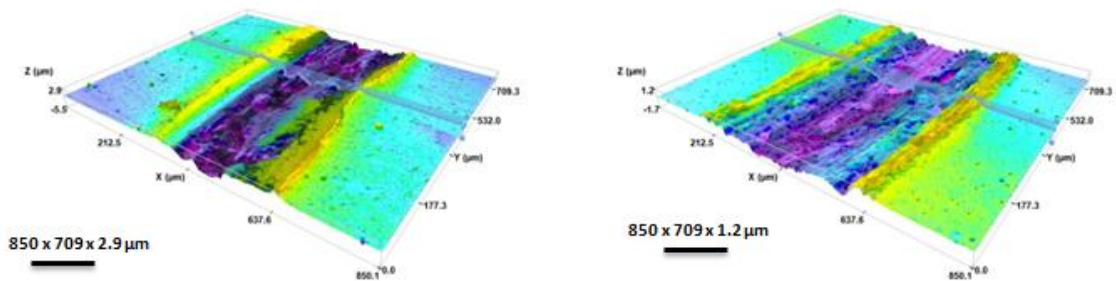
Tab. 5 Chemické složení povrchu vzorků pomocí SEM (v [at. %])

Prvek	C	N	Ti	Cr	Mn	Fe	Ni	Zr	Mo
AISI_316L				20	1	69	9		2
TiN		50	50			0			
ZrN		49						51	
TiCrC	57		24	20					
TiCrN		48	25	27		0			
TiCrCN_20	15	36	25	24					
TiCrCN_50	30	20	27	23					

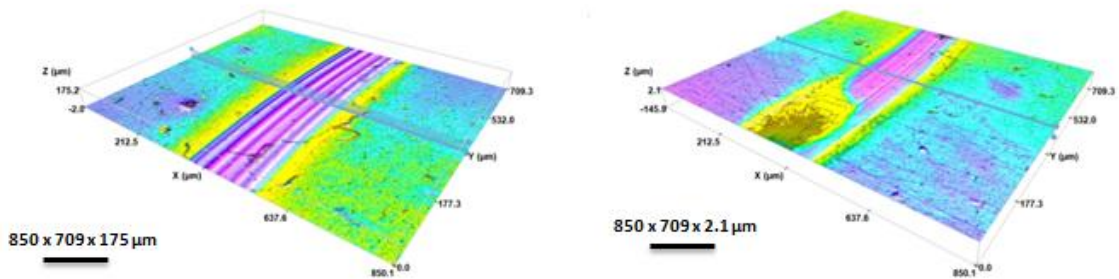
### 3.3.3 Tribologické vlastnosti tenkých vrstev

Na následujících obrázcích je znázorněna dráha po tribologickém experimentu, kde na Obr. 23, Obr. 24 a Obr. 25 je znázorněn profil odbroušeného materiálu a na Obr. 26, Obr. 27 a Obr. 28, je znázorněna šířka stopy.

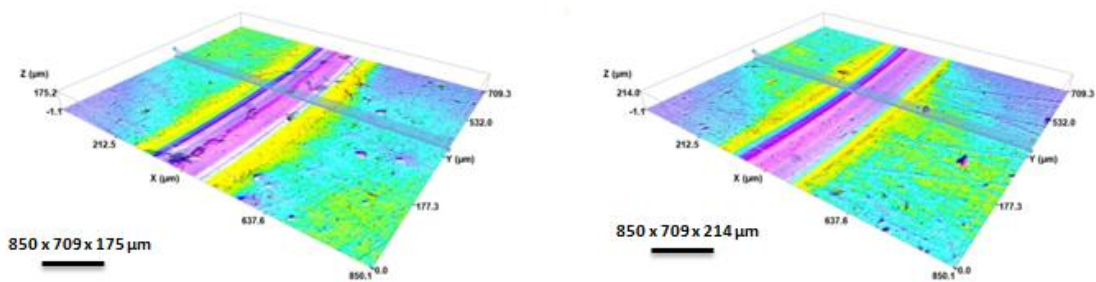
Snímky jsme pořídili pomocí konfokálního mikroskopu.



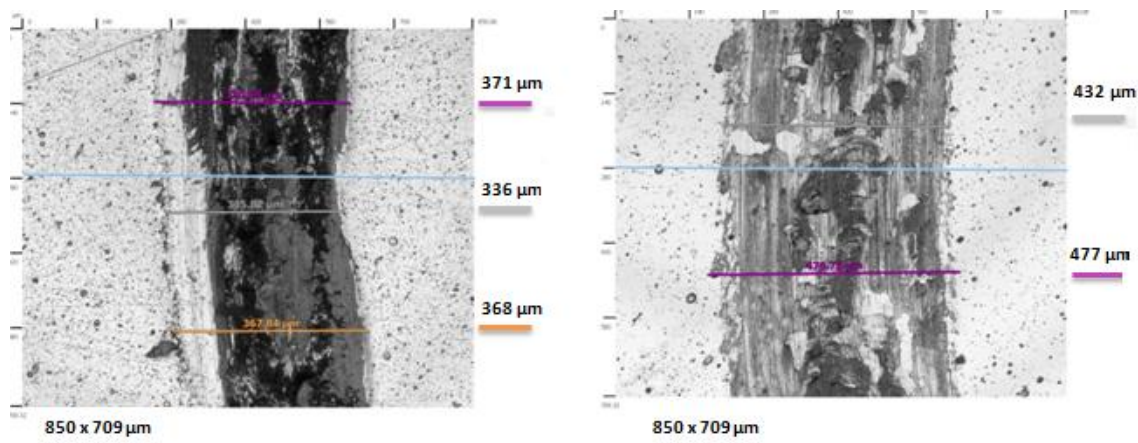
Obr. 23 Profil odbroušeného materiálu po tribologické zkoušce na vzorcích TiN a ZrN



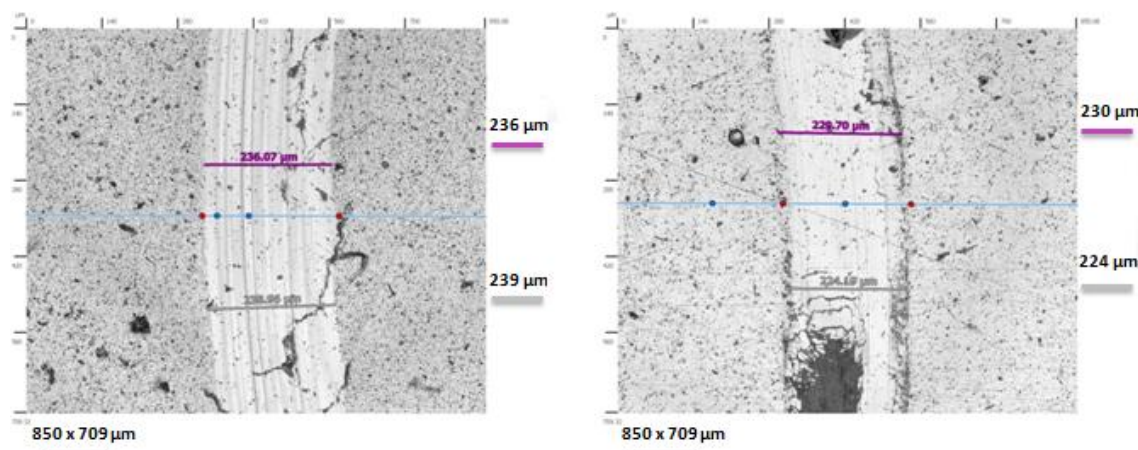
Obr. 24 Profil odbroušeného materiálu po tribologické zkoušce na vzorcích TiCrC a TiCrN



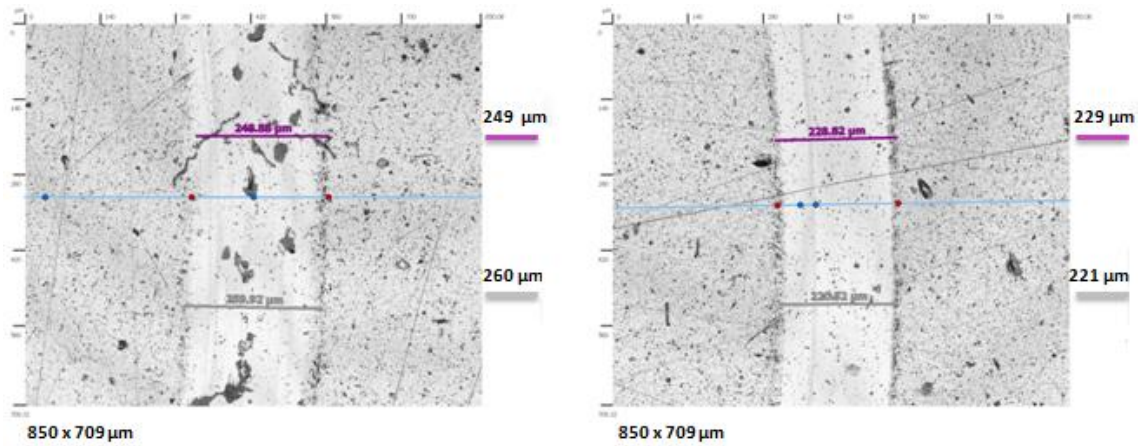
Obr. 25 Profil odbroušeného materiálu po tribologické zkoušce na vzorcích TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50



Obr. 26 Hodnocení šířky vytvořené stopy po tribologickém experimentu u vzorků TiN a ZrN vůči kuličce  $Al_2O_3$

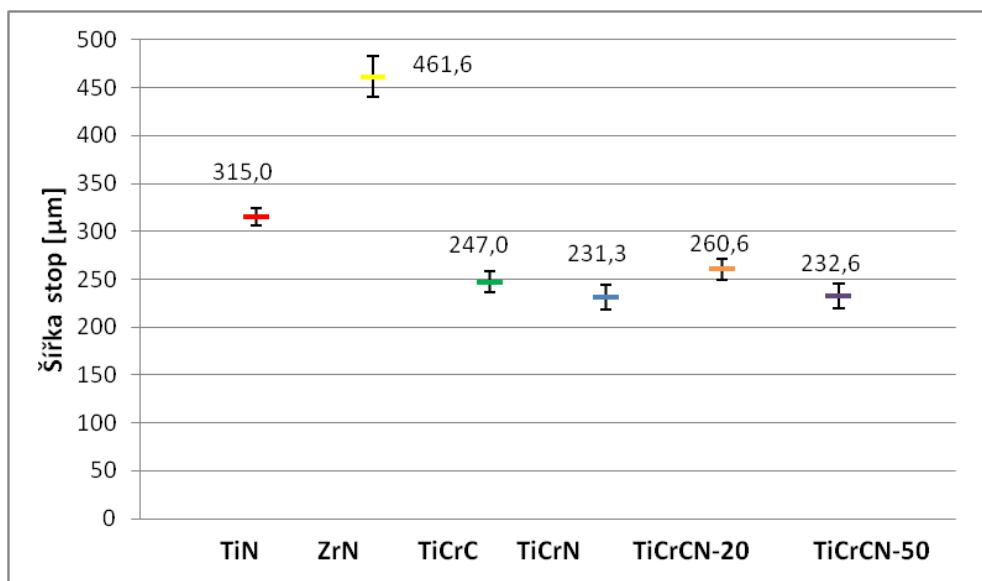


Obr. 27 Hodnocení šířky vytvořené stopy po tribologickém experimentu u vzorků TiCrC a TiCrN vůči kuličce  $Al_2O_3$



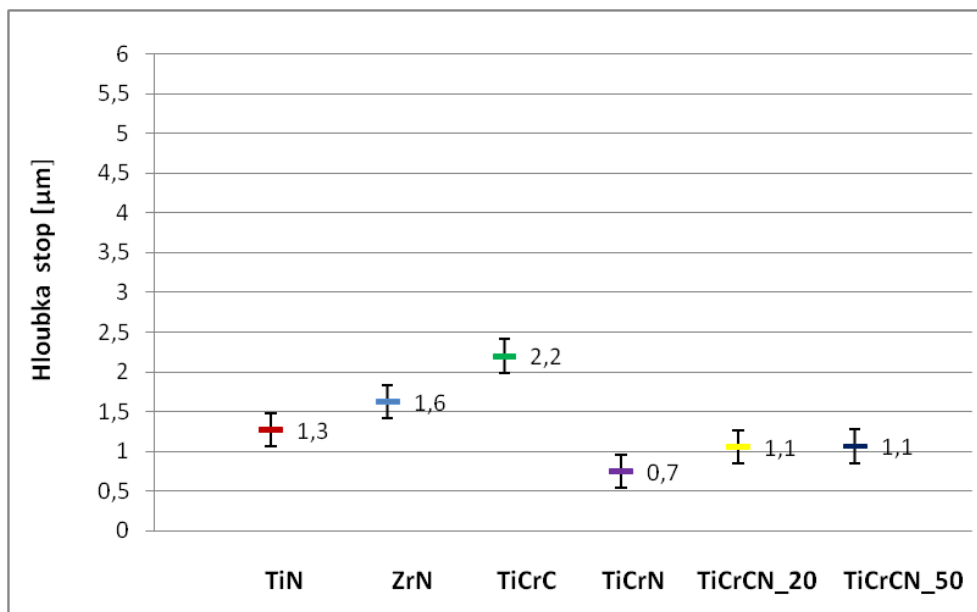
Obr. 28 Hodnocení šířky vytvořené stopy po tribologickém experimentu u vzorků TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50 vůči kuličce Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Šířka a hloubka stop, které vznikly při tribologickém experimentu, jsou znázorněny společně s příslušnými směrodatnými odchylkami na následujících grafech (Graf 5 a Graf 6). Měření probíhalo ve čtyřech bodech otočených o 90°. Data z měření jsou uvedena v tabulkách, které se nacházejí v příloze B na konci této práce.



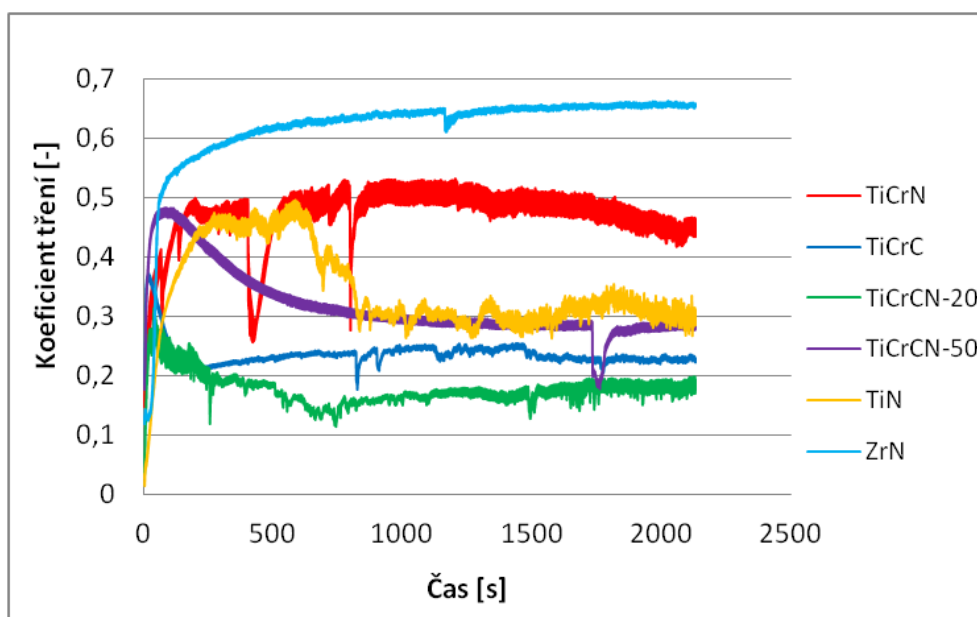
Graf 5 Průměrné šířky stop vzniklých po tribologických experimentech na vrstvách





Graf 6 Průměrné hloubky stop vzniklých po tribologických experimentech na vrstvách

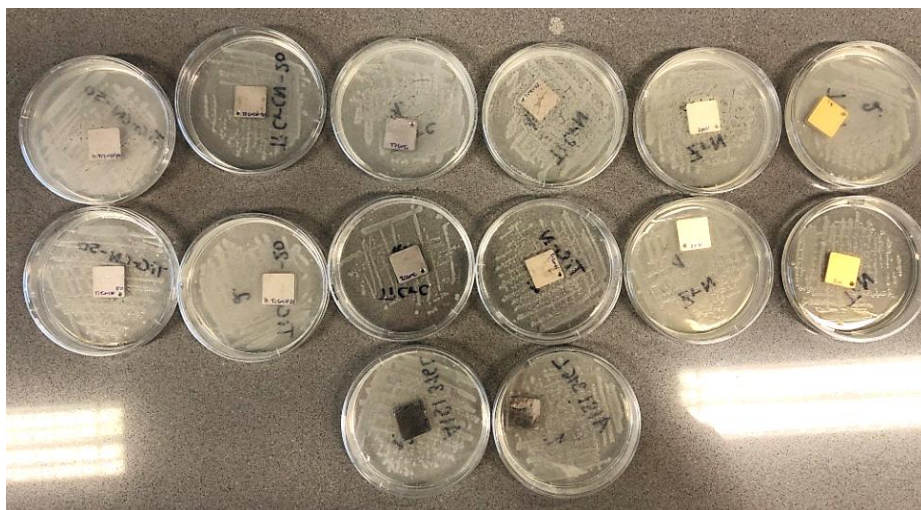
V průběhu tribologického experimentu se zaznamenává koeficient tření jednotlivých vzorků, který je graficky znázorněn v grafu níže (Graf 7).



Graf 7 Záznamy koeficientů tření v průběhu tribologického experimentu

### 3.3.4 Analýza biocidních vlastností tenkých vrstev

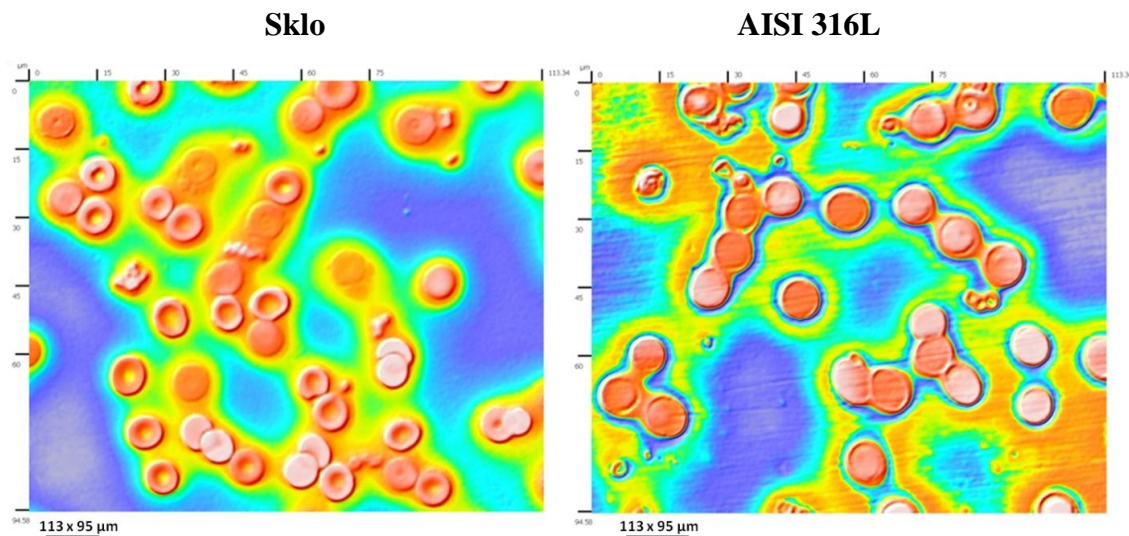
Na následujícím obrázku (Obr. 29) jsou zobrazeny naočkované agarové plotny s testovanými vzorky po 24 hodinách v termostatu.



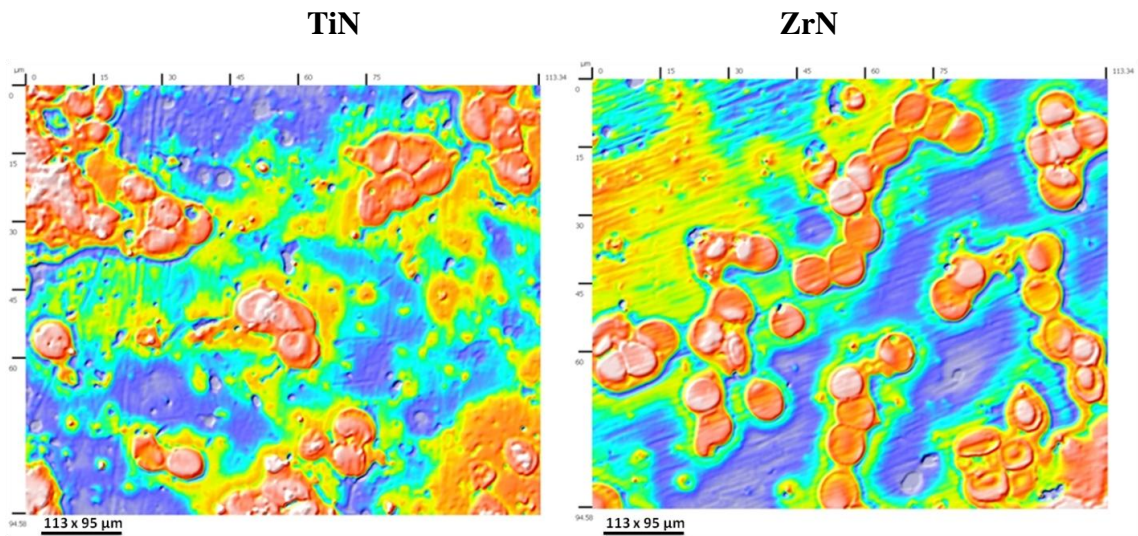
Obr. 29 Naočkované agarové plotny se vzorky po 24 hodinách kultivace

### 3.3.5 Analýza interakce tenkých vrstev s krevními buňkami

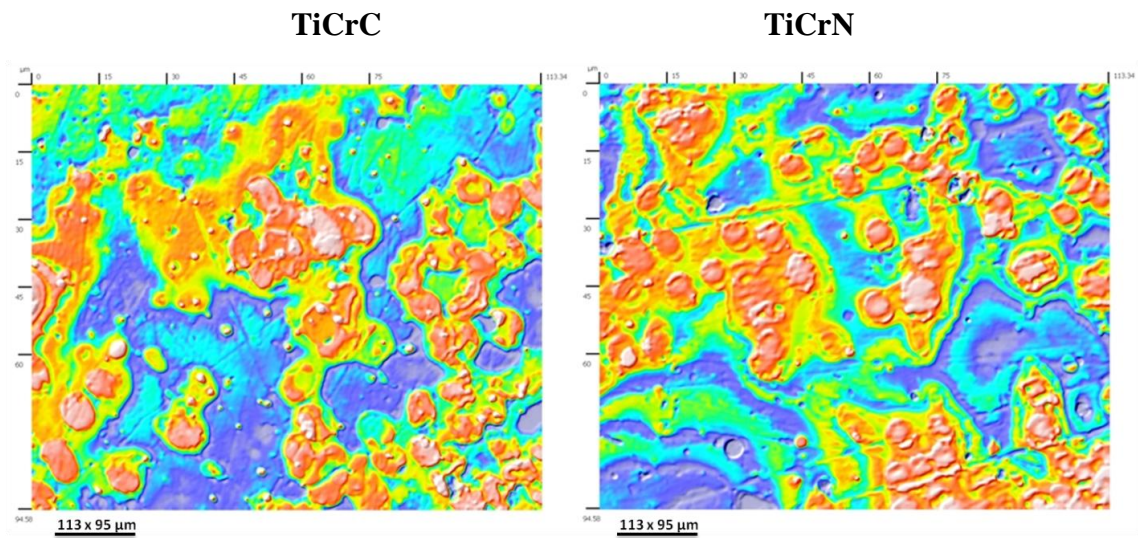
Provedli jsme kontaktní testy sledovaných tenkých vrstev (+ kontrolní vzorek ve formě skla) s lidskou krví. Fotografie níže (Obr. 30, Obr. 31, Obr. 32 a Obr. 33) dokumentují výsledky z konfokální mikroskopie.



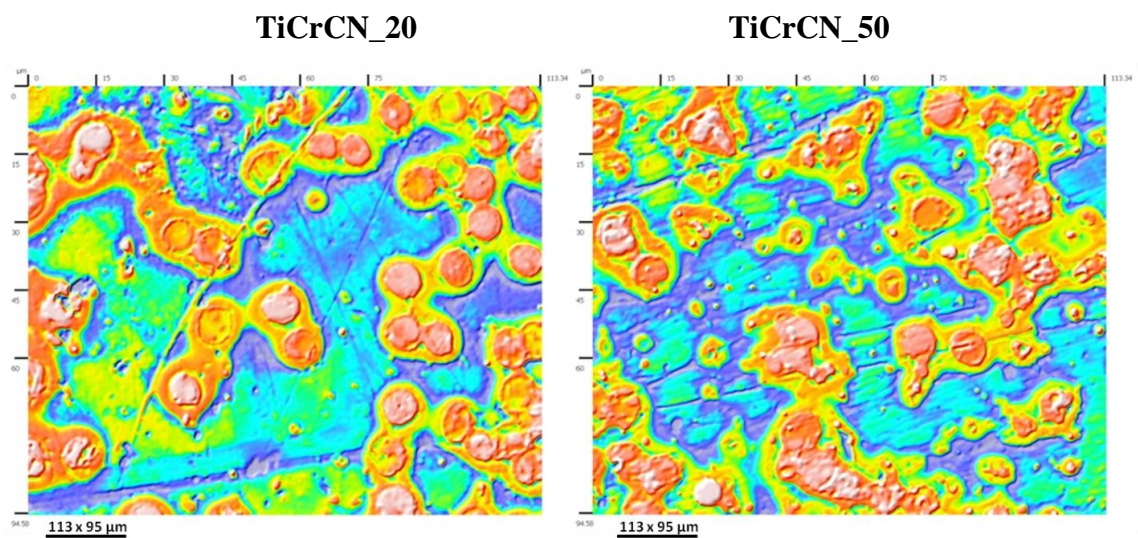
Obr. 30 Interakce vzorku skla a oceli AISI 316 L s krví



Obr. 31 Interakce vrstev TiN a ZrN s krví



Obr. 32 Interakce vrstev TiCrC a TiCrN s krví



Obr. 33 Interakce vrstev TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50 s krví

### **3.4 Analýza výzkumných cílů a předpokladů, hypotéz či výzkumných otázek**

V této kapitole jsme vyhodnotili stanovené cíle a k nim vztahující se výzkumné předpoklady a výzkumné otázky.

#### **3.4.1 Hodnocení drsnosti povrchu tenkých vrstev**

Jedním z cílů bylo provést charakterizaci povrchů tenkých vrstev. Na tento cíl se vážala výzkumná otázka, zda jsou zvolené metody charakterizace povrchu (AFM a konfokální mikroskopie) průkazné.

Při porovnání výsledků z konfokální mikroskopie v grafech (Graf 1 a 2) je zřejmé, že největší drsnost povrchu byla naměřena u vzorku s označením TiN, ale zároveň je důležité si všimnout, že vzorky AISI 316 L a ZrN měly nejmenší odchylku od průměrné hodnoty.

Na Grafu 3 a 4 z AFM mikroskopu je vidět, že jsme naměřili největší drsnost povrchu u vzorku TiCrN. Měření pomocí AFM mikroskopu má výhodu v tom, že dosahuje velmi vysokého rozlišení (jednotky nm), ale na druhou stranu je důležité si uvědomit, že je u měření AFM mikroskopii zachycena mnohem menší plocha než u konfokální mikroskopie ( $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  AFM a  $113 \times 95 \mu\text{m}^2$  konfokální mikroskopie). Jedná se o celý jeden řád menší plochu, což může vést ke zkreslení výsledků, kdy nemáme plné informace o stavu povrchu. Konfokální mikroskopie dosahuje nižšího rozlišení (ve stovkách nm; v ose „z“ je rozlišení cca 100 nm), ale tím, že hodnotí větší plochu a zachycuje větší počet defektů na povrchu vrstvy, dodává spolehlivější informace o stavu povrchu.

U obou metod si můžeme povšimnout, že u základního substrátu AISI 316 L je menší drsnost povrchu než po nanesení jakékoli vrstvy. Můžeme tedy konstatovat fakt, že po nanesení jakékoli povrchové úpravy vždy dochází ke zvýšení drsnosti.

### **3.4.2 Hodnocení struktury a chemického složení tenkých vrstev**

Na povrchu ZrN a TiCrCN\_20 jsou vidět větší částice než 2  $\mu\text{m}$ . Na povrchu TiCrC, TiCrCN\_50, TiCrN a TiN se vyskytuje vyšší počet částic s menšími rozměry, což vzniklo v důsledku použité metody povlakování. Bohužel se jedná o nevýhodu Arc PVD metody povlakování. Od targetu se vždy oddělí větší částice, která ulpí na povrchu. Částice mohou být součástí mezivrstvy či vrstvy, tj. růst částic může začít v mezivrstvě a pokračovat až do finálního povrchu. Toto může vést i k tomu, že během testů tribologie se mohou dané částice dostat do kontaktního bodu (mezi vrstvou a protítělesem), čímž se může tenký povlak rychleji zničit, jelikož částice jsou tvrdší než samotný materiál vrstvy (konzultace s Ing. Totkou Bakalovou, Ph.D.).

V rámci hodnocení chemického složení vrstev se může na první pohled zdát, že vrstvy obsahují vyšší procento toxického Cr, než je v původní nerezové oceli AISI 316 L. Může to být zapříčiněno i tím, že bylo v průběhu SEM mikroskopie zvoleno vyšší urychlovací napětí, než by bylo vhodné. Pro ujištění se v této domněnce by bylo vhodné vzorky proměřit znovu s jiným nastavením přístroje.

Mimo jiné se toxicita prvku odvíjí i od toho, v jaké formě se v tenké vrstvě nachází. Na to, aby se zjistilo, jaké sloučeniny se ve vrstvách tvoří, se využívá XPS analýza. Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) je známá jako elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu, je to nejpoužívanější technika pro analýzu povrchu (především díky relativně jednoduchému použití a interpretaci dat). Tuto metodu bychom rádi využili při pokračování v diplomové práci.

### **3.4.3 Hodnocení tribologických vlastností tenkých vrstev**

Dalším cílem bylo navrhnout metodu či postup pro studium parametrů a vlastností tenkých vrstev. Zvolili jsme studium otěruvzdornosti vrstvy, jelikož se jedná o jednu z nejdůležitějších charakteristik při výběru materiálu s ohledem na jeho vhodnost pro použití jako implantát. Tato metoda je vhodná a důležitá například u tvorby a hodnocení kloubních implantátů, jelikož neustále a dlouhodobě dochází k tření materiálu o sebe. Může docházet i k uvolnění částic materiálu, které se poté uvolňují do krve pacienta. U vrstev tvořených plazmatickou metodou materiál – substrát a vrstva

drží pospolu vazebnými silami. Použití správných parametrů depozice vede k tomu, že je nanesená tenká vrstva se substrátem v rovnovážném stavu. V závislosti na typu tenké vrstvy a dle podmínek nanášení se v materiálu různě vyskytuje zbytkové napětí, které vzniká již při výrobě vrstvy. Při působení na vrstvu vnějšími silami (např. vtlačování kuličky do vrstvy při tribologickém experimentu) začne materiál reagovat a ve vrstvě se začne napětí zvyšovat.

Pokud napětí je tak vysoké, že překoná mez pevnosti materiálu, tak se vrstva začne značně porušovat anebo se může úplně od substrátu odtrhnout (konzultace s Ing. Totkou Bakalovou, Ph.D.).

Je nezbytné si povšimnout, že u vrstev TiCrC, TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50 (Obr. 27 a Obr. 28) došlo pouze k plastické deformaci, zatímco u vrstev TiN, ZrN a TiCrN (Obr. 26 a Obr. 27) došlo krom plastické deformace také k úplnému vydrolení materiálu, tj. porušení vrstvy.

Na Obr. 26 vidíme, že došlo k velkému poškození vrstvy, a z tohoto důvodu lze konstatovat, že vrstvy TiN a ZrN nejsou vhodné k aplikaci jako implantáty, jelikož prokázaly menší odolnost proti opotřebení.

Z Obr. 27 můžeme vyzorovat, že se vrstvy vlivem zatížení a probíhajícím tribologickým procesům ničily. Vrstva TiCrC z důvodu přetlaku a zároveň vlivem fyziologického roztoku, do kterého byla ponořena, začala prskat. Vrstva TiCrN bodový kontaktní tlak nevydržela a během tribologického procesu se vytvořil kráter na povrchu. Toto může být způsobeno špatnou adhezí vrstvy k povrchu či kvalitou naneseného povlaku.

Vrstva TiCrCN\_20 začala také prskat. U vrstvy TiCrCN\_50 nebylo pozorováno porušení na povrchu, tj. vrstva přetlak vydržela a v tomto experimentu dopadla nejlépe z hlediska otěruvzdornosti za konkrétních podmínek.

Je zajímavé si povšimnout, že na místech, kde se vytvořily praskliny (TiCrC a TiCrCN\_20), se praskliny vytvářely ze středního bodu do stran pod úhlem zhruba 45 stupňů vůči dráze. Žádná z prasklin se nevytvořila kolmo.

Z grafu (Graf 5) můžeme vyčíst, že co se týká šířky opotřebení, nejlépe dopadly vrstvy TiCrN a TiCrCN\_50. Poté následují vrstvy TiCrC a TiCrCN\_50. Největší šířku opotřebení za sledovaných podmínek má vrstva ZrN.

Na grafu (Graf 6), kde vidíme znázornění hloubky opotřebení, nejlépe dopadla vrstva TiCrN. Po ní následují vrstvy TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50. Nejhůře pak dopadla vrstva TiCrC s hloubkou opotřebení až 2,2  $\mu\text{m}$ .

Graf 7 znázorňuje koeficient tření v závislosti na čase u jednotlivých vzorků. U vzorků TiCrN, TiCrCN\_50, TiN a ZrN můžeme vidět vysoký koeficient tření, což znamená, že mají velmi nízké kluzné vlastnosti. Nejhůře dopadla vrstva ZrN, u které se koeficient tření pohybuje velmi vysoko.

Vrstvy, které dosáhly v tribologickém experimentu nejlepších výsledků, a tudíž mají nejlepší kluzné vlastnosti, jsou vrstvy TiCrC a TiCrCN\_20 s průměrným koeficientem tření v rozsahu 0,1 až 0,2.

Na závěr můžeme tedy říci, že vrstva TiCrC má velmi dobré kluzné vlastnosti, šířku opotřebení má také vyhovující, ale u hloubky opotřebení si z vrstev vedla nejhůře. Vrstva TiCrCN\_20, která má nejlepší kluzné vlastnosti ze všech vzorků, má dle dosažených výsledků vyhovující také i šířku a hloubku opotřebení.

Vrstvy, které bychom vyhodnotili jako vhodné pro využití jako materiály k výrobě implantátů z pohledu hodnocení tribologických vlastností, by tedy byly vrstvy s označením TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50.

#### **3.4.4 Hodnocení biocidních vlastností tenkých vrstev**

Pro hodnocení interakce povrchu s bakteriálními buňkami jsme jako testovací organismus zvolili bakteriální kmen *Escherichia coli*. Předpokládali jsme, že nalezneme typ vrstvy, která povede ke snížení bakteriální adheze k povrchu, čehož následkem je eliminace vzniku zánětu nebo vyloučení negativní reakce těla na cizí těleso (implantát).

V rámci provedených metod práce jsme nezjistili zvýšení/snížení proliferace bakteriálních buněk na povrchu tenkých vrstev. Studované povrchy vzorků nevykazovaly žádný vliv na růst bakterií (ani pozitivní ani negativní). To s nejvyšší

pravděpodobností znamená, že materiály žádné antibakteriální vlastnosti na bakterie *Escherichia coli* nevykazují. Důvodem nulové odezvy materiálu na bakterie může být i nevhodně zvolená metodika testování.

Dle řešerše bychom dále v rámci hodnocení modifikovaných povrchů doporučovali pro následnou diplomovou práci testy: hodnocení viability buněk (například pomocí průtokové cytometrie nebo pomocí přímého pozorování pod fluorescenčním mikroskopem za využití metody LIVE/DEAD Cell Viability Assays apod.). Tato metoda umožňuje přímé pozorování buněk na povrchu materiálu a identifikuje buňky živé a mrtvé (které je možné dále pomocí analýzy obrazu vyhodnotit).

### **3.4.5 Hodnocení interakce tenkých vrstev s krví**

Pro hodnocení interakce povrchu s biologickým prostředím jsme zvolili jako prostředí lidskou krev. Ze snímků z konfokálního mikroskopu je velmi zřetelně vidět různé poškození krevních buněk na povrchu jednotlivých vrstev. Za účelem správného vyhodnocení míry poškození buněk jsme se dotázali několika oddělení klinické hematologie. Pražská klinika (nepřeje si být v práci zmíněna) se v laboratořích zaměřuje na zpracovávání klasických nátěrů periferní krve rozetřené na podložním skle (v nátěrovém automatu). Hodnocení krevních buněk pomocí konfokálního mikroskopu není pro tuto kliniku běžnou metodikou, a tak nebyli schopni výsledky zcela adekvátně hodnotit. Nicméně je možné zmínit poznámku z jejich strany: sklo je rovné (bez děr a výstupků), ostatní materiály mají díry a špičaté výstupky. Tato nerovnost může vést k tomu, že nanesené buňky jsou zdeformované, rozbité/poškozené.

S tímto názorem se ztotožnili i na Oddělení klinické hematologie v Krajské nemocnici Liberec, kde nám bylo řečeno, že při roztírání krve na daném materiálu, který je nerovný, je smykové tření tak velké, že se může stát, že se krvinky i úplně rozpůlí. Z tohoto důvodu se dle nich jedná převážně o mechanické poškození krevních buněk o reliéf povrchu. Otázkou stále zůstává, zda za deformaci buněk může struktura povrchu nebo její chemické složení. Ze snímků lze vidět, že kde se nachází prvek Cr, tak jsou buňky více poškozené než jinde. Toto bohužel ale nelze jednoznačně posoudit. V tomto ohledu bychom dále doporučovali provedení vyluhovacích testů, kdy jsou testované materiály po dobu 72 hodin umístěny do definované kapaliny a poté je inkubací



kapalina smísená s nesrážlivou krví. Je možné také využít testy, kdy probíhá přímý kontakt povrchu materiálu s buněčnou kulturou (tkáň), tzv. přímé hodnocení cytotoxicity materiálu.

Jak naznačuje text výše, tak použití konfokální mikroskopie ke studiu krevních buněk stále není obvyklé (ačkoliv se v odborných článcích již využívá). Hodnocení pomocí konfokálního mikroskopu jsme zvolili především z toho důvodu, že se jedná o moderní a velice zajímavou metodu, kde je možné hodnocení nejen velikosti a struktury buněk, ale i hodnocení povrchové/výškové změny buněk. Navíc konfokální mikroskopie nevyžaduje žádné úpravy vzorku (jako u SEM mikroskopie) ani žádné další fixace materiálu (barvení apod.), jedná se o velice levné, jednoduché, rychlé a přímé pozorování vzorku, aniž by došlo k jeho poškození.

V obou případech (z důvodu vyšší míry mechanického poškození a také z důvodu obsahu Cr) bychom ale vrstvy nedoporučili k aplikaci v rámci tělních implantátů, jelikož na povrchu došlo k degradaci buněk.

## 4 Diskuze

Na základě výsledků získaných v průběhu řešení této bakalářské práce můžeme usuzovat následující: vrstvy ze skupiny TiCrCN dopadly, z hlediska kluzných vlastností a odolnosti proti opotřebení, za sledovaných podmínek z tribologického experimentu nejlépe (zatížení 10 N, rychlost otáčení vzorku 60 rpm, délka ujeté dráhy byla 100 m, kulička (protitěleso) z keramického materiálu  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). U vrstvy TiCrCN-20 byly na povrchu po ukončení experimentu pozorovány praskliny. Vrstva TiCrCN-50 zatížení během tribologického experimentu odolala bez větších změn na jejím povrchu. Průměrná hodnota koeficientu tření u vrstev TiCrC a TiCrCN-20 se pohybuje v rozmezí 0,1 až 0,2.

Studie (41) prováděná v centrální laboratoři aplikované fyziky na Bulharské akademii věd zkoumala tribologické vlastnosti vrstev s příměsí CrCN a porovnávali je s vrstvami TiCN. V jejich studii byly podmínky tribologického testu shodné. Průměrná hodnota koeficientu tření se pohybuje v rozmezí  $0,291 \pm 0,019$  na ujeté dráze 100 m. Uvádějí, že teplota fyziologického roztoku byla 44 °C. Teplota, kterou jsme použili my, byla nastavena na 37 °C, což mohlo vést k rozdílným výsledkům. Rozdíl v naměřených hodnotách koeficientů tření mezi našimi a jejich výsledky činil 48,45 %. Na závěr ale hodnotí vrstvy CrCN jako vrstvy s velmi dobrými kluznými vlastnostmi, což je v souladu s našimi experimenty.

Studie (42) prováděná na Katedře strojírenství v Universiti Teknologi PETRONAS v Malajsii zkoumala vrstvy CrN, CrCN a ZrN. V našem experimentu dopadla vrstva ZrN nejhůře ze všech sledovaných. Koeficient tření této vrstvy byl příliš vysoký (v rozmezí 0,6 až 0,7), tzn., že měla velmi špatné kluzné vlastnosti, což by mohlo v praktických aplikacích, kde jsou vyžadovány dobré kluzné vlastnosti, způsobovat problémy. U vrstvy ZrN byla také naměřena největší šířka opotřebení stopy a výskyt plastické deformace vedl k poškození a následnému vydrolení částice materiálu (šířka stopy 461,6  $\mu\text{m}$ , a hloubka stopy 1,6  $\mu\text{m}$ ). Nejvyšší hodnota hloubky stopy byla zaznamenaná u vrstvy TiCrC (2,2  $\mu\text{m}$ ). Nicméně ve studii (42) bylo zhodnoceno, že šířka stopy vrstvy ZrN (nanesené pomocí PVD metody) činila pouze 195  $\mu\text{m}$ . V jejich výzkumu použili sice stejné protitěleso, ale délka ujeté dráhy činila pouze 10 m (navíc značně nižší byla i velikost zatížení 1 N, rychlost otáčení byla vyšší 375 rpm).

Bakteriální adheze na povrchu implantátů je častý počáteční problém v důsledku vzniku infekce v okolí implantátu; bakterie se dále množí a tvoří se biofilm. Biofilm poskytuje bakteriím ochranné prostředí, díky kterému jsou odolnější vůči antimikrobiálním látkám, pH prostředí, teplotě apod. Infekce, které vznikají v důsledku tvorby biofilmu, jsou často život ohrožující, a z tohoto důvodu je jejich prevence velice důležitá. (43) V našem experimentu jsme použili metodu modifikovaného Kirby-Bauerova testu, kde se antibakteriální vlastnost vzorků určuje pomocí měření „halo“ zón. Bakteriální kmen využit v našem experimentu byl *Escherichia coli*. Studované povrchy vzorků nevykazovaly žádný vliv na růst bakterií (ani pozitivní ani negativní). Z toho jsme usoudili, že pravděpodobně materiály žádné antibakteriální vlastnosti nevykazují.

Článek (43), který byl sepsán na katedře protetiky na Soulské státní univerzitě v Koreji, shrnuje různé studie, které zkoumaly adhezi bakterií k povrchu zubního implantátu. Bakteriální kmeny využívané ve studiích jsou *Streptococcus sanguis* a *Streptococcus mutans*, což jsou bakterie obvyklé v dutině ústní. Většina výzkumů popisovaných v tomto článku ukázala, že přilnutí bakterií k povrchu roste úměrně s drsností povrchu. V jedné ze studií byly pacientům odstraněny neúspěšné implantáty a bylo zkoumáno, jakých změn bude dosaženo, když tenká vrstva TiN bude nanesená pomocí PVD metody na původní implantát (my použili Arc-PVD metodu). Povlak TiN nanesený touto metodou má významně nižší drsnost povrchu, a to o 50 % vzhledem k původnímu povrchu bez nanesené vrstvy, a tím i adheze bakterií je snížena o 10 %. Stejný výsledek byl pozorován i v další studii při sledování vlastností povlaku ZrN, tj. opět došlo ke snížení drsnosti povrchu v porovnání s materiálem bez tenké vrstvy (v našem experimentu se vždy drsnost po nanesení vrstvy zvýšila – toto je způsobeno tím, že byla použita jiná metoda povlakování). Při porovnání obou vrstev byl stanoven v článku (43) závěr, že menší adheze bakterií byla pozorována u ZrN (12,1 %) než u vzorku TiN (19,3 %). Je zde zmíněno ale i to, že mnoho vědců popisuje minimální nebo až nulové rozdíly mezi těmito dvěma materiály.

Další zmíněná studie v článku (43) provedla experiment, kde nejvyšší míra kolonizace nastala po 24 hodinách (hodnoceno na základě počtu buněk na povrchu pomocí SEM mikroskopie) bez rozdílu mezi těmito dvěma materiály (ZrN a TiN).

Studie (44) prováděná v Indii (Institute of Nano Science and Technology (INST), Mohali) zkoumala bakteriální adhezi, antibakteriální vlastnosti povrchu

a hemokompatibilitu. Pokusy se prováděly na vrstvách TiN připravených na povrchu austenitické oceli AISI 316 L.

Ve studii byly zkoumány parametry povrchové topografie a drsnosti nepotažených a potažených vzorků. Neupravený substrát oceli AISI 316 L vykazoval nepravidelný povrch s výstupky, kde hodnota drsnosti dosahovala 4,55 nm; přičemž v našem experimentu jsme naměřili 54,3 nm. Povlak TiN (44) vykazoval na povrchu vzorku rovnoměrné rozložení zrn o přibližně shodné velikosti a hladký povrch s velmi nízkou drsností jen 2,99 nm; přičemž v našem experimentu jsme změřili 73,3 nm.

Při experimentu bakteriální adheze (44) byly vzorky nejprve sterilizovány stejným způsobem jako naše vzorky (pod UV lampou) a byly převedeny společně s bakteriemi do Petriho misek s agarem, aby se zabránilo křížové kontaminaci. Poté byly vzorky uloženy do termostatu při teplotě 37 °C po dobu 12 hodin (naše vzorky 24 hodin). Navíc byly studii zkoumané vzorky ještě přeneseny do třepacího inkubátoru po dobu 3 hodin při 110 ot./min. Výsledky ukazují, že vzorky s nanosenou tenkou vrstvou (TiN a ZrN) vykazují snížení bakteriální adheze. Nepotažený podklad vykazoval vyšší bakteriální adhezi než TiN, a to až o 12,3 %, navíc i tato studie se odkazuje na snížení drsnosti povrchu. Podle studie (44) má na snížení bakteriální adheze vliv přítomnost dusíku, což může být důsledkem snížení povrchové energie, která napomáhá snižovat bakteriální adhezi k povrchu.

Antibakteriální vlastnosti vzorků byly zkoumány (44) pomocí média obsahujícího bakterie, které byly po kapkách přidávány na povrch vzorků. Vzorky pak byly ponechány při pokojové teplotě po dobu 12 hodin. Antibakteriální chování kmenů *Staphylococcus aureus* (Gram+) a *Escherichia coli* (Gram-) na povrchu materiálu bylo stanoveno LIVE/DEAD metodou barvení pomocí fluorescenční mikroskopie (metodu bychom rádi vyzkoušeli v navazující diplomové práci). Antibakteriální účinnost povrchu na bakterie *E. coli* se ukázala být nižší než v případě *S. aureus*. Jako důvod je uváděna morfologie bakterie *E. coli*, která má tvar tyčinky a tak je pravděpodobnost přilnutí k povrchu vyšší. V porovnání s nemodifikovaným substrátem (ocel) jsou výsledky zanedbatelné – u *Staphylococcus aureus* nárůst o 2 % a u *Escherichia coli* o 3 %. Nemodifikovaný povrch materiálu 316 L vykazoval nízké antibakteriální účinky, což je očekávatelné, jelikož na povrchu se nenacházejí žádné antibakteriální

látky/prvky. Povlak TiN také nevykazoval antibakteriální aktivitu proti patogenním organismům, což se shoduje s našimi výsledky.

Při interakci krevních buněk s implantovanými materiály může dojít k patologickému procesu, jako tvorba mikrotrombů nebo trombóza, krvácivé komplikace, hemodynamická nestabilita a poškození orgánů. V našem experimentu jsme využili metodu přímého kontaktu buňky s povrchem. Lidskou krev jsme roztřeli na jednotlivé vzorky s cílem vytvořit monovrstvu a krev zafixovali přirozeně při teplotě 25 °C po dobu 10 minut, pomocí konfokálního mikroskopu jsme sledovali interakci krevních buněk se vzorky. Z důvodu degradace buněk na povrchu jsme došli k závěru, že žádnou ze sledovaných vrstev nedoporučujeme k aplikaci pro tělní implantáty.

Ve studii (44) byly sledovány krevní destičky (pomocí epifluorescenčního mikroskopu) za účelem vyhodnocení trombogenity materiálů. Byla využita také lidská krev, ale s tím rozdílem, že byla ještě promíchána s citrátem sodným (jako antikoagulant snižující srážlivost krve), a poté byla provedena centrifugace krve (za účelem zakoncentrování vzorku). Poté destičky o vysoké koncentraci byly kompromitovány homologním roztokem a exponovány na testovaných vzorcích po dobu 2 hodin. Vzorky oceli potažené vrstvou TiN dále vykazovaly menší aktivaci krevních destiček (nižší míra srážení) než aktivace vzorků nepotažených. Toto se mohlo stát z důvodu přimíchání antikoagulačního roztoku (který v předkládané práci používán nebyl).

Mezi další studie, které zkoumaly hemokompatibilitu nerezové oceli AISI 316 L potažené vrstvou TiN patří studie z Katedry materiálů a inženýrství na Daliánské technické univerzitě v Číně (45). Chirurgická nerezová ocel AISI 316 L byla potažena vrstvou TiN obloukovým iontovým pokováním. Hemokompatibilita byla zkoumána měřením času srážení krve a pomocí testů adheze krevních destiček na povrchu. Nejprve bylo na povrch vzorku nakapáno 0,1 ml lidské krve (jako v předchozí studii byla krev antikoagulována citrátem sodným). Srážení bylo zahájeno přidáním chloridu vápenatého. Díky tomu došlo k aktivaci koagulační kaskády a vzniku fibrinu. Čas srážení se měří od doby, kdy se přidal chlorid vápenatý, až do doby, kdy se vytvořila fibrinová vlákna. Výsledkem bylo, že doba srážení je u povlakovaného materiálu delší o 22,5 %, tzn. zlepšení, jelikož se krev nesrazí tak rychle jako na nepovlakované oceli. Experiment adheze krevních destiček (45) k vyhodnocení povrchové trombogenity materiálu a ke zkoumání interakce mezi krví a materiálem byl proveden následovně:

vzorek byl inkubován v lidské plazmě bohaté na destičky po dobu 30 a 60 minut při teplotě 37 °C. Po inkubaci byly vzorky fixovány v glutaraldehydu a sušeny ke kritickému bodu (povrchová úprava vzorků pro SEM mikroskopii). Výsledky (na základě SEM mikroskopie) ukázaly, že vzorek potažený vrstvou TiN mírně snížil adhezi (hodnoceno pouze vizuálně) a byla na něm menší aktivace destiček, tzn., že vykazoval zlepšení hemokompatibility oproti nepotaženému substrátu.

## 5 Návrh doporučení pro praxi

V praxi je použití tenkých vrstev velice časté, jsou vhodné pro aplikace na materiály pro medicínské implantáty nebo i na chirurgické nástroje (skalpely, nůžky, jehly, pinzety apod.), přičemž vždy mají za cíl zlepšení užitných vlastností. Tato bakalářská práce poskytuje informace ohledně charakteru vybraných tenkých vrstev a jejich možného využití v oblasti medicíny. Doporučuji v práci pokračovat a doplnit další nezbytná měření, která byla v průběhu textu navržena a jsou sumarizována níže. Tato další měření poslouží k lepšímu pochopení chování vytvořených tenkých vrstev především v biologickém prostředí a v lidském těle.

Pokud by bylo možné na tuto práci navázat, tak bych v diplomové práci zvolila jiný bakteriální kmen, abych viděla, jak povrch tenkých vrstev reaguje s jinými typy bakteriálních buněk (např. Gram+ nebo Gram-). Testy by bylo také vhodné provést s vyšším počtem bakteriálních kmenů, aby byla větší variabilita k porovnání. Pokud by to bylo možné, tak bych v navazující práci zařadila i kmen, s nímž implantát může reálně být v kontaktu, např. *Staphylococcus aureus*. Dále bych v práci zvolila odlišnou metodu sledování interakce povrchu s krví; stejně tak i jinou metodu pro hodnocení interakce povrchu s bakteriemi, a to pomocí hodnocení viability buněk (např. pomocí průtokové cytometrie nebo pomocí přímého pozorování pod fluorescenčním mikroskopem); přistoupila bych také k přímému hodnocení interakce povrchu materiálu s tkáňovými buňkami, tj. hodnocení cytotoxicity materiálu. Dále bych v práci využila XPS analýzu k chemické analýze povrchu. Na závěr by bylo zajímavé mimo testů otěruvzdornosti zkoumat i jiné metody pro studium vlastností tenkých vrstev použitých jako materiál pro implantáty. Jako příklad mohu uvést testy účinnosti sterilizačních metod (včetně hodnocení destrukce vrstev po provedené sterilizaci), s tím souvisí i testy korozní odolnosti a dále ještě například testy tvrdosti (mikro- a nano- tvrdost) apod.

## 6 Závěr

V rámci bakalářské práce jsme sledovali pět cílů. Prvním cílem bylo navrhnout metody a postupy pro studium parametrů a vlastností tenkých vrstev TiN, ZrN, TiCrC, TiCrN, TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50. Tento cíl jsme splnili a pro studium vrstev jsme zvolili test otěruvzdornosti, jelikož se jedná o jednu z nejdůležitějších charakteristik při výběru materiálu s ohledem na jeho vhodnost pro použití jako implantát. Vrstvy, které jsme vyhodnotili jako nejvíce vyhovující pro využití jako tělní implantát z pohledu tribologických vlastností, jsou vrstvy TiCrCN\_20 a TiCrCN\_50.

Druhým cílem práce bylo provést charakterizaci povrchu tenkých vrstev. Sledovali jsme drsnost povrchu, strukturu povrchu a chemické složení vrstvy. Tento cíl byl také splněn a ke sledování drsnosti povrchu jsme si vybrali dvě metody mikroskopování, jelikož jsou obě velice běžné při pozorování tenkých vrstev. Pomocí konfokální mikroskopie jsme vyhodnotili, že největší drsnost povrchu byla naměřena u vrstvy TiN. K porovnání jsme využili AFM mikroskop, který největší drsnost povrchu naměřil u vzorku TiCrN. Rozdíl v určení nejdrsnější vrstvy může být způsoben tím, že AFM mikroskopie dosahuje vyššího rozlišení než konfokální mikroskop, ale na druhou stranu zachycuje menší plochu. U obou metod jsme zpozorovali fakt, že po nanesení jakékoli povrchové vrstvy vždy došlo ke zvýšení drsnosti. Strukturu a chemické složení vrstvy jsme měřili pomocí SEM mikroskopu. Na povrchu vrstev TiCrCN\_20 a ZrN byly vidět částice větší než 2  $\mu\text{m}$ , zatímco na vrstvách TiCrCN\_50, TiCrC, TiCrN a TiN se vyskytoval větší počet částic s menšími rozměry, což vzniklo z důsledku použité metody povlakování. U výsledků z chemického složení se na první pohled mohlo zdát, že vrstvy obsahují vyšší procento Cr, než je v původní nerezové oceli AISI 316 L. Míra toxicity se ale odvíjí i od toho, v jaké formě se ve vrstvě prvek nachází, takže se nemusí jednat o toxické Cr. Druhý důvod může být v důsledku zvoleného vyššího urychlovacího napětí v průběhu SEM mikroskopie, než by bylo pro tenkou vrstvu vhodné, z čehož plynou vyšší obsahy Cr, než by bylo jinak detekováno.

Jako třetí cíl jsme provedli návrh metody a postupů pro hodnocení interakce povrchu s biologickým prostředím a buňkami (bakteriální, tkáňové, krevní). Jako biologické prostředí jsme vybrali lidskou krev, kde jsme pomocí konfokálního mikroskopu sledovali interakci krevních buněk a jednotlivých vzorků. Z důvodu degradace buněk



na povrchu vrstev jsme došli k závěru, že žádnou ze sledovaných vrstev nedoporučujeme k aplikaci pro tělní implantáty (vzhledem k tomuto experimentu). Jako důvod degradace buněk jsme usoudili buď mechanické poškození buněk o povrchovou strukturu vrstev, či obsah Cr (obsah prvku Cr ve vrstvě vyústilo ve větší míru poškození buněk).

K hodnocení biocidity vzorků jsme zvolili bakteriální kmen *Escherichia coli*. Žádná ze studovaných tenkých vrstev nevykazovala žádný vliv na růst bakterií (ani pozitivní ani negativní). To s nejvyšší pravděpodobností znamená, že povrchy vrstev žádné antibakteriální vlastnosti na bakterie *Escherichia coli* nevykazují. Důvodem nulové odezvy materiálu na bakterie může být i nevhodně zvolená metodika testování nebo nízká citlivost zvoleného bakteriálního kmene.

Čtvrtým cílem bylo experimentálně ověřit stabilitu tenkých vrstev v různém biologickém prostředí (např. vliv pH, teploty aj.). Experiment měl za cíl zhodnotit korozní odolnost tenkých vrstev za nižší hodnoty pH a za nízké a vysoké teploty. Tento cíl bohužel nebyl splněn z důvodu mimořádného opatření Ministerstva zdravotnictví České republiky ze dne 10. 3. 2020, č. j.: MZDR 10676/2020-1/MIN/KAN, které od 11. 3. 2020 zakázalo osobní přítomnost studentů na vysokých školách (jakož i v laboratořích). Dále kvůli usnesení Vlády České republiky ze dne 8. října 2020 č. 997, která vyhlásila pro území České republiky z důvodu ohrožení zdraví v souvislosti s prokázáním výskytu koronaviru nouzový stav od 12. října 2020 do 25. října 2020. Dne 30. října 2020 č. 1108 byl dle usnesení Vlády České republiky nouzový stav prodloužen do 20. listopadu 2020.

Posledním cílem bylo posoudit a stanovit shody/rozdílnosti dosažených výsledků s odbornou literaturou, což je splněno v kapitole 4 s názvem Diskuze.

## Seznam použité literatury

- (1) MOUTHUY, Pierre-Alexis et al. Biocompatibility of implantable materials: An oxidative stress viewpoint. *Biomaterials*. 2016, **109**, 55–68. DOI 10.1016/j.biomaterials.2016.09.010. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014296121630494X>
- (2) PARSAPOUR, A., S. N. KHORASANI a M. H. FATHI. Effect of Surface Treatment and Metallic Coating on Corrosion Behavior and Biocompatibility of Surgical 316L Stainless Steel Implant. *Journal of Materials Science & Technology*. 2012, **28**(2), 125–131. DOI 10.1016/S1005-0302(12)60032-2. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1005030212600322>
- (3) MANAM, N. S. et al. Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. *Journal of Alloys and Compounds*. 2017, **701**, 698–715. DOI 10.1016/j.jallcom.2017.01.196. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092583881730230X>
- (4) DUTA, Liviu et al. Thickness Influence on In Vitro Biocompatibility of Titanium Nitride Thin Films Synthesized by Pulsed Laser Deposition. *Materials*. 2016, **9**(1). DOI 10.3390/ma9010038. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1996-1944/9/1/38>
- (5) DENG, Jianxin et al. Wear mechanisms of PVD ZrN coated tools in machining. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*. 2008, **26**(3), 164–172. DOI 10.1016/j.ijrmhm.2007.05.009. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0263436807000522>
- (6) GONZÁLEZ RUÍZ, Jesús Eduardo et al. Deposition of Multicomponent Chromium Carbide Coatings Using a Non-Conventional Source of Chromium and Silicon with Micro-Additions of Boron. *Materials Research*. 2017, **20**(1), 168–174. DOI 10.1590/1980-5373-mr-2016-0308. Dostupné také z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-14392017000100168&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-14392017000100168&lng=en&tlng=en)
- (7) LEE, D. B. TEM study on oxidized TiCrN coatings ion-plated on a steel substrate. *Surface and Coatings Technology*. 2003, **173**(1), 81–86. DOI 10.1016/S0257-

8972(03)00519-X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S025789720300519X>

- (8) ZAKUAN BIN ABDULLAH, Mohd et al. Pin-on-disc tribotest of Cr/CrN/CrCN/ZrN multilayer coatings by physical vapour deposition (PVD). *Materials Today: Proceedings*. 2019, **16**, 2067–2071. DOI 10.1016/j.matpr.2019.06.093. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214785319314427>
- (9) KRAUS, Václav. *Povrchy a jejich úpravy*. Plzeň: Západočeská univerzita, 2000. ISBN 80-7082-668-1.
- (10) DAŘOUREK, Karel. *Vybrané technologie povrchových úprav*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2007. ISBN 978-80-7372-168-8.
- (11) KUBÍNEK, R., M. VŮJTEK a M. MAŠLÁŇ. *Mikroskopie skenující sondou*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2003. ISBN 80-244-0602-0.
- (12) VŮJTEK, Milan. Mikroskopické metody SEM, TEM, AFM. *UPOL: Portál moderní fyziky*. Katedra experimentální fyziky. Dostupné z: <https://fyzika.upol.cz/cs/system/files/download/vujtek/texty/zanans.pdf?fbclid=IwAR29X1XkS9j0-z9EjgOIjTklRYNtNwLzhonI0F2YcZborDxU5CdhDzK66ns>
- (13) MACHALA, Libor et al. Mikroskopie skenující sondou: Hroty a nosníky pro AFM. Univerzita Palackého v Olomouci. *Laboratoř mikroskopie atomárních sil* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého, 2003 [cit. 2020-07-10]. Dostupné z: <http://atmilab.upol.cz/mss/mss27.html>
- (14) KUSÁK, Ivo. AFM Mikroskop. VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ. STAVEBNÍ FAKULTA. ÚSTAV FYZIKY. *Základní údaje, Úvod, Ústav fyziky FAST VUT* [online]. Ústavu fyziky Stavební fakulty VUT v Brně, [cit. 2020-07-10]. Dostupné z: [http://fyzika.fce.vutbr.cz/file/kusak/AFM\\_mikroskopie.pdf](http://fyzika.fce.vutbr.cz/file/kusak/AFM_mikroskopie.pdf)
- (15) MERTZ, Jerome. *Introduction to Optical Microscopy*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2019. ISBN 978-1-108-42830-9. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1017/9781108552660>

- (16) DE ASSUMPCAO PEREIRA-DA-SILVA, Marcelo a Fabio A. FERRI. Scanning Electron Microscopy. In: Alessandra L. DA RÓZ et al., eds. *Nanocharacterization Techniques*. Oxford: William Andrew, 2017, 1–35. DOI 10.1016/B978-0-323-49778-7.00001-1. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323497787000011>
- (17) VAN TENDELOO G., D. VAN DYCK a S. J. PENNYCOOK, eds. *Handbook of nanoscopy*. Weinheim: Wiley-VCH, 2012. ISBN 978-3-527-31706-6.
- (18) MAŇKA, Tadeáš. *Srovnání zobrazovacích možností transmisního a rastrovacího elektronového mikroskopu*. Brno, 2014. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav fyzikálního inženýrství. Dostupné také z: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=88504](https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=88504)
- (19) MURPHY, Douglas B. Michael W. DAVIDSON. *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging*. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2013. ISBN 978-0-471-69214-0.
- (20) SAHOO, P., S. K. DAS a J. PAULO DAVIM. Tribology of materials for biomedical applications. *Mechanical Behaviour of Biomaterials*. Elsevier, 2019, 2019, 1–45. DOI 10.1016/B978-0-08-102174-3.00001-2. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081021743000012>
- (21) ANTON PAAR. *User Manual Tribometer TRB* (manuál k přístroji tribometr).
- (22) TUNA, Jaroslav. *Metody povlakování řezných nástrojů*. Brno, 2012. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2012.
- (23) ZIVIĆ, F. et al. Tribometry of materials for bioengineering applications. *Tribology in industry*. 2010, 32(1), 25–32. Dostupné také z: <http://www.tribology.rs/journals/2010/2010-1/4.pdf>
- (24) DAHMAN, Yaser. *Biomaterials Science and Technology Fundamentals and Developments*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2019. ISBN 978-1-138-61147-4.
- (25) BOUTRAND, Jean-Pierre. *Biocompatibility and Performance of Medical Devices*. Waltham: Elsevier, 2019. ISBN 978-0-08-102643-4.

- (26) HASIRCI, Vasif a Nesrin HASIRCI. Hemocompatibility. In: HASIRCI, Vasif a Nesrin HASIRCI. *Fundamentals of Biomaterials*. New York: Springer New York, 2018, 173–186. 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)
- (27) ČSN EN ISO 10993-4. *Biologické hodnocení zdravotnických prostředků – Část 4: Výběr zkoušek na interakce s krví*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.
- (28) ŠŇUPÁREK, Petr a Martin MAREK. Drsnost povrchu. VŠB-TU Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky Katedra elektrických strojů a přístrojů [online]. Ostrava [cit. 2020-07-10]. Dostupné z: [http://fei1.vsb.cz/kat410/studium/studijni\\_materialy/td/01-textyVSB/005\\_Drsnost%20povrchu.pdf](http://fei1.vsb.cz/kat410/studium/studijni_materialy/td/01-textyVSB/005_Drsnost%20povrchu.pdf)
- (29) ČSN EN ISO 25178-2. *Geometrické specifikace produktu (GPS) – Textura povrchu: Plocha – Část 2: Termíny, definice a parametry textury povrchu*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2012.
- (30) JANKOVÝCH, Róbert a Bohumil BUMBÁLEK. Výškové parametry textury povrchu. *MMspektrum* [online]. 2014, **11**, 106 [cit.2020-07-10]. Dostupné z: <https://www.mmspektrum.com/clanek/vyskove-parametry-textury-povrchu.html>
- (31) PETKOV, Nikolay et al. Cathodic Arc Deposition of TiCN Coatings Influence of the C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> Ratio on the Structure and Coating Properties. *Journal of Nano Research*. 2018, **51**, 78–91. DOI 10.4028/www.scientific.net/JNanoR.51.78.
- (32) PETKOV, Nikolay et al. Influence of Coating Deposition Parameters on the Mechanical and Tribological Properties of TiCN Coatings. *Journal of Nano Research*. 2017, **49**, 98–107. DOI 10.4028/www.scientific.net/JNanoR.49.98.
- (33) JURCZYK, K. a M. U. JURCZYK. Nanostructured surfaces in biomaterials. In: Roger NARAYAN, ed. *Nanobiomaterials: Nanostructured materials for biomedical application*. Duxford: Woodhead Publishing, 2018, s. 179–195. ISBN 978-0-08-100716-7.
- (34) VERESCHAKA, Alexey A. et al. Working efficiency of cutting tools with multilayer nano-structured Ti-TiCN-(Ti,Al)CN and Ti-TiCN-(Ti,Al,Cr)CN

- coatings: Analysis of cutting properties, wear mechanism and diffusion processes. *Surface and Coatings Technology*. 2017, **332**, 198–213. DOI 10.1016/j.surfcoat.2017.10.027.
- (35) SHAH, Arman et al. Surface Modification on Titanium Alloy for Biomedical Application. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier, 2018. DOI 10.1016/B978-0-12-803581-8.10484-9.
- (36) QIN, Yanfang et al. Structure and wear characteristics of TiCN nanocomposite coatings fabricated by reactive plasma spraying. *Surface and Coatings Technology*. 2018, **342**, 137–145. DOI 10.1016/j.surfcoat.2018.02.108.
- (37) WALTHER, Thomas. Transmission Electron Microscopy of Nanostructures. In: Sabu THOMAS et al., eds. *Microscopy Methods in Nanomaterials Characterization*. Amsterdam: Elsevier, 2017, s. 105–134. DOI 10.1016/B978-0-323-46141-2.00004-3.
- (38) MORIARTY, Thomas et al. 4.8 Bacterial Adhesion and Biomaterial Surfaces. In: Paul DUCHEYNE, ed. *Comprehensive Biomaterials II*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2017, s. 101–129. DOI 10.1016/B978-0-08-100691-7.00106-3.
- (39) OZKAN, Alper D. et al. Atomic force microscopy for the investigation of molecular and cellular behavior. *Micron*. 2016, **89**, 60–76. DOI 10.1016/j.micron.2016.07.011.
- (40) WARCHOLINSKI, B. et al. Hard CrCN/CrN multilayer coatings for tribological applications. *Surface and Coatings Technology*. 2010, **204**(14), 2289–2293. DOI 10.1016/j.surfcoat.2009.12.019.
- (41) BAKALOVA, T. et al. Comparison of Mechanical and Tribological Properties of TiCN and CrCN Coatings Deposited by CAD. *Manufacturing Technology*. 2016, **16**(5), 854–858. DOI 10.21062/ujep/x.2016/a/1213-2489/MT/16/5/854.
- (42) BIN ABDULLAH, Z. et al. Pin-on-disc tribotest of Cr/CrN/CrCN/ZrN multilayer coatings by physical vapour deposition (PVD). *Materials Today: Proceedings*. 2019, **16**, 2067–2071. DOI 10.1016/j.matpr.2019.06.093.

- (43) IN-SUNG, Y. et al. Implant Surface Factors and Bacterial Adhesion: A Review of the Literature. *The International Journal of Artificial Organs*. 2012, **35**(10), 762–772. DOI 10.5301/ijao.5000154.
- (44) VISHWAKARMA, V. et al. Bacterial Adhesion and Hemocompatibility Behavior of TiN, TiO<sub>2</sub> Single and TiN/TiO<sub>2</sub> Multilayer Coated 316L SS for Bioimplants. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering*. 2015, **25**, 73–82. DOI 10.4028/www.scientific.net/JBBBE.25.73.
- (45) CHENGLONG, L. et al. Corrosion resistance and hemocompatibility of multilayered Ti/TiN-coated surgical AISI 316L stainless steel. *Materials Letters*. 2005, **59**(29–30), 3813–3819. DOI 10.1016/j.matlet.2005.06.058.

## Seznam tabulek

Tab. 1 Přehled fyzikálních metod naprašování.....	20
Tab. 2 Fotodokumentace jednotlivých vzorků tenkých vrstev .....	31
Tab. 3 3D parametry povrchové struktury .....	33
Tab. 4 Mikroskopická pozorování povrchů vzorků.....	38
Tab. 5 Chemické složení povrchu vzorků pomocí SEM (v [at. %]).....	43



## Seznam obrázků

Obr. 1 Křivky bodů varu některých halogenidů .....	18
Obr. 2 Princip napařování ve vakuu .....	19
Obr. 3 Princip napařování s nízkotlakým elektrickým obloukem .....	19
Obr. 4 Schéma AFM mikroskopie atomárních sil .....	21
Obr. 5 Snímek raménka s hrotem při AFM mikroskopii .....	22
Obr. 6 Závislost meziatomových sil na vzdálenosti hrotu od povrchu vzorku pro AFM mikroskopii .....	22
Obr. 7 Znázornění kontaktního režimu pro AFM mikroskopii .....	23
Obr. 8 Znázornění bezkontaktního režimu pro AFM mikroskopii .....	23
Obr. 9 Znázornění poklepového režimu pro AFM mikroskopii .....	24
Obr. 10 Princip rastrovací elektronové mikroskopie .....	25
Obr. 11 Princip konfokální mikroskopie .....	26
Obr. 12 Tribometr pro suché i kapalně prostředí .....	27
Obr. 13 Princip metody <i>Ball-on-Disc</i> .....	28
Obr. 14 Měření parametrů AISI 316 L pomocí posuvného měřítka .....	31
Obr. 15 Schéma s parametry vzorků .....	32
Obr. 16 Princip výpočtu drsnosti povrchu .....	33
Obr. 17 Schéma výškových parametrů povrchové textury .....	34
Obr. 18 Energiově-disperzní spektrum chemického složení TiCrC pomocí SEM .....	35
Obr. 19 Znázornění upevnění třecí dvojice a měřicího přístroje .....	35
Obr. 20 Struktura povrchu AISI316 L bez aplikovaného povlaku .....	42
Obr. 21 Morfologie povrchu vrstev TiN, ZrN a TiCrC .....	42
Obr. 22 Morfologie povrchu vrstev TiCrN, TiCrCN_20 a TiCrCN_50 .....	42
Obr. 23 Profil odbroušeného materiálu po tribologické zkoušce TiN a ZrN .....	43
Obr. 24 Profil odbroušeného materiálu po tribologické zkoušce TiCrC a TiCrN .....	43
Obr. 25 Profil odbroušeného materiálu po tribologické zkoušce TiCrCN_20 a TiCrCN_50 .....	44
Obr. 26 Hodnocení šířky vytvořené stopy po tribologickém experimentu TiN a ZrN vůči kuličce Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .....	44
Obr. 27 Hodnocení šířky vytvořené stopy po tribologickém experimentu TiCrC a TiCrN vůči kuličce Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .....	44

Obr. 28 Hodnocení šířky vytvořené stopy po tribologickém experimentu TiCrCN_20 a TiCrCN_50 vůči kuličce Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .....	45
Obr. 29 Naočkované agarové plotny se vzorky po 24 hodinách kultivace.....	47
Obr. 30 Interakce vzorku skla a oceli AISI 316 L s krví .....	47
Obr. 31 Interakce vrstev TiN a ZrN s krví.....	48
Obr. 32 Interakce vrstev TiCrC a TiCrN s krví .....	48
Obr. 33 Interakce vrstev TiCrCN_20 a TiCrCN_50 s krví.....	48

## Seznam grafů

Graf 1 Vyhodnocení drsnosti povrchu průměrné aritmetické výšky pomocí konfokálního mikroskopu .....	40
Graf 2 Vyhodnocení drsnosti povrchu maximální výšky pomocí konfokálního mikroskopu .....	40
Graf 3 Vyhodnocení drsnosti povrchu průměrné aritmetické výšky pomocí AFM mikroskopu .....	41
Graf 4 Vyhodnocení drsnosti povrchu maximální výšky pomocí AFM mikroskopu ....	41
Graf 5 Průměrné šířky stop vzniklých po tribologických experimentech na vrstvách...	45
Graf 6 Průměrné hloubky stop tribologických experimentech na vrstvách.....	46
Graf 7 Záznamy koeficientů tření v průběhu tribologického experimentu.....	46

## **Seznam příloh**

Příloha A Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu (konfokální mikroskopie)

Příloha B Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu (AFM mikroskopie)

Příloha C Výsledky vyhodnocení průměrné šířky a hloubky stop

Příloha D Obsah přiloženého CD

## Přílohy

### Příloha A Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu (konfokální mikroskopie)

Tab. A1 Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu průměrné aritmetické výšky pomocí konfokálního mikroskopu

Vzorky	Sa1 (nm)	Sa2 (nm)	Sa3 (nm)	Sa4 (nm)	Sa5 (nm)	Průměr	Směrodatná odchylka
<b>AISI 316 L</b>	53,498	52,995	56,033	54,750	54,263	<b>54,308</b>	<b>1,054</b>
<b>TiN</b>	90,709	82,490	62,522	62,931	67,991	<b>73,329</b>	<b>11,308</b>
<b>ZrN</b>	61,805	57,137	59,356	57,016	58,528	<b>58,768</b>	<b>1,753</b>
<b>TiCrC</b>	59,841	60,741	63,891	69,769	61,667	<b>63,182</b>	<b>3,558</b>
<b>TiCrN</b>	56,374	62,392	75,371	77,540	59,820	<b>66,299</b>	<b>8,537</b>
<b>TiCrCN-20</b>	61,962	60,850	56,144	62,156	56,240	<b>59,470</b>	<b>2,714</b>
<b>TiCrCN-50</b>	62,551	64,616	59,947	59,761	67,256	<b>62,826</b>	<b>2,849</b>

Poznámka: Data byla naměřena na mikroskopu SENSOFAR S Neox.

Tab. A2 Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu maximální výšky pomocí konfokálního mikroskopu

Vzorky	Sz1 (nm)	Sz2 (nm)	Sz3 (nm)	Sz4 (nm)	Sz5 (nm)	Průměr	Směrodatná odchylka
<b>AISI 316 L</b>	389,25	381,33	400,33	368,67	379,06	<b>382,35</b>	<b>11,43</b>
<b>TiN</b>	737,31	697,19	580,44	638,32	526,49	<b>635,95</b>	<b>76,28</b>
<b>ZrN</b>	424,31	434,49	440,39	417,48	427,40	<b>428,81</b>	<b>7,96</b>
<b>TiCrC</b>	623,04	387,52	575,81	579,29	519,43	<b>537,02</b>	<b>81,67</b>
<b>TiCrN</b>	453,53	488,18	577,81	755,96	515,71	<b>558,24</b>	<b>106,92</b>
<b>TiCrCN-20</b>	642,21	475,62	462,48	447,09	444,23	<b>494,33</b>	<b>74,80</b>
<b>TiCrCN-50</b>	454,33	526,31	487,09	476,25	561,85	<b>501,17</b>	<b>38,28</b>

Poznámka: Data byla naměřena na mikroskopu SENSOFAR S Neox.

## **Příloha B Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu (AFM mikroskopie)**

Tab. B1 Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu průměrné aritmetické výšky pomocí mikroskopie atomárních sil

<b>Vzorky</b>	<b>Sa (nm)</b>
<b>AISI 316 L</b>	5,19
<b>TiN</b>	18,79
<b>ZrN</b>	22,58
<b>TiCrC</b>	45,21
<b>TiCrN</b>	51,50
<b>TiCrCN-20</b>	15,15
<b>TiCrCN-50</b>	25,87

Tab. B2 Výsledky vyhodnocení drsnosti povrchu maximální výšky pomocí mikroskopie atomárních sil

<b>Vzorky</b>	<b>Sz (nm)</b>
<b>AISI 316 L</b>	77,81
<b>TiN</b>	608,18
<b>ZrN</b>	755,79
<b>TiCrC</b>	765,24
<b>TiCrN</b>	1443,01
<b>TiCrCN-20</b>	348,80
<b>TiCrCN-50</b>	670,76

## Příloha C Výsledky vyhodnocení průměrné šířky a hloubky stop

Tab. C1 Výsledky vyhodnocení průměrné šířky stop vzniklých po tribologickém experimentu

Vzorky	$\Delta L01$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Delta L02$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Delta L03$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Delta L04$ ( $\mu\text{m}$ )	Průměr	Směrodatná odchylka
TiCrN	213,93	236,67	242,94	231,84	<b>231,345</b>	<b>12,468</b>
TiCrC	253,23	235,32	240,12	259,45	<b>247,03</b>	<b>11,219</b>
TiCrCN-20	274,62	254,61	250,36	262,93	<b>260,63</b>	<b>10,688</b>
TiCrCN-50	231,84	224,28	222,92	251,18	<b>232,555</b>	<b>13,022</b>
TiN	322,23	307,74	307,1	322,92	<b>314,9975</b>	<b>8,758</b>
ZrN	471,31	433,33	458,17	483,74	<b>461,6375</b>	<b>21,567</b>

Tab. C2 Výsledky vyhodnocení průměrné hloubky stop vzniklých po tribologickém experimentu

Vzorky	$\Delta Z01$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Delta Z02$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Delta Z03$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Delta Z04$ ( $\mu\text{m}$ )	Průměr	Směrodatná odchylka
TiCrN	0,73	0,70	0,78	0,77	<b>0,75</b>	<b>0,037</b>
TiCrC	2,04	2,03	2,44	2,28	<b>2,20</b>	<b>0,201</b>
TiCrCN-20	1,00	1,10	1,13	1,00	<b>1,06</b>	<b>0,066</b>
TiCrCN-50	1,02	1,10	0,70	1,43	<b>1,06</b>	<b>0,301</b>
TiN	1,28	1,29	1,23	1,27	<b>1,27</b>	<b>0,027</b>
ZrN	1,62	1,19	1,58	2,14	<b>1,63</b>	<b>0,390</b>

## **Příloha D Obsah přiloženého CD**

Text bakalářské práce

- bakalarska\_prace\_2020\_Sana\_AlHourani.pdf