



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
**Katedra přírodovědných oborů**

**Nový typ biokompatibilního pokrytí na bázi  
vápníkem dopovaného uhlíku**

**New type of biocompatible coating based on  
calcium doped carbon**

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika  
Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu

Autor diplomové práce: Bc. Ondřej Sekyrka  
Vedoucí diplomové práce: Prof. Ing. Miroslav Jelínek, DrSc.  
Konzultant: Ing. Jan Remsa, Ph.D.

---

**Kladno 2019**



# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Sekyrka** Jméno: **Ondřej** Osobní číslo: **434112**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra přírodovědných oborů**  
Studijní program: **Biomedicínská a klinická technika**  
Studijní obor: **Přístroje a metody pro biomedicínu**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Nový typ biokompatibilního pokrytí na bázi vápníkem dopovaného uhlíku**

Název diplomové práce anglicky:

**New type of biocompatible coating based on calcium doped carbon**

Pokyny pro vypracování:

1) Studium dosavadních poznatků k dopaci diamantu podobných (DLC) vrstev vápníkem, výhody, depoziční technologie, charakterizační metody 2) Příprava technologického laserového zařízení pro syntézu dopovaného DLC, výpočet optimálních depozičních parametrů pro přípravu dopovaného DLC na škále nula až cca 20 at% vápníku 3) Příprava terčů pro laserovou depozici (Ca, CaC<sub>2</sub> nebo CaCO<sub>3</sub>), výroba a testování lisovacího zařízení 4) Depozice Ca: DLC vrstev 5) Studium vlastností připravených vrstev (tloušťka, morfologie, SEM, AFM, koncentrace dopantů- WDS) 6) Zhodnocení výsledků, diskuze

Seznam doporučené literatury:

- [1] A. Dörner-Reisel a kol., Diamond-like carbon coatings with Ca-O- incorporation for improved biological acceptance, 2002  
[2] M. Jelínek a kol., Hybrid laser technology and doped biomaterials, 2017

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

**prof. Ing. Miroslav Jelínek, DrSc.**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

**Ing. Jan Remsa, Ph.D., Ing. Petr Písařík, Ph.D.**

Datum zadání diplomové práce: **19.02.2019**

Platnost zadání diplomové práce: **18.09.2020**

doc. Ing. Lenka Lhotská, CSc.  
podpis vedoucí(ho) katedry


prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

### III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student(ka) bere na vědomí, že je povinnen(a) vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

11.5.2019

Datum převzetí zadání

  
-----  
Podpis studenta(ky)

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Nový typ biokompatibilního pokrytí na bázi vápníkem dopovaného uhlíku“ vypracoval samostatně a použil k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně

.....

Bc. Ondřej Sekyrka

## **PODĚKOVÁNÍ**

Rád bych poděkoval panu prof. Miroslavovi Jelínkovi za vedení a koordinaci mé práce, dále především Janu Remsovi, Ph.D. za cenné rady pro psaní práce a za přípravu experimentů. Za cenné poznatky bych pak chtěl poděkovat i Petru Písaříkovi, Ph.D. a Tomáši Kocourkovi Ph.D. Dále bych chtěl poděkovat spřáteleným laboratořím, které pro nás prováděly analýzy WDS a XPS. V neposlední řadě pak mé poděkování míří ke Studentské grantové agentuře ČVUT (SGSC18/157/OHK4/2T/17), z níž byl náš projekt financován.

## **ABSTRAKT**

Tenká vrstva Ca:DLC pokrývající implantát se zdá jako ideální pro zlepšení jeho materiálových i biokompatibilních vlastností. Za použití excimerových Kr:F laserů jsme provedli dva experimenty, v nichž jsme připravili vzorky, jejichž vlastnosti byly předmětem našeho výzkumu. V prvním experimentu jsme připravili vrstvy pouze z koupeného terče tvořeného  $\text{CaCO}_3$ , ty měly sloužit k nastudování růstových rychlostí vrstev za různých depozičních podmínek. U pěti připravených vzorků jsme měřili tloušťku a drsnost pomocí přístroje Alphastep IQ, dále jsme vzorky pozorovali optickým mikroskopem a zkoumali jsme jejich povrchy pomocí metody AFM. Jelikož ve druhém experimentu jsme chtěli připravit škálu vzorků s atomovými koncentracemi vápníku v DLC od 1 at.% do 20 at.%, provedli jsme teoretický výpočet založený na relativních atomových hmotnostech a hustotách prvků, dále experimentálně získaných rychlostech růstu a požadované tloušťce vrstev 400 nm, vhodné pro následné charakterizační metody. Pro druhý experiment, jehož předmětem byla duální pulzní laserová depozice jsme použili koupený terč vytvořený z grafitové tyče pro depozici uhlíkové složky a lisováním a následným sintrováním jsme pro depozici vápníkové složky vytvořili terč z práškového  $\text{CaCO}_3$ . Následně jsme podle napočítaných depozičních podmínek provedli sérii depozic, kterými jsme vytvořili pět vzorků, jejichž atomové koncentrace vápníku měly být 1, 4, 8, 11 a 15 at.%. Pro srovnání jsme vytvořili referenční vzorek vytvořený pouze z grafitového terče a referenční vzorek vytvořený pouze z terče  $\text{CaCO}_3$ . Vzorky jsme podrobili měření tloušťky a drsnosti pomocí přístroje Alphastep IQ, povrchy jsme zkoumali jak metodou AFM, tak SEM a provedli jsme studium chemického složení vrstev pomocí metod XPS a WDS. Výsledky nám ukázaly, že ač jsme vytvořili škálu atomových koncentrací, získané atomové koncentrace vápníku v DLC jsou zhruba o polovinu nižší, než ty, na které jsme cílili.

### **Klíčová slova**

Pulzní laserová depozice, Diamantu-podobný uhlík (DLC), Vápník

## **ABSTRACT**

Thin layers of Ca:DLC used as coating on implants should improve material properties and biocompatibility. Using the excimer Kr:F lasers, we have performed two pulsed laser depositions, samples prepared by these depositions were the objective of our research. In the first deposition, we have only used a bought  $\text{CaCO}_3$  target to prepare layers, these were only used to study growth rates. Five samples were measured for film thickness and roughness, the film homogeneity was examined by optical microscope and their surfaces were scanned using AFM. Because of the goal of the second experiment, to create a set of layers with atomic concentrations of Calcium in DLC from 1 at.% up to 20 at.%, we have conducted a calculation of deposition conditions based on relative atomic masses, elementary densities, experimentally gained growth rates and required film thickness of 400 nm, appropriate for further characterizations. For the dual laser deposition two targets were used, the graphite target was bought, the other one was made by pressing and sintering from the  $\text{CaCO}_3$  powder. A series of dual pulsed laser depositions was conducted to obtain five samples with various atomic concentrations of Calcium in DLC, targeted concentrations were 1, 4, 8, 11 and 15 at.%. We have also created reference samples, where one was deposited from graphite target only and the second from  $\text{CaCO}_3$  target only. Alphastep IQ was then used to measure thickness and roughness of samples, we have scanned surfaces with AFM and SEM. XPS and WDS methods were also used to characterize the chemical composition of prepared layers. Although we have created a scale of samples, we have found, that our layers contained lower atomic concentrations of Calcium compared to previous calculations.

### **Keywords**

Pulsed laser deposition, Diamond-like carbon (DLC), Calcium

# Obsah

<b>Seznam zkratk</b> .....	<b>9</b>
<b>1 Úvod</b> .....	<b>10</b>
1.1 Přehled současného stavu .....	11
1.2 Cíle práce .....	13
<b>2 Použité experimentální metody a postupy</b> .....	<b>14</b>
2.1 Pracovní postup .....	14
2.2 Metody pro přípravu terče .....	15
2.1.1. Hydraulický lis .....	15
2.1.2. Sintering - pec .....	15
2.3 Technologie použité pro provedení depozice .....	16
2.3.1 Vakuová komora .....	16
2.3.2 Použité lasery .....	17
2.4 Metody depozice .....	17
2.4.1 Pulzní Laserová Depozice .....	17
2.4.2 Duální pulzní laserová depozice .....	18
2.5 Charakterizační metody .....	19
2.5.1. Optická mikroskopie .....	19
2.5.2. Morfologie povrchu – mechanická profilometrie .....	19
2.5.3. Rastrovací elektronová mikroskopie .....	20
2.5.4. Mikroskopie atomárních sil .....	20
2.4.5. Vlnově disperzní spektroskopie .....	21
2.4.6. XPS X-ray photoelectron spectroscopy .....	21
<b>3 Výsledky</b> .....	<b>23</b>
3.1 PLD vápníku na křemíkovou destičku .....	23
3.1.1 Depoziční podmínky .....	23
3.1.2 Optická mikroskopie .....	23
3.1.3 Měření tloušťky vrstev .....	24
3.1.4 Povrchová morfologie .....	25
3.2 Výpočet depozičních parametrů laserů pro výrobu vrstev vápníku s DLC ...	26
3.2.1 Ukázkový výpočet .....	27



3.3	Výsledky duální pulzní laserové depozice .....	28
3.3.1	Depoziční podmínky .....	28
3.3.2	Tloušťka vrstev .....	29
3.3.3	Povrchová morfologie vzorků obsahujících DLC s vápníkem.....	30
3.3.4	Stanovení chemického složení připravených vzorků .....	36
<b>4</b>	<b>Diskuse .....</b>	<b>39</b>
4.1	Dosavadní poznatky získané ze zdrojů .....	39
4.2	Diskuze depozice z $\text{CaCO}_3$ .....	39
4.3	Charakterizace vzorků připravených z $\text{CaCO}_3$ .....	40
4.4	Počítání pro duální depozici .....	40
4.5	Duální pulzní laserová depozice .....	41
4.6	Charakterizace vrstev připravených pomocí duální PLD .....	42
4.7	Hodnocení výsledků charakterizací .....	44
<b>5</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>45</b>
	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>48</b>

## Seznam zkratek

Zkratka	Význam
PLD	Pulzní laserová depozice (Pulsed laser deposition)
DLC	Diamantu-podobný uhlík (Diamond-like carbon)
SEM	Rastrovací elektronová mikroskopie (Scanning electron microscopy)
WDS	Vlnově disperzní spektroskopie (Wavelength dispersive spectroscopy)
XPS	Fotoelektronová spektroskopie (X-Ray photoelectron spectroscopy)
AFM	Mikroskopie atomárních sil (Atomic force microscopy)
FZÚ	Fyzikální ústav
Å	Angstrom
KrF	Krypton-Fluor
at. %	Atomárních procent

# 1 Úvod

Náš experiment má za cíl vytvořit vrstvu, která spojuje materiálové vlastnosti diamantu podobného uhlíku (DLC) a biokompatibilní vlastnosti vápníku, tuto vrstvu následně podrobit materiálovým testům a vyhodnotit, zda je využitelná pro kontakt s lidskou tkání.

Vápník je biogenní prvek, obsažený v hydroxyapatitu  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ , obsaženém mimo jiné v lidských kostech. I kvůli této skutečnosti je považován za biokompatibilní a vhodný pro kontakt s lidskou tkání. Jeho vlastností je využíváno v mnoha biologických aplikacích, zejména v implantologii.

DLC je materiál, využívaný v implantologii pro své materiálové kvality a dostačující toleranci tkáněmi v lidském těle. Jeho strukturu tvoří uhlík, vyskytující se v hybridizacích  $\text{sp}^2$  a  $\text{sp}^3$ . Poměr těchto hybridizací, vyskytujících se v materiálu, udává jeho vlastnosti. Pokud v materiálu výrazně převažuje  $\text{sp}^2$ , jejíž profil odpovídá trojúhelníku, vlastnosti by se měly blížit grafitu. Pokud převažuje  $\text{sp}^3$ , jejíž profil odpovídá tetraedru, bude se materiál chovat podobněji diamantu, podle této skutečnosti pak materiál i nazýváme (DLC) [1].

Na základě těchto známých vlastností jednotlivých složek navrhované vrstvy lze usoudit, že přidáním určitého množství vápníku do struktury diamantu podobného uhlíku, dojde ke vzniku vrstvy, která bude mít kromě vynikajících materiálových vlastností DLC také schopnost vápníku být velice dobře snášena tkáněmi lidského těla. Aby takový materiál v těle fungoval, je potřeba připravit vrstvu natolik silnou, že implantát dokonale pokryje, ale zároveň nebude moc silná na to, aby se kvůli biologickým vlivům či vlivům působícím v materiálu uvolnila z povrchu, který kryje [1].

Cílem této práce je vytvořit vrstvy silné 400 nm. Ke zjištění toho, jak jsme se k této hodnotě přiblížili, použijeme metody mechanické profilometrie (přístroj Alphastep IQ). Dále nás bude zajímat hrubost povrchu, k jejímuž měření použijeme stejný přístroj. Jelikož Alphastep IQ změří pouze úzký profil, kde záleží, ve kterém místě měření provádíme, podíváme se i na větší okolí povrchu pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM) a rastrovací elektronové mikroskopie (SEM). Chceme také zjistit, v jakém zastoupení se nám do výsledných vrstev podařilo vápník dostat v poměru k DLC. Tuto informaci nám poskytnou metody fotoelektronové spektroskopie (XPS) a vlnově disperzní spektroskopie (WDS).

## 1.1 Přehled současného stavu

Výzkumné týmy, které narazily na problematiku dopace vápníku volily různé postupy pro zhotovení vrstev a jejich produkty byly rovněž určeny pro různé aplikace. Nejblíže k naší problematice stály výzkumné týmy pod vedením Kwoka [9] resp. Dorner-Reisel [6, 7, 8].

DLC je forma uhlíku jejíž strukturu tvoří  $sp^2$  (grafit) i  $sp^3$  (diamant) hybridizace. Výsledné vlastnosti materiálu jsou tedy dány poměrem obsahu těchto hybridizací a podle tohoto poměru se i blíží více vlastnostem grafitu či diamantu. Mezi nejlepší vlastnosti DLC patří odolnost proti korozi, nízký třecí koeficient, vysoká tvrdost a hladkost. Další výhodou DLC je možnost jeho produkce za relativně nízkých teplot na širokou škálu podložních materiálů. DLC bylo od svého objevení v roce 1953 využito v řadě odvětví, mezi která patří i implantologie [1, 2, 3].

DLC je díky svým materiálovým vlastnostem používáno pro zvýšení biokompatibility při kontaktu s biologickým prostředím. Vrstva DLC prokazatelně snižuje pravděpodobnost výskytu trombu a stimuluje buněčnou přilnavost a rozrůstání tkáně. Vrstva DLC navíc může sloužit jako ochranná bariéra materiálu ve smyslu snížení koroze a úniku toxických prvků, tedy může chránit před vyvoláním alergické, zánětlivé či karcinogenní reakce. [4, 5]

Výzkumný tým Dorner-Reisel připravil vrstvy Ca-O-DLC pomocí metody výboje stejnosměrného proudu. Pro charakterizaci výsledků používali metody SEM, Ramanovu spektroskopii, XPS, Infračervenou spektroskopii, Scratch test a měřili univerzální tvrdost. Z jejich výsledků vyplývá, že dopované Ca-O-DLC má nižší univerzální tvrdost, než nedopované DLC. Podle tohoto týmu je na vině parciální tlak plynu CaO-H<sub>2</sub>O během depozice. Mezi jejich závěry najdeme i nižší hodnoty Youngova modulu pružnosti a relativní elastické návratnosti. Rastrovací elektronová mikroskopie odhalila, že zkoumané vzorky dopovaného Ca-O-DLC jsou tenčí než vzorky nedopovaného DLC. Scratch test odhalil praskliny na hranách vzorku nedopovaného DLC při síle 30 N. U dopovaného vzorku byly praskliny menší. Podle XPS byla ve vrstvě prokázána přítomnost sloučenin CaCO<sub>3</sub>, CaO, vyloučila naopak přítomnost CaC<sub>2</sub>. [6, 7, 8]

V dalším výzkumu tento tým zkoumal závislost profilu vytvořené vrstvy na relativním parciálním tlaku plynu CaO-H<sub>2</sub>O během depozice. Vytvořili tedy několik vzorků za použití stejného deponičního času, stejného metanového prekurzoru, ale různých parciálních tlaků CaO-H<sub>2</sub>O. Tým následně provedl AFM, SEM, test smáčivosti a buněčné testy s myšimi fibroblasty typu L929. Podle výsledků AFM byly povrchy dopovaného i nedopovaného DLC zvrásněny podobně. Smáčivé úhly

dopovaného Ca-O-DLC byly naměřeny nižší než pro nedopované DLC. Při testu na myších fibroblastech byla pozorována lepší adheze pro vzorky Ca-O-DLC. Podle článku byly buňky pozorované u vzorku s Ca-O-DLC zdravější než ty u nedopovaného DLC. Jako výsledek bylo uvedeno, že navzdory mírnému snížení tvrdosti materiálu jeho biokompatibilita vzrostla. Tým navrhl důkladnější test smáčivosti a prozkoumání efektu proteinů na vrstvu. [6, 7, 8]

Tým pod vedením S.C.H. Kwoka připravoval vrstvy DLC dopované vápníkem, fosforem i jejich kombinací pomocí metody implantace a depozice plazmové iontové imerze. Předpokladem bylo zvýšení biokompatibility vrstvy jak pomocí vápníku, tak pomocí fosforu resp. jejich kombinací. Jejich cílem bylo vytvořit vrstvu, která by mohla sloužit v oblasti kardiovaskulárních biomedicínských aplikací. Výchozí myšlenkou bylo, že vápník je základní složkou kosti a měl by tedy biokompatibilitu zvýšit. Tým měřil kontaktní úhel, aby odhalil vztah mezi krví a povrchovou energií. Pro jejich depozici s vápníkem byl využit práškový vápník o čistotě 98,9 %. Pro charakterizaci byly využity metody SEM, XPS a měření kontaktního úhlu. Při měření kontaktního úhlu se týmy zaměřovaly na charakterizaci pro albumin a fibrinogen kvůli jejich obsahu v krvi. Z jejich výsledků vyplývá, že při dopaci jak samotného vápníku s DLC, tak samotného fosforu s DLC se biokompatibilita zlepšila, při dopaci obou prvků zároveň se biokompatibilita zhoršila. [9]

P. K. Chu a jeho tým studovali parametry nedopovaného DLC pro využití v implantologii a předpovídali zlepšení jeho vlastností dopací jinými prvky využívanějšími pro kontakt s lidskou tkání. Chu a jeho tým prováděli implementaci niklu do struktury DLC, přičemž nikl z výsledné struktury unikal. Chu se ve své práci zabýval možným využitím DLC pro biomedicínu a diskutoval problémy, které by mohly nastat. [4, 5]

Laserovou dopaci DLC vápníkem ještě nikdo prokazatelně neprováděl. Naším prvním krokem bylo proto seznámení se s chováním vápníku po působení laserovým paprskem na jeho strukturu. Vápník se však v našem výzkumu objevil nikoli v čisté formě, ale ve formě několika sloučenin. Zkušební pokusy jsme prováděli s CaO na základě pozitivních zkušeností v ohledu jeho soudržnosti s DLC podle informací poskytnutých týmem Dorner-Reisel. Další sloučeninou obsahující vápník v našem výzkumu se stal  $\text{CaCO}_3$ , jehož přítomnost byla pomocí spektroskopických metod prokázána ve vytvořených vrstvách stejného týmu. Poslední sloučeninou, která pro nás připadala v úvahu byl  $\text{CaC}_2$ , u něho jsme však ztroskotali hned u přípravy terče, jelikož se nám nepodařilo sehnat tuto sloučeninu v podobě dostatečně malých zrn. Terč, který jsme nalisovali z této sloučeniny neměl hladký povrch a při depozici by proto odpařování plazmového oblaku nebylo kontrolované.

## 1.2 Cíle práce

Hlavním cílem této práce bylo připravit vápníkem dopované vrstvy DLC metodou pulzní laserové depozice. Pokusit se připravit vrstvu takovou, aby splňovala materiálové i biokompatibilní požadavky pro využití v implantologii. Cílem bylo připravit vzorky s atomovými koncentracemi mezi 1 – 20 at.% Ca v DLC. Vzorky by měly být zkoumány optickou mikroskopií, měla být zjištěna jejich tloušťka a drsnost, měly být ohledány optickou mikroskopií, charakterizovány pomocí metod zobrazení povrchu SEM a AFM. Koncentrace jednotlivých složek vrstev měly být zkoumány pomocí metod prvkové vazebné analýzy WDS a XPS. Výsledky jsou následně vyhodnoceny.

Prvním krokem je rešerše předcházejících výzkumů v této oblasti. V literatuře byly za zajímavé pokládány články o různých metodách dopace vápníku v jakýchkoli podobách spolu s DLC. Dále byla hledána charakterizace materiálových vlastností uhlíku ve formách, v nichž s ním bude nakládáno během experimentu (grafit, DLC) a vápníku ( $\text{CaO}$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaC}_2$ ). Dále byly vyhledány a porovnány údaje a depoziční podmínky používané při provedení podobných experimentů různými výzkumnými týmy.

Po nastudování teoretických dat bylo potřeba zabezpečit chemikálie, které jsme pro experiment potřebovali a upravit je do požadovaných stavů. Depoziční vakuovou komoru bylo potřeba důkladně vyčistit pomocí alkoholů a vaty, dále ji odvětrat a připravit jednotlivé elementy aparatury do pozic, ve kterých lasery mířily na příslušné úchyty terčů. Zatímco grafitový terč byl k dispozici připravený, vyříznutý z grafitové tyče, terč pro depozici vápníku jsme se rozhodli pro náš finální experiment připravit sami. K přípravě terče bylo potřeba práškového  $\text{CaCO}_3$ , formy, do které jsme prášek vložili, hydraulického lisu a keramické pece. S využitím těchto věcí jsme pak  $\text{CaCO}_3$  nejprve připravili do formy, pak slisovali a nakonec vypálili v peci, aby se nám terč nedrolil.

Když pak byla nastavena depoziční aparatura, nastavené a změřené hustoty energie působící v daných místech na naše terče a nastavené parametry laserů, bylo potřeba uchytit podložní destičku vyrobenou z křemíku do držáku v příslušné vzdálenosti od terčů uchycených na rotačních držácích. Po vyčerpání vakuové komory a očištění křemíkových podložek pomocí radiofrekvenčního výboje v argonu byla spuštěna depozice. Tímto postupem bylo vytvořeno příslušné množství vzorků odpovídajících příslušné koncentrační řadě atomových procent vápníku v DLC.

Výsledné vrstvy bylo následně potřeba charakterizovat. Bylo doporučeno měření tloušťky vrstev pro zjištění účinnosti depozice a studována byla i drsnost povrchu. Povrch vzorků byl pak zobrazen pomocí technik AFM a SEM. Na snímcích lze vidět případné nerovnosti. O výsledku naší depozice nám pak nejvíce prozradila metoda WDS. Ta nám poskytla údaje o zastoupení jednotlivých prvků ve vrstvě. Zjistili jsme tedy poměr atomových koncentrací vápníku k uhlíku a kyslíku.

## 2 Použité experimentální metody a postupy

### 2.1 Pracovní postup

- 1) Provedli jsme rešerši zdrojů týkajících se tématu, tu jsme zpracovali v úvodu.
- 2) Navrhli jsme pilotní experiment pulzní laserové depozice vrstvy z koupeného terče  $\text{CaCO}_3$  na křemíkovou destičku.
- 3) Za různě nastavených depozičních parametrů jsme připravili 5 odlišných vrstev.
- 4) Tyto vrstvy jsme podrobili zkoumání pomocí optické mikroskopie, pomocí mikroskopie atomárních sil a měřili jsme tloušťku a drsnost těchto vrstev.
- 5) Pro finální depozici jsme spočítali požadované repetiční frekvence laserů pro požadovanou tloušťku 400 nm a koncentrace vzorků 1, 4, 8, 11, 15 at.% Ca v DLC vycházející z poznatků získaných v pilotním experimentu.
- 6) Pro finální depozici jsme používali koupený terč vyrobený z grafitové tyče a vlastní připravený terč  $\text{CaCO}_3$ .
  - a.  $\text{CaCO}_3$  terč byl připraven lisováním  $\text{CaO}$  prášku, ze kterého se při kontaktu s atmosférou stal  $\text{CaCO}_3$ , hydraulickým lisem a následným žiháním stlačeného vzorku v peci při 500 °C.
- 7) Vyčistili jsme depoziční komoru a nastavili laserovou aparaturu tak, aby v místě kontaktu s terčem měly lasery požadované parametry, terče byly ve vzdálenosti 55 resp. 58 mm od podložky.
- 8) Vakuovou komoru jsme uzavřeli a pomocí zapojených vývěv snížili v komoře tlak na hodnoty okolo  $10^{-5}$  Pa.
- 9) Na podložku jsme následně působili radiofrekvenčními výboji v argonu pro očištění povrchu podložky (k zajištění lepší přilnavosti vrstvy k podložce).
- 10) Následně jsme do komory (blízko okna, kterým do komory vstupuje laserový svazek) vpustili argonový plyn, který tlak v komoře zvýšil na 0,25 Pa, tedy zahustil prostředí a zabránil uhlíku chytat se na okně a měnit tak parametry laserového svazku vstupujícího do komory.
- 11) Lasery jsme uvedli do chodu ve stejný moment, aby vytvořené vrstvy byly co nejhomogennější. Depozice proběhla s hustotou energie 8 J/cm<sup>2</sup> pro laser deponující grafitový terč umístěný ve vzdálenosti 55 mm od podložky a hustotou energie 1,3 J/cm<sup>2</sup> pro terč  $\text{CaCO}_3$  umístěný ve vzdálenosti 58 mm od podložky.
- 12) Po dokončení depozice jsme opět tlak v komoře vyrovnali na atmosférický tlak.
- 13) Pomocí pinzety jsme následně vyjmuli vzorek a umístili ho do krabičky.
- 14) Postup jsme opakovali pro každý ze vzorků.
- 15) Vzorky jsme podrobili měření tloušťky pomocí přístroje P-6 od firmy KLA-Tencor.
- 16) Pomocí přístroje Alphastep IQ (KLA-Tencor) jsme měřili drsnosti vrstev a znovu tloušťky vrstev.

- 17) Vrstvy jsme měřili pomocí metody AFM.
- 18) Odeslali jsme vrstvy do spřátelené laboratoře, kde proběhla metoda XPS.
- 19) Další laboratoř nám pak zpracovala výsledky SEM a WDS.

## 2.2 Metody pro přípravu terče

### 2.1.1. Hydraulický lis

Hydraulický lis jsme využili při lisování pořízené chemikálie pro tvorbu terče do použitelného tvaru. Jako první jsme pracovali s pákovým lisem, nicméně výsledky nebyly uspokojivé. Hydraulický lis je založen na principu Pascalova zákona, tedy že tlak kapaliny je v každém místě stejný. Hydraulický lis, který jsme používali byl vyroben firmou Carl Zeiss, Jena (obr. 2.2). Pro naši aplikaci jsme  $\text{CaCO}_3$  prášek pro tvorbu terče vložili do kovového aparátu s kruhovým otvorem o průměru 5 cm pro lisování a následně jsme tento aparát v hydraulickém lisu drželi 30 minut pod tlakem 35 Mpa. [10]

### 2.1.2. Sintering - pec

Aby se terč po slisování nedrolil, je potřeba vytvořit pevnější vazby mezi molekulami v nově vzniklém terči. K tomu využijeme pec LM 212.11 od společnosti VEB Elektro Bad Frankenhausen. Pec pracuje pod napětím 220V, její maximální výkon je 2,8 kW a maximální teplota zahřátí 1200 °C. Látku zahřejeme na teplotu blízkou teplotě tání, její molekuly pak poruší svou strukturu a taví se. Terč zkrystalizuje, nebude se drolit, bude lépe držet tvar a jeho povrch bude vhodnější pro zasažení laserovým paprskem. [11, 12]



Obrázek 2.1 a 2.2: Pec LM 212.11 a hydraulický lis od firmy Carl Zeiss, Jena



## 2.3 Technologie použité pro provedení depozice

### 2.3.1 Vakuová komora

Abychom během depozice dosáhli co nejlepší čistoty připravené vrstvy, potřebujeme co nejčistší prostředí. Toho dosáhneme odsátím vzduchu pomocí série vývěv. První v sérii je rotační olejová vývěva, která pracuje na principu rotoru excentricky umístěného v cestě odsávací trubice. Rotor doléhá na okraje komory, ve které rotuje a je neustále promazáván olejem kvůli tření. Tento systém je však schopen snížit tlak pouze na hodnoty v řádu jednotek Pa.

Za rotační olejovou vývěvou je zapojena Rootsova vývěva. Ta pracuje na bázi dvou rotujících vrtulí, které těsně doléhají jedna na druhou. Tato vývěva dokáže vytvořit vyšší vakuum než rotační olejová vývěva. Pomáhá jí k tomu skutečnost, že vstupní tlak není atmosférický, ale je již snížený rotační olejovou vývěvou.

Pro dosažení nejvyššího stupně vakua je pak využita turbomolekulární vývěva. S její pomocí se dokážeme dostat až na hodnoty vakua kolem  $10^{-6}$  Pa. Tato vývěva je zavedena přímo do vakuové komory. Je to systém vhodně orientovaných kovových plátů, z nichž každá druhá vrstva rotuje a na něž dopadají molekuly z atmosféry v komoře, které jsou pomocí odrazů vyvedeny ven z komory. [13]

#### 2.3.1.1 Měření vakua ve vakuové komoře

V naší vakuové komoře jsou umístěna tři různá měřidla tlaku, kdy každé funguje na jiném principu. První z nich funguje na Piraniho principu. Při snížení tlaku v komoře a zachování látkového množství a zachování objemu komory se změní odváděné množství tepla. Princip tedy spočívá v měření změny teploty v komoře pomocí wolframového vlákna z něž je odváděno teplo úměrné hustotě. Piraniho měrka je schopna detekovat hodnoty tlaku v rozmezí  $10^{-2}$  až  $10^3$  Pa. Penningova metoda spočívá v ionizaci plynu pomocí elektronů. Při tomto ději dochází k výboji, jehož produktem je elektrický proud, který je měřen. Rozsahem tato metoda navazuje na Piraniho metodu a je možné jí detekovat tlak zhruba od 1 Pa do  $10^{-5}$  Pa. Další z měřidel instalovaných v naší komoře využívá kapacitního principu, který detekuje změnu tlaku pomocí deformace membrány a detekce míry jejího prohnutí. [13]

#### 2.3.1.2 Radiofrekvenční působení v komoře

Po experimentech, při kterých jsme zkoumali růstové vlastnosti vrstev vápníku, které nás měly navést ke správné konfiguraci aparatury, jsme zvolili metodu radiofrekvenčního čištění. Metoda měla zajistit lepší přilnavost připravované vrstvy na podložce. Radiofrekvence tedy po dobu 2 minut působila s výkonem 100 W

a frekvencí 13,56 MHz. Využili jsme k tomu přístroj RF Generator PFG-RF firmy Hüttinger.

## **2.3.2 Použité lasery**

K provedení experimentu jsme využili dvou excimerových laserů. První laser Coherent Compex Pro 205 F, rok výroby 2009, s KrF náplní o vlnové délce 248 nm, který dosahuje maximální energie v pulsu 750 mJ. Jeho maximální opakovací rychlost je 50 Hz, trvání pulsu 25 ns a profil svazku je charakterizován jako „flat-top“. Druhý použitý laser byl Lumonics PM842, také s náplní KrF (248 nm, maximální energie v pulsu 450 mJ, maximální opakovací rychlost 30 Hz, trvání pulsu 12 – 20s, s flat-top profilem svazku).

### **2.3.2.1 Měření velikosti stopy pomocí skeneru**

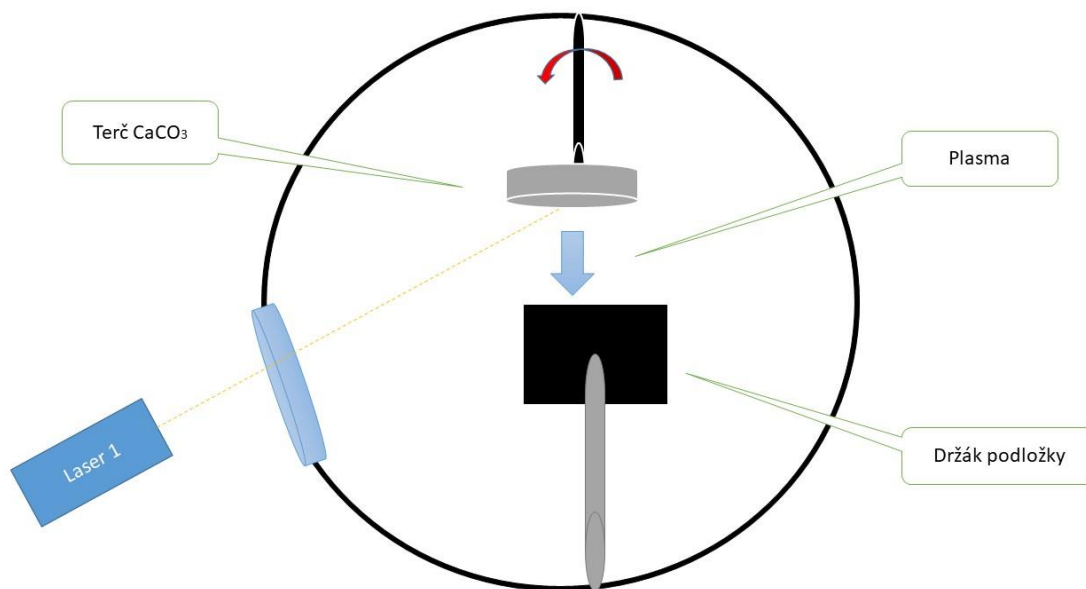
Před uzavřením vakuové komory byl na místo, kde na terč dopadal laserový paprsek, umístěn útržek fotopapíru a po spuštění laseru byla odečtena velikost stopy v daném místě. Útržek se zaznamenanou stopou byl naskenován do počítače a z obrazu bylo na základě zjištění velikosti pixelů a jejich počítáním zjištěno, jak je stopa velká. Měření velikosti stopy nám říká, na jak velkou plochu se rozkládá dopadající energie. Tedy pro stejnou hodnotu energie laseru bude pro menší stopu vyšší hustota energie a naopak.

## **2.4 Metody depozice**

### **2.4.1 Pulzní Laserová Depozice**

Princip pulzní laserové depozice spočívá v ablací pevného terče laserovým paprskem a následné kondenzaci plazmového oblaku tvořeného ablovanou látkou na destičce, kde se tvoří požadovaná tenká vrstva materiálu. Proces probíhá ve vakuové komoře. Počáteční tlak se pohybuje v hodnotách desetitisícin Pa, tlak během depozice pak obvykle kolem 0,25 Pa. Externě umístěný laserový zdroj s danou opakovací frekvencí je namířený na povrch terče, tak aby se kolmo se vypařující plazmový oblak usazoval na destičce zachycené v revolverovém držáku. Pro depozici jsme na destičku v držáku umístili střep jiného materiálu, abychom mohli snáze měřit tloušťku výsledné vrstvy. Depozice je ovlivněna nečistotami na optickém prostředí, kterým proniká laserový paprsek do komory. K fokusaci paprsku jsme použili spojný čočkový systém z materiálu UV Grade Fused Silica s antireflexní vrstvou pro vlnovou délku 248 nm a ohniskovou

vzdáleností 250 mm. V našem případě byl terč od držáku destičky umístěn 45 mm. Během depozice byl ve vakuové komoře přítomen argon pro nastavení správné kinetické energie částic při dopadu na podložku. [14, 15, 16]

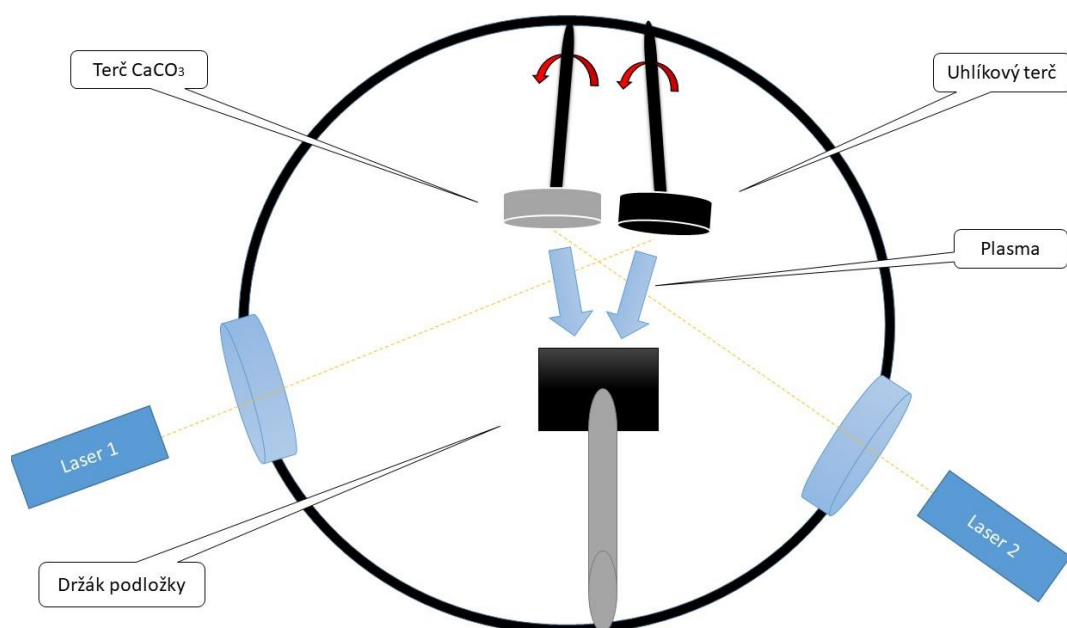


Obrázek 2.3: Schéma pulzní laserové depozice

#### 2.4.2 Duální pulzní laserová depozice

Oproti klasické pulzní laserové depozici, kterou jsme používali pro zkoumání růstu vápníkové vrstvy na křemíkové destičce se v tomto schématu objeví ve vakuové komoře dva terče, jeden s obsahem vápníku a druhý grafitový pro získání DLC. Na každý terč při spočítaných podmínkách působí laser s příslušnou opakovací frekvencí. Dále dochází k jevu popsaném v kapitole pulzní laserová depozice – ablaci. Následkem ní vzniká plazmový oblak, který kondenzuje na destičce, na kterou míří.

Pro dosažení požadovaných podmínek byla laserová aparatura nastavována pomocí optických čoček, kterými byly paprsky mířeny na vhodná místa na rotujících terčích. Rotace terčů je výhodná zejména z důvodu úbytku materiálu po ablaci terče, ten pak teoreticky způsobí nerovnou odraznou plochu a tedy rozhození geometrie depozice. K měření výstupní energie v jednotlivých místech aparátu jsme pak používali kapacitní měрку FieldMax od firmy COHERENT. [14, 16]



Obrázek 2.4: Duální pulzní laserová depozice

## 2.5 Charakterizační metody

### 2.5.1. Optická mikroskopie

Optická mikroskopie je jednou ze základních pozorovacích metod. K její realizaci využíváme optický mikroskop. Optický mikroskop využívá soustavy čoček pro zvětšení preparátu. Optická soustava optického mikroskopu se skládá z objektivu a okuláru.

V této práci byl využit optický mikroskop KAMIL, jehož maximální zvětšení je 50×. Mikroskop byl použit za účelem charakterizace a lokalizace nehomogenit vzniklých během depozice. S jeho pomocí byly vytvořeny snímky povrchu vytvořených vzorků z prvního experimentu. [17]

### 2.5.2. Morfologie povrchu – mechanická profilometrie

Měření povrchové morfologie bylo prováděno pomocí přístroje KLA-Tencor Alphastep IQ. Přístroj využívá ke čtení profilu ultratenkého hrotu schopného detekovat vertikální nerovnosti v rozměrech až 1 Å, vertikální rozlišení závisí na tvaru hrotu. Tento hrot v jednom směru přejede vzorek. Software následně zpracuje výsledek a poskytne nám křivku kopírující profil povrchu v daném směru. Díky kamerce mířící na hrot můžeme pohodlně sledovat průběh měření. Software nám dovoluje nastavit citlivost jednotlivých měření, proto je přístroj vhodný k měření hrubosti vzorku i tloušťky vytvořené vrstvy. Oba tyto parametry jsou pro nás klíčové vzhledem k mechanickému působení vzorku v tkáni. Některé vzorky jsme zkoušeli pilotně měřit přímo v laboratoři, kde probíhala depozice. V té se nachází přístroj P-6, výsledky měření tloušťek vrstev

v depoziční laboratoři a následně Alphastepem se lišily jen minimálně. Talystep je však starší a hůře ovladatelné zařízení, proto v práci zveřejňujeme výsledky z Alphastepu IQ, jehož měření považujeme za přesnější. [18]

### **2.5.3. Rastrovací elektronová mikroskopie**

SEM je technika poskytující nám rozlišení za hranicí difrakčního limitu. Toho dosahuje tím, že k zobrazení vzorku místo světla využívá proudy elektronů. SEM je variantou elektronové mikroskopie, při které elektrony vytvořené zdrojem vychází zpravidla z vrchu aparatury a prochází fokusující soustavou čoček na povrch vzorku. Vzorek je zpravidla umístěn v prostoru s vysokým vakuem. Proud elektronů dopadajících na vzorek se od vzorku odrazí do oblasti, kde je detektor. Když pak se vzorkem pohybujeme, získáváme postupně profil vzorku. Rozlišení elektronové mikroskopie pak záleží na více faktorech a dosahuje hodnot okolo 1 nm. [19]

### **2.5.4. Mikroskopie atomárních sil**

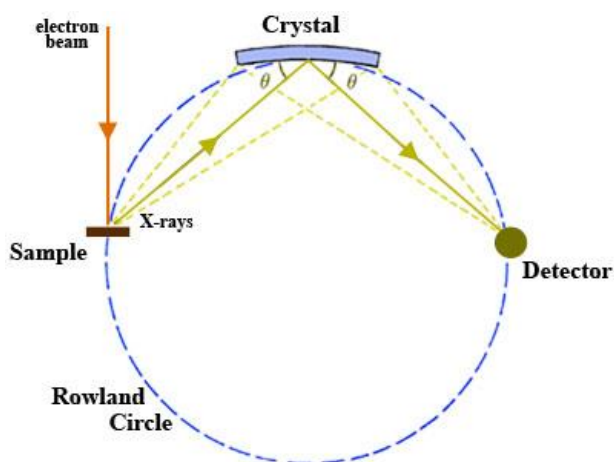
Princip mikroskopie atomárních sil spočívá v působení mikrosil na hrot, který kmitá nad zkoumaným povrchem. Na opačnou stranu kantilevru pak míří laserový paprsek, který se od něho odrazí na detektor a záznam je zpracován softwarem. V ideálním případě dokáže AFM interagovat s povrchem tak, že zobrazí i jednotlivé atomy. Hrot se během měření pohybuje nad povrchem zkoumané vrstvy a kantilevr se vychyluje úměrně jejímu profilu. Přístroj pro AFM se tedy skládá z pěti základních součástí – ostrého hrotu ukotveného na měkkém kantilevru, detekčního systému na měření výchylky kantilevru, piezoelektrického překladače pro pohyb sondy podél vzorku, systému pro minimalizaci odchýlení sondy a dále zobrazovacího systému, který převádí data na obraz. Hrot by měl být co nejostřejší, aby zachytil co nejjemnější detaily povrchu, kantilevr zase co nejměkčí, aby nedocházelo k porušení vazeb ve vzorku při případném kontaktu. Během měření by měla být nastavena co nejvyšší frekvence kmitání kantilevru kvůli minimalizaci šumu. Výhodou AFM je možnost práce při běžném tlaku, možné pak je i měření v kapalině.

V našem případě jsme s AFM pracovali v poklepovém módu, kdy je kantilevr veden na hranici své rezonanční frekvence. Dochází tedy pouze k nepatrnému kontaktu s materiálem. Výhodou tohoto módu je minimalizace poškození povrchu poškrábáním.

Výstupem měření pomocí AFM je mapa zvolené oblasti. Používali jsme zařízení Solver NEXT-NT-MDT. Pomocí programu Gwyddion jsme následně schopni získaná data zpracovat do ilustrativní podoby a příslušně je zformátovat, aby byla použitelná. [20]

## 2.4.5. Vlnově disperzní spektroskopie

Tato nedestruktivní analytická metoda je používána pro zjištění chemického složení látek. Základem vlnově disperzní spektrometrie je jev, při kterém po dopadu proudu elektronů na vzorek začne každá z obsažených látek emitovat charakteristické rentgenové záření a uvolňovat elektrony. K povrchu zkoumaného vzorku je zaveden proud urychlených elektronů, tím je generována emise rentgenového záření. Rentgenové paprsky jsou následně selektivně odraženy pomocí krystalové mřížky na detektor. Na detektor jsou odrazeny vždy jen paprsky, které podléhají Braggovu zákonu a na detektoru tedy můžeme rozlišit vlnové délky. Všechny prvky soustavy musí přitom ležet v Rowlandově kruhu, aby se maximalizoval zisk paprsků pro spektrometr. Jako detektory se při tomto měření používají systémy na plynné bázi. Rentgenové paprsky jsou pohlceny atomy plynu. Fotoelektrony jsou následně urychlovány do centrálního vodiče, kde ionizace vede k tvorbě elektrického pulsu s amplitudou úměrnou původní amplitudě rentgenového paprsku. Po získání údajů o všech intenzitách měřených v daném vzorku jsou data porovnávána se známými hodnotami pomocí softwaru. Ten nám je schopen ukázat, které sloučeniny náš vzorek obsahuje. [19, 21]



Obrázek 2.5: Schéma WDS [22]

## 2.4.6. XPS X-ray photoelectron spectroscopy

XPS je spektroskopická metoda dokazující přítomnost prvků na základě kinetické energie z nich vyšlých elektronů vybuzených rentgenovým zářením a je vhodná pro určování všech prvků periodické tabulky kromě vodíku a helia. Principem XPS tedy je ozařování povrchu vzorku paprskem měkkého rentgenového záření. Foton s určitou energií pak interaguje s elektronem s vazebnou energií, veškerá energie tedy přejde na elektron, ten je díky kinetické energii vyvázan. Elektron je vyvázan buď z jádra nebo z valenční vrstvy. XPS pracuje převážně s elektrony vyvázanými z jádra, protože jejich

energetické hladiny jsou pro každý prvek specifické. Celý proces musí probíhat ve vysokém vakuu nebo ultra vysokém vakuu kvůli modifikacím kinetické energie elektronů vyzařovaných materiálem.

Při naší aplikaci budeme předpokládat, že celá připravená vrstva má stejnou strukturu jako její vrchní část, kterou je XPS schopná analyzovat. Jelikož byl experiment nastaven tak, aby depozice obou složek výsledné vrstvy běžely (tedy začaly i skončily) simultánně, předpokládáme, že výsledná vrstva má podobné rozložení prvků po celé své tloušťce – tedy i v oblasti, kterou XPS analyzuje.

Výstupem XPS jsou grafy závislosti počtu detekovaných spektrálních elektronů na vazebné energii elektronů detekovaných. Podle energií je následně možné určit, o který prvek se jedná a podle srovnání počtů jednotlivých detekovaných energií mezi sebou pak můžeme určit četnost jednotlivých složek v materiálu. [20]

## 3 Výsledky

### 3.1 PLD vápníku na křemíkovou destičku

Tato část se zaměřuje na sérii vzorků (Vzorek 1, 2, 3, 4, 5) vytvořených pomocí metody PLD pouze z terče CaCO<sub>3</sub>.

#### 3.1.1 Depoziční podmínky

Pro depoziční vrstev z terče obsahujícího vápník byly použity experimentálně získané depoziční podmínky uvedené v Tabulce č. 1. Depozici těchto vrstev jsme prováděli proto, abychom se seznámili s rychlostí růstu vápníkové vrstvy při různých nastavených podmínkách. Rychlost růstu jsme počítali podle vzorce 3.1.

$$\text{Rychlost růstu} = \frac{\text{Tloušťka vrstvy [nm]}}{\text{Počet pulsů}} \quad (3.1)$$

Výsledky jsou pak ukázány v tabulce 3.1.

**Tabulka 3.1:** Dosažené rychlosti růstu vrstvy z terče CaCO<sub>3</sub> při vzdálenosti 45 mm

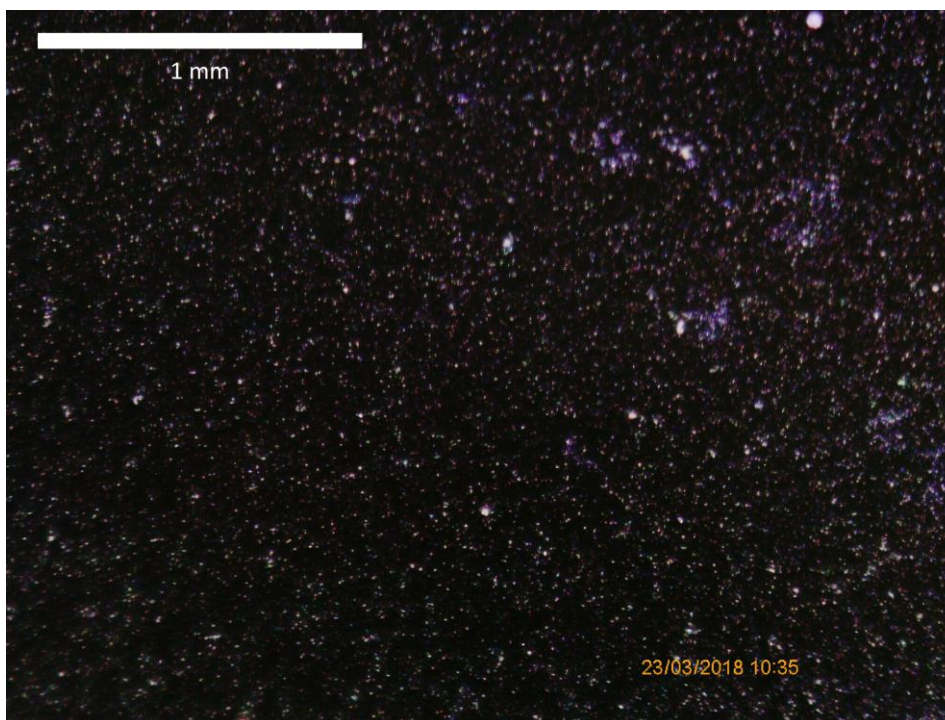
Označení	Hustota energie [J/cm <sup>2</sup> ]	Tloušťka vrstvy [nm]	Počet pulsů	Rychlost růstu [nm/puls]
Vzorek 1	0,6	79	5000	0,0158
Vzorek 2	0,6	545	10000	0,0545
Vzorek 3	1	589	10000	0,0589
Vzorek 4	1,3	701,5	10000	0,0702
Vzorek 5*	1,8	1460	10000	0,146

\* Výsledky pro vzorek 5 jsou použity podle prvního testovacího měření, vzorek byl následně poškozen a nebyla na něm prováděna další měření.

#### 3.1.2 Optická mikroskopie

Pomocí mikroskopu KAMIL jsme u vzorků připravených z terče CaCO<sub>3</sub> zkoumali homogenost povrchů pěti vzorků. Na povrchu zorků jsme hledali případné trhliny. Jelikož optická mikroskopie pro náš účel dosahuje nízkého zvětšení, bylo měření ve výsledku pouze orientační.





**Obrázek 3.1:** Povrch vzorku 5, zvětšení 50×

### 3.1.3 Měření tloušťky vrstev

Tloušťka a hrubost vrstvy byla měřena pomocí přístroje od KLA-Tencor, Alphastepu IQ. Nastavení přístroje je zachyceno v tabulce 3.2.

**Tabulka 3.2:** Tabulka konfigurace přístroje Alphastep IQ pro měření vzorků

Délka skenu (mm)	Poloměr hrotu ( $\mu\text{m}$ )	Úhel sklonu hrotu	Přítlačná síla (mg)	Rychlost skenu ( $\mu\text{m/s}$ )
5	5	60°	8.58	50

Výsledky měření tloušťky vrstev jsou uvedeny v tabulce 3.3. Přístroj provede měření na dané dráze dvakrát, následně hodnoty zprůměruje, průměrnou hodnotu považujeme za dostatečně přesnou.

**Tabulka 3.3:** Výsledky měření tloušťky vrstvy na Alphastep IQ.

Označení	Použitá hustota energie	Průměrná tloušťka vrstvy ( $\mu\text{m}$ )
Vzorek 1	0,6 J/cm <sup>2</sup>	0.079
Vzorek 2	0,6 J/cm <sup>2</sup>	0.545
Vzorek 3	1 J/cm <sup>2</sup>	0.589
Vzorek 4	1,3 J/cm <sup>2</sup>	0.702

### 3.1.4 Povrchová morfologie

#### 3.1.4.1 Měření drsnosti povrchu

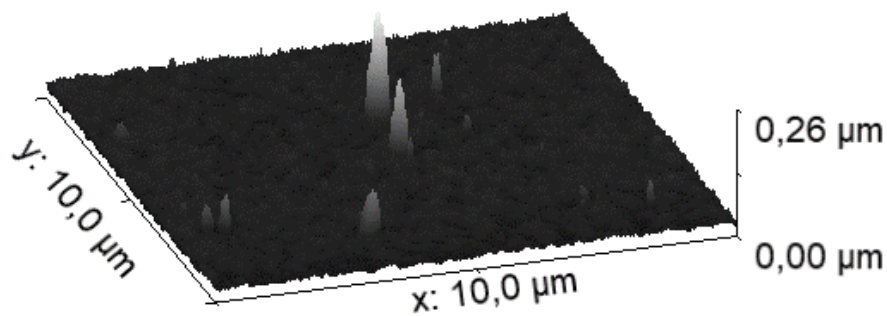
**Tabulka 3.4:** Výsledky měření drsnosti vrstev připravených z CaCO<sub>3</sub> na Alphastep IQ.

Označení	Průměrná hodnota Ra (μm)	Standartní odchylka (μm)
Vzorek 1	0,13	0,001
Vzorek 2	0,14	0,018
Vzorek 3	0,05	0,007
Vzorek 4	0,03	0,001

Parametr Ra popisuje drsnost povrchu, je to aritmetický průměr filtrovaného profilu hrubosti spočítaného z odchylek od odhadnuté střední linky. Podle tabulky je tedy nejdrsnější vzorek 2 neboť výchyly od standardní polohy jsou u něj největší. Posuzujeme pak i standardní odchylku, která by měla být co nejmenší, podle ní jsou nejhladší vzorky 1 a 4.

#### 3.1.4.2 Mikroskopie atomárních sil (AFM)

Kvůli získání kompletnější informace o širší oblasti povrchu zkoumaného vzorku byla použita metoda AFM. Pro měření byla vybrána náhodná oblast na vzorcích a měření pak proběhlo pro každý z neporušených vzorků.



**Obrázek 3.2:** AFM topografie vzorku 4 (10 × 10 μm)

## 3.2 Výpočet depozičních parametrů laserů pro výrobu vrstev vápníku s DLC

Pro další výzkum bylo potřeba spočítat depoziční podmínky pro potencionálně využitelné koncentrace vápníku v DLC. K tomu byla využita data získaná během PLD z CaO a některé tabulkové parametry prvků. Z fyzikálních tabulek byly použity hodnoty pro relativní atomovou hmotnost a hustotu uhlíku, vápníku a kyslíku. Rychlost růstu těchto vrstev byla počítána podle výše zmíněného vzorce (1). Požadovaná ideální tloušťka vrstvy byla 400 nm. Pro růst vrstvy vápníku byly použity experimentálně získané rychlosti růstu zapsané v tabulce 3.5.

**Tabulka 3.5:** Použité tabulkové a experimentálně získané hodnoty

	C	Ca
Rychlost růstu vrstvy	0,018 (nm/puls)	0,005 (nm/puls)
Atomová relativní hmotnost	12,01115 amu	40,078 amu
Hustota	3 g/m <sup>3</sup>	1,55 g/m <sup>3</sup>

Hledané atomové koncentrace vápníku v uhlíku, byly 2, 5, 8, 10 a 20 atomárních procent v DLC. Nejprve byl spočítán hmotnostní zlomek vápníku, k tomu využít vzorec 3.2.

$$\omega\% = 100 \cdot \frac{at.\% \cdot Ar(Ca)}{at.\% \cdot Ar(Ca) + (100 - at.\%) \cdot Ar(C)} \quad (3.2)$$

Veličina  $\omega\%$  udává hmotnostní zlomek vápníku při požadované atomové koncentraci vápníku v uhlíku  $at.\%$ , atomové relativní hmotnosti vápníku  $Ar(Ca)$  a atomové relativní hmotnosti uhlíku  $Ar(C)$ .

Hmotnostní zlomek byl následně převeden na objemový zlomek, k tomu byly využity tabulkové údaje o elementární hustotě.

$$vol.\% = 100 \cdot \frac{\frac{\omega\%}{\rho(Ca)}}{\frac{\omega\%}{\rho(Ca)} + \frac{(100 - \omega\%) \cdot \rho(Ca)}{\rho(C)}} \quad (3.3)$$

Objemový zlomek (3.3) vol.% tedy vychází z hmotnostního zlomku vápníku  $\omega\%$ , tabulkové hustoty vápníku  $\rho(Ca)$  a tabulkové hustoty uhlíku  $\rho(C)$ .

Po získání objemového zlomku je možné spočítat potřebný počet pulsů, pokud víme, že cílová tloušťka vrstvy je 400 nm. K výpočtu jsou využity rychlosti růstu vrstev z Ca a DLC.

$$n, i(C) = \frac{\left(\frac{100 - \text{vol.}\%}{100}\right) \cdot d_{(\text{cílová})}}{\left(GR(C) + \frac{1}{3} GR(Ca)\right)/2} \quad (3.4)$$

Pomocí vzorce (3.4) získáme z objemového zlomku *vol. %*, rychlosti růstu vrstvy z grafitového terče  $GR(C)$  a rychlosti růstu vrstvy z terče  $\text{CaCO}_3$   $GR(Ca)$  počet pulsů  $n, i(C)$ , který potřebujeme pro vytvoření vrstvy uhlíku o stanovené tloušťce  $d_{(\text{cílová})}$ .

$$n, i(Ca) = \frac{\left(\frac{\text{vol}\%}{100}\right) \cdot d_{(\text{cílová})}}{\frac{2}{3} GR(Ca)} \quad (3.5)$$

Jelikož vápník nám roste pouze z jednoho terče, stačí nám k výpočtu počtu pulsů  $n, i(Ca)$  potřebných pro přípravu vrstvy vápníku, kromě objemového zlomku *vol%* a stanovené cílové tloušťky vrstvy  $d_{(\text{cílová})}$ , pouze rychlost růstu vrstvy z terče  $\text{CaCO}_3$   $GR(Ca)$ , viz. vzorec (3.5).

Jakmile jsou známy potřebné počty pulsů pro zhotovení požadované tloušťky vrstvy, je potřeba ještě nastavit opakovací frekvence jednotlivých laserů. K dispozici máme dva lasery, u nichž je možné nastavit opakovací frekvence v jednotkách celých čísel. První laser, který byl využit pro depozici z grafitového terče, pracuje s maximální opakovací frekvencí 50 Hz, druhý laser využitý pro depozici z terče  $\text{CaCO}_3$  pracuje s maximální opakovací frekvencí 30 Hz. Jelikož závislost je přímou úměrou, je potřeba nastavit jednu z repetičních frekvencí a podle vzorce k ní dopočítat repetiční frekvence pro druhý laser.

$$f(Ca) \cdot n, i(C) = f(C) \cdot n, i(Ca) \quad (3.6)$$

Pomocí stanovení jedné z opakovacích frekvencí  $f(C)$  nebo  $f(Ca)$  je možné dopočítat tu druhou za pomoci počtu pulsů potřebných pro vytvoření vrstvy pouze z jednotlivých složek - uhlíkové  $n, i(C)$  a vápníkové  $n, i(Ca)$  podle vzorce (3.6). Depoziční čas pak jednoduše spočítáme z upraveného vzorce pro frekvenci (3.7).

$$t = \frac{n, i}{f}, \quad (3.7)$$

Čas  $t$  je úměrný počtu pulsů  $n, i$  dělenému frekvencí  $f$ .

### 3.2.1 Ukázkový výpočet

Kalkulace pro 5 at.% Ca v DLC s našimi daty.

$$\omega\% = 100 \cdot \frac{5 \cdot 40,078}{5 \cdot 40,078 + (100 - 5) \cdot 12,01115}$$

$$\omega\% = 14,93832137$$

Podle tohoto vzorce jsme získali hmotnostní zlomek. Ten jsme využili pro výpočet objemového zlomku.

$$\text{vol\%} = 100 \cdot \frac{\frac{14,93832137}{1,55}}{\frac{14,93832137}{1,55} + \frac{(100 - 14,93832137)}{3}}$$

$$\text{vol\%} = 25,36783683$$

Následně jsme vypočítali potřebný počet pulsů pro 400 nm silnou vrstvu pro každý z terčů.

$$n, i(C) = \frac{\left(\frac{100 - 25,36783683}{100}\right) \cdot 400}{0,021 + 0,015278}$$

$$n, i(C) = 14215,65013$$

$$n, i(Ca) = \frac{\left(\frac{25,36783683}{100}\right) \cdot 400}{0,030556}$$

$$n, i(Ca) = 3320,832155$$

V dalším kroku jsme nastavili repetiční frekvenci jednoho z laserů a dopočítali stejný údaj pro druhý laser.

$$f(Ca) = \frac{26 \cdot 3320,832155}{14215,65013}$$

$$f(Ca) \doteq 6$$

Jak je vidět z výpočtu, poměr repetičních frekvencí je volitelný, závisí na něm následně délka depozice.

### 3.3 Výsledky duální pulzní laserové depozice

#### 3.3.1 Depoziční podmínky

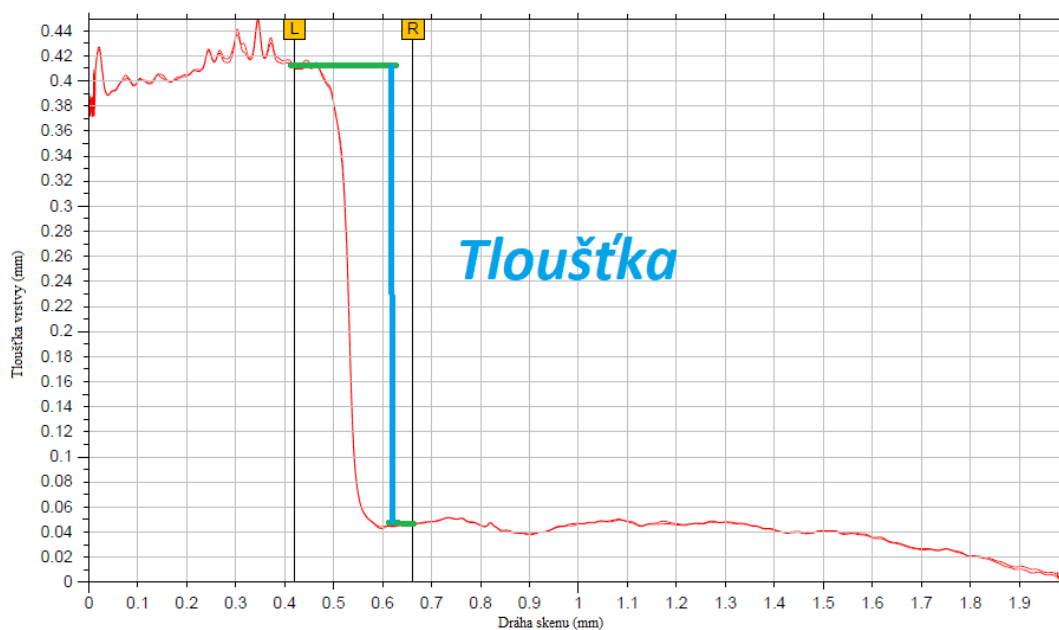
Podmínky použité pro depozici byly získány experimentálně. Depoziční podmínky jsou následně uvedené v tabulce 3.7.

**Tabulka 3.7:** Depoziční podmínky použité v depoziční komoře pro duální PLD

	C (Uhlík)		Ca (Vápník)	
Průměr stopy (mm)	2,3		4,3	
Hustota energie (J/cm <sup>2</sup> )	8		1,3	
Vzdálenost terče (mm)	55		58	
Označení	Počet pulsů	F (Hz)	Počet pulsů	F (Hz)
25	23000	10	-	-
24	20861	30	4868	7
19	16000	10	16000	10
20	14231	10	28462	20
21	14829	8	42635	23
23	11459	7	49110	30
26	-	-	90000	20

### 3.3.2 Tloušťka vrstev

Stejně jako v případě testovacích vzorků, i v tomto případě jsme u vzorků zkoumali výslednou tloušťku a drsnost. Jelikož jsme cílili na tloušťku 400 nm, měření tloušťky nám poskytlo údaje o tom, zda jsme se přiblížili vypočteným parametrům.



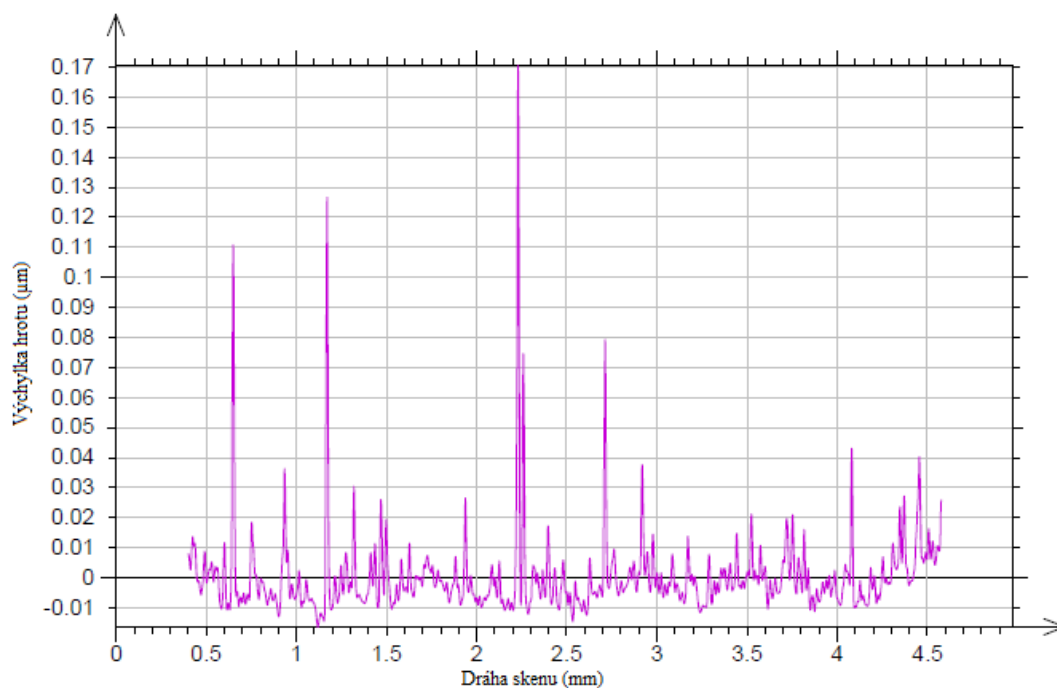
**Obrázek 3.2:** Vzorek 19, výsledek měření tloušťky vrstvy pomocí Alphastepu IQ

**Tabulka 3.8:** Tabulka naměřených tloušťek pro zajímavé vzorky pomocí Alphastepu IQ

Označení	Průměrná tloušťka vrstvy (nm)	Standartní odchylka (nm)
Vzorek 25	384	0.486
Vzorek 24	364	0.032
Vzorek 19	364	0.697
Vzorek 20	374	0.924
Vzorek 21	401	0.680
Vzorek 23	330	0.826
Vzorek 26	245	2.950

### 3.3.3 Povrchová morfologie vzorků obsahujících DLC s vápníkem

#### 3.3.3.1 Drsnost povrchu



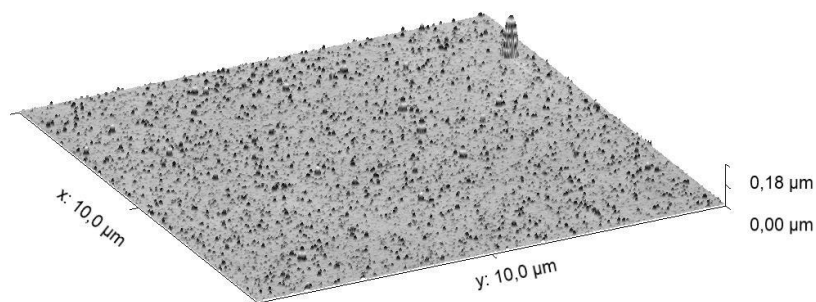
**Obrázek 3.3:** Výsledek měření drsnosti vrstvy pomocí Alphastepu IQ

**Tabulka 3.8:** Tabulka naměřených drsností pro zajímavé vzorky pomocí Alphastepu IQ

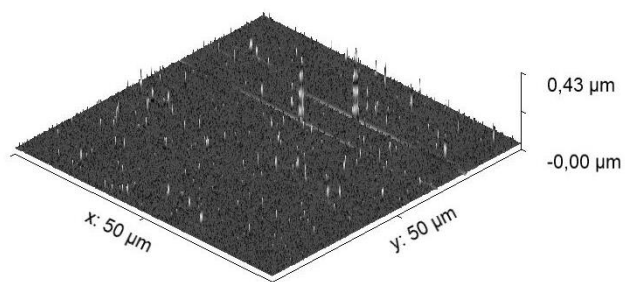
Označení	Průměrná hodnota Ra (nm)	Standartní odchylka (µm)
Vzorek 25	1,17	0,02
Vzorek 24	2,83	0,03
Vzorek 18	3,63	0,29
Vzorek 19	7,24	0,26
Vzorek 20	3,58	0,36
Vzorek 21	11,60	1,35
Vzorek 23	4,55	0,34
Vzorek 26	26,00	7,29

Nejtlustší vrstvu se nám povedlo připravit v případě vzorku 21, vzhledem k ostatním však tento vzorek vykazuje nepatrně vyšší hodnoty drsnosti povrchu. Vzorek s nejlepším poměrem tloušťky vrstvy a drsnosti povrchu je tak vzorek 24. Obecně nejhladším pak můžeme prohlásit vzorek 25, který obsahuje samotné DLC, jeho standardní odchylka je  $0,02 \mu\text{m}$ .

### 3.3.3.2 AFM



**Obrázek 3.5:** Vzorek 19: 2.8 at.% Ca (XPS), povrch 10x10 μm, AFM (2)



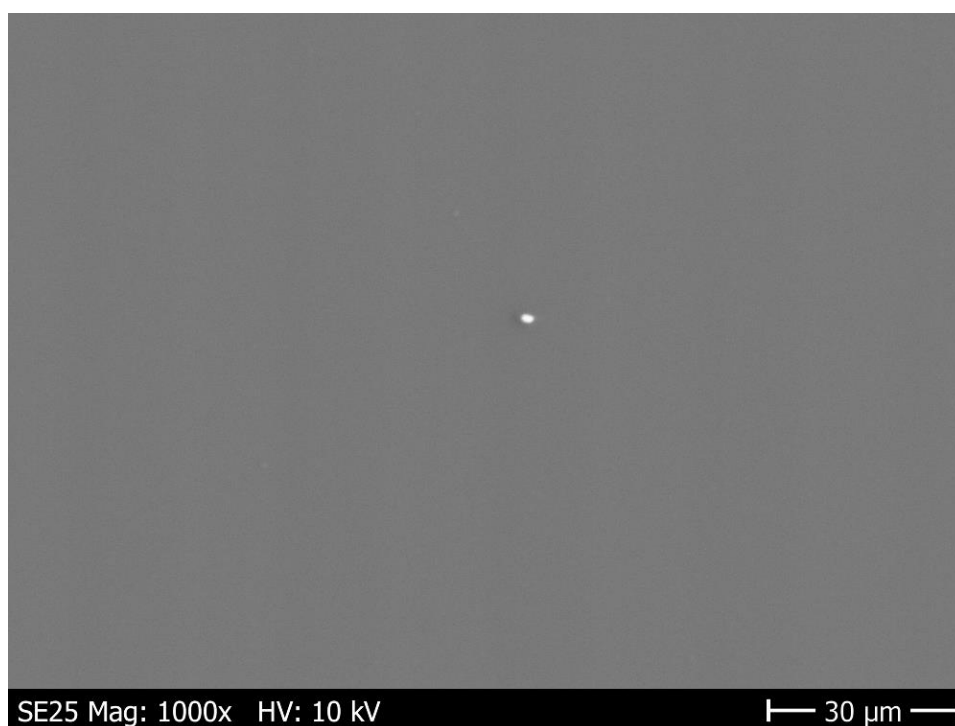
**Obrázek 3.6:** Vzorek 19: 2.8 at.% Ca (XPS), povrch 50x50 μm, AFM (3)



Z obrázků, které máme k dispozici ze snímků AFM, můžeme konstatovat, že až na výjimku v podobě jednoho většího píku na každém ze snímků je povrch relativně hladký.

### 3.3.3.3 SEM

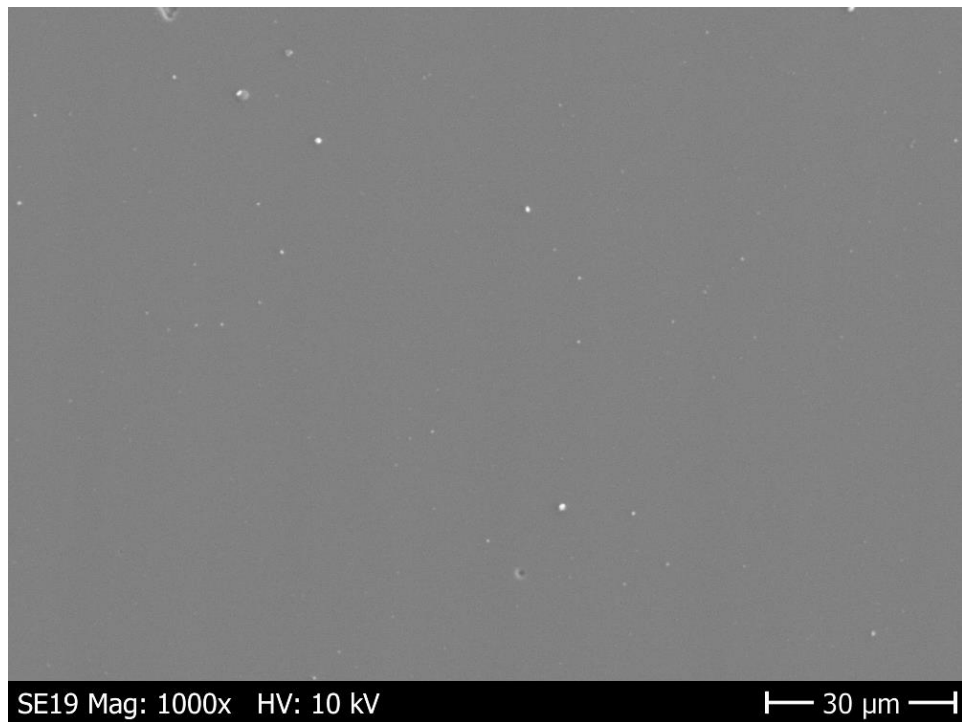
Snímky SEM jsou pro nás směrodatnější než snímky z AFM, neboť je máme k dispozici pro všechny naše vzorky. Můžeme na nich pozorovat homogenost povrchu a dobře rozlišitelné nerovnosti. V místech, kde se nachází vyvýšenina je povrch zbarven bíle. Šedý povrch je relativně spojitý a pokud je barva stálá, je hladký. Na obrázcích 3.7, 3.8, 3.9 a 3.10 bílých fenoménu najdeme výrazně méně než na snímcích následujících, tedy 3.11, 3.12 a 3.13. Obecně si můžeme všimnout, že u vzorků s vyšším obsahem vápníku roste míra nerovnosti.



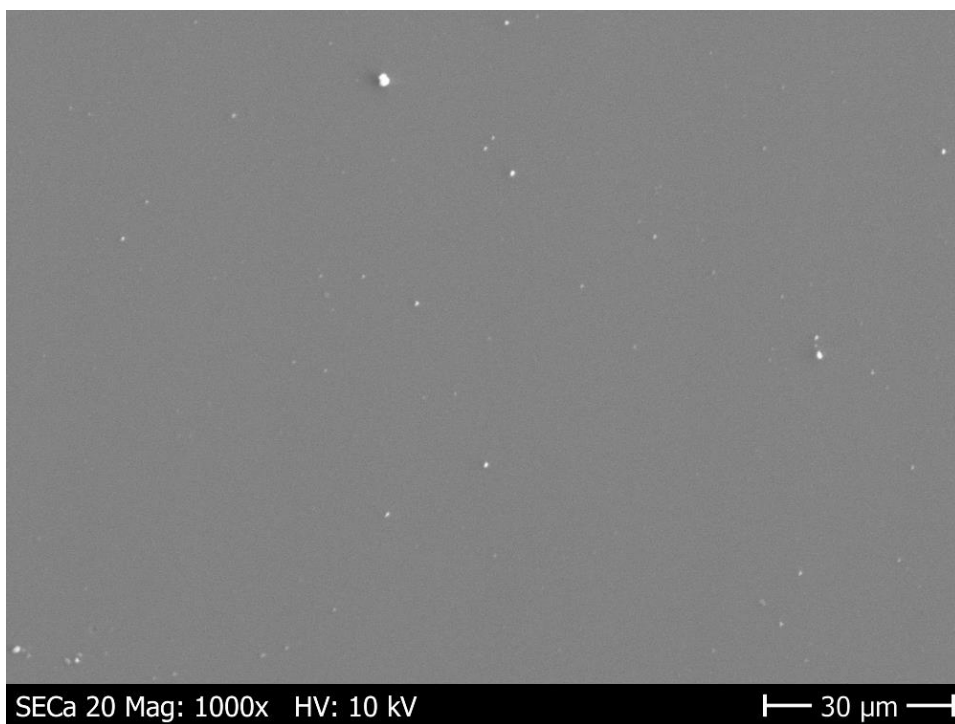
**Obrázek 3.7:** SEM vzorku 25 – 0% at.% Ca



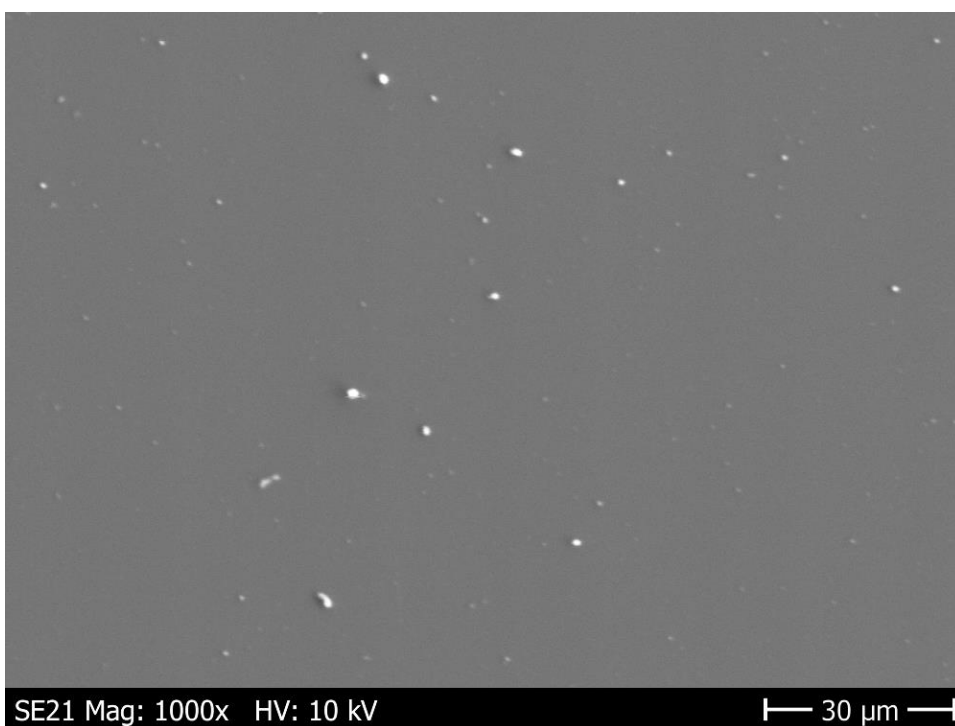
**Obrázek 3.8:** SEM vzorku 24 – 0,7% at.% Ca



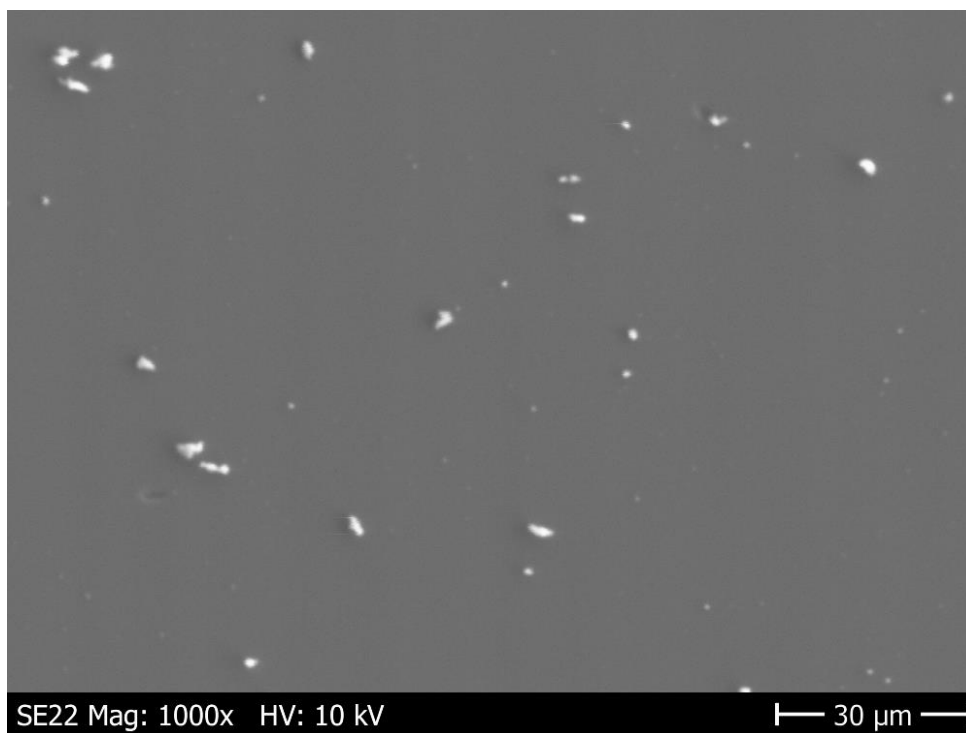
**Obrázek 3.9:** SEM vzorku 19 -2,8 at.% Ca



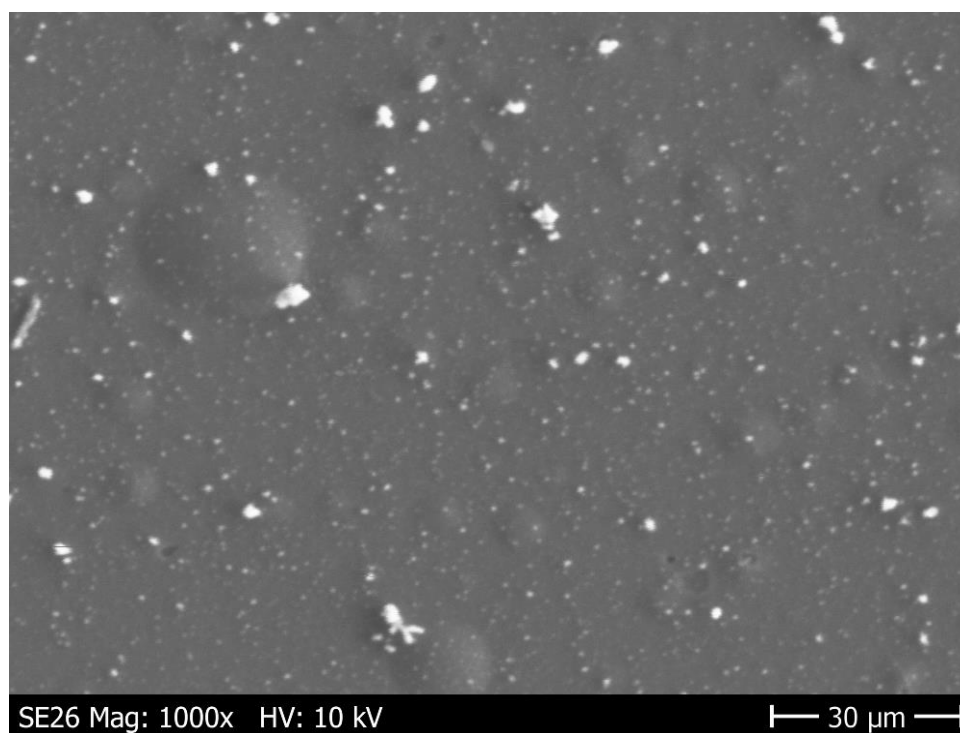
**Obrázek 3.10:** SEM vzorku 20 – 3,5 at.% Ca



**Obrázek 3.11:** SEM vzorku 21 – 4at.% Ca



**Obrázek 3.12:** SEM vzorku 22 – 7.6 at.% Ca



**Obrázek 3.13:** SEM vzorku 26 – vzorek vytvořený z terče  $\text{CaCO}_3$  - 17-28,5 at.% Ca

### 3.3.4 Stanovení chemického složení připravených vzorků

#### 3.3.4.1 XPS

**Tabulka 3.10:** Výsledky naměřené pomocí metody XPS

Označení	C (at.%)	Ca (at.%)	O (at.%)	C:Ca poměr
Vzorek 25	96.35	0.00	3.65	100,0 : 0,00
Vzorek 24	94.50	0.67	4.82	99,30 : 0,70
Vzorek 19	86.42	2.80	10.78	96,86 : 3,14
Vzorek 20	84.33	3.54	12.13	95,97 : 4,03
Vzorek 21	82.82	3.99	13.18	95,40 : 4,60
Vzorek 23	68.33	7.59	24.06	90,00 : 10,0
Vzorek 26	32.38	17.07	50.54	65,48 : 34,52

**Tabulka 3.11:** Vazebné stavy uhlíku naměřené pomocí metody XPS

Označení	C (at. %)	C-Csp <sup>2</sup> (at. %)	C-Csp <sup>3</sup> (at. %)	C-O (at. %)	C=O (at. %)	CaCO <sub>3</sub> (at. %)
Vzorek 25	96.35	25.89	66.52	3.94	0.00	0.00
Vzorek 24	94.50	33.69	54.49	4.05	1.80	0.47
Vzorek 19	86.42	32.17	42.63	6.14	3.31	2.16
Vzorek 20	84.33	33.14	38.54	5.67	3.90	3.08
Vzorek 21	82.82	35.93	31.82	7.27	3.18	4.62
Vzorek 23	68.33	29.89	21.00	6.02	3.83	7.60
Vzorek 26	32.38	12.66		2.40	1.79	14.31

**Tabulka 3.12:** Vazebné stavy vápníku naměřené pomocí metody XPS

Označení	Ca (at. %)	Ca-Ca (at. %)	CaCO <sub>3</sub> (at. %)	Ca-C (at. %)
Vzorek 25	0.00	0.00	2.58	0.00
Vzorek 24	0.67	0.12	0.55	0.00
Vzorek 19	2.80	0.22	2.58	0.00
Vzorek 20	3.54	0.19	3.35	0.00
Vzorek 21	3.99	0.00	3.99	0.00
Vzorek 23	7.59	0.12	7.47	0.00
Vzorek 26	17.07	0.00	17.07	0.00

**Tabulka 3.13:** Vazebné stavy kyslíku naměřené pomocí metody XPS

Označení	O (at. %)	O=C (at. %)	CaCO <sub>3</sub> (at. %)	O-C, O-H (at. %)
Vzorek 25	3.65	0.00	0.00	3.65
Vzorek 24	4.82	0.00	0.00	4.82
Vzorek 19	10.78	0.29	8.94	1.55
Vzorek 20	12.13	0.40	10.21	1.52
Vzorek 21	13.18	0.37	10.94	1.87
Vzorek 23	24.09	0.66	20.93	2.50
Vzorek 26	50.54	0.00	43.41	7.13

Výsledky XPS sice potvrdily přítomnost koncentrační řady, nicméně procentuální obsah Ca je jiný, než jsme očekávali. Jako určující je tak pro nás poměr C:Ca. Ten je zpracován v tabulce 3.10. Pro přesnější hodnocení je však nutno podívat se na výsledky WDS, která provádí analýzu hlouběji. V první tabulce tedy vidíme procentuální zastoupení jednotlivých prvků ve vrstvách, které jsme připravili.

V dalších třech tabulkách najdeme procentuální zastoupení sloučenin, ve kterých se v našich vrstvách nachází uhlík, vápník a kyslík.

### 3.3.4.2 WDS

Tabulka následujících výsledků (3.14) obsahuje zprůměrované hodnoty z obdržených měření pomocí WDS. Měření pro nás provedla laboratoř FZÚ – sekce fyziky pevných látek, oddělení strukturní analýzy. Pro vzorky 19, 20, 21, 23 a 24 jsme obdrželi 3 měření, pro vzorek 26 dvě měření a pro vzorek 25 jedno měření. Jelikož výchyly mezi měřeními jednotlivých vzorků byly minimální, v tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty těchto měření.

**Tabulka 3.14:** Výsledky vlnově disperzní spektroskopie (WDS)

Č. Vzorku	Hmotnostní tloušťka (μg/cm <sup>2</sup> )	W%(O)	W%(Ca)	W%(C)	A%(O)	A%(Ca)	A%(C)
25 (C)	128,02	0,001	0,02	99,97	0,001	2,731	99,99
24 (1%)	107,1	1,23	3,4	95,37	0,95	3,794	98,01
19 (4%)	99,22	4,02	8,47	87,51	3,25	4,161	94,02
20 (8%)	92,47	3,53	11,53	84,95	2,91	7,664	93,3
21 (11%)	98,56	3,98	12,52	83,49	3,31	1,046	92,53
23 (15%)	75,51	7,99	21,26	70,75	7,21	0,006	85,12
26 (Ca)	47,52	45,1	50,59	4,31	63,46	28,450	8,09

První sloupec tabulky 3.14 ukazuje hmotnostní tloušťku v μg/cm<sup>2</sup>, z ní lze vypočítat geometrickou tloušťku vrstvy v nm, protože jsme však tloušťky měřili, počítání jsme vynechali. Další tři sloupce udávají procentuální hmotnostní zastoupení

jednotlivých prvků v měřené vrstvě. Další údaj jejich součtem udá, z jakého celku jsou procenta počítána. Poslední tři sloupce obsahují údaje o vypočtených atomárních procentech jednotlivých složek vrstvy, tento údaj by se neměl příliš lišit od výpočtu, ale opak je pravdou.

Tabulky 3.15 a 3.16 nám pak poskytují srovnání atomárních procent vápníku a uhlíku naměřených jednotlivými metodami. Můžeme si všimnout, že mimo vzorek 26, připravený pouze z terče  $\text{CaCO}_3$  se jednotlivé výsledky liší velmi málo.

**Tabulka 3.15:** Srovnání at.% vápníku zjištěných WDS oproti XPS

Označení	WDS - A%(Ca)	XPS - Ca (at.%)
Vzorek 25	0,01	0.00
Vzorek 24	1,05	0.67
Vzorek 19	2,73	2.80
Vzorek 20	3,79	3.54
Vzorek 21	4,16	3.99
Vzorek 23	7,66	7.59
Vzorek 26	28,45	17.07

**Tabulka 3.16:** srovnávající at.% uhlíku zjištěných WDS oproti XPS

Označení	WDS - W%(C)	XPS - C (at.%)
Vzorek 25	99,97	96.35
Vzorek 24	95,37	94.50
Vzorek 19	87,51	86.42
Vzorek 20	84,95	84.33
Vzorek 21	83,49	82.82
Vzorek 23	70,75	68.33
Vzorek 26	4,31	32.38

## 4 Diskuse

### 4.1 Dosavadní poznatky získané ze zdrojů

Bioimplantáty dnes v lidském těle dokáží nahradit řadu důležitých součástí těla. Jedním z materiálů, který je v této oblasti velice hojně využívaný je DLC. Tento materiál disponuje mnoha vlastnostmi, které jsou pro bioimplantáty zcela vhodné. V našem případě se však zaměřujeme na vlastnosti, které zcela vhodné nejsou. Z některých studií vyplývá, že pro jisté aplikace by bylo vhodné použití DLC po správné modifikaci jeho povrchu. Sbírány byly tedy informace o dvou hlavních odvětvích – sloučeniny uhlíku s obsahem vápníku a pulzní laserová depozice. Cílem bylo tedy právě vytvořit uhlíkovou vrstvu s obsahem vápníku. Realizovat tuto vizi se pak již pokoušely týmy před námi, avšak použili k tomu jiné metody. V naší práci jsme se snažili zabudovat biokompatibilní vápník do struktury vrstvy DLC. Vytvoření takové vrstvy bylo navrženo i několika autory v literatuře. Chtěli bychom tak zkombinovat výhody materiálových vlastností DLC s biokompatibilními vlastnostmi vápníku. Hlavními výhodami DLC jsou v našem případě jeho pevnost, tedy životnost a zároveň bioinertnost k ostatním tkáním.

### 4.2 Diskuze depozice z $\text{CaCO}_3$

Abychom mohli připravit tenkou vrstvu Ca:DLC o zadané koncentraci, potřebovali jsme znát rychlosti růstu vrstvy samotného DLC a samotného Ca. Abychom zjistili parametry rychlosti růstu vrstvy Ca, připravili jsme experiment. Materiálem pro tvorbu terče byl podle popisu CaO prášek stlačený do formy terče. Podle teorie jsme vyvodili, že po vystavení vzduchu se spíše než o CaO jednalo ve výsledku o  $\text{CaCO}_3$ .

Snažili jsme se vytvořit co nejsilnější vrstvu, která by adherovala na destičce a zároveň byla dostatečně hladká. Předpokládali jsme také, že při takové vzdálenosti terč podložka přicházejí v úvahu ztráty materiálu, takže výsledná vrstva nebude zcela úměrná výpočtům. Ztráty vznikají z toho důvodu, že ač jsme se snažili depozici nasměrovat tak, aby po ablaci terče laserovým paprskem vzniklý plasmový oblak mířil na podložku, kvůli postupnému úbytku materiálu na terči a tedy vzniklé nerovnosti v místě odrazu se část materiálu vydala směrem mimo podložku.



### 4.3 Charakterizace vzorků připravených z $\text{CaCO}_3$

Pilotní experiment byl pro nás hlavně vodítkem a nápovědou, jak bude vypadat depozice vápníku při duální laserové depozici. Snažili jsme se dosáhnout co nejrovnoměrnějšího rozprostření materiálu vrstvy na podložce, aby byla následně vrstva dobře mapovatelná a předvídatelná. Důležitým parametrem pro nás byla samozřejmě tloušťka vzniklé vrstvy. Bylo potřeba, aby vrstvy byly co nejtlustší, ale zároveň adherovaly na destičce. Za výhodu jsme pak považovali hladkost připravené vrstvy vzhledem k potencionální aplikaci v živém organismu. Pro snadné měření tloušťek vrstvy jsme na depozičních destičkách zakryli kus místa, který nám pomohl vytvořit oblast bez nadeponované vrstvy a tedy prostor, který nám posloužil pro měření tloušťek vrstev. Pro jejich měření jsme pak využili ve všech případech přístroj Alphastep IQ od KLA Tencor především proto, že nám byl lehce dostupný. Měřili jsme pomocí něho všechny vzorky při obou experimentech. Výsledky měření tloušťek vrstev jsme zpětně použili pro získání rychlostí růstu vrstev při daných podmínkách. Následně jsme navrhli výpočet opakovacích frekvencí laserů a počtů pulsů, který zohledňoval všechny důležité parametry pro jednotlivé požadované atomové koncentrace vápníku v DLC při stanovené cílové tloušťce vrstvy.

Při pilotním experimentu jsme používali koupený terč  $\text{CaO}$  ( $\text{CaCO}_3$  po styku se vzduchem), ten se nám během depozic postupně rozpadal, proto jsme se rozhodli si pro náš další experiment připravit z práškového  $\text{CaCO}_3$  terč vlastní.

### 4.4 Počítání pro duální depozici

Jako první komplikaci jsme museli vzít v úvahu, že v terči, ze kterého pro naši cílovou vrstvu získáváme vápník, je rovněž přítomen vázaný uhlík. Při depozici tak z terče uvolňujeme prvky současně. Navíc se dostává do prostoru komory i kyslík, o jeho přítomnosti pak můžeme na úrovni výpočtů pouze spekulovat. Pro prokázání a kvantifikaci přítomnosti kyslíku ve vrstvě jsme po provedení experimentu kladli důraz na charakterizaci vrstvy pomocí metod XPS a WDS.

Při výpočtu jsme pak používali tabulkové hodnoty atomových relativních hmotností, které korespondovaly s hodnotami poskytnutými výrobcem. Rychlosti růstu jsme získali z pilotních depozic, v nich jsme připravili vrstvy o tloušťkách, které jsme byli schopni měřit a zpětně jsme pak dopočítali rychlost růstu. Jelikož až na vysoké vakuum jsme použili stejné podmínky jako ve finálním experimentu, mohli jsme tyto hodnoty použít pro výpočet. Předpokládáme však, že vyšší vakuum, v němž se odehrávala finální depozice naopak růst vrstev usnadnilo oproti pilotním depozicím.

Výpočtem jsme tedy hledali nastavení počtu pulsů jednotlivých laserů při opakovacích frekvencích, které naše lasery byly schopny udržet. Dále jsme se snažili, aby depozice začala i skončila ve stejný okamžik, abychom tak měli co nejrovnoměrněji zastoupené obě složky po celé tloušťce vrstvy.

Ve výpočtech jsme vycházeli z tabulkových hodnot hustoty zúčastněných prvků, přičemž jsme zanedbali přítomnost kyslíku z důvodu nejasnosti jeho chování během depozice. Při výpočtu jsme tak uvažovali pro uhlík relativní atomovou hmotnost 12,01115 a hustotu  $3 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$  pro vápník pak relativní atomovou hmotnost 40,078 a hustotu  $1,55 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$ . Při výpočtu jsme pak použili hodnoty získané z prvního experimentu – rychlost růstu pro vápník  $0,0545 \text{ nm/puls}$  a pro uhlík jsme použili hodnotu získanou z experimentálních měření konzultanta práce  $0,0310 \text{ nm/puls}$ . Výpočet nám sice poskytl teoretický podklad takový, že jsme získali představu o tom, v jakých hodnotách se budeme při depozici pohybovat, ale ve výsledku jsme prováděli nová měření rychlosti růstu vrstev během příprav finálního experimentu, jelikož s podmínkami jsme od prvního experimentu hnuli a i pozice obou laserů a terčů se mírně změnily. Pro finální výpočet jsme zohlednili i fakt, že z terče  $\text{CaCO}_3$  se během depozice uvolňuje i uhlík a třetinu růstové rychlosti z tohoto terče jsme připočetli k rychlosti růstu uhlíku, naopak pro růst vápníku jsme pak počítali pouze s dvěma třetinami naměřené rychlosti růstu.

Výsledný experiment pak probíhal podle hodnot vypočítaných pouze z růstových rychlostí vrstev získaných v nastavení, ve kterém následně probíhala i duální pulsní laserová depozice.

## 4.5 Duální pulzní laserová depozice

K realizaci finálního experimentu byly využity laboratorní lasery Coherent Compex Pro 205 F a Lumonics PM842, oba plněné KrF pro vlnovou délku 248 nm. Každý z laserů byl schopen pracovat pouze v omezeném rozsahu repetičních frekvencí, podle potřebných repetičních frekvencí byl laser Coherent Compex Pro 205 F použit pro depozici DLC, Lumonics PM842 pak pro depozici z terče  $\text{CaCO}_3$ . S oběma terči jsme nejprve provedli pulzní laserovou depozici s každým z nich, abychom získali experimentální hodnoty rychlosti růstu vrstvy. Vrstvy jsme tedy měřili laboratorním zařízením P-6, výsledné hodnoty získané příslušným počtem pulsů jsme následně použili jako hodnoty růstové rychlosti pro jednotlivé experimenty.

Pilotní experimenty nám často nevycházely z několika hledisek, vrstvy často praskaly, případně jsme je pozorovali pouze na části destičky. S tím jsme bojovali postupným upravováním a experiment jsme následně prováděli v postavení, které nám vyšlo jako nejvýhodnější.

Jedním z vodítek ke správné realizaci byla i vzdálenost terč-podložka. Přiblížením podložky k terčům jsme zmenšovali potenciální ztráty způsobené rozptylem materiálu. Jejím oddálením jsme zase zvyšovali homogenitu výsledné vrstvy.

Možnou variací depozičních podmínek mohlo být zahřívání komory během depozice. Uvažujme, že objem plazmového oblaku je zhruba  $10^{-4} \text{ m}^3$ , přičemž objem depoziční komory je zhruba  $10^{-1} \text{ m}^3$ . Z poměru obou objektů tedy můžeme tuto pochybnost vyvrátit, protože teplota uvolněná při depozici je uvolňována natolik krátkou dobu, že tak velkou komoru by během doby trvání depozice neměla ovlivnit.

Jako zdroj pro vrstvu DLC jsme použili terč z grafitové tyče. Takové terče jsou vhodné zejména kvůli souvislé vrstvě uhlíku na povrchu, vysoké hustotě. Jako zdroj pro depozici vápníku jsme pak používali terč vyrobený z práškového  $\text{CaCO}_3$ . V pilotním experimentu jsme sice používali práškový  $\text{CaO}$ , jak jsme však zjistili, ten při expozici na vzduchu velmi rychle reaguje s  $\text{CO}_2$  a vzniká tak právě  $\text{CaCO}_3$ .

Depozice proběhly podle plánu, během depozice vzorku 22 se neočekávaně zastavil laser č.2, proto se pokus opakoval se stejnými podmínkami pro vzorek 23, který byl následně použit.

## 4.6 Charakterizace vrstev připravených pomocí duální PLD

Jelikož jsme věděli, že biologické testy z časových i finančních důvodů nebudeme moci realizovat, největší důraz byl kladen na charakteristiku profilu a složení našeho materiálu. Měřili jsme tloušťku vrstev a jejich drsnost, pomocí AFM jsme pak na povrchu hledali nežádané fenomény v podobě nerovností. WDS a XPS nám pak ukázaly zastoupení jednotlivých prvků ve vrstvě

Pro experiment jsme se snažili dosáhnout tloušťky vrstev 400 nm, ta je vhodná pro metody WDS a SEM. Uvažovali jsme mírné ztráty, a že vrstva nemůže být moc silná, aby se vlivem pnutí nesloupla. Při výpočtu jsme vycházeli z rychlostí růstu vrstev připravených z každého z terčů samostatně. Když jsme je dali následně dohromady, vrstvy byly vždy o něco tenčí. Pravděpodobným důvodem je geometrie experimentu, kde do plazmového oblaku vstupuje materiál ze dvou směrů zároveň, a tedy jednotlivé atomy do sebe naráží a vychylují se z plánované dráhy.

Jako jeden z faktorů nepřesnosti výsledného změření vrstev také může být příprava podložky pomocí bombardování ionty argonu v radiofrekvenčním výboji. Ačkoli nám tato metoda pomůže s tím, aby vrstva na podložce držela, může ovlivnit výsledky měření tloušťky vrstvy. Jelikož tato metoda pro svou účinnost je prováděna ve vysokém vakuu těsně před provedením samotné depozice, nemáme možnost podložku vyjmout a změřit, kolik materiálu po radiofrekvenčním působení ubylo. Jelikož již během

radiofrekvenčního působení je destička přichycena do držáku a tedy místo, oproti kterému měříme výslednou tloušťku je zakryté, předpokládáme, že na něj tato metoda nemá vliv. Již před depozicí je tedy zakryté místo tlustší, než nezakryté, na které je následně připravena vrstva. Odhadem je tedy připravená vrstva ještě silnější o hodnoty v řádech jednotek až desítek nanometrů.

Výsledky měření drsnosti povrchu jsou oproti pilotním vrstvám samotného vápníku většinou výrazně plošší. To by mělo vyhovovat biomedicínským aplikacím. Toto měření nicméně probíhá pouze v jednom směru a zachytí pouze nerovnosti, na které narazí úzký hrot, proto je pro celkové hodnocení povrchu vhodnější zobrazovací plošná metoda typu AFM či SEM.

AFM jsme využili hlavně v pilotním experimentu. Jelikož měření drsnosti probíhalo pouze v jedné linii, nepodalo nám kvalitní informaci o kompletní morfologii povrchu. Právě metoda AFM nám tak pomohla odhalit nerovnosti na povrchu většiny vzorků. Zajímavější pak byla aplikace metody na vzorek připravený duální pulzní laserovou depozicí. AFM jsme zde použili pouze pro měření jednoho vzorku, protože měření je zdlouhavé a očekávali jsme výsledky měření SEM, které nám měly poskytnout lepší představu o povrchu. AFM vzorku č. 19 odhalilo minimum nerovností. Na vzorcích  $10 \times 10 \mu\text{m}$  si můžeme všimnout jediného píku, jehož profil neodpovídá tomu, že by vzniknul v průběhu depozice, jedná se tedy spíše o nějaké poškození povrchu vrstvy mechanickým vlivem či o cizí materiál, který se na povrch dostal bezprostředně před vložením do mikroskopu. Větší sken ( $50 \times 50 \mu\text{m}$ ) pak tyto spekulace spíše potvrzuje, ani větší plocha není výrazněji zvrásněná a píky jsou zcela ojedinělé. Pro medicínskou aplikaci by takto hladká vrstva byla vhodná.

Na topografiích pořízených pomocí SEM si můžeme všimnout trendu přibývajících píků relativně úměrně se zvyšující se koncentrací Ca ve vzorcích. SEM topografie vzorku č.26 tento fenomén potvrzuje, neboť nabízí nejvíce hrbolů. Pro medicínské aplikace vyžadující hladkost povrchu by tak z tohoto hlediska nejlépe fungovaly vrstvy s nižším obsahem vápníku v DLC.

WDS odhalila hmotnostní a atomární procentuální zastoupení prvků v našich vrstvách. Předpokládali jsme, že vzorky budou odpovídat přibližně jednomu, čtyřem, osmi, jedenácti a patnácti atomovým procentům vápníku v DLC. Výsledky WDS nám však odhalily jiná čísla. Škála atomárních procent je sice vzestupná, jak jsme předpokládali, ale hodnoty jsou značně nižší. Co se týče atomárních procent, tak stupnice našich vzorků začíná dle předpokladu na jednom atomárním procentu, nicméně následně roste nepravidelně. Naše vzorky tak podle atomových procent obsahují 1,05 at.% Ca, 2,73 at.% Ca, 3,79 at.% Ca, 4,16 at.% Ca, 7,66 at.% Ca a nutno zmínit i vzorek tvořený čistě z  $\text{CaCO}_3$  terče, který dle WDS obsahuje 28,45 at.% Ca (nicméně obsahuje 8,09 at.% C). Podíváme-li se na hmotnostní zastoupení prvků, jelikož je atom vápníku výrazně těžší

než atom uhlíku, bude ve vrstvě z hlediska hmotnostního složení vyšší procento vápníku než z hlediska atomárního.

Výsledky XPS poukázaly na námi přehlíženou přítomnost kyslíku ve všech připravených vrstvách. Jelikož však XPS zkoumá pouze vrstvu cca 5nm od povrchu, který je v kontaktu se vzduchem, dá se předpokládat, že část kyslíku zde vidíme z důvodu oxidace povrchu. Jako zajímavější a určující jsme tedy brali hlavně poměr C:Ca, který by podle předpokladu měl po celé vrstvě být zhruba stejný.

Při srovnání výsledků z WDS a XPS se můžeme pozastavit nad tím, že u skoro všech výsledků z XPS je vidět mnohem vyšší procentuální zastoupení kyslíku. To potvrzuje hypotézu, že povrch vrstev při vystavení atmosférickému působení oxiduje, přičemž nejhojněji zastoupenou sloučeninou obsahující kyslík je podle XPS ve všech vrstvách  $\text{CaCO}_3$ , tedy vápník reagující s oxidem uhličitým ze vzduchu.

Zajímavé tak může být srovnání poměrů C:Ca dle jednotlivých měření. Hodnoty se liší maximálně o 0,3 v případě vzorku 21 a vzorku 24, pokud nebudeme počítat vzorek 26. V případě tohoto vzorku jsou hodnoty získané dvěma různými měřeními naprosto odlišné. Jediné, na čem se obě metody shodují, je vysoká procentuální přítomnost kyslíku, který dle XPS je vázán převážně ve formě  $\text{CaCO}_3$ , což je materiál terče. Můžeme předpokládat, že  $\text{CaCO}_3$  je tvořen na povrchu vzorku při reakci s atmosférickým  $\text{CO}_2$ , to by vysvětlovalo vyšší naměřené množství uhlíku v oblasti blízké povrchu než po celé tloušťce vrstvy.

## 4.7 Hodnocení výsledků charakterizací

Vzhledem k tomu, že jednou z motivací práce bylo zjistit, zda přidáním vápníku do struktury DLC vzroste biokompatibilita vrstvy, bylo by velmi vhodné provést biologické testy, při kterých by vrstvy přišly do kontaktu s živými tkáněmi. Kvůli komplikacím při přípravách terče pro depozici vápníku a rapidnímu snížení finanční dotace experimentu z SGS jsme nakonec od biologických testů museli ustoupit.

## 5 Závěr

Studie začala provedením rešerše užitečných informací z literatury. Bylo zjištěno, že adekvátní experiment ještě nebyl proveden, a tedy bylo potřeba navrhnout jeho realizaci s ohledem na dostupná data. Aby byla naše vrstva co nejpřesněji vytvořená podle požadavků, byl iniciován pilotní experiment, při kterém byly připraveny vrstvy s obsahem vápníku při různých depozičních podmínkách. Byla pozorována rychlost růstu vrstev, tloušťka, hrubost povrchu. Jako nejvhodnější byly vyhodnocovány vrstvy, které se udržely na podložce a zároveň profil jejich povrchu byl co nejhomogennější. Nejsilnější připravená vrstva měla po pilotním měření 1460 nm, nebyla však vyhodnocena jako vhodná, protože během měření popraskala a slezla, nejpravděpodobněji důsledkem vnitřního pnutí. Vrstva 1 byla naopak velmi tenká, i když se výsledky nezdály špatné, nebyly vypovídající, neboť materiálu vzniklo velmi málo. Za nejvhodnější tak v pilotním experimentu byly považovány vrstvy 2 a 4 o tloušťkách 545 nm resp. 701,5 nm.

Naším cílem bylo vytvořit škálu vzorků s rostoucí koncentrací vápníku v DLC pro další výzkum biokompatibility. Přestože testy biokompatibility jsme nakonec z časových a finančních důvodů realizovat nemohli, tato část zadání nás donutila vytvořit teoretický základ pro náš experiment. Depoziční parametry jsme se pokusili vypočítat podle tabulkových hodnot a rychlostí růstu vrstev získaných z pilotních depozic. V původním výpočtu jsme přes hmotnostní zlomky, následně objemové zlomky získané z relativních atomových hmotností, cílové tloušťky vrstvy a rychlostí růstu vrstev získali počty pulsů potřebné pro přípravu dané vrstvy z příslušného terče. Následně jsme však museli tyto dva výsledky zkorelovat, neboť do výsledné tloušťky se nám v příslušných poměrech musel vejít materiál z obou terčů. Výsledky praktické se však lišily. První rozdíl nastal v tom, že rychlosti růstů vrstev testované těsně před finálním experimentem při jeho podmínkách se lišily od rychlostí růstu, které jsme zjistili při prvním experimentu pro samotný  $\text{CaCO}_3$  terč. Ve výsledku jsme tak pro výpočet parametrů používali jednoduchou rovnici zohledňující potřebný počet pulsů pro vytvoření vrstvy s požadovanou tloušťkou z každého z terčů. Problém s naším výpočtem primárně spočíval v nezahrnutí kyslíku do výpočtů. Rozdíly v tloušťce výsledných vrstev dáváme za vinu rozptylu částic během interakcí v rámci mísení v plazmovém oblaku během depozice, dále postupnému znedokonalování hladkosti povrchu terče, ze kterého vznikal samotný plazmový oblak či uvolňování kyslíku do prostoru komory.

Pro první experiment jsme pořídili terč vytvořený z materiálu  $\text{CaO}$ , později jsme zjistili, že při kontaktu se vzduchem se chemicky změnil v  $\text{CaCO}_3$ . Pro experiment finální jsme zkoušeli několik variant, ze kterých jsme vybrali stejný postup, avšak nyní jsme již počítali s tím, že výsledný terč bude tvořen  $\text{CaCO}_3$ . Během přípravy jsme umístili

práškový CaO do speciálního odlitku pro lisování, pomocí hydraulického lisu jsme pak prášek stlačili do tvaru terče. Výsledek lisování jsme umístili do pece, kde jsme se při teplotě 500°C snažili vytvořit pevnější vazby v rámci terče, snížit tím možnost drobení terče a tedy vytvořit co nejhladší povrch pro ablaci.

Při prvním experimentu jsme účelně připravovali vrstvy různých tloušťek, abychom zjistili, v jakém rozsahu tloušťek přibližně vrstvy na podložce drží a v jakých jsme schopni je efektivně měřit. Jelikož nejsilnější z takto připravených vrstev nepřežila manipulaci a jediný údaj, který o ní víme je tak tloušťka naměřená bezprostředně po depozici, usoudili jsme, že výsledné tloušťky vrstev by se měly ideálně pohybovat okolo 400 nm. Během výpočtů jsme se snažili vypočítat podmínky pro depozici vrstev silných přesně 400 nm (pro vrstvu ze samotného CaCO<sub>3</sub> jsme cílili na 300 nm). Výsledné tloušťky vrstev se pak lišily oproti výpočtům v řádu desítek nanometrů. Důvody tohoto jsou hodnoceny v diskuzi této práce. Nejbližší výpočtům byl podle měření nejsilnější vzorek 21 u něhož byla zjištěna pomocí Alphastepu IQ naměřena tloušťka 401 nm. Největší odchylka oproti výpočtu nastala u vzorku 23, který byl podle přístroje o celých 70 nm tenčí, než jsme doufali. Všechny připravené vzorky však vydržely na podložních destičkách, takže cílové tloušťky jsme zvolili správně.

V prvním experimentu jsme vzorky podrobili skenování povrchu pomocí AFM, skeny malých ploch i plochy větší byly ve srovnání se vzorkem skenovaným po finálním experimentu výrazně hrboilatější a méně homogenní. Po finálním experimentu byl tedy měřen pouze vzorek 19, který se jevil jako velmi vhodný, jelikož jeho povrch byl velmi hladký. Výsledek následně potvrdila metoda SEM.

Výsledky rastrovací elektronové mikroskopie poukazují na hladkost všech vrstev skládajících se z vápníku i DLC kromě vrstvy tvořené pouze z terče CaCO<sub>3</sub>. Vrstva tvořená samotným DLC je velmi hladká. Pokud se zaměříme na růst hrubosti s rostoucí koncentrací vápníku, pozorujeme úměrný nárůst. Můžeme tedy konstatovat, že čím více vápníku se nachází ve vrstvě DLC vytvořené pulzní laserovou depozicí, tím je vrstva hrubší.

Ze spektroskopii jsme jako první obdrželi výsledky XPS. Výsledky poukazovaly na poměrně vysokou přítomnost kyslíku ve všech připravených vrstvách. Jak bylo již zmíněno, XPS měří pouze oblast blízko povrchu vrstvy, proto se dalo počítat, že měření bude zkreslené vlivem povrchové oxidace vzorků při kontaktu s atmosférou. Z měření nás tak zajímaly převážně poměry vápníku k uhlíku a dále vazebné stavy jednotlivých prvků v rámci vrstev. Podle očekávání se tedy uhlík nejvíce vyskytoval v podobě DLC a to tedy v sp<sup>2</sup> i sp<sup>3</sup> hybridizacích. U většiny vzorků jsou hybridizace zastoupeny víceméně rovnoměrně, v případě vzorků č. 24 a č. 25 pak výrazně převažuje hybridizace sp<sup>3</sup>. Tyto vzorky však obsahují nejméně vápníku z celé naší škály vzorků, uhlík tedy nemusí do své struktury inkorporovat tolik cizího materiálu a formuje se do tvrdší prostorové struktury.

Další nejběžnější forma výskytu uhlíku ve vrstvách je v jednoduché či dvojné vazbě na kyslík, to vysoce pravděpodobně opět souvisí s oxidací povrchu, či proniknutím kyslíku do struktury vrstvy během depozice.  $\text{CaCO}_3$  je pak ve všech vrstvách nejběžnější vazebný stav vápníku.

Vlnová dispersní spektroskopie nám ukázala podíl jednotlivých prvků v připravených vrstvách. Zjistili jsme, že ve všech připravených vrstvách dominuje uhlík ve formě DLC. Vápník byl podle předpokladu na druhém místě a i když se jeho koncentrace mírně lišily od očekávání, dostali jsme potvrzení, že se nám povedlo připravit vzrůstající škálu koncentrací – konkrétně 1,046 at.%, 2,731 at.%, 3,794 at.%, 4,161 at.%, 7,664 at.%. Oproti očekávání jsou tyto hodnoty zhruba poloviční. Vinu přikládáme tomu, že při aplikaci finálního výpočtu proběhlo chybné zadání do naší výpočetní tabulky, které vedlo k nezapočítání vlivu depozice z obou terčů současně. Můžeme však konstatovat, že vzhledem k profilu povrchu vzorků získaných pomocí SEM již takto malé rozdíly v atomárních koncentracích obsahu vápníku znamenají pro vzorky relativně velký rozdíl převážně v povrchové morfologii. Dalším krokem v tomto ohledu by jistě bylo vztážením na biologické testy, které jsme z výše zmíněných důvodů v rámci této práce, bohužel nebyli schopni realizovat. Je to však jistě krok, který by v rámci tohoto výzkumu měl být hned tím následujícím.



## Seznam použité literatury

- [1] FEDEL, M. Blood compatibility of diamond-like carbon (DLC) coatings. *Diamond-Based Materials for Biomedical Applications* [online]. Elsevier, 2013, 2013, s. 71-102. DOI: 10.1533/9780857093516.1.71. ISBN 9780857093400. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857093400500047>
- [2] DEARNALEY, Geoffrey a James H. ARPS. Biomedical applications of diamond-like carbon (DLC) coatings: A review. *Surface and Coatings Technology* [online]. 2005, 200(7), 2518-2524 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2005.07.077. ISSN 02578972. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897205007668>
- [3] HAUERT, R., K. THORWARTH a G. THORWARTH. An overview on diamond-like carbon coatings in medical applications. *Surface and Coatings Technology* [online]. 2013, 233, 119-130 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2013.04.015. ISSN 02578972. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897213003472>
- [4] CHU, P.K. Thin solid films: an international journal on their science and technology. Vol. 420-421. Lausanne: Elsevier Sequoia S.A., [2002]. ISSN 0040-6090.
- [5] CHU, Paul K. Enhancement of surface properties of biomaterials using plasma-based technologies. *Surface and Coatings Technology* [online]. 2007, 201(19-20), 8076-8082 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2005.12.053. ISSN 02578972. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897207002022>
- [6] DORNER-REISEL, Annett, Christian SCHÜRER, Claudia NISCHAN, Olaf SEIDEL a Eberhard MÜLLER. Diamond-like carbon: alteration of the biological acceptance due to Ca–O incorporation. *Thin Solid Films*. 2002, 420-421(?), 263-268. DOI: 10.1016/S0040-6090(02)00745-9. ISSN 00406090. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040609002007459>
- [7] DORNER-REISEL, Annett, Christian SCHÜRER, Guido REISEL, Frank SIMON, Gert IRMER a Eberhard MÜLLER. Ca?O-modified diamond-like carbon coatings synthesised by a direct current discharge. *Thin Solid Films* [online]. 2001, 398-399, 180-186 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/S0040-6090(01)01391-8. ISSN 00406090. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040609001013918>

- [8] A., Dorner-Reisel, Schürer C., Irmer G., Simon F., Nischan C. a Müller E. Diamond-like carbon coatings with Ca-O-incorporation for improved biological acceptance. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2002, 374(4), 753-755 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1007/s00216-002-1546-x. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-002-1546-x>
- [9] KWOK, S.C.H., P.C.T. HA, D.R. MCKENZIE, M.M.M. BILEK a Paul K. CHU. Biocompatibility of calcium and phosphorus doped diamond-like carbon thin films synthesized by plasma immersion ion implantation and deposition. *Diamond and Related Materials* [online]. 2006, 15(4-8), 893-897 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/j.diamond.2005.10.062. ISSN 09259635. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925963505005121>
- [10] FREDERICK, Matthyse Irving. Hydraulic press. U.S. Patent No 2,254,613, 1941.
- [11] H. BORGWARDT, Robert. Sintering of nascent calcium oxide. *Chemical Engineering Science* [online]. 1989, 44(1), 53-60 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/0009-2509(89)85232-7. ISSN 00092509. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0009250989852327>
- [12] KANG, Suk-Joong L. Sintering: densification, grain growth, and microstructure. Burlington: Elsevier Butterworth-Heinemann, 2005. ISBN 9780750663854.
- [13] HOFFMAN, Dorothy M., Bawa SINGH a John H. THOMAS. Handbook of vacuum science and technology. San Diego, CA: Academic Press, c1998. ISBN 978-0-12-352065-4.
- [14] JELÍNEK, Miroslav, Josef ZEMEK, Jan REMSA, et al. Hybrid laser technology and doped biomaterials. *Applied Surface Science* [online]. 2017, 417, 73-83 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1016/j.apsusc.2017.03.103. ISSN 01694332. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433217307547>
- [15] JELÍNKOVÁ, Helena. Lasers for medical applications: diagnostics, therapy, and surgery. Philadelphia: WP/Woodhead Publishing, 2013. ISBN 9780857092373.
- [16] JELÍNEK, M. Hybrid laser technology for biomaterials. *Lasers for Medical Applications* [online]. Elsevier, 2013, 2013, s. 704-724 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.1533/9780857097545.4.704. ISBN 9780857092373. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857092373500230>
- [17] VYMĚTALOVÁ, Veronika. Biologie pro biomedicínské inženýrství: laboratorní cvičení. 2. vyd. V Praze: České vysoké učení technické, 2013. ISBN 978-80-01-05187-0.
- [18] MANUÁL, Standard Operating Procedure Profilometer - KLA-Tencor Alpha-Step IQ. In: University at Buffalo, Shared Facilities: Science and Engineering

- [online]. [cit. 2019-04-25]. Dostupné z:  
[http://www.buffalo.edu/content/shared/www/shared-facilities-equip/equipment-list/ProfilometerKLA-TencorAlphaStepIQMetrology/\\_jcr\\_content/par/download/file.res/SOP\\_KLA-Tencor%20AlphaStepIQ%20Surface%20Profiler\\_Regular%20Operation\\_10-11-16.pdf](http://www.buffalo.edu/content/shared/www/shared-facilities-equip/equipment-list/ProfilometerKLA-TencorAlphaStepIQMetrology/_jcr_content/par/download/file.res/SOP_KLA-Tencor%20AlphaStepIQ%20Surface%20Profiler_Regular%20Operation_10-11-16.pdf)
- [19] GOLDSTEIN, Joseph I., Dale E. NEWBURY, Joseph R. MICHAEL, Nicholas W.M. RITCHIE, John Henry J. SCOTT a David C. JOY. Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis [online]. New York, NY: Springer New York, 2018 [cit. 2019-04-25]. DOI: 10.1007/978-1-4939-6676-9. ISBN 978-1-4939-6674-5.
- [20] FRIEDBACHER, Gernot a H. BUBERT. Surface and thin film analysis: a compendium of principles, instrumentation, and applications. 2nd, completely rev. and enlarged ed. Weinheim: Wiley-VCH, c2011. ISBN 978-3-527-32047-9.
- [21] Wavelength dispersive (X-ray) Spectroscopy. Essential Knowledge Briefings: Original Science & Industry Guides from Wiley [online]. [cit. 2019-04-25]. Dostupné z:  
<https://www.essentialknowledgebriefings.com/downloads/category/science-research/>
- [22] Wavelength-dispersive spectroscopy (WDS). [online]. [cit. 2019-04-25]. Dostupné z:  
[https://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/wds.html](https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/wds.html)