



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

MATEMATIKOS IR GAMTOS MOKSLŲ FAKULTETAS

Mindaugas Ramanauskas

**CIRKONIO OKSIDO ANTIBAKTERINIŲ PLONŲ SLUOKSNIŲ
FORMAVIMAS IR TYRIMAS**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

prof. dr. Giedrius Laukaitis

Kaunas, 2017

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
MATEMATIKOS IR GAMTOS MOKSLŲ FAKULTETAS

**CIRKONIO OKSIDO ANTIBAKTERINIŲ PLONŲ SLUOKSNIŲ
FORMAVIMAS IR TYRIMAS**

Baigiamasis magistro projektas

Medžiagų mokslas (621J50005)

Vadovas

prof. dr. Giedrius Laukaitis

2017 06

Recenzentė

Lekt. dr. Teresa Moskaliovienė

2017 06

Projektą atliko

Mindaugas Ramanauskas

2017 06

Kaunas, 2017



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
MATEMATIKOS IR GAMTOS MOKSLŲ FAKULTETAS

Mindaugas Ramanauskas
Medžiagų mokslas (621J50005)

Baigiamojo projekto „CIRKONIO OKSIDO ANTIBAKTERINIŲ PLONŲ SLUOKSNIŲ
FORMAVIMAS IR TYRIMAS“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2017 m. 0_ mėn. __ d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Mindaugo Ramanausko**, baigiamasis darbas tema „CIRKONIO OKSIDO ANTIBAKTERINIŲ PLONŲ SLUOKSNIŲ FORMAVIMAS IR TYRIMAS“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(studento vardas ir pavardė, įrašyti ranka)

(parašas)

TURINYS

Santrauka	6
Summary	7
Santrupos	8
Paveikslų sąrašas	9
Lentelių sąrašas	11
1. ĮVADAS	12
2. LITERATŪROS ANALIZĖ	12
2.1. Antibakteriniai paviršiai	12
2.1.1. Dirbtiniai antibakteriniai paviršiai	13
2.1.2. Paviršiaus modifikavimo technikos	13
2.2. Medžiagos pasižyminčios antibakterinėmis savybėmis	13
2.2.1. Sidabras	14
2.2.2. Varis	15
2.2.3. Vario oksidas	16
2.2.4. Organosilanai	18
2.3. Sąlyčiu pernešamos bakterijos	18
2.4. Biologinis suderinamumas	20
2.4.1. Biologiškai suderinamos medžiagos	21
2.4.2. Biosuderinamų medžiagų apibendrinimas	21
2.4.3. Cirkonio oksidas	22
2.4.4. Cirkonio oksido biosuderinamumas	23
2.4.6. Vario biosuderinamumas	26
2.5. Cirkonio oksido su priemaišomis plonų dangų formavimas	27
2.5.1. Plonų cirkonio oksido su priemaišomis sluoksnių formavimo metodo parinkimas	27
2.5.2. Plonų sluoksnių formavimas Magnetroniniu dulkinimu	27
2.6. Dangos nusodinimo parametrų parinkimas	29
2.6.1. Vario nusodinimas magnetroniniu dulkinimu	29
2.6.2. Dangos naudojamo magnetroninio dulkinimo sistemos parametrų parinkimas	30
2.6.3. Magnetrono šaltinio galios parinkimas	31
2.6.4. Deguonies koncentracijos įtaka	32
2.6.5. Darbinių dujų slėgio kameroje įtaka plonų dangų augimo greičiui	33
2.6.6. Efektyvaus sluoksnio formavimas	35

2.7. Literatūros apžvalgos apibendrinimas	36
3. EKSPERIMENTINĖ ĮRANGA IR MATAVIMO METODAI	36
3.1. Tyrimams naudota įranga ir metodai	36
3.1.1. Magnetroninė nusodinimo sistema	37
3.1.2. Atominių jėgų mikroskopas	37
3.1.3. Profilometras	38
3.1.4. Rentgeno spindulių difrakcijos spektroskopija	38
3.1.5. Skenuojantis elektroninis mikroskopas.....	39
3.1.6. Energijų dispersijos spektroskopija	40
3.1.7. Drėkinimo kampo nustatymas	41
3.2. Tyrimai su bakterijomis.....	42
3.2.1. Bakterijų gavimas	42
3.2.2. Bakterijų nustatymas.....	43
3.2.3 Bakterijų auginimas ant suformuotų dangų	44
4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	45
4.1. Augimo greičio nustatymas	45
4.2. Vario koncentracijos parinkimas ZrO_2 dangoje	47
4.3. Rentgeno spindulių difrakcijos tyrimai	49
4.4. Skenuojančio elektroninio mikroskopo rezultatai	50
4.5 Atominio jėgų mikroskopo rezultatai	50
4.6. Kontakto kampo matavimo rezultatai.....	52
4.7. Bakterijų auginimo rezultatai	53
5. IŠVADOS.....	56
Padėkos.....	57
6. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	58
PRIEDAI	63

Ramanauskas Mindaugas. Cirkonio oksido antibakterinių plonų sluoksnių formavimas ir tyrimas. Magistro baigiamasis projektas / vadovas prof. dr. Giedrius Laukaitis. Kauno technologijos universitetas, matematikos ir gamtos mokslų fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: plonos dangos, antibakteriniai paviršiai.

Reikšminiai žodžiai: cirkonio oksidas, varis, plonos dangos, antibakterinės savybės.

Kaunas, 2017. 65 p.

Santrauka

Aplinkui mus nuolat supa įvairios bakterijos. Dalis šių bakterijų gali plisti sąlyčio būdu, prisilietus prie įvairių paviršių. Ši problema ypač aktuali ligoninėse, kur pacientai nuolat liečia įvairius paviršius ir platina ligas sukeliančias bakterijas. Kita aktuali problema – implantai. Implantai, kaip žinoma, turi būti suderinti su žmogaus organizmu, nedaryti jam žalos – biologiškai suderinti. Tačiau to nepakanka, nutinka atvejų, kai bakterijos patenka ant implanto paviršiaus ir sukelia infekcijas.

Šiai problemai spręsti buvo atlikta literatūros analizė siekiant rasti būdą gauti medžiagai, kuri pasižymėtų tiek biologiškai suderinamomis, tiek antibakterinėmis savybėmis. Po analizės, pagal geriausias savybės, antibakterinė medžiaga pasirinktas varis, o biologiškai suderinama – cirkonio oksidas. Iš literatūros analizės sužinoti magnetroninio nusodinimo parametrai šioms medžiagoms. Atskirai nustatyti tikrieji magnetrono nusodinimo greičiai, kad būtų galima pasirinkti vario ir cirkonio oksido santykį dangoje. Nustačius šį santykį nusodinti sluoksniai sudaryti iš abiejų medžiagų. Koncentracijos ištirtos energijos dispersijos spektroskopijos metodu. Taip pat atlikti kiti bandymai, siekiant ištirti gautos dangos savybėms.

Pasirinkus dangą, turinčia tinkamą koncentraciją vario mėginama užauginti bakterijų kolonijos. Po bandymų rezultatai parodė, jog ši danga neužtikrina medžiagos antibakterinių savybių, tačiau dangos turinčios daugiau vario, ženkliai sumažino išgyvenusių bakterijų skaičių ant paviršiaus.

Ramanauskas Mindaugas. Deposition and Research of Zirconium Oxide Antibacterial Thin Film: Master's final project / supervisor prof. dr. Giedrius Laukaitis. The Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Kaunas University of Technology.

Research area and field: thin films, antibacterial surfaces.

Key words: zirconium oxide, copper, thin films, antibacterial properties.

Kaunas, 2017. 65 p.

Summary

Various bacteria constantly surround us. Some of the bacteria can spread through various surfaces. This problem is relevant in hospitals, where patients are constantly touching various surfaces and may spread infections and diseases causing bacteria. Another relevant problem is implants. Implants must be biocompatible with human tissues to be successfully used in human body. But there were numerous occasions when bacteria got in contact with implant and caused infection in the area. Therefore, it is desirable for implants to be antibacterial as well.

The research of literature analyses was made to find best ways to implement a material possessing both properties. Literature analyses provided information which lead to selecting copper as an antibacterial material and zirconium dioxide as biocompatible. Furthermore, analyses helped to determine the parameters of physical vapour deposition. Experiments determined the growth rate of each material. Then it was performed the deposition of film containing both materials and using energy dispersion spectroscopy determined the amount of each material. Selected the required ratio and further test to determine the properties of the film was made.

The most suitable film with lowest amount of copper was selected for antibacterial tests. After the tests, this film didn't exhibit antibacterial properties as expected. On the other hand, samples with higher copper greatly decreased the number of bacteria on the surface.

SANTRUPOS

AC – kintama srovė/įtampa

AJM – atominių jėgų mikroskopas

Ag – sidabras

Biosuderinamumas – biologinis suderinamumas

Cu - varis

CuO – vario oksidas

Cu₂O- di-vario oksidas

DC – nuolatinė įtampa/srovė

EDS – elektronų dispersijos spektroskopija

Escherichia coli – *E. coli*

SEM – skenuojantis elektronų mikroskopas

RF – radijo dažnio įtampa/srovė

Ti - titanas

XRD – Rentgeno spindulių difrakcija

Zr - cirkonis

ZrO₂ – cirkonio oksidas

PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1 pav. a) Nano-stulpelių hidrofobinis paviršius; b) Polimerinių grandinių priauginimas (12)	13
2 pav. Ag jonų veikiamą bakteriją	14
3 pav. CFU kiekiai ant kontrolinio ir variu dengtų stetoskopų (21)	16
4 pav. Bakterijų skaičiaus ant Cu, Cu ₂ O ir CuO paviršių priklausomybė nuo laiko (22).....	17
5 pav. Vario oksidavimosi priklausomybė nuo laiko praleisto atmosferos sąlygomis (23).....	18
6 pav. Escherichia coli bakterija (27).....	19
7 pav. Streptococcus-mutans bakterija (34)	20
8 pav. ZrO kristalinės gardelės, atitinkamai nuo kairės į dešinę: monoklininė, tetragoninė ir kubinė	23
9 pav. Biosuderinamumo bandymo rezultatai su mėginiais turinčiais 25, 50 ir 75 mg ZrO ₂ savo sudėtyje (42).....	24
10 pav. Kontakto kampo nustatymas tarp vandens lašelio ir bandinio paviršiaus	25
11 pav. a) ir b) skirtingų bakterijų išgyvenamumas, c) kontakto kampas ant kontrolinio, ZrO ₂ ir ZrO ₂ su Cu ir Ag priemaišomis paviršių (9).....	25
12 pav. Žmogiškųjų ląstelių išgyvenamumas keičiant Cu koncentraciją (47).....	26
13 pav. Elektrono judėjimas magnetrone (48)	28
14 pav. DC magnetroniniu nusodinimu gautos Cu dangos SEM vaizdas (51).....	29
15 pav. Cu dangos XRD analizė (51).....	30
16 pav. Cirkonio oksido dangos augimas priklausomai nuo naudojamos galios (54) (41)	32
17 pav. a) ZrO ₂ storio priklausomybė nuo darbinių dujų slėgio (55), b) ZrO ₂ storio priklausomybė nuo deguonies procentinės dalies darbinėse dujose (54)	32
18 pav. a) Cirkonio nitrido ir oksinitrodo XRD analizė (56) b) ZrO ₂ XRD analizė naudojant skirtingą Ar dujų slėgį (41)	33
19 pav. a) ir b) ZrO ₂ dangos nusodinimo greičio priklausomybė nuo darbinių dujų slėgio kameroje (54), (57).....	34
20 pav. ZrO ₂ dangos paviršius prie 1,4,6,10 mbar slėgio (57).....	35
21 pav. a) PVD 75 Kurt J. Lesker sistema, b) Katodai	37
22 pav. AJM schema (57)	38
23 pav. XRD difraktometro schema (62), 2θ - skenavimo kampas, q – išsklaidymo vektorius, ω – bandinio posūkio kampas	39
24 pav. SEM struktūrinė schema.....	40
25 pav. Rentgeno spindulių generavimas elektronais	41

26 pav. Vandens lašelio kontakto kampo su paviršiumi nustatymo schema	42
27 pav. Kontakto kampo nustatymas naudojant „Image J“ kompiuterinę program.....	42
28 pav. E. coli bakterijos užaugintos „MacConkey“ agare.....	43
29 pav. a) gram-neigiamos, b) gram-teigiamos bakterijos.....	44
30 pav. AJM matavimo rezultatai a) ZrO ₂ nusodinimo trukmė viena val., b) Cu nusodinimo trukmė trys val.	45
31 pav. ZrO ₂ dangos storio priklausomybė nuo auginimo trukmės.....	46
32 Pav. Cu dangos storio priklausomybė nuo auginimo laiko.....	47
33 pav. Cu koncentracijos priklausomybė nuo Cu katodo galios	48
34 pav. AJM matavimo rezultatai a) dangos storis naudojant 60 W galios Cu katodą., b) dangos storis naudojant 15 W galios Cu katodą.....	48
35 pav. ZrO ₂ dangos, turinčios 10 % Cu XRD analizė.....	49
36 pav. ZrO ₂ dangos, turinčios 18 % Cu XRD analizė	50
37 pav. AJM skirtingų fazių pasiskirstymas paviršiuje, kai Cu koncentracijos ZrO ₂ dangoje 10, 18, 48, 80 %.....	51
38 pav. AJM matavimai atlikti CU dangai auginant metodu a) 30s, b) 150 s	52
39 pav. ZrO ₂ dangos AJM matavimas	52
40 pav. Stiklo ir ZrO ₂ dangų turinčių 10, 18, 48 ir 80 % (atitinkamai iš kairės į dešinę), kontakto kampai	53
41 pav. Bakterijų procentinės koncentracijos nustatymas, a) Lėkštelėje auginamos bakterijos, b) Išryškintos bakterijų kolonijos, c) Kolonijos atvaizduojamas dviejų spalvų gamoje, d) Išmatuojamas bakterijų užimtas plotas naudojant Image J programą	53
42. pav. Vidutinė E. coli bakterijų kolonijų uždengtas plotas ant kontrolinio stiklo bandinio, bei dangų, nusodintų naudojant Cu vario katodą 8, 15, 30, 60 W galiomis	54
43 pav. Ag nano-dalelių įtaka E. coli bakterijų dauginimuisi, kai Ag koncentracija atitinkamai 85, 140, 212, 255, 283 µg/ml	55
Priedas nr. 1. EDS rezultatai dangos su 80 % Cu priemaišų koncentracija	63
Priedas nr. 2. EDS rezultatai dangos su 10 % Cu priemaišų koncentracija	63
Priedas nr. 3. 20 000 kartų padidintas ZrO ₂ ir Cu dangos paviršius su skirtingomis Cu priemaišų koncentracijomis	64
Priedas nr. 4. 60 000 kartų padidintas ZrO ₂ ir Cu dangos paviršius su skirtingomis Cu priemaišų koncentracijomis	65

LENTELIŲ SĄRAŠAS

1 lentelė. ZrO ₂ dangos storio rezultatai pagal auginimo laiką.....	46
2 lentelė. Cu dangos storio rezultatai pagal auginimo laiką.....	46
3 lentelė. ZrO ₂ ir Cu koncentracijos dangoje, keičiant Cu katodo galią	47
4 lentelė. Parametrai gauti atlikus AJM matavimą	50
5 lentelė. Paviršiaus ploto dalis, kurioje užaugusios bakterijos.	54

1. ĮVADAS

Didelė dalis kenksmingų bakterijų plinta dėl sąlyčio su paviršiais. Bakterijos, tokios kaip *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, kelios *Streptococcus* rūšys ir daugelis kitų, priklausomai nuo sąlygų ant įvairių paviršių gali išgyventi iki kelių mėnesių ir sėkmingai patekti į žmogaus organizmą (1). Ši problema yra ypač aktuali gydymo įstaigoms. Pacientai liسدami tokius paviršius kaip ranktūriai bei rankenos, perneša ir platina šias, ant paviršiaus besidauginančias, bakterijas. Taikant dezinfekavimo savybes turinčias valymo priemones, nebuvo pastebėtas poveikis ligoninėje plintančioms bakterijoms ir infekcijoms (2). Dėl šios priežasties vis didesnis dėmesys atkreipiamas į antibakterinius paviršius, kurie natūraliai neleidžia daugintis ar sunaikina ant paviršiaus patenkančias bakterijas (1).

Antibakteriniai paviršiai pasižymi savybėmis, lėtinančiomis mikroorganizmų augumo ar dauginimosi procesus ant medžiagos paviršiaus. Šie paviršiai yra pritaikomi įvairiose srityse, kaip medicinoje, pramonėje ar net namuose. Svarbiausia antibakterinių dangų taikymo sritis yra medicininių prietaisų ir aplinkos sterilizavimas, kuris užkerta kelią pavojingų mikroorganizmų dauginimuisi (3).

Antibakteriniai paviršiai, pagal poveikio mechanizmą yra skirstomi į baktericidinius ir anti-taršinius. Baktericidiniai veikia tiesiogiai suardydami bakterijas, atsiradusios ant paviršiaus, ląstelę (4). Anti-taršiniai – yra hidrofobiniai paviršiai. Šio tipo paviršiai neleidžia bakterijoms prikibti prie paviršiaus, kas ir užkerta kelią bakterijos plitimui (5). Taip pat yra tam tikrų medžiagų, kurios turi tiek baktericidinių, tiek anti-taršnių savybių (6).

Šie paviršiai sukėlė susidomėjimą ir kitose srityse. Dantų protezai ar implantai naudojami visame žmogaus kūne privalo būti biologiškai suderinami (biosuderinami) – nenaikinti žmogaus kūno ląstelių. Ši problema lengvai išsprendžiama pasirinkus tinkamas medžiagas. Tačiau tenka spręsti kitą problemą, patekus bakterijoms ant implantų paviršiaus gali kilti infekcijos (7).

Dėl šių priežasčių darbo tikslas yra suformuoti antibakterinę, biosuderinamą medžiagą ir ją ištirti. Šiam tikslui pasiekti iškelti uždaviniai – ištirti, kokios medžiagos pasižymi antibakterinėmis savybėmis, jų privalumai ir trūkumai, pasirinkta reikiamą medžiagą, ją suformuoti ir ištirti paviršiaus, bei antibakterines savybes.

2. LITERATŪROS ANALIZĖ

2.1. Antibakteriniai paviršiai

Gamtoje galima aptikti paviršių pasižymintį itin unikaliomis savybėmis, tokiomis kaip, maža adhezija ar hidrofobiškumas. Pavyzdžiui lotoso lapai yra hidrofobiški, dėl ko prie jų neprikimba

nešvarumai, bei bakterijos. Cikadų sparnai taip pat yra hidrofobiški ir taip pat naikinantys bakterijų ląsteles, kurios yra nuolat mechaniškai suardomos dėl specifinio sparno nano-paviršiaus (4).

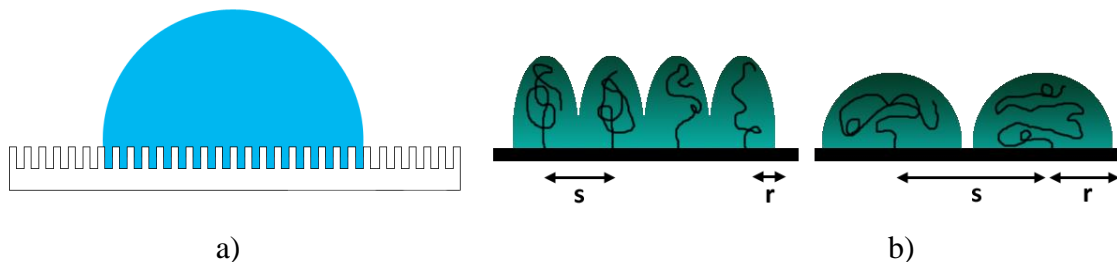
2.1.1. Dirbtiniai antibakteriniai paviršiai

Gamtoje aptinkant šiuos paviršius imta ieškoti būdų, atkartoti panašias ar tokias pačias jų savybes ir pritaikyti atitinkamoms reikmėms. Antibakterinius paviršius galima gauti modifikuojant paviršines savybes ar sukuriant naujus paviršius, pasižyminčius tokiomis savybėmis. Šie paviršiai apima įvairius polimerus, dangas ir nano-struktūromis pagrįstus paviršius, pasižyminčius anti-taršinėmis ar antibakterinėmis savybėmis (8).

2.1.2. Paviršiaus modifikavimo technikos

Paviršius gali būti modifikuojamas į antibakterinį fizikiniais ar cheminiais metodais. Fizikiniai – naudojant fizikinius metodus siekiant pakeisti paviršiaus savybes ar elementinę sudėtį. Cheminiai – paviršiaus modifikavimas priauginant chemines grandines, turinčias minėtų savybių. Detaliau šie metodai gali būti išvardinti taip:

- dangų, turinčių antibakterinėmis savybėmis pasižyminčių medžiagų (varis, sidabras), nusodinimas, fizikiniais metodais pvz. magnetroninis dulkinimas ir cheminiais - cheminis nusodinimas iš garų fazės (9);
- nano-stulpelių auginimas pvz. terminis garų nusodinimas ant silicio paviršiaus (10);
- antibakterinių polimero molekulių „įskiepijimas“ (eng. *grafting*) 1 pav.) (11).



1 pav. a) nano-stulpelių hidrofobinis paviršius, b) polimerinių grandinių priauginimas (12)

s – atstumas tarp polimerų, r – polimero spindulys

2.2. Medžiagos pasižyminčios antibakterinėmis savybėmis

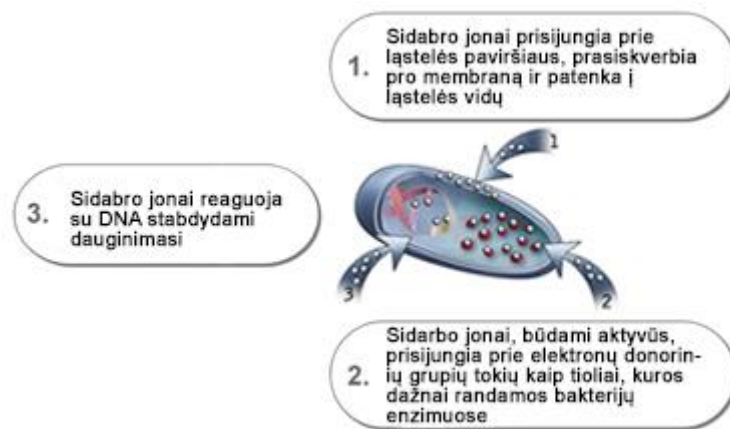
Kai kurios medžiagos natūraliai pasižymi antibakterinėmis savybėmis. Dėl šios priežasties, jas galime tiesiog įterpti, padengti ar naudoti iš jų pačių pagamintus objektus. Aptarsime kelias iš šių medžiagų.

2.2.1. Sidabras

Sidabras (Ag), o ypač jo nano-dalelės yra daug žadančios naujų antibakterinių sistemų gaminimui. Jau nuo senų laikų buvo žinomos Ag dezinfekcinės savybės. Tačiau plačiau tyrinėti šio metalo antibakterines medžiagas pradėta tik 2004 m.

Antibakterinis Ag efektas pasireiškia skirtingai skirtingoms bakterijoms, taipogi, antibakterinio efekto principas priklauso ar turime neutralius Ag atomus (nano-daleles) ar jonus. Ag atomai, o tiksliau nano-dalelės, kontakto su bakterija metu yra linkusios kauptis ant bakterijų membranų. Dėl šios priežasties sumažėja membranų vientisumas, membranose atsiranda įtrūkimai, lemiantys bakterijos ląstelės žuvimą. Taip pat pastebima, kad ląstelėse, kurios yra veikiamos Ag nano-dalelėmis, yra didelis kiekis reaktyvių deguonies atmainų. Tokiomis sąlygomis ląstelė patiria didelius oksidacinius įtempius, kurie sąlygoja ląstelės aktyvumo sumažėjimą ar praradimą (13).

Jonų veikimo principas skiriasi nuo neutralių nano-dalelių. Šiuo atveju reikalingas oksidatorius, kad gauti Ag jonus. Po oksidacijos gauti vienvalečiai Ag jonai yra tikrieji antibakteriniai agentai, kai tuo tarpu neutralios nano-dalelės atstoja rezervuarą. Ag jonai pasižymi itin dideliu afiniškumu organiniams aminams, fosfatams ir tioliams. To pasėkoje Ag prisijungia prie biologinių sistemų, turinčių aukščiau išvardintus fragmentus, ir sukelia jų neaktyvumą, sąlygojantį bakterijos žuvimą 2 pav. Trūkumas tas, jog Ag jonai jungsis su visomis molekulėmis, kurioms šie jonai yra afiliški (14).



2 pav. Ag jonų veikiamą bakteriją

Bandymais įrodyta, jog Ag jonai reaguoja su enzymų tiolo grupėmis ir padaro jas neaktyviomis, privedant prie ląstelių žūties. Ši Ag savybė yra pritaikoma tik tam tikromis sąlygomis – norint, kad Ag veiktų bakterijas, aplinkoje būtina drėgmė (15). Taip pat „Aereus Technologies Inc“ atliktuose bandymuose pastebima, jog esant įprastinėms sąlygoms Ag paviršius oksiduojasi gana lėtai ir tai sumažina jo antibakterines savybes (16).

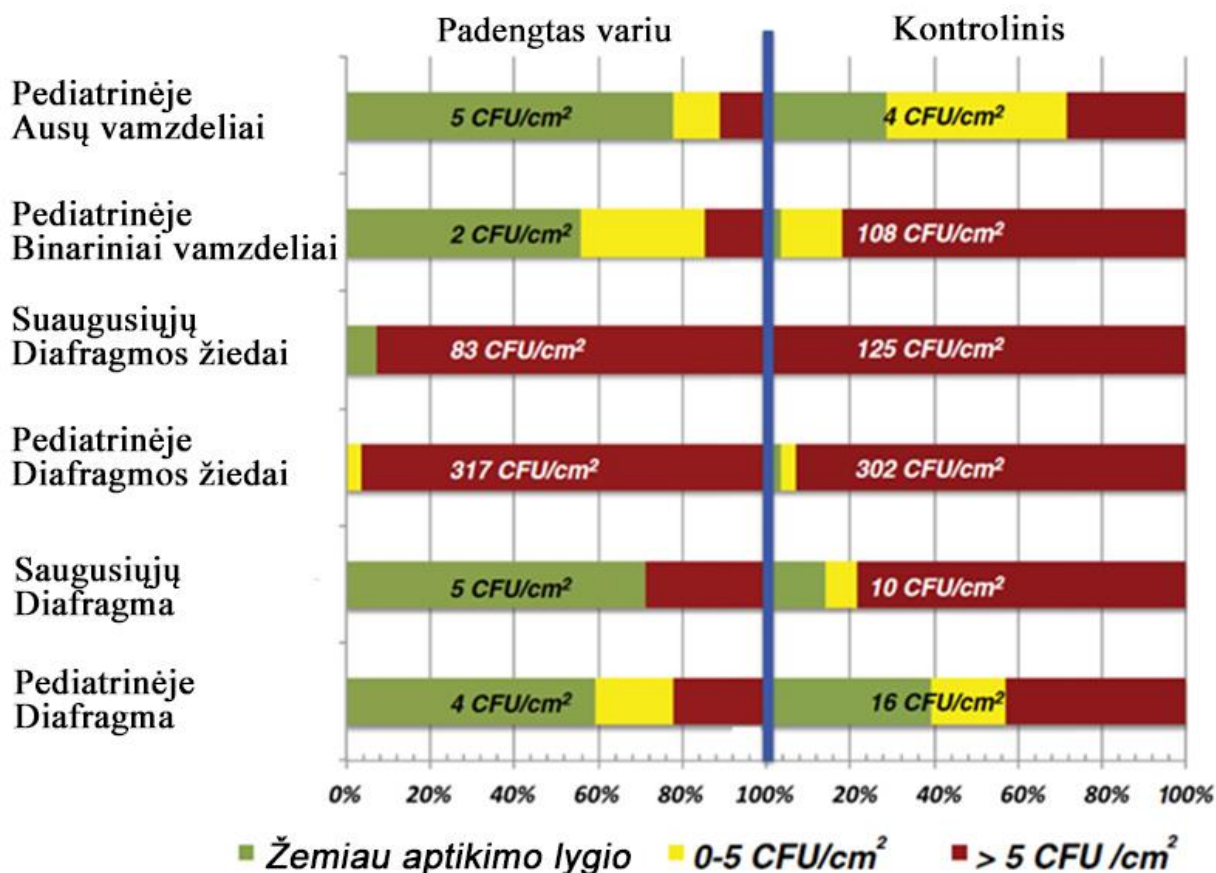
2.2.2. Varis

Vario (Cu) antimikrobinis mechanizmas pradėtas studijuoti jau prieš keletą dešimtmečių ir vis dar tęsiamas. Tikslus Cu antibakterinis mechanizmas nėra išsiaiškintas. Tačiau mokslininkai mano, jog pačios svarbiausios savybės, lemiančios antibakteriškumą, yra šios (17, 18):

- ląstelėje padidėjęs Cu kiekis sukelia oksidacinius įtempius ir vandenilio peroksido susidarymą. Esant šioms sąlygoms, Cu dalyvauja cheminėje reakcijoje (Fentono tipo), kurios metu, dėl oksidacijos, ląstelės yra žalojamos (19);
- Cu perteklius lemia mikrobu membranų vientisumo mažėjimą, taip stabdydamas naudingųjų medžiagų pratekėjimą. Tai lemia ląstelės džiūvimą ir galiausiai žūtį.
- Cu prisijungia prie proteinų, kurių veikimui Cu nėra reikalingas. Toks „netinkamas“ prisijungimas stabdo proteino funkcionavimą (20).

Tokias Cu savybes galima pritaikyti įvairiais atvejais. Vienas iš jų – paviršių padengimas šia medžiaga. Kitų autorių darbe yra atlikti bandymai su stetoskopais. Medicininis prietaisas tiesiogiai kontaktuoja su pacientų oda ir taip kyla grėsmė perduoti bakterijas kitam pacientui. Tam buvo naudojamas įprastas ir Cu padengtas stetoskopas. Bandomieji objektai buvo naudojami skirtingose aplinkose, su atrinktais dalyviais, pirmoji – vaikų ligoninėje, antroji suaugusiųjų. Abi grupės pasinaudojo tiek vienu tiek kitu stetoskopu. Bandymui atlikti skirtingose stetoskopo dalyse, matelinėse – palyginti skirtumus, kai padengiamas Cu, bei nemetalinėse (uretano žiede). Jiems buvo naudojamas 12,9 cm² sterilios servetėlės iš anksto chemiškai paruoštos mikroorganizmų absorbavimui. Visos stetoskopų dalys perbrauktos po 10 kartų, servetėlės atitinkamai išskirstytos ir patalpintos į skirtingas mikrobu auginimo terpes (triptikazės sojos agaras, MacConkey II agaras, tulžies agaras ir MRSA) ir laikytos 48 val. 37°C (MRSA terpėje bakterijos laikytos 24 val.) (21).

Kiekybinė informacija gauta pagal mikrobu kolonijas formuojančius vienetus (*colony forming units* – CFU, 3 pav.). Iš viso duomenys gauti iš 276 bandinių nuo 32 stetoskopų. Diafragmą gaubiančiuose žieduose pastebėti itin maži skirtumai tarp bakterijų kolonijų kiekio tiriant Cu padengtus ir plieninius stetoskopus. Diafragmose, tiriant stetoskopus naudotus pediatrijoje ir suaugusiųjų ligoninėse atitinkamai CFU mažesnis 4 ir 2 kartus. Itin didelis skirtumas aptiktas binariniame vamzdelyje, CFU 56 kartus mažesnis Cu dengtame stetoskope (21). Detalesni duomenys pavaizduoti 3 pav.

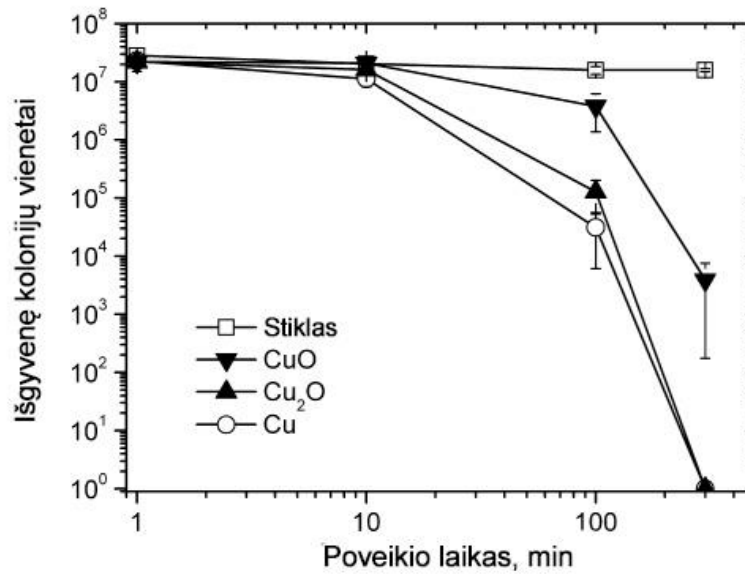


3 pav. CFU kiekiai ant kontrolinio ir Cu dengtų stetoskopų (21)

2.2.3. Vario oksidas

Natūralu, jog ilgai Cu būdamas įprastoje oro aplinkoje patiria oksidaciją. Atlikus tyrimus išsiaiškinta, jog vario oksidai (Cu_2O ir CuO) taip pat turi antibakterinių savybių.

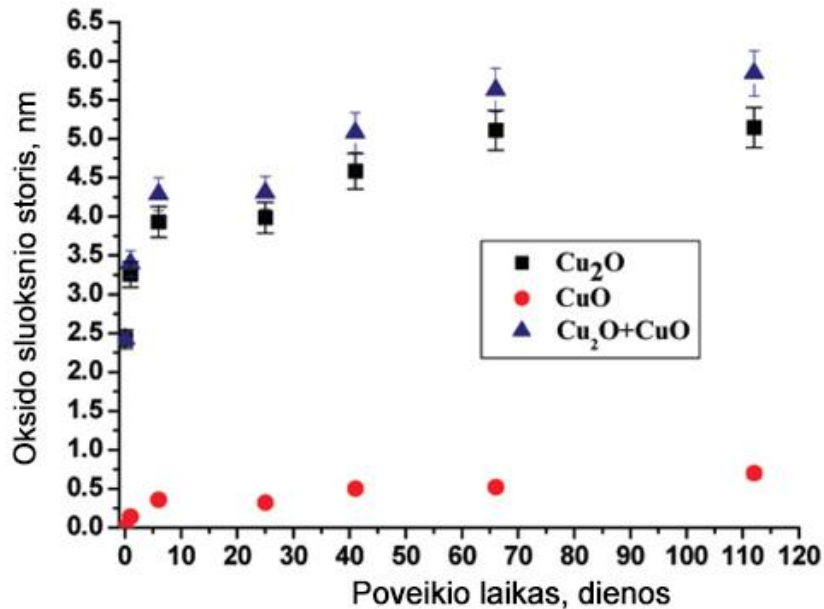
Vario oksidų antibakteriniai bandymai atlikti su *E. hirae* tipo bakterijomis. Rezultatų palyginimui buvo naudojami stiklo, Cu, Cu_2O ir CuO bandiniai. Kaip ir tikėtasi, ant stiklo jokio antibakterinio efekto nepastebėta, per 300 min bandymo laikotarpį. Ant gryno Cu bandinio $2\text{-}3 \cdot 10^8$ bakterijų buvo nužudyta per bandymo laikotarpį. Cu_2O parodė itin panašius rezultatus, kaip ir grynas Cu. Palyginimui CuO , antibakterinės savybės ženkliai išsiskyrė, po bandymo laiko, ant paviršiaus išgyveno apie $10^3\text{-}10^4$ bakterijų. Vizualūs bandymo rezultatai pateikti 4 pav.



4 pav. Bakterijų skaičiaus ant Cu, Cu₂O ir CuO paviršių priklausomybė nuo laiko (22)

Kaip matome oksidavimasis gali pakeisti Cu antibakterines savybes, jeigu Cu oksiduojasi iki CuO. Tačiau normaliomis kambario sąlygomis, Cu oksiduojasi iki Cu₂O, tik labai maža dalis pasiekia CuO. Kad gauti CuO reikalinga didesnė, nei 270°C temperatūra. Dėl didelės temperatūros yra laikoma, kad vyksta Cu atomų migraciją pro oksido sluoksnį iki oksido-deguonies ribos. Laikoma, jog ši migracija vyksta dėl Cu jonų koncentracijos gradiento ir dėl šios priežasties pasiekama oksidacija iki CuO (22).

5 pav. pavaizduota vario oksidų augimo priklausomybė nuo laiko, normaliomis sąlygomis ant polikristalinio Cu paviršiaus. Cu oksidacija iki Cu₂O įvyksta tik atsiradus sąveikai su oru ir auga maždaug $2,5 \pm 0,2$ nm per valandą, tai gaudama 52 % viso bandymo metu gauto storio iškart ir 48 % per likusias 112 dienų. Tuo tarpu CuO sluoksnio augimas užfiksuotas po 24 val. nuo bandymo pradžios. Po 112 dienų CuO storis padidėjo iki $0,9 \pm 0,1$ nm, kai tuo tarpu Cu₂O po 6 dienų pasiekė $5,2 \pm 0,5$ nm storį, kuris likusį bandymo laiką nebekito (23).



5 pav. Cu oksidavimosi priklausomybė nuo laiko praleisto atmosferos sąlygomis (23)

2.2.4. Organosilanai

Organosilanai sukuria nano-paviršių, kuris žmogui yra neaptinkamas, tačiau itin abrazyvus virusams, bakterijoms ir grybeliams. Tokiu mechanizmu šis paviršius išplėšia išorines membranas nuo mikrobu, bandančių prisijungti prie paviršiaus. Tai mechaninis procesas, kuriam negali išsivystyti atsparumas. Organosilanai ant paviršiaus palieka netoksišką, ilgalaikį sluoksnį (24, 25):

- organosilanai neveikia DNA;
- mikrobai negali kolonizuotis, kadangi negali prisijungti prie paviršių;
- gali būti naudojami tiek ant kietų, tiek ant minkštų paviršių, todėl ši danga yra vienodai efektyvi ant rūbų, sienų, kilimų ir t.t.;
- organosilanus sumaišius su amoniu, galima gauti greitą ir ilgalaikę apsaugą nuo mikrobu.

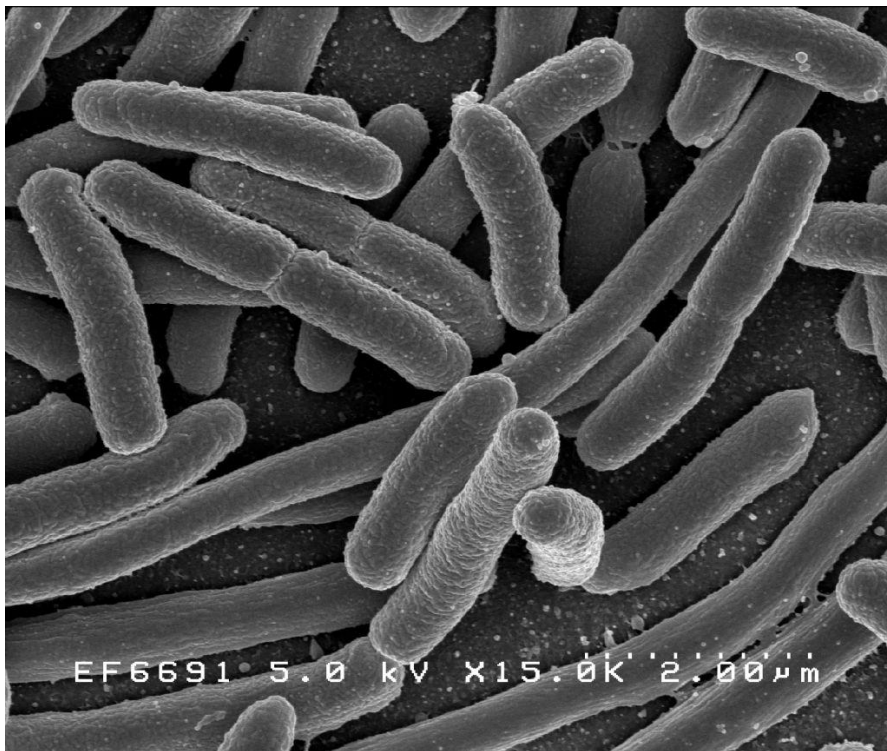
Organosilanai pagal turimą informaciją pasižymi antibakterinėmis savybėmis. Tačiau, jų efektyvumą sunku patvirtinti. Kitų autorių atliktame tyrime, lignoninėje buvo paimti mėginiai nuo įprastu ir organosilano paviršių. Mėginiai buvo laikyti 48 val. 37°C temperatūroje, siekiant užauginti gausnes bakterijų kolonijas. Bandymo rezultatai, neparodė organosilano paviršiaus efektyvumo lignoninės aplinkoje esančioms bakterijoms (24).

2.3. Sąlyčiu pernešamos bakterijos

Siekiant sumažinti bakterijų pernešimą, bei dauginimąsi, paviršiai gali būti dengiami antibakteriniais sluoksniais. Tai apsaugo nuo pernešimo vietose, kur tai itin reikalinga, pvz. lignoninėse

ar poliklinikose, ypač durų rankenos bei kiti dažnai liečiami objektai. Taip pat tai aktualu odontologijoje, siekiant pagaminti protezus, neleidžiančius dauginti burnos ertmėje sutinkamoms pavojingoms bakterijoms. Plačiau apie kai kurias iš jų.

Escherichia coli (arba *E. coli*) yra bakterijų grupė, kurios gyvena žmonių, bei gyvūnų žarnyne 6 pav. Įprastai ši bakterija nėra žalinga ir yra svarbi dalis sveiko žmogaus ar gyvūno žarnyno. Tačiau, kai kurios *E. coli* bakterijos yra patogeninės ir gali sukelti lygą, tokia kaip viduriavimas net ligą už žarnyno ribų. Šio, ligas galinčio sukelti tipo bakterijos plinta per vandenį, maistą ir taip pat sąlyčio būdu (26, 27).



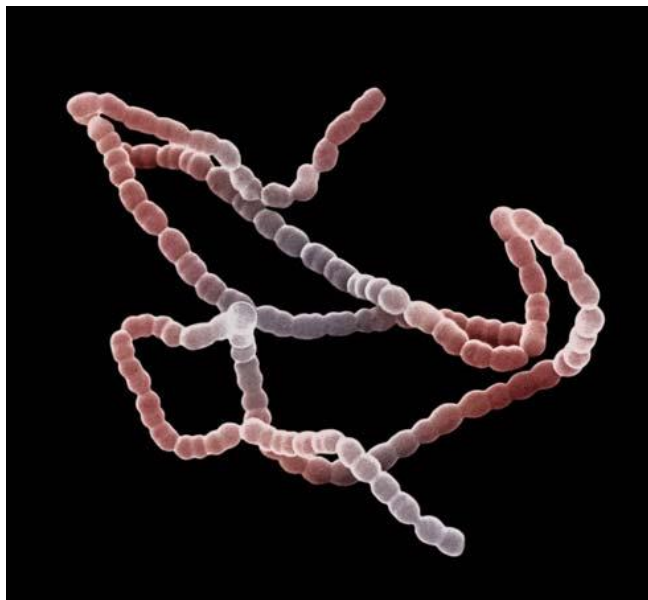
6 pav. *Escherichia coli* bakterija (28)

Žmogaus burnos aplinka leidžia daugintis ir plisti įvairioms bakterijoms dėl tam palankių sąlygų: *Spirochetes* - bakterijos burnos aplinkoje gyvenančios kaip ir įprasta flora, tačiau kraujavimo ar dantų atveju burnos ertmėje ši bakterija gali sukelti infekciją. Ilgesnis šios bakterijos poveikis gali turėti lėtinių pasekmių, kurios pasireiškia vėlesniame amžiuje (21, 29, 30).

Veillonella – natūraliai sutinkama žmogaus burnos aplinkoje. Ši bakterija klesti rūgštinėje karieso terpėje, paversdama rūgštinius produktus mažiau rūgštiniais, taip sulėtindama karieso plitimą (31).

Actinobacillus actinomycetemcomitans laikomas burnos patogenu dėl jo neigiamų faktorių, bei asociacijos su agresyviuoju, paaugliams būdingu periodontitu (32). Taipogi, tyrimais nustatyta jo ši bakterija gali sukelti kaulų nepakankamumą.

Dantų apnašos - medžiaga, kuri adsorbuojasi ant danties ir savo sudėtyje turi bakterinių ląstelių (pagrinde *Streptococcus mutans* ir *Streptococcus sanguinis* 7 pav.), seilinių polimerų ir bakterinių „ekstraląstelių“ produktų (30). Kitaip tariant, apnašos, tai bio-plėvelė susiformavusi ant danties. Abi šios bakterijos kartu yra vadinamos *mutans streptococci*. Šių bakterijų suformuota plėvelė pakeičia aplinkos sąlygas, tokias kaip pH. Dėl šio pakeitimo, burnoje gali daugintis aplinkos sąlygoms lepesnės bakterijos. *Mutans streptococci* bakterijos skaido sacharozę į pieno rūgštį, bei *Streptococcus mutans* sukurią plėvelę, kuri prikimba prie danties paviršiaus. Burnoje sukurta rūgštinės aplinkos plėvelė susilpnina danties emalį ir jis tampa pažeidžiamas irimui. Toks mikroorganizmų dauginimasis ant dantų ir dantenų sąlygoja dideles koncentracijas bakterinių metabolitų, kas paskatina dantų ir dantenų ligas (30, 33, 34).



7 pav. *Streptococcus-mutans* bakterija (35)

2.4. Biologinis suderinamumas

Biosuderinamumas – įvairiame kontekste minimas kaip biomedžiagų sąveika kontaktuojant su biologiniais audiniais, ląstelėmis ir t.t. Pati sąvoka reiškia medžiagos savybę, sukelti atitinkamus atsakus iš terpės, kur ji naudojama (36). Pastaruoju metu biosuderinamumas atspindi kaip biomedžiaga sąveikauja su žmogaus organizmu ir kaip šis sąveikavimas lemia medicininių prietaisų, tokių kaip protezai, sėkmingą panaudojimą. Modernūs medicininiai prietaisai ir protezai dažniausiai gaminami iš daugiau nei vienos medžiagos, todėl kaip biosuderinamumas dažnai asocijuojamas su

daugiau nei viena medžiaga. Žmogaus organizmas nėra toks paprastas. Imuninės sistemos atsakas bei gijimo funkcijos žmogaus kūne yra tokie komplikuoti, kad biosuderinamumą nėra tinkama susieti, kaip tam tikros medžiagos tikimą tam tikram audiniui ar ląstelių tipui (36).

Biosuderinamumą galima apibudinti šiomis sąvokomis:

- Nesukėlimas toksinių ar žalingų efektų biologinėms sistemoms;
- Biomedžiagos savybė atlikti savo funkciją, nesukeliant jokių nepageidaujamų vietinių ar bendrai visos sistemos efektų;
- Savybė implantuotiems į kūną protezams atlikti savo funkciją su kūnu, nesukeliant žalingų pokyčių.

Tačiau šios sąvokos orientuotos į pavienes medžiagas, nors praktikoje daugiausiai taikomi medicininiai prietaisai pagaminti iš daugiau nei vienos medžiagos.

2.4.1. Biologiškai suderinamos medžiagos

Biosuderinama medžiaga - bet kokia medžiaga, suprojektuota medicininiais tikslais sąveikauti su biologinėmis sistemomis. Šios sąveikos gali būti: terapeutinės, skirtos gydyti, patobulinti, taisyti, atstatyti ar pakeisti kūno audinio funkciją, arba diagnostinės. Biosuderinamos medžiagos tyrinėjamos jau apie pusę amžiaus ir ši sritis apima įvairias mokslo šakas, tokias kaip medicina, biologija, chemija, audinių inžinerija ir medžiagotyra. Nuo šių medžiagų atradimo, ši sritis stabiliai ir plačiai auga, didėja susidomėjimas ir tyrimai, skirti šių medžiagų taikymui.

Biomedžiagas galima sutikti tiek gamtoje, tiek dirbtinai sintezuotas laboratorijoje polimerų, keramikos ar kompozitinių medžiagų pavidalu. Šios medžiagos dažnai yra pritaikomos medicininiam tikslams, apimantiems visą ar dalį gyvos struktūros, kuri atlieka, sustiprina ar pakeičia natūralią funkciją. Biomedžiagos taip pat naudojamos kasdieniam pritaikymui odontologijos srityje, operacijoms bei vaistas pernešti. Pavyzdžiui talpai, impregnuotai medicininiais produktais, leidžiama patekti į kūną, tačiau poveikis nėra momentinis, vaistų paleidimas yra uždeliamas siekiant prailginti veikimo periodą (37).

2.4.2. Biosuderinamų medžiagų apibendrinimas

Pagrindinės biosuderinamos medžiagos yra žinomos kaip pagamintos aliuminio oksido (Al_2O_3), titano ar cirkonio oksido pagrindu.

Vienas pirmųjų biosuderinamų medžiagų panaudojimų buvo Sandhauso 1965 m. užpatentuotas danties implantas pagamintas iš Al_2O_3 . Šis įvykis lėmė Al_2O_3 keramikos erą. Praėjus penkeriems

metams atlikta pirma sėkminga ortopedinė sąnario operacija, kurios metu buvo implantuoti Al_2O_3 pagrindo sąnariai (38).

Biomedicinoje naudojamas tik α fazės Al_2O_3 dar kitaip vadinamas korundu. Korundo atomai yra susijungę stipriomis jungtimis (1580 kJ/mol), dėl to šios keramikos neveikia galvaninės reakcijos, tokios kaip korozija. Šios jungtys taip pat suteikia cheminio stabilumo esant nepalankioms sąlygoms, tokioms kaip stipri rūgštinė ar šaminė aplinka, esant aukštai temperatūrai. Al_2O_3 yra itin tvirtas ir atsparus spaudžiant, tačiau trapus tempiant (38).

Titano sudedamosios dalies turinčios medžiagos yra itin puikiai pritaikomos biomedicinos srityje, naudojant ortopediniams prietaisams ar odontologijoje. Tokį pritaikymą lemia didelis mechaninis stiprumas, bei tinkamas biosuderinamumas. Šioje srityje titanas naudojamas kaip lydinys, savo sudėtyje turintis 4-6 % aliuminio ir 4 % vanadžio (39).

Titanas pasižymi savybe sudaryti sąsają tarp kaulo ir implanto, dėl to protezai, pagaminti iš titano pasižymi ilgaamžiškumu, iki 30 metų. Taip pat kita teigiama savybė – titanas yra ne feromagnetikas, todėl yra galima atlikti magnetinį rezonansą pacientams turintiems titano implantus. Tačiau neskaitant visų teigiamų savybių, titanas kaip ir visi metalai, neišvengia korozijos, nepaisant to, kad ji yra lėta (40). Implantams esant elektrolito terpėje, korozijos procesas pagreiteja ir tai sąlygoja medžiagos degradavimą, savybių pokytį ar struktūrinio vientisumo praradimą. Taip pat titaną naudojant dantų protezams, jis neatitinka dantų spalvos. Todėl titanas nebuvo pasirinktas kaip naudojama medžiaga šiame darbe (39).

Cirkonis, kaip metalas, yra žinomas nuo senų laikų. Šio metalo oksidas – ZrO_2 atrastas 1789 m. vokiečių chemiko M. H. Klaprotho. ZrO_2 panaudojimas biomedicinoje plačiau pradėtas naudoti aštuntajame dvidešimto amžiaus dešimtmetyje, kai odontologijoje ZrO_2 pakeitė prastesnėmis mechaninėmis savybėmis pasižyminčią Al_2O_3 keramiką (36, 41). Taip pat skirtingai nuo titano, ZrO_2 yra atsparus korozijai ir tiek cheminiam tiek fizikiniam dėvėjimuisi, tai pailgina jo naudojimo laikotarpį. Žinant visa tai, pasirinkta biosuderinama medžiaga – ZrO_2 (41).

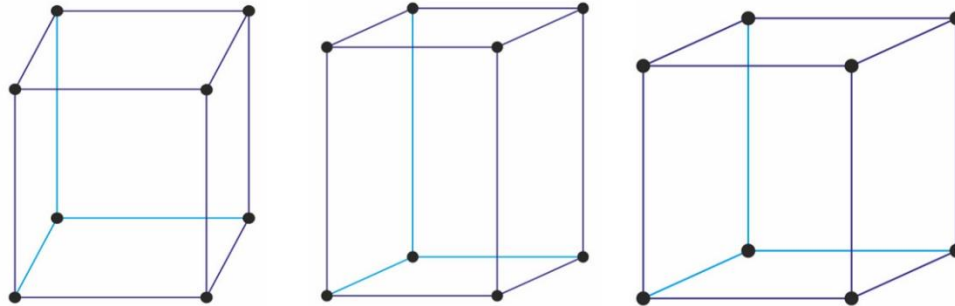
2.4.3. Cirkonio oksidas

ZrO_2 yra baltos spalvos kristalinis cirkonio oksidas. Dažniausiai natūraliai sutinkamas monoklininės kristalografinės struktūros minerale – badeleite

Dirbtiniu būdu cirkonio oksidą galima gauti kubinės gardelės, stabilizuojant itriu ar azotu. Kubinės gardelės ZrO_2 yra itin panašus į deimantą ir dažnai naudojamas, kaip jo pakaitalas. Lyginant su deimantu (lūžio rodiklis 2,42) ZrO_2 yra taipogi aukšto lūžio rodiklio (2,15-2,18)

ZrO_2 turi tris kristalines gardeles (8 pav.):

- Monoklininę (iki 1170°C);
- Tetragoninę (nuo 1170°C iki 2370°C);
- Kubinę (virš 2370°C).



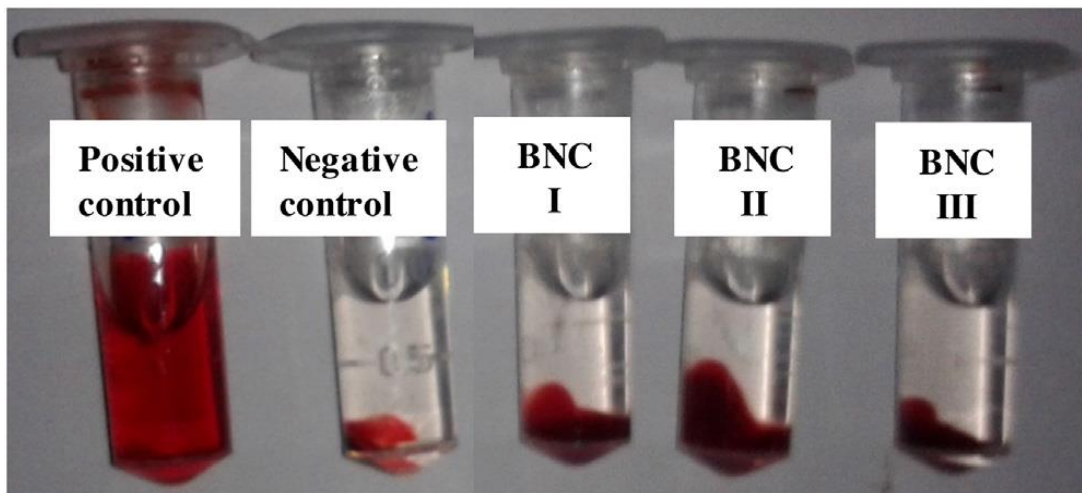
8 pav. ZrO kristalinės gardelės, atitinkamai nuo kairės į dešinę: monoklininė, tetragoninė ir kubinė

ZrO₂ yra inovatyvi keramikinė medžiaga pasižyminti plačiai pritaikomų savybių rinkiniu: aukšta lydymosi temperatūra (2860°C), kietumu (8 pagal Moso skalę), atsparumu oksidacijai, aukštu lūžio rodikliu, mažu šiluminiu laidumu bei anksčiau minėtu biosuderinamumu. Tai sąlygoja jos pritaikymą tokiose srityse kaip panaudojimas gaminant abrazyvinius produktus, dantų karūnėlių ir tiltų, kaip priedas į dažus ir lakus, sąnarių implantuose. ZrO₂ taip pat naudojamas kaip baltas pigmentas porceliane ar kartu sumaišytas su vanadžio oksidu, kad išgauti geltoną pigmentą (42).

2.4.4. Cirkonio oksido biosuderinamumas

Biosuderinamumo bandymai atliekami su medžiagomis, savo sudėtyje turinčiomis ZrO₂ nanodalelių. Vienas iš atlikt bandymų, kraujo ląstelių (raudonųjų kraujo kūnelių) suderinamumas ant skirtingų paviršių. Bandymams naudoti trys skirtingi bandiniai, kurių pagrindas yra CS PEG HA-ZrO₂, keičiant tik ZrO₂ turinčio komponento kiekį 9 pav. (43):

- BNC I - HA-ZrO₂ - 25 mg;
- BNC II - HA-ZrO₂ - 50 mg;
- BNC III - HA-ZrO₂ - 75 mg.



9 pav. Biosuderinamumo bandymo rezultatai su mėginiais turinčiais 25, 50 ir 75 mg ZrO₂ savo sudėtyje (43)

Taip pat panaudoti kontroliniais bandiniai - teigiamas, matomos sužalotosios raudonųjų kraujo kūnelių membranos (įvyko hemolizė, nusidažė raudonai) ir neigiamas, kuriame membranoms žala nepadaryta. Visiems trims bandiniams sužalotų raudonųjų kraujo kūnelių procentinė vertė neviršijo 5% ir taip pat BNC III bandinyje buvo mažiausia.

Taip pat su ZrO₂ buvo atliekami ir „In vivo“, tipo bandymai. „In vivo“ – tai studijų kryptis, tyrinėjanti biologinius subjektus gyvuose organizmuose. Tokie bandymai įprastai atliekami esant visam gyvam organizmui, kaip gyvūno, augalo ar žmogaus, siekiant iširti subjekto poveikį organizmui.

ZrO₂ „In vivo“ bandymai buvo atliekami keliais būdais su skirtingais gyvais subjektais. Šie būdai pateikti kitų autorių darbe (44). Visų jų rezultatai pateikė panašius rezultatus, gyvūnams nebuvo ZrO₂ nesukėlė jokio neigiamo poveikio sveikatai.

Kalcio oksidas naudotas kartu su trimis bandomosiomis medžiagomis – aliuminio oksidu, titano oksidu, bei ZrO₂, kad išgauti porėtas medžiagas (porų dydis 45-150 μm). Medžiagos suformuotos į diskelių, bei vamzdelių formas ir implantuotos į triušio raumenis. Po bandymo laikotarpio (9 mėnesių) atlikti tyrimai siekiant nustatyti medžiagų padarytą žalą. Atlikus tyrimus nepastebėta jokių sukkelto toksiškumo požymių, imuninės sistemos pokyčių, bei kancerogeninio efekto (45).

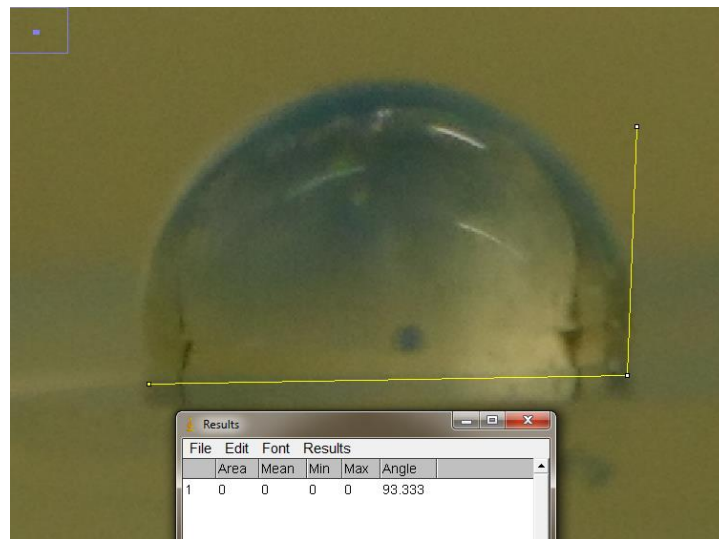
Yra atlikta daugiau panašių tyrimų iš kitų autorių, kurių rezultatai panašūs – ZrO₂ nesukėlė jokių gyvos sistemos pokyčių ar įtakos arba ji buvo nykstama (46, 47).

2.4.5. Cirkonio oksido antibakterinės savybės

Biosuderinamos medžiagos gali būti naudojamos sąlytyje su žmonių organizmu. Nepaisant to, jog pati medžiaga nekelia pavojaus žmogaus organizmui, yra nepalanku ir pavojinga, jeigu ši medžiaga yra palanki terpė daugintis neigiamą efektą žmogaus organizmui turinčioms bakterijoms.

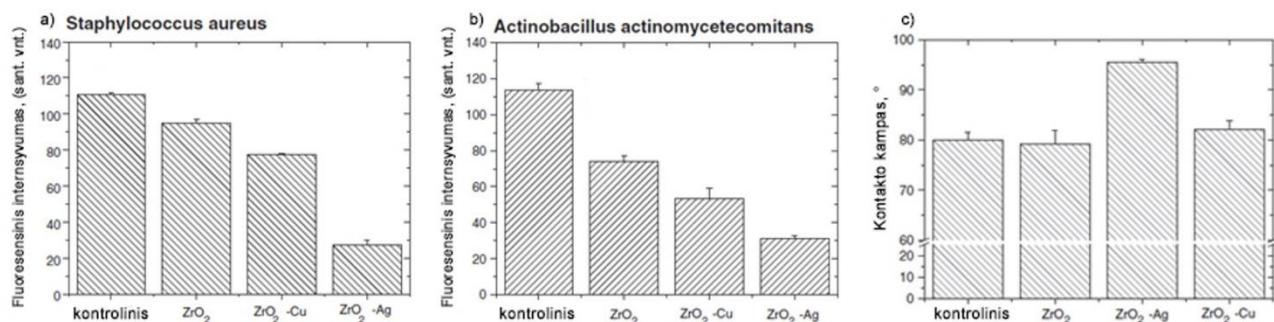
Kaip jau aptarta anksčiau, antibakterinės savybės gali būti pasiekiamos įvairiais būdais: hidrofobinis paviršius – bakterijos sunkiai prikimba prie paviršiaus, paviršius, kuris paveikiant pačią bakteriją tiesiogiai, lėtinant ar blokuojant jos dauginimąsi ar net sukeliant žuvimą.

Hidrofobiškumas patikrinimas nustatant kontakto kampą tarp vandens lašelio ir paviršiaus. Paviršiaus topografija, bei ryšio energija nusako hidrofobiškumą, bei sąlygoja kontakto kampą, kuris keičiasi besikeičiant hidrofobiškumui 10 pav.



10 pav. Kontakto kampo nustatymas tarp vandens lašelio ir bandinio paviršiaus

Šis bandymas atliktas ant titano paviršiaus magnetroninio dulkinimo metodu užauginto gryno Zr ir Zr su priemaisomis (Ag, Cu). Priemaišų koncentracijos atitinkamai ~5% Cu ir ~10% Ag. Ant šių paviršių ištirtas *staphylococcus aureu* ir *actinobacillus actinomycetemcomitans* bakterijų kolonijų augimas (9) 11 pav.

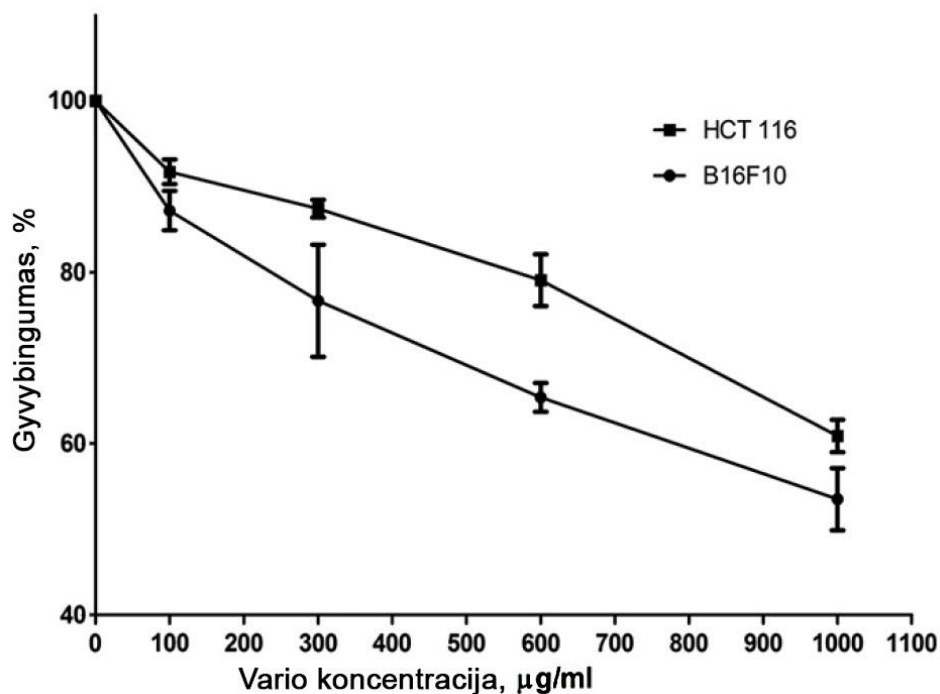


11 pav. a) *S. aureus*, b) *A. actinomycetemcomitans* bakterijų išgyvenamumas, c) kontakto kampas ant kontrolinio, ZrO₂ ir ZrO₂ su Cu ir Ag priemaisomis paviršių (9).

Kontakto kampo įtaka nesikeičia užnešus gryno ZrO_2 sluoksnį, tačiau Cu ir Ag priemaišos pastebimai padidina jį. Lyginant bakterijų kolonijų augimą, matome, jog ZrO_2 pasižymi silpnomis antibakterinėmis savybėmis, kurios yra sustiprinamos Cu ir Ag priemaišomis.

2.4.6. Vario biosuderinamumas

Nepaisant puikių Cu antibakterinių savybių, jis kartu naikina ir naudingas bakterijas, bei gali sukelti sunkiųjų metalų toksiškumą. Kitų autorių darbe stebimas bandymas, kurio metu tiriamas dviejų skirtingų tipų ląstelių gyvybingumas *Murine melanoma* (B16F10) ir *Human colorectal carcinoma* (HCT), naudojant skirtingos koncentracijos koloidines Cu nano-dalelių turinčias suspensijas. Keičiant koncentracijas nuo 100 iki 1000 Cu $\mu\text{g/ml}$, iš pradžių pastebimas abiejų ląstelių gyvybiškumo sumažėjimas. HTC gyvybingumas nustatytas virš 90%, B16F10 žemiau 90%. Didinant koncentracijas iki kol pasiekama 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentracija abiejų tipų ląstelių gyvybiškumas sumažėja apytiksliai po 30% kiekvienai 12 pav. (48).



12 pav. Žmogiškųjų HCT 116 ir B16F10 ląstelių išgyvenamumas keičiant Cu koncentraciją (48)

Šiame darbe taip pat buvo atlikti ir Cu antibakteriniai bandymai. Bandymams pasitelktos stafilokoko, *E. coli* ir dar kelios kitos bakterijos. Visais atvejais Cu suspensija sunaikino bakterijas naudojant mažos koncentracijos suspensijas – didžiausios koncentracijos prirėkė *E. coli* (~ 63,5 $\mu\text{g/ml}$). Tokios koncentracijos biosuderinamumo (ląstelių gyvybingumo) vertės yra pakankamai

aukštos, todėl galima teigti, kad Cu pasižymi antibakterinėmis ir gali būti pritaikytas kaip biosuderinamos medžiagos komponentas (48).

2.5. Cirkonio oksido su priemaišomis plonų dangų formavimas

Plonų cirkonio oksido su priemaišomis dangų nusodinimas nusodinimui yra naudojamos įvairios technologijos. yra plačiai pritaikomas mokslo srityje. Tokių sluoksnių formavimui yra sukurti įvairūs metodai, savo skirtumais pritaikomi skirtingose srityse, skirtingų medžiagų nusodinimui. Šiame skyriuje atliekama literatūros analizė siekiant išsirinkti tinkamiausią metodą cirkonio oksido plonų sluoksnių su priemaišomis formavimui.

2.5.1. Plonų cirkonio oksido su priemaišomis sluoksnių formavimo metodo parinkimas

Plonų sluoksnių auginimas vienas plačiausiai naudojamų paviršiaus modifikavimo metodų, siekiant tiek išgauti pageidaujamas paviršines savybes, tiek ir įvairias mikro-, bei nano-struktūras. Pagal tai kokios medžiagos ir dangos savybių reikia, pasirinkti galima iš kelių metodų. Šie metodai yra skirstomi į cheminius ir fizikinius. Fizikiniai, tokie kaip, terminis garinimas, joninis dulkinimas, abliacija. Cheminiai: cheminis nusodinimas iš garų fazės, cheminių junginių sluoksnių sintezė. Šiam darbui nėra tinkama cheminių junginių sluoksnių sintezė, nes šiuo metodu atsiranda sunkumų nusodinant daugiakomponentes medžiagas (49). Terminis garinimas, susiduria su kita problema, šiuo metodu garinimas vyksta itin sparčiai, tačiau nukenčia garinamų medžiagų santykių tikslumas (49). Abliacijos metodas pasižymi dangos vientisumo problema, nusodinimo metu gali formuotis mikrolašeliai, gadinantys dangos vientisumą ir struktūrą. Tinkamiausi lieka cheminis nusodinimas iš garų fazės ir joninis dulkinimas. Cheminis nusodinimas į garų fazės yra pažangus metodas gauti plonoms dangoms. Čia aukštoje temperatūroje, bei jei reikia sumažintame slėgyje į kamerą patiekiami norimos medžiagos garai, kurie kondensuojasi ant bandinio paviršiaus. Vienintelis šio metodo trūkumas – sunku parinkti skirtingų medžiagų tikslumą (50). Šios problemos išvengia joninis dulkinimo metodas. Šis metodas turi kelias atmainas, kuriomis yra padidinamas nusodinimo greitis, bei gaunama geresnė dangų kokybė – magnetroninis dulkinimas (49).

2.5.2. Plonų sluoksnių formavimas Magnetroniniu dulkinimu

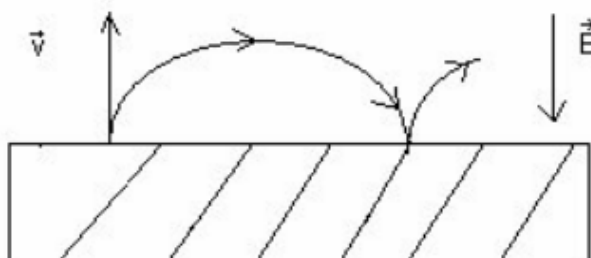
Fizikinio dulkinimo metodai buvo pradėti naudoti nuo diodinio dulkinimo sistemų. Jų veikimas pagrįstas vakuomo kameroje iš bombarduojamo taikinio išlekiančiais ir ant bandinio nusėdančiais medžiagos atomais.

Iš kameros pašalinamos atmosferos dujos sudarant vakuumą, kad užtikrinti pakankamą dalelių laisvąjį lėkį. Į kamerą įleidžiamos darbinės dujos, įprastai tai argonas (Ar) ar Ar mišiniai su kitomis dujomis (pvz. su deguonimi (O_2)). Elektrinis laukas įgreitina elektronus ir šie susiduria su Ar atomais ir jonizuoja, gaunamas žėrintis išlydis, taip gauname Ar jonų plazmą. Ar^+ jonai, būdami teigiamo krūvio, ima bombarduoti neigiamą krūvį turintį katodą. Jonų susidūrimo su taikinio medžiaga metu, iš jos išmušami atomai, kurie nusėda ant virš katodo esančio bandinio. Nors šis metodas ir yra pažangus dangoms nusodinti, tačiau jis turi ir trūkumų (49):

- maži nusodinimo greičiai;
- užtikrinti darbinių dujų jonizavimą apšaudant elektronais, reikalingas sąlyginai didelis darbinių dujų slėgis (1-10 Pa);
- naudojami palyginti aukštos įtampos šaltinius (3-4 keV);
- padėklas ir auganti medžiaga yra apšaudoma greitaisiais elektronais, kurie augančioje dangoje sukelia defektus.

Ieškant metodų, kaip galima išvengti šių neigiamų savybių, diodinės sistemos buvo modifikuotos panaudojant magnetroninį efektą. Šio efekto esmė yra žėrinčio išlydžio plazmos susidarymas, susikertančiuose statmenai magnetiniame ir elektriniame laukuose (49, 51).

Diodinėse sistemos išlydį palaiko antriniai elektronus. Čia jonai bombarduodami katodą, iš jo išmuša antrinius elektronus. Šie įgreitinami elektrinio lauko juda anodo link ir jonizuoja darbinės dujas, taip palaikydami išlydį sistemoje. Magnetroninėse sistemose elektronas juda cikloide ir taip nukeliauja didesnę kelią lyginant su elektronais diodinėse sistemose 13 pav. (49, 51)



13 pav. Elektrono judėjimas magnetrone (49), v – elektrono greitis, E – elektrinio lauko stipris

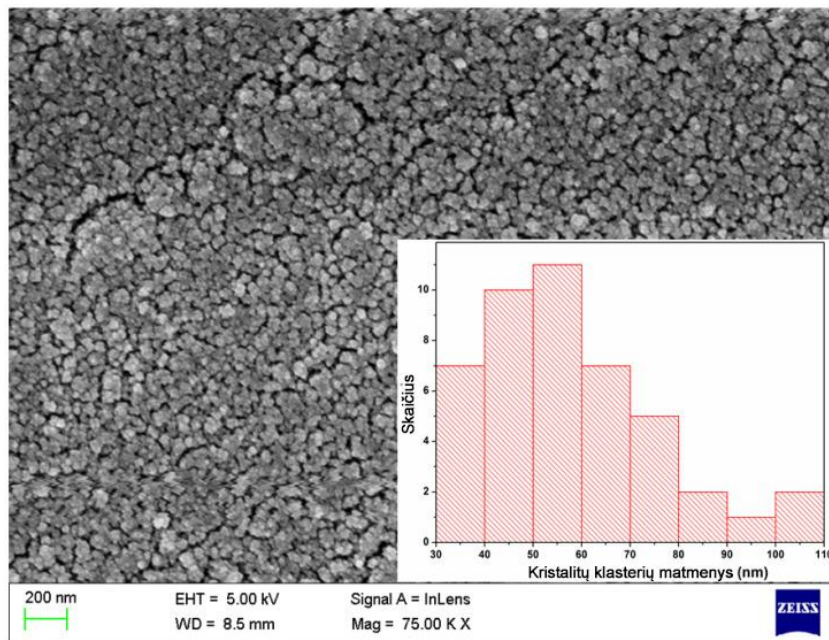
- elektrono nueitas kelias yra žymiai ilgesnis, dėl to padidėja tikimybę susidurti su darbinių dujų atomu ir jį jonizuoti. Tai padidina dangų nusodinimo greitį ir plazmą galima išlaikyti gilesniame vakuume;
- dėl žymiai efektyviau vykstančios jonizacijos, darbinių dujų slėgis gali būti mažesnis;

- išmušti antriniai elektronai, veikiami magnetinio lauko yra nukreipiami nuo judėjimo link bandinio, dėl to ženkliai sumažėja bandinio, bei auginamos dangos apšaudymas elektronais (magnetinis laukas jonų trajektorijai daro nereikšmingą įtaką dėl jų žymiai didesnės masės) (49, 51).

2.6. Dangos nusodinimo parametrų parinkimas

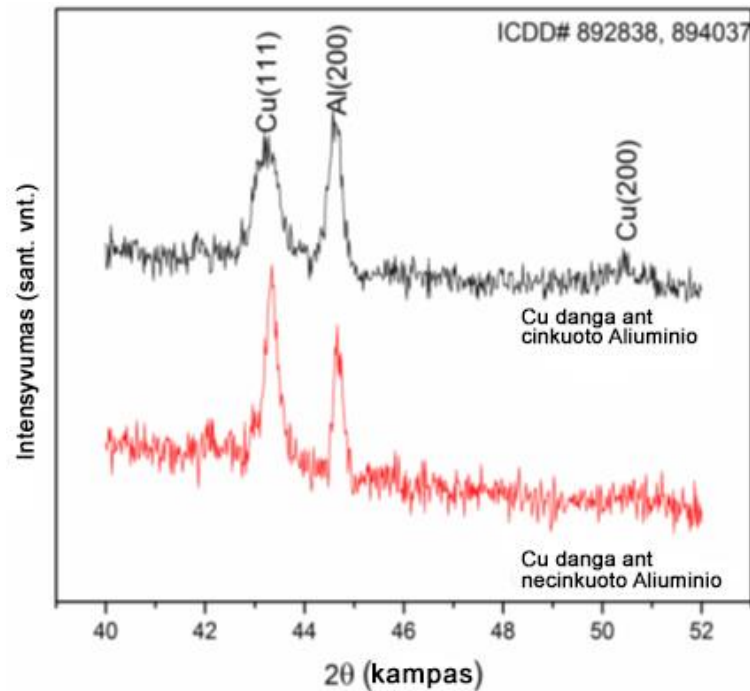
2.6.1. Vario nusodinimas magnetroniniu dulkinimu

Cu nusodinimo procesas nėra toks sudėtingas kaip ZrO_2 . Gryni metalai yra nusodinami jau ilgą laiką įvairiais metodais, tiek pradedant nuo terminio garinimo ir baigiant magnetroniniu dulkinimu. Pagal kitų autorių atliktus darbus galime spręsti, jog DC galios šaltinio magnetroninis Cu dulkinimas yra bene populiariausias Cu nusodinimo metodas. Kaip jau minėta anksčiau, DC šaltinis turi trūkumų nusodinant dielektrines dangas, prastėja jų kokybė, bei nusodinimo greitis. Tačiau metalinėms dangoms nusodinti naudojant DC šaltinį šių problemų nekyla. DC šaltiniu nusodintos dangos yra vientisos (52) 14 pav.



14 pav. DC magnetroniniu nusodinimu gautos Cu dangos SEM vaizdas (52)

14 pav. matomas magnetroniniu nusodinimu gautas Cu dangos vaizdas naudojantis SEM. Paviršiuje aiškia matosi Cu klasterių susiformavimas. Atlikta XRD analizė ant cinkuoto ir necinkuoto paviršiaus. Šiuo atveju aktualus yra necinkuotas paviršius. Tokiu būdų gautoje dangoje matome vyrauja Cu augimas pagal (111) kristalografijos plokštumą 15 pav.



15 pav. Cu dangos XRD analizė (52)

2.6.2. Dangos naudojamo magnetroninio dulkinimo sistemos parametų parinkimas

Nusodinimo metu naudojama PVD (fizinis nusodinimas dulkinimo metodu) sistema, nusodinanti dangas magnetroninio dulkinimo metodu. Siekiant išgauti geriausią dangos kokybę, bei efektyviausią nusodinimą (aukštą dangos augimo greitį). Šiuo metodu gali būti naudojami trys skirtingi galios šaltiniai:

- DC – nuolatinės srovės;
- DC pulsinis – pulsinis nuolatinės srovės;
- RF – radijo dažnio srovės.

Reaktyvusis DC magnetroninis dulkinimas yra itin tinkamas metalams, kadangi paviršiuje nesusidaro neigiamą poveikį suteikiančių sluoksnių taikinį bombarduojant bet sustojimo. Tačiau, šis šaltinio tipas turi ir trūkumų. Dvi pagrindinės problemos yra dielektrinio sluoksnio formavimas ir taikinio ir po jo sekantis taikinio bei padėklo įsielektrinimas. DC kita atmaina yra pulsinis DC šaltinis (53). Jis itin panašus į AC tik jo dažnis daug žemesnis (54).

RF (AC) nuo įprasto DC magnetroninio dulkinimo skiriasi tuo, kad čia katodas ir anodas apsikeičia vietomis kartą per pusę ciklo. Nusodinant dielektrines dangas su DC šaltiniu ant taikinio paviršiaus susidaro dielektrinis sluoksnis, kuris turi neigiamų savybių tolimesniam dangos augimui. Pirma, jis stabdo dulkinimo procesą ir taip lėtina dangos augimą. Antra, dėl izoliuojančio sluoksnio

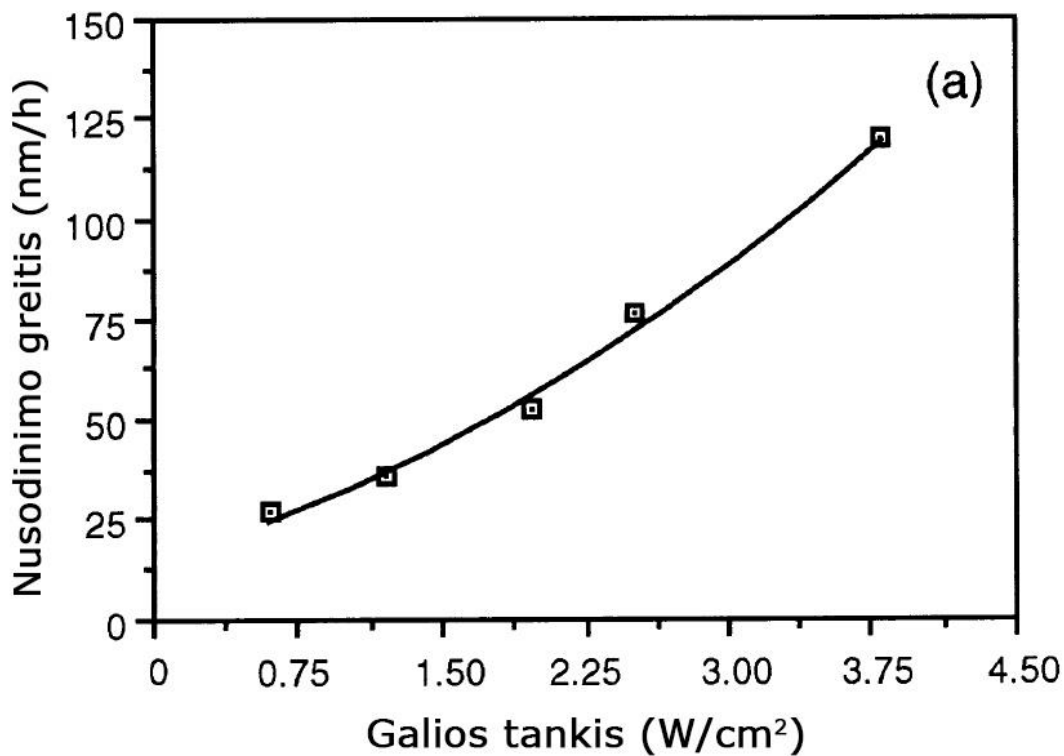
ant taikinio paviršiaus kaupiasi krūvis. Susikaupus pakankamam krūviui gali įvykti arkinis išlydis, galintis išmesti didesnius dalelių klasterius, kurie susiduria su bandinio paviršiumi, prastindami jo kokybę, bei homogeniškumą. AC šaltinis padeda išvengti šių problemų, kadangi taikinio poliškumas nuolat kinta, neleidamas ant paviršiaus susidaryti krūviui. Dažnis varijuoja nuo 10 iki 100 kHz, jau nuo 10 kHz poliškumo kitimas yra pakankamas, kad nesusidarytų krūvis (54).

Be šių šaltinio pasirinkimo galimybių yra ir nemažai kitų parametru, darančių įtaką nusodinimo greičiui, bei dangos kokybei. Kadangi ZrO_2 nusodinimas yra lėtas procesas, ieškosime sąlygų leidžiančių gauti didžiausią nusodinimo greitį.

2.6.3. Magnetrono šaltinio galios parinkimas.

Suprantama, galios didinimas yra itin susijęs su dulkėjimo sparta. Didesnė galia suteikiama magnetronui, sąlygoje stipresnį elektrinį lauką. Šis savo ruožtu sparčiau įgreitina elektronus ir šie su didesne jėga bombarduoja katodą išmušdami medžiagos atomus, jonus ir antrinius elektronus. Kadangi bombarduojančių elektronų energija didesnė, didesnis ir išmuštų dalelių skaičius, didesnis antrinių elektronų skaičius dėl to sparčiau vyksta jonizacija ir ciklas kartojasi. Taip didesnė šaltinio paduodama galia sąlygoja spartesnį dulkėjimą. Neigiama šios savybės pusė – katodo kaitimas. Dėl stipresnio katodo bombardavimo, jo paviršius sparčiau kaista. Jei šis kaitimas tampa spartesnis negu sistema pajėgia aušinti, atsiranda rizika išmagnetinti magnetrono sistemos magnetus ir taip sugadinti sistemą.

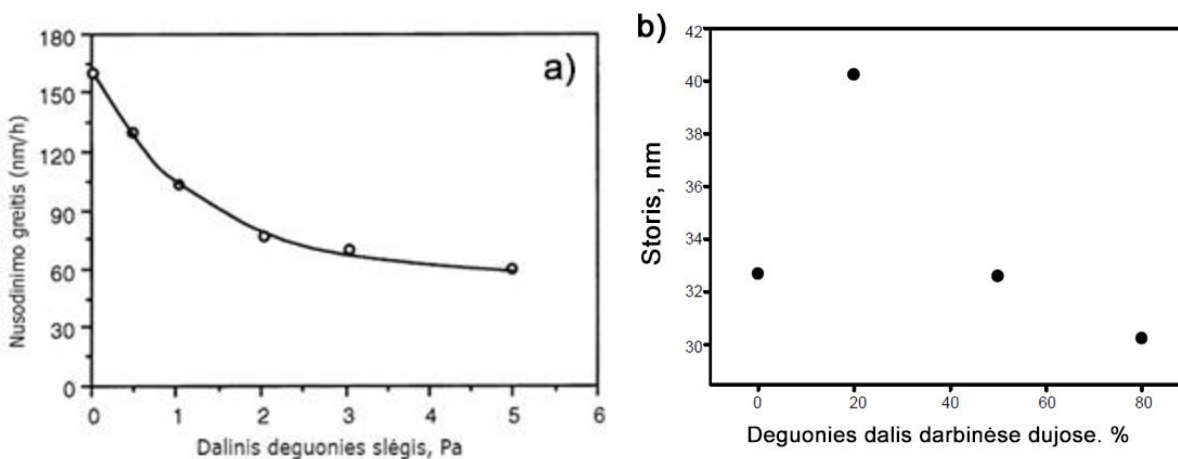
Remiantis įvairias kitų mokslininkų bandymais aiškiai galima matyti dangos nusodinimo greičio priklausomybę nuo magnetrono galios 16 pav.



16 pav. Cirkonio oksido dangos augimas priklausomai nuo naudojamos galios (55)

2.6.4. Deguonies koncentracijos įtaka.

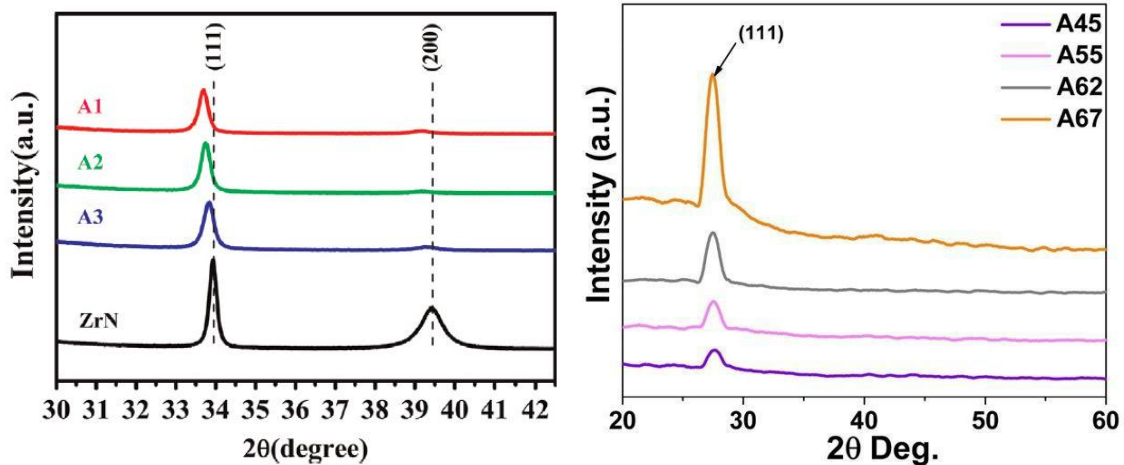
Kadangi medžiaga – ZrO_2 , kuriai nusodinti naudojami cirkonio katodai, nusodinimo metu kameroje turi būti deguonies, kuris sąlygoja cirkonio oksidaciją. Priklausomai nuo Ar ir O_2 dujų kiekio kameroje nusodinimo metu, skiriasi nusodinamos dangos savybės 17 pav.



17 pav. a) ZrO_2 storio priklausomybė nuo darbinųjų dujų slėgio (56), b) ZrO_2 storio priklausomybė nuo deguonies procentinės dalies darbinėse dujose (55)

15 pav. a) (56) pateikti duomenys esant 3 Pa bendram kameros slėgiui naudojant RF šaltinį, kai galia $2,54 \text{ W/cm}^2$. Kaip ir galima tikėtis, nenaudojant deguonies, nusodinant gryną metalinį cirkonį,

nusodinimo sparta yra didžiausia. Didinant deguonies kiekį susidaro ZrO_2 , kurio augimo sparta mažesnė. 15 pav. b) parodo pačio cirkonio oksido plėvelės susidarymo greitį priklausomai nuo deguonies kiekio. Ties 20% argono ir deguonies santykiu matomas aiškus nusodinimo spartos pikas. Viena iš priežasčių kodėl susidaro toks ryškus pikas yra mažiau tanki dangos struktūra 18 pav.



18 pav. a) Cirkonio nitrido ir oksinitrodo XRD analizė (57) b) ZrO_2 XRD analizė skirtingame Ar dujų slėgyje (42)

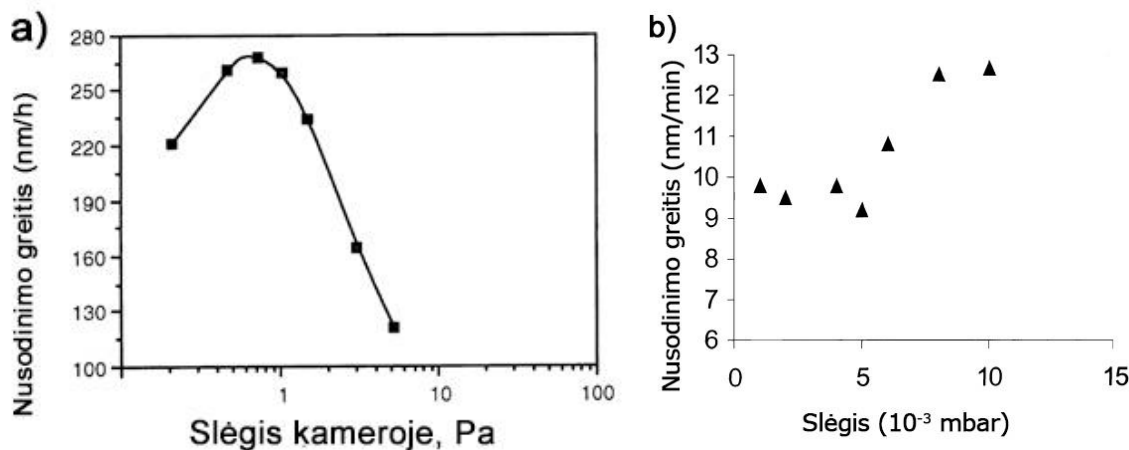
16 pav. Pateikti XRD matavimo rezultatai. 16 pav. a) buvo naudojamas O_2 ir N_2 dujų mišinys kartu su Ar (57). Santykis mišinio su Ar atitinkamai - A1 75/25%; A2 83,4/16,6%; A3 89,5/10,5%. Pagal gautus duomenis dominuoja (111) kristalografijos, monoklininė ZrO_2 danga. Lyginant su ZrN, ZrO_2 lieka labai nežymus (200) kubinės kristalografijos fazės. Esant didesnėms O_2 koncentracijoms, poveikį kristalografijai pateikia 16 pav. b) grafikas. Kai Ar/ O_2 santykis yra atitinkamai 67/33 %, matomas didžiausias (111) struktūros dominavimas. Toliau didinant deguonies kiekį ši smailė mažėja.

2.6.5. Darbinių dujų slėgio kameroje įtaka plonų dangų augimo greičiui.

Darbinės dujos magnetrone atlieka itin svarbų vaidmenį. Plazmai sudaryti naudojamos inertinės dujos, įprastai argonas. Šias dujas jonizuojant yra sukuriama plazma – argono jonai, kurie bombarduoja katodą. Prie argono dujų, papildomai pagal poreikius yra naudojamos ir kitos dujos tokios kaip deguonis, azotas ir pan. Kaip pavyzdys, deguonies dujos yra naudojamos, kai norima gauti oksidus.

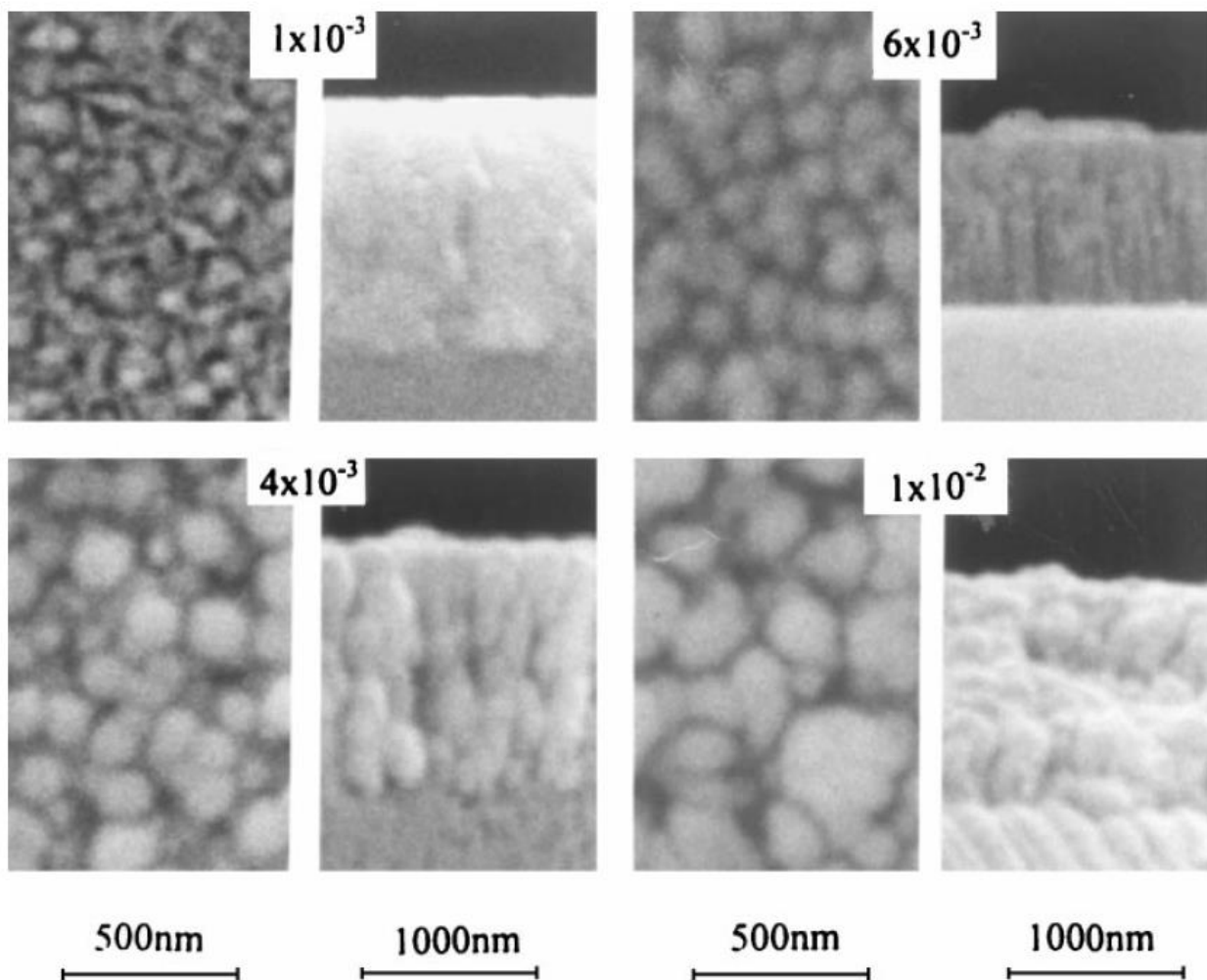
Darbinių dujų slėgis kameroje turi būti tam tikrose ribose. Jeigu darbinių dujų slėgis yra per mažas, yra nepakankamas kiekis dalelių, kurios būtų jonizuotos ir sukurta plazma. Jeigu per didelis, yra per didelė dujų koncentracija kameroje ir iš katodo išmuštos medžiagos dalelės susiduria su dujų atomais, ko pasekoje nepasiekia bandinio – dalelių laisvasis lėkis tampa trumpesnis negu atstumas tarp katodo ir bandinio.

Bandymas buvo atliktas naudojant RF šaltinį, naudojant $2,54 \text{ W/cm}^2$ galią. 19 pav. a) Aiškiai matomas nusodinimo greičio paspartėjimas apytiksliai nuo 0,8 iki 1,3 Pa (6 - 9,75 mTorr), kada yra palankiausios sąlygos tarp didžiausio dalelių laisvojo lėkio, bei darbinių dujų, iš kurių susidaro plazma (55). 19 pav. b) savo ruožtu patvirtina panašias sąlygas efektyviam nusodinimui. Čia taip pat naudotas RF šaltinis ir gautas nusodinimo greičio paspartėjimas jau nuo $5 \cdot 10^{-3}$ mbar ir pasiekiantis piką ties $7,5 \cdot 10^{-3}$ mbar. Pavertus vienetus į Pa, atitinkamai gauname, jog paspartėjimas prasidėjo nuo 0,5 Pa laikėsi ties piku 0,75 – 1,5 Pa riboje (5,6 – 11,25 mTorr) (58).



19 pav. a) ir b) ZrO_2 dangos nusodinimo greičio priklausomybė nuo darbinių dujų slėgio kameroje (55), (58)

Taip pat bendras slėgis kameroje nusodinimo metu turi įtakos dangos struktūrai. Pagal kitų autorių gautus rezultatus, naudojant skenuojantį elektronų mikroskopą (SEM), matomas ZrO_2 paviršius ir skerspjūvis (58). Slėgiui didėjant matomas aiškus grūdelių matmenų didėjimas bei taip pat paviršius tampa šiurkštesnis. Itin žemo slėgio metu nusodinta danga žymiai išsiskyrė iš kutų. Prie 0,1 (10^{-3} mbar) Pa slėgio paviršiaus ir skerspjūvio struktūra yra žymiai tankesnė, vyrauja žymiai mažesni grudeliai, bei pailgos formos struktūros. Tokios formos leidžia gauti tolygų, nešiurkštų paviršių 20 pav.



20 pav. ZrO₂ dangos paviršius prie 1,4,6,10 mbar slėgio (58)

2.6.6. Efektyvaus sluoksnio formavimas

Žinant tinkamas sąlygas pradedami užnešinėsi ZrO₂ ir Cu sluoksniai. Literatūros šaltiniuose sistemos, turinčios panašius parametrus, nėra identiškos šiame darbe naudotoms, todėl iš pradžių nustatomi kiekvienos medžiagos nusodinimo greičiai atskirai. Nustačius šias vertes, galime spręsti kokius parametrus parinkti, kad gauti mažos Cu koncentracijos dangą. Kai žinoma, Cu yra priskiriamas sunkiesiems metalams ir esant per didelėms koncentracijoms kyla toksiškumo pavojus. Pagal kitų autorių darbuose rastą informaciją panašiams bandymams susijusiems su antibakteriniais paviršiais, plonose dangose antibakterinis efektas pastebėtas esant 5-9% Cu (9).

2.7. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Pasitelkus šiandienines technologijas galime išgauti ir apjungti norimas skirtingų medžiagų savybes. Renkantis antibakterinę medžiagą reikia atsižvelgti į jos panaudojimą. Vienas iš ryškiausių savybių turinčių medžiagų yra Cu, Ag ir organosilanai.

Organosilanai pasižymi puikiomis savybėmis, tačiau ligoninės aplinkoje bakterijos po bandymų išgyveno ant daugumos bandinių paviršiaus. Bandymo rezultatai, neparodė organosilano paviršiaus efektyvumo ligoninės aplinkoje esančioms bakterijoms (24).

Ag seniai žinomas dėl savo antibakterinių savybių. Tačiau ryškios antibakterinės savybės pasireiškia tik oksidavus Ag paviršių. Ir taip, kad Ag būtų pakankamai efektyvus, jis turi būti drėgnoje terpėje, kad galėtų sudarysi veiksmingus Ag jonus.

Ištyrus biosuderinamas medžiagas, kaip ir minima aukščiau, atsižvelgta į biosuderinamumą ir taip pat į mechanines savybes, senėjimo, bei dėvėjimosi procesus. Seniai žinomas ir implantams tinkamas titanas turi keletą trūkumų, ilgainiui pasireiškia metalo degradavimas, be to jeigu naudojama galvos srityje, jo spalva neatitinka žmogaus kaulo spalvos. ZrO₂ išvengia šių trūkumų, šis keramikinis oksidas pasižymi itin dideliu mechaniniu tvirtumu ir biosuderinamumu. Dėl šių priežasčių ZrO₂ buvo pasirinktas kaip biosuderinama medžiaga.

Išanalizavus dangų nusodinimo metodus galime pasirinkti tinkamus dangos nusodinimo parametrus naudojant magnetroninio dulkinimo sistemą. Kadangi ZrO₂ nusodinimo greitis yra mažas, atkreipiamas dėmesys į jo nusodinimo greitį. Slėgis kameroje – 9.37 mTorr, darbinių dujų santykis Ar/O₂ santykis – 80/20, galia pasirenkama kiek įmanoma didesnė, kad nusodinimo greitis būtų kuo didesnis.

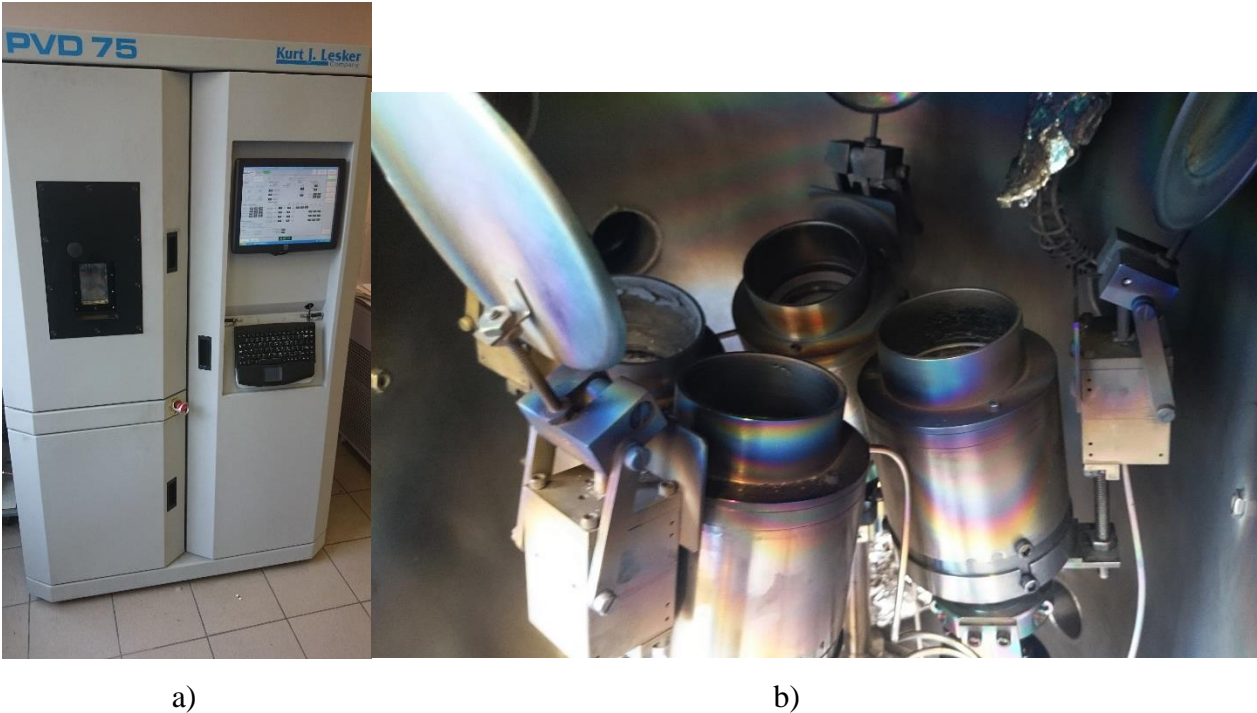
3. EKSPERIMENTINĖ ĮRANGA IR MATAVIMO METODAI

3.1. Tyrimams naudota įranga ir metodai

Medžiagų nusodinimo procesui, matavimams bei antibakteriniams tyrimams naudota Kauno technologijų universiteto įranga, papildomai, matavimams naudota Lietuvos energetikos institute bei Medžiagų mokslo institute esanti įranga, visi su bakterijomis susiję bandymai atlikti VII forto laboratorijoje. Šiame skyriuje aptarsime darbui atlikti naudotą įrangą bei metodus.

3.1.1. Magnetroninė nusodinimo sistema

Darbo metu dangos bus gaunamos naudojantis Kauno technologijos universitete esančia „PVD 75 Kurt J. Lesker“ sistema 21 pav. a). Ši sistema turi naudoja DC, DC pulsinį ir RF šaltinius. Sistema iš viso turi keturis katodus, prie kurių gali būti prijungtas bet kuris šaltinis 21 pav. b).



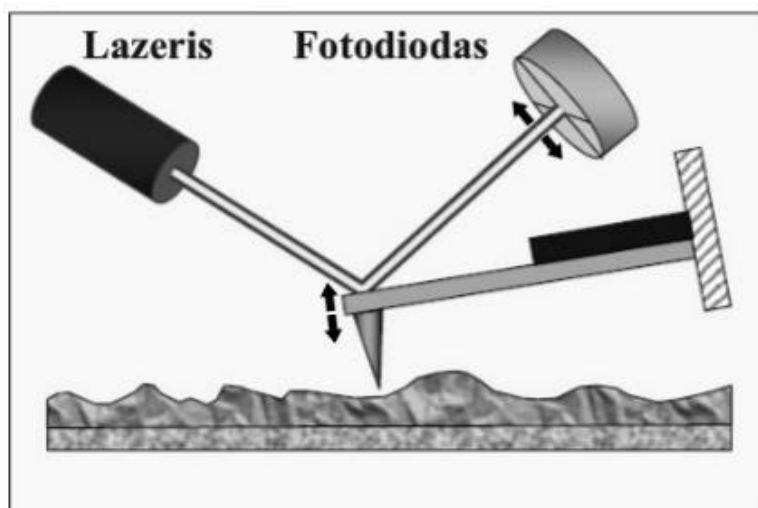
21 pav. a) PVD 75 Kurt J. Lesker sistema, b) Katodai

Sistema naudojant Ar (99,99% grynumo) ir O₂ (99,999% grynumo) darbinės dujas nusodinimo metu. Katodų diametras – 5 cm, atstumas nuo katodų iki padėklo – 17 cm. Naudojami katodai: Zr ir Cu.

3.1.2. Atominių jėgų mikroskopas

Atominių jėgų mikroskopas (AJM) yra vienas iš zondinio tipo mikroskopų. Šiuo metodu gaunama detali informacija apie paviršių – topografija, šiurkštumas, homogeniškumas, paviršiuje esantys mikro ar nano-elementai, nelygumai bei jų matmenys.

AJM veikimas yra pagrįstas paviršiaus ir zondo sąveika. Zondas, kuris yra partvirtintas prie gembės, juda bandinio paviršiumi ir išlenkia gembę priklausomai, nuo sąveikos su paviršiumi jėgos. Į gembę nukreiptas spindulys atsispindi į fotodiodinį detektorius, kuris fiksuoja į kurią zoną pataiko spindulys ir pagal tai programinėje matome topografinius pokyčius (59). AJM schema pavaizduota 22 pav.



22 pav. AJM schema (59)

AJM nuskenuoja nedidelį paviršiaus plotą (įprastai gauto vaizdo kraštinės ilgis yra iki kelių dešimčių mikronų eilės). Programinė įranga pagalba gaunamas 2D ar 3D vaizdas, bei informacija apie paviršiaus savybės.

3.1.3. Profilometras

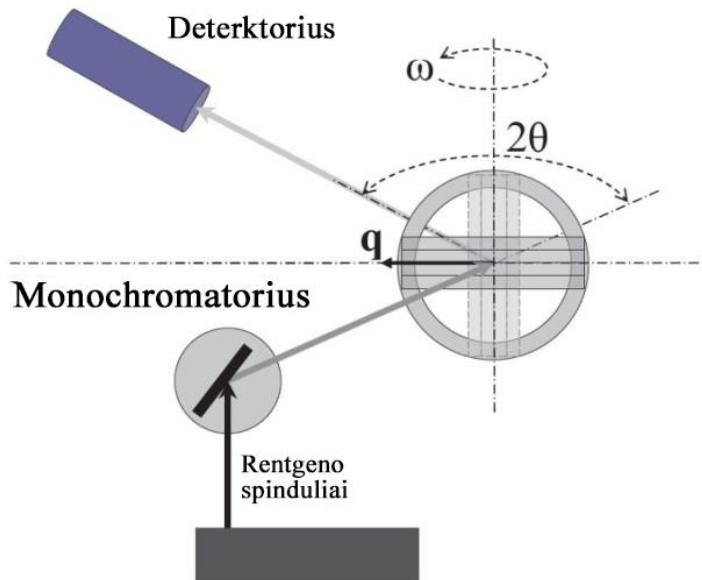
Profilometras - matavimo prietaisas, naudojamas dangų paviršiaus topografijos tyrimams - šiurkštumui, reljefo nelygumams, dangos storio nustatymui. Šio prietaiso veikimas labai panašus į AJM. Skirtingai nuo AJM, šiuo prietaisu atliekami matavimai vienoje, tačiau daug ilgesnėje linijoje, kuri pagal pasirinktus parametrus gali siekti kelis milimetrus (60).

3.1.4. Rentgeno spindulių difrakcijos spektroskopija

Rentgeno spindulių difrakcija yra medžiagų analizės metodas, leidžiantis nusakyti kristalo kristalografiją, atominę, bei molekulinę struktūrą. Šis metodas yra naudojamas įvairiose srityse tirti kristalines medžiagas, tokias kaip druskas, metalus, mineralines medžiagas, puslaidininkius, organines medžiagas ar biologines molekules.

Rentgeno spindulių difraktometras susideda iš Rentgeno spindulių vamzdžio, bandinio laikiklio ir Rentgeno spindulių detektoriaus. Spinduliai yra sukuriami katodinių spindulių vamzdyje. Šiame vamzdyje naudojamas siūlelis (įprastai volframo), kuris yra kaitinamas iki temperatūrų, prie kurių emituoja elektronus, kurie bombarduoja taikinį. Kai elektronus yra pakankamai didelės energijos, elektronus yra išmušami iš taikinio ir jiems rekombinuojant medžiaga emituoja charakteringuosius Rentgeno spindulius. Šie Rentgeno spindulių spektrai susideda iš kelių komponenčių - K_{α} ir K_{β} . K_{α} skirstomi į $K_{\alpha 1}$ ir $K_{\alpha 2}$ - $K_{\alpha 1}$ yra trumpesni, bet maždaug dviguba intensyvesni nei $K_{\alpha 2}$, tačiau jų bangos

ilgiai yra gana panašūs, todėl naudojamas šių spindulių vidurkis. Specifiniai bangų ilgiai priklauso nuo taikinio medžiagos. Spinduliai yra filtruojami kristaliniiais monochrometrais tam, kad gauti išgauti tik vieno bangos ilgio spindulius. Toliau spinduliai yra kolimuojami ir nukreipiami į bandinį. Kampas tarp bandinio ir detektoriaus yra keičiamas ir registruojamas difraktavusių spindulių intensyvumas. Kai tam tikru kampu į bandinį krintantys spinduliai tenkina Brego lygtį, įvyksta interferencija ir gauname intensyvumo piką. Detektorius užfiksuoja šį piką ir paverčia skaitmeniniais duomenimis, žyminčiais intensyvumo vienetus (59, 61). XRD schema pavaizduota 23 pav.



23 pav. XRD difraktometro schema (62), 2θ - skenavimo kampas, q – išsklaidymo vektorius, ω – bandinio posūkio kampas

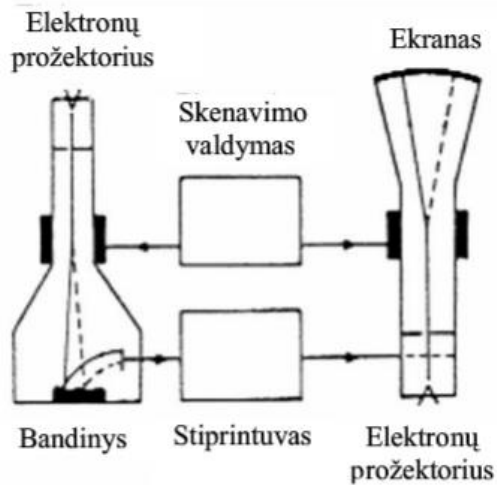
Šis metodas plačiausiai naudojamas nežinomoms medžiagoms tirti, kadangi intensyvumų pikai kiekvienai medžiagai ar junginiui yra skirtingi. Taip sužinoma ne tik medžiaga, bet ir jos jungtys (59).

3.1.5. Skenuojantis elektroninis mikroskopas

Kaip ir optinio mikroskopo, skenuojančio elektroninio mikroskopo (SEM) paskirtis yra tirti daug kartų padidintą tiriamojo objekto vaizdą. Skirtumas – šiuo mikroskopu gaunamas daug kartų didesnis didinimas, didesnė skiriamoji geba, bei ryškio gylis. Kadangi šis metodas naudoja elektronų spindulį vaizdui išgauti, jis dažnai naudojamas kartu su kitais medžiagų tyrimo metodais pvz. energijų dispersijos spektroskopija (EDS) (59).

Kameroje sudaromas vakuumas ir iš elektronų patrankos išėjęs elektrų spindulys lęšių pagalba sufokusuojamas į bandinio paviršių. Elektronams sąveikaujant su kietuoju kūnu, toje srityje vyksta elektronų emisija. Emitavę elektronai patenka į detektorius, kurio perduotas signalas suformuojamas į

skaitmeninį vaizdą. Sritys, kurios emituoja daugiau elektronų yra matomos, kaip šviesesnės ir atvirkščiai (taip pat yra ir su optiniu, tik optiniame matomi atspindėti fotonai). Skenuojančio elektroninio mikroskopo schema pavaizduota 24 pav. (59).

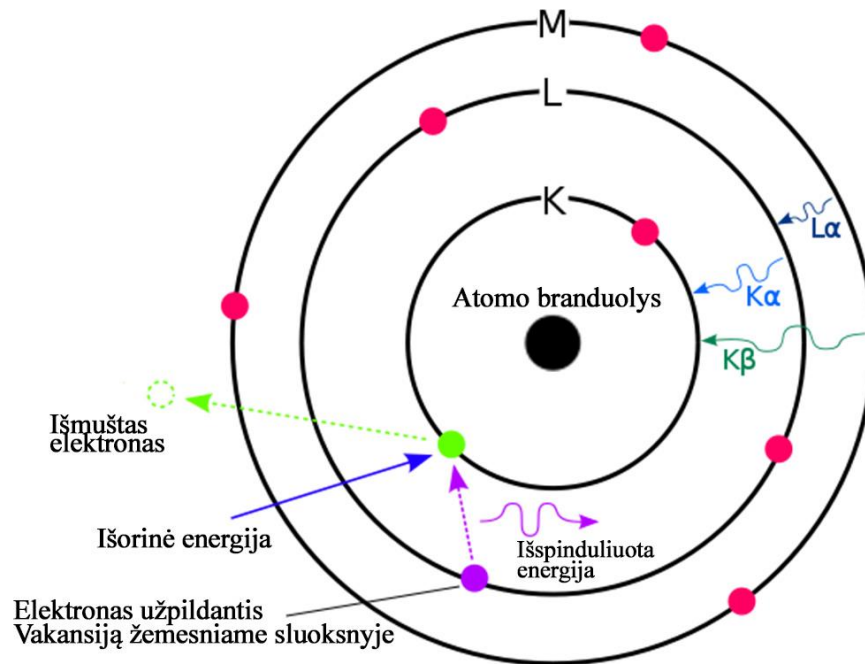


24 pav. SEM struktūrinė schema

3.1.6. Energijų dispersijos spektroskopija

Energijų dispersijos spektroskopija (EDS) yra metodas, naudojamas atlikti bandinio elementinę analizę ar cheminį charakterizavimą. Šis metodas pasikliauja Rentgeno spindulių sąveika su bandiniu, detektoriumi užfiksuojant jų kiekį ir energiją (63).

Šio prietaiso veikimo principas yra pagrįstas iš bandinio emituotais charakteringaisiais Rentgeno spinduliais. Elektronų patranka suformuotas elektronų srautas veikia bandinį. Bandinio elektronai sugerdami energiją gali palikti bandinį, kai tai nutinka iš gilesnių sluoksnių, lieka tuščia vieta, kurią užpildo iš aukštesnio sluoksnio nusileidęs elektronas, emituodamas savo perteklinę energiją charakteringųjų Rentgeno spindulių pavidalu. Išspinduliuotas energijos kvantas yra aptinkamas detektoriaus ir užregistruojamas, bei konvertuojamas į skaitmeninius duomenis. Priklausomai koks buvo elektrono šuolis, jis išspinduliuos skirtingos energijos kvantą. Pagal tai, iš kurio į kurį energijos sluoksnį peršoka elektronas, skiriasi ir charakteringojo spindulio energija. Šios energijos yra priskiriamos į šeimas K, L ir M. K yra aukščiausios energijos – virš 3 keV. K šeima išsiskiria į dvi linijas – K_{α} ir K_{β} . Šeimos žemesnės nei 3 keV neregistruoja EDS metode, dėl per žemų pikų, kurie susilieja (59, 64, 65). Veikimo mechanizmas pavaizduotas 24 pav.

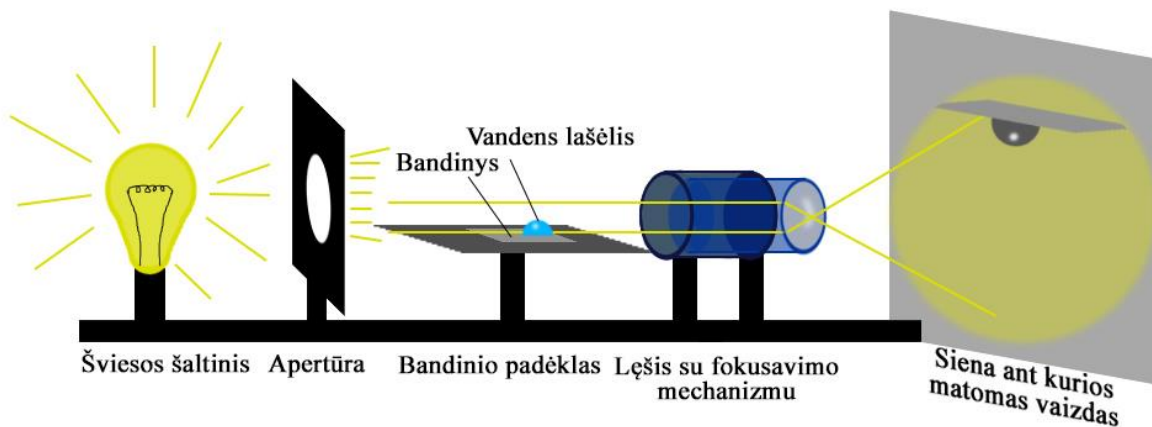


25 pav. Rentgeno spindulių generavimas elektronais

3.1.7. Drėkinimo kampo nustatymas

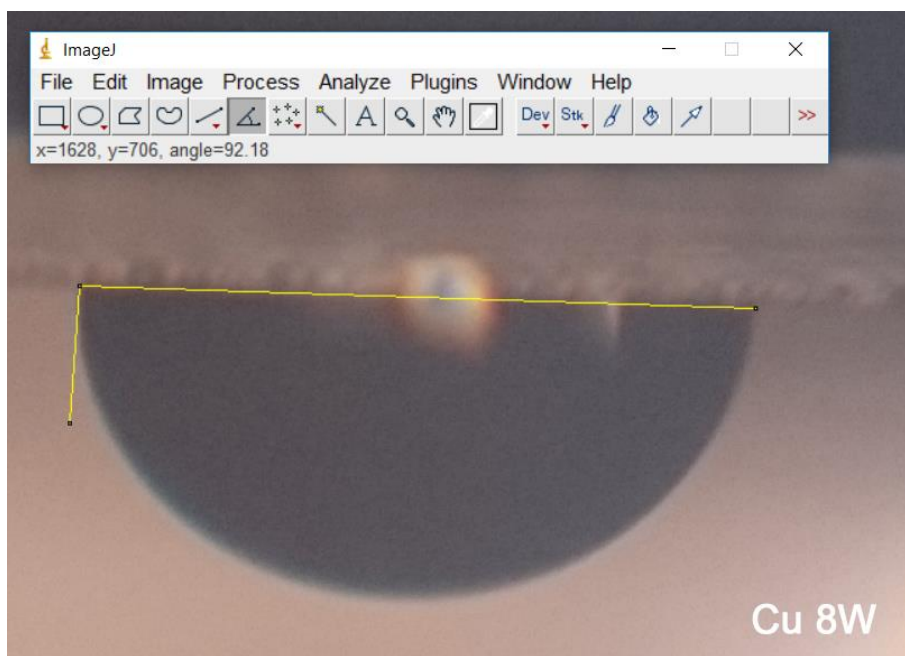
Drėkinimo kampo nustatymas buvo atliktas Lietuvos energetikos institute. Bandymams naudota įranga, optiniais metodais padidinanti, bei sufokusuojanti bandinio ir vandens lašelio vaizdą. Gautas vaizdas ant bet kokio paviršiaus perteikiamas projektoriaus veikimo principu. Kontakto kampo matavimo matu nustatomas paviršiaus hidrofobiškumas tam tikram skysčiui, dažniausiai vandeniui (66). Pagal tai galime spręsti apie tolimesnes savybes kaip adhezija prie tam tikrų paviršių turinčių vandenilio ar hidrokso jungčių.

Detali veikimo schema pateikta 26 pav. Šviesa iš šviesos šaltiniu praeina pro apertūrą. Pro kurią praėjusi šviesa pasiekia bandinį ir pro jį praėjusi patenka į lęšio sistemą. Stumdant lęšį ant pasirinkto pagrindo sufokusuojamas vaizdas ir gaunamas daug kartų padidintas bandinio ir ant jo esančio vandens lašelio atvaizdas.



26 pav. Vandens lašelio kontakto kampo su paviršiumi nustatymo schema

Toliau padaroma gauto vaizdo nuotrauka ir ji apdorojama kompiuterine programa „Image J“. Šioje programoje pasirenkamas kampo nustatymo įrankis. Įrankiu apibrėžiamas bandinio paviršius ir sritis, kur matomas kampas tarp paviršiaus ir bandinio, programa parodo gautą kontakto kampą, kaip pavaizduota 27 pav.



27 pav. Kontakto kampo nustatymas naudojant „Image J“ kompiuterinę programą

3.2. Tyrimai su bakterijomis

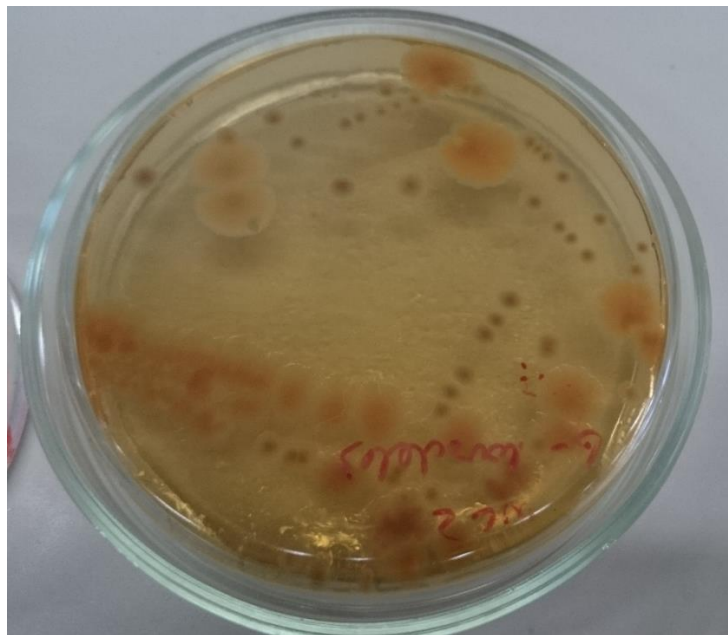
3.2.1. Bakterijų gavimas

Bakterijos mus supa nuolatos, tačiau jų kiekiams nėra matomi plika akimi ir yra įprasti mums, mūsų imuninė sistema yra atspari tokiam kiekiui. Bandymams reikalingi žymiai didesni bakterijų kiekiai.

Kooperuojant kartu su VII forto laboratorija, šiam tikslui buvo atliekamas *E. coli* ir *Streptococcus* šeimos (burnos) bakterijų išskyrimas, bei pradinių kolonijų suformavimas. Kaip žinomi *E. coli* yra žarnyno bakterija. Ši bakterija yra gram-neigiam⁴, lazdelės formos bakterija. Bakterijos pradinis gavimas buvo atliktas panaudojus vata apdengta lazdele perbraukus per tualetu klozeto paviršių. Surinktos bakterijos buvo paliktos auginti ant specialiai gram-neigiamoms bakterijoms skirto agarų „MacConkey“, kuris įprastai naudojamas šioms bakterijoms auginti (67) 28 pav.

Agaras – tai želės konsistencijos substancija, kurios vienas iš panaudojimų yra augimo terpės sukūrimas lėkštelėje. Norint gauti dideles bakterijų kolonijas, kurios būtų aiškiai matomos ir lengviau tyrinėjamos, būtina sukurti augimui tinkamą terpę, kuri yra kupina maistingų medžiagų (68, 69).

Stikliniame, steriliame, sandariame inde agaras kartu su bakterijomis buvo auginamos 35°C temperatūroje daugiau nei 48 valandas (laikoma ilgiau, jeigu aiškiai nesimato susiformavusių kolonijų). Lygiai tokie patys veiksmai atliekami su *Streptococcus* šeimos, tik šiuo atveju naudotas universalus sojų agaras „Trypticasein soy agar“.



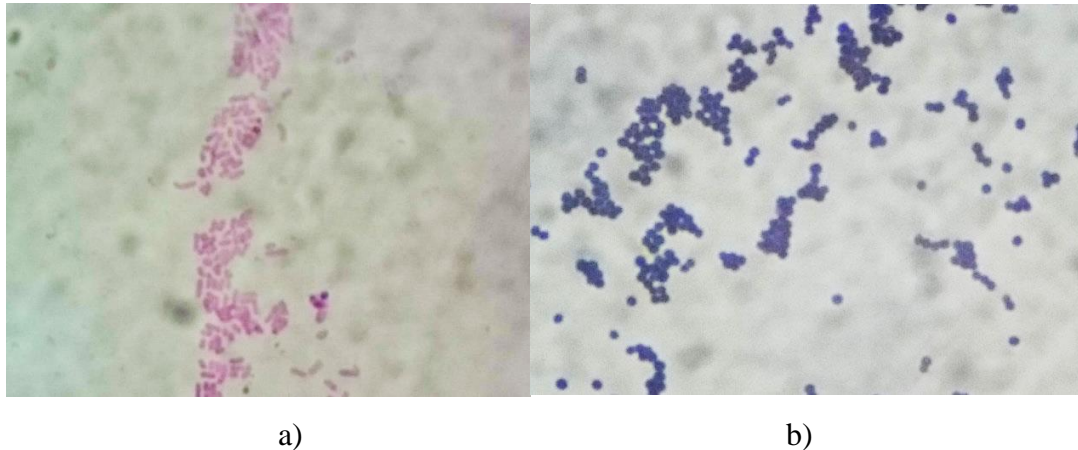
28 pav. *E. coli* bakterijos užaugintos „MacConkey“ agare

3.2.2. Bakterijų nustatymas

Užaugintų bakterijų tyrimui naudojamas „gram“ metodas. „Gram“ metodas atskiria bakterijas pagal jų sienelių fizikines ir chemines savybes peptidoglikano¹. Aptikimo metu, kas reiškia, jog ši bakterija yra gram-teigiama. Šiuo atveju foto-jautrumą didinančios molekulės (kristalinis violetinis

¹ Peptidoglikanas (mureinas) – angliavandenilių ir aminorūgščių polimeras, sudarantis vientisą sluoksnį išorinėje bakterijų plazminės membranos pusėje

dažas), kurios turi teigiamą krūvį, prisijungia prie neigiamą krūvį turinčių bakterijų sienelių ir tam tikrais atvejais prasiskverbia pro sienelę. Dėl šio prasiskverbimo bakterijos ląstelė nusidažo violetine spalva ir galime teigti, jog ji paskiriama prie gram-teigiamų bakterijų (70). Priešingu atveju, gram-neigiama bakterija nesugeria violetinio dažo ir dėl vėliau šiame metode naudojamo ryškinimo preparato nusidažo rožine spalva 29 pav.



29 pav. a) Gram-neigiamos, b) Gram-teigiamos bakterijos

29 pav. šio auginimo metu gautos bakterijos, a) *E.coli* bakterijos, b) iš *Streptococcus* šeimos bakterijos. 29 pav. a) aptiktos bakterijos yra rožinės spalvos, tai reiškia, jog šios bakterijos yra gram-neigiamos. Bakterijų forma yra neilgų lazdelių pavidalo. Kadangi šios savybės atitinka *E. coli* bakteriją, o taip pat ir terpė, iš kur buvo paimtos bakterijos yra šių bakterijų dauginimo vieta, galime teigti, jog šios bakterijos yra *E.coli*.

29 pav. b) matomos tamsiai violetinės spalvos apvalios formos bakterijos, dar vadinamos kokais (71). Ši spalva matoma dėl to, jog pro bakterijų ląstelių sienelės prasiskverbė kristalinis violetinis dažas. Dėl šios priežasties galime teigti, jog bakterijos yra gram-teigiamos.

3.2.3 Bakterijų auginimas ant suformuotų dangų

Iš pradžių bandiniai sterilizuojami autoklave – 2,2 bar slėgyje ir 121°C. Ant jų paviršiaus užsėjamos abiejų rūšių bakterijos ir bandiniai laikomi 24 val. kambario temperatūroje sterilioje lėkštelėje, kad apsaugoti nuo aplinkos poveikio. Jeigu danga turi antibakterinių savybių, bakterijų kiekis ant jos po 24 val. turi sumažėti arba visiškai išnykti. Praėjus laikui, sumaišomas agaras, atitinkamai pagal bakterijas papildomas į skirtingas lėkšteles. Agarui sustingus, bakterijos nuo dangos pernešamos ant nustatyto ploto steriliu vatos krapštuku nuimant nuo bandinių ir užtepant ant agaro. Lėkštelės patalpinamos į kamerą, kur išlaikoma norima temperatūra. Priklausomai nuo temperatūros, po dienos ar dviejų galime plika akimi matyti rezultatus.

4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

ZrO₂ ir Cu dangos nusodinimas vykdomas naudojant „PVD 75 Kurt J. Lesker“ magnetroninio dulkinimo prietaisą. Kaip anksčiau minėta, dangoje yra reikalinga maža Cu koncentracija dangoje. Gryni metalai dulka žymiai sparčiau ir kadangi Cu oksiduoja lėtai, magnetrono kameros aplinkoje, kartu su Zr, Cu dulka žymiai sparčiau. Kad nusistatytų parametrus, tinkamam dangos storiui gauti, atliekamas augimo greičio nustatymas.

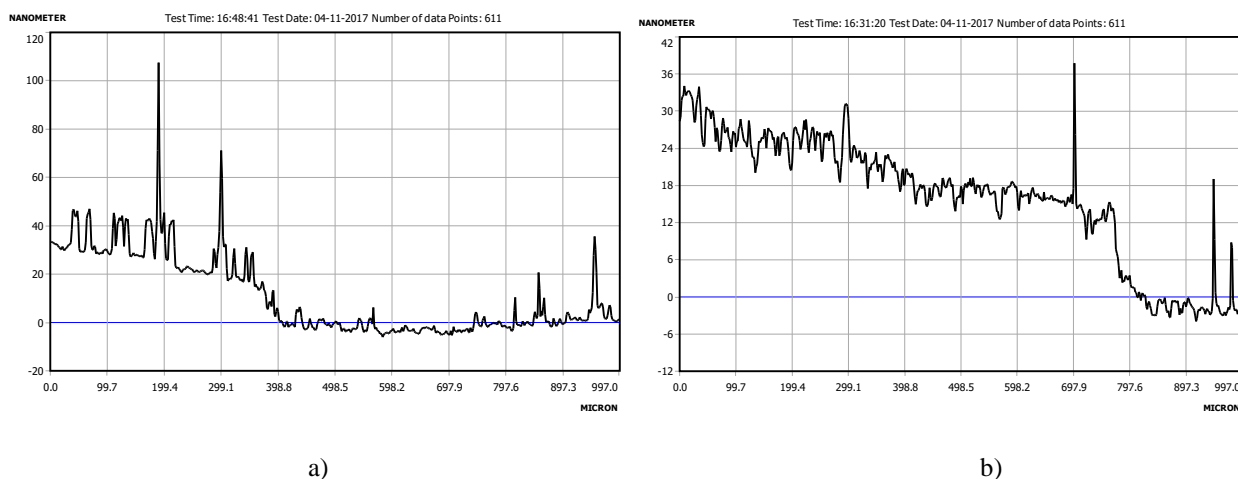
4.1. Augimo greičio nustatymas

Norint užauginti dangą naudojant skirtingas medžiagas, reikia parinkti jų nusodinimo greičius, kad gauti norimą koncentraciją. Nėra žinomas nė vienos medžiagos augimo greitis, todėl iš pradžių jis nustatomas kiekvienai medžiagai atskirai.

ZrO₂ pasirinktas RF šaltinis, 70-80% Ar ir 20-30% O₂ darbinių dujų koncentracija nusodinimo metu, bendrai kameroje palaikant 9,37 mTorr slėgį (1,25 pa). Prieš darbinių dujų įleidimą, kamera buvo atsiurbama iki $3 \cdot 10^{-5}$ mTorr. Pagal kitų autorių darbus (55), žinome ZrO₂ auginimo kreivė, priklausomai nuo naudojamos galios. Augimo greitis pagal galią kinta beveik tiesiškai, todėl keičiant galią galima žinoti apytikslį augimo greitį.

Taigi, iš pradžių nustatoma ZrO₂ augimo greitis, auginant dangą vieną, dvi ir tris pasirinktose sąlygose naudojant 150 W galią.

Dangų storiai buvo tiriami profilometru. Kiekviena danga skirtinguose taškuose pamatuoti bent tris kartus ir paimtas gautų rezultatų vidurkis. Pateikiami pavyzdžiai profilometru atliktų matavimų 30 pav. Matomas nemažas triukšmų lygis, kadangi matuojamos dangos yra itin plonos, tačiau matomi aiškūs laipteliai, kur yra suformuota danga.

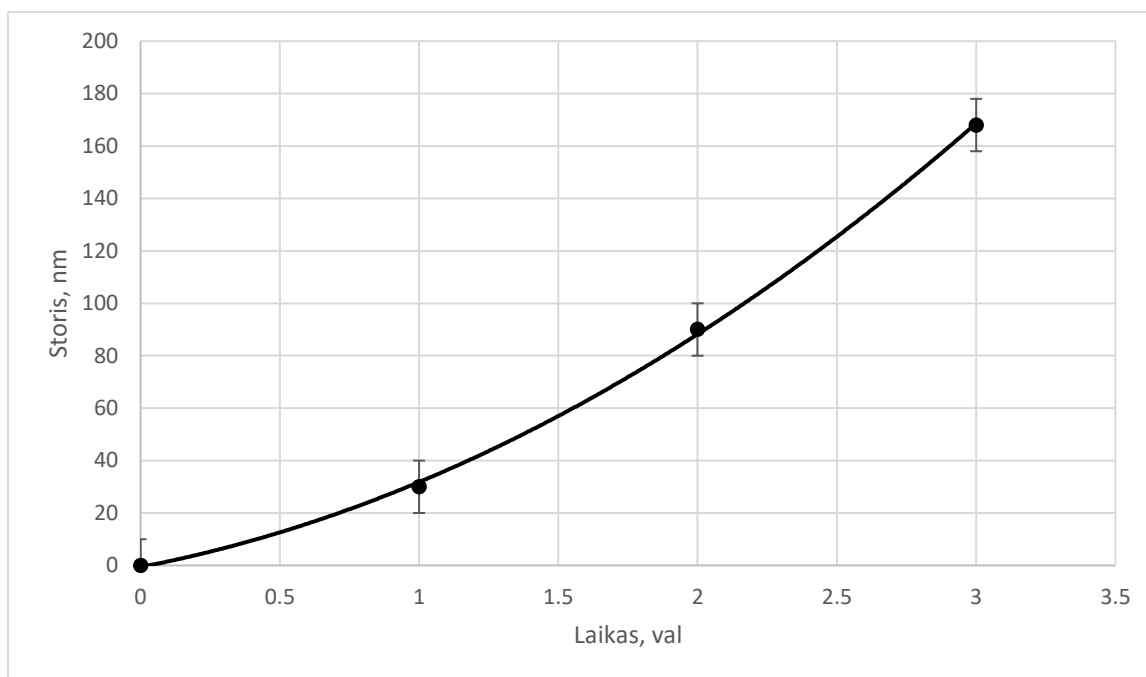


30 pav. Profilometro matavimo rezultatai a) ZrO₂ nusodinimo trukmė 1 val., b) Cu nusodinimo trukmė 3 val.

Detalesni rezultatai toliau pateikiami 1 lentelėje bei 31 pav.

1 lentelė. ZrO₂ dangos storio rezultatai pagal auginimo laiką.

Nusodinimo trukmė, val	1	2	3
Nusodintos dangos storis, nm	30	90	168



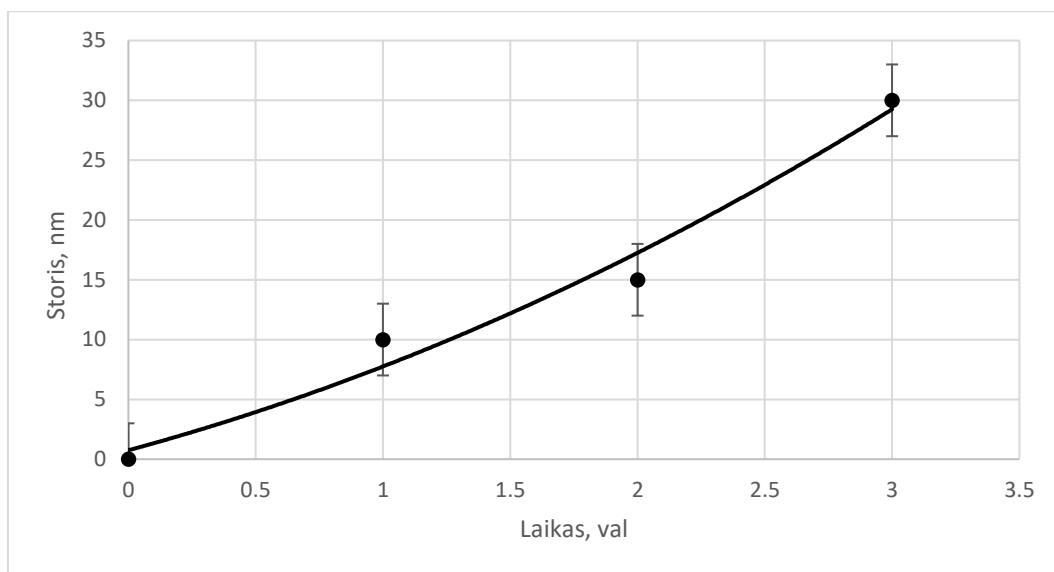
31 pav. ZrO₂ dangos storio priklausomybė nuo auginimo trukmės

Auginant dangą vieną valandą rezultata sunkiai pavyko išmatuoti, tačiau pagal apytikslius duomenis gautas 30 nm storis. Dviejų valandų bandinys užaugo iki 90 nm storio ir trijų valandų – 168 nm. Pastebime, jog ilgesnį laiką auginant danga auga eksponentiškai sparčiau.

Nusodinant Cu sluoksnį naudoti tokie patys parametrai, su DC šaltiniu ir 20 W galia 32 pav. Tiriant Cu sluoksnio storio priklausomybę nuo auginimo laiko, užauginti sluoksniai yra daug kartų plonesni 2 lentelė. Dėl šios priežasties santykinai paklaida yra žymiai didesnė. Gauti rezultatai rodo, kad Cu danga taip pat kaip ir ZrO₂ auga lėčiau ir pradžių, po pirmos valandos 10 nm, po dviejų 15 ir po trijų valandų pasiekia 30 nm.

2 lentelė. Cu dangos storio rezultatai pagal auginimo laiką.

Nusodinimo trukmė, val	1	2	3
Nusodintos dangos storis, nm	10	15	30



32 Pav. Cu dangos storio priklausomybė nuo auginimo laiko

Tokiomis sąlygomis gautos dangos Cu koncentracija būtų 17,85%. Kadangi siekiama gauti mažesnę Cu koncentraciją, tolimesni bandymai atliekami padidinus Zr katodo galią ir sumažinus Cu katodo galią. Taip pat, nusodinant abi dangas vienu metu, augimo vertės gali skirtis. Dėl šios priežasties bus atliekami keli bandymai su skirtingomis Cu katodų galiomis.

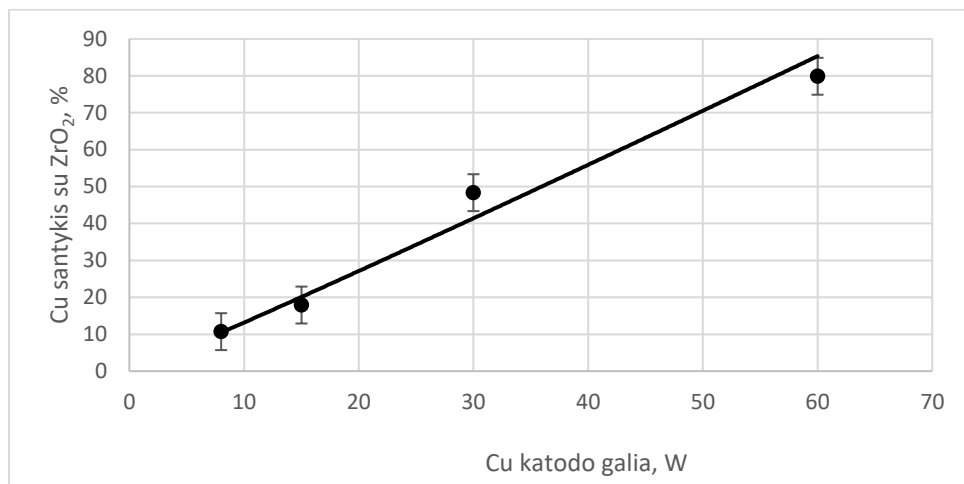
4.2. Vario koncentracijos parinkimas ZrO₂ dangoje

Nusistačius apytikslius greičius toliau galime atlikti ZrO₂ ir Cu dangos nusodinimą su tikslesnėmis koncentracijomis. Kadangi reikalingas nedidelis kiekis Cu, pasirinktas režimas, kai Cu katodą veikianti galia yra daug mažesnė nei, Zr. Taip pat Zr katodo galia buvo ženkliai padidinta, kad gauti didesnę ZrO₂ koncentraciją Cu atžvilgiu. Kad gauti tikslesnius koncentracijos rezultatus, atlikti matavimai naudojant 3 lentelėje nurodytas vertes. Koncentracijos įvertinimas atliekant medžiagos tyrimą EDS metodu. Kiekvienas bandinys buvo matuotas 3 kartus ir apskaičiuotas vidurkis, kuris pateiktas 3 lentelė ir 32 pav. Vizualus EDS matavimo rezultatai pateikti priedas nr. 1, priedas nr. 2. Lentelėje apskaičiuotos vidutinės kiekvieno bandymo vertės ir pateikti rezultatai .

3 lentelė. ZrO₂ ir Cu koncentracijos dangoje, keičiant Cu katodo galią.

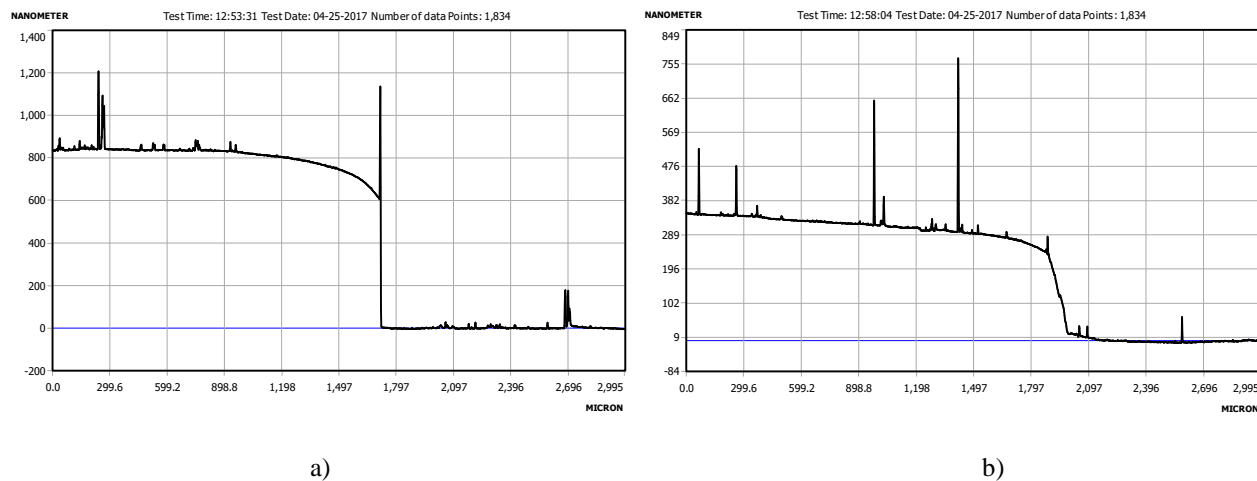
Auginimo trukmė, h	6	6	6	6
Zr katodo galia, W	350	350	350	350
Cu katodo galia, W	8	15	30	60
Cu/Zr koncentracijos	10 % / 90 %	18 % / 82 %	48 % / 52 %	80 % / 20 %

Nusodinimas iš pradžių buvo atliekamas naudojant 15 ir 60 W ZrO_2 galią siekiant apsibrėžti Cu koncentracijos kitimo ribas. Santykinis Cu kiekis lyginant su Zr, keičiant Cu katodo galią kinta tiesiškai ir tai puikiai atvaizduoja 33 pav. Kai parinkta Cu katodo galia 60 W, dangoje esančio Cu kiekis yra apie 4 kartus didesnis nei ZrO_2 (Cu 80 %, ZrO_2 20 %). Sumažinus Cu katodo galią iki 15 W, gautos koncentracijos yra Cu 18 %, ZrO_2 82 %. Atitinkamai atlikus kitus nusodinimo bandymus – 30 W Cu katodo galia gautos koncentracijos Cu 48 %, ZrO_2 52 %, mažiausios galios 8 W - Cu 10 %, ZrO_2 90 %.



33 pav. Cu koncentracijos priklausomybė nuo katodo galios

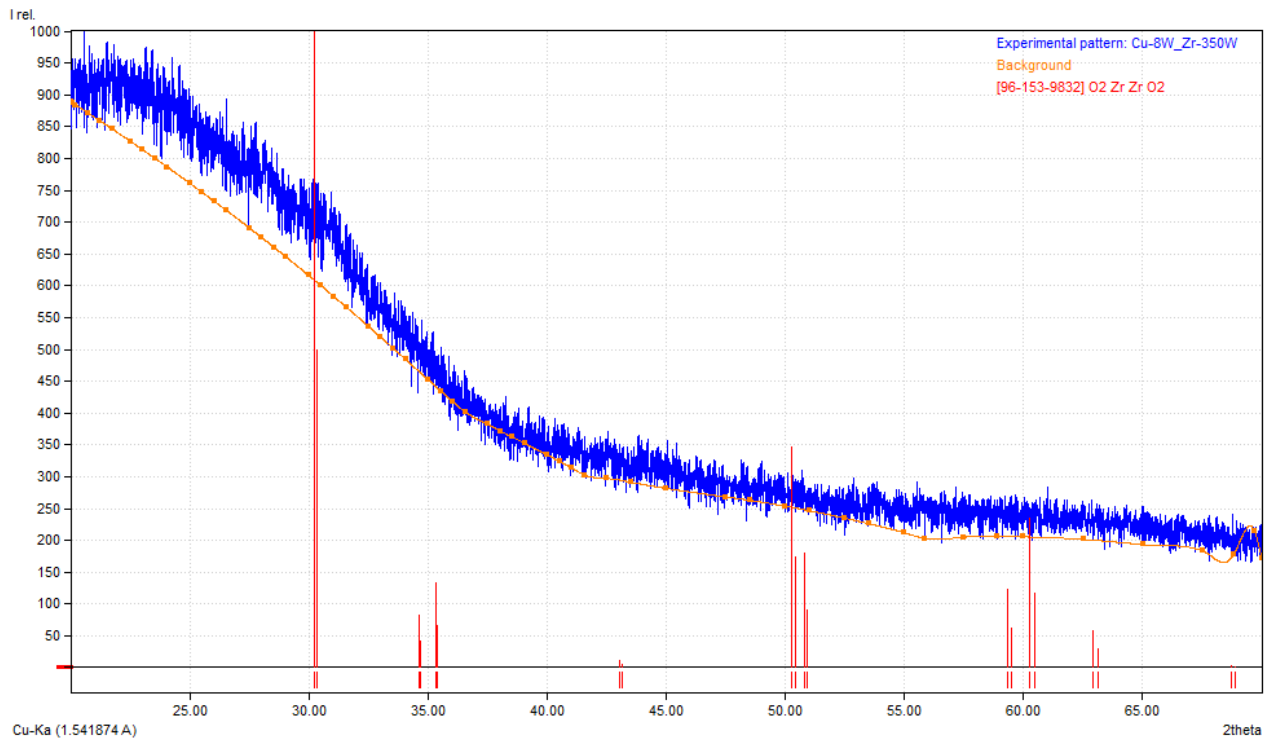
Palyginimui profilometru buvo ištirtas užneštų dangų storis. Kaip ir tikėtasi, kai buvo naudotas 60 W katodas, Cu koncentracija 80 %, dangos storis kelis kartus buvo didesnis. Šiuo metodu gautas storis 815 nm. Palyginimui storis dangos turinčios 18 % Cu priemaišų koncentraciją – 360 nm 34 pav.



34 pav. Profilometro matavimo rezultatai a) danga turinti 80 % Cu priemaišų, b) danga turinti 18 % Cu priemaišų

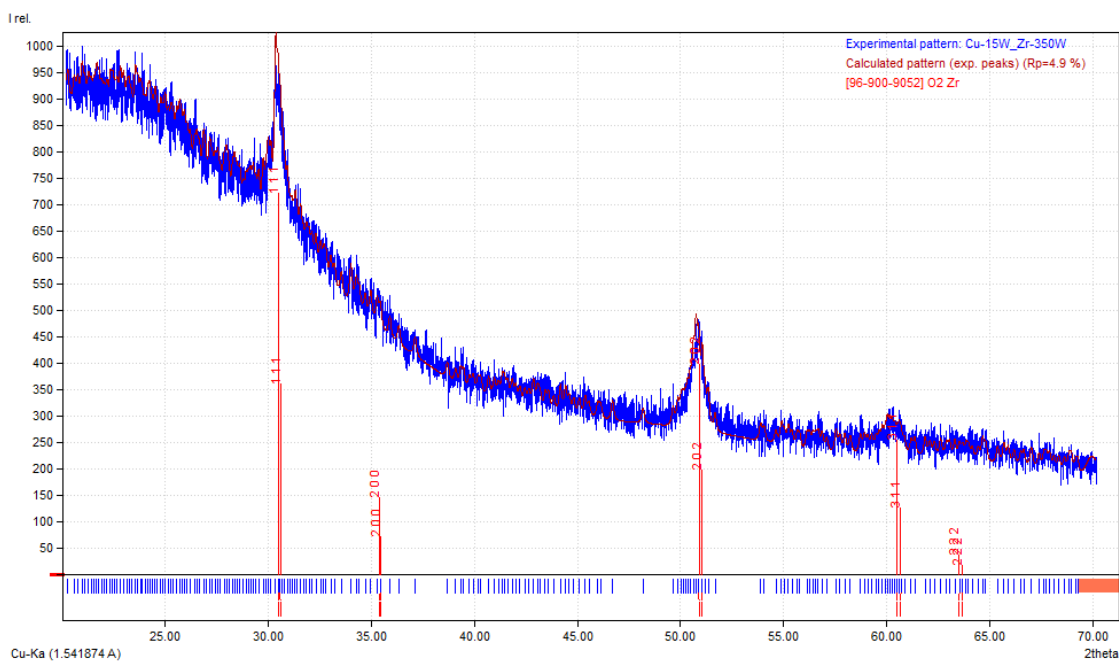
4.3. Rentgeno spindulių difrakcijos tyrimai

Lietuvos energetikos institute visiems keturiems bandiniams buvo atlikta XRD analizė. Tiriant dangas, kurios Cu koncentracijos yra 10, 48, 80 %, gautuose rezultatuose nėra užfiksuoti pikai, matomas triukšmas 35 pav. Tačiau šią tokią intensyvumo pagausėjimą galime matyti ties $30^\circ 2\theta$ kampu, kuris kaip ir 36 pav. žymi ZrO_2 kristalitus.



35 pav. ZrO_2 dangos, turinčios 10 % Cu XRD analizė

Danga savo sudėtyje turint 18 % Cu išsiskyrė iš kitų. XRD analizėje matomi keli pikai, tai reiškia kristalitai yra išsidėstę tvarkingai ir gauname difragavusios šviesos interferencinį maksimumą. Pasinaudojant programine įranga ir duomenų bazėje turimais duomenimis, atliekamas smalių sutapdinimas su duomenų bazėje pateiktomis pikų vertėmis 36 pav. Šiame bandinyje dominuoja (111) kristalografijos kristalinės gardelės. Šių kristalitų dydis yra 10 nm.



36 pav. ZrO₂ dangos, turinčios 18 % Cu XRD analizė

4.4. Skenuojančio elektroninio mikroskopo rezultatai

Lietuvos energetikos institute padarytos bandinių paviršiaus nuotraukos naudojant SEM. Nuotraukos darytos naudojant 5 kV įtampą, padarytos 20 000 ir 60 000 kartų didinimo nuotraukos visiems bandiniams.

20 000 kartų padidintose nuotraukose matome, jog paviršiai yra gana lygūs ir homogeniški priedas nr. 3. 15 W nuotraukoje matoma įduba ir porėta paviršiaus struktūra lyginant su kitomis nuotraukomis. Padidinus didinimą iki 60 000, 15 W nuotraukoje aiškiai matoma porėta struktūra priedas nr. 4. Struktūros tvarkingas išsidėstymas pagrindžia kodėl atlikus XRD analizę tik šiame bandinyje buvo matomi aiškūs pikai.

4.5 Atominio jėgų mikroskopo rezultatai

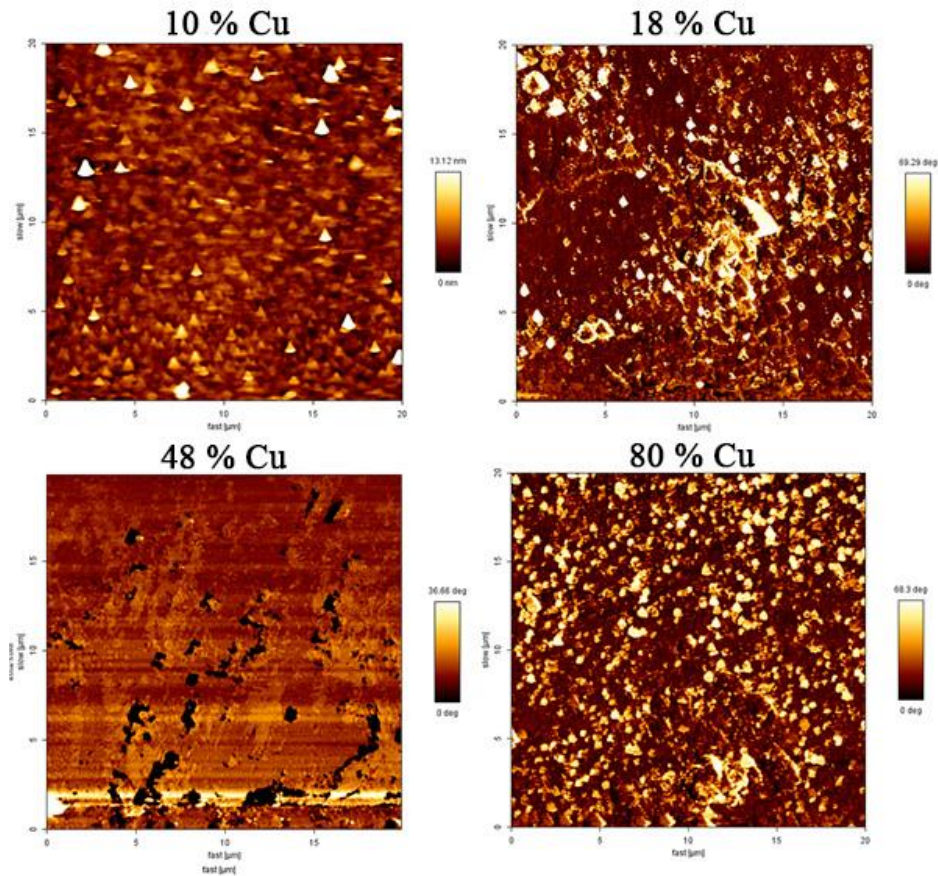
Medžiagų mokslo instituto pagalba buvo atlikti AJM bandymai. Atlikus matavimus gauta informacija apie dangų paviršius – šiurkštumas, paviršiaus vaizdas, skirtingų fazių pasiskirstymas. Šiurkštumo rezultatai pateikti 4 lentelė.

4 lentelė. Parametrai gauti atlikus AJM matavimą.

Cu koncentracija, %	10	18	48	80
R _a , nm	1,302	12,07	4,617	9,673
R _q , nm	2,983	20,95	6,885	16,05

Iš gautų rezultatų galime teigti, jog danga yra sąlyginai lygi, R_a kinta nuo 1,302 iki 12,07 nm priklausomai nuo Cu kiekio dangoje. Dangoje iškilimai ir įdubos svyruoja iki 12,07 nm ribose.

Fazinio pasiskirstymo matavimai atlikti siekiant ištirti skirtingų medžiagų pasiskirstymą paviršiuje 37 pav.

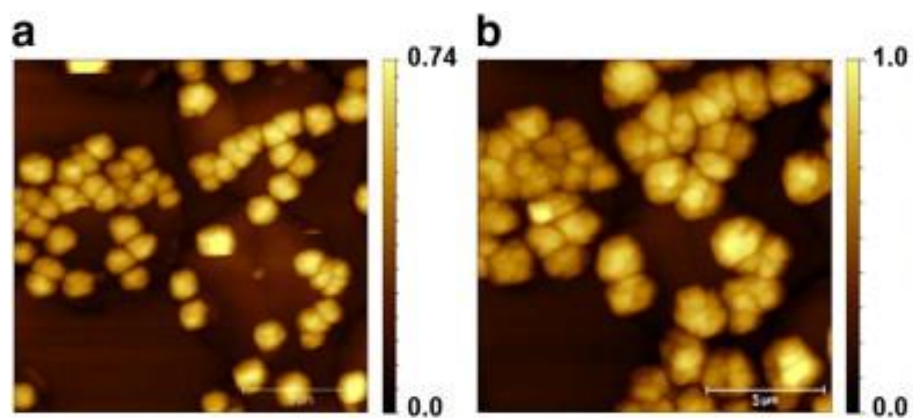


37 pav. AJM skirtingų fazių pasiskirstymas paviršiuje, kai Cu koncentracijos ZrO₂ dangoje 10, 18, 48, 80 %

Keičiant vario kiekį matomas aiškus šviesesne spalva pažymėtų objektų pagausėjimas didinant vario kiekį. Šiuo metodu galima nesunkiai nustatyti skirtingas fazes, tačiau reikia detalesnių palyginimų norint priskirti fazę tam tikrai medžiagai.

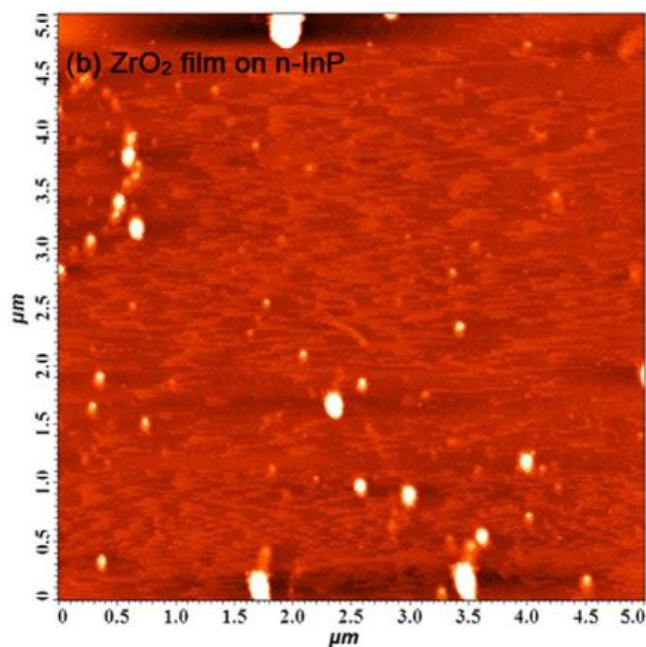
Visų šių bandinių auginimo metu buvo naudota skirtinga Cu katodo galia. Priklausomai nuo galios kito dangoje esančio vario kiekis. Kaip matome iš pateiktų paveikslėlių visos dangos išskyrus nusodintąją su 30 W Cu katodo galia rodo aiškius šviesios fazės pagausėjimus didinant Cu katodo galią. Pagal tai galime teigti, jog ši fazė yra Cu.

Atlikus palyginimą su kitų autorių darbais matome, kad atliekant Cu dangos nusodinimą, kai skiriasi tik dulkėjimo laikas, Cu auga granulinės formos struktūromis (72) 38 pav.



38 pav. AJM matavimai atlikti CU dangai augintai metodu a) 30s, b) 150 s

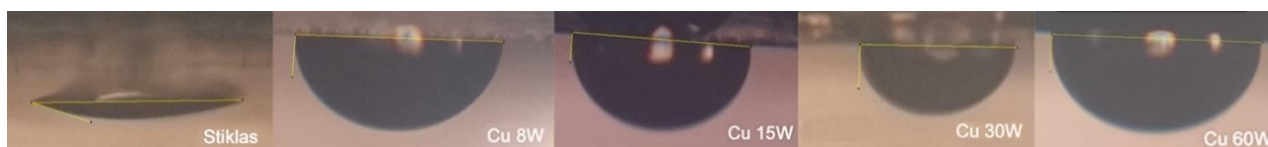
Atlikus palyginimą su ZrO_2 danga, užauginta ant indžio fosfido, matome, jog ši yra žymiai lygesnė, augimo struktūra tolygi, nepasižymi dideliu paviršiaus šiurkštumu ar didesnių grūdelių struktūra (73) 39 pav. Pagal tokį Cu ir ZrO_2 dangų augimo palyginimą galime teigti, jog šviesesnė fazė dangoje yra Cu.



39 pav. ZrO_2 dangos AJM matavimas

4.6. Kontakto kampo matavimo rezultatai

Kontakto kampas įtakoja kaip vanduo drėkina paviršiu ir tai taip pat įtakoja bakterijų prikibimo tikimybę. Dėl šios priežasties Lietuvos energetikos institute buvo atlikti kontakto kampo matavimai. Po nuvalymo mėginiai padėti ant matavimo priemonės bandinio padėklo 40 pav.



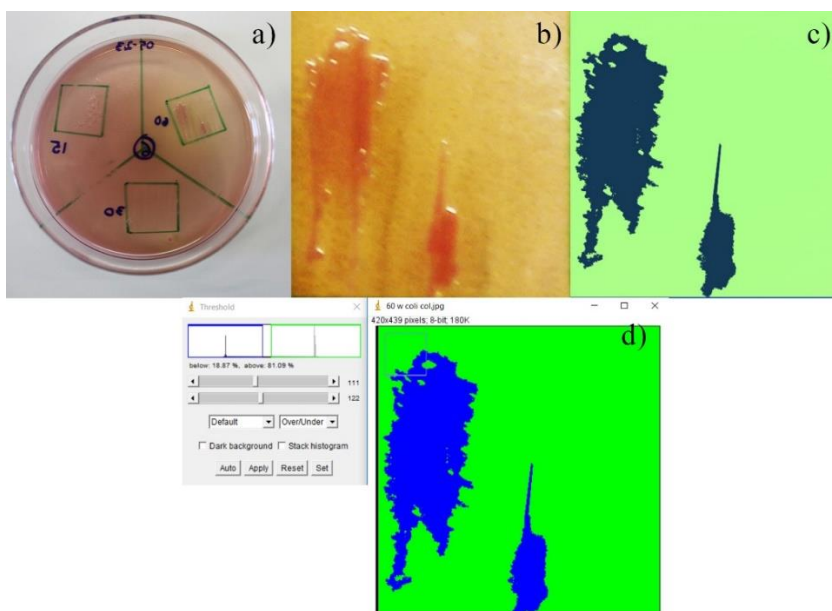
40 pav. Stiklo ir ZrO₂ dangų turinčių 10, 18, 48 ir 80 % (atitinkamai iš kairės į dešinę), kontakto kampai

Duomenis rodo, kad nusodinta danga paveikia kontakto kampą. Stiklo kontakto kampas 20,2°, kitų bandinių nepriklausomai nuo naudotos Cu katodo galios, kontakto kampas padidėjo iki 90°±2°.

4.7. Bakterijų auginimo rezultatai

Kauno VII-ojo forto laboratorijoje buvo atliekami bandinių antibakteriniai bandymai. Kaip aptarta literatūros analizėje, norint, kad gauta danga būtų pakankamai biosuderinama, reikalinga kuo mažesnė Cu koncentracija. Pagrindiniai bandymai buvo atliekami su mažiausiai Cu turinčia danga – nusodinta naudojant 350 Zr katodo ir 8 W Cu katodo galias ant stiklo bei petri lėkštelės paviršių. Papildomai buvo atlikti bandymai ir su 15, 30 bei 60 W Cu katodo galia nusodintomis dangomis naudojant *E. coli* bakterijas. Visų rezultatų palyginimui, taip pat patikrintas bakterijų augimas ant laboratorinio stiklelio paviršiaus.

Bakterijos buvo augintos pagal 3.2.3 p. aprašytą metodą. Po bandymo laikotarpio, susiformavusios kolonijos yra nufotografuojamos ir tiriama kokį paviršiaus plotą jos užėmė pažymėtame plote 41 pav.



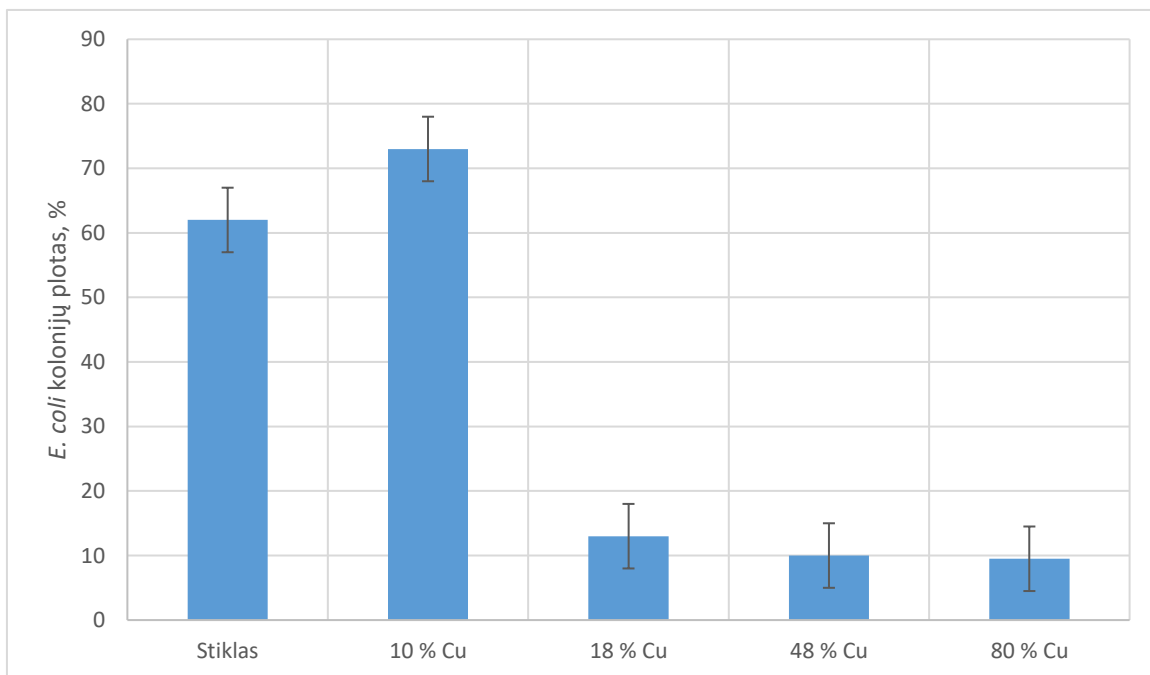
41 pav. Bakterijų procentinės koncentracijos nustatymas, a) Lėkštelėje auginamos bakterijos, b) Išryškintos bakterijų kolonijos, c) Kolonijos atvaizduojamas dviejų spalvų gamoje, d) Išmatuojamas bakterijų užimtas plotas naudojant „Image J“ programą

Bandymai ant šių paviršių buvo atlikti du kartus. Po abiejų bandymų visi duomenys apdoroti ir pateikti 5 lentelėje.

5 lentelė. Paviršiaus ploto dalis, kurioje užaugusios bakterijos.

Paviršius	Stiklas	10 % Cu	10% Cu petri	18 % Cu	48 % Cu	80 % Cu
1. <i>E. coli</i>	65 %	100 %	69 %	0 %	1,3 %	19 %
1. <i>Streptococcus</i>	100 %	100 %	54 %	--	--	--
2. <i>E. coli</i>	59%	67 %	57 %	26 %	19 %	0 %
2. <i>Streptococcus</i>	100 %	100 %	59 %	--	--	--

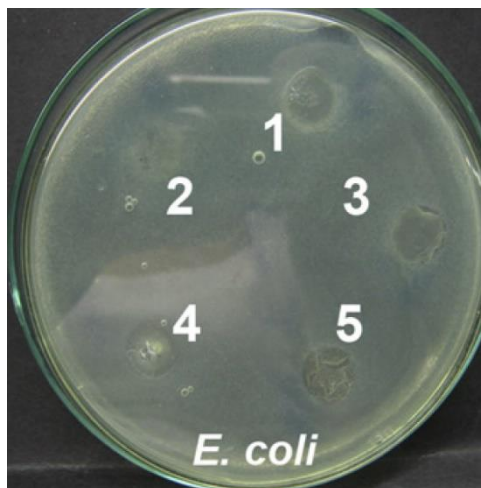
Nustatytas *Streptococcus* šeimos bakterijų kiekis – 100 % ant visų paviršių, išskyrus ant petri lėkštelės užneštą dangą sudėtyje turinčią 10 % Cu. Šis paviršius sumažino *Streptococcus* šeimos bakterijų skaičių kiek daugiau nei 40 %. Norint ištirti skirtumą tarp dangų nusodintų ant stiklo ir petri lėkštelės paviršiaus, reikalinga atlikti papildomus bandymus. 42 pav. grafiškai pavaizduota vidutinė *E. coli* bakterijų augimo priklausomybė nuo vario kiekio ant dangos paviršiaus.



42. pav. Vidutinė *E. coli* bakterijų kolonijų uždengtas plotas ant kontrolinio stiklo bandinio, bei dangų, savo sudėtyje turinčių 10, 18, 48, 80 % Cu

Bandymų rezultatai rodo, jog danga turinti mažiausiai vario neparodė efekto, kurio buvo tikėtasi. Tačiau dangos, kurios nusodintos naudojant didesnės galios Cu katodus ženkliai ar net visiškai sunaikino *E. coli* bakterijas ant savo paviršiaus.

Kitų autorių darbe buvo naudojama ZrO_2 danga su Ag nano-dalelėmis. Ant dangos buvo auginamos kelių rūšių bakterijos, tarp jų ir *E. coli*. Tyrimų rezultatai parodė, jog bakterijų dauginimuisi Ag nano-dalelės daro įtaką lėtindamos bakterijų dauginimosi greitį, tačiau visiško išnaikinimo nepastebėta (74). 43 pav.



43 pav. Ag nano-dalelių įtaka *E. coli* bakterijų dauginimuisi, kai Ag koncentracija atitinkamai 85, 140, 212, 255, 283 $\mu\text{g/ml}$

Taip pat ankščiau minėtame (2.4.5 p.) eksperimente buvo tiriamas *S. aureus*, ir *A. actinomycetemcomitans*, bakterijų išgyvenamumas ant ZrO_2 paviršių su mažos koncentracijos Ag ir Cu priemaišomis (9). Ant šių paviršių po 30 min apskaičiavus išgyvenusių bakterijų kolonijų skaičių, matomas bakterijų kolonijų skaičiaus sumažėjimas lyginant su kontroliniais bandiniais.

Šiame darbe atliktų bandymų metu ZrO_2 dangos turinčios 18, 48 ir 80 % Cu priemaišų ženkliai sumažino išgyvenusių *E. coli* bakterijų kiekį ant paviršiaus. Danga savo paviršiuje turinti 10 % vario pasižymėjo panašiomis savybėmis kaip ir kontrolinis paviršius – bakterijų dauginimosi nepaveikė. Norint detaliau ištirti šios dangos veiksmingumą reikalingi papildomi bandymai. *Streptococcus* šeimos bakterijoms įtaką turėjo tik ant petri lėkštelės nusodinta danga turinti 10 % Cu priemaišų. Detalesniems rezultatams reikalinga atlikti papildomus bandymus.

5. IŠVADOS

1. Atlikus literatūros analizę cirkonio oksido dangai su antibakterinėmis priemaišomis suformuoti, buvo pasirinktas medžiagos nusodinimas magnetroniniu dulkinimu, naudojant vario ir cirkonio katodus, 20 procentų deguonies ir 80 procentų argono aplinkoje, 9,37 militorų slėgyje. Cirkoniui buvo pasirinktas radijo dažnio srovės, o variui - nuolatinės srovės šaltinis.
2. Ištyrus cirkonio oksido ir vario dangų nusodinimo greičius, buvo pasirinktos tokios katodų galios: vario katodui – 8, 15, 30, 60 vatų, cirkonio katodui – 350 vatų. Tokiomis sąlygomis gautose dangose, vario koncentracijos atitinkamai yra 10, 18, 48 ir 80 procentų.
3. Atlikus Rentgeno spindulių difrakcijos spektroskopiją, nustatyta, jog gautos dangos yra amorfinės. Tačiau danga, turinti 18 procentų vario priemaišų, yra kristalinės struktūros. Pagal smailės identifikuota medžiaga yra cirkonio oksidas.
4. Ant stiklo paviršiaus nusodinta, sudėtyje turinti 10 procentų vario priemaišų cirkonio oksido danga, bakterijų dauginimosi neįtakojo. Ant petri lėkštelės nusodinta danga, sudėtyje turinti 10 procentų vario priemaišų, sumažino *Streptococcus* šeimos bakterijų koncentraciją 43 procentais. Dangos, savo sudėtyje turinčios 18, 48 ir 80 procentus vario priemaišų, bandymų metu atitinkamai sunaikino 87, 90 ir 90,5 procentus *E. coli* bakterijų. Dangos savo sudėtyje turinčios 18 ir 80 procentų vario, vieno iš dviejų bandymų metu sunaikino visas *E. coli* bakterijas.

PADĖKOS

- Mantui Sriubui – už visokeriopą pagalbą ir patarimus ruošiant baigiamąjį darbą, apmokymus naudotis magnetrono medžiagų dulkinimo sistema ir pagalba atliekant bandinių matavimus;
- Vaivai Kulikauskienei – už pagalbą atliekant bandymus, susijusius su bandinių antibakterinėmis savybėmis;
- Lietuvos energetikos institutui - už galimybę atlikti bandinių paviršiaus savybių tyrimus;
- Giedriui Laukaičiui – už patarimus, įžvalgą ir pagalbą magistrinio darbo metu.

6. LITERATŪROS SĄRAŠAS

Žiūrėta 2017-05-21

1. Axel Kramer, Ingeborg Schwebke, Günter Kampf. How Long do Nosocomial Pathogens Persist on Inanimate Surfaces?, 2006, vol. A systematic review.
2. Dharan S, Mourouga P, Copin P, Bessmer G, Tschanz B, Pittet D. Routine Disinfection of Patients' Environmental Surfaces. Myth Or Reality?., 1999, vol. Journal of Hospital Infection. pp. 113-117.
3. Sehrish Saleem R. Ahmad R. Ayub Uzma Ikhlāq Weihong Jin Paul K. Chu. Investigation of Nano-Structured Zirconium Oxide Film on Ti6Al4V Substrate to Improve Tribological Properties Prepared by PIIIandD, 2016.
4. Ivanova EP, Hasan J, Webb HK, Truong VK, Watson GS, Watson JA, Baulin VA, Pogodin S, Wang JY, Tobin MJ, Løbbe C, Crawford RJ. Natural Bactericidal Surfaces: Mechanical Rupture of Pseudomonas Aeruginosa Cells by Cicada Wings, 2012. pp. 2489-2494.
5. Yin J., Mei ML., Li Q., Xia R., Zhang Z., Chu CH. Self-Cleaning and Antibiofouling Enamel Surface by Slippery Liquid-Infused Technique, 2016.
6. Jafar Hasan, Russell J. Crawford, and Elena P. Ivanova. Antibacterial Surfaces: The Quest for a New Generation of Biomaterials, 2013.
7. Lingzhou Zhao, Paul K. Chu, Yumei Zhang, Zhifen Wu. Antibacterial Coatings on Titanium Implants, 2009. pp. 470-480.
8. Armandas Balčytis, Gediminas Seniutinas, Florian Lapierre, Saulius Juodkazis. Artificial Antibacterial Surfaces that are Simple to Fabricate, 2015. pp. 27-39.
9. Heng-Li Huang, Yin-Yu Chang, Jui-Ching Weng, Ya-Chi Chen, Chih-Ho Lai, Tzong-Ming Shieh. Anti-Bacterial Performance of Zirconia Coatings on Titanium Implants, 2012.
10. C.T. Chen, C.L. Cheng, T.T. Chen, Y.F. Chen. Improved Physical Properties of ZnO Nanostructures by In Inclusion.
11. Takashi Kawahara, Yoko Takeuchi, Gang Wei, Kumi Shirai, Takeshi Yamauchi, Norio Tsubokawa. Antibacterial Polymer-Grafted Silica Nanoparticle, 2009. pp. 744-751.
13. SONDI I, S.B. Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agent: A Case Study on E. Coli as a Model for Gram-Negative Bacteria., 2004. pp. 177-182.
14. Zong-ming Xiu, Qing-bo Zhang, Hema L. Puppala, Vicki L. Colvin, and Pedro J. J. Alvarez. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles, 2012. pp. 4271-4275.

15. Erica Mitchell. Silver Vs Copper: Which is the Better Biocide?, 2015.
16. Valerian Pershin, Thomas Portman, Javad Mostaghimi. Coatings, Coated Surfaces, and Methods for Production Thereof, 2012.
17. Dollwet, H. H. A. and Sorenson, J. R. J. Historic Uses of Copper Compounds in Medicine , 1985. pp. 198.
18. Gregor Grass, Christopher Rensing, Marc Solioz. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface, 2011. pp. 1541-1547.
19. MANZL, C., et al. Copper-Induced Formation of Reactive Oxygen Species Causes Cell Death and Disruption of Calcium Homeostasis in Trout Hepatocytes, 2004. pp. 196.
20. Dollwet, H. H. A. and Sorenson, J. R. J. Historic Uses of Copper Compounds in Medicine.
21. Michael G. Schmidt, Rachel E. Tuuri, Arif Dharsee, Hubert H. Attaway, Sarah E. Fairey, Keith T. Borg, Cassandra D. Salgado, Bruce E. Hirsch. Antimicrobial Copper Alloys Decreased Bacteria on Stethoscope Surfaces, 2007.
22. Michael Hans, Andreas Erbe, Salima Mathews, Ying Chen, Marc Solioz, Frank Mücklich. Role of Copper Oxides in Contact Killing of Bacteria, 2013.
23. Iliia Platzman, Reuven Brener, Hossam Haick, Rina Tannenbaum. Oxidation of Polycrystalline Copper Thin Films at Ambient Conditions, 2007. pp. 1101-1107.
24. John M. Boyce MD, Nancy L. Havill MT, CIC, Kerri A. Guercia MTa, Steven J. Schweon RN, MPH, MSN, CIC, FSHEA c, Brent A. Moore PhD. Evaluation of Two Organosilane Products for Sustained Antimicrobial Activity on High-Touch Surfaces in Patient Rooms, 2014. pp. 326-328.
25. Thierry Materne, François de Buyl, Gerald L. Witucki. Organosilane Technology in Coating Applications, 2006.
26. Olivier Tenaillon, David Skurnik, Bertrand Picard and Erick Denamur. The Population Genetics of Commensal Escherichia Coli, 2010.
27. Centers for disease control and prevention.
28. E. Coli Paveikslukas.
29. M. B. Visser and R. P. Ellen. New Insights into the Emerging Role of Oral Spirochaetes in Periodontal Disease, 2011.
30. W. J. Loesche. Role of Streptococcus Mutans in Human Dental Decay, 1986. pp. 353-380.
31. Ashok Shah, Chandramani Panjabi, Vidya Nair, Rama Chaudhry, S.S. Thukral. Veillonella as a Cause of Chronic Anaerobic Pneumoniti, 2008.

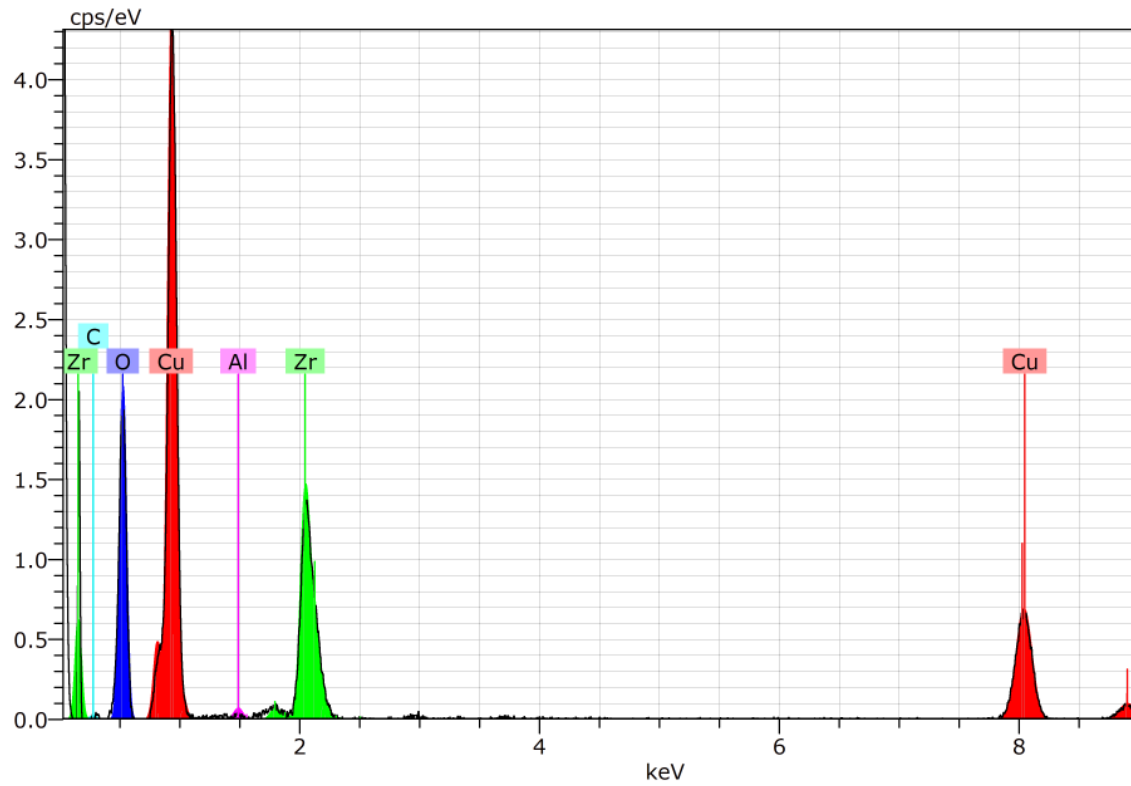
32. Chia-Jung Hsieha, Kao-Pin Hwangb, Kuang-Che Kuo, Po-Ren Hsueh. Facial Cellulitis because of Aggregatibacter (Actinobacillus) Actinomycetemcomitans and Capnocytophaga Species in an Immunocompetent Patient, 2010. pp. 149-151.
33. A. M. Vinogradov, M. Winston, C.J. Rupp, P. Stoodley. Rheology of Biofilms Formed from the Dental Plaque Pathogen Streptococcus Mutans, 2004. pp. 49-56.
34. Walter J. Loesche. Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease, 1996.
36. G. Maccauro, P. Rossi Iommetti, P. F. Manicone, L. Raffaelli. Zirconia and Alumina Biocompatibility, 2012.
37. Gottfried Schmalz, Dorthe Arenholt Bindslev. Biocompatibility of Dental Materials, 2009. pp. 1-40.
38. Genasan Krishnamurithya, Noor Azlin Yahyab, Mehdi Mehralic, Mohammad Mehralid, Saktiswaren Mohana, Malliga Raman Muralia, Hanumantha Rao Balaji Raghavendrana, Tunku Kamaru. Effects of Carbon Doping on the Microstructural, Micro/Nano-Mechanical, and Mesenchymal Stromal Cells Biocompatibility and Osteogenic Differentiation Properties of Alumina, 2016. pp. 18247-18256.
39. Bijendra Singh. Orthopaedic Metal Alloys, 2010.
40. Strietzel R, Hösch A, Kalbfleisch H, Buch D. In Vitro Corrosion of Titanium, 1998. pp. 1495-1499.
41. Na Ren, Jianhua Li, Jichuan Qiu, Mei Yan, Haiyum Liu, Dandan Ji, Jiadong Huang G. Maccauro, P. Rossi Iommetti, P.F. Manicone, L. Raffaelli. Growth and Accelerated Differentiation Of mesenchymal Stem Cells On graphene-Oxide-Coated Titanate With dexamethasone on Surface of Titanium Implants, 2012.
42. Uttkarsh S. Patela, Kartik H. Patela, Kamlesh V. Chauhana, Amit Kumar Chawlab, Sushant K. Rawala. Investigation of various Properties for Zirconium Oxide Films Synthesized by Sputtering, 2016.
43. Arundhati Bhowmicka, Nilkamal Pramanika, Piyali Janaa, Tapas Mitraa, Arumugam Gnanamanib, Manas Dasc, Patit Paban Kundua. Development of Bone-Like Zirconium Oxide Nanoceramic Modified chitosan Based Porous Nanocomposites for Biomedical Application, 2016. pp. 348-355.
44. PICONI C1, M.G. Zirconia as a Ceramic Biomaterial, 1999. pp. 1-25.
45. Hulbert SF, Morrison SJ, Klavitter JJ. Tissue Reaction to Three Ceramics of Porous and Non-Porous Structure , 1972. pp. 347-374.
46. HELMER JD, D.T. Research on Bioceramics. Symp. on use of Ceramics as Surgical Implants, 1969.

47. Bukat A, Fassina P, Greco F, Piantelli S, Piconi C, Zaghini N. GSP-made Ca-PSZ for Biomedical Applications, 1990. pp. 355-365.
48. Biswajoy Bagchi, Sumit Dey, Suman Bhandary, Sukhen Das, Alakananda Bhattacharya, Ruma Basu, Papiya Nandy. Antimicrobial Efficacy and Biocompatibility Study of Copper Nanoparticle Adsorbed Mullite Aggregates, 2012. pp. 1897-1905.
49. Julius Dudonis. Plonų Dangu Fizika Ir Nanotechnologijos, 2007. pp. 105-204.
50. Indium corporation. Chemical Vapour Deposition Vs. Physical Vapor Deposition, 2008.
51. P.J KELLY, R.D.A. Magnetron Sputtering: A Review of Recent Developments and Applications, 2000. pp. 159-172.
52. Arun Augustin, K. Rajendra Udupa, Udaya Bhat K. Effect of Pre-Zinc Coating on the Properties and Structure of DC Magnetron Sputtered Copper Thin Film on Aluminium, 2015.
53. K. Juškevičius, M. Audronis, A. Subačius, R. Drazdys, R. Juškėnas, A. Matthews, A. Leyland. High-Rate Reactive Magnetron Sputtering of Zirconia Films for Laser Optics Applications, 2014.
54. Matthew M. Waite, S. Ismat Shah, David A. Glocker. Sputtering Sources, 2007.
55. S. Ben Amor, B. Rogier, G. Baud, M. Jacquet, M. Nardin. Characterization of Zirconia Films Deposited by R.F. Magnetron Sputtering, 1998.
56. Juyun Park, Jin Kook Heo, and Yong-Cheol Kang. The Properties of RF Sputtered Zirconium Oxide Thin Films at Different Plasma Gas Ratio, 2010.
57. Jie Guo, Guanghui Zhan, Jingquan Liu, Bin Yang, Bin Xu, Jie Feng, Xiang Chen, Chunsheng Yang. Hopping Conduction in Zirconium Oxynitrides Thin Film Deposited by Reactive Magnetron Sputtering, 2015.
58. Pengtao Gao, L.J. Meng, M.P. dos Santos, V. Teixeira, M. Andritschky. Influence of Sputtering Pressure on the Structure and Properties of ZrO₂ Films Prepared by Rf Reactive Sputtering, 2000.
59. A. GALDIKAS, V.M. Medžiagų Analizės Metodai, 2007. pp. 27-167.
60. Ambios XP200 Profiler Operating Manual.
61. Barbara L Dutrow, Christine M. Clark. X-Ray Powder Diffraction (XRD).
62. Nikolay V. Ershov, Yuri P. Chernenkov, Vladimir I. Fedorov, Vera A. Lukshina, Nadezda M. Kleinerman, Vadim V. Serikov, Anatoly P. Potapov, Nikita K. Yurchenko. Structure of Nanocrystals in Finemets with Different Silicon Content and Stress-Induced Magnetic Anisotropy, 2011.
63. Central Facility for Advanced Microscopy and Microanalysis. Introduction to Energy Dispersive X-Ray Spectrometry (EDS).

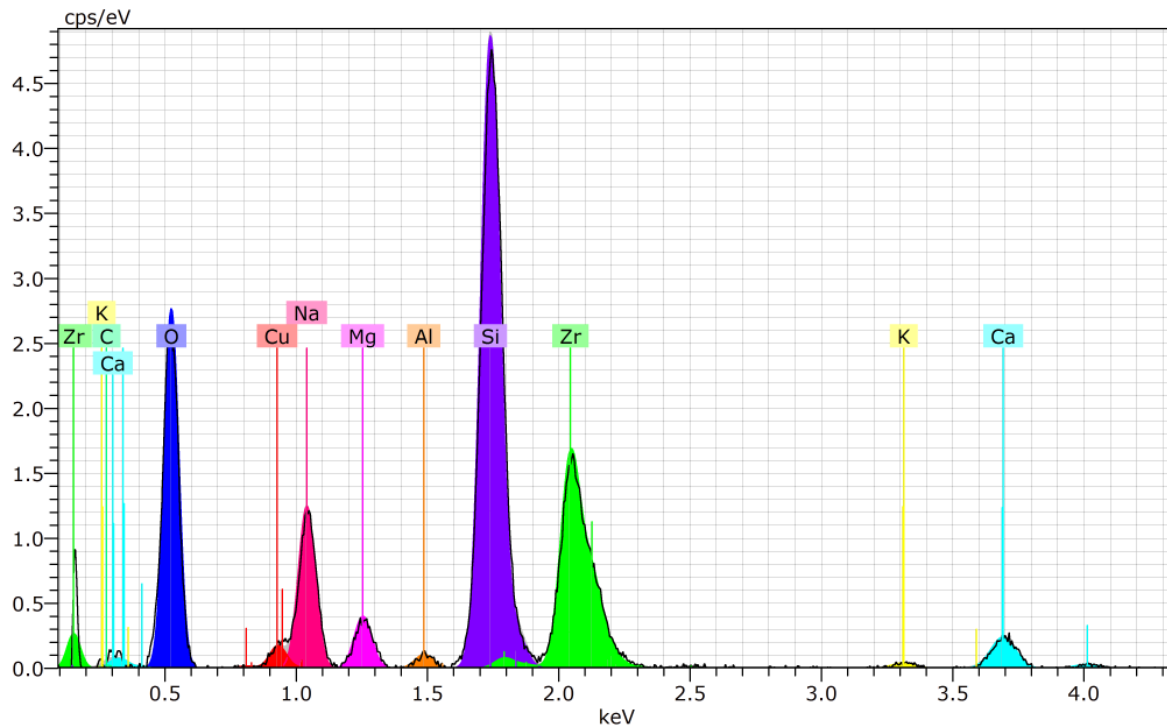
64. Goldstein, J., Newbury, D.E., Joy, D.C., Lyman, C.E., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L., Michael, J.R. Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis, 2003, vol. Third Edition.
65. John J. Friel. X-Ray and Image Analysis in Electron Microscopy, 2003. pp. 16-32.
66. S. Dong. Wall-Bounded Multiphase Flows of N Immiscible Incompressible Fluids: Consistency and Contact-Angle Boundary Condition, 2017. pp. 21-67.
67. Alla Splichalovaa, Igor Splichala, Ulrich Sonnenbornb, Vojtech Rada. A Modified MacConkey Agar for Selective Enumeration of Necrotogenic E. Coli O55 and Probiotic E. Coli Nissle 1917, 2014.
68. Merriam Webster Dictionary, <https://www.merriam-webster.com/dictionary/agar>
69. Oxford University. Oxford English Dictionary, <https://en.oxforddictionaries.com/definition/agar>
70. Lama Misba, Sahar Zaidi, Asad U. Khan. A Comparison of Antibacterial and Antibiofilm Efficacy Ofphenothiazinium Dyes between Gram Positive and Gram Negativebacterial Biofilm, 2017. pp. 24-33.
71. Lietuvių Kalbos Žodynas, <http://www.zodynas.lt/tarptautinis-zodziu-zodynas/K/kokai>
72. Patricia Lammel, Boray Torun, Christoph Kleber, Guido Grundmeier. In-Situ AFM Study of the Electrodeposition of Copper on Plasma Modified Carbon Fibre-Reinforced Polymer Surfaces, 2013. pp. 22-28.
73. N. Balaram, M. Siva Pratap Reddy, V. Rajagopal Reddy, Chinho Park. Effects of High-K Zirconium Oxide (ZrO₂) Interlayer on the Electrical and Transport Properties of Au/N-Type InP Schottky Diod, 2016. pp. 231-238.
74. Ignacio Azócar, Esteban Vargas, Nicole Duran, Abel Arrieta, Evelyn González, Jorge Pavez, Marcelo J. Kogan, Jose H. Zagal, Maritza A. Paez. Preparation and Antibacterial Properties of Hybrid-Zirconia Films with Silver Nanoparticles. 2012. pp. 396-403.

PRIEDAI

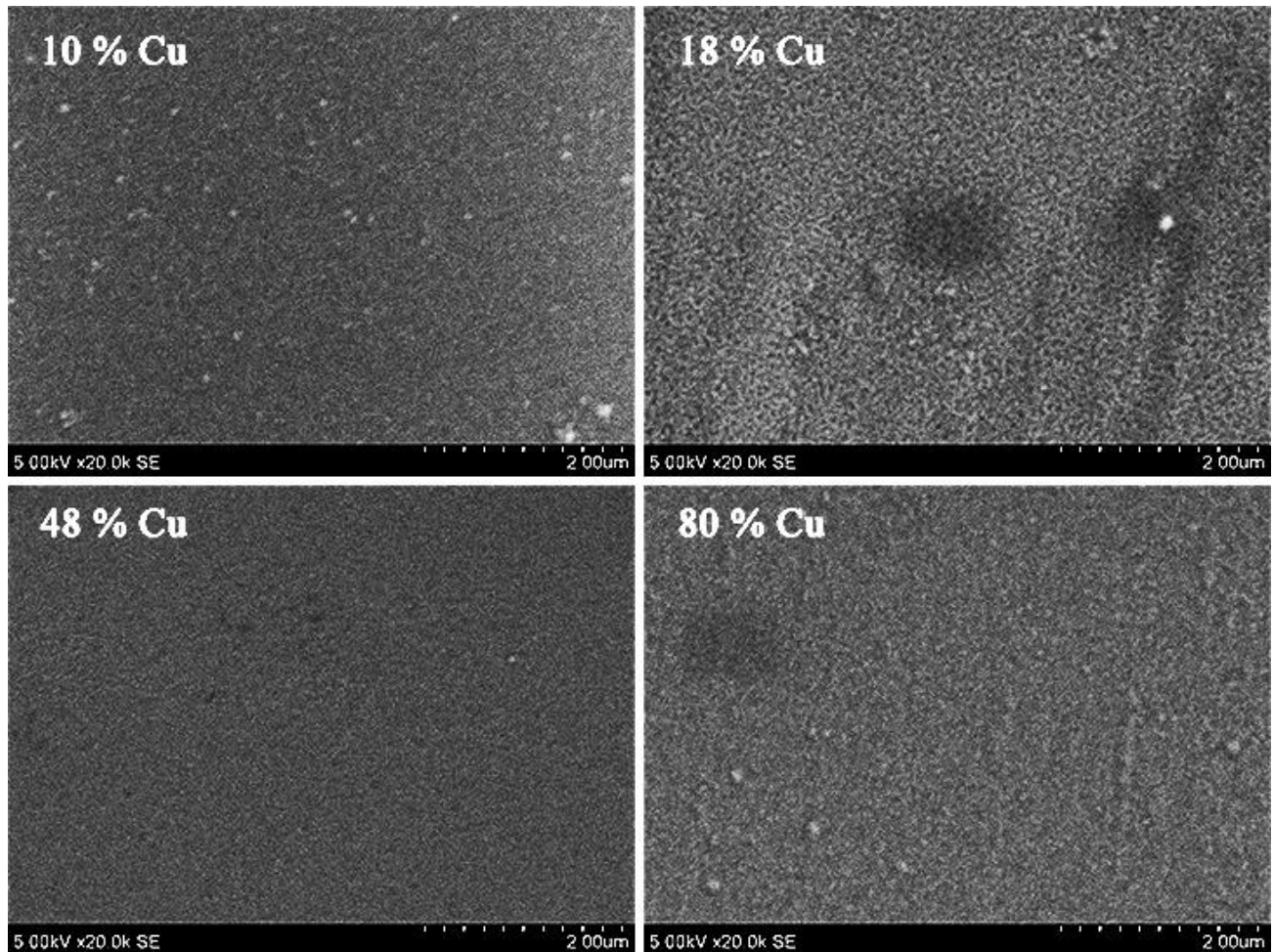
Priedas nr. 1. EDS rezultatai dangos su 80 % Cu priemaišų koncentracija



Priedas nr. 2. EDS rezultatai dangos su 10 % Cu priemaišų koncentracija



Priedas nr. 3. 20 000 kartų padidintas ZrO₂ ir Cu dangos paviršius su skirtingomis Cu priemaišų koncentracijomis



Priedas nr. 4. 60 000 kartų padidintas ZrO₂ ir Cu dangos paviršius su skirtingomis Cu priemaišų koncentracijomis

