



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Studentská vědecká a odborná činnost 2018

Mechatronika

24. květen 2018

**Technická univerzita v Liberci
Univerzitní náměstí 1410/1
budova G,
461 17 Liberec**



Recenzent: Martin Bílek

Editor: Dora Kroisová

Obsah

MECHATRONIKA – navazující studijní program

VÝVOJ IONTOVÝMĚNNÝCH MEMBRÁN S ANTIMIKROBIÁLNÍMI ADITIVY

Kateřina KESLEROVÁ

4

VÝVOJ DVOUVRSTVÝCH VLÁKENNÝCH TKÁŇOVÝCH NOSIČŮ S ODLIŠNOU SMÁČIVOSTÍ POVRCHU PRO ZPEVNĚNÍ STŘEVNÍCH ANASTOMÓZ

Markéta KLÍČOVÁ

13

PŘÍPRAVA OXIDŮ ŽELEZA VE FORMĚ NANOČÁSTIC METODOU ZELENÉ SYNTÉZY

Ondřej SEIBERT

23

NUMERICKÉ MODELOVÁNÍ INTERAKCE PROUDĚNÍ A PRUŽNÉHO TĚLESA V LIDSKÉM VOKÁLNÍM TRAKTU

Petra TISOVSKÁ

29

PŘÍPRAVA SCINTILAČNÍ VRSTVY Z NANOPRÁŠKU PRO X-RAY ANALÝZU

Ondřej ZAPADLÍK

38

VÝVOJ IONTOVÝMĚNNÝCH MEMBRÁN S ANTIMIKROBIÁLNÍMI ADITIVY

Keslerová Kateřina

Sekce – MECHATRONIKA,

Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, 2. ročník

Navazující studijní program – NANOTECHNOLOGIE

Abstrakt: Tato práce je zaměřena na přípravu anexových membrán s antimikrobiálními aditivy, charakterizaci jejich vlastností a jejich porovnání s referenčním vzorkem. Byly připraveny vzorky membrán se dvěma různými aditivy: s aditivem Sanitized® BC A 21-41 (SANITIZED AG) v koncentracích 0,2 a 0,6 hm% vzhledem k membránové směsi a s aditivem Sanafor™ PO-5 (Janssen PMP – Preservation and Material Protection) v koncentracích 1 a 4 hm%. Referenční vzorek membrány aditiva neobsahoval.

Byly provedeny testy mechanických, fyzikálně-chemických vlastností a antibakteriální aktivity (tahové testy, měření odporu, permselectivity, iontovýměnné kapacity, izolace DNA, inhibiční testy).

Jako nejvhodnější modifikace se dle výsledků diplomové práce jeví přidání aditiva Sanafor™ PO-5 v koncentraci 4 hm% vzhledem k membránové směsi. Vzorek vykazoval nejnížší elektrický odpor společně s nejvyšší antibakteriální aktivitou oproti referenčnímu vzorku.

Klíčová slova: Antimikrobiální aditiva, elektrodialýza, elektromembránové procesy, inhibiční zóny, izolace DNA, membrány

Úvod

Membránové procesy jsou nedílnou součástí našich životů, pomáhají např. zlepšovat kvalitu životního prostředí, jsou využívány v potravinářském a chemickém průmyslu apod.

Membránové procesy lze klasifikovat podle řady kritérií, nejčastěji jsou však děleny podle hnací síly procesu, tedy na tlakové membránové procesy (reverzní osmóza, nanofiltrace, mikrofiltrace, ultrafiltrace), elektromembránové procesy (elektrodialýza, elektrodeionizace), separace plynů a par. Využívají se v mnoha praktických aplikacích, jako je odsolování vodných roztoků a s tím spojená příprava velmi čisté vody, oddělování vysokomolekulárních látek od nízkomolekulárních nebo oddělování směsi plynů či plynů a par.

Mezi základní elektromembránové procesy se řadí elektrodialýza a elektrodeionizace. Hnací silou v elektromembránových procesech je gradient elektrického potenciálu, při této metodě se tedy využívá elektrického pole a iontovýměnných membrán.

Na elektromembránové procesy jsou kladeny vysoké nároky. V první řadě je to minimální spotřeba energií s co nejvyšší účinností. Nemalý důraz je také kladen na, pokud možno, co nejnížší provozní náklady a zároveň dobrou zpracovatelnost odpadních látek.

Při pracovním procesu dochází, a to nejen v elektromembránových procesech, k zanášení membrán organickými i anorganickými sloučeninami, což vyžaduje provádění pravidelné údržby, popřípadě i výměnu celého elektrodialyzačního modulu. Časově i finančně náročné operaci je možné předcházet modifikací membrán vhodnými antimikrobiálními aditivy, které omezí tvorbu biofilmu na povrchu membrány.

Cílem této diplomové práce byla příprava antimikrobiálně modifikované elektrodialyzační membrány, její otestování a porovnání jejích nových vlastností vůči referenční, tj. nemodifikované membráně. Práce byla provedena ve spolupráci s Membránovým inovačním centrem MemBrain s.r.o.

1 Teoretická část

1.1 Membránové procesy

Názvem membránové procesy se nazývají separační metody, které pro oddělování jednotlivých složek využívají částečně propustné membrány. Tyto procesy jsou rozdělovány na tlakové membránové procesy, elektromembránové procesy a separaci plynů a par [1].

Tlakové membránové procesy využívají jako hnací sílu rozdíl tlaků nad a pod polopropustnou membránou. Tato membrána poté rozděluje pracovní kapalinu (nástřik) do dvou proudů: proud, který projde membránou (permeát) a proud, který je membránou zadržen (retentát). Podle velikosti separovaných částic se tato metoda dělí na mikrofiltraci, ultrafiltraci, nanofiltraci a reverzní osmózu.

Elektromembránové procesy využívají jako hnací sílu transportu gradient elektrického potenciálu. Při těchto procesech jsou oddělovány kladně a záporně nabitě částice z pracovního roztoku. Mezi elektromembránové separační procesy patří elektrodialýza, elektrodeionizace, membránová elektrolýza a elektroforéza.

Separace plynů a par je uskutečňována pomocí porézních i neporézních membrán. V průmyslu nachází tento typ separace využití při separaci helia, oxidu uhličitého, dusíku od jiných plynů a dále také pro separaci vodních par či organických látek.

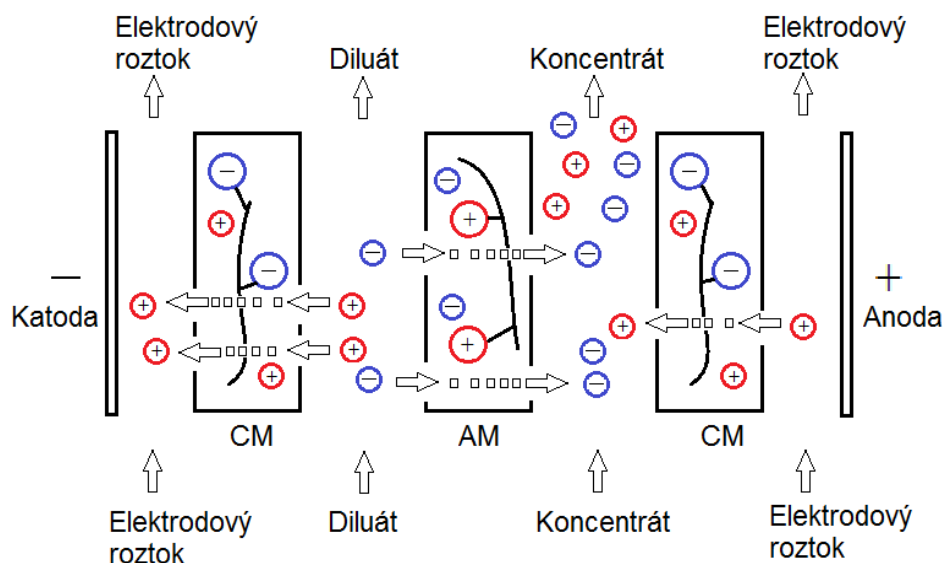
1.2 Elektrodialýza

Elektrodialýza je nejvýznamnějším a v praxi nejčastěji využívaným elektromembránovým procesem. Využití nachází při odsolování či zakonzentrovávání roztoků elektrolytů. Na rozdíl od tlakových membránových procesů, kde je hnací silou procesu tlakový rozdíl před a za membránou, proces elektrodialýzy je založen na využití gradientu stejnosměrného elektrického pole. Při elektrodialýze je využíváno propustnosti iontově selektivních membrán, kdy dochází k separaci tzv. nástřiku do dvou koncových proudů: koncentrátu a diluátu [2, 3].

1.2.1. Princip elektrodialýzy

Elektrodialýza se v základním uspořádání používá k odsolování a koncentrování především vodných roztoků elektrolytů pomocí iontově selektivních membrán. Hnací silou procesu je gradient elektrického pole vytvořený přivedením napětí na elektrody ve stahovacích deskách membránového svazku. Kolem elektrod proudí tzv. elektrodový roztok, který zabraňuje vzniku usazenin na elektrodách a odvádí plyny vznikající při elektrodových reakcích (H_2 , O_2). Elektrodový roztok v elektrodialyzační jednotce musí být elektrochemicky inertní, aby nepodléhal rozkladným reakcím [2, 3].

Ve svazku se pravidelně opakují aniontové a kationtové komory, do kterých je přiveden pracovní roztok. Od sebe jsou odděleny membránami. Kationtově selektivní membrána se běžně značí CM, aniontově selektivní AM. Působením elektrického pole dochází k selekci iontů z roztoku do dvou proudů – koncentrátu a diluátu, jak je patrné z obr. 1. Diluátový proud je proudem odsoleným, ionty z něj přecházejí do koncentrátového proudu. Ten poté svazek opouští s větší koncentrací iontů, než s jakou do něj vstupuje [2].



Obrázek 1 Schéma elektrodialýzy [4]

1.3 Zanášení elektrodialyzačních membrán biologickým materiálem

Biofouling neboli zanášení membrány biologickým materiálem (mikroorganismy a jejich produkty metabolismu) je problémem, který je spojován se všemi membránovými procesy, elektrodialyzačními svazky nevyjímaje. Na biofouling jsou citlivé především anion selektivní membrány, a to z důvodu silné elektrostatické interakce mezi povrchem membrány a buňkami mikroorganismů, resp. bakterií. Většina biologických látek obsažených v přírodních vodách je totiž negativně nabitá, zatímco membrány pro výměnu aniontů jsou kladně nabitě (odpužují kationty a tím přednostně přenášejí přes membrány anionty)[4]. Náboj na povrchu mikroorganismů vzniká protonací či disociací karboxylových, fosfátových nebo aminových skupin. Převaha karboxylových a fosfátových skupin nad aminovými skupinami vede při neutrální hodnotě pH ke vzniku záporného náboje přítomného na povrchu mikroorganismů [5]. Z důvodu náchylnosti anion výměnných membrán na zanášení biologickým materiálem je tato práce zaměřena na jejich modifikaci.

Problematika zanášení elektrodialyzačních membrán biologickým materiálem nebyla doposud důkladně prozkoumána. Touto problematikou se zabývá např. výzkumná skupina Mahboobeh Vasselbehagh. Ta využila pro vytvoření antibakteriálního efektu anion výměnných membrán polydopanimového (PDA) povrstvení. V předchozích studiích tohoto týmu působila PDA vrstva příznivě na omezení zanášení membrán způsobené anorganickými složkami. PDA na povrchu membrány navíc vytváří záporně nabitou vrstvu, čímž zamezuje adhezi bakterií a jejich metabolických produktů, včetně extracelulárních polymerů, na povrch membrány.

2 Experimentální část

2.1 Příprava modifikované membrány

Membrány pro elektrodialýzu jsou připravovány z polyethylenového granulátu a mleté iontovýmenné pryskyřice. Podle typu membrány (anexová/katexová) je zvolena pryskyřice s odpovídajícími funkčními skupinami. Pro tuto práci byla zvolena antibakteriální modifikace anexových membrán s kvartérními amoniovými skupinami vzhledem k jejich náchylnosti k zanášení biologickým materiálem.

Jako první testované antimikrobiální aditivum byl použit přípravek s komerčním názvem SanaforTM PO-5 (Janssen PMP – Preservation and Material Protection). Aditivum Sanafor je dodáváno ve formě polyethylenového granulátu. Jeho aktivní složkou je pyrithion zinečnatý. Vhodné rozmezí koncentrací uváděné výrobcem je 1–4 hm% vzhledem k matici [6].

Druhé testované aditivum byl přípravek s komerčním názvem Sanitized[®] BC A 21-41 (SANITIZED AG). Je dodáváno ve formě stříbrno-skleněného prášku a aktivní složkou je fosforečnan hlinitohořečnatostříbrný. Doporučená koncentrace tohoto aditiva je 0,2-0,6 hm% vzhledem k matici [7].

Obě aditiva byla do membrán zakomponována přimícháním do výchozích surovin při přípravě. Bylo připraveno 5 vzorků membrán: dvě koncentrace od každého aditiva (Sanitized 0,2 hm% a 0,6 hm%; Sanafor 1 hm% a 4 hm%) vždy v minimální a maximální hmotnostní koncentraci z intervalu uvedeného výrobcem a referenční vzorek bez aditiv (AM Standard).

2.2 Měřené parametry

2.2.1 Mechanické vlastnosti

Mechanickými vlastnostmi je myšlena pevnost membránových pásků v tahu, která je měřena na trhacím stroji.

2.2.2 Fyzikálně-elektrochemické vlastnosti

Mezi fyzikální a elektrochemické vlastnosti se řadí permselektivita, iontovýmenná kapacita, plošný a specifický odpor. Permselektivita i iontovýmenná kapacita by měly po modifikaci zůstat nezměněny vzhledem k tomu, že aditivum je do membrán přidáno na úkor polyethylenu a plnění membrán ionexem zůstává stejné. Plošný i specifický odpor je při membránových procesech požadován co nejnižší. Čím větší je odpor membrán, tím menší je účinnost odsolovacího procesu, jelikož dochází ke snížení pohyblivosti volných nosičů náboje.

2.2.3 Antibakteriální aktivita

Pro testování antimikrobiální aktivity modifikovaných membrán byly použity tři různé testy. Jednalo se o analýzu celkové bakteriální DNA přítomné na povrchu membrány, testy inhibičních zón a otisky membrán na agarové plotny. Analýza celkové DNA a otisky byly provedeny na membránách podrobených kontinuálnímu elektrodialyzačnímu procesu po dobu čtyř dnů. Při izolaci DNA bylo DNA z povrchu uvolněno pomocí sady FastDNA Kit (MP Biomedicals) a změřeno fluorometrem Qubit[®] 2.0. Elektrodialyzační jednotka EDR-Z byla přizpůsobena pro cirkulaci syrovátky. Testy inhibičních zón byly provedeny na zbotnaných membránách.

3 Výsledky a diskuze

3.1 Mechanické vlastnosti

V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky tahových testů. $F_{\max}$ (N) vyjadřuje maximální naměřenou sílu působící při testech, σ (MPa) maximální napětí, Δl (%) poměrné prodloužení vzhledem k původní délce a E (MPa) Youngův modul pružnosti v tahu. Nejvyšší Youngův modul pružnosti měl referenční vzorek anexové membrány. Znamená to, že membrány odpovíděly na vyvinutou sílu menšími deformačními účinky. Naopak nejmenší Youngův modul pružnosti měla membrána Sanafor 4 hm%, u které dochází k největším poměrnému prodloužení (téměř o 61 % oproti standardnímu vzorku, vzorek byl více pružný). Rozdíly mezi jednotlivými typy membrán ale nebyly natolik markantní – byly v řádech jednotek, aby výrazně ovlivnily mechanické vlastnosti membrán.

Tabulka 1: Výsledky tahových testů pro modifikované a referenční membrány

Typ membrány	$F_{\max}$ (N)	σ (MPa)	Δl (%)	E (MPa)
AM Standard	$17,0 \pm 0,5$	$1,485 \pm 0,047$	$9,92 \pm 1,54$	$59,9 \pm 1,6$
AM Sanitized 0,2 hm%	$16,2 \pm 0,4$	$1,454 \pm 0,036$	$9,34 \pm 0,59$	$58,6 \pm 0,8$
AM Sanitized 0,6 hm%	$17,9 \pm 0,3$	$1,547 \pm 0,036$	$11,43 \pm 0,74$	$56,9 \pm 1,7$
AM Sanafor 1 hm%	$17,5 \pm 0,3$	$1,483 \pm 0,035$	$14,21 \pm 0,58$	$52,2 \pm 0,3$
AM Sanafor 4 hm%	$16,9 \pm 0,7$	$1,438 \pm 0,049$	$15,95 \pm 0,26$	$52,0 \pm 1,4$

3.2 Elektro-chemické vlastnosti

3.2.1 Plošný a specifický elektrický odpor

V tabulce 2 jsou uvedeny výsledky měření plošného $R_{A,jprůměr}$ a specifického odporu $R_{S,jprůměr}$. Plošný odpor udává odpor membrány na jednotku plochy, specifický odpor je teoretická hodnota vztažená k toušťce membrány, sloužící pro lepší porovnání. Z tabulky vyplývá, že přidáním aditiva se odpor výrazně sníží, což je pro elektromembránové procesy žádaný výsledek. Snížení odporu je pravděpodobně zapříčiněno obsahem kovových částic v aditivu. Nejnížší hodnotu specifického i plošného odporu má vzorek AM Sanafor 4 hm%.

Tabulka 2: Výsledky měření plošného a specifického odporu

Typ membrány	$R_{A,jprůměr}$ ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	$R_{S,jprůměr}$ ($\Omega \cdot \text{cm}$)
AM Standard	$4,90 \pm 0,12$	$105,9 \pm 0,3$
AM Sanitized 0,2 hm%	$3,24 \pm 0,09$	$72,8 \pm 0,1$
AM Sanitized 0,6 hm%	$3,00 \pm 0,06$	$66,0 \pm 0,1$
AM Sanafor 1 hm%	$3,16 \pm 0,09$	$68,4 \pm 0,1$
AM Sanafor 4 hm%	$2,91 \pm 0,09$	$64,3 \pm 0,1$

3.2.2 Permselektivita

Permselektivita vyjadřuje schopnost membrány zvýhodnit selekci jedné složky nad druhou (kladné nad zápornou/záporné nad kladnou). V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky výpočtu permselektivity. Z tabulky vyplývá, že se permselektivita u vzorků s přidáním aditivem liší jen o necelé procento ve srovnání s referenčním vzorkem. Ve třech případech ze čtyř se permselektivita u vzorků s aditivem snížila, u vzorku AM Sanafor 0,2 hm% dochází naopak

k velmi mírnému nárůstu permselektivity. Vzhledem k přidání aditiva do matrice na úkor polyethylenu, přičemž plnění ionexem zůstává nezměněno, by nemělo mít aditivum na permselektivitu žádný vliv, což je z tabulky potvrzeno.

Tabulka 3: Výsledky měření permselektivity

Typ membrány	P (%)
AM Standard	88,18 ± 0,12
AM Sanitized 0,2 hm%	88,59 ± 0,09
AM Sanitized 0,6 hm%	87,57 ± 0,10
AM Sanafor 1 hm%	87,93 ± 0,12
AM Sanafor 4 hm%	87,93 ± 0,13

3.2.3 Iontovýměnná kapacita

Iontovýměnná kapacita (IEC) je veličinou určující množství kationtových nebo aniontových aktivních center membrány. Charakterizuje tedy množství pohyblivých iontů membrány, které jsou dostupné pro transport iontů skrz membránu. V tabulce 4 jsou uvedeny vypočtené hodnoty iontovýměnné kapacity. Z tabulky vyplývá, že se hodnoty referenčního vzorku a vzorků s aditivu téměř neliší. Stejně jako u výsledků měření permselektivity, by přidání aditiva nemělo mít na iontovýměnnou kapacitu vliv. Iontovýměnná kapacita je závislá především na obsahu ionexu v membráně, to zůstává i při přidání aditiva stejné. Aditiva jsou do matrice membrán přidána na úkor polyethylenu. Nejvyšší a nejnižší hodnota iontovýměnné kapacity se od sebe liší o pouhou jednu desetinu.

Tabulka 4: Výsledky měření iontovýměnné kapacity

Typ membrány	IEC (mekv·g ⁻¹ sušiny)
AM Standard	2,30 ± 0,04
AM Sanitized 0,2 hm%	2,27 ± 0,03
AM Sanitized 0,6 hm%	2,20 ± 0,04
AM Sanafor 1 hm%	2,30 ± 0,06
AM Sanafor 4 hm%	2,28 ± 0,02

3.3 Antibakteriální aktivita

3.3.1 Izolace DNA

V tabulce 5 jsou uvedeny pomocí fluorometru naměřené hodnoty po izolaci DNA. Hodnoty udávají množství DNA na vzorcích, čím vyšší je tedy číslo, tím více je membrána náchylná k biofoulingu. Množství DNA v použité syrovátce bylo (22,0 ± 0,4) ng·μl⁻¹. Výsledky izolace DNA korespondují s výsledky měření elektrického odporu. Bylo prokázáno, že se zvyšujícím se obsahem aditiva dochází ke snížení elektrického odporu a zároveň k potlačení nárůstu bakteriálního osídlení na povrchu membrány. Nejnižší odpor a nejnižší bakteriální osídlení povrchu vykazoval vzorek AM Sanafor 4 hm%.

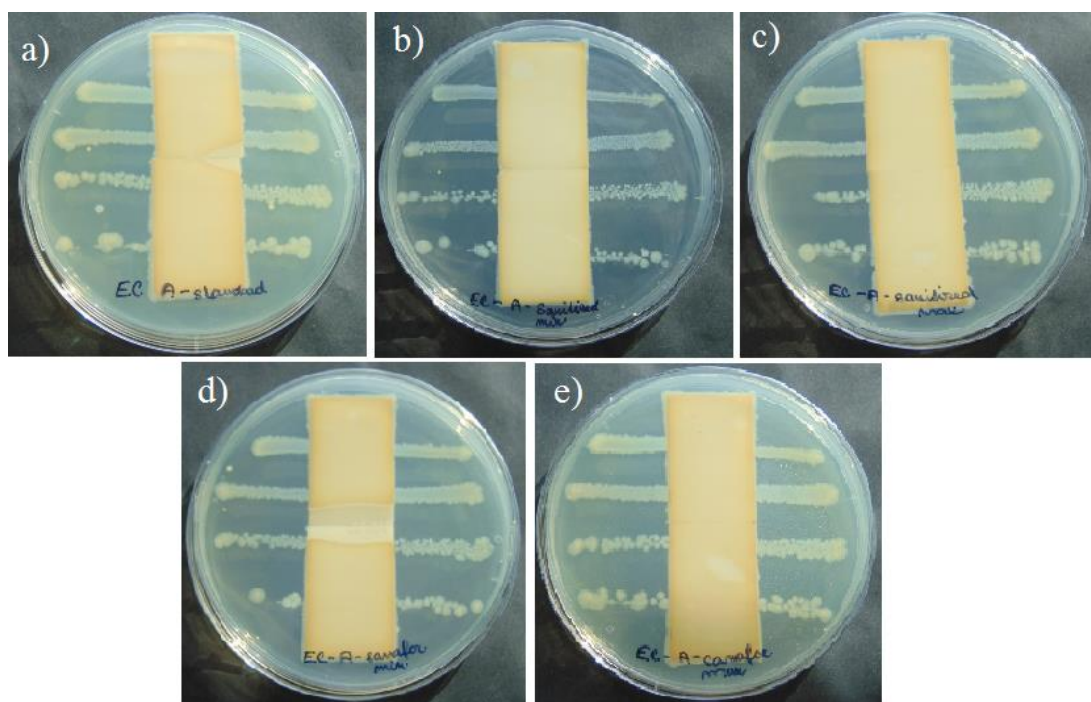
Tabulka 5: Výsledky měření koncentrace DNA na povrchu membrány

Typ membrány	C _{DNA} (ng·μl ⁻¹)
AM Standard	7,81 ± 0,79
AM Sanitized 0,2 hm%	17,10 ± 1,40
AM Sanitized 0,6 hm%	1,70 ± 0,44
AM Sanafor 1 hm%	10,10 ± 0,10
AM Sanafor 4 hm%	0,19 ± 0,03

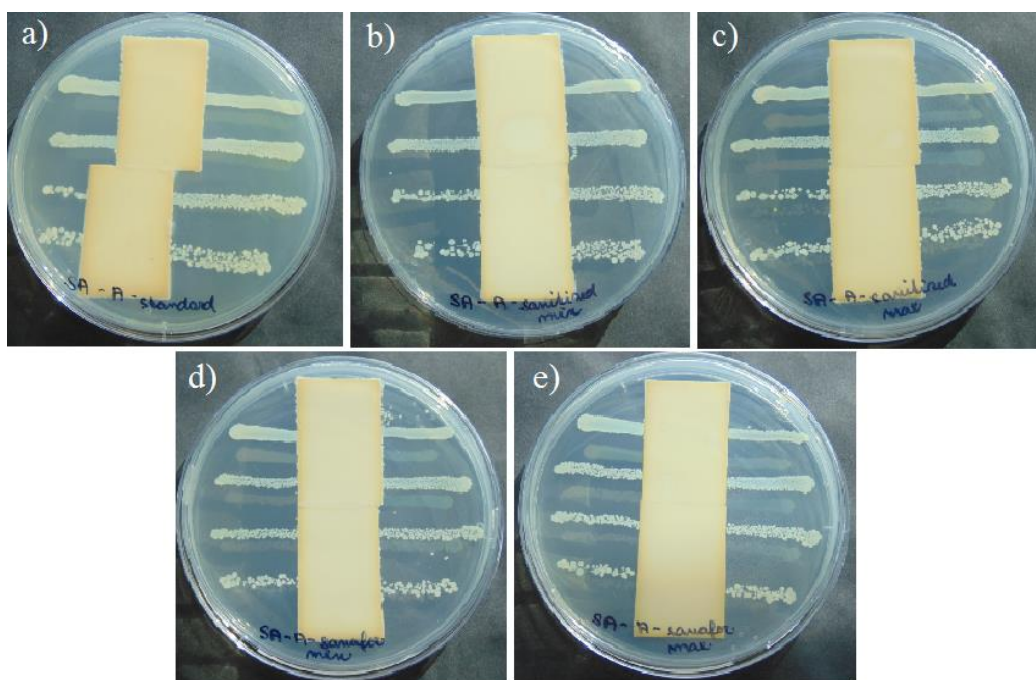
3.3.2 Testy inhibiční zón

Testy inhibičních zón spočívaly v pozorování účinků membrány na předem vybrané druhy bakteriálních suspenzí a jejich osídlení v okolí membránového pásku. Pro vytvoření suspenzí byly pro tento test zvoleny dva druhy bakterií, zástupce gramnegativních bakterií *Escherichia Coli* a grampozitivních bakterií *Staphylococcus Aureus*, obě dvě ve čtyřech koncentracích (2; 1; 0,1; 0,01 McF). Byla odečtena šíře inhibiční zóny, tj. šíře vlivu vzorku na bakteriální osídlení. U referenčního vzorku byla předpokládána nulová inhibiční zóna, a navíc podrůstání bakteriálního osídlení i pod membránou.

Výsledky inhibičních testů byly pro všechny vzorky téměř stejné. Bakteriální osídlení bylo patrné až k okraji membrány u obou bakteriálních kmenů ve všech koncentracích a ani u referenčního vzorku nedošlo k podrůstání bakterií pod vzorkem. Znamená to tedy, že i referenční vzorek anexové membrány měl sám mírné antibakteriální účinky a vytvářel prostředí pro bakterie nevhodné. Zároveň bylo tímto testem ověřeno nevymývání aditiva a jeho setrvávání uvnitř vzorku. Pokud by docházelo k migraci aditiva, projevilo by se to vznikem inhibiční zóny v okolí vzorku. Na obrázku 2 jsou zobrazeny snímky agarových ploten z inhibičních testů pro kulturu *E. coli*, na obrázku 3 snímky pro kulturu *S. Aureus*.



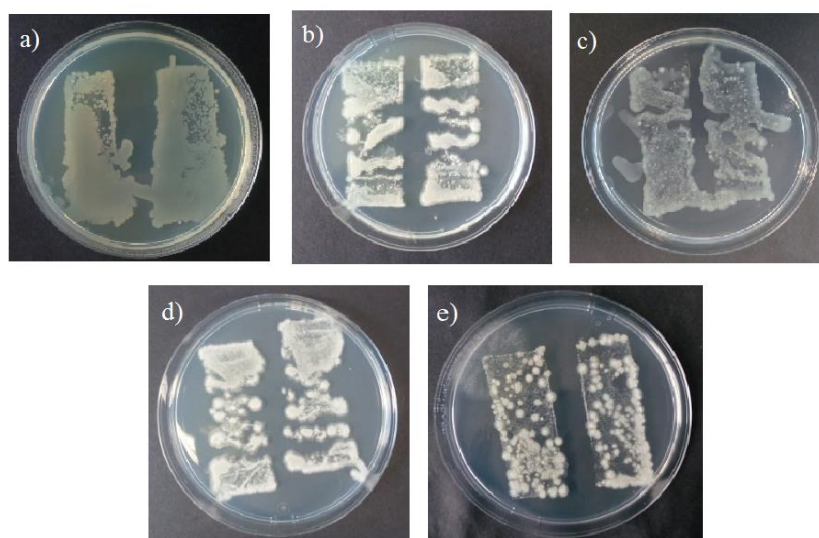
Obrázek 2: Inhibiční testy - suspenze *E. coli*: a) AM Standard, b) AM Sanitized 0,2 hm%, c) AM Sanitized 0,6 hm%, d) AM Sanafor 1 hm%, e) AM Sanafor 4 hm%



Obrázek 3: Inhibiční testy - suspenze *S. Aureus*: a) AM Standard, b) AM Sanitized 0,2 hm%, c) AM Sanitized 0,6 hm%, d) AM Sanafor 1 hm%, e) AM Sanafor 4 hm%

3.3.3 Otisky na agarovou plotnu

Vzorky membrán pro otisky obsahovaly velké množství vody, došlo proto k nárůstu plísně a tím i znehodnocení vzorků. Výsledky těchto otisků jsou uvedeny na obr. 4. Na části a) je snímek otisku referenčního vzorku, kde je patrný kontinuální výsev (jednotlivá vrstva bakteriálního osídlení) v místě otisku. Na části e) je snímek vzorku Sanafor MAX, který vykazoval nejnižší bakteriální osídlení povrchu podle izolace DNA a zároveň nejvyšší elektrický odpor.



Obrázek 4: Otisky na agarové plotny: a) AM Standard, b) AM Sanitized 0,2 hm%, c) AM Sanitized 0,6 hm%, d) AM Sanafor 1 hm%, e) AM Sanafor 4 hm%%

Závěr

Cílem této práce bylo připravit membrány pro elektrodialýzu s antibakteriálními účinky, tedy membrány modifikované komerčními antibakteriálními aditivami a poté otestovat jejich mechanické, fyzikálně-chemické vlastnosti a jejich antibakteriální aktivitu.

Byly připraveny vzorky membrán se dvěma různými aditivami. První varianta membrán byla s přidavkem aditiva Sanitized® BC A 21-41 (SANITIZED AG), a to ve dvou koncentracích 0,2 a 0,6 hm% vzhledem k membránové směsi. Druhá varianta byla s přidavkem aditiva Sanafor™ PO-5 (Janssen PMP – Preservation and Material Protection) také ve dvou koncentracích 1 a 4 hm%. Byl také připraven referenční vzorek membrány, který aditiva neobsahoval.

Mezi připravenými vzorky byly prokázány rozdíly v elektrickém odporu, kdy se zvyšující se koncentrací aditiva elektrický odpor klesal. Nejnižší elektrický odpor vykazoval vzorek s 4 hm% aditiva Sanafor. Tento vzorek vykazoval také nevyšší antibakteriální aktivitu a při testu izolace DNA vykazoval nejnižší bakteriální osídlení. Naopak u vzorků s nižšími koncentracemi aditiv došlo ke zvýšení antibakteriálního osídlení.

Inhibiční zóny byly ve všech případech nulové. To značí statické antibakteriální účinky bez vyplavování aditiv obsažených v modifikovaných membránách. U referenčního vzorku nedošlo k podrůstání bakterií pod membránovým páskem, což naznačuje mírné antibakteriální účinky také u nemodifikované membrány.

Jako nejvhodnější modifikace se jeví přidání aditiva Sanafor™ PO-5 v koncentraci 4 hm% vzhledem k membránové směsi. Manipulaci s aditivem značně usnadňuje jeho granulátová forma a jak už bylo zmíněno výše, vzorek vykazoval nejnižší elektrický odpor společně s nejvyšší antibakteriální aktivitou.

Literatura

- [1] BERNAUER, Bohumil. *Membránové procesy*. B.m.: VŠCHT Praha, 2012. ISBN 978-80-7080-808-5.
- [2] NOVÁK, Luboš. *Elektromembránové procesy*. B.m.: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014. ISBN 978-80-7080-865-8.
- [3] *Elektromembránové procesy | Czemp* [online]. [vid. 2017-05-17]. Dostupné z: <http://www.czemp.cz/cs/membranove-procesy/elektromembranove-procesy>
- [4] STRÁNSKÁ, Eliška, David NEDĚLA, Robert VÁLEK a Jan KŘIVČÍK. OPTIMALIZACE PŘÍPRAVY HETEROGENNÍ KATIONVÝMĚNNÉ MEMBRÁNY S VYUŽITÍM RŮZNÉ DISTRIBUCE VELIKOSTÍ ČÁSTIC IONTOVÝMĚNNÉ PRYSKYŘICE. *Chemické listy*. nedatováno, (109), 701–709.
- [5] STRATHMANN, H. Electrodialysis, a mature technology with a multitude of new applications. *Desalination* [online]. 2010, **264**(3), Special Issue to honour the previous editor Miriam Balaban, 268–288. ISSN 0011-9164. Dostupné z: doi:10.1016/j.desal.2010.04.069
- [6] *THE SCIENCE OF SANAFOR® | Sanafor* [online]. [vid. 2018-04-01]. Dostupné z: <https://www.sanafor.com/meet-sanafor/science-sanafor%C2%AE>
- [7] AG, SANITIZED. *SANITIZED* [online]. [vid. 2018-05-08]. Dostupné z: <https://www.sanitized.com/>

VÝVOJ DVOUVRSTVÝCH VLÁKENNÝCH TKÁŇOVÝCH NOSIČŮ S ODLIŠNOU SMÁČIVOSTÍ POVRCHU PRO ZPEVNĚNÍ STŘEVNÍCH ANASTOMÓZ

Klíčová Markéta

Sekce - MECHATRONIKA,
Fakulta Mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, 2. ročník
Navazující studijní program – NANOTECHNOLOGIE

Abstrakt: Netěsnost střevních anastomóz vede k seriózním pooperačním komplikacím. Překrytí chirurgické anastomózy dvouvrstvým vláknenným materiálem představuje zcela inovativní způsob, jak zabránit prosakování střevního obsahu skrz anastomózu a usnadnit hojení. Předpokládá se, že hydrofilní strana přilne k anastomóze, a naopak hydrofóbní strana materiálu vytvoří kontakt s okolním prostředím a zabráni srůstům hladkých tkání v dutině břišní. V této práci jsou představeny dva materiály, které by potenciálně mohly sloužit pro tento účel. Tyto vláknenné materiály byly vytvořeny pomocí elektrostatického zvlákňování. První dvouvrstvu tvoří hydrofilní ultrajemná nanovlákna kyseliny hyaluronové (HA) a hydrofóbní vlákna poly-ε-kaprolaktonu (PCL). Druhým materiálem je vrstva hydrofilních vláken polyvinylalkoholu (PVA) a vrstva hydrofóbních vláken PCL. Hydrofilní strany obou materiálů byly rovněž ošetřeny methanovým plazmatem, což vedlo ke zvýšení hydrofobicity vláken HA při zachování cytokompatibility. Materiály byly otestovány biologickými *in vitro* testy.

Klíčová slova: nanovlákna, tkáňové inženýrství, elektrostatické zvlákňování, střevní anastomóza, plazmatická modifikace

1 Úvod

Kolorektální karcinom je jedno z nejčastěji se vyskytujících nádorových onemocnění na světě. Česká republika se navíc řadí mezi země s nejvyšší incidencí. Toto maligní nádorové onemocnění vyžaduje komplexní léčbu. Chirurgická část léčby spočívá v odstranění postižené části střeva s nádorem. Po resekční fázi následuje fáze rekonstrukční, při které dojde k umělému spojení konců ponechané trávicí trubice – tedy k vytvoření tzv. gastrointestinální anastomózy. Byť je tento zákrok častou operací v dutině břišní, procento pooperačních komplikací anastomóz je stále velké. Život ohrožující komplikací je netěsnost anastomózy, která vede k leaku (úniku) obsahu střev do dutiny břišní. Tato komplikace nastává v 3% až 19% případů. Navíc je obtížné anastomotický leak včasné detekovat a proto je stále větší tlak vyvíjen na prevenci.

Aktuálně neexistují na trhu žádné materiály, po jejichž aplikaci by bylo spolehlivě předcházeno komplikacím. Dvouvrstvý vláknenný materiál, vyvíjen v rámci této práce, je zcela novou slibnou možností a v budoucnu by mohl sloužit nejen jako prevence anastomotického leaku ale i jako podpora hojení anastomózy. Cíl práce tkví ve zhotovení biodegradabilního vláknenného tkáňového nosiče s odlišnou smáčivostí jednotlivých vrstev. Materiál bude hydrofilní stranou přiložen na čerstvě vytvořenou anastomózu a zajistí tak bezpečné hojení bez vedlejších efektů. Resekce části střeva, vytvoření anastomózy i její překrytí vláknenným materiálem proběhne v rámci jednoho chirurgického zákroku.

Pomocí elektrostatického zvlákňování na NanospiderTM byly vyrobeny dva materiály splňující požadavky. Jedná se o dvouvrstvu připravenou z polyvinylalkoholu (PVA) a poly-ε-kaprolaktonu (PCL) a dvouvrstvu tvořenou kyselinou hyaluronovou (HA) a PCL. Smáčivost těchto vrstev byla ověřena měřením kontaktního úhlu na rozhraní. Také byl

nalezen způsob, jak zvýšit hydrofobicitu nanovláknenné HA a to sice pomocí povrchové úpravy methanovým plazmatem. Cytokompatibilita materiálů pak byla ověřena pomocí *in vitro* testů. Na obě strany materiálů byly nasazeny myší fibroblasty a jejich proliferace byla vyhodnocena za použití MTT testu.

2 Experimentální část

V rámci praktické části byly vyrobeny dva dvouvrstvé vláknenné materiály, které byly následně podrobeny povrchové úpravě. Praktická část se tak skládá ze tří stěžejních kapitol, kterými jsou (1) Vláknenná dvouvrstva tvořena z polyvinylalkoholu a poly-ε-kaprolaktonu, (2) Vláknenná dvouvrstva tvořena z kyseliny hyaluronové a poly-ε-kaprolaktonu a (3) Povrchová úprava hydrofilních stran dvouvrstvých vláknenných materiálů pomocí plazmatického procesu.

1.1 Vláknenná dvouvrstva tvořena z polyvinylalkoholu a poly-ε-kaprolaktonu

1.1.1 Metody

Příprava polymerních roztoků. Byl připraven 12% w/w vodný roztok PVA a to sice ředěním 16% PVA Sloviol R (M_w 130,000 g/mol, 88% hydrolýzy, Novácké chemické závody, a.s.). Poly-ε-kaprolakton (M_w 43,000 g/mol, Polysciences) byl rozpuštěn v rozpouštědlovém systému chloroform (Penta)/kyselina octová (Penta)/ethanol (Penta) 8/1/1 (v/v/v). Koncentrace PCL v rozpouštědlovém systému činila 16% w/w. Takto připravené roztoky byly za stálého míchání rozpouštěny po dobu 24 hodin.

Elektrostatické zvlákňování bylo provedeno na přístroji NanospiderTM typu NS 1WS500U od firmy Elmarco, zvlákňovací elektrodou byla struna, na kterou byl natírán roztok ze zásobníku s průvlakem o průměru 0,6 mm. Roztoky byly zvlákňovány postupně, tedy nejprve byl zpracován jeden polymerní roztok, a následně byl vyměněn obsah zásobníku za druhý polymer. Byly ověřeny oba způsoby vrstvení, nejprve byla ukládána na spunbond vlákna PVA a poté vlákna PCL. Ve druhém experimentu bylo postupováno v opačném pořadí. Parametry zvlákňování jsou vypsány v Tabulce 1.

Tabulka 1: Parametry zvlákňování roztoků PVA a PCL na NanospiderTM.

	PVA	PCL
Napětí na struně [kV]	47,4 kV	46,1 kV
Napětí na kolektoru [kV]	- 10,3 kV	- 10,4 kV
Vzdálenost elektrod [cm]	15,9 cm	18,4 cm
Odtah substrátu [mm/min]	14 – 15 mm/min	15 – 17 mm/min
Rychlost cartridge [mm/s]	133,8 mm/s	133,8 mm/s
Teplota [°C]	23°C	23°C
Vlhkost [%]	42 – 43%	42 – 43%

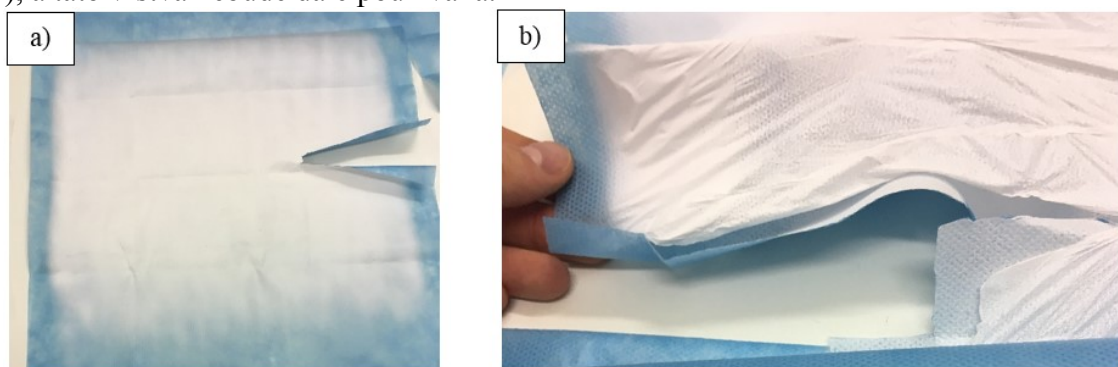
Kultivace a nasazení buněk na materiály. Materiály vystříhány do velikosti dna 24 jamkových kultivačních destiček (průměr 1,6 cm) a zatíženy skleněnými kroužky. Před nasazením buněk byly materiály 12 h sterilizovány ethylen oxidem (Anprolene) a odvětrány při pokojové teplotě po dobu 2 týdnů. Myší 3T3 fibroblasty byly kultivovány v Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Biosera) s přidavkem 10% fetálního bovinního séra (FBS, Biosera) a 1% směsi antibiotik (penicilin/streptomycin/amfotericin B/glutamin)

(Biosera). Buňky byly umístěny v kultivačních lahvičkách do inkubátoru se zvlhčenou atmosférou, obsah CO_2 činil 5 % a teplota byla udržována na 37 °C. Poté, co se vrstva buněk stala konfluentní, bylo odsáto médium, připipetován fosfátový pufr (PBS) a buňky byly opatrně propláchnuty. Dále byly buňky odděleny ze dna kultivační láhve přidávkem trypsinu (Lonza), dále pak resuspendovány v novém médiu. Pro určení počtu buněk bylo do mikrozkušavky typu Eppendorf napipetováno 10 μl buněčné suspenze a přidáno 10 μl trypanové modři. Počet buněk byl spočten pomocí přístroje LUNATM od firmy Logos Biosystems. Na vlákněné vzorky pak byly nasazeny myší 3T3 fibroblasty (pasáž 14) v koncentraci 10^4 buněk/jamku. Buňky byly nasazeny v polovině případů na PVA vrstvu (bez podkladové vrstvy spunbondu) a v polovině případů na PCL vlákněnou vrstvu (při testování byla ponechána vrstva spunbondu pro lepší manipulaci se vzorky). Další testování probíhalo po 1 dni a 7 dnech metodami metabolického MTT testu.

MTT test slouží k určení metabolické aktivity živých buněk a je založen na redukci žlutého 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromidu (MTT) pomocí mitochondriálních enzymů na fialovo-modrý formazan, který lze kvantifikovat spektrofotometricky. Vzorky po 1 dni a 7 dnech byly vzorky přesunuty do nových kultivačních destiček a bylo přidáno 50 μl roztoku MTT (Sigma Aldrich) a 150 μl média. Vzorky byly inkubovány po 4 h při 37°C. Vzniklé krystalky formazanu byly následně rozpuštěny přidáním 500 μl kyselého isopropanolu (IPA) ke každému vzorku. Vzniklé roztoky byly několikrát promíchány a následně bylo přeneseno 200 μl do 96 jamkové mikrotitrační destičky a pomocí přístroje typu ELx808 od firmy BioTek byly změřeny absorbance při vlnových délkách 570 nm a 690 nm. Vlnová délka 690 nm sloužila jako referenční. Výsledná data byla spočtena jako rozdíl hodnot při těchto vlnových délkách a opět vyjádřena ve tvaru průměr $\pm$ směrodatná odchylka.

1.1.2 Výsledky

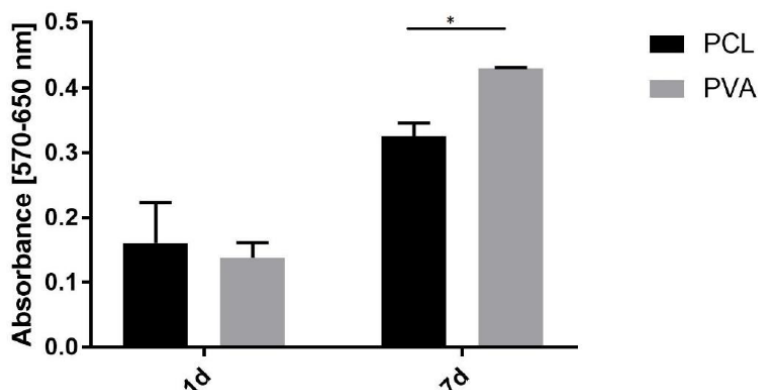
Pomocí bezjehlového elektrostatického zvlákňování byla připravena vlákněná dvouvrstva z polymerů PVA a PCL. Metoda výroby v pořadí PVA/PCL se ukázala jako úspěšná. Jednotlivé vrstvy drží u sebe a neoddělují se. Naopak pokud je nejprve vyrobena vrstva PCL, na kterou jsou ukládána vlákna PVA, výsledná vrstva není soudržná, jak lze vidět na Obrázku 1 b), a tato vrstva nebude dále používána.



Obrázek 1: Fotografie vlákněné vrstvy substrát - PVA - PCL (a) a vlákněné vrstvy substrát - PCL - PVA (b).

Výsledky metabolické aktivity buněk po 1 a 7 dnech kultivace na vlákněné vrstvě PCL a PVA jsou zobrazeny v grafu na Obrázku 2. Buněčná adheze po 1 dni od nasazení byla srovnatelná na obou stranách kompozitního materiálu. Po týdenní kultivaci došlo k větší proliferaci na

vrstvě PVA, kde byla naměřena vyšší absorbance odpovídající metabolické aktivitě, resp. počtu buněk na vláknenných vrstvách.



Obrázek 2: Test buněčné viability po inkubaci vláknenných materiálů s fibroblasty po 1 a 7 dnech kultivace, * $p < 0.05$ (ANOVA, Bonferroni).

2.1 Vláknenná dvouvrstva tvořena z kyseliny hyaluronové a poly-ε-kaprolaktonu

2.1.1 Metody

Příprava roztoků. Byla použita HA ($M_w = 1\,200\text{ kDa}$) bakteriálního původu v kosmetické kvalitě, $\rho = 0,143\text{ g/cm}^3$, obsah proteinu pod 0,1%. Byl připraven vodný roztok HA o koncentraci 0,5% w/w. Poly-ε-kaprolakton ($M_w 43,000\text{ g/mol}$, Polysciences) byl rozpuštěn v rozpouštědlovém systému chloroform (Penta)/kyselina octová (Penta)/ethanol (Penta) 8/1/1 (v/v/v). Koncentrace PCL v rozpouštědlovém systému činila 16% w/w. Takto připravené roztoky byly rozpouštěny po dobu 24 hodin.

Elektrostatické zvlákňování. Roztoky byly postupně elektrostaticky zvlákňovány na zařízení NanospiderTM. Nejprve byl zvlákňován PCL a následně byl vyměněn roztok v zásobníku za HA. Vznikající vlákna byla ukládána na modrý spunbond. Parametry zvlákňování jsou zapsány v Tabulce 2.

Tabulka 2: Parametry elst. zvlákňování roztoků PCL a HA na NanospiderTM.

	PCL	HA
Napětí na struně [kV]	30,7 kV	39 kV
Napětí na kolektoru [kV]	- 10,2 kV	- 10,7 kV
Vzdálenost elektrod [cm]	16,9 cm	13,3 cm
Odtah substrátu [mm/min]	11 mm/min	3 mm/min
Rychlost cartridge [mm/s]	288,1 mm/s	189,2 mm/s
Teplota [°C]	22°C	22°C
Vlhkost [%]	40,9 %	40,7 %

Jelikož elektrostatické zvlákňování HA není tak produktivní jako tvorba vláken PCL, byly provedeny dva cykly nanášení roztoku HA oproti jednomu cyklu nanášení PCL. Bylo tak dosaženo zvlákňování většího objemu roztoku HA a také došlo k vytvoření souvislé vrstvy vláken HA. Materiál byl charakterizován pomocí SEM. Na základě SEM snímků bylo rozhodnuto, že pro větší podíl HA ve výsledné vrstvě, bude 10 ml roztoku HA do zvlákňované

dvouvrstvy manuálně rozprašeno pomocí difuzéru. Manuální rozprašování bylo provedeno ze vzdálenosti 50 cm od vrstvy.

2.1.2 Výsledky

Podařilo se vytvořit nanovláknennou vrstvu HA/PCL kombinací elektrostatického zvlákňování a manuálního rozprašování. Byly nalezeny podmínky pro zvlákňování vodného roztoku HA o vysoké molekulové hmotnosti bez přídavku aditiv. Avšak, zpracování roztoků HA v elektrickém poli nebylo příliš produktivní, proto bylo rozhodnuto doplnit zvlákňennou vrstvu o HA pomocí manuálního rozprašování difuzérem. Takto připravená vrstva byla více homogenní a byla tak vybrána pro další experimenty. Bylo stanoveno, že in vitro testování bude provedeno až po povrchové úpravě hydrofilní HA vrstvy, jelikož HA nanovláknna se ihned rozpustí ve vodě a během testování by nezůstala součástí dvouvrstvy.

3.1 Povrchová úprava hydrofilních stran dvouvrstevých vláknenných materiálů pomocí plazmatického procesu

3.1.1 Metody

Příprava vrstev. Byly použity vrstvy PVA/PCL a HA/PCL, vyrobené v kapitole 1.1 a kapitole 2.1. Metoda přípravy vrstev byla popsána v kapitole 1.1.1 a 2.1.1.

Plazmatická úprava. Plazmatická modifikace byla provedena studeným methanovým plazmatem, metodou RF PACVD (Radio Frequency Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition). Jednalo se o chemickou metodu depozice, chemické reakce probíhaly ve vysokofrekvenčním elektrickém poli ve vakuové komoře, do které byl vpouštěn plynný methan. Další nastavené parametry zahrnovaly tlak vakua [Pa], napětí [V], průtok plynu [sccm] a čas [min]. Při všech procesech byly parametry drženy konstantně na následujících hodnotách: $p = 20$ Pa; $U = 200$ V; $CH_4 = 20$ sccm; $t = 3$ min.

Snímky morfologie vláknenných vrstev byly pořízeny na skenovacím elektronovém mikroskopu TESCAN VEGA 3 SB Easy Probe. Pro zvýšení vodivosti byly vzorky pozlacený 7 nm vrstvou zlata na přístroji Q150ES of firmy Quorum Technologies. Snímky byly pořízeny v různých zvětšeních, aby byla umožněna dostatečná morfologická charakteristika vrstev. Průměry vláken byly měřeny v programu NIS Element od společnosti Laboratory Imaging s.r.o. . Bylo změřeno 100 průměrů na snímcích se zvětšením 5000x. Výsledky průměrů jsou tak vždy uvedeny ve tvaru průměr $\pm$ směrodatná odchylka.

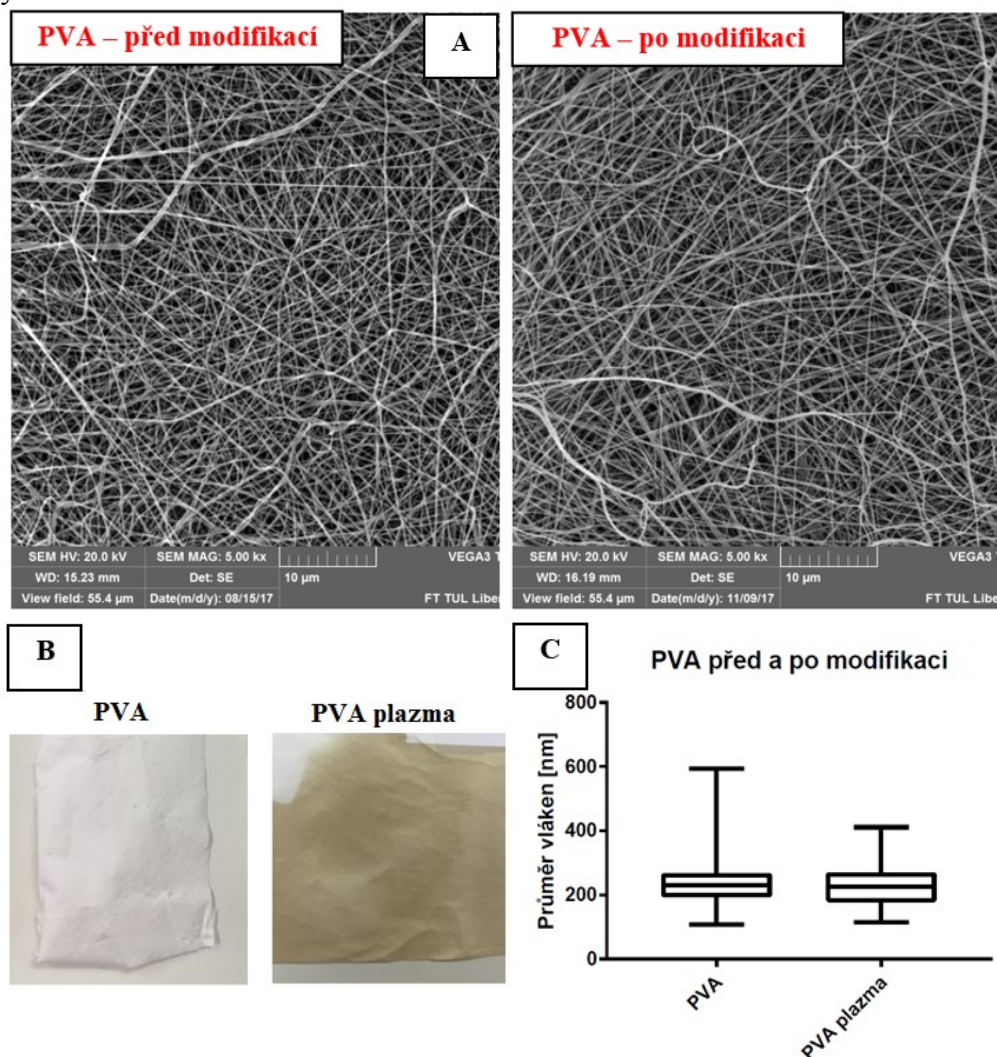
Měření kontaktních úhlů. Kontaktní úhly vláknenných vrstev byly určeny pomocí přístroje See System 6.2 od firmy Advex Instruments. Vrstva byla nalepena na laboratorní sklíčko pomocí oboustranné lepicí pásky a umístěna na posuvný stolek. Následně bylo pipetou nadávkováno 6 μ l DIW na vrstvu a pomocí CCD kamery pak byly nasnímány fotografie kapky na vrstvě.

3.1.2 Výsledky

Změna morfologie hydrofilních vrstev po plazmatické úpravě

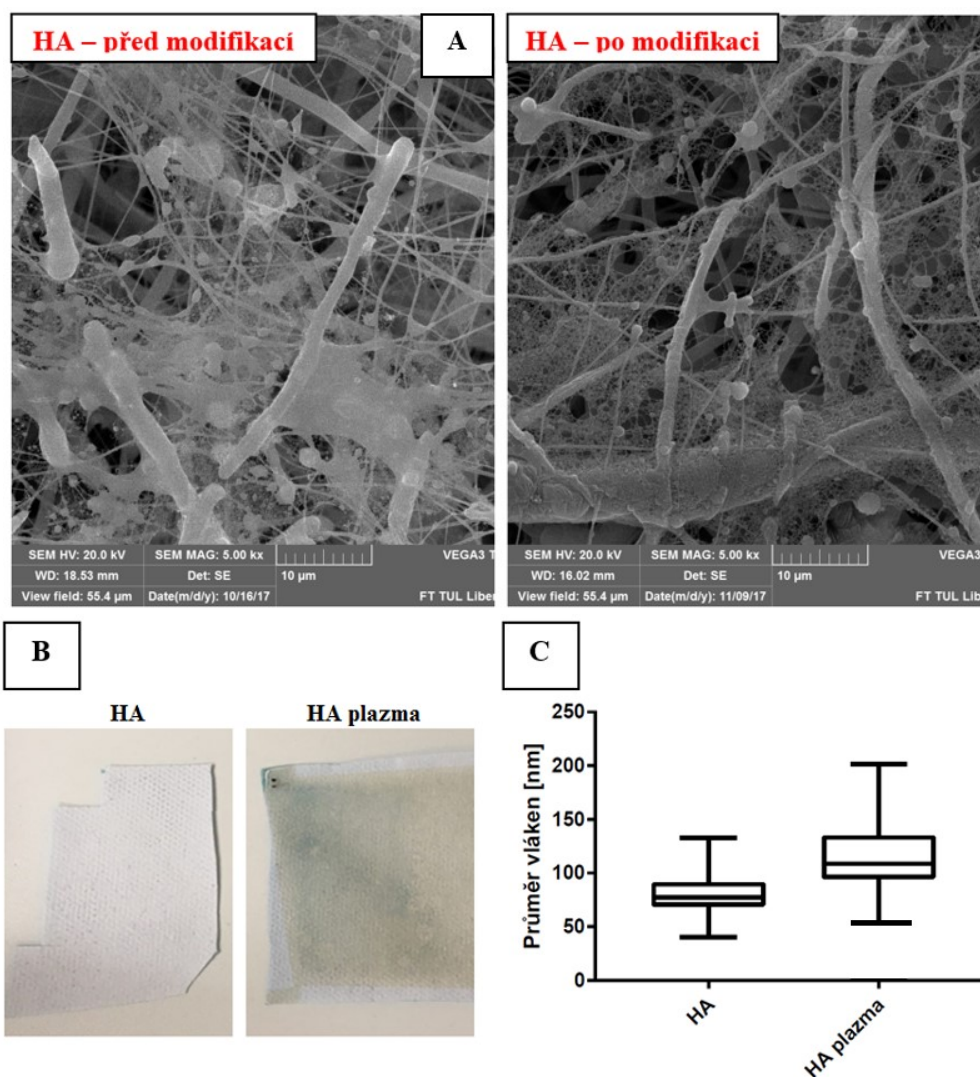
PVA/PCL soudržná vrstva, vyrobená vrstvením v pořadí PVA-PCL, byla upravena pomocí plazmatické úpravy. Modifikaci byla podrobena pouze hydrofilní strana vrstvy. Na Obrázku 3 lze vidět snímky ze SEM před a po modifikaci a také fotografie vrstvy. Průměr před modifikací činil $(242,11 \pm 84,21)$ nm a po plazmatické úpravě byl $(236,96 \pm 69,80)$ nm.

Nejsou patrné žádné změny v morfologii vláken a nedošlo ani ke změně průměrů vláken. Naopak na fotografiích je zjevná změna barvy vrstvy, která souvisí se zabudováním uhlíku do struktury.



Obrázek 3: SEM snímky vrstvy PVA/PCL před a po modifikaci plazmatickou metodou; měřítko 10 μ m (A), společně s fotografiemi (B) a porovnáním průměrů vláken PVA (C).

HA/PCL vrstva, vyrobená elektrostatickým zvlákňováním a manuálním rozprašováním, byla modifikována plazmatickou metodou. Upravena byla pouze hydrofilní HA strana vrstvy. SEM snímky původní a upravené vrstvy jsou součástí Obrázku 4, společně s porovnáním průměrů vláken a fotografií vrstev. Průměr před modifikací činil $(79,4 \pm 18,6)$ nm a po plazmatické úpravě byl $(113,77 \pm 30,84)$ nm. Ze SEM snímku i z naměřených průměrů vyplývá zjevná změna morfologické struktury vláken. Vláknenná struktura zůstala zachována, ale vlákna mají hrubší a členitější povrch. To může být způsobeno depozicí methanových radikálů na vláknennou strukturu, ale i případným naleptáváním vrstvy dalšími reaktivními částicemi plazmatu.



Obrázek 4: SEM snímky vrstvy HA/PCL před a po modifikaci plazmatickou metodou; měřítko 10 μ m (A), společně s fotografiemi (B) a porovnáním průměrů vláken HA (C).

Změna kontaktního úhlu

Kontaktní úhel byl měřen z obou stran materiálu a to sice před i po modifikaci plazmatem. Byla vytvořena Tabulka 3, která porovnává jednotlivá měření. Kontaktní úhel HA vrstvy byl výrazně zvýšen a je proto zjevné, že se podařilo navýšit hydrofobicitu smáčivých stran vrstvy.

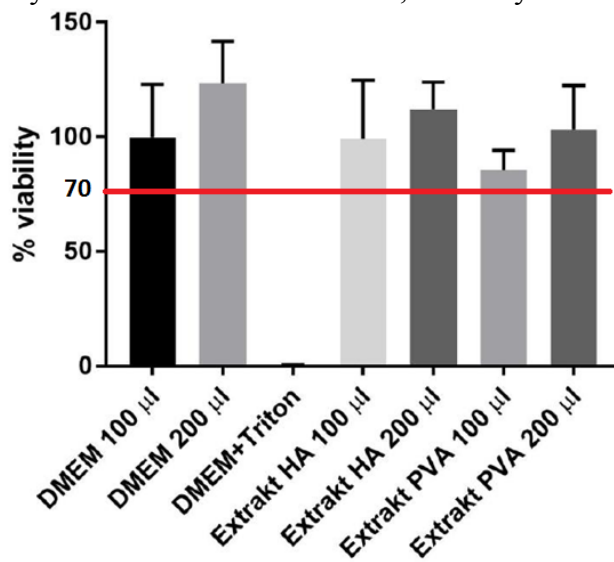
Tabulka 3: Porovnání kontaktních úhlů vrstev PVA/PCL a HA/PCL před a po plazmatické úpravě.

PVA/PCL před modifikací		PVA/PCL po modifikaci
	Kontaktní úhel [°]	Kontaktní úhel [°]
PCL strana	95,33 $\pm$ 21,79	99,8 $\pm$ 23,33
PVA strana	32,85 $\pm$ 6,80	55,56 $\pm$ 26,55
HA/PCL před modifikací		HA/PCL po modifikaci
	Kontaktní úhel [°]	Kontaktní úhel [°]
PCL strana	88,63 $\pm$ 20,29	72,04 $\pm$ 26,81
HA strana	46,59 $\pm$ 15,19	106,29 $\pm$ 10,23

Výsledky testování cytotoxicity in vitro

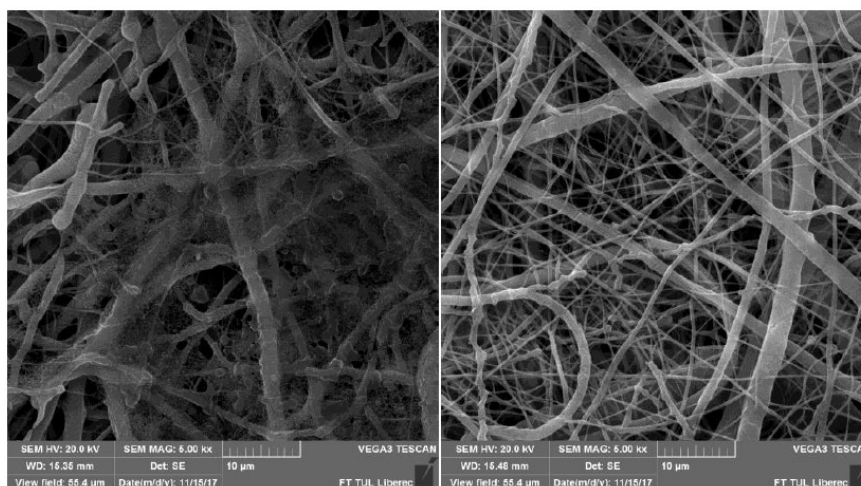
Z výsledků *in vitro* testování PVA/PCL vrstvy v Kapitole 1.1.2 bylo zjevné, že hydrofilní vlákna mohou ovlivňovat výsledky testování, přestože se během experimentu plně rozpustí. Extrakty, připravené inkubací plazmaticky upravených PVA/PCL a HA/PCL vrstev v plném médiu, byly přidány ke konfluentní vrstvě 3T3 myších fibroblastů v 96jamkové destičce. Testy byly provedeny dle normy ISO 10993:5.

Po 24 hodinách nedošlo ke změně metabolické aktivity buněk do kladných ani záporných hodnot (viz Obr. 5). Mírné odchylky mohou být způsobeny metodikou (odsátí části konfluentní vrstvy během manipulace apod.). Předpokládalo se, že by případné degradační produkty PCL / HA mohly ovlivnit buněčnou viabilitu, což nebylo testem prokázáno.



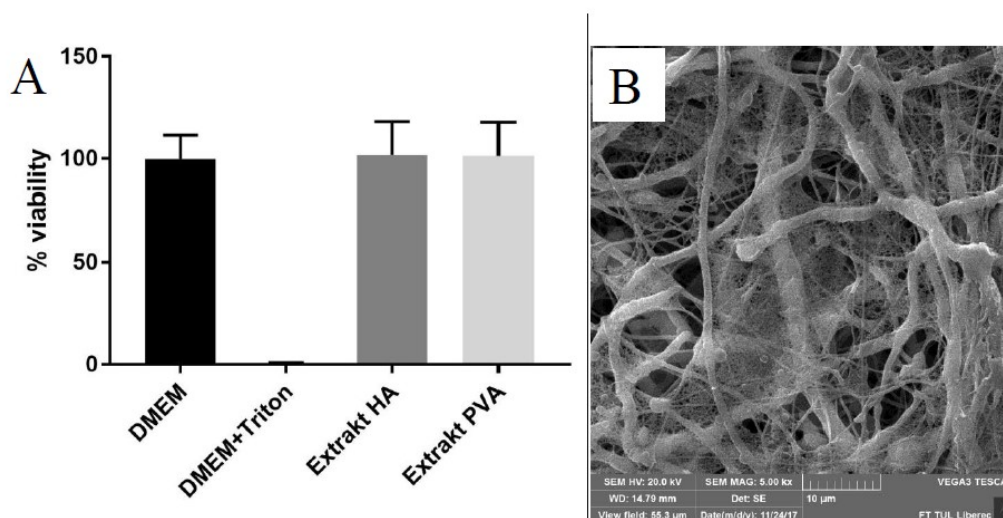
Obrázek 5: Hodnocení metabolické aktivity buněk po 24hodinové inkubaci s extrakty kompozitních materiálů.

Po experimentu byla provedena mikroskopická kontrola materiálů po standardním procesu fixace a odvodnění vzorků vzrůstající ethanolovou řadou. Snímky ze skenovací elektronové mikroskopie jsou znázorněny na Obr. 6. V případě HA nedošlo k rozpuštění modifikovaných vláken. PVA bylo během experimentu či během přípravy vzorků pro SEM analýzu rozpuštěno; na snímku jsou patrná vlákna PCL, která se nacházela pod rozpuštěnou vrstvou PVA.



Obrázek 6: Snímky ze skenovací elektronové mikroskopie kompozitních materiálů PCL+HA, PCL+PVA po 24hodinové inkubaci v kompletním médiu.

Po týdenní inkubaci materiálů v kompletním médiu byl proveden obdobný experiment. Hodnota viability buněk opět nebyla pozměněna, výsledky byly konzistentnější (viz graf na Obr. 7A). Provedená mikroskopická analýza vypadala obdobně jako v předchozím hodnoceném časovém intervalu - HA byla i po týdenní inkubaci v médiu přítomná (obr. 7B).



Obrázek 7: Hodnocení metabolické aktivity buněk po týdenní inkubaci s extrakty kompozitních materiálů (A), SEM snímek kompozitního materiálu PCL+HA po týdenní inkubaci v kompletním médiu, měřítko 10 µm (B).

3 Závěr

Elektrostatické zvlákňování je pro svou variabilitu nejpoužívanějším přístupem pro výrobu vláknenných scaffoldů pro tkáňové inženýrství. Řada studií toto tvrzení potvrzuje, jedná se například o publikace autorů [1], [2], [3] či [4]. V této práci bylo elektrostatické zvlákňování použito jako metoda pro výrobu dvouvrstvých vláknenných nosičů s odlišnou smáčivostí povrchu. Jako hydrofilní polymery byly vybrány PVA a HA a jako hydrofóbní polymer pak PCL. V případě PVA se tato práce opírá o všestrannost PVA a jeho využití v biomedicině, jak potvrzují i studie autorů [5], [6] a další. Kyselina hyaluronová se také těší roustoucí oblibě v tkáňovém inženýrství, jak dokazuje i přehledová studie (*review article*) od autorů [7], ale i novější studie od [8]. Byla provedena řada *in vitro*, *in vivo*, i klinických studií v oblasti aplikace HA pro léčení ran. Poly-ε-kaprolakton se hojně využívá v tkáňovém inženýrství pro svou dostupnost a možnosti úprav jeho vlastností. Navíc byly vydány studie, které využívají PCL pro tkáňové inženýrství gastrointestinálního traktu. Například v publikaci [9] byla směs PCL/PLGA použita pro výrobu tubulárního scaffoldu, který měl sloužit jako náhrada části tenkého střeva.

V rámci práce byly úspěšně vyrobeny dva dvouvrstvé vláknenné tkáňové nosiče s odlišnou smáčivostí povrchu, které mají dobrý potenciál pro optimalizaci léčby gastrointestinálních anastomóz. Přínosem práce je nalezení pořadí vrstvení, při kterém lze připravit kompozitní materiály. Unikátní výsledek také tvoří nalezení podmínek pro zvlákňování vodných roztoků vysokomolekulární (1,4 MDa) kyseliny hyaluronové bez přídavku toxických chemických aditiv a bez nutnosti snižování okolní vlhkosti. Podmínky byly nalezeny na zařízení Nanospider™, což umožňuje průmyslovou výrobu vrstev. Další významný přínos je nalezení metody, která vede ke zvýšení hydrofobicity vodorozpustných vláken při zachování cytokompatibility. Pomocí povrchové modifikace methanovým plazmatem bylo dosaženo snížení rozpustnosti HA nanovláken při zachování ultrajemné nanovláknenné struktury.

Aktuálně byly provedeny prvotní *in vivo* testy vlákných vrstev ve spolupráci s Biomedicínským centrem Biomedic v Plzni. V budoucnu je tedy plánováno v experimentu pokračovat. Je nutné vytvořit homogenní vrstvu vláken kyseliny hyaluronové, čehož lze dosáhnout například zvlákněním ve směsi s nosným polymerem, který je snadno zvláknitelný. Také je zamýšleno vyzkoušet další metody pro zvýšení hydrofobicity vrstev a případně další druhy plazmatu, především atmosférické, které v aktuálních výzkumech ukazuje dobrý potenciál pro síťování přírodních polymerů.

Literatura

- [1] AGARWAL, Seema, Joachim H. WENDORFF a Andreas GREINER, 2008. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer* [online]. **49**(26), 5603–5621. ISSN 0032-3861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2008.09.014
- [2] ALHOSSEINI, Sanaz Naghavi, Fathollah MOZTARZADEH, Masoud MOZAFARI, Shadnaz ASGARI, Masumeh DODEL, Ali SAMADIKUCHAKSARAEI, Saeid KARGOZAR a Newsha JALALI, 2012. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine* [online]. **7**, 25–34. ISSN 1176-9114. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S25376
- [3] CHEN, Guangkai, Junxia GUO, Jun NIE a Guiping MA, 2016. Preparation, characterization, and application of PEO/HA core shell nanofibers based on electric field induced phase separation during electrospinning. *Polymer* [online]. **83**, 12–19. ISSN 0032-3861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2015.12.002
- [4] KISHAN, Alysha P. a Elizabeth M. COSGRIFF-HERNANDEZ, 2017. Recent advancements in electrospinning design for tissue engineering applications: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. **105**(10), 2892–2905. ISSN 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.36124
- [5] SASIPRIYA, K, Suriyaprabha RANGARAJ, Prabu PERIASAMY a RAJENDRAN VENKATACHALAM, 2013. Synthesis and Characterisation of Polymeric Nanofibers Poly (vinyl alcohol) and Poly (vinyl alcohol)/Silica Using Indigenous Electrospinning Set Up. *Materials Research* [online]. **16**, 824–830. Dostupné z: doi:10.1590/S1516-14392013005000050
- [6] JENSEN, BettinaE. B., Izaskun DÁVILA a Alexander N. ZELIKIN, 2016. Poly(vinyl alcohol) Physical Hydrogels: Matrix-Mediated Drug Delivery Using Spontaneously Eroding Substrate. *The Journal of Physical Chemistry. B* [online]. **120**(26), 5916–5926. ISSN 1520-6106. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jpcb.6b01381
- [7] COLLINS, Maurice N. a Colin BIRKINSHAW, 2013. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. *Carbohydrate Polymers* [online]. **92**(2), 1262–1279 [vid. 2017-05-02]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2012.10.028
- [8] HUSSAIN, Zahid, Hnin Ei THU, Haliza KATAS a Syed Nasir Abbas BUKHARI, 2017. Hyaluronic Acid-Based Biomaterials: A Versatile and Smart Approach to Tissue Regeneration and Treating Traumatic, Surgical, and Chronic Wounds. *Polymer Reviews* [online]. **57**(4), 594–630. ISSN 1558-3724. Dostupné z: doi:10.1080/15583724.2017.1315433
- [9] KNIGHT, Toyin, Joydeep BASU, Elias A. RIVERA, Thomas SPENCER, Deepak JAIN a Richard PAYNE, 2013. Fabrication of a multi-layer three-dimensional scaffold with controlled porous micro-architecture for application in small intestine tissue engineering. *Cell Adhesion & Migration* [online]. **7**(3), 267–274. ISSN 1933-6918. Dostupné z: doi:10.4161/cam.24351

Příprava oxidů železa ve formě nanočástic metodou zelené syntézy

Seibert Ondřej

Sekce – STROJÍRENSTVÍ

Fakulta Mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, 1. ročník

Navazující studijní program – Nanomateriály

Abstrakt: Nanočástice oxidu železitého byly připraveny reakcí nonahydrátu dusičnanu železitého s extrakty či roztoky z přírodních látek. Pro tvorbu extraktů byly použity slupky z červené cibule a čajové lístky; roztok byl připraven ze škrobu. Výsledný oxidický prášek byl zkoumán rastrovací elektronovou mikroskopií a Ramanovou spektroskopií.

Klíčová slova: zelená syntéza, nanočástice, oxid železitý, extrakt, cibulové slupky, mandarinkové slupky, čajové lístky

1. Úvod

Nanočástice oxidu železitého jsou intenzivně studovány v různých oborech. To je dáno širokým použitím nanočástic oxidu železitého např. jako adsorbant toxických těžkých kovů ve vodných roztocích [1]. Neméně důležitou oblastí využití jsou sensory plynů a katalyzátory [3]. Další oblastí s vysokým potenciálem využití nanočástic je v lékařství, například pro cílenou dopravu léků, biosenzory [3] či jako kontrastní látka při magnetické rezonanci (MRI) [4].

Existuje široká paleta možností jak připravit nanočástice oxidu železa. Běžně jsou to např. redukce hydrazinem z roztoku prekurzorů [4]. Experimenty dokazují, že ethylen glykol je takové vhodný reaktant pro přípravu nanočástic [5]. Nicméně, přírodní extrakty, jako extrakt z kůry mandarinek [1], či roztoky polysacharidů (škrob [6]) jsou také nadějnými reaktanty. Největší výhodou zelené syntézy je nízká cena reaktantů a minimální znečištění životního prostředí syntézou. Při experimentech byly použity extrakty ze slupek červené cibule, čajové lístky a škrob.

2. Příprava nanočástic

Nanočástice oxidu železitého byly připraveny následujícími metodami

2.1 Extrakt ze slupek červené cibule.

Nejdříve bylo 60 g slupek pokrájeno na menší kousky. Tyto kousky byly poté vařeny v 600 ml destilované vody po dobu 2,5 h. Po zchladnutí na pokojovou teplotu byl výsledný extrakt zfiltrován.

1g nonahydrátu dusičnanu železitého byl rozpuštěn v 10 ml destilované vody. Poté bylo přidáno 20 ml extraktu a po dobu 2 hodin byl roztok intenzivně míchán. Po této době byl roztok výrazně světlejší. Následovalo vysušení roztoku na prášek v sušárně při teplotě 60 °C.

2.2 Extrakt z čajových lístků

Extrakt z čajových lístků byl připraven povařením čistých zelených čajových lístků v 250 ml destilované vody po dobu 20 minut. Výsledný tmavě zelený extrakt byl po vychladnutí na pokojovou teplotu přefiltrován, pro odstranění nečistot.

1g nonahydrátu dusičnanu železitého byl rozpuštěn v 10 ml destilované vody. Poté bylo přidáno 10 ml extraktu a roztok byl intenzivně míchán po dobu 2 hodin. Po této době byl roztok výrazně světlejší. Následovalo vysušení roztoku na prášek v sušárně při teplotě 60 °C.

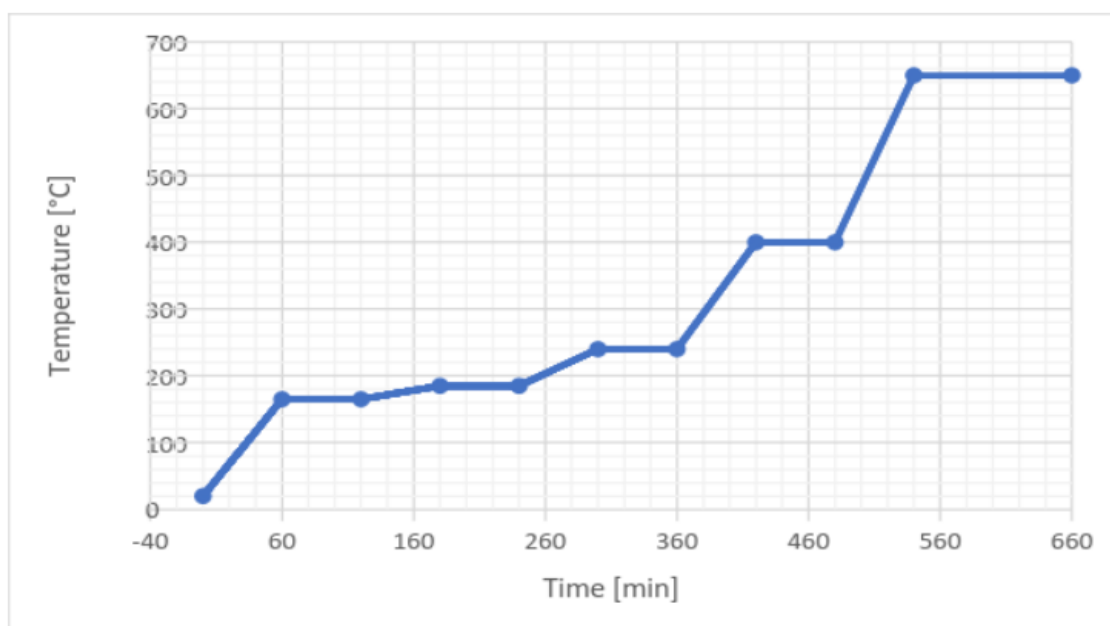
2.3 Škrob

1 g škrobu byl rozpuštěn ve 20 ml destilované vody při teplotě 60 °C a intenzivně míchán, dokud nebyl roztok čirý. Poté byl přidán 1 g nonahydrátu dusičnanu železitého. Celý roztok byl 2 h míchán a dalším krokem bylo přidání koncentrovaného amoniaku pro zvýšení pH roztoku. Následovalo vysušení roztoku na prášek v sušárně při teplotě 60 °C.

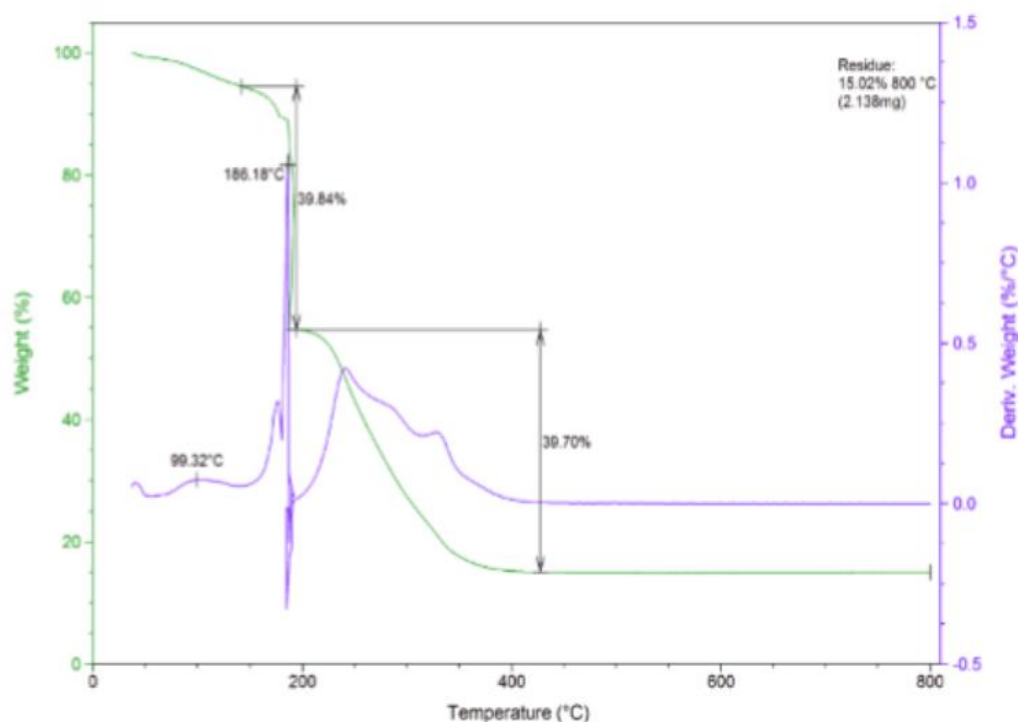
2.4 Pálení

Práškové meziprodukty byly přendány do pálicích kalíšků a v peci dle teplotního schématu (Obrázek 1.) páleny až na výsledný oxidický prášek. Teploty byly zvoleny dle termogravimetrické křivky (TGA, Obrázek 2.). Při teplotě přibližně 185 °C se odehrává bouřlivá exotermní reakce, proto je nárůst teploty okolo této hodnoty velmi mírný. Pozorovaná ztráty hmoty vzorky v rozmezí teplot 250 – 400 °C odpovídá evaporaci organických reziduí. Za vyšších teplot dochází ke stabilizaci výsledného produktu.

Morfologie a chemické složení byly analyzovány na rastrovacím elektronovém mikroskopu UHR – SEM Zeiss Ultra Plus s energiově-disperzním spektrometrem Oxford X-Max pro lokální chemické složení. Velikost částic byla změřena obrazovou analýzou v SW NIS Elements.



Obrázek 1. Teplotní schéma ukazující průběh pálení sušiny v peci



Obrázek 2. Termogravimetrická křivka ukazující závislost hmotnosti vzorku na teplotě

3. Výsledky

3.1 Oxid železitý připravený v roztoku ze slupek z červené cibule

Výsledný oxidický prášek je zobrazen na Obrázku 3. Je složený z částic fazolovitého tvaru s průměrnou velikostí částic 72 ± 18 nm. Z obrázku je zřejmé, že struktura je rýhovaná. To dává možnost rozbití shluků na menší částice.

3.2 Oxid železitý připravený z roztoku škrobu

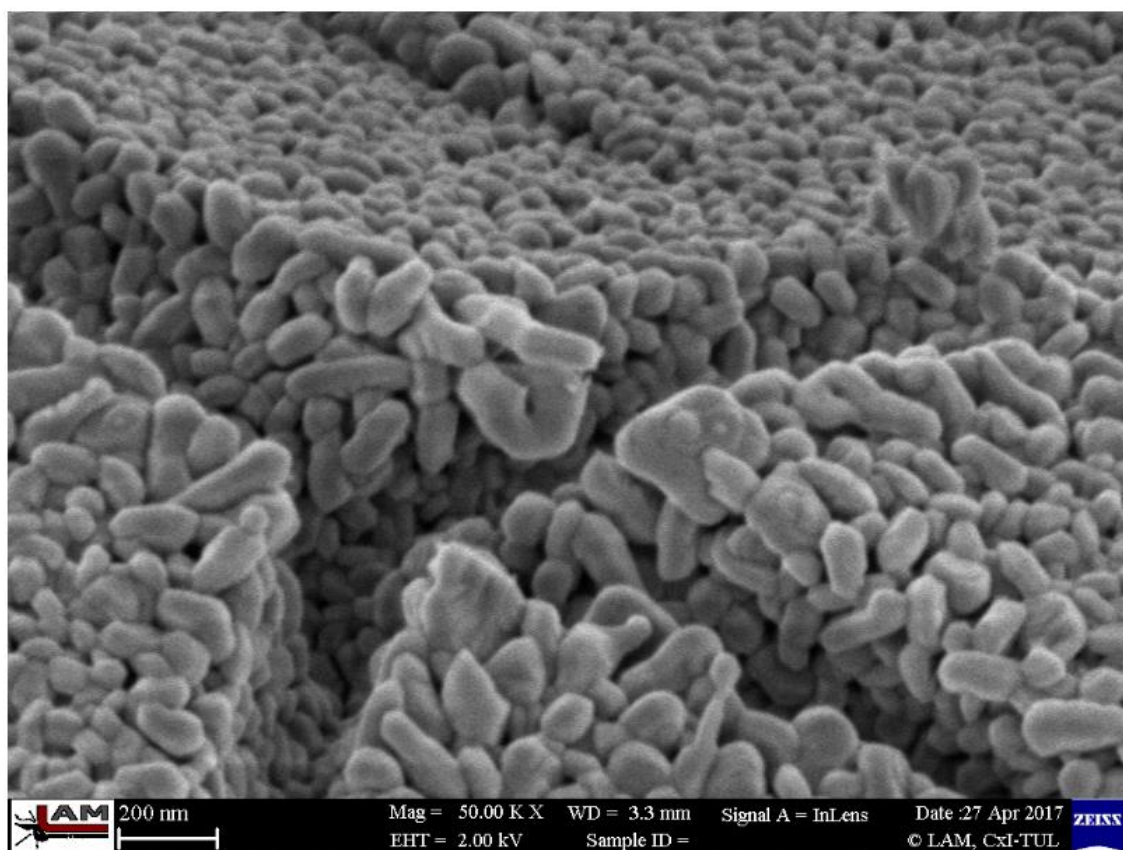
Výsledné nanočástice, s průměrnou velikostí 30 ± 10 nm jsou ve shlucích s kompaktní vrstvou na povrchu. Struktura je zobrazena na Obrázku 4.

3.3 Oxid železitý připravený v roztoku zeleného čaje.

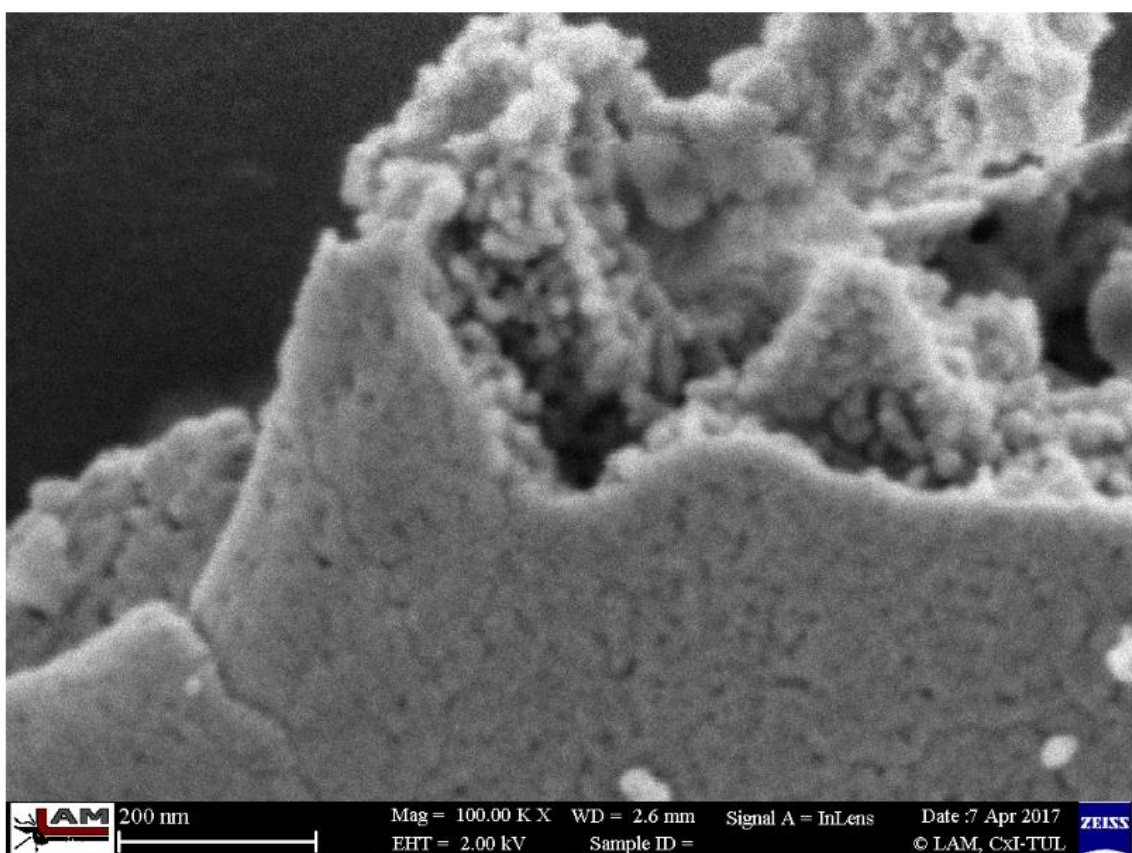
Finální oxidický prášek je složen z fazolovitých částic s délkou 100 ± 20 nm a šířkou 60 ± 10 nm. Distribuce velikosti částic je velmi homogenní, jak je zřejmé z Obrázku 5.

3.4 Fázová identifikace

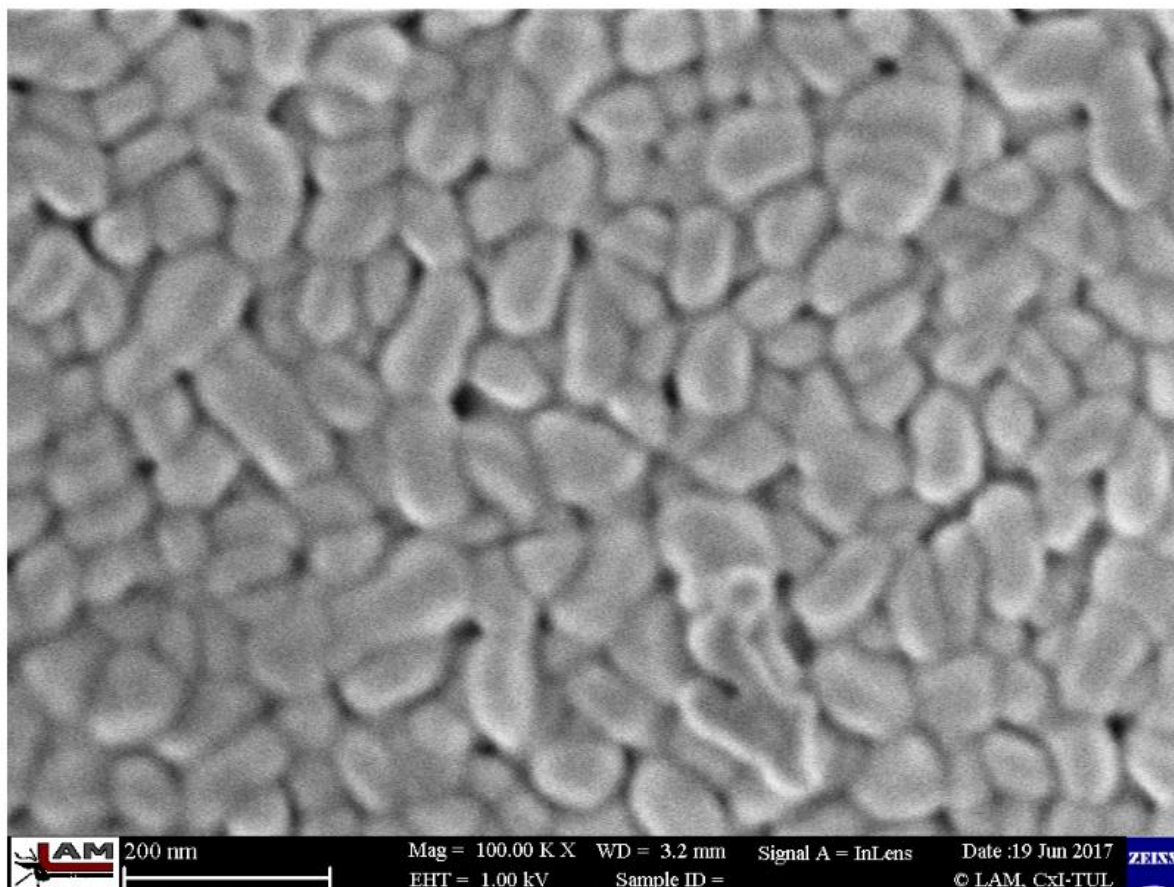
Fáze přítomné ve vzorku byly identifikovány pomocí Ramanovy spektroskopie. Ukázka spektra je na Obrázku 6. Z něj je takové patrné porovnání spekter s hematitem – Fe_2O_3 . Je zřejmé, že shoda u vzorku z cibulového extraktu (modrá křivka) je markantní. Nicméně u křivky částic připravených v čaji jsou odlišnosti u peaků 719 , 456 a 368 cm^{-1} . Ty odpovídají maghemitu. Jedná se tedy o směs hematitu a maghemitu.



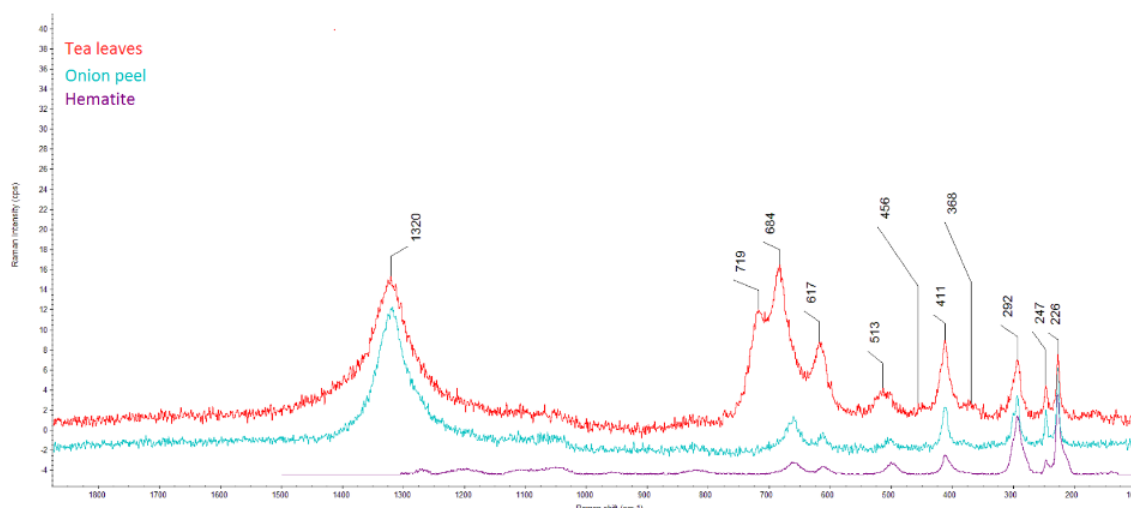
Obrázek 3. Nanočástice hematitu. Připraveny pomocí cibulového extraktu.



Obrázek 4. Nanočástice hematitu, připraveny pomocí roztoku škrobu.



Obrázek 5. Nanočástice směsi maghemitu a hematitu, připraveny pomocí roztoku z čajových lístků.



Obrázek 6. Ramanova spektra. Křivka částic připravených v čaji (červěně), křivka částic připravených v cibulovém extraktu (modře) a referenční křivka hematitu (fialová).

4. Závěr

Pomocí zelené syntézy byly úspěšně připraven oxidy železa ve formě nanočástic. Nejmenější částice byly připraveny s použitím škrobu (30 ± 10 nm). Syntetizované nanočástice měly fazolovitý tvar.

Zelenou syntézou při použití extraktu ze zeleného čaje je možné připravit nanočástice maghemitu, který se vyznačuje paramagnetickými vlastnostmi.

Hematit byl úspěšně připraven syntézou z roztoku škrobu i z extraktu cibulových slupek. I přesto, že cibulové slupky jsou odpadním materiálem, výsledky jsou vskutku uspokojivé. Nanočástice byly homogenní, tvořily shluky, které byly silně popraskané. To otevírá možnosti použití metod pro rozbití těchto shluků na jemnější částice. Částice připravené z roztoku měly jako jediné spečenou povrchovou vrstvu. Je to významná difference oproti extraktům.

Je zřejmé, že zelená syntéza je slibnou cestou k přípravě nanočástic oxidů kovů. I přes prvotní úspěch je nutné další studium pro pochopení celého jevu a závislosti na pH, koncentracích roztoků či druhů roztoků.

Literatura

- [1] EHRAPOUSH, M. H., MIRIA, M., SALMANI, H. M., MAHVI, H. A., Cadmium removal from aqueous solution by green synthesis iron oxide nanoparticles with tangerine peel extract. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 2015, vol. 13, no. 1
- [2] CHEN, L., LIN, Z., ZHAO, C., ZHENG, Y., ZHOU, Y., PENG, H., Direct synthesis and characterization of mesoporous Fe₃O₄ through pyrolysis of ferric nitrate-ethylene glycol gel. *Journal of Alloys and Compounds*, 2011, vol. 509, no. 1, pp. L1–L5.
- [3] PARK, H. J., MCCONNELL, T. J., BODDOHI, S., KIPPER, J. M., JOHNSON, A. P., Synthesis and characterization of enzyme–magnetic nanoparticle complexes: effect of size on activity and recovery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011, vol. 83, no. 2, pp. 198-203.
- [4] YANG, C., XING, J., GUAN, Y., LIU, J., LIU, H., Synthesis and characterization of superparamagnetic iron nanocomposites by hydrazine reduction. *Journal of Alloys and Compounds*, 2004, vol. 385, no. 1, pp. 283-287
- [5] DAVAR, F., HADADZADEH, H., ALAEDINI, S. T., Single-phase hematite nanoparticles: Non-alkoxide sol-gel based preparation, modification and characterization. *Ceramics International*, 2016, vol. 42, no. 16, pp. 19336-19342
- [6] AN, B., LIANG, Q., ZHAO, D., Removal of arsenic(V) from spent ion exchange brine using a new class of starch-bridged magnetite nanoparticles. *Water Research*, 2011, vol. 45, no. 6, pp 1961-1972.

Numerické modelování interakce proudění a pružného tělesa v lidském vokálním traktu

Bc. Tisovská Petra

Sekce - MECHATRONIKA,

Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, 2. ročník
Navazující studijní program – APLIKOVANÉ VĚDY V INŽENÝRSTVÍ

Abstrakt: Interakce proudění vzduchu a pružného tělesa v lidském vokálním traktu je komplexní a složitý problém. V této práci je proudění popsáno nestlačitelnými Navier-Stokesovými rovnicemi. Diskretizace je provedena metodou konečných objemů.

Model hlasivek je matematicky popsán diferenciálními rovnicemi a jejich řešení je implementováno v programu Matlab Simulink, který zde slouží pro ověření schopnosti řešiče pimpleDyMFoam pracovat s tělesem se dvěma stupni volnosti.

Numerické simulace jsou provedeny pro 2D a 3D. Ve 2D jsou zkoumány možnosti deformace sítě, analýza vlivu počtu elementů sítě na výsledný pohyb tělesa a je nalezena hranice stability systému – kritická rychlost proudění, kdy těleso kmitá s neklesající amplitudou. Ve 3D je simulován případ se stejnými počátečními podmínkami jako pro dva rozměry. Tyto případy jsou zde porovnány.

Klíčová slova: Výpočetní mechanika tekutin (CFD), interakce proudění a pružných těles, aeroelastická nestabilita, OpenFoam

1. Úvod

Lidský vokální trakt je komplexní systém, kde dochází k interakci proudění vzduchu hrtanem, pružných tkání hlasivek a zvukových vln. Kvůli špatnému rozlišení a rizikům spojeným s nadměrným ozářením lékařských metod (např. MRI, RTG) zatím nebylo možné pořídit časový záznam pohybů vnitřní struktury deformovatelných vnitřních tkání. Výzkum tohoto důležitého hlasového ústrojí se tedy mimo jiné ubírá směrem matematických modelů a numerických schémat, jejichž výstupy je možné ověřit pomocí pozorovatelných výsledků, jako jsou: frekvence fonace, mezní fonační tlak, vyzařovaný akustický tlak, proudění vzduchu a jiné. Srovnáním různých přístupů k tomuto problému se zabývá Fariborz Alipour a kolektiv autorů ve svém článku [1].

Pohyb pružné tkáně hlasivek lze nahradit zjednodušenými mechanickými modely se soustředěnými parametry. Nejčastěji je to jednohmotový (prezentovaný v článku Flanagan, Landgraf [4]), dvouhmotový (představen například autorem Stevens [5]) a tříhmotový systém (Story a Titze [7]).

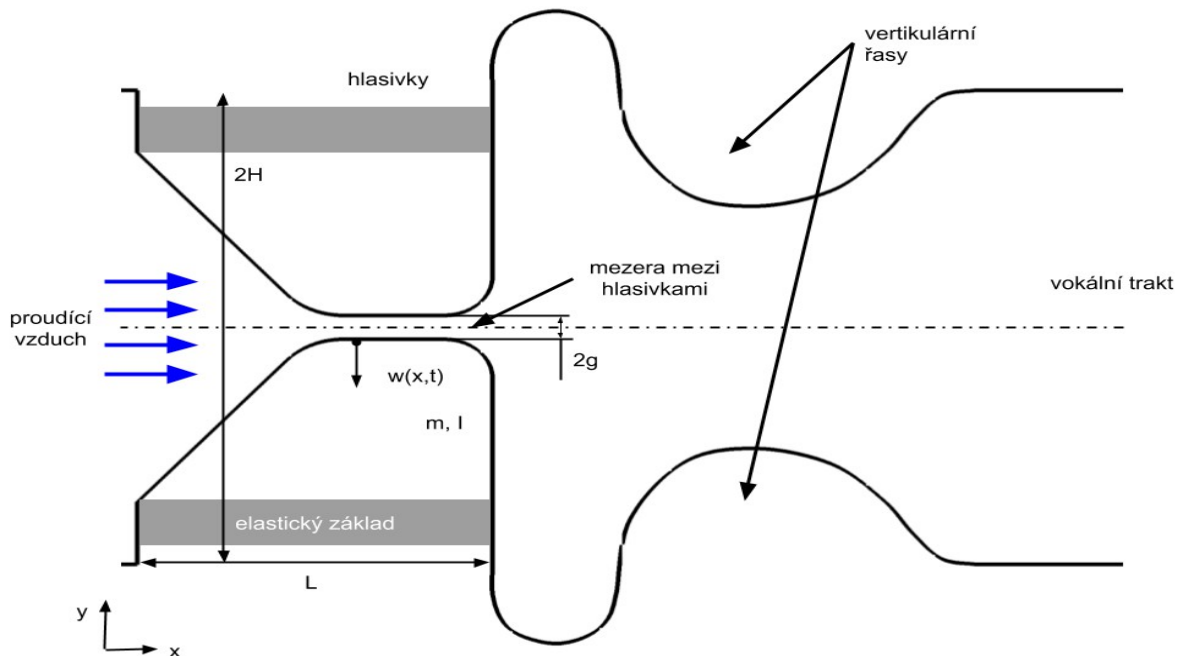
Druhý způsob modelování je založen na parciálních diferenciálních rovnicích (PDE). Jedná se o řešení vzájemně provázaných parciálních diferenciálních rovnic pro proudění, strukturální mechaniku hlasivek a akustických dějů. První PDE model byl představen v článku [14].

Velkým problémem při modelování samobuzených oscilací při fonaci je kontakt hlasivek. U standardních metod pro diskretizaci oblasti (MKP a MKO) může dojít k tomu, že v oblasti po pohybu hlasivek vzniknou elementy s nulovým rozměrem.

V budoucnu budou ověřené matematické modely použity pro plánování operací, diagnostikování a rehabilitace přizpůsobené na míru konkrétnímu problému a pacientovi.

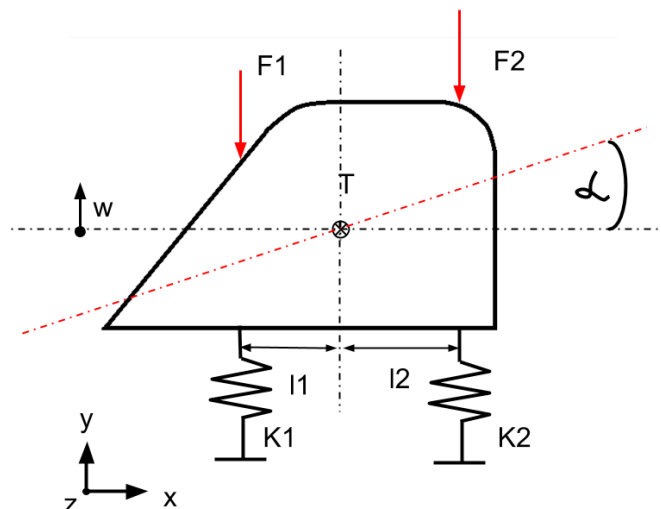
2. Matematický popis dynamického chování hlasivek

Hlasivky jsou pružná struktura kmitající vlivem proudícího vzduchu, svaly provádějí počáteční nastavení tkání a geometrie štěrbiny. Řez zjednodušenými hlasivkami je zobrazen na obrázku 2.1.



Obrázek 2.1: Zjednodušené schéma řezu hrtanem zobrazující tvar hlasivky

Odvození pohybových rovnic proběhlo pomocí Lagrangerových rovnic II. druhu pro zjednodušený model hlasivky zobrazený na obrázku 2.2.



Obrázek 2.2: Geometrie tělesa představující hlasivku (detail z obrázku 1)

Pro malé úhly náklonu α platí rovnice $\mathbf{M}\ddot{\mathbf{w}} + \mathbf{B}\dot{\mathbf{w}} + \mathbf{K}\mathbf{w} = \mathbf{0}$, kde

$$\mathbf{M} = \begin{pmatrix} m & 0 \\ 0 & I \end{pmatrix} \quad (1)$$

$$\mathbf{K} = \begin{pmatrix} K_1 + K_2 & -K_1 \cdot l_1 + K_2 \cdot l_2 \\ -K_1 \cdot l_1 + K_2 \cdot l_2 & K_1 \cdot l_1^2 + K_2 \cdot l_2^2 \end{pmatrix} \quad (2)$$

a $\mathbf{B}$ je jednotková matice s prvky tlumení na diagonále. V maticovém zápisu pohybové rovnice je $\mathbf{w}$ zobecněný vektor souřadnic $\mathbf{w} = (w, \alpha)$, kde w je výchylka těžiště v ose y

a úhel α značí náklon hlasivky. Matice hmotnosti M obsahuje hmotnost hlasivky m a moment setrvačnosti I . Symboly K_1 a K_2 jsou tuhosti pružin, na kterých je těleso upevněno, l_1 a l_2 jsou vzdálenosti upevnění pružin od těžiště T .

Konstanty útlumu a tuhosti jsou odvozeny z vlastních frekvencí změřených ex vivo na skutečných lidských hrtanech.

3. Metoda konečných objemů pro řešení nestlačitelného proudění vazkých tekutin

Proudění je popsáno Navier-Stokesovými rovnicemi pro nestlačitelnou Newtonovskou tekutinu:

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho \mathbf{u}) + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \otimes \mathbf{u}) - \nabla \cdot (\nu \nabla \rho \mathbf{u}) = -\nabla p, \quad (3)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0, \quad (4)$$

kde $\mathbf{u}$ je vektor rychlosti, ρ je hustota, ν je kinematická viskozita a p je tlak.

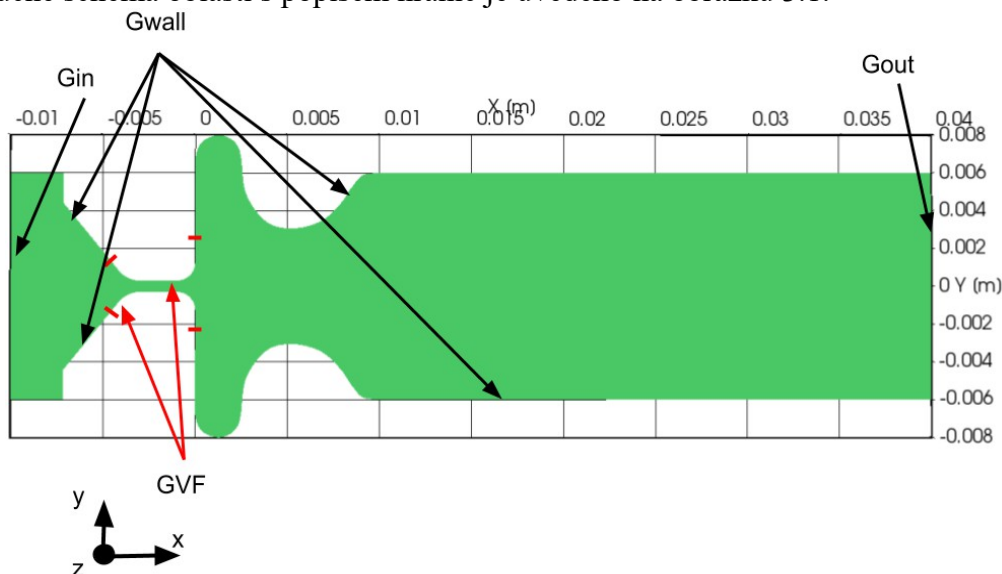
Systém zákonů zachování hybnosti a hmotnosti je nelineární a vzájemně provázaný, což ho dělá velmi náročným na řešení. Získání analytického řešení je možné ve velmi málo případech, příkladem je laminární proudění v jednoduché výpočetní oblasti – jako třeba proudění v trubce či mezi paralelními stěnami. Tyto případy jsou důležité pro ověření platnosti výše zmíněných zákonů a ověření správnosti numerického řešení, ovšem pro běžné inženýrské problémy je analytický výpočet nepoužitelný.

Obecně je postup při získávání řešení pomocí Metody konečných objemů následující:

1. Rozdělení oblasti na kontrolní objemy neboli vytvoření sítě.
2. Integrace rovnic přes kontrolní objem.
3. Převod objemových integrálů s divergencí na plošné integrály.
4. Aproximace plošných integrálů pomocí numerických toků.
5. Převod na soustavu lineárních rovnic a její numerické řešení.

V diplomové práci je diskutována cell-centered formulace metody konečných objemů, která je implementována v programu OpenFOAM. Více o této metodě lze nalézt v knize Ferziger [20].

Jednoduché schéma oblasti s popisem hranic je uvedeno na obrázku 3.1.



Obrázek 3.1: Geometrie oblasti hlasivek a označení hranic

Oblast je rozdělena na následující hranice:

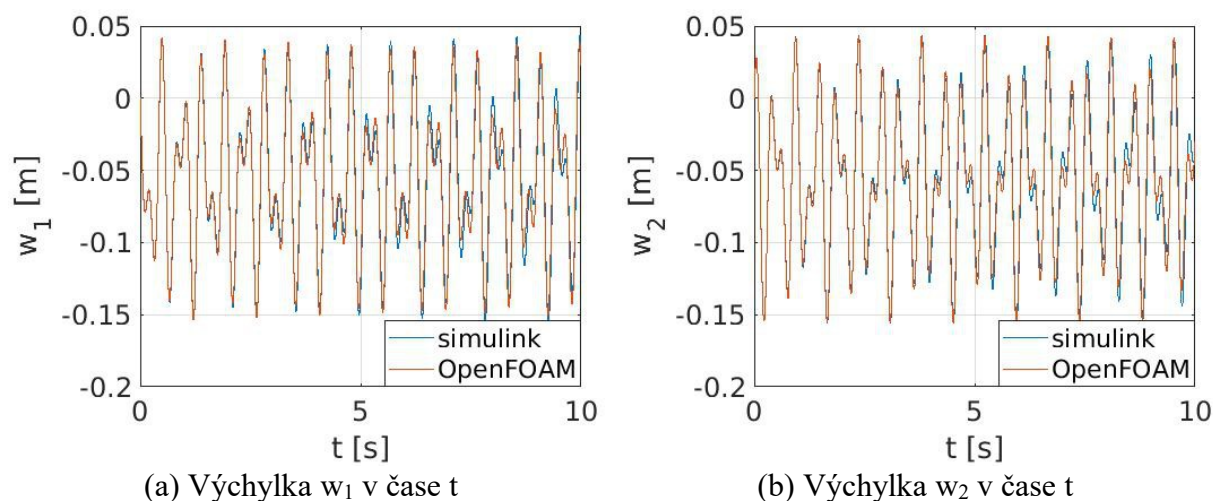
- Gin: zde je předepsána konstantní rychlost proudění
- Gout: výstup z oblasti
- GVF: stěna pohybující se hlasivky
- Gwall: nepohyblivá stěna
- empty: podmínka používaná ve 2D simulacích pro třetí rozměr

1. Numerická simulace obtékání modelu kmitajícího tělesa

V této kapitole jsou shrnuty výsledky všech provedených numerických simulací. Jsou zde porovnány výstupy z programu Matlab Simulink s výsledky z OpenFOAM. Dále jsou zde popsány 2D a 3D simulace interakce proudění s pružně uloženou hlasivkou.

1.1. Ověření řešiče pro dynamiku tuhých těles v OpenFOAM

Matematický model představený v kapitole 2 je zde použit pro ověření funkčnosti řešiče sixDoFRigidBodyMotion. Výsledky simulací z programu OpenFOAM jsou porovnány se simulacemi dynamických rovnic v programu Matlab Simulink. Výchyly jednotlivých pružin jsou zobrazeny na obrázku 4.1.



Obrázek 4.1: Vývoj výchylek upevnění pružin pro těleso se dvěma stupni volnosti

V případě programu OpenFOAM byla pro proudění zvolena nulová rychlost a hustota kapaliny byla nastavena jako $\rho = 1.2 \text{ kg/m}^3$. I v případě nulové rychlosti proudění způsobuje vzduch kolem kmitajícího objektu aerodynamické tlumení, které má za následek mírné odlišnosti v průběhu grafů, protože v analytickém odvození pohybových rovnic toto tlumení není uvažováno.

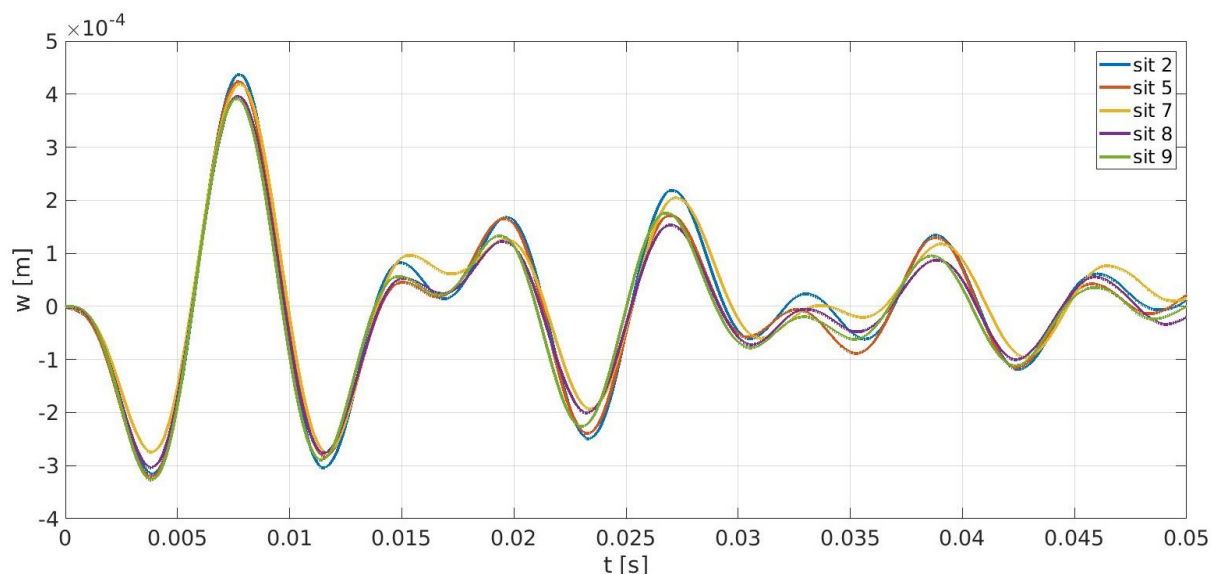
1.2. Analýza vlivu počtu elementů sítě na výpočet kmitů pro 2D model

Pro analýzu vlivu počtu elementů na výpočet kmitání hlasivky bylo použito 5 sítí s rozdílným počtem elementů, viz tabulka 4.1.

Tabulka 4.1: Počet elementů sítě

Označení sítě	Počet elementů
Sít' č. 5	3 050
Sít' č. 7	30 638
Sít' č. 2	60 836
Sít' č. 8	121 874
Sít' č. 9	242 792

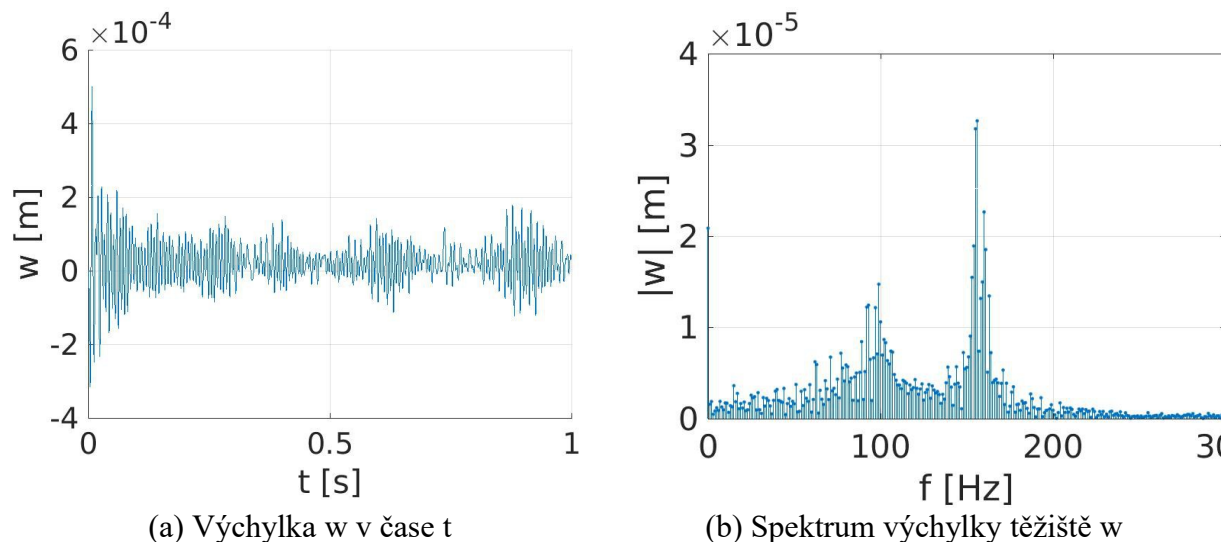
Počet elementů sítě má vliv na proudová pole, která se liší zejména v supraglotické oblasti. Na pohyb hlasivky působí aerodynamické síly, které pro různé případy vycházejí podobně, a tudíž se neliší ani výsledný pohyb hlasivek na různých sítích, jak dokazuje obrázek 4.2.



Obrázek 4.2: Výchylka těžiště w při vstupní rychlosti $u_x = 1$ m/s pro sítě s různým počtem elementů

1.3. Hranice aeroelastické nestability

Analýza vlivu velikosti rychlosti proudění na vstupu do oblasti u_x prokázala, že hranice aeroelastické nestability je $u_x = 1,4$ m/s. Hlasivce byl udělen počáteční náklon $\alpha = 5^\circ$. Průběh jedné výchylky v čase a k němu příslušné spektrum je zobrazen na obrázku 4.3.



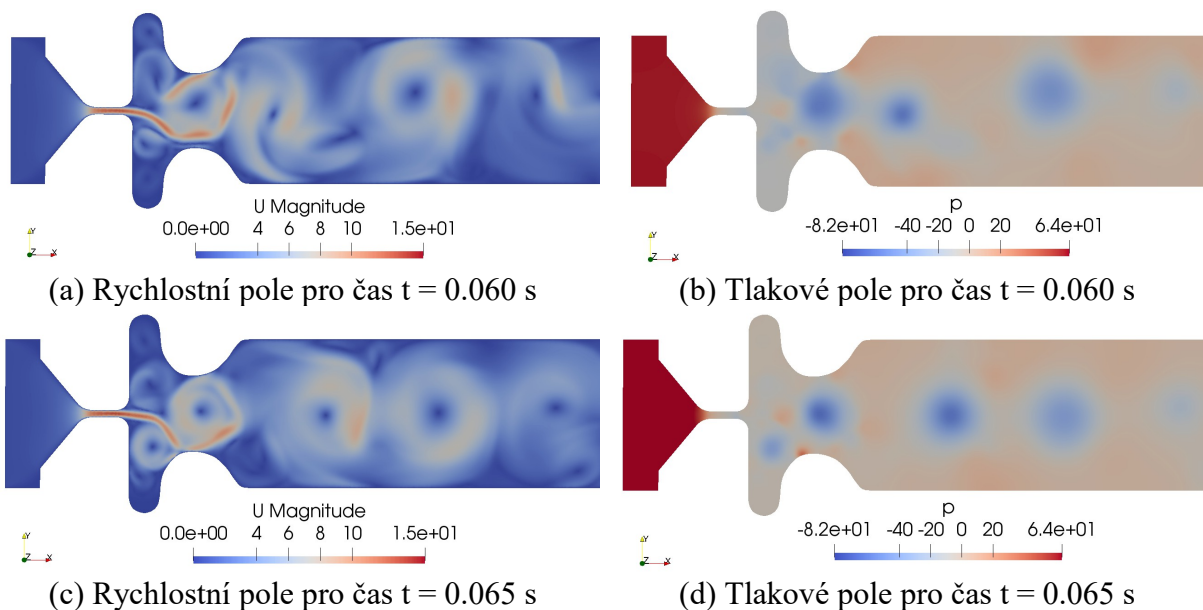
Obrázek 4.3: Vývoj kmitů hlasivky s rychlostí na vstupu $u_x = 1, 4$ m/s a počátečním nakloněním $\alpha_0 = 5^\circ$ a k ní příslušné spektrum

Hlasivka kmitá na frekvencích naměřených ex vivo na skutečných lidských hrtanech $f_1 = 100$ Hz a $f_2 = 160$ Hz.

1.4. Vývoj rychlostního a tlakového pole pro 2D model

Pro případ vstupní rychlosti do oblasti $u_x = 0, 5$ m/s je zde zobrazen vývoj rychlostního a tlakového pole v čase na obrázku 4.4. U rychlostního pole je patrné, že v zúžené části

kanálu proudění zrychluje. Na horním zaoblení hlasivky dochází k odtrhávání a vytváří se proud, který se díky interakci s velkými vírovými strukturami v supraglottické oblasti odchyluje od osy kanálu. Koherentní víry se pomalu posouvají k výstupu z oblasti. Na tlakových polích jsou vidět středy vírů jako oblasti nízkého tlaku.

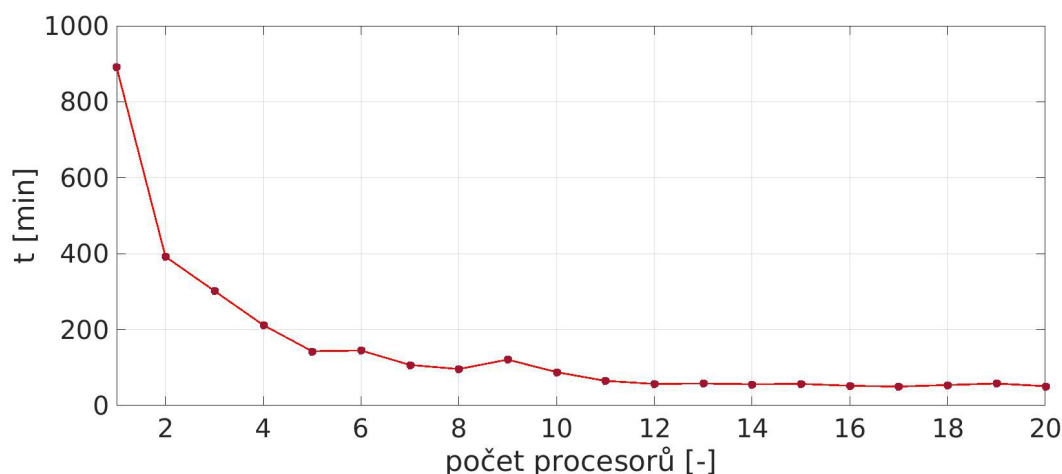


Obrázek 4.4: Vývoj rychlostního a tlakového pole pro vstupní rychlost do oblasti $u_x = 0,5$ m/s a počáteční náklon hlasivky $\alpha_0 = 5^\circ$ ve 2D

1.5. Paralelizace numerické simulace

Paralelizace se dělí na dva základní koncepty: Open Multiprocessing (OpenMP) a Message Passing Interface (MPI). OpenMP se vyznačuje komunikací přes sdílenou paměť, a proto ji nelze použít na výpočetních clusterech, ale pouze na vícejádrových architekturách nebo superpočítačích. MPI koncepce využívá pro komunikaci mezi uzly posílání zpráv. Tato komunikace probíhá po super rychlé síti, kterou jsou jednotlivé uzly propojeny. OpenFOAM využívá MPI.

Graf pro simulaci ve 3D je zobrazen na obrázku 4.5. Pro každou simulaci bylo spočítáno 1 000 časových kroků. Bylo provedeno 20 simulací pro 1 až 20 procesorů.



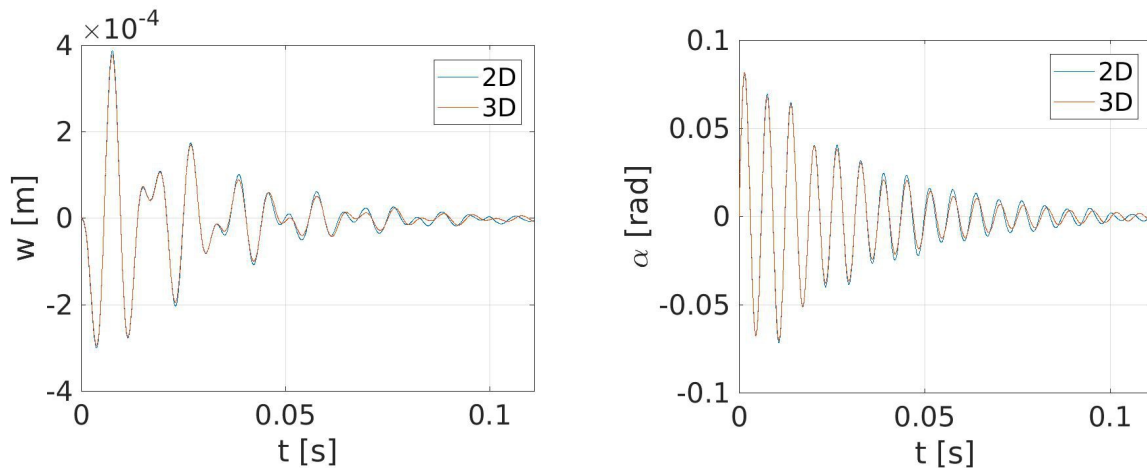
Obrázek 4.5: Výchylka těžiště w při vstupní rychlosti $u_x = 1$ m/s pro síť s různým počtem elementů

Na grafu je patrné, že například pro 9 procesorů vyšel výpočetní čas nepatrně vyšší než pro procesorů 8. Toto je způsobené neefektivním rozdělením oblasti pro 9 procesorů. Dělení sítě bylo v OpenFOAM nastavováno pomocí algoritmu scotch, který má jediný vstupní parametr počet procesorů. Simulace ve 3D byla počítána na 20 jádrech a celkové zrychlení oproti simulaci na jednom jádru je zhruba 17x.

1.6. 3D simulace

Numerická simulace na 3D síti byla spuštěna na serveru Charon, který vlastní Technická univerzita v Liberci. Server je zapojen ve sdružení výpočetních počítačů Metacentrum. Výpočetní oblast zobrazená na obrázku 3.1 je zde rozšířena do třetího rozměru, což způsobilo zvýšení počtu elementů z 60 386 pro 2D simulaci na 2 433 440 elementů.

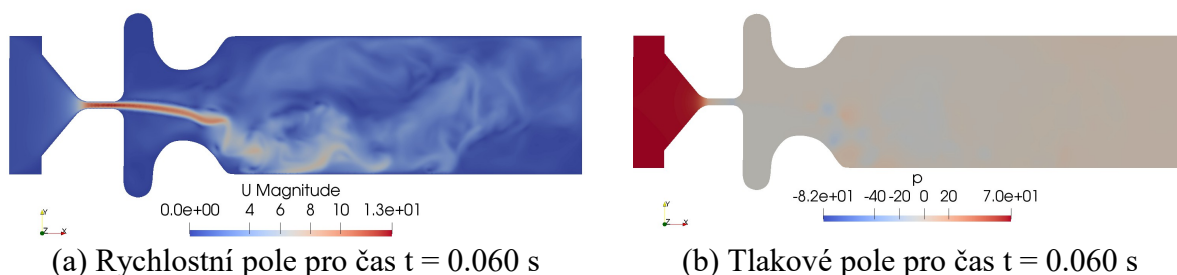
Pro 3D simulaci byl vybrán případ se vstupní rychlostí $u_x = 0,5$ m/s a počátečním nakloněním hlasivky $\alpha_0 = 5^\circ$. Simulace se stejnými parametry proběhla i ve 2D a na obrázcích 4.6a a 4.6b je zobrazeno srovnání kmitů těžiště w a úhlu naklonění α .



(a) Průběh výchylky těžiště w (b) Průběh náklonu hlasivky α
Obrázek 4.6: Vývoj kmitů hlasivky s rychlostí na vstupu $u_x = 0,5$ m/s a počátečním nakloněním $\alpha_0 = 5^\circ$ ve 3D

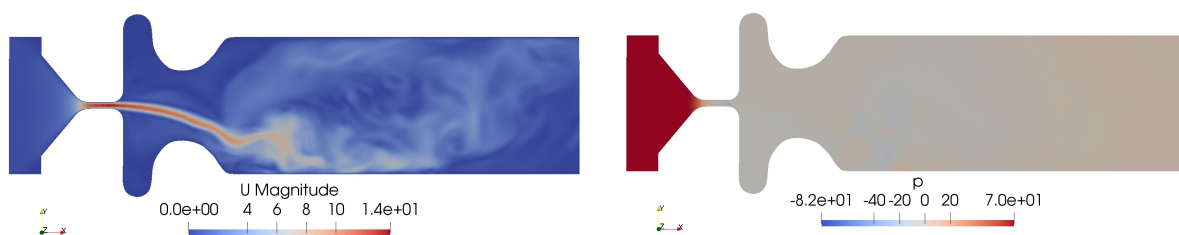
Z obrázků je patrný rozdíl mezi simulací ve dvou a třech rozměrech, který se projevuje mírnou odlišností v grafech pro výchylky. Tento rozdíl vychází ze simulace proudění, které se výrazně liší pro 2D a 3D případy. Tento fakt dokazují i pole rychlosti a tlaků zobrazená na obrázku 4.7, která jsou vytvořená pro stejný čas jako pole pro 2D případ (obr. 4.5).

Na obrázcích proudového pole je stejně jako ve 2D vidět zrychlování proudu v zúžené části kanálu. Na horním zaoblení hlasivky dochází k jeho odtrhávání. Na rozdíl od 2D simulace zde nevznikají velké víry, které se posouvaly k výstupu z oblasti. Toto je nejdůležitější rozdíl mezi 2D a 3D simulací, ve které velké víry disipují. Na tlakových polích jsou vidět středy vírů.



(a) Rychlostní pole pro čas $t = 0.060$ s

(b) Tlakové pole pro čas $t = 0.060$ s



(c) Rychlostní pole pro čas $t = 0.065$ s (d) Tlakové pole pro čas $t = 0.065$ s
 Obrázek 4.7: Vývoj rychlostního a tlakového pole pro vstupní rychlost do oblasti $u_x = 0,5$ m/s a počáteční náklon hlasivky $\alpha_0 = 5^\circ$ ve 3D

Závěr

Tato diplomová práce pojednává o numerickém modelování interakce proudění a pružně uloženého tělesa. Stručný úvod do problematiky proudění v lidském vokálním traktu a přehled přístupů k řešení tohoto komplexního problému je uveden v první kapitole.

Další kapitola se zabývá řešením matematického modelu hlasivek z pohledu dynamiky. Jsou zde odvozeny pohybové rovnice pro zjednodušený model se soustředěnými parametry. Dále jsou zde určeny konstanty pro tuhost a tlumení modelu.

Numerické metody použité při simulacích jsou popsány ve třetí kapitole. K simulacím byl použit open-source balík OpenFOAM, který řeší Navier-Stokesovy rovnice metodou konečných objemů. V této práci byly použity N-S rovnice pro nestlačitelné laminární proudění. Dále jsou zde popsány okrajové podmínky.

Čtvrtá kapitola je rozdělena na dvě základní části. V prvním kroku byla ověřena funkčnost řešiče pimpleDyMFoam. Pro matematický model se dvěma stupni volnosti byla spuštěna simulace pro volné kmitání tuhého tělesa. Pro tutu simulaci byla nastavena nulová rychlost proudění. Diferenciální rovnice popisující stejný případ byla simulována v programu Matlab Simulink. Výsledky potvrdily schopnost řešiče v OpenFOAM simulovat tělesa s více stupni volnosti.

Pro model hlasivky byly provedeny simulace interakce proudění s pružně uloženým tělesem ve 2D a 3D. V prvních krocích byly řešeny možnosti deformace sítě. Specifický problém pro proudění v lidském vokálním traktu je velmi úzká štěrbina mezi hlasivkami. V této štěrbině dochází k největší deformaci sítě. V reálném případě se hlasivková štěrbina zcela uzavře, což při simulacích v této práci nebylo možné, a je to jedno z možných témat pro další výzkum. Při zmenšování štěrbin dochází ke zplošťování elementů, následnému nedodržení kritérií kvality sítě a pádu simulace.

Pomocí numerických simulací byla nalezena kritická rychlost proudění, při které dochází ke vzniku netlumených kmitů. Dále byla nalezena rychlost, při které je hlasivka rozkmitána prouděním bez počátečního impulsu. Byla provedena analýza vlivu velikosti sítě na výpočet kmitů. Pro použité sítě v rozměru 3 000 – 200 000 elementů nebyl zaznamenán výrazný rozdíl ve výchylkách.

V poslední části práce je představena 3D simulace, která byla spuštěna na výpočetním clusteru Charon. Průběhy výchylek jsou zde srovnány se stejným případem ve dvou rozměrech. Dále jsou zde zobrazena rychlostní a tlaková pole pro řez oblastí, která jsou také srovnatelná s poli zobrazenými pro 2D případ.

V této diplomové práci byl vyvinut zcela nový numerický model pro interakci proudění a tuhého tělesa se dvěma stupni volnosti pružně uloženého ve stěně kanálu, představujícím jednoduchý model lidské hlasivky. Velkou výzvou do budoucna je řešení dynamické změny sítě pro malé až nulové rozměry hlasivkové štěrbiny.

Literatura

- [1] F. Alipour, C. Brücker, D. Cook, A. Gommel, M. Kaltenbacher, W. Mattheus, L. Mongeau, E. Nauman, R. Schwarze, I. Tokuda, and S. Zorner, “Mathematical models and numerical schemes for the simulation of human phonation,” vol. 6, pp. 323–343, 09 2011.
- [2] J. L. Flanagan and L. L. Landgraf, “Self-oscillating source for vocal-tract synthesizers,” vol. 16, pp. 57 – 64, 04 1968.
- [3] K. N. Stevens, “Physics of laryngeal behavior and larynx modes,” vol. 34, pp. 264–279, 1977.
- [4] B. Story and I. Titze, “Voice simulation with a body-cover model of the vocal folds,” vol. 97, pp. 1249–60, 03 1995.
- [5] F. Alipour, D. Berry, and I. Titze, “A finite-element model of vocal-fold vibration,” vol. 108, pp. 3003–12, 12 2000.
- [6] J. Ferziger and M. Peric, Computational Methods for Fluid Dynamics. Springer Berlin Heidelberg, 2012.

Příprava scintilační vrstvy z nanoprášku pro X-ray analýzu

Ondřej Zapadlík

Sekce - MECHATRONIKA, Fakulta mechatroniky, 2.
ročník Magisterský studijní program –
NANOMATERIÁLY

Abstrakt: Tématem této diplomové práce je příprava scintilačních vrstev z nanoprášků pro X-ray zobrazovací analýzu. Motivací je vytvořit scintilační vrstvu s lepšími vlastnostmi z nanoprášků než scintilační vrstvy připravované z mikroprášků ve firmě Crytur v Turnově.

Experimentální část je rozdělena na tři oddíly. V prvním oddílu se věnuji přípravě scintilačních nanoprášků YAG, LuAG:Ce, YSO:Ce. Pro přípravu vrstev jsem zvolil metody spincoating a elektroforetickou depozici. Tyto metodické experimenty jsou popsány v druhém oddílu. V poslední části se věnuji vyhodnocení optických vlastností a homogenitě připravených vrstev. Povedlo se mi připravit několik vrstev různými metodami. Výsledky experimentů značí, že potenciálně nejvyšší vrstvy lze připravit elektroforetickou depozicí.

Klíčová slova: Scintilátory, nanoprášky, LuAG:Ce, YSO:Ce, příprava vrstev, X-ray, tenké vrstvy, elektroforetický depozice, spin coating

1 Úvod

Po objevu rentgenového záření Wilhelmem C. Roentgenem roku 1895 byla snaha vynalézt způsob, jak toto neviditelné záření detekovat. Schopnost detekce X-ray záření absorpcí je velice neefektivní, začaly se tedy zkoumat materiály, které by převedly záření na dobře detekovatelné viditelné světlo. Mezi první vytvořené scintilátory patří CdWO_4 (zkráceně CWO), uranylové soli užití Antoinem H. Bequerelem na objev radioaktivity roku 1896 a ZnS použité Crooksem a Rutherfordem pro studium rozptylu alfa částic. V té době se záblesky detekovaly pouhým lidským okem pod jednoduchým mikroskopem. Toto zařízení se nazývalo spintariskop [1]. Po delším časovém období byl vynalezen NaI:Tl , který je jedním z nejčastěji používaných scintilačních detektorů. NaI:Tl má nejlepší energickou rozlišovací schopnost, nevýhodou je ovšem jeho křehkost a hygroskopičnost [2].

Detekce různých druhů ionizačního záření, jakým jsou α -alfa, β -beta, γ -gama, X-ray, neutronové a vysoce energetické částice, se využívá v mnoha odvětvích. Scintilátory mohou být například využity jako měřiče radioaktivity, detektory v mikroskopech, urychlovačích, jaderných elektrárnách, bezpečnostní senzory a v nukleární medicíně či jiných medicínských aplikacích [3]–[5].

X-ray záření se může detekovat dvěma způsoby, přímo a nepřímo. Přímá detekce vytváří při interakci se zářením tvorbou párů elektron-díra elektrický signál. Nepřímá detekce je založena na konverzi X-ray záření na záření ve viditelném spektru, které se dále detekuje polovodičem. Výhodou přímé detekce je, že vynechává konverzi na viditelné záření, při které může dojít ke ztrátě informace. Dále umožňuje jedno-fotonové snímání, kdy detektor snímá a zpracovává každý X-ray foton individuálně. Takovéto detektory jsou vyvíjeny a jsou silně náročné na použitou elektroniku. Nevýhodou přímé detekce je, že komerční senzory např. CCD jsou vyráběny hlavně pro detekci záření ve viditelném spektru a mají velice nízkou citlivost v X-

ray oblasti. Druhou možností je zmíněná konverze X-ray pomocí scintilátoru na UV/VIS a dále detekce pomocí např. CCD [6].

V dnešní době je předmětem mnoha studií vývin scintilátorů s lepší svítivostí a celkovým prostorovým rozlišením [7], [8]. Nanopráškové scintilátory díky své velikosti vykazují jedinečné vlastnosti. Nejatraktivnější vlastností na nanopráškových scintilátorech je jejich násobně větší světelná účinnost [9]. Další jejich výhodou je, že je lze díky jejich menší hrubosti (plošné porozitě) lépe povrchově upravovat (např. napařování). Pro jejich praktické využití jsou kladeny požadavky převážně na jejich velikost částic, hustotu pro vysokou absorpci X-ray, vysoký světelný výťažek a samozřejmě na jejich cenu [10].

2 Teoretická část

2.1 Teorie scintilátorů

Scintilátor, někdy též označován jako fosfor (phosphor), je materiál, jenž disponuje schopností scintilace. Tuto schopnost má materiál pouze pokud obsahuje luminiscenční centra. Luminiscenční centra mohou být buď dopované (aktivované), tj. dopované ionty (Ce, Tb, Eu), nebo vlastní (neaktivované), tj. molekulové systémy v mřížce nebo defekty v mřížce disponující schopností zářivé emise mezi excitovaným a nižším energetickým stavem [11]. Scintilace je jev, při kterém interakcí látky s ionizačním zářením dojde k excitaci elektronů za současného vytvoření díry. Snaha atomu dostat se do základního stavu vynutí elektron z vyšší hladiny zaplnit elektronovou díru. Poté tedy dochází k jejich následné relaxaci do základního stavu za současného vyzáření viditelného nebo blízkého ultrafialového záření (UV/VIS). Jako scintilační detektor je označen scintilátor, který prošel určitou úpravou (obrábění, úprava povrchu, zapouzdření). Scintilační detektor se skládá ze scintilátoru, optického elementu a fotodetektoru. Z scintilátoru po dopadu záření se vyrazí UV/VIS fotony, které mohou být dále soustředěny, někdy též zesíleny, světlovody na fotodetektor, jehož výstupem je elektrický signál, který je dále zpracováván [12]. Scintilátorům se někdy též říká posunovači vlnové délky (wavelength shifter), neboť z fotonů o malé vlnové délce vytváří fotony o velké vlnové délce.

2.1.1 Nanopráškové scintilátory

Jako nanopráškové scintilátory označujeme práškové scintilátory, které mají rozměr částic pod 100 nm. V těchto malých rozměrech se objevují jedinečné zajímavé vlastnosti, jako je například 100% nárůst radiační doby života aktivátorů v nanokrystalické matici. Nanopráškové scintilátory lze vyrábět například radiačně indukovanou syntézou [13], [14], spalovací syntézou [15], [16], laserovou ablací [17] nebo nekonvenčními metodami, které jsou popsány v pracích [18]–[20].

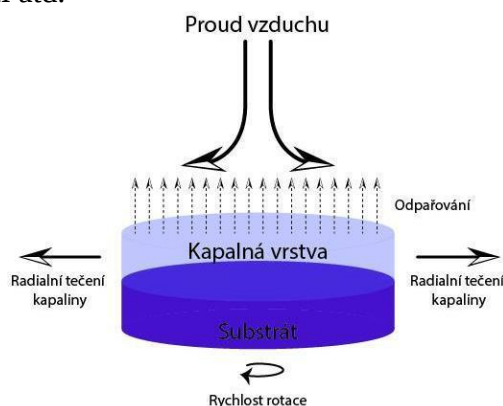
Nanoprášky jsou velice oblíbené hlavně kvůli jejich nenáročné výrobě, nízké ceně, lehké manipulaci a jednoduché přípravě 2D scintilačních vrstev pro zobrazovací techniky. Článek [21] se zabývá využitím scintilačních prášků jako potencionální náhrady za roztok „cocktail“ v kapalně scintilační spektrometrii (LSC).

2.2 Metody přípravy vrstev

2.2.1 Spin coating

Spin coating je metoda, která se využívá pro přípravu uniformních tenkých vrstev. Celková metodika je velice jednoduchá. Malé množství povlakového materiálu je aplikováno do středu na povrch substrátu při nízkých nebo

nulových otáčkách. Jako rozpouštědlo látky tvořící finální vrstvy se používají převážně látky prchavé. Odstředivá síla urychlující roztok při rotaci zároveň urychluje vypařování rozpouštědla. Síly během odstředování znázorňuje Obrázek 1. Čím vyšší rychlost, tím tenčí bude výsledná vrstva. Krom rychlosti závisí též na vlastnostech rozpouštědla/roztoku, tedy na jeho viskozitě, koncentraci atd.



Obrázek 1: Znáznornění sil působících na deponovaný materiál.

Spin coating se běžně používá pro vytvoření funkčních vrstev na skelných nebo krystalických substrátech použitím sol-gel prekurzorů. Touto metodou jsme schopni připravit tenké vrstvy s tloušťkou až v řádech nanometrů. Zařízení používané pro spin coating se nazývá spincoater.

2.2.2 Elektroforetická depozice

Elektroforetická depozice (EPD) je známa již více jak 200 let. Základní myšlenka metody spočívá ve využití pohybu nabitých částic v roztoku pod působením elektrického pole. Pohyb částic je způsoben nábojem částic. V závislosti na náboji elektrody, na které dochází k depozici částic, hovoříme poté o anodické resp. katodické EPD.

Proces lze rozdělit do dvou dějů, na pohyb nabitých částic v elektrickém poli a na depoziční děj na elektrodě. Mezi přední výhody EPD patří rychlost, nenáročnost zařízení a univerzalita metody. Pomocí této metody bylo připraveno již mnoho materiálů: luminiscenční materiály, tenké křemíkové filmy, gradientní materiály, různé druhy keramik atd. [22].

Konkrétně v souvislosti k této práci lze najít v literatuře mnoho zmínek o vytvoření vrstev z keramických prášků, atd. [23]–[29]. Proto považuji tuto metodu za jednu z potenciálně nejvhodnějších pro tvorbu scintilačních vrstev z nanoprášků.

Fyzikální popis depozice není jednoznačně v literatuře popsán a jednotlivé teorie se liší. Použitím vodné suspenze prášku se velmi zjednoduší příprava, přičemž proces můžeme ovlivňovat pomocí změny pH a vodivosti roztoku přidáním jiných látek. Pro zvýšení vodivosti se například používá jód [30]. Jedna z největších nevýhod při použití vodných suspenzí je rozklad vody na elektrodách. Konkrétně na katodě se začne vylučovat vodík a na anodě kyslík. Tomuto procesu lze nejjednodušeji zamezit použitím nízkých proudů (nižších než pro elektrolytický rozklad vody). Použití vyšších proudů bez vytváření pórů na vrstvě vodíkem lze provést se speciálními korozivzdornými elektrodami (Pd), přidáním dalších chemikálií nebo použitím asymetrického střídavého elektrického pole [29].

3 Experimentální část

3.1 Příprava vrstvy

Po přípravě prášků bylo dalším krokem nalezení vhodné metody pro vytvoření vrstvy z nanoprášku. Mezi nejdůležitější požadavky na vzorky patří homogenita, tloušťka a opakovatelnost metody. Z ekonomických důvodů byl pro prvotní testy zvolen lehce dostupný prášek YAG.

Pro nanášení prášků byly na základě literatury a doporučení zvoleny tyto testovací metody:

- Spin coating
- Elektroforetická depozice

3.1.1 Spin coating

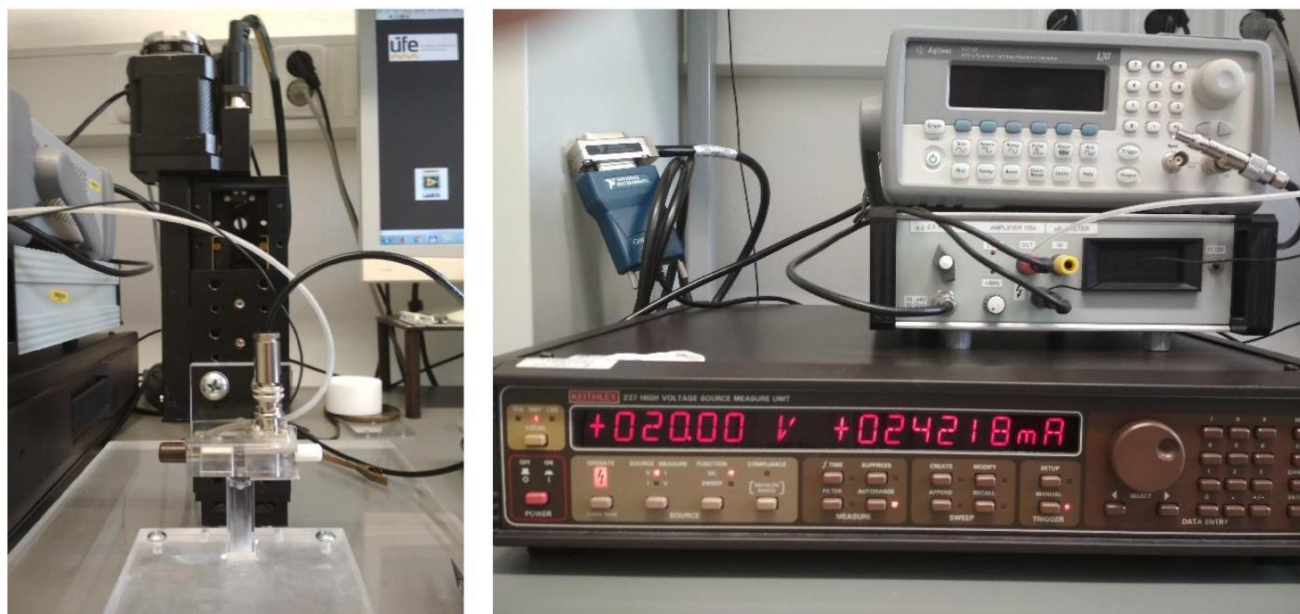
Spin coating byl prováděn na podomácku udělaném spincoateru dostupném na TUL. Tento přístroj nedisponuje nastavitelnými otáčkami a rotuje přibližně konstantní rychlostí 3000 otáček za minutu.

Prášky byly nejdříve testovány s různými rozpouštědly u vypařování a spin coatingu za účelem zjištění jejich chování. Vypařováním je myšleno vypaření kapky suspenze kápnuté na substrát. Jako substrát byla použita klasická sklíčka. Spin coating a vypařování bylo provedeno pro několik vybraných organických rozpouštědel: voda, izopropylalkohol, oxid křemičitý (SOL), dichlormethan, cyklohexan, aceton a isoamyl acetat.

3.1.2 Elektroforetická depozice (EPD)

V případě použití nanoprášků pro EPD je pouze podstatné, aby hodnota zetapotenciálu částic byla co nejvyšší. Čím vyšší hodnota zetapotenciálu, tím stabilnější roztok. Stejná hodnota náboje způsobuje vzájemné odpuzování částic, čímž mají menší tendenci agregovat. Vyšší hodnoty zetapotenciálu můžeme docílit, krom změny rozpouštědla, také změnou pH či přidání povrchově aktivní látky (PAL). Zetasizer krom měření zetapotenciálu zároveň vypočítá elektrickou mobilitu a vodivost roztoku.

Hlavními faktory ovlivňující samotný proces EPD metody jsou stabilizace roztoku, přiložené napětí na elektrody, resp. proud procházející roztokem a doba depozice. První testovací experimenty byly provedeny na ústavu fotoniky a elektroniky Akademie věd (UFE) ČR, kde mají k dispozici zařízení na EPD (viz Obrázek 2). S tímto zařízením lze provést jak kontinuální tak pulsní depozici s nastavitelnými parametry pulsu. Elektrody jsou od sebe vzdáleny 0,5 cm a lze na ně přivést napětí až 1000 V.



Obrázek 2: Instrumentace PED zařízení na ústavu fotoniky a elektroniky AV ČR

3.2 Charakterizace vrstvy

Pro vyhodnocení kvality vrstev jsem zvolil dvě metody. Pro určení homogenity vrstev připravených z prášku YAG, tedy opticky neaktivního testovacího prášku, byly pořízeny snímky pod optickým mikroskopem ZEISS Imager.M2 AX10 na TUL.

Jakmile jsem začal připravovat vrstvy z LuAG:Ce a YSO:Ce, hodnotil jsem je převážně pomocí X-ray zařízení v Cryturu. Zařízení pracuje na jednoduchém principu. Scintilace vrstev je buzena pomocí X-ray záření generovaného rentgenkou s měděnou katodou. Pevné standardní nastavení pro běžné měření rentgenky je nastavené na 40 keV napětí na žhavicím vlákne a výkon 2 W. Scintilační záření je detekováno CCD kamerou G-4 16000 Moravian Instruments. Celá sestava je uložena v odstíněném boxu. Ostření kamery je realizováno dálkově pomocí softwaru. Software jsem osobně naprogramoval v Pythonu. Jádrem programu spočívá v komunikaci mezi uživatelem a driverem krokového motoru TMC2130 od firmy Trinamic. Tento software se začal používat pro komerční užití jako součást výrobku Cryturu na ovládání kamery CRYCAM HIGH RESOLUTION X-RAY SYSTEM.

Pro porovnání jednotlivých vrstev poté slouží hodnota, která reprezentuje intenzitu záření, respektive průměrná hodnota signálu detekovaného pixely CCD kamerou. Tuto hodnotu získáme ve softwaru SIPS od Moravian Instruments nebo jiných programech na vyhodnocování obrázku schopných otevřít formát „.fits“. Výběrem oblasti na obrázku získáme průměrnou hodnotu signálu z této oblasti – integrální hodnotu intenzity (IHI).

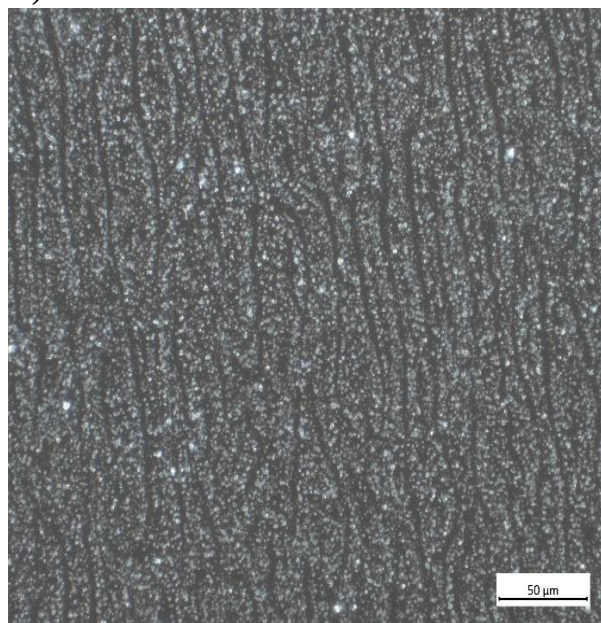
4 Výsledky a diskuze

4.1 Příprava vrstvy

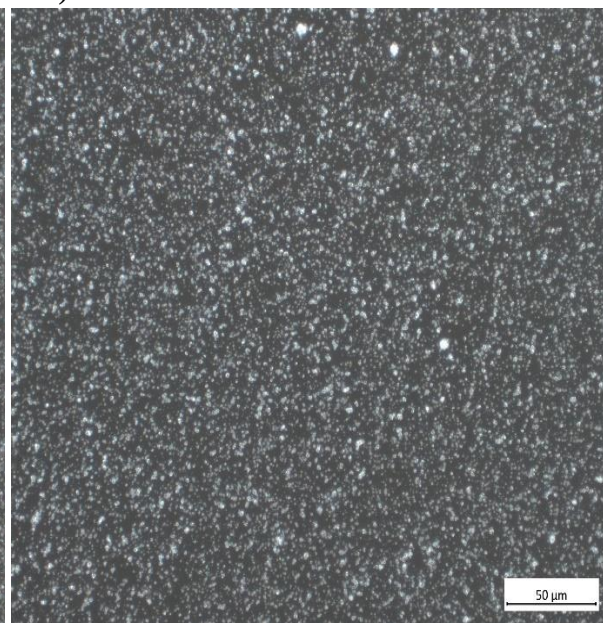
4.1.1 Spin coating

Příprava roztoků pro vypařování a spin coating probíhala následujícím způsobem. Nejprve byla hrubá frakce (HF) YAG (popis výroby popsán v předchozí kapitole) rozpuštěna v každém z výše zmíněných rozpouštědel. Navážka YAG (5 mg) byla vypočítána na základě představy o požadované vrstvě (cílená tloušťka cca 1 μm). Suspenze (2 ml) byla nejprve dispergována pomocí ultrazvukového homogenizátoru. Sklíčka byla před aplikací suspenze omyta izopropylalkoholem. Substrát jsem nejprve umístil do spincoateru a upevnil pomocí oboustrané pásky. Na vytvoření vrstvy byl vždy použit roztok o objemu 0,2 ml s koncentrací HF YAG 2,5 g na litr rozpouštědla. Aplikace roztoku byla provedena dvěma způsoby: aplikací před rotací spincoateru (3 sekundový interval) a aplikací za současné rotace spincoateru. Výsledné vrstvy byly následně zkoumány a zhodnoceny pod optickým mikroskopem ZEISS Imager.M2 AX10.

A) YAG + Sil2



C) YAG + IPA

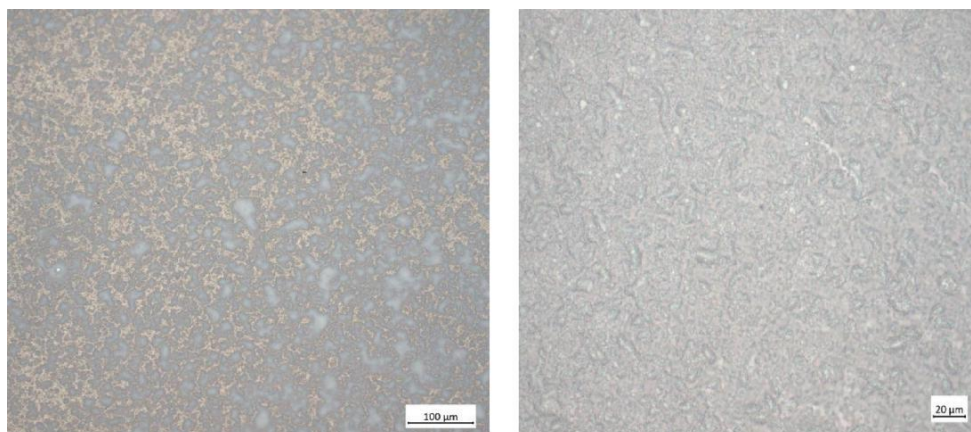


Obrázek 3: Snímky z optického mikroskopu vybraných rozpouštědel pro spin coating s HF YAG.

4.1.2 Elektroforetická depozice

Pro účely elektroforetické depozice byly zvoleny polární rozpouštědla: destilovaná voda, izopropylalkohol (IPA) a etanol. Pro tyto rozpouštědla byl změřen zetapotenciál na Zetasizeru jak pro YSO:Ce, tak LuAG:Ce. Pro EPD je důležité, aby částice měly co největší náboj nezávisle na znaménku. Z důvodu nízkých hodnot zetapotenciálu u etanolu byly nadále používány pouze rozpouštědla voda a IPA. První testy pro nalazení optimálních parametrů byly provedeny na Ústavu fotoniky a elektroniky Akademie věd ČR na jejich měřicí aparatuře.

Testy byly provedeny s práškem HF YSO:Ce v H_2O a v IPA. Zprvu bylo odhadnuto potřebné napětí na základě zeta potenciálů roztoků. Byla provedena sada experimentů pro nalezení optimálních parametrů. Jako substrát byly z počátku z ekonomických důvodů použity křemíkové tenké plátky, dodané taktéž UFE AV ČR. Kvalita vrstev byla hodnocena pod optickým mikroskopem ZEISS Imager.M2 AX10.



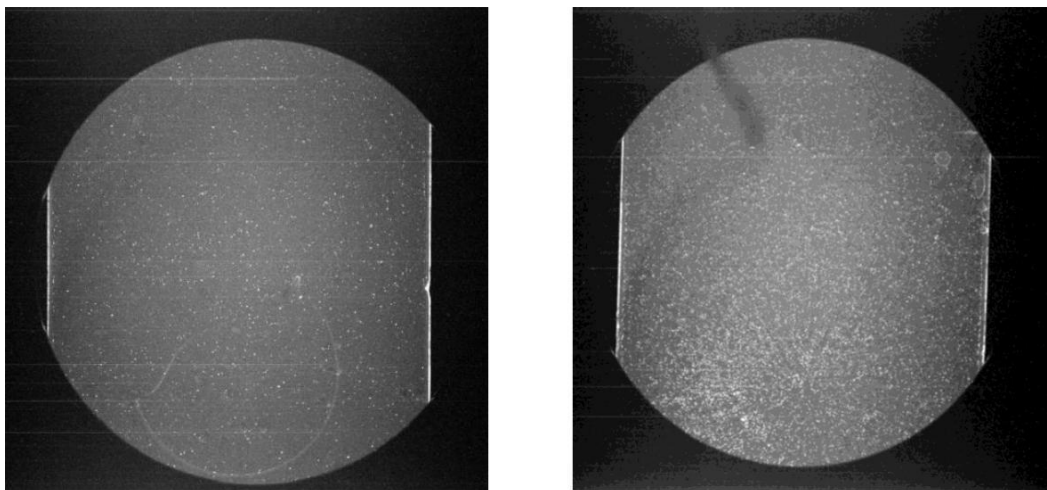
Obrázek 4: Porovnání připravených YAG vrstev EPD metodou při různých napětích (vlevo 100 V vpravo 10 V). Snímek pořízen pod optickým mikroskopem.

Další testy byly prováděny na osobně připravené aparatuře v laboratoři na TUL. Aparatura se skládá z držáku pro elektrody, plošných spojů a sponek pro úchyt elektrod. Aparaturu pro elektroforetickou depozici jsem navrhnul v programu SOLID WORKS a vytsiknul na 3D tiskárně Prusa i3 v Cryturu v Turnově. Vodiče byly připájeny na měděné spoje tvořící plošný spoj pro příchyt elektrod (viz příloha). Objem aparatury je koncipován pro 2 ml roztoku.

Na základě výsledků z proměření vrstev pod X-ray zařízením byl navržen další postup. V této sérii testů jsem použil nejkvalitnější prášky a substráty, které jsem měl k dispozici a výrazně jsem dbal na čistotu prostředí a pomůcek během experimentů. Použité prášky byly JF LuAG:Ce a JF YSO:Ce. Jako substrát byla použita čtvercová ITO sklička s plošným odporem $12 \Omega/\text{cm}$ o rozměrech $8 \times 25 \times 1 \text{ mm}$. Pro tyto sklička jsem vyrobil novou EPD aparaturu s objemem 1,2 ml. Před použitím byla sklička omyta v acetonu. Dispergace prášků před použitím pro EPD byla provedena pomocí ultrazvukového homogenizátoru po dobu 10 minut ($\approx 30 \text{ kJ}$).

4.2 Zhodnocení optických vlastností připravených vrstev

Na snímcích (viz Obrázek 5) vidíme vrstvy LuAG:Ce připravené metodou spincoatingu se solem Sil2. Tyto vrstvy dosahují velmi nízkých hodnot luminiscence. Kvůli nízkému signálu jsem musel nastavit expozici na 240 sekund (IHI v rozmezí 450-500). Bílé pruhy na snímcích jsou způsobeny špatným poměrem signál/šum a též nedostatečným odstíněním kamery od X-ray záření. Hlavním příčinou nízkého signálu je velmi malá tloušťka vrstvy. Sol-gel metodou jsme schopni připravit homogenní vrstvy s maximální tloušťkou 100-150 nm. Při větší tloušťce vrstvy dochází k popraskání solu Sil2. Jak znázorňují obrázky, při použití hrubší frakce se výrazně zhorší homogenita vrstvy. Spincoating se dá provádět dvěma způsoby. Rotací před kápnutím roztoku nebo pár sekund po nakápnutí roztoku. Na snímku z X-ray je znatelná stopa hranice kapky, která vznikla před začátkem rotace spincoateru. Z tohoto důvodu by měly další vrstvy být připravovány pouze nakápnutím vzorku při již spuštěném spincoateru.



Obrázek 5: Snímky připravených LuAG:Ce vrstev CCD kamerou po ozáření X-ray zářením. Vlevo příprava spincoatingem Sil2 + JF LuAG:Ce, vpravo spincoating Sil2 + HF LuAG:Ce.

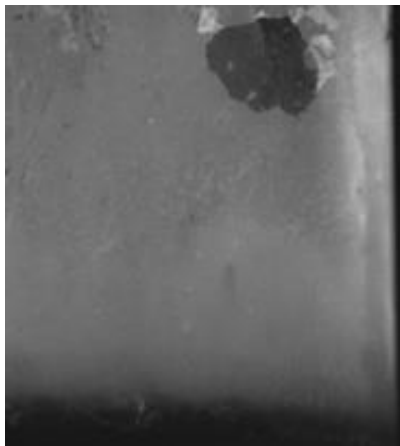
U EPD testů se vlivem rozpouštědla H_2O , konkrétně H^+ , redukovala ITO vrstva a nedocházelo k tvorbě vrstvy. Redukcí vznikají In/Sn částice na povrchu substrátu, což má za následek změnu plošné vodivosti substrátu. Mimo to nedochází k depozici prášku. Díky tomuto nepříznivému efektu jsem mohl porovnat vrstvy pouze z nanoprášků v rozpouštědle IPA. Redukci vodíku lze zamezit použitím velmi nízkých napětí nebo korelací napětíového signálu např. pulzní EPD, střídavým proudem, odolnou napařenou vodivostní transparentní vrstvou atd.

Nejkvalitnějších vrstev bylo dosaženo pomocí EPD, kdy prášky byly rozdispergovány v IPA. Na snímcích vidíme výrazné defekty vrstvy. Většina defektů ve krajních částech je způsobena vytáhnutím sklíčka z aparatury. Použitím motorizované vysouvače lze tomuto zabránit. Vrstvy obsahují homogenní oblasti, které dokazují, že metodu optimalizací lze použít pro vytvoření kvalitní vrstvy. Tloušťku vrstvy ovlivňujeme počtem opakování depozice. Při dlouhé depozici (30 minut) bez výměny roztoku dojde vlivem napětí k agregaci částic a koncentračnímu gradientu v roztoku. Tento jev má za následek tvorbu nehomogenní vrstvy. Efekt je velmi znatelný v oblasti menisku.

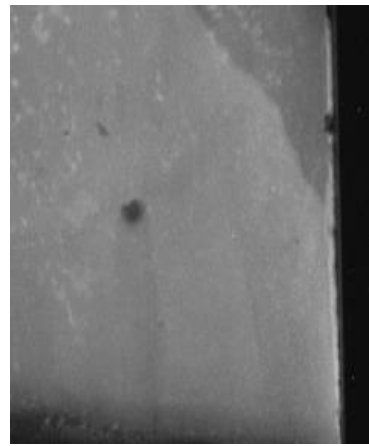
LuAG:Ce 5V 30 min



LuAG:Ce 5V 4 x 10 min



YSO:Ce 5V 4 x 10 min



Obrázek 6: Snímky scintilačních vrstev připravené EPD zobrazené pod X-ray.

5 Závěr

Tato diplomová práce se zaměřuje na přípravu scintilační vrstvy z nanoprášků s potenciálním využitím pro X-ray zobrazovací analýzu. Motivací této práce je připravit základ pro výzkum scintilačních vrstev z nanoprášků s lepšími vlastnostmi než vrstvy z mikroprášku připravované ve firmě Crytur v Turnově.

V teoretické části se věnuji rozsáhlé problematice scintilátorů, metodám přípravy vrstev z prášků a metodám charakterizace prášků a vrstev. V poslední řadě se věnuji X-ray zobrazovací analýze využívané v Cryturu.

Pro účely experimentální části práce jsem vybral potenciálně nejžádanější scintilační prášky LuAG:Ce, YSO:Ce a testovací prášek YAG. Tyto prášky byly osobně připraveny na FJFI ČVUT v Praze radiačně-chemickou metodou. Veškerý postup přípravy a měření uvádím v této práci. Prášky byly následně frakcionalizovány a charakterizovány pomocí několika metod: sedimentace, odstředivá disková centrifugace, rentgenová difrakční analýza a skenovací elektronová mikroskopie. Pro vybrané vzorky byl změřen zetapotenciál a elektrická mobilita částic, konkrétně v rozpouštědlech IPA a H₂O.

Na základě rešerše jsem vybral jako nejvhodnější metody pro přípravu vrstev z nanoprášků metody spin coating a elektroforetickou depozici. Doplnující metoda pro porovnání chování prášků v různých rozpouštědlech je vypařování. Provedl jsem sadu experimentů s vypařováním s různými rozpouštědly a určil jako nevhodnější IPA a H₂O. Pomocí spin coatingu byly připraveny vrstvy, díky kterým bylo zjištěno, že tloušťka vrstev připravená sol-gel metodou není dostatečná, aby byla scintilace porovnatelná s ostatními vrstvami. Elektroforetická depozice se jeví jako nejslibnější metoda pro přípravu kvalitních scintilačních vrstev z nanoprášku. Pro testy této metody jsem vyrobil jednoduchou aparaturu, pomocí které bylo provedeno několik experimentů. Byly připraveny vrstvy při různých podmínkách EPD (napětí, koncentrace roztoku, typ substrátu).

Kvalita vrstev z testovacího prášku byla hodnocena pod optickým mikroskopem. Kvalita vrstev z opticky aktivních prášku byla hodnocena na X-ray zařízení v Cryturu. V rámci diplomové práce jsem naprogramoval software pro zaostření kamer k tomuto zařízení.

Tato diplomová práce svoji obsáhlostí nabízí pokračování v mnoha směrech. Zásadní vliv na kvalitu vrstev má stabilizace roztoku při experimentech. Zajímavou cestou by byl výzkum rozlišovací schopnosti homogenních tenkých scintilačních vrstev. Pro elektroforetickou depozici by bylo vhodné vyvinout sofistikovanější aparaturu se softwarovou automatizací procesu. Stabilizací roztoku a použitím vhodných podmínek EPD lze podle mě připravit kvalitní scintilační vrstvy z nanoprášků. Přípravě scintilačních stínítek bych se rád věnoval dále v rámci doktorského studia.

Literatura

- [1] J. Gerndt, *Detektory ionizujícího záření*. Praha: ČVUT, 1994.
- [2] „History of the scintillation and luminescence materials.pdf”. Strengthening Ukraine and EU research cooperation in the field of Material Sciences.
- [3] P. Lecoq, „Development of new scintillators for medical applications”, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. Accel. Spectrometers Detect. Assoc. Equip.*, roč. 809, s. 130–139, úno. 2016.
- [4] A. Kamkaew, F. Chen, Y. Zhan, R. L. Majewski, a W. Cai, „Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy”, *ACS Nano*, roč. 10, č. 4, s. 3918–3935, dub. 2016.
- [5] C. W. E. van Eijk, „Inorganic scintillators in medical imaging”, *Phys. Med. Biol.*, roč. 47, č. 8, s. R85, 2002.
- [6] H. Graafsma a T. Martin, „Detectors for synchrotron tomography”, *Adv. Tomogr. Methods Mater. Res. Eng.*, s. 227, 2008.
- [7] A. Sahlholm, O. Svenonius, a S. Petersson, „Scintillator technology for enhanced resolution and contrast in X-ray imaging”, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. Accel. Spectrometers Detect. Assoc. Equip.*, roč. 648, s. S16–S19, srp. 2011.
- [8] P. A. Douissard *et al.*, „Scintillating Screens for Micro-Imaging Based on the Ce-Tb Doped LuAP Single Crystal Films”, *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, roč. 61, č. 1, s. 433–438, úno. 2014.
- [9] E. A. McKigney *et al.*, „Nanocomposite scintillators for radiation detection and nuclear spectroscopy”, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. Accel. Spectrometers Detect. Assoc. Equip.*, roč. 579, č. 1, s. 15–18, srp. 2007.
- [10] M. Nikl, „Moderní anorganické scintilační materiály: Fyzika a aplikace”, *Pokroky Mat. Fyziky Astron.*, roč. 48, č. 4, s. 294–307, 2003.
- [11] P. Lecoq, A. Gektin, a M. Korzhik, „Scintillation and Inorganic Scintillators”, in *Inorganic Scintillators for Detector Systems*, Cham: Springer International Publishing, 2017, s. 1–41.
- [12] M. Nikl, „Scintillation detectors for x-rays”, *Meas. Sci. Technol.*, roč. 17, č. 4, s. R37–R54, dub. 2006.
- [13] V. Čuba *et al.*, „Radiation induced synthesis of powder yttrium aluminium garnet”, *Radiat. Phys. Chem.*, roč. 80, č. 9, s. 957–962, zář. 2011.
- [14] J. Bárta, V. Čuba, M. Pospíšil, V. Jarý, a M. Nikl, „Radiation-induced preparation of pure and Ce-doped lutetium aluminium garnet and its luminescent properties”, *J. Mater. Chem.*, roč. 22, č. 32, s. 16590–16597, čvc. 2012.
- [15] Y. M. Ji *et al.*, „Preparation and luminescent properties of nanocrystals of Ce³⁺-activated SrHfO₃”, *J. Cryst. Growth*, roč. 280, č. 1–2, s. 93–98, čer. 2005.
- [16] H. Réot, A. Bessière, A. Kahn-Harari, a B. Viana, „Synthesis and optical characterization of SrHfO₃:Ce and SrZrO₃:Ce nanoparticles”, *Opt. Mater.*, roč. 30, č. 7, s. 1109–1114, bre. 2008.
- [17] V. V. Osipov, V. A. Shitov, K. E. Lukyashin, R. N. Maksimov, A. V. Ishchenko, a V. V. Platonov, „Ce:YAG transparent ceramics based on nanopowders produced by laser ablation method: Fabrication, optical and scintillation properties”, *Nanosyst. Phys. Chem. Math.*, s. 351–359, čer. 2017.
- [18] J. Y. Choe, D. Ravichandran, S. M. Blomquist, K. W. Kirchner, E. W. Forsythe, a D. C. Morton, „Cathodoluminescence study of novel sol-gel derived Y₃-xAl₅O₁₂:Tbx phosphors”, *J. Lumin.*, roč. 93, č. 2, s. 119–128, 2001.
- [19] G. Xia, S. Zhou, J. Zhang, a J. Xu, „Structural and optical properties of YAG:Ce³⁺ phosphors by sol–gel combustion method”, *J. Cryst. Growth*, roč. 279, č. 3, s. 357–362, čer. 2005.
- [20] X. Li, H. Liu, J. Wang, H. Cui, a F. Han, „YAG:Ce nano-sized phosphor particles prepared by a solvothermal method”, *Mater. Res. Bull.*, roč. 39, č. 12, s. 1923–1930, říj. 2004.
- [21] J. Janda, „The comparison of scintillation properties of YAP:Ce, YAG:Ce and ZnO:Ga powders as a potential substitution of LSC cocktail”, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, čvc. 2017.
- [22] R. Husák, „Vliv parametrů elektroforetické depozice na konečné vlastnosti keramiky”, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2012.
- [23] G. S. Lozano-Barbero, D. Geng, a H. Míguez, „Photonic Tuning of Nanophosphor Transparent thin films”, 2017, s. JW5A.18.
- [24] K. Y. Sasaki a J. B. Talbot, „Deposition of Powder Phosphors for Information Displays”, *Adv. Mater.*, roč. 11, č. 2, s. 91–105, úno. 1999.
- [25] P. Sarkar a P. S. Nicholson, „Electrophoretic Deposition (EPD): Mechanisms, Kinetics, and Application to Ceramics”, *J. Am. Ceram. Soc.*, roč. 79, č. 8, s. 1987–2002, srp. 1996.
- [26] „Using electrophoresis to produce a conformally coated phosphor-converted light emitting semiconductor”, 11-čer-2001.
- [27] X. Xu, K. K. Caswell, E. Tucker, S. Kabisatpathy, K. L. Brodhacker, a W. A. Scrivens, „Size and shape separation of gold nanoparticles with preparative gel electrophoresis”, *J. Chromatogr. A*, roč. 1167, č. 1, s. 35–41, říj. 2007.
- [28] A. A. Sadeghi, T. Ebadzadeh, B. Raissi, a S. Ghashghaie, „Electrophoretic deposition of TiO₂ nanoparticles in viscous alcoholic media”, *Ceram. Int.*, roč. 39, č. 7, s. 7433–7438, zář. 2013.
- [29] B. Neirincx, J. Franssaer, O. V. der Biest, a J. Vleugels, „Aqueous electrophoretic deposition in asymmetric AC electric fields (AC-EPD)”, *Electrochem. Commun.*, roč. 11, č. 1, s. 57–60, led. 2009.
- [30] M. Bredol, J. Micior, a S. Klemme, „Electrophoretic deposition of alumina, yttria, yttrium aluminium garnet and lutetium aluminium garnet”, *J. Mater. Sci.*, roč. 49, č. 20, s. 6975–6985, říj. 2014.

Název **Studentská vědecká a odborná činnost 2018 - Mechatronika**

Autor kolektiv autorů

Publikace neprošla redakční ani jazykovou úpravou.