

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

3D Tisk v analytické chemii

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:

Matěj Horný

Studijní obor:

Chemie

Vedoucí práce:

doc. RNDr. Jan Petr, PhD.

2020 Olomouc

Prohlášení

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci

Podpis

Poděkování

Úvodem bych chtěl poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce doc. RNDr. Janu Petrovi, PhD. za jeho cenné rady, vstřícnost a pozitivní přístup při zpracovávání této bakalářské práce. Zároveň bych chtěl poděkovat Mgr. Danielu Baronovi, PhD za jeho pomoc a cenné rady při provádění experimentální části této práce.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Matěj Horný

Název práce: 3D tisk v analytické chemii

Typ práce: bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jan Petr, PhD.

Rok odevzdání práce: 2021

Abstrakt:

Tato práce se zabývá využitím 3D tisku pro výrobu různých druhů rychlotestů. Především bylo zkoumáno možné zakomponování tenkovrstevné chromatografie (TLC) do 3D vytištěného pouzdra. Proveditelnost TLC v 3D vytištěném pouzdře byla porovnávána se standardně prováděnou TLC ve skleněných vyvíjecích vanách. Jako stacionární fáze byl zvolen silikagel s fluorescenčním barvivem. Jako testovací analyty byly použity glukóza a léčivo imipramin a pro detekci analytů byla použita UV lampa s vlnovými délkami 254 a 366 nm.

Klíčová slova: 3D tisk, stereolitografie, FDM, TLC

Počet stran: 44

Počet příloh: 0

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Matěj Horný

Title: 3D printing in analytical chemistry

Type of thesis: bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: doc. RNDr. Jan Petr, PhD.

The year of submission: 2021

Abstract:

This bachelor's thesis is focused on use of 3D printing for variety of speed-tests. Incorporation of the thin layer chromatography (TLC) into the 3D printed cartridge was primarily examined. Feasibility of TLC in 3D printed cartridge was compared to TLC done in standard glass developing tanks. A silicagel with fluorescent dye was used as a stationary phase. Glucose and drug imipramin were used as analytes. For detection of analytes, a UV lamp with wavelength 254 and 366 nm was used.

Keywords: 3D printing, FDM, stereolithography, TLC

Number of pages: 44

Number of appendices: 0

Language: Czech

Obsah

Obsah

1. Úvod	8
2. Teoretická část	9
2.1. 3D tisk.....	9
2.1.1 Techniky 3D tisku	10
2.2. Stereolitografie	10
2.2.1. Materiály a jejich použití.....	12
2.2.2. Využití v analytické chemii	13
2.3. FDM	15
2.3.1 Materiály v FDM.....	17
2.3.2. Využití FDM v analytické chemii	19
2.4. Selektivní laserové slinování	20
2.4.1. Materiály a jejich využití	22
2.4.2. Využití SLS/SLM v analytické chemii	24
3. Experimentální část	26
3.1. Použité chemikálie a materiály	26
3.2. Zjištění rozpustnosti	26
3.3. Tisk válečku a nástavce	27
3.4. Provedení TLC.....	27
4. Výsledky a diskuze.....	29
4.1. Rozpustnost.....	29
4.2. 3D tisk.....	34
4.3. TLC.....	37
5. Závěr.....	41

Seznam použitých zkratk

FDM- „Fused Deposition Modeling“, (modelování depozicí taveniny)
SLS- „Selective Laser Sintering“, (selektivní laserové slinování)
MJM- „Multi.Jet Modeling“, (vícetryskové modelování)
LOM- „Laminated Object Manufacturing“, (výroba laminovaných předmětů)
LED- „Light-Emitting Diode“, (elektroluminiscenční dioda)
SLA- Stereolitografie
CAD- „Computer-aided design“, (počítačem podporované projektování)
DLP- „Digital light processing“, (digitální zpracování světla)
PEG-DA- Polyethylenglykol-diakrylát
GC- Plynová chromatografie
PEEK- Polyether ether keton
TPU- Termoplastický polyuretan
FIA- „Flow injection analysis“, (průtoková injekční analýza)
MS- Hmotnostní spektrometrie
CE- Kapilární elektroforéza
SLM- Selektivní laserové tavení
ASA- Akrylonitril styren akrylát
TLC- Tenkovrstevná chromatografie

1.Úvod

V současnosti dochází k rozmachu různých rychlotestů. Základem je, aby takový rychlotest mohl provádět nekvalifikovaný personál a aby byl především cenově výhodný. K tomuto účelu lze využít 3D tisk. Technikami 3D tisku lze vyrobit dostatečně levné a spolehlivé pouzdro („cartridge“) pro rychlotesty. S rozmachem 3D tisku dochází k tvorbě internetových databází, kde jsou dostupné návrhy modelů, které si uživatelé mohou stáhnout a poté i vytisknout na své domácí 3D tiskárně. S rozšířením 3D tisku by mohlo být v budoucnosti možné, aby si takový rychlotest dokázal vytisknout samotný uživatel i doma nebo na jiném místě v případě potřeby.

Jako cenově výhodným se jeví zakomponování tenkovrstevné chromatografie do 3D vytištěného pouzdra. Takto vytištěné pouzdro musí být z materiálu, který je odolný vůči širokému spektru rozpouštědel, jež se používají jako mobilní fáze. V současnosti je dostupné široké spektrum materiálů do 3D tiskáren, ze kterých je možné vybrat ten nejvýhodnější pro danou aplikaci.

Cílem této práce bylo ověřit použitelnost 3D tisku pro TLC, konkrétně využití 3D vytištěného předmětu pro TLC a porovnání jeho výsledků s TLC provedenou ve skleněných vyvíjecích vanách.

2. Teoretická část

2.1.3D tisk

3D tisk je technika rychlé výroby prototypů, která využívá techniku tisku vrstva po vrstvě. Jednotlivé modely se musí nejprve navrhnout v CAD („computer-aided design“) softwaru, poté se rozdělí na vrstvy, po nichž se bude tisknout a následně dochází k samotnému tisku. 3D tiskem je možné vyrobit objekty s novou strukturou, která je nedosažitelné klasickými metodami výroby, jako je obrábění. Výhodou tohoto způsobu výroby je zejména velmi nízká produkce odpadu a nižší spotřeba materiálů. Jediným odpadem při výrobě jsou podpůrné konstrukce tištěny přímo s materiálem. Tyto konstrukce se po dokončení tisku odříznou a ve většině metod 3D tisku se dají znovu použít. Díky 3D tisku dochází také ke snížení energetických nároků na výrobu díky zkrácení a celkovému zjednodušení procesu. Využití 3D tisku při výrobě prototypů technických součástí je ideální zejména kvůli ověření konceptu celkového designu a některých funkcí zařízení. Výhoda použití 3D tisku při tomto ověřování spočívá v rychlosti výroby a nižší ceně oproti standardně vyráběným prototypům. [1,2]

Velmi významný způsob využití našel 3D tisk i v lékařství. Bylo očekáváno, že se lékařství díky 3D tisku posune více k personalizované medicíně. Vzhledem k flexibilní a precizní prostorové distribuci materiálu je umožněna produkce malých dávek léčiv přímo na místě léčby. Samotné léčivo má přizpůsobenou dávku, tvar, velikost a vlastnosti uvolnění léku do organismu přesně podle potřeb pacienta. Díky těmto možnostem je možné vyrábět personalizovaná naslouchátka, tabletky s přesnou dávkou pro pacienta nebo také zubní protézy. Jedním z omezení využití těchto aplikací je výskyt nezpolymerovaných monomerů, které vytékají na povrch a způsobují cytotoxicitu v organismu. Důsledkem této nedokonalosti je nedostatečná biokompatibilita materiálu. Zbytkové monomery mohou být odstraněny promýváním rozpouštědlem, zpolymerováním po tisku termickým zpracováním nebo pomocí superkritického oxidu uhličitého. [3]

V analytické chemii našel 3D tisk využití v papírové chromatografii a chromatografii na tenké vrstvě, kde se na chromatografický papír vytiskne vzor, který ho rozdělí na hydrofilní a hydrofobní část. Takto je možno stanovovat glukózu a proteiny v moči nebo potravinářská barviva v potravinách. Dosaženo bylo také konstrukce paralelních kapilárních kolon pro HPLC, v nichž bylo možné provést paralelní elektrochemickou detekci. [4-7]

2.1.1 Techniky 3D tisku

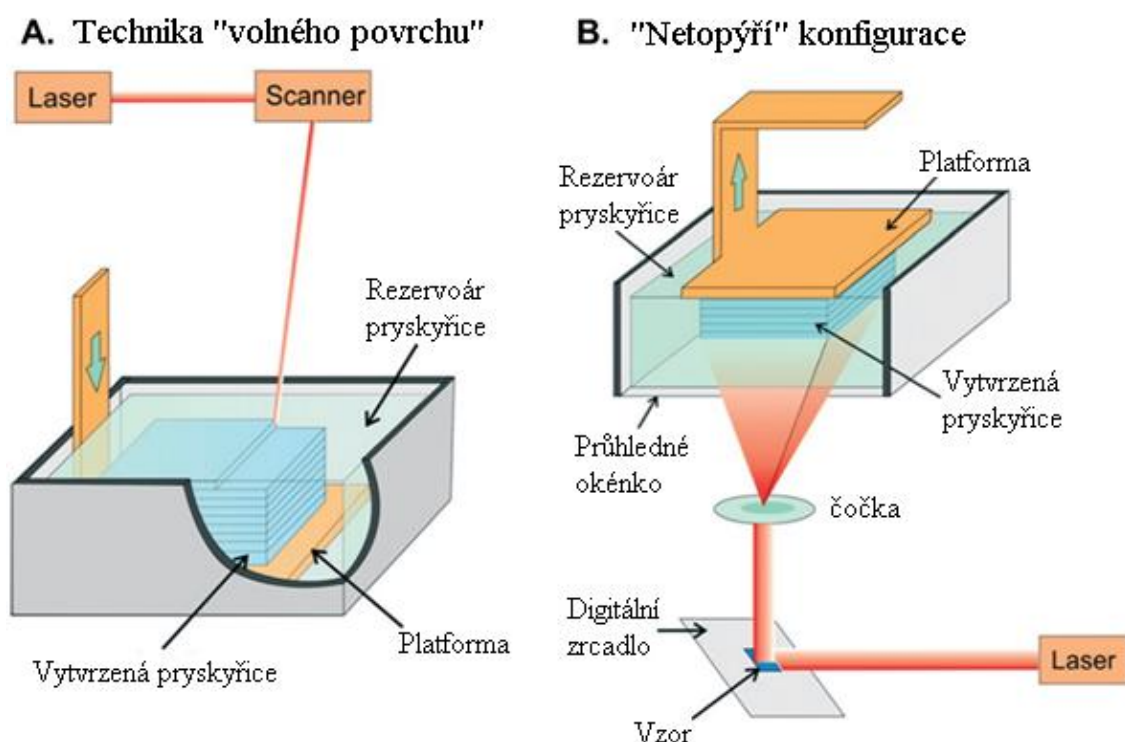
V současnosti existuje mnoho technik 3D tisku. Jednou z nich je stereolitografie, která našla využití při výrobě ventilů, pumpiček a míchaček pro mikrofluidiku. Stereolitografií jsme schopni dosáhnout rozlišení až 100 μm . Další z technik je FDM („fused deposition modeling“), s jejíž pomocí lze vyrábět funkční prototypy, zařízení na stanovení glukózy i třeba zařízení na kontinuální perfúzi buněčných kultur. Tato technika umožňuje tisknout s rozlišením až 350 μm . Mezi techniky 3D tisku patří také SLS (selektivní laserové slinování), které je používáno v biomedicínských aplikacích díky biokompatibilním materiálům. Zejména ve výstavbě podpor pro inženýrství kostní tkáně, chirurgických modelů orgánů, personalizovaných protéz a implantátů a biologicky odbouratelných zařízení na podávání léků. Do ostatních technik se řadí MJM („multi jet modeling“), LOM („laminated object manufacturing“), přímé inkoustové psaní a dvou fotonový 3D tisk. Dále budou podrobněji popsány pouze FDM, SLS a stereolitografie z důvodu jejich širokého využití. [8-10]

2.2. Stereolitografie

Stereolitografie je první technologie 3D tisku uvedena ve světovém měřítku. Byla patentována v roce 1986 Charlesem Hullem. Základem je fotopolymerový prekurzor, který tuhne pod laserovým paprskem o vlnové délce 355 nm nebo zdrojem záření LED. Dosažitelné rozlišení je dáno průměrem paprsku a absorpčními vlastnostmi fotopolymeru. V současnosti existují dvě možnosti tisku SLA: technika „volného povrchu“ a „převrácená (netopýří)“ konfigurace. U techniky volného povrchu dochází k fotopolymerizaci na fázovém rozhraní mezi fotopolymerem a vzduchem. Kovová plošina se postupně potápí ke dnu roztoku fotopolymeru po každé ztuhnuté vrstvě. Vzor každé tuhnoucí vrstvy je tvořen pohybem laserového paprsku, který je na hladinu materiálu přiváděn sadou zrcadel. Díky tomuto důvodu je stereolitografií možné tisknout i větší modely a technika je omezena pouze velikostí nádoby s fotopolymerem. Nevýhodou je, že se zvětšujícím se modelem se snižuje rychlost tisku. V porovnání s ostatními technikami má menší rozlišení. V převrácené technice je dno kádě transparentní. Fotopolymer tuhne u dna a plošina se postupně po vrstvách posouvá nahoru. Po každé vytisknuté vrstvě se musí plošina oddělovat od dna kádě, které je obloženo PDMS pro snadnou separaci. Schematické zobrazení stereolitografického tisku viz obr.1. [9,11,12]

Samotným ukončením tisku není výrobek ještě hotov. Po dotisknutí je ve většině případů potřeba výrobek dodatečně upravit. Tyto úpravy lze rozdělit do 4 kroků. Odstranění

podpůrné konstrukce a sekundární ošetřovací kroky jsou první z nich. Podpůrnou konstrukci lze odstranit prostým odtržením nebo rozpuštěním. Sekundárním ošetřovacím krokem je zbavení výrobku nezreagovaných monomerů vystavením UV záření nebo tepla. Tyto úpravy jsou dělány téměř vždy oproti následujícím, které se provádějí podle potřeby. Dalším krokem je funkcionalizace a/nebo ochrana povrchu, která může být provedena elektropolymerizací nebo zavedením antibiotik do produktu. Následuje leštění a úprava povrchu proveditelná klasickým broušením nebo novou metodou magneticky řízeného abrazivního leštícího systému. Poslední z možných úprav je změna vlastností výsledného polymeru a tvaru struktury. [8]



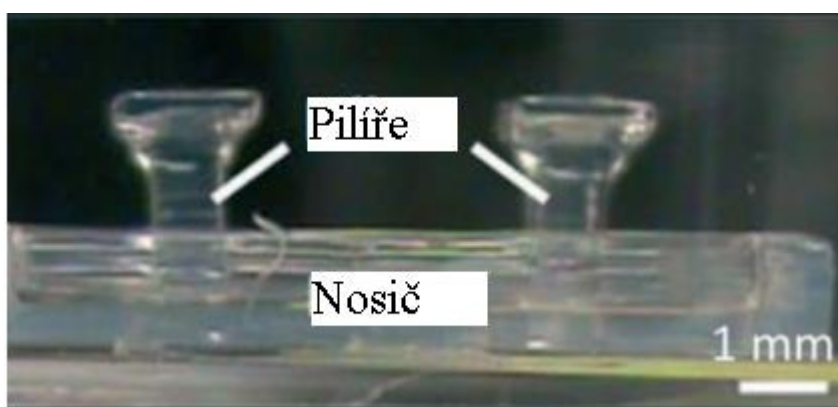
Obrázek 1. Schéma postupů stereolitografie, Převzato z Bhattacharjee N. et al. 2016 a upraveno [9]

Existuje i jiný mód, umožňující ztuhnutí vrstvy materiálu v jednom okamžiku. Tímto módem je DLP. Tohoto je možno dosáhnout pomocí digitálního projektoru využívající UV nebo LED zdroj záření. Snímek každé vrstvy je tvořen pixely a skutečná vrstva je tvořena kvádry 3D pixelů, označující se voxely. Tento přístup má vysoké rozlišení i vysokou přesnost a je schopen tisknout minimální velikost 50 μm , ale je omezen plochou projektoru, která je momentálně 100·60 mm až 190·120 mm. [11]

2.2.1. Materiály a jejich použití

Materiály používané ve stereolitografii jsou obvykle fotosenzitivní pryskyřice. Skládají se přibližně ze 75 % z oligomerů, z 25 % monomerů a z přídavku fotopolymerizačního iniciátoru. Iniciátor štěpí primární radikály díky ozáření UV světlem nebo laserem a ty poté reagují s oligomery a monomery, které postupně tuhnou a vytváří výsledný objekt. Vlnová délka laserového paprsku je 355 nm, ta umožňuje průběh polymerace radikálové i kationtové. Kationtová fotopolymerizace má oproti radikálové výhodu neprobíhajícího smršťování materiálu, které může způsobit zvýšení vnitřního napětí a tím pádem i deformaci materiálu a eventuálně i zlomení. Na druhou stranu, pryskyřic pro kationtovou fotopolymerizaci je málo a iniciátory kationtové fotopolymerizace jsou nákladnější. Z tohoto důvodu se využívají hybridní fotosenzitivní pryskyřice složené ze směsi radikálových a kationtových fotosenzitivních pryskyřic. Mechanické vlastnosti fotopolymeru závisí také na směru tisku, tloušťce vrstvy, síle laseru a jeho rychlosti. Vzorky vytisknuté pod úhlem 45° jsou schopny vydržet vyšší zátěž než objekty vytištěny pod úhly 0° a 90°, to prokazuje anizotropické vlastnosti fotopolymerů pro stereolitografii.[11,13]

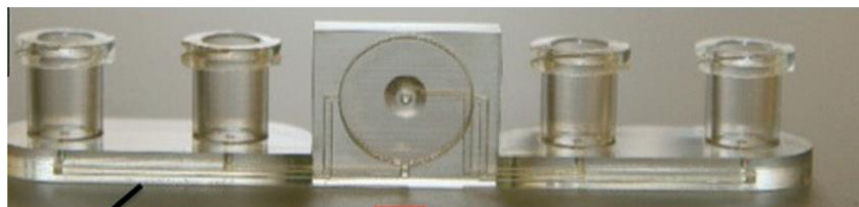
Mnoho materiálů využívaných ve stereolitografii nese komerční názvy a jsou patentově chráněné. Jedním z používaných materiálů, který ovšem není patentově chráněn je PEG-DA jehož tuhost se zvyšuje s tloušťkou vrstvy materiálu a uplatnil se při výrobě ventilů. Materiál je možné modifikovat i po ukončení tisku přidáním tepelného iniciátoru. Takto lze dosáhnout mnohem lepšího rozlišení a prodloužení výdrže výrobku. Výrobek z PEG-DA se nachází na obr.2. [10]



Obrázek 2. "Biobot" vyrobený z polymeru PEG-DA, Převzato z Bhattacharjee N. et al. 2016 a upraveno [9]

I přesto, že mnoho fotosenzitivních materiálů pro SLA jsou cytotoxické v důsledku nezreagovaných dvojných vazeb a zbytkového fotoiniciátoru, existují biokompatibilní polymery pro SLA. Prvními z nich i patentově chráněných materiálů jsou Watershed 1122

a DSM Somos, které díky své průhlednosti je možné využít na výrobu ventilů a pumpiček do zařízení na pozorování buněk nebo je také možné je použít jako generátor mikrokapek. Ventily z polymeru Watershed jsou zobrazeny na obr.3. Nevýhodou Watershedu je zežloutnutí materiálu při vystavení světlu po dobu 24 měsíců. [9,10]



Obrázek 3. Ventily vyrobené z polymeru Watershed, Převzato z Bhattacharjee N. et al. 2016 a upraveno [9]

Pryskyřice BV-003 našla využití při výrobě ventilů a pumpiček pro kolorimetrickou analýzu proteinů v moči. Jako porézní struktura na extrakci stopových prvků z mořské vody se používá pryskyřice BV-001. [9,10]

Dalším z možných materiálů, jež jsou použitelné, je PLA, která je vhodná pro konstrukci porézních struktur podpor využívaných ve tkáňovém inženýrství. Má také řadu výhodných vlastností jako biokompatibilitu, biologickou odbouratelnost a kompostovatelnost a také je možné ji vyrábět z kukuřice, třtinové melasy nebo z cukrové řepy. Vhodné použití PLA může být při rychlém prototypování nebo vývoji produktů. [10,14]

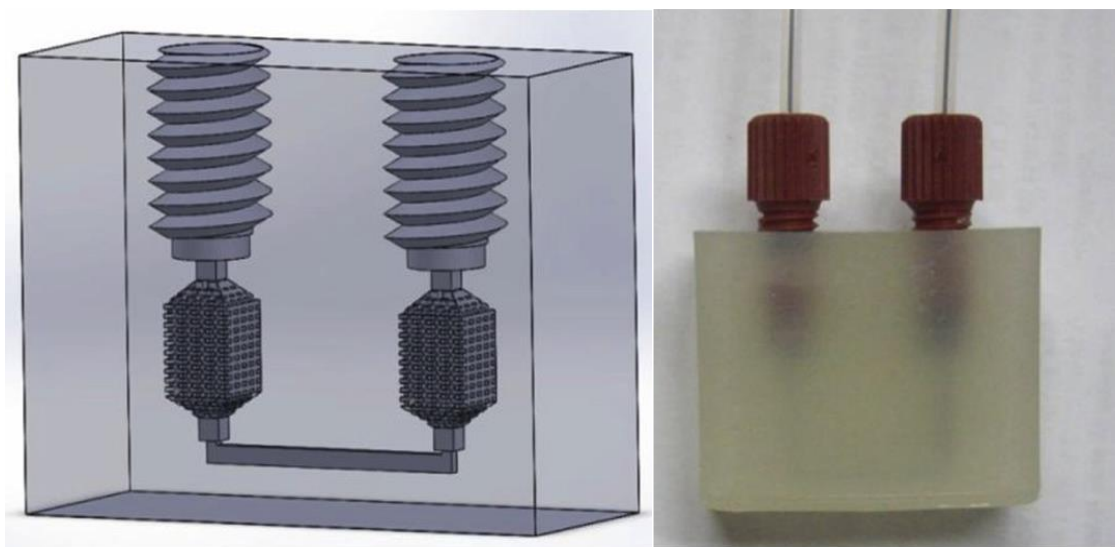
2.2.2. Využití v analytické chemii

V analytické chemii je využitím Sterolitografie možné zhotovit z destilační kolony na separaci hexanu a cyklohexanu. Při vysokých teplotách a rychlostech průtoku dochází k trhlinám v koloně, což značně snižuje její účinnost. Kolona se také rozpouští v polárních rozpouštědlech. Z polyakrylátu lze sestavit extrakční komora, do níž je možné zavést membránu z uhlíkových nanovláken a provádět extrakci nesteroidních protizánětlivých léčiv z moči. Bylo provedeno i sestavení systému FIA („flow injection analysis“) sestávajícího se z kolony, točitého spirálovitého míchadla a průtokové cely k určení přítomnosti olova v říčních vodách. Celý tento systém je přenosný, ale vyžaduje velké množství vzorku.[15]

Vhodné se také ukázalo i využití SLA na výrobu samotné spirálovité kolony pro plynovou chromatografii, kde použitým polymerem byl polyakrylát. Taková kolona je vhodná na analýzu ethylénu. Nevýhoda použití této metody v GC je způsobena omezenou tepelnou stabilitou, kterou obecně polymerní materiály vykazují. Separace směsi několika barviv je proveditelná chromatografií na tenké vrstvě, kdy stacionární fáze je rovněž

polyakrylát jako v předchozím případě. Stacionární fáze, potažmo celá destička, může být kompletně přizpůsobená způsobu použití pro danou analýzu a zároveň je cenově výhodnější než destička vyrobená klasickými metodami. [15]

Dalším z možných použití stereolitografie je výroba zařízení, na němž je proveditelná extrakce tuhou fází. Jedním z příkladů použití je extrakce iontů kovů z analytu, kdy interakce kovových iontů s polymerem závisí na pH, hodnotě vstupního průtoku a na rozměrech vytištěných částí. Pro kvantifikaci iontů kovů je možné použít ICP-MS. Pro extrakci tuhou fází lze za využití SLA sestavit zařízení průtokového vstřikování, kde dochází k promísení látek před samotnou extrakcí tuhou fází. Zařízení je zobrazeno na obr.4. Pro potřeby SPE lze využitím SLA sestavit i extrakční disky pro extrakci 14 stopových kovů i pro kvantifikaci železa ve vodách, statory pro extrakci antimikrobiálních látek i imunoafinitní monolit pro extrakci biomarkerů předčasného porodu. [15,21, 31]

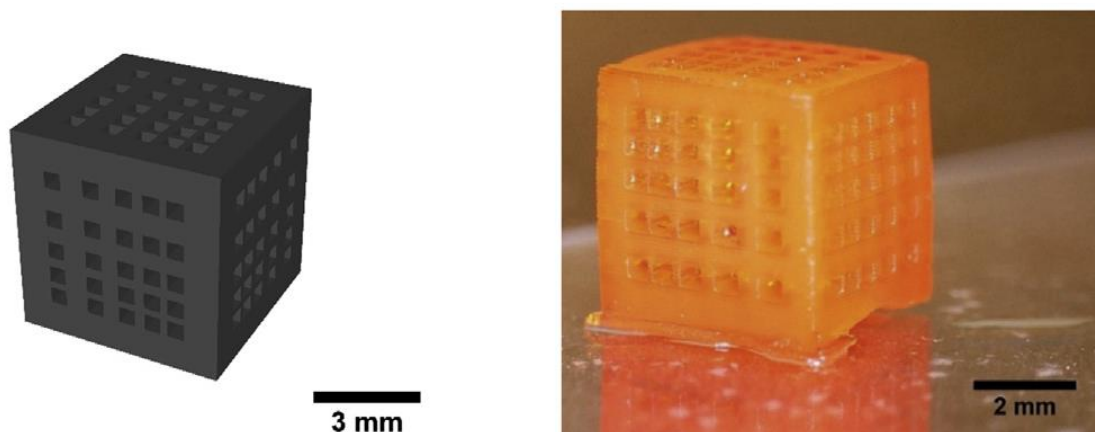


Obrázek 4. Zařízení na zakoncentrování před SPE, vlevo návrh v softwareu, vpravo samotné zařízení, Převzato z Kalsoom U. et al. 2018 [15]

Z mikrofluidických zařízení lze za pomoci SLA sestavit vícečerpádlový průtokový systém z poly(methylmethakrylátu) k analýze olova v přírodních vodách, mikrofluidní kapilární okruhy k detekci bakterií i miniaturizované GC kolony na detekci ethylenu. Pro bioanalytické aplikace je možné vyrobit mikrofluidické zařízení na němž dojde k zachycení bakterie *Escherichia coli* z mléka setrvačným zaostřováním. [21]

Stereolitografií v módu DLP lze vyrobit stacionární fázi pro iontově výměnnou chromatografii. Materiály, ze kterých je možné polymerizací zkonstruovat stacionární fázi, jsou bifunkční monomer obsahující kvartérní aminoskupinu a akrylátovou skupinu a jako

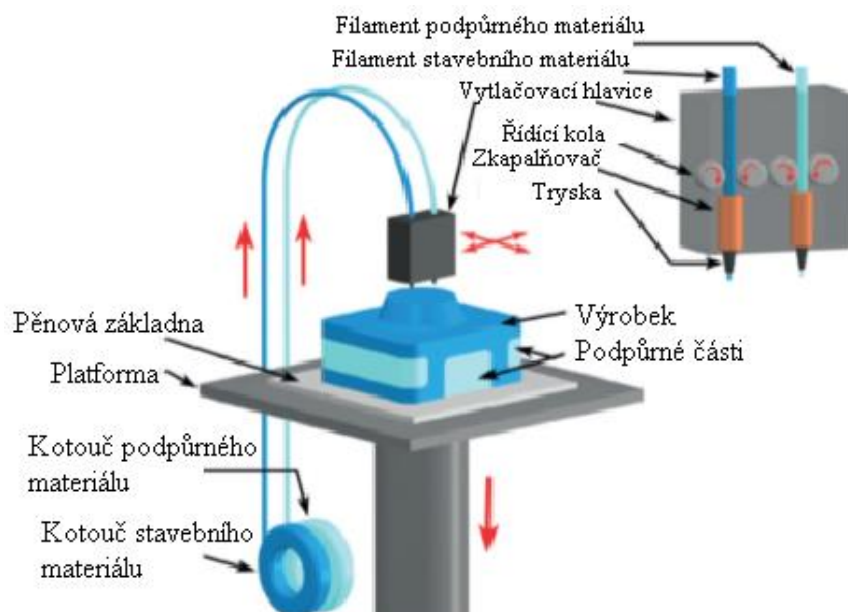
zesíťovací činidlo použít PEGDA (polyethylen glykol diakrylát). Takto připravený materiál vykazuje excelentní adsorpční vlastnosti vzhledem k proteinům. Použití PEGDA je vhodné vzhledem k biokompatibilitě a nízké nespecifické vaznosti proteinů. Ukázka adsorbéru je na obr.5. Pomocí DLP bylo modelováním v jednom kroku dosaženo mikrofluidického zařízení s neprotínajícími se kanálky a možností chaotického míchání. DLP technikou lze sestavit mikrofluidické zařízení, které umožňuje zapouzdření nervových buněk hydrogelovými kuličkami. [16, 31]



Obrázek 5. Vlevo CAD design adsorbéru, vlevo vytištěný krychlový adsorbér, Převzato z Simon U. et al. 2019 [16]

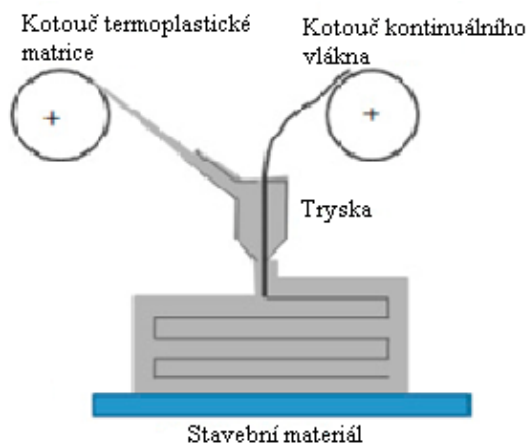
2.3. FDM

Technika FDM byla patentována v roce 1992 Scottem Crumpem, aby technologii zkomercializoval. Samotný tisk probíhá vytlačováním roztaveného termoplastu, který je zahříván nad teplotu skelného přechodu polymeru, přes trysku. Polymer poté tuhne na platformě, která se pohybuje horizontálně i vertikálně. Při tisku jsou generovány nízké hladiny výparů způsobené vystavením polymeru vysokým teplotám. Ty mohou představovat možné zdravotní riziko při tisku a je potřeba mít vhodně zajištěno odvětrávání. Schématicky je proces znázorněn na obr.6. Vlastnosti a integrita částic závisí na kvalitě vazby mezi dvěma následujícími vrstvami polymeru. Při nedokonalém tisku mohou vznikat mezi vrstvami prázdná místa, která mohou mít za důsledek zhoršení vlastností. Dochází zejména ke snížení pevnosti částí vytištěných pomocí FDM oproti částem, jež byly vytištěny jinými metodami. [17-20]



Obrázek 6. Schéma procesu tisku v FDM, Převzato z Au A.K. et al. 2016 a upraveno [17]

V současnosti je možné při tisku zesilovat daný polymer přidáváním nanočástic, krátkých vláken nebo kontinuálních vláken. Tím dojde ke zlepšení mechanických, tepelných a elektrických vlastností materiálů oproti jejich čistým ekvivalentům. Jednou z možností provedení tohoto zesílení je impregnace polymeru zesilujícím vláknem. Do trysky je přiváděn daný polymer a současně je do něj zaváděno přehřáté zesilující vlákno. Polymer pohltí vlákno a výsledný materiál je vytlačován tryskou. Znázornění na obr.7. Vlastnosti kompozitů jsou vysoce závislé na typu zesílení a na velikosti, tvaru a distribuci daných částic. Větší množství částic může zhoršit vlastnosti tvorbou aglomerátů. Oproti tomu velké částice mohou ucpat trysku. Kompozity vyrobené pomocí FDM našly využití v biomedicínských aplikacích, elektronických zařízeních, výrobě nástrojů jako např. formy a v leteckém a kosmickém průmyslu. [20]



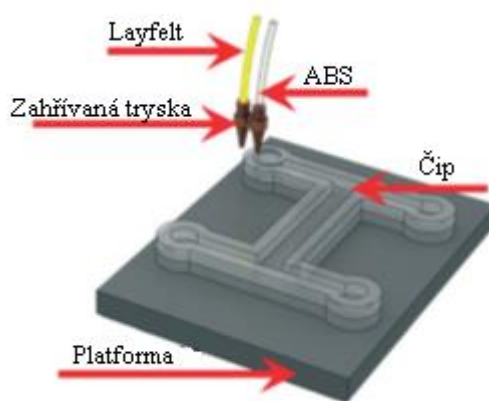
Obrázek 7. Zesilování polymeru vláknem, Převzato z Penumakala P.K. et al. 2020 a upraveno [20]

2.3.1 Materiály v FDM

Nejrozšířenějšími materiály používanými v FDM jsou akrylonitril butadien styren (ABS) a kyselina polymléčná (PLA). Dalšími využívanými polymery jsou termoplastický polyuretan (TPU), polypropylen (PP), polyetylen (PE), polykarbonát, polykaprolakton, polyether ether keton (PEEK) anebo i nylon. [19,20]

Kyselina polymléčná slouží jako podpůrná konstrukce pro růst buněk nebo vývoj tkání. Vhodná je zejména díky probíhající hydrolyze esterových vazeb ve vodných systémech, která podporuje zmíněný růst buněk. Tento polymer není tepelně odolný, a proto se hodí na výrobu předmětů, které nemají mechanickou náročnost. PLA může taky dimerizovat a tím vytváří laktidový monomer, který je cyklický. Z PLA je možné technikou FDM vyrobit elektrickou část elektronického jazyka a také elektrickou část pro senzory snímající mechanické ohýbání. Také je umožněna výroba těla fotometrického detektoru pro kapilární elektroforézu na separaci Zn^{2+} a Cu^{2+} komplexů. Dalším použitím je imunotest založený na elektrochemiluminiscenci. Průtokový reaktor na detekci glukosy byl rovněž sestrojen z polymléčné kyseliny. Z méně častých použití PLA je sestrojení vrstev imitujících sklo, které byly využity k analýze DNA. [10,14,19,21,31]

Akrylonitril butadien styren je složen z 15-35 % akrylonitrilu, 5-30 % butadienu a 40-60 % ze styrenu. ABS je odolný teplu a ekologické degradaci, má vysokou rázovou pevnost, dostatečnou tekutost taveniny, houževnatost, je velice lehký a může být použit i jako zpomalovač hoření. Hlavní vliv na mechanické vlastnosti mají orientace rastru a negativní vzduchová mezera (tzn. překryv rastrů). Z ABS je pomocí FDM možné vytisknout zařízení na míchání pro kolorimetrickou analýzu Fe^{3+} , elektroniku pro zařízení na snímání pH a vodivosti v monitoringu vod, tisk čipů a nebo je možné ho použít i jako chemický reaktant v zařízení pro přímou detekci dusičnanů v půdě. Ukázka ABS čipu na obr.8. Také je z tohoto polymeru možné vyrobit mikrofluidický reaktor využitelný ke stanovení amoniaku v přírodních vodách. Dalším mikrofluidickým zařízením je vlákenně založené zařízení. Bioreaktor použitý ve spojení s mikrodialytickým systémem byl rovněž sestrojen z ABS. Tento materiál byl použit i na výrobu zařízení pro mikroskopickou elektroforézu s volným tokem.[10, 14,20,21,31]



Obrázek 8. Čip z ABS, Převzato z Li F. et al. 2019 a upraveno [10]

Dalším polymerem, který je možný zpracovat technikou FDM je termoplastický polyuretan. Tento polymer jakožto elastomer je zpracovatelný tavením a je také elastický. Reálně se jedná o kus segmentovaného kopolymeru složeného z měkkých a tvrdých částí. Segmenty mohou být alifatické nebo aromatické. TPU má vysokou pružnost a také velmi vysokou možnost natahování před roztrhnutím, kdy je možné tento polymer natáhnout až o 600 %. Využití TPU sahá přes jemnou robotiku, pružné elektronické senzory až po výrobu pumpiček a mixérů pro chemiluminiscenční imunotesty na insulin. Nevýhodou tisku tohoto polymeru je možné hromadění v trysce způsobeno vysokou viskozitou a nízkým modulem pružnosti. [10, 14, 20]

Následujícím materiálem zpracovatelným FDM je polypropylen. Výhody tohoto polymeru ční v jeho vysoké rázové pevnosti a velmi nízké ceně. Nicméně PP výrobky jsou rozměrově nepřesné. Tato nepřesnost je způsobena vysokou teplotní roztažností a z toho vyplývající časté zvlnění. Smršťování polypropylenových dílů vedoucí ke zkřivení je naopak zapříčiněno jeho semikrystalickou povahou. Tyto nevýhody je možné zmírnit přidavkem plniv. Příkladem těchto plniv jsou skelná vlákna. Z polypropylenu byly vyrobeny mixéry a byly do něj zabudovány i chemické reaktanty, použitelné do reaktorů pro monitorování reakcí i pro provedení chemických syntéz. [10,20]

Polyether ether keton (PEEK) je semikrystalický termoplastický polymer. V jeho struktuře se nachází aromatické, etherové i ketonové skupiny. Části vyrobené z PEEKu vykazovaly až o 108 % vyšší pevnost v tahu a až o 115 % vyšší pevnost v ohybu než části z ABS. Vlastnosti polymeru jsou velmi závislé na stupni krystalizace, ten je možné ovlivňovat okolní teplotou a teplotou v trysce. Se zvyšující se teplotou v trysce se zvyšuje i

stupeň krystalizace a to až do teploty 420 °C. Využití se značně rozšířilo od biomedicínských aplikací až po vysokoteplotní aplikace [20]

2.3.2. Využití FDM v analytické chemii

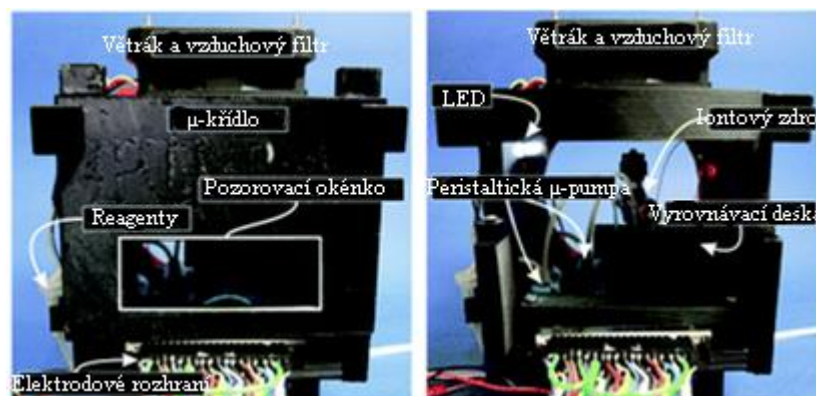
Byla sestrojena mikrofluidická zařízení, která našla využití od kolorimetrické detekce železa ve vodách přes detekování dusičnanů v půdě až po zjišťování přítomnosti amoniaku v přírodních vodách. Výhodou zařízení na detekci amoniaku je lepší kontrola teploty a přesnost. V medicínské aplikaci je možné vyrobit průtokový reaktor na detekci glukosy. Jedním z dalších výrobitelných zařízení jsou skleněné mikroreaktory použitelné k analýze syntetických reakcí i měření léčiv a vrstvy podobné sklu, na kterých je možné provádět rychlou a levnou analýzu DNA. [21]

V analytické chemii je pomocí FDM možné vytisknout pro účely předúpravy vzorku sondy na analýzy vzorků za běžných podmínek. Tato analýza je velice rychlá a levná. Vhodné pro analýzu jsou vzorky potravin a léčiva. Dalším vhodným použitím pro předúpravu vzorku je tisk sorbentu trubkovitého tvaru pro mikroextrakci tuhou fází. Tento sorbent je složen z termoplastického poly (vinylalkoholu) a kompozitního materiálu LAY-FOMM 60. Tímto sorbentem je proveditelná extrakce glimepiridu ze vzorků vody i extrakce steroidů z lidské plazmy. Dále je také možné sestavit miniaturizovaný polypropylenový reaktor, do něhož je možné zavést kapiláru pro ionizaci elektrosprejem, a také je možné přímé zavedení vzorku bez použití externích čerpadel. Z polypropylenu jsou sestrojitelné i krychlové reakční komory, do kterých se zavádějí výchozí látky během tisku s minimálním rizikem kontaminace. Tyto reakční komory lze použít k purifikaci. [15, 21]

V separační technice je možné vytisknout stacionární fázi pro TLC a dávkovač. Kdy stacionární fáze je ze silikagelu a dávkovač je zhotoven z ABS nebo PLA. Výroba těchto částí je velmi rychlá a levná. Takto zhotovené zařízení je použitelné na analýzu barviv. [15]

Jsou použitelná i vytištěná zařízení, která se využívají po separaci. Na tato použití je možné sestavit tělo fotometrického detektoru s integrovanými šterbinami. Tento detektor může být spojen s mnoha různými analytickými metodami jako HPLC (high performance liquid chromatography, vysokoúčinná kapalinová chromatografie), FIA („flow injection analysis“), CE (kapilární elektroforéza) a je využit na analýzu kovů v říční vodě. Vyrobitelné je i tělo fotometrického detektoru bez šterbin pro CE, to je využito při separaci Zn^{2+} a Cu^{2+} komplexů. Dalším použitím jsou fluorescenční detektory s LED zdrojem světla nebo bez něj. Oba detektory je možné využít při analýze oligosacharidů. Jiným typem využití je

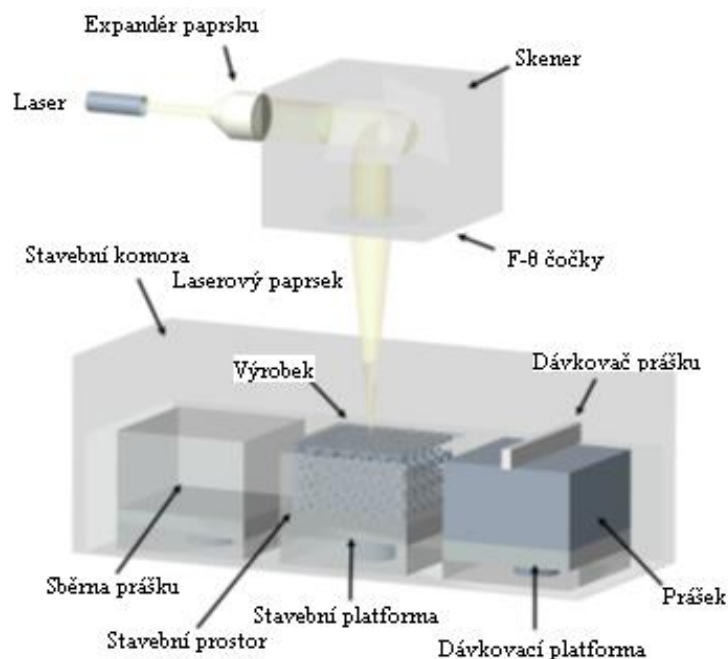
spektrometr iontové mobility, který může sloužit jako samostatné zařízení na analýzu tetraalkylammonium bromidových solí, benzylaminu nebo zakázaných léčiv. Také se ukázalo proveditelné vytištění rozhraní, které spojuje mikročipy s hmotnostním spektrometrem viz obr.9. Tímto spojením je umožněno analyzovat oxidaci glutathionu. [15, 21]



Obrázek 9. Rozhraní spojující mikročip s MS, Převzato z Hu J.-B. et al., 2015 a upraveno [34]

2.4. Selektivní laserové slinování

Technika SLS (selektivní laserové slinování) byla vyvinuta, aby vyřešila problémy ostatních technik. Jednou z nich je potřeba podpor při výrobě částí s tenkými stěnami nebo převisy. Jako podpora zde slouží neslinovaný prášek. Také není nutné provádět úpravy po tisku a nehrozí riziko toxicity v biomedicínských aplikacích. Nicméně instrumentace této techniky je velmi drahá, a také dochází k vysoké produkci odpadu. Základem této techniky je nádoba s termoplastickým nebo kovovým práškem, z které se poté prášek dávkuje na stavební platformu, kde dochází k samotnému slinování. Ke slinování dochází pomocí laseru, obvykle CO₂ laseru, ale i Nd:YAG. Tisk probíhá stejným způsobem jako v ostatních technikách 3D tisku a to vrstvu po vrstvě. Po každé slinované vrstvě se nadávkuje další vrstva prášku až do konce tisku. Schéma techniky se nachází na obr.10. Tato technika je velice podobná SLM (selektivní laserové tavení) s jedním rozdílem a to, že v SLM dochází ke kompletnímu roztavení prášku, zatímco v SLS dochází jen k částečnému roztavení. Parametry, které mohou ovlivnit výsledný produkt, spadají do tří kategorií. Jsou jimi vlastnosti prášku, laseru a nádoby na prášek. Mezi práškové vlastnosti patří: velikost a tvar částic, distribuce velikosti částic, tekutost prášku a chemické složení. Mezi vlastnosti laseru patří: typ laseru, síla laseru, rychlost skenování a velikost paprsku. Do vlastností nádoby na prášek jsou zahrnuty: šířka vrstvy, atmosféra stavební komory a hustota práškové nádoby. [22-24]



Obrázek 10. Shéma SLS tisku, Převzato z Nagarajan B. 2019 a upraveno [23]

Na vlastnostech prášku nejvíce závisí kvalita výsledného produktu. Nejdůležitějšími z nich jsou velikost, tvar a drsnost povrchu. Částice s nepravidelným tvarem zhoršují formaci aglomerátů a poréznost. Tyto částice také přímo škodí možnosti zhutnění a tím i zhoršují pevnost v tahu. Menší částice zvyšují zdánlivou hustotu, ale zhoršují tekutost. Jemnější prášky vykazují lepší drsnost povrchu, ale vykazují větší poréznost. Dalším významným faktorem ovlivňujícím vlastnosti výsledného produktu je distribuce velikosti částic, kdy částice se širokým záběrem velikostí částic vykazují lepší drsnost povrchu a hustotu výsledných částí, ale při velmi široké distribuci velikosti může docházet k segregaci. Oproti tomu výrobky vytištěné z prášku s úzkým spektrem velikosti částic mají vyšší tvrdost a větší pevnost v tahu, ale naopak je možná nežádaná aglomerace při příliš úzkém spektru. Optimální velikost částic prášku vhodná pro zpracování makročástí se pohybuje od 45 do 90 μm . Částice menší než 45 μm mohou ztížit nanášení prášku kvůli statickým silám [23,24]

Další z důležitých součástí přístroje je dávkování prášku. To zajišťuje rovnoměrné rozprostření prášku po tištěné ploše, a také je nutné zajistit, aby nedocházelo k nadměrné aglomeraci prášku. Aglomeráty je možné rozrušit vibracemi. Nejběžnější technikou je shrabování čepelí, kdy dochází k jednoduchému nanášení prášku na tisknoucí vrstvu čepelí. Při tomto procesu prášek není tekutý, a proto dochází k aplikaci smykových sil na předchozí vrstvu. Tyto síly lze snížit pomocí ultrazvukových vln. [23]

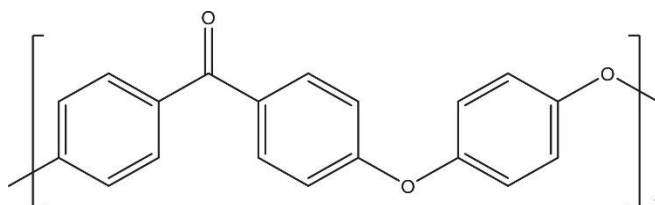
Dalším široce využívaným dávkovacím mechanismem je mechanismus válečkový. Váleček se může otáčet ve směru hodinových ručiček. Toto otáčení zajistí větší zhutnění vrstvy prášku. Na druhou stranu se můžou na váleček přichytit kousky prášku, které poté vytváří menší díry ve vrstvě. Váleček lze také otáčet opačně oproti směru jeho pohybu. To zajistí větší tekutost prášku, ale nedochází k žádnému zhutnění. [23]

Poslední z důležitých vlastností, která má vliv na kvalitu tisku a jeho rozlišení, je průměr laserového paprsku. Ten se obvykle pohybuje mezi 50 až 100 μm . Menší průměr a síla paprsku vede k mělkému roztavení vrstvy, které se projeví menší šířkou vrstvy. [23]

2.4.1. Materiály a jejich využití

Mezi nejběžněji využívané termoplastické materiály v SLS patří PEEK, polyamidy a poly(ethylen tereftalát). Z dalších, už neplastických materiálů, je ještě hojně využívána keramika a kovové materiály jako třeba nerezová ocel, titan a další různorodé slitiny. [22,23]

Díky svým skvělým mechanickým a tepelným vlastnostem a biokompatibilitou se PEEK začal hojněji využívat i v SLS. Je využíván hlavně i proto, že má vysokou teplotu tání a na jeho zpracování je třeba teplot nad 300 $^{\circ}\text{C}$, kterých lze jen obtížně dosáhnout v jiných metodách. Výrobky z tohoto termoplastického materiálu našly uplatnění v leteckém a automobilovém průmyslu. Mezi tyto výrobky patří ložiska, písty a čerpadla. Z jiného odvětví by stály za zmínku ortopedické implantáty. Vlastnosti i strukturu PEEKu lze také upravovat. I částečným otevřením aromatických kruhů dojde ke změně vlastností. Sníží se tepelná stabilita polymeru i jeho teplota tání. Při teplotách okolo 500 $^{\circ}\text{C}$ a za přítomnosti kyslíku začne docházet k rozkladu za současného uvolňování produktů rozkladu. Těmito produkty jsou oxid uhelnatý i uhlíčitý, fenoly a různé aromatické ethery. Struktura PEEKu je na obr.11. [22]



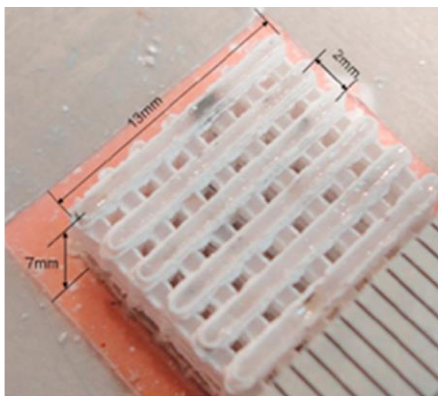
Obrázek 11. Struktura PEEKu, Převzato z Patel A. et al. 2021 [22]

Jedněmi z nejvyžívanějších polymerů v SLS jsou polyamid 11 a polyamid 12, které se využívají až v 90 % veškeré produkce. Z těchto polyamidů je častěji používán polyamid 12. Práškový polyamid 12 je možné získat rozpuštěním v ethanolu za vysokého tlaku a teploty a následné pomalé krystalizace. Tento polymer je semikrystalický a vykazuje široký

teplotní interval mezi teplotou tání a teplotou krystalizace. Tento interval je výhodný zejména, protože umožňuje maximální ustálení materiálu a snižuje možnost jeho zvlhnutí. Pokud necháme materiál vystaven zvýšeným teplotám po dlouhou dobu, může docházet ke změně molekulové hmotnosti. Při zrání prášku dochází ke zvýšení molekulové hmotnosti způsobenou zesíťováním polymeru. Toto zvýšení poté způsobí i zvýšení viskozity taveniny. Zrání prášku také vyvolá i nevhodnou změnu povrchu, kterou je vytvoření oranžové slupky na povrchu prášku. Z polyamidových materiálů je rovněž možné vytvářet kompozity a tím zlepšovat jejich vlastnosti. Přidáním hliníku dojde ke zvýšení tvrdosti a pevnosti výsledného výrobku a také k jeho odolnosti proti oděru. Díky těmto vlastnostem se kompozit polyamidu 12 s hliníkem využívá v leteckém a automobilovém průmyslu, v obalové technice a elektronice. Dalším materiálem, jehož přidání zlepší vlastnosti polymeru, jsou uhlíková vlákna. Přidáním uhlíkových vláken se významně zvede odolnost vůči extrémním teplotám a vůči oděru. Také dojde ke zvýšení houževnatosti a zlepšení pevnosti v tahu. Díky těmto vlastnostem se kompozit s uhlíkovými vlákny používá do „komponentů pod kapotou vozidel“. Do polyamidů je také možno zakomponovat halogenované zpomalovače hoření. Tyto materiály jsou vysoce krystalické a tepelně stabilní a jsou také recyklovatelné, což z nich dělá ekonomicky výhodný materiál, ale jejich použití je nebezpečné. I přesto našly využití v leteckém i kosmickém průmyslu. [25-28]

Do již neplastických keramických materiálů využívaných v SLS jsou řazeny fosforečnan vápenatý, karbid křemíku, oxid zirkoničitý a oxid hlinitý. Tyto keramické materiály se vyznačují nízkou tepelnou vodivostí, vysokou mechanickou pevností tvrdostí, a také jsou odolné proti opotřebení a korozi. Vhodné se staly v leteckém a kosmickém průmyslu, automobilovém, chemickém a obranném průmyslu a elektronice. Biokeramiky z fosforečnanu vápenatého se uplatňují v medicínských aplikacích do povlaků, past a strukturálních podpor, jež je na obr.12. Hydroxyapatit a β -fosforečnan vápenatý tvoří v různých poměrech dvoufázový fosforečnan vápenatý, který je používán jako kostní náhrada. V tomto případě je hlavním úkolem náhrady zajistit rámec pro regeneraci nové kostní tkáně, měkké tkáně nebo dalších metabolických složek. Výhodou tohoto použití je podpora růstu nové tkáně bez reakce imunitního systému díky osteokonduktivitě materiálu. Náhrada této strukturální podpory kostí může trvat 3-36 měsíců. Karbid křemíku, jako materiál, díky svým skvělým vlastnostem umožnil technologii mnohým aplikacím. Mezi ně patří vysokoenergetická mikrovlnná zařízení, elektronika, vysokoteplotní elektronika a optika pro automobilový průmysl a zrcadla ve vesmírných teleskopech. Nicméně karbid

zpracovaný SLS vykazuje stále výrazné nedokonalosti v podobě chabých mechanických vlastností a nízké hustoty. Dalším z široce využívaných keramických materiálů je oxid zirkoničitý. Vzhledem k jeho 3 různým krystalovým modifikacím je třeba jej stabilizovat, aby zůstal v požadované modifikaci i při změně teploty. Vhodnými materiály pro stabilizaci jsou oxidy hořečnatý, yttritý, ceričitý i vápenatý. Z nichž nejpoužívanějším se stal oxid yttritý. Obvyklé množství stabilizujícího oxidu yttritého je okolo 3 mol%. Takto stabilizovaný oxid zirkoničitý má vysokou pevnost v lomu a lepší odolnost vůči korozi a opotřebení. Díky své biokompatibilitě je možné ho použít pro biomedicínské aplikace, zejména jako zubní a kloubní náhrady. Posledním využívaným keramickým materiálem je oxid hlinitý. Je zejména používán pro svou vysokou tvrdost, nízkou tepelnou vodivost a pro svůj vysoký pracovní rozsah teplot. Také je využíván v medicínských aplikacích jako ostatní keramické materiály a v elektronice. [29]



Obrázek 12. Strukturální podpora z dvoufázového fosforečnanu vápenatého, Převzato z Grossin D. et al. 2021 [29]

2.4.2. Využití SLS/SLM v analytické chemii

Technika SLS v analytické chemii se uplatnila při tisku chromatografických kolon. Kolona je ze slitiny titanu s hliníkem a vanadem. Tato kolona je teplotně a tlakově stabilní. Jako stacionární fáze byl použit kopolymer (poly)butyl metakrylát-ko-ethylenglykoldimetakrylát, který zpolymeroval uvnitř kanálků. Takto bylo dosaženo HPLC s obrácenou fází. Na takto vyrobené koloně je možné separovat peptidy vyloučené bakterií *Escherichia coli*. [30]

Průtokový reaktor z nerezové oceli byl vyroben již pomocí SLM. Tento reaktor byl dlouhý 4 metry a díky nerezové oceli byl schopen odolat i při reakcích za extrémně nízkých teplot, za zvýšeného tlaku a také je kompatibilní s organickými rozpouštědly. Z nerezové oceli a slitiny titanu bylo umožněno výroby kapilárních chromatografických kolon, které lze využít na separaci proteinů a fenolů. [15]

V mikrofluidice SLS není tak rozšířená jako ostatní metody, protože neslinovaný prášek by mohl ucpávat kanálky a jeho odstranění by bylo velice náročné až nemožné. [31]

Dále je velice výhodné vytvářet elektrody pomocí SLM. Elektrody je možné vyrábět z různých, především kovových, materiálů. Mezi tyto kovy použitelné na výrobu elektrod patří nerezová ocel, nikl, železo, oxidy titaničité a iridičité a platina. [32]

3. Experimentální část

Cílem této práce bylo ověřit použitelnost 3D tisku pro TLC. Tato práce by měla přispět k plánované integraci TLC do 3D vytištěného pouzdra podobně, jako je tomu v případě dostupných imunotestů v plastových pouzdrech, např. antigenních testů na COVID-19.

Experimentální část této práce spočívala ve zjištění rozpustnosti vybraných filamentů do 3D tiskáren a následném vybrání nejvhodnějšího materiálu. Z tohoto materiálu byl poté vytištěn váleček, do kterého byla zavedena destička pro tenkovrstevnou chromatografii. Následně byla provedena analýza pomocí tenkovrstevné chromatografie. Výsledky analýzy v 3D vytištěném válečku byly poté porovnávány s analýzou provedenou v plastových lahvičkách. Posléze byl ještě vytištěn nástavec na celulóзовý proužek, na který by bylo možné nanášet vzorek a z něhož by se poté analyt samovolně nadávkoval na TLC proužek.

3.1. Použité chemikálie a materiály

Pro zjištění rozpustnosti materiálů byla použita série 12 rozpouštědel od firem Penta a Sigma-Aldrich. Rozpouštědla, která byla použita, jsou 1-propanol, voda, benzen, diethylether, kyselina octová, amoniak, chloroform, aceton, n-hexan, ethylacetát, ethanol a toluen. Kde 1% roztoky kyseliny octové a amoniaku byly připraveny v laboratoři ze svých koncentrovaných roztoků. Další rozpouštědla, která byla použita jako mobilní fáze, byla 1-butanol, cyklohexanol, cyklohexan a acetonitril od firmy Sigma-Aldrich.

Materiály, u kterých byla zjišťována rozpustnost, byly ABS, PET, PMMA, akrylonitril styren akrylát (ASA), PLA a Aquasys 120 (AQ120) od výrobců Fillamentum, Plasty Mladeč a 3DWiser.

Analyty, jež byly analyzovány pomocí TLC byly léčiva cetirizin dihydrochlorid, imipramin hydrochlorid a kyselina acetylsalicylová a D-(+)- glukóza od firmy Sigma-Aldrich.

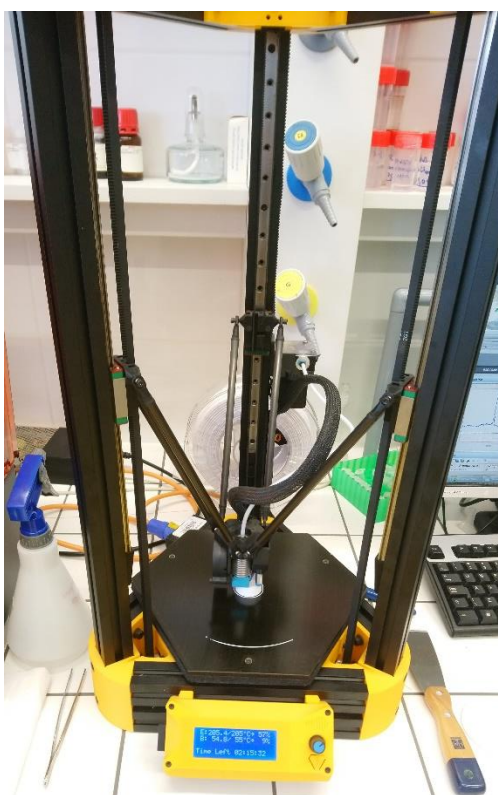
3.2. Zjištění rozpustnosti

Z každého materiálu bylo uštěženo 12 kusů vzorků. Ty byly zváženy na analytických vahách Mettler Toledo AX205 DeltaRange s rozlišením 0,01 mg. Zvážené vzorky byly vloženy do plastových lahviček a ke každému bylo přidáno mikropipetou 5 ml příslušného rozpouštědla. Rozpouštění trvalo 1 týden. Následně byly všechny vzorky vysušeny pomocí

gázy a zváženy, pokud nebyly ještě úplně rozpuštěny. Výsledky rozpouštění materiálů byly porovnány mezi sebou a byl vybrán ten nejvhodnější.

3.3. Tisk válečku a nástavce

Na základě zjištění rozpustností materiálů a předpokládaném použití rozpouštědel na mobilní fázi byla jako vhodný materiál pro tisk vybrána kyselina polymléčná. Nejdříve byl vytvořen návrh v programu Autodesk Fusion 360 (Autodesk, Inc., CA, USA). Následně byl návrh rozdělen do jednotlivých vrstev pomocí programu Kisslicer a tento návrh byl nahrán na SD kartu a přenesen do tiskárny, na které proběhl samotný tisk. Tisk proběhl na FDM tiskárně TRILAB Deltix Mini (TriLab Group, s.r.o., Brno) jejíž ukázka je na obr. 13.



Obrázek 13. 3D tiskárna při tisku

Před spuštěním samotného tisku bylo potřeba podložku 3D tiskárny dokonale vyčistit isopropanolem, aby tištěný materiál perfektně přiléhal na podložku a nedocházelo k nedokonalostem. Podložka i tryska se před tiskem musely rovněž samy zahřát na pracovní teplotu, která u podložky činí 60 °C a u trysky 230 °C.

3.4. Provedení TLC

Jako stacionární fáze byla zvolena TLC destička ze silikagelu, na které bylo nanášeno fluorescenční barvivo. Pro analýzu léčiv byla využita mobilní fáze cyklohexan – ethylacetát – amoniak v poměru 20:20:1, pro analýzu cukrů směs 1-butanol – ethanol – voda v poměru

3:2:2. Následně probíhala optimalizace mobilní fáze, kdy jako mobilní fáze byly postupně použity samotný 1-butanol, samotný cyklohexanol, směs acetonitrilu a vody v poměru 85:15, samotný acetonitril, směs acetonitrilu a cyklohexanolu v poměru 90:10 a následně v poměru 80:20. Na detekci analytů byla použita UV lampa s vlnovými délkami 254 a 366 nm. [33]

4. Výsledky a diskuze

4.1. Rozpustnost

Jak již bylo uvedeno, nejprve byla studována rozpustnost jednotlivých materiálů používaných k 3D tisku v rozpouštědlech často využívaných k TLC. Výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách (tabulka I – VI).

Rozpustnost ABS:

Tabulka I Hmotnosti před a po rozpouštění ABS

Rozpouštědlo	m_{ABS} (mg) před rozpouštěním	m_{ABS} (mg) po rozpouštění
1-propanol	97,06	97,62
voda	120,24	121,18
benzen	92,30	-
diethylether	87,59	103,28
1% kys. octová	109,34	110,19
1% amoniak	64,51	65,04
chloroform	101,82	115,53
aceton	78,43	-
n-hexan	77,65	79,54
ethylacetát	87,85	-
ethanol	84,64	86,75
toluen	100,37	-

Rozpustnost PET:

Tabulka II Hmotnosti před a po rozpouštění PET

Rozpouštědlo	m_{PET} (mg) před rozpouštěním	m_{PET} (mg) po rozpouštění
1-propanol	109,49	109,42
voda	104,53	105,00
benzen	117,04	162,73
diethylether	122,42	127,23
1% kys. Octová	114,27	114,78
1% amoniak	89,12	89,50
chloroform	115,76	-
aceton	96,88	113,45
n-hexan	143,16	143,46
ethylacetát	105,68	129,73
ethanol	132,07	132,10
toluen	98,02	123,74

Rozpustnost PMMA:

Tabulka III Hmotnosti před a po rozpouštění PMMA

Rozpouštědlo	m_{PMMA} (mg) před rozpouštěním	m_{PMMA} (mg) po rozpouštění
1-propanol	107,58	107,65
voda	140,47	141,91
benzen	97,36	-
diethylether	94,59	96,81
1% kys. Octová	91,94	93,07
1% amoniak	83,74	84,81
chloroform	108,34	-
aceton	76,77	-
n-hexan	111,05	94,67
ethylacetát	93,83	-
ethanol	85,77	87,04
toluen	78,67	27,39

Rozpustnost ASA:

Tabulka IV Hmotnosti před a po rozpouštění ASA

Rozpouštědlo	m_{ASA} (mg) před rozpouštěním	m_{ASA} (mg) po rozpouštění
1-propanol	34,86	39,59
voda	37,00	37,49
benzen	28,85	-
diethylether	35,74	46,72
1% kys. Octová	38,54	38,93
1% amoniak	34,25	34,57
chloroform	36,17	-
aceton	39,49	-
n-hexan	32,11	34,06
ethylacetát	38,32	-
ethanol	34,42	39,92
toluen	34,53	-

Rozpustnost PLA:

Tabulka V Hmotnosti před a po rozpouštění PLA

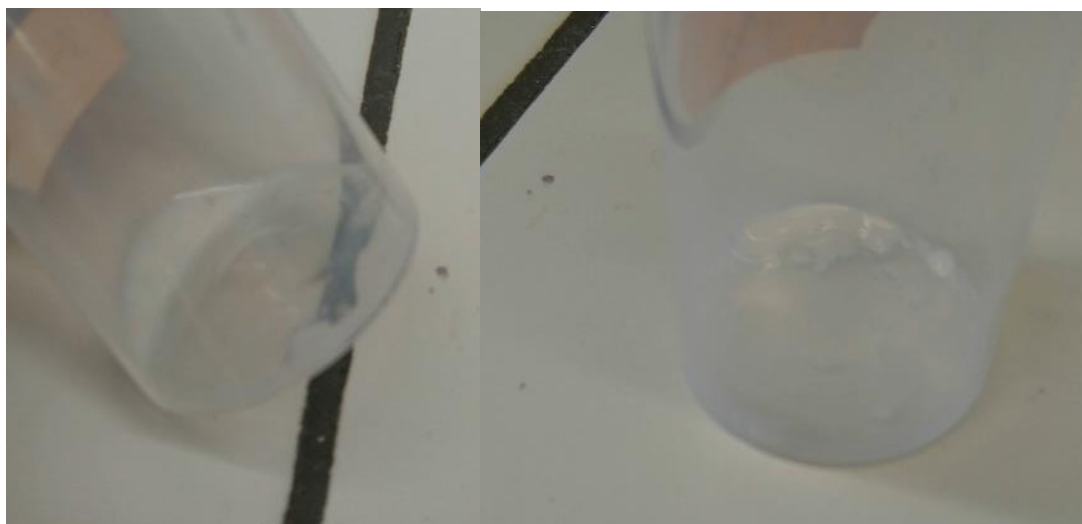
Rozpouštědlo	m_{PLA} (mg) před rozpouštěním	m_{PLA} (mg) po rozpouštění
1-propanol	37,60	37,65
voda	33,14	33,31
benzen	43,48	-
diethylether	48,26	52,08
1% kys. Octová	36,78	36,98
1% amoniak	37,90	38,08
chloroform	36,02	-
aceton	42,39	48,32
n-hexan	43,12	43,93
ethylacetát	44,21	58,24
ethanol	41,49	42,49
toluen	54,48	77,13

Rozpustnost Aquasys 120:

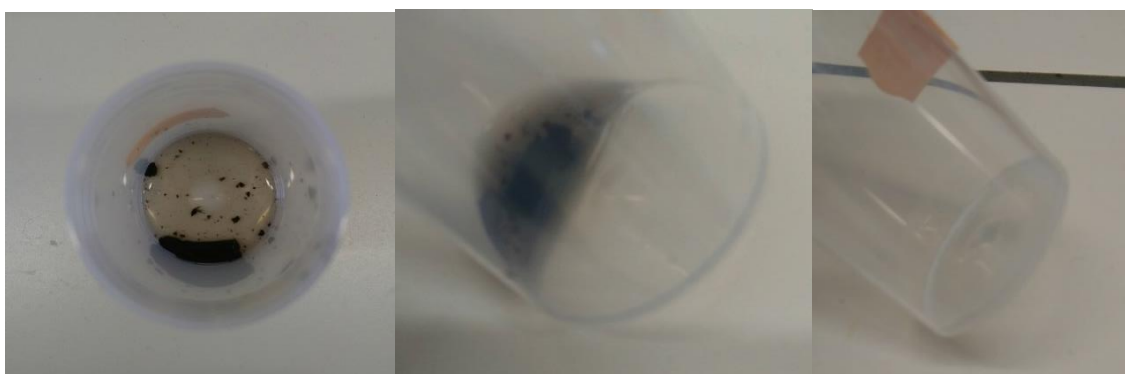
Tabulka VI Hmotnosti před a po rozpouštění AQ120

Rozpouštědlo	m_{AQ120} (mg) před rozpouštěním	m_{AQ120} (mg) po rozpouštění
1-propanol	22,65	22,56
voda	37,52	-
benzen	28,01	30,05
diethylether	29,84	30,03
1% kys. Octová	24,02	-
1% amoniak	29,51	-
chloroform	27,20	27,18
aceton	26,70	26,64
n-hexan	31,94	31,94
ethylacetát	30,92	30,88
ethanol	28,58	28,37
toluen	41,36	41,32

Po jedno týdenním rozpouštění docházelo k různému stupni deformací a rozpouštění daných materiálů vůči rozpouštědlům. Především v rozpouštědlech jako toluen benzen a chloroform, které rozpustily nebo alespoň zdeformovaly téměř všechny materiály s výjimkou AQ120. Některé materiály podléhaly rozpouštění také v acetonu. Oproti tomu byly všechny materiály stabilní v 1-propanolu. Poměrně stabilní se jevily materiály ve vodě a v 1% roztocích kyseliny octové a amoniaku vyjma AQ120, který byl naopak v těchto látkách rozpuštěn úplně. Je to z toho důvodu, že Aquasys 120 je prodáván jako materiál ve vodě rozpustný. Ukázky deformací a rozpuštěných materiálů jsou na obr. 14-16.



Obrázek 14 Ukázky deformací materiálů po rozpouštění



Obrázek 15 Ukázky deformací materiálů



Obrázek 16 Ukázky deformací materiálů

Na základě zjištěných hodnot hmotností po rozpouštění a předpokládaném použití rozpouštědel pro mobilní fázi byla jako vhodný materiál vybrána kyselina polymléčná.

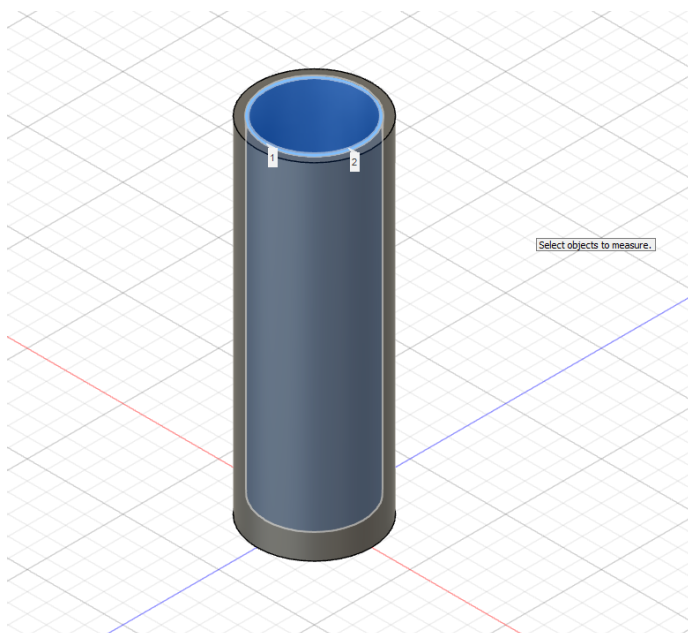
4.2. 3D tisk

Jak již bylo uvedeno, cílem této práce je ověřit, že lze použít 3D tisk pro integrování TLC do cartridge, tak aby byl vytvořen nízkonákladový tester. Za tímto účelem je nutné otestovat několik kroků:

- Vlastní uchování mobilní fáze ve 3D vytištěném pouzdře
- Funkčnost TLC ve 3D vytištěném pouzdře
- Nanesení vzorku na TLC destičku
- Vložení TLC destičky do mobilní fáze
- Zastavení průběhu chromatografie (čelo)
- Detekce rozdělených látek

V rámci této práce jsem se soustředil na první tři kroky, tedy zejména otestování funkčnosti TLC ve 3D vytištěném pouzdře.

Za tímto účelem byl navržen model válce o průměru 30 mm, vnitřním průměru 25 mm, výšce 90 mm a hloubce válce 80 mm, viz model na obr. 17. Tisk válce probíhal přibližně 2,5 hodiny. Ukázka válce je na obrázku 18.



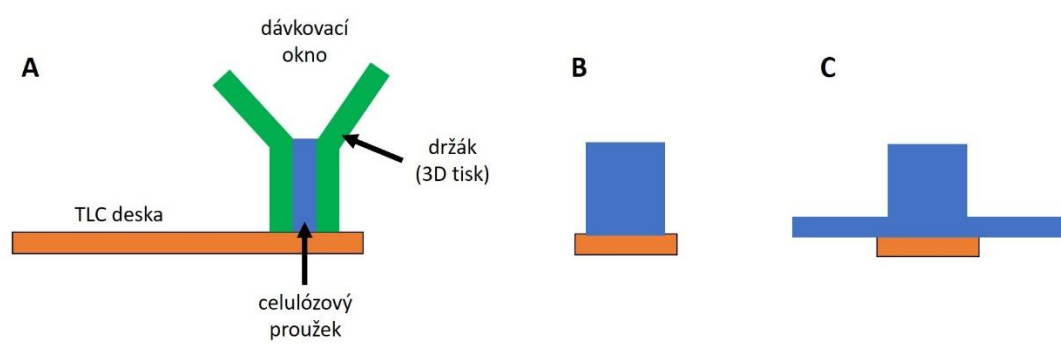
Obrázek 17 3D model válce



Obrázek 18 3D vytištěný váleček

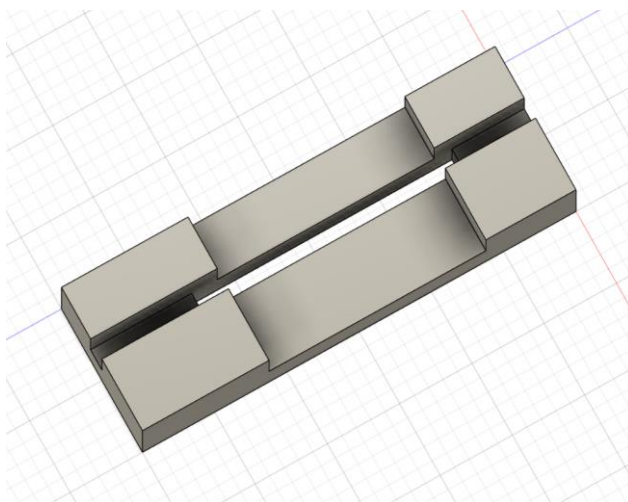
V tomto válci pak byly prováděny TLC analýzy, které byly srovnávány s provedením TLC ve skleněných kádinkách, které byly pro nasycení parami mobilní fáze uzavřeny (stejně jako 3D tištěný válec) pomocí Parafilu. Výsledky TLC analýzy provedené v 3D vytištěném válci se nelišily od výsledků ve skleněných kádinkách.

Dále bylo řešeno nanesení vzorku na TLC destičku. V případě klasické TLC je nutné přesně nanést, co nejmenší kapku na „start“ TLC desky. V případě integrace TLC do formy testeru pro laickou veřejnost, toto není představitelné. Laik bude hypoteticky schopný nanést do zadaného okénka zadaný počet kapek (podobně jako je tomu u používaných antigenních testů na COVID-19). Díky tomu je nutné upravit nanášení vzorků na TLC desku. Laické nanášení nebude tak přesné, nicméně mělo by být dostačující pro jednoduchý test. Na následujícím obrázku (obr. 19) je koncept tohoto zařízení. Obr. 19 A představuje pohled na dávkování – celulózový proužek nasedá na TLC desku a je přidržen 3D tištěným držákem vytvářejícím dávkovací okno. V tomto uspořádání ale může dojít k poměrně značnému problému, protože přes celulózový proužek se nanese všechen vzorek, který bude nadávkován (zejména bude-li profil proužku odpovídat situaci na obrázku 19 B). Toto je možné regulovat dvěma způsoby – a) omezit objem dávkovaného vzorku (např. instrukcí o nadávkování pouze jedné kapky) – a tomu přizpůsobit velikost celulózového proužku, anebo b) k celulózovému proužku přidat i „odpad“, resp. sorpční oblast, kde dojde k nasávání přebytečné kapaliny (obr. 19 C).



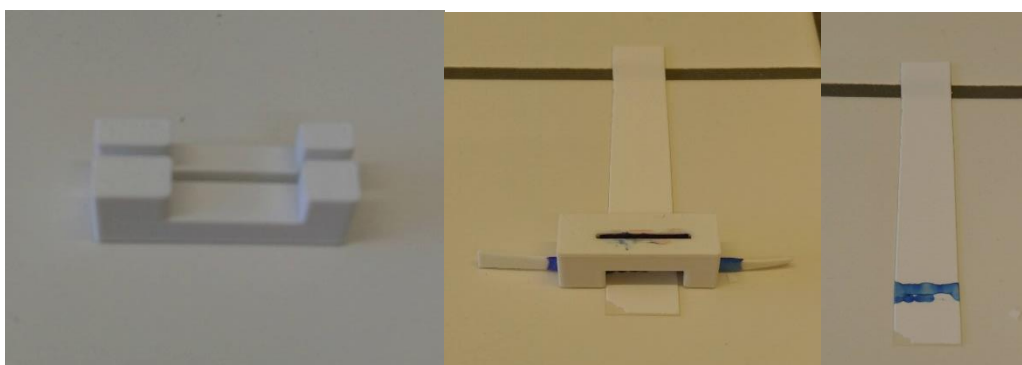
Obrázek 19 Schéma nástavce na dávkování

Na základě těchto úvah byl navržen nástavec o rozměrech 10 x 10 x 30 mm, který by měl sloužit jako držák pro celulózový proužek, viz obrázek 20.



Obrázek 20 3D model nástavce

Tento nástavec byl vytištěn, byl do něj vložen celulózový proužek a položen na TLC desku. Následně byl do dávkovacího okna vnesen obarvený roztok, viz obr. 21.



Obrázek 21 Koncept dávkování vzorku přes celulózový proužek

Z obrázku je vidět, že dochází jak k nadávkování látky na TLC desku, tak k sorpci přebytečné tekutiny do „odpadových částí“ celulóзовého proužku. Nicméně, čím větší množství tekutiny bylo vneseno na proužek, tím byla větší i skvrna na TLC desce. Z toho vyplývá, že držák nelze použít na větší dávkování. Je proto nutné buď omezit objem dávkovaného vzorku s využitím „odpadu“ nebo upravit nástavec na dávkování tak, aby vlastní nanesení vzorku bylo formou otisku vzorkem nasáklého celulóзовého proužku na TLC desku (v tu chvíli se vytvoří velmi úzký pás vzorku na TLC desce).

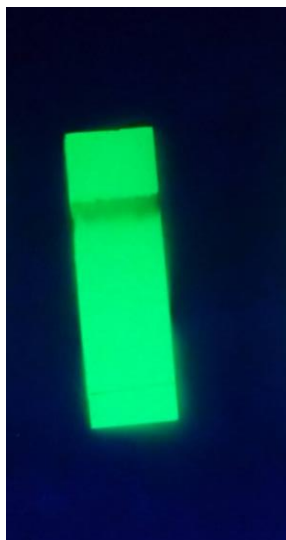
4.3. TLC

V poslední části práce byla řešena vlastní TLC analýza. Jako modelové analyty byly vybrány léčiva a cukry, především z důvodů naprosto odlišné retence na silikagelu. Cílem nebylo léčiva rozdělit, ale naopak ověřit, že systém TLC integrovaný v 3D tištěném pouzdře umožní analyzovat jak látky s vysokou, tak látky s velmi nízkou retencí. První analýza tenkovrstevnou chromatografií byla provedena na vzorcích léčiv (cetirizin dihydrochlorid, imipramin hydrochlorid a kyselina acetylsalicylová) o koncentraci 1 mg/ml s použitím mobilní fáze cyklohexan – ethylacetát – amoniak v poměru 20:20:1. Všechny vzorky zůstaly téměř na startu. Příklad je uveden na obr. 22.



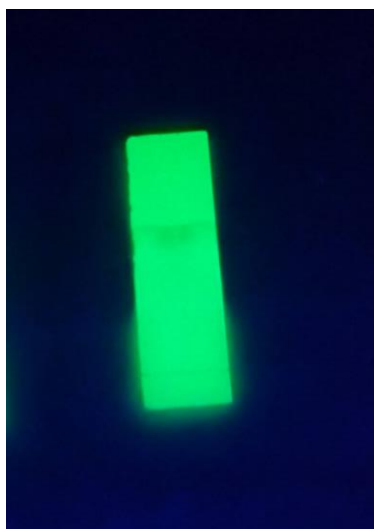
Obrázek 22 TLC imipraminu

Dále byla prováděna analýza glukózy. Prvotní analýza proběhla v mobilní fázi 1-butanol – ethanol – voda v poměru 3:2:2. Celková doba analýzy trvala přibližně 40 minut a oproti analýze léčiv, kdy léčiva zůstaly na startu, byla glukóza unášena spolu s čelem mobilní fáze. (obr.23.)



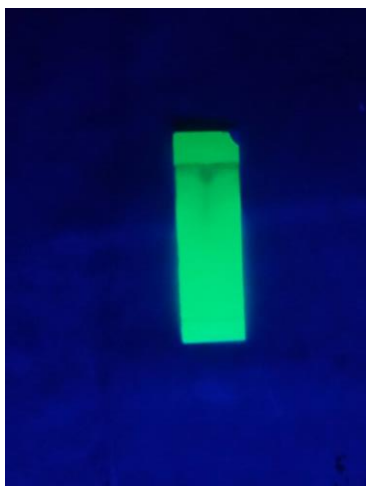
Obrázek 23 TLC glukózy v 1-butanolu – ethanolu - vodě

Aby bylo dosaženo lepších výsledků, byla použita méně polární mobilní fáze, kterou byl samostatný 1-butanol. V tomto případě trvala analýza přibližně 25 minut, ale analyt byl stále unášen s čelem a opět nedošlo k dostatečnému rozdělení. Pozitivum byla kratší doba analýzy. (obr.24.)



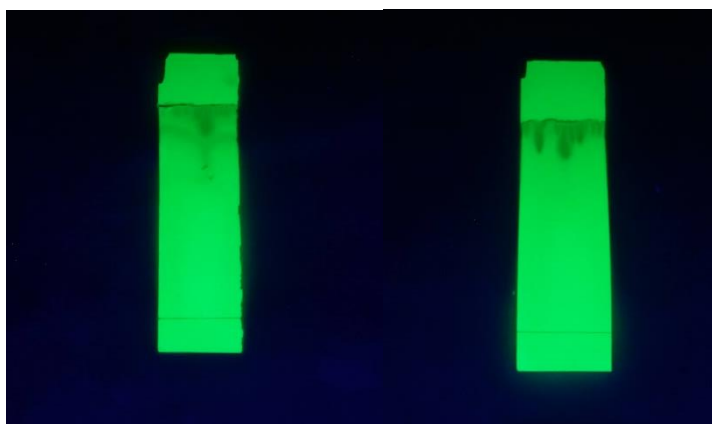
Obrázek 24 TLC glukózy v 1-butanolu

Dále byly testovány další mobilní fáze, např. cyklohexanol, acetonitril, nebo acetonitril a voda v poměru 85:15. Tato poslední analýza byla velice rychlá, trvala jen 5 minut, a proto by bylo výhodné i její použití v praxi jako rychlotest. Nicméně analyt byl znova unášen s čelem rozpouštědla jako v předchozích případech. (obr.25.)



Obrázek 25 TLC ve směsi acetonitril-voda

Na základě přechozích výsledků byla opět upravena mobilní fáze a k acetonitrilu byl přidán cyklohexanol. V tomto případě byl poměr rozpouštědel 90:10. Doba analýzy v tomto systému trvala opět přibližně 5 minut. V této mobilní fázi už lze pozorovat určité velmi lehké rozdělení analytu. Z tohoto důvodu byla stejná analýza provedena i ve 3D vytištěném válečku, aby bylo možné pozorovat vzájemné výsledky analýz a zjistit vhodnost použití 3D vytištěných předmětů pro TLC analýzy a jejich vliv na výsledky. (obr.26.)



Obrázek 26 TLC v plastové lahvičce (vlevo) a v 3D vytištěném válečku (vpravo)

Na základě provedených analýz bylo vyhodnoceno, že je možné použít 3D vytištěné předměty pro TLC analýzy bez toho aniž by došlo k výrazné změně a nepřesnostem ve výsledcích analýz. Je tedy možné provádět tenkovrstevnou chromatografii v 3D vytištěných objektech, aniž by používané materiály měly výrazný vliv na výsledky analýz. Také byla dokázána odolnost vybraného materiálu vůči používaným rozpouštědlům do mobilních fází. Pro výběr vhodné mobilní fáze (resp. kombinace mobilní a stacionární fáze) je nejprve nutné

zaměřit se na určitý typ analytu, který je z pohledu laické veřejnosti (potenciálních zákazníků) zajímavý. V tomto případě bylo ukázáno, že je možné využít TLC integrované v 3D vytištěné cartridge pro oba krajní případy – pro látky, které se velmi zadržují na stacionární fázi i pro látky, které se nezadržují.

5. Závěr

Cílem této práce bylo vyzkoušení konceptu zabudování tenkovrstevné chromatografie do 3D vytištěné cartridge, kde by probíhala samotná analýza a celkový koncept by bylo možné využít při výrobě různých druhů rychlotestů. Nejprve bylo třeba vybrat vhodný materiál, který by byl všeobecně velice odolný vůči rozpouštědlům, která se běžně používají do mobilních fází v TLC. Po výběru materiálu bylo rovněž potřeba ověřit proveditelnost TLC v 3D vytištěném výrobku a porovnat výsledky s TLC prováděnou klasickým způsobem.

Bylo dokázáno, že provádění tenkovrstevné chromatografie v 3D vytištěných objektech je možné bez významného omezení. Rovněž bylo prokázáno, že při vhodném výběru mobilní fáze nebo její postupné optimalizaci analýza TLC poskytne uspokojivé výsledky v rámci využití celého konceptu v rychlotestech.

Při spojení nástavce na celulózový proužek s TLC proužkem a při vhodném výběru mobilní fáze pro požadovaný analyt se celkový koncept „zaobalit“ tyto jednotlivé části do pouzdra, který by byl celý vytištěn na 3D tiskárně a následně celý výrobek využít jako rychlotest, jeví jako velice výhodný. Jedním z hlavních důvodů této výhodnosti by byla možnost provádění samotných rychlotestů nekvalifikovaným personálem a tím snížit náklady na kvalifikovaný personál.

Nicméně je potřeba provést rozsáhlejší studie, které by se zabíraly další optimalizací jak podmínek separace pro konkrétní analyty, tak i designem 3D-pouzdra.

Zdroje

- [1] M. N. Nadagouda, M. Ginn, V. Rastogi, A review of 3D printing techniques for environmental applications, *Current Opinion in Chemical Engineering* (2020), 28:173–178
- [2] M. Rozmus, P. Dobrzaniecki, M. Siegmund, J. A. G. Herrero, Design with use of 3D printing technology, *Management Systems in Production Engineering* 28, (2020) 4, 283–291
- [3] Xiaoyan Xu, et al., Vat photopolymerization 3D printing for advanced drug delivery and medical device applications, *Journal of Controlled Release* (2021), 329, 743 – 757
- [4] A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte, G. M. Whitesides, Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays, *Angew. Chem. Int. Ed.* (2007), 46, 1318 – 1320
- [5] A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices, *Analytical Chemistry*, 82, 1, (2010)
- [6] M. Komendová, S. Nawada and R. Metelka et al., Multichannel separation device with parallel electrochemical detection, *Journal of Chromatography A* 1610, (2020), 460537
- [7] F.M. Gharaghani, M. Akhond, B. Hemmateenejad, A three-dimensional origami microfluidic device for paper chromatography: Application to quantification of Tartrazine and Indigo carmine in food samples, *Journal of Chromatography A* 1621 (2020) 461049
- [8] I. Karakurt, L. Lin, 3D printing technologies: techniques, materials, and post-processing, *Current Opinion in Chemical Engineering* (2020), 28:134–143
- [9] N. Bhattacharjee, A. Urrios, S. Kang, A. Folch, The upcoming 3D-printing revolution in microfluidics, *Lab Chip*, (2016), 16, 1720
- [10] F. Li, N. P. Macdonald, R. M. Guijt, M. C. Breadmore, Increasing the functionalities of 3D printed microchemical devices by single material, multimaterial, and print-pause-print 3D printing, *Lab Chip*, (2019), 19, 35
- [11] H. Quan, T. Zhang, H. Xu, S. Luo, J. Nie, X. Zhu, Photo-curing 3D printing technique and its challenges, *Bioactive Materials* 5 (2020) 110–115
- [12] G. M. Vlăsceanu, H. Iovu, M. Ioniță, Graphene inks for the 3D printing of cell culture scaffolds and related molecular arrays, *Composites Part B* 162 (2019) 712–723
- [13] T. Hada, M. Kanazawa, M. Iwaki, T. Arakida, S. Minakuchi, Effect of printing direction on stress distortion of three-dimensional printed dentures using stereolithography technology, *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 110 (2020) 103949

- [14] M. Manoj Prabhakar, A.K. Saravanan, A. Haiter Lenin et al., A short review on 3D printing methods, process parameters and materials, *Materials Today: Proceedings*, (2020), ISSN 2214-7853
- [15] U. Kalsoom, P.I N. Nesterenko, B. Paull, Current and future impact of 3D printing on the separation sciences, *Trends in Analytical Chemistry* 105 (2018) 492-502
- [16] U. Simon, S. Dimartino, Direct 3D printing of monolithic ion exchange adsorbers, *Journal of Chromatography A*, 1587 (2019) 119–128
- [17] A. K. Au, W. Huynh, L. F. Horowitz, A. Folch, 3D-Printed Microfluidics, *Angew. Chem. Int. Ed.* (2016), 55, 3862 – 3881
- [18] C.L. Manzanares Palenzuela, M. Pumera, (Bio)Analytical chemistry enabled by 3D printing: Sensors and biosensors, *Trends in Analytical Chemistry* 103 (2018) 110-118
- [19] M. R. Hartings, Z. Ahmed, Chemistry from 3D printed objects, *Nature Reviews Chemistry*, 3, 5, (2019) 305-314
- [20] P. K. Penumakala, J. Santo, A. Thomas, A critical review on the fused deposition modeling of thermoplastic polymer composites, *Composites Part B* 201 (2020) 108336
- [21] L. Wang, M. Pumera, Recent advances of 3D printing in analytical chemistry: Focus on microfluidic, separation, and extraction devices, *Trends in Analytical Chemistry* 135 (2021) 116151
- [22] A. Patel, V. Venoor, F. Yang , X. Chen, M. J. Sobkowicz, Evaluating poly(ether ether ketone) powder recyclability for selective laser sintering applications, *Polymer Degradation and Stability* 185 (2021) 109502
- [23] B. Nagarajan, Z. Hu, X. Song, W. Zhai, J. Wei, Development of Micro Selective Laser Melting: The State of the Art and Future Perspectives, *Engineering* 5 (2019) 702–720
- [24] R.D. Goodridge, C.J. Tuck, R.J.M. Hague, Laser sintering of polyamides and other polymers, *Progress in Materials Science* 57 (2012) 229–267
- [25] M. Batistella, A. Regazzi, M. F. Pucci, J.-M. Lopez-Cuesta, O. Kadri, D. Bordeaux, F. Ayme, Selective laser sintering of polyamide 12/flame retardant compositions, *Polymer Degradation and Stability* 181 (2020) 109318
- [26] S. Rosso, R. Meneghello, L. Biasetto, L. Grigolato, G. Concheri, G. Savio, In-depth comparison of polyamide 12 parts manufactured by Multi Jet Fusion and Selective Laser Sintering, *Additive Manufacturing* 36 (2020) 101713
- [27] S. Dadbakhsha, L. Verbelenb, O. Verkinderec, D. Strobbe, P. Van Puyvelde, J.-P. Kruth, Effect of PA12 powder reuse on coalescence behaviour and microstructure of SLS parts, *European Polymer Journal* 92 (2017) 250–262

- [28] H. Wu, W.P. Fahy, S. Kim, H. Kim, N. Zhao, L. Pilato, A. Kafi, S. Bateman, J.H. Koo, Recent developments in polymers/polymer nanocomposites for additive manufacturing, *Progress in Materials Science* 111 (2020) 100638
- [29] D. Grossin, A. Montón, P. Navarrete-Segado, E.Özmen, G. Urruth, F. Maury, D. Maury, Ch. Frances, M. Tourbin, P. Lenormand, G. Bertrand, A review of additive manufacturing of ceramics by powder bed selective laser processing (sintering / melting): Calcium phosphate, silicon carbide, zirconia, alumina, and their composites, *Open Ceramics* 5 (2021) 100073
- [30] H. Agrawaal, J.E. Thompson, Additive manufacturing (3D printing) for analytical chemistry, *Talanta Open* 3 (2021) 100036
- [31] B. Gross, S. Y. Lockwood, D. M. Spence, Recent Advances in Analytical Chemistry by 3D Printing, *Anal. Chem.* (2017), 89, 57–70
- [32] M. P. Browne, E. Redondo, M. Pumera, 3D Printing for Electrochemical Energy Applications, *Chem. Rev.* (2020), 120, 2783–2810
- [33] L. M. Hais, K. Macek a kolektiv ČAV, *Papírová chromatografie*, 1959
- [34] J.-B. Hu, T.-R. Chen, Ch.-H. Chang, J.-Y. Cheng, Y.-Ch. Chen, P. L. Urban, A compact 3D-printed interface for coupling open digital microchips with Venturi easy ambient sonic-spray ionization mass spektrometry, *Analyst*, 2015, 140, 1495-1501