



Bakalářská práce

Polarizační mikroskopie tenkých filmů v biomedicínské technice

Studijní program:

B0914P360007 Biomedicínská technika

Autor práce:

Ondřej Hradecký

Vedoucí práce:

Ing. Štěpán Kunc, Ph.D.

Katedra fyziky

Liberec 2023



Zadání bakalářské práce

Polarizační mikroskopie tenkých filmů v biomedicínské technice

<i>Jméno a příjmení:</i>	Ondřej Hradecký
<i>Osobní číslo:</i>	D20000132
<i>Studijní program:</i>	B0914P360007 Biomedicínská technika
<i>Zadávající katedra:</i>	Fakulta zdravotnických studií
<i>Akademický rok:</i>	2022/2023

Zásady pro vypracování:

Cíle práce :

Cílem práce je vytvořit metodiku pro vyhodnocování tenkých filmů užívaných v biomedicíně pomocí polarizační mikroskopie při různých teplotách.

Teoretická východiska :

Studium chování tenkých filmů užívaných v biomedicíně při různých teplotách výrazně napomůže zkoumání řady jevů jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo-reverzibilní procesy, agregace částic. Tyto parametry jsou důležité při přípravě těchto filmů obsahujících léčiva.

Výzkumné předpoklady/výzkumné otázky :

1. Předpokládá se možnost využití optické polarizační mikroskopie jako vhodného nástroje pro zkoumání tenkých polymerních filmů v širokém rozsahu teplot.

Metoda :

Analýza a syntéza dostupných zdrojů

Technika práce, vyhodnocení dat :

Teoretická práce – zpracována v editoru Microsoft Office Word a Microsoft Office Excel.

Místo a čas realizace výzkumu :

Bakalářská práce zahrnuje laboratorní měření pomocí polarizačního mikroskopu. Práce bude probíhat v laboratořích KFY.

Vzorek :

Teplotně opticky aktivní látky. Tenké polymerní filmy.

Rozsah práce :

Rozsah bakalářské práce činí 40 – 50 stran (tzn. 1/3 teoretická část, 2/3 výzkumná část)

<i>Rozsah grafických prací:</i>	5
<i>Rozsah pracovní zprávy:</i>	50 – 70
<i>Forma zpracování práce:</i>	tištěná/elektronická
<i>Jazyk práce:</i>	čeština

Seznam odborné literatury:

- [1] R. Bodmeier a O. Paeratakul, "Dry and wet strengths of polymeric films prepared from an aqueous colloidal polymer dispersion, Eudragit RS30D", *Int. J. Pharm.*, roč. 96, č. 1, s. 129-138, čvc. 1993, doi: 10.1016/0378-5173(93)90220-A.
- [2] X. Chen, S. Fischer, a Y. Men, "Temperature and Relative Humidity Dependency of Film Formation of Polymeric Latex Dispersions", *Langmuir*, roč. 27, č. 21, s. 12807-12814, lis. 2011, doi: 10.1021/la202300p.
- [3] M. I. Gibson a R. K. O'Reilly, "To aggregate, or not to aggregate? considerations in the design and application of polymeric thermally-responsive nanoparticles", *Chem. Soc. Rev.*, roč. 42, č. 17, s. 7204-7213, 2013, doi: 10.1039/C3CS60035A.
- [4] H. Holthoff, M. Borkovec, a P. Schurtenberger, "Determination of light-scattering form factors of latex particle dimers with simultaneous static and dynamic light scattering in an aggregating suspension", *Phys. Rev. E*, roč. 56, č. 6, s. 6945-6953, pro. 1997, doi: 10.1103/PhysRevE.56.6945.
- [5] W. Zhang et al., "Effect of orientation on polarization switching and fatigue of Bi₃15Nd_{0.85}Ti_{2.99}Mn_{0.01}O₁₂ thin films at both low and elevated temperatures", *Nanoscale Res. Lett.*, roč. 14, č. 1, s. 121, dub. 2019, doi: 10.1186/s11671-019-2949-3.
- [6] M. Fadel, I. S. Yahia, G. B. Sakr, F. Yakuphanoglu, a S. S. Shenouda, "Structure, optical spectroscopy and dispersion parameters of ZnGa₂Se₄ thin films at different annealing temperatures", *Opt. Commun.*, roč. 285, č. 13, s. 3154-3161, čer. 2012, doi: 10.1016/j.optcom.2012.02.096.
- [7] S. Kim, K. Hyun, B. Struth, K. H. Ahn, a C. Clasen, "Structural Development of Nanoparticle Dispersion during Drying in Polymer Nanocomposite Films", *Macromolecules*, roč. 49, č. 23, s. 9068-9079, pro. 2016, doi: 10.1021/acs.macromol.6b01939.
- [8] M. Urbanová, J. Czernek, a J. Brus, "Strukturální charakterizace nové generace léčiv a biomateriálů: aplikace NMR krystalografie", *Chem. Listy*, roč. 112, č. 8, Art. č. 8, srp. 2018.
- [9] Y. C. Ng, Z. Yang, W. J. McAuley, a S. Qi, "Stabilisation of amorphous drugs under high humidity using pharmaceutical thin films", *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV*, roč. 84, č. 3, s. 555-565, srp. 2013, doi: 10.1016/j.ejpb.2013.01.008.
- [10] W. Zhang et al., "Temperature-Dependent Domain Dynamics and Electrical Properties of Nd-doped Bi₃Ti_{2.99}Mn_{0.01}O₁₂ Thin Films in Fatigue Process", *Mater. Basel Switz.*, roč. 11, č. 12, s. E2418, lis. 2018, doi: 10.3390/ma11122418.

Vedoucí práce: Ing. Štěpán Kunc, Ph.D.
Katedra fyziky

Datum zadání práce: 10. července 2023
Předpokládaný termín odevzdání: 30. dubna 2024

L.S.

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

Prohlášení

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

Jsem si vědom toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

Poděkování

Tímto bych chtěl hlavně poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Kunc Štěpán, Ph.D. a mému konzultantovi doc. Ing. Petr Mikeš, Ph.D. za pevné nervy. Dále bych chtěl poděkovat katedře fyziky za možnost a realizaci praktického měření na teplotní komůrce. Dále bych chtěl poděkovat svým rodičům za přečtení práce a za jejich podporu.

ANOTACE

Polarizační mikroskopie tenkých filmů v biomedicinské technice

Studium chování polymerních roztoků a suspenzí při různých teplotách výrazně napomůže zkoumání řady jevů, jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo – reverzibilní procesy, agregace částic a další. V této práci bude využita stávající teplotní komůrka umožňující práci v širokém rozsahu teplot. Tato komůrka bude nainstalována na polarizační mikroskop. Práce se bude zabývat zejména instalací zprovoznění celého zařízení, standardizace postupů pozorování a základní analýzou obrazu nasnímaných experimentů.

Klíčová slova

Polarizační mikroskop, Polymerní roztok, Teplotní komora

ANNOTATION

Polarization microscopy of thin films in biomedical technology

The study of the behaviour of polymer solutions and suspensions at different temperatures will greatly aid the investigation of a number of phenomena such as crystallization, solubility, thermo-reversible processes, particle aggregation and others. In this work, an existing temperature chamber will be used to allow work over a wide range of temperatures. This chamber will be mounted on a polarizing microscope. The work will mainly deal with the installation and commissioning of the whole equipment, standardization of the observation procedures and basic image analysis of the experiments taken.

Keywords

Polarizing microscope, Polymer solution, Temperature chamber

Obsah

Seznam symbolů a zkratk	8
1) Úvod.....	9
2) Pohyb částic	10
2.1 Agregace částic	12
2.2 Brownův pohyb.....	13
3) Mikroskopie	14
3.1 Metoda světlého pole	15
3.2 Metoda tmavého pole.....	15
3.3 Metoda fázového kontrastu.....	16
3.4 Polarizační mikroskopie.....	16
4) Orálně Disperzní filmy (ODF).....	18
4.1 Příprava ODF	19
4.2 PVA + nanocelluloza	20
5) Praktická část	22
5.1 Cíle a výzkumné předpoklady/otázky.....	22
5.2 Metody	22
5.3 Analýza výzkumných dat.....	28
5.4 Vyhodnocení cílů a výzkumných otázek/předpokladů	35
6) Závěr	36
Seznam použité literatury	37
Seznam příloh.....	41

Seznam symbolů a zkratek

ODF	Orálně disperzní filmy
PVA	Polyvinylalkohol
T _f	Bod tání
T _b	Bod Varu
°C	Stupeň Celsia
PC	Počítač
<i>p</i>	Tlak
<i>V</i>	Objem
<i>n</i>	Počet molů v plynu
<i>R</i>	Plynová konstanta
<i>T</i>	Teplota

1) Úvod

Přesná kontrola teploty v laboratorních experimentech je často náročná a komplikovaná. Teplotní komora THMS600, která dokáže držet teplotu s přesností 0.1 °C, a to až do 600 °C, je jedním z mála systémů umožňující přesné kontrolování teplot ve spojení s optickou mikroskopií. Teplotní komůrka umožňuje zkoumání jevů, jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo-reverzibilní procesy, agregace částic, a to za různých teplot. Zároveň umožní zkoumání nanomateriálů které jsou termálně stabilizovány jako je Lignin či studium materiálů pro medicínu jako jsou orálně disperzní filmy (ODF).

V teoretické části se budeme věnovat, přechodu fází ODF. Tím se i dozvíme, jak se bude měnit pohyb částic v daném skupenství. Tyto procesy vedou k zajímavým fyzikálním efektům jako je například agregace částic v suspenzi nebo nepřímé pozorování Brownova pohyb. Pro zkoumání těchto efektů využijeme polarizační mikroskop Olympus BX60 ve spojení se zmiňovanou teplotní komorou. V závěru práce se budeme věnovat přípravě orálně disperzních filmů, které následně za pomoci teplotní komory zahřejeme na bod tání. Změny fáze ODF budeme pozorovat pomocí polarizační mikroskopie.

Praktická část práce se zaměřuje zejména na zprovoznění teplotní komůrky THMS600 společně s optickým pozorováním na polarizačním mikroskopu Olympus BX60. Měření teplot budeme kalibrovat pomocí optických změn tekutých krystalů, které jsou velmi přesné, a je předem definováno, jak se jejich barva mění při požadovaných teplotách. Dalším testovacím vzorkem bude BaTiO₃, u kterého můžeme pozorovat změnu doménových struktur pomocí polarizační mikroskopie při dosažení Curieovy teploty. V závěru práce použijeme ODF, u něhož budeme zkoumat, teplotu tání a možnou agregaci částic.

2) Pohyb částic

Látky se mohou vyskytovat ve třech různých skupenstvích (tzv. fázích): pevném, kapalném a plynném. Každá látka se může nacházet při určité teplotě v jednom z těchto skupenství. K tomu, aby došlo ke změně skupenství je potřebná změna teploty a tlaku. Tyto dva faktory závisí na mezimolekulárních změnách, které mají vliv na molekuly a atomy látky. Současně mohou existovat více než jedna fáze. Může nastat dvoufázový stav, kdy přechází látka z jedné fáze do druhé nebo může nastat trojný bod, kdy se vyskytují všechny tři fáze společně. Například pokud led taje vyskytuje se zde fáze jak kapalná, tak pevná. Pokud zvyšujeme teplotu či tlak tak zvyšujeme zároveň pohyb částic v dané fázi, protože zvyšujeme jejich kinetickou energii. Nárůst kinetické energie způsobí zvýšení rychlosti srážek a vyšší rychlost difúze. V pevných látkách jsou částice na sebe vázány v pevných vazbách, díky kterým kmitají okolo své polohy. (Chang, 2002; Adachi, 2018; Papon, 2002)

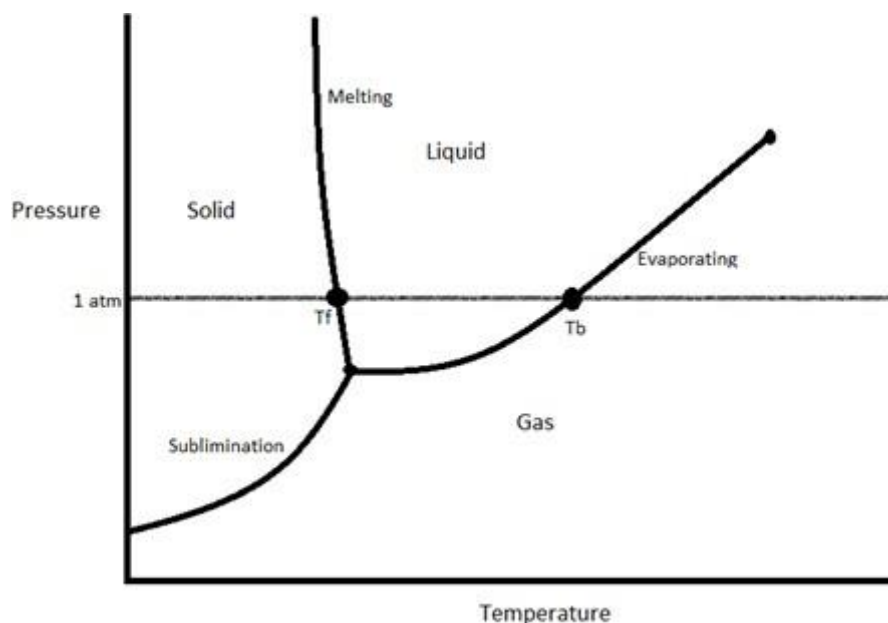
V plynech se částice pohybují ve všech směrech, a díky tomu se srážejí mezi sebou nebo stěnou nádoby. U každé částice se dá určit průměrná rychlost částice, která se odvíjí od její hmotnosti a teploty okolí. Zpravidla to bývá, že čím těžší částice je, tím se pomaleji pohybuje při stejné teplotě. Například molekuly kyslíku a dusíku se při pokojové teplotě pohybují rychlostí 300 až 400 m/s. Na rozdíl od srážek mezi makroskopickými objekty, kdy se část kinetické energie přeměňuje na teplo a zvuk, jsou srážky mezi částicemi dokonale pružné (bez ztráty kinetické energie). Díky této vlastnosti částice plynu po každé srážce pokračují bez ztráty rychlosti. (Feynman, 2011)

V kapalném skupenství se částice pohybují náhodným pohybem blízko u sebe po celé nádobě. Částice v kapalném prostředí se pohybují pomaleji oproti částicím v plynném prostředí, protože prostředí má vyšší hustotu. Díky náhodnému pohybu dochází k rozptýlu částic do celého prostoru, kdy se postupně vyrovnává koncentrace v celém objemu kapaliny. Tomuto jevu se říká difuze. Částice v pevném skupenství jsou uspořádány nejtěsněji pohromadě, mohou se nacházet v pravidelné krystalické mřížce, nebo mají amorfní (nepravidelnou) strukturu. Vazby mezi částicemi jsou tak pevné, že neumožňují pohyb z místa na místo. Částice v pevném skupenství tak vibrují okolo své rovnovážné polohy ve struktuře. Se zvyšující se teplotou zde nejsou částice rychlejší, jak to bylo u plynu a vody, ale vibrují s vyšší amplitudou a frekvencí. (Kärger, 2012; Kadajji, 2011; Kalia, 2021)

Látka může přecházet do jednotlivých fází různými procesy, které lze považovat za vratné.

Přechody fází jsou následující:

1. Tání: Přechod z pevné fáze do kapalné.
2. Tuhnutí: Přechod z kapalné fáze do pevné fáze.
3. Vypařování: Přechod z kapalné fáze do plynné.
4. Kondenzace: Přechod z plynné fáze do kapalné.
5. Sublimace: Přechod z pevné fáze do plynné fáze.
6. Desublimace: Přechod z plynné fáze do pevné fáze.



Obr. 1 Fázový diagram (Olander, 2008)

Každá látka má bod tání (T_f). Bod tání je teplota, při které se pevná látka mění v kapalinu. Každý prvek periodické tabulky má tzv. normální bod tání, což je teplota, při které se prvek stává kapalinou při tlaku 1 atmosféry. (Jin a Lu, 2002; Qiu, 2018)

Každá látka má také bod varu (T_b). Bod varu je teplota, při které kapalina vře. Stejně jako u bodů tání, každý čistý prvek má normální bod varu při tlaku 1 atmosféry. (Goldberg, 1988; Wang, 2023)

Při zkoumání fázového přechodu je třeba vzít v úvahu dvě proměnné: tlak (p) a teplotu (T). Pro plynné skupenství je vztah mezi teplotou a tlakem definován níže uvedenými rovnicemi [1,2] (Silbey, 2005):

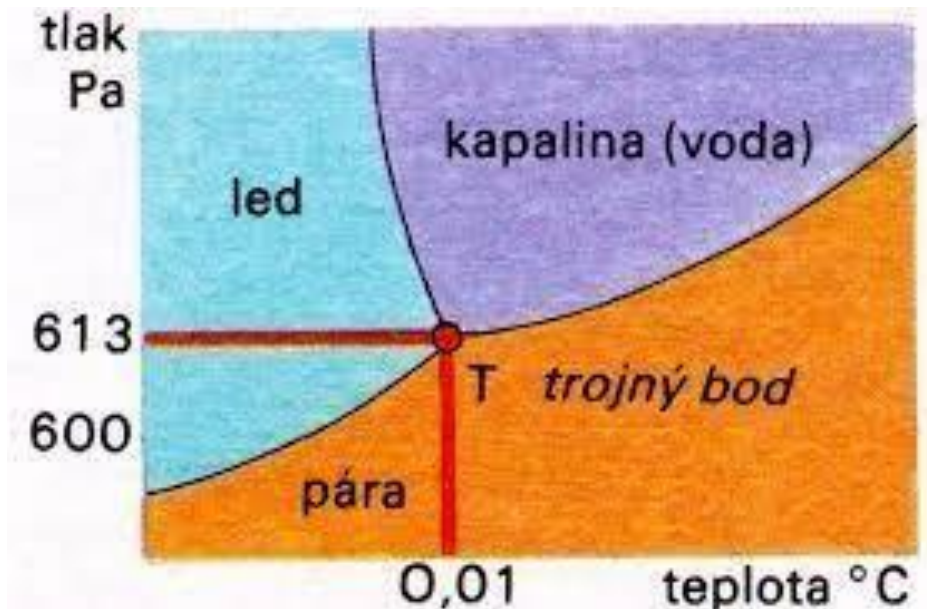
Zákon ideálního plynu:

$$pV = nRT \quad [1]$$

van der Waalsova stavová rovnice:

$$(p + an^2/V^2)(V - nb) = nRT \quad [2]$$

Kde V je objem, R je plynová konstanta a n je počet molů plynu.



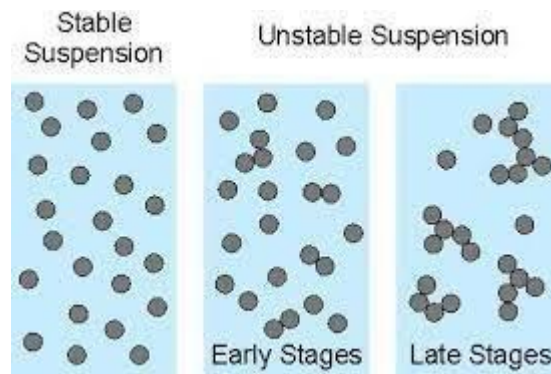
Obr. 2 Fázový diagram vody a trojný bod (Mendelova Univerzita v Brně, 2023)

2.1 Agregace částic

Agregace částic je hlavní příčinou destabilizace orálně disperzních filmů. Tudíž je potřeba vědět, jak se daná suspenze bude chovat, jak při pokojové teplotě, tak i při zvyšování teploty. (Lu, 2018)

Pokud jsou částice suspendovány v kapalině, může snadno dojít k destabilizaci disperzní soustavy. V ideálním případě jsou částice ve stabilní suspenzi dispergovány jednotlivě a homogenně. Pokud dojde k destabilizaci, částice se agregují (shlukují). Nejprve vytvářejí dublety, následně aglomeráty (částice jsou spojeny slabými vazbami)

a nakonec agregáty (částice jsou spojeny silnými vazbami). Aglomeráty se vyskytují v tzv. raných fázích agregace, a naopak agregáty v pozdní fázi agregace. U větších agregátů dochází k procesu sedimentace, kdy vztlaková síla prostředí je menší než gravitační síla. (Lin, 1989; Kobayashi, 2005)



Obr. 3 Agregace částic (Trefalt, 2014)

2.2 Brownův pohyb

ODF by měly být homogenní, protože je zapotřebí léčivé látky vstřebat rovnoměrně a co možná nejrychleji. K tomu nám napomáhá Brownův pohyb, který mikroskopickým pohybem přesouvá částice v suspenzi z nasyceného prostředí do nenasyceného.

Pokud dochází k náhodnému pohybu mikroskopických částic v plynném nebo kapalném prostředí, jedná se o Brownův pohyb. K pohybu dochází díky srážkám částic s molekulami prostředí. Pokud je v kapalině oblast s vyšší koncentrací, pak v průběhu určitého časového úseku budou mít částice tendenci se rovnoměrně rozprostřít po celém prostředí maximálně homogenně. Tomuto jevu se říká indukovaná difúze, která je vyvolána koncentračním gradientem. K tomuto pohybu dochází, když se částice přesouvají z míst s vysokou koncentrací do míst s nízkou koncentrací. Jsou-li tedy A a B dvě sousední oblasti a v čase t se v A nachází dvakrát více částic než v B, je v tomto okamžiku pravděpodobnost, že částice opustí A a vstoupí do B, dvakrát větší než pravděpodobnost, že částice opustí B a vstoupí do A. Můžeme si to představit na příkladu ponoření sáčku čaje do vroucí vody. Po určitém čase se čaj zbarví po celém objemu, aniž bychom ho, jakkoliv míchali. Difuzi lze tedy považovat za makroskopický projev Brownova pohybu na mikroskopické úrovni. Je ji tedy možné

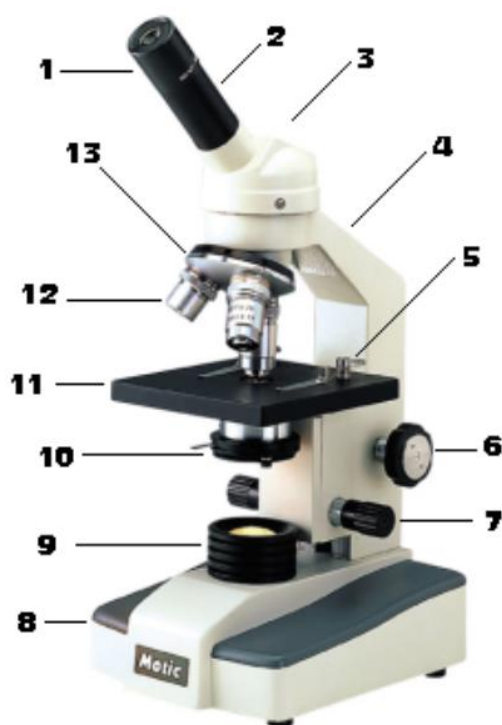
studovat simulaci pohybu Brownovy částice a výpočtem jejího průměrného chování. (Chakravarti a Sebastian, 1997; Dolez, 2015; Hao, 2005)

K pozorování agregace částic, zkoumání Brownova pohybu a homogenity připravených vzorků můžeme využít optickou mikroskopii.

3) Mikroskopie

Mikroskopie je technická oblast, která užívá mikroskopy k prohlížení objektů a jejich oblastí, které nelze vidět pouhým okem. Nejčastěji se dělí na 3 velké oblasti: optická, elektronová a mikroskopie atomárních sil. (Rosina, 2021) V naší práci se budeme zabývat pouze optickou mikroskopií, která je klíčová pro naše měření.

Optický mikroskop je typ mikroskopu, který běžně používá viditelné světlo a systém čoček k vytváření zvětšených obrazů malých objektů. Objekt je umístěn na stolku a lze jej přímo pozorovat jedním nebo dvěma okuláry mikroskopu. U vysoce výkonných mikroskopů oba okuláry obvykle zobrazují stejný obraz. K zachycení snímku se často používá kamera (mikrofotografie). Řada objektivů s různým zvětšením je obvykle namontovaná na věži, což umožňuje jejich otočení na místo a poskytuje možnost přiblížení. Maximální zvětšení optických mikroskopů je typicky omezeno na přibližně 1000x kvůli omezené rozlišovací schopnosti viditelného světla. (Rosina, 2021)



Obr. 4 Optický mikroskop (Rosina, 2021)

Na obrázku 4 je znázorněn základní optický mikroskop a popis jeho složení.

1. **Okulár** – slouží pro vhléd do mikroskopu
2. **Tubus okuláru**
3. **Hlavice**
4. **Rameno mikroskopu**
5. **Držák preparátu**
6. **Makro zaostřování** - zajistí hrubé zaostření preparátu.
7. **Mikro zaostřování** - umožní přesnější zaostření preparátu
8. **Základna (noha) mikroskopu**
9. **Kolektor osvětlení** - soustřeďuje paprsky světla na objekt
10. **Kondenzor** – pomáhá měnit kontrast obrazu
11. **Pracovní stolek**
12. **Objektivy** - optické členy, které mají různou hodnotu zvětšení
13. **Otočná hlavice pro objektivy** – slouží k jednodušší záměně objektivů

Existují různé metody zobrazování objektů pomocí optického mikroskopu: metoda světlého a tmavého pole, metoda fázového kontrastu, polarizační mikroskopie a další. (Rosina, 2021)

3.1 Metoda světlého pole

Jedná se o optickou mikroskopii, která je také nazývána jako metoda procházejícího světla. Je základním typem optické mikroskopie. Světlo prochází pozorovaným objektem a soustava dvou spojných čoček vytváří skutečný, zvětšený a převrácený obraz, který tak můžeme pozorovat přes okulár. Při této metodě má objekt tmavé obrysy a nachází se ve světlém poli. (Shafiee, 2023)

3.2 Metoda tmavého pole

Princip této metody se zakládá na tom, že předmět je osvětlený pomocí kondenzoru tak, že do roviny objektu vstupují jen okrajové a velmi šikmé paprsky světla, dokud středové nejsou pohlcené, a proto se vůbec při zobrazování neuplatňují. Objekt je tedy osvětlen ze stran a paprsky se od něho odrážejí a lámou. Do objektivu se tedy dostane světlo, které je již rozptýleno předmětem. Předmět se nám tak jeví jako svítící na tmavém pozadí. Při pozorování v tmavém poli „září“ na tmavém podkladě části objektu, na

kterých dochází k náhlému rozdílu při průchodu světla, typicky to tak zvýrazňuje například hrany objektu. Metoda se používá pro pozorování velmi malých objektů a jejich povrchových struktur. (Logg, 2006)

3.3 Metoda fázového kontrastu

Metoda slouží k zobrazení malých fázových objektů, u kterých se detaily od okolí absorpcí neliší, tudíž by nebyli rozlišitelné při předchozích metodách, ale tyto objekty na rozhraních způsobují změnu fáze světelného paprsku. Převádí se tak rozdíly v posunu fáze světla procházejícího různými částmi objektu, které nevidíme, na rozdíly intenzit, které už jsou pro nás viditelné. (Mertz, 2010)

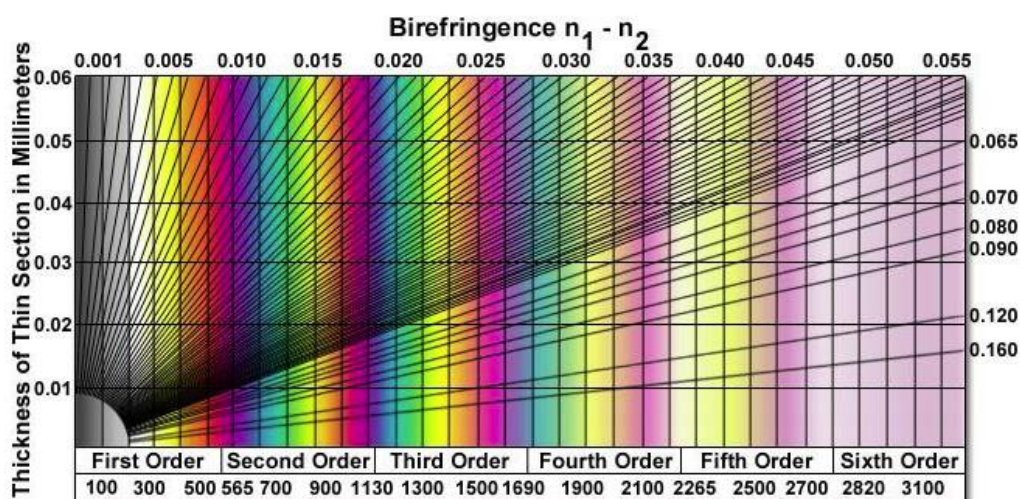
3.4 Polarizační mikroskopie

Pro lepší pozorování částic celulózy v roztoku, nám pomůže polarizované světlo. Mikroskop s polarizovaným světlem je určen k pozorování opticky aktivních látek, které jsou viditelné díky své opticky anizotropní povaze. Aby bylo možné tento úkol splnit, musí být mikroskop vybaven jak polarizátorem, umístěným v dráze světla před vzorkem, tak analyzátozem (druhým polarizátorem), který je umístěný v optické dráze mezi zadní clonou objektivu a pozorovacím okulárem nebo vstupem kamery. (Olympus, 2023)

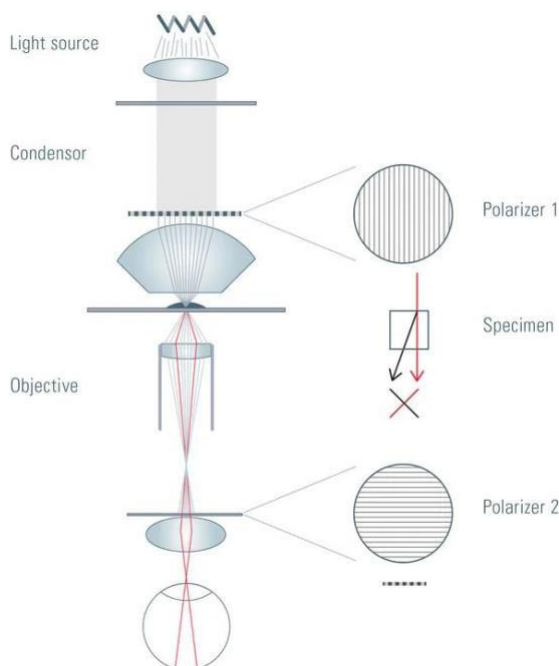
Kontrast obrazu vzniká interakcí rovinně polarizovaného světla s dvojlomným vzorkem za vzniku dvou jednotlivých vlnových složek, které jsou polarizovány ve vzájemně kolmých rovinách. Rychlosti složek jsou různé a mění se dle směru šíření. Po výstupu ze vzorku jsou složky fázově posunuty, při průchodu analyzátozem se opět spojí konstruktivní a destruktivní interferencí. (Olympus, 2023)

Když se anizotropní vzorek zaostří a otočí o 360° , bude se v závislosti na poloze otáčení postupně jevit jako světlý a tmavý (vyhaslý). Pokud je hlavní optická osa vzorku (anizotropního materiálu) orientována pod úhlem 45° k ose polarizátoru, bude dosaženo maximálního stupně jasu a největšího stupně zhasnutí, když se obě osy shodují. Během otáčení v rozsahu 360° bude vzorek oscilovat mezi světlem a tmou čtyřikrát v 90° krocích. To je způsobeno dopadajícím polarizovaným světlem na dvojlomný vzorek se směrem kmitů rovnoběžným s optickou osou. Budou-li se směr polarizace světla shodovat s hlavní optickou osou vzorku, pak se vzorek bude jevit jako izotropní (tmavý nebo vyhaslý). Pokud se změní orientace vzorku o 45° , dopadající světelné paprsky se

vzorkem rozdělí na řádnou a mimořádnou složku, které se pak v analyzátoru spojí za vzniku interferenčního obrazce. Interference mezi rekombinujícími paprsky bílého světla v rovině analyzátoru vytváří barevné spektrum, které je způsobeno barvami vznikajícími destruktivní interferencí bílého světla. Barvy pozorované při osvětlení bílým světlem v okuláru mikroskopu lze využít ke kvantitativním závěrům o rozdílech drah a hodnotách tloušťky vzorku, pokud jsou známy indexy lomu vzorku pro řádný a mimořádný svazek. (Olympus, 2023; Nikon, 2023)



Obr.5 Michel-Levyho graf dvojlomu(Olympus, 2023)



Obr. 6 Funkce Polarizační mikroskopie (Ockenga, 2011)

4) Orálně Disperzní filmy (ODF)

Zkoumání orálně disperzních filmů při různých teplotách by mohlo napomoci s jeho skladováním, či při jeho výrobě. Z tohoto důvodu jsme ODF filmy zahřivali až k bodu tání a pozorovali chování připravených vzorků.

Ústy rozpustný film (ODF) se stává novou lékovou formou k perorálnímu podávání léčiv, protože poskytuje pohodlí a snadné použití oproti jiným formám, jako jsou tablety rozpadající se v ústech, bukální tablety a sublingvální tablety. Proto se o ODF filmy rozpustné v ústech zajímá velké množství farmaceutických firem. Film rozpustný v ústech byl vyvinut na základě technologie transdermální náplasti. Ústy rozpustné fólie jsou tenké, apevné formy, které se po vložení do ústní dutiny rozpustí během několika sekund bez žvýkání a příjmu vody, a to díky produkci slin slinnými žlázami, které film snadno rozpustí. Vzhledem k tomu, že sliznice dutiny ústní je vysoce vaskularizovaná, mohou se léčivé látky vstřebávat přímo a ihned se dostat do systémového oběhu pacienta, aniž by byla část léčivé látky metabolicky zničena v játrech, kde se léčivá látka může snadno zničit. Tuto výhodu lze využít při přípravě přípravků se zvýšenou perorální biologickou dostupností molekul, které podléhají first pass efektu. Tyto filmy nabízejí pohodlný způsob dávkování léčivých přípravků dětem, geriatrickým pacientům a pacientům upoutaným na lůžko. Sublingvální a bukální podávání léčiva prostřednictvím tenkého filmu má potenciál zlepšit nástup účinku, snížit dávkování a zlepšit profil účinnosti a bezpečnosti léku. Ideální film by měl mít vlastnosti, jako je příjemná chuť, vysoká stabilita a snadné podávání. Hlavní nevýhodou je jejich komplikované skladování a zajištění stability ODF před podáním pacientovi. (DeMerlis, 2003; Salawi, 2022)

4.1 Příprava ODF

ODF mají různé metody přípravy. Zohledňuje se ekonomická náročnost a dostupnost prostředků u výrobce. Výroba může být průmyslová nebo laboratorní. (Musazzi, 2020)

4.1.1 Lití do rozpouštědla

Metoda lití do rozpouštědla (v angl. solvent-casting) je nejčastěji používanou metodou přípravy ODF. Hlavním důvodem je jednoduchá příprava, která je ekonomicky výhodná na zpracování. Nejprve se ve vodě rozpustné složky připravují mícháním v zahřátém magnetickém míchadle. Poté se k této směsi přidá léčivo a další pomocné látky (např. zahuš'ovadla), které zaručují vhodné viskózní vlastnosti prostředí. Připravený roztok se nalije do Petriho misky a rozpouštědla obsažená v roztoku se nechají odpařit. V závislosti na rozpouštědlech se ODF uchovávají po dobu 20-25 hodin nebo 24-48 hodin při pokojové teplotě, nebo po kratší dobu při teplotě 40-50 °C v sušárně. Filmy získané po odpaření rozpouštědel mají průměr 15-20 mm a tloušťku 0.2-0.3 mm. Nakonec jsou ODF pečlivě odděleny od Petriho misky. V závislosti na množství účinné látky, kterou obsahují, se rozdělují na kousky požadované velikosti. Alternativní metodou k solvent casting je tzv. polotuhá technika, kdy se polotuhá gelová hmota nalije do vhodných forem a nechá se vypařit pomocí gelotvorných polymerů. Nakonec se opět připraví rozdělením na požadované velikosti. (Rashid, 2021; Jose, 2019)

4.1.2 Vytlačování za tepla

Vytlačování za tepla (v angl. hot melt extrusion) je technika, při níž se směs obsahující léčivo, polymer a pomocné látky vytlačuje za vysoké teploty za vzniku homogenní hmoty, která se následně odlévá a vytváří hladké filmy. Při tomto procesu se nepoužívají rozpouštědla. Hlavní nevýhodou je limitace zpracování možných látek, kvůli použití vysokých teplot nemůžeme použít termolabilní látky. (Tambe, 2021; Hanada, 2023)

4.1.3 Technika stříkání

Technika stříkání (v angl. spray technique) využívá čirý roztok, ve kterém jsou rozpuštěny všechny potřebné složky (léčivá látka, polymerový nosič, změkčovadla, dochucovadla atd.) Tento čirý roztok se poté nastříká na vhodný materiál (sklo, polyethylenová fólie z nesilikonizovaného kraftového papíru nebo teflonová fólie). Opět necháme zaschnout a uchováme ve vhodném prostředí před použitím. (He, 2021; Yamasaki, 2019)

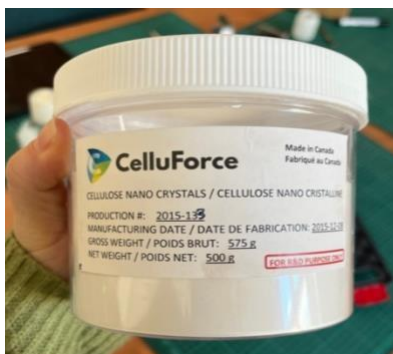
4.2 PVA + nanoceluloza

Nanocelulóza funguje jako opticky aktivní látka, která je dobře viditelná pod polarizačním mikroskopem. Polyvinylalkohol (PVA) se využívá ve farmaceutickém průmyslu jako nosič léčivé látky nebo nově i při výrobě náplastí na hojení ran. Pokud vytvoří z těchto dvou látek suspenzi, můžeme tím vytvořit simulaci ODF, přes který se dá sledovat pohyb částic ve filmu a zkoumat tak případné agregace částic nebo jejich difúzi. (Zhu, 2022)

PVA je vodorozpustný polymer, který je biodegradabilní, biokompatibilní. To i přesto, že je syntetický, protože novodobé trendy ve farmacii se snaží opustit od syntetických polymerů. Jeho další výhodou je, že je ekonomicky dostupný, proto se často využívá ve farmaceutickém průmyslu. (Cerchiara et al., 2003) je bezbarvý a bez zápachu. Poznáme ho ve formě bílých až průhledných krystalků. Kvůli hydroxylové skupině je PVA snadno rozpustný ve vodě. Hydroxylová skupina dále ovlivňuje bod tání 200 °C a bod varu 228 °C. Stále ale platí pravidlo rozpustnosti látky v roztoku a to znamená, že jakmile dojde k přesycenosti roztoku, PVA se přestane ve vodě rozpouštět a začne krystalizovat. Rozpustnost PVA je závislá na teplotě a tlaku. PVA v procesu získává pevnou, odolnou čirou strukturu. Stává se z něho hydrogel, ze kterého se můžou vyrábět chrupavky, stenty či čočky. (Adelnia, 2022; Tang, 2011; Sin, 2023)

Celulózu nacházíme jako přirozenou součástí buněčné stěny všech rostlin a stromů. Považuje se za jeden z nejrozšířenějších a nejobnovitelnějších biopolymerů. Hojně se používá jako výztužní materiál u různých kompozitů (např. polymerních). Nanocelulóza je stejnou látkou jako celulóza klasická ale rozměry jejich částic se pohybují měřítku nanometrů. I když je nanocelulóza velice náročná na výrobu, získává na stále větší oblibě nejen v medicíně. Používá se například jako výztuž do plastů (aby

byly pevnější). Celulóza je opticky anizotropní, a tedy opticky aktivní v polarizovaném světle. Na rozdíl od PVA je vysoce hydrofobní a těžko se rozpouští ve vodě. (Nasir, 2017; Trache, 2020; Heise, 2021; Solhi, 2023) Na poli biomedicíny plní celulóza funkce na úrovni molekulové struktury, kdy se jí využívá jako bio skládky pro buněčné kultury nebo pomocné nosiče léčiv. Na úrovni makromolekulární se může uplatnit u náhrady cév, při výrobě materiálů na obnovu kůže a dalších. (Lin, 2014)



Obr. 7 Nanocelulóza od značky CelluForce (Zdroj: Autor)

5) Praktická část

5.1 Cíle a výzkumné předpoklady/otázky

Pomocí teplotní komůrky THMS600, která dokáže kontrolovat teplotu s přesností 0.1 °C, a to v rozsahu -196 až 600 °C, budeme zkoumat chování ODF, suspenzí a polymerních roztoku při různých teplotách pomocí optické a polarizační mikroskopie. Můžeme tak zkoumat jevy jako jsou například krystalizace, rozpustnost a teplotní stabilita vzorků. Tyto výsledky se pak uplatní pro lepší popis ODF

5.2 Metody

V této kapitole se budeme zabývat, jak měření probíhá. Dále také s a m o t n é m u zapojení a zprovoznění celé teplotní komory THMS600, nastavení a popisu softwaru pro ovládání měření.

5.2.1 Systém THMS600

Systém se skládá ze THMS600, přístroje CI94/2 a volitelného systému LNP94/2. chladičového čerpadla na kapalný dusík. Řídicí software systému Linksys32. Fotky a digitální video je pořízeno pomocí polarizačního mikroskopu Olympus BX60.

THMS600 se k mikroskopu připevňuje pomocí speciálních svorek nebo pomocí adaptérové desky, popřípadě jednoduchým umístěním na držák XY mikroskopu pomocí oboustranné lepicí pásky.

5.2.2 CI94

Zařízení na obrázku 8 dole je CI94. Rozhraní CI94 (Computer Interface) bylo speciálně navrženo tak, aby umožňovalo přesnou regulaci teploty. Regulovat teplotu lze buď manuálně za pomoci CI94 nebo pomoci softwaru Lynksys32. V této práci budeme teplotu výhradně regulovat pomocí počítačového rozhraní.

4.2.3 LNP94/2

Zařízení na obrázku 8 nahoře. LNP94/2 je zařízení pro chlazení teplotní komůrky THMS600. Měření je zcela automatizované, a proto stačí jen nastavení teploty na „chlazení“ (menší, než je aktuální). K chlazení je potřeba dodat do systému tekutý dusík který systém uchovává v přiložené Dewarově nádobě.



Obr. 8 LNP94/2 CI94

4.2.4 Celá měřicí soustava



Obr. 9 Celá měřicí soustava

Na obr. 9 vidíme celou měřicí soustavu. Vlevo je PC (ovládání teploty v THMS600), CI94, LNP94/2 a nádobu na kapalný dusík. Následuje mikroskop s teplotní komůrkou THMS600 a nejvíc vpravo pak počítač, kde pozorujeme obraz z mikroskopu.

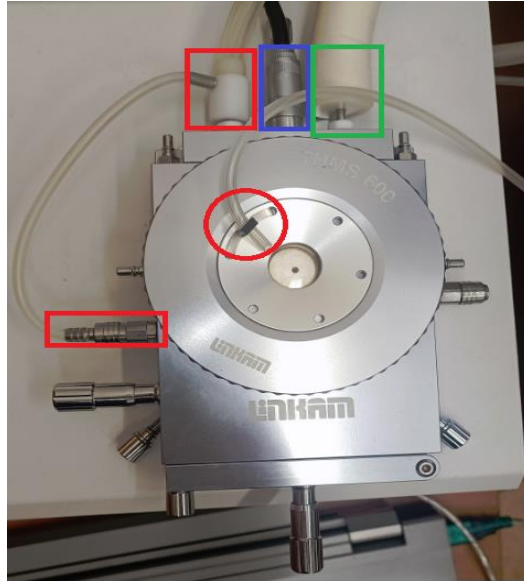


Obr. 10 nalevo je THMS600 z přední strany, uprostřed bez vrchní víka a vpravo ze zadní strany
(zdroj: autor)

Na obrázku vlevo vidíme celou komůrku složenou. Pokud chceme vložit vzorek do komůrky, odmontujeme vrchní víko (kruhový kryt). Tím se dostaneme k obrázku uprostřed. Zde je kruhový prstenec s cílem držení sklíček/sklíčka a vzorku. Prstenec je zároveň držen držákem, pomocí kterého lze pohybovat vzorkem v XY systému.

Po zapnutí a propojení LNP94/2 a CI94 přimontujeme teplotní komůrku THMS600 za pomoci držáků, které vidíme označené na obrázku červenými kroužky (viz. obr. 10 vpravo). Je důležité, pokud chceme použít mikroskop se spodním osvětlením, abychom našli průchozí bod (označený modře viz. obr. 10 vpravo), skrz který prochází světlo. Není to ale nutné, pokud nám stačí horní osvětlení nebo máme látku či vzorek, kterým neprochází světlo (např. teplotní proužky). Pokud by došlo ke zničení ochranného skla W22G na kruhovém krytu je zde možnost ho vyměnit rozmontováním krytu.

4.2.5 Zapojení THMS600



Obr. 11 Zapojení THMS600

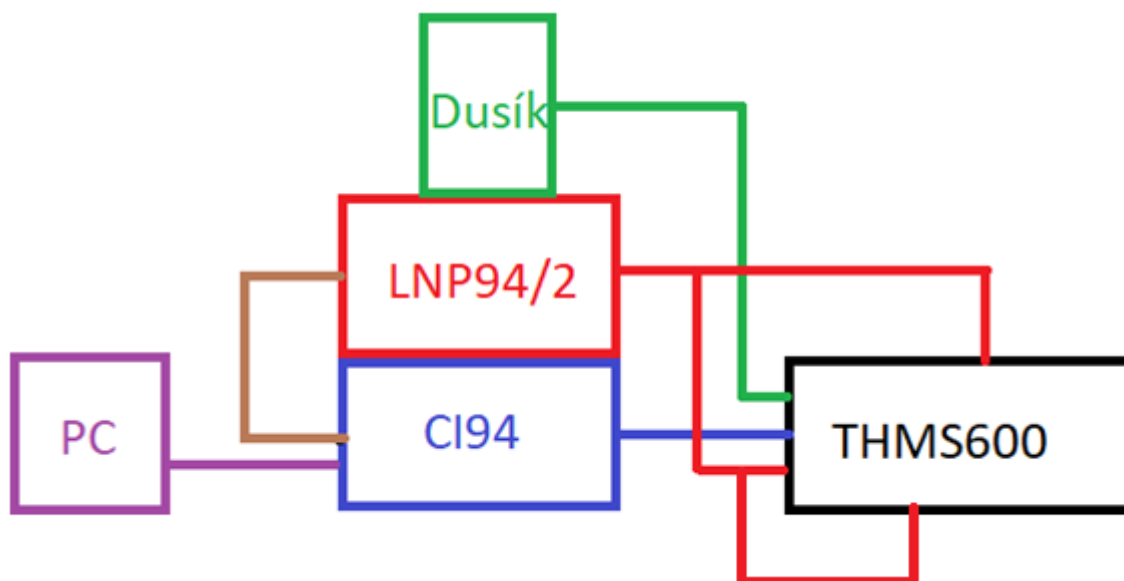
Červeně označené hadice (viz. Obr. 11 a 13) přivádějí chladicí vzduch z přední strany přístroje LNP94/2 (viz. Obr. 12). Zeleně označená hadice (na obr. 11) přivádí tekutý dusík, v případě chlazení. Černý kabel, označený modře, slouží pro komunikaci mezi teplotní komorou a CI94 (viz. Obr. 12).



Obr. 12 LNP94/2 a CI94 (vlevo) zadní strana (vpravo)

Dva vývody vycházející z LNP94/2 (viz. Obr. 12 vlevo) vedou do teplotní komory THMS600. Širší vrchní vývod se dělí na dva (viz. Obr. 11 červené obdélníkové ohraničení). Spodní vývod je připojen na kruhový kryt (viz. Obr. 11 červené kruhové ohraničení). Na obr. 12 vidíme tři různé kabely. Šedivý kabel propojuje LNP94/2 a CI94

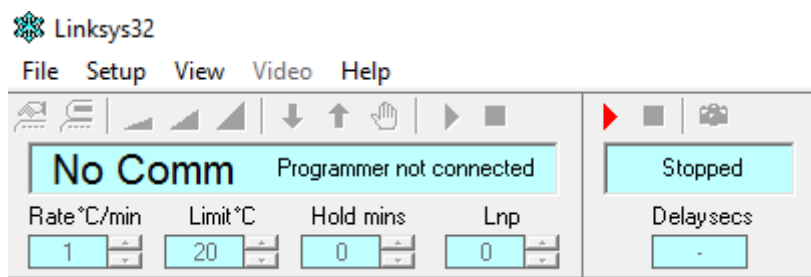
slouží k vzájemné komunikaci (hnědě značený na obr. 13). Černý kabel vpravo dole propojuje CI94 a THMS600 (modře značený na obr. 13). Bílý kabel vlevo dole propojuje CI94 a PC (fialově značený na obr. 13).



Obr. 13 schéma zapojení teplotní komůrky THMS600

4.2.6 Popis softwaru

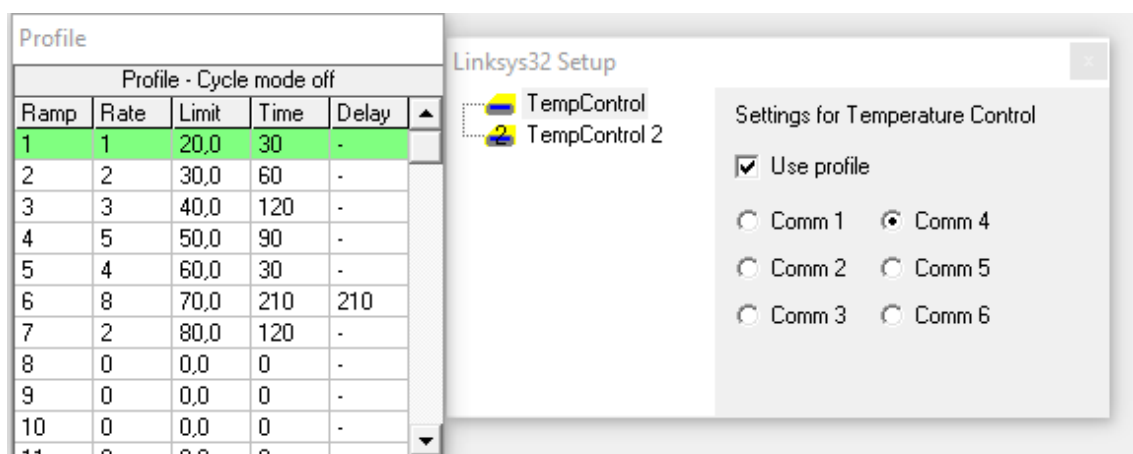
Teplotní komůrku lze ovládat dvěma způsoby. První ovládání systému lze manuálně pomocí přístroje CI94. Druhý způsob je přes PC za pomoci systému linksys32 (viz. obr. 14).



Obr. 14 Program linksys32

Systém Linksys32 nejprve propojíme s CI94 tím způsobem, že klikneme na file → connect. Pomocí systému Linksys32 nastavujeme požadovanou teplotu. Teplotu si lze nastavit buď pomocí panelu, který vidíme na obrázku, kde zleva máme stupně za minutu (Rate °C/min), požadovanou teplotu (Limit °C), držení požadované teploty (Hold mins). Pokud bychom chtěli držet teplotu na neomezený čas lze použít ručička pod tlačítkem. Help a poslední je LNP (foukání) na vrch skříňka W22G, to je nastavené na

automatické a není nutné během měření zapínat. Pokud chceme od komůrky odejít nebo ji nechceme nastavovat ručně bod po bodu, je zde funkce teplotního profilu Profile pod tlačítkem View. Tuto funkci si nastavíme podle požadavků měření a daný teplotní profil se pak již realizuje automaticky. Daný Profile spustíme za pomoci funkce Setup, kde nalezneme port, přes který je propojený PC a CI94 a zároveň spuštění Profilu. Po plném zapojení, vložení vzorku a nastavení systému mohou začít samotná měření.



Obr. 15 vlevo nastavený Profile, vpravo aktivování Profile

4.2.7 Specifikace

Maximální teplota:	+600 °C
Minimální teplota:	-196 °C
Maximální rychlost ohřevu:	150°C/min
Šířka objektivu:	4,5mm
Šířka kondenzátorové čočky:	12,5 mm
Zdvih XY – manipulátorů:	16 mm
Clonový otvor:	2 mm
Hmotnost:	0,62 kg

5.3 Analýza výzkumných dat

5.3.1 Reverzibilní polyesterová fólie z tekutých krystalů (Teplotní proužky)

Výrobce Omega Engineering vyrábí přesné teploměry. Jeden z jejich produktů jsou teplotní proužky. Ty jsme použili z důvodu testování funkce a přesnosti teplotní komory ve spojení s optickou mikroskopií. Cílem bylo ověření minimálního kroku $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, jak udává výrobce a kontrola absolutní teploty udávaná program linkam32. Teplotní proužky při dosažení dané teploty změni svou barvu, což pod polarizačním mikroskopem lze dobře pozorovat.

Teplotní proužek s rozsahem teploty $35\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$

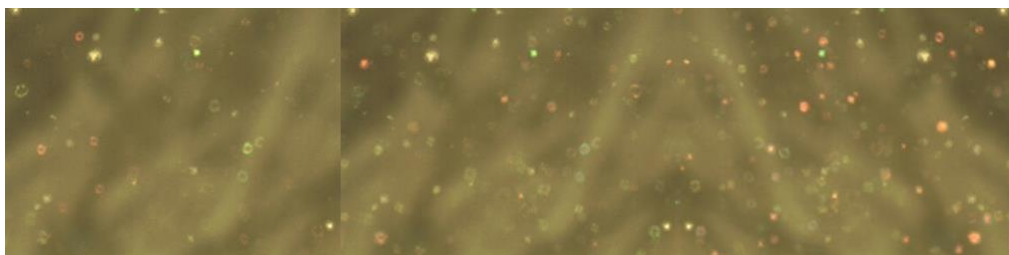
První teplotní proužek se mění svoji barevnost v rozsahu teplot $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. tímto pokusem jsme ověřili, zda komora dokáže mít takto malý teplotní krok $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a stabilně ho udržovat po požadovaný čas.



Obr. 16 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$

Obr. 17 $35,1\text{ }^{\circ}\text{C}$

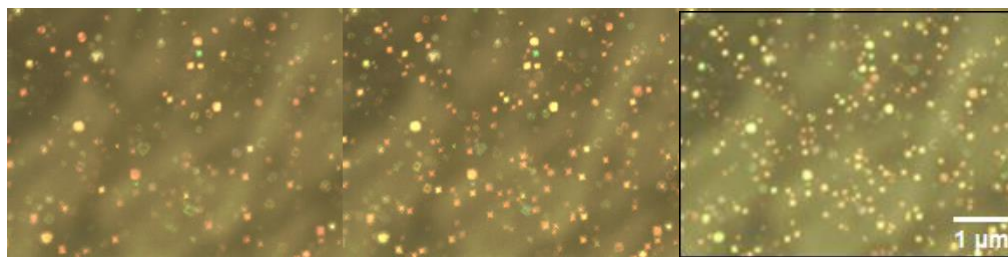
Obr. 18 $35,2\text{ }^{\circ}\text{C}$



Obr. 19 $35,3\text{ }^{\circ}\text{C}$

Obr. 20 $35,4\text{ }^{\circ}\text{C}$

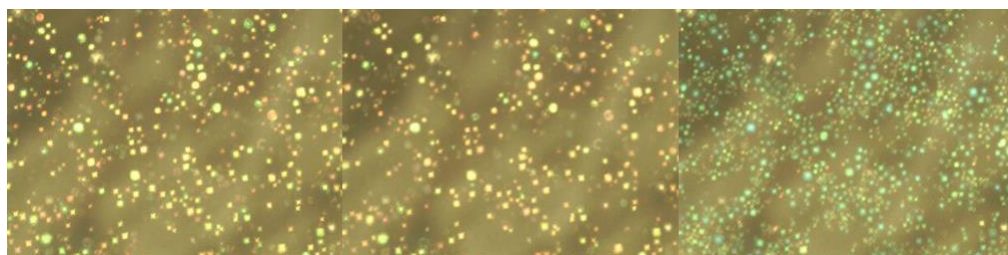
Obr. 21 $35,5\text{ }^{\circ}\text{C}$



Obr. 22 35,6 °C

Obr. 23 35,7 °C

Obr. 24 35,8 °C



Obr. 25 35,9 °C

Obr. 26 36 °C

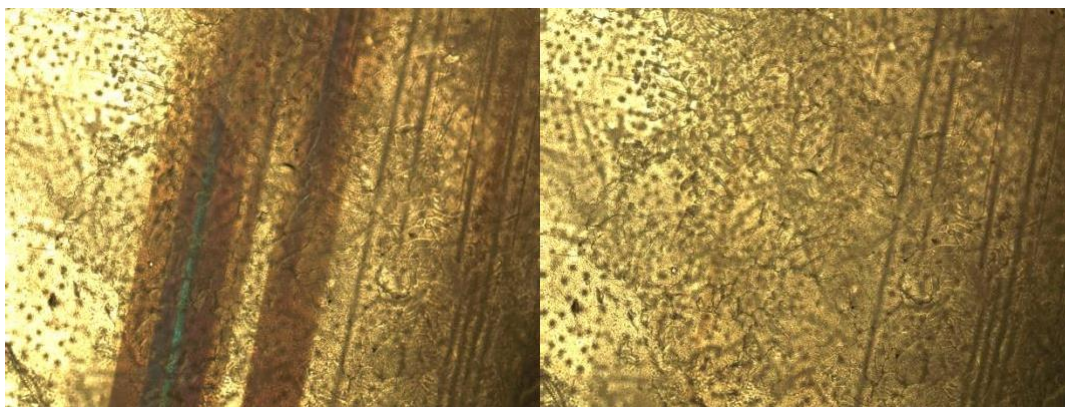
Obr. 27 37 °C

Teplotní krok na obrázkách je 0.1 °C až na poslední ten je 1°C. Z první trojice obr. 16-18 lze pozorovat, že jsme se teprve dostali na požadovanou teplotu 35 °C. Pomalu se začínají ukazovat barevné změny na folii. Další obrázky už mají větší barevnou změnu a z obr. 19-21 již můžeme říct, že jsme za půlkou rozsahu z důvodu jasné změny tekutých krystalků. Obrázky 22-26 bychom měli vidět, už okem, a to změnou barvy do zelena. Z parametrů výrobce víme, že pokud se dostaneme na požadovanou teplotu tak proužek zezelená a pokud teplotní proužek přesáhne teplotu, než na jakou je vyrobený zmodrá, a to krásně vystihuje obrázek 27, což znamená, že daná teplotní komora THMS600 pracuje podle svých predispozicí a udávaná teplota souhlasí.

5.3.2 BaTiO₃

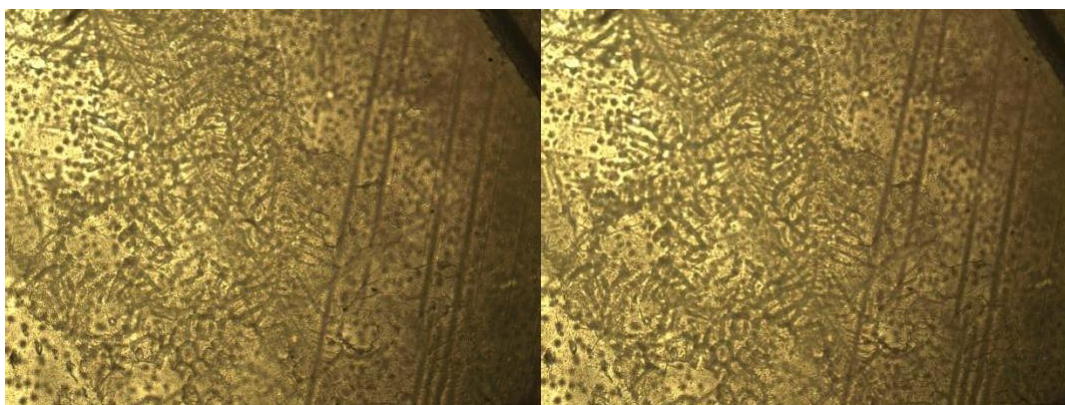
Pozorování BaTiO₃ bylo v této práci zvoleno kvůli své změně doménové struktury při vzrůstající teplotě, kterou lze pozorovat jedině s polarizačním mikroskopem.

Doménové struktury při teplotě vyšší 120 °C jsou v pohybu a nelze je pozorovat. Tato teplota se nazývá Curieho teplota (TC). Pokud se dostaneme nad teplotu 120 °C v BaTiO₃ zaniknou doménové struktury. Doménové struktury se znovu uspořádají a budou pozorovatelné pod polarizačním mikroskopem, pokud teplota opět klesne.



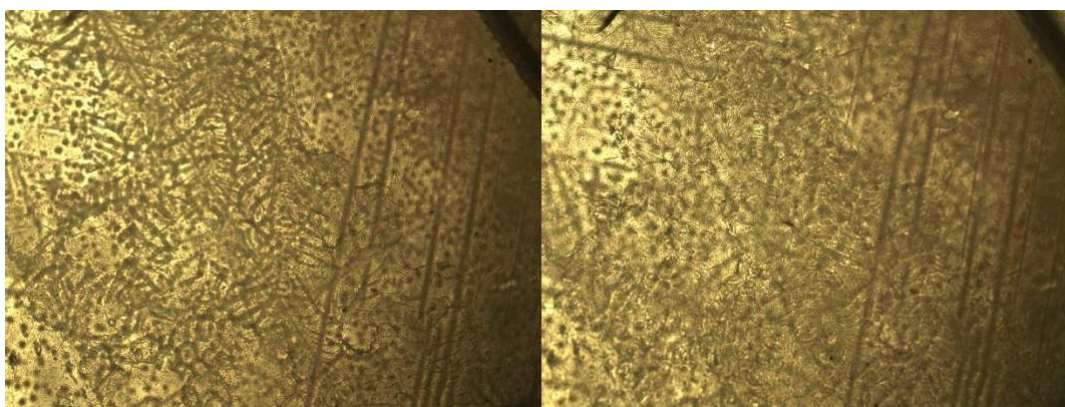
Obr. 28 BaTiO₃ 29 °C

Obr. 29 BaTiO₃ 64 °C



Obr. 30 BaTiO₃ 100 °C

Obr. 31 BaTiO₃ 115 °C

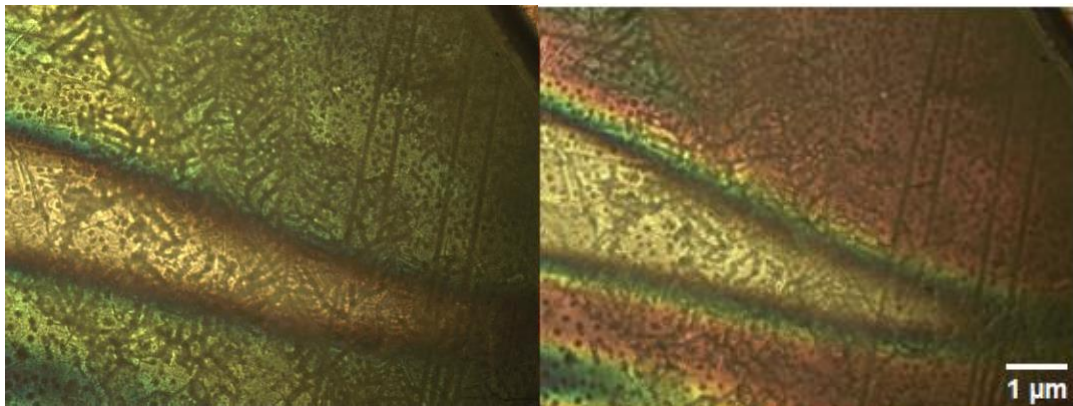


Obr. 32 BaTiO₃ 125 °C

Obr. 33 BaTiO₃ 130 °C

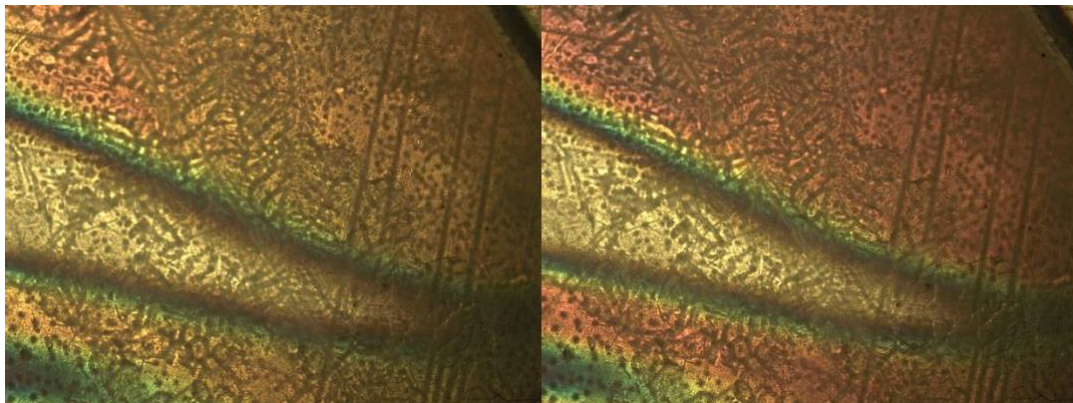
Z obr. 28 lze vidět doménové struktury BaTiO₃ v polarizovatelném světle. Ta nám ovšem hned v obr. 29 zmizí. Pokračujeme s teplotou až na 130 °C, kde by už měla proběhnout přeměna doménové struktury. Tento jev by měl být pozorován až BaTiO₃

schladíme pod 120 °C, kde by se nám měla lišit doménové struktura obrázku č. 28 a obr. 34 zchlazeného pod 120 °C.



Obr. 34 BaTiO₃ 95 °C

Obr. 35 BaTiO₃ 80 °C



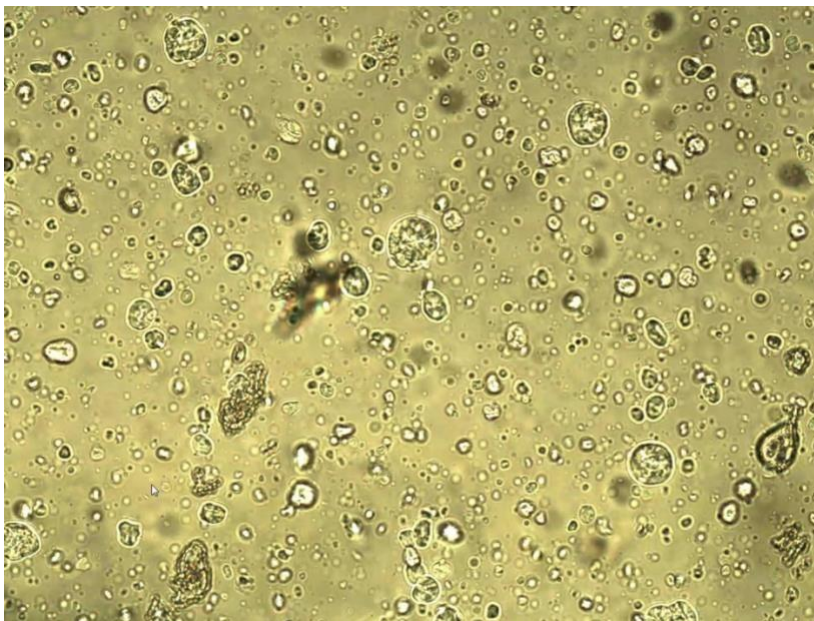
Obr. 36 BaTiO₃ 70 °C

Obr. 37 BaTiO₃ 45 °C

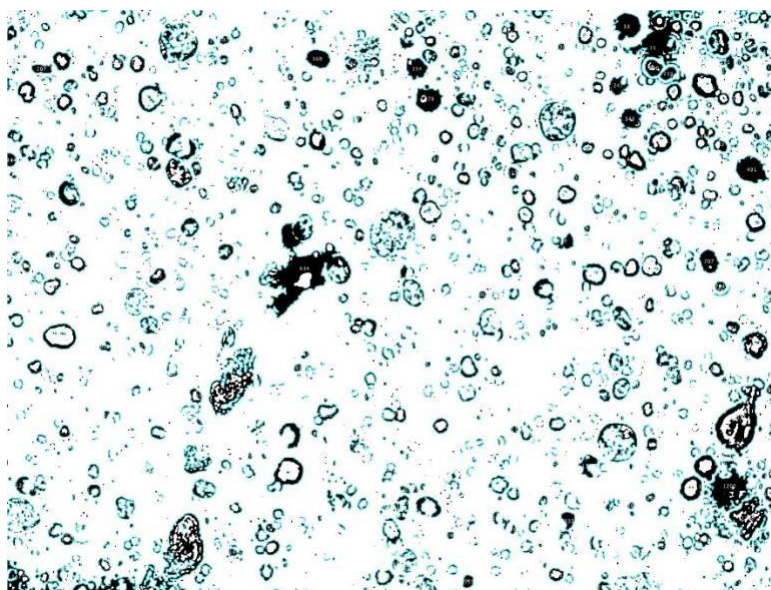
Z těchto obrázků č. 34-37 lze pozorovat, že měření dopadlo podle očekávání. BaTiO₃ změnilo doménové struktury a uspořádali se znovu ale v jiných místech.

5.3.3 ODF

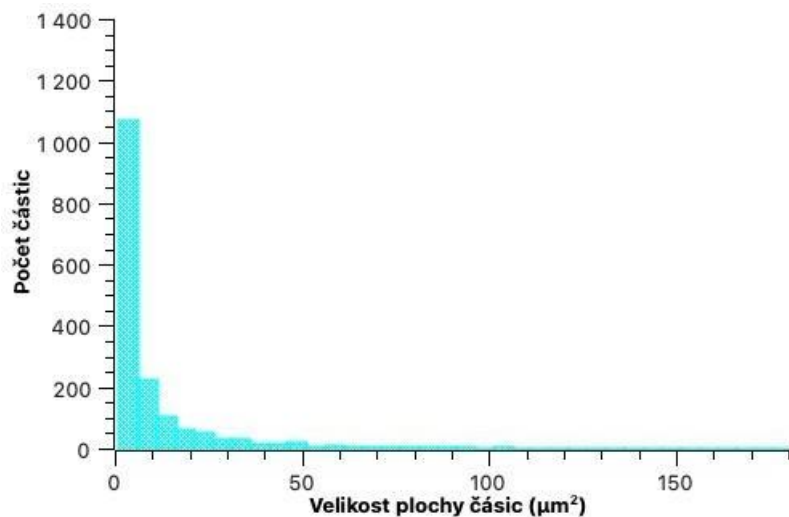
ODF jsme připravili za pomoci metody lití do rozpouštědla, kde hlavní látkou je nanocelulóza, jejímž nosičem je PVA. Tato suspenze simuluje strukturu ODF. Filmy jsme natáhly za pomoci natahovacího pravítka. Zároveň tloušťka filmu byla udána také natahovacím pravítkem. Po evaporaci filmu je nezbytné použít film co nejdříve z důvodu rychlého odpařování vody. Jakmile film zcela zatuhne je obtížné ho od skla oddělit.



Obr. 38 zpracovávány obrázek

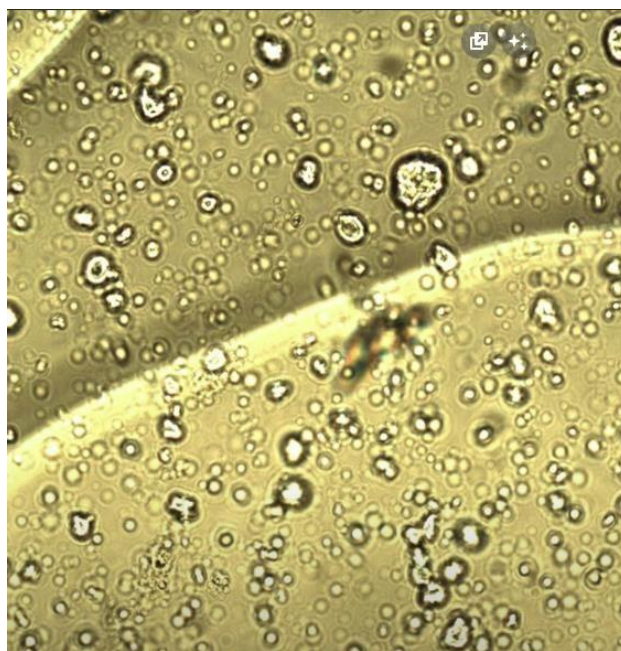


Obr. 39 Thrashehold a analyze particles



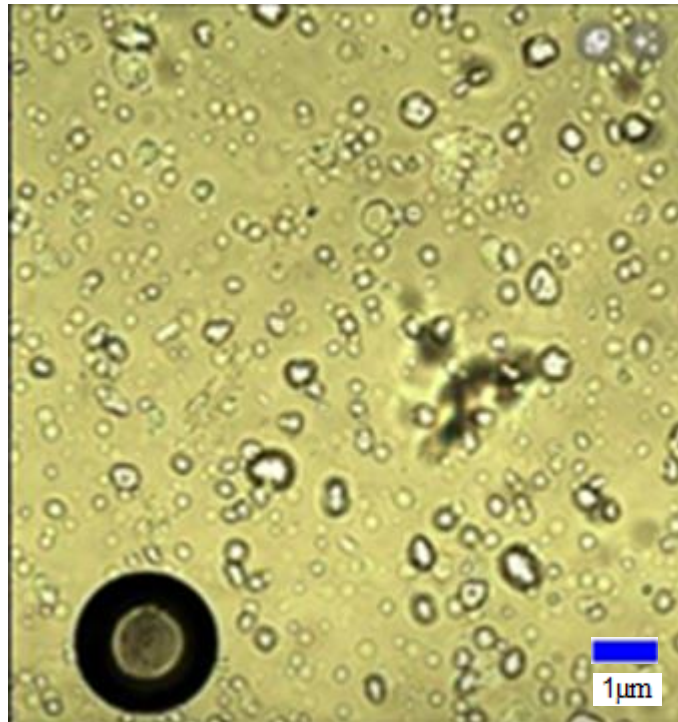
Graf 1 Histogram

Obr. č. 38 je zpracován pomocí programu Imagej kde ho převedeme do 8bitového zobrazení, aby mohly být detekovány částice. V následujícím obrázku č. 39 vidíme danou úpravu a za pomoci Obr. č. 39 jsme vyhodnotili histogram (graf 1).



Obr. 40 Bod tání 225,1 °C

Z obr. 40 lze pozorovat bod tání (Bf) při 225,1 °C. Tento bod tání se liší oproti teoretické hodnotě bodu tání PVA 200 °C. Posun teploty tání je pravděpodobně způsoben složením suspenze, nejedná se již o čisté PVA. Tání nám zde znázorňuje „vlna“, která je patrná uprostřed obrázku 40 a v levém rohu se snaží spojit s další „vlnou“. Jakmile se dané vlny spojí, můžeme spolehlivě říct, že PVA kompletně přešlo do kapalného skupenství a může zde dojít k pohybu částic.



Obr. 41 Bod varu 251 °C

Na obrázku 41 se teplota zvýšila na bod varu (Tb) 251 °C. Což lze pozorovat vytvořením bubliny v levém dolním rohu. Pokud bychom pokračovali na vyšší teploty potom by se nám PVA odpařilo či by došlo k jeho zničení. Teplota bodu varu se zde také liší od teoretické hodnot pro čisté PVA, ale pokud porovnáme hodnoty naše ku hodnotám teoretickým zjistíme, že se obě hodnoty navýšili o přibližně 25 °C. Z toho bychom mohli usoudit, že složení suspenze nám pozměnilo Bf a Tb o přibližně stejnou hodnotu směrem k vyšším teplotám.

5.4 Vyhodnocení cílů a výzkumných otázek/předpokladů

Dokázali jsme popsat a zprovoznit teplotní komoru THMS600 a zpracovat její schéma zapojení. Pomocí teplotních zkoušek jsme potvrdili teplotní rozmezí, na které je komora konstruována bez jejího poškození (24-600 °C). Pomocí teplotních proužků a titaničitanu barnatého, které sloužili k ověření teploty v komůrce, jsme také potvrdili její stabilitu a citlivost na úrovni ± 0.1 °C. Po ověření funkčnosti a manipulace s komůrkou jsme začali s pozorováním chování ODF.

Polyvinylalkoholové filmy s přidanými nanocelulózovými částicemi jsme rozřezali do malých čtverečků, které velikostně vyhovovaly teplotní komůrce. Při sledování filmů jsme dokázali stanovit bod tání a varu, kdy k těmto bodům došlo zhruba o 25 °C vyšší teplotě, než stanovují tabulky pro čisté PVA. Zde může hrát faktor vysušování filmu a jeho skladování a fakt, že jsme nesledovali čistý roztok polyvinylalkoholu. Strukturní vazby nanocelulózy mohly narušit charakter samotného polyvinylalkoholu, a proto k bodům tání i varu došlo až při vyšších teplotách.

6) Závěr

Cílem této práce je zprovoznění teplotní komůrky THMS600 a vyzkoušení, zda pracuje podle parametrů, které uvádí výrobce. Dalším cílem práce bylo vytvoření metodiky pro studium ODF pomocí optické mikroskopie za různých teplot. Což znamená sepsání zásad jak nejlépe a nejefektivněji s danou komůrkou pracovat. Jeden ze stěžejních bodů k zprovoznění Teplotní komůrky bylo získání licence pro program linksys32 a seznámení se softwarem. V poslední řadě natažení ODF a poté zahřání na bod varu a pozorování částic.

Po seznámení a zapojení všech zařízení se podařilo zprovoznit teplotní komůrku THMS600. Po domluvě s firmou Linkam nám poslali kód na licenci, která již nebyla podporována a již nepoužívána. Jakmile se odemknul software pro linksys32 bylo možné měřit. Pomocí teplotních proužků jsme kalibrovali přesnost teplotní komory THMS600. Po naměření teplotních proužků lze říci, že teplotní komora THMS600 pracuje podle předepsaných specifikací. U BaTiO_3 jsme vyzkoušeli změnu doménových struktur za pomoci polarizační mikroskopie. Toto měření dopadlo úspěšně. Doménové struktury se změnili po dosažení potřebné teploty. ODF jsme natáhli za pomoci přesného natahovacího pravítka. Po evaporaci filmu jsme odřízli kus filmu a zahřáli. Zde se nepotvrdily výzkumné předpoklady. Nelze pozorovat agregaci částic ani Brownův pohyb, kvůli nanocelulose, která je moc malá na to, aby šla pozorovat pod mikroskopem Olympus BX60. Teplotní komora THMS600 by mohla být v budoucnu prospěšná pro zkoumání ligninu při různých teplotách dále pro studium krystalizace a termo – reverzibilní procesů.

Seznam použité literatury

ADACHI, Masayuki et al. 2018. Aggregation-phase diagrams of β 2-microglobulin reveal temperature and salt effects on competitive formation of amyloids versus amorphous aggregates. *Journal of Biological Chemistry*. **293**(38), 14775–14785. DOI 10.1074/jbc.RA118.004683.

ADELNIA, Hossein et al. 2022. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. *European Polymer Journal*. **164**, 110974. DOI 10.1016/j.eurpolymj.2021.110974.

ANON. [b.r.]. *Movement of particles* [online]. [Cit. 2022a-11-29]. Dostupné z: <https://www.education.vic.gov.au:443/school/teachers/teachingresources/discipline/science/continuum/Pages/particles.aspx>

CERCHIARA, Teresa et al. 2003. Substituted polyvinylalcohol as a drug carrier for β -carotene. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **56**(3), 401–405. DOI 10.1016/S0939-6411(03)00135-8.

DEMERLIS, C. C a D. R SCHONEKER. 2003. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). *Food and Chemical Toxicology*. **41**(3), 319–326. DOI 10.1016/S0278-6915(02)00258-2.

DOLEZ, Patricia I. 2015. *Nanoengineering: global approaches to health and safety issues*. Amsterdam Boston: Elsevier. ISBN 978-0-444-62747-6.

FEYNMAN, Richard P., Robert B. LEIGHTON a Matthew L. SANDS. 2011. *The Feynman lectures on physics*. New millennium ed. New York: Basic Books. ISBN 978-0-465-02414-8.

GOLDBERG, David E. 1988. *3,000 Solved Problems in Chemistry*. B.m. .: McGraw-Hill. ISBN 0-07-023684-4.

HANADA, Naho et al. 2023. Preparation of a ternary amorphous solid dispersion using hot-melt extrusion for obtaining a stable colloidal dispersion of amorphous probucol nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. **640**, 122959. DOI 10.1016/j.ijpharm.2023.122959.

HAO, Tian. 2005. *Electrorheological fluids: the non-aqueous suspensions*. 1st ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier. ISBN 978-0-444-52180-4.

HE, Mengning et al. 2021. Recent advances of oral film as platform for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. **604**, 120759. DOI 10.1016/j.ijpharm.2021.120759.

HEISE, Katja et al. 2021. Nanocellulose: Recent Fundamental Advances and Emerging Biological and Biomimicking Applications. *Advanced Materials*. **33**(3), 2004349. DOI 10.1002/adma.202004349.

CHAKRAVARTI, Nalini a K. L. SEBASTIAN. 1997. Fractional Brownian motion models for polymers. *Chemical Physics Letters*. **267**(1), 9–13. DOI 10.1016/S0009-2614(97)00075-4.

- CHANG, Raymond. 2002. *General Chemistry: The Essential Concepts*. 3rd Edition. Dubuque, Iowa: McGraw-Hill Companies. ISBN 978-0-07-241067-9.
- JIN, Z.-H. a K. LU. 2002. Melting. In: *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. B.m. ; Elsevier, s. 1–8. DOI 10.1016/B0-08-043152-6/01844-1. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0080431526018441>
- JOSE, Jobin et al. 2019. Oral Dispersible Films, Novel Technology for the Delivery of Drugs. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. **12**(1), 425–428. DOI 10.5958/0974-360X.2019.00077.5.
- KADAJJI, Veeran Gowda a Guru V. BETAGERI. 2011. Water Soluble Polymers for Pharmaceutical Applications. *Polymers*. **3**(4), 1972–2009. DOI 10.3390/polym3041972.
- KALIA, Susheel, ed. 2021. *Natural polymers-based green adsorbents for water treatment*. 1. vyd. Cambridge: Elsevier. ISBN 978-0-12-820541-9.
- KÄRGER, Jörg, Douglas M. RUTHVEN a Doros Nicolas THEODOROU. 2012. *Diffusion in nanoporous materials*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH. ISBN 978-3-527-31024-1.
- KOBAYASHI, Motoyoshi et al. 2005. Effects of heat treatment on the aggregation and charging of Stöber-type silica. *Journal of Colloid and Interface Science*. **292**(1), 139–147. DOI 10.1016/j.jcis.2005.05.093.
- LIN, M. Y. et al. 1989. Universality in colloid aggregation. *Nature*. **339**(6223), 360–362. DOI 10.1038/339360a0.
- LIN, Ning a Alain DUFRESNE. 2014. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*. **59**, 302–325. DOI 10.1016/j.eurpolymj.2014.07.025.
- LOGG, Katarina. 2006. *Optical Microscopy* [online] [cit. 2023-11-25]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20110124110445/http://www.fy.chalmers.se/microscopy/students/imagecourse/O1.pdf>
- LU, Xiaomeng a Regina M. MURPHY. 2018. Nanoparticle Tracking for Protein Aggregation Research. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. **1777**, 145–158. DOI 10.1007/978-1-4939-7811-3_7.
- MERTZ, Jerome. 2010. Introduction to optical microscopy. Greenwood Village, Colo.: Roberts. pp. 189–190. ISBN 978-0-9815194-8-7.
- MENDEL PVA UNIVERZITA V BRNĚ. 2023. *Technologické laboratoře 2*. Dostupné také z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=8648
- MUSAZZI, Umberto M. et al. 2020. Trends in the production methods of orodispersible films. *International Journal of Pharmaceutics*. **576**, 118963. DOI 10.1016/j.ijpharm.2019.118963.
- NASIR, Mohammed et al. 2017. Nanocellulose. In: *Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites*. B.m. ; Elsevier, s. 261–276. DOI 10.1016/B978-0-08-100957-4.00011-5. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081009574000115>

- NIKON. 2023. Polarized Light Microscopy | Nikon's MicroscopyU. *Nikon's MicroscopyU* [online]. [Cit. 2023-05-01]. Dostupné z: <https://www.microscopyu.com/techniques/polarized-light/polarized-light-microscopy>
- OCKENGA, Wymke. 2011. Polarization Contrast. Dostupné také z: <https://www.leica-microsystems.com/science-lab/microscopy-basics/polarization-contrast/>
- OLANDER, Donald R. 2008. *General thermodynamics*. Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-0-8493-7438-8.
- OLYMPUS. 2023. Polarized Light Microscopy - Microscope Configuration | Olympus LS. *Olympus* [online]. [Cit. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://www.olympus-lifescience.com/en/microscope-resource/primer/techniques/polarized/configuration/>
- PAPON, Pierre, Jacques LEBLOND a Paul H. E. MEIJER. 2002. *The physics of phase transitions: concepts and applications*. Berlin ; New York: Springer. ISBN 978-3-540-43236-4.
- QIU, Fenghe. 2018. Practical Considerations. In: *Accelerated Predictive Stability*. B.m. ,: Elsevier, s. 75–103. DOI 10.1016/B978-0-12-802786-8.00004-8. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128027868000048>
- RASHID, Aisha et al. 2021. Development and evaluation of oral fast disintegrating film of ranitidine HCl by solvent casting method. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. **34**(4(Supplementary)), 1527–1534. ISSN 1011-601X.
- ROSINA, Jozef; VRÁNOVÁ, Jana a KOLÁŘOVÁ, Hana. 2021. Biofyzika: pro zdravotnické a biomedicínské obory. 2., doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-2526-5.
- SALAWI, Ahmad. 2022. An Insight into Preparatory Methods and Characterization of Orodispersible Film—A Review. *Pharmaceuticals*. **15**(7), 844. DOI 10.3390/ph15070844.
- SHAFIEE, E. a M. G. MARTINI. 2023. "Datasets for the Quality Assessment of Light Field Imaging: Comparison and Future Directions," in *IEEE Access*, vol. 11, pp. 15014-15029. doi: 10.1109/ACCESS.2023.3244088.
- SILBEY, Robert J., Robert A. ALBERTY a Mounji Gabriel BAWENDI. 2005. *Physical chemistry*. 4th ed. Hoboken, NJ: Wiley. ISBN 978-0-471-21504-2.
- SIN, Lee Tin a Bee Soo TUEEN. 2023. Biopolymers and challenges. In: *Plastics and Sustainability*. B.m. ,: Elsevier, s. 205–253. DOI 10.1016/B978-0-12-824489-0.00008-8. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128244890000088>
- SOLHI, Laleh et al. 2023. Understanding Nanocellulose–Water Interactions: Turning a Detriment into an Asset. *Chemical Reviews*. **123**(5), 1925–2015. DOI 10.1021/acs.chemrev.2c00611.
- TAMBE, Srushti et al. 2021. Hot-melt extrusion: Highlighting recent advances in pharmaceutical applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. **63**, 102452. DOI 10.1016/j.jddst.2021.102452.

TANG, Xiaozhi a Sajid ALAVI. 2011. Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability. *Carbohydrate Polymers*. **85**(1), 7–16. DOI 10.1016/j.carbpol.2011.01.030.

TRACHE, Djalal et al. 2020. Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications. *Frontiers in Chemistry*. **8**, 392. DOI 10.3389/fchem.2020.00392.

TREFALT, Gregor, Istvan SZILAGYI a Michal BORKOVEC. 2014. *Measuring particle aggregation rates by light scattering*. B.m. .: Creative Commons Attribution 4.0 International License. Dostupné také z: <https://colloid.ch/index.php?name=aggregation>

WANG, Xilin et al. 2023. Molecular dynamics simulation of liquid film boiling on solid metal and liquid metal surfaces. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. **200**, 123528. DOI 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2022.123528.

YAMASAKI, Keishi et al. 2019. Enhanced dissolution and oral bioavailability of praziquantel by emulsification with human serum albumin followed by spray drying. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **139**, 105064. DOI 10.1016/j.ejps.2019.105064.

ZHU, Hong et al. 2022. Adhesive, injectable, and ROS-responsive hybrid polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel co-delivers metformin and fibroblast growth factor 21 (FGF21) for enhanced diabetic wound repair. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **10**. ISSN 2296-4185. Dostupné také z: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2022.968078>

Seznam příloh

Příloha A

Metodika pro vyhodnocování tenkých filmů
užívaných v biomedicině pomocí polarizační
mikroskopie při různých teplotách.

Metodika pro vyhodnocování tenkých filmů užívaných v biomedicíně pomocí polarizační mikroskopie při různých teplotách.

Obsah

1)Úvod.....	43
2) Možnosti měření s komorou THMS 600 při optické mikroskopii.....	44
2.1) Rozsah teploty	44
2.2) Mikroskop.....	44
2.3) Velikost komory	44
2.4) Vzorek	44
2.5) Hardware/Software.....	44
3)Pracovní postup.....	45
4)Závěr	56
Citace.....	57

1)Úvod

Cílem bakalářské práce je vytvořit metodiku pro vyhodnocování tenkých filmů užívaných v biomedicíně pomocí polarizační mikroskopie při různých teplotách. Za tímto účelem využijeme komoru, která umožňuje měřit ve velkém rozsahu teplot. Do této komory lze vložit jak kapalný vzorek, tak i pevný. Dále komůrka umožňuje celé měření pozorovat online pod mikroskopem. Pomocí mikroskopie můžeme sledovat chování tenkých filmů užívaných v biomedicíně při různých teplotách, lze takto pozorovat celou řadu jevů, jako jsou například krystalizace, rozpustnost, termo-reverzibilní procesy a agregace částic.

2) Možnosti měření s komorou THMS 600 při optické mikroskopii

V této části definujeme, za jakých podmínek se s danou komorou má zacházet a co vše daná komora může měřit.

2.1) Rozsah teploty

Teplotní komora THMS600 má teplotní rozsah od -196 °C do 600 °C s přesností 0.1°C. Největší teplotní skok může být až 150 °C/min. Teplotní komora je konstruována tak, že dané teplo přímo a rovnoměrně rozprostře na zkoumaný vzorek/kapalinu. Teplotní komora by se měla používat při pokojové teplotě.

2.2) Mikroskop

Teplotní komoru lze nainstalovat na jakýkoliv mikroskop který má kruhovou podstavu, za kterou se daná komora upevní. Díky průhledné apertuře komůrky je zde možnost použít spodní osvětlení a prosvítit tak daný vzorek. V této práci byl využit polarizační mikroskop Olympus BX60.

2.3) Velikost komory

Jedna z největších výhod teplotní komory jsou její malé rozměry, proto se s ní dá velmi dobře manipulovat přesouvat, přenášet. Lze jí tak upevnit na většinu komerčně dostupných mikroskopů, bez dalších úprav. Rozměry komory jsou: 14 cm na délku 9 cm na šířku a 2 cm výšku

2.4) Vzorek

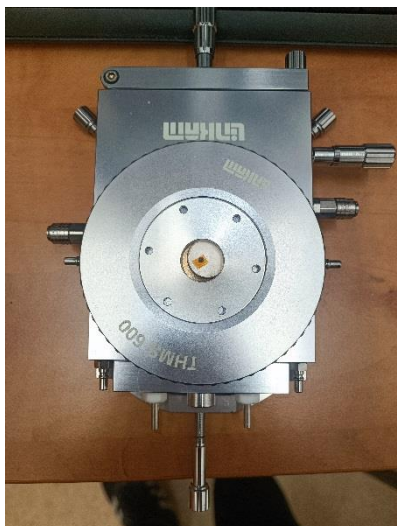
Do teplotní komory lze vložit jakýkoliv pevný vzorek nebo i kapka kapaliny či roztoku. Při použití většího množství kapaliny/roztoku je zapotřebí nádoba, která vydrží požadované teplotní změny. V našem případě budeme vkládat orálně disperzní filmy.

2.5) Hardware/Software

Teplotní komora THMS používá starší rozhraní typu RS232. Pro připojení k moderním PC je potřeba požit redukci RS232 na USB. Druhý port je I/O, který také používá rozhraní RS232, je opět pro novější PC nutné redukovat z RS232 na USB. Starší software Linksys32 ovládající teplotní komůrku je zcela funkční a lze ho nainstalovat na Win10.

3) Pracovní postup

- 1) Odmontujeme přední víko, abychom se dostali ke kruhovému prstenci (na obrázku 2 uprostřed označeným červeně)



Obrázek 1



Obrázek 2

- 2) Do kruhového prstence vložíme sklíčko GENERAL(Ø16), aby se vzorek nepřilepil/nepřípek k podložce (na Obrázku 2 zvětšený uprostřed označeným červeně)



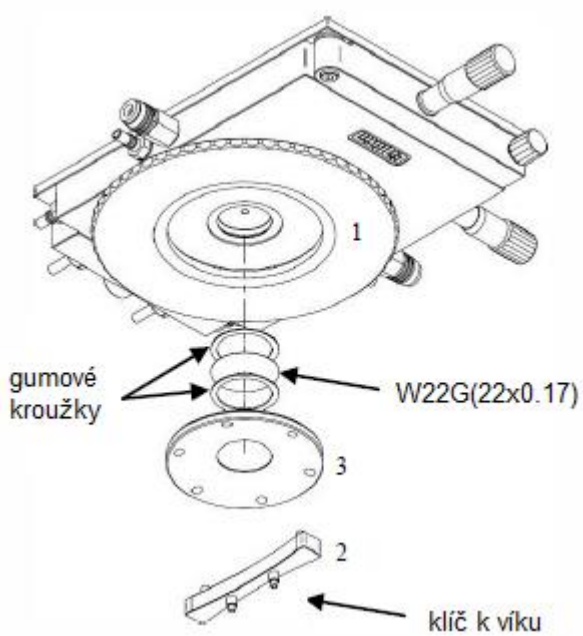
Obrázek 2 zvětšený

- 3) Dále vložíme zkoumaný vzorek/kapalinu na sklíčko a přikryjeme dalším sklíčkem. Na vzorek/kapalinu použijeme sklíčka GENERAL(Ø16). Druhé sklíčko, dodávané výrobcem je označené jako W22G(Ø22) a slouží jako vstupní průhled do komory THMS600. Pokud se sklíčko na víku poškodí či praskne je nutné ho vyměnit. Výměnu

sklíčka komory lze provést podle obrázku 4 v levo dole za pomoci klíče, kterým se víko otevře (klíč je dodáván s komorou).



Obrázek 3



Obrázek 4



Obrázek 5

- 4) Znovu zašroubujeme víko, abychom mohli dát teplotní komoru do mikroskopu obrázek 5.
- 5) Příprava mikroskopu pro vložení komory THMS600 pro pozorování vzorku



Obrázek 6



Obrázek 7

Pokud na mikroskopu je připevněná podstava (stolek) odšroubujeme ji za pomoci upevňovacích šroubů (označeny červeným kroužkem na obrázku 6). Po odšroubování by nám měla zůstat jen kruhová podstava na, kterou můžeme nasadit THMS600. S podstavou maximálně sjedeme dolů pomocí označeného posuvu (obrázek 7).



Obrázek 8

- 6) Umístíme komůrku do mikroskopu a za pomoci držáků na spodní straně ji upevníme. (na obrázku 8 červeně označené). Na pravém obrázku můžeme vidět, jak to bude vypadat, když vložíme THMS600 do mikroskopu.



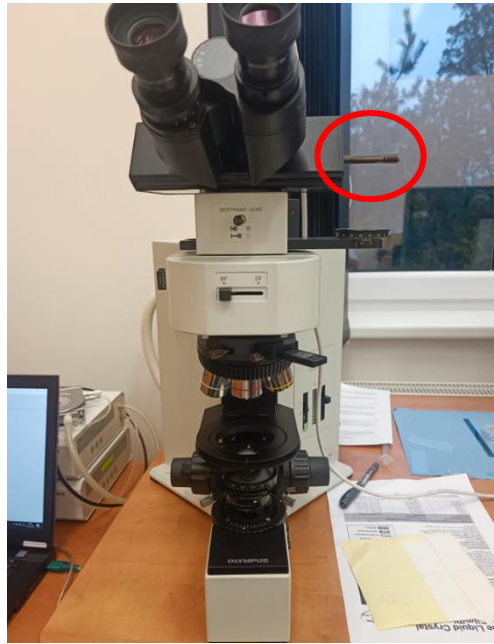
Obrázek 9



Obrázek 10

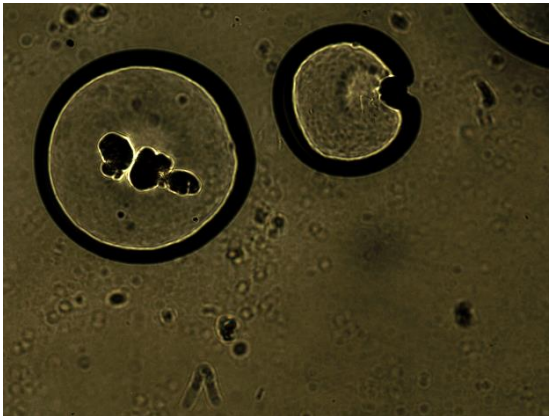
- 7) Nalezneme průsvitný otvor (na obrázku 9 označeny modře)

Za pomoci spodního osvětlení mikroskopu nalezneme aperturu komory. Pokud tedy nebudeme na daném otvoru v mikroskopu, nevidíme procházet světlo. Aperturu komory nastavíme na střed mikroskopu pomocí držáků a to tak, že jeden povolíme a snažíme se komůrku nastavit, abychom našli aperturu komory. Pokud se nám podaří nastavit aperturu na střed můžeme přejít k zaostření a nastavení mikroskopu. Na obrázku 11 na pravé straně v červeném kroužku můžeme použít polarizační filtr. Pro získání fotek z mikroskopu bylo použito toto nastavení mikroskopu: Zvětšení 20x.



Obrázek 11

Snímky z mikroskopu budou tedy vypadat následovně (Levý Obrázek 12 bez polarizačního filtru a vpravo obrázek 13 s filtrem):



Obrázek 12



Obrázek 13

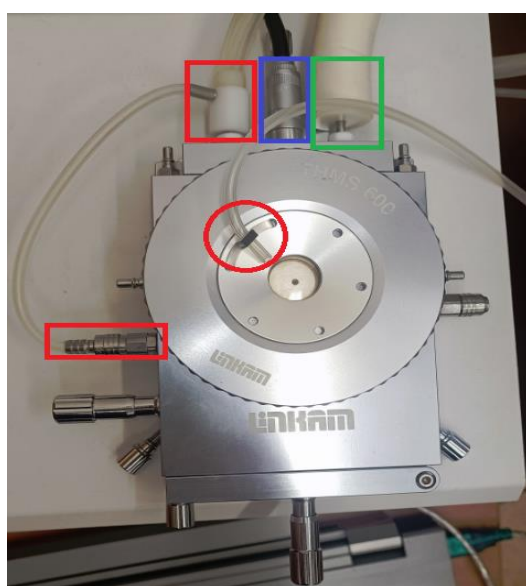
8) Pohyb se vzorkem, pro manipulaci zkoumaného objektu v komoře.



Obrázek 14

Pokud chceme v komoře pohybovat se vzorkem, jsou zde k tomuto účelu určené XY nástavce (označeny červeným obdélníkem na obrázku 14).

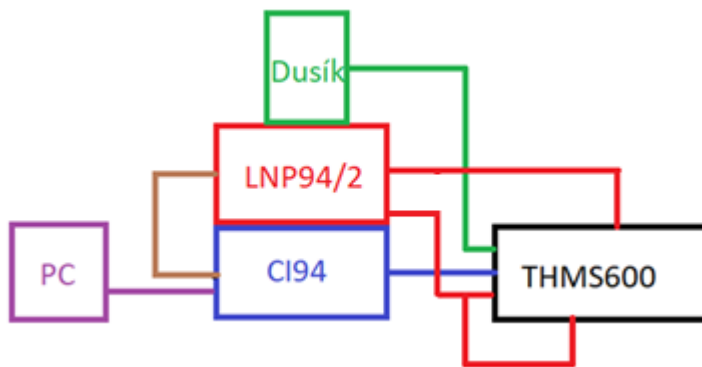
9) Zapojení regulace teploty a propojení přístroje s PC podle schématu



Obrázek 15



Obrázek 16



Obrázek 17



Obrázek 18

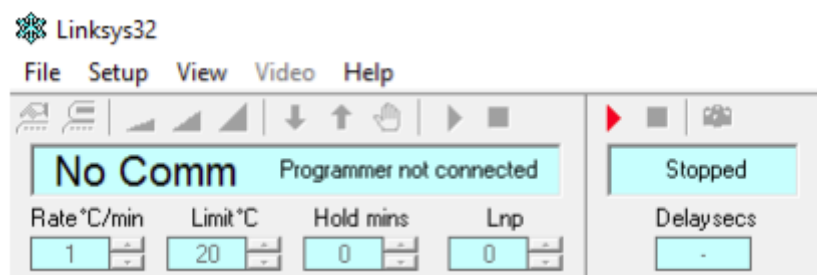
9a) Přístroje LPN94/2 a CI94 propojíme kabelem (označeným oranžovým čtverečkem na obrázku 16). Dále propojíme kabelem RS232 CI94 a PC (fialovým kabelem na obrázku 16). Tím pak můžeme ovládat komoru THMS600 za pomoci počítače. Dále zapojíme Stage kabel (označeny modrým obdélníkem na obrázku 16) do CI94 (spodní přístroj na obrázku 18) a druhý konec do THMS600 (označený modrým obdélníkem na obrázku 15). Kapalný Dusík je na obrázku 15 označený zeleně v této metodice nebyl použit.

9b) Z přední strany přístroje LNP94/2 jsou dva vývody, které zapojíme do teplotní komůrky, jeden pro oplach vzduchem vstupního víka, zabraňující zamlžování (označený červeným kroužkem na obrázku 15). Druhý vývod zapojíme vedle spojovacího kabelu mezi THMS600 a CI94 a dále má tato trubička v sobě další vývod do boku THMS600 (označený červeným obdélníkem na obrázku 15) jedná se o chlazení vzduchem na teplotu okolí. Dále přístroje zapojíme do elektrické sítě (označeny žlutým čtvercem na obrázku 16) a zmáčkneme tlačítko pro zapnutí přístroje (označený červeným obdélníkem na obrázku 16). Proces je podrobněji popsán v kapitole viz. Zapojení THMS600.

10) Na PC zapneme program linksys32. Pro vzdálené ovládání teplotní komory

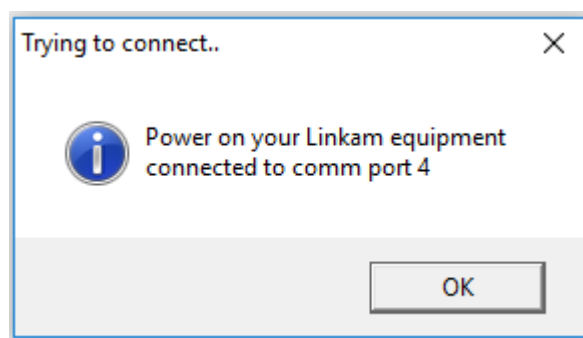
11) Pro propojení PC a CI94. Vybereme **File** a následně **connect**

11a) Úspěšné propojení



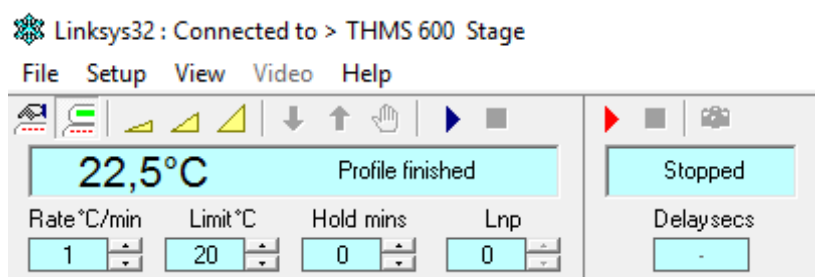
Obrázek 19

Při úspěšném propojení se objeví toto hlášení



Obrázek 20

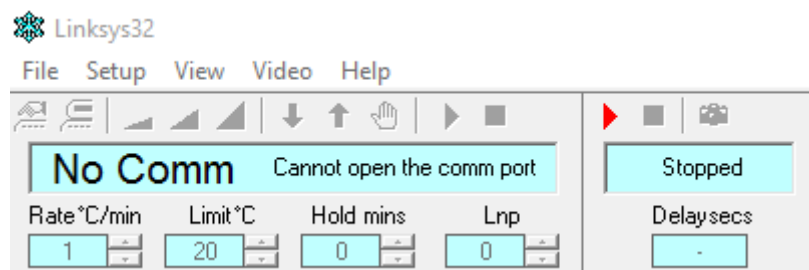
Což nám říká, že naše zařízení je na portu 4.



Obrázek 21

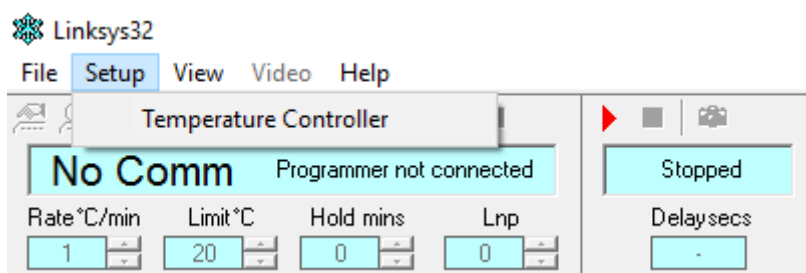
Z tohoto obrázku 21 lze vidět, že propojení bylo úspěšné. Pokračujeme bodem 12 a bod 11b lze přeskočit.

11b) Neúspěšné propojení



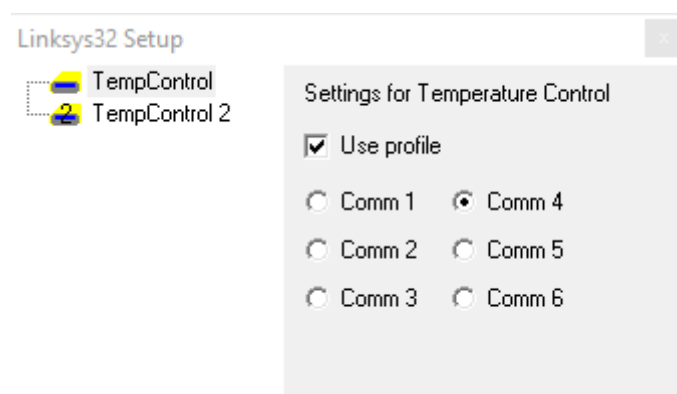
Obrázek 22

Z obrázku 22 vyplývá, že na daném portu v PC není přístroj propojen s PC či ho linksys32 nevidí v systému Windows. V případě špatného propojení je nutné zkontrolovat na jakém portu se přístroj CI94 ve Windows nachází a tento port následně v programu linksys32 zvolit.



Obrázek 23

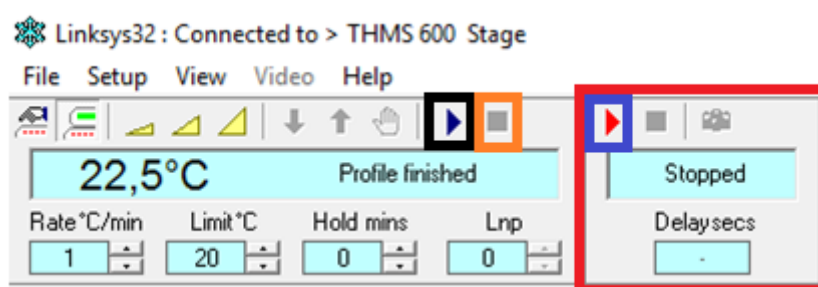
Otevřeme Setup→Temperature Controller.



Obrázek 24

Zde nalezneme dané porty. Zvolíme správný port, v našem případě port 4 a znovu zmáčkne Connect v nabídce File.

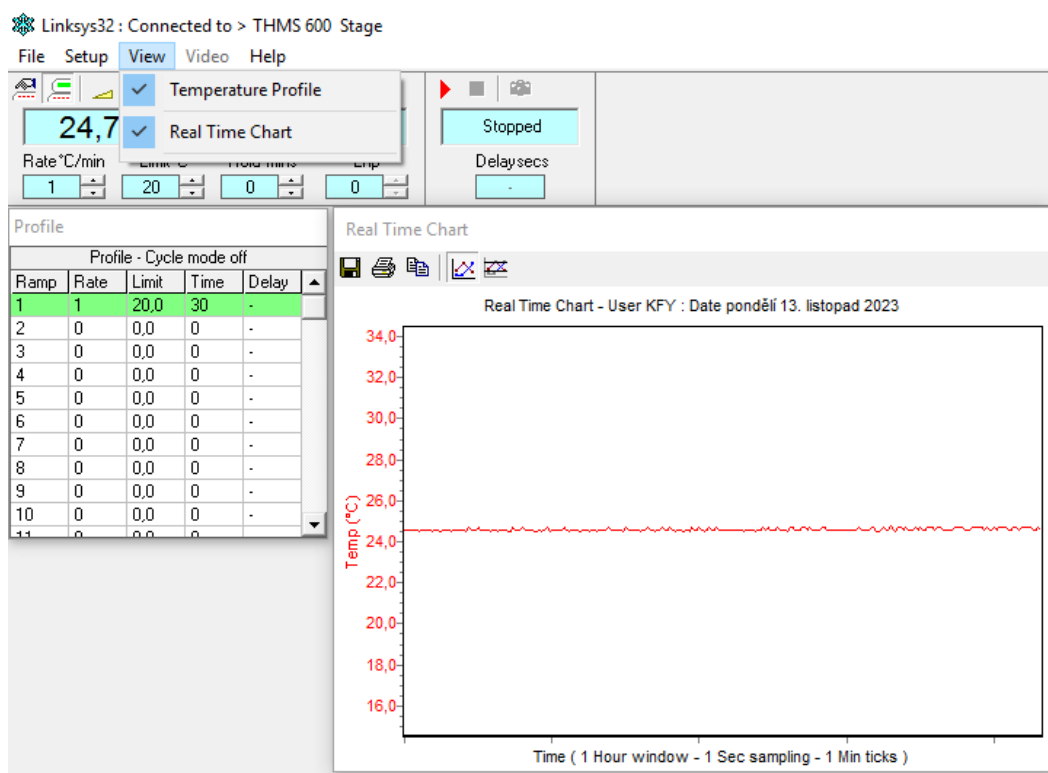
- 12) Po úspěšném připojení můžeme nastavit veškeré potřebné parametry: rychlost zahřívání= Rate °C/min, dosažená teplota=Limit °C, jak dlouho systém bude na dané teplotě stabilní =Hold mins, LNP= foukání vzduchu na sklo na víku je řízeno automaticky.



Obrázek 25

- 13) Spustíme zahřívání za pomoci **enter/play** v levé části (označené černým obdélníkem na obrázku 25)

14) Celý průběh teploty lze sledovat v okně View, nebo můžeme celé měření zaznamenávat za pomoci pravé části na obrázku (označené červeným obdélníkem na obrázku 25) a data získáme v textovém souboru.



Obrázek 26

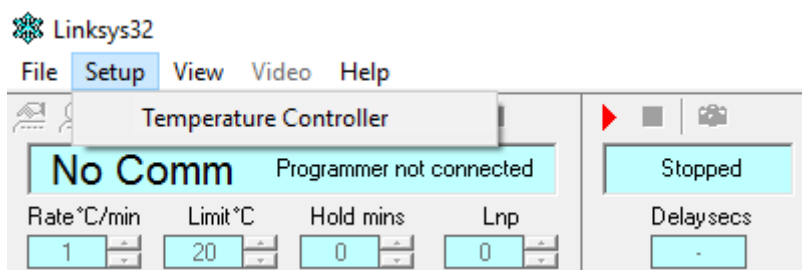
Nabídka View má další možnosti

15a) Real Time Chart

Real Time Chart nám ukáže online graf průběhem teploty.

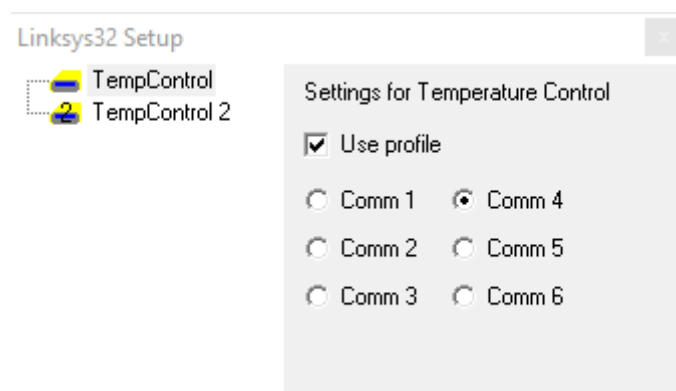
15b) Profile

Funkce profil znamená, že předem zvolíme, jak se daná teplota bude vyvíjet. Pokud chceme pak tento profil využít musíme ho aktivovat. Aktivaci profilu provedeme následovně



Obrázek 27

Rozklikneme Setup→Temperature Controller.



Obrázek 28

Zde vidíme Use profile a aktivujeme ho.

- 15) Pokud dané měření dojde na danou teplotu a nezastavíme měření pomocí příkazu „ručičky“ nebo nenastavíme určitý čas pro funkci Hold, potom se na dané teplotě přístroj automaticky vypne a teplota bude klesat na teplotu pokojovou. Totéž platí, i pokud bychom používali příkaz Profile!
- 16) Po ukončení měření a uložení dat odpojíme PC a CI94 buď vypnutím přístrojů, nebo pomocí **File**, a dále funkcí **Disconnect**
- 17) Po zchladnutí komory na pokojovou teplotu odpojíme všechny kabely a sjedeme stolkem mikroskopu úplně dolů, aby se komora lehčeji sundala z mikroskopu
- 18) Odmontujeme komoru THMS600 z mikroskopu pomocí aretačních šroubů.
- 19) Sundáme opět vrchní víko, abychom jsme se dostali ke zkoumanému vzorku a vyjmuli ho.

20) Vyndáme prstenec a odmontujeme zadní stranu komory. Vyndáme, Sample holder = držák vzorku (označený červeným obdélníkem na obrázku 30).



Obrázek 29



Obrázek 30

- 21) Nyní je na podložce vzorek, který odebereme pinzetou tak, abychom nepoškrábali podložku.
- 22) Vratíme držák vzorku do komory, přišroubujeme zpátky a vložíme prstenec a zašroubujeme víko
- 23) Komora THMS600 lze znovu použít na další měření
- 24) Pokud nebudeme používat dále komoru na mikroskopu, vrátíme originální stolek mikroskopu.

4) Závěr

Tato metodika byla vytvořena pro správné zacházení a všeobecné použití teplotní komory THMS600. Vytvoření všeobecného postupu, jak dosáhnout kvalitního měření a možnosti ho opakovat. Kalibraci komory jsme provedli na reverzibilní polyesterová fólie z tekutých krystalů. Měření proběhlo úspěšně, krystaly se zbarvili na dané teplotě, můžeme tedy potvrdit, že teplotní komora THMS600 je připravena k dalšímu měření. Pokud by se u teplotní komory měl použít kapalný dusík, jsou zde dvě metody, jak vyčistit prostor v komoře. Tyto návody jsou dohledatelné na oficiálním manuálu Linkamu.

Citace

ANON. [b.r.]. *LINKAM SCIENTIFIC INSTRUMENTS THMS600 USER MANUAL.pdf*
[online] [cit. 2023-11-25]. Dostupné z:
<https://www.manualslib.com/manual/1236471/Linkam-Scientific-Instruments-Thms600.html>