



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

ULTRAZVUKOVÉ FANTOMY V MEDICÍNSKÉ DIAGNOSTICE

ULTRASOUND PHANTOMS IN MEDICAL DIAGNOSTICS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Anna Koňářiková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Hurčíková, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1644/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Anna Koňářiková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Hurčíková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Ultrazvukové fantomy v medicínské diagnostice

Zadání bakalářské práce:

1. Seznámit se se základními poznatky o hydrogelech.
2. Vyhledat poznatky o využití hydrogelů jako fantomů pro ultrazvukovou diagnostiku.
3. Identifikovat mezery v této oblasti, s pomocí konzultací s firemním výzkumem Philips navrhnout postupy jejich zaplnění.
4. Na základě předchozích bodů navrhnout a provést základní ověřovací experimenty.
5. Formulovat náměty na další vývoj či výzkum v této oblasti.

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Anna Koňářiková
student(ka)

Ing. Andrea Hurčíková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

V této bakalářské práci byla zkoumána relativní ultrazvuková rychlost gelových matic vyrobených z želatiny, agaru nebo agarosu v závislosti na koncentraci a čase. Tyto vlastnosti byly zkoumány jak v prostředí vzduchu, tak ve vodě, pomocí ultrazvukové spektroskopie s vysokým rozlišením. Dále byly pozorovány základní vlastnosti gelových matic, jako je vysychání a plesnivění. Bylo zjištěno, že relativní ultrazvuková rychlost roste lineárně s koncentrací vzorků a její změny v čase jsou minimální. Základní gelové matrice bez přidaných konzervačních látek jsou schopny vydržet v použitelném stavu pouze po dobu jednoho týdne.

Abstract

This bachelor's thesis studied the relative ultrasonic velocity of gel matrices made of gelatine, agar or agarose depending on concentration and time. These properties have been studied both in the air and water environments, using high resolution ultrasonic spectroscopy. In addition, the basic properties of gel matrices, such as desiccation or moulding, were observed. Relative ultrasonic speed has been found to grow linearly with sample concentration and its changes over time are minimal. Basic gel matrices without added preservatives are able to withstand the usable state only for a week.

Klíčová slova

ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením, fantomy, ultrazvuk

Key words

high resolution ultrasonic spectroscopy, phantoms, ultrasound

Citace

KOŇAŘÍKOVÁ, Anna. *Ultrazvukové fantomy v medicínské diagnostice* [online]. Brno, 2021 [cit. 2021-07-26]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/132446>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Andrea Hurčíková.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

Anna Koňářiková

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce Ing. Andree Hurčíkové, Ph.D. za její čas, vedení a připomínky, které mi poskytovala při vypracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Adamu Juglovi, Ph.D. za konzultace a pomoc při měření. Poděkování patří také mé rodině a přátelům za pomoc a podporu během studia.

Obsah

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Ultrazvukové fantomy	8
2.2	Výrobci ultrazvukových fantomů	8
2.2.1	Blue Phantom	8
2.2.2	CIRS	8
2.2.3	Gammex	9
2.2.4	Kyoto Kagaku	9
2.3	Látky používané na přípravu fantomů	9
2.3.1	Agar	9
2.3.2	Agarosa.....	9
2.3.3	Polyakrylamid	10
2.3.4	PVA.....	10
2.3.5	PHY	10
2.3.6	PEG	11
2.3.7	Plastisol (PVCP).....	12
2.3.8	Želatina.....	12
3	POLYMERY	12
3.1	Hydrogely	13
3.1.1	Struktura hydrogelů.....	13
3.1.2	Příprava hydrogelů	13
4	ULTRAZVUKOVÁ SPEKTROSKOPIE S VYSOKÝM ROZLIŠENÍM ..	14
4.1	Parametry měření.....	15
4.2	Princip měření.....	15
4.3	Využití	16
4.3.1	Biokatalýza.....	16
4.3.2	Tepelné přechody v polymerech	16
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
5.1	Použité chemikálie.....	17
5.2	Příprava vzorků.....	17
5.3	Měření ultrazvukové rychlosti.....	18
5.4	Vlastnosti gelových matric	19
5.5	Vyhodnocení dat a diskuze.....	20

5.5.1	Ultrazvuková rychlost	20
5.5.1.1	Želatina	20
5.5.1.2	Agar.....	23
5.5.1.3	Agarosa	25
5.5.2	Vlastnosti gelových matric	29
6	ZÁVĚR.....	32
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	34
8	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	38

1 ÚVOD

Ultrazvukem rozumíme zvukové vlnění s frekvencí vyšší než 20 kHz, což je nad hranicí slyšitelnosti lidského ucha. Vlnová délka ultrazvuku je menší než vlnová délka zvuku, proto je šíření méně ovlivněno ohybem. Výrazný je jeho odraz od překážek a to, že je méně pohlcován v kapalinách a pevných látkách [1].

Ultrazvuk se pružným prostředím šíří ve formě vlnění, v měkkých tkáních a tekutinách lidského těla formou podélného vlnění. V kostech, podobně jako v dalších pevných látkách, se šíří vlněním příčným. Pro diagnostické účely se využívá frekvencí v rozmezí 1-15 MHz. Zdrojem ultrazvukových kmitů pro diagnostické účely jsou převážně piezoelektrické měniče, které jsou elektricky iniciovány. Každé prostředí, živé i neživé, je z akustického hlediska charakterizováno určitými parametry. Nejvýznamnějšími parametry jsou rychlost šíření (tzv. fázová rychlost) ultrazvuku daným prostředím, akustická impedance a ultrazvukové zeslabení. Diagnostické informace jsou získány zachycením ultrazvukových signálů, které jsou odráženy od tkáňových rozhraní. Následuje zpracování těchto signálů a jejich zobrazení [2].

Použití ultrazvuku však přináší i rizika pro sledovaný organismus. Buňky, či tkáň vystavené záření se mohou poškodit. Poškození může být mechanické (buňky se trhají), termické (energie ultrazvuku se přemění na teplo), chemické (dochází ke změnám ve strukturách) nebo excitační. U člověka jsou pozorovány poruchy krve, bolesti hlavy a únava či narušení funkce pohlavních žláz. Proto pro experimentální testování těchto aspektů zobrazovací diagnostiky, měření fyzikálních parametrů, zobrazovacích vlastností a pro kalibraci používaných přístrojů se používají speciálně přesně a reprodukovatelně zhotovené pomůcky, tzv. fantomy [3; 4].

Použití anatomických modelů a fantomů při ultrazvukové diagnostice umožňuje prokázat zásady, získané znalosti a postupy biopsie praktikovat a zvládnout v kontrolovaném prostředí. To může minimalizovat použití živých zvířat a zlepšit základní dovednosti a znalosti klinického lékaře před použitím diagnostické techniky na klinického pacienta [5].

Hlavním cílem bakalářské práce je seznámení se s fungováním ultrazvukového spektroskopu s vysokým rozlišením (HRUS). Pozorování chování a vlastností jednotlivých gelových matic právě pomocí tohoto přístroje jak ve vodném prostředí, tak i ve vzduchu a schopnost reprodukovat tyto výsledky. Byly zkoumány různé koncentrace a odlišné postupy přípravy vzorků. Současně bylo vizuálně pozorováno chování, vysychání a změna vzorků v čase.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Ultrazvukové fantomy

Fantomy jsou široce využívané náhražky různých typů měkkých tkání s mechanicky a anatomicky odpovídajícími vlastnostmi. Mohou být použity jako pokročilé nástroje pro trénink chirurgické manipulace s lidskými orgány, jako je mozek nebo játra či jako součást komplexního plánování a přípravy operací [6].

Ultrazvukové fantomy mohou být použity experimentálně nebo při nácviku klinické ultrasonografie. Tyto fantomy dělíme na dva typy. Jeden napodobuje akustické vlastnosti tkáně s ohledem na rychlost zvuku a průměrné ultrazvukové zeslabení, zatímco druhý přibližuje sonografický vzhled tkáně. Druhý jmenovaný lze použít jako pomůcku při tréninku biopsie. Fantomy pro biopsii obvykle obsahují simulované cysty nebo masy, které jsou buď to echogenní nebo sonolucenní. Při správné výrobě simulují echogenická média echogenicitu parenchymální tkáně [5].

Ultrazvukové fantomy pro lidskou měkkou tkáň se používají nejen při vývoji a testování ultrazvukových diagnostických přístrojů, ale také při nácviku navádění jehly pomocí ultrazvuku a zavádění slepého katetru bez rizika pro skutečné pacienty. U fantomů jsou vyžadovány ultrazvukové charakteristiky a textury, které napodobují lidské měkké tkáně [7].

2.2 Výrobci ultrazvukových fantomů

2.2.1 Blue Phantom

Blue Phantom je momentálně uznáván jako přední světový výrobce ultrazvukových tréninkových modelů. Všechny fantomy této značky jsou vyrobeny za použití patentované tkáně SimulexUS [9].

SimulexUS je speciálně navržena tak, aby odpovídala akustickým vlastnostem lidské tkáně. Zároveň je navržena tak, aby se sama hojila. To znamená, že při ultrazvukem řízeném zásahu jehly do jakéhokoliv fantomu značky Blue Phantom se tkáň SimulexUS uzavře kolem oblasti, kde byla umístěna jehla, čímž se eliminují netěsnosti. Ve studii provedené ve spolupráci s vládou USA, bylo prokázáno že modely fantomů zvládají 1000 a více vpichů jehel [9].

2.2.2 CIRS

Jednou z hlavních technologií společnosti CIRS je formulovat vlastní materiály ekvivalentní tkáním pro širokou škálu aplikací. Využívají hydrogel Zerdine®, což je jeden z jejich nejuniverzálnějších materiálů a může být formulován s širokou škálou akustických, mechanických a tepelných vlastností. Fantomy z tohoto hydrogelu při propíchnutí nevytékají ani neprosakují a nevyžadují tak chlazení. Zerdine® je pružnější než jiné materiály a snáší vyšší tlak na skenovací povrch bez následného poškození materiálu. Bez výplňových materiálů je čirý s mírným jantarovým nádechem. Pokud nebude nijak chráněn, tak hydrogel Zerdine® časem vyschne. Fantomové kryty a skladovací kontejnery byly proto navrženy tak, aby fantomy vydržely mnoho let [10].

CIRS také pracuje s ATS Urethane a Z-skin™ elastomerem v mnoha svých fantomech. ATS Urethane je známý svou výjimečnou trvanlivostí. S konstrukcí na bázi oleje časem nevyschne. Z-skin™ elastomer poskytuje realistický pocit při simulacích na tréninkových

fantomech. Díky svým samo léčivým vlastnostem je vhodný pro výuky biopsie a patentovaný proces lepení umožňuje CIRS tento materiál použít jako vysoce odolnou elastickou membránu pro Zerdine® fantomy [10].

2.2.3 Gammex

Ultrazvukové fantomy firmy Gammex obsahují patentovaný gel s vysokou ekvivalencí (HE gel™), který poskytuje více frekvenční, vysoce kvalitní a reprodukovatelné obrazy. Stabilita materiálu umožňuje testování v celém frekvenčním rozsahu 2 až 18 MHz, pro různé snímače a systémy [11].

2.2.4 Kyoto Kagaku

Kyoto Kagaku Co., LTD byla založena v poválečném Japonsku v roce 1948. Je to světový výrobce anatomických modelů, simulátorů a zobrazovacích fantomů. Jejich fantomy jsou obvykle tvořeny polyuretanovou pryskyřicí a kostní struktury z epoxidové pryskyřice [12].

2.3 Látky používané na přípravu fantomů

Ultrazvukové fantomy mohou být fixovány polyuretanovou pěnou, polyvinylalkoholovým kryogelem, křemičitými gely hořčíku, agarem, kukuřičným škrobem, moukou nebo želatinou. Komerčně dostupné, hotové fantomy, které jsou fixovány polyuretanovou pěnou nebo polyvinylalkoholovým kryogelem udržují své ultrazvukové akustické vlastnosti po dlouhou dobu. Bohužel, tyto komerční fantomy mají určité aplikační limity, stejně jako vysoké náklady. Vyžadují opatrné skladování, ničí se při opakovaném použití nebo dochází k degradaci a jejich formování v krátkém období. Jejich tvar a vlastnosti je obtížné přizpůsobit v závislosti na potřebách uživatele [7; 8].

Nekomerční, laboratorně vyrobené, fantomy používají agar nebo želatinu jako želírující činidlo. S těmito látkami se snadno pracuje a nevyžadují speciální vybavení na výrobu fantomů. Ultrazvukové vlastnosti těchto fantomů se mírně liší od vlastností lidské měkké tkáně [7].

2.3.1 Agar

Agar je přírodní guma, která se získává z vybraného druhu mořských řas. Hlavní složkou jsou polysacharidy a voda. Vytváří velmi pevné gely, které se vyznačují mnohem vyššími teplotami tání. Gely ve vodě bobtnají. Dochází k agregaci dvoušroubovic přes intramolekulární vodíkové vazby do trojrozměrné gelované sítě. Agar vytváří termo-reverzibilní gely, které se rozpouští zahříváním a znovu gelovají po ochlazení a vykazují značkou hysterezi (rozpuštění 85-95 °C a gelování 33-45 °C). Obvykle tvoří transparentní, tuhé gely. Jejich reologické vlastnosti mohou být modifikovány přidáním cukrů (např. sacharóza), nebo přidáním jiných polysacharidů (např. algináty) [13; 14].

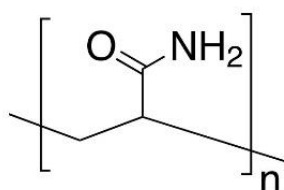
2.3.2 Agarosa

Agarosa je mořský, lineární polysacharid tvořený D-galaktózou a 3,6-anhydro-L-galaktózou. Hydrogely na bázi agarosy vykazují tzv. termoreverzibilní vlastnosti. Je poměrně dobře rozpustný ve vodě za zvýšené teploty (přibližně 85 °C). Po ochlazení agarosy dochází

ke gelovatění za vzniku polotuhé gelové hmoty. Agarosové hydrogely vykazují dobrou vodivost, čehož se využívá při gelové elektroforéze [15; 16].

2.3.3 Polyakrylamid

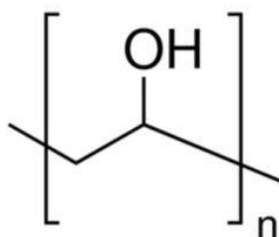
Polyakrylamidy jsou vyráběny polymerací akrylamidu (C_6H_5NO), sloučeniny získané hydratací akrylonitrilu. Polymer je hydrofilní a vytváří vodné roztoky o vysoké koncentraci. Vzhledem ke svým gelovým vlastnostem se tyto roztoky používají jako flokulanty při odstraňování suspendovaných částic z odpadních a průmyslových vod. Polyakrylamid vytváří měkké, kationtově nedegradovatelné hydrogely, které jsou tvořeny zapletenými polymerními řetězci vzájemně spojených pomocí zesíťovačů. Ačkoli je to univerzální hydrogel, vyžaduje purifikaci před klinickým využitím, protože akrylamidové monomery *in vivo* degradují na glycidamid, genotoxickou sloučeninu [17; 18].



Obrázek 1: struktura polyakrylamidu [19]

2.3.4 PVA

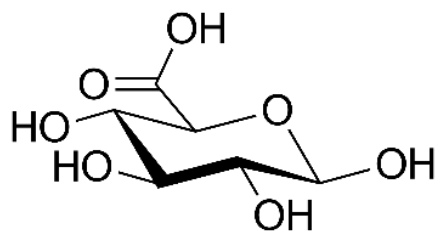
Polyvinylalkohol je polymer, který se nezískává z monomeru. Svým chováním v mnoha věcech připomínán želatinu. Je to biodegradabilní, biokompatibilní polymer rezistentní vůči bílkovinám, který ve vodných médiích spontánně geluje. Kopolymerací a smícháním s přírodními či syntetickými polymery se PVA využívá k vytvoření široké škály hydrogelů s různým charakterem. Tyto směsi umožňují větší rozmanitost chování a aplikací než PVA samotný [17; 20].



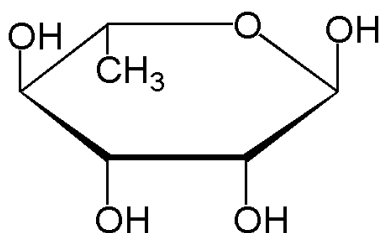
Obrázek 2: struktura polyvinylalkoholu [21]

2.3.5 PHY

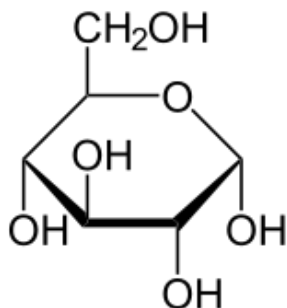
Phytigel je agarová náhražka vyrobená z bakteriálního substrátu, který se skládá z kyseliny glukuronové, rhamnosy a glukózy. Produkuje gel o vysoké pevnosti, který pomáhá při detekci mikrobiální kontaminace. Phytigel představuje alternativu agaru jako želírujícího činidla [22].



Obrázek 3: struktura kys. glukuronové [23]



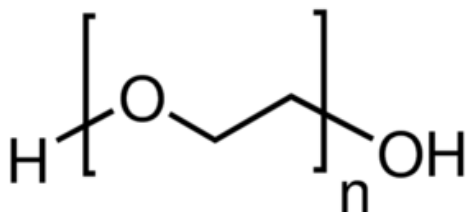
Obrázek 4: struktura rhamnosy [24]



Obrázek 5: struktura glukózy [25]

2.3.6 PEG

Příčně zesíťované materiály z polyethylenglykolu jsou považovány za biokompatibilní a biodegradabilní, vhodné v široké škále lékařských aplikací. Vzhledem k omezenému množství postranních řetězců a celkovým hydrofilním vlastnostem jsou tyto hydrogely považovány za „utajované materiály“. Polyethylenglykol je používán k měkčení derivátů bílkovin, želatiny a PVA. Řetězce PEG připojené k povrchu materiálu zaujmou konfiguraci připomínající kartáč na rozhraní povrch/voda, čímž omezí přístup bakterií k povrchu [17; 20; 26].



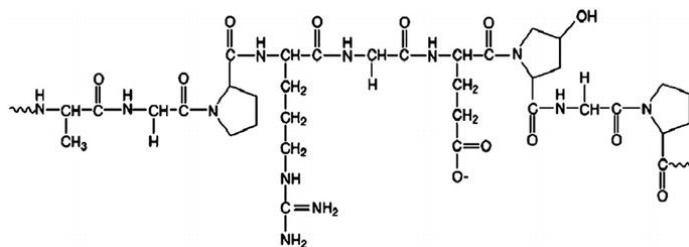
Obrázek 6: struktura polyethylenglykolu [27]

2.3.7 Plastisol (PVCP)

Plastisol je popisován jako suspenze částic PVC (polyvinyl chlorid) v tekutém změkčovadle. Je to neprůhledný monomerní kapalný roztok netoxického plastu, který se po dosažení vysokých teplot (cca 170 °C) stává průhledným. Obvykle se používá při výrobě rybářských návnad. Polymer byl oznámen jako potenciální materiál napodobující měkké tkáně po testování jeho akustických a optických vlastností. Ukázalo se, že PVCP je stabilní, trvanlivý a snadno se s ním manipuluje. Kromě toho se jedná o netoxický, neznečišťující a nízkonákladový materiál [28].

2.3.8 Želatina

Želatina vzniká hydrolyzou kůže, pojiv, vaziv a kostí zvířat. Želatina je čistá, lehce stravitelná bílkovina, která se skládá z 18 aminokyselin. Nejdůležitější vlastností želatiny je její schopnost vytvářet po rozpuštění a následném zchlazení gel. Po zahřátí se opět navrátí do tekutého stavu. Těto vlastnosti se využívá v potravinářských i nepotravinářských technologiích [29].



Obrázek 7: struktura přírodní želatiny [30]

Balistická želatina byla původně vyvinuta jako simulant lidské tkáně pro testování střelných zbraní. Syntetická želatina je stabilní při pokojové teplotě, je recyklovatelná a lze ji přeprodát i několikrát bez ztráty kvality. Modely vyrobené ze syntetické želatiny mají vlastnosti komerčních fantomů za cenu doma vyrobených fantomů [8].

3 POLYMERY

Fantomy vyrobené z polymerních materiálů jsou často využívány pro svou biokompatibilitu, schopnost vytvořit stabilní matrice či pro své adsorpční a rozptylové vlastnosti.

Polymer je makromolekula, která se tvoří pospojováním velkého počtu menších molekul nebo konstitučních jednotek tzv. monomery a získává tak nové vlastnosti. Díky svým obrovským molekulám poskytují širokou škálu vlastností. V případě přidání či odstranění jedné či více konstitučních jednotek se tyto vlastnosti nijak výrazně nezmění. Molekula polymeru vzniká z jednoho druhu monomerů a výsledkem je homopolymer, nebo vzniká ze dvou a více druhů kopolymer [31; 32; 33]

Oblíbenými kopolymery jsou tzv. hydrogely, což jsou polymery navržené jako protetické materiály pro lékařské odvětví z důvodu jejich dobré snášenlivosti s živou tkání. Jejich transparence a tvarové stálosti se využívá např. při výrobě kontaktních čoček. Polymerní hydrogely mají velmi nízký modul pružnosti, nezpůsobují téměř žádné mechanické podráždění a v organismu jsou chemicky stálé [33].

3.1 Hydrogely

Hydrogely jsou příčně zesíťované polymery, složené převážně z hydrofilních makromolekul, které jsou schopny absorbovat vodu, vodné roztoky nebo fyziologické tekutiny. Síť těchto molekul vykazuje absorpci vody až 99 %, snadno bobtná a díky tomu je vlastnostmi velmi blízká živým tkáním. Zůstávají však nerozpustné v důsledku chemických nebo fyzikálních příčných vazeb či zapletení řetězců. Díky svým hydrofilním vlastnostem, vysoké biokompatibilitě a možnosti řídit vlastnosti materiálu získávají pozornost v biotechnologických a biomedicínských aplikacích. Tyto vlastnosti jsou však závislé na řadě vnějších podnětů, mezi které můžeme zařadit například teplotu, hodnotu pH, přítomnost různých ionů či elektrického proudu [34; 35; 36].

Aplikace hydrogelů jsou obrovské a stále se rozšiřují. Řízené podávání léků, regenerativní tkáňové scaffoldy, kontaktní čočky, krytí ran, membrány biosenzorů, mikrofluidní ventily a absorbanty tekutin jsou výčetem pár aplikací hydrogelů, které jsou v současné době vyvíjeny v akademických a průmyslových laboratořích po celém světě. Mimo jiné bylo prokázáno, že některé tepelně a mechanicky stabilní gely mohou dosahovat velmi dobrých ultrazvukových vlastností, které připomínají vlastnosti měkkých tkání. Hydrogel má podobnou akustickou impedanci jako voda, což z něj dělá dobré médium pro přenos zvuku [34; 37].

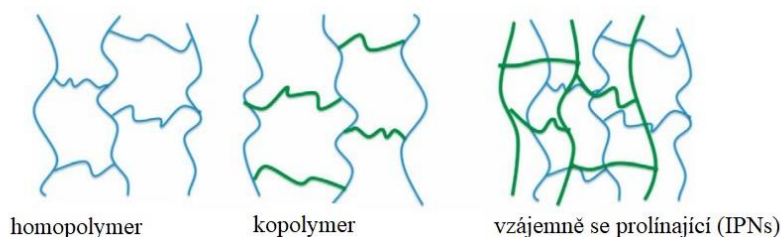
3.1.1 Struktura hydrogelů

Hydrogely jsou sítě polymerních řetězců, které jsou chemickými nebo fyzikálními vazbami propojené do uspořádání podobného síti za použití zesíťovače. Zesíťovačem rozumíme aditivní látku (např. aldehydy), která spojuje dva polymerní řetězce kovalentní nebo iontovou vazbou. Zesíťování v polymerní síti zajišťují kovalentní vazby, vodíkové vazby, van der Waalsovy interakce nebo zapletení řetězců. Některé z těchto vazeb mohou existovat pouze dočasně nebo v reakci na podmínky rozpouštědla jako je pH roztoku a teplota [34; 38; 39].

3.1.2 Příprava hydrogelů

Hydrogely můžeme podle druhu přípravy rozdělit do čtyř kategorií:

- (1) homopolymerní hydrogely – příčně propojené sítě jednoho typu hydrofilní monomerní jednotky, které bývají hydrofilní povahy;
- (2) kopolymery – syntetizovány zesíťováním dvou ko-monomerních jednotek, z nichž alespoň jedna je hydrofilní;
- (3) multipolymerní hydrogely – syntéza probíhá reakcí tří nebo více ko-monomerů;
- (4) vzájemně se prolínající hydrogely (IPNs) – příprava nabobtnáním sítě monomeru, která následně reaguje za vytvoření struktury propojené sítě [35; 39]



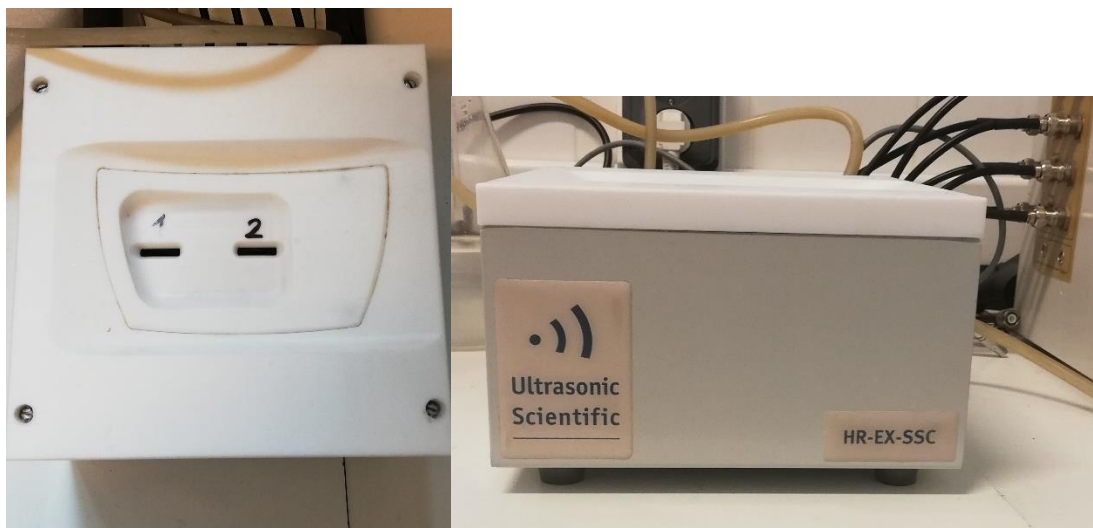
Obrázek 8: tři hlavní typy hydrogelů (převzato, přeloženo) [34]

Proces polymerace lze provést ozářením (elektronické paprsky, gamma paprsky, rentgenové záření nebo ultrafialové světlo), chemickým zkřížením nebo síťovacími monomery a lineárními polymerními řetězci pomocí propojujícího činidla [39].

Ve všech případech se hydrogely připravují nabobtnáním příčných struktur ve vodě nebo v roztoku s vysokým podílem vody. Pochopení otoku je důležité pro vývoj specifických aplikací za pomoci hydrogelů. Chování otoku ovlivňuje difúzní koeficienty rozpuštěných látek, povrchové, optické a mechanické vlastnosti. Stupeň otoku může být řízen polymeračními monomery, které jsou různě hydrofilní [39].

4 ULTRAZVUKOVÁ SPEKTROSKOPIE S VYSOKÝM ROZLIŠENÍM

Ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením, označovaná zkratkou HRUS (z anglického High resolution ultrasonic spectroscopy), je alternativa k elektromagnetické spektroskopii, použitelná pro přesné, nedestruktivní monitorování molekulárních a mikrostrukturálních přeměn v roztocích a komplexních disperzích v reálném čase. Tato metoda využívá vysokofrekvenční (MHz rozmezí) vlny kompresí a dekompresí (podélné deformace), které zjišťují elastické vlastnosti materiálů určené mezimolekulárními interakcemi a mikrostrukturální organizací. Jelikož se ultrazvukové vlny šíří přes většinu materiálů, tato spektroskopie nevyžaduje optickou průhlednost. Ačkoli byla ultrazvuková spektroskopie dlouhodobě využívána pro analýzu materiálů a prokázala různé úspěšné aplikace, schopnost této techniky při analýze molekulárních procesů byla omezena řadou faktorů. Mezi ně patří omezené rozlišení a přesnost měření ultrazvukových parametrů, požadavek na velké objemy vzorků a často složité postupy měření. Měření lze provádět v malých objemech vzorků (až do velikosti kapiček), v širokém teplotním rozsahu, při okolních a zvýšených tlacích a v různých měřicích režimech, jako jsou automatické teplotní rampy, titrace a měření v průtoku [40; 41].



Obrázek 9: přístroj HR-EX-SSC (č.1 měřící cela pro vzorek, č.2 referenční cela)

4.1 Parametry měření

Dvě hlavní veličiny měření metody HRUS jsou ultrazvukové rychlosti a ultrazvukové zeslabení. Ultrazvukové zeslabení je určeno energetickými ztrátami v kompresích a dekompresích v ultrazvukových vlnách, což zahrnuje absorpční a rozptylové příspěvky. Tento parametr poskytuje informace o rychlé dynamice molekulárních procesů a mikrostrukturální organizace materiálů (až do měřítka několika nm). Ultrazvukové zeslabení je parametr, který umožňuje aplikaci ultrazvukové spektroskopie v materiálové analýze. To zahrnuje kinetiku rychlých chemických reakcí, dimenzování částic v emulzích a suspenzích a takové procesy, jako je agregace nebo sedimentace [42].

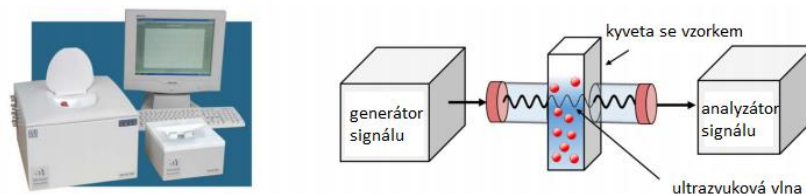
Ultrazvuková rychlost úzce souvisí s elasticitou (stlačitelností) média. Elasticita je extrémně citlivá na molekulární uspořádání a mezimolekulární interakce v médiu a může být použita k analýze široké škály molekulárních procesů. Jeho aplikace však vyžaduje vysokou přesnost měření, které je obtížné dosáhnout ve vzorcích výrazně přesahujících objem 1 ml z důvodu regulace teploty v důsledku teplotních gradientů ve velkých objemech. Typická přesnost ultrazvukových spektrometrů při měření ultrazvukové rychlosti je v rozmezí 0,1 až 1 m/s [42].

4.2 Princip měření

Standartní měření systémem HRUS je prováděno komparativně ve dvou celách. První cela, referenční, obsahuje čisté disperzní prostředí a druhá, měřící cela obsahuje zkoumaný vzorek. Analýza materiálu je založena na měření parametrů ultrazvukových vln, které procházejí skrz vzorek. Pizelektrický převodník převede přicházející elektrický signál na ultrazvukovou vlnu, která projde přes vzorek. Na druhé straně se nachází druhý pizelektrický převodník zachycující prošlou ultrazvukovou vlnu, kterou následně přemění na elektrický signál pro další analýzu. Procházející vlna ztratí část své energie, a tak dojde ke změnám její amplitudy a rychlosti. Změny těchto vlastností jsou vyhodnocovány jako charakteristiky daného vzorku [43].

Rychlost, jakou se ultrazvuková vlna šíří vzorkem, je ovlivněna elasticitou a hustotou vzorku. Pevné látky mají vyšší modul pružnosti oproti plynům a kapalinám. Ultrazvuková vlna se tak šíří rychleji skrze pevné materiály [43].

Zeslabení ultrazvukových vln, změna jejich amplitudy, je závislé na míře ztracené energie při průchodu vzorkem. Čím nižší je tato ztráta, tím více transparentní je vzorek pro ultrazvukové vlny, a tím snadněji vlna vzorkem projde [43].



Obrázek 10: princip měření systému HRUS [40]

4.3 Využití

Oblasti využití ultrazvukové spektroskopie zahrnují výzkum, vývoj produktů, kontrolu kvality a procesů zahrnujících analýzu konformačních přechodů polymerů, vazbu ligandů, agregaci, krystalizaci, gelaci, analýzu fázových přechodů a fázových diagramů nebo monitorování chemických a biochemických reakcí. Díky schopnosti provádět měření na neprůhledných vzorcích, v širokém teplotním rozmezí, v koncentrovaných i ředěných směsích či při okolních i zvýšených tlacích je možné tuto metodu využívat v široké škále systémů, kde jiné metody selhávají či mají vysoké provozní náklady [40; 42].

4.3.1 Biokatalýza

HRUS může být úspěšně použita pro nedestruktivní analýzu reakcí, katalyzovaných enzymy a jinými katalyzátory v roztocích a komplexních kapalných disperzích v reálném čase. Vzhledem k tomu, že většina reakcí v kapalinách je doprovázena procesy hydratace nebo solvatace, které ovlivňují stlačitelnost, je technika ultrazvukové spektroskopie použitelná pro sledování širokého rozmezí reakcí katalyzovaných enzymy a jinými katalyzátory v různých médiích [40].

4.3.2 Tepelné přechody v polymerech

PNIPAM, neboli poly(N-isopropylacrylamid), je dobře známý polymer používaný v termoreagujících gelech a dalších aplikacích. S teplotou tento polymer prochází kolapsem z náhodného vinutí do kompaktní kapičky doprovázené tvorbou agregátů. Přechod je zaznamenán snížením ultrazvukové rychlosti a zvýšením ultrazvukového zeslabení. Pozorovaný pokles rychlosti je vysvětlen dehydratací atomových skupin polymeru (zvýší se stlačitelnost vody). Vnitřní stlačitelnost kapičky a agregátů také přispívá ke snížení rychlosti. Zvýšení ultrazvukového zeslabení lze vysvětlit rozptylovými účinky na agregáty [40].

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie

- 1) Ultračistá deionizovaná voda:
PURELAB přístroj
- 2) Želatina čirá:
Labeta, a.s.
jedlá vepřová želatina
- 3) Agar Agar:
HIMEDIA®
Typ I
CAS 9002-18-0
ES 232-658-1
- 4) Agarose E:
Laboratorios Conda S.A.
CAT 8100. 11
Šarže D00133

5.2 Příprava vzorků

		1. sada vzorků		2. sada vzorků
želatina	7 %	7g želatina	2 %	2g želatina
		93ml ultračistá deionizovaná voda		98ml ultračistá deionizovaná voda
	10 %	10g želatina	5 %	5g želatina
		90ml ultračistá deionizovaná voda		95ml ultračistá deionizovaná voda
	20 %	20g želatina		
		80ml ultračistá deionizovaná voda		
agar	3 %	3g agar	1,5 %	1,5g agar
		97ml ultračistá deionizovaná voda		98,5ml ultračistá deionizovaná voda
	5 %	5g agar	4 %	4g agar
		95ml ultračistá deionizovaná voda		96ml ultračistá deionizovaná voda
	7 %	7g agar		
		93ml ultračistá deionizovaná voda		
agarosa	1,5 %	1,5g agarosa	3 %	3g agarosa
		98,5ml ultračistá deionizovaná voda		97ml ultračistá deionizovaná voda
	5 %	5g agarosa	4 %	4g agarosa
		95ml ultračistá deionizovaná voda		96ml ultračistá deionizovaná voda
	7 %	7g agarosa		
		93ml ultračistá deionizovaná voda		

Tabulka 1: recepty používaných vzorků

Pro měření byly připraveny dvě sady vzorků (**Tabulka 1**). Všechny vzorky byly připravovány ve vodní lázni vyhřáté na vybranou teplotu.

V případě první sady vzorků byly kádinky se směsí želatiny vloženy do vodní lázně vyhřáté na 45 °C a pomocí míchadla byly za stálého míchání zahřívány do úplného rozpuštění. U 10 % roztoku rozpuštění trvalo přibližně 30 minut, u 20 % roztoku přibližně 90 minut.

U agarů a agarosů byly směsi vloženy do vodní lázně vyhřáté na 90 °C a za stálého míchání pomocí míchadla byly zahřívány přibližně 40 minut. Po rozpuštění byly kádinky vyjmuty z vodní lázně a ponechány na laboratorním stole zchladnout, dokud teplota roztoku neklesla na 50 °C.

Všechny vzorky z první sady byly po vyjmutí z vodní lázně, případně vychladnutí na laboratorním stole, nality do plastové formy (**Obrázek 11**), která byla předem vymazaná vazelínou pro lepší manipulaci se vzorky. Bylo nezbytné vzorky nalévat do formy tak, aby neobsahovaly žádné vzduchové bubliny či nečistoty, které by následně negativně ovlivnily měření. Roztoky bylo nutné po nalití do formy také zarovnat, aby nepřesahovaly výšku formy a bylo je tak možné vložit do přístroje. Zarovnání bylo prováděno před úplným zatuhnutím roztoku, jinak nebylo možné docílit rovného povrchu bez nerovností. Po zatuhnutí vzorků byla forma překryta potravinářskou fólií a uchovávána v lednici při 8 °C.



Obrázek 11: forma pro gelové vzorky

Vzorky z druhé sady byly připravovány při stejných teplotách ve vodní lázni a po stejný čas jako první sada. Tyto vzorky však nebyly po rozpuštění nality do připravené plastové formy, z důvodu nízkých koncentrací a s tím spojeného slabého zatuhnutí. Proto byly aplikovány automatickou pipetou přímo do měřicí cely v tekutém stavu.

5.3 Měření ultrazvukové rychlosti

K měření ultrazvukové rychlosti byl používán přístroj HR-EX-SSC, od firmy Ultrasonic Scientific, Irsko. Měření probíhalo při konstantní teplotě 20 °C. Vzorky byly měřeny při frekvencích 2 400, 4 800 a 11 800 kHz.

Frekvence, vybrané pro měření, jsou charakterizovány tzv. harmonickým číslem píku n . Toto harmonické číslo se získává jako podíl frekvence píku a rozdílu frekvencí dvou sousedních píků. Čísla píků, při nichž probíhalo měření, jsou 13, 26 a 64. Pro získání správných výsledků

je potřebné, aby čísla píku referenčního i měřeného vzorku byla vždy stejná. Měření tak byla prováděna jako komparativní. Všechny vzorky byly měřeny proti rozpouštědлу.

Před samostatným měřením vzorků bylo nutné vyčistit měřicí i referenční celu ultračistou deionizovanou vodou a poté přístroj kalibrovat. Pro kalibraci bylo aplikováno po jednom mililitru odplyněné ultračisté deionizované vody do každé cely. Odplynění probíhalo na centrifuze při 3 500 otáček/min po dobu 5 minut. Následné měření probíhalo po dobu 30 minut.

První měření probíhalo v prostředí vzduchu, kdy byl v měřicí cele pouze ztuhlý vzorek. Měření každé koncentrace probíhalo třikrát, vždy tři různé kusy vzorku téže koncentrace po dobu 30 minut. Mezi jednotlivými měřeními bylo opět nutné promýt měřicí celu ultračistou deionizovanou vodou, kvůli případným zbytkům předchozího vzorku.

Druhý typ měření probíhal v prostředí vody, kdy byl prvně do měřicí cely aplikován automatickou pipetou mililitr ultračisté deionizované vody a poté byl do cely vložen ztuhlý vzorek tak, aby byl kapalinou obklopen ze všech stran. Měření taktéž probíhalo na třech různých kusech vždy téže koncentrace po dobu 30 minut. Na každý kus byl aplikován nový mililitr vody.

Třetí způsob měření spočíval v aplikaci nízko koncentrovaných vzorků v kapalném stavu. Mililitr vzorku byl aplikován automatickou pipetou do měřicí cely, poté byl vzorek v cele 10 minut ponechán mírně zatuhnout kvůli ustálení jeho textury. Všechny vzorky v kapalném stavu byly měřeny po 10 minutách od aplikace do cely po dobu 30 minut a druhé měření toho samého vzorku probíhalo po další hodině, taktéž 30 minut, kvůli sledování případné změny vlastností. Každý vzorek byl tak proměřen dvakrát v různých časových intervalech.

Při všech měřeních byly zaznamenávány hodnoty ultrazvukové rychlosti a zeslabení. Vyhodnocována byla pouze ultrazvuková rychlost, kvůli nepozorovatelnému trendu u hodnot zeslabení. Měření probíhalo vždy druhý den po výrobě vzorků kvůli jejich dostatečnému zatuhnutí, po sedmi dnech a následně po dalších sedmi dnech. Dohromady tedy měření trvalo 14 dnů, kdy bylo sledováno, zda vzorky změny své vlastnosti.

5.4 Vlastnosti gelových matic

Mimo měření ultrazvukové rychlosti vzorků byly pozorovány dvě vybrané vlastnosti, a to jejich vysychání a plesnivění. Vysychání vzorků bylo vyhodnocováno pomocí vážení na analytických vahách a vizuální kontrolou. Polovina vzorků z každé koncentrace byla přesunuta do jednotlivých petriho misek a překryta potravinářskou fólií, druhá polovina byla ponechána v původní, překryté plastové formě. Bylo sledováno, zda změna prostředí při uchování vzorků bude mít vliv na rychlost vysychání a vzhled vzorků. Plesnivění bylo vyhodnoceno vizuálně.

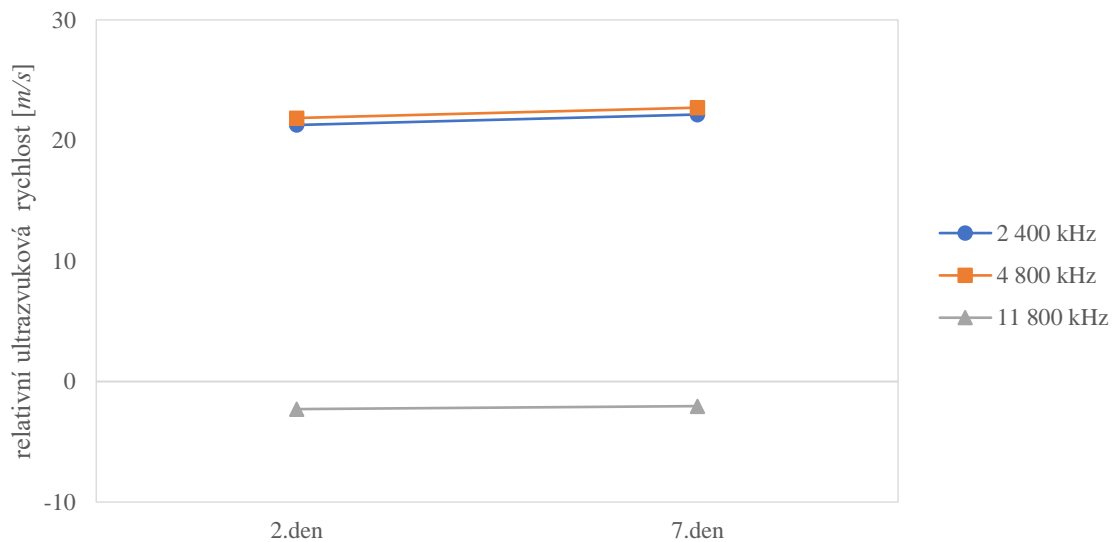
5.5 Vyhodnocení dat a diskuze

5.5.1 Ultrazvuková rychlost

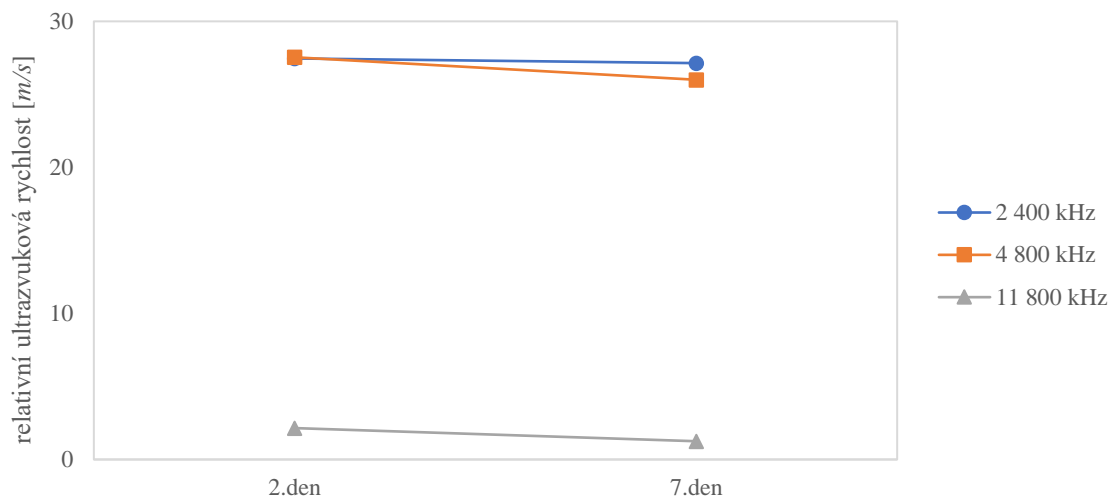
První měření probíhalo v prostředí vzduchu, kdy byl do předem vyčištěné cely vložen ztuhlý vzorek. Při tomto druhu měření buď nebylo možné nalézt stejná čísla píku referenčního a měřeného vzorku, nebo křivka měřeného vzorku byla téměř konstantní a neobsahovala žádné měřitelné píky. Tento problém vykazovaly všechny želatinové, agarové i agarosové vzorky. Z toho důvodu všechna další měření probíhala pouze v prostředí vody. Měření nakonec probíhalo pouze po dobu jednoho týdne, jelikož vzorky po dvou týdnech nebyly v použitelném stavu a schopné měření. Všechna měření probíhala při konstantní teplotě 20 °C.

5.5.1.1 Želatina

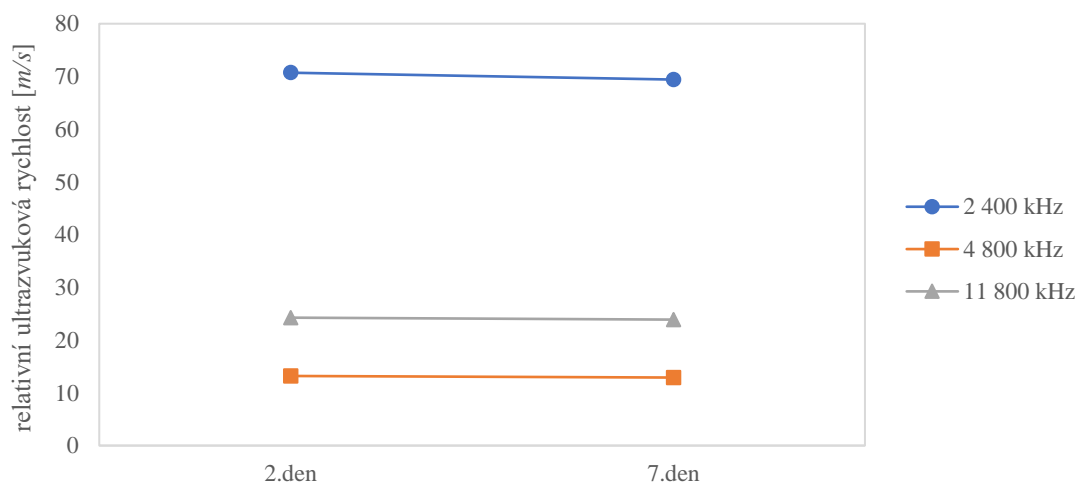
Byla sledována ultrazvuková rychlost v pěti různých koncentracích želatiny (2 %, 5 %, 7 %, 10 % a 20 %). Měření probíhalo při frekvenci 2 400 kHz, 4 800 kHz a 11 800 kHz.



Obrázek 12: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 7 % želatiny v závislosti na čase



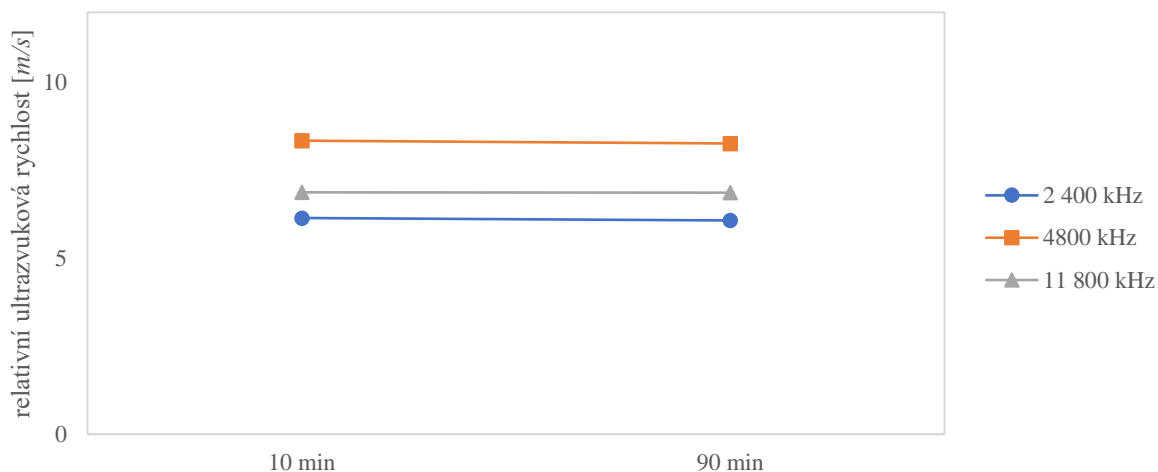
Obrázek 13: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 10 % želatiny v závislosti na čase



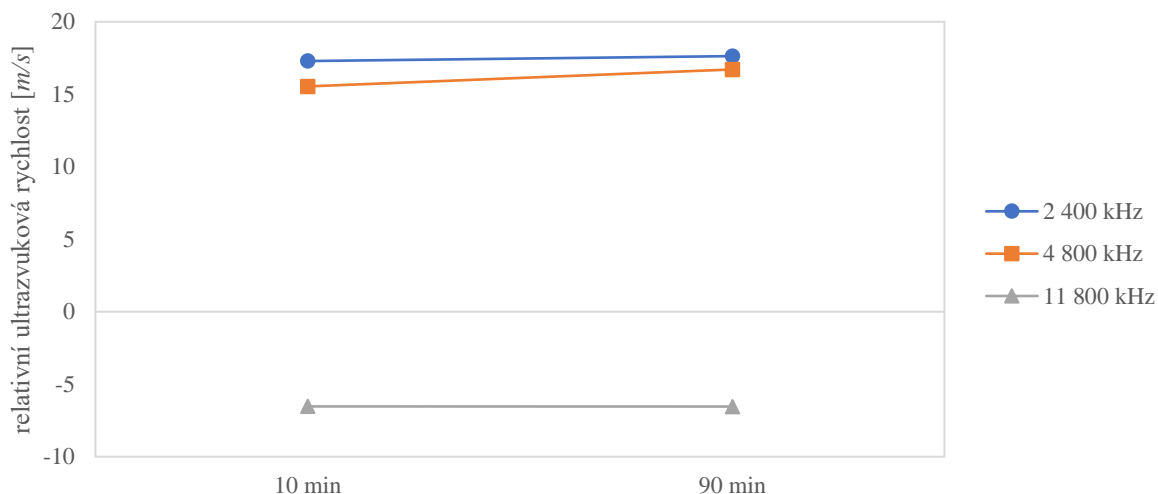
Obrázek 14: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 20 % želatiny v závislosti na čase

Naměřená data (**Obrázek 12**, **Obrázek 13**, **Obrázek 14**) znázorňují relativní rychlost ultrazvukové vlny, která prochází vzorkem, v závislosti na čase, kdy byl vzorek proměřen. Tato závislost je průměrem vždy tří měření každé koncentrace. Ve všech případech se v průběhu sedmi dní mění ultrazvuková rychlost minimálně.

V případě 7 % (**Obrázek 12**) a 10 % (**Obrázek 13**) želatiny se hodnoty při frekvencích 2 400 kHz a 4 800 kHz velmi podobají. U 7 % (**Obrázek 12**) se rychlost při nejvyšší frekvenci (11 800 kHz) pohybuje v záporných hodnotách, což nasvědčuje tomu, že tato frekvence není pro měření u této koncentrace vhodná.



Obrázek 15: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 2 % želatiny v závislosti na čase



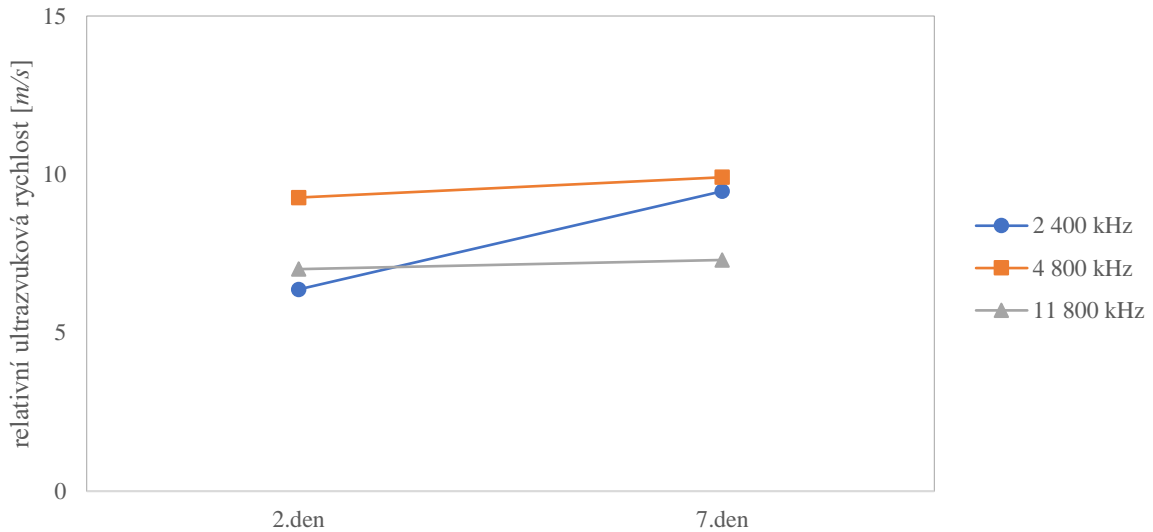
Obrázek 16: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 5 % želatiny v závislosti na čase

Druhá sada vzorků (**Obrázek 15**, **Obrázek 16**) se kvůli nižším koncentracím a pouze mírnému zatuhnutí aplikovala automatickou pipetou přímo do měřicí cely v tekutém stavu. Bylo potřeba postupovat opatrně kvůli možnému vzniku vzduchových bublin, které by negativně ovlivnily měření. Tyto tekuté vzorky nemohli být proměřovány opakovaně, v průběhu několika dní, proto byly měřeny dvakrát v průběhu jednoho dne. První měření proběhlo po 10 minutách od aplikace do měřicí cely, druhé měření proběhlo po dalších 90 minutách.

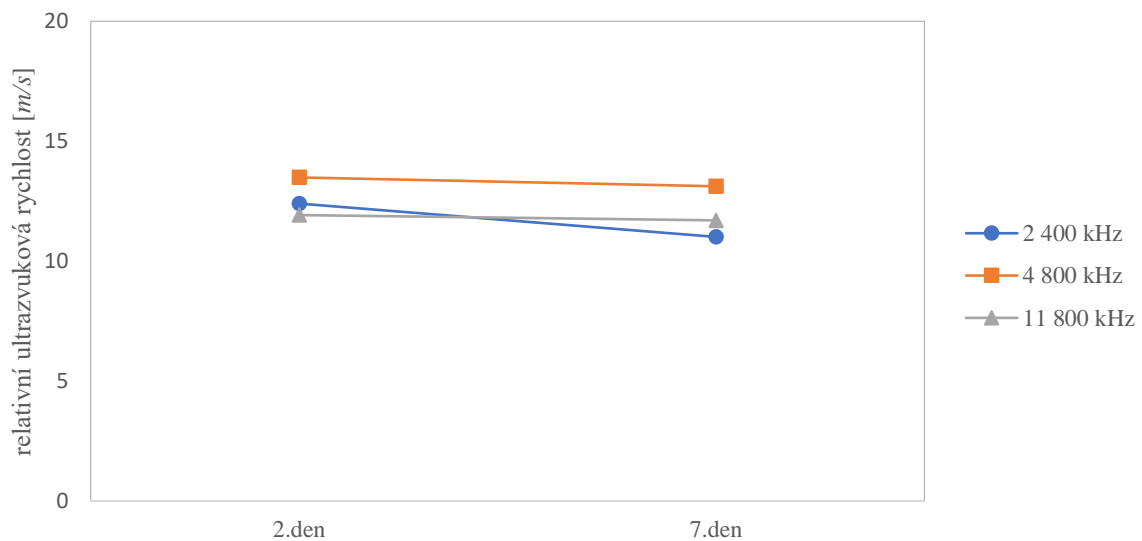
Ukázalo se, že se v tomto časovém úseku vlastnosti vzorků nijak výrazně nemění. V případě 5 % želatiny (**Obrázek 16**) se frekvence 11 800 kHz projevila jako nevhodná, jelikož hodnoty relativní ultrazvukové rychlosti vycházejí v záporných hodnotách.

5.5.1.2 Agar

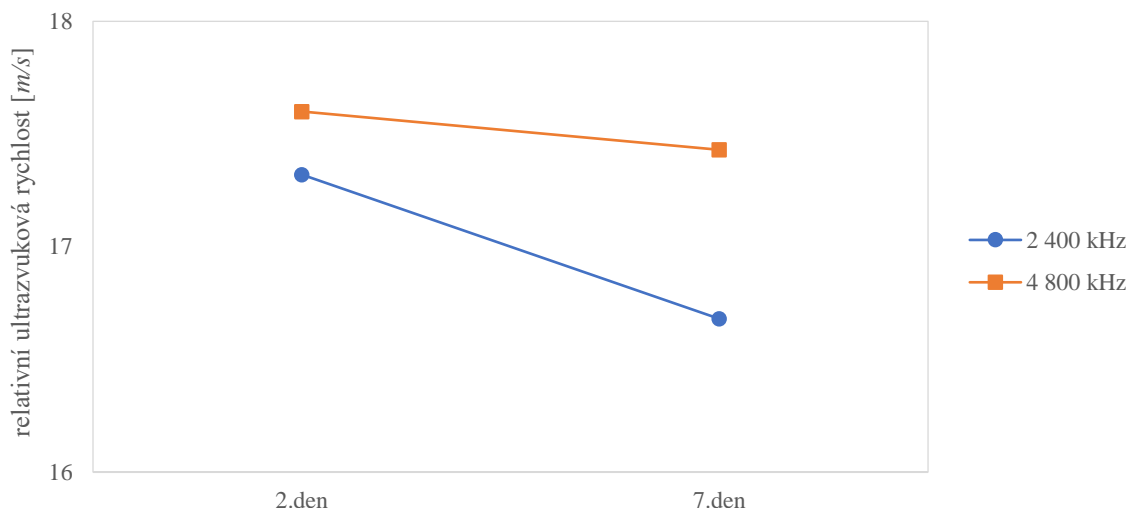
Byly sledovány změny relativní ultrazvukové rychlosti u pěti různých koncentrací agaru (1,5 %, 3 %, 4 %, 5 % a 7 %). Měření probíhalo opět při frekvenci 2 400 kHz, 4 800 kHz a 11 800 kHz.



Obrázek 17: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 3 % agaru v závislosti na čase

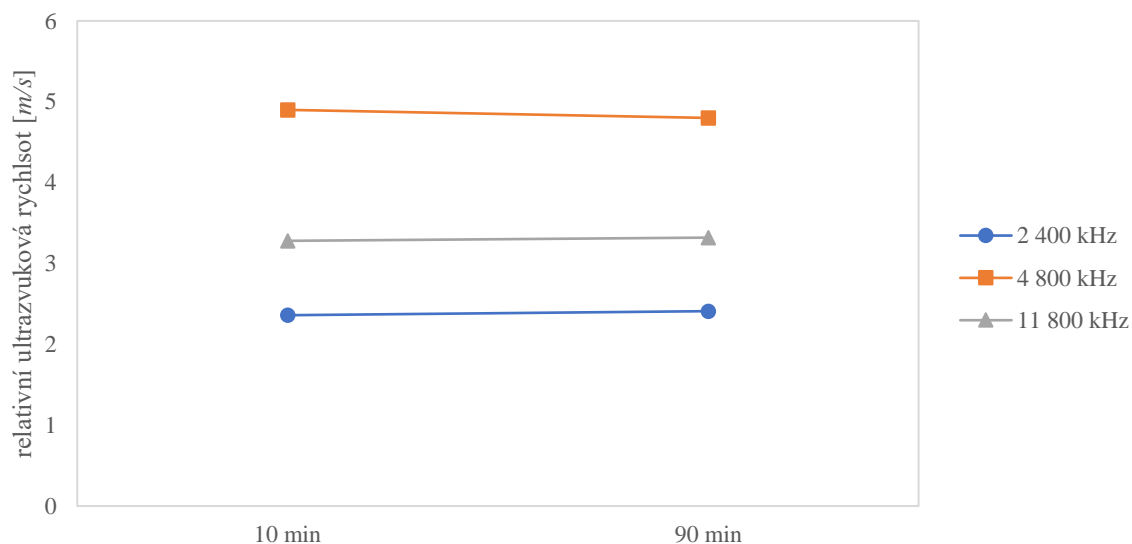


Obrázek 18: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 5 % agaru v závislosti na čase

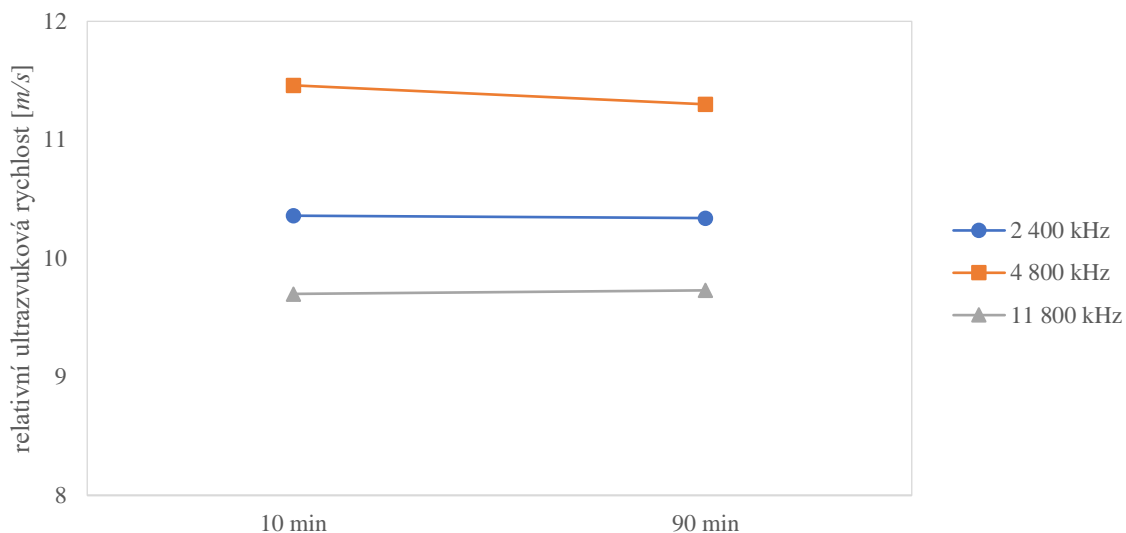


Obrázek 19: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 7 % agaru v závislosti na čase

Hodnoty relativní ultrazvukové rychlosti zůstávají konstantní pouze v případě 5 % agaru (**Obrázek 18**). U 3 % agaru (**Obrázek 17**) se rychlost v průběhu sedmi dnů mírně zvyšovala při 2 400 kHz a 4 800 kHz, zatímco při 11 800 kHz bylo zvýšení rychlosti výrazné. V případě 7 % agaru (**Obrázek 19**) naopak rychlost výrazně klesá. U 7 % koncentrace taky nebylo možné proměřit frekvenci 11 800 kHz, z důvodu velkého rozdílu mezi píky referenčního a měřeného vzorku. V porovnání s želatinou se rychlost udržuje v nižších hodnotách, což může být důsledek menší průhlednosti agarových vzorků.



Obrázek 20: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 1,5 % agaru v závislosti na čase

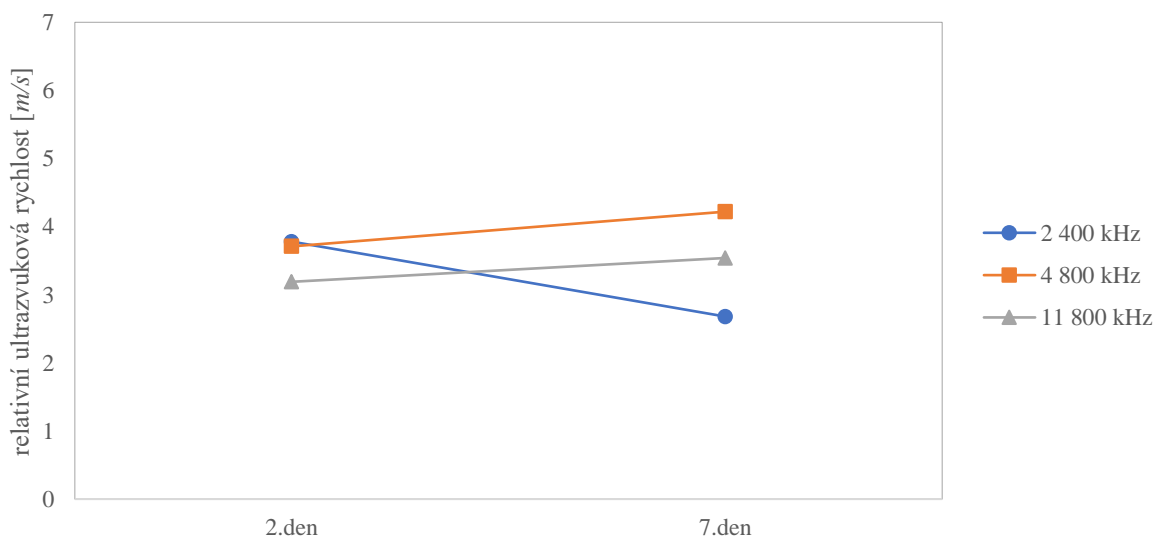


Obrázek 21: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 4 % agaru v závislosti na čase

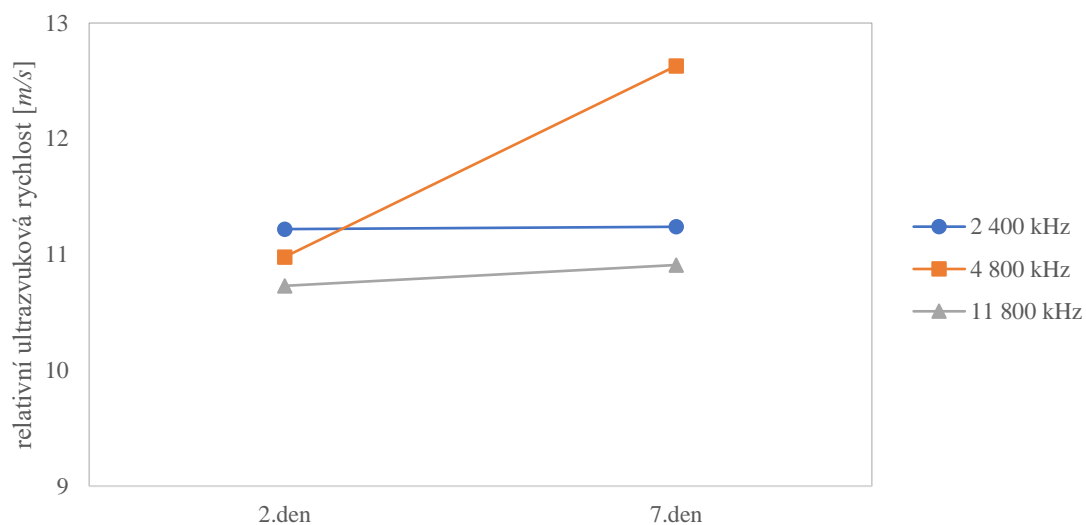
Druhá sada agarových vzorků (Obrázek 20, Obrázek 21), která se aplikovala v tekutém stavu do přístroje, nevykazovala v průběhu času žádné výrazné změny v hodnotách relativní ultrazvukové rychlosti, stejně jako u želatiny.

5.5.1.3 Agarosa

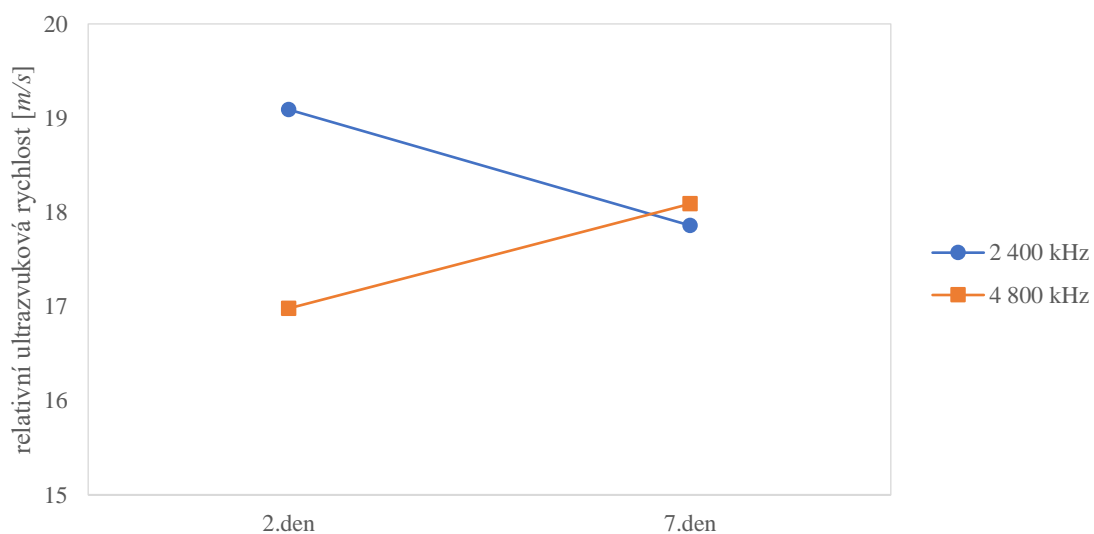
Stejně jako u ostatních látek bylo i v případě agarosy zkoumáno pět různých koncentrací (1,5 %, 3 %, 4 %, 5 % a 7 %). Měření probíhalo ve třech různých frekvencích: 2 400 kHz, 4 800 kHz a 11 800 kHz.



Obrázek 22: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 1,5 % agarosy v závislosti na čase



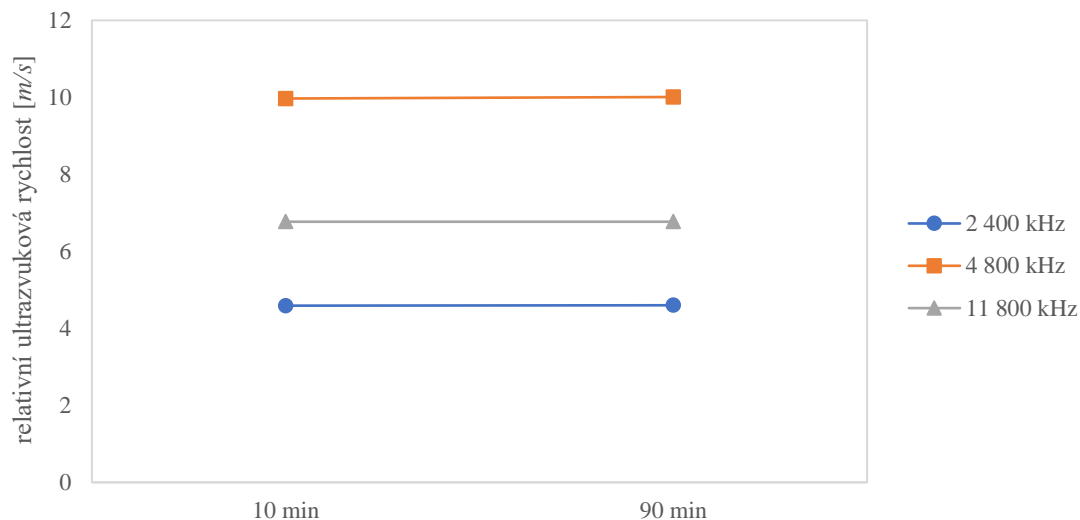
Obrázek 23: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 5 % agarosy v závislosti na čase



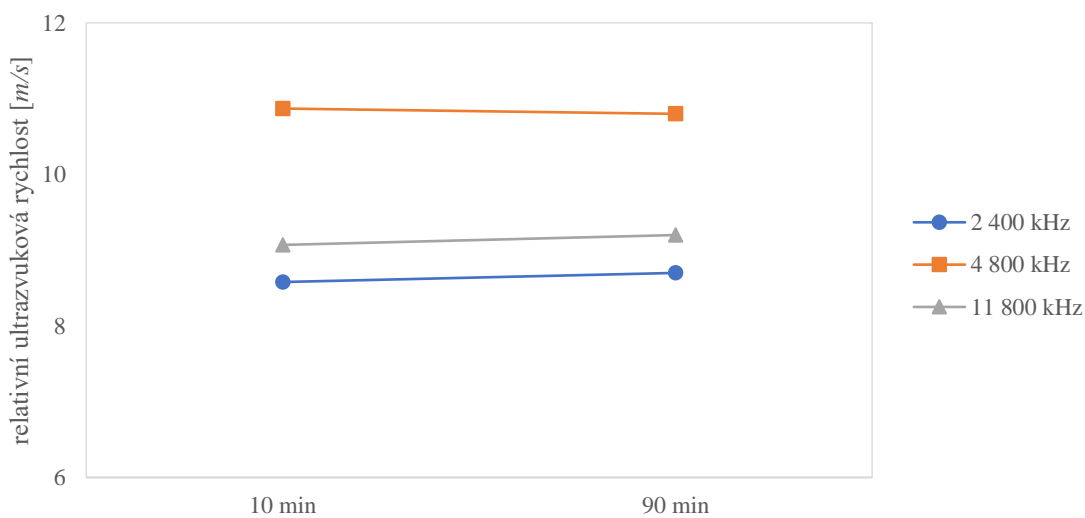
Obrázek 24: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 7 % agarosy v závislosti na čase

Naměřená data u agarosy nevykazují příliš konstantní hodnoty. U 1,5 % koncentrace agarosy (**Obrázek 22**) frekvence 4 800 kHz a 11 800 kHz ukazují mírné zvyšování relativní ultrazvukové rychlosti. Naopak u frekvence 2 400 kHz dochází k výraznému snížení rychlosti. V případě 5 % agarosy (**Obrázek 23**) byla rychlost při frekvenci 2 400 kHz v průběhu týdne konstantní, frekvence 4 800 kHz ukazuje mírné zvýšení a u frekvence 11 800 kHz dochází k výraznému zvýšení relativní ultrazvukové rychlosti. Koncentrace 7 % (**Obrázek 24**) se nejeví jako ideální, při 2 400 kHz rychlost v průběhu týdne výrazně klesá,

oproti tomu při frekvenci 4 800 kHz výrazně stoupá. Stejně jako u agaru, nebylo při 7 % koncentraci možné proměřit rychlost při frekvenci 11 800 kHz, z důvodu velkého rozdílu mezi píky referenčního a měřeného vzorku.

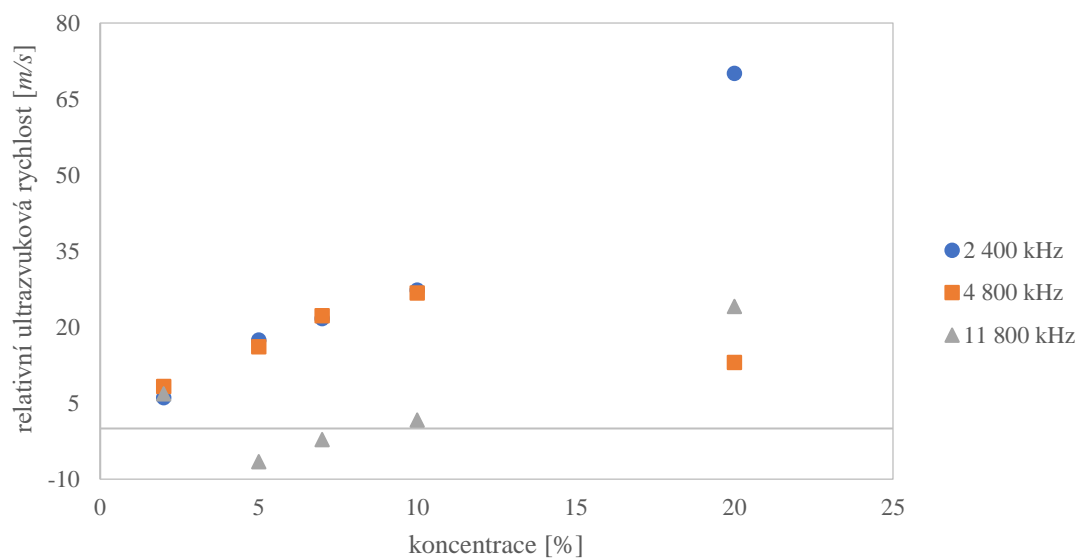


Obrázek 25: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 3 % agarosy v závislosti na čase

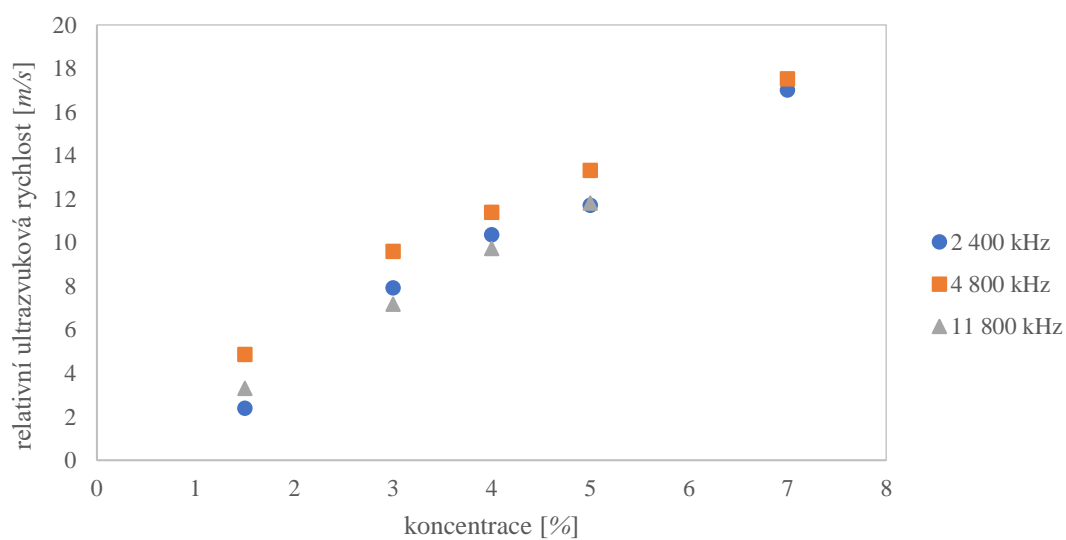


Obrázek 26: graf relativní ultrazvukové rychlosti u 4 % agarosy v závislosti na čase

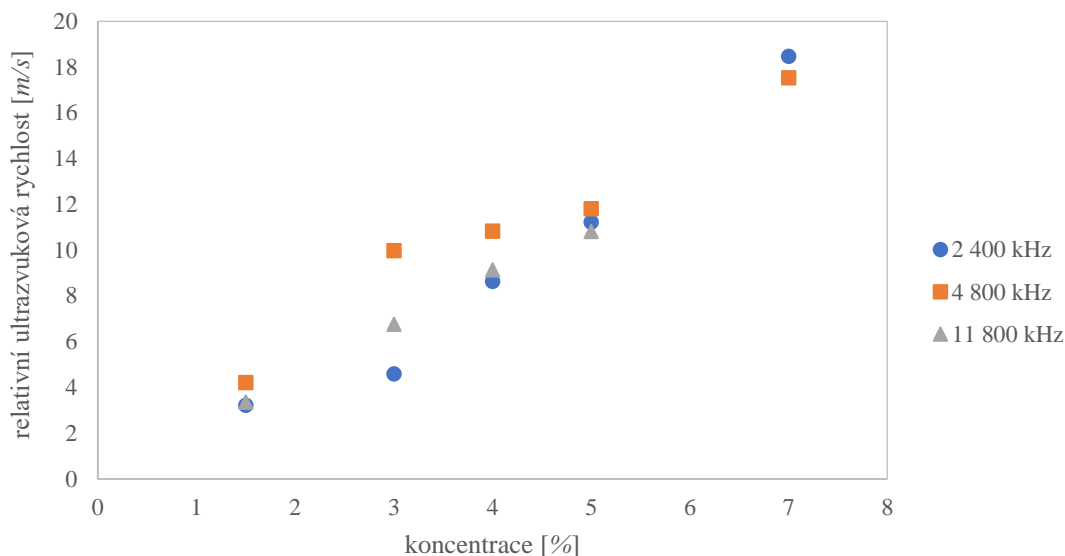
Druhá sada agarosových vzorků (**Obrázek 25**, **Obrázek 26**) aplikována v kapalném stavu do přístroje, stejně jako u předchozích dvou látek, nevykazovala v průběhu času žádné změny v relativní ultrazvukové rychlosti.



Obrázek 27: graf závislosti průměrné relativní rychlosti ze dvou měření na koncentraci želatiny



Obrázek 28: graf závislosti průměrné relativní rychlosti ze dvou měření na koncentraci agaru



Obrázek 29: graf závislosti průměrné relativní rychlosti ze dvou měření na koncentraci agarosu

Grafy znázorňující závislost relativní ultrazvukové rychlosti na koncentraci látky ukazují, že rychlost roste úměrně se zvyšující se koncentrací. V případě želatiny (**Obrázek 27**) se nejeví jako ideální frekvence 11 800 kHz, jelikož hodnoty rychlosti se pohybují v záporných hodnotách, či případně v blízkosti nuly. Výjimku tvoří 20 % želatina, jejíž hodnota relativní ultrazvukové rychlosti pro frekvenci 11 800 kHz se pohybuje ve vyšších kladných hodnotách a 5 % koncentrace u které se pohybuje kolem hodnoty 5. Grafy pro agarové (**Obrázek 28**) a agarosové (**Obrázek 29**) vzorky nevykazují problém v podobě záporných hodnot u žádné z frekvencí. Hodnoty relativní ultrazvukové rychlosti pro agar a agarosu jsou si velmi podobné.

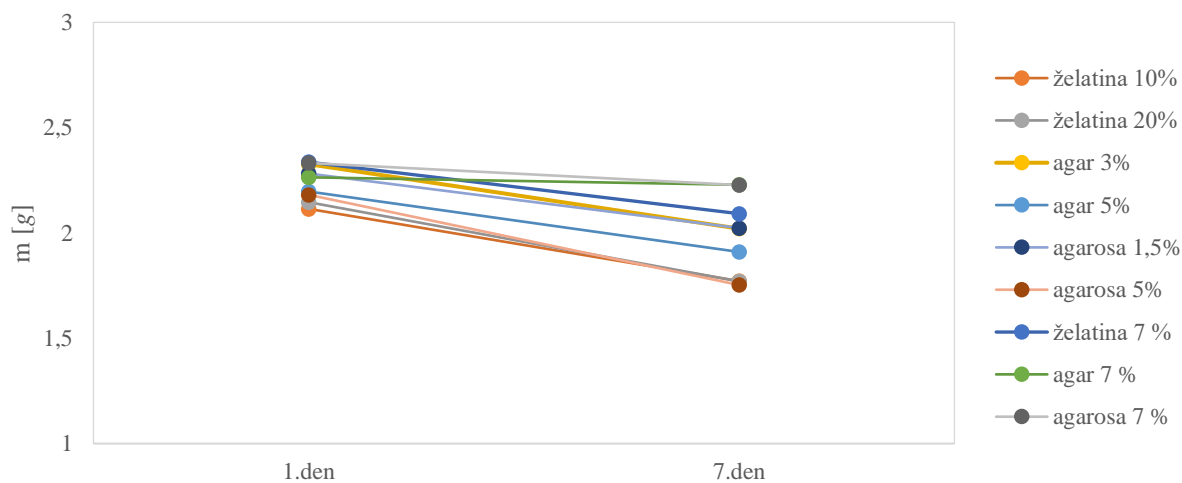
5.5.2 Vlastnosti gelových matic

Mezi vybrané vlastnosti, které byly u vzorků pozorovány, patřilo vysychání a plesnivění. Vzorky byly při výrobě nalévány do předem připravené plastové formy, vymazané vazelínou. V této formě vzorky ztuhly, byly přikryty potravinářskou fólií a přeneseny do lednice, kde byly uchovány při 8 °C. Druhý den po výrobě byly vždy dva kusy od každé koncentrace přeneseny do petriho misky a přikryty potravinářskou fólií, zatímco další dva kusy byly i nadále uchovávány v přikryté formě. Cílem bylo porovnat, zda změna uchování bude mít nějaký vliv na rychlost vysychání vzorků. Obě sady vzorků byly uchovány ve stejné lednici při 8 °C.

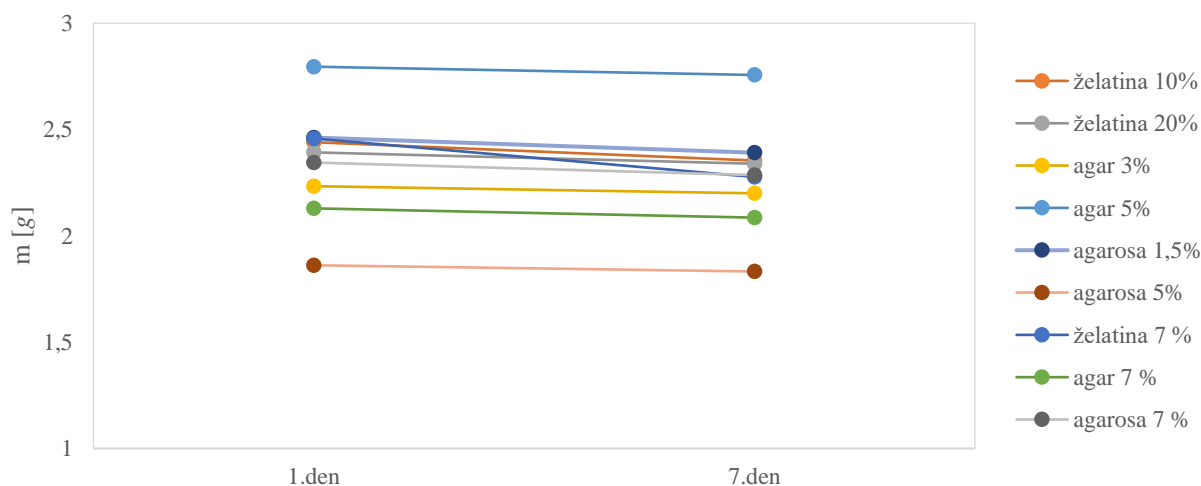
Všechny vzorky byly zváženy na analytických vahách před rozdělením do petriho misek a znovu zváženy byly po týdnu. Srovnání míry vyschnutí vzorků popisuje **Tabulka 2**. V **Obrázek 30** a **Obrázek 31** můžeme pozorovat, že vysychání probíhá rychleji při uchování ve formě.

FORMA		m [g]		PETRIHO MISKA		m [g]	
		1.den	7.den			1.den	7.den
želatina	7 %	2,34	2,09	želatina	7 %	2,46	2,28
	10 %	2,11	1,77		10 %	2,44	2,35
	20 %	2,15	1,77		20 %	2,39	2,34
agar	3 %	2,33	2,02	agar	3 %	2,23	2,20
	5 %	2,20	1,91		5 %	2,80	2,76
	7 %	2,26	2,23		7 %	2,13	2,09
agarosa	1,5 %	2,28	2,02	agarosa	1,5 %	2,46	2,39
	5 %	2,18	1,75		5 %	1,86	1,83
	7 %	2,33	2,23		7 %	2,34	2,29

Tabulka 2: srovnání vysychání gelových vzorků



Obrázek 30: graf závislosti úbytku hmotnosti vzorků v plastové formě na čase

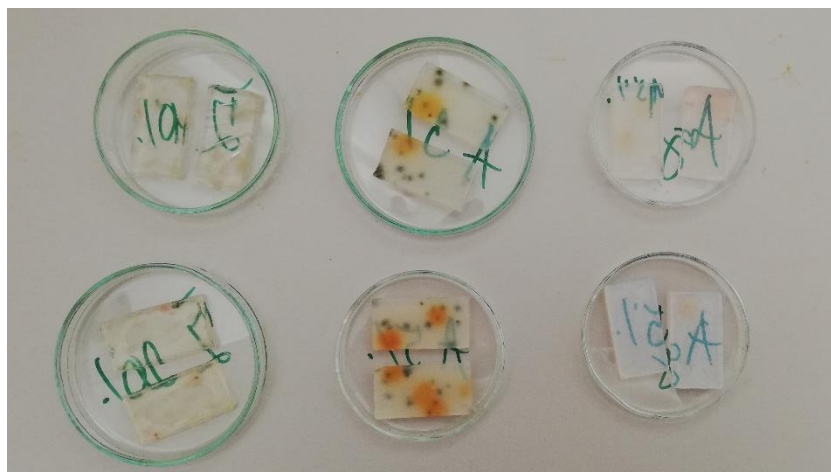


Obrázek 31: graf závislosti úbytku hmotnosti vzorků v petriho misce na čase

Plesnivění bylo vyhodnocováno vizuální kontrolou. První týden vzorky nevykazovaly žádné známky plísně ani kontaminace. Při kontrole po dvou týdnech však vzorky všech látek, jak ve formě i petriho miskách, obsahovaly nějakou formu plísně. Srovnání týden a dva týdny starých vzorků můžeme pozorovat na **Obrázek 32**. Forma uchování tedy na vytvoření plísně neměla žádný vliv.



Obrázek 32: postup plesnivění vzorků (nahore 2 týdny staré vzorky, dole týden staré vzorky)



Obrázek 33: vzorky staré 2 týdny uchovávané v petriho miskách

Roli při vytvoření plísně mohla hrát i nesprávná manipulace se vzorky, či jakákoli vnější kontaminace při měření vzorků v přístroji. Jelikož ale vzorky obsahovaly plíseň až po dvou týdnech, a ne hned po prvním týdnu, je možnost kontaminace méně pravděpodobná. Lze tedy říci, že základní gelové matrice bez přidaných konzervačních látek nejsou schopny vydržet v použitelném stavu dva týdny.

6 ZÁVĚR

Hlavním cílem bakalářské práce bylo seznámit se s metodou ultrazvukové spektroskopie s vysokým rozlišením. Na základě literárních poznatků o hydrogelech a jejich využití jako fantomů pro ultrazvukovou diagnostiku byla tato metoda použita pro sledování vybraných ultrazvukových parametrů gelových matic ze želatiny, agaru a agarosy. Dále byly vizuálně sledovány základní vlastnosti gelů, jako je vysychání a plesnivění v průběhu času.

V první části bakalářské práce bylo sledováno jak, a zda, se mění relativní ultrazvuková rychlost gelových vzorků v průběhu času. První sada vzorků, které nejdříve zatumly v plastové formě, byly měřeny jak v prostředí vzduchu, tak v prostředí vody. Měření ve vzduchu se ukázalo jako problematické u všech vytvořených vzorků, jelikož přístroj vyžaduje od vzorku velmi přesné rozměry. Vzorky také nesmí obsahovat bubliny uvnitř samotného vzorku, či případné nerovnosti, které by mohly vzniknout při tuhnutí ve formě. Všechny tyto nedokonalosti negativně ovlivňují následné měření. Při menší odchylce ve velikosti, kdy vzorek přesně nezapadne do měřicí cely, vznikne prostor mezi vzorkem a stěnou cely, nebo se může gelový vzorek mírně prohnut a vznikne tak vzduchová bublina. V těchto případech tak ultrazvukový paprsek, kromě pevného prostředí (gelový vzorek) prochází i plynným prostředím (vzduchová bublina), ve kterém se šíří nejpomaleji. Výsledná křivka při měření tak byla špatně čitelná, či v některých případech vůbec. Následná měření tedy pobíhala pouze v prostředí vody, která zaplní případný volný prostor či vzduchové bubliny. Měření probíhalo druhý den od výroby a následné měření po týdnu při frekvenci 2 400 kHz, 4 800 kHz a 11 800 kHz. V plánu bylo měření i po dvou týdnech, ale vzorky již nebyly v použitelném stavu. Bylo zjištěno, že v průběhu týdne se u těchto vzorků relativní ultrazvuková rychlost mění minimálně. Problém vykazovala většina koncentrací želatiny, s výjimkou 2 % a 20 %, při frekvenci 11 800 kHz, kdy hodnoty relativní ultrazvukové rychlosti vycházely v záporných hodnotách. Tato frekvence se tedy nejeví jako ideální. Další problém vykazovaly 7 % koncentrace agaru i agarosy. U těchto vzorků také nebylo možné změřit relativní ultrazvukovou rychlost při 11 800 kHz. Tento postup, kdy vzorky tuhnou před měřením v plastové formě, se ukázal jako vhodný pro koncentrovanější vzorky, z důvodu lepší manipulace při vkládání do přístroje.

Druhá sada vzorků, o nižších koncentracích, se aplikovala automatickou pipetou do měřicí cely v tekutém stavu. Při aplikaci bylo nutné postupovat opatrně, aby v průběhu nevznikly v roztoku vzduchové bubliny, které by negativně ovlivnily měření. U těchto vzorků nebylo možné provést stejný systém měření jako v případě první sady. Měření tedy proběhlo po 10 a 90 minutách od aplikace do měřicí cely. V tomto časovém úseku se ukázalo, že je relativní ultrazvuková rychlost konstantní ve všech měřených vzorcích. Tento postup přípravy se projevil jako dobrá možnost. Je však vhodný pouze pro nižší koncentrace do 5 %, u koncentrovanějších roztoků nastávaly problémy při aplikaci do cely, kvůli jejich hustotě. Celkové vyhodnocení obou sad vzorků ukázalo, že relativní ultrazvuková rychlost roste lineárně se zvyšující se koncentrací látek. Paralelně s měřením relativní ultrazvukové rychlosti bylo měřeno i ultrazvukové zeslabení, které však neukázalo žádný trend ve výsledných hodnotách.

V druhé části práce byla vyhodnocována rychlost vysychání a plesnivění gelových vzorků. Část vzorků byla ponechána v plastové formě překryté potravinářskou fólií, druhá část byla přenesena do jednotlivých petriho misek, taktéž překrytých potravinářskou fólií. Všechny tyto vzorky byly uchovávány v lednici při 8 °C. Předpokládalo se, že budou vysychat rychleji vzorky v petriho miskách, jelikož v miskách leží volně a nejsou těsně chráněny ze všech stran jako ve formě. Po vyhodnocení se ukázalo, že tento předpoklad byl nesprávný a vzorky ve formě vysychají o něco rychleji.

V případě plesnivění se po týdnu na vzorcích neprojevyly žádné viditelné náznaky plísně. Po dvou týdnech však byly všechny vzorky, jak ve formě, tak v petriho miskách pokryty nějakou formou plísně. Plíseň mohla být způsobena kontaminací při manipulaci se vzorky v průběhu měření. V tomto případě by se však plíseň projevila nejspíše již při kontrole po prvním týdnu. Dalším faktorem mohla být určitá vlhkost v lednici, ve které byly vzorky uchovány. Řešením tohoto problému by mohlo být přidání dalších, konzervačních látek, které by prodloužily trvanlivost vzorků nebo uvážení jiného způsobu skladování vzorků.

Zkoumání gelových matric s přidáním dalších látek, ať už kvůli prodloužení trvanlivosti vzorků nebo pro úpravu jejich vlastností a následná snaha o vytvoření potencionálního fantomu by mohlo být předmětem diplomové práce.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ELIÁŠ, Pavel a Žižka JAN. Fyzikální vlastnosti ultrazvuku. *Dopplerovská ultrasonografie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 1998, s. 12. ISBN 80-901753-5-x.
- [2] *Biofyzikální základy ultrasonografie* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011 [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: http://lekbiofyz.upol.cz/pagedata_cz/staze/Biofyzik%C3%A1ln%C3%AD_z%C3%A1klady_ultrasonografie.pdf
- [3] Negativní vliv ultrazvuku. *Encyklopedie fyziky* [online]. [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/213-negativni-vliv>
- [4] Fantomy a fantomová měření v nukleární medicíně. *AstroNuklFyzika* [online]. [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: <https://astronuklfyzika.cz/Fantomy.htm>
- [5] CARRIG, Colin a R. PYLE. ANATOMIC MODELS AND PHANTOMS FOR DIAGNOSTIC ULTRASOUND INSTRUCTION. *Veterinary Radiology* [online]. 2001, **42**(4), 320-328 [cit. 2021-01-28]. ISSN 1058-8183. Dostupné z: [doi:10.1111/j.1740-8261.2001.tb00947.x](https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2001.tb00947.x)
- [6] STATNIK, E.S., E.A. SOROKINA, I.I. LARIN et al. The characterization of PVA/PHY hydrogels for 3D printing fabrication of organ phantoms. *Materials Today: Proceedings* [online]. 2020, **33**, 1874-1879 [cit. 2021-01-25]. ISSN 22147853. Dostupné z: [doi:10.1016/j.matpr.2020.05.343](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.343)
- [7] AOYAGI, Minoru a Tomomi HIRAGURI. Ultrasound Phantom Using Sodium Alginate as a Gelling Agent. *Journal of Ultrasound in Medicine* [online]. 2017, **36**(11), 2345-2353 [cit. 2021-01-25]. ISSN 02784297. Dostupné z: [doi:10.1002/jum.14252](https://doi.org/10.1002/jum.14252)
- [8] MORROW, Dustin, Julia CUPP a Joshua BRODER. Versatile, Reusable, and Inexpensive Ultrasound Phantom Procedural Trainers. *Journal of Ultrasound in Medicine* [online]. 2016, **35**(4), 831-841 [cit. 2021-01-28]. ISSN 02784297. Dostupné z: [doi:10.7863/ultra.15.04085](https://doi.org/10.7863/ultra.15.04085)
- [9] *The Blue Phantom difference* [online]. [cit. 2021-05-02]. Dostupné z: <http://caebluephantom.com/>
- [10] *Tissue simulation* [online]. [cit. 2021-05-02]. Dostupné z: <https://www.cirsinc.com/about/tissue-simulation/>
- [11] *Sono ultrasound phantoms* [online]. [cit. 2021-05-03]. Dostupné z: <https://www.sunnuclear.com/products/sono-ultrasound-phantom>

- [12] *Kyoto Kagaku* [online]. [cit. 2021-05-03]. Dostupné z: <https://www.kyotokagaku.com/en/>
- [13] ALBA, Katerina a Vassilis KONTOGIORGOS. Seaweed Polysaccharides (Agar, Alginate Carrageenan). *Encyclopedia of Food Chemistry* [online]. Elsevier, 2019, , 240-250 [cit. 2021-01-26]. ISBN 9780128140451. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.21587-4
- [14] MOKREJŠ, Pavel. *Aplikace přírodních polymerů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, s. 85-86. ISBN 978-80-7318-674-6.
- [15] RENN, Donald W. *Agar and agarose: indispensable partners in biotechnology* [online]. 1984, **23**(1), 17-21 [cit. 2021-07-03]. ISSN 0196-4321. Dostupné z: doi:10.1021/i300013a004
- [16] STELLWAGEN, John a Nancy STELLWAGEN. Internal Structure of the Agarose Gel Matrix. *The Journal of Physical Chemistry* [online]. 1995, **99**(12), 4247-4251 [cit. 2021-07-03]. ISSN 0022-3654. Dostupné z: doi:10.1021/j100012a054
- [17] SAMAVEDI, Satyavrata, Lauren POINDEXTER, Mark VAN DYKE a Aaron GOLDSTEIN. Synthetic Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Regenerative Medicine Applications in Organ Transplantation* [online]. Elsevier, 2014, , 81-99 [cit. 2021-01-26]. ISBN 9780123985231. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-398523-1.00007-0
- [18] Polyacrylamide. *Britannica* [online]. [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/polyacrylamide>
- [19] *Polyacrylamide* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: https://www.polysciences.com/media/catalog/product/cache/4/image/9df78eab33525d08d6e5fb8d27136e95/2/2/22581-polyacrylamide-mw-10_000.jpg
- [20] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 3., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2011, s. 74-75. ISBN 978-80-7080-788-0.
- [21] *Polyvinyl alcohol* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://www.prnewsprime.com/wp-content/uploads/2019/11/PolyVinyl-Alcohol.jpg>
- [22] *Bio Basic* [online]. [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://www.biobasic.com/phytagel>
- [23] *Kyselina glukuronová* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Kyselina_glukuronov%C3%A1#/media/Soubor:Beta_D-Glucuronic_acid.svg
- [24] *Rhamnosa* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <http://www.wikidoc.org/images/3/38/Rhamnose.png>

- [25] *Glukóza* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c6/Alpha-D-Glucopyranose.svg/157px-Alpha-D-Glucopyranose.svg.png>
- [26] FRANCOLINI, Iolanda, Luanne HALL-STOODLEY a Paul STOODLEY. Biofilms, Biomaterials, and Device-Related Infections. *Biomaterials Science* [online]. Elsevier, 2020, , 823-840 [cit. 2021-01-26]. ISBN 9780128161371. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816137-1.00054-4
- [27] *Polyethylene glycol* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/structure1/192/mfcd00081839.eps/_jcr_content/renditions/mfcd00081839-medium.png
- [28] DE CARVALHO, Isabela, Lucas DE MATHEO, José COSTA JÚNIOR, Cecília BORBA, Marco VON KRÜGER, Antonio INFANTOSI a Wagner PEREIRA. Polyvinyl chloride plastisol breast phantoms for ultrasound imaging. *Ultrasonics* [online]. 2016, **70**, 98-106 [cit. 2021-02-20]. ISSN 0041624X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultras.2016.04.018
- [29] *Co je to želatina?* [online]. [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>
- [30] *Želatina* [online]. In: . [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://api.intechopen.com/media/chapter/56831/media/F2.png>
- [31] GAD, S.E. Polymers. In: *Encyclopedia of Toxicology* [online]. Elsevier, 2014, s. 1045-1050 [cit. 2021-05-05]. ISBN 9780123864550. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00912-X
- [32] *Základní pojmy makromolekulární chemie* [online]. s. 13 [cit. 2021-05-05]. ISBN 978-80-7080-662-3. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-978-80-7080-662-3/pages-img/013.html
- [33] *Polymery*. Ústí nad Labem: Univerzita J.E. Purkyně, Fakulta výrobních technologií a managementu, 2014, 7,8,36. ISBN 978-80-7414-738-8.
- [34] Hydrogels. *Polymer Science: A Comprehensive Reference* [online]. Amsterdam: Elsevier, 2012, s. 385-395 [cit. 2020-12-25]. ISBN 9780080878621. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00226-0>
- [35] SHARMA, Shweta, Ankush PARMAR a S.K. MEHTA. Hydrogels. *Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems* [online]. Elsevier, 2018, , 627-672 [cit. 2021-05-06]. ISBN 9780128136898. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813689-8.00016-1

- [36] *Úvod do nanotechnologie* [online]. V Praze: České vysoké učení technické, 2010, s. 152-153 [cit. 2021-05-06]. ISBN 978-80-01-04555-8.
- [37] SCHUWERT, P.E. Characteristics of tissue equivalent gels intended for passive test procedures of ultrasonic scanner performance. *Ultrasonics* [online]. 1982, **20**(6), 275-278 [cit. 2021-05-06]. ISSN 0041624X. Dostupné z: doi:10.1016/0041-624X(82)90049-X
- [38] HANSON, Malgorzata a Anna WYPYCH. *Databook of Curatives and Crosslinkers* [online]. Elsevier, 2019, s. 1-2 [cit. 2020-12-25]. ISBN 978-1-927885-49-9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-1-927885-49-9.50003-7>
- [39] Hydrogels. *Encyclopedia of materials: science and technology* [online]. Amsterdam: Elsevier, 2001, s. 3878-3882 [cit. 2020-12-25]. ISBN 9780080431529. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B0-08-043152-6/00688-4>
- [40] BUCKIN, Vitaly. High-resolution ultrasonic spectroscopy. *Journal of Sensors and Sensor Systems* [online]. 2018, **7**(1), 207-217 [cit. 2021-01-31]. ISSN 2194-878X. Dostupné z: doi:10.5194/jsss-7-207-2018
- [41] SMYTH, C. High-resolution ultrasonic spectroscopy for analysis of industrial emulsions and suspensions. *Journal of the Association for Laboratory Automation* [online]. 2004, **9**(2), 87-90 [cit. 2021-05-06]. ISSN 15355535. Dostupné z: doi:10.1016/j.jala.2004.01.008
- [42] BUCKIN, V. a M. CARAS ALTAS. C1.1 - High-resolution ultrasonic spectroscopy. *Proceedings Sensor 2017* [online]. AMA Service GmbH, Von-Münchhausen-Str. 49, 31515 Wunstorf, Germany, 2017, , 298-303 [cit. 2021-01-31]. Dostupné z: doi:10.5162/sensor2017/C1.1
- [43] *Ultrasonic Scientific: HR-US Spectrometer User Guide*.

8 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

kHz	kilohertz, jednotka frekvence
MHz	megahertz, jednotka frekvence
HRUS	ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením, z anglického high resolution ultrasonic spectroscopy
PVA	polyvinylalkohol
PHY	phytagel
PEG	polyethylenglykol
PVCP	polyvinylchlorid plastisol
pH	záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kaiontů
IPNs	vzájemně se prolínající hydrogely, z anglického interpenetrating polymeric networks
m/s	odvozená jednotka rychlosti
nm	nanometr, jednotka délky
min	minuta, jednotka času
PNIPAM	poly(N-isopropylacrylamid)