

OTDK dolgozat

Nagy Eszter

2022

3D nyomtatott cellák tervezése és alkalmazása bio-nanokompozit alapú mikrofluidikai rendszerben.

Szerző: **Nagy Eszter**

Témavezetők:

Dr. Szabó Tibor, egyetemi adjunktus

Dr. Égerházi László, egyetemi adjunktus

Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar

Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

2022

Rövidítésjegyzék

ABS: akrilnitril-butadién-sztirol

APTES: 3-aminopropil-trietoxiszilán

BC: bakteriális cellulóz

CAD: Computer Aided Design / számítógéppel támogatott tervezés

DLP: Digital Light Processing / digitális fényeljárásos nyomtatás

DMLS: Direct Metal Laser Sintering / fém közvetlen lézeres szinterezése

EDAX: energiadiszperzív röntgenspektroszkópia

EDC: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid

FDM: Fused Deposition Modeling / szálolvasztásos 3D nyomtatási technológia

LDAO: N,N-dimetil-dodecilamin-N-oxid

MWCNT: multi-walled carbon nanotube / többfalú szén nanocső

NHS: N-hidroxisukcinimid

PDMS: poli(dimetil-sziloxán)

PET-G: polietilén-tereftalát-glikol

PLA: politejsav

PP: polipropilén

PTFE: poli(tetrafluoretilén)

Rb.: Rhodobacter

RC: reakciócentrum-fehérje

SEM: scanning electron microscope / pásztázó elektronmikroszkóp

SLA: Stereolithography apparatus / sztereolitográfias nyomtatási technológia

SLS: Selective Laser Sintering / szelektív lézeres szinterezés

SOLVO: szolvotermális módszer

TRIS: trisz-(hidroximetil)-amino-metán

UQ-0: ubikinon-0 / 2,3-dimetoxi-5-metil-1,4-benzokinon

ZnO: cink-oxid

Tartalomjegyzék

1.	Összefoglalás	5
2.	Bevezetés	6
2.1.	A 3D nyomtatás története és elve	6
2.2.	3D nyomtatott mikrofluidikai eszközök	8
2.3.	A fotszintetikus reakciócentrumok jelentősége	8
3.	Célkitűzés	10
4.	Anyagok és módszerek	11
4.1.	Anyagok	11
4.1.1.	Nyomtatási alapanyagok	11
4.1.2.	A reakciócentrum-fehérje	12
4.1.3.	Nanokompozit membránok	13
4.2.	Módszerek és felhasznált eszközök	14
4.2.1.	A bio-nanokompozit membrán preparálása	14
4.2.2.	CAD-tervezés és modellezés	15
4.2.2.1.	Kalibráló modell	15
4.2.2.2.	Lépcsőmodell	16
4.2.2.3.	DesignSpark Mechanical 5.0 szoftver	16
4.2.3.	Szeletelőszoftverek	17
4.2.4.	3D nyomtatók	19
4.2.5.	Spektrofotométer	21
4.2.6.	Pásztázó elektronmikroszkópia	21
4.3.	Cellamodell és elektrokémiai mérések	21
5.	Eredmények	23
5.1.	A nyomtatási paraméterek optimalizálása	23
5.1.1.	Zortrax M200 nyomtató	23
5.1.2.	Original Prusa i3 MK3S+ 3D nyomtató	26
5.2.	Spektrofotometriai vizsgálatok	28
5.3.	A cella optimalizálása	29
5.4.	Pásztázó elektronmikroszkópos strukturális felvételek és EDAX-spektrumok	31
5.5.	Mérések a mikrofluidikai elektrokémiai cellában	33
6.	Irodalomjegyzék	35
7.	Köszönetnyilvánítás	38
8.	Nyilatkozat	39

1. Összefoglalás

Bevezetés: Az évek során számos additív eljárást fejlesztettek ki a fotopolimerizációtól kezdve a szálolvasztásos 3D nyomtatáson (Fused Deposit Modeling™) át a bionyomtatásig (bioprinting). Ez a fejlődési hullám tette lehetővé a mikrofluidikai eszközök előállítását 3D nyomtatókkal. Számos kutatócsoport vizsgálja a fénnel gerjeszthető, fotoszintetikus szervezetek szervetlen rendszerekhez való rögzítését. Több alap- és alkalmazott kutatás fő célja a fotoszintetizáló anyagok mesterséges környezetben való tanulmányozása ((Kamran M 2014); (Hollander MJ 2011); (Noji T 2011); (Oda I 2006)).

Módszerek: Projektünk során szálolvasztásos elven működő 3D nyomtatókat, továbbá nyomtatási alapanyagként polietilén-tereftalát-glikolt (PET-G), a polietilén-tereftalát anyag glikoltartalmú változatát használtuk. Az elektrokémiai mérésekhez egy porózus, BC (bakteriális cellulóz) – ZnO (cink-oxid) – MWCNT (többfalú szén nanocső) alapanyagú membránhoz kémiai úton kötöttünk R-26 baktériumtörzsből kinyert reakciócentrumokat (RC-okat). Ezeknek a RC-oknak a fény által kiváltott fotoelektromos választ mértük a saját tervezésű mikrofluidikai cellában Metrohm PGSTAT204 típusú potenciosztát/galvanosztát segítségével.

Eredmények: Kalibráló mintával végzett optimalizálás keretében rámutattam, hogy a projekt szempontjából alapvető átlátszóságot és mechanikai szilárdságot a nyomtatási hőmérséklet és sebesség, valamint a „vasalás” és a „peremek keresztezésének kerülése” funkciók bekapcsolása határozza meg. Meghatároztam azt a paraméterkészletet, amely átlátszó PET-G alapanyagból a legjobb nyomtatási eredményt adja. Háromelektrodos mikrofluidikai cellát terveztem, amelynek munkaelektrodját BC–ZnO–MWCNT/RC kompozit, ellen- és referenciaelektrodját pedig platina és Ag/AgCl alkotja. A kezdeti kísérletek alapján tovább optimalizáltam mind a cella kivitelét, mind a nyomtatási paramétereket. A bio-nanokompozit mintánk preparálásának sikerességét EDAX-elemanalízissal igazoltuk. Az elektrokémiai mérések során bebizonyítottuk, hogy az immobilizált RC-ok a kötést követően is megtartották a fotoaktivitásukat, és megvilágítás hatására 1 μ A nagyságrendű fotoáram keletkezett.

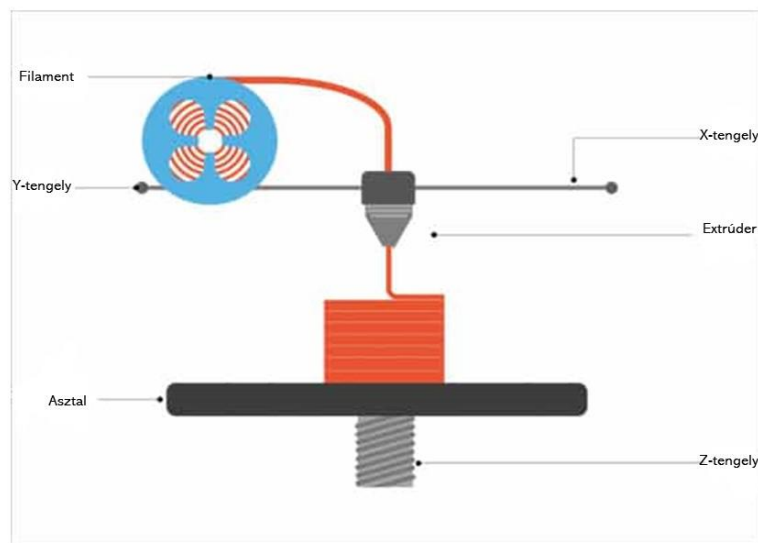
2. Bevezetés

2.1. A 3D nyomtatás története és elve

Az additív gyártástechnológia az 1980-as évek elején jelent meg az addig használatos szubtraktív gyártástechnológia mellett. Ennél az új eljárás csoportnál az anyagelvonáson alapuló megmunkálási módszerekkel (pl. esztergálás, marás, vésés, fúrás) szemben anyaghozzáadással, „építéssel” alakítják ki az objektumokat (Savini A. 2015).

Az első sikeres 3D nyomtatási eljárást, a sztereolitográfias nyomtatási technológiát (SLA – Stereolithography Apparatus) Charles Hull dolgozta ki 1984-ben az Egyesült Államokban (Hull W. C. 1984). Ennél a módszernél egy folyékony fotopolimert polimerizálnak UV-fénnyel. 2 évvel később megalapította a 3D System céget, amely elkezdte forgalmazni az első SLA elvű nyomtatásra alkalmas 3D nyomtatókat. Egy másik igen sikeres eljárást, a szelektív lézeres szinterezési (SLS) technológiát a Texasi Egyetemen dolgozták ki (Deckard 1989). Ennél a módszernél por állagú anyagot használnak alapanyagként, amelyet pásztázó lézernyalábbal olvasztanak össze szilárd struktúrává. Ez a technológia alapozta meg a DMLS (Direct Metal Laser Sintering) nyomtatók létrejöttét, amelyek fémport használnak alapanyagként (K. D. W. Wilhelm, 1996). Az említett két eljárás az iparban (pl. építészetben (García-Alvarado 2021)) és egészségügyben (pl. fogászati implantátumok (Paul S. D'Urso 1999)) egyaránt fontos része lett a gyártástechnológiának.

A szálolvasztásos 3D nyomtatási technikát az 1980-as évek végére dolgozta ki C. S. Crump, majd a Stratasys cég szabadalmaztatta FDMTM (FDM – Fused Deposit ModellingTM) néven (Crump 1992). Ez a módszer képezi számos mai asztali 3D nyomtató típus működésének alapját. A projektünk során használt Zortrax M200 és Original Prusa i3 MK3S+ típusú nyomtatók is ezen a technológián alapulnak. Az FDM elven működő 3D nyomtatóknál a nyomtatási alapanyagok jellemzően 1,75 mm vagy 2,85 mm átmérőjű filamentumok formájában kerülnek be az általában fűtött munkatérrel rendelkező nyomtatóba. Ezeket a nyomtatószálakat termoplasztikus műanyagból extrudálják, adott esetben segédanyagok hozzáadásával. A feltekercselt filamentumot a nyomtató folyamatosan adagolja az extruderbe, ahol a szál megolvad, majd a fűvókán keresztül kipréselt olvadékot a nyomtató rétegről rétegre egymásra építi. A rétegek fokozatosan megszilárdulnak, így épül fel a kívánt háromdimenziós struktúra (1. ábra).



1. ábra: Az FDM nyomtatók működése.

Forrás: <https://www.ipqcco.com/wiki/fused-deposition-modeling>

A 3D nyomtatási technológia az 1990-es években terjedt el világszerte, ugyanis ekkor több gyártó alacsonyabb áron kezdte el forgalmazni a nyomtatóit (Savini A. 2015). Napjainkra ez az eljárás hétköznapi, viszonylag kis bekerülési költségű technológiává vált, amely elsősorban a prototípusgyártásban vívott ki elsődleges szerepet magának, de egyre inkább előtérbe kerül a sorozatgyártásban is (Barbosa 2021).

A folyamat elvét tekintve a 3D nyomtatás kiindulási pontja egy digitális háromdimenziós modell, amely térbeli modellek tervezésére alkalmas szoftveres tervezési környezetben hozható létre – akár önálló tervezési folyamat, akár háromdimenziós szkennelést követő renderelés eredményeként. Az ilyen számítógépes tervezőprogramokból (CAD, Computer Aided Design) a modellek exportálhatók többek között .stl (standard tessellation language) vagy .obj (object) formátumba, amelyeket a 3D nyomtatók szoftverei már képesek közvetlenül feldolgozni. Az .stl fájlok kizárólag a felületi geometriai adatokat őrzik meg a 3D modellről, ennek köszönhetően könnyen feldolgozhatók, és manapság ezt a formátumot használja a legtöbb 3D nyomtató. Az .obj formátum képes akár színek, textúrák, anyagtulajdonságok tárolására is, így a vele kompatibilis szeletelőprogramok ezeket az információkat is megkaphatják. A nyomtatásra exportált fájlokat a nyomtató számára „fel kell szeletelni” (slicing) egy, a nyomtatóhoz rendelt vagy univerzális szeletelőszoftver segítségével, így hozhatók létre azok a (legtöbb esetben g-kódnak nevezett) programkódok,

amelyek a mozgásokhoz tartozó térbeli információkat és az adott térbeli ponthoz tartozó nyomtatási parancsot közvetítik a nyomtatónak. A nyomtatásra előkészített g-kódot külső adathordozón vagy hálózaton keresztül lehet eljuttatni a nyomtatóhoz.

2.2. 3D nyomtatott mikrofluidikai eszközök

A mikrofluidika folyamatosan fejlődő kutatási terület, amely számos lehetőséget kínál a biológiai és kémiai kutatások számára. Az első mikrofluidikai eszköz egy szilíciumlapra helyezett gázkromatográfiás chip volt, melyet S. C. Terry és munkatársai fejlesztettek ki 1979-ben (S. C. Terry 1979). Az 1990-es években Jacobson, Manz és Harrison elektroforézis alapú elválasztáshoz dolgoztak ki mikrofluidikai eszközöket (S. C. Jacobson 1994), (A. Manz 1990), (D. J. Harrison 1992)). Ezeket az eszközöket azonban kemény hordozókon, például üvegen vagy szilíciumon alakították ki, emiatt az előállításuk költséges és időigényes volt. A legjelentősebb újítás a mikrofluidikában a polidimetil-sziloxán (PDMS) felhasználása volt az eszközök gyártásához, melyet a Whitesides kutatócsoport írt le először (D. C. Duffy 1998). A PDMS sokkal könnyebben előállítható eszközökhöz vezetett, és mára ez vált a mikrofluidikai eszközök gyártásához leggyakrabban használt anyaggá.

Az elmúlt évtizedben a nagyfelbontású (elsősorban sztereolitografikus) 3D nyomtatás technológiai fejlődésének hulláma lendületet adott a mikroméretű szerkezetek gyártásának (P. J. Kitson 2012), ráadásul ezzel a technológiával a mikrofluidikai eszközök egyetlen lépésben nyomtathatóvá váltak.

2002-ben a Whitesides kutatócsoport FDM nyomtatási technológiával kezdte el gyártani a mikrofluidikai eszközöket. 2012-ben – az FDM technológia sokoldalúságának bizonyítása érdekében – Cronin és munkatársai polipropilénből (PP) nyomtattak mikrofluidikai eszközöket, amelyeket kémiai szintézisekhez tudtak felhasználni (L. Cronin 2012). Különböző kialakítású szerkezeteket terveztek szerves és szervetlen anyagok szintéziséhez, hogy javítsák a nyomtatott eszközök használhatóságát.

Napjainkban egyre több 3D nyomtató alkalmas mikrofluidikai eszközök nyomtatására, például olyan 3D bionyomtatót is terveztek, amely képes hidrogél alapú mikrocatornákat nyomtatni (Q. Gao 2015).

2.3. A fotoszintetikus reakciócentrumok jelentősége

A fényenergia kémiai energiává alakulásának legelső lépései az ún. fotoszintetikus reakciócentrumban (RC), egy transzmembrán pigment–fehérje komplexben történnek. Annak ellenére, hogy egy nanoméretű fehérjekomplexről beszélünk (kb. 10 nm; (Dorogi 2006)), mégis a RC – a „természet napelemeként” – biztosítja az energiát az egész földi élethez. A reakciócentrum-fehérjében az elsődleges töltésszétválasztás kvantumhatásfoka megközelíti a 100%-ot, ami messze meghaladja a mesterségesen előállított készülékeinkre manapság jellemző hatásfokértékeket. Ez a kimagaslóan magas kvantumhatásfok fordította a figyelmet a természetes és mesterséges pigment–fehérje komplexek biohibrid eszközökben való közvetlen felhasználása felé.

A fotoszintetikus RC-ok használhatóságával kapcsolatos legfőbb kihívás az, hogy az eszközökbe történő beépítés során meg tudják őrizni a töltésszétválasztás magas kvantumhatásfokát biztosító mechanizmusokat. Ebből adódóan számos laboratóriumban hatalmas erőfeszítéseket tesznek az ilyen rendszerek fejlesztésére és a fotovoltai hatás kihasználására.

A *Rhodobacter (Rb.) sphaeroides* bíborbaktérium RC-a egyike a legjobban tanulmányozott fehérjekomplexeknek. Különféle növényi és baktériumsejtekből ((Oda 2010); (C. F. Meunier 2010)), valamint membránrészekből (C. F. Meunier 2009) egyaránt alakítottak már ki biokompozitokat.

A fotoaktív bio-nanokompozitok, azokon belül is a kötött reakciócentrumot tartalmazó struktúrák bioszenzorok aktív elemeként is alkalmazható. A bioszenzorok ideális esetben reagens hozzáadása nélkül képesek szelektíven és reverzibilisen érzékelni egy adott biológiai komponens valamilyen tulajdonságát. Ennek hatására valamilyen fizikai-kémiai paraméterük megváltozik, ami az analitikai jel átalakulásához (kialakulásához) vezet.

3. Célkitűzés

Projektünk célja egy olyan 3D nyomtatott háromelektrodos mikrofluidikai cella létrehozása volt, amelynek munkaelektrodját BC–ZnO–MWCNT/RC kompozit, ellen- és referenciaelektrodját pedig platina és Ag/AgCl alkotja. A rendszerrel a *Rhodobacter sphaeroides* R-26 bíborbaktériumból kinyert bakteriális reakciócentrum-fehérjének az aktivitását szeretnénk volna igazolni a megvilágítás hatására keltett fotoáram mérésével.

A fenti elektrokémia méréshez szükséges mikrofluidikai cella előállításához célul tűztük ki a megfelelő nyomtatási alapanyag kiválasztását, az ideális nyomtatási paraméterek megtalálását, valamint a cellakivitel optimalizálását.

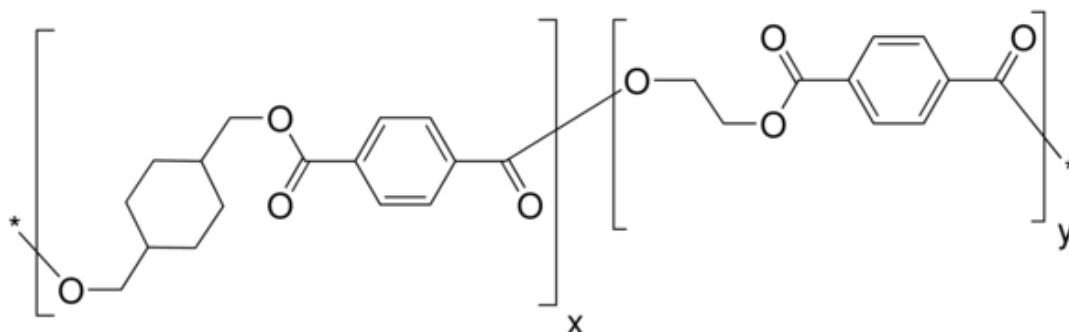
A kísérletünk során létrejött bio-nanokompozit morfológiai jellemzését, és egyben a RC rögzítésének sikerességét pásztázó elektronmikroszkóppal készült strukturális felvételekkel kívántuk ellenőrizni. Az RC és a BC–ZnO–MWCNT hibrid membrán közötti kémiai kötések létrejöttének a hatékonyságát diszperzív röntgendiffrakciós módszerrel (EDAX) terveztük vizsgálni.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Anyagok

4.1.1. Nyomtatási alapanyagok

A 3D nyomtatáshoz átlátszó PET-G nyomtatószálakat használtunk: a próbatestek nyomtatásához a 3DJAKE márka termékét, a mikrofluidikai cellák nyomtatásához ez utóbbi mellett Extrudr márkájút is. A PET-G módosított glikolt tartalmazó polietilén-tereftalát kopolimer (2. ábra). A kedvező mechanikai tulajdonságai a glikolnak köszönhetően kiválóan alkalmassá teszik 3D nyomtatáshoz. Ötvözi a PLA (könnyű nyomtathatóság és jó méretpontosság) és az ABS (jó ütésállóság és hőállóság) legelőnyösebb tulajdonságait: deformálódás nélkül ellenáll a magas hőmérsékletnek, és a nyomtatott objektum mechanikailag erős. Alacsony hőtágulási együtthatóval rendelkezik, nem vetemedik, nem rideg, kémiai ellenálló. A PLA-hoz képest alacsonyabb sebességgel lehet nyomtatni, hűtést azonban kevésbé igényel.



2. ábra: PET-G szerkezeti képlete.

Forrás: <https://www.sigmaaldrich.com/HU/en/product/aldrich/429252>

Kiváló optikai és mechanikai tulajdonságainak köszönhetően számos alkalmazási területe van: ideális funkcionális részek nyomtatására, illetve minden olyan alkalmazásra, ahol PLA használatos, azonban a PLA-nál szívósabb és jobb hőállósággal rendelkező darabok állíthatók elő belőle. A projektünk szempontjából megemlítendő, hogy higroszkópos anyag. A bonyolult kémiai folyamat nem okozza ugyan a szál törését, de befolyásolja a nyomtatás és a nyomtatott darab minőségét.

A nedvességgel való telítődés negatív hatással van a polimer szakítószilárdságára és tisztaságára. A nedves PET-G nyomtatása során légbuborékok képződnek, amelyek gyengítik a rétegtapadást, nemkívánatos felületi egyenetlenségeket okoznak és az átlátszóságot is rontják.

Nyomtatásához fűtött tárgyasztal ajánlott, fűtetlen tárgyasztalon tapadást segítő anyagok használata javasolt. A nyomtatás során nem keletkezik kellemetlen szag. A nyomtatószálat hűvös és száraz helyen, UV fénytől távol érdemes tárolni.

Az 1. táblázat a felhasznált nyomtatószálat anyagi tulajdonságait tartalmazza.

	3DJAKE	Extrudr
Ajánlott nyomtatási hőmérséklet	230–250 °C	210–230 °C
Ajánlott tárgyasztal-hőmérséklet	60–80 °C	60–70 °C
Átlátszóság	90%	
Szakítószilárdság	50 MPa	51 MPa
Hajlítószilárdság	69 MPa	68 MPa
Átmérő	1,75 mm vagy 2,85 mm	1,75 mm vagy 2,85 mm
Szín	átlátszó	átlátszó
Kapható tekercsek tömege	250 g, 1000 g, 2300 g	1100 g, 2500 g, 10000 g

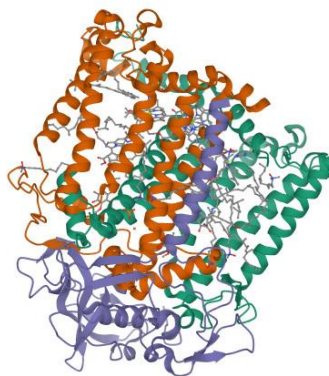
1. táblázat: 3DJAKE és Extrudr márka átlátszó PETG filamentjeinek tulajdonságai

4.1.2. A reakciócentrum-fehérje

A méréseinkhez használt reakciócentrum-fehérjéket *Rhodobacter sphaeroides* R-26 bíorbaktériumból preparáltuk (3. ábra).

Az R-26 karotinoidmentes *Rb. sphaeroides* törzset Siström tápoldatban (Siström 1962) tenyésztettük ftoheterotróf módon, anaerob körülmények között. A RC-ok szolubilizálása a fotoszintetikus membránból N,N-dimetil-dodecil-amin-N-oxid (LDAO) detergens segítségével történt. A fehérje tisztításához ammónium-szulfátos kicsapást, illetve anioncserélő kromatográfiát alkalmaztunk (Tandori J. 1995).

A baktériumtenyésztést és a reakciócentrum-fehérjék kinyerését Laskay Gáborné végezte a laboratóriumunkban.



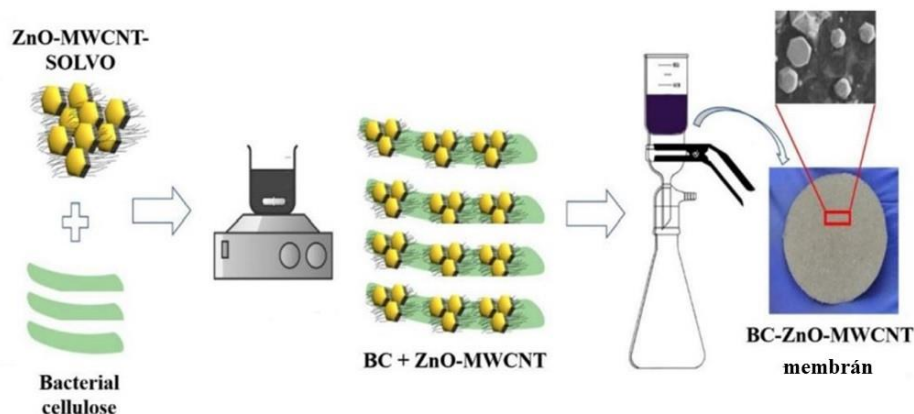
3. ábra: *Rhodobacter sphaeroides* reakciócentruma

Forrás: <https://www.rcsb.org/structure/1fnp>

4.1.3. Nanokompozit membránok

Az elektrokémiai kísérletekhez a reakciócentrum-fehérjét megkötő BC (bakteriális cellulóz)–ZnO (cink-oxid)–MWCNT (többsfalú szén nanocső) nanokompozit membránokat használtunk, amelyeket Dr. Németh Zoltán laboratóriuma (Miskolci Egyetem) készített el számunkra. Ezek előállítása során meghatározott mennyiségű BC-szálat 15 ml (100%-os) etanolba mártottak. Eközben ZnO-MWCNT-SOLVO kompozit adalékanyagokat 50 ml etanolban 15 percig szonikáltatták, majd a BC szuszpenziót hozzáadták a ZnO–MWCNT–SOLVO szuszpenzióhoz, és az elegyet 5 órán át 300 1/perc fordulatszámon keverték. Végezetül a BC alapú hibrid membránokat PTFE (poli(tetrafluoretilén)) membránon keresztül történő vákuumszűréssel állították elő úgy, hogy elérjék a 8 mgcm^{-2} (100 mg teljes tömeg/membrán) felületi sűrűséget, végül levegőn szárították. (4. ábra, (El Mrabate B 2020)).

A kísérletünkhöz használt nanokompozit membránok ZnO/MWCNT tartalma 50 m/m% voltak.



4. ábra: A BC–ZnO–MWCNT nanokompozit membránok előállításának folyamata

Forrás: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103232>

4.2. Módszerek és felhasznált eszközök

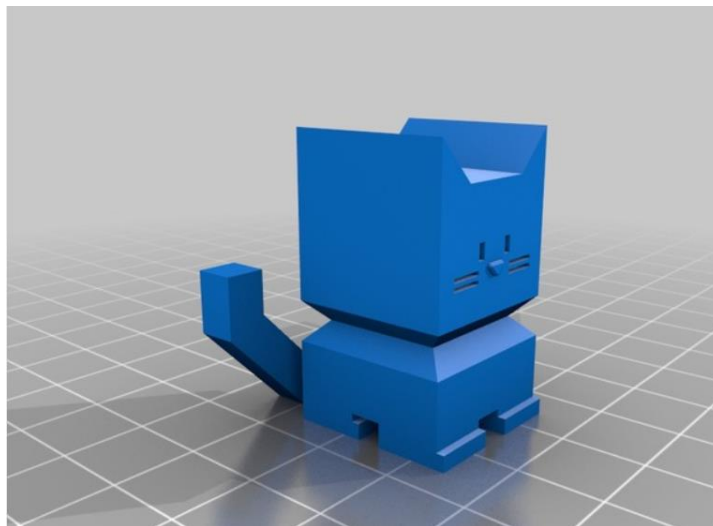
4.2.1. A bio-nanokompozit membrán preparálása

A RC-okat kémiaiilag kötöttük a BC–ZnO–MWCNT nanokompozit membránhoz. Első lépésként a BC–ZnO–MWCNT membránt szilanizáltuk, amelynek során 2 v/v% toluol/3-aminopropil-trietoxiszilán (APTES) oldatot áramoltattunk át a membránon, majd hagytuk megszáradni. Ezt követően a szilanizált membránt 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (0,5 mg/ml, EDC) és N-hidroxi-szukcinimid (0,15 mg/ml, NHS, Sigma-Aldrich) keverékével aktiváltuk. Az aktiválási folyamatot infúziós pumpa segítségével végeztük el, amely során 4 ml/h sebességgel áramoltattuk át a keverékünket a nanokompozit membránon. Végezetül 0,18 μ M koncentrációjú R-26/trisz-(hidroximetil)-amino-metán (TRIS, 20 mM, pH 8,0) oldatot áramoltattunk át az aktivált membránon 5 ml/h sebességgel. Utolsó lépésként a kémiaiilag nem, mindössze fizikailag kötődött RC-okat detergenses mosással távolítottuk el a kompozitból.

4.2.2. CAD-tervezés és modellezés

4.2.2.1. Kalibráló modell

A projektünk szempontjából elsődleges volt a nyomtatott darabok megfelelő átlátszóságának és az ezt biztosító mechanikai tömörségnek az elérése. Ennek vizsgálatához a „Thingiverse” 3D nyomtatási szakportálról származó, „Cali Cat” nevű objektumot használtuk, amelyet 3D nyomtatós körökben széles körben használnak kalibrálásra. A Cali Cat modell háromdimenziós megjelenését a 8. ábra mutatja be, az eredeti struktúra geometriai paramétereit a 2. táblázat tartalmazza. A gyorsabb nyomtatás érdekében a beolvasott „Cali Cat” objektum méretét 50%-kal csökkentettük.



5. ábra: A „Cali Cat” modell

Forrás: <https://www.thingiverse.com/thing:1545913>

Test mérete	20 × 20 mm
Magasság	35 mm
Farok mérete	5 × 5 mm
Lejtések és túlnyúlások	45°
Nyomtatási idő	~1 óra (sebességfüggő)

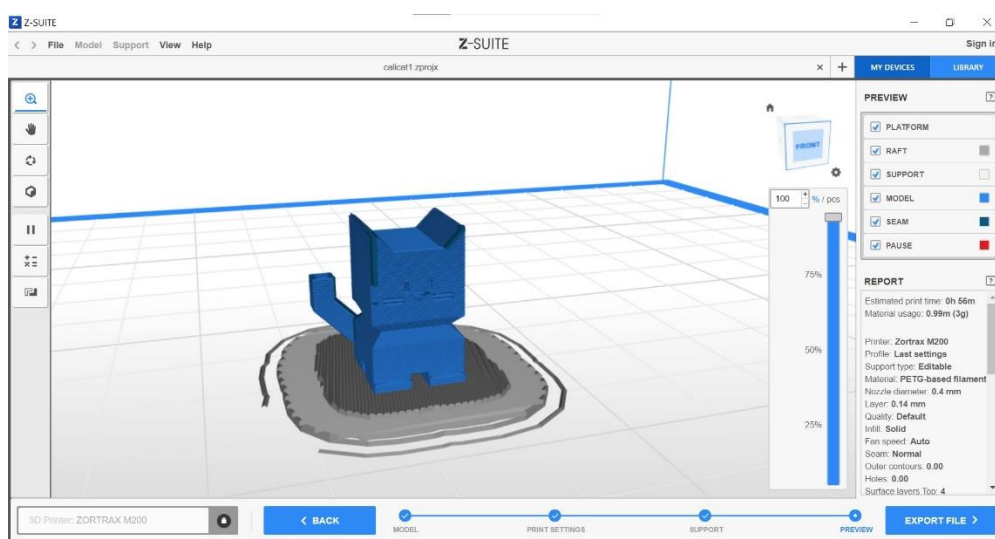
2. táblázat: Az eredeti „Cali Cat”modell paramétereit

Forrás: <https://www.thingiverse.com/thing:1545913>

4.2.3. Szeletelőszoftverek

A projektünk kezdeti szakaszában a Zortrax M200 3D nyomtató saját, Z-Suite márkanévű szeletelő- és nyomtatás-előkészítő szoftverében dolgoztam.

A Z-Suite elsődleges céleszközei a Zortrax cég 3D nyomtatói, de a szoftver képes kezelni más LCD nyomtatókat is. A program korlátozott szerkesztési képességekkel rendelkezik, amelyek lehetővé teszik az importált modell több részre osztását vagy méretezését. Bár a Z-Suite letisztult felhasználói felülete (8. ábra) csak szűk beállítási lehetőségeket hagy a felhasználó számára, az alapvető szeletelési igényeknek megfelelő szoftver. Négy kitöltési opcióval rendelkezik, beállítható a platform és az extruder hőmérséklete, százalékosan változtatható az anyag átfolyási sebessége és a nyomtatás sebessége. A program lehetőséget kínál a felhasználó számára többféle filament nyomtatási paramétereinek beállításához, automatikusan kijavítja a törött hálókát, lehetővé teszi a tartószerkezetek létrehozását, valamint megbecsüli az anyagigényt, illetve a nyomtatási időt.

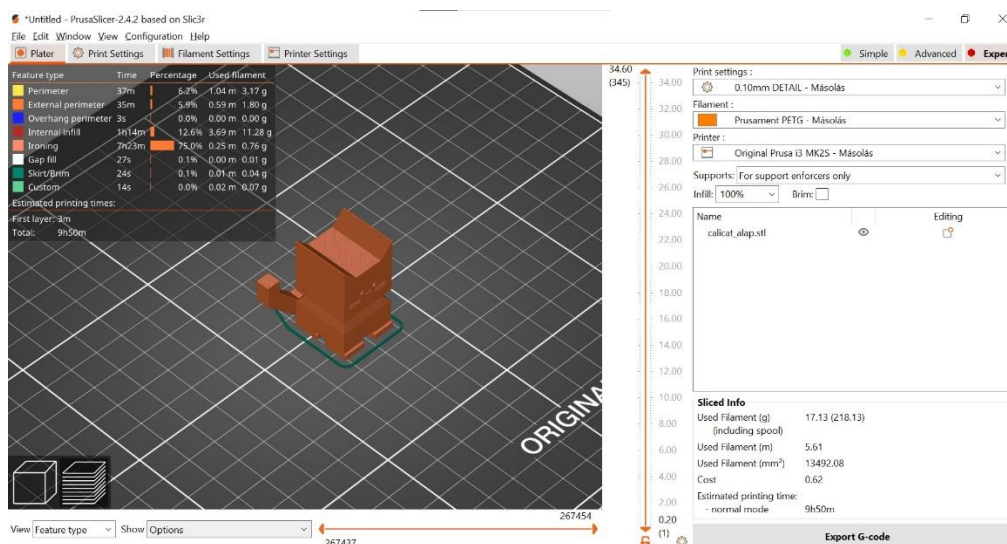


8. ábra: 3D modell a Z-Suite szeletelőszoftverben

A projektünk előrehaladtával azt tapasztaltuk, hogy a Zortrax M200 nyomtató – elsősorban a zárt forráskódja és a Z-Suite korlátozott beállítási lehetőségei miatt – egy bizonyos ponton túl nem képes jobb minőségű objektumot nyomtatni, így egy nyílt forráskódú és kifinomultabb nyomtatásra képes eszközre, az Original Prusa i3 MK3S+ típusú nyomtatóra tértünk át.

A projektnek ebben a szakaszában a nyomtatócsalád ingyenesen hozzáférhető szeletelőszoftverét, a PrusaSlicert használtam. A PrusaSlicer 2019 közepéig „Slic3r Prusa Edition” néven volt ismert. Számos fejlett funkciójával azon kevés szeletelőszoftverek közé tartozik, amelyek mind az FDM, mind az SLA / DLP 3D nyomtatókhoz használhatók. Lehetővé teszi a haladó felhasználók számára, hogy létrehozzák saját objektumaikat, és új funkciókként adaptálják azokat.

Három felhasználói módja van: a kezdők csak a legalapvetőbb beállításokat látják, a haladó felhasználók a számukra legoptimálisabbra hangolhatják a nyomtatókat, a középszintű felhasználók pedig csak egy leszűkített beállításkészlethez férnek hozzá. A szoftver felhasználói felülete (9. ábra) könnyen navigálható, és olyan praktikus többletbeállításokkal rendelkezik a Z-Suite-hoz képest, mint a támaszok szerkeszthetősége, illetve az extruder haladási útvonalának megjelenítése a nyomtatást megelőzően.



9. ábra: 3D objektum a PrusaSlicer szoftverben

A nyomtatási eredmény optimalizálásának érdekében számos beállításra van lehetőség ezekben a szoftverekben. A leglényegesebb paraméterek, amelyek beállításával, változtatásával érdemleges előhaladást értem el a nyomtatás minőségében a nyomtatás sebessége, a hőmérséklet és az extruderen áthaladó anyag áramlási sebessége voltak. A Prusa nyomtató esetén kiemelő a simítást és többletanyag bevitelét magában foglaló vasalási funkció, amely segített a felületi minőség és az átlátszóság javításában.

4.2.4. 3D nyomtatók

Az első próbamodellekhez Zortrax M200 típusú 3D nyomtatót (10. ábra) használtunk, amely a dedikált filamentumválasztéknak (pl. Z-ABS, Z-PLA, Z-PET-G) köszönhetően nagy méretpontosságával, megbízhatóságával és kiváló reprodukálhatóságával emelkedik ki a hasonló teljesítőképességű nyomtatók közül.



10. ábra: A Zortrax M200 3D nyomtató

Forrás: <https://www.3dbeginners.com/zortrax-m200-review/>

A Prusa i3 MK3S+ (11. ábra) a RepRap Core Developer Prusajr legnépszerűbb 3D nyomtatója. Az i3 MK3S+ modell három korábbi Prusa-dizájn legelőnyösebb tulajdonságait ötvözi. Felépítésében a leglátványosabb különbség a Zortrax M200 nyomtatóhoz képest a Z tengely menti mozgásnál észlelhető, hiszen ennél a nyomtatónál maga a platform mozog, nem pedig a fűvóka.



11. ábra: Original Prusa i3 MK3S+ 3D nyomtató

Forrás: <https://prusa.hu/shop/prusa-i3-mk3s/>

Az 3. táblázat a két nyomtató legfontosabb műszaki specifikációit foglalja össze:

	Zortrax M200¹	Original Prusa i3 MK3S+²
Technológia	FDM	FDM
Tömeg	14,5 kg	7 kg
Nyomtatószál átmérő	1,75 mm	1,75 mm
Fúvókaátmérő	0,4 mm	0,4 mm
Maximális nyomtatási térfogat	200 mm × 200 mm × 180 mm	250 mm × 210 mm × 210 mm
Extruderek száma	1	1 (bővíthető)
Platform	perforált	rugalmas, perforálatlan
Maximális nyomtatási hőmérséklet	290 °C	300 °C
Maximális platformhőmérséklet	105 °C	120 °C
Támaszték	mechanikailag eltávolítható	mechanikailag eltávolítható
Rétegvastagság	90–390 µm	50–350 µm
Minimális falvastagság	0,45 mm	0,05 mm
Méretpontosság	±0,2%	±0,1%
Kapcsolódás	SD kártya	SD kártya, WiFi

3. táblázat: A Zortrax M200 és az Original Prusa i3 MK3S+ nyomtatók műszaki specifikációi

4.2.5. Spektrofotométer

Az egyes beállítások mellett készült mintadarabok átlátszóságának vizsgálatához Thermo Helios Gamma spektrofotométert használtunk, amellyel a minták transzmittanciáját tudtuk mérni. A berendezés egy kétsugaras spektrofotométer, amely a fényforrásból kilépő fényt két nyálábra bontja fel: ezek egyike a referencián (a mi esetünkben a referencia levegő volt), a másik pedig a mintán halad keresztül. A minta transzmittanciája a két fényútban mért áthaladó intenzitás hányadosából származik.

4.2.6. Pásztázó elektronmikroszkópia

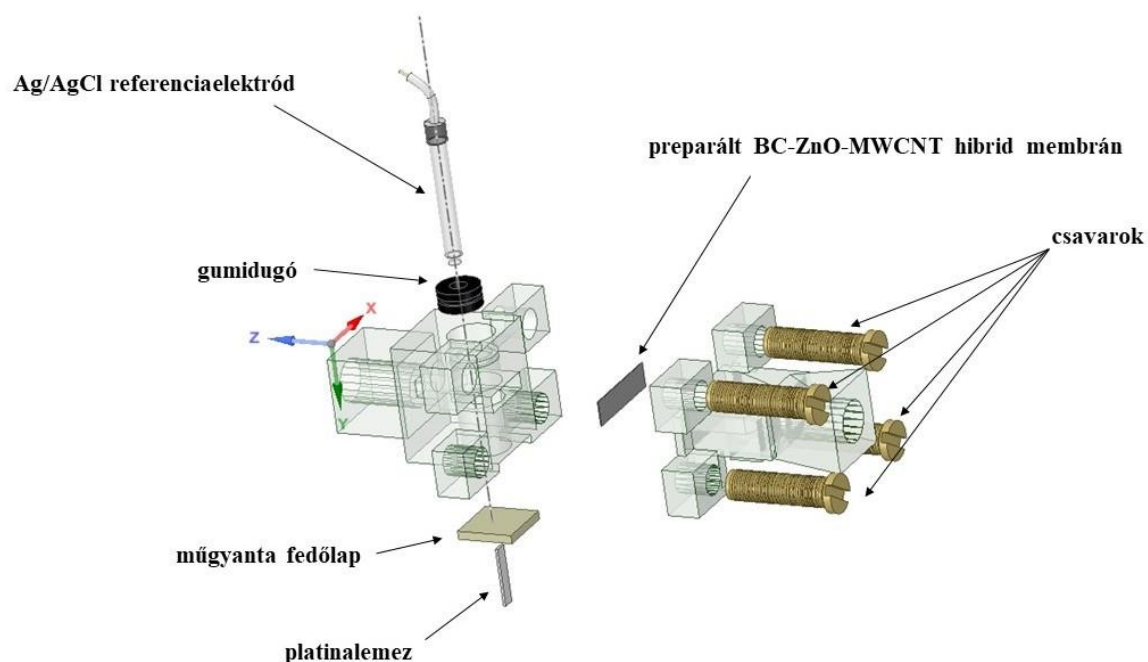
A preparált minták morfológiáját Hitachi S4700 típusú elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. A pásztázó elektronmikroszkóp fókuszált elektronnyalábbal vizsgálja a mintát. A mintára érkező elsődleges elektronok a mintáról részben visszaszóródnak (visszaszórt elektronok), részben pedig a mintából másodlagos (szekunder) elektronokat váltanak ki. Megfelelő detektor használatával a berendezéssel energiadisperzív röntgenspektroszkópia (EDAX) végezhető, amelynél a detektor észleli a minta gerjesztésének hatására felszabaduló röntgenfotonokat. A karakterisztikus röntgensugárzásból kapható meg az EDAX-spektrum, amely az elektronátmeneteket tükrözi, így a minta anyagi minőségére jellemző.

A mintáinkat három különböző fázisban vizsgáltuk: a preparálás előtti BC–ZnO–MWCNT hibrid membránt, a szilanizálási fázis után kapott membránt, illetve a RC-ot megkötött membránt. Ezen eljárással – a különböző fázisban lévő minták kémiai minőségének feltérképezésén keresztül – ellenőrizni tudtuk a mintapreparálás sikerességét.

A méréseket az SZTE TTIK elektronmikroszkóp laboratóriumában végeztük, a felvételek elkészítésében Dr. Tóth Zsolt volt segítségünkre.

4.3. Cellamodell és elektrokémiai mérések

Az elektrokémiai mérésekhez egy három elektródával rendelkező mikrofluidikai cellát terveztünk. A tervünk alapját a csoportunk korábbi közleményében (C. R. Szabó T. 2017) ismertetett cellaterv képezte, amelyet a PET-G anyagú előkísérletek tanulságai alapján optimalizáltunk. A végleges mikrofluidikai cellát és az elektródok elrendezését a 12. ábra szemlélteti.



12. ábra: Az elektrokémiai mérésekhez használt, 3 elektróda befogadására alkalmas cella sematikus kivitele

A három elektróda befogadására alkalmas 3D nyomtatott elektrokémia cellában a RC-ot tartalmazó BC–ZnO–MWCNT nanokompozit membrán szolgált munkaelektrodként, ellenelektrodként platinát, referenciaelektrodként pedig Ag/AgCl elektródot használtunk (Yoon-Mee, 2006; Szabó, 2015). A mérések során 2,3-dimetoxi-5-metil-1,4-benzokinon (UQ-0, Sigma) és ferrocén szolgáltak mediátorként. A tervezett cella belső mikrofluidikai kamrájának térfogata 220 μl volt. A mintát 150 W-os halogénlámpa fehér fényével világítottuk meg, a fény által a cellában kiváltott változásokat Metrohm PGSTAT204 típusú potenciosztáttal/galvanosztáttal mértük szobahőmérsékleten.

A mérések során alkalmazott elektrolitpuffer 20 mM TRIS-t (pH 8,0), 100 μM UQ-0-t és 20 μM ferrocént tartalmazott. Referenciapufferként 0,006 v/v% N,N-dimetil-dodecil-amin-N-oxid (LDAO)/TRIS keverékét használtuk. Az alkalmazott potenciál -60 mV volt az Ag/AgCl elektródhoz viszonyítva. A fotoáram vizsgálatához 60 másodpercig világítottunk meg a mintát.

5. Eredmények

5.1. A nyomtatási paraméterek optimalizálása

A 3D nyomtatásnál számos paraméter befolyásolhatja a nyomtatott objektum mechanikai és optikai tulajdonságait, például a nyomtatófej és a környezet hőmérséklete, valamint a nyomtatási sebesség. A PET-G anyagú FDM nyomtatás során tipikus minőségi hibákkal is számolnunk kellett, köztük a minta oldalának a fodrozódásával, a szálasodással és a túlolvasztással. Az alábbiakban a nyomtatási paraméterek optimaizálása terén elért eredményeink tekintem át.

5.1.1. Zortrax M200 nyomtató

A beállított nyomtatási paraméterek a szeletelőszoftver adatbázisában megtalálható, márkafüggetlen PET-G alapú filamentekhez javasolt profilon alapulnak (MATERIAL | PETG-BASED FILAMENT). Próbanyomtatásaim során a nyomtatási sebességet (PRINT SPEED), az extruder áramlási arányát (EXTRUDER FLOW RATIO), az extrudálási hőmérsékletet (EXTRUSION TEMP.), a tárgyasztal hőmérsékletét (PLATFORM TEMP.), a visszahúzási sebességet (RETRACTION SPEED), a visszahúzási távolságot (RETRACTION DISTANCE) és a ventilátor sebességét (FAN SPEED) változtattam. A paraméterek változtatási mintázatát a 4. táblázat foglalja össze.

Kiindulásképpen – a *Printables* 3D nyomtatási portálon átlátszó PET-G nyomtatásához javasolt paraméterkészlet alapján –50%-kal redukáltam a nyomtatási sebességet a nyomtatás lassításához, miközben 5%-kal növeltem az extruder áramlási arányát a minta jobb kitöltéséhez (ezáltal elkerülhetők a levegőbuborékok a mintában). Extrudálási hőmérsékletnek 254 °C-ot, a tárgyasztal hőmérsékletének 30 °C-ot választottam. A visszahúzási sebességet 30 mm/s-ra, a visszahúzási távolságot pedig 3 mm-re állítottam, a ventilátor fordulatszámát automatikusan vezérelte a 3D nyomtató.

- Az első próbaminta elkészülte után a nyomtatási sebességet növeltem –40%-ra, –30%-ra, –20%-ra, majd –10%-ra, a többi paramétert változatlanul tartva. A minták szemrevételezéses összehasonlítása után megállapítottuk, hogy mind az átlátszóság, mind a minta felületi minősége szempontjából a legoptimálisabb belső struktúra –30%-os sebességbeállítás mellett adódott.
- Ezt követően az extruder áramlási arányát módosítottam az eredeti +5%-ról +3%-ra, +6%-ra és +8%-ra. A +5%-os és a +6%-os objektumoknál kaptunk olyan eredményt, amelynél a legoptimálisabb volt az átlátszóság és a tömörség.
- A továbbiakban a nyomtatási hőmérsékletet csökkentettem 252 °C-ra, illetve növeltem 256 °C-ra, mindkettő hőmérsékleten nyomtattam +5%-os és +6%-os extrudálási áramlással is. 252 °C-on jelentősen leromlott a minta átlátszósága, a 256 °C-on azonban kapott eredmények jobbnak bizonyultak. Az extrudálási áramlás két beállítása közül +5%-nál lett jobb a minta kitöltése, így ezzel dolgoztam tovább.
- Végül azt vizsgáltam meg, milyen hatással van a nyomtatás eredményére a ventilátor fordulatszám-beállítása: az AUTO beállításról állítottuk át 100%-ra, majd 50%-ra a fordulatszámot. A 100%-os értéknél rosszabb lett az átlátszóság, mint az automatikus beállításnál, azonban az 50%-os érték javított a minta tömörségén.

Az optimalizálás során nyomtatott „Cali Cat” modellek a 13. ábrán láthatók.



13. ábra: A nyomtatott „Cali Cat” modellek

5.1.2. Original Prusa i3 MK3S+ 3D nyomtató

Mivel a Zortrax nyomtató és annak szeletelőszoftvere az előző fejezetben említett beállításokon túl bővebb hangolást nem tett lehetővé, a további optimalizálás érdekében áttértünk a Prusa i3 MK3S+ típusú 3D nyomtatóra, valamint a PrusaSlicer szeletelőszoftver használatára. Három különböző nyomtatási beállítás tesztelésével kezdtük a nyomtatást (5. táblázat):

- a PrusaSlicer PET-G anyag használatához javasolt alapbeállításával,
- a Zortrax nyomtatóval kapott legjobb nyomtatási paraméterekkel (lásd 4. táblázat 3.0.2.2 mintáját), illetve
- a „Printables” 3D nyomtatós portálon transzparens PET-G nyomtatásához javasolt beállításokkal.

A három alapbeállítás részleteit a 5. táblázat foglalja össze. A három vizsgált beállításkészlet közül a „Printables” javaslatai alapján kapott eredmény bizonyult átlátszóság és szerkezet szempontjából a legjobbnak, így a további optimalizálás ebből indult ki. A főbb paraméterváltoztatások a 6. táblázat alapján követhetők végig.

	PET-G alapbeállítások	3.0.2.2 minta	„Printables” javaslatai
rétegvastagság (mm)	0,15	0,14	0,1
tömör felső réteg (db)	8	1	0
minimális felsőhéj-vastagság (mm)	0,7	0,01	0,01
tömör alsó réteg (db)	5	1	0
minimális alsóhéj-vastagság (mm)	0,5	0,01	0,01
kitöltési sűrűség	100%	100%	100%
kitöltési mintázat	egyenes vonalú	egyenes vonalú	egyenes vonalú
vasalás engedélyezése	nem	nem	nem
nyomtatási sebességek (mm/s):			
-peremek	50	32	32
-kis peremek	25	18	18
-külső peremek	40	28	28
-kitöltés	60	56	56
-tömör kitöltés	50	56	56
-felső tömör kitöltés	40	28	28
-segédanyag/támaszték	50	35	35
-hidak	25	17	17
-réskitöltés	40	8	28
-üresjárat	180	180	150
-Z irányú üresjárat	12	12	20
extrudálási szorzó	1	1,05	1,01
fúvókahőmérséklet (°C)	240–250	256	265
platform hőmérséklete (°C)	85–90	0	70
automatikus hűtés engedélyezése	igen	igen	nem
ventilátor sebessége (%)	30–50	30–50	30–50
visszahúzási távolság (mm)	0,8	3	3,05
visszahúzási sebesség (mm/s)	35	30	30
híd áramlási aránya	1	0,95	0,95

5. táblázat: Kiindulási beállításkészletek a Prusa i3 MK3S+ nyomtatónál

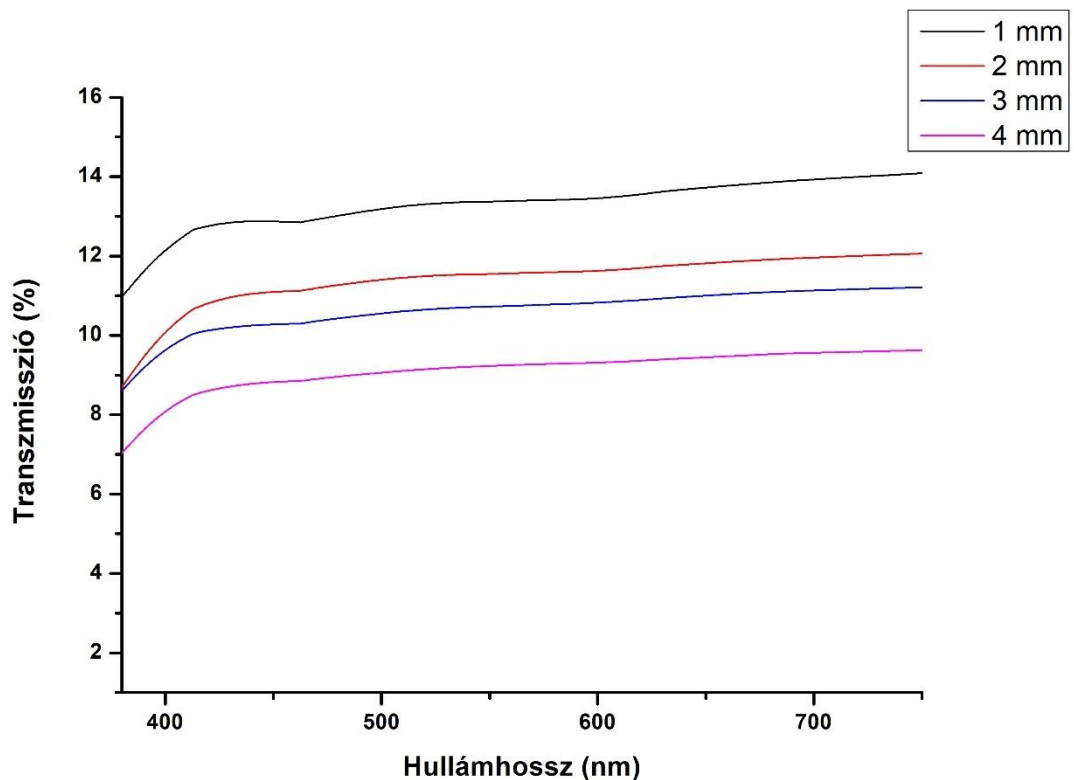
Minta jele	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
Kiindulási alap	„Printables”	F	G	H	H	H	H	I	I	N	O	O	Q
Változtatások:													
-kitöltési mintázat	irányított egyenes vonalú												
-kitöltési szög		0°											
-fűvóka hőmérséklete (°C)			267					269					
-kitöltés/perem átfedése (%)			15	35	45	37	30						
-vasalás engedélyezése									igen				
-vasalás típusa									Összes tömör felszín				
-vasalás áramlási aránya (%)									15	5	1	5	
-vasalási helyek közötti távolság (mm)									0,1	0,12	0,1	0,1	
-vasalás sebessége (mm/s)									15	50			56

6. táblázat: A beállítások optimalizálása a Prusa i3 MK3S+ nyomtatónál

Az eredményeket összehasonlítva az „R” jelű minta beállításkészletét találtuk a legjobbnak, elsősorban a „vasalás” funkciónak köszönhetően.

5.2. Spektrofotometriai vizsgálatok

A projekt nyomtatásoptimalizálási szakaszában a mintadarabok optikai jellemzőit szemrevételezéssel ellenőriztük. A vizuális benyomások validálásához az „I” jelű minta (lásd a 6. táblázatot) paraméterkészletével háromszor kinyomtattam a 4.2.3 fejezetben ismertetett, spektrofotometriai mérésekre alkalmas modellt. A három minta transzmittanciáját a látható tartományban (380–750 nm) mértem le, az ezekből számolt átlagos spektrumokat a 14. ábra mutatja be a rétegvastagság függvényében.



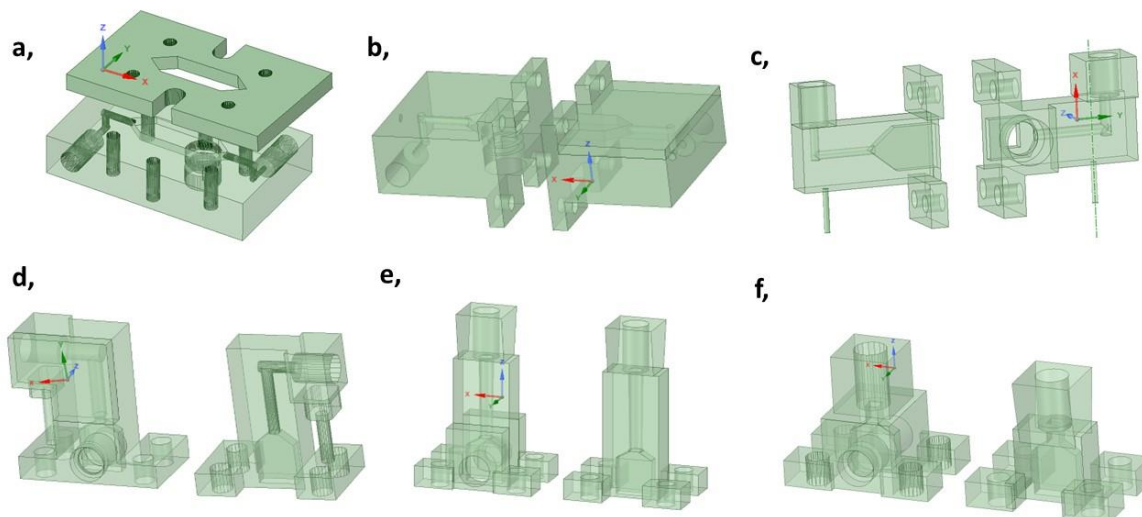
14. ábra: Az „I” jelű minta paraméterkészletével nyomtatott minta transzmittanciája különböző rétegvastagságoknál

A kapott eredmények alapján azt a fő következtetést vontuk le, hogy a minta gerjesztésére szolgáló bevilágítási ablak (a legalább 10%-os transzmittancia eléréséhez) nem lehet 2,5 mm-nél vastagabb.

5.3. A cella optimalizálása

A mikrofluidikai cella kivitelének evolúcióját a 15. ábra szemlélteti. A projektünkre optimalizált, a) jelű cella egy-egy cellafelének nyomtatása (a 6. táblázatban feltüntetett „R” paraméterkészlettel) kb. 7 órát vett igénybe. A nyomtatási időt a cella azon részeinek a kimetszésével rövidítettük le, amelyek nem voltak szükségesek a cella működéséhez. Ezáltal a b) jelű cellával kb. 3 órára sikerült lecsökkenteni a nyomtatási időt. Ezeken a cellaprototípusokon megfigyelhető volt, hogy a belső struktúrákat nem megfelelően nyomtatta a nyomtató, ennek orvoslására dolgoztam ki a c) jelű modellt. A c) és d) jelű cellák esetén 1 és 3 mm-es hengereket terveztem a cellához, amelyek támasztó objektumként

szolgáltak a modellek nyomtatása során, elősegítve a nyomtatást. Ezeket a támasztékokat a nyomtatás után könnyen el lehetett távolítani.

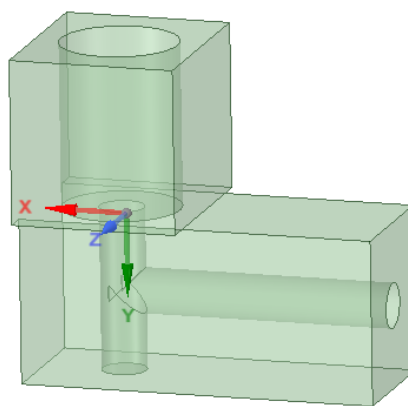


15. ábra: A mikrofluidikai cella optimalizálási lépései:

- a, a korábbi kísérletben használt cella modellje;
- b, a projektünkre optimalizált kezdeti cella;
- c, a nyomtatási idő csökkentése;
- d, a belső csatornák méretpontosságának biztosítása;
- e, a csatornák könnyebb tisztíthatósága;
- f, a nyomtatási idő csökkentése.

Elektrokémiai méréseinket a d) jelű cellával kezdtük el, azonban arra derült fény, hogy ebben a kialakításban nehézkes a belső csatornák tisztítása, emiatt átterveztem a cella kivitelét (e) jelű modell), majd a felső csatornarészlet lerövidítésével alakult ki a kb. 2 órás nyomtatási idejű végleges cella (f) jelű modell).

A cellák nyomtatása során a legfőbb probléma a belső csatornában jelentkező szálhúzás volt, hiszen ezek a szálak akadályozták volna a pufferek áramlását. Ennek a problémának a megoldásához a cella egy kisebb részletén (16. ábra) végeztem el a nyomtatás optimalizálást.



16. ábra: Cellarészlet a nyomtatási beállítások további optimalizálásához

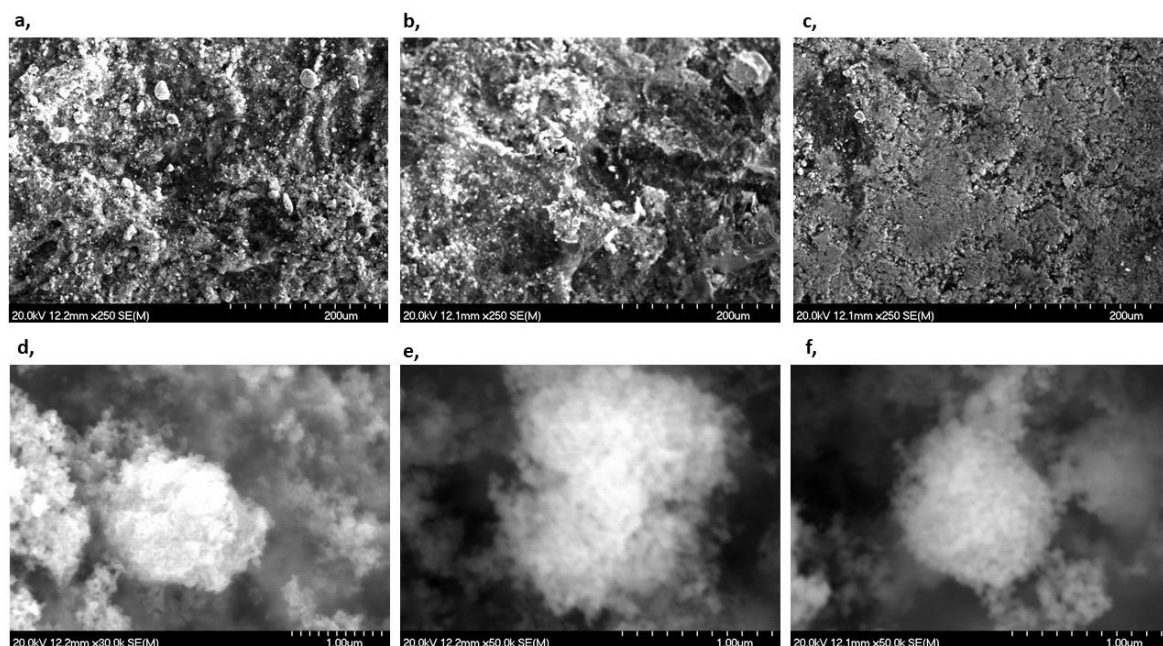
Az optimalizálás (7. táblázat) során a szálhúzás csökkenő tendenciáját figyeltük meg, amelyben komoly szerepe volt a „Peremek keresztezésének kerülése” funkció alkalmazásának.

Paraméterkészlet sorszáma	1.	2.	3.	4.
Vasalás sebessége (mm/s)	50	40		
Vasalás áramlási aránya (%)	5	3	2	1
Üresjárat sebesség (mm/s)	100	50		
Hőmérséklet (°C)	265	263		
Peremek keresztezésének kerülése	nem	igen		

7. táblázat: A cellanyomtatás paramétereinek finomhangolása a szálhúzás elkerülésére

5.4. Pásztázó elektronmikroszkópos strukturális felvételek és EDAX-spektrumok

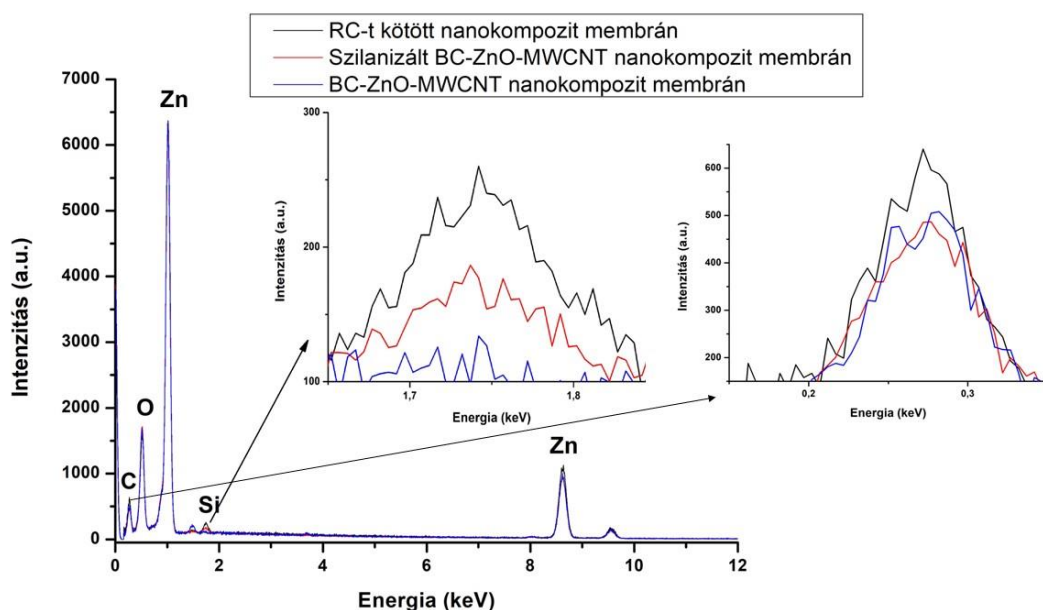
A 17. ábra pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) felvételei a natív hibrid BC–ZnO–MWCNT membrán (*a, d*), a szilanizált BC–ZnO–MWCNT (*b, e*), valamint a RC-ot kötött BC–ZnO–MWCNT felületi szerkezetét (*c, f*) mutatják 250×-es (*a, b, c*) és 50 000×-es (*d, e, f*) nagyításban.



17. ábra: A natív hibrid BC–ZnO–MWCNT membrán (a, d,), a szilanizált BC–ZnO–MWCNT (b, e,) és a RC-ot kötött BC–ZnO–MWCNT felületi szerkezete (c, f,) 250×-es (a, b, c) és 50 000×-es (d, e, f) nagyításban

Egy korábbi tanulmányban (Bilal El Mrabate 2021) különböző módszerrel előállított ZnO-MWCNT mintáknál megállapították, hogy a szén nanocsövek a nagyobb hexagonális ZnO kristályokba (körülbelül 4–5 μm) épültek be. A 17.a–c felvételeken látható világos pontok a ZnO mikrorészecskék homogén eloszlását mutatják a hibrid membrán felületén és a MWCNT a ZnO kristályokba épül be. A 17.c/f felvételeken a felületi egyenetlenség csökkenését bevonatképződéssel magyarázható, ami alapján a RC-ok kötődésére következtethetünk.

A feltételezésünk igazolása érdekében a mintákon elemanalízist végeztünk energiadisperzív röntgenspektroszkópiával (EDAX), melynek összesített spektruma a 18. ábrán látható.

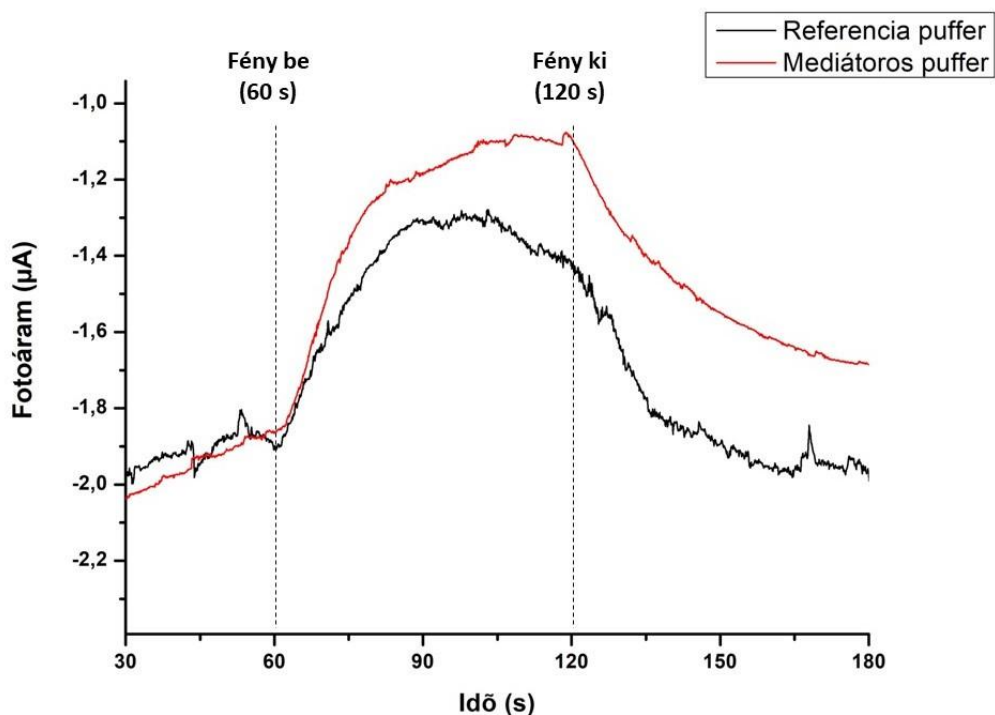


18. ábra: A mintákról származó összesített EDAX-spektrumok. Az ábrán feltüntettük az egyes csúcsokhoz tartozó elemeket, illetve a szénhez tartozó csúcsot kinagyítottuk.

Az észlelt jelek szénből (C), oxigénből (O), cinkből (Zn) és szilíciumból (Si) származnak, megerősítve a BC, a MWCNT és a ZnO együttes jelenlétét a hibrid membránban. A Si csak a szilanizált membránban és a RC-ot kötött membránban volt jelen. Megfigyelhető, hogy a RC-fehérje kötődése után megnövekedett a szén mennyisége a mintában, bizonyítva, hogy a RC sikeresen bejutott a porózus membránba.

5.5. Mérések a mikrofluidikai elektrokémiai cellában

A RC-fehérje aktivitásának megőrződése nyomon követhető a megvilágításra adott válaszkészség megmaradásának ellenőrzésével. A RC-ot kötött BC–ZnO–MWCNT membránt az 5.3 fejezetben bemutatott mikrofluidikai cellában (15.f ábra) munkaelektrodként használva, ellen- és referenciaelektrodként platina- és Ag/AgCl elektródot alkalmazva mértük a megvilágítás hatására keletkező fotoáramot a 12. ábra szerinti elrendezésben. A válaszkészség vizsgálatához a preparátumot 150 W-os fénytjeljesítményű halogén fényforrással világítottuk meg 60 másodpercig. A mért fotoáramokat a 19. ábra szemlélteti.



19. ábra: A mért fotóáramok értékei az idő függvényében

Megfigyelhető, hogy a BC–ZnO–MWCNT membránhoz rögzített reakciócentrum-fehérje fény hatására fotoáramot termel mind a referenciapuffer, mind a mediátoros puffer jelenlétében. A fotoáram a megvilágítás bekapcsolását követően mindkét esetben nagyjából 15 másodperces felfutási idővel éri el az 1 μA -es nagyságrendbe eső maximumát. Amikor a rendszerhez elektrondonor- és akzeptortípusú mediátort (ferrocén, UQ-O) adtunk, kb. 30%-kal nagyobb fotoáram keletkezett. Ezeknek a mediátoroknak a jelenlétében ugyanis folyamatos/többszörös töltésszétválasztás megy végbe a RC-okban: a keletkezett elektronok elszállításáról a kinon (UQ-O) gondoskodik, illetve a jelentkező elektronhiányt a ferrocénmolekula pótolja. A fényforrás kikapcsolásakor a fotoáram azonnal csökkenni kezd, azonban az exponenciális lefutás időállandója mediátor jelenlétében jelentősen kisebb, mint a referenciapuffernél.

Az eredmények alapján tehát megállapítható, hogy a BC-ZnO-MWCNT nanokompozit rendszerben a pigment-fehérje komplex megtartja a fotokémiai aktivitását. Valamint az alkalmazott mediátorok számára a fehérje hozzáférhető és jelenlétük növeli a fotoáram nagyságát.

6. Irodalomjegyzék

- 3DJake PETG Átlátszó. 2022. június. <https://www.3djake.hu/3djake/petg-transparent-1?sai=3405>.
- A. Manz, N. Graber and H. M. Widmer. *Sens. Actuators*, 1990: 1, 244–248.
- Barbosa, W.S., Wanderley, R.F.F., Gioia, M.M. és mtsai. *Additive or subtractive manufacturing: Analysis and comparison of automotive spare-parts*. Jnl Remanufactur, 2021.
- Bilal El Mrabate, Emma Szőri-Dorogházi, Mohammed Ahmed Shehab, Tanya Chauhan, Gábor Muránszky, Emőke Sikora, Ádám Filep, Nikita Sharma, Lilla Nána, Klára Hernádi, Zoltán Németh. „Widespread applicability of bacterial cellulose-ZnO-MWCNT hybrid membranes.” *Arabian Journal of Chemistry*, 2021.
- Chengpeng Chen, a Benjamin T. Mehl, a Akash S. Munshi, a Alexandra D. Townsend, Dana M. Spenceb and R. Scott Martin. *3D-printed microfluidic devices: fabrication, advantages and limitations*. 2016.
- Crump, S. Scott. *Apparatus and method for creating three-dimensional objects. A system and a method for building three-dimensional objects in a layer-by-layer manner via Fused Deposition Modeling*. 1992.
- Csóka B. „Bioszenzorok reakciórétegének vizsgálata pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérés technikával.” *Ph.D. disszertáció*, 2004.
- D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. A. Schueller and G. M. Whitesides. *Anal. Chem.*, 1998: 70, 4974–4984.
- D. J. Harrison, A. Manz, Z. H. Fan, H. Ludi and. *Anal. Chem.*, 1992: 64, 1926–1932.
- Deckard, Carl Robert. Method and apparatus for producing parts by selective sintering. US Szabadalom száma: 4863538. 1989.
- Does PETG Absorb Moisture? Drying Temperatures & Techniques. 2022. június. <https://3dprintingwiz.com/does-petg-absorb-moisture/>.
- Dorogi, M., Bálint, Z., Mikó, C., Vilenó, B., Milas, M., Hernádi, K., Forró, L., Váró, G., Nagy, L. „Stabilization effect of single walled carbon nanotubes on the functioning of photosynthetic reaction centers.” *J. Phys. Chem. B.*, 2006: 110, 21473–21479.
- El Mrabate B, Udayakumar M, Csiszár E, Kristály F, Leskó M, Somlyai Sipos L, Schabikowski M, Németh Z. „Development of bacterial cellulose–ZnO–MWCNT hybrid membranes: a study of structural and mechanical properties.” *R. Soc. Open Sci.*, 2020.
- Extrudr PETG Átlátszó. 2022. június. <https://www.3djake.hu/extrudr/mf-petg-atlatszo>.
- Gabriel Gaal, Melissa Mendes, Tiago P. de Almeida, Maria H.O. Piazzetta, Ângelo L. Gobbi, Antonio Riul Jr. , Varlei Rodrigues. *Simplified fabrication of integrated microfluidic devices using fused deposition modeling 3D printing*. 2017.

- García-Alvarado, R., Moroni-Orellana, G., Banda-Pérez, P. „Architectural Evaluation of 3D-Printed Buildings.” *Buildings*, 2021: 11, 254.
- Hajdu K, Gergely C, Martin M, Zimányi L, Agarwal V, Palestino G, Hernádi K, Németh Z, Nagy L. „Light-harvesting bio-nanomaterial using porous silicon and photosynthetic reaction center.” *Nanoscale Research Letters*, 2012: 7:400-406.
- Hajdu K. „Fotoszintetikus rendszerek biokompozitokban.” *Ph.D. disszertáció*, 2014.
- Hollander MJ, Magis JG, Fuchsenberger P, Aartsma TJ, Jones MR, Frese RN. „Enhanced Photocurrent Generation by Photosynthetic Bacterial Reaction Centers through Molecular Relays, Light-Harvesting Complexes, and Direct Protein-Gold Interactions.” *Langmuir*, 2011: 27(16):10282-10294.
- How to print glass*. 2022. június. <https://www.printables.com/model/15310-how-to-print-glass>.
- Hull W. C. Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography. US Szabadalom száma: 4575330A. 1984.
- Kamran M, Delgado JD, Friebe V, Aartsma TJ, Frese RN. „Biomacromolecules, Photosynthetic protein complexes as bio-photovoltaic building blocks retaining a high internal quantum efficiency.” *Biomacromolecules*, 2014: 15:2833-2838.
- L. Cronin, M. D. Symes, P. J. Kitson, J. Yan, C. J. Richmond, G. J. T. Cooper, R. W. Bowman, T. Vilbrandt. „Integrated 3D-printed reactionware for chemical synthesis and analysis.” *Nat. Chem.*, 2012: 4, 349.
- Mechanical Softver | CAD & 3D Modelling Software | DesignSpark*. 2022. <https://www.rs-online.com/designspark/mechanical-software>.
- Meunier, C. F., Cutsem, P. V., Kwon Y. U., Su B. L. „Thylakoids entrapped within porous silica gel: towards living matter able to convert energy.” *J. Mater. Chem.*, 2009: 19, 1535-1542.
- Meunier, C. F., Dandoy, P., Su, B. L. „Encapsulation of cells within silica matrixes: Towards a new advance in the conception of living hybrid materials.” *Journal of Colloid and Interface Science*, 2010: 342, 2, 211-224.
- Noji T, Kamidaki C, Kawakami K, Shen JR, Kajino T, Fukushima Y, Sekitoh T, Itoh S. „Photosynthetic Oxygen Evolution in Mesoporous Silica Material: Adsorption of Photosystem II Reaction Center Complex into 23 nm Nanopores in SBA.” *Langmuir*, 2011: 27:705-713.
- Oda I, Hirata K, Watanabe S, Shibata Y, Kajino T, Fukushima Y, Iwai S, Itoh S. „Function of Membrane Protein in Silica Nanopores: Incorporation of Photosynthetic Light-Harvesting Protein LH2 into FSM.” *J. Phys. Chem. B.*, 2006: 110:1114-1120.
- Oda, I., Iwaki, M., Fujita, D., Tsutsui, Y., Ishizaka, S., Dewa, M., Nango, M., Kajino, T., Fukushima, Y., Itoh, S. „Photosynthetic electron transfer from reaction center pigment-protein complex in silica nanopores.” *Langmuir*, 2010: 26, 13399–13406.
- Our Story | 3D System* . 2022. június. <https://www.3dsystems.com/our-story>.

- P. J. Kitson, M. H. Rosnes, V. Sans, V. Dragone and L. Cronin. *Lab Chip*, 2012: 12, 3267–3271.
- Paul S. D'Urso, Timothy M. Barker, W. John Earwaker, Lain J. Bruce, R. Leigh Atkinson, Michael W. Lanigan, John F. Arvier, David J. Effeney. „Stereolithographic biomodelling in cranio-maxillofacial surgery: a prospective trial.” *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* Volume 27, Issue 1. szám (1999): Pp. 30-37.
- PET-G - Zen3D. 2022. június. <https://zen3d.hu/fogalomtar/pet-g/>.
- Prusa i3 MK3S+ - Prusa 3D. 2022. június. <https://prusa.hu/shop/prusa-i3-mk3s/>.
- Q. Gao, Yong He, Jian-zhong Fu, An Liu, Liang Ma. „Coaxial nozzle-assisted 3D bioprinting with built-in microchannels for nutrients delivery.” *Biomaterials*, 2015: 61, 203-215.
- Reza Ami, Stephanie Knowlton, Alexander Hart, Bekir Yenilmez, Fariba Ghaderinezhad, Sara Katebifar, Michael Messina, Ali Khademhosseini, and Savas Tasoglu. *3D-printed microfluidic devices*. 2016.
- S. C. Jacobson, R. Hergenroder, L. B. Koutny and J. M. Ramsey. *Anal. Chem.*, 1994: 66, 1114-1118.
- S. C. Terry, J. H. Jerman and J. B. Angell. 1979: 26, 1880–1886.
- Savini A., & Savini G. G. *A short history of 3D printing, a technological revolution just started*. Proceedings of the 2015 ICOHTEC/IEEE International History of High-Technologies and Their Socio-Cultural Contexts Conference, HISTELCON 2015: The 4th IEEE Region 8 Conference on the History of Electrotechnologies., 2015.
- Siström, WR. „The kinetics of the synthesis of photopigments in Rhodopseudomonas sphaeroides.” *J Gen Microbiol*, 1962: 28:607–616.
- Szabó T. „Fotoelektromos jelenségek reakciócentrum fehérje-nanohibrid rendszerekben.” *Ph.D. disszertáció*, 2018.
- Szabó T., Csekő Richárd, Hajdú Kata , Krisztina Nagy, Orsolya Sipos, Péter Galajda, Győző Garab, László Nagy. „Sensing photosynthetic herbicides in an electrochemical flow cell.” *Springer Link*, 2017.
- Tandori J., Nagy L., Puskas A., Droppa M., Horvath G., Maróti P. „The IleL229 --> met mutation impairs the quinone binding to the QB-pocket in reaction centers of Rhodobacter Sphaeroides.” *Photos. Res.*, 1995: 45, 135-146.
- Whitaker, Matthew. *The history of 3D printing in healthcare*. 2015.
- Yazdi, Alireza Ahmadian, Adam Popma, William Wong, Tammy Nguyen, Yayue Pan, és Jie Xu. *3D printing: an emerging tool for novel microfluidics and lab-on-a-chip applications*. 2016.
- Zortrax M200 - Award-Winning Desktop 3D printer. 2022. június. <https://zortrax.com/3d-printers/m200-/>.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni a támogatást témavezetőimnek, Dr. Szabó Tibornak és Dr. Égerházi Lászlónak. Köszönöm a rengeteg szakmai útmutatást, segítséget és a sok időt, türelmet, amit rám szántak a dolgozat elkészülése céljából.

Szeretnék köszönetet mondani az SZTE SZAOK-TTIK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézetének, illetve Prof. Dr. Peták Ferenc intézetvezetőnek, hogy a projekt megvalósulásához szükséges körülményeket, berendezéseket biztosították számunkra.

Köszönettel tartozom Dr. Németh Zoltánnak és laboratóriumának a nanokompozit membránok előállításáért.

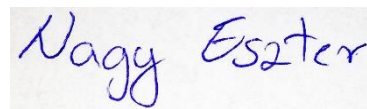
Köszönet illeti Dr. Tóth Zsoltot a SEM mérések során nyújtott segítségéért.

Köszönöm Laskay Gábornénak a sejttenyésztést, illetve a projekt során nyújtott segítségét.

8. Nyilatkozat

Alulírott, Nagy Eszter, molekuláris bionika mérnök BSc szakos hallgató (Neptun azonosító: RMLGWX) „A 3D nyomtatott cellák tervezése és alkalmazása bio-nanokompozit alapú mikrofluidikai rendszerekben” című dolgozat szerzője fegyelmi felelősségem tudatában kijelentem, hogy dolgozatom önálló munkám eredménye, saját szellemi termékem, abban a hivatkozások és idézések általános szabályait következetesen alkalmaztam, mások által írt részeket a megfelelő idézés nélkül nem használtam fel.

Szeged, 2022. november. 14.



.....
aláírás