

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FARMACEUTICKÁ FAKULTA

ÚSTAV TECHNOLOGIE LÉKŮ

BIOPRINTING

Návod a instruktážní video pro předměty „Lékové formy vyšších generací“ a „Cvičení diplomantů“

Mgr. Hana Hořavová

Dagmar Blaháčková

doc. PharmDr. Jan Gajdziok, Ph.D.

Brno 2019

Obsah

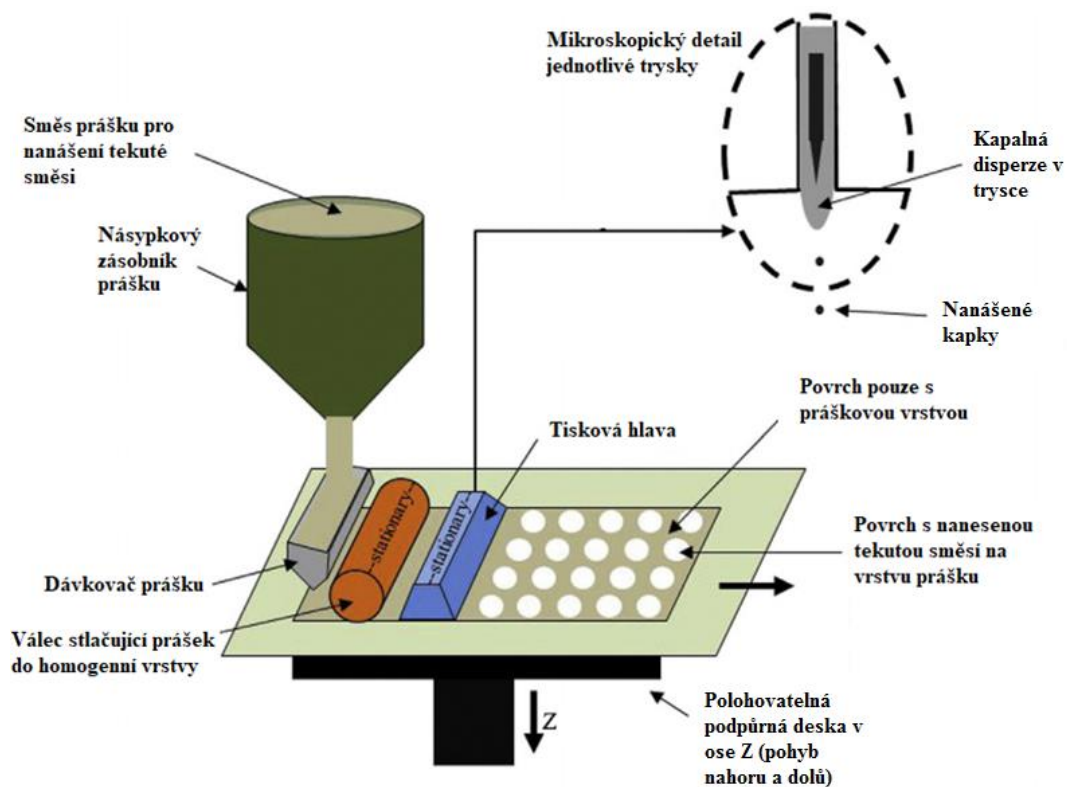
1. 3D tisk ve farmaceutické technologii	3
1.1 Metody 3D tisku.....	3
1.2 3D biotisk.....	8
2. Popis práce s bioprinterem	11
2.1 Příprava před tiskem	11
2.2 Popis tiskárny	11
2.3 Příprava k tisku.....	17
2.4 Možnosti ovládání.....	20
2.5 Tisk.....	22
3. Praktický příklad tisku orodispergovatelného filmu	23

1. 3D tisk ve farmaceutické technologii

Za jednu z nejmodernějších a inovativních metod přípravy lékových forem je v dnešní době považován 3D tisk. Obecně se jedná o proces tvorby pevných trojrozměrných objektů technikou vrstvení materiálu ve vertikálním sloupci. Tato technologie umožňuje docílit přípravy komplexních objektů s vysokou mírou individualizace pro konkrétního pacienta jen těžce formulovatelných jinými metodami. Z dalších výhod se proces vyznačuje sofistikovaností, flexibilitou, relativně nízkou cenou a vysokým stupněm automatizace.

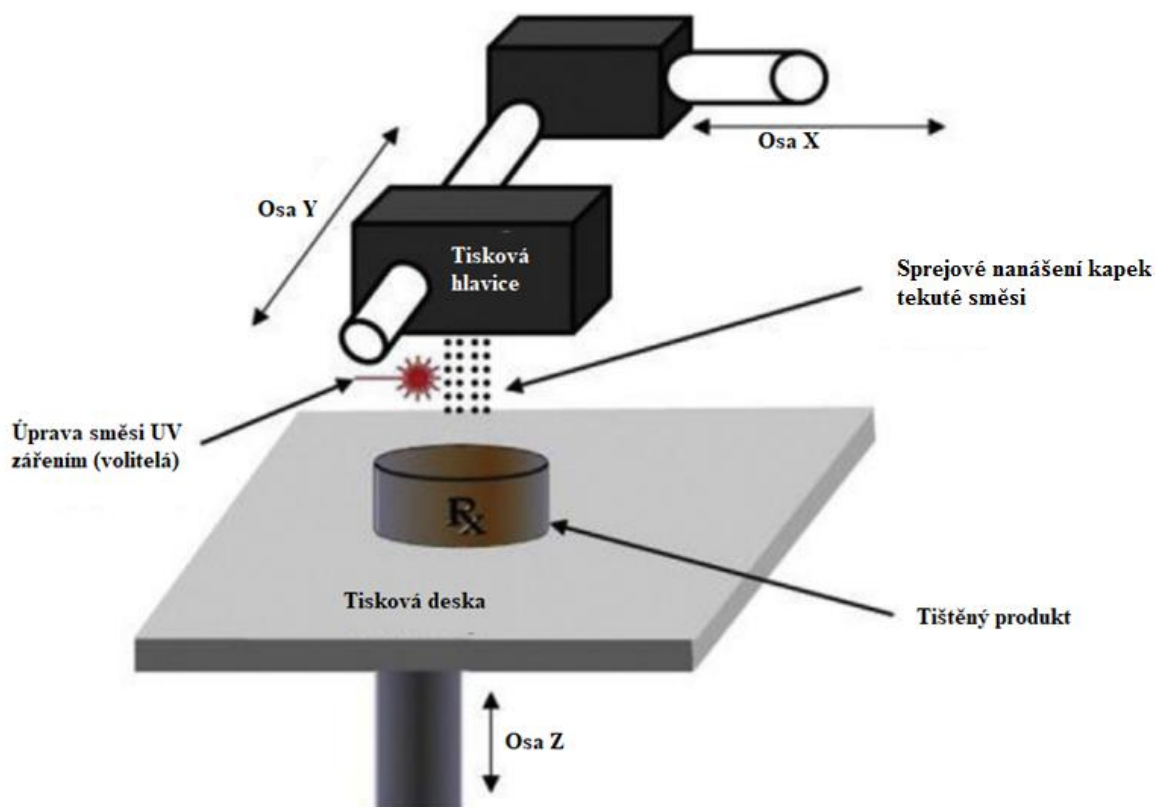
1.1 Metody 3D tisku

Od doby prvních 3D tiskáren došlo k mnoha modifikacím a diferenciaci několika metod tisku. **Inkoustový 3D tisk** (*Ink-jet based 3D printing*) je založen na pokrytí podpůrné desky vrstvou inertní práškové směsi, která je pomocí válce stlačena do homogenní vrstvy. Na tuto práškovou vrstvu jsou do požadovaných pozic tiskovou hlavou nanášeny kapky předem připravené disperze léčivých a pomocných látek (*Obr. 1*). V těchto místech dochází ke shlukování prášku a vytvoření první nosné vrstvy. Podpůrná deska se po vytvoření této vrstvy posune níže a proces se opakuje až do vytvoření požadovaného objektu. Poté je odstraněn přebytečný prášek.



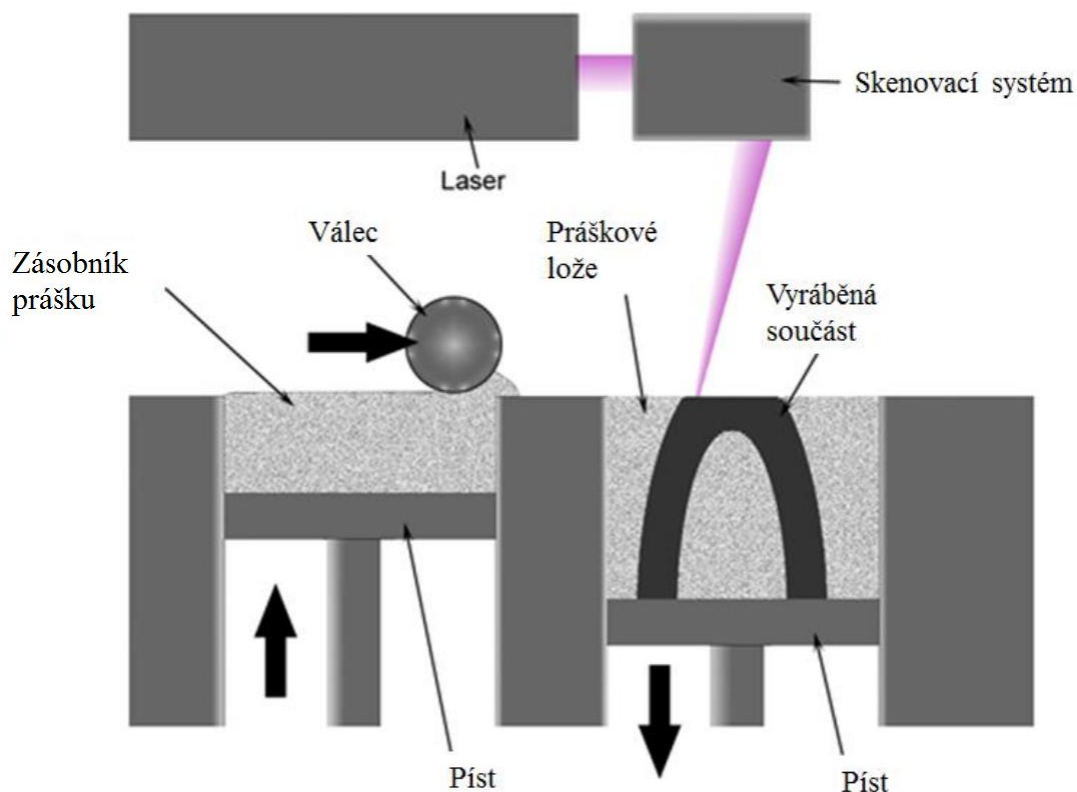
Obrázek 1.: Schéma inkoustového 3D tisku

U **sprejového nanášení** na vrstvu prášku je oproti prvnímu příkladu pouze modifikována metoda aplikace tekuté disperze – forma spreje. Tryska vytváří sprej, jehož kapky dopadají na vrstvu prášku a postupně se hydrostatickými silami slučují (*Obr. 2*). Vzniká jednolitá vrstva, která rychle zasychá nebo tuhne a poskytuje bázi pro nanášení dalších vrstev. Pravidelným vrstvením tištěný objekt narůstá do výšky. Díky vysokému tlaku je možné dávkovat směs ve formě roztoku či suspenze.



Obrázek 2.: Sprejové nanášení

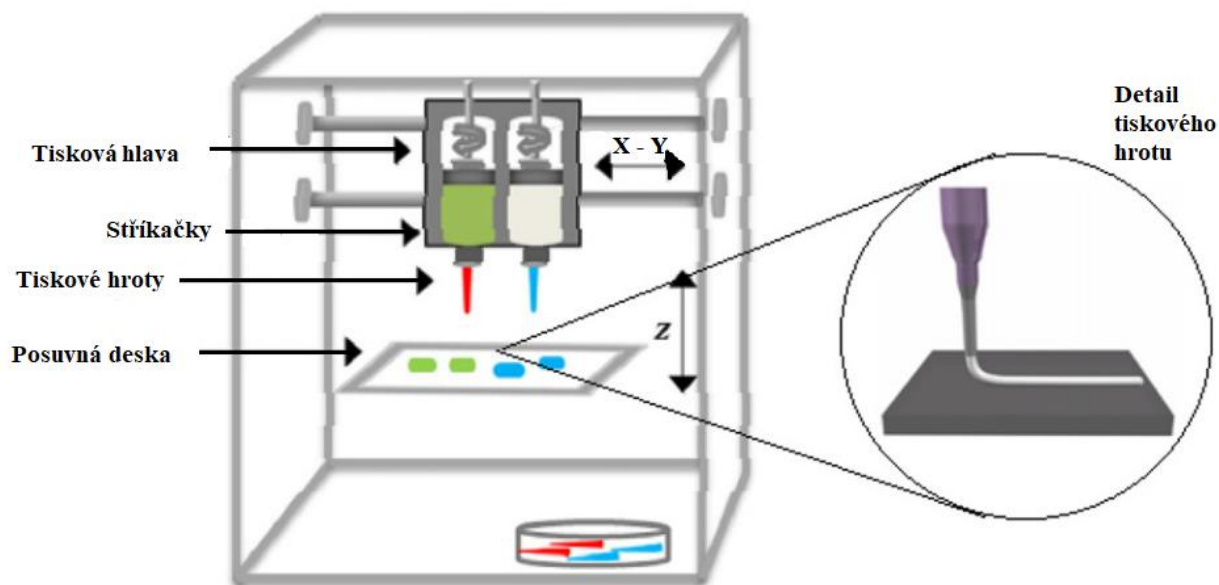
Na principu nanášení práškové směsi je založena také metoda **fúze práškové vrstvy** (*powder bed fusion*). Směs prášků je zde složena ze dvou typů částic: částice s obsahem léčiva s vysokým bodem tání a částice nosného materiálu s nízkou teplotou tání. Zdroj tepla (laser, IR záření) zajistí natavení nosných částic v požadovaných místech (*Obr. 3*). Částice s léčivou látkou jsou potom v těchto místech inkorporovány do natavené vrstvy nosných částic. Metoda je rychlá, nicméně málo využitelná kvůli inkompatibilitě s termolabilními látkami.



Obrázek 3.: Schéma metody fúze práškové vrstvy

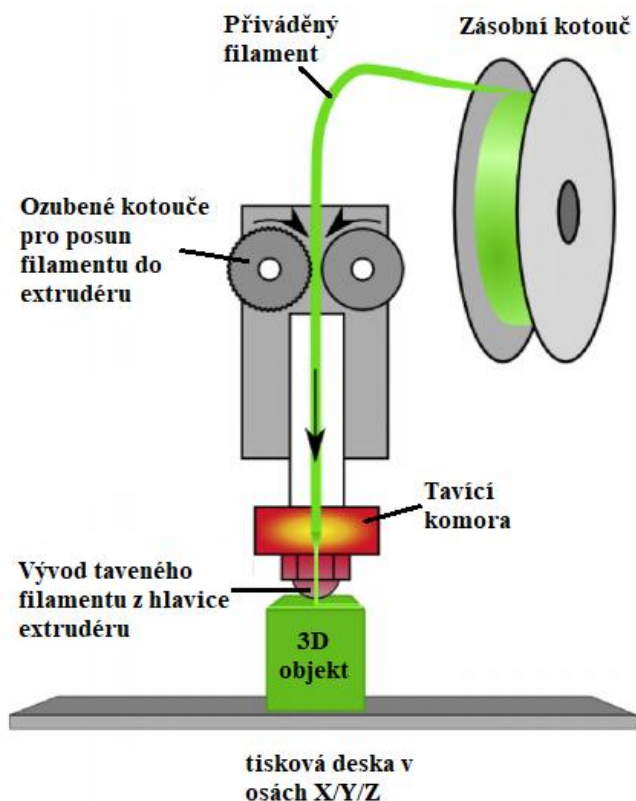
Depoziční systémy tryskového typu umožňují depozici tiskové směsi ze zásobníku přímo na podklad vrstvu po vrstvě. Materiál je dávkován přes trysku, jejíž tlak je kontrolován počítačem. Dle teplotních úprav směsi lze rozdělit depoziční tryskové systémy na systémy tavící (*Hot-melt printing*) a netavící (*Non-melt printing*). Jen některé z nich jsou aplikovatelné ve farmacii.

Příkladem netavícího depozičního systému jsou **tlakem hnané mikrostríkačky** (*PAM - Pressure-assisted microsyringes*). Jsou založeny na extruzi polotuhých směsí stříkačkami za pokojové teploty. Směs je dávkována pomocí dávkovače na principu vzduchem hnaného pístu (*Obr. 4*). Směs musí mít vhodnou viskozitu, aby nedocházelo k ucpávání stříkaček nebo naopak ke vzniku nestabilní 3D struktury. Sice je možný tisk za pokojové teploty, ale polotuhou disperzi je nutné následně vysušit.



Obrázek 4.: Tiskárna dvojjednotkového PAM typu

Příkladem tavicího systému je asi nejznámější typ 3D tisku – **fúzní depoziční modelování** (*Fused-deposition modeling*), též známé jako **fúzní filamentový tisk** (*Fused filament 3D printing*). Vstupním materiálem jsou filameny (cylindrická vlákna o průměru od 1,5 do 3 mm) vyrobené z termoplastických polymerů (nejčastěji polyvinylalkoholu – PVA). Filameny jsou nejdříve přivedeny do komory s roztokem léčiva, v němž nejsou rozpustné. Na základě principu pasivní difúze dojde k impregnaci vlákna malým procentem léčiva. Následně jsou filameny vysušeny a navinuty na kotouč a odtud přiváděny do extrudéru, kde jsou taveny na polotuhou směs. Ta je skrz trysku tlakem přiváděného filamentu protlačena na podložku, kde chladne a tuhne a pohyblivá hlavice extrudéru vytváří 3D model (*Obr. 5*).

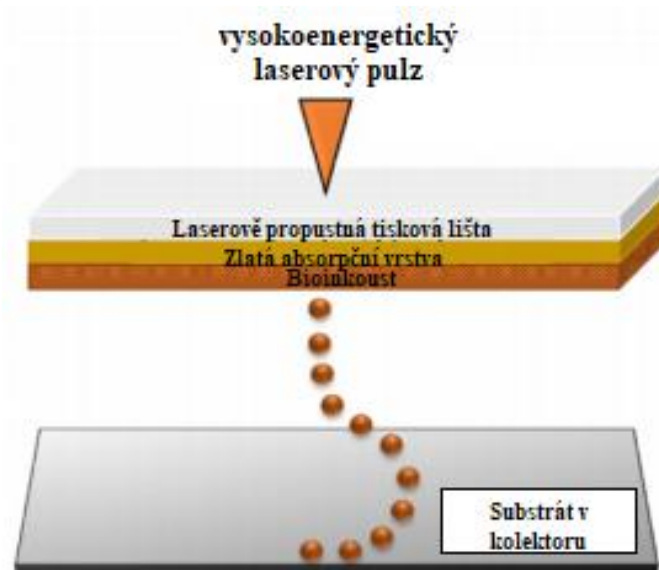


Obrázek 5.: Schéma extruzní hlavy filamentového tisku

1.2 3D biotisk

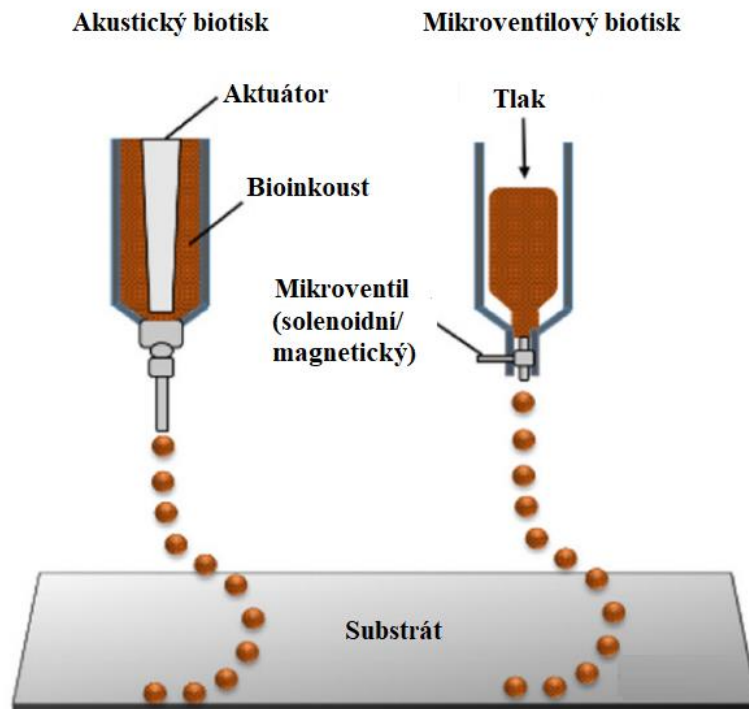
Biotiskem rozumíme aplikaci výše popsaných technologií pro úpravu biologických materiálů do podoby lékových forem nebo biomedicínských objektů jako jsou implantáty, tkáně či orgány. Vstupními materiály jsou tzv. bioinkousty (bioinks), suspenzní roztoky obsahující často nativní buňky, růstové faktory a další biomolekuly. Jako porézní a polymerní mechanická opora již existujících tkání, případně strukturální podklad pro tisk bioinkoustu může být tzv. buněčné lešení (cell scaffolds). Proces 3D biotisku umožňuje vysokou míru individualizace.

Existuje řada modifikovaných metod biotisku. Principem **laserového biotisku** je dopad záření na tiskovou lištu. Laserovým zářením je dosaženo vysokého zaostření. Tisková lišta záření propouští k tenké absorpční vrstvě tvořené kovem (např. zlatem), která toto záření zachycuje a převádí jeho energii na teplo. Teplo generuje odpařování rozpouštědla, a tím i tlak vznikajícího plynu. Tento tlak je následně využíván k dávkování bioinkoustu na substrát umístěný na pohyblivé sběrné desce (Obr. 6).



Obrázek 6.: Princip laserového biotisku

U **kapkovacího biotisku** je bioinkoust na substrát dávkován ve formě kapek, které jsou vytvářeny různými mechanismy. Inkoustový biotisk je adaptací klasického inkoustového 3D tisku s nahrazením tiskové polymerní disperze bioinkoustem. U elektrohydrodynamického nástřiku je mezi trysku a substrát aplikováno vysoké napětí. Použitím síly elektrického pole jsou překonány viskoelastické síly a povrchové napětí bioinkoustu a kapky jsou odmršťovány na povrch substrátu. U akustického biotisku je bioinkoust umístěn v otevřené nádrži, inkorporované do tiskové hlavy, v jejímž středu se nachází akustický aktuátor. Když je uveden do provozu, dochází ke generování zvukových vln, koncentrovaných do oblasti špičky hrotu, kde překonají povrchové napětí na špičce a dochází k odpadávání kapek přímo na substrát (*Obr. 7*). U mikroventilového biotisku je dávkování kapek řízeno otevíráním mikroventilů trysek (*Obr. 7*).



Obrázek 7.: Schéma procesu akustického (vlevo) a mikroventilového biotisku

Nejpoužívanější a nejjednodušší metodou biotisku je **mikroextruzní biotisk**. Je založený na vytlačování bioinkoustu přes trysku pomocí pístu tlakem vzduchu či mechanickou silou.

2. Popis práce s bioprinterem

2.1 Příprava před tiskem

Ještě než zahájíme vlastní práci s tiskárnou, je třeba si předem připravit tiskovou disperzi. Touto disperzí potom naplníme víčkem utěsněnou dávkovací stříkačku o objemu 60 ml. Pokud jsou v náplni přítomny bublinky vzduchu, je nutné použít ultrazvukovou lázeň k jejich odstranění přímo ve stříkačce.

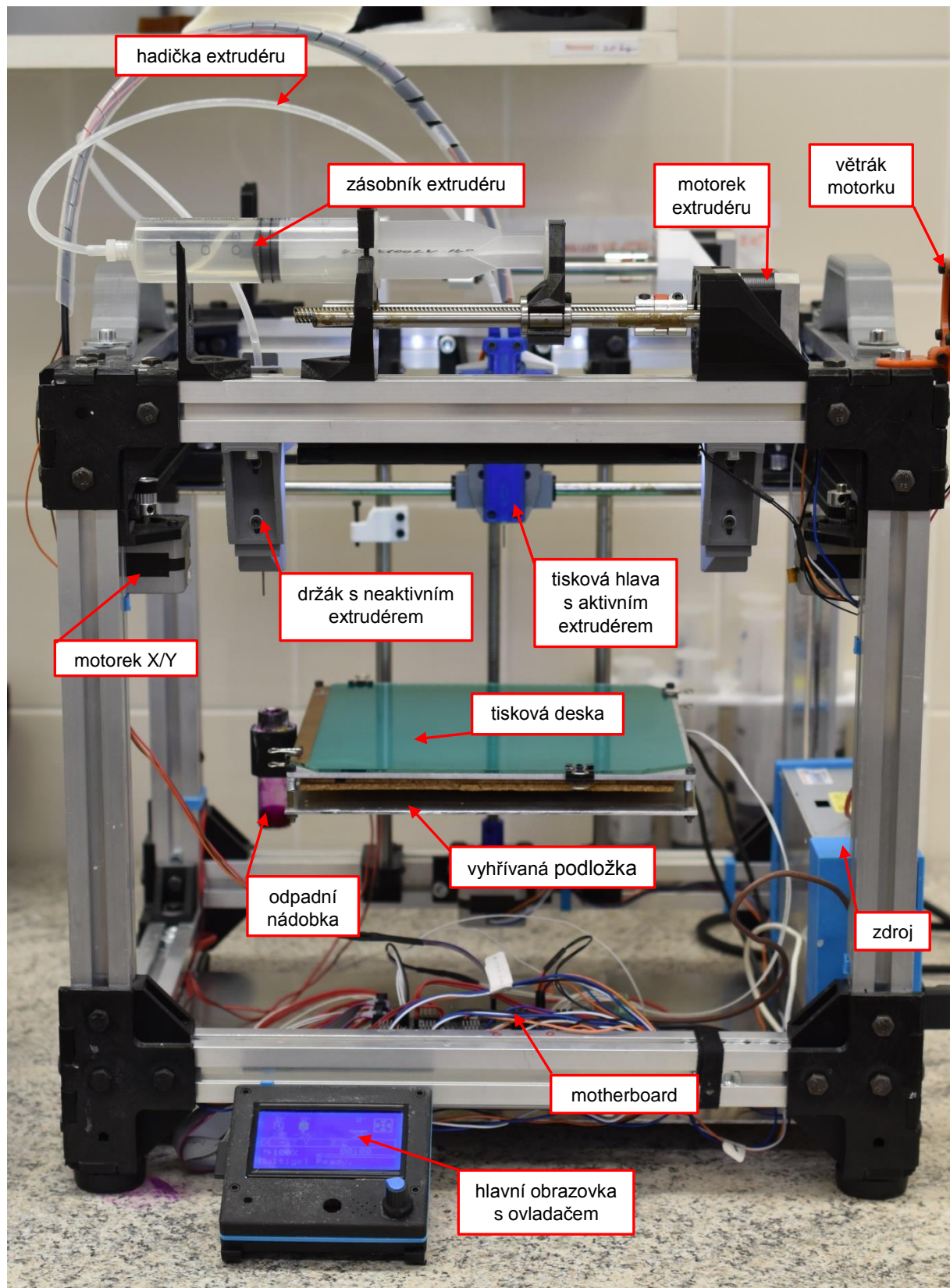
Současně je potřeba předem vytvořit požadovaný trojrozměrný model. K tomu slouží CADD software (*Computer Aided Design and Draft* – design a vykreslení pomocí počítače), tedy program pro tvorbu a vykreslení specifičnosti 3D modelu dané lékové formy určené k tisku. Programy tohoto typu generují soubor 3D modelu v STL formátu (koncovka „.stl“), který je používán jako zlatý standard pro operace na drtivé většině 3D tiskáren. Všechny informace o tvaru objektu v STL podobě jsou obsažené ve formě trojúhelníkové mapy, jejíž koordináty jsou definovány hodnotami, popsány v textové podobě. Větší počet trojúhelníků (volumetrických pixelů - voxelů) podává větší počet dat a tím také vyšší ostrost objektu (zpřesnění tisku).

Následně je nutné převést STL formát do formátu, který je podporován softwarem tiskárny. K tomuto účelu slouží tzv. řezání (slicing), které zprostředkovávají programy zvané slicery, jež generují tzv. G-kódy. G-kód je ve své podstatě převod 3D struktury STL formátu na 2D horizontální řezy. Kromě samotných řezů G-kód obsahuje také informace pro parametry tisku, jako je např. teplota natavování materiálu, rychlost tisku či vnitřní výplň objektu. Po úspěšném převedení se výsledný soubor nahraje na SD kartu.

2.2 Popis tiskárny

Používaná tiskárna byla sestavena na podkladu komerčně vyráběných 3D tiskáren HyperCube Evolution (konstrukce ÚTL FaF VFU Brno dle Scott3D, Spojené státy americké) a je schopná tisku kapalně nebo polotuhé disperze ze zásobníku namísto natavování plastového filamentu. Je využívána k přípravě orodispergovatelných filmů s použitím modifikované technologie mikroextruzního 3D biotisku. Tiskárna je dále upravena tak, že umožňuje tisk dvou různých disperzí

během jednoho procesu. V průběhu tisku pak dochází k výměně extrudérů na tiskové hlavě, přičemž každý extrudér má vlastní zásobník tiskové disperze (Obr. 8).



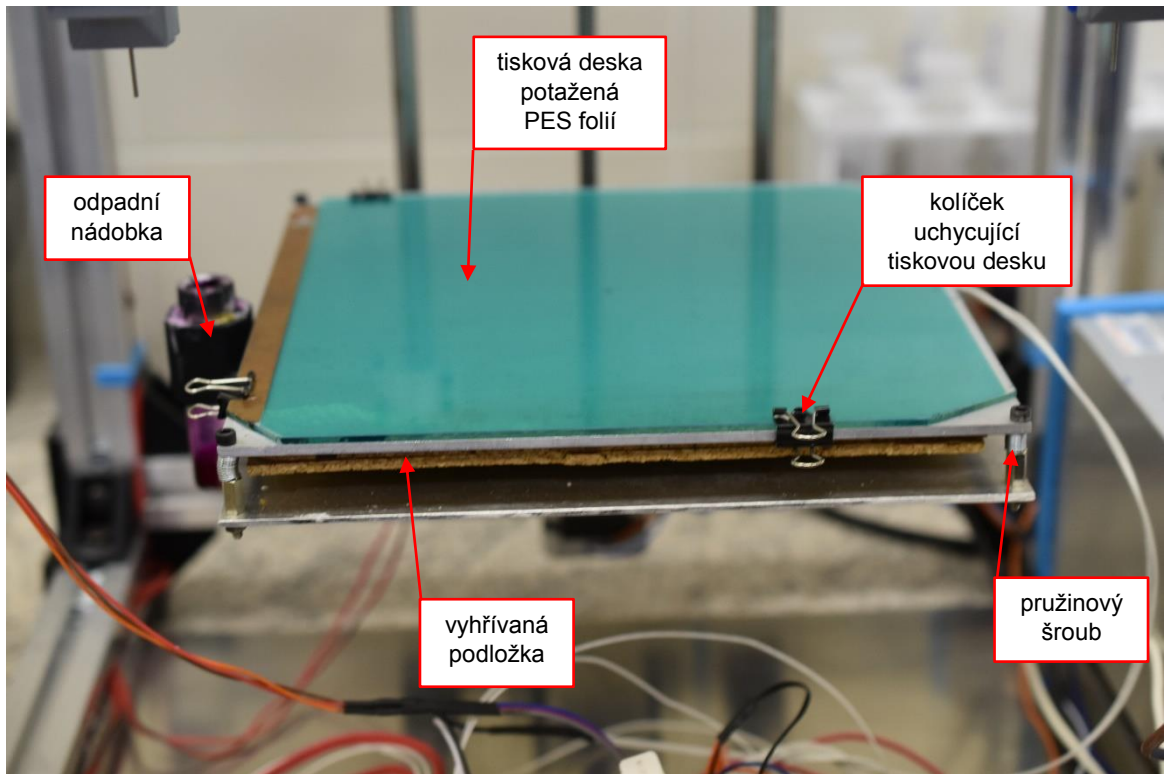
Obrázek 8.: Celkový pohled na 3D tiskárnu

Jednou ze součástí tiskárny je tzv. motherboard. Hlavním účelem motherboardu je propojit jednotlivé součástky do fungujícího celku a rozvod elektrického napájení ze zdroje. Zdroj napájení spolu s hlavním spínačem pro spuštění tiskárny se nachází v její pravé dolní části. Před začátkem tisku by se měla provést kontrola správného zapojení jednotlivých kabelů. Pro účely tohoto návodu považujeme zapojení za správné a nijak s kabely nemanipulujeme!

V konstrukci tiskárny jsou zasazeny 3 osy pohybu:

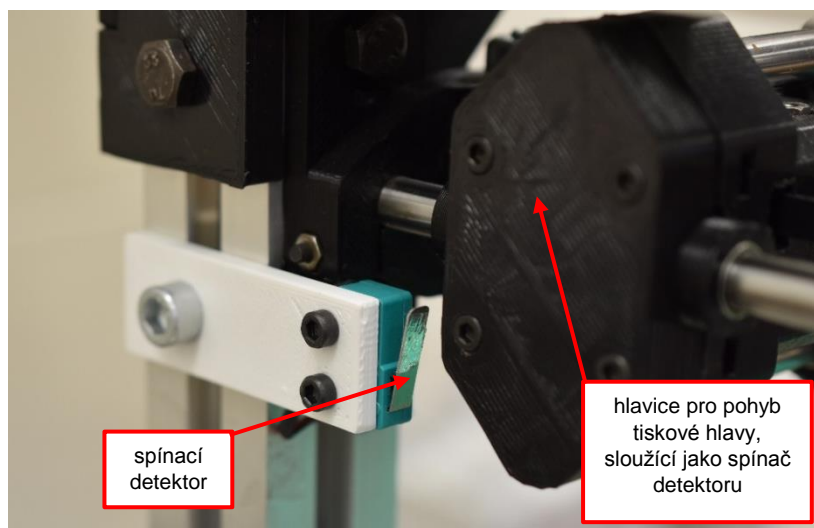
- vpravo a vlevo (osa X) – pohyb hlavice extrudéru
- vpřed a vzad (osa Y) – pohyb hlavice extrudéru
- nahoru a dolů (osa Z) – pohyb tiskové desky

Každé ose přísluší motorek pohybující hlavicí extrudéru nebo deskou. U os X a Y je pohyb docíleno pomocí ozubených řemenů. Oproti osám X a Y, které umožňují pohyb hlavice extrudéru pouze v jedné rovině, je osa Z vybavena vertikálně uloženou závitovou tyčí. Na ní je připevněna vyhřívaná podložka – plochý rezistor s volitelným vyhříváním, na který se ukládá tisková deska. Tisková deska se skládá z ploché skleněné čtvercové desky, potažené PES (polyester) fólií, umožňující snadné snímání hotových, vysušených filmů a lepší vizuální hodnocení filmu během tisku. Na levé straně podložky je umístěna odpadní nádobka na přebytečnou tiskovou disperzi. V každém rohu podložky jsou pružinové šrouby, kterými je možno regulovat její výšku a vodorovnost (*Obr. 9*).



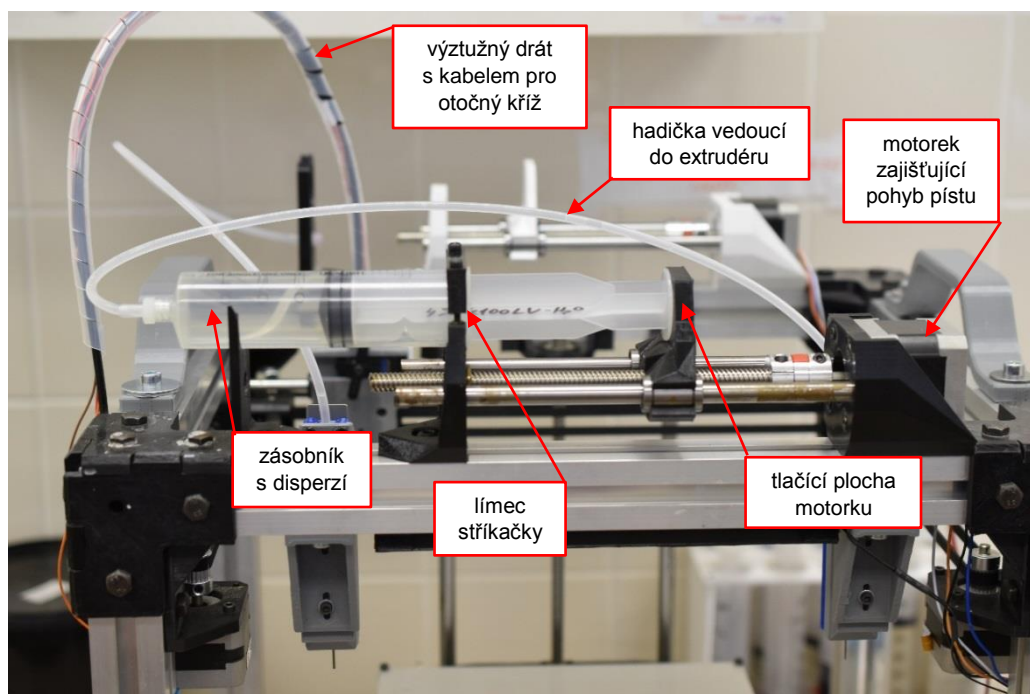
Obrázek 9.: Podložka s tiskovou deskou

Každá osa je také vybavena spínacím detektorem „full-stop“ (Obr.10). Detektory jsou lokalizovány v místech, kde má každá osa svou krajní polohu (polohu 0, „home“). Jakmile hlavice extrudéru nebo tisková deska svým pohybem dosáhne této polohy, je na detektor některou součástí tiskárny fyzicky zatlačeno, ten je sepnut a zastaví další pohyb v daném směru. Toto opatření zabraňuje stržení řemenů při dosažení maximálního rozsahu pohybu hlavice extrudéru. Ovládání motorů je zprostředkováno pomocí hlavního ovladače.



Obrázek 10.: Spínací detektor „full stop“ pro osu Y

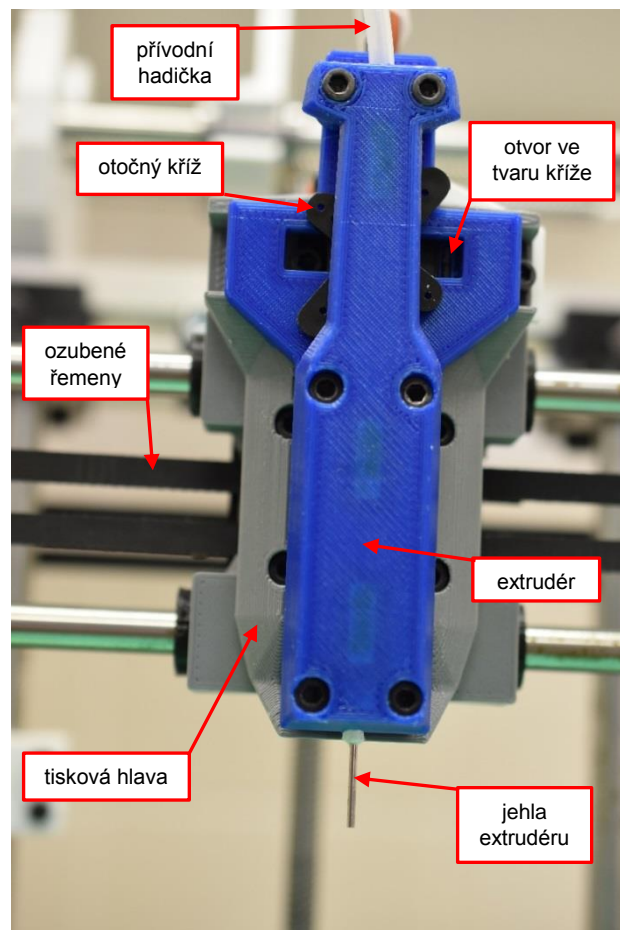
V horní části jsou umístěny držáky pro uchycení dvou zásobníků (stříkaček) s tiskovými disperzemi (Obr. 11). Píst stříkačky se připevňuje k motorku, který umožňuje stlačování pístu a extruzi disperze. Protože dochází během procesu k zahřívání těchto motorků, jsou zde i větráky zajišťující chlazení. Ze zásobní stříkačky vede hadička přímo do extrudéru, který ústí extruzní jehlou.



Obrázek 11.: Umístění zásobníku extrudéru

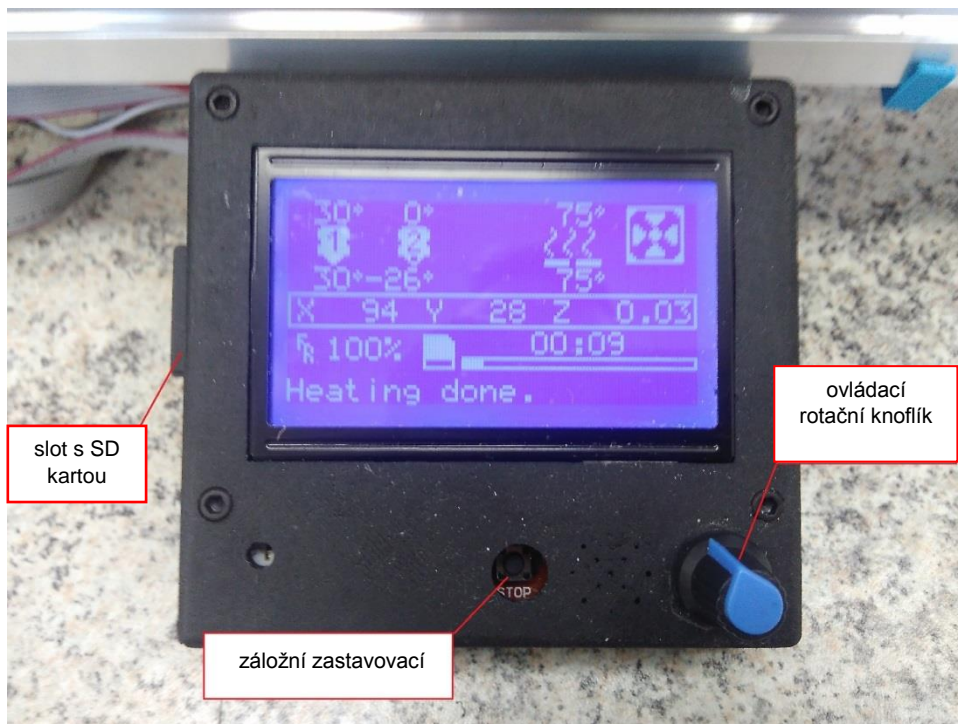
Pokud probíhá z daného zásobníku tisk, je extrudér nesen tiskovou hlavou, která zajišťuje pohyb extrudéru. Pokud zrovna daný extrudér není používán k tisku, je

umístěn ve svém držáku na horní přední straně tiskárny (Obr. 8). Extrudéry mají ve svém těle otvor ve tvaru kříže, který je kompatibilní s křížem na tiskové hlavě. Jakmile kříž projde otvorem, dojde k jeho pootočení a tím fixaci pozice extrudéru na tiskové hlavě (Obr. 12). Tímto je zajištěna výměna jednotlivých extrudérů. Kvůli otáčení kříže je k hlavici přiveden kabel společně s drátem, přičemž drát má pouze vyztužovací funkci a slouží jako prevence proplétání kabelů a hadiček (Obr. 11).



Obrázek 12.: Tisková hlava nesoucí extrudér

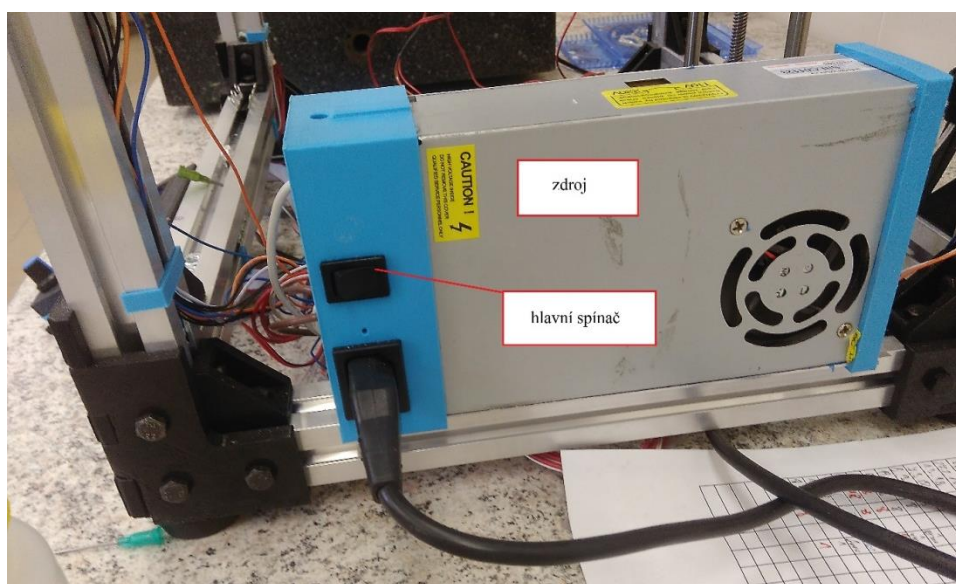
Na přední straně tiskárny se nachází obrazovka hlavního ovladače (Obr. 13). Co se týče softwarového vybavení, ovladač obsahuje firmware „Marlin“. Ovládání je zprostředkováno rotací knoflíku na ovládacím panelu a potvrzením zvolené možnosti stisknutím knoflíku. Z levé strany ovladače se nachází port, do kterého se zasunuje připravená SD karta obsahující v počítači vygenerovaný model filmů pro tisk.



Obrázek 13.: Hlavní ovladač

2.3 Příprava k tisku

Pro spuštění tiskárny je zapotřebí zapojit zdroj do elektrické sítě a stisknout spínač zdroje napájení (pravý bok tiskárny, Obr. 14). Tím dojde ke spuštění větráku (signalizováno slyšitelným hučením) a hlavního ovladače tiskárny (modrá obrazovka).



Obrázek 14.: Zdroj napětí

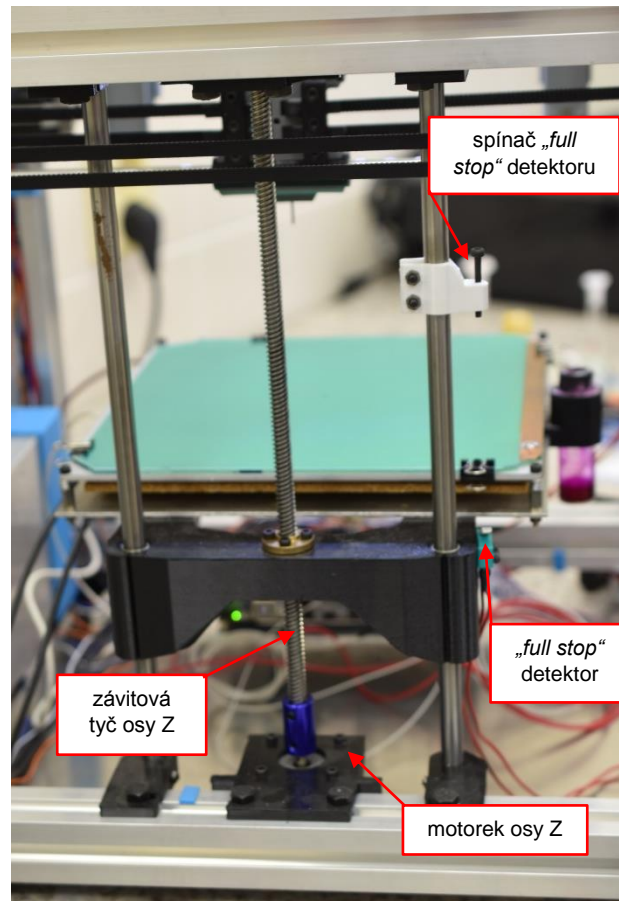
Po spuštění tiskárny je možné ručně volně pohybovat s osami, protože motorky nejsou pod napětím. Snížíme tedy pozici osy Z, abychom mohly pohodlně umístit tiskovou desku a nepoškodili přitom jehlu extrudéru. Vodou očištěná tisková deska se vloží na vyhřívanou podložku a čtyřmi kolíčky se k ní na každé straně připevní (Obr. 9).

Jehlu extrudéru (o průměru 0,84 mm) je třeba důkladně očistit po předchozím tisku. K odstranění zaschlé disperze je možné použít injekční jehlu. Pro další postup napolohujeme extrudér nad odpadní nádobku. Následně se připojí dávkovací stříkačka s již připravenou disperzí. Víčko se sejme a stříkačka se přišroubuje závitem k hadici vedoucí do hlavice extrudéru. Hadička by neměla být nijak pokroucená ani se křížit s ostatními kabely a přecházet přímo do extrudéru. Stříkačku držíme v poloze ústím nahoru a protlačíme do hadičky malé množství disperze spolu s případným vzduchem, až vidíme vytékat kapku disperze z extrudéru. Komora stříkačky se potom připevní do oblouku dvěma šrouby ústím doleva, její límec se umístí k oblouku proti tlaku motoru a konec pístu je natěsno přišroubován k tlačící ploše motorku přes vyvrtaný otvor. Oblouk nemá komoru stříkačky svírat příliš pevně, aby nedošlo k zabránění pohybu pístové tyče a omezení extruze disperze. Zároveň by měl límec přiléhat k oblouku bez výraznějšího pohybu.

Pro zajištění stříkačky, jehly i desky je možné ještě pomocí ovladače protlačit pro kontrolu malé množství disperze tak, aby vyteklo ven z tiskové jehly spolu se vzduchem a zbytkem předešlé disperze v hadici (stisknutím otočného knoflíku se dostaneme do *Hlavního menu* → zvolíme *Motion* → *Move axis* → *Extruder*). Nadbytečná kapalina se odsaje buničinou (pokud není extrudér umístěn nad odpadní nádobkou).

Dále je vhodné zkontrolovat správnou výšku jehly extrudéru vůči podložce/desce. K tomu využijeme funkci *Hlavní menu* → *Motion* → *Auto home*, která zajišťuje přesun všech os do svých nulových pozic. Tiskárna tak zaregistruje polohy jednotlivých os. Poté postupem *Hlavní menu* → *Motion* → *Move axis* → *Move X*, *Y* nebo *Z* snížíme osu Z, posuneme hlavici s extrudérem zhruba doprostřed desky a zase osu Z zvedneme. Mezi jehlou a deskou by měla být nepatrná mezera. Pokud tomu tak není, první možností je úprava výšky šroubu, který slouží jako spínač pro „full stop“ detektor (Obr. 15). Druhou možností je využití pružinových šroubů na

podložce. Po kontrole v centrálním bodě přesuneme extrudér ještě do jednotlivých rohů, zkontrolujeme, že je výška v rámci desky konstantní a v případě potřeby upravíme pružinovými šrouby. (podrobnější postup viz Kapitola 3)

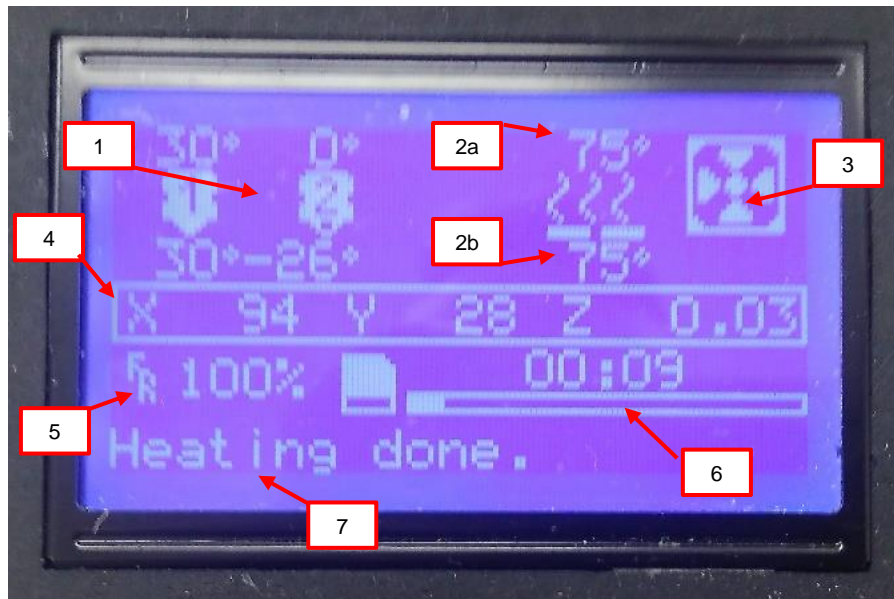


Obrázek 15.: Pohled zezadu

Po tomto srovnání můžeme uvést tiskárnu do polohy nula využitím funkce *Hlavní menu* → *Motion* → *Auto home*, nebo lze přistoupit k tisku rovnou i bez tohoto kroku. Každý tisk je totiž započat automatickým nulováním všech poloh.

2.4 Možnosti ovládání

Na hlavní obrazovce se zobrazuje:



1 – teploty extruzních jehel

2a – cílová teplota podložky, 2b – aktuální teplota podložky

3 – na kolik procent výkonu je spuštěn větrák chladící tištěné filmy

4 – aktuální polohy jednotlivých os

5 – procento rychlosti tisku

6 – přibližná doba zbývající do konce tisku

7 – aktuální stavová hláška

Po stisknutí otočného knoflíku se dostaneme do části Hlavní menu, které nabízí následující možnosti ovládání:

- **Motion**

- **Move axis** – zajišťuje pohyb jednotlivých os (**Move X, Y, Z**) jedním nebo druhým směrem (v závislosti na otočení knoflíku), přičemž je možno zvolit násobek posunu (**Move 10 mm, Move 1 mm, Move 0,1 mm**); Kromě pohybu os tato funkce ovládá také posun pístu stříkaček jednotlivých extrudérů (**Extruder** – posun pístu aktivního extrudéru na

tiskové hlavě; **Extruder 1, Extruder 2** – posun pístu extrudéru 1 nebo 2) také o různou jednotku vzdálenosti (**Move 10 mm, Move 1 mm, Move 0,1 mm**). Funkci je možné využít při vytlačování vzduchové bubliny z přívodní hadičky nebo pro ověření prostupnosti jehly a hadičky. Před tímto doporučujeme zkontrolovat pozici samotné jehly. Ta by se měla ideálně nacházet nad odpadní nádobou.

- **Auto home** – funkce posune všechny osy do jejich nulové výchozí polohy, do polohy „home“ (nejdříve dojde ke snížení osy Z, aby nedošlo k případnému ulomení jehly, poté následuje homing osy X vpravo a homing osy Y vzadu, poté se tisková hlava přesune nad odpadní nádobku pro případné riziko zalomení jehly a proběhne homing osy Z nahoře)
 - **Home X**
 - **Home Y**
 - **Home Z**
- } posun jednotlivých os do nulové polohy
- **Disable steppers** – uvolní motorky os (přeruší přívod napětí do motorků) a umožní pohybovat jednotlivými osami ručně. **Pozor!!!** Tiskárna v tuto chvíli neregistruje změnu polohy, tak jako při použití funkce **Move axis**, a pro další práci je nutné použít funkci **Auto home**
- **Temperature**
 - **Nozzle 1, Nozzle 2** – nastavení teploty trysek/jehel (na naší tiskárně není funkce implementována)
 - **Bed** – nastavení cílové teploty vyhřívané podložky
 - **Fan speed** – nastavení rychlosti větráku pro sušení tisknuté disperze (tento větrák není součástí naší tiskárny)
 - **Preheat filmy 75, Preheat ABS** – automaticky spouští zahřívání podložky i trysky (jelikož naše tiskárna trysku nezahřívá, této funkce se nevyužívá)
 - **Configuration** – neměnitelná nastavení!
 - **Change SD card** – bezpečné vyjmutí SD karty
 - **Print from SD** – výběrem souboru na SD kartě se spustí tisk

2.5 Tisk

Po úspěšném provedení funkce **Auto home** je tiskárna připravena k tisku.

Po vložení SD karty do slotu hlavního ovladače již nastavené tiskárny je možno započít tisk příkazem **Print from SD** z hlavního menu a výběrem příslušného souboru s G-kodem. Přípravu G-kodu lze provádět například v programu Slic3r. Návod pro práci s programem a předpřipravená nastavení lze spolu s několika ukázkovými modely nalézt na USB kartě uložené v tiskárně.

Tisk je započat automatickým nulováním všech os v pořadí X-Y-Z, následným přechodem jehly nad odpadní nádobku a protlačení malého množství disperze. Po odstříknutí přejde hlavice extrudéru s jehlou nad tiskovou desku a začne tisknout rámeček (tzv. *skirt*) po obvodu desky. Ten slouží k vizuální kontrole vodorovnosti desky, správné pozice tištěného objektu a ustálení extruzního tlaku. Nejdůležitějším aspektem je kontrola výšky jehly. Pokud by byla jehla příliš nízko nad deskou, hrozilo by poškození fólie a ohnutí jehly. Naopak při příliš velké vzdálenosti od desky by nedocházelo ke spojitě extruzi.

Jestliže je jehla v různých částech rámce různě vzdálena od podložky, lze povolením nebo utažením pružinových šroubů v příslušných rozích vyhřívací desku vyrovnat. Pokud je vzdálenost konstantní, ale příliš malá nebo velká, lze během tisku rychlým dvojklikem z hlavní obrazovky vyvolat funkci „**Baby-stepping Z**“. S pomocí této funkce lze po malých krocích měnit vzdálenost jehly od tiskové desky.

Průběh tisku lze kdykoliv ukončit (stisknutí knoflíku → **Hlavní menu** → **Stop print**) nebo jen pozastavit (**Pause print**). V tomto případě najede tisková hlava do pozice nad odpadní nádobku a tisk je možné obnovit příkazem **Resume print**.

Po dokončení tisku se extrudér automaticky přesune do polohy nad odpadní nádobku a po 10 minutách dojde k vypnutí zahřívání tiskové desky. Jakmile teplota klesne na 40 °C, je možné desku s filmy bezpečně odebrat. Pro vypnutí tiskárny stačí vypnout hlavní spínač na zdroji napájení.

3. Praktický příklad tisku orodispergovatelného filmu

Prvním krokem je příprava vodné disperze pro přípravu orodispergovatelných filmů. Její součástí jsou filmotvorné polymery a plastifikátory. Jako vzorový příklad uvádíme disperzi o následujícím složení:

- Glucidex G6 (maltodextrin) 8 % - filmotvorný polymer
- Cellosize QP-300 (hydroxyethylcelulosa) 1 % - filmotvorný polymer
- Sorbitol 5 % - plastifikátor

Maltodextrin spolu s pevným plastifikátorem se rozpustí v čisté vodě na vodní lázni o teplotě 70 °C. Po jejich kompletním rozpuštění pomocí mísení skleněnou tyčinkou se směs sejme z vařiče, umístí na magnetickou míchačku a dále mísí. Teplota směsi se průběžně monitoruje teploměrem a Cellosize QP-300 se přidá při dosažení teploty kolem 40 °C postupným vrstvením prášku polymeru na hladinu míchané disperze. Míchání probíhá do kompletního rozpuštění všech složek a vychladnutí disperze na laboratorní teplotu. Po ochlazení se doplní odpařená voda.

Zásobní disperze se překryje alobalem pro zamezení odpaření vody a znečištění a umístí do lednice (2–8 °C), kde je skladována po dobu maximálně 14 dnů. Před použitím se vždy ponechá k vytemperování na laboratorní teplotu (20–25 °C). Takto vytemperovaná disperze se naplní do víčkem utěsněné dávkovací stříkačky s objemem 60 ml. Pokud vidíme bublinky vzduchu, odstraníme je pomocí ultrazvukové lázně.

V dalším kroku provedeme vyčištění tiskárny po předchozím tisku. Vodou pečlivě umyjeme tiskovou desku. K vyčištění jehly trysky můžeme použít injekční jehlu.

Následuje spuštění tiskárny – zapojíme zdroj do elektrické sítě a na pravém boku tiskárny stiskneme hlavní spínač. Spustí se větrák a hlavní ovladač. Abychom mohli instalovat připravenou tiskovou desku bez rizika poškození extrudéru a dalších součástí tiskárny, je nutné si osu Z s vyhřívanou podložkou snížit. Po zapnutí tiskárny je možné s osami volně pohybovat ručně. Nyní můžeme bezpečně umístit tiskovou desku na podložku a na každé straně ji připevnit kolíčkem.

Dalším krokem je umístění stříkačky s tiskovou disperzí. Ze stříkačky sejmeme víčko a přes závit ji přišroubujeme k hadičce vedoucí do extrudéru. Extrudér ručně přesuneme nad odpadní nádobku. Po tomto kroku je vhodné stříkačku umístit ústím vzhůru a vytlačit tiskovou disperzi spolu s případným vzduchem do hadičky dokud nevyteče její kapka z extrudéru. Tímto zjistíme průchodnost jehly a extrudéru. Poté stříkačku vložíme do oblouku na horní straně tiskárny, ústím doleva tak, aby byl límec umístěn proti tlaku pístu. Plochu pístu napevno přišroubujeme přes vyvrtaný otvor k tlačící ploše motorku (plochu motorku je možné si ručně posunout do potřebné vzdálenosti).

Jakmile máme umístěnou tiskovou desku i zásobník s tiskovou disperzí, můžeme se ještě přesvědčit o průchodnosti trysky, nepřítomnosti bublin a funkčnosti celého systému. Necháme tiskovou hlavu umístěnou nad odpadní nádobkou. Stisknutím knoflíku ovladače se dostaneme do *Hlavního menu* → *Motion* → *Move axis* → *Extruder* → *1 mm* – tímto dosáhneme posunutí pístu stříkačky o 1 mm a sledujeme protlačení disperze extrudérem.

Nyní můžeme zkontrolovat vhodnou výšku tiskové desky a její vodorovnost, abychom se vyhnuli pozdějšímu nerovnoměrnému tisku. S hlavicí již nemanipulujeme ručně, ale pomocí ovladače.

1. Stiskneme otočný knoflík ovladače, čímž se dostaneme do *Hlavního menu*, zvolíme *Motion* a *Auto home* – všechny osy se tak dostanou do své nulové pozice.
2. Před pohybem os X a Y snížíme pozici osy Z – *Hlavní menu* → *Motion* → *Move axis* → *Move Z* → cca + 10 mm
3. Posuneme hlavicí extrudéru doprostřed - *Hlavní menu* → *Motion* → *Move axis* → *Move X* → + 100 mm a *Move Y* → + 90 mm
4. Opětovně zvýšíme pozici osy Z - *Hlavní menu* → *Motion* → *Move Z* zpět do polohy 0 a zkontrolujeme pozici jehly extrudéru vůči desce. Měla by mezi nimi být nepatrná mezera. Pokud je mezera velká, můžeme povolit všechny 4 pružinové šrouby na vyhřívané podložce nebo zvýšit pozici spínače „full stop“ detektoru pro osu Z. Pokud jehla přiléhá příliš těsně, šrouby naopak utáhneme nebo snížíme pozici spínače.

5. Zkontrolujeme, že je výška stejná ve všech částech desky – postupem *Hlavní menu* → *Motion* → *Move axis* → *Move X* nebo *Y* posuneme extrudér do 4 rohů o souřadnicích:

X	Y
+ 5 mm	+ 5 mm
+ 5 mm	+ 175 mm
+ 195 mm	+ 5 mm
+ 195 mm	+ 175 mm

Nesmíme zapomenout mezi jednotlivými přesuny vždy snížit osu Z. Výšku v jednotlivých rozích v případě potřeby upravíme pomocí příslušného pružinového šroubu.

(Pokud bychom chtěli opět s tiskárnou manipulovat ručně, je třeba uvolnit motorky os, které jsou po použití ovladače pod napětím. Toho docílíme stisknutím otočného knoflíku ovladače, zvolíme *Motion a Disable steppers*.)

V tomto stádiu vložíme do slotu na levé straně hlavního ovladače SD kartu, na které máme nahraný předem připravený soubor, obsahující informace k tisku filmů. Tisk započneme přechodem do *Hlavního menu* a výběrem funkce *Print from SD*, kde vybereme daný soubor. Tisk započne automatickým nulováním pozic všech os v pořadí X-Y-Z a protlačením malého množství disperze. Poté je tištěn rámeček po obvodu desky (tzv. skirt) pro kontrolu vodorovnosti desky. Během tisku můžeme na displeji sledovat délku trvání, grafiku postupu tiskové úlohy i aktuální teploty a polohy os.

V modelu je kromě tvaru tištěných filmů obsažena také informace o rychlosti tisku, teplotě a množství protlačené disperze v časovém rámci tisku, aby docházelo k dostatečnému zasychání disperze na tiskové desce. Proto proces v tomto konkrétním případě probíhá ve dvou fázích. V první fázi se tiskne pouze 0,005 mm silná vrstva při teplotě 75 °C a rychlosti pohybu jehly 7,5 mm/s. Po vytištění a rychlém zaschnutí první (nosné) vrstvy dojde k přechodu na teplotu desky 70 °C,

rychlosti jehly 20 mm/s a tloušťce jedné vrstvy 0,02 mm. Celkem se v tomto případě tiskne 11 vrstev. Teplota jehly zůstává po celou dobu tisku 30 °C.

Po dokončení tisku se extrudér automaticky přesune do polohy nad odpadní nádobku a po 10 minutách dojde k vypnutí zahřívání tiskové desky. Jakmile teplota klesne na 40 °C, je možné desku s filmy bezpečně odebrat a uložit do temných, suchých prostor. Pro vypnutí tiskárny stačí vypnout hlavní spínač na zdroji napájení.

Výsledné filmy můžeme sejmut a podrobit různým metodám hodnocení. Filmy o daném složení jsou kvalitní, čiré a celistvé, pevné a pružné, vyhovují zkouškám fyzikálně-mechanických vlastností a mají atraktivní vzhled pro pacienty.