

České vysoké učení technické v Praze  
Fakulta strojní

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky  
Obor: Mechatronika



**Skleněné piezomikropipety pro  
léčbu neplodnosti (IVF)**

**Glass Piezo Micropipettes for  
Infertility Treatment (IVF)**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vypracovala: Bc. Eva Valentová  
Vedoucí práce: Ing. Pavel Steinbauer, Ph.D.  
Rok: 2023

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Valentová** Jméno: **Eva** Osobní číslo: **481769**  
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**  
Zadávací katedra/ústav: **Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**  
Studijní program: **Aplikované vědy ve strojním inženýrství**  
Specializace: **Mechatronika**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Skleněné piezomikropipety pro léčbu neplodnosti (IVF)**

Název diplomové práce anglicky:

**Glass piezo micropipettes for infertility treatment (IVF)**

Pokyny pro vypracování:

Seznamte se s problematikou využití piezo mikropipet při metodě ICSI (IVF)  
Vytvořte parametrický MKP model mikropipety v prostředí Abaqus za pomoci Python  
Propojte parametrický MKP model v prostředí Abaqus s optimalizací parametrů v prostředí Matlab  
Použijte EMA měření mikropipety z laserového vibrometru pro validaci MKP modelu  
Proveďte citlivostní studii vlivu změny parametrů mikropipety na změnu vlastních frekvencí mikropipety  
Navrhněte buzení piezo mikropipety pro dosažení žádaného axiálního pohybu pracovní části mikropipety

Seznam doporučené literatury:

Španiel, Miroslav, and Zdeněk Horák. Úvod do metody konečných prvků. České vysoké učení technické, 2011.  
Miláček, Stanislav. Modální analýza mechanických kmitů. Praha: ES ČVUT, 1992

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

**Ing. Pavel Steinbauer, Ph.D. odbor mechaniky a mechatroniky FS**

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:


Datum zadání diplomové práce: **21.04.2023**

Termín odevzdání diplomové práce: **14.08.2023**

Platnost zadání diplomové práce:



Ing. Pavel Steinbauer, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) práce



prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.  
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry



doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.  
podpis děkana(ky)

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomantka bere na vědomí, že je povinna vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací.  
Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci

25.5.2023

Datum převzetí zadání



Podpis studentky

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně a použila jsem pouze podklady (literaturu, projekty, SW atd.) uvedené v příloženém seznamu.

V Praze dne .....

.....  
Bc. Eva Valentová

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu práce Ing. Pavlu Steinbauerovi, Ph.D. za neocenitelné rady a za pomoc při tvorbě diplomové práce.

Mé poděkování patří též panu Ing. Petru Tichému, Ph.D. a panu Ing. Vítovi Pawlikovi za věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích.

A na závěr bych ráda poděkovala své rodině a přítelkyni, kteří vždy byli mou největší oporou nejen ve studiu.

Bc. Eva Valentová



## Anotační list

**Název práce:**

**Skleněné piezomikropipety pro léčbu neplodnosti (IVF)**

**Autor:** Bc. Eva Valentová

**Studijní program:** Aplikované vědy ve strojním inženýrství

**Druh práce:** Diplomová práce

**Vedoucí práce:** Ing. Pavel Steinbauer, Ph.D.  
Odbor mechaniky a mechatroniky

**Bibliografické údaje:** Počet stran: 100  
Počet obrázků: 73  
Počet tabulek: 17  
Počet příloh: 3

### Abstrakt:

Diplomová práce se zabývá využitím skleněných piezo mikropipet v rámci metody intracytoplazmatická injekce spermií (ICSI). Práce zkoumá chování skleněných piezo mikropipet při metodě ICSI. První částí je seznámení se s procesem, nástroji a dalším příslušenstvím využívaným při proceduře ICSI, zejména pak s geometrií využívaných mikropipet. V další části je vytvořen parametrický model piezo mikropipety metodou konečných prvků (MKP) v prostředí Abaqus za pomoci skriptování v prostředí Python. Následující kapitola se zabývá nastavením hustoty síťování modelu a využívá propojení mezi prostředím Matlab, Abaqus a Python. Dále je provedena citlivostní studie vlastních tvarů a vlastních kmitů modelu mikropipety. V kapitole 5 je validován vytvořený MKP model za pomoci genetických algoritmů a získaných dat z experimentální modální analýzy reálné mikropipety. Závěrečná kapitola shrnuje konstrukční řešení a navrhuje frekvenční oblast pro buzení na základě požadovaného axiálního pohybu penetrační části mikropipety. Diplomová práce přináší odpovědi na otázky týkající se pohybu skleněných piezo mikropipet při metodě ICSI pro léčbu neplodnosti.

### Klíčová slova:

ICSI, mikropipeta, piezo, model, MKP, buzení

**Title:** Glass Piezo Micropipettes for Infertility Treatment (IVF)

**Author:** Bc. Eva Valentová

**Abstract:**

The thesis deals with glass piezo micropipettes used in the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) method. The first part is an introduction to the process, tools and other accessories, mainly micropipettes, used in the ICSI procedure. Next, a parametric model of a piezo micropipette is created using the finite element method (FEM) in the Abaqus environment using Python scripting. The following chapter deals with the meshing setting of the model and uses the connection between the Matlab, Abaqus and Python environments. Furthermore, a sensitivity analysis of the eigenmodes and eigenfrequencies of the micropipette model is performed. In Chapter 5, the developed model is validated using genetic algorithms and data obtained from experimental modal analysis of a real micropipette. The final chapter summarizes the design solutions and suggests a frequency domain for excitation based on the desired axial movement of the penetration part of the micropipette. The diploma thesis provides answers to questions regarding the movement of glass piezo micropipettes during the ICSI method for the treatment of infertility.

**Key words:**

ICSI, micropipette, piezo, model, MKP, excitation

# Obsah

<b>Seznam použitých zkratk</b>	<b>9</b>
<b>Úvod</b>	<b>13</b>
<b>Cíle práce</b>	<b>15</b>
<b>1 Asistovaná reprodukce metodou ICSI</b>	<b>17</b>
1.1 Proces ICSI . . . . .	18
1.1.1 Přístroje a nástroje využívané při metodě ICSI . . . . .	20
1.1.2 Konstrukce s piezoaktuátorem . . . . .	22
1.2 Mikropipety využívané pro metodu ICSI . . . . .	23
1.2.1 Geometrie mikropipety . . . . .	23
1.2.2 Materiál mikropipety . . . . .	24
<b>2 Parametrický model piezo mikropipety</b>	<b>25</b>
2.1 Prvky parametrického MKP modelu mikropipety . . . . .	25
2.2 Abaqus Scripting Interface . . . . .	26
2.2.1 Python skript pro tvorbu geometrie piezo mikropipety . . . . .	27
2.2.2 Python skript pro vytvoření materiálu piezo mikropipety . . . . .	29
2.2.3 Python skript pro připsání materiálu a tloušťky modelu mikropipety . . . . .	30
2.2.4 Python skript pro nastavení výpočtu vlastních frekvencí a modelaci vetknutí . . . . .	31
2.3 Meshing modelu mikropipety . . . . .	33
2.3.1 Python skript pro meshing modelu mikropipety . . . . .	34
2.4 Výsledný parametrický MKP model piezo mikropipety . . . . .	36
<b>3 Nastavení hustoty síťování MKP modelu mikropipety</b>	<b>38</b>
3.1 Matlab funkce pro volání Python skriptu pomocí operačního systému a čtení dat z .odb file . . . . .	38
3.2 Hustota síťování parametrického MKP modelu mikropipety . . . . .	40
3.2.1 Výsledky vlivu změny hustoty sítě modelu na změnu vlastních frekvencí a výpočetní čas . . . . .	41
<b>4 Citlivostní studie MKP modelu piezo mikropipety</b>	<b>45</b>
4.1 Proces kompletace dat pro citlivostní studii . . . . .	45
4.1.1 Nastavení geometrických a materiálových parametrů mikropipety pro citlivostní analýzu . . . . .	46
4.1.2 Python skript pro extrakci hodnot souřadnic a posuvů uzlů . . . . .	48
4.2 Výsledky citlivostní analýzy: vliv změny parametrů modelu na vlastní frekvence modelu . . . . .	50
4.3 Výsledky citlivostní analýzy: výběr vlastních frekvencí a vlastních tvarů pro další zkoumání . . . . .	55
4.4 Závěry získané z citlivostní studie . . . . .	61

<b>5</b>	<b>Identifikace parametrů a validace MKP modelu piezo mikropipety</b>	<b>63</b>
5.1	EMA měření mikropipety z laserového vibrometru . . . . .	63
5.2	Identifikace parametrů modelu piezo mikropipety genetickými algoritmy . . . . .	66
5.2.1	Optimalizační parametry MKP parametrického modelu mikropipety . . . . .	68
5.2.2	Vybrání vlastních frekvencí pro optimalizaci genetickými algoritmy . . . . .	70
5.2.3	Volba kriteriální funkce pro optimalizaci . . . . .	72
5.2.4	Nastavení parametrů genetických algoritmů . . . . .	72
5.3	Validace MKP modelu mikropipety . . . . .	73
<b>6</b>	<b>Návrh buzení piezo mikropipety</b>	<b>78</b>
6.1	Konstrukční řešení buzení mikropipety piezoaktuátorem . . . . .	79
6.2	Žádaný pohyb penetrační části piezo mikropipety při proceduře ICSI . . . . .	81
6.3	Mikropipeta s roztokem . . . . .	82
6.3.1	Modelace roztoku v MKP modelu . . . . .	83
6.4	Vliv roztoku na vlastní tvary mikropipety . . . . .	84
6.5	Návrh volby frekvenční oblasti buzení . . . . .	85
	<b>Závěr</b>	<b>92</b>
	<b>Seznam použitých zdrojů</b>	<b>96</b>
	<b>Přílohy</b>	<b>100</b>
A	MKP parametrický model mikropipety v prostředí Python . . . . .	100
B	Kriteriální funkce pro optimalizaci genetickými algoritmy . . . . .	100
C	Matlab skript - genetické algoritmy . . . . .	100

# Seznam použitých zkratk

**IVF+ET** In Vitro Fertilisation and Embryo Transfer

**IVF** In vitro Ferilizace

**ICSI** Intracytoplazmatická injekce spermie

**MKP** Metoda konečných prvků

**EMA** Experimentální modální analýza

# Seznam obrázků

Obr. 1.1	ICSI Metoda [1] . . . . .	17
Obr. 1.2	Průběh procedury ICSI. A,B: mikropipeta propichuje zónu pelucida, C,D: mikropipeta penetrovala zónu pelucida, E: mikropipeta prošla oolemou oocytu, F: injekce spermie do oocytu, G-I: vytažení mikropipety [2] . . . . .	19
Obr. 1.3	Pracovní stanice pro ICSI společnosti Eppendorf [3] . . . . .	20
Obr. 1.4	Eppendorf TransferMan 4r micromanipulators [4] . . . . .	20
Obr. 1.5	Pracovní stanice pro ICSI: 1) mikromanipulátor, 2) držák mikropipety, 3) inverzní mikroskop, 4) vstřikovací trubice 5) kontrolní deska mikromanipulátoru, 6) mikroinjektor [5] . . . . .	21
Obr. 1.6	Detail uložení mikropipet [4] . . . . .	21
Obr. 1.7	Schéma uložení mikropipet: 1) mikropipeta, 2) upínací hlavice, 3) rýhovaný šroub, 4) držák mikropipety (trubka), 5) přípojka pro trubici mikroinjektoru [5] . . . . .	22
Obr. 1.8	Umístění piezoaktuátoru na držák mikropipety, Eppendorf PiezoXpert [2] . . . . .	22
Obr. 1.9	Mikropipeta společnosti Kitazato [6] . . . . .	23
Obr. 1.10	Geometrie mikropipety [7] . . . . .	24
Obr. 2.1	Prvky konvenční skořepiny [8] . . . . .	26
Obr. 2.2	Importy pro přípravu prostředí . . . . .	27
Obr. 2.3	Skript pro vytvoření skořepinového třírozměrného objektu pomocí rotace . . . . .	28
Obr. 2.4	3D parametrický model mikropipety v prostředí Abaqus . . . . .	29
Obr. 2.5	Vytvoření materiálu borosilikátového skla . . . . .	30
Obr. 2.6	Připsání materiálu a tloušťky stěny upínací a penetrační části mikropipety . . . . .	30
Obr. 2.7	Připsání materiálu a tloušťky stěny kuželové části mikropipety . . . . .	31
Obr. 2.8	Vytvoření vetknutí modelu na upínací části mikropipety . . . . .	32
Obr. 2.9	Skript pro vytvoření vetknutí modelu na upínací části mikropipety . . . . .	32
Obr. 2.10	Skript pro vytvoření nového kroku pro výpočet vlastních frekvencí modelu . . . . .	33
Obr. 2.11	Skript pro síťování přechodové kuželové oblasti modelu . . . . .	34
Obr. 2.12	Detail síťování penetrační části modelu mikropipety . . . . .	35
Obr. 2.13	Detail síťování přechodové části modelu mikropipety . . . . .	35
Obr. 2.14	Detail síťování upínací části modelu mikropipety . . . . .	36
Obr. 2.15	Vlastní frekvence modelu mikropipety . . . . .	37
Obr. 3.1	Matlab function pro volání Python skriptu pomocí operačního systému . . . . .	39
Obr. 3.2	Matlab function pro čtení dat z .odb file . . . . .	40
Obr. 3.3	Matlab skript pro nalezení „optimálního“ síťování MKP modelu mikropipety . . . . .	40
Obr. 3.4	Závislost změny vlastních frekvencí mikropipety na hustotě síťování . . . . .	41
Obr. 3.5	Závislost délky výpočetního času na hustotě síťování . . . . .	42
Obr. 3.6	Počet uzlů/elementů modelu pro danou hustotu sítě . . . . .	42
Obr. 4.1	Matlab skript - Citlivostní Studie . . . . .	46

Obr. 4.2	Mikropipeta - geometrické a materiálové parametry . . . . .	47
Obr. 4.3	Skript pro vytvoření souboru uzlů modelu mikropipety pro zkoumání vlastních tvarů . . . . .	48
Obr. 4.4	Výběr uzlů modelu mikropipety pro zkoumání vlastních tvarů . . . . .	49
Obr. 4.5	Skript pro extrakci souřadnic vybraných uzlů . . . . .	49
Obr. 4.6	Skript pro extrakci posuvů vybraných uzlů . . . . .	50
Obr. 4.7	Závislost změny vlastních frekvencí modelu na změně poloměru upínací části mikropipety [mm] . . . . .	51
Obr. 4.8	Závislost změny vlastních frekvencí modelu na změně poloměru kolene mikropipety[mm] . . . . .	52
Obr. 4.9	Závislost změny 5., 6., 14., 15. vlastní frekvence modelu na změně parametru $L_a$ . . . . .	54
Obr. 4.10	Závislost změny vlastních frekvencí modelu na změně parametru $L_c$ . . . . .	54
Obr. 4.11	Žádaný pohyb mikropipety . . . . .	56
Obr. 4.12	11. vlastní tvar: citlivost na změnu parametru $\varnothing D$ . . . . .	57
Obr. 4.13	Čtvrtý vlastní tvar: citlivost na změnu parametru $L_c$ . . . . .	58
Obr. 4.14	Devátý vlastní tvar: citlivost na změnu parametru $L_c$ . . . . .	59
Obr. 4.15	12. vlastní tvar: citlivost na změnu parametru $\varnothing D$ , resp. poloměr upínací části mikropipety . . . . .	60
Obr. 4.16	16. vlastní tvar: citlivost na změnu parametru $LC$ . . . . .	61
Obr. 5.1	Body na povrchu mikropipety při měření laserovým vibrometrem . . . . .	64
Obr. 5.2	Vlastní tvar mikropipety při rezonanci 11 214 Hz . . . . .	66
Obr. 5.3	Proces optimalizace, propojení prostředí Abaqus a Matlab se skripto- váním v prostředí Python . . . . .	67
Obr. 5.4	Mikropipeta - optimalizační parametry . . . . .	68
Obr. 5.5	Porovnání vlastního tvaru získaného měřením EMA a analýzou modelu v Abaqusu . . . . .	71
Obr. 5.6	Matlab skript - Genetic Algorithm . . . . .	72
Obr. 5.7	Matlab skript - Genetic Algorithm Options . . . . .	73
Obr. 5.8	Graf - Genetic Algorithm . . . . .	74
Obr. 5.9	Graf - Genetic Algorithm, druhá optimalizace . . . . .	75
Obr. 6.1	Konstrukční řešení společnosti PrimeTech a Burpleigh [9] . . . . .	79
Obr. 6.2	PrimeTech a Burpleigh - umístění piezoaktuátoru . . . . .	79
Obr. 6.3	Konstrukční řešení buzení piezo členem [9] . . . . .	80
Obr. 6.4	Umístění piezoaktuátoru na držák pipety, PIEZO PMM4G [10] . . . . .	80
Obr. 6.5	Umístění piezoaktuátoru na držák pipety, Eppendorf PiezoXpert [2] . . . . .	81
Obr. 6.6	a) nežádoucí pohyb piezo mikropipety (boční kmit), b) ideální pohyb piezo mikropipety (axiální kmity) [9] . . . . .	82
Obr. 6.7	Skript pro vložení roztoku do mikropipety . . . . .	83
Obr. 6.8	MKP model mikropipety s roztokem . . . . .	83
Obr. 6.9	18. vlastní tvar: změna při implementaci roztoku . . . . .	84
Obr. 6.10	Dynamická analýza: buzení mikropipety . . . . .	85
Obr. 6.11	Dynamická analýza: buzení mikropipety při 2 223.9 Hz . . . . .	86
Obr. 6.12	Dynamická analýza: buzení mikropipety při 12 709.7 Hz . . . . .	87
Obr. 6.13	Dynamická analýza: detail buzení mikropipety při 12 709.7 Hz . . . . .	87
Obr. 6.14	Dynamická analýza: buzení mikropipety při 20 094.8 Hz . . . . .	88
Obr. 6.15	Dynamická analýza: detail buzení mikropipety při 20 094.8 Hz . . . . .	88
Obr. 6.16	Dynamická analýza: buzení mikropipety při 22 741.2 Hz . . . . .	89
Obr. 6.17	Dynamická analýza: detail buzení mikropipety při 22 741.2 Hz . . . . .	89



# Seznam tabulek

Table 1.1	Parametry mikropipety [11] [12] [13] [14] . . . . .	24
Table 1.2	Materiálové vlastnosti borosilikátového skla [15] [16] . . . . .	24
Table 2.1	Materiálové vlastnosti borosilikátového skla [15] [16] . . . . .	29
Table 3.1	Vliv hustoty MKP sítě . . . . .	43
Table 3.2	Vlastní frekvence modelu při 24 a 28 uzlech na obvod penetrační části mikropipety . . . . .	44
Table 4.1	Nastavení dolních a horních hranic parametrů . . . . .	47
Table 4.2	Modifikované nastavení dolních a horních hranic optimalizačních parametrů . . . . .	53
Table 5.1	Rozměry měřené mikropipety . . . . .	64
Table 5.2	Vlastní frekvence mikropipety získané z měření EMA . . . . .	65
Table 5.3	Nastavení dolních a horních hranic optimalizačních parametrů . . . . .	69
Table 5.4	Vybrané vlastní frekvence z měření EMA a z analýzy Abaqusu pro optimalizaci parametrů . . . . .	70
Table 5.5	Vlastních frekvencí z měření EMA vs. vlastní frekvence modelu získané pomocí optimalizace . . . . .	74
Table 5.6	Vlastních frekvencí z měření EMA vs. vlastní frekvence modelu získané pomocí optimalizace . . . . .	76
Table 5.7	Parametry modelu mikropipety získané z optimalizace . . . . .	76
Table 6.1	Hustota a objemový modul modelovaného roztoku . . . . .	82
Table 6.2	Frekvenční oblasti pro dynamické buzení . . . . .	86
Table 6.3	Nalezené oblasti buzení piezo mikropipety . . . . .	90

# Úvod

Je to více než 45 let, kdy byla úspěšně oplozena první lidská vaječná buňka (oocyt) procesem In vitro Fertilisation, neboli „oplozením ve zkumavce“. Výsledkem bylo první narozené dítě zplozené metodou In vitro Fertilisation (IVF). K tomuto velkému přelomu došlo ve Velké Británii v roce 1978 díky lékařům R. Edwarse a P. Steptoea. Jméno narozené dívky bylo Louise Brownová [17].

Od oznámení prvního narozeného „dítěte ze zkumavky“ do dnešní doby došlo k mnoha objevům průlomových technik, které pomáhají překonávat neplodnost jedinců. Motivací pro vývoj a výzkum metod asistované reprodukce je i fakt, že v rozvinutých zemích je až 15 % párů, které nedosáhnou těhotenství po jednom roce pravidelného nechráněného pohlavního styku a spadají, podle Světové zdravotnické organizace (WHO), do kategorie neplodnosti (infertility) [18].

Jednou z technik asistované reprodukce je metoda intracytoplazmatické injekce spermií, zkráceně ICSI [19]. Metoda ICSI se používá při více jak 70 % mimotělních oplodnění z čerstvých oocytů. Používá se zejména v případech těžkých mužských faktorů, kdy spermie není schopna oplodnit oocyt přirozenou cestou. Důvodem může být buďto nízký počet spermií nebo jejich nízká pohyblivost. Dále je metoda ICSI používána při vysokém věku rodiček, malém počtu oocytů rodiček a dalších problémech zamezujících přirozenému oplodnění [20].

Metoda ICSI, jak název napovídá, je založena na penetraci oocytu (tj. lidské vaječné buňky) pomocí mikropipety, která nese mužskou pohlavní buňku, spermii. Oocyt je během této procedury uchycen za pomoci přidržovací mikropipety. Po penetraci oocytu mikropipetou se spermií je spermie umístěna do buňky a následně vytažena [21].

Výše uvedený postup ICSI se může zdát jednoduchý, nicméně samotný proces procedury ICSI je v praxi velice složitý. Během procedury nastává mnoho obtíží, jako je vysoká flexibilita oocytární membrány během penetrace [19]. Důsledkem toho, dochází při penetraci oocytu mikropipetou k velké deformaci oocytu a to může mít za následek zničení celé buňky [22].

Za cílem překonat tento problém, byla vyvinuta a úspěšně implementována pro klasickou ICSI proceduru technologie buněčné penetrace založená na piezo členu [23] [24]. Tato metoda je založena na postupném posouvání mikropipety proti membráně oocytu pomocí mikromanipulátoru, přičemž samotná mikropipeta je

buzena piezo členem vysokou frekvencí v řádech jednotek až desítek  $kHz$ . Vybuzený sled pulzů mikropipety napomáhá k jednodušší penetraci membrány oocytu [19].

Ačkoliv metoda ICSI s piezoaktuátorem, díky vibračním pohybům mikropipety, dosahuje snazšího proniknutí do buňky, a díky tomu nedochází k tak velkým deformacím oocytu, jako je tomu při klasické ICSI bez piezoaktuátoru, trpí tato metoda na velké boční oscilace penetrační části mikropipety. V důsledku toho mikropipeta způsobuje větší oblast poškození buněčné membrány, což má špatný vliv na další vývoj oocytu. V důsledku toho je metoda ICSI bez piezoaktuátoru stále hlavní využívanou metodou asistované reprodukce [25].

Metoda ICSI s piezoaktuátorem má velký potenciál v oblasti asistované reprodukce, nicméně je zde stále velký prostor pro zlepšení. Za cílem omezit boční oscilace piezo mikropipety je při některých aplikacích do penetrační části mikropipety nasát sloupec rtuti, který díky své velké hmotnosti utlumuje boční oscilace buzené mikropipety, a je tak dosahováno uspokojivých výsledků. Toto řešení je účinné, nicméně je zde velký problém s toxicitou rtuti, a proto toto řešení je ve většině států zakázané. V případě překonání problému s bočními oscilacemi piezo mikropipety by tato metoda dosahovala velice příznivých výsledků, a zároveň by nebylo potřeba mít natolik proškolené a zkušené pracovníky, jako pro metodu ICSI bez piezoaktuátoru [26].

Tato diplomová práce se bude zejména věnovat návrhu modelu skleněné piezo mikropipety pro metodu ICSI za cílem zkoumání mechanického chování penetrační části piezo mikropipety. Vzhledem k rozměrům penetrační části mikropipety, kde se průměr mikropipety pohybuje okolo  $6\mu m$ , a buzení mikropipety je realizováno v řádech jednotek až desítek  $kHz$ , není možné plně pozorovat pohyb penetrační části mikropipety ani pod nejlepšími zařízeními. V důsledku toho není přesně známo, jaký pohyb penetrační část mikropipety ve skutečnosti vykonává. Vytvořený model piezo mikropipety v této diplomové práci by měl objasnit některé otázky týkající se pohybu penetrační části mikropipety a měl by přinést další poznatky pro výzkum a vývoj metody ICSI s piezoaktuátorem.

# Cíle práce

Prvním cílem této diplomové práce je seznámení se s problematikou využití piezo mikropipet při metodě ICSI. Piezo mikropipetou (popřípadě piezomikropipetou) je mінěna mikropipeta buzená piezoaktuátorem při metodě ICSI. Metoda ICSI, neboli intracytoplazmatická injekce spermie spadá pod kategorii In vitro Fertilisation (IVF), neboli „oplození ve zkumavce“.

V kapitole 1 bude představena metoda ICSI a její výhody a nevýhody jako oplodňovací techniky. Dále zde bude stručně popsán celý proces metody ICSI a výhody, které přináší metoda ICSI s piezo mikropipetou. V další části této kapitoly budou ukázány pracovní stanice a další příslušenství potřebné pro metodu ICSI. Na závěr této kapitoly bude shrnuta geometrie a materiálové vlastnosti piezo mikropipet používaných při metodě ICSI, které budou nutné pro další zkoumání.

Druhá kapitola diplomové práce má za cíl vytvořit parametrický MKP model piezo mikropipety. Tento model bude v dalších kapitolách nástrojem pro zkoumání mechanického chování piezo mikropipety prostřednictvím modální analýzy. Vzhledem ke složitosti geometrie mikropipety byla pro modelaci zvolena metoda konečných prvků, ačkoliv by analytické řešení jistě bylo možné, jeho složitost by byla enormní. MKP model piezo mikropipety bude vytvořen v prostředí Abaqus za pomoci skriptování v programu Python. Důvodem, proč bylo zvoleno prostředí Abaqus pro tvorbu modelu je možnost tvorby modelu pomocí skriptování v programu Python, dále možnost zpracování dat v programu Matlab a obecně dobrá zkušenost s prostředím Abaqus.

V kapitole 2 bude vysvětlen celý postup tvorby parametrického MKP modelu mikropipety pomocí skriptování v Python. Zároveň zde budou vysvětleny jednotlivé volby nastavení modelu, výběr modelovacích prvků a další. Dále bude v kapitole věnován čas automatizovanému síťování MKP modelu při změně jednotlivých geometrických parametrů. Po vytvoření parametrického MKP modelu piezo mikropipety bude spuštěna modální analýza mikropipety a budou představeny výstupy, které model poskytuje.

Kapitola 3 se bude věnovat optimálnímu nastavení hustoty síťování modelu. Bude zde použito propojení prostředí Matlab s prostředím Abaqus za pomoci spouštění Python skriptu prostřednictvím operačního systému. Proces získávání dat o kvalitě síťování modelu při různém nastavení bude uskutečněn pomocí **FOR**

cyklu a **MatlabFunction** v prostředí Matlab. Celý proces bude automatizován a vysvětlen. Na konci této kapitoly budou ukázány výsledky závislosti výpočetního času MKP modelu mikropipety na hustotě síťování, počet prvků MKP modelu mikropipety na hustotě síťování a vliv hustoty síťování MKP modelu mikropipety na změnu vlastních frekvencí modelu. Výsledky budou shrnuty a bude nastavena optimální hustota síťování.

Ve čtvrté kapitole bude realizována citlivostní studie MKP modelu piezo mikropipety. V této kapitole budou získána data vlivu změny parametrů MKP modelu mikropipety na změnu vlastních frekvencí a vlastních tvarů. Postup extrakce dat bude vysvětlen. V druhé části této kapitoly budou zhodnoceny získané výsledky na základě vytvořených grafů. Cílem této kapitoly bude nalézt vlastní tvary, které vykazují takový pohyb penetrační části mikropipety, který je žádoucí při proceduře ICSI. Zároveň zde budou zhodnoceny jednotlivé vlastní frekvence modelu mikropipety a jejich citlivost na parametry modelu mikropipety.

Kapitola 5 bude mít za cíl validaci vytvořeného MKP parametrického modelu mikropipety. V první části této kapitoly budou představena získaná data z experimentální modální analýzy (EMA). V druhé části bude použito genetických algoritmů v prostředí Matlab a bude uskutečněna identifikace parametrů MKP modelu mikropipety. Cílem této optimalizace bude nalezení takové sady parametrů, při které bude MKP model mikropipety vykazovat stejné vlastní frekvence jako reálná mikropipeta, tedy vlastní frekvence modelu se budou shodovat, nebo při nejmenším blížit, vlastním frekvencím získaným z měření EMA na reálné mikropipetě. Předpoklad pro validaci modelu je ten, že nalezené parametry modelu pomocí optimalizace genetickými algoritmy budou v hranici reálných rozměrů mikropipety. V poslední části této kapitoly budou shrnuty výsledky získané z optimalizace genetickými algoritmy, a na základě těchto výsledků bude MKP model mikropipety validován.

Kapitola 6 bude nastiňovat možná konstrukční řešení mikropipety s piezoaktuátorem. Bude zde popsáno, jakým způsobem celé konstrukční řešení pracuje a bude zde provedena diskuze nad jednotlivými řešeními. V druhé části této kapitoly bude vysvětleno, jaký je požadovaný pohyb piezo mikropipety, při kterém dochází k nejlepším výsledkům procedury ICSI s piezoaktuátorem. V další části bude představen model mikropipety s roztokem uvnitř penetrační části mikropipety a bude zhodnocen vliv tohoto roztoku na změnu vlastních tvarů mikropipety. V předposlední části této kapitoly bude aplikována dynamická analýza na MKP model mikropipety s roztokem a budou představeny výsledky získané z této analýzy.

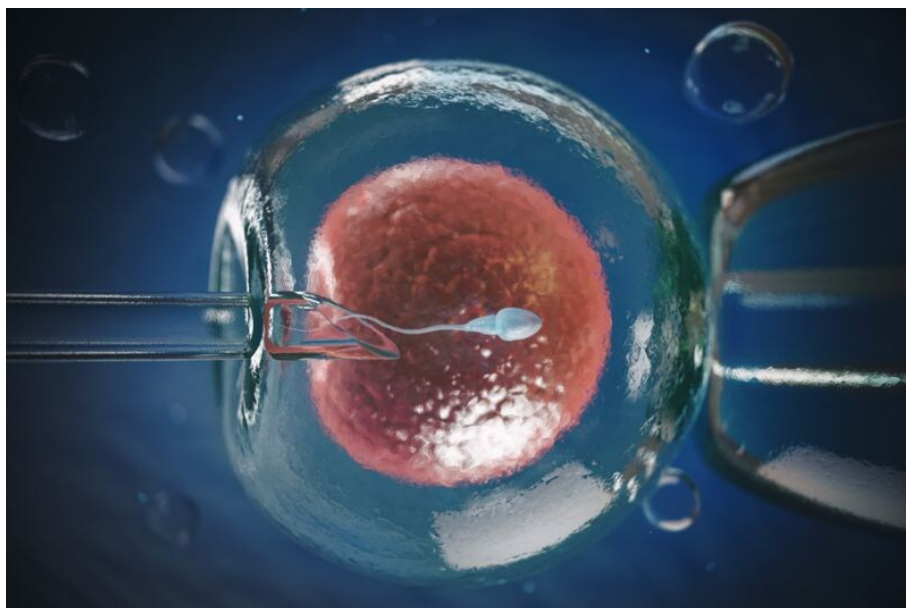
A na závěr, na základě poznatků získaných z kapitoly 4, citlivostní studie, a dat získaných z dynamické analýzy mikropipety, bude navržena možná frekvenční oblast buzení piezo mikropipety, při které bude piezo mikropipeta vykazovat žádaný axiální pohyb penetrační části mikropipety.

# Kapitola 1

## Asistovaná reprodukce metodou ICSI

Asistovaná reprodukce metodou ICSI, neboli intracytoplazmatická injekce spermie je mikromanipulační technika mimotělního oplodňování spadající pod IVF (In vitro Fertilization). Tato metoda mimotělního oplodnění je odlišná od klasické IVF metody. Klasická IVF metoda je mimotělní oplodnění oocyty spermií, které probíhá v kultivačním roztoku bez vnějšího zásahu. Následně je uskutečněn přenos embrya do dělohy. Celá tato procedura je tzv. In vitro Fertilisation and Embryo Transfer (IVF+ET) [17].

Metoda ICSI, na druhé straně, spočívá v přímé implementaci spermie do oocyty pomocí mikropipety. Dochází zde tedy k vnějšímu zásahu, kdy mikropipeta se spermií penetruje zónu pelucida a oolemu oocyty, jak je vidět na obrázku 1.1 [17].



**Obr. 1.1:** ICSI Metoda [1]

Jak klasická IVF metoda, tak metoda ICSI má své výhody a nevýhody. Největší výhodou metody ICSI oproti klasické IVF je, že lze implementovat do oocyty i

spermie, které nedosahují dostatečné aktivity pro proniknutí do oocytu přirozeným způsobem. Je tedy možné reprodukovat i mužské jedince, kteří z evolučního hlediska nemají šanci se dále reprodukovat [27].

Z výzkumů vyplývá, že metoda ICSI je dnes využívána v 66.5 % klinik asistované reprodukce. Důvodem, proč se stala metoda tolik populární, je právě možnost dosáhnout oplodnění i v případě těžkých mužských faktorů neplodnosti. Dále se metoda běžně využívá i v případech nízké zralosti oocytů, při oplodňování kryokonzervovaných oocytů, nebo pro pacientky ve vyšším věku a další [28].

Vzhledem k tomu, že u procesu ICSI jsou používány pohlavní buňky jedinců, které jsou defektní nebo ani nedokončili redukční dělení, je zde vyšší riziko vzniku genetického defektního embrya než u „tradičních“ IVF metod [27].

### **Důvody použití ICSI metody**

- spermie není schopna oplodnit oocyt přirozenou cestou, důvodem může být nízký počet spermií, nebo jejich nízká pohyblivost
- imunologické příčiny neplodnosti
- neúspěšné pokusy při „klasických“ metodách IVF
- při vysokém věku
- při neúspěšnosti jiných metod umělého oplodnění
- při zisku malého počtu vajíček
- při oplodňování vajíčka kryokonzervovanou spermií
- při oplodňování darovaných vajíček

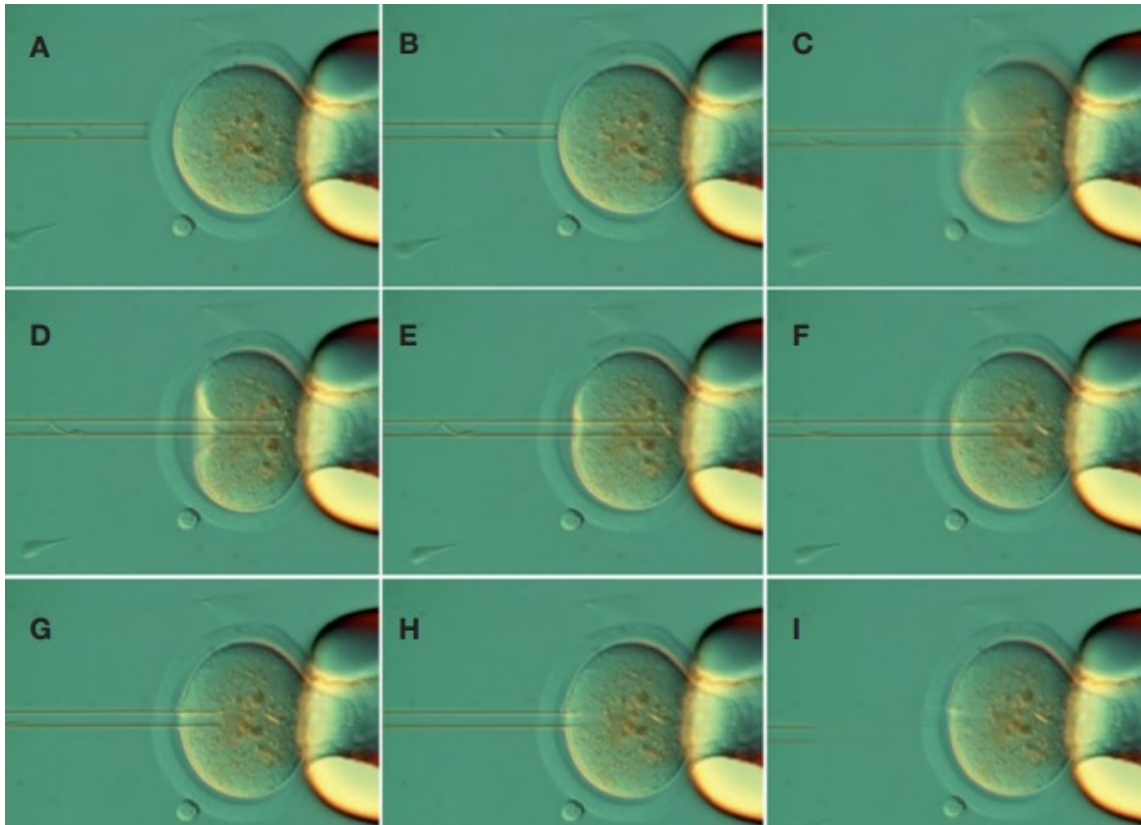
Metoda ICSI je hojně využívána pro oplodňování oocytů, jak u zvířat, tak u lidí. ICSI metoda je oproti jiným metodám mimotělního oplodnění v mnoha případech úspěšnější [20] a není zde zvyšující se riziko vrozené vady plodu [17].

Experimenty ukazují, že metoda ICSI má velký potenciál i v případech, kdy klasické mimotělní oplodnění není možné. To je i důvodem proč je snaha tuto metodu stále zdokonalovat a vyvíjet [28].

## **1.1 Proces ICSI**

Procedura ICSI (Intracytoplazmatická injekce spermií), jak název napovídá, je založena na implementaci spermie do oocytu pomocí mikropipety. Laboratorní pracovník pod mikroskopem nasaje spermií do mikropipety, posléze si uchytlí vajíčko za pomoci podtlaku druhou mikropipetou. Dále mikropipetou se spermií penetruje





**Obr. 1.2:** Průběh procedury ICSI. A,B: mikropipeta propichuje zónu pelucida, C,D: mikropipeta penetrovala zónu pelucida, E: mikropipeta prošla oolemou oocyty, F: injekce spermie do oocyty, G-I: vytažení mikropipety [2]

zónu pelucida a oolemu oocyty. Následuje injekce spermie do cytoplazmy oocyty. Nakonec mikropipetu, již bez spermie, vytáhne [20].

Problém, který často u metody ICSI nastává je, že mikropipeta se spermii při penetraci oocyty poškodí oocyt natolik, že není schopný se po vytáhnutí mikropipety zacelit, a procedura je díky tomu neúspěšná. V důsledku velké elasticity membrány oocyty, zároveň dochází při této metodě k velké deformaci oocyty, která může vést taktéž ke zničení buňky. Pro částečnou eliminaci tohoto jevu je na konstrukci s mikropipetou umístěn piezoaktuátor. Tento piezoaktuátor rozkmitá mikropipetu se spermii, a díky tomu mikropipeta lépe pronikne do oocyty a deformace oocyty je pak nižší než při penetraci bez piezoaktuátoru [22].

Toto řešení s piezoaktuátorem, se z experimentů ukázalo v mnoha případech jako úspěšnější, nicméně samotné nastavení piezoaktuátoru a obecná znalost chování mikropipety při vybuzení piezoaktuátorem není zcela prozkoumána [22]. Zároveň, při špatném nastavení piezoaktuátoru, dochází k velkým bočním kmitům penetrační části mikropipety, a to vede k poškození oocyty ještě ve větší míře, než je tomu u procedury ICSI bez piezoaktuátoru.

Ke zlepšení pohybu mikropipety, respektive ke snížení boční oscilace mikropipety, je přidáván do mikropipety se spermii sloupec rtuti. Toto řešení bude taktéž diskutováno v této práci, nicméně ve většině států je přidávání rtuti zakázáno,

a to z důvodu toxicity [26] [29].

Hlavním cílem tedy je, prozkoumat pohyb piezo mikropipety při vybuzení piezoaktuátorem, a posléze najít vhodné nastavení piezoaktuátoru, které bude vykazovat nejlepší výsledky.

### 1.1.1 Přístroje a nástroje využívané při metodě ICSI

V této části práce budou stručně shrnuty důležité přístroje a nástroje, které jsou využívány při proceduře ICSI s piezoaktuátorem. Bude zde představena pracovní stanice pro ICSI společnosti Eppendorf, viz. obrázek 1.5. Společnost Eppendorf není jedinou společností dodávající stanice pro metodu ICSI, nicméně pracovní stanice od jiných společností jsou postaveny na stejném, nebo velice podobném, principu.

Tato pracovní stanice společnosti Eppendorf se skládá z **inverzního mikroskopu**, **adaptéru pro inverzní mikroskop**, **TransferMan 4m**, **CellTram 4m Air** a **CellTram 4m Oil** [3].



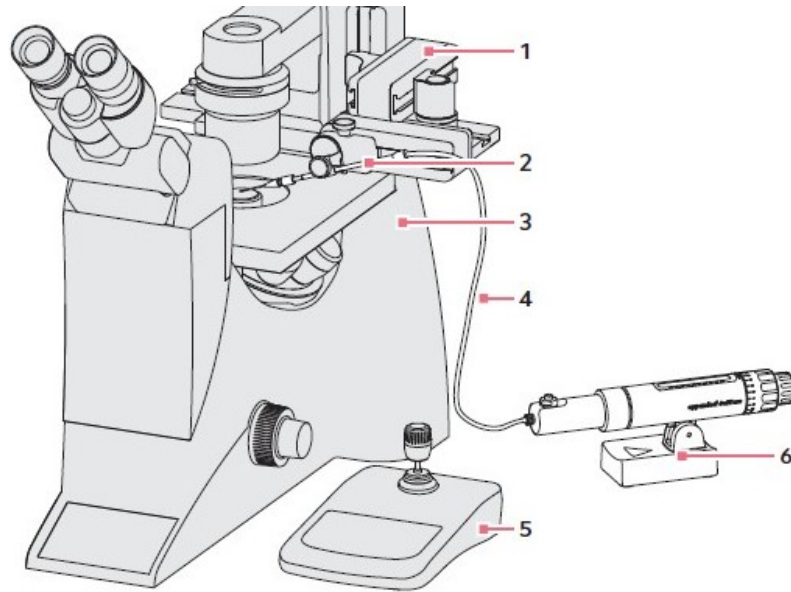
**Obr. 1.3:** Pracovní stanice pro ICSI společnosti Eppendorf [3]



**Obr. 1.4:** Eppendorf TransferMan 4m micromanipulators [4]

- **Inverzní mikroskop:** optický mikroskop s obrácenou optickou soustavou, tzn. objektivy jsou pod pozorovaným objektem a zdroj světla s kondenzorem nad objektem, zvětšení až 1000x, vybavený modulačním kontrastem nebo diferenciálním interfázovým kontrastem pro zvýšení kontrastu obrazu, a další.
- **CellTram 4m Air:** pneumatický injektor pro bezolejovou mikromanipulaci a jemné upevnění buněk (oocytů).
- **CellTram 4m Oil:** hydraulický, olejem plněný, mikroinjektor, schopný vytvářet vyšší tlaky, než vzduchový systém, využití pro přenos spermií.
- **TransferMan 4m:** mikromanipulátor pro ovládání pohybu mikropipet [3].

Celý proces implementace spermie do oocytu se odehrává pod mikroskopem, jak je vidět na obrázku 1.6.

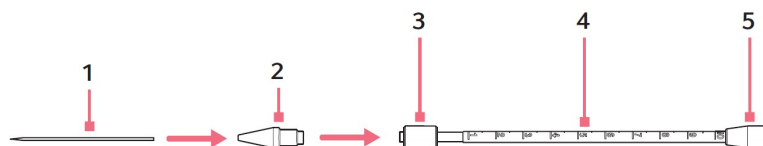


**Obr. 1.5:** Pracovní stanice pro ICSI: 1) mikromanipulátor, 2) držák mikropipety, 3) inverzní mikroskop, 4) vstříkovací trubice 5) kontrolní deska mikromanipulátoru, 6) mikroinjektor [5]



**Obr. 1.6:** Detail uložení mikropipet [4]

Na obrázku je patrné, že mikromanipulátor je vybaven dvěma mikropipetami, které jsou na něm uchyceny. První mikropipeta slouží k uchycení oocytu, zatímco druhá mikropipeta je určena pro nasátí spermií a jejich následnou implantaci do oocytu. Pro uložení mikropipet jsou využity držáky mikropipet (trubky) s upínacími hlavicemi, které jsou připevněny k samotné konstrukci mikroskopu, viz. 1.7. Držák mikropipety, v němž je uložena mikropipeta pro uchycení oocytu, je napojen vstříkovací trubicí na pneumatický injektor pro uchycení oocytu **CellTram 4m Air**. Druhý držák mikropipety, ve kterém je uložena mikropipeta pro implementaci spermie do oocytu, je napojen taktéž trubicí na hydraulický, olejem plněný, mikroinjektor **CellTram 4m Oil** [5].



**Obr. 1.7:** Schéma uložení mikropipet: 1) mikropipeta, 2) upínací hlavice, 3) rýhovaný šroub, 4) držák mikropipety (trubka), 5) přípojka pro trubici mikroinjektoru [5]

Uchycení držáků mikropipet k mikroskopu je realizováno prostřednictvím rotačního členu, který umožňuje otáčení kolem vodorovné osy. Důvodem pro přítomnost této rotační vazby je skutečnost, že mikropipety nejsou zcela rovné, ale mají zakřivený konec pod různými úhly (více viz. kapitola 1.2). Díky rotačním vazbám je možné nastavit správný úhel natočení mikropipety v závislosti na úhlu zahnutí mikropipety [5].

### 1.1.2 Konstrukce s piezoaktuátorem

Jak bylo již nastíněno v kapitole 1.1, přidání piezoaktuátoru ke konstrukci vykazuje na základě experimentů lepší výsledky [22]. Společnost Eppendorf vyvinula právě takový piezoaktuátor, který má docílit lepších výsledků při metodě ICSI [2].

Piezoaktuátor společnosti Eppendorf je namontován na držáku mikropipety, jak je možné vidět na obrázku 1.8. Tento piezoaktuátor má za cíl rozkmitat mikropipetu se spermií tak, aby při penetraci zóny pelucida a oolemy oocytu došlo k co nejmenšímu poškození, a zároveň k co nejmenší deformaci oocytu. Je tedy i žádoucí, aby k penetraci buněčné membrány došlo jednoduše [30].



**Obr. 1.8:** Umístění piezoaktuátoru na držák mikropipety, Eppendorf PiezoXpert [2]

#### Vlastnosti PiezoXpert a důsledky jeho použití:

- snížená deformace oocytu během ICSI
- specializovaný piezoelektrický aktuátor pro generování vysokofrekvenčních, nízkoamplitudových mechanických pulzů

- použití tupé ICSI-mikrokapiláry pro zajištění optimálního přenosu mechanické síly
- studiemí prokázaná vyšší míra přežití oocytů [2] [30]

## 1.2 Mikropipety využívané pro metodu ICSI

Mikropipety využívané pro metodu ICSI jsou specifické svou geometrií a materiálem. Výrobci mikropipet pro metodu ICSI je na trhu celá řada. Jmenovitě je to například společnost Eppendorf, Kitazato, Mikrotech nebo Synga. Všichni tito výrobci mikropipet používají pro výrobu mikropipet Borosilikátové sklo a geometrie mikropipet se liší jen minimálně.

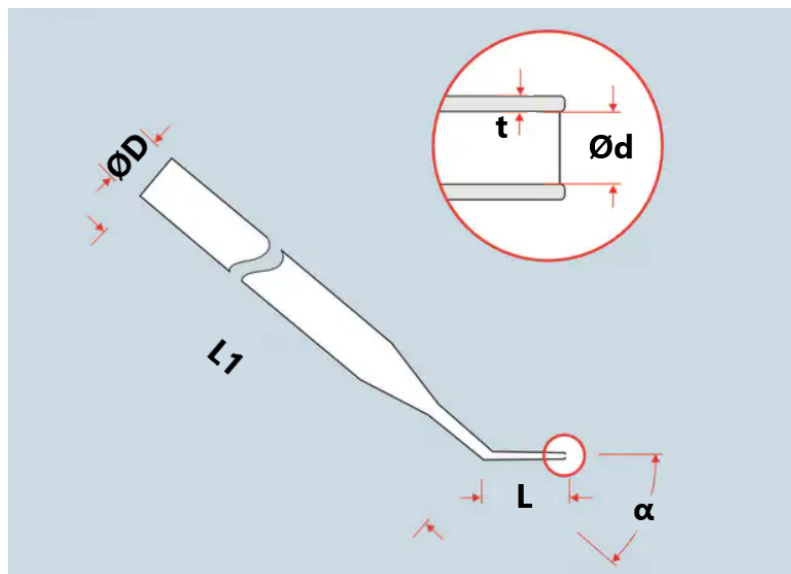


Obr. 1.9: Mikropipeta společnosti Kitazato [6]

### 1.2.1 Geometrie mikropipety

Jak je vidět na obrázku 1.10, mikropipeta je na svém konci zahnutá pod úhlem  $\alpha$ . Toto zahnutí mikropipety je velice důležité pro samotný výkon, neboť konec mikropipety, který penetruje oocyt, musí být ve vodorovné poloze vůči pozorovateli. Důvod je ten, že mikroskop dokáže zaostřit jen v určité hladině, proto je konec mikropipety ohnutý do vodorovného směru vůči pozorovateli, aby při pozorování byla vidět celá koncová část mikropipety, a bylo tak možné výkon provést. Tento úhel ohnutí  $\alpha$  se u výrobců pohybuje mezi 20 - 35°.

Další geometrické parametry mikropipety jsou délka koncové části mikropipety (penetrační část)  $L$ , průměr penetrační části mikropipety  $\varnothing d$ , tloušťka stěny penetrační části mikropipety  $t$ , délka mikropipety od širokého konce (upínací části) po ohnutí  $L_1$ , průměr upínací části  $\varnothing D$  a tloušťka stěny upínací části  $T$ . Rozměry těchto parametrů jsou shrnuty v tabulce 1.1.



Obr. 1.10: Geometrie mikropipety [7]

Tabulka 1.1: Parametry mikropipety [11] [12] [13] [14]

Parametr geometrie	Hodnota parametru
$\alpha$	20, 30, 35 °
$L$	0.5, 1 mm
$\varnothing d$	4 - 5.5 $\mu m$
$t$	$\pm 1 \mu m$
$L1$	55 - 60 mm
$\varnothing D$	$\pm 1 mm$
$T$	$\pm 0.1 mm$

## 1.2.2 Materiál mikropipety

Mikropipety používané pro metodu ICSI jsou vyráběny z borosilikátových skleněných kapilár. Borosilikátové sklo je široce používáno v chemických a inženýrských aplikacích. Borosilikátové sklo je specifické svým nízkým koeficientem tepelné roztažnosti, lze jej používat při poměrně vysokých teplotách, ale zejména má velkou chemickou odolnost [15]. V tabulce 2.1 jsou uvedeny materiálové vlastnosti důležité pro modelaci mikropipety v další části práce.

Tabulka 1.2: Materiálové vlastnosti borosilikátového skla [15] [16]

Hustota	2.23 g/cm <sup>3</sup>
Youngův modul	64 GPa
Poissonovo číslo	0.2



# Kapitola 2

## Parametrický model piezo mikropipety

Pro vytvoření modelu mikropipety, který bude použit pro získání všech potřebných dat pro další zkoumání, bude použito prostředí Abaqus. Bude vytvořen parametrický MKP model mikropipety.

Prvním krokem, pro získání informací o pohybu penetračního konce mikropipety při vybuzení piezoaktuátorem, je sestavení parametrického MKP modelu mikropipety. Celý model piezo mikropipety bude zkoumán v prostředí Abaqus. Parametrický MKP model piezo mikropipety bude sloužit k získání informací o vlastních frekvencích a vlastních tvarech piezo mikropipety, a zároveň bude použit k citlivostní analýze změny vlastních tvarů a vlastních frekvencí na změnu geometrických a materiálových parametrů. V poslední řadě bude použit k nalezení frekvenční oblasti vhodné pro buzení piezoaktuátorem.

Důvodem volby prostředí Abaqus a obecně MKP modelu je, že bude možné aplikovat modální a dynamickou analýzu na vytvořený model. Analytické řešení takového problému by bylo velice náročné [31], proto je použití metody konečných prvků ideálním nástrojem pro tuto aplikaci.

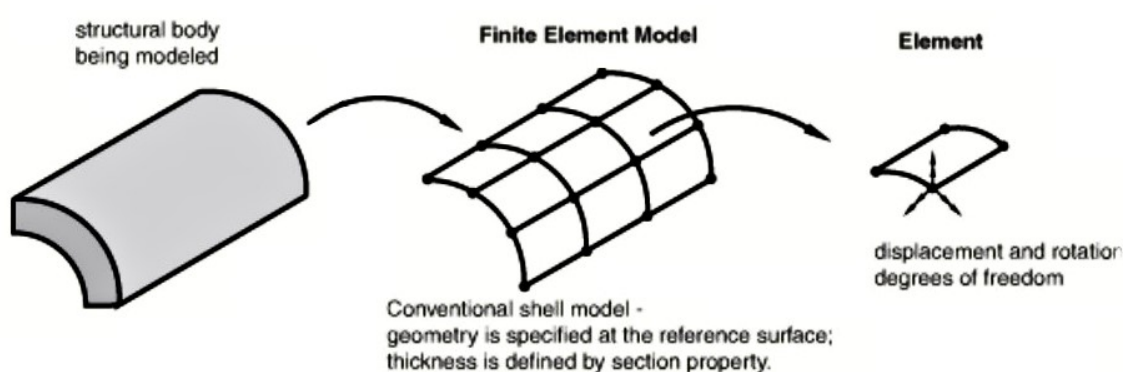
### 2.1 Prvky parametrického MKP modelu mikropipety

Samotný 3D model piezo mikropipety bude navržen z prvků kontinua skořepin. Prvky skořepin se používají u konstrukcí, kde je jeden z rozměrů, tloušťka, výrazně menší než další rozměry [8]. Tento základní předpoklad zkoumaná mikropipeta splňuje. Tloušťka stěny mikropipety je násobně menší než další rozměry mikropipety.

V důsledku předpokladu malé tloušťky mikropipety vůči ostatním rozměrům, konvenční skořepinové prvky diskretizují tělo objektu na definované referenční geometrii. Tloušťka je poté definována na základě definice vlastnosti řezu. Stupně



volnosti pro konvenční skořepinové prvky jsou posunutí a rotace. Jak vypadá prvek konvenční skořepiny je vidět na obrázku 2.1 [8].



**Obr. 2.1:** Prvky konvenční skořepiny [8]

Knihovna prvků skořepin Abaqusu poskytuje prvky, které umožňují modelaci zakřivených skořepin. Prvky skořepin zachycují nelineární odezvu materiálu a velké celkové posuvy a rotace. Knihovna prvků skořepin v Abaqusu je rozdělena do tří kategorií, a to univerzálních, tenkých a tlustých skořepinových prvků.

Tenké skořepinové prvky jsou aplikovány pro případy, které jsou popsány klasickou (Kirchhoffovou) teorií skořepin. Prvky tlustých skořepin jsou určeny pro konstrukce, které jsou nejlépe modelovány teorií skořepinových smyků (Midlinovskou teorií) [32] a univerzální skořepinové prvky poskytují řešení problémů jak s tenkými, tak s tlustými skořepinami. Pro většinu aplikací je volba univerzálních skořepinových prvků na prvním místě [33]. Pro MKP model piezo mikropipety byly tedy zvoleny univerzální skořepinové prvky, které se ukázaly v průběhu modelování jako správná volba.

Pro model piezo mikropipety byly konkrétně použity trojrozměrné skořepinové prvky S4R. Prvky S4R jsou univerzální lineární 4-uzlové tenké nebo tlusté pláště. Tento typ univerzálních skořepinových prvků poskytuje robustní a přesná řešení ve všech podmínkách zatížení pro tenké a tlusté skořepiny. V jejich formulaci je dovolena změna tloušťky jako funkce deformace v rovině. Prvky S4R uvažují konečná membránová napětí [33].

## 2.2 Abaqus Scripting Interface

Pro vytvoření parametrického MKP modelu piezo mikropipety bude využito Abaqus Scripting Interface, který dovoluje vytvoření modelu za pomoci skriptů v prostředí Python.

Abaqus Scripting Interface je programovací a aplikační rozhraní (API) využívané pro modely a data, které Abaqus využívá. Je to rozšířené objektově orientované programování v jazyku Python. Skriptovací rozhraní Abaqusu lze použít k vytváření a úpravě modelů, ať už se jedná o geometrii, materiálové vlastnosti, zatížení, steps,

sítování modelu a další. Dále je možné pomocí skriptovacího rozhraní číst a zapisovat data do databáze Abaqusu a prohlédnout si výsledky analýz [34].

Po vytvoření skriptu parametrického MKP modelu je možné skript spustit hned několika způsoby. První z nich je spuštění skriptu za pomoci příkazového řádku. Relace Abaqus/CAE se spustí příkazem: „abaqus cae script = myscript.py“, kdy „myscript.py“ je název skriptu. Podobným způsobem lze spustit skript bez GUI, grafického uživatelského rozhraní Abaqusu, a to stejným způsobem, pouze příkazem „abaqus cae noGUI = myscript.py“. Spouštění skriptu bez grafického rozhraní je užitečné pro optimalizační procedury a automatizaci úloh díky snížení nákladů na grafiku [35]. Tyto dvě možnosti, jak spustit skript modelu, budou v této práci využívány.

Další možností je spustit script přímo v grafickém uživatelském prostředí Abaqus, popřípadě za pomoci příkazového řádku (CLI) v uživatelském rozhraní Abaqus za pomoci příkazu „execfile('myscript.py')“ [35].

Pro zjednodušení práce při psaní skriptu v Pythonu byl také využit **pyabaqus** balíček Pythonu, který poskytuje tipy pro skriptování v jazyce Python pro Abaqus [36].

### 2.2.1 Python skript pro tvorbu geometrie piezo mikropipety

V této kapitole bude představeno, jak byl vytvořen parametrický 3D model mikropipety za pomoci skriptovacího rozhraní Python. Zároveň bude blíže popsána celková geometrie mikropipety.

V první řadě skript obsahuje důležité importy, které připravují prostředí pro práci s Abaqusem a umožňují skriptovat, automatizovat a provádět analýzy. Importy jsou vidět na obrázku 2.2.

```
import sys
from abaqus import *
from abaqusConstants import *
from caeModules import *
from odbAccess import *
```

**Obr. 2.2:** Importy pro přípravu prostředí

- `import sys` : import vestavěného modulu v Pythonu poskytující funkce a proměnné umožňující interakci s interpretrem Pythonu (manipulace s cestami a argumenty z příkazového řádku)
- `from abaqus import *` : načtení všech funkcí a tříd dostupných v modulu Abaqus, zahrnuje hlavní funkce a rozhraní pro interakci s Abaqusem

- `from abaqusConstants import *` : modul obsahující definice konstant, které se používají v Abaqus skriptech
- `from caeModules import *` : načte všechny třídy a funkce, které jsou nutné pro interakci s Abaqus CAE, grafickým uživatelským rozhraním
- `from odbAccess import *` : načte funkce a třídy nutné pro správnou funkcionalitu čtení a zápisů výsledných souborů (ODB files) vytvořených Abaqus analýzami

Po importování důležitých modulů, přichází na řadu vytvoření samotného 3D modelu mikropipety v prostředí Abaqus. 3D model mikropipety bude nastaven jako třírozměrné deformovatelné skořepinové (shell) těleso (více ke skořepinovým prvkům v kapitole 2.1).

Tvorba 3D modelu začíná vytvořením sketchu. Tuto sketch je posléze možné rotovat okolo osy (Revolve), vytáhnout naskicovaný profil (Extrusion), nebo vytáhnout naskicovaný profil podél nadefinované (naskicované) cesty (Sweep). Zároveň je nutné zvolit dimenzi objektu, a zda je těleso dokonale tuhé, poddajné atd.

Pro případ mikropipety je nastavení následující:

```
dimensionality = THREE_D
type = DEFORMABLE_BODY.
```

```

7 myModel = mdb.Model(name='Model A')
8 mySketch = myModel.ConstrainedSketch(name='Sketch A',sheetSize=200.0)
9 mySketch.setPrimaryObject(option=STANDALONE)
10 CenterLine = mySketch.ConstructionLine(point1=(0.0, -100.0), point2=(0.0, 100.0))
11 mySketch.Line(point1=(0.0, 0.0), point2=(Lb_linear, 0.0))
12 mySketch.Line(point1=(Lb_linear, 0.0), point2=(Lc_thick, 0.0))
13 mySketch.Line(point1=(0.0, rPrumer), point2=(Lb_linear, R_prum))
14 mySketch.Line(point1=(Lb_linear, R_prum), point2=(Lab_long, R_prum))
15 mySketch.assignCenterline(line=CenterLine)
16 p = mdb.models['Model-1'].Part(name='ConeCylinder', dimensionality=THREE_D, type=DEFORMABLE_BODY)
17 p.BaseShellRevolve(sketch=mySketch, angle=360.0, flipRevolveDirection=OFF)
```

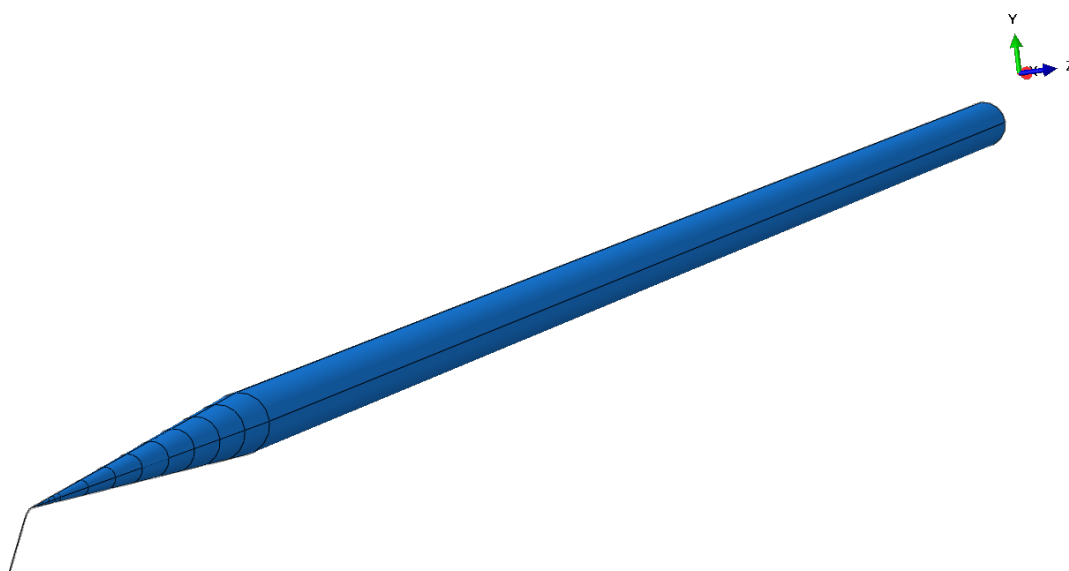
**Obr. 2.3:** Skript pro vytvoření skořepinového třírozměrného objektu pomocí rotace

Pro názornost je na obrázku 2.3 ukázán skript pro vytvoření válcové části mikropipety za pomoci rotace okolo konstrukční osy. První řádek skriptu vytváří nový model „Model A“. Na dalších řádcích je vidět, jak se vytváří sketch, kdy jednotlivé čáry sketchu jsou definovány v souřadnicovém systému XY. Jak je vidět na řádce 11, délka čáry je definovaná parametrem *Lb\_linear*. Tento parametr je délka upínací části mikropipety, a bude v následujících kapitolách měněn při optimalizaci a citlivostní studii. Stejně tak, se na dalších řádcích objevují další geometrické parametry mikropipety, které díky skriptování v Pythonu bude možné v další části práce jednoduše měnit.

Na řádce 15 je definovaná konstrukční osa okolo které bude sketch rotována a vytvoří finální skořepinu válce. 16. řádek definuje důležité vlastnosti objektu, jak

bylo zmíněno výše. A v poslední řadě, na řádku číslo 17, je realizována samotná rotace.

Obdobným způsobem byly vytvořeny i další části 3D modelu mikropipety. Pro cylindrickou a kuželovou část mikropipety byla použita rotace okolo konstrukční osy. Pro ohnutou část mikropipety a pro penetrační konec mikropipety bylo použito tažení podél naskicované cesty (Sweep). Finální 3D model mikropipety je vidět na obrázku 2.4. Jak je patrné z obrázku, upínací část mikropipety přechází do kloubu a penetrační části mikropipety lineárně, respektive je zde vymodelován kužel jako přechod. Tento kuželový přechod je zvolen jako přiblížení se k realitě, kdy je ze skleněných borosilikátových kapilár o průměru upínacího konce při zahřátí vytažena penetrační část mikropipety s kolenem.



**Obr. 2.4:** 3D parametrický model mikropipety v prostředí Abaqus

### 2.2.2 Python skript pro vytvoření materiálu piezo mikropipety

V další části skriptu je nutné objektu připsat materiálové vlastnosti. Jak bylo uvedeno v kapitole 1.2.2, mikropipety pro metodu ICSI jsou vyráběny z borosilikátového skla. Materiálové vlastnosti borosilikátového skla nutné k vytvoření MKP parametrického modelu mikropipety jsou následující:

**Tabulka 2.1:** Materiálové vlastnosti borosilikátového skla [15] [16]

Hustota	2.23 $g/cm^3$
Youngův modul	64 $GPa$
Poissonovo číslo	0.2

Změna hustoty, poissonova čísla a Youngova modulu budou v dalších kapitolách optimalizovány a bude zkoumána změna vlastních frekvencí a tvaru na změnu těchto materiálových vlastností, proto budou hustota, poissonovo číslo i Youngův modul brány jako parametry pro další zkoumání.

Na obrázku 2.5 je uvedeno, jak stručně pomocí skriptování v jazyce Python vytvořit materiál s parametrickými materiálovými vlastnostmi v prostředí Abaqus.

```
238 #Vytvoreni materialu
239 mdb.models['Model-1'].Material(name='Borosilicate_glass')
240 mdb.models['Model-1'].materials['Borosilicate_glass'].Density(table=((Rho, ), ))
241 mdb.models['Model-1'].materials['Borosilicate_glass'].Elastic(table=((EModul, PoissonRatio), ))
```

**Obr. 2.5:** Vytvoření materiálu borosilikátového skla

### 2.2.3 Python skript pro přiřazení materiálu a tloušťky modelu mikropipety

Po vytvoření 3D modelu mikropipety a vytvoření materiálu, je nutné přiřadit materiál 3D objektu. Zároveň je nutné přiřadit jednotlivým částem mikropipety tloušťku stěn skořepiny.

Materiál i tloušťka stěny je přiřazena pomocí příkazů na obrázku 2.6 a 2.7.

```
251 v mdb.models['Model-1'].HomogeneousShellSection(name='SecLongPart',
252     preIntegrate=OFF, material='Borosilicate_glass', thicknessType=UNIFORM,
253     thickness=ThicknessLongPart, thicknessField='', idealization=NO_IDEALIZATION,
254     poissonDefinition=DEFAULT, thicknessModulus=None, temperature=GRADIENT,
255     useDensity=OFF, integrationRule=GAUSS, numIntPts=numIntPts)
256 v mdb.models['Model-1'].HomogeneousShellSection(name='SecShortPart',
257     preIntegrate=OFF, material='Borosilicate_glass', thicknessType=UNIFORM,
258     thickness=ThicknessShortPart, thicknessField='', idealization=NO_IDEALIZATION,
259     poissonDefinition=DEFAULT, thicknessModulus=None, temperature=GRADIENT,
260     useDensity=OFF, integrationRule=GAUSS, numIntPts=numIntPts)
```

**Obr. 2.6:** Přiřazení materiálu a tloušťky stěny upínací a penetrační části mikropipety

Skript na obrázku 2.6 přiřazuje materiál **Borosilicate\_glass** a konstantní tloušťku **ThicknessLongPart** upínací části mikropipety. **ThicknessLongPart** je parametr tloušťky upínací části a bude v dalších kapitolách optimalizován a využit do citlivostní studie. Analogicky je přiřazen materiál a tloušťka **ThicknessShortPart** penetrační části a kolenu mikropipety. Tloušťka **ThicknessShortPart** je taktéž parametrem modelu, který bude využit v dalším zkoumání.

Další nastavení, která jsou důležitá pro kvalitu modelu jsou:

**integrationRule = GAUSS,**

kteří definuje integraci průřezu skořepiny, respektive chování průřezu skořepiny při zatížení. Integrace průřezu skořepiny může být realizována na základě Gaussovy kvadratury nebo Simpsonova pravidla. Pro tento model byla vybrána integrace



průřezu skořepiny na základě Gaussovy kvadratury. Důvodem je, že Gaussova kvadratura potřebuje méně integračních bodů oproti Simpsonově pravidlu při dosažení stejně přesných výsledků, a to vede ke snížení výpočetního času. Cenou za to ovšem je, že integrační body nejsou umístěny na povrchu skořepiny a tedy nejsou získány výsledky na povrchu [37]. Tento fakt by mohl být pro některé aplikace důležitý, nicméně pro zkoumaný problém v této práci nejsou výsledky napětí na povrchu mikropipety důležité a je výhodnější pro další výpočty dosáhnout, co nejnižšího výpočetního času na úkor hodnot na povrchu mikropipety.

Dalším důležitým nastavením je právě počet integračních bodů po tloušťce skořepiny.

**numIntPts = 3,**

V základním nastavení pro Gaussovu kvadraturu pro homogenní průřez je počet integračních bodů tři. Tento počet by měl být dostačující pro nelineární aplikace, jako je analýza odezvy zatížené elasticko-plastické skořepiny až do limitního zatížení. Navýšení počtu integračních bodů je doporučeno při teplotních šocích nebo u složitějších nelineárních výpočtů zahrnujících obrácení deformace [37]. Pro tento konkrétní případ ani jeden z těchto případů nenastal, proto byl počet integračních bodů ponechán v základním nastavení.

```

281   mdb.models[ 'Model-1' ].HomogeneousShellSection(name='SecLinearPart',
282       preIntegrate=OFF, material='Borosilicate_glass', thickness=0.0,
283       thicknessType=ANALYTICAL_FIELD, thicknessField='VariableThicknessFunction',
284       idealization=NO_IDEALIZATION, poissonDefinition=DEFAULT,
285       thicknessModulus=None, temperature=GRADIENT, useDensity=OFF,
286       integrationRule=GAUSS, numIntPts=numIntPts)

```

**Obr. 2.7:** Připsání materiálu a tloušťky stěny kuželové části mikropipety

Skript na obrázku 2.7 je analogický se skriptem z obrázku 2.6. Je zde ovšem jedna změna, a to ta, že je zde připsána tloušťka pomocí funkce:

**thicknessField = VariableThicknessFunction.**

V kuželové části mikropipety se mění tloušťka stěny z přibližně 0.1 mm (upínací část) na 1 μm (penetrační část). Je zde přistoupeno k zjednodušení reality a to tak, že pomocí funkce **VariableThicknessFunction** je nadefinováno, že tloušťka skořepiny v kuželové části se mění lineárně po délce. Díky tomu není po délce mikropipety žádný skok mezi tloušťkami stěn jednotlivých částí mikropipety.

## 2.2.4 Python skript pro nastavení výpočtu vlastních frekvencí a modelaci vetknutí

Pro získání vlastních frekvencí a vlastních tvarů modelu mikropipety je nutné mikropipetu připevnit k rámu, stejně jako je tomu při reálné aplikaci, kdy je mikropipeta upevněna k držáku, který lze vnímat jako rám, vzhledem k jeho velké hmotě





vhodná fáze historie. Příkladem může být například tepelný přechod, dynamický přechod, a nebo v tomto případě výpočet vlastních frekvencí [38]. Abaqus obsahuje vždy první úvodní krok „Initial“, který umožňuje definovat okrajové podmínky, předdefinovaná pole a interakce, která jsou realizována na úplném začátku analýzy [39].

```
234 #Step Frequency
235 mdb.models['Model-1'].FrequencyStep(name='Frequency', previous='Initial',
236 numEigen=NumOfFreq)
```

**Obr. 2.10:** Skript pro vytvoření nového kroku pro výpočet vlastních frekvencí modelu

Jak tedy bylo vysvětleno, pro získání vlastních frekvencí modelu je nutné vytvořit nový krok, Step. Na obrázku 2.10 je demonstrován skript pro vytvoření takového kroku. Při nastavení kroku je nutné zadat rozptyl vlastních frekvencí, popřípadě počet prvních vlastních frekvencí, které se mají napočítat. Toto nastavení je vidět na řádce 236

**numEigen = NumOfFreq,**

kde „NumOfFreq“ je počet požadovaných vlastních frekvencí, které mají být napočítány. Bude tedy napočítáno „NumOfFreq“ prvních vlastních frekvencí. Přirozeně, čím méně vlastních frekvencí je požadováno, tím rychlejší je celý výpočet modelu.

## 2.3 Meshing modelu mikropipety

Meshing (síťování) je velice podstatnou částí při tvorbě jakéhokoliv MKP modelu. Pokud bude síť příliš hrubá, výsledky budou nepřesné, naopak při příliš husté síti bude výpočetní čas zbytečně velký.

Jak je možné si všimnout z obrázků modelu mikropipety, například obrázek 2.8, nebo 2.4, penetrační část mikropipety je násobně menší, než upínací část mikropipety. Z toho důvodu bylo nutné věnovat velkou pozornost síťování modelu. Problém byl takový, že při jemném vysíťování penetrační části modelu došlo k ohromnému přesíťování upínací části modelu a počet vytvořených uzlů byl extrémně vysoký, a to vedlo k neadekvátní délce výpočetního času. Naopak při optimálním nasíťování upínací části modelu byla penetrační část nasíťována příliš hrubě. Při snaze nasíťovat obě části jinou jemností docházelo k velkým přechodům mezi hustotou sítě. V důsledku toho byla síť nekvalitní, s ostrými přechody a s prvky se „špatnou“ geometrií.

Mimo to, pro další zkoumání bylo nutné tvorbu sítě „zautomatizovat“ tak, aby při změně geometrických parametrů mikropipety nedocházelo k chybám modelu při síťování, a zajistila se i stejná kvalita sítě při změně geometrie.

### 2.3.1 Python skript pro meshing modelu mikropipety

Prvním krokem bylo nalezení systematického síťování modelu. Výhodnou variantou se ukázalo postupné zjemňování sítě směrem k penetrační části modelu. Tedy v kuželovité oblasti, kde průměr upínací části přechází do průměru penetrační části, bylo vytvořeno několik řezů. Každý tento řez měl jinou hustotu síťování, která byla napočítána na základě zvoleného počtu uzlů na obvodu penetrační části modelu.

Stručný popis výpočtu velikosti prvku sítě v jednotlivých úsecích je:

$$O_{prumerny} = (2 \cdot \pi \cdot (R_{min} + R_{max})) \dots \text{průměrný obvod na daném úseku}$$
$$s = \frac{O_{prumerny}}{m} \dots \text{přibližná velikost prvku na daném úseku,}$$

kde  $m$  je počet uzlů na obvodu penetrační části,  $R_{min}$  je nejmenší průměr na daném úseku,  $R_{max}$  je největší průměr na daném úseku a  $s$  je přibližná velikost jednoho prvku na daném úseku.

Tímto způsobem byl získán  $n$  počet přibližných velikostí prvků  $s$  na jednotlivých úsecích modelu mikropipety, kdy  $n$  je počet úseků.

V dalším kroku bylo použito funkce **findAt**, která byla popsána v kapitole 2.2.4. Pomocí funkce **findAt** bylo vytvořeno  $n$  souborů hran v jednotlivých úsecích, a tyto úseky byly vysítovány na základě vypočítané přibližné velikosti prvku  $s$  v daném úseku. Skript, který ukazuje vysítování přechodové oblasti, tedy kuželové části, je vidět na obrázku 2.11.

```
649 p = mdb.models['Model-1'].parts['ConeCylinder']
650 e = p.edges
651 for i in range(NumCutPartSecond-1):
652     RPrum_NekonstSecond = e.findAt(
653         ((i+1)*OffSetXYSecond, -RLinearKSecond[i+1]*cos(pi/4), RLinearKSecond[i+1]*sin(pi/4)),),
654         (((i+1)*OffSetXYSecond, RLinearKSecond[i+1]*cos(pi/4), -RLinearKSecond[i+1]*sin(pi/4)),),
655         (((i+1)*OffSetXYSecond, -RLinearKSecond[i+1]*cos(pi/4), -RLinearKSecond[i+1]*sin(pi/4)),),
656         (((i+1)*OffSetXYSecond, RLinearKSecond[i+1]*cos(pi/4), RLinearKSecond[i+1]*sin(pi/4)),))
657     p.Set(edges=RPrum_NekonstSecond, name="RPrum_NekonstSecond"+str(i+1))
658     p.seedEdgeBySize(edges=RPrum_NekonstSecond, size=AproxSeedLinearCutsKSecond[i+1],
659                     deviationFactor=0.1, constraint=FINER)
```

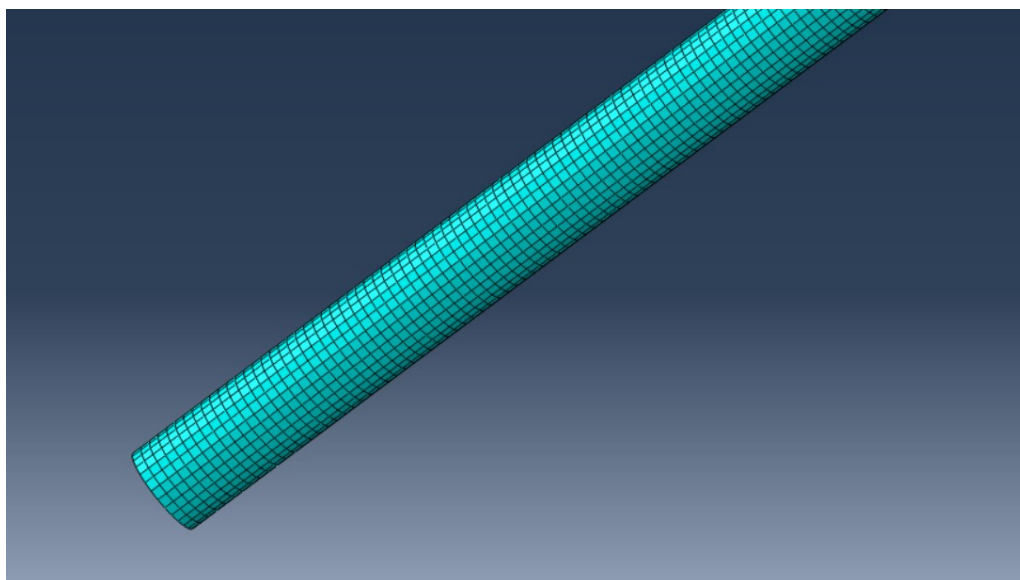
**Obr. 2.11:** Skript pro síťování přechodové kuželové oblasti modelu

Na řádce 651 je použit klasický **FOR** cyklus, který prochází všechny úseky na kuželové části modelu mikropipety. Uvnitř **FOR** cyklu je použita funkce **findAt**, která vyhledává hrany náležící danému úseku. Na řádce 657 jsou nalezené hrany ukládány, a je vytvořen „Set“ pro každou sadu hran. Na posledním řádce, 658, je uskutečněno samotné síťování těchto hran s předem napočítanou velikostí prvku  $s$ .

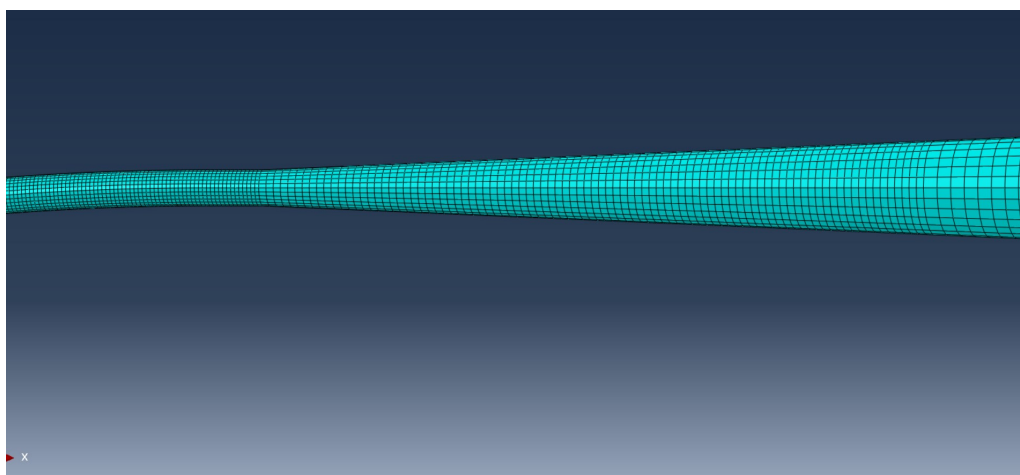
Podobným způsobem byly síťovány i zbylé části modelu mikropipety. Díky tomu, že celý proces síťování byl tímto způsobem „zautomatizován“, i při změně geometrických parametrů si síť zachovává stejnou kvalitu a hustotu, zejména ve zkoumané penetrační oblasti. Model obsahuje 81 676 uzlů.

Výsledný mesh mikropipety je vidět na obrázku 2.12, 2.13 a 2.14. Jak je vidět, hustota sítě je ve stejném poměru k průměru, jak upínací části, tak i penetrační části. Samotná hustota sítě bude znovu zkoumána v další kapitole, kdy bude pomocí

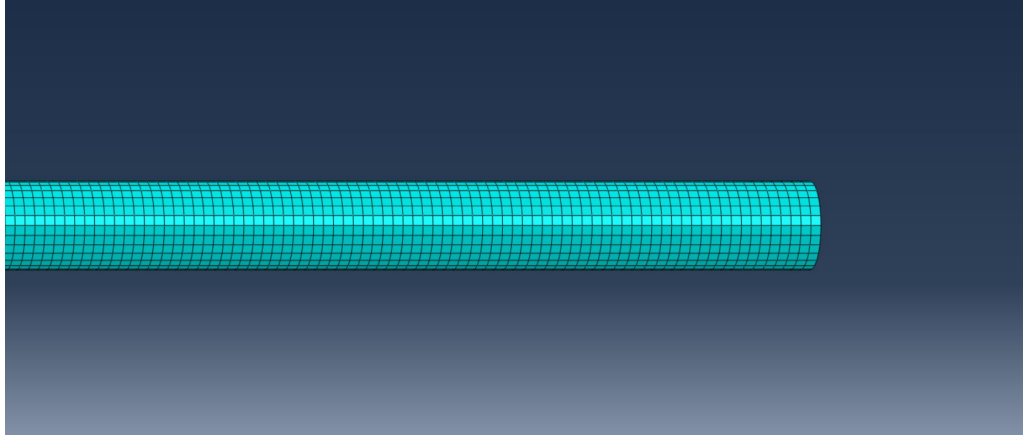
počtu uzlů na obvodu penetrační části měněna hustota sítě tak, aby bylo dosaženo dostatečně přesných výsledků za adekvátní čas výpočtu.



**Obr. 2.12:** Detail síťování penetrační části modelu mikropipety



**Obr. 2.13:** Detail síťování přechodové části modelu mikropipety



Obr. 2.14: Detail síťování upínací části modelu mikropipety

## 2.4 Výsledný parametrický MKP model piezo mikropipety

Po vytvoření celého modelu mikropipety, tedy vytvoření parametrické 3D geometrie modelu mikropipety, přiřazení materiálových vlastností modelu mikropipety, přiřazení tloušťek stěn, nastavení okrajových podmínek, vytvoření nového kroku pro výpočet vlastních frekvencí, a na závěr síťování celého modelu mikropipety, byla spuštěna modální analýza modelu.

Analýza modelu, tzn. hledání prvních 25 vlastních frekvencí při velikosti sítě 81 340 uzlů, trvala 75 vteřin. Pro spuštění výpočtu jednoho takového modelu je čas 75 vteřin zanedbatelný, nicméně v dalších kapitolách této práce bude ukázána optimalizace tohoto modelu, proto bude v pozdějších kapitolách věnováno pár slov k počtu vlastních frekvencí a hustotě sítě modelu za cílem snížení výpočetního času.

Vlastní frekvence parametrického MKP modelu mikropipety jsou na obrázku 2.15. Tyto vlastní frekvence slouží jako orientační hodnoty pro další zkoumání.

Vlastní frekvence modelu začínají na  $345.42\text{Hz}$  a již na 19. módu se dostávají k  $35\text{kHz}$ . Pro tento konkrétní případ, kdy hledáme ideální buzení mikropipety piezoaktuátorem je žádoucí najít takové buzení, které se bude pohybovat v tomto rozpětí frekvencí. V další části této práce bude s vlastními frekvencemi dále pracováno, a zároveň budou zkoumány vlastní tvary při jednotlivých vlastních frekvencích.

Frame	
Index	Description
0	Increment 0: Base State
1	Mode 1: Value = 4.71043E+06 Freq = 345.42 (cycles/time)
2	Mode 2: Value = 4.71043E+06 Freq = 345.42 (cycles/time)
3	Mode 3: Value = 1.79842E+08 Freq = 2134.3 (cycles/time)
4	Mode 4: Value = 1.79842E+08 Freq = 2134.3 (cycles/time)
5	Mode 5: Value = 7.25428E+08 Freq = 4286.6 (cycles/time)
6	Mode 6: Value = 7.35799E+08 Freq = 4317.2 (cycles/time)
7	Mode 7: Value = 1.36725E+09 Freq = 5885.0 (cycles/time)
8	Mode 8: Value = 1.36726E+09 Freq = 5885.0 (cycles/time)
9	Mode 9: Value = 5.04681E+09 Freq = 11307. (cycles/time)
10	Mode 10: Value = 5.04684E+09 Freq = 11307. (cycles/time)
11	Mode 11: Value = 1.20063E+10 Freq = 17439. (cycles/time)
12	Mode 12: Value = 1.30773E+10 Freq = 18200. (cycles/time)
13	Mode 13: Value = 1.30774E+10 Freq = 18200. (cycles/time)
14	Mode 14: Value = 2.69950E+10 Freq = 26149. (cycles/time)
15	Mode 15: Value = 2.69954E+10 Freq = 26150. (cycles/time)
16	Mode 16: Value = 2.73071E+10 Freq = 26300. (cycles/time)
17	Mode 17: Value = 2.85568E+10 Freq = 26895. (cycles/time)
18	Mode 18: Value = 2.86138E+10 Freq = 26922. (cycles/time)
19	Mode 19: Value = 4.72660E+10 Freq = 34601. (cycles/time)
20	Mode 20: Value = 4.72720E+10 Freq = 34604. (cycles/time)
21	Mode 21: Value = 7.49319E+10 Freq = 43567. (cycles/time)
22	Mode 22: Value = 7.49501E+10 Freq = 43572. (cycles/time)
23	Mode 23: Value = 1.07986E+11 Freq = 52300. (cycles/time)
24	Mode 24: Value = 1.14602E+11 Freq = 53879. (cycles/time)
25	Mode 25: Value = 1.14650E+11 Freq = 53890. (cycles/time)

Obr. 2.15: Vlastní frekvence modelu mikropipety

## Kapitola 3

# Nastavení hustoty síťování MKP modelu mikropipety

Před tím, než bude parametrický MKP model mikropipety použit pro citlivostní analýzu a optimalizaci parametrů genetickými algoritmy, je nutné nalézt optimální hustotu sítě modelu. Snahou je vytvořit takovou síť MKP modelu, aby při jejím dalším zjemňování nedocházelo k výrazné změně vlastních frekvencí modelu, ale zároveň byl výpočetní čas, co nejmenší.

K tomu, aby bylo možné takovou síť efektivně nalézt, byl „propojen“ program Matlab s prostředím Abaqus a Python. Propojení s prostředím Matlab bylo uskutečněno na základě dobré zkušenosti s optimalizačními metodami v tomto prostředí (které budou použity v kapitole 5) a tvorbou grafů z výsledných dat. Jak toho bylo docíleno je vysvětleno v následující kapitole 3.1. Nastavení hustoty síťování je vysvětleno v kapitole 3.2.

### 3.1 Matlab funkce pro volání Python skriptu pomocí operačního systému a čtení dat z .odb file

V prostředí Matlab byla vytvořena **Matlab function**, která prostřednictvím operačního systému volá Python skript MKP parametrického modelu mikropipety. Jak tato Matlab funkce vypadá je znázorněno na obrázku 3.1.

Na řádku 103 je vidět klasický příkaz pro **Matlab function**. Důležité vstupy, které funkce požaduje zadat, jsou následující:

- „PythonScript“: cesta a název Python skriptu MKP parametrického modelu mikropipety
- „m“: počet uzlů na obvod penetrační části mikropipety, viz. kapitola 2.3
- „parametry“: geometrické a materiálové parametry modelu MKP mikropipety

```

103 function [FreqModelNew, Num_Nodes, Num_Elements] = CalculateFrequencies(PythonScript,...
104                               WorkingDirectoryAbq, WorkingDirectory, m, konst_parametry, parametry)
105     m_cell = num2cell(m);
106     parametry_cell = num2cell(parametry);
107     kons_parametry_cell = num2cell(konst_parametry);
108
109     cmd_string = "abaqus cae noGUI=" + PythonScript + " -- " + WorkingDirectoryAbq...
110                + " " + WorkingDirectory + " ";
111
112     n = numel(parametry)+numel(konst_parametry)+numel(m);
113     for i = 1:n+1
114         cmd_string = cmd_string + "%0.4f ";
115     end
116
117     cmd = sprintf(cmd_string, m_cell{:}, kons_parametry_cell{:}, parametry_cell{:} , n);
118     system(cmd);

```

**Obr. 3.1:** Matlab function pro volání Python skriptu pomocí operačního systému

V další části skriptu (řádek 105 - 107) jsou inicializovány některé proměnné pro další použití. Na řádku 109 je vytvořena část proměnné „cmd\_string“ typu „string“. Tato proměnná bude v pozdější fázi volána přes operační systém.

V další části na řádcích 113 až 115 je pomocí **FOR** cyklu k původnímu „cmd\_string“ přidán takový počet „% 0.4f“, kolik je posíláno číselných parametrů. „% 0.4f“ slouží k převodu hodnot s pohyblivou řádovou čárkou na text s pevnou řádovou čárkou. V tomto případě, budou hodnoty převedeny na text se čtyřmi desetinnými místy.

Na řádku 117 je poté příkazem „sprintf“ vytvořen celý textový řetězec, „string“, který v sobě obsahuje informaci o cestě a názvu Python skriptu, o pracovních složkách a hodnotách posílaných parametrů. Příkaz „sprintf“ funguje jako převodník dat na text, řídí notaci, zarovnání, platné číslice a tak dále.

Příklad textového řetězce, string, pro zavolání Python skriptu v prostředí Abaqus a předání jednotlivých parametrů modelu, může vypadat následujícím způsobem:

```
cmd = „abaqus cae noGUI=PythonScript.py – D:\WorkingDirectory 4.0000 12.0000
      2.0000 1.0000“.
```

Po vytvoření proměnné „cmd“, je příkazem „system(cmd)“, na řádku 118, volán operační systém, aby provedl zadaný příkaz. Tím je spuštěn Python skript v prostředí Abaqus se všemi zadanými parametry.

V druhé části Matlab funkce je ukázán proces čtení dat z .odb file (output database), viz. obrázek 3.2. Tento .odb file je vytvořen Abaqusem vždy po ukončení každé analýzy a nese v sobě data analýzy. Pro práci s .odb file byl do Matlabu nainstalován program „Abaqus2Matlab“, který obsahuje skripty pro extrakci výsledků z .odb files, .fil files a dalších souborů, které Abaqus při analýze generuje. Je to příjemný nástroj pro rychlý a jednoduchý postprocessing výsledků analýz Abaqusu.

Skript získaný z programu „Abaqus2Matlab“ pro čtení vlastních frekvencí, počtu elementů modelu a počtu uzlů modelu je vidět na obrázku 3.2.



```

130 %Získání hodnot vlastních frekvencí z .odb file
131     step = 'Frequency';
132     outputVariable = 'EIGFREQ';
133     upGrSwitch = false;
134     abqDir = WorkingDirectory + "\\";
135     abqDir = char(abqDir);
136     [histRegions,histOutput] = readHistoryOdb(file,step,upGrSwitch,abqDir);
137     [histRegions_struct,histOutput_struct] = giveformat2OdbFunction('readHistoryOdb'...
138                                     ,histRegions,histOutput);
139     EIGFREQ = eval(['histOutput_struct.' outputVariable]);
140     FreqModelNew = EIGFREQ.OUTPUT(:,2);
141
142     elset = ' ALL ELEMENTS'
143     nodeset = ' ALL NODES';
144
145     Num_Nodes = readNumNodesOdb_lite( [abqDir file], nodeset);
146     Num_Elements = readNumElementsOdb_lite( [abqDir file], elset);
147
148     delete("AbqFilesMeshOpt\\*")
149 end

```

Obr. 3.2: Matlab function pro čtení dat z .odb file

## 3.2 Hustota síťování parametrického MKP modelu mikropipety

K nalezení „optimální“ sítě byl vytvořen Matlab skript, který prostřednictvím operačního systému spouští Python skript modelu v prostředí Abaqus (jak bylo vysvětleno v kapitole 3.1). Matlab skript při každé následující iteraci zjemňuje síť parametrem  $m$ . Parametr  $m$  je počet uzlů na obvodu penetrační části modelu mikropipety, na základě kterého se přepočítávají všechny další velikosti prvků modelu na daných úsecích, jak je vysvětleno v kapitole 2.3. Hlavní jádro tohoto skriptu je ukázáno na obrázku 3.3.

```

76 maxMesh = 40; %maximalní počet uzlů na obvodu mikropipety
77 minMesh = 16; %minimalní počet uzlů na obvodu mikropipety
78 k = maxMesh - minMesh + 1;
79 m = minMesh:4:maxMesh; %počet uzlů na obvodu mikropipety
80
81 Frequnce = zeros(NumOffFreq,k);
82 Num_Nodes = zeros(1,k);
83 Num_Elements = zeros(1,k);
84 CalculTime = zeros(1,k);
85
86 for i = 1:k
87     tic
88     disp("-----")
89     disp("Zapínám "+ i +" iteraci z " + k + " iterací")
90     disp("-----")
91
92     [Frequnce(:,i), Num_Nodes(i) , Num_Elements(i)] = CalculateFrequencies(PythonScript,...
93                                     WorkingDirectoryAbq, WorkingDirectory, m(i), konst_parametry, parametry);
94     CalculTime(i) = toc;
95 end

```

Obr. 3.3: Matlab skript pro nalezení „optimálního“ síťování MKP modelu mikropipety

Na řádce 76 a 77 je definován minimální a maximální počet uzlů na obvod penetrační části mikropipety. Na řádce 79 je vytvořen vektor  $m$ , který má v sobě uložené hodnoty počtu uzlů na obvod při každé další iteraci. Na řádce 81 až 84 jsou vytvořeny proměnné, které budou průběžně ukládány. Jsou to vlastní frekvence

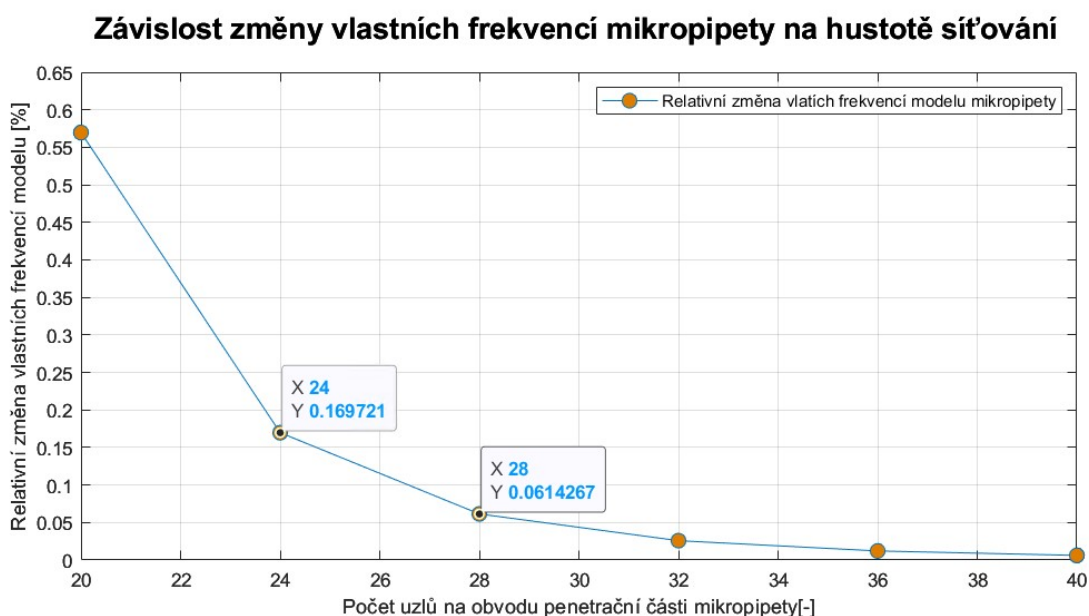


modelu mikropipety, počet uzlů modelu, počet elementů modelu a výpočetní čas analýzy modelu při daném počtu uzlů.

Na řádku 86 až 95 následuje **FOR** cyklus, který na řádku 92 volá Matlab funkci „**CalculateFrequencies**“. Skript Matlab funkce **CalculateFrequencies** byl již probrán v kapitole 3.1.

### 3.2.1 Výsledky vlivu změny hustoty sítě modelu na změnu vlastních frekvencí a výpočetní čas

Výsledky vlivu změny hustoty MKP sítě modelu mikropipety na vlastní frekvence, výpočetní čas a počet uzlů/elementů modelu jsou zdokumentovány v grafech 3.5, 3.4 a 3.6. Na obrázku 3.4 je graf relativní změny vlastních frekvencí modelu v závislosti



**Obr. 3.4:** Závislost změny vlastních frekvencí mikropipety na hustotě síťování

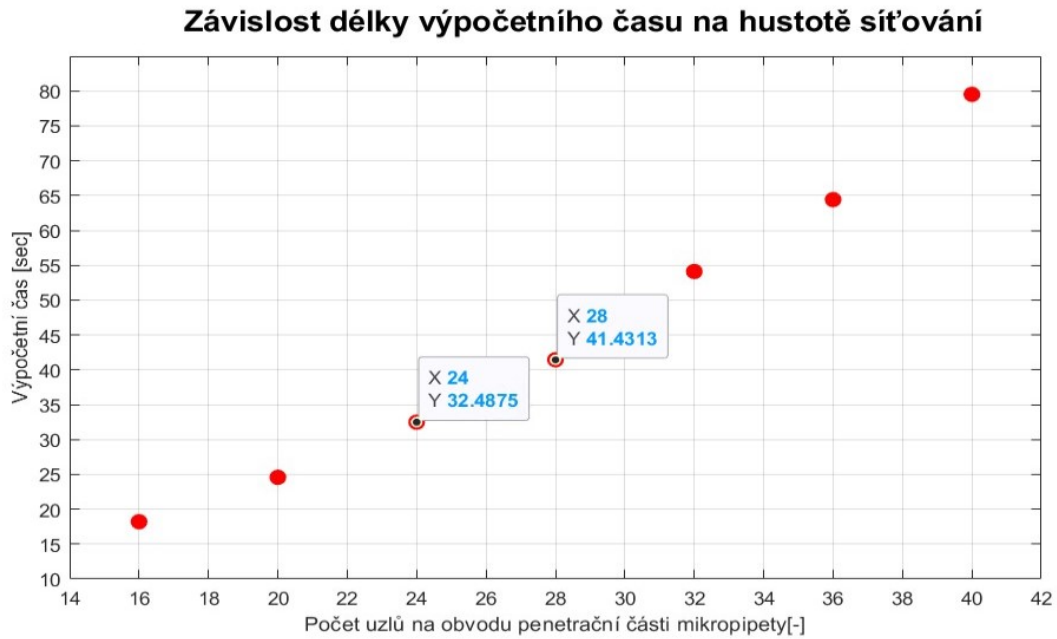
na počtu uzlů na obvodu penetrační části mikropipety. Analýza byla prováděna na prvních dvanácti vlastních frekvencích. Relativní změna byla počítána podle následujícího vzorce:

$$RelativeChange = \frac{\sum NaturalFrequency(i) - \sum NaturalFrequency(i + 1)}{\sum NaturalFrequency(i + 1)}, \quad (3.1)$$

kde  $NaturalFrequency(i)$  (resp.  $NaturalFrequency(i + 1)$ ) je  $i$ -tá (resp.  $i + 1$ ) sada 12 vlastních frekvencí modelu při  $i$ -tém (resp.  $i + 1$ ) počtu uzlů po obvodu penetrační části mikropipety.

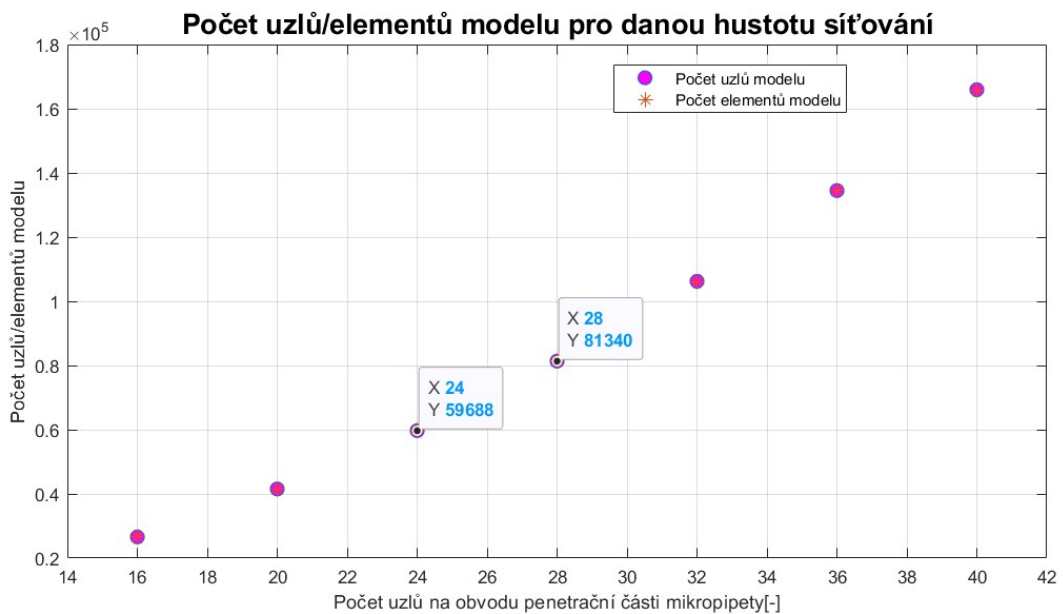
Na grafu je patrné, že relativní změna prudce klesá mezi 20 uzly na obvod a 24 uzly na obvod, poté mezi 24 a 28 uzly je již pokles mírnější. Při 28 uzlech

na obvod je relativní změna vlastních frekvencí vůči vlastním frekvencím při 32 uzlech na obvodu rovna pouhým 0.061 %.



**Obr. 3.5:** Závislost délky výpočetního času na hustotě síťování

Graf 3.5 znázorňuje délku výpočetního času v závislosti na hustotě sítě modelu. Přirozeně je zde vidět nárůst výpočetního času se zvyšující se hustotou sítě. Při 28 uzlech na obvod je výpočetní čas modelu 41.4 vteřin při napočítávání 12 vlastních frekvencí modelu.



**Obr. 3.6:** Počet uzlů/elementů modelu pro danou hustotu sítě

Třetí graf 3.6 znázorňuje kolik uzlů/elementů se vytvoří na celém modelu

při daném počtu uzlů po obvodu mikropipety. Nárůst počtu uzlů je v řádech desítek tisíc. Při 28 uzlech na obvod mikropipety je počet prvků MKP sítě 81 340.

Pro lepší přehlednost jsou hodnoty uvedeny v tabulce 3.1. Jak je z tabulky patrné, relativní změna vlastních frekvencí se při 28 uzlech na obvod téměř nemění, nicméně výpočetní čas 41.43 sekund je velký. Pro výpočet jednoho modelu by byl tento čas zanedbatelný, ovšem v další fázi této práce bude nutné výpočetní čas snížit na minimum, vzhledem k použití genetických algoritmů pro optimalizaci parametrů modelu mikropipety.

**Tabulka 3.1:** Vliv hustoty MKP sítě

Poč. uzlů $m$ [-]	Relativní změna [%]	Čas [sec]	Poč. prvků sítě [-]
16	-	18.21	26 592
20	0.5697	24.57	41 540
24	0.1697	32.49	59 688
28	0.0614	41.43	81 340
32	0.0258	54.11	106 240
36	0.0121	64.41	134 496
40	0.0062	79.51	165 920

Genetické algoritmy potřebují velké množství generací k nalezení optimálního řešení a každá generace obsahuje poměrně velkou populaci. Pokud bychom tedy chtěli zanechat základní nastavení genetických algoritmů, které poskytuje prostředí Matlab, a zároveň je i doporučeno, tzn. 200 populací na jednu generaci při více jak 5 parametrech, čas výpočtu jedné generace by se pohyboval okolo 2 hodin a 20 minut. Při 50 generacích by celkový čas výpočtu byl 115 hodin (4 dny a 19 hodin).

Takto dlouhý výpočetní čas je z hlediska našeho zkoumání příliš dlouhý, proto bude pro optimalizaci parametrů MKP modelu mikropipety použito 24 uzlů na obvod mikropipety. Při 24 uzlech na obvodu je výpočetní čas modelu 32.5 sekundy, to znamená, že při velikosti populace 200 bude výpočet jedné generace trvat zhruba 1 hodinu 48 minut, při 50 generacích bude celkový výpočetní čas přibližně 90 hodin (3 dny a 18 hodin). To je snížení výpočetního času při tomto nastavení o přibližně 1 den a 1 hodinu. I tak je tento čas velice dlouhý, nicméně v kapitole 5.2.4 bude probráno nastavení genetických algoritmů z hlediska velikosti populace a počtu generací v závislosti na výpočetním čase. Hodnoty velikosti populace a počtu generací uvedeny v této kapitole slouží k představě o délce výpočetního času a k nastavení hustoty síťování MKP modelu.

Model s počtem uzlů 24 po obvodě bude použit pouze pro optimalizaci parametrů. V dalších analýzách modelu mikropipety bude použit model s 28 uzly po obvodu penetrační části mikropipety.

Rozdíl mezi prvními 12 vlastními frekvencemi modelu mikropipety při 24 a 28 uzlech po obvodu mikropipety jsou viditelné v tabulce 3.2. Je patrné, že se zvyšujícím se módem roste rozdíl vlastních frekvencí při změně hustoty síťování.

**Tabulka 3.2:** Vlastní frekvence modelu při 24 a 28 uzlech na obvod penetrační části mikropipety

Mode	Vlastní frekvence (24 uzlů)	Vlastní frekvence(28 uzlů)
1	344.66	345.42
2	344.66	345.42
3	2 129.64	2 134.35
4	2 129.65	2 134.35
5	3 534.78	3 542.63
6	3 564.05	3 571.99
7	5 872.13	5 884.95
8	5 872.14	5 884.97
9	11 282.20	11 306.48
10	11 282.24	11 306.52
11	17 426.22	17 439.16
12	18 161.60	18 200.02

# Kapitola 4

## Citlivostní studie MKP modelu piezo mikropipety

V této kapitole bude provedena citlivostní studie vlastních frekvencí a vlastních tvarů MKP modelu parametrického modelu mikropipety vytvořeného v prostředí Abaqus. Cílem této studie je najít, které geometrické a materiálové parametry mají největší vliv na změnu vlastních tvarů a vlastních frekvencí mikropipety, popřípadě jaké vlastní tvary a frekvence jsou nejvíce, resp. nejméně, citlivé na změny těchto parametrů mikropipety, a je tedy při reálné aplikaci žádané se takovým frekvencím vyhnout, respektive se pohybovat, v oblasti těchto frekvencí.

V druhé části této kapitoly budou zhodnoceny vlastní tvary mikropipety. Cílem bude nalezení takových vlastních tvarů, které vykazují pohyb v axiálním směru penetrační části mikropipety, nebo se mu alespoň blíží. Díky tomu bude docházet k zjednodušení penetraci oocytu.

Data pro citlivostní studii byla získána obdobným způsobem jako bylo realizováno nalezení optimální hustoty síťování, viz. kapitola 3. V první řadě bylo využito stejné Matlab funkce, která byla popsána v kapitole 3.1. Tato Matlab funkce pomocí operačního systému spouští Python skript v prostředí Abaqus.

V druhé řadě byl vytvořen Matlab skript, který generoval změny jednotlivých geometrických a materiálových parametrů.

Na závěr byl doplněn Python skript MKP modelu mikropipety o extrakci dat počátečních souřadnic uzlů modelu mikropipety a posuvů daných uzlů při daném vlastním tvaru.

### 4.1 Proces kompletace dat pro citlivostní studii

Matlab skript pro získání dat potřebných k citlivostní studii je ukázán na obrázku 4.1.

Skript pro postupnou změnu jednotlivých parametrů modelu funguje na bázi dvou **FOR** cyklů. První **FOR** cyklus prochází všechny geometrické a materiálové

```

52 for i = 1:numPar
53 tic
54 disp("Nová " + i + "-tá iterace")
55
56     for j = -kk:kk
57         disp(i + " parametr ze " + numel(parameter) + " a " + (j+kk+1) + " zmena ze " + knum)
58         p_current = parameter;
59         p_current(i) = p_current(i) + j/kk*parameterChange(i)*p_current(i);
60         [Frequency(:,(i-1)*knum+j+kk+1)] = CalculateFrequencies(PythonScript,WorkingDirectory,...
61                                                                     NumMesh, konst_parameter, p_current);
62         parameterAnalysis(i,j+kk+1) = p_current(i);
63     end
64
65 CalculTime(i) = toc;
66 end

```

**Obr. 4.1:** Matlab skript - Citlivostní Studie

parametry modelu. Druhý **FOR** cyklus pomocí proměnné „p\_current(i)“ mění hodnotu daného parametru (i-tého parametru). Parametry jsou měněny na rozsahu dolní a horní hranice, viz tabulka 4.1. Hodnoty jednoho parametru jsou na rozmezí dolní a horní hranice rozloženy pravidelně na 9 hodnot. Pro každou hodnotu parametru je napočítán MKP model mikropipety.

Spuštění Python skriptu a ukládání vlastních frekvencí modelu se změněnými parametry v prostředí Abaqus je realizováno stejným způsobem jako v kapitole 2.3, a tedy prostřednictvím operačního systému skrze Matlab funkci **CalculateFrequencies**.

#### 4.1.1 Nastavení geometrických a materiálových parametrů mikropipety pro citlivostní analýzu

Všechny geometrické a materiálové parametry mikropipety jsou znázorněny na obrázku 4.2. Pro všechny tyto parametry bude provedena citlivostí studie změny vlastních frekvencí na změnu těchto parametrů. Geometrické a materiálové parametry jsou následující:

$\alpha$  ... úhel ohnutí mikropipety

$L_a$  ... délka penetrační části mikropipety

$\varnothing d$  ... střední průměr penetrační části mikropipety

$t$  ... tloušťka stěny penetrační části mikropipety

$L_c$  ... délka upínací části mikropipety

$L_b$  ... délka přechodové (kuželové) části mikropipety

$\varnothing D$  ... střední průměr upínací části mikropipety

$T$  ... tloušťka stěny upínací části mikropipety

$R$  ... poloměr zakřivení kolene mikropipety

$\rho$  ... Hustota borosilikátového skla

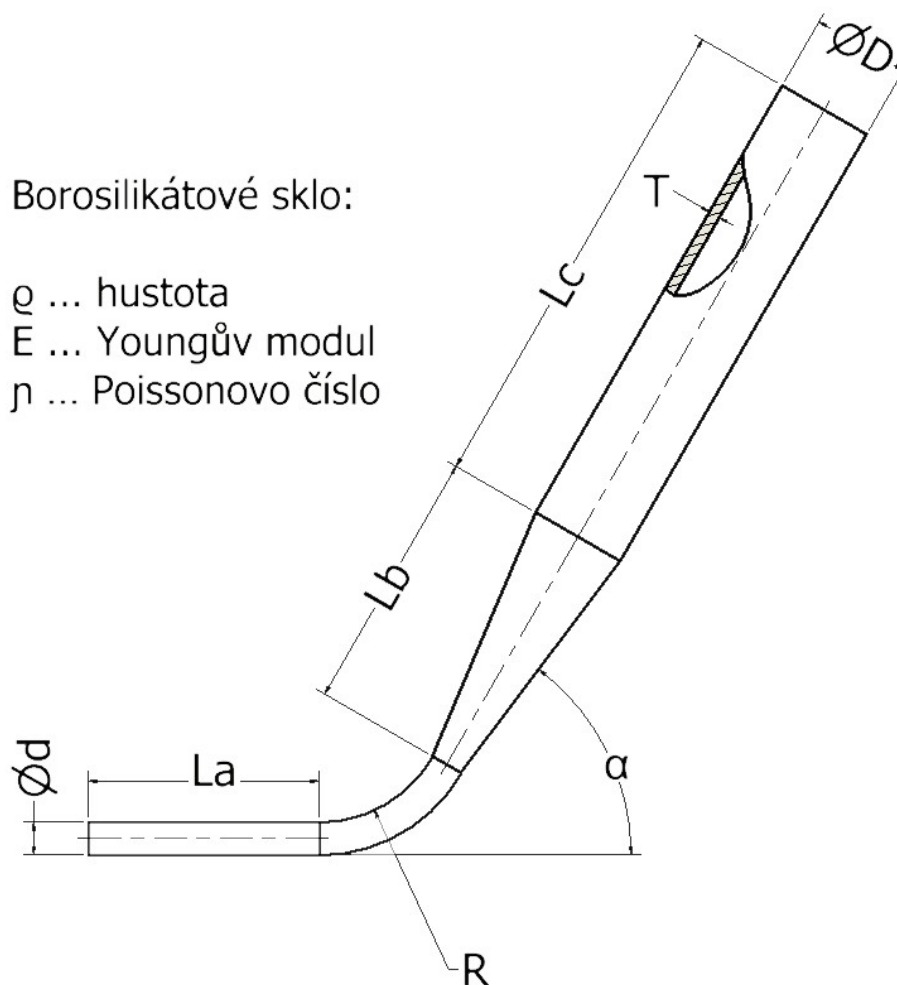
$E$  ... Youngův modul borosilikátového skla

$\mu$  ... Poissonovo číslo

Celkově se tedy jedná o 12 parametrů modelu, 9 geometrických a 3 materiálové.

Borosilikátové sklo:

$\rho$  ... hustota  
 $E$  ... Youngův modul  
 $\mu$  ... Poissonovo číslo



**Obr. 4.2:** Mikropipeta - geometrické a materiálové parametry

Pro těchto dvanáct parametrů budou vytvořeny horní a dolní hranice pro zkoumání vlivu jejich změny na vlastní frekvence. Horní a dolní hranice optimalizačních parametrů jsou uvedeny v tabulce 4.1.

**Tabulka 4.1:** Nastavení dolních a horních hranic parametrů

Parameter	Dolní hranice	Horní hranice
$L_a$ [mm]	0.9	1.1
$L_b$ [mm]	7.83	9.57
$L_c$ [mm]	43.2	52.8
$\varnothing D$ [mm]	0.3825	0.4675
$\varnothing d$ [ $\mu m$ ]	0.0027	0.0033
$T$ [mm]	0.135	0.165
$t$ [ $\mu m$ ]	0.0009	0.0011
$R$ [mm]	0.25	0.75
$\alpha$ [°]	33.25	36.75
$\rho$ [g/cm <sup>3</sup> ]	2.007	2.453
$\mu$ [-]	0.18	0.22
$E$ [MPa]	57 600	70 400

Horní a dolní hranice většiny parametrů byly nastaveny na rozmezí 20 %, tedy horní hranice je 110 % střední hodnoty parametru, a dolní hranice je 90 % střední hodnoty parametru. U parametru  $R$  (zaoblení kolene mikropipety) bylo nastaveno rozmezí horní a dolní hranice 50 %. Důvod je ten, že předem nebyly známy hodnoty tohoto parametru u reálné mikropipety pro ICSI. Pro parametr  $\alpha$  bylo nastaveno rozmezí na 10 %, neboť tento parametr se v realitě liší jen o pár jednotek stupňů.

#### 4.1.2 Python skript pro extrakci hodnot souřadnic a posuvů uzlů

Aby bylo možné efektivně zkoumat vlastní tvary modelu při rozdílných vlastních frekvencích a parametrech, byla extrahována data souřadnic uzlů a s nimi i posuvy těchto uzlů při změněných parametrech a vybraných vlastních frekvencích, viz. 4.3.

Realizace extrakce těchto dat byla naskriptována do původního Python skriptu modelu. V první řadě byl pomocí funkce **BoundingBox** vytvořen soubor uzlů v rovině XY. Byly vybrány pouze uzly v penetrační části mikropipety, v kolenu a v malé části za kolennem, protože to je hlavní oblast zkoumání. Skript pro výběr uzlů je na obrázku 4.3.

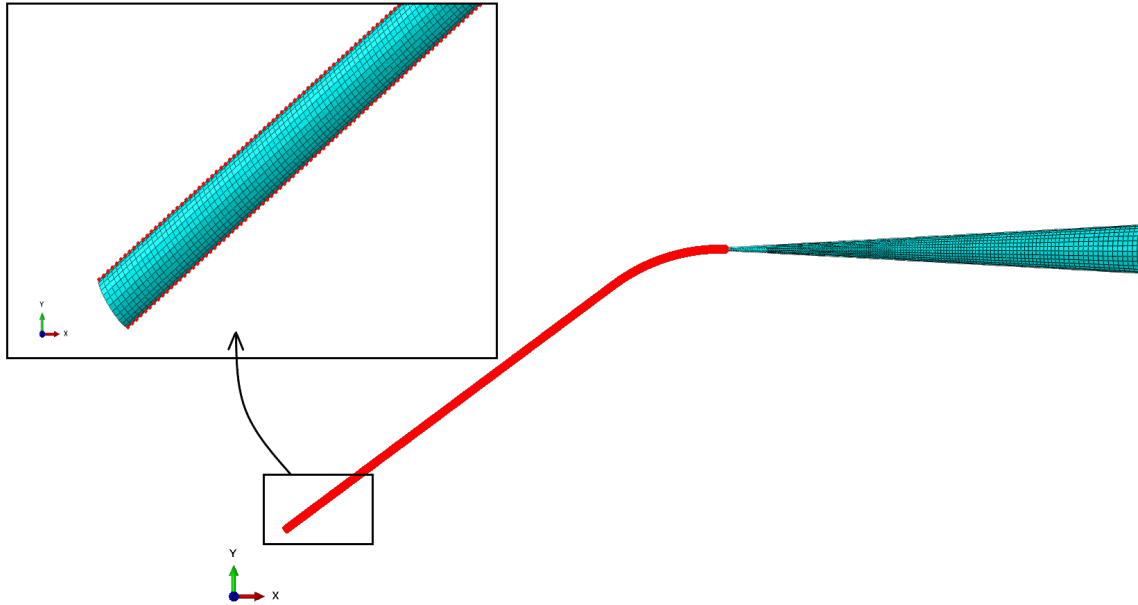
```
772 Zcor1 = -0.000001
773 Zcor2 = -Zcor1
774 Xcor1 = -2
775 Xcor2 = X_data #9
776 Ycor1 = -5
777 Ycor2 = 5
778 n = p.nodes
779 nodes = n.getByBoundingBox(Xcor1, Ycor1, Zcor1, Xcor2, Ycor2, Zcor2)
780 p.Set(nodes = nodes, name = "NodesForPostprocessing")
```

**Obr. 4.3:** Skript pro vytvoření souboru uzlů modelu mikropipety pro zkoumání vlastních tvarů

Na řádcích 772 až 777 je pomocí souřadnic vytvořen „box“. Pomocí příkazu na řádku 779 jsou vybrány všechny uzly náležící definovanému „boxu“. Jedná se o 3 256 uzlů. Na řádku 780 je vytvořen „Set“ z těchto uzlů, který bude dále využit.

Výběr uzlů na modelu mikropipety lze vidět na obrázku 4.4. Jak je z obrázku patrné, jsou to pouze obrysové uzly mikropipety v rovině XY.





**Obr. 4.4:** Výběr uzlů modelu mikropipety pro zkoumání vlastních tvarů

Pro tento výběr uzlů byly pomocí následujícího skriptu extrahovány souřadnice polohy jednotlivých uzlů při klidové poloze (Obrázek 4.5).

```

837 #Získání labels a souřadnic jednotlivých uzlů
838 odb = session.openOdb(name = 'ModelMikropipeta.odb')
839 NodesOfpostprocessing = odb.rootAssembly.instances['CONECYLINDER-1'].nodeSets['NODESFORPOSTPROCESSING'].nodes
840 Node_labelCord = []
841 Node_cordX = []
842 Node_cordY = []
843 Node_cordZ = []
844 Coord = []
845 for i in range(0, len(NodesOfpostprocessing), 1):
846     Node_labelCord.append(NodesOfpostprocessing[i].label)
847     Node_cordX.append(NodesOfpostprocessing[i].coordinates[0])
848     Node_cordY.append(NodesOfpostprocessing[i].coordinates[1])
849     Node_cordZ.append(NodesOfpostprocessing[i].coordinates[2])
850
851 Coord = [Node_labelCord, Node_cordX, Node_cordY, Node_cordZ]

```

**Obr. 4.5:** Skript pro extrakci souřadnic vybraných uzlů

Na řádce číslo 838 byl otevřen .odb file vygenerovaný analýzou Abaqusu. Pro získání souřadnic vybraných uzlů bylo použito **FOR** cyklu na řádcích 845 až 849, kdy byly postupně získávány hodnoty souřadnic v x-ové, y-ové a z-ové ose i-tého uzlu výběru. Tyto hodnoty byly ukládány do proměnných „Node\_cordX“, „Node\_cordY“ a „Node\_cordZ“ společně s labely jednotlivých uzlů „Node\_labelCord“. Nakonec všechny souřadnice byly uloženy do proměnné „Coord“, která byla uložena jako .txt soubor.

Obdobným způsobem byly získány posuvy uzlů, jak je vidět na obrázku 4.6.

```

866 #Získání posuvů jednotlivých uzlu přes všechny vlastní tvary
867 step = odb.steps['Frequency']
868 for j in range(NumOfFreq):
869     frame = step.frames[j]
870     displacement=frame.fieldOutputs['U']
871     center = odb.rootAssembly.instances['CONECYLINDER-1'].nodeSets['NODESFORPOSTPROCESSING']
872     centerDisplacement = displacement.getSubset(region=center)
873     centerValues = centerDisplacement.values
874     Node_labelU = []
875     Node_XU = []
876     Node_YU = []
877     Node_ZU = []
878
879     for i in range(len(centerValues)):
880         Node_labelU.append(centerValues[i].nodeLabel)
881         Node_XU.append(centerValues[i].data[0])
882         Node_YU.append(centerValues[i].data[1])
883         Node_ZU.append(centerValues[i].data[2])
884
885     modeU = [Node_labelU, Node_XU, Node_YU, Node_ZU]

```

**Obr. 4.6:** Skript pro extrakci posuvů vybraných uzlů

Na řádce 867 byl otevřen step „Frequency“. Poté byl použit **FOR** cyklus přes všechny vlastní frekvence modelu. Pomocí hierarchie jednotlivých objektů modelu byl na řádce 873 vytvořen objekt „centerValues“ pro definovaný výběr uzlů. Druhý **FOR** cyklus je analogický s **FOR** cyklem použitým na obrázku 4.5. Nakonec byly pro každou vlastní frekvenci uloženy všechny hodnoty posuvů pro všechny vybrané uzly do .txt souboru.

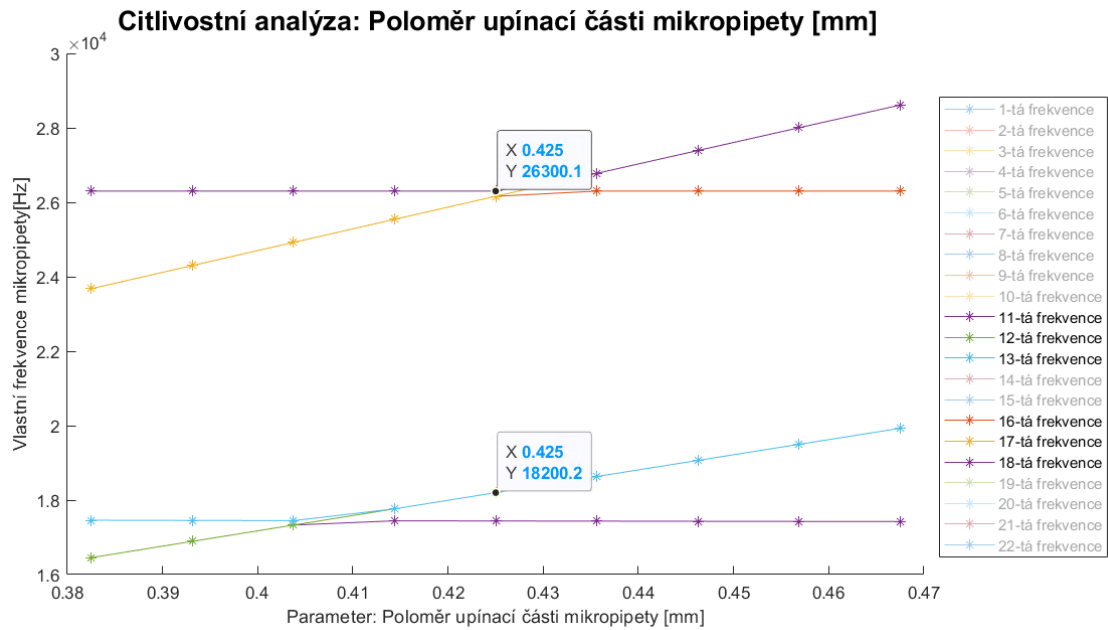
Tímto způsobem byla získána všechna důležitá data pro citlivostní studii.

## 4.2 Výsledky citlivostní analýzy: vliv změny parametrů modelu na vlastní frekvence modelu

V první řadě byly analyzovány změny vlastních frekvencí modelu mikropipety v závislosti na změně jednoho geometrického nebo materiálového parametru. Ukázalo se, že největší vliv na vlastní frekvence modelu mají následující parametry:

- $L_c$  ... délka upínací části mikropipety
- $L_b$  ... délka přechodové (kuželové) části mikropipety
- $\varnothing D$  ... střední průměr upínací části mikropipety
- $R$  ... poloměr zakřivení kolene mikropipety

V důsledku změny těchto parametrů došlo k velkým změnám vlastních frekvencí a vlastních tvarů modelu mikropipety. Při určitém nastavení parametrů docházelo k přeházení původních vlastních tvarů a frekvencí, v některých případech se objevily nové vlastní tvary a frekvence, které při původním nastavení parametrů modelu neexistovaly. Tento fakt nejlépe demonstruje graf 4.7.



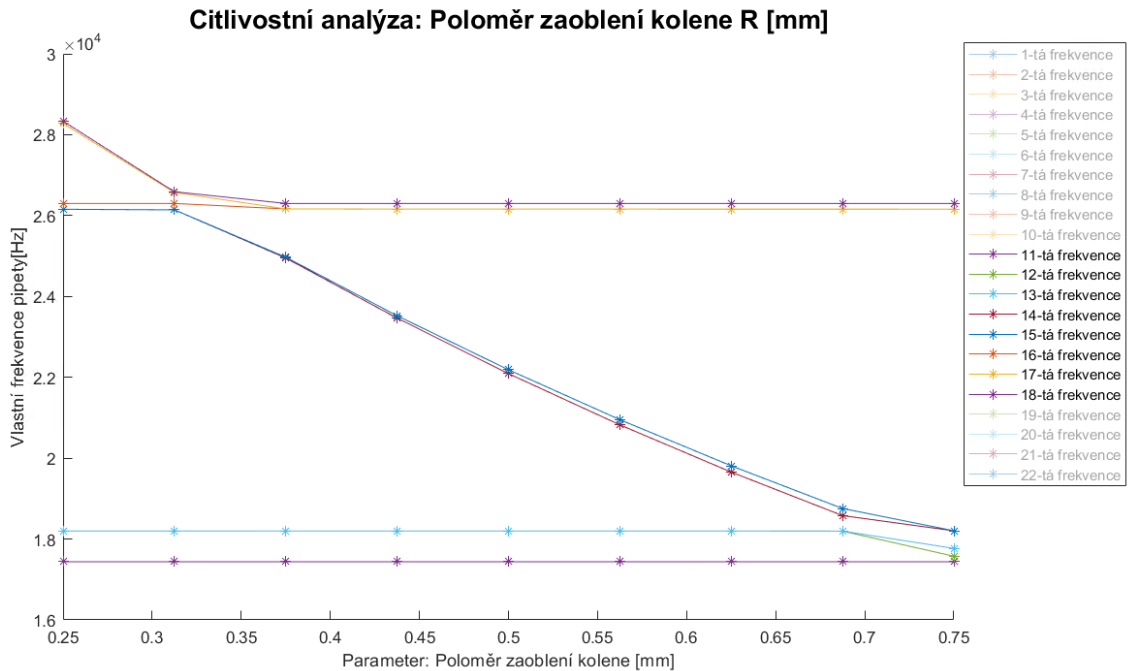
**Obr. 4.7:** Závislost změny vlastních frekvencí modelu na změně poloměru upínací části mikropipety [mm]

Jak je na grafu patrné, při určité hodnotě parametru  $\varnothing D$ , resp. jeho poloměru, se vlastní frekvence přestane vyvíjet lineárně a „zlomí se“.

Dobrym příkladem je 13. vlastní frekvence, kterou lze vidět na grafu 4.7. Z grafu je patrné, že okolo hodnoty  $0.405 \text{ mm}$  dochází ke zlomu této vlastní frekvence. Jde ale o to, že původní 13. vlastní frekvence klesla pod 11. vlastní frekvenci a došlo k prohození pořadí těchto vlastních frekvencí, a zároveň i k prohození vlastních tvarů.

Z grafu tedy vyplývá, že pro hodnotu parametru  $\varnothing D$   $0.38 - 0.405 \text{ mm}$  jsou vlastní tvary neměnné. Po překonání hranice cca  $0.405 \text{ mm}$  dojde k prohození vlastních tvarů, tzn. původní 13. vlastní tvar se stává 11. vlastním tvarem a opačně.

Tento obdobný jev se projevuje i u parametru  $L_c$ ,  $L_b$  a  $R$ . Pro lepší představu je zde uveden druhý graf, a to graf změny vlastních frekvencí na změnu parametru  $R$ , viz. 4.8.



**Obr. 4.8:** Závislost změny vlastních frekvencí modelu na změně poloměru kolene mikropipety [mm]

Ze získaných grafů bylo zjištěno, že tento jev nastává pouze u „původní“ 11. až 18. vlastní frekvence, přičemž 14. a 15. vlastní frekvence vykazuje tento jev pouze při velkém poloměru kolene mikropipety  $R$ , nad hodnotu  $0.68 \text{ mm}$ .

11., 12. a 13. „původní“ vlastní frekvence vykazuje tento jev při velkém poloměru kolene mikropipety  $R$ , nad hodnotu  $0.61 \text{ mm}$ , při malém průměru, respektive poloměru, upínací části mikropipety  $\varnothing D$ , pod hodnotu  $0.415 \text{ mm}$  a při délce upínací části mikropipety  $L_c$  nad hodnotu  $50.4 \text{ mm}$ .

16., 17. a 18. „původní“ vlastní frekvence vykazuje zmíněný jev při malém poloměru kolene mikropipety  $R$ , pod hodnotu  $0.32 \text{ mm}$ , při průměru, respektive poloměru, upínací části mikropipety  $\varnothing D$ , nad hodnotu  $0.425 \text{ mm}$ , při délce upínací části mikropipety  $L_c$  nad hodnotu  $48 \text{ mm}$  a při délce přechodové(kuželové) části mikropipety  $L_b$  nad hodnotu  $9.2 \text{ mm}$ .

Výsledkem tedy je, že pokud dojde k určité kombinaci hodnot parametrů, dojde k přehození 11-té nebo 16-té vlastní frekvence, resp. vlastního tvaru, nebo vytvoření nového vlastního tvaru, a to buďto před 11-tou vlastní frekvencí, nebo před 16-tou vlastní frekvencí.

V důsledku tohoto zjištění byly po delším zkoumání přenastaveny hranice parametrů  $L_c$ ,  $L_b$ ,  $R$  a  $\varnothing D$  následujícím způsobem(viz. tabulka 4.2):

**Tabulka 4.2:** Modifikované nastavení dolních a horních hranic optimalizačních parametrů

Parametr	Dolní hranice	Horní hranice
$L_c$ [mm]	43	48
$L_b$ [mm]	7.5	9.2
$\varnothing D$ [mm]	0.83	0.885
$R$ [mm]	0.35	0.61

Pokud se blíže zaměříme na nastavení hranic parametrů, parametr  $L_c$  v součtu s parametrem  $L_b$  dosahuje hodnot v rozmezí 50.5 mm až 57.5 mm, to je o 3 mm pro horní hranici méně, než jsou rozměry, které se reálně vyrábějí, nicméně, pokud přihlídneme k faktu, že mikropipeta je na konci upnutá, reálná délka  $L_c$  se o délku upnutí zmenší. Tato horní a dolní hranice parametru  $L_c$  tedy v konečném důsledku relativně dobře kopíruje realitu.

Hranice parametru  $\varnothing D$ , střední průměr upínací části mikropipety, jsou nastaveny poměrně striktně, každopádně vnější a vnitřní průměr upínací části mikropipety je závislý nejen na  $\varnothing D$ , ale také na tloušťce stěny mikropipety  $T$ , která je nastavena na poměrně velký rozsah.

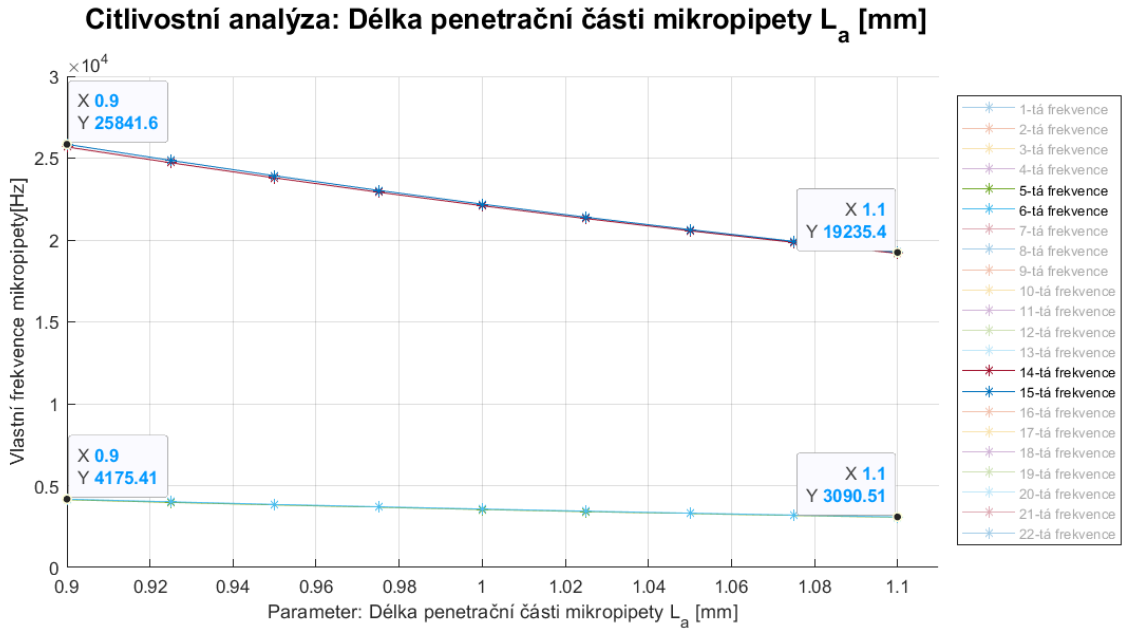
Hranice poloměru zahnutí kolene jsou i po modifikaci nastaveny na velký rozptyl.

V konečném důsledku by tedy tyto nově nastavené hranice parametrů neměly mít vliv na další zkoumání z pohledu odchýlení se od reality.

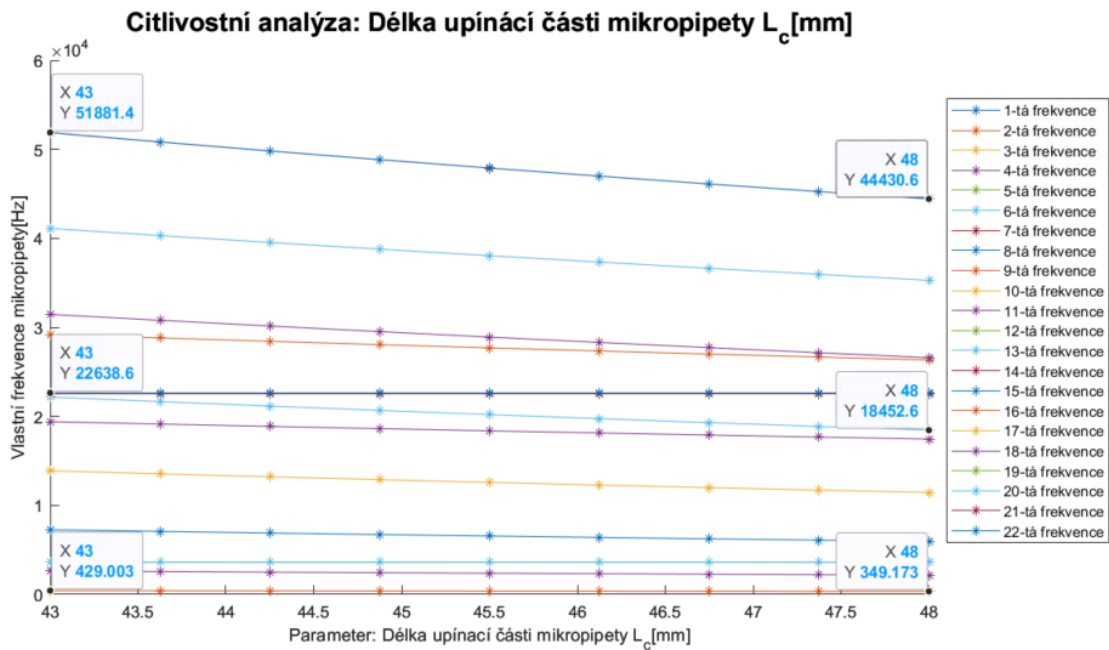
Tyto hodnoty byly implementovány zpět do skriptu pro citlivostní analýzu a byly získány nové výsledky. Tyto výsledky ukázaly, že při novém nastavení hranic parametrů nedochází ke přeskupení nebo vzniku nových vlastních tvarů, resp. vlastních frekvencí. To je důležité pro další zkoumání, kde bude pomocí genetických algoritmů hledána ideální sada parametrů mikropipety právě na základě vlastních frekvencí modelu a vlastních frekvencí reálné mikropipety z měření EMA, více viz. kapitola 5.

### Vliv dalších geometrických parametrů mikropipety

Vliv změny parametru  $L_a$  na změnu vlastních frekvencí je na obrázku 4.9. V grafu byly ponechány pouze ty vlastní frekvence, které byly změnou parametru  $L_a$  ovlivněny. Ostatní vlastní frekvence se při změně parametru nezměnily, a nebo se změnilo pouze nepatrně. Na druhé straně, 5. a 6. vlastní frekvence se při změně parametru  $L_a$  z hodnoty 0.9 mm na hodnotu 1.1 mm změnilo o více než 1000 Hz. 14. a 15. vlastní frekvence se změnilo na stejném rozptylu parametru  $L_a$  o více jak 6 500 Hz.



Obr. 4.9: Závislost změny 5., 6., 14., 15. vlastní frekvence modelu na změně parametru  $L_a$



Obr. 4.10: Závislost změny vlastních frekvencí modelu na změně parametru  $L_c$

Vliv změny parametru  $L_c$  na změnu vlastních frekvencí je na obrázku 4.10. Jak je z grafu patrné, tento parametr má silný vliv na všechny vlastní frekvence modelu, vyjma 14., 15., 5. a 6. vlastní frekvence. Příkladem je změna prvních dvou vlastních frekvencí o hodnotu přibližně  $80 \text{ Hz}$  nebo změna 12. a 13. vlastní frekvence o hodnotu přes  $4\,000 \text{ Hz}$ .

Je vidět, že tento parametr může mít velký vliv na vlastní frekvence modelu. Vzhledem k tomu, budou v další části zkoumány vlastní tvary modelu při změně parametru  $L_c$ .

Další závěr, který vyplývá z předchozích grafů je, že 14., 15., 5. a 6. vlastní frekvence, a s nimi spojené vlastní tvary, jsou ovlivněny pouze parametry penetrační části mikropipety a poloměrem ohnutí kolene mikropipety. Ostatní vlastní frekvence jsou ovlivněny zejména parametrem  $L_c$ ,  $L_b$  a  $\emptyset D$ .

Další geometrické parametry, které měly vliv na 5., 6., 14. a 15. vlastní frekvenci modelu jsou:

$\emptyset d$  ... průměr penetrační části mikropipety  
 $\alpha$  ... úhel ohnutí mikropipety.

Vliv těchto parametrů nebyl zdaleka tak velký, jako vliv parametru  $L_a$  a  $R$ , každopádně toto zjištění potvrzuje to, že tyto vlastní frekvence jsou ovlivňovány geometrickými parametry penetrační části mikropipety a kolene mikropipety.

Změna geometrických parametrů

$L_b$  ... délka přechodové části mikropipety (kuželová část)  
 $\emptyset D$  ... průměr upínací části mikropipety

se projevila více méně na všech dalších vlastních frekvencích kromě 5., 6., 14., 15. vlastní frekvence. Změna těchto parametrů ovšem neměla zdaleka tak velký vliv jako parametr  $L_c$ .

Geometrické parametry

$t$  ... tloušťka penetrační části mikropipety  
 $T$  ... tloušťka upínací části mikropipety

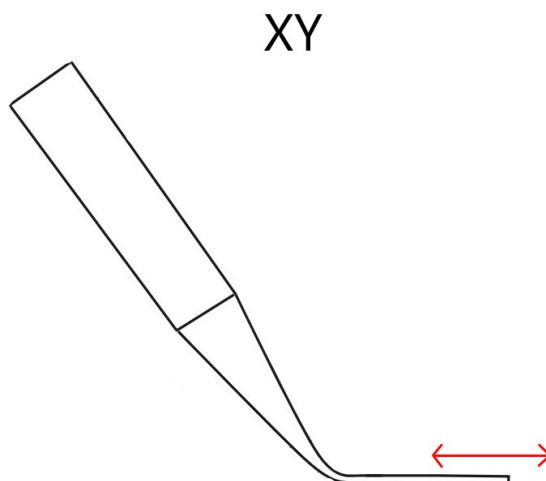
měly na změnu vlastních frekvencí téměř nulový efekt.

Materiálové parametry modelu měly na vlastní frekvence menší vliv než změny geometrických parametrů. Změna parametru  $\mu$  Poissonova čísla neměla téměř žádný vliv, číselně se jednalo o změny v řádech jednotek  $Hz$  u všech frekvencí. Změna hustoty  $\rho$  měla u všech vlastních frekvencí podobný vliv a to okolo 4 % od střední hodnoty. Vliv změny modulu pružnosti  $E$  měl taktéž téměř stejný vliv na všechny zkoumané vlastní frekvence, a to maximálně 5 % změny od střední hodnoty frekvence.

### 4.3 Výsledky citlivostní analýzy: výběr vlastních frekvencí a vlastních tvarů pro další zkoumání

Cílem této kapitoly je zhodnotit výsledky vlastních frekvencí, respektive vlastních tvarů, z pohledu jejich citlivosti na změnu geometrických parametrů, na základě výsledků, které byly představeny v kapitole 4.2, a v druhé řadě také z pohledu vhodnosti pro další aplikaci. Budou tedy hledány takové vlastní tvary, které vykonávají axiální pohyb penetrační části mikropipety a zároveň, při použití mikropipety s mírně rozdílnými parametry, budou výsledky podobně příznivé.

V principu je žadáný pohyb takový, který se odehrává v horizontální rovině XY, viz. obrázek 4.11. Jde o axiální pohyb penetrační části mikropipety. Je tedy snahou omezit na maximum pohyb, v jiném než naznačeném směru za cílem zajistit jednodušší penetraci oocytu, menší deformaci oocytu, menší poškození oocytu a tedy i vyšší úspěšnost při metodě ICSI. Více k žadanému pohybu mikropipety bude řečeno v kapitole 6.



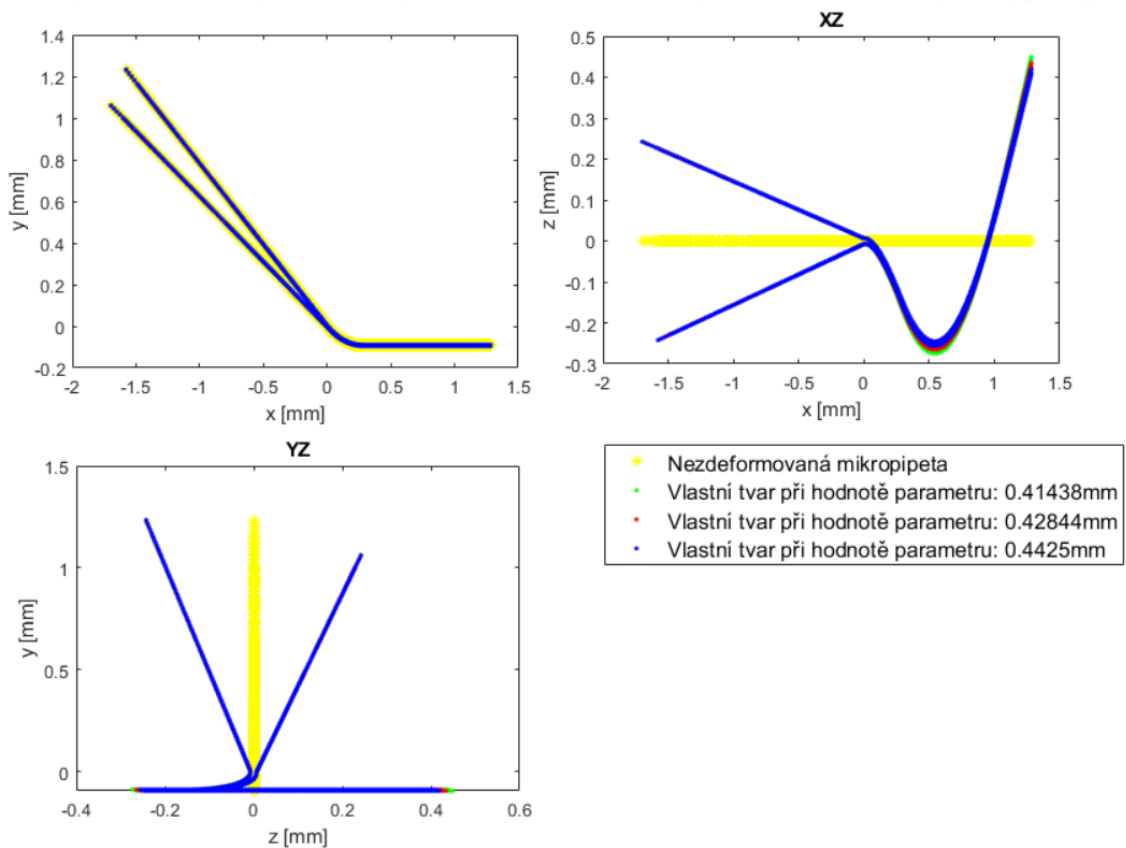
**Obr. 4.11:** Žadáný pohyb mikropipety

První věc, na kterou bylo nutné se zaměřit, bylo zkontrolování, že vlastní tvary se při změně parametrů nemění. Vzhledem k úpravě hranic parametrů mikropipety v kapitole 4.2, by ke změně vlastních tvarů mikropipety docházet nemělo. Vlastní frekvence, které měly tendenci se měnit, byla 11. až 18. vlastní frekvence.

Tyto vlastní tvary byly zkontrolovány a nedochází k jejich změně při změně geometrických parametrů mikropipety. Ukázka 11. vlastního tvaru je na grafu 4.12. 11. vlastní tvar je tzv. „breathing mode“ nebo „radial mode“, jak je možné vidět z grafu v rovině XZ.



### 11-tý vlastní tvar při změně parametru: Poloměr upínací části mikropipety[mm]



**Obr. 4.12:** 11. vlastní tvar: citlivost na změnu parametru  $\varnothing D$

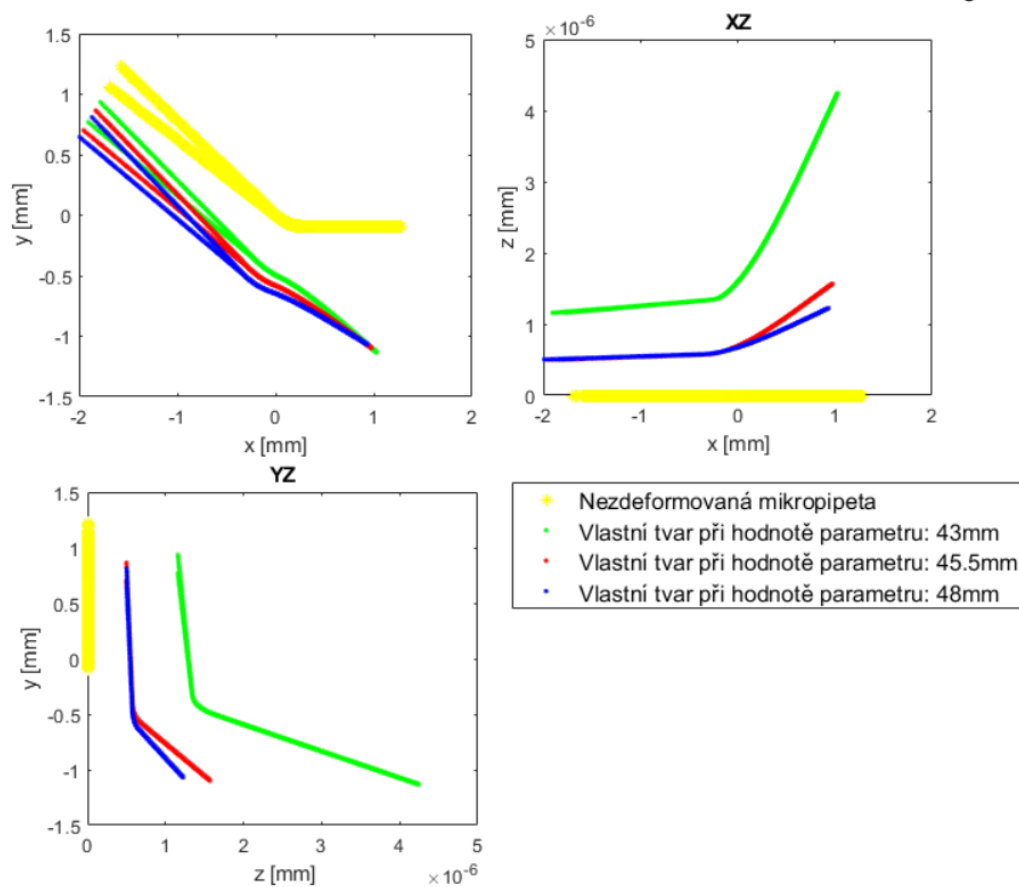
Grafy vlastních tvarů, které budou prezentovány v této kapitole, mají vždy pohled ve třech rovinách, v rovině XY (vlevo nahoře), v rovině XZ (vpravo nahoře) a v rovině YZ (vlevo dole). Žlutě je vždy znázorněn nezdeformovaný tvar mikropipety, zeleně, červeně a modře jsou zobrazeny vlastní tvary pro určitou hodnotu parametru, viz. legenda na grafech.

Dále budou představeny ty vlastní tvary, které odpovídají výše zmíněným požadavkům. Tedy takové tvary, které se pohybují v rovině XY, jejich pohyb se blíží axiálnímu pohybu mikropipety, nevykazují příčné pohyby v XY a XZ rovině a zároveň nejsou příliš citlivé na změny parametrů mikropipety.

Po optimalizaci parametrů mikropipety v kapitole 5, bude zkoumán pohyb při frekvencích okolo těchto vybraných vlastních tvarů pro nalezení ideální frekvence buzení, viz. kapitola 6.

Čtvrtý vlastní tvar je zobrazen na grafu 4.13.

**4-tý vlastní tvar při změně parametru: Délka upínací části mikropipety  $L_c$  [mm]**

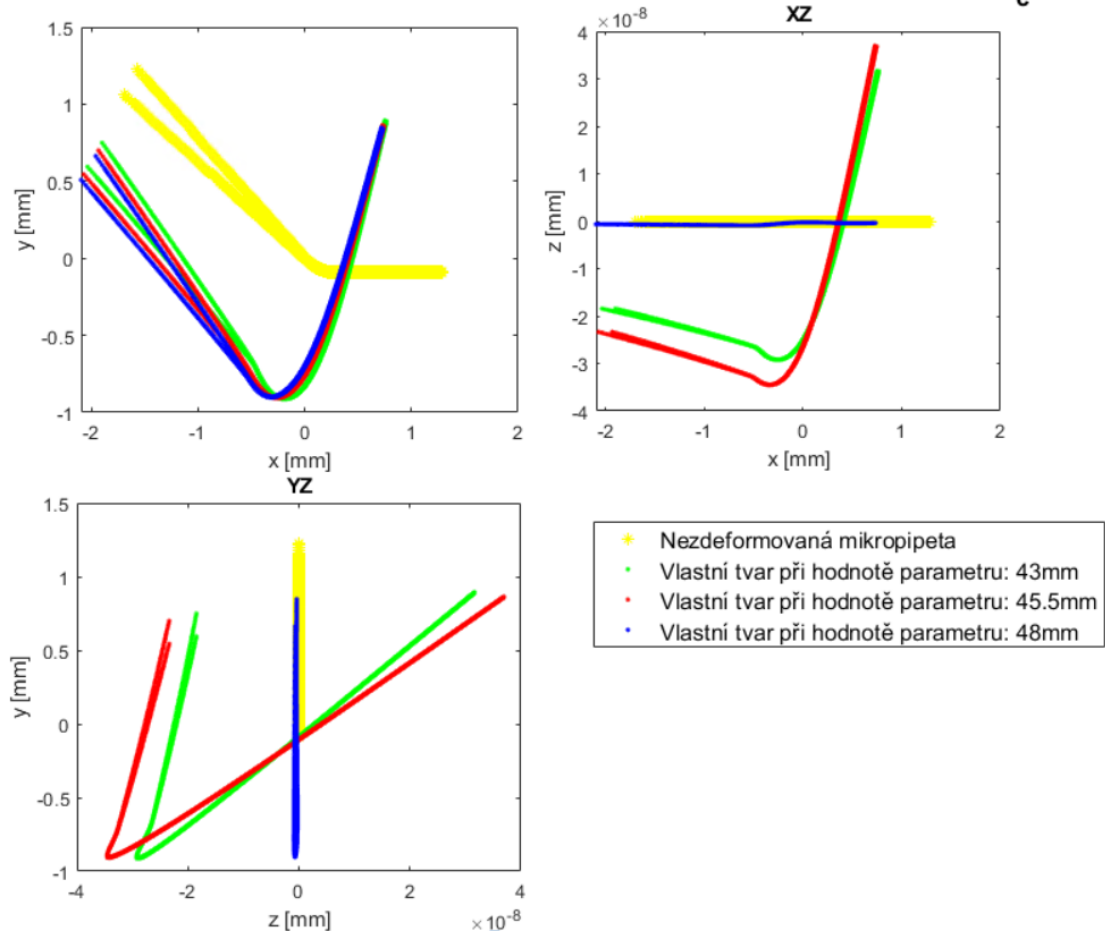


**Obr. 4.13:** Čtvrtý vlastní tvar: citlivost na změnu parametru  $L_c$

Čtvrtý vlastní tvar se v rovině XZ téměř neprojevuje, hodnoty jsou v řádech  $10^{-6}mm$ . V rovině XY vykonává ohyb v koleni mikropipety. Tento vlastní tvar není ideální, nicméně bude ponechán jako kandidát pro další zkoumání.

Dalším příznivým vlastním tvarem je devátý vlastní tvar. Devátý vlastní tvar je vidět na grafu 4.14.

**9-tý vlastní tvar při změně parametru: Délka upínací části mikropipety  $L_c$  [mm]**

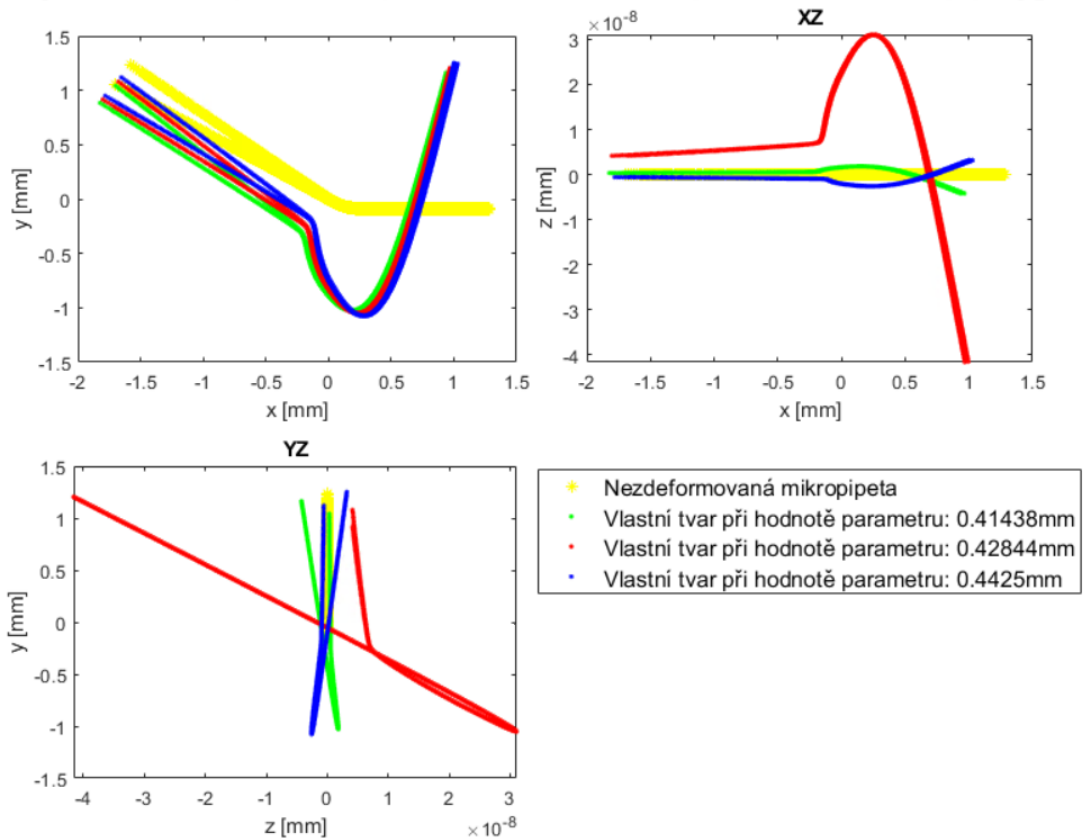


**Obr. 4.14:** Devátý vlastní tvar: citlivost na změnu parametru  $L_c$

Devátý vlastní tvar jeví poměrně dobrý pohyb. Ačkoliv v rovině XZ je vidět pohyb, jedná se o hodnoty v řádech  $10^{-8}mm$ , tedy zanedbatelný. To stejné je vidět i v rovině YZ. Pohyb v rovině XY není nejlepší, nicméně tento vlastní tvar je taktéž kandidátem pro další zkoumání.

12. vlastní tvar je na grafu 4.15. Tento vlastní tvar je dalším kandidátem, okolo jehož vlastních frekvencí lze hledat buzení mikropipety. Jeho pohyb je v rovině XY. V rovině XZ se jedná o hodnoty v řádech  $10^{-8}mm$ . Tento vlastní tvar se v předešlé kapitole ukázal jako kritický, proto bude věnována tomuto vlastnímu tvaru vyšší pozornost v dalším zkoumání.

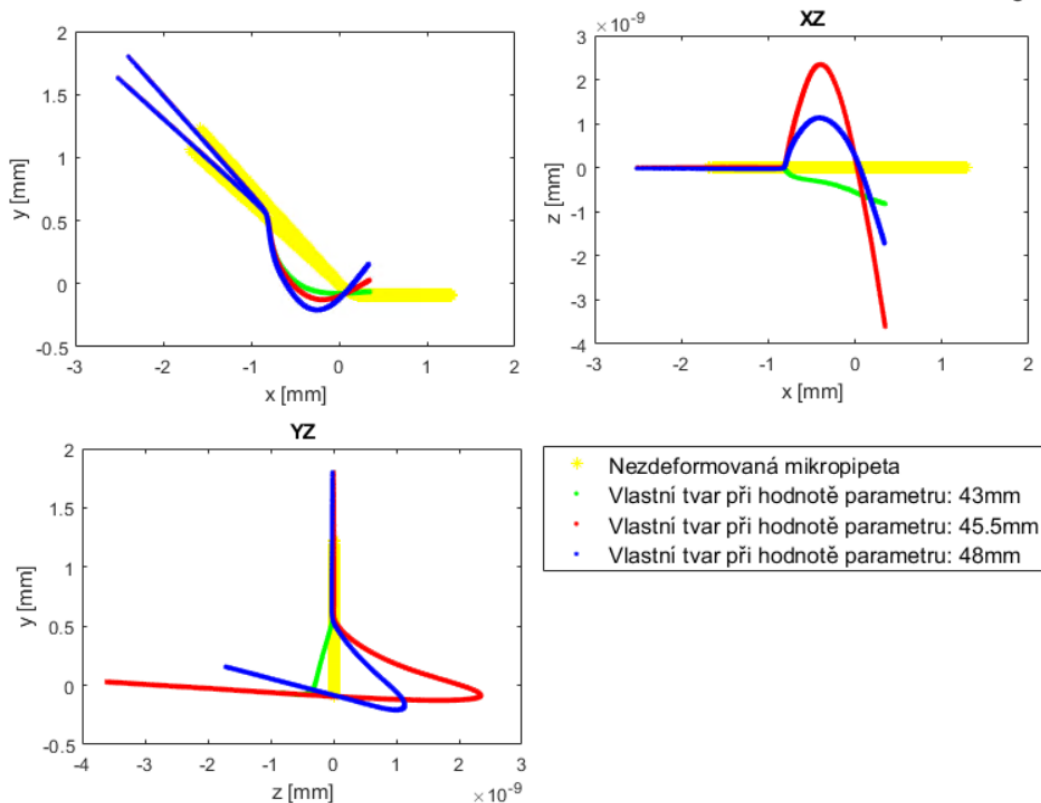
**12-tý vlastní tvar při změně parametru: Poloměr upínací části mikropipety[mm]**



**Obr. 4.15:** 12. vlastní tvar: citlivost na změnu parametru  $\varnothing D$ , resp. poloměr upínací části mikropipety

Posledním příznivým vlastním tvarem je 16. vlastní tvar. 16. vlastní tvar je vidět na grafu 4.16.

#### 16-tý vlastní tvar při změně parametru: Délka upínací části mikropipety $L_c$ [mm]



**Obr. 4.16:** 16. vlastní tvar: citlivost na změnu parametru  $L_c$

Tento vlastní tvar vykazuje velice dobrý pohyb v rovině XY. Oproti všem předešlým vlastním tvarům má nejpříznivější pohyb v rovině XY. V rovině XZ se neprojevuje (hodnoty v řádech  $10^{-9}mm$ ). Stejně jako 12. vlastní tvar je ovšem citlivý na změnu parametrů, jak bylo zjištěno v předešlé kapitole, a proto i tento tvar bude v dalších kapitolách brán s opatrností.

Co se týče zbylých vlastních tvarů, ty byly vyloučeny na základě jejich příčného pohybu v XY nebo XZ rovině, jako například první vlastní tvar. Dále byly vyloučeny tzv. „radial modes“ (viz. 11. vlastní tvar), nebo v druhém případě, vlastní tvary, které byly příliš proměnlivé při změně geometrických parametrů mikropipety, jednalo se zejména o 20. vlastní tvar a vyšší.

## 4.4 Závěry získané z citlivostní studie

Citlivostní studie přinesla mnoho poznatků, které budou stručně shrnuty v této kapitole.

V kapitole 4.2, kde byly zhodnoceny výsledky vlivu změny jednotlivých parametrů modelu na změnu vlastních frekvencí, se ukázalo, že při některých hodnotách

geometrických parametrů dochází k přeházení vlastních frekvencí, respektive vlastních tvarů, nebo dokonce i k vytvoření nových vlastních frekvencí a tvarů. Z toho důvodu byly posunuty horní a dolní hranice parametrů  $L_c$ ,  $L_b$ ,  $R$  a  $\emptyset D$ , tak, aby k tomuto jevu nedocházelo. Toto opatření je důležité pro optimalizaci parametrů mikropipety, která bude představena v další kapitole 5.

V kapitole 4.3 byly dále zkoumány vlastní frekvence z pohledu vlastních tvarů. Byly vytvořeny grafy vlastních tvarů v závislosti na změně všech geometrických parametrů mikropipety a na základě těchto vlastních tvarů bylo ověřeno, že se vlastní tvary při novém nastavení hranic parametrů nemění.

V kapitole 4.3, byl vybrán set čtyřech vlastních tvarů, které vykazují příznivý pohyb, tedy axiální pohyb penetrační části mikropipety, a zároveň nejsou citlivé na změnu geometrických parametrů mikropipety. Tyto vlastní tvary jsou:

- 4. vlastní tvar
- 9. vlastní tvar
- 12. vlastní tvar
- 16. vlastní tvar .

Frekvence a pohyb mikropipety v okolí těchto vlastních tvarů, resp. vlastních frekvencí, budou zkoumány v poslední kapitole 6 a bude snaha nalézt takové buzení, které bude vykazovat axiální pohyb penetrační části mikropipety, který by měl zajistit jednodušší penetraci oocytu, menší deformaci oocytu, menší poškození oocytu a tedy i vyšší úspěšnost při metodě ICSI.

# Kapitola 5

## Identifikace parametrů a validace MKP modelu piezo mikropipety

V kapitole 2 bylo nastíněno, jak byl vytvořen parametrický MKP model mikropipety v prostředí Abaqus za pomoci skriptování v prostředí Python. Snahou bylo, aby MKP model mikropipety dobře kopíroval reálnou mikropipetu pro metodu ICSI. Při modelaci geometrie modelu mikropipety došlo k zjednodušením oproti realitě. Geometrie reálné mikropipety se zejména liší v přechodu upínací části a penetrační části.

Parametry modelu mikropipety byly nastaveny dle parametrů, které uvádějí výrobci mikropipet. Parametr  $R$ , poloměr ohnutí kolene mikropipety, ovšem žádný z výrobců neuvádí. Jak bylo zjištěno v kapitole 4.2, tento parametr má na výsledné vlastní frekvence a vlastní tvary modelu poměrně velký vliv, a je nutné nalézt správnou hodnotu tohoto parametru tak, aby model odpovídal realitě.

Abychom mohli ověřit správnost vytvořeného modelu mikropipety z kapitoly 2, bylo provedeno na reálné mikropipetě pro proceduru ICSI měření pomocí laserového vibrometru. Výsledky z tohoto měření byly zpracovány a budou v kapitolách 5.2 a 5.3 dále použity pro identifikaci parametrů mikropipety a následnou validaci vytvořeného MKP modelu mikropipety.

### 5.1 EMA měření mikropipety z laserového vibrometru

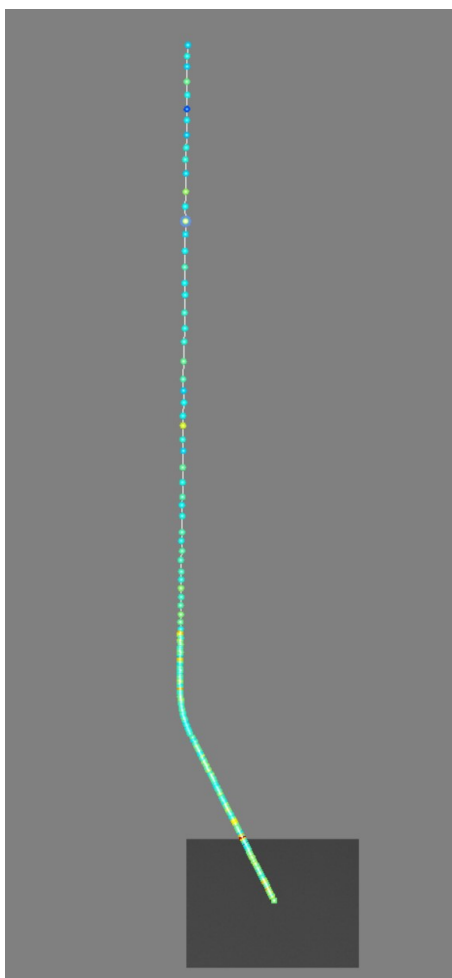
V této kapitole bude stručně popsána **Experimentální modální analýza** (dále jen EMA) mikropipety pro proceduru ICSI, která byla prováděna pomocí laserového vibrometru. Naměřená data byla identifikována v programu MeScope. Data z EMA byla již k dispozici na školicím pracovišti.

Rozměry měřené mikropipety jsou uvedeny v tabulce 5.1.

**Tabulka 5.1:** Rozměry měřené mikropipety

Parametr	Hodnota parametru
$\alpha$	35 °
L	0.95 - 1 mm
$\varnothing d(\text{vnitřní})$	5 $\mu\text{m}$
t	1 $\mu\text{m}$
L1	56.7 mm
$\varnothing D(\text{vnitřní})$	0.95 - 1.05mm
T	0.115 - 0.19 mm

Mikropipeta pro proceduru ICSI byla upnuta na svém konci. Laserovým vibrometrem bylo nastaveno 288 bodů na povrchu mikropipety, jak je vidět na obrázku 5.1. Body nebyly rozesety po celé mikropipetě, ale pouze na penetrační části mikropipety a části za kolenem mikropipety. Body byly zahuštěny zejména v penetrační části, neboť tato část je hlavním cílem zkoumání. Pohyb těchto bodů byl následně sledován laserovým vibrometrem a hodnoty byly v průběhu měření zaznamenávány. Mikropipeta byla buzena od 1 000 Hz do 60 100 Hz.



**Obr. 5.1:** Body na povrchu mikropipety při měření laserovým vibrometrem

Získaná data byla posléze zpracována panem Ing. Vítem Pawlikem. Data byla

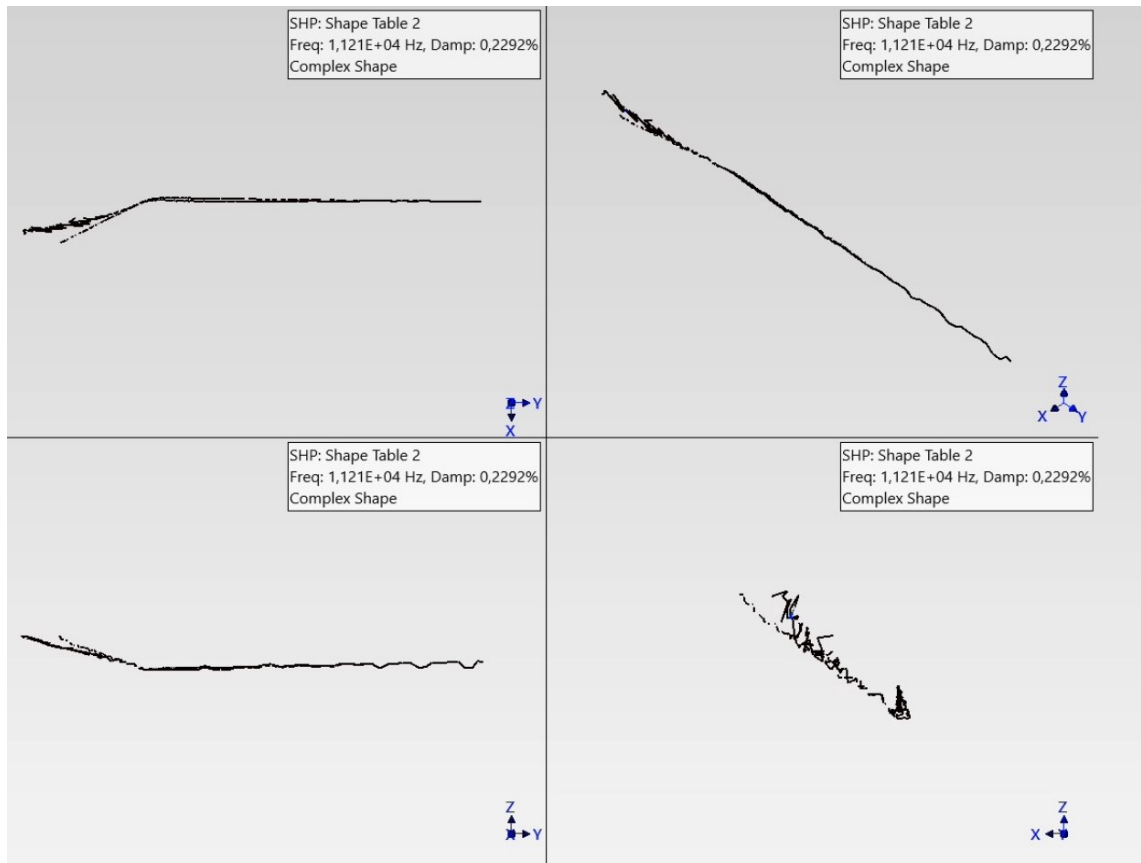


převedena do frekvenční oblasti a byly nalezeny vlastní frekvence měřené mikropipety spolu s vlastními tvary při jednotlivých rezonancích. Vlastní frekvence měřené mikropipety jsou uvedeny v tabulce 5.2.

Hodnoty rezonancí budou dále použity pro optimalizaci parametrů modelu mikropipety a k následné validaci modelu. Ukázka výstupu měření vlastního tvaru při rezonanci 11 214Hz, tzn. 6. mode, je vidět na obrázku 5.2.

**Tabulka 5.2:** Vlastní frekvence mikropipety získané z měření EMA

Mode	Frekvence [Hz]
1	1 051,5
2	1 290,6
3	3 848
4	3 876.5
5	10 588
6	11 214
7	18 087
8	18 511
9	30 259
10	30 862
11	45 227
12	46 244
13	50 961



Obr. 5.2: Vlastní tvar mikropipety při rezonanci 11 214 Hz

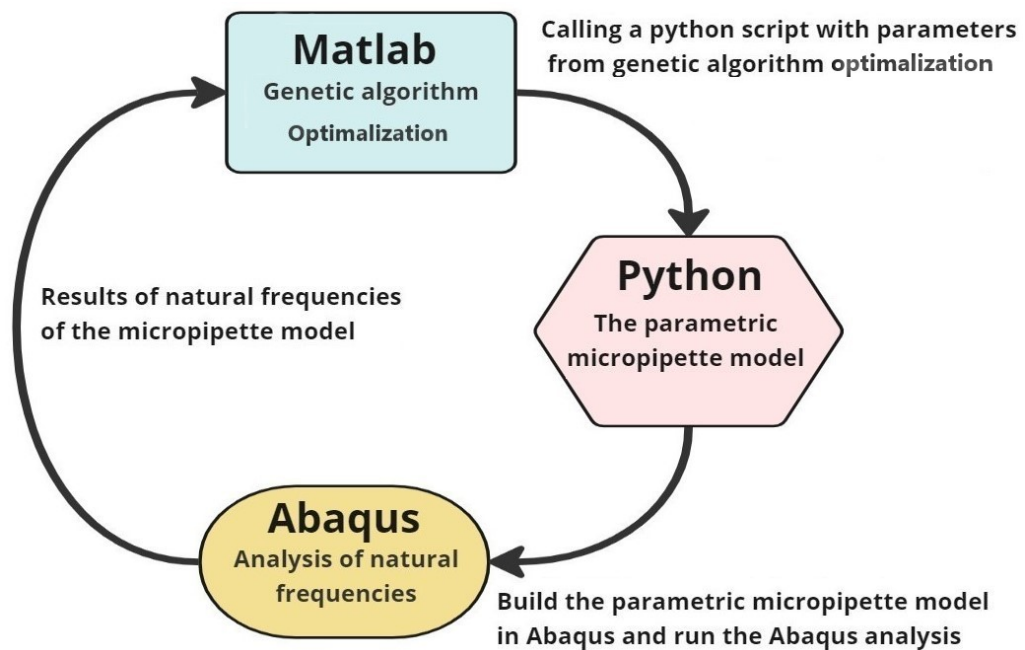
## 5.2 Identifikace parametrů modelu piezo mikropipety genetickými algoritmy

Pro validaci parametrického MKP modelu mikropipety vytvořeného v kapitole 2, bude použito genetických algoritmů, které budou mít za cíl nalézt takovou sadu geometrických a materiálových parametrů, pro které bude MKP model mikropipety vykazovat podobné vlastní frekvence, jako jsou vlastní frekvence naměřené z měření EMA reálné mikropipety pro proceduru ICSI.

Optimalizace bude uskutečněna propojením programu Abaqus, prostředí Python a programu Matlab, viz. obrázek 5.3. Volání Python skriptu pomocí operačního systému je popsáno v kapitole 3.1, na stejném principu bude postavena optimalizace genetickými algoritmy. Celý proces optimalizace bude vypadat následujícím způsobem:

- Genetické algoritmy v prostředí Matlab vygenerují sadu parametrů.
- Pomocí operačního systému je spuštěn Python skript parametrického MKP modelu mikropipety v prostředí Abaqus.
- Pomocí operačního systému jsou zároveň poslány vygenerované parametry modelu genetickými algoritmy do Python skriptu pro MKP model mikropipety.

- Proběhne analýza MKP modelu mikropipety v prostředí Abaqus.
- Matlab skript po ukončení analýzy Abaqusu otevře vygenerovaný .odb file a přečte vlastní frekvence MKP modelu.
- Matlab skript vloží hodnoty vlastních frekvencí do kritériální funkce a na základě genetických algoritmů vygeneruje novou sadu parametrů.
- Tento proces se opakuje až do dosažení jednoho z kritérií pro ukončení optimalizace.



**Obr. 5.3:** Proces optimalizace, propojení prostředí Abaqus a Matlab se skriptováním v prostředí Python

## 5.2.1 Optimalizační parametry MKP parametrického modelu mikropipety

Parametry, které budou identifikovány pomocí genetických algoritmů jsou znázorněny na obrázku 5.4. Optimalizační parametry jsou:

$\alpha$  ... úhel ohnutí mikropipety

$L_a$  ... délka penetrační části mikropipety

$\varnothing d$  ... střední průměr penetrační části mikropipety

$t$  ... tloušťka stěny penetrační části mikropipety

$L_c$  ... délka upínací části mikropipety

$L_b$  ... délka přechodové (kuželové) části mikropipety

$\varnothing D$  ... střední průměr upínací části mikropipety

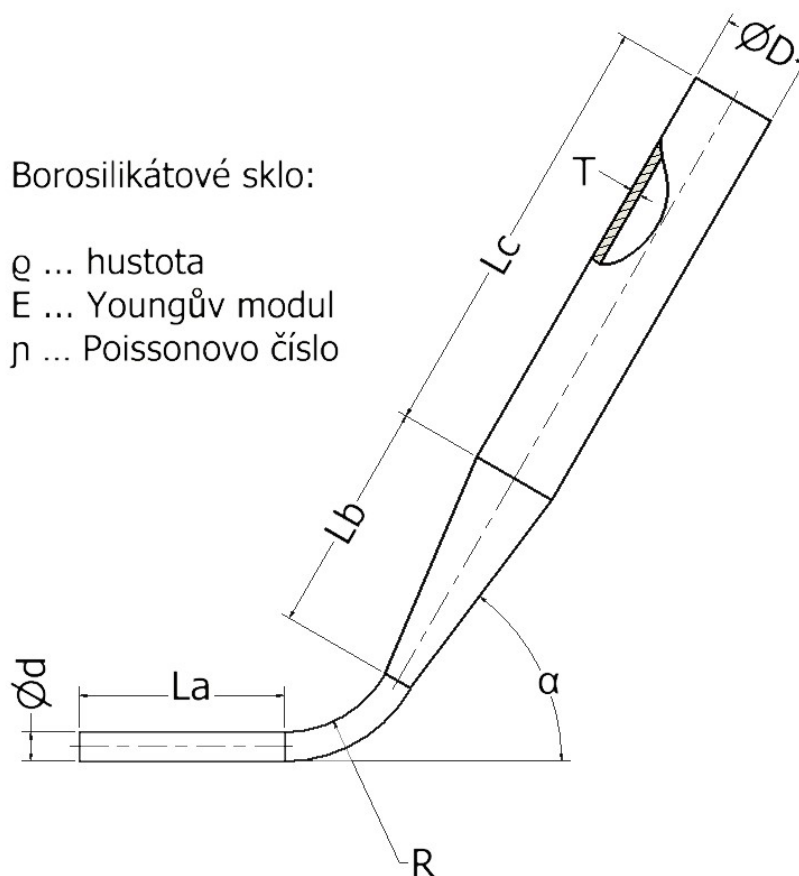
$T$  ... tloušťka stěny upínací části mikropipety

$R$  ... poloměr zakřivení kolene mikropipety

$\rho$  ... Hustota borosilikátového skla

$E$  ... Youngův modul borosilikátového skla

$\mu$  ... Poissonovo číslo



**Obr. 5.4:** Mikropipeta - optimalizační parametry

Vektor optimalizačních parametrů vypadá následovně:

$$\vec{p} = [L_a \ L_b \ L_c \ \varnothing D \ \varnothing d \ T \ t \ R \ \alpha \ \rho \ \mu \ E]^T$$

Celkově se tedy jedná o 12 optimalizačních parametrů modelu, z čehož je 9 geometrických a 3 materiálové.

Při optimalizaci genetickými algoritmy je vždy nutné zadefinovat dolní a horní hranice hodnot optimalizačních parametrů. Důvod je ten, že genetické algoritmy vytvářejí jedince, mimo jiné, i nahodilým způsobem, mohlo by tedy dojít k tomu, že budou hledat řešení v nekonečnu.

Horní a dolní hranice optimalizačních parametrů byly nastaveny na základě poznatků získaných z citlivostní analýzy v kapitole 4.2 a jsou uvedeny v tabulce 5.3.

**Tabulka 5.3:** Nastavení dolních a horních hranic optimalizačních parametrů

Parametr	Dolní hranice	Horní hranice
$L_a$ [mm]	0.9	1.1
$L_b$ [mm]	7.5	9.2
$L_c$ [mm]	43	48
$\varnothing D$ [mm]	0.83	0.885
$\varnothing d$ [ $\mu m$ ]	0.0054	0.0066
$T$ [mm]	0.135	0.165
$t$ [ $\mu m$ ]	0.0009	0.0011
$R$ [mm]	0.35	0.61
$\alpha$ [°]	33.25	36.75
$\rho$ [ $g/cm^3$ ]	2.007	2.453
$\mu$ [–]	0.18	0.22
$E$ [MPa]	57 600	70 400

Horní a dolní hranice většiny optimalizačních parametrů byly nastaveny na rozmezí 20 %, tedy horní hranice je 110 % střední hodnoty parametru a dolní hranice je 90 % střední hodnoty parametru. Pro parametr  $\alpha$  bylo nastaveno rozmezí na 10 %, neboť tento parametr se v realitě liší jen o pár jednotek stupňů.

Parametry  $L_c$ ,  $L_b$ ,  $R$  a  $\varnothing D$  byly nastaveny na základě výsledků z citlivostní analýzy, kapitola 4. Parametr  $L_c$  byl po upravě hranic nastaven na rozptyl 11 %, parametr  $L_b$  na 16.5 % a parametr  $\varnothing D$  na 6.6 %. U parametru  $R$  (zaoblení kolene mikropipety) bylo nastaveno rozmezí horní a dolní hranice 54 %. Parametr  $R$  neuvádí žádný z výrobců mikropipet, a proto je nastavení rozmezí parametru široké.

Důvod, proč bylo nutné parametry  $L_c$ ,  $L_b$ ,  $R$  a  $\varnothing D$  takto omezit je, že při optimalizaci budou vždy srovnávány páry vlastních frekvencí z měření a z modelu. Pokud by tedy došlo k tomu, že se vytvoří nové vlastní tvary, resp. vlastní frekvence, nebo dojde k proházení vlastních tvarů, respektive vlastních frekvencí, jak bylo popsáno v kapitole 4.2, optimalizace by párovala jiné vlastní tvary z měření EMA a z modelu mikropipety, než ty, které k sobě náleží. Taková optimalizace by v konečném důsledku neměla žádnou vypovídající hodnotu.

## 5.2.2 Vybrání vlastních frekvencí pro optimalizaci genetikými algoritmy

Aby byla optimalizace úspěšná, bylo nutné spárovat vlastní tvary naměřených vlastních frekvencí z EMA měření reálné mikropipety s vlastními tvary MKP parametrického modelu mikropipety při daných vlastních frekvencích. Z měření EMA byla vytvořena videa panem Ing. Vítem Pawlikem, která demonstrují vlastní tvary reálné mikropipety při dané vlastní frekvenci. Stejně tak, po analýze modelu mikropipety v prostředí Abaqus, je možné pozorovat pohyb vlastních tvarů modelu při daných vlastních frekvencích.

Tyto jednotlivá videa byla porovnána a byl nalezen set dvanácti vlastních frekvencí pro optimalizaci.

Na obrázku 5.5 je ukázán příklad, jak byly vlastní tvary porovnávány. V horní části obrázku je vlastní tvar reálné mikropipety při rezonanci 45 227 Hz získaný z měření EMA. V dolní části obrázku je vlastní tvar MKP modelu mikropipety při vlastní frekvenci 43 569 Hz získaný z analýzy Abaqusu.

Vlastní frekvence modelu a vlastní frekvence mikropipety, které byly vybrány, jsou uvedeny v tabulce 5.4. Důvodů, proč při měření nebyly zachyceny všechny vlastní frekvence vygenerované modelem v Abaqusu je více. První dvě vlastní frekvence, které vygenerovala analýza Abaqusu jsou pod 1000 Hz, měření EMA začínalo na 1000 Hz, takže přirozeně nemohly být zachyceny. Další vlastní frekvence, resp. vlastní tvary, které nebyly zachyceny měřením EMA jsou tzv. „breathing mode“ nebo „radial mode“, neboť mikropipeta byla buzena ve směru upínací části mikropipety.

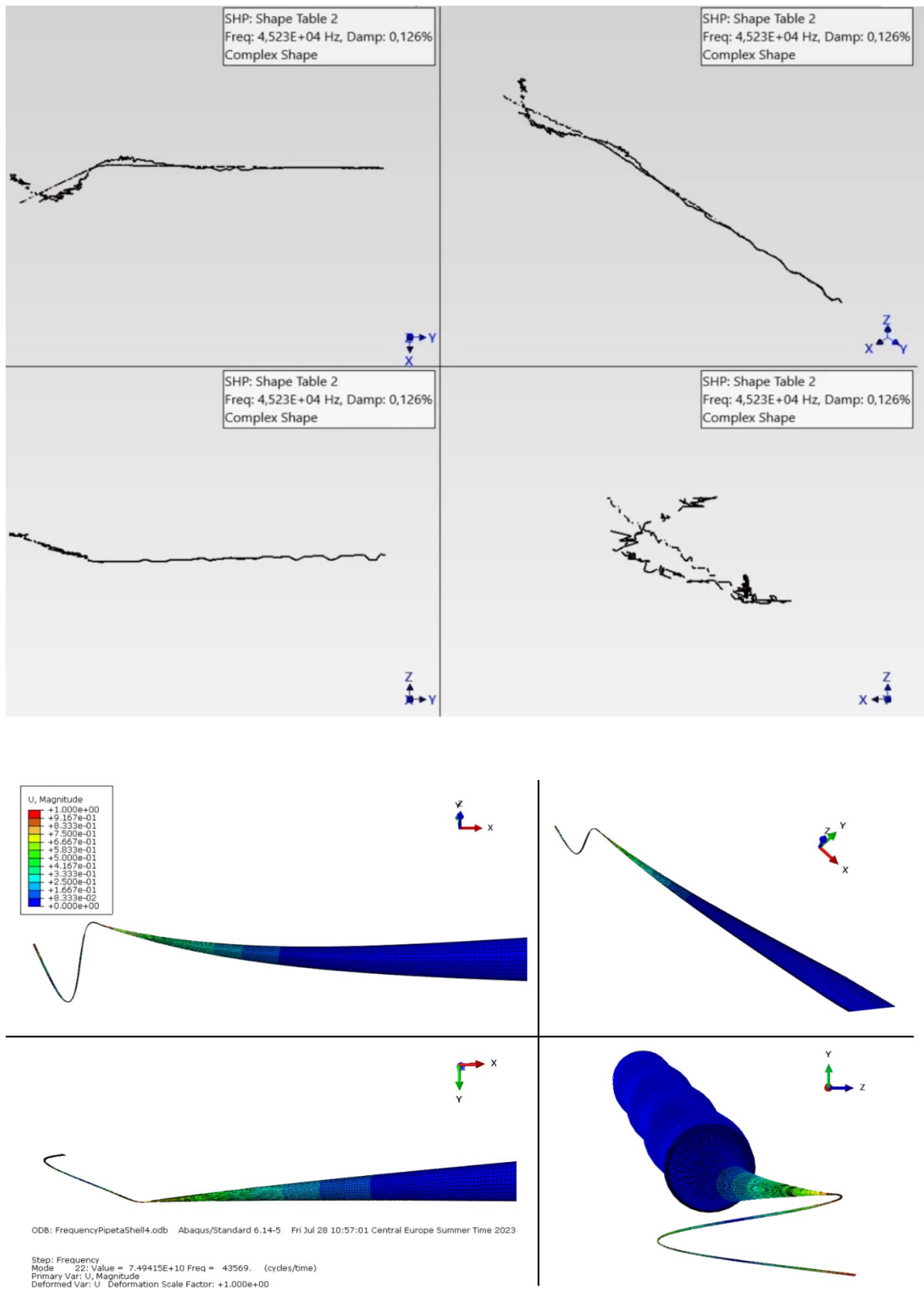
**Tabulka 5.4:** Vybrané vlastní frekvence z měření EMA a z analýzy Abaqusu pro optimalizaci parametrů

Vlastní frekvence EMA [Hz]	Vlastní frekvence Abaqus [Hz]
1 051,5	2 134,4
1 290,6	2 134,4
3 848	3 542,6
3 876,5	3 572,0
10 588,0	11 306,5
11 214,0	11 306,5
18 087,0	18 200,0
18 511,0	18 200,2
30 259,0	34 599,7
30 862,0	34 601,8
45 227,0	43 562,3
46 244,0	43 569,4

Tato sada vlastních frekvencí bude použita pro optimalizaci parametrů MKP modelu mikropipety uvedených v kapitole 5.2.1.

Cílem bude nalezení takové sady optimalizačních parametrů, při které bude

MKP model mikropipety v prostředí Abaqus vykazovat podobné vlastní frekvence, jaké byly získány z měření EMA reálné mikropipety pro proceduru ICSI.



**Obr. 5.5:** Porovnání vlastního tvaru získaného měřením EMA a analýzou modelu v Abaqusu

### 5.2.3 Volba kritériální funkce pro optimalizaci

Kritériální funkce („Fitness function“, dále jen **FF**) pro optimalizaci parametrů MKP modelu mikropipety za pomoci genetických algoritmů byla zvolena následujícím způsobem:

$$FF = \sum_{i=1}^p \left( \frac{Vlastní\ frekvence_{ABQ} - Vlastní\ frekvence_{EMA}}{Vlastní\ frekvence_{EMA}} \right)^2,$$

kde  $p$  je počet vlastních frekvencí, které slouží k optimalizaci (v tomto případě  $p = 12$ ).

Takto zvolená kritériální funkce dává větší váhu nižším vlastním frekvencím, než těm vyšším. To je pro náš případ výhodné vzhledem k tomu, že předpokládáme zvětšující se rozptyl mezi měřenými vlastními frekvencemi a vlastními frekvencemi získanými z modelu při každém dalším vlastním tvaru. Důvod je, že jak měření, tak analýza v Abaqusu první vlastní tvary a vlastní frekvence dokáže získat relativně přesně, ovšem se zvyšujícím se módem je chyba měření i modelu větší a větší.

### 5.2.4 Nastavení parametrů genetických algoritmů

Pro optimalizaci v prostředí Matlab byl využit klasický předpis pro genetické algoritmy, který nabízí knihovna Matlabu. Jedná se o následující předpis:

$$[x, fval] = ga(fun, nvars, lb, ub, options) [40],$$

kde  $\mathbf{x}$  je vektor výsledných optimalizovaných parametrů,  $\mathbf{fval}$  je skalár reprezentující nejlepší nalezenou hodnotu kritériální funkce,  $\mathbf{fun}$  je jméno „Matlab function“ nebo „Function handle“ obsahující předpis kritériální funkce,  $\mathbf{nvars}$  je počet optimalizačních parametrů,  $\mathbf{lb}$  a  $\mathbf{ub}$  jsou dolní a horní hranice parametrů (LowerBound, UpperBound) a  $\mathbf{options}$  jsou další možnosti nastavení výpočtu genetických algoritmů [40].

Matlab skript s předpisem pro optimalizaci genetickými algoritmy pro MKP model mikropipety je na obrázku 5.6.

```
83 [p_opt, Kriterialni_fce] = ga(@(p)Kriterialni_fce_Ga(p, FreqMeasured, PythonScript,...
84 WorkingDirectory, konst_parametry),...
85 numel(parametry), [], [], [], [],...
86 lowerBounds, upperBounds,[],[],options);
```

**Obr. 5.6:** Matlab skript - Genetic Algorithm

Parametr **options** byl nastaven s přihlédnutím k výpočetnímu času celé optimalizace. Nastavení je vidět na obrázku 5.7. Nastavení

$$PlotFcn, \{ @gaplotbestf, @gaplotstopping \}$$



slouží ke generování grafu v průběhu optimalizace. Tento graf zobrazuje nejlepší a průměrnou hodnotu kritériální funkce v jedné generaci, a zároveň vývoj kritérií pro ukončení optimalizace.

Nastavení „MaxGeneration“ a „MaxStallGeneration“ jsou kritéria pro ukončení optimalizace. „MaxGeneration“ bylo nastaveno na hodnotu 100, to znamená, že pokud optimalizace dosáhne 100 generací, ukončí se. „MaxStallGeneration“ bylo nastaveno na hodnotu 10, to znamená, že pokud se nejlepší hodnota během 10 generací nezmění, optimalizace se ukončí.

Nastavení „PopulationSize“ určuje velikost populace jedné generace. Defaultní nastavení, které Matlab nabízí, a je doporučeno pro více jak 5 optimalizačních parametrů, je 200. Nicméně, vzhledem k výpočetní náročnosti modelu, byla tato hodnota snížena na hodnotu 60.

```
80 options = optimoptions('ga','PlotFcn',{@gaplotbestf,@gaplotstopping},...  
81 'MaxGenerations', 100, 'PopulationSize', 60, 'MaxStallGenerations', 10);
```

**Obr. 5.7:** Matlab skript - Genetic Algorithm Options

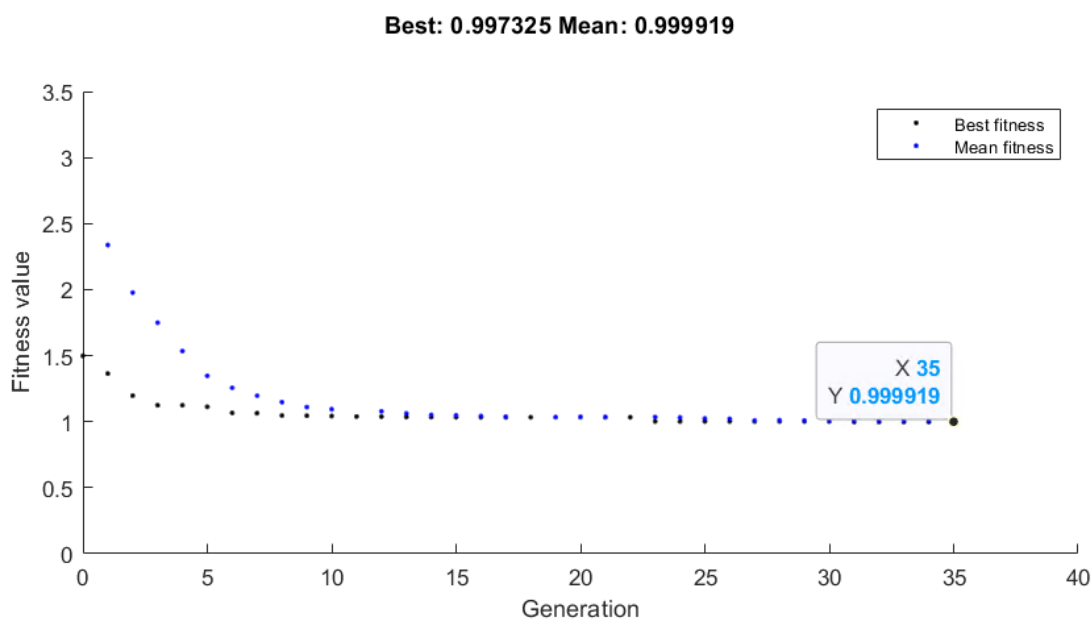
### 5.3 Validace MKP modelu mikropipety

Na základě výsledků z identifikace parametrů modelu mikropipety genetikými algoritmy bude v této kapitole validován MKP model mikropipety vytvořený v prostředí Abaqus.

Výpočet optimalizace trval 21 hodin a 58 minut. Bylo dosaženo 35 generací. Výpočet se ukončil na základě kritéria ukončení „MaxStallGeneration“, které bylo nastaveno na hodnotu 10, tedy 10 generací po sobě nedošlo ke zlepšení hodnoty kritériální funkce a výpočet byl ukončen. Graf získaný z průběhu optimalizace je na obrázku 5.8.

Nejlepší nalezená hodnota kritériální funkce:  $FF = 0.997325$ .

Tabulka vlastních frekvencí MKP modelu vs. vlastní frekvence mikropipety z měření EMA jsou uvedeny v tabulce 5.5.



**Obr. 5.8:** Graf - Genetic Algorithm

**Tabulka 5.5:** Vlastních frekvencí z měření EMA vs. vlastní frekvence modelu získané pomocí optimalizace

Vl. frek. EMA [Hz]	Vl. frek. Abaqus [Hz]	Relativní chyba[%]
1 051,5	1 883.1	79.1
1 290,6	1 883.1	45.9
3 848	4 241.0	10.2
3 876.5	4 241.0	10.2
10 588,0	9 958.3	5.9
11 214,0	9 958.3	11.2
18 087,0	15 996.7	11.6
18 511,0	15 996.7	13.6
30 259,0	26 475.2	12.5
30 862,0	26 530.0	14.0
45 227,0	38 013.5	15.9
46 244,0	38 013.5	17.8

Výsledky získaných vlastních frekvencí z MKP modelu mikropipety nejsou příznivé. Relativní chyba vlastních frekvencí modelu vůči naměřeným vlastním frekvencím mikropipety je ve třetím sloupci tabulky 5.5.

Největší relativní chybu vykazuje první a druhá vlastní frekvence, 79 % pro první a 45.9 % pro druhou vlastní frekvenci. Ostatní vlastní frekvence mají relativní chybu do 15 % vyjma posledních dvou vlastních frekvencí, kde relativní chyba dosáhla hodnoty 17.8 %.

Vzhledem k těmto výsledkům je pravděpodobné, že optimalizace kladla největší důraz na první dvě vlastní frekvence, neboť mají největší vliv na výsledek kriteriální funkce. V důsledku toho, byly nalezeny parametry modelu mikropipety takové,

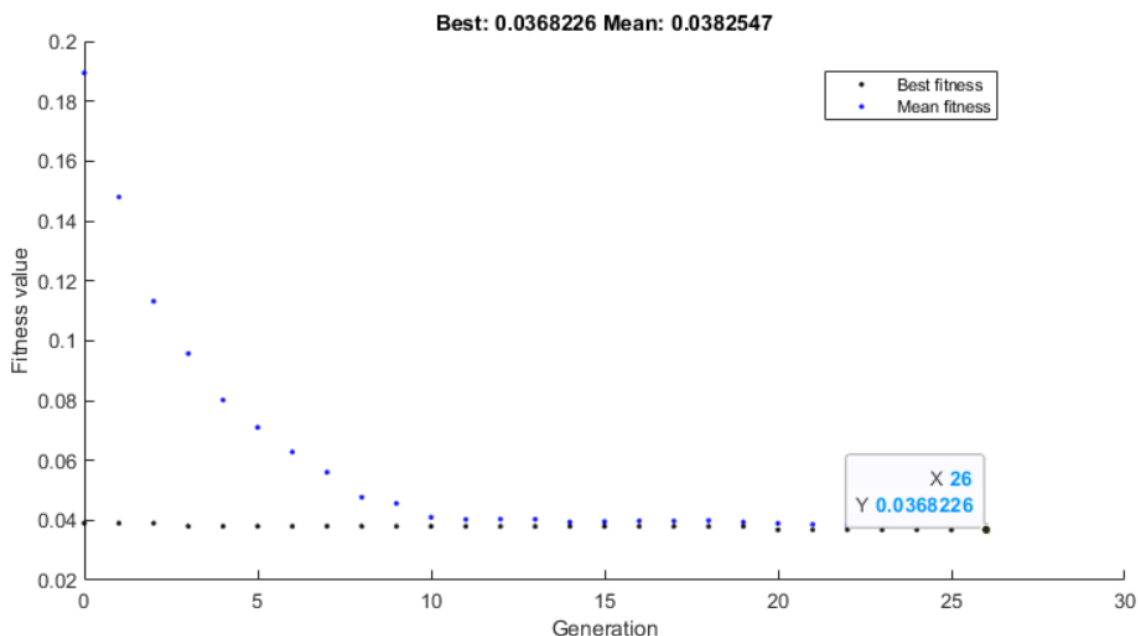
aby se první dvě vlastní frekvence modelu, co nejvíce přiblížily měřeným vlastním frekvencím, a tím došlo k odchýlení se u ostatních vlastních frekvencí.

První dva získané vlastní tvary, resp. vlastní frekvence, z měření jsou ohyby v upínací části mikropipety, první vlastní tvar v horizontální rovině a druhý vlastní tvar ve vertikální rovině. Tyto dva vlastní tvary by měly vykazovat stejné, nebo velice podobné hodnoty vlastních frekvencí. Tomu tak ovšem není, první a druhá naměřená vlastní frekvence se liší o 240 Hz, tedy zhruba o 23 %, to je velký procentuální rozdíl v porovnání s ostatními měřenými vlastními frekvencemi. Je tedy otázkou, jak velká chyba nastala při měření těchto dvou vlastních frekvencí.

Na základě těchto poznatků byla spuštěna druhá optimalizace bez prvních dvou naměřených vlastních frekvencí.

### Identifikace parametrů MKP modelu mikropipety - výsledky druhé optimalizace

Výpočet optimalizace trval 18 hodin a 25 minut. Bylo dosaženo 26 generací. Výpočet se ukončil na základě kritéria ukončení „MaxStallGeneration“, které bylo nastaveno na hodnotu 5, tedy 5 generací po sobě nedošlo ke zlepšení hodnoty kritériální funkce a výpočet byl ukončen. Toto nastavení bylo změněno z důvodu délky výpočetního času. Graf získaný z průběhu optimalizace je na obrázku 5.9.



**Obr. 5.9:** Graf - Genetic Algorithm, druhá optimalizace

Nejlepší nalezená hodnota kritériální funkce:  $FF = 0.0368226$ .

Tabulka vlastních frekvencí MKP modelu získaných na základě druhé optimalizace vs. vlastní frekvence mikropipety z měření EMA jsou uvedeny v tabulce 5.6.

**Tabulka 5.6:** Vlastních frekvencí z měření EMA vs. vlastní frekvence modelu získané pomocí optimalizace

Vl. frek. EMA [Hz]	Vl. frek. Abaqus [Hz]	Relativní chyba[%]
3 848	3 847.3	0.8
3 876.5	3 847.3	0.8
10 588,0	11 625.3	9.8
11 214,0	11 625.3	3.7
18 087,0	18 818.6	4.0
18 511,0	18 818.5	1.7
30 259,0	27 327.8	9.7
30 862,0	27 328.1	11.5
45 227,0	46 414.2	2.6
46 244,0	46 420.7	0.4

Výsledné získané vlastní frekvence z MKP modelu mikropipety při druhé optimalizaci dosáhly výborných výsledků. Relativní chyba vlastních frekvencí modelu vůči naměřeným vlastním frekvencím mikropipety dosáhla maximální hodnoty 11.5 % u desáté naměřené vlastní frekvence mikropipety. Ostatní vlastní frekvence se pohybují pod hranicí 10 % relativní chyby.

Získané parametry modelu mikropipety jsou uvedeny v tabulce 5.7.

**Tabulka 5.7:** Parametry modelu mikropipety získané z optimalizace

Parametr	Optimalizované parametry modelu	Původní parametry
$L_a$ [mm]	0.9981	1
$L_b$ [mm]	7.8059	8.7
$L_c$ [mm]	47.9654	48
$\varnothing D$ [mm]	0.8480	0.85
$\varnothing d$ [ $\mu m$ ]	0.0062	0.006
$T$ [mm]	0.1350	0.15
$t$ [ $\mu m$ ]	0.0011	0.001
$R$ [mm]	0.4755	0.5
$\alpha$ [°]	35.0796	35
$\rho$ [ $g/cm^3$ ]	2.3802	2.23
$\mu$ [–]	0.1834	0.2
$E$ [MPa]	66 930	64 000

Největší změnu z geometrických parametrů zaznamenal parametr  $L_b$ , o hodnotu 1 mm, který udává délku přechodové části mikropipety. Dále se pozměnil parametr  $T$ , tloušťka upínací části mikropipety, o hodnotu 0.015 mm. Zbylé geometrické parametry zaznamenaly jen minimální změnu. Z materiálových parametrů zaznamenal největší změnu modul pružnosti borosilikátového skla o hodnotu 2 930 MPa a poté Poissonovo číslo o hodnotu 0.0166.

## Závěrečné zhodnocení výsledků identifikace parametrů a validace MKP modelu mikropipety

Prvním předpokladem pro validaci MKP modelu mikropipety vytvořeného v kapitole 2, byla shoda vlastních frekvencí modelu s naměřenými vlastními frekvencemi reálné mikropipety měřením EMA. Dosažení dobré shody bylo realizováno pomocí identifikace parametrů modelu genetickými algoritmy.

Optimalizace genetickými algoritmy dosáhla uspokojujícího výsledku. Výsledná hodnota kritériální funkce při druhé optimalizaci dosáhla hodnoty 0.03678. Relativní chyba vlastních frekvencí měřené mikropipety a vlastních frekvencí MKP modelu mikropipety vystoupala na maximální hodnotu 11.5 % u desáté naměřené vlastní frekvence.

Po zhodnocení výsledků první optimalizace, byly odebrány první dvě naměřené vlastní frekvence. Druhá optimalizace pak srovnávala sadu deseti vlastních frekvencí. Ačkoliv nebylo dosaženo blízké shody prvních dvou naměřených vlastních frekvencí s vlastními frekvencemi z modelu, zbylých deset vlastních frekvencí vykazovalo velice dobrou shodu při druhé optimalizaci.

Odůvodněním, proč se první naměřené vlastní frekvence neshodují s vlastními frekvencemi modelu, může být, že měření u těchto dvou frekvencí neproběhlo dobře. Důkazem je i jejich velký rozptyl, ačkoliv by tyto dvě vlastní frekvence měly být sobě velice blízké.

Druhým a zásadnějším kritériem pro validaci modelu pro naši aplikaci je shoda vlastních tvarů MKP modelu a reálné mikropipety. Vlastní tvary se shodovaly již před optimalizací, nicméně změna parametrů modelu mohla vlastní tvary změnit. Po analýze MKP modelu s nově získanými geometrickými a materiálovými parametry byly opět porovnány získané vlastní tvary modelu a vlastní tvary z měření a bylo dosaženo stejné shody.

Na základě těchto dvou kritérií, výsledků z optimalizace genetickými algoritmy a porovnání vlastních tvarů reálné a modelované mikropipety, lze MKP model mikropipety prohlásit za validní. V dalších zkoumáních bude MKP model mikropipety použit s parametry, které byly získány pomocí druhé optimalizace.

## Kapitola 6

# Návrh buzení piezo mikropipety

Společnosti, které poskytují kompletní pracovní stanice pro metodu ICSI s piezoaktuátorem, bohužel neposkytují úplné informace o konstrukčních řešeních mikropipet s piezoaktuátory. Zároveň ani není známo, jaké typy piezoaktuátorů používají, a na jaké frekvenční oblasti je piezoaktuátor buzen.

Cílem této kapitoly tedy bude představení konstrukčních řešení mikropipet s piezoaktuátorem pro metodu ICSI objevujících se v literatuře a v praxi. V druhé části bude modifikován vytvořený MKP model mikropipety na model s roztokem uvnitř penetrační části mikropipety, a bude vyhodnoceno, jaký vliv má roztok na vlastní tvary piezo mikropipety. Jedná se o roztok, který je do mikropipety nasátý společně se spermií před samotnou penetrací oocytu. V poslední části bude na základě dynamické analýzy navrhována frekvenční oblast buzení, která vykazuje nejlepší pohyb penetrační části mikropipety.

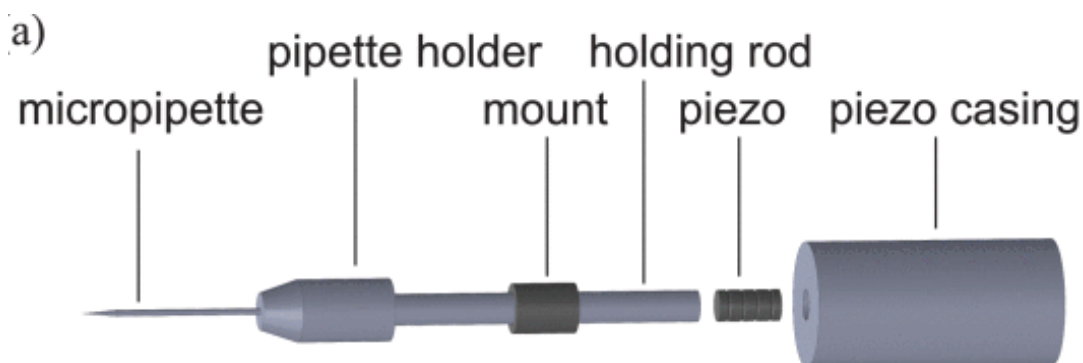
Jak bylo řečeno v kapitole 1.2, v praxi je snahou nalézt takové buzení mikropipety, které bude vykazovat lepší úspěšnost procedury ICSI, než je tomu u klasické metody ICSI bez piezoaktuátoru. Aby bylo dosaženo úspěšné implementace spermie do oocytu, je nutné, aby mikropipeta, co možná nejjednodušeji penetrovala zónu pellucida a oolemu oocytu. Zároveň je žádoucí, aby byla deformace oocytu před a při penetraci minimální, a nakonec, aby poškození v důsledku penetrace bylo co nejmenší, a tedy po vytáhnutí mikropipety došlo k zacelení oocytu.

Nevýhodou procedury ICSI s piezoaktuátorem je právě to, že při špatném nastavení frekvenční oblasti buzení dochází k velkým bočním kmitům a většímu poškození oocytu, než je tomu u procedury ICSI bez piezoaktuátoru, a díky tomu je proces méně efektivní nebo neúspěšný. Na druhé straně, při správném nastavení, je metoda ICSI s piezoaktuátorem výrazně úspěšnější.

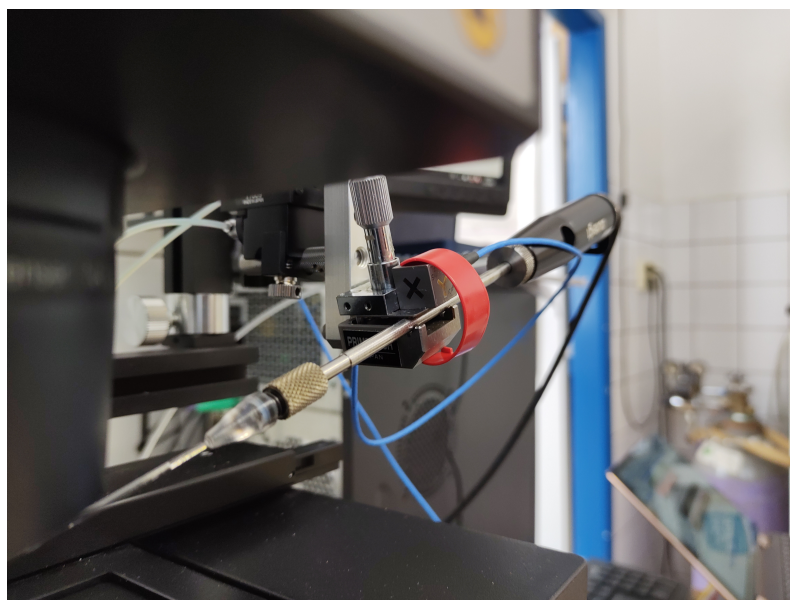
## 6.1 Konstrukční řešení buzení mikropipety piezoaktuátorem

Navrhnutí ideálního konstrukčního řešení mikropipety s piezoaktuátorem je velice komplikovaný a komplexní úkol. Proto v této části budou pouze nastíněna některá možná řešení, která se objevují v literatuře a v praxi.

Konstrukční řešení používané společností PrimeTech a Burgleigh je představeno na obrázku 6.1 a 6.2.



**Obr. 6.1:** Konstrukční řešení společnosti PrimeTech a Burgleigh [9]

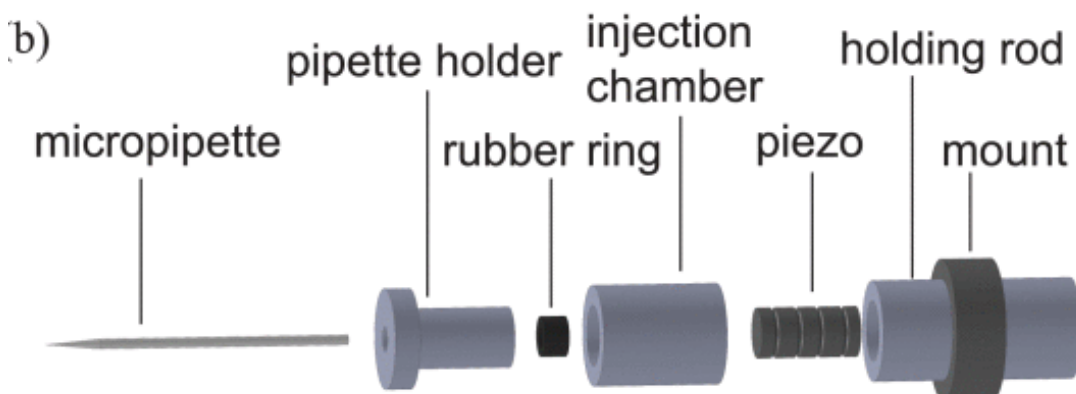


**Obr. 6.2:** PrimeTech a Burgleigh - umístění piezoaktuátoru

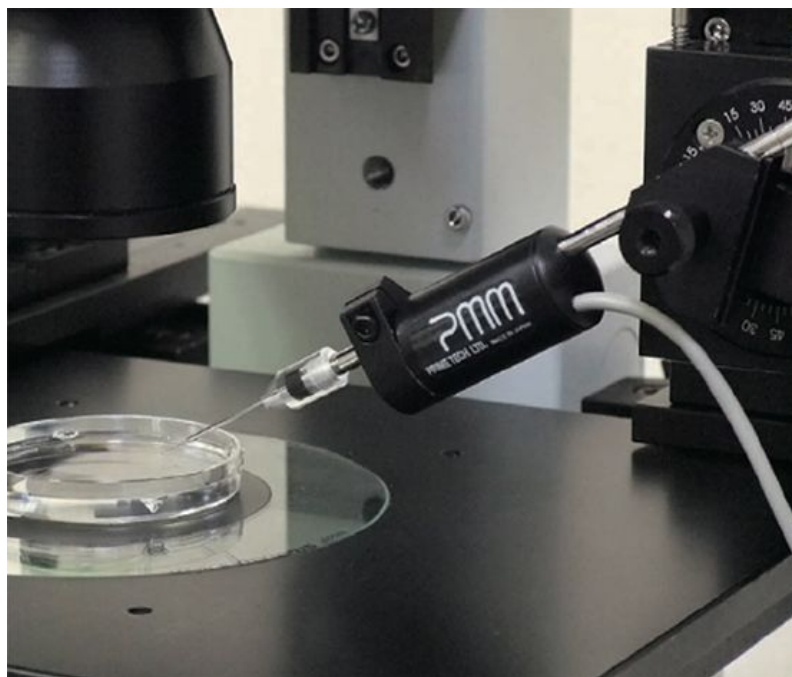
Toto je starší konstrukční řešení společnosti PrimeTech, kdy je piezoaktuátor umístěn na konci držáku mikropipety. Upnutí držáku mikropipety se nachází mezi mikropipetou a piezoaktuátorem. Dle [9] toto konstrukční řešení vykazuje velké příčné kmity penetrační části mikropipety.

Novější řešení konstrukce, které nabízí společnost PrimeTech je na obrázku 6.3 a 6.4. Zde je již piezoaktuátor umístěn mezi mikropipetu a upnutí držáku mikropipety.

Dle [9] dosahuje toto řešení lepších výsledků z pohledu příčných kmitů penetrační části mikropipety.



**Obr. 6.3:** Konstrukční řešení buzení piezo členem [9]



**Obr. 6.4:** Umístění piezoaktuátoru na držák pipety, PIEZO PMM4G [10]

Třetí konstrukční řešení, které je uplatněno u pracovních stanic pro metodu ICSI a je dostupné na trhu, je vidět na obrázcích 6.5. Toto konstrukční řešení nabízí společnost Eppendorf, která je dodavatelem i dalšího příslušenství pro metodu ICSI.

Bohužel, společnost Eppendorf neposkytuje informace o tom, jaká je přesná konstrukce mikropipety s piezoaktuátorem.

Představou realizace buzení mikropipety při metodě ICSI tedy je, že piezoaktuátor je umístěn na kovovém držáku mikropipety. Piezoaktuátor působí v axiálním směru na držák mikropipety (pipette holder, obrázek 6.3), a v důsledku toho je buzení přeneseno z držáku na samotnou mikropipetu.





**Obr. 6.5:** Umístění piezoaktuátoru na držák pipety, Eppendorf PiezoXpert [2]

Na základě této hypotézy nastává otázka, jakým způsobem je potřeba nadimenzovat držák mikropipety, aby přenášel takové buzení, které bude mikropipetu budit ve frekvenční oblasti, která je žádána, popřípadě, zda by nebylo dobré buzení piezoaktuátoru nastavit na frekvenci odpovídající vlastním frekvencím držáku mikropipety.

Tato témata mohou sloužit jako podnět pro další zkoumání, avšak v rámci této práce se jimi nebudeme nadále zabývat.

## 6.2 Žádaný pohyb penetrační části piezo mikropipety při proceduře ICSI

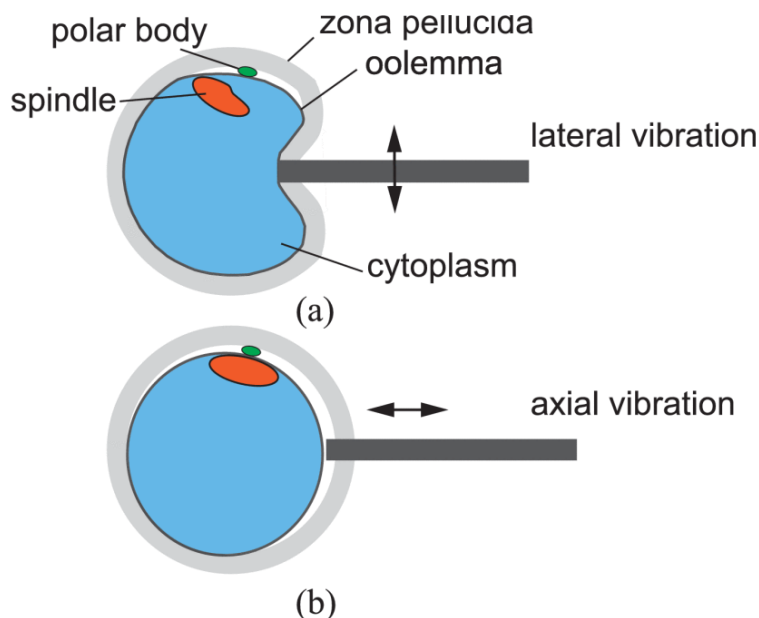
Pohyb penetrační části piezo mikropipety je stěžejní pro to, aby byla procedura ICSI úspěšná. Na základě experimentů bylo prokázáno, že pokud je mikropipeta vybudena takovým způsobem, že její penetrační část vykazuje axiální pohyb při vysokých frekvencích a zároveň její radiální pohyb je co nejmenší, dosahuje metoda ICSI 80% úspěšnosti přežití oocytů. To je více než klasická metoda ICSI bez piezoaktuátoru [41].

Během experimentů se ukázalo, že mikropipeta vybudovaná piezoaktuátorem generuje velké radiální kmity a při penetraci dochází k poškození, nebo dokonce zničení, oocytu. Aby bylo zamezeno radiálním vibracím penetrační části mikropipety, byl při proceduře ICSI do mikropipety nasát sloupec rtuti. Výsledkem bylo snížení radiálních kmitů mikropipety [25].

Ačkoliv je toto řešení se sloupcem rtuti účinné, problémem je, že rtuť je vysoce toxická a při oplodňování lidských oocytů je její použití zakázané.

Jaký bude pohyb penetrační části mikropipety závisí na buzení, které generuje piezoaktuátor, na správném nadimenzování držáku mikropipety a na geometrii mikropipety. Výsledný pohyb penetrační části mikropipety pro dosažení dobrých výsledků při proceduře ICSI s piezoaktuátorem je takový, kdy se penetrační část mikropipety pohybuje ve svém axiálním směru za poměrně vysokých frekvencí. Vybudení pouze

axiálního pohybu penetrační části mikropipety není realizovatelné vzhledem k tomu, že mikropipeta je buzena v axiálním směru upínací části mikropipety, jak bylo zjištěno v kapitole 6.1.



**Obr. 6.6:** a) nežádoucí pohyb piezo mikropipety (boční kmit), b) ideální pohyb piezo mikropipety (axiální kmity) [9]

Vzhledem k znalostem o konstrukci mikropipety s piezoaktuátorem je nutné nalézt takové buzení v axiálním směru upínací části mikropipety, které bude generovat minimální příčné pohyby penetrační části mikropipety a zároveň se bude aspoň vzdáleně blížit požadovanému axiálnímu pohybu v penetrační části mikropipety.

### 6.3 Mikropipeta s roztokem

Pohyb buzené piezo mikropipety je jiný, pokud je mikropipeta prázdná, a jiný, pokud je v mikropipetě nasátý roztok se spermii. v této kapitole bude do MKP modelu mikropipety přidán sloupec tekutiny, který bude představovat roztok, který je přítomný v mikropipetě při proceduře ICSI.

Pro modelaci roztoku v MKP modelu je nutné zadat hustotu roztoku a objemový modul. Složení roztoku, který se používá pro manipulaci se spermii, není známo. Vzhledem k neznalosti roztoku, bude předpoklad, že tento roztok je velice blízký vodě, proto budou pro model použity následující hodnoty (viz. tabulka 6.1):

**Tabulka 6.1:** Hustota a objemový modul modelovaného roztoku

Hustota	9 972 [ $kg/m^3$ ]
Objemový modul	2.2 [ $GPa$ ]

### 6.3.1 Modelace roztoku v MKP modelu

Modelace roztoku v MKP modelu mikropipety byla uskutečněna skriptem na obrázku 6.7. Tento skript byl vložen do původního Python skriptu pro parametrický MKP model mikropipety.

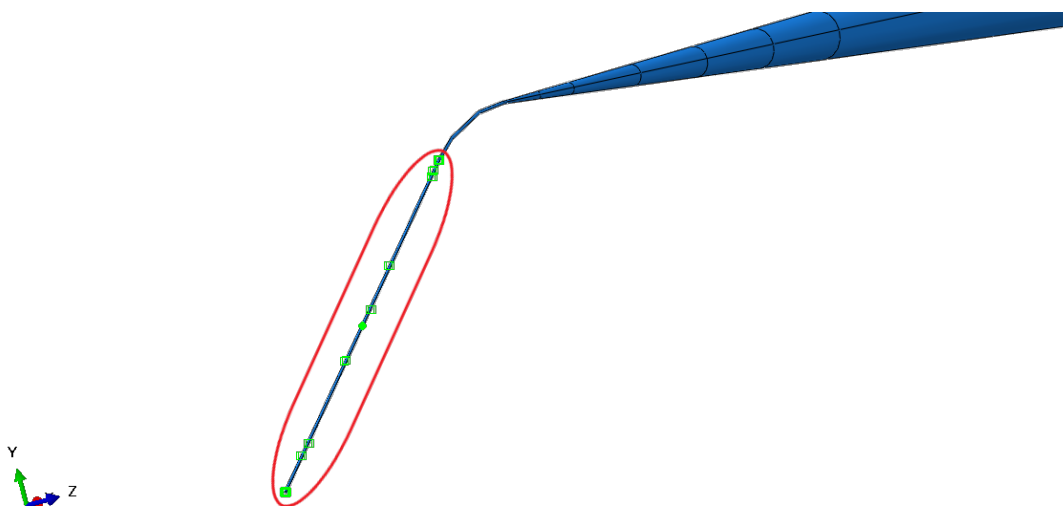
```
433 mdb.models['Model-1'].FluidCavityProperty(name='CavityProperty', fluidDensity=PVPDensity,
434     useBulkModulus=True, bulkModulusTable=((BulkModulusPVP, ), ))
435 a = mdb.models['Model-1'].rootAssembly
436 PointCavity = a.ReferencePoint(point=((x_transform2+x_transformE)/2, (y_transform2+y_transformE)/2, 0))
437 r1 = a.referencePoints
438 refPoints1=(r1[PointCavity.id], )
439 region1=a.Set(referencePoints=refPoints1, name='PointCavity')
440 a = mdb.models['Model-1'].rootAssembly
441 a.Surface(side1Faces=side1Faces1, side2Faces=side2Faces1, name='SurfaceCavity')
442 region2=a.Surface(side1Faces=side1Faces1, side2Faces=side2Faces1,
443     name='SurfaceCavity')
444 mdb.models['Model-1'].FluidCavity(name='CavityInteraction', createStepName='Initial',
445     cavityPoint=region1, cavitySurface=region2,
446     interactionProperty='CavityProperty')
```

**Obr. 6.7:** Skript pro vložení roztoku do mikropipety

Připsání roztoku bylo uskutečněno pomocí „FluidCavity“. Prvním krokem, který je viditelný na řádcích 433 až 434, je vytvoření vlastností roztoku, a to „FluidDensity“ a „bulkModulusTable“. Pro model byly použity hodnoty vody uvedené v tabulce 6.1.

V druhé fázi bylo nutné vytvořit referenční bod uvnitř mikropipety a vybrat povrchy, které ohraničují prostor, kde se roztok bude nacházet. Toto bylo nastaveno na řádcích 436 až 443. Na řádcích 444 až 446 došlo k vytvoření „FluidCavity“, tedy připsání roztoku do vnitřku penetrační části mikropipety.

Kde všude byl roztok namodelován je vidět na obrázku 6.8.



**Obr. 6.8:** MKP model mikropipety s roztokem

Červeně vyznačená oblast (viditelné zelené čtverce) je oblast s připsaným roztokem.

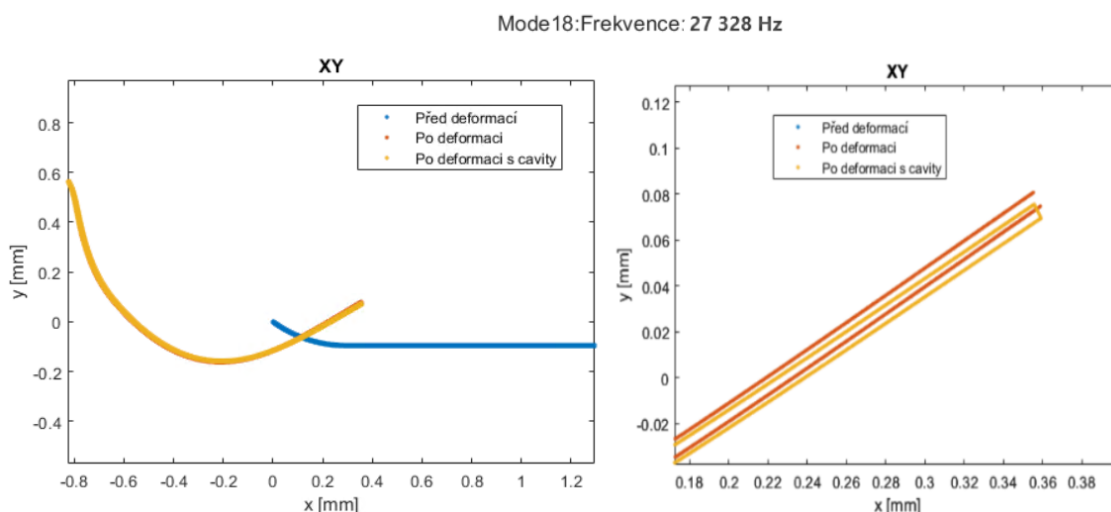
Připsáním roztoku prostřednictvím „FluidCavity“ bude docíleno přidání hmoty rozložené uvnitř penetrační části mikropipety. Hmotnost roztoku je připsána na základě objemu vybraných uzavřených povrchů a hustotě roztoku.

## 6.4 Vliv roztoku na vlastní tvary mikropipety

Po připsání roztoku k MKP modelu mikropipety byla spuštěna analýza Abaqusu a byly získány následující výsledky.

Vliv roztoku na vlastní tvary a vlastní frekvence mikropipety je zanedbatelný. Vlastní frekvence se změnilo v řádech jednotek v oblasti našeho zkoumání. Vliv roztoku na vlastní frekvence se výrazně projevuje až při frekvencích nad  $100\text{ kHz}$ .

Vlastní tvary modelu byly, stejně tak jako vlastní frekvence, ovlivněny minimálně. Na obrázku 6.9 je vytvořen detail získaný z Matlabu. Na obrázku je vidět, že je zde mírný vliv roztoku na vlastní tvar. Dochází k útlumu příčných kmitů v rovině XY.



**Obr. 6.9:** 18. vlastní tvar: změna při implementaci roztoku

Obecně, na základě získaných výsledků vlastních tvarů, lze konstatovat, že roztok v mikropipetě má za následek útlum příčných kmitů mikropipety. To je pro naši aplikaci žádané, nicméně vliv roztoku je minimální.

### Mikropipeta se sloupcem rtuti

Při některých aplikacích piezo metody ICSI je používáno rtuti k dosažení lepšího pohybu mikropipety. V principu se jedná o nasátí malého sloupce rtuti do mikropipety, posléze je nasátá spermie s roztokem a je uskutečněn celý proces metody ICSI.

Sloupec rtuti nasátý v mikropipetě má za následek útlum příčných kmitů mikropipety. V podstatě dochází ke stejnému jevu jako u mikropipety s roztokem. Rozdíl ovšem je, že sloupec rtuti v mikropipetě má mnohonásobně vyšší hmotnost

než samotný roztok. Důkazem je poměr hustoty vody ( $997 \text{ kg/m}^3$ ) a hustoty rtuti ( $13\,534 \text{ kg/m}^3$ ).

Vyšší hmotnost penetračního konce mikropipety v důsledku přidané rtuti má tedy za následek částečnou eliminaci příčných kmitů mikropipety.

Ačkoliv je toto řešení efektivní, z důvodu toxicity je jeho použití na lidských oocytech zakázané.

## 6.5 Návrh volby frekvenční oblasti buzení

Pro nalezení frekvenční oblasti buzení piezo mikropipety byly použity výsledky získané z citlivostní analýzy. MKP parametrický model mikropipety s nalezenými geometrickými a materiálovými parametry z kapitoly 5 byl upraven na výpočet dynamické analýzy. Do modelu mikropipety bylo přidáno buzení na konec upínací části mikropipety, jak je vidět na obrázku 6.10. Buzení mikropipety v axiálním směru



**Obr. 6.10:** Dynamická analýza: buzení mikropipety

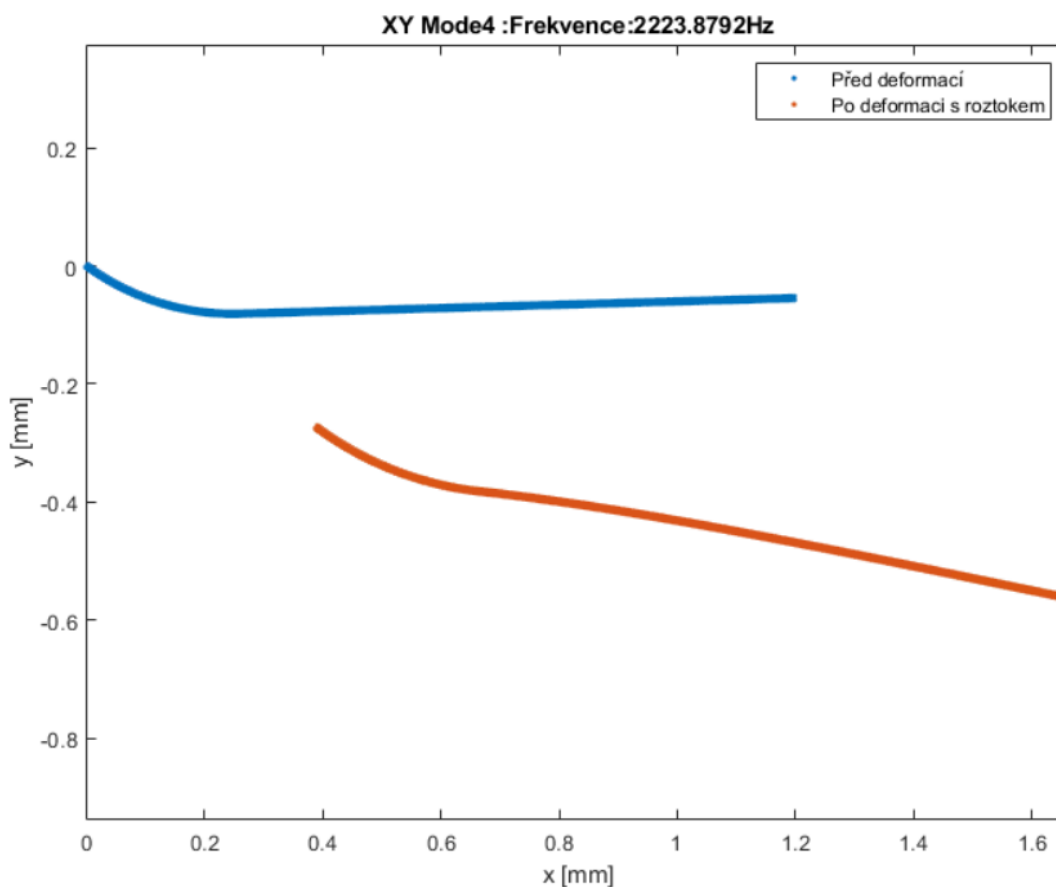
upínací části mikropipety bylo nastaveno na zdvih  $1 \text{ mm}$ .  $1 \text{ mm}$  byl nastaven pouze pro získání informací o chování mikropipety při buzení na určitých frekvenčních oblastech. Toto buzení bylo realizováno na frekvencích v okolí vybraných čtyřech vlastních tvarů získaných z citlivostní analýzy, kapitola 4.3. Jednalo se o 4., 9., 12. a 16. vlastní tvar. Tyto vlastní tvary byly vybrány vzhledem k jejich relativně příznivému pohybu.

Vybrané vlastní tvary nevykazovaly příčné kmity v horizontální rovině mikropipety a jejich pohyb v axiálním směru penetrační části byl výrazněji než v ostatních směrech. Pro názornost jsou v tabulce 6.2 vidět frekvenční oblasti, pro které byla spuštěna dynamická analýza MKP modelu mikropipety.

**Tabulka 6.2:** Frekvenční oblasti pro dynamické buzení

Mode	Vlastní frekvence [Hz]	Oblast buzení [Hz]
4-tý	2 182.2	1 000 - 3 000
9-tý	11 625.3	9 000 - 13 000
12-tý	18 818.6	16 000 - 21 000
16-tý	23 833.4	21 000 - 26 000

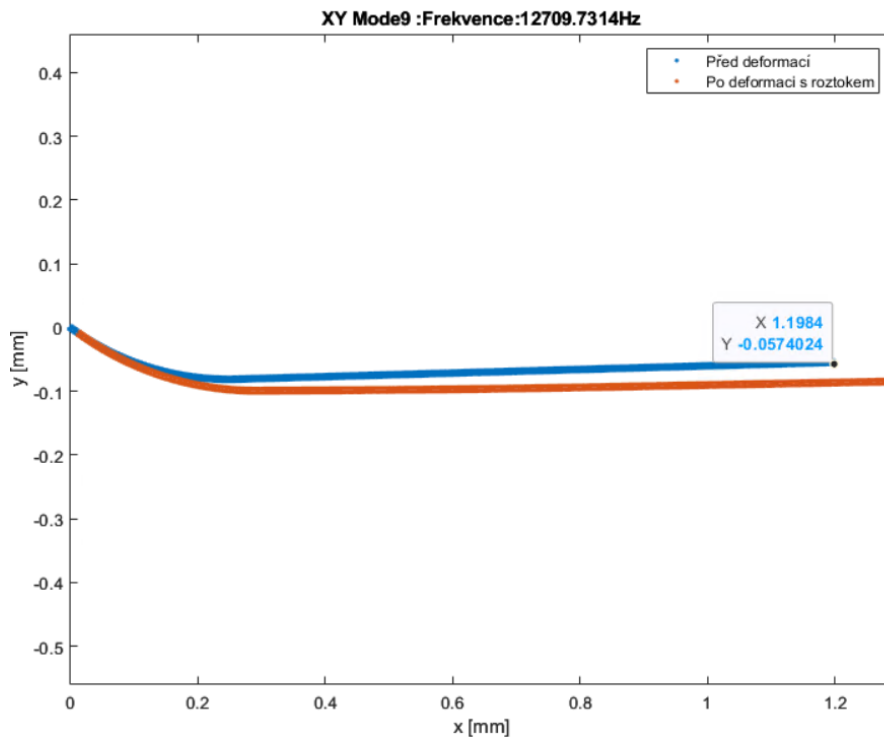
Frekvenční oblast okolo 4-tého vlastního tvaru se ukázala jako nepříznivá. Pohyb mikropipety vykazoval velké příčné kmity. Ukázka pohybu při buzení 2 223.9 Hz je na obrázku 6.11. Grafy z dynamické analýzy byly získané obdobným způsobem jako grafy použité pro citlivostní analýzu, kapitola 4.1.



**Obr. 6.11:** Dynamická analýza: buzení mikropipety při 2 223.9 Hz

Na celé frekvenční oblasti 1 000 - 3 000 Hz byl pohyb mikropipety obdobný, proto tato frekvenční oblast není vhodná pro buzení piezo mikropipety.

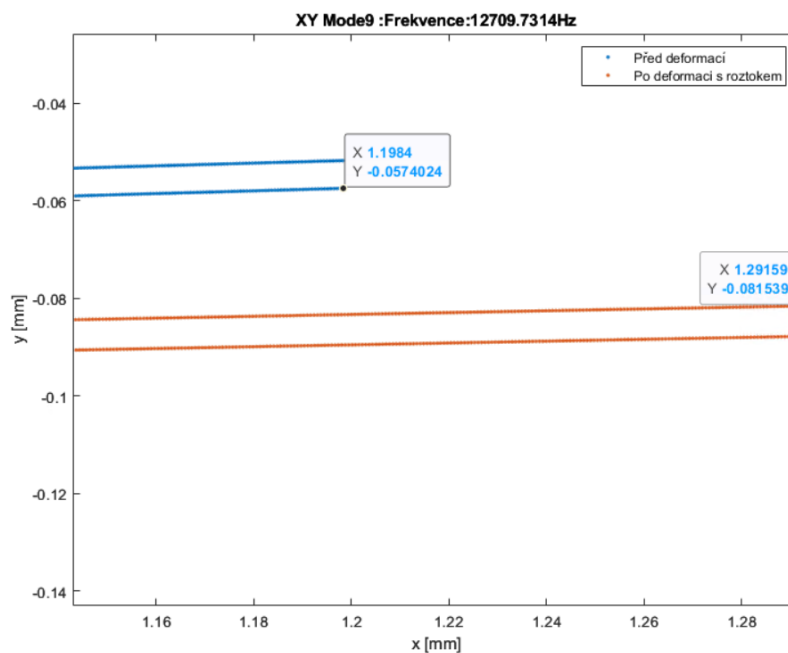
Buzení v oblasti 9-tého vlastního tvaru dosahovalo nejlepších výsledků v okolí  $12\,709.7\text{ Hz}$ . Obrázek pohybu při této frekvenci je na 6.12.



**Obr. 6.12:** Dynamická analýza: buzení mikropipety při  $12\,709.7\text{ Hz}$

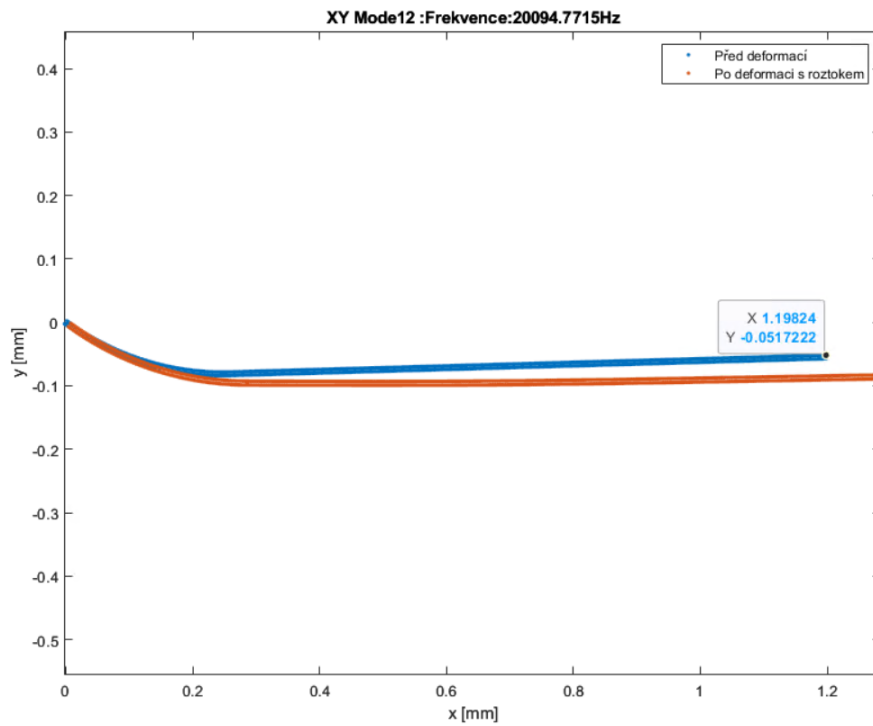
Detail přiblížení penetrační části je vidět na 6.13.

Axiální posun ve směru osy  $x$  je  $0.0931\text{ mm}$  při buzení se zdvidem  $1\text{ mm}$ . Příčný posun penetrační části mikropipety je  $0.0241\text{ mm}$ .



**Obr. 6.13:** Dynamická analýza: detail buzení mikropipety při  $12\,709.7\text{ Hz}$

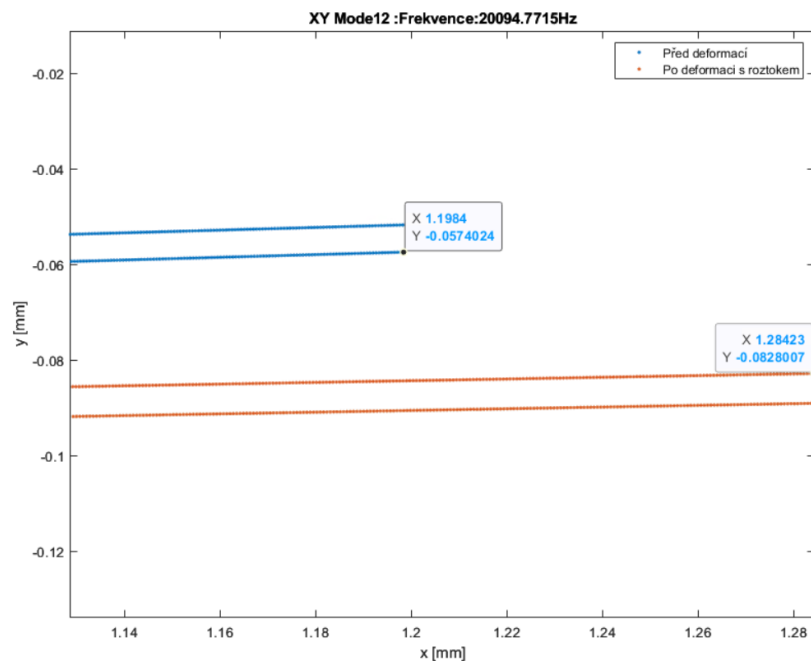
Buzení v oblasti 12-tého vlastního tvaru dosahovalo nejlepších výsledků v okolí  $20\,094.8\text{ Hz}$ . Obrázek pohybu při této frekvenci je na 6.14.



**Obr. 6.14:** Dynamická analýza: buzení mikropipety při  $20\,094.8\text{ Hz}$

Detail přiblížení penetrační části je vidět na 6.15.

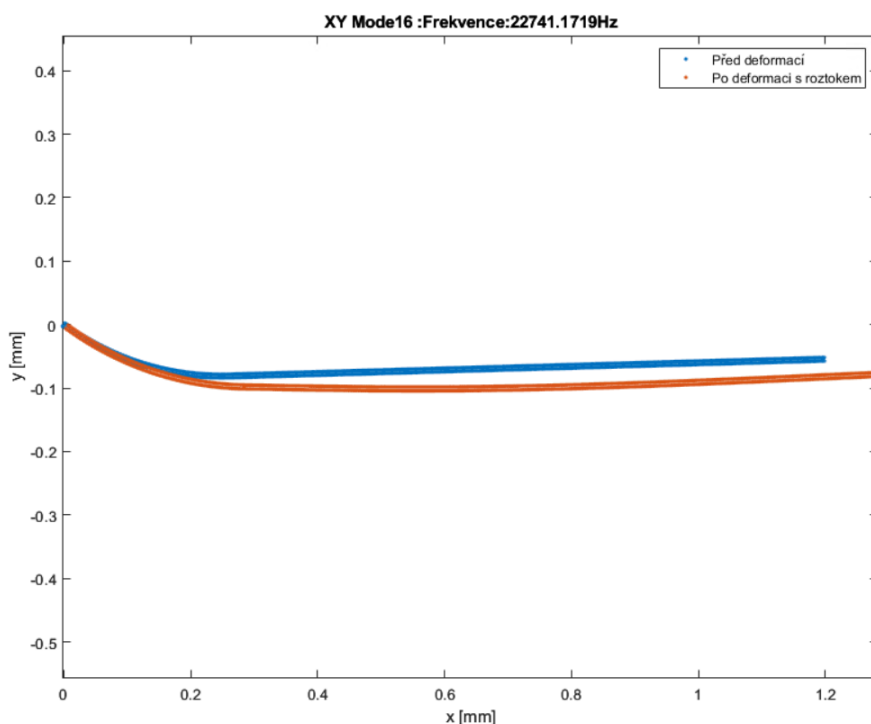
Axiální posun ve směru osy  $x$  je  $0.0858\text{ mm}$ . Příčný posun penetrační části mikropipety je  $0.0254\text{ mm}$ .



**Obr. 6.15:** Dynamická analýza: detail buzení mikropipety při  $20\,094.8\text{ Hz}$

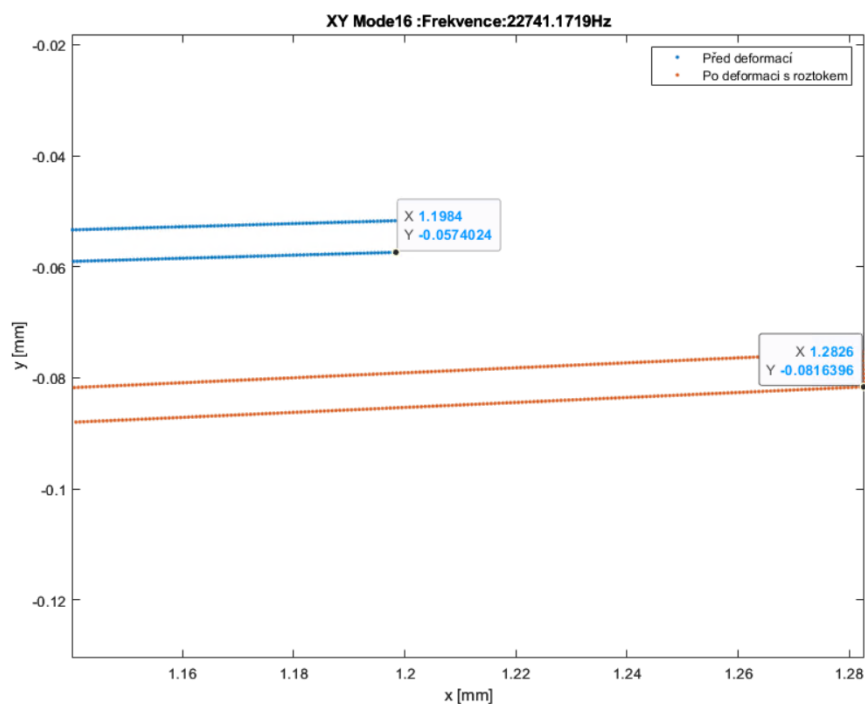


Buzení v oblasti 16-tého vlastního tvaru dosahovalo nejlepších výsledků v okolí 22 741.2 Hz. Obrázek pohybu při této frekvenci je na 6.16. Buzení nad 24 500 Hz vykazovalo již změnu chování, které není příznivé pro tuto aplikaci.



**Obr. 6.16:** Dynamická analýza: buzení mikropipety při 22 741.2 Hz

Detail přiblížení penetrační části je vidět na 6.17. Axiální posun ve směru osy x



**Obr. 6.17:** Dynamická analýza: detail buzení mikropipety při 22 741.2 Hz

je 0.0842 mm. Příčný posun penetrační části mikropipety je 0.0242 mm.

## Závěry získané z dynamické analýzy

Oblast okolo 4. vlastního tvaru není příznivá. Buzení ve frekvenční oblasti od 1 000 - 3 000  $Hz$  vykazuje špatný pohyb penetrační části mikropipety.

Frekvenční oblast v okolí 9. vlastní frekvence vykazovala nejlepší výsledky. Ve frekvenční oblasti od 9 000 - 13 000  $Hz$  je pohyb mikropipety obdobný. Mikropipeta vykonává axiální pohyb ve směru penetrační části zhruba o 0.09  $mm$  při buzení se zdvihem 1 $mm$  pro celou frekvenční oblast. Příčný pohyb penetračního konce mikropipety je okolo 0.0253  $mm$  při buzení se zdvihem 1 $mm$  pro celou frekvenční oblast. Na základě získaných výsledků v této frekvenční oblasti je návrh buzení mezi 9 000 až 11 000  $Hz$  a 12 000 až 13 000  $Hz$ . Je nutné vyhnout se rezonanční frekvenci.

Frekvenční oblast v okolí 12. vlastního tvaru navazuje na frekvenční oblast 16. vlastního tvaru. Na frekvenční oblasti do 19 000  $Hz$  pohyb mikropipety vykazuje větší příčné kmity. Na oblasti od 19 000  $Hz$  do 23 200  $Hz$  je pohyb mikropipety dobrý. Axiální pohyb konce penetrační části je okolo 0.08  $mm$  při buzení se zdvihem 1 $mm$  přes celou tuto frekvenční oblast. Příčný pohyb dosahuje hodnoty okolo 0.0265  $mm$ .

Frekvenční oblast nad 23 200  $Hz$  obsahuje 16. vlastní frekvenci a nad 25 000 $Hz$ , vznikají při pohybu mikropipety veliké příčné kmity. Druhou oblastí, ve které lze mikropipetu budít, je tedy frekvenční oblast od 19 000  $Hz$  do 23 200  $Hz$ . Tato frekvenční oblast neobsahuje žádné vlastní frekvence a pohyb mikropipety v této oblasti vykazuje zejména axiální pohyb penetračního konce mikropipety s malými příčnými kmity.

Nalezené oblasti buzení jsou uvedeny v tabulce 6.3.

**Tabulka 6.3:** Nalezené oblasti buzení piezo mikropipety

Oblast	[Hz]
1	9 000 - 11 000
2	12 000 - 13 000
3	19 000 - 23 200

Ačkoliv první oblast buzení vykazovala nejlepší pohyb penetrační části mikropipety, největší axiální kmity a nejmenší boční kmity při buzení se zdvihem 1 $mm$ , je tato oblast relativně úzká oproti třetí frekvenční oblasti, kdy je rozptyl větší než 4 000  $Hz$ . Díky velkému rozptylu třetí frekvenční oblasti je pravděpodobné, že i při větší změně parametrů mikropipety bude střední pásmo této frekvenční oblasti stabilní. Z toho důvodu se třetí nalezená frekvenční oblast jeví jako nejlepší frekvenční oblast buzení.

## Návrh volby budícího členu

Vhodným nástrojem pro buzení mikropipety je piezostack. Výhodou tohoto aktuátoru je jeho malá velikost a hmotnost. Zdvih piezostacku je ovlivněn počtem článků.

Ovládání piezostacku může být realizováno například zesilovačem PD200. PD200 je širokopásmový, nízkošumový lineární zesilovač pro řízení piezoelektrických aktuátorů. Tento zesilovač je kompatibilní s piezostacky 100V, 120V, 150V, 200V. Zesilovač dokáže dosahovat vysokých frekvencí nad 200 kHz [42]. To je pro naši aplikaci naprosto dostačující vzhledem k tomu, že buzení by mělo probíhat při maximální frekvenci 23 200  $Hz$ .

# Závěr

Metoda ICSI, neboli intracytoplazmatická injekce spermie, je nejčastěji používanou metodou v oblasti asistované reprodukce. Důvodem je, že metoda ICSI dosahuje dobrých výsledků i u jedinců s těžkými faktory neplodnosti, jako je nízký počet spermií, nízká aktivita spermií, vysoký věk rodiček nebo malá tvorba oocytů u rodiček a další. Je tedy snahou tuto metodu dále zkoumat a vyvíjet.

Ačkoliv se tato metoda zdá na první pohled jednoduchá, není tomu tak. Proto, aby metoda ICSI dosáhla úspěchu, je třeba proškolených a zkušených embryologů, a i přesto není úspěch zaručen. Problémem u klasické ICSI metody je velká deformace oocytu způsobená mikropipetou při penetraci z důvodu velké elasticity membrány oocytu. Velké deformace oocytu posléze vedou k zániku oocytu.

Na základě této zkušenosti byla vyvinuta ICSI metoda s piezoaktuátorem, která buzením rozkmitá piezo mikropipetu, a proces penetrace oocytu je pak jednodušší, dochází k výrazně menší deformaci oocytu, a díky tomu, v některých případech, dosahuje lepších výsledků. Problémem ovšem je, že vybuzená mikropipeta vykazuje velké boční kmity, které poškozují membránu oocytu ve větší míře, a může se stát, že membránu oocytu poškodí natolik, že oocyt zničí.

Metoda ICSI s piezoaktuátorem má velký potenciál v oblasti asistované reprodukce, nicméně je zde stále velký prostor pro zlepšení. Vzhledem k tomu, že penetrační část piezo mikropipety je buzena v jednotkách až desítkách kHz a rozměr průměru penetrační části mikropipety je okolo 6  $\mu m$ , není možné pohyb penetrační části mikropipety sledovat pod mikroskopem v plné míře, neboť je pohyb tak rychlý a nepatrný, že ho téměř není možné zachytit. V důsledku toho není jasné, jak se piezo mikropipeta chová při odlišných buzeních, konstrukcích a nastaveních obecně.

Motivací pro tuto diplomovou práci byl fakt, že není možné pozorovat reálnou skleněnou mikropipetu a její pohyb v realitě, ačkoliv by to bylo žádané. Cílem této diplomové práce bylo vytvořit model skleněné piezo mikropipety za cílem zkoumání pohybu penetrační části mikropipety při proceduře ICSI s piezoaktuátorem. Na základě vytvořeného modelu, byly objasněny některé otázky týkající se pohybu piezo mikropipety z mechanického hlediska.

Seznámení se s problematikou využití skleněných piezo mikropipet, s nástroji a dalším příslušenstvím využívaným při metodě ICSI s piezoaktuátorem bylo probráno

v kapitole 1. Zároveň v této kapitole byly shrnuty důležité poznatky, které byly základním kamenem pro tvorbu parametrického modelu mikropipety v kapitole 2.

Druhá kapitola je velice stěžejní částí této práce. V této kapitole byl vytvořen parametrický model mikropipety. Model byl vytvořen v prostředí Abaqus metodou konečných prvků. MKP parametrický model mikropipety byl skriptován v prostředí Python. Pro model byly vybrány trojrozměrné skořepinové prvky S4R s přiřazenou tloušťkou stěn. Samotná geometrie mikropipety se dopouští zjednodušení v přechodové (kuželové) oblasti mikropipety, která je aproximována kuželem, z důvodu neznalosti kompletní geometrie mikropipety. Celý model včetně geometrie, přes materiálové vlastnosti, vetknutí mikropipety až po síťování samotného modelu, byl vytvořen skriptováním v prostředí Python. Model byl navržen tak, aby při změně parametrů modelu, docházelo k upravě všech navazujících prvků modelu, jako je například síťování, vetknutí atd., a bylo dosaženo vždy stejné kvality modelu. Díky tomu je práce s modelem rychlá a efektivní.

Kapitola 2.3 se věnovala hustotě síťování modelu. Pomocí propojení prostředí Matlab s prostředím Abaqus přes skript v prostředí Python byl spuštěn **FOR** cyklus, který měnil nastavení hustoty síťování modelu. Po každé analýze modelu byla získána data vlastních frekvencí modelu, výpočetní čas modelu a počet prvků modelu. Na základě těchto dat byly vytvořeny grafy a byl zhodnocen vliv hustoty síťování na délku výpočetního času a změnu vlastních frekvencí při změně hustoty síťování. Prokázalo se, že při příliš hrubé síti je výpočet vlastních frekvencí nepřesný, a s každým následujícím zjemněním se výsledky zlepšují. Zároveň byl ukázán i velký nárůst výpočetního času v důsledku zjemňování sítě. Na základě grafů a dat byla zvolena hustota síťování, při které vlastní frekvence modelu dosahovaly dostačující přesnosti a výpočetní čas modelu byl dostatečně krátký pro další aplikaci. Jednalo se o model s 59 688 prvky při výpočetním čase 32.49 sekund. Model s tímto nastavením byl použit pro optimalizaci v kapitole 5. Ostatní analýzy probíhaly na modelu s 81 340 prvky při výpočetním čase 41.43 sekund. Relativní změna dvanácti prvních vlastních frekvencí prvního modelu byla 0.17 %, u druhého modelu s jemnější sítí to bylo 0.06 %.

V kapitole číslo 4 byla vytvořena citlivostní studie MKP modelu mikropipety. Byl zde zkoumán vliv změny geometrických a materiálových parametrů mikropipety na změnu vlastních frekvencí a vlastních tvarů modelu. Výsledky byly zpracovány a bylo zjištěno, že při určitém nastavení geometrických parametrů dochází k přeházení některých vlastních frekvencí a s nimi spojených vlastních tvarů. V některých případech nastavení parametrů dochází i k vytvoření nových vlastních frekvencí a vlastních tvarů. V důsledku toho, byly upraveny hranice geometrických parametrů tak, aby k takovému jevu nedocházelo, a zároveň rozmezí hodnot jednotlivých parametrů dobře kopírovala reálné rozměry piezo mikropipet pro metodu ICSI. Tento krok byl důležitý pro validaci MKP modelu mikropipety v kapitole 5.

V další části této kapitoly byly prozkoumány jednotlivé vlastní tvary modelu

mikropipety a byly vybrány 4 vlastní tvary, které vykazovaly relativně příznivý pohyb, tedy výrazné axiální kmity penetrační části mikropipety.

Citlivostní studie přinesla zajímavé poznatky. Výsledkem je, že je nutné při volbě buzení brát ohled na geometrické parametry mikropipety, a na základě těchto parametrů navrhovat buzení mikropipety, neboť vlastní frekvence a vlastní tvary se i při menší změně geometrických parametrů mohou výrazně lišit. Materiálové parametry neměly nijak výrazný dopad na změnu vlastních frekvencí a tvarů.

Kapitola 5 měla za cíl validovat vytvořený MKP model mikropipety. V této kapitole bylo použito genetických algoritmů v prostředí Matlab. Byla uskutečněna identifikace parametrů modelu. Kriteriační funkce „porovnávala“ výsledky experimentální modální analýzy reálné mikropipety s výsledky získanými z analýzy MKP modelu. Optimalizace genetickými algoritmy tedy hledala takovou sadu geometrických a materiálových parametrů, kdy se vlastní frekvence MKP modelu mikropipety shodovaly, nebo při nejmenším blížily, vlastním frekvencím reálné mikropipety získaným z měření EMA. Výsledky byly vyhodnoceny a bylo dosaženo maximální relativní změny 11.5 % u desáté naměřené vlastní frekvence vůči vlastní frekvenci modelu. Relativní změna čtvrté a deváté naměřené vlastní frekvence vůči vlastním frekvencím modelu byla okolo 9.8 % a 9.7 %. Relativní změna u zbylých vlastních frekvencí nepřesáhla hodnotu 5 %. Na základě získaných výsledků byl MKP model mikropipety validován, jakožto model, který dostatečně přesně aproximuje reálnou piezo mikropipetu využívanou při proceduře ICSI.

Poslední kapitolou této diplomové práce je kapitola 6. V této kapitole byla shrnuta základní konstrukční řešení, která se objevují v literatuře a v praxi. Dále byl vytvořen modifikovaný model mikropipety s roztokem uvnitř penetrační části. Vliv roztoku byl zkoumán z pohledu změny vlastních tvarů mikropipety. Ukázalo se, že roztok v mikropipetě má tlumící účinek na boční kmity mikropipety, nicméně tento tlumící účinek je velice malý. Na základě tohoto zjištění, je obecná představa, že zvýšení hmotnosti penetrační části mikropipety má za následek útlum bočních kmitů. Tento fakt potvrzuje i praxe, kdy je část penetrační části mikropipety naplněna sloupcem rtuti, za cílem snížení bočních kmitů mikropipety.

V poslední fázi kapitoly, byla provedena dynamická analýza piezo mikropipety s roztokem a výsledky této analýzy byly vyhodnoceny. Mikropipeta byla buzena ve čtyřech frekvenčních oblastech, které byly vytipovány na základě citlivostní analýzy v kapitole 4. Pohyb penetrační části piezo mikropipety byl zkoumán a byly představeny některé grafy, které demonstrují pohyb penetrační části mikropipety při různých frekvenčních oblastech buzení.

Na závěr byly nalezeny tři frekvenční oblasti možného buzení piezo mikropipety, a to oblast od 9 000 Hz do 11 000 Hz, od 12 000 Hz až 13 000 Hz a od 19 000 Hz do 23 200 Hz. První frekvenční oblast dosahovala nejlepších výsledků z pohledu axiálních a bočních kmitů penetrační části mikropipety, nicméně tato oblast je poměrně „úzká“. Oproti tomu, třetí frekvenční oblast má rozptyl přes 4 000 Hz.

Na základě toho je předpoklad, že střední pásmo této oblasti bude stabilní i při výraznější změně parametrů mikropipety. Z tohoto důvodu byla tato frekvenční oblast buzení vyhodnocena jako nejpříznivější.

Diplomová práce přinesla objasnění některých otázek týkajících se skleněných piezo mikropipet pro léčbu neplodnosti metodou ICSI. Konkrétně objasnila vliv parametrů mikropipety na vlastní tvary a vlastní frekvence mikropipety. Byl prozkoumán pohyb penetrační části mikropipety při buzení na různých frekvenčních oblastech, a v závěru byly navrženy vhodné frekvenční oblasti buzení, při kterých piezo mikropipeta vykazuje nejlepší pohyb penetrační části mikropipety. Ze získaných výsledků v kapitole 6 vyplývá, že použití zahnutých piezo mikropipet bez rtuti pro metodu ICSI je možné, za podmínky správného nastavení harmonického buzení mikropipety.

V poslední řadě byl v této práci vytvořen MKP model mikropipety, který byl validován a může být použit pro další zkoumání. Navázáním na tuto diplomovou práci by mohlo být přidání MKP modelu oocytu k již vytvořenému modelu mikropipety. Prostřednictvím dynamické analýzy by bylo možné sledovat celý proces penetrace oocytu, zejména pak vliv elastické membrány oocytu na chování penetrační části mikropipety.

# Seznam použitých zdrojů

- [1] MERK. Speciální laboratorní metody. URL <https://www.medimerck.cz/cz/home/support/news/801-pubftrl-Specialni-laboratorni-metody.html>. Last accessed 6 July 2023.
- [2] Michele Boiani. Intracytoplasmic sperm injection with the eppendorf piezoxpert® - a reliable partner for the research mouse facility. 2012.
- [3] Verena Nordhoff. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with the eppendorf TransferMan® 4m and CellTram® 4m. 2019.
- [4] Ronald Naumann. The eppendorf transferman ® 4r, one manipulator for all genetic engineering techniques. 2013.
- [5] Eppendorf AG. CellTram® 4m Air CellTram® 4m oil. 2017.
- [6] Kitazato. Micro tools. URL <https://www.kitazato-ivf.com/micro-tools/icsi-injection-pipettes/>. Last accessed 30 October 2022.
- [7] Eppendorf™ Piezo Drill Tip (M. ICSI). URL <https://www.fishersci.co.uk/shop/products/piezo-drill-tip-m-icsi/15811545>. Last accessed 20 July 2023.
- [8] Abaqus. 23.6.1 shell elements: overview, 1 2006. URL <https://classes.engineering.wustl.edu/2009/spring/mase5513/abaqus/docs/v6.6/books/usb/default.htm?startat=pt06ch23s06abo23.html#usb-elm-eshelloverview>. Last accessed 24 July 2023.
- [9] Wesley Johnson, Changsheng Dai, Jun Liu, Xian Wang, Devin K. Luu, Zhuoran Zhang, Changhai Ru, Chao Zhou, Min Tan, Huayan Pu, Shaorong Xie, Yan Peng, Jun Luo, and Yu Sun. A flexure-guided piezo drill for penetrating the zona pellucida of mammalian oocytes. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 65(3):678–686, 2018. doi: 10.1109/TBME.2017.2713302.
- [10] BiOLAB. PIEZO PMM4G. URL <https://www.biolabsolutions.com.my/primetech/piezo-pmm4g/>. Last accessed 24 July 2023.
- [11] HYPURE® OILS & MICRO TOOLS. In *PRODUCT CATALOGUE*, volume 2. KITAZATO, 2023.



- [12] Microtech. ICSI micropipettes, . URL <http://www.microtech-ivf.cz/icsi.html>. Last accessed 25 July 2023.
- [13] CooperSurgical. ICSI pipettes, 2023. URL <https://fertility.coopersurgical.com/micropipettes/icsi-micropipettes/>. Last accessed 20 July 2023.
- [14] Microtech. Mikromanipulační nástroje pro IVF, . URL <http://www.microtech-ivf.cz/icsi-cz.html>. Last accessed 20 July 2023.
- [15] AZO. Borosilicate glass - properties of borosilicate glass (pyrex/duran) by goodfellow ceramic & glass division, 6 2009. URL <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=4765>. Last accessed 20 July 2023.
- [16] DeDietrich. Borosilicate glass properties. URL <https://za.dedietrich.com/products-solutions/borosilicate-glass-properties>. Last accessed 24 July 2023.
- [17] Štěpánka Svobodová. Umělé oplodnění. 2010.
- [18] Roman Chmel. Metody asistované reprodukce–aktuální stav a perspektivy. *Česká gynekologie*, pages 244–253, 2020.
- [19] Issam M. Bahadur and James K. Mills. Dynamic model of micropipettes in piezo-assisted ICSI. In *2012 ICME International Conference on Complex Medical Engineering (CME)*, pages 191–196, 2012. doi: 10.1109/ICCME.2012.6275659.
- [20] Sandrine Chamayou, Carmen Ragolia, Carmelita Alecci, Giorgia Storaci, Simona Romano, Roberta Sapienza, Elena Maglia, Annalisa Liprino, Clementina Cardea, Michele Fichera, and Antonino Guglielmino. More blastocysts are produced from fewer oocytes in icsi compared to ivf – results from a sibling oocytes study and definition of a new key performance indicator. *Reproductive Biology & Endocrinology*, 19(1):1 – 8, 2021. ISSN 14777827. URL <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=151584319&site=ehost-live&scope=site>.
- [21] Richard J. Sherins, Lilli P. Thorsell, Andrew Dorfmann, Lisa Dennison-Lagos, Lucrecia P. Calvo, Lois Krysa, Carolyn B. Coulam, and Joseph D. Schulman. Intracytoplasmic sperm injection facilitates fertilization even in the most severe forms of male infertility: pregnancy outcome correlates with maternal age and number of eggs available. *Fertility and Sterility*, 64(2):369–375, 1995. ISSN 0015-0282. doi: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)57737-1](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57737-1). URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028216577371>.
- [22] Zenan Wang, Su Zhao, and Wei Tech Ang. Beneficial micropipette oscillation in vision-guided piezo-assisted ICSI. In *2013 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics (ROBIO)*, pages 1665–1670, 2013. doi: 10.1109/ROBIO.2013.6739706.

- [23] Thomas T. F. Huang, Yasuyuki Kimura, and Ryuzo Yanagimachi. The use of piezo micromanipulation for intracytoplasmic sperm injection of human oocytes. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 13:320–328, 1996. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:23227312>.
- [24] Kaoru Yanagida, H. Katayose, Hiroyuki Yazawa, Y. Kimura, K. Konnai, and A. Sato. The usefulness of a piezo-micromanipulator in intracytoplasmic sperm injection in humans. *Human reproduction (Oxford, England)*, 14:448–53, 03 1999. doi: 10.1093/humrep/14.2.448.
- [25] Changsheng Dai, Liming Xin, Zhuoran Zhang, Guanqiao Shan, Tiancong Wang, Kaiwen Zhang, Xian Wang, Lap-Tak Chu, Changhai Ru, and Yu Sun. Design and control of a piezo drill for robotic piezo-driven cell penetration. *IEEE Robotics and Automation Letters*, 5(2):339–345, 2020. doi: 10.1109/LRA.2019.2958734.
- [26] Peng Pan, Ruihua Chen, Tao Chen, and Changhai Ru. An improved technology without mercury for cellular piercing. In *14th IEEE International Conference on Nanotechnology*, pages 164–167, 2014. doi: 10.1109/NANO.2014.6967954.
- [27] P. Hach. Metody asistované reprodukce a jejich etické problémy. *Bioetika. roč.*, 4:12–15, 2004.
- [28] Mounia Haddad, Joshua Stewart, Philip Xie, Stephanie Cheung, Aysha Trout, Derek Keating, Alessandra Parrella, Sherina Lawrence, Zev Rosenwaks, and Gianpiero D. Palermo. Thoughts on the popularity of ICSI. *JOURNAL OF ASSISTED REPRODUCTION AND GENETICS*, 38(1):101–123, JAN 2021. ISSN 1058-0468. doi: 10.1007/s10815-020-01987-0.
- [29] K. Ediz and N. Olgac. Microdynamics of the piezo-driven pipettes in ICSI. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 51(7):1262–1268, 2004. doi: 10.1109/TBME.2004.827346.
- [30] LifeM. Eppendorf PiezoXpert. URL <https://www.lifem.cz/produkt/eppendorf-piezoxpert>. Last accessed 6 July 2023.
- [31] Stanislav Miláček. *Modální analýza mechanických kmitů*. Praha: ES ČVUT, 1992.
- [32] Miroslav Španiel and Zdeněk Horák. *Úvod do metody konečných prvků*. České vysoké učení technické, 2011.
- [33] Abaqus. 3.6.1 shell element overview, 3 2006. URL <https://classes.engineering.wustl.edu/2009/spring/mase5513/abaqus/docs/v6.6/books/stm/default.htm?startat=ch03s06ath79.html>. Last accessed 24 July 2023.

- [34] Simulia. Part I: An introduction to the Abaqus Scripting Interface, 4 2014. URL <http://130.149.89.49:2080/v6.14/books/cmd/default.htm?startat=pt01.html>. Last accessed 24 July 2023.
- [35] Simulia. How does the abaqus scripting interface interact with abaqus/cae?, 4 2014. URL <http://130.149.89.49:2080/v6.14/books/cmd/default.htm?startat=pt01.html>. Last accessed 24 July 2023.
- [36] Python Software Foundation. Pyabaqus 2022, 6 2022. URL <https://pypi.org/project/pyabaqus/>. Last accessed 24 July 2023.
- [37] Abaqus. 23.6.5 using a shell section integrated during the analysis to define the section behavior, . URL <http://130.149.89.49:2080/v6.7/books/usb/default.htm?startat=pt06ch23s06alm18.html>. Last accessed 24 July 2023.
- [38] Abaqus. 6.1.1 procedures: overview, . URL <https://classes.engineering.wustl.edu/2009/spring/mase5513/abaqus/docs/v6.6/books/usb/default.htm?startat=pt03ch06s01abo04.html>. Last accessed 24 July 2023.
- [39] Abaqus. 14.3.1 what is a step?, . URL <https://classes.engineering.wustl.edu/2009/spring/mase5513/abaqus/docs/v6.6/books/usi/default.htm?startat=pt03ch14s03s01.html>. Last accessed 24 July 2023.
- [40] MathWorks. Ga. URL [https://www.mathworks.com/help/gads/ga.html#bs08mt7-1\\_sep\\_budidgf-fun](https://www.mathworks.com/help/gads/ga.html#bs08mt7-1_sep_budidgf-fun). Last accessed 28 July 2023.
- [41] Ziqiang Chi, Qingsong Xu, and Limin Zhu. A review of recent advances in robotic cell microinjection. *IEEE Access*, 8:8520–8532, 2020. doi: 10.1109/ACCESS.2020.2964305.
- [42] PiezoDrive. PD200 – 60 Watt Voltage Amplifier. URL <https://www.piezodrive.com/drivers/pd200-60-watt-voltage-amplifier-2017/>. Last accessed 1 August 2023.

# Přílohy

## **A MKP parametrický model mikropipety v prostředí Python**

V příloženém souboru „MKP\_Model.py“ je dostupný MKP model mikropipety s roztokem v prostředí Python.

## **B Kriteriaální funkce pro optimalizaci genetickými algoritmy**

V příloženém souboru „FitnessFunction.m“ je dostupný Matlab skript vytvořené kriteriaální funkce pro optimalizaci genetickými algoritmy.

## **C Matlab skript - genetické algoritmy**

V příloženém souboru „GeneticAlgorithm.m“ je dostupný Matlab skript pro spuštění optimalizace modelu mikropipety pomocí genetických algoritmů.