

Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Национальный исследовательский университет  
«Московский институт электронной техники»

На правах рукописи

Рябкин Дмитрий Игоревич

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФИЗИЧЕСКИХ  
ХАРАКТЕРИСТИК ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОДИСПЕРСНЫХ  
СРЕД ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ  
СВАРИВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

1.3.8 (01.04.07) – «Физика конденсированного состояния»

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель  
доктор физико-математических наук  
Подгаецкий В.М.

Москва 2021

## Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Нанодисперсные материалы для лазерного сваривания биологических тканей.....	10
1.1 Методы соединения рассечённых биотканей.....	10
1.1.1 Шовный метод соединения рассечённых биотканей .....	10
1.1.2 Клеевой метод соединения рассечённых биотканей .....	12
1.1.3 Механические способы соединения рассечённых биотканей .....	12
1.1.4 Электрический метод соединения рассечённых биотканей .....	13
1.2 Лазерные системы для сваривания биологических тканей.....	15
1.2.1 Лазерные системы с генерацией непрерывного излучения.....	15
1.2.2 Лазерные системы с генерацией импульсного излучения.....	19
1.2.3 Системы обратной температурной связи.....	20
1.3 Дисперсные среды для лазерного сваривания биологических тканей ...	22
1.3.1 Дисперсные среды на основе органических соединений.....	23
1.3.2 Хромофорные компоненты дисперсных сред.....	30
1.3.3 Наночастицы в составе дисперсных сред.....	35
Выводы по Главе 1 .....	40
Глава 2. Формирование и исследование лазерных сварных швов с нанодисперсными средами.....	41
2.1 Жидкие нанодисперсные среды для лазерного сваривания биологических тканей.....	41
2.1.1 Компонентный состав жидких нанодисперсных сред .....	41
2.1.2 Математические алгоритмы методов исследования физических характеристик жидких нанодисперсных сред.....	46
2.2 Формирование композитной структуры сварного шва под действием лазерного излучения .....	50

2.3 Лазерная система для сваривания биологических тканей .....	52
Выводы по Главе 2 .....	55
Глава 3. Исследование изменений физических характеристик жидких нанодисперсных сред при нагреве .....	56
3.1 Спектральные характеристики жидких нанодисперсных сред .....	56
3.2 Зависимость агрегатного состава жидких нанодисперсных сред от температуры методом динамического рассеяния света .....	60
3.3 Исследование фазового перехода жидких нанодисперсных сред (денатурации альбумина) методом дифференциальной сканирующей калориметрии.....	66
3.4 Расчёт параметров излучения при лазерном сваривании биологических тканей .....	77
Выводы по Главе 3 .....	85
Глава 4. Поверхностная и объемная структуры нанокompозитов лазерных сварных швов.....	86
4.1 Рентгеновская микротомография лазерного сварного шва биологических тканей .....	86
4.2 Сканирующая электронная микроскопия нанокompозитов лазерного сварного шва .....	91
4.3 Флуоресцентная микроскопия лазерных сварных швов .....	96
4.4 Исследование прочности на разрыв лазерных сварных швов в зависимости от компонентного состава нанодисперсных сред и температуры сваривания .....	102
Выводы по Главе 4 .....	109
Заключение .....	110
Список сокращений .....	112
Список литературы .....	113

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность работы

Экспериментальное исследование взаимодействия лазерного излучения с водными дисперсиями белков и углеродных нанотрубок при создании сложноструктурированных композитных материалов с необходимыми физическими свойствами является актуальной задачей физики конденсированного состояния.

Важной областью применения таких материалов является соединение (сваривание) рассечённых биологических тканей. На сегодняшний день не создано универсального метода решения этой задачи, не обладающего ограничениями по своему применению. Вместе с тем возрастает разнообразие задач по соединению биологических тканей в хирургии. Например, в офтальмологии существует потребность в формировании герметичных и прозрачных в видимой части спектра швов, а в хирургии проблема соединения сосудов малого диаметра остаётся нерешённой.

Лазерное сваривание биологических тканей лишено большинства ограничений других методов соединения. Наиболее распространённый способ лазерного сваривания биологических тканей характеризуется использованием диодных лазеров совместно с водными дисперсными средами на основе альбумина и экзогенного красителя индоцианина зелёного. В то же время важными проблемами при использовании метода лазерного сваривания являются необходимость избегания температурного некроза биологической ткани и повышение прочности соединения.

Для преодоления этих ограничений перспективно применение наноразмерных компонентов дисперсных сред для улучшения свойств образующегося композита шва. Одним из таких компонентов могут являться углеродные нанотрубки: одностенные и многостенные. Прочность на разрыв углеродных нанотрубок достигает десятков гигапаскалей [1], Кроме того, использование углеродных нанотрубок в роли дополнительного

армирующего каркаса предотвращает образование трещин в композите сварного шва и в целом повышает его прочность на разрыв. При этом важной исследовательской задачей является оптимизация параметров лазерного излучения для формирования нанокompозита. Решение этой задачи позволит найти температурный режим, уменьшающий вероятность некроза биологических тканей, и увеличить прочность сварного шва.

Таким образом, при экспериментальном исследовании взаимодействия лазерного излучения с водными дисперсиями белков и углеродных нанотрубок оказывается необходимым определить зависимости характеристик денатурации белка от температуры, найти оптимальные длину волны и другие параметры импульса лазерного излучения для формирования сварных швов, установить компонентный состав нанодисперсной среды для достижения максимальной прочности на разрыв сварного шва.

### Цель работы и задачи исследования

Целью данной работы является экспериментальное исследование физических свойств водных нанодисперсных сред белков и углеродных нанотрубок при взаимодействии с лазерным излучением в процессе соединения (сваривания) биологических тканей.

Для достижения поставленной цели ставятся следующие задачи:

1. Исследование спектральных характеристик нанодисперсных сред для формирования лазерных сварных швов.
2. Экспериментальное изучение физической природы процессов, протекающих в белковых нанодисперсных средах, в зависимости от температуры методами динамического рассеяния света и динамической сканирующей калориметрии.
3. Расчёт параметров лазерного излучения для формирования сварного шва при использовании водных нанодисперсных сред с различным компонентным составом.

4. Выбор компонентного состава нанодисперсной среды и температуры лазерного сваривания для достижения максимальной прочности на разрыв сварного шва.
5. Экспериментальное исследование влияния компонентного состава водных нанодисперсных сред на прочность лазерных сварных швов.

#### Основные научные положения, выносимые на защиту

1. Введение экзогенного хромофора индоцианина зелёного в состав водной дисперсной системы бычьего сывороточного альбумина и многостенных и одностенных углеродных нанотрубок приводит к повышению селективности нагрева биологических тканей в процессе формирования сварных швов лазерным излучением.
2. Использование углеродных нанотрубок в составе дисперсной системы бычьего сывороточного альбумина и экзогенного хромофора индоцианина зелёного позволяет более чем в 2 раза увеличить прочность на разрыв сформированных лазерным излучением сварных швов.
3. Найденные с помощью численного эксперимента на основе разработанной модифицированной математической модели параметры лазерного излучения позволяют обеспечить переход жидкой дисперсной системы в твёрдую фазу на заданную глубину.
4. При температуре, соответствующей экстремумам размеров мономеров (менее 10 нм) и больших агрегатов (более 200 нм) дисперсной системы бычьего сывороточного альбумина, индоцианина зелёного и углеродных нанотрубок, достигается максимальная прочность на разрыв сформированных лазерным излучением сварных швов, причём мономерам соответствует максимум, а большим агрегатам минимум в зависимости от температуры.

## Научная новизна работы

1. Установлены зависимости размеров агрегатов и теплоёмкостей водных нанодисперсных сред на основе углеродных нанотрубок и белков от температуры.
2. Определена зависимость агрегатного состава белковой дисперсии от температуры, имеющая выраженный нелинейный характер с экстремумами при температуре 55 °С.
3. Разработана модифицирована математическая модель формирования лазерного сварного шва для применения в установках с использованием обратной температурной связи.
4. Рассчитаны параметры (мощности и длительности) воздействия лазерного излучением для формирования сварных швов глубиной 0,2-1 мм при максимальной температуре соединения не более 100 °С.
5. Выявлено влияние компонентного состава нанодисперсных сред на основе многостенных и одностенных углеродных нанотрубок, альбумина и экзогенного хромофора индоцианина зелёного на прочность лазерных сварных швов.
6. Предложены новые компонентные составы водных нанодисперсных сред на основе белков, углеродных нанотрубок и экзогенного хромофора индоцианина зелёного для лазерного сваривания биологических тканей.

## Личный вклад автора

Автор диссертации лично проводил комплекс исследований нанодисперсных сред, использующихся при лазерном сваривании биологических тканей. Принял непосредственное участие в постановке задач в соответствии с целями исследований и обсуждении полученных результатов.

## Достоверность и обоснованность научных положений, результатов и выводов

Достоверность и обоснованность результатов, положений и выводов диссертационной работы обеспечивается использованием признанных методов исследования и согласованностью результатов работы с данными научных публикаций. Экспериментальные исследования проведены на откалиброванном и сертифицированном оборудовании.

## Научная и практическая значимость работы

1. Найденные по экспериментальным данным коэффициенты поглощения, теплоёмкости и энергии денатурации нанодисперсных сред могут быть использованы для оптимизации длины волны, мощности и длительности лазерного облучения при сваривании рассечённых биологических тканей.
2. Введение углеродных нанотрубок в качестве компонента нанодисперсной среды при лазерном сваривании биологических тканей позволяет повысить прочность на разрыв шва более чем в 2 раза.
3. Полученные результаты могут быть использованы при разработке аппаратов и методов лазерного сваривания биологических тканей.

## Апробация работы

Основные научные положения и результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на следующих международных и российских конференциях:

2018 European conferences on biomedical optics (Germany, Munich, 2018);

44, 45, 46 congresses of European society for artificial organs (Poland, Warsaw, 2016; Austria, Vienna, 2017; Spain, Madrid, 2018);

2018 SPIE photonics Europe (France, Strasbourg, 2018)

17, 18 International Conference «Laser Optics» (Russia, Saint-Petersburg, 2016, 2018);



XIII International Conference on Atomic and Molecular Pulsed Lasers (Russia, Tomsk, 2017);

2017, 2019 IEEE Russia Section Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering Conference «ElConRus» (Russia, Moscow, 2017, 2019);

2016, 2017 Saratov Fall Meeting (Russia, Saratov, 2016, 2017);

Симпозиум Международного факультета искусственных органов (INFA) «Искусственные Органы 2016» (Россия, Долгопрудный, 2016);

23 Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Россия, Москва, 2016);

23-24 Всероссийские межвузовские научно-технические Конференции студентов и аспирантов «Микроэлектроника и информатика» (Россия, Москва, 2016, 2017).

Работы по теме диссертации проводились в ходе выполнения НИР и ПНИЭР в рамках федеральных целевых программ Министерства образования и науки РФ «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 - 2020 годы» № 14.578.21.0221 (2016-2018), № 14.575.21.0044 (2014-2016), № 14.575.21.0089 (2014-2016), № 14.578.21.0234 (2017-2019), №14.584.21.0021 (2017-2019), госзадание №12.2339.2017/ПЧ (2017 г. - 2019 г.). Кроме того, работы по теме диссертации были поддержаны персональным грантом по программе «У.М.Н.И.К.» (№6646ГУ/2015 от 14.07.2015).

### Публикации

По теме диссертации опубликованы 32 научных работ, в том числе 17 статей в журналах, рекомендованных ВАК: «Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy» – 1, «Конденсированные среды и межфазные границы» – 1; «Медицинская техника» – 3; «AIP Conference Proceedings» – 2, «Proceedings of the IEEE» – 2; «Proceedings of SPIE» – 6; «Proceedings of International Conference Laser Optics»: 2. Получены 1 патент РФ на изобретение и 3 авторских свидетельства на программы ЭВМ.

# ГЛАВА 1. НАНОДИСПЕРСНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ЛАЗЕРНОГО СВАРИВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

## 1.1 Методы соединения рассечённых биотканей

### 1.1.1 Шовный метод соединения рассечённых биотканей

Традиционным способом соединения рассечённых биологических тканей является шовный метод. На сегодняшний день существует широкий спектр материалов, используемых для наложения швов. Все шовные материалы разделяют на две группы: рассасывающиеся и нерассасывающиеся. К нерассасывающимся относят материалы, которые сохраняются в соединяемых тканях на срок до 6 месяцев и более. Рассасывающиеся материалы сохраняются в течение не более 120 дней [2].

К традиционным шовным материалам относятся шёлк, кетгут и их производные.

В таблице 1.1 представлены характеристики традиционных и современных шовных материалов. Кетгут обладает хорошими манипуляционными свойствами, формирует прочные узлы, но ему свойственны реактогенность, аллергенность и выраженная абсорбционная способность.

Современные рассасывающиеся материалы производятся на основе натуральных и синтетических волокон.

Современные нерассасывающиеся материалы основаны на использовании полимерных и металлических нитей. Они сохраняются в тканях в течение длительного времени и обладают высокой прочностью. Также им характерны хорошие манипуляционные свойства, технологичность изготовления и относительная дешевизна.

К недостаткам использования шовного метода соединения рассечённых биологических тканей можно отнести возможность образования рубцов и отсутствие герметичности для жидкостей в первое время после наложения шва.

Таблица 1.1 — Сравнительные характеристики шовных материалов.

Шовный материал	Рассасывающиеся/ Нерассасывающиеся	Монофиламентный/ Полифиламентный	Комбинированный	Соединяемые биологические ткани
Шёлк	-/+	-/+	-	Кожа, подкожная клетчатка, фасции, мышцы, сухожилия
Кетгут	+/-	-/+	-	Подкожная клетчатка, фасции, мышцы, сквозная клетчатка, полые органы (сквозной шов)
Нейлон	-/+	+/-		Кожа, подкожная клетчатка, фасции, сосуды, нервы
Капрон	-/+	+/-	-	
Полиэтилен- терефталат	-/+	-/+	+	Кожа, подкожная клетчатка, фасции, мышцы, апоневроз, сосуды, нервы, сухожилия
Капрон с фтор- полимерным покрытием	-/+	+/-	-	Универсальный шовный материал
Полиэтилен- терефталат с покрытием полибутиллатом	-/+	-/+	+	
Полипропилен	-/+	+/-	-	
Фторсопо-лимер	-/+	+/-	-	
Поливини-лимер	-/+	+/-	-	
Политет- рафторэтилен	-/+	+/-	-	Сердце, сосуды
Никелированная сталь	-/+	+/-	-	Передняя брюшная стенка, сухожилия
Полигликолевая кислота	+/-	-/+	-	Мышцы, фасции, подкожная клетчатка, полые органы, брюшина
Сополимер лактида и гликолида	-/-	-/-	+	
Полидиоксанон	-/+	+/-	-	
Гликолид и эпсилонкапролактон	-/+	+/-	-	Кожа, подкожная клетчатка, фасции, мышцы, сосуды, нервы, полые органы
Фиброин	+/-	-/-	+	

### 1.1.2 Клеевой метод соединения рассечённых биотканей

Клеи в хирургической практике, как правило, применяются в тех случаях, когда использование шовных методов невозможно. Например, при незначительных порезах и ранах или необходимости остановить кровотечение при уже наложенном шве. Клеевые соединения не отличаются значительной проницаемостью, как следствие, целью их наложения является полная герметизация.

Клеи, используемые в хирургии, можно разделить на несколько групп. Синтетические клеи, как правило, изготавливаются на основе сложных эфиров альфа-цианокриловой кислоты, таких как бутилцианакрилат, сульфакрилат и другие. Для инъекций применяются полусинтетические клеи, например, натриевая соль ампициллина. Биологические клеи могут состоять из порошка фибрина, гамма-глобулина, смеси фибриногена с тромбином и др.

### 1.1.3 Механические способы соединения рассечённых биотканей

Соединение биологических тканей с помощью металлических зажимов используется, например, для анастомоза мелких кровеносных сосудов. Другим примером этого может служить метод соединения вен с помощью парных колец и специальных обжимных клещей. Кольца располагаются снаружи соединяемых вен. Два парных кольца соединяются и закрепляются, образуя нерассасывающееся соединение [3].

Также для соединения биологических тканей применяются скобы, устанавливаемые специальными степлерами. Разделяют циркулярные, линейные (рисунок 1.1 а) и линейнорежущие степлеры. Циркулярный степлер использует скобы из двух концентрических колец. Круговое лезвие автоматически отсекает избыток ткани для создания кругового анастомоза. Размер анастомоза определяется размером круговых скреп. Линейные и линейнорежущие степлеры позволяют создавать швы сразу из нескольких

скоб. Но при их использовании, нижняя часть степлера должна находиться под соединяемыми тканями, что не позволяет создать полностью закрытый шов. После регенерации биологической ткани в области соединения скобы извлекаются экстрактором (рисунок 1.1 б).



Рис. 1.1 — Изображения линейного хирургического степлера (а) и экстрактора для удаления скоб (б)

#### 1.1.4 Электрический метод соединения рассечённых биотканей

Процесс электрической сварки мягких тканей можно описать следующим образом. С помощью сварочного инструмента ткани соединяют поверхностными слоями. Затем свариваемый участок ткани сжимается с помощью электродов сварочного инструмента и подаётся электрический ток.

Образование сварного соединения здесь основано на эффекте электротермической денатурации белковых молекул. Процесс повторяется до полного закрытия раны.

Нагрев тканей должен быть минимальным, но достаточным для образования тканевого соединения, чтобы минимизировать возможный температурный некроз соединяемых тканей и вероятность осложнений. Данная задача решается с помощью системы автоматического управления процессом сварки.

Устройство для электрической сварки биологических тканей может быть выполнено, например, в виде щипцов (1), на концах которых

располагаются проводящие контакты (2). Соединяемые ткани зажимаются между проводящими контактами, затем по ним подаётся электрический ток (рисунок 1.2). Вследствие электротермической денатурации белков ткани образуется их точечное соединения. Последовательные точечные соединения совокупно формируют сварной шов [4].

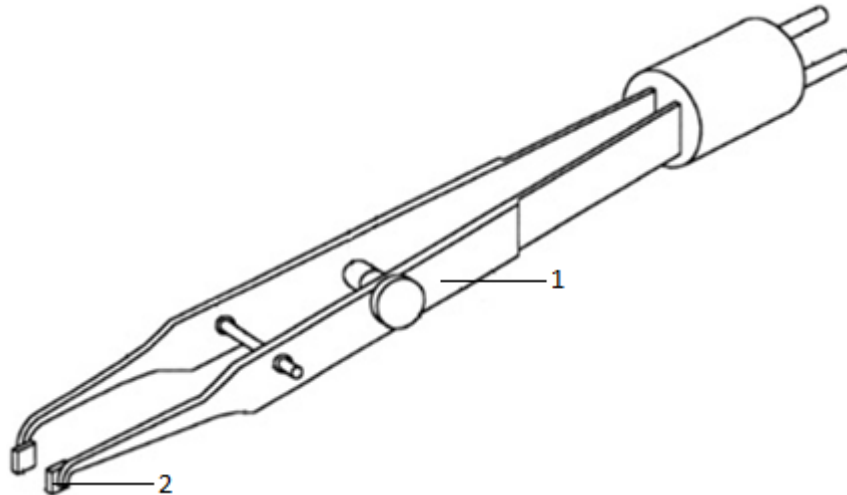


Рис. 1.2 — Схема устройства для электрической сварки биологических тканей

Существует метод электрической сварки биологических тканей без использования дополнительных проводящих контактов, который используется для приваривания металлических стентов (рисунок 1.3) к кровеносным сосудам [5]. Стенты помещаются внутри сосуда таким образом, чтобы образовывалась небольшая складка сосуда. На двух концах стент имеет небольшие зоны контакта с сосудом. К стенту и сосуду прикрепляются электроды противоположной полярности. При протекании электрического тока, в самом узком месте контакта проводников (стента и ткани кровеносного сосуда) значительно возрастает сила тока и, как следствие, выделяется большое количество тепловой энергии. Белки биологической ткани денатурируют, присоединяясь к окружающим их объектам. Таким образом, в области пятна контакта (3) металлического стента (1) с сосудом (2) возникает прочное соединение (рисунок 1.3). Живая биологическая ткань

при нагреве разрушается с образованием рубца. Позже, в процессе регенерации, живая ткань будет восстановлена [6].

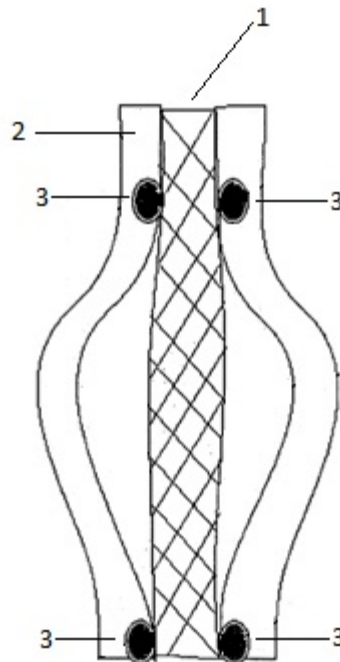


Рис. 1.3 — Схема процесса электрической сварки стента с тканями кровеносного сосуда

## 1.2 Лазерные системы для сваривания биологических тканей

### 1.2.1 Лазерные системы с генерацией непрерывного излучения

В большинстве работ по лазерному свариванию биологических тканей используются непрерывные лазеры. К ним относятся: газовый  $\text{CO}_2$  лазер, твердотельный гольмиевый (Ho:YAG), диодный GaAlAs и волоконный лазер с легированием эрбием.

Накачка  $\text{CO}_2$  лазера осуществляется с помощью газового разряда.  $\text{CO}_2$  лазер генерирует излучение в инфракрасном диапазоне длин волн ( $\lambda_{\text{ген}}=10,6$  мкм).

В [7]  $\text{CO}_2$  лазер используется для лазерного сваривания бычьей роговицы. Лазер применялся совместно с водной дисперсией человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) (50 мас. %). Лазерное сваривание

осуществлялось при температуре 65 °С. В результате экспериментов была достигнута прочность на разрыв сварного шва роговицы 14,5±3,9 кПа.

СО<sub>2</sub> лазер использовался для сваривания при лапароскопических операциях [8]. Использовалась водная дисперсия бычьего сывороточного альбумина (БСА) (47 мас. %). Лазерное сваривание осуществлялось при температуре 65±3 °С и максимальной мощности лазерного излучения 2 Вт.

В таблице 1.2 приведены параметры экспериментов по лазерному свариванию биологических тканей при использовании СО<sub>2</sub> лазеров.

Таблица 1.2 — Параметры экспериментов по лазерному свариванию биологических тканей при использовании СО<sub>2</sub> лазеров.

Длина волны генерации, мкм	Мощность, Вт	Плотность мощности, $\frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$	Используемая дисперсия	Свариваемая ткань	Прочность на разрыв сварного шва, мм рт. ст.
10,6	0-2	-	БСА (44 мас. %)	Бычья роговица	-
	0,4	12,7	ЧСА (50 мас. %)		109±30
	Об связь	До 16	БСА (47 мас. %)	Роговица свиньи	-
	1-2	-	БСА (47 мас. %)	Почка свиньи	-
	Об связь	-	ЧСА (40-45 мас. %)	Человеческая кожа	-
	0,1	-	БСА (50 мас. %)	Нервные волокна	-



Для лазерного сваривания хрусталика глаза применялся диодный GaAlAs лазер [9]. Лазер ( $\lambda_{\text{ген}}=808$  нм) использовался совместно с разными водными дисперсиями индоцианина зелёного (ИЦЗ) (0,5-10 мас. %) при мощности лазерного излучения  $P=10$  Вт. Диодные лазеры с длиной волны  $\lambda_{\text{ген}}=800-820$  нм широко используются в лазерном сваривании [9-23]. Эти лазеры, как правило, используют вместе с хромофором ИЦЗ.

В таблице 1.3 приведены параметры экспериментов по лазерному свариванию биологических тканей при использовании диодных лазеров.

В работе [24] использовался Ho:YAG лазер для сваривания артерий. Мощность генерации лазера составляла  $W=0,24-1,13$  Вт при плотности мощности  $I=7,6-36 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$  и  $\lambda_{\text{ген}}=2,01$  мкм. При лазерном сваривании использовалась водная дисперсия БСА (25 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %) и гиалуроновой кислоты (ГК) (0,5 мас. %). Была получена сила на разрыв  $N_{\text{Ho:YAG}}=0,36\pm 0,3$  Н, что значительно меньше силы на разрыв  $N_{\text{диодный лазер}}=1,09\pm 0,7$  Н, достигнутой в аналогичном эксперименте при использовании диодного лазера ( $\lambda_{\text{ген}}=808$  нм).

Кроме CO<sub>2</sub> лазера для сваривания роговицы склеры глаза может использоваться волоконный лазер с легированием эрбием [25, 26]. В экспериментах применялся волоконный лазер с длиной волны  $\lambda_{\text{ген}}=1455$  нм.

Таблица 1.3 — Параметры экспериментов по лазерному свариванию биологических тканей при использовании диодных лазеров.

Длина волны генерации, нм	Мощность, Вт	Плотность мощности, $\frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$	Используемая дисперсия	Свариваемая ткань	Прочность на разрыв сварного шва
805	1	1,34	PBS (70% мас. %) ИЦЗ (0,25 мас. %)	Свиное сердце	0,457±0,009 МПа
806	5	70,7	БСА (50% мас. %) ИЦЗ (0,5 г/л)	Кожа крысы	0,0005±10 <sup>-5</sup> МПа
808	3	14,45	БСА (40% мас. %) ИЦЗ (0,07 мас. %)	Аорта кролика	649±389 мН
	0.6–3	14,1	БСА (40% мас. %) ИЦЗ (0,1 мас. %)	Аорта кролика	1,580±302 мН
	0.41	4,1	БСА (25% мас. %) Гиалуроновая кислота (0,5 мас. %) ИЦЗ (0,1 мас. %)	Артерия свиньи	-
	1.0	31,8	БСА (25% мас. %) Гиалуроновая кислота (0,5 мас. %) ИЦЗ (0,1 мас. %)	Трахея кролика	0,01±0,001 МПа
	1.5	12,3	БСА (25% мас. %) ИЦЗ (0,25 г/л)	Аорта быка	5,9±0,3 МПа

### 1.2.2 Лазерные системы с генерацией импульсного излучения

Помимо непрерывных источников лазерного излучения в сваривании биологических тканей используются импульсные источники.

Импульсные лазеры использовались для сваривания куриной кожи [27]. Применялся неодимовый лазер на алюмо-иттриевом гранате (Nd:YAG) с длиной волны  $\lambda_{\text{ген}}=1064$  нм, длительностью импульсов  $\tau=8$  пс и частотой  $\nu=10$  Гц. Лазер использовался совместно с водными дисперсиями наночастиц Au, Cu, Au-Ag и Au-Cu.

В [28] для лазерного сваривания роговицы глаза свиньи с имплантатом использовалось излучение длиной волны  $\lambda_{\text{ген}}=810$  нм, длительностью импульсов  $\tau$  от 2 мс до 2 с, частотой  $\nu$  от 1 до 250 Гц и мощностью  $W$  до 10 В. При лазерном сваривании использовалась водная дисперсия ИЦЗ (10 мас.%). На рисунке 1.4 показан гистологический срез роговицы глаза свиньи после лазерного сваривания, окрашенный толуидином синим. На границе между донорскими и реципиентными слоями роговицы наблюдаются две малые по размеру области тепловой денатурации.



Рис. 1.4 — Оптическая микроскопия лазерного сварного шва донорского и реципиентного слоёв роговицы. Размерная шкала – 100 мкм

Также могут применяться фемтосекундные лазеры для сваривания свиного кишечника [29]. Использовалось лазерное излучение с

длительностью импульсов  $\tau=130$  фс и интервалами между ними  $t=12,5$  нс,  $\lambda_{\text{ген}}=800$  нм. Сваривание осуществлялось при плотности мощности лазерного излучения  $I=2,3-2,5 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$ . В результате экспериментов была получена прочность на разрыв  $\sigma=0,21\pm 0,01$  МПа. Область температурного некроза не превышает значительно область лазерного сваривания благодаря использованию фемтосекундного лазерного излучения.

### 1.2.3 Системы обратной температурной связи

Обратная температурная связь используется для снижения температурного некроза свариваемых биологических тканей и повышения прочности сварного шва путём стабилизации температуры зоны сваривания. Связь реализуется за счёт автоматического регулирования мощности лазерного излучения в зависимости от текущей и заданной температур поверхности лазерного сваривания [30-33].

Обратная температурная связь была реализована в системе лазерного сваривания с использованием  $\text{CO}_2$  лазера [34]. Система содержала лазер, два волновода, инфракрасный (ИК) детектор, модуль синхронизации и компьютер. Лазерное излучение доставлялось от лазера к области сваривания с помощью оптоволоконного кабеля. Затем излучение попадало на биологическую ткань, поглощалось, что приводило к её нагреву. ИК излучение, испускаемое нагретой биологической тканью, по второму оптоволоконному кабелю попадало в ИК детектор, где преобразовывалось в цифровую информацию о температуре биологической ткани. Модуль синхронизации использовался для анализа информации о температуре и, в зависимости от её значения, увеличения или уменьшения мощности лазерного излучения (рисунок 1.5). При лазерном сваривании использовалась водная дисперсия БСА (50 мас. %).

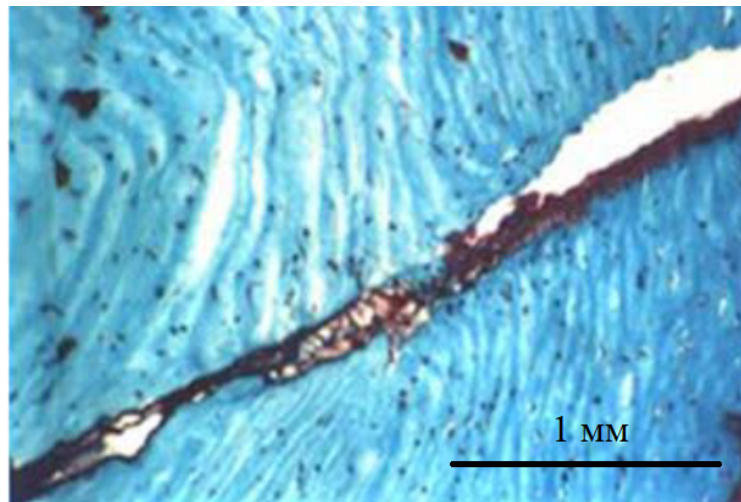


Рис. 1.5 — Оптическая микроскопия лазерного сварного шва после окрашивания метиленовым трихромом

Возможна реализация температурной обратной связи с помощью одного, а не двух оптоволокон [35]. Использовалось оптоволокно на основе галогенида серебра. Материал волокна позволял одновременно передавать лазерное излучение к биологической ткани и ИК излучение обратно от нагретой биологической ткани к ИК детектору (рисунок 1.6 а). На рисунке 1.6 б показана временная зависимость температуры области лазерного сваривания при использовании обратной температурной связи.

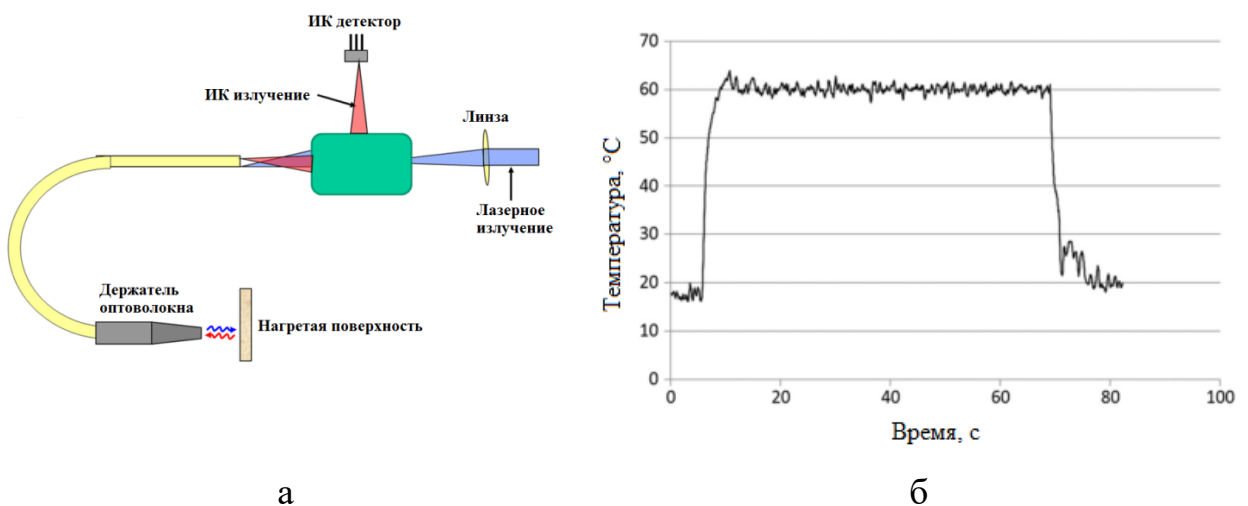


Рис. 1.6 — Схема обратной температурной связи с использованием оптоволокон на основе галогенида серебра (а), временная зависимость температуры области лазерного сваривания (б)

Обратная температурная связь использовалась совместно с диодным лазером [36]. Система была основана на GaAs диодном лазере с длиной волны  $\lambda_{\text{ген}}=828$  нм, мощностью лазерного излучения  $P=0-2,7$  Вт. Использовалась водная дисперсия БСА (40 мас. %) и ИЦЗ ( $0,3 \frac{\text{мг}}{\text{г}}$ ).

### 1.3 Дисперсные среды для лазерного сваривания биологических тканей

Лазерная сварка биологических тканей может осуществляться без использования и с использованием лазерного припоя.

В первом случае формирование шва осуществляется за счёт структурных изменений коллагена соединяемых биологических тканей. Были предложены разные механизмы формирования лазерного сварного шва без использования припоя [37]: коллаген-коллаген соединение [38-40], ковалентное сшивание тканевых белков [38, 41-44], денатурация структурных тканевых белков [44, 45], ускорение естественной фибриногенной полимеризации [46], образование нековалентной связи между молекулами коллагена [47], интердигитация и веревкообразное скручиванием коллагеновых волокон [48-52].

Во втором случае формирование сварного шва осуществляется за счёт структурных изменений компонентов припоев, в частности, экзогенных белков. Использование специальных припоев при лазерной сварке биологических тканей позволяет повысить прочность сварного соединения, снизить время послеоперационной реабилитации, уменьшить термический некроз соединяемых тканей, стимулировать регенерацию соединяемых тканей.

В большинстве случаев лазерные припои — это водные дисперсные среды различных компонентов.

### 1.3.1 Дисперсные среды на основе органических соединений

Бычий сывороточный альбумин (БСА) является белком плазмы крови крупного рогатого скота. БСА состоит из 607 аминокислот. Как и прочие белки БСА обладает структурой из 4 уровней. Первичная структура создаётся в ходе матричного биохимического синтеза. Она представляет собой последовательность мономеров-аминокислот, соединённых химическими связями. Вторичная структура представляется  $\alpha$ -спиралью и  $\beta$ -структурой. Третичная структура заключается в объединении вторичной в глобулу, а при четвертичной несколько глобул объединяются в «суперглобулу» (рисунок 1.7).

Структура белка стабилизируется двумя классами прочных связей (пептидных и дисульфидных -S-S-) и тремя классами слабых связей (водородных, гидрофобных, электростатических). При нагревании белок претерпевает превращение из нативного состояния в денатурированное, когда полипептидная цепь принимает конформацию случайного клубка. Этот переход называется тепловой денатурацией и происходит, как правило, в узком температурном диапазоне, что придает ему черты фазового перехода I рода [53].

Первичная ... –Gly–Val–Tyr–Gln–Ser–Ala–Ile–Asn–Lys–Ala–...

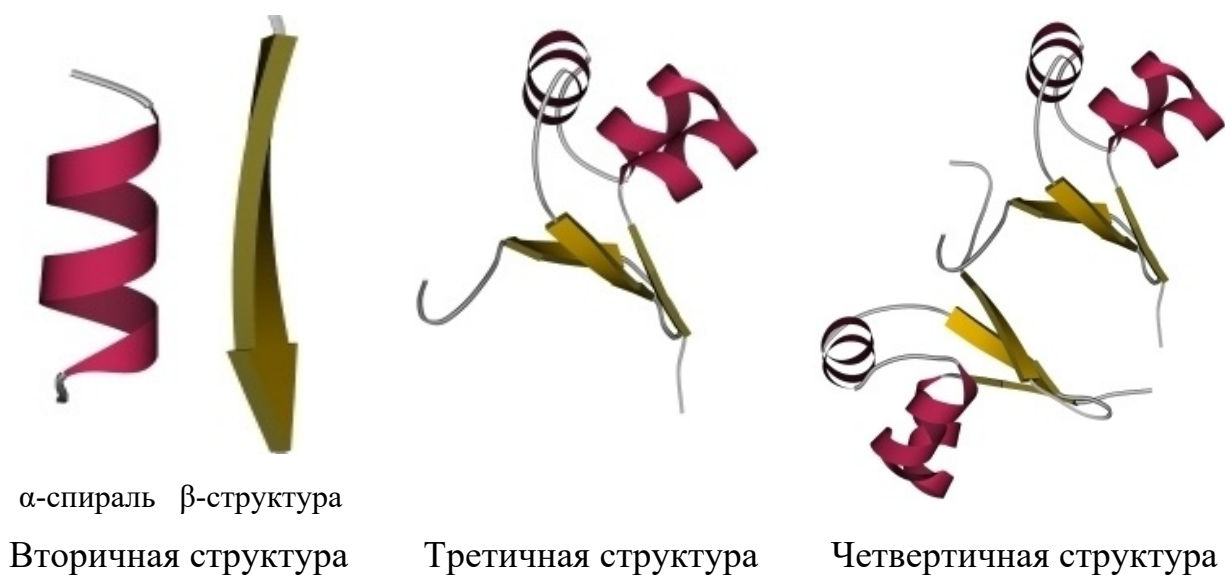


Рис. 1.7 — Структуры белка

БСА используется в качестве компонента жидких дисперсий при сваривании биологической ткани с применением разных типов лазеров. Например, в [24] использовался припой на основе водной дисперсии БСА (25 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %), гиалуроновой кислоты (0,5 мас%) и дистиллированной воды. В качестве источников излучения использовались диодный лазер ( $\lambda_{\text{ген}}=808$  нм) и гольмиевый с диодной накачкой Ho:YAG ( $\lambda_{\text{ген}}=2,01$  мкм). Мощности при облучении соответственно равнялись  $P=0,95-1,05$  Вт и  $P=0,24-1,13$  Вт. При этом плотности мощности лазерного излучения составляли  $I=7,6-8,4 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$  для диодного лазера и  $I=7,6-36 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$  для лазера с диодной накачкой. Суммарно доза облучения для диодного лазера составила 140 Дж и от 31 до 86 Дж для Ho:YAG при длительностях воздействия от 50 до 140 с. В результате сваривания большеберцовой артерии свиньи были получены давление протечки  $328 \pm 153$  мм рт. ст. и сила на разрыв  $0,36 \pm 0,3$  Н. Для подкожной вены свиньи соответственно  $195 \pm 86$  мм рт. ст. и  $0,11 \pm 0,057$  мм рт. ст.

Лазерный припой на основе БСА использовался совместно с полимерными плёнками. В [11] применялся лазерный припой на основе БСА – 50 мас. %, ИЦЗ – 0,01 мас. %. В качестве подложки использовался биоразлагаемый полиэфир полилактидгликолида (PLGA). Толщина плёнки PLGA составляла 50-70 мкм. В качестве источника лазерного излучения использовался непрерывный диодный лазер ( $\lambda_{\text{ген}}=806$  нм). Пятно лазерного излучения перемещалось вдоль шва в течение 50 с со скоростью  $1 \frac{\text{см}}{\text{с}}$ . Суммарная удельная энергия, переданная припою, составила  $6,25 \frac{\text{Дж}}{\text{мл}}$ . В ходе экспериментов при использовании лазерного припоя без полимерной плёнки были достигнуты прочности на разрыв  $502 \pm 12 \frac{\Gamma}{\text{см}^2}$  (*in vitro*) и  $534 \pm 18 \frac{\Gamma}{\text{см}^2}$  (*in vivo*). При использовании лазерного припоя совместно с полимерной плёнкой прочность равнялась  $963 \pm 26 \frac{\Gamma}{\text{см}^2}$  (*in vitro*) и  $1,119 \pm 30 \frac{\Gamma}{\text{см}^2}$  (*in vivo*). Эксперименты по сварке осуществлялись на коже крыс.



Также БСА использовался в лазерном припое совместно с хромофорами в виде наночастиц. В [22] использовались сферические наночастицы с ядром размером 120 нм из SiO<sub>2</sub> и оболочкой из золота толщиной 30 нм. Максимум поглощения частиц находился в диапазоне 785-820 нм. Использовались припой с концентрациями БСА ( $C_{\text{БСА}}^1=35$  мас. %,  $C_{\text{БСА}}^2=40$  мас. %) и количеством наночастиц  $7 \times 10^{10} \frac{\text{шт}}{\text{мл}}$ . В качестве источника лазерного излучения использовался непрерывный диодный лазер с длиной волны  $\lambda_{\text{ген}}=820$  нм. Во время сваривания лазерный луч перемещался вдоль шва со скоростью от 1 до  $3 \frac{\text{мм}}{\text{с}}$ . Сваривание осуществлялось при двух значениях плотности мощности ( $I_1=20 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$  и  $I_2=56 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$ ) и двух углах падения лазерного излучения ( $\alpha_1=60^\circ$  и  $\alpha_2=90^\circ$ ). В таблице 1.4 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов.

Таблица 1.4 — Прочности на разрыв лазерных сварных швов.

Угол падения лазерного излучения	Плотность мощности	Концентрация БСА	Прочность на разрыв, кПа
$\alpha_1$	$I_1$	$C_{\text{БСА}}^1$	19,4±12,3
		$C_{\text{БСА}}^2$	37,2±17,0
	$I_2$	$C_{\text{БСА}}^1$	21,2±16,9
		$C_{\text{БСА}}^2$	30,5±13,5
$\alpha_2$	$I_1$	$C_{\text{БСА}}^1$	37,6±20,0
		$C_{\text{БСА}}^2$	36,1±13,5
	$I_2$	$C_{\text{БСА}}^1$	15,7±8,6
		$C_{\text{БСА}}^2$	30,5±13,5
Нативная ткань			37,7±13,8

Гиалуроновая кислота (ГК) – несulфированный гликозаминогликан. Она входит в состав соединительной, эпителиальной, нервной тканей и межклеточного матрикса.

В составе кожи гиалуроновая кислота принимает участие в пролиферации и регенерации клеток. Её использование в составе нанодисперсных сред для лазерной сварки способствует восстановлению биологических тканей в области сварного шва.

В [24] использовалась водная дисперсия БСА (25 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %) и ГК (0,5 мас. %). Сваривание проводилось с использованием Ho:YAG лазера ( $\lambda_{ген}=808$  нм). В результате облучения биологической ткани и водной дисперсии сформировался композит сварного шва (рисунок 1.8).

Нанодисперсные среды с использованием ГК могут применяться для лазерного сваривания трахеи кролика. В [14] использовалась водная нанодисперсная среда на основе БСА, ИЦЗ и ГК. В качестве источника лазерного излучения применялся диодный лазер ( $\lambda_{ген}=808$  нм), работающий в импульсном режиме с длительностью импульса 0,5 с и интервалом между импульсами 0,1 с, плотностью мощности  $I=31,8 \frac{Вт}{см^2}$  и мощностью излучения 10 Вт. Прочности лазерных сварных швов сравнивались с прочностями соединений, полученных с помощью фибринового клея. В ходе экспериментов была измерена прочность на разрыв нативной ткани  $22,64 \pm 4,14$  мм рт. ст. Прочность соединения, полученного с помощью фибринового клея, составила  $10,53 \pm 5,01$  мм рт. ст, а лазерного сварного шва  $19,95 \pm 4,98$  мм рт. ст.

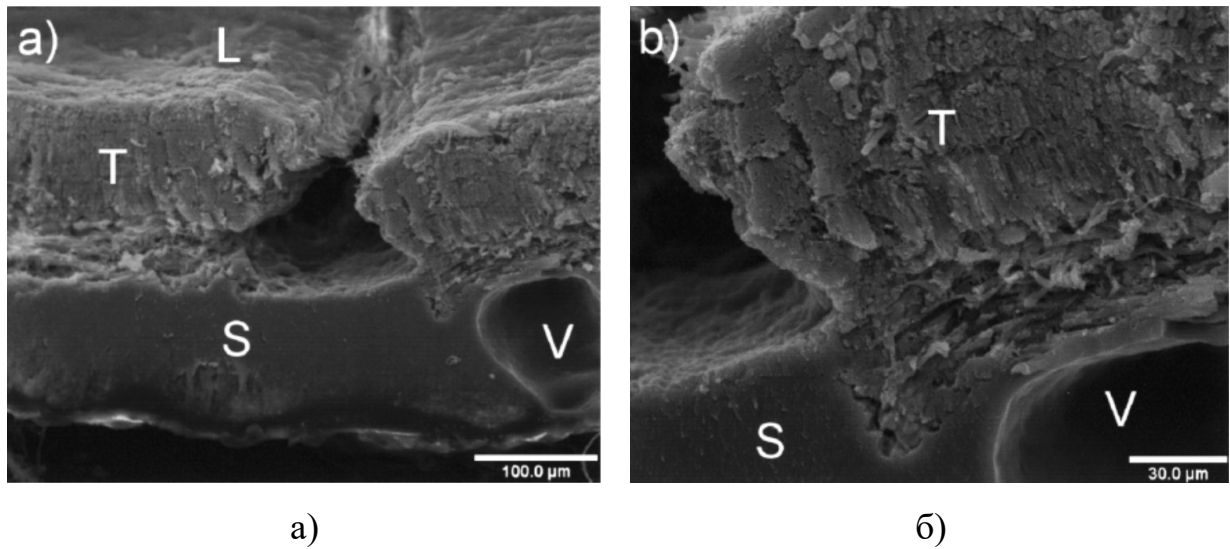
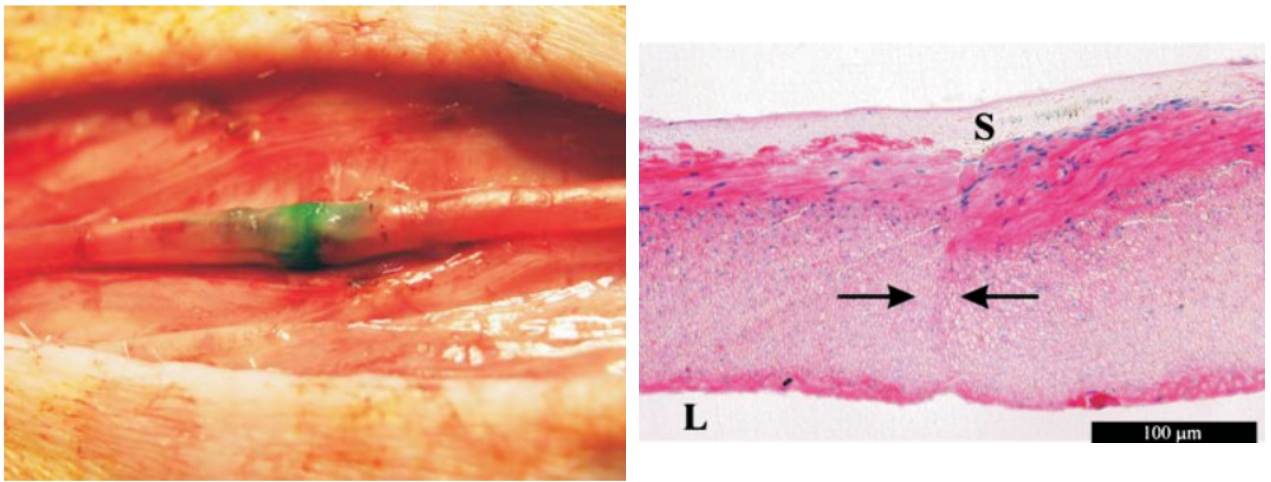


Рис. 1.8 — СЭМ изображения поперечного сечения лазерного сварного шва.

T – биологическая ткань, S – композит, V – воздушная полость, L – край биологической ткани [24]

ГК использовалась в полутвёрдом виде для лазерного анастомоза кровеносных сосудов [54].

В [13] использовалась водная дисперсия БСА (24 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %) и ГК (0,1 мас. %). В качестве источника лазерного излучения применялся непрерывный диодный лазер с длиной волны  $\lambda_{ген}=808$  нм. Первый слой дисперсии облучался при мощности  $P=0,41$  Вт и плотности мощности  $I=4,1 \frac{Вт}{см^2}$  в течение 30 с. Затем наносился второй слой припоя и проводилось повторное сваривание при мощности лазерного излучения  $P=0,55$  Вт и плотности мощности  $I=5,5 \frac{Вт}{см^2}$  в течение 45 с. На рисунке 1.9 а показана фотография лазерного сварного шва кровеносного сосуда. На рисунке 1.9 б приведена микроскопия гистологического среза лазерного сварного шва.



а

б

Рис. 1.9 — Лазерный сварной шов кровеносного сосуда (а), микроскопия гистологического среза лазерного сварного шва (между стрелок - область соединения биологических тканей, S – сформированный композит шва, L – предметное стекло)

Полисахарид хитозан может быть компонентом лазерного припоя. Его химическая формула представлена на рисунке 1.10. Он используется для регенерации хряща [55]. Также он способен образовывать стабильные коллаген-хитозан связи [56, 57]. Благодаря своей способности образовывать связи с другими веществами хитозан получил распространение в лазерной сварке биологических тканей.

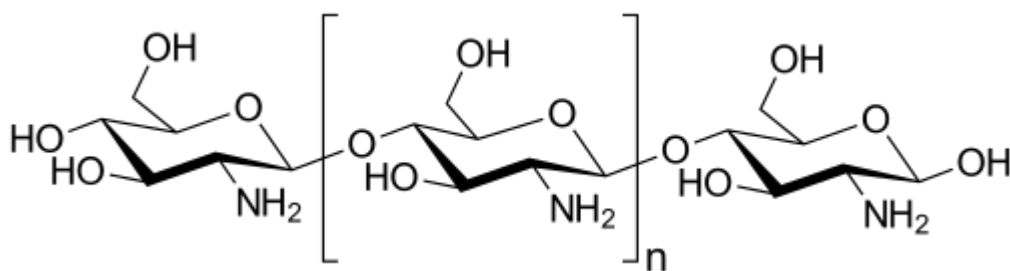


Рис. 1.10 — Структура молекулы хитозана

Хитозан может применяться как отдельно, так в соединении с другими веществами. В [58] использовались припои на основе хитозана (Chi); хитозана и красителя бенгальского розового (Chi-RB); хитозана и генипина (Chi-GP); хитозана, красителя бенгальского розового и генипина (Chi-RB-GP). Также исследовались вышеперечисленные припои, модифицированные

поверхностно-разлагающим агентом хондроитиназой-АВС. В этом случае к их названию добавлялось (Ch-ABC).

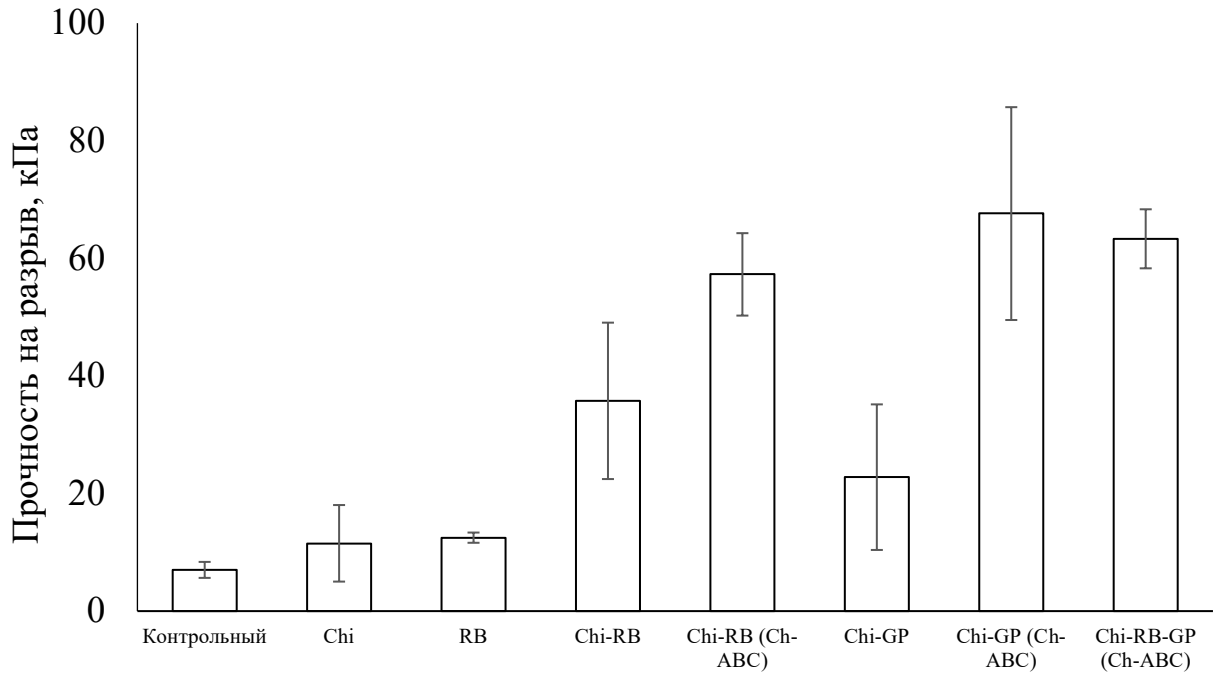


Рис. 1.11 — Прочности на разрыв при использовании различных припоев на основе хитозана

На рисунке 1.11 приведены значения прочности на разрыв сварных швов, полученных с помощью различных припоев на основе хитозана с добавлением красителя бенгальского розового и генипина. Генипин является природным агентом для соединения белков, в том числе коллагена и БСА. Лазерные швы, полученные после обработки Chondroitinase-ABC (Ch-ABC) генипином показали большую прочность соединения: Chi-RB (Ch-ABC) -  $57\pm 7$  кПа, Chi-GP - (Ch-ABC)  $68\pm 18$  кПа, Chi-RB-GP - (Ch-ABC)  $63\pm 5$  кПа.

Лазерные сварные швы, полученные без применения генипина, отличались меньшей прочностью на разрыв: Chi -  $12\pm 7$  кПа, Chi-GP -  $23\pm 12$  кПа, Chi-RB -  $36\pm 13$  кПа, RB -  $13\pm 0,9$  кПа. Прочность на разрыв контрольного образца без использования лазерного припоя составила  $7\pm 1$  кПа.

В [16] использовался хитозан совместно с гнипиной и ИЦЗ. В группе 1 применялась водная дисперсия хитозана (1,8 мас. %) с уксусной кислотой (2 об. %) и ИЦЗ (0,02 мас. %). В группе 2 дополнительно к водной дисперсии добавлялись генипин (1 мас. %) и этанол (0,7 об. %). В качестве источника лазерного излучения использовался диодный GaAlAs лазер ( $\lambda_{\text{ген}}=808$  нм). Лазерное излучение перемещалось вдоль шва со скоростью  $1 \frac{\text{мм}}{\text{с}}$ . Эксперименты по лазерной сварке проводились при мощности  $P=0,12\pm 0,01$  Вт, при длительности воздействия  $147\pm 7$  с. Плотность переданной энергии равнялась  $52\pm 2 \frac{\text{Дж}}{\text{см}^2}$ . Припой использовался для реконструкции анастомоза нервных волокон, поэтому для оценки прочности измерялась прочность на сдвиг (таблица 1.5).

Таблица 1.5 — Прочности на сдвиг лазерных сварных швов при использовании жидких нанодисперсных сред на основе хитозана и генипина.

Группа	Мощность, Вт	Время, с	Плотность энергии, $\frac{\text{Дж}}{\text{см}^2}$	Предел прочности, кПа
Группа 1	$0,12\pm 0,01$	$147\pm 7$	$52\pm 2$	$14,7\pm 4,3$
Группа 2	$0,12\pm 0,01$	$146\pm 4$	$51\pm 1$	$9,1\pm 2,9$

### 1.3.2 Хромофорные компоненты дисперсных сред

Абсорбционная способность биологических тканей и лазерных припоев обуславливается наличием в них хромофоров. Лазерное излучение поглощается водой в области инфракрасных длин волн, гемоглобином и меланином в области видимых длин волн.

В таблице 1.6 приведены значения коэффициента поглощения, рассеяния и глубины проникновения излучения для воды и биоткани для наиболее распространённых в медицинской практике лазеров [37].

Таблица 1.6 — Глубины проникновения излучения (L), значения коэффициентов поглощения ( $\mu_a$ ) и рассеяния ( $\mu'_s$ ).

Лазер	Вода		Биоткань		
	$\mu_a, \text{cm}^{-1}$	L, мкм	$\mu_a, \text{cm}^{-1}$	$\mu'_s, \text{cm}^{-1}$	L, мкм
CO <sub>2</sub> (10,6 мкм)	950	11	600		17
THC:YAG (2,15 мкм)	34	290			
Ho:YAG (2,09 мкм)	37	270	35		286
Tm:YAG (2,01 мкм)	75	133	67		150
Diode (1,9 мкм)	100	100	80		125
Nd:YAG (1,320 мкм) (1,064 мкм)	1,2	8333	4,3	18	600
	0,1	100000	0,7	22	1400
GaAlAs (805 нм)	0,01	1000000	3,8	29	520
KTP (532 нм)			13	60	190
Argon (514,5 нм) (488 нм)			12	63	190
			16	68	160

Коэффициент поглощения биоткани на длине волны  $\lambda=10,6$  мкм достаточно высокий благодаря содержащейся в ней воде. Поэтому при сваривании биотканей CO<sub>2</sub> лазером нет необходимости использовать экзогенные хромофоры. При использовании диодных лазеров возникает необходимость в применении экзогенных хромофоров в составе жидких нанодисперсных сред из-за низкого коэффициента поглощения биоткани на генерируемых длинах волн.

Одним из самых распространённых экзогенных хромофоров, используемых в жидких нанодисперсных средах для лазерного сваривания биологических тканей, является индоцианин зелёный (ИЦЗ). Это цианиновый краситель, используемый в медицинской диагностике. ИЦЗ обладает характерным спектром поглощения с максимумом при  $\sim 800$  нм.

Благодаря чему его часто применяют совместно с лазерами, обладающими длиной волны близкой к 800 нм. Как правило, это диодные лазеры.

ИЦЗ может применяться в жидких нанодисперсных средах для лазерного сваривания на основе БСА. Например, в [24] использовалась водная дисперсия БСА (25 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %), ГК (0,5 мас. %). Коэффициент поглощения дисперсии составил  $342,5 \text{ см}^{-1}$  на длине волны  $\lambda=808 \text{ нм}$ . В качестве источника лазерного излучения использовался Ho:YAG лазер.

ИЦЗ может использоваться в составе не только жидких нанодисперсных сред, но и твёрдых материалов для сваривания биологических тканей. В [15] для создания твёрдых плёнок для лазерной сварки использовалась водная дисперсия БСА (25 мас. %) и ИЦЗ (2,5 и  $0,25 \frac{\text{г}}{\text{л}}$ ). Концентрации ИЦЗ соответствовали глубине проникновения 35 и 85 мкм. Дисперсию помещали под пресс и сжимали до толщины  $0,15 \pm 0,01 \text{ мм}$ , затем нарезали полосками  $3 \times 1 \text{ мм}$ . В качестве источника лазерного излучения использовался диодный GaAlAs лазер ( $\lambda_{\text{ген}}=808 \text{ нм}$ ,  $P=1,5 \text{ Вт}$ ). Диаметр пятна лазерного излучения составлял 1,5 мм, скорость его перемещения  $0,3 \frac{\text{мм}}{\text{с}}$ . Время экспонирования излучения для жидких дисперсий и плёнок составило 80 и 40 с соответственно при лазерной сварке. На рисунке 1.12 а показана диаграмма температур, достигаемых в процессе лазерного сваривания. На рисунке 1.12 б показана достигнутые прочности на разрыв сварных соединений.



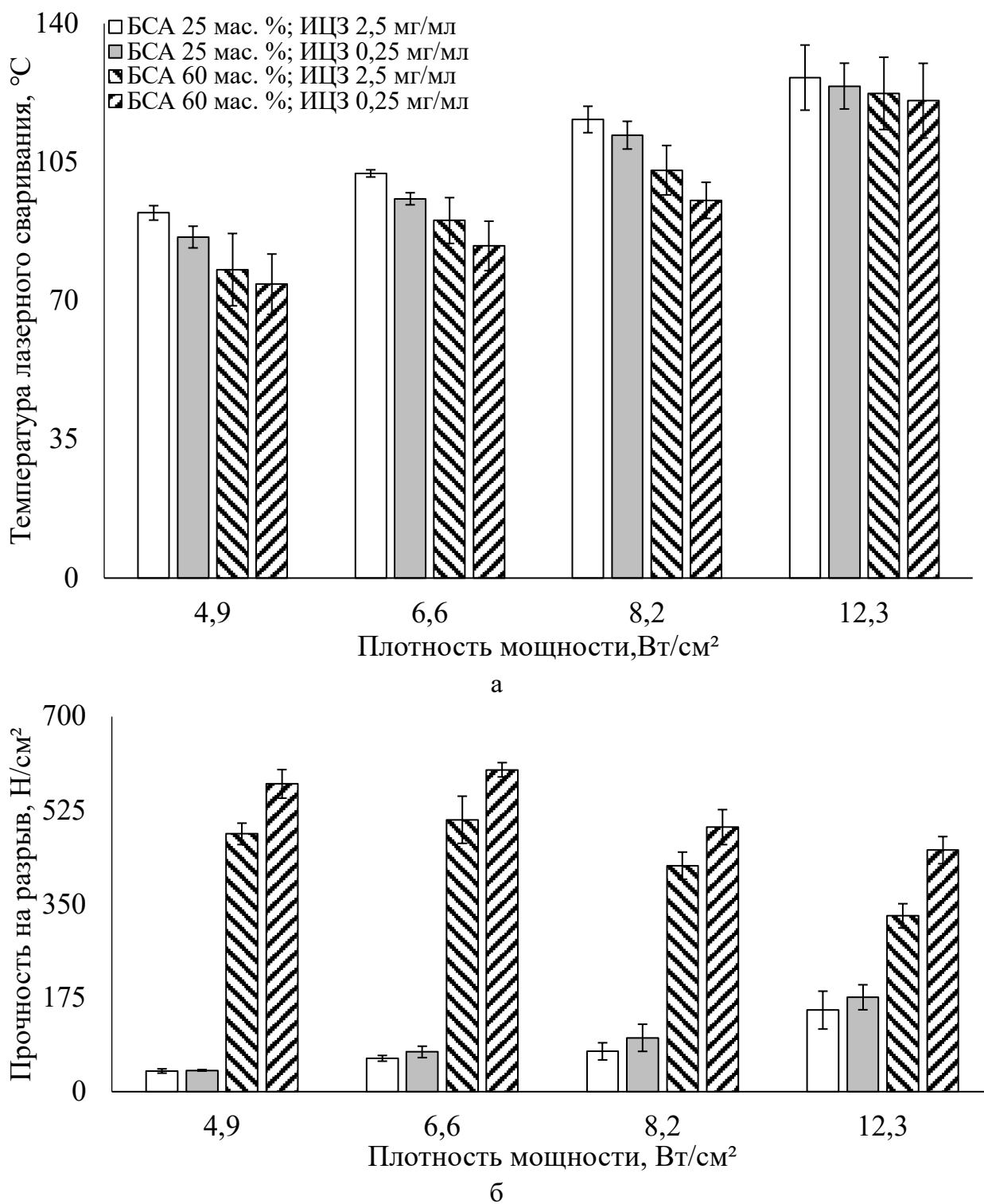


Рис. 1.12 — Значения температур лазерного сваривания (а) и прочностей на разрыв лазерных сварных швов (б)

При лазерном сваривании биологических тканей, как правило, измеряется температура соединяемых поверхностей. Не менее важным является распространение нагрева вглубь биоткани для последующей денатурации используемых дополнительных веществ и белков биоткани. На

рисунке 1.13 приведена зависимость глубины денатурации биоткани от температуры поверхности.

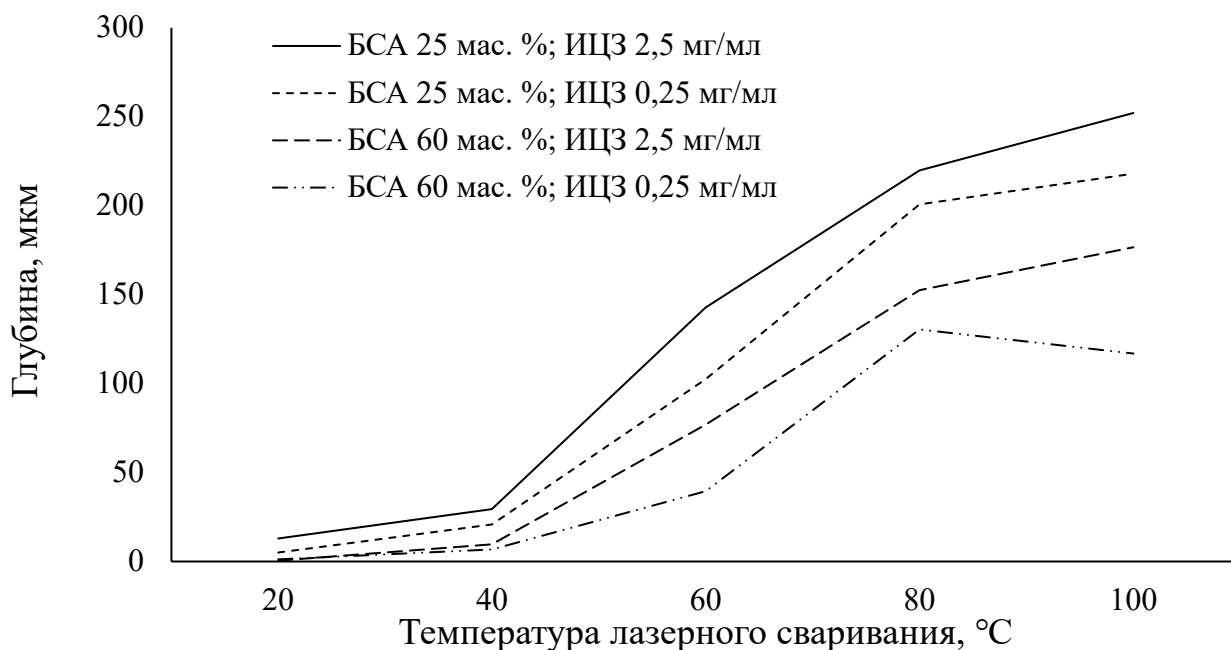


Рис. 1.13 — Зависимость глубины термической коагуляции биологической ткани от температуры лазерного сваривания

Помимо ИЦЗ в дисперсиях для лазерного сваривания биологических тканей используются и другие красители: 1,8-нафталимид [59, 60], бенгальский розовый [60], рибофлавин-5-фосфат [61, 62], флуоресцеин [63], метиленовый синий [63] и N-hydroxypyridine-2-(1H)-thione [63]. В таблице 1.7 приведены длины волны максимума поглощения и коэффициенты поглощения хромофоров при длинах волн, используемых лазеров.

Вышеупомянутые красители являются также фотосенсибилизаторами. В активированном состоянии они реагируют с нуклеофильными аминокислотными остатками, такими как триптофан, тирозин, цистеин и метионин. Образование ковалентных поперечных связей в коллагене типа I является механизмом, обеспечивающим сваривание биологических тканей, с использованием бромированных 1,8-нафталимидных красителей, активированных с помощью лазерного излучения  $\lambda_{ген}=420$  нм.

Таблица 1.7 — Характеристики используемых при лазерном сваривании экзогенных хромофоров

Экзогенный хромофор	Длина волны максимума поглощения	Коэффициент поглощения
1,8-нафталимид	440 нм	$13100 \frac{1}{\text{Мсм}}$ при 420 нм
Бенгальский розовый	550 нм	$33000 \frac{1}{\text{Мсм}}$ при 514 нм
Рибофлавин-5-фосфат	445 нм	$4330 \frac{1}{\text{Мсм}}$ при 488 нм
Флуоресцеин	490 нм	$88300 \frac{1}{\text{Мсм}}$ при 488 нм
Метиленовый синий	664 нм	$15600 \frac{1}{\text{Мсм}}$ при 661 нм
N-Hydroxypyridine-2-(1H)-thione	314 нм	$2110 \frac{1}{\text{Мсм}}$ при 351 нм

Фотосенсибилизаторы также продуцируют межмолекулярные ковалентные соединения в белках [63, 64-69]. 1,8-нафталимида использовался для сваривания мениска и суставного хряща [70], а бенгальский розовый для сварки роговицы глаза [61].

### 1.3.3 Наночастицы в составе дисперсных сред

Использование различных компонентов в лазерных припоях преследует ряд целей: повышение прочности сварного шва, снижение вероятности возникновения температурного некроза тканей, уменьшение времени формирования сварного шва и прочее [71-77]. Наночастицы, благодаря своей структуре, могут обладать новыми характеристиками, не свойственными материалу, из которого они состоят. Например, благодаря эффекту плазмонного резонанса, сферические наночастицы обладают спектром поглощения, зависящим от их размеров.

Согласно вышесказанному, в [29] использовался комбинированный лазерный припой на основе коллагена и золотых наностержней (ЗНС).

Припой облучался в течение 4 мин с плотностью мощности в диапазоне от 0,83 до 2,5 Вт/см<sup>2</sup> и длиной волны лазерного излучения  $\lambda=800$  нм. Производилось два варианта гидрогеля на основе коллагена типа I. Они отличались тем, что второй был дополнительно обезвожен под внешним давлением. Оба гидрогеля инкубировались в 5 мас. % водной дисперсии золотых наночастиц (ЗНЧ) при 28 °С в течение 24 ч. На рисунке 1.14 представлены СЭМ изображения.

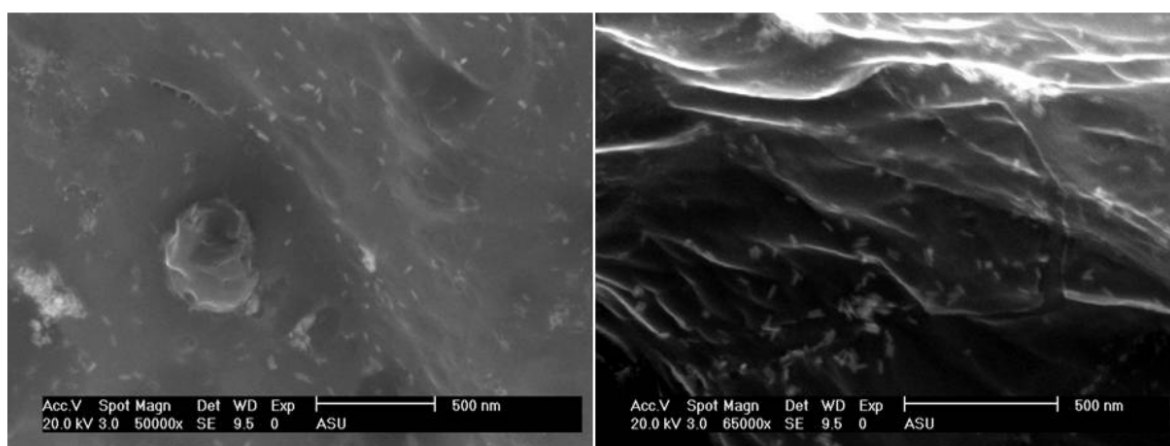


Рис. 1.14 — Сканирующие электронно-микроскопические изображения 5 мас. % композита ЗНЧ – коллаген нанокompозита. Снимки получены при ускоряющем напряжении 20 кВ. Отдельные ЗНЧ длиной 59 нм и диаметром 15 нм равномерно распространены по объёму нанокompозита

Использование наночастиц позволило значительно повысить прочность лазерного сварного соединения. Швы, полученные при непрерывном режиме работы лазера, обладали большей прочностью на разрыв ~ 25 кПа.

ЗНЧ возможно использовать не только совместно с коллагеном, но и БСА. В [22] применялся припой на основе водной дисперсии БСА с концентрацией 35 и 40 мас. % и золотых наночастиц с ядрами из диоксида кремния для лазерного сваривания мышцы курицы. Размер ядер из диоксида кремния составлял ~120 нм, а толщина оболочки ядер из золота 5÷20 нм. На рисунке 1.15 показаны спектры поглощения описанных наночастиц с толщиной оболочки 5, 7, 10 и 20 нм. Как видно из рисунка 1.15, изменение толщины золотой оболочки приводит к смещению пика спектров

поглощения в диапазоне от 750 до 1050 нм. Это позволяет использовать описанные ЗНЧ при работе с лазерным излучением разных длин волн.

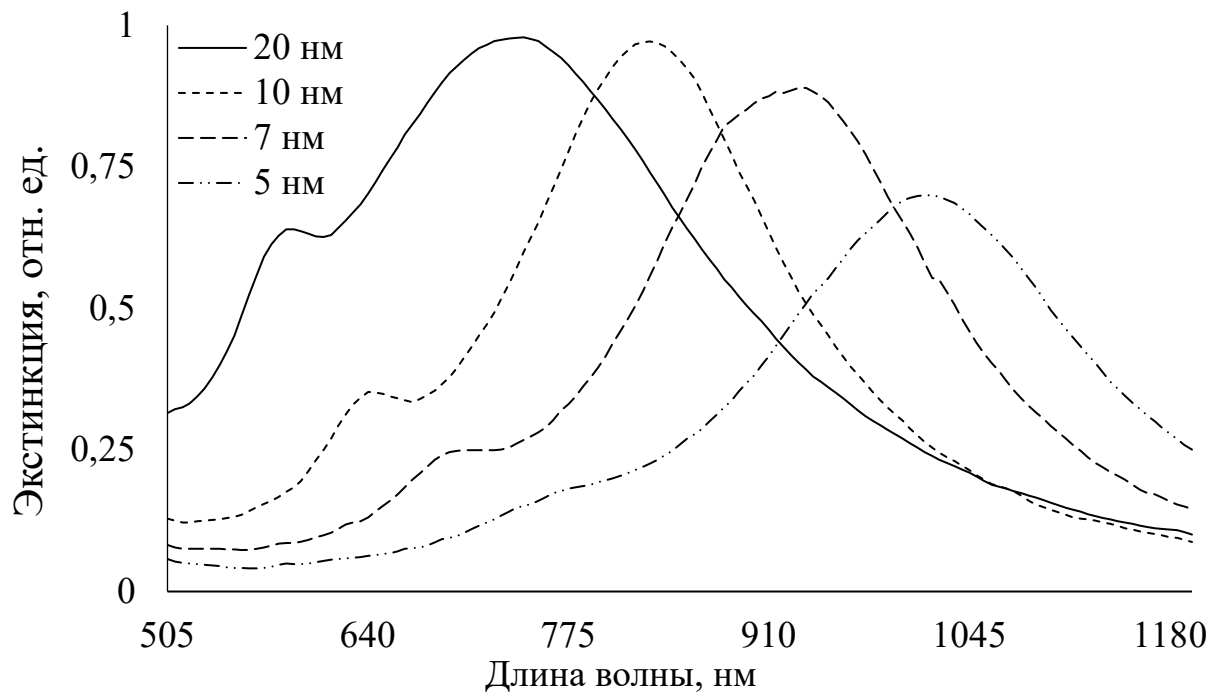


Рис. 1.15 — Спектры поглощения ЗНЧ при разной толщине золотой оболочки

На рисунке 1.16 представлены результаты прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных при разных режимах лазерного излучения и использовании разных припоев. Использование припоев с большей концентрацией альбумина приводит к образованию шва с большей прочностью. Сварка осуществлялась при двух углах падения лазерного излучения  $90^\circ$  и  $60^\circ$ . Лазерное сваривание при угле наклона  $60^\circ$  привело к большей прочности на разрыв сварного шва, что может быть объяснено отсутствием дополнительного поглощения через сдентурированный верхний слой шва. Большая прочность на разрыв достигалась при использовании припоя с большей концентрацией БСА и меньшей плотностью лазерного излучения ( $40 \text{ мас. \%}$  и  $20 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$  соответственно).

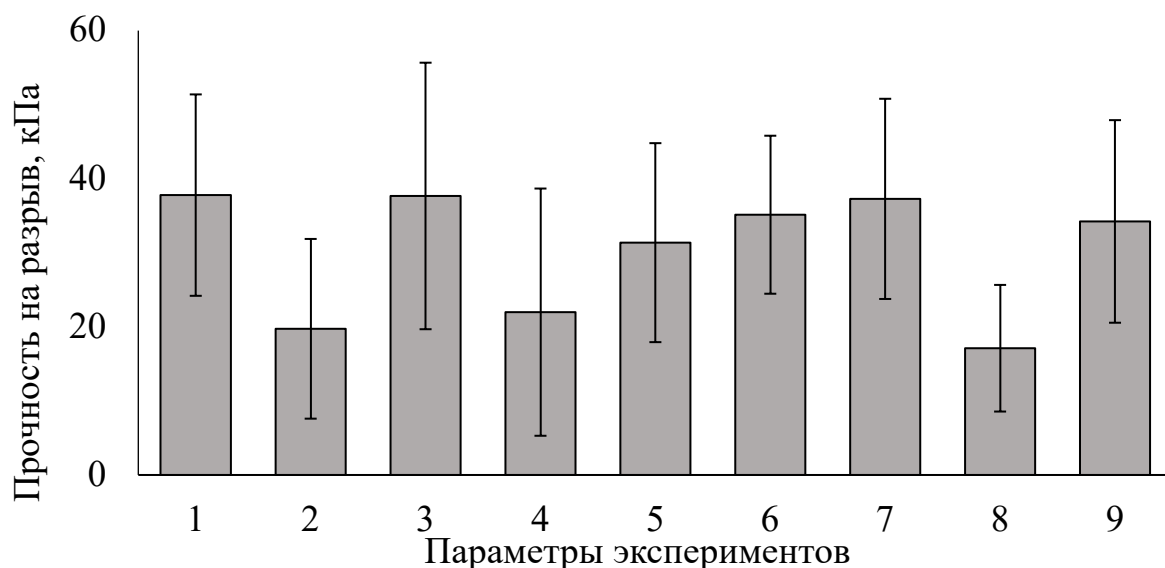


Рис. 1.16 — Прочности на разрыв лазерных сварных швов. Параметры экспериментов представлены в таблице 1.8

Сферические золотые наночастицы могут использоваться в припое для лазерного сваривания кожи крысы [23]. В исследовании использовался припой на основе водной дисперсии БСА с концентрациями 25, 35 и 40 мас. % и ЗНЧ концентрацией  $10^{10} \frac{\text{частиц}}{\text{мл}}$ . Максимум спектра поглощения дисперсии был равен 821 нм. Лазерная сварка осуществлялась при плотности мощности  $I=20 \frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$  и длине волны лазерного излучения  $\lambda=808$  нм. При использовании припоя на основе БСА 35 мас. % была достигнута прочность на разрыв  $\sigma=34,0 \pm 10,7$  кПа, а при использовании БСА 45 мас. %  $\sigma=36,1 \pm 13,5$  кПа.

Таблица 1.8 — Параметры экспериментов по лазерному свариванию мышцы курицы.

Эксперимент №	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Угол облучения, °	90				60				
БСА, мас. %	35	40	35	40	35	40	35	40	
Плотность мощности, $\frac{\text{Вт}}{\text{см}^2}$	20		56		20		56		

Золотые наночастицы могут использоваться не только в составах водных дисперсий и плёнок [78]. В [28] использовались хитозановые плёнки легированные золотыми наностержнями (длиной 59 нм и диаметром 15 нм) для лазерной сварки свиной сонной артерии. Была достигнута прочность на разрыв  $\sigma=24\pm3$  кПа при мощности лазерного излучения  $P=0,9$  Вт, времени  $t=100$  нс, длине волны  $\lambda=810$  нм и плотности энергии  $130 \frac{\text{Дж}}{\text{см}^2}$ .

Металлические наночастицы могут использоваться при лазерном облучении длиной волны  $\lambda=1064$  нм (Nd:YAG лазер). Использовались наночастицы Au-Ag с частотой плазмонного резонанса при 437 нм и Au-Cu при 545 нм.

## Выводы по Главе 1

1. Описаны существующие и часто применяемые методы соединения рассечённых биологических тканей. Однако, при использовании шовного метода возможно образование рубцов и неполная герметизация получаемого шва сразу после его формирования. При использовании клеевого метода могут возникать некоторые негативные ответные реакции организма в месте соединения на отдельные компоненты связующего вещества. Другой применяемый механический метод соединения биологических тканей подразумевает использование нерезорбируемых соединительных материалов.

2. Приведены описания установок, применяемых для лазерного сваривания биологических тканей на основе лазеров как с непрерывной (газовый  $\text{CO}_2$ , твердотельный  $\text{Ho:YAG}$ , диодный  $\text{GaAlAs}$  и волоконный лазер с легированием эрбием), так и с импульсной (твердотельные  $\text{Nd:YAG}$ ) генерацией излучения. Использование систем обратной температурной связи позволяет стабилизировать температуру лазерного сваривания, что даёт возможность снижения степени температурного некроза тканей и повышения прочности на разрыв швов.

3. Описаны наиболее распространённые составы нанодисперсных сред, используемых при лазерном сваривании биологических тканей. Как правило, это водные дисперсии бычьего сывороточного альбумина, коллагена, хитозана, гиалуроновой кислоты, хромофора индоцианина зелёного с добавлением металлических наночастиц.



## ГЛАВА 2. ФОРМИРОВАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЛАЗЕРНЫХ СВАРНЫХ ШВОВ С НАНОДИСПЕРСНЫМИ СРЕДАМИ

### 2.1 Жидкие нанодисперсные среды для лазерного сваривания биологических тканей

#### 2.1.1 Компонентный состав жидких нанодисперсных сред

Основным недостатком метода лазерного сваривания биологических тканей, ограничивающим его широкое распространение, является недостаточно высокая прочность на разрыв соединений.

Для повышения прочности на разрыв лазерного сварного шва использовались углеродные нанотрубки (УНТ) в качестве дополнительного компонента нанодисперсных сред бычьего сывороточного альбумина (БСА) и индоцианина зелёного (ИЦЗ).

Углеродные нанотрубки использовались в качестве армирующего компонента белковой матрицы лазерных сварных швов для повышения прочности на разрыв формируемых соединений. Хиральности углеродных нанотрубок в значительной степени влияют на их электрические характеристики и почти не влияют на механические. Следовательно, использование нанотрубок с конкретными хиральностями вместо ансамбля нанотрубок со всеми возможными комбинациями коэффициентов хиральности, получаемых при синтезе, не приведёт к повышению прочности на разрыв лазерных сварных швов.

Использование УНТ в качестве компонента нанодисперсных сред накладывает дополнительные требования к технологии их приготовления. УНТ в водных дисперсиях склонны к агрегированию под действием Ван-дер-Ваальсовых сил. Из-за чего образуются достаточно прочные структуры УНТ, которые не удаётся разбить на магнитной мешалке. Для преобразования этих структур водные дисперсии УНТ дополнительно обрабатывались в ультразвуковом гомогенизаторе QSONICA Q700. Оптическая плотность дисперсии увеличивается при уменьшении размеров дисперсных частиц. Из

чего следует, что если при увеличении длительности ультразвуковой обработки оптическая плотность не увеличивается, то практически достигнут минимальный размер дисперсных частиц.

Во время проведения экспериментов оптическая плотность дисперсий измерялась с использованием спектрофотометра ThermoScientificGenesys 10S UV-vis (рисунок 2.1) в диапазоне 400÷1190 нм.



Рисунок 2.1 — Спектрофотометр Thermo Scientific Genesys 10S UV-vis

На рисунке 2.2 представлены графики зависимости оптической плотности водных дисперсий одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) концентрацией 0,2 мас. %, обработанных с помощью магнитной мешалки ИКА С-MAG HS и ультразвукового гомогенизатора QSONICA Q700 от длины волны.

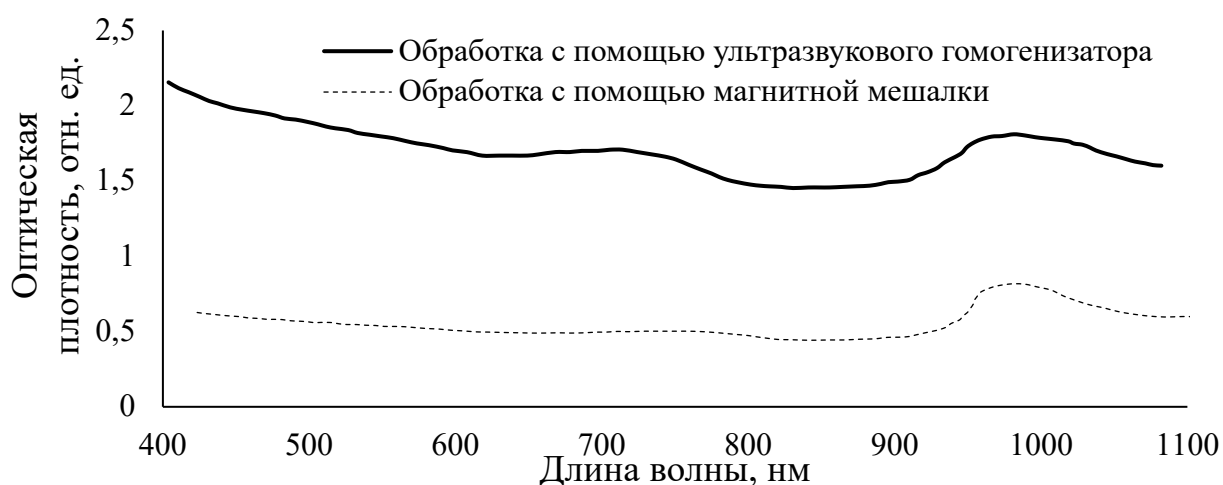


Рисунок 2.2 — Зависимость оптической плотности водных дисперсий ОУНТ (0,2 мас. %), обработанных с помощью магнитной мешалки и ультразвукового гомогенизатора, от длины волны

Оптическая плотность дисперсии ОУНТ (0,2 мас. %), обработанных с помощью магнитной мешалки, находится в диапазоне  $0,5 \div 0,8$ . А обработанных с помощью ультразвукового гомогенизатора в диапазоне  $1,4 \div 2,5$ . Следовательно, использование ультразвукового гомогенизатора снижает размеры дисперсных частиц.

С целью определения оптимального времени обработки дисперсии с помощью ультразвукового гомогенизатора три дисперсии ОУНТ (0,2 мас. %) обрабатывались в течение 30, 60 и 90 минут. На рисунке 2.3 представлены графики зависимости оптической плотности дисперсий от длины волны.

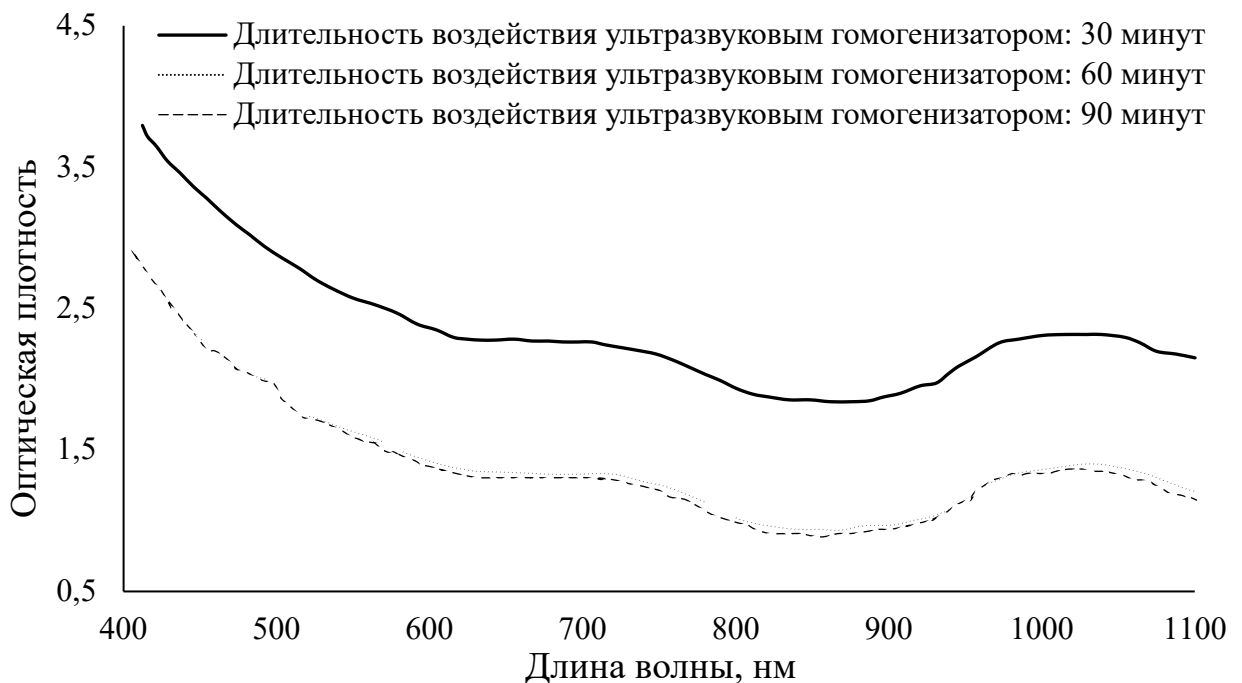


Рисунок 2.3 — Зависимость оптической плотности водных дисперсий ОУНТ (0,2 мас. %), обработанных с помощью ультразвукового гомогенизатора в течение: 30, 60 и 90 минут, от длины волны

Оптическая плотность дисперсии ОУНТ (0,2 мас. %) значительно не изменялась при длительности обработки более 60 мин. Оптимальное время обработки дисперсии углеродных нанотрубок составляет 30-60 мин.

Согласно приведённому выше анализу была сформирована методика приготовления жидких нанодисперсных сред с использованием УНТ для лазерного сваривания биологических тканей. В колбу помещалось

отмеренное количество воды. Затем в неё помещался порошок многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ) или паста ОУНТ. Дисперсия размешивалась с использованием магнитной мешалки ИКА С-MAG HS 4 (рисунок 2.4) в течение 20 мин.



Рисунок 2.4 — Магнитная мешалка ИКА С-MAG HS 4

Затем дисперсия обрабатывалась в ультразвуковом гомогенизаторе QSONICA Q700 (рисунок 2.5) в течение 45 мин. Мощность ультразвука в процессе гомогенизации варьировалась в диапазоне 25÷35 Вт.



Рисунок 2.5 — Ультразвуковой гомогенизатор QSONICA Q700

Ультразвуковой гомогенизатор QSONICA Q700 оборудуется температурным датчиком для предотвращения перегрева дисперсии и ультразвукового зонда (рисунок 2.6). Максимальная температура дисперсии равнялась 60 °С. При превышении этого значения генерация ультразвука прекращалась. При обработке в ультразвуковом гомогенизаторе дисперсия помещалась в охлаждающий контур.



Рисунок 2.6 — Температурный датчик для гомогенизатора Sonicator Q700

После обработки в ультразвуковом гомогенизаторе в дисперсию добавлялся порошок БСА и, в случае необходимости, ИЦЗ. Полученная дисперсия размешивалась с использованием магнитной мешалки в течение 20 мин и помещалась в ультразвуковую ванну Сапфир ТТЦ (рисунок 2.7), для обработки ультразвуком в течение 40 минут.



Рисунок 2.7 — Ультразвуковая ванна Сапфир ТТЦ

В случае, когда УНТ не использовались, водная дисперсия БСА и, при необходимости, ИЦЗ размешивались с использованием магнитной мешалки в течение 20 мин, затем помещалась в ультразвуковую ванну для обработки ультразвуком в течение 40 минут.

Порошки БСА и ИЦЗ размешивались до полного растворения в воде. Готовые дисперсии хранились при температуре не выше 6 °С не дольше 14 дней. Взвешивание всех компонентов дисперсий осуществлялось на аналитических весах AND HR-100A.

## 2.1.2 Математические алгоритмы методов исследования физических характеристик жидких нанодисперсных сред

Метод динамического рассеяния света (ДРС) основан на флуктуации локальных концентраций нанодисперсных сред вследствие броуновского движения частиц.

Временная автокорреляционная функция интенсивности рассеянного частицами нанодисперсной среды света имеет следующий вид [79]:

$$G(\tau) = \langle I(0)I(t - \tau) \rangle = \lim_{t_m \rightarrow \infty} \frac{1}{t_m} \int_0^{t_m} I(t)I(t - \tau) dt, \quad (2.1)$$

где  $I(t)$  – функция зависимости интенсивности рассеянного света от времени,  $\tau$  – величина временного смещения,  $t_m$  – время накопления,  $t$  – время.

Согласно формуле (2.1) временная автокорреляционная функция при  $\tau = 0$  равна среднеквадратичной интенсивности рассеяния ( $G(0) = \langle I^2 \rangle$ ).

При бесконечном времени измерения автокорреляционная функция равна квадрату средней интенсивности рассеяния

$$G(\tau) = \langle I(0)I(t - \tau) \rangle = \langle I(0) \rangle \langle I(t - \tau) \rangle = \langle I^2 \rangle. \quad (2.2)$$

Релаксация микроскопических флуктуаций концентрации к равновесному состоянию может быть описана уравнением диффузии

$$\frac{\partial c(\vec{r}, t)}{\partial t} = -D \nabla^2 c(\vec{r}, t), \quad (2.3)$$

где  $c(\vec{r}, t)$  – концентрация частиц и  $D$  – их коэффициент диффузии.

Автокорреляционная функция интенсивности рассеяния света в дисперсионной среде, поведение которой описывается законом Фика, экспоненциально затухает во времени. Корреляционная функция интенсивности рассеянного света (для случая квадратичного детектирования) имеет вид:

$$G(\tau) = a \exp\left(\frac{-2\tau}{t_c}\right) + b, \quad (2.4)$$

где  $a$  и  $b$  – экспериментальные константы, а обратное время корреляции  $\frac{1}{t_c}$  находится в соответствии с решением уравнения диффузии:

$$\frac{1}{t_c} = Dq^2. \quad (2.5)$$

Абсолютное значение волнового вектора флуктуаций концентрации:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right), \quad (2.6)$$

где  $n$  - показатель преломления дисперсионной среды,  $\lambda$  –длина волны падающего лазерного излучения и  $\theta$  – угол рассеяния света.

Величины  $t_c$ ,  $a$  и  $b$  определяются путём аппроксимации измеренной корреляционной функции теоретической экспоненциальной функцией. Для сферических невзаимодействующих между собой частиц размер их может быть рассчитан с использованием формулы Стокса-Эйнштейна:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R}, \quad (2.7)$$

где  $k_B$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура и  $\eta$  – сдвиговая вязкость среды, в которой взвешены частицы радиуса  $R$ .

Вышеописанный метод позволяет различать близкие размеры дисперсных частиц, если их размеры отличаются друг от друга не менее чем в 2-3 раза.

Измерение гидродинамических радиусов агрегатов компонентов лазерных припоев осуществлялось на установке Photocor Complex изготовителя ООО «Фотокор» с использованием программного обеспечения Photocor Software.

Измерения гидродинамических радиусов агрегатов компонентов дисперсий осуществлялись в двух режимах. Первый режим подразумевал измерение гидродинамических радиусов агрегатов при комнатной температуре. Второй – при постепенном нагреве в диапазоне от 25 до 74 °С с шагом от 1 до 5 °С.

Измерение теплофизических характеристик нанодисперсных сред осуществлялось методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Принцип действия ДСК основан на создании однородного температурного поля в печи калориметра. В сенсоре, выполненном в форме диска, распространяются равные тепловые потоки, направленные к исследуемому образцу и к эталону. Если теплоемкости сторон образца и эталона различаются или если в образце происходит поглощение или выделение тепла, т.е. изменение тепловых потоков вследствие фазовых переходов или реакций, то все это приводит к возникновению температурного градиента внутри сенсора, являющегося хорошим проводником. Чувствительные температурные сенсоры регистрируют эти градиенты и таким образом измеряют очень быстро и точно любое изменение тепловых потоков. Такие отклонения отображаются на горизонтальной базисной линии калориметра в виде экзотермических или эндотермических пиков или ступеней и образуют кривую дифференциального теплового потока [80].

Осуществлялись измерения различных теплофизических характеристик водных дисперсий, что накладывало ограничения на максимальную температуру нагрева до 100 °С.

С помощью ДСК возможно измерение изобарной теплоёмкости и энтальпии фазовых переходов веществ. Определение теплоемкости проводилось в соответствии с учетом ДСК-сигнала образцов, синтетического сапфира (стандарта) и незаполненных тиглей согласно формуле:

$$C_{P,S} = C_{P,St} \frac{DSC_S}{DSC_{St}}, \quad (2.8)$$

где  $C_{P,S}$  – теплоемкость образца,  $C_{P,St}$  – теплоемкость стандарта,  $DSC_S$  – сигнал ДСК для образца с учетом массы образца и сигнала ДСК для незаполненного тигля,  $DSC_{St}$  – сигнал ДСК для стандарта с учетом массы стандарта и сигнала ДСК для незаполненного тигля.

Также можно оценить ряд термодинамических функций на основе зависимости  $C_{P,S}$  от температуры. Энтальпия процесса может быть посчитана по следующей формуле:



$$H_{T_2} - H_{T_1} = \int_{T_1}^{T_2} C_{P,S} dt, \quad (2.9)$$

а энтропия:

$$S_{T_2} - S_{T_1} = \int_{T_1}^{T_2} \frac{C_{P,S}}{T} dt. \quad (2.10)$$

По кривым ДСК также можно определить энтальпию фазового перехода в исследуемом веществе. При фазовом переходе генерируется дополнительный тепловой поток  $\Phi_r$  ( $\Phi_r > 0$  при эндотермических и  $\Phi_r < 0$  при экзотермических преобразованиях). Таким образом, суммарный тепловой поток зависит от двух факторов: теплоёмкости исследуемого вещества и теплоты фазового преобразования. В нулевом приближении ДСК кривая описывается следующим соотношением

$$DSC = -r\beta\Delta C_P, \quad (2.11)$$

где  $r = \frac{\Delta x}{S\lambda}$  – тепловое сопротивление проводника,  $S$  – площадь поперечного сечения,  $\lambda$  – коэффициент теплового расширения,  $\Delta x$  – длина образца, а  $\Delta C_P = (\Delta C_{P,S} - \Delta C_{P,Sf})$ .

В первом приближении тепловой поток, генерируемый в образце, описывается следующим соотношением:

$$DSC = -r\Phi_r - r\beta\Delta C_P - \tau_1 \frac{d\Delta T}{dt}. \quad (2.12)$$

Во втором приближении тепловой поток, генерируемый в образце, описывается следующим соотношением:

$$DSC = -r\Phi_r - r\beta\Delta C_P - \tau_1 \frac{d\Delta T}{dt} - \tau_1\tau_2 \frac{d^2\Delta T}{dt^2}. \quad (2.13)$$

Теплота фазового перехода может быть вычислена путём интегрирования теплового потока фазового перехода от момента его начала ( $t_s$ ) до момента окончания ( $t_f$ ):

$$Q_r = \int_{t_S}^{t_F} \Phi_r dt = \int_{t_S}^{t_F} \left[ -\frac{1}{r} (DSC - DSC_{BL}) \right] dt, \quad (2.14)$$

где сигнал базовой линии равен  $DSC = -r\beta\Delta C_p$ .

Также по кривым ДСК можно определить пики и границы фазовых переходов. Критерием пика является равенство первой переменной по времени нулю:

$$\frac{dDSC}{dt} = 0. \quad (2.15)$$

Начальная и конечная температуры фазового перехода соответствуют пересечению экстраполированной в область пика базовой линии и касательных, проведенных через точку перегиба.

## 2.2 Формирование композитной структуры сварного шва под действием лазерного излучения

При облучении биологической ткани и припоя происходит поглощение, отражение, рассеяние и переизлучение. При лазерном сваривании можно пренебречь отражением, рассеянием и переизлучением.

Лазерное излучение поглощается припоем и биологической тканью в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$I(l) = I_0 e^{-k_\lambda l}, \quad (2.16)$$

где  $I$  – интенсивность лазерного излучения,  $k_\lambda$  – коэффициент поглощения,  $l$  – толщина слоя вещества. Энергия поглощённого лазерного излучения расходуется на фазовые переходы компонентов дисперсии и их нагрев. При лазерном сваривании биологических тканей осуществляется локальный нагрев дисперсии, что приводит к возникновению градиента температуры и теплообмена. Процесс теплообмена в дисперсии и свариваемой ткани описывается уравнением теплопроводности [81]:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} - \nabla(k\nabla T) = Q, \quad (2.17)$$

где  $\rho$  – плотность,  $C_p$  – теплоёмкость,  $T$  – температура,  $k$  – коэффициент теплопроводности,  $Q$  – источники тепла.

Формирование лазерного сварного шва в основном происходит за счёт денатурации белков используемой дисперсии и соединяемых биологических тканей [82].

Скорость денатурации БСА ( $v$ ) является первой производной концентрации  $C$  по времени:

$$v = -\frac{dC}{dt}. \quad (2.18)$$

Если исходить из предположения, что денатурация БСА с точки зрения химической кинетики является реакцией первого рода, то:

$$v = kC, \quad (2.19)$$

где  $k$ -константа скорости химической реакции.

Тогда

$$\frac{dC}{dt} = -kC,$$

или

$$\int_0^{\tau} k dt = \int_{C_0}^{C_{\tau}} -k \frac{dC}{C} = -(\ln C_{\tau} - \ln C_0) = \ln \frac{C_0}{C_{\tau}}, \quad (2.20)$$

где  $C_0$  – концентрация альбумина в начальный момент времени,  $C_{\tau}$  – концентрация неденатурированного альбумина в момент времени  $t = \tau$ .

Согласно уравнению Аррениуса, константа скорости химической реакции равна:

$$k = A e^{-\frac{E_a}{RT}}, \quad (2.21)$$

где  $E_a$  – энергия активации,  $R$  – газовая постоянная,  $A$  – предэкспоненциальный коэффициент, который примерно равен [81]:

$$A \cong \frac{k_B T}{h} e^{\frac{\Delta S}{R}}, \quad (2.22)$$

где  $k_B$  – постоянная Больцмана,  $h$  – постоянная Планка,  $S$  – энтропия активации процесса денатурации.

Следовательно, оценить долю денатурированных белков, содержащихся в соединяемой биологической ткани и дисперсии, можно с помощью следующего соотношения [81]:

$$\Omega(\tau) = \ln \frac{C_0}{C_\tau} = \int_0^\tau A e^{-\frac{E_a}{RT(t)}} dt. \quad (2.23)$$

### 2.3 Лазерная система для сваривания биологических тканей

Лазерная система для лазерного сваривания биологических тканей основан на диодном лазере с длиной волны  $\lambda=810$  нм. Лазерное излучение транспортируется оптическим волокном сечением 600 мкм от лазера до коллиматора (фокусное расстояние  $f=10,6$  мм).

Лазерное сваривание биологических тканей подразумевает температурную денатурацию белков в области сварного шва. При чрезмерно интенсивном воздействии лазерного излучения на биологическую ткань возникает температурный некроз, который может привести к обугливанию и возгоранию. Для снижения температурного некроза живой биологической ткани лазерная система оснащена обратной температурной связью.

Лазерная система оснащена хирургическим зондом. В нём размещены ИК-датчик MLX90614ESF-BCI производителя Melexis, коллиматор лазерного излучения и видеочамера (рисунок 2.8).

Оптические оси ИК-датчика и коллиматора расположены под углом  $37^\circ$  относительно друг друга. Они пересекаются в зоне лазерного сваривания биологической ткани. Угол обзора ИК-датчика равен  $5^\circ$ . Область лазерного сваривания определяется размером пятна лазерного излучения. После прохождения через коллиматор лазерный луч имеет круглое сечение диаметром  $\sim 2$  мм. Соответственно, для корректного измерения температуры области лазерного сваривания диаметр области зрения ИК-датчика не должен превышать 2 мм, что соответствует его удалённости от области измерения не более чем на 2,2 см.

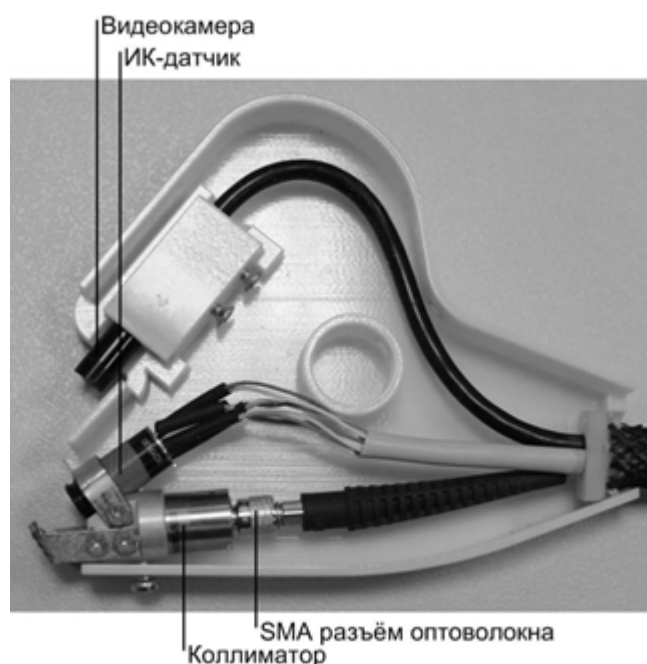


Рисунок 2.8 — Хирургический зонд лазерной системы для лазерного сваривания биологических тканей

В качестве элемента управления обратной температурной связью используется микроконтроллер ARM Cortex-M4 производителя ST Microelectronics. Микроконтроллер обладает частотой тактирования 168 МГц, 1<sup>им</sup> Мбайтом Flash-памяти, коммуникационными интерфейсами: I2C, USART.

ИК-датчик соединяется с микроконтроллером по шине I2C. Микроконтроллер коммутируется с блоком питания и персональным компьютером через UART интерфейс по шине RS 232.

Обратная температурная связь должна постоянно варьировать мощность лазерного излучения таким образом, чтобы в области лазерного сваривания биологической ткани поддерживалась необходимая заданная температура. Управление мощностью лазерного излучения осуществляется путём изменения силы тока, протекающего через лазерные диоды (мощность излучения зависит от силы тока линейно).

Вычисление необходимой силы тока лазерных диодов осуществляется согласно пропорционально-интегрально-дифференциальному (ПИД)

регулятору. ПИД регулятор состоит из трёх составляющих: пропорциональной ( $P$ ), интегральной ( $I$ ) и дифференциальной ( $D$ ):

$$I(t) = P + I + D = K_p T(t) + K_I \int_0^t T(\tau) d\tau + K_D \frac{dT}{dt}, \quad (2.24)$$

где  $K_p, K_i, K_d$  – коэффициенты усиления пропорциональной, интегральной и дифференциальной составляющих соответственно,  $T(t)$  – разность значений между текущим и заданным значениями температур области лазерного сваривания.

В случае применения данного алгоритма на уровне программного кода (а не устройств преобразования аналогового сигнала) интеграл и дифференциал невозможно использовать, т.к. данные не являются непрерывными функциями. В данном случае интеграл заменяют суммой, а дифференциал отношением разности значений управляемого параметра к интервалу времени. Форма ПИД алгоритма примет вид:

$$u_{i+1} = K_p e_i + K_I \sum_{k=0}^i e_k + K_D \frac{e_{i+1} - e_i}{\Delta t}. \quad (2.25)$$

## Выводы по Главе 2

1. Разработан метод приготовления нанодисперсных сред на основе бычьего сывороточного альбумина, углеродных нанотрубок и хромофора индоцианина зелёного.

2. Описан процесс формирования лазерного сварного шва, который происходит при денатурации бычьего сывороточного альбумина и последующем восстановлении химических связей между различными молекулами альбумина и углеродных нанотрубок.

3. Приведена структура разработанной установки для лазерного сваривания биологических тканей, основанной на полупроводниковом лазере. В установке для снижения степени температурного некроза свариваемой биологической ткани и повышения прочности на разрыв сварных швов используется температурная обратная связь.

4. Указано, что метод дифференциальной сканирующей калориметрии позволяет измерить энергию активации, теплоёмкость нанодисперсных сред и определить предэкспоненциальный множитель уравнения Аррениуса. Метод динамического рассеяния света применим для определения размеров агрегатов компонентов нанодисперсных сред.

Основные результаты выполненных работ, указанных в главе 2, опубликованы в [83-95].

### ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЖИДКИХ НАНОДИСПЕРСНЫХ СРЕД ПРИ НАГРЕВЕ

#### 3.1 Спектральные характеристики жидких нанодисперсных сред

Поглощение лазерного излучения нанодисперсной средой и свариваемой биологической тканью описывается законом Бугера — Ламберта — Бера:

$$\ln\left(\frac{I(l)}{I_0}\right) = -k_\lambda l, \quad (3.1)$$

где  $I(l)$  – интенсивность лазерного излучения, прошедшего через слой среды толщиной  $l$ ,  $I_0$  – интенсивность падающего лазерного излучения,  $k_\lambda$  – коэффициент поглощения.

Энергия лазерного излучения, поглощённого соединяемыми биологическими тканями и используемой нанодисперсной средой, преобразуется в тепловую энергию. Это приводит к нагреву свариваемых тканей. Из-за повышения температуры в нанодисперсной среде происходит денатурация альбумина при образовании сварного шва. При нагреве свариваемой биологической ткани также происходит денатурация входящих в её состав белков. Это может привести к некрозу свариваемых тканей и снижению прочности сварного соединения тканей.

Для снижения степени температурного некроза в нанодисперсные среды добавляют экзогенные хромофоры. В качестве такого хромофора был использован краситель индоцианин зелёный (ИЦЗ).

На рисунке 3.1 представлены спектры поглощения излучения в водных дисперсиях бычьего сывороточного альбумина (БСА) 25 мас. % и БСА 25 мас. % + индоцианина зелёного (ИЦЗ) 0,1 мас. %.



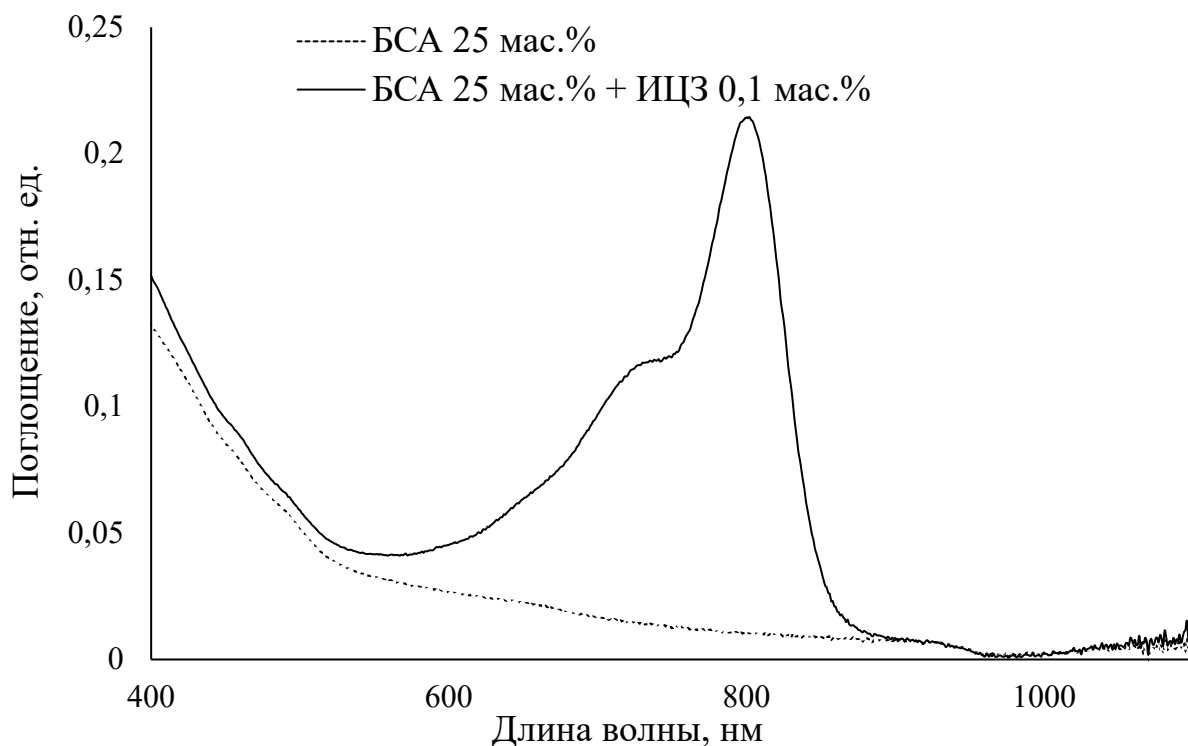


Рисунок 3.1 — Спектры поглощения излучения в водных нанодисперсных средах на основе БСА (25 мас. %) и БСА (25 мас. %) + ИЦЗ (0,1 мас. %)

ИЦЗ, наряду с однослойными углеродными нанотрубками (ОУНТ), используется в качестве компонентов водных нанодисперсных сред в малых концентрациях.

Если считать, что вся поглощённая лазерная энергия полностью трансформируется в тепловую  $Q(l)$ , то согласно закону Бугера — Ламберта — Бера:

$$Q(l) = P_0 \Delta t - P_0 10^{-k_\lambda l} \Delta t, \quad (3.2)$$

где  $P_0$  — мощность падающего лазерного излучения,  $\Delta t$  — время длительности лазерного сваривания. При повышении коэффициента поглощения среды увеличивается количество адсорбированной энергии и нагрев среды. Добавление дополнительных компонентов в нанодисперсную среду приводит к повышению её коэффициента поглощения. На рисунке 3.2 показаны спектры поглощения водных дисперсий многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ) с концентрацией 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % и

дисперсии МУНТ с концентрацией 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % + ИЦЗ 0,1 мас. %.

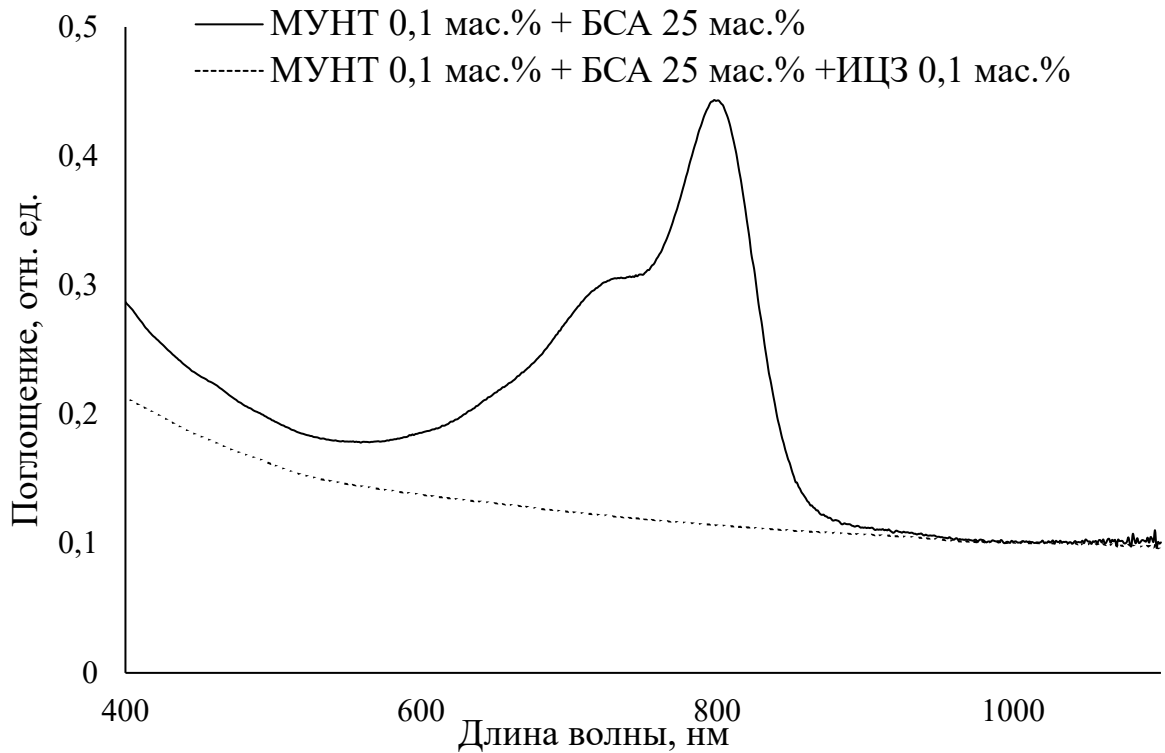


Рисунок 3.2 — Спектры поглощения излучения водных дисперсий МУНТ с концентрацией 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % и МУНТ с концентрацией 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % + ИЦЗ 0,1 мас. %

Для двух нанодисперсных сред с коэффициентами поглощения  $k'_\lambda$  и  $k''_\lambda$

$$Q' = P_0 - P_0 10^{-k'_\lambda l} \Delta t. \quad (3.3)$$

$$Q'' = P_0 - P_0 10^{-k''_\lambda l} \Delta t. \quad (3.4)$$

$$\frac{Q''}{Q'} = \frac{P_0 \Delta t - P_0 10^{-k''_\lambda l} \Delta t}{P_0 \Delta t - P_0 10^{-k'_\lambda l} \Delta t} = \frac{1 - 10^{-k''_\lambda l}}{1 - 10^{-k'_\lambda l}}. \quad (3.5)$$

Введём коэффициент селективности  $\eta$ :

$$\eta = \frac{Q_{\text{НДС}}}{Q_{\text{БТ}}}, \quad (3.6)$$

где  $Q_{\text{НДС}}$  – энергия, поглощённая нанодисперсной средой,  $Q_{\text{БТ}}$  – энергия, поглощённая свариваемой биологической тканью. Если считать распределение мощности в пучке лазерного излучения однородным, то:

$$Q_{\text{НДС}} = P_0 \frac{S_1}{S} (\Delta t - 10^{-k_{\lambda}^{\text{НДС}} l} \Delta t). \quad (3.7)$$

$$Q_{\text{БТ}} = P_0 \frac{S_2}{S} (\Delta t - 10^{-k_{\lambda}^{\text{БТ}} l} \Delta t), \quad (3.8)$$

где  $S$  – площадь поперечного сечения лазерного пучка,  $S_1$  – часть  $S$ , занимаемая нанодисперсной средой,  $S_2$  – часть  $S$ , занимаемая свариваемой биологической тканью,  $k_{\lambda}^{\text{НДС}}$  – коэффициент поглощения излучения нанодисперсной среды,  $k_{\lambda}^{\text{БТ}}$  – коэффициент поглощения излучения свариваемой биологической ткани. Причём  $S = S_1 + S_2$ . Подставим (3.7) и (3.8) в (3.6):

$$\eta(k_{\lambda}^{\text{БТ}}, k_{\lambda}^{\text{НДС}}) = \frac{P_0 \frac{S_1}{S} (\Delta t - 10^{-k_{\lambda}^{\text{НДС}} l} \Delta t)}{P_0 \frac{S_2}{S} (\Delta t - 10^{-k_{\lambda}^{\text{БТ}} l} \Delta t)} = \frac{S_1 (1 - 10^{-k_{\lambda}^{\text{НДС}} l})}{S_2 (1 - 10^{-k_{\lambda}^{\text{БТ}} l})}. \quad (3.9)$$

При сечении пучка лазерного излучения диаметром 2 мм и шириной области формирования сварного шва 1 мм,  $\frac{S_1}{S_2} \sim 3,1$ . В таблице 3.1 приводятся значения коэффициента поглощения  $k_{\lambda}^{\text{НДС}}$  для различных составов нанодисперсных сред на длине волны поглощения излучения  $\lambda=810$  нм.

Таблица 3.1 — Коэффициентов поглощения излучения используемых нанодисперсных сред.

Состав нанодисперсной среды				$k_{\lambda}^{\text{НДС}}, \text{м}^{-1}$
БСА	ИЦЗ	МУНТ	ОУНТ	
25 мас. %				2
25 мас. %	0,1 мас. %			38
25 мас. %		0,1 мас. %		40
25 мас. %	0,1 мас. %	0,1 мас. %		82
25 мас. %			0,1 мас. %	100
25 мас. %	0,1 мас. %		0,1 мас. %	134

Коэффициенты селективности соответственно равны:

$$\eta(k_{\lambda}^{\text{БСА}}, k_{\lambda}^{\text{БСА+ИЦЗ}}) = 55,5; \quad \eta(k_{\lambda}^{\text{БСА+МУНТ}}, k_{\lambda}^{\text{БСА+МУНТ+ИЦЗ}}) = 6,1;$$

$$\eta(k_{\lambda}^{\text{БСА+ОУНТ}}, k_{\lambda}^{\text{БСА+ОУНТ+ИЦЗ}}) = 4. \text{ Использование ИЦЗ во всех применяемых}$$

составах нанодисперсных сред приводит к повышению селективности лазерного воздействия. На рисунке 3.3 приведён график зависимости поглощения излучения нанодисперсных сред на основе ОУНТ 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % и ОУНТ 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % + ИЦЗ 0,1 мас. %.

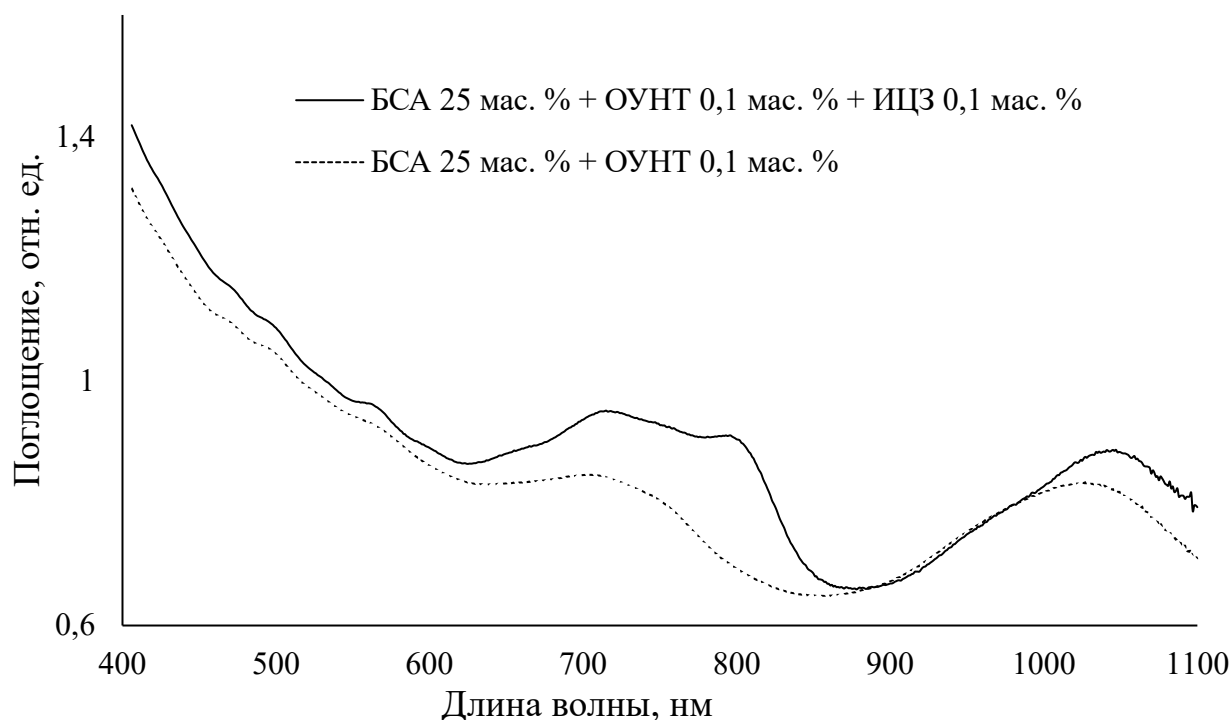


Рисунок 3.3 — Спектры поглощения излучения в водных нанодисперсных средах на основе ОУНТ 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % и ОУНТ 0,1 мас. % + БСА 25 мас. % + ИЦЗ 0,1 мас. %

### 3.2 Зависимость агрегатного состава жидких нанодисперсных сред от температуры методом динамического рассеяния света

Измерения в водной дисперсии бычьего сывороточного альбумина (БСА) с концентрацией 25 мас. % производились с шагом 5 °С в диапазоне от 25 °С до 60 °С и 1 °С вне этого диапазона, при угле рассеяния излучения  $\alpha=120^\circ\text{С}$ .

При нагреве дисперсии от 25 до 50 °С размеры мономеров БСА увеличились от  $4,1\pm 0,7$  до  $7\pm 1,1$  нм (рисунок 3.1). Это могло быть связано с разрушением структуры белка 3 и 4 уровней. Дальнейший нагрев дисперсии БСА приводит к снижению размеров мономеров с  $7\pm 1,1$  нм до  $5,6\pm 0,5$  нм в

результате восстановления разорванных при нагреве химических связей. В результате этого процесса формируется структура лазерного сварного шва, создаваемого с использованием такой дисперсии.

На рисунке 3.4 показана зависимость размеров мономеров БСА от температуры.

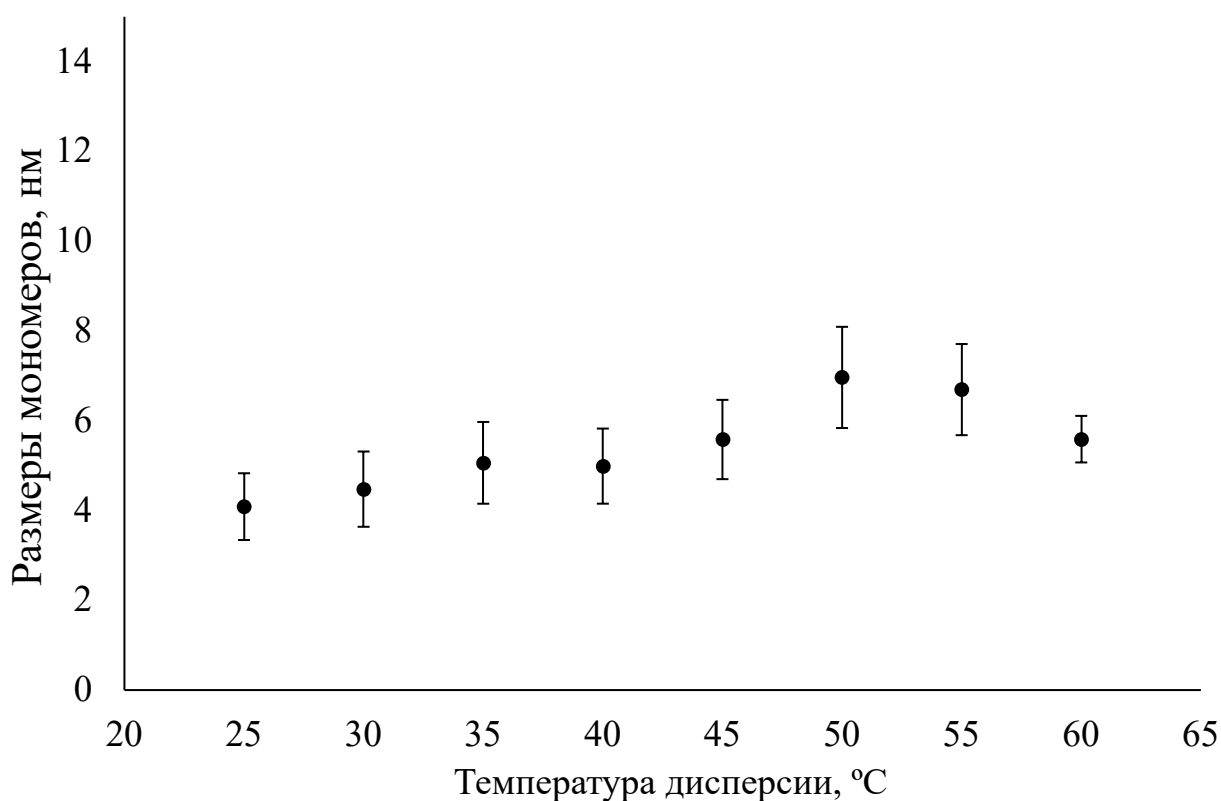


Рисунок 3.4 — Зависимость размеров мономеров водной дисперсии БСА от температуры

По сравнению с мономерами размеры малых агрегатов БСА ( $37,2 \pm 16,3$  нм) значительно не изменялись при нагреве от 25 до 45 °С (рисунок 3.5). При более высоких температурах они переставали детектироваться. Это можно объяснить разрушением слабых химических связей, объединяющих мономеры в малые агрегаты.

Большая погрешность измерения объясняется особенностью метода динамического рассеяния света (ДРС) и распределения мономеров и агрегатов по размерам.

В приборе Photocor Complex для измерения размеров агрегатов кювета с образцом измеряемой нанодисперсной среды располагается в иммерсионной жидкости. В процессе нагрева тепло сначала передаётся иммерсионной жидкости, затем стенкам кюветы и далее исследуемой нанодисперсной среде. Вследствие этого молекулы БСА при нагреве нанодисперсной среды могут нагреваться неоднородно во всём объёме. Разные температуры нагрева соответствуют разным степеням денатурации молекул альбумина и, как следствие, разным размерам мономеров БСА.

На рисунке 3.5 показана зависимость размеров малых агрегатов водной дисперсии БСА от температуры.

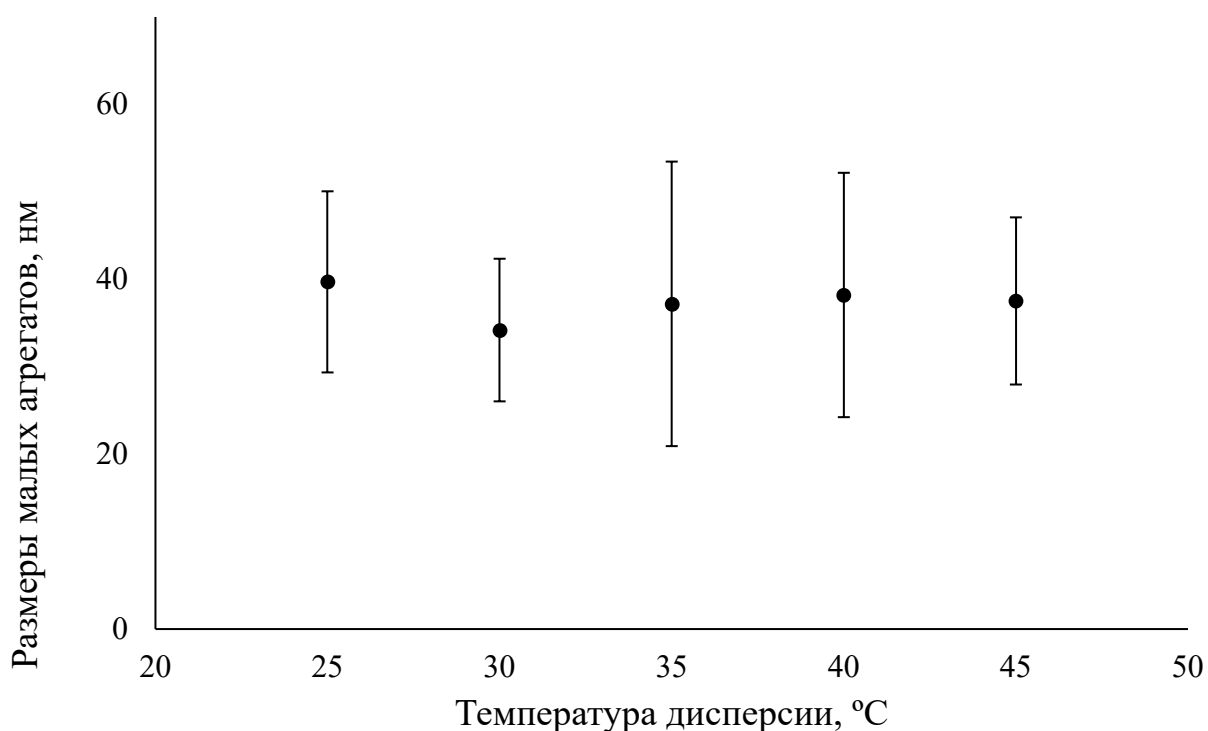


Рисунок 3.5 — Зависимость размеров малых агрегатов водной дисперсии БСА от температуры

В каждый момент времени с использованием прибора Photocor Complex вычисляются усреднённые гидродинамические радиусы всех находящихся в области измерения мономеров и агрегатов.

Метод ДРС оптимизирован для анализа размеров сферических частиц. При измерении гидродинамических радиусов несферических частиц с

использованием метода ДРС вычисляется их среднее значение, соответствующее минимальному и максимальному размерам измеряемой частицы.

Минимальные размеры больших агрегатов (рисунок 3.6) и максимальные размеры мономеров (рисунок 3.4) наблюдались при одних и тех же температурах нанодисперсной среды. Малые агрегаты БСА представляют собой молекулы белка альбумина. При нагреве дисперсии разрушаются третичная и четвертичная структуры молекулы белка. Эти молекулы разворачиваются в полимерную нить аминокислотных остатков, отдельные участки которой формируют  $\alpha$ -спирали или  $\beta$ -структуры. Разворачивание молекул из глобул в нить увеличивает гидродинамический радиус агрегатов, измеряемый методом ДРС.

Большие агрегаты БСА состоят из групп молекул, удерживаемых вместе слабыми химическими связями. При нагреве часть из агрегатов может разрушаться, так что большие агрегаты распадаются на более мелкие. Затем отдельные молекулы БСА связывают агрегаты всех размеров вместе, используя высвободившиеся после разрушения третичной и четвертичной структур химические связи. Этим объясняется рост размеров больших агрегатов при нагреве выше 55 °С при формировании композитного сварного шва.

На рисунке 3.6 представлена зависимость размеров больших агрегатов БСА от температуры

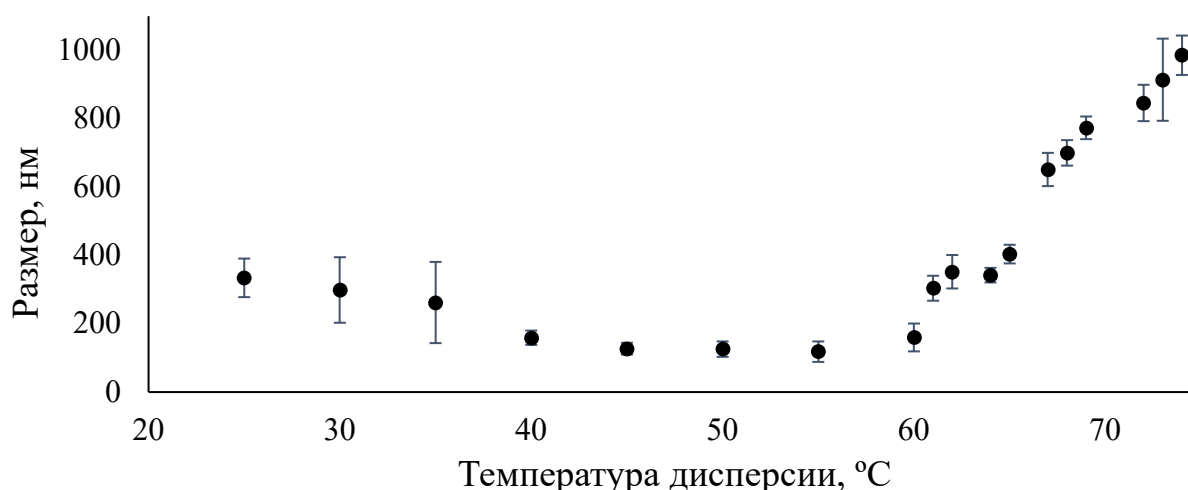


Рисунок 3.6 — Зависимость размеров больших агрегатов водной дисперсии БСА от температуры

Указанные измерения производились в диапазоне температур от 25 до 60 °C с шагом 5 °C. Размеры мономеров в водных дисперсиях БСА и БСА+ИЦЗ при нагреве вели себя схожим образом (рисунок 3.7 а). При нагреве от 25 до 50 °C наблюдалось увеличение размеров малых агрегатов в дисперсии БСА+ИЦЗ от  $4,1 \pm 2,0$  нм до  $6,1 \pm 3,2$  нм. При дальнейшем нагреве от 50 до 60 °C размеры малых агрегатов снижались в дисперсии БСА+ИЦЗ до  $3,6 \pm 0,6$  нм. Максимальный размер агрегатов достигался при температуре 50 °C.

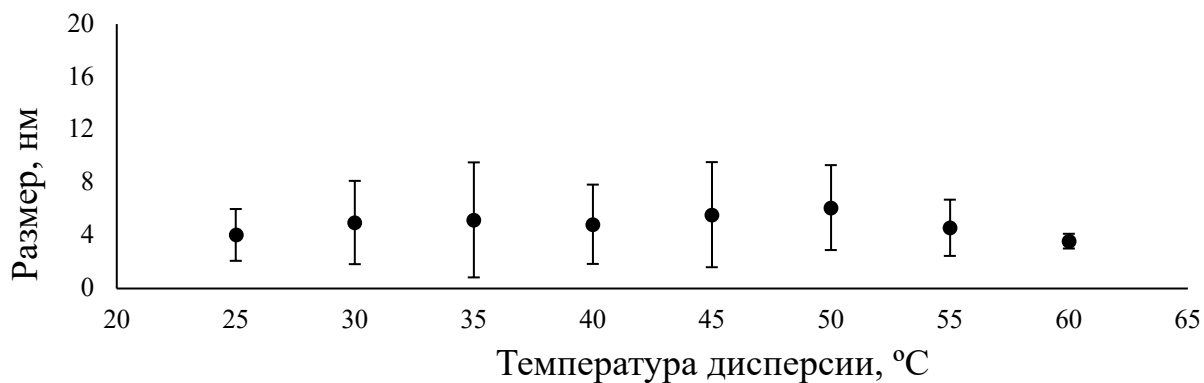
Высокая погрешность измерения размеров агрегатов дисперсии БСА+ИЦЗ можно объяснить многократным рассеянием в ИЦЗ лазерного излучения в Photocor Complex.

На рисунке 3.7 показана зависимость размеров мономеров (а), малых (б) и больших агрегатов (в) водной дисперсии БСА+ИЦЗ от температуры.

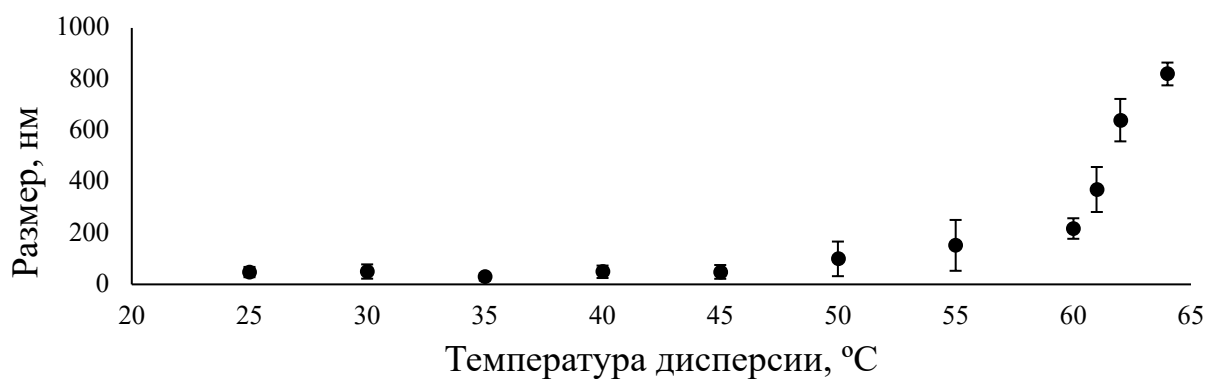
Малые агрегаты в дисперсии БСА+ИЦЗ (рисунок 3.7 б) детектировались во всём температурном диапазоне измерений. В диапазоне температур от 25 до 45 °C не наблюдалось значимых изменений размеров малых агрегатов. В отличие от этого, при нагреве от 45 до 63 °C наблюдалось увеличение размеров малых агрегатов дисперсии БСА+ИЦЗ.



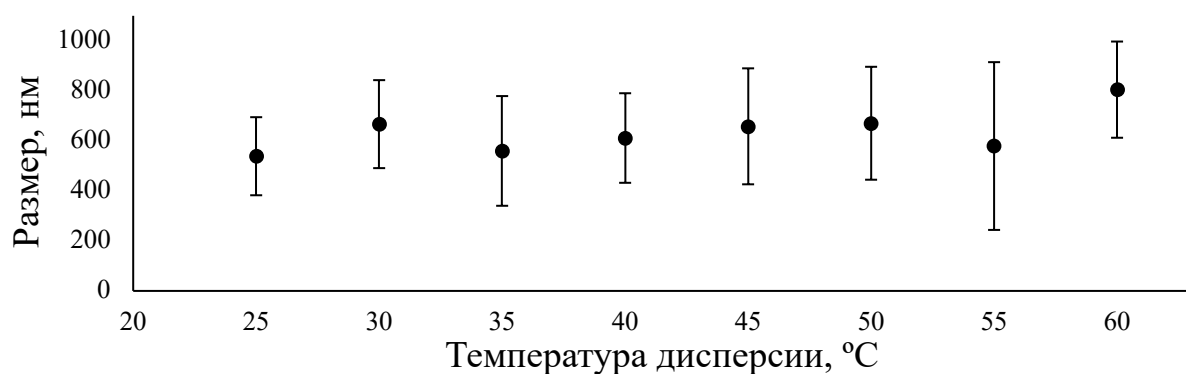
Большие агрегаты в дисперсии БСА+ИЦЗ (рисунок 3.7 в) детектировались при температурах от 25 до 60 °С. Размеры больших агрегатов в этой дисперсии монотонно увеличивались с изменением температуры. Вероятно, при больших температурах размер агрегатов превысит измерительные возможности комплекса (до 1000 нм).



а



б



в

Рисунок 3.7 — Зависимость размеров мономеров (а), малых (б) и больших агрегатов (в) водной дисперсии БСА+ИЦЗ от температуры

Размеры больших агрегатов дисперсии БСА были минимальны при температуре 50-55 °С. При нагреве дисперсии от 25 до 55 °С размеры больших агрегатов уменьшались с  $334 \pm 56$  до  $118 \pm 30$  нм. При дальнейшем нагреве дисперсии от 55 до 74 °С размеры больших агрегатов увеличивались до  $986 \pm 58$  нм.

Исследование методом динамического рассеяния света возможно только применительно ко средам с однократным рассеянием света. В используемых при лазерном сваривании нанодисперсных средах наблюдалось многократное рассеяние света. Для возможности исследования агрегатного состава нанодисперсных сред были снижены концентрации компонентов.

Гидродинамические радиусы мономеров (отдельных молекул БСА) не являются константными, а распределены согласно нормальному закону распределения. Вычислялись математические ожидания экспериментально полученных значений гидродинамических радиусов. Представленные доверительные интервалы во многом свидетельствуют не о погрешности измерений, а о характере распределений гидродинамических радиусов. Зависимость математического ожидания гидродинамических радиусов однозначно имеет максимум в диапазоне температур 50 до 55 °С, из чего можно сделать вывод, что и гидродинамические радиусы мономеров альбумина достигают максимума в указанном диапазоне температур.

### 3.3 Исследование фазового перехода жидких нанодисперсных сред (денатурации альбумина) методом дифференциальной сканирующей калориметрии

Энтропия и энергия активации процесса денатурации альбумина в нанодисперсной среде определялись с помощью метода динамической сканирующей калориметрии (ДСК).

Исследования проводились с использованием дифференциального сканирующего калориметра Netzsch DSC 204 F1 Phoenix (Netzsch-Geratebau

GmbH, Germany). Обработка результатов осуществлялась в программе Netzsch Proteus.

Исследовались 12 образцов водной дисперсии белка бычьего сывороточного альбумина (БСА) и одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ). В таблице 3.2 представлены данные измерений для пяти образцов с различным компонентным составом.

Таблица 3.2 — Компонентный состав образцов 1-5.

№ образца	Состав образца	
	БСА, мас. %	ОУНТ, мас. %
1	25	0,1
2	25	0,01
3	25	0,001
4	25	-
5	-	0,1

Образцы 1-5 с массой компонентов водной дисперсии  $23 \pm 5$  мг были исследованы с использованием предварительно откалиброванного дифференциального сканирующего калориметра в динамическом режиме. Нагрев образцов осуществлялся в герметично запрессованных алюминиевых тиглях в интервале температур  $25 \div 100$  °С при скорости сканирования 5 °С/мин. Точность измерения температуры составляла 0,1 °С.

Кривые зависимостей ДСК потоков от температуры для образцов водных дисперсий БСА с различной концентрацией ОУНТ (рисунок 3.8) имеют схожий характер: в интервале температур  $70 \div 95$  °С проявляется эндотермический эффект, связанный с тепловой денатурацией БСА.

Как видно из рисунка 3.9, с ростом концентрации ОУНТ наблюдается небольшое смещение начала и вершины пика денатурации в область более низких температур. При этом пик денатурации образца БСА без ОУНТ смещен вправо по оси абсцисс относительно пика образца с минимальной из исследуемых концентраций ОУНТ (0,001 мас. %).

Таким образом, наибольшее отличие в термическом поведении наблюдается для водных дисперсий БСА без ОУНТ и БСА с ОУНТ с

концентрацией 0,001 мас. %. У образца 5 в интервале температур 25÷100 °С аномалий кривых ДСК не наблюдалось.

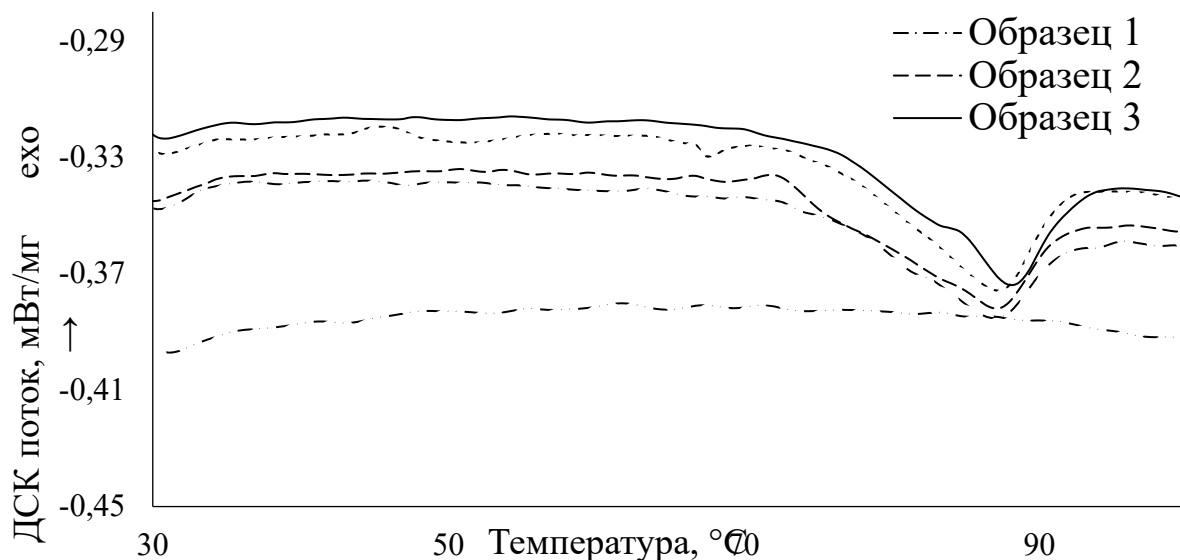


Рисунок 3.8 — Кривые ДСК потоков образцов водных дисперсий БСА с различной концентрацией ОУНТ

В таблице 3.3 представлены температуры экстраполированного начала ( $T_{\text{начало}}$ ) и вершины пиков ( $T_{\text{денатурации}}$ ) денатурации БСА для образцов 1-4, а также энергии денатурации в расчёте на 1 г дисперсии и на 1 г сухого остатка.

Таблица 3.3 — Температуры экстраполированного начала и вершины пиков денатурации БСА для образцов 1-4.

Образец	$T_{\text{начало}}, ^\circ\text{C}$	$T_{\text{денатурации}}, ^\circ\text{C}$	$\Delta H$ , Дж на 1 г дисперсии	$\Delta H'$ , Дж на 1 г сухого остатка
1	75,1	87,2	4,11	16,44
2	75,5	88,1	3,93	15,88
3	72,5	87,1	3,67	14,68
4	72,4	86,9	3,27	13,08

Для определения энергии активации ( $E_a$ ), модели реакции, энтропии и предэкспоненциального множителя для водных нанодисперсных сред с концентрацией БСА 25 мас. % и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %, были

получены ДСК кривые со скоростями сканирования 3, 5, 10 и 20  $\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{мин}}$  (рисунок 3.9 и 3.10).

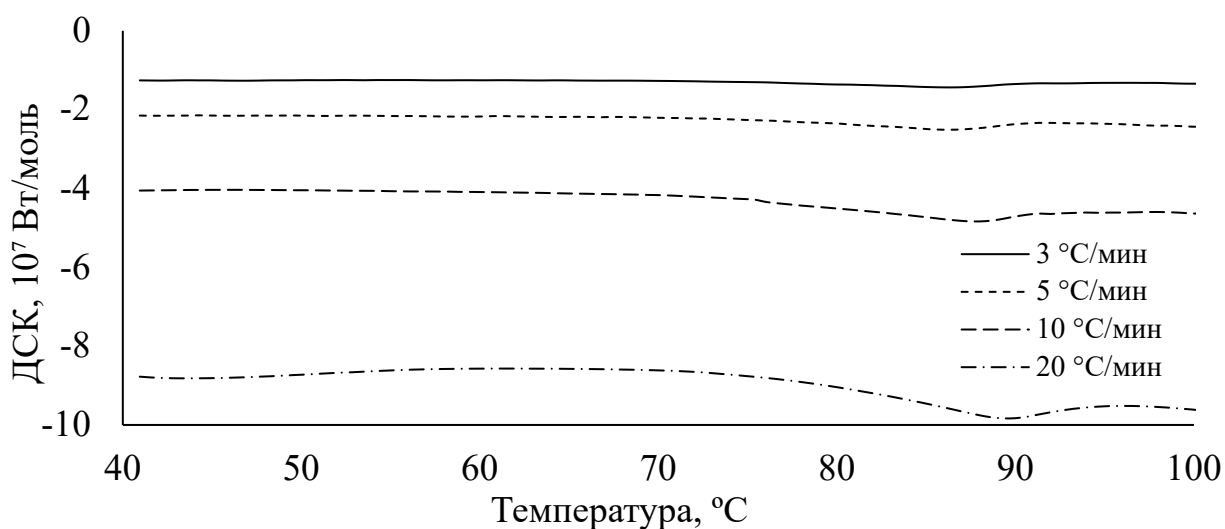


Рисунок 3.9 — ДСК кривые водной дисперсии БСА 25 мас. % при скоростях сканирования 3, 5, 10 и 20  $\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{мин}}$

При всех скоростях сканирования наблюдались характерные пики на кривых ДСК, соответствующие тепловой денатурации альбумина. При увеличении скорости сканирования пики денатурации становятся более выраженными.

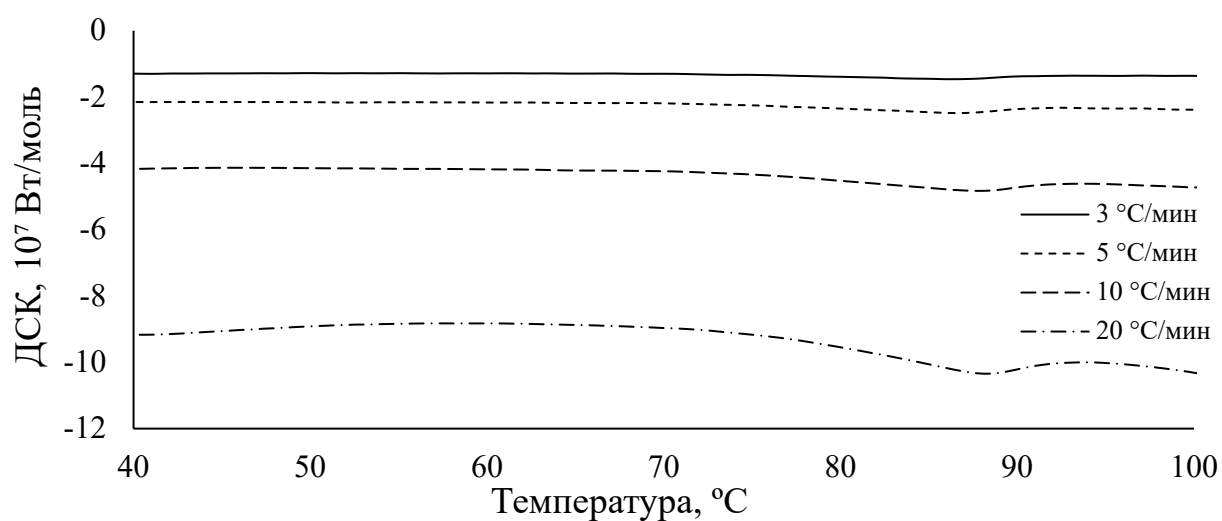


Рисунок 3.10 — ДСК кривые водной дисперсии БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. % при скоростях сканирования 3, 5, 10 и 20  $\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{мин}}$

На кривых ДСК для водной дисперсии БСА с концентрацией 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. % по сравнению с дисперсией БСА с концентрацией 25 мас. % не наблюдается значительных изменений. Это можно объяснить малой концентрацией ОУНТ в нанодисперсной среде. Температуры, соответствующие пикам денатурации БСА в присутствии ОУНТ были ниже по сравнению с результатами, полученными для БСА без ОУНТ. Также температуры пиков денатурации БСА не отличались значительно для разных скоростей сканирования (таблица 3.4)

Таблица 3.4 — Температуры пиков денатурации БСА в водной дисперсии с концентрацией БСА 25 мас. % и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %.

Скорость сканирования, $\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{мин}}$	БСА 25 мас. %	БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %
3	86,7	85,8
5	86,7	86,4
10	88	87,8
20	90	88,4

Используемые методы Озавы-Флинна-Уолла для определения энергии активации процесса денатурации ( $E_a$ ) и Кеннеди-Кларка для вычисления предэкспоненциального множителя используются только для реакций модели F1, поскольку дифференциальная форма модели принимается равной  $1-\alpha$  [96]. Поэтому, перед использованием данных методов необходимо убедиться, что процесс денатурации альбумина наиболее вероятно может быть описан с помощью модели реакции первого порядка (F1).

Модели реакций определялись по методу Коатса-Редферна. Для этого были построены графики в координатах метода для 19 различных моделей, приведенных в таблице 3.5 [96].

Таблица 3.5 — Модели химических реакций [96].

Обозначение	Дифференциальная форма модели, $f(\alpha)$	Интегральная форма модели, $g(\alpha)$	Обозначение	Дифференциальная форма модели, $f(\alpha)$	Интегральная форма модели, $g(\alpha)$
P1	$4\alpha^{\frac{3}{4}}$	$\alpha^{\frac{1}{4}}$	F2	$(1-\alpha)^2$	$\frac{1}{1-\alpha} - 1$
P2	$3\alpha^{\frac{2}{3}}$	$\alpha^{\frac{1}{3}}$	F3	$(1-\alpha)^3$	$\frac{1}{(1-\alpha)^2} - 1$
P3	$2\alpha^{\frac{1}{2}}$	$\alpha^{\frac{1}{2}}$	B1	$\alpha(1-\alpha)$	$\ln\left(\frac{\alpha}{1-\alpha}\right)$
P4	$\frac{2}{3}\alpha^{-\frac{1}{2}}$	$\alpha^{\frac{3}{4}}$	R2	$2(1-\alpha)^{\frac{1}{2}}$	$1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{2}}$
E1	$\alpha$	$\ln\alpha$	R3	$3(1-\alpha)^{\frac{2}{3}}$	$1 - (1-\alpha)^{\frac{1}{3}}$
A2	$2(1-\alpha)(-\ln(1-\alpha))^{\frac{1}{2}}$	$(-\ln(1-\alpha))^{\frac{1}{2}}$	D1	$\frac{1}{2}\alpha$	$\alpha^2$
A3	$3(1-\alpha)(-\ln(1-\alpha))^{\frac{2}{3}}$	$(-\ln(1-\alpha))^{\frac{1}{3}}$	D2	$(-\ln(1-\alpha))^1$	$(1-\alpha)\ln(1-\alpha) + \alpha$
A4	$4(1-\alpha)(-\ln(1-\alpha))^{\frac{3}{4}}$	$(-\ln(1-\alpha))^{\frac{1}{4}}$	D3	$\frac{3}{2}(1-\alpha)^{\frac{2}{3}}(1-(1-\alpha))^{\frac{1}{3}}$	$(1-(1-\alpha)^{\frac{1}{3}})^2$
F0	1	$\alpha$	D4	$\frac{3}{2}((1-\alpha)^{-\frac{1}{3}} - 1)^{-1}$	$1 - \frac{2\alpha}{3} - (1-\alpha)^{\frac{2}{3}}$
F1	$1-\alpha$	$-\ln(1-\alpha)$			

Согласно методу Коатса-Редферна [97] величина  $\ln \frac{g(\alpha)}{T^2}$  линейно зависит от  $\frac{1}{RT}$ . Для каждой модели химической реакции и каждой скорости вычислялась зависимость  $\ln \frac{g(\alpha)}{T^2}$  от  $\frac{1}{RT}$  и аппроксимировалась линейной функцией. Для каждого графика вычислялся коэффициент детерминации  $R^2$ . Максимальное значение  $R^2$  соответствует реальной модели реакции денатурации альбумина в отсутствии и присутствии ОУНТ.

Конверсия денатурации альбумина  $\alpha$  рассчитывалась по формуле:

$$\alpha = \frac{\int_{t_S}^t DSC_{BL} - DSC dt}{\int_{t_S}^{t_F} DSC_{BL} - DSC dt}, \quad (3.10)$$

где  $t$  – время,  $t_S$  – температура начала пика денатурации,  $t_F$  – температура окончания пика денатурации,  $DSC_{BL}$  – базовая линия процесса денатурации,  $DSC$  – кривая процесса денатурации альбумина. На рисунке 3.11 представлены графики конверсии альбумина  $\alpha$  в зависимости от температуры  $T$  для дисперсий БСА 25 мас. % (а) и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. % (б).

В процессе измерения данные температуры и соответствующие им значения кривой ДСК, по которым вычисляется конверсия  $\alpha$ , регистрировались через равные интервалы времени. Из-за различных теплофизических характеристик дисперсий дискретизация полученных значений конверсии  $\alpha$  была различной.

Затем по экспериментальным значениям методом линейной интерполяции вычислялась зависимость  $\alpha(T)$  с дискретизацией 0,5 ( $\alpha = 0; 0,5; 0,1 \dots 1$ ).

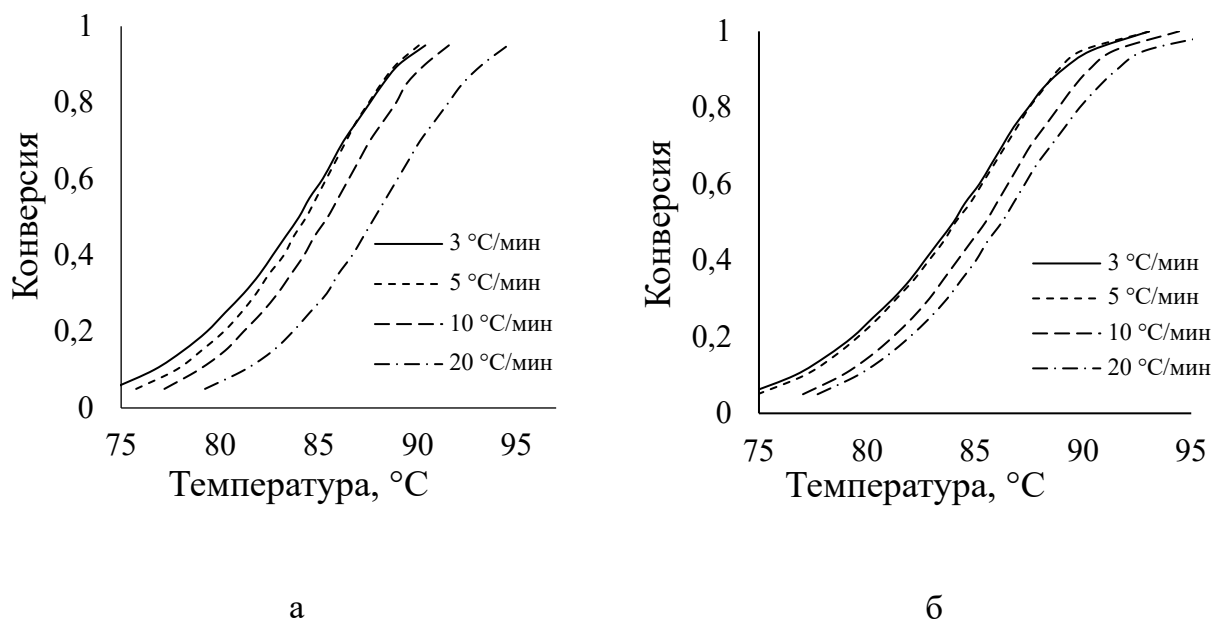


Рисунок 3.11 — Графики конверсии дисперсий БСА 25 мас. % (а) и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. % (б) при скоростях сканирования 3, 5, 10 и 20  $\frac{^{\circ}\text{C}}{\text{мин}}$

В таблице 3.6 представлены значения коэффициента детерминации  $R^2$  для 19 моделей реакции при скоростях нагрева  $\beta=3, 5, 10, 20$  К/с для дисперсий БСА 25 мас. % и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %.



Таблица 3.6 — Коэффициент детерминации  $R^2$  для 19 моделей реакции при скоростях нагрева  $\beta=3, 5, 10, 20$  К/с для дисперсий БСА 25 мас. % и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %.

БСА 25 мас. %, $\beta=3 \frac{\text{K}}{\text{c}}$							
P1	0.9487	E1	-	F0	0.9487	B1	0.0588
P2	0.9487	A2	0.9940	F1	0.9943	R2	0.9771
P3	0.9487	A3	0.9897	F2	0.9878	R3	0.9845
P4	0.9487	A4	0.9941	F3	0.9483	D1	0.9487
D2	0.9487	D3	0.9845	D4	0.9743		
БСА 25 мас. %, $\beta=5 \frac{\text{K}}{\text{c}}$							
P1	0,9508	E1	-	F0	0,9508	B1	0,0587
P2	0,9508	A2	0,9951	F1	0,9952	R2	0,9786
P3	0,9508	A3	0,9896	F2	0,9873	R3	0,9858
P4	0,9508	A4	0,9950	F3	0,9468	D1	0,9508
D2	0,9508	D3	9858	D4	0,9758		
БСА 25 мас. %, $\beta=10 \frac{\text{K}}{\text{c}}$							
P1	0,9357	E1	-	F0	0,9357	B1	0,067
P2	0,9357	A2	0,9872	F1	0,9896	R2	0,9682
P3	0,9357	A3	0,9894	F2	0,9918	R3	0,9771
P4	0,9357	A4	0,9891	F3	0,9586	D1	0,9357
D2	0,9561	D3	0,9771	D4	0,9649		
БСА 25 мас. %, $\beta=20 \frac{\text{K}}{\text{c}}$							
P1	0,9306	E1	-	F0	0,9306	B1	0,0753
P2	0,9306	A2	0,9880	F1	0,9881	R2	0,9647
P3	0,9306	A3	0,9878	F2	0,9952	R3	0,9743
P4	0,9306	A4	0,9875	F3	0,9657	D1	0,9306
D2	0,9519	D3	0,9743	D4	0,9613		

Продолжение таблицы 3.6 — Коэффициент детерминации  $R^2$  для 19 моделей реакции при скоростях нагрева  $\beta=3, 5, 10, 20$  К/с для дисперсий БСА 25 мас. % и БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %.

БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %, $\beta=3 \frac{\text{К}}{\text{с}}$							
P1	0,9511	E1	-	F0	0,9511	B1	0,0575
P2	0,9511	A2	0,9942	F1	0,9952	R2	0,9786
P3	0,9511	A3	0,9948	F2	0,9878	R3	0,9858
P4	0,9511	A4	0,9934	F3	0,9473	D1	0,9511
D2	0,9686	D3	0,9858	D4	0,9759		
БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %, $\beta=5 \frac{\text{К}}{\text{с}}$							
P1	0,9549	E1		F0	0,9549	B1	0,0513
P2	0,9549	A2	0,9952	F1	0,9956	R2	0,9810
P3	0,9549	A3	0,9948	F2	0,9831	R3	0,9875
P4	0,9549	A4	0,9936	F3	0,9392	D1	0,9549
D2	0,9549	D3	0,9875	D4	0,9784		
БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %, $\beta=10 \frac{\text{К}}{\text{с}}$							
P1	0,9403	E1	-	F0	0,9403	B1	0,0638
P2	0,9403	A2	0,9911	F1	0,9914	R2	0,9714
P3	0,9403	A3	0,9895	F2	0,9903	R3	0,9798
P4	0,9403	A4	0,9907	F3	0,9547	D1	0,9403
D2	0,9599	D3	0,9798	D4	0,9683		
БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %, $\beta=20 \frac{\text{К}}{\text{с}}$							
P1	0,9295	E1	-	F0		B1	0,075
P2	0,9295	A2	0,9858	F1	0,9875	R2	0,9638
P3	0,9295	A3	0,9864	F2	0,9950	R3	0,9735
P4	0,9295	A4	0,9838	F3	0,9658	D1	0,9295
D2	0,9509	D3	0,9765	D4	0,9604		

Согласно данным таблицы 3.6, максимальный коэффициент детерминации  $R^2$  соответствует модели реакции F1. Добавление ОУНТ в нанодисперсную среду не меняет применимости модели. Соответственно, методы Озавы-Флинна-Уолла для определения энергии активации процесса денатурации ( $E_a$ ) и Кеннеди-Кларка для вычисления предэкспоненциального множителя ( $A$ ) применимы для реакций денатурации альбумина БСА при формировании лазерного сварного шва.

Энергии активации рассчитывались методом Озавы-Флинна-Уолла [98, 99] по формуле:

$$\ln \beta = -1,0516 \frac{E_a}{RT} + const \quad (3.11)$$

На рисунке 3.12 представлены энергии активации и логарифмы предэкспоненциальных множителей денатурации альбумина в зависимости от конверсии водной дисперсии БСА 25 мас. %.

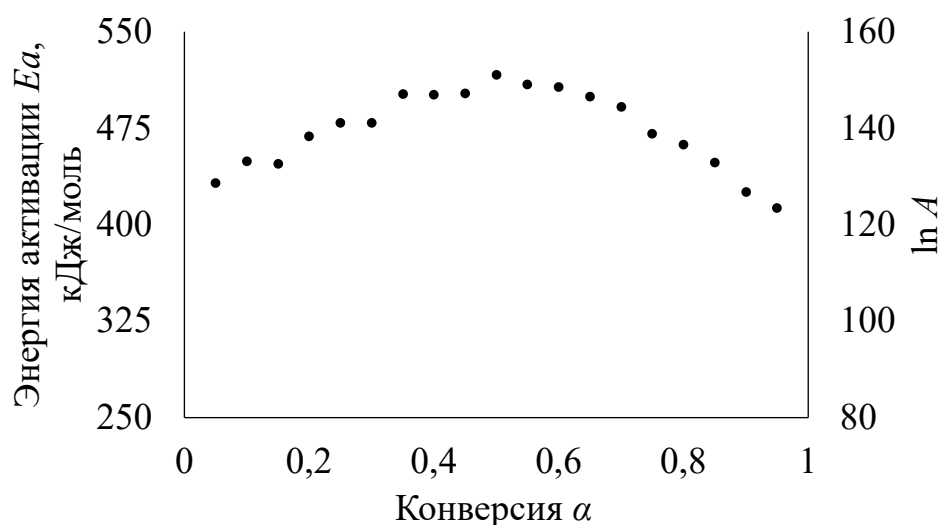


Рисунок 3.12 — Графики зависимости энергии активации и логарифма предэкспоненциального множителя денатурации альбумина от конверсии в водной дисперсии БСА 25 мас. %

Среднее значение энергии активации тепловой денатурации альбумина в водной дисперсии БСА с концентрацией 25 мас. % составило 437 кДж/моль, а в дисперсии БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. % 711 кДж/моль.

Предэкспоненциальный множитель определялся по методу Кеннеди-Кларка по формуле:

$$\ln\left(\frac{\beta g(\alpha)}{T - T_0}\right) = \ln A - \frac{E_a}{RT}. \quad (3.12)$$

На рисунке 3.13 представлены энергии активации и логарифмы предэкспоненциальных множителей денатурации альбумина в зависимости от конверсии водной дисперсии БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %.

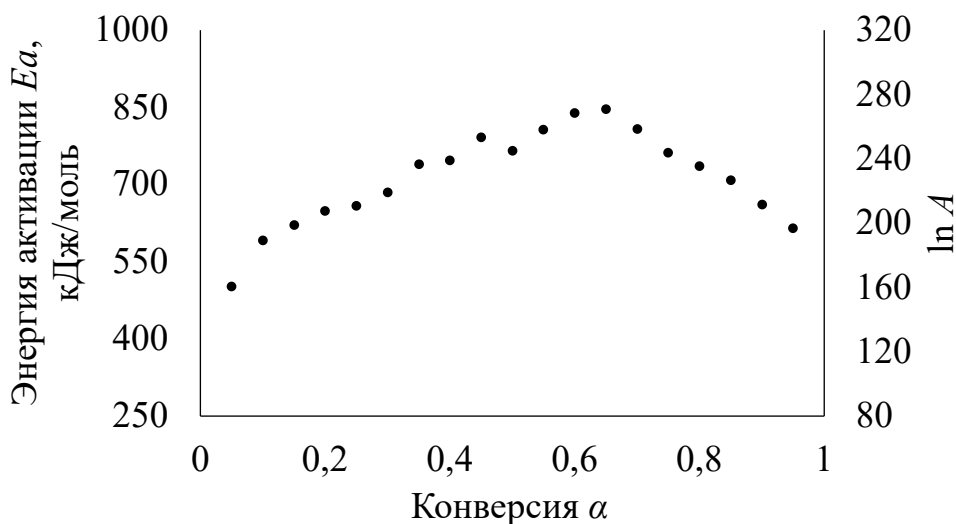


Рисунок 3.13 — Графики зависимости энергии активации и логарифма предэкспоненциального множителя денатурации альбумина от конверсии в водной дисперсии БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. %

Среднее значение логарифмов предэкспоненциальных множителей тепловой денатурации альбумина в водной дисперсии БСА с концентрацией 25 мас. % составило 141, а в дисперсии БСА 25 мас. % + ОУНТ 0,1 мас. % 230.

Дисперсия БСА была исследована методом ДСК после заморозки жидким азотом в течение 10 минут с целью анализа криповреждения. На ДСК кривых дисперсии БСА (рисунок 3.14) с предварительным замораживанием (-30 °С, 10 мин) и без замораживания наблюдается эндотермический эффект в интервале 70-95 °С, соответствующий термоденатурации БСА. Изменений температурных характеристик эффекта, вызванных криповреждениями структуры белка в результате

краткосрочного замораживания, не наблюдалось. Дисперсия БСА массой 10,02 мг исследовалась на предварительно откалиброванном приборе ДСК в динамическом режиме. Нагрев дисперсий в алюминиевых тиглях осуществлялся в атмосфере аргона в интервале температур  $25 \div 130$  °С при скорости сканирования 1 °С/мин.

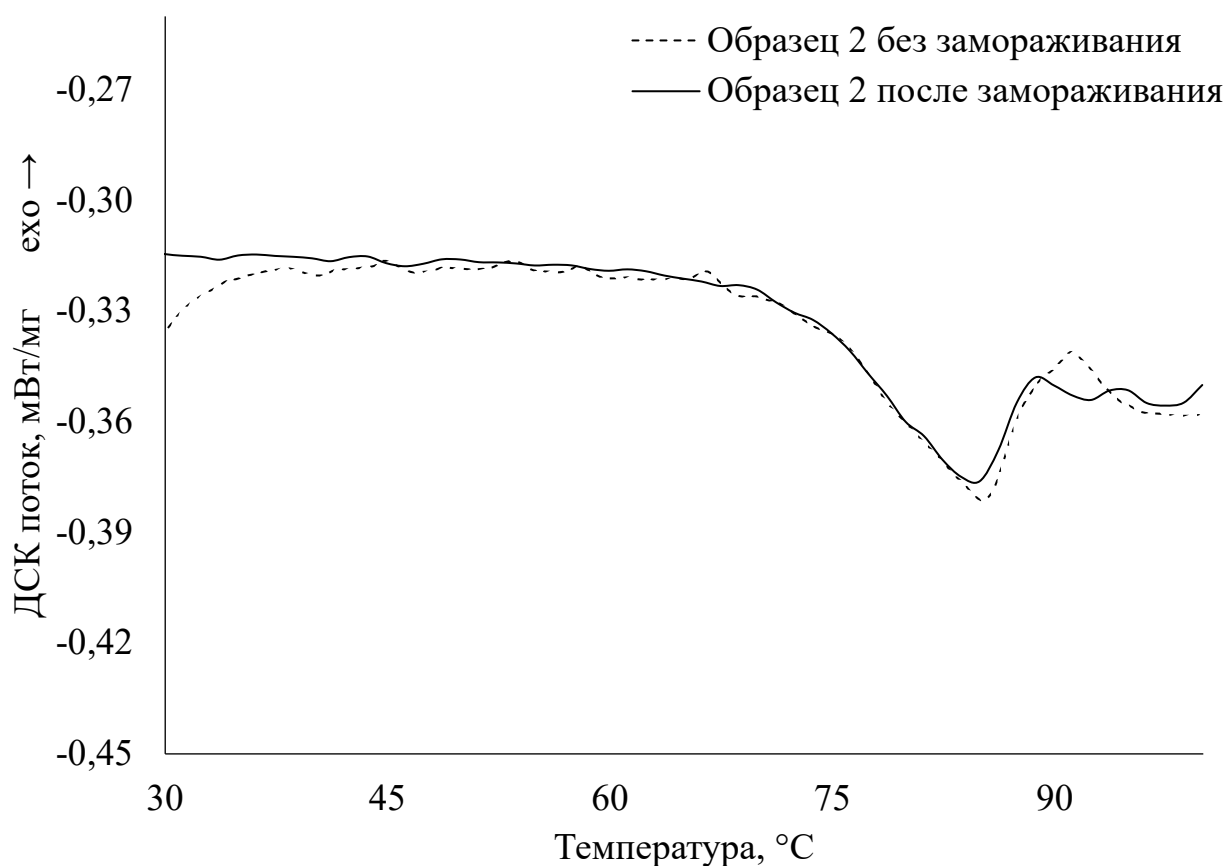


Рисунок 3.14 — ДСК сканы образца водного раствора БСА+УНТ с предварительным замораживанием и без

### 3.4 Расчёт параметров излучения при лазерном сваривании биологических тканей

Оценка времени формирования лазерного сварного шва является важной задачей. Прекращение облучения до формирования шва приведёт к снижению его прочности, а продолжение облучения после формирования шва увеличит вероятность температурного некроза соединяемых биологических тканей. Качество лазерного сварного шва можно оценить

двумя способами. При первом способе хирурги оценивают качество формирования шва по внешнему виду соединяемой биологической ткани. При втором способе оценка производится по результатам экспериментов по лазерному свариванию биологических тканей, анализируется зависимость прочности на разрыв сварного шва от времени облучения и выбирается оптимальная длительность лазерного облучения. Оба способа обладают определёнными недостатками. Точность первого способа невелика, кроме того, он применим не для всех дисперсных сред и видов биологических тканей. Второй способ является весьма затратным.

Преодолеть ограничения вышеупомянутых способов оценки качества сформированности лазерных сварных швов можно путём вычисления зависимости конверсии денатурации альбумина от времени.

Из 2.18 и 2.19 следует:

$$-\frac{dC}{dt} = K(T)C. \quad (3.13)$$

$$-\int_{C_0}^{C_\tau} \frac{dC}{C} = \int_0^\tau K(T)dt. \quad (3.14)$$

$$-\ln \frac{C_\tau}{C_0} = \int_0^\tau K(T)dt, \quad (3.15)$$

где  $C_0$  и  $C'_\tau$  – концентрации нативного альбумина в нулевой момент времени и по прошествии времени  $\tau$ . Соотношение  $\ln \frac{C_0}{C'_\tau}$  можно определить как функцию денатурации  $\Omega(t)$ :

$$\Omega(t) = \ln \frac{C_0}{C'_\tau}. \quad (3.16)$$

Конверсия химической реакции по определению равна:

$$\alpha(\tau) = \frac{C''_\tau}{C_0}, \quad (3.17)$$

где  $C_\tau''$  – концентрация денатурированного альбумина. Так как, общее количество молекул нативного и денатурированного альбумина постоянно, то:

$$C_0 = C_\tau' + C_\tau'' \quad (3.18)$$

Из 3.15, 3.16 и 3.17 следует:

$$\alpha(\tau) = \frac{e^\Omega - 1}{e^\Omega}. \quad (3.19)$$

Таким образом, с помощью функции денатурации можно оценить степень конверсии альбумина. Согласно формулам (3.14) и (3.15):

$$\Omega(t) = \int_0^\tau K(T) dt. \quad (3.20)$$

Согласно уравнению Аррениуса:

$$K(T) = A e^{-\frac{E_a}{RT}}, \quad (3.21)$$

Подставим 3.21 в 3.20:

$$\Omega(t) = \int_0^\tau A e^{-\frac{E_a}{RT}} dt. \quad (3.22)$$

Предэкспоненциальный множитель  $A$  можно оценить следующим образом [81]:

$$A = \frac{k_B T}{h} e^{\frac{\Delta S}{R}}, \quad (3.23)$$

где  $k_B$  – постоянная Больцмана,  $h$  – постоянная Планка,  $\Delta S$  – энтропия. Подставим в 3.22 в 3.21:

$$\Omega(t) = \int_0^\tau \frac{k_B T}{h} e^{\frac{\Delta S}{R}} e^{-\frac{E_a}{RT}} dt = \int_0^\tau \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta S E_a}{R^2 T}} dt. \quad (3.24)$$

Введём обозначения  $A_1$  и  $A_2$ :

$$A_1 = \frac{k_B}{h}. \quad (3.25)$$

$$A_2 = \frac{\Delta S E_a}{R^2}. \quad (3.26)$$

Подставим 3.25 и 3.26 в 3.24:

$$\Omega(\tau) = A_1 \int_0^{\tau} T(t) e^{-\frac{A_2}{T(t)}} dt. \quad (3.27)$$

В уравнении (3.26) от времени зависит только температура. В существующих математических моделях формирования лазерного сварного шва зависимость температуры от времени произвольная, что делает невозможным вычисление  $\Omega(\tau)$  в аналитическом виде. Однако, при лазерном сваривании биологических тканей с использованием обратной температурной связи зависимость  $T(t)$  можно разбить на участки нагрева и поддержания температуры (рисунок 3.14).

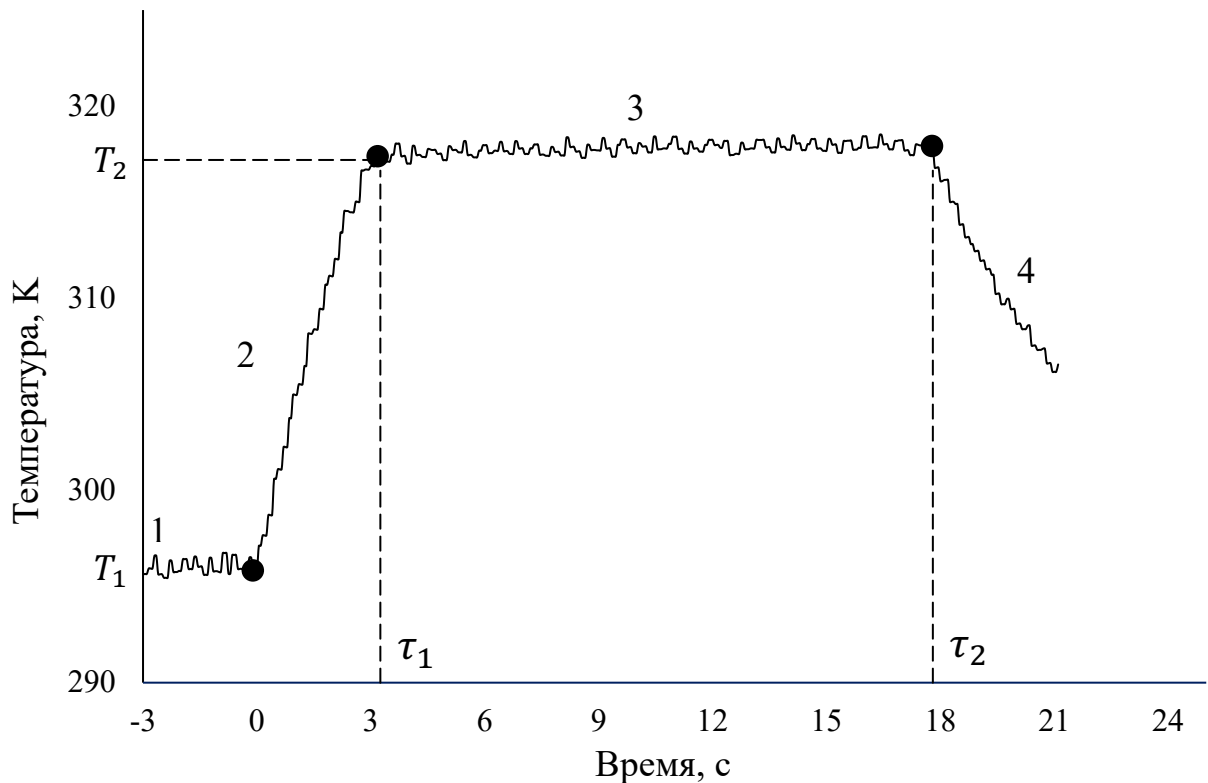


Рисунок 3.15 — Зависимость температуры области лазерного сваривания  $T$  от времени  $t$

На рисунке 3.8 выделены 4 участка зависимости  $T(t)$ . Первый участок соответствует времени до начала лазерного облучения, и температура на нём соответствует комнатной. При  $t \in (0, \tau_1)$  начинается воздействие лазерным излучением на нанодисперсную среду, и наблюдается близкое к линейному



увеличение температуры от  $T_1$  до  $T_2$  за время  $\tau_1$  (участок 2). На участке 3  $t \in (\tau_1, \tau_2)$  температура нанодисперсной среды достигает заданной и обратная температурная связь поддерживает её, регулируя мощность лазерного излучения. Зависимость  $T(t)$  на участках 2 и 3 можно описать следующими соотношениями:

$$\begin{cases} T(t) = T_1 + \gamma t & \text{при } t \in (0, \tau_1) \\ T(t) = T_2 = T_1 + \gamma \tau_1 & \text{при } t \in (\tau_1, \tau_2) \end{cases}$$

Тогда 3.25 на участках 2 и 3 будет иметь следующий вид:

$$\begin{aligned} \Omega(\tau) &= A_1 \int_0^{\tau_1} (T_1 + \alpha t) e^{-\frac{A_2}{T_1 + \alpha t}} dt + A_1 T_2 e^{-\frac{A_2}{T_2}} \int_{\tau_1}^{\tau_2} dt = \\ &= A_1 \int_0^{\tau_1} (T_1 + \alpha t) e^{-\frac{A_2}{T_1 + \alpha t}} dt + A_1 T_2 e^{-\frac{A_2}{T_2}} (\tau_2 - \tau_1) \end{aligned} \quad (3.26)$$

Введём замену переменной:

$$y = \frac{A_2}{T_0 + \alpha t}. \quad (3.28)$$

Пределы интегрирования по  $y$  будут равны соответственно:

$$\text{При } t = 0 \quad y = \frac{A_2}{T_0} = B_1$$

$$\text{При } t = \tau_1 \quad y = \frac{A_2}{T_0 + \alpha \tau} = B_2$$

$$\begin{aligned} A_1 \int_0^{\tau_1} (T_0 + \alpha t) e^{-\frac{A_2}{T_0 + \alpha t}} dt &= A_1 \int_{B_1}^{B_2} \frac{A_2}{y} e^{-y} \left( \frac{A_2}{\alpha y^2} \right) dy = \\ &= A_1 \int_{B_1}^{B_2} \frac{A_2}{y} e^{-y} \left( -\frac{A_2}{\alpha y^2} \right) dy = \frac{A_1 A_2^2}{\alpha} \int_{B_1}^{B_2} \frac{e^{-y}}{y^3} dy = \\ &= -\frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \int_{B_1}^{B_2} e^{-y} d \frac{1}{y^2} = \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= -\frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-y} \frac{1}{y^2} \Big|_{B_1}^{B_2} - \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \int_{B_1}^{B_2} \frac{1}{y^2} e^{-y} dy = \\
&= -\frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-y} \frac{1}{y^2} \Big|_{B_1}^{B_2} + \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \frac{1}{y} e^{-y} \Big|_{B_1}^{B_2} + \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \int_{B_1}^{B_2} \frac{1}{y} e^{-y} dy. \quad (3.29)
\end{aligned}$$

Проинтегрируем последнее слагаемое отдельно:

$$\begin{aligned}
\frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \int_{B_1}^{B_2} \frac{e^{-y}}{y} dy &= \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \int_{B_1}^{+\infty} \frac{e^{-y}}{y} dy - \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \int_{B_2}^{+\infty} \frac{e^{-y}}{y} dy \\
&= \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} (Ei(B_1) - Ei(B_2)), \quad (3.30)
\end{aligned}$$

где  $Ei$  - интегральная показательная функция:

$$Ei(x) = \int_x^{+\infty} \frac{e^{-t}}{t} dt. \quad (3.31)$$

Подставим 3.30 в 3.29:

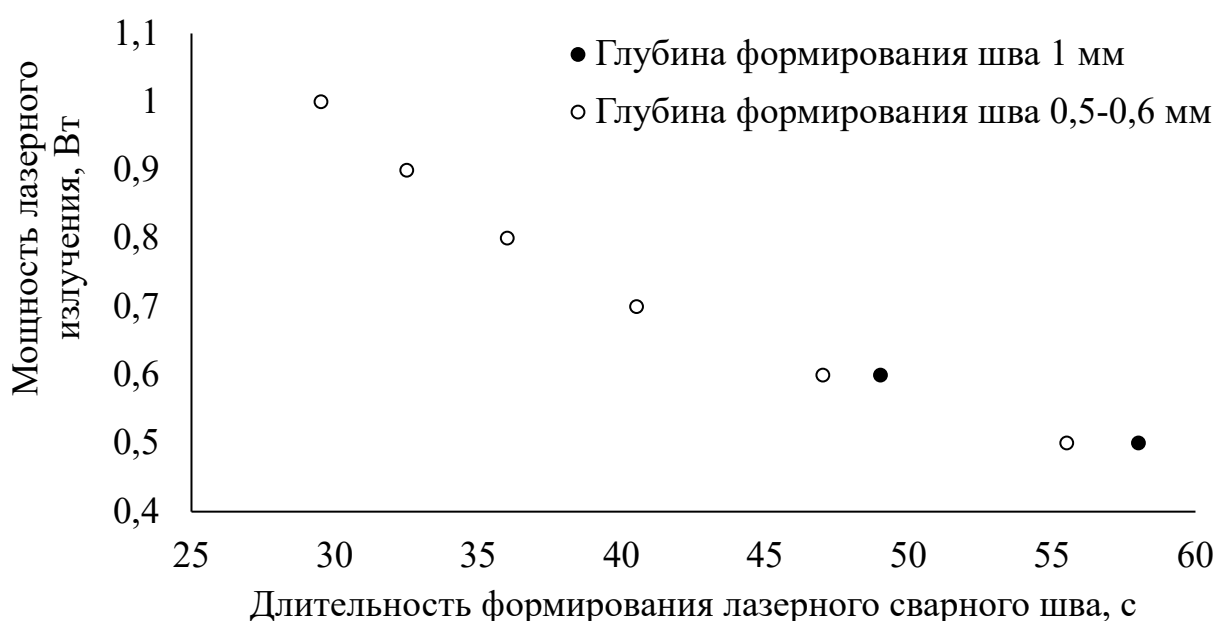
$$\begin{aligned}
&\frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} (Ei(B_1) - Ei(B_2)) - \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-y} \frac{1}{y^2} \Big|_{B_1}^{B_2} + \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \frac{1}{y} e^{-y} \Big|_{B_1}^{B_2} = \\
&= \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} (Ei(B_1) - Ei(B_2)) - \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-B_2} \frac{1}{B_2^2} + \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-B_1} \frac{1}{B_1^2} + \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \frac{1}{B_2} e^{-B_2} \\
&- \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \frac{1}{B_1} e^{-B_1}. \quad (3.32)
\end{aligned}$$

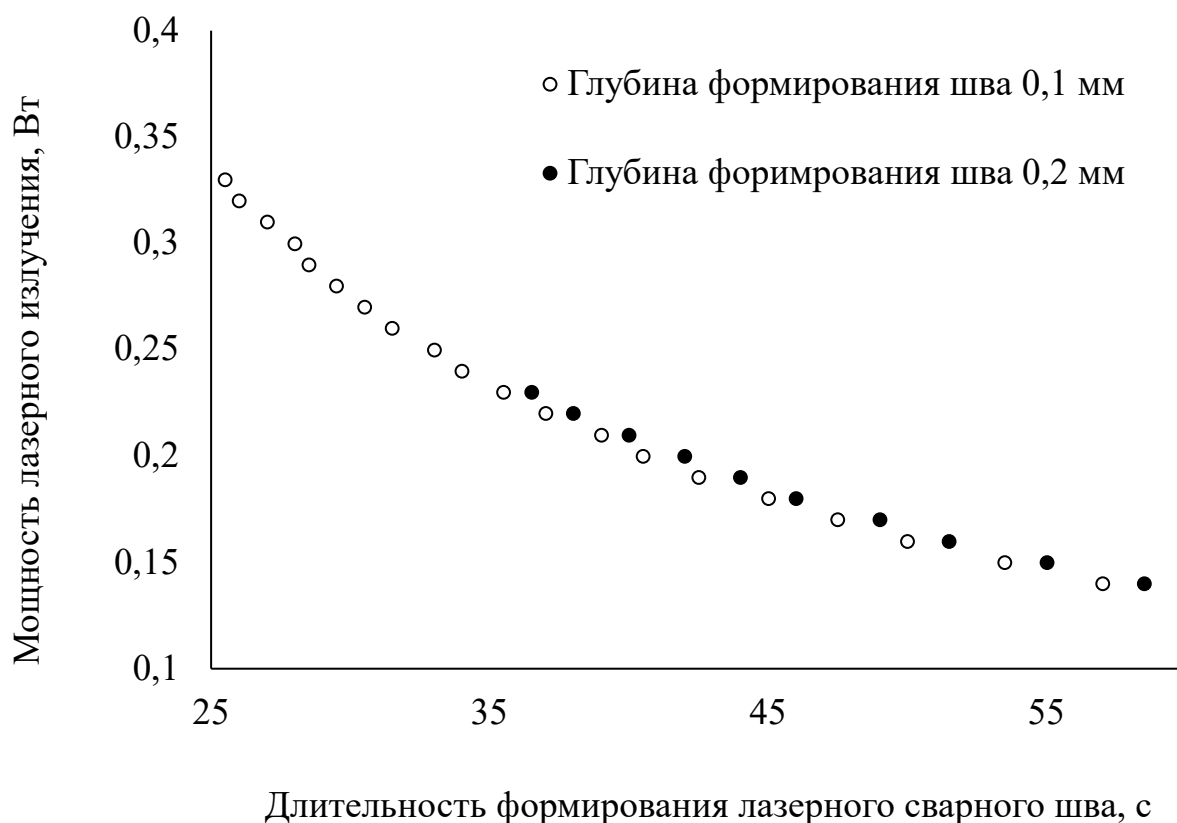
Таким образом, функция денатурации молекул БСА в используемой водной дисперсии при лазерном сваривании биологической ткани определяется следующим образом:

$$\begin{aligned}
\Omega(\tau_1, \tau_2) &= \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} (Ei(B_1) - Ei(B_2)) - \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-B_2} \frac{1}{B_2^2} + \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} e^{-B_1} \frac{1}{B_1^2} \\
&+ \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \frac{1}{B_2} e^{-B_2} - \frac{A_1 A_2^2}{2\alpha} \frac{1}{B_1} e^{-B_1} + A_1 T_2 e^{-\frac{A_2}{T_2}} (\tau_2 - \tau_1), \quad (3.33)
\end{aligned}$$

где  $\tau_1$  – момент времени окончания линейного увеличения температуры,  $\tau_2$  – момент времени окончания облучения лазерным излучением. Данное выражение приведено для конкретных значений температуры начала воздействия лазерного излучения, температуры сваривания, энергии активации и энтропии формирования конкретных значений для нанодисперсной среды. В общем виде  $\Omega$  зависит и от вышеперечисленных параметров.

Согласно формулам (3.1), (3.19), (3.27) были рассчитаны значения мощности и длительности формирования лазерного сварного шва при использовании нанодисперсных сред на основе БСА+ИЦЗ (рисунок 3.15 а) и БСА+ИЦЗ+ОУНТ (рисунок 3.15 б). Из всех возможных значений мощности и длительности формирования лазерного сварного шва были выбраны такие, при которых максимальная температура нагрева области формирования не превышает 100 °С, а длительность воздействия лазерным излучением 60 с. Лазерный сварной шов формировался при конверсии равной 0,63 [81]. Используемые в расчётах значения коэффициентов поглощения, энергий активации и предэкспоненциальных множителей были получены в разделах 3.1 и 3.3.





б

Рисунок 3.16 — Мощности лазерного излучения, необходимой для формирования лазерного сварного шва глубиной 0,5-0,6 и 1 мм для нанодисперсной среды на основе 25 мас. % БСА+0,1 мас. % ИЦЗ (а) и глубиной 0,1 и 0,2 мм для нанодисперсной среды на основе 25 мас. % БСА +0,1 мас. % ИЦЗ+0,1 мас. % ОУНТ (б)

Моделирование процесса формирования лазерного сварного шва направлено на получение зависимости времени достижения конверсии фазового перехода уровня 0,9 от температуры конденсированной среды. Поскольку лазерное сваривание осуществляется при использовании обратной температурной связи, то путём варьирования мощности лазерного излучения поддерживается постоянная температура конденсированной среды, тем самым нивелируется потеря энергии из-за теплообмена.

### Выводы по Главе 3

1. Исследованы и проанализированы спектры нанодисперсных сред на основе бычьего сывороточного альбумина, хромофора индоцианина зелёного и углеродных нанотрубок, используемых при лазерном сваривании биологических тканей.

2. Определены зависимости размеров агрегатов бычьего сывороточного альбумина от компонентного состава и температуры нанодисперсных сред.

3. Разработана модифицирована математическая модель формирования лазерного сварного шва для применения в установках с использованием обратной температурной связи.

4. Определён тип химической реакции процесса формирования лазерного сварного шва. Измерены значения энергии активации и предэкспоненциального множителя уравнения Аррениуса для процесса формирования лазерного сварного шва при использовании нанодисперсных сред на основе альбумина с добавлением углеродных нанотрубок и без добавления.

Основные результаты выполненных работ, указанных в главе 3, опубликованы в [100-107].

## ГЛАВА 4. ПОВЕРХНОСТНАЯ И ОБЪЕМНАЯ СТРУКТУРЫ НАНОКОМПОЗИТОВ ЛАЗЕРНЫХ СВАРНЫХ ШВОВ

### 4.1 Рентгеновская микротомография лазерного сварного шва биологических тканей

Метод компьютерной микротомографии позволяет оценить внутреннюю структуру лазерных сварных швов, полученных при использовании нанодисперсных сред различного компонентного состава.

Исследования проводились с помощью рентгеновского компьютерного микротомографа Skyscan1174 (рисунок 4.1). Микротомограф SkyScan 1174 представляет из себя компактную настольную систему для материаловедения, промышленных и биомедицинских исследований, систем управления качеством. Прибор содержит закрытый металлокерамический источник рентгеновского излучения, сцинтилляционный экран, ПЗС камеру, зум-объектив, манипулятор для позиционирования и вращения объекта, электронную систему для питания источника рентгеновского излучения и камеры для управления манипулятором.



Рисунок 4.1 — Компьютерный рентгеновский микротомограф SkyScan 1174

Контраст и окраска объектов на изображении, получаемых методом рентгеновской компьютерной микротомографии, зависят от

размера атомов сканируемых объектов. Об однородности структуры исследуемого объекта можно судить по единству или различию контраста.

Получение рентгеновских изображений и трёхмерных структур образцов биологических тканей с лазерными сварными швами были осуществлены с использованием ПО SkyScan 1174. Изображения, полученные с помощью рентгеновской компьютерной томографии, визуализируют структуру образца по всему его объёму. За счёт сквозного просвечивания в процессе сканирования возможно получить представление о равномерности соединения образца по всей глубине, отражающейся на изображении однородностью или контрастом цветов в области шва. Получаемые изображения представляют собой профильные проекции образцов с лазерными сварными швами.

На рисунке 4.2 представлено рентгенографическое изображение лазерного сварного шва, полученного с использованием нанодисперсной среды на основе бычьего сывороточного альбумина (БСА) и многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ). На изображении видно, что один край сварного шва соединён плотно, поскольку на нём нет контрастных переходов. Светлая полоса на линии лазерного шва говорит о неравномерном соединении ткани по толщине на данном участке. Поскольку образец биологической ткани достаточно мягкий, при его формировании из цельного куска могло произойти незначительное изменение его толщины. Так как объём нанодисперсной среды, наносимый на каждую точку при поточечном методе лазерной сварки невелик, то даже незначительное изменение толщины образца на любом участке шва влияет на однородность распределения нанодисперсной среды.

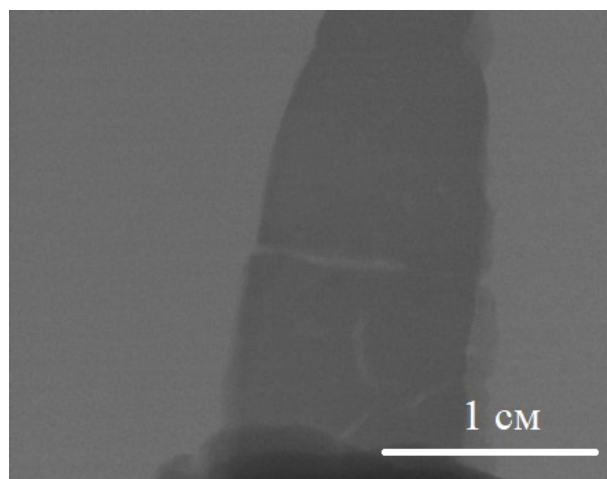


Рисунок 4.2 — Изображение лазерного сварного шва, сформированного при использовании нанодисперсной среды на основе БСА+МУНТ, полученное на томографе SkyScan 1174 при пространственном разрешении 18 мкм

Одним из критериев хорошей структуры образцов является равномерность его соединения как по глубине, так и по длине лазерного шва. На рисунке 4.3 представлены изображения лазерного сварного шва, сформированного с использованием нанодисперсной среды из БСА, индоцианина зелёного (ИЦЗ) и многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ).

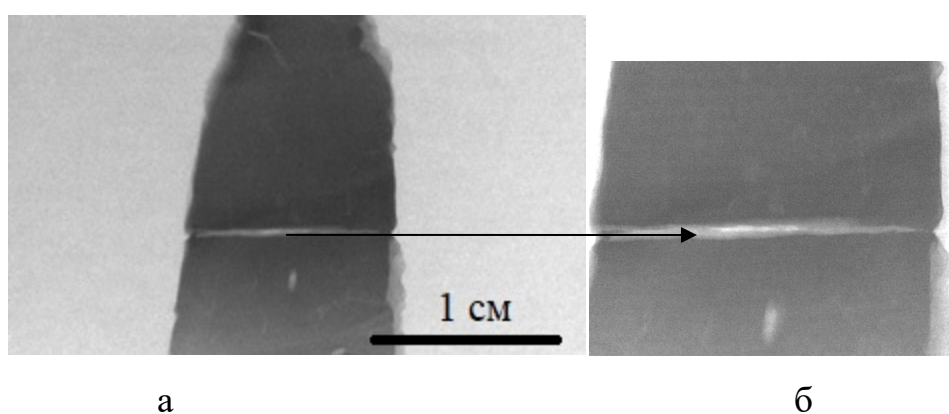


Рисунок 4.3 — Изображение лазерного сварного шва, сформированного при использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА+ИЦЗ+МУНТ, полученное на томографе SkyScan 1174 при пространственном разрешении 18 мкм



Помимо неравномерного соединения по толщине, образец в центре имеет участок белого цвета, свидетельствующий о сквозном отверстии. Наличие такого отверстия связано с неплотным прилеганием между собой сварных точек на ткани, формируемых при точечном лазерном воздействии.

На рисунке 4.4 представлены изображения лазерного сварного шва, сформированного с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА, ИЦЗ и одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ). Образец равномерно соединен по глубине и толщине (рисунок 4.4 а). Это подтверждает его вид сбоку (рисунок 4.4 б). Как видно на каждом из рисунков, цвет области шва однородный, без контрастных переходов.

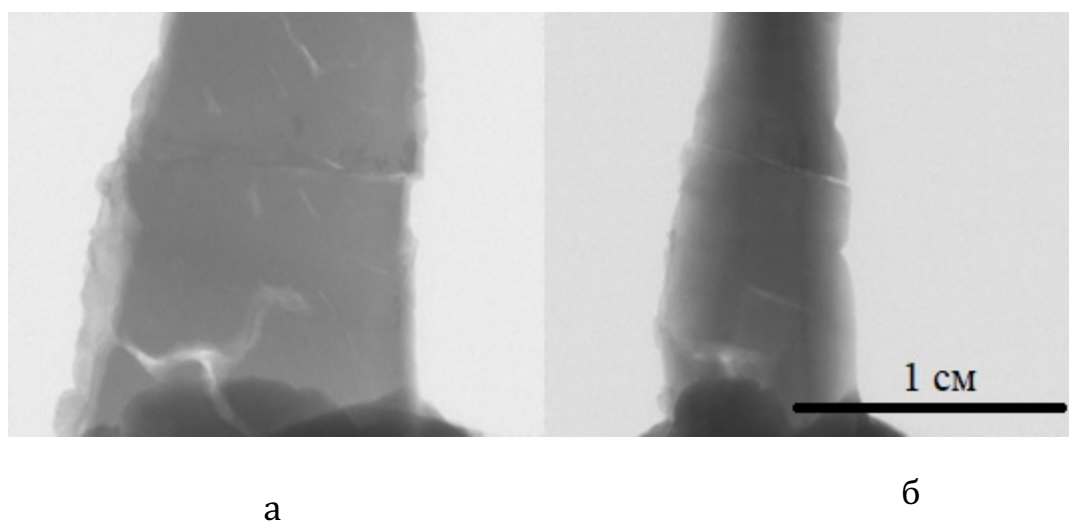
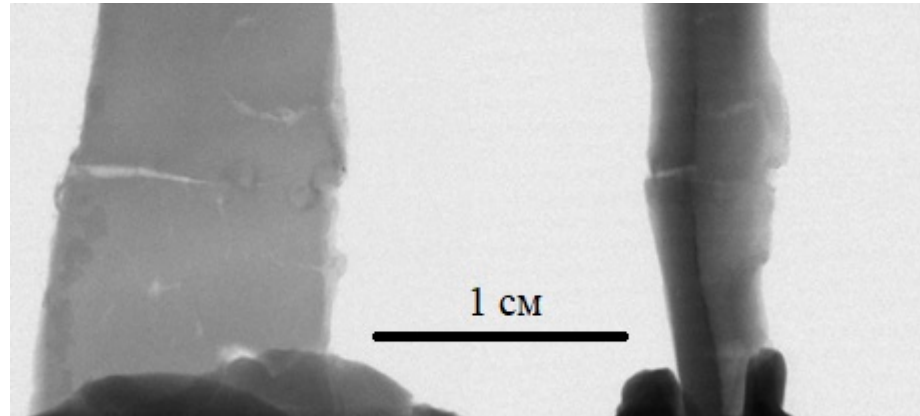


Рисунок 4.4 — Изображение лазерного сварного шва, сформированного при использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА+ИЦЗ+ОУНТ, полученное на томографе SkyScan 1174 при пространственном разрешении 18 мкм

На рисунке 4.5 представлены проекции образца биологической ткани с лазерным сварным швом, полученным при взаимодействии лазерного излучения с водной нанодисперсной средой на основе БСА+ОУНТ. Как и в случае использования водной нанодисперсной среды на основе БСА+МУНТ, с одного из краёв шва на рисунке 4.5 а образец соединён по толщине неравномерно и равномерно с другого края. На рисунке 4.5 б видно, что та

сторона, на которую падало лазерное излучение, соединена плотно, а на противоположной стороне в структуре образца видна щель. Это возможно объяснить поглощением большей части излучения в верхних слоях используемой нанодисперсной среды.



а

б

Рисунок 4.5 — Изображение лазерного сварного шва, сформированного при использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА+ОУНТ, полученное на томографе SkyScan 1174 при пространственном разрешении 18 мкм

На рисунке 4.6 представлены рентгеновские микроизображения образца биологической ткани с лазерным сварным швом, сформированным при использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА+ИЦЗ. Образец имеет лазерный сварной шов с достаточно плотным по длине соединением, но с небольшими глубинными неоднородностями, связанными с угловым срезом вдоль образца.

Таким образом, изображения, полученные с помощью рентгеновского компьютерного томографа, визуализировали структуру образца по всей его длине и толщине.

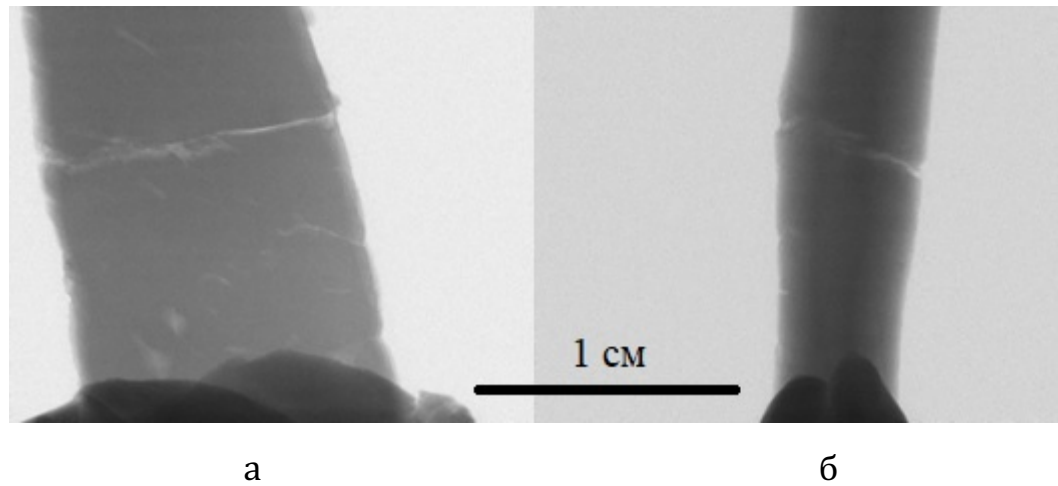


Рисунок 4.6 — Изображение лазерного сварного шва, сформированного при использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА+ИЦЗ, полученное на томографе SkyScan 1174 при пространственном разрешении 18 мкм

## 4.2 Сканирующая электронная микроскопия нанокompозитов лазерного сварного шва

Морфологические особенности лазерных сварных швов, полученных с использованием водных нанодисперсных сред на основе альбумина и углеродных нанотрубок, исследовались методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Исследования проводились с использованием растрового электронного микроскопа JSM – 50а.

На рисунке 4.7 представлены СЭМ-микрофотографии поверхностей трёх лазерных сварных швов (а, б, в).

Микрофотографии получены с различным масштабом: 2 мкм и 200 нм (рисунок 4.7 а, б), 10 мкм и 1 мкм (рисунок 4.7 в, г), 10 мкм и 1 мкм (рисунок 4.7 д, е). Для получения изображений было выбрано значение ускоряющего напряжения электронной колонны 20 кВ.

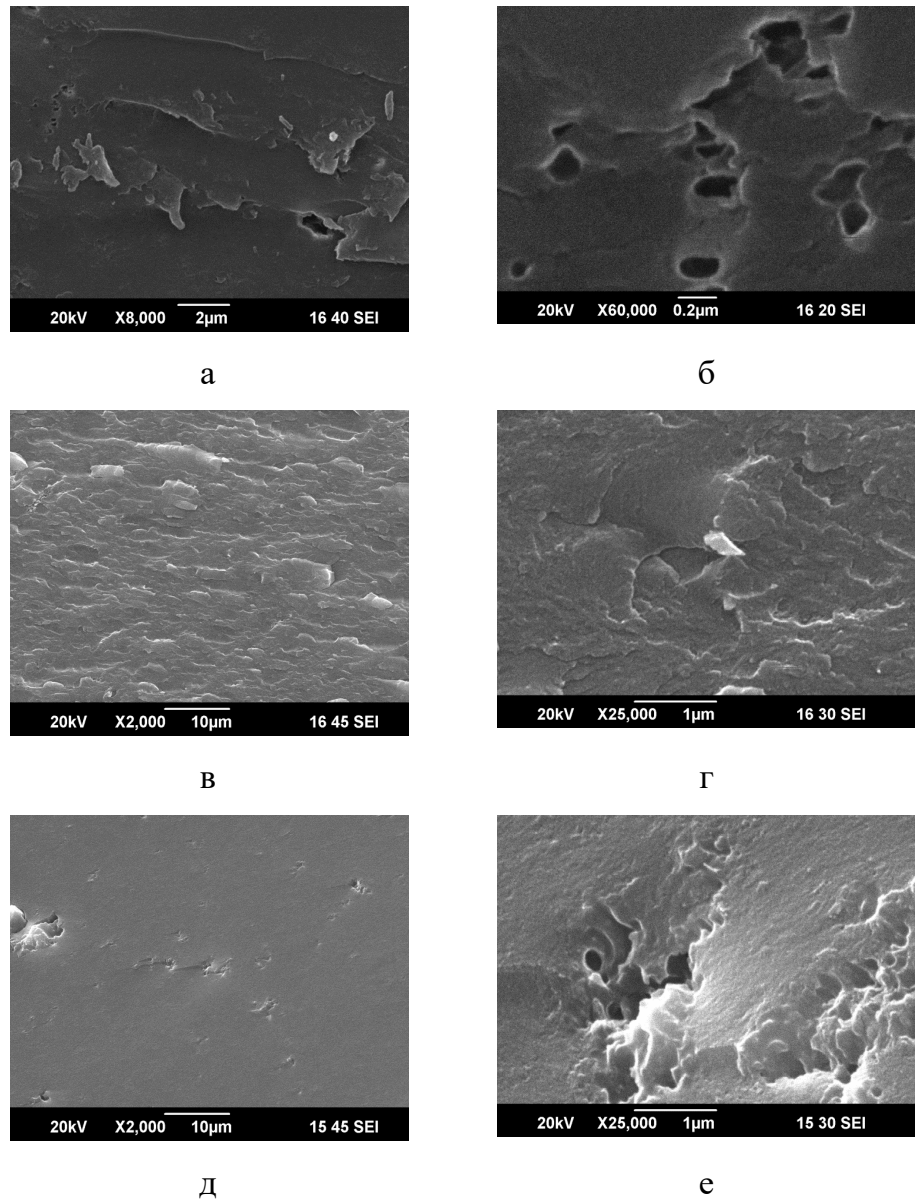


Рисунок 4.7 — СЭМ-микрофотографии поверхности трех твердых образцов альбумина (а-е)

Все образцы имеют морфологию, характерную для полимерных материалов: наряду с абсолютно гладкими участками местами присутствуют складки и редкие поры. В образце лазерного сварного шва, сформированного с использованием водной нанодисперсной среды на основе 0,01 мас. % ОУНТ, нанотрубки обнаружены практически не были (рисунок 4.8). По-видимому, это связано с малым содержанием ОУНТ в используемой нанодисперсной среде. Однако, морфология поверхности данного лазерного сварного шва несколько отличалась от морфологии чистого альбумина. Так,

некоторые участки имели зернистую структуру (рисунок 4.8 а, б). Также присутствовали участки, подобные структуре образцов чистого альбумина (рисунок 4.8 в, г).

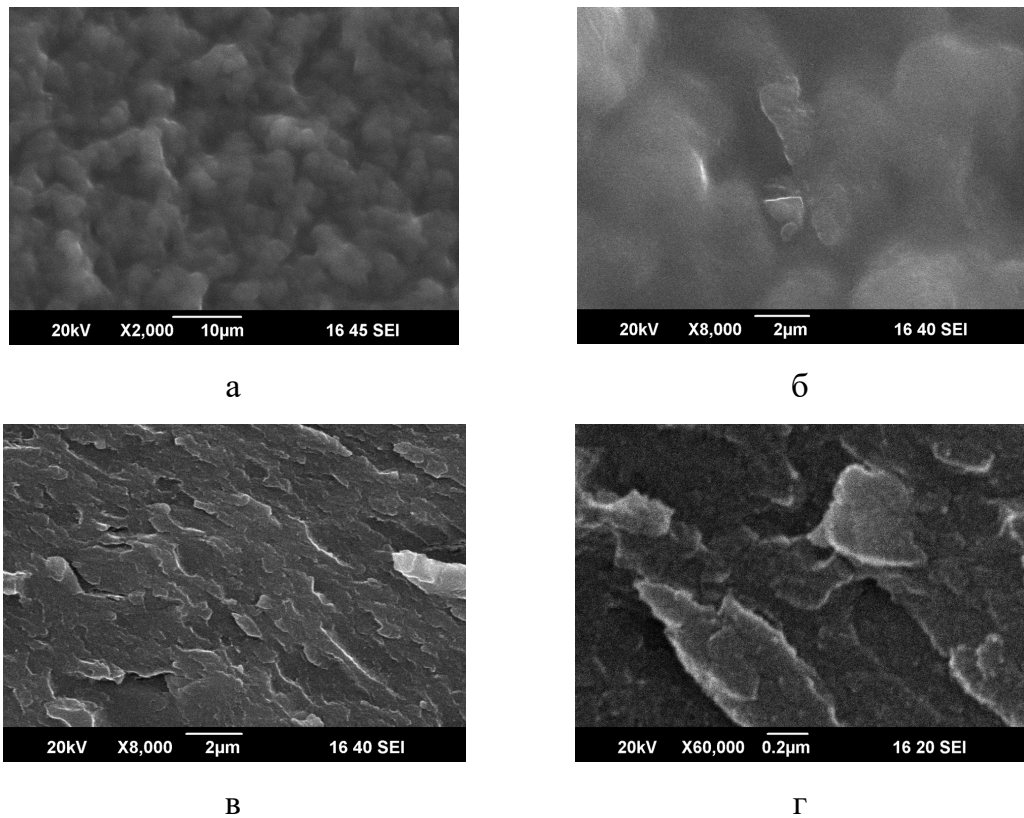


Рисунок 4.8 — СЭМ-микрофотографии поверхности композитного наноматериала на основе альбумина и ОУНТ с концентрацией 0,01 мас. %

Морфология образцов лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе 25 мас. % БСА и 0,1 мас. % ОУНТ, значительно отличалась от рассмотренных выше и характеризуется волокнистой структурой поверхности (рисунок 4.9 а, б). Поверхность лазерных сварных швов характеризовалась наличием ОУНТ диаметром от 15 до 25 нм (рисунок 4.9 в, г).

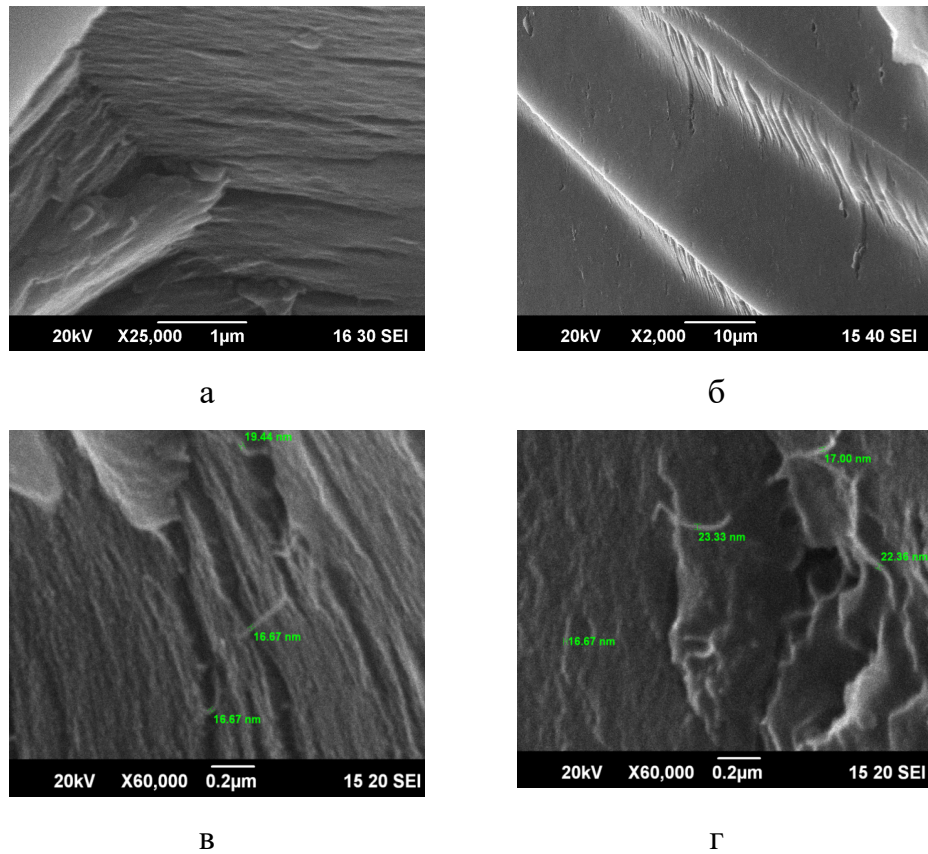


Рисунок 4.9 — СЭМ-микрофотографии поверхности композитного наноматериала на основе альбумина и ОУНТ с концентрацией 0,1 мас. %

На СЭМ-микрофотографиях лазерных сварных швов, полученных при использовании водной нанодисперсной среды на основе 25 мас. % БСА и 1 мас. % ОУНТ, наблюдается большое количество нанотрубок, равномерно распределённых по поверхности (рисунок 4.10). Это заметно на СЭМ-микроизображениях сверху (рисунок 4.10 а, в) и сбоку на срезе лазерного сварного шва (рисунок 4.10 б, г). Диаметр ОУНТ также составлял от 15 до 25 нм.

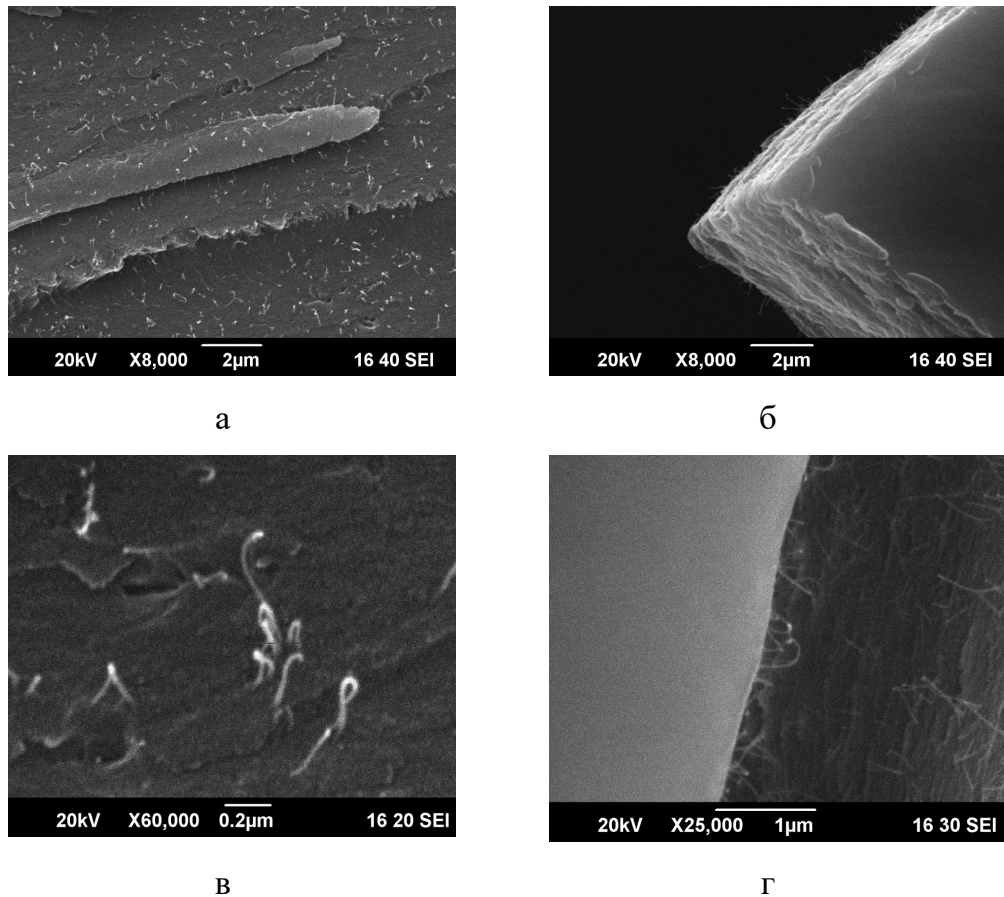


Рисунок 4.10 — СЭМ-микрофотографии поверхности композитного наноматериала на основе БСА и ОУНТ с концентрацией 1 мас. %

Исследования лазерных сварных швов методом СЭМ показывают возможность оборачивания альбумином исходных ОУНТ диаметром от 1 до 1,5 нм, что приводит к возникновению комплексов ОУНТ-БСА диаметром от 15 до 25 нм. Комплексы ОУНТ-БСА формируются вследствие денатурации БСА при воздействии на него лазерного излучения и высвобождения химических связей, которые в дальнейшем восстанавливаются не только между разными участками молекул БСА, но и между БСА и ОУНТ.

На рисунке 4.11 представлены СЭМ-микрофотографиях лазерных сварных швов, полученных при использовании водной нанодисперсной среды на основе 25 мас. % БСА, 0,1 мас. % ИЦЗ и 0,1 мас. % ОУНТ. Лазерные сварные швы однородны по ширине и не имеют дефектов.

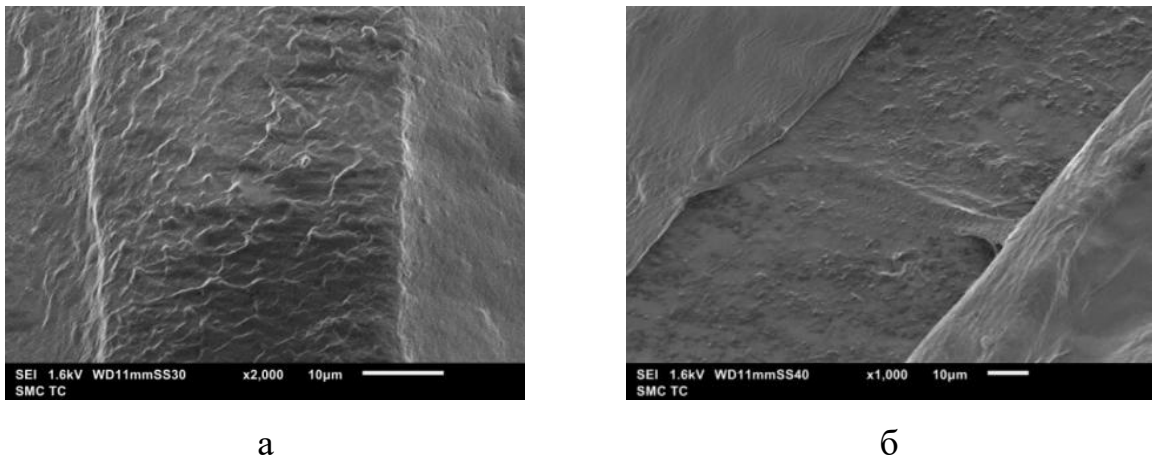


Рисунок 4.11 — СЭМ-микрофотографиях лазерных сварных швов, полученных при использовании водной нанодисперсной среды на основе 25 мас. % БСА, 0,1 мас. % ИЦЗ и 0,1 мас. % ОУНТ

Углеродные нанотрубки в водных нанодисперсных средах альбумина под действием лазерного излучения могут выстраиваться в пространственную структуру [108].

### 4.3 Флуоресцентная микроскопия лазерных сварных швов

Исследования лазерных сварных швов методом флуоресцентной микроскопии позволяют определить характер влияния компонентного состава, используемого для лазерного сваривания биотканей. В ходе исследований были изготовлены две группы образцов лазерных сварных швов, по шесть образцов в каждой. В таблице 4.1 приведены составы нанодисперсных сред, которые использовались при формировании лазерных сварных швов в группах 1 и 2.

В роли контрольных образцов использовались два образца биоткани без лазерного сварного шва, которые также были обработаны дезинфицирующим раствором, высушены и помещены в культуральный планшет.

Образцы биоткани с лазерными сварными швами и без были стерилизованы посредством обработки УФ излучением с обеих сторон в



течение 1 ч. Затем образцы помещались в лунки стерильного планшета, в которые добавлялась суспензия фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ) в культуральной среде DMEM (среда Игла, модифицированная по способу П. Дульбекко) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки.

Таблица 4.1 — Разделение образцов биоткани с лазерными сварными швами на группы.

	БСА	ИЦЗ	МУНТ	ОУНТ
Группа 1	25 мас. %	-	-	-
		0,1 мас. %	-	-
		-	0,1 мас. %	-
		0,1 мас. %	0,1 мас. %	-
		-	-	0,1 мас. %
		0,1 мас. %	-	0,1 мас. %
Группа 2	25 мас. %	-	-	-
		0,1 мас. %	-	-
		-	0,1 мас. %	-
		0,1 мас. %	0,1 мас. %	-
		-	-	0,1 мас. %
		0,1 мас. %	-	0,1 мас. %

После формирования лазерные сварные швы обрабатывались дезинфицирующим раствором, высушивались и помещались в культуральный 12-ти луночный планшет (рисунок 4.12).



Рисунок 4.12 — Образцы биоткани с лазерными швами в культуральном 12-ти луночном планшете

Планшет помещался в термостат в атмосферу  $\text{CO}_2$  при температуре  $37\text{ }^\circ\text{C}$ . После 48 ч инкубирования образцы извлекались из термостата.

Образцы биоткани с лазерными сварными швами из группы 1 окрашивались флуоресцентным органическим красителем акридиновым оранжевым. Перед этим они промывались по 2 раза культуральной средой без сыворотки и фиксировались 10 % водным раствором формалина в течение 15 мин при комнатной температуре. Далее образцы два раза промывались в фосфатно-солевом буферном растворе. Затем образцы окрашивались раствором флуоресцентного органического красителя акридинового оранжевого в концентрации 0,1 мг/мл в цитратно-фосфатном буфере (рН=5) в течение 10 мин, после чего трижды промывались цитратно-фосфатным буфером (рН=5).

Приготовленные препараты исследовались на флуоресцентном микроскопе Olympus BX43 (рисунок 4.13) с использованием длины волны лазерного излучения 280 нм, возбуждающего флуоресцентное свечение.



Рисунок 4.13 — Внешний вид микроскопа Olympus BX43

Флуоресцентные микроизображения сформированных лазерных сварных швов, представленные на рисунке 4.13, получены при совмещении двух фильтров микроскопа: FITC (зеленый) и CY3 (красный). Неоднородная структура исследуемых образцов делала невозможным фокусировку

объектива микроскопа на всей плоскости объекта, поэтому проводилось послойное изучение структуры образца с помощью инструментов программы FISHView System. На полученных изображениях наблюдались окрашенные ядра клеток ФЭЧ на поверхности лазерных сварных швов. На микрофотографиях невозможно увидеть тело клетки, т.к. краситель имеет свойство накапливаться в ядрах клетки, окрашивая цитоплазму крайне незначительно.

На рисунке 4.13 наблюдается небольшое количество окрашенных клеток (красные пятна), что, скорее всего, обусловлено ограничениями, наложенными экспериментом *in vitro*. Клетки обнаруживаются в области лазерных сварных швов. Было установлено, что наибольшее количество клеток наблюдается в образцах с добавлением экзогенного хромофора ИЦЗ, поглощающего часть лазерного излучения при лазерном сваривании тканей.

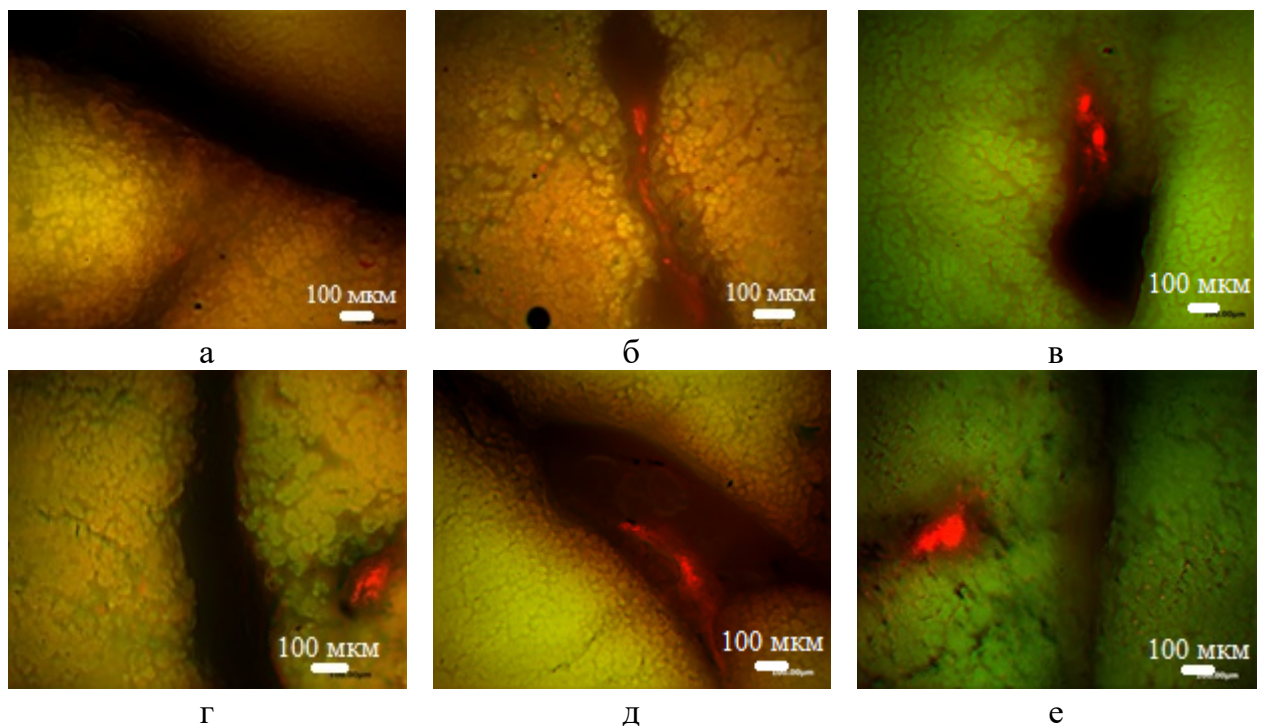


Рисунок 4.14 — Флуоресцентные микроизображения сформированного лазерного сварного шва с использованием водных нанодисперсных сред на основе БСА (а), БСА+ИЦЗ (б), БСА+МУНТ (в), БСА+ИЦЗ+МУНТ (г), БСА+ОУНТ (д), БСА+ИЦЗ+ОУНТ (е) с клетками ФЭЧ, окрашенными красителем акридиновым оранжевым

Образцы биоткани с лазерными сварными швами из группы 2 были окрашены другим органическим флуоресцентным красителем - бромистым этидием. К клеткам, инкубированным на образцах группы 2, в культуральную среду добавляли флуоресцеиндиацетат (FDA) до концентрации 25 мкг/мл и бромистый этидий до конечной концентрации 1 мкг/мл. Далее образцы инкубировались в течение 5 мин при температуре 37 °С, затем они три раза промывались средой без сыворотки. Наблюдение образцов осуществляли описанным выше методом.

На рисунке 4.15 представлены флуоресцентные микроизображения сформированных лазерных сварных швов из группы 2 с клетками ФЭЧ, окрашенных бромистым этидием.

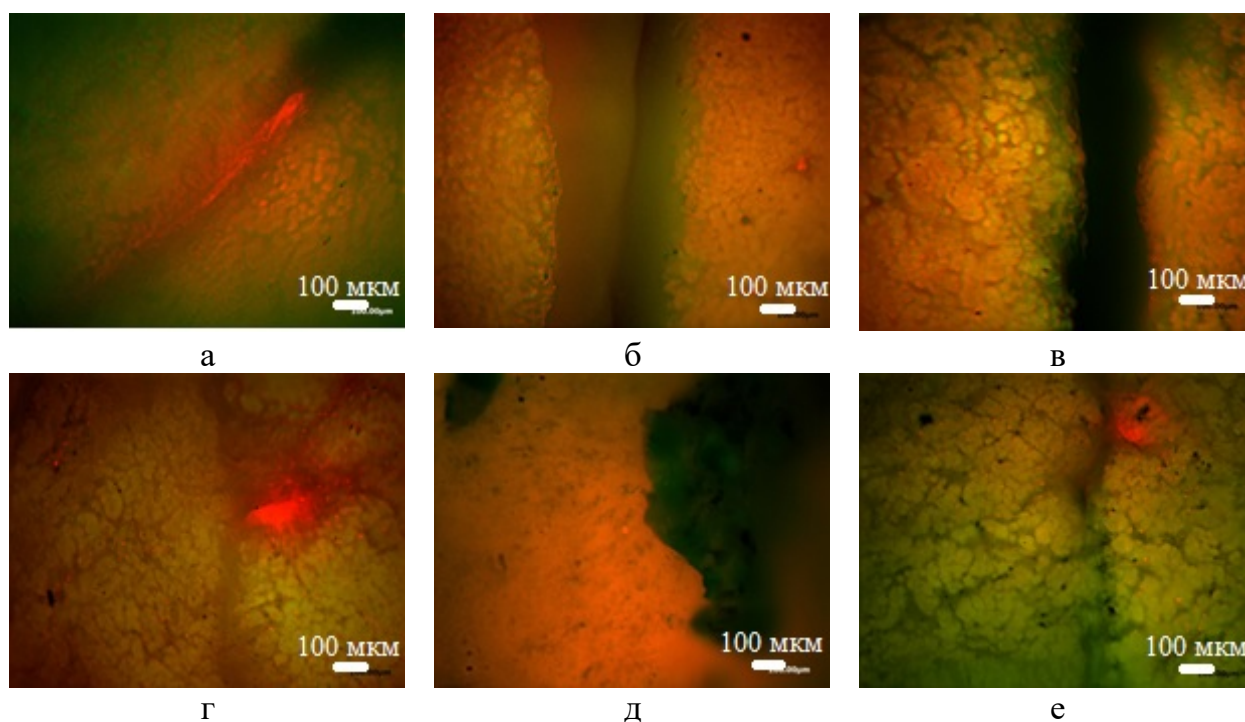
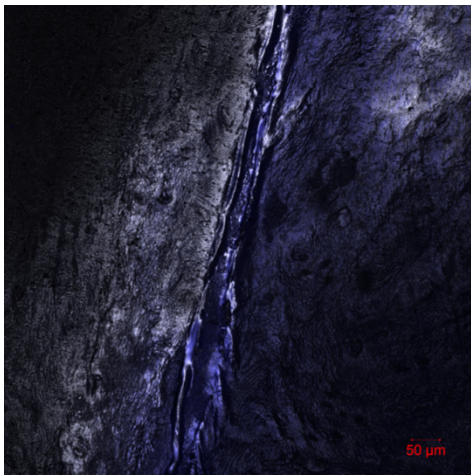


Рисунок 4.15 — Флуоресцентные микроизображения сформированных лазерных сварных швов с использованием водных нанодисперсных сред на основе БСА (а), БСА+ИЦЗ (б), БСА+МУНТ (в), БСА+ИЦЗ+МУНТ (г), БСА+ОУНТ (д), БСА+ИЦЗ+ОУНТ (е) с клетками ФЭЧ, окрашенными красителем бромистым этидием

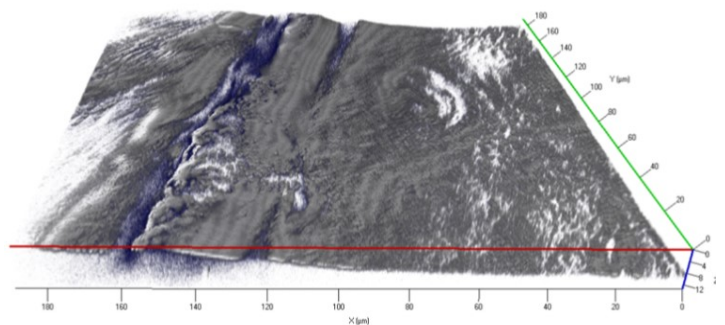
Эксперимент с окрашиванием клеток бромистым этидием подтвердил положительное влияние красителя ИЦЗ на рост клеток (рисунок 4.14). Это может быть обусловлено снижением теплового воздействия лазерного излучения из-за поглощения ИЦЗ, а также биологическими свойствами ИЦЗ. На поверхности лазерных сварных швов, полученных с использованием нанодисперсных сред без ИЦЗ, клетки были обнаружены в меньшем количестве.

Биосовместимость водных нанодисперсных систем на основе белков и углеродных нанотрубок проверялась в ходе *in vitro* экспериментов с использованием фибробластов эмбрионов человека. Исследование биосовместимости *in vivo* на моделях экспериментальных животных планируется в дальнейшем.

На рисунке 4.16 показано изображение лазерного сварного шва, полученное методом конфокальной микроскопии.



а



б

Рисунок 4.16 — Изображение лазерного сварного шва, полученные методом конфокальной микроскопии

#### 4.4 Исследование прочности на разрыв лазерных сварных швов в зависимости от компонентного состава нанодисперсных сред и температуры сваривания

Прочность на разрыв лазерных сварных швов является одной из основных их характеристик. Компонентный состав используемых при лазерном сваривании нанодисперсных сред оказывает значительное влияние на их прочность.

При проведении эксперимента в качестве биологической ткани использовалась слизистая оболочка желудка свиньи. В таблице 4.2 приведены значения прочности на разрыв используемой нативной биоткани.

Таблица 4.2 — Прочность на разрыв слизистой оболочки желудка свиньи.

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	9	1,4	9,6	0,76
2	10	1,2	8,5	0,71
3	8	0,8	7,2	1,13
4	7	0,9	7,8	1,24
5	7	1	7,5	1,07

Средняя прочность на разрыв исследуемой биоткани, согласно данным таблицы 4.2, составляет  $1 \pm 0,2$  МПа. Данное значение будет в последующем использоваться для расчета относительной прочности на разрыв лазерных сварных швов.

В таблицах 4.3-4.8 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных методом, описанном в главе 2. Используемые при лазерном сваривании нанодисперсные среды были получены методом, также описанном в главе 2.

В таблице 4.3 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (0,1 мас. %).

Таблица 4.3 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (0,1 мас. %).

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	10	1,2	6,4	0,53
2	8	0,6	3,7	0,77
3	7	1,5	3,8	0,36
4	9	1,2	4,6	0,43
5	8	1,5	4,5	0,38

Согласно данным таблицы 4.3, средняя прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (0,1 мас. %), составляет  $0,5\pm 0,1$  МПа при относительной прочности  $\sim 50$  %. Относительная прочность вычислялась как отношение прочности на разрыв сварного шва к прочности на разрыв нативной биоткани.

В таблице 4.4 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных при использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (0,3 мас. %).

Таблица 4.4 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (0,3 мас. %).

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	8	2,1	4,9	0,29
2	7	2	5,7	0,41
3	9	1,4	7,6	0,6
4	9	2,7	7,4	0,3
5	8	2,5	7,2	0,36

Согласно данным таблицы 4.4, средняя прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием нанодисперсной среды на основе водно-белковой дисперсии БСА (25 мас. %) и ОУНТ (0,3 мас. %), составляет  $0,4\pm 0,06$  МПа при относительной прочности  $\sim 40$  %.

В таблице 4.5 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием нанодисперсных сред на основе водно-белковой дисперсии БСА (25 мас. %) и ОУНТ (1,0 мас. %).

Согласно данным таблицы 4.5, средняя прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (1 мас. %), составляет  $\sim 0,23 \pm 0,04$  МПа при относительной прочности  $\sim 25$  %.

Таблица 4.5 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и ОУНТ (1,0 мас. %).

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	2,1	8	2,7	0,16
2	2	9	3,2	0,18
3	1,3	8	4,1	0,39
4	2	10	3,6	0,18
5	2,2	7	3,4	0,22

В таблице 4.6 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (0,1 мас. %).

Таблица 4.6 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (0,1 мас. %).

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	6	1,2	3	0,42
2	10	1,4	2,8	0,2
3	6	1,1	2,2	0,33
4	8	1,3	1,2	0,12
5	10	1,1	2,5	0,23



Согласно данным таблицы 4.6, средняя прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (0,1 мас. %), составляет  $0,27 \pm 0,05$  МПа при относительной прочности  $\sim 25$  %.

В таблице 4.7 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (0,3 мас. %).

Таблица 4.7 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (0,3 мас. %).

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	10	1	1,4	0,14
2	11	1,1	1,4	0,12
3	11	1	1,5	0,14
4	8	0,8	1,8	0,28
5	7	1	1,5	0,21

Согласно данным таблицы 4.7, средняя прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (0,3 мас. %), составляет  $0,17 \pm 0,02$  МПа при относительной прочности  $\sim 20$  %.

В таблице 4.8 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (1 мас. %).

Согласно данным таблицы 4.8, средняя прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (1 мас. %), составляет  $0,5 \pm 0,4$  МПа при относительной прочности  $\sim 60$  %.

При использовании водной нанодисперсной среды на основе БСА и МУНТ наблюдалось снижение в  $\sim 2$  раза прочности на разрыв лазерных сварных швов с ростом концентрации МУНТ от 0,1 до 1,0 мас. %. При

использовании МУНТ зависимость прочности на разрыв лазерных сварных швов от концентрации нанотрубок носит обратный характер: при росте концентрации МУНТ от 0,1 до 1,0 мас. % прочность увеличивается в ~ 2,5 раза.

Таблица 4.8 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %) и МУНТ (1 мас. %).

№	Ширина, мм	Толщина, мм	Сила на разрыв, Н	Прочность, МПа
1	9	0,5	3,1	0,69
2	6	1	1,5	0,25
3	8	0,6	1,6	0,33
4	6	1,1	3,4	0,52
5	6	0,6	3,8	1,06

Также были проведены эксперименты по лазерному свариванию трахеи крупного рогатого скота с использованием водных нанодисперсных сред на основе БСА, коллагена, ИЦЗ, ОУНТ и МУНТ (таблица 4.9).

Таблица 4.9 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе БСА, коллагена, ИЦЗ, ОУНТ и МУНТ различных концентраций.

БСА, мас. %	Коллаген мас. %	ИЦЗ мас. %	ОУНТ мас. %	МУНТ мас. %	Прочность на разрыв, МПа
25	1	0,1	0,1	-	0,25±0,2
25	1	1	1	-	0,1±0,04
25	2	-	-	1	0,18±0,08
25	1	-	-	1	0,2±0,5
25	2	0,1	-	-	0,06±0,02
Нативная ткань					4,2±1,5

Согласно данным таблицы 4.9, использование коллагена в качестве компонента нанодисперсной среды не приводит к повышению прочности на разрыв лазерных сварных швов.

С целью снижения степени температурного некроза ткани и повышения прочности сварного соединения можно использовать экзогенный хромофор ИЦЗ. В таблице 4.10 приведены значения прочности на разрыв лазерных сварных швов бычьих сухожилий, полученных при использовании водных нанодисперсных сред на основе БСА (25 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %), ОУНТ (0,1 мас. %) и МУНТ (0,1 мас. %).

Таблица 4.10 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов, полученных с использованием водных нанодисперсных сред на основе БСА, ИЦЗ, ОУНТ и МУНТ.

№ Нанодисперсной среды	БСА, мас. %	ИЦЗ, мас. %	ОУНТ, мас. %	МУНТ, мас. %	Прочность на разрыв, МПа
1	25	0,01	-	-	0,54±0,15
2	25	-	0,1	-	0,14±0,06
3	25	0,01	0,1	-	0,38±0,01
4	25	-	-	0,1	0,4±0,2
5	25	0,01	-	0,1	0,8±0,3

Согласно данным таблицы 4.10, использование ИЦЗ в качестве компонента нанодисперсной среды совместно с ОУНТ и МУНТ позволяет повысить прочность на разрыв в ~ 2 раза, по сравнению с аналогичными нанодисперсными средами без использования ИЦЗ. При этом максимальная прочность на разрыв достигается при использовании нанодисперсной среды на основе БСА (25 мас. %), ИЦЗ (0,1 мас. %) и МУНТ (0,1 мас. %).

Исследование зависимости прочности на разрыв лазерных сварных швов от компонентного состава используемых нанодисперсных сред

проводилось на сухожилии, что позволяет оценить влияние отдельных компонентов нанодисперсных сред.

Анализ прочностей на разрыв лазерных сварных швов, полученных с помощью нанодисперсных сред № 1 и 5 (таблица 4.10), позволяет сделать вывод об увеличении прочности на разрыв из-за добавления в нанодисперсную среду МУНТ поскольку уровень значимости  $t=1,736$  превышает критическое значения (при уровне значимости 0,9 при количестве измерений  $N=20$ ). Аналогичным образом можно сделать вывод по прочностям для нанодисперсных сред № 3 и 5, что использование МУНТ вносит больший вклад в повышение прочности лазерных сварных швов, чем использование ОУНТ ( $t=1,943$  при  $N=20$ ). Использование в качестве хромофора ИЦЗ повышает прочность на разрыв сварных швов, полученных с использованием нанодисперсных сред на основе БСА и как МУНТ (дисперсии 4 и 5,  $t=2,635$  при  $N=20$ ), так и ОУНТ (2 и 3,  $t=8,838$  при  $N=20$ ).

Прочность лазерных сварных швов зависит не только от компонентного состава используемых нанодисперсных сред, но и от температуры сваривания (таблица 4.11). Повышение прочности лазерных сварных швов при увеличении температуры формирования от 40 до 55 °С можно объяснить повышением степени конверсии фазового перехода нанодисперсной среды. Дальнейшее снижения прочности сварных швов при нагреве от 55 до 65 °С объясняется структурными изменениями соединяемых живых тканей (температурный некроз).

Таблица 4.11 — Прочность на разрыв лазерных сварных швов свиной кожи при различных температурах сваривания.

Температура лазерного сваривания, °С	40	45	50	55	60	65
Прочность на разрыв, МПа	1,13	1,45	1,67	1,56	1,32	1,24

## Выводы по Главе 4

1. Данные использования рентгеновской микротомографии выявили возможность формирования равномерных по глубине и ширине лазерных сварных швов, полученных с использованием водной нанодисперсной среды на основе бычьего сывороточного альбумина, хромофора индоцианина зелёного и углеродных нанотрубок.

2. При исследовании лазерных сварных швов методом СЭМ обнаружено оборачивание альбумином однослойных углеродных нанотрубок диаметром от 1 до 1,5 нм, что приводит к возникновению комплексов нанотрубки-альбумин диаметром от 15 до 25 нм. Эти комплексы формируются вследствие денатурации альбумина при воздействии на него лазерного излучения и высвобождении химических связей, которые в дальнейшем восстанавливаются не только между разными участками молекул альбумина, но и между альбумином и одностенными углеродными нанотрубками.

3. Исследование лазерных сварных швов методом флуоресцентной микроскопии показало благоприятное влияние компонентного состава используемых нанодисперсных сред на рост клеток фибробластов эмбриона человека.

4. Прочность на разрыв лазерных сварных швов значительно зависит от компонентного состава нанодисперсных сред. Использование многостенных углеродных нанотрубок в составе нанодисперсной среды совместно с альбумином и индоцианином зелёным при лазерном сваривании биологических тканей позволяет увеличить прочность на разрыв лазерных сварных швов в 1,5 раза по сравнению с прочностью на разрыв лазерных сварных швов, полученных при использовании нанодисперсной среды на основе альбумина и индоцианина зелёного. При этом максимальная прочность на разрыв составляет  $0,8 \pm 0,3$  МПа.

Основные результаты выполненных работ, указанных в главе 4, опубликованы в [108-120].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертационной работе были исследованы водные дисперсные системы бычьего сывороточного альбумина, экзогенного хромофора индоцианина зелёного и углеродных нанотрубок методами оптической спектроскопии, динамического рассеяния света и дифференциальной сканирующей калориметрии. Так же были исследованы нанокомпозиты сварных швов, полученные путём воздействия лазерным излучением на используемые водные дисперсные системы, методами рентгеновской микротомографии и сканирующей электронной микроскопии.

По результатам исследований можно сформулировать основные результаты и выводы:

1. Экспериментально определены зависимости физических свойств (удельной энергии и температуры денатурации) водных дисперсных систем бычьего сывороточного альбумина, индоцианина зелёного и углеродных нанотрубок в зависимости от их компонентного состава.
2. Выявлен нелинейный характер зависимости гидродинамических радиусов от температуры агрегатов водных дисперсных систем бычьего сывороточного альбумина и индоцианина зелёного с экстремумами при температурах 50-55 °С.
3. Максимальная прочность на разрыв сформированных лазерным излучением сварных швов ( $\sigma=0,8\pm 0,3$  МПа) достигнута при использовании водной дисперсной системы бычьего сывороточного альбумина (25 мас. %), индоцианина зелёного (0,1 мас. %) и многостенных углеродных нанотрубок (0,01 мас. %).
4. Использование экзогенного хромофора индоцианина зелёного позволяет многократно повысить поглощающую способность водной дисперсной системы бычьего сывороточного альбумина и углеродных нанотрубок на длине волны генерации используемого диодного лазера ( $\lambda_{\text{ген}}=810$  нм).
5. Добавление индоцианина зелёного в водные дисперсные системы бычьего сывороточного альбумина и углеродных нанотрубок увеличивает

прочность на разрыв сформированных лазерным излучением сварных швов в 2 раза.

6. Экспериментально установлено, что присутствие углеродных нанорубок в водных дисперсных системах бычьего сывороточного альбумина снижает его удельную теплоту денатурации.

7. Максимальная прочность на разрыв лазерных сварных швов достигнута при температуре сваривания в диапазоне 50-55 °С.

8. Разработана модифицированная математическая модель процесса лазерного сваривания биологических тканей при использовании обратной связи по температуре, позволяющая численно рассчитать параметры лазерного излучения, обеспечивающие переход жидкой дисперсной системы в твёрдую фазу на заданную глубину.

9. С помощью численного эксперимента на основе разработанной модифицированной математической модели найдены параметры лазерного излучения, позволяющие обеспечить переход жидкой дисперсной системы в твёрдую фазу на заданную глубину.

10. При использовании водной дисперсной системы на основе бычьего сывороточного альбумина, индоцианина зелёного и углеродных нанорубок основным фактором формирования верхней части шва глубиной  $h < 0,1$  мм является локально абсорбированная тепловая энергия, в то время как формирование более глубокой части шва  $h > 0,1$  мм определяется переносом теплоты от верхних, более нагретых, слоёв к нижним.

В заключении автор считает своей приятной обязанностью выразить искреннюю благодарность своему научному руководителю В.М. Подгаецкому за постоянное внимание и помощь на всех этапах работы, А.Ю. Герасименко и С.А. Терещенко за совместную работу, Н.А. Тарицыной, И.Б. Римшан, Б.А. Кваснову и Ю.И. Шиляевой за помощь при проведении экспериментальных исследований и приготовлении экспериментальных образцов.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ABC – поверхностно-разлагающий агент хондроитиназа

Chi – хитозан

FDA – флуоресцеиндиацетат

GaAlAs – арсенид алюминия-галлия

GP – генипин

Ho:YAG – алюмоиттриевый гранат, легированный гольмием

KTP – титанил-фосфат калия

Nd:YAG – алюмоиттриевый гранат, легированный неодимом

PLGA – полилактидгликолид

RB – бенгальский розовый

Ti:Sr:YAG – алюмоиттриевый гранат, легированный титанием, гольмием и хромом

Tm:YAG – алюмоиттриевый гранат, легированный тулием

BSA – бычий сывороточный альбумин

ГК – гиалуроновая кислота

ДРС – динамическое рассеяние света

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

ЗНС – золотые наностержни

ЗНЧ – золотые наночастицы

ИК – инфракрасный

ИЦЗ – индоцианин зелёный

МУНТ – многостенные углеродные нанотрубки

ОУНТ – одностенные углеродные нанотрубки

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

УНТ – углеродные нанотрубки

УФ – ультрафиолет

ФЭЧ – фибробласты эмбриона человека

ЧСА – человеческий сывороточный альбумин



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. Yu, O. Lourie, M. Dyer, K. Ioni, T. Kelly, R. Ruoffl. (2000). Strength and Breaking Mechanism of Multiwalled Carbon Nanotubes Under Tensile Load // *Science*. —2000. —Vol. 287(5453). —P. 637–640. DOI: [10.1126/science.287.5453.637](https://doi.org/10.1126/science.287.5453.637).
2. Семенов Г.М. Хирургический шов // Г.М. Семенов, В.Л. Петришин, М.В. Ковшова. — СПб: Изд-во Питер, 2001. — 256 с. ISBN 5-318-00590-X.
3. Zeebregts C. J., Heijmen R. H., Van Den Dungen J. J., Van Schilfgaarde, R. Non-suture methods of vascular anastomosis // *British Journal of Surgery*. — 2003. —Vol. 90(3), —P. 261–271. DOI: [10.1002/bjs.4063](https://doi.org/10.1002/bjs.4063).
4. B.E. Paton, V.K. Lebedev, D.S. Vorona, V.I. Karchemsky, Y.A. Furmanov, A.V. Lebedev, V.A. Vasilchenko, D.F. Sidorenko, V.P. Iemchenko-Ribko, O.N. Ivanova, A.Y. Furmanov, Y.V. Zhyvodernikov, A.A. LyashenkoIrina, M. Savitskaya. Bonding of soft biological tissues by passing high frequency electric current therethrough // US patent No. US6562037B2. —1998.
5. Palanker D.V., Vankov A.B. Devices and Methods for Tissue Welding // US patent No. US20070239260A1. —2007.
6. Sauer J.S. Tubular tissue welding device without moving parts // US Patent No. 4892098. — 1988.
7. Strassmann E., Livny E., Loya N., Kariv N., Ravid A., Katzir A., Gatton D.D. CO<sub>2</sub> laser welding of corneal cuts with albumin solder using radiometric temperature control // *Ophthalmic Research*. —2013. —Vol. 50(3). —P. 174–179. DOI: [10.1159/000353436](https://doi.org/10.1159/000353436).
8. Shumalinsky D., Lobik L., Cytron S., Halpern M., Vasilyev T., Ravid A., Katzir A. Laparoscopic Laser Soldering for Repair of Ureteropelvic Junction Obstruction in the Porcine Model // *Journal of Endourology*. —2004. —Vol. 18(2). — P. 177–181. DOI: [10.1089/089277904322959833](https://doi.org/10.1089/089277904322959833).
9. Rossi F., Pini R., Menabuoni L., Mencucci R., Menchini U., Ambrosini S., Vannelli G. Experimental study on the healing process following laser welding

of the cornea // *Journal of Biomedical Optics*. –2005. –Vol. 10(2), –P. 24004. DOI: [10.1117/1.1900703](https://doi.org/10.1117/1.1900703).

10. Small W., Heredia N.J., Maitland D.J., Eder D.C., Celliers P.M., Da Silva L.B., London R.A., Matthews D.L. Experimental and computational laser tissue welding using a protein // *Journal of Biomedical Optics*. –1998. –Vol. 3(1). –P. 96–101. DOI: [10.1117/1.429866](https://doi.org/10.1117/1.429866).

11. Sorg B.S., Welch A.J. Tissue welding with biodegradable polymer films—demonstration of acute strength reinforcement in vivo // *Lasers in Surgery and Medicine*. –2002. –Vol. 31(5), –P. 339–342. DOI: [10.1002/lsm.10123](https://doi.org/10.1002/lsm.10123).

12. A. Bregy, S. Bogni, V.J.P. Bernau, I. Vajtai, F. Vollbach, A. Petri-Fink, M. Constantinescu, H. Hofmann, M. Frenz, M. Reinert. Solder doped polycaprolactone scaffold enables reproducible laser tissue soldering // *Lasers in Surgery and Medicine*. –2008. –Vol. 40(10). –P. 716–725. DOI: [10.1002/lsm.20710](https://doi.org/10.1002/lsm.20710).

13. Ott B., Constantinescu M.A., Erni D., Banic A., Schaffner T., Frenz M. Intraluminal laser light source and external solder: In vivo evaluation of a new technique for microvascular anastomosis // *Lasers in Surgery and Medicine*. –2004. –Vol. 35(4). –P. 312–316. DOI: [10.1002/lsm.20096](https://doi.org/10.1002/lsm.20096).

14. Bleier B.S., Cohen N.M., Bloom J.D., Palmer J.N., Cohen N.A. Laser tissue welding in lung and tracheobronchial repair: An animal model // *Chest*. –2010. –Vol. 138(2), –P. 345–349. DOI: [10.1378/chest.09-2721](https://doi.org/10.1378/chest.09-2721).

15. McNally K.M., Sorg B.S., Welch A.J., Dawes J.M., Owen E.R. Photothermal effects of laser tissue soldering // *Physics in Medicine and Biology*. –1999. –Vol. 983(4). –P. 983–1002. DOI: [10.1088/0031-9155/44/4/013](https://doi.org/10.1088/0031-9155/44/4/013).

16. Lauto A., Stoodley M., Marcel H., Avolio A., Sarris M., McKenzie G., Sampson D.D., Foster, L.J.R. In vitro and in vivo tissue repair with laser-activated chitosan adhesive // *Lasers in Surgery and Medicine*. –2007. –Vol. 39(1). –P. 19–27. DOI: [10.1002/lsm.20418](https://doi.org/10.1002/lsm.20418).

17. Ratto F., Matteini P., Rossi F., Menabuoni L., Tiwari N., Kulkarni S. K., Pini R. Photothermal effects in connective tissues mediated by laser-activated gold

nanorods // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. –2009. –Vol. 5(2). –P. 143–151. DOI: [10.1016/j.nano.2008.10.002](https://doi.org/10.1016/j.nano.2008.10.002).

18. Matteini P., Ratto F., Rossi F., Pini R. Laser-activated nano-biomaterials for tissue repair and controlled drug release // *Quantum Electronics*. –2014. –Vol. 44(7), –P. 675–682. DOI: [10.1070/QE2014v044n07ABEH015484](https://doi.org/10.1070/QE2014v044n07ABEH015484).

19. Matteini P., Sbrana, F., Tiribilli B., Pini R. Atomic force microscopy and transmission electron microscopy analyses of low-temperature laser welding of the cornea // *Lasers in Medical Science*. –2009. –Vol. 24(4). –P. 667–671. DOI: [10.1007/s10103-008-0617-4](https://doi.org/10.1007/s10103-008-0617-4).

20. Matteini P., Ratto F., Rossi F., Cicchi R., Stringari C., Kapsokalyvas D., Pavone F.S., Pini R. Photothermally-induced disordered patterns of corneal collagen revealed by SHG imaging // *Optics Express*. –2009. –Vol. 17(6). –P. 4868–4878. DOI: [10.1364/OE.17.004868](https://doi.org/10.1364/OE.17.004868).

21. Puca A., Esposito G., Albanese A., Maira G., Rossi F., Pini R. Minimally occlusive laser vascular anastomosis (MOLVA): Experimental study // *Acta Neurochirurgica*. –2009. –Vol. 151(4). –P. 363–368. DOI: [10.1007/s00701-009-0219-3](https://doi.org/10.1007/s00701-009-0219-3).

22. Gobin A.M., O’Neal D.P., Halas N.J., Drezek R.A., West J.L. Laser tissue soldering with near-infrared absorbing nanoparticles // *Proceedings of SPIE*. –2005. –Vol. 5686(713), 261. DOI: [10.1117/12.590614](https://doi.org/10.1117/12.590614).

23. Gobin A. M., O’Neal D. P., Watkins D. M., Halas N. J., Drezek R. A., West J.L. Near infrared laser-tissue welding using nanoshells as an exogenous absorber // *Lasers in Surgery and Medicine*. –2005. –Vol. 37(2). –P. 123–129. DOI: [10.1002/lsm.20206](https://doi.org/10.1002/lsm.20206).

24. Ott B., Züger B. J., Erni D., Banic A., Schaffner T., Weber H. P., Frenz M. Comparative in vitro study of tissue welding using a 808 nm diode laser and a Ho:YAG laser // *Lasers in Medical Science*. –2001. –Vol. 16(4), –P. 260–266. DOI: [10.1007/PL00011362](https://doi.org/10.1007/PL00011362).

25. Savage H.E., Halder R. K., Kartazayeu U., Rosen R.B., Gayen T., McCormick S.A., Patel N.S., Katz A., Perry H.D., Paul M., Alfano R.R. NIR laser

tissue welding of in vitro porcine cornea and sclera tissue // *Lasers in Surgery and Medicine*. –2004. –Vol. 35(4). –P. 293–303. DOI: [10.1002/lsm.20094](https://doi.org/10.1002/lsm.20094).

26. Sriramoju V., Alfano R.R. Laser tissue welding analyzed using fluorescence, Stokes shift spectroscopy, and Huang-Rhys parameter // *Journal of Biophotonics*. –2012. –Vol. 5(2), –P. 185–193. DOI: [10.1002/jbio.201100050](https://doi.org/10.1002/jbio.201100050).

27. Lalayan A.A., Israelyan S.S. Metal nanoparticles and IR laser applications in medicine for biotissue ablation and welding // *Laser Physics*. — 2015. Vol 26(5). –P. 055605-1-5. DOI: [10.1088/1054-660X/26/5/055605](https://doi.org/10.1088/1054-660X/26/5/055605).

28. Rossi F., Matteini P., Ratto F., Menabuoni L., Lenzetti I., Pini R. Laser Tissue Welding In Ophthalmic Surgery // *Journal of Biophotonics*. –Vol. 1(4). –P. 331–342. DOI: [10.1002/jbio.200810028](https://doi.org/10.1002/jbio.200810028).

29. Urie R., Quraishi S., Jaffe M., Rege K. Gold Nanorod-Collagen Nanocomposites as Photothermal Nanosolders for Laser Welding of Ruptured Porcine Intestines // *ACS Biomaterials Science and Engineering*. –2015. –Vol. 1(9). –P. 805–815. DOI: [10.1021/acsbiomaterials.5b00174](https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5b00174).

30. Gabay I., Barequet I., Varssano D., Rosner M., Katzir A. Bonding surgical incisions using a temperature-controlled laser system based on a single infrared fiber // *Journal of Biomedical Optics*. –2013. –Vol. 18(11). –P. 111416-5. DOI: [10.1117/1.JBO.18.11.111416](https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.11.111416).

31. Tal K., Strassmann E., Loya N., Ravid A., Kariv N., Weinberger D., Katzir A. Gaton, D.D. Corneal cut closure using temperature-controlled CO<sub>2</sub> laser soldering system // *Lasers in Medical Science*, –2015. –Vol. 30(4), –P. 1367–1371. DOI: [10.1007/s10103-015-1737-2](https://doi.org/10.1007/s10103-015-1737-2).

32. Shumalinsky D., Lobik L., Cytron S., Halpern M., Vasilyev T., Ravid A., Katzir A. Laparoscopic Laser Soldering for Repair of Ureteropelvic Junction Obstruction in the Porcine Model // *Journal of Endourology*. –2004. –Vol. 18(2). –P. 177–181. DOI: [10.1089/089277904322959833](https://doi.org/10.1089/089277904322959833).

33. Simhon D., Gabay I., Shpolyansky G., Vasilyev T., Nur I., Meidler R., Hatoum O.A., Katzir A., Hashmonai M. and Kopelman D. Temperature-controlled laser-soldering system and its clinical application for bonding skin incisions //

Journal of Biomedical Optics. —2015. —Vol. 20(12). —P. 128002-8. DOI: [10.1117/1.JBO.20.12.128002](https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.12.128002).

34. Strassmann E., Livny E., Loya N., Kariv N., Ravid A., Katzir A., Gatot D. CO<sub>2</sub> laser welding of corneal cuts with albumin solder using radiometric temperature control // *Ophthalmic Research*. —2013. —Vol. 50(3). —P. 174–179. DOI: [10.1159/000353436](https://doi.org/10.1159/000353436).

35. Gabay I., Barequet I., Varssano D., Rosner M., Katzir A. Bonding surgical incisions using a temperature-controlled laser system based on a single infrared fiber // *Journal of Biomedical Optics*. —2013. —Vol. 18(11). —P. 111416–111415. DOI: [10.1117/1.JBO.18.11.111416](https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.11.111416).

36. Spector D., Rabi Y., Vasserman I., Hardy A., Klausner J., Rabau M., Katzir A. In vitro large diameter bowel anastomosis using a temperature controlled laser tissue soldering system and albumin stent // *Lasers in Surgery and Medicine*. —2009. —Vol. 41(7). —P. 504–508. DOI: [10.1002/lsm.20799](https://doi.org/10.1002/lsm.20799).

37. Barry R.M. *Biomedical Photonics* // CRC Press. —Boca Raton, Florida, USA. —2003. ISBN 0–8493–1116–0. DOI: [10.1117/1.1776177](https://doi.org/10.1117/1.1776177)

38. White R.A., Kopchok G.E., Donayre C.E., Peng S.K., Fujitani R.M., White G.H., Uitto J. Mechanism of tissue fusion in argon laser-welded vein-artery anastomoses // *Lasers in Surgery and Medicine*. —1988. —Vol. 8(1). —P. 83–89. 1988. DOI: [10.1002/lsm.1900080115](https://doi.org/10.1002/lsm.1900080115).

39. Godlewski G., Rouy S., Dauzat M. Ultrastructural study of arterial wall repair after argon laser micro-anastomosis // *Lasers in Surgery and Medicine*. —1987. —Vol. 7(3), —P. 258–262. DOI: [10.1002/lsm.1900070309](https://doi.org/10.1002/lsm.1900070309).

40. Menovsky T., Beek J.F., and van Gemert M.J. Laser tissue welding of dura mater and peripheral nerves: a scanning electron microscopy study. *Lasers in Surgery and Medicine*. —1996. —Vol. 19(2). —P. 152–158. DOI: [10.1002/\(SICI\)1096-9101\(1996\)19:2<152::AID-LSM5>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9101(1996)19:2<152::AID-LSM5>3.0.CO;2-R).

41. Kopchok G.E., White R.A., White G.H., Fujitani R., Vlasak J., Dykhovskiy, L., Grundfest W.S. CO<sub>2</sub> and argon laser vascular welding: acute

histological and thermodynamic comparison // *Lasers in Surgery and Medicine*. – 1988. –Vol. 8(6). –P. 584-588. DOI: [10.1002/lsm.1900080608](https://doi.org/10.1002/lsm.1900080608).

42. Murray L.W., Su L., Kopchok G.E., White R.A. Crosslinking of extracellular matrix proteins: a preliminary report on a possible mechanism of argon laser-welding // *Lasers in Surgery and Medicine*. –1989. –Vol. 9(5). –P. 490-496. DOI: [10.1002/lsm.1900090512](https://doi.org/10.1002/lsm.1900090512).

43. White R.A., White G.H., Fujitani J.M., Vlassak J.W., Donayre C.E., Kopchok G.E., Peng S.K. Initial human evaluation of argon laser-assisted vascular anastomoses // *Journal of Vascular Surgery*. –1989. –Vol. 9(4). –P. 542-547. DOI: [10.1016/0741-5214\(89\)90470-9](https://doi.org/10.1016/0741-5214(89)90470-9).

44. Kada O., Shimizu K., Ikuta H., Horii H., Nakamura K. An alternative method of vascular anastomosis by laser: experimental and clinical study // *Lasers in Surgery and Medicine*. –1987. –Vol. 7(3). –P. 240-248. DOI: [10.1002/lsm.1900070307](https://doi.org/10.1002/lsm.1900070307).

45. Dew D.K., Supik L., Darrow C., Price G.F. Tissue repair using lasers: a review // *Orthopedics*. –1993. –Vol. 16, –P. 581-586.

46. Vale B.H., Frenkel A., Trenka-Benthin S., Matlaga B.F., Microsurgical anastomoses of rat carotid arteries with the CO<sub>2</sub> laser // *Plastic and Reconstructive Surgery*. –1986. –Vol. 77. –P. 759-766. DOI: [10.1097/00006534-198605000-00012](https://doi.org/10.1097/00006534-198605000-00012).

47. Bass L.S., Moazami N., Pocsidio J., Oz M.C., LoGerfo P., Treat M.R., Changes in type I collagen following laser welding // *Lasers in Surgery and Medicine*. –1992. –Vol. 12(5). –P. 500-505. DOI: [10.1002/lsm.1900120508](https://doi.org/10.1002/lsm.1900120508).

48. Schober R., Ulrich F., Sander T., Durselen H., Hessel S. Laser induced alteration of collagen substructure allows microsurgical tissue welding // *Science*. – 1986. –Vol. 232(13), –P. 1421-1422. DOI: [10.1126/science.3715454](https://doi.org/10.1126/science.3715454).

49. Lemole G.M., Anderson R.R., DeCoste S. Preliminary evaluation of collagen as a component in the thermally induced “weld” // *Proceedings of SPIE*. – 1991. –Vol. 1422, 116. DOI: [10.1117/12.590614](https://doi.org/10.1117/12.590614)

50. Back M.R., Kopchok G.E., White R.A., Cavaye D.M., Donayre C.E., Peng S.K. Nd:YAG laser-welded canine arteriovenous anastomoses // *Lasers in Surgery and Medicine*. –1994. –Vol. 14(2). –P. 111-117. DOI: [10.1002/1096-9101\(1994\)14:2<111::aid-lsm1900140203>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/1096-9101(1994)14:2<111::aid-lsm1900140203>3.0.co;2-f).

51. Tang J., Godlewski G., Rouy S., Delacretaz G. Morphologic changes in collagen fibers after 830 nm diode laser welding // *Lasers in Surgery and Medicine*. –1997. –Vol. 21(5). –P. 438-443. DOI: [10.1002/\(sici\)1096-9101\(1997\)21:5<438::aid-lsm5>3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9101(1997)21:5<438::aid-lsm5>3.0.co;2-r).

52. Tang J., O'Callaghan D., Rouy S., Godlewski G. Quantitative changes in collagen levels following 830-nm diode laser welding // *Lasers Surg. Med.*, –1998. –Vol. 22(4). –P. 207-211.

53. Финкельштейн А.В. Физика Белка: Курс Лекций // А.В. Финкельштейн, О.Б. Птицын. –М.: Изд-во Издательский дом МГУ им М.В. Ломоносова, 2012. – 500 с. ISBN: 9785982278340.

54. Chetoni P., Burgalassi S., Monti D., Tampucci S., Rossi F., Pini R., Menabuoni, L. Healing of rabbits' cornea following laser welding: Effect of solid and semisolid formulations containing indocyanine green // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. –2007. –Vol. 17(1), –P. 25–31. DOI: [10.1016/S1773-2247\(07\)50004-3](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(07)50004-3).

55. Silva S.S., Motta A., Rodrigues M.T., Pinheiro A.F., Gomes M.E., Mano J.F., Reis R.L., Migliaresi C. Novel genipin- cross-linked chitosan/silk fibroin sponges for cartilage engineering strategies // *Biomacromolecules*. –2008. –Vol. 9(10). –P. 2764–2774. DOI: [10.1021/bm800874q](https://doi.org/10.1021/bm800874q).

56. Ma L., Gao C., Mao Z., Zhou J., Shen J., Hu X., Han C. Collagen/chitosan porous scaffolds with 6 improved biostability for skin tissue engineering // *Biomaterials*. –2003. –Vol. 24(26). –P 4833–4841. DOI: [10.1016/s0142-9612\(03\)00374-0](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00374-0).

57. Sionkowska A., Wisniewski M., Skopinska J., Kennedy C.J., Wess T.J. Molecular interactions in collagen and chitosan blends // *Biomaterials*. –2004. –Vol. 25(5). –P. 795–801. DOI: [10.1016/S0142-9612\(03\)00595-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00595-7).

58. Gittens J., Haleem A.M., Grenier S., Smyth N.A., Hannon C.P., Ross K.A., Torzilli P.A., Kennedy J.G. Use of novel chitosan hydrogels for chemical tissue bonding of autologous chondral transplants // *Journal of Orthopaedic Research*. –2016. –Vol. 34(7). –P. 1139. –1146. DOI: [10.1002/jor.23142](https://doi.org/10.1002/jor.23142).

59. Judy M.M., Chen L., Fuh L., Nosir H., Jackson R.W., Matthews J.L., Lewis D.E., Utecht R.E., Yuan D. Photochemical cross-linking of type I collagen with hydrophobic and hydrophilic 1,8-naphthalimide dyes // *Proceedings of SPIE*. –1996. –Vol. 2681. DOI: [10.1117/12.239610](https://doi.org/10.1117/12.239610)

60. Judy M.M., Nosir H.R., Jackson R.W., Matthews J.L., Utecht R.E., Lewis D.E., Yuan D. Photochemical bonding of skin with 1,8-naphthalimide dyes // *Proceedings of SPIE*. –1997. –Vol. 3195. DOI: [10.1117/12.297902](https://doi.org/10.1117/12.297902).

61. Mulroy L., Kim J., Wu I., Scharper P., Melki S.A., Azar D.T., Redmond R.W., Kochevar I.E., Photochemical keratodesmos for repair of lamellar corneal incisions // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. –2000. –Vol. 41(11). –P. 3335-3340.

62. Merguerian P.A., Pugach J.L., Lilge L.D. Nonthermal ureteral tissue bonding: comparison of photochemical collagen crosslinking with thermal laser bonding // *Proceedings of SPIE*. –1999. –Vol. 3590. DOI: [10.1117/12.350962](https://doi.org/10.1117/12.350962)

63. Judy M.M., Fuh L., Matthews J.L., Lewis D.E., Utecht R.E. Gel electrophoretic studies of photochemical cross-linking of type I collagen with brominated 1,8-naphthalimide dyes and visible light // *Proceedings of SPIE*. –1994. –Vol. 2128. DOI: [10.1117/12.184876](https://doi.org/10.1117/12.184876).

64. Shen H., Spikes J.D., Kopeckova P., Kopecek J. Photodynamic crosslinking of proteins, II: photocrosslinking of a model protein-ribonuclease // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. –1996. –Vol. 35(3). –P. 213-219.

65. Girotti A.W., Photosensitized crosslinking of erythrocyte membrane proteins: evidence against participation of amino groups in the reaction // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. –1980. –Vol. 602(1). –P. 45-56.



66. Dubbelman T.M., de Goeij A.F., Stevenick J.V. Photodynamic effects of protoporphyrin on human erythrocytes: nature of the cross-linking of membrane proteins // *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. –1978. –Vol. 511(2). –P. 141-151.

67. Verweij H., Dubbelman T.M.A.R., Steveninck J.V. Photodynamic protein crosslinking // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. — 1981. —Vol. 647(1). —P. 87-94. DOI: [10.1016/0005-2736\(81\)90297-2](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90297-2).

68. Ramshaw J.A., Stephens L.J., Tulloch P.A. Methylene blue sensitized photo-oxidation of collagen fibrils // *Biochimica et Biophysica Acta*. –1994. –Vol. 1206(2). –P. 225-230. DOI: [10.1016/0167-4838\(94\)90212-7](https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)90212-7).

69. Spoerl E., Huhle M., Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue // *Experimental Eye Research*. –1998. –Vol. 66(1). –P. 97-103. DOI: [10.1006/exer.1997.0410](https://doi.org/10.1006/exer.1997.0410).

70. Judy M.M., Jackson R.W., Nosir H.R., Matthews J.L., Loyd J.D., Lewis D.E., Utecht R.E., Yuan D. Healing results in meniscus and articular cartilage photochemically welded with 1,8- naphthalimide dyes // *Proceedings of SPIE*. — 1997. —Vol. 2970. —P. 257-260. DOI: [10.1117/12.275051](https://doi.org/10.1117/12.275051).

71. Zielinski J., Möller A. M., Frenz M., Mevissen M. Evaluation of endocytosis of silica particles used in biodegradable implants in the brain // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. –2016.–Vol. 12(6), –P. 1603–1613. DOI: [10.1016/j.nano.2016.02.009](https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.02.009).

72. Wang X., Ao Q., Tian X., Fan J., Wei Y., Hou W., Tong H., Bai S. 3D bioprinting technologies for hard tissue and organ engineering // *Materials*. – 2016.–Vol. 9(10), –P. 1–23. DOI: [10.3390/ma9100802](https://doi.org/10.3390/ma9100802).

73. Ark M., Cosman P.H., Boughton P., Dunstan C.R. Photochemical Tissue Bonding (PTB) methods for sutureless tissue adhesion // *International Journal of Adhesion and Adhesives*. –2016. –Vol. 71, –P. 87–98. DOI: [10.1016/j.ijadhadh.2016.08.006](https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2016.08.006).

74. Matteini P., Rossi F., Ratto F., Pini R. Laser Imaging and Manipulation in Cell biology. Chapter 9 Laser Welding of Biological Tissue: Mechanisms,

Applications and Perspectives // WILY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. — Weinheim. —2010. ISBN: 978-3-527-40929-7.

75. Li-Da H., Zhen L., Yu P., MuhammadIqbal S., Yu-Feng Z., Li L. A review on biodegradable materials for cardiovascular stent application // *Frontiers of Materials Science*. —2016. —Vol. 10(3). —P. 238–259. DOI: [10.1007/s11706-016-0344-x](https://doi.org/10.1007/s11706-016-0344-x).

76. Amade B., Serge B., Vianney J.P.B., Istvan V., Felix V., Alke P., Mihai C., Heinrich H., Martin F., Michael R. Solder doped polycaprolactone scaffold enables reproducible laser tissue soldering // *Lasers in Surgery and Medicine*. — 2008. —Vol. 40(10). —P. 716–725. DOI: [10.1002/lsm.20710](https://doi.org/10.1002/lsm.20710).

77. Matteini P., Ratto F., Rossi F., de Angelis M., Cavigli L., Pini R. Hybrid nanocomposite films for laser-activated tissue bonding // *Journal of Biophotonics*. —2012. —Vol. 5(11–12). —P. 868–877. DOI: [10.1002/jbio.201200115](https://doi.org/10.1002/jbio.201200115).

78. Min H., Jingyi C., Zhi-Yuan L., Leslie A., Gregory V.H., Xingde L., Manuel M., Younan X. Gold nanostructures: engineering their plasmonic properties for biomedical applications // *Chemical Society Reviews*. —2006. —Vol. 35(11). —P. 1084. DOI: [10.1039/b517615h](https://doi.org/10.1039/b517615h).

79. Бункин Ф. В. Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов // Бункин Ф. В., Камминс Г., Пайк Э. —М: Изд-во Мир, 1978. —574 с.

80. Емелина А.Л. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ КАЛОРИМЕТРИЯ // Емелина А.Л. —М: Лаборатория химического факультета МГУ. —2009. —42 с.

81. Rossi F., Pini R., Menabuoni L. Experimental and model analysis on the temperature dynamics during diode laser welding of the cornea. // *J. Biomed. Opt.* 2007. Т. 12, № 1. С. 14031.

82. Lin V.J.C., Koenig J.L. Raman studies of bovine serum albumin // *Biopolymers*. —1976. —Vol. 15(1). —P. 203–218.

DOI: [10.1002/bip.1976.360150114](https://doi.org/10.1002/bip.1976.360150114).

83. Рябкин Д.И., Герасименко А.Ю., Ичкитидзе Л.П., Пьянков Е.С., Подгаецкий В.М. Программа управления и мониторинга обратной связи

лазерного устройства для восстановления прочности биоткани // Программа ЭВМ № 2015619771 от 20.05.2015. Дата регистрации: 14.09.2015.

84. Рябкин Д.И., Герасименко А.Ю., Ичкитидзе Л.П., Пьянков Е.С., Савельев М.С. Программа управления системой термостабилизации аппарата для лазерной сварки биологических тканей // Программа ЭВМ № 20166118313 от 03.06.2016. Дата регистрации: 26.07.2016.

85. Герасименко А. Ю., Ичкитидзе Л. П., Рябкин Д. И., Подгаецкий В. М. Устройство для лазерного сваривания рассеченных биологических тканей. // Патент РФ № 2611918 от 16.09.2015. Опубликовано 01.03.2017.

86. Рябкин Д.И. Разработка обратной температурной связи аппарата лазерной сварки биологических тканей // Микроэлектроника и информатика – 2014. 21-ая всероссийская межвузовская НТК студентов и аспирантов: Тезисы докладов. —М.: МИЭТ, 2014 —с. 234.

87. Герасименко А.Ю., Пьянков Е.С., Рябкин Д.И. Метод лазерной сварки биологических тканей // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2014: Тезисы докладов —Саратов, Россия: СГУ, 2014 —с. 81–83.

88. Gerasimenko A.Yu., Ichkitidze L.P., Pyankov E.S., Podgaetsky V.M. and Ryabkin D.I. Laser welding method of biological tissues // Russian-German conference in biomedical engineering (RGC-2014): Abstracts of reports. — S. P.: LETI, 2014 —P. 64–65.

89. Gerasimenko A.Yu., Gerasimenko E.A., Dudin A.A., Eganiva E.M., Ichkitidze L.P., Pavlov A.A., Pyankov E.S., Ryabkin D.I., Savelyev M.S., Selishchev S.V. and Yakovleva N.N. Investigation of carbon nanosolders and development of equipment for carrying out of the laser welding of biological tissues // Russian-German conference in biomedical engineering (RGC-2015): Abstracts of reports. —Aachen, Germany, 2015 —P. 179–182.

90. Рябкин Д.И., Пьянков Е.С., Герасименко А.Ю. Обратная температурная связь аппарата лазерной сварки биологических тканей // Ломоносов-2015. 22 Международная научная конференция студентов,

аспирантов и молодых учёных: Тезисы докладов. [Электронный ресурс] — М.: МАКС Пресс, —2014.

91. Римшан И.Б., Рябкин Д.И. Температурный контроль в лазерных медицинских приборах // Микроэлектроника и информатика – 2015. 22-ая всероссийская межвузовская НТК студентов и аспирантов: Тезисы докладов. – М.: МИЭТ, 2015 —с. 330.

92. Рябкин Д.И. Программная часть обратной температурной связи аппарата лазерной сварки биологических тканей // Микроэлектроника и информатика – 2018 25-ая всероссийская межвузовская НТК студентов и аспирантов: Тезисы докладов. — М.: МИЭТ, 2018. —с. 331.

93. Герасименко А.Ю., Пьянков Е.С. и Рябкин, Д.И. Лазерный аппарат и припой для сварки биологических тканей // VI Троицкая конференция (Медицинская физика и инновации в медицине): Тезисы докладов. — М.: Троицк, 2014 —с. 410–412.

94. Gerasimenko A.Yu, Ichkitidze L.P., Pavlov A.A., Piyankov E.S., Ryabkin, D.I., Savelyev M.S., Selishchev S.V., Rimshan I.B., Zhurbina N.N. and Podgaetskii V.M. Laser system with adaptive thermal stabilization for welding of biological tissues // Biomedical Engineering. —2016. —Vol. 6(49), № 6. —P. 344–348. DOI: 10.1007/s10527-016-9563-9.

95. Ryabkin D. I. Method for biological tissue temperature measuring in the area of laser radiation exposure with a small size beam profile during laser welding // Proceedings of SPIE. —2018. —Vol. 1071610. —P. 190. DOI: [10.1117/12.2316717](https://doi.org/10.1117/12.2316717).

96. Sherchenkov A., Kozyukhin S., Babich A. Estimation of kinetic parameters for the phase change memory materials by DSC measurements // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. –2014. –Vol. 117(3). –P. 1509-1516. DOI: [10.1007/s10973-014-3899-8](https://doi.org/10.1007/s10973-014-3899-8).

97. Coats A.W., Redfern J.P. Kinetic parameters from thermogravimetric data // Nature. –1964. –Vol. 201. –P. 68-69. DOI: [10.1038/201068a0](https://doi.org/10.1038/201068a0).

98. Ozawa T. A new method of analyzing thermogravimetric data // Bull Chem Soc. –1965. –Vol. 38. –P. 1881-6. DOI: [10.1246/bcsj.38.1881](https://doi.org/10.1246/bcsj.38.1881).

99. Flynn J.H., Wall L.A. A quick, direct method for the determination of activation energy from thermogravimetric data // Polym Lett. –1966. –Vol. 4. –P.323-8. DOI: [10.1002/pol.1966.110040504](https://doi.org/10.1002/pol.1966.110040504).

100. Gerasimenko A.Yu., Ichkitidze L.P., Piyankov E.S., Pyanov I.V., Rimshan, I.B., Ryabkin, D.I., Savelyev M.S. and Podgaetskii V.M. Use of indocyanine green in nanocomposite solders to increase strength and homogeneity in laser welding of tendons // Biomedical Engineering. —2017. —Vol. 5(50). —P. 310–313. DOI: [10.1007/s10527-017-9644-4](https://doi.org/10.1007/s10527-017-9644-4).

101. Ryabkin D.I., Kvasnov B.A., Gerasimenko A.Yu., Kuksin A.V. and Podgaetsky V.M. Investigation by the DLS method of sizes of components aggregates in laser-solders during heated // Proceedings of 2018 International Conference Laser Optics. —2018. —P. 579. DOI: [10.1109/LO.2018.8435779](https://doi.org/10.1109/LO.2018.8435779).

102. Ryabkin D.I., Kvasnov B.A., Pyanov I.V., Gerasimenko A.Yu., Oshkukov S.A. Research of Geometric Parameters of Aggregate Formed by Interaction of Albumin with Carbon Nanotubes in Composition of Solder for Laser Welding of Biological Tissues // Proceedings of the 2017 IEEE Russia Section Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering Conference (ElConRus). —2017. —P. 66–67. DOI: [10.1109/EIConRus.2017.7910493](https://doi.org/10.1109/EIConRus.2017.7910493).

103. Ryabkin D.I., Gerasimenko A.Yu., Kvasnov B.A., Pyankov E.S., Pyanov I.V., Telyshev D.V. and Podgaetsky V.M. Investigation of the interaction of the solder components for laser welding of biological tissues // Proceedings of SPIE-OSA. —2017. —Vol. 10417. —P. 104170K 1-5. DOI: [10.1117/12.2286204](https://doi.org/10.1117/12.2286204).

104. Gerasimenko A.Yu., Zhurbina N.N. Kurilova, U.E. Polokhin, A.A. Ryabkin, D.I. Savelyev, M.S. Suetina, I.B. Mezentseva, M.V. Ichkitidze, L.P. Ignatov, D.A. Garcia-Ramirez, M.A. Guzman Gonzalez, J.V. Podgaetsky, V.M. The technology of laser fabrication of cell 3D scaffolds based on proteins and carbon nanoparticles // Proceedings of SPIE. —2018. —Vol. 10675. —P. 1067510. DOI: [0.1117/12.2306792](https://doi.org/10.1117/12.2306792).

105. Gerasimenko A.Yu., Kurilova U.E., Zhurbina N.N., Ignatov D.A., Fedorova J.O. Privalova P.Yu., Polokhin A.A., Ryabkin D.I., Savelyev M.S., Ichkitidze L.P. and Podgaetskii V.M. Laser nanocomposites based on proteins and carbon nanotubes for restoration of biological tissues // Proceedings of SPIE. — 2018. —Vol. 10614. —P. 106140H 1-6. DOI: 10.1117/12.2303493.

106. Ryabkin D.I., Podgaetsky V.M., Taricyna N.A., Piyankov E.S. and Gerasimenko A.Yu. The laser welding of the nanocomposites with biotissues of the cardiovascular system // Proceedings of SPIE. —2018. —Vol. 10685. —P. 106853U 1–7. DOI: 0.1117/12.2306924.

107. Rimshan I.B. Ryabkin D.I. Savelyev M.S. Zhurbina N.N. Pyanov I.V. Eganova E.M. Pavlov A. A. Podgaetsky V.M. Ichkitidze L.P. Selishchev S.V. and Gerasimenko A. Y. The tensile strength characteristics study of the laser welds of biological tissue using the nanocomposite solder // Proceedings of SPIE. —2016. —Vol. 9917. —P. 99170I. DOI: 10.1117/12.2229748.

108. Gerasimenko A.Yu., Ten G.N., Ryabkin D.I., Shcherbakova N.E., Morozova E.A., Ichkitidze L.P. The study of the interaction mechanism between bovine serumalbumin and single-walled carbon nanotubes depending on their diameter and concentration in solid nanocomposites by vibrational spectroscopy // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. —2019. —Vol. 227. —P. 117682 1-10. DOI: 10.1016/j.saa.2019.117682.

109. Rimshan I.B. Ryabkin D.I. Savelyev M.S. Zhurbina N.N. Pyanov I.V. Eganova E.M. Pavlov A. A. Podgaetsky V.M. Ichkitidze L.P. Selishchev S.V. and Gerasimenko A. Y. The tensile strength characteristics study of the laser welds of biological tissue using the nanocomposite solder // Proceedings of SPIE. —2016. —Vol. 9917. —P. 99170I. DOI: 10.1117/12.2229748.

110. Римшан И.Б., Рябкин Д.И. Прочность и структура лазерных сварных швов биоткани, получаемых при использовании белкового припоя с нанотрубками // Ломоносов-2016. 23 Международная научная конференция

студентов, аспирантов и молодых учёных: Тезисы докладов. [Электронный ресурс] —М.: МАКС Пресс, —2014.

111. Ryabkin D.I., Gerasimenko A.Yu., Pyankov E.S. and Taricina N.A. Podgaetskii, V.M. The investigation of the influence of the laser solder composition on the welds tensile strength // 44 European Society for Artificial Organ congress (ESAO 2017): Abstracts of reports. —Vienna, Austria, 2017.

112. Ryabkin D.I., Gerasimenko A.Yu., Pyankov E.S., Taricina N.A. and Podgaetskii, V.M. Laser welding investigation of subchondral bone and hyaline cartilage with nanocomposite solder // 44 European Society for Artificial Organ congress (ESAO 2017): Abstracts of reports. —Madrid, Spain, 2017.

113. Егорцова Т.А., Рябкин Д.И. Соединение рассечённых биологических тканей методом лазерной сварки с использованием хирургических материалов // Микроэлектроника и информатика – 2013. 20-ая всероссийская межвузовская НТК студентов и аспирантов: Тезисы докладов. — М.: МИЭТ, 2013. —с. 273.

114. Gerasimenko A.Yu, Ickitidze L.P., Ryabkin D.I., Selishchev S.V., Pyankov E.S., Mezentseva M.V., Suetina I.A., Rimshan I.B. and Podgaetsky V.M. Laser nanosolder characteristics effect on tensile strength and structure of biotissue seam weld // Proceedings of 2016 International Conference Laser Optics. —2016. —P. S249. DOI: [10.1109/lo.2016.7550016](https://doi.org/10.1109/lo.2016.7550016).

115. Rimshan I.B., Zhurbina N.N., Kurilova U.E., Ryabkin D.I. and Gerasimenko, A.Yu. Biocompatible nanomaterial for restoration of continuity of dissected biological tissues // Biomedical Engineering. —2018. —Vol. 1(52). —P. 23–26. DOI: [10.1007/s10527-018-9774-3](https://doi.org/10.1007/s10527-018-9774-3).

116. А.Ю. Герасименко, Д.И. Рябкин. Структурные и спектральные особенности композитов на основе белковых сред с одностенными углеродными нанотрубками // Конденсированные среды и межфазные границы. —2019. № 21(2). с. 191–203. DOI: [10.17308/kcmf.2019.21/757](https://doi.org/10.17308/kcmf.2019.21/757).

117. D. I. Ryabkin, N. A. Taritsyna, N. N. Zhurbina, D. A. Ignatov, and A. Yu. Gerasimenko. Use of laser welding for combining hyaline cartilage and

subchondral bone with a nanocomposite based on bovine serum albumin and carbon nanotubes // AIP Conference Proceedings. —2019. —Vol. 2140. —P. 020061-1-4. DOI: [10.1063/1.5121986](https://doi.org/10.1063/1.5121986).

118. M.S. Savelyev, N.O. Agafonova, P.N. Vasilevsky, D.I. Ryabkin, and A. Y. Gerasimenko. Investigation of albumin denaturation when exposed to a nanosecond laser source // AIP Conference Proceedings. AIP Conference Proceedings. —2019. —Vol. 2140. —P. 020063-1-4. DOI: [10.1063/1.5121988](https://doi.org/10.1063/1.5121988).

119. Ryabkin D.I., Rimshan I.B., Gerasimenko A.Yu., Pyankov E.S., Zar V.V. Research of dependence of the laser weld tensile strength on the protein denaturation temperature, which is part of the solder // Proceedings of the 2017 IEEE Russia Section Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering Conference (ElConRus). —2017. —P. 68–70. DOI: [10.1109/EIConRus.2017.7910494](https://doi.org/10.1109/EIConRus.2017.7910494).

120. M.S. Savelyev, N.O. Agafonova, P.N. Vasilevsky, D.I. Ryabkin, D.V. Telyshev, P.S. Timashev, A.Y. Gerasimenko. Effects of pulsed and continuous-wave laser radiation on the fabrication of tissue-engineered composite structures // Optical Engineering. —2020. —Vol. 59(6). 061623. DOI: [10.1117/1.OE.59.6.061623](https://doi.org/10.1117/1.OE.59.6.061623)