

# DINAMIČNA MEHANSKA ANALIZA IN NJENA UPORABA PRI KARAKTERIZACIJI RAZGRADLJIVIH POLIMERNIH OGRODIJ, PRIMERNIH ZA TKIVNO INŽENIRSTVO

Petra Utroša<sup>1</sup>, Matjaž Finšgar<sup>2</sup>

STROKOVNI ČLANEK

<sup>1</sup>Kemijski inštitut, Odsek za polimerno kemijo in tehnologijo, Hajdrihova ulica 19, 1001 Ljubljana, Slovenija

<sup>2</sup>Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Smetanova ulica 17, 2000 Maribor, Slovenija

## POVZETEK

Dinamična mehanska analiza (DMA) je tehnika za meritev mehanskih lastnosti viskoelastičnih materialov v odvisnosti od časa, napetosti, deformacije, temperature ali frekvence. Deluje na vsiljevanju dinamične oscilirajoče obremenitve, ki istočasno daje podatek o elastični in viskozni komponenti, s katerima opišemo material. Karakterizacija mehanskih lastnosti materiala je pomembna, ker je od njih odvisno, ali bo primeren za določeno aplikacijo. DMA je pri tem zelo koristno orodje, saj omogoča karakterizacijo različnih polimernih materialov pri raznovrstnih oblikah deformacije. V tem delu so opisani principi tehnike DMA in načini meritev, ki jih omogoča. Na primerih je prikazana uporaba DMA za karakterizacijo razgradljivih polimerov, primernih za tkivno inženirstvo, pri katerih je bistvenega pomena ujemanje mehanskih lastnosti materiala z mehanskimi lastnostmi tkiva.

**Ključne besede:** dinamična mehanska analiza (DMA), polimerna ogrodja, tkivno inženirstvo

## Dynamic mechanical analysis

### ABSTRACT

Dynamic mechanical analysis (DMA) is a technique used to measure the mechanical properties of viscoelastic materials under an oscillating load vs. time, temperature, or frequency of oscillation. The advantage of DMA technique is the possibility to differentiate between the elastic and viscous response. The importance of mechanical properties evaluation lies in the fact that they determine the material's possible applications. DMA enables the characterization of diverse polymeric materials under various modes of deformation. This article describes the principles of DMA and the tests that it offers. Furthermore, its relevance in the characterization of degradable polymers for tissue engineering is highlighted, where matching of material's characteristics to that of the native tissue is of great importance.

**Keywords:** dynamic mechanical analysis (DMA), polymer scaffolds, tissue engineering

## 1 DINAMIČNA MEHANSKA ANALIZA (DMA)

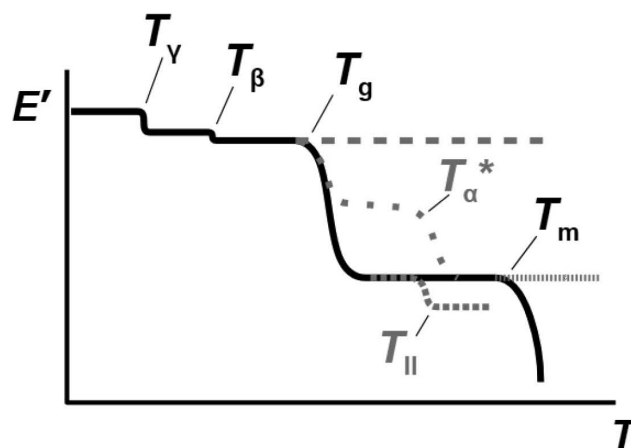
Mehanske lastnosti materiala določajo, kako se le-ta odzove na mehanske obremenitve. Pri uporabi želimo, da ne nastanejo trajne deformacije, ki bi ogrožale pravilno delovanje materiala. To lahko preprečimo s predhodno karakterizacijo mehanskih lastnosti materiala, s katerimi napovemo, kako se bo le-ta vedel v izbranih razmerah uporabe. Za trdne kovinske materiale, katerih lastnosti lahko enostavno opišemo s trdnostjo, se v glavnem uporabljajo trgalni stroji.

Polimeri, ki so pogosto uporabljeni materiali na najrazličnejših področjih, imajo kompleksnejše mehanske lastnosti od kovin. So visokoelastični, kar

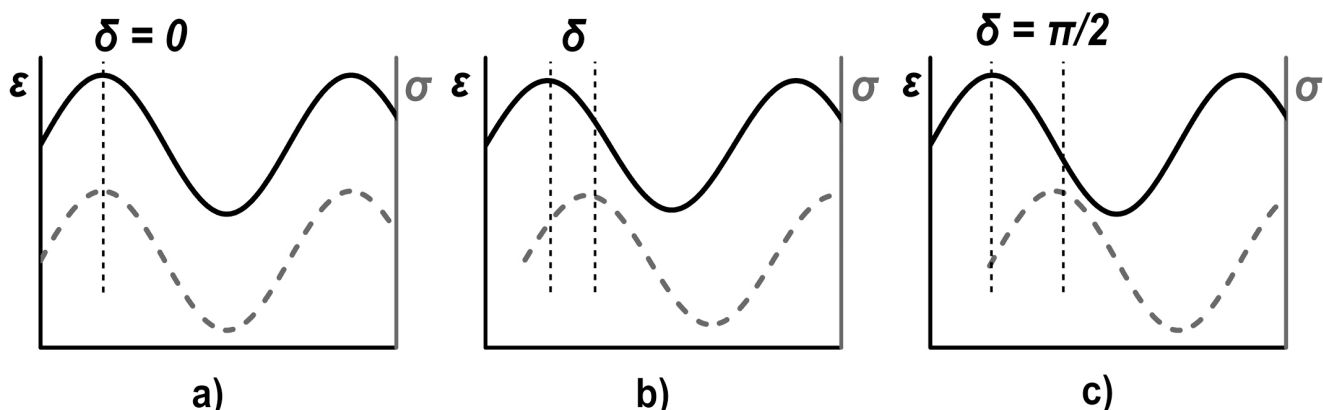
pomeni, da se lahko vedejo kot trdne elastične snovi in kot tekoče viskozne snovi. Njihovo karakterizacijo omogoča DMA. Ta se od univerzalnih trgalnih strojev razlikuje v tem, da se ne osredinja le na elastičnost materiala, temveč upošteva tudi viskozno komponento. Namesto Youngovega modula elastičnosti ( $E$ ) podaja kompleksni modul ( $E^*$ ) in s tem bistveno bolje opiše mnoge materiale.

### 1.1 Princip

Polimere si lahko predstavljamo kot skupek dolgih verig (makromolekul), ki so delno gibljive. Pri nizkih temperaturah so stisnjene in nimajo energije za gibanje, kar se izraža v večji togosti materiala, zato imajo višje vrednosti modula akumulacije energije oz. elastičnega modula  $E'$  (angl. *storage modulus*). S segrevanjem se material začne širiti in verige prejmejo dovolj energije, da postanejo bolj mobilne, material pa s tem postane mehkejši. Idealno vedenje je prikazano na **sliki 1**. Najprej nastane pojav lokaliziranega molekulskega gibanja, ki mu sledi prvi padec modula zaradi upogibanja in raztezanja verig – prehod gama ( $T_\gamma$ ). Z nadaljnjim segrevanjem se pojavi prehod beta ( $T_\beta$ ), pri čemer se začnejo gibati stranske verige in krajši deli glavne verige. Bistvena sprememba v amorfni polimerih se zgodi pri temperaturi steklastega prehoda oz. alfa prehodu ( $T_g$  oz.  $T_a$ ), ko se začnejo verige gibati na večji skali. Material preide iz trdega, steklastega stanja v mehko, gumijasto stanje. Z



**Slika 1:** Spreminjanje modula akumulacije energije  $E'$  v odvisnosti od temperature



Slika 2: Fazni zamik odziva: a) elastičnega, b) viskoelastičnega in c) viskozne materiala

višanjem temperature nad  $T_g$  dosežemo najprej gumi-jast plato, nakar se polimeri stalijo ( $T_m$ ), če niso popolnoma amorfni ali zamreženi. Pri semikristaliničnih polimerih lahko nastanejo tudi zdrsi kristalov ( $T_\alpha^*$ ), pri nekaterih amorfni polimerih pa do prehoda tekoče-tekoče ( $T_H$ ) [1].

DMA omogoča določanje viskoelastičnih lastnosti materialov na več različnih načinov. V splošnem vzorec na dinamičen način obremenimo z določeno napetostjo (angl. *stress*,  $\sigma$  – za natezno,  $\tau$  – za strižno) ali deformacijo (angl. *strain*,  $\varepsilon$  – za natezno,  $\gamma$  – za strižno) ter spremljamo njegov odziv v odvisnosti od časa, temperature ali frekvence. Iz sile in deformacije dobimo togost materiala (angl. *stiffness*,  $K$ ), z upoštevanjem geometrijskega faktorja pa izračunamo modul ( $E^*$  – natezni ali  $G^*$  – strižni) [1]. V t. i. linearnem viskoelastičnem območju je deformacija sorazmerna obremenitvi, zato dobimo s sinusoidno obremenitvijo odziv enake oblike [2].

Vzorcju vsiljujmo natezno deformacijo ( $\varepsilon$ ) po enačbi (1), kjer je  $\varepsilon_0$  amplituda deformacije,  $\omega$  frekvenca in  $t$  čas, ter spremljamo njegov odziv  $\sigma$  [3].

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \sin(\omega t) \quad (1)$$

Za popoln elastičen material velja Hookov zakon z enačbo (2), napetost pa opišemo z enačbo (3), kjer je  $\sigma_0$  amplituda napetosti. Gre za povratno deformacijo, odziv materiala je takojšen, brez zamika.

$$\sigma = E\varepsilon \quad (2)$$

$$\sigma(t) = E\varepsilon_0 \sin(\omega t) = \sigma_0 \sin(\omega t) \quad (3)$$

Popolni viskozni materiali sledijo Newtonovi enačbi (4), kjer je  $\eta^*$  kompleksna viskoznost,  $d\varepsilon/dt$  pa hitrost deformiranja. Nastalo napetost opišemo z enačbo (5). Deformacija je nepovratna, viskozen material pa se odziva z zamikom  $\pi/2$ .

$$\sigma = \eta^* \frac{d\varepsilon}{dt} \quad (4)$$

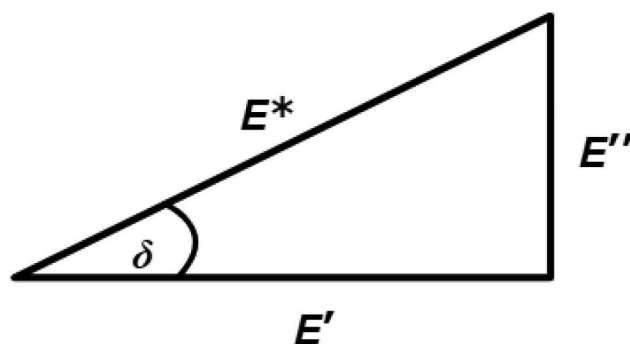
$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin\left(\omega t + \frac{\pi}{2}\right) \quad (5)$$

Večina materialov je viskoelastičnih in leži med obema skrajnostma, torej imajo fazni zamik ( $\delta$ ) med 0 in  $\pi/2$ , kar lahko prikažemo s sliko 2 in opišemo z enačbo (6).

$$\begin{aligned} \sigma(t) &= \sigma_0 \sin(\omega t + \delta) = \\ &= \sigma_0 \cos \delta \sin(\omega t) + \sigma_0 \sin \delta \cos(\omega t) = \\ &= \varepsilon_0 E' \sin(\omega t) + \varepsilon_0 E'' \cos(\omega t) \end{aligned} \quad (6)$$

Če izraz preoblikujemo z adicijskim izrekom, dobimo podatek o dveh neodvisnih količinah,  $E'$  in  $E''$  [4].  $E'$  je definiran z enačbo (7) [3] ter je v fazi z obremenitvijo povraten del deformacije in je povezan s togostjo materiala – določa, koliko je le-ta sposoben hraniti dovajano energijo [5].  $E'$  predstavlja naklon v točki pri oscilirajoči obremenitvi, medtem ko Youngov modul  $E$ , ki ga dobimo s statičnim mehanskim preizkusom, predstavlja naklon premice pri konstantni obremenitvi [1].  $E''$  je viskozni modul ali modul energijskih izgub (angl. *loss modulus*), ki ga opiše enačba (8) [3]. Je zunaj faze z obremenitvijo in je nepovraten del deformacije, pove nam pa o sposobnosti oddajanja dovedene energije [5].

$$E' = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \cos \delta \quad (7)$$



Slika 3: Geometrijski prikaz  $E'$  in  $E''$

$$E'' = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \sin \delta \quad (8)$$

Kompleksno vsoto modulov predstavlja kompleksni modul ( $E^*$ , angl. *complex modulus*). Geometrijsko jih prikažemo s **sliko 3** in v množici kompleksnih števil zapišemo z enačbo (9), kjer je  $i$  imaginarna enota. Razmerje med imaginarno in realno komponento kompleksnega modula je mehansko dušenje, ki ga izražamo s faktorjem izgub ( $\tan \delta$ ) po enačbi (10). Izraz  $\tan \delta$  nam pove, kolikšen del prejete energije se izgubi.

$$E^* = E' + iE'' \quad (9)$$

$$\tan \delta = \frac{E''}{E'} \quad (10)$$

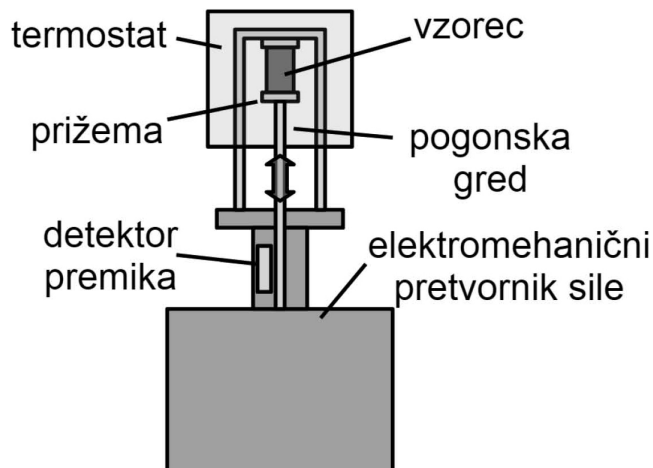
Zgornje enačbe veljajo tudi za strižne meritve, kjer kompleksni natezni modul ( $E^*$ ) zamenja kompleksni strižni modul ( $G^*$ ), sestavljen iz elastičnega ( $G'$ ) in viskoznega dela ( $G''$ ) strižnega modula. Vrednosti kompleksnih modulov povezuje enačba (11), kjer je  $\nu$  Poissonovo število.

$$G^* = \frac{E^*}{2(1+\nu)} \quad (11)$$

### 1.2 Instrument

Primer sestave instrumenta je prikazan na **sliki 4**. Elektromehanični pretvornik sile generira sinusoidno nihanje, ki ga pogonska gred prenese do vzorca, vpetega v ustrezno prižemo. Le-ta je v termostatisiranem prostoru, ki omogoča dobro kontrolo nad temperaturo vzorca [1].

Instrument lahko kontrolira deformacijo vzorca in pri tem z merilno celico meri napetost, ki nastane v vzorcu, ali pa na vzorec deluje s kontrolirano napetostjo in meri njegovo deformacijo oz. premik. Detektor za premik je lahko linearni vertikalni pre-



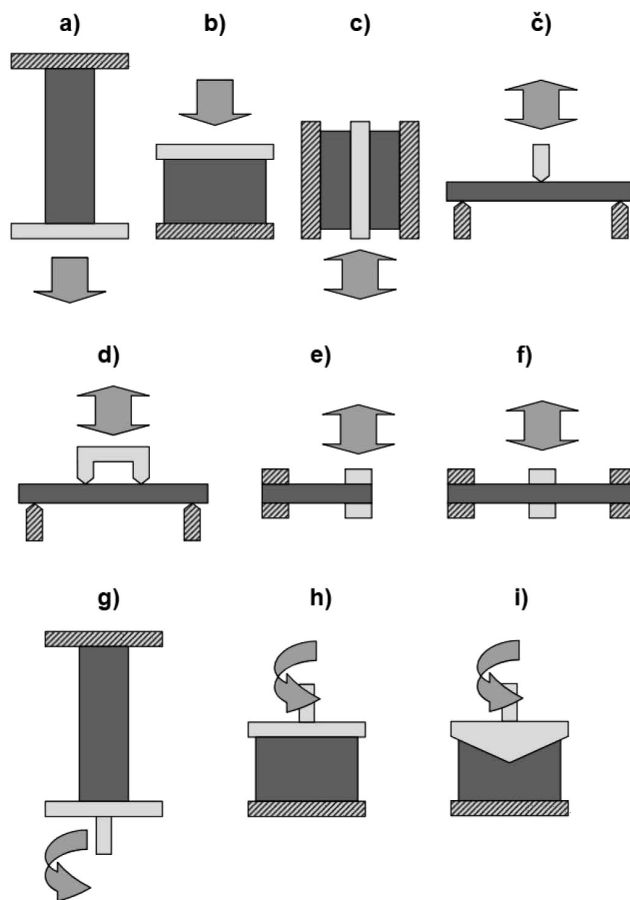
Slika 4: Shema DMA-instrumenta

tvornik premika (angl. *linear vertical displacement transducer*, LVDT), ki zazna spremembo napetosti pri premiku probe skozi magnetno polje, ali linearni optični kodirnik visoke ločljivosti (angl. *high-resolution linear optical encoder*), ki temelji na difrakciji svetlobe skozi uklonsko mrežico [6]. Večina DMA-instrumentov deluje s kontrolirano napetostjo in ima povratno zanko, ki omogoča tudi navidezno kontrolo deformacije.

### 1.3 Oblike deformacije vzorca

DMA lahko na vzorec deluje z aksialno ali torzijsko silo ter določa mehanske lastnosti pri različnih načinih obremenitve. Ločimo nateg (angl. *tension*), kompresijo (angl. *compression*), strig (angl. *shear*), upogib (angl. *bending*) in torzijo (angl. *torsion*). Za vsak način meritve se uporabi drugačna vpenjalna priprava; le-te prikazuje **slika 5** [1].

**Nateg.** Vzorec se vpne med statično in aksialno premično prižemo, nakar ga instrument postopoma razteza. Pri oscilirajoči napetosti oz. deformaciji je na vzorec potrebno delovati tudi s statično silo, ki



Slika 5: Vpenjalne priprave za: a) nateg, b) kompresijo, c) strig, d) upogib na treh točkah, e) upogib na štirih točkah, f) upogib enostransko vpete konzole, g) torzijo togih vzorcev, h) torzijo med dvema ploščama, i) torzijo s stožčasto ploščo

preprečuje njegovo upogibanje. Preizkus je primeren predvsem za vlakna in tanke plasti [1, 6].

**Kompresija.** Vpenjalno pripravo za kompresijo sestavljata dve vzporedni plošči, statična in premična, med kateri se vstavi vzorec. Premična plošča ga aksialno stiska, omogoča pa tudi preizkuse lepljenja adhezivov. Ta način meritev je primeren za materiale z moduli nižjih vrednosti, npr. elastomere, gele in pene.

**Strig.** Za strižno deformacijo pri aksialni obremenitvi vpenjemo dva enaka kosa vzorca med tri plošče (»sendvič«). Zunanji plošči sta statični, medtem ko se sredinska pomika aksialno in povzroča strižno napetost. Taka meritev je primerna za mehkejša vzorce, kot so geli, adhezivi in zelo viskozne smole.

**Upogib na treh (štirih) točkah.** Upogibanje vzorca lahko poteka na več načinov. Najbolj preprost je upogib na treh ali štirih točkah (angl. *three-point* oz. *four-point bend*), pri čemer vzorec leži na dveh stacionarnih nosilcih, premični nosilec na sredi pa ga na eni oz. na dveh točkah potiska navzdol. Pri tem

nastaja na zgornjem delu vzorca kompresija ter na spodnjem delu raztezanje.

**Upogib konzole.** Vzorec je pri upogibanju lahko tudi vpet. Kadar je na enem koncu vpet v nepremično prižemo in ga na drugem koncu premična prižema premika aksialno, govorimo o enostransko vpeti konzoli (angl. *single cantilever*), medtem ko je pri dvostransko vpeti konzoli (angl. *dual cantilever*) premična prižema na sredi vzorca. Zaradi vpetosti nastaja poleg kompresije in raztezanja v vzorcu tudi strig, zato se vrednosti modulov razlikujejo od tistih, dobljenih z upogibom na treh oz. štirih točkah.

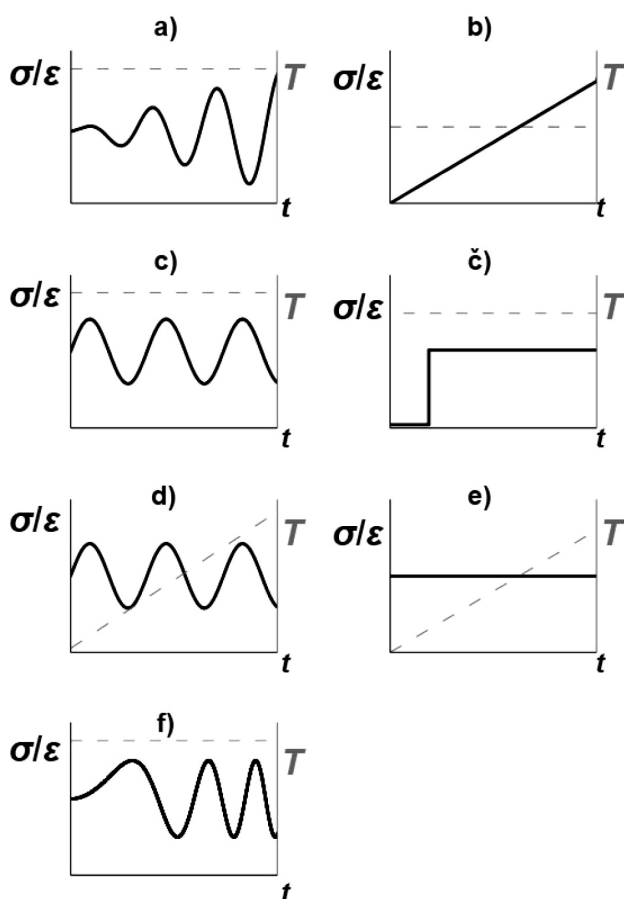
**Torzija.** Strižno napetost lahko povzročamo tudi s torzijsko silo. Toge trdne vzorce vpenjemo v vpenjalno pripravo, podobno natezni, in jih zasukamo. Za newtonske tekočine je primernejši zasuk med dvema ploščama (angl. *parallel plates*), kjer je vpenjalna priprava podobna kot pri kompresiji. Za enakomernejšo razporeditev deformacije vzorca je zgornja plošča lahko tudi stožčasta (angl. *cone-and-plate*).

#### 1.4 Vrste eksperimentov

Z DMA lahko spremljamo spremembe v materialu v odvisnosti od časa, napetosti, deformacije, temperature in frekvence, kot prikazuje **slika 6**. Razlikujemo poskuse, kjer vzorcu vsiljujemo konstantno ali linearno napetost oz. deformacijo, ter dinamične oscilirajoče poskuse, kjer je vsiljevanje sinusoidno [1].

**Soodvisnost napetost–deformacija (angl. stress–strain).** Pri konstantni temperaturi vzorcu vsiljujemo vedno večjo napetost in spremljamo deformacijo ali pa vzorec vedno bolj deformiramo in spremljamo nastalo napetost. Pri majhnih napetostih je material v elastičnem področju – deformacija je povratna in linearno odvisna od napetosti. Če gre za linearno vsiljevanje napetosti ali deformacije, dobimo iz naklona krivulje v tem področju Youngov modul, medtem ko dobimo pri dinamični meritvi kompleksni modul. Z večanjem napetosti se polimer trajno deformira in preide v področje plastičnosti, dokler se ne zlomi. V tem področju izračuni dinamičnih preizkusov ne veljajo več, zato je določitev linearnega območja materiala osnova za nadaljnje meritve.

**Konstanta obremenitev.** Material opazujemo pri konstantni temperaturi in konstantni obremenitvi, ki jo lahko vsiljujemo linearno ali oscilirajoče. V prvem primeru gre za preizkus lezenja (angl. *creep*), kjer vzorec obremenimo s konstantno napetostjo in spremljamo, kako se s časom deformira. Ko napetost odstranimo, lahko opazujemo tudi povrnitev materiala (angl. *recovery*). Podobno lahko vzorec obremenimo s konstantno deformacijo in spremljamo relaksacijo napetosti (angl. *stress relaxation*). Pri dinamični obremenitvi, ki je lahko tako napetost kot deformacija,



**Slika 6:** Časovna odvisnost napetosti ali deformacije ter temperature pri: a) dinamični soodvisnosti napetost–deformacija, b) linearni soodvisnosti napetost–deformacija, c) konstantni dinamični obremenitvi, d) konstantni linearni obremenitvi, e) temperaturni odvisnosti pri konstantni dinamični obremenitvi, e) temperaturni odvisnosti pri konstantni linearni obremenitvi ter f) dinamičnemu preletu frekvenc

ohranjamo frekvenco konstantno in opazujemo stabilnost materiala v časovni odvisnosti.

**Temperaturna odvisnost pri konstantni obremenitvi.** Vzorcju vsiljujemo konstantno (dinamično) napetost ali deformacijo in postopoma spreminjamo njegovo temperaturo. Preučujemo mehanske lastnosti materiala v odvisnosti od temperature.

**Dinamični prelet frekvence.** Dinamične meritve omogočajo tudi spreminjanje frekvence vsiljene napetosti ali deformacije, medtem ko sta temperatura in amplituda vsiljevanja konstantni. Pri visokih frekvencah se amorfni polimeri vedejo enako kot pri nizkih temperaturah, pri nizkih frekvencah pa enako kot pri visokih temperaturah. To je osnova superpozicije časa in temperature (angl. *time-temperature superposition*, TTS), kjer namesto frekvenc spreminjamo temperaturo. Osredinimo se na ožje frekvenčno območje ter v njem opravimo meritve modulov pri različnih temperaturah. S tem se izognemo meritvam pri nizkih frekvencah, ki trajajo dalj časa, in zelo visokim frekvencam, ki so zunaj merilnega območja instrumenta. Krivulje pri nižjih temperaturah pomaknemo proti višjim frekvencam in obratno ter tako združimo meritve v glavno krivuljo (angl. *master curve*) s širokim območjem frekvenc.

## 2 DMA ZA KARAKTERIZACIJO RAZGRADLJIVIH POLIMEROV ZA TKIVNO INŽENIRSTVO

Tkivno inženirstvo je razvijajoče se področje, ki temelji na regeneraciji tkiva z uporabo funkcionalnih ogrodij. Da ogrodje omogoči razraščanje celic vse do nastanka funkcionalnega tkiva, mora zadostiti več ključnim zahtevam, kot so ustrezna razgradljivost, biokompatibilnost, poroznost in mehanska stabilnost. Osnovna smernica za mehanske lastnosti ogrodja je, da se le-te ujemajo s ciljnim tkivom. Moduli različnih tkiv v telesu se med seboj zelo razlikujejo, kot je razvidno iz **tabele 1**, zato je treba za izdelavo ogrodij, primernih za regeneracijo različnih tkiv, razviti nove materiale [7, 8].

**Tabela 1:** Tangentni moduli različnih tkiv pri deformaciji 1 % [7]

Tkivo	$E/kPa$
trabekularna kost	6000–1,520,000
hrustanec	400–1100
gladke mišice mehurja	73
srčna mišica	8
koža	1,5

Za regeneracijo mehkih tkiv so najbolj raziskani hidrogeli, tj. rahlo zamreženi hidrofilni polimeri, nabrekli z vodo [9–15]. Posebno zanimivi so toplotno občutljivi hidrogeli, ki so pri nižji temperaturi v tekoči obliki, s segrevanjem pa tvorijo fizični gel. Taki ma-

teriali omogočajo manj invazivno obliko vnosa v telo, saj jih je mogoče vbrizgati direktno na mesto zdravljenja, kjer prevzamejo obliko poškodbe in tvorijo gel *in vivo*.

Cheng s sodel. [9] je raziskal hidrogel na osnovi polietilenglikola (PEG) in sintetičnega polipeptida za rast fibroblastov. Z DMA so študirali fazni prehod, ko iz raztopine nastane gel (sol–gel). Za raztopino je značilno, da so vrednosti  $G''$  višje od  $G'$ , z nastankom gela pa vrednosti  $G'$  prerastejo  $G''$ . Raztopino polimera so nanegli med vzporedni plošči in preizkusili na torzijo pri deformaciji 1 %, medtem ko so postopoma zviševali temperaturo. Topnost polimera se je zaradi tvorbe sekundarnih struktur s segrevanjem zmanjšala, zato je nastal gel. Temperatura, pri kateri je nastal fazni prehod, je bila med sobno in telesno temperaturo, kar pomeni, da je material primeren za vbrizganje v telo, kjer bo spontano zaželiral. Same vrednosti  $G'$  pri telesni temperaturi, ki izražajo mehansko stabilnost ogrodja, so odvisne od koncentracije polimera. Z višjo koncentracijo dosežemo večje vrednosti  $G'$ , vendar se pri tem zniža temperatura faznega prehoda.

Fazni prehod sol–gel je opazoval tudi McGann s sodel. [10] na zamreženem hidrogelu na osnovi PEG in rezilinu podobnega polipeptida. Namesto določanja temperature prehoda so se osredinili na čas, ki je potreben za nastanek gela pri konstantni temperaturi 37 °C. Polimer so preizkusili na torzijo z uporabo stožčastega nastavka pri deformaciji 1 %. Fazni prehod, ki je bil v tem primeru posledica reakcije zamreženja, je znova zaznamoval porast  $G'$ . Ta se je zgodil po nekaj minutah inkubacije na povišani temperaturi, kar nakazuje na možnost vnosa polimera v telo z vbrizganjem. Opazili so, da je prilagajanje vrednosti  $G'$  mogoče s spreminjanjem sestave oz. stopnje zamreženosti hidrogela. Zamrežene hidrokele so podrobneje preučili z nateznimi preizkusi. S krivulje napetost–deformacija so določili module elastičnosti in največjo deformacijo, ki jo hidrogeli vzdržijo. Vzorcji z večjim deležem polipeptida so vzdržali večje obremenitve, vrednosti modulov pa so bile 4–12 kPa. Odpornost hidrogelov so preverili s cikličnim vsiljevanjem deformacije in pri tem ugotovili, da po deformaciji ohranijo približno 90 % energije. Podobne lastnosti ima tudi elastin v aortah, zato bi omenjene hidrokele bilo mogoče uporabiti za regeneracijo kardiovaskularnih poškodb.

Nekateri hidrogeli lahko po porušitvi obnovijo svojo strukturo oz. se zacelijo. Li s sodel. [11] je z DMA opredelil celjenje hidrogela na osnovi PEG in sintetičnega polipeptida, modificiranega s holesterolom in  $\beta$ -ciklodekstrinom. Molekule holesterola se vstavijo v notranjost  $\beta$ -ciklodekstrina, kar tvori nekovalentno povezano polimerno mrežo. Take povezave

so reverzibilne in se po poškodbi lahko na novo vzpostavijo, da se material zaceli, kar lahko ugotovimo pri vrednostih  $G'$  in  $G''$ . Avtorji članka so na vzorce delovali s torzijsko silo med vzporednima ploščama s konstantno frekvenco in izmenično vsiljevali deformacijo 1 % oz. 200 %. Enoodstotna deformacija ni imela bistvenega vpliva na material, kar so pokazale konstantne vrednosti  $G'$  in  $G''$  med tem intervalom. Pri 200-odstotni deformaciji so vrednosti modulov naglo padle, saj se je struktura gela porušila. Kljub temu so se v naslednjem intervalu, pri deformaciji 1 %, moduli povrnili na prvotne vrednosti. To dokazuje, da se je gel po poružitvi sam zacelil.

Za regeneracijo hrustančnega tkiva je Bryant s sodel. [12] razvil zamrežen hidrogel na osnovi PEG in poli(mlečne kisline) (PLA). Ker je šlo za trše vzorce, so DMA-preizkuse izvajali na kompresijo. Modul je bil 60 kPa, z dvakratnim povečanjem koncentracije polimera in stopnje zamreženosti pa so dosegli vrednost 500 kPa ter tako dosegli primerno mehansko stabilnost ogrodja. Na kompresijo je Shirbin s sodel. [13] preizkusil tudi makroporozne zamrežene hidrogelne iz sintetičnih polipeptidov. Makroporozno strukturo so pripravili s postopkom kriogelacije, kjer zamreženje polimera poteka pod temperaturo ledišča vode, da ledeni kristali tvorijo pore. Pore omogočajo, da med kompresijo voda steče skozi vzorca, kar odvaja energijo in do neke mere preprečuje porušenje materiala. Ugotovili so, da je porozna morfologija hidrogela odvisna od njegove sestave (deleža posamezne aminokisline v polipeptidu) in vpliva na mehanske lastnosti, saj so bile vrednosti modulov 2–66 kPa.

Na podoben način je Yan s sodel. [14] pripravil tudi hidrogel na osnovi sintetičnega polipeptida, zamreženega nekovalentno, s tvorbo polielektrolitskega kompleksa s hitosanom. S kompresijskim preizkusom so določili največjo mogočo obremenitev posušenega vzorca ter z dinamičnim vsiljevanjem torzijske sile ovrednotili strižni modul tako suhih kot mokrih vzorcev. Material v vodnem mediju nabreka, zato je bil v mokrem stanju bistveno bolj mehek in elastičen. Podobne ugotovitve glede razlik v suhih in mokrih vzorcih veljajo tudi za hidrogel na osnovi PEG in želatine [15].

Hidrogeli so zaradi visoke vsebnosti vodnega medija navadno mehansko prešibki, da bi vzdržali sile, ki se pojavljajo v trših tkivih. V takih primerih jih nadomestijo trdni vsadki [16–18]. Le-ti morajo imeti porozno strukturo, da omogočijo prepustnost hranilnih snovi, plinov in metabolnih izločkov [8]. En izmed postopkov priprave trdnih nosilcev s porozno strukturo zajema uporabo porogena, ki ga po polimerizaciji odstranimo. Kweon s sodel. [16] je raziskal ogrodja na osnovi poli( $\epsilon$ -kapolaktone) (PCL), kjer so kot poro-

gen uporabili NaCl. Nezamreženi vzorec je pri kompresijskem preizkusu pokazal modul 1580 kPa, zamrežen pa 6900 kPa. Po kompresiji na eno petino prvotne velikosti je nezamreženi vzorec ostal stisnjen, medtem ko se je zamreženi vzorec povrnil na 67 % začetne vrednosti. V tem primeru je kljub zadovoljivim mehanskim lastnostim bila proliferacija kostnih celic na nosilcu nezadostna.

Za pripravo poroznih trdnih nosilcev je v uporabi tudi tehnika liofilizacije. Baker s sodel. [17] je pripravil emulzijo iz poli(mlečne-ko-glikolne kisline) (PLGA) ali PCL ter vodno fazo odstranil pri nizki temperaturi in nizkem tlaku. Kompresijski moduli, merjeni pri 37 °C, so se za PLGA gibali okoli 4000 kPa in za PCL okoli 2000 kPa ter se v času inkubacije celic (8 tednov) niso bistveno spremenili. Stromalne celice mehurja so se bolje razvijale na ogrodju iz PCL, katerega modul se bolje ujema z naravnim tkivom.

Vrednosti mehanskih lastnosti trdnih nosilcev so navadno podane za suhe vzorce pri sobni temperaturi. Ker pa se ogrodja za tkivno inženirstvo uporabljajo *in vivo*, Wu s sodel. [18] opozarja, da je bolj smotno vzorce analizirati namočene v fosfatni pufer z NaCl (PBS) pri temperaturi 37 °C. Mokri vzorci imajo namreč v splošnem nižji  $T_g$  in slabše mehanske lastnosti. Do kolikšne mere se pri mehanski analizi to pozna, je odvisno od hidrofilitnosti oz. hidrofobnosti materiala in njegovega  $T_g$ . Pri hidrofobni PLA, ki ima  $T_g$  okoli 60 °C, so se vrednosti kompresijskega modula v mokrem stanju pri telesni temperaturi znižale za 20 % glede na modul v suhem stanju pri sobni temperaturi. Pri PLGA, katere  $T_g$  je 45 °C, je bila razlika bolj izrazita, saj so se vrednosti znižale za kar 95 %.

Mehanske lastnosti razgradljivih nosilcev se spreminjajo tudi med njihovo razgradnjo, saj se zmanjšuje stopnja zamreženosti in molska masa polimera. Sedlačik s sodel. [19] je pripravil hidrogel na osnovi modificiranega polipeptida, zamreženega z akrilati. Vzorce so bili elastični, z  $G'$  do 6 kPa. Po inkubaciji v raztopini encima se je ta vrednost zmanjšala na 50 % v prvem in na 35 % v drugem dnevu, nakar je vzorec razpadel. McGann s sodel. [10] je *in situ* spremljal encimsko degradacijo hidrogela na osnovi PEG in rezilinu podobnega polipeptida. Hidrogel, namočen v raztopini encima, je bil vpet v prižemo za kompresijo in vrednosti modulov so bile pomerjene na vsakih 15 min v roku 12 h. V tem času je  $E'$  padel na 20 % začetne vrednosti. Degradacija ogrodja je bila v obeh primerih pospešena in ne izraža degradacije *in vivo*.

Mehanske spremembe nosilca na osnovi sintetičnega polipeptida in hitosana je *in vivo* spremljal Zhang s sodel. [20]. Kompresijski modul nosilca je bil na začetku 690 kPa, kar je le 25 % modula ciljanega tkiva, tj. zajčjega hrustanca (2780 kPa). Celice so dva

tedna gojili na nosilcu *in vitro*, nakar so ogrodje vstavili v poškodovan hrustanec živali *in vivo*. Po 6 oz. 12 tednih so vsadek odstranili in ga znova pomerili. Vrednosti modulov so se ciljanemu tkivu približale na 44 % oz. 78 %, kar nakazuje na uspešno regeneracijo hrustanca.

### 3 SKLEP

DMA je vsestransko uporabna tehnika za meritev mehanskih lastnosti viskoelastičnih materialov, saj omogoča opravljanje meritev v odvisnosti od časa, temperature, amplitude deformacije, amplitude napetosti in frekvence, vzorec je pa pri tem lahko obremenjen v različnih oblikah. Kot primer uporabe mehanske analize smo poudarili karakterizacijo razgradljivih polimerov za tkivno inženirstvo, kjer se je tehnika izkazala uporabna za preučevanje sol-gel prehoda toplotno občutljivih hidrogelov, za določanje modulov tako hidrogelov kot trdnih poroznih polimerov, predvidevanje ujemanja mehanskih lastnosti s ciljanim tkivom, navsezadnje pa tudi študijo razgradnje nosilcev.

### 4 LITERATURA

[1] K. P. Menard, *Dynamic Mechanical Analysis: A Practical Introduction*, 2. izdaja, CRC Press, Boca Raton, Florida, 2008

- [2] J. E. Mark, *Physical Properties of Polymers*, 3. izdaja, Cambridge University Press, Cambridge, New York, 2004
- [3] J. E. Mark, ed., *Physical Properties of Polymers Handbook*, 2. izdaja, Springer, New York, 2006
- [4] J. D. Ferry, *Viscoelastic Properties of Polymers*, 3. izdaja, Wiley, New York, 1980
- [5] N. Saba, M. Jawaid, O. Y. Alotman, M. T. Paridah, *Construction and Building Materials*, 106 (2016), 149–159
- [6] TA Instruments, DMA Q800 Specifications, [www.tainstruments.com/pdf/brochure/dma.pdf](http://www.tainstruments.com/pdf/brochure/dma.pdf), zadnjič dostopano: 18. 4. 2018
- [7] S. J. Hollister, *Advanced Materials*, 21 (2009) 32–33, 3330–3342
- [8] E. S. Place, J. H. George, C. K. Williams, M. M. Stevens, *Chemical Society Reviews*, 38 (2009) 4, 1139
- [9] Y. Cheng, C. He, C. Xiao, J. Ding, H. Cui, X. Zhuang, X. Chen, *Biomacromolecules*, 14 (2013) 2, 468–475
- [10] C. L. McGann, R. E. Akins, K. L. Kiick, *Biomacromolecules*, 17 (2016) 1, 128–140
- [11] G. Li, J. Wu, B. Wang, S. Yan, K. Zhang, J. Ding, J. Yin, *Biomacromolecules*, 16 (2015) 11, 3508–3518
- [12] S. J. Bryant, R. J. Bender, K. L. Durand, K. S. Anseth, *Biotechnology and Bioengineering*, 86 (2004) 7, 747–755
- [13] S. J. Shirbin, F. Karimi, N. J.-A. Chan, D. E. Heath, G. G. Qiao, *Biomacromolecules*, 17 (2016) 9, 2981–2991
- [14] S. Yan, K. Zhang, Z. Liu, X. Zhang, L. Gan, B. Cao, X. Chen, L. Cui, J. Yin, *Journal of Materials Chemistry B*, 1 (2013) 11, 1541
- [15] A. Sharma, S. Bhat, V. Nayak, A. Kumar, *Materials Science and Engineering: C*, 47 (2015) 298–312
- [16] H. Kweon, *Biomaterials*, 24 (2003) 5, 801–808
- [17] S. C. Baker, G. Rohman, J. Southgate, N. R. Cameron, *Biomaterials*, 30 (2009) 7, 1321–1328
- [18] L. Wu, J. Zhang, D. Jing, J. Ding, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 76A (2006) 2, 264–271
- [19] T. Sedlačík, V. Proks, M. Šlouf, M. Dušková-Smrčková, H. Studenová, F. Rypáček, *Biomacromolecules*, 16 (2015) 11, 3455–3465
- [20] K. Zhang, Y. Zhang, S. Yan, L. Gong, J. Wang, X. Chen, L. Cui, J. Yin, *Acta Biomaterialia*, 9 (2013) 7, 7276–7288