

Vilma Lampinen

# HYDROGEELIEN ITSEKORJAUTU- VUUDEN KARAKTERISOINTI

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta  
Kandidaatintyö  
Toukokuu 2020

# TIIVISTELMÄ

Vilma Lampinen: Hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisointi  
Kandidaatintyö  
Tampereen yliopisto  
Tekniikka ja luonnontieteet, TkK biotekniikka  
Toukokuu 2020

---

Itsekorjautuvilla hydrogeeleillä on kyky vaurion jälkeen korjautua autonomisesti palauttaen alkuperäiset ominaisuutensa, mikä pidentää hydrogeelien käyttöikää ja parantaa niiden mekaanista kestävyyttä. Tämä ominaisuus mahdollistaa itsekorjautuvien hydrogeelien käytön sovelluksissa, joihin tavalliset hydrogeelit ovat olleet mekaanisilta ominaisuuksiltaan liian heikkoja. Lääketieteellisissä sovelluksissa käytettävien hydrogeelien itsekorjautuvuus on materiaalin muiden ominaisuuksien ohella tunnettava tarkkaan, joten itsekorjautuvuuden karakterisointi on välttämätöntä. Koska tutkimuksissa käytetään erilaisia menetelmiä itsekorjautuvuuden karakterisointiin, eikä standardoituja menetelmiä ole, on itsekorjautuvien hydrogeelien vertailu haasteellista. Tässä työssä kartoitetaan tutkimuksissa käytettyjä menetelmiä, joilla hydrogeelien itsekorjautuvuutta on karakterisoitu. Työn tarkoituksena on muodostaa itsekorjautuvuuden karakterisointia varten standardimenetelmät, jotka mahdollistavat itsekorjautuvien hydrogeelien välisen vertailun.

Kirjallisuuskatsauksen perusteella itsekorjautumisen karakterisointi suoritetaan tavallisesti käyttäen hyödyksi mikroskooppisia ja spektroskooppisia menetelmiä sekä reologista ja mekaanista testausta. Mikroskooppisilla ja spektroskooppisilla menetelmillä karakterisoidaan hydrogeelin polymeeriverkosta palautuvat sidokset, jotka mahdollistavat itsekorjautumisen. Reologisilla testeillä taas varmistetaan sidosten palautuvuus. Mekaanista testausta puolestaan käytetään yleensä hydrogeelin korjautumistehokkuuden määrittämisessä. Lisäksi itsekorjautuminen todennetaan makroskooppisesti geelilohkokuusiokokeella, jonka suoritustapa vaihtelee eri tutkimuksissa. Tutkimuksissa on kuitenkin käytetty erilaisia menetelmiä itsekorjautuvuuden karakterisoinnissa, ja myös karakterisointimenetelmissä käytettävien vakioiden arvot vaihtelevat suuresti. Nämä seikat yhdessä useiden eri mittausparametrien ja tutkimustiedon rajallisen jakamisen kanssa tekevät hydrogeelien vertailemisen vaikeaksi.

Standardisoimalla itsekorjautuvuuden karakterisointimenetelmät hydrogeelien vertailtavuus helpottuu ja itsekorjautuvuus opitaan tuntemaan paremmin. Itsekorjautumisen karakterisointi voitaisiin suorittaa nelivaiheisena prosessina, jossa todennettaisiin palautuvien sidosten olemassaolo, varmistettaisiin hydrogeelin itsekorjautuminen geelilohkokuusiokokeella ja reologisella testauksella sekä määritettäisiin korjautumistehokkuus ja itsekorjautumisen dynamiikka. Prosessin eri vaiheissa voitaisiin käyttää esimerkiksi reometrillä suoritettavaa muodonmuutosvaihetestiä ja amplitudipyyhkäisytestiä sekä mekaanista puristuskoetta, mutta käytettävät menetelmät tulee kuitenkin vielä tarkentaa. Lisäksi eri menetelmissä käytettävät vakiot ja testausolosuhteet vaativat standardisointia vertailtavuuden varmistamiseksi.

Avainsanat: hydrogeeli, itsekorjautuvuus, karakterisointi, standardisointi

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

# SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO .....	1
2. ITSEKORJAUTUVAT HYDROGEELIT .....	2
3. KARAKTERISOINTI .....	6
3.1 Morfologian ja topologian karakterisointi .....	6
3.2 Geelilohkokuusiokoe .....	8
3.3 Mekaanisten ominaisuuksien karakterisointi .....	11
3.3.1 Mekaaninen testaus .....	12
3.3.2 Reologinen testaus .....	17
4. ITSEKORJAUTUVUUDEN KARAKTERISOINNIN STANDARDISOINTI .....	25
5. YHTEENVETO .....	30
LÄHTEET .....	32

## KUVALUETTELO

<b>Kuva 1.</b>	<i>Hydrogeelin itsekorjautuvuus ja palautuvat sidokset. Perustuu lähteeseen [5].</i> .....	2
<b>Kuva 2.</b>	<i>Pugliesen et al. [9] suorittama geelilohkofuusiokoe guarkumi-itsejärjestäytyvä peptidi (SAP) -komposiittihydrogeelille. Hydrogeelin itsekorjautuvuus perustuu dynaamisiin kovalenttisiin sidoksiin ja tapahtuu ilman ulkoista voimaa tai virikettä. [9]</i> .....	9
<b>Kuva 3.</b>	<i>Lün et al. [10] kondroitiinisulfaatti-kitosaani hydrogeelille suorittama geelilohkofuusiokoe ja korjautumiskohdasta otetut SEM-kuvat. Hydrogeelin itsekorjautuminen perustuu Schiffin emäkseen eikä vaadi ulkoista virikettä. [10]</i> .....	9
<b>Kuva 4.</b>	<i>Dengin et al. [15] tekemät geelilohkofuusiokokeet painovoimatestillä ja LED-valolla. Hydrogeeli on valmistettu laponiitista, moniseinäisistä hiilinanoputkista (CNT) ja N-isopropyylakryyliamideista (NIPAM). Sen autonominen itsekorjautuminen perustuu vetysidoksiin, sähköisiin vetovoimiin ja polymeeriketjujen kietoutumiseen. Perustuu lähteeseen [15].</i> .....	10
<b>Kuva 5.</b>	<i>Wein et al. [25] suorittama geelilohkofuusiokoe. Hydrogeeli on valmistettu N-karboksietylikitosaanista (CEC), adipiinihappodihydratsidista (ADH) ja hapetetusta natriumalginaatista (OSA). Sen autonominen itsekorjautuminen perustuu rakenteen imiini- ja asyylihydratsonisidoksiin. Perustuu lähteeseen [25].</i> .....	11
<b>Kuva 6.</b>	<i>Mekaanisen testauksen menetelmät. Perustuu lähteeseen [26].</i> .....	13
<b>Kuva 7.</b>	<i>Wangin et al. [14] tekemien vetokokeiden jännitys-venymäkäyrät sekä niiden perusteella lasketut korjautumistehokkuudet isäntä-vieras-supramolekulaarisille hydrogeeleille (HGGeIMA). Hydrogeelit on valmistettu isäntä-vieras-supramolekyyleistä (HGSM) sekä gelatiinimetakryloyylistä (GeIMA) ja niiden autonomisen itsekorjautumisen mahdollistavat isäntä-vieras vuorovaikutukset. Hydrogeelin lyhenteen numero kertoo, kuinka paljon HGSM:ejä hydrogeelin rakenteessa suhteessa on. HGSM-määrän kasvaessa hydrogeelin korjautumistehokkuus ja vetolujuus paranevat. Perustuu lähteeseen [14].</i> .....	14
<b>Kuva 8.</b>	<i>Yangin et al. [27] vetokokein hydrogeeleilleen määrittämät korjautumistehokkuudet ja niiden riippuvuus näytteen korjautumisajasta ja korjautumiskerroista. Hydrogeelit on valmistettu atsobentseenimetakryyliamidista, <math>\beta</math>-syklodekstriinistä sekä 3-metakryyliamidofenyliboorihaposta, ja isäntä-vieras vuorovaikutukset mahdollistavat niiden valoon reagoivan itsekorjautumisen. Kuvaajien merkinnät 1-5-20 ja 1-1-40 kertovat hydrogeelien sisältävän 1 mg N,N-metyleenibisakryyliamidia, 5 ml tai 1 ml isäntä-vieras-kompleksointia ja 20 mg tai 40 mg boorihappoa. Perustuu lähteeseen [27].</i> .....	15
<b>Kuva 9.</b>	<i>Wein et al. [25] suorittamien puristuskokeiden jännitys-muodonmuutoskäyrät sekä lämpötilan ja korjautumisajan vaikutus hydrogeelin korjautumistehokkuuteen. Hydrogeelit on valmistettu CE:sta, ADH:sta ja OSA:sta, ja merkintä R kertoo hydrogeelin aminoryhmien ja aldehydiryhmien moolisuhteen. Korjautumistehokkuuden riippuvuus lämpötilasta ja korjautumisajasta testattiin hydrogeelillä, jonka R oli 0,5. Perustuu lähteeseen [25].</i> .....	16

<b>Kuva 10.</b>	<i>Pugliesen et al. [9] guarkumi-SAP-komposiittihydrogeelille tekemän jännitysrelaksaatiotestin jännitys-aikakuvaaja. Hydrogeelin itsekorjautuvuus perustuu dynaamisiin kovalenttisiin sidoksiin ja tapahtuu ilman ulkoista voimaa tai virikettä. Perustuu lähteeseen [9].</i>	18
<b>Kuva 11.</b>	<i>Vasemmalla Yun et al. [23] tekemän amplitudipyyhkäisytestin kuvaaja ja oikealla heidän muodonmuutosvaihetestinsä kuvaaja. Hydrogeeli on valmistettu pitkäketjuisesta PEP-PPO-PEO - monilohkokopolymeeristä. Sen itsekorjautuvuus perustuu polymeeriverkon asyylihydratsonisidoksiin. Perustuu lähteeseen [23].</i>	20
<b>Kuva 12.</b>	<i>Bercean et al. [19] suorittaman muodonmuutosvaihetestin kuvaaja. Ryhmän polyvinyylialkoholista (PVA) ja täysin hapettuneesta pullulaanista valmistetun hydrogeelin itsekorjautuminen perustuu polymeeriverkon vetysidoksiin. Hapettuneen pullulaanin osuus hydrogeelissä, jolle testi toteutettiin, oli 7,5 %. Perustuu lähteeseen [19].</i>	21
<b>Kuva 13.</b>	<i>Liun et al. [11] suorittamien taajuuspyyhkäisytestien kuvaaja ryhmän polysakkaridihydrogeelille. Selluloosa-asetoasetaatista, hydroksipropylikitosaanista ja aminomodifioiduista selluloosan nanokiteistä valmistetun hydrogeelin itsekorjautuminen perustuu rakenteen enamiinisidosten palautuvuuteen. Perustuu lähteeseen [11].</i>	22
<b>Kuva 14.</b>	<i>Yu et al. [23] tekemien taajuuspyyhkäisytestien kuvaajat, varasto- ja häviömoduulien lämpötilariippuvuus sekä hydrogeelin injektoituvuuden varmistaminen. Pitkäketjuisesta PEP-PPO-PEO - monilohkokopolymeeristä valmistetun hydrogeelin itsekorjautuvuus perustuu polymeeriverkon asyylihydratsonisidoksiin. Perustuu lähteeseen [23].</i>	23
<b>Kuva 15.</b>	<i>Wangin et al. [14] HGGelMA-hydrogeelin viskositeetti leikkausnopeuden funktiona sekä lämpötilan vaikutus viskositeettiin. Perustuu lähteeseen [14].</i>	24

## LYHENTEET JA MERKINNÄT

3D	Kolmiulotteinen (engl. three-dimensional)
ADH	Adiipiinihappodihydratsidi (engl. adipic acid dihydrazide)
AFM	Atomivoimamikroskopia (engl. atomic force microscopy)
CEC	N-karboksietyylikitosani (engl. N-carboxyethyl chitosan)
CNT	Hiilinanoputki (engl. carbon nanotube)
FTIR	Fourier-infrapunaspektroskopia (engl. Fourier-transform infrared spectroscopy)
GelMA	Gelatiinimetakryloyyli (engl. gelatin methacryloyl)
HGGelMA	Isäntä-vieras-supramolekyylaarinen hydrogeeli (engl. host-guest supramolecular hydrogel)
HGSM	Isäntä-vieras-supramolekyyli (engl. host-guest supramolecule)
LED	Hohtodiodi (engl. light-emitting diode)
NIPAM	N-isopropyyliakryyliamidi (engl. N-isopropyl acrylamide)
NMR	Ydinmagneettinen resonanssi (engl. nuclear magnetic resonance)
OSA	Häpetetty natriumalginaatti (engl. oxidized sodium alginate)
PBS	Fosfaattipuskuroitu fysiologinen suolaliuos (engl. phosphate-buffered saline)
PEO	Polyetyleeni-oksidi (engl. polyethylene oxide)
PEP	Polyetyleeni-propyleeni (engl. polyethylene propylene)
PPO	Polypropyleeni-oksidi (engl. polypropylene oxide)
PVA	Polyvinyylialkoholi (engl. polyvinyl alcohol)
SAP	Itsejärjestäytyvä peptidi (engl. self-assembling peptide)
SEM	Pyyhkäisyelektronimikroskopia (engl. scanning electron microscopy)
TEM	Transmissioelektronimikroskopia (engl. transmission electron microscopy)
$G'$	Varastomoduuli
$G''$	Häviömoduuli
$R$	Aminoryhmien ja aldehydiryhmiä moolisuhde
$\sigma_0$	Muodonmuutoksen amplitudi
$\gamma_0$	Värähtelyn amplitudi
$\delta$	Vaiheviive muodonmuutoksen ja jännityksen välillä

# 1. JOHDANTO

Biomateriaalina käytettävillä hydrogeeleillä on jo monia kaupallisia sovelluksia lääketieteen alalla. Hydrogeelien ominaisuudet mahdollistavat materiaalin hyödyntämisen esimerkiksi lääkeaineiden kuljetuksessa, haavavahana ja kudoksen regeneraatiossa. Heikot mekaaniset ominaisuudet kuitenkin rajaavat hydrogeelien käytettävyyttä lääketieteellisissä sovelluksissa. Itsekorjautuvuus on hydrogeelien ominaisuus, joka parantaa materiaalin mekaanista kestävyyttä ja pidentää sen elinikää. Itsekorjautuvilla hydrogeeleillä on näin ollen paljon uusia potentiaalisia käyttökohteita, joihin tavalliset hydrogeelit eivät sovellu. Itsekorjautuvuus mahdollistaa niiden käytön muun muassa injektointia vaativissa sovelluksissa sekä 3D-tulostuksessa. [1]

Jotta itsekorjautuvia hydrogeelejä voidaan hyödyntää erilaisissa lääketieteen sovelluksissa, täytyy niiden erilaiset ominaisuudet, itsekorjautuvuus mukaan lukien, tuntea tarkkaan. Itsekorjautuvuuden karakterisointi on kuitenkin verrattain uutta, eikä sen suorittamiseen ole vielä vakiintunut yleisesti käytettäviä standardimenetelmiä. Koska tutkimuksissa toteutetaan itsekorjautuvuuden karakterisointi eri tavoin, eikä yhteisiä suuntaviivoja karakterisoinnin suhteen ole, on eri hydrogeeleille tehtyjen testausten tuloksia vaikea vertailla keskenään. [2]

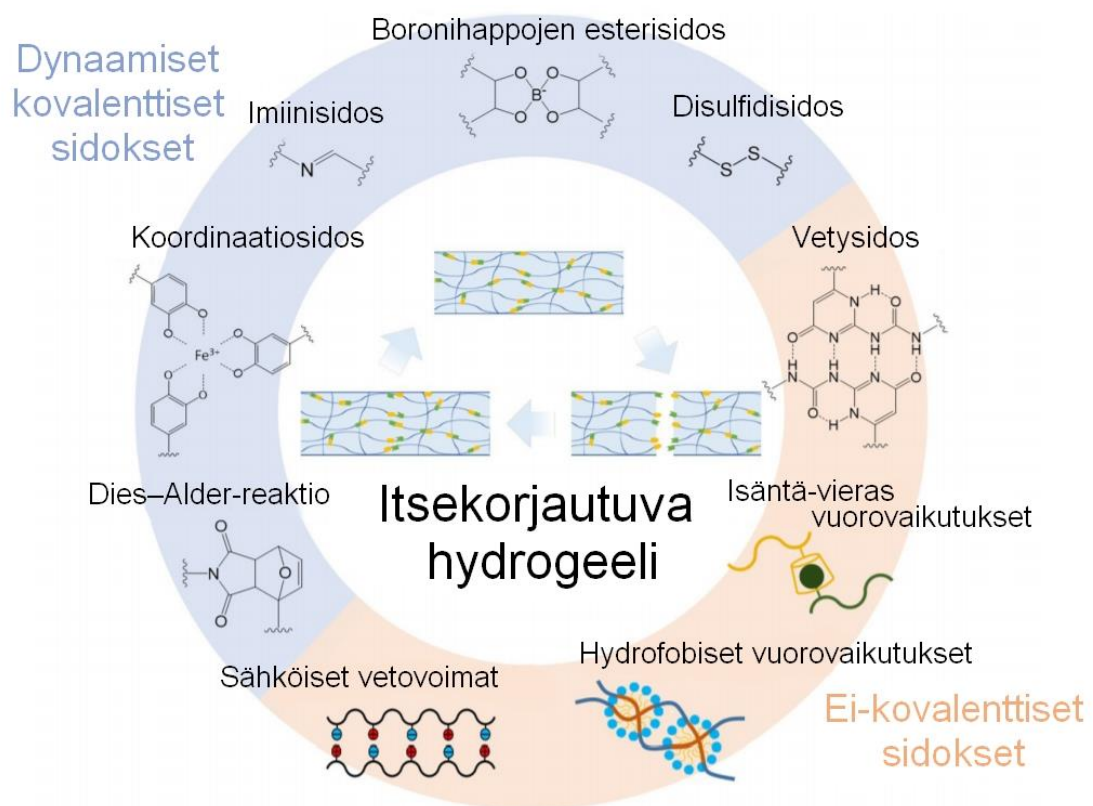
Tässä työssä kartoitetaan tehdyistä tutkimuksista erilaisia menetelmiä, joita on käytetty hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisoinnissa. Karakterisointimenetelmät kattavat hydrogeelin morfologian ja topologian sekä mekaaniset ominaisuudet. Lisäksi tarkastellaan itsekorjautuville hydrogeeleille tehtävää geelilohkofuusiokoetta ja sen erilaisia toteutustapoja. Myös itsekorjautuvien hydrogeelien injektoitavuuden ja 3D-tulostettavuuden varmistaminen ja linkittyminen itsekorjautumisen karakterisointiin käydään läpi. Työn tavoitteena on kerätyn tiedon pohjalta muodostaa itsekorjautuvuuden karakterisointia varten sopivat standardimenetelmät, joiden yleinen käyttö mahdollistaisi tulosten vertailtavuuden.

Ensimmäiseksi tässä kandidaatintyössä perehdytään itsekorjautuviin hydrogeeleihin, niiden ominaisuuksiin ja rakenteeseen. Seuraavaksi selvitetään, millaisia menetelmiä hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisointiin ja testaamiseen on käytetty. Lopuksi pohditaan itsekorjautumisen karakterisoinnin standardisointia ja mahdollisia standardimenetelmiä.

## 2. ITSEKORJAUTUVAT HYDROGEEELIT

Hydrogeeli on materiaali, joka koostuu hydrofiilisista polymeeriketjuista ja niiden muodostamasta kolmiulotteisesta verkostosta. Verkoston kemialliset ja fysikaaliset sidokset estävät hydrogeelien liukenemisen veteen. Polymeerien hydrofiilisen luonteen vuoksi polymeeriverkosto kuitenkin pystyy absorboimaan itseensä paljon vettä, mikä aiheuttaa geelin turpoamisen. Hydrogeelien suuri vesipitoisuus ja biokompatibiliteetti tekevät niistä biologisiin sovelluksiin sopivia materiaaleja. [3]

Koska hydrogeelien mekaaniset ominaisuudet ovat yleensä heikot, ne eivät ole kestävä ratkaisu fysiologiseen ympäristöön. Erilaiset mekaanisen voiman tai kemiallisen eroosion aiheuttamat vauriot ja säröt eli katkenneet sidokset lyhentävät hydrogeelien elinikää. Itsekorjautuvat hydrogeelit sen sijaan pystyvät korjaamaan vaurioiden aiheuttamat tuhot sekä palauttamaan alkuperäiset ominaisuutensa ja toimintonsa pidentäen omaa elinikäänsä. Itsekorjautuvuus tarkoittaa sitä, että materiaalin sisällä erkaantuneiden pintojen välille muodostuu uudelleen kemiallisia tai fysikaalisia sidoksia. [2,4] Itsekorjautuvuutta ja sen mahdollistavia sidoksia on havainnollistettu kuvassa 1.



**Kuva 1.** Hydrogeelin itsekorjautuvuus ja palautuvat sidokset. Perustuu lähteeseen [5].



Autonominen itsekorjautuvuus ei vaadi ulkopuolista virikettä tai korjautumisvälittäjää, vaan sidosten muodostuminen on spontaania. Joidenkin hydrogeelien itsekorjautuminen on autonomista vain tietyissä olosuhteissa. [6] Virikeperusteisesti itsekorjautuvien hydrogeelien korjautuminen taas on vaste ulkopuoliseen mekaaniseen, termiseen tai kemialliseen virikkeeseen, kuten esimerkiksi ympäristön pH-arvon muutokseen [4]. Autonomisesti itsekorjautuvien hydrogeelien täytyy reagoida vaurioon nopeasti ja ilman ulkoista virikettä. Tarvittaessa itsekorjautumisen on tapahduttava uudelleen. Korjautumisen tulee ylittää aina mikroskooppiselta tasolta makroskooppiselle asti säilyttäen hydrogeelin alkuperäiset mekaaniset ominaisuudet. [7]

Uudistuvat sidokset voivat olla palautuvia kemiallisia kovalenttisia sidoksia tai palautuvia fysikaalisia ei-kovalenttisia sidoksia. Sidokset ylläpitävät hydrogeelin polymeeriverkon rakennetta ollen ristisidoksina verkon komponenttien välillä. Hydrogeeleissä tyypillisiä ei-kovalenttisia sidoksia, jotka mahdollistavat itsekorjautuvuuden, ovat ionisidokset, vetysidokset, hydrofobiset vetovoimat sekä isäntä-vieras vuorovaikutukset. Ei-kovalenttiset sidokset ovat kovalenttisia sidoksia mekaanisesti heikompia niiden heikkojen molekyylien välisten voimien takia, mutta takaavat nopean korjautumisajan. Lisäämällä polymeeriverkkoon eri menetelmin sekä palautuvia kovalenttisia sidoksia että ei-kovalenttisia sidoksia, saadaan valmistettua mekaanisesti kestävä ja elastinen kaksoisverkosto ja hydrogeeli, joka korjautuu nopeasti. [1,4] Erilaisia itsekorjautuvissa hydrogeeleissä käytettyjä palautuvia sidoksia on havainnollistettu aiemmin kuvassa 1.

Palautuvat kovalenttiset sidokset ovat dynaamisia sidoksia, jotka voivat rikkoutua ja muodostua uudelleen. Olosuhteiden mukaan ne ovat joko pysyviä stabiilien kovalenttisten sidosten kaltaisesti tai palautuvia, kuten ei-kovalenttiset sidokset. Itsekorjautuvissa hydrogeeleissä käytettäviä dynaamisia kovalenttisia sidoksia ovat muun muassa imiiniin hiili-typin kaksoissidos, asyylihydratsonisidos, boronihappojen esterisidos, disulfidisidos, koordinaatiosidokset sekä Dies–Alder-reaktioon perustuvat kovalenttiset sidokset. [4,5,7]

Jotta hydrogeeliä pystytään käyttämään biomateriaalina, tulee materiaalin ja reaktioiden olla myrkyttömiä sekä itsekorjautuvuuden autonomista tai joissakin tapauksissa virikelähtöistä. Itsekorjautuvuuden tulee myös olla tehokasta sekä tarvittaessa toistuvaa. Lisäksi sen tulee näkyä sekä morfologisesti että mekaanisissa ja reologisissa ominaisuuksissa ja mieluiten palauttaa hydrogeelin vauriota edeltävät, alkuperäiset ominaisuudet. Yhdistelemällä eri sidostyyppisiä hydrogeelin polymeeriverkkoon saadaan valmistettua materiaali halutuilla, sovellukseen sopivilla ominaisuuksilla. [4]

Itsekorjautuvien hydrogeelien polymeeriketjujen polymeerit voivat olla joko luonnossa esiintyviä polymeerejä tai synteettisiä polymeerejä. Luonnon polymeerit, kuten polysakkarideihin pohjautuvat alginaatti, kitosaani ja hyaluronihappo, ovat yleensä bioyhteensopivampia ja vähemmän myrkyllisiä vaihtoehtoja. Synteettiset polymeerit sen sijaan muodostavat elastisempia, vahvempia sekä usein halvempia vaihtoehtoja kuin luonnon polymeerit. Koska jotkut synteettiset polymeerit ovat myrkyllisiä, eivät kaikki niistä kuitenkaan sovi biologisiin sovelluksiin. Itsekorjautuvissa hydrogeeleissä käytettäviä synteettisiä polymeerejä ovat muun muassa polyetyleeniglykoli, polyvinyylialkoholi sekä akrylaatti-pohjaiset polymeerit, erityisesti polyakryylihappo ja polyakryyliamidi. [1,3]

Hydrogeelien tärkeimpiä ominaisuuksia ovat biokompatibiliteetti, hallittu biohajoavuus, alhainen pinnan hankauskitka, kyky kapseloida lääkkeitä, geenisekvenssejä tai soluja, sopiva morfologia solujen kasvualustaksi sekä virikkeisiin vastaavat ominaisuudet [2]. Nämä ominaisuudet mahdollistavat hydrogeelien käytön esimerkiksi soluhoidossa, kudosteknologiassa, lääkkeitä kuljetuksessa ja keinotekoisien implanttien kehityksessä. Itsekorjautuvat hydrogeelit ovat vielä potentiaalisempia biomateriaaleja lääketieteen sovelluksiin, koska ne korjautuvuudellaan jäljittelevät oikeaa kudosta. [4,7]

Koska itsekorjautuvat ominaisuudet parantavat hydrogeelien injektointivuutta [1,4,7], voidaan itsekorjautuvat hydrogeelit todennäköisesti injektoida kohteeseen välttämättä kajoavat kirurgiset toimenpiteet [7]. Injektoitavat hydrogeelit voidaan työntää ulos injektioruiskusta hydrogeelin ollessa nestemäisessä muodossa. Injektoinnin jälkeen nestemäinen hydrogeeli muuttuu kiinteän aineen kaltaiseksi geeliksi. Hydrogeelin injektointivuus voi olla seuraus sen mekaanisista ominaisuuksista kuten tiksotrooppisesta luonteesta tai ulkoisen virikkeen käynnistämästä muutoksesta nestemäisestä muodosta geelimäiseksi. Tällaisia ulkoisia virikkeitä voivat olla esimerkiksi lämpötilan muutos ja ympäristön pH-arvo. [6] Injektoitaville hydrogeeleille tärkeä ominaisuus on pseudoplastisuus eli leikkauksen palautuvuus, jonka palautuvat ristisidokset sallivat. Injektoitavuus myös mahdollistaa itsekorjautuvien hydrogeelien käytön 3D-tulostuksen biomusteena. Erityisesti ekstruusiioon perustuva tulostus on potentiaalinen sovellus itsekorjautuville hydrogeeleille. [7]

Ekstruusiioon perustuvassa tulostuksessa hydrogeeli pursotetaan suuttimen läpi kerros kerrokselta, joten materiaalin tulee olla riittävän nestemäistä ja samalla itsekantavaa, jotta kerroksittainen rakentaminen onnistuu. Hydrogeelin polymeerien reologia ja geelin eli polymeeriverkon muodostumisen mekanismit ovat siis otettava huomioon valmistettaessa itsekorjautuvaa hydrogeeliä 3D-tulostuksen sovelluksiin. 3D-tulostettavat hydrogeelit ovat kiinnostavia erityisesti kudosteknologian kannalta, sillä ne tuovat uusia mahdollisuuksia skaffoldien valmistukseen ja ominaisuuksiin. [8]

Tärkeimmät seikat, joihin tulee keskittyä itsekorjautuvaa hydrogeeliä suunniteltaessa ja karakterisoitaessa, ovat korjautumisaika, korjautumisen riippuvuus murtumisen aiheutumisajankohdasta sekä korjautumisen tehokkuus. Itsekorjautuminen voi kestää muutamista sekunneista useisiin päiviin riippuen polymeerien keskinäisestä diffuusiosta ja uusiutuvien sidosten muodostumisnopeudesta, koska itsekorjautuminen tapahtuu kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa polymeerit diffuntoituvat keskenään murtumakohtien yli. Tämän jälkeen palautuvat sidokset muodostuvat uudelleen polymeeriketjujen välille. Lisäksi on huomattu, että useimmat itsekorjautuvat hydrogeelit menettävät itsekorjautumisominaisuutensa, kun sidokset ovat olleet katkenneena pidemmän aikaa. Tyypillisesti mekaanisia ominaisuuksia ei saada palautettua kokonaan ehjään hydrogeeliin verrattuna. [2] Ei-kovalenttiset sidokset palautuvat kovalenttisiä sidoksia nopeammin ja kovalenttiset sidokset vaativat pidemmän korjautumisajan täydellisen korjautumistehokkuuden saavuttamiseksi [7].

### 3. KARAKTERISOINTI

Gyarmatin et al. [2] mukaan itsekorjautuvien hydrogeelien karakterisoinnin pääkriteereitä on neljä, joista ensimmäinen on palautuvien sidosten olemassaolon täsmällinen vahvistus ja karakterisointi hydrogeelin polymeeriverkostosta. Toinen pääkriteeri on edellä mainittujen sidosten palautumisen varmistaminen jännitysriippuvaisilla värähtelevillä leikkauksilla. Jos hydrogeeli on kriteerien tulosten mukaan potentiaalisesti itsekorjautuva, jatketaan kolmanteen pääkriteeriin. Siinä itsekorjautuvuus testataan makroskooppisesti esimerkiksi geelilohkokuusiokokeella selvittäen, onko hydrogeeli itsekorjautuva vai ei. Neljäs pääkriteeri on korjautumistehokkuuden laskenta vertaamalla alkuperäisen ja korjautuneen geelin mekaanisia ominaisuuksia. Myös itsekorjautuvuuden dynamiikka ja aikariippuvuus on Gyarmatin et al. [2] mukaan määritettävä.

Itsekorjautuvan hydrogeelin itsekorjautuvuus-ominaisuuden karakterisoinnin tulee kattaa niin korjautumisprosessi kuin myös sen lopputulos. Karakterisointimenetelmät voidaan jakaa kahteen kategoriaan, joista ensimmäiseen kuuluvat menetelmät keskittyvät hydrogeelin mikro- ja makrorakenteeseen eli morfologiaan ja topologiaan. Toisen kategorian menetelmät taas karakterisoivat hydrogeelin mekaanisia ja reologisia ominaisuuksia ennen ja jälkeen itsekorjautumisen. [4]

Morfologiaa ja topologiaa tarkastelevilla karakterisointimenetelmillä saadaan täytettyä edellä mainituista pääkriteereistä ensimmäinen ja osittain kolmas. Mekaanisten ja reologisten ominaisuuksien karakterisointi sen sijaan antaa vastauksen toiseen ja viimeiseen pääkriteeriin. Koska itsekorjautuvien hydrogeelien karakterisointiin ei ole standardoituja menetelmiä, on karakterisointiin käytetty useita erilaisia tekniikoita.

#### 3.1 Morfologian ja topologian karakterisointi

Karakterisoimalla hydrogeelin morfologiaa ja topologiaa, saadaan selville, onko hydrogeelin polymeeriverkossa palautuvia sidoksia, sekä visuaalisesti havainnoitua hydrogeeliä ja sen itsekorjautuvuutta. Erilaisia visuaalisen havainnoinnin menetelmiä on useita, joista itsekorjautuvien hydrogeelien karakterisoinnissa eniten käytettyjä ovat pyyhkäisyelektronimikroskopia (SEM) [9-15], transmissioelektronimikroskopia (TEM) [16,17] ja atomivoimamikroskopia (AFM) [9,17,18]. Mikroskooppien tuottamista kuvista nähdään yksityiskohtaisemmin, millainen hydrogeelin ja sen komponenttien rakenne on [10,14,16-19].

SEM ja TEM perustuvat elektronisuihkuun, joka kohdistetaan näytteeseen. Transmissioelektronimikroskoopin elektronisuihku kulkee ohuen näytteen läpi, jonka jälkeen ne kuvataan sopivilla linseillä kuten valomikroskopiassa. Pyyhkäisyelektronimikroskoopin elektronisuihku sen sijaan heijastuu takaisin näytteen pinnasta tai irrottaa pinnalta elektroneja. Kuva muodostetaan näistä heijastuvista tai irtoavista elektroneista. SEM on toimivampi vaihtoehto paksuille näytteille kuin TEM, koska elektronisuihku voi absorboitua paksuun näytteeseen, jolloin kuvaa ei muodostu. [20]

AFM taas perustuu skannaavaan mikroskopiaan. Siinä kuva muodostuu, kun tarkka anturi liikkuu kuvattavan pinnan poikki keräten tietoa kärki-näyte-vuorovaikutuksista, joista tuotetaan kuva. Transmissioelektronimikroskoopilla voidaan suurentaa näytteitä, joiden koko vaihtelee useasta millimetristä muutamaan nanometriin. Pyyhkäisyelektronimikroskopiolla taas pystytään kuvantamaan kohteita, joiden koko on jotain sadan millimetrin ja kymmenen nanometrinen väliltä. AFM sen sijaan sopii kaikista pienimpien, nanometri-  
luokan kohteiden kuvantamiseen. [21]

Esimerkiksi Wang et al. [14] ottivat hydrogeelinäytteistään SEM-kuvia. Kuvista näkyi polymeeriverkon komponenttien onnistunut ristisitoutuminen kovalenttisilla sidoksilla sekä hydrogeelin huokoinen rakenne. He hyödynsivät mikroskooppikuvantamista myös todentaessaan hydrogeelin itsekorjautuvuuden geelilohkofuusiokokeella. [14] Mikroskooppiset menetelmät ovat siis käytännöllisiä Gyarmatin et al. [2] määrittämien ensimmäisen ja kolmannen pääkriteerin täyttämiseen.

Käyttämällä Fourier-infrapunaspektroskopiaa (FTIR) tai Raman-spektroskopiaa saadaan karakterisoitua hydrogeelin polymeeriverkoston kemiallinen koostumus eli sen funktionaaliset ryhmät ja erilaiset sidokset [10,11,15-19,22]. Myös ydinmagneettisella resonanssispektroskopiolla (NMR-spektroskopia) saadaan selvitettyä hydrogeelin kemiallista koostumusta kuten polymeeriverkon komponenttien suhde sekä verkon muodostavat sidokset [11,14,22]. NMR-spektroskopia voidaan suorittaa sekä kiinteille hydrogeeleille [11] että liuotetuille näytteille [22]. Spektroskooppisilla menetelmillä pystytään varmistamaan, että kokeellinen tapa valmistaa hydrogeeliä on tuottanut oikean lopputuloksen ja halutut sidokset ovat muodostuneet [18].

Liu et al. [11] käyttivät sekä FTIR-spektroskopiaa että Raman-spektroskopiaa karakterisoidessaan valmistamansa injektoitavan ja itsekorjautuvan hydrogeelin kemiallista rakennetta. Molemmat menetelmät antoivat samat tulokset eli varmistivat toivottujen enamiinisidosten läsnäolon. Enamiinisidokset ovat dynaamisia kovalenttisia sidoksia, joten spektroskopiolla pystyttiin todentamaan hydrogeelistä itsekorjautuvuuden mahdollis-

tavien sidosten läsnäolo. Tulokset varmistettiin vielä NMR-spektroskopiolla. Spektroskooppisilla menetelmillä saadaan siis vastattua itsekorjautuvuuden karakterisoinnin ensimmäiseen pääkriteeriin. [11]

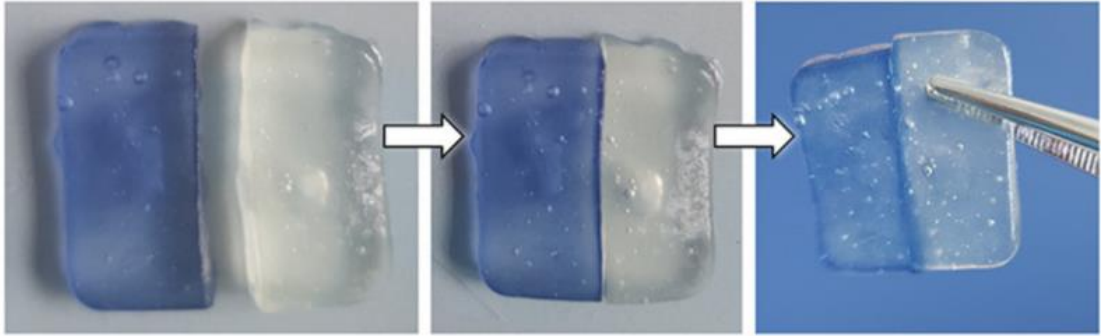
Hydrogeelin morfologiaa ja topologiaa voidaan karakterisoida myös muilla kuin spektroskooppisilla tai mikroskooppisilla menetelmillä. Roy et al. [17] käyttivät röntgensädediffraktiota yhdessä FTIR-spektroskopian kanssa todentamaan, että heidän valmistamassaan itsekorjautuvassa hydrogeelissä on palautuvia ei-kovalenttisia sidoksia. Bercea et al. [19] taas karakterisoivat röntgensädediffraktiolla hydrogeelinsä kiteisen rakenteen. He selvittivät röntgensädediffraktiolla myös, että heidän hydrogeelissään oli sekä molekyylin sisäisiä vetysidoksia että vetysidoksia molekyylien välissä [19].

### 3.2 Geelilohkokuusiokoe

Geelilohkokuusiokokeen tarkoitus on todentaa makroskooppisella tasolla hydrogeelin itsekorjautuvuus [2]. Yleensä testaus tapahtuu niin, että hydrogeeli leikataan osiin, jonka jälkeen palasten annetaan liittyä taas yhteen. Lopuksi yhteenliittyminen varmistetaan mekaanisesti. [9-11,13-17,22-24] Jotta yhdistyvät palat on helpompi erottaa toisistaan korjautumisen jälkeen, ainakin toinen paloista voidaan värjätä esimerkiksi punaiseksi rodamiini B:llä [11,17,23] ja siniseksi metyleenisinisellä [9,25] tai indigokarmiinilla [23].

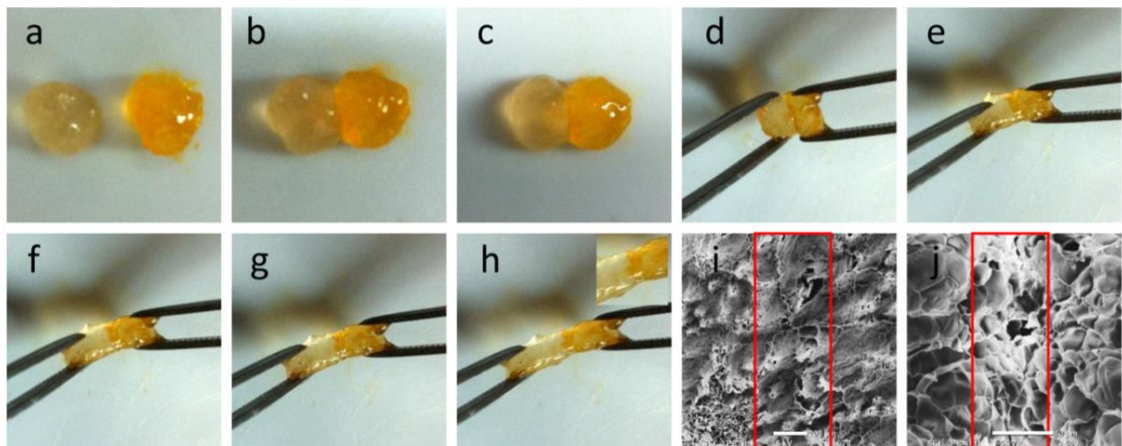
Itsekorjautuneesta hydrogeelistä otetaan tavallisesti myös sekä digikuvia että mikroskooppikuvia fuusioitumisen havainnollistamiseksi [10,14,16]. Geelifuusiokoe itsessään vastaa Gyarmatin et al. [2] esittämään itsekorjautuvuuden karakterisoinnin kolmanteen pääkriteeriin. Myös morfologisia ja topologisia menetelmiä käytetään siis kolmannen pääkriteerin todentamiseen, kun mikroskooppikuvilla varmistetaan palautuvien sidosten muodostuminen yhdistymiskohdassa.

Tehdessään geelilohkokuusiokoeetta hydrogeelilleen Pugliese et al. [9] leikkasivat värjätyn ja värjäämättömän näytteen kahteen osaan, jonka jälkeen palat värjätystä ja värjäämättömästä hydrogeelistä asetettiin vierekkäin. Viiden minuutin kuluttua palat olivat yhdistyneet yhdeksi palaksi ilman ulkoista voimaa tai virikettä. Itsekorjautuminen varmistui, kun muodostunut hydrogeelipala nostettiin ilmaan eivätkä eriväriset osat irronneet toisistaan. [9] Ryhmän suorittama geelilohkokuusiokoe on näkyvillä kuvassa 2.



**Kuva 2.** Pugliesen et al. [9] suorittama geelilohkokuusiokoe guarukumi-itsejärjestäytyvä peptidi (SAP) -komposiittihydrogeelille. Hydrogeelin itsekorjautuvuus perustuu dynaamisiin kovalenttisiin sidoksiin ja tapahtuu ilman ulkoista voimaa tai virikettä. [9]

Myös Yu et al. [23] osoittivat geelilohkokuusiokokeensa onnistuneeksi testaamalla, pysyvä korjautunut hydrogeeli kestävänsä oman painonsa nostettaessa näyte pinseteillä ilmaan. Lü et al. [10] sen sijaan todistivat itsekorjautumisen vetämällä yhteen liittyneitä paloja pinseteillä irti toisistaan, mikä on esitetty kuvassa 3. Koska yhtymäkohta ei rikkoutunut tai venynyt, hydrogeeli osoittautui itsekorjautuvaksi. Tässä tutkimuksessa kaksi palaa hydrogeeliä laitettiin lähekkäin säiliöön kosteaan ympäristöön, missä itsekorjautuminen tapahtui autonomisesti kahdessa tunnissa. Korjautumiskohdasta otettiin SEM-kuvia (kuva 3) todentamaan sidosten palautuminen. [10]

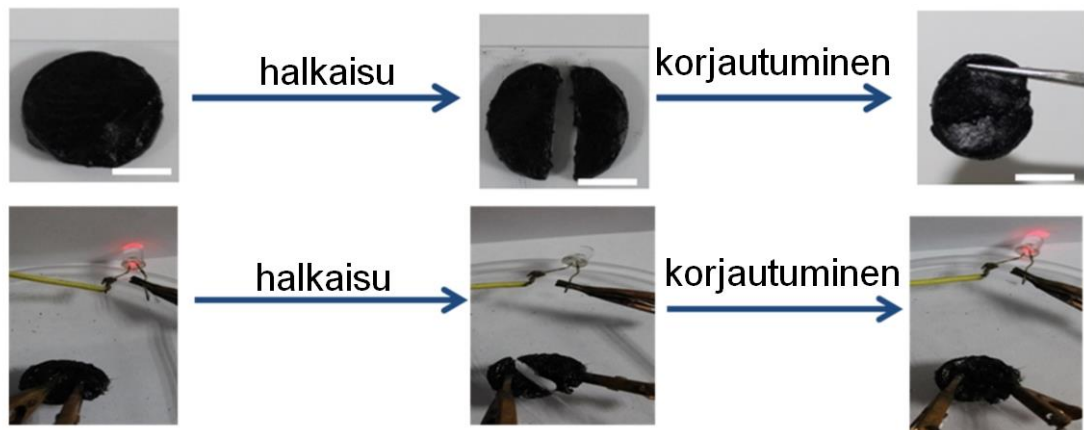


**Kuva 3.** Lün et al. [10] kondroitiinisulfaatti-kitosaani hydrogeelille suorittama geelilohkokuusiokoe ja korjautumiskohdasta otetut SEM-kuvat. Hydrogeelin itsekorjautuminen perustuu Schiffin emäkseen eikä vaadi ulkoista virikettä. [10]

Maity et al. [16] myös suorittivat geelilohkokuusiokokeensa kosteassa ympäristössä. Heidän mukaansa kosteus auttaa itsekorjautumisreaktiota alkamaan varsinkin, kun reaktio tapahtuu ulkoisella pinnalla. Liu et al. [11] puolestaan käyttivät kokeessaan kahden hydrogeelipalan sijasta neljää palasta. Palaset fuusioituivat autonomisesti yhdeksi palaksi,

kun niitä kevyesti painettiin yhteen tunnin ajan. Fuusioituminen tapahtui huoneenlämpöisessä happamassa mediumissa, jonka pH oli 3,5. [11]

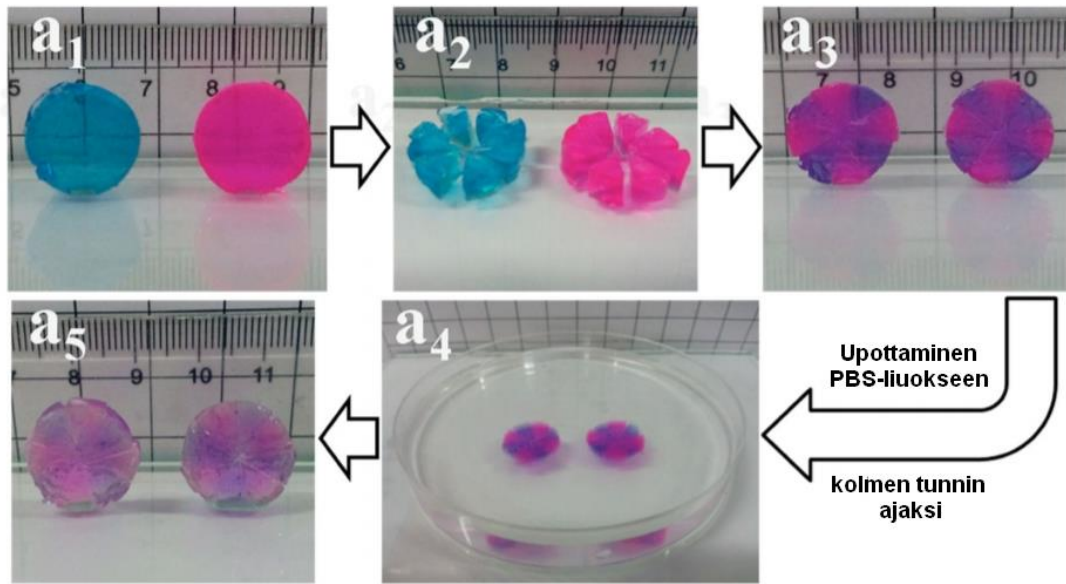
Tavallisesti geelilohkojen fuusioituminen varmistetaan joko venytystestillä vetämällä lohkoja erilleen pinseteillä [9,10,13,14,16] tai kokeilemalla kestääkö yhteenliittymiskohta repeämättä ja venymättä korjautuneen hydrogeelin massasta aiheutuvan painovoiman [11,17,23,24]. Deng et al. [15] puolestaan käyttivät painovoimatestin lisäksi todentamisessa LED-valoa. Heidän hydrogeelinsä johtaa sähköä, joten näyte kytkettiin johtimilla LED-valon kanssa samaan virtapiiriin, jolloin lampussa paloi valo. Kun hydrogeeli leikattiin kahtia, virtapiiri katkesi ja LED-valo sammui. Palaset asetettiin vierekkäin ja itsekorjautumisen seurauksena virtapiiri jälleen sulkeutui, jolloin LED-valo paloi yhtä voimakkaasti kuin alussa. Geelilohkokuusiokokeet painovoimatestillä ja LED-valolla on esitetty kuvassa 4. Testien tulokset osoittivat hydrogeelin itsekorjautuvuuden olevan hyvä ja korjautumisen tehokasta. [15]



**Kuva 4.** Dengin et al. [15] tekemät geelilohkokuusiokokeet painovoimatestillä ja LED-valolla. Hydrogeeli on valmistettu laponiitista, moniseinäisistä hiilinanoputkista (CNT) ja N-isopropyylakryyliamideista (NIPAM). Sen autonominen itsekorjautuminen perustuu vetysidoksiin, sähköisiin vetovoimiin ja polymeeriketjujen kietoutumiseen. Perustuu lähteeseen [15].

Wei et al. [25] taas varmistivat geelilohkojen fuusioitumisen ensin nostamalla korjautuneen hydrogeelinäytteen pystyasentoon, jossa se pystyi olemaan ilman tukea hajomatta. Tämän jälkeen korjautunut näyte upotettiin neutraaliin (pH 7.0) PBS-liuokseen kolmeksi tunniksi. Liuoksessa olleelle näytteelle toistettiin sama testi eli pystyyn nostaminen, eikä korjautunut näyte menettänyt muotoaan tai hajonnut. Tämä osoitti, että hydrogeelin korjautumisalueella olevien polymeeriketjujen funktionaaliset ryhmät olivat reagoineet keskenään muodostaen dynaamisia kovalenttisiä sidoksia. Näin ollen korjautuminen ei johtunut vain erillään olleiden pintojen välisestä adheesiosta. [25] Suoritettu geelilohkokuusiokoe on esitetty kuvassa 5.





**Kuva 5.** Wein et al. [25] suorittama geelilohkokuusiokoe. Hydrogeeli on valmistettu *N*-karboksietyylikitosaanista (CEC), adipiinihappodihydratsidista (ADH) ja hapetetusta natriumalginaatista (OSA). Sen autonominen itsekorjautuminen perustuu rakenteen imiini- ja asyylihydratsonisidoksiin. Perustuu lähteeseen [25].

Geelilohkokuusiokokeen voi siis suorittaa monin eri tavoin, mutta perus elementit pysyvät samana. Hydrogeelistä leikattujen palasten annetaan leikkauspinnoltaan fuusioitua toisiinsa tietyissä olosuhteissa. Yhdistymiskohdan kestävyys ja palautuvien sidosten muodostuminen varmistetaan, jotta itsekorjautuvuus pystytään todistamaan makroskooppisesti. Lisäksi geelilohkokuusiokokeen eri vaiheista voidaan ottaa kuvia niin makroskooppisella kuin mikroskooppisella tasolla.

### 3.3 Mekaanisten ominaisuuksien karakterisointi

Itsekorjautuvuuden karakterisointi tapahtuu makro- ja mikrotason tarkastelun lisäksi karakterisoimalla hydrogeelin mekaaniset ominaisuudet. Itsekorjautuvuuden karakterisoinnissa voidaan selvittää, kuinka hyvin hydrogeelin mekaaniset ominaisuudet palautuvat itsekorjautumisen kautta eli millaiset mekaaniset ominaisuudet korjautuneella hydrogeelillä on. Mekaanisten ominaisuuksien karakterisointi tehdään yleisillä painovoima-, venytys- ja taivutuskestävyys testauksilla, vetolujuuskokeilla, puristuslujuuskokeilla ja reologisilla testeillä. [4]

Painovoima-, venytys- ja taivutuskestävyyden testaaminen on yleisesti käytetty tapa geelilohkokuusiokokeen onnistumisen varmistamisessa [9-11,13,14,16,17,23]. Tällaisessa testauksessa varmistetaan itsekorjautumiskohdan palautuvien sidosten muodostumisen.

tuminen ja mekaanisten ominaisuuksien palautuminen. Mekaanisten ominaisuuksien karakterisointi on siis tärkeässä osassa itsekorjautuvuuden karakterisoinnin kolmannen pääkriteerin eli itsekorjautuvuuden makroskooppisessa todentamisessa.

Myös hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisoinnin neljäs pääkriteeri eli korjautumistehokkuuden laskenta täytetään mekaanisten ominaisuuksien karakterisoinnilla. Korjautumistehokkuus saadaan selville karakterisoimalla jokin mekaaninen ominaisuus sekä alkuperäisestä hydrogeelistä että itsekorjautuneesta hydrogeelistä. Korjautumistehokkuus lasketaan kaavalla

$$\text{Korjautumistehokkuus} = \frac{\text{mekaaninen arvo}_{ITSEKORJAUTUNUT}}{\text{mekaaninen arvo}_{ALKUPERÄINEN}} \times 100 \%. \quad (1)$$

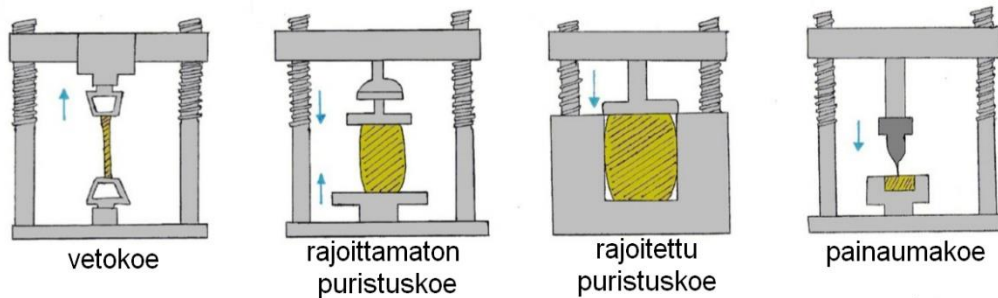
Kun korjautumistehokkuus esitetään korjautumisajan funktiona, saadaan selville itsekorjautumisprosessin dynamiikka. Itsekorjautumisen tehokkuuden riippuvuus pintojen erillään oloajasta saadaan myös määritettyä korjautumistehokkuuden avulla, kun eri pituisten erillään oloaikojen jälkeen tapahtuvan itsekorjautumisen korjautumistehokkuus lasketaan. [2] Neljännen pääkriteerin kaikki vaatimukset saadaan siis karakterisoitua mekaanisten ominaisuuksien kautta.

Hydrogeelien mekaaniset ominaisuudet karakterisoidaan pääasiassa tutkimalla ajasta riippumatonta kumielastisuutta ja ajasta riippuvaa viskoelastisuutta. Veden absorboimisesta turvonneen hydrogeelin mekaaniset ominaisuudet ovat samankaltaiset kuin kumilla ja perustuvat polymeeriketjujen korjautumiseen polymeeriverkossa. Elastisuus tarkoittaa materiaalin kykyä muuttaa heti muotoaan mekaanisen kuormituksen alaisena ja palautua alkuperäiseen muotoonsa kuormituksen päätyttyä. Joissakin olosuhteissa hydrogeelien käyttäytyminen on kuitenkin viskoelastista johtuen niiden mekaanisista ominaisuuksista tai niihin kohdistetun mekaanisen liikkeen luonteesta. Tällaiset olosuhteet voivat olla esimerkiksi matala lämpötila tai pidempiaikainen altistuminen mekaaniselle kuormitukselle. Viskoelastinen hydrogeeli osoittaa sekä elastista että viskoelastista käytöstä muodonmuutoksen aikana. Mekaaninen testaus kuten vetokoe karakterisoi hydrogeelin elastisuutta ja dynaamiset mekaaniset kokeet sekä reologiset menetelmät taas karakterisoivat hydrogeelin viskoelastisuutta. [26]

### 3.3.1 Mekaaninen testaus

Hydrogeelien elastisuuden karakterisoinnin yleisimmät menetelmät ovat vetokoe, puristuskoe ja painaumakoe, jotka on havainnollistettu kuvassa 6. Elastisuuteen liittyviä hydrogeelin ominaisuuksia ovat Youngin moduuli, vetolujuus, murtumisjännitys ja puristuslujuus. Youngin moduuli on suure, joka kuvaa elastisen materiaalin kykyä vastustaa

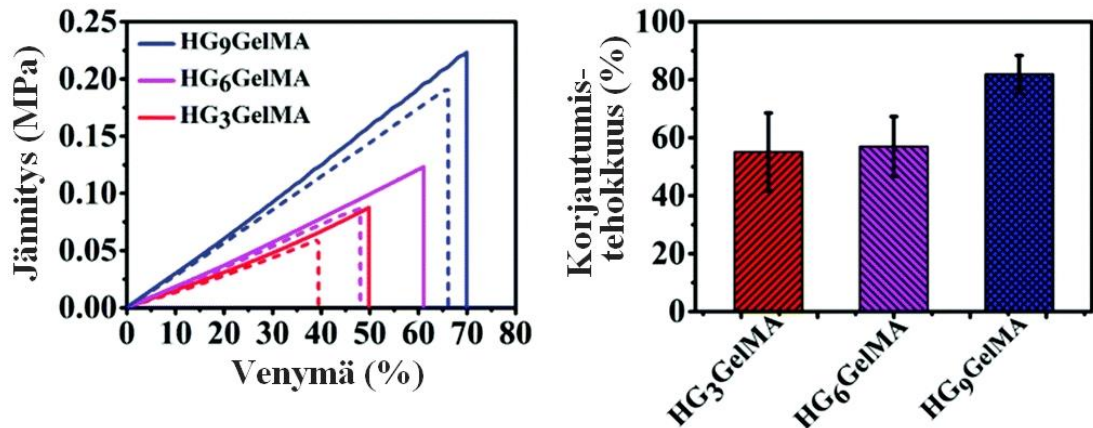
kuormitusta. Se määritetään vetojännityksen ja materiaalin muodon muuttumisen eli venymän suhteena, missä vetojännitys on voima pinta-alaa kohti. [26]



**Kuva 6.** Mekaanisen testauksen menetelmät. Perustuu lähteeseen [26].

Vetolujuus taas on jännitys, jonka materiaali kestää murtumatta vastustaessaan vastakkaisiin suuntiin vetävää voimaa. Vetomurtolujuus on maksimi vetolujuus, jonka ylitys johtaa materiaalin murtumiseen. Vetokoe toteutetaan hydrogeeleille yleensä yksiakselisena venymän mittauksena. Siinä hydrogeelinäyte asetetaan kahden pidikkeen väliin ja toista pidikettä vedetään poispäin tietyllä voimakkuudella ja nopeudella. Suorittamalla mittauksella eri vetolujuuksilla saadaan muodostettua jännitys-venymäkäyrä, josta Youngin moduuli, myötöraja ja vetolujuus ovat määritettävissä. Venyminen on yleisin käytetty parametri itsekorjautuvien hydrogeelien korjautumistehokkuuden laskemisessa. [4,26]

Wang et al. [14] käyttivät vetokoetta itsekorjautuvan hydrogeelin korjautumistehokkuuden ja mekaanisten ominaisuuksien määrittämiseksi. Koe suoritettiin alkuperäisille hydrogeelinäytteille sekä näytteen murtumiseen asti että syklistenä kokeena, joka testaa hydrogeelin kestävyyttä ja palautuvuutta. Koetilanteessa vetonopeus oli 1 mm/min. Myös itsekorjautuneille hydrogeelinäytteille suoritettiin vetokokeet ja korjautumistehokkuudet laskettiin kullekin näytteelle murtoenergian perusteella. [14] Vetokokeiden tuloksena saadut jännitys-venymäkäyrät sekä alkuperäisille että korjautuneille näytteille on esitetty kuvassa 7. Lisäksi kuvassa 7 on näkyvillä vetokokeiden tuloksena saadut korjautumistehokkuudet eri hydrogeeleille. Kuvasta nähdään, että tehokkaimmin itsekorjautuneen hydrogeelin jännitys-venymäkäyrät alkuperäiselle sekä korjautuneelle näytteille ovat lähes toistensa kaltaiset. Kahden muun hydrogeelin jännitys-venymäkäyrät sen sijaan eroavat huomattavasti alkuperäisen ja korjautuneen näytteen välillä, mikä on havaittavissa myös heikkona korjautumistehokkuutena. Kuvan 7 jännitys-venymäkäyrät kertovat lisäksi, että hyvän itsekorjautuvuuden omaavalla hydrogeelillä on myös suurempi vetolujuus verrattuna kahteen muuhun hydrogeeliin.

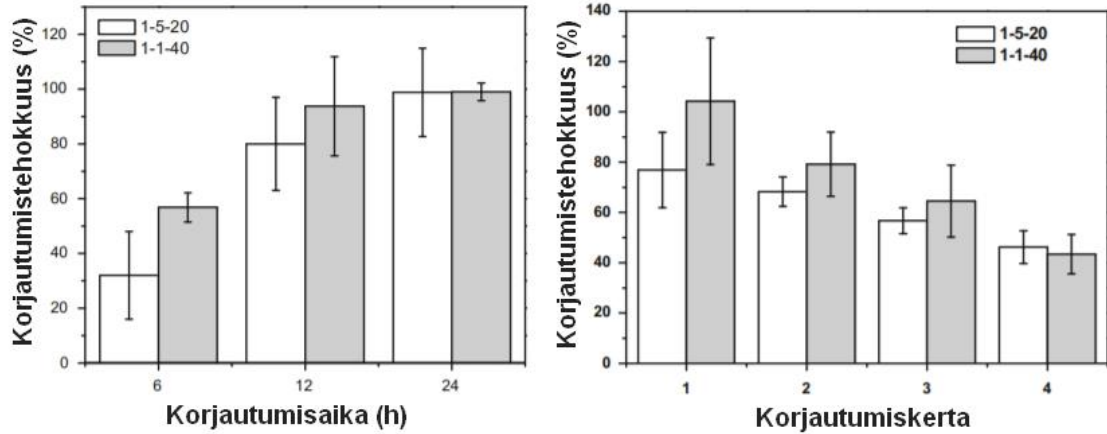


**Kuva 7.** Wangin et al. [14] tekemien vetokokeiden jännitys-venymäkäyrät sekä niiden perusteella lasketut korjautumistehokkuudet isäntä-vieras-supramolekulaarisille hydrogeeleille (HGGeIMA). Hydrogeelit on valmistettu isäntä-vieras-supramolekyyleistä (HGSM) sekä gelatiinimetakryloyylistä (GelMA) ja niiden autonomisen itsekorjautumisen mahdollistavat isäntä-vieras vuorovaikutukset. Hydrogeelin lyhenteen numero kertoo, kuinka paljon HGSM:ejä hydrogeelin rakenteessa suhteessa on. HGSM-määrän kasvaessa hydrogeelin korjautumistehokkuus ja vetolujuus paranevat. Perustuu lähteeseen [14].

Myös Yang et al. [27] laskivat hydrogeeliensä korjautumistehokkuuden vetokokeen tulosten avulla. He suorittivat vetokokeet mekaaniseen testaukseen tarkoitetulla laitteella 25 asteen lämmössä vetävän pidikkeen liikkeessa 100 mm/min vakiovauhdilla. Korjautumattomalle ja virikeperusteisesti korjautuneille hydrogeelinäytteille suoritettujen testauksen tulokset esitettiin jännitys-venymäkäyrinä. Korjautumistehokkuus laskettiin jokaiselle korjautuneelle näytteelle kaavan 1 mukaan niin, että jakajana oli korjautumattoman hydrogeelin vetomurtolujuus ja jaettavana vastaavasti korjautuneen hydrogeelin vetomurtolujuus. Ryhmällä oli kaksi erilaista hydrogeelinäytettä, jolle vetokokeet suoritettiin. [27]

Korjautumistehokkuuden laskemisen lisäksi Yang et al. [27] tutkivat vetokokeella korjautumisajan pituuden vaikutusta korjautumistehokkuuteen. Eri pituisen ajan korjautuneille näytteille suoritettiin vetokoe, jonka perusteella laskettiin korjautumistehokkuus. Näin saatujen korjautumistehokkuuksien arvojen vertailulla selvitettiin itsekorjautumisen aika-riippuvuus. Myös itsekorjautuvuuden toistumiskyky karakterisoitiin vetokokeen avulla ja hydrogeelinäytteen korjautumistehokkuus laski korjautumiskertojen lisääntyessä. Nämä testit suoritettiin molemmille hydrogeeleille, ja korjautuminen perustui joka kerta samaan virikkeeseen. [27] Korjautumistehokkuuden riippuvuus korjautumisajasta sekä korjautumiskerroista on havainnollistettu kuvassa 8. Kuvaajista nähdään, että korjautumisajan pidentyessä korjautumistehokkuus parantui molemmilla hydrogeeleillä. Sen sijaan korjautumiskertojen lisääntyminen heikensi hydrogeelien korjautumistehokkuutta eli useamman korjautumiskerran jälkeen hydrogeelit eivät korjautuneet enää yhtä hyvin kuin

ensimmäisellä kerralla. Vaikka hydrogeelien korjautumistehokkuudet eroavat keskenään eri korjautumisajoilla sekä korjautumiskerroilla, molempien hydrogeelien korjautumistehokkuus siis parani korjautumisajan pidentyessä ja heikkeni korjautumiskertojen lisääntyessä.



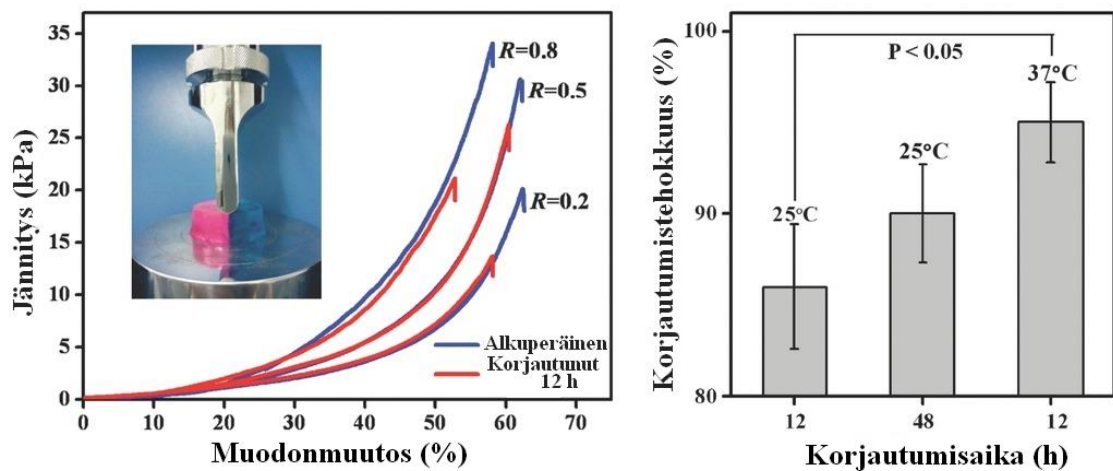
**Kuva 8.** Yangin et al. [27] vetokokein hydrogeeleilleen määrittämät korjautumistehokkuudet ja niiden riippuvuus näytteen korjautumisajasta ja korjautumiskerroista. Hydrogeelit on valmistettu atsobentseenimetakryyliamidista,  $\beta$ -syklodekstriinistä sekä 3-metakryyliamidofenyyliboorihaposta, ja isäntä-vieras vuorovaikutukset mahdollistavat niiden valoon reagoivan itsekorjautumisen. Kuvaajien merkinnät 1-5-20 ja 1-1-40 kertovat hydrogeelien sisältävän 1 mg N,N-metyleenibisakryyliamidia, 5 ml tai 1 ml isäntä-vieras-kompleksointia ja 20 mg tai 40 mg boorihappoa. Perustuu lähteeseen [27].

Vetokoe ei kuitenkaan ole kaikille hydrogeeleille sopiva menetelmä, koska materiaali voi olla liian pehmeää, joustavaa tai heikkoa. Nämä ominaisuudet vaikeuttavat hydrogeelinäytteen muovaamista testaukseen sopivan muotoiseksi tai niiden seurauksena hydrogeeli ei kestä pidikkeiden aiheuttamaa puristusta, jolloin vetokoetta ei voida suorittaa. Vaihtoehtoinen karakterisointimenetelmä on puristuskoe, jossa käytetään liikkuvaa määntää ilmentämään mekaanisia ominaisuuksia ja itsekorjautuneen hydrogeelin korjautumiskohdan vahvuutta. [4] Siinä puristetaan kahdella levyllä näytettä kasaan tai vaihtoehtoisesti näyte laitetaan astiaan rajattuun tilaan, jonne huokoinen levy aiheuttaa puristavan paineen [26].

Vetokokeen tapaan puristuskokeessa mitataan puristuksen aikaansaavaa voimaa ja sen seurauksena aiheutuvaa hydrogeelinäytteen muodon muuttumista. Tulokset esitetään yleensä jännitys-muodonmuutoskäyränä, josta on luettavissa materiaalin kokoonpuristuvuuskerroin ja puristuslujuus. Puristuskoe ei rajoita käytettävän hydrogeelinäytteen geometriaa, mutta menetelmässä on kuitenkin omat huonot puolensa, kuten materiaalin pullistuminen puristavan paineen alla ja hankaluus saada eri näytteille kohdistettavat paineet samansuuruisiksi. [26]

Khan et al. [28] suorittivat puristuskokeen sekä alkuperäisille että itsekorjautuneille hydrogeeleille, jotta saatiin selvitettyksi mekaanisten ominaisuuksien erot ennen ja jälkeen korjautumisen. Korjautumistehokkuutta ei kuitenkaan laskettu, mutta tulosten vertailu paljasti, että korjautuminen oli tehokasta. Puristuskoe toistettiin samalle näytteelle kolme kertaa ja eri kertojen jännitys-muodonmuutoskäyrät olivat toistensa kaltaiset, mikä vahvisti hydrogeelien polymeeriverkon sidosten palautuvan luonteen. [28]

Wei et al. [25] laskivat hydrogeeleillensä korjautumistehokkuuden puristuskokeen avulla. Puristuskokeessa keilan muotoisella muotilla aiheutettiin puristusvoima hydrogeeliin aina geelin hajoamiseen asti. Koe suoritettiin alkuperäisille sekä korjautuneille hydrogeeleille ja tulokset esitettiin jännitys-muodonmuutoskäyrinä. Korjautumistehokkuus laskettiin murtumisen aiheuttavan jännitteen avulla jakamalla korjautuneen hydrogeelin murtojännitys alkuperäisen hydrogeelin murtojännityksellä. Lisäksi itsekorjautumisen dynaamisuutta testattiin pidentämällä korjautumisaikaa ja lämpötilaa. Korjautumistehokkuuksia laskettaessa huomattiin, että hydrogeelin itsekorjautuminen on tehokkainta kehon lämmössä eli 37 asteessa. [25] Ryhmän suorittama puristuskoe, jännitys-muodonmuutoskäyrät sekä korjautumistehokkuuden riippuvuus lämpötilasta ja korjautumisajasta on esitetty kuvassa 9. Korjautumistehokkuuden riippuvuus lämpötilasta ja korjautumisajasta on esitetty funktion kuvaajan sijaan pylväsdiagrammina, mutta siitä on kuitenkin nähtävissä itsekorjautumisprosessin dynamiikka.



**Kuva 9.** Wein et al. [25] suorittamien puristuskokeiden jännitys-muodonmuutoskäyrät sekä lämpötilan ja korjautumisajan vaikutus hydrogeelin korjautumistehokkuuteen. Hydrogeelit on valmistettu CE:sta, ADH:sta ja OSA:sta, ja merkintä R kertoo hydrogeelin aminoryhmien ja aldehydiryhmien moolisuhteen. Korjautumistehokkuuden riippuvuus lämpötilasta ja korjautumisajasta testattiin hydrogeelillä, jonka R oli 0,5. Perustuu lähteeseen [25].

Painaumakokeessa näytteeseen tehdään koettimella ennalta sovittuun kohtaan tietyn syvyinen painauma. Voima, joka vaaditaan painauman tekoon, mitataan ja tulokset esitetään voima-siirtymäkäyrällä. Käyrän avulla saadaan laskettua Youngin moduuli eli määritettyä materiaalin elastisuus. Lisäksi hydrogeelien ominaisuuksien mekaaniseen testaukseen voidaan soveltaa myös morfologian ja topologian karakterisoinnissa käytettävää atomivoimamikroskopiaa. Se on vaihtoehtoinen tapa painaumakokeelle esimerkiksi tilanteisiin, joissa kajoaminen ei ole mahdollista. Mikroskopiolla määritetään hydrogeelin mekaaniset ominaisuudet mittaamalla voimaa ja etäisyyttä tietyssä pisteessä geelin pinnalla. Muita vähemmän käytettyjä mekaanisia testejä ovat esimerkiksi pullistumiskoe ja aspiraatio mikropipetillä. Itsekorjautuvuutta ei näillä menetelmillä yleensä kuitenkaan karakterisoida. [26]

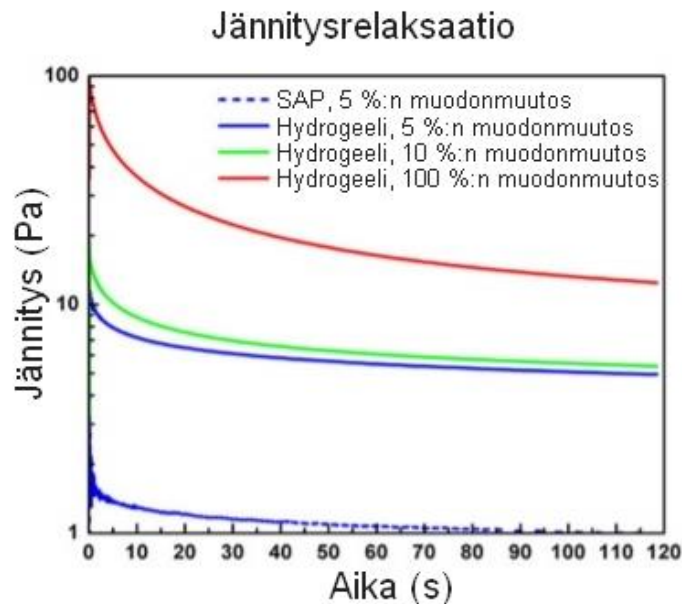
### 3.3.2 Reologinen testaus

Reologia tutkii materiaalin virtausta ja muodon muuttumista. Pehmeillä materiaaleilla kuten hydrogeeleillä on sekä viskoosisia että elastisia ominaisuuksia, joten ne ovat mekaanisilta ominaisuuksiltaan viskoelastisia. Viskoelastinen käyttäytyminen riippuu ajasta, jona materiaalin muoto on muuttunut. Reologiassa tarkastelun kohteena on materiaalin reaktio venytykseen ja kuormitukseen. Reologinen vaste riippuu materiaalin mekaanisista ominaisuuksista, jotka saadaan karakterisoitua altistamalla materiaali eri suuruisille muodonmuutoksille erilaisilla aikatauluilla. [29] Reologisilla menetelmillä saadaan siis karakterisoitua hydrogeelien viskoelastisia ominaisuuksia kuten polymeeriverkon rististoutumisaste ja rakenteen homogeenisyys tai heterogeenisyys. Lisäksi reologisilla menetelmillä voidaan karakterisoida hydrogeelien geelilytymistä sekä niiden pseudoplastisuutta eli leikkausohenevuutta. [26]

Reologisissa tutkimuksissa käytetään eniten leikkausmuodonmuutosta, joka on materiaalin vaste ulkoisen voiman aiheuttamalle leikkausjännitykselle. Leikkausjännityksen aikaansaava voima riippuu ajan lisäksi leikkausnopeudesta, jolla materiaalin muodon muuttuminen eli liukukulma tapahtuu. Leikkausmuodonmuutosta mallinnetaan materiaalinäytteellä, joka on puristettu kahden levyn väliin. Kun toista näistä levyistä liikutetaan ajasta riippuvalla voimalla, materiaaliin aiheutuu leikkausjännitys. Tämän seurauksena näytteen muoto muuttuu ja muodonmuutos eli liukukulma saavutetaan leikkausjännityksestä riippuvalla leikkausnopeudella. [29]

Yksinkertaisin reologinen menetelmä, jolla materiaalin ajasta riippuvaa vastetta karakterisoidaan, on jännitysrelaksaatiotesti. Testi ilmentää materiaalin elastisia, viskoosisia ja viskoelastisia ominaisuuksia. Koe suoritetaan aiheuttamalla hetkellinen muodonmuutos

materiaaliin ja sen seurauksena tapahtuva jännitys vaste mitataan ajan funktiona. Jännityksen luonne riippuu siitä, onko materiaali elastinen, viskoosinen vai viskoelastinen. [29] Esimerkiksi Pugliese et al. [9] suorittivat itsekorjautuvalle hydrogeelille jännitysrelaksaatiotestin 5 %:n, 10 %:n ja 100 %:n muodonmuutoksilla muodonmuutosnopeuden ollessa 1 mm/min. Muodonmuutos pidettiin vakiona 120 sekunnin ajan, jolloin jännitys-muodonmuutuskäyrä mitattiin. Testit suoritettiin reologiseen testaukseen tarkoitetulla laitteella eli reometrillä ja sen tuloksena saatu kuvaaja on esitetty kuvassa 10. [9] Kuvaajasta nähdään, että jännityksen laskeminen kesti jokaisessa suoritettussa testissä noin 30–40 sekuntia. Lisäksi kuvasta 10 huomataan, että muodonmuutoksen aiheuttama jännitys oli sitä suurempi, mitä suurempi muodonmuutos oli. Kuvaajien muoto kertoo materiaalin olevan viskoelastista.



**Kuva 10.** Pugliesen et al. [9] guarkumi-SAP-komposiittihydrogeelille tekemän jännitysrelaksaatiotestin jännitys-aikakuvaaja. Hydrogeelin itsekorjautuvuus perustuu dynaamisiin kovalenttisiin sidoksiin ja tapahtuu ilman ulkoista voimaa tai virikettä. Perustuu lähteeseen [9].

Värähtelevää reologiaa käytetään paljon itsekorjautuvien hydrogeelien viskoelastisuuden karakterisoinnissa. Sen avulla on mahdollista todentaa palautuvien vuorovaikutusten olemassaolo hydrogeelissä sekä tutkia itsekorjautumisen mahdollisuutta eri ajanjaksoilla muuttamalla muodonmuutoksen esiintymistiheyttä. Itsekorjautumisen karakterisoinnin toinen pääkriteeri eli sidosten palautumisen todentaminen suoritetaan värähtelevällä reologialla. Värähtelevässä reologiassa aiheutetaan tietyllä taajuudella värähtelevä sinimuotoinen leikkausmuodonmuutos hydrogeelinäytteeseen. Leikkausmuodonmuutokseen liittyvä jännitys mitataan ajan funktiona. Hydrogeelinäyte on yleensä asetettu kahden levyn, levyn ja kartion tai kahden koaksiaalisylinterin väliin testauksen



ajaksi. Materiaalin viskoelastinen käyttäytyminen tietyllä taajuudella karakterisoidaan mittaamalla varastomuoduli  $G'$  ja häviömoduuli  $G''$ , jotka kuvaavat mitattavan jännityksen elastisuutta ja energiahäviötä. Mitattava jännitys on varastomuodulin ja osin häviömoduulin summa. [2,26]

Varastomuoduli ja häviömoduuli ovat siis riippuvaisia taajuudesta, jolla sinimuotoinen värähtelevä muodonmuutos tapahtuu. Värähtelyn taajuus vaikuttaa suoraan myös jännitykseen ja muodonmuutokseen, jonka värähtely aiheuttaa. Värähtelevän mittauksen parametrit ovat värähtelyn amplitudi ja taajuus, joiden avulla jännitys ja muodonmuutos saadaan laskettua. Muodonmuutos riippuu taajuuden lisäksi ajasta ja jännitys ajasta sekä jännityksen ja muodonmuutoksen välisestä vaihesiirrosta. Vaihekulma on kaikista tärkein tunnusluku, jonka mittaus antaa. Se esitetään kuitenkin yleensä ymmärtämisen helpottamiseksi varasto- ja häviömoduuleina. Moduulit lasketaan kaavoilla

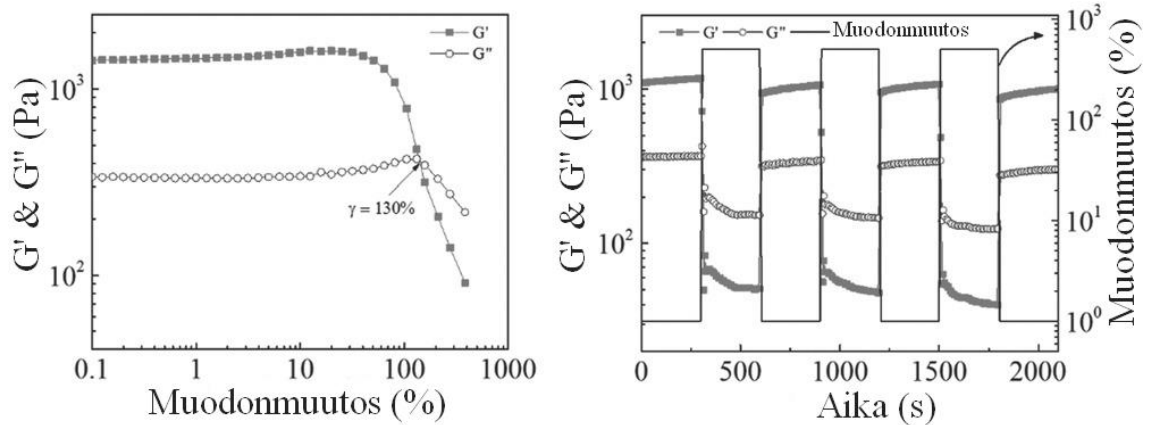
$$G' = \left( \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cos \delta \quad (2)$$

$$G'' = \left( \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \sin \delta , \quad (3)$$

joissa  $\sigma_0$  on muodonmuutoksen amplitudi,  $\gamma_0$  on värähtelyn amplitudi ja  $\delta$  on vaiheviive muodonmuutoksen ja jännityksen välillä. [2]

Varastomuoduli kuvaa materiaalin elastista luonnetta ja on verrannollinen energiaan, joka palautuu materiaaliin kohdistuvan kuormituksen vähentyessä. Häviömoduuli taas kuvaa materiaalin viskoosista luonnetta ja on verrannollinen muodonmuutossyklin aikana menetettävään energiaan. Kun häviömoduuli on suurempi kuin varastomuoduli, materiaalin mekaaniset ominaisuudet ovat sillä taajuudella tai ajanjaksolla nesteen kaltaiset. Toisella taajuudella tai ajanjaksolla varastomuoduli voi taas olla suurempi kuin häviömoduuli, jolloin materiaalin ominaisuudet ovat kiinteän aineen kaltaiset. Mittauksessa saatavat varastomuodulin ja häviömoduulin arvot esitetään yleensä taajuuden, muodonmuutoksen tai ajan funktiona, jolloin kuvaajasta voidaan helposti vertailla moduulien keskinäistä suuruutta. [2,29]

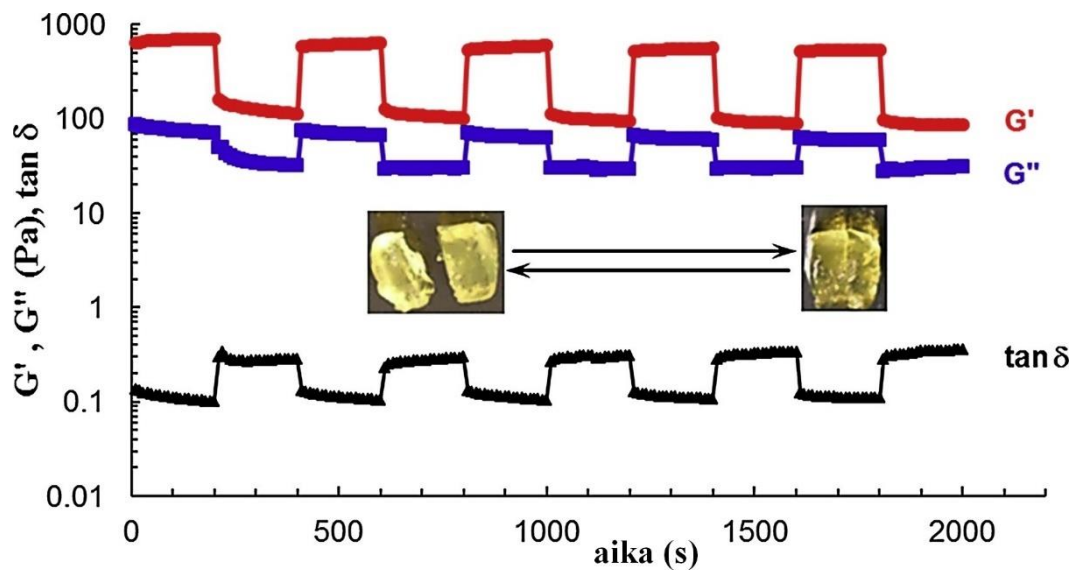
Karakterisoidakseen hydrogeelinsä itsekorjautuvuutta Yu et al. [23] suorittivat hydrogeelilleen amplitudipyyhkäisytestin ja toistuvan dynaamisen muodonmuutosvaihetestin. Testien tulokset on esitetty kuvassa 11. Kehon lämmössä suoritettu amplitudipyyhkäisytesti kertoi, kuinka suuren muodonmuutoksen hydrogeeli pystyy kestämään. Kuvan 11 vasemman puoleisesta kuvaajasta nähdään, että hydrogeeli kesti hyvin alle 40 %:n muodonmuutoksen, mutta muodonmuutoksen ollessa 130 % häviömoduulin arvo muuttui suuremmaksi kuin varastomuoduli. Hydrogeelin polymeeriverkko siis hajosi eikä rakenne ollut enää geelimäinen. [23]



**Kuva 11.** Vasemmalla Yun et al. [23] tekemän amplitudipyyhkäisytestin kuvaaja ja oikealla heidän muodonmuutosvaihetestinsä kuvaaja. Hydrogeeli on valmistettu pitkäketjuisesta PEP-PPO-PEO -monilohkokopolymeeristä. Sen itsekorjautuvuus perustuu polymeeriverkon asyylihydratsonisidoksiin. Perustuu lähteeseen [23].

Yu et al. [23] suorittamassa toistuvassa dynaamisessa muodonmuutosvaihetestissä muodonmuutos vaihteli 1 %:sta 500 %:iin. Kun muodonmuutos oli 500 % varastomoduuli laski radikaalisti häviömoduulin alapuolelle. Näytteen mekaaniset ominaisuudet siis muuttuivat nesteen kaltaisiksi, kun polymeeriverkon ristsidokset rikkoutuivat. Palautettaessa muodonmuutos 1 %:iin varastomoduuli nousi takaisin häviömoduulin yläpuolelle eli ristsidokset palautuivat ja näytteen mekaaniset ominaisuudet olivat taas kiinteän aineen kaltaiset. Kuten kuvan 11 oikeanpuoleisesta kuvaajasta nähdään, toistuvan testauksen aikana näytteen toipuminen oli palautuvaa, koska moduulit saivat aina samat arvot kuin edellisellä kerralla muodonmuutoksen ollessa prosentoin. [23]

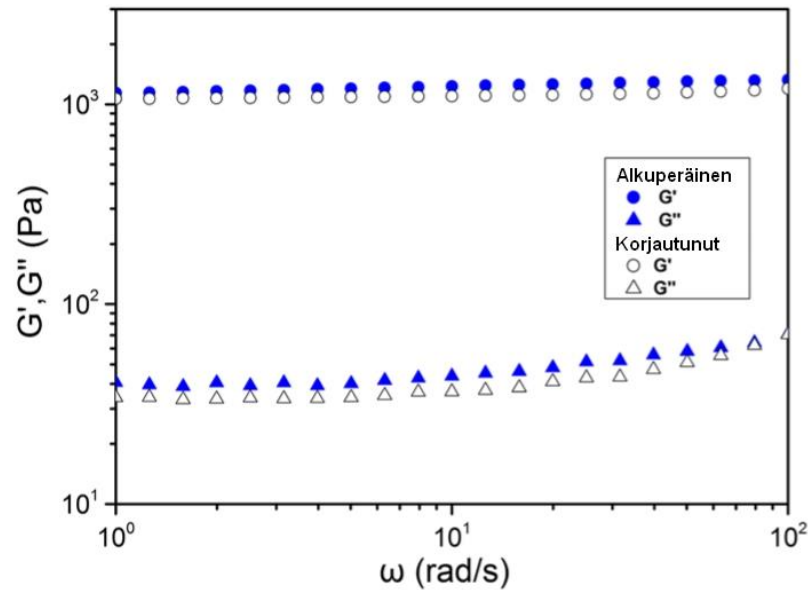
Myös Bercea et al. [19] käyttivät värähteleviä leikkauskokeita määrittäessään hydrogeelinsä itsekorjautuvuutta sekä mekaanisia ominaisuuksia huoneenlämmössä. Taajuuspyyhkäisytestillä karakterisoitiin hydrogeelien viskoelastisia parametrejä eli varasto- ja häviömoduuleita, jotka esitettiin värähtelyn taajuuden funktiona. Hydrogeelin itsekorjautumiskyky taas varmistettiin muodonmuutosvaihetestillä 25 asteen lämpötilassa. Aina 200 sekunnin välein muodonmuutos vaihdettiin 1 %:sta 200 %:iin ja takaisin värähtelyn taajuuden ollessa koko ajan 1 rad/s. Muodonmuutoksen ollessa suuri varastomoduulin arvo laski radikaalisti kertoen hydrogeelin polymeeriverkon hajonneen. Varastomoduulin arvo palautui nopeasti alkuperäiseen, kun muodonmuutos pienentyi eli sidosten palautuminen oli nopeaa. Sama testi suoritettiin myös itsekorjautuneelle hydrogeelille. Kuvassa 12 on esitetty testien tuloksena saatu kuvaaja, jossa on varasto ja häviömoduuleiden lisäksi häviökerroin  $\tan(\delta)$  eli moduuleiden suhde  $G''/G'$  ajan funktiona. Itsekorjautunut hydrogeeli antoi vastaavanlaisia tuloksia kuin alkuperäinen hydrogeeli, joten hydrogeelin itsekorjautuvuuden todettiin olevan hyvä. [19]



**Kuva 12.** Bercean et al. [19] suorittaman muodonmuutosvaihetestin kuvaaja. Ryhmän polyvinyylialkoholista (PVA) ja täysin hapettuneesta pullulaanista valmistetun hydrogeelin itsekorjautuminen perustuu polymeeriverkon vetysidoksiin. Hapettuneen pullulaanin osuus hydrogeelissä, jolle testi toteutettiin, oli 7,5 %. Perustuu lähteeseen [19].

Maity et al. [16] suorittivat hydrogeelilleen reologisen muodonmuutosvaihetestin vaihtelevalla muodonmuutoksella huoneenlämmössä karakterisoidakseen hydrogeelinsä itsekorjautuvuutta. Taajuus oli koko testauksen ajan vakio 0,1 rad/s, kun taas muodonmuutos vaihteli 0,1 %:sta 100 %:iin. Muodonmuutoksen ollessa suuri varastomoduulin arvo laski alle häviömoduulin, mikä kertoo geelin polymeeriverkon hajonneen. Kun muodonmuutos palautui taas pienimpään arvoonsa, varastomoduulin arvo palautui nopeasti entiselleen implikoiden hajonneen polymeeriverkon korjautuvan nopeasti. [16]

Monet muutkin tutkimusryhmät ovat käyttäneet muodonmuutosvaihetestiä hydrogeelinsä itsekorjautuvuuden karakterisointiin ja todentaneet sen avulla palautuvien sidosten olemassaolon [12,14,15,30]. Liu et al. [11] tekivät muodonmuutosvaihetestin lisäksi taajuuspyyhkäisykokeen sekä alkuperäiselle että itsekorjautuneelle hydrogeelille. Koetta varten hydrogeeli pilkottiin kahdeksaan osaan ja sen annettiin korjautua tunnin ajan kehon lämmössä. Alkuperäisen ja korjautuneen hydrogeelien varasto- ja häviömoduulien arvot mitattiin 37 asteen lämpötilassa kulmataajuuden funktiona ja testien kuvaajat on esitetty kuvassa 13 logaritmisella asteikolla. Korjautuneen hydrogeelin moduulien arvot olivat lähes identtiset korjautumattoman hydrogeelin kanssa, mikä kertoo itsekorjautumisen olleen erinomaista. [11]



**Kuva 13.** Liun et al. [11] suorittamien taajuuspyyhkäisytestien kuvaaja ryhmän polysakkaridihydrogeelille. Selluloosa-asetoasetaatista, hydroksiopropylikitosaanista ja aminomodifioiduista selluloosan nanokiteistä valmistetun hydrogeelin itsekorjautuminen perustuu rakenteen enamiinisidosten palautuvuuteen. Perustuu lähteeseen [11].

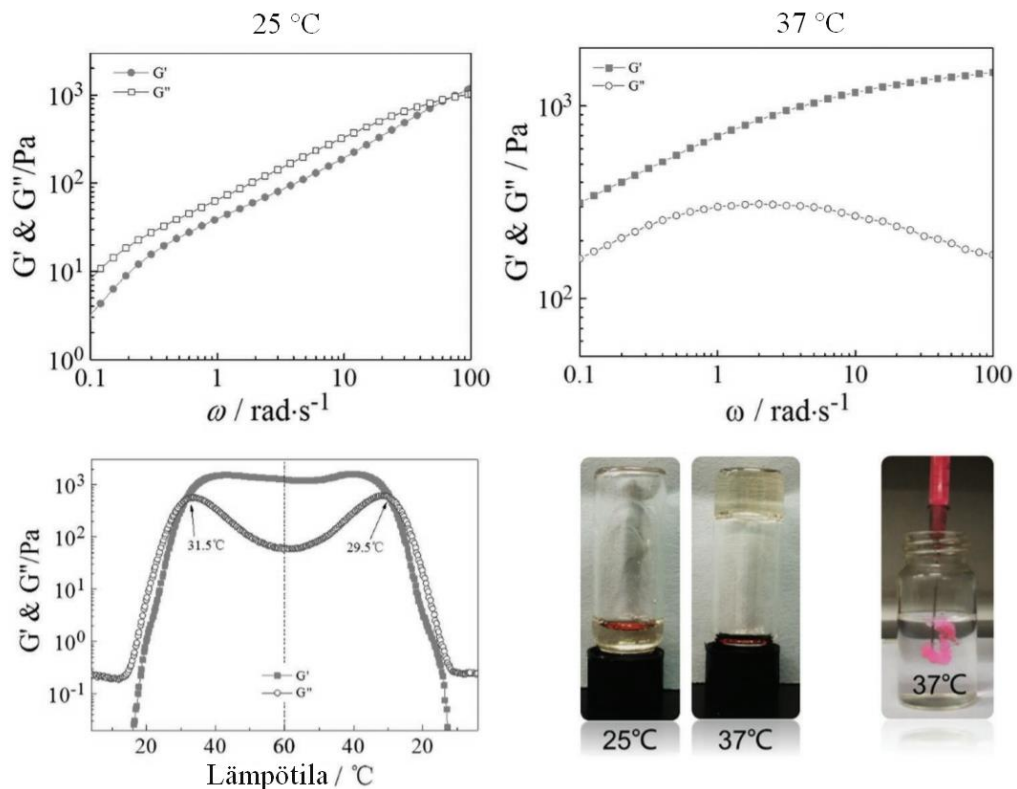
Karakterisoidessaan itsekorjautuvuutta Qu et al. [24] sen sijaan toteuttivat muodonmuutosvaihetestin lisäksi reologisen aikapyyhkäisytestin itsekorjautuneelle hydrogeelilleen. Kehon lämmössä tehdyssä testissä käytettiin 1 %:n muodonmuutosta ja taajuus oli myös vakio 10 rad/s. Aikapyyhkäisytesti tehtiin sekä alkuperäiselle että itsekorjautuneelle hydrogeelille ja tuloksena saatiin näytteen varasto- ja häviömoduulit ajan funktiona. Alkuperäisen ja korjautuneen näytteen kuvaajia vertailemalla todettiin, että hydrogeelin itsekorjautuvuus oli hyvä. [24]

Reologista testausta käytetäänkin itsekorjautuvuuden karakterisoinnin toisen pääkriteerin täyttämiseen eikä korjautumistehokkuutta ole yleensä laskettu reologisen testauksen antamilla tuloksilla. Kuitenkin esimerkiksi Bercea et al. [19] suorittivat muodonmuutosvaihetestin myös itsekorjautuneelle hydrogeelille ja vertailivat tuloksia todeten hydrogeelinsä itsekorjautuvuuden olevan tehokasta. Yleisesti hydrogeelien viskoelastisuuteen liittyviä ominaisuuksia kuten leikkausohenevuutta, lämpötilariippuvuutta ja geelitymistä sekä hydrogeelin koostumuksen vaikutuksia näihin ominaisuuksiin tutkitaan paljon reologisilla mittauksilla. Testit suoritetaan tavallisesti alkuperäisille korjautumattomille hydrogeeleille. [9-13,15-17,22,23]

Näillä alkuperäisille korjautumattomille hydrogeeleille tehtävillä reologisilla testeillä, jotka karakterisoivat hydrogeelin leikkausohenevuutta tai geelitymistä, pystytään selvittämään, onko hydrogeeli injektoitavaa tai 3D-tulostukseen soveltuvaa. [26] Esimerkiksi Yu et al. [23] tekivät hydrogeelilleen itsekorjautumisen karakterisoinnin lisäksi reologisen

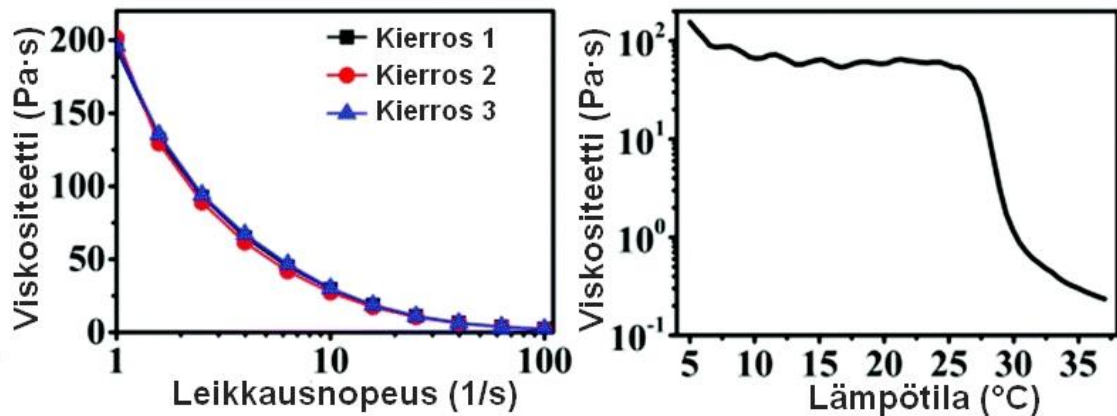
taajuuspyyhkäisytestin huoneenlämmössä sekä kehon lämpötilassa käyttäen reometriä. Huoneenlämmössä häviömoduuli oli suurempi kuin varastomoduuli, mikä kertoi hydrogeelin olevan nesteen kaltaista. Kehon lämmössä varastomoduuli sen sijaan oli suurempi kuin häviömoduuli, mikä kertoo materiaalin olevan geelimäistä. [23]

Lisäksi Yu et al. [23] karakterisoivat hydrogeelin varasto- ja häviömoduulien lämpötilariippuvuuden mittaamalla moduulien arvot, kun hydrogeeli ensin lämmitettiin huoneenlämmöstä 60 asteeseen ja sitten jäähdytettiin takaisin huoneenlämpöön. Alemmissa lämpötiloissa häviömoduuli oli suurempi kuin varastomoduuli eli hydrogeeli oli nesteen kaltaista, ja korkeissa lämpötiloissa tilanne oli toisinpäin hydrogeelin geeliytyessä. Taajuuspyyhkäisytestin ja hydrogeelin varasto- ja häviömoduulien lämpötilariippuvuuden selvittävän testin tulokset yhdessä indikoivat hydrogeelin olevan injektoitavaa. Injektointi varmistettiin injektoimalla hydrogeelinäyte kehon lämpöiseen PBS-liuokseen, jolloin hydrogeeli muuttui heti kiinteän aineen kaltaiseksi. Lämpötilan muutos toimi siinä tässä tutkimuksessa virikkeenä hydrogeelin geeliytymiselle. [23] Reologisten testien kuvaajat sekä injektointi on esitetty kuvassa 14. Lisäksi kuvassa 14 havainnollistetaan hydrogeelin olevan nestemäistä 25 asteessa ja vastaavasti kiinteän aineen kaltaista 37 asteessa.



**Kuva 14.** Yu et al. [23] tekemien taajuuspyyhkäisytestien kuvaajat, varasto- ja häviömoduulien lämpötilariippuvuus sekä hydrogeelin injektoitavuuden varmistaminen. Pitkäketjuisesta PEP-PPO-PEO -monilohkokopolymeeristä valmistetun hydrogeelin itsekorjautuvuus perustuu polymeeriverkon asyylihydratsonisidoksiin. Perustuu lähteesseen [23].

Injektoitavuuden testauksessa suoritetaan siis ensin reologiset testit, joilla varmistetaan hydrogeelin mekaanisten ominaisuuksien mahdollistavan injektoinnin. Tällaisia ominaisuuksia ovat leikkausohenevuus ja geelytyminen esimerkiksi ulkoisen virikkeen aktivoimana [6]. Muun muassa Wang et al. [14] toteuttivat reologiset testaukset arvioidakseen, onko heidän hydrogeelinsä soveltuva biomusteeksi 3D-tulostukseen. Biomusteeksi muokattu hydrogeeli oli nestemäisessä muodossa, kun sen viskositeettiä mitattiin leikkausnopeuden funktiona 25 asteen lämpötilassa. Lisäksi biomusteen viskositeetin riippuvuus lämpötilasta määritettiin. [14] Tuloksena saadut kuvaajat on esitetty kuvassa 15.



**Kuva 15.** Wangin et al. [14] HGGelMA-hydrogeelin viskositeetti leikkausnopeuden funktiona sekä lämpötilan vaikutus viskositeettiin. Perustuu lähteeseen [14].

Kuten kuvasta 15 nähdään, Wangin et al. [14] hydrogeeli soveltuu 3D-tulostukseen sekä injektointiin, koska viskositeetti-leikkausnopeuskuvaaja kertoo sen olevan leikkausohenevaa. Biomusteeksi muutetun hydrogeelin viskositeetti vähenee leikkausnopeuden kasvaessa sekä vastaavasti lämpötilan noustessa yli 25 asteen, mikä on havaittavissa kuvassa 15. Suoritettuaan biomusteeksi muutetun hydrogeelin viskositeetin testaukset Wangin et al. [14] kokeilivat biomusteen käyttöä 3D-tulostuksessa. Onkin tavalista, että injektoinnin mahdollistavien mekaanisten ominaisuuksien karakterisoinnin jälkeen injektointi tai 3D-tulostettavuus varmistetaan erikseen kokeilemalla hydrogeelin toimivuutta näissä sovelluksissa käytännössä [12,15,23,25].

## 4. ITSEKORJAUTUVUUDEN KARAKTERISOINNIN STANDARDISOINTI

Hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisointi ei ole vielä täysin johdonmukaista. Karakterisoinnissa on yleisesti käytössä tiettyjä tekniikoita kuten geelilohkofuusiokoe, reologiset menetelmät sekä eri mikroskooppiset ja spektroskooppiset menetelmät. Karakterisoinnissa vastataan tavallisesti osaan Gyarmatin et al. [2] ehdottamista itsekorjautumisen karakterisoinnin pääkriteereistä mutta hyvin harvoin kaikkiin niihin. Useimmiten esimerkiksi korjautumistehokkuus jää kokonaan ilmoittamatta ja itsekorjautumisen dynamiikkaa tai aikariippuvuutta ei määritetä.

Gyarmatin et al. [2] sekä muiden [4,7] itsekorjautuviin hydrogeeleihin perehtyneiden tutkijoiden mukaan seuraava tarpeellinen askel itsekorjautuvien hydrogeelien kehityksessä on standardisoida karakterisoinnissa käytettävät menetelmät. Standardisoitavien testausmenetelmien tulee kattaa sekä morfologian ja topologian että mekaanisten ominaisuuksien karakterisointi. Itsekorjautumisen karakterisointi ja tarkastelu atomi- ja molekyyllitasolla voi lisäksi auttaa ymmärtämään korjautumismekanismia ja prosessia käytännön tasolla. Mekaanisella karakterisoinnilla ja testauksella taas saadaan selvitettyä hydrogeelissä mahdollisesti tapahtuvia pitkän aikavälin muutoksia. Itsekorjautumisen karakterisoinnin standardisointi edistäisi siis muitakin itsekorjautuvien hydrogeelien kehittämisen osa-alueita. [4]

Suurin ongelma itsekorjautuvuuden karakterisoinnin epäjohdonmukaisuudessa on se, etteivät eri hydrogeelien testausten tulokset ole vertailtavissa. Kuten todettu, karakterisoinnissa käytetään useimmiten samoja menetelmiä, mutta ongelmana on kuitenkin se, että jokaisessa tekniikassa on useampia mitattavia parametrejä, joilla voidaan määrittää itsekorjautuvuutta. Esimerkiksi vetokokeessa voidaan itsekorjautumistehokkuutta arvioida sekä murtojännityksen että murtovenymän avulla. Itsekorjautumisen karakterisoinnin esittäminen jää myös usein puutteelliseksi, koska useissa tutkimuksissa vain osoitetaan hydrogeelin itsekorjautuvuus esimerkiksi geelilohkofuusiokokeella, mutta tutkimuksen dataa ei esitetä. Nämä kaksi seikkaa tekevät eri tutkimusten ja hydrogeelien välisen vertailun vaikeaksi. [4] Lisäksi, kuten luvun 3 esimerkeistä voidaan huomata, eri tutkimuksissa käytetään eri suuruisia vakioita, vaikka karakterisointimenetelmä olisikin sama. Koska vakioiden arvot eroavat toisistaan, on eri tutkimusten tulosten vertaileminen hyvin hankalaa. Tällaisia vakioita ovat esimerkiksi vetokokeessa vetonopeus, muodonmuutosvaihetestissä muodonmuutosten suuruudet sekä testausolosuhteet, kuten lämpötila, jossa testi suoritetaan.

Gyarmatin et al. [2] ehdottamiin neljään pääkriteeriin nojaten saadaan karakterisoitua hydrogeelin itsekorjautuminen sekä korjautumisprosessin että lopputuloksen osalta. Pääkriteerit voisivat toimia myös sellaisenaan itsekorjautuvuuden karakterisointiprosessin vaiheina. Näin ollen hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisointi suoritettaisiin nelivaiheisena prosessina. Ensimmäinen pääkriteeri eli palautuvien sidosten ole-massaolon täsmällinen vahvistus ja karakterisointi hydrogeelin polymeeriverkosta on olennainen itsekorjautuvuuden varmistamiseksi. Itsekorjautuvuuden karakterisointiprosessin ensimmäinen vaihe voisi siis olla palautuvien sidosten karakterisointi ja todentaminen hydrogeelin rakenteesta. Kuten aiemmin luvussa 3 on mainittu, useissa tutkimuk-sissa on käytetty niin mikroskooppisia kuin spektroskooppisia menetelmiä, joilla on to-dennettu palautuvat sidokset valmistetusta hydrogeelistä.

Ensimmäisen karakterisointivaiheen standardisointi menetelmien osalta ei välttämättä ole tarpeellista. Palautuvien sidosten karakterisointiin voidaan käyttää erilaisia mikrosko-pian ja spektroskopian menetelmiä tai mieluummin molempia tulosten varmistamiseksi. Käytettävien menetelmien valintaan vaikuttavat muun muassa laboratorion laitteisto sekä eri menetelmien hyvät ja huonot puolet. Tulosten ja niihin liittyvän näytön esittämi-nen sen sijaan ovat tärkeitä seikkoja itsekorjautuvuuden karakterisoinnin johdonmukai-suuden parantamiseksi. Näin karakterisoinnin yksi vertailtavuutta rajoittava tekijä poista-taan tämän karakterisointivaiheen osalta ja vertailtavuus paranee.

Toinen Gyarmatin et al. [2] esittämistä pääkriteereistä on ensimmäisessä vaiheessa to-dennettujen sidosten palautuvuuden varmistaminen, joten karakterisointiprosessin toi-nessa vaiheessa suoritetaan testaus, jolla varmistetaan sidosten palautuvuus. Gyarmati et al. [2] suosittelevat tähän vaiheeseen jännitysriippuvaista värähtelevää leikkauskoetta eli reologista menetelmää, jota muun muassa Bercea et al. [19] käyttivät omassa tutki-muksessaan. Reologisista testeistä muodonmuutosvaihetestiä käytetään paljon hydro-geelien itsekorjautuvuuden karakterisoinnissa. Ongelmana kuitenkin on, että testi teh-dään erilaisissa olosuhteissa, erimuotoisille näytteille ja erilaisilla säädöksillä. Esimer-kiksi aiemmin mainituista Maity et al. [16] käyttivät muodonmuutosvaihetestissään 0,1 rad/s taajuutta sekä 0,1 %:n ja 100 %:n muodonmuutoksia. Vastaavasti Yu et al. [23] käyttivät muodonmuutosvaihetestissään 1 %:n ja 500 %:n muodonmuutoksia. Eri tutki-muksissa käytetyissä reologisissa testeissä mitattavat parametrit ovat yleensä varasto- ja häviömoduuli, joten tulokset ovat siltä osin vertailtavissa.

Itsekorjautuvuuden karakterisointiprosessin toinen vaihe voitaisiin siis suorittaa muodon-muutosvaihetestillä, jossa mitataan varasto- ja häviömoduuleita ajan funktiona muodon-muutoksen vaihdelta pienestä arvosta suureen arvoon. Tulosten vertailtavuuden var-



mistamiseksi vaadittaisiin kuitenkin yhtenäistä linjaa testissä käytettävissä vakioissa kuten taajuudessa ja testitilanteen lämpötilassa. Joissakin tutkimuksissa [23-25] on ennen muodonmuutosvaihetestiä suoritettu amplitudipyyhkäisytesti, jossa hydrogeelin varastoja häviömoduulit saadaan muodonmuutoksen funktiona taajuuden ollessa vakio. Amplitudipyyhkäisytesti kertoo, kuinka suuren muodonmuutoksen hydrogeeli kestää ennen rakenteen rikkoutumista. Tästä syystä sen tulosten ilmoittaminen ennen muodonmuutosvaihetestiä perustelisi muodonmuutosvaihetestissä käytettävien muodonmuutosten suuruuksia. Näiden molempien testien suorittaminen voisikin olla osa itsekorjautuvuuden karakterisointiprosessin toista vaihetta. Muodonmuutosvaihetestillä varsinaisesti todennettaisiin ensimmäisessä vaiheessa löydettyjen sidosten palautuvuus.

Gyarmatin et al. [2] ehdottamista pääkriteereistä kolmas eli itsekorjautumisen testaaminen makroskooppisesti olisi itsekorjautuvuuden karakterisointiprosessin kolmas vaihe. Kolmanteen vaiheeseen siirryttäisiin vain, jos ensimmäisessä vaiheessa karakterisoidut sidokset osoittautuvat toisessa vaiheessa palautuviksi. Gyarmati et al. [2] suosittelevat tähän vaiheeseen geelilohkofuusiokoea, joka onkin suoritettu erittäin monissa tutkimuksissa, kuten luvussa 3 kuvattiin. Geelilohkofuusiokoe on toteutettu hyvin samankaltaisesti useimmissa tutkimuksissa, vaikka joitakin eroavaisuuksia suoritustavoissa on ollut. Geelilohkofuusiokokeeseen liittyvää tutkimusdataa ei kuitenkaan yleensä paljasteta. Esimerkiksi itsekorjautumisen vaatimaa aikaa ei tutkimuksissa selvitetä sen enempää kuin, että ilmoitetaan, kauanko korjautumisen on annettu tapahtua. Usein jää epäselväksi se, riittäisikö lyhyempi aika yhtä hyvään korjautumiseen, tai saavutettaisiinko pidemmällä korjautumisajalla kestävämpi korjautuminen. Myöskään kokeissa käytettyjen näytteiden kokoja ei yleensä kerrota, eikä näytteen koon vaikutusta korjautumisajan pituuteen käsitellä. Lisäksi hydrogeelin pintojen erilläänoloajan on todettu vaikuttavan hydrogeelin korjautumiskykyyn [2]. Tästä huolimatta geelilohkofuusiokokeen yhteydessä harvoin ilmoitetaan, kauanko hydrogeelipalat ovat olleet erillään ennen korjautumista. Esimerkiksi Wang et al. [14] mainitsivat vain, että näytteen halkaisun jälkeen palojen annettiin heti fuusioitua yhteen. Geelilohkofuusiokoe olisi siis syytä suorittaa niin, että myös näitä korjautumiseen vaikuttavia seikkoja käsiteltäisiin.

Neljänneksi pääkriteeriksi Gyarmati et al. [2] määrittivät itsekorjautumisen korjautumistehokkuuden ilmoittamisen sekä itsekorjautumisprosessin aikariippuvuuden ja dynamiikan selvittämisen. Itsekorjautuvuuden karakterisointiprosessin neljännessä ja viimeisessä vaiheessa laskettaisiinkin itsekorjautumisen korjautumistehokkuus. Laskeminen on jäänyt tutkimuksissa aika vähäiseksi, vaikka numeroiden vertailu olisi paljon nopeampaa ja helpompaa kuin esimerkiksi kuvaajien. Muun muassa Qu et al. [24] ovat todenneet

vain vertailemalla alkuperäiselle ja itsekorjautuneelle hydrogeelille suoritetun aikapyyhkäisytestin tuloksena esitettyjen kuvaajien perusteella korjautumisen olleen hyvää. Laskemalla korjautumistehokkuus saataisiin selville, kuinka hyvää korjautuminen tarkalleen ottaen on.

Korjautumistehokkuuden laskemiseen tarvitaan jonkin mekaanisen ominaisuuden arvot sekä alkuperäiseltä että korjautuneelta hydrogeeliltä. Karakterisointiprosessin neljäs vaihe vaatii mekaanisten ominaisuuksien karakterisointia joko mekaanisella tai reologisella testauksella. Tutkimuksissa, joissa korjautumistehokkuus on laskettu, on käytetty mekaanista testausta, kuten vetokoetta [27] tai puristuskoetta [25]. Koska hydrogeelien mekaaniset ominaisuudet rajoittavat vetokokeen suorittamista [4], puristuskoe sopisi paremmin tehtäväksi korjautumistehokkuuden laskentaa varten. Johdonmukaisuuden parantamiseksi mitattavan parametrin olisi hyvä olla sama kaikissa tutkimuksissa. Lisäksi puristukseen liittyviin vakioihin, kuten puristusnopeuteen ja -voimaan, sekä koetilanteen lämpötilaan ja näytteen muotoon olisi hyvä saada yhtenäinen linjaus. Näin optimoitaisiin eri tutkimusten korjautumistehokkuuksien vertailtavuus. Wei et al. [25] määrittivät puristuskokeella myös hydrogeelinsä korjautumisen aikariippuvuutta ja lämpötilariippuvuutta, joten kokeella voidaan päästä käsiksi myös Gyarmatin et al. [2] toivomaan itsekorjautumisprosessin aikariippuvuuden ja dynamiikan selvittämiseen.

Korjautumistehokkuus voidaan laskea samalle hydrogeelille myös usealla eri korjautumiseen vaikuttavalla muuttujalla. Esimerkiksi alkuperäisen ja korjautuneen hydrogeelin ristisidoksien tiheyden tai vapaiden monomeerien määrän perusteella saadaan laskettua hydrogeelin korjautumistehokkuus. [4] Mekaanisia ominaisuuksia voidaan karakterisoida sekä vetokokeella että puristuskokeella, ja laskea molempien tulosten perusteella korjautumistehokkuus samalle hydrogeelille. Kun korjautumistehokkuus lasketaan useamman eri ominaisuuden avulla samalle hydrogeelille, tulee ottaa huomioon, etteivät eri tavoin saadut tehokkuudet aina vastaa toisiaan [4]. Siispä on tärkeää, että korjautumistehokkuuden laskennassa käytetyt arvot on saatu karakterisoimalla samalla menetelmällä käyttäen samoja parametrejä, jotta korjautumistehokkuuksia pystytään vertailemaan luotettavasti keskenään. Vertailtavuuden kannalta olisi myös hyödyllistä, että korjautumistehokkuus laskettaisiin samalle hydrogeelille useammalla eri ominaisuudella. Näin ollen muiden tutkimusten hydrogeeleille on todennäköisemmin suoritettu korjautumistehokkuuden laskenta samaan ominaisuuteen perustuen ja vertailun pystyy tekemään kyseisen korjautumistehokkuuden avulla.

Itsekorjautumisen karakterisointi voitaisiin siis toteuttaa nelivaiheisena prosessina, joka täyttää kaikki Gyarmatin et al. [2] ehdottamista pääkriteereistä. Ensimmäisessä vaiheessa karakterisoitaisiin hydrogeelien polymeeriverkon ristisidoksia spektroskooppisilla

ja mikroskooppisilla menetelmillä, jotka voidaan valita esimerkiksi laboratorion varustuksen sekä menetelmän suoritettavuuden mukaan. Useampien eri menetelmien käyttö parantaa tulosten luotettavuutta. Toisessa vaiheessa taas suoritetaan reologisia testauksia ensimmäisessä vaiheessa löydettyjen sidosten palautuvuuden varmistamiseksi. Muodonmuutosvaihetestiä on käytetty jo paljon eri tutkimuksissa, mutta tulosten vertailtavuuden parantamiseksi testausta tulee vielä standardisoida enemmän. Prosessin kolmannen vaiheeseen siirrytään vain, jos hydrogeelissä on palautuvia sidoksia eli itsekorjautuvuus on mahdollista. Kolmas vaihe sisältää geelilohkofuusiokokeen ja sen onnistumisen todentamisen testaamalla näytteen painovoima-, venytys- tai taivutuskestävyyttä. Neljännessä vaiheessa suoritetaan mekaanisten ominaisuuksien testaaminen sekä alkuperäiselle että itsekorjautuneelle hydrogeelille ja lasketaan hydrogeelin korjautumistehokkuus. Lisäksi mekaanisella testauksella määritetään korjautumisen aikariippuvuus ja dynamiikka.

Prosessin eri vaiheissa käytettävät menetelmät vaativat kuitenkin vielä tarkennusta. Samojen menetelmien tulee olla käytössä kaikissa tutkimuksissa vertailtavuuden parantamiseksi, joten yhteisiä linjauksia käytettävistä menetelmistä vaaditaan vielä lisää. Lisäksi valitut tekniikat täytyy vielä standardisoida muuttujien ja vakioiden osalta, jotta tulokset ovat aidosti vertailtavissa. Tämä mahdollistaisi itsekorjautuvien hydrogeelien paremman ymmärtämisen ja kehityksen jatkumisen.

## 5. YHTEENVETO

Hydrogeelien itsekorjautuminen on vielä suhteellisen uusi ominaisuus, joka perustuu hydrogeelin rakenteen palautuviin sidoksiin. Itsekorjautuminen mahdollistaa hydrogeelien käytön sovelluksissa, joihin ne eivät aiemmin ole sopineet heikkojen mekaanisten ominaisuuksiensa vuoksi. Tämän takia itsekorjautuvien hydrogeelien karakterisointi on hyvin tärkeää, jotta ne opitaan tuntemaan ja niitä voidaan hyödyntää näissä uusissa sovelluksissa. Hydrogeelien itsekorjautuvuuden karakterisoinnissa on vielä todella paljon vaihtelua eri tutkimusten välillä ja karakterisointi tulisikin saada yhteneväisemmäksi. Suoritustavan tulisi siis olla samanlainen eri tutkimuksissa. Näin eri hydrogeelien välinen vertailu olisi helpompaa, kun kaikkien hydrogeelien itsekorjautuvuus arvioitaisiin samoilla menetelmillä. Samanlailla suoritettujen karakterisointien tuloksia pystyttäisiin suoraan vertailemaan keskenään. Lisäksi yhtenevillä menetelmillä voitaisiin saada lisää tietoa itsekorjautumisen osa-alueista, joita ei vielä tunneta kovin hyvin. Tämän mahdollistaminen vaatii yhtenäistä linjaa itsekorjautuvuuden karakterisointiin, mikä saavutetaan standardisoinnilla karakterisointi ja siinä käytettävät menetelmät.

Eri tutkimuksissa on käytetty vaihtelevasti erilaisia menetelmiä itsekorjautumisen karakterisoinnissa. Spektroskooppisilla ja mikroskooppisilla menetelmillä on pääasiassa karakterisoitu hydrogeelin rakennetta ja etsitty siitä palautuvia korjautumisen mahdollistavia sidoksia. Geelilohkokuusiokoetta on yleisesti käytetty itsekorjautumisen makroskooppiseen tarkasteluun, mutta se on suoritettu eri tutkimuksissa eri tavoin. Itsekorjautumisen sijaan on pääasiassa karakterisoitu reologisin menetelmin varmistuen hydrogeelin rakenteen sidosten palautuminen. Kuitenkin testausolosuhteet ja -vakiot vaihtelevat eri tutkimusten välillä. Joissakin tutkimuksissa on laskettu hydrogeelin mekaanisiin ominaisuuksiin perustuen itsekorjautumisen korjautumistehokkuus sekä selvitetty sen riippuvuutta erilaisista tekijöistä.

Itsekorjautuvuuden karakterisointi voitaisiin suorittaa prosessina, jossa on neljä eri vaihetta. Vaiheet kattaisivat itsekorjautumisen karakterisoinnin aina mikrotasolta makrotasolle asti sekä korjautumisprosessin että lopputuloksen osalta. Karakterisointiprosessin ensimmäisessä vaiheessa selvitetäisiin erilaisilla spektroskopian ja mikroskopian menetelmillä, onko hydrogeelin rakenteessa itsekorjautumisen mahdollistavia palautuvia sidoksia. Toisessa vaiheessa varmistettaisiin reologisilla menetelmillä ensimmäisessä vaiheessa löytyneiden sidosten palautuvuus. Standardisoidut amplitudipyyhkäisytesti sekä muodonmuutosvaihetesti todentaisivat sidosten palautuvuuden.

Karakterisointiprosessin kolmannessa vaiheessa suoritettaisiin geelilohkokuusiokoe, jolla varmistetaan makroskooppisesti hydrogeelin itsekorjautuminen. Neljännessä vaiheessa taas tehtäisiin puristuskoe sekä alkuperäiselle että itsekorjautuneelle hydrogeelille ja testin tuloksilla laskettaisiin hydrogeelin korjautumistehokkuus. Lisäksi neljännessä vaiheessa vielä määritettäisiin korjautumisen aikariippuvuus ja dynamiikka mekaanisten ominaisuuksien karakterisoinnilla. Itsekorjautumisen karakterisointiprosessin eri vaiheissa käytettävien menetelmien standardisoinnista tulee vielä jatkaa menetelmien ja niissä käytettävien vakioiden osalta, jotta prosessia noudattaen suoritettavat karakterisoinnit ja tulokset olisivat vertailukelpoisia.

## LÄHTEET

- [1] S. Talebian, M. Mehrali, N. Taebnia, C.P. Pennisi, F.B. Kadumudi, J. Foroughi, et al., Self-Healing Hydrogels: The Next Paradigm Shift in Tissue Engineering?, *Advanced Science*, Vol.6, No.16, 2019.
- [2] B. Gyarmati, B.A. Szilágyi, A. Szilágyi, Reversible interactions in self-healing and shape memory hydrogels, *European Polymer Journal*, Vol.93, 2017, pp. 642–669.
- [3] N.A. Peppas, J.Z. Hilt, A. Khademhosseini, R. Langer, Hydrogels in Biology and Medicine: From Molecular Principles to Bionanotechnology, *Advanced Materials*, Vol.18, No.11, 2006, pp.1345–1360.
- [4] Q. Li, C. Liu, J. Wen, Y. Wu, Y. Shan, J. Liao, The design, mechanism and biomedical application of self-healing hydrogels, *Chinese Chemical Letters*, Vol.28, No.9, 2017, pp.1857–1874.
- [5] Y. Liu, S. Hsu, Synthesis and Biomedical Applications of Self-healing Hydrogels, *Frontiers In Chemistry*, Vol.6, 2018.
- [6] Y. Tu, N. Chen, C. Li, H. Liu, R. Zhu, S. Chen, et al., Advances in injectable self-healing biomedical hydrogels, *Acta Biomaterialia*, Vol.90, 2019, pp.1–20.
- [7] D.L. Taylor, M. In Het Panhuis, Self-Healing Hydrogels, *Advanced Materials*, Vol.28, No.41, 2016, pp.9060–9093.
- [8] D.M. Kirchmayer, R. Gorkin Iii, M. In Het Panhuis, An overview of the suitability of hydrogel-forming polymers for extrusion-based 3D-printing, *Journal of Materials Chemistry B*, Vol.3, No.20, 2015, pp.4105–4117.
- [9] R. Pugliese, F. Gelain, Characterization of elastic, thermo-responsive, self-healable supramolecular hydrogel made of self-assembly peptides and guar gum, *Materials & Design*, Vol.186, 2020.
- [10] S. Lü, C.M. Gao, X. Xu, X. Bai, H. Duan, N.N. Gao, et al., Injectable and Self-Healing Carbohydrate-Based Hydrogel for Cell Encapsulation, *ACS Applied Materials & Interfaces*, Vol.7, No.23, 2015, pp.13029–13037.
- [11] H. Liu, C. Li, B. Wang, X. Sui, L. Wang, X. Yan, et al., Self-healing and injectable polysaccharide hydrogels with tunable mechanical properties, *Cellulose*, Vol.25, No.1, 2018, pp.559–571.
- [12] F. Tang, H. Feng, Y. Du, Y. Xiao, H. Dan, H. Zhao, et al., Developing a Self-Healing Supramolecular Nucleoside Hydrogel Based on Guanosine and Isoguanosine, *Chemistry – An Asian Journal*, Vol.13, No.15, 2018, pp.1962–1971.
- [13] X. Ye, X. Li, Y. Shen, G. Chang, J. Yang, Z. Gu, Self-healing pH-sensitive cytosine- and guanosine-modified hyaluronic acid hydrogels via hydrogen bonding, *Polymer*, Vol.108, 2017, pp.348–360.
- [14] Z. Wang, G. An, Y. Zhu, X. Liu, Y. Chen, H. Wu, et al., 3D-printable self-healing and mechanically reinforced hydrogels with hostguest non-covalent interactions

integrated into covalently linked networks, *Materials Horizons*, Vol.6, No.4, 2019, pp.733–742.

- [15] Z. Deng, T. Hu, Q. Lei, J. He, P.X. Ma, B. Guo, Stimuli-Responsive Conductive Nanocomposite Hydrogels with High Stretchability, Self-Healing, Adhesiveness, and 3D Printability for Human Motion Sensing, *ACS Applied Materials & Interfaces*, Vol.11, No.7, 2019.
- [16] S. Maity, A. Chatterjee, N. Chakraborty, J. Ganguly, A dynamic sugar based bio-inspired, self-healing hydrogel exhibiting ESIPT, *New Journal of Chemistry*, Vol.42, No.8, 2018, pp.5946–5954.
- [17] S. Roy, A. Baral, A. Banerjee, An Amino-Acid-Based Self-Healing Hydrogel: Modulation of the Self-Healing Properties by Incorporating Carbon-Based Nanomaterials, *Chemistry - A European Journal*, Vol.19, No.44, 2013.
- [18] S. Verma, S. Amritphale, S. Das, Preparation and characterization of novel, non-toxic, radiation shielding, self-healing smart gel, *Cellulose*, Vol.24, No.7, 2017, pp.2953–2965.
- [19] M. Bercea, G. Biliuta, M. Avadanei, R.I. Baron, M. Butnaru, S. Coseri, Self-healing hydrogels of oxidized pullulan and poly(vinyl alcohol), *Carbohydrate Polymers*, Vol.206, 2019, pp.210–219.
- [20] R.F. Egerton, An Introduction to Microscopy, In: R.F. Egerton (ed.), *Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM*, Springer International Publishing, Cham, 2016. pp.1–26.
- [21] S. Chatterjee, S.S. Gadad, T.K. Kundu, Atomic force microscopy, *Resonance*, Vol.15, No.7, 2010, pp.622–642.
- [22] E. Jalalvandi, A. Shavandi, Shear thinning/self-healing hydrogel based on natural polymers with secondary photocrosslinking for biomedical applications, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Vol.90, 2019, pp.191–201.
- [23] H. Yu, Y. Liu, H. Yang, K. Peng, X. Zhang, An Injectable Self-Healing Hydrogel Based on Chain-Extended PEO-PPO-PEO Multiblock Copolymer, *Macromolecular rapid communications*, Vol.37, No.21, 2016, pp.1723–1728.
- [24] J. Qu, X. Zhao, P.X. Ma, B. Guo, pH-responsive self-healing injectable hydrogel based on N-carboxyethyl chitosan for hepatocellular carcinoma therapy, *Acta Biomaterialia*, Vol.58, 2017, pp.168–180.
- [25] Z. Wei, J.H. Yang, Z.Q. Liu, F. Xu, J.X. Zhou, M. Zrínyi, et al., Novel Biocompatible Polysaccharide-Based Self-Healing Hydrogel, *Advanced Functional Materials*, Vol.25, No.9, 2015, pp.1352–1359.
- [26] A. Vedadghavami, F. Minoeei, M. Mohammadi, S. Khetani, A. Kolahchi, S. Mashayekhan, et al., Manufacturing of hydrogel biomaterials with controlled mechanical properties for tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, Vol.62, 2017, pp.42–63.

- [27] M. Yang, L. Wang, Y. Cheng, K. Ma, X. Wei, P. Jia, et al., Light- and pH-responsive self-healing hydrogel, *Journal of Materials Science*, Vol.54, No.13, 2019, pp.9983–9994.
- [28] M. Khan, J.T. Koivisto, T.I. Hukka, M. Hokka, M. Kellomäki, Composite Hydrogels Using Bioinspired Approach with in Situ Fast Gelation and Self-Healing Ability as Future Injectable Biomaterial, *ACS applied materials & interfaces*, Vol.10, No.14, 2018, pp.11950–11960.
- [29] H.M. Wyss, Rheology of Soft Materials, in: A. Fernandez-Nieves (ed.), A.M. Puertas (ed.), *Fluids, Colloids and Soft Materials : An Introduction to Soft Matter Physics*, Hoboken, John Wiley & Sons, Incorporated, 2016, Chapter 9, pp.317–345.
- [30] C. Loebel, C.B. Rodell, M.H. Chen, J.A. Burdick, Shear-thinning and self-healing hydrogels as injectable therapeutics and for 3D-printing. *Nature protocols*, Vol.12, No.8, 2017, pp.1521–1541.