Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Měření biomechanických vlastností kostí

(bakalářská práce)

Vedoucí práce: Mgr. Monika Kuchařová

Hradec Králové, 2009

Veronika Holmanová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Datum:

Veronika Holmanová

Tímto bych chtěla poděkovat Mgr. Monice Kuchařové a
Prof. RNDr. Ing. Stanislavu Ďoubalovi, CSc. za toleranci, odborné vedení a pomoc při měření i vypracování mé bakalářské práce.

Obsah

1 Úvod 4
2 Teoretická část 6
2.1 Základní mechanické vlastnosti 7
2.1.1 Pružnost (elasticita) 7
2.1.2 Tvárnost (plasticita) 9
2.1.3 Tvrdost 9
2.1.4 Houževnatost 9
2.1.5 Tažnost, křehkost, lámavost 9
2.2 Vlivy na mechanické vlastnosti kostní tkáně 10
2.2.1 Vliv vysušení 10
2.2.2 Vliv konzervace 10
2.2.3 Vliv struktury a orientace 11
2.2.4 Vliv topografických rozdílů a velikosti vzorku 11
2.2.5 Vliv rychlosti zatěžování 12
2.2.6 Vliv věku a pohlaví 12
2.2.7 Vliv zmenšení síly 12
2.3 Reologie 12
2.3.1 Reologické axiomy 13
2.3.2 Reologické modely 13
2.4 Měření Youngova modulu pružnosti při namáhání v ohybu 16
2.5 Měření dynamického modulu a viskozity při namáhání v torzi 17
3 Experimentální část 20
3.1 Materiály 21
3.2 Měřící aparatura 21
3.2.1 Měření v ohybu 21
3.2.2 Měření v torzi 22
3.3 Pracovní postup 23
4 Výsledky 25
4.1 Přechodové charakteristiky 26
4.2 Impulsní charakteristiky 28
4.3 Tabulky výsledků měření v ohybu 31
4.4 Tabulky výsledků měření v torzi 35
5 Diskuze 39
6 Závěr 42
7 Seznam použité literatury a zdrojů: 44

1 Úvod

Při studiích a analýzách biologických materiálů se nevyhneme problematice uchovávání a skladování jejich vzorků, na kterou narazíme ihned při jejich odběru. V klinické praxi je toto součástí preanalytického období laboratorního vyšetření a je uvedeno ve standardních operačních postupech pro jednotlivé metody.

Ovšem při experimentálních studiích mechanických vlastností biologických materiálů typu kost, chrupavka, cévy (které mimo jiné probíhají již několik let také na katedře biofyziky a fyzikální chemie Farmaceutické fakulty UK HK) se pozornost autorů při měření většinou soustředí na popis jejich mechanického chování, méně již na možné ovlivnění výsledků délkou, teplotou a způsobem uchovávání vzorků.

Proto je tato práce zaměřena na to, zda a do jaké míry dochází délkou skladování vzorků, konkrétně kostí, ve fyziologickém roztoku ke změnám jejich mechanických parametrů.

2 Teoretická část

Mechanické vlastnosti mnohých biologických materiálů odpovídají vlastnostem tzv. viskoelastických těles, které se pod vlivem deformujícího napětí chovají do jisté míry jako kapaliny (reagují tokem) a do jisté míry jako tělesa pružná (reagují částečně elasticky). Do kategorie viskoelastických těles lze zařadit např. kůži, cévní stěny, mnohé struktury vnitřních orgánů, a také námi měřené kosti .

Klasické metody hodnocení mechanických vlastností vycházejí u pevných těles z teorie pružnosti a pevnosti (biologické materiály jsou obvykle brány jako pevná pružná tělesa), u kapalin pak z hydrodynamiky. Tyto metody nevystihují mechanické vlastnosti viskoelastických těles v dostatečném rozsahu (důležitým rysem je, že zatěžování většiny struktur má dynamický, časově proměnný charakter), a proto při jejich popisu vycházíme z reologie, viz. kap.2.3. *(5)*

Specifičnost mechanických vlastností biologických materiálů vyplývá z jejich vnitřní struktury. Pro většinu z nich je typické, že jsou složeny ze struktur více méně pružných (chovajících se jako pevná pružná tělesa) a amorfní viskózní matric, která tyto elastické struktury obklopuje. Základním stavebním prvkem jsou vlákna elastinu a kolagenu. Elastin se vyznačuje značnou schopností pružných deformací (až 150%), kolagen naopak značnou tuhostí a pevností v tahu. Míra zastoupení jednotlivých vláken a jejich prostorové uspořádání výrazně určují výsledné mechanické vlastnosti, které jsou navíc ovlivněny množstvím amorfní mezibuněčné hmoty – především tekutiny a např. u kostí přítomností minerálních látek. Lze říci, že pružné struktury mají statickou deformační odezvu, kdežto celková dynamika odezvy je určena interakcí pružných struktur a viskózní amorfní matrix. Komplexnost stavby biologických materiálů pak vede k obecně nelineárnímu chování, jak v dynamickém, tak statickém zatěžovacím režimu.

2.1 Základní mechanické vlastnosti

2.1.1 Pružnost (elasticita)

Pružnost je schopnost látky vrátit se po odeznění namáhání do původního tvaru. Míra pružnosti látky se určuje rozsahem oblasti v diagramu závislosti mezi namáháním a deformací, ve které látka reaguje pouze pružnými deformacemi. Tato oblast pružnosti se zpravidla příliš neliší od oblasti linearity, ve které platí Hookeův zákon. Ten říká, že při pružné deformaci tahem, je normálové napětí přímo úměrné relativnímu prodloužení.

$$\sigma = \varepsilon / k = E.\ \varepsilon \qquad [1]$$

Zároveň platí $\sigma = F/S$ [2]

σ …normálové napětí

F …působící síla

S …plocha působení síly

ε…relativní prodloužení $\varepsilon=\Delta L/L$, kde L je původní délka vzorku a ΔL změna délky při působení síly

k…koeficient protažení

E…modul pružnosti v tahu (Youngův modul) $E=1/k$

Přímá úměrnost mezi deformací a napětím však platí jen pro malé deformace a při větších hodnotách se bude tato funkce měnit.

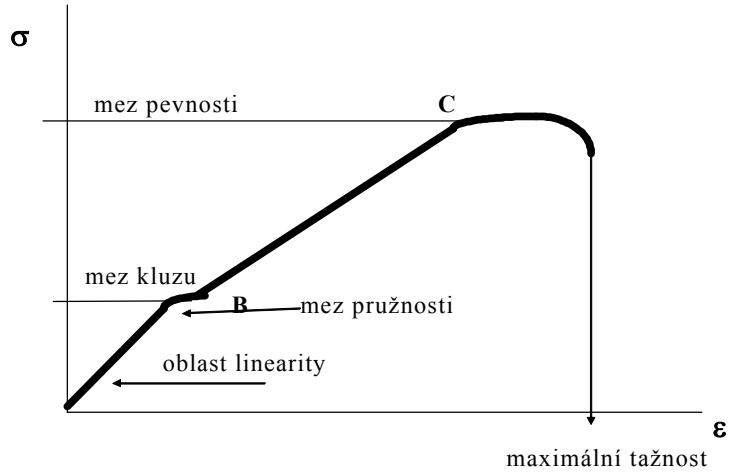
Tahový diagram tenké tyče je naznačen na *Obr. 1*. Bod, kde Hookeův zákon přestává platit nazýváme mez úměrnosti. Za ní roste napětí pomaleji a od bodu B (mez kluzu) pokračuje deformace prakticky při konstantním napětí, materiál jako by tekl. V bode C (mez pevnosti) začíná docházet k porušení tyče. Její příčný průřez se rychle zmenšuje, napětí klesá a tyč se nakonec přetrhne.Vedle těchto charakteristických bodů je důležitá ještě mez pružnosti ohraničující oblast, kdy je deformace ještě vratná.

Mez pružnosti nebo jí odpovídající relativní deformace se udává jako parametr míry pružnosti látky. Překročíme-li tuto mez, zůstane při nulovém napětí zbytková deformace a závislost deformace a napětí bude tvořit tzv. hysterezní křivku.

Tuhost materiálu je dána poměrem mezi napětím a relativní deformací, nazývá se modul pružnosti. Čím větší je modul pružnosti, tím tužší je materiál.

Poddajnost materiálu je vyjádřena převrácenou hodnotou modulu pružnosti jako poměr mezi deformací a napětím.

Obr. 1- tahový diagram tenké tyče



2.1.2 Tvárnost (plasticita)

Tvárnost materiálu je schopnost dosahovat trvalých deformací bez porušení celistvosti tělesa. Tvárné materiály mají velký rozsah poměrných prodloužení mezi mezemi pružnosti a pevnosti.

2.1.3 Tvrdost

Obecně se tvrdost chápe jako odolnost materiálu proti vnikání cizího tělesa. Fyzikálně je jednotkou tvrdosti pascal (Pa). Takto definovaná tvrdost závisí na tvaru vnikajícího tělesa a na době působení síly. Prakticky se používají vnikající tělíska tvaru kuliček (tvrdost podle Brinella), jehlanu (tvrdost podle Vickerse) nebo kuželu (tvrdost podle Rockwella). U těchto zkoušek je předepsána dostatečně dlouhá doba působení síly. Výše uvedené metody měření tvrdosti se nazývají statické. Jsou experimentálně poměrně náročné, zejména na čas.

Pro rychlá měření tvrdosti se používá dynamická metoda podle Shorea. V tomto případě se využívá skutečnosti, že odskok pružného tělesa od měřeného materiálu závisí na jeho tvrdosti. Čím je materiál tvrdší, tím je odskok větší. Odskok závisí mimo jiné na modulu pružnosti v tahu. Tato metoda se obvykle používá jako orientační metoda srovnávacího charakteru. Její hlavní předností je rychlost měření, jejím hlavním nedostatkem je nepřesnost.

Empiricky vznikly tzv. vrypové zkoušky tvrdosti. U těchto zkoušek se postupuje tak, že se speciálním vrypovým tvrdoměrem (zpravidla diamantový hrot) vytvoří v materiálu ryska. Při konstantní síle na hrot je šířka této rysky tím větší, čím je menší tvrdost zkoušeného materiálu. Mezi vrypové metody patří také srovnávací metoda vycházející z Mohsovy stupnice tvrdosti.

2.1.4 Houževnatost

Houževnatost je schopnost trvale odolávat bez porušení velkým mechanickým napětími a deformacím. Definovat houževnatost přesněji je obtížné. Fyzikálnímu myšlení je nejbližší definice, která vymezuje houževnatost jako celkovou energii potřebnou k porušení tělesa. Jiným měřítkem houževnatosti bývá velikost plastické deformace do vzniku lomu. Houževnatost souvisí s tažností a tvárností.

2.1.5 Tažnost, křehkost, lámavost

Tažnost materiálu je relativní prodloužení tyče těsně před jejím přetržením.

Křehkost je opakem houževnatosti. Někdy se křehkost chápe jako opak tažnosti, jako malá odolnost proti plastickým deformacím. Křehkost se pojímá obvykle jako kvalitativní ukazatel a není. přísně vzato fyzikální veličinou.

Lámavost se zpravidla chápe jako opak tvárnosti. Udává se často u ocelí, jako kvalitativní ukazatel. Fyzikální definice se zpravidla neuvádí.

2.2 Vlivy na mechanické vlastnosti kostní tkáně

Při vyšetřování mechanických vlastností kostní tkáně dostáváme široké spektrum výsledků. Obdržené hodnoty totiž závisí na mnoha faktorech, které jsou dány podmínkami vlastního experimentu a fyziologickým stavem sledovaného vzorku. Záleží na velikosti vzorku, na jeho stavu (jestli je suchý nebo vlhký, čerstvý nebo konzervovaný), na rychlosti zatěžování, na poloze a orientaci daného vzorku apod. Z fyziologických faktorů je důležitý zejména věk, pohlaví a vnitřní struktura. *(10)*

2.2.1 Vliv vysušení

Přestože je vysušení kostí zcela nefyziologická procedura, touto problematickou se již zabývala řada vědců. Např. Evans *(6)* testoval 242 vzorků z 6 mužských stehenních kostí, z nichž 121 bylo vysušeno vzduchem. Průměrná hodnota pevnosti vzrostla ze 189MPa a na 208MPa. Řada experimentů prokázala závislost i jiných mechanických vlastností na obsahu vody v kostní tkáni.

Můžeme říct, že pevnost v tlaku a tahu, elastický modul a tvrdost se vysušováním zvyšují, ale pevnost smyku a relativní prodloužení klesají. *(19)*

2.2.2 Vliv konzervace

Jednou z metod konzervace tkání je zmrazování. Sedlin *(17)* testoval 43 vzorků ze 3 femurů. Jednatřicet vzorků nechal 3 – 4 týdny zmrazit na teplotu -20°C. Poté byly zpět ohřáty na 37°C. Mezi hodnotami naměřenými na nezmrazeném a zmrazeném vzorku ale nebyly objeveny statisticky doložitelné rozdíly.

Dalším, velmi používaným způsobem konzervace je balzamování, kdy je balzamovací látka vpravena do cévního systému mrtvého organismu. Názory vědců na vliv balzamování se velice různí. Podle Evanse *(6)* u lidské tibie balzamování zvýšilo pevnost a elastický modul, maximální deformace poklesla. Naopak Kummer (*12)* tvrdí, že mezi balzamovanými a nebalzamovanými vzorky nejsou statisticky zdůvodnitelné rozdíly. Je také nutné vzít v úvahu i faktor času, po který byla zkoumaná tkáň konzervována*. (19)*

2.2.3 Vliv struktury a orientace

Na konci minulého století si Roux *(16)* všiml u kostních tkání tzv. zákona minima-maxima, kdy struktura kosti je vybudována s minimálním množstvím materiálu při maximální pevnosti v daném směru. Tuto strukturu nazval „minimální strukturou“ . Dané zjištění mu umožnilo vyslovit hypotézu adaptace. „ Adaptace funkčních orgánů probíhá podle praxe, která nastane“. Přestavba kosti je řízena zpětnou vazbou – zvýší-li se napětí, nastává zbytnění kostní tkáně, když napětí klesá, zbytnění ustává. Podobně to platí pro odlehčení: odlehčení – odbourání kostní tkáně, napětí roste – odbourání mizí. Toto je nejlépe patrné u spongiózní kosti. Z praxe je známo, že je-li člověk dlouhodobě upoután na lůžko, dojde k přestavbě trámcové struktury v proximální epifýze femuru. Adaptivní proces je tedy řízen napětím. Ale nad určitou hranicí napětí nastane porušení kosti vlivem patologického odbourání. Vyjdeme-li z Rousova pojmu „ minimální struktury“, je zřejmé, že kost musí mít v různých směrech různé mechanické vlastnosti. Již na konci 19. století si všiml Hülsen *(8)*, že vzorek z tibie osla má vyšší pevnost v tahu ve směru rovnoběžném s podélnou osou než ve směru kolmém k ose, a to o 23%. Tato závislost na orientaci vzorku byla později potvrzena celou řadou výzkumů. Podobnou závislost na orientaci mají i ostatní mechanické vlastnosti*. (19)*

2.2.4 Vliv topografických rozdílů a velikosti vzorku

Vyjdeme-li opět z pojmu „ minimální struktury“ a uvědomíme-li si, že kosti v lidském těle mají rozdílnou funkci, a že i v samotné kosti jsou oblasti různě namáhané, nemůže nás překvapit skutečnost závislosti mechanických vlastností na topografii, tzn. odkud byl vzorek vyjmut.

Amtmann *(1)* provedl podrobnou analýzu rozložení hustoty ve stehenní kosti a rozložení pevnosti v tlaku. Zjistil, že shoda pevnosti v tlaku s hustotou je pouze 40-42%. Evans *(6)* při podobné analýze stehenní kosti zjistil statisticky zdůvodnitelnou závislost mezi hustotou a tvrdostí, u holenní kosti mezi hustotou a modulem elasticity, mezi hustotou a pevností v tahu a mezi hustotou a tvrdostí. U lýtkové kosti pozoroval pozitivní korelaci mezi hustotou a pevností ve smyku a mezi hustotou a tvrdostí. Mezi hustotou a protažením se projevila korelace negativní.

Zasypkin a kol. *(21)* provedli analýzu změny naměřených mechanických vlastností na velikosti a tvaru vzorku. Pokusy prováděli na dobytčích kostech. Zjistili, že je nejlepší používat cylindrické vzorky s poměrem výšky k průměru vzorku 2,5 – 4. *(19)*

2.2.5 Vliv rychlosti zatěžování

Jako jedni z prvních si ve svých studiích všimli vlivu rychlosti zatěžování na zjišťované mechanické vlastnosti McElhaney a Byars *(13,14)*. Měřením zjistili, že pevnost v tahu a modul elasticity se progresivně zvyšují s rychlostí deformace, zatímco deformace a energie absorbovaná do lomu klesají. Poissonovo číslo, které bylo zjištěno pouze pro tři případy, progresivně klesá. Bylo také zjištěno, že většina zlomenin vzniká, když síla způsobující lom působí při velkých rychlostech deformace. *(19)*

2.2.6 Vliv věku a pohlaví

Změnou tahových mechanických vlastností v závislosti na věku se velmi podrobně zabýval Ko *(11).* Testoval například stehenní kosti. Zjistil, že nejvyšší pevnosti v tahu dosahuje kostní tkáň mezi 20. -29. rokem a nejnižší mezi 60. -69. rokem. Při zkouškách ale nenašel žádné významné rozdíly mezi pohlavími. Podobné výsledky byly obdrženy i od jiných vědců. *(19)*

2.2.7 Vliv zmenšení síly

Tento jev je zajímavý pro lety do kosmu, kdy dlouhodobý pobyt ve stavu beztíže má vliv na vlastní složení kostní tkáně a tím i na mechanické vlastnosti. Při experimentech na opicích znehybněných v sádrových obvazech *(9)* bylo zjištěno, že při porovnání se zdravými jedinci pevnost kostní tkáně po šedesátidenním znehybnění poklesla až o 60%. *(19)*

2.3 Reologie

Reologie je nauka o přetváření materiálů, deformaci a toku. Zabývá se zejména dynamikou těchto procesů - časovými proměnami měřených veličin a rychlostí, s jakou tyto změny probíhají.

Reologie rozděluje tělesa podle viskózních a elastických vlastností následujícím způsobem:

- Tuhé těleso – idealizované těleso, které má stálý tvar i při působení vnějších sil (síly nezpůsobují deformace, těleso nemá žádné pružné či viskózní vlastnosti). Ve skutečnosti je namáhání vždy doprovázeno deformacemi. Prakticky lze proto tento model použít, lze-li vznikající deformace zanedbat.

- Pevné pružné těleso – idealizované těleso, u kterého síly působí jen pružné deformace, po vymizení síly zaniká i deformace. Tomuto modelu dobře odpovídá chování čisté krystalické látky při působení malých sil.
- Reálné pevné těleso - síly působí pružné i trvalé deformace. Rozsah trvalých deformací roste se zvětšujícím se namáháním (může se vyskytnout i „kluz“).
- Viskoelastické těleso – pod vlivem deformující síly se chová do jisté míry jako kapalina (reaguje tokem) i jako pružné těleso (reaguje částečně elasticky).
- Nenewtonovská (reálná) kapalina – má nezanedbatelnou odchylku od Newtonova vztahu pro viskozitu. Její viskozita je závislá na velikosti rychlostních gradientů a tečných napětí. Má převážně viskózní vlastnosti s jistým vlivem pružnosti.
- Newtonovská kapalina- platí Newtonův vztah pro viskozitu- viskozita se nemění s časem a je v celém objemu kapaliny stejná. Vyhovuje pro čisté anorganické kapaliny.
- Ideální kapalina - je dokonale nestlačitelná a bez vnitřního tření. Lze aplikovat jen jsou-li objemové změny a vnitřní tření zanedbatelné.

2.3.1 Reologické axiomy

a) Každý materiál má vlastnosti, které jsou souhrnem všech typů reologických vlastností (obvykle elasticity a viskozity).

b) Pokud materiál projevuje jen jednu reologickou vlastnost, je to v důsledku potlačení ostatních reologických vlastností.

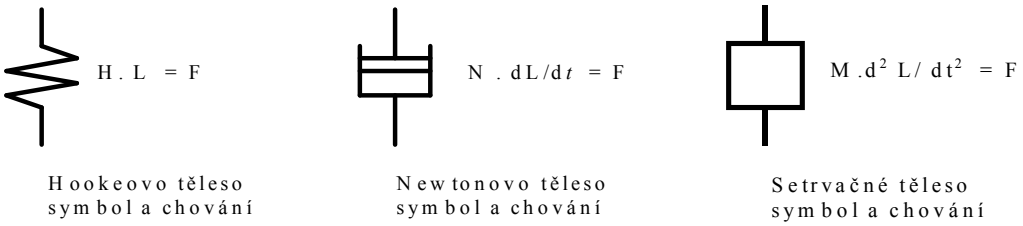
c) Za působení hydrostatického tlaku reagují všechny materiály pružně. (2)

2.3.2 Reologické modely

Mechanické chování reálných těles je souhrnem elastických, plastických (viskózních), setrvačných, nelineárních a dalších vlastností. Pro zjednodušení úvah a výpočtů nahrazujeme reálná visko elastická tělesa tzv. reologickými modely. Prakticky lze často dostatečně přesně nahradit visko elastická tělesa modely, které sestávají z kombinací tzv. Hookeových a Newtonových těles. Hookeovo těleso má ideálně elastické vlastnosti (pevné pružné těleso). Newtonovo těleso se chová jako newtonovská kapalina. Tyto prvky se chovají lineárně a můžeme proto mluvit o

lineárních modelech. Takto vytvářené modely velmi často nepostihují chování reálných systémů, dokonce ani v situacích, kdy je splněna podmínka linearity chování, protože neberou v úvahu vliv setrvačných sil. Jsou použitelné jen za předpokladu, že setrvačné síly (dané součinem hmotnosti a zrychlení) jsou zanedbatelné. Tato podmínka často není splněna a vede k chybným výsledkům. Obecně je třeba modely doplnit ještě setrvačným členem.

Obr. 2 - Model a symbolika Hookeova tělesa (pevné pružné těleso), Newtonova tělesa (Newtonovská kapalina).a setrvačného tělesa.

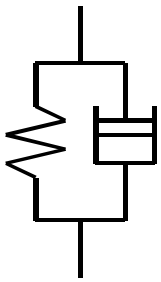


L je délka, M celková hmotnost pohyblivé části systému, F síla působící na soustavu, t čas, H je koeficient vyjadřující tuhost Hookeova tělesa , N je parametr Newtonova členu charakterizující tlumení pohybu.

- **Voightův model**

Je tvořen „paralelní“ kombinací Hookeova a Newtonova tělesa. Nebere v úvahu vliv setrvačných sil. Dobře vystihuje chování řady jednoduchých materiálů, jako jsou nitě, náplasti, plastické hmoty apod.

Obr. 3 – Voightův model



- **Maxwellův model**

Je tvořen „sériovou“ kombinací Hookeova a Newtonova tělesa. U biologických materiálů se s chováním odpovídajícím tomuto modelu setkáváme ojediněle, obvykle pouze při velkých namáháních, vedoucích k destrukci materiálu.

Obr. 4 – Maxwellův model

- **Voightův model se setrvačným členem**

V praxi se často setkáváme se situací podle *Obr. 5*. Celková deformující síla F je rovna součtu sil všech tří těles. $F_1 = H.L$ (pro Hookeovo těleso), $F_2 = N.dL/dt$ (pro Newtonovo těleso) a $F_3 = M.\ d^2L/dt^2$ (pro setrvačný člen).

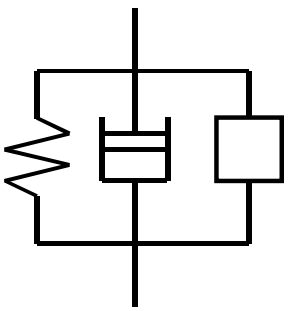
$$F = M.\ d^2L/dt^2 + N.dL/dt + H.\Delta L \qquad [3]$$

Pokud je $N^2 > 4$ M.H (respektive b > ω_0 viz kap.2.5), je průběh impulsní i přechodové charakteristiky aperiodický.

Pokud je $N^2 < 4$ M.H, soustava po vnesení energie tlumeně kmitá. Pro frekvenci tlumených kmitů platí: $\omega = \frac{\sqrt{4M.H - N^2}}{2M}$ [4]

Pro amplitudu kmitů (jako odezvy na impuls síly) platí: $A = \Delta I/M\ .\ e^{-(N/2M).t}$

Obr. 5 - Voigtův model se setrvačným členem



Přejdeme- li k mechanickým napětím a relativním deformacím, dostáváme:

$$\sigma(t) = m.\, d^2\varepsilon/dt^2 + \eta.d\varepsilon/dt + E.\varepsilon \qquad [5]$$

Dále platí : $\sigma=F/S$, $m=M.L_0/S$, $\varepsilon=(L- L_0)/L_0$, $\eta=N. L_0/S$, $E=H. L_0/S$, přičemž S je normálová plocha vzorku, L délka vzorku v čase t, L_0 klidová délka vzorku.

Parametry v rovnici [5] odpovídají parametrům rovnice [3], „normalizovaným“ s ohledem na rozměry vzorku, a jedná se tedy o materiálové koeficienty. Parametr *η* představuje viskozitu materiálu, parametr *E* odpovídá modulu pružnosti materiálu.

Impulzní i přechodové charakteristiky jsou tvořeny funkcí typu $\varepsilon(t) = A.\, e^{-b.t}$ pro impulz a $\varepsilon(t) = B.(1-e^{-b.t})$ pro skok, kde A je velikost deformační odezvy na počátku impulzního děje (pro nekonečně krátký Dicracův impulz tedy v čase 0). Koeficient *A* je přímo úměrný velikosti impulzu a nepřímo úměrný viskóznímu členu pohybové rovnice [5]. Koeficient *b* vyjadřuje kinetiku odezvy a je přímo úměrný modulu pružnosti a nepřímo úměrný viskóznímu členu pohybové rovnice. Koeficient *B* odpovídá deformační odezvě na skok vstupní veličiny v ustáleném stavu, je přímo úměrný velikosti skoku a nepřímo úměrný modulu pružnosti materiálu. (3)

2.4 Měření Youngova modulu pružnosti při namáhání v ohybu

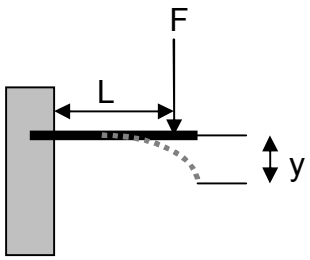
Měří se odezva na skok mezi dvěma konstantními hladinami působící síly, tj. přechodová charakteristika.

Youngovy moduly pružnosti patří k nejčastěji používaným parametrům popisujícím mechanické chování těles. Představují vnitřní odpor materiálu vůči pružné deformaci. Zjišťují se buď na základě statických testů, jako poměr mezi mechanickým napětím a relativní deformací, nebo méně často na základě měření oscilace těles. V řadě případů je přesnější a praktičtější určovat je nepřímo, na základě měření deformací v ohybu. Platí to především v situacích, kdy deformace v tahu jsou malé v důsledku velké tuhosti materiálu. Používají se vzorky materiálů ve tvaru válce nebo hranolu, jejichž délka je výrazně větší (o řád) než rozměry základny. Měření je možno provádět při upevnění vzorku na obou koncích, přičemž deformující síla působí uprostřed. Případně lze vzorek upevnit na jednom konci a deformující sílu nechat působit na konci druhém.

Pro nosník vetknutý na jednom konci platí: $y = F.L^3 / (3.E.J)$

Z toho při použití vztahu [7] : $\boldsymbol{E = 4.F.L^3 / y.a.b^3}$ **[6]**

Obr. 6 – Namáhání v ohybu pro nosník vetknutý na jednom konci



y…průhyb nosníku

L...vzdálenost působení síly od místa upevnění vzorku

E…modul pružnosti v tahu

J…kvadratický moment průřezu (moment setrvačnosti průřezu) nosníku, pro který při obdélníkovém průřezu platí: $J= a.b^3/12$ [7]

a … šířka nosníku

b … tloušťka nosníku

2.5 Měření dynamického modulu a viskozity při namáhání v torzi

Měří se deformační odezva na impuls síly trvající po velmi krátkou dobu, tj. impulsní charakteristika. Impuls uvede systém rychle do pohybu, a po ukončení impulsu je dynamika deformace závislá pouze na parametrech systému. Soustava vykonává tlumené kmity. Z tlumení a frekvence kmitů lze určovat i viskózní (tlumící) členy soustavy, které vyjadřují odpor materiálu vůči deformaci.

Diferenciální rovnice tlumeného harmonického kmitavého pohybu je:

$$\frac{d^2u}{dt^2}+2b\frac{du}{dt}+\omega_0^2u=0 \qquad [8]$$

b … konstanta (součinitel) útlumu $[b]=\mathrm{s}^{-1}$

ω_0 … úhlová frekvence vlastních kmitů

u … okamžitá výchylka

t … čas

Řešení se hledá ve tvaru $u = Ce^{\alpha t}$, z nějž dostaneme charakteristickou rovnici

$$\alpha^2 + 2b\alpha + \omega_0^2 = 0, \qquad [9]$$

která má řešení $\alpha_{1,2} = -b \pm \sqrt{b^2 - \omega_0^2}$ [10]

Toto řešení poskytuje dva partikulární integrály $u = C_1 e^{\alpha_1 t}$ a $u = C_2 e^{\alpha_2 t}$. Obecné řešení má pak tvar $u = C_1 e^{\alpha_1 t} + C_2 e^{\alpha_2 t}$

Na výsledný pohyb má rozhodující vliv vztah mezi konstantami *b* a ω_0, což ovlivňuje řešení charakteristické rovnice[9]. Mohou nastat následující případy

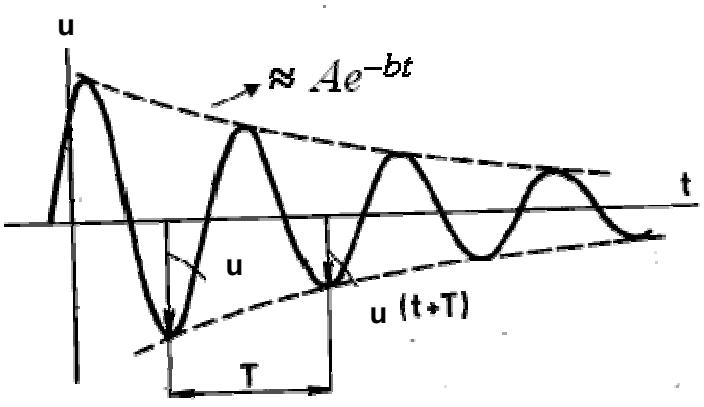
- slabé tlumení ($b < \omega_0$) – tlumené harmonické kmitání
- silné tlumení ($b > \omega_0$) – aperiodické kmitání
- mezní případ ($b = \omega_0$) – mezní aperiodické kmitání

Pokud je tlumení slabé, tzn. $b < \omega_0$, jsou oba kořeny charakteristické rovnice komplexní. Nahradíme-li v rovnici [10] $\sqrt{\omega_0^2 - b^2}$ za *ω,* můžeme kořeny zapsat ve tvaru $\alpha_{1,2} = -b \pm i\omega$. Dalšími úpravami lze získat vztah pro okamžitou výchylku

$$u = Ae^{-bt}\sin(\omega t + \varphi_0). \qquad [11]$$

Z Obr. 7 je vidět, že amplituda Ae^{-bt} se s časem zmenšuje (exponenciálně).

Obr. 7 – Tlumené harmonické kmitání



Doba, za kterou amplituda Ae^{-bt} klesne na hodnotu *Ae*, se nazývá relaxační doba *τ* a platí pro ni $\tau = b^{-1}$.

Pohyb se v důsledku tlumení uskutečňuje pomaleji, neboť doba kmitu je delší. Perioda kmitu je $T = 2\pi / \omega = 2\pi / \sqrt{\omega_0^2 - b^2}$, kde ω je úhlová frekvence tlumeného oscilátoru.

Podíl dvou výchylek, které jsou od sebe časově vzdáleny o dobu kmitu T se nazývá faktor útlumu a nezávisí na čase. $\lambda = A_1 / A_2 = \mathrm{Ae}^{-\mathrm{bt}} / \mathrm{Ae}^{-\mathrm{b(t+T)}} = \mathrm{e}^{\mathrm{bT}}$

Přirozený logaritmus faktoru útlumu se nazývá logaritmický dekrement (tlumení) $\delta = \ln \lambda = bT = 2\pi b / \omega$. Velikost tlumení odpovídá viskózní složce, tj. čím větší tlumení, tím větší viskozita. *(18)*

Pro výpočet pohybu při zatížení v torzi bylo v počítačovém programu (připraveném pro katedru biofyziky a fyzikální chemie Doc. Klemerou) použito vztahu :

$$J\frac{d^2\varphi}{dt^2} + a_j \eta \frac{d\varphi}{dt} + a_j G\varphi = 0 \qquad \textbf{[12]}$$

kde *J* je moment setrvačnosti, *φ* je úhel krutu, a_j je koeficient, který závisí na tvaru vzorku, *G* je modul ve smyku a η je viskózní člen.

Modul pružnosti v tahu E, ve smyku G a Poissonovo číslo μ jsou základními charakteristikami chování materiálu. Platí mezi nimi vztah $G = \frac{E}{2(1+\mu)}$, ze kterého se prakticky vypočítávají smykové moduly pružnosti.

Poissonovo číslo je poměr mezi příčným zkrácením a podélným prodloužením materiálu při deformaci. Hodnoty pro homogenní materiály se nachází v rozmezí 0-0,5. Poissonovo číslo je tím vyšší, čím je větší plasticita materiálu.

3 Experimentální část

3.1 Materiály

K měření jsme zhotovili 7 vzorků získaných z kompaktní kosti mandibuly 8 měsíců starého prasete domácího (sus scrofa, f. domestica) . Délka vzorků se pohybovala mezi 25,50 až 33,70 mm, šířka byla 3,86 až 5,60 mm a tloušťka 1,68 až 3,73 mm.

Tabulka 1- Rozměry měřených vzorků

číslo vzorku	**délka** L [mm]	**šířka** a [mm]	**tloušťka** b [mm]
1	26,88	5,60	3,60
2	32,48	5,03	3,73
3	25,50	3,86	2,25
4	29,16	4,84	3,36
5	30,32	5,08	3,44
6	30,24	3,92	3,10
7	33,70	4,10	1,68

K měření v torzi byl použit setrvačník o hmotnosti 78,95 g, délce 12,81 cm a šířce 1,71 cm.

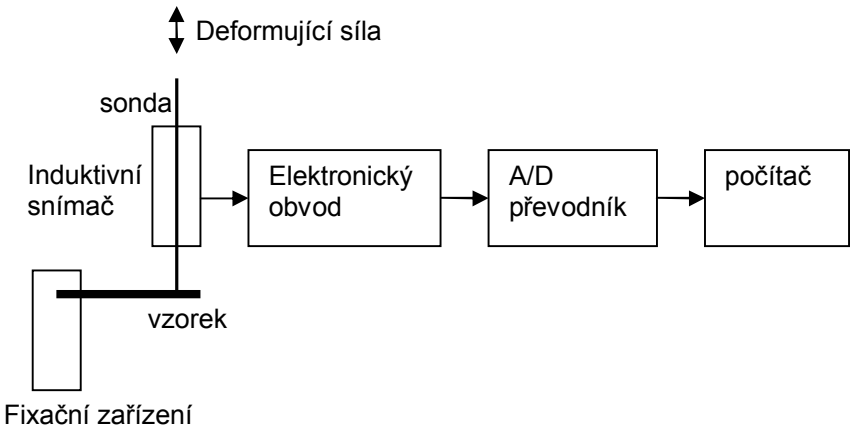
3.2 Měřící aparatura

Pro měření byla použita aparatura vyvinutá na katedře biofyziky a fyzikální chemie Farmaceutické fakulty UK v HK, která umožňuje měření mechanických vlastností vzorků charakteru viskoelastických těles v rozmezí parametrů běžných u takových biologických struktur jako jsou kosti, kůže, šlachy a cévní stěny. Konstrukční uspořádání aparatury umožňuje i měření na živých organismech.

3.2.1 Měření v ohybu

Aparatura je složena z panelu, na němž je připevněna měřící sonda, dále z fixačního zařízení pro upevnění měřeného objektu, zařízení pro aplikaci deformační síly, elektronického obvodu, převodníku a počítače.

Obr. 8 – Měřící aparatura pro měření v ohybu



Sonda, na kterou se mechanicky vkládá závaží, působí na měřený vzorek, jež je fixačním zařízením udržován v klidu a v definované poloze.

Snímač je tvořen elektromechanickým čidlem induktivního typu a elektronickým obvodem pro zpracování signálu ze snímače. Elektronický obvod se skládá z klasického Maxwell-Wienova můstku v nevyváženém režimu a operačního zesilovače.

Výsledný průběh je převáděn do digitální formy a on line přenášen do počítače. Počítač zaznamenává výsledná data do paměti a software, vyvinutý na katedře biofyziky a fyzikální chemie, je analyzuje, provede filtraci případného šumu, najde charakteristické úseky celého průběhu a vypočte příslušné parametry.

Citlivost měření je omezena hlavně rušivým vlivem vnějších magnetických polí a dosahuje hodnoty 0,05 mm. Je předpoklad, že pečlivým stíněním by bylo možno citlivost ještě poněkud zvýšit, pro praktické aplikace na běžných biologických materiálech však postačuje. (4)

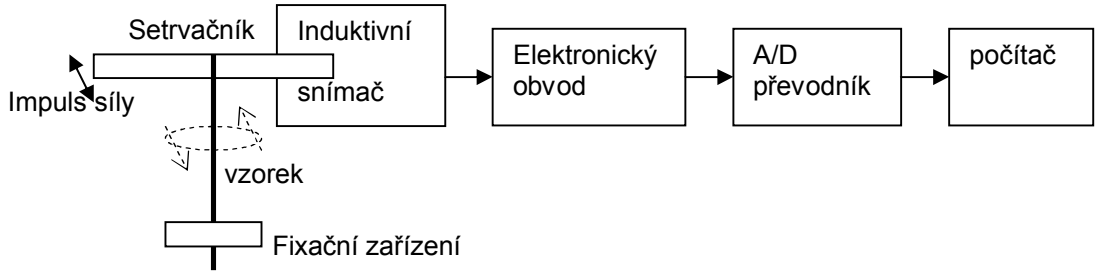
3.2.2 Měření v torzi

Aparatura je složena z fixačního zařízení a setrvačníku, mezi než je upevněn vzorek, dále opět ze snímače tvořeného elektromechanickým čidlem induktivního typu, elektronickým obvodem pro zpracování signálu ze snímače, operačního zesilovače, analog/digitálního převodníku a počítačem se softwarem.

Působením impulsu síly na okraji setrvačníku se vyvolají kmity, které jsou snímány čidlem induktivního typu a signál je veden elektronickým obvodem přes A/D

převodník do počítače ke zpracování. Princip spočívá v tom, že se deformace systému po ukončení impulsu dále mění pouze v důsledku jeho vlastní dynamiky – tlumení kmitů.

Obr. 9 – Měřící aparatura pro měření v torzi



3.3 Pracovní postup

Vzorky kostí byly mezi jednotlivými měřeními uchovávány ve fyziologickém roztoku při teplotě 4-6°C. Před vlastním měřením byly vytemperovány na pokojovou teplotu a při ní měřeny. Provedli jsme 4 série měření, každou po 6-7 dnech, přičemž první byla realizována zhruba týden po porážce zvířete. Vzorek číslo 7 nebyl během první série měřen. Před každou sérií jsme provedli kalibraci. Každý vzorek byl v každé sérii změřen 7-12x a výsledek zprůměrován. U všech vzorků jsme změřili přechodové a impulsní charakteristiky v ohybu a krutu.

V ohybu byly měřeny přechodové charakteristiky jako odezva na skokovou změnu deformující síly. Vzorek byl jedním koncem fixován v měřícím zařízení a na jeho druhém konci bylo na sondu vkládáno závaží o hmotnosti 20g. Deformace kosti byla snímána indukčním čidlem, signál z čidla byl zesilován a veden do počítače. Změna napětí odpovídala míře prohnutí vzorku. Počítačový program z naměřených dat spočítal hodnoty Youngova modulu měřených vzorků.

V torzi byly měřeny impulsní charakteristiky jako odezvy na impuls síly na setrvačník. Vzorek byl jedním koncem svisle upevněn ve fixačním zařízení a na jeho druhém konci byl připevněn setrvačník o momentu setrvačnosti $1{,}14 \cdot 10^{-4}\ kg \cdot m^2$. Rychlým manuálním poklepem ocelovou pinzetou na okraji setrvačníku jsme vyvolali kmity, které byly snímány čidlem induktivního typu a signál převeden elektronickým obvodem do počítače ke zpracování. Z impulsních charakteristik program spočítal dynamický modul a viskozitu měřených vzorků. Vzorek č.5 byl během první série měření

uchycen opačnými konci než při zbývajících sériích, protože se ho poté nepodařilo upevnit do aparatury stejným způsobem.

4 Výsledky

4.1 Přechodové charakteristiky

Před každou sérií měření byla provedena kalibrace za použití podložního sklíčka o tloušťce 1,25 mm, přičemž kalibrační napětí se pohybovalo v rozmezí 0,841 V až 1,004 V a citlivost mezi 0,672 V/mm až 0,803 V/mm.

Z naměřeného průhybu nosníku po vložení 20g závaží byla počítačem vypočtena statická tuhost (= Youngův modul) dle vztahu [6].

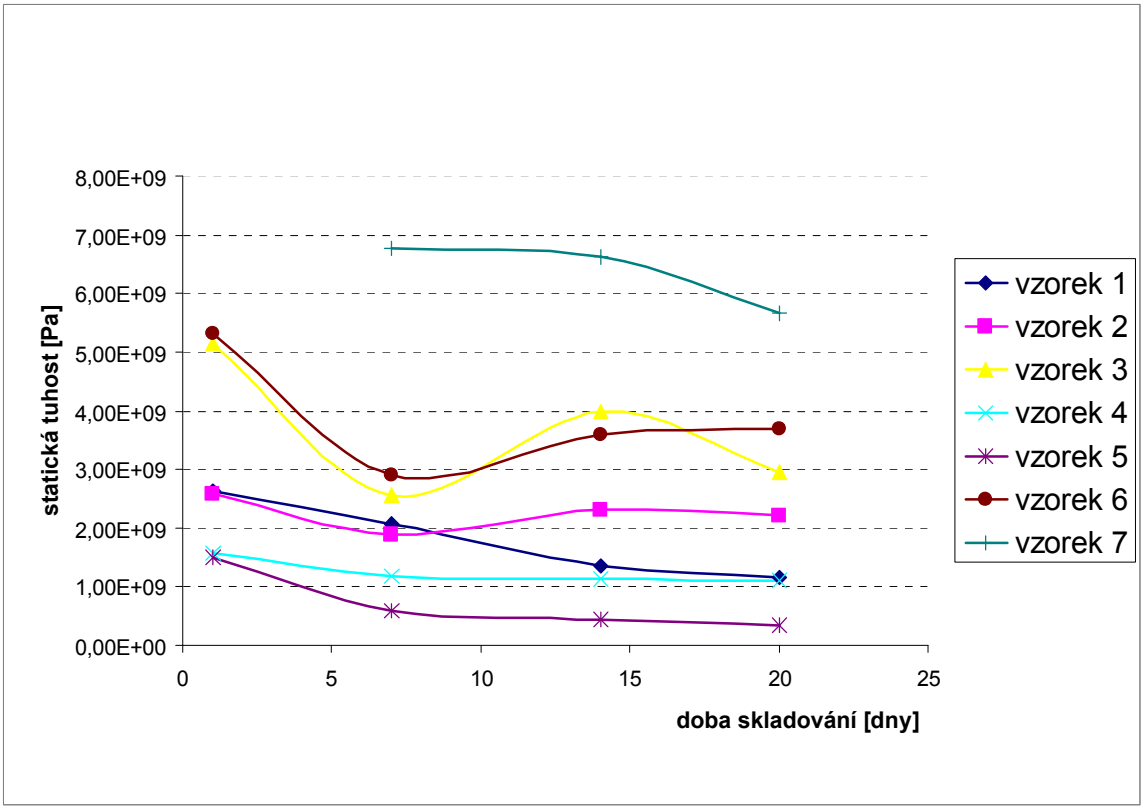
Tabulka č. 2 obsahuje průměry naměřených rozdílů hladin po zatížení vzorků závažím o hmotnosti 20g a z nich vypočtené hodnoty Youngova modulu. Detailní naměřené hodnoty jsou obsaženy v tabulkách č.4-10.

Z údajů vidíme, že hodnoty Youngova modulu jednotlivých vzorků se v průběhu celé doby měření vzájemně významně lišily, a to až o 6GPa (pohybovaly se v rozmezí 0,35–6,78 GPa). Příčinu bych viděla jak v různých rozměrech vzorků, tak především v jejich původu z různých oblastí mandibuly, kdy kost je přirozeně rozdílně stavěná v závislosti na míře a způsobu jejího namáhání v daném místě. I přestože jsme mezi druhou a třetí sérií naměřili u 3 vzorků ze 7 nárůst statické tuhosti, obecně lze říci, že Youngův modul se se vzrůstající dobou skladování zmenšoval. Tento trend zachycuje i *Graf 1* vyobrazený níže. Pokles hodnot Youngova modulu jsme při srovnání první a poslední série měření zaznamenali u všech 7 vzorků, přičemž průměrný pokles činil 38%. Tento jev si můžeme vysvětlit změnami ve struktuře kolagenových vláken, která dodávají kosti odolnost vůči tahu. Zhodnocením statistické významnosti poklesu Youngova modulu v čase jsme zjistili, že pokles je prokazatelný na hranici významnosti.

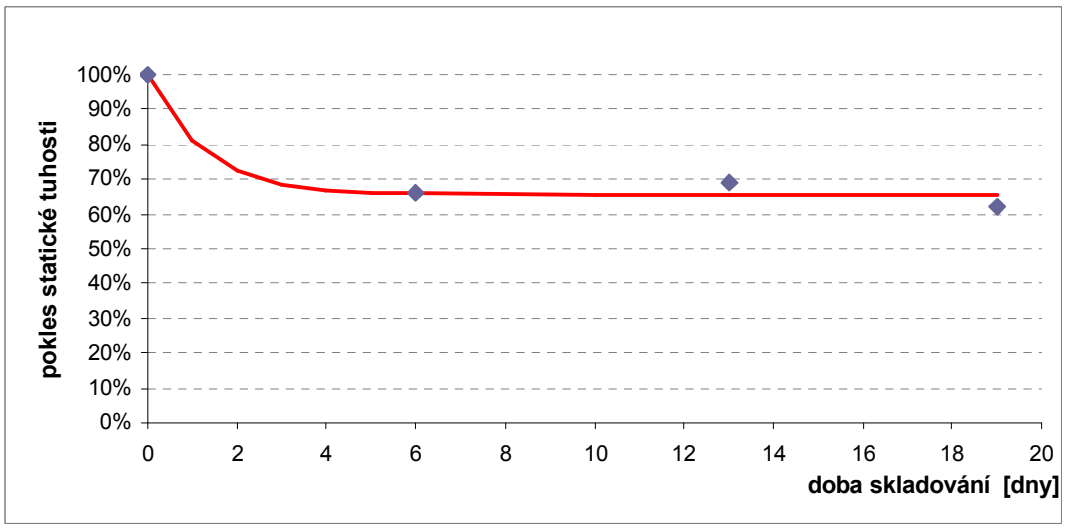
Tabulka 2 - Výsledky měření přechodových charakteristik v ohybu s 20g závažím

Číslo vzorku	1.den		7.den		14.den		20.den		pokles statické tuhosti mezi 1. a 20. dnem
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	%
1	0,02	2,62E+09	0,03	2,08E+09	0,04	1,36E+09	0,05	1,16E+09	55,71
2	0,04	2,60E+09	0,05	1,90E+09	0,05	2,31E+09	0,05	2,21E+09	14,78
3	0,06	5,14E+09	0,12	2,56E+09	0,07	3,99E+09	0,10	2,96E+09	42,31
4	0,07	1,58E+09	0,09	1,18E+09	0,10	1,13E+09	0,10	1,10E+09	30,61
5	0,07	1,50E+09	0,18	5,84E+08	0,25	4,31E+08	0,31	3,51E+08	76,56
6	0,04	5,33E+09	0,06	2,89E+09	0,05	3,60E+09	0,05	3,69E+09	30,70
7	neměřeno		0,23	6,78E+09	0,23	6,62E+09	0,28	5,66E+09	16,53
								průměr:	38,17

Graf 1 - Statická tuhost jednotlivých vzorků v závislosti na době skladování



Graf 2 - Relativní pokles hodnot Youngova modulu (průměrná hodnota ze všech měřených vzorků) v závislosti na době skladování



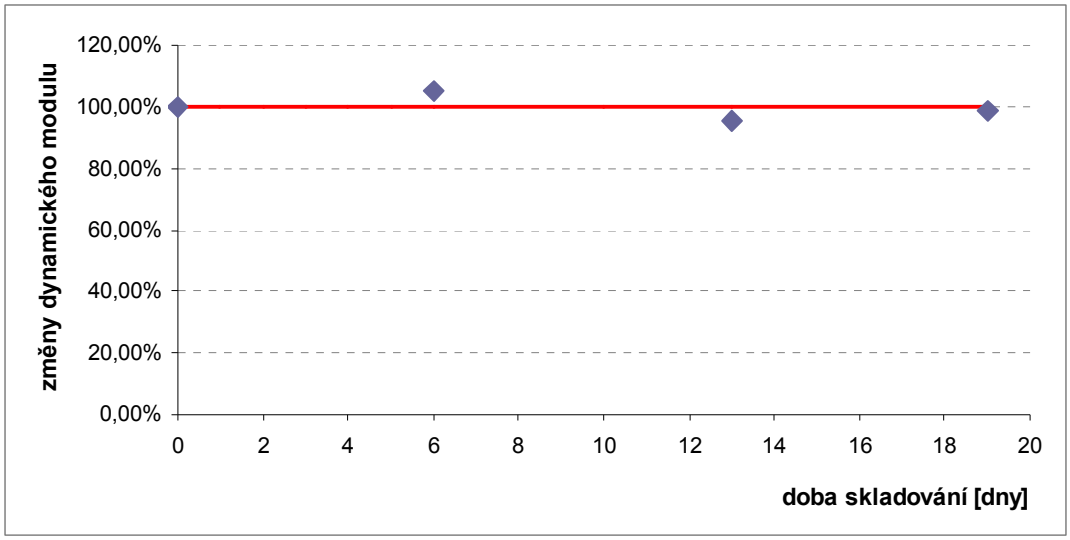
4.2 Impulsní charakteristiky

Před prvním měřením jsme vypočetli dle vzahu *J= š.d.m*. moment setrvačnosti setrvačníku, který byl $1{,}14 \cdot 10^{-4}$ kg·m^2(š je šířka, d je délka a m hmotnost setrvačníku).

V tabulce č. 3 jsou shrnuty naměřené hodnoty impulsních charakteristik, přičemž veškeré výsledky měření jsou obsaženy v tabulkách č.11-17.

Hodnoty dynamického modulu se pohybovaly v rozmezí $6{,}41.10^8$ až $11{,}8.10^8$ Pa v první den měření a $5{,}34.10^8$ až $11{,}3.10^8$ Pa v poslední den měření, přičemž nebyla zaznamenána žádná tendence změny jeho hodnot v závislosti na době skladování vzorků – viz. *Graf 3.* Žádná časová změna hodnot se neprojevila ani u viskózního členu měřených vzorků, jehož hodnoty byly $5{,}65.10^5$ až $11{,}8.10^5$ Pa.s v první den měření a $5{,}12.10^5$ až $11{,}1.10^5$ Pa.s v poslední den měření. To jsme si potvrdili i zhodnocením statistické významnosti jeho poklesu v čase, kde pokles viskozity není statisticky významný (málo dat, velký šum) – viz. *Graf 4*. Svůj podíl zde zřejmě sehrála i značná problematičnost pevného uchycení vzorku v aparatuře, a to jednak z důvodu nedostatečné pevnosti fixace setrvačníku,v němž se vzorek „viklal“, ale také tvarové nedokonalosti použitých vzorků, které nebyly úplně rovně ploché, ale většinou lehce ohnuté nebo v krutu, což při fixaci obou konců přinášelo potíže.

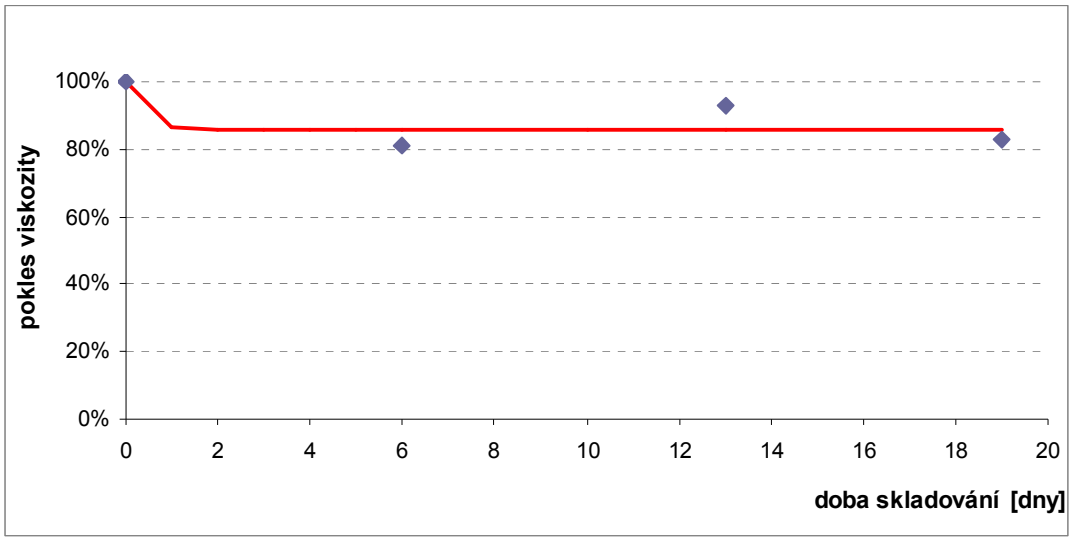
Graf 3 - Relativní změny hodnot dynamického modulu (průměrná hodnota ze všech měřených vzorků) v závislosti na době skladování



Tabulka 3 - Výsledky měření impulsních charakteristik

číslo vzorku	den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
		tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
		K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	1	9,5801	19,7	6,41E+08	7,95E+05
	6	7,5485	16,7	4,75E+08	6,26E+05
	14	3,3717	9,7	1,56E+08	2,78E+05
	20	6,8000	18,1	5,34E+08	5,60E+05
2	1	4,6794	22,2	1,18E+09	5,65E+05
	6	6,2198	19,3	8,92E+08	7,51E+05
	14	6,1856	20,6	1,04E+09	7,47E+05
	20	3,9805	21,7	1,13E+09	4,81E+05
3	1	2,9258	11,3	1,02E+09	1,18E+06
	6	2,4286	10,9	9,42E+08	9,77E+05
	14	2,8401	11,2	9,94E+08	1,14E+06
	20	2,7640	11,2	9,95E+08	1,11E+06
4	1	5,8850	15,3	7,58E+08	9,55E+05
	6	3,0147	14,1	6,34E+08	4,89E+05
	14	4,0123	14,1	6,38E+08	6,51E+05
	20	3,9481	13,2	5,61E+08	6,41E+05
5	1	6,1735	16,0	6,72E+08	8,17E+05
	6	3,0915	20,1	1,00E+09	3,90E+05
	14	2,9703	20,7	1,06E+09	3,75E+05
	20	4,0600	18,1	8,15E+08	5,12E+05
6	1	2,7744	11,4	7,19E+08	7,80E+05
	6	2,6996	12,9	8,96E+08	7,36E+05
	14	5,1575	12,6	8,63E+08	1,41E+06
	20	3,4135	12,6	8,55E+08	9,31E+05
7	1	neměřeno			
	6	2,5468	8,2	8,98E+08	1,74E+06
	14	1,5147	8,1	8,73E+08	1,03E+06
	20	1,5224	7,7	8,01E+08	1,04E+06

Graf 4 - Relativní pokles viskozity (průměrná hodnota ze všech měřených vzorků) v závislosti na době skladování



4.3 Tabulky výsledků měření v ohybu

Tabulka 4 - Výsledky měření vzorku 1 v ohybu

Den měření	1		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]
	0,02	2,61E+09	0,02	2,53E+09	0,03	1,82E+09	0,06	1,02E+09
	0,02	3,03E+09	0,03	1,88E+09	0,04	1,33E+09	0,05	1,17E+09
	0,02	2,76E+09	0,03	1,89E+09	0,04	1,52E+09	0,06	9,85E+08
	0,02	2,34E+09	0,03	1,71E+09	0,05	1,07E+09	0,04	1,46E+09
	0,03	2,18E+09	0,03	2,12E+09	0,04	1,44E+09	0,07	8,38E+08
	0,02	2,80E+09	0,02	2,34E+09	0,04	1,44E+09	0,05	1,28E+09
					0,06	9,24E+08	0,04	1,38E+09
průměr	**0,02**	**2,62E+09**	**0,03**	**2,08E+09**	**0,04**	**1,36E+09**	**0,05**	**1,16E+09**
směrod. odch.	0,00255	3,12E+08	0,005164	3,11E+08	0,010628	2,98E+08	0,010557	2,25E+08
v%	11,64	11,91	19,36	14,98	23,77	21,82	20,31	19,35

Tabulka 5 - Výsledky měření vzorku 2 v ohybu

Den měření	1		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]
	0,04	2,59E+09	0,05	1,99E+09	0,06	1,86E+09	0,05	2,00E+09
	0,03	3,08E+09	0,05	2,17E+09	0,06	1,78E+09	0,04	2,38E+09
	0,04	2,65E+09	0,05	1,93E+09	0,05	2,16E+09	0,04	2,66E+09
	0,05	2,26E+09	0,06	1,76E+09	0,04	2,92E+09	0,05	1,95E+09
	0,04	2,51E+09	0,06	1,75E+09	0,04	2,60E+09	0,05	1,98E+09
	0,04	2,50E+09	0,05	1,95E+09	0,05	2,27E+09	0,04	2,64E+09
			0,06	1,73E+09	0,04	2,38E+09	0,05	1,88E+09
					0,04	2,51E+09		
průměr	**0,04**	**2,60E+09**	**0,05**	**1,90E+09**	**0,05**	**2,31E+09**	**0,05**	**2,21E+09**
směrod. odch.	0,003961	2,71E+08	0,005345	1,61E+08	0,007722	3,79E+08	0,006898	3,40E+08
v%	9,90	10,44	9,85	8,48	16,90	16,40	14,54	15,34

Tabulka 6 - Výsledky měření vzorku 3 v ohybu

Den měření	1		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]
	0,06	4,68E+09	0,12	2,48E+09	0,08	3,89E+09	0,12	2,53E+09
	0,05	5,57E+09	0,11	2,59E+09	0,07	4,03E+09	0,10	3,00E+09
	0,05	5,42E+09	0,11	2,69E+09	0,08	3,63E+09	0,08	3,48E+09
	0,07	4,26E+09	0,10	3,01E+09	0,07	4,01E+09	0,10	2,82E+09
	0,05	6,22E+09	0,13	2,32E+09	0,07	3,95E+09	0,10	3,05E+09
	0,06	5,01E+09	0,12	2,41E+09	0,07	4,02E+09	0,10	2,86E+09
	0,06	5,22E+09	0,12	2,40E+09	0,07	4,39E+09	0,10	3,02E+09
	0,07	4,28E+09						
	0,05	5,59E+09						
průměr	**0,06**	**5,14E+09**	**0,12**	**2,56E+09**	**0,07**	**3,99E+09**	**0,10**	**2,96E+09**
směrod. odch.	0,007541	6,50E+08	0,009763	2,35E+08	0,004203	2,27E+08	0,009632	2,88E+08
v%	12,90	12,66	8,40	9,17	5,65	5,68	9,57	9,71

Tabulka 7 – Výsledky měření vzorku 4 v ohybu

Den měření	1		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]
	0,06	1,76E+09	0,12	9,02E+08	0,10	1,05E+09	0,09	1,13E+09
	0,07	1,54E+09	0,08	1,32E+09	0,11	9,33E+08	0,09	1,19E+09
	0,08	1,38E+09	0,07	1,42E+09	0,10	1,07E+09	0,16	6,49E+08
	0,07	1,53E+09	0,11	9,98E+08	0,10	1,04E+09	0,08	1,38E+09
	0,06	1,66E+09	0,09	1,20E+09	0,11	9,61E+08	0,08	1,35E+09
	0,06	1,87E+09	0,08	1,26E+09	0,09	1,14E+09	0,08	1,26E+09
	0,08	1,35E+09	0,08	1,32E+09	0,07	1,51E+09	0,15	7,25E+08
			0,08	1,31E+09	0,08	1,33E+09		
			0,12	9,02E+08				
průměr	**0,07**	**1,58E+09**	**0,09**	**1,18E+09**	**0,10**	**1,13E+09**	**0,10**	**1,10E+09**
směrod. odch.	0,008149	1,91E+08	0,016865	1,96E+08	0,014791	1,97E+08	0,035156	2,94E+08
v%	12,01	12,09	18,28	16,60	15,40	17,42	33,63	26,82

Tabulka 8 – Výsledky měření vzorku 5 v ohybu

Den měření	1		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]
	0,07	1,46E+09	0,18	5,98E+08	0,22	4,92E+08	0,32	3,35E+08
	0,08	1,33E+09	0,16	6,77E+08	0,27	3,94E+08	0,27	3,91E+08
	0,07	1,62E+09	0,18	5,76E+08	0,25	4,29E+08	0,25	4,22E+08
	0,07	1,60E+09	0,19	5,59E+08	0,25	4,17E+08	0,28	3,84E+08
	0,08	1,36E+09	0,20	5,19E+08	0,25	4,28E+08	0,37	2,86E+08
	0,07	1,44E+09	0,18	5,76E+08	0,25	4,28E+08	0,33	3,25E+08
	0,08	1,39E+09					0,29	3,59E+08
	0,07	1,61E+09					0,35	3,02E+08
	0,06	1,65E+09						
průměr	**0,07**	**1,50E+09**	**0,18**	**5,84E+08**	**0,25**	**4,31E+08**	**0,31**	**3,51E+08**
směrod. odch.	0,006039	1,26E+08	0,015666	5,26E+07	0,017436	3,25E+07	0,04121	4,68E+07
v%	8,48	8,45	8,59	9,00	7,08	7,54	13,44	13,36

Tabulka 9 – Výsledky měření vzorku 6 v ohybu

Den měření	1		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]	y [mm]	E [Pa]
	0,04	4,87E+09	0,06	3,00E+09	0,05	3,58E+09	0,05	4,09E+09
	0,04	4,78E+09	0,06	3,13E+09	0,05	3,71E+09	0,05	4,05E+09
	0,04	4,96E+09	0,06	3,03E+09	0,04	4,16E+09	0,05	3,76E+09
	0,03	6,02E+09	0,07	2,57E+09	0,05	3,68E+09	0,07	2,73E+09
	0,03	5,37E+09	0,06	2,90E+09	0,05	3,40E+09	0,05	3,83E+09
	0,04	5,02E+09	0,07	2,69E+09	0,06	3,34E+09	0,05	3,75E+09
	0,03	6,38E+09	0,06	2,94E+09	0,06	3,30E+09	0,05	3,64E+09
	0,03	5,33E+09	0,06	2,87E+09				
	0,04	5,21E+09						
průměr	**0,04**	**5,33E+09**	**0,06**	**2,89E+09**	**0,05**	**3,60E+09**	**0,05**	**3,69E+09**
směrod. odch.	0,003299	5,41E+08	0,004251	1,83E+08	0,004066	2,98E+08	0,007775	4,56E+08
v%	9,38	10,16	6,59	6,34	7,83	8,29	15,20	12,36

Tabulka 10 – Výsledky měření vzorku 7 v ohybu

Den měření	6		7		14		20	
	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost	rozdíl hladin	statická tuhost
	D [mm]	E [Pa]	D [mm]	E [Pa]	D [mm]	E [Pa]	D [mm]	E [Pa]
	0,26	6,02E+09	0,28	5,52E+09	0,27	5,80E+09	0,26	5,84E+09
	0,19	7,98E+09	0,32	4,86E+09	0,23	6,74E+09	0,33	4,73E+09
	0,21	7,23E+09	0,32	4,80E+09	0,26	5,98E+09	0,26	5,90E+09
	0,21	7,30E+09	0,23	6,73E+09	0,21	7,21E+09	0,26	5,91E+09
	0,23	6,72E+09	0,21	7,52E+09	0,23	6,82E+09	0,25	6,21E+09
	0,25	6,21E+09	0,24	6,50E+09	0,24	6,52E+09	0,32	4,81E+09
	0,26	6,00E+09			0,21	7,31E+09	0,25	6,11E+09
							0,27	5,76E+09
průměr	**0,23**	**6,78E+09**	**0,27**	**5,99E+09**	**0,23**	**6,62E+09**	**0,28**	**5,66E+09**
směrod. odch.	0,026914	7,56E+08	0,048558	1,10E+09	0,020995	5,75E+08	0,030348	5,66E+08
v%	11,72	11,15	18,30	18,39	8,94	8,67	11,01	10,01

4.4 Tabulky výsledků měření v torzi

Tabulka 11 – Výsledky měření vzorku 1 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	10,7835	19,3	6,14E+08	8,95E+05
	9,1846	20,0	6,56E+08	7,62E+05
	8,7722	19,9	6,54E+08	7,28E+05
průměr	**9,5801**	**19,7**	**6,41E+08**	**7,95E+05**
6	5,4515	17,2	4,87E+08	4,52E+05
	9,9391	15,4	4,55E+08	8,25E+05
	5,5184	17,8	5,18E+08	4,58E+05
	9,2849	16,3	4,41E+08	7,70E+05
průměr	**7,5485**	**16,7**	**4,75E+08**	**6,26E+05**
14	3,8495	8,8	1,26E+08	3,17E+05
	3,2463	9,0	1,31E+08	2,67E+05
	3,2367	12,2	2,43E+08	2,66E+05
	3,1541	8,7	1,23E+08	2,60E+05
průměr	**3,3717**	**9,7**	**1,56E+08**	**2,78E+05**
20	5,4144	18,4	5,53E+08	4,46E+05
	7,0343	17,8	5,17E+08	5,79E+05
	7,4672	17,8	5,16E+08	6,15E+05
	7,1449	18,4	5,52E+08	5,88E+05
	6,9394	18,1	5,33E+08	5,71E+05
průměr	**6,8000**	**18,1**	**5,34E+08**	**5,60E+05**

Tabulka 12 – Výsledky měření vzorku 2 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	4,5261	22,3	1,18E+09	5,47E+05
	5,5005	22,3	1,19E+09	6,64E+05
	4,0115	21,9	1,16E+09	4,85E+05
průměr	**4,6794**	**22,2**	**1,18E+09**	**5,65E+05**
6	5,3952	19,4	8,98E+08	6,52E+05
	6,3343	19,3	8,88E+08	7,65E+05
	6,9299	19,3	8,89E+08	8,37E+05
průměr	**6,2198**	**19,3**	**8,92E+08**	**7,51E+05**
14	7,0232	20,3	9,82E+08	8,48E+05
	5,9281	20,8	1,03E+09	7,16E+05
	6,5543	20,4	1,08E+09	7,92E+05
	5,2369	20,9	1,04E+09	6,33E+05
průměr	**6,1856**	**20,6**	**1,04E+09**	**7,47E+05**
20	4,0360	21,6	1,11E+09	4,87E+05
	3,7689	21,8	1,14E+09	4,55E+05
	4,1035	21,7	1,13E+09	4,96E+05
	4,0137	21,8	1,13E+09	4,85E+05
průměr	**3,9805**	**21,7**	**1,13E+09**	**4,81E+05**

Tabulka 13 – Výsledky měření vzorku 3 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	2,8609	11,3	1,01E+09	1,15E+06
	3,3458	11,3	1,01E+09	1,35E+06
	2,5708	11,5	1,04E+09	1,03E+06
průměr	**2,9258**	**11,3**	**1,02E+09**	**1,18E+06**
6	2,3516	11,0	9,58E+08	9,46E+05
	2,2956	10,8	9,28E+08	9,24E+05
	2,6388	10,9	9,41E+08	1,06E+06
průměr	**2,4286**	**10,9**	**9,42E+08**	**9,77E+05**
14	2,9163	11,1	9,74E+08	1,17E+06
	3,1420	11,2	1,00E+09	1,26E+06
	2,9231	11,2	1,01E+09	1,18E+06
	2,3789	11,2	9,95E+08	9,57E+05
průměr	**2,8401**	**11,2**	**9,94E+08**	**1,14E+06**
20	2,9341	11,5	1,06E+09	1,18E+06
	2,8811	11,4	1,04E+09	1,16E+06
	2,7355	11,0	9,66E+08	1,10E+06
	2,5052	10,8	9,21E+08	1,01E+06
průměr	**2,7640**	**11,2**	**9,95E+08**	**1,11E+06**

Tabulka 14 – Výsledky měření vzorku 4 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	5,5988	15,2	7,47E+08	9,09E+05
	5,9345	15,3	7,56E+08	9,63E+05
	6,1218	15,5	7,69E+08	9,94E+05
průměr	**5,8850**	**15,3**	**7,58E+08**	**9,55E+05**
6	3,4944	14,0	6,26E+08	5,67E+05
	2,9445	14,0	6,25E+08	4,78E+05
	2,6052	14,3	6,52E+08	4,23E+05
průměr	**3,0147**	**14,1**	**6,34E+08**	**4,89E+05**
14	4,7270	13,7	6,02E+08	7,67E+05
	4,0375	14,3	6,57E+08	6,55E+05
	3,4447	14,2	6,43E+08	5,59E+05
	3,8400	14,2	6,48E+08	6,23E+05
průměr	**4,0123**	**14,1**	**6,38E+08**	**6,51E+05**
20	3,2762	13,6	5,98E+08	5,32E+05
	3,6382	13,2	5,55E+08	5,91E+05
	4,3303	13,3	5,65E+08	7,03E+05
	4,5475	12,8	5,27E+08	7,38E+05
průměr	**3,9481**	**13,2**	**5,61E+08**	**6,41E+05**

Tabulka 15 – Výsledky měření vzorku 5 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	6,3971	16,0	6,69E+08	8,46E+05
	5,7701	16,0	6,67E+08	7,63E+05
	6,3533	16,1	6,79E+08	8,40E+05
průměr	**6,1735**	**16,0**	**6,72E+08**	**8,17E+05**
6	2,7600	20,5	1,05E+09	3,48E+05
	3,2445	19,7	9,63E+08	4,09E+05
	3,0176	19,9	9,83E+08	3,81E+05
	3,3438	20,2	1,02E+09	4,22E+05
průměr	**3,0915**	**20,1**	**1,00E+09**	**3,90E+05**
14	2,7548	20,6	1,06E+09	3,47E+05
	2,9877	20,5	1,05E+09	3,77E+05
	3,3317	20,8	1,07E+09	4,20E+05
	2,8072	20,7	1,07E+09	3,54E+05
průměr	**2,9703**	**20,7**	**1,06E+09**	**3,75E+05**
20	4,3632	17,7	7,83E+08	5,50E+05
	4,3768	18,2	8,27E+08	5,52E+05
	4,0896	18,0	8,08E+08	5,16E+05
	3,4105	18,4	8,40E+08	4,30E+05
průměr	**4,0600**	**18,1**	**8,15E+08**	**5,12E+05**

Tabulka 16 – Výsledky měření vzorku 6 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
1	2,9420	10,7	6,34E+08	8,27E+05
	2,8281	11,7	7,55E+08	7,95E+05
	2,5531	11,8	7,69E+08	7,18E+05
průměr	**2,7744**	**11,4**	**7,19E+08**	**7,80E+05**
6	2,8267	12,8	8,89E+08	7,71E+05
	2,6836	12,8	8,80E+08	7,32E+05
	2,5884	13,1	9,20E+08	7,06E+05
průměr	**2,6996**	**12,9**	**8,96E+08**	**7,36E+05**
14	4,8731	12,6	8,64E+08	1,33E+06
	4,8870	12,7	8,68E+08	1,33E+06
	5,1480	12,6	8,57E+08	1,40E+06
	5,7220	12,6	8,61E+08	1,56E+06
průměr	**5,1575**	**12,6**	**8,63E+08**	**1,41E+06**
20	3,1303	12,7	8,66E+08	8,53E+05
	3,7427	12,6	8,61E+08	1,02E+06
	3,4302	12,6	8,53E+08	9,35E+05
	3,3509	12,5	8,39E+08	9,13E+05
průměr	**3,4135**	**12,6**	**8,55E+08**	**9,31E+05**

Tabulka 17 – Výsledky měření vzorku 7 v torzi

Den měření	kmitavá složka		vypočtené hodnoty	
	tlumení amplitud	**průměrná frekvence**	**dynamický modul**	**viskozita**
	K	**F_{mean}**	**G [Pa]**	**η [Pa.s]**
6	2,7637	8,0	8,68E+08	1,88E+06
	2,7749	8,1	8,92E+08	1,89E+06
	2,1113	8,3	9,31E+08	1,44E+06
	2,9764	8,2	9,09E+08	2,03E+06
	2,1076	8,1	8,91E+08	1,44E+06
průměr	**2,5468**	**8,2**	**8,98E+08**	**1,74E+06**
14	1,4724	8,0	8,72E+08	1,00E+06
	1,5192	8,1	8,78E+08	1,04E+06
	1,5445	8,1	8,76E+08	1,05E+06
	1,5228	8,0	8,68E+08	1,04E+06
průměr	**1,5147**	**8,1**	**8,73E+08**	**1,03E+06**
20	1,4862	7,7	7,94E+08	1,01E+06
	1,5427	7,7	8,01E+08	1,05E+06
	1,4912	7,7	8,07E+08	1,02E+06
	1,5694	7,7	8,03E+08	1,07E+06
průměr	**1,5224**	**7,7**	**8,01E+08**	**1,04E+06**

5 Diskuze

Míra vlivu dlouhodobého skladování na biomechanické vlastnosti vzorků kostí není dosud ve vetší míře všeobecně popsána, navíc způsobů uchovávání vzorků je nepřeberné množství, a tak pro pracoviště zabývající se tímto typem měření se jeví nejvýhodnější provést měření vlastní. Tím pracoviště získá informaci s největší výpověďní hodnotou, neboť si pro měření může zvolit přesně tentýž typ vzorku, o stejných rozměrech, procházející stejnými procedurami, uchovávaný ve stejném médiu, při stejné teplotě, měřený na tomtéž přístroji atd. jako běžné vzorky.

Podobnou otázkou jako my se zabývali i Ohman C., Dall'Ara E., Baleani M., Van Sint Jan S. a Viceconti M. z ortopedického institutu Rizzoli v Bologni *(15).* Zjišťovali, jak dlouho lze uchovávat vzorky z diafýz lidských kompaktních femorálních kostí konzervováním v roztoku s 4% formalínem, aniž by byly ovlivněny jejich mechanické vlastnosti. Pokus pobíhal 8 týdnů, vzorky byly přeměřeny na začátku, po 48 hodinách, po 4 týdnech a na konci. Po 8 týdnech naměřili pokles Youngova modulu o 24%, vzrůst deformace na mezi kluzu o 20% a deformace na mezi pevnosti o 53%. V tvrdosti, mezi pružnosti ani v mezi pevnosti nezaznamenali žádné rozdíly. Uchovávání vzorků v tomto konzervačním roztoku po dobu maximálně 4 týdnů shledali jako zajímavou alternativu, pokud pro měření není možné sehnat vzorky čerstvé nebo čerstvě zmražené.

Na oddělení ortopedické chirurgie VU University Medical Center v Amsterdamu zase zkoumali vliv dlouhodobého sladování vzorků z kozích femorálních a humorálních kostí *(20)*. Vzorky byly uchovávány v roztoku formalínu či zamražením po dobu jednoho roku. Měření prováděli v torzi a ohybu, ale zhodnotili také vliv na hustotu kostní hmoty a tvrdost. Ani po jednom roce nezaznamenali žádné statisticky významné rozdíly Youngova modulu pružnosti, pevnosti, absorpce energie ani kostní hustoty při srovnání ve formalínu fixovaných či zmražených vzorků se vzorky čerstvě získanými.

Vliv skladování na mechanické vlastnosti pozoroval i tým na ortopedickém oddělení fakultní nemocnice v Singapuru *(7)*. Měl k dispozici vzorky femorálních a humerálních kostí z 48 koček, jejichž část skladovali při teplotě -20°C a další část v 1O% pufrovaném formalínu po dobu 21 dní. U zmražených vzorků nezaznamenal žádné změny mechanických vlastností, zatímco vzorky uchovávané ve formalínu jevily 50% pokles absorpce energie a zvýšenou křehkost.

Jak je vidět i z příkladů výše, naprostá většina mnou nalezených článků se týkala uchovávání vzorků zmražením nebo v roztocích formalínu, přičemž autoři získávali diametrálně odlišné výsledky. Jeden tým např. po osmitýdenním skladování vzorků ve formalínu naměřil pokles Youngova modulu o 24% *(15)*, zatímco tým druhý ani po ročním skladování nenaměřil žádné statisticky významné rozdíly Youngova modulu pružnosti *(20)*. Zde bych pro srovnání uvedla i náš výsledek, kde po třítýdenním

skladování vzorků ve fyziologickém roztoku při 4-6°C průměrný pokles hodnot Youngova modulu činil 38 %.

6 Závěr

Sedm vzorků získaných z mandibuly prasete domácího jsme skladovali při teplotě 4-6°C ve fyziologickém roztoku po dobu 20 dnů. Vždy po 6-7 dnech skladování jsme provedli u každého vzorku měření přechodové a impulsní charakteristiky pro zjištění Youngova modulu, dynamického modulu a viskozity. Naše měření ukázala, že skladování vzorků kostí má vliv na některé jejich mechanické vlastnosti - konkrétně jsme zaznamenali po třítýdenním skladování pokles hodnot Youngova modulu o 38%, ale u viskozity a dynamického modulu jsme žádné tendence nepozorovali. Aby bylo možné vytvořit z těchto pokusů závěry, bylo by nutné měření zopakovat, vhodně doplnit a rozšířit. Zároveň by stály za úvahu drobné úpravy aparatury, a to jak pro ohyb, tak pro torzi, a zvážení dostatečné citlivosti metod.

U aparatury pro ohyb činilo problémy kulovité zakončení sondy, která sklouzávala po zatížení závažím po nerovných vzorcích na stranu, a tím výrazně zkreslovala měření průhybu vzorků. Zároveň je otázkou, zda je skutečně uváděná citlivost metody 0,05 mm dostačující, když při srovnání první a poslední série měření se rozdíly hladin, tj. maximální rozdíly, u 6 vzorků ze 7 pohybovaly v rozmezí 0,01 až 0,05 mm.

U aparatury pro torzi by bylo vhodné upravit systém upínání setrvačníku na vzorek, neboť se v něm vzorek viklal a po vložení impulsu síly na okraj setrvačníku se spíše hýbal samotný setrvačník, než aby rozkmitával uchycený vzorek.

7 Seznam použité literatury a zdrojů:

1. Amtmann E., Schmitt H.P.: *Über der Verteilung der Corticalisdichte im menschlichen Femurschaft und ihre Bedeutung für die Bestimmung der Knochenfestigkeit.* Z. Anat. Entwicklungsgesch, 1968, s.25. Převzato z Valenta et al., 1985.

2. Ďoubal S., Horáčková I.:*Vybrané kapitoly z biofyziky pro studijní program zdravotnická bioanalytika.* Katedra biofyziky a fyzikální chemie UK, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, s.87-96.

3. Ďoubal S., Klemera P., Kuchařová M., Lamka J., Semecký V.: *Dynamika deformační reakce cévních stěn na mechanické zatížení – mechanika měření in vitro, lineární a nelineární modely.* Lékař a technika, 2004, roč.35, č.6, s.135-141.

4. Ďoubal S., Klemera P.: *Aparatura pro měření mechanických parametrů viskoelastických těles.* Plzeň. lék. sborn. 67, 2001, s.41-47.

5. Ďoubal S.:*Reologické modely biologických materiálu – identifikace a výpočet parametrů.* Lékař a technika, 2000, roč.31, č.2, s.50-51.

6. Evans F.G.: *Stress and strain in bones. The relation to fractures and osteogenesis.* C.C.Thomas Publisher, Springfield 1957. Převzato z Valenta et al., 1985.

7. Goh J.C., Ang E.J., Bose K.: *Effect of preservation medium on the mechanical properties of cat bones*. Acta Orthopedica Scand., srpen 1989, roč. 60, č.4, s. 465-7. Abstrakt databáze Pubmed

8. Hülsen K.K.: *Specific gravity, resilience and strenght of bone.* Bull. Biol. Lab. (St. Petersburg) 1, 1896, str.7. Převzato z Valenta et al., 1985.

9. Kazarian L.E., von Gierke H.E.: *Bone loss as a result of immobilization and chelation: Preliminary results in macaca mulatta.* Clin. Orthop.65, 1969, s.67. Převzato z Valenta et al., 1985.

10. Knets I.V., Pfafrod G.O., Saulgozis J.Ž*.: Deformirovanie i razrušenie tverdych biologičeskich tkanej*. Zinatne, Riga, 1980. Převzato z Valenta et al., 1985.

11. Ko R.: *The tension test upon the compact substance of the long bones of human extremities.* J.Kyoto. Pref. Med. Univ. 53, 1953, s.291. Převzato z Valenta et al., 1985.

12. Kummer B.: Biomechanics of bone: *Mechanical properties, functional structure, functional adaptation*. In:Biomechanics. Its foundations and objectives. Ed. by Y.C.Fung, N. Perrone, M.Anliker. Prentice Hall, Englewood Cliffs 1972. Převzato z Valenta et al., 1985.

13. Mc Elhaney J., Byars E.F.: *Dynamic response of biological materials.* ASME Paper, N65-WA/HUF-9, 1965, str.8. Převzato z Valenta et al., 1985.

14. Mc Elhaney J.: *Dynamic response of bone and muscule tissue.* J. Appl. Physiol. 21, 1966, s.1231. Převzato z Valenta et al., 1985.

15. Ohman C., Dall'Ara E., Baleani M., Van Sint Jan S., Viceconti M*.: The effects of embalming using a 4% formalin solution on the compressive mechanical properties of human cortical bone.* Clinical Biomechanics, prosinec 2008, roč.23, č.10, s.1294-1298. Abstrakt databáze Pubmed.

16. Roux W.: *Gesammelte Abhandlungen über Entwicklungsmechanik der Organismen.* Engelmann, Leipzig, 1985. Převzato z Valenta et al., 1985.

17. Sedlin E. D.: *A rheology model for cortical bone.* Acta Orthopaed Scan. 83, 1965, s.77. Převzato z Valenta et al., 1985.

18. *Tlumené kmitání* [online]. Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Tlumen%C3%AD

19. Valenta J. a kol.: *Biomechanika*. Academia Praha, 1985.

20. van Haaren E.H., van der Zwaard B.C., van der Veen A.J., Heyligers I.C., Wuisman P.I., Smit T.H.: *Effect of long-term preservation on the mechanical properties of cortical bone in goats.* Acta Orthopaedica, říjen 2008, roč.79, č.5 , s.708 – 716. Abstrakt databáze Pubmed.

21. Zasypkin V. V., Matvejčuk I.V., Bogatov V.N., Loščilov V.O.: *Vlijanie formy i razmerov obrazcov na mechaničeskije pokazateli i charakter razrušenija kostnoj tkani pri ispytanii na sžatie*. Mechanika polimerov, 1977, č.3, s.553. Převzato z Valenta et al., 1985.