
FAKULTA STROJNÍ
Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky



Bakalářská práce

Viskoelastické vlastnosti lidské kolenní
chrupavky

Autor: Vojtěch Černý

Vedoucí práce: Ing. Josef Šepitka, Ph.D.

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: Černý Jméno: Vojtěch Osobní číslo: 483266
Fakulta/ústav: Fakulta strojní
Zadávající katedra/ústav: Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky
Studijní program: Teoretický základ strojního inženýrství
Studijní obor: bez oboru

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Viskoelastické vlastnosti lidské kolenní chrupavky

Název bakalářské práce anglicky:

Viscoelastic properties of human knee cartilage

Pokyny pro vypracování:

1. Kritická rešerše (klíčová slova: knee cartilage, mechanical properties)
2. Příprava a provedení nanoindentačního experimentu
3. Analýza a interpretace naměřených dat

Seznam doporučené literatury:

1. Fischenich, K.M. et al. Human articular cartilage is orthotropic where microstructure, micromechanics, and chemistry vary with depth and split-line orientation. *Osteoarthritis and Cartilage*. 28 (2020) 1362-1372.
2. Oliver, W.C.; Pharr, G.M. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*. 7 (1992) 1564-1583.
3. Syed Asif, S.A.; Wahl, K.J. and Colton, R.J. Nanoindentation and contact stiffness measurement using force modulation with a capacitive load-displacement transducer. *Review of Scientific Instruments*. 70 (1999) 2408-2413.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) bakalářské práce:

Ing. Josef Šepitka, Ph.D., FS, ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky

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

Datum zadání bakalářské práce: 06.04.2021

Termín odevzdání bakalářské práce: 13.08.2021

Platnost zadání bakalářské práce: _____

Ing. Josef Šepitka, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce

doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student bere na vědomí, že je povinen vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v bakalářské práci.

Datum převzetí zadání

Podpis studenta

Anotační list

Jméno autora: Vojtěch Černý

Vedoucí práce: Ing. Josef Šepitka, Ph.D.

Název bakalářské práce: Viskoelastické vlastnosti lidské kolenní chrupavky

English title: Viscoelastic properties of human knee cartilage

Rok: 2021

Studijní program: Teoretický základ strojního inženýrství

Ústav: Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky

Bibliografické údaje:

Počet stran: 58

Počet obrázků: 44

Počet tabulek: 1

Počet příloh: 4

Anotace:

Tato bakalářská práce se zabývá analýzou viskoelastických vlastností lidské kolenní chrupavky z dat získaných během experimentu provedeného pomocí dynamické nanoindentace. Rešeršní studie charakterizuje strukturu či složení chrupavky a je zde popsán analytický model, jež byl zvolen pro výpočet storage modulu, loss modulu a tangens delta. Výsledky ukazují, že vyhodnocené parametry jsou závislé na vzdálenosti od povrchu chrupavky, směru daných rovin a frekvenci.

Klíčová slova:

Viskoelastické vlastnosti, lidská kolenní chrupavka, dynamická mechanická analýza, nanoindentace

Abstract:

This bachelor thesis deals with analysis of the viscoelastic mechanical properties of human knee cartilage from data obtained during dynamic nanoindentation experiment. The review characterizes structure and composition of the tissue and analytical model used for calculations of storage modulus, loss modulus and tangens delta. Results show depth, directional and frequency dependence.

Keywords:

Viscoelastic properties, human knee cartilage, dynamic mechanical analysis, nanoindentation

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci na téma Viskoelastické vlastnosti lidské kolenní chrupavky vypracoval samostatně a použil jsem pouze prameny a literaturu uvedené v seznamu bibliografických záznamů. Nemám závažný důvod proti zpřístupňování této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

Datum:

Podpis:

Vojtěch Černý

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval panu Ing. Josefu Šepitkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné připomínky, lidský přístup a především pak za čas, který mi během tvorby této práce věnoval. V neposlední řadě děkuji celé své rodině za podporu během celého studia.

OBSAH

Seznam symbolů a zkratek	6
1 Úvod	7
2 Rešeršní studie	8
2.1 Anatomie kolenního kloubu	8
2.2 Anatomie chrupavky	10
2.2.1 Histologie	11
2.2.2 Chemické složení	12
2.2.3 Patologické problémy	12
2.3 Mechanické vlastnosti kolenní chrupavky	13
2.4 Indentační mechanická analýza	17
2.5 Dynamická nanoindentace	20
3 Cíle práce	24
4 Použité metody	25
4.1 Příprava vzorku	25
4.2 Nanoindentace	26
4.3 Analýza dat.....	27
5 Výsledky	28
5.1 Redukovaný modul pružnosti a kontaktní tlak.....	28
5.2 Storage modul.....	29
5.3 Loss modul.....	33
5.4 Tangens delta.....	36
6 Diskuse.....	39
7 Závěr	45
8 Seznam použité literatury	46
Přílohy.....	I

Seznam symbolů a zkratek

P	Zatížení	E'	Storage modul
h	Indentační hloubka	E''	Loss modul
H	Tvrдость	$\tan\delta$	Tangens delta
P_{max}	Maximální zatížení	F	Budící síla
A	Kontaktní plocha	F_0	Amplituda síly
h_c	Kontaktní hloubka	ω	Frekvence kmitání
h_{max}	Maximální hloubka	X	Amplituda posunutí
h_s	Hloubka posuvu	ϕ	Fázový posun
ϵ	Geometrická konstanta hrotu	K_s	Kontaktní tuhost
S	Kontaktní tuhost	C_s	Kontaktní tlumení
C_n	Geometrické konstanty indentoru	K_i	Tuhost podpěrné pružiny
E_r	Redukovaný modul pružnosti	m	Hmotnost hrotu
E	Youngův modul pružnosti	C_i	Tlumení indentoru
ν	Poissonovo číslo	K	Kombinovaná tuhost
		β	Úhel geometrie hrotu
OA	Osteoartritida		
ChS	Chondroitinsulfát		
DMA	Dynamická mechanická analýza		
PBS	Fosfátový pufr		

1 Úvod

Podobně jako třeba dýchání, tak i pohyb bere člověk v podstatě jako automatickou věc, avšak ve skutečnosti se jedná o velice komplikovanou záležitost. Pohyb jako takový je zajištěn dokonalou souhrou mnoha prvků. Jedním z těchto prvků je pak i kolenní kloub, z fyziologického hlediska velice komplexní soustava tvořící nejsložitější kloub v lidském těle. S věkem se však mohou objevit různá onemocnění kloubů a s tím spojené komplikace omezující zdravý pohyb. [1]

Nejčastějším kloubním onemocněním je osteoartritida, která postihuje nemalou část populace. Jedná se o degenerativní onemocnění, kdy s přibývajícím věkem dochází k opotřebení chrupavky, jež pokrývá styčné plochy kostí. Při pokročilejších fázích osteoartritidy je pak nutná celková plastika kloubu, jelikož původní kolenní kloub již není schopen plnit svou původní funkci, navíc je to velmi bolestivé. [1], [4]

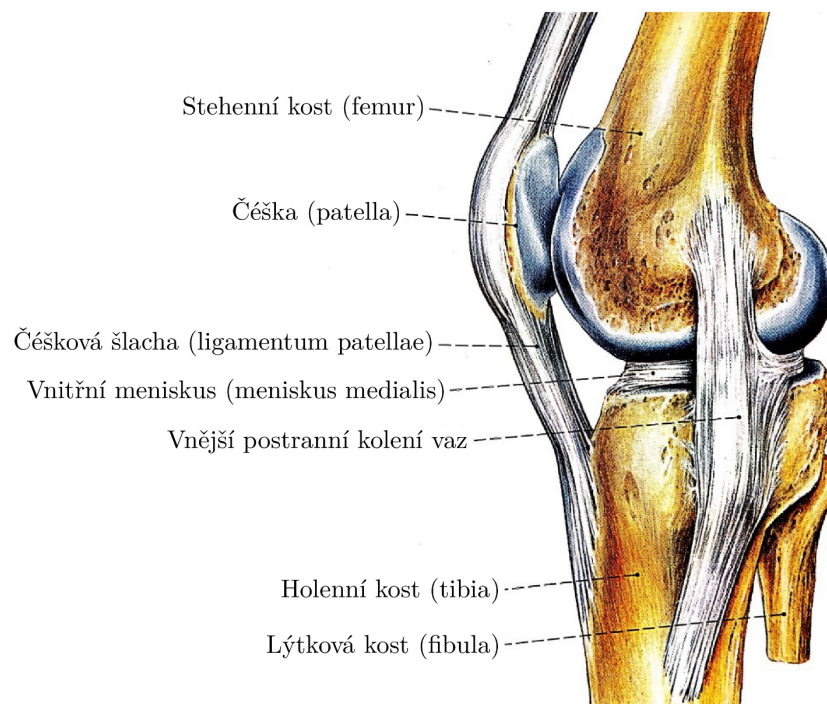
Existují různé možnosti lékařských zákroků, kupříkladu autologní implantace chondrocytů, technika mikrofraktury či tzv. mozaiková plastika. Tyto zákroky jsou však velmi komplikované a výsledné dopady nemoci spíše oddalují. Zde přichází na řadu nové technologie jako například 3D tisk biologických tkání, kde jsme schopni přímo z buněk dané chrupavky vytisknout požadovanou tkáň ke konkrétnímu zonálnímu použití. Oproti celkové plastice kloubu se jedná o znatelně méně invazivní zákrok a zároveň je zde minimální riziko, že tělo tkáň odmítne. Tato technologie již umožňuje vytvářet heterogenní materiál jako je třeba právě kolenní chrupavka, avšak pro umělou tvorbu takovýchto materiálů je nutno znát jejich detailní strukturu, složení a mechanické vlastnosti. V tuto chvíli však není k dispozici dostatečné množství naměřených dat, která by popisovala právě to, jak se mění struktura, složení a mechanické vlastnosti v závislosti na hloubce a směru, a to vše v měřítku relevantnímu k velikosti jednotlivých buněk. [3], [4]

Cílem této bakalářské práce je charakterizovat mechanické viskoelastické vlastnosti lidské kolenní chrupavky pomocí dynamické nanoindentace. Tento výstup pak bude možné aplikovat pro další rozvoj například v již zmíněné technologii 3D tisku, ale třeba i v tkáňovém inženýrství nebo matematickém modelování.

2 Rešeršní studie

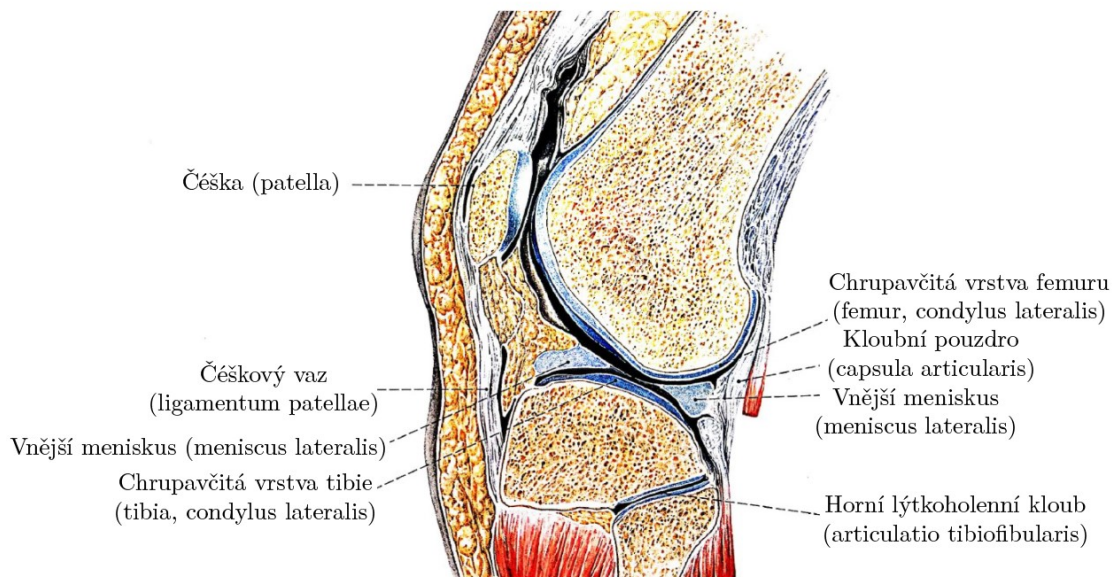
2.1 Anatomie kolenního kloubu

Koleno je nejkomplicovanějším kloubem v lidském těle. Jedná se o složený kloub, ve kterém se stýkají kost stehenní (*femur*), kost holenní (*tibia*) a česka (*patela*). Mezi styčné plochy femuru a tibie jsou pak vloženy kloubní menisky [1]. Viz Obr. 1.



Obrázek 1 - Pravý kolenní kloub v pohledu ze středu těla (převzato z [1])

Spodní část stehenní kosti se dělí na dvě hlavice (tzv. mediální a laterální kondyl), které doléhají na horní část kosti holenní, kde se nachází dvojitá kloubní jamka. Konce těchto kostí jsou pokryty chrupavkou. Přejít mezi kloubními plochami zajišťují menisky, což jsou chrupavčité destičky, které napomáhají rovnoměrnému přenosu zatížení. Viz Obr. 2. Stabilizaci kolenního kloubu pak zajišťují okolní svaly a soustavy šlach. [1], [2]



Obrázek 2 - Podélný řez pravého kolenního kloubu (převzato z [1])

Kloubní pouzdro

Jedná se o vazivovou tkáň, která obklopuje kloubní dutinu (Obr. 2). Na patele a tibii je upnuta na okrajích kloubních ploch, na femuru pak o něco dále. Vnitřní vrstvu kloubního pouzdra tvoří synovium, což je blána, která produkuje synoviální tekutinu. [2]

Meniskus

Meniskus je vazivový chrupavčitý útvar, který funguje jako jakýsi tlumič mezi sousedními kostmi. V každém koleni se nachází dva – meniskus medialis a lateralis, viz Obr. 2. [1]

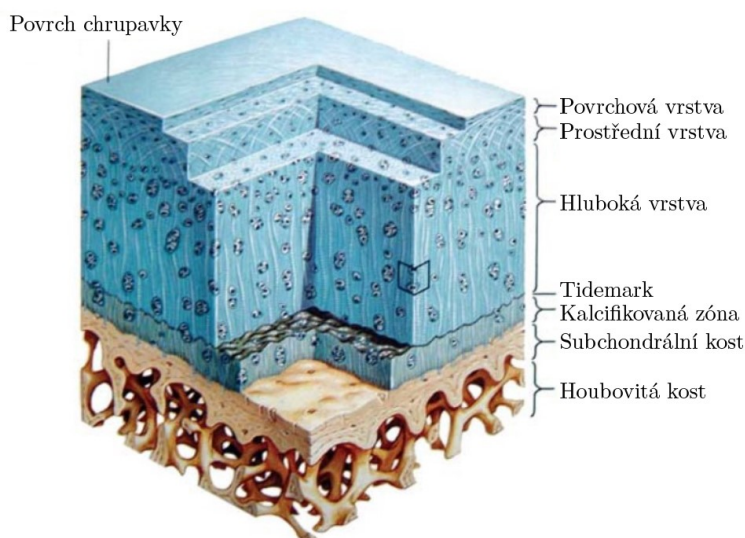
Synoviální tekutina

Vnitřní dutinu kloubního pouzdra vystýlá membrána synovialis, jenž do nitra kloubu produkuje kloubní maz, tzv. synoviální tekutinu. Je to čirá tekutina, která zvyšuje skluznost styčných ploch a jejíž hlavní složkou je kyselina hyaluronová, která má velký význam pro výživu hyalinní chrupavky. [2]

2.2 Anatomie chrupavky

Chrupavka je pevná pojivová tkáň sloužící k minimalizaci tření přiléhajících kloubních ploch. Jedná se o porézní materiál, který má bifázový charakter. Skládá se z chondrocytů, což jsou speciální buňky v chrupavce, které vytvářejí extracelulární hmotu složenou z fibril (elastická a kolagenní vlákna) a zrnité látky. Na povrchu chrupavky se nachází perichondrium, což je vazivová vrstva obsahující cévy, jež zajišťují výživu samotné chrupavky, která jako taková obsahuje cév naprosté minimum, nebo zcela chybí a má tak velmi omezené regenerační vlastnosti. Podle množství chondrocytů, extracelulární hmoty a zastoupení jednotlivých vláken rozdělujeme chrupavky na hyalinní, vláknité a elastické. [1], [2], [9]

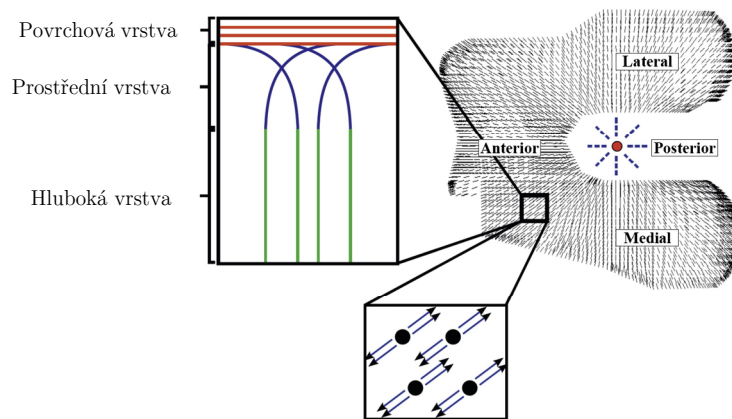
Kloubní chrupavku styčných ploch femuru a tibie tvoří chrupavka hyalinní, která se vyznačuje polotransparentním sklovitým vzhledem, výskytem tenkých kolagenních vláken, které jsou za normálních okolností neviditelné, a hlavně absencí perichondria, což značně omezuje její regenerační schopnosti. Kloubní chrupavka tak musí být vyživována zvenčí, což je zajištěno převážně difuzí látek ze synoviální tekutiny. Množení chondrocytů v kloubní chrupavce je pak ukončeno s růstem kostí člověka. Pokud se k tomu navíc přidá velmi omezená regenerační schopnost, tak lze říct, že po konci adolescentního období chrupavka už jen postupně degraduje, s čímž souvisí různé komplikace jako třeba osteoartritida. Samotnou hyalinní kloubní chrupavku lze pak rozdělit do tří vrstev: povrchová, prostřední a hluboká. (Obr. 3). Tyto vrstvy se odlišují rozdílnou histologickou stavbou či různou koncentrací chemických prvků. Mezi kostí a hlubokou vrstvou se nachází tzv. kalcifikovaná zóna. [2], [3]



Obrázek 3 - Vyobrazení vrstev hyalinní chrupavky (převzato z [9])

2.2.1 Histologie

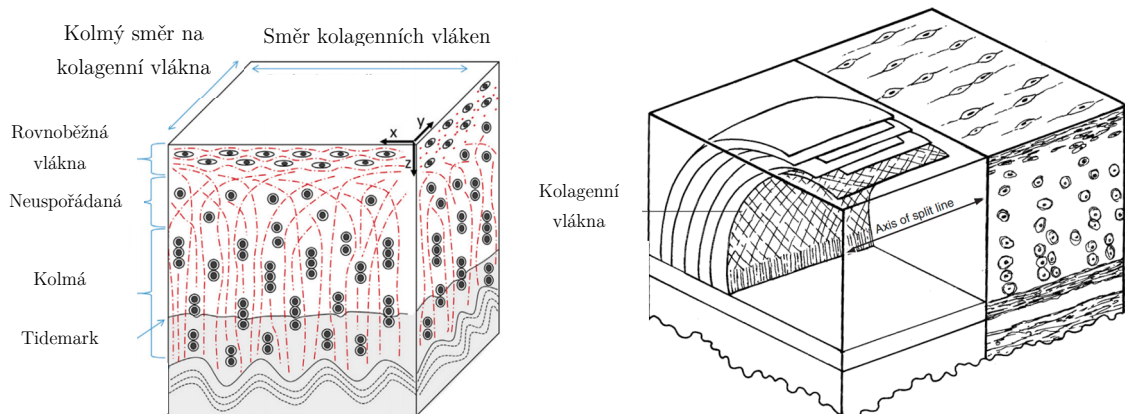
Povrchová, prostřední a hluboká vrstva jsou charakterizovány mimo jiné odlišným množstvím a různou orientací kolagenních fibril. V hlubších vrstvách chrupavky tvoří kolagenní vlákna silnější snopce, které jsou kolmé k povrchu, avšak v povrchovějších vrstvách se tyto fibrily dělí na tenčí svazky, jež postupně zahýbají, až nakonec probíhají paralelně s povrchem chrupavky. Benninghoff jako první popsal tyto útvary jako arkádové struktury (Obr. 4, Obr. 5). [2], [3], [5], [6]



Orientace kolagenních fibril na povrchu

Obrázek 4 - Benninghoffovy arkádové struktury a vyobrazení split-lines (převzato z [20])

Tím, jak vlákna probíhají paralelně s povrchem chrupavky, tak definují tzv. split-lines, které se sbíhají do středového bodu mezi laterálním a femorálním kondylem. [20], [21]

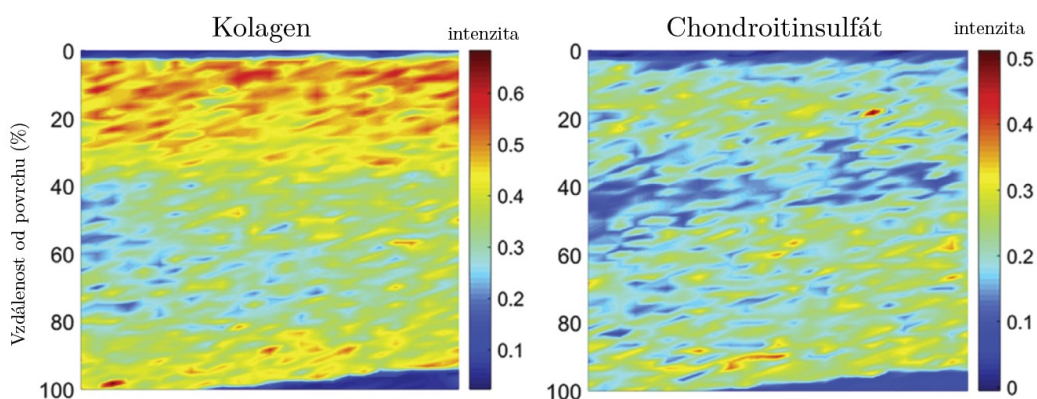


Obrázek 5 - Orientace kolagenních vláken v závislosti na hloubce (převzato z [21])

Tato specifická síť kolagenních vláken tak dokáže díky svému tvaru lépe rozkládat zatížení, kterému je povrch chrupavky vystaven. Jedná se tudíž o klíčovou vlastnost, která je nezbytná pro celkovou mechanickou a fyziologickou funkčnost chrupavky. [2], [3], [5]

2.2.2 Chemické složení

Mimobuněčná hmota se kromě vody, která tvoří přibližně 60-80% skládá především z proteoglykanů, jako je například chondroitinsulfát, a kolagenu typu II. Důležitým poznatkem je, že chondrocyty v reakci na mechanické zatížení exprimují látky do extracelulární hmoty a ty pak ovlivňují mechanické vlastnosti chrupavky. Celkově pak lze říct, že chemické složení se mění s hloubkou, kdy kolagen se vyskytuje ve všech vrstvách, nejvíce pak blíže k povrchu, kdežto množství chondroitinsulfátu se naopak zvyšuje se zvětšující vzdáleností od povrchové vrstvy chrupavky. Viz Obr. 6. [2], [3]

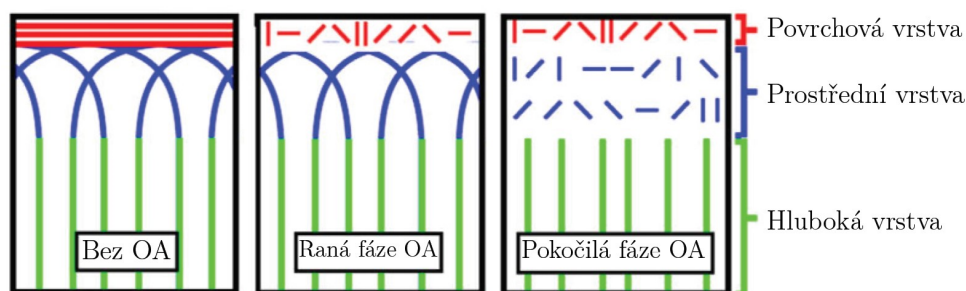


Obrázek 6 - Relativní podíl kolagenu a chondroitinsulfátu (ChS) v závislosti na hloubce (převzato z [3])

2.2.3 Patologické problémy

Jedním z nejzávažnějších problémů je artritida, což je zánětlivé onemocnění kloubů. Jejím nejčastějším typem je pak tzv. osteoartritida (OA), jež je způsobena právě degenerací chrupavky. Kolenní klouby jsou mechanicky velice namáhány a jelikož chodíme vzpřímeně, tak navíc nesou většinu tělesné hmotnosti. Do jisté míry se jedná o zcela přirozený proces způsobený stárnutím, povrch chrupavky se totiž kvůli namáhání postupem času zdrsňuje, tření u kloubních ploch je tím pádem větší, tloušťka chrupavky se tak zmenšuje a v některých místech může zcela zmizet, čímž přestává plnit svou funkci. Až v této fázi začíná většina pacientů pociťovat výrazné bolesti, jelikož chrupavka není inervovaná a zároveň neobsahuje uhličitán vápenatý, takže její úbytek není na první pohled vidět ani na rentgenových snímcích. S celkovou degradací chrupavky pak přímo souvisí i poškození již zmiňovaných arkádových struktur, jelikož pak dochází

k výraznému zhoršení mechanických vlastností. Viz jednoduché schéma na Obrázku 7. [1], [2], [5], [6]



Obrázek 7 - Schéma degenerace arkádových struktur v různých fázích osteoartritidy (převzato z [6])

Příčiny osteoartritidy jako takové nelze léčit, naopak je zde mnoho faktorů jako třeba nadměrná váhová zátěž při každodenní činnosti či nadváha, které mohou celý proces degenerace ještě značně urychlit. I přesto, že existují různé, stále se zdokonalující způsoby lékařských zákroků, tak jejich výstupy spíše jen oddalují výsledné dopady nemoci a v krajním případě musí dojít k umělé plastice celého kloubu. Dnes se však dostávají ke slovu nové technologie, které by mohly léčbu nejen osteoartritidy zcela změnit. Jedná se například o aditivní metodu 3D tisku biologické tkáně, která by umožnila tisk heterogenního materiálu, jako je právě kloubní chrupavka, přímo z buněk chrupavky – chondrocytů. Oproti celkové plastice kloubu se jedná o výrazně méně invazivní metodu a zároveň se v podstatě eliminuje možnost odmítnutí tkáně. V tuto chvíli tak již nejsme limitováni dostupnými technologiemi, nýbrž nedostatečným porozuměním specifických tkání jako je právě kolenní chrupavka, jelikož pro umělou tvorbu takovýchto materiálů je nutné znát jejich složení, strukturu i mechanické vlastnosti – to vše v měřítku relevantnímu k velikosti jednotlivých buněk. [2], [3], [5]

2.3 Mechanické vlastnosti kolenní chrupavky

Znalosti materiálových vlastností v oblasti kloubních chrupavek zaznamenaly v posledních desítkách let významný posun, který lze hezky ilustrovat na postupném zdokonalování způsobů experimentálního měření mechanických vlastností chrupavky, kdy první studie se zabývaly převážně měřením mechanických vlastností v makro měřítku povětšinou pomocí tlakových zkoušek. S postupným zdokonalováním technologií docházelo i k prohlubování znalostí z oblastí histologie či chemie a začalo tak být zřejmé, že pro adekvátní popis chrupavky je zapotřebí se zaměřit na vlastnosti v mikro až nano měřítku, nejčastěji pomocí indentace. [8]

V rámci co možná nejpřesnějšího porovnání jsou v Tabulce 1 uvedeny studie, které se zabývaly vyhodnocováním mechanických vlastností u lidských vzorků z kondylu femuru.

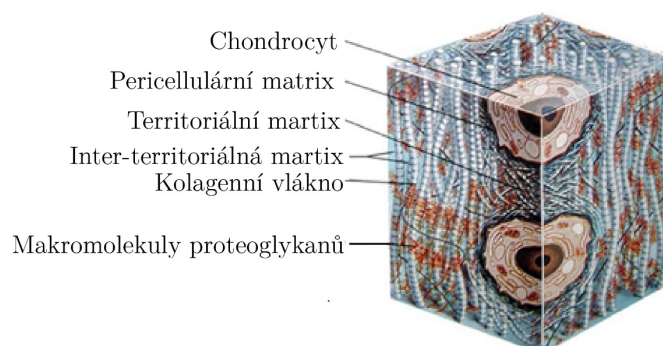
Tabulka 1 - Moduly pružnosti získané z indentace u studií zaměřených na kondyl femuru (vzorky v nativní formě, lubrikovány)

Autor	Způsob testování	Modul pružnosti [Mpa]
<i>Shepherd, Seedhorn et al (1997)</i>	Indentace hrot 1,59 mm	2,6 - 18,6
<i>Franz et al. (2001)</i>	Indentace hrot 1 mm	4,3 - 4,9
<i>Wilusz, Zauscher et al. (2013)</i>	Nanoindentace hrot 5 μ m	0,1 - 0,5
<i>Wang et al. (2013)</i>	Mikroindentace hrot 40 nm	0,2 - 0,6
<i>Antons et al. (2018)</i>	Nanoindentace hrot 500 μ m	0,02 - 6,44
<i>Fischenich et al. (2020)</i>	Nanoindentace hrot 250 μ m	0,2 - 9,8

Většina studií, hlavně těch z 20. století zkoumala mechanické vlastnosti měřené v makroměřítku od povrchu chrupavky, příkladem je třeba *Shepherd, Seedhorn et al. (1997)*, kde byl naměřen modul pružnosti v rozmezí 2,6 až 18,6 MPa. Další práce jako *Wilusz, Zauscher et al. (2013)* nebo *Wang et al. (2013)* se sice již posouvaly k blíže k mikroměřítku, avšak stále nebraly v potaz ortotropní charakter chrupavky. S nastupujícím 3D tiskem biologických tkání bylo zřejmé, že pokud se bude chtít tato technologie využít právě k tisku chrupavky, bude zapotřebí popsat to, jak se mění nejen mechanické, ale veškeré materiálové vlastnosti s hloubkou a směrem v nanoměřítku, jelikož 3D tisk je aditivní technologie, kdy se na sebe skládá vrstva po vrstvě. A právě to, jak se mění modul v pružnosti v jednotlivých vrstvách chrupavky popisuje *Antons et al. (2018)*, kdy v povrchové vrstvě byly zjištěny nejmenší hodnoty $0,02 \pm 0,003$ MPa, kdežto hodnoty v blízkosti kalcifikované vrstvy byly řádově vyšší, konkrétně $6,44 \pm 1,02$ MPa. Výsledky studie *Fischenich et al. (2020)* pak popisují nejen změny modulů pružnosti v závislosti na hloubce, ale také na směru, čímž se potvrzuje ortotropní charakter a tuto studii tak lze brát jako nejaktuálnější referenci. [3], [10], [11], [12], [13], [14]

Důležitým vývojem prošly i teoretické modely popisující právě mechanické vlastnosti, kdy například vůbec první modely předpokládaly elastické chování a celkový izotropní charakter. Postupným vývojem se došlo až k poroviskoelastickému ortotropnímu bifázovému modelu. Volba vhodného teoretického modelu je velmi důležitá, především pak v matematickém modelování, pokud jsou mechanické vlastnosti chrupavky vyhodnocovány pomocí metody konečných prvků. Při experimentálních měřeních je zároveň důležité zohlednit věk dárců a hlavně stav zkoumané chrupavky - tedy to, jestli daná chrupavka byla poznamenána osteoartritidou či nikoliv, případně zda-li se jedná o ranou či pokročilejší fázi nemoci. Degradace mechanických vlastností totiž přímo souvisí s degenerací chrupavky. [7], [8], [9]

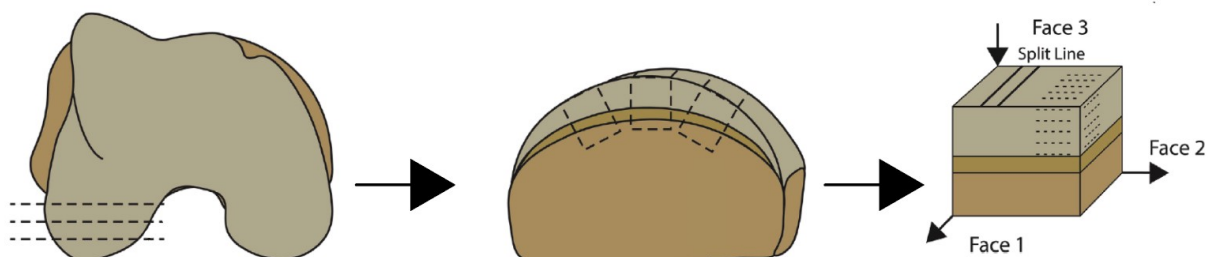
Detailní analýza mechanických vlastností je tak klíčová nejen pro problematiku léčby kloubních chrupavek, ale pro celkový popis funkčnosti takto komplexní tkáně. Z provedených experimentů je tedy již patrné, že se jedná o ortotropní materiál, což znamená, že mechanické vlastnosti se mění s hloubkou a směrem, to samé platí i pro chemické složení či histologickou stavbu. Chrupavka má bifázový charakter a jedná se zároveň o porézní materiál, jež je popsán pomocí permeability k , která určuje to, jak lehce tekutina póry protéká. Právě pohyb vody skrze póry v extracelulární hmotě významně přispívá k tlumícím vlastnostem, umožňuje deformaci chrupavky v reakci na dané mechanické zatížení a celkově tak hraje klíčovou roli u viskoelastických vlastností kloubní chrupavky. Voda se drží v chrupavce díky tomu, že ji na sebe vážou makromolekuly proteoglykanů, které jsou připojeny ke kolagenu, čímž tvoří porézní strukturu (Obr. 8). Velmi důležité jsou i arkádové struktury z kolagenních vláken zajišťující celkovou mechanickou odolnost a distribuci působícího napětí. [3], [7], [9]



Obrázek 8 - Porézní charakter extracelulární hmoty chrupavky (převzato z [9])

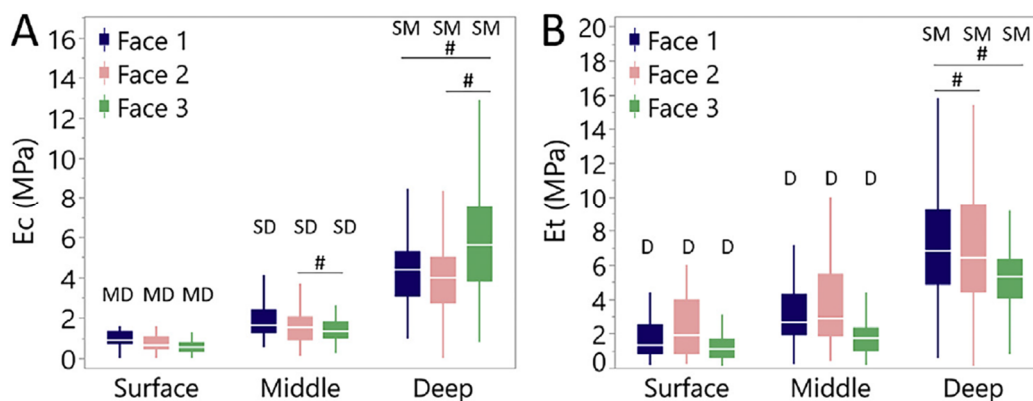
Vzhledem k tomu, že v rámci této bakalářské práce se budou vyhodnocovat viskoelastické vlastnosti lidské kolenní chrupavky z laterálního kondylu femuru pomocí dynamické nanoindentace, tak jako nejrelevantnější reference bude brána studie *Fischenich et al. 2020*, kde jsou vyhodnoceny mikromechanické vlastnosti statickou mikroindentací. [3]

Fischenich et al. 2020 nejprve určili split-line, jež je dána směrem primárních kolagenových vláken a zároveň se shoduje s linií kde působí největší napětí v tahu. Díky této referenci pak byly určeny zbývající roviny (Obr. 9). [3]



Obrázek 9 - Určení rovin vzorku (převzato z [3])

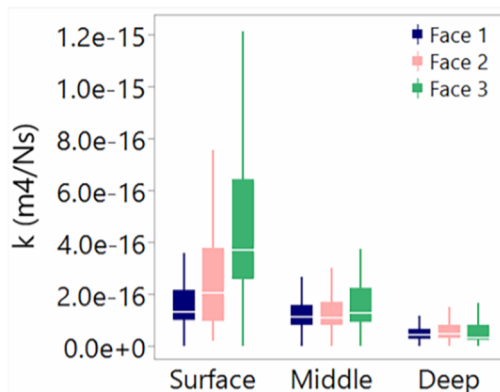
Na vzorcích lidské chrupavky z laterálního kondylu femuru byla provedena statická zkouška pomocí mikroindentace, díky které byly zjištěny hodnoty modulů ve třech stanovených směrech a hloubkových zónách. Obecně lze říct, že modul pružnosti v tahu dosahuje vyšších hodnot než modul pružnosti v tlaku, zároveň se pak oba moduly zvětšují směrem od povrchové vrstvy chrupavky (Obr. 9). [3]



Obrázek 10 - Youngův modul pružnosti v tlaku (A) a tahu (B) v jednotlivých vrstvách a rovinách (převzato z [3])

V rámci této studia byla na stejných vzorcích taktéž vyhodnocena permeabilita. Ta hraje mimo jiné důležitou roli v dynamickém zatěžování, kdy je kloubní chrupavka schopna odolat většímu napětí než při zatěžování statickém, díky právě relativně nízké permeabilitě, která navíc ještě klesá s hloubkou, viz Obr. 11. Voda v chrupavce tak

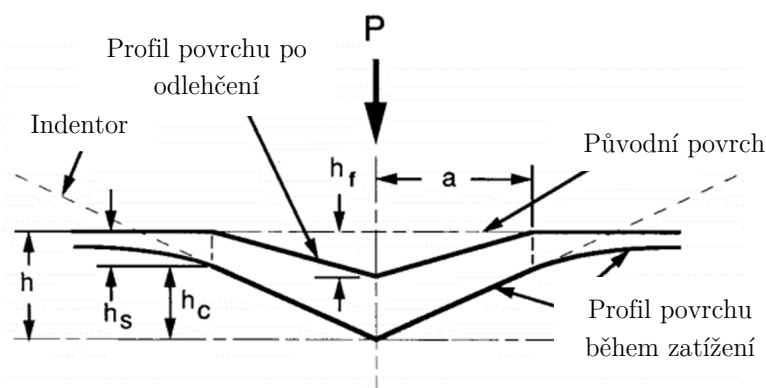
nemůže být vytlačena ven z tkáně a místo toho je stlačena, díky čemuž je chrupavka schopna vydržet větší napětí právě při dynamickém zatěžování. Při dlouhodobé zatěžování pak tekutina již může protékat póry a způsobit tak creep či relaxaci materiálu. [3], [7]



Obrázek 11 - Permeabilita chrupavky v různých směrech a rovinách (převzato z [3])

2.4 Indentační mechanická analýza

Indentační analýza je jedna z nejrozšířenějších metod pro zjištění různých mechanických vlastností daného materiálu jak v marko, tak i v nanoměřítku. Pro zjištění mikromechanických vlastností lidské chrupavky v měřítku relevantnímu k velikosti jednotlivých buněk tak bude nejvhodnější právě metoda nanoindentace. Principem indentace obecně je zatlačování indentoru do povrchu materiálu, u kterého chceme zkoumat mechanické vlastnosti. Indentor je hrot o daných rozměrech, jenž je vyroben z materiálů, u něhož jsou známy mechanické vlastnosti. Během samotné zkoušky pak postupně zatěžovaný hrot proniká do zkoumaného materiálu, a to až do indentační hloubky h , která byla nadefinována, a kde je dosažena maximální hodnota zatížení P . (Obr. 12) Zatížení pak může aplikováno po určitou dobu, nebo se hrot odlehčí. [15], [16], [17]

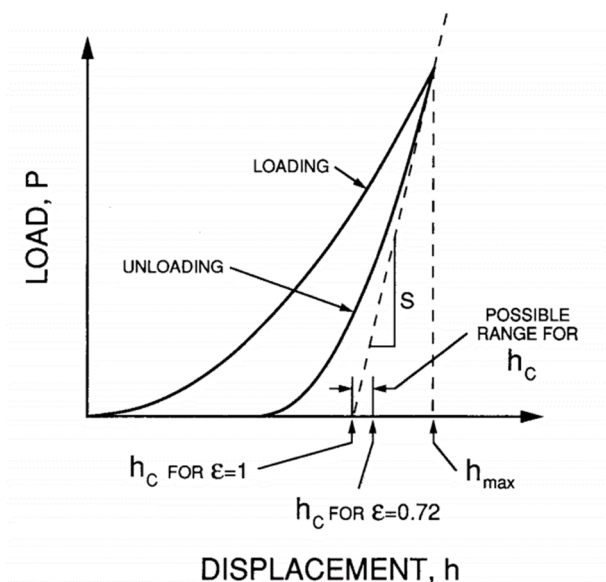


Obrázek 12 - Schéma indentační analýzy (převzato z [17])

U indentační analýzy lze určit tvrdost H zkoumaného materiálu ze vorce:

$$H = \frac{P_{max}}{A} \quad (1)$$

kde P_{max} je maximální hodnota zatížení a A je kontaktní plocha na vzorku po odlehčení indentoru, která se dá v makroměřítku změřit například optickým mikroskopem. V nanoměřítku lze kontaktní plochu vyhodnotit rastrovým elektronovým mikroskopem nebo pomocí mikroskopie atomárních sil, tyto metody se však příliš nevyužívají. Místo toho se u nanoindentace nejčastěji aplikuje analytický model popsany v roce 1992 Oliverem a Pharrrem, kdy během celého procesu zatěžování je zaznamenáváno posunutí a následné odlehčení v závislosti na působícím zatížení. Naměřené hodnoty vytváří tzv. nanoindentační křivku a jedná se o výchozí data pro následný výpočet mechanických vlastností (Obr. 13). [16], [17]



Obrázek 13 - Schéma indentační křivky během cyklu zatěžování a odlehčování (převzato z [17])

Kontaktní hloubka h_c je popsána vztahem:

$$h_c = h_{max} - h_s \quad (2)$$

Maximální hloubka h_{max} je naměřena během experimentu při maximálním zatížení P_{max} a hloubka posuvu na kontaktním obvodu je označována jako h_s , jež se vypočítá jako:

$$h_s = \epsilon \frac{P_{max}}{S} \quad (3)$$

Geometrická konstanta ϵ je zvolena dle dané geometrie použitého hrotu. Ze směrnice odlehčovací křivky (Obr. 13) lze stanovit kontaktní tuhost S podle vzorce:

$$S = \frac{dP}{dh} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A} \quad (4)$$

kde kontaktní plocha A je vypočtena z geometrie použitého indentoru:

$$A = C_0 h_c^2 + C_1 h_c^1 + C_2 h_c^{\frac{1}{2}} + C_3 h_c^{\frac{1}{4}} + \dots + C_8 h_c^{\frac{1}{128}} \quad (5)$$

Proto se pro nanoindentaci používá hrot o velmi přesných rozměrech, které jsou v rovnici popsány pomocí geometrických konstant C_n . Jedním z nejpoužívanějších indentorů je tzv. Berkovichův diamantový hrot, u něhož konstanta $C_0 = 24,5$ představuje jeho dokonalý tvar, který se dá připodobnit k třístranné pyramidě. Konstanty C_1 až C_8 jsou pak stanoveny experimentálně a popisují postupné otupení hrotu. [16], [17]

E_r z rovnice (4) je redukovaný modul pružnosti, který popisuje to, že k pružným deformacím dochází nejen u zkoumaného vzorku, ale také u zvoleného indentoru:

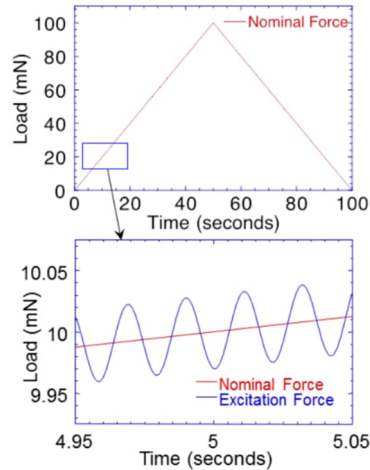
$$\frac{1}{E_r} = \frac{1 - \nu^2}{E} + \frac{1 - \nu_i^2}{E_i} \quad (6)$$

V této rovnici se vyskytuje Youngův modul pružnosti E a Poissonovo číslo ν pro daný vzorek. Spodní index i pak označuje tyto parametry u indentoru. [17]

Popsané rovnice se využívají pro výpočet tvrdosti H a Youngova modulu pružnosti E a lze je aplikovat u statické nanoindentační mechanické zkoušky. Pro popis mechanických vlastností při dynamickém zatěžování je zapotřebí použít dynamickou nanoindentaci. [16], [17]

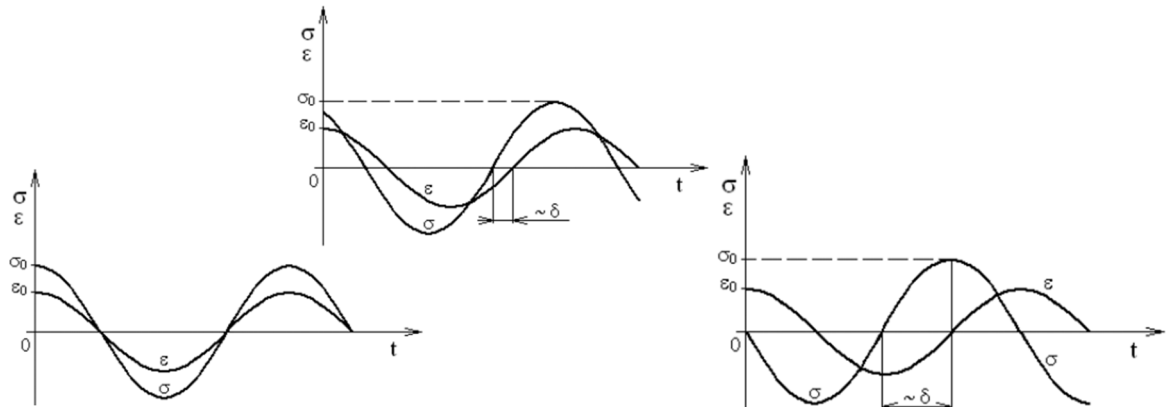
2.5 Dynamická nanoindentace

Dynamická mechanická analýza (DMA) obecně spočívá v harmonickém zatěžování zkoumaného vzorku. Rozdíl statické a dynamické nanoindentace lze ilustrovat na Obr. 14, kdy u statické zkoušky je vzorek lineárně zatížen a následně odlehčen, oproti tomu u dynamické zkoušky je zatěžovací síla proložena oscilačním signálem. Tato technika je u nanoindentace nazývána jako kontinuální měření tuhosti (CSM). [17], [18], [19]



Obrázek 14 - Zatížení vzorku (převzato z [17])

Během dynamické nanoindentace monitorujeme hodnoty amplitud zatěžující síly a posunutí, díky čemuž lze vyhodnotit fázový posun mezi těmito veličinami. Právě fázový posun je charakteristickým parametrem viskoelastických materiálů, u kterých dochází k částečné disipaci energie (Obr. 15). Uchovaná energie je popsána pomocí storage modulu E' , disipovaná energie pomocí loss modulu E'' a tlumení materiálu $\tan\delta$ je pak podílem těchto dvou veličin. U ideálně elastického materiálu nedochází k disipaci energie, tedy ani k fázovému posunu. Ideálně viskoelastický materiál je naopak schopen disipovat veškerou vloženou energii. [17], [18], [19]



Obrázek 15 - Časový průběh působící síly a posunutí a vyobrazení fázového posunu (vlevo elastický, nahoře viskoelastický, vpravo viskózní.) (převzato z [8])

Oscilační signál posunutí je na výstupu měřen pomocí zesilovače. Budící sílu pak lze popsat jako:

$$F = F_0 \sin \omega t \quad (7)$$

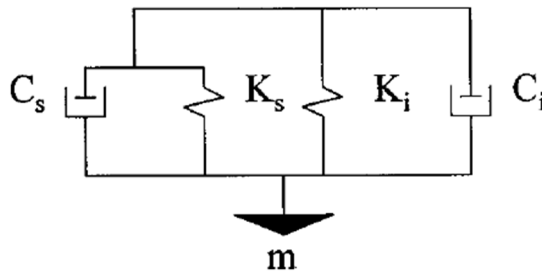
kde F_0 je amplituda síly a ω je frekvence kmitání. Pohybová rovnice vypadá následovně:

$$m\ddot{x} + C\dot{x} + kx = F_0 \sin \omega t \quad (8)$$

kdy řešením této rovnice je oscilace posunutí v ustáleném stavu na stejné frekvenci jako budící síla:

$$x = X \sin(\omega t - \phi) \quad (9)$$

X popisuje amplitudu posunutí a ϕ je fázový posun. U dynamické nanoindentace je nezbytné správně popsat model celé soustavy – tedy zkoumaného vzorku, ale i samotného zařízení na měření, jelikož i u něj dochází k tlumení (Obr. 16). [17], [19]



Obrázek 16 - Reologický model soustavy
(převzato z [18])

Z výstupních hodnot měření jsme schopni vypočítat kontaktní tuhost K_s :

$$K_s = \left| \frac{F_0}{X} \right| \cos \phi + m\omega^2 - K_i \quad (10)$$

Další výstupní hodnotou je kontaktní tlumení $C_s\omega$:

$$C_s\omega = \left| \frac{F_0}{X} \right| \sin \phi - C_i\omega \quad (11)$$

Právě v těchto rovnicích jsou aplikovány parametry popisující vliv celého systému popsaného reologickým modelem, K_i je tuhost podpěrné pružiny, m vyjadřuje hmotnost hrotu a C_i charakterizuje tlumení samotného indentoru.

Amplitudu posuvu lze popsat rovnicí:

$$X_0 = \frac{F_0}{\sqrt{(k - m\omega^2)^2 + [(C_i + C_s)\omega]^2}} \quad (12)$$

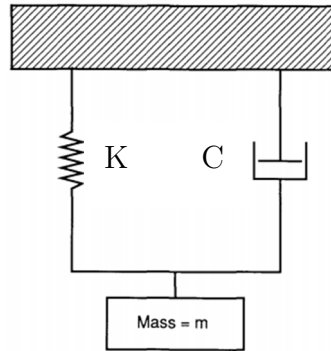
A pro rovnici fázového posunu mezi silou a deformací platí:

$$\phi = \tan^{-1} \frac{(C_i + C_s)\omega}{k - m\omega^2} \quad (13)$$

V těchto rovnicích je vyjádřena kombinovaná tuhost K jako:

$$K = K_s + K_i \quad (14)$$

U viskoelastického materiálu lze předpokládat, že se chová podle Kelvin-Voigtova modelu (Obr. 17). Storage modul lze v tomto modelu popsat pomocí pružiny K , jež reprezentuje Hookeovo těleso, C je pak Newtonovo těleso jako tlumič popisující loss modul. [17], [19]



Obrázek 17 - Kelvin-Voigtův model viskoelastického materiálu (převzato z [17])

Pomocí kontaktní tuhosti lze dopočítat storage modul E' podle vzorce:

$$E' = \frac{\sqrt{\pi} K_s}{2\beta \sqrt{A}} \quad (15)$$

kde β je úhel geometrie indentoru, např. pro Berkovichův hrot je $\beta = 1,034$. Kontaktní plocha je vyjádřena jako A . Pro loss modul E'' platí:

$$E'' = \frac{\sqrt{\pi} C_s \omega}{2\beta \sqrt{A}} \quad (16)$$

Poměr těchto dvou modulů $\tan\delta$ je popsán rovnicí:

$$\tan \delta = \frac{E''}{E'} = \frac{C_s \omega}{K_s} \quad (17)$$

Nespornou výhodou DMA je schopnost popsat mechanické vlastnosti, například zmíněné moduly v závislosti na hloubce, jelikož dostáváme tyto informace kontinuálně s tím, jak se mění frekvence. Důležitým předpokladem pro výše zmíněný způsob měření je zanedbání adhezních sil. Právě nanoindentace měkkých tkání může být adhezí doprovázena a může tak způsobit nepřesnosti v měření. Adheze se u nanoindentační křivky projevuje zápornými hodnotami na ose zatížení a pokud se u daného experimentu objeví, je vhodné ji uvažovat. Zároveň je nutné zvolit rozšířený analytický model, který však může být velmi komplikovaný. [17], [19]

3 Cíle práce

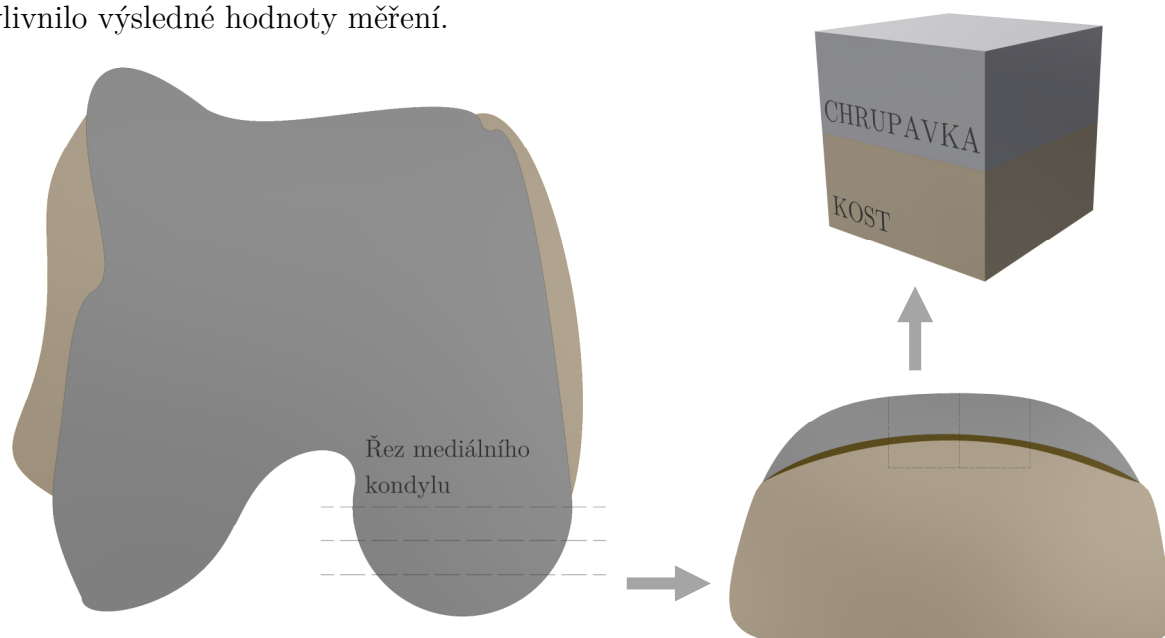
Hlavním cílem této bakalářské práce je analyzovat viskoelastické vlastnosti zkoumaného vzorku lidské kolenní chrupavky v závislosti na směru a hloubce, to vše z naměřených dat získaných během dynamické nanoindentace. Následně tato data interpretovat v souvislosti s ostatními vlastnostmi tkáně od histologické stavby po chemické složení. Dalším cílem je porovnání výsledků kvazistatické mechanické zkoušky, které byly v rámci experimentu též vyhodnoceny. Důležitým aspektem samotné analýzy dat je pak volba vhodného nástroje, který bude možno aplikovat na další zkoumané vzorky chrupavky či jiná podobná měření.

4 Použité metody

V rámci experimentu byly k dispozici kondyly femuru od čtyř různých dárců – dva muži a dvě ženy ve věku 55 až 61 let. I přesto, že u žádného z dárců nebyla klinicky diagnostikována osteoartrtida, tak před samotným testováním byl vizuálně vyhodnocen stav zkoumaných kondylů za pomoci jednoduché stupnice od 1 do 4 (nepoškozená tkáň – drobná povrchová poškození – značně porušená tkáň – odhalená kost). Právě poškozená chrupavka má prokazatelně horší mechanické vlastnosti, proto je důležité popsat její stav před samotným experimentem. Všechny zkoumané vzorky však byly vyhodnoceny jako zdravé a to hodnotami $1,5 \pm 0,7$ na zvolené stupnici.

4.1 Příprava vzorku

Kondyly femuru se začerstva zamrazily a v průběhu experimentu byly podrobeny dvěma dalším cyklům zmražení a rozmražení. Před pokusem byly vzorky zabaleny do gázy s fosfátovým pufrem (PBS), což je jeden z nejpoužívanějších fyziologických roztoků. Z mediálního kondylu femuru pak byly vyjmuty plátky, ze kterých se následně vyřízly přibližně krychle, které se zbrousily na přibližný rozměr 5 mm (Obr. 18). Během pokusu byla chrupavka hydratována roztokem PBS obsahujícím 1 % inhibitorů proteázy, aby se předešlo degradaci a případnému vysušení tkáně, které by bylo nežádoucí a značně by ovlivnilo výsledné hodnoty měření.

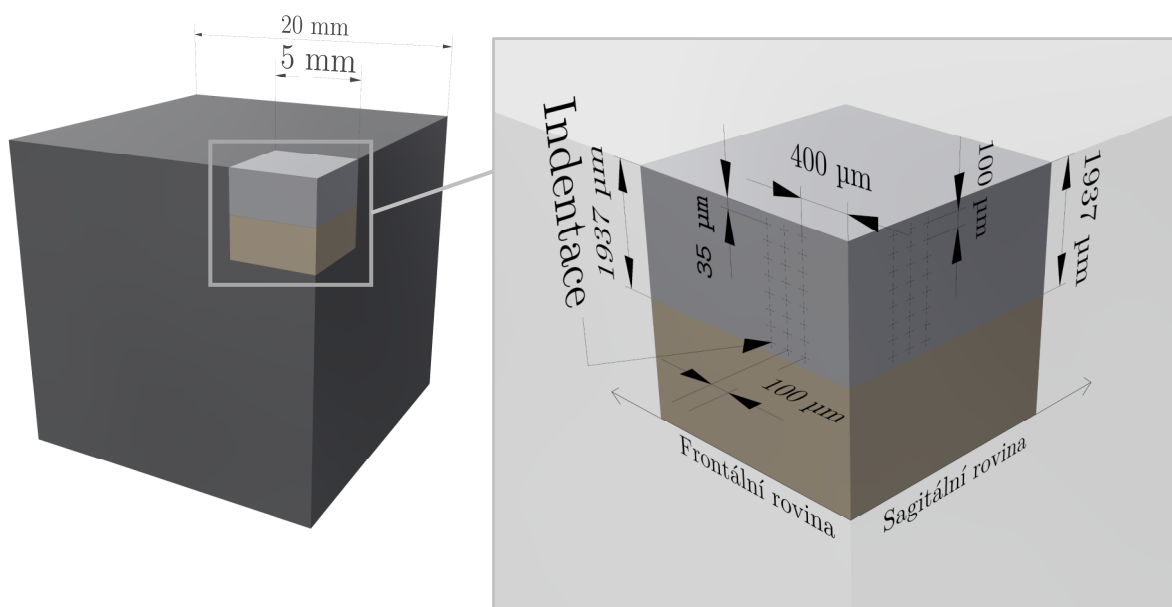


Obrázek 18 - Schéma přípravy vzorku z mediálního kondylu femuru

4.2 Nanoindentace

Zbroušenou krychli bylo potřeba před měřením pevně uchytit, k tomu sloužila krychle o straně 20 mm vytištěná z plastu na 3D tiskárně (Obr. 19). Samotný nanoindentační experiment byl proveden na přístroji Bruker TI-950 Triboindenter se $100\text{ }\mu\text{m}$ konosferickým hrotem.

Do rohu vytisknuté kostky se následně nalepil zkoumaný vzorek chrupavky. Před samotným experimentem pak byla změřena tloušťka chrupavky $1937\text{ }\mu\text{m}$ v rovině sagitální a $1983\text{ }\mu\text{m}$ v rovině frontální. Vzhledem k tvaru mediálního kondylu femuru je zřejmé, že se u vyříznutých vzorků nebude jednat o perfektní krychli.



Obrázek 19 - Krychle z 3D tiskárny na uchycení vzorku (vlevo) a schéma nanoindentace (vpravo)

S indentací se začínalo od kosti a ve stejné řadě byly provedeny vždy tři vpichy vzdálené $100\text{ }\mu\text{m}$. Směrem k povrchu chrupavky byla provedena další řada indentů, vždy ve vzdálenosti $100\text{ }\mu\text{m}$ od řady předchozí. Tímto způsobem se pokračovalo až k povrchové vrstvě, kdy poslední řada indentů byla $35\text{ }\mu\text{m}$ od povrchu chrupavky. Experiment byl proveden jak v sagitální, tak frontální rovině a samotné indenty lze v obou rovinách popsat maticí 3×21 . Řady indentů v obou rovinách byly vzdáleny $400\text{ }\mu\text{m}$ od hrany, abychom se vyhnuli případnému sklonu z broušení. V každém místě vpichu se v 25 rovnoměrných krocích postupně zvyšovala frekvence od 5 do $301,5\text{ Hz}$.

4.3 Analýza dat

K analýze naměřených dat jsem využil programovací jazyk Python, konkrétně jeho verzi 3.8. Obecně je Python využíván v širokém spektru vědních oborů a vzhledem k jeho uživatelské přívětivosti a mnoha dostupným knihovnám pro práci s daty se v tomto případě jedná o ideální nástroj. V rámci této bakalářské práce je sice vyhodnocen pouze jeden vzorek chrupavky, experiment byl však rozsáhlejší a vzorků se testovalo hned několik. Vytvořený skript tak bude možné aplikovat bez velkých změn i na ostatní vzorky, případně i na další podobná měření, která by mohla proběhnout v budoucnu.

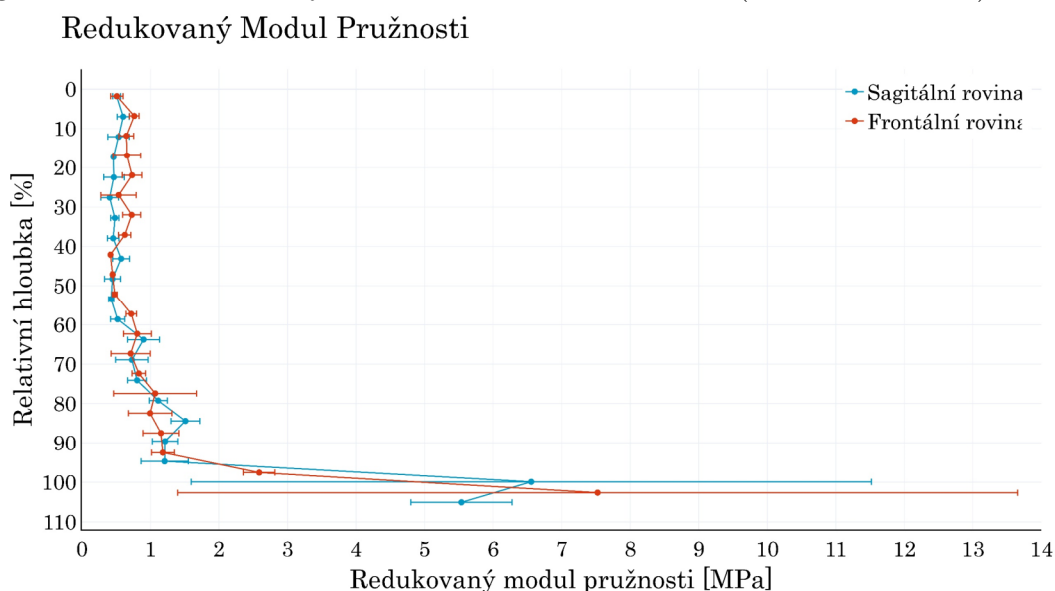
Jednou z využitých knihoven je *pandas*, jež slouží k manipulaci a analýze dat. V rámci našeho experimentu lze popsat indentační vpichy maticí 3x21, pracujeme tedy s více než šedesáti soubory, jelikož vyhodnocené parametry pro každý jeden indent byly vyexportovány do samostatného souboru. Vzhledem k tomu, že pracujeme s velkým množstvím dat se tedy jedná o velmi užitečný nástroj. Další importovanou knihovnou je *numpy*, která umožňuje provádět různé matematické operace a převážně pak práci s n-rozměrnými poli, což je u velkého objemu dat velká výhoda. Ke konečnému zpracování dat pak posloužila grafická knihovna *plotly*, díky které byly vykresleny všechny potřebné grafy. Veškeré použité skripty jsou k dispozici v přílohách.

5 Výsledky

Co se týká vyobrazení hloubkového profilu mechanických vlastností chrupavky, tak na všech grafech vyhodnocených v rámci této práce je znázorněna relativní vzdálenost od povrchu, kdy 0% představuje právě povrch a 100% je rovno hodnotě tloušťky chrupavky, jež byla změřena před samotným experimentem, tzn. $1937 \mu\text{m}$ v rovině sagitální a $1983 \mu\text{m}$ v rovině frontální. Přepočet na relativní hloubku byl proveden právě proto, aby případné porovnání odlišných vzorků bylo co možná nejvíce vypovídající, jelikož tloušťky chrupavek se mohou celkem výrazně lišit, ať už kvůli osteoartritidě či jiným vlivům.

5.1 Redukovaný modul pružnosti a kontaktní tlak

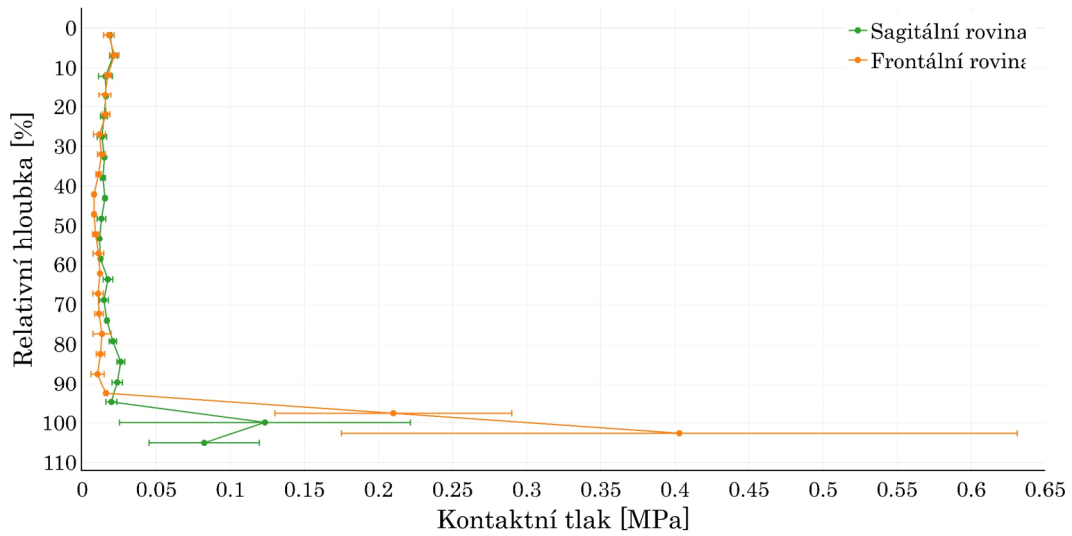
Výhodou dynamické nanoindentace je mimo jiné to, že z odlehčovací křivky lze aplikací analytického modelu Olivera a Pharra vyhodnotit také parametry popisující mechanické vlastnosti, které bychom jinak získali během kvazistatické nanoindentační zkoušky – konkrétně se jedná o redukovaný modul pružnosti E_r a kontaktní tlak H vyjadřující tvrdost. Hodnoty obou těchto parametrů byly vyhodnoceny v každém místě vpichu. V každé řadě byly provedeny vždy tři indenty, v grafu jsou tak vyneseny průměry a jejich směrodatné odchylky. Pro lepší porovnání jsou v jednom grafu zobrazeny hodnoty ze sagitální i frontální roviny – vše v závislosti na hloubce (Obr. 20, Obr. 21).



Obrázek 20 - Závislost redukovaného modulu pružnosti na hloubce

U redukovaného modulu pružnosti (Obr. 20) lze pozorovat rostoucí trend směrem ke kosti jak v sagitální, tak frontální rovině, kdy nejvyšší hodnoty pozorujeme v hloubce okolo 100%, tedy v blízkosti kalcifikované zóny. Jednotlivé vrstvy chrupavky, tzn. povrchovou, prostřední a hlubokou však nelze z průběhů na první pohled jednoznačně rozlišit.

Kontaktní tlak



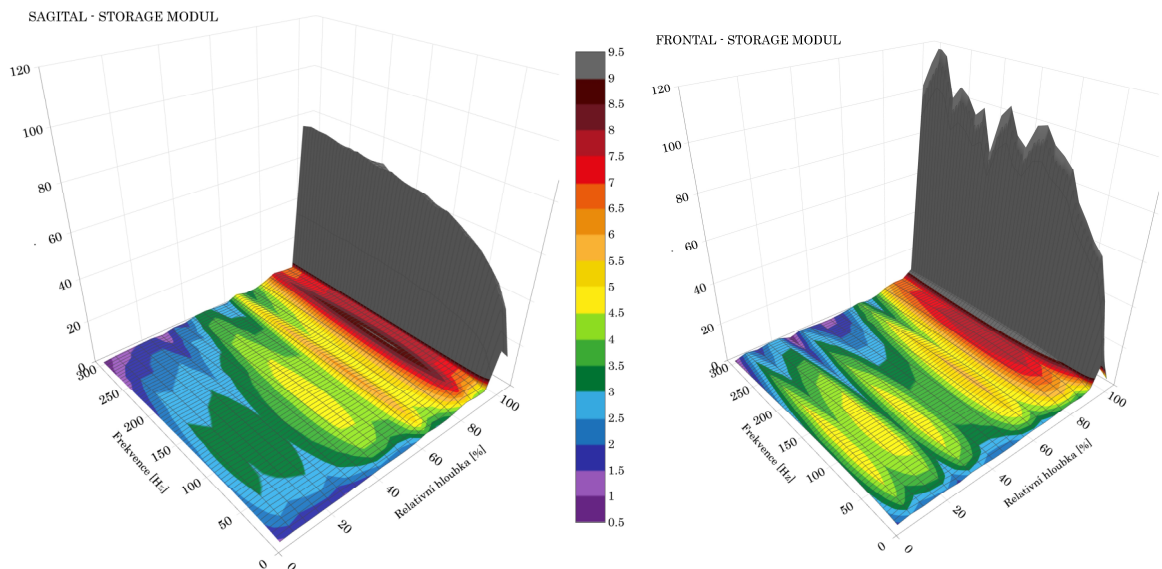
Obrázek 21 - Závislost tvrdosti na hloubce

U kontaktního tlaku (Obr. 21) je vidět, že nejvyšší hodnoty byly též naměřeny v blízkosti kosti.

Pro analýzu viskoelastických vlastností byly z dat získaných během dynamické nanoindentace vypočteny hodnoty storage modulu E' , loss modulu E'' a tlumení $\tan\delta$, to vše pomocí analytického modelu popsaného v kapitole 2.5. Výsledné hodnoty z jedné hloubky (tzn. jedné řady tří indentů) byly opět zprůměrovány. K vizualizaci závislosti těchto veličin na frekvenci a hloubce tak poslouží povrchové 3D grafy.

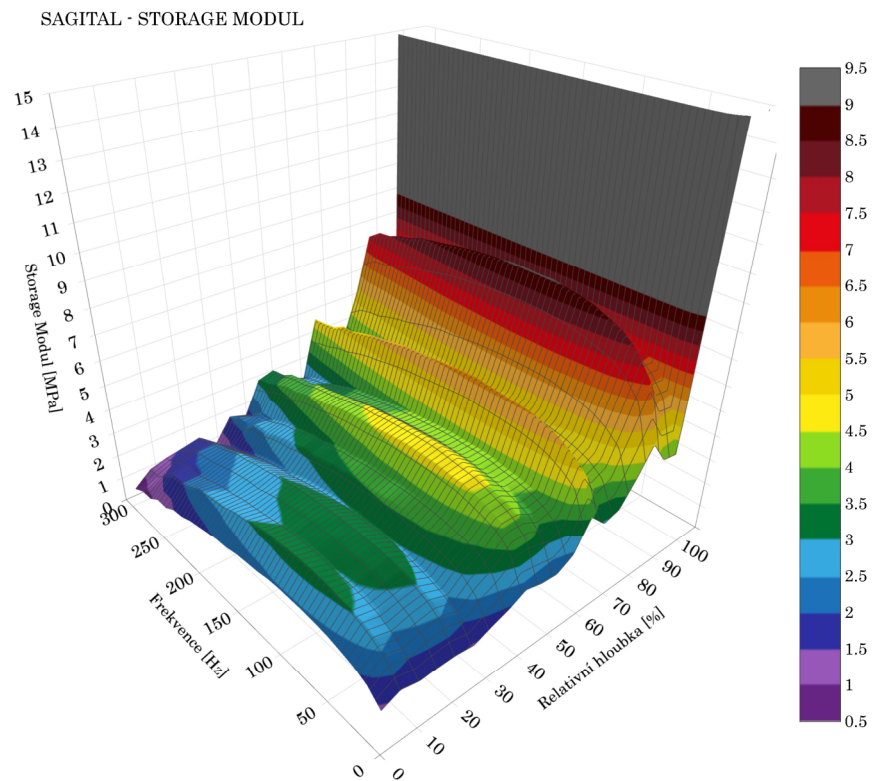
5.2 Storage modul

Z grafů (Obr. 22) je zřejmé, že v 95% hloubky dochází ke skokové změně.

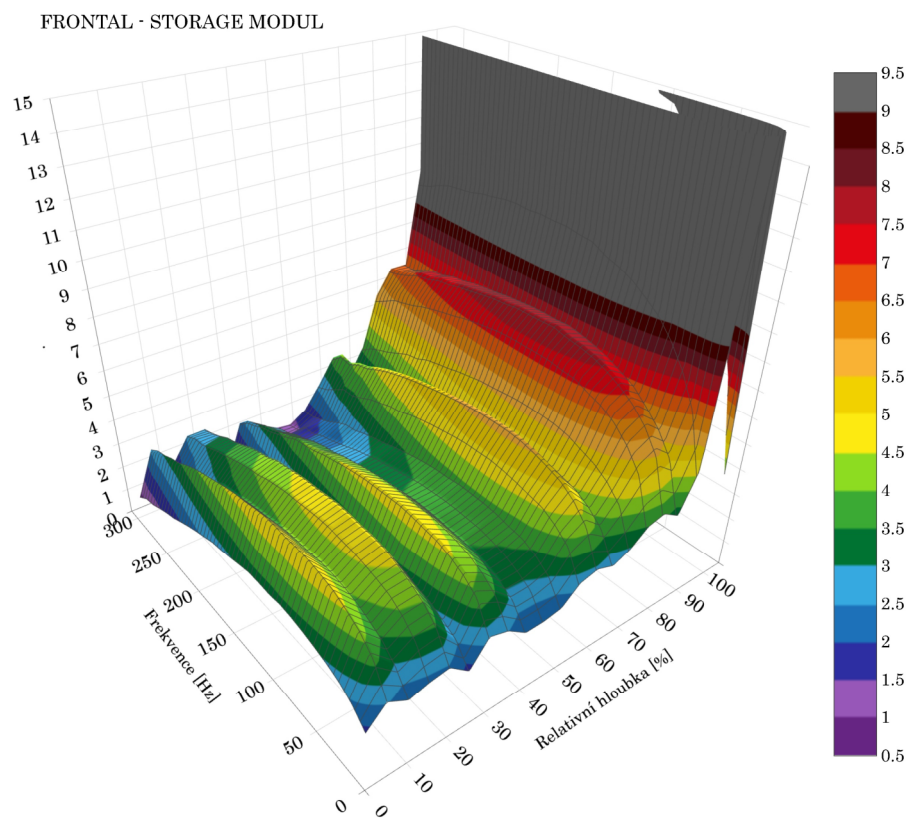


Obrázek 22 - Storage modul v sagitální rovině (vlevo) a frontální rovině (vpravo)

Pro lepší vizualizaci průběhu byla osa storage modulu zkrácena na 15 MPa, abychom byli schopni závislost na hloubce a frekvenci lépe analyzovat.

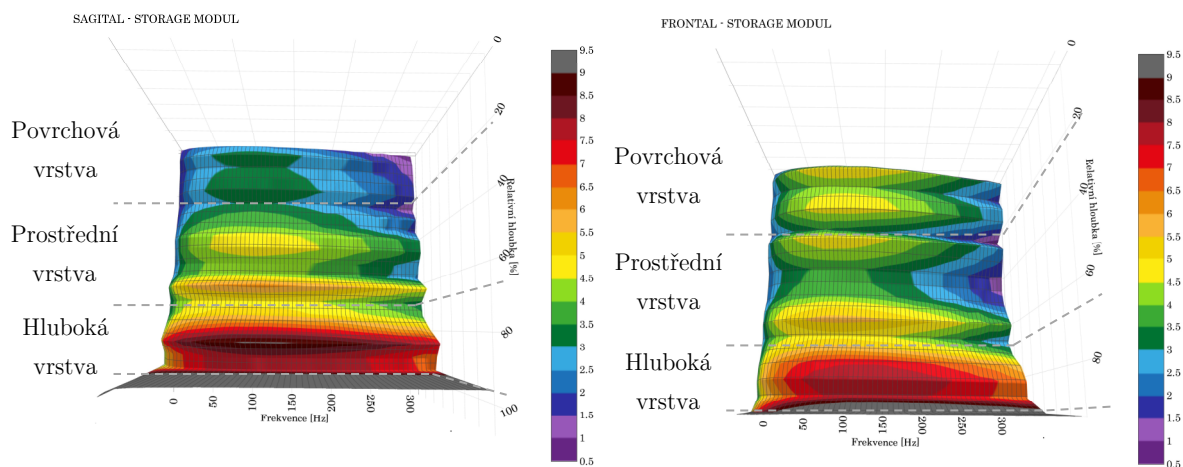


Obrázek 23 - Storage modul v sagitální rovině



Obrázek 24 - Storage modul ve frontální rovině

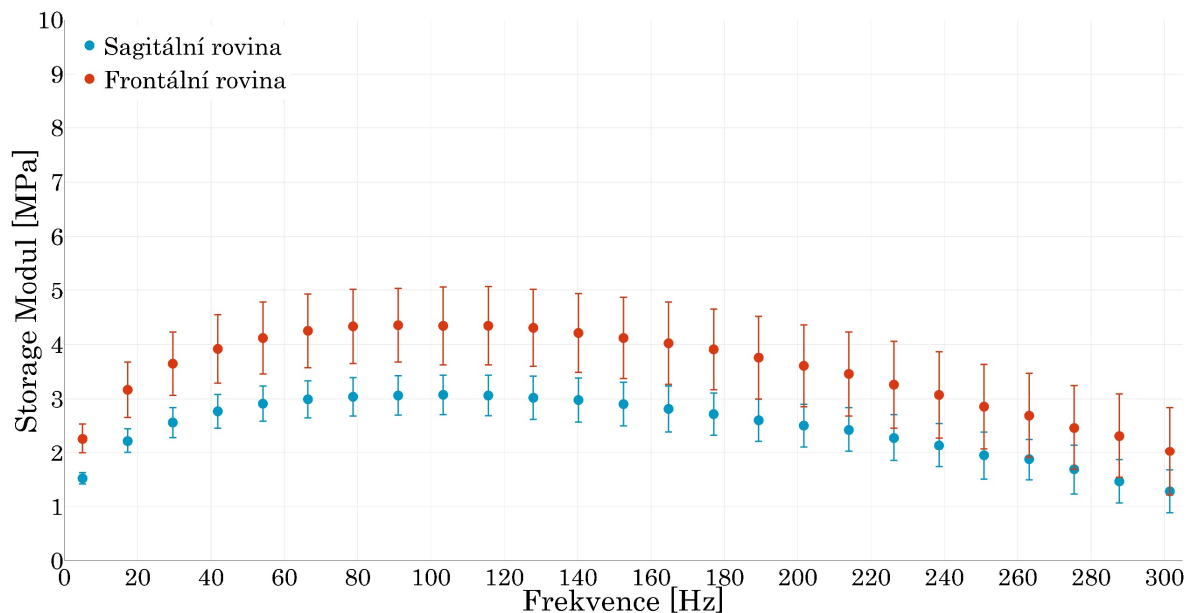
Z průběhů storage modulů byly následně určeny jednotlivé vrstvy chrupavky. Povrchová vrstva je charakterizována od 0% do 22% hloubky, prostřední vrstva od 22% do 67% hloubky a hluboká vrstva od 67% do 92% (Obr. 25).



Obrázek 25 - Určení hloubkových vrstev z průběhů storage modulu v sagitální rovině (vlevo) a frontální rovině (vpravo)

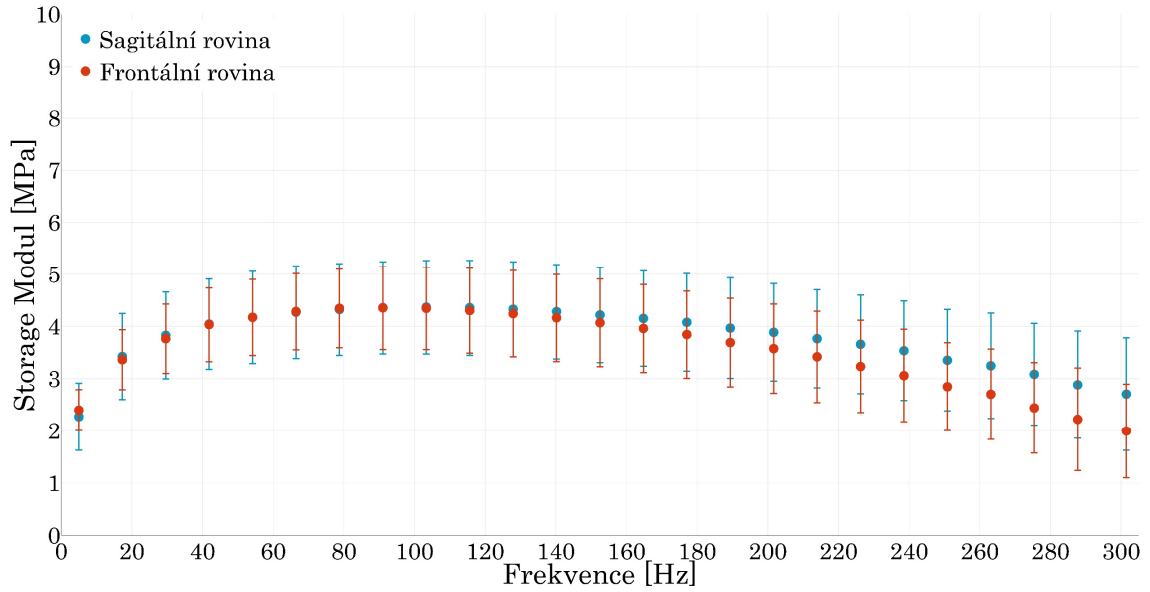
Veškeré hodnoty z dané vrstvy pak byly zprůměrovány a se směrodatnou odchylkou vyneseny do příslušných grafů, viz následující grafy. Tabulka hodnot storage modulu z jednotlivých vrstev je i se směrodatnými odchylkami k dispozici v příloze.

STORAGE MODUL - Povrchová vrstva (0-22%)



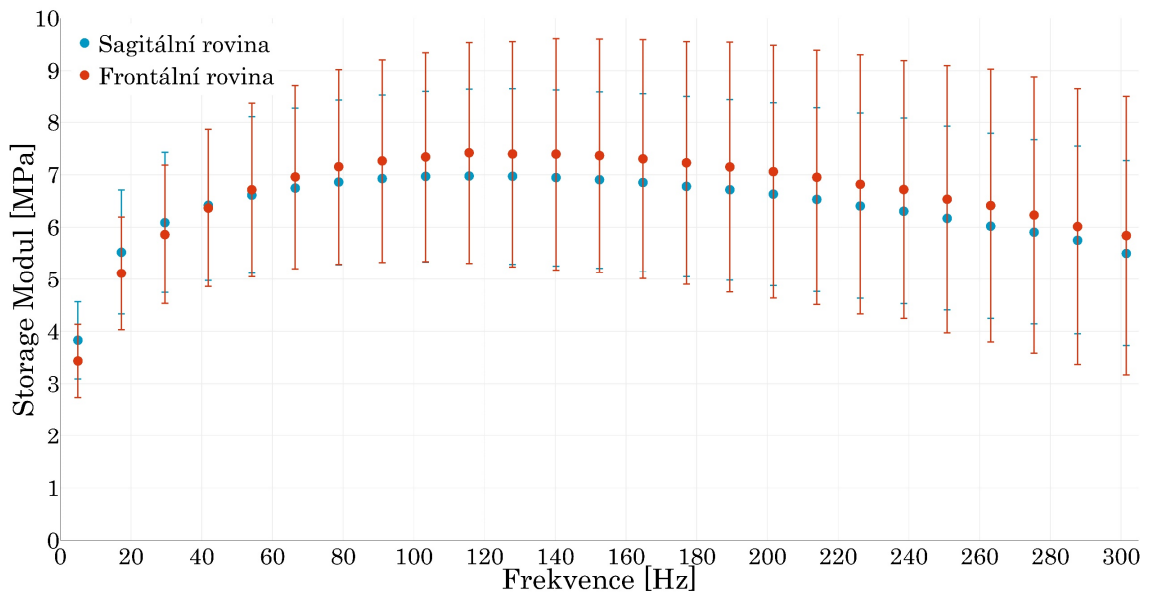
Obrázek 26 - Průběh storage modulu v povrchové vrstvě chrupavky

STORAGE MODUL - Prostřední vrstva (22%-67%)



Obrázek 27 - Průběh storage modulu v prostřední vrstvě chrupavky

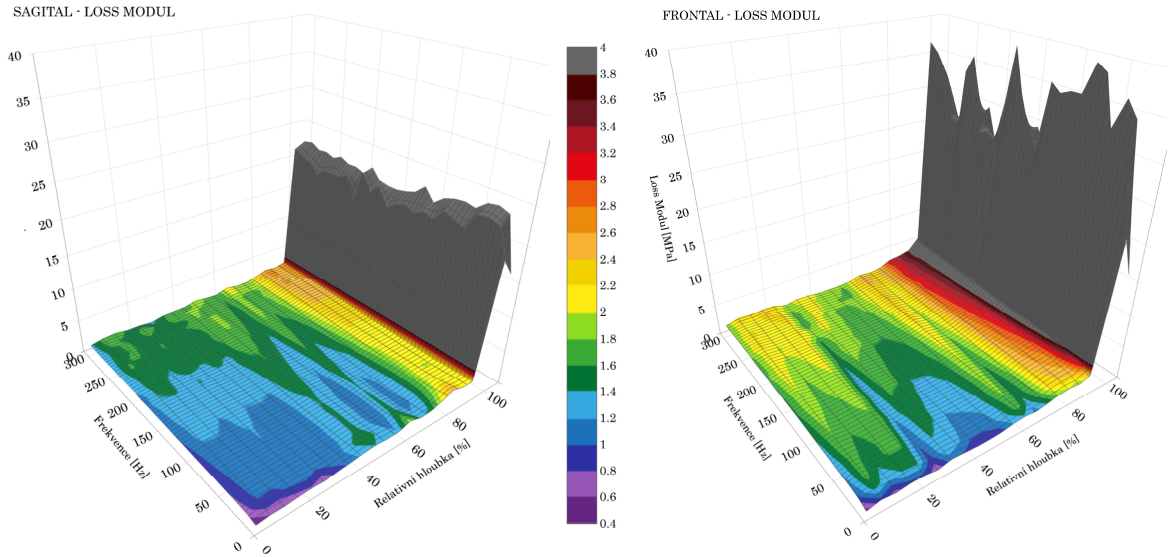
STORAGE MODUL - Hluboká vrstva (67%-92%)



Obrázek 28 - Průběh storage modulu v hluboké vrstvě chrupavky

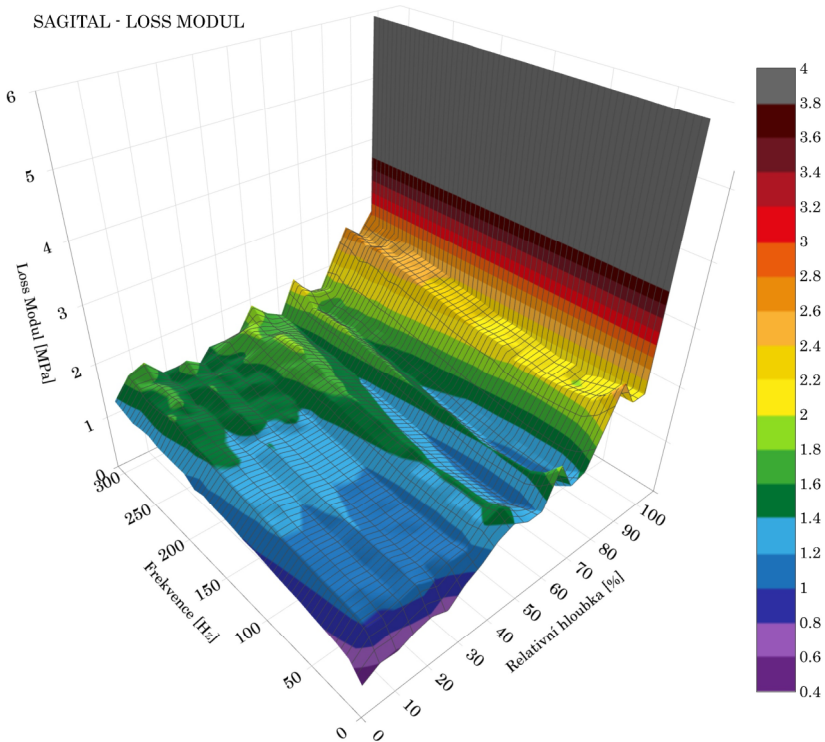
5.3 Loss modul

U vyhodnocení loss modulu byl aplikován stejný metodický postup jako u storage modulu. Při zobrazení celého průběhu je zřejmé, že v 95% hloubky dochází ke skokové změně (Obr. 29).

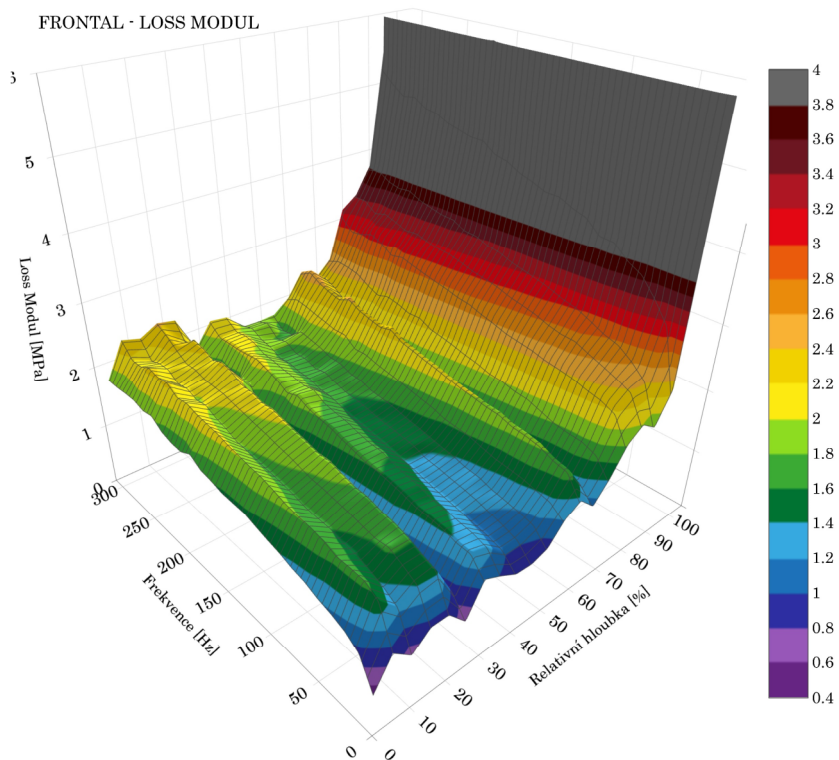


Obrázek 29 - Loss modul v sagitální rovině (vlevo) a frontální rovině (vpravo)

Osa loss modulu byla v tomto případě zkrácena na 6 MPa, opět abychom byli schopni lépe analyzovat celkový průběh.

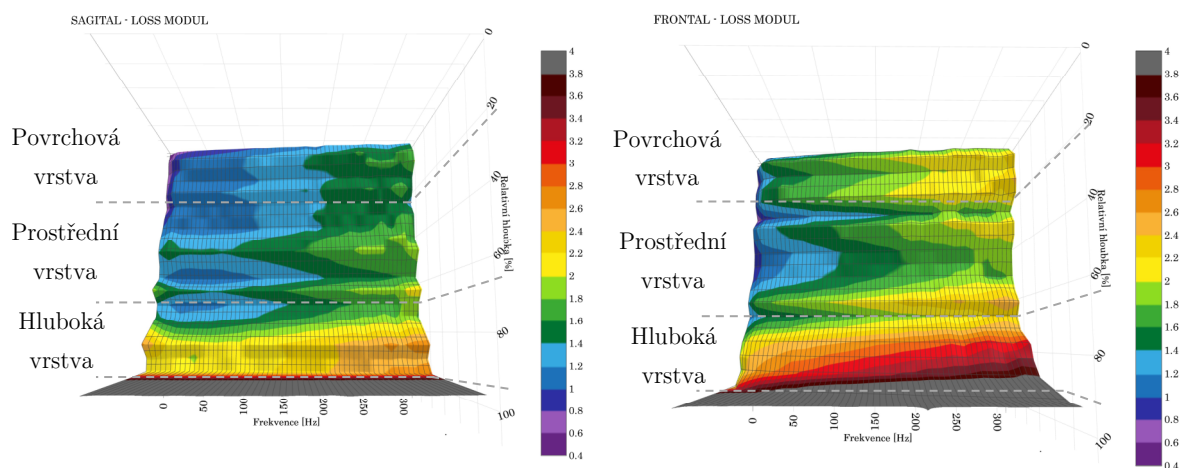


Obrázek 30 - Loss modul v sagitální rovině



Obrázek 31 - Loss modul ve frontální rovině

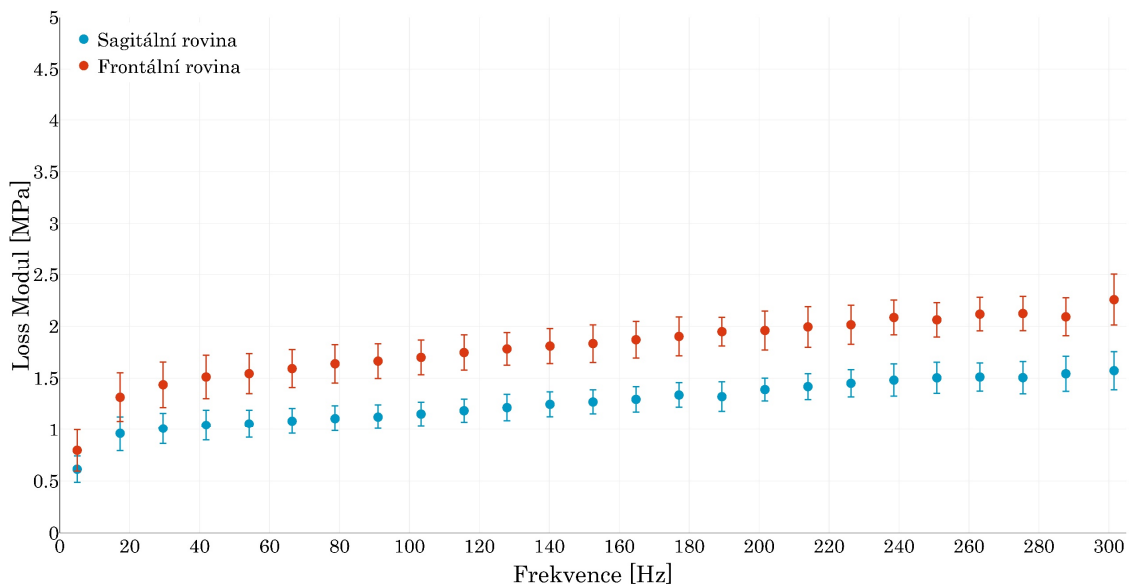
Z průběhů loss modulů byly jednotlivé vrstvy kvůli případnému porovnání určeny totožně jako u storage modulu, tzn. tak, že povrchová vrstva je charakterizována od 0% do 22% hloubky, prostřední vrstva od 22% do 67% hloubky a hluboká vrstva od 67% do 92% (Obr. 32).



Obrázek 32 - Určení hloubkových vrstev z průběhů loss modulu v sagitální rovině (vlevo) a frontální rovině (vpravo)

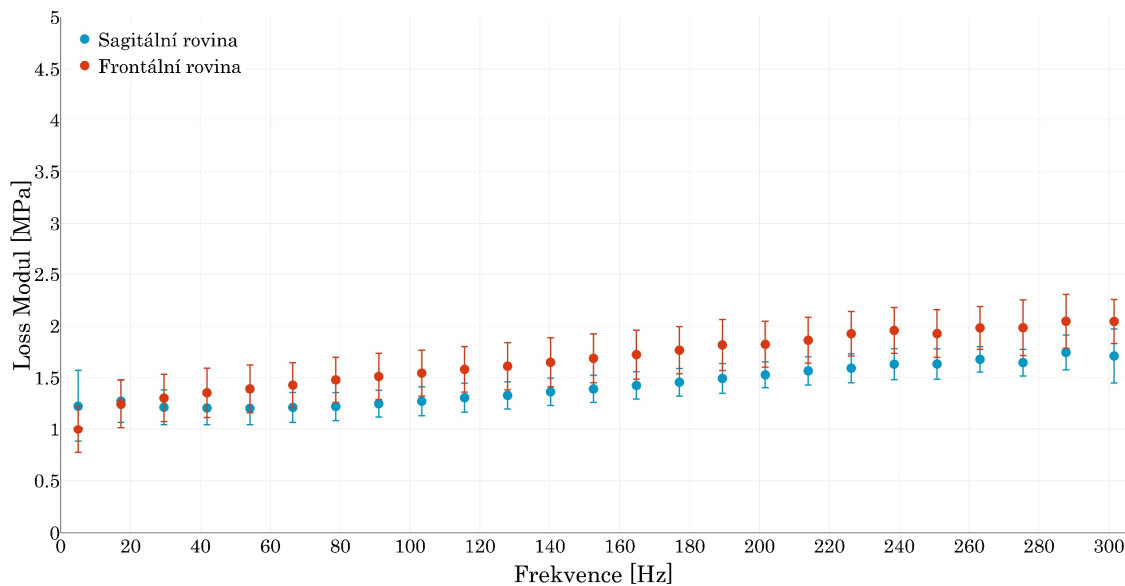
V následujících grafech jsou vyneseny průměrné hodnoty z jednotlivých vrstev i s jejich směrodatnými odchylkami. Tabulka hodnot loss modulu z jednotlivých vrstev je k dispozici v příloze.

LOSS MODUL - Povrchová vrstva (0-22%)

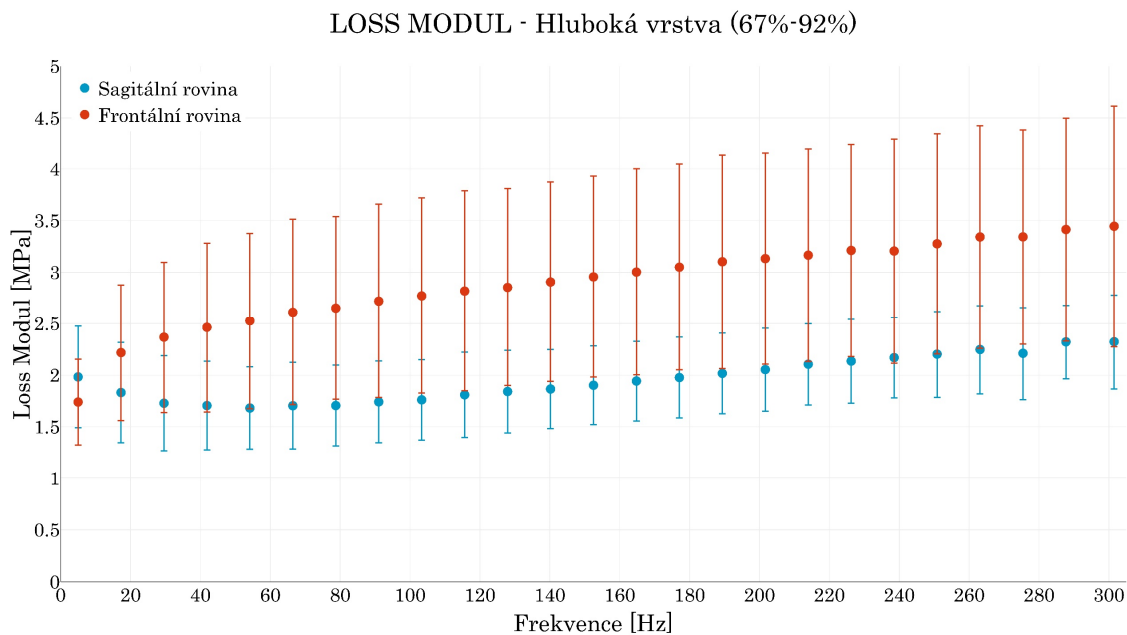


Obrázek 33 - Průběh loss modulu v povrchové vrstvě chrupavky

LOSS MODUL - Prostřední vrstva (22%-67%)



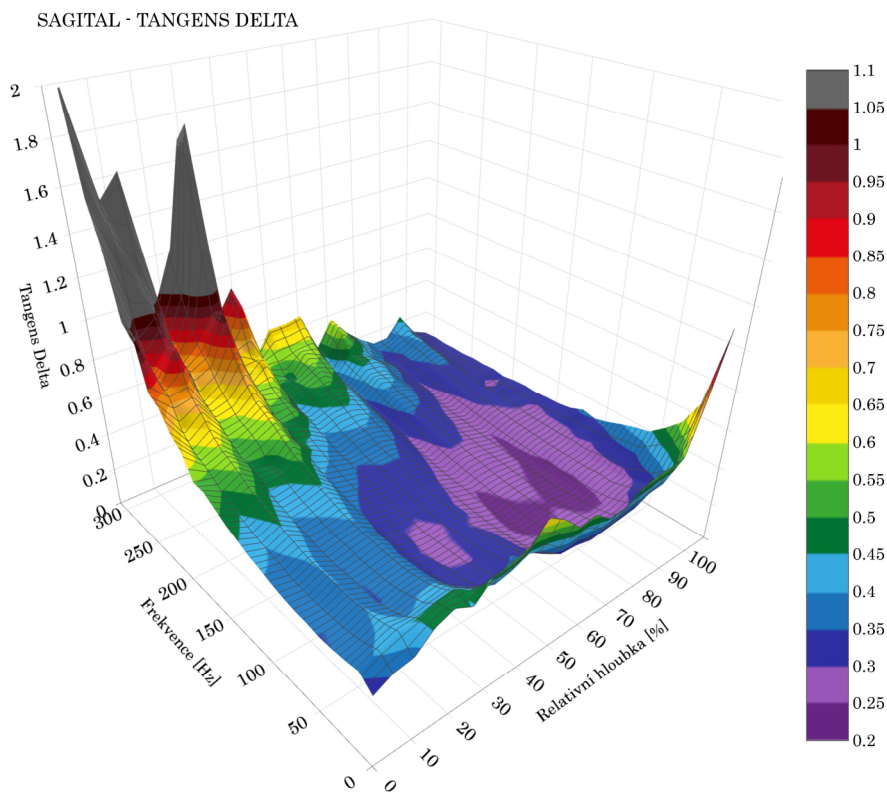
Obrázek 34 - Průběh loss modulu v prostřední vrstvě chrupavky



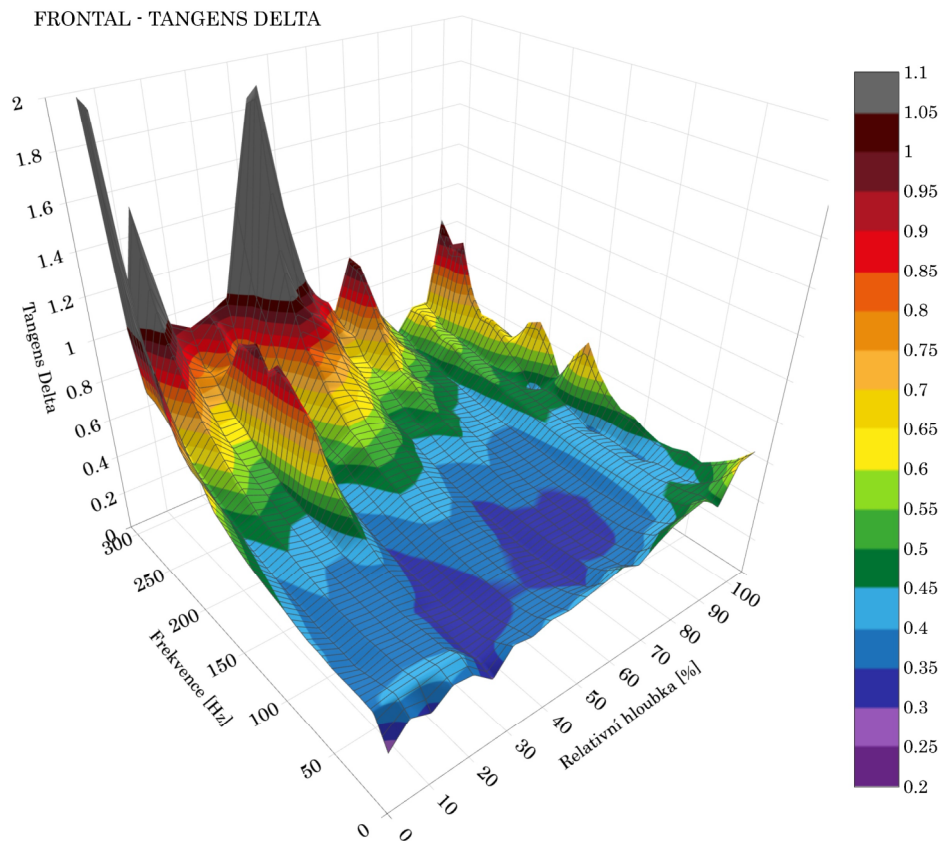
Obrázek 35 - Průběh loss modulu v hluboké vrstvě chrupavky

5.4 Tangens delta

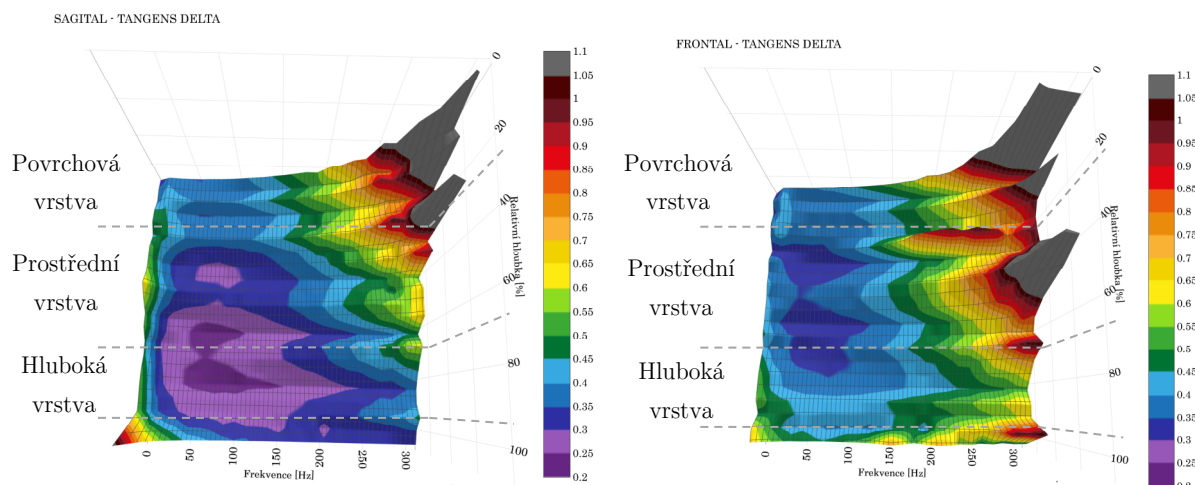
Na rozdíl od storage a loss modulu u průběhů tlumení $\tan\delta$ již nedochází k tak výrazným skokovým změnám (Obr. 36 a Obr. 37).



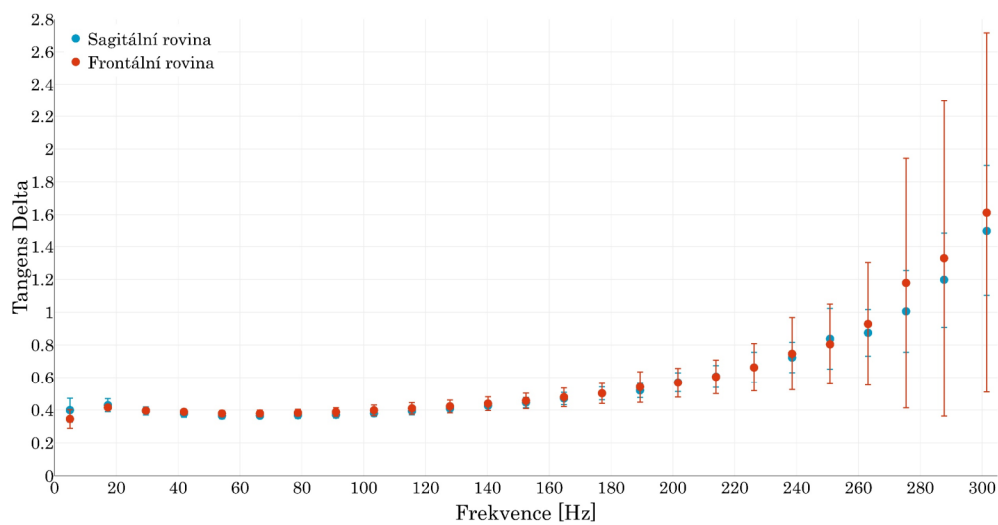
Obrázek 36 - Tangens delta v sagitální rovině



Následný postup určení a vyhodnocení jednotlivých vrstev chrupavky proběhl zcela totožně jako u storage a loss modulu. Tabulka hodnot tangens delta pro všechny vrstvy je k nahlédnutí v příloze.

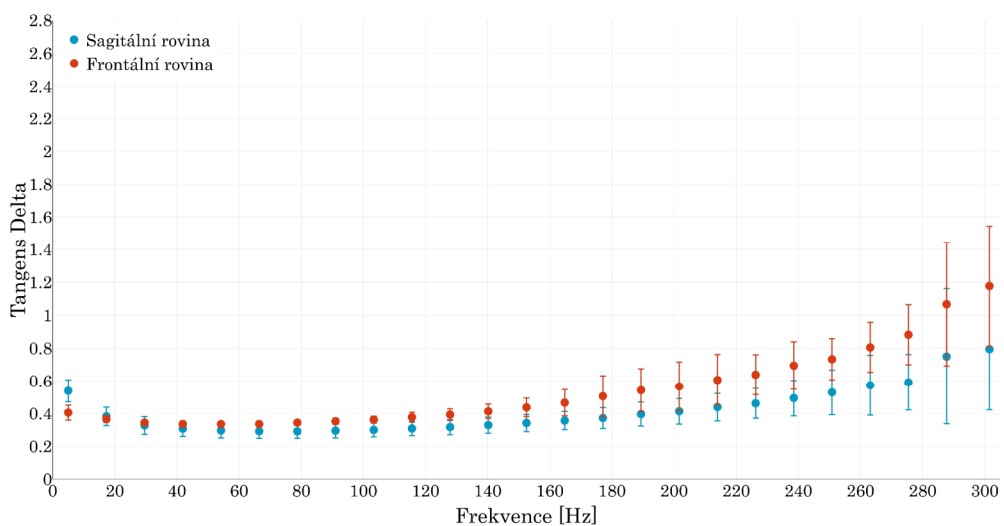


TANGENS DELTA - Povrchová vrstva (0-22%)



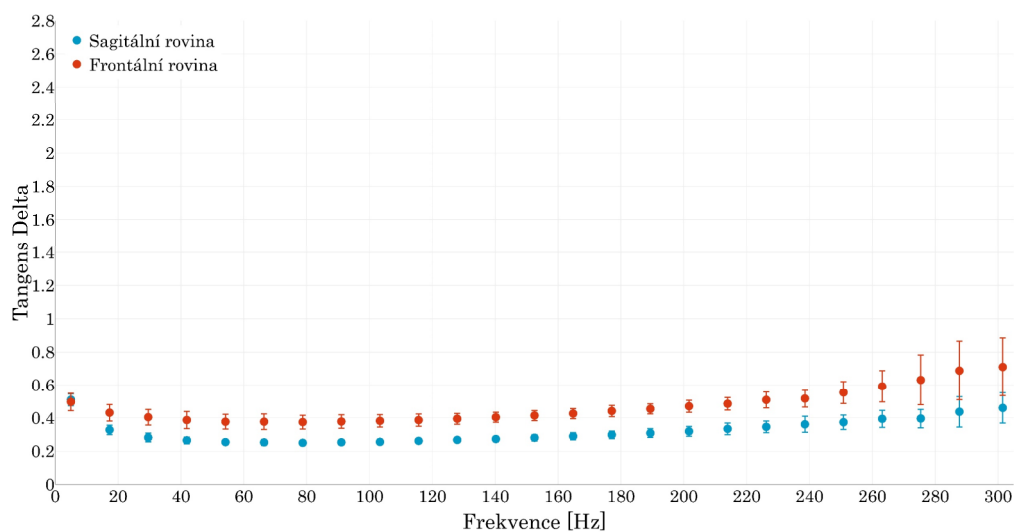
Obrázek 39 - Průběh tangens delta v povrchové vrstvě chrupavky

TANGENS DELTA - Prostřední vrstva (22%-67%)



Obrázek 40 - Průběh tangens delta v prostřední vrstvě chrupavky

TANGENS DELTA - Hluboká vrstva (67%-92%)



Obrázek 41 - Průběh tangens delta v hluboké vrstvě chrupavky

6 Diskuse

V dnešní době je již 3D tisk biologických heterogenních materiálů v nanoměřítku realitou. Dostupné technologie už nejsou limitujícím faktorem, tím je naopak naše nedostatečné porozumění problematice, kdy stále nejsou k dispozici data, která by požadované vlastnosti dostatečně popisovala. To se týká i 3D tisku lidské kolenní chrupavky. V rámci experimentu, kterému se tato práce věnuje, byla provedena dynamická nanoindentace, ze které jsme získali i výsledky kvazistatiky, díky čemuž jsme schopni popsat mikromechanické vlastnosti a vyplnit tak některé mezery v dané problematice.

Kvazistatická nanoindentace

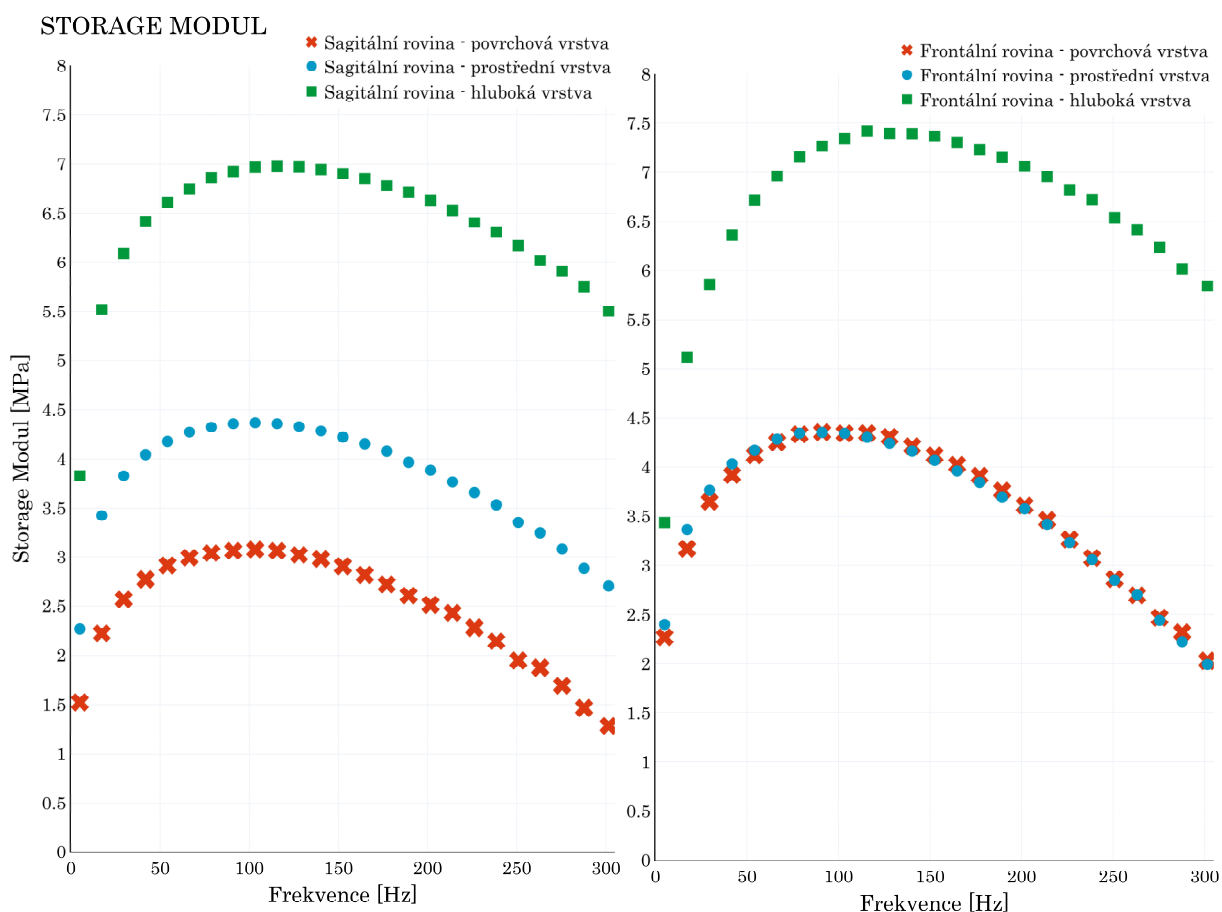
U průběhu redukovaného modulu pružnosti E_r v závislosti na hloubce pozorujeme nárůst směrem ke kosti, kdy nejvyšší hodnoty se nachází v hloubce okolo 100%. Konkrétní naměřené hodnoty se pohybují v rozmezí $0,4057 \pm 0,1305 \text{ MPa}$ až $6,5560 \pm 4,9637 \text{ MPa}$ v sagitální rovině a $0,5357 \pm 0,2573 \text{ MPa}$ až $7,5240 \pm 6,1282 \text{ MPa}$ v rovině frontální (Obr. 20). Lze tedy konstatovat, že naměřené hodnoty se zvyšují v závislosti na vzdálenosti od kosti. U nejvyšších hodnot lze však zaznamenat výraznou odchylku, jež bude s nejvyšší pravděpodobností způsobena přestupem do kalcifikované zóny, která se nachází právě v hluboké vrstvě u kosti. Samotný vývoj nárůstu modulu pružnosti s hloubkou se tak shoduje s výsledky ze studie *Antons et al. (2018)*. To samé platí při porovnání se studií *Fischenich et al. (2020)*, u našeho měření však není tak zřejmá závislost na testovaném směru, jelikož hodnoty ze sagitální roviny se oproti frontální rovině liší pouze minimálně.

Dynamická nanoindentace

U výsledků z dynamické nanoindentace lze u storage i loss modulu (Obr. 42, Obr. 43) vidět nárůst hodnot od povrchu ke kosti. Skokovou změnu viditelnou na Obr. 22 a Obr. 29 lze opět zdůvodnit přestupem do kalcifikované zóny, která je oproti zbytku chrupavky tvrdší, což potvrzují, jak průběhy kontaktního tlaku (Obr. 21), tak redukovaného modulu pružnosti (Obr. 20). Možnost, že indenty v hloubce okolo 100% mohly již zasahovat do samotné kosti, lze téměř s jistotou vyvrátit. V takovém případě bychom se totiž pohybovali v řádech několika GPa , nikoliv MPa .

Storage modul

Storage modul představuje elastickou odezvu materiálu – v tomto případě chrupavky. Z povrchových grafů (Obr. 23 a Obr. 24) je zřejmý nárůst hodnot s hloubkou a lze zde názorně ilustrovat globální vývoj v rámci celé tkáně. Na rozdíl od průběhů redukovaného modulu pružnosti či kontaktního tlaku lze z grafů storage modulu popsat jednotlivé vrstvy chrupavky tak, jak je definuje odborná literatura – tedy povrchová, prostřední a hluboká. Právě díky rozdělení na jednotlivé vrstvy jsme schopni popsat lokální vývoj. Při pohledu na průběh storage modulu v závislosti na frekvenci v jednotlivých vrstvách (Obr. 42) vidíme, že při nízkých hodnotách frekvence se tkáň chová velmi podobně jako při kvazistatické zkoušce.



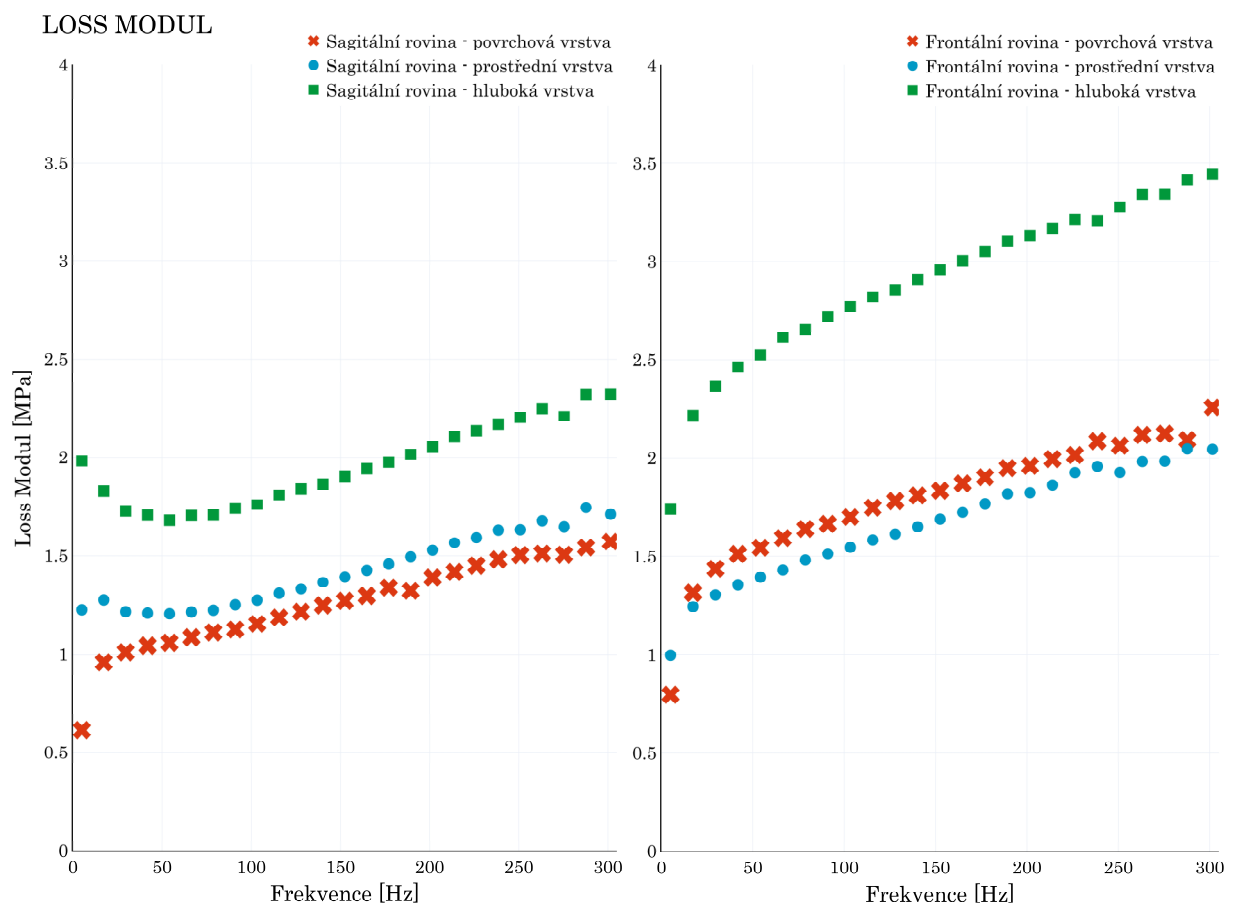
Obrázek 42 - Storage modul ve frontální (vlevo) a sagitální rovině(vpravo)

Z hlediska popisu viskoelastických vlastností nás zajímají hodnoty celé frekvenční charakteristiky, ze kterých jsme schopni popsat body, ve kterých dochází ke změně vývoje – tedy body inflexní. V případě povrchové vrstvy (Obr. 42) lze určit, že lokální maximum se bude nacházet v hodnotě přibližně **100 Hz**. Když to porovnáme s průběhy storage modulu v prostřední a hluboké vrstvě, lze konstatovat, že inflexní bod nastává ve všech vrstvách takřka ve stejném místě – tedy přibližně **100 Hz**. Klesající vývoj od

inflexním bodu tedy ukazuje, že s dále rostoucí frekvencí se uchovává stále méně energie, což může naznačovat strukturální změny v chrupavce. Pokud bychom chtěli charakterizovat závislost na zvolené rovině, tak při analýze povrchové vrstvy (Obr. 42) je vidět, že ve frontální rovině byly naměřeny vyšší hodnoty než v rovině sagitální. Právě zde hraje důležitou roli orientace kolagenních vláken, která se v povrchové vrstvě sbíhají do směru frontální roviny, která je rovnoběžná se split-line. V této rovině se hrot indentoru zapichuje do husté sítě podélných vláken, kdežto v rovině sagitální se indentor zapichuje v podstatě kolmo do jejich průřezu. Jedná se tedy o rozdílný druh mechanického namáhání, kdy ve frontální rovině by chrupavka měla být schopna odolávat větším zatížením. Toto tvrzení výsledky potvrzují, kdy v povrchové vrstvě byly pro storage modul naměřeny vyšší hodnoty ve frontální rovině. Trend se shoduje s výsledky studie *Fischenich et al. (2020)*. V prostřední a hluboké vrstvě jsou již hodnoty obou rovin bez větších rozdílů. Samotný průběh v závislosti na frekvenci je pak ve všech vrstvách identický pro obě roviny (Obr. 42).

Loss modul

Loss modulem vyjadřuje viskózní odezvu chrupavky. Již při prvním pohledu na povrchové grafy (Obr. 30 a Obr. 31) dosahuje v globálním měřítku tkáně vyšších hodnot

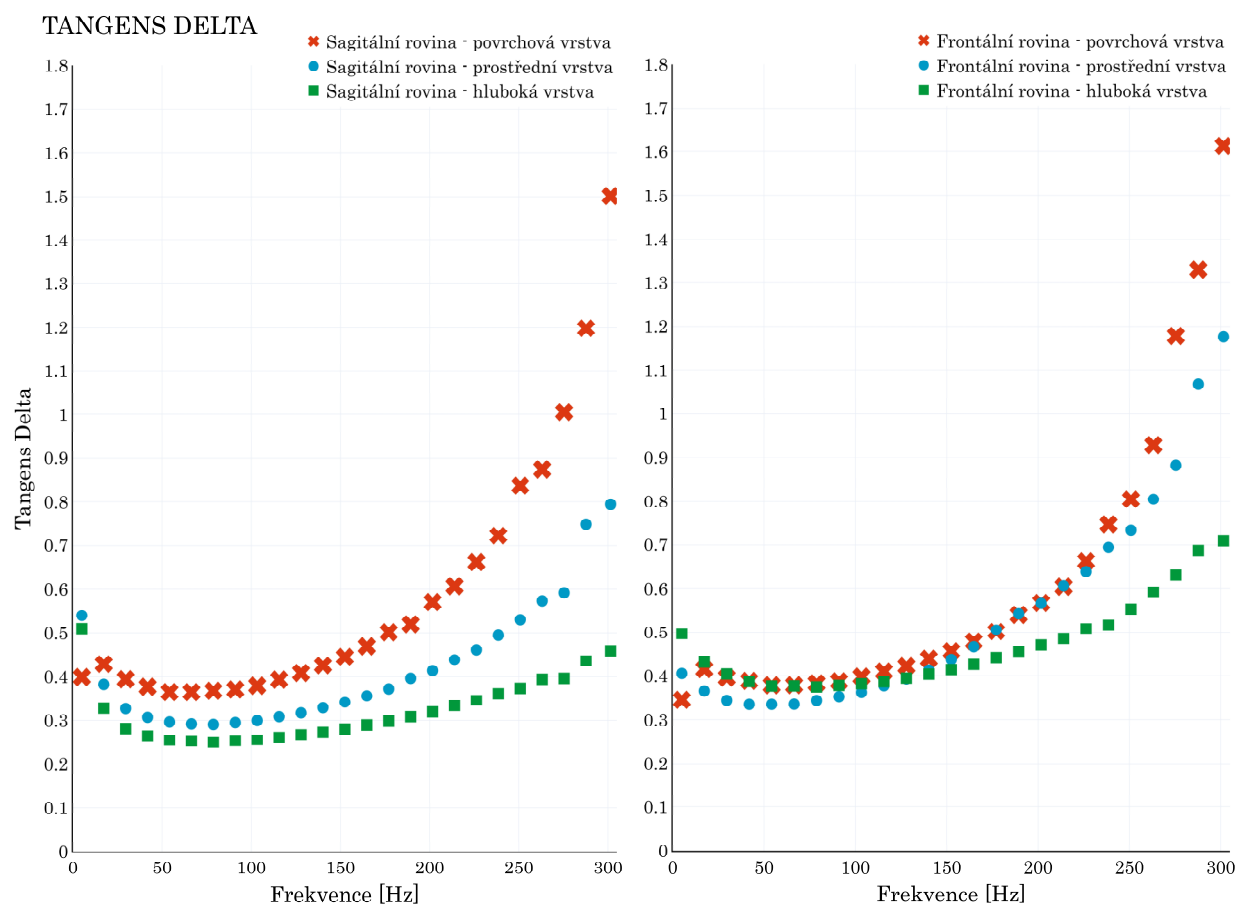


Obrázek 43 - Loss modul ve frontální (vlevo) a sagitální rovině(vpravo)

ve frontální rovině. To se potvrzuje i při analýze lokálního vývoje v jednotlivých vrstvách (Obr. 43), kdy hodnoty ve frontální rovině jsou vždy vyšší než v rovině sagitální. Na rozdíl od storage modulu jsou patrné rozdíly i v prostřední a hluboké vrstvě a je zde zcela prokazatelná závislost na testovaném směru. K zajímavému průběhu dochází v prostřední a hluboké vrstvě v oblasti do 80 Hz , kdy průběh v sagitální rovině je klesající, kdežto v rovině frontální je rostoucí. V tomto místě změny trendu tak dochází k disipaci energie. Co se pak týká průběhů od 80 Hz , tak ty jsou ve všech vrstvách rostoucí a v obou rovinách prakticky identické, což se z charakteru loss modulu zdá být logické, kdy se zvyšující se frekvencí se disipuje stále více energie.

Tangens delta

Nejvíce vypovídající veličinou z hlediska popisu viskoelastických vlastností je tangens delta, která vyjadřuje tlumení materiálu. Vzhledem k popisu teorie DMA je zřejmé, že čím větší tangens delta, tím viskóznější chování materiálu můžeme zaznamenat.



Obrázek 44 - Tangens Delta ve frontální (vlevo) a sagitální rovině (vpravo)

Pokud porovnáme testované roviny, tak v povrchové vrstvě (Obr. 44) jsou hodnoty srovnatelné, avšak v prostřední a převážně pak v hluboké vrstvě se již vcelku výrazně

liší, kdy stejně jako v případě loss modulu zde hodnoty z frontální roviny převyšují hodnoty z roviny sagitální.

V rámci analýzy jednotlivých průběhů v závislosti na frekvenci (Obr. 44) lze ve všech třech vrstvách pozorovat změnu vývoje. První inflexní bod můžeme zaznamenat u povrchové vrstvy pro hodnotu přibližně **20 Hz**. Tato změna by se mohla dát vysvětlit náhlým poklesem obsahu vody, která je z povrchové vrstvy se zvyšující se frekvencí postupně vytlačena kvůli vysoké permeabilitě v této zóně. Další inflexní bod se pak pohybuje přibližně okolo **80 Hz** a je téměř totožný pro všechny vrstvy. Změna trendu daná tímto inflexním bodem opět může naznačovat již zmíněné strukturální změny v chrupavce. V rozsahu frekvencí do **80 Hz** se tlumení snižuje, od **80 Hz** výše se naopak roste a chrupavka chová stále více viskoelasticky.

Chrupavka je však velmi komplexní tkáň a samotnou analýzu viskoelastických vlastností je potřeba provádět v kontextu s anatomí, histologickou stavbu a chemickým složením. Jednou z hlavních motivací, proč tento experiment proběhl, je aplikovat výstup pro další rozvoj již zmíněného 3D tisku biologických tkání, pro který potřebujeme znát právě tyto zmíněné parametry a vzájemné korelace mezi nimi, abychom byli schopni vytvořit plně funkční umělou chrupavku. Z hlediska histologické stavby a chemického složení tak dává smysl, že k největšímu tlumení dochází právě v povrchové vrstvě. Právě zde je největší koncentrace kolagenních vláken, jejichž hustá síť tenkých fibril tvoří Benninghoffovy arkádové struktury, které zajišťují distribuci působícího zatížení na chrupavku. Většinu extracelulární hmoty tvoří voda, která má na tlumení také značný vliv a v souvislosti s porézním charakterem chrupavky se tak vytváří unikátní mechanismus značně ovlivňující mechanické vlastnosti. Výsledky studie *Fischenich et al. (2020)* dokazují, že permeabilita popisující porézní charakter, klesá s hloubkou. V povrchové vrstvě tak tekutina protéká póry s menším odporem než ve vrstvě hluboké. Obecně pak lze konstatovat, že ve frontální rovině dosahujeme vyšších hodnot než v rovině sagitální právě díky specifické mikrostruktuře.

Co se týká zmíněných strukturálních změn v inflexních bodech, tak může docházet například k narušení mikrostruktury z kolagenních vláken. V takovém případě by bylo zajímavé sledovat průběh degradace a tyto výsledky následně interpretovat v souvislosti se znalostmi průběhu osteoartritidy pro další případné zdokonalování inženýrských postupů právě třeba v 3D tisku.

Výsledky experimentu potvrzují ortotropní charakter chrupavky, kdy se zkoumané parametry mění se vzdáleností od povrchu a zároveň ve směru daných rovin, což se shoduje s výsledky studie *Fischenich et al. (2020)*. Použité metody se tedy jeví jako vhodné a výsledky jsou vypovídající. Pokud bychom však chtěli zcela přesné výsledky, tak by bylo potřeba zvolit analytický model, který uvažuje přítomnost adhezních sil, ke kterým do jisté míry dochází, jelikož chrupavka je měkká tkáň. V rámci této práce však byly adhezní účinky zanedbány. Zároveň byl testován pouze jeden vzorek a pro potvrzení trendů i případné vyvozování závěrů by bylo ideální mezi sebou porovnat výsledky z několika odlišných vzorků.

7 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo vyhodnocení viskoelastických vlastností lidské kolenní chrupavky. Z hlediska viskoelasticity tak byly vyhodnoceny a analyzovány průběhy storage modulu, loss modulu a tangens delta. To vše v souvislosti s komplexní stavbou chrupavky popsanou v rešeršní části. Výsledky pak naznačují ortotropní charakter, jenž popisují i nejnovější studie jako *Fischenich et al. (2020)*, kdy se hodnoty mění jak s hloubkou, tak v závislosti na směru. Výsledné průběhy kvazistatické nanoindentace se pak řádově shodují s výsledky nejnovějších studií (*Antons et al. (2018)*).

Jednotlivé průběhy zkoumaných viskoelastických parametrů ukazují vývoj, který dosud nebyl v odborné literatuře popsán. Výsledky této práce tak vyplňují některé mezery a bude je možno aplikovat pro další rozvoj 3D tisku biologických tkání či v oblasti matematického modelování.

Veškeré stanovené cíle tak byly splněny. Zvolený nástroj, v podobě skriptu v pythonu, zároveň může být aplikován na data z dalších vzorků, jejichž následné porovnání by mohlo být zajímavým tématem diplomové práce.

8 Seznam použité literatury

- [1] *Anatomický atlas: orgány, systémy, struktury*. Praha: Svojtka & Co., 2012. ISBN 978-80-256-0739-8.
- [2] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie*. 2., upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-716-9970-5.
- [3] FISCHENICH, K. M., J. A. WAHLQUIST, R. L. WILMOTH, L. CAI, C. P. NEU a V. L. FERGUSON. Human articular cartilage is orthotropic where microstructure, micromechanics, and chemistry vary with depth and split-line orientation [online]. 28. 2020 [cit. 2021-02-22]. ISSN 1063-4584. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S106345842031058X>
- [4] DALY, A. C., F. E. FREEMAN, T. GONZALEZ-FERNANDEZ, S. E. CRITCHLEY, J. NULTY a D. J. KELLY. Advanced Healthcare Materials3D Bioprinting for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering: Advanced Healthcare Materials [online]. 22. 2017 [cit. 2021-02-28]. ISSN 1700298. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adhm.201700298>
- [5] WILSON, W., C. C. VAN DONKELAAR, B. VAN RIETBERGEN, K. ITO a R. HUISKES. Stresses in the local collagen network of articular cartilage: a poroviscoelastic fibril-reinforced finite element study: Journal of Biomechanics [online]. 37. 2004 [cit. 2021-03-01]. ISSN 0021-9290. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021929003002677>
- [6] MONONEN, M. E., P. TANSKA, H. ISAKSSON a R. K. KORHONEN. A novel method to simulate the progression of collagen degeneration of cartilage in the knee: Data from the osteoarthritis initiative. Scientific Reports [online]. 2016, 6 [cit. 2021-03-01]. ISSN 20452322. Dostupné z: [doi:10.1038/srep21415](https://doi.org/10.1038/srep21415)
- [7] LAASANEN, M. S., J. TÖYRÄS, R. K. KORHONEN, J. RIEPPO, S. SAARAKKALA, M. T. NIEMINEN, J. HIRVONEN a J. S. JURVELIN. Biomechanical properties of knee articular cartilage. Biorheology [online]. 2002, 40(1-3), 133-140 [cit. 2021-03-02]. ISSN 0006355X. Dostupné z: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0036973306&partnerID=40&md5=6026bed9a09a3fe4785b1365b66d898b>
- [8] PETERS, A. E., R. AKHTAR, E. J. COMERFORD a K. T. BATES. Tissue material properties and computational modelling of the human tibiofemoral joint: a critical review [online]. 2018 [cit. 2021-03-07]. Dostupné z: [doi:10.7717/peerj.4298](https://doi.org/10.7717/peerj.4298)

- [9] LANDÍNEZ-PARRA, N. S., D. A. GARZÓN-ALVARADO, A. VANEGAS-ACOSTA a J. C. VANEGAS-ACOSTA. Mechanical Behavior of Articular Cartilage. *Injury and Skeletal Biomechanics* [online]. 2012 [cit. 2021-03-07]. Dostupné z: doi:10.5772/48323
- [10] SHEPHERD, D. E. T. a B. B. SEEDHOM. A technique for measuring the compressive modulus of articular cartilage under physiological loading rates with preliminary results. *Journal of Engineering in Medicine* [online]. 1997, , 155-165 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1243/0954411971534278
- [11] FRANZ, T., E. HASLER a R. HAGG. In situ compressive stiffness, biochemical composition, and structural integrity of articular cartilage of the human knee joint. *Osteoarthritis and Cartilage* [online]. 2001, 9(6), 582–592 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1053/joca.2001.0418.
- [12] WILUSZ, R. E., S. ZAUSCHER a F. GUILAK. Micromechanical mapping of early osteoarthritic changes in the pericellular matrix of human articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage* [online]. 2013, 21(12), 1898-1903 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1016/j.joca.2013.08.026
- [13] WANG, M., Z. PENG, J. PRICE a N. KETHEESAN. Study of the nano-mechanical properties of human knee cartilage in different wear conditions. *Wear* [online]. 2013, 301(1-2), 188-191 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1016/j.wear.2012.12.015
- [14] ANTONS, J., J. NOHAVA a M. G. M. MARASCIO. Zone-dependent mechanical properties of human articular cartilage obtained by indentation measurements. *J Mater Sci: Mater Med* [online]. 2018, 29(57) [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-018-6066-0
- [15] HAY, J. L. a G. M. PHARR. Instrumented indentation testing. *ASM Handbook: Mechanical Testing and Evaluation*. 8. ASM International, 2000, s. 231-242. ISBN 978-0-87170-389-7.
- [16] POON, B., D. RITTEL a G. RAVINCHANDRAN. An analysis of nanoindentation in linearly elastic solids. *International Journal of Solids and Structures* [online]. 2008, 45(24), 6018-6033 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijsolstr.2008.07.021
- [17] OLIVER, W. C. a G. M. PHARR. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research* [online]. 1992, 7(6) [cit. 2021-03-30]. ISSN 2044-5326.

- [18] SYED ASIF, S. A., K. L. WAHL a R. J. COLTON. Nanoindentation and contact stiffness measurement using forcemodulation with a capacitive load-displacement transducer. *Review of scientific instruments* [online]. 1999, 70(5), 2408-2413 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1063/1.1149769
- [19] ODEGARD, G. M. a H. M. HERRING. Characterization of Viscoelastic Properties of Polymeric Materials Through Nanoindentation. *Experimental Mechanics* [online]. 2005, 45(2), 130-136 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:10.1007/BF02428185
- [20] M.E. Mononen, M.T. Mikkola, P. Julkunen, R. Ojala, M.T. Nieminen, J.S. Jurvelin, R.K. Korhonen. Effect of superficial collagen patterns and fibrillation of femoral articular cartilage on knee joint mechanics—A 3D finite element analysis. *Journal of Biomechanics* [online]. 2012, 45(3), 579-587 [cit. 2021-6-2]. ISSN ISSN 0021-9290. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiomech.2011.11.003
- [21] Mansour, J. (2003). Biomechanics of cartilage. In Oatis, C., editor, *Kinesiology: The Mechanics and Pathomechanics of Human Movement*, chapter 5, 66–79. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia

Přílohy – Tabulky hodnot

Tabulky všech hodnot v jednotlivých vrstvách se směrodatnými odchylkami v sagitální (S) a frontální rovině (F).

POVRCHOVÁ VRSTVA

FREKVENCE	STORAGE MODUL-S	STORAGE MODUL-F	LOSS MODUL-S	LOSS MODUL-F	TANGENS DELTA-S	TANGENS DELTA-F
301.500000	1.282267 ± 0.394231	2.029406 ± 0.813080	1.572600 ± 0.183901	2.257333 ± 0.245720	1.501076 ± 0.398605	1.612578 ± 1.103117
287.708333	1.466467 ± 0.399402	2.318400 ± 0.777066	1.542867 ± 0.169763	2.091733 ± 0.182983	1.197852 ± 0.289490	1.329167 ± 0.966920
275.416667	1.690533 ± 0.458927	2.467400 ± 0.778246	1.505200 ± 0.156309	2.123867 ± 0.164732	1.005501 ± 0.248808	1.178759 ± 0.765669
263.125000	1.875933 ± 0.381627	2.693800 ± 0.779810	1.511333 ± 0.135244	2.117533 ± 0.162230	0.874605 ± 0.142209	0.928553 ± 0.374270
250.833333	1.948400 ± 0.442154	2.859467 ± 0.774653	1.503600 ± 0.149857	2.062800 ± 0.165544	0.837992 ± 0.185921	0.804562 ± 0.244504
238.541667	2.145000 ± 0.406977	3.074533 ± 0.794109	1.481067 ± 0.155212	2.085533 ± 0.167173	0.723150 ± 0.092061	0.746283 ± 0.220805
226.250000	2.283333 ± 0.428170	3.263067 ± 0.797240	1.450733 ± 0.132845	2.015267 ± 0.189419	0.662755 ± 0.092231	0.662729 ± 0.145754
213.958333	2.430867 ± 0.408534	3.460800 ± 0.769772	1.418800 ± 0.125585	1.994867 ± 0.196041	0.606783 ± 0.067631	0.604574 ± 0.103461
201.666667	2.511600 ± 0.392968	3.609267 ± 0.753461	1.389867 ± 0.108741	1.960333 ± 0.188210	0.570920 ± 0.058470	0.567790 ± 0.088234
189.375000	2.608800 ± 0.385327	3.759533 ± 0.758365	1.321600 ± 0.142563	1.948733 ± 0.139335	0.519195 ± 0.043431	0.540709 ± 0.094207
177.083333	2.722467 ± 0.387541	3.911733 ± 0.741583	1.337533 ± 0.119001	1.902600 ± 0.186463	0.501508 ± 0.038758	0.501786 ± 0.062043
164.791667	2.818000 ± 0.420738	4.023467 ± 0.754776	1.295400 ± 0.123786	1.870933 ± 0.177020	0.469944 ± 0.036778	0.478356 ± 0.056971
152.500000	2.905733 ± 0.401513	4.120000 ± 0.745696	1.270400 ± 0.115890	1.833867 ± 0.181259	0.445679 ± 0.031201	0.455938 ± 0.047246
140.208333	2.980867 ± 0.405052	4.212333 ± 0.720418	1.247867 ± 0.120624	1.809733 ± 0.169265	0.425863 ± 0.028739	0.438719 ± 0.041403
127.916667	3.022667 ± 0.399729	4.306600 ± 0.705895	1.215933 ± 0.127232	1.782200 ± 0.157525	0.408315 ± 0.025150	0.421893 ± 0.038769
115.625000	3.064000 ± 0.372209	4.344467 ± 0.718580	1.185867 ± 0.111342	1.747133 ± 0.169861	0.393328 ± 0.022604	0.409801 ± 0.035490
103.333333	3.076933 ± 0.362244	4.343133 ± 0.714796	1.153400 ± 0.113082	1.700533 ± 0.167926	0.379594 ± 0.019830	0.398186 ± 0.032156
91.041667	3.064200 ± 0.360906	4.354867 ± 0.678016	1.124067 ± 0.116910	1.664533 ± 0.166721	0.371027 ± 0.019082	0.387446 ± 0.025943
78.750000	3.040800 ± 0.351552	4.333867 ± 0.681950	1.108933 ± 0.122785	1.638867 ± 0.185880	0.368108 ± 0.019779	0.382678 ± 0.020588
66.458333	2.994600 ± 0.339506	4.251933 ± 0.676570	1.084133 ± 0.122341	1.592333 ± 0.183237	0.365048 ± 0.016587	0.378685 ± 0.019889
54.166667	2.914067 ± 0.322215	4.119267 ± 0.660475	1.057000 ± 0.133561	1.543600 ± 0.192374	0.365177 ± 0.019297	0.378394 ± 0.018637
41.875000	2.773800 ± 0.307619	3.920067 ± 0.626177	1.042733 ± 0.146123	1.511533 ± 0.210463	0.377204 ± 0.022079	0.388338 ± 0.010960
29.583333	2.568333 ± 0.276530	3.648000 ± 0.581954	1.009667 ± 0.148861	1.436467 ± 0.220420	0.394143 ± 0.024900	0.395733 ± 0.005287
17.291667	2.226800 ± 0.224643	3.168600 ± 0.506654	0.959600 ± 0.167092	1.315600 ± 0.235089	0.429137 ± 0.039183	0.415030 ± 0.013453
5.000000	1.521600 ± 0.104826	2.267000 ± 0.272793	0.613200 ± 0.127241	0.795800 ± 0.200971	0.398935 ± 0.072985	0.345367 ± 0.055917

PROSTŘEDNÍ VRSTVA

FREKVENCE	STORAGE MODUL-S	STORAGE MODUL-F	LOSS MODUL-S	LOSS MODUL-F	TANGENS DELTA-S	TANGENS DELTA-F
301.500000	2.706815 ± 1.077084	1.996185 ± 0.897321	1.711074 ± 0.260271	2.044222 ± 0.211431	0.794664 ± 0.371599	1.176767 ± 0.366964
287.708333	2.883815 ± 1.025202	2.222333 ± 0.980976	1.745370 ± 0.168675	2.046444 ± 0.260188	0.749588 ± 0.411722	1.066668 ± 0.375387
275.416667	3.083889 ± 0.974571	2.441111 ± 0.867428	1.647852 ± 0.128754	1.984074 ± 0.267829	0.591926 ± 0.169920	0.882322 ± 0.182046
263.125000	3.247519 ± 1.007943	2.703296 ± 0.865107	1.678778 ± 0.122025	1.982333 ± 0.207191	0.573765 ± 0.183887	0.805235 ± 0.152302
250.833333	3.352889 ± 0.970358	2.847852 ± 0.841970	1.634000 ± 0.147384	1.927148 ± 0.230368	0.529888 ± 0.136957	0.733337 ± 0.125306
238.541667	3.535148 ± 0.950365	3.058519 ± 0.883548	1.631963 ± 0.150035	1.957704 ± 0.220507	0.494898 ± 0.108510	0.694262 ± 0.144058
226.250000	3.657852 ± 0.945160	3.233000 ± 0.884810	1.593704 ± 0.140544	1.926259 ± 0.213416	0.462193 ± 0.091538	0.638919 ± 0.121767
213.958333	3.765000 ± 0.938070	3.418986 ± 0.874612	1.567333 ± 0.136981	1.863000 ± 0.221100	0.439341 ± 0.084510	0.606599 ± 0.155201
201.666667	3.886296 ± 0.933677	3.574889 ± 0.856413	1.528778 ± 0.124356	1.823852 ± 0.221294	0.413610 ± 0.077832	0.566808 ± 0.149559
189.375000	3.967185 ± 0.964527	3.690815 ± 0.845802	1.494370 ± 0.142679	1.817963 ± 0.246925	0.396177 ± 0.073630	0.543146 ± 0.131733
177.083333	4.077222 ± 0.934862	3.844556 ± 0.835603	1.457963 ± 0.134010	1.767815 ± 0.226839	0.372373 ± 0.063063	0.505966 ± 0.125606
164.791667	4.151259 ± 0.912153	3.960222 ± 0.842149	1.427296 ± 0.131448	1.724222 ± 0.235746	0.356523 ± 0.055884	0.466219 ± 0.081233
152.500000	4.218185 ± 0.911022	4.068815 ± 0.841823	1.393074 ± 0.131128	1.688481 ± 0.235732	0.341670 ± 0.052006	0.437208 ± 0.057430
140.208333	4.281481 ± 0.905290	4.163074 ± 0.834284	1.365667 ± 0.132189	1.650222 ± 0.236469	0.329016 ± 0.048901	0.412970 ± 0.044116
127.916667	4.328444 ± 0.909244	4.243519 ± 0.827326	1.331037 ± 0.130930	1.613185 ± 0.228400	0.316840 ± 0.045885	0.392891 ± 0.035327
115.625000	4.357963 ± 0.909122	4.302333 ± 0.814161	1.308296 ± 0.140218	1.582407 ± 0.220796	0.308446 ± 0.043568	0.377319 ± 0.030031
103.333333	4.367815 ± 0.895678	4.344556 ± 0.789588	1.274259 ± 0.138592	1.545926 ± 0.222357	0.299637 ± 0.042786	0.362117 ± 0.021031
91.041667	4.357852 ± 0.882763	4.353481 ± 0.792465	1.250778 ± 0.129039	1.513370 ± 0.221819	0.294962 ± 0.044055	0.352475 ± 0.019124
78.750000	4.322630 ± 0.878645	4.345037 ± 0.752446	1.224000 ± 0.135137	1.480963 ± 0.219101	0.290804 ± 0.043299	0.343806 ± 0.016377
66.458333	4.270000 ± 0.885798	4.283593 ± 0.730631	1.214963 ± 0.145099	1.429778 ± 0.218267	0.292028 ± 0.044305	0.335571 ± 0.015489
54.166667	4.173926 ± 0.883038	4.171259 ± 0.729314	1.205741 ± 0.156008	1.393926 ± 0.231277	0.296365 ± 0.045261	0.335245 ± 0.013502
41.875000	4.043741 ± 0.862801	4.034630 ± 0.707085	1.209148 ± 0.160547	1.355926 ± 0.236870	0.306949 ± 0.046497	0.335179 ± 0.012268
29.583333	3.829481 ± 0.832962	3.764963 ± 0.665058	1.216296 ± 0.166527	1.305333 ± 0.228529	0.326865 ± 0.054592	0.343970 ± 0.015698
17.291667	3.423370 ± 0.821641	3.363000 ± 0.573955	1.275222 ± 0.206192	1.244667 ± 0.234898	0.382565 ± 0.056844	0.365359 ± 0.020190
5.000000	2.273148 ± 0.641846	2.399481 ± 0.394097	1.226037 ± 0.346367	0.997810 ± 0.225185	0.539655 ± 0.066945	0.405219 ± 0.046383

HLUBOKÁ VRSTVA

FREKVENCE	STORAGE MODUL-S	STORAGE MODUL-F	LOSS MODUL-S	LOSS MODUL-F	TANGENS DELTA-S	TANGENS DELTA-F
301.500000	5.500278 ± 1.769260	5.841444 ± 2.669870	2.322778 ± 0.456672	3.445778 ± 301.500000	0.459950 ± 0.091382	0.709631 ± 0.174947
287.708333	5.751722 ± 1.795379	6.013222 ± 2.644946	2.321556 ± 0.358562	3.414667 ± 287.708333	0.436870 ± 0.091617	0.687459 ± 0.177423
275.416667	5.905556 ± 1.765200	6.232444 ± 2.646355	2.210778 ± 0.446838	3.343333 ± 275.416667	0.396107 ± 0.055329	0.631090 ± 0.151358
263.125000	6.020611 ± 1.770885	6.413500 ± 2.618031	2.247722 ± 0.428881	3.342444 ± 263.125000	0.394131 ± 0.050753	0.591988 ± 0.094767
250.833333	6.169056 ± 1.756410	6.534056 ± 2.564464	2.202889 ± 0.417322	3.276667 ± 250.833333	0.373709 ± 0.043927	0.553708 ± 0.067237
238.541667	6.305167 ± 1.777401	6.719444 ± 2.472467	2.169000 ± 0.389066	3.206722 ± 238.541667	0.361258 ± 0.048376	0.516939 ± 0.050795
226.250000	6.405167 ± 1.773638	6.818444 ± 2.484919	2.135333 ± 0.405692	3.212556 ± 226.250000	0.346008 ± 0.035573	0.508733 ± 0.047921
213.958333	6.530500 ± 1.768473	6.952222 ± 2.439952	2.105444 ± 0.394311	3.166500 ± 213.958333	0.333977 ± 0.035147	0.485335 ± 0.038000
201.666667	6.631167 ± 1.758057	7.060056 ± 2.421774	2.053611 ± 0.401287	3.133333 ± 201.666667	0.319034 ± 0.029350	0.470165 ± 0.036774
189.375000	6.715167 ± 1.732714	7.149333 ± 2.394264	2.016889 ± 0.390000	3.103222 ± 189.375000	0.308441 ± 0.026776	0.454300 ± 0.030897
177.083333	6.778722 ± 1.728984	7.228500 ± 2.325918	1.976222 ± 0.391436	3.050444 ± 177.083333	0.298253 ± 0.022981	0.441435 ± 0.033226
164.791667	6.853222 ± 1.710843	7.304167 ± 2.288676	1.942722 ± 0.385356	3.003167 ± 164.791667	0.289606 ± 0.022157	0.426130 ± 0.030500
152.500000	6.905556 ± 1.692496	7.365611 ± 2.236257	1.901667 ± 0.380436	2.956944 ± 152.500000	0.280483 ± 0.019300	0.414083 ± 0.030434
140.208333	6.946333 ± 1.689365	7.393889 ± 2.216206	1.865611 ± 0.381325	2.907000 ± 140.208333	0.272871 ± 0.017128	0.403709 ± 0.030297
127.916667	6.971444 ± 1.683427	7.396111 ± 2.160235	1.841389 ± 0.399613	2.854111 ± 127.916667	0.267258 ± 0.014783	0.394653 ± 0.032308
115.625000	6.976333 ± 1.672044	7.419222 ± 2.114852	1.809611 ± 0.411697	2.819444 ± 115.625000	0.261407 ± 0.012324	0.386521 ± 0.036646
103.333333	6.969222 ± 1.639446	7.340167 ± 2.002563	1.761222 ± 0.388916	2.772500 ± 103.333333	0.255065 ± 0.017291	0.381862 ± 0.037707
91.041667	6.927667 ± 1.606947	7.265389 ± 1.939728	1.741722 ± 0.394641	2.720889 ± 91.041667	0.252951 ± 0.015530	0.378073 ± 0.040359
78.750000	6.861611 ± 1.580668	7.153611 ± 1.866318	1.706000 ± 0.390499	2.653222 ± 78.750000	0.249613 ± 0.015250	0.374584 ± 0.041185
66.458333	6.746000 ± 1.544632	6.959333 ± 1.757013	1.704056 ± 0.419161	2.613500 ± 66.458333	0.252295 ± 0.018430	0.376878 ± 0.046343
54.166667	6.611056 ± 1.494087	6.715111 ± 1.666202	1.681778 ± 0.398634	2.525889 ± 54.166667	0.254052 ± 0.013075	0.376641 ± 0.044354
41.875000	6.418278 ± 1.443667	6.364778 ± 1.502989	1.705556 ± 0.429185	2.463056 ± 41.875000	0.264609 ± 0.020216	0.386856 ± 0.051056
29.583333	6.087500 ± 1.342475	5.860444 ± 1.324961	1.728278 ± 0.461730	2.367444 ± 29.583333	0.281516 ± 0.026180	0.404120 ± 0.046290
17.291667	5.522167 ± 1.185769	5.113444 ± 1.081127	1.831556 ± 0.484541	2.217944 ± 17.291667	0.327816 ± 0.027795	0.431263 ± 0.049669
5.000000	3.830611 ± 0.738538	3.436056 ± 0.694974	1.982556 ± 0.492231	1.739611 ± 5.000000	0.509396 ± 0.035780	0.496387 ± 0.052256

Přílohy – Skript vrstvy

Zde je uveden skript pouze pro vyhodnocení storage modulu. Pro vyhodnocení Loss modulu by bylo třeba zvolit #1 (označeno ve skriptu) a pro tangens delta #2.

```
import pandas as pd
import os
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import matplotlib.ticker as ticker
import plotly.graph_objects as go
import plotly.express as px
import plotly.io as pio
#FRONTÁLNÍ ROVINA
files = os.listdir("./data_frontal")
df_FiltrovaData1F = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData2F = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData3F = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData4F = pd.DataFrame()
for i in range(len(files)):
    soubor= "./data_frontal/"+str(files[i])
    data = pd.read_csv(soubor, sep='\t', encoding = "ISO-8859-1", skiprows=[0,1,3,4])
    data.iloc[6:,[18,37,51,53]]
    df_FiltrovaData2F["Frekvence"+str(i)] = data['Ave, Dynamic Freq. (Hz)']
    #ZVOLIT STORAGE MODUL/LOSS MODUL/TAN DELTA
    df_FiltrovaData1F["Storage Modul"+str(i)] = (data['Ave, Ref. Stor. Mod. (GPa)'])*1000
#1 #df_FiltrovaData1F["Loss Modul"+str(i)] = data['Ave, Ref. Loss Mod. (GPa)']
#2 #df_FiltrovaData1F["Tang_Delta"+str(i)] = data['Ave, Tan-Delta']
#POVRCHOVÁ VRSTVA
df_povrchF_storage = df_zdata1F.iloc[:,16:21]
df_povrch_prumerF_storage = df_povrchF_storage.mean(axis = 1)
df_povrch_odchylkaF_storage = df_povrchF_storage.std(axis = 1)
df_data_povrchF_storage = pd.DataFrame()
df_data_povrchF_storage["odchylka"] = df_povrch_odchylkaF_storage
df_data_povrchF_storage["modul_prumer"] = df_povrch_prumerF_storage
df_data_povrchF_storage["Frekvence"] = df_FrekvenceF
#STŘEDOVÁ VRSTVA
df_stredF_storage = df_zdata1F.iloc[:,7:16]
df_stred_prumerF_storage = df_stredF_storage.mean(axis = 1)
df_stred_odchylkaF_storage = df_stredF_storage.std(axis = 1)
df_data_stredF_storage = pd.DataFrame()
df_data_stredF_storage["odchylka"] = df_stred_odchylkaF_storage
df_data_stredF_storage["modul_prumer"] = df_stred_prumerF_storage
df_data_stredF_storage["Frekvence"] = df_FrekvenceF
#HLUBOKÁ VRSTVA
df_dnoF_storage = df_zdata1F.iloc[:,2:8]
df_dno_prumerF_storage = df_dnoF_storage.mean(axis = 1)
df_dno_odchylkaF_storage = df_dnoF_storage.std(axis = 1)
df_data_dnoF_storage = pd.DataFrame()
df_data_dnoF_storage["odchylka"] = df_dno_odchylkaF_storage
df_data_dnoF_storage["modul_prumer"] = df_dno_prumerF_storage
df_data_dnoF_storage["Frekvence"] = df_FrekvenceF
#SAGITÁLNÍ ROVINA
files = os.listdir("./data")
df_FiltrovaData1S = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData2S = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData3S = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData4S = pd.DataFrame()
for i in range(len(files)):
    soubor= "./data/"+str(files[i])
    data = pd.read_csv(soubor, sep='\t', encoding = "ISO-8859-1", skiprows=[0,1,3,4])
    data.iloc[6:,[18,37,51,53]]
    df_FiltrovaData2S["Frekvence"+str(i)] = data['Ave, Dynamic Freq. (Hz)']
    df_FiltrovaData1S["Storage Modul"+str(i)] = (data['Ave, Ref. Stor. Mod. (GPa)'])*1000
    df_FiltrovaData3S["Loss Modul"+str(i)] = data['Ave, Ref. Loss Mod. (GPa)']
    df_FiltrovaData4S["Tang_Delta"+str(i)] = data['Ave, Tan-Delta']
df_FrekvenceS=df_FiltrovaData2S[['Frekvence0']]
df_zdata1S=df_FiltrovaData1S.groupby(np.arange(len(df_FiltrovaData1S.columns))/3, axis=1).mean()
df_zdata3S=df_FiltrovaData3S.groupby(np.arange(len(df_FiltrovaData3S.columns))/3, axis=1).mean()
df_zdata4S=df_FiltrovaData4S.groupby(np.arange(len(df_FiltrovaData4S.columns))/3, axis=1).mean()
#POVRCHOVÁ VRSTVA
df_povrchS_storage = df_zdata1S.iloc[:,16:21]
df_povrch_prumerS_storage = df_povrchS_storage.mean(axis = 1)
df_povrch_odchylkaS_storage = df_povrchS_storage.std(axis = 1)
df_data_povrchS_storage = pd.DataFrame()
df_data_povrchS_storage["odchylka"] = df_povrch_odchylkaS_storage
df_data_povrchS_storage["modul_prumer"] = df_povrch_prumerS_storage
```

```

df_data_povrchS_storage["Frekvence"] = df_FrekvenceS
#STŘEDOVÁ VRSTVA
df_stredS_storage = df_zdata1S.iloc[:,7:16]
df_stred_prumerS_storage = df_stredS_storage.mean(axis = 1)
df_stred_odchylkaS_storage = df_stredS_storage.std(axis = 1)
df_data_stredS_storage = pd.DataFrame()
df_data_stredS_storage["odchylka"] = df_stred_odchylkaS_storage
df_data_stredS_storage["modul_prumer"] = df_stred_prumerS_storage
df_data_stredS_storage["Frekvence"] = df_FrekvenceS
#HLUBOKÁ VRSTVA
df_dnoS_storage = df_zdata1S.iloc[:,2:8]
df_dno_prumerS_storage = df_dnoS_storage.mean(axis = 1)
df_dno_odchylkaS_storage = df_dnoS_storage.std(axis = 1)
df_data_dnoS_storage = pd.DataFrame()
df_data_dnoS_storage["odchylka"] = df_dno_odchylkaS_storage
df_data_dnoS_storage["modul_prumer"] = df_dno_prumerS_storage
df_data_dnoS_storage["Frekvence"] = df_FrekvenceS
#GRAF POVRCHOVÁ VRSTVA
OdchylkaF = np.array(df_povrch_odchylkaF_storage)
OdchylkaS = np.array(df_povrch_odchylkaS_storage)
fig = go.Figure()
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_povrchS_storage["Frekvence"], y=df_data_povrchS_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Sagitální rovina',
                        marker=dict(color='#0099C6', size=10),
                        error_y = dict(type='data', array=OdchylkaS, visible=True, thickness=2,
width=5)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_povrchF_storage["Frekvence"], y=df_data_povrchF_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Frontální rovina',
                        marker=dict(color='#DC3912', size=10),
                        error_y = dict(type='data', array=OdchylkaF, visible=True, thickness=2,
width=5)))
fig.update_layout(title='STORAGE MODUL - Povrchová vrstva (0-22%)',
                  xaxis_title='Frekvence [Hz]',
                  yaxis_title='Storage Modul [MPa]', template = 'plotly')
fig.update_layout(width = 1750,height = 950,autosize=True)
fig.update_layout(legend=dict(yanchor="top",y=0.99,xanchor="left",x=0.01))
fig.update_xaxes(nticks=20)
fig.update_yaxes(nticks=20)
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.size=28
fig.show()
pio.write_html(fig, file='Storage_Modul_povrchova_vrstva.html', auto_open=True)
fig.write_image("export/Storage_Modul_povrchova_vrstva.jpeg")
fig.write_image("export/Storage_Modul_povrchova_vrstva.png")
#GRAF PROSTŘEDNÍ VRSTVA
OdchylkaF = np.array(df_stred_odchylkaF_storage)
OdchylkaS = np.array(df_stred_odchylkaS_storage)
fig = go.Figure()
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_stredS_storage["Frekvence"], y=df_data_stredS_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Sagitální rovina',
                        marker=dict(color='#0099C6', size=10),
                        error_y = dict(type='data', array=OdchylkaS, visible=True, thickness=2,
width=5)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_stredF_storage["Frekvence"], y=df_data_stredF_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Frontální rovina',
                        marker=dict(color='#DC3912', size=10),
                        error_y = dict(type='data', array=OdchylkaF, visible=True, thickness=2,
width=5)))
fig.update_layout(title='STORAGE MODUL - Prostřední vrstva (22%-67%)',
                  xaxis_title='Frekvence [Hz]',
                  yaxis_title='Storage Modul [MPa]', template = 'plotly')
fig.update_layout(width = 1750,height = 950,autosize=True)
fig.update_layout(legend=dict(yanchor="top",y=0.99,xanchor="left",x=0.01))
fig.update_xaxes(nticks=20)
fig.update_yaxes(nticks=20)
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.size=28
fig.show()
pio.write_html(fig, file='Storage_Modul_prostredni_vrstva.html', auto_open=True)
fig.write_image("export/Storage_Modul_prostredni_vrstva.jpeg")
fig.write_image("export/Storage_Modul_prostredni_vrstva.png")
#HLUBOKÁ VRSTVA
OdchylkaF = np.array(df_dno_odchylkaF_storage)
OdchylkaS = np.array(df_dno_odchylkaS_storage)
fig = go.Figure()
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_dnoS_storage["Frekvence"], y=df_data_dnoS_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Sagitální rovina',
                        marker=dict(color='#0099C6', size=10),
                        error_y = dict(type='data', array=OdchylkaS, visible=True, thickness=2,
width=5)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_dnoF_storage["Frekvence"], y=df_data_dnoF_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Frontální rovina',
                        marker=dict(color='#DC3912', size=10),

```

```

        error_y = dict(type='data', array=0dchylkaF, visible=True, thickness=2,
width=5))
fig.update_layout(title='STORAGE MODUL - Hluboká vrstva (67%-92%)',
                  xaxis_title='Frekvence [Hz]',
                  yaxis_title='Storage Modul [MPa]', template = 'plotly')
fig.update_layout(width = 1750,height = 950,autosize=True)
fig.update_layout(legend=dict(yanchor="top",y=0.99,xanchor="left",x=0.01))
fig.update_xaxes(nticks=20)
fig.update_yaxes(nticks=20)
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.size=28
fig.show()
pio.write_html(fig, file='Storage_Modul_hluboka_vrstva.html', auto_open=True)
fig.write_image("export/Storage_Modul_hluboka_vrstva.jpeg")
fig.write_image("export/Storage_Modul_hluboka_vrstva.png")
fig = go.Figure()
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_povrchF_storage["Frekvence"], y=df_data_povrchF_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers',marker_symbol='x', name = 'Frontální rovina - povrchová
vrstva', marker=dict(color='#DC3912', size=26)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_stredF_storage["Frekvence"], y=df_data_stredF_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Frontální rovina - střední vrstva',
                        marker=dict(color='#0099C6', size=18)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_dnoF_storage["Frekvence"], y=df_data_dnoF_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers',marker_symbol='square', name = 'Frontální rovina - hluboká
vrstva', marker=dict(color='rgb(0,152,58)', size=18)))
fig.update_layout(xaxis_title='Frekvence [Hz]',template = 'plotly_white')
fig.update_layout(width = 1050,height = 1450,autosize=True)
fig.update_layout(legend=dict(yanchor="top",y=1.05,xanchor="right",x=1))
fig.update_xaxes(range=[0,305],showline=True, linewidth=2, linecolor='black')
fig.update_yaxes(nticks=20, range=[0,8],showline=True, linewidth=2, linecolor='black')
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.color="black"
fig.layout.font.size=28
fig.show()
pio.write_html(fig, file='Storage_Modul_povrchova_vrstva.html', auto_open=True)
fig.write_image("export/Storage_Modul_vsechny_vrstvy_frontal.jpeg",width = 1050,height = 1450,scale=8)
fig = go.Figure()
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_povrchS_storage["Frekvence"], y=df_data_povrchS_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers',marker_symbol='x', name = 'Sagitální rovina - povrchová
vrstva',
                        marker=dict(color='#DC3912', size=26)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_stredS_storage["Frekvence"], y=df_data_stredS_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers', name = 'Sagitální rovina - střední vrstva',
                        marker=dict(color='#0099C6', size=18)))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_dnoS_storage["Frekvence"], y=df_data_dnoS_storage["modul_prumer"],
                        mode = 'markers',marker_symbol='square', name = 'Sagitální rovina - hluboká
vrstva',
                        marker=dict(color='rgb(0,152,58)', size=18)))
fig.update_layout(title='STORAGE MODUL',
                  xaxis_title='Frekvence [Hz]',
                  yaxis_title='Storage Modul [MPa]',
                  template = 'plotly_white')
fig.update_layout(width = 1050,height = 1450,autosize=True)
fig.update_layout(legend=dict(yanchor="top",y=1.05,xanchor="right",x=1))
fig.update_xaxes(range=[0,305],showline=True, linewidth=2, linecolor='black')
fig.update_yaxes(title_text='Storage Modul [MPa]',title_standoff=20,nticks=20, range=[0,8],showline=True,
linewidth=2, linecolor='black')
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.color="black"
fig.layout.font.size=28
fig.show()
pio.write_html(fig, file='Storage_Modul_povrchova_vrstva.html', auto_open=True)
fig.write_image("export/Storage_Modul_vsechny_vrstvy_sagital.jpeg",width = 1050,height = 1450,scale=8)

```

Přílohy – Skript kvazistatika

Zde je uveden skript pro vyhodnocení redukovaného modulu pružnosti. Pro vyhodnocení kontaktního tlaku je potřeba zvolit řádek #1 označený ve skriptu.

```
import pandas as pd
import numpy as np
import plotly.graph_objects as go
import plotly.io as pio
#SAGITÁLNÍ ROVINA
filename = 'Sagittal_C161473_01_multiple-NEW.txt'
df = pd.read_csv(filename, sep='\t', encoding = "ISO-8859-1")
hodnota62 = -109.130399
df["Hloubka_S"] = ((df['Y(mm)'] * 1000) + ((hodnota62)*(-1000)-100) + 65)*(-1)
df["Er_S"] = df['Er(GPa)'] * 1000 ## přepočet Er na MPa
#1 df["H_S"] = df['H(GPa)'] * 1000 ## přepočet H na MPa
Hloubka_S = np.array(df["Hloubka_S"])
ModulPruznosti_S = np.array(df['Er_S'])
Hloubka_prumer_S = []
ModulPruznosti_prumer_S = []
j = 0
for n in range(int(len(Hloubka_S)/3)):
    prumer_tri_hodnot = (np.mean(Hloubka_S[j:j+3]))
    Hloubka_prumer_S.append(n)
    Hloubka_prumer_S[n] = prumer_tri_hodnot
    j += 3
j = 0
for n in range(int(len(ModulPruznosti_S)/3)):
    prumer_tri_hodnot = (np.mean(ModulPruznosti_S[j:j+3]))
    ModulPruznosti_prumer_S.append(n)
    ModulPruznosti_prumer_S[n] = prumer_tri_hodnot
    j += 3
df_Modul_S = pd.DataFrame()
df_Modul_S["Modul_S"] = df["Er_S"]
df_ModulT_S = df_Modul_S.T
df_odchylka_S = df_ModulT_S.groupby(np.arange(len(df_ModulT_S.columns))/3, axis=1).std()
df_odchylkaT_S = df_odchylka_S.T
Odchylka_S = np.array(df_odchylkaT_S)
df_data = pd.DataFrame()
df_data["Hloubka_prumer_S"] = Hloubka_prumer_S
df_data["Hloubka_procenta_S"] = (100*(df_data["Hloubka_prumer_S"])/1937)
df_data["ModulPruznosti_prumer_S"] = ModulPruznosti_prumer_S
df_data["Smerodatna_odchylka_S"] = df_odchylkaT_S
#FRONTÁLNÍ ROVINA
filename = 'Frontal_C161473_01_multiple-NEW.txt'
df = pd.read_csv(filename, sep='\t', encoding = "ISO-8859-1")
hodnota62 = -103.145803
df["Hloubka_F"] = ((df['Y(mm)'] * 1000) + ((hodnota62)*(-1000)-100) + 65)*(-1)
df["Er_F"] = df['Er(GPa)'] * 1000 ## přepočet Er na MPa
Hloubka_F = np.array(df["Hloubka_F"])
ModulPruznosti_F = np.array(df['Er_F'])
Hloubka_prumer_F = []
ModulPruznosti_prumer_F = []
j = 0
for n in range(int(len(Hloubka_F)/3)):
    prumer_tri_hodnot = (np.mean(Hloubka_F[j:j+3]))
    Hloubka_prumer_F.append(n)
    Hloubka_prumer_F[n] = prumer_tri_hodnot
    j += 3
j = 0
for n in range(int(len(ModulPruznosti_F)/3)):
    prumer_tri_hodnot = (np.mean(ModulPruznosti_F[j:j+3]))
    ModulPruznosti_prumer_F.append(n)
    ModulPruznosti_prumer_F[n] = prumer_tri_hodnot
    j += 3
df_Modul_F = pd.DataFrame()
df_Modul_F["Modul_F"] = df["Er_F"]
df_ModulT_F = df_Modul_F.T
df_odchylka_F = df_ModulT_F.groupby(np.arange(len(df_ModulT_F.columns))/3, axis=1).std()
df_odchylkaT_F = df_odchylka_F.T
Odchylka_F = np.array(df_odchylkaT_F)
df_data_F = pd.DataFrame()
df_data_F["Hloubka_prumer_F"] = Hloubka_prumer_F
df_data_F["Hloubka_procenta_F"] = (100*(df_data_F["Hloubka_prumer_F"])/1983)
df_data_F["ModulPruznosti_prumer_F"] = ModulPruznosti_prumer_F
df_data_F["Smerodatna_odchylka_F"] = df_odchylkaT_F
#GRAF
fig = go.Figure()
```

```

fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data["ModulPruznosti_prumer_S"], y=df_data["Hloubka_procenta_S"],
                        mode = 'lines+markers', name = 'Sagitální rovina',
                        marker=dict(color='#0099C6', size=10),
                        error_x = dict(type='data', array=Odchylka_S, visible=True, thickness=2,
width=5)
                        ))
fig.add_trace(go.Scatter(x=df_data_F["ModulPruznosti_prumer_F"], y=df_data_F["Hloubka_procenta_F"],
                        mode = 'lines+markers', name = 'Frontální rovina',
                        marker=dict(color='#DC3912', size=10),
                        error_x = dict(type='data', array=Odchylka_F, visible=True, thickness=2,
width=5)
                        ))
fig.update_layout(title='Redukovaný Modul Pružnosti', yaxis = dict(autorange = "reversed"),
                  xaxis_title='Redukovaný modul pružnosti [MPa]',
                  yaxis_title='Relativní hloubka [%]', template = 'plotly_white')
fig.update_layout(width = 1750,height = 950,autosize=True)
fig.update_layout(legend=dict(yanchor="top",y=0.99,xanchor="right",x=0.99))
fig.update_xaxes(nticks=20, range=[0,14], showline=True, linewidth=2, linecolor='black')
fig.update_yaxes(nticks=20,showline=True, linewidth=2, linecolor='black')
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.color="black"
fig.layout.font.size=34
fig.show()
pio.write_html(fig, file='Statika-Modul_pruznosti.html', auto_open=True)
fig.write_image("export/Statika_modul.jpeg",width = 1750,height = 950,scale=10)

```


Přílohy – Skript dynamika

V této příloze je uveden skript vyhodnocující Storage modul v sagitální rovině. Frontální rovina se načte řádkem #1, Loss modul řádkem #2 a Tangens Delta řádkem #3.

```
import pandas as pd
import os
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import matplotlib.ticker as ticker
import plotly.graph_objects as go
import plotly.express as px
import plotly.io as pio
files = os.listdir("./data")
#1 files = os.listdir("./data_frontal")
df_FiltrovaData1 = pd.DataFrame()
df_FiltrovaData2 = pd.DataFrame()
for i in range(len(files)):
    soubor = "./data/"+str(files[i])
    data = pd.read_csv(soubor, sep='\t', encoding = "ISO-8859-1", skiprows=[0,1,3,4])
    data.iloc[6:,[18,37,51,53]]
    df_FiltrovaData2["Frekvence"+str(i)] = data['Ave, Dynamic Freq. (Hz)']
    df_FiltrovaData1["Storage Modul"+str(i)] = (data['Ave, Ref. Stor. Mod. (GPa)'])*1000
#2 #df_FiltrovaData1["Loss Modul"+str(i)] = data['St.Dev. Ref. Loss Mod. (GPa)']
#3 #df_FiltrovaData1["Tang_Delta"+str(i)] = data['St.Dev. Tan-Delta']
df_Frekvence=df_FiltrovaData2[['Frekvence0']]
Frekvence = np.array(df_Frekvence["Frekvence0"])
df_zdata=df_FiltrovaData1.groupby(np.arange(len(df_FiltrovaData1.columns))/3, axis=1).mean()
filename = 'Sagittal_C161473_01_multiple-NEW.txt'
df = pd.read_csv(filename, sep='\t', encoding = "ISO-8859-1")
df["Hloubka"] = (((df['Y(mm)'] * 1000) + ((-109.130399)*(-1000)-100) + 65)*(-1))
Hloubka = np.array(df["Hloubka"])
Hloubka_prumer = []
j = 0
for n in range(int(len(Hloubka)/3)):
    prumer_tri_hodnot = (np.mean(Hloubka[j:j+3]))
    Hloubka_prumer.append(n)
    Hloubka_prumer[n] = prumer_tri_hodnot
    j += 3
df_data = pd.DataFrame()
df_data["Hloubka_prumer"]= Hloubka_prumer
df_data["Hloubka_procenta"] = (100*(df_data['Hloubka_prumer']))/1937
Relativni_hloubka = np.array(df_data["Hloubka_procenta"])
df_z1 = df_FiltrovaData1.iloc[:, :3]
df_z2 = df_FiltrovaData1.iloc[:, 1::3]
df_z3 = df_FiltrovaData1.iloc[:, 2::3]
fig = go.Figure(data=[
    go.Surface(z=df_z1, opacity = 0.5, colorscale = 'Redor'),
    go.Surface(z=df_z2, showscale=False, opacity=1, colorscale = 'Emrld'),
    go.Surface(z=df_z3, showscale=False, opacity=1, colorscale = 'Plotly3')])
fig.update_layout(width=950, height=950, autosize=True)
fig.show()
config = {'toImageButtonOptions': {'format': 'jpeg', 'filename': 'storage_sagital_cely',
    'height': 1150, 'width': 1150, 'scale':14}}
x = Relativni_hloubka
y = Frekvence
z = df_zdata
colorscale=[
    [0, "rgb(102,36,131)"],
    [1/18, "rgb(102,36,131)"],
    [1/18, "rgb(151,87,184)"],
    [2/18, "rgb(151,87,184)"],
    [2/18, "rgb(45,46,161)"],
    [3/18, "rgb(45,46,161)"],
    [3/18, "rgb(29,113,184)"],
    [4/18, "rgb(29,113,184)"],
    [4/18, "rgb(54,169,225)"],
    [5/18, "rgb(54,169,225)"],
    [5/18, "rgb(0,115,51)"],
    [6/18, "rgb(0,115,51)"],
    [6/18, "rgb(58,170,53)"],
    [7/18, "rgb(58,170,53)"],
    [7/18, "rgb(141,220,33)"],
    [8/18, "rgb(141,220,33)"],
    [8/18, "rgb(252,234,16)"],
    [9/18, "rgb(252,234,16)"],
    [9/18, "rgb(241,209,0)"],
```

```

[10/18, "rgb(241,209,0)"],
[10/18, "rgb(249,178,51)"],
[11/18, "rgb(249,178,51)"],
[11/18, "rgb(234,139,12)"],
[12/18, "rgb(234,139,12)"],
[12/18, "rgb(234,91,12)"],
[13/18, "rgb(234,91,12)"],
[13/18, "rgb(227,6,19)"],
[14/18, "rgb(227,6,19)"],
[14/18, "rgb(173,22,34)"],
[15/18, "rgb(173,22,34)"],
[15/18, "rgb(108,22,34)"],
[16/18, "rgb(108,22,34)"],
[16/18, "rgb(76,3,0)"],
[17/18, "rgb(76,3,0)"],
[17/18, "rgb(102,102,102)"],
[18/18, "rgb(102,102,102)"]
# 3D GRAF
fig = go.Figure(data=[go.Surface(contours =
    {"x": {"show": True, "start": 1.80691791, "end": 105.05766649, "size": 5, "color": 'rgb(72,72,72)'},
    "y": {"show": True, "start": 5, "end": 305, "size": 5, "color": 'rgb(72,72,72)'},
    "z": {"show": True, "start": 0, "end": 10, "size": 100, "color": 'rgb(72,72,72)' }},
    z=z, x=x, y=y, colorscale = colorscale,
    colorbar=dict(nticks=20,lenmode='fraction', len=0.85, thickness=50,
    tickfont=dict(size=20)),
    cmin=0.5,
    cmax=9.5)])
fig.update_layout(scene_aspectmode='cube', template='gridon')
fig.update_layout(scene = dict(
    xaxis_title='Relativní hloubka [%]',
    yaxis_title='Frekvence [Hz]',
    zaxis_title='Storage Modul [MPa]'),
    zaxis_title='.'),
    title='SAGITAL - STORAGE MODUL', width=1150, height=1150, autosize=True)
fig.layout.font.family="Century"
fig.layout.font.size=16
fig.layout.font.color="black"
fig.update_layout(title=dict(yanchor="top",y=0.9,xanchor="left",x=0.1))
fig.update_layout(scene = dict(xaxis = dict(nticks=15)))
#fig.update_layout(scene = dict(zaxis = dict(nticks=20, range=[0,15])))
#fig.update_layout(scene = dict(zaxis = dict(range=[0,120])))
fig.show(config=config)
pio.write_html(fig, file='Sagital-Storage_Modul.html', auto_open=True)

```