

Çift Ağlı Hidrojellerin Basma Yükü Altında Gerilme Gevşemesi Davranışı

Necmi Düşünceli¹

Bu çalışma, Ağam Mehmet Düşünceli (Makina Mühendisi, Oda No: 11627)'nin eşsiz hatrasına adanmıştır.

ÖZ

Akrilamid (AAM) zayıf mekanik özellikleri dolayı, biyodoku iskeleleri ve yumuşak doku aktüatörleri gibi biyomedikal uygulamalarda istenilen özellikleri sergileyememektedir. Bu nedenle Aljinat (ALG) kullanılarak çift ağa sahip hidrojel şeklinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada AAM-ALG hidrojelindeki kovalent çapraz bağlayıcı (BIS) ve iyonik çapraz bağlayıcı (CaCl₂) miktarının mekanik özellikler etkisini araştırmak üzere beş farklı hidrojel üretilmiştir. Silindirik basma numuneleri %20 gerinim seviyesine kadar yüklenmiş, daha sonra 300 saniye süre ile gevşeme testi yapılmıştır. Sonuçlar iyonik çapraz bağlayıcı miktarının mekanik özelliklere etkisinin çok güçlü olduğunu göstermiştir. Kovalent çapraz bağlayıcı miktarının ise belli bir kritik seviyenin üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çift ağlı hidrojel, poliakrilamid, aljinat, mekanik özellikler, gevşeme

Stress Relaxation Behavior of Double Network Hydrogels under Compressive Loading

ABSTRACT

Because of moderate stretchable properties of acrylamide (AAM), it is used as double network hydrogel with alginates (AAL). We prepared AAM-ALG hydrogels containing various amount of crosslinker (BIS) and concentration of calcium chloride (CaCl₂) solution. A series of uniaxial compression loading tests were performed on five different AAM-ALG specimens. The specimens are loaded up to 20% strain and hold at the same strain level for 300 seconds. Concentration of CaCl₂ solution dependency is clear; increasing molarity of CaCl₂ yields an increase in the stress level. On the other hand, effect of amount of BIS is not dominant on mechanical properties.

Keywords: Double network hydrogel, polyacrylamide, alginate, mechanical properties, relaxation

Geliş/Received : 28.08.2020
Kabul/Accepted : 03.11.2020

¹ Prof. Dr., Aksaray Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, Aksaray
ndusunceli@aksaray.edu.tr, ORCID: 0000-0002-2841-7882

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Hydrogels are three-dimensional polymeric networks that include porous, hydrophilic, physical and chemical crosslinking. Hydrogels swell thousands time of their dry weight in water bath and any solution. Hydrogels are influenced changes of environmental conditions such as temperature, pH, magnetic field, and the electric field. These changes are important for their application in the fields of drug delivery, tissue repairing, wound dressing, biosensors, pharmaceutical, agriculture and adsorbent [1-6].

Hydrogels were initially used for production of contact lenses, and then hydrogels were intensively applied for the controlled delivery of biologically active agents. Recently, different biomedical applications have been progressed with using hydrogels such as biomedical devices, scaffolds or tissue engineering, sensors, and soft actuators. Because of these, the mechanical response of gels under swelling has recently attracted substantial attention. The mechanical properties of the hydrogels depend on their ionic, hydrogen and Van der Waals bonding forces. These forces related to the three dimensional network structure and cohesive forces which base on hydrophobic interaction[7-10].

During the past decades, intense investigations have been done to develop high strength, stretchable, tough hydrogels and nanocomposite hydrogels [11-17]. Because of moderate stretchable properties of AAM-ALG, some studies have been focused on synthesis of AAM-ALG and its mechanical properties [18-22]. Alginates are defined as a group of polysaccharides that are produced from a mixture of brown algae and bacteria. Alginates are widely used across many areas of production and biomechanics. Alginates have a wide variety of properties depend on the type and parts of algae that they are cultivated form. Typically, alginates are used for their viscosifying properties for which they are used in the textile food and biotechnological industries [23]. AAM is the one of the common materials that are used in variety of tissue engineering areas, but the pure AAM have extremely poor mechanical properties and biocompatibility [24]. Because of these shortcomings, the mechanical properties of AAM should be increased. One option is combining with other biomaterials such as alginate. Previous investigations have been indicated that the mechanical properties of pure AAM should be improved by synthesizing as double network with ALG [11, 12, 22, 25-31].

Objectives

We prepared AAM-ALG hydrogels containing various amount of crosslinker (BIS) and concentration of calcium chloride solution. Covalently crosslinked AAM and ionically crosslinked ALG contribute for extremely stretchable and tough properties on the hydrogels.

The aim of the study associate with mechanical behavior of alginate-acrylamide double network hydrogels (AAM-ALG). This study focuses on the relaxation behavior of AAM-ALG hydrogels. The objective of this study is to present experimental data related relaxation behavior of AAM-ALG specimen is loaded to various maximum strains (ϵ_{max}) and hold 300 s at fixed strain level.

Results

Operation and Maintenance costs are a large part of the annual total cost of a wind turbine. For a new turbine, operating and maintenance costs can reach 20-25% of the total cost per kWh generated over the lifetime of the turbine. If the turbine is new, the share may only be 10-15%, but this turbine may increase to 20-35% towards the end of its life. Therefore, operating and maintenance costs are getting more attention, as manufacturers try to significantly reduce these costs by developing new turbine designs that require fewer regular service visits and less turbine downtime.

3. Methods

We prepared AAM-ALG hydrogels containing various amount of crosslinker (BIS) and molarity of calcium chloride solution. Covalently crosslinked AAM and ionically crosslinked ALG contribute for extremely stretchable and tough properties on the hydrogels (Fig.1).

The uniaxial compression loading behavior of AAM-ALG were determined by using DMA Q800 (TA Instruments). Compression tests were carried out for different stress/strain levels. AAM-ALG gels with 0.05, 0.1 and 0.3 M CaCl₂ solution and 50, 75 and 100 μ L BIS crosslinker were used for these tests.

4. Test Results

A series of uniaxial compression loading tests were performed on three different AAM-ALG specimens that were prepared in 0.05, 0.1 and 0.3 M CaCl₂ solution at room temperature. The specimens are loaded up to 20% strain and hold at the same strain level for 5 minutes. Uniaxial stress-strain behaviors of AAM-ALG at room temperature on 0.05, 0.1 and 0.3 M CaCl₂ specimens are depicted in Fig. 2. Concentration of CaCl₂ solution dependency is clear; increasing molarity of CaCl₂ yields an increase in the stress level. Trends of these stress-strain curves are approximately the same. All specimens demonstrated hyperplastic behavior.

Relaxations at the strain levels of 20% were performed for 300 s to investigate the influences of concentration of CaCl₂ on the relaxation behavior. Stress versus time curves during relaxation tests at the strain levels of 20% are depicted in Figs. 3.

A series of uniaxial compression loading tests were performed on three different AAM-ALG specimens that were prepared with 50, 75 and 100 μ L BIS at room temperature. The specimens are loaded up to 20% strain and hold at the same strain level for 5 minutes. Uniaxial stress-strain behaviors of AAM-ALG at room temperature on 50, 75 and 100 μ L BIS specimens are depicted in Fig. 4. Amount of crosslinker dependency is clear for high degree; increasing amount of crosslinker yields an increase in the stress level. On the other hand, effect of crosslinker for lower amount of BIS is debatable. Trends of these stress-strain curves are approximately the same. All specimens demonstrated hyperplastic behavior.

Relaxations at the strain levels of 20% were performed for 300 s to investigate the influences of amount of crosslinker on the relaxation behavior. Stress versus time curves during relaxation tests at the strain levels of 20% are depicted in Figs. 5.

5. Conclusions

Observations are reported on AAM-ALG hydrogels in uniaxial compression loading tests with mixed program (loading a maximum strain 20% and hold for 300 s) at room temperatures. We used five different AAM-ALG that are 0.05, 0.1 (75 μ L BIS) and 0.3 M concentration of CaCl₂ and 50, 75 (0.1 M CaCl₂) and 100 μ L BIS. Concentration of CaCl₂ solution dependency is clear; increasing molarity of CaCl₂ yields an increase in the stress level. Amount of crosslinker dependency is clear for high degree; increasing amount of crosslinker yields an increase in the stress level. On the other hand, effect of crosslinker for lower amount of BIS is not pronounced. The amounts of ionic and covalent crosslinker do not influence relaxation behavior of AAM-ALG.



1. GİRİŞ

Hidrojeller, gözenekli, hidrofilik, fiziksel ve kimyasal çapraz bağlamayı içeren üç boyutlu polimerik ağlardır. Hidrojeller, su banyosunda kuru ağırlıklarının binlerce katına kadar şişebilir. Hidrojeller, sıcaklık, pH, manyetik alan ve elektrik alanı gibi çevre koşullarındaki değişikliklerden etkilenir. Bu özellikler ilaç salınımı, doku onarımı, yara sargısı, biyosensörler, eczacılık, tarım alanlarındaki uygulamaları açısından önemlidir [1-6].

Hidrojeller başlangıçta kontak lens üretiminde kullanıldı ve daha sonra biyolojik olarak aktif ajanların kontrollü verilmesi işleminde yoğun bir şekilde uygulandı. Son zamanlarda, biyomedikal cihazlarda, biyo doku iskelelerinde, doku mühendisliğinde, sensörler ve yumuşak aktüatörler uygulamalarında hidrojellerin farklı türleri geliştirildi. Hidrojellerin mekanik özellikleri iyonik, hidrojen ve Van der Waals bağ kuvvetlerine bağlıdır. Bu kuvvetler, üç boyutlu ağ yapısı ve hidrofobik etkileşime dayanan kohezif kuvvetlerle ilgilidir [7-10].

Yakın geçmişte, yüksek mukavemetli, gerilebilir, sert hidrojeller ve nanokompozit hidrojeller geliştirmek için yoğun araştırmalar yapılmıştır [11-17]. AAM-ALG'nin orta derecede gerilebilir özelliklerinden dolayı, bazı çalışmalar AAM-ALG'nin sentezine ve mekanik özelliklerine odaklanmıştır [18-22]. Aljinatlar, kahverengi alg ve bakteri karışımından üretilen bir polisakkarit grubu olarak tanımlanır. Aljinatlar, başta biyomekanik olmak üzere birçok üretim alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Aljinatlar, yetiştirildikleri alglerin türüne ve kısımlarına bağlı olarak çok çeşitli özelliklere sahiptir. Aljinatlar, genel olarak tekstil, gıda ve biyoteknoloji endüstrilerinde viskozite ayarlayıcı özelliklerinden dolayı kullanılır [23]. AAM, çeşitli doku mühendisliği alanlarında yaygın kullanılan malzemelerdendir, ancak saf AAM, son derece zayıf mekanik özelliklere ve biyoyumluluğa sahiptir [24]. Bu gibi dezavantajlarından dolayı, AAM'nin mekanik özelliklerinin ve biyoyumluluğunun artırılması güncel konulardandır. Bu amaca yönelik bir seçenek, AAM'nin ALG gibi diğer doğal biyomalzemeler kullanarak kompozit hale getirmektir. Bu çalışmalarda genel olarak saf AAM, ALG ile çift ağ olarak sentezlenerek mekanik özelliklerde iyileştirilmeler gerçekleştirilir [11, 12, 22, 25-31].

Bu çalışmada, çeşitli miktarlarda çapraz bağlayıcı (BIS) içeren ve değişik molarite kalsiyum klorür çözeltisi içerisinde bekletilmiş AAM-ALG hidrojelleri hazırladık. Kovalent olarak çapraz bağlı AAM'in ALG ile iyonik olarak çapraz bağlanması ile elde edilen hidrojeller son derece yüksek oranlarda gerilebilir ve tok özelliklere sahiptir.

Bu çalışma, yükleme ve gevşeme testlerine tabi tutulan farklı miktarda iyonik ve kovalent çapraz bağlayıcı içeren AAM-ALG hidrojellerinin mekanik tepkisinin belirlenmesi ile ilgilidir.

2. MALZEME VE TESTLER

2.1 Poliakrilamid-Aljinat Hidrojel Sentezi

Poliakrilamid (PAAM) aljinat (ALG) hidrojenlerinin hazırlanması iki aşamalı bir yöntemden oluşur: ilk etapta serbest radikal kopolimerizasyonu ile akrilamidin (AAM) çapraz bağlanması ikinci etapta aljinatın çapraz bağlanması. Yarı iç içe geçmiş bir ağ oluşturmak için, akrilamid polimerize edildi ve aljinat dahil edilerek çapraz bağlandı. AAM çapraz bağlayıcısı olarak N, N-metilenbisakrilamid (BIS), amonyum persülfat (APS) ve polimerizasyonu başlatmak için tetrametiletilediamin (TEMED) kullanıldı. İkinci adım, aljinatın CaCl_2 tuz kullanılarak fiziksel olarak çapraz bağlanmasını içerir, böylece polimer zincirleri arasında iyonik bağlar oluşturulmuştur.

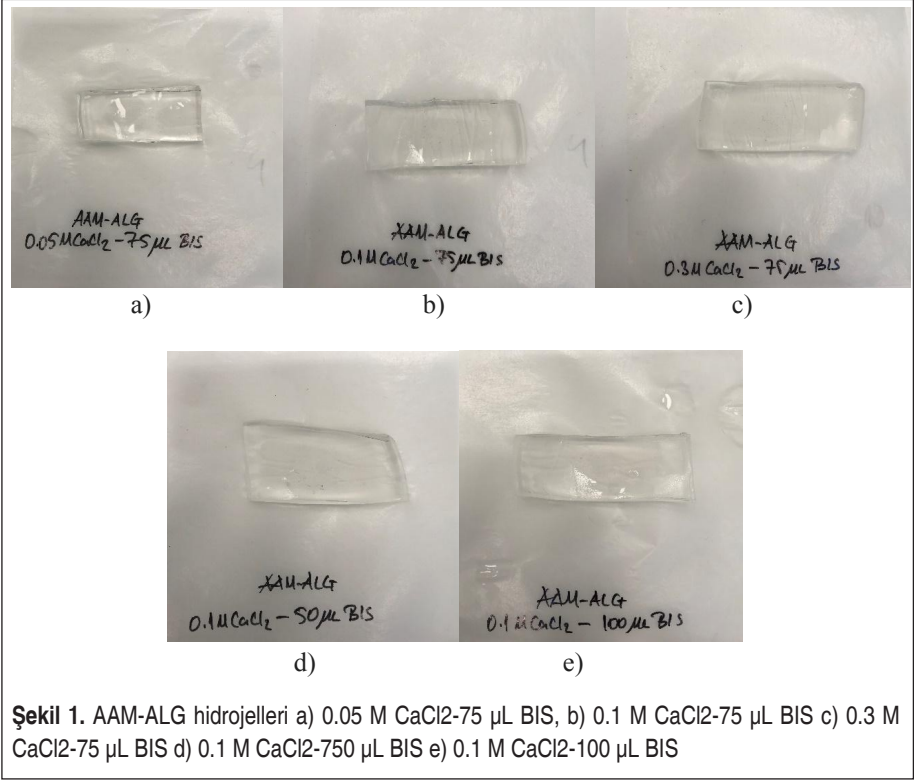
Ağdaki çapraz bağlama ajanlarının etkisini anlamak için farklı konsantrasyonlarda CaCl_2 ve BIS kullanıldı. Hidrojeller, 1: 8 ağırlık oranında aljinat/akrilamid sahip bir aljinat ve akrilamid solüsyonu yapılarak sentezlendi. Çözeltideki nihai ALG ve AAM konsantrasyonu ağırlıkça %14'dir. Aljinat çözeltisi vakum fırınında 121°C 'de bir saat süreyle bekletildi ve daha sonra oda sıcaklığında soğutuldu. Bu aşamadan sonra çözeltinin hacminin azaldığı gözlemlendi.

AAM ve ALG çözeltileri birlikte karıştırıldı. Akrilamid monomerinin miktarına oranla % 0,018 mol,% 0,028 mol ve% 0,037 mol olmak üzere üç farklı molar oranda BIS ve % 0,917 mol TEMED eklenmiştir. AAM oranına göre % 0,123 mol APS içeren taze APS çözeltisi hazırlandı. Solüsyon hemen bir plastik kalıba aktarıldı ve işlem sırasında oluşan oksijen ve serbest radikaller arasındaki etkileşimleri önlemek için nitrojen gazı ile 15 dakika süre arındırma yapıldı. Bir saat sonra polimerizasyon işlemi tamamlanarak, malzeme dikkatlice kalıptan çıkartıldı ve AAM'nin çapraz bağlama işlemi için CaCl_2 çözeltisine (0.05M, 0.1M ve 0.3M) daldırıldı. AAM-ALG hidrojenlerine ait görüntüler Şekil 1'de verilmiştir.

2.2 Mekanik Testler

Bu çalışma, AAM-ALG hidrojenlerinin gevşeme davranışına odaklanmaktadır. Bir AAM-ALG numunesi çeşitli maksimum gerinim seviyesine (ϵ_{max}) yüklendikten sonra, bu gerinim seviyesinde 300 saniye sabit tutularak gerilme seviyesindeki azalış gözlemlenmiştir.

Oda sıcaklığında kuasi-statik basma testleri, bir Dinamik Mekanik Analizör DMA Q800 (maksimum yük kapasitesi 18 N ile TA Instruments) kullanılmıştır, cihazın maksimum ölçme uzunluğu 24 mm'dir. Testler kuvvet kontrol modunda gerçekleştirilmiş ve dinamik etkileri yok edebilmek için gerilme ve gerinimin dinamik bileşenleri mümkün olan minimum değere ayarlanmıştır. Her test en az üç kez tekrarlanmıştır.



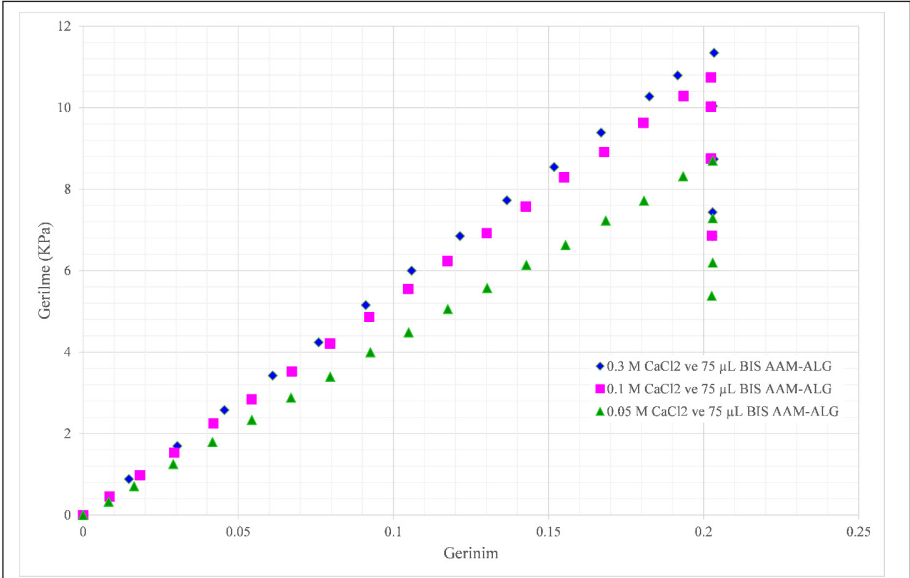
Şekil 1. AAM-ALG hidrojelleri a) 0.05 M CaCl_2 -75 μL BIS b) 0.1 M CaCl_2 -75 μL BIS c) 0.3 M CaCl_2 -75 μL BIS d) 0.1 M CaCl_2 -50 μL BIS e) 0.1 M CaCl_2 -100 μL BIS

Bu test için 0.05, 0.1 ve 0.3 M CaCl_2 solüsyonlu AAM-ALG hidrojeller ve 50, 75 ve 100 μL BIS çapraz bağlayıcı kullanılmıştır.

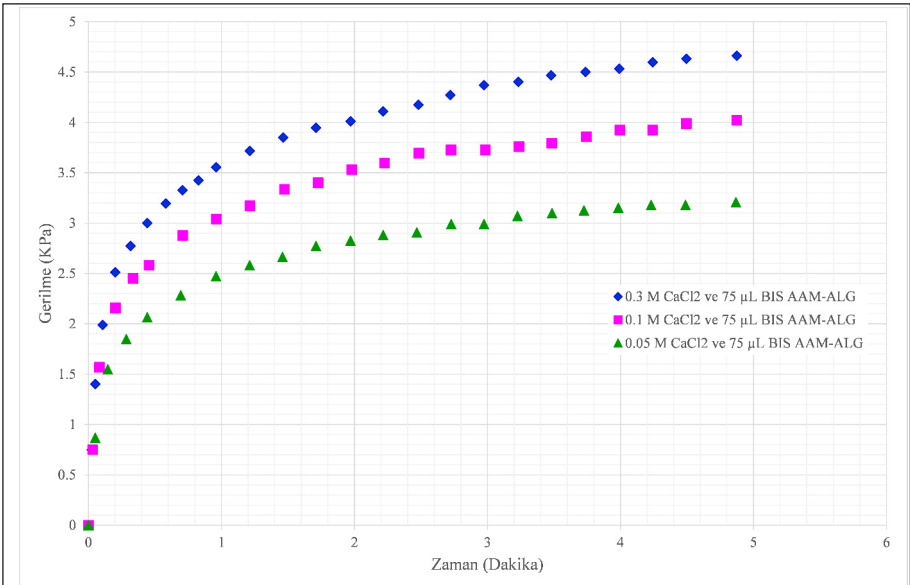
3. TEST SONUÇLARI

Numuneler oda sıcaklığında, % 20 gerinim seviyesine kadar sabit bir basma hızında yüklenmiş ve 5 dakika boyunca aynı gerinim seviyesinde tutularak gevşeme davranışı incelenmiştir. 0.05, 0.1 ve 0.3 M CaCl_2 çözeltisi içerisinde çapraz bağlanmış ve 75 μL BIS içeren AAM-ALG numunelerine ait tek eksenli gerilim-gerinim davranışları Şekil 2'de gösterilmektedir. CaCl_2 solüsyon molaritesi bağımlılığı açıktır; artan konsantrasyon miktarı ile dayanım artmaktadır. Bu gerilme-gerinim eğrilerinin eğilimleri yaklaşık olarak birbirinin aynıdır. Tüm örnekler viskoelastik davranış göstermektedir.

CaCl_2 molaritesinin gevşeme davranışı üzerindeki etkilerini araştırmak için % 20 gerinim seviyesinde 300 saniye süreyle gevşeme testleri gerçekleştirildi. % 20 gerinim seviyesindeki gevşeme eğrileri gerilime-zaman olarak Şekil 3'te verilmiştir. Gevşeme deneylerinde, gerilim azalışı trendi her üç numune tipinde de hemen hemen aynı-



Şekil 2. Farklı Molarite CaCl₂ ve 75 µL BIS Çapraz Bağlayıcısına Sahip AAM-ALG Hidrojellerinin Basma Yükü Altındaki Davranışının Gerilme (KPa)-Gerinim Grafiği



Şekil 3. Farklı Molarite CaCl₂ ve 75 µL BIS Çapraz Bağlayıcısına Sahip AAM-ALG Hidrojellerinin Gevşeme Davranışının Gerilme (KPa)-Zaman (Dakika) Grafiği

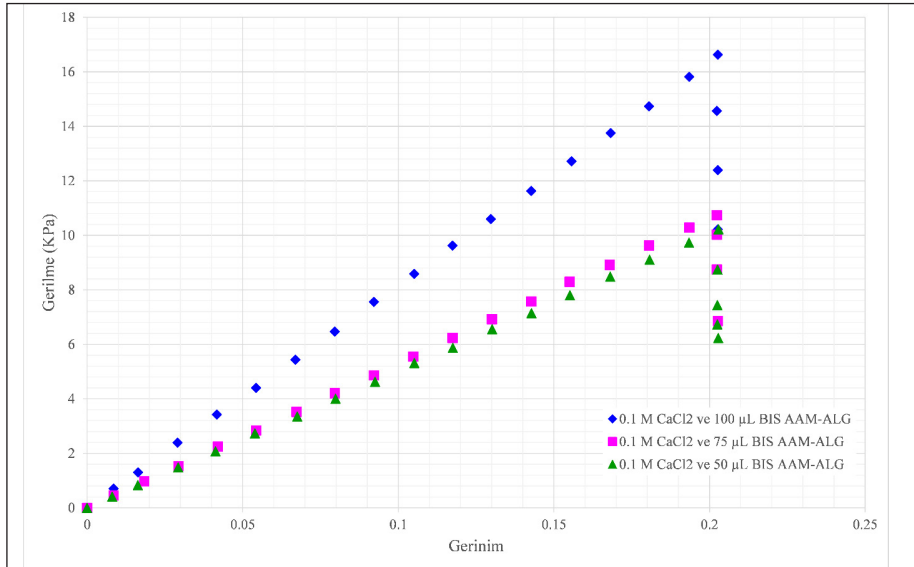


dır (0.05, 0.1 ve 0.3 M). Bu sonuçlar, iyonik çapraz bağlayıcı miktarlarının AAM-ALG'nin gevşeme davranışını üzerinde güçlü bir etki olduğunu göstermektedir.

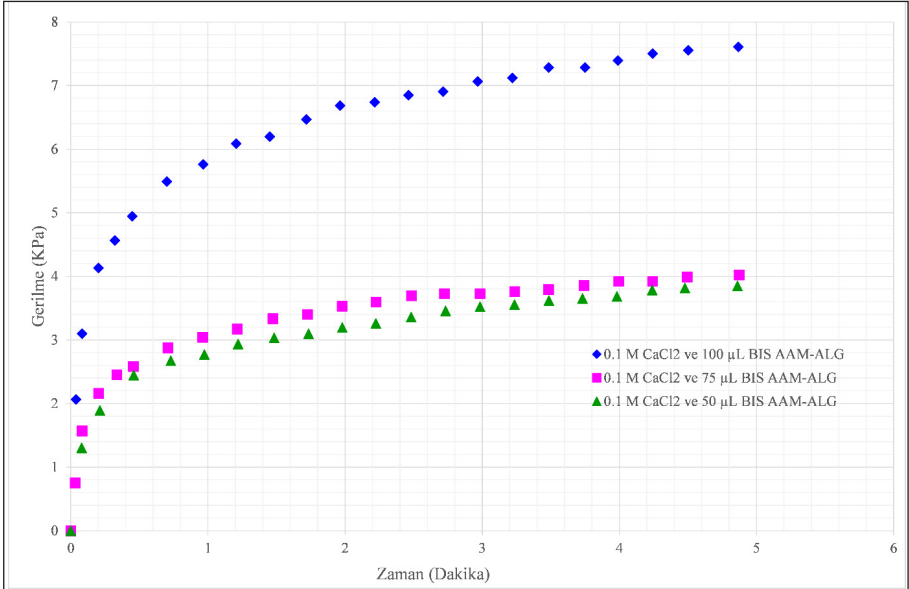
50, 75 ve 100 μL BIS içeren üç farklı AAM-ALG numunesi üzerinde bir dizi tek eksenli basma yüklemesi testi gerçekleştirilmiştir. Numuneler, oda sıcaklığında % 20 gerinim seviyesine kadar sabit bir yüklemeye hızında yüklenmiş ve daha sonra 300 saniye boyunca aynı gerinim seviyesinde tutularak gerilme seviyesinde zamanla oluşan azalma miktarı gözlemlenmiştir. Üç tip AAM-ALG numuneye ait tek eksenli gerilme-gerinim eğrileri Şekil 4'te gösterilmektedir. Çapraz bağlayıcı ajan miktarının dayanım üzerindeki etkisi 75 μL miktarından sonra daha etkindir; artan çapraz bağlayıcı miktarı, gerilme seviyesinde bir artış sağlamaktadır. Öte yandan, daha düşük BIS miktarı için çapraz bağlayıcının etkisi çok açık değildir. Şekildeki gerilme-zaman eğrilerinin eğilimleri yaklaşık olarak aynıdır. Tüm numuneler viskoelastik davranış göstermiştir.

Çapraz bağlayıcının miktarının gevşeme davranışı üzerindeki etkilerini araştırmak için % 20 gerilme seviyesinde 300 saniye süreyle gevşeme testleri gerçekleştirildi. Bu testlere ait gerilmedeki azalma miktarını gösteren eğriler gerilme-zaman ölçeğinde Şekil 5'te verilmiştir.

Gevşeme deneylerinde, gerilim düşüşü yüksek oranda çapraz bağlayıcı içeren numune için daha yüksektir, diğer iki numune tipinde ise hemen hemen aynıdır (50, 75 ve



Şekil 4. 0.1 Molarite CaCl_2 ve Farklı Miktarında BIS Çapraz Bağlayıcısına Sahip AAM-ALG Hidrojellerinin Basma Yükü Altındaki Davranışının Gerilme (KPa)-Gerinim Grafiği



Şekil 5. 0.1 Molarite CaCl₂ ve Farklı Miktarda BIS Çapraz Bağlayıcısına Sahip AAM-ALG Hidrojellerinin Gevşeme Davranışının Gerilme (KPa)-Zaman (Dakika) Grafiği

100 µL BIS). Bu sonuçlar, kovalent çapraz bağlayıcı miktarlarının AAM-ALG'nin gevşeme davranışını üzerinde kritik bir seviyeden sonra daha etkili olduğunu göstermektedir.

4. YORUMLAR

Bu çalışmada, bir dizi test programı ile (% 20 maksimum gerinim seviyesine kadar yükleme ve 300 saniye süreyle sabit gerinim seviyesinde tutma) AAM-ALG hidrojellerinin oda sıcaklığında tek eksenli basma yüklemesi davranışı incelenmiştir. Sırasıyla iyonik ve kovalent çapraz bağlayıcı oranları: 0.05, 0.1 ve 0.3 M (75 µL BIS) konsantrasyon CaCl₂ ve 50, 75 ve 100 µL BIS (0.1 M CaCl₂) olan beş farklı AAM-ALG kullanılmıştır. CaCl₂ iyonik bağlayıcı çözelti konsantrasyonu bağımlılığı açıktır; CaCl₂'nin artan molaritesi, gerilme seviyesinde bir artışa neden olmaktadır. Kovalent çapraz bağlayıcı miktarı bağımlılığı yüksek oranlar için daha açıktır; artan çapraz bağlayıcı miktarı, gerilme seviyesinde bir artış sağlamaktadır. Öte yandan, daha düşük BIS miktarı için çapraz bağlayıcının mekanik özellikler üzerindeki etkisi zayıftır. İyonik ve kovalent çapraz bağlayıcı miktarlarının AAM-ALG'nin gevşeme davranışını etkisi benzer şekilde gözlemlenmiştir.



KAYNAKÇA

1. **Buwalda SJ, Boere KWM, Dijkstra PJ, et al.** (2014) Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. *Journal of Controlled Release*. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.03.052.
2. **Darnell MC, Sun JY, Mehta M, et al.** 2013. Performance and biocompatibility of extremely tough alginate/polyacrylamide hydrogels. *Biomaterials* 34(33). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.06.061.
3. **Donati I and Paoletti S.** 2009. Material Properties of Alginates. DOI: 10.1007/978-3-540-92679-5_1.
4. **Drozdov AD and Sommer-Larsen P.** 2016. Swelling of thermo-responsive gels under hydrostatic pressure. *Meccanica* 51(6). DOI: 10.1007/s11012-015-0300-3.
5. **Fei X, Lin Jiangli, Wang J, et al.** 2012. Synthesis and mechanical strength of a novel double network nanocomposite hydrogel with core-shell structure. *Polymers for Advanced Technologies* 23(4). DOI: 10.1002/pat.1948.
6. **Golafshan N, Kharaziha M and Fathi M.** 2017. Tough and conductive hybrid graphene-PVA: Alginate fibrous scaffolds for engineering neural construct. *Carbon* 111. DOI: 10.1016/j.carbon.2016.10.042.
7. **Gong JP, Katsuyama Y, Kurokawa T, et al.** 2003. Double-network hydrogels with extremely high mechanical strength. *Advanced Materials* 15(14). DOI: 10.1002/adma.200304907.
8. **Gorin PAJ and Spencer JFT.** 1966. Exocellular Alginic Acid From *Azotobacter Vinelandii*. *Canadian Journal of Chemistry* 44(9). DOI: 10.1139/v66-147.
9. **Govan JRW, Fyfe JAM and Jarman TR.** 1981. Isolation of alginate-producing mutants of *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas mendocina*. *Journal of General Microbiology* 125(1). DOI: 10.1099/00221287-125-1-217.
10. **Haraguchi, K.** 2007. Nanocomposite hydrogels. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. DOI: 10.1016/j.cossms.2008.05.001.
11. **Haraguchi, K, Farnworth, R., Ohbayashi, A, et al.** 2003. Compositional effects on mechanical properties of nanocomposite hydrogels composed of poly(N,N-dimethylacrylamide) and clay. *Macromolecules*. DOI: 10.1021/ma034366i.
12. **Hoffman. AS.** 2012. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. DOI: 10.1016/j.addr.2012.09.010.
13. **Ito, K.** 2007. Novel cross-linking concept of polymer network: Synthesis, structure, and properties of slide-ring gels with freely movable junctions. *Polymer Journal* 39(6). DOI: 10.1295/polymj.PJ2006239.
14. **Morelle, XP, Illeperuma, WR, Tian, K, et al.** 2018. Highly Stretchable and Tough Hydrogels below Water Freezing Temperature. *Advanced Materials* 30(35). DOI: 10.1002/adma.201801541.
15. **Okumura Y and Ito K.** 2001 The polyrotaxane gel: A topological gel by figure-of-eight cross-links. *Advanced Materials* 13(7). DOI: 10.1002/1521-4095(200104)13:7<485::AID-ADMA485>3.0.CO;2-T.
16. **Oyen ML** 2014. Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews* 59(1). DOI: 10.1179/1743280413Y.0000000022.

17. **Pensalfini M, Ehret AE, Stüdeli S, et al.** 2017. Factors Affecting The Mechanical Behavior Of Collagen Hydrogels For Skin Tissue Engineering. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 69. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2016.12.004.
18. **Qiao Z, Parks J, Choi P, et al.** 2019. Applications of Highly Stretchable and Tough Hydrogels. *Polymers* 11(11). DOI: 10.3390/polym11111773.
19. **Qiao Z, Cao M, Michels K, et al.** 2020. Design and Fabrication of Highly Stretchable and Tough Hydrogels. *Polymer Reviews*. DOI: 10.1080/15583724.2019.1691590.
20. **Rakhshaei, R., Namazi, H.** 2017. A Potential Bioactive Wound Dressing Based on Carboxymethyl Cellulose/ZnO impregnated MCM-41 nanocomposite hydrogel. *Materials Science and Engineering C* 73. DOI: 10.1016/j.msec.2016.12.097.
21. **Rathjen, C.M., Park CH, Goodrich PR, et al.** 1995. The Effect of Preparation Temperature On Some Properties of a Temperature-Sensitive Hydrogel. *Polymer Gels and Networks* 3(2). DOI: 10.1016/0966-7822(94)00030-B.
22. **Rehm, BHA** 2015. *Alginates: Biology and Applications: Biology and Applications*. Microbiology Monographs .
23. **Shams Es-haghi S, Offenbach I, Debnath D, et al.** 2017. Mechano-Optical Behavior of Loosely Crosslinked Double-Network Hydrogels: Modeling and Real-Time Birefringence Measurement During Uniaxial Extension. *Polymer (United Kingdom)* 115. Elsevier Ltd: 239–245. DOI: 10.1016/j.polymer.2017.03.047.
24. **Sugawara, E., Nikaido, H.** 2009. *Alginates: Biology and Applications*. Antimicrobial agents and chemotherapy 13(12). DOI: 10.1007/978-3-540-92679-5.
25. **Sun, J.Y., Zhao, X., Illeperuma, WRK, et al.** 2012. Highly Stretchable and Tough Hydrogels. *Nature* 489(7414). DOI: 10.1038/nature11409.
26. **Suzuki, A, Sanda, K., Omori, Y.** 1997. Phase Transition in Strongly Stretched Polymer gels. *Journal of Chemical Physics* 107(13). DOI: 10.1063/1.474880.
27. **Treenate P and Monvisade P.** 2017. In vitro drug release profiles of pH-sensitive hydroxyethylacryl chitosan/sodium alginate hydrogels using paracetamol as a soluble model drug. *International Journal of Biological Macromolecules* 99. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.02.061.
28. **Varaprasad K, Raghavendra GM, Jayaramudu T, et al.** 2017. A Mini Review on Hydrogels Classification And Recent Developments In Miscellaneous Applications. *Materials Science and Engineering C*. DOI: 10.1016/j.msec.2017.05.096.
29. **Webber RE, Creton C, Brown HR, et al.** 2007. Large Strain Hysteresis And Mullins Effect of Tough Double-Network Hydrogels. *Macromolecules* 40(8). DOI: 10.1021/ma062924y.
30. **Yang CH, Wang MX, Haider H, et al.** 2013. Strengthening Alginate/polyacrylamide hydrogels using various multivalent cations. *ACS Applied Materials and Interfaces* 5(21). DOI: 10.1021/am403966x.
31. **Zhao Y, Wang Y, Niu C, et al.** 2018. Construction of polyacrylamide/graphene oxide/gelatin/sodium alginate composite hydrogel with bioactivity for promoting Schwann cells growth. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* 106(7). DOI: 10.1002/jbm.a.36393.