

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea Triennale in Fisica

Tesi di Laurea

## Diffusione in gel viscoelastici e determinazione tracking-free del modulo dinamico complesso

**Relatore**

Ch.mo Prof. MATTEO PIERNO

**Correlatore**

Ch.mo Prof. GIAMPAOLO MISTURA

Dott. DANIELE FILIPPI

**Laureando**

MARGHERITA GIUGNI

Anno Accademico 2018/2019



# INDICE

---

<b>Introduzione</b>	<b>1</b>
<b>1 Microreologia</b>	<b>3</b>
1.1 Reologia tradizionale . . . . .	3
1.2 Tecniche di microreologia . . . . .	5
<b>2 Differential Dynamic Microscopy</b>	<b>9</b>
2.1 La tecnica . . . . .	9
2.2 Esperimento di DDM . . . . .	10
2.2.1 Soluzione acquosa . . . . .	11
2.2.2 Soluzione polimerica . . . . .	12
2.2.3 Camerette . . . . .	12
2.2.4 Setup e acquisizione . . . . .	13
2.3 Algoritmo ed analisi . . . . .	15
<b>3 Risultati</b>	<b>19</b>
3.1 Soluzione acquosa . . . . .	20
3.2 Soluzione polimerica . . . . .	24
<b>4 Conclusioni</b>	<b>27</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>30</b>



# INTRODUZIONE

---

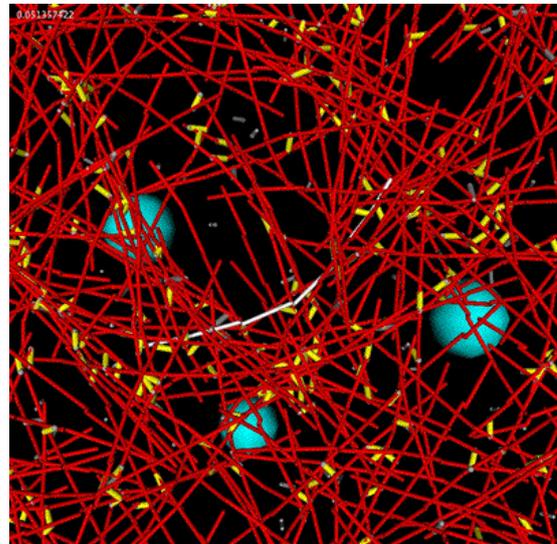
Molti sistemi multifase come le sospensioni colloidali, le emulsioni, le schiume, i polimeri, i cristalli liquidi e i sistemi biologici sono esempi di *soft matter*. In questi sistemi, le interazioni tra i costituenti della fase dispersa sono deboli rispetto a quelle del mezzo che le ospita e sono dell'ordine dell'energia termica. Una diretta conseguenza di questo fatto è la facilità con cui questi materiali riarrangiano la loro struttura interna o rispondono ad una sollecitazione deformandosi. Questo comportamento “soft” è il motivo per cui a seconda delle scale di tempo indagate e dell'intensità dello sforzo applicato questi materiali presentano dinamiche assai diverse. Assume particolare importanza ottenere la corretta reologia dei *soft materials* sia per la loro diffusione nei prodotti industriali (farmaceutici, cosmetici, alimentari), sia per il controllo dei processi, in particolare quelli estrattivi [1],[2].

Gli studi reologici hanno come interesse principale lo studio del flusso e delle deformazioni di materiali che presentano una combinazione di comportamenti elastico, viscoso e plastico. Tra le tecniche conosciute vi sono quelle tradizionali, che utilizzano un reometro per quantificare la risposta del sistema all'applicazione di uno stress, e quelle di microreologia, in grado di sondare le proprietà reologiche del campione iniettando dei traccianti nella soluzione d'interesse [3],[2].

Se si assume che la soluzione sia all'equilibrio termico, il teorema di fluttuazione - dissipazione (FDT) permette di affermare che è possibile determinare la risposta lineare viscoelastica del materiale a partire dalle fluttuazioni termiche dei traccianti in soluzione [4]. In questo modo si lavora a scale di lunghezza mesoscopiche, con la conseguenza che i volumi richiesti sono modesti rispetto a quelli necessari per una misura di reologia tradizionale. Inoltre, a seconda delle dimensioni dei traccianti iniettati, si possono esplorare range di frequenze differenti e quindi dinamiche molto diverse [5].

A loro volta, le tecniche di microreologia possono essere classificate in due modi: (i) attive, se la dinamica delle particelle in soluzione è conseguenza dell'applicazione di una forza esterna; (ii) passive, quando il moto dei traccianti è determinato dalla dinamica Browniana.

Nell'ambito delle tecniche di microreologia passiva, ci sono due possibili approcci alla misura



**Figura 1:** Schema di una esperimento di microreologia su una rete di filamenti di actina. Le sfere azzurre sono traccianti di diametro 200 nm. La figura è tratta dal Center of Cell Dynamics dell'Università di Washington.

dello spostamento quadratico medio delle particelle (MSD): le tecniche di imaging e quelle di scattering. Le prime lavorano nello spazio reale, perciò dipendono in maniera cruciale dalla possibilità di osservare le particelle studiate. In particolare, la tecnica di *Video-Particle Tracking* (VPT) si propone di registrare e ricostruire la legge oraria di particelle sonda mediante l'uso di opportune videocamere [6] [7]. Le tecniche che utilizzano la diffusione di luce restituiscono una stima dell'MSD medio di un *ensemble* di particelle a partire dalle fluttuazioni di intensità raccolte dallo scattering di luce coerente sul campione. *Dynamic Light Scattering* (DLS) e *Diffusing Wave Spectroscopy* (DWS) sono due esempi di tecniche di diffusione che lavorano in regime di "single" e "multiple" scattering rispettivamente e sono in grado di fornire informazioni sulla dinamica del campione ad alte risoluzioni spaziali e ampie bande di frequenza [8],[9]. La più recente tecnica di *Differential Dynamic Microscopy* (DDM), costituisce un ottimo compromesso tra tecniche di microscopia e scattering di luce. Come DLS e DWS la tecnica prescinde dall'imaging, perciò necessita di un apparato sperimentale economico e facilmente reperibile [1], [10]. L'obiettivo della tesi è quello di implementare una tecnica di microreologia basata sulla DDM, come descritto in [6]. Dapprima si applica la  $\mu$ rheo-DDM ad un campione acquoso con dinamica conosciuta in modo da verificarne il funzionamento, poi si mette alla prova la tecnica con un sistema con reologia più varia, ovvero una soluzione polimerica.

Nell'ottica di una misura di microreologia, la  $\mu$ rheo-DDM è in grado di ricavare informazioni sulla dinamica dei traccianti dispersi in una soluzione a partire da un'analisi di Fourier delle correlazioni temporali di immagini del campione raccolte al microscopio con una camera di acquisizione. Sotto certe condizioni precise [11], la Trasformata di Fourier delle immagini restituisce lo spettro di intensità diffusa del campione, legato allo spostamento quadratico medio dei traccianti. Dalla stima dell'MSD, utilizzando la relazione di Stokes-Einstein generalizzata si giunge alla stima del modulo dinamico complesso, la carta d'identità della reologia del materiale [12],[13],[14].

La tesi è articolata nel seguente modo.

Nel primo capitolo viene discusso il panorama delle tecniche in grado di fornire misure reologiche su un campione di fluido complesso. Dopo una breve descrizione delle misure reologiche tradizionali, vengono proposte le principali tecniche di microreologia passiva.

Nel secondo capitolo viene descritta la tecnica di DDM nei suoi vari aspetti: preparazione del campione, setup sperimentale, acquisizione ed algoritmo [10].

Nel terzo capitolo si presentano i dati sperimentali ottenuti per i due campioni e i passaggi che portano dai valori dello spostamento quadratico medio dei traccianti alla stima del modulo elastico e viscoso [14]. I risultati per il polimero vengono inoltre confrontati con le misure eseguite mediante il reometro piatto-cono del Te.Si. Laboratory for Precision and Micro Manufacturing a Rovigo.

L'ultimo capitolo, dedicato alle conclusioni, è una sintesi e un'analisi critica dei risultati ottenuti. Vengono inoltre avanzate delle proposte per possibili sviluppi futuri della tecnica.

# 1. MICROREOLOGIA

## § 1.1. Reologia tradizionale

La reologia si occupa di studiare la risposta di materiali sottoposti a stress o deformazioni. Prima di descrivere le varie tecniche reologiche è necessario fornire alcune definizioni, riferendosi alle grandezze evidenziate in **Figura 1.1**, la quale rappresenta un modello a due piatti.

Lo sforzo di taglio, anche detto **shear stress**, è definito come il rapporto tra la forza tangenziale e l'area  $A$  su cui agisce. L'unità di misura è il Pascal.

$$\tau = \frac{F}{A} \quad (1.1)$$

La velocità a cui viene applicato lo sforzo di taglio è detta **shear rate** o gradiente di scorrimento ed è definita dal rapporto tra la velocità tangenziale del piatto superiore e la larghezza del gap tra i due piatti.

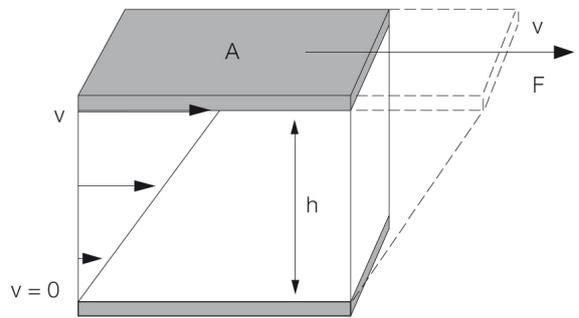
Il gradiente di scorrimento, misurato in  $s^{-1}$ , è dato da:

$$\dot{\gamma} = \frac{v}{h} \quad (1.2)$$

La risposta ad uno stress meccanico, sia esso normale o tangenziale, è descritta in termini di deformazione. Questa è data dallo spostamento relativo delle particelle del corpo studiato ed è proporzionale allo stress applicato per quanto riguarda i solidi di Hooke e i liquidi Newtoniani. Quando le particelle di un fluido sono sottoposte ad uno sforzo, esse tendono a scorrere le une sulle altre sviluppando una resistenza a fluire data dall'attrito interno. Il parametro reologico che descrive questa resistenza è costituito dalla viscosità, definita come il rapporto tra lo sforzo di taglio  $\tau$  e il gradiente di scorrimento:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (1.3)$$

La struttura interna dei fluidi complessi, costituiti da particelle colloidali, filamenti polimerici o arrangiamenti di particelle sovra-molecolari dispersi in un mezzo, quando sottoposta a stress meccanici, viene deformata in maniera complicata. In particolare, la deformazione è descritta



**Figura 1.1:** Modello a due piatti per descrivere la deformazione dovuta ad uno sforzo di taglio.  $A$  è l'area a cui è applicato lo sforzo,  $h$  il gap tra i piatti,  $F$  lo sforzo di taglio e  $v$  la velocità del piatto. La figura è presa da Anton Paar, *Basics of Rheology*.

da un tensore che dipende dal tempo, dalla direzione e dall'entità della deformazione. L'obiettivo degli esperimenti di reologia è quello di quantificare la viscoelasticità dinamica di questi materiali complessi su range di frequenze e stress applicati più ampi possibili. Mediante un reometro è possibile effettuare test statici e oscillatori. Esso è costituito da due piatti con diverse geometrie di cui quello superiore è controllato da un motore in grado di applicare una torsione oscillatoria del tipo  $\gamma(t) = \gamma_0 \sin(\omega t)$  e quello inferiore è fissato ad un supporto. Il motore impartisce una velocità di rotazione al piatto, che determina un flusso di scorrimento all'interno del fluido in esame. Se lo sforzo applicato ha un'entità tale da non modificare le proprietà meccaniche del materiale d'interesse, allora la risposta viene descritta interamente in termini di modulo dinamico complesso  $G^*(\omega)$  (misurato in Pa):

$$\tau(t) = G^*(\omega)\gamma_0 e^{i\omega t} \quad (1.4)$$

con

$$G^*(\omega) = G'(\omega) + iG''(\omega)$$

da cui:

$$\tau(t) = G'\gamma_0 \sin(\omega t) + G''\gamma_0 \cos(\omega t) \quad (1.5)$$

dove  $G'$  rappresenta il modulo elastico del materiale, anche detto **storage modulus**, mentre  $G''$  è il modulo viscoso o **loss modulus**. Quando il materiale viene rilasciato, l'energia inutilizzata viene impiegata per riportare il materiale alla sua forma originale.

Il comportamento elastico del materiale è descritto da  $G'$  (misurato in Pa) e prevede lo stoccaggio dell'energia mediante una deformazione della struttura interna del materiale, mentre  $G''$  (sempre in Pa) descrive una perdita di energia sotto forma di calore di frizione. Solidi viscoelastici soddisfano  $G' > G''$  in quanto consistono in maniera predominante di legami chimici molecolari o strutture legate da interazioni forti, mentre i liquidi viscoelastici presentano  $G'' > G'$ .

Per proprietà reologiche, i fluidi si dividono in newtoniani e non newtoniani. I primi sono caratterizzati da un unico coefficiente di viscosità che varia in funzione della temperatura ed è costante al variare del gradiente di scorrimento. I secondi hanno invece viscosità variabile in corrispondenza del gradiente di scorrimento e sono ben caratterizzati da misure reologiche, in particolare dalla misura del modulo viscoso che dipende dalla viscosità dinamica secondo:

$$\text{Im}[G^*(\omega)] = G'' = \omega\eta^* \quad \text{con} \quad \eta^* = \frac{\tau h}{v} \quad (1.6)$$

con  $\eta^*$  misurata in Pa s,  $\tau$  è lo sforzo di taglio,  $v$  è la velocità del piatto mobile e  $h$  la larghezza della gap. Malgrado la potenza e l'immediatezza dei test reologici, ci sono alcune limitazioni che vanno tenute in considerazione. La caratterizzazione di fluidi complessi richiede l'applicazione di piccolissimi sforzi, tipicamente con entità pari ad una minuscola frazione del minimo valore di momento torcente applicabile con un reometro rotazionale tradizionale. Oltretutto, un reometro lavora in maniera ottimale quando misura più decenni del modulo dello sforzo di taglio.

Il range di frequenze accessibili è limitato non solo a basse frequenze di oscillazione  $\omega$ , ma anche ad alte frequenze, dove si incorre in effetti inerziali del sistema che dominano sulla risposta allo

stress [3].

Infine, una misura di reometria tradizionale richiede volumi dell'ordine dei mL, pertanto, campioni che a scale di volume inferiori presentano disomogeneità, restituiscono parametri reologici con una precisione scarsa.

Per spingersi oltre i limiti della reologia tradizionale si introducono allora tecniche di microreologia, che permettono di ottenere parametri reologici di più tipologie di materiali, economizzando le procedure e vagliando contemporaneamente diverse caratteristiche dei materiali.

## § 1.2. Tecniche di microreologia

Le tecniche di microreologia si basano sullo studio di proprietà reologiche di fluidi complessi mediante l'introduzione di traccianti nei campioni osservati. L'aggiunta di particelle ad un fluido può modificarne le proprietà fisiche ed ottiche, e.g. il colore, la densità e la viscoelasticità. La viscoelasticità di un materiale non dipende solo dalla concentrazione di traccianti ma anche dalla loro forma e dimensione. I primi studi di microreologia passiva risalgono a Mason e Weitz che nel lavoro del 1995 [8] suggeriscono un legame tra le fluttuazioni termiche all'equilibrio dei traccianti colloidali e la forza di attrito viscosa dipendente dal tempo che agisce su di esse, legata alle proprietà lineari viscoelastiche del materiale che circonda le particelle. Delle particelle sferiche sospese è possibile misurare con diversi tipi di tecniche lo spostamento quadratico medio (MSD):

1. attraverso *Video Particle-Tracking* (VPT);
2. attraverso tecniche che utilizzano lo scattering di luce, come *Dynamic Light Scattering* (DLS) o *Diffusing Wave Spectroscopy* (DWS);
3. attraverso una recente tecnica di *Differential Dynamic Microscopy* (DDM).

Il particle-tracking è una tecnica che indaga il campione nello spazio reale mediante l'utilizzo di una camera di acquisizione delle immagini e permette di accedere alle proprietà locali fornendo informazioni precise sulla traiettoria delle particelle.

In maniera alternativa, è possibile ottenere l'MSD dall'intensità di luce diffusa da un campione di traccianti non interagenti tra loro e sospesi nella soluzione d'interesse. Attraverso lo scattering di luce è possibile accedere a grandi regioni del campione, privilegiando misure collettive con una buona statistica piuttosto che misure locali relative alle singole particelle. Il range di frequenze esaminato è piuttosto ampio e permette di osservare processi a tempi scala dell'ordine dei nanosecondi.

Sia la VPT, che le tecniche di DLS e DWS richiedono campioni con volumi dell'ordine dei microlitri, nettamente inferiori a quelli necessari per effettuare una misura di reologia tradizionale. Questo permette di studiare materiali anche molto costosi o difficilmente reperibili in grandi quantità [5]. Il setup sperimentale richiesto dalla tecnica di tracking è piuttosto standard, mentre quello per implementare le tecniche di DLS e DWS è più costoso, vista la necessità di una sorgente di luce laser.

Nel contesto delle tecniche di microreologia passiva, una valida alternativa alle tecniche sopracitate è la *Differential Dynamic Microscopy*, in grado di caratterizzare la dinamica traslazionale di sospensioni colloidali di particelle e, come suggerito in [6] anche la dinamica rotazionale di traccianti colloidali anisotropici in soluzione nel campione di interesse.

Questa tecnica costituisce un ottimo compromesso tra le tecniche di microscopia e scattering di luce prescindendo dall'imaging: l'acquisizione al microscopio avviene nello spazio reale come per la VPT e successivamente si analizzano le proprietà di correlazione del campione nello spazio reciproco attraverso un'analisi di Fourier delle differenze di immagini separate da ritardi via via crescenti. Soddisfatte le dovute condizioni [15] si può affermare che l'analisi nello spazio di Fourier restituisce lo spettro di potenza dell'immagine per un certo vettore d'onda  $\vec{q}$  ad un determinato tempo  $t$  e fornisce le stesse informazioni della differenza delle immagini nello spazio reale, legata a variazioni di densità del campione.

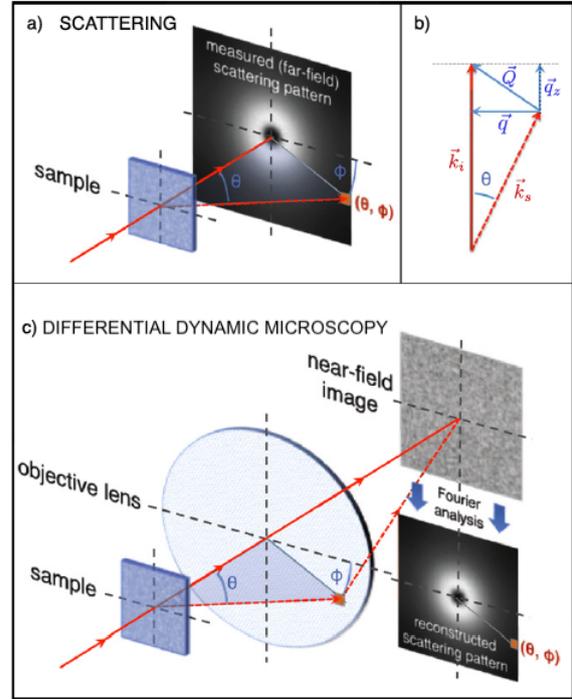
L'analisi della varianza delle immagini nello spazio reciproco è descritta dalla funzione di auto-correlazione  $f(q, \Delta t)$  che fornisce informazioni preziose sulla dinamica del sistema pari a quelle ottenute con un esperimento di DLS.

Il grande vantaggio della tecnica di DDM risiede sia nel modesto setup sperimentale, costituito da un microscopio utilizzato in luce bianca, una camera di acquisizione delle immagini e un computer, sia nella capacità di stimare simultaneamente la dinamica di particelle a scale di lunghezza diverse. Nel prossimo capitolo verrà descritta in maggiore dettaglio.

Ottenuta una stima per lo spostamento quadratico medio  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  si possono fare alcune considerazioni. Se il fluido complesso studiato è un liquido Newtoniano con viscosità  $\eta$ , l'MSD dei traccianti con coefficiente di diffusione  $D = \frac{K_B T}{6\pi\eta R}$  è dato da :

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle = 2dDt \quad (1.7)$$

con  $d$ , numero di dimensioni studiate dell'MSD.



**Figura 1.2:** Schemi della DLS e DDM a confronto. (a) pattern di scattering nel far-field; (b) schema del vettore d'onda differenza  $\vec{q}$ ; (c) DDM per ottenere un'immagine near-field. Immagine presa da [1].

Per un fluido viscoelastico l'andamento è complesso:

- a frequenze elevate (tempi scala brevi) il comportamento è elastico e l'MSD piega creando una sorta di plateau che può essere interpolato con una legge di potenza del tipo  $\langle \Delta r^2(t) \rangle \simeq t^\gamma$  con  $\gamma$  vicino al valore di 0.5.
- a basse frequenze (tempi scala lunghi) il comportamento è viscoso pertanto ci si aspetta un andamento dell'MSD lineare in  $t$ .

A questo punto, se si è in presenza di un campione omogeneo alle scale di lunghezza dei traccianti e questi non interagiscono tra loro, è possibile utilizzare la **relazione di Stokes-Einstein generalizzata** (GSER) per stimare il modulo dinamico complesso che descrive le proprietà viscoelastiche del materiale investigato. Per maggiori delucidazioni sulla teoria sottostante l'equazione GSER, con le sue varie rappresentazioni e i relativi campi di validità si rimanda al lavoro di Squires *et al* [13]. Nel seguente lavoro di tesi, verrà utilizzata l'equazione GSER nel dominio di Laplace, presa dal lavoro di Mason *et al* [12]:

$$G^*(\omega) = \frac{K_B T}{\pi s R \langle \Delta \tilde{r}(s) \rangle} \Big|_{s=i\omega} \quad (1.8)$$

dove  $K_B$  è la costante di Boltzmann,  $T$  la temperatura,  $R$  il raggio dei traccianti,  $\langle \Delta \tilde{r}(s) \rangle$  è la trasformata di Laplace dell' MSD. Sperimentalmente i valori di MSD sono ottenuti a tempi discreti in un range limitato, pertanto, un modo per stimare i moduli dinamici che non prevede l'utilizzo di metodi di integrazione numerica nè di trasformate di Fourier consiste nella stima algebrica di uno sviluppo in serie del MSD attorno ad una frequenza  $s = i\omega$  di interesse.

Per stimare lo sviluppo si assume che l'MSD scali con una legge di potenza, di cui si considera il termine dominante:

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle \approx \langle \Delta r^2(1/s) \rangle (st)^{\alpha(s)} \quad (1.9)$$

L'esponente della legge è definito dalla pendenza logaritmica:

$$\alpha(s) \equiv \frac{d \ln \langle \Delta r^2(t) \rangle}{d \ln t} \Big|_{s=i\omega} \quad (1.10)$$

In assenza di forze agenti sui traccianti di forma sferica, la pendenza logaritmica dell' MSD dovrebbe restituire valore unitario per un moto puramente diffusivo in un mezzo viscoso (e.g. l'acqua) e valore nullo per un confinamento elastico delle probes in un fluido complesso. Nel primo caso domina il valore di  $G''$ , nel secondo quello di  $G'$  ([12], [14], [16]).



## 2. DIFFERENTIAL DYNAMIC MICROSCOPY

---

### § 2.1. La tecnica

La *Differential Dynamic Microscopy*, in seguito abbreviata con DDM, consiste in una tecnica di microscopia capace di indagare la dinamica di un sistema di particelle con il solo utilizzo di un microscopio, una camera di acquisizione delle immagini e un algoritmo di analisi delle immagini. La tecnica è in grado di fornire test di alta qualità relativi alla dinamica sia di particelle di grandi dimensioni, che potrebbero essere studiate individualmente con il PT, sia di particelle sotto al limite diffrattivo. Nell'ambito dello studio di sospensioni colloidali, il successo della DDM risiede nel fatto che è in grado di operare all'interno del campione senza la necessità di fare imaging delle particelle, requisito al contrario inderogabile per una misura di tracking.

A questo punto, si dà una breve infarinatura teorica necessaria per comprendere la tecnica.

Partendo dall'acquisizione di uno stack, le immagini vengono analizzate tramite delle differenze separate da ritardi  $\Delta t$ . All'aumentare del ritardo considerato, l'aspetto "granuloso" dell'immagine differenza si intensifica, rivelando lo spostamento delle particelle.

Si può calcolare questo aumento mediante una stima della varianza:

$$\sigma^2(\Delta t) = \int |\Delta I(\vec{r}, t, \Delta t)|^2 dr \quad (2.1)$$

dove  $\Delta I(\vec{r}, t, \Delta t)$  è la differenza dell'intensità di segnale di due immagini separate da un ritardo  $\Delta t$  raccolte dal sensore della camera per un determinato piano del campione. Per ritardi brevi la varianza sale rapidamente con  $t$  denotando una certa correlazione tra le immagini, mentre a tempi lunghi le particelle del campione si sono spostate in maniera consistente dalla loro posizione iniziale, per cui le due immagini sono decorrelate.

Questa dipendenza della varianza dal tempo può essere usata per ricavare informazioni quantitative sulla dinamica del sistema. Se la distribuzione dell'intensità dei pixel dell'immagine soddisfa certe condizioni descritte in [1] e [15] allora è conveniente studiare la correlazione delle immagini nello spazio reciproco dei vettori d'onda  $\vec{q}$ , dove ogni componente di Fourier dell'immagine al microscopio è associata ad un angolo di diffusione della luce e quindi ad un vettore d'onda diffuso. Ciò che descrive la varianza dell'immagine nello spazio reciproco è la funzione di auto-correlazione normalizzata, caratterizzata nello spazio reciproco dal **teorema di Wiener-Khintchine** [17].

Quest'ultimo definisce la funzione di auto-correlazione come trasformata di Fourier dello spettro di potenza dell'immagine:

$$f(\vec{q}, \Delta t) = \frac{\langle \hat{I}^*(\vec{q}, t) \hat{I}(\vec{q}, t + \Delta t) \rangle_{t, \vec{q}}}{\langle |\hat{I}(\vec{q}, t)|^2 \rangle_{t, \vec{q}}} \quad (2.2)$$

dove:

$\hat{I}^*(\vec{q}, t)$  è il coniugato complesso della trasformata di Fourier dell'immagine al tempo  $t$

$\hat{I}(\vec{q}, t + \Delta t)$  è la trasformata di Fourier dell'immagine separata dalla prima di un ritardo  $\Delta t$  e

$|\hat{I}(\vec{q}, t)|^2$  è la normalizzazione.

Quando il sistema d'interesse manifesta una dinamica ergodica stazionaria ed isotropa, la funzione di auto-correlazione può essere mediata sul tempo iniziale  $t$  e sulla direzione del vettore d'onda  $\vec{q}$  in modo tale che sussista solo la dipendenza dal ritardo tra le immagini  $\Delta t$  e dal modulo del vettore d'onda  $q$ . Per sistemi di questo tipo l'andamento di  $f$  ha proprietà generali:

- per immagini separate da un ritardo nullo le fluttuazioni sono massimamente correlate (il sistema non è cambiato):

$$f(q, \Delta t \rightarrow 0) \rightarrow 1 \quad (2.3)$$

- per un ritardo tra le immagini che tende ad infinito le fluttuazioni sono decorrelate (il sistema è cambiato del tutto):

$$f(q, \Delta t \rightarrow \infty) \rightarrow 0 \quad (2.4)$$

A seconda del sistema studiato e del tipo di dinamica che ci si aspetta di osservare, si confronta la funzione intermedia di scattering delle immagini con un modello. Al decadimento delle fluttuazioni descritto dalla funzione di auto-correlazione è associato un tempo di decorrelazione delle fluttuazioni, che dipende da come scala  $f$  con il modulo dei vettori d'onda  $q$ . E' proprio nella dipendenza da  $q$  e  $\Delta t$  di  $f$  che risiede il tipo di dinamica che si sta osservando e quindi l'origine fisica del processo di decorrelazione delle fluttuazioni.

## § 2.2. Esperimento di DDM

Nella seguente sezione si descrive la preparazione dei campioni sperimentali utilizzati, il setup sperimentale e di conseguenza l'acquisizione.

In primis si prepara una soluzione acquosa di microsfere, di cui si conosce ampiamente la dinamica in quanto i valori della viscosità dell'acqua al variare della temperatura sono ben descritti in letteratura. In questo modo si verifica il corretto funzionamento della tecnica. Il passaggio successivo consiste nell'applicazione della DDM ad una soluzione con proprietà viscoelastiche. Le stesse microparticelle fluorescenti che costituiscono la soluzione acquosa fungono da traccianti per lo studio della dinamica della soluzione polimerica, proprio nell'ottica di un esperimento di microreologia passiva.

### § 2.2.1. Soluzione acquosa

Per prima cosa viene preparata la soluzione acquosa di traccianti. Ci si aspetta che un sistema di questo tipo presenti una dinamica tipicamente diffusiva alle scale temporali indagate, pertanto è possibile confrontare i risultati sperimentali con i valori nominali del coefficiente di diffusione delle particelle inserite nel mezzo viscoso, verificare il valore di viscosità dell'acqua e gli andamenti del modulo elastico e viscoso del mezzo. Le nanoparticelle utilizzate sono sfere di polistirene di raggio nominale  $R=(0.10\pm 0.02)\mu\text{m}$  la cui superficie presenta catene di acidi carbossilici che le rendono adatte all'accoppiamento con macromolecole, e fluorofori di lunghezza d'onda nell'arancione  $\lambda=(561\pm 5)\text{nm}$  che permettono il loro utilizzo in misure in fluorescenza. Questa proprietà verrà sfruttata nella fase preliminare all'acquisizione degli stack di immagini. Per osservare il moto Browniano delle particelle in sospensione devono essere soddisfatte alcune condizioni:

- le sferette devono essere di dimensioni nettamente superiori alle particelle di solvente e questo è verificato per la sospensione utilizzata in quanto il diametro molecolare dell'acqua è circa di 0.34 nm e quello delle microsfeere è  $d=0.20\mu\text{m}$ ;
- esse devono interagire solo con le particelle del solvente (il moto browniano diffusivo è associato a particelle non-interagenti con se stesse) e questo è reso possibile da una corretta diluizione del campione. Le particelle utilizzate non presentano interazioni a lungo raggio perciò si assume che il campione sia sufficientemente diluito quando la distanza tra di esse è superiore a  $10R$ ;
- per garantire che la dinamica delle particelle sospese sia principalmente dovuta alle fluttuazioni dovute all'agitazione termica e non ad effetti gravitazionali si stima il numero di Péclet che in quest'ambito valuta l'entità dell'energia potenziale gravitazionale (per una variazione in altezza pari al diametro della particella in sospensione) rispetto all'energia termica.

Più precisamente:

$$P_{\text{eg}} = \frac{4\pi R^3(\rho_c - \rho_s)g}{3K_B T} \approx 10^{-4} \quad (2.5)$$

dove  $R=0.10\mu\text{m}$  è il raggio delle fluosfere,  $\rho_c=1055\text{kg m}^{-3}$  è la densità del polistirene,  $\rho_s =1000\text{kg m}^{-3}$  è la densità dell'acqua,  $T=293\text{K}$  è la temperatura e  $K_B$  è la costante di Boltzmann. Pertanto si esclude l'effetto di sedimentazione delle sferette nei tempi di acquisizione delle immagini.

La soluzione madre (FluoSpheres® carboxylate-modified microspheres) è costituita da 10 mL di acqua distillata e microsfeere (solid content pari al 2%) e 2 mM di azetato. La funzione intermedia di scattering assume la forma di un esponenziale decrescente per particelle colloidali di forma sferica monodisperse, pertanto si dovrà tenere conto della polidispersità della soluzione investigata, pari al 10%. La diluizione scelta che soddisfa le condizioni sopracitate e permette di avere una statistica sufficiente per descrivere correttamente la dinamica del colloide è 1:100. Si preparano quindi 4 mL di soluzione, prevedendo l'utilizzo della stessa per molteplici prove.

### § 2.2.2. Soluzione polimerica

Per quanto riguarda la preparazione della soluzione polimerica, si è cercato di riprodurre le condizioni soddisfatte in [6] con le dovute modifiche apportate in base alle disponibilità di reagenti del laboratorio LaFSI. Il polimero utilizzato è glicole polietilenico (PEO) e si presenta sottoforma di polvere con peso molecolare  $M_W=5\times 10^6$  Da. La concentrazione di overlap, che discrimina una situazione di sovrapposizione delle fibre del polimero da una più distesa, è pari a  $c_*=0.09\%$  w/w.

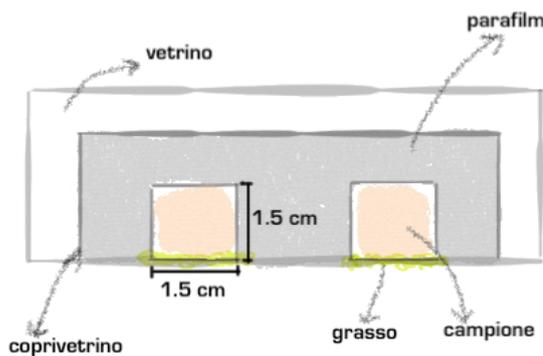
Pertanto, volendo osservare la viscoelasticità e tenendo presente l'elevato peso molecolare del PEO utilizzato, si decide di preparare una soluzione concentrata all' 1% w/w.

Per disciogliere in maniera omogenea 0.2 g di PEO in 3.98 mL di acqua MilliQ (a bassa conducibilità) precedentemente filtrata con pori da  $0.2\ \mu\text{m}$  ed essere sicuri di rimuovere eventuali fiocchi di polimero si mescola la soluzione con un'ancoretta magnetica per circa 48 ore ad una temperatura di  $60\ ^\circ\text{C}$ . A questo punto si aggiungono alla soluzione ottenuta i traccianti, costituiti dalle microsfere fluorescenti utilizzate precedentemente.

La criticità nella preparazione di questa soluzione risiede nella scelta delle concentrazioni di PEO e traccianti colloidali e nella scelta delle dimensioni dei traccianti. Per avere una statistica confrontabile a quella ottenuta per la soluzione acquosa, si diluisce 1 mL di PEO all' 1% w/w con  $10\ \mu\text{L}$  della soluzione madre di microsfere fluorescenti.

### § 2.2.3. Camerette

Per la soluzione acquosa, in analogia a [10], si interpone tra un vetrino e un coprivetrino uno strato di parafilm opportunamente ritagliato in modo tale da avere due cellette quadrate di lato  $1.5\ \text{cm}$ . Successivamente, si scalda su una piastra ad una temperatura di  $100\ ^\circ\text{C}$  per circa 30 s per lato in modo da ottenere un confinamento del campione in uno spessore di circa  $150\ \mu\text{m}$ .

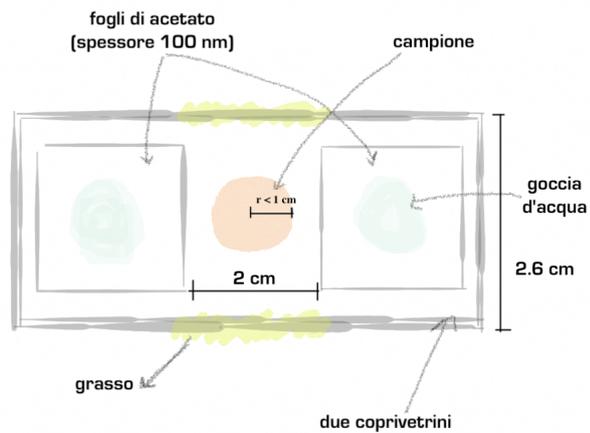


**Figura 2.1:** Cameretta per la soluzione acquosa.

La scelta dello spessore ottimale è guidata dal fatto che uno spessore troppo piccolo eliminerebbe un grado di libertà al moto delle particelle in soluzione, che quindi non avrebbero più dinamica diffusiva. Con uno spessore troppo grande si aumenta la probabilità di osservare flussi nella cameretta che inficiano l'acquisizione. Ogni vetrino è dotato di due camerette di volume di circa  $33.75\ \mu\text{L}$ , dove il campione viene fatto passare per capillarità attraverso una micropipetta. Su tre lati, le cellette limitano la fuoriuscita grazie alla presenza del parafilm mentre sul lato scoperto, una volta inserito il campione, viene applicato del grasso.

La scelta dello spessore ottimale è guidata dal fatto che uno spessore troppo piccolo eliminerebbe un grado di libertà al moto delle particelle in soluzione, che quindi non avrebbero più dinamica diffusiva. Con uno spessore troppo grande si aumenta la probabilità di osservare flussi nella cameretta che inficiano l'acquisizione. Ogni vetrino è dotato di due camerette di volume di circa  $33.75\ \mu\text{L}$ , dove il campione viene fatto passare per capillarità attraverso una micropipetta. Su tre lati, le cellette limitano la fuoriuscita grazie alla presenza del parafilm mentre sul lato scoperto, una volta inserito il campione, viene applicato del grasso.

Nel caso della soluzione polimerica, essendo il campione particolarmente viscoso e quindi complicato da iniettare per capillarità, si decide di agire nel seguente modo. Dopo aver bagnato i lati di un coprivetrino si adagiano due sagome di fogli di acetato dello spessore di circa  $100\ \mu\text{m}$  in modo da lasciare uno spazio centrale che possa contenere un diametro di 2 cm. Il volume disponibile sarà di circa  $31\ \mu\text{L}$ , pertanto si raccoglie dalla sospensione di PEO e traccianti un volume di  $15\text{-}20\ \mu\text{L}$  e successivamente si crea una gocciolina nello spazio centrale. Bagnate le superfici superiori dei fogli di acetato si può chiudere il "sandwich" con un altro coprivetrino avendo cura di ottenere un'interfaccia con l'aria solo ai bordi della gocciolina. A questo punto, si possono serrare i lati scoperti del sandwich con del grasso e procedere con l'acquisizione.

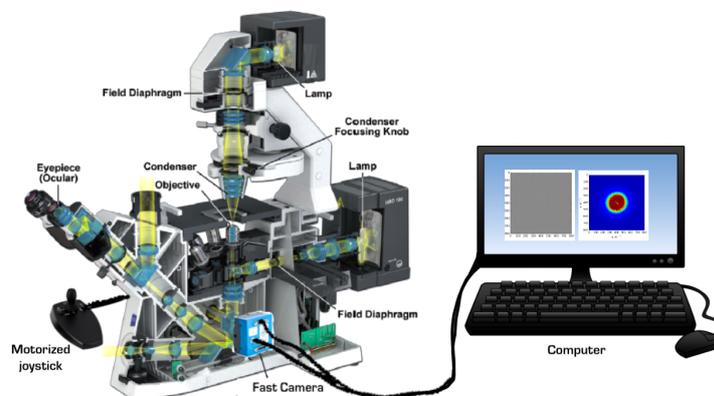


**Figura 2.2:** Cameretta per la soluzione polimerica.

#### § 2.2.4. Setup e acquisizione

Secondo le disponibilità del laboratorio LaFSI, il setup utilizzato per l'esperimento è costituito da:

- un microscopio in configurazione invertita (Eclipse Ti-E, Nikon, Japan);
- una camera di acquisizione con tecnologia sCmos Mikrotron EoSens CL;
- laser DPSS ( $P_{max} = 100\ \text{mW}$ , Austria) con  $\lambda_{ex} = 532\ \text{nm}$ ;
- un computer per seguire l'acquisizione della camera.



**Figura 2.3:** Setup esperimento DDM.

Vista la dimensione microscopica dei traccianti, si ritiene opportuno accoppiare al microscopio un obiettivo  $40\times$  con una working distance di 0.20 mm. In condizioni ottimali, come osservato da Cerbino *et al* in [6], il diaframma del condensatore è in condizione di Koheler, che permette di avere un bilanciamento tra contrasto e risoluzione dell'immagine.

Per mettersi a fuoco in maniera precisa su un piano tridimensionale del campione è possibile illuminare con il laser i traccianti, che sono visibili grazie ai fluorofori sulla loro superficie. Selezionando dal software di controllo della camera un tempo di acquisizione elevato per utilizzare il laser con una potenza bassa, si procede al controllo della messa a fuoco di un piano intermedio nel volume del campione.

Per l'acquisizione vera e propria si può spegnere il laser e accendere la lampada del microscopio. La scelta dei parametri come il tempo di esposizione, il rate di frequenza, posizionamento e dimensione dell'immagine e il numero di frame acquisito è frutto di un compromesso che tiene conto della risoluzione spaziale e temporale richiesta per stimare al meglio la decorrelazione delle fluttuazioni termiche dei traccianti nei due campioni studiati. Più il mezzo è viscoso, più il moto dei traccianti sarà diffusivo con dinamica veloce. In questo caso è conveniente acquisire ad un frame rate elevato. Più il mezzo è viscoelastico (come ci si aspetta che sia la soluzione polimerica) più la dinamica è lenta e ci si vede costretti a campionare a frequenze basse.

La strategia utilizzata consiste proprio in questo: fissato il tempo di esposizione ad 1 ms, si ruota la manopola dell'illuminazione e controllando l'istogramma dei pixel si fissa il picco di intensità medio intorno a 120/255, in modo da evitare la saturazione dei pixel nella camera. In queste condizioni si acquisiscono più stack a frequenze diverse.

La calibrazione dei pixel con l'obiettivo  $40\times$  e la camera di acquisizione Mikrotron ha fornito una conversione da pixel a  $\mu\text{m}$  pari a 1 pixel=0.351  $\mu\text{m}$ . Questo valore corrisponde alla risoluzione spaziale dell'immagine e moltiplicato per il numero di pixel fornisce una dimensione dell'immagine pari a  $L \approx 281 \mu\text{m}$ . In termini di vettori d'onda, il  $q_{min}$  studiato è pari al valore della risoluzione  $dq=2\pi/L=0.022 \mu\text{m}^{-1}$ , mentre  $q_{max}=2\pi/2L=8.95 \mu\text{m}^{-1}$  è fissato dal **criterio di Nyquist-Shannon** [1].

Si sceglie di acquisire stack di 2000 immagini da  $800\times 800$  pixel a due frequenze diverse: 4 fps e 400 fps per la soluzione acquosa; 2 fps e 200 fps per la soluzione polimerica. Un'immagine con tanti pixel raccoglierà più segnale, quindi maggiore statistica del campione, mentre il numero di immagini acquisite, che definisce il tempo di acquisizione di uno stack ad una certa frequenza di campionamento, definisce il cut-off finale dell'analisi temporale delle immagini.

### § 2.3. Algoritmo ed analisi

Acquisito lo stack di 2000 immagini ad un frame rate fissato  $\gamma_0 = 1/\Delta t_0$ , esso viene elaborato all'interno di un algoritmo (fornito da [10]) costituito da due cicli nidificati: un ciclo esterno che calcola i ritardi tra le immagini e un ciclo interno in cui varia il tempo  $t$  a cui l'immagine è stata acquisita. Ad ogni ciclo su  $t$  si accede ad una coppia di immagini separate da un certo ritardo  $\Delta t$  e si calcola la differenza dell'intensità dei pixel:

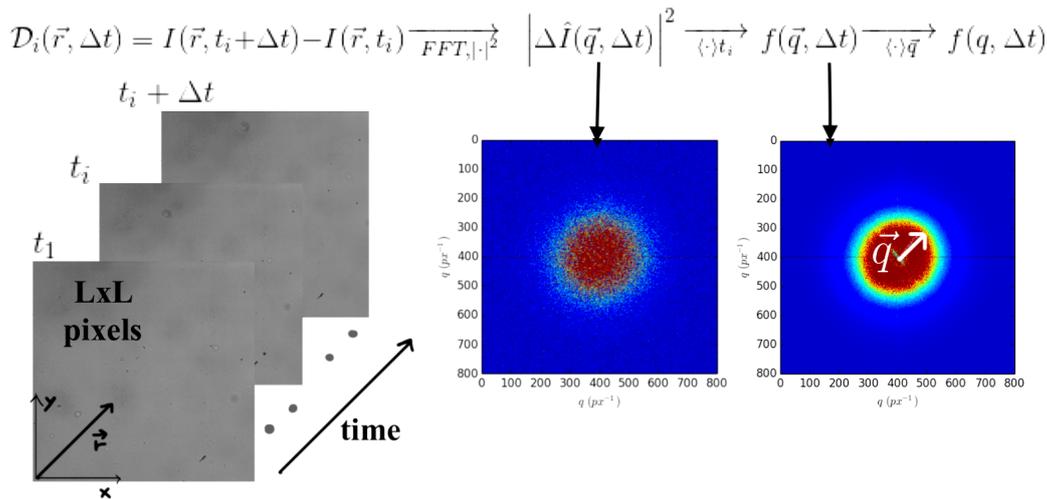
$$\Delta I(\vec{r}, t, \Delta t) = I(\vec{r}, t + \Delta t) - I(\vec{r}, t) \quad (2.6)$$

la differenza consente di eliminare il contributo di rumore statico della singola immagine, costituito ad esempio dalla sporcizia sul vetrino o sull'obiettivo del microscopio, da disomogeneità nell'illuminazione del campione, o dalla presenza di oggetti fermi nel campo visivo.

Con le dovute assunzioni [15] si può dire che l'informazione contenuta nella differenza di immagini nello spazio reale, si conserva nel passaggio allo spazio reciproco mediante l'applicazione della Trasformata di Fourier 2D (FFT). Per un certo ritardo tra le immagini si calcola quindi:

$$\Delta \hat{I}(\vec{q}, t) = \left(\frac{d_{pix}}{M}\right)^2 \sum_{n_1 n_2} e^{-j \frac{2\pi}{N_{pix}} (m_1 n_1 + m_2 n_2)} i_{n_1 n_2} \quad (2.7)$$

dove  $i_{n_1 n_2}$  è la matrice dei pixel,  $\vec{q}$  è la proiezione sul piano 2D della differenza  $\vec{Q} = \vec{k}_s - \vec{k}_i$  tra il vettore d'onda della luce diffusa e quello relativo alla luce incidente e  $d_{pix}/M$  è la dimensione del pixel che tiene conto dell'ingrandimento del microscopio, dell'obiettivo utilizzato e della camera di acquisizione.



**Figura 2.4:** Schema di funzionamento dell'algoritmo della DDM che dall'acquisizione dello stack di immagini porta al calcolo della funzione intermedia di scattering.

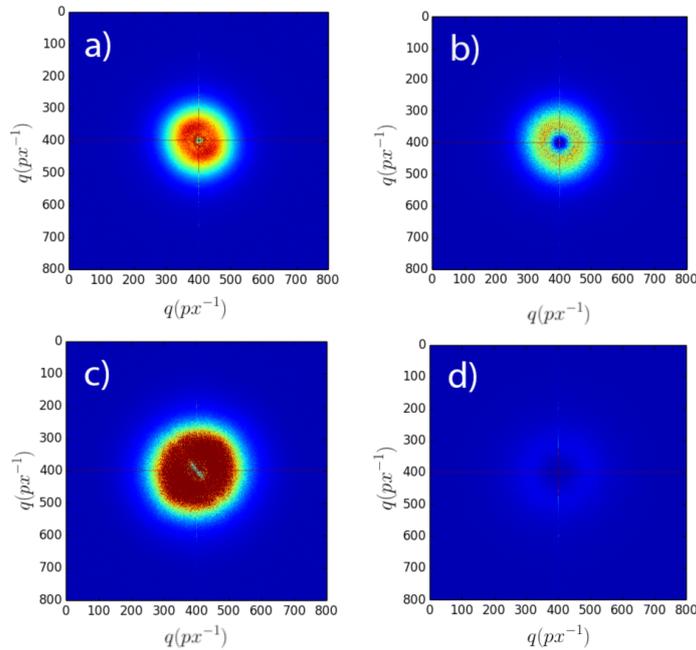
Il loop interno permette di accumulare statistica sul sistema d'interesse e può correre su un massimo di  $N - \Delta t$  coppie di immagini. Per ritardi brevi, il numero di cicli diventa piuttosto

elevato per il numero di frame acquisito, pertanto, si limita il numero di coppie ad un massimo di 100, valore che permette comunque di ottenere un'analisi accurata del campione in pochi minuti. Lo spettro di potenza dell'immagine nello spazio reciproco relativo ad un certo ritardo viene poi calcolato con una media di ensemble, che vista l'ergodicit  del sistema corrisponde ad una media quadrata temporale di  $\Delta\hat{I}$ :

$$\begin{aligned}
\mathcal{D}(\vec{q}, \Delta t) &\equiv \left\langle \left| \Delta\hat{I} \right|^2 \right\rangle_t \\
&= \left\langle \left| \hat{I}(\vec{q}, t + \Delta t) - \hat{I}(\vec{q}, t) \right|^2 \right\rangle_t \\
&= \left\langle \left| \hat{I}(\vec{q}, t + \Delta t) \right|^2 + \left| \hat{I}(\vec{q}, t) \right|^2 - 2\hat{I}^*(\vec{q}, t)\hat{I}(\vec{q}, t + \Delta t) \right\rangle_t \\
&= 2 \underbrace{\left\langle \left| \hat{I}(\vec{q}, t) \right|^2 \right\rangle_t}_{\equiv A(\vec{q})} \left[ 1 - \underbrace{\frac{\left\langle \hat{I}^*(\vec{q}, t)\hat{I}(\vec{q}, t + \Delta t) \right\rangle_{t, \vec{q}}}{\left\langle \left| \hat{I}(\vec{q}, t) \right|^2 \right\rangle_{t, \vec{q}}}}_{f(\vec{q}, \Delta t)} \right]
\end{aligned} \tag{2.8}$$

Completato il ciclo interno si passa all'iterazione su  $\Delta t$ . Sempre per velocizzare i tempi di calcolo, si sceglie un campionamento logaritmico dei ritardi con 20 punti per decade.

In particolare, acquisendo 2000 frame, che corrispondono a  $N-1=1999$  iterazioni del ciclo ester-



**Figura 2.5:** Spettro di potenza mediato sui tempi  $t$  della differenza tra due immagini separate da un ritardo  $\Delta t=400$  s : a) e b) si riferiscono alla soluzione di traccianti e acqua rispettivamente per gli stack a 4 fps e 400 fps; c) e d) si riferiscono alla soluzione polimerica per gli stack a 2 fps e 200 fps.

no, si ottimizza il tempo di calcolo ottenendo  $20 \log N = 66$  iterazioni, che corrispondono a pochi minuti di attesa. A questo punto, per eliminare la dipendenza dalla direzione del vettore d'onda  $\vec{q}$ , viene applicata una media radiale su  $\mathcal{D}(\vec{q}, \Delta t)$ .

Dalla **Figura 2.5** è evidente la diversità degli spettri di potenza nello spazio reciproco di immagini separate da uno stesso ritardo  $\Delta t = 400$  s ma campionate a frequenze diverse. Per la soluzione acquosa si nota che entrambe le immagini (a) e (b) evidenziano la presenza di segnale, ma a 4 fps l'intensità di luce dovuta allo scattering è maggiore. In entrambi i casi la zona centrale è caratterizzata da assenza di segnale e questo è dovuto al fatto che la diffusione ad angolo nullo è impossibile da osservare. Per  $q = q_{min}$  il tempo caratteristico del processo è infatti paragonabile alla durata dell'esperimento. Le figure (c) e (d) evidenziano invece la grossa differenza nella soluzione polimerica: la dinamica è talmente lenta che un campionamento a frame rate veloce restituisce un'immagine con segnale pressoché nullo.

La forma finale della matrice della DDM che descrive lo spettro di potenza dell'immagine è di questo tipo:

$$\mathcal{D}(q, \Delta t) = A(q) [1 - f(q, \Delta t)] + B(q) \quad (2.9)$$

Rispetto alla funzione ottenuta in (2.8) è stato aggiunto un contributo  $B(q)$  che tiene conto del rumore bianco della camera utilizzata e contribuisce all'intensità delle immagini in maniera decorrelata per tutti i tempi, pertanto è indipendente da  $\Delta t$ .

A partire dalla matrice  $\mathcal{D}(q, \Delta t)$  è possibile ricavare la funzione intermedia di scattering  $f$  solo dopo aver determinato correttamente i parametri del modello  $A(q)$  e  $B(q)$ . La stima di questi parametri può essere fatta in due modi:

1. Si tiene conto delle proprietà della funzione  $f$ , che essendo una funzione di auto-correlazione normalizzata presenta gli andamenti descritti in (2.3) e (2.4).

Per ritardi brevi  $f=1$  quindi  $\mathcal{D}(q, \Delta t \rightarrow 0) = B(q)$ ,

mentre per ritardi lunghi si ha  $f=0$  quindi  $\mathcal{D}(q, \Delta t \rightarrow \infty) = A(q) + B(q)$ .

Per questa strategia è necessario campionare ritardi brevi e lunghi a sufficienza per osservare tutta la decorrelazione delle fluttuazioni, altrimenti si giunge ad una sottostima di  $A(q)+B(q)$  e ad una sovrastima di  $B(q)$ .

2. Si interpola  $\mathcal{D}(q, \Delta t)$  con parametri liberi  $A$  e  $B$  e un modello per  $f$ . Questa strategia non ha particolari pretese per quanto riguarda il range di ritardi  $\Delta t$ , ma necessita la conoscenza di un modello per  $f$  e di una normalizzazione, il che non è sempre scontato, in particolare quando si sta osservando un sistema con dinamica piuttosto varia.

Per essere sicuri di vagliare un range di ritardi sufficientemente ampio per stimare correttamente i parametri  $A(q)$  e  $B(q)$  e quindi ricavare la funzione di auto-correlazione delle fluttuazioni ciò che si fa è attuare un "merging" di due stack di 2000 immagini presi a frequenze diverse. Come già anticipato in [2.2.4] la scelta dei rate è dettata dal sistema osservato e il conseguente "merging" darà un range dei tempi ottimale per quel tipo di sistema. Questo espediente è ben descritto in [10]. In particolare, per la soluzione acquosa, il merging delle frequenze 4 fps e 400 fps fornisce un range temporale da  $2.5 \times 10^{-3}$  s fino al massimo tempo di acquisizione dello stack a 4 fps di 500 s, mentre per il polimero, il merging restituisce un range che va da  $5 \times 10^{-3}$  s a 1000 s.

Per quanto riguarda i due campioni utilizzati, in analogia alla strategia a parametri liberi, viene scelto un range di  $q$  ottimale e si assume un modello esponenziale per  $f$ . Questa supposizione, dovrebbe rivelarsi valida per il campione di acqua e traccianti, dove  $f$  può essere scritta come un esponenziale decrescente di cui si può definire un tempo caratteristico di decorrelazione delle fluttuazioni. Quest'ultimo, per un processo puramente diffusivo, ha una dipendenza di questo tipo dal modulo del vettore d'onda  $q$ :

$$f(q, \Delta t) = e^{-\frac{\Delta t}{\tau_d}} \quad \text{con} \quad \tau_d(q) = \frac{1}{Dq^2} \quad (2.10)$$

Pertanto, un fit dell'inverso di  $\tau_d$  in funzione di  $q^2$  dovrebbe restituire una retta la cui pendenza è proprio il coefficiente di diffusione  $D$ . L'intervallo di  $q$  in cui stimare correttamente  $\tau_d$  è lo stesso scelto per la stima di  $A(q)$  e  $B(q)$ . Il range ottimale si trova in una regione intermedia tra una regione a bassi  $q$  in cui si ha una statistica insufficiente e la media radiale è applicata ai pochi pixel centrali e una regione a  $q$  elevati in cui rapporto segnale/rumore è troppo elevato per restituire un fit consistente.

$$\frac{1}{\tau_d(q)} = Dq^2 \quad \text{con} \quad D = \frac{K_B T}{6\pi\eta R} \quad (2.11)$$

$D$  è il coefficiente di diffusione dei traccianti nel mezzo viscoso (in questo caso acqua distillata),  $R$  il raggio dei traccianti pari a 100 nm,  $T$  la temperatura,  $K_B$  la costante di Boltzmann e  $\eta$  la viscosità del mezzo.

L'obiettivo finale consiste nella stima delle proprietà reologiche dei mezzi, pertanto si evidenzia la dipendenza della funzione intermedia di scattering dall' MSD.

Per particelle non interagenti, monodisperse in un mezzo omogeneo, la distribuzione dell' MSD dei traccianti è una gaussiana. Viene proposta un' approssimazione gaussiana ogni qualvolta si hanno particelle in moto casuale caratterizzato da sequenze di piccoli spostamenti indipendenti che hanno media nulla.

In queste condizioni, si può applicare il **teorema del limite centrale** [18].

$$f(q, \Delta t) = e^{-\frac{q^2}{4} \langle \Delta r^2(t) \rangle} \quad (2.12)$$

Pertanto, a partire dalla conoscenza di come scala  $f$  in funzione dei ritardi per i vari valori di  $q$  nel range scelto è possibile ricavare dei valori discreti di MSD a vari  $q$ .

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle = \frac{-4}{q^2} \ln\left(1 - \frac{\mathcal{D}(q, t) - B(q)}{A(q)}\right) \quad (2.13)$$

La forma funzionale con cui l'MSD scala nel tempo è conosciuta se le particelle in soluzione hanno moto diffusivo libero come nella soluzione acquosa utilizzata, mentre richiede uno studio più accurato se il sistema è più complesso, come nel caso della soluzione polimerica.

Per risalire alle stime di  $G'$  e  $G''$  si utilizza un algoritmo fornito da [14] che permette, a partire da valori discreti di MSD in funzione dei tempi, di calcolare la trasformata di Laplace di  $\langle \Delta r^2 \rangle$  con un' approssimazione algebrica.

## 3. RISULTATI

---

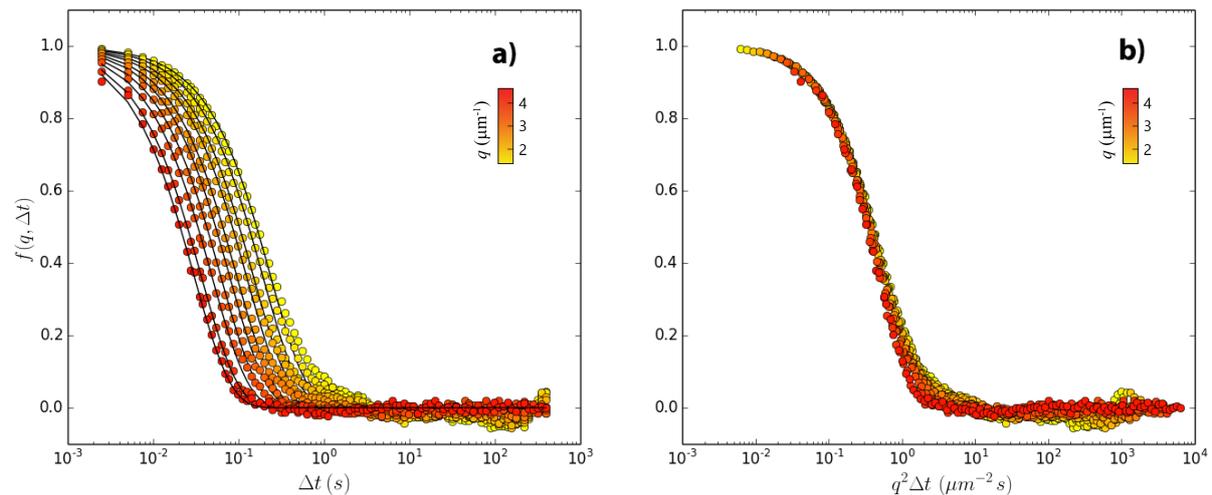
Il seguente capitolo è articolato in due sezioni in cui si descrivono i risultati sperimentali ottenuti per le due soluzioni utilizzate.

Per la soluzione acquosa di traccianti, si studia la decorrelazione delle fluttuazioni a partire dalle funzioni intermedie di scattering, ottenendo una stima del coefficiente di diffusione  $D$  per le particelle utilizzate. Si confrontano i valori di  $D$  e della viscosità  $\eta$  dell'acqua con quelli nominali relativi alla temperatura rilevata durante l'acquisizione tenendo conto di una possibile oscillazione nel valore di quest'ultima. Una volta ricavato  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  dei traccianti, si giunge alle stime di  $G'(\omega)$  e  $G''(\omega)$  anch'esse confrontate con i valori in letteratura per l'acqua.

Per quanto riguarda la soluzione polimerica, invece, si osserva che il modello esponenziale per  $f$  non si adatta ai dati ottenuti per le funzioni intermedie di scattering. Ci si aspetta che  $\langle \Delta r^2(t) \rangle$  non presenti un'unico andamento per tutto il range temporale osservato. Infine, si confrontano le stime ottenute per  $G'(\omega)$  e  $G''(\omega)$  con i risultati di reologia tradizionale ottenuti al Te.Si. Laboratory di Rovigo.

### § 3.1. Soluzione acquosa

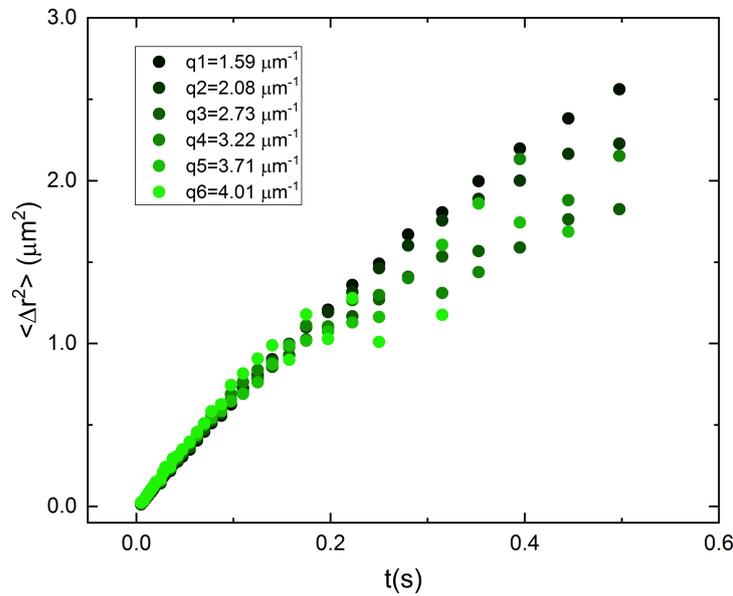
Il range di  $q$  scelto per stimare i parametri  $A(q)$  e  $B(q)$  è  $[1.57 \mu\text{m}^{-1}, 4.01 \mu\text{m}^{-1}]$ . Quest'ultimo permette di accedere ad una regione con buona statistica e che presenta un buon rapporto segnale/rumore. Di seguito viene riportato il grafico della funzione intermedia di scattering ottenuta dall'equazione (2.9) per dieci valori di  $q$  all'interno del range e la sua versione riscalata su  $q^2\Delta t$ :



**Figura 3.1:** Grafico in scala semi-logaritmica della funzione intermedia di scattering relativa alla sospensione di traccianti in acqua. I valori di  $q$  crescono dal colore giallo al rosso. a) dipendenza di  $f$  dai ritardi  $\Delta t$  per un range di 10 valori di  $q$  spazati in maniera logaritmica nel range scelto; b) riscalamento su  $q^2\Delta t$  delle funzioni intermedie.

Dalla **Figura 3.1** si nota come la stima della  $f$  a tempi brevi sia affetta da un errore pari a circa il 10%. Per guadagnare una decade di dati sulla prima parte della funzione intermedia sarebbe opportuno acquisire ad un frame rate di almeno 4000 fps. Questo valore eccede la capacità della camera di acquisizione utilizzata, pertanto è necessario tenere conto dell' errore che influenza anche la stima della baseline per ritardi maggiori. Per valori di  $q$  più elevati (in rosso), la regione piatta viene raggiunta prima in quanto il decadimento è più veloce. La stima della baseline di  $f$  è sensibile al tempo di acquisizione dello stack di immagini e alla pulizia della misura. Una misura effettuata in tempi veramente lunghi avrebbe probabilmente fornito più decadi di dati, ma sarebbe stata affetta da altri tipi di errori dati da una maggiore fluttuazione delle condizioni di lavoro, e.g. la temperatura esterna o l'illuminazione. Confrontando la regione poco prima della baseline nel grafico riscalato si vede come le funzioni intermedie non siano perfettamente sovrapposte. Questo è indice di possibili errori nella stima di questa regione, in cui peraltro c'è un numero significativo di dati che scende sotto il valore nullo di  $f$  che verrà scartato nella stima dell'MSD. Al di là di queste stime poco precise ci si ritiene soddisfatti della regione centrale, in cui i dati sperimentali delle funzioni intermedie di scattering vengono ben interpolati da modelli di fit esponenziale.

A partire dai valori sperimentali delle funzioni intermedie, utilizzando l'equazione (2.13), si decide di plottare l'MSD in funzione di alcuni valori di  $q$  nel range  $[1.57 \mu\text{m}^{-1}, 4.01 \mu\text{m}^{-1}]$  per vederne l'effettivo andamento in funzione del tempo.

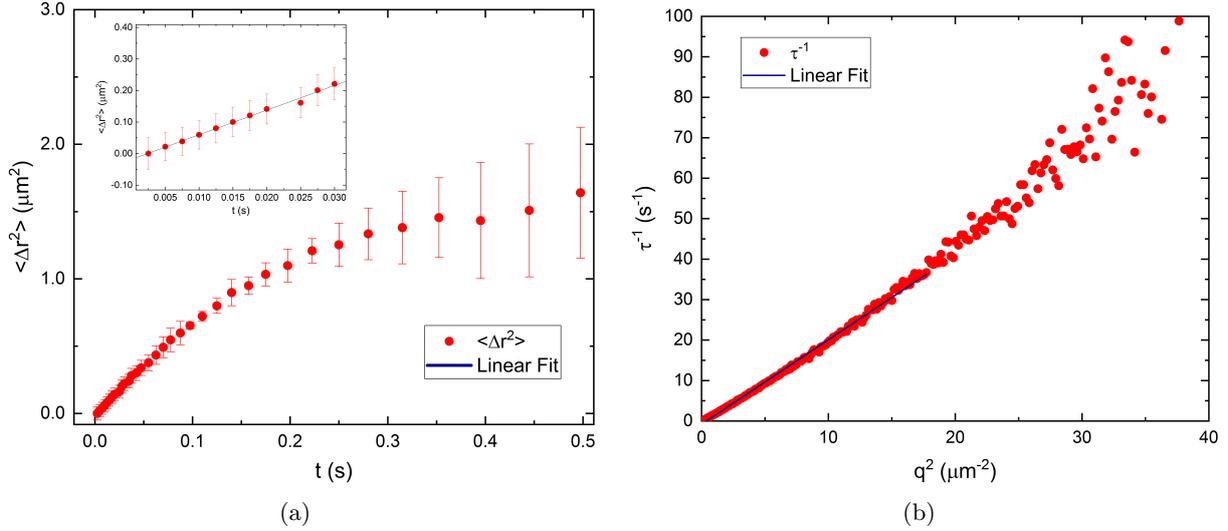


**Figura 3.2:** Grafico in scala lineare dell'MSD in funzione del tempo per i sei valori di  $q$  indicati in legenda.

Dalla **Figura 3.2** si nota che fino a circa 0.1 s i punti sperimentali relativi all'MSD in funzione del tempo si sovrappongono per i vari  $q$  evidenziando una certa linearità in  $t$ . Dopo questo tempo, l'andamento dell'MSD tende ad appiattirsi in maniera diversa per vari  $q$ .

A questo punto, si calcola per ogni ritardo un valore di MSD mediato con relativa deviazione standard per tutti i  $q$  nell'intervallo  $[1.57 \mu\text{m}^{-1}, 4.01 \mu\text{m}^{-1}]$ . Si riportano in un grafico le coppie  $(\Delta t, \langle \Delta r^2 \rangle)$  con le relative barre di errore. Nello stesso range di valori del vettore d'onda, viene inoltre riportato il grafico dell'inverso del tempo di decorrelazione delle fluttuazioni in funzione di  $q^2$ , il cui fit lineare restituisce il valore del coefficiente di diffusione  $D$ .

Il grafico di **Figura 3.3(a)** mostra come i valori mediati di MSD in funzione del tempo presentano un andamento lineare in una piccola regione iniziale. Purtroppo, per avere una buona stima da un eventuale fit sarebbe necessario ottenere più decadi, ma si ritiene che questa impossibilità sia associata al cut-off iniziale delle funzioni intermedie dato dalla frequenza di acquisizione non abbastanza elevata. Per tempi scala maggiori di 0.1 s, l'MSD sembra raggiungere pian piano un plateau, che descrive il fatto che non si riescono ad osservare valori di MSD maggiori della grandezza dell'immagine.



**Figura 3.3:** Grafici in scala lineare relativi alla soluzione acquosa. In (a) sono rappresentate le coppie  $(\Delta t, \langle \Delta r^2 \rangle)$  e il fit lineare dei primi 11 punti. In (b) è riportato il grafico dell'inverso del tempo di decorrelazione delle fluttuazioni in funzione di  $q^2$  e il relativo fit lineare nel range di  $q$  [ $1.57 \mu\text{m}^{-1}$ ,  $4.01 \mu\text{m}^{-1}$ ].

Il fit lineare  $\langle \Delta r^2 \rangle = at + b$  dei primi 11 punti, restituisce i seguenti parametri:

	$a$ [ $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ]	$\sigma_a$ [ $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ]	$b$ [ $\mu\text{m}^2$ ]	$\sigma_b$ [ $\mu\text{m}^2$ ]
fit lineare	7.8	0.2	-0.019	0.004

**Tabella 3.1:** Parametri del fit di  $\langle \Delta r^2 \rangle = at + b$  con i primi 11 punti dell'MSD in funzione dei tempi.

Secondo la relazione 1.7 si ricava una stima del coefficiente di diffusione pari a

$$D = (1.95 \pm 0.05) \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}.$$

Dal fit lineare rappresentato in **Figura 3.3(b)** si ottengono invece i seguenti parametri:

	$c$ [ $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ]	$\sigma_c$ [ $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ]	$d$ [ $\text{s}^{-1}$ ]	$\sigma_d$ [ $\text{s}^{-1}$ ]
fit lineare	2.089	0.009	-0.80	0.07

**Tabella 3.2:** Parametri del fit di  $\tau^{-1} = cq^2 + d$  dei punti sperimentali nel range di  $q$  [ $1.57 \mu\text{m}^{-1}$ ,  $4.01 \mu\text{m}^{-1}$ ].

Dalla relazione 2.11 si ottiene dunque un'ulteriore stima del coefficiente di diffusione  $D = (2.089 \pm 0.009) \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ . La temperatura durante la misura è rimasta in un intorno di  $23^\circ\text{C}$  pertanto, si tiene conto nel calcolo dei valori nominali di  $D$  con la formula di Stokes-Einstein di un range di temperatura in cui la viscosità dell'acqua varia da  $1.05 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  a  $18^\circ\text{C}$  a  $0.87 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  a  $26^\circ\text{C}$ .

Il valore nominale di  $D$  per il range di temperatura considerato si trova tra [ $2.029, 2.517$ ]  $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ .

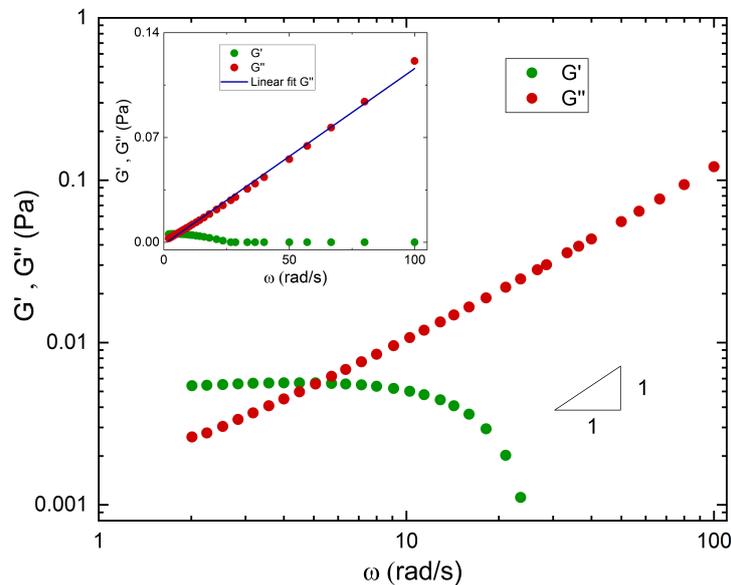
	$D$ [ $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ]	$\sigma_D$ [ $\mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ]
fit lineare $\langle \Delta r^2 \rangle$	1.95	0.05
fit lineare $\tau^{-1}$	2.089	0.002

**Tabella 3.3:** Stime dei coefficienti di diffusione  $D$  ottenute dai fit di Tabella 3.1 e 3.2.

Dalla **Tabella 3.3** si nota che la stima di  $D$  ottenuta dal fit lineare dei punti sperimentali ( $q^2, \tau_d^{-1}$ ) rientra nel range dei valori nominali. Al contrario, la stima ottenuta dal fit dell'MSD in funzione del tempo è poco soddisfacente. Anche se l'errore su questa stima è elevato e farebbe avvicinare il valore del coefficiente di diffusione al range di valori nominali, si ritiene che la poca precisione e accuratezza sia legata al fatto che non si riesce ad avere una stima della regione lineare dell'MSD per più di 0.1 s. Questo fatto è sicuramente legato alla stima della baseline e della parte iniziale della funzione intermedia di scattering.

A questo punto, i valori medi di MSD in corrispondenza dei diversi tempi vengono utilizzati dal programma fornito da Kilfoil *et al* [14] per stimare l'andamento del modulo elastico e viscoso dell'acqua in funzione di  $\omega$ .

Ci si aspetta che per la soluzione acquosa il valore del modulo elastico sia pressochè costante al variare di  $\omega$ . Dal fit del grafico di  $G''(\omega)$ , secondo la relazione 1.6 si dovrebbe ottenere come valore per la pendenza proprio la viscosità  $\eta$  dell'acqua alla temperatura di lavoro. Si riportano nel seguente grafico i risultati per  $G'(\omega)$  e  $G''(\omega)$ , e il fit di  $G''$ :



**Figura 3.4:** Grafico in scala logaritmica del modulo elastico e viscoso in funzione della frequenza  $\omega$  per la soluzione acquosa. Il riquadro in alto a sinistra riporta il grafico in scala lineare con il fit  $G'' = a\omega + b$ .

Di seguito si riportano in una tabella i parametri del fit di  $G''$ , in cui gli ultimi due punti sperimentali che appartengono alla regione ad alte frequenze, quindi a brevi tempi scala, non sono stati fittati. In questa regione, come già commentato per la **Figura 3.3(a)** il tratto iniziale dell'MSD è stimato su pochi valori della funzione intermedia, perciò si ritiene opportuno rigettare questi punti.

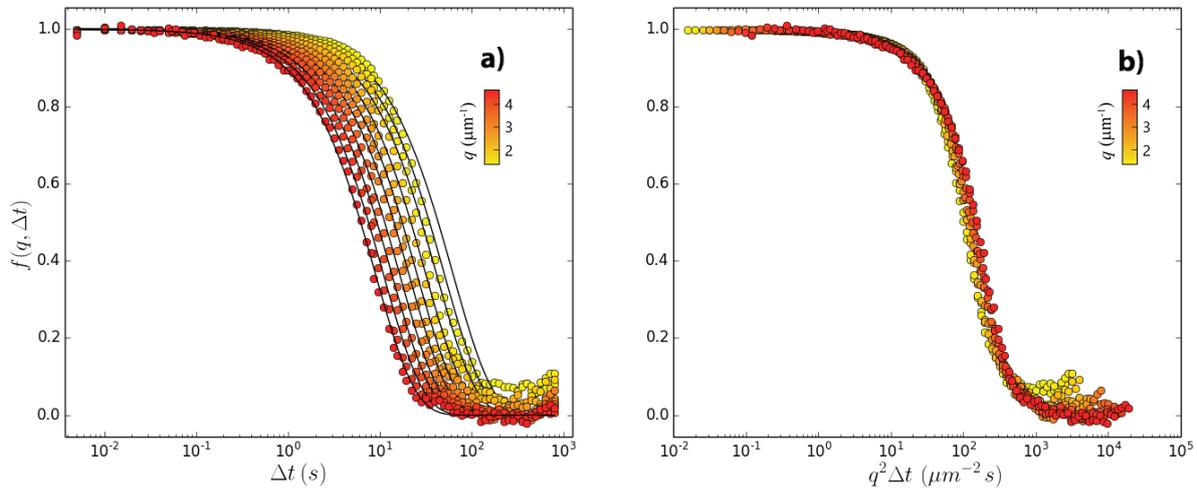
	a [Pa.s]	$\sigma_a$ [Pa.s]	b [Pa]	$\sigma_b$ [Pa]
fit lineare	0.00117	0.00001	-0.0013	0.0004

**Tabella 3.4:** Parametri dei fit di  $G''$  in funzione di omega.

Dalla **Tabella 3.4** si nota che come previsto, il grafico di  $G'(\omega)$  presenta un andamento costante e pressoché nullo, mentre il fit per  $G''(\omega)$  restituisce una stima per la viscosità pari a  $\eta = (1.17 \pm 0.01)$  mPa.s, elevata se confrontata con il valore nominale della viscosità dell'acqua a  $23^\circ\text{C}$ , pari a  $\eta_{23^\circ\text{C}} = 0.932$  mPa.s. Ci si aspettava una stima poco accurata della viscosità, legata alla stima poco accurata del coefficiente di diffusione ottenuta dal fit in 3.3(a).

### § 3.2. Soluzione polimerica

Per quanto riguarda la soluzione polimerica, si procede in maniera analoga a come fatto per la soluzione acquosa: scelto il range di  $q$  ottimale per stimare  $A(q)$  e  $B(q)$  [ $1.79 \mu\text{m}^{-1}$ ,  $4.90 \mu\text{m}^{-1}$ ], si ricorre all'equazione (2.9) per calcolare ai vari  $q$  la funzione intermedia di scattering in funzione dei ritardi e quella riscaldata su  $q^2 \Delta t$ .

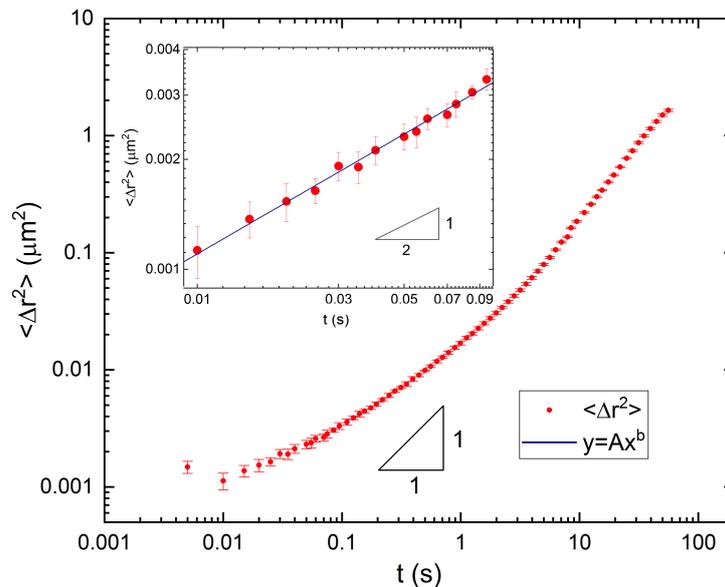


**Figura 3.5:** Grafico in scala semi-logaritmica della funzione intermedia di scattering relativa alla soluzione polimerica. I valori di  $q$  crescono dal colore giallo al rosso. a) dipendenza di  $f$  dai ritardi  $\Delta t$  per un range di 10 valori di  $q$  spaziatosi in maniera logaritmica nel range scelto; b) riscaldamento su  $q^2 \Delta t$  delle funzioni intermedie.

Dalla **Figura 3.5** si osserva che il primo tratto della funzione intermedia viene ben stimato, mentre si perdono almeno due decadi nella stima della baseline rispetto al campione di acqua e colloidali. La dinamica nel caso della soluzione polimerica è certamente più lenta e questo si

evinces dal fatto che la baseline del campione inizia intorno a qualche decina di secondi, tempo alla quale la maggior parte delle fluttuazioni nel campione acquoso sono già decorrelate. Se ad alti valori di  $q$  sembra che la funzione intermedia sia ben interpolata dal modello esponenziale, lo stesso non si può dire per i primi valori di  $q$ . Il motivo risiede nel fatto che non è possibile assumere una forma esponenziale unica per tutti i valori nel range di  $q$ . L'MSD non è lineare nei tempi come in (1.7), ma è più verosimile che si possa interpolare nel primo tratto con una legge di potenza del tipo  $\langle \Delta r^2 \rangle = t^\gamma$  con  $\gamma \sim 0.5$ . Nel primo tratto, infatti, i tempi scala sono brevi e la dinamica potrebbe essere subdiffusiva.

Di seguito, per ottenere l'MSD in funzione del tempo, si sceglie un range di  $q$  in corrispondenza delle funzioni intermedie di scattering per cui la baseline viene stimata bene, quindi che presentano il minor numero possibile di valori sotto lo zero nel range dei tempi che va da  $0.5 \times 10^{-2}$  s a 891 s. Per 10 valori nel range  $[1.79 \mu\text{m}^{-1}, 2.03 \mu\text{m}^{-1}]$  si media il valore di MSD per i vari ritardi e si calcola la relativa deviazione standard. Per i primi 14 punti (di cui il primo viene scartato) si prova ad interpolare con una legge di potenza del tipo  $\langle \Delta r^2 \rangle = At^b$ .



**Figura 3.6:** Grafico in scala logaritmica delle coppie  $(\Delta t, \langle \Delta r^2 \rangle)$ . Nel riquadro in alto a sinistra è mostrato il grafico in scala logaritmica con il fit dei primi 14 valori con una legge di potenza del tipo  $\langle \Delta r^2 \rangle = At^b$ .

Dalla **Figura 3.6(a)** si evince come previsto l'andamento non lineare dell'MSD con i tempi. Escluso il primo punto, il fit con la funzione  $\langle \Delta r^2 \rangle = At^b$  dei primi 14 punti restituisce i seguenti parametri:

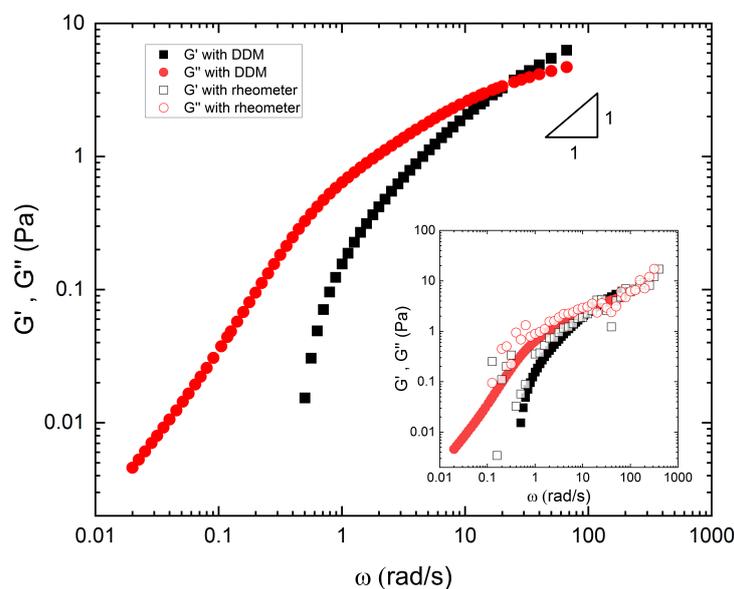
	A [ $\mu\text{m}^2$ ]	$\sigma_A$ [ $\mu\text{m}^2$ ]	b	$\sigma_b$
legge di potenza	0.0096	0.0004	0.47	0.01

**Tabella 3.5:** Parametri fit  $\langle \Delta r^2 \rangle = At^b$  con i primi 14 punti dell'MSD in funzione dei tempi.

Effettivamente, il fit evidenzia un comportamento subdiffusivo del campione d'interesse.

A questo punto, per i valori di MSD mediati sul range di  $q$  che va da  $1.79 \mu\text{m}^{-1}$  a  $2.03 \mu\text{m}^{-1}$  si calcolano  $G'$  e  $G''$  con l'algoritmo già citato che stima analiticamente la Trasformata di Laplace di  $\langle \Delta r^2 \rangle$ .

Per fare un confronto con i risultati ottenuti, sono state prese delle misure di reologia tradizionale con il reometro del laboratorio Te.Si. a Rovigo. Il reometro utilizzato (ARES, TA Instruments) con geometria piatto-cono (diametro del piatto 25 mm) ha permesso attraverso l'applicazione di una deformazione oscillatoria di stimare i valori di  $G'$  e  $G''$ . L'ampiezza dello sforzo viene impostata al 5%, la gap tra i piatti è pari a 0.0473 cm e la temperatura di lavoro è  $21^\circ\text{C}$ . Il range di frequenze investigato è  $0.1 - 500 \text{ rad s}^{-1}$ . Di seguito viene riportato in un grafico il confronto tra le stime ottenute con la DDM e quelle di reologia tradizionale (10 punti per decade) in cui si è tenuto conto delle diverse condizioni di lavoro delle due prese dati:



**Figura 3.7:** Grafico in scala logaritmica delle stime del modulo elastico e viscoso in funzione della frequenza  $\omega$  per la soluzione polimerica. Nel riquadro in basso a sinistra si riporta il confronto, sempre in scala logaritmica, dei dati ottenuti dal reometro e dalla  $\mu$ rheo-DDM.

La **Figura 3.7** evidenzia un certo accordo tra le misure di reologia tradizionale e quelle ottenute con la  $\mu$ rheo-DDM. I dati ottenuti con il reometro sono particolarmente rumorosi e questo è dovuto al fatto che lo strumento è stato tarato per misurare la reologia di polimeri viscosi. Dall'altra parte, i dati ottenuti con la DDM presentano un cut-off alle alte frequenze dovuto alle stime poco precise dell'MSD per tempi brevi. Per entrambe le tecniche viene stimata correttamente la regione in cui si trova la frequenza di crossover, tra  $10 \text{ rad s}^{-1}$  e  $100 \text{ rad s}^{-1}$ . Nel tratto fino a  $\omega = 20 \text{ rad s}^{-1}$  il polimero ha comportamento prevalentemente viscoso. Alla "frequenza di crossover" si ha un comportamento intermedio tra quello viscoso e quello elastico. Dopo questo valore, il tempo di rilassamento del polimero (che è l'inverso di una frequenza) diventa grande rispetto al tempo in cui si sottopone il polimero alla deformazione perciò l'energia viene immagazzinata sottoforma di elasticità.

## 4. CONCLUSIONI

---

Complessivamente, l'obiettivo della tesi è stato raggiunto. La  $\mu$ rheo-DDM è stata applicata con successo per ottenere la microreologia dei campioni utilizzati.

Per quanto riguarda la soluzione acquosa, ci si ritiene soddisfatti delle stime ottenute per il coefficiente di diffusione e la viscosità dell'acqua soprattutto se si tiene in considerazione che le fluttuazioni della temperatura dell'ambiente circostante potrebbero aver influito sulle acquisizioni a basso frame rate. Di conseguenza, anche le stime di  $G'$  e  $G''$  ottenute grazie all'algoritmo di approssimazione della trasformata di Laplace forniscono buoni risultati. Come già accennato, per ottenere stime più accurate si dovrebbero acquisire degli stack di immagini a frequenze molto elevate e quindi disporre di una camera di acquisizione molto veloce.

Per quanto riguarda invece la soluzione polimerica, è stato confermato il fatto che le funzioni intermedie di scattering ottenute dall'analisi delle correlazioni delle immagini dei due stack non scalano con dei modelli esponenziali. Questo si ritiene sia dovuto al fatto che la dinamica del sistema non è puramente diffusiva come nel caso del sistema acquoso, ma presenta comportamenti diversi a seconda delle scale temporali investigate. In particolare, sembra che per tempi brevi la dinamica sia subdiffusiva. Le stime di  $G'$  e  $G''$  evidenziano un comportamento viscoso del polimero utilizzato per basse frequenze ed elastico una volta superata la frequenza di crossover. Il confronto con le misure di reologia tradizionale fatte al Te.Si. di Rovigo ha dato risultati soddisfacenti.

Per esplorare range più ampi della dinamica delle soluzioni utilizzate, può rivelarsi istruttivo prendere le misure nelle stesse condizioni ma per tempi di acquisizione più lunghi.

Un altro aspetto su cui si può lavorare riguarda la scelta dell'algoritmo che stima la Trasformata di Laplace dello spostamento quadratico medio per la stima del modulo dinamico complesso. A parità di range di frequenza esplorato, minori sono le approssimazioni coinvolte e maggiore sarà l'affidabilità delle stime ottenute.

Sviluppi ulteriori della  $\mu$ rheo-DDM potrebbero concentrarsi sullo studio di soluzioni più o meno concentrate dello stesso polimero, per vedere la dipendenza della dinamica dalla concentrazione. Infine, potrebbe essere interessante sviluppare dei test che utilizzano particelle di dimensioni diverse. Si ritiene infatti che la capacità della tecnica in termini di range di frequenza investigato sia influenzata dalla taglia dei traccianti.



# BIBLIOGRAFIA

---

- [1] F. Giavazzi and R. Cerbino, “Digital Fourier microscopy for soft matter dynamics,” *Journal of Optics (United Kingdom)*, vol. 16, no. 8, 2014.
- [2] H. M. Wyss, “Rheology of soft materials,” *Fluids, Colloids and Soft Materials: An Introduction to Soft Matter Physics*, pp. 149–164, 2018.
- [3] R. H. Ewoldt, M. T. Johnston, and L. M. Caretta, “Experimental Challenges of Shear Rheology: How to Avoid Bad Data.” 2014.
- [4] H. B. C. T. A. Welton, “Irreversibility and Generalized Noise,” *Physical Review*, vol. 83, no. 35-40, 1951.
- [5] D. L. Scattering, T. Mean, S. Displacement, D. L. S. Microrheology, D. L. S. Microrheology, D. L. S. Microrheology, and D. L. S. Microrheology, “An Introduction to DLS Microrheology Microrheology overview,” no. February, pp. 1–8, 2015.
- [6] R. Cerbino, F. Giavazzi, V. Trappe, D. Bergamini, and P. Edera, “Differential dynamic microscopy microrheology of soft materials: A tracking-free determination of the frequency-dependent loss and storage moduli,” *Physical Review Materials*, vol. 1, no. 7, pp. 1–11, 2018.
- [7] D. Wirtz, “Particle-Tracking Microrheology of Living Cells: Principles and Applications,” *Annual Review of Biophysics*, vol. 38, no. 1, pp. 301–326, 2009.
- [8] T. G. Mason and D. A. Weitz, “Optical Measurements of Frequency-Dependent Linear Viscoelastic Moduli of Complex Fluids,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 74, pp. 1250–1253, feb 1995.
- [9] A. Palmer, T. G. Mason, J. Xu, S. C. Kuo, and D. Wirtz, “Diffusing wave spectroscopy microrheology of actin filament networks,” *Biophysical Journal*, vol. 76, no. 2, pp. 1063–1071, 1999.
- [10] D. Germain, M. Leocmach, and T. Gibaud, “Differential Dynamic Microscopy to characterize Brownian motion and bacteria motility,” vol. 202, no. 2016, 2015.
- [11] F. Giavazzi and A. Vailati, “Scaling of the spatial power spectrum of excitations at the onset of solutal convection in a nanofluid far from equilibrium,” *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, vol. 80, no. 1, pp. 1–4, 2009.
- [12] T. G. Mason, “Estimating the viscoelastic moduli of complex fluids using the generalized Stokes-Einstein equation,” *Rheologica Acta*, vol. 39, no. 4, pp. 371–378, 2000.

- 
- [13] T. M. Squires and T. G. Mason, “Fluid Mechanics of Microrheology,” *Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 42, no. 1, pp. 413–438, 2010.
- [14] K. Nishi, M. L. Kilfoil, C. F. Schmidt, and F. C. Mackintosh, “A symmetrical method to obtain shear moduli from microrheology,” *Soft Matter*, vol. 14, no. 19, pp. 3716–3723, 2018.
- [15] R. Cerbino and V. Trappe, “Differential dynamic microscopy: Probing wave vector dependent dynamics with a microscope,” *Physical Review Letters*, vol. 100, no. 18, pp. 1–4, 2008.
- [16] M. Geri, B. Keshavarz, T. Divoux, C. Clasen, D. J. Curtis, and G. H. McKinley, “Time-Resolved Mechanical Spectroscopy of Soft Materials via Optimally Windowed Chirps,” *Physical Review X*, vol. 8, no. 4, p. 41042, 2018.
- [17] I. V. O. Verghese and G. C., “Power Spectral Density,” in *Introduction to Communication, Control, and Signal Processing*, ch. 10, pp. 183–195, 2010.
- [18] A. L. Thorneywork, D. G. Aarts, J. Horbach, and R. P. Dullens, “On the Gaussian approximation in colloidal hard sphere fluids,” *Soft Matter*, vol. 12, no. 18, pp. 4129–4134, 2016.