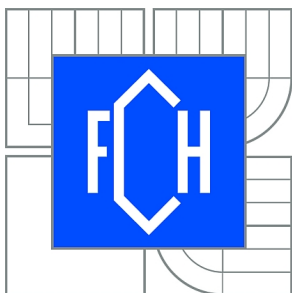




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

MIKRORHEOLOGIE V SYSTÉMECH POLYMERNÍCH KOLOIDŮ

MICRORHEOLOGY IN SYSTEMS OF POLYMERIC COLLOIDS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

PETRA BJALONČÍKOVÁ

VEDOUcí PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. TEREZA HALASOVÁ

BRNO 2012



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0697/2011	Akademický rok: 2011/2012
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Petra Bjalončíková	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Spotřební chemie (2806R002)	
Vedoucí práce	Ing. Tereza Halasová	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Mikrorheologie v systémech polymerních koloidů

Zadání bakalářské práce:

- 1) Cílem práce je provést literární rešerši na zadané téma a zhodnotit využitelnost metody při výzkumu polymerních koloidů.
- 2) Na základě rešerše navrhnout modelová měření vedoucí k charakterizaci systému polymerního koloidu. Diskutovat vliv polymerní povahy koloidu na získané výsledky.

Termín odevzdání bakalářské práce: 4.5.2012

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Petra Bjalončíková
Student(ka)

Ing. Tereza Halasová
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2012

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Moje bakalářská práce byla zaměřena na zhodnocení využitelnosti metody mikrореologie při výzkumu polymerních koloidů. Použitými polymery byly polystyren sulfonát sodný a karboxymethylcelulóza. Pro měření mikrореologie byly použity částice o různém poloměru (1 μm a 4 μm). Výsledky získané metodou pasivní mikrореologie byly porovnány s výsledky získanými klasickou reologií. Měřením bylo zjištěno, že obě pozorované látky mají viskózní charakter. Hodnoty viskozit polymerů byly u zředěných roztoků shodné u obou metod. U koncentrovaných roztoků docházelo k odchylkám. Důvodem jsou polymerní sítě, které u koncentrovanějších roztoků neumožňují částicím dostatečný pohyb.

ABSTRACT

My bachelor's thesis was aimed to deal with evaluation of microrheology method in the research of polymer colloids. Used polymers were poly(sodium 4-styrenesulfonate) and sodium carboxymethyl cellulose. For measuring of microrheology were used particles with different radius (1 μm and 4 μm). The results obtained with passive microrheology were compared with results obtained with classical rheology. It was found, that both substances have viscous character. The values of polymer viscosity were similar for dilute solutions in both methods, but for concentrated solutions deviations were found. The reason are polymer nets, which do not allow sufficient movement of particles in concentrated solutions.

KLÍČOVÁ SLOVA

mikrореologie, reologie, viskoelastická, Brownův pohyb, karboxymethyl celulóza, polystyren sulfonát sodný

KEYWORDS

microrheology, rheology, viscoelasticity, Brownian dynamics, sodium carboxymethyl cellulose, poly(sodium 4-styrenesulfonate)

BJALONČÍKOVÁ, P. *Mikrorheologie v systémech polymerních koloidů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 42 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Tereza Halasová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem citovala správně a úplně. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala vedoucí bakalářské práce Ing. Tereze Halasové za odborný dohled. Dále bych chtěla srdečně poděkovat konzultantům Ing. Filipovi Mravcovi Ph.D. a Bc. Zuzaně Hnyluchové za obětavou spolupráci a odborné rady.

OBSAH

ÚVOD	7
1. Teoretická část.....	8
1.1 Polystyren sulfonát sodný	8
1.1.1 Chemické vlastnosti a struktura.....	8
1.2 Karboxymethylcelulóza	8
1.2.1 Chemické vlastnosti a struktura.....	9
1.3 Koloid	9
1.4 Brownův pohyb.....	9
1.5 Viskoelasticita.....	10
1.5.1 Viskozita.....	10
1.5.2 Elasticita	11
1.6 Reologie	11
1.6.1 Newtonské kapaliny	11
1.6.2 Nenewtonské kapaliny.....	12
1.7 Mikroreologie	14
1.7.1 Pasivní mikroreologie.....	15
2. Současný stav řešené problematiky	18
3. Materiály a metody	20
3.1 Materiály	20
3.2 Vybavení	21
3.3 Příprava vzorků.....	22
4. Měření a vyhodnocení dat	23
4.1 Měření na Nikonu Eclipse E200	23
4.1.1 Vyhodnocení.....	23
4.2 Měření na Reometru AR G2	23
4.2.1 Vyhodnocení.....	24
5. Výsledky a diskuze	25
5.1 Videozáznamy.....	25
5.2 MSD.....	27
5.3 Viskozity	28
6. Závěr.....	37
7. Seznam použitých zdrojů.....	39
8. Seznam použitých zkratk a symbolů	41

8.1	Seznam zkratek	41
8.2	Seznam symbolů	41

ÚVOD

V posledních letech bylo vyvinuto několik vzájemně se doplňujících technik, které nám umožňují měřit viskoelastické vlastnosti měkkých materiálů na mikrometrové úrovni. Velké množství studií bylo zaměřeno hlavně na pronikání nanomateriálů dovnitř živých buněk. Nicméně další dynamika těchto nanomateriálů je určena vnitrobuněčným prostředím a částečně jeho mechanickými vlastnostmi. Mechanická charakteristika vnitřního prostředí buňky může být zkoumána formou pasivní nebo aktivní mikrореologie. Aktivní mikrореologie je metoda, která není tak používaná v praxi, hlavně kvůli obtížnosti vkládání sond, které musejí být manipulovány vnějšími silami. Naopak pasivní mikrореologie je velmi používanou metodou, díky minimálnímu množství použitého vzorku, možnosti studování viskoelasticity u vzorků s vyšší frekvencí než 10 Hz a mnoha dalším výhodám.

Následující práce se zabývá zhodnocením využitelnosti metody při výzkumu polymerních koloidů. Jako polymery byly použity polystyren sulfonát sodný a karboxymetylcelulóza. Vybranými metodami k porovnání byly pasivní mikrореologie a reologie.

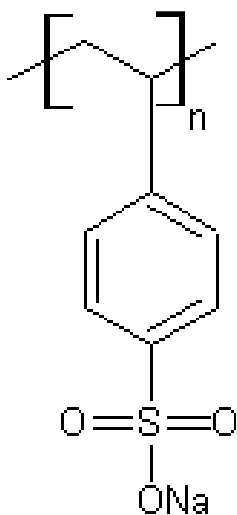
1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Polystyren sulfonát sodný

Polystyren sulfonát sodný je bílý prášek, který našel velké uplatnění hlavně v oblasti medicíny, kosmetiky, ale také ve stavebním, textilním a energetickém průmyslu. Polystyren sulfonát sodný bývá používán v medicíně při léčbě nemoci známé jako hyperkalemia. Díky PSS dochází ke snížení nebezpečně vysoké hladiny draslíku v krvi. Ve stavebním průmyslu se využívá jako plastifikátor do betonu a v textilním průmyslu bývá používán jako přísada do barviv. Pod obchodním názvem bývá často označován jako Kionex, Kayexalate nebo Resonium A. [1]

1.1.1 Chemické vlastnosti a struktura

Polystyren sulfonát sodný je druh hydrofilního polymeru a ionomeru založeném na polystyrenu. Přesněji se jedná se o kationtový iontoměnič, který uvolňuje Na^+ a absorbuje jiné kationty (například K^+). Je snadno rozpustný ve vodě, ale v nižších alkoholech se již nerozpouští. Jeho příprava je založená na polymeraci nebo kopolymeraci sulfonát styrenu sodného nebo sulfonaci polystyrenu. Během tohoto složitého procesu dochází ke vzniku řady vedlejších produktů. [1]



Obrázek 1. Základní strukturní jednotka molekuly polystyren sulfonátu sodného[2]

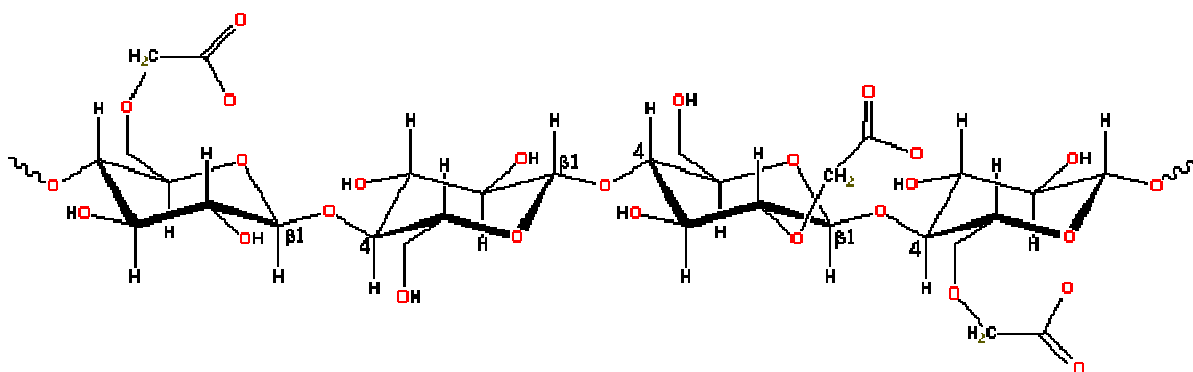
1.2 Karboxymethylcelulóza

Karboxymethylcelulóza (CMC) byla poprvé připravena v roce 1918 a poté byla vyráběna v Německu od roku 1920.

V průmyslu existují tři druhy CMC – technická, čistá a částečně purifikovaná. Technická CMC se používá jako přísada do čisticích prostředků. Čistá CMC je hlavně využívána pro své vlastnosti k zahušťování potravin při výrobě sirupů, zmrzlin a cukrovinek. Dále je přidávána do léčiv a zubních past. Částečně purifikovaná CMC se používá do papírů. CMC bývá také známa jako E- 466 – karboxymetyl celulóza. [3]

1.2.1 Chemické vlastnosti a struktura

Karboxymethylcelulóza je bílý až lehce krémový prášek bez zápachu. CMC je derivát celulózy s karboxymetylovými skupinami ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$) navázanými na některé z hydroxylových skupin glukopyranózových monomerů, které tvoří kostru polymeru. Často bývá používána i sodná sůl karboxymethylcelulózy. Převážná většina CMC je rozpustná ve studené vodě a je využívána hlavně pro kontrolu viskozity. CMC se vyrábí chemickým pozměněním přírodní celulózy. Také může být vyráběna reakcí kyseliny chloroctové s alkaliceulózou nebo celulózou za přítomnosti louhu. [3, 4]



Obrázek 2. Struktura karboxymethylcelulózy [3]

1.3 Koloid

Pod pojmem koloid se nachází označení pro disperzní soustavu, která se skládá z částic větších, než jsou atomy nebo molekuly, ale příliš malé, aby byly viditelné pouhým okem. Jejich rozměr se pohybuje od 1 nm do 1000 nm.

Koloidy jsou viditelné v ultramikroskopu nebo v elektronovém mikroskopu. Částice koloidu bývají často barevné a rozptylují procházející světlo – opalizují (Tyndallův efekt). Koloidní částice vykonávají slabší tepelný pohyb (Brownův pohyb), pomalu difundují a sedimentují, vyvolávají slabší osmotický tlak.

Koloidy mají velký význam pro lidskou činnost. Velké uplatnění mají v technologické, biologické, ale také ve fyziologické oblasti - výroba mléčných produktů (jogurty, sýry, másla), keramické výrobky (porcelán, v lékařství protézy), studium biologických systémů. Velkou řadu tělních tekutin je možné studovat, popřípadě upravovat, pokud se na ně díváme jako na koloidní disperze. [5]

1.4 Brownův pohyb

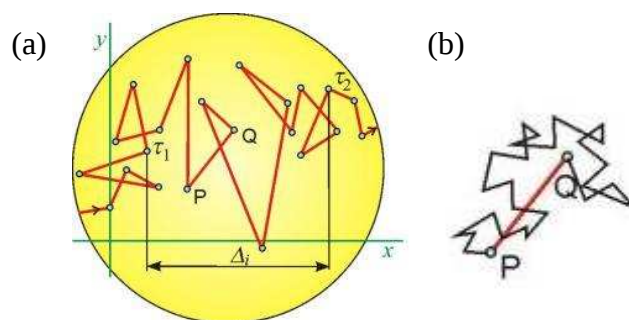
Pohyb částic v mikroheterogenních a koloidních systémech, který můžeme pozorovat v mikroskopu a ultramikroskopu nazýváme Brownův pohyb (Robert Brown 1827). Částice se pohybují v důsledku srážek disperzní částice s velkým počtem molekul disperzního prostředí. Pohybují se různými směry po velmi složité dráze. Počet nárazů z různých stran nebývá pokaždé stejný. Kromě translačního pohybu se částice pohybují i pohybem rotačním. S rostoucí velikostí a hmotností částice se zvyšuje pravděpodobnost kompenzace nárazů. Proto částice, které jsou větších rozměrů, vykonávají jen vibrační pohyb okolo určitého centra. Částice, které mají větší rozměr, než jsou $4\mu\text{m}$, již nevykonávají skoro žádný tepelný pohyb. [6] Naopak částice malých rozměrů vykonávají nejen translační pohyb, ale také rotační. Tento celkový pohyb částic označujeme jako Brownův pohyb. Skutečnou trajektorii

dráhy koloidní částice nelze přesně určit, protože částice velmi často mění směr a rychlost pohybu. Pozorováním pohybu pod mikroskopem a zaznamenání její polohy v zorném poli v pravidelných časových intervalech získáme plošnou projekci pohybu částice. Zobrazení pohybu částice od jedné zaznamenané polohy do druhé přímkou je pouze smluvené. Ve skutečnosti se jedná o velmi složitě klikatou prostorovou trajektorii. Sledujeme přemístění částice ve směru osy x a y . Posuv částice Δ_i poté označujeme jako průmět skutečného přemístění do osy x za časový interval $\tau_2 - \tau_1$.

Střední posuv označujeme jako kvadratický průměr z posuvů jedné částice v n stejných, za sebou jdoucích časových intervalech. A představuje statistickou charakteristiku intenzity tepelného pohybu.

$$\overline{\Delta} = \sqrt{\frac{\Delta_1^2 + \Delta_2^2 + \Delta_3^2 + \dots}{n}} \quad (1)$$

Tepelný pohyb částic v makroskopickém měřítku označujeme jako difúzi při současném působení gravitačního nebo odstředivého pole. Tento pohyb vede k sedimentační rovnováze, a je příčinou různých membránových jevů.[6]



Obrázek 3. Ukázka středního posuvu koloidní částice (a) a Brownův pohyb (b-složitý pohyb mezi polohami PQ) [6]

1.5 Viskoelasticita

Viskoelasticita je reologický parametr, který popisuje tekutost komplexních tekutin. Modifikuje poddajnost biologických struktur (biomateriálů). Viskoelasticita materiálů souvisí se schopností materiálů tlumit mechanické vibrace. Model viskoelastického materiálu kombinuje vlastnosti modelů jak elastického tak viskózního materiálu. Tedy látky se chovají za určitých okolností jako vazké kapaliny a za jiných jako pružná tělesa. [7]

1.5.1 Viskozita

Viskozita je veličina, která charakterizuje vnitřní tření kapaliny a závisí především na přitažlivých silách mezi částicemi. Kapaliny s větší přitažlivou silou mezi částicemi mají větší viskozitu a ta zpomaluje pohyb kapaliny nebo těles v kapalině. U ideálních kapalin má viskozita nulovou hodnotu. Kapaliny, které mají nenulovou hodnotu, označujeme jako viskózní látky (vazké). Viskozita kapalin se stoupající teplotou klesá. Při nižších teplotách může dojít ke shlukování molekul ve větší celky. Při zatížení viskózních materiálů, dojde k deformaci, která po odstranění zatížení zůstává. Hovoříme o deformaci nevratné. [8]

1.5.2 Elasticita

Elasticita udává pevnost a pružnost materiálů. Je to míra náchylnosti pevné látky k návratu do původního stavu. Při zatížení elastického materiálu dojde k okamžité deformaci. Pokud je zatížení stálé, deformace přetrvává. Pokud dojde k odlehčení, deformace zcela vymizí. Elastickou deformaci můžeme tedy označit jako deformaci vratnou. [7]

1.6 Reologie

Již od počátku dvacátých let minulého století si mnoho teoretických fyziků v oblasti mechaniky kontinua, odborníci v mechanice a hydrodynamice i praktičtí stavební inženýři uvědomovali, že průběh časově závislých deformací v nejrůznějších materiálech lze popsat prakticky stejným matematickým aparátem. Založili tedy v roce 1928 vědu nazývanou reologie. Její název byl odvozen od slavného zvolání starořeckého filozofa Herakleita „Panta rhei!“, neboli „Vše plyne“.

Reologie je vědní obor, který se zabývá studiem vnitřní reakce látek (jak pevných tak tekutých) na působení vnějších sil, tedy na jejich deformovatelnosti a tokovými vlastnostmi. Zkoumá zvláště změny napětí a přetvoření v závislosti na čase a na rychlosti přetváření. [9]

Reologické chování koloidních disperzních systémů závisí na viskozitě disperzního prostředí, koncentraci částic, velikosti a tvaru částic a interakcích částice-částice a částice-disperzní prostředí. [6]

Existují dva mezní typy chování - viskózní a elastické. Viz. odstavec 2.5.

Z reologického hlediska nemůžeme najít pevnou hranici mezi pevnou a kapalnou fází. Do určité míry se tedy látky chovají jako kapalné a tuhé zároveň. Poměr těchto složek je dán jejich vnitřní strukturou materiálu. Materiálové vlastnosti jsou kvantifikovány jako elastický modul pro pevné látky a jako viskozitní modul pro kapaliny.

Veličina vyjadřující tuhost materiálu při smýkání se nazývá komplexní smykový modul.

$$G^*(\omega) = \frac{\tau(t)}{\gamma(t)} = G'(\omega) + G''(\omega) \quad (2)$$

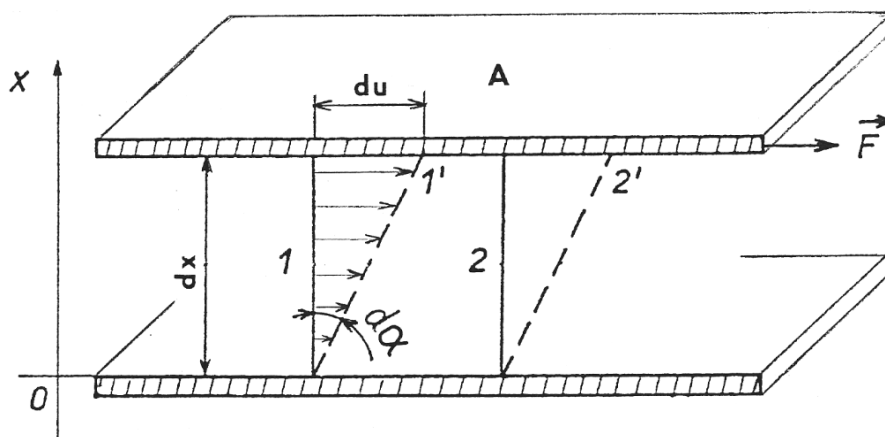
V rovnici je $\tau(t)$ označení pro smykové napětí závislé na čase, $\gamma(t)$ je smyková deformace závislá na čase. Elastický smykový modul G' udává míru deformační energie uloženou v materiálu během napěťového cyklu. Také tvoří reálnou část komplexního smykového modulu G^* . Viskozitní modul G'' sděluje ztrátu energie během napěťového cyklu. Jedná se o imaginární složku komplexního smykového modulu G^* . [10]

1.6.1 Newtonské kapaliny

V případě ideálně viskózního materiálu platí pro tečné napětí klasický Newtonův zákon.

$$\tau = \eta \cdot \frac{du}{dx} = \eta \cdot D \quad (3)$$

Součinitel η je dynamická viskozita, která charakterizuje vnitřní tření newtonovské kapaliny, du je vzájemná rychlost pohybu smykových rovin o dx . D je tzv. gradient rychlosti, který charakterizuje tvarové změny v proudící tekutině.



Obrázek 4. Rychlostní profil toku v kapalině mezi nepohyblivou a pohybující se deskou. [8]

Dynamická viskozita závisí na teplotě a tlaku. U plynů s teplotou roste, u kapalin klesá. Kinematickou viskozitou nazýváme podíl dynamické viskozity a hustoty kapaliny.

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \quad (4)$$

Tekutiny řídící se Newtonovým zákonem označujeme jako newtonovské a jsou to zpravidla nízkomolekulární látky. Viskozita těchto tekutin nezávisí na vazkém napětí. [6]

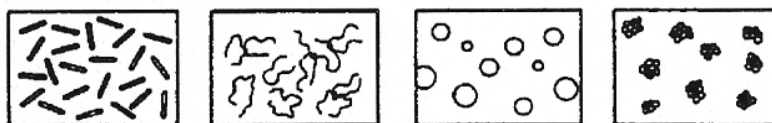
1.6.2 Nenewtonské kapaliny

Vedle newtonských kapalin existují kapaliny reologicky složitější, které se neřídí Newtonovým zákonem. Jedná se například o roztoky a taveniny polymerů, suspenze a různé pasty. Platí pro ně analogicky s Newtonovým zákonem rovnice

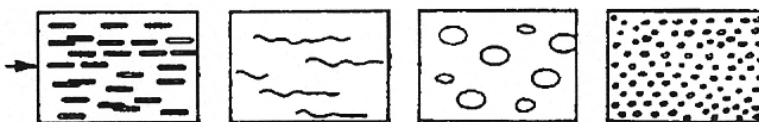
$$\tau = \eta \cdot D \quad (5)$$

kde označujeme η jako zdánlivou viskozitu, která není látkovou konstantou, tak jako u dynamické viskozity, ale závisí na rychlosti deformace nebo tečném napětí. [6]

Kapalina v klidu



Proudící kapalina



orientace

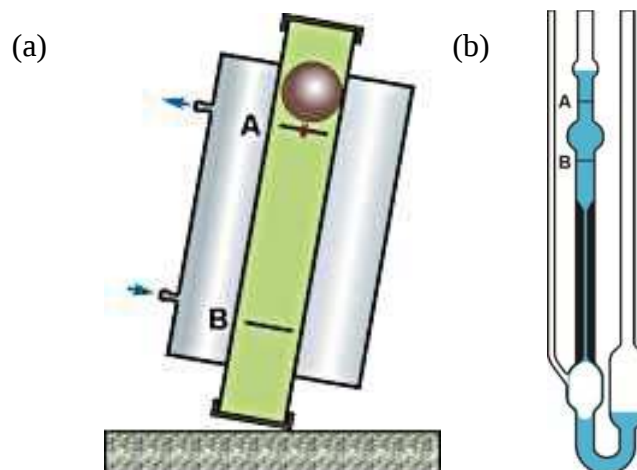
napřímení

deformace

rozmělnění

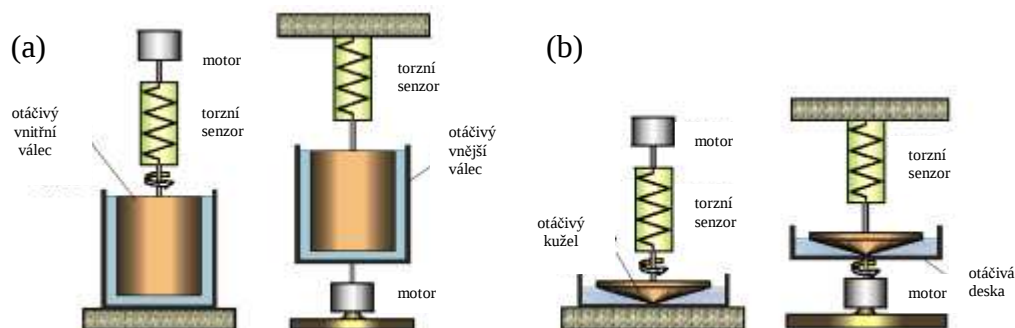
Obrázek 5. Vliv toku na uspořádání částic v nenewtonské kapalině. [8]

K měření viskozity se běžně v praxi používají různé druhy viskozimetrů. Mezi nejznámější patří pádové (tělískové). Měření těmito přístroji je založeno na měření rychlosti pádu známého tělesa v kapalině, jejíž viskozitu určujeme. Dále to jsou průtokové viskozimetry, které jsou založené na Poisseuilově rovnici pro laminární výtok kapaliny z kolmé trubice kruhového průřezu vlastní hmotností. [6]



Obrázek 6. Viskozimetr pádový (a-Höpplerův kuličkový), průtokový (b-Ubbelohdeho) [6]

Rotační viskozimetry se skládají ze dvou soustředných válců nebo kužele a desky, z nichž jeden se otáčí konstantní úhlovou rychlostí. Vnitřním třením kapaliny je otáčivý moment přenášen na druhý válec, který je zavěšený na torzní vlákne. Po ustavení rovnováhy se měří úhel pootočení válce od původní polohy, který je úměrný úhlové rychlosti vnějšího válce a viskozitě kapaliny. [6]



Obrázek 7. Rotační viskozimetry (a-Couettův – dva válce, b-Searleův – kužel/deska) [6]

Reologii rozdělujeme na makroreologii a mikroreologii. Makroreologie zkoumá převážně přetvárné vlastnosti hmoty z celkového pohledu. Poskytuje celkovou odezvu materiálu, tudíž měření probíhá pouze u homogenních systémů. Měření viskoelastických vlastností látek probíhá na běžných reometrech. Množství vzorku se pohybuje okolo desítek mililitrů, což je velmi nevýhodné hlavně u látek, které jsou cenově nákladné. Nevýhodou této metody je omezený rozsah frekvencí při měření, který je pouze do 10 Hz. [9]

V rámci reologie existuje velká řada specializovaných podoborů. Ty jsou vyznačeny typickou třídou studovaných materiálů. Hovoříme především o reologii kapalin. Typickými kapalnými materiály s reologickým chováním jsou především polymerní taveniny a roztoky, biologické kapaliny (krev), koloidní suspenze a emulze anorganického původu (malty, betony, jíly) a organického (barvy) i biologického (celulózy, potraviny).

Podle metodického přístupu se v reologii postupem času vytvořila řada disciplín: reologie elementární, inženýrská (reologie procesů), strukturní (mikroreologie). [8]

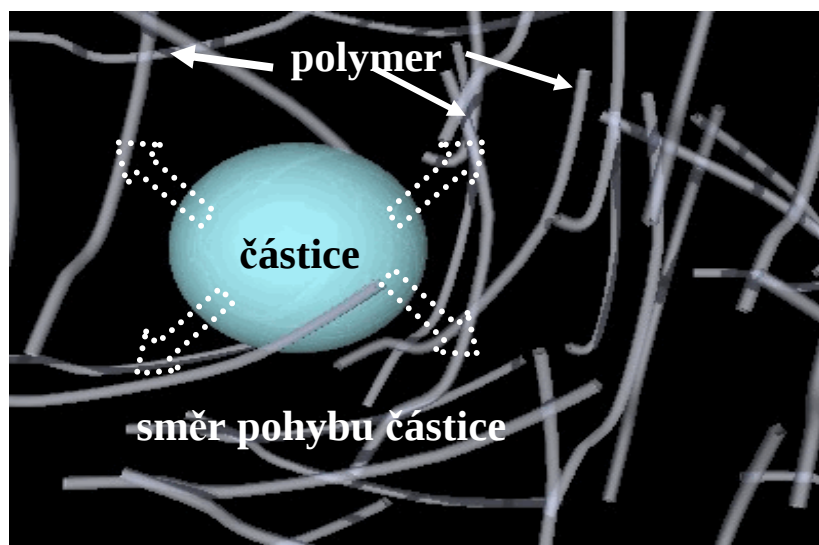
1.7 Mikroreologie

Mikroreologie je metoda, která se zabývá vlastnostmi jednotlivých částí hmoty. Látky, které se touto metodou měří, jsou převážně koloidní suspenze, emulze, polymerní roztoky a gely.

Mikroreologie je metoda, která je schopna měřit viskoelastické vlastnosti materiálů u kterých samotná reologie nebyla vždy vhodná - heterogenní systém. Výhodou této metody je malé množství vzorku používané k měření (10-15 μl). Toto množství je přínosné hlavně u materiálů, které jsou velmi drahé a také u většiny biologických vzorků, které je mnohdy obtížné získat ve větším množství.

Touto metodou jsme schopni měřit viskoelasticitu materiálů při frekvenci nad 10 Hz. Základem této metody je pozorování Brownova pohybu pomocí opticky zachycených rozptýlených částic ve vzorku. Částice mohou mít velikost i v desetinách mikrometrů. Jsou různého složení, většinou jsou to hydrofobní polystyrenové částice. [10]

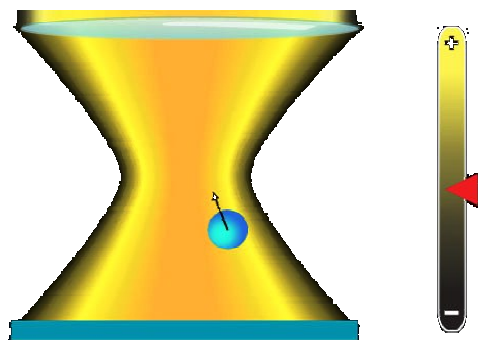
Jak jsem již zmínila, mikroreologie je založena na pozorování Brownova pohybu, při kterém dochází k narušení struktury materiálu drobnými částicemi, které jsou ponořené do roztoku a narušují tak okolní prostředí.



Obrázek 8. Částice v polymerním roztoku [11]

Mikroreologie není samostatná metoda, ale zahrnuje více metod. Podle způsobu pohybu částic rozdělujeme mikroreologii na pasivní a aktivní.

Aktivní mikroreologie vyžaduje aktivní manipulaci s částicemi. Aby došlo k jejich pohybu, musíme dodat určitý druh energie pomocí vnějších sil, jako jsou například magnetické pole, elektrické pole a v dnešní době již oblíbená optická pinzeta. Tento druh metody je analogický s běžným mechanickým reologickým měřením, ve kterém je napětí externě aplikované na vzorek. Výslednou deformaci získáme pomocí smykového modulu. Rozdíl aktivní mikroreologie od samotné reologie spočívá v tom, že u reologie se nepoužívají mikrometrové částice, ale deformuje se kapalina jako celek. Částice tedy deformují materiál díky dodané energii. [10]



Obrázek 9. Ukázka zachycení částice v paprsku optické pinzety. [12]

1.7.1 Pasivní mikoreologie

Pasivní mikoreologie je metoda, při které je pohyb částic založen na Brownově tepelném pohybu. Rozdíl mezi pasivní a aktivní mikoreologií je ve způsobu pohybu částic. Zatímco u aktivní mikoreologie se částice pohybovaly vlivem vnějších sil, pasivní mikoreologie využívá k získání reologických vlastností pouze tepelnou energii použitého koloidu, která je dána $k_B \cdot T$. Výhodou této metody je také pozorování až tisíce částic a ne jenom jedné samotné částice. Pohyb částic v roztoku závisí na tuhosti místního mikroprostředí. Poměr mezi tepelnou energetickou hustotou částice o určitém poloměru k elastické energii potřebné k deformaci materiálu a elastickému modulu G' udává rovnice:

$$\frac{k_B \cdot T}{a^3} = \frac{G' \cdot L^2}{a^2} \quad (6)$$

kde k_B označujeme jako Boltzmannovu konstantu, která má hodnotu $1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$, T označujeme termodynamickou teplotu, a značí poloměr částic a L je označení pro délku posunu. Pro většinu materiálů by se teplota T neměla nějak výrazně lišit. Díky této metodě jsme schopni změřit horní limit modulu pružnosti, který závisí na velikosti vložené částice do roztoku a na schopnosti vyřešit posun částic o řád L . Závisí tedy na konkrétním použitém systému, jeho rozmezí se pohybuje od 1 Å do 10 nm, což nám umožňuje měření s mikrometrovými částicemi s elastickým modulem až po 10 až 500 Pa. Tento rozsah je sice menší než se nachází u aktivní mikoreologie, ale k získání vhodného výsledku je dostačující.

Dynamika pohybující částice je popsána v čase pomocí korelační funkce střední hodnoty čtverce posunu (MSD) nebo také označována jako $\langle \Delta x^2(\tau) \rangle$.

$$\langle \Delta x^2(\tau) \rangle = \langle [x(t + \tau) - x(t)]^2 \rangle \quad (7)$$

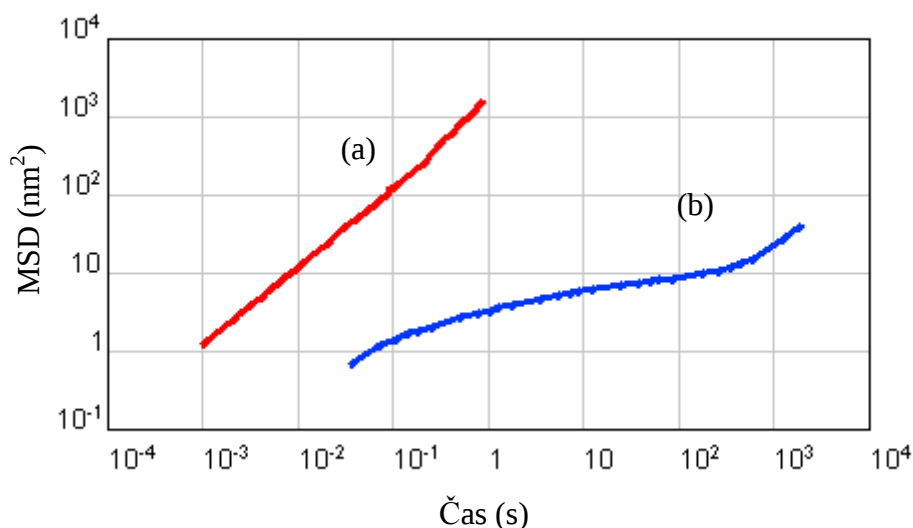
Z čehož pro difúzní koeficient částice plyne:

$$\langle \Delta x^2(\tau) \rangle = 2dD\tau \quad (8)$$

D označujeme difúzní koeficient, d vyjadřujeme dimenzi. Po získání difúzního koeficientu jej dosadíme do Stokes-Einsteinova vztahu. Získáme tak hodnotu viskozity pro zkoumanou látku.

$$D = \frac{k_B \cdot T}{6\pi \cdot \eta \cdot a} \quad (9)$$

Pokud jsou pozorované částice volně rozptýlené ve vzorku, můžeme říci, že se jedná o čistě viskózní systém. Jestliže se částice pohybují sub-difúzním pohybem, znamená to, že systém vykazuje viskoelastické vlastnosti. [10]



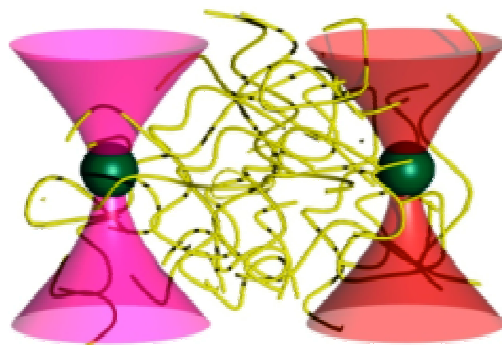
Obrázek 10. Ukázka příkladu MSD (a-viskózní, b-viskoelastické kapaliny). [11]

Mikroreologii dále rozdělujeme na jednočásticovou a dvoučásticovou metodu. Technika pasivní mikroreologie zmíněná v odstavci 2.7.1. zahrnuje celou teorii patřící k jednočásticové mikroreologii.

Jak jsem již zmínila, tato metoda se zabývá studiem reologických vlastností u extrémně malých objemů vzorků při frekvenci, kterou není možné získat u vzorků větších objemů. U jednočásticové mikroreologie se pozoruje tepelný Brownův pohyb u všech částic zároveň, jak se pohybují v ose x a y v závislosti na čase. Tato metoda je velmi citlivá na druhu použitého polymeru.

Nově využívaná metoda se nazývá dvoučásticová mikroreologie, která zaznamenává křížový korelační pohyb částice ve vzorku jako pár. Nepozorujeme tedy velikost individuální částice a , jako se pozoruje u jednočásticové, ale vzájemnou vzdálenost pozorované dvojice částic, r , která se pohybuje v rozmezí 10 – 100 mikronů. Pohyb částic není ovlivněn velikostí, nebo jejich tvarem. Také je nezávislá na konkrétním spojení mezi částicí a systémem. Částice musí být od sebe vzdáleny na větší vzdálenost, než je jejich poloměr, aby nedocházelo k jejich vzájemnému překrývání.

Pokud daná částice svým pohybem ovlivňuje pouze své nejbližší okolí v heterogenním materiálu, pak tato metoda nám určuje pouze strukturu a vlastnosti nejbližšího okolí částice namísto reologických vlastností celého materiálu. [10]



Obrázek 11. Ukázka doučástečkové mikrereologie. [13]

Každá metoda má své výhody i nevýhody. Nevýhoda u mikrereologie nastává při měření netransparentních nebo částečně transparentních materiálů. Velkou nevýhodou je délka zpracování naměřených dat. Samotné nahrávání záznamů není tak časově náročné jak jeho vyhodnocení, které může trvat až několik hodin. Běžně se při měření nahrávají videa délky 10 minut. Jeho kvalitní zpracování může zabrat až několik desítek hodin.

Další nevýhodou mikrereologické metody se nachází u velmi tuhých nebo viskózních materiálů, kde může být náročné pozorování velmi malých pohybů částic. [10]

2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Velká řada srdečních a cévních chorob má ve skutečnosti reologické příčiny. Bylo zjištěno, že mnoho reologických měření nám umožňuje stanovit vliv různých léčiv na tokové chování krve. [14, 15, 16] Jednočásticová pasivní mikoreologie našla velké uplatnění hlavně v oblasti buněčné biologie. Mechanické vlastnosti jsou základním znakem buněk a tkání živých organismů. Kvantitativní odhad těchto vlastností buněk závisí na buněčné stavbě, způsobu měření a použitém teoretickém modelu.

Efektivita přenosu signálu u stárnoucích buněk klesá, společně se schopností regenerace. Současně s těmito procesy dochází ke zvýšení tuhosti buňky a snížení reverzibility velkých deformací. [17]

Jhanvi H. Dangaria a Peter J. Butler použili částicovou mikoreologii ke studiu adaptivních změn vnitrobuněčné mechaniky v reakci na postupnou změnu smykového napětí kapalin, která simuluje rychlé a stabilní časové funkce hemodynamických sil. Pomocí této metody zjistili, že ECS (cévní endoteliální buňky) jsou významně kompatibilní již 30 sekund po skokové změně smykového napětí od 0 do 1 N/m². Následná obnova viskoelastických vlastností se projevila během 4 minut, i když bylo zachováno smykové napětí. Po vrácení smykového napětí na 0 N/m², nedošlo k žádným reologickým adaptacím. Pohyb váčků byl použit ke stanovení časové závislosti deformace buněk a makroreologických vlastností. Došli tedy k závěru, že ECS rychle přizpůsobuje své mechanické vlastnosti v závislosti na smykovém napětí. Tato studie je velmi přínosná pro patologické stavy, jako je například ateroskleróza. [18]

Mikoreologická metoda byla dále využita k měření aktinových vláken. Aktinová vlákna (F-aktin) jsou jedním z dominantních strukturálních složek cytoskeletu. F – aktin, který je sestaven do vyšších řádů struktur, jako jsou svazky a sítě. Ty poskytují mechanickou podporu pro buňky a hrají důležitou roli v mnoha buněčných procesech. I když mechanické vlastnosti F-aktinových sítí byly již rozsáhle studovány, její základní mechanické vlastnosti pro pružnost nejsou zcela známy. Rozhodl se tedy **Hyungsuk Lee** a jeho kolektiv, využít pasivní a aktivní mikoreologii k získání mechanických vlastností F-aktinových sítí. K měření byla použita optická pinzeta. Pasivní metodou byl pozorován pohyb tepelně kolísající koloidní oblasti, která sloužila k odhadu frekvenční závislosti na smykovém modulu. U aktivní metody byla použita optická past, která sloužila k oscilaci vložené mikrosféry. Díky těmto metodám bylo zjištěno, že aktivní i pasivní měření vykazuje podobné výsledky při nízkém napětí. F-aktinové sítě jsou spojovány s vysokým napětím, kde však vykazovaly nelineární chování, které je analogické s deformací při tvrdnutí pozorované hlavně u makroskopických měření. [19]

Pasivní mikoreologii se také podařilo využít při zkoumání odlišných fyzikálních vlastností kmenových buněk HIPS (lidské indukované pluripotentní kmenové buňky) a HES (lidské embryonální kmenové buňky). Embryonální i dospělé fybroplasty mohou být vráceny do pluripotence pomocí přeprogramování genů. Je důkazem, že tyto HIPS a HES buňky jsou si podobné v chování, karyotypicky i morfologicky. **Brian R. Daniels a Christopher M. Hale** společně se svým kolektivem se snažili zjistit fyzikální vlastnosti HIPS buněk, včetně jejich mikromechanických vlastností odlišných od buněk HES. Pro tento účel využili částicovou mikoreologii k porovnání viskoelastických vlastností cytoplazmy buněk HES, HIPS a nevyléčitelné diferencované rodičovské lidské fibroblasty, z nichž byly odvozeny

buňky HIPS. Bylo dokázáno, že i když cytoplasma rodičovských fibroblastů je viskózní i elastická, tak cytoplasma buněk HIPS nevykazuje žádnou pružnost a je čistě viskózní. Viskózní fenotyp rodičovských buněk se tedy opakuje u buněk HIPS. Cytoplasma buněk HES je převážně viskózní, ale obsahuje subcelulární oblasti, které jsou také pružné. Bylo tedy dokázáno, že intracelulární elasticita koreluje s mírou buněčné diferenciaci a odhaluje významné rozdíly v mechanických vlastnostech buněk HIPS a HES. [20]

Mikroreologii také použili **G. D. Jay a J. R. Toores** společně se svým kolektivem ke zkoumání lubricinu v synoviální tekutině. Synoviální tekutina kyselina hyaluronová (HA) je polymer, který se společně s lubricinem nachází na povrchu kloubů a chrupavek, kde napomáhají ke zlepšení kvality pohybu kloubů při zátěži a ke snížení bolestivosti pohybu. Jedinci, kteří mají nedostatek lubricinu ve vývoji, dochází k předčasnému selhání pohyblivosti kloubů. Úloha lubricinu v synoviální tekutině není reologicky známa. Byla tedy použita metoda vícečásticové mikroreologie ke studiu molekulární interakce mezi lubricinem a HA v synoviální tekutině. Částice, které byly použity během experimentu, měly rozměr 200 nm. Časová závislost průměrných MSD byla měřena v rozsahu fyziologicky příslušných frekvencích. U běžných roztoků HA a lidských synoviálních tekutin, které geneticky postrádaly lubricin, se hodnota MSD korelace s časovou prodlevou blížila k jedné. Hodnoty MSD vycházely menší než jedna ($\alpha \sim 0,6$) pro normální synoviální tekutiny. Tyto údaje souvisí s mnohými reologickými studiemi podobných vzorků. Měřením bylo zjištěno, že kapalina, která postrádala lubricin, nevykazovala žádné subdifúzní ani pružné chování, které je běžné u synoviálních tekutin. Výsledkem měření bylo prokázáno, že lubricin nacházející se v synoviální tekutině napomáhá odvádět deformační energii, která je vyvolána při pohybu savců. Lubricin má tedy chondroprotektivní charakter, který nijak nesouvisí s promazáváním kloubů. [21]

3. MATERIÁLY A METODY

3.1 Materiály

Polystyren sulfonát sodný

$M_w = 1\,000\,000\text{ g/mol}$;

$[-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na})-]_n$

Sigma – Aldrich, CAS: 25704-18-1

šarže: 434574-100G

Karboxymethylcelulóza

$M_w = 90,00\text{ g/mol}$;

$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{Na}_8\text{O}_{27}$

Sigma – Aldrich, CAS: 9004-32-4,

šarže: 419273-100G

Rozpouštědlo

Mili – Q voda (Milipore Academic)

Ostatní

Polystyrenová částice: $1,0\text{ }\mu\text{m}$;

Sigma – Aldrich, šarže: 1472428;

Polystyrenová částice: $4,0\text{ }\mu\text{m}$;

Sigma – Aldrich, šarže: 1461681;

Silikonový olej (100%); Certified viscosity
reference standard; CAS:63148-62-9;
šarže: 19101

3.2 Vybavení

Nikon Eclipse E200

Optický systém: CFI60; parfokální vzdálenost: 60 mm;
zvětšení: 40-1500X pro pozorování, 8-500X pro 35 mm
mikrofotografie;

Okulárový tubus: E2-TB binokulární tubus, E2-TF
Trinokulární tubus sientopf typ (sklon: 30 °, osová
vzdálenost: 47-75 mm, rotace: 360 °); C-TE
ergonomický binokulární tubus (sklon: 10-30 °,
rozšíření: 40 mm);

Osvětlovací systém: 6V-20W halogenová žárovka, 6V-
30W halogenová žárovka

Canon EOS 550D

záznamové zařízení k mikroskopu Nikon Eclipse E200

Typ fotoaparátu: digitální zrcadlovka (DSLR);

Min. citlivost (ISO): 100; Max. citlivost (ISO): 6400;

Max. rozlišení videa (pix): 1920x1080; Max. frekvence
snímkování (sn./s): 30; Max. délka vide (min): 30;

Formát záznamu videa: MOV

Reometr AR G2

Min. moment oscilace CR/CS: 0,003 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$; Min.
moment ustálení CR: 0,01 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$; rozsah točivého
momentu ustáleného smyku CS: 0,01 $\mu\text{N}\cdot\text{m}$; moment
rozlišení: 0,1 nN·m; motor setrvačnosti: 18 $\mu\text{N}\cdot\text{m}\cdot\text{s}$;
rozsah úhlové rychlosti CS: 0 -300 rad/s; rozsah úhlové
rychlosti CR: $1,4\cdot 10^{-9}$ – 300 rad/s; frekvenční rozsah:
 $7,5\cdot 10^{-7}$ – 628 rad/s; posun rozlišení: 25 nrad; skoková
změna rychlosti: 7 ms; skoková změna v napětí: 30 ms;



Obrázek 12. Nikon eclipse E200, Canon EOS 550D, Reometr AR G2

Programy

EOS Utility

program na nahrávání videí při propojení fotoaparátu a mikroskopu

Mp4Cam2AVI.exe

umožňuje převádět videa z formátu MOV do formátu AVI

VirtualDub-1.9.11.

umožňuje použít různé filtry, jako jsou například ořezání, zvětšení, odstranění rušivých vlivů

ImageJ

aplikace pro úpravu bitmapové grafiky; program je vytvořen v jazyce Java

MS Office Excel 2007

3.3 Příprava vzorků

Byl připraven 1% hm zásobní roztok polystyrenu sulfonátu sodného, který byl ponechán jeden den na magnetické míchačce při laboratorní teplotě. Dále byl namíchán 2% hm zásobní roztok polystyrenu sulfonátu sodného, který byl také ponechán jeden den na magnetické míchačce při laboratorní teplotě. Obdobně byly připraveny 1% hm a 2% hm zásobní roztoky pro karboxymethylcelulózu. Kvůli její menší rozpustnosti ve vodě byl vzorek po celou dobu rozpouštění lehce zahříván. Poté byly všechny zásobní roztoky použity k měření nebo byly uchovávány při laboratorní teplotě do doby měření.

Vzorky na mikoreologii byly připravovány do vialek o objemu 5 ml. Vzorky na měření reologie byly připravovány do vialek o objemu 20 ml. Pro polystyren sulfonát sodný a karboxymethylcelulózu byly vybrány k měření stejné hodnoty hmotnostních procent. Byla vybrána řada o hmotnostních procentech 0,01%; 0,1%; 1% a 2%. Do vialek bylo vždy napipetováno takové množství zásobního roztoku a mili-Q vody aby celkový objem činil pro mikoreologii 5 ml a pro reologii 20 ml. Pro měření na mikroskopickém přístroji bylo do všech vzorků přidáno po 10 μ l polystyrenových částic. Jedna řada obsahovala částice o rozměru 1 μ m a druhá o rozměru 4 μ m.

Celkem byly naměřeny tři řady s polystyrenem sulfonátem sodným a tři řady s karboxymethylcelulózou. První řada obsahovala 1 μ m částice, druhá obsahovala částice 4 μ m. Měření těchto dvou řad bylo vždy zopakováno třikrát. Třetí řada byla použita pro měření na reometru.

4. MĚŘENÍ A VYHODNOCENÍ DAT

Připravené vzorky byly nejprve měřeny na mikroskopu značky Nikon Eclipse E200 a poté na reometru AR G2. Více částicové pozorování (Multiple particle tracking - MPT) je metoda, která umožňuje současně pozorovat několik částic o rozměrech mikrometrů pomocí videomikroskopie. Během mé práce jsem natáčela videa pohybujících se částic na úrovni mikro-sféry v závislosti na Brownově pohybu. Dále byly zpracovávány pomocí čtyř softwarů Mp4Cam2AVI.exe, VirtualDub-1.9.11, ImageJ a MS Office Excel 2007.

4.1 Měření na Nikonu Eclipse E200

Měření viskozity bylo prováděno na mikroskopu značky Nikon Eclipse E200. Na tento přístroj byl nasazen fotoaparát značky Canon EOS 550D, díky kterému byla pořízena videa.

Na laboratorní sklíčko byl nanesen vzorek o objemu 13 μl . Okolo malého sklíčka byla nanесena tenká vrstva silikonového oleje, aby nedocházelo k vysychání vzorku. Poté bylo sklíčko umístěno na stojan mikroskopu. Zvětšení bylo nastaveno na 40x. Po ustálení částic byl vypnut mikroskop a zapnut program EOS Utility na nahrávání videí. Videa byla nahrávána v délce 5 s. U každého vzorku byla nahrána tři videa pokaždé na jiném místě na sklíčku. Takto získaná videa byla použita k vyhodnocení.

4.1.1 Vyhodnocení

Natáčená videa byla získána ve formátu MOV. Pomocí programu Mp4Cam2AVI.exe byla převedena do formátu AVI tak, že v kolonce *source files* byla označena ta videa, která měla být převedena. Po označení videí byla nastavena akce na *Batch convert (Many→Many AVI)* a dán příkaz *Start*.

V programu VirtualDub-1.9.11 byl získán jen určitý pozorovaný úsek daného videa. Na základní liště byl vybrán příkaz *Video*, dále *Filtres*, přidán příkaz *null transform*. Dále následoval krok *cropping*, který umožňuje zmenšit video na požadovanou velikost a vybrat tak pouze určitý okruh pozorovaných částic.

Získané zmenšené video bylo upraveno v programu ImageJ. Po otevření videa byl nastaven první snímek (first frame) na hodnotu 1 a poslední (last frame) na hodnotu 200. Na základní liště byl vybrán příkaz *Plugins → Particle detektor & Tracker → Particle Tracker*. Po nalezení trajektorií částic byl dán příkaz *visualize all trajectories*, kdy došlo k zobrazení trakejtroíí. Dále byl označen úsek, který byl pozorován a dán příkaz *trajectories in area info*.

Takto získaná data byla zpracovávána v programu MS Office Excel 2007. První dva sloupce jsou pro vyhodnocení důležitá, protože odpovídají poloze na ose x a y . Třetí sloupec udává dobu a čtvrtý sloupec je identifikační číslo trajektorie. Byla vybrána trajektorie sedmnácti částic k výpočtu MSD. Poté byly hodnoty zprůměrovány a vypočítán difúzní koeficient a na závěr hodnota viskozity.

4.2 Měření na Reometru AR G2

Měření viskozity bylo také prováděno na reometru AR G2, od firmy TA Instruments. Před začátkem každého měření bylo nejprve nastaveno pětiminutové ustálení vzorku a temperance na 25 °C. Reometr AR G2 je druh rotačního viskozimetru, který tvoří dvě měřící soustavy. Pro měření viskóznějších vzorků o hmotnostních procentech 1% a 2% byl

použit systém kužel-deska s kuželem C60mm/1° (průměr kužel/úhel zkosení). Pro slabě viskózní vzorky byla použita soustava vále-válec.

Během měření viskozity byly použity dva testy. Na začátku byl použit test kontinuální rampy, díky kterému byl zjištěn přibližný rozsah vhodného tečného napětí pro následující měření. Po nalezení vhodného tečného napětí byly vzorky proměřeny metodou ustáleného stavu. Tato metoda slouží k měření tokových vlastností. Body, které dosáhly rovnováhy před dosažením maximálního času, byly použity k vyhodnocování.

Během celého měření byla nastavena teplota na 25 °C.

4.2.1 Vyhodnocení

Naměřené hodnoty byly zpravovány v programu TA Data Analysis. Viskózní křivka, která byla získána měřením, byla proložena vhodným reologickým modelem. Odchylka, neboli *standart error*, nesměla překročit hodnotu 20.

$$\frac{\left[\frac{(x_m - x_c)^2}{n - 2} \right]^{\frac{1}{2}}}{rozsah} \cdot 1000 \quad (10)$$

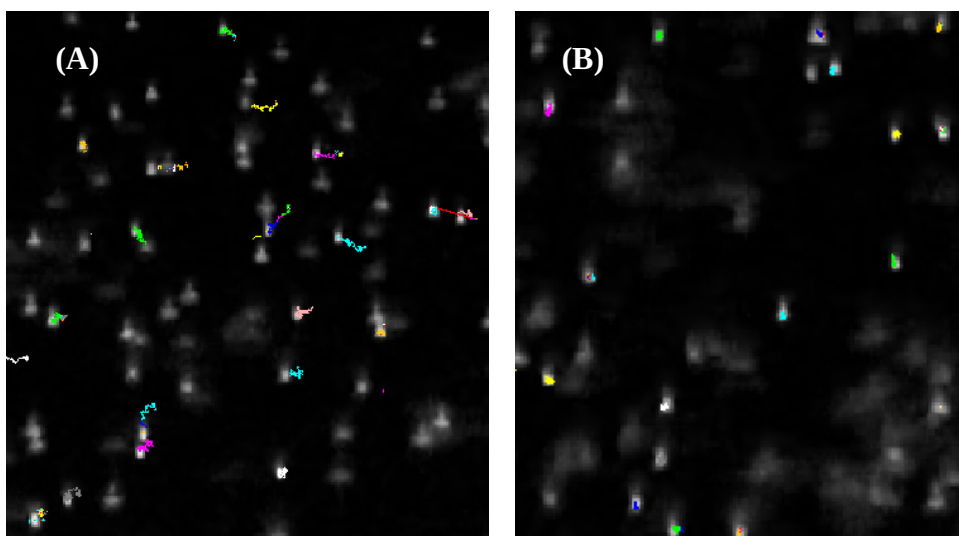
V rovnici značíme symbolem x_m naměřené hodnoty, x_c jsou vypočítané hodnoty, n značí počet dat v křivce a rozdílem mezi maximální a minimální hodnotou naměřených dat značíme symbolem *rozsah*.

Lineární závislosti MSD na čase byly prokládány v programu MS Excel, pomocí funkce lineární regrese s počátkem závislosti umístěním do bodu 0,0.

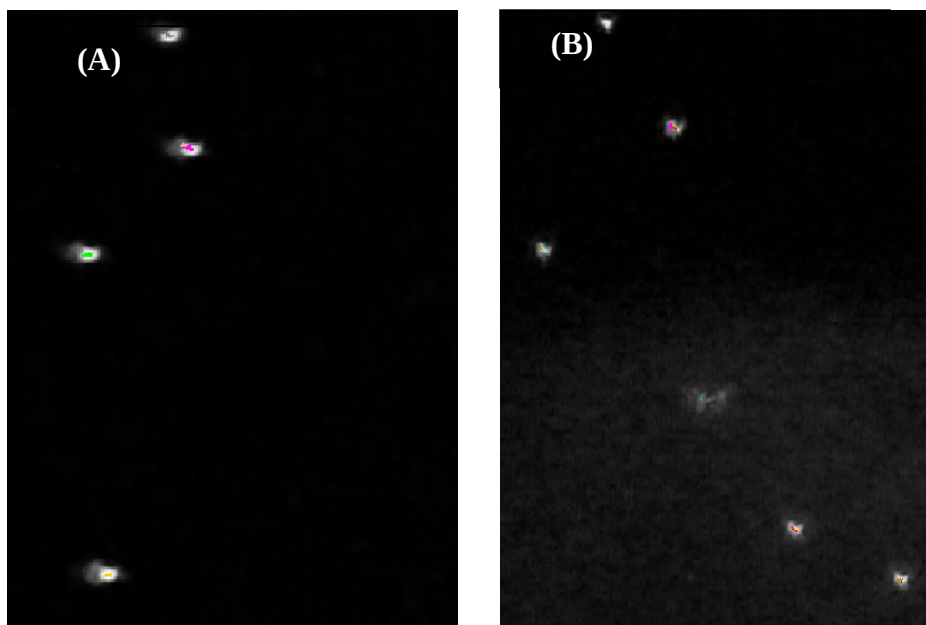
5. VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentální části bakalářské práce bylo navrhnout modelové měření vedoucí k charakterizaci systému polymerního koloidu. Metody používané při měření byly klasická reologie a pasivní mikroreologie. Získané hodnoty výsledků z těchto dvou metod byly na závěr porovnávány. Dále byl sledován vliv polymerní povahy koloidu. Již zmíněnými polymery byly polystyren sulfonát sodný a karboxymethylcelulóza. Pro oba polymery byla vybrána řada o hmotnostních procentech 0,01%; 0,1%; 1% a 2%. Částice používané při měření pasivní mikroreologie měly rozměr 1 μm a 4 μm .

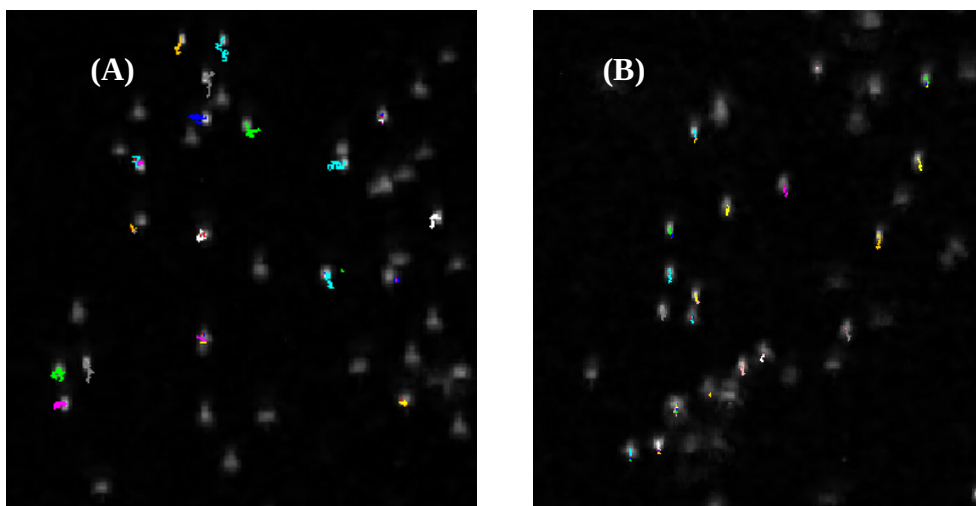
5.1 Videozáznamy



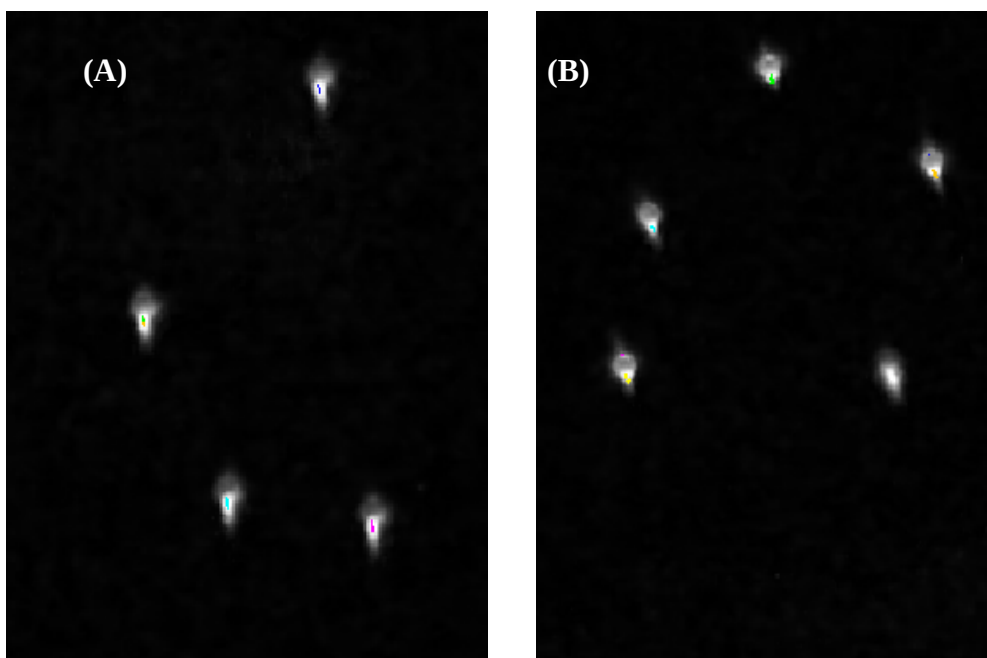
Obrázek 13. Pohyb 1 μm částic v PSS (A-0,01% roztok a B-2% roztok)



Obrázek 14. Pohyb 4 μm částic v PSS (A-0,01% roztok a B-2% roztok)



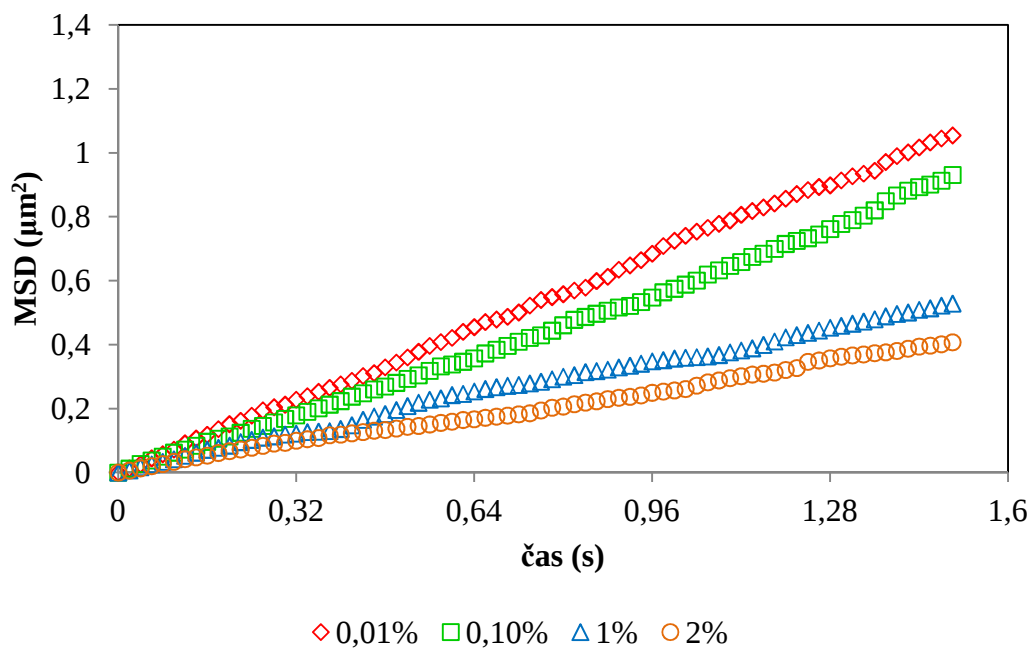
Obrázek 15. Pohyb 1 μm částic v CMC (A-0,01% roztok a B-2% roztok)



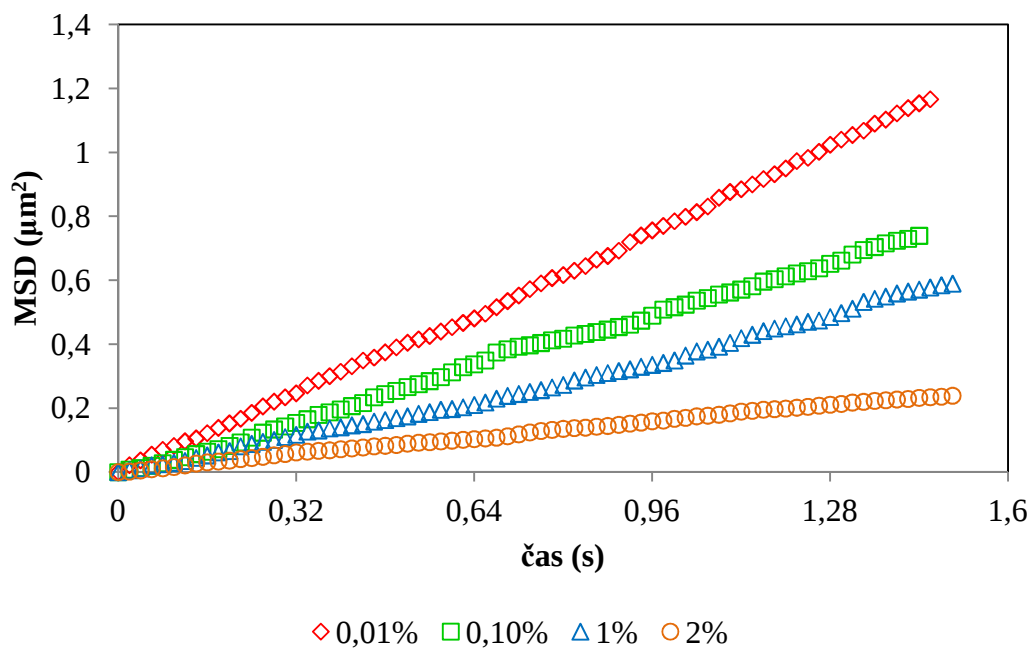
Obrázek 16. Pohyb 4 μm částic v CMC (A-0,01% roztok a B-2% roztok)

Na obrázcích 13. -16. je zobrazen pohyb částic v roztocích polystyren sulfonátu sodného a karboxymethylcelulózy. Pohyb částic bylo možné zřetelněji vidět u vzorků s hmotnostními procenty 0,01% a 2% roztoku PSS a CMC. Na obrázcích 13. a 15. je velmi dobře vidět, že v 0,01% roztoku obou polymerů je pohyb částic lépe rozpoznatelný. Důvodem je málo zesíťovaná polymerní síť tohoto roztoku, která nebrání částici v pohybu. Částice je schopna narušit okolní prostředí. Naopak tomu je u 2% roztoku PSS i CMC, kdy částice vykonávají méně zřetelný pohyb. Dalo by se říci, že spíše rotují kolem své osy. Polymerní síť je natolik zesíťovaná, že částice není schopna narušit prostředí a volně se pohybovat v roztoku. Dále je možné vidět, že na pohyb částice má také vliv její poloměr. U 0,01% roztoků s částicemi o rozměru 1 μm byl pohyb velmi dobře vidět, ale u 0,01% roztoku s částicemi o rozměru 4 μm je pohyb jen málo znatelný. V tomto případě je z hlediska kvalitnějších dat pro měření pasivní mikroeologie lepší využít částice o menším rozměru než jsou 4 μm .

5.2 MSD



Obrázek 17. Zobrazení MSD polystyren sulfonátu sodného v závislosti na čase ($1 \mu\text{m}$)



Obrázek 18. Zobrazení MSD karboxymethylcelulózy v závislosti na čase ($1 \mu\text{m}$)

Tabulka 1. Obsahuje rovnice pro jednotlivé přímky PSS a jejich hodnoty spolehlivosti

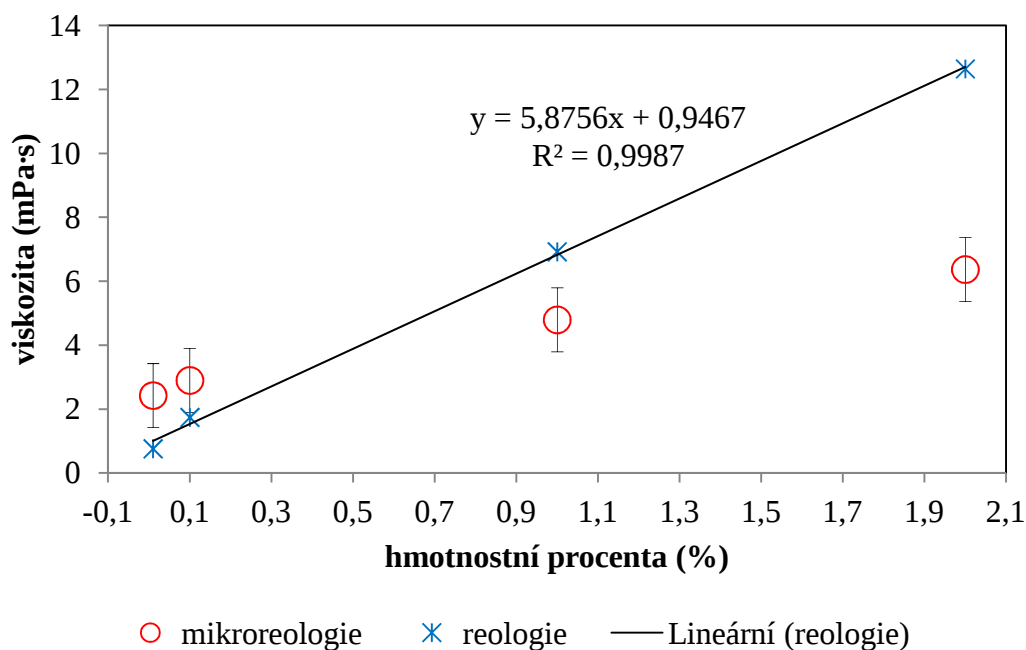
0,01%	0,1%	1%	2%
$y = 0,71x$	$y = 0,59x$	$y = 0,36x$	$y = 0,27x$
$R^2 = 1,00$	$R^2 = 1,00$	$R^2 = 0,99$	$R^2 = 0,99$

Tabulka 2. Obsahuje rovnice pro jednotlivé přímky CMC a jejich hodnoty spolehlivosti

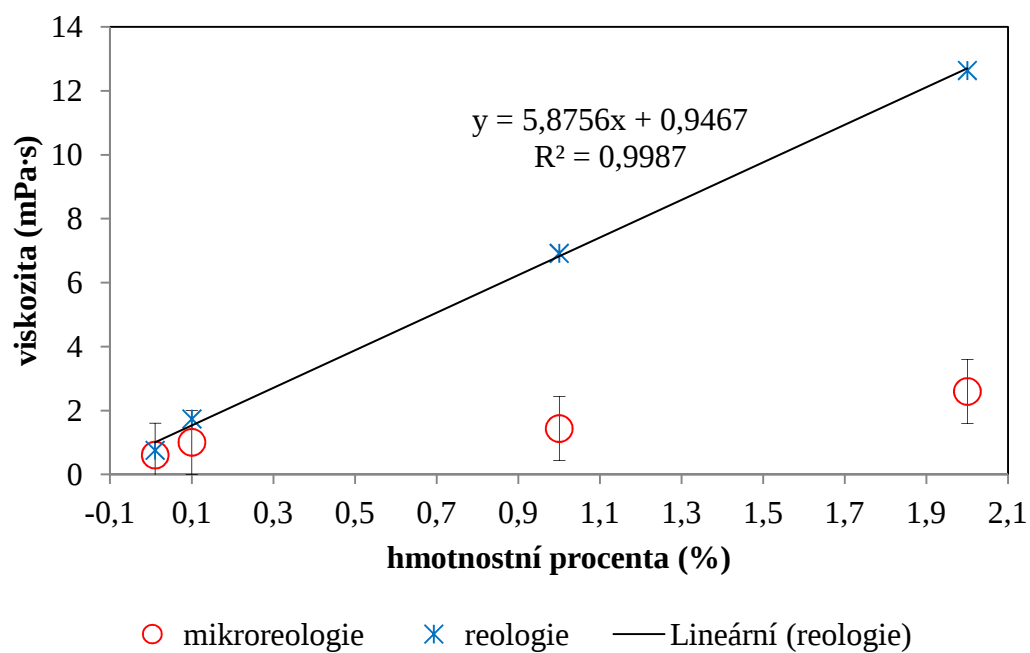
0,01%	0,1%	1%	2%
$y = 0,79x$	$y = 0,51x$	$y = 0,37x$	$y = 0,17x$
$R^2 = 1,00$	$R^2 = 1,00$	$R^2 = 0,99$	$R^2 = 1,00$

Na obrázcích 17. a 18. je možné vidět zobrazení hodnot MSD 1 μm částic u vzorků PSS a CMC v závislosti na čase. Z tabulek 1. a 2. můžeme vyčíst lineární závislost MSD na čase u těchto polymerů. Lineární povaha těchto závislostí dovoluje určit hodnoty viskozit pro jednotlivé roztoky, to znamená, že u obou polymerů je metoda mikrореologie použitelná pro stanovení viskozity jejich roztoků. Při použití částic v rozmezí od jednoho do čtyř mikrometrů nemá polymerní povaha molekul zkreslující vliv na měření. S rostoucí koncentrací obou polymerů dochází ke zvyšování viskozity, což se na křivkách projeví snížením jejich gradientu. PSS a CMC jsou látky čistě viskózního charakteru.

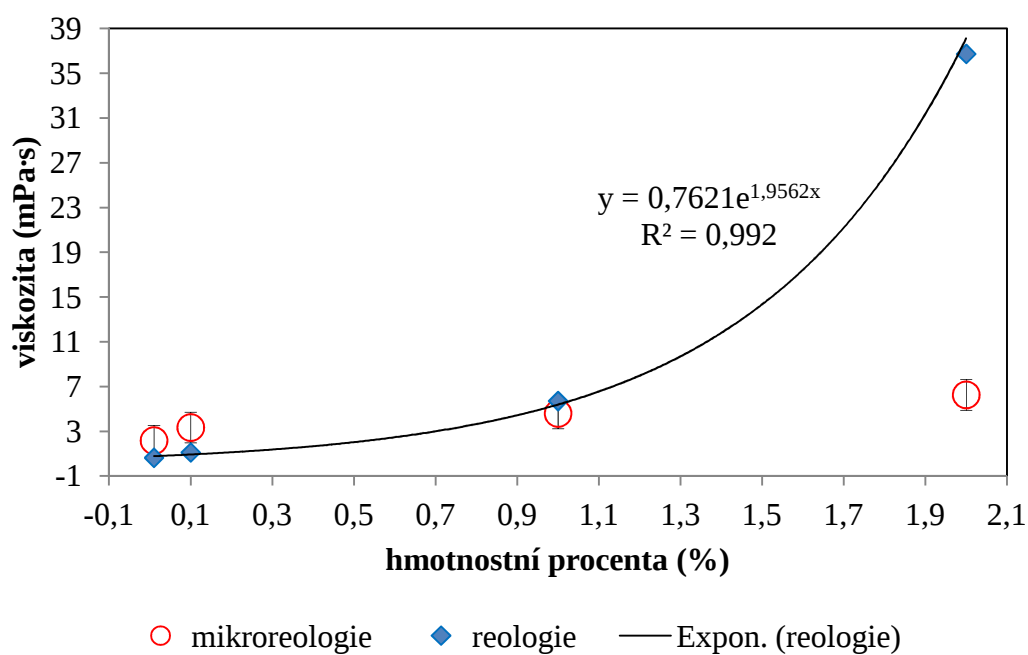
5.3 Viskozity



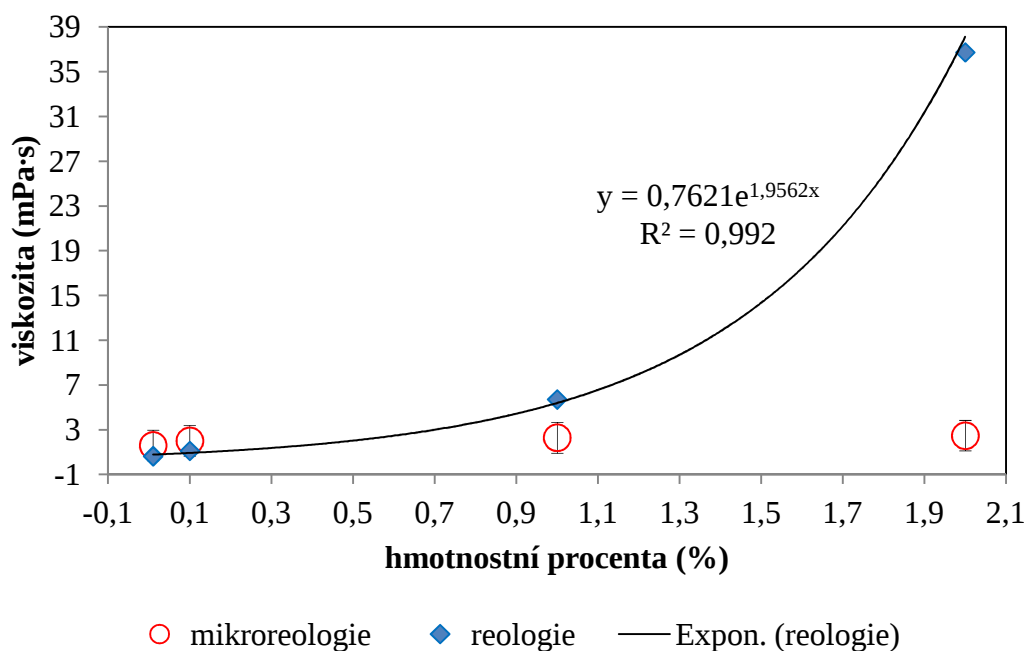
Obrázek 19. Zobrazení hodnot viskozit PSS (1 μm částice) v závislosti na hmotnostních procentech polymeru



Obrázek 20. Zobrazení hodnot viskozit PSS (4 μm částice) v závislosti na hmotnostních procentech polymeru

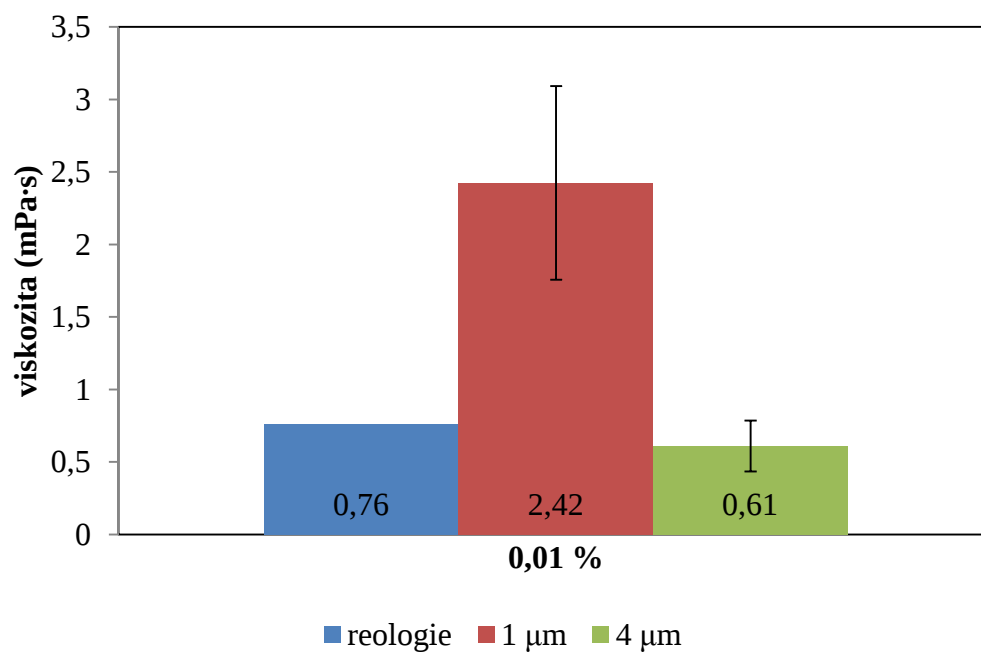


Obrázek 21. Zobrazení hodnot viskozit CMC (1 μm částice) v závislosti na hmotnostních procentech polymeru

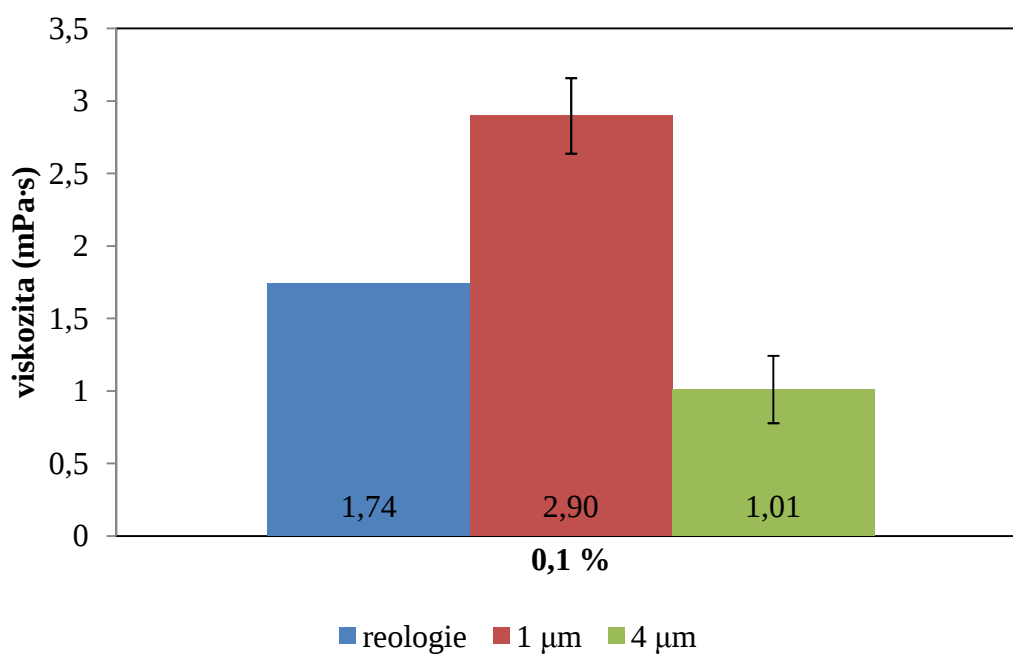


Obrázek 22. Zobrazení hodnot viskozit CMC (4 μm částice) v závislosti na hmotnostních procentech polymeru

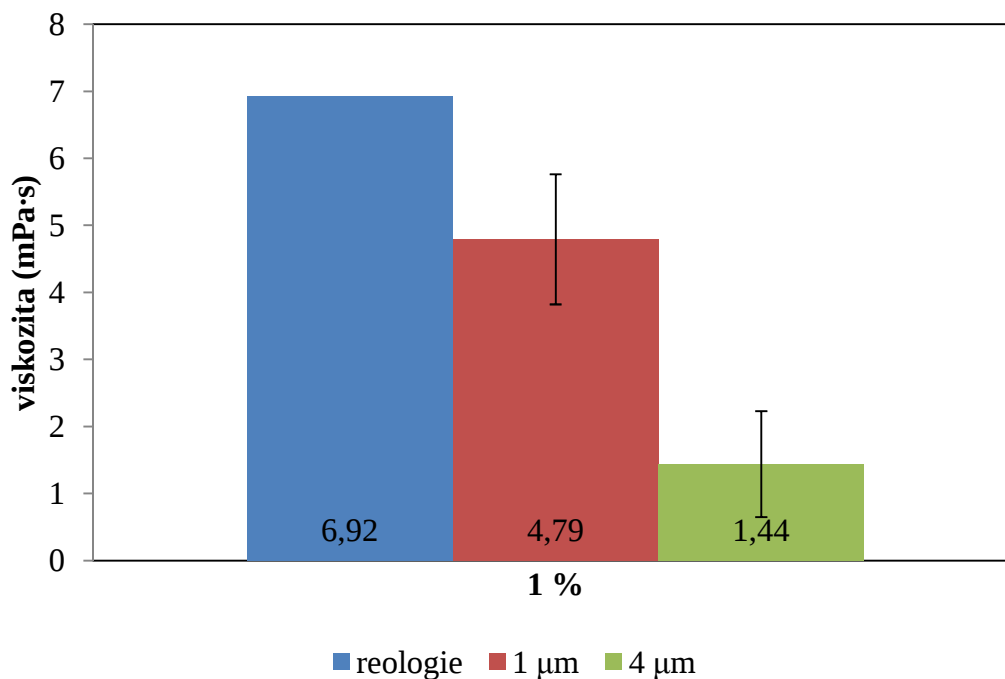
Na obrázcích 19. až 22. je zobrazena závislost viskozity roztoků na hmotnostních procentech obou použitých polymerů. V grafu 20. je možné vidět, že naměřené hodnoty viskozit roztoku PSS metodou mikroreologie (1 μm částice) jsou shodné s metodou reologie do 1% roztoku. U 2% roztoku PSS dochází ke značným odchylkám. U viskozit naměřených metodou mikroreologie (4 μm částice) se u méně koncentrovaných roztoků PSS viskozity shodují s viskozitami naměřených reologií, ale již od 1% roztoku PSS se hodnoty viskozit liší. Obdobně tomu tak je i u roztoku CMC. U 1 μm mikroreologie je možné vidět shodu hodnot viskozit do 1% roztoku CMC. U 2% roztoku CMC již došlo ke vzniku rozdílů hodnot. U 4 μm mikroreologie jsou hodnoty viskozit při porovnání s klasickou reologií shodné jen u roztoků CMC s nižší koncentrací. U vyšších koncentrací dochází k odchylkám hodnot viskozit. Z grafů je také možné vidět, že u roztoku PSS mají hodnoty viskozit naměřené klasickou reologií lineární charakter, ale u roztoku CMC mají hodnoty viskozit charakter exponenciální. Z grafů je tedy možné vidět, že hodnoty viskozit naměřené s částicemi o menších rozměrech jsou shodné s hodnotami viskozit klasické reologie do vyšších koncentrací, než hodnoty viskozit naměřené s částicemi o rozměrech 4 μm . Výběr velikosti částic je tedy pro měření klíčový, jelikož determinuje maximální hranici viskozity, kterou jsme pomocí mikroreologie schopni naměřit.



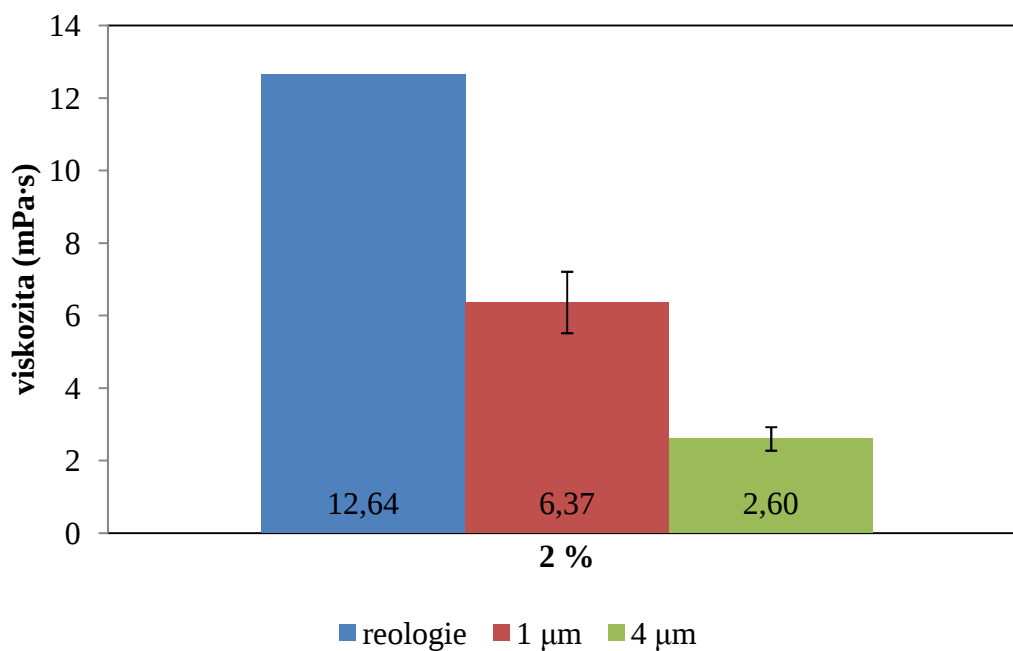
Obrázek 23. Porovnání hodnot viskozit PSS 0,01% roztoku



Obrázek 24. Porovnání hodnot viskozit PSS 0,1% roztoku



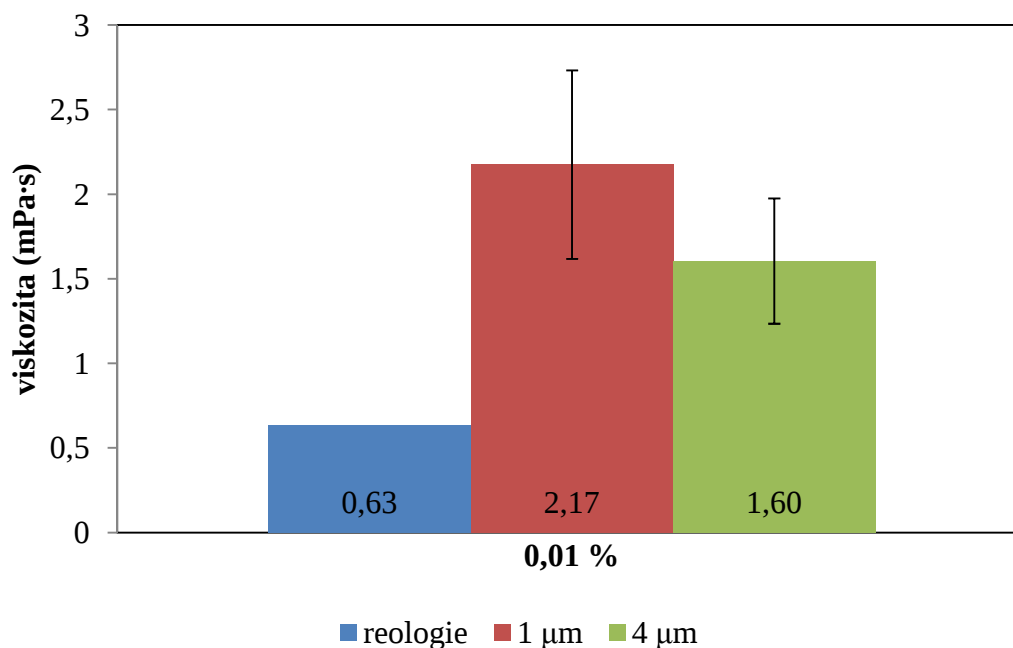
Obrázek 25. Porovnání hodnot viskozit PSS 1% roztoku



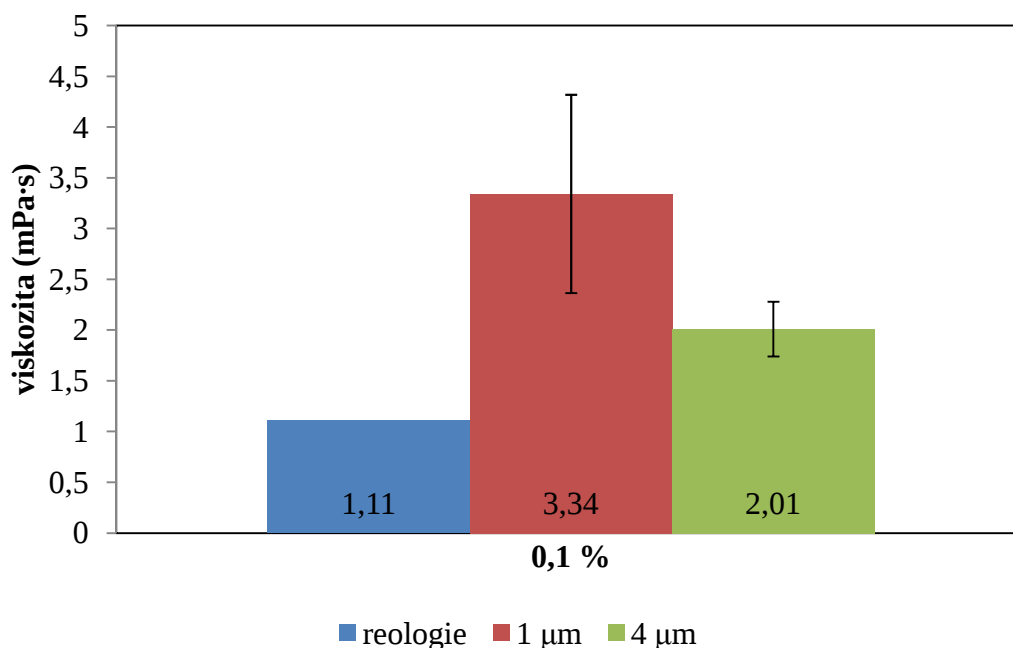
Obrázek 26. Porovnání hodnot viskozit PSS 2% roztoku

V grafech 23. až 26. jsou porovnávány hodnoty viskozit PSS u metod klasické reologie a pasivní mikreologie (1 μm a 4 μm). Po porovnání hodnot viskozit je zřejmé, že hodnoty stoupaly s rostoucí koncentrací roztoku. U klasické reologie byl nárůst nejintenzivnější. U pasivní mikreologie neměl růst viskozity již takovou tendenci jako u reologie. Z grafů je možné vidět, že u vzorků obsahující částice o rozměru 4 μm je hodnota viskozity znatelně nižší než u vzorků obsahující částice o rozměru 1 μm . Při porovnání hodnot viskozit obou metod můžeme říci, že v nejméně koncentrovaném vzorku je hodnota viskozity měřená mikreologií s částicemi o rozměru 4 μm shodná s reologickou metodou více, než

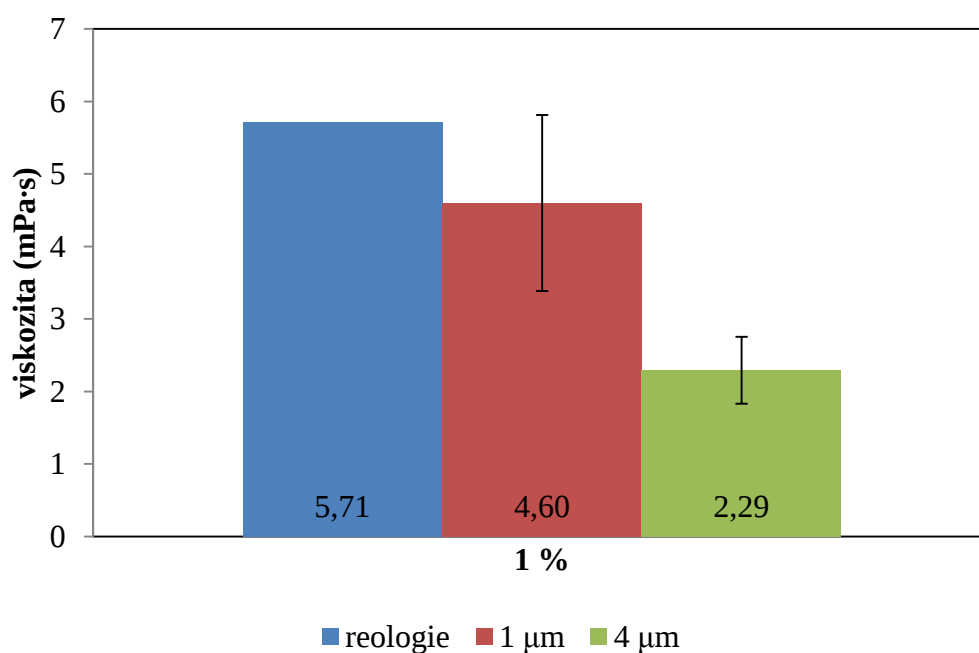
mikroreologie měřená s 1 μm částicemi. U 0,1% roztoku se obě hodnoty viskozit od reologie liší stejně. Hodnota viskozity u 1% roztoku měřená mikroreologií s 1 μm částicemi je shodnější než mikroreologie měřená s 4 μm částicemi. Při porovnání viskozit u roztoků s nejvyšší koncentrací bylo zjištěno, že viskozitám naměřených reologií neodpovídá žádná z mikroreologických měření. To může být způsobeno tím, že při měření koncentrovanějších roztoků se pohybujeme na hranici nebo za hranicí spolehlivě měřitelných hodnot viskozity pomocí metody mikroreologie. Na obrázcích 14.b a 16.b je možné vidět, že částice se v roztoku téměř nepohybovaly. Naměřené hodnoty mohou být nespolehlivé kvůli špatně vyhodnotitelným trajektoriím.



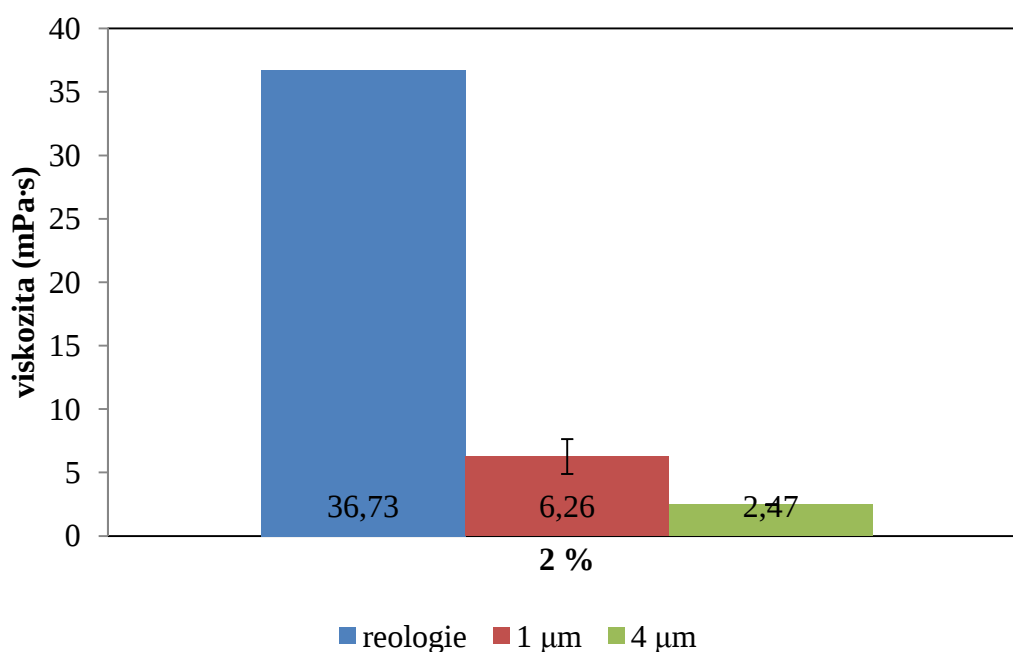
Obrázek 27. Porovnání hodnot viskozit CMC 0,01% roztoku



Obrázek 28. Porovnání hodnot viskozit CMC 0,1% roztoku



Obrázek 29. Porovnání hodnot viskozit CMC 1% roztoku



Obrázek 30. Porovnání hodnot viskozit CMC 2% roztoku

V grafech 27. až 30. jsou porovnávány hodnoty viskozit CMC u metod klasické reologie a pasivní mikrereologie (1 μm a 4 μm). Obdobně jako to bylo u PSS tak i zde hodnoty viskozit stoupaly s rostoucí koncentrací roztoku CMC. U klasické reologie byl nárůst nejintenzivnější. U pasivní mikrereologie byl růst viskozity mnohem nižší než byl u klasické reologie. Důvodem byly srážky částic s velkým počtem molekul polymeru. Z grafů je možné vidět, že volba velikosti částic má značný vliv na výsledné hodnoty viskozity. Pokud chceme měřit makroskopickou viskozitu systému, je nutné vybrat takovou velikost částic, aby bylo

možné získat spolehlivá data, co se týče kvality trajektorií a zároveň aby částice byly větší než oka v polymerní síti. Při porovnání viskozit u roztoků s nejvyšší koncentrací bylo zjištěno, že viskozitám naměřených reologií neodpovídá žádná z mikrореologických měření. Jak již bylo řečeno, může to být způsobeno tím, že při měření koncentrovanějších roztoků se pohybujeme na hranici nebo za hranicí spolehlivě měřitelných hodnot viskozit pomocí metody mikrореologie.

Tabulka 3. Obsahuje hodnoty viskozit pro polystyren sulfonát sodný při měření reologie a pasivní mikrореologie (1 μm a 4 μm čátec)

Polystyren sulfonát sodný	0,01%	0,1%	1%	2%
Reologie (mPa·s)	0,76	1,74	6,92	12,64
1μm (mPa·s)	2,42 $\pm$ 0,67	2,90 $\pm$ 0,26	4,79 $\pm$ 0,97	6,37 $\pm$ 0,85
4μm (mPa·s)	0,61 $\pm$ 0,18	1,01 $\pm$ 0,23	1,44 $\pm$ 0,79	2,60 $\pm$ 0,32

Tabulka 4. Obsahuje hodnoty viskozit pro karboxymethylcelulózu při měření reologie a pasivní mikrореologie (1 μm a 4 μm čátec)

Karboxymethylcelulóza	0,01%	0,1%	1%	2%
Reologie (mPa·s)	0,63	1,11	5,71	36,73
1μm (mPa·s)	2,17 $\pm$ 0,56	3,34 $\pm$ 0,98	4,60 $\pm$ 1,21	6,26 $\pm$ 1,37
4μm (mPa·s)	1,60 $\pm$ 0,37	2,01 $\pm$ 0,27	2,29 $\pm$ 0,46	2,47 $\pm$ 0,03

V tabulkách 3. až 4. jsou porovnávány hodnoty viskozit PSS a CMC u metod klasické reologie, pasivní mikrореologie (1 μm a 4 μm) a jejich hodnoty směrodatných odchylek. Hodnoty viskozit obou polymerů stoupaly s rostoucí koncentrací roztoku. Z tabulek je možné vidět, že u klasické reologie byl nárůst hodnot viskozit nejintenzivnější. U pasivní mikrореologie neměl růst viskozity již takovou tendenci jako u reologie.

Podle hodnot uvedených v tabulkách je vidět, že pokud má vzorek dostatečně nízkou viskozitu, aby v něm bylo možno naměřit kvalitní trajektorie pro větší částice, tak potom výsledky získané pomocí těchto částic více odpovídají hodnotám naměřeným makroskopickou reologií. To je pravděpodobně způsobeno tím, že částice větší velikosti více převyšují rozměry volných prostorů v polymerní síti, což znamená, že jsou méně ovlivněny mikroskopickými heterogenitami polymerních roztoků.

Jakmile však dojde ke zvýšení viskozity nad hranici, za níž už jsou větší částice méně pohyblivé a jejich trajektorie nejsou dostatečně vykresleny, pak začínají reologii odpovídat více výsledky získané s jednomikrometrovými částicemi, které jsou ještě schopny se ve viskóznějším médiu pohybovat.

A pak nastane hranice, kdy už ani jednomikrometrové částice nemají dostatečný pohyb a kvalitní trajektorii a poté už mikrореologické výsledky klasické reologii neodpovídají vůbec. K dosažení kvalitnějších výsledků při měření pasivní mikrореologie, je tedy vhodnější zvolit

takový rozměr částic, aby v dané oblasti viskozit měla daná částice co největší možnost pohybu.

6. ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo provést literární rešerši na zadané téma a zhodnotit využitelnost metody při výzkumu polymerních koloidů. Na základě rešerše byly navrženy dvě modelové měření vedoucí k charakterizaci dvou systémů polymerních koloidů. Použitými polymery byl polystyren sulfonát sodný a karboxymethylcelulóza neboli nabitý a nenabitý polymer. Metody používané při měření byly klasická reologie a pasivní mikrereologie. Pro oba polymery byla vybrána řada o hmotnostních procentech 0,01%; 0,1%; 1% a 2%. Částice používané při měření pasivní mikrereologie měly rozměr 1 μm a 4 μm . Výsledky získané mikrereologií byly porovnávány s klasickou reologií.

Částice se v roztoku pohybovaly v důsledku srážek s velkým počtem molekul polymeru. Na videozáznamech bylo možné vidět, že se částice pohybovaly různými směry po velmi složité dráze, protože počet nárazů z různých stran nebyl pokaždé stejný. Kromě translačního pohybu se částice pohybovaly i pohybem rotačním. To bylo možné vidět hlavně u koncentrovanějších vzorků, nebo vzorků obsahujících částice o rozměru 4 μm . Větší pohyb částic bylo možné vidět u vzorků s nižšími hmotnostními procenty polymeru nebo obsahujícími částice o rozměru 1 μm . Velkou roli při pohybu částic hraje také jejich velikost. Na obrázcích bylo možné vidět, že částice o větším rozměru se spíše otáčí kolem své vlastní osy. Dochází tedy ke kompenzaci nárazů. To znamená, že částice, které jsou větších rozměrů, vykonávají převážně rotační nebo vibrační pohyb, než by vykazovaly zřetelnější trajektorii. To ovlivňuje kvalitu výsledků.

U koncentrovanějších roztoků, měřených mikrereologicky, neměl růst viskozity již takovou tendenci, jako měl u klasické reologie. Hodnota viskozity u 2% roztoku CMC s 4 μm částicemi byla téměř shodná s hodnotou viskozity u 1% roztoku CMC obsahující 4 μm částice. U vzorků CMC obsahující částice o rozměru 4 μm byla hodnota viskozit znatelně nižší než u vzorků obsahující částice o rozměru 1 μm . To může být způsobeno tím, že při měření koncentrovanějších roztoků se pohybujeme na hranici nebo za hranicí spolehlivě měřitelné viskozity pomocí metody mikrereologie. Na videoobrázcích bylo možné vidět, že se částice u koncentrovanějších roztoků téměř nepohybovaly. Naměřené hodnoty mohou být nespolehlivé kvůli špatně vyhodnotitelným trajektoriím. Také bylo možné vidět, že vhodná volba velikosti částic má značný vliv na výsledné hodnoty viskozit. Pokud chceme měřit mikroskopickou viskozitu systému, je nutné vybrat takovou velikost částic, aby bylo možné získat spolehlivá data, co se týče kvality trajektorií a zároveň aby částice byly menší než oka v polymerní síti.

Dále bylo zjištěno, že hodnoty MSD s časem lineárně stoupají u obou látek. Lineární povaha těchto závislostí dovoluje určit hodnoty viskozit pro jednotlivé roztoky, to znamená, že u obou polymerů je metoda mikrereologie použitelná pro stanovení viskozity jejich roztoků. Při použití částic v rozmezí od jednoho do čtyř mikrometrů nemá polymerní povaha molekul zkreslující vliv na měření. Měřením bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací obou polymerů dochází ke zvyšování viskozity, což se na křivkách projeví snížením jejich gradientu. Funkcí MSD bylo zjištěno, že PSS a CMC jsou látky čistě viskózního charakteru.

Dále bylo měřením zjištěno, že naměřené hodnoty viskozit roztoku PSS metodou mikrereologie (1 μm částice) jsou shodné s metodou reologie do 1% roztoku. U 2% roztoku dochází ke značným odchýlkám. U viskozit naměřených metodou mikrereologie (4 μm částice) se u méně koncentrovaných roztoků viskozity shodují s viskozitami naměřených

reologií, ale již od 1% roztoku se hodnoty viskozit liší. U roztoku CMC jsem došla ke stejnému závěru. U 1 μm mikrореologie bylo možné vidět shodu hodnot viskozit do 1% roztoku. U 2% roztoku CMC již došlo ke vzniku rozdílů hodnot. U 4 μm mikrореologie byly hodnoty viskozit při porovnání s klasickou reologií shodné jen u roztoků s nižší koncentrací. U vyšších koncentrací docházelo k odchylkám hodnot viskozit. Z grafů bylo také možné vidět, že u roztoku PSS hodnoty viskozit naměřené klasickou reologií byly lineárního charakteru, ale u roztoku CMC měly hodnoty viskozit charakter exponenciální. Z grafů bylo tedy možné určit, že hodnoty viskozit naměřené s částicemi o menších rozměrech byly shodné s hodnotami viskozit klasické reologie do vyšších koncentrací, než hodnoty viskozit naměřené s částicemi o rozměrech 4 μm .

Při porovnání hodnot viskozit bylo dokázáno, že hodnoty u pasivní mikrореologie s 1 μm částicemi se více přibližují hodnotám viskozit klasické reologie, než vzorky obsahující částice o rozměru 4 μm . Záleží však na oblasti viskozit. Polymerní sítě u koncentrovanějších vzorků neumožňují částicím dostatečný pohyb v systému. S rostoucí koncentrací vzorku roste i jeho množství polymerních řetězců nacházejících se v roztoku. Ve zředěných roztocích jsou polymerní řetězce od sebe dostatečně vzdáleny, takže částice jsou schopny se v roztoku volně pohybovat. Naopak u koncentrovaných roztoků jsou jednotlivé řetězce propleteny. Zesíťovaný polymer tak brání částici v pohybu a ta není schopna narušit okolní prostředí a volně se pohybovat v roztoku. V koncentrovanějším roztoku se bude tedy lépe pohybovat částice o menším rozměru (1 μm) než částice o větším rozměru (4 μm). Aby bylo dosaženo lepších výsledků při měření pasivní mikrореologie, je vhodnější zvolit částice takového rozměru, při kterém by daná částice měla možnost většího pohybu v roztoku. K měření pasivní mikrореologie by bylo možné použít i částice o menších rozměrech, než je 1 μm , ale pouze s použitím lepšího měřicího zařízení, které je schopno zachytit částice těchto rozměrů.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Sodium polystyrene sulfonate. *Enotes.com* [online]. 2012, č. 1 [cit. 2012-03-11].
Dostupné z: http://www.enotes.com/topic/Sodium_polystyrene_sulfonate
- [2] *Poly(sodium 4-styrenesulfonate)* [online]. 2011 [cit. 2012-03-24]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/434574?lang=en®ion=CZ>
- [3] CHAPLIN, Martin. Carboxymethylcellulose (CMC). In: *Carboxymethylcellulose (CMC)* [online]. 2012 [cit. 2012-03-11].
Dostupné z: <http://www.lsbu.ac.uk/water/hycmc.html>
- [4] Karboxymethylcelulóza. In: *Karboxymethylcelulóza* [online]. 8.2.2012 [cit. 2012].
Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Karboxymethylcelul%C3%B3za>
- [5] Colloid. *Britannica encyclopedia* [online]. 2012, č. 1 [cit. 2012-03-24]. Dostupné z: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/125898/colloid>
- [6] Bartovská Lidmila, Šišková Marie: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. Version 1.0. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2012-03-31]. Available from www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/. ISBN 80-7080-579-X
- [7] MEISSNER, Bohumil a ZILVAR, *Fyzika polymerů: Struktura a vlastnosti polymerních materiálů*. Praha: SNTL, 1987. ISBN 8732198530.
- [8] WEIN, Ondřej. *Úvod do reologie*. Malé Centrum, Brno, 1996. Skripta. VUT, Brno.
- [9] RAAB, Miroslav. *Nevstoupíš dvakrát do téže řeky – reologie materiálů* [online]. 2009, č. 1, s. 6 [cit. 2012-03-22]. Dostupné z: <http://archiv.otevrena-veda.cz>
- [10] Microrheology. In: GARDEL, Margaret. *Cellular biophysics lab* [online]. 2008 [cit. 2012-03-31]. Dostupné z: <http://squishycell.uchicago.edu/papers>
- [11] Film particule ds polymere.gif. *Wikipedia* [online]. 2012 [cit. 2012-04-01]. Dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Film_particule_ds_polymere.gif
- [12] Optická past. *Ústav přístrojové techniky* [online]. 2009 [cit. 2012-04-01]. Dostupné z: <http://www.isibrno.cz/omi/index.html>
- [13] Microrheology of cytoskeletal networks. *Drittes Physikalisches Institut - Biophysik* [online]. 2012 [cit. 2012-04-01]. Dostupné z: <http://www.dpi.physik.uni-goettingen.de/de/forschung/prof-schmidt/cytoskeleton.html>
- [14] KHAIR, Aditya Satish. *Particle motion in colloidal dispersions: applications to microrheology and nonequilibrium depletion interactions*. *CaltechTHESIS* [online]. 2007 [cit. 2012-04-23]. Dostupné z: <http://thesis.library.caltech.edu/613/>
- [15] Microrheology of erythrocytes, blood viscosity, and the distribution of blood flow in the microcirculation. *UK PubMed Central* [online]. ., č. 1 [cit. 2012-04-23]. Dostupné z: <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/977248>

- [16] Particle-Tracking Microrheology of Living Cells: Principles and Applications. *Annual Reviews* [online]. 2009 [cit. 2012-04-23]. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biophys.050708.133724>
- [17] CROCKER, John C. a HOFFMAN. *Multiple Particle Tracking and Two-Point Microrheology in Cells*. *ScienceDirect* [online]. 2007 [cit. 2012-04-23]. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.1016/S0091-679X\(07\)83007-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-679X(07)83007-X)
- [18] DANGARIA, Jhanvi H. a BUTLER, Peter J. *Macrorheology and adaptive microrheology of endothelial cells subjected to fluid shear stress*. National Center for Biotechnology Information [online]. 2007, č. 1 [cit. 2012-04-03]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3251213/?tool=pmcentrez>
- [19] Hyungsuk, Lee a kolektiv. *Passive and aktive microrheology for cross-linked F-actin network in vitro*. National Center for Biotechnology Information [online]. 2009, č. 1 [cit. 2012-04-03]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2830389/?tool=pmcentrez>
- [20] Daniels, Brian R., Hale, Christopher M.. *Differences in the Microrheology of Human Embryonic Stem Cells and Human Induced Pluripotent Stem Cells* National Center for Biotechnology Information [online]. 2007, č. 1 [cit. 2012-04-03]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2998615/?tool=pmcentrez>
- [21] Jay, G. D., Torres, J. R.. *The role of lubricin in the mechanical behavior of synovial fluid*. National Center for Biotechnology Information [online]. 2007, č. 1 [cit. 2012-04-03]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1851076/?tool=pmcentrez>

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1 Seznam zkratek

PSS	Polystyren sulfonát sodný
CMC	Karboxymethylcelulóza
MSD	Korelační funkce střední hodnoty čtverce posunu
ECS	cévní endoteliální buňky
HIPS	lidské indukované pluripotentní kmenové buňky
HES	lidské embryonální kmenové buňky
HA	kyselina hyaluronová
MPT	Multiple particle tracking

8.2 Seznam symbolů

Δ_i	posuv částice
$\tau_2 - \tau_1$	časový interval
$\overline{\Delta}$	kvadratický průměr z posuvů částice
$G^*(\omega)$	komplexní smykový modul
$\tau(t)$	smykové napětí v závislosti na čase
$\gamma(t)$	smyková deformace závislá na čase
G'	elastický smykový modul
G''	viskozitní modul
η	dynamická viskozita / zdánlivá viskozita
du	vzájemná rychlost pohybu smykových rovin o dx
D	difúzní koeficient
ν	kinematická viskozita
ρ	hustota
k_B	Boltzmannova konstanta
T	teplota
L	délka posunu
a	poloměr částice
$(\Delta x^2(\tau))$	MSD
d	dimenze
x_m	naměřené hodnoty
x_c	vypočítané hodnoty

<i>n</i>	počet dat v křivce
<i>rozsah</i>	rozdíl mezi maximální a minimální hodnotou naměřených dat