



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA
MESTRADO ACADÊMICO EM FÍSICA

FABRÍCIO BARROSO DE SOUSA

MODELOS VISCOELÁSTICOS PARA O ESTUDO DE MATERIAIS MACIOS COM
MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

FORTALEZA

2021

FABRÍCIO BARROSO DE SOUSA

MODELOS VISCOELÁSTICOS PARA O ESTUDO DE MATERIAIS MACIOS COM
MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Física do Programa de Pós-Graduação em Física do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Física. Área de Concentração: Física da Matéria Condensada

Orientador: Prof. Dr. Jeanlex Soares de Sousa

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S696m Sousa, Fabrício Barroso de.

Modelos viscoelásticos para o estudo de materiais macios com microscopia de força atômica / Fabrício Barroso de Sousa. – 2021.
127 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Física, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Jeanlex Soares de Sousa.

1. Modelos Viscoelásticos. 2. Microscópio de Força Atômica. 3. Nanoindentação. 4. Reologia de materiais moles. I. Título.

CDD 530

FABRÍCIO BARROSO DE SOUSA

MODELOS VISCOELÁSTICOS PARA O ESTUDO DE MATERIAIS MACIOS COM
MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Física do Programa de Pós-Graduação em Física do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Física. Área de Concentração: Física da Matéria Condensada

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jeanlex Soares de Sousa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Claudio Lucas Nunes de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Eduardo Bedê Barros
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Leandro Gutierrez Rizzi
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Aos meus falecidos padrinhos Maria Gessy e Sebastião Alves, e ao meu tio Paulo Raulino por terem estado presentes ao longo de minha criação e por terem me incentivado a estudar e a acreditar em meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a oportunidade de prosseguir nos estudos e ter me fornecido disposição e alento para não desistir de meus objetivos pessoais frente às intempéries que se levantaram durante essa jornada de aprendizagem e construção de saberes.

À minha mãe Rute Barroso, por sempre ter estado presente em minha vida e encorajado-me a estudar e a superar as dificuldades que surgiram ao longo de minha caminhada educacional.

À minha noiva, por ter me dado apoio emocional e afetivo durante todos os estágios de minha formação no curso de Mestrado e também por tido paciência para comigo durante os momentos difíceis dessa caminhada.

À minha família e aos meus amigos, por terem me proporcionado momentos de comunhão, de troca de experiências e de conhecimentos que foram essenciais para minha formação humana e acadêmica.

Ao professor Jeanlex Soares de Sousa, por me orientar em cada etapa de desenvolvimento desse trabalho, sempre compartilhando sugestões de leituras e de ideias que foram imprescindíveis para a construção do mesmo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará (UFC), por ministrarem, com excelência e entusiasmo, as disciplinas do curso de Mestrado, as quais foram enriquecedoras para minha formação.

Ao Departamento de Física da UFC, por oferecer um espaço acadêmico agradável ao estudo, à pesquisa e ao ensino, onde professores, alunos e funcionários contribuem, de forma ativa, para seu adequado funcionamento.

À UFC, pelo seu fomento constante às atividades de pesquisa, ensino e extensão, as quais foram fundamentais para a minha formação acadêmica ao longo da graduação e da pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela bolsa de estudos que me foi concedida ao longo dos vinte e seis meses que se seguiram ao meu ingresso no Programa de Pós-Graduação em Física, os dois últimos meses correspondendo à prorrogação da mesma em virtude das consequências advindas da pandemia de Covid-19, e que me proporcionou dedicar-me exclusivamente às atividades relacionadas ao curso de Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo
para todo propósito debaixo do céu [...]

(BÍBLIA, Eclesiastes, 3, 1)

RESUMO

Uma diversidade de materiais, sejam eles sintéticos ou biológicos, exibe comportamento viscoelástico, tais como células e polímeros, por exemplo. Nesse sentido, tem se destacado os experimentos de nanoindentação com o Microscópio de Força Atômica (AFM), cujas curvas de força resultantes podem ser descritas através de um modelo teórico adequado que permite a obtenção das propriedades reológicas de tais materiais. Em reologia celular, por exemplo, encontra-se na literatura muitos trabalhos feitos com o uso do AFM que concentram-se na determinação da rigidez de células através do cálculo de seus módulos de Young instantâneos (SOUSA *et al.*, 2017). Porém, ao considerarem as células como sólidos homogêneos e isotrópicos, negligenciam sua complexidade estrutural e sua natureza viscoelástica. Portanto, a presente dissertação tem por objetivo desenvolver e comparar três modelos teóricos simples capazes de descrever o comportamento viscoelástico de materiais moles quando estes são indentados por uma ponta de AFM com geometria genérica ao longo de três etapas distintas, a saber: aplicação de carga, permanência ou *dwell*, e oscilação. Na primeira destas, a ponta entra em contato com a amostra e pressiona-a até que seja atingida uma indentação máxima. Após isso, na fase de *dwell*, mantém-se essa indentação constante por um período de tempo preestabelecido. Em seguida, a ponta é forçada a oscilar sobre a amostra, de modo a desencadear uma indentação sinusoidal. Esta última etapa caracteriza o que na literatura é conhecido como reologia dinâmica. Através dessa abordagem, objetiva-se, assim, contribuir com as pesquisas em reologia de materiais moles através de microscopia de força atômica ao propor modelos matemáticos deduzidos de maneira analítica e que possuam suas especificidades e falhas bem estabelecidas, de modo a propiciar sua aplicação de maneira segura e confiável.

Palavras-chave: Modelos Viscoelásticos. Microscópio de Força Atômica. Nanoindentação. Reologia de materiais moles.

ABSTRACT

A diversity of materials, let them be synthetic or biological, exhibit viscoelastic behavior, such as cells, and polymers, for example. In this way, it has stood out the nanoindentation experiments by Atomic Force Microscopy (AFM), whose resulting force curves can be described through a convenient theoretical model which makes it possible to obtain the rheological properties of such materials. In cellular rheology, for example, there are in the literature various works that employ the AFM to determining the cell hardness through the instantaneous Young's modulus calculation (SOUSA *et al.*, 2017). However, by considering cells as homogenous and isotropic solids, they neglect their structural complexity and viscoelastic nature. Therefore, the present dissertation aims to develop and compare three theoretical models capable of describing the viscoelastic behavior of soft materials when they are indented by an AFM tip with general geometry during three different steps, namely: load, dwell and oscillation. In the former, the tip comes into contact with the sample and presses it until a maximum indentation be reached. After that, in the dwell phase, the indentation is kept constant during a predetermined time. Then, the tip is forced to oscillate over the sample in order to trigger a sinusoidal indentation. This last step characterizes what is know in the literature as dynamic rheology. The objective of this approach is to contribute with the researches about rheology of soft materials based on atomic force microscopy by proposing mathematical models analytically deduced and which have their specificities and flaws well established in order to provide their application in a safe and reliable way.

Keywords: Viscoelastic Models. Atomic Force Microscope. Nanoindentation. Rheology of soft materials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Funcionamento Básico de um Microscópio de Força Atômica	14
Figura 2 – Curva de Força típica de um AFM	15
Figura 3 – Modelo de Tensegriedade Celular	20
Figura 4 – Componentes de um AFM Moderno	29
Figura 5 – Representação esquemática de um transdutor piezoelétrico	29
Figura 6 – Transdutor de Força	31
Figura 7 – Tensão Normal	32
Figura 8 – Tensão de Cisalhamento	33
Figura 9 – Tensões normal e de cisalhamento atuando sobre uma das faces de um cubo	33
Figura 10 – Deformação sofrida por um ponto	35
Figura 11 – Modelo de Kelvin	47
Figura 12 – Modelo de Maxwell	48
Figura 13 – Modelo de Sólido Linear Padrão	50
Figura 14 – Modelo Fracionário	53
Figura 15 – Modelo de Sólido Linear Padrão Fracionário	54
Figura 16 – Diferença de fase entre tensão e deformação	60
Figura 17 – Esquemática do processo de indentação de uma amostra macia por uma ponta de AFM e comportamento do deslocamento $z(t)$ do piezo, da deflexão $d(t)$ do cantilever e da profundidade de indentação $\delta(t)$ da amostra ao longo das fases de carga, dwell e oscilação	65
Figura 18 – Simulação de curva de força utilizando o Modelo 1	79
Figura 19 – Simulação de amostras com diferentes tempos de relaxação utilizando o Modelo 1	80
Figura 20 – Gráficos de G' e G'' em função de ω para diferentes valores de E_∞ - Modelo 1	82
Figura 21 – Curvas de força nas fases de carga e dwell no caso puramente elástico ($m = 0$) para diferentes valores de λ	83
Figura 22 – Simulação de curvas de força nas fases de carga e dwell geradas por indenta- dores esféricos ($\lambda = 3/2$) para valores de $m > 0$ e $\tau_l = 3s$	84
Figura 23 – Curvas de força nas fases de carga e dwell geradas por indentadores esféricos para valores de $m > 0$ e $\tau_l = 1s$	85
Figura 24 – Gráfico log-log de $\bar{F}(\tau_l)$ versus m para $\lambda = 1.5$	86

Figura 25 – Gráfico log-log de $\bar{F}(\tau_l)$ versus m para $\lambda = 2$	86
Figura 26 – Simulação de $\bar{F}(t)$ ao longo dos três estágios de nanoindentação - Modelo 2	87
Figura 27 – Simulações de $\bar{F}(t)$ nas fases de <i>dwell</i> e oscilação para $\tau = 1s$ e $\tau = 10s$. .	88
Figura 28 – Simulações de $\bar{F}(t)$ nas fases de <i>dwell</i> e oscilação para $\omega = 5rad/s$ e $\omega = 20rad/s$	89
Figura 29 – Função Gama Incompleta Inferior para $m = 0.8$ em função de $t - \hat{t}$	89
Figura 30 – Função Gama Incompleta Inferior para $m = 0.2$ em função de $t - \hat{t}$	90
Figura 31 – Gráficos de $G'(\omega)$ e $G''(\omega)$ em função de ω para diferentes valores de m - Modelo 2	91
Figura 32 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m ao longo de diferentes valores de τ/τ_l para o caso em que $\lambda = 2$	93
Figura 33 – Influência dos valores de m e n sobre $\bar{F}(\tau_l)$ em função de τ/τ_l quando $\lambda = 2$	93
Figura 34 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de τ/τ_l para diferentes valores de m quando $\lambda = 2$	94
Figura 35 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m ao longo de diferentes valores de τ/τ_l para o caso em que $\lambda = 1.5$	96
Figura 36 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de τ/τ_l para diferentes valores de m quando $\lambda = 1.5$	97
Figura 37 – Simulação de curvas de força nas fases de aproximação e <i>dwell</i> para diferentes décadas de τ - Modelo 3	99
Figura 38 – Simulação de $\bar{F}(t)$ ao longo dos três estágios de nanoindentação - Modelo 3	100
Figura 39 – Gráficos de $G'(\omega)$ e $G''(\omega)$ em função de ω - Modelo 3	101
Figura 40 – Simulações de curvas de força obtidas a partir dos Modelos 1, 2 e 3	102
Figura 41 – Simulações de $\bar{F}(t)$ obtidas a partir dos Modelos 1, 2 e 3 ao longo dos primeiros $0.09s$	103
Figura 42 – Gráficos <i>loglog</i> de $\bar{F}(t)$ durante o regime de carga obtidos a partir dos Modelos 1, 2 e 3	104
Figura 43 – Representação de $\bar{F}(t)$ no regime oscilatório para o caso em que $\omega = 20rad/s$	105
Figura 44 – Representação de $\bar{F}(t)$ no regime oscilatório para o caso em que $\omega = 120rad/s$	106

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	27
2.1	Microscópio de força atômica	27
2.1.1	<i>Principais características</i>	27
2.1.2	<i>Componentes e princípio de funcionamento</i>	28
2.1.2.1	<i>Transdutores Piezoelétricos</i>	28
2.1.2.2	<i>Transdutores de Força</i>	30
2.1.2.3	<i>Controle de Feedback</i>	31
2.2	Elasticidade Linear	31
2.2.1	<i>Conceito de Tensão</i>	32
2.2.2	<i>Deformação</i>	34
2.2.3	<i>Lei de Hooke generalizada</i>	37
2.3	Viscoelasticidade	39
2.3.1	<i>Viscoelasticidade Linear</i>	40
2.3.2	<i>Fluência</i>	41
2.3.3	<i>Relaxação de Tensão</i>	42
2.3.4	<i>Princípio de Superposição de Boltzmann</i>	42
2.3.4.1	<i>Processos formados por múltiplas etapas</i>	43
2.3.4.2	<i>Processos compostos por superposição de pulsos</i>	44
2.3.5	<i>Modelo de Kelvin-Voigt</i>	46
2.3.6	<i>Modelo de Maxwell</i>	48
2.3.7	<i>Modelo de Sólido Linear Padrão</i>	50
2.3.8	<i>Modelo Fracionário</i>	53
2.4	Teoria de Contato de Hertz	55
2.5	Comportamento viscoelástico no regime dinâmico	58
3	MODELOS TEÓRICOS PROPOSTOS	64
3.1	Modelo 1 - Descrição de materiais através do modelo de SLS	66
3.1.1	<i>Fase de aplicação de carga</i>	66
3.1.2	<i>Fase de permanência ou dwell</i>	68
3.1.3	<i>Fase de oscilação</i>	70

3.1.4	<i>Resumo das principais equações para o cálculo da Força normalizada - Modelo 1</i>	71
3.2	Modelo 2 - Descrição de materiais com relaxação do tipo Lei de Potência simples	73
3.2.1	<i>Fase de aplicação de carga</i>	73
3.2.2	<i>Fase de permanência ou dwell</i>	74
3.2.3	<i>Fase de oscilação</i>	74
3.2.4	<i>Resumo das principais equações para o cálculo da Força normalizada - Modelo 2</i>	76
3.3	Modelo 3 - Descrição de materiais com relaxação do tipo Lei de Dupla Potência	77
3.3.1	<i>Fase de aplicação de carga</i>	77
3.3.2	<i>Fase de permanência ou dwell</i>	77
3.3.3	<i>Fase de oscilação</i>	77
3.3.4	<i>Resumo das principais equações para o cálculo da Força normalizada - Modelo 3</i>	78
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
4.1	Análise reológica do Modelo 1	79
4.2	Análise reológica do Modelo 2	83
4.3	Análise reológica do Modelo 3	92
4.4	Síntese comparativa dos modelos propostos	102
5	CONCLUSÃO	107
	REFERÊNCIAS	110
	ANEXOS	112
	ANEXO A – Manuscrito de artigo científico submetido à revista <i>Journal of Physics D: Applied Physics</i>	113

1 INTRODUÇÃO

A busca pela compreensão das propriedades elásticas e viscoelásticas de células tem crescido nas últimas décadas e muitos fenômenos e interações mecânicas têm sido estudados, tais como: diferenças na rigidez de células saudáveis e cancerígenas, influência das propriedades mecânicas de matrizes de suporte para o cultivo de tecidos, relação entre célula e substrato nos processos de crescimento e diferenciação celular, identificação do arranjo espacial das diversas estruturas do citoesqueleto como fator responsável pela forma e pela rigidez de células, entre outros (RIZZI; TASSIERI, 2018).

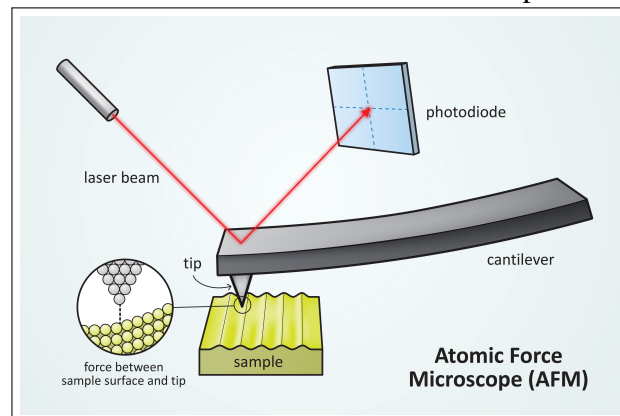
Para além de materiais biológicos, é importante destacar que muitos outros, de naturezas diversas, exibem comportamento viscoelástico quando analisados em escala nanométrica, como é o caso de polímeros, filmes finos, esponjas, plásticos, materiais de construção, entre outros, de modo que a compreensão de suas propriedades mecânicas faz-se relevante na identificação de suas estruturas internas e também na sua aplicabilidade (SOUSA *et al.*, 2017; GRIEPENTROG *et al.*, 2013). Nesse sentido, o microscópio de força atômica (AFM) tem se mostrado uma ferramenta poderosa na realização de análises reológicas, visto que é capaz de aplicar forças da ordem de nanômetros, possibilitar a geração de imagens topográficas em escala tridimensional da superfície da amostra em estudo, permitir a realização de trabalhos em condições aquosas adequadas para a cultura celular, ter disponibilidade comercial e possibilitar o uso de sondas com diferentes geometrias (LI *et al.*, 2017; TAKAI *et al.*, 2005). Em geral, existem muitas técnicas que permitem a determinação do comportamento elástico de células, tais como optical tweezers, magnet twisting, nanoindentação, e microscopia de força atômica (AFM), por exemplo (RIZZI; TASSIERI, 2018). Dentre estas, a última mencionada vem se sobressaindo por sua versatilidade e precisão na determinação não apenas da topografia de amostras, como também de suas propriedades reológicas através de nanoindentação.

Células são capazes de executar várias habilidades mecânicas, tais como fluir, suportar tensões, inchar-se, diminuir de tamanho, invadir outros materiais, contrair-se e extender-se, remodelar-se, entre outras, de modo que cada uma delas exige modificações em sua forma e nas suas dimensões (ZHOU *et al.*, 2013). Embora tenha-se uma compreensão fenomenológica desses comportamentos, a explicação biomecânica dos mesmos ainda é muito vaga e consiste em uma área complexa a ser explorada. Isso porque as células são compostas por estruturas funcionais dinâmicas que se interrelacionam através de vastas conexões, a fim de realizarem múltiplas funções. Zhou *et al* desconstroem a ideia já arraigada de que uma célula é comparável a uma

máquina ao levar em consideração que essa forma de entendimento não está em concordância com o que sabe sobre as funções executadas pelas diferentes estruturas celulares. Estas últimas encontram-se conectadas umas com as outras não com o propósito de desempenharem uma única atividade em específico, como geralmente acontece com os componentes de uma máquina, mas para executarem múltiplas tarefas que atendam à dinâmica celular (ZHOU *et al.*, 2013). Por sua vez, as células são capazes de responder a estímulos e estes influenciam em sua organização interna e nas funções que elas vêm a desempenhar em um organismo ou no meio em que se encontram. Diante disso, tem sido crescente a publicação de estudos interdisciplinares que visam lançar luz sobre a compreensão das propriedades biomecânicas de diferentes tipos de células.

Na Figura 1, por exemplo, pode-se observar o princípio de funcionamento básico de um AFM no modo de contato. Enquanto a ponta do AFM desloca-se sobre uma amostra, o spot de um laser atinge a região espelhada do cantilever que se situa próximo da sonda e assim é refletido até alcançar um fotodiodo que se encontra subdividido em quatro quadrantes. Desse modo, tal sensor registra o sinal trocado entre a sonda e a amostra através das deflexões sofridas pelo spot do laser ao longo do processo de imageamento.

Figura 1 – Funcionamento Básico de um Microscópio de Força Atômica

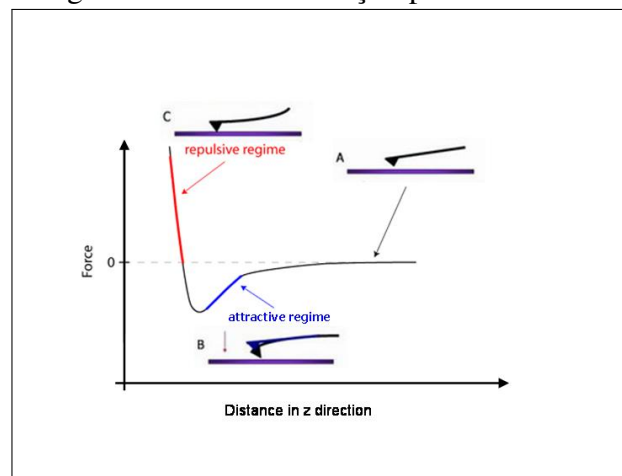


Fonte: <<https://www.nisenet.org/sites/default/files/catalog/uploads/AFM.jpg>>. Acesso em: 13 de nov. de 2019.

No procedimento de nanoindentação, aplica-se forças nanométricas sobre a superfície da espécie em estudo até que uma deformação máxima seja alcançada; após isso, retrai-se a força a fim de que a amostra possa retornar ao seu estado inicial. Ao realizar esse procedimento com um AFM, obtém-se curvas de força versus o deslocamento vertical da sonda do instrumento, que nesse caso corresponde a uma ponta muito pequena, da ordem de alguns nanômetros de comprimento, e que pode possuir diferentes geometrias, dependendo do tipo de material que se deseja analisar. Conforme mostrado na Figura 2, uma curva de força típica durante a fase

de aproximação do AFM apresenta três regiões distintas. A região **A** é caracterizada pelo não contato entre a amostra e a sonda ao longo do movimento de aproximação, logo, não ocorre deflexão do cantilever. Em **B**, destaca-se a região na qual forças de adesão, principalmente as de Van der Waals, atraem a ponta do AFM para a superfície da amostra, fazendo com que o cantilever deflexione-se em sua direção. A região **C** caracteriza a fase na qual prevalecem forças repulsivas que deflexionam o cantilever no sentido contrário ao do movimento de descida do piezo.

Figura 2 – Curva de Força típica de um AFM



Fonte: <<http://www.ism.cnr.it/en/scanning-probe-microscopy/>>. Acesso em: 13 de nov. de 2019.

No caso de células, as pontas geralmente usadas são cônicas ou esféricas. O primeiro tipo de ponta tem maior capacidade de indentação e pode ser usado, por exemplo, para realizar indentações que atinjam as estruturas do citoesqueleto de células e assim poder medir seus parâmetros reológicos. Entretanto, cuidado deve ser tomado para que a força de carga aplicada não danifique a amostra. Por sua vez, geometrias esféricas fornecem informa es globais sobre a célula, visto que, por possuirem maior área de contato, são capazes de analisar a resposta da célula ao sofrer uma força externa (LI *et al.*, 2017). Uma vez que uma curva de força é obtida, faz-se uso de um modelo teórico que descreva os resultados experimentais da maneira mais conveniente possível. Desse modo,   possível determinar o módulo de Young da amostra. Entre os modelos mais usados para se extrair tais parâmetros, destaca-se o modelo de Hertz, que geralmente descreve, de maneira adequada, a região de aproxima o de uma curva de força. De fato, tal modelo tem como pré-requisitos básicos que o indentador seja perfeitamente rígido e a amostra seja um material perfeitamente elástico, espesso, homogêneo e isotrópico (LI *et al.*, 2017). Por um lado, embora seja sabido que as células de fato exibem comportamento

viscoelástico e que este manifesta-se, principalmente, na região de retração de uma curva de força, constata-se que, para indentações menores do que 10% da espessura da célula, o processo inicial de aplicação de uma força de carga pode ser adequadamente descrito pelo modelo de Hertz. Por outro lado, indentações superiores a esse limite são influenciadas pela presença do substrato sobre o qual a célula encontra-se fixada e esta relação será discutida mais adiante (LI *et al.*, 2017).

Em geral, materiais biológicos não são perfeitamente elásticos nem homogêneos, mas apresentam propriedades viscosas e plásticas que dissipam parte da energia fornecida pelo corpo que a deforma, também chamado de indentador (AG, 2018). O comportamento viscoelástico consiste em uma transição entre o comportamento elástico e o viscoso. Em geral, diz-se que um sólido é puramente elástico quando este obedece a lei de Hooke, segundo a qual a tensão exercido sobre ele é diretamente proporcional à correspondente deformação. Observa-se que essa lei depende tão somente da deformação e não da taxa com que essa deformação varia no tempo. De maneira inversa, diz-se que um fluido é viscoso quando ele obedece à lei de Newton, segundo a qual a tensão sobre ele aplicado depende diretamente da variação da deformação por ele sofrida. Nesse sentido, um material viscoelástico exibe ambas as características quando sujeito a tensões que oscilam de forma sinusoidal (FERRY, 1980). Tal efeito é perceptível sob diferentes critérios de análise, tais como: através de uma curva de força obtida com o uso de um AFM, na qual pode-se constatar uma histerese nas curvas de aproximação e retração e na dependência do módulo de elasticidade com a velocidade com que se realiza uma indentação. Em particular, velocidades altas resultam em pequenas indentações da superfície da amostra, caracterizando um material aparentemente mais rígido, ao passo que pequenas velocidades resultam em indentações profundas, o que caracteriza um material aparentemente mais macio. A viscoelasticidade das amostras também é percebida nos testes de relaxação da força de carga, nos quais mantem-se a deformação do corpo constante durante um certo tempo e observa-se a variação da força com respeito ao tempo; bem como nos testes de fluência, nos quais mantém-se a força sobre a amostra constante e analisa-se a taxa de variação da deformação (EFREMOV *et al.*, 2017; AG, 2018).

A fim de se extrair, a partir de curvas de força geradas com um AFM, as propriedades viscoelásticas de amostras, deve-se optar por um modelo teórico que seja capaz de reproduzir tais curvas de maneira adequada e precisa. Dentro da teoria da viscoelasticidade clássica, os modelos mais simples para tal fim consistem naqueles formados pela associação em série ou em paralelo

de molas hookeanas, as quais são identificadas por um módulo elástico, e de amortecedores newtonianos, que são caracterizados por sua viscosidade. Assim sendo, arranjos com um número bastante limitado de unidades elásticas e viscosas geram respostas viscoelásticas com decaimento exponencial e dependentes de uma escala de tempo dentro da qual o material analisado relaxa. Uma apresentação sucinta dos principais representantes desses modelos, juntamente com suas características mais relevantes, será feita no Capítulo 2 . Deve-se salientar, todavia, que os mesmos foram concebidos à luz da teoria viscoelástica linear, cuja aplicabilidade é restrita a uma quantidade muito escassa de materiais, a exemplo de alguns tipos de polímeros. De acordo com Lakes (1998), materiais reais possuem múltiplas escalas temporais, o que implica dizer que sua compreensão efetiva não pode ser alcançada a partir de circuitos formados por uma quantidade pequena de molas e amortecedores, mas antes através de arranjos complexos de muitas molas e amortecedores combinados tanto em série como em paralelo com o propósito de gerar módulos de relaxação escritos como uma superposição de funções exponenciais, cada uma possuindo como argumento um tempo de relaxação característico. Em contrapartida, como bem destaca Kollmannsberg e Fabry (2011), tais tipos de circuitos são desprovidos de significado físico, uma vez que são dependentes de escala temporal. Ainda que se buscasse uma associação de cada constituinte mecânico de uma amostra, a exemplo do citoesqueleto de uma célula, com as sub-unidades que compõem esses arranjos, tal tarefa seria demasiado árdua e confusa tendo em vista o grau de complexidade dos mesmos (KOLLMANNSSBERGER; FABRY, 2011).

Os assim chamados Materiais Vítreos Macios, referenciados na literatura como Soft Glassy Materials (SGM), possuem como principais características a presença de módulo de relaxação expresso como uma lei de potência fraca, módulo de Young aparente da ordem de Pa a kPa e composição desordenada e metaestável. Desse modo, tendo em vista as semelhanças das células com estes, cujos membros incluem pastas, emulsões e esponjas, estudos mais recentes têm modelado-as, com sucesso, através de Leis de Potência Reológica (MANDADAPU *et al.*, 2008; KOLLMANNSSBERGER; FABRY, 2011; FABRY *et al.*, 2001; VAZIRI *et al.*, 2007; DENG *et al.*, 2006). Contudo, é necessário salientar que a inclusão das células dentro do grupo dos SGM não é adequada, pois a existência de peculiaridades celulares tipicamente dinâmicas, tais como a presença de pré-estresses no citoesqueleto, os mecanismos de geração de forças e o enrijecimento contrátil, não podem ser explicadas com base em uma teoria que foi elaborada para compreender o comportamento reológico de materiais inertes, como é o caso da teoria dos SGM (KOLLMANNSSBERGER; FABRY, 2011; SOUSA *et al.*, 2020).

Retornando ao caso particular das células, sua inomogeneidade, caracterizada pelo grande número de organelas citoplasmáticas imersas em um fluido contendo proteínas, o núcleo e outras estruturas que interagem entre si dentro de um complexo e ativo sistema de reações químicas essenciais para a vida da célula, não pode ser negligenciada durante a análise de seu comportamento reológico. Entretanto, entre todos esses constituintes celulares, o citoesqueleto desempenha um papel proeminente na mecânica das células eucarióticas. Ele é uma rede complexa formada essencialmente por filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários que pode se remodelar quando sujeito a estímulos internos ou externos a fim de fornecer forma, estabilidade estrutural à célula e também garantir a efetividade de processos tais como migração celular, diferenciação, apoptose e crescimento, para nomear alguns (ZHOU *et al.*, 2013; BURSAC *et al.*, 2005; CAI *et al.*, 2013; MANDADAPU *et al.*, 2008; FABRY *et al.*, 2001). Todos esses componentes do citoesqueleto não atuam individualmente. Eles estão conectados uns aos outros por meio de ligações que constantemente se montam e desmontam como reação à diferentes tipos de estímulos externos e internos, dando origem ao caráter viscoelástico global das células. Como destacam Kollmannsberg and Fabry (2011) no tocante ao comportamento elástico das células, embora os constituintes do citoesqueleto possuam módulo de Young com valor da ordem de GPa , a complexidade e a não afinidade da intrincada rede composta por eles tornam a rigidez final da célula da ordem de KPa (RIZZI *et al.*, 2016).

Assim sendo, diversos fatores são capazes de causar modificações nas estruturas mecânicas internas das células, sendo muitas destas essenciais para a manutenção de atividades celulares vitais, enquanto outras podem gerar anomalias que proporcionam a disseminação de doenças. Alguns estudos têm comprovado, por exemplo, que células tumorais apresentam módulo de Young aparente menor do que células saudáveis, o que pode estar relacionado à efetivação do processo de metástase celular. Darling *et al.*, por exemplo, utilizaram um software para modificar o sistema de feedback do movimento do eixo z de um AFM, a fim de realizar testes de relaxação de tensão e assim comparar os resultados experimentais com modelos viscoelásticos por eles desenvolvidos. Nesse estudo, verificaram a relação entre condrócitos situados em diferentes zonas de cartilagem articular e suas propriedades viscoelásticas; como resultados, obtiveram que condrócitos da zona superficial possuíam maiores valores de módulo de elasticidade e de viscosidade aparente do que os situados nas zonas intermediárias e profundas, em concordância com outros estudos presentes na literatura. Um estudo posterior feito por esses autores utilizou a abordagem descrita antes para medir as propriedades viscoelásticas de três

linhas celulares distintas de condrocarcinoma, cada uma com diferentes graus de agressividade. Para isso, desenvolveram um modelo viscoelástico e assim determinaram os módulos de elasticidade, viscosidade aparente e os tempos de relaxação de cada amostra. Os resultados obtidos mostraram que as células cancerígenas mais agressivas e invasivas apresentavam menor módulo de elasticidade do que as demais, e que o tempo em que elas ficaram expostas sobre o substrato causou modificações em sua estrutura morfológica (DARLING *et al.*, 2006; DARLING *et al.*, 2007). Um ponto importante a ser mencionado é que ambos os trabalhos consideraram as células como um meio homogêneo, incompressível e isotrópico e que o substrato não interferiria nas medidas viscoelásticas; tais considerações foram realizadas com o intuito de justificar a utilização dos modelos viscoelásticos propostos, os quais baseavam-se no modelo de sólido linear padrão (SLS).

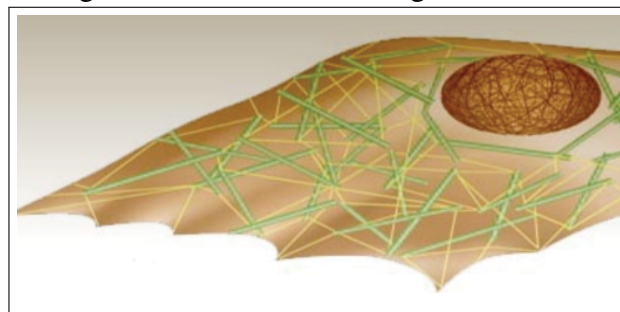
É interessante destacar, porém, que Efremov *et al* (2017), ao procurarem extrair as propriedades viscoelásticas de células e hidrogéis diretamente das curvas de força obtidas com um AFM, verificaram que o modelo SLS foi mais eficaz para descrever os parâmetros mecânicos de hidrogéis a partir de um tempo de indentação superior a 0.1s e com velocidade inferior a $4\mu\text{m}/\text{s}$, falhando para tempos inferiores. As propriedades reológicas de células vivas, por sua vez, tiveram uma melhor descrição a partir do modelo de lei de potência reológica (PLR), em que o tempo de indentação variou entre 50ms e 6s, com velocidade de deslocamento do piezo variando de 64 a $8000\text{nm}/\text{s}$.

No que concerne à relação entre as propriedades reológicas de células e o substrato sobre o qual elas se fixam, estudos sobre elasticidade têm mostrado que há uma dependência entre a rigidez aparente e o substrato. Além disso, as células são capazes de receber sinais biomecânicos do material sobre o qual se situam e assim desencadear respostas que podem alterar seu arranjo mecânico interno, através de reorganização do seu citoesqueleto, bem como modificar seus processos biológicos, o que tem consequências diretas em seu próprio destino final (LI *et al.*, 2017; TEE *et al.*, 2011; TEE *et al.*, 2009; SOLON *et al.*, 2007).

De acordo com o modelo de tensegridade celular (STAMENOVIC, 2004), vide Figura 3, existem pré-estresses dentro do citoesqueleto que são responsáveis pela manutenção da forma da célula, assim como pelo seu grau de deformidade quando a célula encontra-se sob um regime de tensão estacionário. Pré-estresses são tensões suportadas pelo citoesqueleto sem que haja nenhuma carga externa pressionando-o. Eles são originárias da ação de microfilamentos de actina contrátil que exercem forças de tensão que são transmitidas pelos filamentos intermediários

e suportadas por estruturas adesivas da matrix extracelular e por outros filamentos do citoesqueleto, como por exemplo microtúbulos. Em geral, a célula é vista como uma membrana tensionada que embebeda o citoesqueleto e suas estruturas (STAMENOVIC, 2004). Na Figura 3, tem-se uma representação esquemática de uma célula, cujo citoplasma é envolto por filamentos esverdeados, que representam os microfilamentos de actina tensionados, e que estão geometricamente entrelaçados às escoras amareladas, que representam os microtúbulos. A fim de que a célula garanta sua forma, os pré-estresses internos são responsáveis por equilibrar as tensões externas através de modificações geométricas das estruturas que as geram, de modo que, quanto maior forem esses pré-estresses, menor será o grau de deformidade da célula quando sujeita a tensões externas e assim maior sua rigidez aparente, e vice versa. Desse modo, o aumento ou diminuição da rigidez de uma célula está associada com a magnitude dos pré-estresses (STAMENOVIC, 2004).

Figura 3 – Modelo de Tensegridade Celular



Fonte: <<https://paul-thorpe.com/2015/02/06/bio-tensegrity/>>. Acesso em: 13 de nov. de 2019.

Embora não aplicado diretamente às células ou a outros materiais biológicos, é interessante destacar um estudo feito por Domke e Radmacher (1998), no qual investigou-se a relação entre a elasticidade aparente de filmes finos de gelatina, usados como modelo de materiais moles, e o substrato sobre o qual eles se situavam. Nesse estudo, empregou-se o AFM para descrever as propriedades elásticas de diferentes pontos superficiais desses materiais. A partir da análise das curvas de indentação versus força, verificou-se que, para o caso dos pontos situados em regiões mais espessas de uma amostra de filme fino, a curva experimental obtida foi bem representada pelo que era previsto pelo modelo de Hertz. Por outro lado, para os pontos situados em regiões mais finas, as indentações realizadas foram menores do que o esperado teoricamente pelo modelo de Hertz. Isso claramente mostra que a presença do substrato alterou significativamente estas últimas medidas, uma vez que o material apresentou-se mais rígido do que deveria ser; entretanto, para indentações muito pequenas, próximas do ponto de contato,

verificou-se que o módulo de Young relativo aproximava-se do obtido teoricamente, porém, à medida em que a indentação aumentava, tal valor afastava-se significativamente do teórico devido à influência do substrato. É importante destacar que o estudo fez uso de um indentedor cônico como sonda do AFM e que todas as curvas de força realizadas não revelaram histerese ou deformações plásticas na amostra, de modo que o material comportou-se no regime elástico (DOMKE; RADMACHER, 1998).

Takai *et al.*, por sua vez, realizaram um estudo das propriedades elásticas de fibroblastos cultivados *in vitro* através de nanoindentação com um AFM a fim de determinar a relação entre o tipo de substrato sobre o qual tais células se encontravam e suas características mecânicas e morfológicas. Para isso, utilizaram dois grupos de substratos: um com proteínas integrinas e outro destituído das mesmas. Os resultados obtidos mostraram que o módulo de elasticidade aparente de células cultivadas sobre o primeiro grupo de substrato era maior do que o de células cultivadas sobre o segundo grupo; além disso, verificou-se uma forte relação entre a presença de actina filamentosa (F-actina) no citoesqueleto das células e um correspondente aumento em sua rigidez. Do ponto de vista morfológico, foi mostrado que as células cultivadas em substratos do primeiro grupo apresentaram morfologia mais espalhada e com vários emaranhados de F-actina ao longo de toda a célula do que as células postas sobre o segundo grupo de substratos, onde escassos filamentos de F-actina concentraram-se na região periférica das células (TAKAI *et al.*, 2005).

Outro aspecto a ser destacado é que nos mencionados trabalhos de Darling *et al.*, analisou-se células isoladas, porém, sabe-se que, em condições *in vivo*, a matriz extracelular (ECM) que permeia os tecidos exerce papel crucial nas propriedades mecânicas a serem manifestadas por células, conforme relatado pelos próprios autores (DARLING *et al.*, 2006; DARLING *et al.*, 2007). Com efeito, muitos estudos têm mostrado que a matriz extracelular não apenas fornece suporte mecânico adequado aos tecidos, como também exerce influências diretas sobre as células e suas atividades (LI *et al.*, 2017; TEE *et al.*, 2009; SHELLY; PUTNAM, 2005). Ao receberem os sinais mecânicos da ECM, as células podem traduzí-los em respostas biomecânicas que regulam os processos de diferenciação, espalhamento, adesão, crescimento, entre outros. Além disso, as características mecânicas da ECM associada a um tecido específico orientam o processo de diferenciação celular de células-tronco, a fim de que estas últimas possam originar as células que compõem tal tecido, o que garante que a rigidez do tecido formado seja compatível com a rigidez da ECM que o preenche (LI *et al.*, 2017). No estudo realizado por Zhu *et al*

(ZHU *et al.*, 2011), por exemplo, apresentou-se uma abordagem a partir da qual pode-se extrair o módulo de Young de matrizes de suporte através de nanoindentação com o AFM. Para tal, usou-se matrizes de suporte de hidrogel colágeno-quitosana como modelo de matriz de suporte para tecidos moles e extraiu-se os módulos de elasticidade das mesmas a partir do modelo de Hertz e das curvas de força obtidas pelo AFM sob diferentes condições. O estudo verificou que uma matriz de suporte de colágeno-quitosana (80% - 20%) possuía módulo de Young de $3.69kPa$, enquanto que para uma matriz de suporte de colágeno-quitosana (70% - 30%), o módulo de Young obtido foi de $11.6kPa$. Isso mostrou que uma maior concentração de quitosana proporciona um correspondente aumento na rigidez das matrizes de suporte. Outro resultado importante indicou que há uma relação entre o cultivo de células dentro das matrizes de suporte e a rigidez das mesmas. Quando os dois tipos de matrizes foram imersos no meio de cultivo celular, seus correspondentes módulos de elasticidade diminuíram; tal fato foi mais preponderante para a matriz de suporte de colágeno-quitosana (70% - 30%), o que corrobora o que tem sido relatado na literatura. A explicação disso é que o colágeno, quando exposto ao meio de cultura celular, degrada-se. Desse modo, o modelo de matriz de suporte com 80% de colágeno degenerou-se mais lentamente no meio de cultura celular do que o constituído de 70% de colágeno. Além disso, quando fibroblastos de prepúcio humano foram cultivados dentro das matrizes de suporte, verificou-se um crescimento na rigidez dessas. Os resultados experimentais mostraram que o módulo de elasticidade da matriz de suporte colágeno-quitosana (80% - 20%) elevou-se de $10.5kPa$, no terceiro dia, para $63.4kPa$, no décimo dia após o cultivo; por sua vez, o módulo de elasticidade do segundo modelo de matriz de suporte aumentou de $3.64kPa$, no terceiro dia, para $8.72kPa$, no décimo dia após o cultivo. Tal aumento está relacionado à deposição de matriz extracelular produzida pelos fibroblastos sobre as matrizes de suporte, conforme constato em outros trabalhos.

Os estudos mencionados até então contribuíram para a elucidação das propriedades elásticas e viscosas das células e de suas interações com o meio no qual estas se encontravam através de métodos que não aplicavam forças externas periódicas. Dentro do domínio reológico dinâmico, por outro lado, uma série de estudos têm obtido sucesso em descrever as propriedades viscoelásticas das células através de modelos escritos em termos de lei de potência. Alcaraz *et al* (2003), por exemplo, realizaram medidas de microreologia dinâmica em células epiteliais pulmonares por meio de um AFM configurado para aplicar forças sinusoidais com frequência variando entre $0.1Hz$ até $100Hz$ e com magnitudes situadas entre $0.1nN$ e $0.9nN$. Além disso,

corrigiram os dados experimentais coletados a fim de levar em conta o arraste viscoso devido à interação entre a ponta do AFM e o meio circundante. Seus resultados mostraram que o módulo de cisalhamento complexo das células seguiu uma lei de potência fraca com expoente aproximadamente igual a 0.2 mesmo após a intensidade da força aplicada variar. Também verificaram que o módulo de armazenamento apresentou magnitudes superiores ao de perda até o AFM atingir a frequência de 100Hz , depois da qual o módulo de perda ultrapassou sua contraparte em um regime de crescimento substancialmente maior do que o apresentado até então. Os autores concluíram que este comportamento estava de acordo com o previsto pela teoria dos *soft glassy materials* e correlacionaram-no à reorganização estrutural do citoesqueleto das células.

Cai *et al* (2013), por sua vez, mostraram que a utilização de uma função de relaxação escrita em termos de uma lei de potência simples podia ser usada para ajustar, com precisão, curvas de força de AFM geradas através da aplicação de forças no domínio da frequência quando esta última variava de 10^0 até 10^2Hz . Os autores realizaram essas medidas em fibroblastos de ratos a fim de investigar a dependência do módulo de cisalhamento complexo com diferentes subregiões celulares e analisar de que maneira os filamentos de actina filamentosa influenciavam na relação entre aquele e a frequência de indentação. Isto foi alcançado através de tratamento com drogas que agiam sobre os filamentos de actina destruindo-os. Seus resultados revelaram que as células mantidas sob tratamento de tais drogas apresentavam uma mudança no expoente de lei de potência de 0.32 para 0.37, implicando em uma dependência do comportamento viscoelástico dessas células com a organização interna do citoesqueleto. Além disso, verificaram que o módulo complexo apresentou uma distribuição *log-normal* variando com a frequência de oscilação, de modo que frequências altas eram marcadas pelo domínio do módulo de perda sobre o de armazenamento. Por fim, com respeito à influência das diferentes áreas da célula sobre suas respostas mecânicas, os autores constataram que as células apresentavam-se mais rígidas quando indentadas sobre suas regiões centrais do que quando indentadas ao longo de suas periferias.

Motivados por estudos reológicos realizados sobre géis de F-actina que mostraram uma lei de potência forte com expoente 0.75 governando sua resposta elástica, Deng *et al* (2006) empregaram a técnica de *magnetic twisting* sobre células vivas do músculo liso das vias aéreas, com frequência variando entre 10^{-1} e 10^3Hz , a fim de verificar se as mesmas também podiam ser descritas através de uma lei de potência similar. Seus resultados mostraram que o módulo de cisalhamento complexo destas células era descrito adequadamente através de uma lei de

dupla potência reológica na qual um dos expoente media aproximadamente 0.05 e o outro cerca de 0.75, este último semelhante ao dos géis de F-actina. Também foi mostrado que o expoente inferior dominou o comportamento do módulo complexo ao longo de frequências de até 100Hz; dentro desse domínio, os módulos de armazenamento e de perda cresciam lentamente com a frequência. Para frequências superiores a esta, o expoente superior ofuscou o inferior, caracterizando um regime de crescimento acelerado do módulo complexo com a frequência de oscilação. Desse modo, os autores concluíram que, ao longo de pequenas escalas de tempo, isto é, à altas frequências, a reologia dessas células era influenciada por forças térmicas que atuavam sobre os polímeros semiflexíveis que compõem o citoesqueleto, enquanto que ao longo de escalas de tempo elevadas, as mesmas se comportavam de maneira similar aos SGM.

É importante destacar que os trabalhos reportados até então e que descreveram o módulo de cisalhamento complexo em termos de leis de potência fizeram isso empregando métodos de microreologia dinâmica. Porém, um recente estudo realizado por Sousa *et al* (2020) demonstrou, experimentalmente, que é possível verificar o comportamento reológico de lei de dupla potência em diferentes tipos celulares a partir da análise de curvas de força geradas por AFM no domínio do tempo. Com efeito, os autores verificaram que curvas de força compostas por uma etapa de aplicação de carga realizada de maneira lenta seguida por outra em que a indentação da amostra era mantida constante por um período de tempo longo, referenciada como *dwell*, aumentavam a possibilidade de se discriminar os períodos de tempo nos quais predominavam a ação dos expoentes de resposta rápida e lenta dessa lei. As expressões teóricas utilizadas nos ajustes de tais curvas foram formuladas com base no modelo de Kelvin-Voigt fracionário, e mostraram-se bem sucedidas nesse propósito, haja vista que todas as células testadas com o método proposto revelaram comportamento de lei de dupla potência em boa concordância com dados de outros estudos presentes na literatura e que foram obtidos através de métodos de microreologia dinâmica.

Cada um dos estudos supracitados contribui, de forma direta ou indireta, para a compreensão da biomecânica celular e, em sua maioria, utiliza a microscopia de força atômica como técnica principal para realizar nanoindentação sobre a superfície de amostras. Diante disso, torna-se claro que não há um modelo único capaz de descrever as propriedades viscoelásticas de células e de outros materiais moles, porém, é possível identificar e correlacionar os diferentes tipos de modelos reológicos com suas especificidades e limitações.

Portanto, a presente dissertação propõe-se em desenvolver, matematicamente, e

analisar três modelos teóricos simples capazes de descrever curvas de força geradas a partir de nanoindentação com AFM obtidas mediante a seguinte sucessão de etapas: a primeira consiste na fase de aplicação de carga, na qual a ponta do AFM desce verticalmente, entra em contato com a amostra e deforma-a por um intervalo de tempo preestabelecido e que sinaliza o alcance da indentação máxima sofrida pela mesma; a segunda fase corresponde a de *dwell*, na qual a indentação máxima é mantida constante por intervalo de tempo suficiente para que o material relaxe; por fim, a última etapa corresponde à fase de oscilação, na qual a ponta do AFM é posta para oscilar sinusoidalmente em torno da posição de indentação máxima e com amplitude de vibração pequena o suficiente para se considerar esse processo dentro do regime de pequenas oscilações. Esta última etapa visa atingir o regime reológico dinâmico, no qual é possível extrair-se importantes parâmetros viscoelásticos, tais como o módulo de relaxação complexo, a tangente de perda, e o tempo de *crossover* entre dois diferentes regimes viscoelásticos que uma dada amostra possa vir a apresentar, os quais são imprescindíveis para se caracterizar diferentes tipos de materiais viscoelásticos.

A fim de cumprir com seus objetivos, esta tese está organizada conforme segue. A primeira primeira seção corresponde à Introdução.

A segunda seção consiste na Fundamentação Teórica, na qual são apresentados e discutidos os principais conceitos que norteiam a presente pesquisa. Desse modo, baseado no trabalho de Eaton e West (2010), faz-se uma breve introdução sobre o que é o Microscópio de Força Atômica, quais seus principais componentes e suas funções. Após isso, discute-se as noções de tensão, deformação, módulo de Young, entre outras, concernentes à elasticidade linear. Em seguida, apresenta-se a lei de Newton para a viscosidade e depois introduz-se os conceitos relacionados à viscoelasticidade linear, desde as noções de fluência e relaxação de tensão, até a discussão dos principais modelos viscoelásticos utilizados na caracterização de materiais macios. Por fim, faz-se uma introdução sucinta sobre a Teoria de Contato de Hertz.

Na terceira seção, aplica-se os conceitos discutidos antes para se desenvolver, matematicamente, os modelos teóricos propostos.

Na quarta seção, discute-se os resultados teóricos previstos pelos modelos matemáticos desenvolvidos na seção anterior a partir de simulações de curvas de força e utilizando o arcabouço teórico desenvolvido na segunda seção deste trabalho. Faz-se, então, uma análise comparativa das principais vantagens e desvantagens associadas a esses modelos quanto a sua aplicabilidade para se extrair as propriedades reológicas de materiais macios a fim de delimitar

critérios que auxiliem em sua adoção futura.

A última seção consiste na Conclusão do trabalho, na qual faz-se um pequeno resumo dos principais resultados obtidos na seção antecedente e verifica-se se os objetivos iniciais foram cumpridos. Além disso, faz-se uma breve discussão sobre as possíveis formas de melhorar o que fora proposto ao longo desta dissertação e sobre a sua contribuição para pesquisas futuras.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nessa seção, serão apresentados e discutidos os pressupostos teóricos básicos necessários para a compreensão do trabalho. Desse modo, serão desenvolvidos os principais conceitos que norteiam as pesquisas em microreologia de materiais macios, tais como os de tensão, deformação, módulo de Young, entre outros, bem como os modelos teóricos mais comuns utilizados para descrever as propriedades elásticas e viscoelásticas de tais materiais. Além disso, baseado no trabalho de Eaton e West (2010), far-se-á uma breve introdução sobre o que é o microscópio de força atômica, quais os principais elementos que o constituem, seu princípio de funcionamento e as formas em que ele pode ser operado, dando-se destaque ao modo de contato nos experimentos de nanoindentação.

2.1 Microscópio de força atômica

O microscópio de força atômica (AFM) consiste em um aparato experimental muito versátil e preciso que permite não apenas a visualização de imagens com grande poder resolução e acurácia. Ele transcende às técnicas de microscopia convencionais ao possibilitar o mapeamento topográfico de diferentes tipos de amostras em nível tridimensional através de medidas diretas dos vários desníveis de altura presentes nas superfícies de amostras; atuar diretamente em processos de medida e determinação de parâmetros mecânicos de amostras biológicas ou não; e não necessitar de condições extremas de operação, como alto vácuo, essencial para o funcionamento de microscópios eletrônicos de varredura, por exemplo (EATON; WEST, 2010). As subseções a seguir oferecerão uma visão global, embora não muito aprofundada, sobre o AFM.

2.1.1 Principais características

A principal característica que distingue o AFM de outros microscópios consiste no tipo de sonda por ele utilizada. Ao invés de luz ou elétrons, o AFM faz uso de uma fina ponta que é sensível à presença da superfície da amostra em estudo e assim pode traçar sua topografia ou realizar outros tipos de operações que serão detalhadas posteriormente. Além disso, o processo de imageamento com o AFM não é baseado nos conceitos de foco ou iluminação, embora alguns AFM's possuam, integrado a si, microscópios ópticos que permitem a visualização da amostra e a posição da sonda do AFM relativa a aquela.

Existem dois principais tipos de configuração de AFM. Uma delas é chamada

de *sample-scanning*, visto que a sonda do AFM permanece fixada enquanto um controle do movimento do palco, realizado por piezoelétricos, é responsável pelo escaneamento da amostra. A segunda configuração é conhecida como *probe-scanning*, pois nela o palco permanece fixado, enquanto a sonda move-se sobre a amostra. Esta segunda configuração é vantajosa por ser capaz de escanear amostras grandes, visto que a sonda possui maior liberdade para se deslocar. A primeira configuração mencionada, por sua vez, apresenta a limitação de que o movimento do palco depende diretamente da dimensão da amostra e de sua massa (EATON; WEST, 2010).

2.1.2 Componentes e princípio de funcionamento

Como pode ser visto na Figura 4, um microscópio de força atômica (AFM) moderno pode ser dividido em três principais componentes, conforme segue logo abaixo:

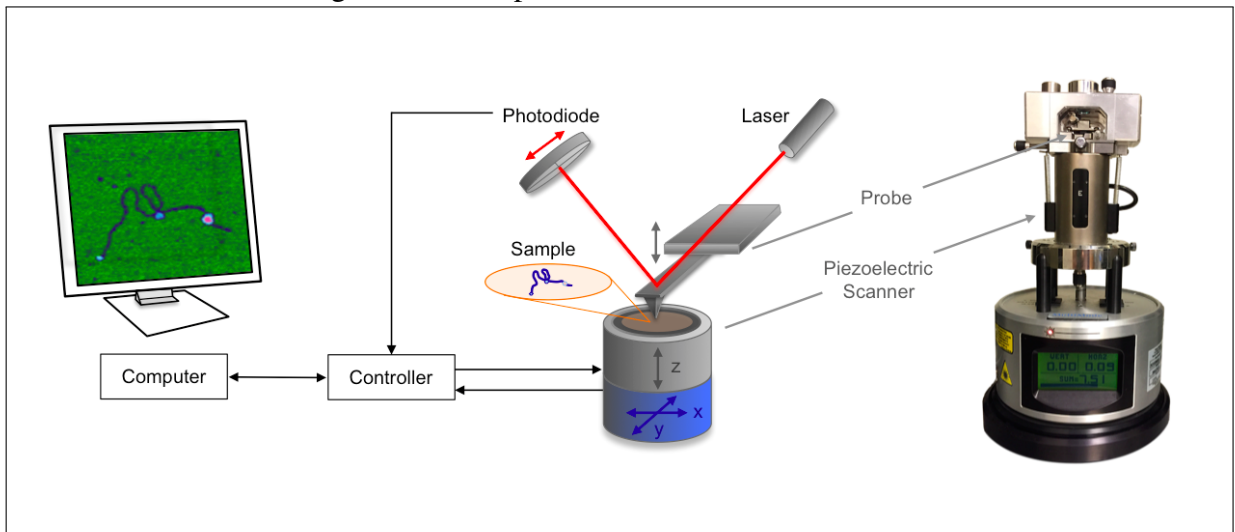
- *Palco*: possui um scanner capaz de mover a sonda/amostra nas direções x , y e z através de transdutores piezoelétricos; um fixador de amostra; um sensor de força, composto pelo cantilever, o laser e o fotodiodo; e elementos de controle. Geralmente é acoplado a um microscópio óptico que permite a visualização da ponta e da amostra. Possui isolamento que minimiza o efeito de vibrações mecânicas e ruídos.
- *Controle eletrônico*: realiza a interface entre o palco do microscópio e o computador. Fornece os sinais necessários para o funcionamento dos mecanismos motorizados e é capaz de converter os sinais oriundos do AFM em dados digitais que são usados na análise de amostras.
- *Computador*: contém o software utilizado pelo experimentador para controlar os dados de entrada, bem como coordenar o processo de scanning. Também possui programas que permitem o processamento e a análise dos dados obtidos.

Por trás destes componentes, existem três conceitos fundamentais que devem ser discutidos a fim de que se possa compreender como o AFM opera e que são responsáveis pelo funcionamento dos componentes listados acima. São eles: transdutores piezoelétricos, transdutores de força e controle de feedback.

2.1.2.1 Transdutores Piezoelétricos

De acordo com Eaton e West (2010), transdutores piezoelétricos são dispositivos que convertem uma dada diferença de potencial elétrico em movimento mecânico, conforme

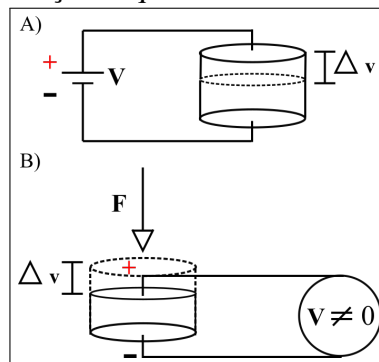
Figura 4 – Componentes de um AFM Moderno



Fonte: <<http://www.physics.emory.edu/faculty/finzi/research/afm.html>>. Acesso em: 18 de nov. de 2019.

pode ser visualizado na Figura 5 (A), que representa um piezoelétrico sofrendo uma expansão Δv em seu volume devido à uma tensão V nele aplicada. Entretanto, os mesmos podem também executar a função inversa caso sofram uma variação em suas dimensões, a exemplo do que está representado na Figura 5 (B), que mostra um piezoelétrico que tem seu volume diminuído de Δv devido à ação de uma força externa F . Como consequência disso, é gerada uma tensão V registrada por um voltímetro posto em paralelo com o dispositivo.

Figura 5 – Representação esquemática de um transdutor piezoelétrico



Fonte: elaborada pelo autor.

Os piezoelétricos usados em um AFM são responsáveis por mover a sonda ou o palco nas direções x , y e z e são geralmente constituídos de cerâmica sintética, embora tais tipos de materiais possam ser encontrados na natureza na forma de cristais, polímeros ou matéria amorfa.

Quando um material piezoelétrico é percorrido por uma corrente elétrica, ele modifica suas dimensões e tal processo depende da intensidade da diferença de potencial elétrico aplicada

em suas extremidades, da natureza do material e de sua geometria (EATON; WEST, 2010). Ainda conforme Eaton e West (2010), o coeficiente de expansão de um piezoelétrico típico é da ordem de $0,1nm$ por *volt*. Desse modo, ao ser implementado em um AFM, um rigoroso controle dessa propriedade de expansão é realizado pelo aparato a fim de permitir indentações nanométricas de grande precisão. Um piezoelétrico ideal apresenta um comportamento linear entre a voltagem nele aplicada e sua correspondente expansão. Na prática, porém,

(...) todos os materiais piezoelétricos mostram comportamento não linear. Eles mostram dois comportamentos primários não ideais, histerese e fluência. Histerese, derivado da palavra história, faz com que a cerâmica tenda a manter a forma que ela tinha antes. Quando a cerâmica se expande, há uma não-linearidade negativa em sua forma, e quando o material se contrai, há uma não-linearidade positiva em sua forma. (EATON; WEST, 2010).

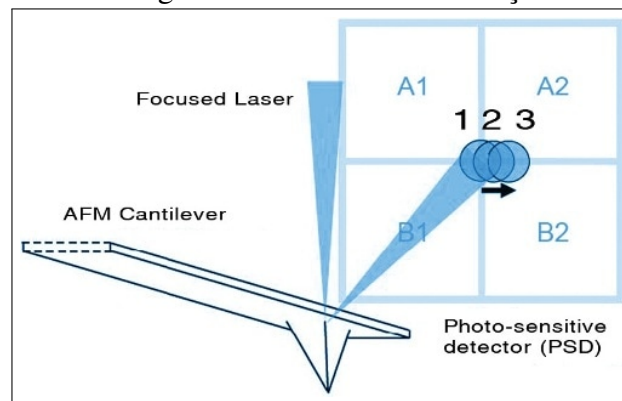
O comportamento de fluência se manifesta, por exemplo, quando o material piezoelétrico sofre um impulso repentino, tal como uma voltagem. Nesse caso, o material não apenas sofre uma expansão devido à diferença no potencial a ele submetida, como tende continuar a se expandir mesmo depois que o impulso antes dado permanece constante. Nesse sentido, o AFM precisa ser calibrado para corrigir esses comportamentos e isso é geralmente feito ao se realizar medidas sobre uma amostra bem conhecida e que exhibe padrões capazes de identificar as não linearidades mencionadas. Ao realizar-se escaneamentos posteriores ao processo de calibragem, o software de controle do AFM modifica dinamicamente as voltagens aplicadas nos piezoelétricos a fim de reduzir o comportamento não linear apresentado outrora.

2.1.2.2 *Transdutores de Força*

Um transdutor de força é responsável por medir a intensidade da força trocada entre a sonda do AFM e a superfície da amostra; esse dispositivo deve ser tal que, na medida em que a força medida aumenta, a voltagem gerada pelo transdutor também deve crescer, mantendo uma relação monotônica entre a força e a voltagem. Sua sensibilidade deve ser capaz de medir forças de até 10 piconewtons. No caso de um AFM convencional, o transdutor de força consiste de um cantilever em cuja extremidade final encontra-se fixado a ponta usada como sonda; sobre o cantilever, há uma região espelhada acima da qual um laser, devidamente calibrado, é refletido a fim de atingir um fotosensor. Este, por sua vez, é formado por quatro quadrantes sobre o qual projeta-se o spot do laser, conforme pode ser visualizado na Figura 6.

Dessa forma, quando o cantilever sofre uma deflexão devido à força de contato entre a ponta do AFM e a amostra, o spot do laser desloca-se. A variação do sinal do laser é recebida

Figura 6 – Transdutor de Força



Fonte: <[https://www.azonano.com/images/Article_Images/ImageForArticle_4250\(6\).jpg](https://www.azonano.com/images/Article_Images/ImageForArticle_4250(6).jpg)> Acesso em: 19 de nov. de 2019.

pelo fotosensor e assim convertida em uma diferença de potencial elétrica que chega até o sistema de processamento de dados do AFM; este último calcula a intensidade da força de contato. É importante destacar que a distância entre cantilever e o fotosensor é grande o suficiente para que qualquer deflexão sofrida pelo cantilever corresponda a um deslocamento do spot do laser que pode ser medido com grande precisão, o que garante que o AFM seja sensível o suficiente para detectar, inclusive, ruídos e pequenas oscilações. Felizmente, os AFM convencionais são isolados mecanicamente de tais influências externas.

2.1.2.3 Controle de Feedback

Ao escanear a superfície de uma amostra com um AFM, o controle de feedback é responsável por manter constante a força trocada entre a ponta do AFM e a superfície da amostra. Dessa forma, quando a ponta depara-se com uma elevação, por exemplo, a força exercida pela amostra sobre a ponta aumenta. Esse sinal é coletado pelo controle de feedback que, por sua vez, emite uma resposta para que o piezoelétrico responsável pelo movimento vertical da sonda eleve a altura relativa desta à superfície da amostra a fim de manter a deflexão do cantilever e, correspondentemente, da força, constante. Processo análogo acontece quando a sonda depara-se com uma depressão.

2.2 Elasticidade Linear

A elasticidade linear é um comportamento físico ideal no qual os corpos que seguem esse regime, ao sofrerem a ação de uma força externa, deformam-se instantaneamente, sendo tal deformação diretamente proporcional à intensidade da força aplicada. Uma vez que a aplicação

da força for cessada, os materiais puramente elásticos retornam ao seu estado original. Desse modo, pode-se dizer que a elasticidade linear é um fenômeno reversível e que depende somente da deformação sofrida pelos corpos, e não da taxa com que tal parâmetro varia no tempo. A lei física que rege esse comportamento é a Lei de Hooke, e esta e os conceitos básicos que a fundamentam serão discutidos e desenvolvidos de maneira sucinta nessa seção.

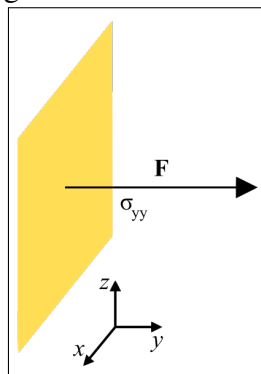
2.2.1 Conceito de Tensão

De maneira geral, ao considerar-se um elemento de força dF atuando sobre uma superfície de área dA , define-se a tensão σ exercido sobre essa superfície como sendo igual a

$$\sigma = \frac{dF}{dA}. \quad (2.1)$$

Segundo Fischer-Cripps (FISCHER-CRIPPS, 2007), existem dois tipos principais de tensão: normal e de cisalhamento. Uma tensão normal corresponde àquela cuja linha de ação da força aplicada sobre uma dada superfície é perpendicular ao plano que contém a referida superfície. Desse modo, tal tipo de tensão pode ser uma compressão ou uma tração. A Figura 7 representa uma tensão normal σ_{yy} aplicada por uma força \mathbf{F} ao longo da direção y sobre uma área paralela ao plano xz .

Figura 7 – Tensão Normal



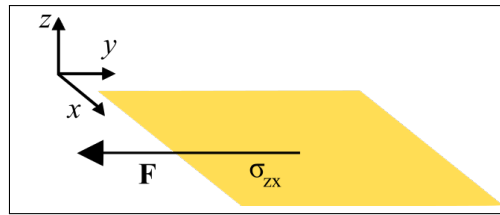
Fonte: elaborada pelo autor.

Uma tensão de cisalhamento, por sua vez, corresponde aquela cuja linha de ação de força é paralela ao plano que contém a área sobre a qual atua a força. Isso pode ser verificado a partir da Figura 8, onde, enquanto a força se encontra na direção $-y$, a área sobre a qual ela atua é paralela ao plano xy . Desse modo, a tensão resultante é de cisalhamento e denotada por σ_{zy} .

A fim de caracterizar por completo o estado de tensão de um determinado ponto de um corpo, deve-se levar em consideração todos os tipos de tensão que atuam sobre um elemento

de volume infinitesimal situado no entorno daquele ponto.

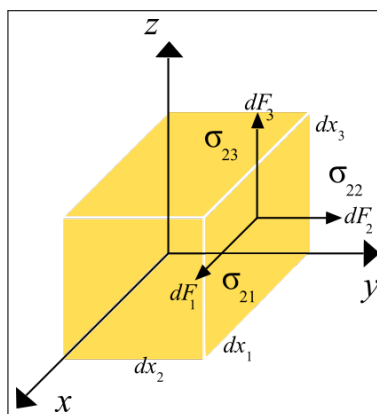
Figura 8 – Tensão de Cisalhamento



Fonte: elaborada pelo autor.

Por conveniência, considerar-se-á que tal elemento de volume é cúbico e que este se encontra na origem de um sistema de coordenadas cartesianas cujos vetores da base serão denotados por e_k e os respectivos eixos por x_k , onde $k = 1$ equivale à direção x , $k = 2$ à direção y e $k = 3$ à direção z , conforme esquematizado na Figura 9. Nessa notação, o volume do cubo vale $d^3x = dx_1 dx_2 dx_3$. Desse modo, tem-se que, para a o elemento de área $dx_1 dx_3$, por exemplo, podem atuar três forças: uma na direção x , denotada por dF_1 , que é paralela a esse elemento de área, uma segunda força na direção y , denotada por dF_2 , perpendicular ao elemento de área, e a última na direção z , denotada por dF_3 , também paralela ao plano que contém o elemento de área. As correspondentes tensões devido a essas forças serão representadas por σ_{ij} , onde o índice i indica a direção da reta normal à área sob consideração, e j indica a direção da linha de ação da força. Portanto, as tensões sobre o elemento de área $dx_1 dx_3$ são:

Figura 9 – Tensões normal e de cisalhamento atuando sobre uma das faces de um cubo



Fonte: elaborada pelo autor.

$$\sigma_{21} = \frac{dF_1}{dx_1 dx_3}, \quad \sigma_{22} = \frac{dF_2}{dx_1 dx_3}, \quad \sigma_{23} = \frac{dF_3}{dx_1 dx_3}.$$

Por conseguinte, pode-se observar que, no caso em que $i = j$, a componente de tensão sob consideração corresponde a uma tensão normal, e quando $i \neq j$, a componente de

tensão é de cisalhamento. Logo, as tensões σ_{21} e σ_{23} são de cisalhamento, visto que as linhas de ação de suas forças são paralelas à área sob consideração, enquanto a tensão σ_{22} é normal, visto que a linha de ação de sua força é perpendicular à área em questão. Um raciocínio análogo pode ser empregado para descrever as tensões que atuam sobre os elementos de área dx_1dx_2 e dx_2dx_3 . (FISCHER-CRIPPS, 2007). Tem-se, assim, que o estado de tensão fica bem representado por um tensor de tensão constituído por nove componentes, sendo três delas normais e as outras seis de cisalhamento, cuja representação é dada por

$$\sigma = \begin{bmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{bmatrix}. \quad (2.2)$$

Como pode-se perceber, os elementos da diagonal do tensor de tensão são as componentes de tensão normal. O sinal das componentes de tensão é arbitrário, mas algumas convenções tem sido utilizadas na literatura, dependendo da área de estudo. No presente trabalho, adotar-se-á a mesma convenção proposta por Fischer-Cripps (FISCHER-CRIPPS, 2007), na qual as tensões normais que equivalem a trações são consideradas positivas, enquanto as que são compressões possuem sinal negativo. Por sua vez, as tensões de cisalhamento terão sinal positivo caso a direção da linha de ação de sua força e da direção da normal que aponta para fora da área sob consideração possuam sinais iguais.

Considerando a situação de equilíbrio do corpo, tem-se que o torque resultante devido a ação de cada força deve ser nulo. Portanto, nesse caso, a seguinte configuração para as componentes de cisalhamento deve ser obedecida: $\sigma_{12} = \sigma_{21}$, $\sigma_{13} = \sigma_{31}$ e $\sigma_{23} = \sigma_{32}$. Isso significa que, no estado de equilíbrio, somente seis componentes de tensão são importantes, as três componentes de tensão normal, também chamadas de componentes principais, e as três componentes de tensão de cisalhamento (WARD; SWEENEY, 2004).

2.2.2 Deformação

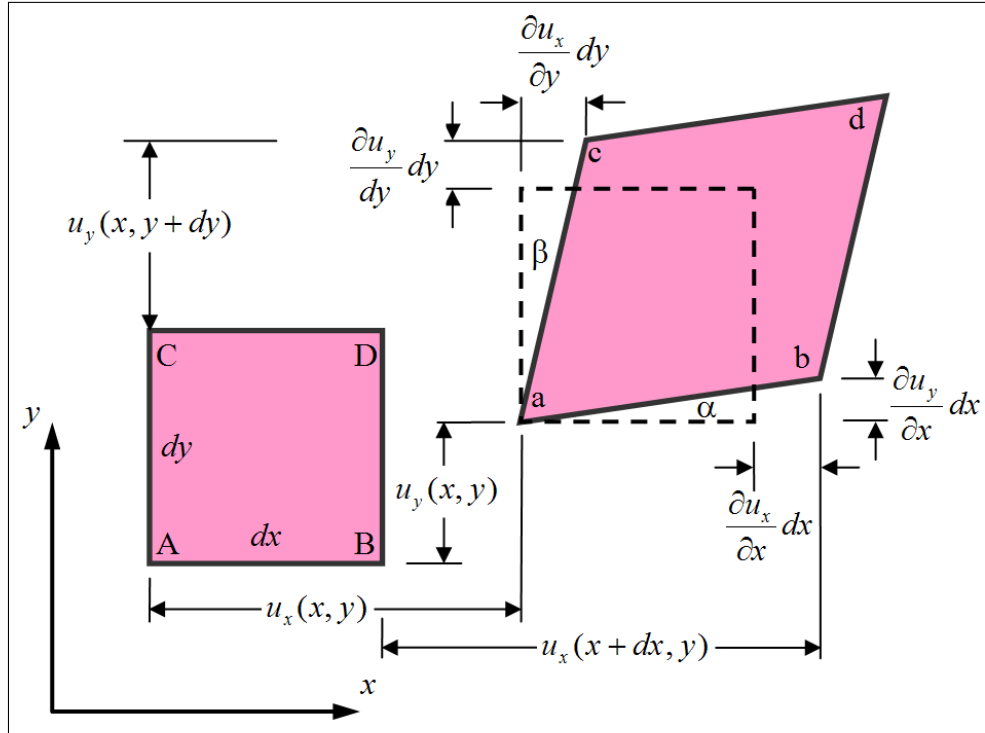
O parâmetro deformação corresponde a uma medida do grau de deformação relativa que uma espécie sofre devido à ação de tensões. Matematicamente, pode ser definida como:

$$\epsilon'_{ij} = \frac{\partial u_i}{\partial x_j}. \quad (2.3)$$

Para se compreender o significado físico dessa equação, deve-se aqui destacar qual a ideia de deformação que se está usando. Conforme Ward e Sweeney (2004), uma deformação

corresponde ao deslocamento que um dado ponto sofre em relação a outro ponto situado em sua vizinhança, conforme pode ser visto na Figura 10.

Figura 10 – Deformação sofrida por um ponto



Fonte: <[https://en.wikipedia.org/wiki/Deformation_\(physics\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Deformation_(physics))>. Acesso em: 10 fev. 2021.

Na Figura 10, tem-se que, inicialmente, um material retangular com faces de comprimento infinitesimal dx e dy encontra-se em repouso em relação a um sistema de coordenadas cartesianas xy . Em seguida, este corpo é deformado, passando a adquirir o formato de um losango. A partir dessa figura, observa-se que $u_x(x,y)$ representa o deslocamento do ponto A na direção x após o retângulo ser deformado, enquanto $u_x(x+dx,y)$ representa o deslocamento do ponto B na direção x após ocorrer essa deformação. De maneira análoga, $u_y(x,y)$ e $u_y(x,y+dy)$ representam os deslocamentos dos pontos A e C na direção y após a deformação do retângulo. É importante salientar que, nessa abordagem, \mathbf{u} denota o campo de deslocamento referente a todos os pontos do material considerado, isto é, representa os deslocamentos sofridos por esses pontos relativos ao sistema de coordenadas especificado quando o material mudou de um estado inicial onde sua geometria era retangular para outro estado no qual sua nova geometria passou a ser a de um losango. Nesse exemplo, (x,y) , $(x+dx,y)$ e $(x,y+dy)$ são as coordenadas associadas aos pontos A, B e C, respectivamente. Portanto, a partir da definição de deformação mostrada na Equação (2.3), tem-se que $\frac{\partial u_x}{\partial x}$, $\frac{\partial u_y}{\partial y}$, $\frac{\partial u_x}{\partial y}$ e $\frac{\partial u_y}{\partial x}$ são deformações.

Ainda de acordo com Ward e Sweeney (2004), na elasticidade linear, que por sua

vez é válida para materiais isotrópicos, existem dois tipos de deformação: deformação normal ou extensional e deformação de cisalhamento. O primeiro tipo caracteriza deformações nas dimensões da espécie na mesma direção da tensão aplicada. O segundo tipo caracteriza a mudança na forma da espécie, que pode ser entendida como uma distorção em seu volume. As componentes normais de deformação são caracterizadas pelos índices $i = j$, enquanto as componentes de cisalhamento são caracterizadas pelos índices $i \neq j$. No caso da Figura 10, $\frac{\partial u_x}{\partial x}$ e $\frac{\partial u_y}{\partial y}$ são componentes normais de deformação e $\frac{\partial u_x}{\partial y}$ e $\frac{\partial u_y}{\partial x}$ são componentes de cisalhamento.

Porém, deve-se analisar que, quando acontece uma rotação, verifica-se que as componentes de cisalhamento assumem a forma: $\frac{\partial u_i}{\partial x_j} = -\frac{\partial u_j}{\partial x_i}$. Isso indicaria que, após a rotação, os pontos do corpo estariam deformados e, conseqüentemente, armazenariam energia potencial, o que de fato não acontece (FISCHER-CRIPPS, 2007). A fim de evitar tal tipo de ambigüidade, define-se as componentes do tensor de deformação como:

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} \left[\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right]. \quad (2.4)$$

Dessa forma, quando acontecer uma rotação, a deformação de cisalhamento resultante será nula, em concordância com o comportamento físico do material. Analogamente ao que foi feito na descrição da tensão, pode-se representar o estado de deformação de um ponto através de um tensor de deformação, cuja representação é:

$$\varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} & \varepsilon_{12} & \varepsilon_{13} \\ \varepsilon_{21} & \varepsilon_{22} & \varepsilon_{23} \\ \varepsilon_{31} & \varepsilon_{32} & \varepsilon_{33} \end{bmatrix}. \quad (2.5)$$

Também é conveniente representar a deformação de cisalhamento através do ângulo de deformação ou ângulo de cisalhamento, simbolizado por γ_{ij} . Em coordenadas cartesianas, tal parâmetro representa a variação do ângulo compreendido entre dois planos inicialmente ortogonais após sofrerem uma deformação de cisalhamento. Para uma compreensão mais detalhada sobre esse parâmetro, recomenda-se consultar Fischer-Cripps (2007). Matematicamente, o ângulo de cisalhamento equivale a duas vezes o parâmetro ε_{ij} , isto é:

$$\gamma_{ij} = \left[\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right]. \quad (2.6)$$

Para fins práticos, porém, utilizar-se-á, doravante, a Equação (2.6), ao invés da Equação (2.4), como a definição matemática de deformação.

2.2.3 Lei de Hooke generalizada

A lei de Hooke é a relação fundamental concernente à elasticidade linear dos corpos, visto que estabelece uma conexão entre as noções de tensão e deformação. Em sua forma geral, afirma que as componentes de tensão podem ser expressas em termos de uma combinação linear das componentes de deformação, isto é:

$$\sigma_{kl} = \sum_{i=1}^3 \sum_{\substack{j \geq i \\ j=1}}^3 a_{ij}^{kl} \epsilon_{ij}, \quad (2.7)$$

onde a_{ij}^{kl} são constantes.

De maneira semelhante, as componentes de deformação podem ser escritas como combinações lineares das componentes de tensão:

$$\epsilon_{kl} = \sum_{i=1}^3 \sum_{\substack{j \geq i \\ j=1}}^3 b_{ij}^{kl} \sigma_{ij}, \quad (2.8)$$

onde b_{ij}^{kl} são constantes.

Essas relações são válidas não apenas para materiais isotrópicos, como também anisotrópicos. Para o caso de sólidos isotrópicos, considera-se que não existe acoplamento entre componentes de tensão normal e componentes de deformação de cisalhamento, nem entre componentes de tensão de cisalhamento e componentes de deformação normal (WARD; SWEENEY, 2004). Nesse caso, as relações acima convertem-se em:

$$\sigma_{kk} = \sum_{i=1}^3 a_i^{kk} \epsilon_{ii}, \quad (2.9)$$

$$\sigma_{kl} = a_{kl} \epsilon_{kl}, \quad (2.10)$$

$$\epsilon_{kk} = \sum_{i=1}^3 b_i^{kk} \sigma_{ii} \quad (2.11)$$

e

$$\epsilon_{kl} = b_{kl} \sigma_{kl}. \quad (2.12)$$

Conforme Ward e Sweeney (2004), a fim de escrever a lei de Hooke para materiais isotrópicos, é necessário escrever equações lineares que estabeleçam uma relação linear entre

uma tensão aplicada ε_{kk} e a sua correspondente deformação σ_{kk} , o que possibilita definir dois parâmetros importantes na descrição do comportamento elástico dos materiais: o módulo de Young, simbolizado por E e também chamado de módulo de elasticidade; e a razão de Poisson, simbolizada por ν . Tem-se que uma tensão aplicada na direção de σ_{kk} produzirá uma deformação na direção de k dada por

$$\varepsilon_{kk} = \frac{\sigma_{kk}}{E} \quad (2.13)$$

e deformações nas demais direções definidas por

$$\varepsilon_{ll} = \frac{-\nu}{E} \sigma_{kk}, \quad (2.14)$$

onde $l \neq k$.

Por simplicidade, supondo, por exemplo, que $k = 1$ e que $l = 2$, tem-se que uma tensão aplicada na direção do eixo x produz uma deformação tanto nessa direção, quanto nas direções y e z . A Equação (2.13) é uma maneira alternativa de enunciar a Lei de Hooke, cuja forma mais conhecida equivale a $f = kx$, onde f equivale à força aplicada a uma mola de constante elástica k quando esta sofre uma pequena deformação x . A Equação (2.14), por sua vez, corresponde à definição matemática da razão de Poisson. Pode-se constatar que, quando σ_{kk} , escrito em termos da lei de Hooke, for substituído nessa expressão e a razão de Poisson ν for isolada, obtém-se:

$$\nu = -\frac{\varepsilon_{ll}}{\varepsilon_{kk}}. \quad (2.15)$$

Assim sendo, uma contração na direção de ε_{ll} acarretará em um alongamento de ε_{kk} . Além disso, pode-se verificar que ν é positivo quando ε_{ll} for negativo, o que simboliza uma contração na direção perpendicular à da tensão aplicada (WARD; SWEENEY, 2004). De acordo com Fischer-Cripps (2007, p. 13), "A razão de Poisson ν é a razão da contração lateral pela extensão longitudinal (...). Contrações laterais, perpendiculares à uma tensão longitudinal aplicada, surgem como uma tentativa do material em manter seu volume constante".

Por sua vez, as deformações de cisalhamento relacionam-se com as tensões de cisalhamento através da equação

$$\varepsilon_{kl} = \frac{\sigma_{kl}}{\bar{G}}, \quad (2.16)$$

onde o parâmetro \bar{G} é chamado de módulo de cisalhamento.

Em conformidade com o que é discutido por Timoshenko e Goodier (1951, p. 7), uma vez que o elemento de volume em questão se encontra sob a ação de tensões normais σ_{11} , σ_{22} e σ_{33} , e estes encontram-se uniformemente distribuídos sobre as faces do mesmo, pode-se determinar as deformações resultantes em cada uma dessas direções através do Princípio de superposição. Desse modo, adicionar-se-á a contribuição de cada tensão normal para uma dada deformação em uma direção específica, o que corresponde a fazer:

$$\varepsilon_{11} = \frac{1}{E}[\sigma_{11} - \nu(\sigma_{22} + \sigma_{33})], \quad (2.17)$$

$$\varepsilon_{22} = \frac{1}{E}[\sigma_{22} - \nu(\sigma_{11} + \sigma_{33})] \quad (2.18)$$

e

$$\varepsilon_{33} = \frac{1}{E}[\sigma_{33} - \nu(\sigma_{11} + \sigma_{22})]. \quad (2.19)$$

Essas são as relações de tensão-deformação fundamentais da elasticidade linear. Por fim, pode-se mostrar que a conexão entre o módulo de Young E e o módulo de cisalhamento \bar{G} é estabelecida pela seguinte equação:

$$\bar{G} = \frac{E}{2(1 + \nu)}. \quad (2.20)$$

2.3 Viscoelasticidade

A viscoelasticidade corresponde a um comportamento intermediário entre o puramente elástico e o viscoso, no qual não apenas será levado em conta a relação entre tensão e deformação, mas também a maneira como uma deformação varia no tempo (WARD; SWEENEY, 2004). Enquanto o primeiro é regido pela lei de Hooke, que por sua vez foi discutida na seção anterior, o último é descrito em termos da lei de Newton para fluidos viscosos. Desse modo, far-se-á uma breve introdução sobre a lei de Newton para a viscosidade linear e, em seguida, será introduzido o conceito de viscoelasticidade linear, que corresponde a uma superposição entre os dois comportamentos supracitados. Assim, os principais conceitos que permeiam o regime viscoelástico serão introduzidos, tais como os de fluência e de relaxação de tensão, bem como será feita uma discussão sobre os modelos viscoelásticos mais comuns utilizados para caracterizar materiais que exibem tais propriedades.

2.3.1 Viscoelasticidade Linear

A lei de Newton para a viscosidade linear estabelece que a relação entre uma tensão de cisalhamento e o correspondente gradiente de velocidade apresentado por um fluido são diretamente proporcionais, sendo tal constante de proporcionalidade, denotada por η , chamada de viscosidade do fluido (Ward e Sweeney, 2004, p.53) . Considerando-se o movimento do fluido limitado ao plano xy , tem-se que

$$\sigma_{12} = \eta \left[\frac{\partial V_1}{\partial x_2} + \frac{\partial V_2}{\partial x_1} \right], \quad (2.21)$$

onde σ_{12} corresponde a tensão de cisalhamento, V_1 a velocidade do fluido na direção x e V_2 a velocidade do fluido na direção y . Lembrando que ambas as velocidades podem ser expressas em termos dos deslocamentos do fluido, isto é, que

$$V_1 = \frac{\partial u_1}{\partial t} \quad (2.22)$$

e

$$V_2 = \frac{\partial u_2}{\partial t}, \quad (2.23)$$

substituindo estas duas equações na Equação (2.21), encontra-se que

$$\begin{aligned} \sigma_{12} &= \eta \left[\frac{\partial}{\partial x_2} \left(\frac{\partial u_1}{\partial t} \right) + \frac{\partial}{\partial x_1} \left(\frac{\partial u_2}{\partial t} \right) \right] \\ &= \eta \frac{\partial}{\partial t} \left[\frac{\partial u_1}{\partial x_2} + \frac{\partial u_2}{\partial x_1} \right] \\ &= \eta \frac{\partial \varepsilon_{12}}{\partial t}, \end{aligned} \quad (2.24)$$

onde utilizou-se a Equação (2.4), com $i = 1$ e $j = 2$.

O resultado acima é muito importante, visto que estabelece que a tensão de cisalhamento aplicado sobre um fluido newtoniano é diretamente proporcional à taxa de variação temporal da correspondente deformação de cisalhamento (WARD; SWEENEY, 2004). Essa lei corresponde para viscosidade o que a lei de Hooke representa para a elasticidade linear. Conforme já mencionado, a viscoelasticidade caracteriza um tipo de comportamento situado entre o elástico e o viscoso e a maneira mais simples de expressá-la corresponde a uma superposição linear de ambos os comportamentos. Isso significa que a equação constitutiva para o que se chama de viscoelasticidade linear deve ter a seguinte forma

$$\sigma = E\varepsilon + \eta \frac{\partial \varepsilon}{\partial t}. \quad (2.25)$$

2.3.2 Fluência

Quando um material viscoelástico é submetido a uma tensão constante, sua deformação resultante não mantém-se fixa, mas varia com o tempo, de modo que tal comportamento é chamado de fluência (FERRY, 1980). Na viscoelasticidade linear, verifica-se que a deformação global devido à ação da tensão constante corresponde à soma de três formas distintas: uma devido à resposta elástica instantânea do material que se segue imediatamente após a aplicação da tensão, denotada aqui por ε_1 ; uma segunda correspondente a uma deformação elástica que continua a acontecer mesmo após a tensão manter-se constante e que é dependente do tempo, sendo chamada de deformação defasada e denotada por ε_2 ; e uma terceira devido à resposta viscosa do material, denotada por ε_3 . Porém, a intensidade dessas deformações é diretamente proporcional a tensão aplicada. Portanto, a deformação resultante, ε_r é dada por:

$$\varepsilon_r = \varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3. \quad (2.26)$$

Define-se, então, a função de fluência ou compliância, $J(t)$, que corresponde a

$$J(t) = \frac{\varepsilon_r}{\sigma} = \frac{\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3}{\sigma} = J_1 + J_2 + J_3, \quad (2.27)$$

onde σ denota a tensão aplicada sobre a amostra em estudo e J_1 , J_2 e J_3 correspondem às contribuições para a função de fluência devido a ε_1 , ε_2 e ε_3 , respectivamente. É importante observar que a função de fluência é independente da magnitude da tensão aplicada, uma vez que a deformação resultante é proporcional a esta.

Conforme Ward e Sweeney (2004, p.56), alguns materiais, tais como redes interligadas de cadeias poliméricas, não exibem resultados referentes a J_3 . Os mesmos autores salientam que a função $J(t)$ depende também da temperatura do material. Ao plotar-se tal função em uma escala logarítmica, verifica-se três regiões importantes para caracterizar o comportamento do material como vítreo, elástico ou viscoelástico. Para tempos curtos, $J(t)$ apresenta-se aproximadamente constante e com valor que caracteriza materiais vítreos. Para tempos muito longos, verifica-se que $J(t)$ apresenta um valor alto, típico de materiais semelhantes a borracha, e que seu valor mantém-se aproximadamente constante. Entre ambos os comportamentos, $J(t)$ varia com o tempo, o que caracteriza o comportamento viscoelástico. No meio dessa porção do gráfico, delimita-se um tempo característico, simbolizado por τ' . Portanto, o que se verifica experimentalmente é que materiais semelhantes ao vidro possuem um valor de τ' elevado, de modo que, à temperatura ambiente, $J(t)$ encontra-se na região típica de materiais vítreos. Porém,

caso sua temperatura seja elevada, o rearranjo molecular devido ao aumento da agitação térmica das mesmas faz com que o valor de τ' diminua e, conseqüentemente, o comportamento resultante da amostra passe a ser semelhante ao de materiais elásticos. De maneira análoga, materiais elásticos, à temperatura ambiente, possuem valor de τ' pequeno, de modo que $J(t)$ apresenta-se na região que caracteriza materiais semelhantes a borracha. Porém, caso sua temperatura seja diminuída consideravelmente, o parâmetro τ' aumenta, o que desloca o comportamento da amostra para aquele típico de materiais vítreos.

2.3.3 *Relaxação de Tensão*

Ao manter-se uma deformação constante sobre um material viscoelástico, a tensão necessária para tal assume um valor instantâneo proporcional à magnitude da deformação, porém, com o transcorrer do tempo, seu valor diminui até atingir um valor finito. Esse fenômeno é chamado de relaxação de tensão. Semelhante ao fenômeno de fluência, define-se um tempo τ característico, chamado de tempo de relaxação, que permite analisar o comportamento de uma amostra ao longo do tempo que ela permanece deformada. Além disso, define-se uma função $G(t)$, chamada módulo de relaxação, denotada por

$$G(t) = \frac{\sigma(t)}{\varepsilon}, \quad (2.28)$$

onde $\sigma(t)$ corresponde ao histórico da tensão aplicada, e ε a deformação aplicada à amostra.

2.3.4 *Princípio de Superposição de Boltzmann*

O princípio de superposição de Boltzmann possibilita a análise de respostas viscoelásticas devido a processos que se realizam em múltiplas etapas, ou, de maneira geral, para os casos em que a deformação e a tensão variam com o tempo. Sua aplicação baseia-se no princípio físico da causalidade, segundo o qual um efeito não pode preceder uma causa. Além disso, sua aplicação possibilita a obtenção de equações constitutivas para modelos viscoelásticos, como será mostrado em breve (LAKES, 2018).

Dentre as diferentes formas em que se é possível obter o Princípio de Superposição de Boltzmann, o presente trabalho ilustra duas destas: através de funções passo que se superpõem para gerar um processo formado de múltiplas etapas de tensão e deformação; e através de funções pulsos que se somam e assim formam perfis de tensão e deformação que variam com o tempo, em que se adotará a abordagem desenvolvida por Lakes (2018).

2.3.4.1 Processos formados por múltiplas etapas

Nesse caso, se uma amostra for submetida, ao longo do tempo, à aplicação de diferentes incrementos de tensão, o princípio de superposição de Boltzmann garante que a deformação resultante do sistema consiste na adição das deformações causadas por cada tensão aplicada individualmente, levando-se em conta o histórico de indentação da amostra. Tal processo caracteriza a fluência devido a aplicação de múltiplas tensões em momentos diferentes. Em termos matemáticos, tem-se que, se $\Delta\sigma_i$ consiste em um elemento de tensão aplicado sobre uma amostra em um dado instante de tempo τ_i , como a compliância é a mesma para uma dada amostra, então a contribuição em sua deformação, simbolizada por $\varepsilon_i(t)$, devido a $\Delta\sigma_i$ é dada por

$$\varepsilon_i(t) = \Delta\sigma_i J(t - \tau_i), \quad (2.29)$$

onde usou-se a Equação (2.27). Desse modo, o Princípio de superposição de Boltzmann garante que a deformação total sofrida pela amostra ao longo da aplicação de n tensões é dada por:

$$\varepsilon(t) = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i(t) \quad (2.30)$$

$$= \sum_{i=1}^n \Delta\sigma_i J(t - \tau_i). \quad (2.31)$$

Tomando-se o limite quando n tende ao infinito, de forma que cada incremento $\Delta\sigma_i$ torna-se infinitesimal, a Equação (2.31) transforma-se em uma integral:

$$\varepsilon(t) = \int_0^t J(t - \tau) d\sigma(\tau) \quad (2.32)$$

$$= \int_0^t J(t - \tau) \frac{d\sigma(\tau)}{d\tau} d\tau. \quad (2.33)$$

Poder-se-ia integrar a equação acima de $-\infty$ a t , pois todo o histórico de indentação deve ser incluído. Porém, para fins práticos, pode-se considerar que somente o histórico recente de indentação contribui para o fenômeno de fluência, em conformidade com o que é discutido por Ward e Sweeney (2004, p.60).

De forma análoga, pode-se considerar um processo no qual uma amostra é restrita a manter-se deformada de diferentes elementos de deformação $\Delta\varepsilon_i$ em instantes de tempo τ_i ao longo do tempo t . Nessa situação, haverá relaxação de tensão que se realiza em múltiplas etapas, cada uma caracterizada por $\Delta\varepsilon_i$, de modo que o princípio de superposição de Boltzmann permite

inferir que:

$$\sigma(t) = \sum_{i=1}^n G(t - \tau_i) \Delta \varepsilon_i, \quad (2.34)$$

onde usou-se a Equação (2.28) para escrever $\sigma(t)$. Tomando o limite quando n tende ao infinito, de forma que cada elemento de deformação $\Delta \varepsilon_i$ torna-se infinitesimal, a Equação (2.34) transforma-se na seguinte integral:

$$\sigma(t) = \int_0^t G(t - \tau) d\varepsilon(\tau) \quad (2.35)$$

$$= \int_0^t G(t - \tau) \frac{d\varepsilon(\tau)}{d\tau} d\tau. \quad (2.36)$$

É importante salientar que $d\sigma(\tau) = \frac{d\sigma(\tau)}{d\tau} d\tau$ e $d\varepsilon(\tau) = \frac{d\varepsilon(\tau)}{d\tau} d\tau$ quando as funções σ e ε são consideradas contínuas e, portanto, deriváveis.

2.3.4.2 Processos compostos por superposição de pulsos

Em um teste de relaxação de tensão, um pulso de deformação pode ser escrito através da superposição de dois passos de deformação com o auxílio da função de Heaviside \mathcal{H} conforme segue (LAKES, 2018):

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 [\mathcal{H}(t) - \mathcal{H}(t - \tau)], \quad (2.37)$$

onde

$$\mathcal{H}(t) = \begin{cases} 0, & \text{se } t < 0 \\ 1/2, & \text{se } t = 0 \\ 1, & \text{se } t > 0 \end{cases}$$

e τ corresponde a um instante de tempo genérico. Portanto, de acordo com o Princípio de Superposição de Boltzmann, a tensão resultante é uma composição das tensões advindas de cada passo de deformação isoladamente em seu respectivo instante de tempo:

$$\sigma = \varepsilon_0 [G(t) - G(t - \tau)]. \quad (2.38)$$

Pode-se, assim, considerar uma função genérica $\varepsilon(t)$ que se inicia em $t = 0$ com $\varepsilon(0) = 0$ e que varia com o tempo até atingir um valor finito diferente de 0 em um instante final t . Considerando que essa função é formada por uma superposição de pulsos escritos de forma

análoga ao da Equação (2.37), então, um dado pulso de deformação $\varepsilon(t)$ que ocorre entre os instantes de tempo $t - \tau$ e $t - \tau + \Delta\tau$, onde τ é a variável independente, pode ser representado da seguinte maneira:

$$\varepsilon(t) = \varepsilon(\tau)[\mathcal{H}(t - \tau) - \mathcal{H}(t - \tau + \Delta\tau)]. \quad (2.39)$$

Pelo Princípio de Superposição de Boltzmann, o correspondente incremento de tensão devido à esse pulso vale:

$$\Delta\sigma = \varepsilon(\tau)[G(t - \tau) - G(t - \tau + \Delta\tau)]. \quad (2.40)$$

No limite em que o incremento $\Delta\tau$ é muito pequeno, pode-se recorrer à definição de derivada da função $G(t - \tau)$ com respeito à variável τ , isto é

$$\frac{dG(t - \tau)}{d\tau} = \lim_{\Delta\tau \rightarrow 0} \frac{G(t - \tau + \Delta\tau) - G(t - \tau)}{\Delta\tau} \quad (2.41)$$

e substituir o termo $G(t - \tau) - G(t - \tau + \Delta\tau)$ da Equação (2.40) por $-\frac{dG(t - \tau)}{d\tau}d\tau$ e $\Delta\sigma$ por $d\sigma$, o que resulta em:

$$d\sigma = -\varepsilon(\tau)\frac{dG(t - \tau)}{d\tau}d\tau. \quad (2.42)$$

Por fim, a Equação (2.42) pode ser integrada com τ variando de 0 a t para obter-se $\sigma(t)$. Porém, deve-se levar em conta que a deformação $\varepsilon(t)$ não é zero no tempo final t , de modo que a sua contribuição não é nula para a deformação total conforme era o caso do pulso isolado representado pela equação (2.37). Antes, seu valor é finito em t , conforme já mencionando no início dessa discussão. Por conseguinte, sua contribuição para a deformação total deve ser igual, pelo Princípio da Superposição de Boltzmann, a $\varepsilon(t)G(0)$. Levando isso em conta, o resultado da integração fica sendo:

$$\sigma(t) = -\int_0^t \varepsilon(\tau)\frac{dG(t - \tau)}{d\tau}d\tau + \varepsilon(t)G(0). \quad (2.43)$$

A equação acima pode ser simplificada utilizando a técnica de integração por partes:

$$\begin{aligned} \sigma(t) &= -\int_0^t \varepsilon(\tau)\frac{dG(t - \tau)}{d\tau}d\tau + \varepsilon(t)G(0) \\ &= -\varepsilon(\tau)G(t - \tau)\Big|_0^t + \int_0^t G(t - \tau)\frac{d\varepsilon(\tau)}{d\tau}d\tau + \varepsilon(t)G(0) \\ &= -\varepsilon(t)G(0) + \varepsilon(t)G(0) + \varepsilon(0)G(t) + \int_0^t G(t - \tau)\frac{d\varepsilon(\tau)}{d\tau}d\tau \\ &= \int_0^t G(t - \tau)\frac{d\varepsilon(\tau)}{d\tau}d\tau. \end{aligned} \quad (2.44)$$

A equação acima é idêntica à Equação (2.36) e é conhecida como integral de superposição de Boltzmann. Para se obter a equação de Boltzmann análoga à (2.33), basta repetir o procedimento anterior com σ substituído por ε e $G(t - \tau)$ por $J(t - \tau)$, o que resulta em:

$$\varepsilon(t) = \int_0^t J(t - \tau) \frac{d\sigma(\tau)}{d\tau} d\tau \quad (2.45)$$

A partir das Equações (2.44) e (2.45), pode-se extrair uma relação entre a função de fluência e o módulo de relaxação através da aplicação da transformada de Laplace, do teorema da convolução e da propriedade da transformada de Laplace da derivada de uma função. Fazendo isso, tem-se que σ , no espaço de Laplace, vale:

$$\begin{aligned} \sigma(s) &= \mathcal{L} \left(\int_0^t G(t - \tau) \frac{d\varepsilon(\tau)}{d\tau} d\tau \right) \\ &= G(s)[s\varepsilon(s) - \varepsilon(0)] \\ &= sG(s)\varepsilon(s). \end{aligned} \quad (2.46)$$

Por sua vez, ε , no espaço de Laplace, vale:

$$\begin{aligned} \varepsilon(s) &= \mathcal{L} \left(\int_0^t J(t - \tau) \frac{d\sigma(\tau)}{d\tau} d\tau \right) \\ &= J(s)[s\sigma(s) - \sigma(0)] \\ &= sJ(s)\sigma(s). \end{aligned} \quad (2.47)$$

Comparando-se as equações (2.46) e (2.47), obtém-se:

$$G(s)J(s) = \frac{1}{s^2} \quad (2.48)$$

Finalmente, ao tomar-se a transformada de Laplace inversa da equação acima em conjunto com a aplicação do teorema da convolução, encontra-se:

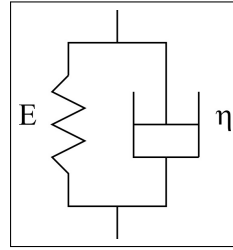
$$\int_0^t G(t - \tau)J(\tau)d\tau = \int_0^t J(t - \tau)G(\tau)d\tau = t. \quad (2.49)$$

2.3.5 Modelo de Kelvin-Voigt

O modelo de Kelvin-Voigt é representado por uma associação em paralelo de uma mola ideal e um amortecedor newtoniano, conforme mostrado na Figura 11, onde E representa o módulo de Young da mola e η o módulo de viscosidade do amortecedor.

Devido a esse arranjo, uma tensão aplicado ao sistema, denotado aqui por σ , não causa uma deformação imediata na mola, mas é dependente do tempo de aplicação da tensão

Figura 11 – Modelo de Kelvin



Fonte: elaborada pelo autor.

devido a presença do elemento viscoso. Nesse caso, a tensão total divide-se em duas partes: uma, σ_1 , que atua na mola, e outra, σ_2 , que atua no amortecedor. As deformações resultantes em cada elemento são, respectivamente, ε_1' e ε_2' . Porém, deve-se notar que a deformação sofrida pelo sistema deve ser a mesma, a qual será denotada apenas por ε' . Essas informações podem ser reescritas matematicamente como

$$\sigma = \sigma_1 + \sigma_2 \quad (2.50)$$

e

$$\varepsilon_1' = \varepsilon_2' = \varepsilon'. \quad (2.51)$$

Fazendo $\sigma_1 = E\varepsilon_1'$, $\sigma_2 = \eta \frac{d\varepsilon_2'}{dt'}$ e utilizando-se a Equação (2.51), a Equação (2.50) pode ser reescrita da seguinte maneira:

$$\sigma = E\varepsilon' + \eta \frac{d\varepsilon'}{dt'}. \quad (2.52)$$

A expressão (2.52) corresponde à equação constitutiva do modelo de Kelvin-Voigt e é análoga à Equação (2.25). Para resolvê-la, pode-se dividir ambos os membros por E e rearranjar os termos, de modo que

$$\frac{\eta}{E} \frac{d\varepsilon'}{dt'} = (\sigma/E) - \varepsilon'. \quad (2.53)$$

Utilizando-se o método de separação de variáveis, pode-se fazer:

$$\frac{E}{\eta} dt' = \frac{d\varepsilon'}{(\sigma/E) - \varepsilon'}. \quad (2.54)$$

Por fim, integrando-se o lado esquerdo da equação acima de $t' = 0$ até $t' = t$ e o lado direito de $\varepsilon' = 0$ até $\varepsilon' = \varepsilon$, encontra-se:

$$\frac{E}{\eta} t = \ln \left[\frac{(\sigma/E)}{(\sigma/E) - \varepsilon} \right]. \quad (2.55)$$

Pode-se, então, aplicar a função exponencial em ambos os membros da (2.55) e em seguida isolar ε . Ao fazer-se isso, obtém-se

$$\varepsilon = (\sigma/E)[1 - e^{-t/\tau'}], \quad (2.56)$$

onde definiu-se o parâmetro η/E como sendo o tempo de retardação da deformação sofrida pelo sistema, denotado por τ' . Quando $t = \tau'$, observa-se que a deformação resultante do sistema corresponde a aproximadamente 63% do seu valor final, sendo este último a deformação elástica sofrida pela mola caso esta estivesse, sozinha, submetida à tensão total σ , conforme estabelecido pela lei de Hooke. Além disso, tal modelo não está apto a descrever testes de relaxação de força, pois, caso se mantivesse a deformação constante, o elemento viscoso apresentaria tensão nula. Assim, a equação constitutiva resultante corresponderia à lei de Hooke, o que está em desacordo com resultados experimentais para o caso da viscoelasticidade linear.

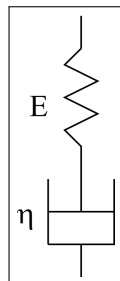
2.3.6 Modelo de Maxwell

O modelo de Maxwell é representado por uma associação em série de uma mola hookeana com um amortecedor newtoniano, conforme disposto na Figura 12, onde E denota o módulo de Young e η o módulo de viscosidade. Nesse arranjo, quando uma tensão σ' atua no sistema, seu valor é o mesmo tanto para o elemento elástico quanto para o elemento viscoso, o que pode ser sintetizado pela seguinte igualdade:

$$\sigma' = \sigma_1' = \sigma_2', \quad (2.57)$$

onde σ_1' corresponde à tensão que atua na mola e σ_2' à tensão que atua no amortecedor.

Figura 12 – Modelo de Maxwell



Fonte: elaborada pelo autor.

Por sua vez, a deformação resultante ε' do sistema corresponde à superposição das deformações individuais sofridas pelos elementos elástico e viscoso devido a ação de σ' , isto é:

$$\varepsilon' = \varepsilon_1' + \varepsilon_2' \quad (2.58)$$

As leis de Hooke e de Newton asseguram que:

$$\sigma_1' = E\varepsilon_1' \quad (2.59)$$

$$\sigma_2' = \eta \frac{d\varepsilon_2'}{dt'}. \quad (2.60)$$

A fim de se determinar uma equação constitutiva para o modelo de Maxwell, deve-se derivar a Equação (2.58) em relação a t' , isto é,

$$\frac{d\varepsilon'}{dt'} = \frac{d\varepsilon_1'}{dt'} + \frac{d\varepsilon_2'}{dt'}, \quad (2.61)$$

e, em seguida, derivar a Equação (2.59) também em relação a t' , obtendo-se:

$$\frac{d\sigma_1'}{dt'} = E \frac{d\varepsilon_1'}{dt'}. \quad (2.62)$$

Por fim, basta isolar $\frac{d\varepsilon_1'}{dt'}$ na Equação (2.62) e $\frac{d\varepsilon_2'}{dt'}$ na Equação (2.60) e substituí-las dentro da (2.61), o que resulta em

$$\frac{d\varepsilon'}{dt'} = \frac{1}{E} \frac{d\sigma'}{dt'} + \frac{\sigma'}{\eta}, \quad (2.63)$$

onde fez-se uso da igualdade (2.57). Conforme discutido por Ward e Sweeney (2004, p. 66), o modelo de Maxwell mostra-se útil em testes de relaxação de tensão. Nessa situação, tem-se que a deformação resultante ε' é mantida constante, o que implica em $\frac{d\varepsilon'}{dt'} = 0$. Fazendo isso, a (2.63) pode ser facilmente resolvida aplicado o método de separação de variáveis:

$$\frac{1}{E} \frac{d\sigma'}{dt'} + \frac{\sigma'}{\eta} = 0 \quad (2.64)$$

$$\frac{1}{E} \frac{d\sigma'}{dt'} = -\frac{\sigma'}{\eta} \quad (2.65)$$

$$\frac{d\sigma'}{\sigma'} = -\frac{E}{\eta} dt'. \quad (2.66)$$

Após isso, pode-se integrar o lado direito da (2.66) em relação t' , com t' variando de 0 a t , e o lado esquerdo com respeito a σ' , com σ' variando de σ_0 em $t' = 0$ até σ em $t' = t$. Fazendo isso, encontra-se o seguinte resultado:

$$\ln \left[\frac{\sigma}{\sigma_0} \right] = -\frac{E}{\eta} t. \quad (2.67)$$

Desse modo, isolando-se a tensão σ , tem-se

$$\sigma = \sigma_0 e^{-\frac{E}{\eta} t}. \quad (2.68)$$

Deve-se observar, mais uma vez, que o parâmetro η/E tem unidade de tempo, e corresponde a um tempo característico de relaxação. Assim, é conveniente reescrever a Equação (2.68) em função de $\tau = \eta/E$:

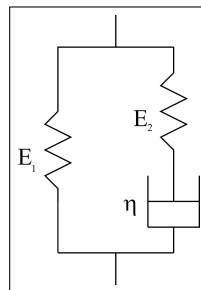
$$\sigma = \sigma_0 e^{-\frac{t}{\tau}}. \quad (2.69)$$

A partir da Equação (2.69), pode-se observar uma inadequação desse modelo quando o parâmetro t é muito longo, cujo resultado implicará em $\sigma = 0$. Porém, é sabido que, em geral, materiais viscoelásticos não se comportam dessa maneira (WARD; SWEENEY, 2004). Além disso, seu comportamento devido a um teste de relaxação de tensão não fica bem descrito com a presença de apenas uma função exponencial, conforme discutido por Ward e Sweeney (2004, p. 67). No caso de testes de fluência, nos quais a tensão é mantida constante, a Equação (2.63) recai na lei de Newton para a viscosidade, indicando que o material se comportará como um fluido viscoso que escorre, o que também não está de acordo com o que é esperado de um material viscoelástico (WARD; SWEENEY, 2004).

2.3.7 Modelo de Sólido Linear Padrão

O modelo de sólido linear padrão é constituído por uma associação em paralelo de uma mola e um elemento de Maxwell, conforme representado na Figura 13, onde o subscrito 1 caracteriza os parâmetros referentes à mola solidária associada em paralelo com o elemento de Maxwell, enquanto os subscritos 2 e 3 caracterizam a mola e o amortecedor newtoniano que compõem o elemento de Maxwell, respectivamente.

Figura 13 – Modelo de Sólido Linear Padrão



Fonte: elaborada pelo autor.

A fim de se obter uma equação constitutiva para o modelo de Sólido Linear Padrão, deve-se analisar o arranjo esquematizado na Figura 13 sob duas perspectivas. Do lado direito da figura, tem-se o elemento de Maxwell e a partir dele pode-se inferir as seguintes relações:

$$\left\{ \begin{array}{l} \varepsilon = \varepsilon_2 + \varepsilon_3 \\ \sigma_3 = \sigma_2 \\ \sigma_2 = E_2 \varepsilon_2 \\ \sigma_3 = \eta \frac{d\varepsilon_3}{dt} \end{array} \right. \quad \begin{array}{l} (2.70) \\ (2.71) \\ (2.72) \\ (2.73) \end{array}$$

Após derivar a Equação (2.70) com respeito a t , realizar as substituições $\frac{d\varepsilon_2}{dt} = \frac{1}{E_2} \frac{d\sigma_2}{dt}$, $\frac{d\varepsilon_3}{dt} = \frac{\sigma_3}{\eta}$ e, por fim, multiplicar ambos os membros da equação resultante por E_2 , obtém-se:

$$\begin{aligned} E_2 \frac{d\varepsilon}{dt} &= \frac{d\sigma_2}{dt} + E_2 \frac{\sigma_3}{\eta} \\ &= \frac{d\sigma_2}{dt} + \frac{\sigma_2}{\tau}, \end{aligned} \quad (2.74)$$

onde usou-se a igualdade (2.71) e substituiu-se $E_2/\eta = 1/\tau$.

Por sua vez, o lado esquerdo da Figura 13 permite inferir que:

$$\sigma_1 = E_1 \varepsilon. \quad (2.75)$$

Como a mola de rigidez E_1 e o elemento de Maxwell estão em paralelo, a tensão total aplicada ao sistema vale:

$$\begin{aligned} \sigma &= \sigma_1 + \sigma_2 \\ &= E_1 \varepsilon + E_2 (\varepsilon - \varepsilon_3) \\ &= \varepsilon (E_1 + E_2) - E_2 \varepsilon_3. \end{aligned} \quad (2.76)$$

A equação acima pode ser derivada com respeito a t , de modo que o termo $\frac{d\varepsilon_3}{dt}$ pode ser substituído por $\frac{\sigma_2}{\eta}$ ao combinar-se os resultados das Equações (2.71) e (2.73). Fazendo isso, obtém-se:

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma}{dt} &= (E_1 + E_2) \frac{d\varepsilon}{dt} - E_2 \frac{\sigma_2}{\eta} \\ &= (E_1 + E_2) \frac{d\varepsilon}{dt} - \frac{\sigma_2}{\tau}. \end{aligned} \quad (2.77)$$

Por fim, adicionando, em ambos os membros da Equação (2.77), o termo $\frac{\sigma_1}{\tau}$ a fim de que a mesma possa ficar expressa apenas em termos de σ e ε e agrupando os termos semelhantes, encontra-se

$$(E_1 + E_2) \frac{d\varepsilon}{dt} + \frac{E_1}{\tau} \varepsilon = \frac{d\sigma}{dt} + \frac{\sigma}{\tau}, \quad (2.78)$$

que corresponde à equação diferencial que descreve o Modelo de Sólido Linear Padrão (LAKES, 2018). A partir dela, é possível extrair o módulo de relaxação do sistema e também a função de fluência. A fim de se determinar o módulo de relaxação $G(t)$, deve-se aplicar a transformada de Laplace em ambos os membros da Equação (2.78) e utilizar como condições iniciais os valores: $\varepsilon(0) = 0$ e $\sigma(0) = 0$. Fazendo isso, encontra-se:

$$(E_1 + E_2)s\varepsilon(s) + \frac{E_1}{\tau}\varepsilon(s) = s\sigma(s) + \frac{1}{\tau}\sigma(s) \Rightarrow \sigma(s) = \frac{\varepsilon(s)[s(E_1 + E_2) + E_1/\tau]}{s + \frac{1}{\tau}}. \quad (2.79)$$

Utilizando-se o resultado da Equação (2.67) para substituir o valor de $\sigma(s)$ na equação acima, obtém-se:

$$sG(s)\varepsilon(s) = \frac{\varepsilon(s)[s(E_1 + E_2) + E_1/\tau]}{s + \frac{1}{\tau}} \Rightarrow G(s) = \frac{E_1}{s} + \frac{E_2}{s + \frac{1}{\tau}}. \quad (2.80)$$

As transformadas de Laplace inversas de cada termo da equação acima são do tipo $f(t) = t^k e^{-at}$ (BOAS, 2006), com $a = 0$ e $k = 0$ no caso do primeiro termo da direita e $a = 1/\tau$ e $k = 0$ no segundo termo da direita. Portanto, o módulo de relaxação para o Modelo de Sólido Linear Padrão tem a seguinte forma:

$$G(t) = E_1 + E_2 e^{-t/\tau}. \quad (2.81)$$

Considerações sobre a dissipação de energia durante o processo de relaxação de tensão estabelecem restrições à forma assumida pelo módulo de relaxação $G(t)$. Dentre estes vínculos, têm-se que $G(t)$ deve ser uma grandeza positiva, isto é, $G(t) \geq 0$, e que, além disso, $\frac{dG(t)}{dt} \leq 0$ a fim de que o princípio termodinâmico que afirma que a taxa de dissipação de energia deve ser não-negativa seja satisfeito, conforme discutido por Lake (2018). Diante disso, pode-se observar que a função de relaxação expressa na Equação (2.81) satisfaz a estas prerrogativas, como devia ser.

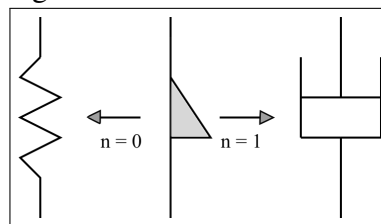
De maneira geral, o modelo de Sólido Linear Padrão é apto a descrever os testes de fluência e de relaxação de tensão para um conjunto limitado de amostras, consistindo em uma razoável aproximação para o comportamento viscoelástico de polímeros (WARD; SWEENEY, 2004) que exibem apenas um tempo de relaxação característico. Entretanto, para uma descrição mais adequada da fluência e da relaxação de tensão de materiais reais, deve-se considerar modelos constituídos de múltiplos elementos. No caso da descrição de fluência, associa-se vários elementos de Kelvin-Voigt em série, de modo que obtém-se assim um conjunto de tempos de retardação. Para o caso da descrição de relaxação de tensão, associa-se diversos elementos

de Maxwell em paralelo, de modo a obter-se um conjunto de tempos de relaxação, conforme discutido por Ward e Sweeny (2004, p.69). Todos os modelos apresentados e discutidos até agora descrevem o comportamento de materiais que exibem módulo de relaxação exponencial, isto é, $G(t) \propto e^{-t/\tau}$; porém, muitos materiais viscoelásticos, tais como células, filmes finos e hidrogéis, por exemplo, apresentam módulo de relaxação em forma de lei de potência, isto é, $G(t) \propto t^{-\alpha}$. (SOUSA *et al.*, 2017).

2.3.8 Modelo Fracionário

A fim de descrever corretamente os materiais que exibem módulo de relaxação em termos de uma lei de potência, deve-se substituir os elementos que compõem os modelos viscoelásticos clássicos por elementos fracionários, cuja descrição matemática encontra-se no domínio do Cálculo Fracionário (FC) (SCHIESSEL *et al.*, 1995). A figura a seguir mostra uma representação esquemática de um elemento fracionário, também chamado de elemento de Scott-Blair, interpolando entre os domínios elástico e viscoso.

Figura 14 – Modelo Fracionário



Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com a Figura 14, quando $n = 0$, o elemento fracionário exerce o papel de uma mola hookeana, e quando $n = 1$, o mesmo exerce o papel de um amortecedor newtoniano (SOUSA *et al.*, 2017). De fato, a equação constitutiva de tensão-deformação para um único elemento fracionário assume a seguinte forma:

$$\sigma(t) = E\tau^{-n} \frac{d^n \epsilon(t)}{dt^n}, \quad (2.82)$$

onde $0 \leq n \leq 1$ consiste em parâmetro característico de cada material, $\frac{d^n}{dt^n}$ corresponde ao operador derivada fracionária, E representa a rigidez do material, considerada constante, e τ uma constante temporal. Pode-se perceber que, em $n = 0$, a Equação (2.82) assume a forma da lei de Hooke usual para a elasticidade, enquanto que em $n = 1$, ela assume a forma da lei de Newton para a viscosidade.

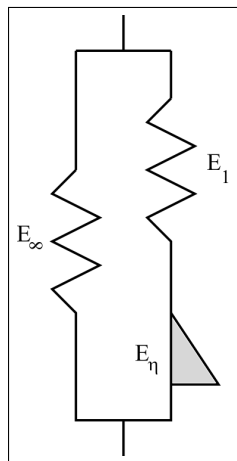
Ainda considerando o elemento fracionário representado na Figura 14, pode-se mostrar, vide Schiessel *et al* (1995) para uma descrição mais detalhada sobre o assunto, que a função de relaxação a ele associada assume, naturalmente, a seguinte expressão:

$$G(t) = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m}, \quad (2.83)$$

onde E representa a rigidez do material, m o expoente da lei de potência, $\Gamma(1-m)$ a função gamma completa, e τ o tempo de relaxação do material.

Associações em série e em paralelo de múltiplos elementos de Scott-Blair dão origem aos análogos fracionários dos modelos viscoelásticos clássicos. O modelo de Sólido Linear Padrão Fracionário, por exemplo, é obtido através da associação em paralelo de uma mola hookeana com um equivalente fracionário do modelo de Maxwell, conforme disposto na Figura 15.

Figura 15 – Modelo de Sólido Linear Padrão Fracionário



Fonte: elaborada pelo autor.

Na Figura 15, tem-se que os parâmetros E_1 , E_∞ e E_η representam, respectivamente, os módulos de elasticidade da mola hookeana, o módulo de elasticidade quando o sistema se encontra relaxado, isto é, após um longo tempo t , e o módulo de elasticidade associado ao elemento fracionário (SOUSA *et al.*, 2017). A equação constitutiva associada a ele, embora semelhante à do modelo de Sólido Linear Padrão usual, é escrita em termos dos operadores de derivada fracionária e sua demonstração não faz parte do escopo do presente trabalho. A partir dessa equação, é possível utilizar o método da transformada de Laplace e suas propriedades a fim de determinar a característica de lei de potência de sua função de relaxação associada (RODRIGUES; OLIVEIRA, 2015). Uma introdução didática à respeito do Cálculo Fracionário

e sua aplicação na modelagem de sistemas viscoelásticos se encontra, por exemplo, no trabalho de Rodrigues e Oliveira (2015).

Além de gerar funções de relaxação em termos de lei de potência simples, existem arranjos de elementos fracionários cujas funções de relaxação assumem a forma de uma dupla lei de potência. Um exemplo simples consiste na associação de dois elementos de Scott-Blair em paralelo, também chamado de Modelo de Kelvin-Voigt Fracionário (SCHIESSEL *et al.*, 1995).

A correspondente função de relaxação desse modelo consiste, basicamente, na adição de dois termos com a forma da Equação 2.83, porém com expoentes de lei de potência distintos, denotados por m e n , conforme explicitado na equação a seguir:

$$G(t) = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} + \frac{E}{\Gamma(1-n)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-n}. \quad (2.84)$$

Este tipo de relaxação pode ser encontrado através de análises reológicas dinâmicas de células e polímeros, por exemplo, e é marcado por uma transição no comportamento de tais materiais de um regime com características predominantemente elásticas para um mais próximo do viscoso. Isso ocorre quando uma frequência característica de *crossover*, típica de cada material, é atingida durante o processo de deformação das amostras em estudo (SOUSA *et al.*, 2020; SCHIESSEL *et al.*, 1995).

2.4 Teoria de Contato de Hertz

Considera-se que o primeiro estudo que buscou compreender a natureza das tensões originadas do contato entre dois corpos elásticos foi feito por Heinrich Hertz (1857-1894) em 1881 (FISCHER-CRIPPS, 2007). Hertz propôs um modelo teórico baseado em um conjunto de prerrogativas, a saber: as deformações devem ser pequenas e estarem dentro do regime elástico; as interações de contato se realizam na ausência de atrito e de qualquer força adesiva; as superfícies dos corpos devem ser elásticas e consideradas semi-espacos infinitos, o que implica dizer que a área de contato é muito menor do que os raios das superfícies de cada corpo; as superfícies de cada corpo são contínuas e suaves (ZHU, 2012).

Utilizando essas condições iniciais, Hertz desenvolveu um modelo capaz de descrever as tensões superficiais devido à interação de contato entre duas esferas. Posteriormente, Ian N. Sneddon (1919-2000) realizou uma modificação no modelo de Hertz a fim de que sua aplicação fosse ampliada para indentadores cônicos (RADMACHER, 2007). Com efeito, existem muitos outros modelos a partir dos quais pode-se extrair o módulo de Young de uma amostra por

meio de curvas de forças de AFM, tais como os modelos de Johnson-Kendall-Roberts (JKR), que considera forças de adesão dentro da área de contato entre a amostra e o indentador, o de Derjaguin-Muller-Toporov (DMT), que considera tais forças na região exterior ao contato, e o modelo de Oliver-Pharr (OP), que considera os efeitos de deformações plásticas mas negligencia as supracitadas forças de adesão (LI *et al.*, 2017). Entretanto, o modelo de Hertz-Sneddon consiste naquele mais amplamente utilizado para tal fim, sendo sua validade aceita para os casos em que a indentação é menor do que 10% da espessura da amostra sob análise (LI *et al.*, 2017), conforme discutido no início do Capítulo 1.

No presente trabalho, utiliza-se uma generalização do modelo de Hertz, válida para indentadores com diferentes geometrias (TING, 1966), com o intuito de descrever o comportamento viscoelástico de amostras através do método funcional descrito por Sousa *et al* (2017). Um estudo aprofundado sobre este método e sobre sua aplicação dentro do domínio da mecânica de contato pode ser visto em Ting (1966).

Desse modo, a expressão geral para a determinação da força aplicada por um indentador genérico, de acordo com o supracitado modelo, é dada por (SOUSA *et al.*, 2017):

$$F = \Gamma E^* \delta^\lambda, \quad (2.85)$$

onde Γ e λ são parâmetros que dependem da geometria do indentador, E^* corresponde ao módulo de elasticidade reduzido, cuja expressão é

$$E^* = \frac{E}{1 - \nu^2}, \quad (2.86)$$

enquanto δ corresponde à indentação da amostra, ν à sua razão de Poisson e E ao módulo de elasticidade.

A tabela a seguir contém os valores de Γ e λ para indentadores cilíndricos, cônicos e esféricos. Nesse caso, R denota o raio do cilindro ou da esfera e θ denota o ângulo de semi-abertura do cone.

Tabela 1 – Parâmetros Geométricos

Geometria	Γ	λ
Cilíndrica	$2R$	1
Esférica	$4\sqrt{R}/3$	3/2
Cônica	$2 \tan(\theta)/\pi$	2

Nesta abordagem, assumir-se-á que, diferentemente do modelo de Hertz padrão, o módulo de Young não é constante ao longo do tempo, e que não há a ressalva de que sua aplicabilidade seja restrita ao caso em que a indentação cresce monotonicamente com a aplicação de tensão durante a fase de carga; pelo contrário, sua utilidade estende-se até o início do processo de descarga (SOUSA *et al.*, 2017). Admitindo que, no domínio do tempo, $\delta(t) = \delta_0 \bar{\delta}(t)$, com δ_0 sendo o valor máximo da indentação exercida sobre a amostra e $\bar{\delta}(t)$ o histórico da indentação normalizada, substituindo esse resultado e a equação (2.86) na (2.85), encontra-se

$$F(t) = \frac{\Gamma \delta_0^\lambda}{(1 - \nu^2)} E(t) \bar{\delta}^\lambda(t). \quad (2.87)$$

A fim de se obter fórmulas matemáticas úteis para descrever curvas de força geradas por um AFM, pode-se aplicar a transformada de Laplace em ambos os membros da equação acima (SOUSA *et al.*, 2017). Desse modo, obtém-se:

$$F(t) = \frac{\Gamma \delta_0^\lambda}{(1 - \nu^2)} \mathcal{L}[E(t) \bar{\delta}^\lambda(t)]. \quad (2.88)$$

A equação acima pode ser reescrita da seguinte forma, ao se utilizar o teorema da convolução da transformada de Laplace:

$$F(t) = \frac{\Gamma \delta_0^\lambda}{(1 - \nu^2)} E(s) * \bar{\delta}^\lambda(s). \quad (2.89)$$

Por sua vez, ao aplicar-se a transformada de Laplace em equações constitutivas de modelos viscoelásticos, pode-se mostrar que elas assumem a seguinte forma geral:

$$E(s) = \frac{\sigma(s)}{\varepsilon(s)}, \quad (2.90)$$

onde $E(s)$ corresponde a uma função que contém o módulo de Young E e o parâmetro s da transformada de Laplace. No caso do modelo de Kelvin-Voigt clássico, por exemplo, ao se aplicar a transformada de Laplace na equação (2.52), obtém-se:

$$\begin{aligned} \sigma(s) &= (E + \eta s) \varepsilon(s) \\ &= E(s) \varepsilon(s), \end{aligned} \quad (2.91)$$

onde fez-se $E(s) = (E + \eta s)$.

Substituindo-se a equação (2.46) na equação (2.90), vem:

$$E(s) = sG(s). \quad (2.92)$$

Por fim, substituindo-se a equação acima na equação (2.89) e aplicando-se, novamente, o teorema da convolução em combinação com a propriedade da transformada de Laplace da derivada de uma função, chega-se ao resultado:

$$F(t) = \frac{\Gamma \delta_0^\lambda}{(1 - \nu^2)} \int_0^t G(t - t') \frac{d\bar{\delta}^\lambda}{dt'} dt'. \quad (2.93)$$

A equação (2.93) pode ser simplificada de modo a adquirir a seguinte forma:

$$\bar{F}(t) = \int_0^t G(t - t') \frac{d\bar{\delta}^\lambda}{dt'} dt', \quad (2.94)$$

onde $\bar{F}(t)$ corresponde ao histórico da força normalizada, dada por

$$\bar{F}(t) = F(t) / \left[\frac{\Gamma \delta_0^\lambda}{(1 - \nu^2)} \right]. \quad (2.95)$$

Nota-se que a equação (2.94) é análoga às equações (2.65) e (2.44) e que, por conseguinte, engloba o Princípio de Superposição de Boltzmann, visto que $\bar{F}(t)$ está relacionado à tensão $\sigma(t)$ aplicada à amostra e $\bar{\delta}(t)^\lambda$ à deformação $\varepsilon(t)$ causada ao material. Isso significa que sua aplicação é válida para diferentes situações em que a indentação varia com o tempo e nas quais adota-se um modelo viscoelástico adequado para expressar a função relaxação das amostras em estudo, como por exemplo o de Sólido Linear Padrão ou o de Lei de Potência Reológica. Com efeito, Sousa *et al* (2017) e Sousa *et al* (2020), por exemplo, utilizaram a equação (2.94) na obtenção de fórmulas matemáticas para modelar curvas de forças experimentais de AFM ao longo de diferentes etapas de nanoindentação tanto na análise de géis de poliacrilamida quanto de células, obtendo resultados em concordância com outros estudos presentes na literatura que utilizaram metodologias diferentes.

2.5 Comportamento viscoelástico no regime dinâmico

O comportamento dinâmico de materiais viscoelásticos se desencadeia quando estes são submetidos a deformações que variam de forma senoidal com tempo. Devido à dissipação energética sofrida pelos materiais em virtude de sua contraparte viscosa, há uma diferença de fase ϕ entre a tensão aplicada e a deformação sofrida que é característica do tipo de amostra em análise. Tal parâmetro também depende da frequência com que se deforma o material e pode ser identificado a partir da comparação dos gráficos de tensão e deformação versus tempo. Assim sendo, ϕ , chamado ângulo de perda, pode ser calculado para cada tipo de material, o que consiste em uma assinatura do comportamento viscoelástico do mesmo (LAKES, 2018).

A fim de se estimar uma relação para o ângulo de fase ϕ , considere que uma amostra é submetida à um perfil de carga senoidal dado por $\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t)$, onde ω corresponde à frequência angular da oscilação em radianos por segundo (rad/s) e σ_0 à deformação máxima aplicada. Nesse sentido, é esperado que a correspondente deformação seja atrasada, com relação a $\sigma(t)$, de um ângulo de fase ϕ . Assim, pode-se expressá-la como sendo $\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \sin(\omega t - \phi)$, onde pode-se reescrever a equação anterior como:

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 \sin \left[\omega \left(t - \frac{\phi}{\omega} \right) \right]. \quad (2.96)$$

Analisando-se a Equação (2.96), pode-se concluir que o parâmetro $\frac{\phi}{\omega}$ dentro do argumento da função seno tem unidade de tempo, como deveria ser, e, portanto, corresponde à própria defasagem temporal que separa a resposta da deformação à aplicação da tensão $\sigma(t)$ (LAKES, 2018). Chamar-se-á esta defasagem de Δt :

$$\Delta t = \frac{\phi}{\omega}. \quad (2.97)$$

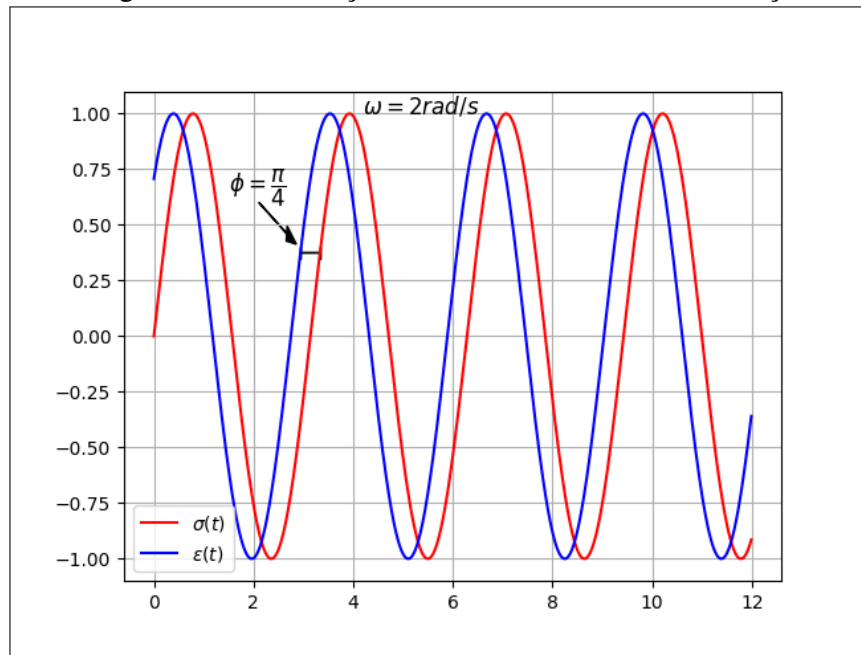
Portanto, conhecendo-se a separação temporal Δt do gráfico de deformação versus tempo com relação ao gráfico de tensão versus tempo, pode-se determinar o ângulo de fase ϕ , tendo em vista que a frequência de oscilação ω é um parâmetro de entrada conhecido. Em outras palavras,

$$\phi = \omega \Delta t. \quad (2.98)$$

A Figura 16 representa um plot dos valores normalizados de tensão, curva vermelha, e deformação, curva azul, ao longo do tempo quando a tensão oscila com frequência angular $\omega = 2rad/s$, enquanto a correspondente deformação possui uma diferença de fase $\phi = \pi/4rad$. Nessa situação, tem-se que a distância horizontal que separa um gráfico do outro corresponde ao intervalo de tempo Δt , o qual equivale a aproximadamente $0,39s$, conforme pode ser calculado usando-se a Equação (2.97).

A fim de se extrair outros parâmetros importantes concernentes ao comportamento dinâmico de um material viscoelástico, considerar-se-á, agora, que uma dada amostra sofre uma deformação periódica do tipo $\varepsilon = \varepsilon_0 \sin(\omega t)$, onde ω corresponde à frequência de oscilação em radianos por segundo (rad/s) e ε_0 à deformação máxima. Por conseguinte, a tensão resultante deve ter a forma $\sigma = \sigma_0 \sin(\omega t + \phi)$, onde, mais uma vez, ϕ representa a diferença de fase entre

Figura 16 – Diferença de fase entre tensão e deformação



Fonte: elaborada pelo autor.

$\sigma(t)$ e $\varepsilon(t)$. Analisando-se a expressão da tensão, tem-se que:

$$\begin{aligned}
 \sigma(t) &= \sigma_0 \sin(\omega t + \phi) \\
 &= \sigma_0 \cos(\phi) \sin(\omega t) + \sigma_0 \sin(\phi) \cos(\omega t) \\
 &= \frac{\varepsilon_0}{\varepsilon_0} \sigma_0 \cos(\phi) \sin(\omega t) + \frac{\varepsilon_0}{\varepsilon_0} \sigma_0 \sin(\phi) \cos(\omega t) \\
 &= \varepsilon_0 G' \sin(\omega t) + \varepsilon_0 G'' \cos(\omega t), \tag{2.99}
 \end{aligned}$$

onde fez-se

$$G' = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \cos(\phi) \tag{2.100}$$

e

$$G'' = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \sin(\phi). \tag{2.101}$$

A Equação (2.99) mostra que o termo que contém G' encontra-se em fase com a deformação $\varepsilon(t)$, enquanto o termo que contém G'' encontra-se defasado de $\pi/2$ em relação a $\varepsilon(t)$. Portanto, ao se escrever

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 e^{i\omega t} \tag{2.102}$$

e

$$\sigma(t) = \sigma_0 e^{i(\omega t + \phi)}, \tag{2.103}$$

observa-se que a função de relaxação G pode ser escrita na forma de um número complexo G^* definido como sendo

$$\begin{aligned}
 G^* &= \frac{\sigma(t)}{\varepsilon(t)} \\
 &= \frac{\sigma_0 e^{i(\omega t + \phi)}}{\varepsilon_0 e^{i\omega t}} \\
 &= \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} e^{i\phi} \\
 &= \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \cos(\phi) + i \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0} \sin(\phi) \\
 &= G' + iG''.
 \end{aligned} \tag{2.104}$$

A parte real de G^* , G' , é chamada de módulo de armazenamento, pois relaciona-se com a parcela de energia armazenada pela amostra quando esta é deformada. A parte imaginária de G^* , G'' , chama-se módulo de perda e relaciona-se com a porção de energia dissipada pela amostra. Além disso, a razão entre as partes imaginária e real de G^* fornece a tangente do ângulo de perda, ou, como é mais comumente referenciado na literatura, tangente de perda:

$$\tan(\phi) = \frac{G''}{G'}. \tag{2.105}$$

A fim de se obter equações integrais que possibilitem o cálculo dos módulos de armazenamento e de perda, recorrer-se-á ao Princípio de Superposição de Boltzmann. Para esse fim, $G(t)$ será escrito conforme segue:

$$G(t) = E_\infty + \hat{E}(t), \tag{2.106}$$

onde E_∞ é um valor finito que $G(t)$ assume quando $t \rightarrow \infty$, ou seja, corresponde ao módulo relaxado ou de equilíbrio; $\hat{E}(t)$ é uma função expressa como sendo

$$\hat{E}(t) = E_1 \hat{e}(t), \tag{2.107}$$

com $E_1 = (E_0 - E_\infty)$, sendo E_0 o valor do módulo de relaxação instantâneo e $\hat{e}(t)$ uma função normalizada e decrescente que representa o comportamento temporal de $G(t)$.

Supondo, então, que uma amostra é submetida a um perfil de deformação dado pela Equação (2.102), tem-se que a tensão é calculada com o auxílio da integral de Superposição de Boltzmann, Equação (2.44), com a ressalva de que o limite inferior deve ser tomando como $-\infty$ a fim de que a integral convirja. Isso é feito com base no argumento de que $\varepsilon(t)$ é uma onda cujo

ponto de partida não pode ser determinado (LAKES, 2018). A tensão $\sigma(t)$ é assim calculada:

$$\begin{aligned}\sigma(t) &= \int_{-\infty}^t [E_{\infty} + \hat{E}(t - \tau)] \varepsilon_0 i \omega e^{i\omega\tau} d\tau \\ &= E_{\infty} \varepsilon_0 e^{i\omega t} + \varepsilon_0 e^{i\omega t} i \omega \int_0^{\infty} \hat{E}(t') e^{-i\omega t'} dt' \\ &= \varepsilon_0 e^{i\omega t} \left[\left(E_{\infty} + \omega \int_0^{\infty} \hat{E}(t') \sin(\omega t') dt' \right) + \left(i \omega \int_0^{\infty} \hat{E}(t') \cos(\omega t') dt' \right) \right].\end{aligned}\quad (2.108)$$

Como discutido antes, sabe-se que $\sigma(t) = \varepsilon(t)G^*$. Neste caso, $\sigma(t) = \varepsilon_0 e^{i\omega t} G^*$, o que significa dizer, a partir da Equação (2.104), que

$$G'(\omega) = E_{\infty} + \omega \int_0^{\infty} \hat{E}(t') \sin(\omega t') dt' \quad (2.109)$$

e

$$G''(\omega) = \omega \int_0^{\infty} \hat{E}(t') \cos(\omega t') dt'. \quad (2.110)$$

Uma maneira mais simples de se calcular os módulos G' e G'' consiste em partir diretamente da integral de superposição de Boltzmann e fazer:

$$\sigma(t) = \varepsilon_0 e^{i\omega t} \left[\omega i \int_0^{\infty} G(t') e^{-i\omega t'} dt' \right], \quad (2.111)$$

onde o termo entre colchetes fornece diretamente o módulo complexo G^* .

Como exemplo, pode-se aplicar a equação acima para o caso do modelo de Sólido Linear Padrão, onde $G(t) = E_{\infty} + E_1 e^{-t/\tau}$. Fazendo isso e resolvendo a Equação 2.111, é fácil ver que, para o referido modelo,

$$\sigma(t) = \varepsilon_0 e^{i\omega t} \left[\left(E_{\infty} + E_1 \frac{(\omega\tau)^2}{1 + (\omega\tau)^2} \right) + i \left(E_1 \frac{\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} \right) \right], \quad (2.112)$$

onde fica claro que

$$G^* = \left(E_{\infty} + E_1 \frac{(\omega\tau)^2}{1 + (\omega\tau)^2} \right) + i \left(E_1 \frac{\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2} \right). \quad (2.113)$$

Os módulos de armazenamento e de perda valem, respectivamente:

$$G' = E_{\infty} + E_1 \frac{(\omega\tau)^2}{1 + (\omega\tau)^2} \quad (2.114)$$

e

$$G'' = E_1 \frac{\omega\tau}{1 + (\omega\tau)^2}. \quad (2.115)$$

Para o caso em que se adota o modelo de Lei de Potência Reológica simples, em que $G(t) = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m}$, a resolução da equação (2.111) resulta em:

$$\sigma(t) = \varepsilon_0 e^{i\omega t} E (i\omega\tau)^m, \quad (2.116)$$

onde o módulo de cisalhamento complexo vale

$$G^* = E (i\omega\tau)^m. \quad (2.117)$$

Por sua vez, os módulos de armazenamento e de perda valem, nesta ordem:

$$G' = \text{Re}(E (i\omega\tau)^m) \quad (2.118)$$

e

$$G'' = \text{Im}(E (i\omega\tau)^m). \quad (2.119)$$

Por fim, para o caso em que se adota o modelo de Lei de Dupla Potência Reológica, em que $G(t) = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} + \frac{E}{\Gamma(1-n)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-n}$, a aplicação da equação (2.111) gera:

$$\sigma(t) = \varepsilon_0 e^{i\omega t} E [(i\omega\tau)^m + (i\omega\tau)^n], \quad (2.120)$$

onde o módulo de cisalhamento complexo vale

$$G^* = E [(i\omega\tau)^m + (i\omega\tau)^n]. \quad (2.121)$$

Os módulos de armazenamento e de perda correspondem às partes real e imaginária da equação (2.121).

3 MODELOS TEÓRICOS PROPOSTOS

Na presente seção, serão desenvolvidos analiticamente três modelos matemáticos, cada um fundamentado em modelos viscoelásticos distintos, que descrevem curvas de força geradas a partir de nanoindentação com um AFM obtidas mediante a seguinte sucessão de etapas: aplicação de carga, quando o eixo z do AFM desce e indenta a amostra de maneira aproximadamente linear; *dwell*, quando o eixo z encerra sua descida e mantém a indentação da amostra invariável por um curto intervalo de tempo; e oscilação, quando o eixo z , a partir de um movimento periódico com amplitude pequena o suficiente para enquadrá-lo no regime de pequenas oscilações, indenta a amostra dinamicamente.

A Figura 17 (a) ilustra o procedimento de nanoindentação de uma amostra macia por uma ponta de AFM e destaca os principais parâmetros associados a este processo, a saber: a posição do cantilever, denotada por $z(t)$; a deflexão do cantilever, representada por $d(t)$; e a indentação da amostra, simbolizada por $\delta(t)$. Estes parâmetros estão relacionados entre si através da equação:

$$\delta(t) = [z(t) - z(0)] - [d(t) - d(0)], \quad (3.1)$$

onde $z(0)$ e $d(0)$ denotam a posição da ponta do AFM e a deflexão do cantilever no momento em que se estabelece o contato entre a ponta do AFM e a superfície da amostra.

Por sua vez, as Figuras 17 (b), (c) e (d) representam, respectivamente, os comportamentos de $z(t)$, $d(t)$ e $\delta(t)$ ao longo das etapas de aplicação de carga (curvas em azul), *dwell* (curvas em vermelho) e oscilação (curvas em laranja). As setas verdes registram o ponto de contato entre a ponta do AFM e a superfície da amostra, enquanto os parâmetros τ_l , τ_d e τ_o correspondem, nesta ordem, à duração dos estágios de aplicação de carga, *dwell* e oscilação.

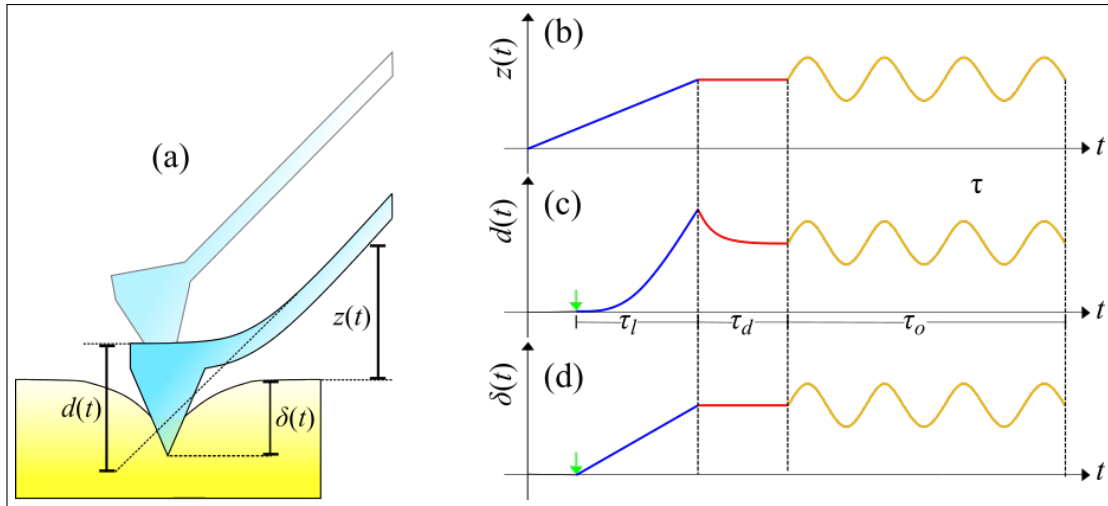
É importante destacar que os parâmetros experimentais $z(t)$ e $d(t)$ devem ser convertidos em curvas de $F(t)$ e de $\delta(t)$ através da equação (3.1) e da equação:

$$F(t) = k_c(d(t) - d(0)), \quad (3.2)$$

onde k_c corresponde à constante de mola do cantilever.

O primeiro modelo a ser desenvolvido neste capítulo possui função de relaxação escrita em termos do modelo de Sólido Linear Padrão (SLS), sendo, por isso, limitado a descrever materiais que relaxam dentro de uma única escala temporal. Apesar de as propriedades reológicas de muitos materiais não serem adequadamente descritas em termos de modelos que admitem

Figura 17 – Esquemática do processo de indentação de uma amostra macia por uma ponta de AFM e comportamento do deslocamento $z(t)$ do piezo, da deflexão $d(t)$ do cantilever e da profundidade de indentação $\delta(t)$ da amostra ao longo das fases de carga, dwell e oscilação



Fonte: elaborada pelo autor.

relaxação com decaimento exponencial simples, como é o caso dessa primeira abordagem, tais modelos têm o mérito de propiciar uma visualização preliminar de uma série de fenômenos e parâmetros viscoelásticos importantes na caracterização de amostras macias, tais como teste de relaxação de tensão e o módulo de cisalhamento complexo, por exemplo.

O segundo modelo possui função de relaxação escrita em termos de uma Lei de Potência Reológica simples, e sua aplicação não possui limitações quanto a escala temporal levada em consideração durante sua utilização. De fato, conforme destacado no Capítulo 1, diversos tipos de materiais encontrados na natureza ou mesmo produzidos sinteticamente, a exemplo de células, polímeros, esponjas, entre outros, possuem propriedades viscoelásticas que são bem expressas, matematicamente, como leis de potência reológica.

O terceiro modelo é desenvolvido, por sua vez, em termos de uma Lei de Dupla Potência Reológica, o que significa dizer que os tipos de materiais descritos pelo mesmo possuem função de relaxação que consiste em uma combinação linear de duas leis de potência simples: uma com expoente caracterizando o comportamento reológico no regime de baixas frequências de aplicação de carga ($0 < \nu < 100\text{Hz}$), típico dos Soft Glassy Materials, e outra que caracteriza seu comportamento no regime de altas frequências ($\nu \geq 100\text{Hz}$) (SOUSA *et al.*, 2020).

3.1 Modelo 1 - Descrição de materiais através do modelo de SLS

3.1.1 Fase de aplicação de carga

Nessa primeira etapa, recorre-se à equação (2.94) para se calcular, no domínio do tempo, a força normalizada exercida pela ponta do AFM sobre a amostra. Nesse caso, tem-se que:

$$\bar{F} = \int_0^t G(t-t') \frac{d\bar{\delta}^\lambda}{dt'} dt', \quad (3.3)$$

onde G é o módulo de relaxação, λ é um parâmetro que depende da geometria do indentador, e $\bar{\delta}$ corresponde à indentação normalizada, conforme discutido na seção 2.4. A função de relaxação $G(t)$ a ser utilizada aqui é expressa na forma da equação (2.81), porém reescrita na seguinte notação:

$$G(t) = E_\infty + E_1 e^{-t/\tau}, \quad (3.4)$$

onde E_∞ corresponde ao módulo relaxado, E_1 a um parâmetro definido como $E_0 - E_\infty$, E_0 ao módulo elástico instantâneo e τ ao tempo de relaxação característico do material.

Nessa fase, a ponta do AFM, a partir do movimento de descida do eixo z do piezo, aproxima-se da amostra até que se estabeleça o contato. A partir desse momento, o AFM inicia o processo de indentação da amostra, que será tomado como aproximadamente linear. Esse processo encerra-se após um tempo τ_l pré-estabelecido, contado desde o momento em que a ponta do AFM toca a amostra. O histórico de indentação, denotado, nessa fase, por δ_l , é modelado conforme a equação abaixo:

$$\delta_l = \delta_0 \frac{t}{\tau_l} (0 \leq t \leq \tau_l), \quad (3.5)$$

onde δ_0 representa a indentação máxima sofrida pela amostra. Por conseguinte, a indentação normalizada na fase de aplicação de carga, denotada por $\bar{\delta}_l$, vale

$$\bar{\delta}_l = \frac{t}{\tau_l}. \quad (3.6)$$

Calculando a derivada de $\bar{\delta}_l^\lambda$ com respeito ao tempo, tem-se que:

$$\frac{d\bar{\delta}_l^\lambda}{dt} = \frac{\lambda}{\tau_l^\lambda} t^{\lambda-1}. \quad (3.7)$$

Ao substituir-se a Equação 3.7 na equação (3.3) e efetuar-se o processo de integração do termo que contém E_∞ , obtém-se:

$$\bar{F}_l(t) = \frac{\lambda}{\tau_l \lambda} \left[E_\infty \frac{t^\lambda}{\lambda} + E_1 e^{-t/\tau} \int_0^t e^{t'/\tau} t'^{\lambda-1} dt' \right]. \quad (3.8)$$

Observa-se que integral remanescente na equação (3.8) tem a forma da seguinte integral (GRADSHTEYN; RYZHIK, 2007):

$$\int_0^u x^{v-1} (u-x)^{\mu-1} e^{\beta x} dx = B(\mu, v) u^{\mu+v-1} {}_1F_1(v; \mu+v; \beta u), \quad (3.9)$$

onde μ e v são números complexos que obedecem às restrições que se seguem: $\text{Re}(\mu) > 0$ e $\text{Re}(v) > 0$. Além disso, tem-se que $B(p, q)$ é a função beta, definida como

$$B(p, q) = \int_0^1 x^{p-1} (1-x)^{q-1} dx = \frac{\Gamma(p)\Gamma(q)}{\Gamma(p+q)}, \quad (3.10)$$

e ${}_1F_1(a; b; z)$ é a função hipergeométrica confluyente do primeiro tipo, dada por

$${}_1F_1(a; b; z) = \frac{\Gamma(b)}{\Gamma(b-a)\Gamma(a)} \int_0^1 (1-x)^{b-a-1} x^{a-1} e^{zx} dx. \quad (3.11)$$

Desse modo, substituindo-se a variável de integração da equação (3.9) por t' e adotando-se $v = \lambda$, $\beta = 1/\tau$, $\mu = 1$, $u = t$, na mesma equação, verifica-se que a solução final de \bar{F}_l torna-se:

$$\bar{F}_l(t) = \left(\frac{t}{\tau_l} \right)^\lambda \left[E_\infty + E_1 e^{-t/\tau} {}_1F_1(\lambda, 1+\lambda; t/\tau) \right], \quad (3.12)$$

onde usou-se o resultado $B(1, \lambda) = 1/\lambda$.

O resultado acima pode ser simplificado para os casos em que $\lambda = 2$, que corresponde ao caso em que o indentador é cônico, e para o caso em que $\lambda = 3/2$, que corresponde ao caso em que o indentador é esférico.

Para o caso em que $\lambda = 2$, a função ${}_1F_1(\lambda, 1+\lambda; t/\tau)$ pode ser facilmente resolvida utilizando a definição dada pela Equação (3.11) e empregando o método de integração por partes. Realizando-se esse procedimento, encontra-se:

$${}_1F_1(2, 3; t/\tau) = 2 \left[\left(\frac{\tau}{t} \right) e^{t/\tau} + \left(\frac{\tau}{t} \right) (1 - e^{t/\tau}) \right]. \quad (3.13)$$

Por fim, substituindo-se a Equação (3.13) na Equação (3.12) e simplificando-se os termos semelhantes, obtém-se:

$$\bar{F}_l(t) = E_\infty \left(\frac{t}{\tau_l} \right)^2 + 2E_1 \left[\frac{\tau t}{\tau_l^2} + \left(\frac{\tau}{\tau_l} \right)^2 (e^{-t/\tau} - 1) \right], \quad (3.14)$$

onde a validade deste resultado restringe-se ao caso em que $\lambda = 2$, conforme especificado antes.

Para o caso em que $\lambda = 3/2$, a função ${}_1F_1(\lambda, 1 + \lambda; t/\tau)$ pode ser resolvida utilizando a definição dada pela Equação (3.11) e empregando o método de integração por partes. A fim de realizar este procedimento, adotar-se-á, para facilitar os cálculos, $a = t/\tau$. Por conseguinte, empregando-se o procedimento supracitado, obtém-se a seguinte equação:

$${}_1F_1(3/2, 5/2; t/\tau) = \frac{e^a}{a} - \frac{1}{2a} \int_0^1 \frac{e^{ax}}{\sqrt{x}} dx. \quad (3.15)$$

A integral remanescente na Equação (3.15) pode ser resolvida através da mudança de variável $u = \sqrt{a}\sqrt{x}$. Fazendo-se isso, obtém-se:

$$\begin{aligned} \int_0^1 \frac{e^{ax}}{\sqrt{x}} dx &= \frac{2}{\sqrt{a}} \int_0^{\sqrt{a}} e^{u^2} du \\ &= \frac{\sqrt{\pi}}{\sqrt{a}} \int_0^{\sqrt{a}} \frac{2e^{u^2}}{\sqrt{\pi}} du \\ &= \frac{\sqrt{\pi}}{\sqrt{a}} \operatorname{erfi}(\sqrt{a}), \end{aligned} \quad (3.16)$$

onde $\operatorname{erfi}(\sqrt{a})$ corresponde à função erro imaginária $\operatorname{erfi}(z)$ definida como

$$\operatorname{erfi}(z) = \int_0^z \frac{2}{\sqrt{\pi}} e^{t^2} dt, \quad (3.17)$$

onde fez-se $t = u$ e $z = \sqrt{a}$.

Portanto, utilizando-se o resultado da Equação (3.16) na Equação (3.15), a função ${}_1F_1(3/2, 5/2; t/\tau)$ assume a forma

$${}_1F_1(3/2, 5/2; t/\tau) = \frac{e^a}{a} - \frac{\sqrt{\pi} \operatorname{erfi}(\sqrt{a})}{2a^{3/2}}. \quad (3.18)$$

Finalmente, inserindo-se o resultado da Equação (3.18) na Equação (3.12) e realizando-se as devidas simplificações, obtém-se a seguinte expressão para $\bar{F}_l(t)$ para o caso em que $\lambda = 3/2$:

$$\bar{F}_l(t) = E_\infty \left(\frac{t}{\tau_l} \right)^{3/2} + \frac{E_1}{2\tau_l^{3/2}} [2\tau t^{1/2} - \tau^{3/2} \sqrt{\pi} e^{-t/\tau} \operatorname{erfi}(\sqrt{t/\tau})]. \quad (3.19)$$

É importante ressaltar que, como o argumento da função erro imaginária presente na equação (3.19) é real, então o valor de $\bar{F}_l(t)$ também o é.

3.1.2 Fase de permanência ou dwell

Nessa segunda etapa, o eixo z do AFM encerra seu movimento de descida e mantém a indentação máxima atingida na etapa anterior constante por um período de tempo τ_d , o que

caracteriza um teste de relaxação de tensão, conforme discutido na subsecção 2.3.3. Nesse caso, tem-se que o perfil de indentação na fase de *dwell* vale

$$\delta_d \approx \delta_0 \cdot (\tau_l \leq t \leq \tau_d) \quad (3.20)$$

Por conseguinte, a indentação normalizada, denotada aqui por $\bar{\delta}_d$ assume o valor

$$\bar{\delta}_d \approx 1, \quad (3.21)$$

de modo que pode-se concluir que

$$\frac{d\bar{\delta}_d^\lambda}{dt'} = 0. \quad (3.22)$$

A fim de se calcular a força normalizada que age sobre a amostra, deve-se utilizar a equação (3.3) e dividi-la em duas integrais: uma com limites de integração variando de 0 a τ_l e a outra com limites de integração variando de τ_l a t . Para computar a primeira destas, usa-se a equação (3.7), enquanto a segunda integral naturalmente vai a zero ao substituir-se a equação (3.22) dentro dela. Em outras palavras,

$$\begin{aligned} \bar{F}_d &= \int_0^{\tau_l} G(t-t') \frac{d\bar{\delta}_l^\lambda}{dt'} dt' + \int_{\tau_l}^t G(t-t') \frac{d\bar{\delta}_d^\lambda}{dt'} dt' \\ &= \left[E_\infty + \frac{\lambda}{\tau_l^\lambda} E_1 e^{-t/\tau} \int_0^{\tau_l} e^{t'/\tau} t'^{\lambda-1} dt' \right]. \end{aligned} \quad (3.23)$$

De modo análogo ao que foi feito no procedimento anterior, observa-se que a integral remanescente da equação (3.23) possui a forma da equação (3.9) com os mesmos valores de entrada utilizados anteriormente para computar \bar{F}_l , com a única exceção de que agora deve-se ter $\mu = \tau_l$. Portanto, tem-se que

$$\bar{F}_d = E_\infty + E_1 e^{-t/\tau} {}_1F_1(\lambda, 1 + \lambda; \tau_l/\tau). \quad (3.24)$$

De maneira semelhante ao que foi feito na seção anterior, pode-se simplificar o resultado acima para os casos em que $\lambda = 2$ e para o caso em que $\lambda = 3/2$.

Para o primeiro caso, tem-se que o valor de ${}_1F_1(\lambda, 1 + \lambda; \tau_l/\tau)$ assume a mesma forma da Equação (3.13), porém com $t = \tau_l$. Desse modo, a forma final de $\bar{F}_d(t)$ nessa situação vale:

$$\bar{F}_d = E_\infty + 2E_1 \frac{\tau}{\tau_l} e^{-t/\tau} \left[e^{\tau_l/\tau} + \left(\frac{\tau}{\tau_l} \right) (1 - e^{\tau_l/\tau}) \right]. \quad (3.25)$$

Para o caso em que $\lambda = 3/2$, tem-se que o valor de ${}_1F_1(\lambda, 1 + \lambda; \tau_l/\tau)$ assume a mesma forma da Equação (3.18), porém com $t = \tau_l$. Portanto, a forma final de $\bar{F}_d(t)$ nessa situação vale:

$$\bar{F}_d = E_\infty + E_1 e^{-t/\tau} \left(\frac{\tau}{\tau_l} \right) \left[e^{\tau_l/\tau} - \left(\frac{\tau}{\tau_l} \right)^{1/2} \frac{\sqrt{\pi} \operatorname{erfi}(\sqrt{\tau_l/\tau})}{2} \right]. \quad (3.26)$$

3.1.3 Fase de oscilação

Após o intervalo de tempo $\hat{\tau} = \tau_l + \tau_d$, que marca o término da fase de *dwell*, inicia-se o estágio de oscilação, no qual o indentador do AFM é posto a oscilar de maneira senoidal com uma pequena amplitude a em torno da posição de indentação inicial δ_0 que fora mantida constante ao longo da fase anterior. É levado em consideração que a amplitude a desse movimento é pequena o suficiente para que o regime de indentação dinâmica aqui descrito se enquadre no de pequenas oscilações.

Diante dessas considerções, o perfil de indentação agora assume a seguinte forma:

$$\delta_o = \delta_0 + a e^{i\omega(t-\hat{\tau})}, \quad (3.27)$$

onde ω representa a frequência angular das oscilações e i a unidade imaginária, dada por $i = \sqrt{-1}$. Normalizando a equação anterior, obtém-se:

$$\bar{\delta}_o = 1 + \Delta x e^{i\omega(t-\hat{\tau})}, \quad (3.28)$$

onde fez-se $\Delta x = a/\delta_0$.

Tem-se, então, que para fins de cálculo da força aplicada pelo indentador sobre a amostra, deve-se fazer:

$$\frac{d\bar{\delta}_o^\lambda}{dt'} = \lambda (1 + \Delta x e^{i\omega(t'-\hat{\tau})})^{\lambda-1} \Delta x \omega i e^{i\omega(t'-\hat{\tau})}. \quad (3.29)$$

Antes de se prosseguir para o cálculo da força propriamente dito, é importante realizar uma simplificação da equação (3.29). Para isso, observa-se que:

$$\begin{aligned} (1 + \Delta x e^{i\omega(t'-\hat{\tau})})^{\lambda-1} &= \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(\lambda-1)!}{k!(\lambda-1-k)!} \Delta x^k e^{i\omega k(t'-\hat{\tau})} \\ &= \sum_{k=0}^{\infty} \frac{\Gamma(\lambda)}{\Gamma(k+1)\Gamma(\lambda-k)} \Delta x^k e^{i\omega k(t'-\hat{\tau})} \\ &= 1 + \frac{\Gamma(\lambda)}{\Gamma(2)\Gamma(\lambda-1)} \Delta x e^{i\omega(t'-\hat{\tau})} + \frac{\Gamma(\lambda)}{\Gamma(3)\Gamma(\lambda-2)} \Delta x^2 e^{2i\omega(t'-\hat{\tau})} + \dots, \end{aligned} \quad (3.30)$$

onde utilizou-se o teorema binomial para realizar essa expansão.

Substituindo a equação (3.30) na equação (3.29) e desprezando-se os termos que contém potências de ordem igual ou superior a $(\Delta x)^2$, em consequência do regime de pequenas oscilações, a equação (3.29) torna-se:

$$\frac{d\bar{\delta}_o^\lambda}{dt'} \approx \lambda \omega i \Delta x e^{i\omega(t' - \hat{t})}. \quad (3.31)$$

Conforme feito na etapa anterior, o cálculo da força normalizada é computada através da equação (3.3), a qual será dividida em três integrais: a primeira com limites de integração variando de 0 a τ_l , a segunda com limites de integração variando de τ_l a \hat{t} , e a última com limites de integração variando de \hat{t} a t . As duas primeiras integrais correspondem a \bar{F}_d e seu resultado consta na equação (3.24). Para resolver a terceira integral, usa-se a equação (3.31). Desse modo, após efetuar-se os devidos cálculos, verifica-se que \bar{F}_o fica sendo:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \lambda \omega i \Delta x \left[\frac{E_\infty}{\omega i} (e^{i\omega(t - \hat{t})} - 1) + \frac{E_1}{(1 + i\omega\tau)} \tau (e^{i\omega(t - \hat{t})} - e^{-(t - \hat{t})/\tau}) \right]. \quad (3.32)$$

Manipulando-se os termos da equação (3.32) e fazendo uso das Equações (2.114) e (2.115), pode-se reescrever o resultado acima da seguinte maneira:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \lambda \Delta x [G^*(\omega)(e^{i\omega(t - \hat{t})} - e^{-(t - \hat{t})/\tau}) - E_\infty(1 - e^{-(t - \hat{t})/\tau})]. \quad (3.33)$$

3.1.4 *Resumo das principais equações para o cálculo da Força normalizada - Modelo 1*

Seguem logo abaixo as equações gerais para o cálculo de $\bar{F}(t)$ ao longo das etapas de aplicação de carga, dwell e oscilação referentes ao Modelo 1:

$$\bar{F}(t) = \begin{cases} \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left[E_\infty + E_1 e^{-t/\tau} {}_1F_1(\lambda, 1 + \lambda; t/\tau) \right] & (t < \tau_l), \\ E_\infty + E_1 e^{-t/\tau} {}_1F_1(\lambda, 1 + \lambda; \tau_l/\tau) & (\tau_l \leq t \leq \tau_d), \\ \bar{F}_d + \lambda \Delta x [G^*(\omega)(e^{i\omega(t - \hat{t})} - e^{-(t - \hat{t})/\tau}) - E_\infty(1 - e^{-(t - \hat{t})/\tau})] & (t > \tau_d). \end{cases}$$

As formas simplificadas de $\bar{F}(t)$ quando $t < \tau_l$ e $\tau_l \leq t \leq \tau_d$ para o caso particular em que $\lambda = 2$ são:

$$\bar{F}(t) = \begin{cases} E_\infty \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^2 + 2E_1 \left[\frac{\tau t}{\tau_l^2} + \left(\frac{\tau}{\tau_l}\right)^2 (e^{-t/\tau} - 1) \right] & (t < \tau_l), \\ E_\infty + 2E_1 \frac{\tau}{\tau_l} e^{-t/\tau} \left[e^{\tau_l/\tau} + \left(\frac{\tau}{\tau_l}\right) (1 - e^{\tau_l/\tau}) \right] & (\tau_l \leq t \leq \tau_d). \end{cases}$$

As formas simplificadas de $\bar{F}(t)$ quando $t < \tau_l$ e $\tau_l \leq t \leq \tau_d$ para o caso particular em que $\lambda = 3/2$ valem:

$$\bar{F}(t) = \begin{cases} E_\infty \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^{3/2} + \frac{E_1}{2\tau_l^{3/2}} [2\tau t^{1/2} - \tau^{3/2} \sqrt{\pi} e^{-t/\tau} \operatorname{erfi}(\sqrt{t/\tau})] & (t < \tau_l), \\ E_\infty + E_1 e^{-t/\tau} \left(\frac{\tau}{\tau_l}\right) \left[e^{\tau_l/\tau} - \left(\frac{\tau}{\tau_l}\right)^{1/2} \frac{\sqrt{\pi} \operatorname{erfi}(\sqrt{\tau_l/\tau})}{2} \right] & (\tau_l \leq t \leq \tau_d). \end{cases}$$

3.2 Modelo 2 - Descrição de materiais com relaxação do tipo Lei de Potência simples

3.2.1 Fase de aplicação de carga

A presente abordagem adota como função de relaxação típica de lei de potência simples o resultado da equação (2.84), isto é,

$$G(t) = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m}. \quad (3.34)$$

Desse modo, estar-se considerando que o modelo viscoelástico subjacente ao desenvolvido aqui é simbolizado por um único elemento de Scott-Blair, conforme discutido na subseção 2.3.8.

Nessa fase inicial de aplicação de carga, o histórico de indentação segue das equações (3.5) e (3.6). A correspondente derivada temporal do perfil de indentação normalizado elevado ao parâmetro geométrico λ é expresso pela equação (3.7). Uma vez estabelecidas essas considerações, pode-se substituir as equações (3.34) e (3.7) na equação (3.3), o que resulta na seguinte integral para o cálculo da força na fase de carga, denotada por \bar{F}_l :

$$\begin{aligned} \bar{F}_l(t) &= \frac{\lambda}{\tau_l^\lambda} \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{1}{\tau}\right)^{-m} \int_0^t (t-t')^{-m} t'^{\lambda-1} dt' \\ &= \frac{\lambda}{\tau_l^\lambda} \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \int_0^t \left(1-\frac{t'}{t}\right)^{-m} t'^{\lambda-1} dt'. \end{aligned} \quad (3.35)$$

Fazendo-se a substituição $u = t'/t$ e ajustando os limites de integração, vem

$$\begin{aligned} \bar{F}_l(t) &= \frac{\lambda}{\tau_l^\lambda} \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \int_0^1 (1-u)^{-m} (ut)^{\lambda-1} t du \\ &= \lambda \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \int_0^1 (1-u)^{-m} u^{\lambda-1} du. \end{aligned} \quad (3.36)$$

A integral remanescente pode ser resolvida com o auxílio da função Beta, cuja definição é dada pela equação (3.10). Uma comparação entre as equações (3.36) e (3.10) permite inferir que, ao se fazer $z = \lambda$ e $(w-1) = -m$, a equação (3.36) assume a forma:

$$\begin{aligned} \bar{F}_l &= \lambda \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \frac{\Gamma(\lambda)\Gamma(1-m)}{\Gamma(\lambda+1-m)} \\ &= \Gamma(\lambda+1) \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \frac{E}{\Gamma(\lambda+1-m)}, \end{aligned} \quad (3.37)$$

onde fez-se $\lambda\Gamma(\lambda) = \Gamma(\lambda+1)$.

3.2.2 Fase de permanência ou dwell

Na etapa de *dwell* ou permanência, o perfil de indentação adotado é representado pelas equações (3.20) e (3.21). A correspondente derivada temporal do perfil de indentação normalizado elevado ao parâmetro geométrico λ é expressa pela equação (3.22).

Diante disso, pode-se substituir as equações (3.34) e (3.22) na equação (3.3), o que resulta na seguinte integral para o cálculo da força na fase de dwell, denotada por \bar{F}_d :

$$\bar{F}_d = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{1}{\tau_l}\right)^\lambda \lambda \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \int_0^{\tau_l} \left(1 - \frac{t'}{t}\right)^{-m} t'^{\lambda-1} dt'. \quad (3.38)$$

Fazendo-se a substituição de variável $u = t'/t$ e ajustando-se os limites de integração, vem

$$\bar{F}_d = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \lambda \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \int_0^{\tau_l/t} (1-u)^{-m} u^{\lambda-1} du. \quad (3.39)$$

De maneira similar ao que foi feito na fase de aplicação de carga, seja $B_x(p, q)$ a função beta incompleta, definida por

$$B_x(p, q) = \int_0^x t^{p-1} (1-t)^{q-1} dt, \quad (3.40)$$

com a restrição de que $0 \leq x \leq 1$ e $p > 0$. Comparando a equação (3.39) com a equação (3.40), conclui-se que, ao se fazer $p = \lambda$, $q - 1 = -m$ e $x = \tau_l/t$, a solução de \bar{F}_d assume a forma:

$$\bar{F}_d = \frac{E}{\Gamma(1-m)} \lambda \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} B_{(\tau_l/t)}(\lambda, 1-m). \quad (3.41)$$

3.2.3 Fase de oscilação

Uma vez findada a etapa de dwell, dá-se início a fase de oscilação, na qual a amostra será indentada senoidalmente conforme os perfis de indentação representados pelas equações (3.27) e (3.28). A derivada temporal do perfil de indentação normalizado elevado ao parâmetro geométrico λ é expresso pela equação (3.29).

Pelas mesmas razões discutidas na subseção 3.1.3, haja vista que o regime dinâmico aqui considerado está no de pequenas oscilações, considerar-se-á o resultado da equação (3.31) no cálculo da força normalizada exercida sobre a amostra. Desse modo, a integral para o cálculo da força, denotada por \bar{F}_o , vale:

$$\bar{F}_o = \int_0^{\tau_l} G(t-t') \frac{d\bar{\delta}_l^\lambda}{dt'} dt' + \int_{\tau_l}^{\hat{\tau}} G(t-t') \frac{d\bar{\delta}_d^\lambda}{dt'} dt' + \int_{\hat{\tau}}^t G(t-t') \frac{d\bar{\delta}_o^\lambda}{dt'} dt', \quad (3.42)$$

onde expandiu-se a integral em três partes, visto que t é maior do que o intervalo de tempo $\tau_l + \tau_d$, conforme também salientado na subseção 3.1.3. A primeira integral já foi calculada na subseção 3.2.2 e será substituída por \bar{F}_d . A integral do meio vai a zero, visto que $\frac{d\bar{\delta}_d}{dt'} \approx 0$, em conformidade com a Equação 3.22. Portanto, substituindo-se a função de relaxação, expressa pela equação (3.34), e a equação (3.31) na integral remanescente de (3.42), tem-se que:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \frac{E}{\Gamma(1-m)} \lambda i \omega \int_{\hat{\tau}}^t \left(\frac{t-t'}{\tau} \right)^{-m} \Delta x e^{i\omega(t'-\hat{\tau})} dt'. \quad (3.43)$$

Fazendo-se a mudança de variável $u = t - t'$ e ajustando os limites de integração, obtém-se:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \frac{E}{\Gamma(1-m)} \lambda (i\omega\tau^m) \Delta x e^{i\omega(t-\hat{\tau})} \int_0^{t-\hat{\tau}} u^{-m} e^{-i\omega u} du. \quad (3.44)$$

Uma vez que a determinação de \bar{F}_o está condicionada à resolução da integral obtida acima, focar-se-á em sua resolução. Seja

$$\begin{aligned} I(u) &= \int_0^{t-\hat{\tau}} u^{-m} e^{-i\omega u} du \\ &= \int_0^{t-\hat{\tau}} u^{-m} \cos(\omega u) du - i \int_0^{t-\hat{\tau}} u^{-m} \sin(\omega u) du. \end{aligned} \quad (3.45)$$

De fato, as integrais em (3.45) são da forma (GRADSHTEYN; RYZHIK, 2007)

$$\int x^{\mu-1} \sin \beta x dx = \frac{i}{2} [(i\beta)^{-\mu} \gamma(\mu, i\beta x) - (-i\beta)^{-\mu} \gamma(\mu, -i\beta x)], \quad (3.46)$$

com a restrição de que $\text{Re}(\mu) > -1$ e $x > 0$, e

$$\int x^{\mu-1} \cos \beta x dx = \frac{1}{2} [(i\beta)^{-\mu} \gamma(\mu, i\beta x) + (-i\beta)^{-\mu} \gamma(\mu, -i\beta x)], \quad (3.47)$$

com a restrição de que, agora, $\text{Re}(\mu) > 0$ e $x > 0$.

De acordo com a notação utilizada nessas expressões, tem-se que μ é um número complexo, β é uma constante real, i corresponde à unidade imaginária, $\gamma(\alpha, x)$ é a função gama incompleta inferior, dada por

$$\gamma(\alpha, x) = \int_0^x e^{-t} t^{\alpha-1} dt, \quad (3.48)$$

onde

$$\gamma(\alpha, 0) = 0 \quad (3.49)$$

e x é a variável de integração. Comparando as equações (3.46) e (3.47) com as integrais em (3.45), verifica-se que $\mu = 1 - m$, $\beta = \omega$ e $x = u$. Desse modo, é fácil ver que a equação (3.45) assume a forma compacta:

$$I(u) = (i\omega)^{m-1} \gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau})), \quad (3.50)$$

onde, em $u = 0$, fez-se $\gamma(1 - m, i\omega 0) = 0$ em conformidade com a equação (3.49).

Por fim, substituindo esse resultado na equação de \bar{F}_o , encontra-se:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \frac{E}{\Gamma(1 - m)} \lambda (i\omega\tau)^m \Delta x e^{i\omega(t - \hat{\tau})} \gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau})), \quad (3.51)$$

onde em $t = \hat{\tau}$, $\bar{F}_o = \bar{F}_d$, como deveria ser.

A partir da equação acima, pode-se extrair alguns parâmetros que serão úteis na análise reológica da amostra. Seja, assim, $\varepsilon_o^*(t)$ a deformação sinusoidal sofrida pela amostra e representada por

$$\varepsilon_o^*(t) = \Delta x e^{i\omega(t - \hat{\tau})} \quad (3.52)$$

e $\sigma_o^*(t)$ a correspondente tensão aplicado sobre a amostra e definido como

$$\begin{aligned} \sigma_o^*(t) &= E (i\omega\tau)^m \Delta x e^{i\omega(t - \hat{\tau})} \\ &= G^* \varepsilon_o^*(t), \end{aligned} \quad (3.53)$$

onde fez-se uso da relação $G^* = E (i\omega\tau)^m$, em conformidade com a equação (2.117) do módulo de relaxação complexo para materiais que obedecem lei de potência reológica. Pode-se, assim, reescrever \bar{F}_o como sendo

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \frac{\lambda}{\Gamma(1 - m)} \sigma_o^* \gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau})), \quad (3.54)$$

3.2.4 Resumo das principais equações para o cálculo da Força normalizada - Modelo 2

Seguem logo abaixo as equações gerais para o cálculo de $\bar{F}(t)$ ao longo das etapas de aplicação de carga, dwell e oscilação referentes ao Modelo 2:

$$\bar{F}(t) = \begin{cases} \Gamma(\lambda + 1) \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \frac{E}{\Gamma(\lambda + 1 - m)} & (t < \tau_l), \\ \frac{E}{\Gamma(1 - m)} \lambda \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} B_{(\tau_l/t)}(\lambda, 1 - m) & (\tau_l \leq t \leq \tau_d), \\ \bar{F}_d + \frac{E}{\Gamma(1 - m)} \lambda (i\omega\tau)^m \Delta x e^{i\omega(t - \hat{\tau})} \gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau})) & (t > \tau_d). \end{cases}$$

3.3 Modelo 3 - Descrição de materiais com relaxação do tipo Lei de Dupla Potência

3.3.1 Fase de aplicação de carga

Uma vez que o presente modelo consiste no de Kelvin-Voigt Fracionário, tem-se que sua representação esquemática equivale a dois elementos de Scott-Blair em paralelo. Assim sendo, em analogia ao que foi feito no Modelo de Kelvin-Voigt clássico, vide subseção 2.3.5, a tensão resultante dessa associação consiste na soma das tensões individuais sobre cada unidade fracionária, o mesmo se refletindo na função de relaxação final, conforme consta na subseção 2.3.8. Como consequência direta do Princípio de Superposição de Boltzmann (subseção 2.3.4), cada equação apresentada nessa etapa e nas posteriores é composta pela superposição de duas outras equivalentes às derivadas na seção 3.2 para cada respectivo estágio de indentação, porém diferentes entre si pelos seus expoentes de lei de potência.

Portanto, a expressão final para o cálculo da força normalizada que atua sobre a amostra na fase de aplicação de carga vale:

$$\bar{F}_l = \Gamma(\lambda + 1) \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda E \left[\left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \frac{1}{\Gamma(\lambda + 1 - m)} + \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-n} \frac{1}{\Gamma(\lambda + 1 - n)} \right]. \quad (3.55)$$

3.3.2 Fase de permanência ou dwell

Para o estágio de dwell, \bar{F}_d é expressa como

$$\bar{F}_d = E\lambda \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left[\frac{1}{\Gamma(1 - m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} B_{(\tau_l/t)}(\lambda, 1 - m) + \frac{1}{\Gamma(1 - n)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-n} B_{(\tau_l/t)}(\lambda, 1 - n) \right]. \quad (3.56)$$

3.3.3 Fase de oscilação

Por fim, para o estágio de oscilação, \bar{F}_o é representada pela equação:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + E\lambda \Delta x e^{i\omega(t - \hat{t})} \left[(i\omega\tau)^m \frac{\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))}{\Gamma(1 - m)} + (i\omega\tau)^n \frac{\gamma(1 - n, i\omega(t - \hat{t}))}{\Gamma(1 - n)} \right]. \quad (3.57)$$

É interessante destacar que, nesse caso, o módulo de relaxação complexo G^* não surge naturalmente na equação acima, pois não é possível obter-se o termo $[(i\omega\tau)^m + (i\omega\tau)^n]$ devido à presença das funções gama completa e incompleta.

3.3.4 Resumo das principais equações para o cálculo da Força normalizada - Modelo 3

Seguem logo abaixo as equações gerais para o cálculo de $\bar{F}(t)$ ao longo das etapas de aplicação de carga, dwell e oscilação referentes ao Modelo 3:

$$\bar{F}(t) = \begin{cases} \Gamma(\lambda + 1) \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda E \left[\left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} \frac{1}{\Gamma(\lambda + 1 - m)} + \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-n} \frac{1}{\Gamma(\lambda + 1 - n)} \right] & (t < \tau_l), \\ E\lambda \left(\frac{t}{\tau_l}\right)^\lambda \left[\frac{1}{\Gamma(1 - m)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-m} B_{(\tau_l/t)}(\lambda, 1 - m) + \frac{1}{\Gamma(1 - n)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-n} B_{(\tau_l/t)}(\lambda, 1 - n) \right] & (\tau_l \leq t \leq \tau_d), \\ \bar{F}_d + E\lambda \Delta x e^{i\omega(t - \hat{t})} \left[(i\omega\tau)^m \frac{\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))}{\Gamma(1 - m)} + (i\omega\tau)^n \frac{\gamma(1 - n, i\omega(t - \hat{t}))}{\Gamma(1 - n)} \right] & (t > \tau_d). \end{cases}$$

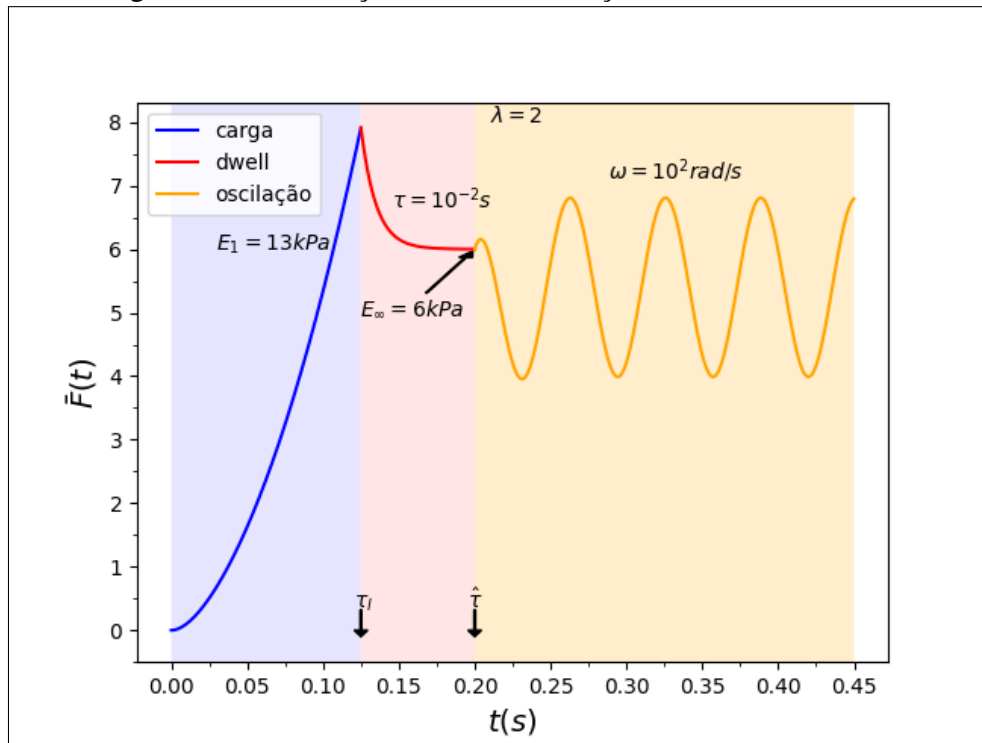
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os modelos matemáticos desenvolvidos no Capítulo 3 serão analisados, discutidos e, quando possível, comparados entre si tendo como base o arcabouço teórico apresentado no Capítulo 2 e através de simulações de curvas de força. A partir disso, serão extraídos deles os principais parâmetros viscoelásticos importantes para a caracterização reológica de materiais macios. Além disso, serão destacadas suas principais vantagens e limitações quanto à sua aplicabilidade.

4.1 Análise reológica do Modelo 1

Como o Modelo 1 foi desenvolvido com base no de Sólido Linear Padrão, sua aplicação depende da escala temporal utilizada na análise reológica. A figura a seguir mostra o comportamento de $\bar{F}(t)$ ao longo dos três processos discutidos na seção 3.1, onde usou-se como parâmetros de entrada $E_1 = 13kPa$, $E_\infty = 6kPa$, $\tau = 10^{-2}s$, $\tau_l = 1.25 \times 10^{-1}s$, $\omega = 10^2 rad/s$ e $\lambda = 2$, conforme destacado na mesma.

Figura 18 – Simulação de curva de força utilizando o Modelo 1

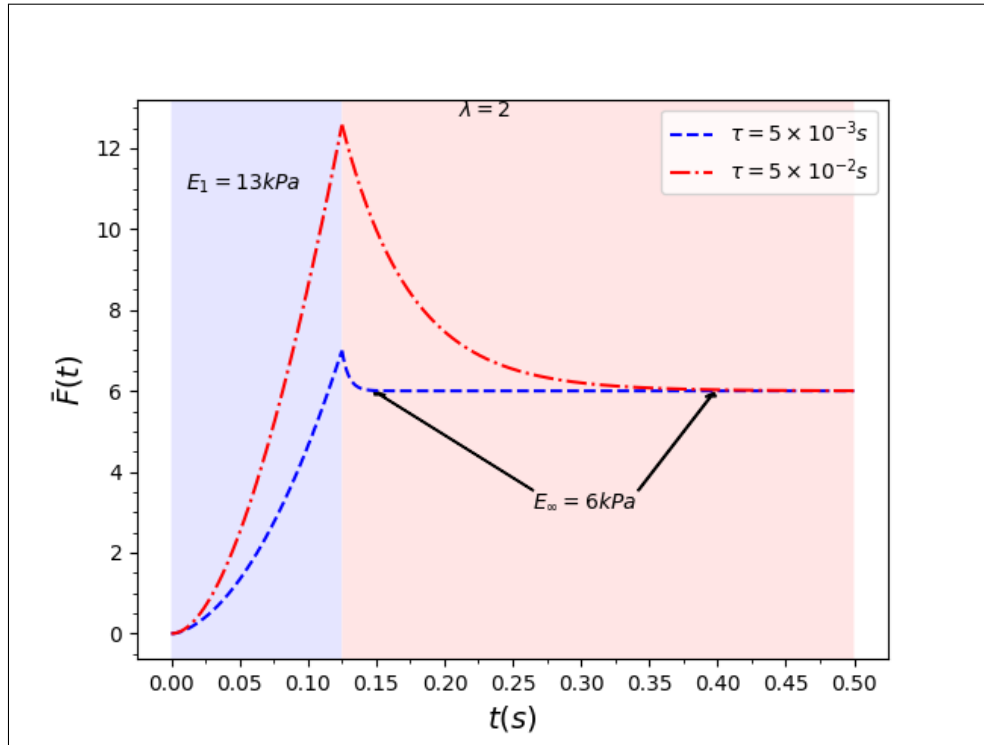


Fonte: elaborada pelo autor.

O parâmetro τ caracteriza o tempo de relaxação do material, de modo que, quanto maior for seu valor, mais demorada será a relaxação da força aplicada sobre a amostra quando

esta estiver sujeita a uma indentação constante, conforme pode ser visualizado nas curvas de forças simuladas na Figura 19. Nesta figura, adotou-se as mesmas constantes usadas na Figura 18, com exceção do parâmetro τ .

Figura 19 – Simulação de amostras com diferentes tempos de relaxação utilizando o Modelo 1



Fonte: elaborada pelo autor.

Analisando-se a Figura 19, tem-se que, no gráfico em azul, a amostra em questão possui $\tau = 0.005s$ e $\bar{F}(t)$ leva cerca de $0.025s$ para relaxar completamente até E_{∞} . Por sua vez, a amostra representada no gráfico em vermelho possui $\tau = 0.05s$ e $\bar{F}(t)$ demora aproximadamente $0.275s$ para atingir E_{∞} ; isto equivale a cerca de onze vezes o tempo que a amostra representada pelo gráfico em azul levou para relaxar completamente. Além disso, o valor de τ influencia na medida da força máxima alcançada pela amostra. Na referida figura, embora ambos os gráficos adotem o mesmo valor de τ_l , tem-se que, na região de aplicação de carga do gráfico em azul, a força máxima atinge um valor quase duas vezes inferior àquele obtido no gráfico em vermelho nessa mesma região. Uma análise qualitativa do que ocorre nestas duas situações permite inferir que o material que possui $\tau = 10^{-3}s$ apresenta rigidez aparente menor do que à do material que possui $\tau = 10^{-2}s$. Por outro lado, como a curva de *dwell* do gráfico onde $\tau = 10^{-2}s$ é mais longa do que aquela referente ao gráfico onde $\tau = 10^{-3}s$, pode-se deduzir que há uma maior dissipação de energia associada ao material que apresenta maior valor de τ . Caso o tempo τ fosse muito pequeno, o comportamento resultante do material seria próximo do regime elástico,

no qual um pulso de deformação, nesse caso a indentação mantida constante, implicaria em uma resposta elástica instantânea e constante ao longo do tempo.

A Figura 20 mostra o comportamento de G' e G'' em função da frequência de oscilação ω para diferentes valores de E_∞ e valor de $E_1 = 13kPa$, em conformidade com as equações (2.114) e (2.115). Uma análise global dessa figura indica que, no regime de baixas frequências de oscilação ($\omega < 10rad/s$), o módulo de armazenamento G' possui magnitude superior à do módulo de perda G'' e mantém-se aproximadamente constante dentro dessa faixa de frequência angular. Por sua vez, na medida em que ω cresce, G'' aumenta rapidamente dentro dessa faixa de frequência. É interessante observar que, nos casos representados em (c) e (d), onde o valor de $E_\infty \geq 3kPa$, não acontece um *crossover* entre G' e G'' , ao passo que nos casos representados em (a) e (b), onde $1 \leq E_\infty \leq 2$ unidades de kPa , o *crossover* é evidente. Com efeito, ao se igualar as equações (2.114) e (2.115) para determinar a frequência de *crossover*, obtém-se a seguinte equação:

$$\omega = \frac{E_1 \pm \sqrt{(E_1 - 2E_\infty)^2 - 8E_\infty}}{2\tau(E_\infty + E_1)}. \quad (4.1)$$

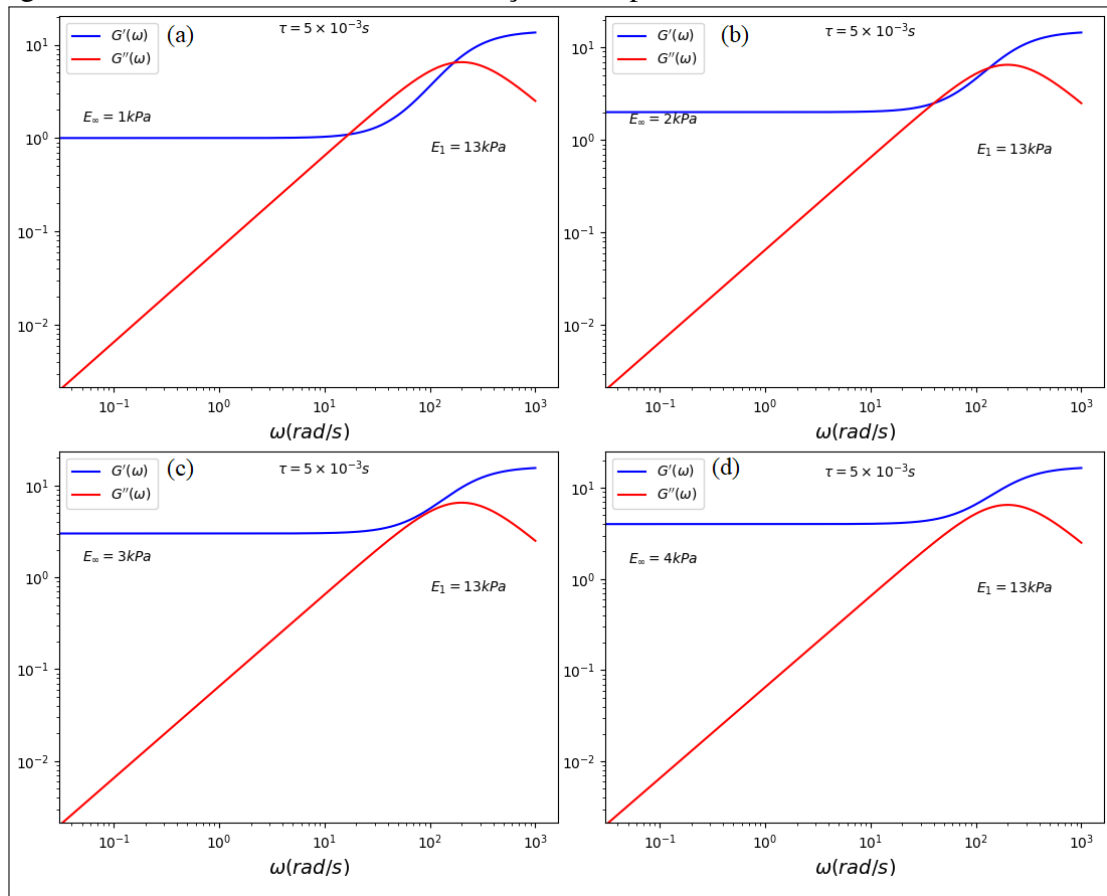
O termo dentro da raiz quadrada determina se ω possui ou não raízes reais. Igualando-o a zero, acha-se a seguinte relação entre E_∞ e E_1 :

$$E_\infty = \frac{E_1(\sqrt{2} - 1)}{2}. \quad (4.2)$$

Verifica-se que quando a equação acima é satisfeita, G' e G'' se interceptam uma única vez, porém, após isso, G' volta a ser maior do que G'' . Por outro lado, quando E_∞ é maior do que o valor calculado através da equação acima, a raiz quadrada em (4.1) se torna negativa, de modo a não acontecer *crossover*. Por fim, para o caso em que E_∞ assume valores inferiores ao estabelecido pela (4.2), a raiz quadrada da equação (4.1) assume valores positivos, o que implica em G' e G'' se encontrarem em dois pontos distintos. Utilizando a equação (4.2) e fazendo $E_1 = 13kPa$, obtém-se $E_\infty \approx 2.69kPa$. Para quaisquer valores de E_∞ inferiores a este último, acontece *crossover* entre G' e G'' em dois pontos, o que está de acordo com o que foi mostrado na Figura 20.

Em outras palavras, tem-se que materiais com E_∞ inferiores ao estabelecido pela (4.2) sofrem processo de relaxação suficiente para que, dentro de uma pequena janela do espectro de frequência, aconteça a predominância de suas propriedades viscosas dissipativas. Isto é sinalizado pelo domínio momentâneo do módulo de perda G'' . Por outro lado, materiais com valores de E_∞ maiores do que o estabelecido pela (4.2) não sofrem um processo de relaxação

Figura 20 – Gráficos de G' e G'' em função de ω para diferentes valores de E_∞ - Modelo 1



Fonte: elaborada pelo autor.

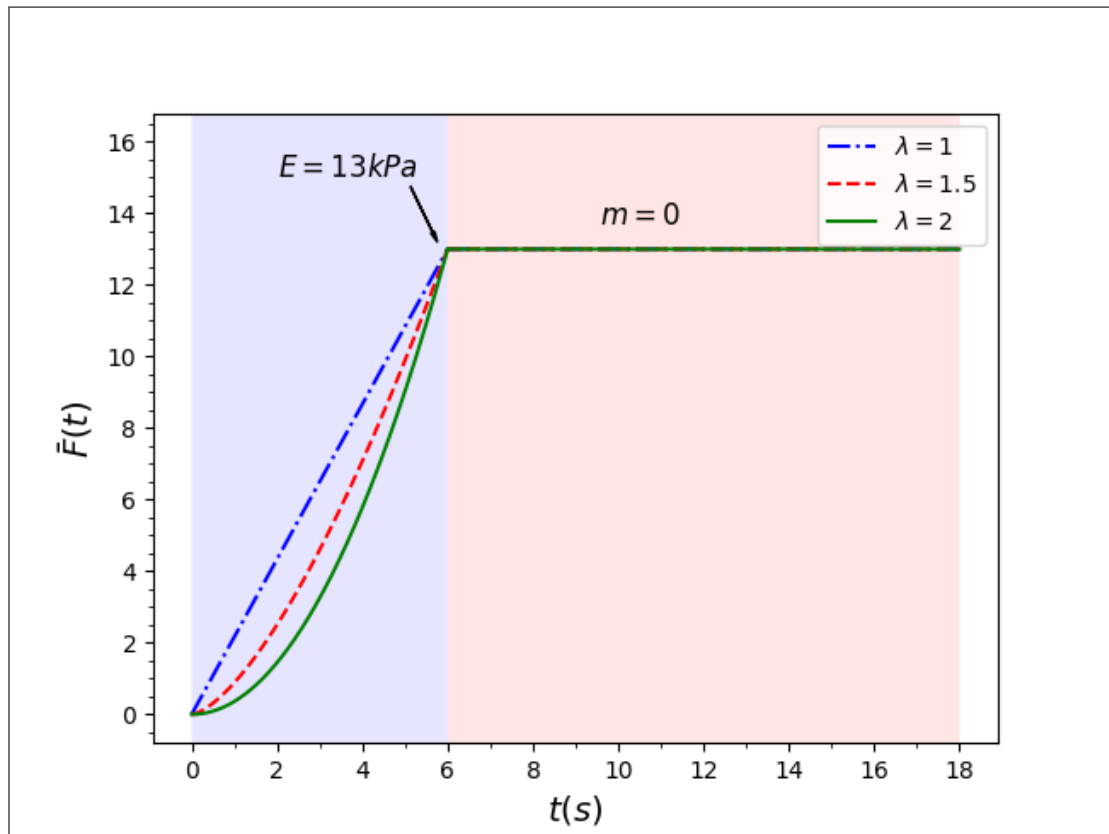
suficiente para que suas propriedades viscosas se sobreponham às elásticas. Pelo contrário, tem-se o domínio destas últimas ao longo de todo o espectro de frequência, conforme pode ser visto na Figura 20 (d).

Dentro do domínio da reloja celular, é importante destacar que muitas células apresentam, de fato, um *crossover* entre G' e G'' quando a frequência de indentação se encontra alta, próxima de 100hz, e a partir da qual as mesmas passam a exibir um comportamento mais próximo do viscoso (ALCARAZ *et al.*, 2003; DENG *et al.*, 2006; CAI *et al.*, 2013). Contudo, verifica-se que, uma vez atingido esse regime, não deve haver uma retomada do domínio de G' sobre G'' com o decorrer do aumento da frequência, como prevê o modelo aqui apresentado. Portanto, este modelo não é adequado para descrever a biomecânica de células e de outros materiais complexos que não possuem tempos de relaxação bem definidos. Desse modo, deve-se recorrer a modelos mais sofisticados baseados em leis de potência reológica.

4.2 Análise reológica do Modelo 2

De acordo com a equação (2.87), a intensidade da força $F(t)$ depende do parâmetro geométrico λ . Isso significa que o formato das curvas de força geradas a partir da equação (3.3) é influenciado diretamente por λ .

Figura 21 – Curvas de força nas fases de carga e dwell no caso puramente elástico ($m = 0$) para diferentes valores de λ



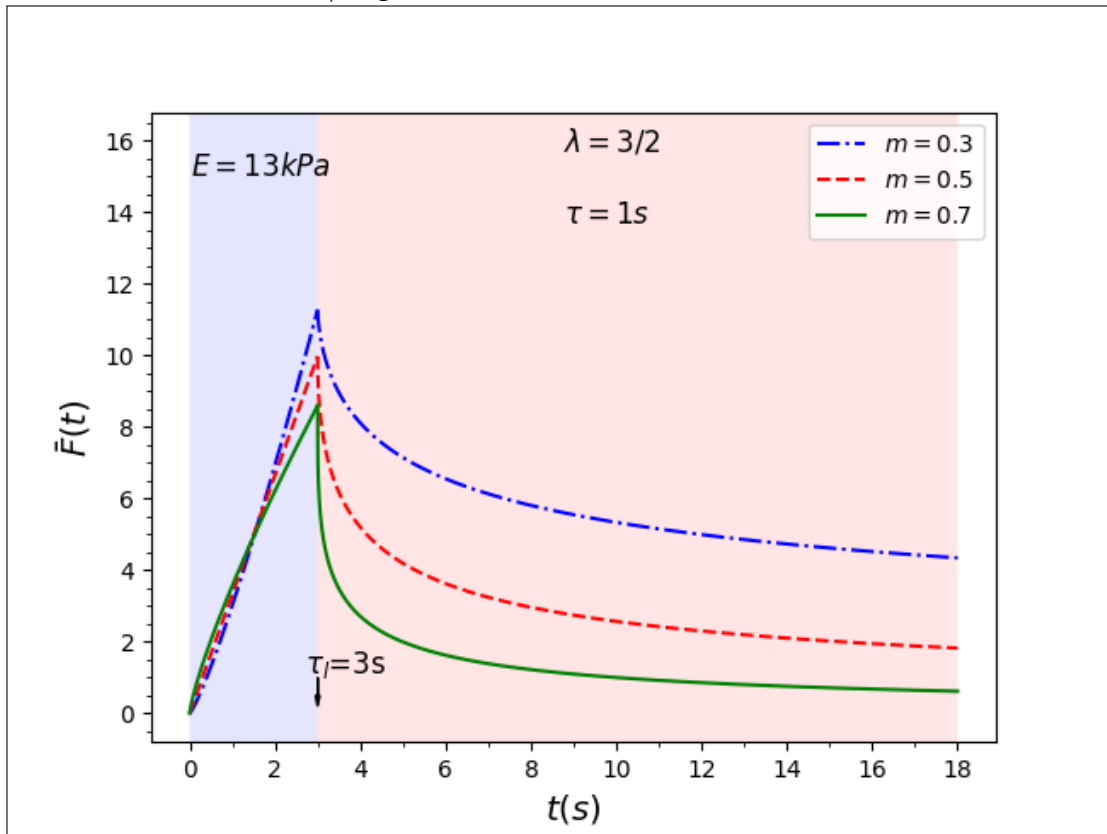
Fonte: elaborada pelo autor.

No caso do Modelo 2, derivado na seção 3.2, a curva referente à $\bar{F}(t)$ na fase de aplicação de carga depende tanto de λ quanto do expoente de lei de potência m , conforme estabelecido pela equação (3.37). Assim, quando $m = 0$, a curva de aplicação de carga é proporcional a t^λ . Para indentadores cilíndricos, onde $\lambda = 1$, essa curva tem formato de uma reta; para indentadores esféricos, onde $\lambda = 1.5$, essa curva varia com $t\sqrt{t}$; e para indentadores cônicos, onde $\lambda = 2$, essa curva assume a forma de uma parábola. Como em todos esses casos estar-se supondo $m = 0$, então essa resposta é idealmente elástica, de modo que, caso a curva de *dwell* seja analisada, a mesma consistirá em uma reta.

A Figura 21 mostra três curvas de força que representam as fases de aplicação de carga e dwell para os casos em que $\lambda = 1$ (curvas em azul), $\lambda = 1.5$ (curvas em vermelho) e

$\lambda = 2$ (curvas em verde), onde fez-se $m = 0$. Como a resposta do material é somente elástica, conforme discutido acima, tem-se que o valor máximo de $\bar{F}(t)$ é o mesmo nos três casos.

Figura 22 – Simulação de curvas de força nas fases de carga e dwell geradas por indentadores esféricos ($\lambda = 3/2$) para valores de $m > 0$ e $\tau_l = 3s$

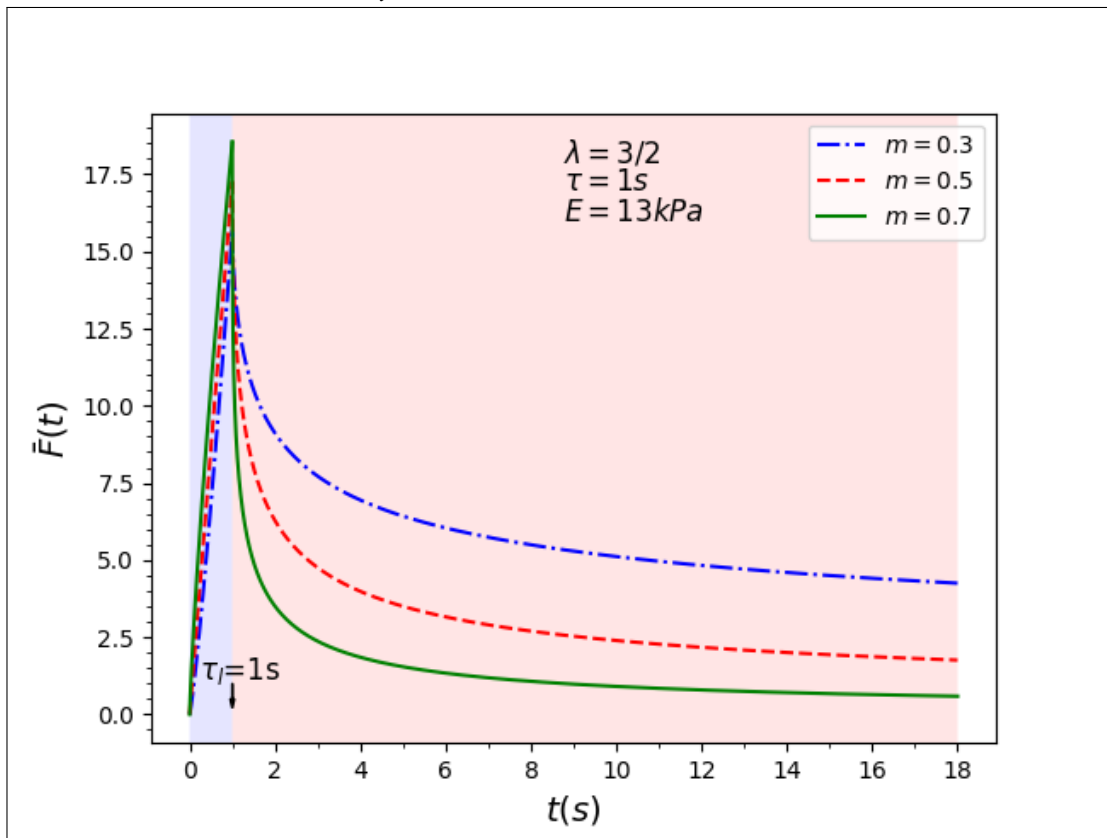


Fonte: elaborada pelo autor.

Para o caso em que se considera indentadores cônicos, a Equação 3.37 prevê que, para quaisquer valores de $m > 0$, $\bar{F}(t)$ apresenta concavidade positiva. Por outro lado, quando se considera indentadores esféricos, $\bar{F}(t)$ assume diferentes concavidades durante a fase de carga, dependendo dos valores do expoente m . As Figuras 22 e 23 são simulações de curvas de força que ilustram este último tipo comportamento para dois diferentes valores de τ_l . Analisando-se ambas as figuras, constata-se que há, para a fase de carga, uma relação direta entre a concavidade dessas curvas e o valor de m .

De fato, de acordo com a Equação 3.37, quando m assume valores positivos e menores do que 0.5, a concavidade da curva de aplicação de carga é positiva, vide curvas em azul nas figuras 22 e 23. Quando $m = 0.5$, a curva de aplicação de carga torna-se uma reta, conforme consta nas curvas em vermelho das figuras 22 e 23. Por fim, para $m > 0.5$, a concavidade da curva de aplicação de carga inverte completamente de sentido, passando a ser negativa, vide

Figura 23 – Curvas de força nas fases de carga e dwell geradas por indentadores esféricos para valores de $m > 0$ e $\tau_l = 1s$



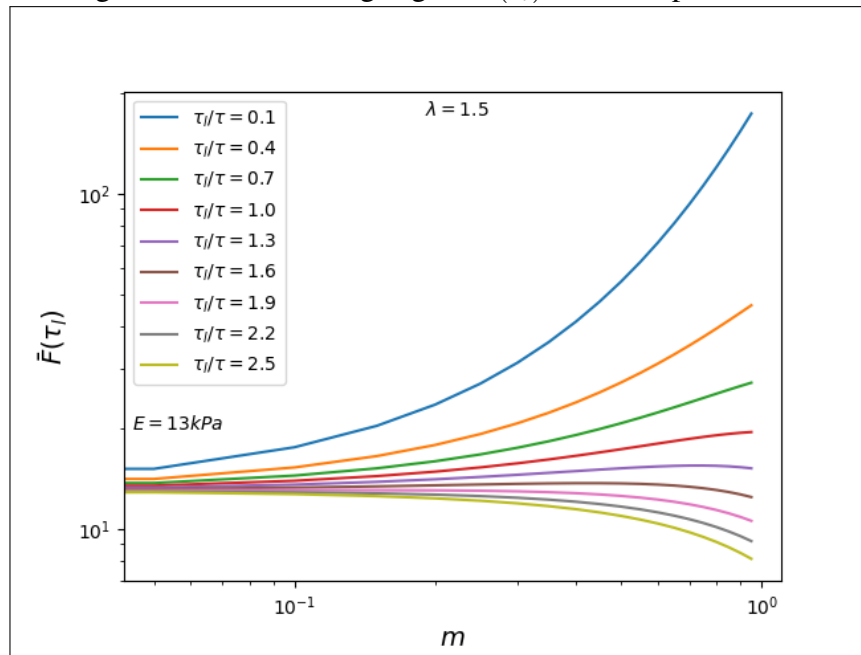
Fonte: elaborada pelo autor.

curvas em verde nas figuras 22 e 23. De acordo com o presente modelo, infere-se que, para o caso de indentadores esféricos, a taxa de variação temporal da força de carga exercida sobre a amostra é, em geral, mais suave do que aquela referente a indentadores cônicos, principalmente se a amostra em questão é caracterizada por $m > 0.5$; de fato, quando comparados com indentadores cônicos, os quais possuem maior poder de deformação, é razoável que a taxa de indentação para os indentadores esféricos seja mais suave, principalmente se a amostra for viscosa e se o tempo da fase de carga (τ_l) for longo o suficiente para que a força aplicada sobre o material seja essencialmente oriunda de efeitos viscosos. Além disso, ao comparar-se a Figura 22 com Figura 23, verifica-se que a amplitude das curvas de *dwell* são influenciadas diretamente pela razão τ/τ_l , visto que as curvas em que $\tau/\tau_l = 1$ sofrem um processo de relaxação mais abrupto do que as curvas em que $\tau/\tau_l = 1/3$.

Outra característica interessante que merece destaque consiste na relação entre $\bar{F}(\tau_l)$, m , τ_l/τ e λ . As figuras 24 e 25 representam gráficos de $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m para $\lambda = 1.5$ e $\lambda = 2$, respectivamente. Optou-se por gráficos do tipo *log-log* por estes permitirem uma visualização mais detalhada do comportamento das curvas de $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m para os

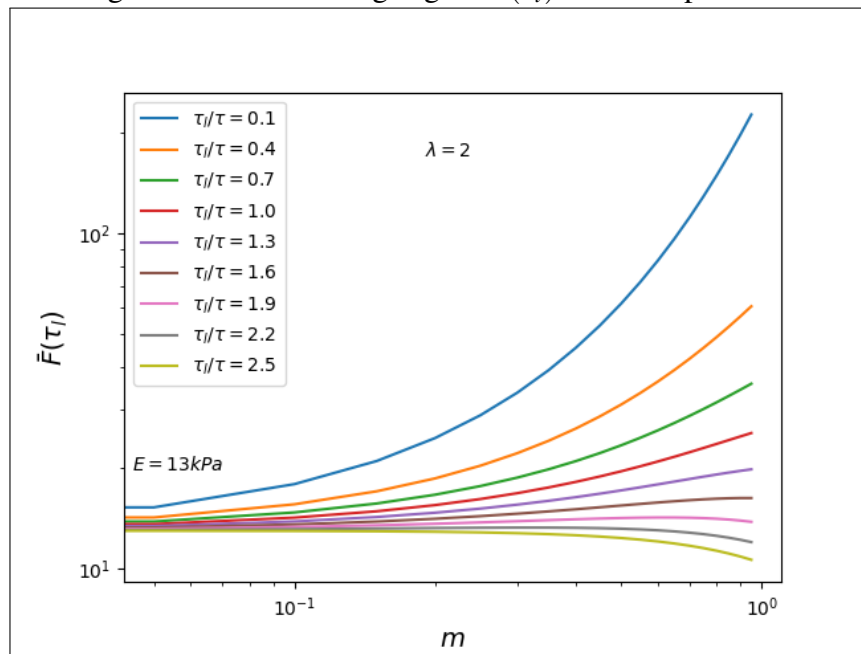
diferentes valores de τ_l/τ , possibilitando uma distinção mais acurada entre as mesmas.

Figura 24 – Gráfico log-log de $\bar{F}(\tau_l)$ versus m para $\lambda = 1.5$



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 25 – Gráfico log-log de $\bar{F}(\tau_l)$ versus m para $\lambda = 2$



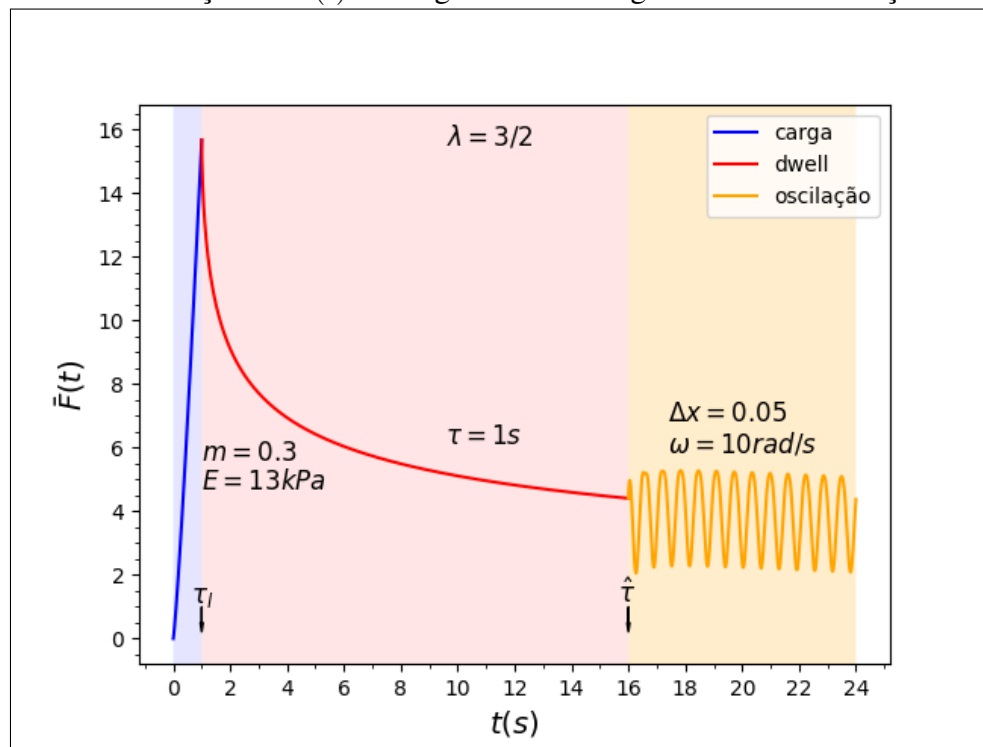
Fonte: elaborada pelo autor.

A Figura 24 revela que, para valores de $\tau_l/\tau \leq 1$, $\bar{F}(\tau_l)$ cresce à medida que m se aproxima de 1. Por outro lado, para valores de $1 < \tau_l/\tau \leq 1.9$, a tendência de $\bar{F}(\tau_l)$ é difusa, ora apresentando momentos de crescimento lento, como pode ser visto nas curvas onde $\tau_l/\tau = 1.3$

e $\tau_l/\tau = 1.6$, ora de decaimento com projeção acentuada, como acontece nas curvas onde $\tau_l/\tau = 1.6$ e $\tau_l/\tau = 1.9$. Contudo, para $\tau_l/\tau > 1.9$ a tendência predominante de $\bar{F}(\tau_l)$ é diminuir de valor à proporção que m se aproxima de 1. Em outras palavras, a intensidade da força de carga máxima aplicada sobre a amostra se intensifica à medida que o referido processo se realiza dentro de escalas de tempo pequenas o suficiente para que a natureza viscosa do material tenha contribuição predominante sobre essa força. Esse resultado é coerente com a lei de Newton da viscosidade, que assegura que a tensão aplicada sobre um material viscoso é diretamente proporcional à taxa de variação da deformação.

Uma análise da Figura 25 permite concluir que $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m , no caso de um indentedor cônico, comporta-se de forma muito semelhante à descrição feita para o caso de um indentedor esférico.

Figura 26 – Simulação de $\bar{F}(t)$ ao longo dos três estágios de nanoindentação - Modelo 2

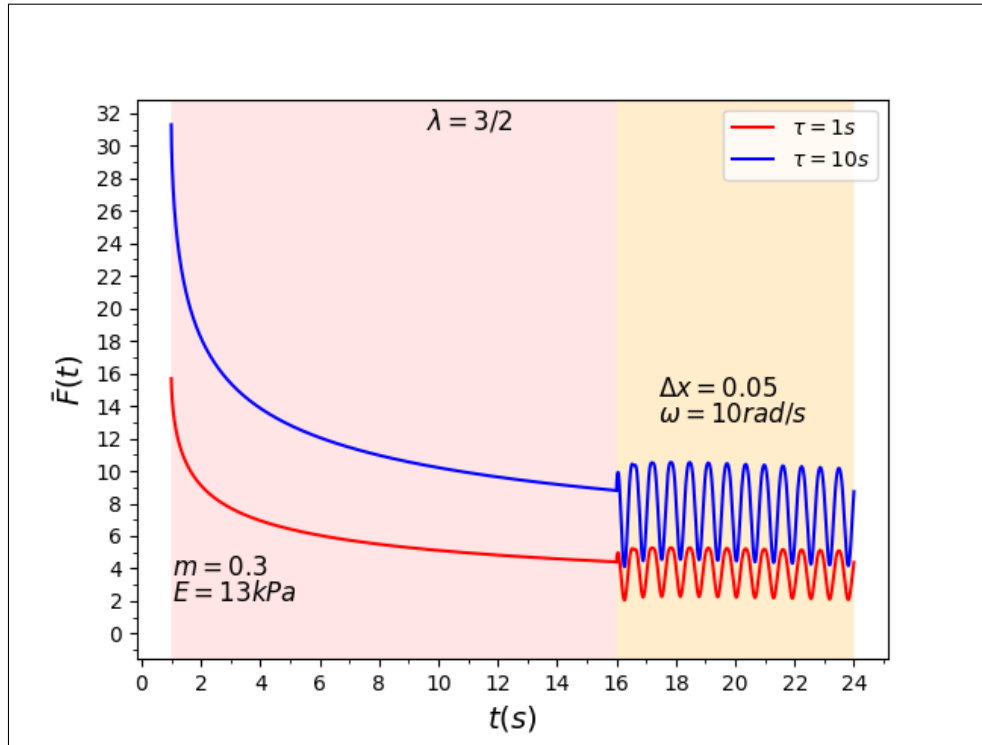


Fonte: elaborada pelo autor.

A Figura 26 mostra uma simulação de $\bar{F}(t)$ ao longo das três etapas de nanoindentação, conforme descrito pelas equações (3.37), (3.41), (3.51), e com parâmetros $\tau = \tau_l = 1s$, $\lambda = 1.5$, $E = 13kPa$, $\omega = 10rad/s$, $\Delta x = 0.05$ e $m = 0.3$. A região sombreada de cor laranja corresponde ao regime de nanoindentação dinâmico. Seu comportamento é modelado pela equação (3.51), cuja representação simplificada se encontra na equação (3.54); nesta última, os termos concernentes à tensão, à deformação e ao módulo de cisalhamento complexo se encontram mais

evidentes. A referida equação permite inferir que o parâmetro τ apenas influencia na amplitude das ondas, conforme pode ser visualizado na Figura 27. Por sua vez, o parâmetro ω altera a amplitude das ondas e também sua frequência, vide Figura 28.

Figura 27 – Simulações de $\bar{F}(t)$ nas fases de *dwell* e oscilação para $\tau = 1s$ e $\tau = 10s$

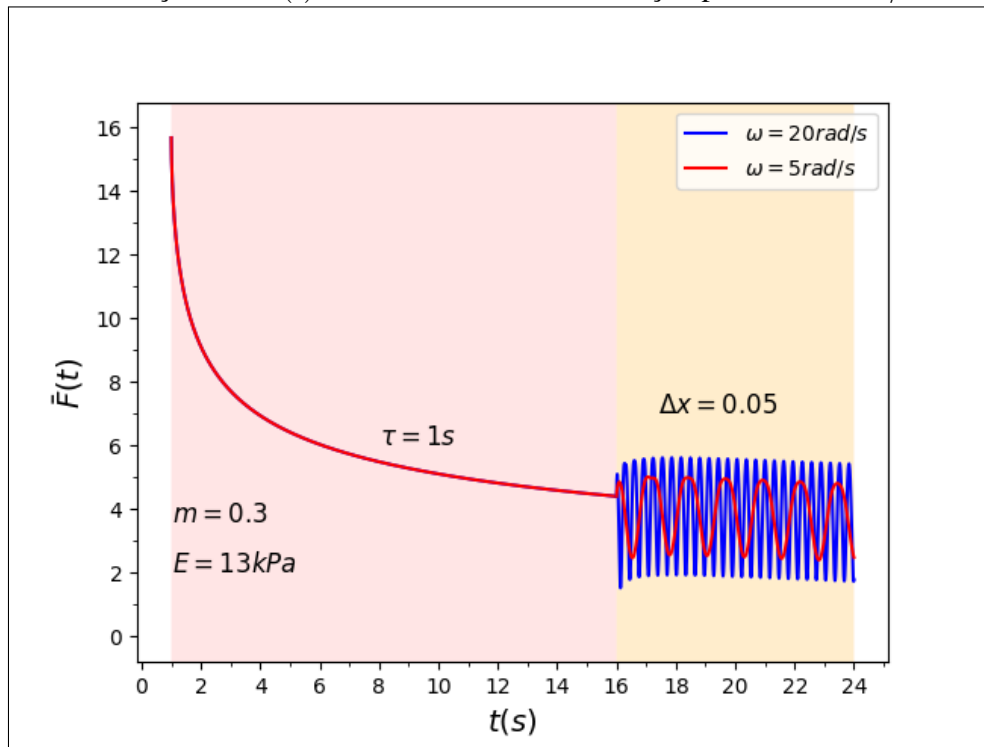


Fonte: elaborada pelo autor.

Convém, agora, realizar uma breve análise sobre a função $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))$ presente na (3.54). Verifica-se que, quanto mais próximo o parâmetro $1 - m$ torna-se de zero, a parte real dessa função tende ao valor constante $\Gamma(1 - m)$ com o decorrer do tempo, enquanto a sua parte imaginária tende a zero dentro de um curto intervalo de tempo. Além disso, o aumento da frequência de oscilação ω acelera esse processo, de modo que ambas as partes de $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))$ tendem a valores aproximadamente constantes mais rapidamente. A Figura 29 mostra o comportamento das partes real, imaginária e do módulo de $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))$ em função de $t - \hat{t}$ para $m = 0.8$ e ω assumindo os valores: (a) $\omega = 1rad/s$, (b) $\omega = 10rad/s$, (c) $\omega = 100rad/s$ e (d) $\omega = 500rad/s$.

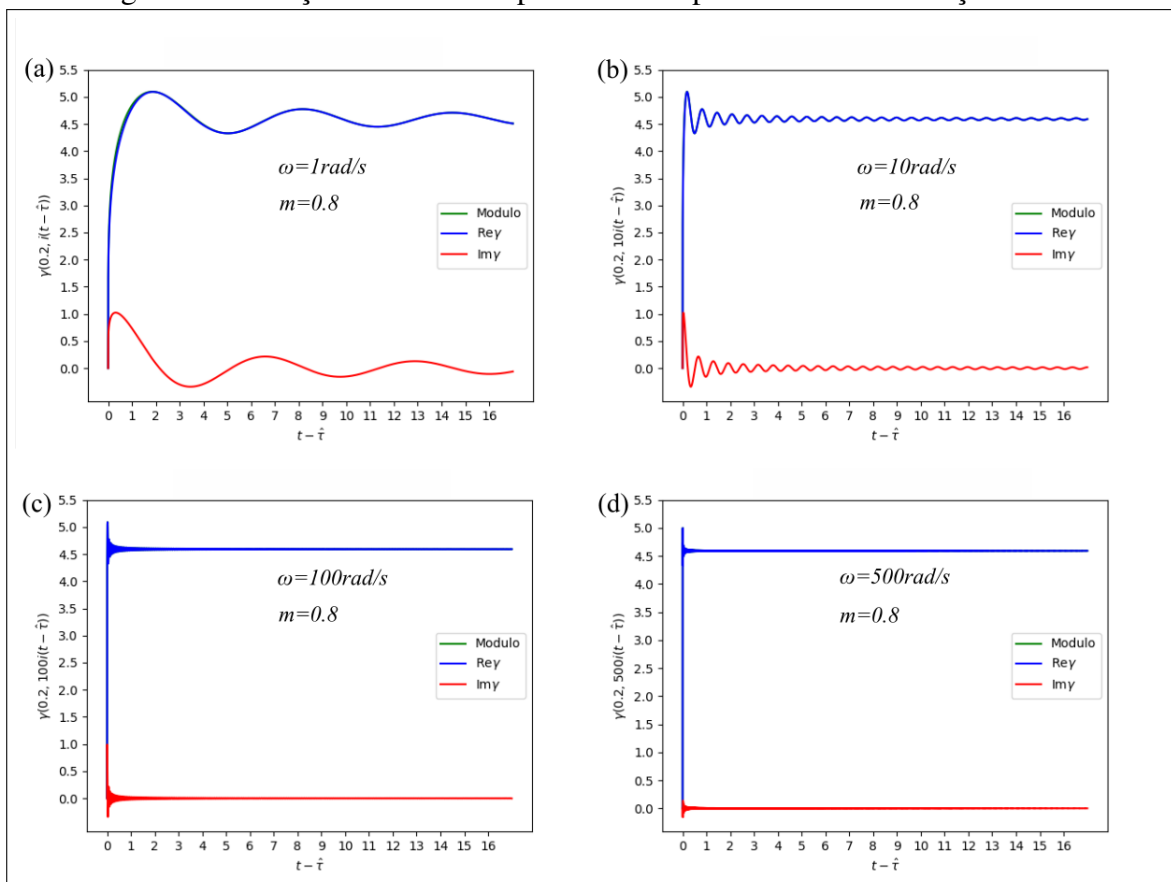
Por outro lado, para valores de $1 - m$ mais próximos de 1, as partes real e imaginária de $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))$ oscilam de maneira muito semelhante, embora a magnitude da parte real seja sempre maior do que a da parte imaginária. Contudo, mesmo no regime de altas frequências, as partes real e imaginária não tendem a valores constantes. A Figura 30 mostra o comportamento das partes real, imaginária e do módulo de $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{t}))$ em função de $t - \hat{t}$ para $m = 0.2$

Figura 28 – Simulações de $\bar{F}(t)$ nas fases de *dwell* e oscilação para $\omega = 5rad/s$ e $\omega = 20rad/s$



Fonte: elaborada pelo autor.

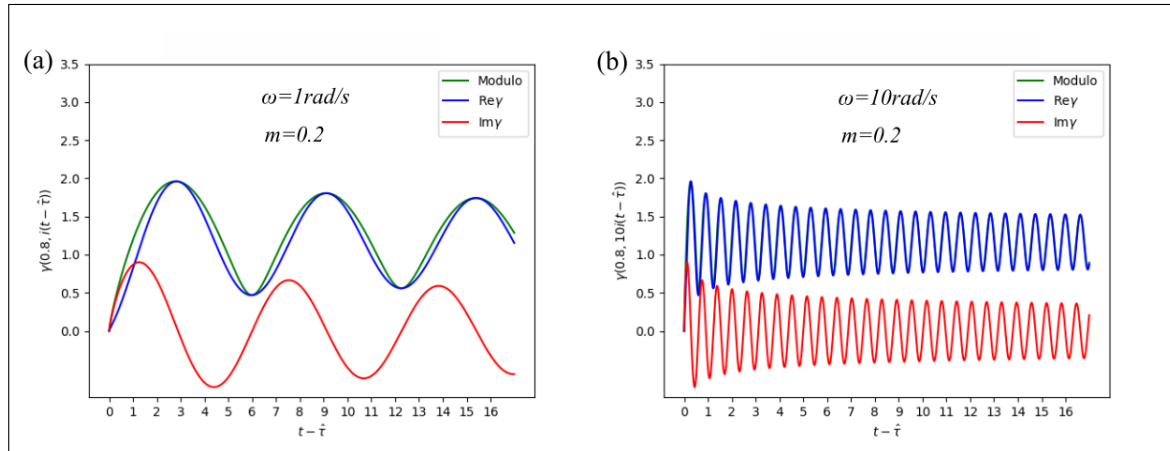
Figura 29 – Função Gama Incompleta Inferior para $m = 0.8$ em função de $t - \hat{t}$



Fonte: elaborada pelo autor.

e ω assumindo os valores: (a) $\omega = 1\text{rad/s}$, (b) $\omega = 10\text{rad/s}$.

Figura 30 – Função Gama Incompleta Inferior para $m = 0.2$ em função de $t - \hat{\tau}$



Fonte: elaborada pelo autor.

As Figuras 29 e 30 também permitem concluir que, com o decorrer do tempo, a influência da parte imaginária sobre o módulo $\gamma(1 - m, \omega i(t - \hat{\tau}))$ torna-se cada vez menor; tal efeito fica mais evidente à medida que ω assume valores crescentes, como pode ser percebido com mais clareza na transição da Figura 30 (a) para a Figura 30 (b), por exemplo. Portanto, a fim de que se possa calcular os valores de \bar{F}_o , deve-se substituir, nas equações (3.51) e (3.54), $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau}))$ por $|\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau}))|$.

Em síntese, conclui-se que, para expoentes m altos, a parte imaginária da função $\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau}))$ esvai-se logo nos primeiros segundos de indentação sinusoidal, sendo tal efeito mais preponderante para altos valores de ω . Dentro das ressalvas supracitadas, pode-se, então, substituir o valor de $|\gamma(1 - m, i\omega(t - \hat{\tau}))|$ por $\Gamma(1 - m)$, de modo que as equações (3.51) e (3.54) tornam-se:

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \lambda G^* \Delta x e^{i\omega(t - \hat{\tau})}, \quad (4.3)$$

e

$$\bar{F}_o = \bar{F}_d + \lambda \sigma_o^* \quad (4.4)$$

Isso pode ser observado na Figura 29, em que $|\gamma(1 - 0.8, \omega i(t - \hat{\tau}))|$ tende a $\Gamma(0.2) \approx 4.59$ e $\text{Im}[\gamma(1 - 0.8, \omega i(t - \hat{\tau}))]$ vai a zero à medida que $t - \hat{\tau}$ cresce.

No que diz respeito aos módulos de armazenamento e de perda, os mesmos advêm diretamente da equação (2.117). Lembrando que $i = \exp(\pi/2)$, segue que $i^m = \exp(m\pi/2)$. Substituindo esse resultado na (2.117) e extraindo-se suas partes real e imaginária, obtém-se

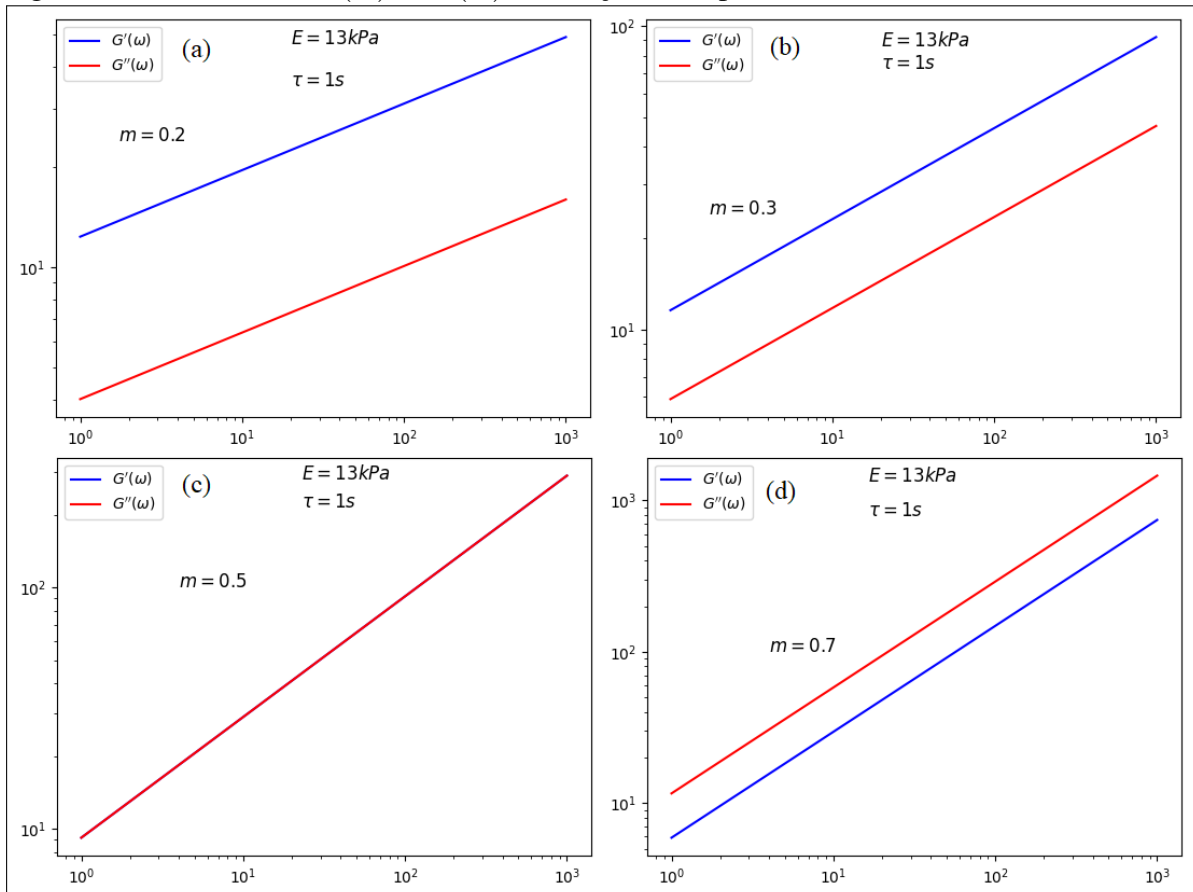
$$G' = E_0(\omega\tau)^m \cos\left(\frac{m\pi}{2}\right) \quad (4.5)$$

e

$$G'' = E_0(\omega\tau)^m \sin\left(\frac{m\pi}{2}\right). \quad (4.6)$$

Plotando-se os valores G' e G'' , em função de ω , em gráficos do tipo *log-log*, verifica-se que estes últimos são retas, conforme pode ser visualizado na Figura 31. Além disso, para valores de $0 < m < 0.5$, tem-se que G' sempre assume valores maiores do que G'' , vide Figura 31 (a) e (b), embora ambos os parâmetros se aproximem um do outro à proporção que m se aproxima de 0.5; por outro lado, para $0.5 < m < 1$, G'' supera G' ao longo de todo o domínio de ω e tende a se afastar cada vez mais de G' à medida que m tende a 1, vide Figura 31 (d). No caso particular em que $m = 0.5$, tem-se que $G' = G''$, conforme pode ser visualizado na Figura 31 (c).

Figura 31 – Gráficos de $G'(\omega)$ e $G''(\omega)$ em função de ω para diferentes valores de m - Modelo 2



Fonte: elaborada pelo autor.

Esse comportamento corrobora o a tese de que materiais com expoente de lei de potência $m > 0.5$ possuem propriedades predominantemente viscosas, enquanto materiais com $0 < m < 0.5$ possuem propriedades elásticas superiores àquelas. Além disso, de acordo com esse modelo, não há um *crossover* propriamente dito entre $G'(\omega)$ e $G''(\omega)$, visto que, no caso

de $m = 0.5$, ambos os módulos coincidem ao longo do espectro de frequência. Portanto, o presente modelo possibilita uma compreensão de materiais viscoelásticos dentro de um regime no qual suas propriedades reológicas permanecem estáveis, não sendo capaz de descrever, por si só, regimes de transição como aqueles mencionados anteriormente para o caso de células (ALCARAZ *et al.*, 2003; DENG *et al.*, 2006; CAI *et al.*, 2013). Outro ponto que merece destaque diz respeito à tangente do ângulo de perda. Como pode ser inferido a partir das equações (4.5) e (4.6), tem-se que

$$\tan(\phi) = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} = \tan\left(\frac{m\pi}{2}\right), \quad (4.7)$$

onde ϕ corresponde ao ângulo de perda. Desse modo, a tangente de perda é constante e depende somente de m .

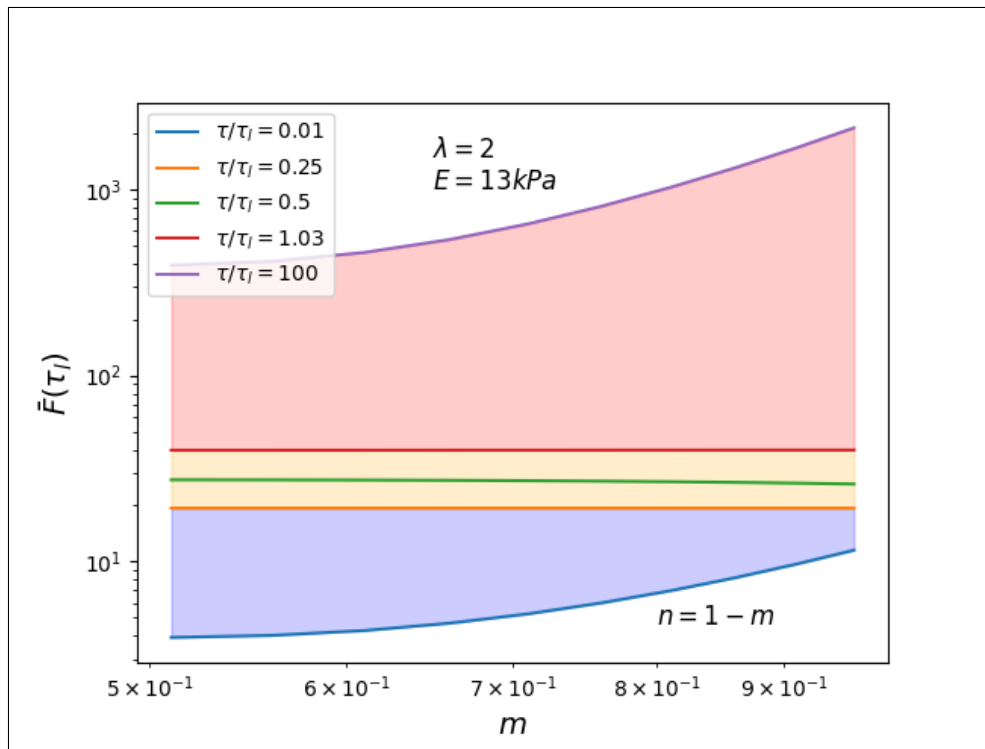
O presente modelo é empregado para descrever, por exemplo, *soft glassy materials* e tendo em vista que as propriedades reológicas de células são bem descritas através de lei de potência, desenvolveu-se um modelo chamado *power law structural damping model* (ALCARAZ *et al.*, 2003) no qual o módulo de armazenamento é modelado de maneira similar à equação (4.5), enquanto o módulo de perda é expresso por uma superposição de duas leis de potência simples, uma com expoente igual à do módulo de armazenamento e outra com expoente unitário devido à interação hidrodinâmica da ponta de prova com o fluido no qual as células estavam imersas (SOUSA *et al.*, 2020). Além disso, tal modelo também se diferencia do apresentado aqui por levar em consideração o arrasto viscoso devido à interação do indentador com a amostra. Assim sendo, tal modelo prevê uma frequência de *crossover* entre G' e G'' que caracteriza uma transição do comportamento viscoelástico de células de um regime de baixas frequências para outro de altas frequências, cuja verificação experimental foi efetivamente comprovada. Para maiores detalhes, ver (ALCARAZ *et al.*, 2003).

4.3 Análise reológica do Modelo 3

Ao analisar-se a força máxima $\bar{F}(\tau_l)$ durante a fase de carga à luz do presente modelo, pode-se constatar algumas características interessantes, vide Figuras 32, 33, 34, 35 e 36. Em todas essas figuras, adotou-se $E_0 = 13kPa$ e $n = 1 - m$.

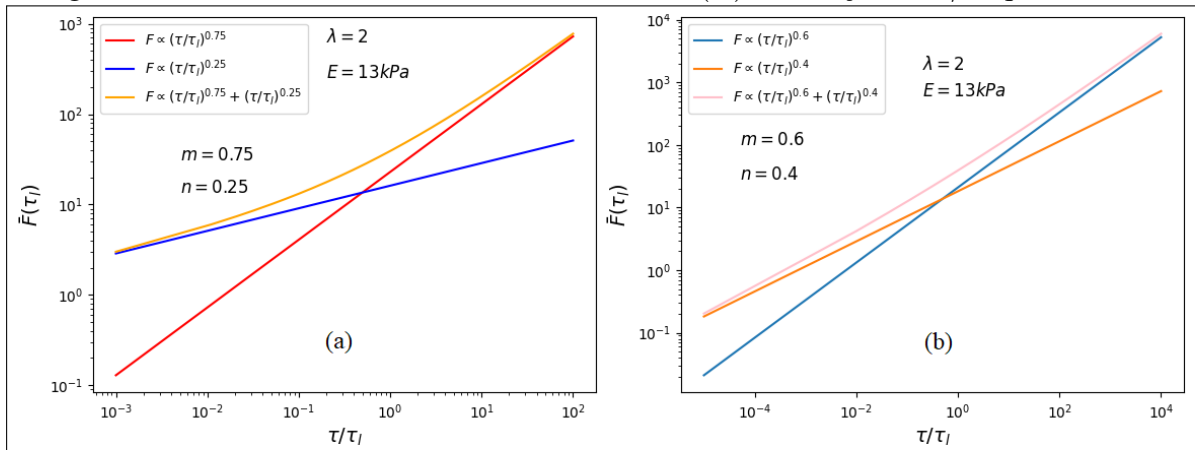
As Figuras 32 e 34 são complementares e úteis para entender o comportamento de $\bar{F}(\tau_l)$ para o caso em que o indentador é cônico. Em ambas, pode-se verificar, primeiramente, que, para quaisquer valores fixos de m e n , $\bar{F}(\tau_l)$ aumenta à medida que τ/τ_l cresce. Em outras

Figura 32 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m ao longo de diferentes valores de τ/τ_l para o caso em que $\lambda = 2$



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 33 – Influência dos valores de m e n sobre $\bar{F}(\tau_l)$ em função de τ/τ_l quando $\lambda = 2$

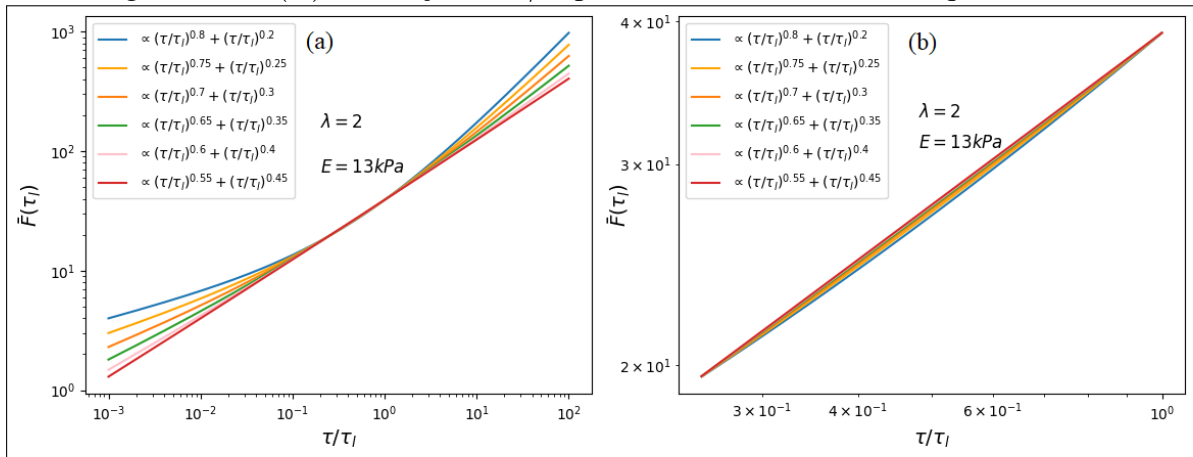


Fonte: elaborada pelo autor.

palavras, quanto mais rapidamente se indentar uma mostra, o que implica em reduzir o tempo de carga τ_l , maior será o valor de $\bar{F}(\tau_l)$. Isso pode ser visualizado na Figura 32 através do espaçamento que há entre cada uma das cinco curvas coloridas que representam o regime de $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m e n para valores fixos de τ/τ_l , onde a de cor roxa simboliza aquela com maior valor de τ/τ_l e a de cor azul a que possui menor valor desse parâmetro. Para o caso da Figura 34, isso pode ser visualizado de maneira mais direta, pois cada uma das curvas representadas nela, cada qual simbolizando materiais com valores de m e n diferentes, cresce

com τ/τ_l , embora haja pontos em que suas taxas de crescimento variem.

Figura 34 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de τ/τ_l para diferentes valores de m quando $\lambda = 2$



Fonte: elaborada pelo autor.

Sobre este último aspecto, a Figura 32 revela três regiões globais que delimitam a maneira como $\bar{F}(\tau_l)$ se comporta em função de m para diferentes valores de τ/τ_l . A região em azul representa um conjunto de curvas em que τ/τ_l assume valores menores do que 0.25 e que caracteriza o aumento de $\bar{F}(\tau_l)$ com o expoente m . Quando se percorre essa região no sentido do aumento de τ/τ_l , ou seja, de baixo para cima, a taxa de crescimento de $\bar{F}(\tau_l)$ em relação à m reduz-se à medida que τ/τ_l se aproxima de 0.25; por outro lado, invertendo-se esse sentido, a taxa de crescimento de $\bar{F}(\tau_l)$ tende a se acentuar. Para entender esse comportamento, basta recorrer ao valor que a equação (3.55) assume quando $t = \tau_l$, ou seja à expressão:

$$\bar{F}(\tau_l) = E \frac{\Gamma(\lambda + 1)}{\Gamma(\lambda + 1 - m)} \left(\frac{\tau}{\tau_l}\right)^m + E \frac{\Gamma(\lambda + 1)}{\Gamma(\lambda + 1 - n)} \left(\frac{\tau}{\tau_l}\right)^n. \quad (4.8)$$

Tendo como base a equação (4.8) e assumindo que $\tau/\tau_l < 0.25$, então pode-se concluir que a contribuição principal para $\bar{F}(\tau_l)$ advém do termo que contém o expoente inferior n , que aqui se torna cada vez menor à medida que m cresce; isso explica por que, ao longo de cada curva pertencente à região em azul, o valor de $\bar{F}(\tau_l)$ é crescente em relação à m . Assim, o fato de tornar a razão τ/τ_l maior suaviza a taxa de crescimento dessa força em relação ao aumento de m (decaimento de n); ao passo que sua redução intensifica essa taxa de crescimento. Do ponto de vista da Figura 34, percebe-se que ao se percorrer o gráfico de $\bar{F}(\tau_l)$ ao longo de $\tau/\tau_l < 0.25$, as curvas ali representadas se aproximam cada vez mais umas das outras, significando que a influência da variação de m para o valor de $\bar{F}(\tau_l)$ decresce com τ/τ_l dentro desse domínio. É interessante destacar que, para diferentes valores dos expoentes m e n , quando τ/τ_l atinge valores muito pequenos, o domínio do expoente maior m torna-se praticamente desprezível no cálculo

de $\bar{F}(\tau_l)$, o inverso acontecendo quando τ/τ_l assume valores muito altos, conforme pode ser visualizado na Figura 33(a), onde n é completamente dominante para $\tau/\tau_l \leq 10^{-3}$ e m para $\tau/\tau_l > 10^2$; e (b), onde n é completamente dominante para $\tau/\tau_l < 10^{-4}$ e m para $\tau/\tau_l > 10^4$.

A região de cor alaranjada da Figura 32 mostra um comportamento invertido de $\bar{F}(\tau_l)$ em relação ao expoente superior m . Dentro do intervalo $0.25 < \tau/\tau_l < 1.03$, $\bar{F}(\tau_l)$ decresce de maneira suave em relação à m principalmente nos entornos dos dois extremos desse intervalo de τ/τ_l ; próximo à região central do mesmo, delimitada pela curva de cor verde, na Figura 32, tem-se que esse decrescimento atinge seu ápice, o que pode ser constatado pelo ligeiro aumento da declividade dessa curva para valores de $m > 0.7$. A Figura 34 (b) mostra esse comportamento com mais detalhes, uma vez que consiste em um destaque da parte (a) da mesma para valores de τ/τ_l situados dentro do intervalo especificado. Nela, pode-se ver que as curvas de $\bar{F}(\tau_l)$ apresentam um arranjo espacial fusiforme, isto é, elas se encontram bastante próximas nos pontos extremos do intervalo e mais afastadas entre si na região central, e de tal modo que aquelas com menor valor de m dispõem-se acima da que possui o maior valor em uma ordenação decrescente de m . Essa disposição das curvas pode ser compreendida com base na equação (4.8). Com efeito, para valores de $\tau/\tau_l < 0.5$, tem-se que o expoente n ainda contribui de forma mais forte para o valor de $\bar{F}(\tau_l)$, embora a contribuição de m já não possa mais ser ignorada e, de fato, fortalece-se à medida que τ/τ_l aumenta. Então, o que ocorre no início desse intervalo é uma continuação do que estava acontecendo na região em azul da Figura 32 quando analisada do ponto de vista do aumento de τ/τ_l . Contudo, assim como m ganha mais influência sobre $\bar{F}(\tau_l)$, o papel de n diminui até que seja atingida uma situação em que ambos os expoentes contribuem igualmente para o valor de $\bar{F}(\tau_l)$, que corresponde ao ponto de *crossover* e que é indicado pela supracitada curva de cor verde da Figura 32. O valor de $(\tau/\tau_l)_{cross} \approx 0.5$, que denota o *crossover* entre os expoentes da lei de dupla potência, pode ser calculado diretamente da (4.8) ao se igualar o termo que contém o expoente m ao que possui o expoente n . Fazendo-se isso e isolando τ/τ_l , obtém-se:

$$(\tau/\tau_l)_{cross} = \left[\frac{\Gamma(\lambda + 1 - m)}{\Gamma(\lambda + 1 - n)} \right]^{1/(m-n)}. \quad (4.9)$$

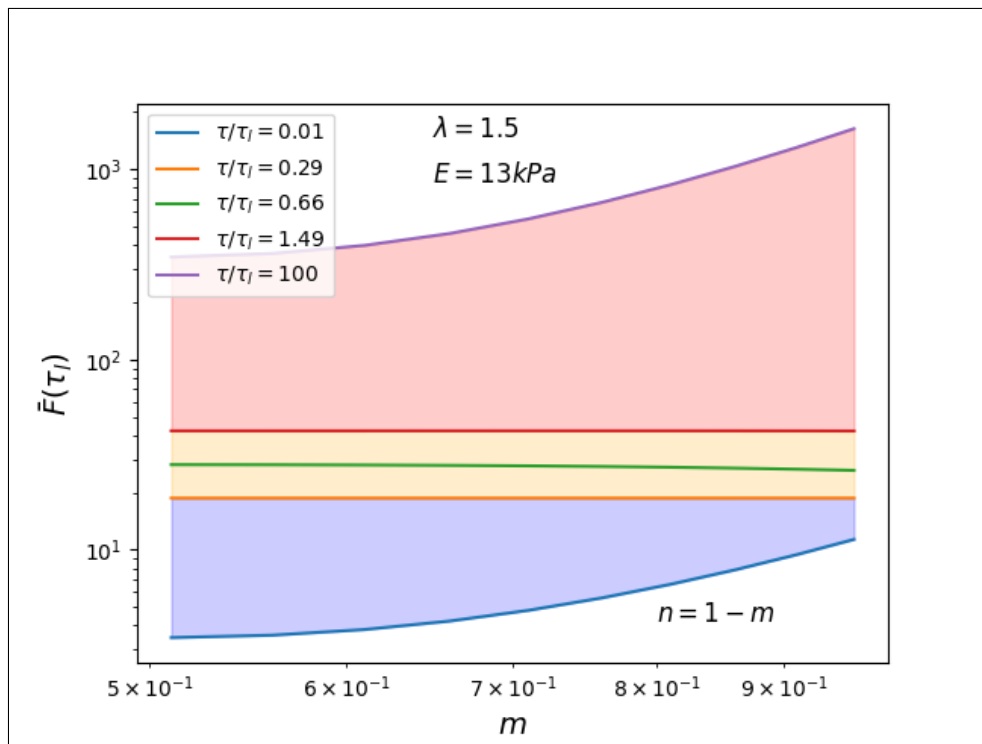
Findado o *crossover* entre os expoentes m e n , $\bar{F}(\tau_l)$ passa a ser regida predominantemente pelo expoente maior m , de modo que, enquanto $\tau/\tau_l < 1.03$, $\bar{F}(\tau_l)$ apresentará um crescimento desacelerado em função de n , o que explica a aproximação das curvas mostradas na extremidade superior da Figura 34 (b). Portanto, para valores de $\tau/\tau_l > 1.03$, $\bar{F}(\tau_l)$ retoma o

crescimento com o expoente m . Isso também pode ser visualizado na Figura 33.

A região azul da Figura 32 mostra que $\bar{F}(\tau_l)$ é crescente em relação m e caracteriza o domínio desse expoente sobre a medida da força máxima alcançada na fase de carga, conforme discutido antes.

Em síntese, tem-se que, considerando o presente modelo, quando se indenta uma amostra de maneira muito lenta ($\tau_l > \tau$), sua resposta viscoelástica é dominada pelo expoente inferior n , o que implica em um comportamento mais próximo do elástico, típico dos *soft glassy materials*, visto que o expoente superior m possui influência consideravelmente reduzida. Por outro lado, processos de nanoindentação realizados de maneira rápida implicam em uma resposta do material mais próxima do regime viscoso, visto que o expoente maior m governa o comportamento de $\bar{F}(t)$ para valores de $\tau/\tau_l > 0.5$. Para fins de exemplificação, caso um dado material possuísse $\tau \approx 10^{-3}s$, $m = 0.8$, $n = 0.2$ e fosse indentedo por um indentador cônico, o valor estimado de τ/τ_l seria de ≈ 0.497 ; isso implicaria em $\tau_l \approx 2.01 \times 10^{-3}s$. Portanto, para esse caso, a observação do *crossover* entre os expoentes da lei de dupla potência deveria ser feita dentro de uma janela de tempo muito pequena.

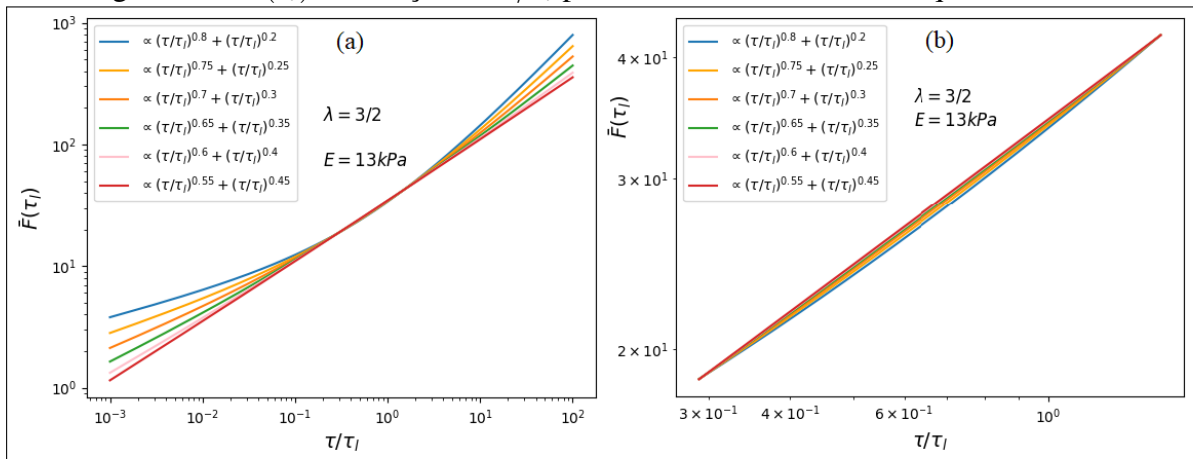
Figura 35 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m ao longo de diferentes valores de τ/τ_l para o caso em que $\lambda = 1.5$



Fonte: elaborada pelo autor.

Uma análise de $\bar{F}(\tau_l)$ semelhante a realizada para o caso de um indentador cônico

Figura 36 – $\bar{F}(\tau_l)$ em função de τ/τ_l para diferentes valores de m quando $\lambda = 1.5$



Fonte: elaborada pelo autor.

pode ser estendida para o caso de um indentador esférico. As figuras 35 e 36 ilustram o comportamento de $\bar{F}(\tau_l)$ em função de m para diferentes valores de τ/τ_l e de $\bar{F}(\tau_l)$ para diferentes valores de m e em função de τ/τ_l , nessa ordem. A região em azul da Figura 35 corresponde aquela na qual $\bar{F}(\tau_l)$ é governada essencialmente pelo expoente n e é crescente com relação à m . Por sua vez, a região de cor alaranjada caracteriza a transição entre o expoente menor n e o expoente maior m , sendo $(\tau/\tau_l)_{cross} \approx 0.66$; dentro do intervalo $0.29 < \tau/\tau_l < 1.49$, $\bar{F}(\tau_l)$ decresce com m de modo mais atenuado nos entornos das extremidades desse intervalo e de modo mais abrupto no seu centro, conforme pode ser inferido a partir de uma análise da Figura 36. Por fim, a região de cor vermelha caracteriza o domínio do expoente m sobre $\bar{F}(\tau_l)$ e o regime ascendente desta última com o referido expoente.

Diante do que foi exposto acima, conclui-se que, para um dado valor de τ , a mudança na geometria do indentador de cônica para esférica causou uma aparente diminuição no tempo de carga necessário para ocorrer *crossover* entre os expoentes da lei de potência, visto que o novo valor de $(\tau/\tau_l)_{cross}$ aumentou cerca de 32% em comparação com o estimado para o caso de um indentador cônico. Porém, sabe-se que $\lambda = 2$ equivale ao valor de $\lambda = 1.5$ aumentado de cerca de 33%. Isso sugere que os valores calculados de $(\tau/\tau_l)_{cross}$ correspondem, na verdade, ao inverso do parâmetro λ característico de cada indentador em questão. Desse modo, tem-se que o tempo de carga mínimo para que haja *crossover* vale:

$$(\tau_l)_{cross} \approx \lambda \tau. \quad (4.10)$$

Vale salientar, contudo, que a análise feita acima restringe-se ao caso particular em que $n = 1 - m$; adotou-se essa abordagem para que se pudesse adquirir uma compreensão aproximada do comportamento de $\bar{F}(\tau_l)$ para diferentes valores dos expoentes da lei de dupla

potência. Sobre o resultado descrito na equação (4.10), deve-se também destacar que o mesmo não é uma generalização, pois depende tanto de λ quanto dos valores de m e n . Comparando-se resultados obtidos via equação (4.9) com aqueles obtidos por meio da equação

$$t_{cross} = \tau \left[\frac{\Gamma(1-m)}{\Gamma(1-n)} \right]^{1/(m-n)} \quad (4.11)$$

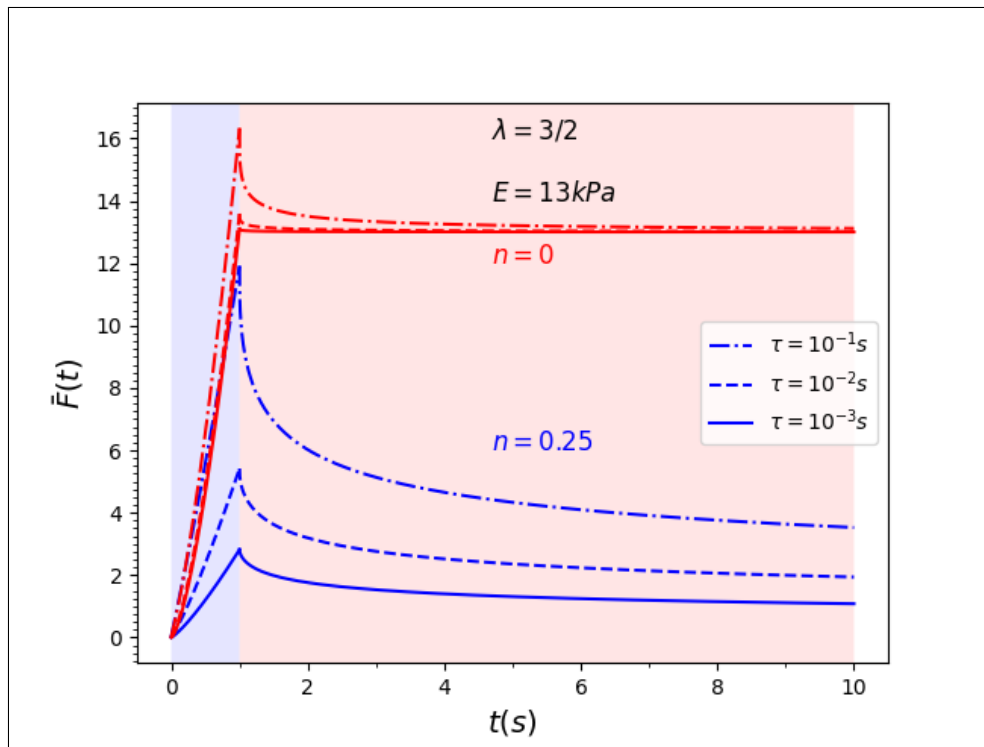
para os mesmos valores de m e $n = 1 - m$, percebe-se que há inconsistências entre eles.

Com efeito, quando se faz, por exemplo, $m = 0.64$ e $n = 0.36$, a equação (4.9) gera, para o caso em que $\lambda = 2$ e $\tau = 0.01s$, $(\tau_l)_{cross} \approx 0.02019s$. Utilizando-se esses mesmos parâmetros de entrada na equação (4.11), obtém-se $t_{cross} \approx 0.01975s$. Considerando que este último resultado possui maior generalidade do que o primeiro, tem-se que o erro da previsão fornecida pela equação (4.9) é de aproximadamente 2.23%. Por outro lado, mantendo-se os valores de λ e τ adotados acima e fazendo $m = 0.75$ e $n = 0.25$, a equação (4.9) fornece $\tau \approx 0.02015s$, ao passo que a equação (4.11) gera $t_{cross} \approx 0.03239s$. Neste último exemplo, caso se adote $\tau_l = 0.02015s$, então o *crossover* entre m e n não será visualizado, uma vez que este valor é cerca de 1.6 vezes inferior ao obtido a partir da (4.11).

O comportamento de $\bar{F}(t)$ durante a fase de *dwell* está representado na Figura 37, onde adotou-se $\lambda = 1.5$, $E = 13kPa$, $\tau_l = 1s$, $\tau_d = 9s$, $m = 0.75$ e $n = 0.25$ nas curvas em azul e $n = 0$ nas curvas em vermelho.

Ao analisar-se a Figura 37, a qual foi construída com base no trabalho de Sousa *et al* (2020), constata-se que o comprimento das curvas de *dwell*, as quais encontram-se na região em vermelho do gráfico, diminui à medida que se reduz o parâmetro τ e, conseqüentemente, a razão τ/τ_l . Conforme discutido antes, quando um dado material é indentado ao longo de uma escala de tempo muito superior a τ/τ_l , as propriedades viscoelásticas do mesmo são regidas, com maior intensidade, pelo expoente inferior n , pois o domínio do expoente superior m encerra-se antes do alcance de $\bar{F}(\tau_l)$ após a passagem do tempo t_{cross} que caracteriza a mudança de um expoente para o outro, em consonância com a equação (4.11). Desse modo, materiais sujeitos a processos reológicos semelhantes a esse tendem a relaxar mais rapidamente do que caso estivessem sob um regime de indentação cuja frequência de operação fosse rápida o bastante para que, uma vez iniciada a etapa de *dwell*, pudessem relaxar sob a influência tanto de m , embora esta já fosse fraca, quanto de n . Das curvas em azul presentes na Figura 37, aquela com $\tau = 10^{-3}s$ relaxa mais rapidamente do que aquelas com $\tau = 10^{-2}s$ e $\tau = 10^{-1}s$, sendo esta última a que mais demora a relaxar em virtude de estar sob forte influência de ambos os expoentes. Com respeito às

Figura 37 – Simulação de curvas de força nas fases de aproximação e *dwell* para diferentes décadas de τ - Modelo 3



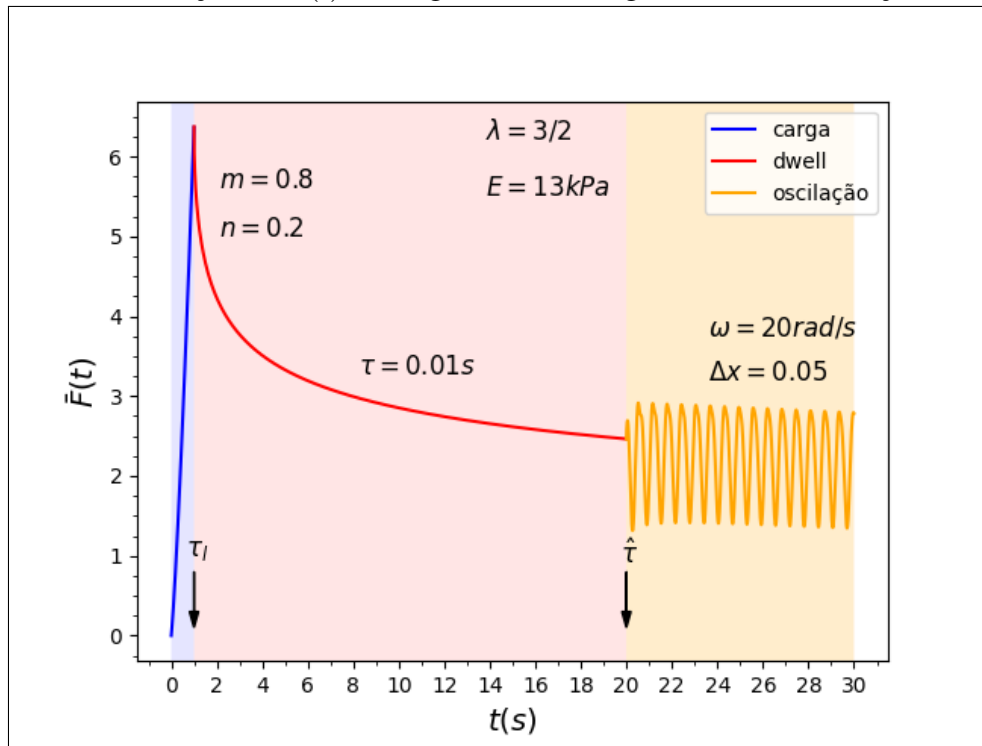
Fonte: elaborada pelo autor.

curvas em vermelho, isso se torna mais evidente, pois como $n = 0$, as curvas em que $\tau/\tau_l = 10^{-1}s$ e $\tau/\tau_l = 10^{-2}$ decaem, ao longo do estágio de *dwell*, somente sob a fraca influência do expoente m , ao passo que aquela com $\tau/\tau_l = 10^{-3}s$ praticamente não sofre relaxação; este último tipo de comportamento é semelhante ao apresentado por materiais elásticos. Essa abordagem sugere que uma descrição adequada das curvas de aplicação de carga e *dwell* geradas por um AFM é muito útil para ser compreender a fase de *crossover* entre os expoentes de resposta dinâmica rápida e lenta de células e outros materiais viscoelásticos complexos. Com efeito, embora o AFM seja considerado um instrumento que opera com frequência de aplicação de carga limitada, ainda assim é possível visualizar a resposta viscoelástica de materiais macios durante a transição entre os expoentes m e n através de Curvas de Força-Dwell. Para esse fim, a fase de aplicação de carga deve ser executada com velocidade de indentação lenta, a fim de que se disponha de uma resolução adequada para verificar influência do expoente m durante essa etapa, e o estágio de *dwell* estendido por um tempo suficiente de modo a propiciar a detecção da mudança no regime viscoelástico rápido para o lento, este último caracterizado pelo expoente n , conforme discutido e demonstrado experimentalmente por Sousa *et al* (2020).

No que diz respeito à fase de oscilação, tem-se que o presente modelo é regido pela equação (3.57). A Figura 38 mostra o comportamento de $\bar{F}(t)$ ao longo dos três estágios

de nanoindentação para o caso em que $\tau = 0.01s$, $\lambda = 1.5$, $\tau_l = 1s$, $\tau_d = 19s$, $E = 13kPa$, $\omega = 10rad/s$, $\Delta x = 0.05$ e $m = 0.8$ e $n = 0.2$. A região em azul revela uma fase de aplicação de carga bastante íngreme, na qual ocorre uma rápida transição do expoente m para o expoente n no domínio de $\bar{F}(t)$; a região em vermelho, por sua vez, corresponde a um longo processo de relaxação de tensão ou de força; por fim, a região de cor laranja representa a fase de oscilação. Embora tenha-se estabelecido um tempo de *dwell* de $\tau_d = 19s$, percebe-se que a fase oscilatória decai lentamente ao longo do tempo, visto que o material continua a relaxar.

Figura 38 – Simulação de $\bar{F}(t)$ ao longo dos três estágios de nanoindentação - Modelo 3



Fonte: elaborada pelo autor.

O módulo de cisalhamento complexo é fornecido pela equação (2.121), de modo que os módulos de armazenamento e de perda são expressos pelas seguintes equações:

$$G'(\omega) = E \left[(\omega\tau)^m \cos\left(\frac{m\pi}{2}\right) + (\omega\tau)^n \cos\left(\frac{n\pi}{2}\right) \right] \quad (4.12)$$

e

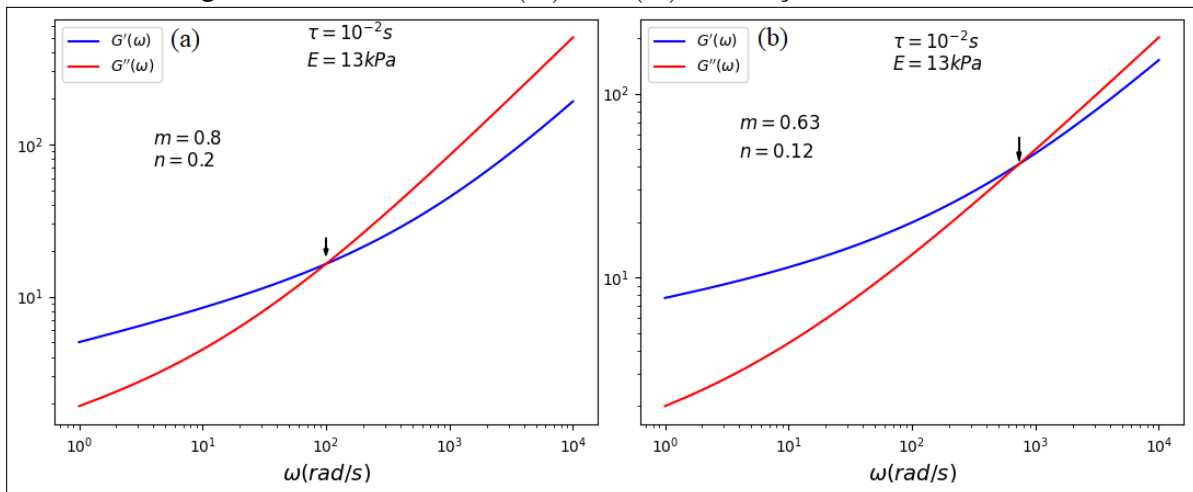
$$G''(\omega) = E \left[(\omega\tau)^m \sin\left(\frac{m\pi}{2}\right) + (\omega\tau)^n \sin\left(\frac{n\pi}{2}\right) \right]. \quad (4.13)$$

Por sua vez, ao se igualar as equações (4.12) e (4.13), pode-se determinar a frequência de *crossover* entre os módulos de armazenamento e de perda. Seu valor é expresso pela equação:

$$\omega_{cross} = \frac{1}{\tau} \left[\frac{\sin\left(\frac{m\pi}{2}\right) - \cos\left(\frac{m\pi}{2}\right)}{\cos\left(\frac{n\pi}{2}\right) - \sin\left(\frac{n\pi}{2}\right)} \right]^{1/(m-n)} \quad (4.14)$$

É interessante observar que, para o caso particular em que se adota a idealização $n = 1 - m$, tem-se que $\omega_{cross} = 1/\tau$ e o correspondente ângulo de perda para essa frequência assume a forma $\phi(1/\tau) = (m+n)\pi/4$; para os casos mais gerais, ω_{cross} é regido pela equação (4.14) e o ângulo de perda obtido via o cálculo da tangente de perda, expressa pela razão entre G' e G'' .

Figura 39 – Gráficos de $G'(\omega)$ e $G''(\omega)$ em função de ω - Modelo 3



Fonte: elaborada pelo autor.

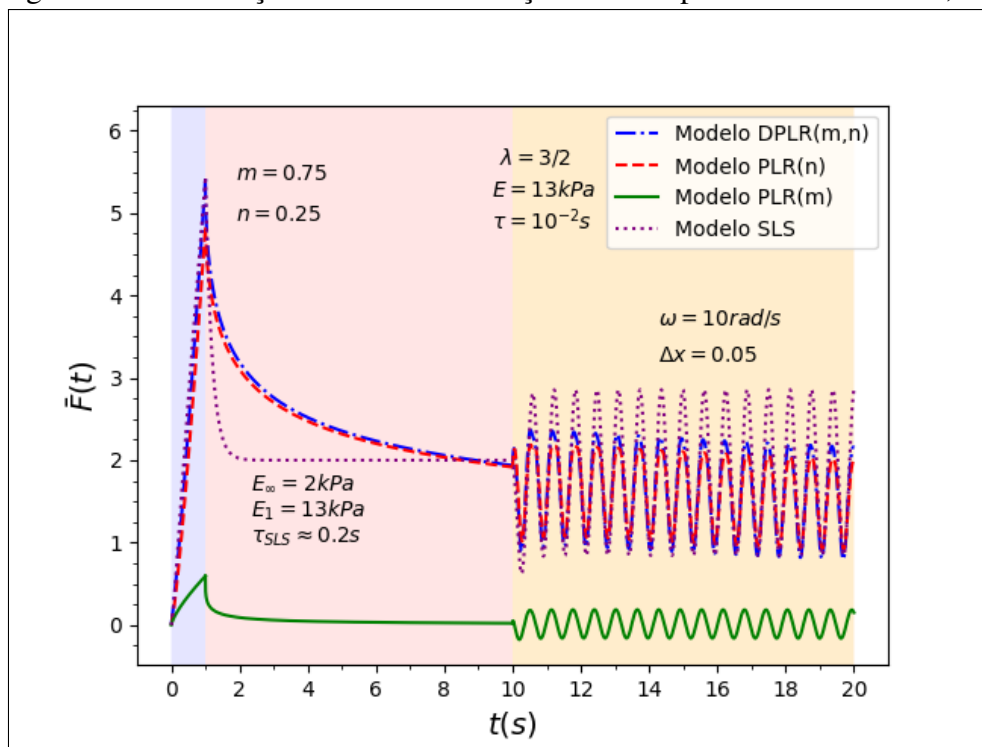
A figura acima mostra o comportamento de $G'(\omega)$ e de $G''(\omega)$ em função da frequência angular ω em gráficos do tipo *loglog* para os casos em que: (a) $m = 0.8$ e $n = 0.2$; e (b) $m = 0.63$ e $n = 0.12$. Em ambos os casos, fez-se $\tau = 0.01s$ e $E = 13kPa$. Nela, tem-se que, em (a), onde $n = 1 - m$, a frequência de *crossover* $\omega_{cross} = 1/0.01 = 100rad/s$, em conformidade com o que foi discutido no parágrafo anterior. Por sua vez, em (b), $\omega_{cross} = 738.17rad/s$, em conformidade com o valor estabelecido pela equação (4.14) para o caso dos valores especificados de m e n . Além disso, fica claro, através de uma análise desses gráficos, que para frequências inferiores a ω_{cross} , os materiais regidos pelo presente modelo possuem módulo G' dominante, significando o predomínio de suas propriedades elásticas sobre as viscosas. Por outro lado, quando tais materiais são indentados com frequências superiores a ω_{cross} , o módulo G'' ultrapassa G' , de modo que, nesse regime de altas frequências, seu comportamento aproxima-se do de um fluido viscoso. Diferentemente da previsão estabelecida pelo Modelo 1, o módulo de armazenamento não volta a dominar sobre o de perda à medida que ω ultrapassa ω_{cross} . Por sua vez, o Modelo 2

sequer estabelece o regime de *crossover*, visto que simboliza apenas um elemento fracionário caracterizado por um único expoente de lei de potência.

4.4 Síntese comparativa dos modelos propostos

A Figura 40 mostra o comportamento de $\bar{F}(t)$ ao longo das três etapas de nanoindentação de acordo com cada um dos modelos teóricos analisados nas seções anteriores. Denotou-se por DPLR o modelo expresso em termos de uma lei de dupla potência reológica, por PLR(n) o modelo expresso em termos de uma lei de potência reológica simples em função do expoente menor n , por PLR(m) o modelo de lei de potência reológica simples expresso em termos do expoente maior m e por SLS o modelo expresso em termos do de sólido linear padrão. Os parâmetros de entrada listados à seguir assumiram valores em comum para cada um dos modelos em questão: $\lambda = 1.5$, $\tau_l = 1s$, $\tau_d = 9s$ e $\omega = 10rad/s$. Além desses parâmetros, os modelos de DPLR, de PLR(m) e de PLR(n) utilizaram $\tau = 0.01s$, $E = 13kPa$ e expoentes de lei de potência $m = 0.75$ e $n = 0.25$, enquanto o modelo de SLS utilizou $\tau_{SLS} \approx 0.2s$, $E_1 = 13kPa$ e $E_\infty = 2kPa$.

Figura 40 – Simulações de curvas de força obtidas a partir dos Modelos 1, 2 e 3

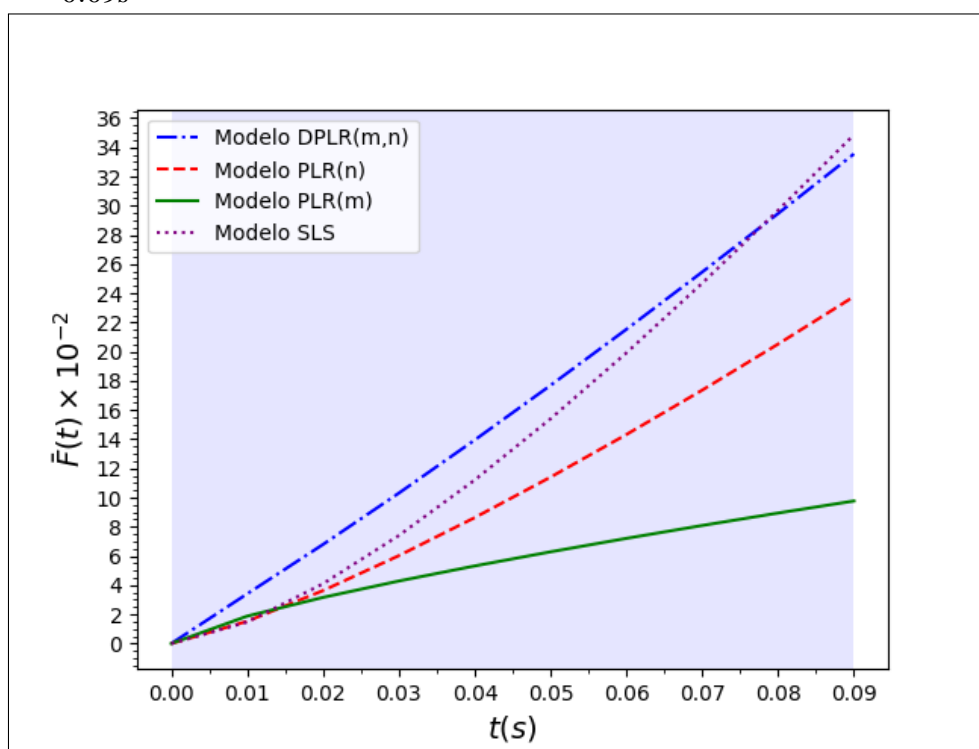


Fonte: elaborada pelo autor.

Conforme pode ser visualizado na Figura 40, as curvas de força obtidas com base nos

modelos de SLS e de DPLR durante a fase de aplicação de carga apresentam um comportamento aparente semelhante, embora a taxa de crescimento referente à curva do primeiro modelo seja ligeiramente superior àquela apresentada pela curva do segundo modelo, como pode ser percebido pelas diferenças em suas inclinações. A Figura 41 mostra um recorte da Figura 40 ao longo dos primeiros 0.09s. A partir dela, fica evidente que o domínio da curva que representa o modelo de SLS estabelece-se entre os instantes 0.075s e 0.08s. Antes disso, porém, a curva em azul, que simboliza o modelo de DPLR, encontra-se acima das demais.

Figura 41 – Simulações de $\bar{F}(t)$ obtidas a partir dos Modelos 1, 2 e 3 ao longo dos primeiros 0.09s

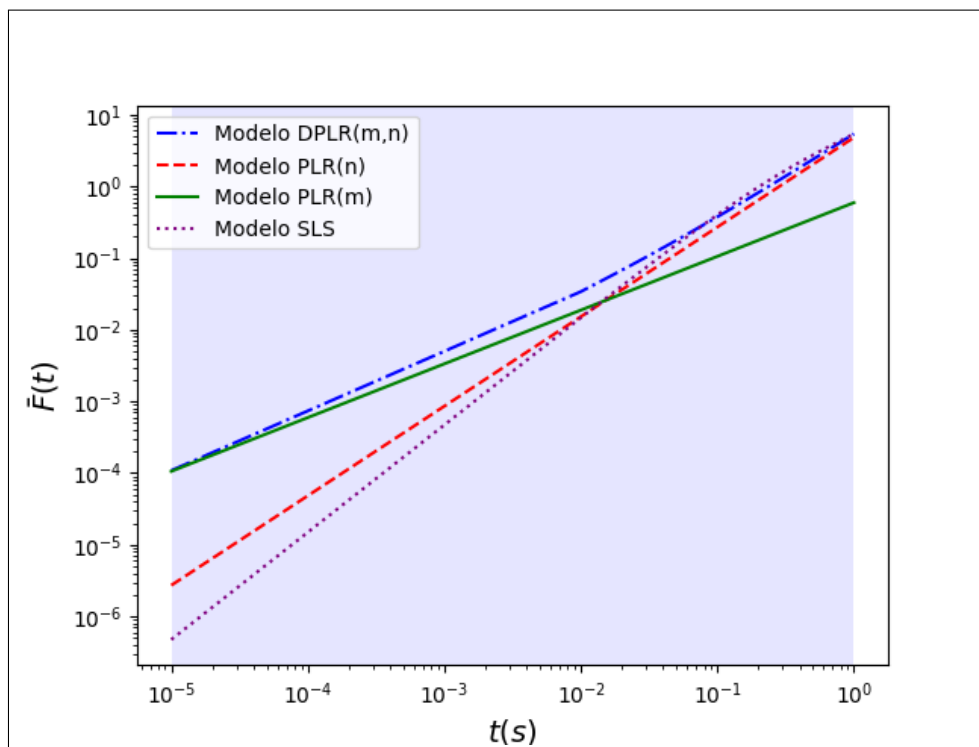


Fonte: elaborada pelo autor.

É interessante observar que, dentro de um intervalo de tempo muito curto, a curva em azul coincide com a curva em verde, esta última representando o modelo de PLR(m). Este comportamento reflete o domínio exclusivo do expoente m sobre o expoente n no caso do modelo de DPLR. Após isso, a curva em azul passa a ser governada, de maneira mais preponderante, pelo expoente n e essa influência tende a se intensificar ao longo do tempo, embora m ainda contribua com $\bar{F}(t)$ de maneira decrescente com t , conforme pode ser visualizado a partir da Figura 42, que representa um destaque de $\bar{F}(t)$ durante a fase de aproximação em um gráfico *loglog*. Quanto ao comportamento geral da curva referente ao modelo PLR(m) durante essa fase, tem-se que a mesma é a que mais se encontra afastada das demais, além de possuir uma taxa de

crescimento fraco ao longo desse intervalo de tempo.

Figura 42 – Gráficos *loglog* de $\bar{F}(t)$ durante o regime de carga obtidos a partir dos Modelos 1, 2 e 3

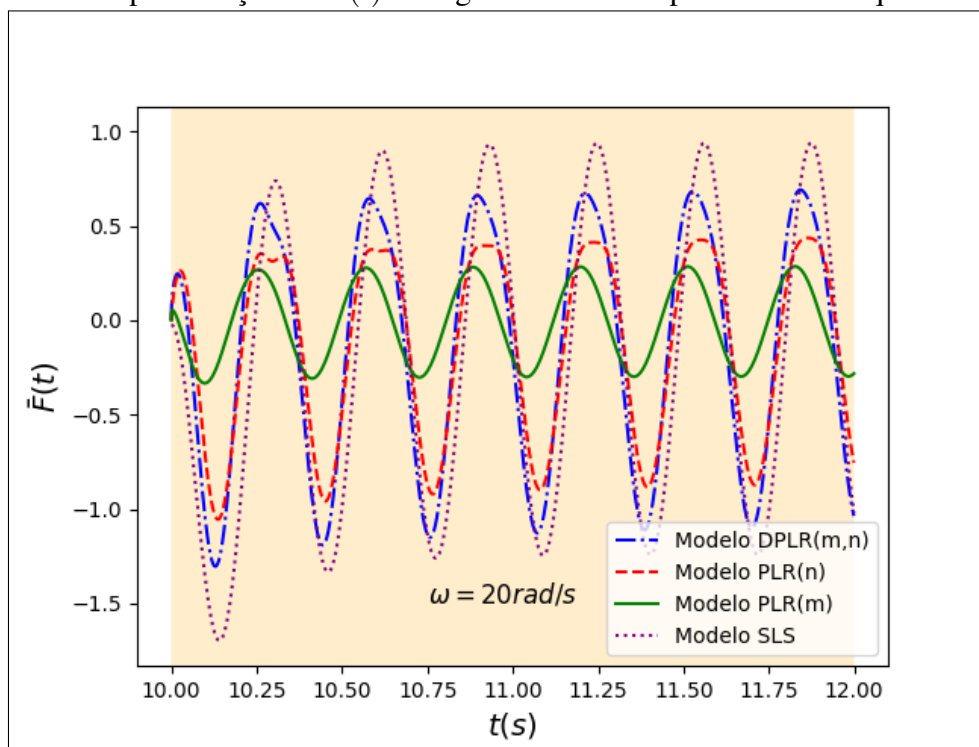


Fonte: elaborada pelo autor.

No que diz respeito à fase de *dwell*, vide Figura 40, a curva expressa pelo modelo de SLS decai completamente até o valor de $E_{\infty} = 2kPa$ dentro de um intervalo de tempo próximo de 1s, diferentemente das demais curvas que sofrem relaxação mais demorada e proporcional à razão τ/τ_l , conforme discutido nas seções 4.2 e 4.3. Além disso, convém destacar que as curvas de *dwell* referentes aos modelos de DPLR e PLR(n) encontram-se muito próximas uma da outra, evidenciando que, dentro desse intervalo de tempo, o modelo de DPLR encontram-se sob forte influência do expoente inferior n . Tendo em vista que células e outros materiais macios são melhor descritos através de leis de potência reológica, pois não possuem uma escala de tempo de relaxação bem definida, tem-se que os modelos de DPLR e o de PLR mostram-se promissores para descrever o processo de relaxação de força sofrido por esses tipos de amostras.

Sobre o regime oscilatório, é interessante observar a influência da frequência angular ω sobre a resposta do material à aplicação da força $\bar{F}(t)$. As Figuras 43 e 44 ilustram isso para o caso em que $\omega = 20rad/s$ e $\omega = 120rad/s$, nesta ordem; além disso, descontou-se de $\bar{F}(t)$ a influência do histórico associado às fases de aplicação de carga e *dwell*, a fim de que se pudesse analisar as curvas de cada modelo em relação a um nível fixo.

Figura 43 – Representação de $\bar{F}(t)$ no regime oscilatório para o caso em que $\omega = 20\text{rad/s}$

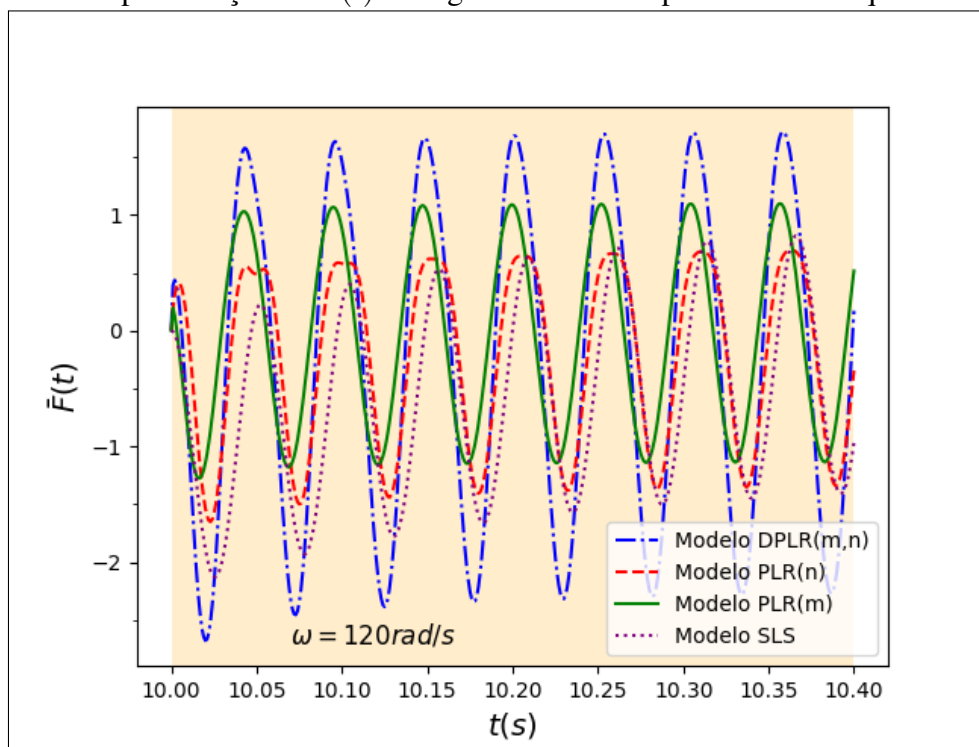


Fonte: elaborada pelo autor.

A partir da Figura 43, pode-se inferir que, no regime de baixas frequências, o modelo de SLS possui, ao longo do tempo, uma amplitude de oscilação superior àquelas relacionadas aos modelos de lei de potência reológica. Entre estes, contudo, o modelo de DPLR é o que apresenta maior amplitude, sendo seguido pelo modelo de PLR(n) e pelo de PLR(m). Isso significa, em outras palavras, que o expoente n tem influência maior sobre a resposta viscoelástica de um dado material no regime dinâmico de baixas frequência; além disso, no caso dos modelos de DPLR, o módulo de armazenamento, $G'(\omega)$ deve apresentar magnitude superior ao de $G''(\omega)$ durante essa fase, pois $\omega < 1/\tau$, vide seção 4.3. Como pode-se constatar ainda na Figura 43, é notável o tamanho reduzido da amplitude de onda associada ao modelo de PLR(m) em comparação com as demais, significando que $\bar{F}(t)$ tem uma dependência fraca com o expoente m .

Por outro lado, a Figura 44 permite inferir que, no regime de altas frequências, os modelos de DPLR e de PLR(m) são os que apresentam maiores amplitudes de oscilação, sendo a amplitude do primeiro superior à do segundo. Dentro do intervalo de tempo destacado nessa figura, tem-se que a amplitude relativa ao modelo de SLS sofre um deslocamento vertical ao longo do tempo. De fato, até antes de $t = 10.21s$, os seus valores de pico eram inferiores aqueles referentes ao modelo de PLR(n). Entretanto, para valores de t posteriores, os valores de pico do modelo de SLS ultrapassam os valores de pico do modelo de PLR(n) e mantém-se abaixo

Figura 44 – Representação de $\bar{F}(t)$ no regime oscilatório para o caso em que $\omega = 120\text{rad/s}$



Fonte: elaborada pelo autor.

dos valores de pico do modelo de PLR(m). Portanto, pode-se concluir que, no regime de altas frequências, o expoente maior m exerce maior influência sobre $\bar{F}(t)$; além disso, no caso dos modelos de DPLR, $G''(\omega)$ deve apresentar magnitude superior ao de $G'(\omega)$ durante essa fase, pois $\omega > 1/\tau$, vide seção 4.3.

Com efeito, esses resultados estão de acordo com o que fora discutido sobre as curvas de aplicação de carga e *dwell* na seção 4.3, onde verificou-se que indentações efetuadas de maneira rápida desencadeiam respostas viscoelásticas sob forte influência do expoente maior m , ao passo que aplicações de carga lentas resultam em respostas viscoelásticas dependentes principalmente do expoente inferior n .

5 CONCLUSÃO

De todos os modelos teóricos aqui apresentados, aquele baseado em uma lei de dupla potência reológica mostrou-se o mais versátil para se estudar as propriedades reológicas de materiais macios, em particular de células, não apenas por permitir a visualização de seu comportamento viscoelástico ao longo de diferentes escalas de tempo e de frequência, mas também por depender de uma quantidade de parâmetros de entrada bem definida. Desse modo, os expoentes de lei de potência, denotados aqui por m e n , expressavam dois regimes viscoelásticos distintos manifestados por um mesmo material: um relacionado à aplicação de carga à altas frequências (durante intervalos de tempo curtos), governando pelo expoente maior m ; e o outro relacionado à aplicação de carga à baixas frequência (durante intervalos de tempo longos), regido pelo expoente inferior n . Com efeito, verificou-se que a mudança de um regime para o outro se realizava em um instante de tempo característico para cada material sob análise, denotado por t_{cross} , e que este, em geral, é bastante pequeno se comparado com as escalas de tempo usualmente utilizadas para se realizar experimentos de nanoindentação. No caso particular em que se utiliza o AFM para indentar células, tem-se que as curvas de força geradas durante a fase de carga costumam ser bem descritas em termos de uma lei de potência fraca, o que sugere enquadrar as células dentro do grupo dos *soft glassy materials*; porém, através de uma análise mais profunda dessas curvas, conforme descrito por Sousa *et al* 2020 e abordado nesse trabalho ao longo da seção 4.3, pode-se perceber a influência do expoente superior m durante os instantes iniciais de aplicação de carga. Vale salientar que, ao analisar-se o comportamento de $\bar{F}(\tau_l)$ para diferentes valores de τ/τ_l , determinou-se que o tempo para que ocorresse o *crossover* entre os expoentes da lei de dupla potência, denotado por $(\tau_l)_{cross}$, dependia da geometria do indentador, e que para o caso particular em que $n = 1 - m$, seu valor correspondia $\lambda \tau$. Contudo, destacou-se que, em geral, $(\tau_l)_{cross}$ não necessariamente apresentava mesmo valor que o tempo t_{cross} . Por fim, também analisou-se essa mudança de regime viscoelástico ao se estudar o comportamento de tais materiais sob regime reológico dinâmico, o qual foi representado, nesse trabalho, pela fase de oscilação das curvas de força simuladas, onde o *crossover* entre as respostas rápida e lenta de um dado material foi visualizado no domínio da frequência e através da mudança nas magnitudes de seus módulos de armazenamento e de perda. Assim, a transição do expoente m para o expoente n era caracterizada pela substituição de um comportamento marcado pela predominância de propriedades elásticas, dominado pelo módulo $G'(\omega)$, para outro em que prevalecia suas propriedades viscosas, o qual era dominado pelo módulo $G''(\omega)$.

Por sua vez, constatou-se que o modelo baseado em uma lei de potência simples, embora fosse capaz de descrever células e outros tipos de materiais macios dentro de um regime limitado de escalas de tempo e de frequência, falhava em prever, sozinho, a transição no comportamento viscoelástico relatada acima. Isto se refletia, por exemplo, no comportamento linear de seus módulos de armazenamento e de perda quando representados em gráficos do tipo *loglog* em função da frequência de oscilação ω . Contudo, observou-se que alterações nos valores de m acarretavam modificações na influência desses módulos sobre o comportamento dinâmico do material; em outras palavras, materiais com $m < 0.5$ apresentavam módulo G' dominante sobre o módulo G'' para diferentes valores de ω , enquanto aqueles modelados com expoente $0.5 < m < 1$ apresentavam o comportamento oposto, isto é, possuíam valores do módulo G'' superiores ao do módulo G' ao longo de ω ; no caso particular em que $m = 0.5$, verificou-se que ambos os módulos se superpunham quando plotados em um mesmo gráfico em função de ω . Apesar disso, esse modelo mostrou-se deveras útil para se estudar o comportamento daquele formado por uma lei de dupla potência, uma vez que este último consiste de uma superposição de duas leis de potência simples e com expoentes distintos.

Por fim, o modelo de sólido linear padrão foi o que apresentou uma resposta viscoelástica mais simples, porém menos acurada, para se modelar células e materiais moles em geral. Isto porque tal modelo parte do pressuposto de que cada material possui um tempo de relaxação bem definido e ao longo do qual a força exercida sobre ele relaxa até um valor proporcional ao parâmetro E_∞ . Contudo, conforme discutido ao longo desse trabalho, materiais viscoelásticos complexos não possuem valores de τ fixos. Em geral, este parâmetro pode assumir diferentes valores, dependendo da escala de tempo que se utiliza para indentar as amostras. Conforme discutido na análise do modelo de lei de dupla potência reológica, as curvas de relaxação apresentadas por tais materiais possuíam amplitudes dependentes de τ/τ_l e dos expoentes m e n . Isso significava que, mantendo-se um dado valor de τ/τ_l fixo, podia-se, alterando-se os valores desses expoentes, obter diferentes curvas de aplicação de carga e de relaxação que refletiam materiais diferentes dentro dessa escala de tempo fixada. Porém, para o caso do modelo baseado no de sólido linear padrão, verificou-se que a alteração do tempo de relaxação τ trouxe modificações consideráveis no comportamento do material como um todo, por isso a ressalva de que tal modelo é dependente de escala temporal. Os modelos de leis de potência, por outro lado, permitiam a análise de um dado material sob diferentes escalas de tempo, visto que suas propriedades viscoelásticas ficavam bem definidas a partir da determinação de m e n . Quanto à resposta

dinâmica associada ao modelo baseado no de sólido linear padrão, verificou-se que, dependendo dos parâmetros E_∞ e E_1 , um dado material podia, ou não, passar por um *crosssvoer* entre seus módulos G' e G'' . Contudo, mesmo quando se considerava o caso em que ocorria *crosssvoer*, a mudança no domínio de G' para G'' fazia-se dentro de um intervalo de tempo limitado; assim, uma vez findado este tempo, o módulo G' retomava seu domínio sobre o material. Este último aspecto não está em conformidade, por, exemplo, com o comportamento reológico de células. Portanto, tal modelo é insatisfatório para se realizar uma análise detalhada das propriedades viscoelásticas de células e outros materiais que sofrem relaxação ao longo de múltiplas escalas de tempo.

Com base no que foi discutido até então, acredita-se que a presente dissertação possa contribuir para o estudo das propriedades reológicas de materiais moles ao propor um estudo detalhado que elucida o processo de obtenção de modelos matemáticos para serem usados em procedimentos de nanoindentação através de microscopia de força atômica. Convém destacar que o procedimento metodológico empregado nesse trabalho pode ser utilizado para se obter fórmulas matemáticas alternativas, baseadas em modelos reológicos mais sofisticados, e que sejam capazes de revelar uma descrição mais acurada das propriedades viscoelásticas de materiais moles, vide Anexo A. Além disso, é imprescindível que, em projetos posteriores, sejam realizados processos de ajustes das curvas de força teóricas descritas nesse estudo com outras obtidas experimentalmente com um AFM a fim de se obter maiores informações sobre seu domínio de validade e seu nível de detalhe na descrição de diferentes tipos de amostras.

REFERÊNCIAS

- AG, J. I. **Determining the Elastic Properties of Biological Samples with AFM**. 2018. Disponível em: <<https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=2270>>. Acesso em: 23 ago 2019.
- ALCARAZ, J.; BUSCEMI, L.; GRABULOSA, M.; TREPAT, X.; FABRY, B.; FARRE, R.; NAVAJAS, D. Microrheology of human lung epithelial cells measured by atomic force microscopy. **Biophysical Journal**, v. 84, p. 2071–2079, 2003.
- BOAS, M. L. **Mathematical Methods in the Physical Sciences**. 3. ed. New York: Wiley, 2006.
- BURSAC, P.; LENORMAND, G.; FABRY, B.; OLIVER, M.; WEITZ, D. A.; VIASNOFF, V.; BUTLER, J. P.; FREDBERG, J. J. Cytoskeletal remodelling and slow dynamics in the living cell. **Nature Materials**, v. 4, p. 557–561, 2005.
- CAI, P.; MIZUTANI, Y.; TSUCHIYA, M.; MALONEY, J. M.; FABRY, B.; VLIET, K. J. V.; OKAJIMA, T. Quantifying cell-to-cell variation in power-law rheology. **Biophysical Journal**, v. 105, p. 1093–1102, 2013.
- DARLING, E.; ZAUSCHER, S.; BLOCK, J. A. S.; GUILAK, F. A thin-layer model for viscoelastic, stress-relaxation testing of cells using atomic force microscopy: Do cell properties reflect metastatic potential? **Biophysical Journal**, v. 92, p. 1784–1791, março 2007.
- DARLING, E.; ZAUSCHER, S.; GUILAK, F. Viscoelastic properties of zonal articular chondrocytes measured by atomic force microscopy. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 14, p. 571–579, 2006.
- DENG, L.; TREPAT, X.; BUTLER, J. P.; MILLET, E.; MORGAN, K. G.; WEITZ, D. A.; FREDBERG, J. J. Fast and slow dynamics of the cytoskeleton. **Nature Materials**, v. 5, p. 636–640, 2006.
- DOMKE, J.; RADMACHER, M. Measuring the elastic properties of thin polymer films with the atomic force microscope. **Langmuir**, v. 14, p. 3320–3325, março 1998.
- EATON, P.; WEST, P. **Atomic Force Microscopy**. New York: Oxford University Press Inc, 2010.
- EFREMOV, Y. M.; WANG, W.; HARDY, S. D.; GEAHLEN, R. L.; RAMAN, A. Measuring nanoscale viscoelastic parameters of cells directly from afm force-displacement curves. **Scientific Reports**, v. 7, maio 2017.
- FABRY, B.; MAKSYM, G. N.; BUTLER, J. P.; GLOGAUER, M.; NAVAJAS, D.; FREDBERG, J. J. Scaling the microrheology of living cells. **Physical Review Letters**, v. 87, p. 148102–1–148102–4, 2001.
- FERRY, J. D. **Viscoelastic Properties of Polymers**. 3. ed. New York: Wiley, 1980.
- FISCHER-CRIPPS, A. C. **Introduction to Contact Mechanics**. 2. ed. New York: Springer, 2007.
- GRADSHTEYN, I. S.; RYZHIK, I. M. **Table of Integrals, Series, and Products**. 7. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007.

- GRIEPENTROG, M.; KRÄMER, G.; CAPPELLA, B. Comparison of nanoindentation and afm methods for the determination of mechanical properties of polymers. **Polymer Testing**, v. 32, p. 455–460, maio 2013.
- KOLLMANNBERGER, P.; FABRY, B. Linear and nonlinear rheology of living cells. **Annual Review of Materials Research**, v. 41, p. 75–97, 2011.
- LAKES, R. S. **Viscoelastic Solids**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018.
- LI, M.; DANG, D.; LIU, L.; XI, N.; WANG, Y. Atomic force microscopy in characterizing cell mechanics for biomedical applications: A review. **IEEE TRANSACTIONS ON NANOBIOSCIENCE**, v. 16, p. 523–540, setembro 2017.
- MANDADAPU, K. K.; GOVINDJEE, S.; MOFRAD, M. R. On the cytoskeleton and soft glassy rheology. **Journal of Biomechanics**, v. 41, p. 1467–1478, 2008.
- RADMACHER, M. Studying the mechanics of cellular processes by atomic force microscopy. **Methods in Cell Biology**, v. 83, p. 347–372, 2007.
- RIZZI, L. G.; AUER, S.; HEAD, D. A. Importance of non-affine viscoelastic response in disordered fibre networks. **Soft Matter**, v. 12, p. 4332–4338, 2016.
- RIZZI, L. G.; TASSIERI, M. Microrheology of biological specimens. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons, p. 1–24, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9419>>. Acesso em: 9 fev. 2021.
- RODRIGUES, F. G.; OLIVEIRA, E. C. Introdução às técnicas do cálculo fracionário para estudar modelos da física matemática. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 37, jul/set 2015.
- SCHIESSEL, H.; METZLER, R.; BLUMER A. NONNEMACHER, T. F. Generalized viscoelastic models: their fractional equations with solutions. **Journal of Physics A: Mathematical and General**, v. 28, p. 6567–6584, 1995.
- SHELLY, R. P.; PUTNAM, A. J. Extracellular matrix rigidity governs smooth muscle cell motility in a biphasic fashion. **Journal of Cellular Physiology**, v. 204, p. 198–209, 2005.
- SOLON, J.; LEVENTAL, I.; SENGUPTA, K.; GEORGES, P. C.; JANMEY, P. A. Fibroblast adaptation and stiffness matching to soft elastic substrates. **Biophysical Journal**, v. 93, p. 4453–4461, 2007.
- SOUSA, J. S. de; FREIRE, R. S.; RADMACHER, M.; SILVA, A. F. B.; RAMOS, M. V.; MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O.; MESQUITA, F. P.; MORAES, M. E. A.; MONTENEGRO, R. C.; NUNES, C. L. N. Double power-law viscoelastic relaxation of living cells encodes motility trends. **Scientific Reports**, v. 10, n. 4749, 2020.
- SOUSA, J. S. de; SANTOS, J. A. C.; BARROS, E. B.; ALENCAR, L. M. R.; CRUZ, W. T. Analytical model of atomic-force-microscopy force curves in viscoelastic materials exhibiting power law relaxation. **Journal of applied physics**, v. 121, janeiro 2017.
- STAMENOVIC, D. Effects of cytoskeletal prestress on cell rheological behavior. **Acta Biomaterialia**, v. 1, p. 255–262, 2004.

TAKAI, E.; COSTA, K. D.; SHAHEEN, A.; HUNG, C. T.; GUO, X. E. Osteoblast elastic modulus measured by atomic force microscopy is substrate dependent. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 33, p. 963–971, julho 2005.

TEE, S.-Y.; BAUSCH, A.; JANMEY, P. A. The mechanical cell. **Current Biology**, v. 19, p. R745–R748, 2009.

TEE, S.-Y.; FU, J.; CHEN, C. S.; JANMEY, P. A. Cell shape and substrate rigidity both regulate cell stiffness. **Biophysical Journal**, v. 100, p. L25–L27, 2011.

TING, T. C. T. The contact stresses between a rigid indenter and a viscoelastic half-space. **Journal of Applied Mechanics**, v. 33, p. 845–854, 1966.

VAZIRI, A.; XUE, Z.; KAMM, R. D.; MOFRAD, M. R. K. A computational study on power-law rheology of soft glassy materials with application to cell mechanics. **Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering**, v. 196, p. 2965–2971, 2007.

WARD, I. M.; SWEENEY, J. **An Introduction to the Mechanical Properties of Solid Polymers**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2004.

ZHOU, E. H.; MARTINEZ, F. D.; FREDBERG, J. J. Mush rather than machine. **Nature Materials**, v. 12, p. 184–185, march 2013.

ZHU, X. **Tutorial on Hertz Contact Stress**. 2012. Disponível em: <<https://wp.optics.arizona.edu/optomech/wp-content/uploads/sites/53/2016/10/OPTI-521-Tutorial-on-Hertz-contact-stress-Xiaoyin-Zhu.pdf>>. Acesso em: 07 nov 2019.

ZHU, Y.; DONG, Z.; WEJINYA, U. C.; JIN, S.; YE, K. Determination of mechanical properties of soft tissue scaffolds by atomic force microscopy nanoindentation. **Journal of Biomechanics**, v. 44, p. 2356–2361, setembro 2011.

**ANEXO A – MANUSCRITO DE ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO À REVISTA
*JOURNAL OF PHYSICS D: APPLIED PHYSICS***

O texto que segue logo abaixo consiste no manuscrito de um artigo científico, submetido à revista *Journal of Physics D: Applied Physics*, intitulado *Multiple power-law viscoelastic relaxation in time and frequency domains with atomic force microscopy*, cuja elaboração contou com a participação do autor dessa dissertação de mestrado.

O trabalho realiza um estudo teórico e experimental de diferentes métodos de obtenção de curvas de força de AFM para se descrever o comportamento reológico de múltiplas leis de potência de materiais macios complexos. Para isso, são desenvolvidas fórmulas analíticas baseadas em modelos reológicos fracionários que são aplicadas na descrição de curvas de força de AFM obtidas no estudo de células e de géis de poliacrilamida, tanto no domínio do tempo quanto no domínio da frequência.

Multiple power-law viscoelastic relaxation in time and frequency domains with atomic force microscopy

F. B. Sousa,¹ P. K. V. Babu,^{2,*} M. Radmacher,² C. L. N. Oliveira,¹ and J. S. de Sousa¹

¹*Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, 60451-970 Fortaleza, Ceará, Brazil*

²*Institute of Biophysics, University of Bremen, Otto-Hahn Allee 1, 28359, Bremen, Germany*

Complex viscoelastic materials exhibit power law relaxations, as opposed to simple materials described by exponential decays. Other materials, like living cells, hold a universal double power law behavior whose exponents depend on the health and type of the cells. Usually, only dynamic assays are considered capable to study these viscoelastic relaxation mechanisms. In this work, we generalize classical viscoelastic models in terms of fractional derivatives of arbitrary order α ($0 \leq \alpha \leq 1$), and we demonstrate that simple atomic force microscopy force curves are powerful methods to directly observe the viscoelastic relaxation of complex materials exhibiting single or multiple power-law relaxation processes. In addition, we compare the viscoelastic relaxation exponents of living cells measured directly from force curves with the exponents measured with dynamical measurements. We believe the fractional models unveiled here may be applied to other complex viscoelastic materials.

I. INTRODUCTION

The field of microrheology embraces several methods like active and passive particle tracking, optical tweezers and atomic force microscopy [1]. Those methods have now been largely used to study rheological behaviors of materials in a scale much closer to molecular size than those studies with traditional bulk rheometer techniques [2, 3]. Those approaches have the advantage of probing materials in tiny amounts, as well as shedding light on the role of microscopic spatial heterogeneity in the macroscale response of materials [4–7].

Atomic force microscopic (AFM), for instance, can probe the surface of a large variety of materials, such as polymers, asphalts, foams, and biological samples [8–11]. The way that AFM force curves change in time presents a clear signature of the rheological responses and can be used to extract mechanical properties of materials. The Hertz contact theory, for example, is commonly applied to measure the microscale elastic modulus of samples, but it overlooks time-dependent viscoelastic effects. This motivated several authors to pursue other models to take into account viscoelastic relaxation [12].

The viscoelasticity of samples is described by models such as the Maxwell, Kelvin-Voigt, and the Zener model [13]. Those models, formed by association of springs and dashpots in series and parallel, successfully describe the linear viscoelastic behavior restricted to exponential relaxation decays with one characteristic timescale. However, materials often present several relaxation times and, thus, can only be explained with sophisticated models, such as those with a large number of springs and dashpots, whose resulting relaxation modulus is best described as a sum of exponential functions with different relaxation times [14]. There are more complex soft materials, such as slurries, foams, pastes, and emulsions,

that exhibit power law viscoelastic relaxation. These materials, also called soft glassy materials (SGM), present remarkable features such as disordered and metastable composition [1, 15–17].

Power law (PL) relaxation has also been found in living cells whose behavior can be more similar to a solid or a fluid depending on the applied mechanical stimuli, pharmacological interventions and their health state [1, 11, 15, 18–21]. In fact, it has been shown by Fabry *et al.* that living cells share some rheological characteristics with SGM, such as low exponent PL relaxation over many orders of magnitude on time [15]. But soft-glassy theory cannot explain all the rheological phenomena presented by cells, such as the existence of prestress, force generation and contractile stiffening [1]. Living cells are so complex that even double and triple PL relaxation regimes have been observed [11, 18, 19, 21–24]. This myriad of rheological responses shows that the mechanical properties of living cells are a very active research field.

To investigate complex relaxation properties in microscale, appropriate experimental and theoretical methods are necessary. For example, most of the works reporting multiple PL regimes in cells were based on particle-tracking oscillatory methods (frequency domain), and the results explained in terms of empirical combination of PLs [15, 18–20, 23, 24]. AFM-based oscillatory methods were also used to probe multiple PL regimes in cells [11, 25, 26]. All the above mentioned works studied and confirmed that the relaxation regime at low frequencies (typically below 10 Hz) is compatible with the soft-glassy (SG) response of the cytoskeleton (CSK), but the rich variety of relaxation exponents at high frequencies do not point to a single explanation. In some works (either AFM-based or particle-tracking based methods) the fast relaxation regime was attributed to viscous drag in the measuring probe giving rise to the so called power-law structural damping model [15, 25]. In others, the fast relaxation regime was attributed to the collective effect of the entropic response of individual CSK fibers [11, 18–

* Current address: Nano Life Science Institute, Kanazawa University, Kanazawa 920-1192, Japan

20, 24, 26].

In time domain, most of the works in the literature report only a single PL regime in cells with exponents compatible with SG theory [1, 15, 25, 27, 28], specially in AFM-based methods. Although AFM is considered too slow to probe multiple PL regimes, it was recently shown that with an appropriate theoretical method [21], even simple AFM force curves can reveal multiple relaxation regimes. In particular, de Sousa *et al.* performed AFM measurements in time domain in twelve cell lines of different health states, and all of them exhibited double PL relaxation, whereas the slow relaxation responses (analogous to low frequencies) were compatible with cells SG response, and the fast relaxation regime (analogous to high frequencies) were compatible with the response of individual CSK fibers [21].

In this work, we performed a comprehensive study of the experimental and theoretical AFM force curve methods to investigate multiple PL relaxation regimes in time and frequency domains. We developed analytical formulas to directly apply in AFM force curves for several viscoelastic models either one or more PL relaxation regimes. The methods are tested in polyacrylamide gels and living cells, but they are directly applicable to many types of soft mater.

II. NANOINDENTATION WITH THE AFM

The straightforward method to probe the viscoelasticity of samples with the AFM is by using force curves (FCs). In the simplest type of force curve (SFC), the piezo expands with constant velocity (controlled by the vertical frequency f_z) until the cantilever touches the sample surface. During contact, the cantilever deflects upwards while it indents the sample, as shown in Figure 1(a). After a predefined cantilever deflection is reached, the piezo is retracted. During FCs, the piezo vertical displacement $z(t)$, the cantilever deflection $d(t)$, and the indentation depth $\delta(t)$ are measured. The schematics of $z(t)$, $d(t)$ and $\delta(t)$ of SFCs are shown in blue in Figures 1(b)-(d). The whole measurement duration (loading/unloading) is roughly given by f_z^{-1} .

The second type of measurement is a dwell FC (DFC). Here, there is an intermediate stage between loading and unloading, where the piezo extension stops and stays constant during a time τ_d . During the dwell stage, $d(t)$ relaxes according to the internal relaxation processes of the sample, while $\delta(t)$ is nearly constant (see Supplementary Material). The DFC features are shown in red in Figures 1(b)-(d). The whole measurement duration (loading/dwell/unloading) is roughly given by $\tau_d + f_z^{-1}$. As we shall see later, DFCs are optimal to observe slow relaxation processes.

The third type of measurement is obtained with a sudden step indentation in the middle of the dwell stage in a DFC after most of deflection gets relaxed. The step indentation is obtained by a fast piezo expansion of small

amplitude during a time τ_s , that causes a nearly flat additional step in indentation of the sample. This type of FC is labelled as DFC+S, and the whole measurement duration (loading/dwell/unloading) is the same of DFC. DFC+S is depicted in magenta in Figures 1(b)-(d). It will be demonstrated that DFC+S curves provide a direct window to the internal relaxation function in time domain $R(t)$ of the samples.

The fourth type of curve is the combination of DFC with oscillatory indentation, and labelled as frequency-sweep DFC (DFC+FS). In this type of measurement, a small amplitude oscillatory signal with varying frequencies is added to the z height during the dwell stage. DFC+S is depicted in green in Figures 1(b)-(d). In the DFC+FS curves, the piezo performs a small oscillatory movement with a given (or a superposition of) frequency after the initial relaxation of the dwell stage.

In all FCs described above, the measured quantities $z(t)$ and $d(t)$ are transformed into force $F(t)$ and indentation $\delta(t)$ data with $F[d(t)] = k_c(d(t) - d_0)$ and $\delta(t) = [z(t) - z_0] - [d(t) - d_0]$, where k_c is the cantilever spring constant, and (z_0, d_0) are the contact point and deflection offset where cantilever makes the initial contact with the sample surface. In this study, we adopted the method described by Roy *et al.* to determine the contact point [29], but other methods are well described elsewhere [30]. We remark that the AFM used in this study is capable of performing SFC and DFC natively, while DFC+S and DFC+FS were implemented by software in Radmacher's group.

These curves combined with comprehensive viscoelastic models are powerful methods to investigate rheological phenomena in complex soft matter. There are other FC models that can be used to probe viscoelastic relaxation. Recently, Hecht *et al.* proposed a force clamp FC model to map the local viscoelasticity of cells [28]. Essentially, this is a modification of DFC, where the AFM feedback system maintains a nearly constant force during the dwell stage, instead a nearly constant indentation as in native DFC.

III. INDENTATION THEORY

The force-indentation relationship in time domain depends on the indentation depth history, $\delta(t)$, as well as on intrinsic properties of the sample and can be described by the following convolution integral [12]

$$F(t) = \Omega(\lambda) \int_0^t R(t-t') \frac{d\delta^\lambda(t')}{dt'} dt', \quad (1)$$

where $R(t)$ is the time-dependent relaxation function of the material, and λ and $\Omega(\lambda)$ are parameters related to the indenter geometry (see Table I). Applying the Fourier transform to the above equation leads to $F(\omega) = G^*(\omega)\delta^\lambda(\omega)$, where $G^*(\omega) = i\omega R(\omega)$ is the dynamic shear modulus that can be determined directly

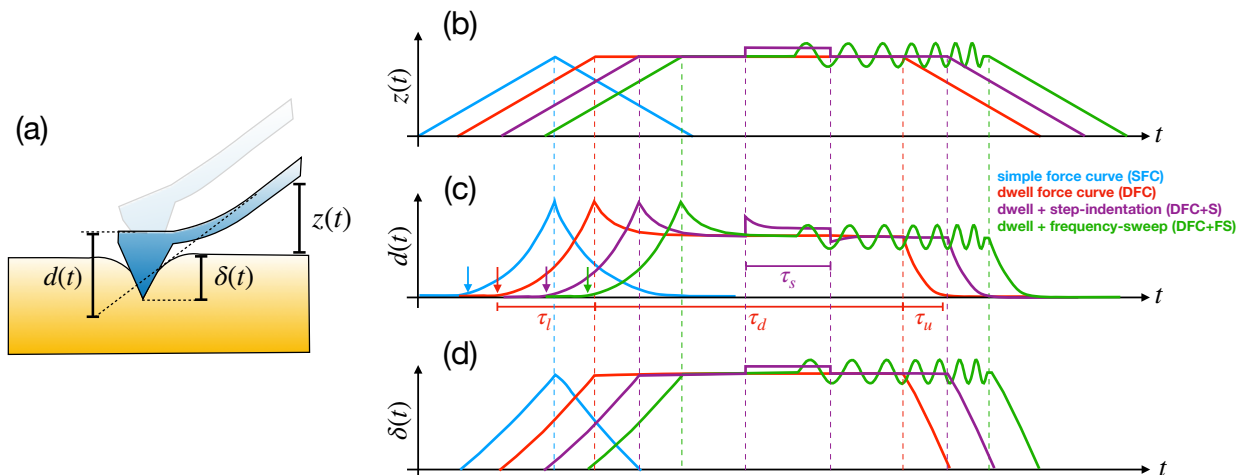


FIG. 1. (a) Illustration of a soft material being indented with an AFM tip showing the piezo displacement $z(t)$, cantilever deflection $d(t)$, and indentation depth $\delta(t)$. These time-dependent functions are displayed on panels (b), (c) and (d), respectively, for different AFM-based nanoindentation experiments: the simple force curve (SFC, in blue), the dwell force curve (DFC, in red), the step-indentation force curve (DFC+S, in purple), and the frequency-sweep force curve (DFC+FS, in green). The curves are shifted horizontally for better visualization. The colored arrows show the contact point of each curve. The loading (τ_l), dwell (τ_d), and unloading (τ_u) times are also shown.

TABLE I. Dependence of the parameters λ and $\Omega(\lambda)$ on the indenter geometry. Below, ν represents the Poisson ratio and δ is the indentation.

Geometry	λ	$\Omega(\lambda)$	contact radius	Obs.
flat cylinder	1.0	$\frac{2r}{(1-\nu^2)}$	r	r is the indenter radius
spherical	1.5	$\frac{4}{3} \frac{\sqrt{r}}{(1-\nu^2)}$	$\sqrt{r\delta}$	r is the indenter radius
conical	2.0	$\frac{2}{\pi} \frac{\tan \theta}{(1-\nu^2)}$	$\delta \tan \theta$	θ is the half-opening angle

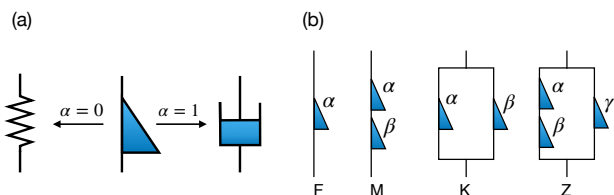


FIG. 2. (a) The fractional viscoelastic element that interpolates between an elastic spring ($\alpha = 0$) and a Newtonian viscous dashpot ($\alpha = 1$). (b) Fractional viscoelastic models: the single fractional element (F), with one exponent; the fractional Maxwell (M) and Kelvin-Voigt (K) models, with two exponents; and the fractional Zener model (Z), with three exponents.

from the ratio of the Fourier transform of the measured time-dependent force and the indentation function as,

$$G^*(\omega) = \frac{F(\omega)}{\delta^\lambda(\omega)}. \quad (2)$$

The dynamical shear modulus is connected to the relaxation function by $G^*(\omega) = i\omega \int_0^\infty R(t) \exp(-i\omega t) dt$, where the real, $G'(\omega)$, and complex, $G''(\omega)$, components of $G^*(\omega)$ are known as the dynamical storage and loss moduli, respectively. The quantities $F(t)$ and $\delta(t)$ are directly measured by the AFM while $R(t)$ is unknown, but a viscoelastic model for $R(t)$ may be adopted in order to explain the measured data with the help of the hints provided by $F(t)$. Alternatively, $G^*(\omega)$ can be determined directly from Eq. 2, and $R(t)$ obtained by applying the inverse Fourier transform.

While simple viscoelastic materials tend to exhibit exponential relaxation, $R(t) \propto e^{-t/\tau}$, where τ is a characteristic timescale, more complex materials exhibit PL decay, $R(t) \propto t^{-\alpha}$, where α is a relaxation exponent. Exponential and PL relaxations are dramatically distinct, reflecting different microscopic structures in viscoelastic materials [31].

For time domain measurements the timescale of the measurement should be long enough such that the essential characteristics of the type of relaxation are clearly distinguished. In exponential relaxations, $R(t)$ becomes

constant for $t \gg \tau$, such that the timescale τ defines a relaxation lifetime. In PL relaxations, on the other hand, $R(t)$ continuously decrease over time and the exponent α is associated with the microscopic phenomena ruling the material deformation. Moreover, the material can exhibit multiple exponential or multiple power law decays. If more than one PL regime is present, it is also necessary that measurement time comprises a few orders of magnitude such that the transition between regimes becomes accessible.

A. Power-law viscoelastic models

It is not always clear whether a material exhibits (single or multiple) exponential or PL relaxation, and the proper choice of the viscoelastic model to describe the force-indentation curves becomes tricky. Fortunately, the framework of fractional calculus [32–34] allows the combination of both types of relaxation into a single model through the definition of fractional element that interpolates between the elastic spring constitutive equation and the dashpot equation. Figure 2(a) illustrates this two limits.

The constitutive stress-strain equation of a fractional

element is defined as $\sigma(t) = \Lambda d^\alpha \epsilon(t)/dt^\alpha$, where d^α/dt^α is the fractional derivative operator ($0 \leq \alpha \leq 1$) and $\Lambda = E\tau^\alpha$ is a material parameter (with SI units of Pa.s $^\alpha$), such that a single fractional element is described by three parameters (E, τ, α). The elastic spring constitutive equation is recovered for $\alpha = 0$, with elastic modulus given by E , while the dashpot equation for $\alpha = 1$, with viscosity given by $E\tau$. Intermediate values of α represent, thus, a viscoelastic material.

In this generalized viscoelastic representation, the simplest viscoelastic models, formed by fractional elements in series and parallel, as shown in Figure 2(b), are the following: the single fractional element (F), the fractional Maxwell model (M), the fractional Kelvin-Voigt model (K), and the fractional Zener model (Z). These models describe single or multiple PL regimes, and can be easily modified to represent their conventional counterparts by simple adjustment of the fractional exponents. For instance, F model can only describe a single PL regime, while K and M models may describe one or two PL regimes, and Z model can describe up to three regimes depending on their exponents. The relaxation functions $R(t)$ and shear moduli $G^*(\omega)$ for those models were derived elsewhere [35], and are given by:

$$R_F(t) = \frac{E_0}{\Gamma(1-\alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha}; \quad G_F^*(\omega) = E_0(i\omega\tau)^\alpha \quad (3)$$

$$R_M(t) = E_0 E_{\alpha-\beta, 1-\beta} \left[-\left(\frac{t}{\tau}\right)^{\alpha-\beta} \right] \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta}; \quad G_M^*(\omega) = E_0 \frac{(i\omega\tau)^\alpha}{1 + (i\omega\tau)^{\alpha-\beta}} \quad (4)$$

$$R_K(t) = \frac{E_0}{\Gamma(1-\alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha} + \frac{E_0}{\Gamma(1-\beta)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta}; \quad G_K^*(\omega) = E_0(i\omega\tau)^\alpha + E_0(i\omega\tau)^\beta \quad (5)$$

$$R_Z(t) = E_0 E_{\alpha-\beta, 1-\beta} \left[-\left(\frac{t}{\tau}\right)^{\alpha-\beta} \right] \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} + \frac{E_1}{\Gamma(1-\gamma)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\gamma}; \quad G_Z^*(\omega) = E_0 \frac{(i\omega\tau)^\alpha}{1 + (i\omega\tau)^{\alpha-\beta}} + E_1(i\omega\tau)^\gamma \quad (6)$$

where E_0 and E_1 represent elasticity moduli (two are necessary for Z model), τ is a characteristic timescale and $E_{m,n}(x)$ is the generalized Mittag-Leffler function [36]. α, β and γ represent the PL exponents ($0 \leq \alpha, \beta, \gamma \leq 1$). For M and Z models, there is the additional constraint $0 \leq \beta < \alpha \leq 1$.

B. Force models for SFC and DFC curves

In order to obtain analytical force models for SFC and DFC curves, we assume a linear indentation history dur-

ing the loading phase and constant indentation in the dwell stage given by:

$$\delta(t) = \delta_0 \begin{cases} t/\tau_l & 0 \leq t \leq \tau_l, \\ 1 & \tau_l < t \leq \tau_l + \tau_d. \end{cases} \quad (7)$$

δ_0 is the indentation achieved at the maximum deflection of the loading stage, τ_l and τ_d represent the duration of the loading and dwell stages, respectively. These assumptions have been tested previously in polymers and cells [12, 21]. Similar approach has also been adopted to the force clamp FC method of Hecht *et al.* [28], but for the

force history during load/dwell stages. Combining this indentation history with the relaxation models described above in Eq. 1, we derived analytical formulae that can be directly compared with experiments.

The force curves in the loading/dwell stages can be generalized as (see Supplementary Material):

$$\bar{F}(t) = \bar{F}_{el}(t)R_{app}(t), \quad (8)$$

where $\bar{F}(t) = F(t)/\Omega(\lambda)\delta_0^\lambda$ is the force normalized by geometric parameters and t the time measured from the contact point. $\bar{F}_{el}(t) = \Gamma(\lambda + 1)(t/\tau_l)^\lambda$ is the normalized elastic response, $R_{app}(t)$ the apparent viscoelastic

relaxation of the sample, and $\Gamma(x)$ the Gamma function.

In the loading stage, the relaxation function $R(t)$ shows a striking resemblance with the $R_{app}(t)$, regardless of the viscoelastic model. This is not the case in the dwell stage because $R_{app}(t)$ carries the effect of the indenter geometry in an inseparable way. As we shall see later, a simple manipulation of the measured curves to construct $R_{app}(t) = \bar{F}(t)/\bar{F}_{el}(t)$ provides a window to directly observe the time-dependent relaxation properties of samples. The respective $R_{app}(t)$ in the loading and dwell parts for all viscoelastic models investigated in this work are given below:

$$R_{app}^{(F)}(t) = \frac{E_0}{\Gamma(\lambda + 1 - \alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha} \begin{cases} 1 & 0 \leq t \leq \tau_l, \\ I(\tau_l/t; \lambda, 1 - \alpha) & \tau_l < t \leq \tau_l + \tau_d. \end{cases} \quad (9)$$

$$R_{app}^{(M)}(t) = E_0 \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} \begin{cases} E_{\alpha-\beta, \lambda+1-\beta} [-(t/\tau)^{\alpha-\beta}] & 0 \leq t \leq \tau_l, \\ \frac{F(\tau_l/t; \lambda, 1-\beta, \alpha-\beta)}{\Gamma(\lambda)} & \tau_l < t \leq \tau_l + \tau_d. \end{cases} \quad (10)$$

$$R_{app}^{(K)}(t) = E_0 \begin{cases} \frac{1}{\Gamma(\lambda+1-\alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha} + \frac{1}{\Gamma(\lambda+1-\beta)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} & 0 \leq t \leq \tau_l, \\ \frac{I(\tau_l/t; \lambda, 1-\alpha)}{\Gamma(\lambda+1-\alpha)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\alpha} + \frac{I(\tau_l/t; \lambda, 1-\beta)}{\Gamma(\lambda+1-\beta)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} & \tau_l < t \leq \tau_l + \tau_d. \end{cases} \quad (11)$$

$$R_{app}^{(Z)}(t) = \begin{cases} E_0 E_{\alpha-\beta, \lambda+1-\beta} [-(t/\tau)^{\alpha-\beta}] \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} + E_1 \frac{1}{\Gamma(\lambda+1-\gamma)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\gamma} & 0 \leq t \leq \tau_l, \\ E_0 \frac{F(\tau_l/t; \lambda, 1-\beta, \alpha-\beta)}{\Gamma(\lambda)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\beta} + E_1 \frac{I(\tau_l/t; \lambda, 1-\gamma)}{\Gamma(\lambda+1-\gamma)} \left(\frac{t}{\tau}\right)^{-\gamma} & \tau_l < t \leq \tau_l + \tau_d. \end{cases} \quad (12)$$

where $I(t; a, b)$ is the regularized incomplete Beta function, $F(t; a, b, c)$ is an integral function defined in the Supplementary Material.

C. Force model for DFC+S curves

In DFC+S curves, the indentation history in the dwell stage of Eq. 7 is replaced by:

$$\delta(t) = \delta_0 + \delta_s [H(t - t') - H(t - t'')], \quad (13)$$

where $H(t)$ is the Heaviside step function, δ_s ($\delta_s \ll \delta_0$) is the amplitude of the step indentation, t' and $t'' = t' + \tau_s$ are the initial and final instants of the step indentation of duration τ_s . This indentation profile results in an analytical expression of the force that directly reveals the underlying relaxation function $R(t)$ (see Supplementary Material). The normalized force $F_s(t)$ during the step indentation is given by:

$$\bar{F}_s(t) = \bar{F}_d(t) + x^\lambda R(t - t') \quad (t' \leq t < t'') \quad (14)$$

where $\bar{F}_d(t)$ is the baseline force during the step indentation as in a pure DFC and $x = \delta_s/\delta_0$. Note that during the step-indentation one measures the actual relaxation function $R(t)$ times the factor x^λ . Compared to $R_{app}(t)$ in the loading stage that always include the effect of the indenter geometry, the step-indentation allow one to directly measure $R(t)$.

D. Force model for DFC+FS curves

During the dwell stage, the piezo actuator extension can be written as

$$z(t - t''') - z_0 = z_{max} + \sum_n z_n e^{i\omega_n(t-t''')}, \quad (15)$$

where t''' is the beginning of the frequency sweep modulation. Ideally, the sum above is performed over a predefined set of frequencies ω_n spanning over a few orders of magnitude in order to measure different relaxation regimes, and z_n is the displacement amplitude associated to the frequency ω_n . As the cantilever is in con-

tact with the sample, the deflection $d(t)$ oscillates out-of-phase with the same frequency of the piezo actuator

$$d(t - t''') - d_0 = d_{relaxed} + \sum_n d_n e^{i[\omega_n(t-t''')+\phi_n]}, \quad (16)$$

where d_n is the deflection amplitude corresponding to the frequency ω_n , and ϕ_n is the corresponding phase lag of the deflection with respect to the piezo motion. The corresponding indentation during the frequency sweep portion can be written as

$$\delta(t - t''') = \delta_{relaxed} + \sum_n \delta_n e^{i[\omega_n(t-t''')+\theta_n]}, \quad (17)$$

where δ_n represents indentation amplitude of the mode ω_n , and θ_n is the phase lag between indentation with respect to the piezo motion. Combining Eqs. 15, 16 and 17, leads to $\delta_{relaxed} = z_{max} - d_{relaxed}$ and

$$\delta_n e^{i\theta_n} = z_n - d_n e^{i\phi_n}. \quad (18)$$

Using 17 in the Hertz model and assuming that $\delta_n \ll \delta_{relaxed}$, we obtain $F(t - t''') = F_{static} + \sum F_n e^{i\omega_n(t-t''')}$, where the coefficients of the complex Fourier expansion of $F(t - t''')$ are giving by $F_n = \lambda\Omega(\lambda)\delta_{relaxed}^{\lambda-1}\delta_n E_n e^{i\theta_n}$. The complex stiffness modulus for the frequency mode ω_n is $E_n^* = E_n' + iE_n'' = E_n e^{i\theta_n}$, such that the elastic and loss moduli are respectively given by

$$E_n' = \text{Re} \left(\frac{F_n}{\lambda\Omega(\lambda)\delta_{relaxed}^{\lambda-1}\delta_n} \right), \quad (19)$$

$$E_n'' = \text{Im} \left(\frac{F_n}{\lambda\Omega(\lambda)\delta_{relaxed}^{\lambda-1}\delta_n} \right). \quad (20)$$

The loss tangent is either determined by $\tan\theta_n = E_n''/E_n'$ or by Eq. 18. In summary, the superposition of a small oscillating signal to the piezo actuator with a set of discrete frequencies can be used to determine the dynamic shear moduli of viscoelastic materials. In practice, only a limited number of frequencies can be applied to the piezo actuator. These frequencies can be sparsely distributed as $\omega_{n+1} = r\omega_n$ to cover a wide range of frequencies favoring the observation of multiple power-law regimes in a single FC.

The above theory for DFC+FS curves is analogous to obtain $G^*(\omega)$ by directly performing a numerical fast Fourier transform (FFT) of the frequency sweep portion of the force curves with $G^*(\omega) = FFT[F(t)]/FFT[\delta^\lambda(t)]$ (See Eq. 2). We remark that the analytical approach is more suitable for a small number of frequencies ω_n to avoid a large number of fitting parameters.

IV. ANALYSIS OF THE THEORETICAL MODELS IN TIME DOMAIN

Figure 3 shows DFCs constructed with the different viscoelastic models. As in experimental curves, the loading part (yellow-shaded region) is limited by the shortest

measurable time scale, i.e. the inverse of the AFM sampling frequency $f_{sampling}^{-1}$, and $\tau_l \approx 1/(2f_z)$, while the dwell time window (blue-shaded region) lasts τ_d .

In curves constructed with only one PL regime, such as the F model, a single slope $\bar{F}(t) \propto t^{\lambda-\alpha}$ appears, with different prefactors for loading and dwell (Eq. 9). We remark that Garcia *et al.* developed an analytical SFC model for conical indenter based on the F model that agrees well with our generalized approach [7]. In the fractional K model, on the other hand, the relaxation regime associated with the larger exponent α dominates at higher frequencies (short timescales), while the regime associated with the smaller exponent β dominates at slow frequencies (longer timescales). Therefore, the slope $\lambda-\alpha$ in the FCs measured in materials described by the generalized K model are observed only during a very short timescale after contact, while the slope $\lambda-\beta$ is only observable a while after contact [21]. For materials described by the fractional Maxwell model, this analysis is inverted, the slow relaxation appears prior to the fast relaxation. In the fractional models with two PL regimes we have $\bar{F}_l(t) = at^{\lambda-\alpha} + bt^{\lambda-\beta}$ (the index l refers to the loading phase of the curve), while both $R(t)$ and $R_{app}(t)$ behave like $R(t) = ct^{-\alpha} + dt^{-\beta}$ with distinct coefficients. Thus, a simple log-log visualization of $\bar{F}_l(t)$ reveals all the PL regimes.

The above analysis assumes that the crossing time between PL regimes occur between $f_{sampling}^{-1}$ and τ_l . However, this crossover is material-dependent and may not be accessible with the AFM. For example, the FC sampling frequency of commercial AFMs range typically between 2 kHz and 50 kHz. Thus, crossings times smaller than 20 μ s are not measurable and a single PL regime would be observed. On the other hand, if the crossing time occurs for $t > \tau_l$, one can even reduce f_z to enlarge the loading time window, but this value is limited to approximately 0.1 Hz in commercial AFMs. Otherwise, the crossing time would occur in the dwell part. Therefore, combining slow FCs with long dwell times is the best strategy to observe the crossing between PL regimes. Fortunately, the crossover occurs at different timescales for $R(t)$ and $\bar{F}(t)$, thereby for $R_{app}(t)$, as shown in Fig. 3(c). In the case of the K model, the crossing time occurs at

$$t_c = \tau \left[\frac{\Gamma(1-\beta)}{\Gamma(1-\alpha)} \right]^{\frac{1}{\alpha-\beta}}, \quad (21)$$

for $R(t)$, and at

$$t'_c = \tau \left[\frac{\Gamma(\lambda+1-\beta)}{\Gamma(\lambda+1-\alpha)} \right]^{\frac{1}{\alpha-\beta}}, \quad (22)$$

for $\bar{F}(t)$ and $R_{app}(t)$. The fact that t'_c is always larger than t_c nearly one order of magnitude for typical axisymmetric indenters (flat punch, spherical, and conical) is helpful to shift the crossing time to within the time window accessible to FC measurements. Nevertheless, it is

surprising to note that the indenter geometry affects the amplitude of this shift. For example, assuming $\alpha = 0.75$ and $\beta = 0.1$ (typical exponents observed in living cells), one obtains the ratio t'_c/t_c of 7.18, 10.41 and 13.66 for flat ($\lambda = 1$), spherical ($\lambda = 1.5$) and conical ($\lambda = 2$) indenters, respectively.

Generalizing the above analysis, the apparent relaxation function $R_{app}(t) = \bar{F}_l(t)/F_{el}(t)$ shows a strong resemblance with $R(t)$ for all fractional models studied in this work, as shown in Figures 3(c)-(e). As for the dwell part, neither $\bar{F}_d(t)$ nor $\bar{F}_d(t)/\bar{F}_{el}(t)$ exhibit a clear relationship with $R(t)$. However, the slope of the function $\bar{F}_d(t - \tau_l)$ at large times in the dwell part is dominated by the smallest exponent of $R(t)$. This is helpful to identify multiple PL regimes where the crossing timescale does not occur in the loading part of the curve.

In a DFC measured with $\tau_l = 2$ s ($f_z \approx 0.25$ Hz) with $\tau_d = 8$ s in a AFM operating with 2 kHz (standard AFM models operate at this rate), one obtains a measurement time window of four orders of magnitude. This is long enough to observe PL crossovers in a wide variety of soft materials. In this sense, the AFM is a suitable technique to investigate viscoelastic relaxation processes ranging within $10^{-4} - 10^0$ s. Fortunately, this interval of time scales is relevant for the relaxation properties of a wide range of soft materials ranging from soft polymers to living cells. As the sampling rate strongly affects data storage, experiments of a just a few tens of seconds can quickly produce files with many megabytes of data. At 10 kHz, for example, 10,000 data points are measured per second. As a drawback, four orders of magnitude of time window measurement seems to be not enough to observe more than two PL regimes (as in Z model). For example, three relaxation regimes were already reported for cells in a timescale window of $10^{-3} - 10^3$ s ($10^{-3} - 10^3$ Hz) much larger than the capabilities of our AFM system [24].

V. COMPARISON WITH EXPERIMENTS

A. Experimental methods

The experiments were performed in two different laboratories. de Sousa's group measured DFCs in polyacrylamide (PA) gels with 0.1% of bis-acrylamide [12], and human skin fibroblasts (CCD) cells using a pyramidal tips ($\theta = 38^\circ$ and $\lambda = 2$) with $k_c = 0.02 - 0.08$ N/m, while Radmacher's group performed DFC+S and DFC+FS measurements in human skin fibroblasts from a primary culture (HSF) using a cantilever with a spherical bead ($r = 3\mu\text{m}$ and $\lambda = 3/2$) with $k_c = 0.18$ N/m. All measurements were performed in an Asylum MFP3D-BIO coupled to an inverted optical microscope at room temperature (25° C) in nearly identical conditions. The FCs are measured with $f_{sampling} = 2 - 10$ kHz and a ramp size of approximately $3\mu\text{m}$. The indentation speed is controlled by tuning the vertical frequency f_z (0.25 Hz – 4.0 Hz) during cantilever approach, resulting in can-

tilever speeds between $1.5\mu\text{m/s}$ and $24\mu\text{m/s}$, and τ_l between 100 ms and 2 s.

B. DFC measurements

Figure 4 shows the force curves and the apparent relaxation functions (obtained from the loading curve) of DFCs measurements on PA gel and CCD cells. While measurements were performed in several CCD cells, in the PA gel, the force curves were measured in eight different points ($1\mu\text{m}$ apart from each other) of the same gel. Both the gel and the cells clearly show two PL regimes, with the fast relaxation occurring prior to the slow relaxation. Neither F model nor M model can describe the viscoelastic properties of these samples. Besides, the $R_{app}(t)$ curves do not show any evidence of a third PL regime. Therefore, from those theoretical models studied in previous sections, the best candidate to describe the properties of those samples is the fractional K model. The fast and slow exponents, the elastic modulus, and the crossover time were then obtained and averaged by applying the K model in each force curve.

In PA gels, the fast PL regime exhibits an average exponent $\langle\alpha_{PA}\rangle = 0.95$ and slow PL regime with average exponent $\langle\beta_{PA}\rangle = 0.02$. The analytical force curve constructed with average parameters, shown in red in Fig. 4(a), are in very good agreement with the experimental force curves. The crossover between the PL regimes occur at $t_c = 0.3$ ms for the relaxation function and at $t'_c = 14$ ms for force curves (and the apparent relaxation function). The $R_{app}(t)$ curves indicate that the PA gel is rather uniform with little spatial variation of their viscoelastic properties. The value 0.95 for the fast exponent in the PA gel is in very good agreement with the ones obtained previously with SFC curves (0.79 - 1.0) [12] and with dynamical rheology (0.82 - 1.0) [3]. The very small slow exponent $\langle\beta_{PA}\rangle = 0.02$ yields the PA gel an almost perfectly elastic response for timescales above $t'_c = 14$ ms. This justifies the description of PA gels with the so called fractional standard viscoelastic model elsewhere [12].

CCD cells also exhibit fast and slow relaxation regimes with average exponents $\langle\alpha_{CCD}\rangle = 0.72$ and $\langle\beta_{CCD}\rangle = 0.12$, respectively. Comparing to the PA gel, cells exhibit a larger dispersion of their viscoelastic properties. Despite of that, the theoretical force curve computed with average parameters, shown in red in Fig. 4(c), describes well the experimental measurements. The crossing time between regimes was measured at $t_c = 3$ ms for the relaxation function and at $t'_c = 41$ ms for force curves (and the apparent relaxation function). Concerning the relaxation exponents, the slow exponent $\langle\beta_{CCD}\rangle = 0.12$ is in agreement with the range of exponents (between 0.1 and 0.35) expected for cells [20]. The fast exponent $\langle\alpha_{CCD}\rangle = 0.72$ is compatible with of the order 0.75, first determined by Deng *et al.* [18].

Interestingly, despite of the differences between PA gels and living cells, their viscoelastic properties can be

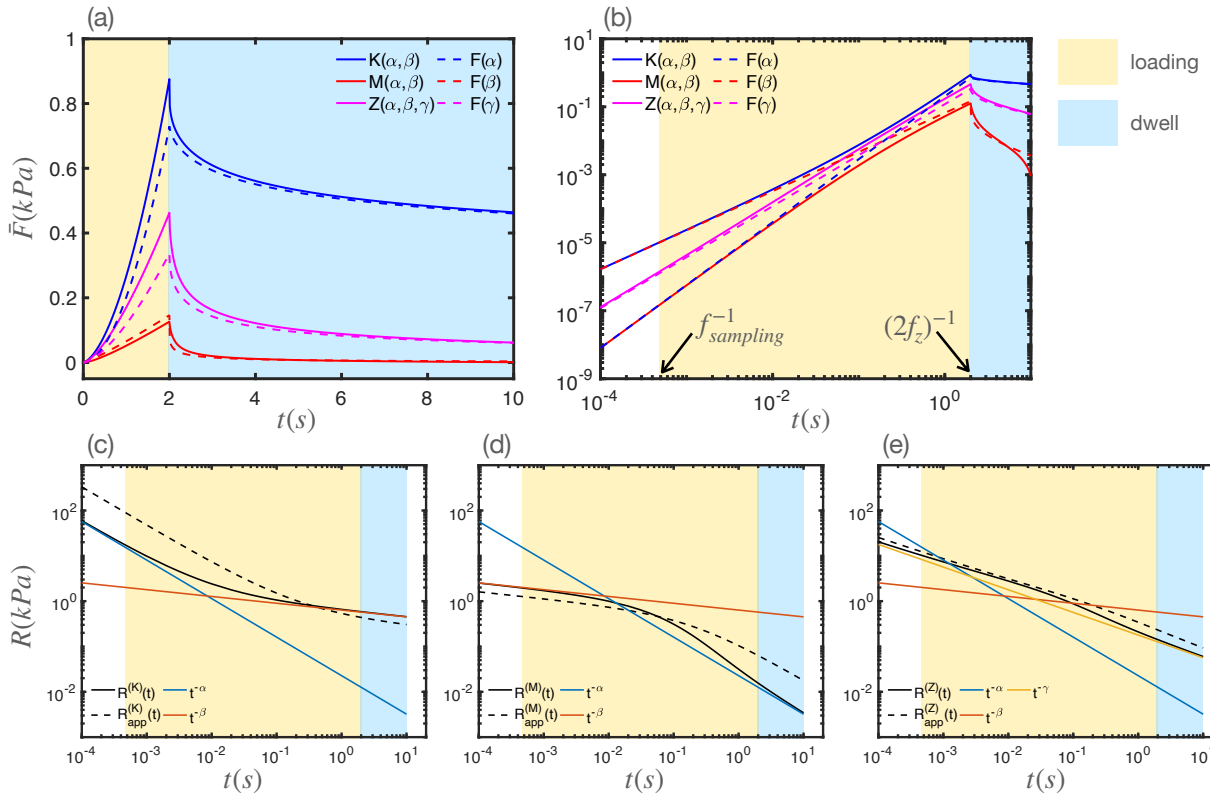


FIG. 3. Analytical force curves for all fractional viscoelastic models studied in this work in linear (a) and logarithmic (b) scales. FCs for the single fractional model (F) is plotted for α , β , and γ , separately. $R(t)$ and $R_{app}(t)$ functions of K, M, and Z models are shown from (c) to (e), respectively.

well described by the fractional K model, at least for timescales between 10^{-3} s and 10 s. One should note that the intrinsic timescale of the PL crossing is $t_c = 0.3$ ms for the PA gel and $t_c = 3$ ms for the cells, which are very close to the time resolution of the AFM operating at $f_{sampling} = 2$ kHz. But, due to the shift caused by the indenter geometry, the effective timescale of the PL crossing time increases one order of magnitude, as described in Eqs. 21 and 22, thereby moving the PL crossing to timescales that can be easily measured even with simple AFM setups.

C. DFC+S measurements

Figure 5(a) shows an example of a DFC+S curve measured in HSF cells. The step indentation portion starts 1s after the beginning of the dwell phase and lasts 0.5 s. The baseline is obtained by fitting the whole curve up to the step indentation with a DFC model. Figure 5(b) and 5(c) show the $R_{app}(t)$ obtained from the loading stage and $R(t)$ constructed from the step indentation (see Eq. 14), respectively, measured in different points of the surface of a single cell. As expected, $R_{app}(t)$ show evidence of double relaxation regime, while the functions $R(t)$ ex-

hibit a single PL relaxation whose average exponent is compatible the slow exponent relaxation describing the whole curve.

The theory of DFC+S curves shows that a perfect step indentation should exhibit the relaxation function of the material. Although the experimental step indentation is not perfectly squared (see Supplementary Material), the small deviations from square is not enough to provoke a behavior change in the force curve. Comparing the functions $R_{app}(t)$ and $R(t)$ in Figures 5(b) and 5(c), the change is concentrated at short timescales after the step indentation starts, when the fast relaxation regime with large exponent α is expected. Instead, we observe a plateau at short timescales, and the slow relaxation with exponent β dominates at $(t - t_s) > \tau$, where t_s is the beginning of the step indentation. Contrasting with the fractional K model, during the step indentation we obtained a relaxation function compatible that is more compatible with the M model, as shown in Figure ??(d).

Due to the complex structure of the CSK, pre-stress in cells are expected. It is also known how the pre-stress modify the slow relaxation exponent [1, 27]. Therefore, it is natural to expect that the existing pre-stress affects the way cells relax at both short and long timescales during indentation assays. In the loading stage, the fast relax-

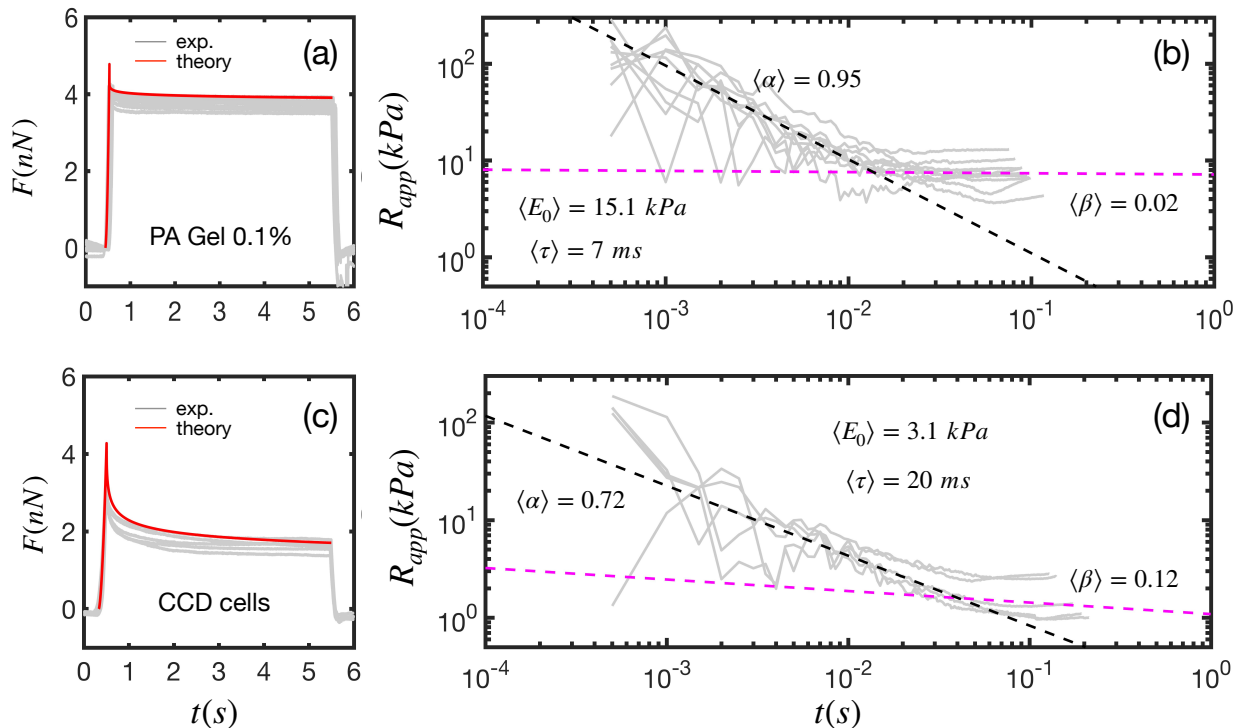


FIG. 4. AFM DFCs measured in a PA gels (a) and in CCD cells (c). The gray lines represent different measurements, and the red lines represent the theoretical DFCs calculated using K model with the average parameters fitted from the measured DFCs. The apparent relaxation functions R_{app} are shown in panels (b) and (d). The dashed black (pink) lines indicate the average slope of the fast (slow) relaxation regime.

ation occurs at small indentation depths or the order of the thickness of the cells cortex, and the AFM cantilever feels a stiffness compatible with the local pre-stress. During the time course of the force curve, the indentation increases (up to a predefined maximum force on the cantilever), and the internal relaxation evolve from the fast to the slow regime. The step indentation occur approximately 1 s after the dwell begins and, despite of the rejuvenation caused by the sudden step indentation, the CSK region below the indenter is subjected to a external stress that is larger than the pre-stress prior to the indentation. Besides, the viscoelastic relaxation has long past the fast relaxation regime. Therefore, cells are in different experimental condition during the step indentation as compared to the beginning of force curve. On the other hand, the slow relaxation process with exponents compatible with the SG theory, and attributed to dynamic CSK structure and internal cell machinery, is expected to be the same in both DFC and DFC+S curves.

D. DFC+FS measurements

The frequency-sweep FCs embody those dwell FCs up the oscillatory indentation part and thus hold more information. Therefore, they can be analyzed in both time and frequency domains. Figure 6(a) shows several

DFC+FS curves measured in different areas of a HSF cell. The analysis of $R_{app}(t)$ in Fig. 6(b) revealed that rheological response of those cells are also compatible with the fractional K model. The red line represents the theoretical curve calculated from the average values fitted from the time-domain analyses of individual curves leading to average exponents $\langle\alpha\rangle = 0.39$ and $\langle\beta\rangle = 0.11$. While the slow exponent lies within the expected range for cells [20], the fast exponent is below the expected range (0.5 - 0.75) [21].

The frequency domain analysis of the dynamical portion of the curves in Fig. 6(c) show that $G'(\omega)$ is the range between 1 Hz and 5 Hz is approximately 5 kPa, while $G''(\omega)$ varies between 1 kPa and 2 kPa in the same frequency range. Both $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$ are clearly not well represented by a single PL, exhibiting subtle trace of double PL (compatible with the K model) in both curves. The slope analysis of $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$ and their comparison with the relaxation exponents from the time domain analysis is shown in Fig. 7. The average exponents obtained from the time-domain analysis and the slope analysis of $G'(\omega)$ are nearly identical. From the time-domain analysis we obtained $\langle\alpha_F\rangle \approx 0.36$ and $\langle\beta_F\rangle \approx 0.12$, while the analysis of $G'(\omega)$ provided $\langle\alpha_{G'}\rangle \approx 0.40$ and $\langle\beta_{G'}\rangle \approx 0.15$. From $G''(\omega)$ we obtained $\langle\alpha_{G''}\rangle \approx 0.9$ and $\langle\beta_{G''}\rangle \approx 0.16$.

We remark that the software-based frequency sweep

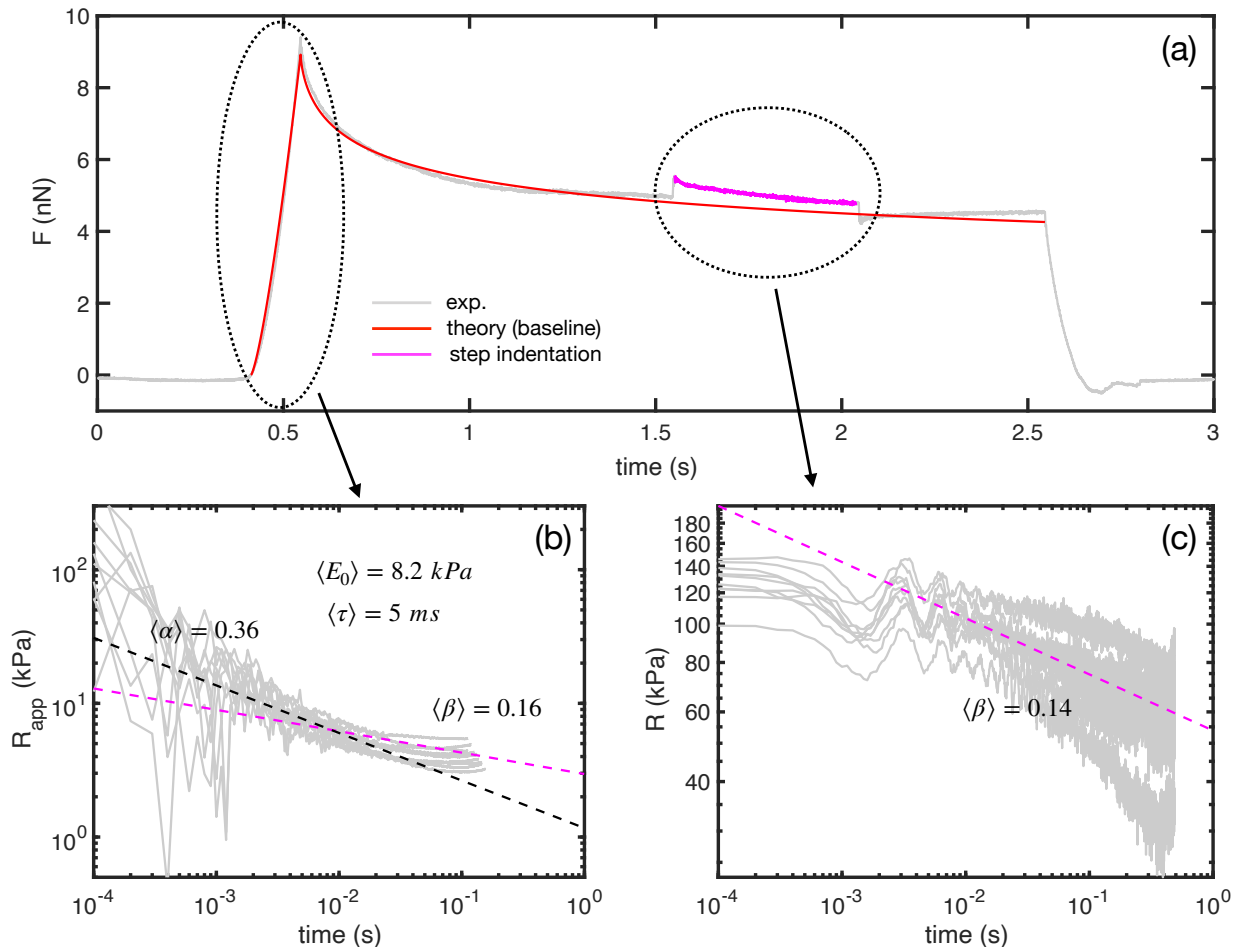


FIG. 5. (a) DFC+S curves measured in HSF fibroblasts. (b) Apparent relaxation function $R_{app}(t)$ constructed from the loading part of the FCs. The average behavior of $R_{app}(t)$ is well described by a double PL relaxation whose slopes are presented in black ($\langle \alpha \rangle = 0.36$) and magenta ($\langle \beta \rangle = 0.16$). (c) Relaxation function $R(t)$ constructed from the step-indentation portion of the DFC+S with the help of Eq. 14. For large timescales, $R(t)$ relaxes according to a PL, presented in magenta, with average exponent of $\langle \beta \rangle = 0.14$.

(by controlling piezo contraction/extension) is not able to reproduce well frequencies above 100 Hz, as compared to magnetic-induced oscillations [26, 37]. Thus, the oscillating frequencies do not span a range of frequencies wide enough to clearly show the crossing time between PL regimes. On the other hand, $f_{sampling}$ of either 2 kHz (experimental data in Fig. 4) or 10 kHz (experimental data in Fig. 5) allows us to qualitatively inspect the rheological response of materials up to 1 kHz in time domain with some limitations.

VI. DISCUSSION AND CONCLUSIONS

All samples investigated in this work consistently revealed double PL relaxation compatible with the K model, i.e., the fast (slow) relaxation appear at short (long) timescales. DFC+FS curves are convenient to

compare the relaxation processes in both time and frequency domains, as shown in Figure 6. Since K model allows to describe $R_{app}(t)$, $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$ as a double power-law, a comparison of relaxation exponents are shown in Figure 7. The exponents extracted from the loading stage ($R_{app}(t)$) are very similar to distribution of exponents determined from the storage moduli $G'(\omega)$. The only difference is the larger dispersion of the fast exponent from $R_{app}(t)$ as compared to $G'(\omega)$. This is mostly caused by inaccuracies in the determination of contact point in samples as soft as cells [30] and by the fact that the timescale, where the fast relaxation dominates the loading stage, is very short with a smaller number of data points as compared to the whole force curve.

The agreement between fast and slow exponents in $R_{app}(t)$, $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$ is predicted by theory (See Eqs. 5 and 11), and the large difference between the distributions of α exponents of $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$ calls

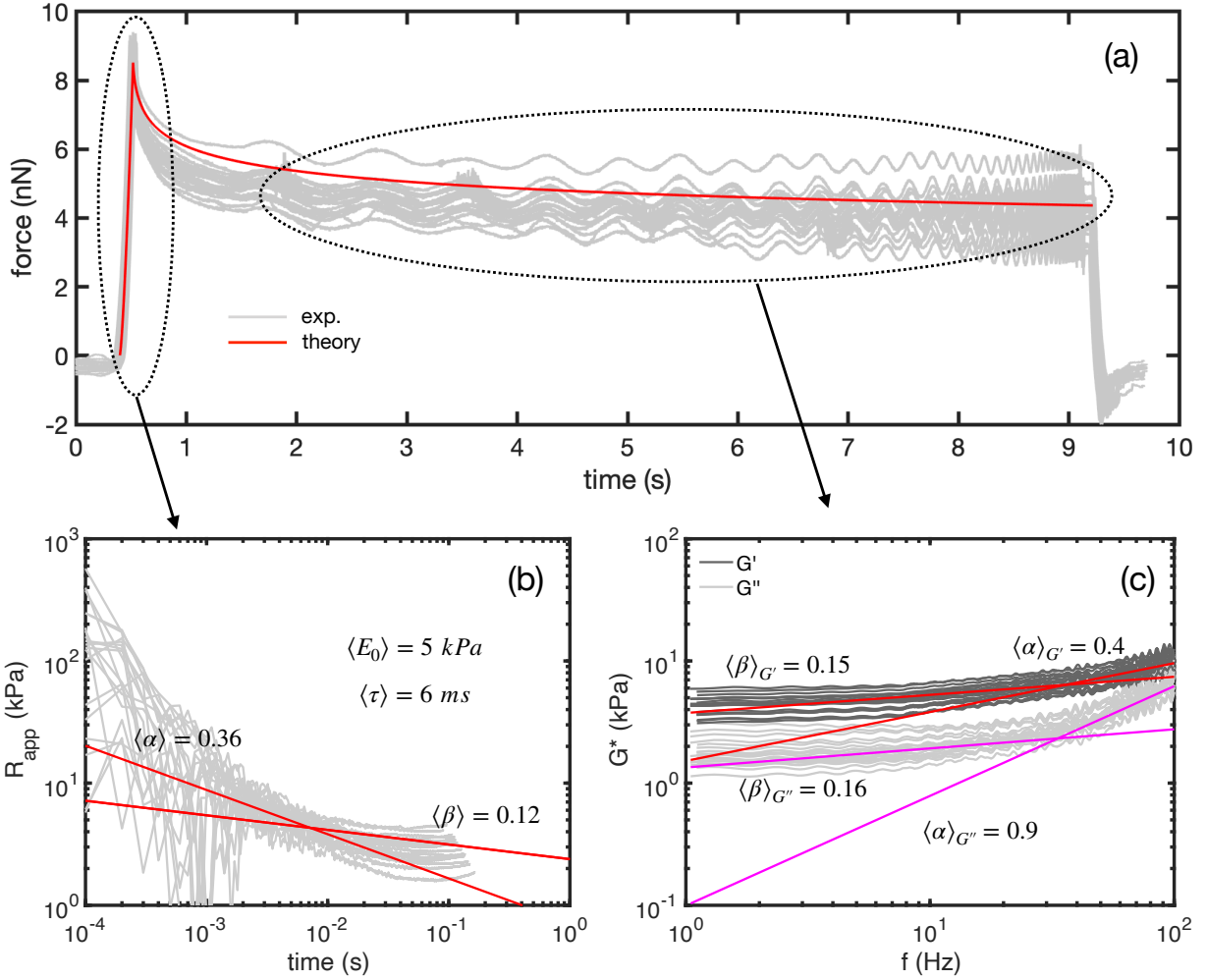


FIG. 6. (a) DFC+FS curves measured in HSF cells. (b) Apparent relaxation function $R_{app}(t)$ constructed from the loading part of the FCs. The average behavior of $R_{app}(t)$ is well described by a double PL relaxation function with slopes represented by red lines. (c) Storage, $G'(\omega)$, and loss moduli, $G''(\omega)$, constructed from the frequency-sweep part of the FCs. Both $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$ show evidences of a double PL behavior (red and magenta lines, respectively).

attention. The response $\langle \alpha \rangle_{G''} \approx 0.9$, combined with $\langle \beta \rangle_{G'} \approx \langle \beta \rangle_{G''}$, strongly suggests that this response is caused by the hydrodynamic drag of the fluid on the cantilever. This is compatible with power-law structural damping model [15, 25], where a single PL describes the storage modulus, and two PLs describe the loss modulus. The low exponent is the same for $G'(\omega)$ and $G''(\omega)$, and the large exponent in $G''(\omega)$ is equal to 1 due to the hydrodynamic drag of the cell culture fluid acting of the probe. Rheological responses of cells with $\alpha > 0.5$ at high frequencies in $G''(\omega)$ have been reported many times and frequently attributed to different physical phenomena, mainly entropic response of individual CSK filaments ($0.5 \leq \alpha \leq 0.75$) and viscous drag in the probe ($\alpha = 1$) [11, 21, 25].

One of the puzzling points in our measurements is that we obtain the same exponent α in measurements per-

formed in time ($R_{app}(t)$) and frequency domains ($G'(\omega)$), but a different α ($\alpha \approx 1$) in $G''(\omega)$. The most plausible explanation is that the hydrodynamic drag in the cantilever immediately after the AFM tip touches the cell surface is much lower than during the sinusoidal cantilever movement of the frequency sweep portion of the force curve. such hypothesis maybe investigated through computer simulations.

Another interesting feature obtained here is that $\alpha \approx 0.7$ in CCD cells (Figure 4) and $\alpha \approx 0.4$ for HSF cells (Figure 6). While the former exponent lies within the range attributed to the entropic response of individual CSK filaments, the later exponent is closer to the range attributed to soft-glassy response of materials. Although it is accepted that the existence of pre-stress has a strong influence in the relaxation exponent of cells [1, 38], the contact area between the AFM tip and the cell in each

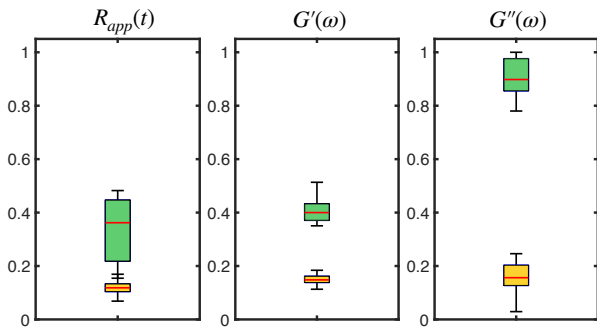


FIG. 7. Comparison of fast (green) and slow (yellow) relaxation exponents obtained from the analysis of the loading ($R_{app}(t)$) and frequency-sweep ($G'(\omega)$ and $G''(\omega)$) portions of DFC+FS curves of Figure 6. Exponents were obtained by fitting the data with K model.

experiment may also influence the measured exponents. Recently, Cordes *et.al.* demonstrated that both pre-stress and area compressibility affects the relaxation exponent, and whose exponents ranged between 0.0 and 0.7 depending on the pharmacological interventions to modulate pre-stress [39]. We remark that CCD cells were probed with conventional AFM cantilevers with pyrami-

dal tip ($\theta = 38^\circ$), while HSF cells were probed using special cantilevers with colloidal spheres of $3 \mu m$ of radius. For a given indentation depth of $\delta = 0.1 \mu m$ (typical depths in the loading curve where the fast relaxation dominates), the contact radius for the pyramidal (spherical) indenter is $0.08 \mu m$ (0.53μ). Therefore, the contact radius in HSF cells to probe the fast relaxation is one order of magnitude larger than in CCD cells.

Finally, the last interesting point of our measurements is the apparent qualitative change of viscoelastic relaxation from K (loading curve) to M (step indentation) model observed in HSF cell. As these experiments were also performed with a large spherical indenter glued to the AFM tip, the coupling between pre-stress and compressibility area may be ruling this phenomena. Further investigation is necessary on this topic.

In conclusion, we have developed several mathematical methods to model AFM force curves in complex soft matter exhibiting multiple power-laws. With the aid of the models, one can determine the most appropriate viscoelastic relaxation function describing the rheological response of the materials.

Acknowledgement: This work was supported by the Serrapilheira Institute (grant number Serra-1709-18453) and by the Brazilian agencies CNPq, CAPES and FUNCAP.

-
- [1] P. Kollmannsberger and B. Fabry, "Linear and nonlinear rheology of living cells," *Annu. Rev. Mat. Res.*, vol. 41, p. 75, 2011.
- [2] M. Tassieri, F. Giudice, E. Robertson, N. Jain, B. Fries, R. Wilson, A. Glidle, F. Greco, P. A. Netti, P. L. Maffettone, T. Bicanic, and J. M. Cooper, "Microrheology with optical tweezers: Measuring the relative viscosity of solutions 'at a glance'," *Sci. Rep.*, vol. 5, p. 8831, 2015.
- [3] Y. Abidine, V. M. Laurent, R. Michel, A. Duperray, L. I. Palade, and C. Verdie, "Physical properties of polyacrylamide gels probed by afm and rheology," *Europhys. Lett.*, vol. 10, p. 38003, 2015.
- [4] P. Cicuta and A. M. Donald, "Microrheology: a review of the method and applications," *Soft Matter*, vol. 3, p. 1449, 2007.
- [5] D. Wirtz, "Particle-tracking microrheology of living cells: Principles and applications," *Annual Review of Biophysics*, vol. 38, p. 301, 2009.
- [6] N. Yang, R. Lv, J. Jia, K. Nishinari, and Y. Fang, "Annual review of food science and technology," *Soft Matter*, vol. 8, p. 493, 2017.
- [7] R. Garcia, "Nanomechanical mapping of soft materials with the atomic force microscope: methods, theory and applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 49, p. 5850, 2020.
- [8] M. Plodinec, M. Loparic, C. A. Monnier, E. C. Obermann, R. Zanetti-Dallenbach, P. Oertle, J. T. Hyotyla, U. Aebi, M. Bentires-Alj, R. Y. H. Lim, and C.-A. Schoenberger, "The nanomechanical signature of breast cancer," *Nature Nanotech.*, vol. 7, p. 757, 2012.
- [9] L. M. Rebelo, J. S. de Sousa, A. Abreu, M. P. M. A. Baroni, A. E. V. Alencar, S. A. Soares, J. Mendes Filho, and J. B. Soares, "Aging of asphaltic binders investigated with atomic force microscopy," *Fuel*, vol. 117, p. 15, 2014.
- [10] M. Chyasnawichyus, R. S. Young, R. Geryak, and V. V. Tsukruk, "Probing elastic properties of soft materials with afm: data analysis for different tip geometries," *Polymer*, vol. 102, p. 317, 2016.
- [11] A. Rigato, A. Miyagi, S. Scheuring, and F. Rico, "High-frequency microrheology reveals cytoskeleton dynamics in living cells," *Nature Physics*, vol. 13, p. 771, 2017.
- [12] J. S. de Sousa, J. A. C. Santos, E. B. Barros, L. M. R. Alencar, W. T. Cruz, M. V. Ramos, and J. M. Filho, "Analytical model of atomic-force-microscopy force curves in viscoelastic materials exhibiting power law relaxation," *J. Appl. Phys.*, vol. 121, p. 034901, 2017.
- [13] Y. C. Fung, *Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues 2nd ed.* New York: Springer-Verlag, 1993.
- [14] R. Lakes, *Viscoelastic Materials*. Cambridge University Press, 2009.
- [15] B. Fabry, G. N. Maksym, J. P. Butler, M. Glogauer, D. Navajas, and J. J. Fredberg, "Scaling the microrheology of living cells," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 87, p. 148102, 2001.
- [16] K. K. Mandapapu, S. Govindjee, and M. R. K. Mofrad, "On the cytoskeleton and soft glassy rheology," *J. Biomech.*, vol. 41, p. 1467, 2008.
- [17] A. Vaziri, Z. Xue, R. D. Kamm, and M. R. K. Mofrad, "A computational study on power-law rheology of soft glassy materials with application to cell mechanics," *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.*, vol. 96, p. 2965, 2007.

- [18] L. Deng, X. Trepap, J. P. Butler, E. Millet, K. G. Morgan, D. A. Weitz, and J. J. Fredberg, "Fast and slow dynamics of the cytoskeleton," *Nat. Mat.*, vol. 5, p. 636, 2006.
- [19] B. D. Hoffman, G. Massiera, K. M. Van Citters, and J. C. Crocker, "The consensus mechanics of cultured mammalian cells," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 103, p. 10259, 2006.
- [20] B. D. Hoffman and J. C. Crocker, "Scaling cell mechanics: Dissecting the physical responses of cells to force," *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 11, p. 259, 2009.
- [21] J. S. de Sousa, F. R. S. F. D. Sousa, M. Radmacher, A. F. B. Silva, M. V. Ramos, A. C. O. Monteiro-Moreira, F. P. Mesquita, M. E. A. Moraes, R. C. Montenegro, and C. L. N. Oliveira, "Double power-law viscoelastic relaxation of living cells encodes motility trends," *Sci. Rep.*, vol. 10, p. 4749, 2020.
- [22] L. Chaubet, A. R. Chaudhary, h. K. Heris, A. J. Ehrlicher, and A. G. Hendricks, "Dynamic actin cross-linking governs the cytoplasm's transition to fluid-like behavior," *Mol. Biol. Cell*, vol. 31, p. 1651, 2020.
- [23] A. Foss, M. Zanoni, W. Y. So, L. Jenkins, L. Tosatto, D. Bartolini, M. M. Gottesman, A. Tesei, and K. Tanner, "Patient-derived glioblastoma cells (gbm) exhibit distinct biomechanical profiles associated with altered activity in the cytoskeleton regulatory pathway," *bioRxiv*, 2020.
- [24] D. Stamenović, N. Rosenblatt, M. Montoya-Zavala, B. D. Matthews, S. Hu, N. Suki, B. Wang, and D. E. Ingber, "Rheological behavior of living cells is timescale-dependent," *Biophys. J.*, vol. 93, p. L39, 2007.
- [25] B. Fabry, L. Buscemi, M. Grabulosa, X. Trepap, B. Fabry, R. Farré, and D. Navajas, "Microrheology of human lung epithelial cells measured by atomic force microscopy," *Biophys. J.*, vol. 84, p. 2071, 2003.
- [26] L. M. Rebêlo, J. S. de Sousa, J. M. Filho, J. Schäpe, H. Doschke, and M. Radmacher, "Microrheology of cells with magnetic force modulation atomic force microscopy," *Soft Matter*, vol. 10, p. 2141, 2014.
- [27] D. Stamenović, B. Suki, B. Fabry, N. Wang, and J. J. Fredberg, "Rheology of airway smooth muscle cells is associated with cytoskeletal contractile stress," *J. Appl. Physiol.*, vol. 96, p. 1600, 2004.
- [28] F. M. Hecht, J. Rheinlaender, N. Schierbaum, W. H. Goldmann, B. Fabry, and T. E. Schäffer, "Imaging viscoelastic properties of live cells by afm: power-law rheology on the nanoscale," *Soft Matter*, vol. 11, p. 4584, 2015.
- [29] R. Roy and J. P. Desai, "Determination of mechanical properties of spatially heterogeneous breast tissue specimens using contact mode atomic force microscopy (afm)," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 42, p. 1806, 2014.
- [30] N. Gavara, "Combined strategies for optimal detection of the contact point in afm force-indentation curves obtained on thin samples and adherent cells," *Sci. Rep.*, vol. 6, p. 21267, 2016.
- [31] M. G. Yucht, M. Sheinman, and C. P. Broedersz, "Dynamical behavior of disordered spring networks," *Soft Matter*, vol. 9, p. 7000, 2013.
- [32] G. W. Scott-Blair, "The role of psychophysics in rheology," *J. Colloid Science*, vol. 2, p. 21, 1947.
- [33] I. Podlubny, *Fractional Differential Equations*. San Diego: Academic Press, 1999.
- [34] A. Jaishankar and G. H. McKinley, "Power-law rheology in the bulk and at the interface: quasi-properties and fractional constitutive equations," *Proc. R. Soc. A*, vol. 469, p. 20120284, 2012.
- [35] H. Schiessel, R. Metzler, A. Blumen, and T. F. Nonnenmacher, "Generalized viscoelastic models: their fractional equations with solutions," *J. Phys. A: Math. Gen.*, vol. 28, p. 6567, 1995.
- [36] A. K. Shukla and J. C. Prajapati, "On a generalization of mittag-leffler function and its properties," *J. Math. Anal. Appl.*, vol. 336, p. 797, 2007.
- [37] A. Yango, J. Schäpe, C. Rianna, H. Doschke, and M. Radmacher, "Measuring the viscoelastic creep of soft samples by step response afm," *Soft Matter*, vol. 12, p. 8297, 2016.
- [38] Y. Mulla, F. C. MacKintosh, and G. H. Koenderink, "Origin of of slow stress relaxation in the cytoskeleton," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 122, p. 218102, 2019.
- [39] A. Cordes, H. Witt, A. Gallemí-Pérez, B. Brückner, F. Grimm, M. Vache, T. Oswald, J. Bodenschatz, D. Flormann, F. Lautenschläger, M. Tarantola, and A. Janshoff, "Prestress and area compressibility of actin cortices determine the viscoelastic response of living cells," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 125, p. 068101, 2020.