

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К.Аммосова»
Институт естественных наук
Кафедра общей, аналитической и физической химии

Лабораторная работа № 4

Определение дисперсных характеристик в нанодиапазоне
с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS

Якутск, 2015

	Содержание	
	Цели и задачи	3
1.	Динамическое рассеяния света	4
2.	Описание	6
2.1.	Назначение и область применения	6
2.2.	Технические характеристики	7
2.3.	Процесс измерения размеров частиц	8
2.4.	Схема процесса измерения размеров частиц	8
2.5.	Обработка корреляционной функции	8
2.6.	Основные параметры измерений	9
2.7.	Выбор кюветы	9
3.	Практическая часть	9
	Использованные источники	10

Лабораторная работа № 1

Определение микродисперсных характеристик с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS

Цель работы:

1. Ознакомиться с устройством и принципом работы анализатора Zetasizer Nano ZS.
2. Овладеть практическими навыками определения микродисперсных характеристик материалов с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS.

Задачи:

1. Определение размеров частиц и распределения их по размерам в растворе (суспензии) на примере раствора глюкозы;
2. Сформировать отчет о проделанных измерениях.



1. Общие сведения. Динамическое рассеяния света

Развитие нанотехнологий с неизбежностью поставило задачу определения размеров наночастиц в диапазоне 1–100 nm. Как правило, для решения этой задачи используется атомно-силовая и просвечивающая электронная микроскопия [1–3]. Однако эти методы являются локальными и не дают информации о распределении частиц по размерам в сколько-нибудь значимых объемах. Тем более это относится к задачам, когда применение указанных методов затруднено или невозможно, например, при определении размеров частиц в золях. Среди возможных интегральных методов определения размеров частиц в золях широкое распространение в последнее время получил метод динамического светового рассеяния DLS (Dynamic Light Scattering) [4].

Основные идеи метода динамического рассеяния света

1. Броуновское движение дисперсных частиц или макромолекул в жидкости приводит к флуктуациям локальной концентрации частиц. Результатом этого являются локальные неоднородности показателя преломления и соответственно - флуктуации интенсивности рассеянного света при прохождении лазерного луча через такую среду.
2. Коэффициент диффузии частиц обратно пропорционален характерному времени релаксации флуктуаций интенсивности рассеянного света. Это характерное время, в свою очередь, есть время затухания экспоненциальной временной корреляционной функции рассеянного света, которая измеряется с помощью цифрового коррелятора.
3. Размер частиц (гидродинамический радиус) рассчитывается по формуле Стокса-Эйнштейна, которая связывает размер частиц с их коэффициентом диффузии и вязкостью жидкости.

Метод динамического рассеяния света используется также для измерения скоростей потоков жидкостей и газов. Традиционно, этот вариант метода носит название лазерной доплеровской анемометрии (ЛДА). В частности, данная конфигурация метода ДРС используется для измерения электрофоретической подвижности наночастиц, откуда рассчитывается их дзета-потенциал.

В качестве примера рассмотрим диффузию монодисперсных наночастиц, диспергированных в жидкости. Хаотическое броуновское движение дисперсных частиц приводит к микроскопическим флуктуациям их локальной концентрации и соответствующим локальным неоднородностям показателя преломления среды. При прохождении лазерного луча через такую среду часть света будет рассеяна на этих неоднородностях. Флуктуации интенсивности рассеянного света будут соответствовать флуктуациям локальной концентрации дисперсных частиц. Информация о коэффициенте диффузии частиц содержится в зависящей от времени корреляционной функции флуктуаций интенсивности. Временная автокорреляционная функция согласно определению имеет следующий вид:

$$G(\tau) = \langle I(0)I(t-\tau) \rangle = \lim_{t_m \rightarrow \infty} \frac{1}{t_m} \int_0^{t_m} I(t)I(t-\tau) \delta t \quad (1),$$

где интенсивность I имеет различные значения во время; t и $(t-\tau)$. t_m - это время интегрирования (время накопления корреляционной функции). Очевидно, что при $\tau = 0$, автокорреляционная функция равна среднеквадратичной интенсивности рассеяния $\langle I^2 \rangle$. Для бесконечного времени корреляция отсутствует, и автокорреляционная функция равна квадрату средней интенсивности рассеяния:

$$G(\tau) = \langle I(0)I(t-\tau) \rangle = \langle I(0) \rangle \langle I(t-\tau) \rangle = \langle I \rangle^2 \quad (2),$$

В соответствии с гипотезой Онзагера, релаксация микроскопических флуктуаций концентрации к равновесному состоянию может быть описана первым законом Фика (уравнением диффузии):

$$\frac{\delta c(t, \vec{r})}{\delta t} = -D \nabla^2 c(t, \vec{r}) \quad (3),$$

где $c(r, t)$ – концентрация и D - коэффициент диффузии частиц. Можно показать, что в такой системе автокорреляционная функция интенсивности рассеяния света экспоненциально затухает во времени, и характерное время релаксации однозначно связано с D . Корреляционная функция интенсивности рассеянного света (для случая квадратичного детектирования) имеет вид:

$$G(\tau) = a \exp\left(\frac{-2\tau}{t_c}\right) + b \quad (4),$$

где в соответствии с решением уравнения диффузии обратное время корреляции равно:

$$\frac{1}{t_c} = D_t q^2 \quad (5),$$

Волновой вектор флуктуаций концентрации описывается выражением:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (6),$$

В выражениях 4-6: a и b - экспериментальные константы, n - показатель преломления жидкости, в которой взвешены дисперсные частицы, λ - длина волны лазерного света и θ - угол рассеяния.

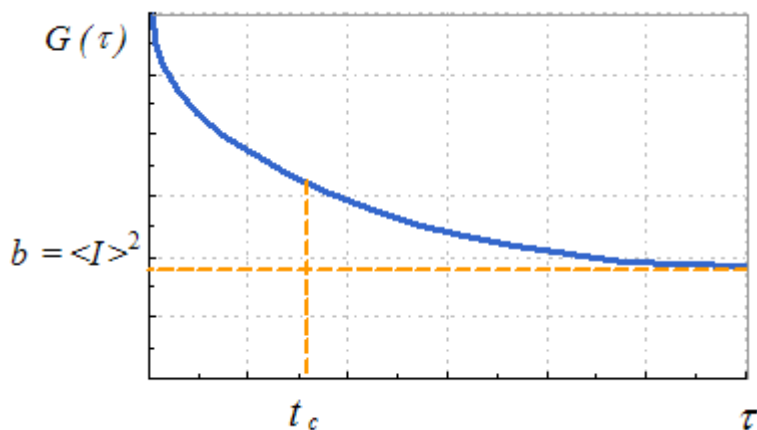


Рис.1. Автокорреляционная функция рассеянного света

Величины t_c , a и b могут быть найдены путем аппроксимации измеренной корреляционной функции теоретической экспоненциальной функцией. Для сферических невзаимодействующих между собой частиц размер их может быть рассчитан с использованием формулы Стокса-Эйнштейна:

$$D = \frac{T k_B}{6\pi\eta R} \quad (7),$$

где k_B - константа Больцмана, T - абсолютная температура и η - сдвиговая вязкость среды, в которой взвешены частицы радиуса R .

Из формулы Стокса-Эйнштейна понятно, что с помощью динамического рассеяния света можно решать задачи измерения вязкости жидкости. Для случая рассеяния света на дисперсных частицах известного размера, измеренное характерное время флуктуаций позволяет рассчитать вязкость жидкости. Причем в данном случае можно говорить о микрореологической вязкости, которая, в принципе, может отличаться от вязкости, измеренной на макроскопических масштабах.

Проблема аппроксимации экспериментальных данных проста для рассмотренного случая рассеяния света монодисперсными сферическими частицами. Для полидисперсных образцов интерпретация экспериментальных данных усложняется. Для реально достижимой точности измерений могут быть получены только два-три параметра одномодального полидисперсного распределения: средний размер частиц, ширина и асимметрия распределения. Для многомодальных полидисперсных систем можно говорить о средних размерах частиц каждой компоненты и относительном вкладе каждой компоненты в интенсивность рассеяния. Важно отметить, что два близких размера частиц полидисперсной системы будут разрешаться в виде отдельных компонент только, если их размеры отличаются друг от друга не менее, чем в 2-3 раза [5].

2. Описание прибора

2.1. Назначение и область применения

Анализаторы размеров частиц Zetasizer Nano ZS предназначены для измерения размеров частиц в суспензиях, эмульсиях и порошкообразных материалах. Область применения: контроль

технологических процессов и качества продукции в фармацевтической, химической промышленности; научные исследования в области коллоидной химии, биотехнологий.

Zetasizer Nano ZS – высокоэффективный двухугловой анализатор размеров частиц и молекул для еще более точного обнаружения агрегатов и измерения небольших по объему или разбавленных образцов, а также образцов с очень высокой концентрацией методом динамического рассеяния света с оптикой неинвазивного обратного рассеяния NIBS. ZSP также является анализатором дзета-потенциала, использующим электрофоретическое рассеяние света для частиц, молекул и поверхностей, и анализатором молекулярной массы с использованием статического рассеяния света. Благодаря оптике с технологией неинвазивного обратного рассеяния (NIBS) его эффективность значительно лучше, чем у систем с оптикой рассеяния под углом 90 градусов.

В одном компактном корпусе Zetasizer Nano ZS заключены сразу три технологии, а в дополнение к ним – множество опций и дополнительного оборудования для оптимизации и упрощения измерения разных типов образцов.

Динамическое рассеяние света применяют для измерения размеров частиц и молекул. Эта технология измеряет диффузию частиц за счёт броуновского движения и преобразует её в размер и распределение по размерам с помощью соотношения Стокса–Эйнштейна. Встроенная технология обратного рассеяния (NIBS) обеспечивает высочайшую чувствительность в сочетании с наибольшими диапазонами размеров и концентраций.

Измерение размера в зависимости от концентрации позволяет рассчитывать kD, ДРС параметр взаимодействия.

Опция микрореологии позволяет исследовать структуру разбавленных растворов полимеров и белков посредством измерения размера специальных (трассирующих) частиц методом ДРС.

Определение дзета-потенциала основано на измерении электрофоретической подвижности частиц с использованием эффекта Доплера. Раствор молекул или дисперсию частиц помещают в электрическое поле, под воздействием которого они перемещаются со скоростью, зависящей от их дзета-потенциала. Эту скорость измеряют с помощью запатентованной технологии M3-PALS (рассеяние света с фазовым анализом). Она позволяет рассчитать электрофоретическую подвижность, а из нее – дзета-потенциал и распределение дзета-потенциала.

Дополнительное оборудование для измерения дзета-потенциала поверхности использует трассирующие частицы для измерения электрофоретической подвижности в объеме и вблизи поверхности образца и расчета дзета-потенциала поверхности.

Для определения молекулярной массы белков и полимеров применяют статическое рассеяние света. При этой технологии измеряют интенсивность рассеянного света в зависимости от концентрации образца и строят график Дебая. По нему можно рассчитать среднюю молекулярную массу и второй вириальный коэффициент, который, в свою очередь, является мерой растворимости молекул.

Эта технология очень требовательна с точки зрения чувствительности и стабильности всей системы и требует оптимизации каждого элемента конструкции для обеспечения точности и повторяемости.

Программное обеспечение отличается универсальностью и многофункциональностью без ущерба для простоты использования. Стандартизированные протоколы измерения (СПИ) упрощают процесс регулярных измерений, фактор качества сочетает в себе все, что нужно для подтверждения качества измерения, а система экспертной помощи помогает при интерпретации данных.

Автотитратор МРТ-2 позволяет автоматизировать исследование влияния изменений рН, проводимости и любой добавки.

На выбор предлагается несколько одноразовых и многоразовых кювет для оптимизации измерения с точки зрения объема, концентрации и измерения в потоке.

К другим опциям относятся фильтры для улучшения измерения флуоресцирующих образцов, опция увеличения диапазона температур до 120 °С и вискозиметр для определения вязкости образца с точностью, соответствующей требованиям используемых технологий [6].

2.2. Технические характеристики

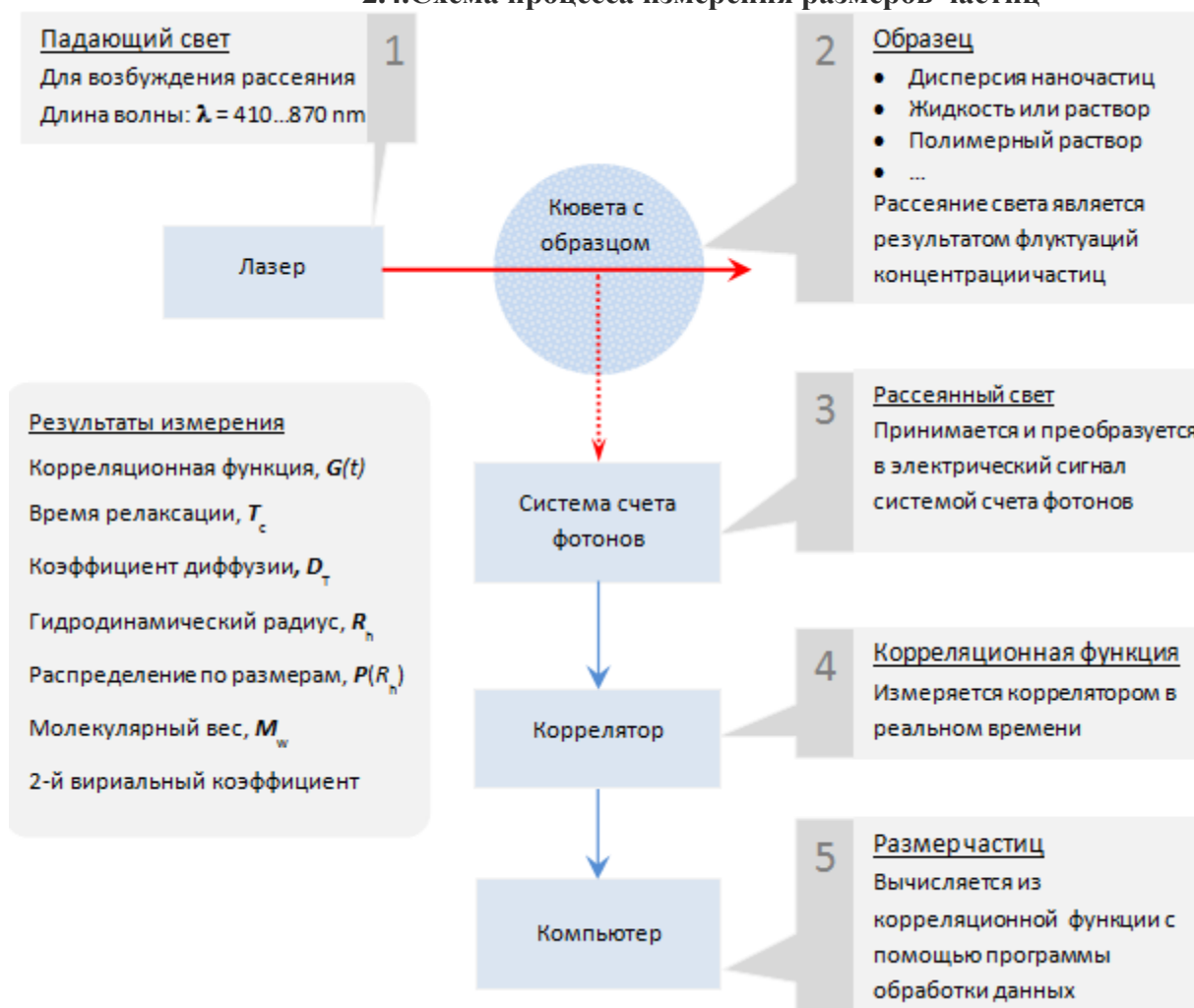
Измерение размера	
Размер	0.3 нм – 10.0 мкм*
Минимальный объём образца	12 микролитров
Диапазон концентраций	от 0.1 мг/мл до 40% (объёмных/весовых)*
Измерение дзета-потенциала	
Размер	3.8 нм – 100 мкм*
Минимальный объём образца	0.75 мл
Максимальная проводимость	200 м/см
Измерение молекулярной массы	
Диапазон определяемой молекулярной массы	от 1×10^3 до 2×10^7 Дальтон*
Минимальный объём образца	20 микролитров
Минимальный объём образца для автоматического режима работы с использованием титратора	2.5 мл
Автоматическое измерение трендов	
Стандартные	от времени и температуры
С использованием автотитратора МРТ-2	от pH, проводимости или концентрации аддитивов
Общие спецификации	
Диапазон термостабилизации образца	Встроенный безводный термоконтроллер: от 0°C до 90°C
Контроль конденсации	Система обдува с использованием сухого воздуха или азота
Лазер	4 мВт, 633 нм, He-Ne
Ослабление	Автоматическое, в диапазоне пропускания 100 – 0.0003 %
Детектор	Лавинный фотодиод, квантовая эффективность > 50% для длины волны 633 нм
Класс лазера	Class 1, в соответствии EN 60825-1:2001 и CDRH
Габариты	320 мм, 600 мм, 260 мм
Вес	20 кг
Дополнительные опции	Зелёный лазер: 50 мВт, 532 нм Узкополосный оптический фильтр, 633 нм или 532 нм Расширенный диапазон термостабилизации (НТ): до 120°C Программное обеспечение с расширенными возможностями обработки данных * Зависит от природы образца

2.3. Процесс измерения размеров частиц

1. Кювета с исследуемым раствором помещается в кюветное отделение анализатора.
2. Свет от лазера, проходя через раствор, рассеивается на полимерных молекулах или дисперсных частицах, имеющихся в растворе. Рассеянный свет принимается системой счета фотонов, сигнал с выхода которой подается на вход коррелятора. Коррелятор накапливает корреляционную функцию флуктуаций интенсивности рассеянного света.

- По завершении выбранного времени измерения корреляционная функция передается в компьютер. Компьютер рассчитывает размер частиц или молекулярный вес полимерных молекул, обрабатывая измеренную корреляционную функцию.

2.4.Схема процесса измерения размеров частиц



2.5.Обработка корреляционной функции

Результатом измерений является корреляционная функция второго порядка – корреляционная функция флуктуаций интенсивности рассеянного света. Для расчета характерного времени релаксации флуктуаций и последующего вычисления коэффициента диффузии и размера частиц необходимо найти исходную корреляционную функцию первого порядка, т.е. решить обратную задачу рассеяния.

Решение обратной задачи тривиально лишь для монодисперсного случая, когда рассеяние света происходило на частицах только одного размера. В случае полидисперсного распределения частиц по размерам обратная задача становится некорректной.

Некорректные задачи имеют неединственное и неустойчивое решение. Эта неустойчивость имеет место по отношению даже к малым входным возмущениям, к малым ошибкам измерения. Незначительные ошибки в измерении корреляционной функции могут приводить к различным результирующим распределениям. Для решения таких задач используются специальные методы регуляризации [5].

2.6. Основные параметры измерений

Существует два основных режима проведения измерения: Ручной (Manual) и Автоматический, реализуемый при помощи Стандартного протокола измерения (Standard Operating Procedure - SOP).

- В ручном режиме измерения (Manual) все параметры выставляются непосредственно перед проведением измерения. Режим необходим на стадии отработки методики/ параметров измерения или при работе с большим количеством различных образцов.
- В автоматическом режиме (SOP) измерения параметры установлены заранее, что необходимо для обеспечения точного воспроизведения параметров измерения при исследовании одинаковых образцов.

2.7. Выбор кюветы

Обычно, для образцов, рассеивающих достаточное количество света (высокая интенсивность рассеяния, например, имеет место для латекса с концентрацией более 0.01 массовых %) могут использоваться одноразовые кюветы из полистирола, для упрощения измерительного процесса. Одноразовые кюветы из полистирола не являются стойкими к органическим растворителям, таким образом, при исследовании образцов в неводной среде рекомендуется проводить в стеклянных или кварцевых кюветах. Оптическая чистота поверхностей кювет чрезвычайно важна при проведении измерений молекулярной массы и характеристики белков, и рекомендуется проводить измерения в стеклянных или кварцевых кюветах для получения максимального регистрируемого сигнала [7].

3. Практическая часть

Работа на приборе осуществляется только в присутствии инженера, ответственного за прибор!

Материал: растворы глюкозы 5, 10, 15, 20 % (вес/объем). Растворы готовятся заранее

Оборудование: анализатор Nanosizer ZS

количество образца: 1.5 мкл.

Краткий план схема проведения измерения

1. Включение системы. Ожидание не менее 30 минут, для стабилизации работы лазера.
2. Запуск программного обеспечения Zetasizer Nano – DTS (Nano) создание нового файла измерения.
3. Подготовка образца.
4. Выбор кюветы, подходящей для проведения измерения конкретного типа.
5. Заполнение кюветы приготовленным образцом.
6. Запуск измерения в режиме стандартного протокола – SOP (или ручном Manual).
7. При появлении измерительного окна поместите кювету с образцом в кюветное отделение, нажмите кнопку Start.

По результатам выполнения опытов студенты оформляют отчет, сопоставляют полученные данные с данными, полученными из литературных источников, делают выводы.

Использованные источники

1. Вуль А.Я., Дидейкин А.Т., Царева З.Г., Корытов М.Н., Брунков П.Н., Жуков Б.Г., Розов С.И. // Письма в ЖТФ. 2006. Т. 32. В. 13. С. 12–18.
2. Shames A.I., Panich A.M., Kempni ´nski W., Aleksenskiy A.E., Baidakova M.V., Dideikin A.T., Osipov V.Yu., Siklitsky V.I., Osawa E., Ozawa M., Vull’ A.Ya. // J. Phys. & Chem. Solids. 2002. V. 63(11). P. 1993–2001.
3. Kuznetsov V.L., Chuvilin A.L., Butenko Yu.V., Malkov I.Yu., Titov V.M. // Chem. Phys. Lett. 1994. V. 224(4). P. 343–348.
4. Schrand A.M., Hens S.A.C., Shenderova O.A. // Crit. Rev. Solid State & Mat. Sci. 2009. V. 34. P. 18–74.
5. <http://www.photocor.ru/theory/dynamic-light-scattering>
6. www.malvern.com
7. Справочное руководство пользователя Malvern Zetasizer Nano