

نویسندگان

داود قرایلو^{۱*}ساسان مرادده^۲

Davoud.gharailou@gmail.com

آماده‌سازی نمونه برای انجام آزمایش‌های DLS

واژه‌های کلیدی

تفرق نور پویا، آماده‌سازی نمونه، پتانسیل زتا، وزن مولکولی.

چکیده

دستگاه تفرق نور پویا ابزاری برای تعیین اندازه ذرات، پتانسیل زتا و تعیین وزن مولکولی است. برای تعیین هر یک از این عوامل باید بتوان روش آماده‌سازی نمونه مناسب به کار گرفت. در این مقاله، سه روش مختلف برای آماده‌سازی نمونه به‌منظور تعیین ابعاد ذرات، سنجش پتانسیل زتا و وزن مولکولی با استفاده از دستگاه DLS ارائه می‌شود.

یکی از مراحل بسیار مهم در انجام آزمون با دستگاه تفرق نور پویا^۳ مرحله آماده‌سازی نمونه است. برای اینکه جواب به‌دست آمده از آزمون انجام شده با دستگاه DLS معتبر و قابل استناد باشد، لازم است که مرحله آماده‌سازی نمونه با دقت هر چه بیشتر انجام شود تا از هر گونه خطا در نتایج آن اجتناب شود. روند انجام مرحله آماده‌سازی نمونه بسته به نوع نمونه و همچنین آزمونی که قرار است روی آن انجام گیرد، تعیین می‌شود. در آزمون‌هایی که با دستگاه DLS انجام می‌شود، عامل غلظت نمونه بسته به نوع نمونه و همچنین آزمونی که قرار است روی آن انجام گیرد، تعیین می‌شود. در آزمون‌هایی که با دستگاه DLS انجام می‌شود، عامل غلظت نسبت به سایر عواملی که در این مرحله تاثیرگذار هستند، از اهمیت بیشتری برخوردار است. در این مقاله به چگونگی انجام مرحله آماده‌سازی نمونه پرداخته شده و همچنین محدوده غلظت مناسب نمونه برای آزمون‌های مختلف دستگاه DLS بررسی می‌شود. در ضمن، این مقاله اشاره‌ای کوتاه به سایر عوامل تاثیرگذار در مرحله آماده‌سازی داشته و راه‌های رسیدن به نمونه آماده‌سازی مطلوب‌تر را ارائه می‌کند.

شرایط نمونه آماده‌سازی شده در آزمون توزیع اندازه ذرات

□ غلظت نمونه

غلظت، یکی از مهمترین عوامل در تهیه نمونه مناسب برای انجام آزمون با دستگاه DLS است و مقدار غلظت در آزمون توزیع اندازه ذرات باید بهینه باشد. اگر غلظت نمونه مورد آزمایش خیلی کم باشد، این امکان وجود دارد که پرتوهای نور متفرق شده برای انجام آزمون مورد نظر کافی نباشد. اگر غلظت نمونه بیش از حد باشد، پدیده تفرق چندگانه^۴ رخ می‌دهد. یعنی پرتوهای متفرق شده از یک ذره در مسیر تفرق خود با ذرات دیگر برخورد می‌کنند که هر چه وقوع پدیده تفرق چندگانه بیشتر شود، درصد خطا در نتایج به دست آمده از آزمون نیز بیشتر می‌شود. همچنین غلظت بیش از حد نمونه می‌تواند مانع حرکت آزادانه ذرات شود. حرکت ذرات درون دیسپرسانت که به آن حرکت براونی^۵ گفته می‌شود، در غلظت‌های بالا دچار مشکل شده و ذرات، فضای کافی برای حرکت براونی ندارند. این اتفاق بر سرعت حرکت و میزان جابجایی ذرات تاثیر می‌گذارد که این تاثیرات می‌توانند سبب تغییر در نتایج آزمون شوند. بنابراین، برای انجام آزمون توزیع اندازه ذرات، باید غلظت نمونه مورد آزمایش بهینه باشد. حال این سؤال مطرح می‌شود که غلظت بهینه برای انجام این آزمون چقدر است و چطور می‌توان مقدار آن را تعیین کرد؟

غلظت یک نمونه آزمایشی برای انجام آزمون توزیع اندازه ذرات از روی اندازه ذرات مورد آزمایش تعیین می‌شود. جدول ۱ محدوده غلظت نمونه مورد آزمایش، برحسب اندازه ذرات در آزمون توزیع اندازه ذرات را نشان می‌دهد.

جدول ۱: محدوده غلظت نمونه در آزمون توزیع اندازه ذرات بر حسب اندازه ذرات

ابعاد ذره	حداقل غلظت	حداکثر غلظت
کمتر از ۱۰ نانومتر	۰/۵ گرم بر لیتر	تنها بستگی به نمونه داشته و تجمع ذرات و ژله‌ای شدن محدود کننده بالاترین حد غلظت است
۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر	۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر	۵ درصد وزنی
۱۰۰ نانومتر تا ۱ میکرون	-	۱ درصد وزنی
بیش از یک میکرون	۰/۱ گرم بر لیتر	۱ درصد وزنی

این جدول مربوط به نمونه‌هایی با چگالی ۱ گرم بر سانتی‌متر مربع است. چگالی نمونه با ضریب شکست^۶ در ارتباط است و در واقع ارقام این جدول مربوط به نمونه‌هایی می‌شود که ضریب شکست آنها اختلاف خیلی کمی با ضریب شکست دیسپرسانت دارند. به‌عنوان مثال، اگر دیسپرسانت آب باشد که ضریب شکست آن ۱/۳۳ است، این جدول برای ذراتی که ضریب شکست آنها حدود ۱/۳۸ است، می‌تواند استفاده شود. البته این جدول برای ذراتی که اختلاف ضریب شکست آنها با ضریب شکست دیسپرسانت‌شان بیشتر است نیز قابل استفاده است، ولی برای دقت بیشتر در انجام آزمون باید از محدوده میانی جدول استفاده کرد. در آزمون توزیع

اندازه ذرات، به غیر از محدوده غلظت، موارد دیگری نیز وجود دارد؛ توجه به آنها در رسیدن به نتیجه دقیق اهمیت زیادی دارد که در این بخش به برخی از آنها اشاره می‌شود:

✖ رنگ سوسپانسیون که متاثر از غلظت ذرات است، باید شفاف باشد. البته کدر شدن رنگ در برخی از نمونه‌ها به دلیل خواص خود نمونه، طبیعی است ولی در چنین حالت‌هایی حداقل غلظت توصیه می‌شود. در نمونه‌هایی هم که با افزودن ذرات، رنگ سوسپانسیون تغییر چندانی نمی‌کند، از غلظت بیشتری که متناسب با جدول ارائه شده‌است، استفاده می‌شود.

✖ حداقل غلظت نمونه برای نمونه‌هایی که دیسپرسانت آنها آب است باید به گونه‌ای باشد که نرخ پرتوهای تفرق یافته^۷، کمتر از ۱۰ کیلو کانت در هر دقیقه^۸ باشد. این میزان برای نمونه‌هایی که دیسپرسانت آنها تولوئن است باید بیشتر از ۱۰۰ کیلو کانت در هر دقیقه باشد.

✖ با وجود اینکه عامل غلظت از اهمیت زیادی در انجام آزمون DLS برخوردار است، ولی محدوده غلظت نسبتاً بزرگی که برای هر دسته از ذرات با اندازه‌های مختلف مشخص شده‌است، درصد خطایی که ناشی از غلظت نمونه باشد را به حداقل می‌رساند.

حال به توضیح بیشتر ارقام داده شده در جدول شماره ۱ پرداخته می‌شود و دلیل اینکه چرا این محدوده برای هر دسته از ذرات معرفی شده، بیان می‌شود.

حداکثر غلظت برای نمونه‌هایی با اندازه ذرات زیر ۱۰ نانومتر

براساس جدول (۱)، برای حداکثر غلظت در نمونه‌هایی با اندازه ذرات زیر ۱۰ نانومتر، سقفی در نظر گرفته نشده‌است. با این حال، بنا بر خواص و ویژگی‌های نمونه، برای برخی از نمونه‌ها و سوسپانسیون‌های تهیه شده، باید حد و مرزی در حداکثر غلظت در نظر گرفته شود. به برخی از این نمونه‌ها در متن زیر اشاره شده‌است:

✖ نمونه‌هایی که در اثر افزایش غلظت، به حالت ژله‌ای تبدیل می‌شوند، باید حد و مرزی در حداکثر غلظت داشته باشند. گروهی از نمونه‌ها که برای انجام آزمون توزیع اندازه ذرات با دستگاه DLS مشکل‌ساز می‌شوند، نمونه‌هایی هستند که سوسپانسیون آنها با افزایش غلظت به حالت ژله‌ای تبدیل می‌شوند. نتایج به دست آمده از نمونه‌هایی که چنین شرایطی دارند به هیچ وجه قابل اعتماد نیستند.

✖ در اثر افزودن بیش از حد نمونه به حالت پودر دیسپرسانت برای تهیه سوسپانسیون مورد نیاز برای انجام آزمون، در درون برخی از سوسپانسیون‌ها، رسوب دیده می‌شود. به‌وجود آمدن رسوب در نمونه باعث می‌شود که نمونه از حالت یکنواختی خارج شده و میزان غلظت ذرات درون این قبیل سوسپانسیون‌ها در تمام نقاط سوسپانسیون یکسان نباشد. غیریکنواختی در غلظت سوسپانسیون سبب می‌شود که خطای اندازه‌گیری دستگاه از حد مجاز بیشتر شده و نتایج به دست آمده مردود شود.

✖ در ذراتی که با هم برهم‌کنش^۹ دارند، غلظت بالا در دسرساز

که به صورت ناخواسته وارد نمونه می‌شود. از آنجایی که در ذرات درشت تا حدی اندازه ذرات مورد آزمایش به اندازه ذرات گرد و غبار نزدیک است، بهتر است که نمونه، حد الامکان غلیظ باشد. غلیظ بودن نمونه سبب می‌شود، اثری که ذرات گرد و غبار در جواب آزمایش می‌گذارند، به حداقل برسد و تاثیر ذرات آلاینده را کم‌رنگ می‌کند.

حداکثر غلظت در اندازه ذرات بزرگتر از ۱۰ نانومتر

در نمونه‌هایی که اندازه ذرات آنها بزرگتر از ۱۰ نانومتر است، حد و مرزی برای سقف غلظت در این نمونه‌ها مشخص شده‌است. وجود یک خط مرز در غلظت‌های بالا برای ذرات بزرگ، به دلیل وقوع پدیده تفرق چندگانه است. پدیده تفرق چندگانه که سبب به وجود آمدن خطا در جواب آزمون می‌شود با افزایش غلظت رابطه مستقیم دارد. در نتیجه با افزایش غلظت، اثر پدیده تفرق چندگانه روی نتایج به دست آمده از آزمون نیز بیشتر می‌شود.

با توجه به توضیحات داده شده می‌توان مطالب گفته شده درباره غلظت را به این شکل جمع‌بندی کرد که غلظت در نمونه‌های مورد آزمایش برای آزمون توزیع اندازه ذرات باید یک مقدار بهینه باشد و نمونه‌هایی که دارای غلظت‌هایی کمتر و یا بیشتر از محدوده تعیین شده باشند، می‌توانند سبب بروز اشتباه در جواب آزمون شوند.

شرایط نمونه آماده‌سازی شده در آزمون وزن مولکولی

ویژگی‌های نمونه آماده‌سازی شده برای انجام آزمون اندازه‌گیری وزن مولکولی دستگاه DLS تا حدودی شبیه به نمونه آماده‌سازی شده مورد استفاده در آزمون تعیین توزیع اندازه ذرات است. البته نکاتی نیز ویژه آزمون تعیین وزن مولکولی است که در اینجا به آن پرداخته می‌شود.

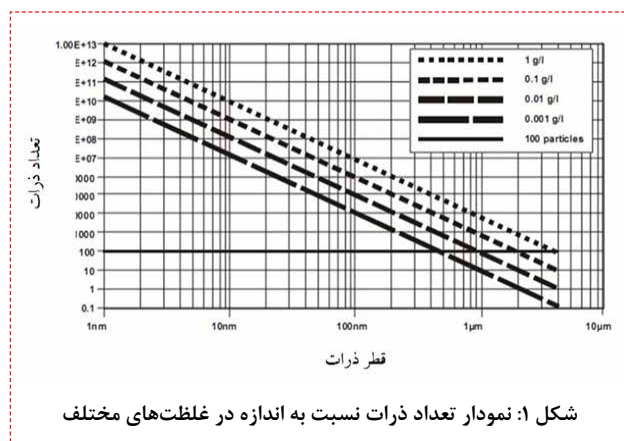
در آزمون اندازه‌گیری وزن مولکولی، نتایج به دست آمده به شدت نسبت به گرد و غبار و آلودگی حساس هستند. به همین دلیل یکی از مهم‌ترین نکات در تهیه نمونه برای آزمون مذکور، مراقبت از نمونه تهیه شده در برابر آلودگی است. علاوه بر این، کیووت مورد استفاده در این آزمون به هیچ وجه نباید دارای خراش در سطح باشد؛ به همین دلیل از کیووت‌های یکبار مصرف پلی‌استایرن که به آسانی روی سطح آنها خش ایجاد می‌شود، در این آزمون استفاده نمی‌شود. در ضمن، تصفیه دیسپرسانت و حلالی که در آزمون مذکور استفاده می‌شود، برای برطرف شدن آلودگی‌های موجود در آن امری ضروری است. روش‌های مختلفی برای انجام این کار وجود دارد که یکی از روش‌های به کار گرفته شده، روش فیلتراسیون است. رعایت نکردن حذف آلودگی نمونه آماده‌سازی شده در این آزمون، می‌تواند موجب به دست آمدن جواب اشتباه از آزمون شود. در تعیین وزن مولکولی با DLS، آماده‌سازی نمونه باید در چندین غلظت مختلف صورت گیرد. غلظت‌های انتخاب شده معمولاً بین ۱-۰/۲۵ گرم بر لیتر است. برای انجام آزمون وزن مولکولی از مواد پلیمری، دیسپرس شدن کامل ماده پلیمری در حلال، بعد از اینکه نمونه‌سازی برای انجام آزمون به اتمام رسید،

می‌شود. در چنین نمونه‌هایی، ضریب نشر انتقالی^{۱۰} ثابت نیست و به‌طور دائم در حال تغییر است و این تغییر موجب بروز خطا در آزمون می‌شود. لذا در این موارد باید غلظتی انتخاب شود که از اثر متقابل ذرات بر هم جلوگیری کند.

حداکثر غلظت در سایر اندازه‌های ذره به خوبی مشخص شده‌است. با این حال اگر در این محدوده‌های غلظت نیز مشکلات ذکر شده رخ دهد، بهتر است غلظتی انتخاب شود که به مرز پایین غلظت تعیین شده در جدول شماره (۱) نزدیک باشد.

حداکثر غلظت برای نمونه‌هایی با اندازه ذرات زیر ۱۰ نانومتر

محدوده غلظت در دستگاه DLS با اندازه ذرات موجود در سوسپانسیون تعیین می‌شود که دلیل تعیین محدوده غلظت با اندازه ذرات، مقدار پرتوهای نور متفرق شده در اثر برخورد با ذرات نمونه است. در واقع به دلیل اینکه شدت تفرق نور رابطه مستقیمی با اندازه ذرات دارد، محدوده غلظت نیز براساس اندازه ذرات مشخص می‌شود. در ذرات بزرگتر از ۱۰ نانومتر، چون حتی تعداد کم ذرات، می‌توانند پرتوهای نور زیادی را متفرق کنند (رابطه شدت تفرق نور با شعاع ذرات ۱۰۶ است)، محدوده غلظت با در نظر گرفتن مقدار نور متفرق شده و همچنین اثر نوسانات - تعداد^{۱۱} تعیین می‌شود. برای درک اثر نوسانات - تعداد، مثالی ارائه می‌شود. فرض می‌شود آزمون توزیع اندازه ذرات برای یک نمونه بسیار رقیق (مثلاً ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر) با اندازه ذرات تقریبی ۵۰۰ نانومتر انجام شود. در شرایط ذکر شده شدت تفرق نور بیشتر از مقدار مورد نیاز برای اندازه‌گیری آزمون توزیع اندازه ذرات است (به دلیل بزرگ بودن ابعاد ذرات). اما زمانی که محاسبه نمودار توزیع اندازه ذرات بر حسب حجم با استفاده از دستگاه انجام می‌شود، مقدار نور متفرق شده بر حسب حجم بسیار کم است. به همین دلیل، حداقل اندازه ذرات در ذرات بزرگتر، مقدار بیشتری نسبت به ذرات کوچکتر است. شکل ۱ نموداری از برآورد تعداد ذرات در هر غلظت از ذرات، با اندازه‌های مختلف و مربوط به ذراتی هستند که چگالی آنها ۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب است.



وجود نمونه با غلظت کم مشکل دیگری را نیز به همراه دارد. این مشکل مربوط به آلاینده‌هایی نظیر گرد و غبار است

یا حلال خالص باشد. برای مثال، اگر محیط در آزمایش، تولوئن فرض شود و نرخ پرتوهای تفرق یافته در آن ۱۵۰ کیلوکانت در هر دقیقه باشد، پس حداقل غلظت نمونه باید به اندازه‌ای باشد که نرخ پرتوهای تفرق یافته در آن به بیش از ۱۵۰ کیلوکانت در هر دقیقه برسد که تقریباً برابر با ۱۹۵ کیلوکانت در هر دقیقه می‌شود. با وجود دقت زیاد در مراحل آماده‌سازی نمونه، امکان فراهم کردن نمونه مناسب با افزایش ۱۰ درصدی نرخ پرتوهای تفرق یافته در نمونه نسبت به محیط خالص نیز وجود دارد ولی برای اطمینان بیشتر، بهتر است که همان افزایش ۳۰ درصدی مورد استفاده قرار گیرد.

حداکثر غلظت در نمونه آماده‌سازی شده برای وزن مولکولی، باید کمتر از حدی باشد که ذرات مورد بررسی نسبت به هم دارای برهم‌کنش شوند. به عبارت ساده‌تر، ذرات نمونه که درون محیط قرار گرفته‌اند، هیچ‌گونه اثری روی یکدیگر نداشته باشند. میزان محدوده غلظتی که برای جلوگیری از چنین پیشامدی در نظر گرفته شده‌است، محدوده غلظتی زیر ۰/۱ درصد وزنی است.

شرایط نمونه آماده‌سازی شده در آزمون پتانسیل زتا

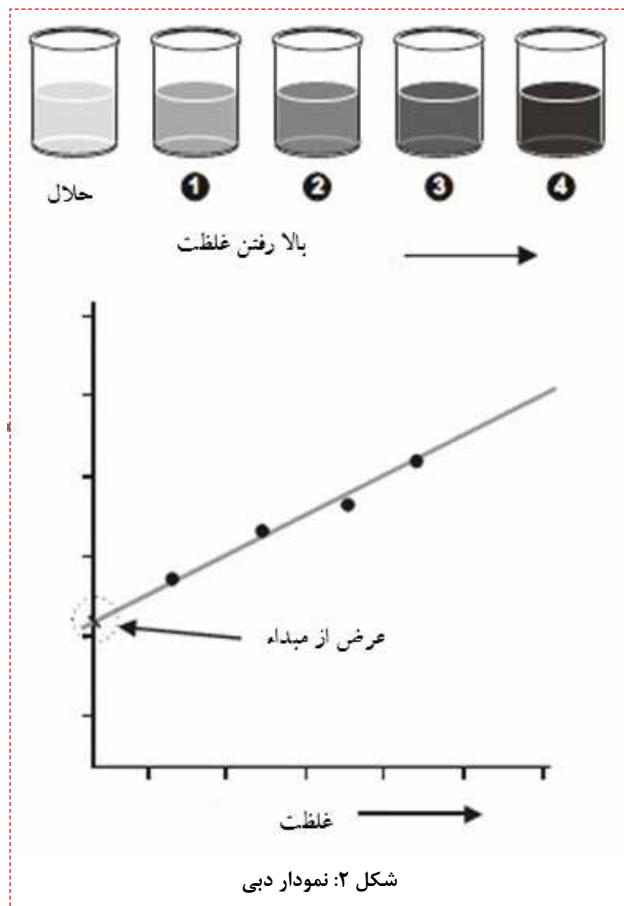
□ غلظت نمونه

یکی از عواملی که در نمونه آماده‌سازی شده برای آزمون اندازه‌گیری پتانسیل زتا از اهمیت زیادی برخوردار است، عامل غلظت نمونه است. به‌طور کلی، در دستگاه DLS، چون تفرق نور، پدیده اندازه‌گیری شده برای رسیدن به نتایج آزمون‌ها است و غلظت نمونه‌ها نیز در میزان شدت تفرق نور نقش دارد، لذا این عامل در این دستگاه بسیار حائز اهمیت است و در این آزمون نیز مشابه دو آزمون قبلی، محدوده غلظتی برای نمونه تهیه شده وجود دارد. در آزمون پتانسیل زتا، پرتوهای نور تابیده شده از منبع به دو قسمت پرتو مرجع^{۱۴} و پرتو جداکننده^{۱۵} تقسیم می‌شود. شدت پرتو مرجع عاملی است که توسط سازنده دستگاه در کارخانه تعیین می‌شود و بر حسب نرخ پرتوهای تفرق یافته در حدود ۲۰۰۰ تا ۳۵۰۰ کیلوکانت در هر دقیقه است. شدت تفرق نور پرتو جداکننده که از درون کیووت^{۱۶} حاوی نمونه آماده‌سازی شده می‌گذرد، با استفاده از شناساگری^{۱۷} که در یک زاویه مشخص، در جلوی کیووت قرار گرفته، ثبت می‌شود. شدت تفرق پرتو جداکننده که با استفاده از قسمتی از دستگاه بنام تضعیف‌کننده^{۱۸} تنظیم می‌شود، نباید بیشتر از ۰/۱ پرتو مرجع باشد. تضعیف‌کننده قادر است میزان شدت پرتو را در یک بازه نسبتاً بزرگ تضعیف کند. به همین دلیل است که شفاف بودن نمونه مورد آزمایش برای آزمون پتانسیل زتا بسیار حائز اهمیت است و نمونه در این آزمون باید کاملاً شفاف باشد (شکل ۳).

محدوده غلظت در آزمون پتانسیل زتا وابسته به عوامل زیر است:

- ✦ خواص نوری ذره؛
- ✦ اندازه ذره؛
- ✦ میزان غیریکنواختی^{۱۹} توزیع اندازه ذرات.

برای اطمینان بیشتر از صحت نتایج به‌دست آمده، بهتر است که نمونه آماده‌سازی شده درون یک محفظه جریان لامینر^{۱۲} به مدت ۲۴ ساعت قرار بگیرد. مدت زمان قرارگیری نمونه در این دستگاه در صورت نیاز می‌تواند به چند روز نیز افزایش پیدا کند. با توجه به غلظت‌های مختلف تهیه شده از نمونه و تغییر شدت تفرق پرتوهای نور نسبت به تغییرات غلظت، وزن مولکولی نمونه به‌دست می‌آید. با استفاده از این تغییرات، نموداری بنام نمودار دبی^{۱۳} رسم می‌شود که در این نمودار محور Yها شدت متوسط تفرق پرتو نور و محور Xها غلظت است (شکل ۲).



□ غلظت نمونه

عامل غلظت در آزمون وزن مولکولی نیز مانند آزمون توزیع اندازه ذرات، از عوامل مهم آماده‌سازی نمونه به شمار می‌رود؛ به همین دلیل برای این آزمون هم محدوده‌ای برای غلظت تعریف شده‌است.

محدوده غلظت در نمونه‌های آماده‌سازی شده برای این آزمون با توجه به عواملی که قبلاً درباره آن صحبت شده، یعنی نرخ پرتوهای تفرق یافته تعیین می‌شود. محدوده غلظت در نمونه‌های تهیه شده با مقایسه نرخ پرتوهای تفرق یافته یک نمونه آماده‌سازی شده با نرخ پرتوهای تفرق یافته محیطی که نمونه درون آن قرار گرفته است، به‌دست می‌آید. نرخ پرتوهای تفرق یافته نمونه‌های تهیه شده در پایین‌ترین غلظت برای انجام این آزمون، باید حداقل ۳۰ درصد بیشتر از نرخ پرتوهای تفرق یافته محیط، بدون وجود ماده مورد بررسی، یعنی دیسپرسانت و

آنها بیشتر از ۲۰ باشد جزء این دسته از دیسپرسانت‌ها قرار می‌گیرند.

✦ دیسپرسانت‌های غیرقطبی به دیسپرسانت‌هایی که ضریب دی‌الکتریک ϵ_r آنها کوچکتر از ۲۰ باشد، اطلاق می‌شود و هیدروکربن‌ها جزء این دسته از دیسپرسانت‌ها هستند.

□ رقیق‌سازی

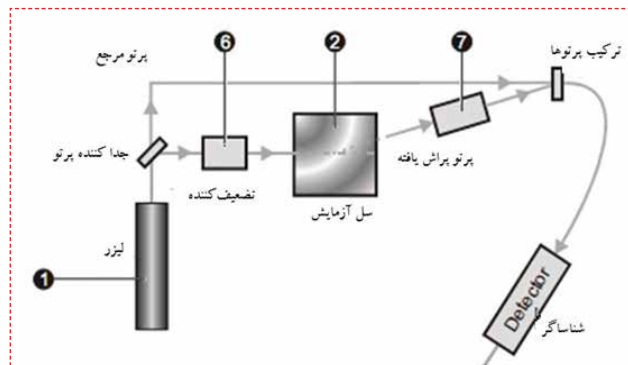
مرحله رقیق‌سازی یکی از مراحل آماده‌سازی نمونه به شمار می‌رود. نکته حائز اهمیت درباره این مرحله از آماده‌سازی این است که نباید خواص ماده مورد آزمایش با انجام رقیق‌سازی تغییر کند و این خواص باید ثابت بماند. در این مرحله برای تهیه یک نمونه آزمایشی مناسب، ابتدا روی قسمتی از نمونه اصلی که برای رقیق کردن انتخاب شده است، فیلتراسیون و سانتیفریوژ^{۲۱} انجام می‌شود تا سوسپانسیونی شفاف از نمونه اصلی برای انجام مرحله رقیق‌سازی موجود باشد. در ضمن، در هنگام فرآیند رقیق‌سازی، باید به خوبی نکات مربوط به نگهداری نمونه رعایت شود تا آلودگی نمونه و حتی محیط آزمایشگاه که قبل از این مرحله در نمونه و آزمایشگاه وجود نداشته، در این مرحله نیز پدیدار نشود. با رعایت شدن موارد فوق تعادل بین سطح ذره و دیسپرسانت به وجود می‌آید و خواص سطح نیز حفظ می‌شود.

اگر با اضافه شدن مرحله رقیق‌سازی به مراحل آماده‌سازی نمونه، تهیه یک سوسپانسیون مناسب و یکنواخت حاصل نشد، لازم است که سوسپانسیون تهیه شده را برای مدتی به منظور رسوب ذرات و یکنواخت شدن قسمتی از آن در محلی قرار داد و بعد از تشکیل رسوب در نمونه، نمونه مورد نظر را از آن جدا کرد. در این شرایط، از بخش فوقانی سوسپانسیون که دارای یکنواختی بیشتری است، نمونه‌گیری انجام می‌شود. در تمام روش‌هایی که با آن رقیق‌سازی نمونه انجام می‌شود، باید دقت داشت که سه عامل زیر با اضافه شدن مرحله رقیق‌سازی نسبت به حالت قبل از این مرحله تغییر نداشته باشد. این سه عامل عبارتند از:

- ✦ PH،
- ✦ غلظت یونی کل محلول؛
- ✦ غلظت سورفکتانت^{۲۲} یا پلیمر موجود در محلول.

دیسپرسانت‌های آبی یا قطبی

الکل و آب از رایج‌ترین موادی هستند که در تقسیم‌بندی دیسپرسانت‌ها، جزء دیسپرسانت‌های آبی قرار می‌گیرند. به علت کارکرد آسان با این قبیل دیسپرسانت‌ها، سعی می‌شود که حتی‌المقدور از دیسپرسانت‌های آبی در تهیه نمونه استفاده شود و تقریباً بیشتر نمونه‌های آماده‌سازی شده برای آزمون‌های مختلف دستگاه DLS، دارای دیسپرسانت‌های پایه آبی هستند. در هنگام انجام آزمون با نمونه‌های پایه آبی می‌توان از کیووت‌های یکبار مصرف پلی‌استایرنی استفاده کرد. در هنگام استفاده از این دیسپرسانت‌ها، به این نکته توجه شود که دیسپرسانت مورد استفاده عاری از هر گونه آلودگی باشد و از دیسپرسانت‌هایی که از نظر کیفیت دارای مرغوبیت خوبی هستند، استفاده شود.



شکل ۳: نمایی از اجزاء دستگاه DLS و نمایش پرتو مرجع و پرتو جداکننده

دیسپرسانت نیز نقش مهمی در این آزمون دارد. در واقع، بیان اندازه پتانسیل زتا بدون بیان این مطلب که پتانسیل زتای به دست آمده برای ماده در چه دیسپرسانتی حاصل شده، بی معنی است. تعیین محدوده غلظت برای آزمون مذکور به دلیل اینکه عوامل زیادی در آن دخالت دارند یک مقدار مشخصی نیست و تا حدودی این بازه به‌طور تجربی توسط خود کاربر تعریف می‌شود. اما تا اندازه‌ای می‌توان برای آن محدوده‌هایی را مشخص کرد.

حداقل غلظت در نمونه‌های آماده‌سازی شده در این آزمون باید به‌گونه‌ای باشد که نرخ پرتوهای تفرق یافته از ۲۰ کیلوکانت در هر دقیقه کمتر نشود. برای تعیین مقدار غلظت، سه عامل تاثیرگذار بر پتانسیل زتا باید لحاظ شود و با توجه به این عوامل، نمونه تهیه شود. به‌عنوان مثال، برای نمونه دی‌اکسید تیتانیوم، با حدود اندازه ذره ۳۰۰ نانومتر، که از نظر خواص نوری دارای ضریب شکست بالایی است میزان غلظت نمونه تهیه شده در محدوده ۶-۱۰ درصد وزنی، می‌تواند مناسب باشد. اگر اندازه ضریب شکست نمونه پایین بود و اختلاف چندانی با دیسپرسانت نداشته باشد که نمونه‌های پروتئینی با دیسپرسانت آب می‌تواند برای این دسته از نمونه‌ها به‌عنوان مثال مطرح شود، محدوده غلظتی در حدود ۱-۰/۱ درصد وزنی تعریف می‌شود. به همین ترتیب با توجه به ضریب شکست ذره، اندازه و میزان غیریکنواختی نمونه، غلظت آن به‌طور تجربی مشخص می‌شود. حداکثر غلظت نیز در آزمون مذکور، وابسته به عواملی است که در بالا به آنها اشاره شد. اگر غلظت نمونه برای انجام این آزمون بیش از حد باشد، پرتوهای نور متفرق شده‌ای که از زاویه مشخص، با شناساگر ثبت می‌شوند، کاهش می‌یابند و این مسئله باعث می‌شود که مقدار پرتوهای متفرق شده برای انجام این آزمون، کافی نباشد. البته این مشکل تا حدودی با استفاده از تضعیف کننده با تغییر ضریب تضعیف که روی پرتو جداکننده اعمال می‌شود، برطرف می‌شود که این راه حل همیشه جوابگو نیست. برای اینکه این مشکل برطرف شود، نمونه موردنظر را رقیق می‌کنند که این رقیق‌سازی نمونه باید در شرایط خاصی انجام شود.

دیسپرسانت‌هایی که برای رقیق‌سازی نمونه مورد استفاده قرار می‌گیرند را می‌توان به دو دسته زیر تقسیم کرد:

✦ دیسپرسانت‌های قطبی یا آبی نظیر آب و اتانول، که این دیسپرسانت‌ها با استفاده از ضریب دی‌الکتریک از دیسپرسانت‌های غیرآبی تفکیک می‌شوند. دیسپرسانت‌هایی که ضریب دی‌الکتریک

دیسپرسانت‌های غیر آبی یا غیر قطبی

دیسپرسانت‌هایی نظیر هگزان، ایزوپارافین از جمله دیسپرسانت‌های غیر قطبی هستند که در آزمون پتانسیل زتا با استفاده از کیووت‌های معمول شاخک‌دار که در نمونه‌هایی با دیسپرسانت آبی کاربرد داشت، در این نمونه‌ها استفاده نمی‌شود. به همین دلیل در هنگام انجام آزمون پتانسیل زتا از نمونه‌هایی با دیسپرسانت غیر قطبی از کیووت دیپسل^{۲۳} استفاده می‌شود. به دو دلیل در این آزمون‌ها از کیووت دیپسل استفاده می‌شود:

۱. سازگاری جنس کیووت دیپسل با دیسپرسانت‌های غیر قطبی و عدم انجام واکنش با آنها.
 ۲. نزدیک بودن فاصله الکترودها در کیووت دیپسل به یکدیگر که این امکان را فراهم می‌آورد که بدون استفاده از یک ولتاژ بالا، میدان الکتریکی قوی به‌وجود آورد.
- سایر شرایط آماده‌سازی نمونه‌هایی که دارای دیسپرسانت غیر آبی هستند با نمونه‌هایی با دیسپرسانت آبی تفاوتی ندارد. انتخاب دیسپرسانت مناسب یکی از مهم‌ترین اقداماتی است که می‌تواند منجر به تهیه یک سوسپانسیون پایدار و مطلوب شود. برای اینکه ماده مورد نظر به خوبی و به‌طور یکنواخت درون دیسپرسانت پراکنده شود، لازم است که دیسپرسانت مورد استفاده درست انتخاب شود. انتخاب دیسپرسانت مناسب با تجربه کاری و مطالعه مراجع مرتبط حاصل می‌شود. برخی از مشکلاتی که امکان وقوع آنها در مرحله آماده‌سازی وجود دارد، با انتخاب دیسپرسانت مناسب می‌تواند حذف شود.

آماده‌سازی

بعد از تعیین غلظت و ایجاد شرایط بهینه برای نمونه، فرآیند آماده‌سازی آغاز می‌شود. در این بخش به گوشه‌هایی از نکات حائز اهمیت در فرآیند آماده‌سازی اشاره می‌شود.

رعایت نکات ایمنی

اولین مطلب در بحث آماده‌سازی نمونه برای انجام هر آزمونی، رعایت نکات ایمنی فردی و محیطی است. قبل از انجام آغاز مرحله آماده‌سازی نمونه نکات ایمنی باید مورد توجه قرار بگیرد؛ زیرا عدم توجه به این بخش، آسیب‌های جبران ناپذیری را می‌تواند به کاربر و حتی سایر افراد حاضر در یک آزمایشگاه به بار آورد. به برخی از این نکات در متن زیر اشاره شده‌است:

۱. ابتدا باید نمونه‌ای که قرار است روی آن آماده‌سازی انجام شود، از نظر ایمنی مورد شناسایی و ارزیابی قرار گیرد. ارزیابی نمونه به دلیل خطراتی است که می‌تواند در هنگام کار برای کاربر به‌وجود آورد. پس در گام اول، اطلاعات دستورالعمل ایمنی نمونه استخراج می‌شود.
۲. در هنگام آماده‌سازی از دستکش و ماسک مخصوص و همچنین البسه مناسب استفاده شود تا از تماس نمونه با پوست و استنشاق آن جلوگیری شود.

۳. در هنگام انجام آزمون در صورت لزوم، برای جلوگیری از پخش نمونه در محیط آزمایشگاه مراحل آماده‌سازی در زیر هود انجام شود. ۴. ابزارهای آزمایشگاهی مورد استفاده در مرحله آماده‌سازی، قبل و بعد از استفاده به خوبی پاک شود.

تهیه سوسپانسیون با غلظت مناسب

بعد از رعایت نکات ایمنی، تهیه سوسپانسیون با غلظت مورد نیاز آغاز می‌شود. تعیین غلظت نمونه مورد نظر با توجه به توضیحات داده شده در قسمت‌های قبلی انجام می‌شود. با به‌دست آوردن وزن ماده برای حجم مشخصی سوسپانسیون، مقداری از ماده با ترازو وزن شده و درون دیسپرسانت انتخاب شده ریخته می‌شود. به دلیل اینکه مقدار ماده مورد نیاز برای تهیه سوسپانسیونی با حجمی حدود ۵ میلی‌لیتر خیلی کم است و در محدوده هزارم و یا حتی ده هزارم گرم است، لذا مرحله توزین ماده با ترازو باید با دقت بالایی انجام شود. در این مرحله می‌توان از اسپاتول برای برداشتن مقدار مورد نیاز ماده استفاده کرد. بعد از وزن کردن ماده، مقدار وزن شده درون دیسپرسانت ریخته می‌شود. حال با داشتن سوسپانسیون با غلظت مناسب، آزمون‌های مختلفی که با دستگاه DLS قابل انجام است، می‌تواند صورت پذیرد.

معمولاً سوسپانسیون تهیه شده در آزمایشگاه به سادگی توضیحات داده شده به‌دست نمی‌آید. اغلب برای تهیه یک سوسپانسیون مناسب در مرحله آماده‌سازی، فرآیندهایی به مرحله آماده‌سازی اضافه می‌شود که انجام این فرآیندها در برخی موارد، نیاز به دستگاه‌های جانبی پیدا می‌کند. در ادامه، قسمت‌هایی که برای برطرف شدن مشکلات به‌وجود آمده در حین مرحله آماده‌سازی نمونه به این مرحله اضافه می‌شود، شرح داده شده و همچنین مواردی که انجام آنها سبب بهبود کیفیت نمونه و خطای کمتر دستگاه شده، به اختصار ذکر می‌شود.

استفاده از دستگاه التراسونیک^{۲۴}

بعد از وزن کردن ماده مورد آزمایش با ترازو، درون دیسپرسانت ریخته شده که معمولاً زمانی که نمونه درون دیسپرسانت ریخته می‌شود، به‌طور یکنواخت پراکنده نشده و به اصطلاح دیسپرس نمی‌شود. دلایل زیادی برای دیسپرس نشدن ماده درون دیسپرسانت وجود دارد که یکی از رایج‌ترین آنها، آگلومره شدن ذرات است که در این حالت، ذرات ماده در حالت خشک به یکدیگر می‌چسبند و تشکیل کلوخ می‌دهند. زمانی که چنین مشکلی به‌وجود آید، دیسپرسانت حاوی ذرات، در دستگاه التراسونیک قرار داده می‌شود. دستگاه التراسونیک با تولید امواج صوتی سبب شکسته شدن کلوخ‌ها شده و ذرات نمونه را از یکدیگر جدا می‌کند. استفاده از دستگاه التراسونیک دارای قواعدی است و برای استفاده از آن، محدودیت‌هایی تعریف شده که به چند مورد از آن اشاره می‌شود:

۱. مدت زمان استفاده از التراسونیک و همچنین شدت امواج صوتی تولید شده با استفاده از دستگاه باید مشخص باشد. زیرا در برخی مواقع مدت زمان و شدت امواج تولیدی، می‌تواند اثر عکس روی ماده بگذارد و

نگاه کرد. در این حالت، اگر شفافیت سوسپانسیون خیلی کم باشد و سوسپانسیون بیش از حد کدر باشد، می‌توان کمی غلظت نمونه را کاهش داد. البته این کاهش باید به گونه‌ای باشد که غلظت ثانویه نیز در محدوده غلظتی که برای نمونه تعریف شده، قرار بگیرد. عکس این مورد نیز صادق است، یعنی اگر نمونه بیش از حد شفاف به نظر برسد به گونه‌ای که در یک نگاه این طور به نظر رسد که ماده‌ای درون دیسپرسانت وجود ندارد، با در نظر گرفتن محدوده غلظت مجاز، غلظت نمونه افزایش داده می‌شود.

تزریق صحیح نمونه درون کیووت

در پایان مرحله آماده‌سازی، نوبت به تزریق نمونه درون کیووت می‌رسد. همان‌طور که گفته شده کیووت ظرف مخصوصی است که نمونه برای اینکه داخل دستگاه قرار بگیرد، درون آن ریخته می‌شود. در مرحله تزریق نمونه درون کیووت به دو نکته می‌توان اشاره کرد: **×** در این مرحله برای قرار گرفتن نمونه درون دستگاه، ابتدا نمونه از درون ظرفی که در آن تهیه شده با سرنگ یا میکرو سمپلر به مقدار مورد نیاز برداشته می‌شود و سپس به درون کیووت انتقال داده می‌شود. یکی از نکاتی که باید در این مرحله رعایت شود، دقت در انتقال نمونه است که در دو مرحله انجام می‌شود. در مرحله اول که انتقال نمونه از ظرفی که نمونه در آن تهیه شده به میکرو سمپلر یا سرنگ انجام می‌شود و در مرحله بعد انتقال آن از سرنگ یا میکرو سمپلر به کیووت صورت می‌گیرد. در این مراحل جلوگیری از ریختن نمونه در محیط آزمایشگاه و همچنین جلوگیری از ورود آلودگی‌های مختلف به درون نمونه، بسیار حائز اهمیت است. مورد بعدی که باید به آن توجه داشت، جلوگیری از ایجاد حباب در نمونه درون کیووت است. برای جلوگیری از این اتفاق، در کیووت‌های ساده همان‌طور که در شکل (۴) نیز دیده می‌شود، مایل نگه داشته کیووت، می‌تواند تا حد زیادی این مشکل را حل کند.



شکل ۴: نمایی از تزریق نمونه درون کیووت

اما در کیووت‌های شاخکدار به گونه‌ای دیگر تزریق صورت می‌پذیرد. در شکل (۵) نمایی از چگونگی تزریق نمونه را درون کیووت‌های شاخکدار نشان می‌دهد. در این تزریق، ابتدا کیووت به‌طور کاملاً بر عکس نگه داشته می‌شود و تقریباً به اندازه نصف آن

به نمونه آماده‌سازی آسیب وارد کرده و سبب تغییر خواص نمونه شود. ۲. در التراسونیک کردن نمونه‌هایی نظیر امولسیون‌ها^{۲۵} و لیبوزوم‌ها باید دقت زیادی داشت که آسیبی به نمونه نرسد. ۳. در هنگام روشن بودن دستگاه، به هیچ وجه نباید با دست، نمونه را از داخل دستگاه برداشت. انتقال امواج صوتی به هر طریقی به کاربر، می‌تواند سلامتی وی را به خطر بیندازد. ۴. در صورتی که با انجام مرحله التراسونیک، نمونه در سوسپانسیون به خوبی دیسپرس نشد، برای رسیدن به یک سوسپانسیون مناسب از مرز پایین محدوده غلظت با توجه به اندازه ذره استفاده می‌شود.

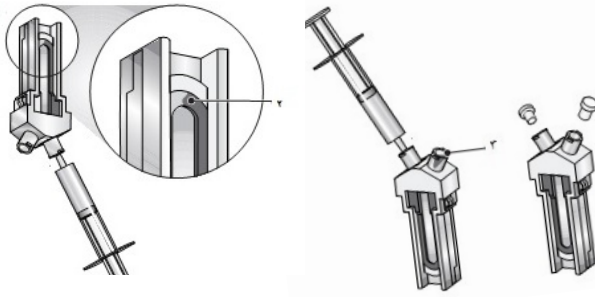
در برخی موارد، برای بهتر دیسپرس شدن نمونه، التراسونیک کردن نمونه در چند مرحله انجام می‌شود. تکان دادن نمونه آماده‌سازی شده توسط کاربر در فواصل زمان‌های التراسونیک، می‌تواند مثر ثمر واقع شده و به دیسپرس شدن نمونه کمک کند. از دستگاه التراسونیک برای از بین بردن حباب به وجود آمده درون کیووت در هنگام تزریق نمونه نیز استفاده می‌شود. با این کار، حباب‌هایی که در زمان تزریق سوسپانسیون درون کیووت ایجاد شده‌اند، می‌توانند از داخل نمونه حذف شده و از بین برده شوند. در ضمن، از دستگاه التراسونیک برای شست و شوی کیووت‌های شیشه‌ای و کوارتزی نیز می‌توان استفاده کرد. لازم به ذکر است که برای دیسپرس شدن نمونه در برخی از آزمایشگاه از هم‌زن برقی نیز استفاده می‌شود. هم‌زن برقی نیز می‌تواند برای دیسپرس کردن نمونه‌ها مفید باشد. با توجه به نوع نمونه می‌توان دستگاه مناسب‌تر را برای یکنواخت کردن نمونه انتخاب کرد.

فیلتراسیون

مایعی که به‌عنوان دیسپرسانت استفاده می‌شود، باید آلودگی نداشته باشد. برای اطمینان از این موضوع، لازم است که دیسپرسانت تصفیه شود. برای تصفیه دیسپرسانت روش‌های مختلفی وجود دارد که رایج‌ترین آنها استفاده از روش فیلتراسیون است. برای کاربر در روش فیلتراسیون نیز مهم است که اندازه ذرات چقدر است. معمولاً تصفیه دیسپرسانت‌های آبی با فیلترهایی زیر ۲۰۰ نانومتر صورت می‌گیرد، در حالی که دیسپرسانت‌های غیرآبی می‌توانند تا ۱۰-۲۰۰ نانومتر هم فیلتر شوند. فیلتراسیون معمولاً بعد از تهیه سوسپانسیون انجام نمی‌شود، چون در این صورت ذرات بزرگ‌تری که مربوط به خود نمونه است نیز با این روش حذف می‌شود. البته در برخی از آزمایش‌ها نظیر زمانی که برای آزمون پتانسیل زتا، سوسپانسیون یکنواختی به دست نمی‌آید و یا در مواردی که آزمایش در شرایط خاص تعریف شده، فیلتراسیون بعد از تهیه سوسپانسیون نیز انجام می‌شود.

بازرسی چشمی رنگ و شفاف بودن سوسپانسیون

تعیین رنگ و شفاف بودن نمونه، از مواردی است که به‌صورت تجربی قابل انجام است. بعد از تهیه نمونه، کافی است که به سوسپانسیون تهیه شده در برابر نور شدید، مثلاً در مقابل لامپ



شکل ۵: نمایی از تزریق نمونه درون کیووت شاخک‌دار

مطابق شکل (۵) از سوسپانسیون پر می‌شود. سپس کیووت را ۱۸۰ درجه چرخانده و به حالتی که درون دستگاه قرار می‌گیرد گرفته و بقیه نمونه درون آن تزریق می‌شود. این روش پرکردن، به دلیل جلوگیری از ایجاد حباب درون کیووت است. لازم به ذکر است بعد از تزریق نمونه درون کیووت، داخل کیووت به صورت چشمی بازرسی می‌شود تا از نبود حباب و آلودگی درون کیووت مطمئن شد. اگر درون کیووت حباب مشاهده شود، با ضربه زدن انگشت می‌توان حباب‌های ایجاد شده را از بین برد و اگر با ضربه زدن انگشت این حباب‌ها از بین نرفت، از دستگاه التراسونیک برای از بین بردن حباب‌ها استفاده می‌شود.

نتیجه‌گیری

یکی از اصلی‌ترین و مهم‌ترین مراحل انجام آزمون با دستگاه DLS، آماده‌سازی نمونه است. غلظت نمونه آماده‌سازی شده برای انجام آزمون‌های مختلفی که با این دستگاه انجام می‌شود، نقش تعیین‌کننده‌ای در نتایج به دست آمده از دستگاه دارد. تعیین صحیح غلظت نمونه آماده‌سازی شده به عوامل مختلفی مانند اندازه ذره وابسته است. میزان غلظت نمونه در آزمون‌های مختلف این دستگاه دارای محدودیت‌هایی است که بیشتر و یا کمتر بودن میزان غلظت نمونه نسبت به محدوده غلظت تعیین شده، می‌تواند باعث افزایش خطا در جواب آزمایش شود. یکنواختی نمونه تهیه شده و یا دیسپرس شدن ذرات موجود در دیسپرسانت، برای انجام آزمون، از اهمیت زیادی برخوردار است. تجهیزاتی نظیر ترازو، دستگاه اولتراسونیک و هم‌زن برقی می‌توانند به کاربر در تهیه نمونه‌ای با کیفیت بالا کمک کنند. برای تهیه یک نمونه آزمایشی مناسب، رعایت تمام نکات مهم در مرحله آماده‌سازی و به کارگیری دقت زیاد در تمامی مراحل، امری لازم و ضروری است و کوچکترین اشتباهی در این مرحله آماده‌سازی می‌تواند، سبب به وجود آمدن خطا در نتایج آزمون انجام شده شود. با وجود توضیح و تشریح مرحله آماده‌سازی، باید به این نکته اشاره کرد که در کل، مرحله آماده‌سازی مرحله‌ای است که در آن تجربه کاری در انجام تهیه یک نمونه ایده‌آل بسیار مهم است و کاربر با تجربه می‌تواند مشکلات به وجود آمده در این مرحله که متناسب با نمونه مورد آزمایش، بسیار متنوع است، را به خوبی برطرف کند.

پی‌نوشت

۱. کارشناس ارشد فناوری نانو، آزمایشگاه فناوری نانو کفا
۲. کارشناس ارشد مهندسی مواد، آزمایشگاه فناوری نانو کفا
3. Dynamic Light Scattering DLS
4. Multiple scattering
5. Brownian motion
6. Refractive index
7. Count rate
8. Kcps or Kilo Counts per minute
9. Interaction
10. Translational Diffusion Coefficient
11. Number-fluctuation
12. laminar flow cabinet
13. Debye
14. Reference beam
15. Beam splitter
16. cuvette
17. detector
18. Attenuator
19. Polydispersity
20. Dielectric constant
21. centrifuging
22. surfactant
23. Dip cell
24. ultrasonic
25. Emulsion

مراجع

- [1] Zetasizer Nano User Manual MAN0317 Issue 4.0 May 2008
- [2] www.malvern.com
- [3] www.wikipedia.com