نویسندگان
داود قرایلو[1]*
ساسان مراده[2]
Davoud.gharailou@gmail.com

تعیین وزن مولکولی با دستگاه تفرق نور پویا

واژه‌های کلیدی
DLS، تفرق نور پویا، وزن مولکولی.

چکیده

دستگاه تفرق نور پویا[3] ابزاری ساده و سریع برای تعیین وزن مولکولی است. این دستگاه می‌تواند از روی شعاع هیدرودینامیکی نمونه‌های مختلف، وزن مولکول را مشخص کند. در این دستگاه، با استفاده از پراش ایستایی نور و همچنین به کارگیری نمونه‌های آماده‌سازی شده در غلظت‌های مختلف، فرآیند تعیین وزن مولکولی انجام می‌شود. در این دستگاه یک محاسبه‌گر دبای تک زاویه‌ای نیز وجود دارد که به کمک آن می‌توان اثرات زاویه‌ای را با استفاده از محاسبات ریاضی انجام داد. تعیین وزن مولکولی با کیووت (سل مخصوص انجام آزمایش) شیشه‌ای و کوارتزی قابل انجام است و غالباً از تولوئن به‌عنوان نمونه استاندارد استفاده می‌شود. لازم به ذکر است که کیووت‌های پلی‌استایرن نمی‌تواند مقاومت بالایی در برابر تولوئن داشته باشد.

مقدمه

DLS، دستگاه تفرق نور پویا دستگاهی است که در آن با استفاده از تابش نور لیزر به یک نمونه سوسپانسیون، برخی از خواص آن اندازه‌گیری می‌شود. برای مثال، به کمک این دستگاه می‌توان توزیع اندازه ذرات در ابعاد نانو، پتانسیل زتا و وزن مولکولی را به‌دست آورد. همچنین توزیع اندازه ذرات نیز در ابعاد نانو با دستگاه DLS قابل اندازه‌گیری است. این دستگاه، کاربردهای زیادی در صنایع مختلف دارد که از جمله آنها می‌توان به صنعت رنگ، داروسازی، پتروشیمی و موادغذایی اشاره نمود. همان‌طور که گفته شد یکی ازکاربردهای دستگاه DLS تعیین وزن مولکولی است. در این مقاله، چگونگی محاسبه وزن مولکولی با این دستگاه مورد بررسی قرارگرفته است.

تئوری پراکندگی ثابت شدت نور

در ابتدا به این موضوع پرداخته می‌شود که این دستگاه از چه روشی برای رسیدن به وزن مولکولی استفاده می‌کند؟ دستگاه DLS برای تعیین وزن مولکولی نمونه آزمایشی، از روشی به نام پراکندگی ثابت شدت نور استفاده می‌کند. نور مرئی از منبع تابش به نمونه آزمایشی که نانوذرات معلق موجود در سوسپانسیون هستند، برخورد می‌کند و بعد از برخورد، از سطح ذره متفرق می‌شود. به دلیل وجود حرکت براونی در نانوذرات معلق در سوسپانسیون و جابجایی آنها به‌طور پیوسته، میزان پراکندگی ثابت شدت نور که به‌وسیله شناساگرهای دستگاه ثبت می‌شود، در هر زمان متغیر است. شدت پراکندگی متغیر نور، همان عاملی است که این دستگاه با استفاده از آن می‌تواند توزیع اندازه نانوذرات سوسپانسیون مورد آزمایش را اندازه‌گیری کند. به میانگین شدت پراکندگی متغیر نور در یک بازه زمانی (مثلاً ۱۰ تا ۳۰ ثانیه‌ای)، شدت پراکندگی ثابت نور گفته می‌شود که برای تعیین وزن مولکولی و ضریب ویریال در دستگاه DLS مورد استفاده قرار می‌گیرد. با استفاده از پراکندگی ثابت شدت نور در غلظت‌های مختلف سوسپانسیون حاوی نانوذرات مورد آزمایش، می‌توان وزن مولکولی نانوذرات را با استفاده از معادله ریلی (۱) محاسبه نمود:

معادله (۱):

$$\frac{KC}{R_\theta} = \left(\frac{1}{M} + 2A_2C\right)P(\theta)$$

که در آن:

R_θ: نسبت ریلی[۴] (نسبت نور پراکنده شده به نور ساطع شده[۵])

M: وزن مولکولی نانوذرات

A_2: ضریب دوم ویریال[۶]

C: غلظت

Pθ: وابستگی شدت پراکندگی نور متفرق شده از نمونه آزمایشی به زاویه تابش فوتون

K: ثابت اپتیکی است که ثابت اپتیکی تابعی تعریف شده به‌صورت زیر دارد:

معادله (۲):

$$K = \frac{4\pi^2}{\lambda_o^4 N_A}\left(n_o\frac{dn}{dc}\right)^2$$

که در آن:

N_A: ثابت آووگادرو

λ_o: طول موج نور متفرق شده

η_o: ضریب شکست سیال (دیسپرسانت)

$d\eta/dc$: تغییرات ضریب شکست به تغییرات غلظت است.

برای محاسبه وزن مولکولی با دستگاه DLS باید عوامل معادله ریلی را به‌دست آورد تا با قرار دادن در معادله، وزن مولکولی که مجهول معادله است، تعیین شود.

نسبت ریلی (R_θ)

برای تعیین نسبت ریلی نمونه آزمایشی، نمونه استاندارد مورد نیاز است. معمولاً از تولوئن به‌عنوان نمونه استاندارد استفاده می‌شود که دلیل آن می‌توا ر ناچیز نسبت ریلی تولوئن در دماها و طول موج ای مختلف باشد. با داشتن نسبت ریلی نمونه استاندارد و با استفاده از رابطه زیر می‌توان ضریب ریلی نانوذرات مورد آزمایش را به‌دست آورد:

معادله (۳):

$$R_\theta = \frac{I_A n_o^2}{I_T n_T^2} R_T$$

که در آن:

I_A: شدت پراکندگی نور باقیمانده است که با استفاده از رابطه زیر حاصل می‌شود:

{(شدت پراکندگی نور دیسپرسانت = سیال) - (شدت پراکندگی نور نمونه) = (شدت پراکندگی نور باقیمانده)}

I_T: شدت پراکندگی نور در تولوئن

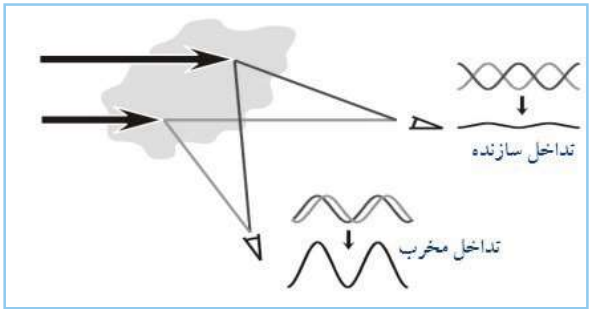
η_o: ضریب شکست دیسپرسانت

η_T: ضریب شکست تولوئن

R_T: ضریب ریلی تولوئن است.

وابستگی زاویه‌ای شدت پراکندگی ریلی (P_θ)

اگر شدت پراکندگی نور یک ذره از دو زاویه مختلف به‌وسیله شناساگر اندازه‌گیری شود، جواب به‌دست آمده برای اندازه شدت پراکندگی این ذره در دو زاویه متفاوت، دو اندازه مختلف است. در واقع، اندازه شدت پراکندگی نور به زاویه‌ای که شناساگر با امتداد تابش نور دارد، وابسته است. همان‌طور که در شکل (۱) نیز دیده می‌شود، شدت پراکندگی فوتون‌های متفرق شده ذره‌ای در نمونه آزمایشی با دو زاویه مشخص به‌وسیله شناساگر ثبت شده‌است. با توجه به شکل، می‌توان به این مطلب پی برد که اندازه شدت پراکندگی این ذره از دو زاویه مختلف با هم تفاوت دارد. از یک زاویه، شدت تفرق فوتون‌های برخورد کننده با ذره جمع می‌شوند و از زاویه دیگر، باعث خنثی شدن یکدیگر شده‌اند. به این پدیده که موجب تغییر در شدت پراکندگی نور فوتون‌های متفرق شده از نمونه آزمایشی در زوایای مختلف می‌شود، پراکندگی می[۷] گفته می‌شود و زمانی اتفاق می‌افتد که اندازه ذرات به قدری بزرگ باشند که فوتون‌های متعددی با این ذره برخورد کنند.



شکل۱: نمایی از محل قرار ری شناساگر در دو زاویه مختلف

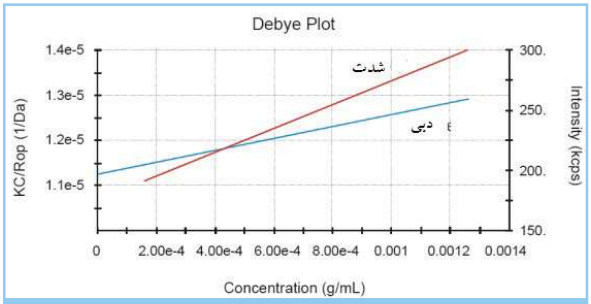
وجه به توضیحات داده شده می‌توان نتیجه گرفت، در صورتی که ذرات موجود در سوسپانسیون خیلی کوچک باشند، وابستگی زاویه‌ای شدت پراکندگی نور نزدیک به عدد یک است و می‌توان از آن در معادله ریلی صرف ظر کرد. برای نمونه‌هایی با اندازه ذرات کوچک،

معادله ریلی به‌صورت زیر ساده می‌شود؛ در واقع شدت پراکندگی تقریبی جایگزین شدت پراکندگی ریلی شده‌است.

معادله (۴):
$$R_\theta = \frac{I_A n_o^2}{I_T n_T^2} R_T$$

نمودار دبی[8] و روش کار دستگاه DLS برای اندازه‌گیری وزن مولکولی

شدت پراکندگی نور متفرق شده از نمونه آزمایشی، با وزن مولکولی نمونه و غلظت سوسپانسیون نمونه آزمایشی متناسب است. در دستگاه DLS برای به‌دست آوردن وزن مولکولی، شدت پراکندگی نور متفرق شده از نمونه آزمایشی در یک زاویه و غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری می‌شود. سپس تغییرات شدت پراکندگی نور در غ تهای مختلف با شدت پراکندگی نور متفرق شده از یک نمونه استاندارد مثل تولوئن مقایسه می‌شود. با توجه به نتایج و نموداری که از این مقایسه به‌دست می‌آید، می‌توان وزن مولکولی نمونه آزمایشی را تعیین نمود. نمودار حاصل از این مقایسه را نمودار د می‌نامند که در شکل (۲) آورده شده‌است.

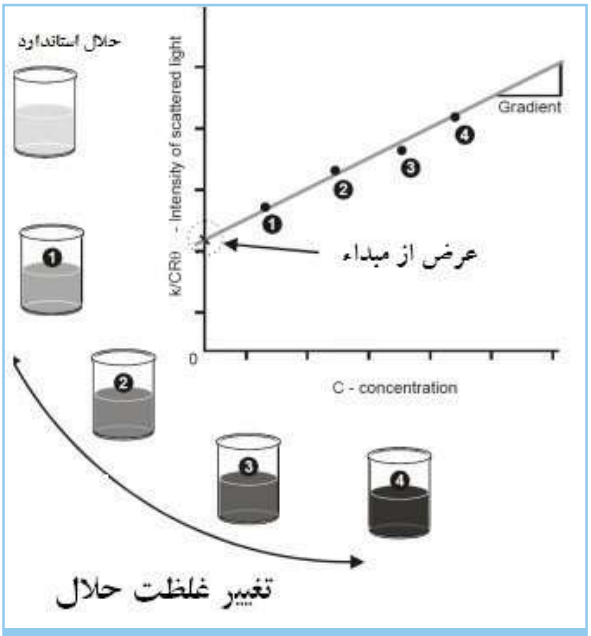


شکل ۲: نمودار دبی غلظت بر شدت پراکندگی نور

روش کار دستگاه (DLS)

برای به‌دست آوردن وزن مولکولی با دستگاه DLS، نیاز به تهیه (۴) سوسپانسیون با غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۴ برحسب گرم بر میلی‌لیتر از نمونه آزمایشی است. البته می‌توان برای افزایش اطمینان از نتیجه به‌دست آمده، سوسپانسیون‌هایی با غ ظت‌های بالاتر تهیه نمود. شکل (۳) نشان می‌دهد که چگونه وزن مولکولی از روی نمودار د ی به‌دست می‌آید.

همان‌طور که در شکل (۳) نیز مشاهده می‌شود، غلظت سوسپانسیون با شدت پراکندگی نور را طه مستقیم دارد و با افزایش غلظت شدت پراکندگی نور در نمونه آزمایشی نیز زیاد می‌شود. چنانچه شدت پراکندگی نور تنها از یک زاویه ثبت شود، نمودار (KC/Rθ) نسبت به غلظت باید به‌صورت خطی باشد. با داشتن اندازه شدت پراکندگی نور در غلظت صفر، که به کمک نمودار دبی قابل محاسبه است و نقطه تلاقی نمودار دبی با محور hyها، و همچنین استفاده از معادله ریلی، می‌توان وزن مولکولی نمونه آزمایشی را محاسبه کرد. در ضمن، ضریب ویریال نیز از روی شیب نمودار دبی به‌دست می‌آید.



شکل ۳: تصویر نمودار دبی نمونه مورد آزمایش در آزمون وزن مولکولی

نتیجه‌گیری

برای اندازه‌گیری وزن مولکولی نمونه با استفاده از دستگاه DLS، باید چند نمونه با غلظت‌های مختلف را تهیه نموده و به همراه یک نمونه استاندارد در دستگاه DLS آزمون گرفت. در این دستگاه با استفاده از معادله ریلی، وزن مولکولی و ضریب دوم ویریال محاسبه می‌شود.

پی‌نوشت

۱. کارشناس ارشد فناوری‌نانو، آزمایشگاه فناوری‌نانوکفا
۲. کارشناس ارشد مهندسی مواد، آزمایشگاه فناوری‌نانوکفا
3. Dynamic light scattering (DLS)
4. Rayleigh ratio
5. incident light
6. Virial Coefficient
7. Mie
8. Debye

مراجع

[1] Zetasizer nano application note mak528-01.
[2] Zetasizer nano user manual man0317 issue3.1 July 2007.
[3] Hiemenz, Paul, C "light scattering by polymer solutions" in polymer chemistry: the basic concepts,chpt 10; pub: Marcel Decker inc, New York; 1984, 659.
[4] Mattison, K;Kaszuba, M. measuring absolute protein molecular weight: is multi-angle instrumentation absolutely essential? American biotechnology laboratory 2003; 21(7), 28