

# Charakterizace polydisperzních částic pomocí DLS

Anna Pleskačová

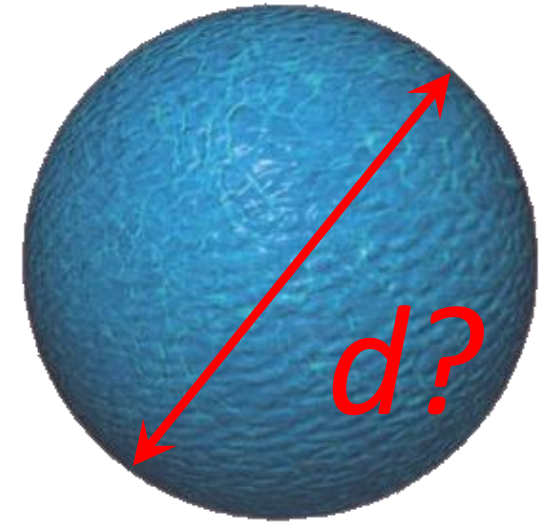


pragolab



## Na velikosti částic záleží...

- Souvisí se **specifickým povrchem** částic
- Schopnost proniknout membránami
- Schopnost povrchových interakcí
- **Agregace** a **stabilita** suspenzí
- Funkční chování (self assembly)
- Optické, mechanické a elektrické vlastnosti
- Atd.



Existuje celá řada metod:

Elektronová mikroskopie: **TEM**

Impedance: Coulterův princip

Sedimentace: **Diferenciální centrifugace**

Rezonance: resonant mass detection

Optické metody: particle tracking, laserová difrakce, **dynamický rozptyl světla (DLS)**

Různé typy částic však vyžadují různé přístupy, viz příprava vzorku pro TEM, konformační změny proteinů atd.

Velikost se podepisuje i na stylu chůze...

**Brownův pohyb**... náhodný pohyb v plynném nebo kapalném médiu, tepelný pohyb, *jehož důsledkem je difúze*

Platí pouze pro pevné sférické částice!

Diffusion coefficient      time

$$\langle X^2(t) \rangle \sim 2Dt$$

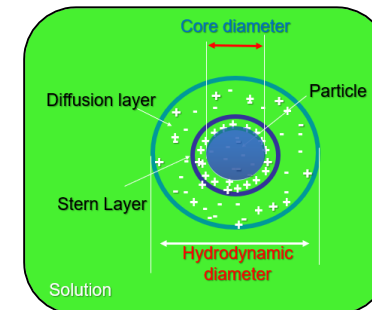
L. BACHELIER (1901)

Viscosity      Boltzmann      Temperature

$$D = \frac{KT}{3\pi\eta \phi_H} \Rightarrow \phi_H = \frac{KT}{3\pi\eta D}$$

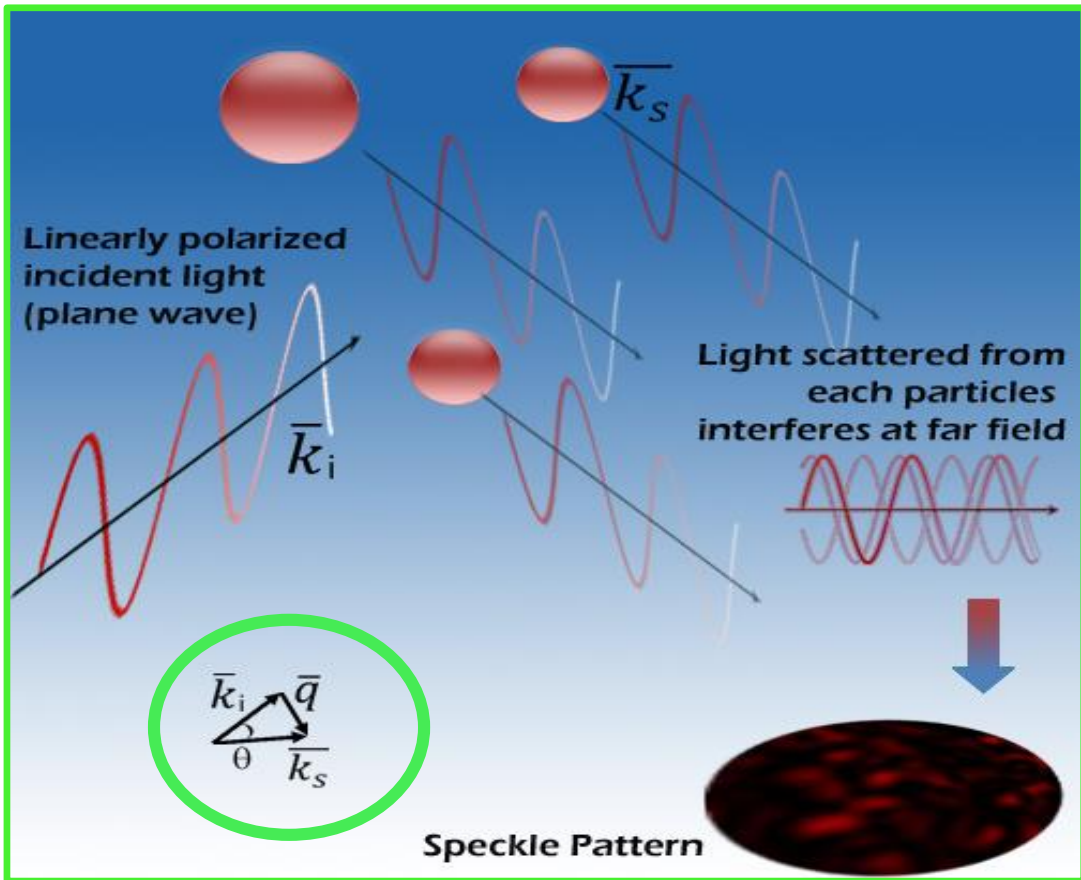
EINSTEIN (1905)

### HYDRODYNAMICKÝ PRŮMĚR ČÁSTICE



Je větší než například průměr získaný pomocí TEM.

Jak mi nahodilý pohyb částic pomůže vidět jejich velikost?



Specifický úhel  
Vektorové veličiny

Autokorelace:

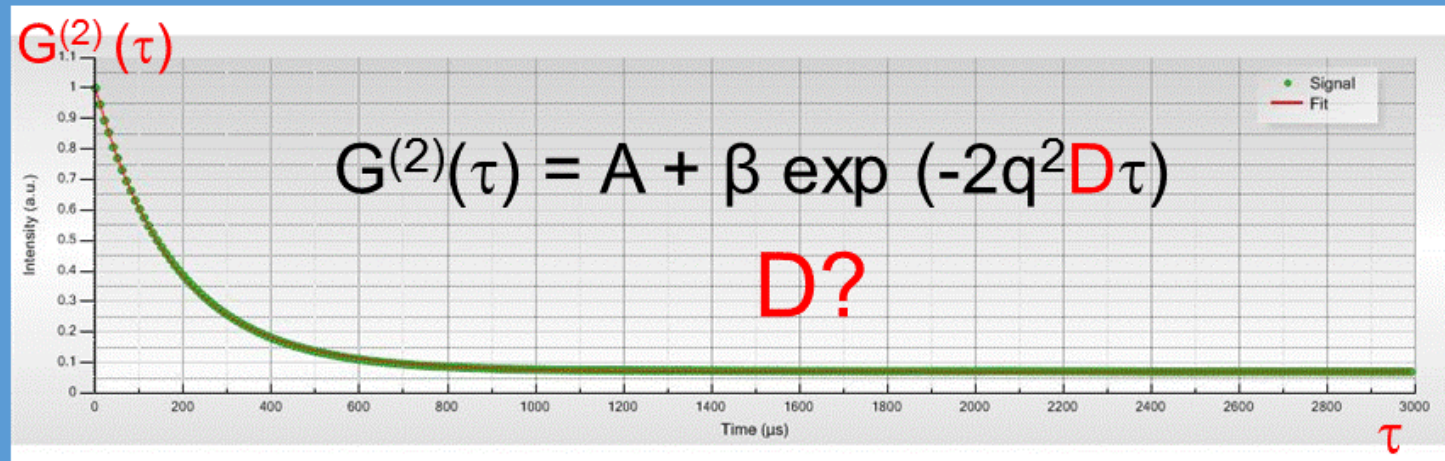
$$g_1(\tau) = |E^*(\tau)E(0)|^2 / |E^*E|^2$$

$$G_2(\tau) = \langle I(0)I(\tau) \rangle / \langle I^2 \rangle$$

This leads :  $G^{(2)}(\tau) = A + \beta \exp(-2q^2 D\tau)$

$$\text{with } q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin(\theta/2)$$

Experimentálně naměřenými body je proložena křivka a pomocí matematického modelu je vyjádřen exponenciální pokles intenzity odraženého záření.



Fit leads to  $D$ , and  $D$  to the diameter of NPs  $\phi_H$ .

$$D \longrightarrow \phi_H = \frac{KT}{3\pi\eta D}$$

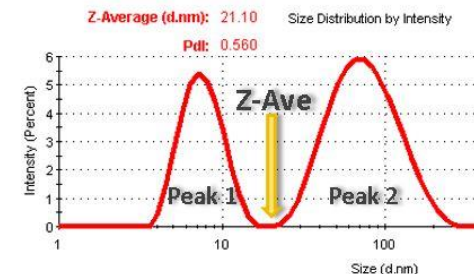
A jak z toho tu informaci vytáhneme ven?

Monomodální vs. polymodální analýza:

Designation	Equation	Distribution type	Authors ref
Cumulant	$G_2(\tau) = A + \beta e^{-2\Gamma\tau}$	Gaussian	B Frisken & al
Pade Laplace	$G_2(\tau) = A + \sum_{i=1}^{250} B_i e^{-2\Gamma_i\tau}$	Discrete	Yeremian & al.
Sparse Bayesian Learning	$G_2(\tau) = A + \int_0^{10\mu m} B(\Gamma) e^{-2\Gamma\tau} d\Gamma$	Continuous	R Ansari & al

## Z-average + PDI (polydispersity index)

Hledá pouze jednu populaci částic, je-li jich více počítá průměrnou velikost částic ve vzorku.

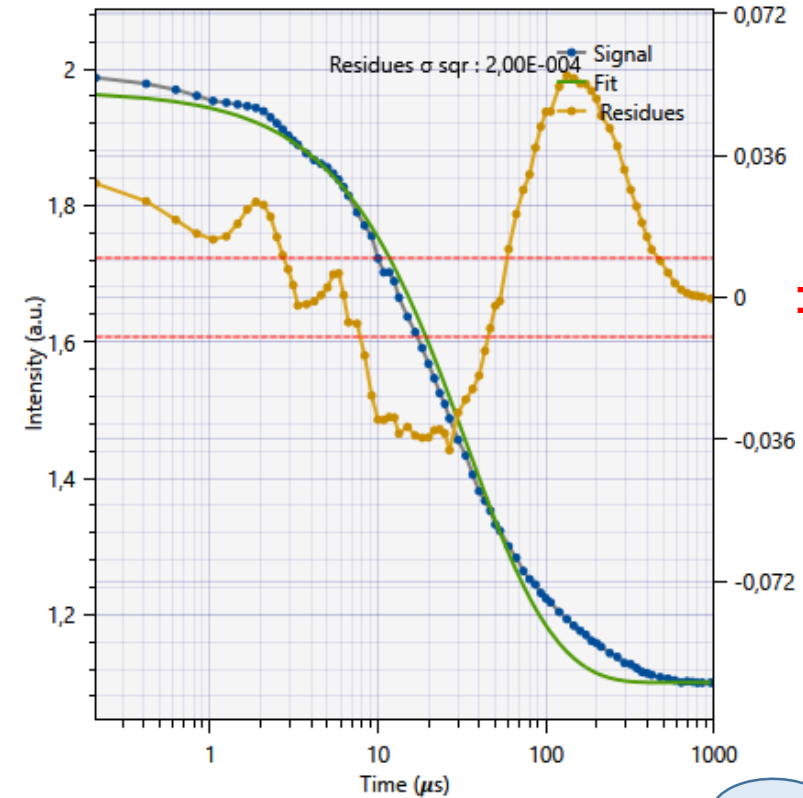
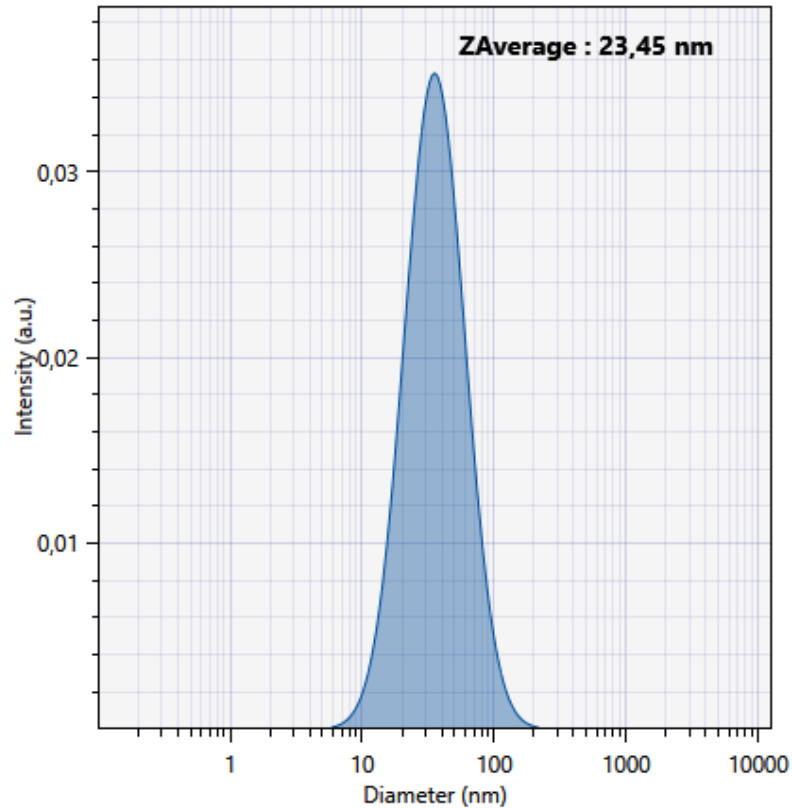


# Model Cumulant:

Co když vzorek obsahuje víc než jednu populaci částic?

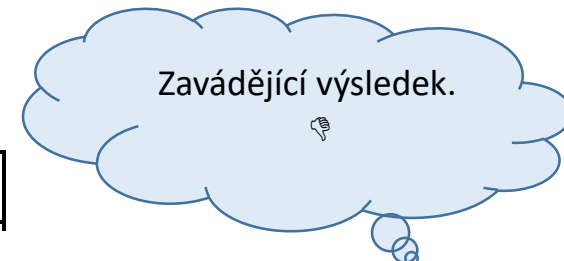


Law	LogNormal	LogNormal
Size (nm)	100	10
Std Dev (%)	1	1
Ratio Relative	1	1



**± 1,0 %**

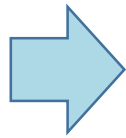
Experimentální data (modré body) a **proložení** (zeleně) neodpovídají.



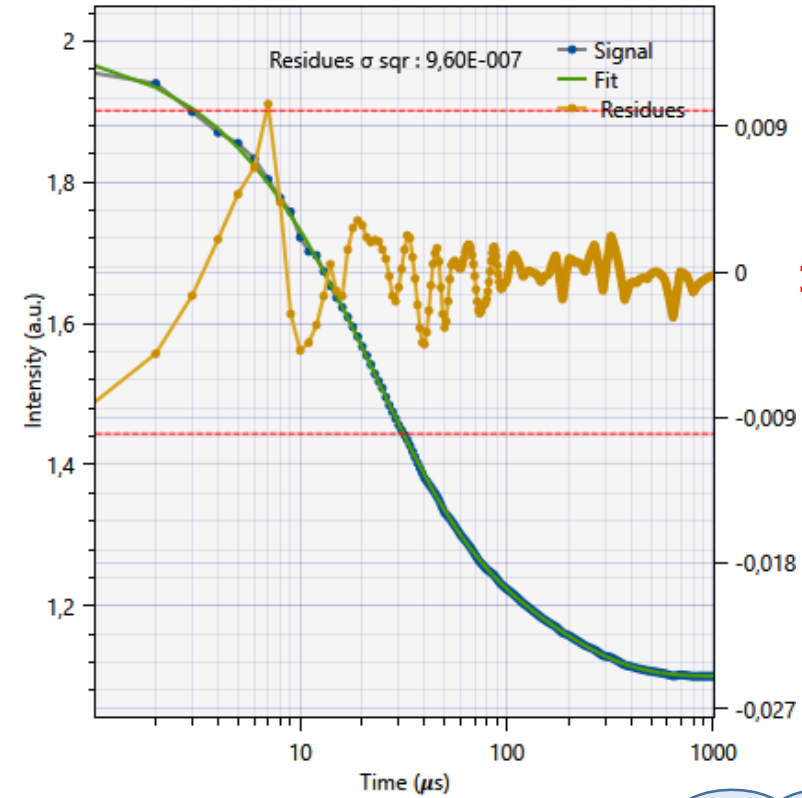
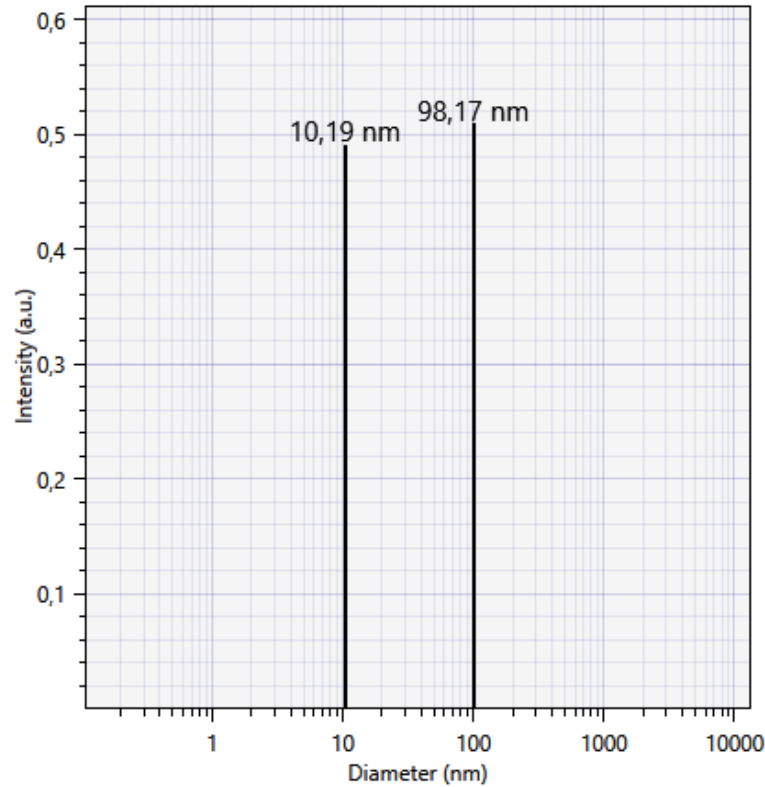
Cumulant	$G_2(\tau) = A + \beta e^{-2\Gamma\tau}$	Gaussian	B Frisken & al
----------	--	----------	----------------

# Model Pade Laplace:

Co když vzorek obsahuje víc než jednu populaci částic?



Law	Size (nm)	Std Dev (%)	Ratio Relative
LogNormal	100	1	1
LogNormal	10	1	1



Pade Laplace	$G_z(\tau) = A + \sum_{i=1}^{250} B_i e^{-2\Gamma_i \tau}$	<u>Discrete</u>	Yeremian & al.
--------------	--	-----------------	----------------

Výsledek odpovídá, nepopisuje však reálnou distribuci částic.

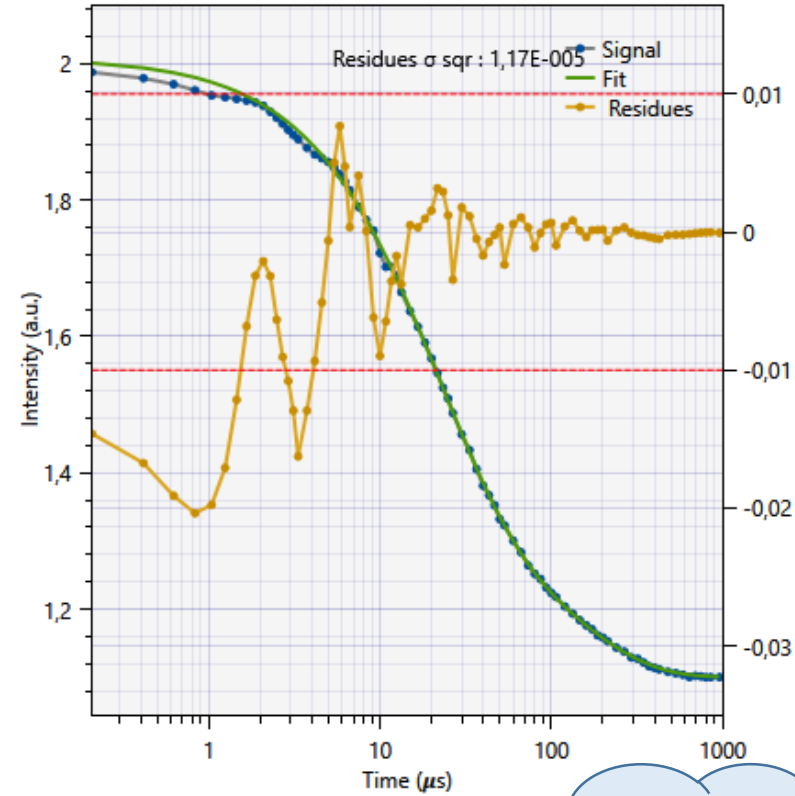
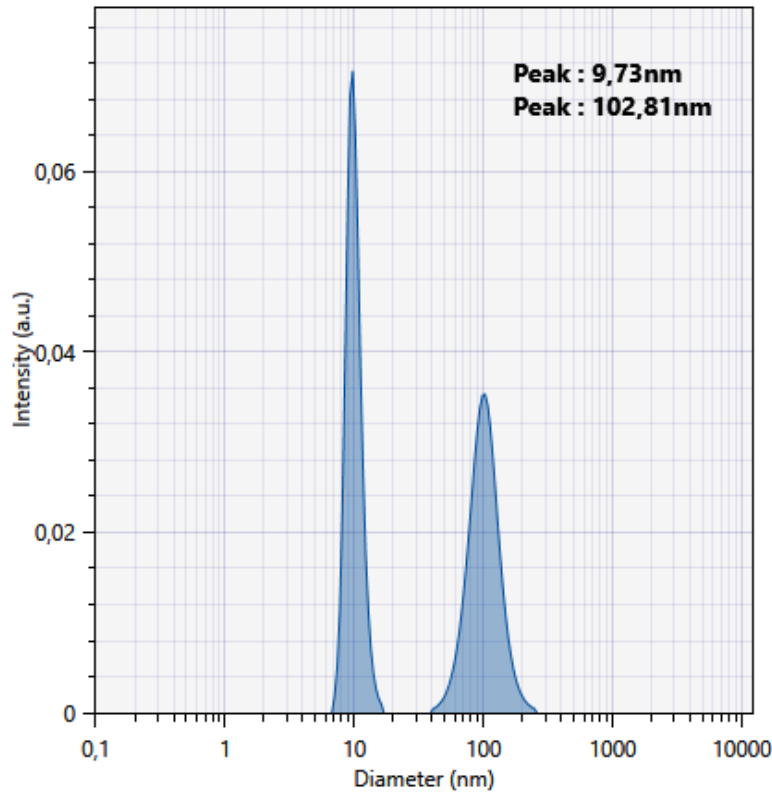


# Model SBL:

Co když vzorek obsahuje víc než jednu populaci částic?



Law	LogNormal	LogNormal
Size (nm)	100	10
Std Dev (%)	1	1
Ratio Relative	1	1



$\pm 1,0 \%$

Experimentální data (modré body) a proložení (zeleně) neodpovídají v první části grafu.

Sparse Bayesian Learning	$G_2(\tau) = A + \int_0^{10\mu m} B(\Gamma) e^{-2\Gamma\tau} d\Gamma$	Continuous	R Ansari & al
--------------------------	---	------------	---------------

Model SBL odhalil dvě populace částic, proložení však není ideální. Proto je sice stanovena správná velikost, ale ne distribuce.

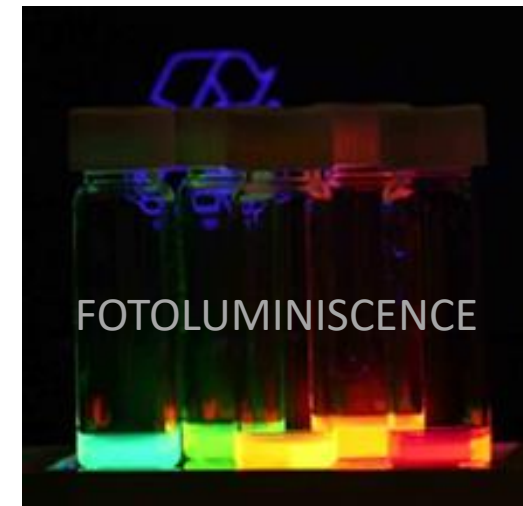
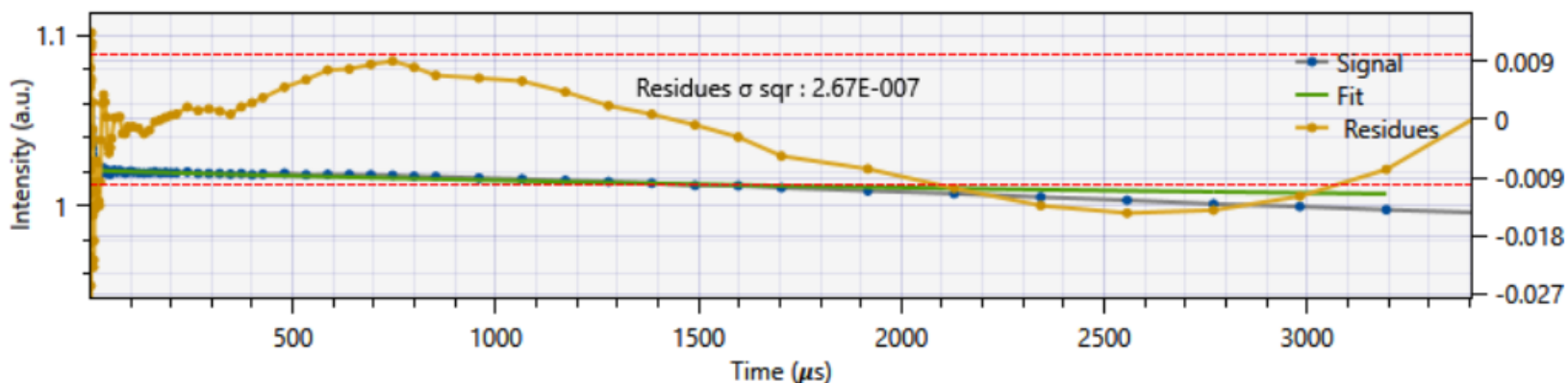
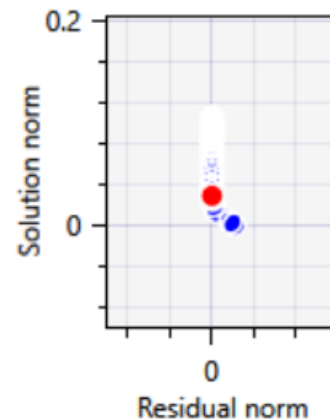
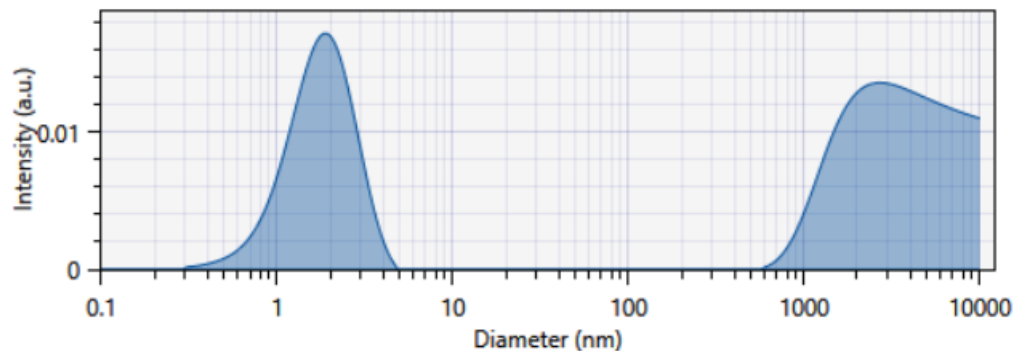
Tato data vyžadují další statistické zpracování, po kterém by byl získán správný výsledek.

# Reálná zpracovaná data, ukázka. Co už je výzva?

= Sparse Bayesian Learning

**SBL**

*Analysis (Intensity)*



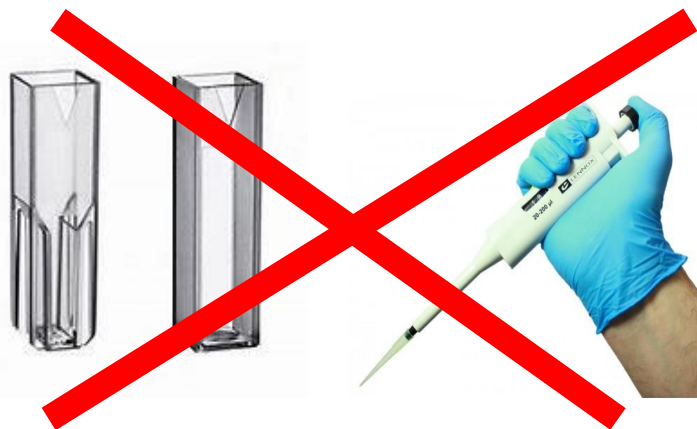
## Kvantové tečky

Malé polovodivé částice o rozměru několika nanometrů, které mají vlastnosti odlišné od větších částic vlivem kvantové mechaniky.

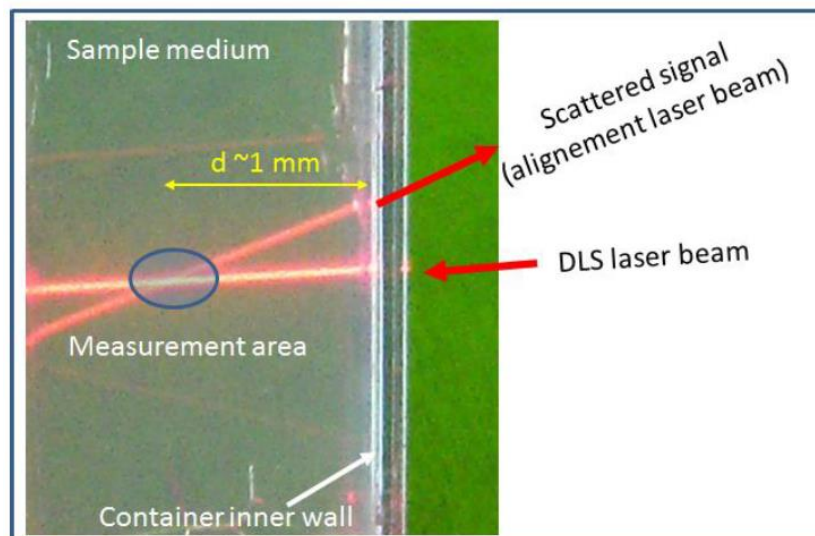
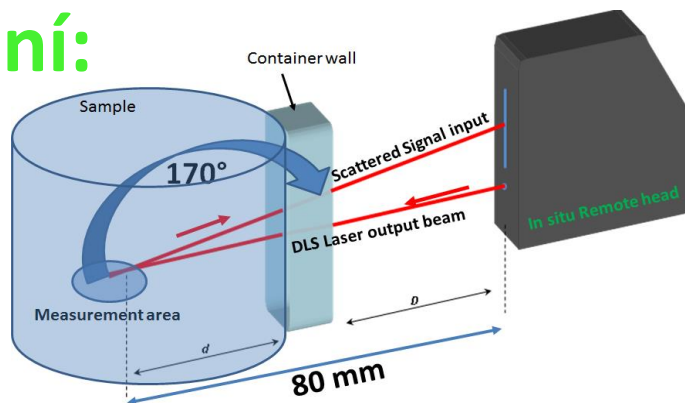
# DLS analyzátor nanočástic Vasco Kin



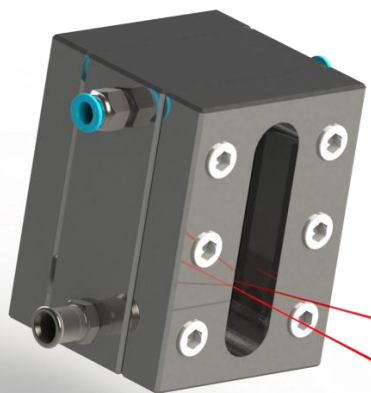
Umožňuje *in situ* měření:



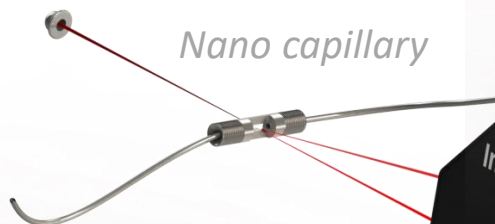
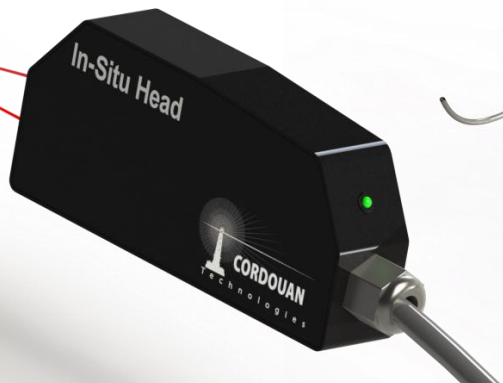
- Odpadá manipulace se vzorkem
- Snižuje riziko kontaminace
- Ochrana operátora
- Šetří čas!



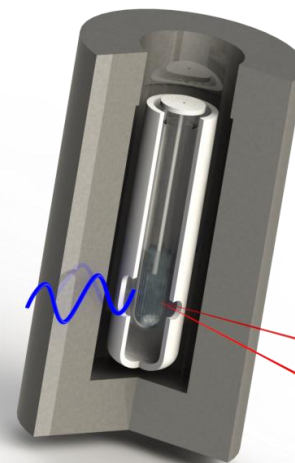
## Umožňuje měřit v mnoha prostředích!



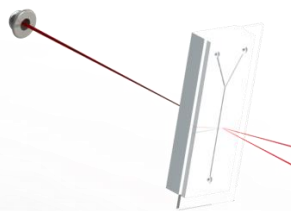
*Cela pro měření  
v superkritickém  
tlaku*



*Nano capillary*



*Mikrovlnné  
záření*



*Microfluidic  
channel*



*Lze sledovat vliv  
různých podmínek  
na chování částic  
in situ!*

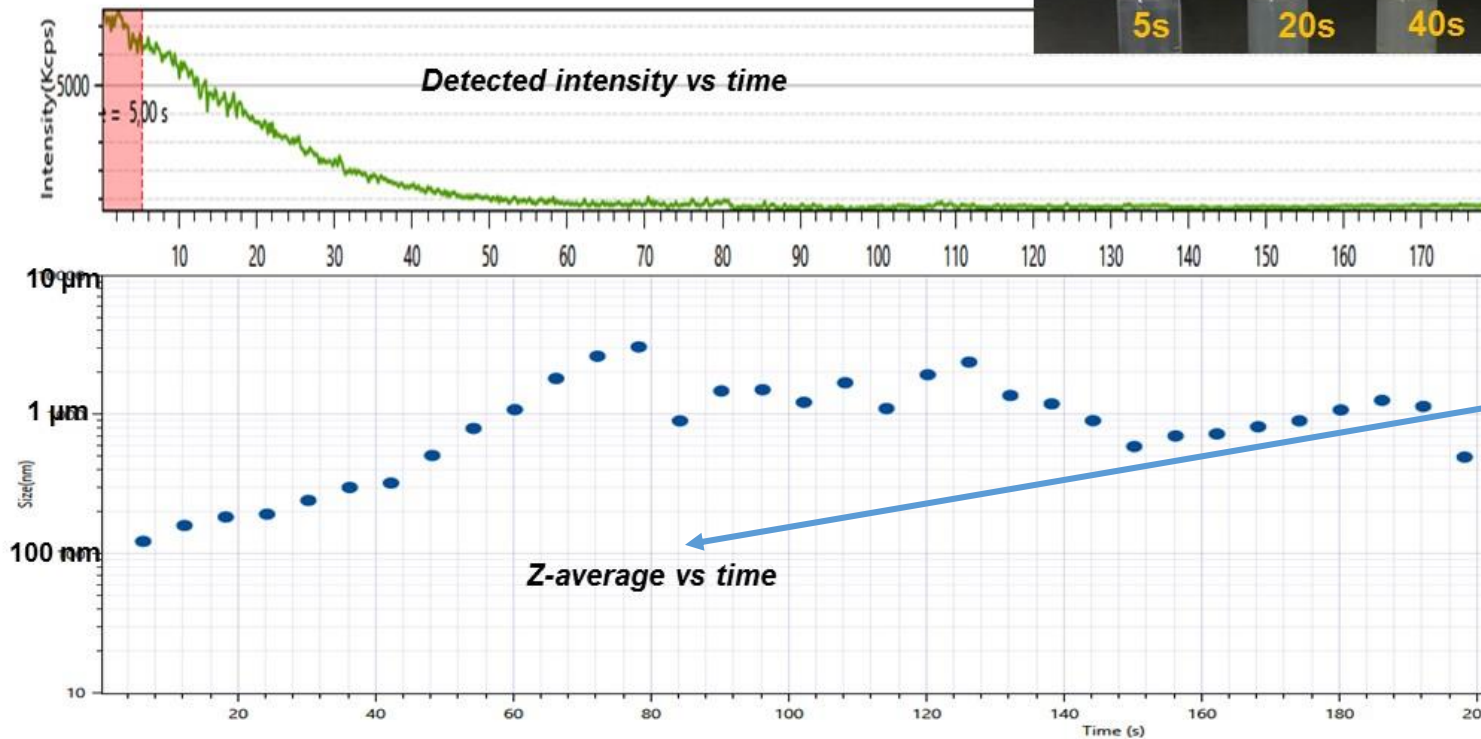
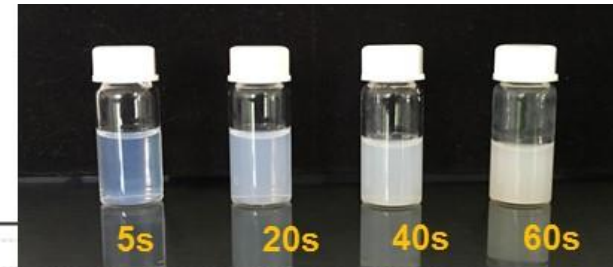


*Magnetické pole*



# Vasco Kin umožňuje kinetická měření v reálném čase.

- « Ludox-TM 50 » 5wt% pH=3 + 10wt%NaCl  
Přeměna koloidní suspenze na gel (sol-gel).



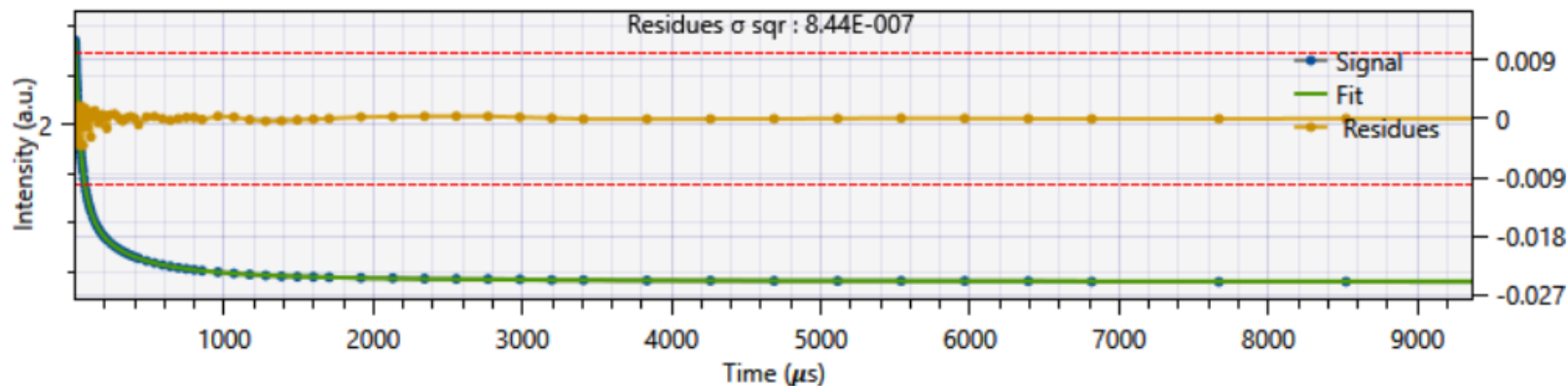
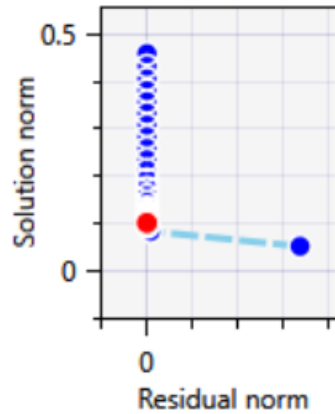
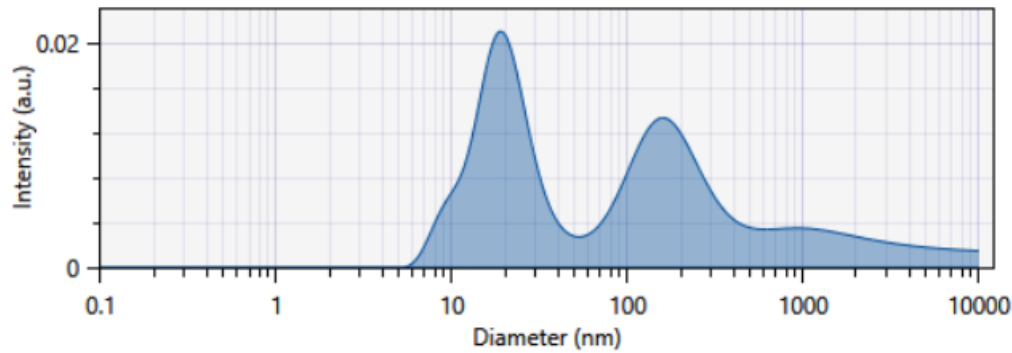
Zde je užitečné monitorovat narůstající průměrnou velikost částic v čase.

# Kinetika ferritinu, celková analýza

„Pravé nanočástice nesedimentují.“

**SBL**

*Analysis (Intensity)*



Ve vzorku je patrné velké množství populací nanočástic, mohou to být na příklad:

- Nečistoty
- Agregáty proteinu
- Soli
- Složky pufru
- Prachové částice
- Apod.

Cílem našeho zájmu je však protein, ideální by bylo vzorek přechistit například pomocí:

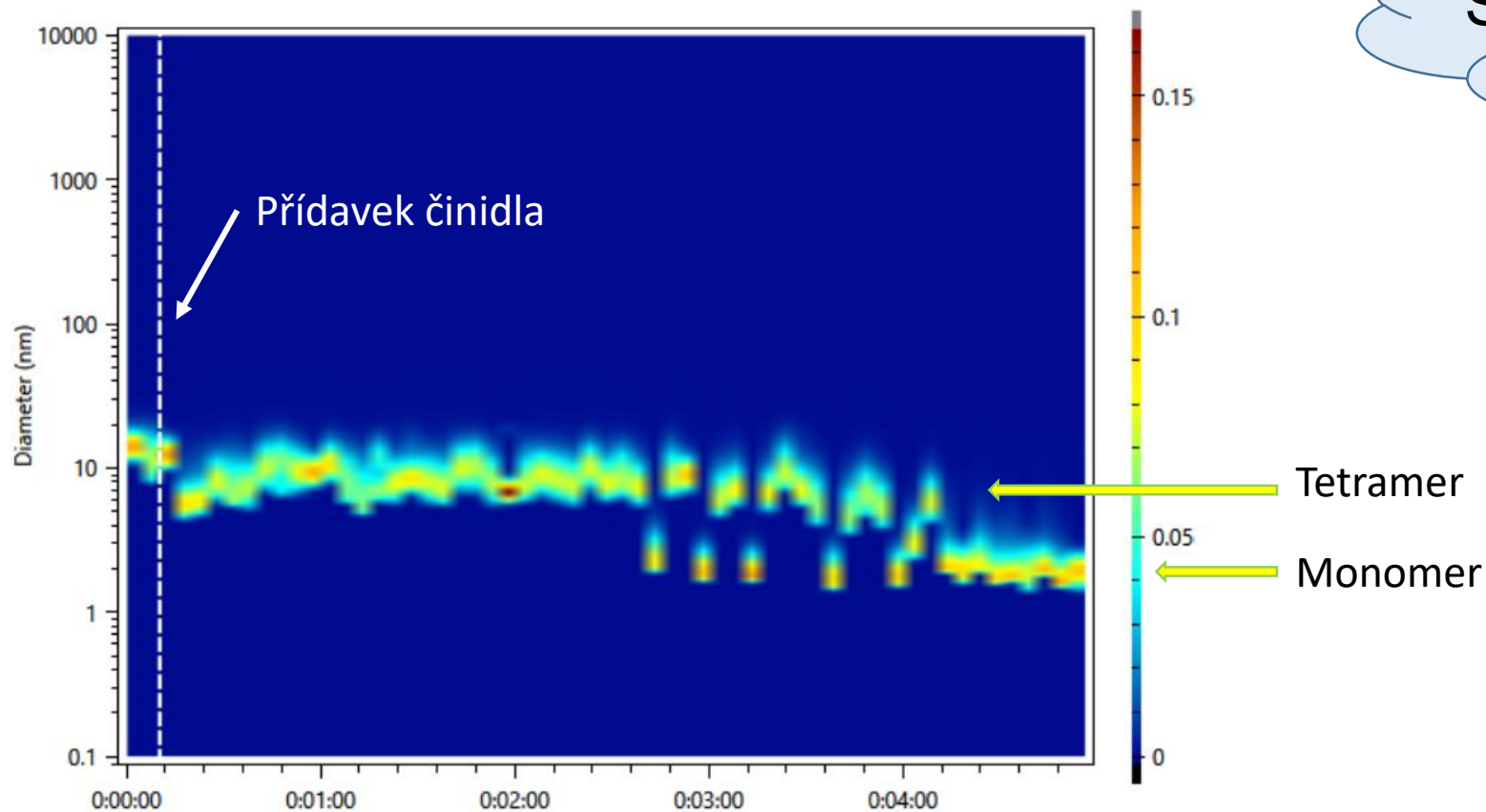
**FILTRACE**  
**CENTRIFUGACE**

Tím by však mohlo dojít k „poškození“ proteinu. Zbývá tedy SW analýza.

# Kinetika ferritinu, time-resolved analysis

**Kinetic**

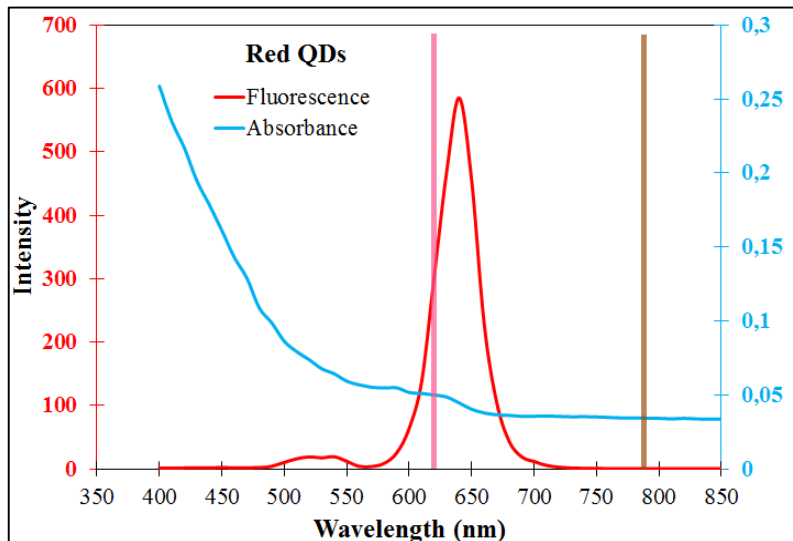
*SBL Surface (Number)*



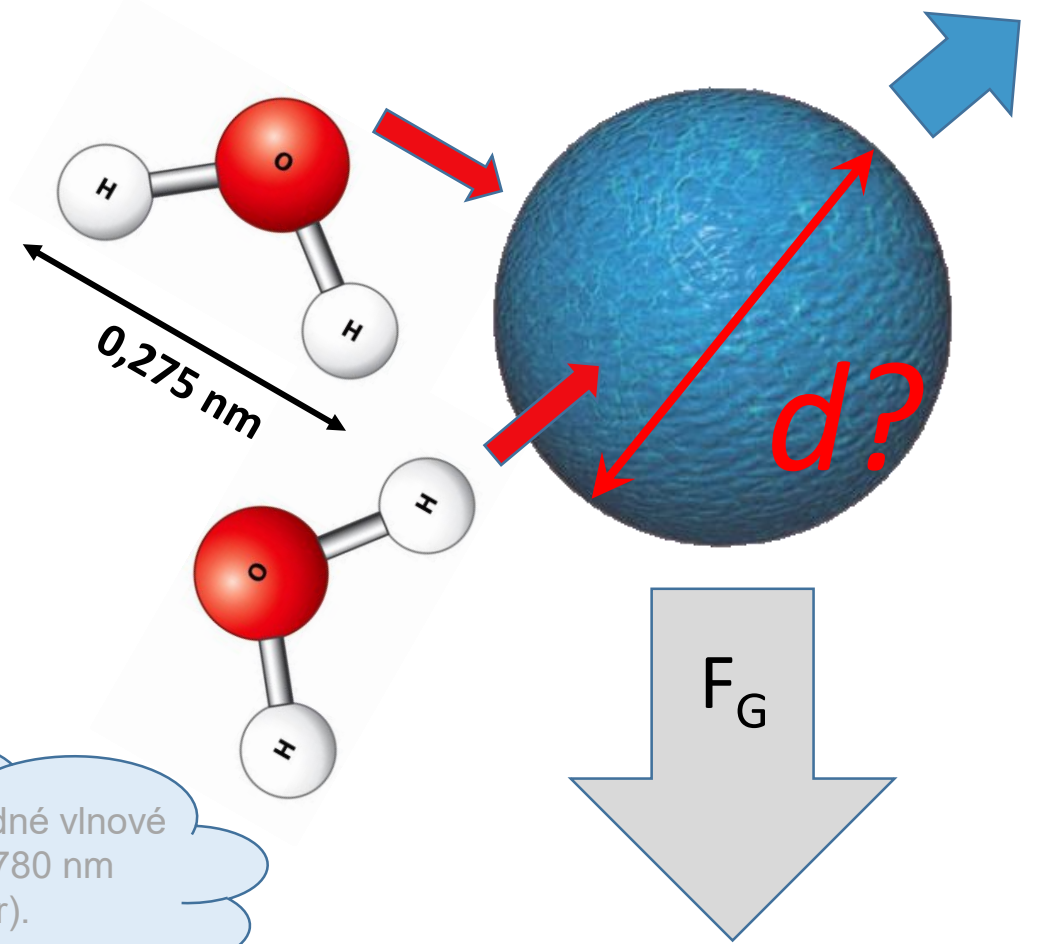
SW zpracovaná data

## Reálné limity DLS:

- Měří pouze v suspenzích.
- Rozsah velikosti – prakticky od 0,5 nm do ???
- Částice se musí pohybovat Brownovým pohybem nikoliv sedimentovat vlivem gravitace!
- Při měření je nutno zastavit míchání/průtok.
- Dochází k zahřívání vzorku laserem...
- Absorbce ( $\lambda_{\text{LASER}}$ ), luminiscence, fluorescence



Lze vyřešit výběrem vhodné vlnové délky laseru (635 vs. 780 nm pro červený laser).





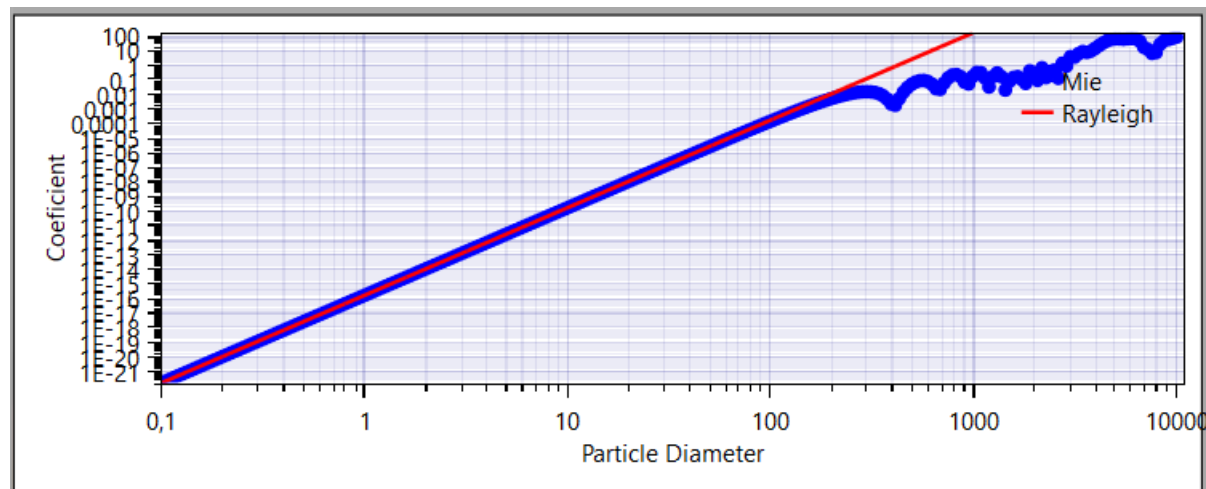
# Souvisí počet částic s intenzitou odraženého záření?

Scattering Model

Mie  Rayleigh

Filter Value:

Law	Size (nm)	Std Dev (%)	Ratio Relative
LogNormal	1000	4.5	1
LogNormal	100	4.5	1
LogNormal	10	4.5	1

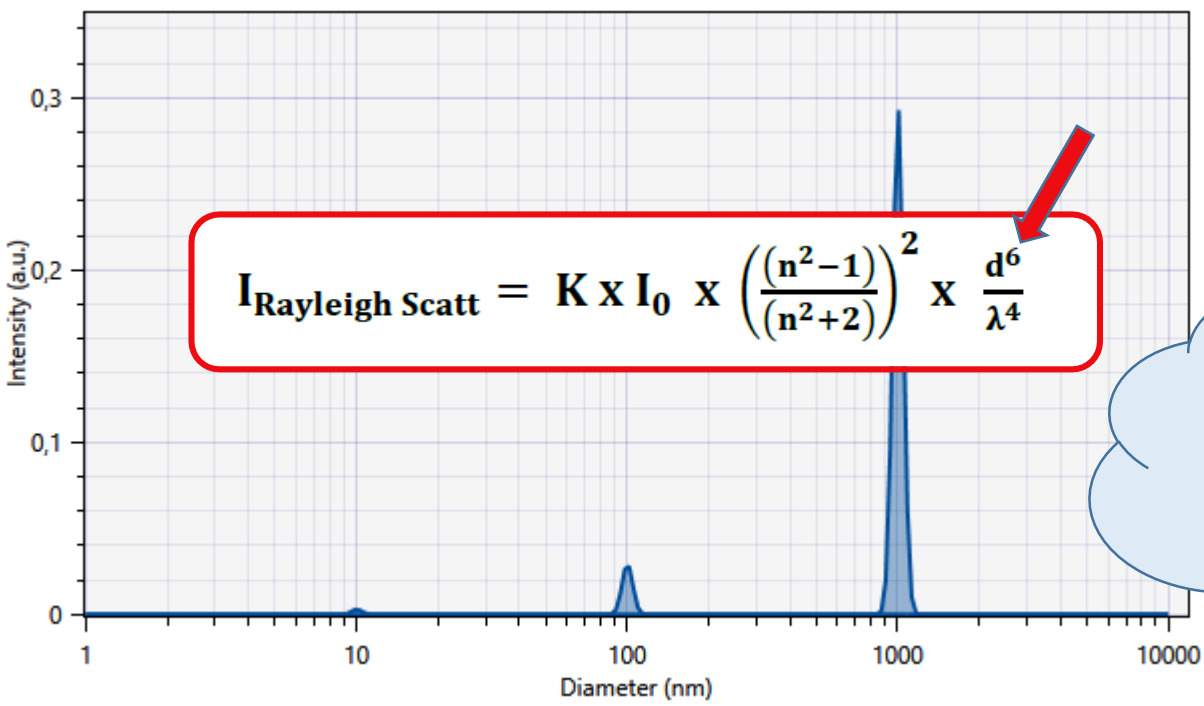


Solvent : Water | Viscosity(cP) : 0,8885 | Refractive Index : 1,33 | Temperature : 25°C

Particles Refractive index

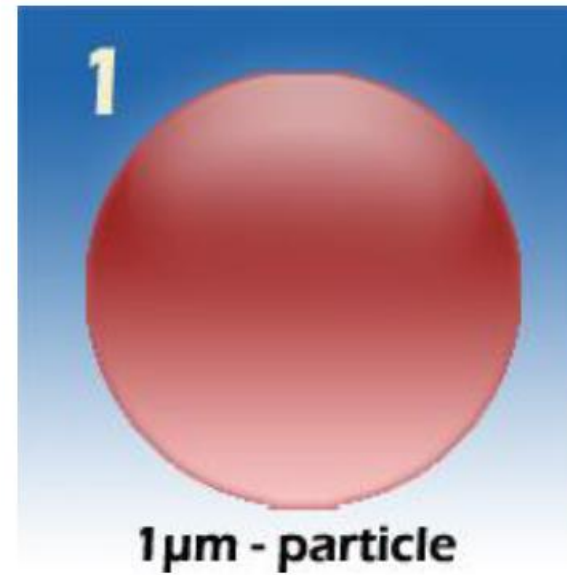
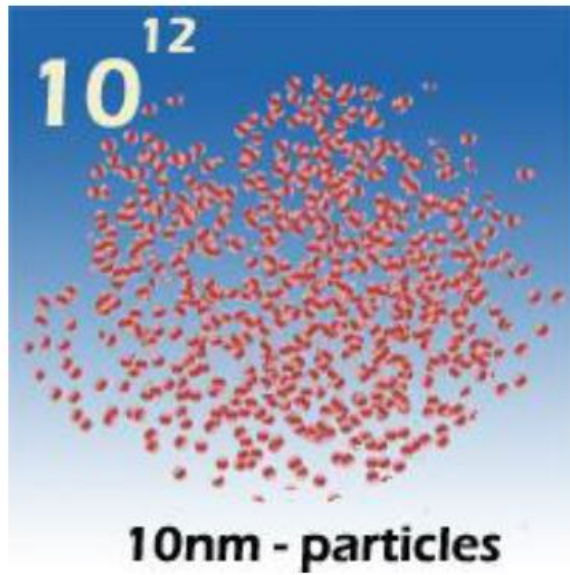
Imaginary part :

Real part :



$$I_{\text{Rayleigh Scatt}} = K \times I_0 \times \left( \frac{(n^2 - 1)^2}{(n^2 + 2)} \right) \times \frac{d^6}{\lambda^4}$$

Ano, ale je potřeba znát informaci o charakteru částic, aplikovat vhodnou teorii rozptylu světla a uvědomit si, že velké částice odráží úměrně svému průměru na šestou exponenciálně více.



*Schematic representation of particle contribution to scattering as a function of their size and number*

**[www.pragolab.cz](http://www.pragolab.cz)**



[linkedin.com/company/ragolab-s-r-o-](https://www.linkedin.com/company/ragolab-s-r-o-)