

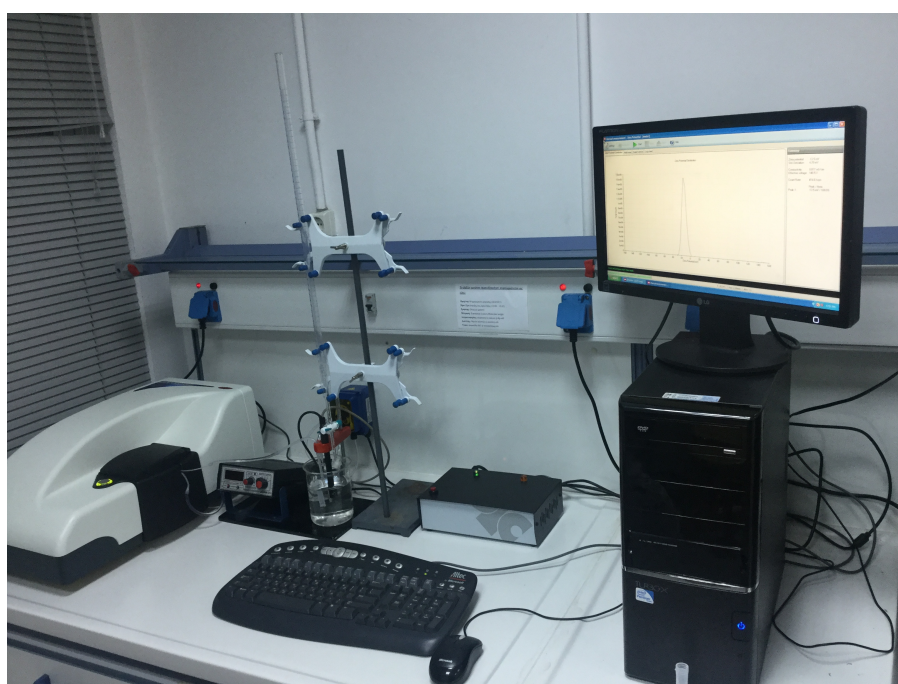
ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΜΠΕΙΡΙΑΣ ΧΡΗΣΤΗ ΣΤΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ζ -ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ ΤΙΤΛΟΔΟΤΗ



ΤΡΙΑΝΤΑΦΛΑΡΟΣ ΑΓΓΕΛΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΥΛΑΤΟΥ, ΑΝ. ΚΑΘ. ΕΜΠ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2016

Πρόλογος

Σκοπός της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας είναι η δημιουργία ενός εγχειριδίου το οποίο θα αποτελεί σημείο αναφοράς για κάθε νέο ή παλαιότερο χρήστη του οργάνου Zetasizer Nano ZS 173 που υπάρχει στο εργαστήριο της Γενικής Χημείας. Στόχος δεν είναι μόνο η επιτυχής προετοιμασία και λήψη μετρήσεων, αλλά η γνώση θεωρητικών και τεχνικών παραμέτρων που διέπουν το όργανο. Με αυτόν τον τρόπο βελτιστοποιείται η εμπειρία χρήστη και ο εκάστοτε χρήστης είναι πλέον σε θέση να εξάγει πολλά και διάφορα συμπεράσματα για τα υπό μέτρηση δείγματα. Περιγράφεται επίσης η εγκατάσταση και λειτουργία ενός χειροκίνητου πιλοδότη. Η εργασία αυτή εστιάζει σε μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων (size) και σε μετρήσεις δυναμικού Z (Zeta potential).

Είναι σημαντικό να γίνει αναφορά στους ανθρώπους που συνέβαλαν στην πραγματοποίηση της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Ευαγγελία Παυλάτου για την ανάθεση και την άψογη συνεννόηση σε ότι αφορά τα διαδικαστικά επίπεδα. Στη συνέχεια θα ήθελα να κάνω ξεχωριστή μνεία στον κύριο Κωνσταντίνο Δούκα, διπλωματούχο Χημικό Μηχανικό από το Πανεπιστήμιο Πάτρας και εξειδικευμένο τεχνικό. Χωρίς τη συμβολή του κυρίου Δούκα δεν θα ήταν δυνατή όχι μόνο η πραγματοποίηση της συγκεκριμένης εργασίας, αλλά και η σε βάθος κατανόησή μου όλων των πτυχών (θεωρητικών και πρακτικών) του οργάνου με το οποίο ασχολήθηκα στη συγκεκριμένη εργασία. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα διδακτορικό μου κύριο Δημήτριο Τσούκλερη για την καθοδήγηση αλλά και την υπομονή, τον υποψήφιο διδάκτορα και φίλο Κωνσταντίνο Ψαρρά για τη βοήθεια, καθώς και όλα τα παιδιά από το Εργαστήριο Γενικής Χημείας που με βοηθούσαν σε οτιδήποτε χρειαζόμουν.

Τριαντάφλαρος Άγγελος

Φεβρουάριος 2016

Περίληψη

Η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία εστιάζει στις μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων και δυναμικού Z και στο σχεδιασμό της βέλτιστης εμπειρίας χρήστη. Ξεκινάει με την περιγραφή βασικών θεωρητικών αρχών που διέπουν τη λειτουργία του οργάνου Zetasizer Nano ZS 173 της εταιρίας Malvern και ιδιαίτερα του δυναμικού Z. Γίνεται περιγραφή των εσωτερικών διατάξεων του οργάνου που χρησιμοποιούνται σε μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων και δυναμικού Z σε τεχνικό επίπεδο και επεξηγούνται θεωρητικά και πρακτικά μεγέθη ξεχωριστά για καθένα από τα δύο είδη μετρήσεων. Γίνεται επίσης αναφορά και στις μετρήσεις μεγέθους πρωτεϊνών και στον τρόπο που προκύπτουν από τις μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων. Στη συνέχεια περιγράφονται τα διαθέσιμα είδη κελιών και αποσαφηνίζονται τα κριτήρια συμβατότητας ενός δείγματος με τα πρότυπα του οργάνου. Στη συνέχεια περιγράφονται οι διαδικασίες της προετοιμασίας του δείγματος και της λήψης των μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων και δυναμικού Z. Παρατίθενται παραδείγματα με χαρακτήρα επεξηγηματικό και για τα δύο είδη μετρήσεων και επεξηγείται το μέγεθος του δείκτη συσσωμάτωσης. Στο τεχνικό μέρος της εργασίας παρατίθενται στοιχεία όπως η ρύθμιση της ακτίνας αναφοράς και η εγκατάσταση της διάταξης του τιτλοδότη μαζί με αναλυτική περιγραφή της. Έπειτα ακολουθούν παραδείγματα μετρήσεων με τη χρήση του τιτλοδότη, τα οποία έχουν και αυτά επεξηγηματικό χαρακτήρα. Τέλος, ακολουθούν γρήγοροι οδηγοί χρήσης του οργάνου αλλά και της νέας διάταξης σε ευανάγνωστη μορφή διαγραμμάτων.

Λέξεις κλειδιά : Δυναμικό Z, μέγεθος σωματιδίων, Zetasizer Nano ZS 173, αυτόματος τιτλοδότης, βαθμονόμηση, συντήρηση, τεχνικά στοιχεία, οδηγίες χρήσης, πρωτόκολλο μετρήσεων

Abstract

The main goal of this thesis is to optimize the user experience when measuring the particle size and the Zeta potential of various samples, using the Zetasizer Nano ZS 173 instrument from Malvern's Zetasizer Nano instrument range. The diploma thesis starts with the description of basic theoretical principles and especially the Zeta potential, that form the backbone of the instrument's functionality. Internal units of the instrument that are used in the two types of measurement are thoroughly explained as well as key sizes and indexes that apply to each measurement type. The derivation of protein size measurements from particle size measurements is also explained. The description of the cells that are available in the inventory of the lab and the compatibility criteria between a sample and the instrument follow. Next are the description of the sample preparation and the measurement procedure that apply to particle size and Zeta potential measurements. A variety of examples with illustrative purpose is presented for both types of measurements and then follows the description of the "aggregation index". The technical part of this thesis includes the description of the reference beam configuration procedure and the installation of the manual titrator plugin with in depth description of the set-up, followed again by examples with illustrative purpose. Finally there have been designed quick user guides in the form of fast and easily comprehensible diagrams, not only for the instrument, but for the titration set-up as well.

Keywords : Zeta potential, particle size, Zetasizer Nano ZS 173, automatic titrator, calibration, maintenance, user guide, measurement protocol

Περιεχόμενα

1. Βασικές έννοιες	7
1.1 Δυναμικό Z (zeta potential)	7
1.2 Σκέδαση Rayleigh.....	8
1.3 Θεωρία Mie	8
1.4 Ηλεκτροκινητικά φαινόμενα	9
1.5 Ηλεκτροφόρηση	9
1.6 Σημασία Δυναμικού Z.....	11
1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν το δυναμικό Z.....	12
2. Περιγραφή του οργάνου	13
3. Μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων (size)	16
3.1 Οργανολογία μέτρησης μεγέθους σωματιδίων (size)	16
3.2 Οπτικά συστήματα στο Zetasizer ZS.....	18
3.3 Αρχή εύρεσης μεγέθους σωματιδίων (size)	20
3.4 Συχνά προβλήματα σε μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων	24
3.5 Αλγόριθμοι για αναλύσεις κατανομής (Distribution Analysis)	27
3.6 Αναλύσεις κατανομών (Distribution analysis)	27
3.7 Ανάλυση των συγκεντρωμένων σωματιδίων (Cumulants analysis)	29
3.8 Μέτρηση μοριακού βάρους (molecular weight)	31
4. Μετρήσεις δυναμικού Z (Zeta Potential)	33
4.1 Οργανολογία μέτρησης δυναμικού Z	33
4.2 Αρχή υπολογισμού δυναμικού Z.....	35
4.3 Τεχνική PALS (Phase Analysis Light Scattering).....	36
4.4 Τεχνική M3.....	37
4.5 Ποιοτικός έλεγχος μέτρησης δυναμικού Z.....	39
5. Είδη διαθέσιμων κελιών	46
5.1 Universal 'dip' cell (ZEN1002)	46
5.2 Folded Capillary Cell (DTS1060).....	47
5.3 Συμβατότητα δείγματος με το Zetasizer	50
6. Προετοιμασία δείγματος	52
6.1 Παραλαβή δείγματος.....	52
6.2 Εύρεση απορροφητικότητας (ABSORPTION).....	53
6.3 Εύρεση δείκτη διάθλασης (RI).....	54
7. Λήψη μετρήσεων	55
7.1 Πρωτόκολλο μετρήσεων	55
7.2 Δημιουργία αρχείου SOP.....	55
7.3 Δημιουργία αρχείου μέτρησης (Measurement File).....	57
7.4 Διαδικασία λήψης μέτρησης	58
8. Δείγματα	59
8.1 Παραδείγματα αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z.....	59
<i>Δείγμα νούμερο 2</i>	65
<i>Δείγμα νούμερο 3</i>	69
<i>Δείγμα νούμερο 4</i>	73
<i>Δείγμα νούμερο 5</i>	77
<i>Δείγμα νούμερο 6</i>	81
<i>Δείγμα νούμερο 7</i>	85
<i>Δείγμα νούμερο 8</i>	89

<i>Συμπεράσματα</i>	93
8.2 Παραδείγματα μη αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z	94
<i>Δείγμα νούμερο 1</i>	96
<i>Δείγμα νούμερο 2</i>	100
<i>Δείγμα νούμερο 3</i>	104
<i>Δείγμα νούμερο 4</i>	108
<i>Δείγμα νούμερο 5</i>	112
<i>Συμπεράσματα</i>	116
8.3 Παραδείγματα μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων.....	117
<i>Δείγμα νούμερο 1</i>	119
<i>Δείγμα νούμερο 2</i>	124
<i>Δείγμα νούμερο 3</i>	129
<i>Δείγμα νούμερο 4</i>	134
<i>Συμπεράσματα</i>	139
8.4 Ποσοτικοποίηση συσσωμάτωσης – Δείκτης Συσσωμάτωσης.....	140
9. Τεχνικό μέρος.....	144
9.1 Ρύθμιση Ακτίνας Αναφοράς (Reference Beam)	144
9.2 Εξωτερική ρύθμιση της βαλβίδας του οργάνου.....	145
9.3 Περιγραφή της διάταξης του τιτλοδότη.....	147
9.3 Ο ειδικός ρόλος του τροφοδοτικού.....	148
9.4 Η λειτουργία της περισταλτικής αντλίας.....	151
9.5 Μορφοποίηση κελιού για τη χρήση με τον τιτλοδότη.....	152
9.6 Διεξαγωγή μετρήσεων	154
<i>Υλικά μετρήσεων</i>	155
<i>Αποτελέσματα μετρήσεων</i>	156
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 3</i>	158
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 4</i>	160
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 5</i>	162
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 6</i>	164
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 7</i>	166
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 8</i>	168
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 9</i>	170
<i>Δείγμα με τιμή pH ίση με 10</i>	172
9.7 Συμπεράσματα μετρήσεων.....	174
10. Οδηγοί γρήγορης χρήσης του οργάνου	175
10.1 Οδηγός γρήγορης λήψης μέτρησης	175
10.2 Οδηγός γρήγορης ερμηνείας αποτελεσμάτων δυναμικού Z.....	176
10.3 Οδηγός γρήγορης ερμηνείας αποτελεσμάτων μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων.....	177
10.4 Διάγραμμα γρήγορης χρήσης τιτλοδότη	178
11. Επίλογος.....	179
12. Βιβλιογραφία.....	180

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 : Πρόσοψη οργάνου	13
Πίνακας 2 : Οπίσθια όψη οργάνου	14
Πίνακας 3 : Περιοχή υποδοχής δείγματος	15
Πίνακας 4 : Αλγόριθμοι λογισμικού οργάνου	27
Πίνακας 5 : Είδη κατανομών, δεδομένα και χρησιμότητα	28
Πίνακας 6 : Τιμές δείκτη PdI	30
Πίνακας 7 : Ποιοτικός έλεγχος τεστ 1	40
Πίνακας 8 : Ποιοτικός έλεγχος τεστ 2	41
Πίνακας 9 : Ποιοτικός έλεγχος τεστ 3	44
Πίνακας 10 : Μεγέθη σωματιδίων και προτεινόμενες συγκεντρώσεις διαλυμάτων	51
Πίνακας 11 : Χαρακτηριστικά δειγμάτων αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z	60
Πίνακας 12 : Χαρακτηριστικά μη αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z	95
Πίνακας 13 : Χαρακτηριστικά δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν σε μετρήσεις size	118
Πίνακας 14 : Ερμηνεία πεδίων οθόνης αποτελεσμάτων	143
Πίνακας 15 : Δείγμα πρότυπης μέτρησης	155
Πίνακας 16 : Αποτελέσματα τιτλοδότησης	156

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ – ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1 : Επεξήγηση δυναμικού Z	7
Εικόνα 2 : Διάφορες τιμές διαμέτρου σωματιδίων	8
Εικόνα 3 : Διάγραμμα εύρεσης ισοηλεκτρικού σημείου	11
Εικόνα 4 : Πρόσοψη οργάνου	13
Εικόνα 5 : Οπίσθια όψη οργάνου	14
Εικόνα 6 : Περιοχή υποδοχής δείγματος	15
Εικόνα 7 : Διάταξη μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων	17
Εικόνα 8 : Οπτικά συστήματα ανίχνευσης στο Zetasizer	18
Εικόνα 9 : Κίνηση φακών σε αραιά διαλύματα / διαλύματα με σωματίδια μικρού μεγέθους	19
Εικόνα 10 : Κίνηση φακών σε πυκνά διαλύματα / διαλύματα με σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους	19
Εικόνα 11 : Εικόνα διακυμάνσεων από μικροσκόπιο	20
Εικόνα 12 : Ανίχνευση σκέδασης φωτός από το όργανο	20
Εικόνα 13 : Εξίσωση Stokes – Einstein	21
Εικόνα 14 : Διάγραμμα συσχέτισης	22
Εικόνα 15 : Κατανομή μεγέθους σύμφωνα με ένταση σήματος	22
Εικόνα 16 : Διάγραμμα συσχέτισης μικρών σωματιδίων	23
Εικόνα 17 : Διάγραμμα συσχέτισης μεγάλων σωματιδίων	23
Εικόνα 18 : Παρουσία προβλήματος στην baseline	25
Εικόνα 19 : Παρουσία προβλήματος στην baseline – Διακύμανση αριθμού	26
Εικόνα 20 : Κατανομές αριθμού, όγκου και έντασης	28
Εικόνα 21 : Διάγραμμα Debye για την εύρεση μοριακού βάρους	32
Εικόνα 22 : Διάταξη μετρήσεων δυναμικού Z	34
Εικόνα 23 : Ταλάντωση σωματιδίων υψηλής κινητικότητας	36

Εικόνα 24 : Ταλάντωση σωματιδίων χαμηλής κινητικότητας	36
Εικόνα 25 : Στάδιο SFR	37
Εικόνα 26 : Στάδιο FFR	38
Εικόνα 27 : Αποδεκτή μορφή διαγράμματος φάσης	42
Εικόνα 28 : Μη αποδεκτή μορφή διαγράμματος φάσης	42
Εικόνα 29 : Μονοτροπικό διάλυμα – Αποδεκτό διάγραμμα φάσης	43
Εικόνα 30 : Μονοτροπικό διάλυμα – Μη αποδεκτό διάγραμμα φάσης	43
Εικόνα 31 : Αποδεκτή μορφή διαγράμματος δυναμικού Z	45
Εικόνα 32 : Μη αποδεκτή μορφή διαγράμματος δυναμικού Z	45
Εικόνα 33 : Universal ‘dip’ cell	46
Εικόνα 34 : Folded capillary cell	47
Εικόνα 35 : Έγκλειση και εισαγωγή δείγματος σε folded capillary cell	48
Εικόνα 36 : Πρότυπος τρόπος μεταχείρισης folded capillary cell	49
Εικόνα 37 : Καθαρισμός folded capillary cell	49
Εικόνα 38 : Ανάδευση με χρήση vortex	52
Εικόνα 39 : Διάταξη UV-Vis εργαστηρίου	53
Εικόνα 40 : Ορθός τρόπος τοποθέτησης κελιού	58
Εικόνα 41 : Δείγματα αποδεκτών μετρήσεων	59
Εικόνα 42 : Δείγματα μη αποδεκτών μετρήσεων	94
Εικόνα 43 : Έλεγχος της ροής από και προς το κελί με τη χρήση της βαλβίδας του οργάνου	145
Εικόνα 44 : Όψη της βαλβίδας του οργάνου	146
Εικόνα 45 : Όψη της βαλβίδας του οργάνου	147
Εικόνα 46 : Κύκλωμα τροφοδοτικού	148
Εικόνα 47 : Λειτουργία πράσινης λυχνίας	149
Εικόνα 48 : Σύνδεση τροφοδοτικού – βαλβίδας	150
Εικόνα 49 : Περισταλτική αντλία	151
Εικόνα 50 : Μορφοποιημένο κελί διάταξης	152
Εικόνα 51 : Ροή δείγματος διαμέσω της βαλβίδας	153

ΕΙΚΟΝΕΣ ΑΠΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΧΡΗΣΤΗ

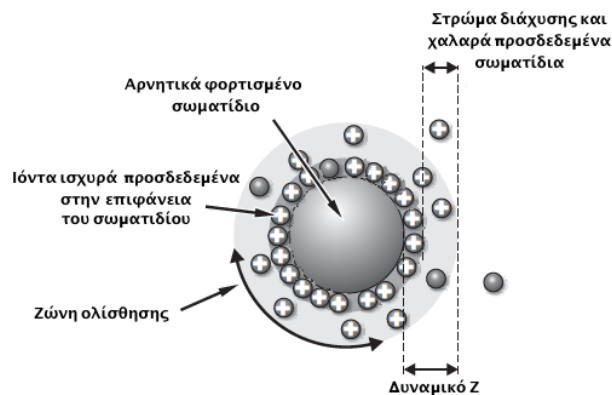
UI 1 : Οθόνη αποτελεσμάτων	39
UI 2 : Ενεργοποίηση λειτουργίας διπλής ακτίνας	141
UI 3 : Ενεργοποίηση λειτουργίας διπλής ακτίνας	142
UI 4 : Πίνακας τελικών αποτελεσμάτων	143

1. Βασικές έννοιες

1.1 Δυναμικό Z (zeta potential)

Τα περισσότερα υγρά διαλύματα περιέχουν ιόντα, τα οποία μπορεί να είναι είτε θετικά φορτισμένα άτομα (κατιόντα) είτε σε αρνητικά φορτισμένα άτομα (ανιόντα). Όταν ένα φορτισμένο σωματίδιο αιωρείται σε ένα διάλυμα, ιόντα αντίθετου φορτίου θα προσελκυσθούν στην επιφάνεια του σωματιδίου αυτού. Για παράδειγμα, ένα αρνητικά φορτισμένο δείγμα έλκει κατιόντα από το υγρό και αντίστροφα, ένα θετικά φορτισμένο δείγμα έλκει ανιόντα από το διάλυμα.

Τα ιόντα που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια του σωματιδίου θα προσδεθούν ισχυρά σε αυτό ενώ ιόντα που είναι πιο μακριά θα έχουν μία πιο χαλαρή πρόσδεση στο σωματίδιο σχηματίζοντας το λεγόμενο στρώμα διάχυσης. Εντός του στρώματος διάχυσης υπάρχει μία οριακή περιοχή εντός της οποίας οποιοδήποτε ιόν θα κινείται μαζί με το σωματίδιο όταν αυτό κινείται μέσα στο υγρό διάλυμα. Οποιοδήποτε ιόν όμως εκτός της περιοχής αυτής θα παραμένει στην αρχική του θέση και η περιοχή αυτή ονομάζεται περιοχή ολίσθησης. Ανιχνεύεται ένα δυναμικό μεταξύ της επιφάνειας του σωματιδίου και του υγρού διαλύτη, το οποίο διαφέρει ανάλογα με την απόσταση από την επιφάνεια του σωματιδίου. Το δυναμικό αυτό στη ζώνη ολίσθησης ονομάζεται *δυναμικό Z*.^[1]



Εικόνα 1 : Επεξήγηση δυναμικού Z

Το δυναμικό Z υπολογίζεται χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό των τεχνικών της ηλεκτροφόρησης και της ροομετρίας Laser Doppler, ο οποίος συνδυασμός ονομάζεται ηλεκτροφόρηση Laser Doppler. Η μέθοδος αυτή υπολογίζει την ταχύτητα ενός σωματιδίου μέσα σε ένα υγρό όταν εφαρμοσθεί στο σύστημα ηλεκτρικό πεδίο. Εάν είναι γνωστά η ταχύτητα που αποκτά το σωματίδιο και τα χαρακτηριστικά του ηλεκτρικού πεδίου σε συνδυασμό με δύο άλλες σταθερές του δείγματος (ιξώδες και διηλεκτρική σταθερά) υπολογίζεται το δυναμικό Z. να ηλεκτροκινητικά φαινόμενα.^[1]

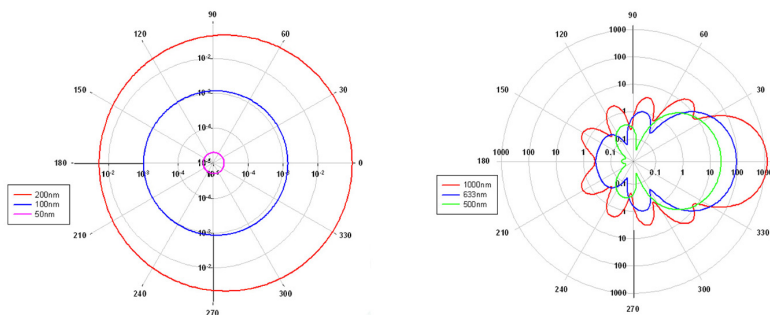
1.2 Σκέδαση Rayleigh

Η λειτουργία του οργάνου βασίζεται στην θεωρία σκέδασης του Rayleigh. Η θεωρία αυτή εφαρμόζεται σε συστήματα όπου το μέγεθος των σωματιδίων είναι μικρότερο από το 1/10 της τάξης μεγέθους του μήκους κύματος του laser (λ). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, ππ μήκος κύματος laser He - Ne του οργάνου είναι 633 nm, το οποίο ισοδυναμεί με μέγεθος σωματιδίων κατά προσέγγιση μικρότερο των 60 nm. Έτσι λοιπόν η σκέδαση που προκύπτει είναι ίση προς όλες τις διευθύνσεις, δηλαδή *ισοτροπική*. Η ένταση του διασκεδασμένου φωτός επίσης, είναι ανάλογη της διαμέτρου του σωματιδίου υψωμένη στην έκτη. Για την πλήρη περιγραφή του φαινομένου όμως, είναι αναγκαία και η επεξήγηση μιας επίσης βασικής για τη λειτουργία του οργάνου θεωρίας, της θεωρίας Mie. [12]

1.3 Θεωρία Mie

Η θεωρία Mie είναι επίσης θεμελιώδης για τη λειτουργία του οργάνου. Η θεωρία αυτή ερμηνεύει τον τρόπο με τον οποίο σφαιρικά σωματίδια τα οποία ανήκουν σε ένα ευρύ φάσμα μεγεθών και οπτικών ιδιοτήτων σκεδάζουν φως. Όταν τα σωματίδια αυτά υπερβαίνουν σε μέγεθος τον αριθμό $\lambda/10$, όπως αυτός εξηγήθηκε παραπάνω, η σκέδαση παύει να είναι *ισοτροπική*, αλλά παρουσιάζεται διαταραχή κατά την εμπρόσθια διεύθυνση της σκέδασης. Όταν το μέγεθος των σωματιδίων εξισώνεται ή ξεπερνά την τάξη μεγέθους του μήκους κύματος laser του οργάνου, τότε η σκέδαση περιγράφεται από μία σύνθετη συνάρτηση η οποία παρουσιάζει μέγιστα και ελάχιστα ανάλογα με την γωνία της σκέδασης.

Η θεωρία Mie εξηγεί με τον πληρέστερο τρόπο τα μέγιστα και τα ελάχιστα στο διάγραμμα της έντασης σε σχέση με τη γωνία της σκέδασης. Ο αλγόριθμος του οργάνου στηρίζεται στη θεωρία Mie για να μετατρέψει τις κατανομές έντασης για μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων (size) σε κατανομές όγκου και αριθμού για ένα πολύ μεγάλο εύρος μεγεθών σωματιδίων τα οποία μπορούν να προκύψουν. Η ιδιότητα αυτή αποτυπώνεται στα παρακάτω διαγράμματα για τις διάφορες διαμέτρους των σφαιρικών σωματιδίων. [12]



Εικόνα 2 : Διάφορες τιμές διαμέτρου σωματιδίων

1.4 Ηλεκτροκινητικά φαινόμενα

Μια σημαντική συνέπεια από την ύπαρξη ηλεκτρικών φορτίων στην επιφάνεια των σωματιδίων είναι το ότι έχουν μια συγκεκριμένη συμπεριφορά κάτω από την επίδραση ενός ηλεκτρικού πεδίου που εφαρμόζεται. Η συμπεριφορά αυτή ορίζεται ως *ηλεκτροκινητικά φαινόμενα*. Διακρίνονται τέσσερα φαινόμενα, ανάλογα με τον τρόπο τον οποίο προκαλείται η κίνηση. Αυτά είναι :

- Ηλεκτροφόρηση : Η κίνηση ενός φορτισμένου σωματιδίου σε σύγκριση με τον όγκο ελέγχου του διαλύματος, κάτω από την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου.
- Ηλεκτροόσμωση : Η κίνηση ενός υγρού σε σύγκριση με ένα στάσιμο υγρό παρόμοιων χαρακτηριστικών, κάτω από την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου.
- Δυναμικό ροής : Το ηλεκτρικό πεδίο που δημιουργείται όταν ένα υγρό υπόκειται σε εξαναγκασμένη ροή διαμέσω μιας ακίνητης φορτισμένης επιφάνειας.
- Δυναμικό καθίζησης : Το ηλεκτρικό πεδίο που δημιουργείται όταν φορτισμένα σωματίδια κινούνται σε σύγκριση με ένα ακίνητο υγρό παρόμοιων χαρακτηριστικών.^[8]

1.5 Ηλεκτροφόρηση

Όταν ένα ηλεκτρικό πεδίο εφαρμόζεται στην έκταση ενός ηλεκτρολύτη, τα φορτισμένα σωματίδια που αιωρούνται μέσα στον ηλεκτρολύτη έλκονται προς το ηλεκτρόδιο με το αντίθετο φορτίο. Στην κίνηση αυτή όμως αντιτίθενται η οπισθέλκουσα που προκαλείται λόγω του ιξώδους. Όταν αποκατασταθεί η δυναμική ισορροπία μεταξύ των αντίρροπων αυτών δυνάμεων, τα σωματίδια κινούνται με σταθερή ταχύτητα. Η ταχύτητα αυτή εξαρτάται από τους εξής παράγοντες :

- Την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου.
- Την διηλεκτρική σταθερά του μέσου.
- Το ιξώδες του μέσου.
- Το δυναμικό Z

Η ταχύτητα του σωματιδίου μέσα σε ένα ηλεκτρικό πεδίο αναφέρεται συχνά ως κινητικότητα ηλεκτροφόρησης. Με την εφαρμογή της εξίσωσης του Henry υπολογίζεται το δυναμικό Z :

$$U_E = \frac{2\varepsilon z f(ka)}{3\eta}$$

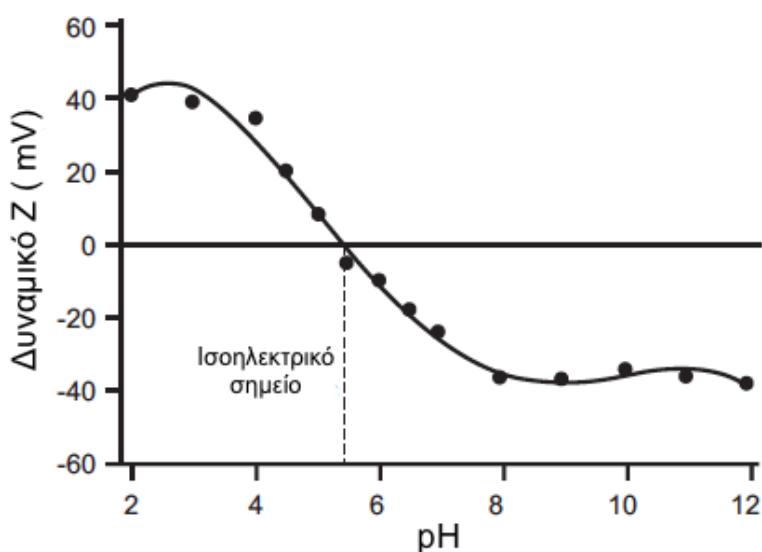
όπου

- z : δυναμικό Z
- U_E : ηλεκτροφορητική κινητικότητα
- ε : διηλεκτρική σταθερά
- η : ιξώδες
- f(ka) : συνάρτηση Henry

Η συνάρτηση Henry λαμβάνει δύο τιμές είτε 1,5 είτε 1. Συνήθως παίρνει την τιμή 1,5 λόγω της προσέγγισης Smoluchowski που εφαρμόζεται σε υδατικό μέσο με μέτρια συγκέντρωση ηλεκτρολύτη. Για μη υδατικά διαλύματα εφαρμόζεται η προσέγγιση Huckel και η συνάρτηση Henry στην περίπτωση αυτή ισούται με 1. Επίσης να σημειωθεί ότι λόγω της παραπάνω εξίσωσης σημασία έχει η **απόλυτη τιμή** του δυναμικού Z, καθώς το πρόσημο αποτελεί ένδειξη της κατεύθυνσης της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας. ^[8]

1.6 Σημασία Δυναμικού Z

Το δυναμικό Z ενός δείγματος αποτελεί ένδειξη εάν το δείγμα υφίσταται κροκίδωση. Κροκίδωση είναι το φαινόμενο κατά το οποίο ένα κολλοειδές διάλυμα αποσταθεροποιείται και συνεπώς, καταστρέφεται. Αυτό πιστοποιείται μέσω του ισοηλεκτρικού σημείου. Για την εύρεση του ισοηλεκτρικού σημείου είναι απαραίτητο μαζί με κάθε τιμή που λαμβάνει το δυναμικό Z, να είναι γνωστό και το αντίστοιχο pH. Έτσι, καταστρώνεται η γραφική παράσταση του δυναμικού Z συναρτήσει με το pH και το σημείο όπου η γραφική παράσταση τέμνει την ευθεία $y=0$, δηλαδή εκεί όπου το δυναμικό Z μηδενίζεται, καλείται ισοηλεκτρικό σημείο. Ένα αντίστοιχο παράδειγμα φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα :



Εικόνα 3 : Διάγραμμα εύρεσης ισοηλεκτρικού σημείου

Για το λόγο αυτό, η εύρεση του δυναμικού Z βρίσκει έχει πολλές βιομηχανικές εφαρμογές και μερικές από αυτές είναι :

- Στην παραγωγή κεραμικών : Υψηλή τιμή δυναμικού Z εξασφαλίζει ότι το προϊόν έχει την κατάλληλη συμπύκνωση αλλά και τις απαιτούμενες μηχανικές αντοχές.
- Σε υδατικά απορρύματα : Η κροκίδωση στο νερό διαφοροποιείται από τις αλλαγές στο pH, την προσθήκη χημικών κροκιδωτικών (π.χ. φορτισμένα πολυμερή ή άλατα όπως χλωρίδιο του αργιλίου). Η μέτρηση του δυναμικού Z σε συνδυασμό με τους παράγοντες αυτούς είναι θεμελιώδης στην εξέλιξη και διατήρηση των εφαρμοσμένων προτοκόλων για τον καθαρισμό νερού.
- Σε γαλακτώματα : Το δυναμικό Z χρησιμοποιείται για να διαπιστωθεί εάν ένα συγκεκριμένο γαλάκτωμα μπορεί υπό δεδομένες επιθυμητές συνθήκες να διατηρεί τη σταθερότητά του.^[15]

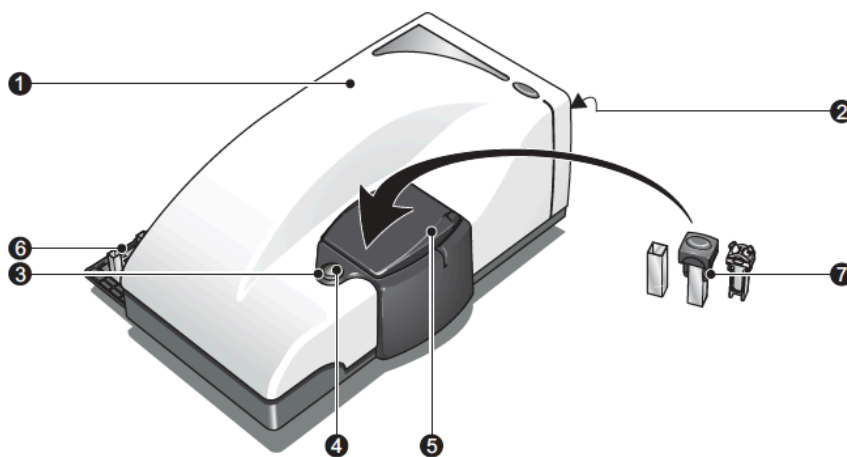
1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν το δυναμικό Z

Η τιμή του δυναμικού Z μπορεί να διαφοροποιηθεί μέσω της επίδρασης διαφόρων παραγόντων, οι οποίοι είναι κατά κύριο λόγο παράμετροι που σχετίζονται με την φύση και τις ιδιότητες του εξεταζόμενου δείγματος. Πιο συγκεκριμένα αυτές οι παράμετροι είναι :

1. **Το pH :** Σε υδατικά διαλύματα, η τιμή του pH είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την τιμή του δυναμικού Z. Η τιμή δυναμικού Z από μόνη της, χωρίς να υπάρχει γνώση για τις συνθήκες που βρίσκεται το διάλυμα αλλά και τα χαρακτηριστικά του, είναι στην πραγματικότητα ένας αριθμός χωρίς καμιά πρακτική σημασία. Ας φανταστούμε ένα σωματίδιο που αιωρείται μέσα σε ένα διάλυμα και αποκτά αρνητική τιμή δυναμικού Z. Εάν προστεθεί στο διάλυμα βασική ουσία, τότε τα σωματίδια τείνουν να αυξήσουν το αρνητικό τους φορτίο. Εάν αντίθετα προστεθεί οξύ τότε θα φτάσει ένα σημείο όπου το φορτίο στο διάλυμα θα γίνει ουδέτερο, ενώ επιπρόσθετο οξύ ακόμα θα συντελέσει σε θετική φόρτιση. Συνεπώς η καμπύλη δυναμικού Z και pH θα είναι θετική στις χαμηλότερες τιμές pH και αρνητική στις υψηλότερες. Όπως αναλύθηκε και παραπάνω, από αυτό το διάγραμμα προκύπτει το ισοηλεκτρικό σημείο, όπου αποτελεί το σημείο στο οποίο το κolloειδές διάλυμα έχει τη μικρότερη τιμή σταθερότητάς του.
2. **Η αγωγιμότητα του διαλύματος :** Το πάχος του διπλού στρώματος όπως φαίνεται στο αρχικό μοντέλο του φορτισμένου σωματιδίου που περιγράφηκε προηγουμένως, εξαρτάται από τη συγκέντρωση των ιόντων στο διάλυμα και μπορεί να υπολογισθεί από την ιοντική ισχύ του μέσου. Όσο μεγαλύτερη είναι η ιοντική ισχύς, τόσο πιο συμπιεσμένο γίνεται το διπλό στρώμα. Το σθένος των ιόντων θα επηρεάσει επίσης το πάχος του διπλού στρώματος. Ένα τρισθενές ιόν όπως το Al^{3+} θα συμπιέσει το διπλό στρώμα σε μεγαλύτερο βαθμό σε σύγκριση με ένα μονοσθενές ιόν (π.χ. Na^+). Τα ανόργανα ιόντα μπορούν να αλληλεπιδρούν με φορτισμένες επιφάνειες σύμφωνα με δύο χαρακτηριστικούς τρόπους : μη συγκεκριμένη ιοντική προσρόφηση (δεν έχει αντίκτυπο στο ισοηλεκτρικό σημείο) και συγκεκριμένη ιοντική προσρόφηση όπου αλλάζει την τιμή του ισοηλεκτρικού σημείου. Ο δεύτερος τύπος ιοντικής προσρόφησης πάνω στην επιφάνεια του σωματιδίου μπορεί να επηρεάσει μάλιστα σε τόσο μεγάλο βαθμό, έτσι ώστε να οδηγήσει στην αλλαγή προσανατολισμού της επιφάνειας.
3. **Η συγκέντρωση ενός θεμελιώδους συστατικού του δείγματος :** Το αντίκτυπο της συγκέντρωσης αυτής στο δυναμικό Z μπορεί να προσδώσει πληροφορίες έτσι ώστε να βελτιστοποιηθεί κατασκευαστικά ένα προϊόν για να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή σταθερότητα. Πολλές φορές, χρησιμοποιούνται συστατικά – προσμίξεις, έτσι ώστε το τελικό προϊόν να παρουσιάζει βελτιωμένη συμπεριφορά, όπως για παράδειγμα αντίσταση στο φαινόμενο της κροκίδωσης.^[12]

2. Περιγραφή του οργάνου

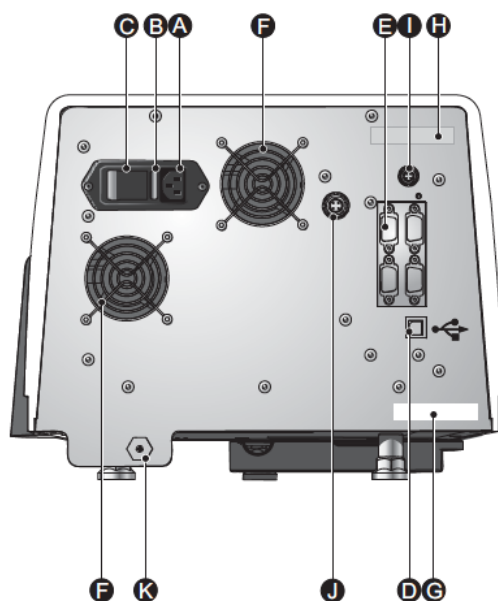
Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε στην λήψη των μετρήσεων είναι το Zetasizer Nano ZS 173. Πρόκειται για ένα όργανο το οποίο χρησιμοποιείται στην μέτρηση μεγέθους σωματιδίων, δυναμικού Z αλλά και μοριακού βάρους με γωνία διασποράς φωτός 173 μοιρών μέσω της μεθόδου δυναμικής διασποράς φωτός (Dynamic Light Scattering – DLS). Το όργανο αυτό συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή στον οποίο είναι εγκατεστημένο το αντίστοιχο λογισμικό του Zetasizer. Το όργανο λειτουργεί σε θερμοκρασίες από 0 έως 90 °C και εντός του εσωτερικού του υπάρχουν ειδικά τμήματα που ρυθμίζουν θερμοκρασία για μετρήσεις δυναμικού Z και μεγέθους σωματιδίων. Ειδικότερα τα μέρη του οργάνου αναφέρονται στις φωτογραφίες που ακολουθούν. Απεικονίζεται η πρόσοψη, η πίσω όψη και η περιοχή εισαγωγής του κελιού. ^[12]



Εικόνα 4 : Πρόσοψη οργάνου

Πίνακας 1 : Πρόσοψη οργάνου

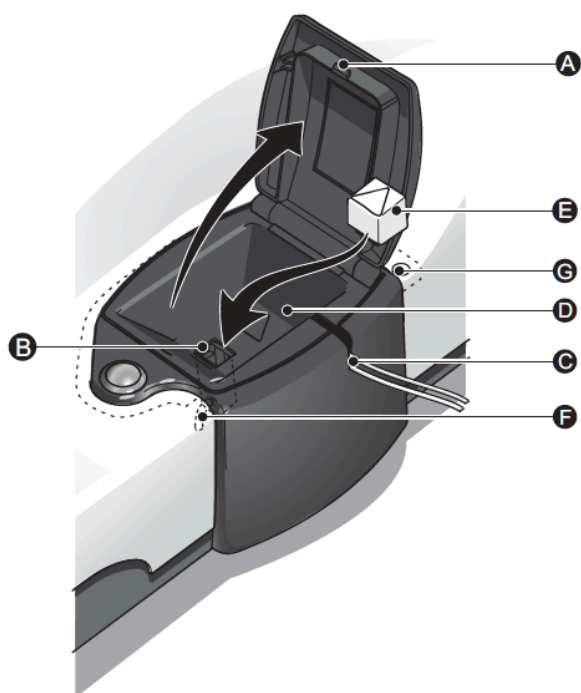
Αριθμός εξαρτήματος	Ονομασία εξαρτήματος
1	Οπτικός εξοπλισμός
2	Οπίσθιος πίνακας
3	Λυχνία ένδειξης κατάστασης
4	Κουμπί πρόσβασης κελιού
5	Περιοχή κελιού
6	Βάση τοποθέτησης κυβέτας
7	Κελί



Εικόνα 5 : Οπίσθια όψη οργάνου

Πίνακας 2 : Οπίσθια όψη οργάνου

Σύμβολο εξαρτήματος	Ονομασία εξαρτήματος
A	Υποδοχή πρίζας για τροφοδοσία ρεύματος
B	Ασφάλεια
C	Διακόπτης έναρξης λειτουργίας
D	Θύρα USB για σύνδεση με Η/Υ
E	Θύρα σύνδεσης αξεσουάρ
F	Σύστημα ανεμιστήρων ψύξης
G	Ταμπέλα αριθμού μοντέλου και σειριακού αριθμού
H	Αρχείο αναβαθμίσεων (γίνεται χρήση μόνο από τον εξειδικευμένο τεχνικό)
I	Έξοδος σε αξεσουάρ
J	Είσοδος πράσινου laser PSU
K	Σύνδεση με καθαριστήρα



Εικόνα 6 : Περιοχή υποδοχής δείγματος

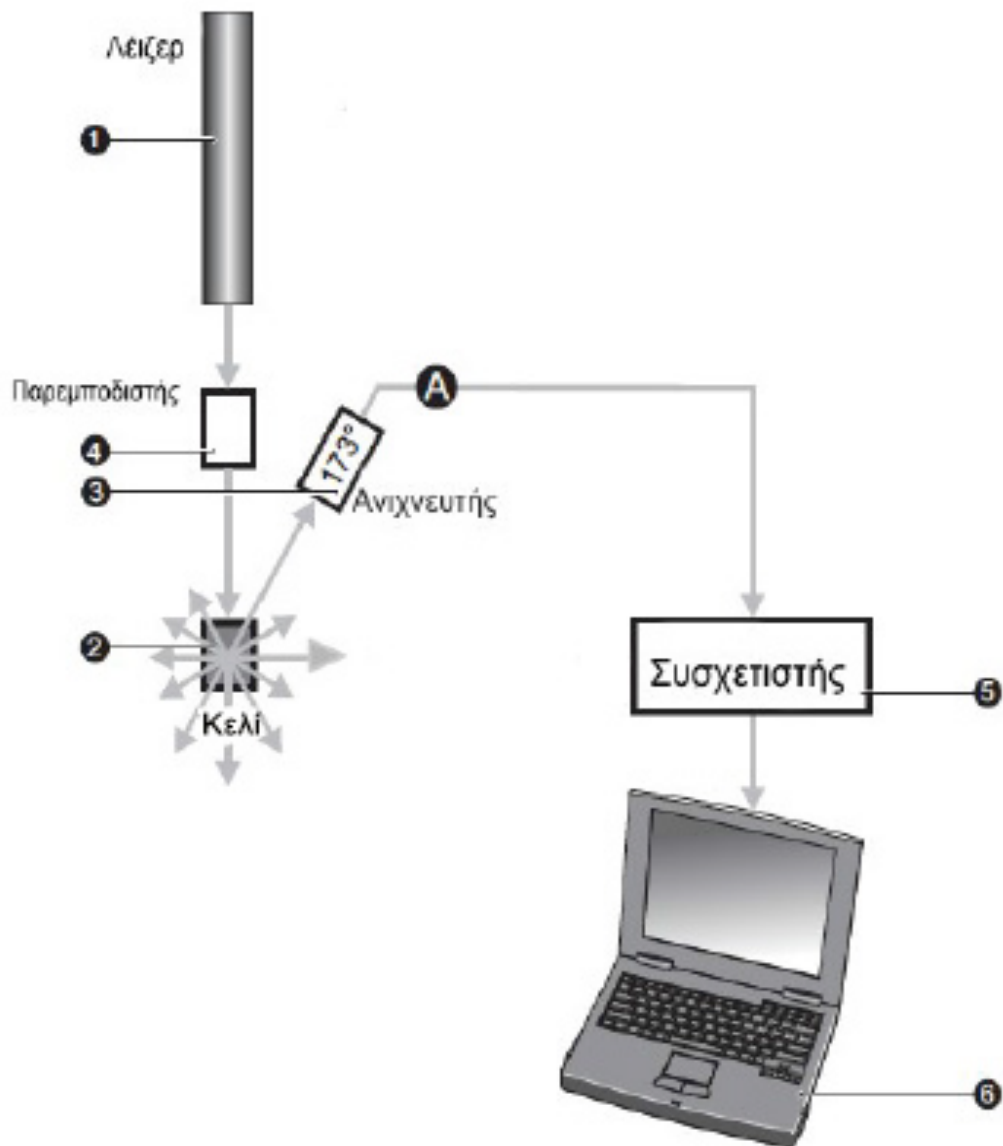
Πίνακας 3 : Περιοχή υποδοχής δείγματος

Σύμβολο εξαρτήματος	Ονομασία εξαρτήματος
A	Προστατευτικό καπάκι
B	Ηλεκτρόδια
C	Βαλβίδα – θέση υποδοχής τιτλοδότη
D	Κοιλότητα κελιού
E	Θερμικό κάλυμμα
F	Υποδοχή αποστράγγισης
G	Κανάλι αποστράγγισης

3. Μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων (size)

3.1 Οργανολογία μέτρησης μεγέθους σωματιδίων (size)

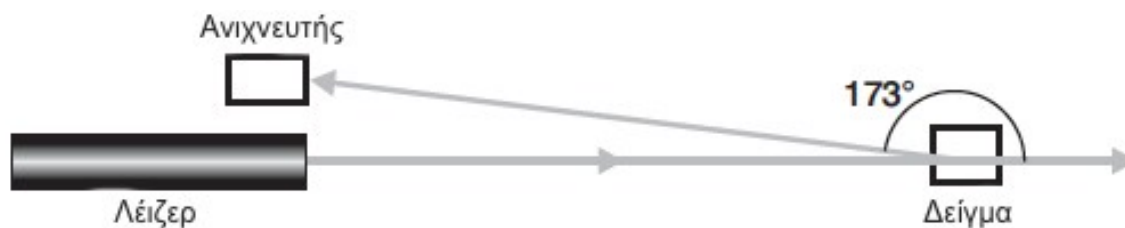
Μία τυπική διάταξη DLS αποτελείται από 6 κύρια μέρη. Αρχικά ένα **laser (1)** χρησιμοποιείται ως μια πηγή φωτός για την ακτινοβολήση των σωματιδίων του δείγματος μέσα στο **κελί (2)**. Αν και το μεγαλύτερο ποσοστό της ακτίνας laser διαπερνάει το δείγμα, ένα ποσοστό της σκεδάζεται από τα σωματίδια εντός του δείγματος. Ένας **ανιχνευτής (3)** χρησιμοποιείται για την μέτρηση της έντασης του διαθλώμενου φωτός. Ένα σωματίδιο μπορεί να σκεδάσει φως προς όλες τις κατευθύνσεις και έτσι, τουλάχιστον σε θεωρητικό επίπεδο, είναι δυνατόν να τοποθετηθεί ο ανιχνευτής σε οποιαδήποτε κατεύθυνση και να ανιχνεύσει τις διασκεδασμένες ακτίνες. Η ένταση του διασκεδασμένου φωτός πρέπει να ανήκει σε ένα συγκεκριμένο εύρος έτσι ώστε η μέτρηση να είναι επιτυχής. Εάν ανιχνευτεί πολύ μεγαλύτερη ποσότητα φωτός, τότε ο ανιχνευτής θα υπερφορτωθεί. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, ένας **παρεμποδιστής (4)** χρησιμοποιείται για να μειώσει την ένταση του laser και συνεπώς την ένταση του φαινομένου της σκέδασης του φωτός. Η κατάλληλη θέση για τον εξασθενητή ρυθμίζεται αυτόματα από το Zetasizer κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Το σήμα της έντασης του διασκεδασμένου φωτός που λαμβάνεται μέσω του ανιχνευτή προωθείται σε μια πλακέτα ψηφιακής επεξεργασίας που ονομάζεται **συσχετιστής (5)**. Ο συσχετιστής συγκρίνει την ένταση του φωτός που έχει υποστεί σκέδαση, σε διαδοχικά χρονικά διαστήματα για να εξάγει σε μορφή δεδομένων τον ρυθμό τον οποίο ακολουθεί η διακύμανση της έντασης. Οι πληροφορίες από τον συσχετιστή προωθούνται στη συνέχεια στον **ηλεκτρονικό υπολογιστή (6)**, όπου το ειδικό λογισμικό του Zetasizer αναλύει τα δεδομένα και εξάγει πληροφορίες για το μέγεθος των σωματιδίων. Σχηματικά η διάταξη έχει την εξής μορφή : ^[12]



Εικόνα 7 : Διάταξη μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων

3.2 Οπτικά συστήματα στο Zetasizer ZS

Το Zetasizer ZS προσμετρά την πληροφορία του διασκεδασμένου φωτός με γωνία που προσεγγίζει τις 180 μοίρες. Αυτή η ανίχνευση ονομάζεται και αλλιώς ανίχνευση οπισθοσκέδασης (backscatter detection), της οποίας η εφαρμογή βασίζεται σε μια τεχνολογία που ονομάζεται NIBS (Non Invasive Back Scatter). Σχηματικά το οπτικό σύστημα ανίχνευσης φαίνεται στο παρακάτω σχήμα :

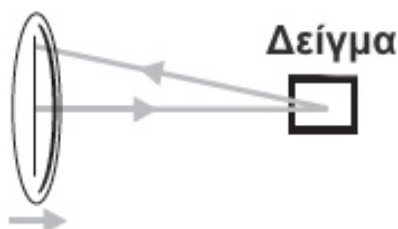


Εικόνα 8 : Οπτικό σύστημα ανίχνευσης στο Zetasizer

Γιατί όμως επιλέγεται αυτή η τεχνική ανίχνευσης και όχι κάποια άλλη ; Προφανώς διότι παρουσιάζει συγκεκριμένα πλεονεκτήματα που καθιστούν ευκολότερη και ορθότερη την ανάλυση των δειγμάτων. Αυτά είναι :

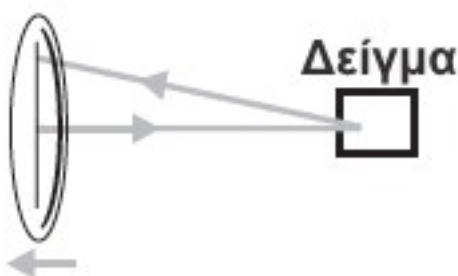
- Λόγω του ότι προσμετράται η οπισθοσκεδασμένη ακτίνα, η προσπίπτουσα ακτίνα δεν χρειάζεται να ταξιδέψει διαμέσω ολόκληρου του δείγματος. Αυτό είναι σημαντικό διότι ελαχιστοποιείται έτσι το φαινόμενο της πολλαπλής σκέδασης, που συμβαίνει όταν μία ήδη διασκεδασμένη ακτίνα φωτός από ένα σωματίδιο σκεδάζεται ξανά από άλλα σωματίδια. Όταν το φως διανύει την κατά το δυνατό μικρότερη διαδρομή, είναι εφικτή η πιο ακριβής μέτρηση δειγμάτων τα οποία είναι πυκνότερα.
- Σωματίδια ακαθαρσιών εντός του διαλύτη, όπως π.χ. σκόνη, έχουν μεγαλύτερο μέγεθος συγκριτικά με το δείγμα. Τα σωματίδια αυτά σκεδάζουν τις ακτίνες κατά την μπροστινή από αυτά διεύθυνση. Κι έτσι, με την ανίχνευση οπισθοσκέδασης, μειώνονται σημαντικά τέτοιες παρεμβολές που προέρχονται κυρίως από ακαθαρσίες.

Για να είναι δυνατή η εστίαση του φωτός σε διαφορετικά σημεία του κελιού, υπάρχει εγκατεστημένο εντός του οργάνου ένα σύστημα από κινούμενους φακούς. Αυτό καθιστά δυνατή την μέτρηση ενός μεγάλου εύρους συγκεντρώσεων, από πιο αραιά δείγματα έως και πυκνότερα. Εάν πρόκειται για μικρότερου μεγέθους σωματίδια ή αραιό διάλυμα, τότε οι κινούμενοι φακοί εστιάζουν το φως σε μεγαλύτερη απόσταση από το τοίχωμα του κελιού (σε μεγαλύτερο βάθος δηλαδή), διότι έτσι μεγενθύνεται το φαινόμενο της σκέδασης.



Εικόνα 9 : Κίνηση φακών σε αραιά διαλύματα / διαλύματα με σωματίδια μικρότερου μεγέθους

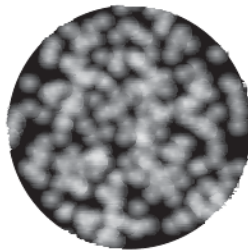
Αντίθετα, όταν πρόκειται για δείγματα που περιέχουν σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους ή είναι πυκνότερα, τότε το φως εστιάζεται κοντά στο τοίχωμα του κελιού για να αποφευχθεί το φαινόμενο της πολλαπλής σκέδασης, όπως αναφέρεται παραπάνω. ^[3]



Εικόνα 10 : Κίνηση φακών σε πυκνά διαλύματα / διαλύματα με σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους

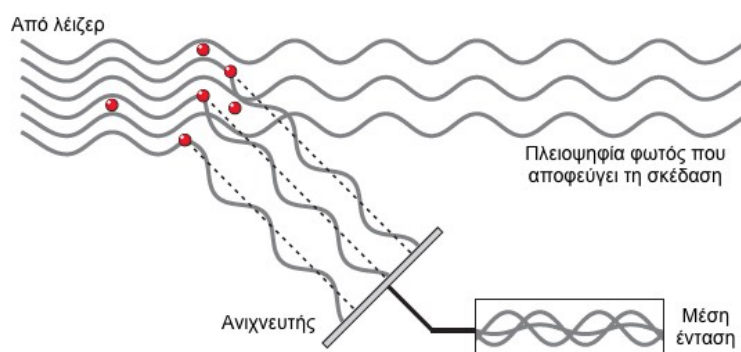
3.3 Αρχή εύρεσης μεγέθους σωματιδίων (size)

Η μέθοδος DLS προσμετρά την κίνηση Brown και την συσχετίζει με το μέγεθος των σωματιδίων. Αυτό γίνεται με την ακτινοβολήση των σωματιδίων με laser και την ανάλυση των διακυμάνσεων της έντασης στο διασκεδασμένο φως. Εάν ένα μικρό σωματίδιο ακτινοβοληθεί από μια πηγή φωτός (όπως π.χ. laser), θα παρατηρηθεί σκέδαση φωτός προς όλες τις κατευθύνσεις. Εάν μια οθόνη βρίσκεται κοντά στο σωματίδιο, τότε λόγω του διασκεδασμένου φωτός θα φωτιστεί. Σε περίπτωση που αντικατασταθεί το απλό σωματίδιο από χιλιάδες ακίνητα σωματίδια, τότε η οθόνη θα δείχνει μια επιφάνεια όπως αυτή που φαίνεται στο σχήμα :



Εικόνα 11 : Εικόνα διακυμάνσεων από μικροσκόπιο

Η επιφάνεια αυτή αποτελείται από φωτεινές περιοχές (όπου ανιχνεύεται φως) και από σκοτεινές, όπου δεν ανιχνεύεται καθόλου φως. Η αιτία των φωτεινών και σκοτεινών περιοχών φαίνεται στο διάγραμμα παρακάτω, όπου απεικονίζεται η συμβολή των κυμάτων που προκύπτει από το διασκεδασμένο από τα σωματίδια φως. Οι φωτεινές περιοχές προκύπτουν όταν το φως που έχει υποστεί σκέδαση από τα σωματίδια καταφθάνει στην οθόνη με την ίδια φάση, λειτουργώντας δηλαδή ενισχυτικά, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μιας φωτεινής κηλίδας. Οι σκοτεινές περιοχές προκύπτουν όταν το άθροισμα των φάσεων του διασκεδασμένου φωτός αλληλεπιδρά αναιρετικά, με αποτέλεσμα οι φάσεις μεταξύ τους να αλληλοακυρώνονται. [5,6,12]



Εικόνα 12 : Ανίχνευση σκέδασης φωτός από το όργανο

Στην πράξη, τα σωματίδια που αιωρούνται μέσα σε ένα υγρό δεν είναι ποτέ στάσιμα, όπως στο μοντέλο που προαναφέρθηκε. Τα σωματίδια κινούνται συνεχώς εξαιτίας της κίνησης Brown. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, τα σωματίδια κινούνται εξαιτίας της τυχαίας σύγκρουσής τους με τα μόρια του υγρού που περιβάλλουν το σωματίδιο. Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της κίνησης Brown που εκμεταλλεύεται η μέθοδος DLS είναι ότι τα μικρά σωματίδια κινούνται γρήγορα ενώ τα μεγάλα κινούνται πιο αργά. Η σχέση μεταξύ του μεγέθους του σωματιδίου και της ταχύτητάς του, ορίζεται από την εξίσωση Stokes – Einstein :

Εξίσωση Stokes - Einstein

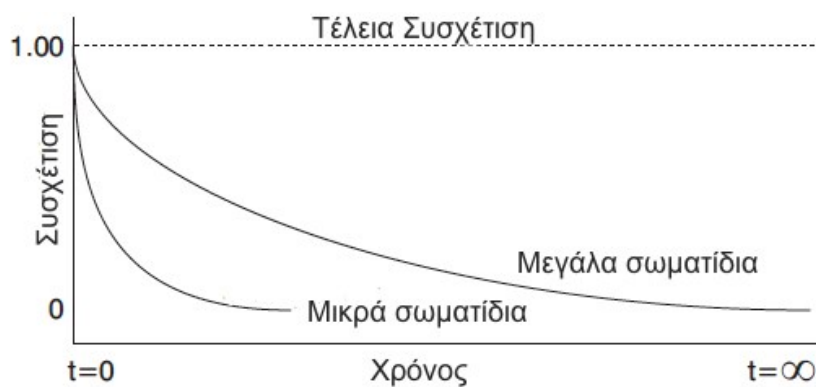
The diagram shows the equation $D = \frac{kT}{6\pi\eta R_H}$ in a yellow box. Arrows point from the equation to five labels: 'Συντελεστής Διάχυσης' (Diffusion coefficient), 'Υδροδυναμική ακτίνα' (Hydrodynamic radius), 'σταθερά Boltzmann' (Boltzmann constant), 'Θερμοκρασία' (Temperature), and 'Ιξώδες' (Viscosity).

Εικόνα 13 : Εξίσωση Stokes - Einstein

Όσο τα σωματίδια βρίσκονται συνεχώς σε κίνηση , τόσο η επιφάνεια με τα φωτεινά και σκοτεινά σημεία παρουσιάζει κινητικότητα. Όσο τα σωματίδια κινούνται το ένα γύρω από το άλλο, δηλαδή η ενισχυτική και αναιρετική συμβολή των φάσεων του διασκεδασμένου φωτός, οι περιοχές αυτές θα αυξάνονται και θα μειώνονται σε ένταση. Με άλλα λόγια, η ένταση θα διακυμαίνεται. Το Zetasizer υπολογίζει τον ρυθμό της έντασης της διακύμανσης αυτής και την χρησιμοποιεί ως δεδομένο στον υπολογισμό του μεγέθους των σωματιδίων.

Εντός της διάταξης, υπάρχει ένα όργανο που ονομάζεται ψηφιακός συσχετιστής. Ο συσχετιστής υπολογίζει τον βαθμό ομοιότητας μεταξύ δύο σημάτων μέσα σε μια χρονική περίοδο. Εάν γινόταν σύγκριση μεταξύ της έντασης του σήματος ενός συγκεκριμένου τμήματος της επιφάνειας των συνολικών σωματιδίων σε κάθε ένα σημείο ξεχωριστά για κάθε χρονική διάρκεια της μέτρησης (έστω t η χρονική αυτή στιγμή), τότε θα προέκυπταν σήματα τα οποία θα συσχετιζόνταν μεταξύ τους σε πολύ μεγάλο βαθμό, διότι οι εντάσεις τους θα ήταν παρόμοιες. Εάν γινόταν αντίστοιχη σύγκριση του αρχικού σήματος με το σήμα που προέκυψε λίγο μετέπειτα χρονικά, δηλαδή τη χρονική στιγμή $2t$, θα ήταν εξίσου καλό, αλλά όχι τόσο όσο αυτό που προέκυψε στην χρονική στιγμή t . Η συσχέτιση επομένως, μειώνεται με το πέρασ του χρόνου. Η τεχνική DLS εξετάζει πολύ μικρές χρονικές κλίμακες, όπου το υπόλειμμα χρόνου μεταξύ δύο χρονικών στιγμών μπορεί να είναι και της τάξεως από ένα μέχρι $10'$ του millisecond. Η τέλεια συσχέτιση αναφέρεται με τον αριθμό 1 ενώ σε περίπτωση που δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων αναφέρεται με τον αριθμό 0. ^[12]

Το παρακάτω γράφημα απεικονίζει την εφαρμογή της συσχέτισης για σωματίδια μικρού και μεγάλου μεγέθους. Όπως είναι φανερό, ο ρυθμός με τον οποίο η συσχέτιση παύει να υφίσταται σχετίζεται με το μέγεθος των σωματιδίων καθώς ο ρυθμός αυτός είναι πολύ γρηγορότερος για μικρά σωματίδια από ότι για μεγάλα.



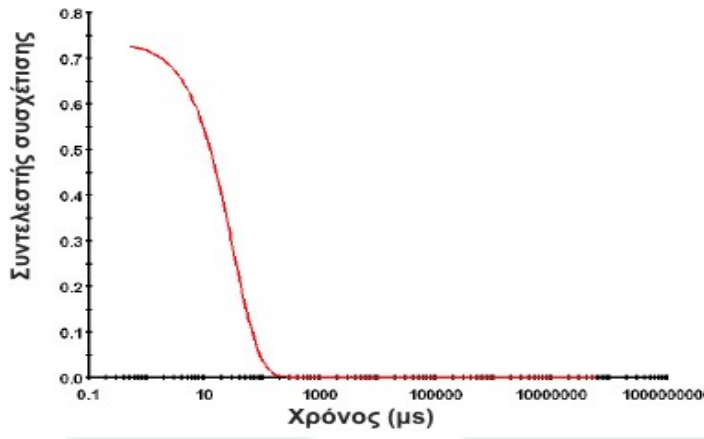
Εικόνα 14 : Διάγραμμα συσχέτισης

Έπειτα από την εύρεση της εξίσωσης που αναπαριστά σχηματικά τη συσχέτιση (correlation function) από το όργανο, οι πληροφορίες αυτές χρησιμοποιούνται στον υπολογισμό της κατανομής μεγέθους, μέσω ειδικών αλγορίθμων του Zetasizer. ^[12,14]



Εικόνα 15 : Κατανομή μεγέθους σύμφωνα με ένταση σήματος

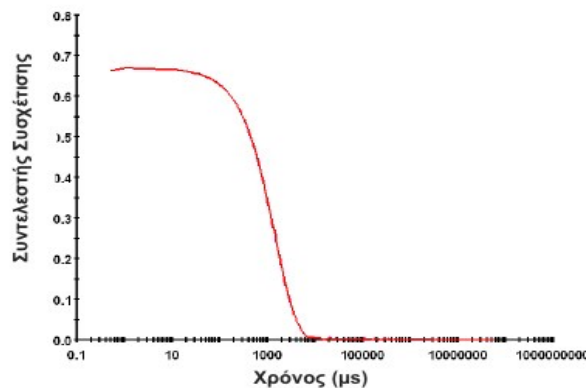
Στα διαγράμματα που προκύπτουν από τον αλγόριθμο του λογισμικού του οργάνου η σχέση μεταξύ του μεγέθους των σωματιδίων και της συσχέτισης αναπαρίσταται με έναν συγκεκριμένο τρόπο. Αναφέρθηκε παραπάνω ότι η μεταβολή της κινητικής κατάστασης των σωματιδίων έχει άμεση σχέση με το μέγεθός τους. Δηλαδή όταν τα σωματίδια έχουν μικρότερο μέγεθος, η κινητική τους κατάσταση μεταβάλλεται με μεγαλύτερη ευκολία. Αυτό φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα, όπου η καμπύλη του χρόνου σε σχέση με τον συντελεστή συσχέτισης ξεκινάει σχεδόν αμέσως να τείνει προς τον μηδενισμό, καθώς το νεκρό διάστημα που μεσολαβεί από την αρχή της μέτρησης είναι σχεδόν ασήμαντο.



Εικόνα 16 : Διάγραμμα συσχέτισης μικρών σωματιδίων

Από την άλλη πλευρά, όταν τα σωματίδια έχουν μεγαλύτερο μέγεθος, μεσολαβεί ένα διάστημα όπου η καμπύλη μεταξύ των δύο μεγεθών είναι παράλληλη στον άξονα του χρόνου. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η κινητική κατάστασή τους μεταβάλλεται πιο αργά σε σχέση με τα μικρότερα σωματίδια και απαιτείται ένα συγκεκριμένο χρονικό περιθώριο έτσι ώστε τα σωματίδια να ανταποκριθούν ενεργειακά στις νέες συνθήκες που τους έχουν επιβληθεί. Επίσης αξίζει να σημειωθεί ότι η κλίση της εν λόγω καμπύλης είναι ελαφρώς αμβλύτερη σε σχέση με την καμπύλη που σχηματίζεται στην περίπτωση των σωματιδίων μικρότερου μεγέθους.

[12]



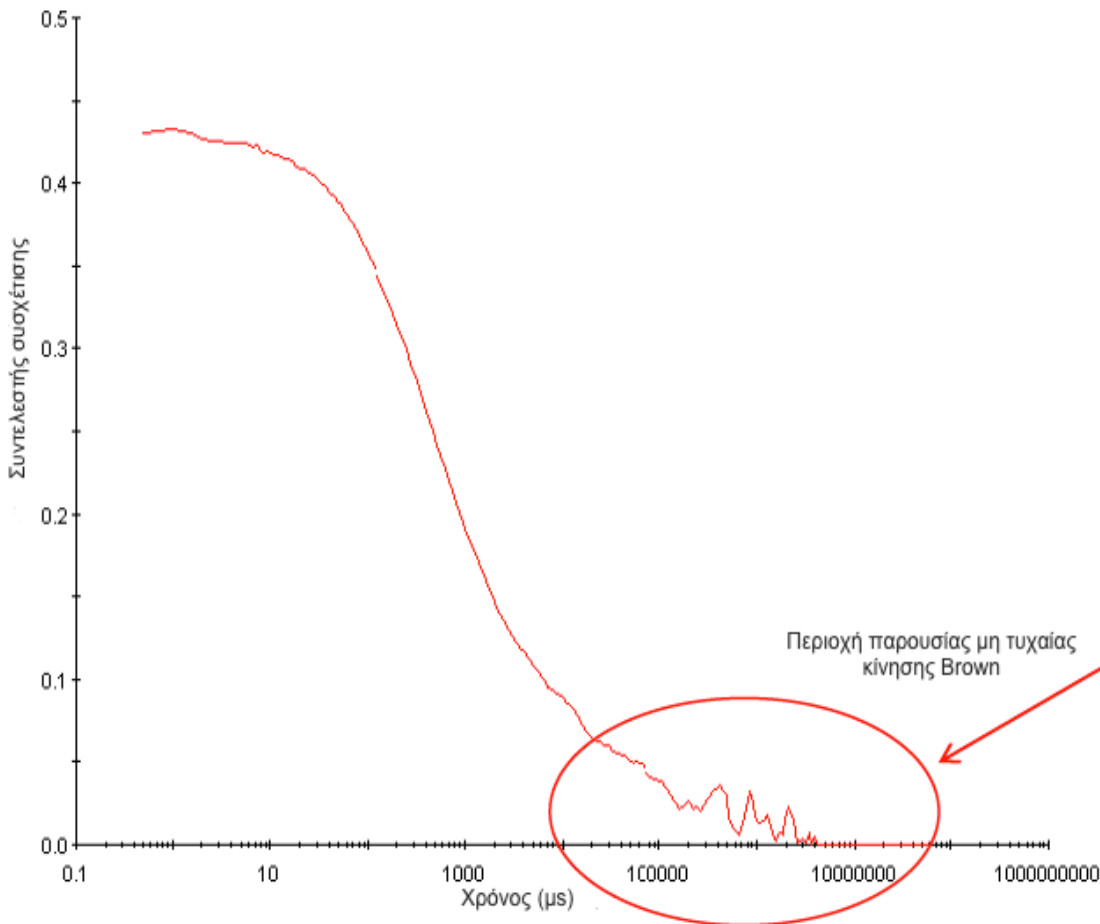
Εικόνα 17 : Διάγραμμα συσχέτισης μεγάλων σωματιδίων

3.4 Συχνά προβλήματα σε μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων

Τα συνηθέστερα προβλήματα που σχετίζονται άμεσα με την καταλληλότητα του δείγματος για να μετρηθεί από ένα όργανο Zetasizer είναι τρία : το φαινόμενο της συσσωμάτωσης, το φαινόμενο της καθίζησης και της διακύμανσης αριθμού.

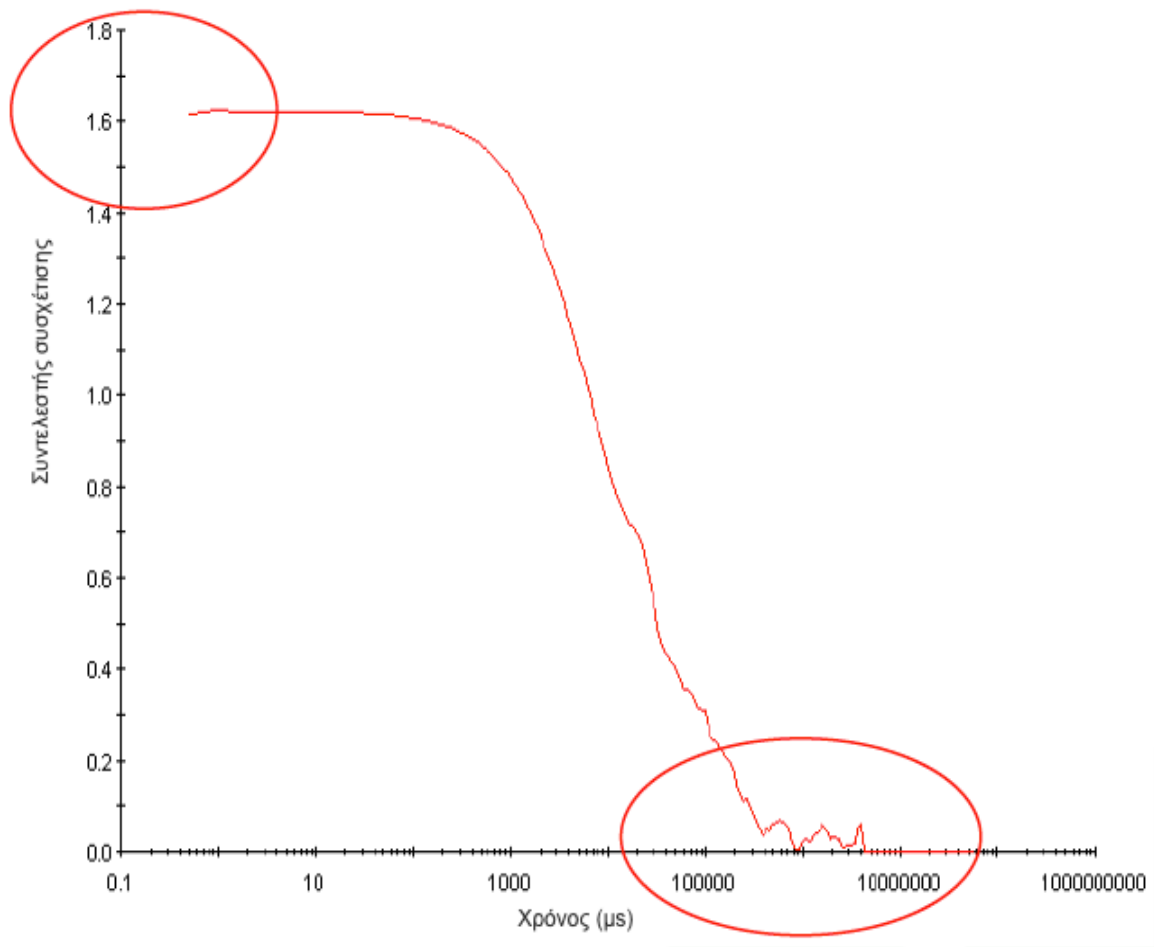
Η φυσιολογική μορφή των διαγραμμάτων συσχέτισης είναι όταν η καμπύλη συσχέτισης φθίνει με το χρόνο, διότι αυτό είναι ένδειξη τυχαίας κίνησης Brown. Εάν στα διαγράμματα αυτά εμφανίζονται κορυφές στο σημείο όπου η γραφική παράσταση τείνει ασυμπτωτικά στον άξονα του χρόνου, είναι ένδειξη ότι εντός του δείγματος παρουσιάζεται μια μη τυχαία κίνηση Brown, η οποία δεν θα έπρεπε υπό φυσιολογικές συνθήκες να υφίσταται. Μια ερμηνεία αυτής της μη τυχαίας κίνησης είναι η δημιουργία συσσωματωμάτων. Το γεγονός αυτό δημιουργεί αμφιβολίες ως προς την καταλληλότητα του δείγματος για να μετρηθεί με τη χρήση του συγκεκριμένου οργάνου, καθώς η δημιουργία συσσωματωμάτων εμποδίζει την μέτρηση του μεγέθους σωματιδίων. Στην περίπτωση που το φαινόμενο αυτό είναι τόσο έντονο ώστε να αλλοιώνει τελείως τα αποτελέσματα της μέτρησης, πρέπει να αναζητηθεί άλλος τρόπος μέτρησης του μεγέθους των σωματιδίων ή πολύ απλά να απορριφθεί το δείγμα, διότι η ύπαρξη συσσωματωμάτων αποτελεί απορριπτική ένδειξη για συγκεκριμένους τύπους δειγμάτων.

Μια δεύτερη ερμηνεία της μη τυχαίας κίνησης Brown είναι το φαινόμενο της καθίζησης. Για να υφίσταται στο δείγμα το φαινόμενο αυτό, αρκεί ο ρυθμός μέτρησης να ελαττώνεται όσο εκτελούνται διαδοχικές μετρήσεις. Στην περίπτωση αυτή υπάρχει τρόπος αντιμετώπισης, καθώς είναι δυνατόν με τη χρήση ενός φίλτρου να γίνει αφαίρεση των σωματιδίων που καθιζάνουν και να οδηγηθούν μόνο τα κατάλληλα ξανά προς μέτρηση. Σχηματικά μπορεί να αποδοθεί με τον ίδιο τρόπο που αποδίδεται και το φαινόμενο της συσσωμάτωσης, δηλαδή με τη δημιουργία κορυφών στην baseline. Γενικά τέτοιοι σχηματισμοί στο σημείο αυτό αποτελούν ένδειξη ότι μία μη τυχαία μεταβολή λαμβάνει χώρα στο μετρούμενο δείγμα, όπως είναι τα δύο φαινόμενα που αναφέρθηκαν. Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται χαρακτηριστικά μία παρόμοια περίπτωση :



Εικόνα 18 : Παρουσία προβλήματος στην baseline

Προβλήματα στην baseline όμως δεν έχουν αποκλειστικά ως αιτία την ύπαρξη ενός φαινομένου όπως των προηγούμενων. Μια ανωμαλία στην baseline μπορεί να έχει ως αιτία τις διακυμάνσεις αριθμού. Το πρόβλημα αυτό είναι ιδιαίτερα αισθητό σε περιπτώσεις όπου στο προς μέτρηση δείγμα υπάρχουν μόνο μεγάλα σωματίδια σε μικρό αριθμό. Παρά το γεγονός ότι τις περισσότερες φορές η ένταση του διασκεδασμένου φωτός μπορεί να επαρκεί για την επιτυχή λήψη μετρήσεων, υπάρχει μεγάλη στιγμιαία διακύμανση στον προσμετρούμενο όγκο του δείγματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη στιγμιαία διακύμανση στην διασκεδασμένη ένταση του φωτός η οποία όμως καλύπτει το παραπάνω φαινόμενο λόγω της κίνησης Brown.



Εικόνα 19 : Παρουσία προβλήματος στην baseline - Διακύμανση αριθμού

Όπως παρατηρείται, οι διακυμάνσεις αριθμού δεν δημιουργούν μόνο κορυφές στην baseline, αλλά έχουν και ως αποτέλεσμα ο συντελεστής συσχέτισης να λαμβάνει τιμές και μεγαλύτερες από 1, όπως φαίνεται στο σχήμα. Υπενθυμίζεται ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο συντελεστής συσχέτισης λαμβάνει τιμές από 0 μέχρι 1 και ποτέ μεγαλύτερες του 1. [7,12]

3.5 Αλγόριθμοι για αναλύσεις κατανομής (Distribution Analysis)

Για την ανάλυση της κατανομής του μεγέθους σωματιδίων, οι αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται στο λογισμικό του Zetasizer είναι τρεις. Η διαφορά μεταξύ τους έγκειται στο γεγονός ότι σε κάθε έναν από αυτούς γίνεται χρήση διαφορετικού κανονικοποιητή (regulizer). Η συμβολή του κανονικοποιητή είναι πολύ σημαντική στην ομαλή και ακριβή λήψη μετρήσεων, διότι αναλύει και υπολογίζει το αντίκτυπο που δημιουργείται λόγω θορύβου στο διάγραμμα συσχέτισης. Δεν υπάρχει κάποια ιδανική τιμή για την λειτουργία του κανονικοποιητή, καθώς διαφέρει από δείγμα σε δείγμα. ^[9]

Οι τρεις αλγόριθμοι επομένως παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα :

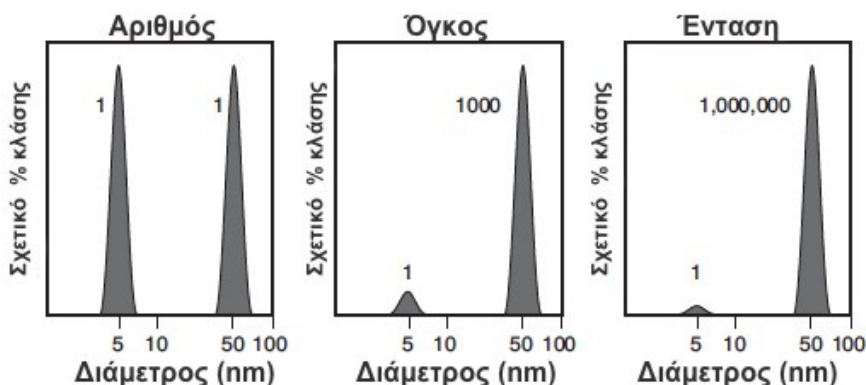
Πίνακας 4 :Αλγόριθμοι λογισμικού οργάνου

Όνομα αλγορίθμου	Τιμή κανονικοποιητή	Λειτουργία αλγορίθμου
General purpose	0.01	Ιδανικός για την πλειοψηφία των δειγμάτων όπου δεν υπάρχουν πληροφορίες για την κατανομή τους.
Multiple narrow mode	0.001	Χρησιμοποιείται σε δείγματα στα οποία υπάρχει η πιθανότητα εύρεσης μικρών συγκεντρώσεων ζητούμενου στοιχείου.
Protein analysis	Ποικίλλει (η κατάλληλη τιμή προσδιορίζεται αυτομάτως)	Χρησιμοποιείται σε ανάλυση πρωτεϊνών.

3.6 Αναλύσεις κατανομών (Distribution analysis)

Η ανάλυση αυτών των κατανομών κατηγοριοποιείται σε κατανομές έντασης, όγκου και αριθμού. Ένας πολύ απλός τρόπος περιγραφής της διαφοράς μεταξύ αυτών των κατανομών, είναι η υπόθεση ενός δείγματος το οποίο περιέχει αποκλειστικά δύο μεγεθών σωματίδια (5 nm και 50 nm) ίδια σε αριθμό μεταξύ τους. Το πρώτο γράφημα δείχνει το αποτέλεσμα ως μια αριθμητική κατανομή. Όπως αναμενόταν, τα δύο μέγιστα είναι του ίδιου μεγέθους (λόγος 1:1) καθώς ποσοτικά είναι ίδιοι οι αριθμοί των σωματιδίων. Το δεύτερο γράφημα δείχνει το αποτέλεσμα της κατανομής όγκου. Το εμβαδό του μεγίστου για τα σωματίδια μεγέθους 50 nm είναι 1000 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο των σωματιδίων μεγέθους 5 nm (λόγος 1:1000). Αυτό συμβαίνει διότι ο όγκος ενός σωματιδίου μεγέθους 50 nm είναι 1000 φορές μεγαλύτερος από ένα σωματίδιο μεγέθους 5 nm (θεωρούνται σφαιρίδια για τον υπολογισμό του όγκου τους ο οποίο γίνεται με τον αντίστοιχο τύπο). Το τρίτο γράφημα δείχνει τα αποτελέσματα της κατανομής έντασης. Το εμβαδό του μεγίστου για τα σωματίδια μεγέθους 50 nm είναι τώρα 1.000.000 φορές

μεγαλύτερο από τα σωματίδια μεγέθους 50 nm (λόγος 1:1.000.000). Αυτό συμβαίνει διότι τα μεγαλύτερα σωματίδια σκεδάζουν περισσότερο φως από τα μικρότερα σωματίδια.



Εικόνα 20 : Κατανομές αριθμού, όγκου και έντασης

Κάθε μία από αυτές τις κατανομές όμως έχει διαφορετική χρησιμότητα, καθώς παρέχει διαφορετικές πληροφορίες για κάθε δείγμα που προσμετράται. Για το λόγο αυτό, απαιτείται και η εισαγωγή διαφορετικών δεδομένων σε κάθε περίπτωση. Στον παρακάτω πίνακα εξηγούνται συνοπτικά τα διαφορετικά δεδομένα που απαιτούνται σε κάθε περίπτωση, καθώς και η διαφορετική χρησιμότητα κάθε κατανομής. ^[4]

Πίνακας 5 : Είδη κατανομών, δεδομένα και χρησιμότητα

Είδος κατανομής	Απαιτούμενα δεδομένα εισαγωγής	Χρησιμότητα
Έντασης	Ιξώδες διαλύτη και δείκτης διάθλασης	Ευαισθησία στην παρουσία μεγάλων σωματιδίων, συσσωματωμάτων και ακαθαρσιών.
Όγκου	Απορροφητικότητα των σωματιδίων και δείκτης διάθλασης των σωματιδίων	Ισοδυναμεί με κατανομές μάζας ή βάρους.
Αριθμού	Απορροφητικότητα των σωματιδίων και δείκτης διάθλασης των σωματιδίων	Λεπτομερέστερος διαχωρισμός σωματιδίων με βάση το μέγεθός τους.

Από τον αλγόριθμο προκύπτει αρχικά η κατανομή έντασης. Στη συνέχεια από την κατανομή έντασης προκύπτουν η κατανομή όγκου και η κατανομή αριθμού. Επειδή οι κατανομές όγκου και αριθμού προκύπτουν στηριζόμενοι στην ίδια θεωρητική βάση, παρατηρείται ότι τα δεδομένα εισαγωγής που απαιτούνται είναι τα ίδια και στις δύο περιπτώσεις. ^[4]

3.7 Ανάλυση των συγκεντρωμένων σωματιδίων (Cumulants analysis)

Εκτός από τις αναλύσεις κατανομής όπως αναλύθηκε προηγουμένως, το όργανο εκτελεί παράλληλα και την μέθοδο της ανάλυσης των συγκεντρωμένων (cumulants) σωματιδίων μέσα στο δείγμα. Η μέθοδος αυτή διέπεται από τα πρότυπα ISO13321 (1996) και ISO 22412 (2008) και αποτελεί κριτήριο για το κατά πόσο το υπό μέτρηση δείγμα ανταποκρίνεται ποιοτικά στα πρότυπα που προϋποθέτει το όργανο. Το ανώτατο αποδεκτό όριο σφάλματος (fit error) θεωρείται η τιμή 0,005, δηλαδή εάν το σφάλμα είναι μικρότερο από την τιμή 0,005. Τότε το δείγμα αυτό θεωρείται ότι ανταποκρίνεται στα ποιοτικά πρότυπα του οργάνου και είναι κατάλληλο για να μετρηθεί από το Zetasizer.

Μέσω της μεθόδου Cumulant Analysis είναι δυνατός ο υπολογισμός δύο χαρακτηριστικών μεγεθών για το κάθε δείγμα : η μέση διάμετρος Z των σωματιδίων (Z_D) και ο δείκτης πολυδιαλυτότητας (Pdl index). Ως δεδομένα για αυτούς τους υπολογισμούς απαιτούνται μόνο ο δείκτης διάθλασης του διαλύτη και το ιξώδες. Στις μετρήσεις που έγιναν τα διαλύματα ήταν υδατικά, δηλαδή ο μοναδικός διαλύτης ήταν το νερό και δεν έγιναν παρεμβάσεις στην εισαγωγή δεδομένων για τον διαλύτη, καθώς το νερό δίνεται ως προεπιλογή.

Η μέση διάμετρος Z_D που προκύπτει από τη μέθοδο αυτή είναι η υπολογισμένη κατά ένταση μέση διάμετρος των σωματιδίων. Το μέγεθος αυτό είναι πολύ επιρρεπές στην παρουσία συσσωμάτων ή ακαθαρσιών του δείγματος καθώς με αυτόν τον τρόπο παρεμβάλλονται στις φυσικές ιδιότητες και τάσεις που έχει το κάθε σωματίδιο. ^[12]

Ο δείκτης Pdl είναι ένα αδιάστατο μέγεθος το οποίο χαρακτηρίζει το εύρος της κατανομής μεγέθους που προκύπτει από την ανάλυση των συγκεντρωμένων σωματιδίων. Οι τιμές που μπορεί να πάρει είναι από 0 μέχρι 1, και πρακτικά κωδικοποιούν την ύπαρξη ενός ή περισσότερων διαλυτών στο δείγμα που προσμετράται. *Δείγματα με τιμές Pdl μεγαλύτερες από 1 είναι ακατάλληλα για μέτρηση από το όργανο.* Οι περιοχές εύρους τιμών του συγκεκριμένου μεγέθους εξετάζονται στον παρακάτω πίνακα :

Πίνακας 6 : Τιμές δείκτη Pdl

Τιμή δείκτη Pdl	Σημασία
Τιμή < 0.05	Υπό φυσιολογικές συνθήκες, συναντάται σε σωματίδια που ακολουθούν πρότυπα latex ή για μονοδιαλυτικά δείγματα.
Τιμή <0.08	Σχεδόν μονοδιαλυτικό δείγμα. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το όργανο δίνει μονότροπη κατανομή σε αυτό το εύρος.
0.08 < Τιμή <0.7	Πρόκειται για το μέσο εύρος των τιμών που μπορεί να λάβει ο δείκτης, καθώς και την περιοχή στην οποία ο αλγόριθμος της κατανομής δουλεύει με βέλτιστο τρόπο.
Τιμή > 0.7	Αποτελεί ένδειξη μιας πολύ ευρείς κατανομής μεγέθους σωματιδίων.

3.8 Μέτρηση μοριακού βάρους (molecular weight)

Η τεχνοτροπία των μετρήσεων μεγέθους σωματιδίου είναι παρόμοια και στην μέτρηση μοριακού βάρους. Αντί για τη μέθοδο DLS όμως, χρησιμοποιείται η μέθοδος SLS (Static Light Scattering). Αυτές οι μέθοδοι λειτουργούν με παρόμοιο τρόπο, με τη διαφορά όμως ότι ενώ μέσω της DLS υπολογίζονται οι χρονικά εξαρτούμενες διακυμάνσεις του διασκεδασμένου φωτός, η SLS χρησιμοποιεί τη μέση χρονικά ένταση του διασκεδασμένου φωτός. Η ένταση του φωτός που υπόκειται σε σκέδαση μετρείται για έναν αριθμό συγκεντρώσεων του δείγματος. Ο αλγόριθμος αυτός όμως αποκόπτει τις επίκτητες διακυμάνσεις του σήματος κι έτσι δικαιολογείται το όνομα της τεχνικής ως τεχνική “σκεδασμού στατικού φωτός” (Static Light Scattering).

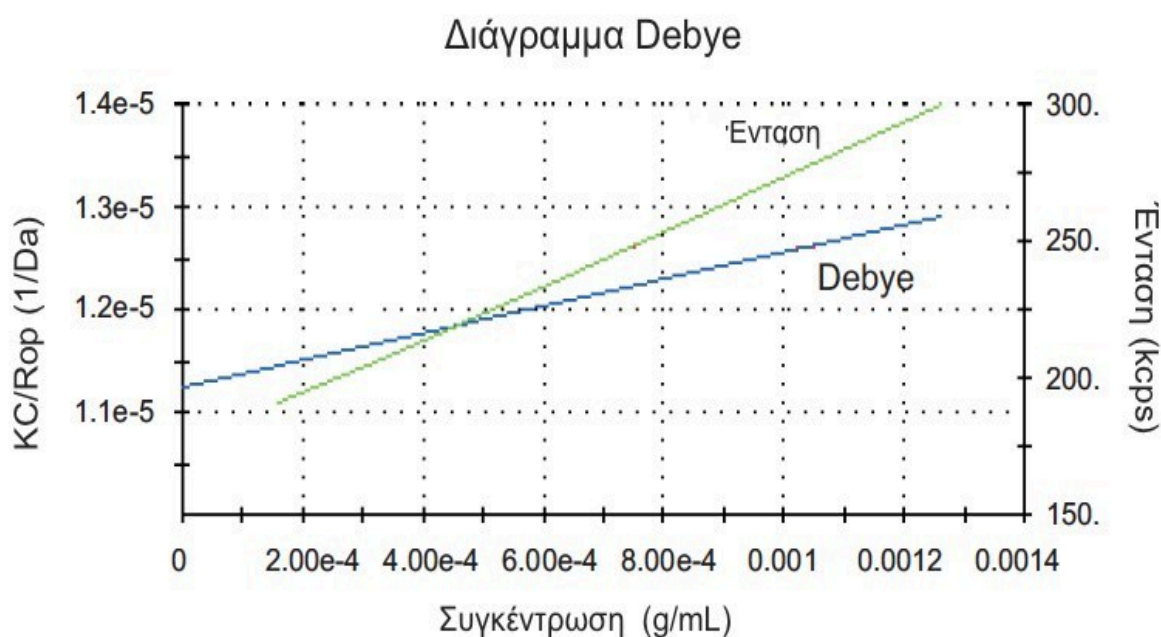
Το μοριακό βάρος υπολογίζεται με βάση την εξίσωση Rayleigh, η οποία έχει την εξής μορφή :

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

όπου

- R_{θ} : ο ρυθμός Rayleigh
- M : δείγμα μοριακού βάρους
- A_2 : ο δεύτερος συντελεστής Virial
- C : η συγκέντρωση
- $P(\theta)$: η γωνιακή εξάρτηση της έντασης σκέδασης του δείγματος, όπου παίρνει την τιμή 1 εάν τα σωματίδια του δείγματος είναι πολύ μικρότερα από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας
- K : οπτική σταθερά

Με βάση την παραπάνω εξίσωση καταστρώνεται από τον αλγόριθμο του Zetasizer το διάγραμμα Debye. Σύμφωνα με αυτό, η ένταση του φωτός που σκεδάζεται από ένα σωματίδιο είναι ανάλογη του μέσου κατά βάρους του μοριακού του βάρους και της συγκέντρωσής του στο δείγμα. Η ένταση κωδικοποιείται ως ο λόγος K/CR_{θ} με C τις διάφορες τιμές της συγκέντρωσης του δείγματος σε μία συγκεκριμένη γωνία. Αυτή η γωνία προκύπτει από την σύγκριση με την αντίστοιχη γωνία που έχει προκύψει από ένα πρότυπο διάλυμα, όπως π.χ. τολουόλιο. Από τη γραφική αυτή παράσταση προκύπτει και το μοριακό βάρος, αλλά και ο δεύτερος συντελεστής Virial :



- 6874

Εικόνα 21 : Διάγραμμα Debye για την εύρεση μοριακού βάρους

Το μοριακό βάρος είναι το σημείο τομής με τον άξονα X. Δηλαδή στη συγκεκριμένη περίπτωση θα είναι : $K/CR_{\theta} = 1/Mwt$ σε Daltons. ^[12]

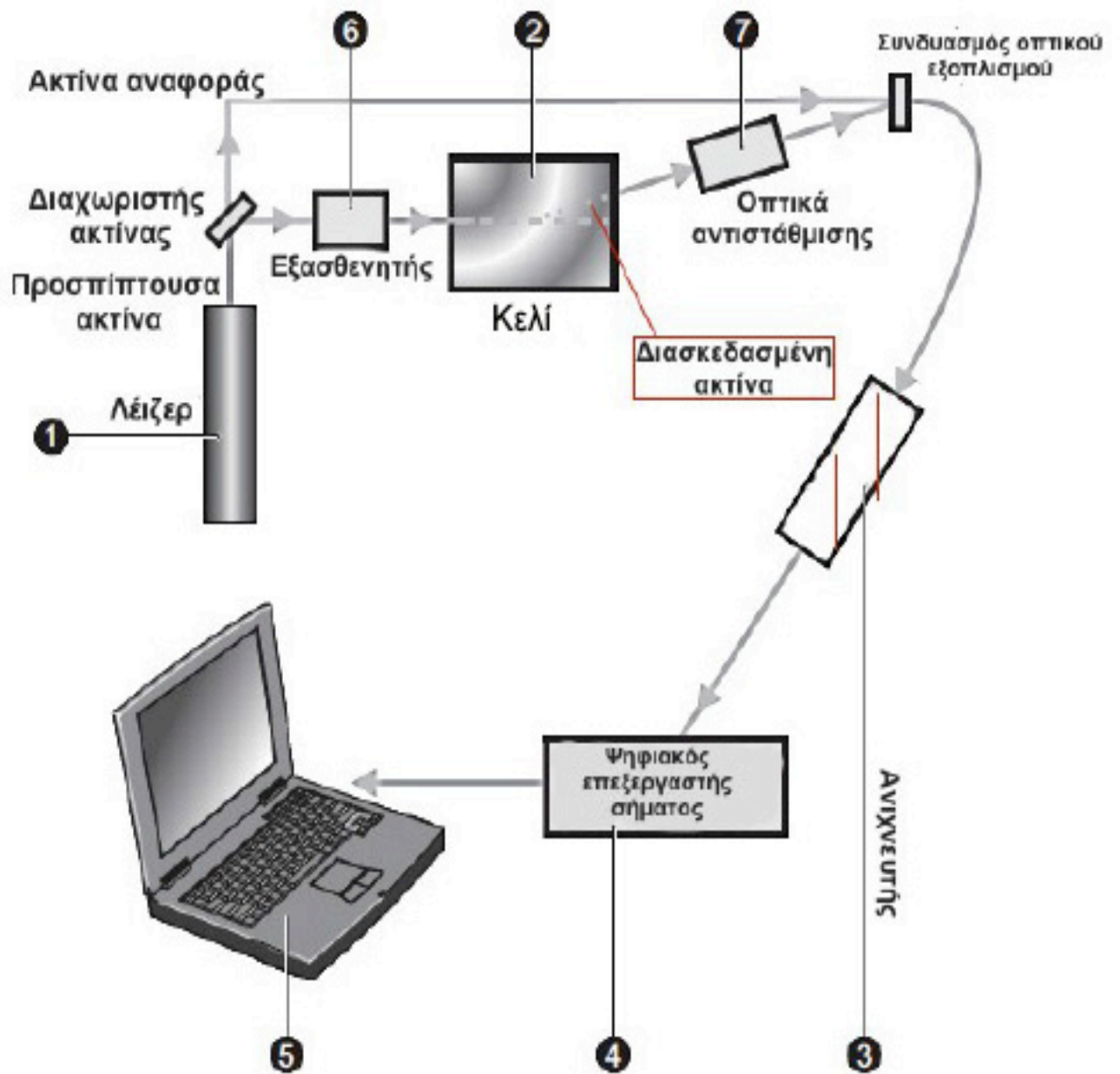
4. Μετρήσεις δυναμικού Z (Zeta Potential)

4.1 Οργανολογία μέτρησης δυναμικού Z

Παρόμοια με την τυπική διάταξη DLS που περιγράφηκε στην μέτρηση μεγέθους σωματιδίων, το σύστημα μέτρησης δυναμικού Z αποτελείται από έξι κύρια συστατικά. Αρχικά ένα **laser (1)** αποτελεί τη φωτεινή πηγή η οποία θα ακτινοβολήσει τα σωματίδια εντός του δείγματος με τη διαφορά ότι : στις μετρήσεις δυναμικού Z η ακτίνα αυτή διαχωρίζεται έτσι ώστε να δημιουργηθεί μία προσπίπτουσα ακτίνα και μία ακτίνα αναφοράς. Η ακτίνα αναφοράς μορφοποιείται επίσης για να δημιουργηθεί απαραίτητως το φαινόμενο doppler. Η ακτίνα laser διαπερνάει το κέντρο του **κελιού (2)** που περιέχει το δείγμα και ανιχνεύεται σκέδαση φωτός κατά 17 μοίρες. Κατά την εισαγωγή του κελιού στην υποδοχή, τα τερματικά του κελιού επιτρέπουν στο σύστημα να αναγνωρίσει τον τύπο του κελιού για τη μέτρηση δυναμικού Z που έχει εισαχθεί και δίνεται η εντολή στο λογισμικό να χρησιμοποιηθεί η κατάλληλη μετρητική αλληλουχία. Όταν εφαρμοσθεί ηλεκτρικό πεδίο στο κελί, θα έχει ως αποτέλεσμα η ένταση της ανιχνευόμενης ακτινοβολίας να παρουσιάζει διακυμάνσεις με συχνότητα ανάλογη της ταχύτητας κίνησης των σωματιδίων. Ένας **ανιχνευτής (3)** αποστέλει την πληροφορία αυτή σε έναν **ψηφιακό μετρητή σήματος (4)** και στη συνέχεια στον **ηλεκτρονικό υπολογιστή (5)**, όπου το λογισμικό του Zetasizer αναπαράγει το φάσμα συχνοτήτων από το οποίο μετρείται η ηλεκτροφορητική κινητικότητα και κατ' επέκταση το δυναμικό Z.

Η ένταση του σκεδασμένου φωτός εντός του κελιού της μέτρησης, πρέπει να ανήκει σε ένα συγκεκριμένο εύρος, έτσι ώστε η μέτρηση που θα εκτελέσει ο ανιχνευτής να είναι επιτυχής. Εάν ανιχνευθεί πολύ μεγαλύτερη ποσότητα ακτινοβολίας, τότε ο ανιχνευτής παθαίνει υπερφόρτωση. Για να ξεπεραστεί το εμπόδιο αυτό, χρησιμοποιείται ένας **εξασθενητής (7)** για να μειωθεί η ένταση του laser και συνεπώς και η ένταση του φαινομένου της σκέδασης. Με άλλα λόγια, σε δείγματα στα οποία δεν παρατηρείται μεγάλη σκέδαση φωτός (π.χ. πολύ μικρά σωματίδια ή δείγματα πολύ χαμηλής συγκέντρωσης) πρέπει η ποσότητα του σκεδασμένου φωτός να αυξηθεί. Ο εξασθενητής τότε αυτόματα θα επιτρέψει περισσότερο φως να διαπεράσει το δείγμα. Αντίστοιχα θα μειώσει την ποσότητα του φωτός που θα διαπεράσει ένα δείγμα, εάν πρόκειται για πυκνότερο δείγμα με μεγαλύτερα σωματίδια, το οποίο προκαλεί μεγαλύτερη σκέδαση φωτός.

Για τη διόρθωση οποιωνδήποτε διαφορών στο πάχος τοιχώματος του κελιού και της διάθλασης του διαλύτη, έχει εγκατασταθεί **αντισταθμιστικός οπτικός εξοπλισμός (7)** εντός του χώρου στον οποίο γίνεται η σκέδαση της ακτίνας έτσι ώστε να διατηρηθεί η ευθυγράμμιση των ακτίνων. Η διάταξη φαίνεται αναπαρίσταται παρακάτω : ^[12]



Εικόνα 22 : Διάταξη μετρήσεων δυναμικού Z

4.2 Αρχή υπολογισμού δυναμικού Z

Η μέτρηση του δυναμικού Z σε όλη τη γκάμα των οργάνων Zetasizer έχει ως σημείο αναφοράς την τεχνική ηλεκτροφόρησης laser Doppler. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για την μέτρηση της κίνησης φορτισμένων σωματιδίων μέσα σε ένα ηλεκτρικό πεδίο, το οποίο υπακούει στο φαινόμενο Doppler. Όταν το φως σκεδάζεται από ένα κινούμενο σωματίδιο, στο σωματίδιο αυτό παρατηρείται μία αλλαγή στην αρχική συχνότητά του. Επειδή όμως τα σωματίδια αυτά κινούνται, τότε η συχνότητα F_2 που θα αποκτήσει το διασκεδασμένο φως, θα είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη συχνότητα F_1 η οποία θα προέκυπτε εάν τα σωματίδια αυτά ήταν ακίνητα (δηλαδή η ταχύτητά τους ήταν μηδενική). Επειδή όμως η συχνότητα του φωτός είναι πολύ υψηλή (10^{14} Hz), η μεταβολή στην συχνότητά του μπορεί να υπολογισθεί αποκλειστικά είτε με οπτική μίξη, είτε με τεχνική συμβολομετρίας. Αυτό επιτυγχάνεται στην πράξη, χρησιμοποιώντας ένα ζεύγος αμοιβαία συσχετιζόμενων ακτίνων laser οι οποίες παράγονται από την ίδια πηγή και ακολουθούν παρόμοιο μήκος διαδρομής. Μία από αυτές τις ακτίνες πρέπει να περάσει εντός του σωματιδίου μέσω της σκέδασης (ακτίνα σκέδασης) και η άλλη μπορεί να περάσει είτε εντός του δείγματος, είτε περιμετρικά του κελιού. Η ακτίνα αυτή ονομάζεται ακτίνα αναφοράς. Το διασκεδασμένο φως από τα σωματίδια σε συνδυασμό με την ακτίνα αναφοράς, δημιουργούν τις παραλλαγές της έντασης.

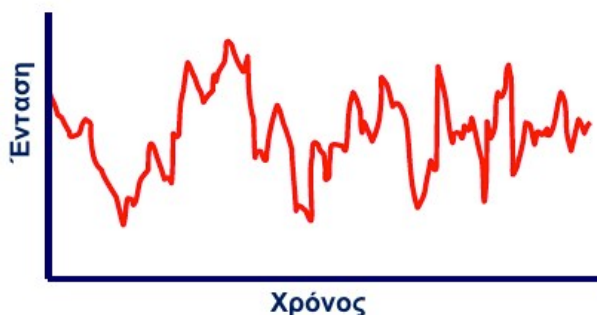
Σε όργανα όπου οι δύο ακτίνες laser διασταυρώνονται στην τριχοειδή κυψελίδα (capillary cell), ένα αποτελεσματικό και χρήσιμο μοντέλο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εξηγήσει την παραπάνω τεχνική μέτρησης είναι το μοντέλο των παρεμβαλλόμενων κροσσών. Στο σημείο όπου διασταυρώνονται οι ακτίνες, σχηματίζονται κροσσοί. Η απόσταση μεταξύ αυτών των κροσσών θα πυροδοτήσει την ισχυροποίηση συγκεκριμένων συχνοτήτων εντός του διασκεδασμένου φωτός, καθώς τα σωματίδια που σχετίζονται με αυτές τις συχνότητες διαπερνούν τους κροσσούς. Η τιμή αυτής της συχνότητας των συστατικών που ουσιαστικά είναι υπεύθυνα για αυτήν, καθορίζεται από την κινητικότητα των σωματιδίων.

Έτσι λοιπόν συνδυάζοντας τις συχνότητες F_1 και F_2 που αναφέρθηκαν προηγουμένως, προκύπτει μία μορφοποιημένη ακτίνα εξαιτίας των ενισχυτικών και αναιρετικών κροσσών, η οποία έχει μικρότερη και πολύ ευκολότερα υπολογίσιμη τιμή. Η συχνότητα αυτή ονομάζεται συχνότητα χτύπου (beat frequency) και είναι η διαφορά των F_1 και F_2 . Με τη χρήση αυτής της συχνότητας υπολογίζεται η κινητικότητα των σωματιδίων. Το μέγεθος της μεταβολής συχνότητας που προκύπτει σύμφωνα με το φαινόμενο Doppler είναι αποτέλεσμα σύγκρισης της συχνότητας αναφοράς (η οποία προκύπτει από την ακτίνα αναφοράς που αναφέρθηκε προηγουμένως) και της συχνότητας χτύπου. Η ανάλυση από το Zetasizer ZS γίνεται μέσω της τεχνικής PALS (Phase Analysis Light Scattering) σε σύζευξη με την τεχνική M3 οι οποίες περιγράφονται στη συνέχεια.^[1,2]

3.3 Τεχνική PALS (Phase Analysis Light Scattering)

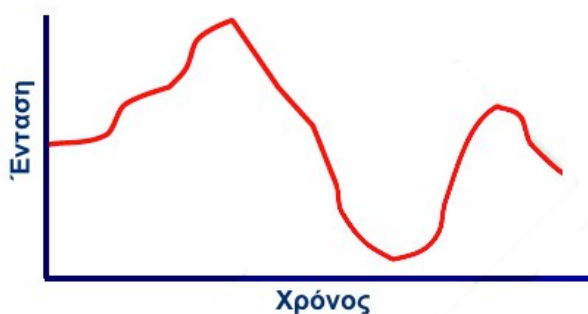
Η τεχνική PALS χρησιμοποιεί την ίδια οργανολογία με την συμβατική τεχνική ηλεκτροφόρησης Laser Doppler. Η διαφορά όμως έγκειται στην μέθοδο επεξεργασίας του σήματος. Αντί για την μέτρηση της μεταβολής της συχνότητας, μετρείται η μεταβολή φάσης. Η μετρούμενη αλλαγή φάσης είναι ανάλογη της αλλαγής της θέσης των σωματιδίων. Η τεχνική PALS μπορεί να δώσει βελτιωμένη απόδοση μέχρι και 100 φορές σε σύγκριση με συμβατικότερες τεχνικές μέτρησης. Αυτό καθιστά δυνατή τη μέτρηση δειγμάτων με υψηλή αγωγιμότητα όπου χρειάζεται η εφαρμογή χαμηλής τάσης για την αποφυγή προβλημάτων στο δείγμα, εξαιτίας της θερμότητας Joule. Επίσης η τεχνική αυτή επιτρέπει και την ακριβή μέτρηση δειγμάτων με χαμηλή κινητικότητα σωματιδίων, όπως για παράδειγμα δείγματα με μεγάλο ιξώδες ή ακόμη και μη υδατικά.

Η ηλεκτροφορητική συνεισφορά στην κίνηση των σωματιδίων μπορεί να ανιχνευθεί μόνο από τις ταλαντώσεις του μεταβλημένου κατά τη συχνότητα δείγματος. Αυτό είναι καλό για σωματίδια με υψηλή κινητικότητα, διότι λαμβάνουν μεγάλο ποσό ενέργειας από το ηλεκτρικό πεδίο που τα μετακινεί εντός της ακτίνας, παράγοντας πολλές ταλαντώσεις μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα, όπως δείχνει το παρακάτω διάγραμμα.



Εικόνα 23 : Ταλάντωση σωματιδίων υψηλής κινητικότητας

Για σωματίδια χαμηλής κινητικότητας, μόνο ένα μέρος της ταλάντωσης μπορεί να έχει ολοκληρωθεί κατά τον χρόνο που γίνεται η μέτρηση. Έτσι δεν γίνεται να μετρηθεί η κίνησή τους με τη χρήση μετασχηματισμού Fourier. Παρόλα αυτά, εάν θεωρηθεί ως φάση η κίνηση σωματιδίων κατά μισό μήκος κύματος, τότε το πρόβλημα αποκτά διαστάσεις που είναι ευκολότερο να μετρηθούν, όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα.^[12]



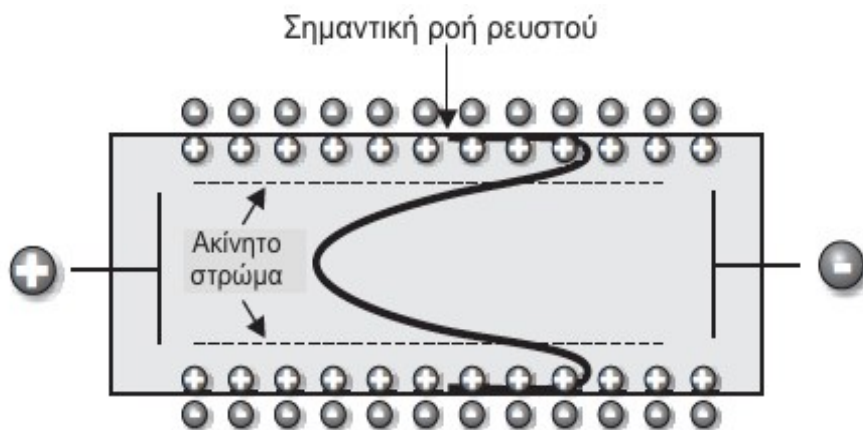
Εικόνα 24 : Ταλάντωση σωματιδίων χαμηλής κινητικότητας

3.4 Τεχνική M3

Οι καθιερωμένες ηλεκτροφορητικές μετρήσεις λαμβάνονται από μετρήσεις σωματιδίων στο στάσιμό τους στρώμα, μία θέση που προσδίδει ακρίβεια κοντά στο τοίχωμα του κελιού. Με την M3, η μέτρηση μπορεί θεωρητικά να γίνει οπουδήποτε μέσα στο κελί, παρότι στο Zetasizer Nano γίνεται στο κέντρο του κελιού. Στην πράξη όμως η μέθοδος M3 εκτελεί την μέτρηση στο μέσο του κελιού και όχι στο στάσιμο στρώμα. Αυτό συμβαίνει για τους εξής λόγους :

- Μετρώντας μακριά από το τοίχωμα του κελιού, μειώνεται η πιθανότητα να παρουσιαστεί αντανάκλαση από την κοντινή επιφάνεια.
- Η ευθυγράμμιση του κελιού είναι λιγότερο σημαντική.
- Το ποσό της φόρτισης που λαμβάνει το τοίχωμα του κελιού μπορεί να υπολογιστεί.

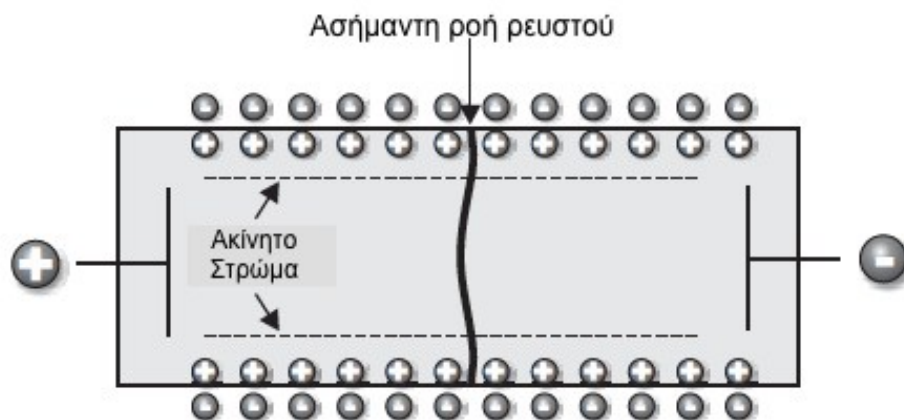
Η τεχνική M3 εκτελεί δύο κύκλους για κάθε μέτρηση δυναμικού Z που πραγματοποιείται, έναν στον οποίο το εφαρμοζόμενο πεδίο αντιστρέφεται αργά και ονομάζεται στάδιο SFR και έναν άλλο με γρήγορα αναστρεφόμενο το εφαρμοζόμενο πεδίο η οποία ονομάζεται στάδιο FFR. Η αναστροφή χρησιμοποιείται για να μειωθεί η πόλωση των ηλεκτροδίων, κάτι το οποίο μέσα σε ένα αγώγιμο διάλυμα είναι αναπόφευχτο. Κατά το στάδιο SFR (Slow Field Reversal), το πεδίο αντιστρέφεται περίπου κάθε ένα δευτερόλεπτο, αφήνοντας έτσι την ροή του υγρού να σταθεροποιηθεί. ^[12]



Εικόνα 25 : Στάδιο SFR

Εάν το πεδίο αντιστραφεί με γρηγορότερο ρυθμό, όπως συμβαίνει στο στάδιο FFR (Fast Field Reversal) καθίσταται η δυνατότητα να παρατηρηθεί ότι τα σωματίδια αποκτούν την τελική τους ταχύτητα, ενώ η ροή του υγρού δεν επηρεάζεται από το φαινόμενο της ηλεκτροόσμωσης. Υπολογίζεται δηλαδή αποκλειστικά η ηλεκτροφόρηση των σωματιδίων. Η μέση τιμή του δυναμικού Z η οποία υπολογίζεται με αυτήν την τεχνική είναι πολύ αξιόπιστη, καθώς η θέση του κελιού δεν είναι σημαντική.

Παρ'όλα αυτά, επειδή η ταχύτητα των σωματιδίων υπολογίζεται για πολύ μικρό χρονικό διάστημα, οι πληροφορίες που προκύπτουν για την κατανομή είναι ανεπαρκείς.

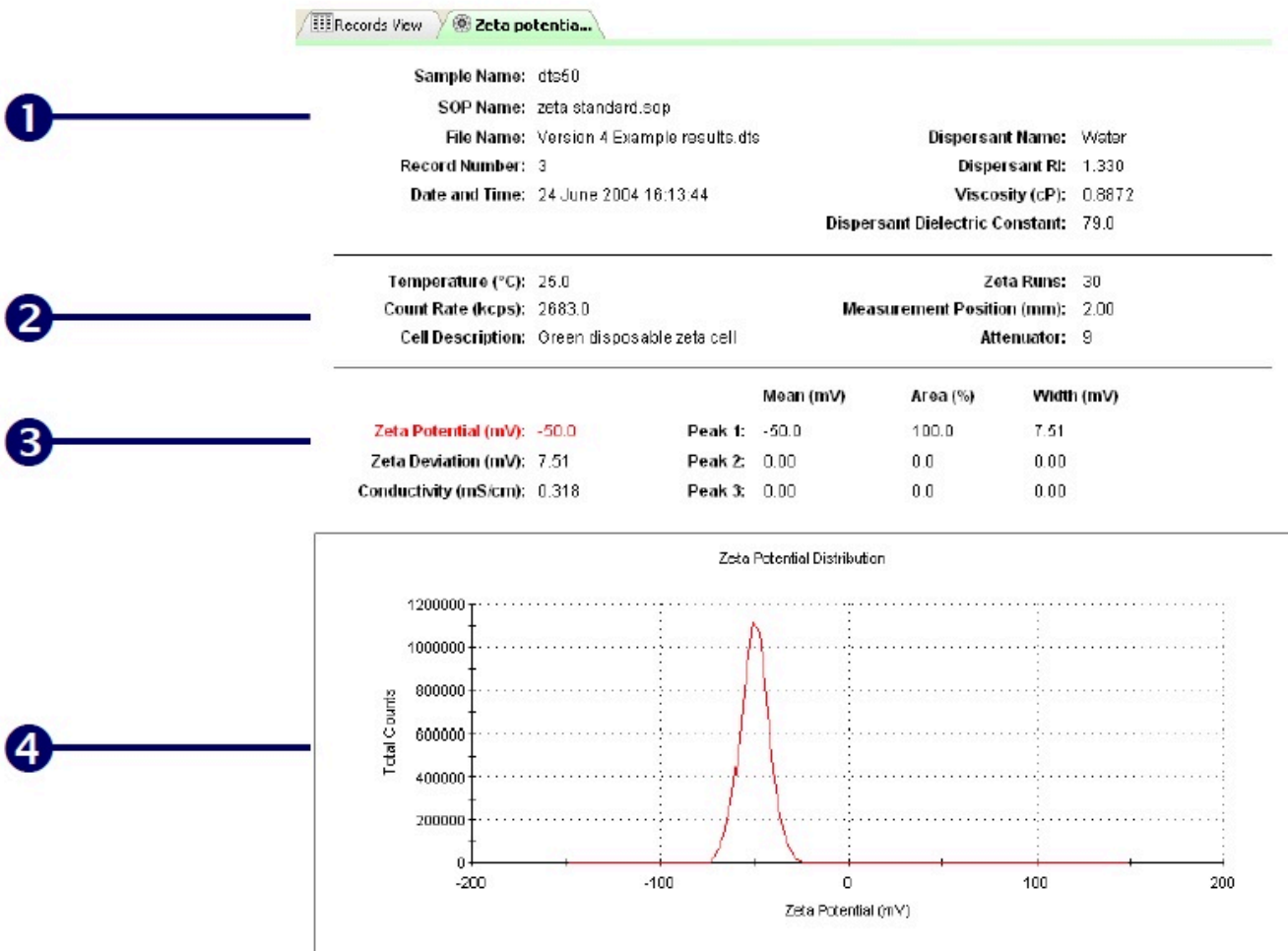


Εικόνα 26 : Στάδιο FFR

Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται συνδυαστικά και η τεχνική PALS που περιγράφηκε παραπάνω. Έτσι λοιπόν, η συνδυαστική τεχνική που προκύπτει ονομάζεται M3 – PALS η οποία επιτρέπει αφενώς την μέτρηση της ηλεκτροφόρησης των σωματιδίων του εκάστοτε διαλύματος, αφετέρου παρέχει τις απαραίτητες πληροφορίες για να σχηματιστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια η κατανομή της έντασης σε σχέση με το χρόνο που είναι αναγκαίο για την διερεύνηση του μεγέθους των σωματιδίων.^[12]

3.5 Ποιοτικός έλεγχος μέτρησης δυναμικού Z

Στο Zetasizer δεν είναι αρκετή απλά και μόνο η λήψη μετρήσεων συγκεκριμένων δειγμάτων. Είναι αναγκαίο ο χρήστης να μπορεί να διαχειριστεί τα δεδομένα και τις ενδείξεις με τέτοιο τρόπο ώστε να καταλαβαίνει κάθε φορά αν η μέτρηση και κατ' επέκταση τα αποτελέσματα που λαμβάνει είναι έγκυρα ή αν δεν θα πρέπει να ληφθούν υπόψη στην περαιτέρω επεξεργασία και ανάλυση των αποτελεσμάτων. Το γεγονός αυτό μπορούν να το επηρεάσουν και παράγοντες εντός του οργάνου, αλλά και τα χαρακτηριστικά και η συμβατότητα του δείγματος με το όργανο. Ο ποιοτικός έλεγχος (zeta quality report) του οργάνου εκτελεί συγκεκριμένα τεστ κάθε φορά στα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις μετρήσεις. Όπως παρατηρείται και στην εικόνα, η σχετική καρτέλα στο περιβάλλον χρήστη οριοθετείται από τέσσερις περιοχές. Στους πίνακες που ακολουθούν αναλύεται πώς ο χρήστης μπορεί να ερμηνεύσει αυτά τα στοιχεία με τρόπο τέτοιο ώστε να αντλήσει στοιχεία για την εγκυρότητα των αποτελεσμάτων του. [7]



UI 1 : Οθόνη αποτελεσμάτων

Πίνακας 7 : Ποιοτικός έλεγχος τεστ 1

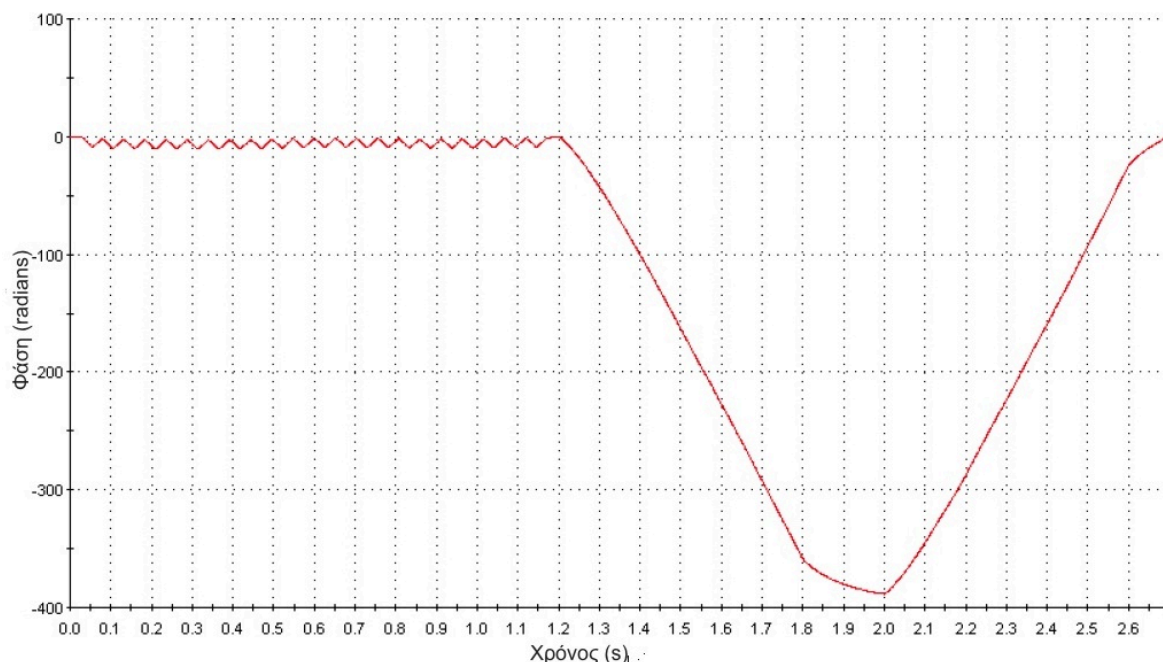
Αριθμός Τεστ	Περιγραφή	Προειδοποιητικό μήνυμα	Λόγοι προειδοποιητικού μηνύματος	Πιθανές λύσεις στο πρόβλημα
1	<p>Ελέγξτε την ένταση της ακτίνας αναφοράς.</p> <p>Είναι η ακτίνα αναφοράς μεγαλύτερη από 500 kcps ;</p>	<p>Ο ρυθμός μέτρησης της ακτίνας αναφοράς είναι πολύ χαμηλός.</p> <p>Εάν παρατηρείται σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων, είναι αναγκαία η τεχνική υποστήριξη.</p>	<p>Κακή ευθυγράμμιση της ακτίνας αναφοράς.</p>	<p>Τεχνική υποστήριξη.</p>

Η περίπτωση αυτή είναι καθαρά θέμα του οργάνου και απαιτεί αποκλειστικά και μόνο παρέμβαση από εξειδικευμένο τεχνικό προσωπικό.

Πίνακας 8 : Ποιοτικός έλεγχος τεστ 2

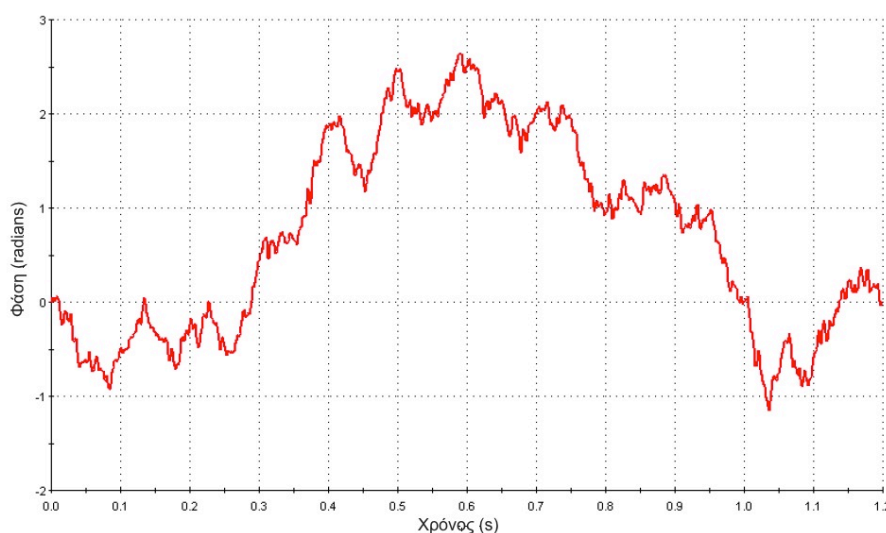
Αριθμός Τεστ	Περιγραφή	Προειδοποιητικό μήνυμα	Λόγοι προειδοποιητικού μηνύματος	Πιθανές λύσεις στο πρόβλημα
2	Ελέγξτε τις τιμές του διαγράμματος φάσης (phase plot). Είναι ο παράγοντας ποιότητας (quality factor) μικρότερος από 1 ;	Ανεπαρκή δεδομένα φάσης – χαμηλός λόγος σηματος προς θορύβου.	Πολύ χαμηλή συγκέντρωση δείγματος	Αύξηση των πραγματοποιούμενων κύκλων ανά μέτρηση. Αύξηση της συγκέντρωσης του δείγματος και επανάληψη μέτρησης.
			Πολύ υψηλή συγκέντρωση δείγματος	Αύξηση των πραγματοποιούμενων κύκλων ανά μέτρηση. Αραίωση δείγματος και επανάληψη μέτρησης.
			Μεγάλη αγωγιμότητα που προκαλεί εκφυλισμό στο δείγμα και στα ηλεκτρόδια	Έλεγχος ότι ακολουθείται μονοτροπικό μοντέλο ανάλυσης. Χειροκίνητη ελάττωση της τάσης.
			Χαμηλό δυναμικό Z – σχεδόν ουδέτερο	Καμία πιθανή λύση.

Ένας πρακτικότερος τρόπος (χωρίς να γίνει ανάλυση του παράγοντα ποιότητας), είναι η μορφολογία του διαγράμματος φάσης. Το διάγραμμα φάσης αναπαριστά τη διαφορά φάσης μεταξύ μιας ακτίνας και της ακτίνας αναφοράς ως συνάρτηση του χρόνου. Έχει αποκλειστικά και μόνο μία αποδεκτή μορφή και συνεπώς αρκεί η παρατήρησή του για να διαπιστωθεί αν η μέτρηση είναι έγκυρη. Παρακάτω ακολουθούν δύο παραδείγματα : το αποδεκτό και ένα μη αποδεκτό διάγραμμα φάσης.



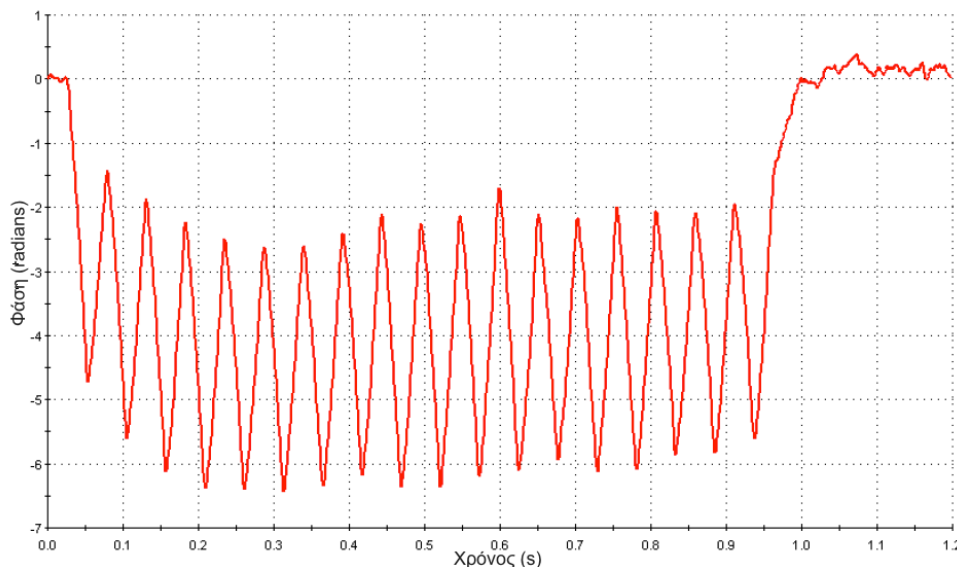
Εικόνα 27 : Αποδεκτή μορφή διαγράμματος φάσης

Πρόκειται για την **αποδεκτή** μορφή του διαγράμματος φάσης. Η μορφολογία του οφείλεται στην επίδραση του φαινομένου της ηλεκτροφόρησης και της ηλεκτροόσμωσης. Η συγκεκριμένη μορφολογία αυτού του διαγράμματος εξασφαλίζει αυτομάτως ότι η μέτρηση και κατ' επέκταση τα αποτελέσματα είναι έγκυρα. Οποιαδήποτε άλλη μορφή του διαγράμματος, όπως αυτή που ακολουθεί δεν αποτελεί ένδειξη έγκυρης μέτρησης και το πρόβλημα μπορεί να επιλυθεί με βάση το σχετικό πίνακα. [7]



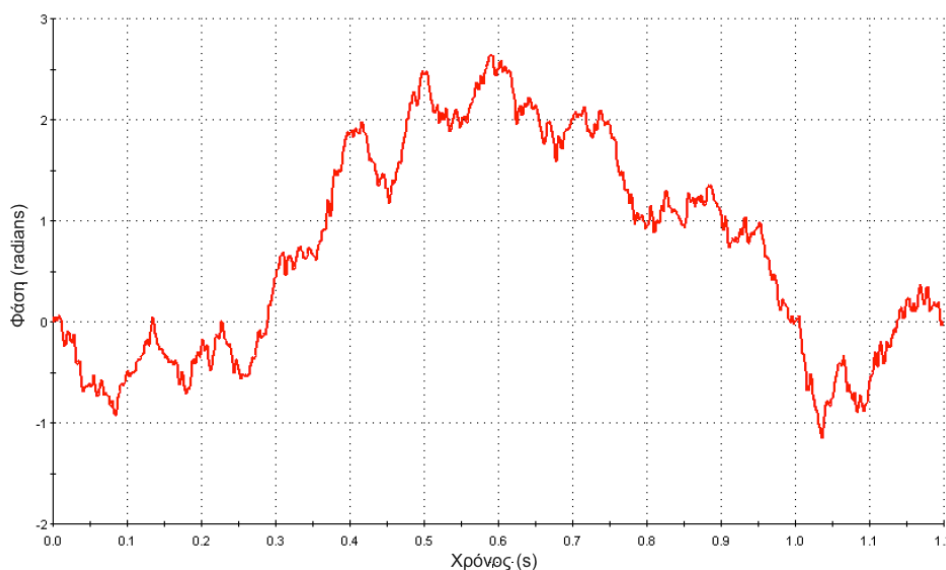
Εικόνα 28 : Μη αποδεκτή μορφή διαγράμματος φάσης

Στην περίπτωση μονοτροπικών δειγμάτων, τα διαγράμματα φάσης ακολουθούν κι εκεί τον αντίστοιχο πρακτικό κανόνα της μορφολογίας που προδίδει αν η μέτρηση που λήφθηκε είναι έγκυρη ή όχι.



Εικόνα 29 : Μονοτροπικό διάλυμα - αποδεκτό διάγραμμα φάσης

Πρόκειται για την **αποδεκτή** μορφή του διαγράμματος φάσης για την περίπτωση του μονοτροπικού δείγματος. Οποιαδήποτε άλλη μορφή του διαγράμματος, όπως αυτή που ακολουθεί δεν αποτελεί ένδειξη έγκυρης μέτρησης και το πρόβλημα μπορεί να επιλυθεί με βάση το σχετικό πίνακα. [7]

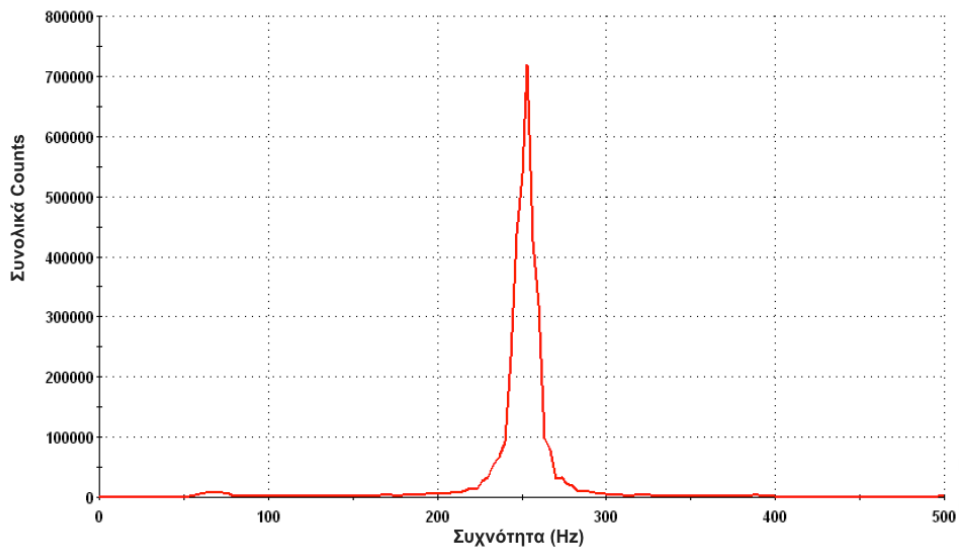


Εικόνα 30 : Μονοτροπικό διάλυμα - μη αποδεκτό διάγραμμα φάσης

Πίνακας 9 : Ποιοτικός έλεγχος τεστ 3

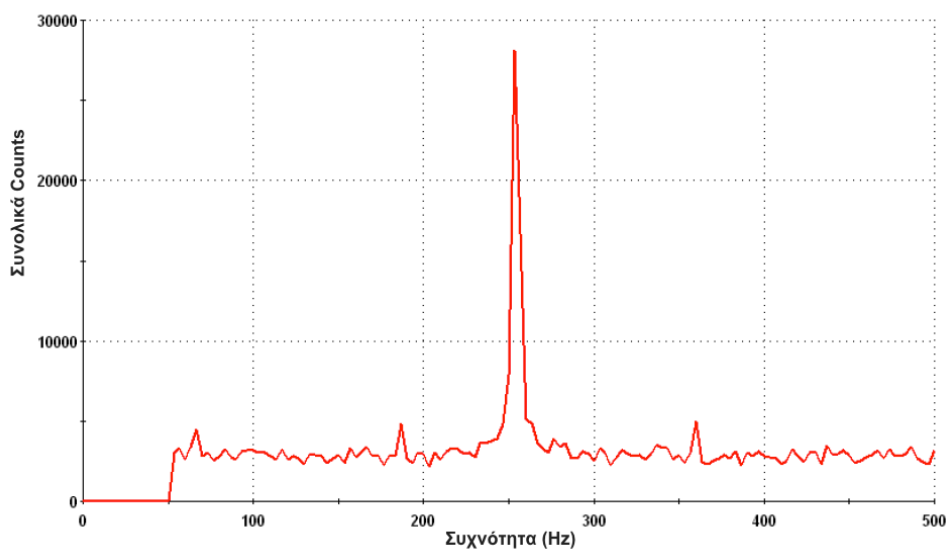
Αριθμός τεστ	Περιγραφή	Προειδοποιητικό μήνυμα	Λόγοι προειδοποιητικού μηνύματος	Πιθανές λύσεις
3	<p>Ελέγξτε την ποιότητα του διαγράμματος κατανομής.</p> <p>Είναι ο δείκτης SFR μικρότερος από 1 ;</p>	Ανεπαρκή δεδομένα κατανομής	Πολύ χαμηλή συγκέντρωση δείγματος	Αύξηση των πραγματοποιούμενων κύκλων ανά μέτρηση.
				Αύξηση της συγκέντρωσης του δείγματος και επανάληψη μέτρησης.
			Πολύ υψηλή συγκέντρωση δείγματος	Αύξηση των πραγματοποιούμενων κύκλων ανά μέτρηση.
				Αραίωση δείγματος και επανάληψη μέτρησης.
			Μεγάλη αγωγιμότητα που προκαλεί εκφυλισμό στο δείγμα και στα ηλεκτρόδια	Έλεγχος ότι ακολουθείται μονοτροπικό μοντέλο ανάλυσης.
				Χειροκίνητη ελάττωση της τάσης.

Για τη διασφάλιση της εγκυρότητας των μετρήσεων που έχουν διεξαχθεί, είναι απαραίτητο το διάγραμμα κατανομής της συχνότητας να έχει και αυτό μια συγκεκριμένη μορφή. Η baseline του πρέπει να προσεγγίζει κατά το βέλτιστο τον άξονα της συχνότητας, ενώ θα πρέπει να παρουσιάζεται αποκλειστικά και μόνο μία κορυφή η οποία θα έχει ύψος το οποίο θα είναι αριθμητικά αξιοσήμαντο (πρακτικά δηλαδή μεγαλύτερο από 100.000) έτσι ώστε η ανάλυση να παρέχει ένα ουσιαστικό αποτέλεσμα και ένα πλάτος σχετικά μικρό. Ένα τέτοιο έγκυρο και αποδεκτό διάγραμμα είναι το παρακάτω :



Εικόνα 31 : Αποδεκτή μορφή διαγράμματος δυναμικού Z

Είναι πολύ σημαντικό να μην εμφανίζονται αλλού κορυφές, καθώς αυτό μπορεί να αποτελεί είτε θόρυβο, είτε το δείγμα να μην πληρεί τις προϋποθέσεις για να μετρηθεί στο Zetasizer. Ένα παράδειγμα διαγράμματος κατανομής συχνότητας που δεν μπορεί να γίνει αποδεκτό είναι το παρακάτω : [7]



Εικόνα 32 : Μη αποδεκτή μορφή διαγράμματος δυναμικού Z

5. Είδη διαθέσιμων κελιών

Τα διαθέσιμα κελιά στο εργαστήριο είναι δύο ειδών. Αυτά είναι το universal 'dip' cell και το folded capillary cell. Παρακάτω θα γίνει σύντομη αναφορά στο καθένα όσον αφορά τη χρησιμότητα, τα πλεονεκτήματα και τις ιδιαιτερότητες καθενός από αυτούς τους δύο τύπους.

5.1 Universal 'dip' cell (ZEN1002)

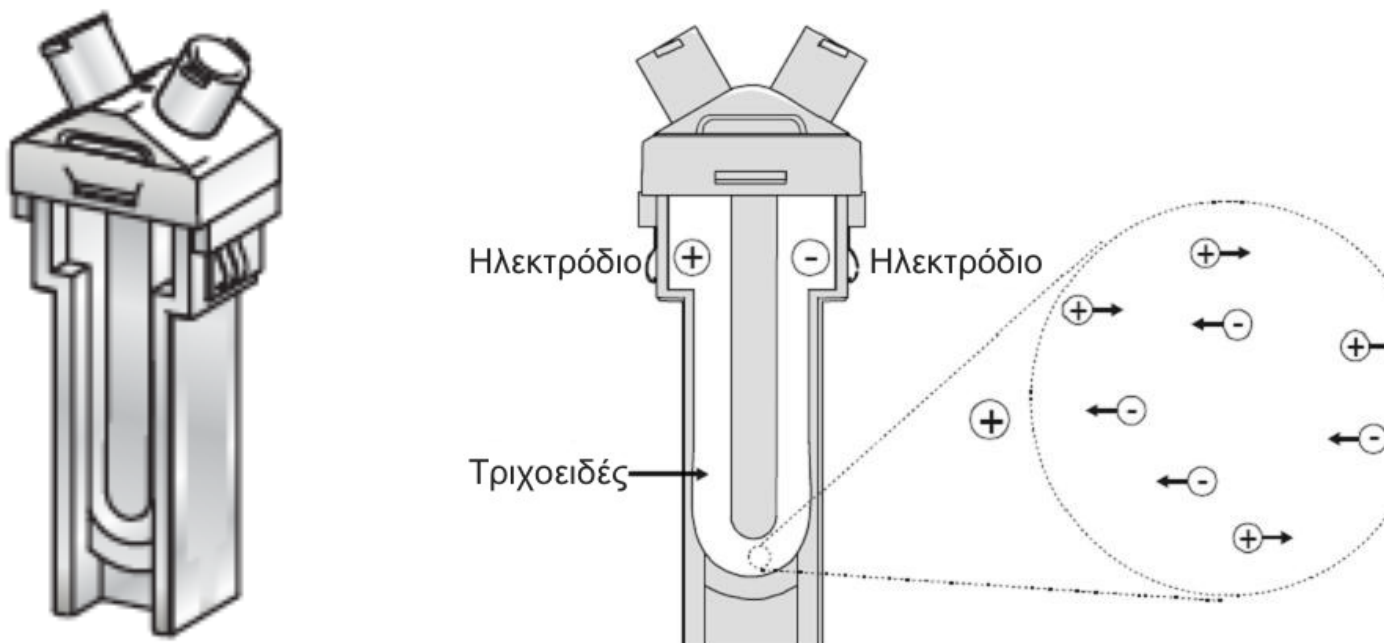
Αυτός ο τύπος κελιού χρησιμοποιείται ως μία μέθοδος μέτρησης δυναμικού Z αλλά και μεγέθους σωματιδίων, σε υδατικά και μη υδατικά διαλύματα. Το κάθε δείγμα προετοιμάζεται στην κυβέττα, εισάγεται το κελί και ύστερα εισάγεται το σύστημα κυβέττας - κελιού στην υποδοχή του Zetasizer. Ανάλογα με τον διαλύτη που χαρακτηρίζει το κάθε δείγμα, επιλέγεται και ο κατάλληλος τύπος κυβέττας. Για τα υδατικά διαλύματα χρησιμοποιείται τύπος κυβέττας DTS0012, ο οποίος είναι μίας χρήσεως και είναι από πολυστυρένιο. Αυτή η περίπτωση προσφέρει πολύ καλή οπτική διαφάνεια, χαμηλό κόστος και χαμηλή κατανάλωση δείγματος (η ελάχιστη ποσότητα που απαιτείται είναι 375 μL). Όμως, δεν ενδείκνεται για οργανικούς διαλύτες, ούτε για χρήση σε θερμοκρασίες πάνω από 50°C και απαιτεί προσεκτική εισαγωγή δείγματος για να μην παγιδευτούν φυσαλίδες. Σε μη υδατικά διαλύματα, υπάρχουν άλλοι διαθέσιμοι τύποι κυβέττας οι οποίοι είναι είτε γυάλινοι είτε από χαλαζία, που προσδίδουν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά στην εκάστοτε μέτρηση. Τα κελιά αυτά όμως απαιτούν μεγαλύτερη εισαγόμενη ποσότητα δείγματος καθώς και προσεκτικό καθαρισμό, διότι δεν είναι μίας χρήσεως. Επίσης, είναι καλό πριν από την κάθε μέτρηση, να βυθίζεται το dip cell για ένα μικρό χρονικό διάστημα σε ένα σκεύος που να περιέχει τον εκάστοτε διαλύτη. Στην φωτογραφία απεικονίζονται το μέγιστο και ελάχιστο ογκομετρικό ύψος που η εισαγωγή του δείγματος είναι επαρκής χωρίς να υπάρξει υπερχείλιση.^[11]



Εικόνα 33 : Universal 'dip' cell

5.2 Folded Capillary Cell (DTS1060)

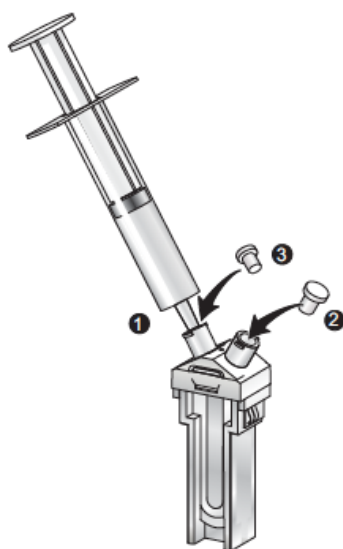
Το κελί αυτό σχεδιάστηκε κυρίως για να εκτελεί μετρήσεις δυναμικού Z, αν και μπορεί να εκτελεί και μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων. Επίσης έχει το πλεονέκτημα να είναι αναλώσιμο, δηλαδή να μην χρειάζεται καθαρισμό αλλά μετά από κάθε μέτρηση να πετιέται αλλά και να έχει χαμηλό κόστος. Έτσι αποφεύγεται οποιαδήποτε πιθανότητα να υπάρξει παρεμβολή στις μετρήσεις υπολείμματα από προηγούμενα δείγματα. Επίσης η εισαγωγή του στο μηχάνημα μπορεί να γίνει και από τις δύο πλευρές. Τα κελιά αυτά όμως είναι δυνατόν να ξαναχρησιμοποιηθούν με τον κατάλληλο καθαρισμό που περιγράφεται στη συνέχεια.^[11]



Εικόνα 34 : Folded capillary cell

Απαιτείται μία συγκεκριμένη διαδικασία κατά το γέμισμα του συγκεκριμένου τύπου κελιού με το δείγμα. Τα βήματα της διαδικασίας αυτής είναι τα εξής :

- Προετοιμάζεται το δείγμα σε μία σύριγγα που να χωράει τουλάχιστον 1 mL.
- Η σύριγγα εισέρχεται σε μία από τις δύο εισόδους δείγματος.
- Εισάγεται με αργό ρυθμό το δείγμα μέσα στο κελί (1), διασφαλίζοντας ότι δεν υπάρχουν εντός του κελιού φυσαλίδες αέρα. Εάν υπάρχουν φυσαλίδες, τότε ο χρήστης πρέπει να τις εισροφήσει πίσω με τη σύριγγα και να ξαναεπαναλάβει την εισαγωγή του δείγματος.
- Όταν το δείγμα αρχίσει να εμφανίζεται στην δεύτερη είσοδο του κελιού, τοποθετείται μία τάπα (2).
- Τότε αποσυνδέεται η σύριγγα και τοποθετείται και σε αυτή την είσοδο μια δεύτερη τάπα.
- Πρέπει τα ηλεκτρόδια του κελιού να είναι πλήρως καλυμμένα από το δείγμα, και αν παρατηρηθούν σε αυτό το σημείο φυσαλίδες αέρα είναι δυνατόν πιέζοντας ελαφρά το κελί να διαλυθούν.
- Καθαρίζεται εξωτερικά τυχόν ποσότητα δείγματος που έχει χυθεί πάνω στα ηλεκτρόδια. ^[12]



Εικόνα 35 : Έγκλειση και εισαγωγή δείγματος σε folded capillary cell

Ο καθαρισμός του συγκεκριμένου τύπου κελιού, σε περίπτωση που η αντικατάστασή του δεν είναι εφικτή, έχει μια ιδιαίτερη διαδικασία. Βασική προϋπόθεση σε όλη αυτή την έκπλυση είναι το κελί να κρατιέται από τον εκάστοτε χειριστή στο ύψος που υποδεικνύεται από την εικόνα παρακάτω, για να μην συσσωρευτεί λίπος από τα δάχτυλα του χειριστή σε σημείο που μπορεί να επηρεαστεί η ακρίβεια της μέτρησης :



Εικόνα 36 : Πρότυπος τρόπος μεταχείρισης folded capillary cell

Τα βήματα της διαδικασίας αυτής είναι :

- Αφαίρεση των ταπών και από τις δύο εισόδους δείγματος.
- Όπως στην διαδικασία της πλήρωσης του κελιού, εισέρχεται πάλι μία σύριγγα στην μία είσοδο δείγματος, η οποία περιέχει αιθανόλη.
- Πιέζοντας τη σύριγγα αφήνεται η αιθανόλη να διασχίσει το κελί και να εξέλθει από την άλλη είσοδο δείγματος του κελιού. Μετά αφαιρείται η σύριγγα.
- Εισέρχεται μία σύριγγα που να περιέχει τον διαλύτη της επόμενης προς μέτρηση ουσίας σε καθεμιά είσοδο δείγματος του κελιού. Γίνεται εκρόφηση από τη μία σύριγγα και εισρόφηση στην άλλη για 2 με 3 λεπτά όπως φαίνεται αποσπασματικά στο ένθετο βίντεο. ^[12]



Εικόνα 37 : Καθαρισμός folded capillary cell

5.3 Συμβατότητα δείγματος με το Zetasizer

Δεν είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί μέτρηση οποιουδήποτε δείγματος με το Zetasizer. Για να βγουν αξιόπιστα τα αποτελέσματα πρέπει το δείγμα που εισάγεται να πληρεί κάποιες προϋποθέσεις. Μορφολογικά πρέπει να αποτελείται από μία στερεή διαλυμένη ουσία (σωματίδια) μέσα σε έναν υγρό διαλύτη. Για το λόγο αυτό, καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν οι ιδιότητες του εκάστοτε διαλύτη, οι οποίες πιστοποιούνται από ISO 13321 (1996). Αυτές θα πρέπει να είναι οι εξής :

- Ο δείκτης διάθλασής του πρέπει να είναι διαφορετικός από τον δείκτη διάθλασης των σωματιδίων, το οποίο είναι αναγκαίο για να μπορέσει να μετρηθεί η σκέδαση του φωτός από τα σωματίδια που αποτελούν τη διαλυμένη ουσία.
- Ο δείκτης διάθλασης και το ιξώδες πρέπει να είναι γνωστά με ακρίβεια μεγαλύτερη από 0,5 %.
- Ο διαλύτης πρέπει να είναι συμβατός με τη διαλυμένη ουσία. Αυτό σημαίνει ότι δεν πρέπει να καταβυθίζονται τα στερεά σωματίδια, να μην δημιουργούνται συσσωματώματα και διόγκωση. Φαινόμενα όπως η καθίζηση και η συσσωμάτωση διαδραματίζουν ανασταλτικό ρόλο στις μετρήσεις.
- Ο διαλύτης πρέπει να υπάρχει σε καθαρή μορφή και να είναι δυνατόν να υποστεί φιλτράρισμα.
- Το δείγμα να έχει pH το οποίο να ανήκει στο κλειστό διάστημα [2,12] για να υπάρχει επιτυχής μέτρηση. Αυτό σημαίνει ότι η ελάχιστη δυνατή τιμή pH που μπορεί να έχει ένα δείγμα είναι αυστηρά 2, ενώ αν υπάρχει δείγμα με τιμή pH έστω και ελάχιστα μεγαλύτερη από την μέγιστη δυνατή τιμή που είναι 12, η μέτρηση θα είναι άκυρη.
- Ο διαλύτης πρέπει να είναι διαφανής. Με την προσθήκη των σωματιδίων, το ιδανικό δείγμα θα αποκτά μία ελαφριά θολότητα. Σε τεχνικούς όρους, η ροή που θα μπορεί να αναπυχθεί εντός του δείγματος θα πρέπει να είναι *ελαφρώς τυρβώδης*. Όσον αφορά τη συγκέντρωση, εάν δεν είναι δυνατή η επιλογή αυτή στις περιπτώσεις που εξετάζονται κάθε φορά, πρέπει να επιλέγεται μία συγκέντρωση η οποία είναι ανεξάρτητη των αποτελεσμάτων που προκύπτουν και δεν παρατηρούνται αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σωματιδίων. Αυτό επιτυγχάνεται συνήθως για συγκεντρώσεις της τάξης κάτω του 0,1 % κατ' όγκο. Είναι επίσης πιθανό αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σωματιδίων οι οποίες θα έχουν άμεση επιρροή στα αποτελέσματα να συμβούν για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 1 % κατ' όγκο. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται μία συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των σωματιδίων και των προτεινόμενων ελάχιστων και μέγιστων συγκεντρώσεων που μπορεί ένα ανάλογο συμβατό δείγμα να έχει : ^[10,13]

Πίνακας 10 : Μεγέθη σωματιδίων και προτεινόμενες συγκεντρώσεις διαλυμάτων

Μέγεθος σωματιδίων	Ελάχιστη προτεινόμενη συγκέντρωση	Μέγιστη προτεινόμενη συγκέντρωση
< 10 nm	0,5 g/L	Δεν υπάρχει καθορισμένη τιμή. Περιορίζεται μόνο από τις ιδιότητες και την αλληλεπίδραση των εκάστοτε συστατικών του διαλύματος.
10 nm έως 100 nm	0,1 mg/L	5 % κατά μάζα (υποθετική πυκνότητα 1 g/cm ³)
100 nm έως 1 μm	0,01 g/L (10 ⁻³ % κατά μάζα)	1 % κατά μάζα (υποθετική πυκνότητα 1 g/cm ³)
> 1 μm	0,1 g/L (10 ⁻² % κατά μάζα)	1 % κατά μάζα (υποθετική πυκνότητα 1 g/cm ³)

6. Προετοιμασία δείγματος

6.1 Παραλαβή δείγματος

Πριν την πειραματική διαδικασία, είναι απαραίτητη η κατάλληλη προετοιμασία των δειγμάτων που πρόκειται να μετρηθούν. Τα δείγματα αυτά βρίσκονται όλα σε μορφή υγρού διαλύματος. Για την διεξαγωγή των μετρήσεων δυναμικού Z και μεγέθους σωματιδίων στο Zetasizer είναι αναγκαίο να είναι γνωστά από πριν η απορροφητικότητα (ABS) και ο δείκτης διάθλασης (RI) του δείγματος. Πριν ξεκινήσει η διαδικασία για την εύρεση των δύο αυτών μεγεθών, τα δείγματα αναδεύονται για χρονικό διάστημα 1 με 2 λεπτών και στη συνέχεια υπόκεινται σε ακτινοβολή με υπερήχους για χρονικό διάστημα 10 λεπτών, έτσι ώστε να είναι σταθερά για την διάρκεια που θα λάβουν χώρα οι μετρήσεις αλλά και να αποφευχθεί η δημιουργία συσσωμάτων κατά τη χρονική διάρκεια αυτή. Αυτό είναι απαραίτητο για να μην συμβεί καταβύθιση κατά τη διάρκεια των μετρήσεων κι έτσι τα αποτελέσματα να είναι λανθασμένα. Αυτή βέβαια δεν είναι η πανάκεια, διότι ένα δείγμα που εμφανίζει έντονη τάση προς δημιουργία συσσωματωμάτων το πιθανότερο είναι ότι θα ξαναεμφανίσει μετά από μικρό χρονικό διάστημα. Με την ακτινοβολή όμως με τους υπερήχους μειώνεται αυτή η πιθανότητα. Επίσης πριν οποιοδήποτε δείγμα τοποθετηθεί στο Zetasizer γίνεται μια γρήγορη ανάδευση και πάλι με τη χρήση ενός vortex.



Εικόνα 38 : Ανάδευση με χρήση vortex

6.2 Εύρεση απορροφητικότητας (ABSORPTION)

Η διαδικασία αυτή γίνεται στη συσκευή UV-Vis του εργαστηρίου. Εφόσον η συσκευή έχει παραμείνει ανοιχτή τουλάχιστον μία ώρα πριν την λήψη των μετρήσεων έτσι ώστε το μηχάνημα να επέλθει σε κατάσταση άριστης λειτουργίας, ξεκινάει η διαδικασία. Λαμβάνονται αρχικά δύο κατάλληλες πλαστικές κυβέττες μιας χρήσεως οι οποίες είναι συμβατές με το μηχάνημα. Στην μία κυβέττα τοποθετείται με πιπέτα η προς μέτρηση ουσία και στην άλλη τοποθετείται πάλι με τη χρήση πιπέτας ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή του προς μέτρηση δείγματος. Στα δείγματα που μετρήθηκαν, διαλύτης ήταν το νερό κι επομένως στη μία κυβέττα τοποθετήθηκε απιονισμένο νερό. Για να γίνει η μέτρηση είναι απαραίτητο οι κυβέττες να τοποθετούνται με έναν συγκεκριμένο προσανατολισμό : πρέπει η διεύθυνση που ορίζουν τα μικρά βέλη να τοποθετείται προς την ανοιχτή πλευρά της υποδοχής, έτσι ώστε στη συνέχεια να ακτινοβοληθεί από το μηχάνημα. Είναι πολύ σημαντικό η κυβέττα να είναι καθαρή εσωτερικά αλλά και εξωτερικά, καθώς πιθανές ακαθαρσίες που μπορεί να προέρχονται κυρίως από δακτυλικά αποτυπώματα μπορούν να αλλοιώσουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Τοποθετώντας με τον τρόπο αυτό τις κυβέττες με τον διαλύτη και την προς μέτρηση ουσία, κλείνεται το πλαστικό κάλυμμα.

Στη συνέχεια με τη χρήση του κουμπιού MAIN MENU εμφανίζεται το κεντρικό μενού. Με τα βελάκια προσανατολισμού και το κουμπί ENTER επιλέγεται η λειτουργία PHOTOMETRY και στη συνέχεια η υποκατηγορία TEST SETUP. Παρατηρείται ότι το μηχάνημα στην επιλογή WL(NM) έχει προεπιλεγμένη τιμή τα 664 nm. Επιλέγοντας με τον κέρσορα την τιμή αυτή, εισάγεται η τιμή 633 και επιβεβαιώνεται με το πλήκτρο ENTER. Αυτό γίνεται διότι η πηγή φωτισμού laser He - Ne του Zetasizer λειτουργεί σε μήκος κύματος 633 nm. Στην συνέχεια με χρήση του κουμπιού FORWARD εμφανίζεται η οθόνη όπου θα εμφανιστούν οι μετρήσεις. Με τη χρήση του κουμπιού START εμφανίζεται τελικά ένας πίνακας που στη στήλη με όνομα ID εμφανίζει τον αριθμό του κάθε δείγματος ξεκινώντας από το 1 και δεξιά στην στήλη ABSORPTION την αριθμητική τιμή της απορροφητικότητας του δείγματος, η οποία προκύπτει από τη σύγκρισή της με την αντίστοιχη τιμή απορροφητικότητας του εκάστοτε διαλύτη.



Εικόνα 39 : Διάταξη UV-Vis εργαστηρίου

6.3 Εύρεση δείκτη διάθλασης (RI)

Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα στο εργαστήριο των τροφίμων. Καθαρίζεται αρχικά η υποδοχή του διαθλασίμετρου με οινόπνευμα, έτσι ώστε να μην υπάρχουν υπολείμματα από προηγούμενες μετρήσεις. Στη συνέχεια με τη χρήση πιπέτας τοποθετούνται στο μετρητικό σημείο 2-3 σταγόνες του διαλύματος του οποίου ζητείται ο δείκτης διάθλασης. Έπειτα κλείνεται το διάφραγμα και ανασηκώνεται η πηγή φωτός πάνω από το διάφραγμα. Στην οθόνη του οργάνου ορίζεται ένα επίπεδο από δυο περιοχές : μια φωτεινή και μια σκοτεινή καθώς και ένα μεγάλο X το οποίο είναι ενσωματωμένο επάνω στον φακό. Με τον κέρσορα που υπάρχει στην δεξιά μεριά του οργάνου κεντράρεται το X στο σημείο του επιπέδου εκατέρωθεν του οποίου βρίσκονται η φωτεινή και η σκοτεινή περιοχή του επιπέδου. Τότε πατώντας το κουμπί του οργάνου με την ένδειξη READ εμφανίζεται στην οθόνη του η τιμή του δείκτη διάθλασης με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων. Η διαδικασία αυτή ακολουθήθηκε για όλα τα δείγματα που μετρήθηκαν.

Είναι αρκετά σημαντικό να τονιστεί ότι το Zetasizer στην εισαγωγή της τιμής RI για κάθε υλικό, όπως θα ειπωθεί και παρακάτω, έχει ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων. Αυτό σημαίνει ότι εισάγοντας τις τιμές που προέκυψαν από τις μετρήσεις στο φωτόμετρο, αυτές στρογγυλοποιούνται αυτόματα. Με την ολοκλήρωση των δύο αυτών διαδικασιών προετοιμασίας το επόμενο βήμα είναι η λήψη μετρήσεων από το Zetasizer.

7. Λήψη μετρήσεων

7.1 Πρωτόκολλο μετρήσεων

Οι μετρήσεις που παρουσιάζονται είναι δύο ειδών : δυναμικού Z (zeta potential) και μέγεθος σωματιδίου (size). Η διαδικασία ξεκινάει θέτοντας σε λειτουργία το όργανο και αφήνοντάς το για 30 λεπτά τουλάχιστον να ζεσταθεί. Η πηγή laser He - Ne, όπως και η διάταξη UV-Vis που χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση της απορροφητικότητας των δειγμάτων, χρειάζεται ένα χρονικό περιθώριο έτσι ώστε να έρθει στην κατάλληλη θερμοκρασία έτσι οι μετρήσεις που έπονται να έχουν, ως προς αυτό το κομμάτι τουλάχιστον, την μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

Μετά το πέρας των 30 λεπτών τουλάχιστον, γίνεται η μετάβαση στο κύριο περιβάλλον εργασίας του προγράμματος μέσω του εικονιδίου Nano Zetasizer στην επιφάνεια εργασίας. Τα επόμενα βήματα είναι η δημιουργία αρχείων SOP και Measurement File.

7.2 Δημιουργία αρχείου SOP

Το SOP είναι ένα αρχείο το οποίο εισάγει πριν από την εκάστοτε μέτρηση μια σειρά από παραμέτρους οι οποίες είναι απαραίτητες για να γίνει η λήψη των αποτελεσμάτων. Πατώντας με τον κέρσορα τις ενδείξεις FILE > NEW > SOP εμφανίζεται το μενού δημιουργίας ενός τέτοιου αρχείου. Στην υποκατηγορία MEASUREMENT TYPE επιλέγεται ο τύπος μέτρησης που θα γίνει σε κάθε δείγμα. Οι μετρήσεις που έγιναν ήταν δυναμικού Z (zeta potential) και μεγέθους σωματιδίου (size). Κάθε ένα αρχείο SOP αντιστοιχεί *αποκλειστικά και μόνο* σε μία μέτρηση επομένως για κάθε δείγμα που μετρήθηκε και δυναμικό Z αλλά και μέγεθος σωματιδίου δημιουργήθηκαν δύο αρχεία SOP (ένα για κάθε είδος μέτρησης). Όλες οι παράμετροι έχουν κάποιες προεπιλεγμένες τιμές και ρυθμίσεις. Σε κάθε διαφορετική μέτρηση που γίνεται χρειάζεται κάποιες από τις προεπιλογές να ρυθμίζονται σε νέα δεδομένα και αυτές είναι : ο τύπος της μέτρησης, το υλικό, ο τύπος του κελιού και ο αριθμός των μετρήσεων. Ο χρόνος σταθεροποίησης του μηχανήματος παραμένει και αυτός στην προεπιλεγμένη του τιμή, η οποία είναι τα 120 δευτερόλεπτα. Επειδή όλα τα διαλύματα που μετρήθηκαν ήταν υδατικά, ως διαλύτης παραμένει η προεπιλογή που έχει το λογισμικό, η οποία είναι το νερό. Μετά το τέλος των ρυθμίσεων που περιγράφονται παρακάτω, με την επιλογή FILE > SAVE AS αποθηκεύεται το αρχείο SOP έτσι ώστε να εισαχθεί στο Measurement File όπως θα περιγραφεί και στη συνέχεια. Αναλυτικότερα στο πρόγραμμα αυτές οι πληροφορίες κωδικοποιούνται ως εξής :

1. **Τύπος μέτρησης** : Ο τύπος της μέτρησης επιλέγεται στην καρτέλα MEASUREMENT TYPE και αυτό είναι το πρώτο βήμα στην δημιουργία κάθε αρχείου SOP. Στις μετρήσεις που έγιναν δημιουργήθηκαν αρχεία SOP όπου στη συγκεκριμένη κατηγορία είχαν επιλογή ZETA POTENTIAL εάν επρόκειτο για μέτρηση δυναμικού Z και SIZE αντίστοιχα για μέτρηση μεγέθους σωματιδίου. Το βήμα αυτό είναι υποχρεωτικά πρώτο, καθώς εάν ρυθμιστούν πρώτα διαφορετικές παράμετροι και στη συνέχεια αλλαχτεί η επιλογή του MEASUREMENT TYPE, οι παράμετροι επιστρέφουν στην κατάσταση προεπιλογής και ξαναχρειάζονται ρύθμιση.
2. **Υλικό** : Το υλικό στο συγκεκριμένο πρόγραμμα κωδικοποιείται από δύο παραμέτρους : την απορροφητικότητα ABS και τον δείκτη διάθλασης RI. Τα μεγέθη αυτά είναι γνωστά, καθώς η εύρεσή τους γίνεται κατά την προετοιμασία του δείγματος που περιγράφεται προηγουμένως. Επιλέγοντας την καρτέλα SAMPLE εμφανίζεται μια λίστα επιλογών. Στην επιλογή MATERIAL NAME εμφανίζεται το όνομα του υλικού το οποίο είναι προεπιλεγμένο ότι πρόκειται να μετρηθεί και κάτω από αυτό η τιμή του δείκτη διάθλασης και της απορροφητικότητας στα κουτάκια με αντίστοιχες ονομασίες REFRACTIVE INDEX και ABSORPTION. Για να γίνει η εισαγωγή νέου υλικού γίνεται χρήση της επιλογής “...” δεξιά από το όνομα του προεπιλεγμένου υλικού. Τότε εμφανίζεται μια λίστα με άλλα υλικά που υπάρχουν στην βάση δεδομένων του προγράμματος. Εάν το ζητούμενο υλικό που θα μετρηθεί δεν υπάρχει σε αυτή τη λίστα, με τη χρήση της επιλογής ADD εισάγεται καινούριο υλικό. Στο παράθυρο που εμφανίζεται συμπληρώνεται το όνομα του υλικού και οι τιμές της απορροφητικότητας ABS και του δείκτη διάθλασης RI. Πατώντας το OK σε αυτό το παράθυρο, το νέο υλικό εμφανίζεται στην προηγούμενη λίστα. Επιλέγεται με τον κέρσορα και με τη χρήση της επιλογής OK επιλέγεται ως το υλικό που θα προσμετρηθεί.
3. **Τύπος κελιού** : Η ρύθμιση αυτή σχετίζεται με τον τύπο του κελιού στον οποίο θα γίνει εισαγωγή του δείγματος. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό κομμάτι, διότι κάθε τύπος κελιού είναι εξειδικευμένος στο να προσμετρά δείγματα με συγκεκριμένες ιδιότητες. Στις μετρήσεις δυναμικού Z χρησιμοποιείται ευρέως το επονομαζόμενο “Dip Cell” το οποίο είναι κατάλληλο για υδατικά και μη υδατικά διαλύματα. Ο τύπος κελιού αυτός είναι ιδιαίτερος πρακτικός διότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην μέτρηση μεγέθους σωματιδίων, αντίστοιχα σε υδατικά και μη υδατικά διαλύματα. Στο μενού επομένως CELL επιλέγεται ο τύπος κελιού όπως αναγράφεται DIP CELL FOR ZETA POTENTIAL.
4. **Αριθμός μετρήσεων** : Είναι γεγονός ότι μεγαλύτερος αριθμός μετρήσεων εξασφαλίζει μεγαλύτερη επαναληψιμότητα. Οι μετρήσεις των δειγμάτων όμως έχουν καθαρά δοκιμαστικό χαρακτήρα, χωρίς να αναμένεται κάποιο συγκεκριμένο αποτέλεσμα. Αυτό γίνεται από το μενού MEASUREMENT και στην υποκατηγορία NUMBER OF MEASUREMENTS ρυθμίζεται ο αριθμός από 3 σε 2. Για μεγαλύτερη αξιοπιστία όμως και επαναληψιμότητα των μετρήσεων, καλό είναι οι μετρήσεις που θα γίνονται να είναι *απο τρεις και πάνω*. Η επιλογή αυτή διαμορφώνεται σε κάθε περίπτωση από το συγκεκριμένο μενού.

7.3 Δημιουργία αρχείου μέτρησης (Measurement File)

Το αρχείο τύπου Measurement File είναι το αρχείο στο οποίο γίνονται αλλά και αποθηκεύονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Τα αρχεία αυτά μπορούν να περιέχουν μία ή περισσότερες μετρήσεις οι οποίες μπορεί να διαφορετικών τύπων. Στις μετρήσεις που παρουσιάζονται, για κάθε δείγμα δημιουργήθηκε ένα αρχείο τύπου Measurement File στο οποίο αποθηκεύτηκαν οι μετρήσεις δυναμικού Z και μεγέθους σωματιδίων. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο τύπος της κάθε μέτρησης ορίζεται από το κάθε αρχείο SOP : στην επιλογή MEASUREMENT TYPE κατά τη δημιουργία του κάθε SOP έχει οριστεί τι μέτρηση θα γίνει στο κάθε δείγμα. Εν προκειμένω, σε μετρήσεις δυναμικού Z στην επιλογή MEASUREMENT TYPE έχει επιλεγεί η ρύθμιση ZETA POTENTIAL, ενώ σε μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων έχει επιλεγεί η ρύθμιση SIZE. Κάθε αρχείο τύπου Measurement File μπορεί να ανοίγει μόνο ένα SOP τη φορά.

Η δημιουργία ενός τέτοιου αρχείου είναι απλούστερη από εκείνη που απαιτείται για την δημιουργία αρχείου SOP. Στο κύριο γραφικό περιβάλλον του προγράμματος με την επιλογή FILE > NEW > MEASUREMENT FILE και στη συνέχεια την αποθήκευση του αρχείου δημιουργείται ένα καινούριο Measurement File. Το επόμενο βήμα είναι να εισαχθεί το κατάλληλο SOP στο αρχείο αυτό, έτσι ώστε να γίνει εισαγωγή του δείγματος και να πραγματοποιηθεί η εκάστοτε μέτρηση. Στην επιλογή BROWSE FOR SOP γίνεται χρήση του πλήκτρου με το πράσινο τρίγωνο και έτσι εμφανίζεται η λίστα με τα αρχεία SOP που έχουν δημιουργηθεί και έχουν αποθηκευτεί στον υπολογιστή. Με επιλογή του κατάλληλου αρχείου που περιέχει κωδικοποιημένες τις πληροφορίες που απαιτούνται για την διεξαγωγή κάθε μέτρησης πατώντας OK εμφανίζεται ένα ακόμη παράθυρο. Το παράθυρο αυτό περιέχει μια σύνοψη των δεδομένων που έχουν εισαχθεί και μια εικόνα που δείχνει τον τύπο κελιού που έχει επιλεγεί για να χρησιμοποιηθεί. Πατώντας ξανά το OK εμφανίζεται η οθόνη στην οποία θα γίνουν οι μετρήσεις, αφού πρώτα γίνει σωστή εισαγωγή του δείγματος στο όργανο.

7.4 Διαδικασία λήψης μέτρησης

Το πρώτο βήμα είναι η εισαγωγή του δείγματος. Αρχικά γίνεται μια γρήγορη ανάδευση του δείγματος με τη χρήση vortex. Στη συνέχεια λαμβάνεται μια πλαστική κυβέττα μιας χρήσεως, η οποία αρχικά ελέγχεται εξωτερικά για τυχόν ελαττώματα ή φθορές στις πλευρές που ανήκουν στη διεύθυνση που ορίζουν τα βέλη. Είναι πολύ σημαντικό να μην υπάρχει κάποιο ελάττωμα ή φθορά εκεί, καθώς αυτή είναι η διεύθυνση όπου θα ακτινοβοληθεί το δείγμα από την πηγή He - Ne του Zetasizer. Καθ'όλη τη διάρκεια, η κυβέττα αγγίζεται αποκλειστικά και μόνο στις πλευρές που ανήκουν στην κάθετη διεύθυνση από αυτή που ορίζουν τα βελόνια διότι είναι εξίσου σημαντικό να μην υπάρχουν εξωτερικά ίχνη ή δαχτυλιές, τα οποία μπορούν να αλλοιώσουν σημαντικά τα αποτελέσματα της μέτρησης. Κατόπιν εισάγεται ελάχιστη ποσότητα δείγματος με γυάλινη πιπέτα μέσα στην κυβέττα. Επειδή η εισαγωγή του κελιού μέσα στην κυβέττα συμπιέζει το υγρό και αντιμετωπίζεται ο κίνδυνος να χυθεί εξωτερικά μερική ποσότητα, στην κυβέττα πρέπει να τοποθετείται τόση ποσότητα δείγματος ώστε τα ηλεκτρόδια του κελιού να έρχονται σε άμεση επαφή μαζί του. Έπειτα εισάγεται η κυψελίδα dip cell μέσα στο κελί κατά την διεύθυνση που δείχνουν οι εικόνες. Είναι πολύ σημαντικό να μην υπάρχουν φυσαλίδες αέρα μέσα στην κυψελίδα. Πριν γίνει η εισαγωγή στο μηχάνημα, καθαρίζεται η κυβέττα με ειδικό χαρτί έτσι ώστε να απαλειφθούν τυχόν δαχτυλιές και τέλος εισάγεται στο μηχάνημα πάλι κατά την διεύθυνση που δείχνουν οι εικόνες. Είναι καλό επίσης το dip cell να βυθίζεται για ένα μικρό χρονικό διάστημα σε ένα σκεύος που να περιέχει μία μικρή ποσότητα από τον εκάστοτε διαλύτη του δείγματος πριν από την κάθε μέτρηση. Όλα είναι πλέον έτοιμα, κλείνεται η υποδοχή του οργάνου και η διαδικασία ξεκινάει με την χρήση του κουμπιού START.



Εικόνα 40 : Ορθός τρόπος τοποθέτησης κελιού

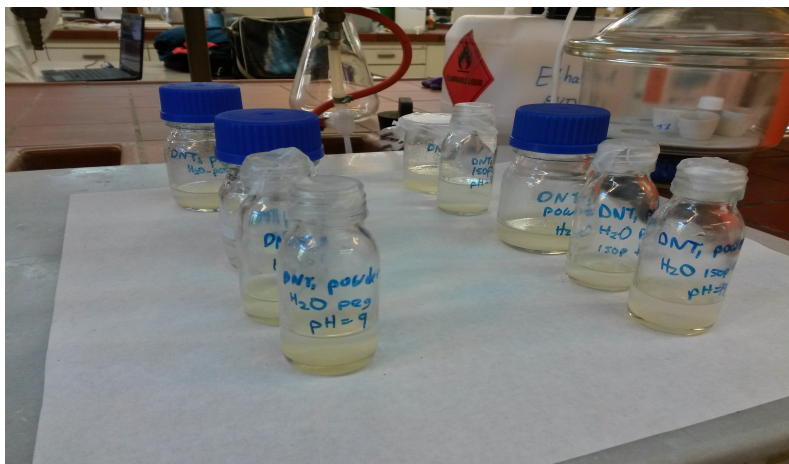
8. Δείγματα

Μετρήθηκαν ορισμένες σειρές δειγμάτων στη συγκεκριμένη εργασία. Σκοπός είναι η παρουσίαση, ανάλυση με βάση τη θεωρία, αλλά και κατανόηση των αποτελεσμάτων μέσα από τα διαγράμματα. Διαβάζοντας τις αναλύσεις των διαγραμμάτων, ένας νέος χρήστης θα μπορεί και ο ίδιος να ερμηνεύσει οποιαδήποτε αποτελέσματα του παρουσιαστούν με πληρότητα και σαφήνεια.

Το κύριο χαρακτηριστικό όλων των δειγμάτων είναι ότι είναι υδατικά, δηλαδή ο κύριος διαλύτης είναι το νερό και εντός αυτών των δειγμάτων εμπεριέχονται διαλυτοποιημένες σκόνες, οι οποίες προσδίδουν στο δείγμα κάθε φορά και διαφορετικές ιδιότητες. Σε αυτά τα δείγματα έγιναν μετρήσεις δυναμικού Z και μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων. Πριν την μέτρησή τους ακολουθήθηκε η διαδικασία παραλαβής δείγματος, έτσι ώστε να βρεθούν οι αναγκαίες παράμετροι που απαιτούνται για την εισαγωγή τους στο λογισμικό του Zetasizer.

8.1 Παραδείγματα αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z

Η πρώτη σειρά δειγμάτων που μετρήθηκε περιελάμβανε 9 διαφοροποιήσεις του ίδιου διαλύματος. Το αρχικό διάλυμα ήταν μια ποσότητα σκόνης DNT1 διαλυμένη σε νερό, όπου στη συνέχεια διαφοροποιούνταν με την παρουσία επιπλέον πρόσθετων, όπως σκόνης *peg*, ισοπροπανόλης αλλά και θειικών ανιόντων. Στη σειρά αυτή των δειγμάτων έγινε μόνο μέτρηση του δυναμικού Z, καθώς κύριο σημείο ενδιαφέροντος ήταν η ικανότητά τους να παρουσιάζουν μια σταθερότητα. Κοινο χαρακτηριστικό όλων τους, το βασικό και ίσο με 9 pH και ο κοινός δείκτης διάθλασης ίσος με 1,33.



Εικόνα 41 : Δείγματα αποδεκτών μετρήσεων

Αναλυτικά τα δείγματα με τις τιμές pH, δείκτη διάθλασης και απορροφητικότητας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα :

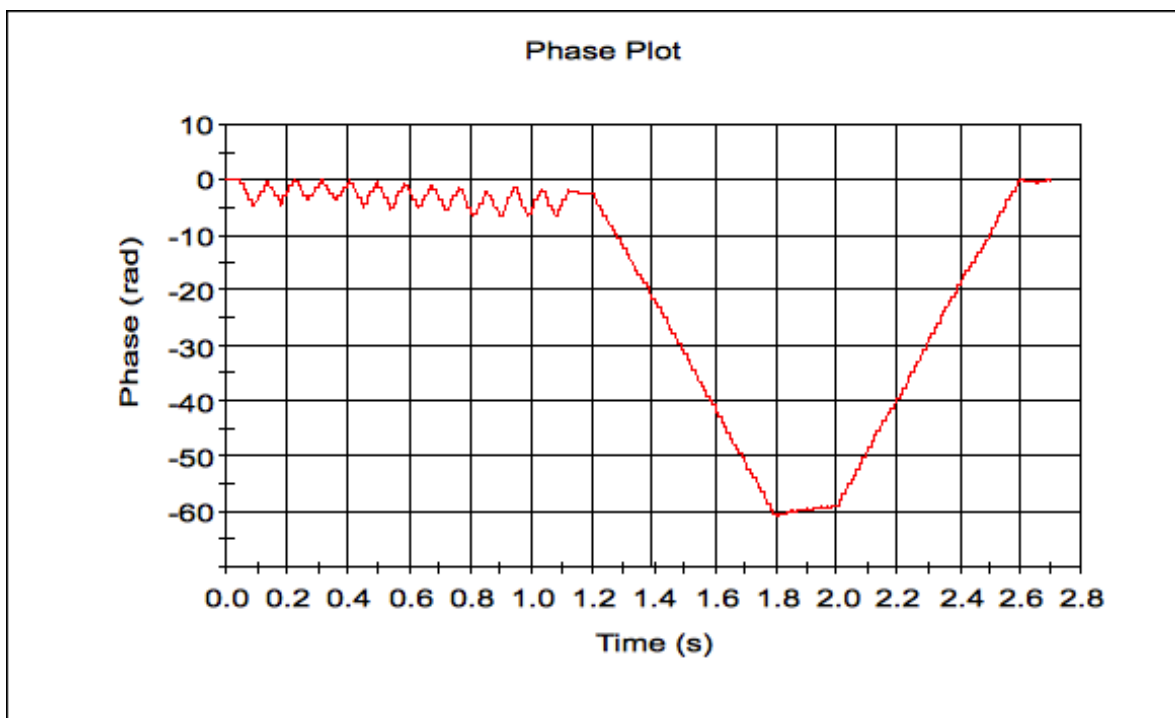
Πίνακας 11 : Χαρακτηριστικά δειγμάτων αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z

Αριθμός δείγματος	Συστατικά δείγματος	Τιμή pH	Δείκτης διάθλασης	Απορροφητικότητα
1	DNT1	9	1,33	0,933
2	DNT1, σκόνη reg, ισοπροπανόλη, SO ₄ ²⁻	9	1,33	0,812
3	DNT1 σκόνη, ισοπροπανόλη	9	1,33	0,805
4	DNT1 σκόνη, νερό	9	1,33	0,788
5	DNT1 σκόνη, νερό, σκόνη reg, ισοπροπανόλη	9	1,33	0,800
6	DNT1 σκόνη, νερό, σκόνη reg	9	1,33	0,827
7	DNT1, ισοπροπανόλη	9	1,33	0,834
8	DNT1 σκόνη, νερό	9	1,33	0,820

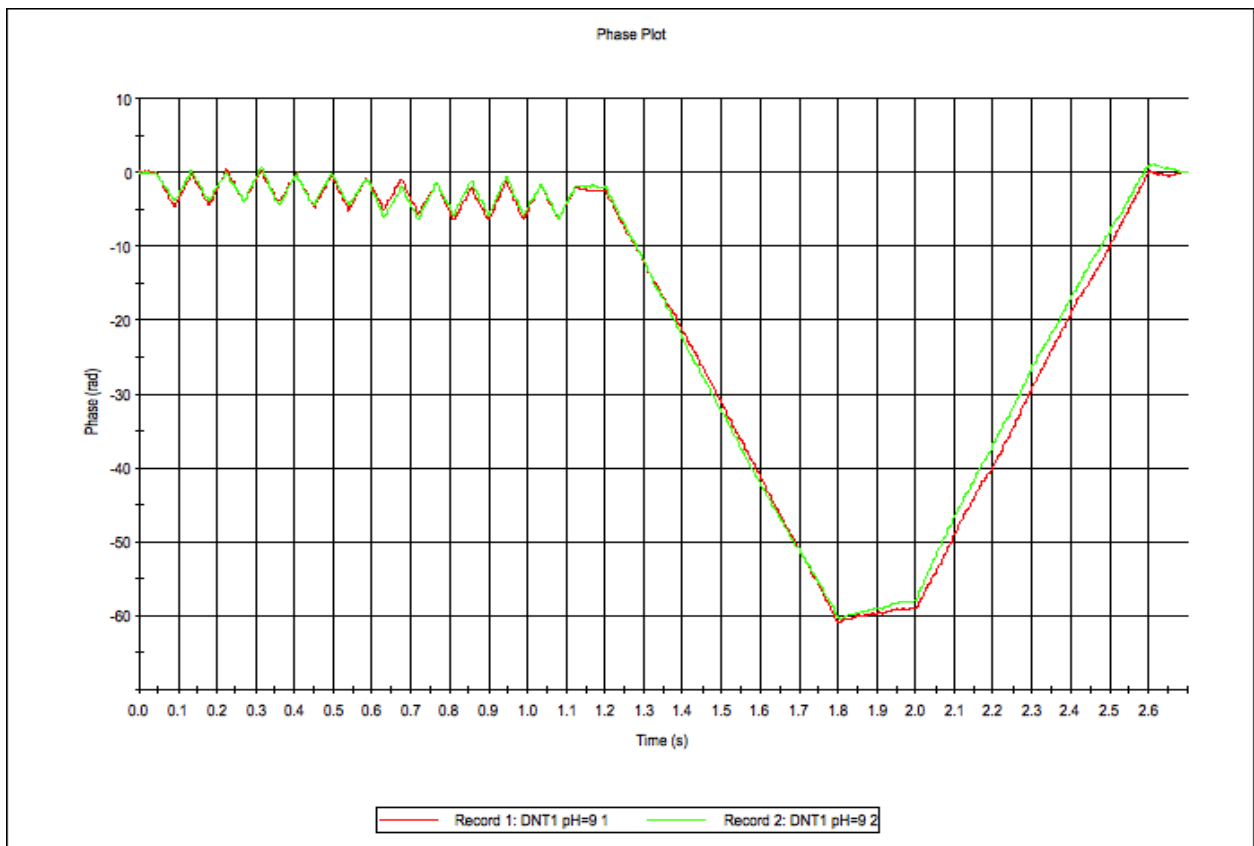
Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του κάθε δείγματος ξεχωριστά, όπως εξάγονται από το λογισμικό του Zetasizer.

Δείγμα νούμερο 1

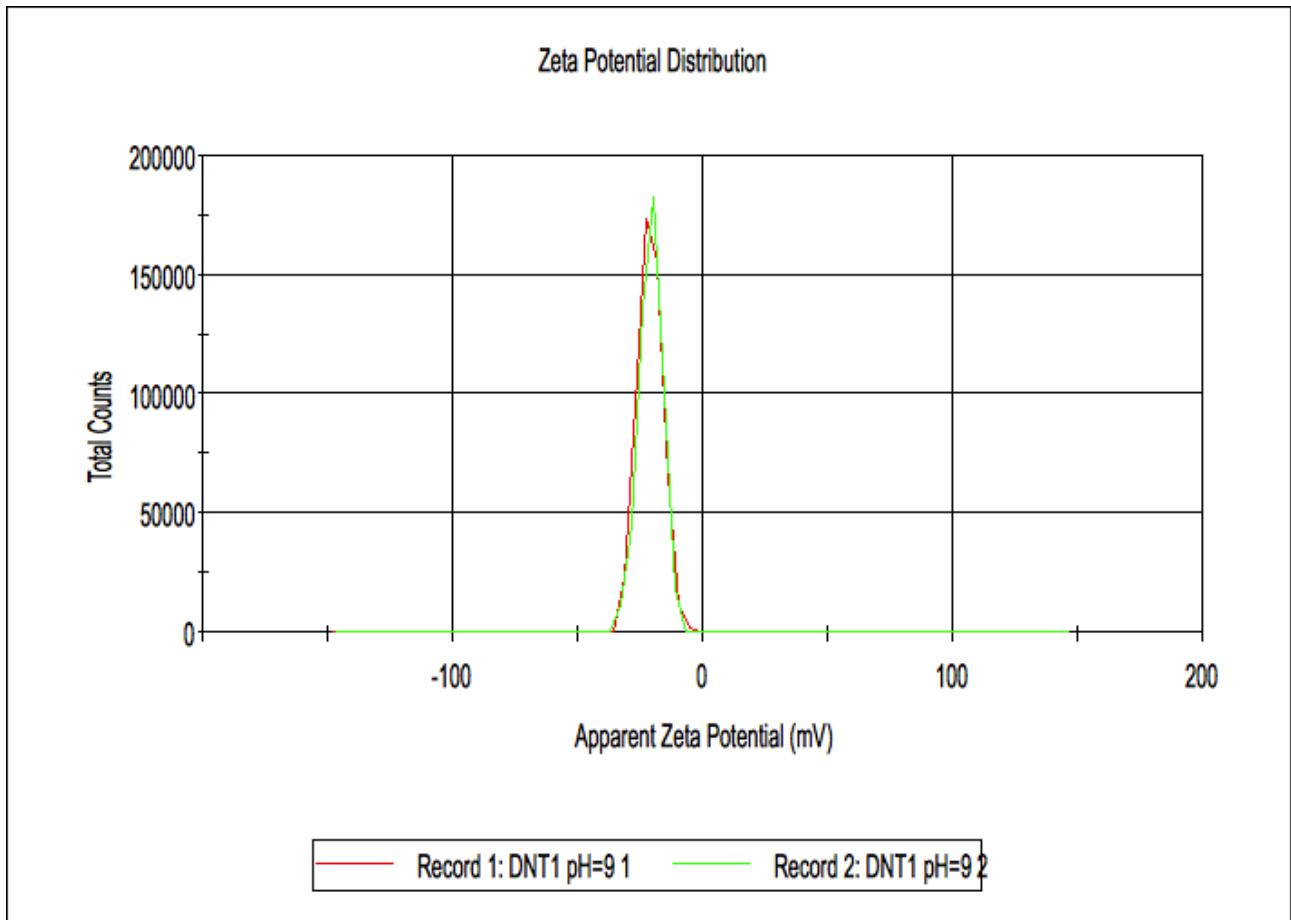
Record	Type	Sample Name	Measurement Date T °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	DNT1 pH=9 1	Wednesday, March	25	-21	-1.643	0.214	1006.9
2	Zeta	DNT1 pH=9 2	Wednesday, March	25	-20.7	-1.623	0.216	1006.9
Mean 1,2				25	-20.9	-1.633	0.215	1006.9
Std Dev				0	0.212	0.01414	0.00141	0
RSD %				0	1.02	0.866	0.658	0
Maximum				25	-20.7	-1.623	0.216	1006.9



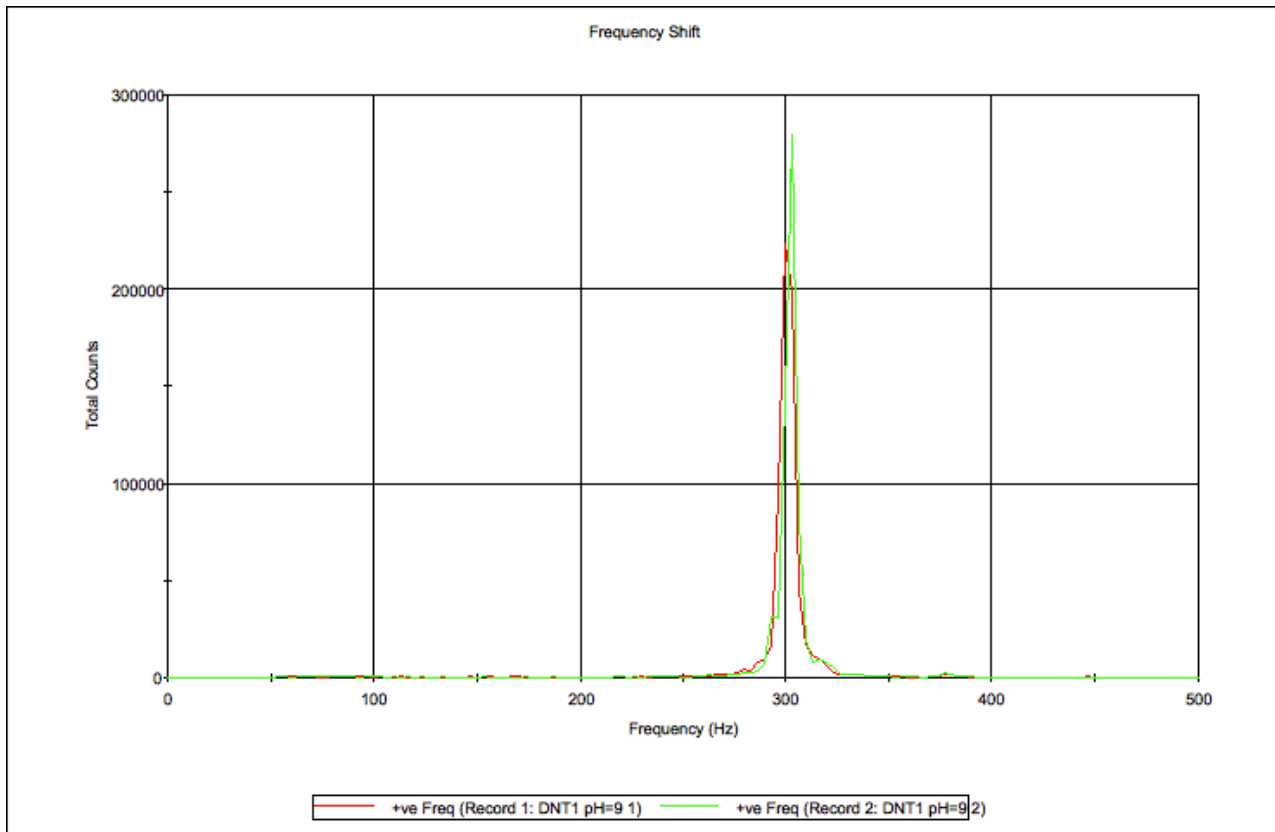
Εκ πρώτης όψεως παρατηρείται ότι το διάγραμμα φάσης είναι *έγκυρο*, όπως προκύπτει από τα θεωρητικά δεδομένα. Επομένως οι μετρήσεις που λήφθηκαν μπορούν να θεωρηθούν *έγκυρες ανεξαρτήτως αποτελέσματος*.



Στο συγκεκριμένο διάγραμμα γίνεται αντιπαραβολή των διαγραμμάτων φάσης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Προσομοιάζουν μορφολογικά το ένα το άλλο, επομένως και οι δύο κύκλοι μετρήσεων μπορούν να θεωρηθούν ως *έγκυροι*, λόγω της αποδεκτής μορφής του διαγράμματος φάσης που παρατηρείται.



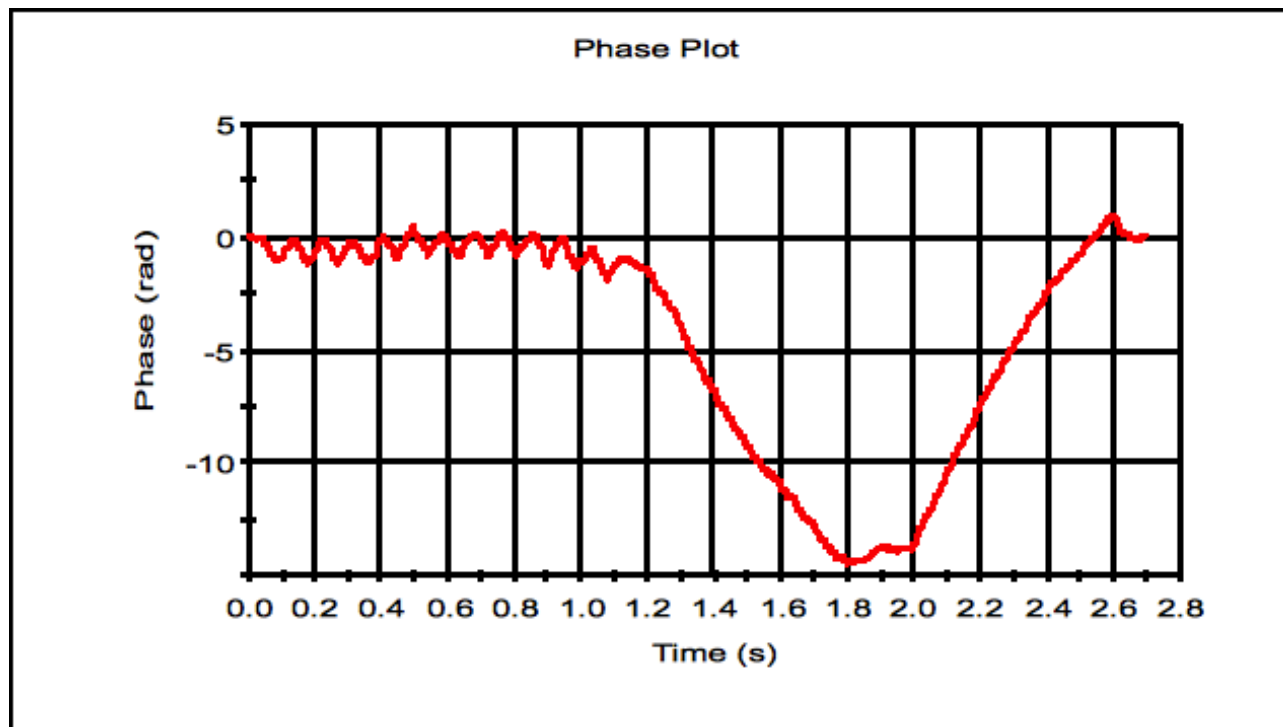
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι -21 mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-20,7$ mV. Η δεύτερη μέτρηση παρουσιάζει μορφολογικά καλύτερο αποτέλεσμα από την πρώτη καθώς όπως φαίνεται, στην πρώτη μέτρηση πιθανόν να υπήρξε κάποια *μικρή καθίζηση* μέσα στο δείγμα, καθώς η κόκκινη κορυφή παρουσιάζει μια ελαφριά κύρτωση ενώ η πράσινη είναι ευθεία. Πρόκειται πάντως για δείγμα χαμηλής προς μέτριας σταθερότητας.



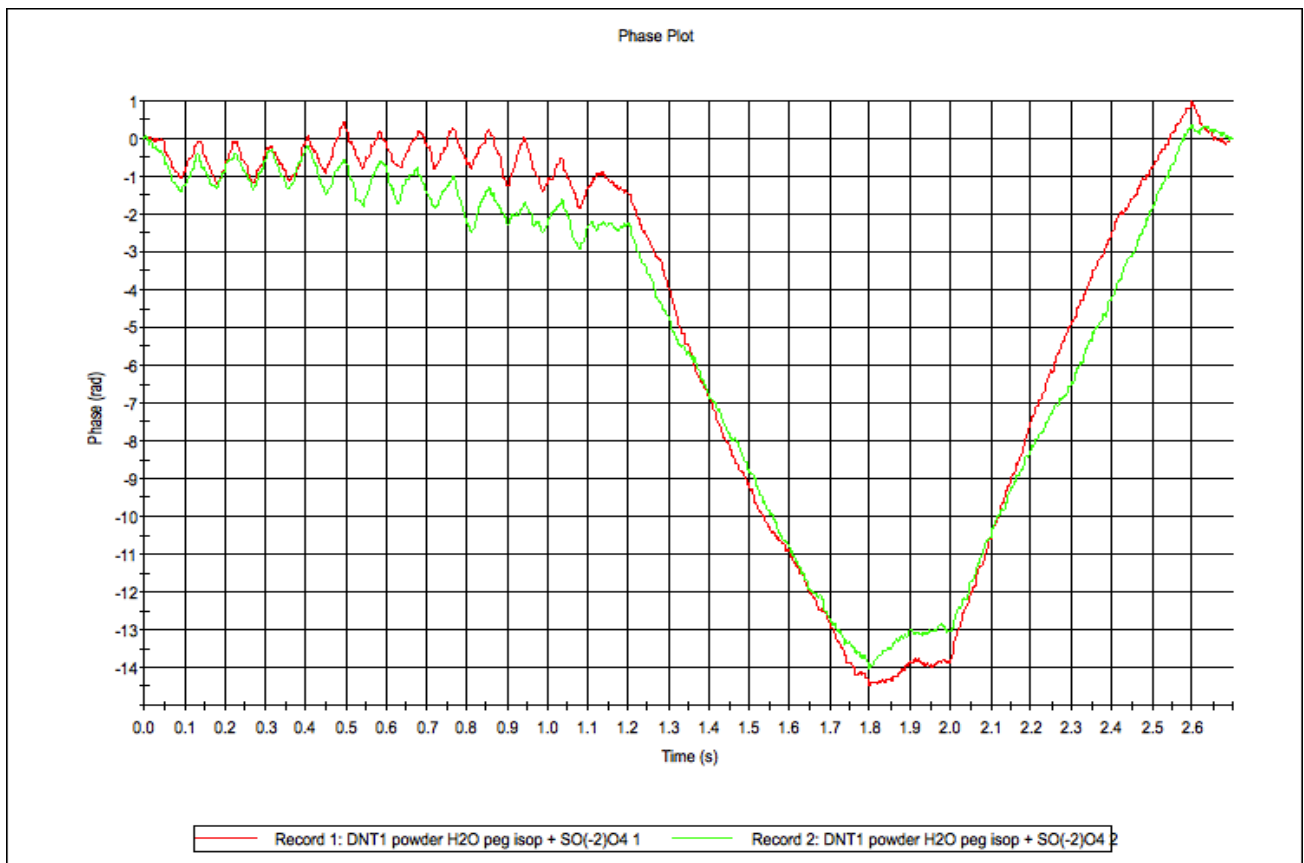
Παρατηρώντας το διάγραμμα της μετατόπισης συχνότητας, προκύπτει ότι δεν υπάρχει κάποιο περαιτέρω πρόβλημα πέραν της μικρής καθίζησης που παρατηρείται στην πρώτη μέτρηση, η baseline είναι φυσιολογική και χωρίς σημαντικές διαταραχές.

Δείγμα νούμερο 2

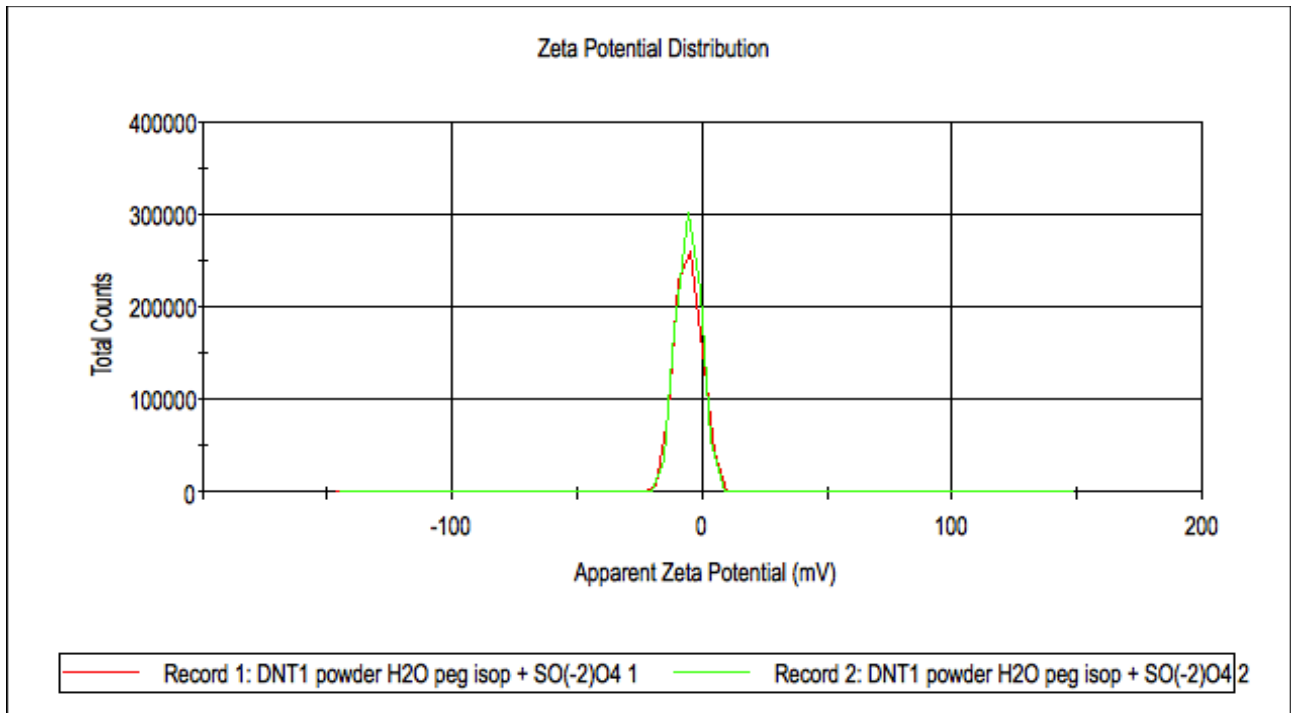
Type	Sample Name	MeasuremT °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps
Zeta	DNT1 powder H2O peg isop + SO(-2)O4 1 Wednesda	25	-5.51	-0.4316	1.82	1182.2
Zeta	DNT1 powder H2O peg isop + SO(-2)O4 2 Wednesda	25	-5.31	-0.416	1.92	1182.2
		25	-5.41	-0.4238	1.87	1182.2
		0	0.141	0.01103	0.0707	0
		0	2.61	2.6	3.78	0
		25	-5.31	-0.416	1.92	1182.2



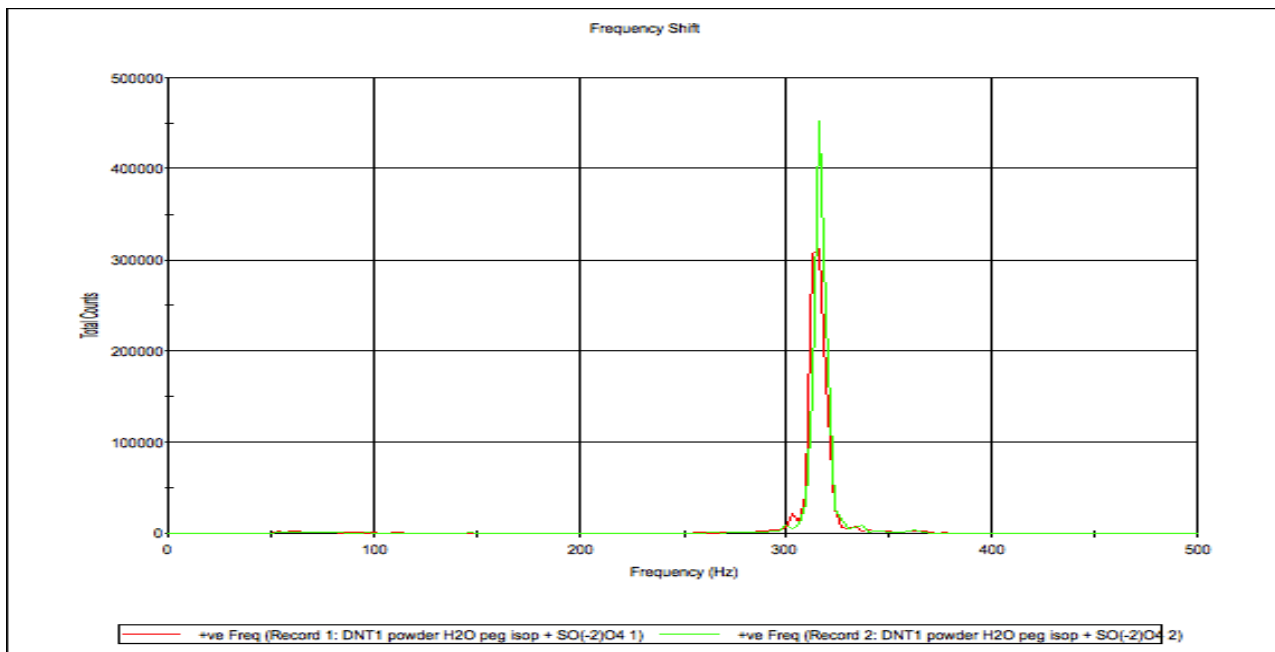
Παρατηρείται ότι το συγκεκριμένο διάγραμμα φάσης προσεγγίζει την έγκυρη μορφή, όπως προκύπτει σύμφωνα με τη θεωρία. Αν και η προσέγγιση αυτή παρουσιάζει κάποιες διαφορές σε σχέση με το ιδανικό διάγραμμα, θα θεωρηθεί ως *έγκυρο*, καθώς στην πλειοψηφία του συμπίπτει με το ιδανικό.



Στο συγκεκριμένο διάγραμμα γίνεται αντιπαράβολή των διαγραμμάτων φάσης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Προσομοιάζουν μορφολογικά το ένα το άλλο, επομένως και οι δύο κύκλοι μετρήσεων μπορούν να θεωρηθούν ως *έγκυροι*, λόγω της αποδεκτής μορφής του διαγράμματος φάσης που παρατηρείται.



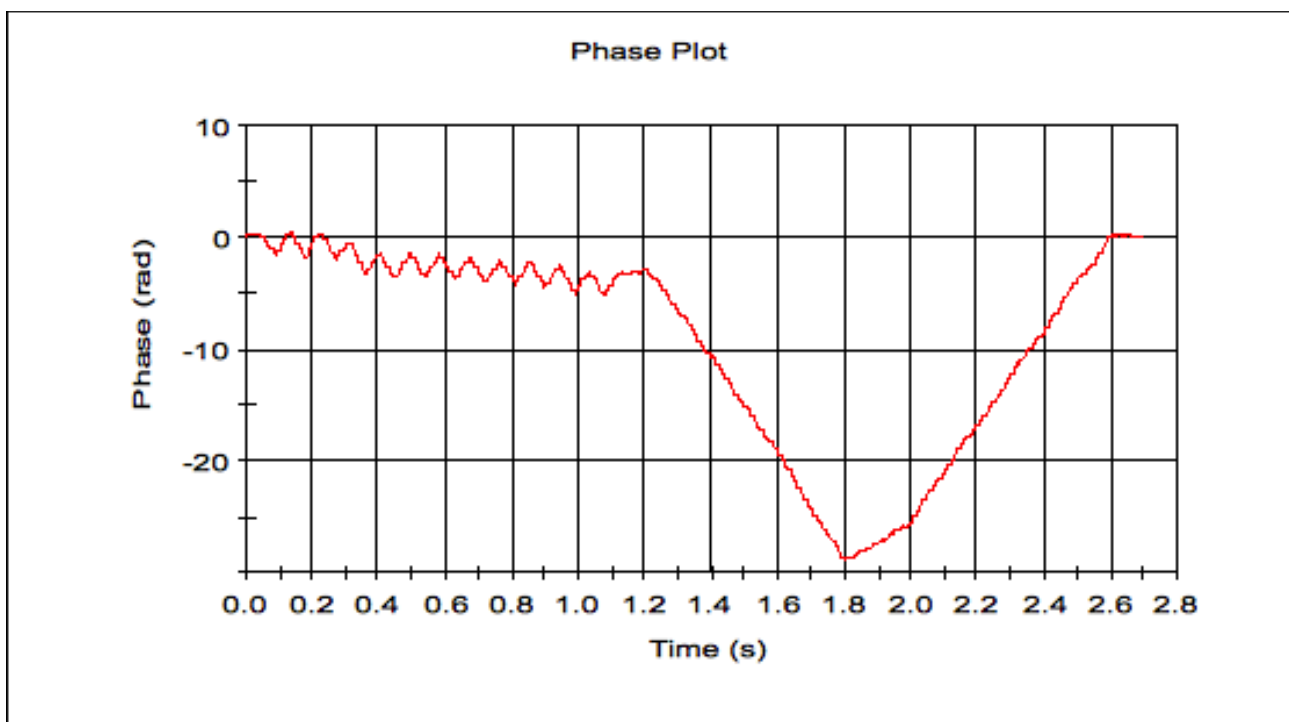
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-5,51$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-5,31$ mV. Η δεύτερη μέτρηση παρουσιάζει μορφολογικά καλύτερο αποτέλεσμα από την πρώτη καθώς όπως φαίνεται, στην πρώτη μέτρηση πιθανόν να υπήρξε κάποια *συσσωμάτωση* μέσα στο δείγμα, καθώς η κόκκινη κορυφή παρουσιάζει μια ελαφριά κύρτωση ενώ η πράσινη είναι ευθεία. Αυτό θα πιστοποιηθεί και από τα διαγράμματα μετατόπισης φάσης στη συνέχεια. Γενικά πάντως πρόκειται για ασταθές δείγμα.



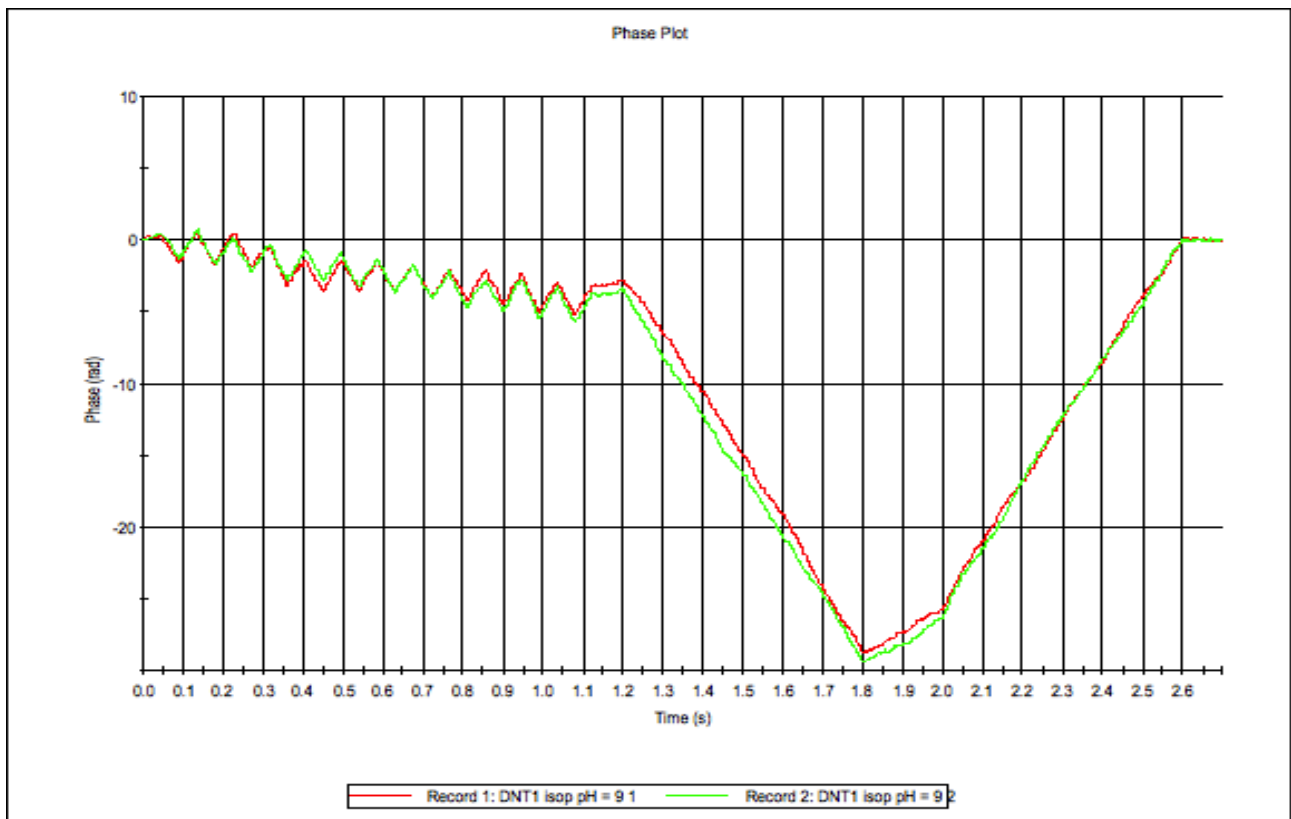
Παρατηρώντας το διάγραμμα της μετατόπισης συχνότητας, προκύπτει ότι δεν υπάρχει κάποιο περαιτέρω πρόβλημα πέραν της συσσωμάτωσης που παρατηρείται στην πρώτη μέτρηση. Επίσης η baseline στην πρώτη μέτρηση παρουσιάζει κάποιες πολύ μικρές κορυφές κοντά στην τιμή των 300 Hz, η οποία πιθανότατα είναι θόρυβος του οργάνου. Αντίθετα στην μέτρηση νούμερο δύο, η baseline είναι ευθεία γραμμή και το διάγραμμα έχει ποιοτικά αποδεκτή μορφή.

Δείγμα νούμερο 3

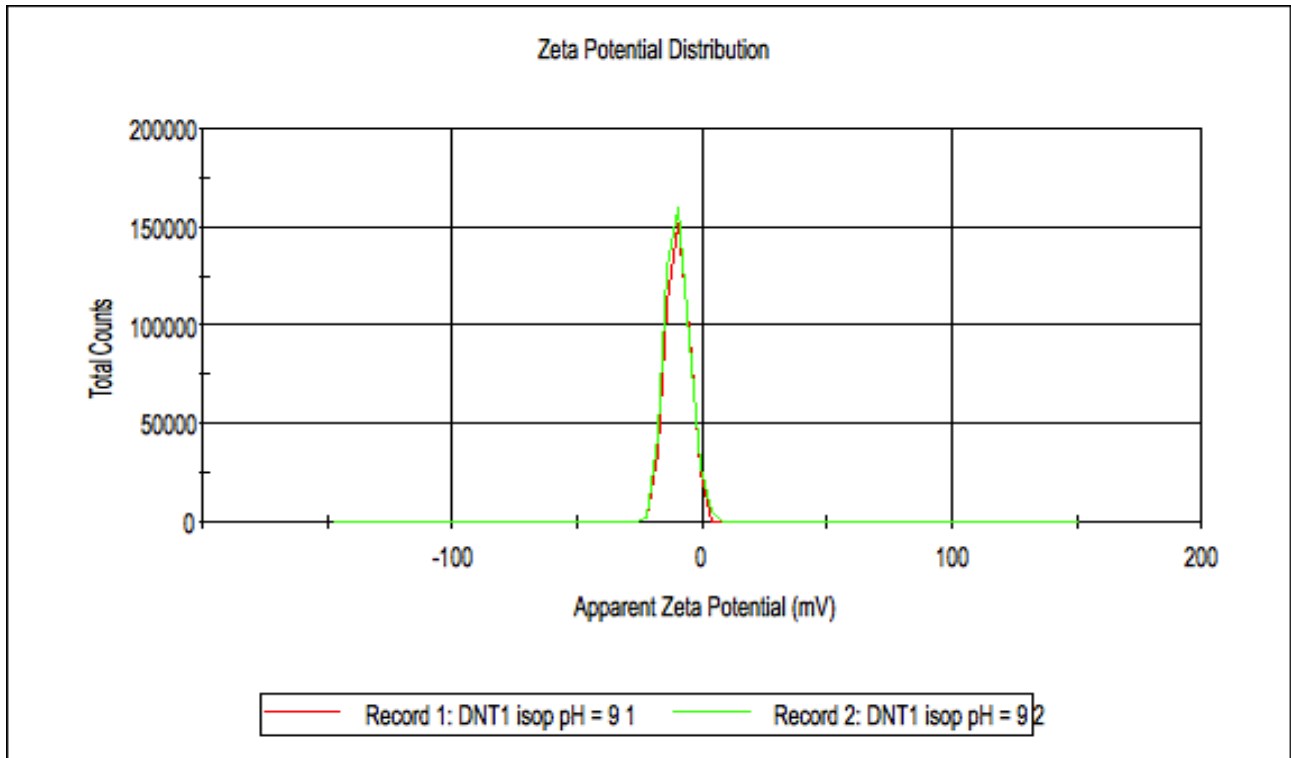
Record	Type	Sample Name	Measurement T °C	ZP mV	Mob μm ² /Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	DNT1 isop	Wednesda	25	-9.86	-0.7729	0.159	993.3
2	Zeta	DNT1 isop	Wednesda	25	-9.92	-0.7776	0.159	993.3
Mean 1,2				25	-9.89	-0.7753	0.159	993.3
Std Dev				0	0.0424	0.003323	0	0
RSD %				0	0.429	0.429	0	0
Maximum				25	-9.86	-0.7729	0.159	993.3



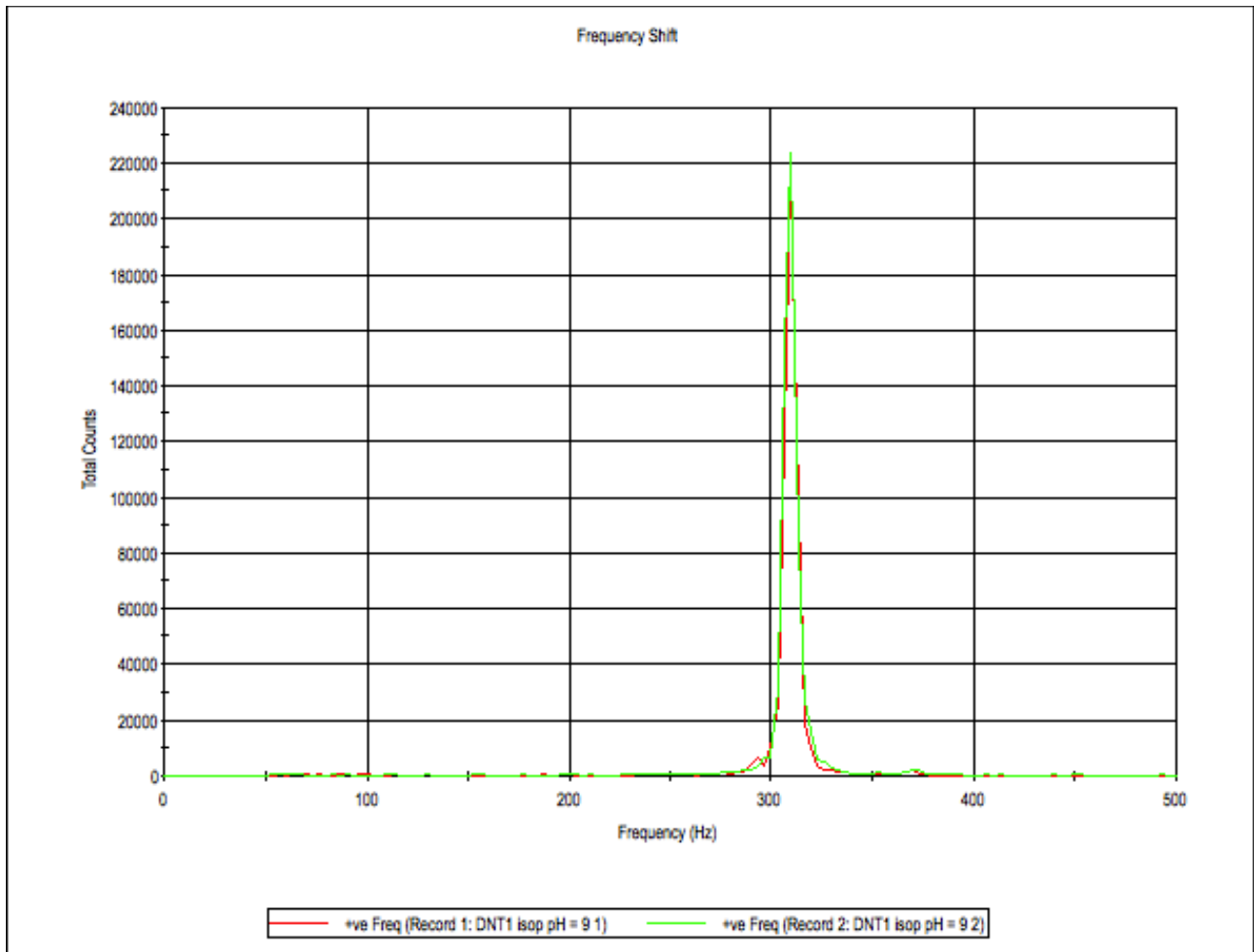
Παρατηρείται ότι το συγκεκριμένο διάγραμμα φάσης προσεγγίζει την έγκυρη μορφή, όπως προκύπτει σύμφωνα με τη θεωρία. Αν και η προσέγγιση αυτή παρουσιάζει κάποιες διαφορές σε σχέση με το ιδανικό διάγραμμα, θα θεωρηθεί ως *έγκυρο*, καθώς στην πλειοψηφία του συμπίπτει με το ιδανικό.



Στο συγκεκριμένο διάγραμμα γίνεται αντιπαραβολή των διαγραμμάτων φάσης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Προσομοιάζουν μορφολογικά το ένα το άλλο, επομένως και οι δύο κύκλοι μετρήσεων μπορούν να θεωρηθούν ως *έγκυροι*, λόγω της αποδεκτής μορφής του διαγράμματος φάσης που παρατηρείται.



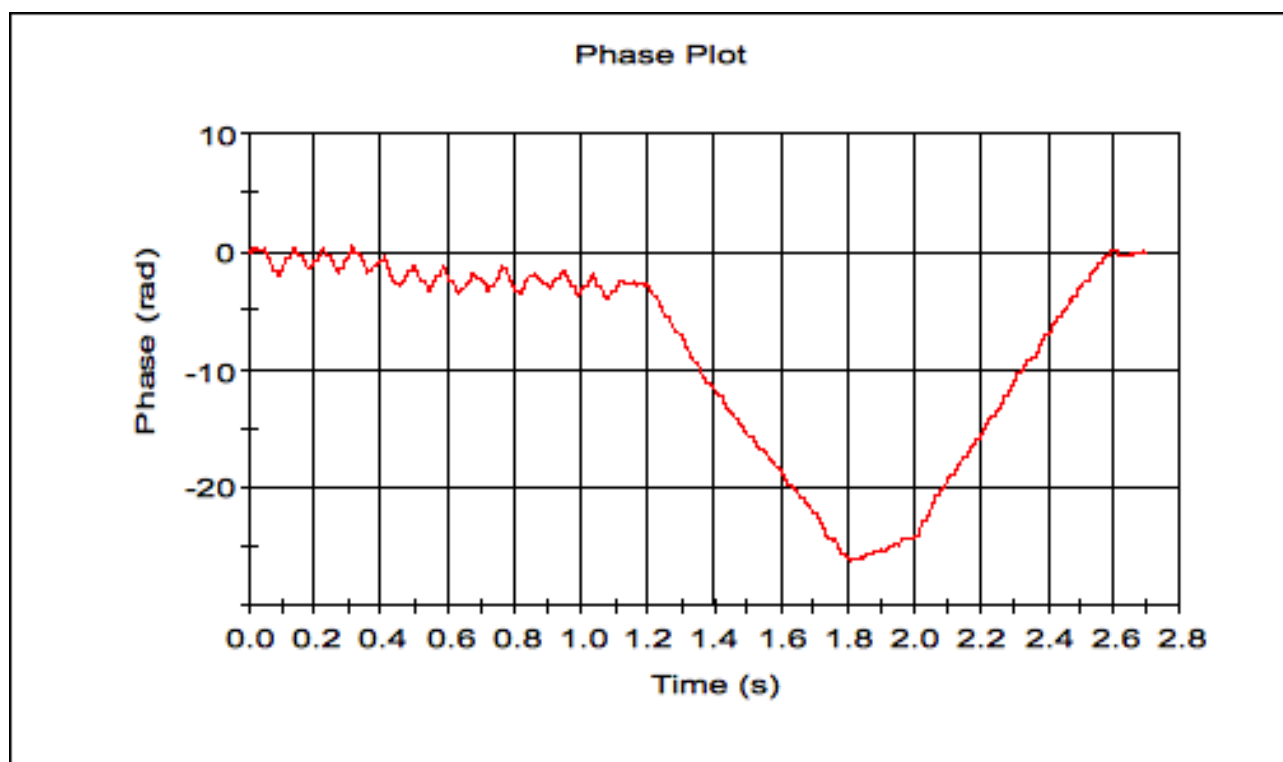
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-9,86$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-9,92$ mV. Μορφολογικά τα δύο αυτά διαγράμματα ταυτίζονται σε πολύ μεγάλο βαθμό, ενώ δεν υπάρχουν διαταραχές ούτε στην baseline ούτε και σε κάποια κορυφή. Γενικά πρόκειται για δείγμα χαμηλής σταθερότητας στις παρούσες συνθήκες.



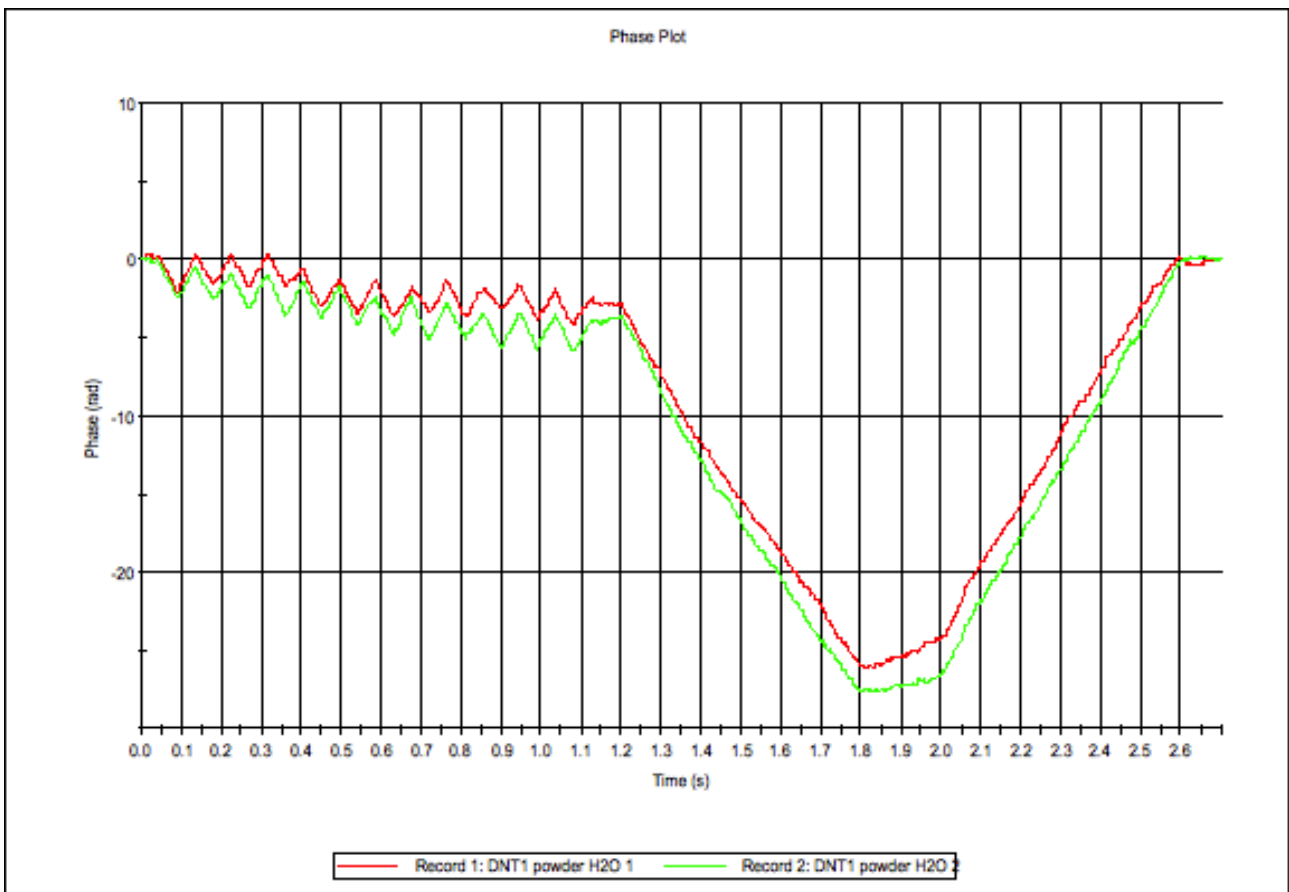
Τα διαγράμματα μετατόπισης συχνότητας δεν παρουσιάζουν καμία διαταραχή και στις δύο μετρήσεις, εκτός από ένα πολύ μικρό ποσοστό θορύβου που εμφανίζεται στην baseline.

Δείγμα νούμερο 4

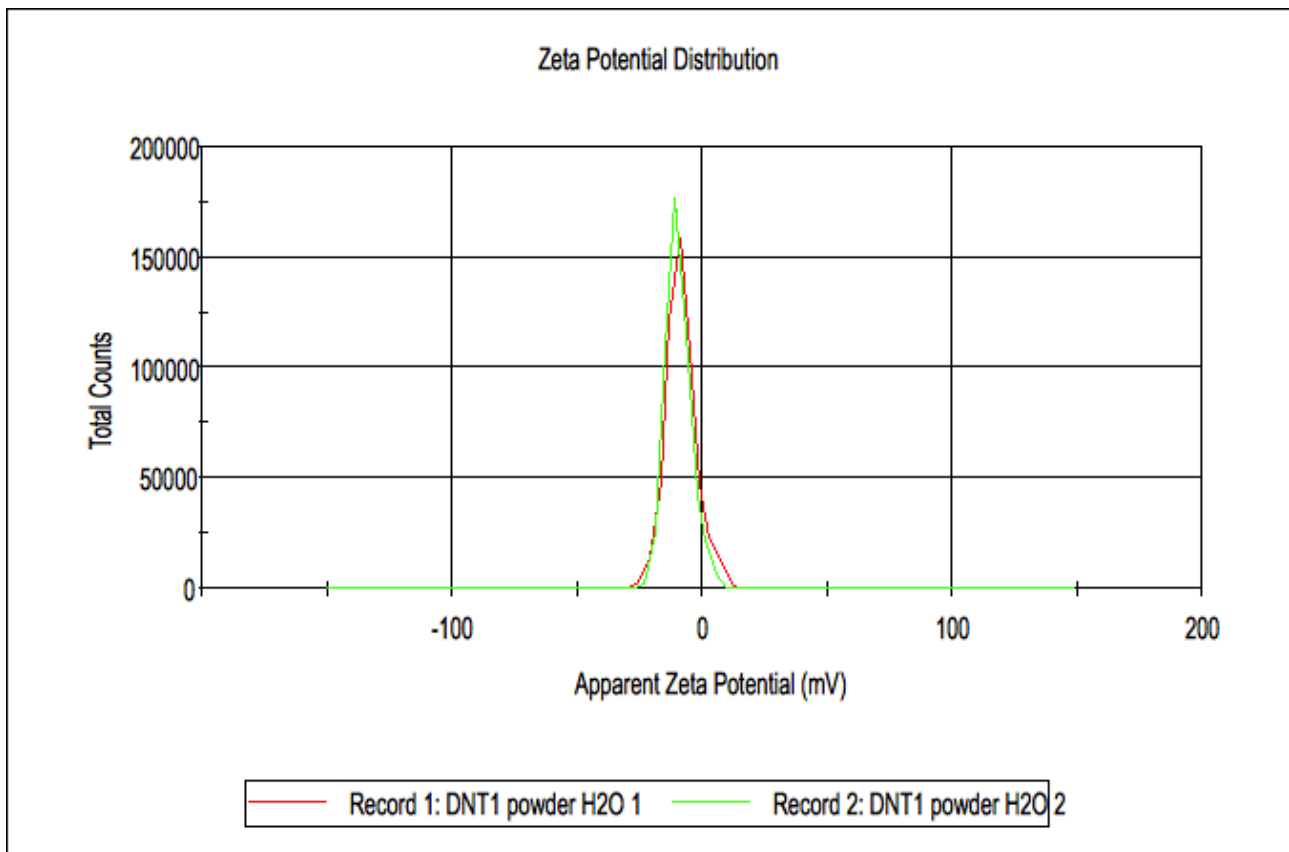
Record	Type	Sample Name	Measurement T °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	DNT1 pow	Wednesda	25.1	-8.5	-0.6664	0.0512	1448.6
2	Zeta	DNT1 pow	Wednesda	25.1	-9.63	-0.755	0.0531	1448.6
Mean 1,2				25.1	-9.06	-0.7107	0.0522	1448.6
Std Dev				0	0.799	0.06265	0.00134	0
RSD %				0	8.81	8.82	2.58	0
Maximum				25.1	-8.5	-0.6664	0.0531	1448.6



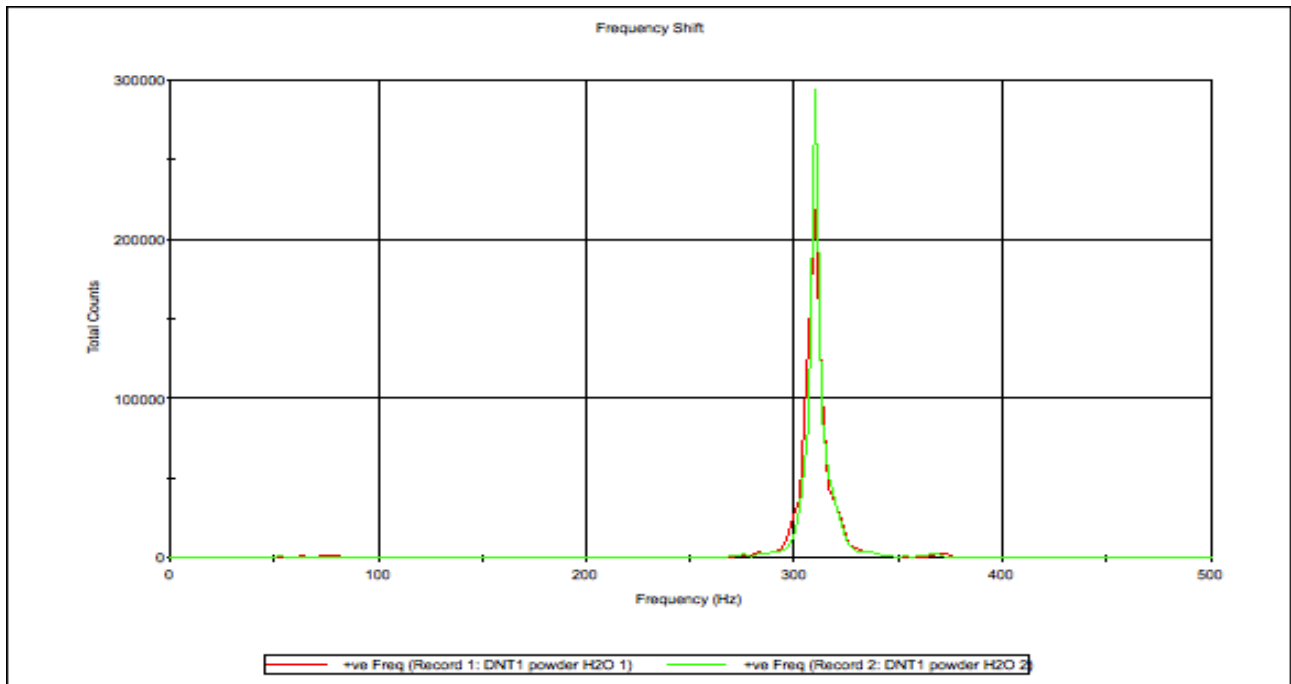
Παρατηρείται ότι το συγκεκριμένο διάγραμμα φάσης προσεγγίζει την έγκυρη μορφή, όπως προκύπτει σύμφωνα με τη θεωρία. Αν και η προσέγγιση αυτή παρουσιάζει κάποιες διαφορές σε σχέση με το ιδανικό διάγραμμα, θα θεωρηθεί ως *έγκυρο*, καθώς στην πλειοψηφία του συμπίπτει με το ιδανικό.



Στο συγκεκριμένο διάγραμμα γίνεται αντιπαραβολή των διαγραμμάτων φάσης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Προσομοιάζουν μορφολογικά το ένα το άλλο, επομένως και οι δύο κύκλοι μετρήσεων μπορούν να θεωρηθούν ως *έγκυροι*, λόγω της αποδεκτής μορφής του διαγράμματος φάσης που παρατηρείται.



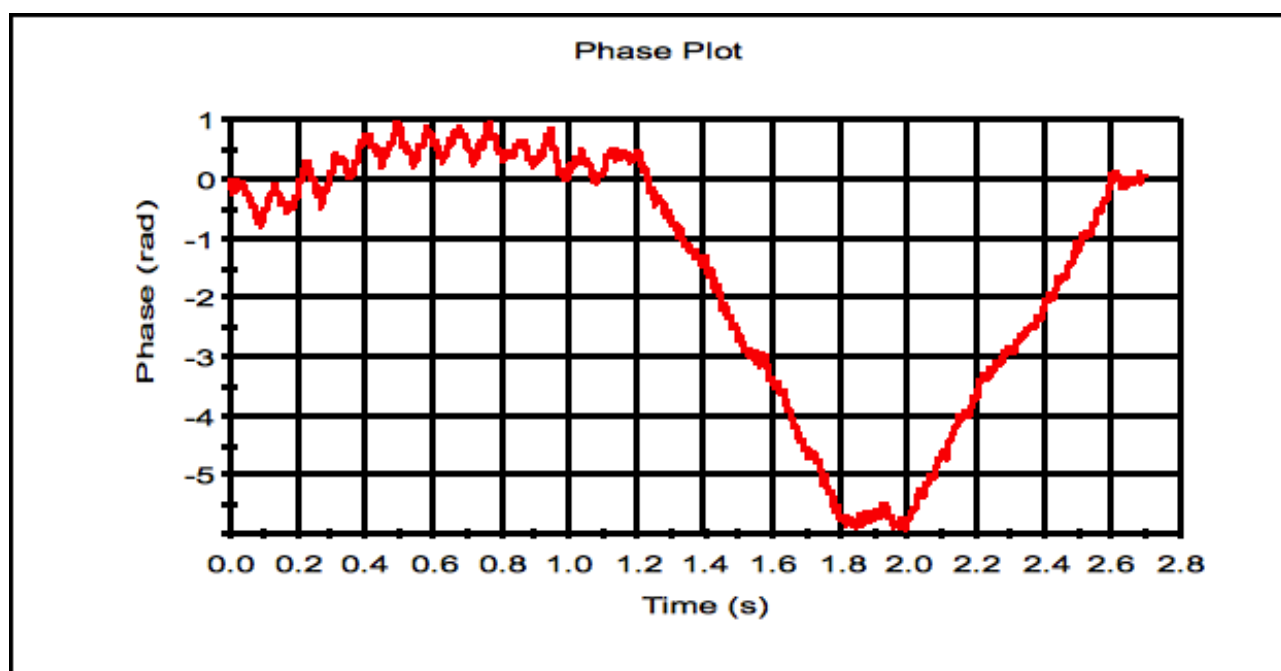
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-8,5$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-9,63$ mV. Οι δυο καμπύλες δεν ταυτίζονται απόλυτα μεταξύ τους και είναι λογικό, καθώς οι μετρήσεις παρουσιάζουν απόκλιση περίπου 1 μονάδα μεταξύ τους. Παρ'όλα αυτά, σε κάθε μία από τις περιπτώσεις αυτές, πρόκειται για ασταθές δείγμα.



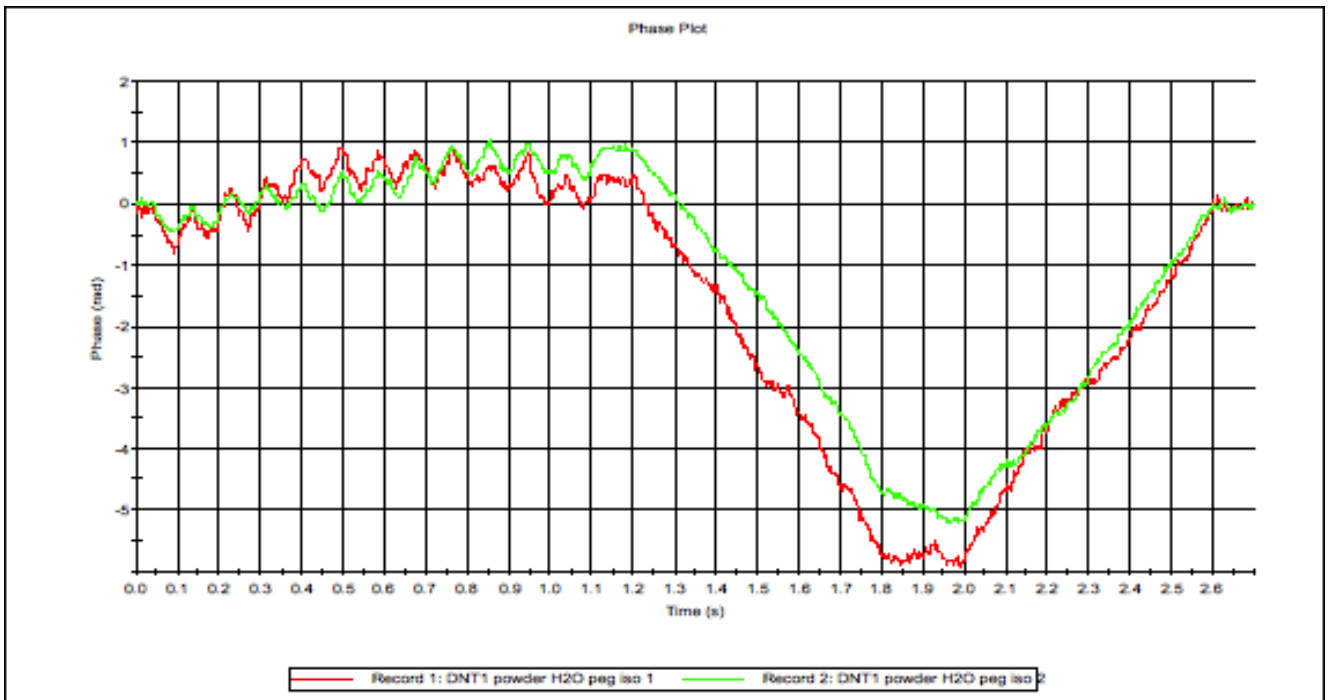
Τα διαγράμματα μετατόπισης συχνότητας, δεν παρουσιάζουν καμία διαταραχή, εκτός από ένα πολύ μικρό ποσοστό θορύβου στην baseline.

Δείγμα νούμερο 5

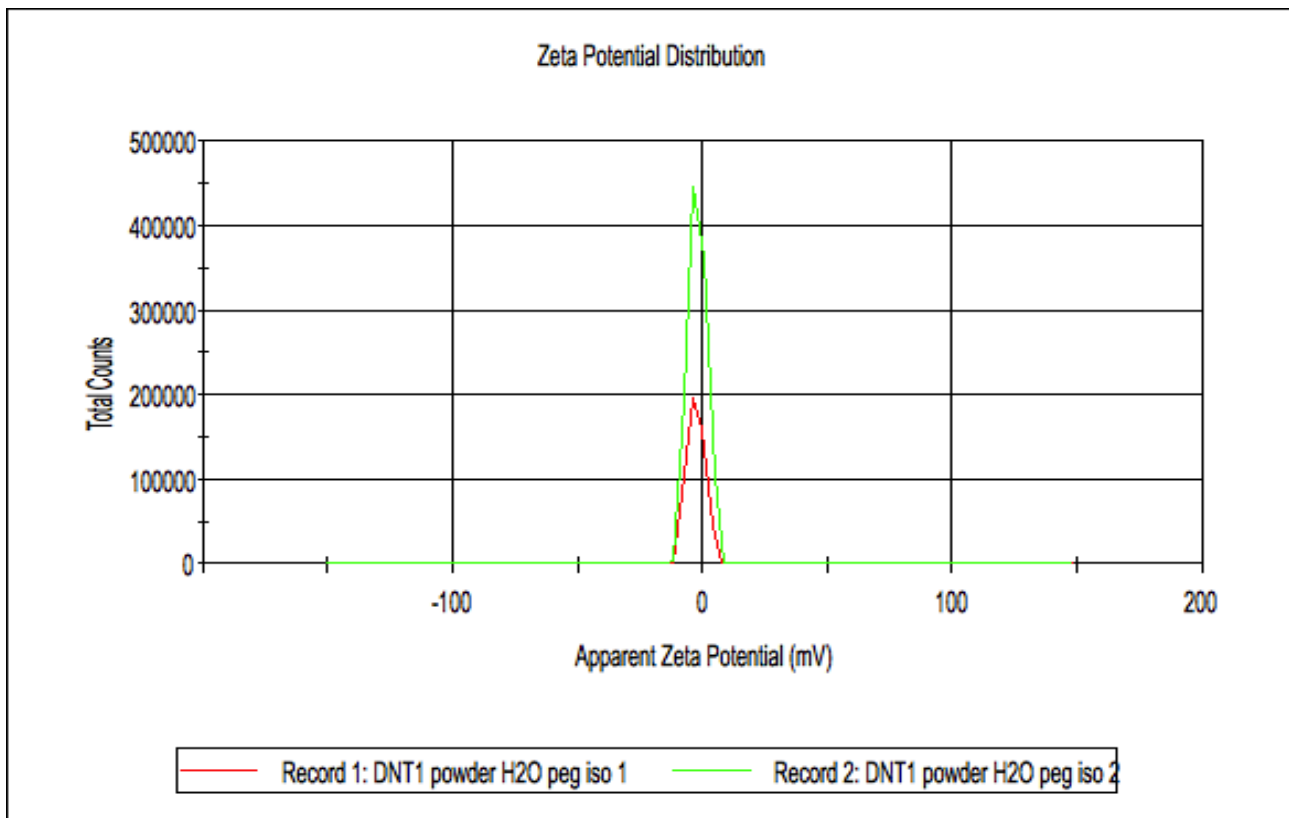
Record	Type	Sample Name	ment Date :	T °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference Beam Count Rate kcps
1	Zeta	powder H2O	peçh 10, 201!	25	-2.45	-0.1923	0.0332	1307.8
2	Zeta	powder H2O	peçh 10, 201!	25.1	-2.01	-0.1577	0.0342	1307.8
Mean 1,2				25	-2.23	-0.175	0.0337	1307.8
Std Dev				0.1	0.311	0.02447	7.07E-04	0
RSD %				0.282	14	14	2.1	0
Maximum				25.1	-2.01	-0.1577	0.0342	1307.8



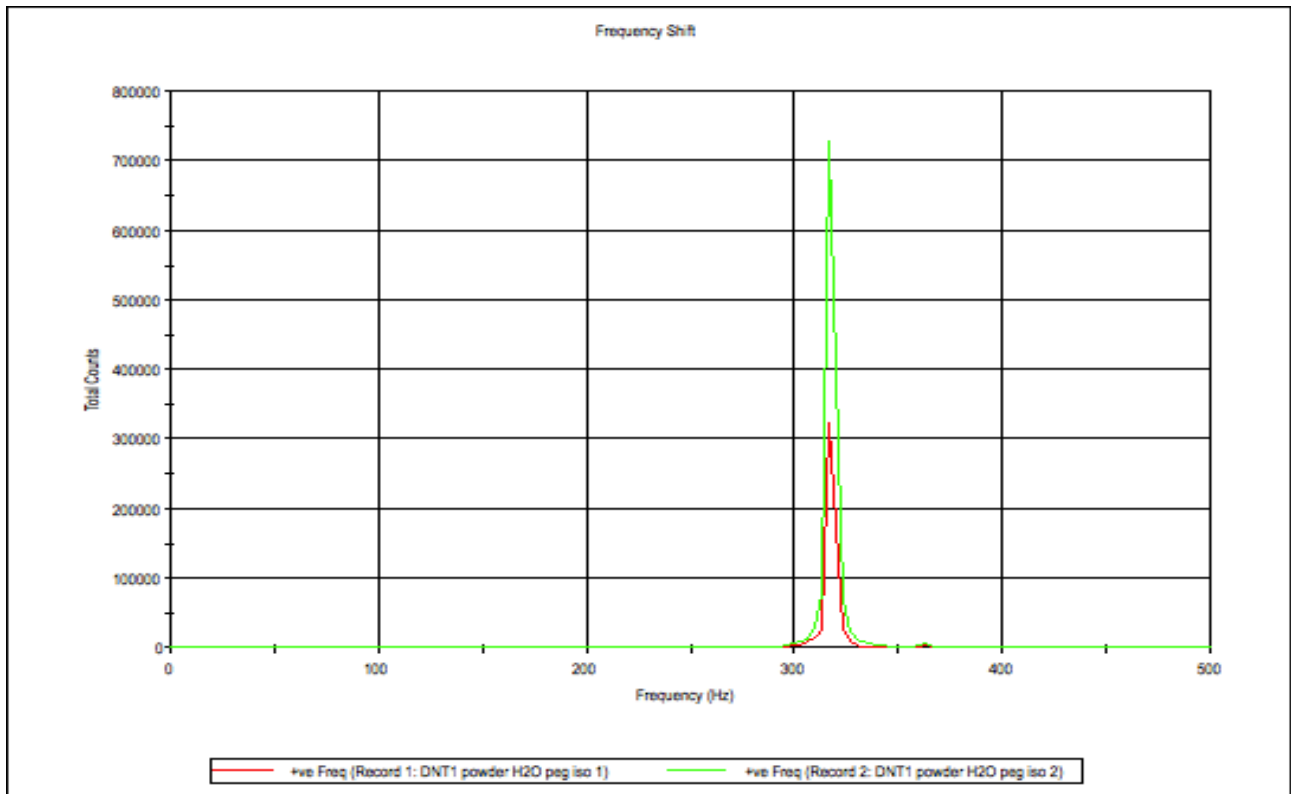
Παρατηρείται ότι το συγκεκριμένο διάγραμμα φάσης προσεγγίζει την έγκυρη μορφή, όπως προκύπτει σύμφωνα με τη θεωρία. Αν και η προσέγγιση αυτή παρουσιάζει αρκετές διαφορές σε σχέση με το ιδανικό διάγραμμα, θα θεωρηθεί ως *έγκυρο*, καθώς στην πλειοψηφία του συμπίπτει με το ιδανικό. Το γεγονός ότι υπάρχει η συγκεκριμένη απόκλιση, πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία της ισοπροπανόλης και της σκόνης *peg*, που “υποβαθμίζουν” ποιοτικά το δείγμα με βάση τα πρότυπα του οργάνου.



Στο συγκεκριμένο διάγραμμα γίνεται αντιπαράθεση των διαγραμμάτων φάσης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Προσομοιάζουν μορφολογικά το ένα το άλλο, επομένως και οι δύο κύκλοι μετρήσεων μπορούν να θεωρηθούν ως *έγκυροι*, λόγω της αποδεκτής μορφής του διαγράμματος φάσης που παρατηρείται.



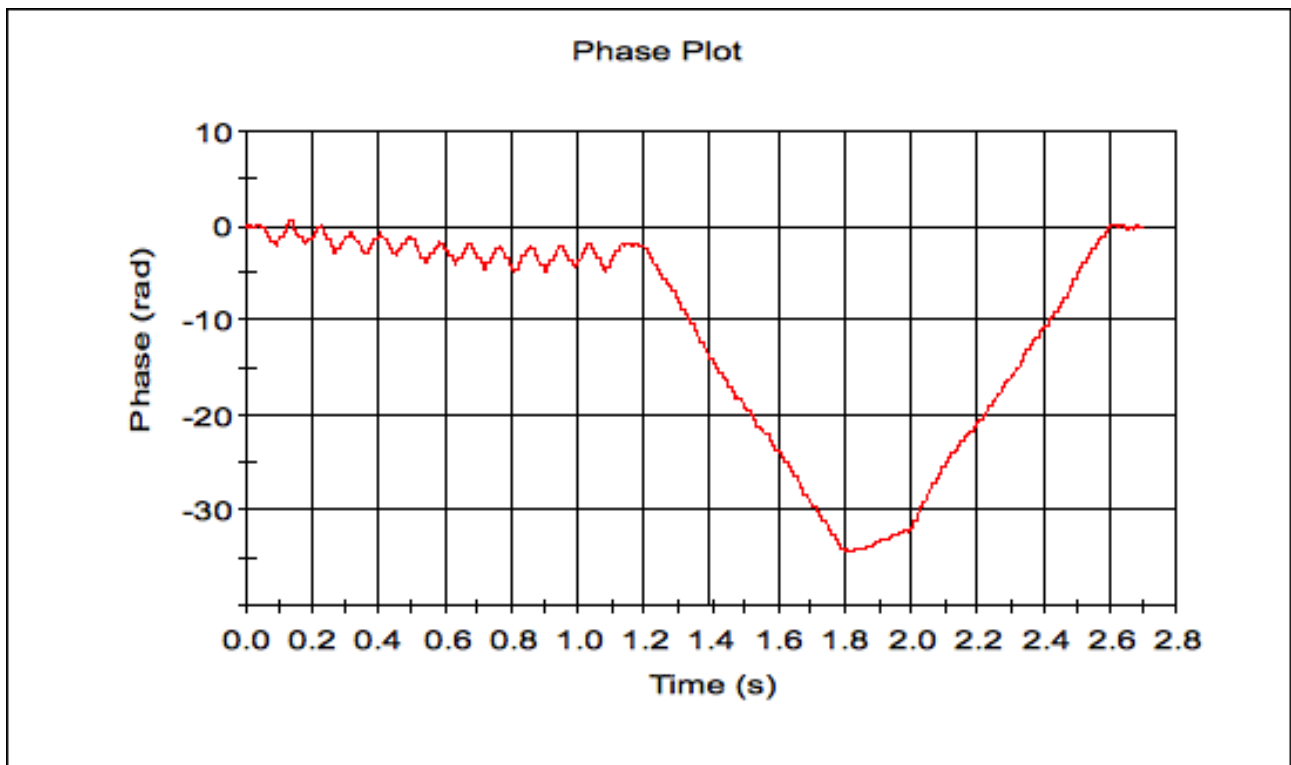
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-2,45$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-2,01$ mV. Οι δυο καμπύλες δεν ταυτίζονται μεταξύ τους και είναι λογικό, καθώς οι μετρήσεις παρουσιάζουν απόκλιση περίπου μισή μονάδα μεταξύ τους. Παρ'όλα αυτά, σε κάθε μία από τις περιπτώσεις αυτές, πρόκειται ξεκάθαρα για ένα πολύ ασταθές δείγμα υπό τις δεδομένες συνθήκες.



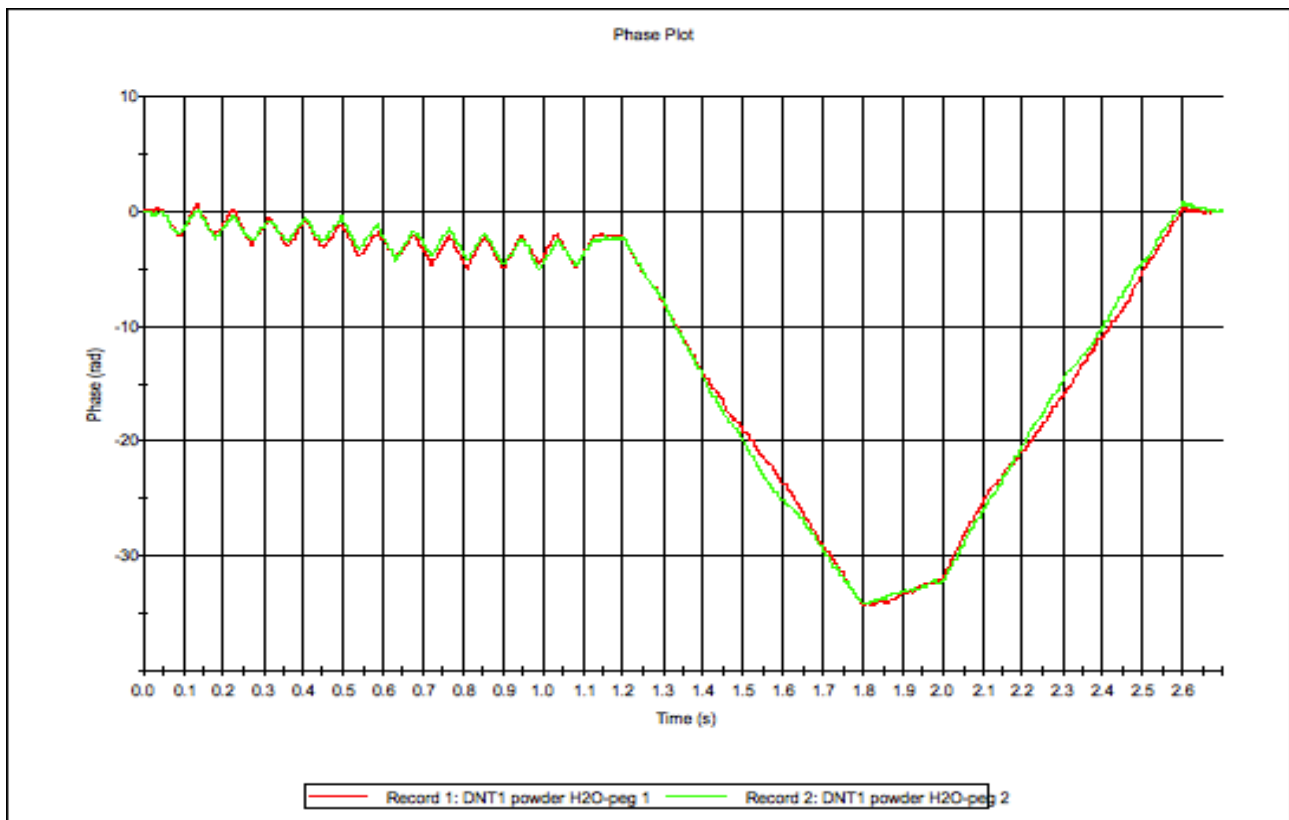
Τα διαγράμματα μετατόπισης συχνότητας, δεν παρουσιάζουν καμία διαταραχή, εκτός από ένα σχεδόν ανύπαρκτο ποσοστό θορύβου στην baseline.

Δείγμα νούμερο 6

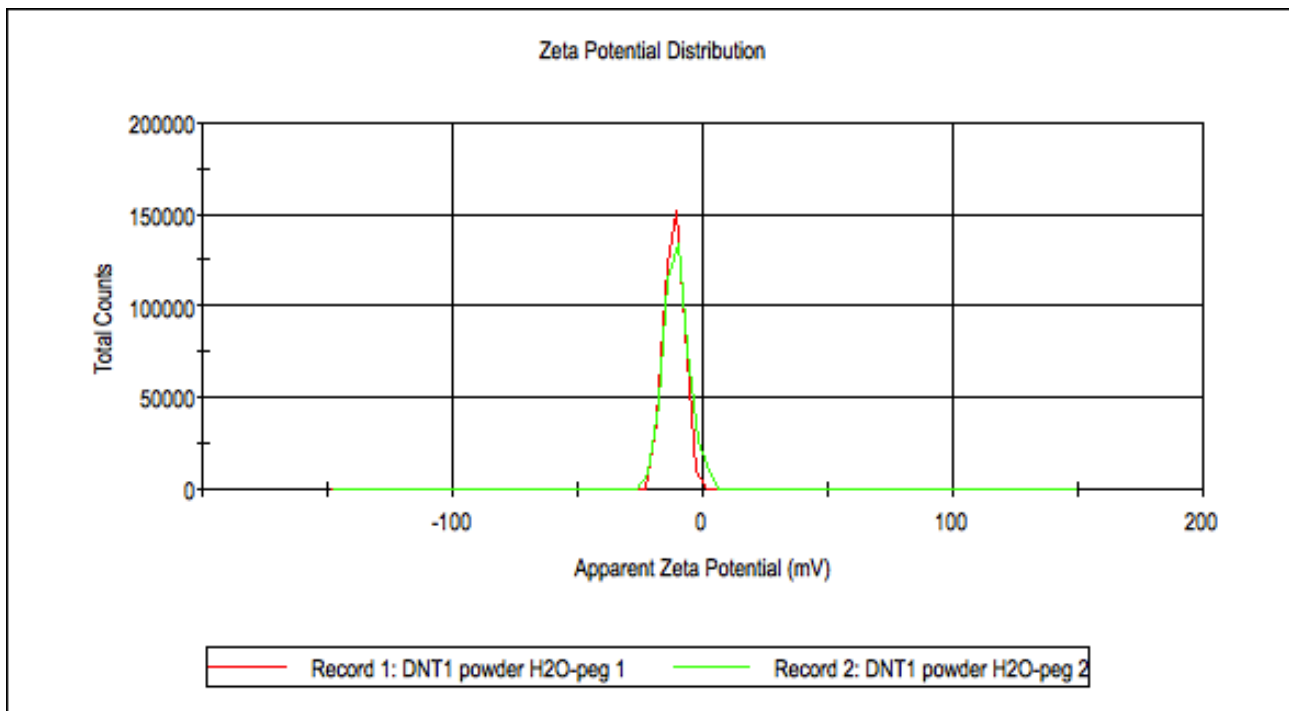
Record	Type	Sample Na	MeasuremT °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	DNT1 pow	Wednesda	25.1	-11.1	-0.8705	0.0351	1725.3
2	Zeta	DNT1 pow	Wednesda	25.1	-10.3	-0.806	0.0355	1725.3
Mean 1,2				25.1	-10.7	-0.8382	0.0353	1725.3
Std Dev				0	0.566	0.04561	2.83E-04	0
RSD %				0	5.29	5.44	0.801	0
Maximum				25.1	-10.3	-0.806	0.0355	1725.3



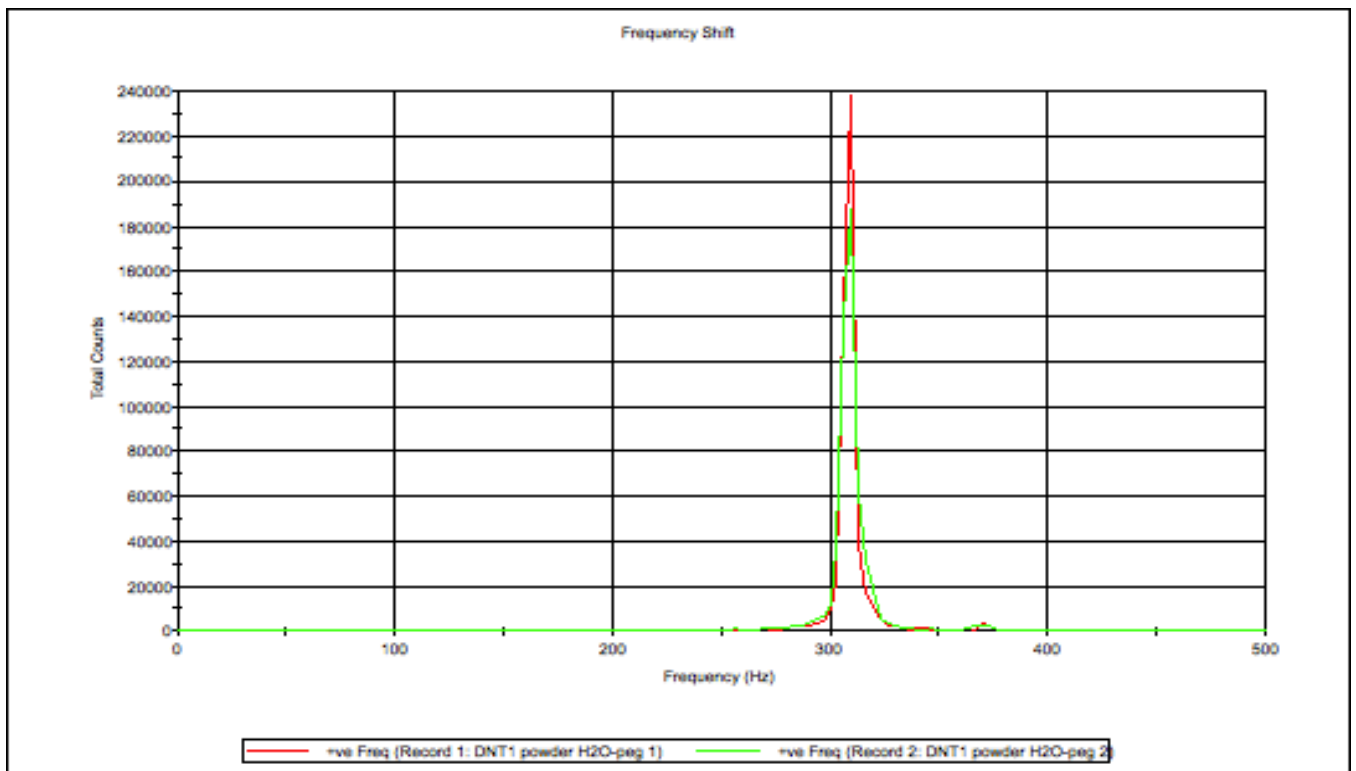
Πρόκειται για σχεδόν άριστο διάγραμμα φάσης, κι επομένως δεν θα μπορούσε να γίνει αλλιώς από το να θεωρηθούν πέρα για πέρα έγκυρες οι μετρήσεις και κατ' επέκταση τα αποτελέσματα.



Πρόκειται για την σχεδόν τέλεια ταύτιση μεταξύ των δύο διαγραμμάτων φάσης, τα οποία προσεγγίζουν στο μέγιστο την άριστη μορφολογία του διαγράμματος φάσης. Επομένως είναι άλλη μια ένδειξη ότι οι μετρήσεις είναι πέρα για πέρα *έγκυρες*.



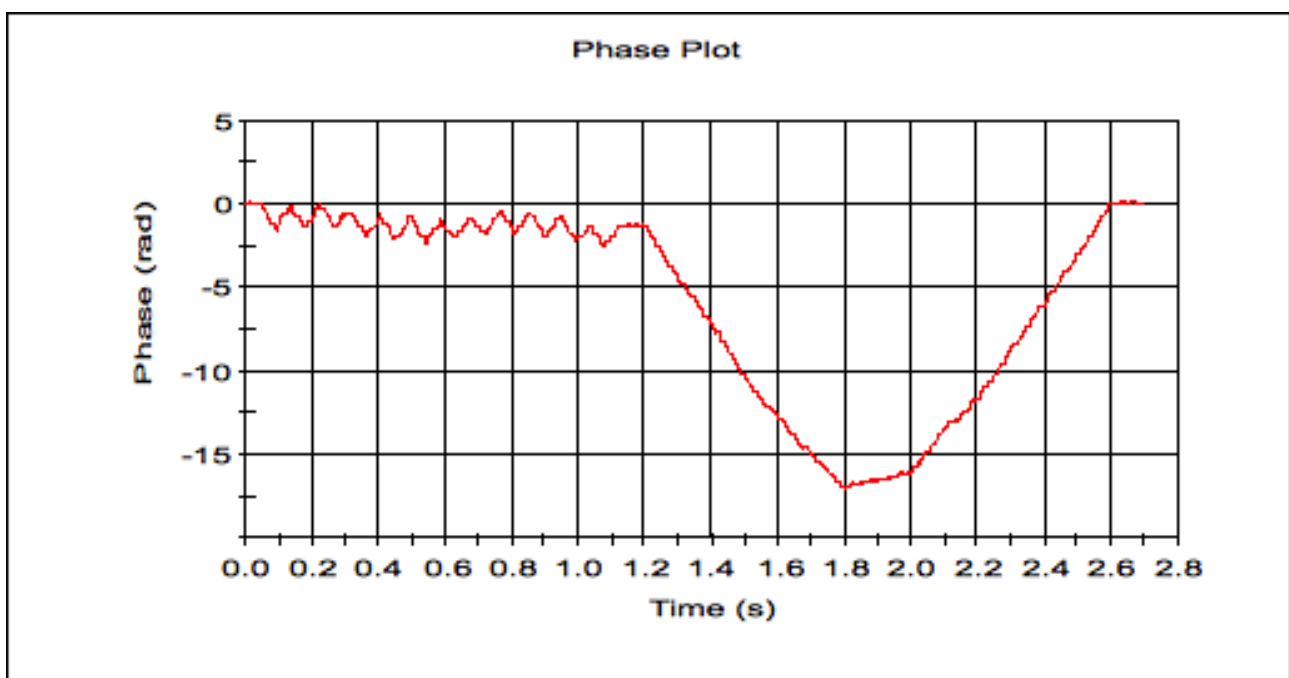
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-11,1$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-10,3$ mV. Οι δυο καμπύλες δεν ταυτίζονται μεταξύ τους και είναι λογικό, καθώς οι μετρήσεις παρουσιάζουν απόκλιση περίπου μια μονάδα μεταξύ τους. Αν και πρόκειται για προφανώς σταθερότερο δείγμα από την πλειοψηφία των προηγούμενων, πάλι είναι περίπτωση δείγματος που δεν ενδείκνεται για τη σταθερότητά του στις δεδομένες συνθήκες.



Τα διαγράμματα μετατόπισης συχνότητας, δεν παρουσιάζουν καμία διαταραχή, εκτός από ένα σχεδόν ανύπαρκτο ποσοστό θορύβου στην baseline, ενώ ταυτίζονται σε μεγάλο βαθμό.

Δείγμα νούμερο 7

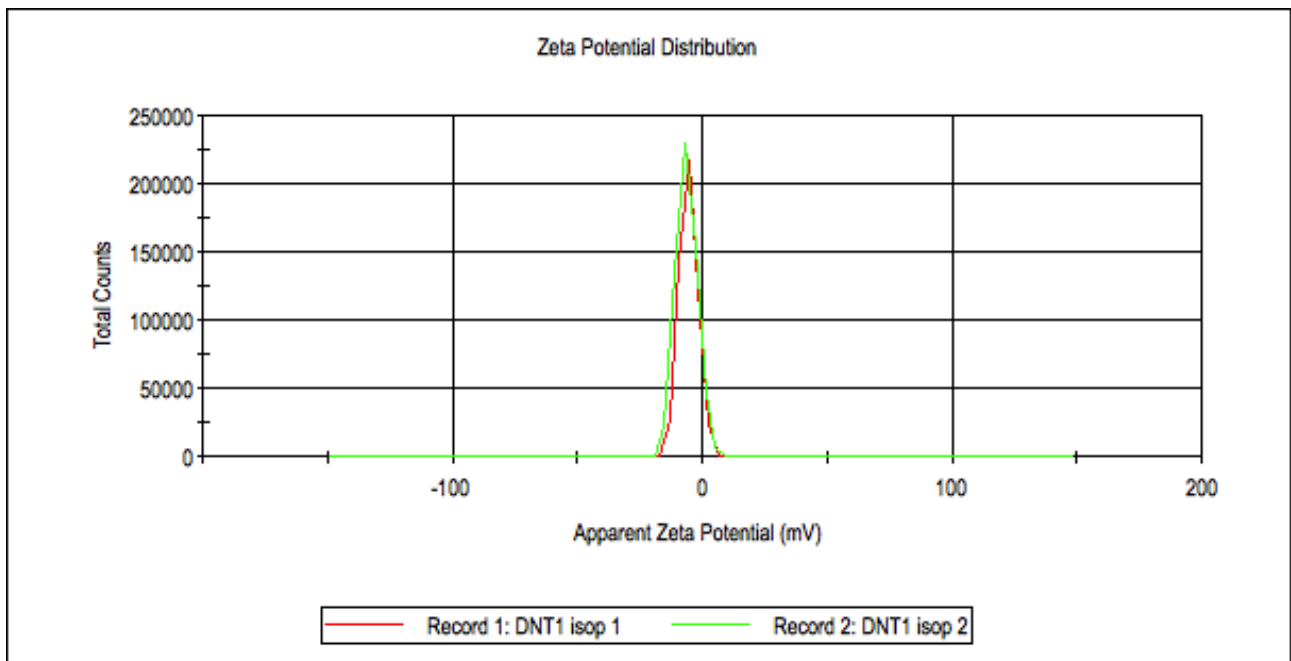
Record	Type	Sample Na	Measurem T °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps
1	Zeta	DNT1 isop Wednesda	25.1	-5.49	-0.4304	0.0448	1574.3
2	Zeta	DNT1 isop Wednesda	25	-6.22	-0.4872	0.0468	1574.3
Mean 1,2				25	-5.86	-0.4588	1574.3
Std Dev				0.1	0.516	0.04016	0
RSD %				0.282	8.82	8.75	0
Maximum				25.1	-5.49	-0.4304	1574.3



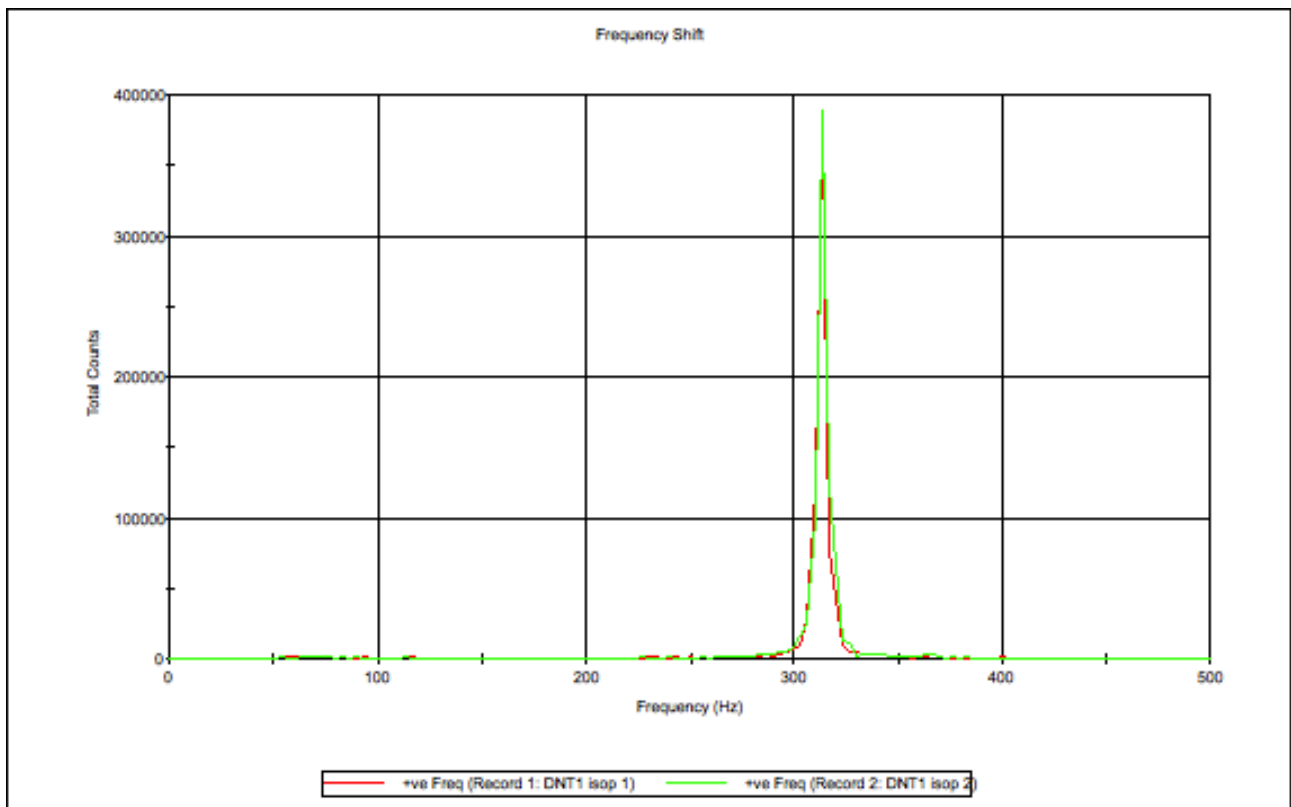
Πρόκειται για ποιοτικά πολύ καλό διάγραμμα φάσης, κι επομένως δεν θα μπορούσε να γίνει αλλιώς από το να θεωρηθούν *έγκυρες* οι μετρήσεις και κατ' επέκταση τα αποτελέσματα.



Πρόκειται για την ομοιόμορφη ταύτιση μεταξύ των δύο διαγραμμάτων φάσης, τα οποία προσεγγίζουν στο μέγιστο την άριστη μορφολογία του διαγράμματος φάσης. Επομένως είναι άλλη μια ένδειξη ότι οι μετρήσεις είναι πέρα για πέρα έγκυρες.



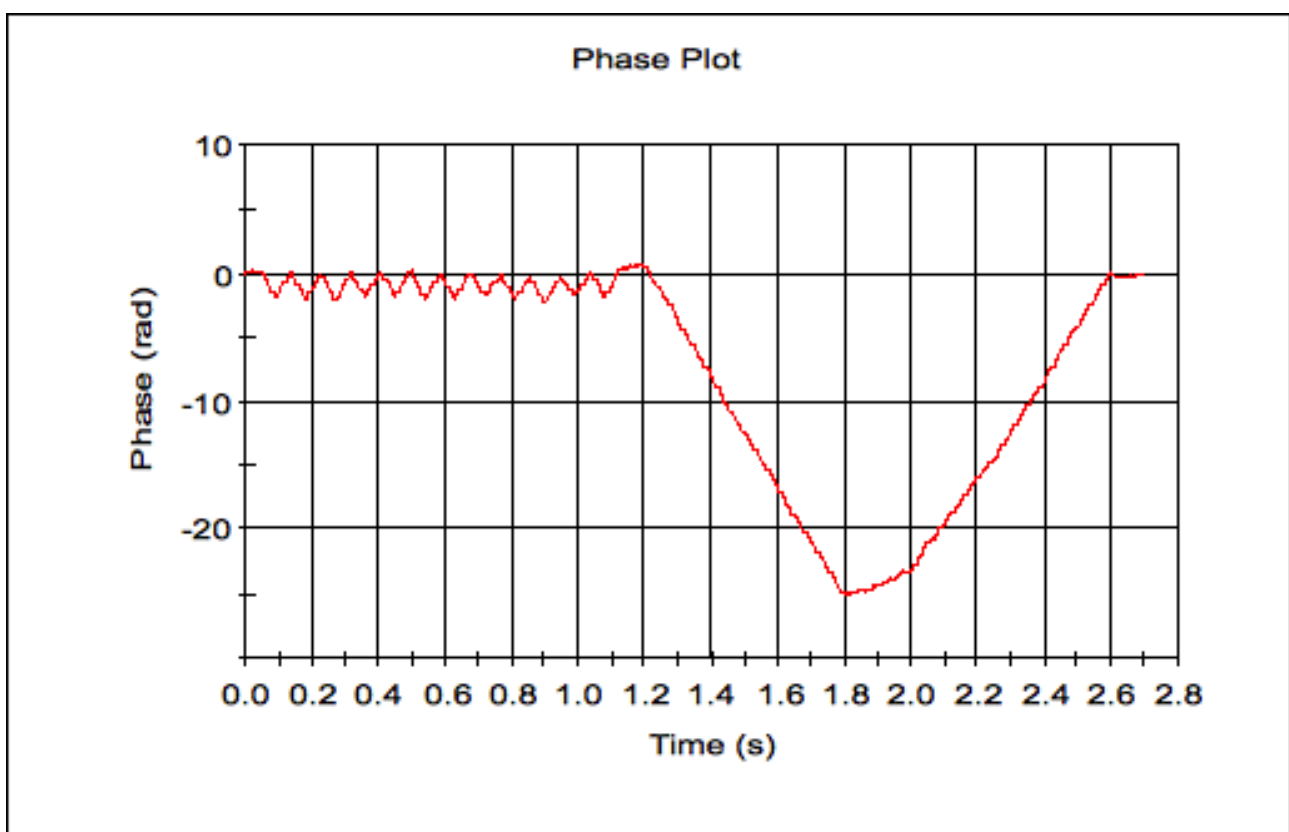
Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-5,49$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-6,22$ mV. Οι δυο καμπύλες ταυτίζονται μεταξύ τους σε ικανοποιητικό βαθμό και είναι λογικό, καθώς οι μετρήσεις παρουσιάζουν απόκλιση μικρότερη από μια μονάδα μεταξύ τους. Πρόκειται για περίπτωση δείγματος που δεν ενδείκνεται για τη σταθερότητά του στις δεδομένες συνθήκες.



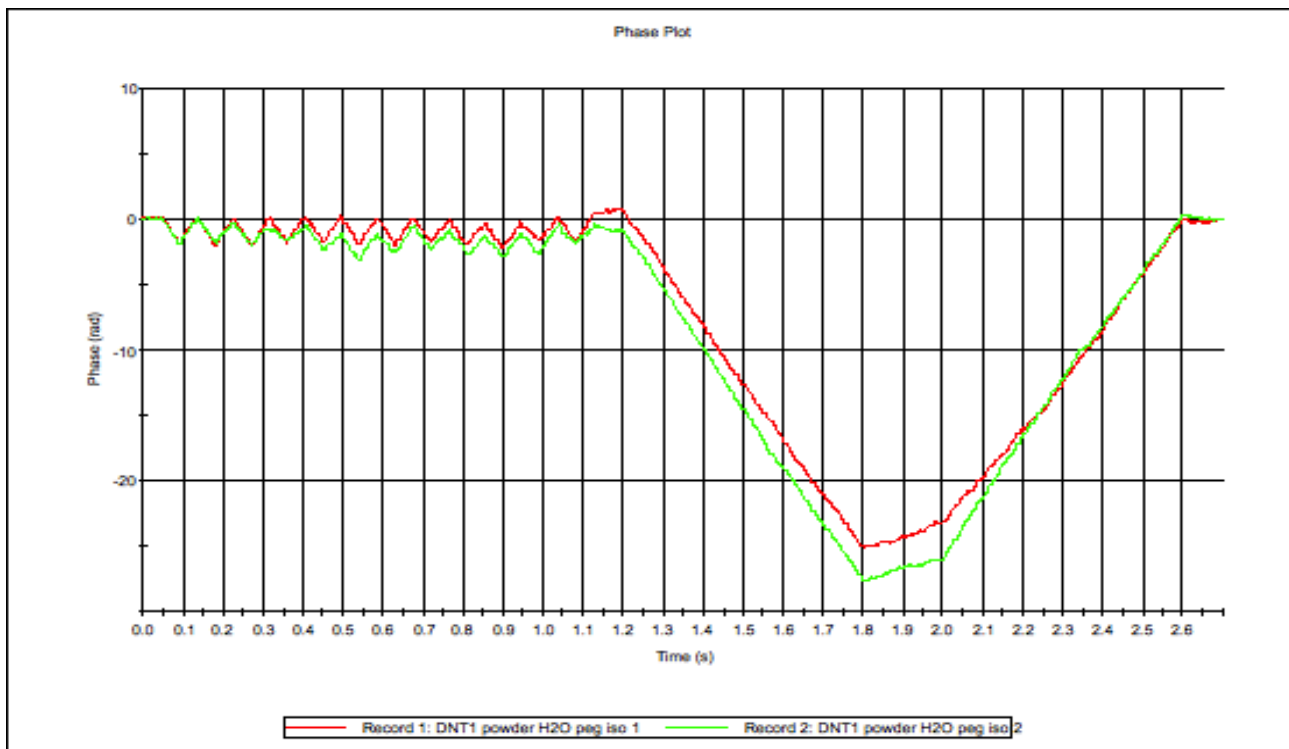
Πρόκειται για σχεδόν άριστο μορφολογικά διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας, με σχεδόν αμελητέο θόρυβο.

Δείγμα νούμερο 8

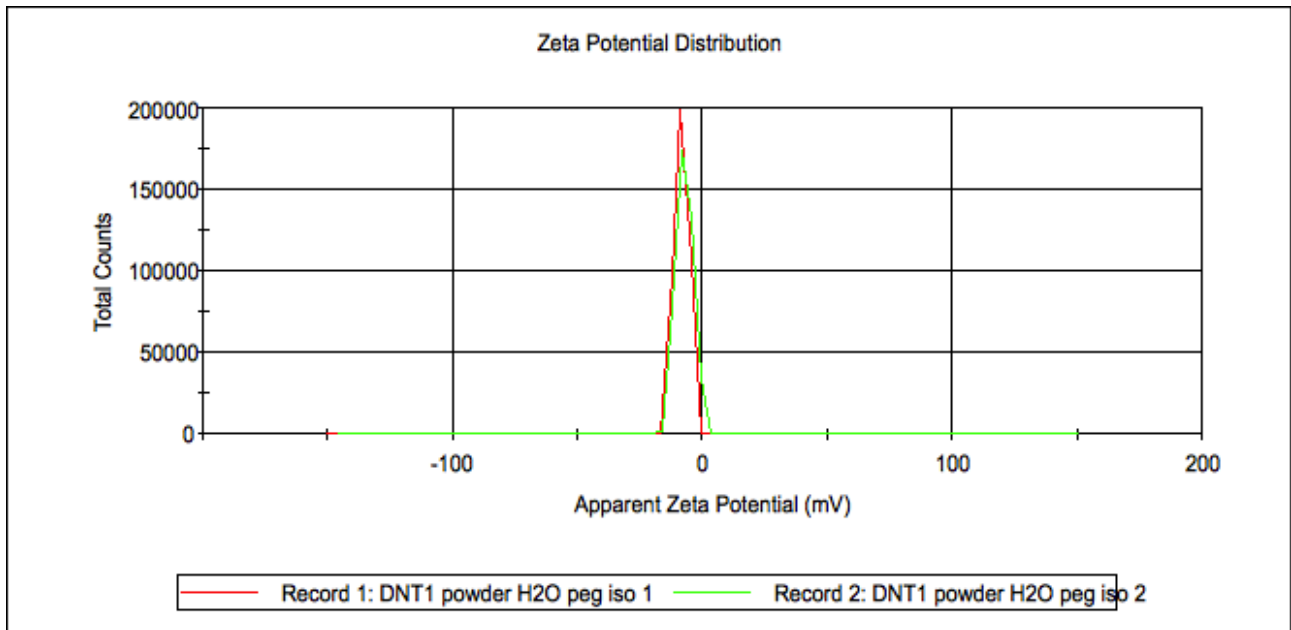
Record	Type	Sample Na	MeasuremT °C	ZP mV	Mob μmcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	DNT1 pow	Wednesda	25.1	-8.42	-0.6599	0.028	1661.1
2	Zeta	DNT1 pow	Wednesda	25.1	-7.02	-0.5504	0.0287	1661.1
Mean 1,2				25.1	-7.72	-0.6051	0.0284	1661.1
Std Dev				0	0.99	0.07743	4.95E-04	0
RSD %				0	12.8	12.8	1.75	0
Maximum				25.1	-7.02	-0.5504	0.0287	1661.1



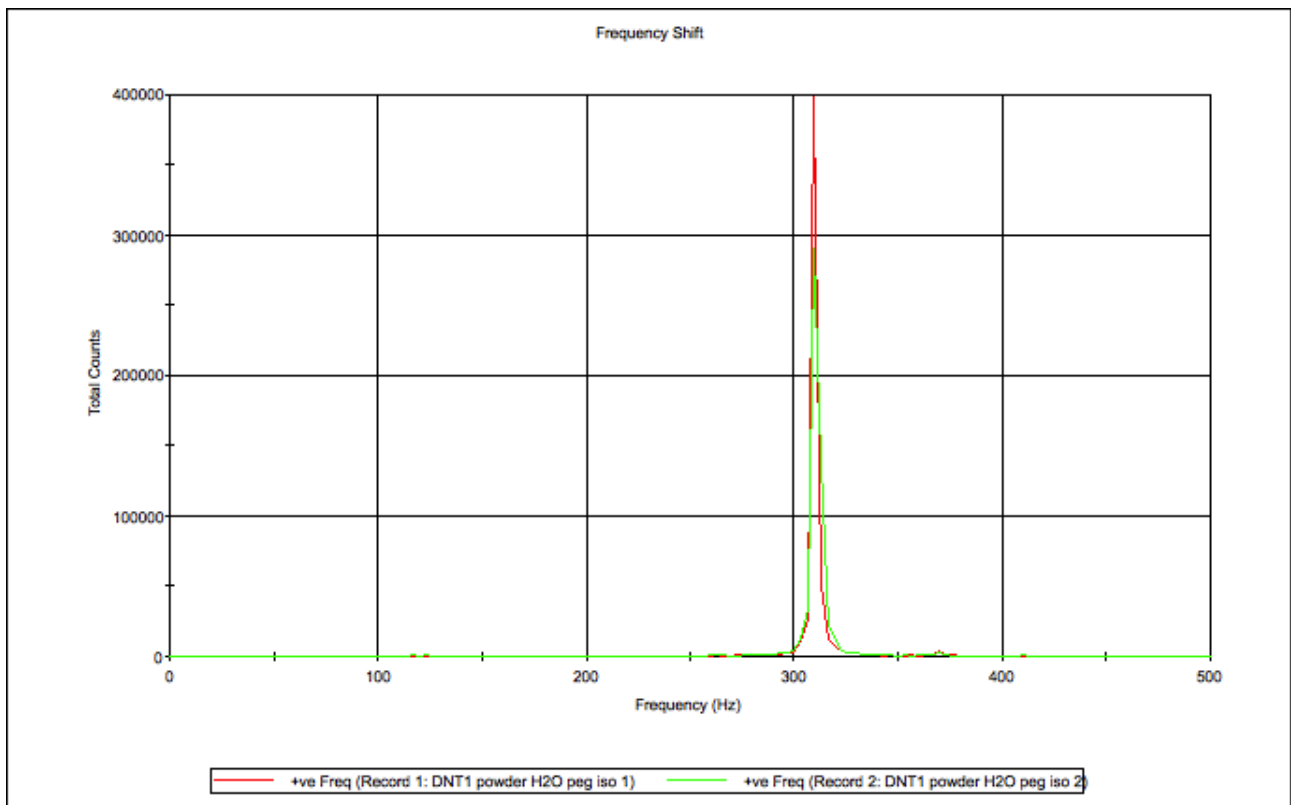
Πρόκειται για σχεδόν άριστο διάγραμμα φάσης, κι επομένως δεν θα μπορούσε να γίνει αλλιώς από το να θεωρηθούν πέρα για πέρα *έγκυρες* οι μετρήσεις και κατ' επέκταση τα αποτελέσματα.



Πρόκειται για αρκετά ομοιόμορφη ταύτιση μεταξύ των δύο διαγραμμάτων φάσης, τα οποία προσεγγίζουν στο μέγιστο την άριστη μορφολογία του διαγράμματος φάσης. Επομένως είναι άλλη μια ένδειξη ότι οι μετρήσεις είναι πέρα για πέρα έγκυρες.



Σύμφωνα με τον πίνακα των αποτελεσμάτων, η τιμή που προέκυψε από την πρώτη μέτρηση δυναμικού Z είναι $-8,42$ mV, ενώ από τη δεύτερη είναι $-7,02$ mV. Οι δυο καμπύλες ταυτίζονται μεταξύ τους σε αρκετά ικανοποιητικό βαθμό. Πρόκειται για περίπτωση δείγματος που δεν ενδείκνεται για τη σταθερότητά του στις δεδομένες συνθήκες.



Άριστα μορφολογικά διαγράμματα με αρκετά καλή ταύτιση μεταξύ τους. Ο θόρυβος στην baseline είναι σχεδόν μηδενικός.

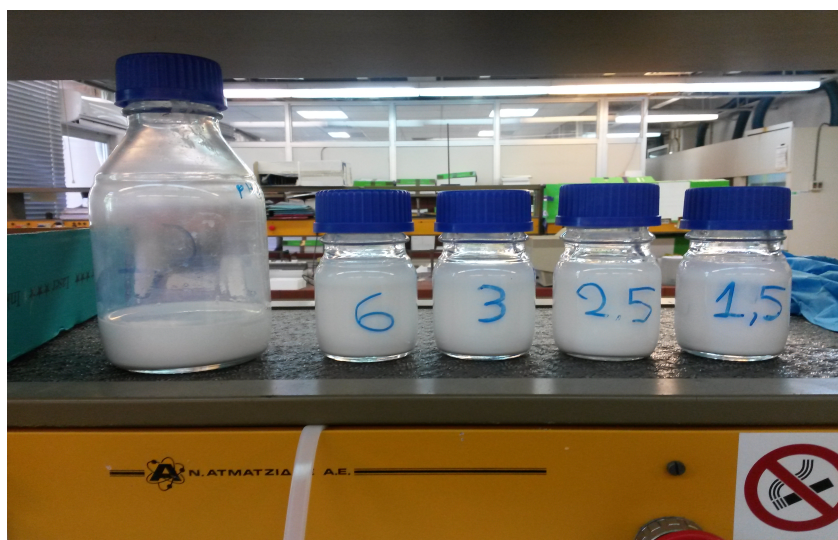
Συμπεράσματα

- ✓ Το διάγραμμα φάσης (phase plot) αποτελεί την *πρώτη επίσημη ένδειξη* ότι η εκάστοτε μέτρηση που διεξάγεται είναι έγκυρη. Έγκυρη μέτρηση όμως, σημαίνει ότι το υπό μέτρηση δείγμα πληρεί τις προϋποθέσεις έτσι ώστε να εισαχθεί και να μετρηθεί από το όργανο επιτυχώς. Σε καμία περίπτωση δε σχετίζεται με την επιτυχία ή αποτυχία των αποτελεσμάτων. Δηλαδή *έγκυρο δείγμα δε συνεπάγεται απαραίτητα με αποτελέσματα που θεωρούνται επιτυχή* όσον αφορά το σκοπό της μέτρησης. Στις προαναφερθείσες μετρήσεις για παράδειγμα, η υψηλότερη κατά απόλυτη τιμή δυναμικού Z ήταν 21, γεγονός το οποίο δεν εξασφαλίζει ένα ιδιαίτερα σταθερό δείγμα. Επειδή όμως τα διαγράμματα φάσης ήταν (ή προσομοίαζαν σε πολύ μεγάλο βαθμό) την έγκυρη μορφολογία, τότε ο εκάστοτε χρήστης είναι *υποχρεωμένος* να λάβει υπόψη στην έρευνά του τα αποτελέσματα των μετρήσεων.
- ✓ Σε περίπτωση που υπάρχουν αμφιβολίες για τη σωστή διεξαγωγή της εκάστοτε μέτρησης, καλό θα ήταν η κυβέττα με το δείγμα να εξέρχεται από το όργανο, να ελέγχεται και να καθαρίζεται, για τυχόν αστοχίες. Πρέπει να εξαντληθεί αυτή η πιθανότητα έτσι ώστε να εξετασθεί στη συνέχεια αν το δείγμα είναι συμβατό με το όργανο.
- ✓ Το διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας (frequency shift) μπορεί να δώσει στοιχεία αν το δείγμα ανταποκρίνεται στα ποιοτικά πρότυπα του οργάνου. Το σύνηθες πρόβλημα παρατηρείται πριν την παραλαβή των δειγμάτων είναι ο ελλιπής χρόνος ανάδευσης. Μία τέτοια περίπτωση είναι η *επόμενη σειρά δειγμάτων*, που έχει σκοπό να επιδείξει *περιπτώσεις μετρήσεων δυναμικού Z που δεν πρέπει να γίνουν αποδεκτές*. Σε τέτοιες περιπτώσεις συνήθως τα δείγματα δεν έχουν αναδευθεί το κατάλληλο χρονικό διάστημα, έτσι ώστε να έχει ομοιόμορφη σύσταση σε όλη του την έκταση χωρίς να γίνονται καθιζήσεις. Βέβαια κάθε δείγμα είναι διαφορετικό, οπότε μπορούν να προκύψουν διάφορες δυσκολίες. Μπορείτε να ανατρέξετε στη σχετική ενότητα του εγχειριδίου αυτού για περισσότερες πληροφορίες.
- ✓ Στα συγκεκριμένα δείγματα που παρουσιάστηκαν, το δείγμα νούμερο 1 έχει το μεγαλύτερο κατά απόλυτη τιμή δυναμικό Z , άρα είναι και το σταθερότερο όλων. Το δείγμα νούμερο 6 από την άλλη, έχει τη μικρότερο κατά απόλυτη τιμή δυναμικό Z , κι επομένως είναι το ασταθέστερο.

8.2 Παραδείγματα μη αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z

Σε αντιπαραβολή με την πρώτη σειρά δειγμάτων που παρουσιάστηκαν, η δεύτερη σειρά έχει ως σκοπό να δώσει σε ένα νέο χρήστη του οργάνου, παραδείγματα μετρήσεων τα οποία δεν πρέπει να λάβει υπόψη στην έρευνά του, καθώς δεν είναι έγκυρα.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση, στα δείγματα που μετρήθηκαν παρατηρήθηκε το φαινόμενο της καταβύθισης. Επρόκειτο για διαλύματα με διαλυμένη βιομηχανική σκόνη Aeroxide TiO₂ P25 σε 50 mL νερού. Ο αριθμός που είναι αναγεγραμμένος στα μπουκαλάκια αποτελεί σύντομη αναφορά της ποσότητας σε g της διαλυμένης βιομηχανικής σκόνης.



Εικόνα 42 : Δείγματα μη αποδεκτών μετρήσεων

Εκ πρώτης όψεως θα μπορούσε ήδη ο νέος χρήστης να υποψιαστεί ότι τα συγκεκριμένα δείγματα πιθανόν να είχαν πρόβλημα συμβατότητας με το όργανο καθώς χαρακτηρίζονται από υπερβολική θολότητα. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη συμβατότητα του δείγματος από το όργανο, μπορείτε να ανατρέξετε στην ενότητα 5.3 του εγχειριδίου.

Τα δείγματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα :

Πίνακας 12 : Χαρακτηριστικά δειγμάτων μη αποδεκτών μετρήσεων δυναμικού Z

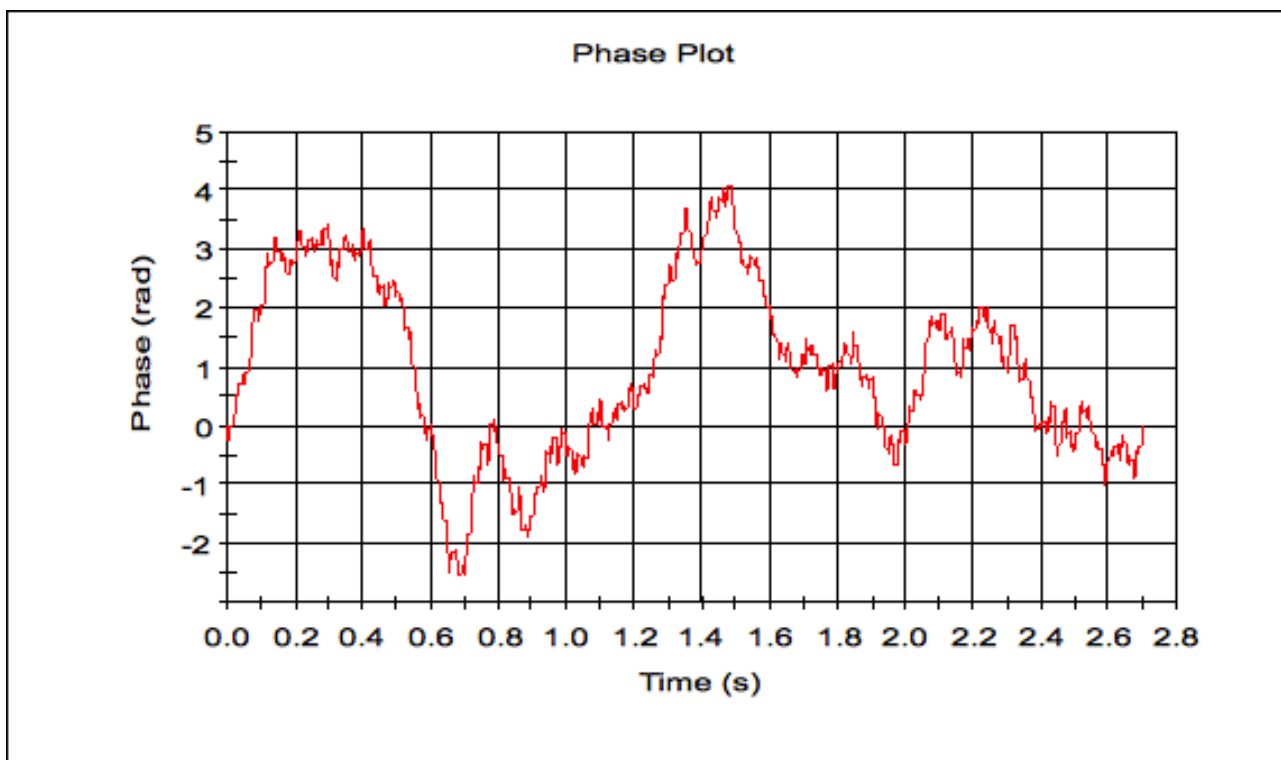
Αριθμός δείγματος	Συστατικά δείγματος	Τιμή pH	Δείκτης διάθλασης	Απορροφητικότητα
1	1,5 g διαλυμένης βιομηχανικής σκόνης σε 50 mL νερό	6,5	1,3696	0,03
2	2,5 g διαλυμένης βιομηχανικής σκόνης σε 50 mL νερό	6	1,3708	0,03
3	3 g διαλυμένης βιομηχανικής σκόνης σε 50 mL νερό	6	1,3839	0,03
4	6 g διαλυμένης βιομηχανικής σκόνης σε 50 mL νερό	6	1,4050	0,03
5	12 g διαλυμένης βιομηχανικής σκόνης σε 50 mL νερό	6	1,4095	0,03

Όπου βιομηχανική σκόνη, υπενθυμίζεται ότι είναι *Aeroxide TiO₂ P25*

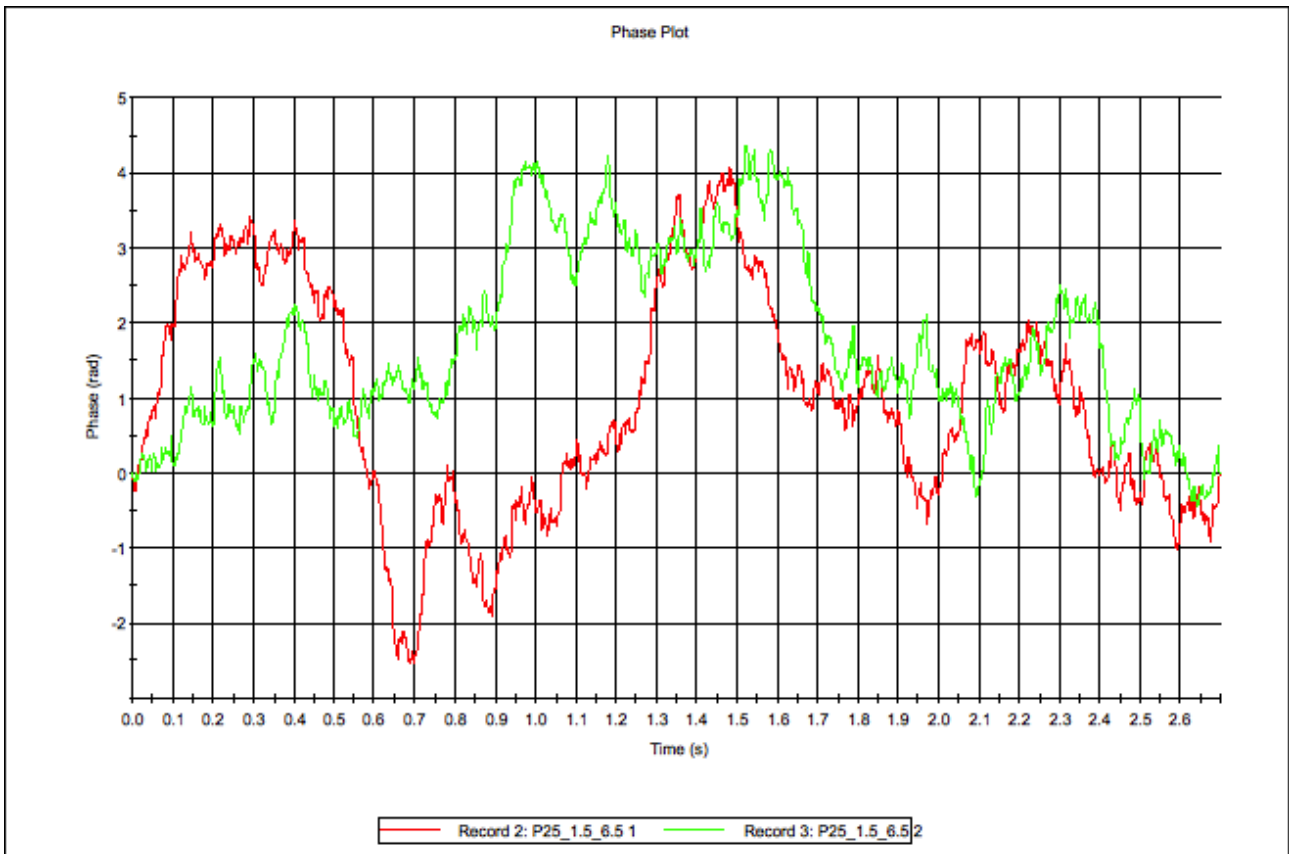
Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του κάθε δείγματος ξεχωριστά, όπως εξάγονται από το λογισμικό του Zetasizer. Να σημειωθεί επίσης ότι κανένα δείγμα δεν κωδικοποιείται ως μονοτροπικό (monomodal) από το όργανο.

Δείγμα νούμερο 1

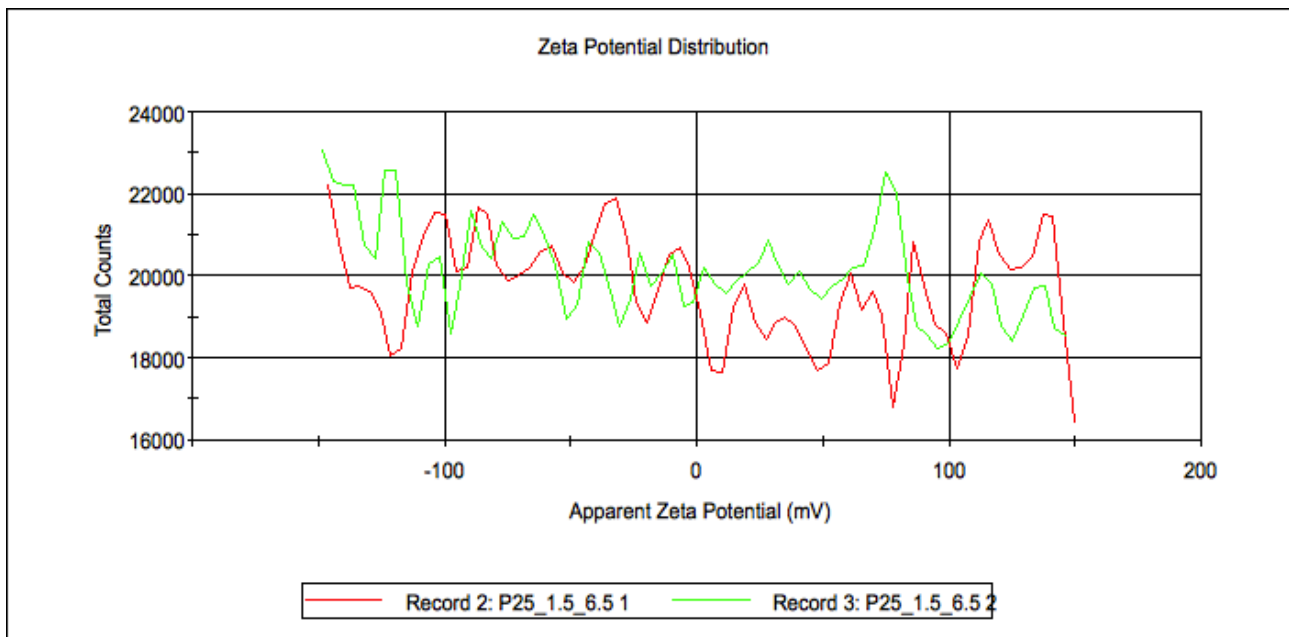
Record	Type	Sample Name	Measurement °C	ZP mV	Mob μcm/Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
2	Zeta	P25_1.5_6	Friday, Ma	25	0.12	0.009426	0.0828	860.7
3	Zeta	P25_1.5_6	Friday, Ma	25	-0.889	-0.06966	0.0866	860.7
Mean 2,3				25	-0.384	-0.03012	0.0847	860.7
Std Dev				0	0.713	0.05592	0.00269	0
RSD %				0	100	100	3.17	0
Maximum				25	0.12	0.009426	0.0866	860.7



Η πρώτη και ίσως σημαντικότερη ένδειξη ότι κάτι συμβαίνει εντός του δείγματος που είναι πέρα από τα όρια του οργάνου. Η μορφολογία του συγκεκριμένου διαγράμματος δεν προσομοιάζει πουθενά την έγκυρη και αποδεκτή, άρα και οι μετρήσεις που έγιναν δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη στη συνολική έρευνα, επειδή είναι *άκυρες*.



Αναλυτικά το διάγραμμα φάσης για κάθε μία μέτρηση ξεχωριστά. Η απεικόνιση αυτή επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι παρουσιάζεται πρόβλημα εντός του δείγματος πιθανότατα και όχι κατά τη διαδικασία της μέτρησης.



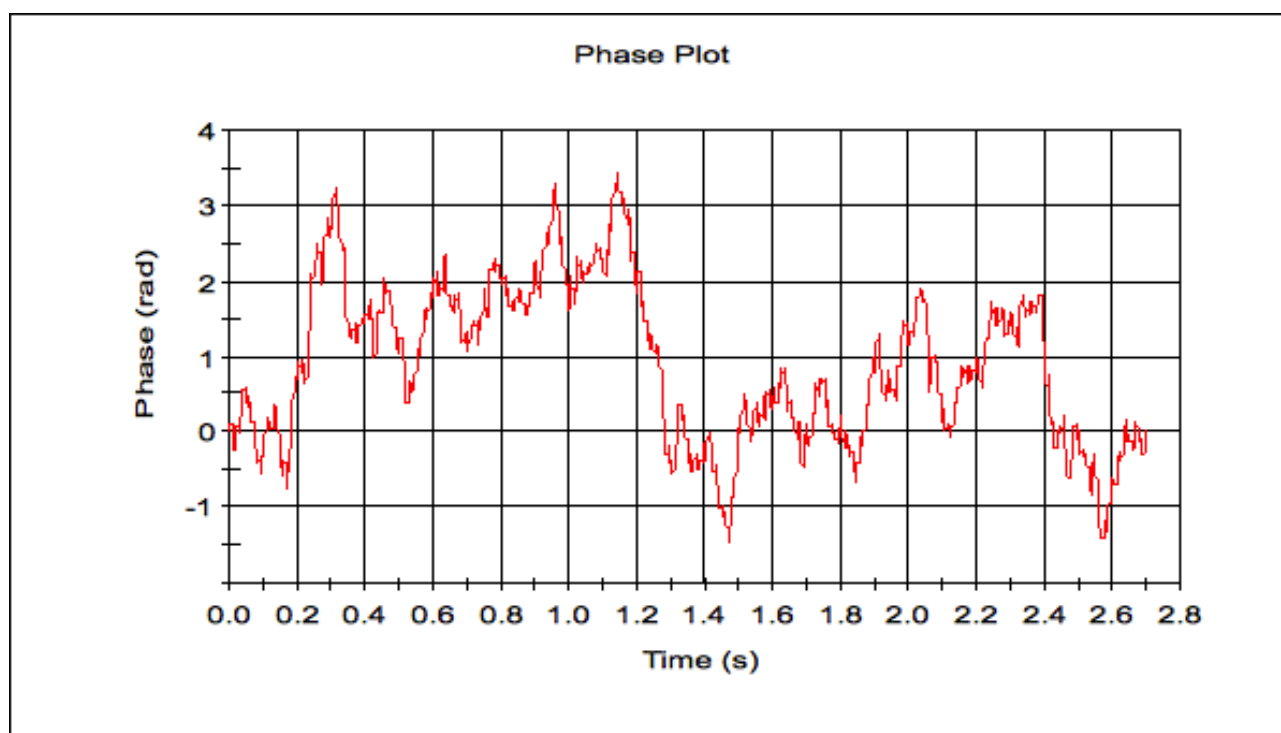
Η τιμή του δυναμικού Z είναι ιδιαίτερα χαμηλή και στις δύο περιπτώσεις και μάλιστα είναι και μικρότερη της μονάδας κατά απόλυτη τιμή. Το στοιχείο αυτό σε συνδυασμό με τις άκυρες μορφές των διαγραμμάτων που έχουν προκύψει μέχρι στιγμής, αποτελούν ένδειξη ότι στο δείγμα παρουσιάζεται πρόβλημα (καθίζηση, συσσωμάτωση, ακατάλληλος διαλύτης) το οποίο αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τη λήψη μέτρησης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει πρόβλημα *καθίζησης*.



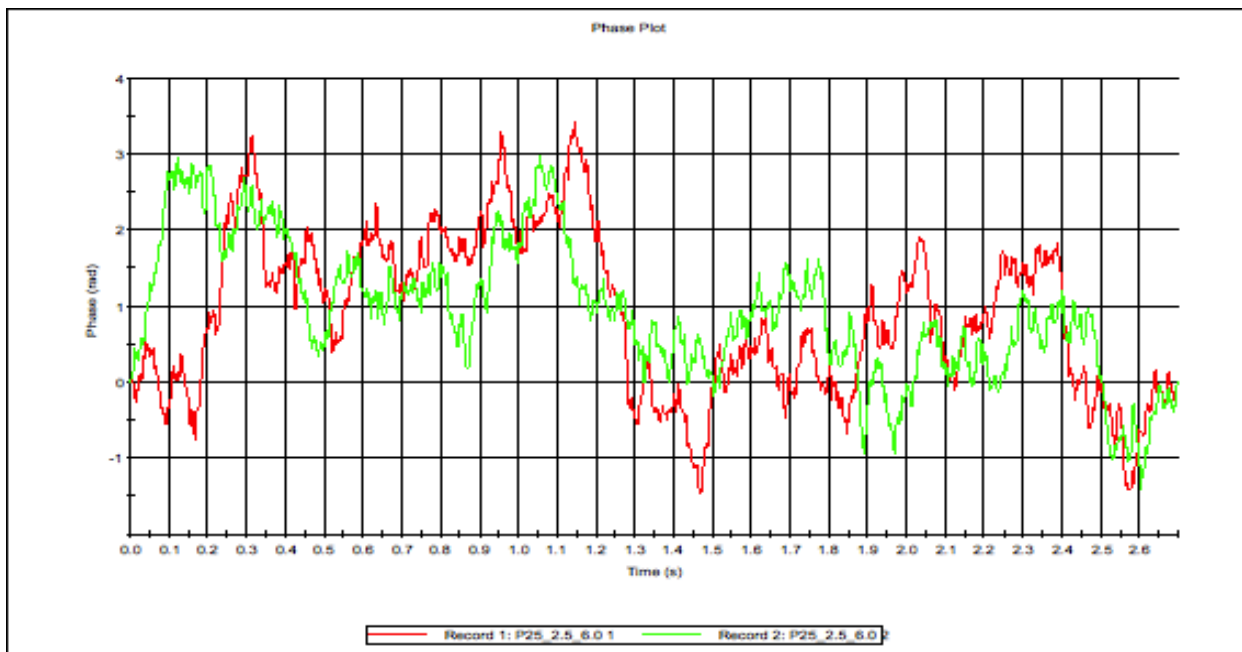
Λογική συνέπεια της άκυρης μέτρησης, είναι και το διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας να έχει *μη αποδεκτή μορφή*, όπως και παρατηρείται.

Δείγμα νούμερο 2

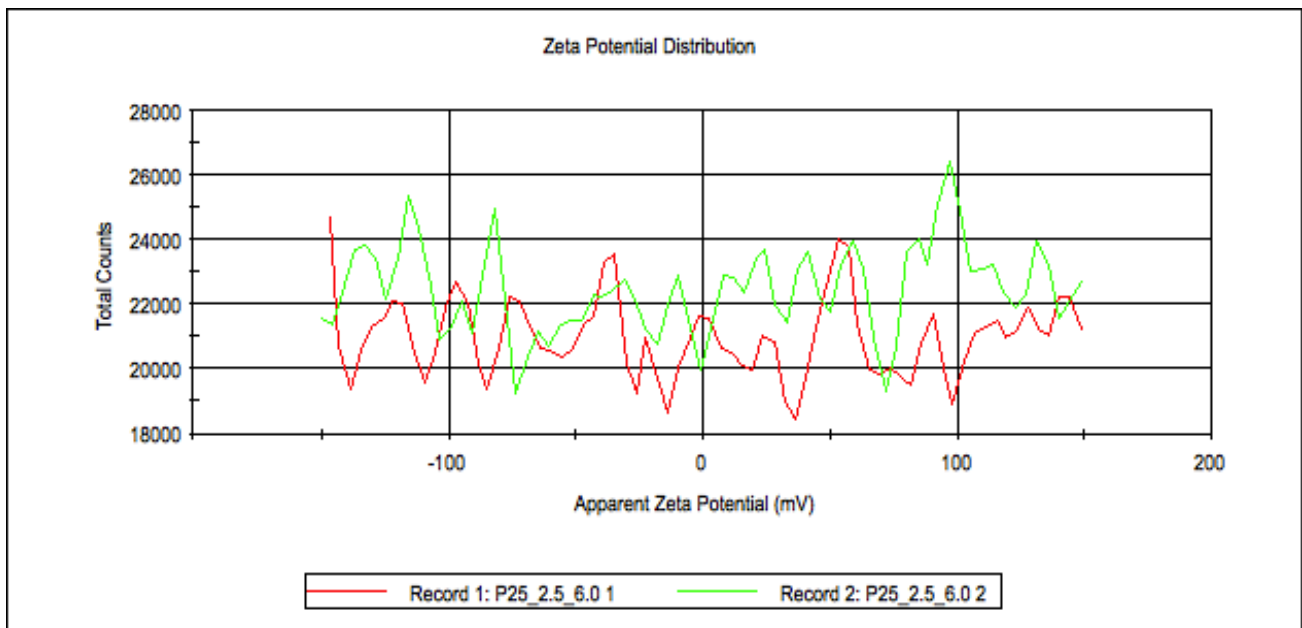
Record	Type	Sample Name	Measurement T °C	ZP mV	Mob μm ² /Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	P25_2.5_6	Friday, Ma	25	-1.37	-0.1074	0.127	1055.7
2	Zeta	P25_2.5_6	Friday, Ma	25	0.38	0.02983	0.133	1055.7
Mean 1,2				25	-0.495	-0.03878	0.13	1055.7
Std Dev				0	1.24	0.09704	0.00424	0
RSD %				0	100	100	3.26	0
Maximum				25	0.38	0.02983	0.133	1055.7



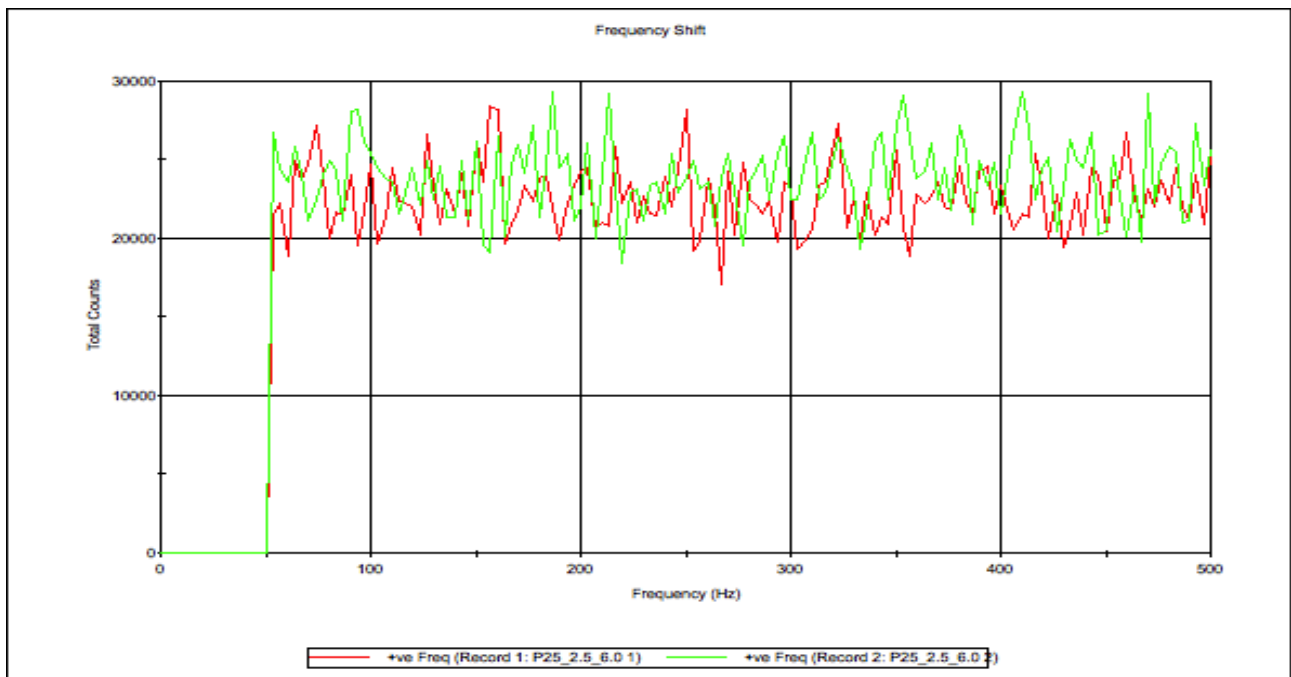
Η πρώτη και ίσως σημαντικότερη ένδειξη ότι κάτι συμβαίνει εντός του δείγματος που είναι πέρα από τα όρια του οργάνου. Η μορφολογία του συγκεκριμένου διαγράμματος δεν προσομοιάζει πουθενά την έγκυρη και αποδεκτή, άρα και οι μετρήσεις που έγιναν δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη στη συνολική έρευνα, επειδή είναι *άκυρες*.



Αναλυτικά το διάγραμμα φάσης για κάθε μία μέτρηση ξεχωριστά. Η απεικόνιση αυτή επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι παρουσιάζεται πρόβλημα εντός του δείγματος πιθανότατα και όχι κατά τη διαδικασία της μέτρησης.



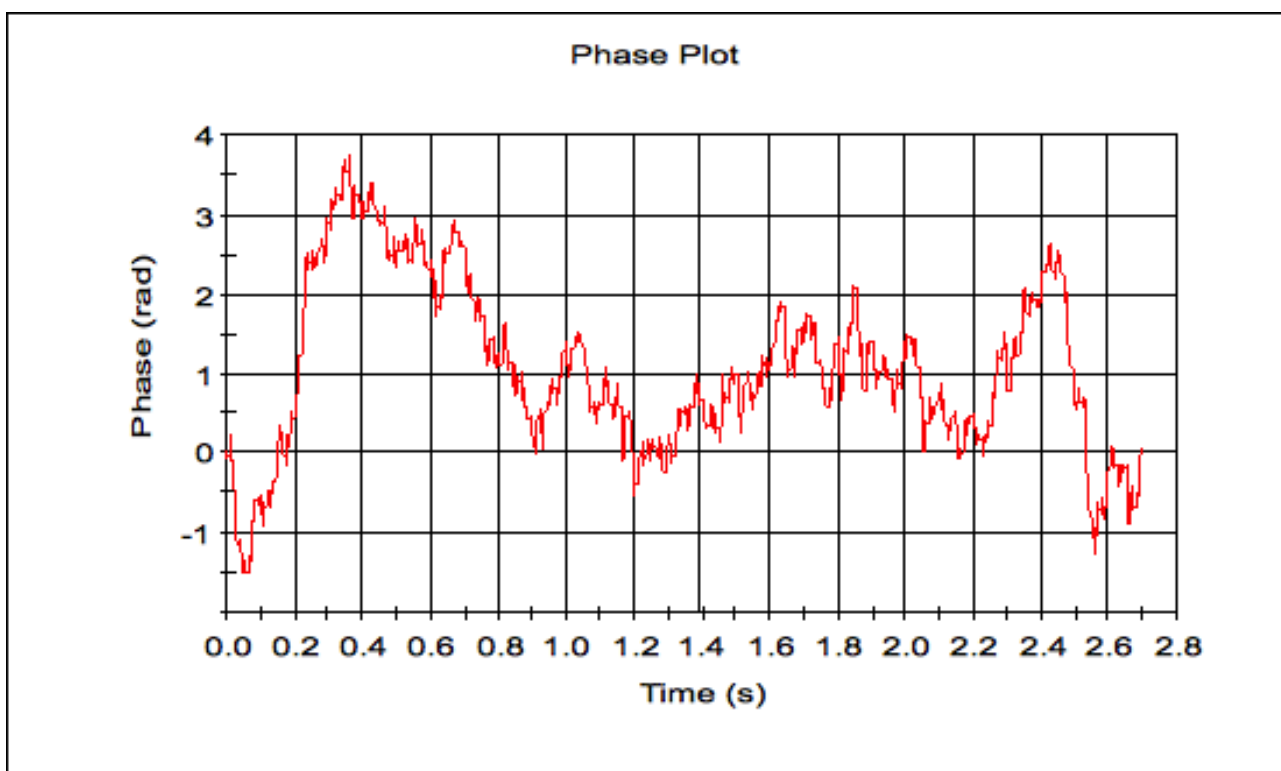
Η τιμή του δυναμικού Z είναι ιδιαίτερα χαμηλή και στις δύο περιπτώσεις και συγκεκριμένα -1,37 και 0,38 mV στην πρώτη και δεύτερη μέτρηση αντίστοιχα. Το στοιχείο αυτό σε συνδυασμό με τις άκυρες μορφές των διαγραμμάτων που έχουν προκύψει μέχρι στιγμής, αποτελούν ένδειξη ότι στο δείγμα παρουσιάζεται πρόβλημα (καθίζηση, συσσωμάτωση, ακατάλληλος διαλύτης) το οποίο αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τη λήψη μέτρησης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει πρόβλημα καθίζησης.



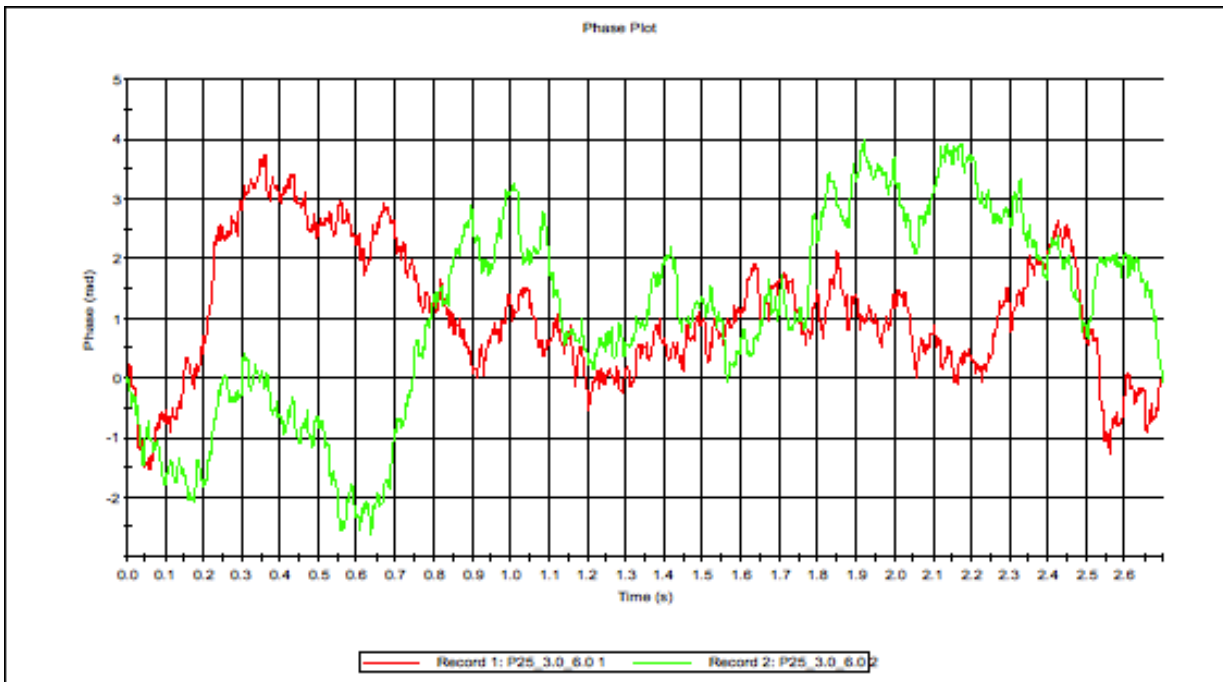
Λογική συνέπεια της άκυρης μέτρησης, είναι και το διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας να έχει *μη αποδεκτή μορφή*, όπως και παρατηρείται.

Δείγμα νούμερο 3

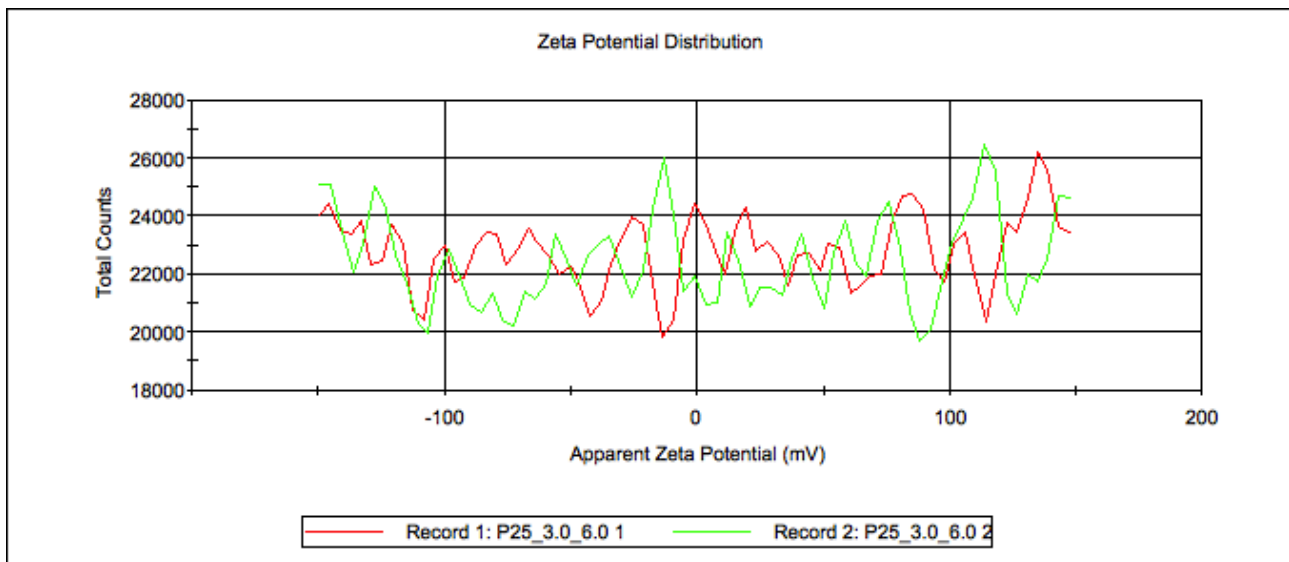
Record	Type	Sample Name	Measurement T °C	ZP mV	Mob $\mu\text{m}^2/\text{Vs}$	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	P25_3.0_6	Friday, Ma	25	-0.583	-0.04572	0.146	1279.1
2	Zeta	P25_3.0_6	Friday, Ma	24.9	0.716	0.05616	0.153	1279.1
Mean 1,2				25	0.0665	0.00522	0.149	1279.1
Std Dev				0.1	0.919	0.07204	0.00495	0
RSD %				0.283	100	100	3.31	0
Maximum				25	0.716	0.05616	0.153	1279.1



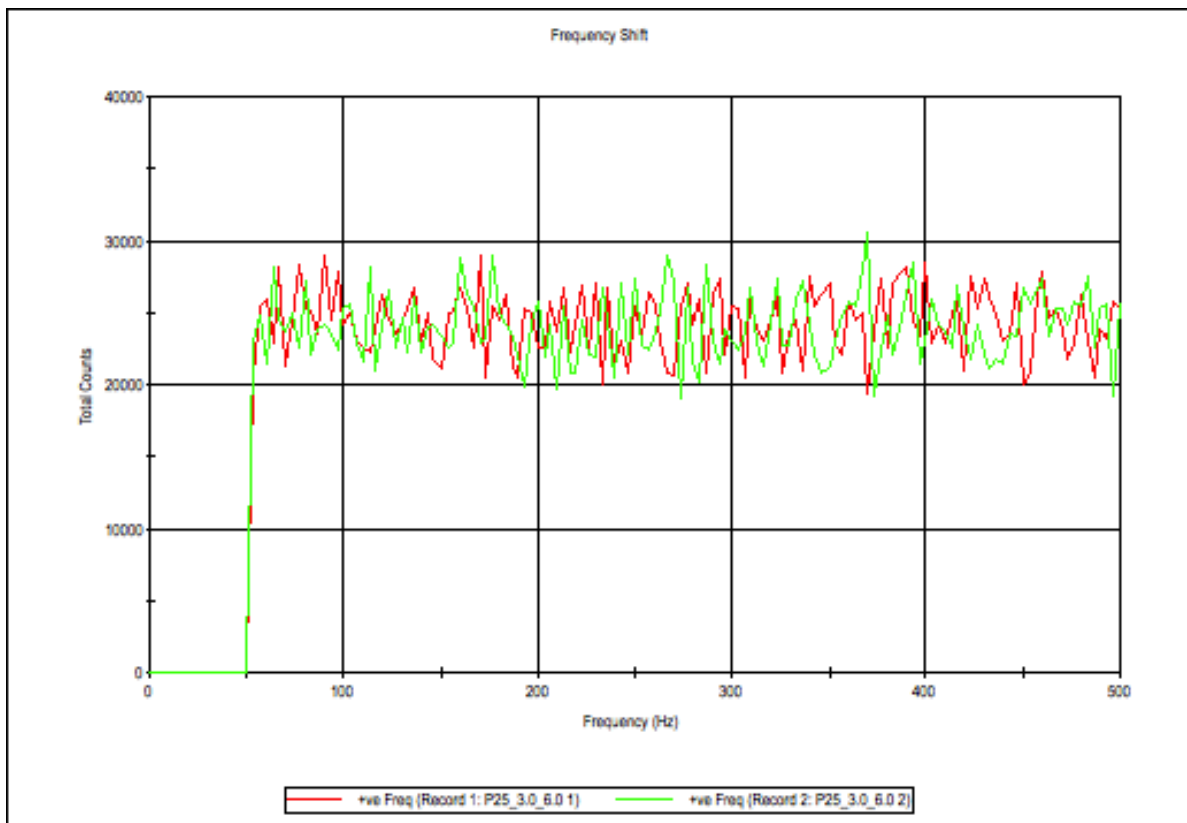
Η πρώτη και ίσως σημαντικότερη ένδειξη ότι κάτι συμβαίνει εντός του δείγματος που είναι πέρα από τα όρια του οργάνου. Η μορφολογία του συγκεκριμένου διαγράμματος δεν προσομοιάζει πουθενά την έγκυρη και αποδεκτή, άρα και οι μετρήσεις που έγιναν δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη στη συνολική έρευνα, επειδή είναι άκυρες.



Αναλυτικά το διάγραμμα φάσης για κάθε μία μέτρηση ξεχωριστά. Η απεικόνιση αυτή επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι παρουσιάζεται πρόβλημα εντός του δείγματος πιθανότατα και όχι κατά τη διαδικασία της μέτρησης.



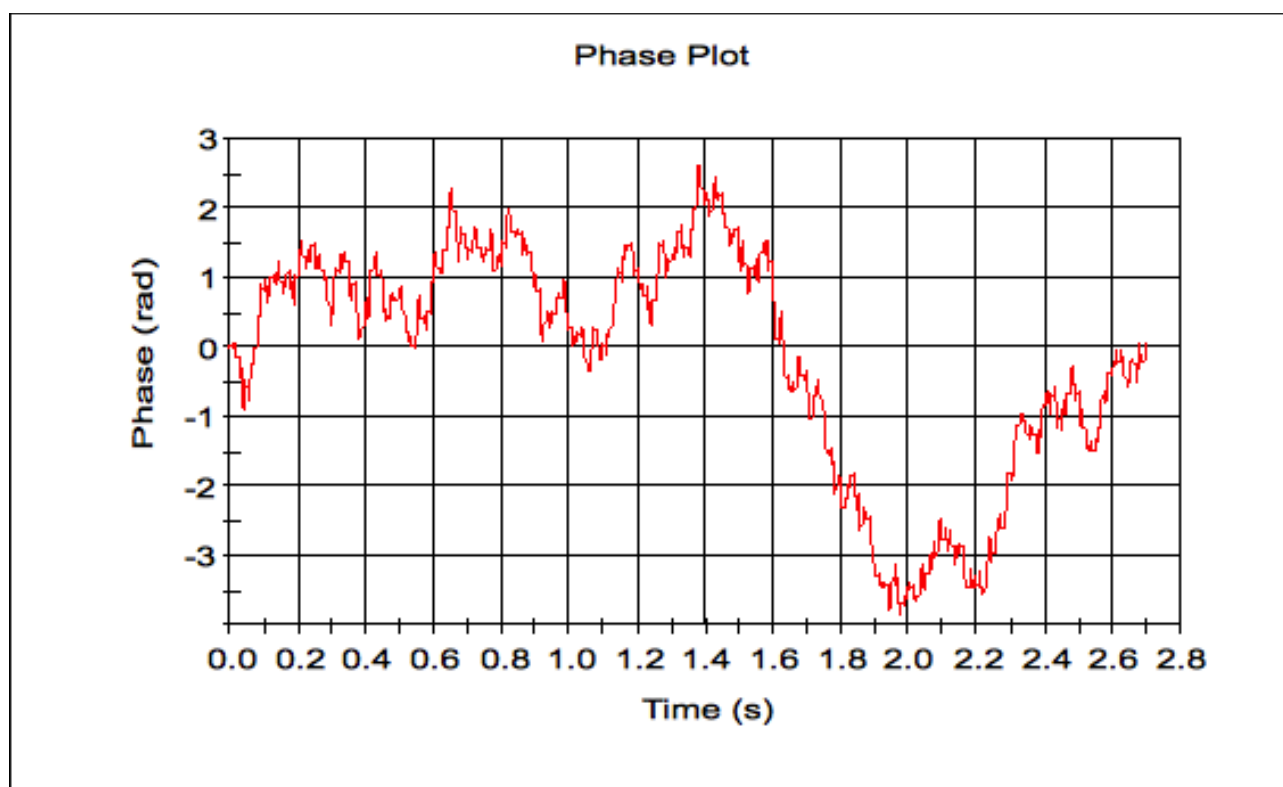
Η τιμή του δυναμικού Z είναι ιδιαίτερα χαμηλή και στις δύο περιπτώσεις και μάλιστα είναι και μικρότερη της μονάδας κατά απόλυτη τιμή. Το στοιχείο αυτό σε συνδυασμό με τις άκυρες μορφές των διαγραμμάτων που έχουν προκύψει μέχρι στιγμής, αποτελούν ένδειξη ότι στο δείγμα παρουσιάζεται πρόβλημα (καθίζηση, συσσωμάτωση, ακατάλληλος διαλύτης) το οποίο αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τη λήψη μέτρησης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει πρόβλημα *καθίζησης*.



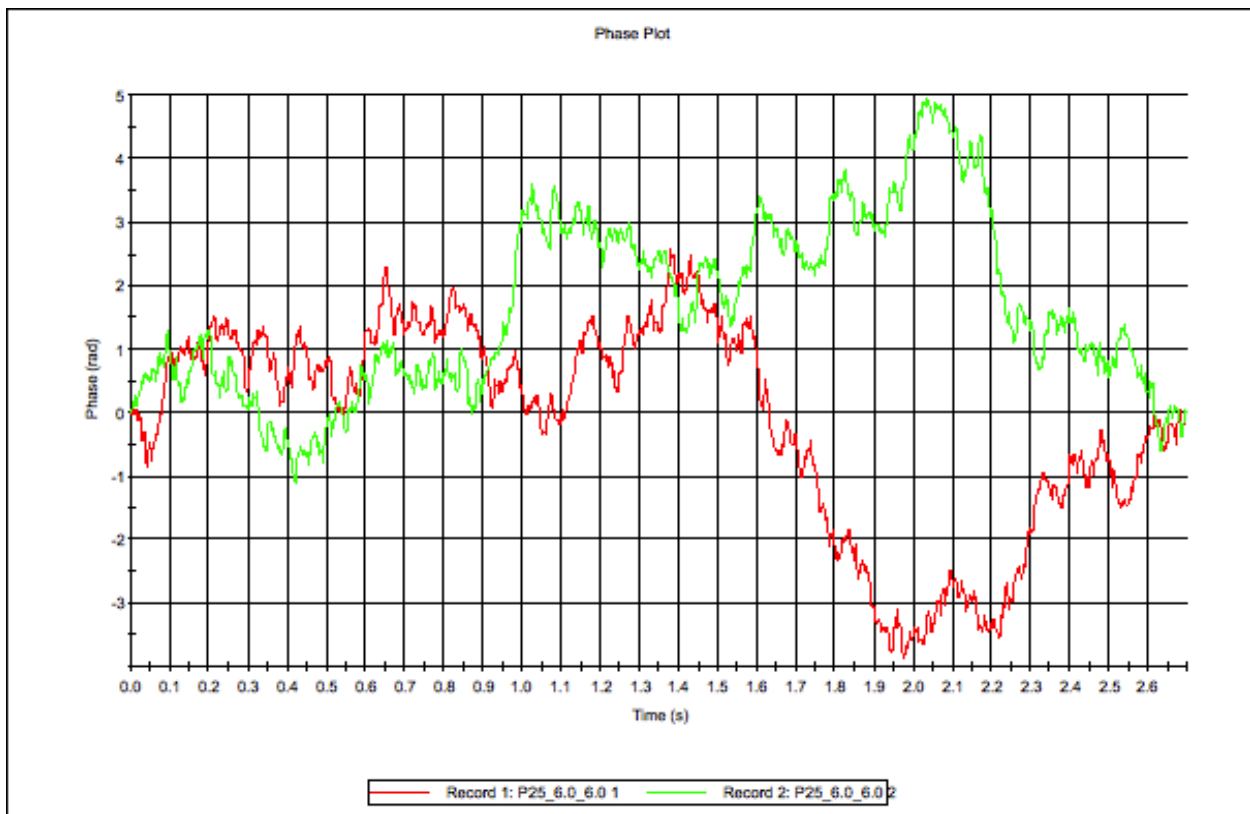
Λογική συνέπεια της άκυρης μέτρησης, είναι και το διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας να έχει μη αποδεκτή μορφή, όπως και παρατηρείται.

Δείγμα νούμερο 4

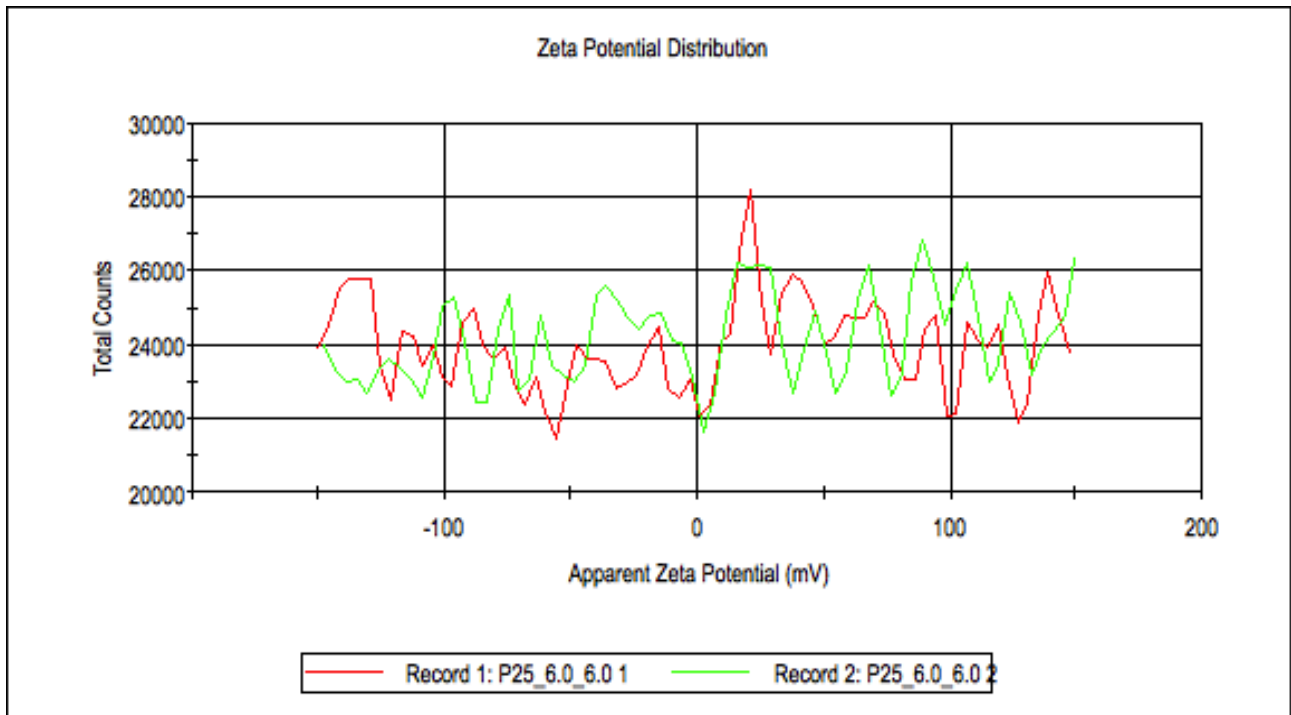
Record	Type	Sample Name	Measurement T °C	ZP mV	Mob μm ² /Vs	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	P25_6.0_ε	Friday, Ma	25	0.233	0.01824	0.185	1421.9
2	Zeta	P25_6.0_ε	Friday, Ma	25.1	0.648	0.05083	0.197	1421.9
Mean 1,2				25	0.44	0.03453	0.191	1421.9
Std Dev				0.1	0.293	0.02304	0.00849	0
RSD %				0.282	66.6	66.7	4.44	0
Maximum				25.1	0.648	0.05083	0.197	1421.9



Η πρώτη και ίσως σημαντικότερη ένδειξη ότι κάτι συμβαίνει εντός του δείγματος που είναι πέρα από τα όρια του οργάνου. Η μορφολογία του συγκεκριμένου διαγράμματος δεν προσομοιάζει πουθενά την έγκυρη και αποδεκτή, άρα και οι μετρήσεις που έγιναν δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη στη συνολική έρευνα, επειδή είναι *άκυρες*.



Αναλυτικά το διάγραμμα φάσης για κάθε μία μέτρηση ξεχωριστά. Η απεικόνιση αυτή επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι παρουσιάζεται πρόβλημα εντός του δείγματος πιθανότατα και όχι κατά τη διαδικασία της μέτρησης.



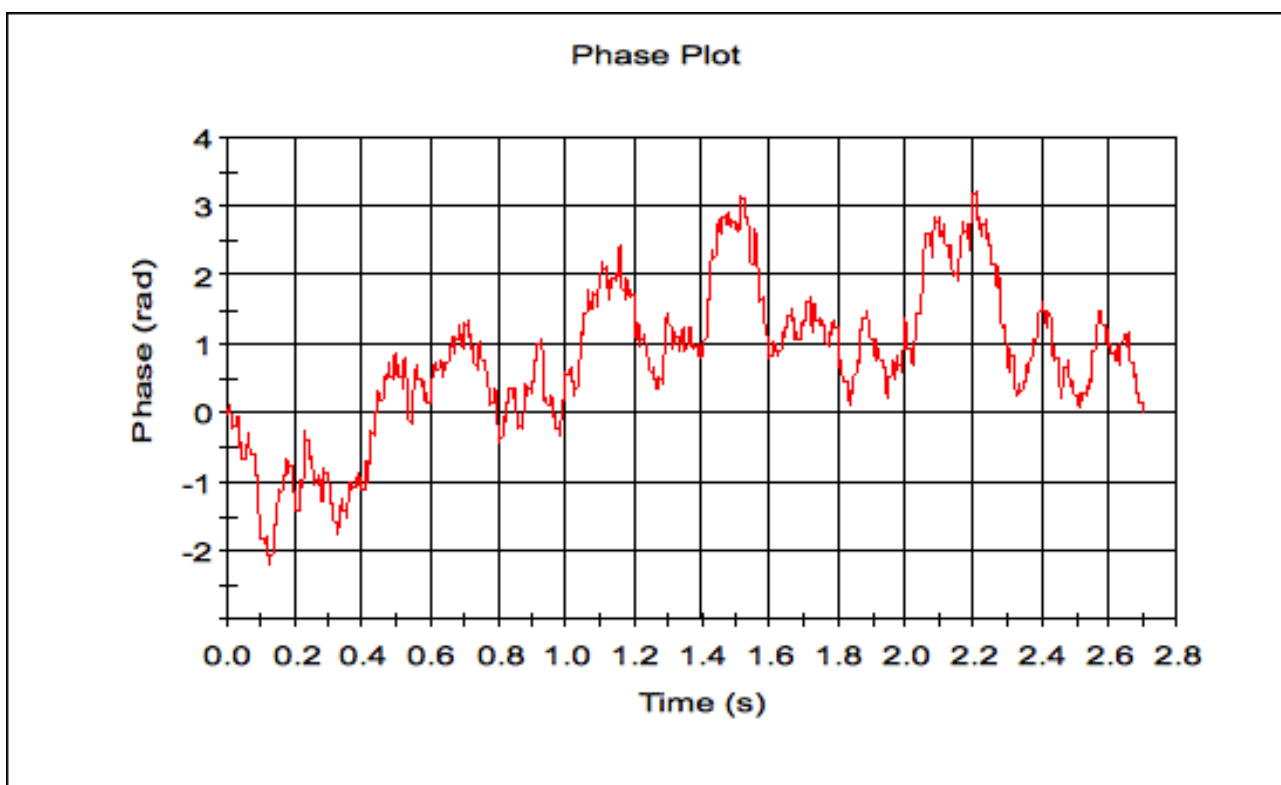
Η τιμή του δυναμικού Z είναι ιδιαίτερα χαμηλή και στις δύο περιπτώσεις και μάλιστα είναι και πολύ μικρότερη της μονάδας κατά απόλυτη τιμή. Το στοιχείο αυτό σε συνδυασμό με τις άκυρες μορφές των διαγραμμάτων που έχουν προκύψει μέχρι στιγμής, αποτελούν ένδειξη ότι στο δείγμα παρουσιάζεται πρόβλημα (καθίζηση, συσσωμάτωση, ακατάλληλος διαλύτης) το οποίο αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τη λήψη μέτρησης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει πρόβλημα *καθίζησης*.



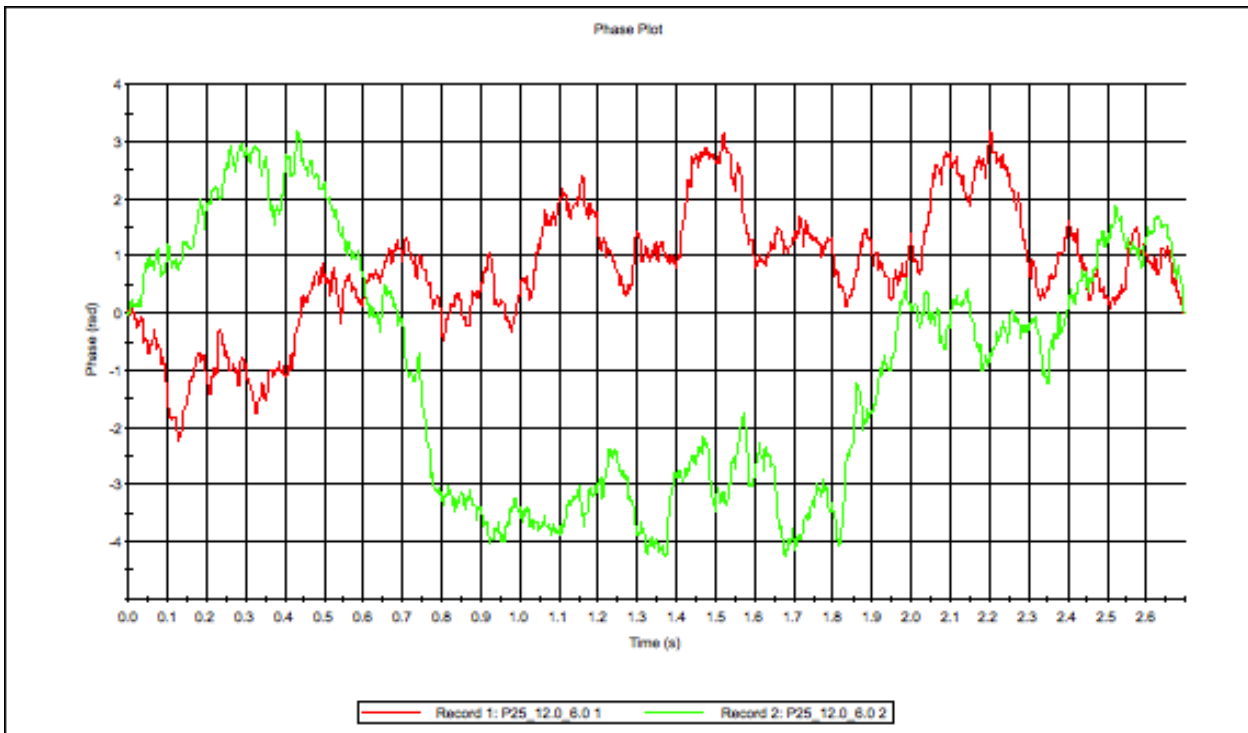
Λογική συνέπεια της άκυρης μέτρησης, είναι και το διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας να έχει *μη αποδεκτή μορφή*, όπως και παρατηρείται για μία ακόμη φορά.

Δείγμα νούμερο 5

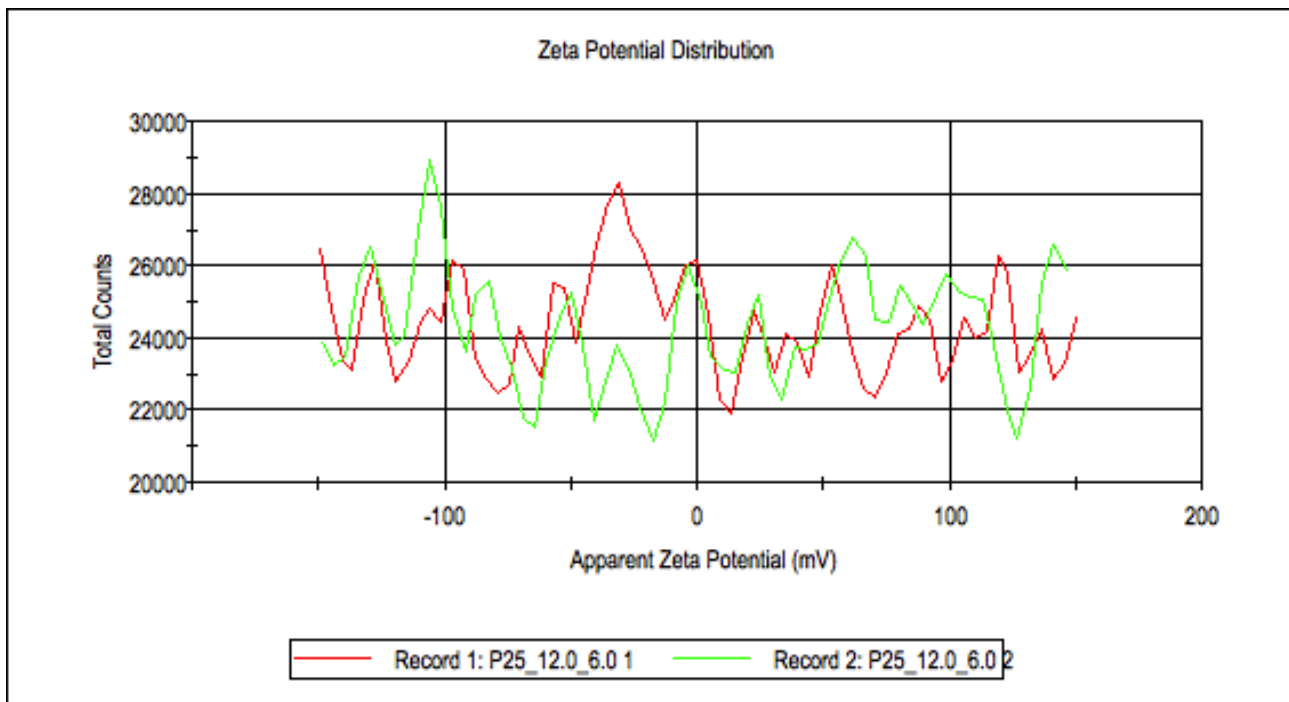
Record	Type	Sample Name	Measurement T °C	ZP mV	Mob $\mu\text{cm}^2/\text{Vs}$	Cond mS/cm	Reference kcps	
1	Zeta	P25_12.0_Friday, Ma	25	0.641	0.05027	0.242	1471.3	
2	Zeta	P25_12.0_Friday, Ma	25	-0.522	-0.04092	0.257	1471.3	
Mean 1,2				25	0.0595	0.004675	0.25	1471.3
Std Dev				0	0.822	0.06448	0.0106	0
RSD %				0	100	100	4.25	0
Maximum				25	0.641	0.05027	0.257	1471.3



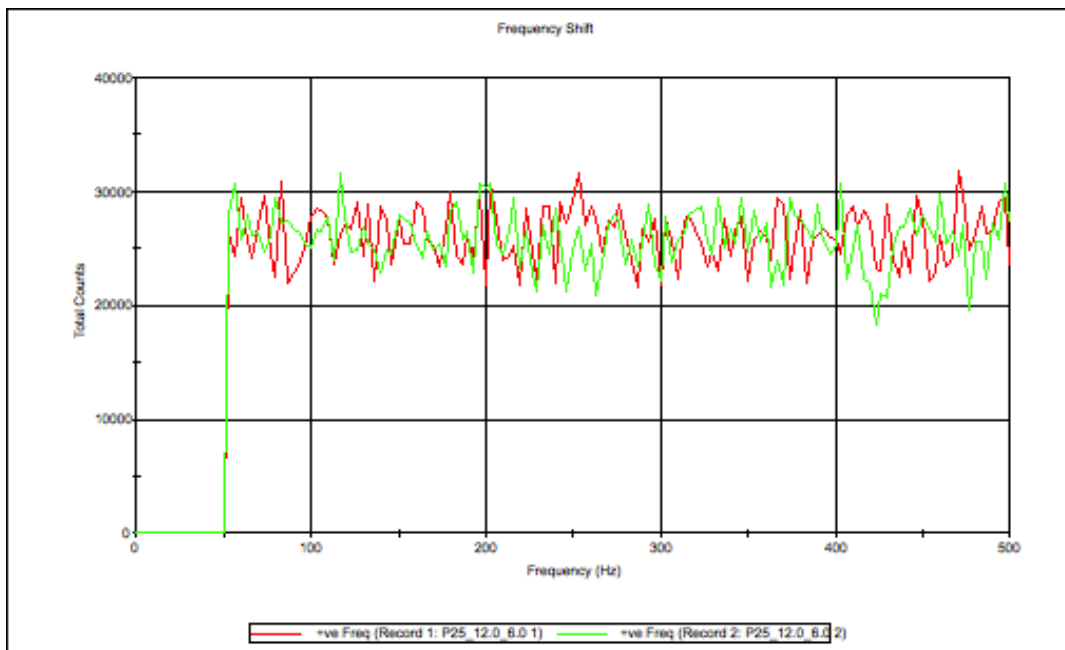
Η πρώτη και ίσως σημαντικότερη ένδειξη ότι κάτι συμβαίνει εντός του δείγματος που είναι πέρα από τα όρια του οργάνου. Η μορφολογία του συγκεκριμένου διαγράμματος δεν προσομοιάζει πουθενά την έγκυρη και αποδεκτή, άρα και οι μετρήσεις που έγιναν δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη στη συνολική έρευνα, επειδή είναι *άκυρες*.



Αναλυτικά το διάγραμμα φάσης για κάθε μία μέτρηση ξεχωριστά. Η απεικόνιση αυτή επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι παρουσιάζεται πρόβλημα εντός του δείγματος πιθανότατα και όχι κατά τη διαδικασία της μέτρησης.



Η τιμή του δυναμικού Z είναι ιδιαίτερα χαμηλή και στις δύο περιπτώσεις και μάλιστα είναι και αρκετά μικρότερη της μονάδας κατά απόλυτη τιμή. Το στοιχείο αυτό σε συνδυασμό με τις άκυρες μορφές των διαγραμμάτων που έχουν προκύψει μέχρι στιγμής, αποτελούν ένδειξη ότι στο δείγμα παρουσιάζεται πρόβλημα (καθίζηση, συσσωμάτωση, ακατάλληλος διαλύτης) το οποίο αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τη λήψη μέτρησης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει πρόβλημα *καθίζησης*.



Λογική συνέπεια της άκυρης μέτρησης, είναι και το διάγραμμα μετατόπισης συχνότητας να έχει μη αποδεκτή μορφή.

Συμπεράσματα

- ✓ Η διαδικασία ανάλυσης και κατανόησης των διαγραμμάτων είναι η ίδια που εφαρμόστηκε και στη σειρά 1. Με αφετηρία πάντα το διάγραμμα φάσης (phase plot) ο χρήστης αποκτά μία πρώτη εικόνα σχετικά με το αν η διαδικασία είναι έγκυρη και αν υπάρχει πιθανότητα το δείγμα να είναι ασύμβατο με το όργανο.
- ✓ Όπως αναφέρεται και παραπάνω, το γεγονός το δείγμα να είναι ασύμβατο με το όργανο είναι μια *πιθανότητα*. Το όργανο δεν θα δώσει ξακάθαρα απάντηση από μόνο του στο συγκεκριμένο θέμα, απλά αν προκύπτουν αποτελέσματα δεν είναι έγκυρα. Για να καταλήξει ο χρήστης στο ότι φταίει το δείγμα για την κατάσταση αυτή, πρέπει αφενώς να ξαναεπαναληφθεί η διαδικασία έτσι ώστε να εξαλειφθεί η πιθανότητα να είναι εσωτερικό θέμα του οργάνου και αφετέρου να είναι γνωστή η σύσταση και οι ιδιότητες του δείγματος. Στην προκειμένη περίπτωση, ήταν από την αρχή γνωστά τα συστατικά του διαλύματος και το γεγονός ότι εάν προέκυπτε κάποιο πρόβλημα, αυτό θα ήταν καθίζηση. Κάθε διάλυμα όμως είναι ξεχωριστό και πρέπει να αντιμετωπίζεται ανάλογα.
- ✓ Σε διαγράμματα όπως της σειράς 2, παρατηρείται συνήθως ότι τα διαγράμματα φάσης και μετατόπισης συχνότητας (όταν παρουσιάζονται σε κοινό διάγραμμα) έχουν μεταξύ τους διαφορά φάσης π. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι οι συχνότητες των ακτίνων αναφοράς και χτύπου που προέρχεται από την ακτινοβολή του δείγματος παρουσιάζουν αναιρετική συμβολή.
- ✓ Σε περιπτώσεις αποδεκτών δειγμάτων και έγκυρων μετρήσεων, τα επιμέρους διαγράμματα φάσης και μετατόπισης συχνότητας έχουν μικρή διαφορά φάσης.

8.3 Παραδείγματα μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων

Η μέτρηση μεγέθους σωματιδίων έχει κάποιες ιδιαιτερότητες σε σχέση με τις μετρήσεις δυναμικού Z που αναλύθηκαν προηγουμένως. Μολονότι ισχύει το ίδιο πρωτόκολλο για τη συμβατότητα των δειγμάτων σχετικά με το όργανο, οι μετρήσεις αυτές δεν μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε “έγκυρες” ή αποδεκτές και αντίστοιχα “άκυρες” ή μη αποδεκτές, όπως έγινε στις μετρήσεις δυναμικού Z, αναλύοντας από τα αρχικά στάδια τους κάποιο διάγραμμα. Στις μετρήσεις μεγέθους κυριαρχεί κυρίως ο στόχος τον οποίο θέλει να επιτύχει ο χρήστης. Δηλαδή εξαρτάται από τις προδιαγραφές που έχει θέσει ο ίδιος στο δείγμα που επιθυμεί να εξετάσει κι επομένως μπορεί έτσι ή να θεωρήσει ότι το δείγμα είναι αποδεκτό ή χρειάζεται κάποια τροποποίηση – βελτίωση. Τα διαγράμματα που εξάγονται από το λογισμικό Zetasizer προφανώς και δίνουν πληροφορίες για την ποιοτική σύσταση του δείγματος όσον αφορά στη συμβατότητά του με το όργανο, από τα οποία πολλές φορές προκύπτουν αδυναμίες – αστοχίες του δείγματος που προσμετράται, αλλά η αποδοχή ενός δείγματος ή όχι υπόκειται καθαρά στην κρίση του ενδιαφερόμενου. Γενικά πάντως, υπάρχουν και εδώ μορφολογίες διαγραμμάτων οι οποίες διασφαλίζουν την επιτυχία διεξαγωγής της μέτρησης, οι οποίες αναλύονται στο αντίστοιχο κεφάλαιο της θεωρίας.

Μέτρηση μεγέθους σωματιδίων διεξήχθη σε πολλά και διαφορετικά δείγματα στη συγκεκριμένη εργασία. Η πλειοψηφία όμως των δειγμάτων δεν πληρούσε τις προδιαγραφές που είχαν τεθεί ως στόχος, και για το λόγο αυτό θα επιλεγούν δείγματα τα οποία καλύπτουν διεξοδικά την πλειοψηφία των περιπτώσεων για ανάλυση. Η βασική προδιαγραφή που τέθηκε ως προς το μέγεθος των δειγμάτων που μετρήθηκαν, ήταν τα υλικά αυτά να εντάσσονται στην κατηγορία των *νανοϋλικών*. Αυτό σημαίνει ότι η μέση διάμετρος των σωματιδίων (τα οποία θεωρούνται ως μικρές σφαίρες) θα πρέπει να είναι μικρότερη από 100 nm.

Τα δείγματα που επιλέχθηκαν ανήκουν σε δύο διαφορετικές σειρές δειγμάτων. Τα δείγματα αυτά είναι στην πλειοψηφία τους εργαστηριακής σύνθεσης, εκτός από το Surfashield της εταιρείας Nanophos, το οποίο χρησιμοποιείται ως αυτοκαθαριστικό και αντιμικροβιακό για πορρώδεις επιφάνειες. Τα δείγματα αυτά επιλέχθηκαν καθώς μέσα από την ανάλυση των διαγραμμάτων τους, καλύπτεται ένα αρκετά ικανό ποσοστό πιθανών περιπτώσεων που βοηθούν ένα νέο χρήστη να κατανοήσει τη θεωρία σε πρακτικό επίπεδο. Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται αναλυτικά τα δείγματα αυτά :

Πίνακας 13 : Χαρακτηριστικά δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν σε μετρήσεις size

Αριθμός δείγματος	Συστατικά	pH	Δείκτης διάθλασης	Απορροφητικότητα
1	10 mL διάλυμα A, 0,2 g Na ₂ SO ₄	7	1,3352	0,728
2	Surfashield βιομηχανικό προϊόν	9	1,3465	2,763
3	10 mg DNT1 σκόνη, 20 mL νερό, 1 mL PEG 400	6,5	1,3368	0,395
4	10 mg DNT1 σκόνη, 20 mL νερό, 1 g PEG 600	6,5	1,3326	0,233

Όπου

- Διάλυμα A : 0,05 g σκόνης DNT1 διαλυμένης σε 100 mL νερό με pH = 9
- Surfashield : βιομηχανικό σκεύασμα που βασίζεται κυρίως στις ιδιότητες του TiO₂

Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του κάθε δείγματος ξεχωριστά, όπως εξάγονται από το λογισμικό του Zetasizer.

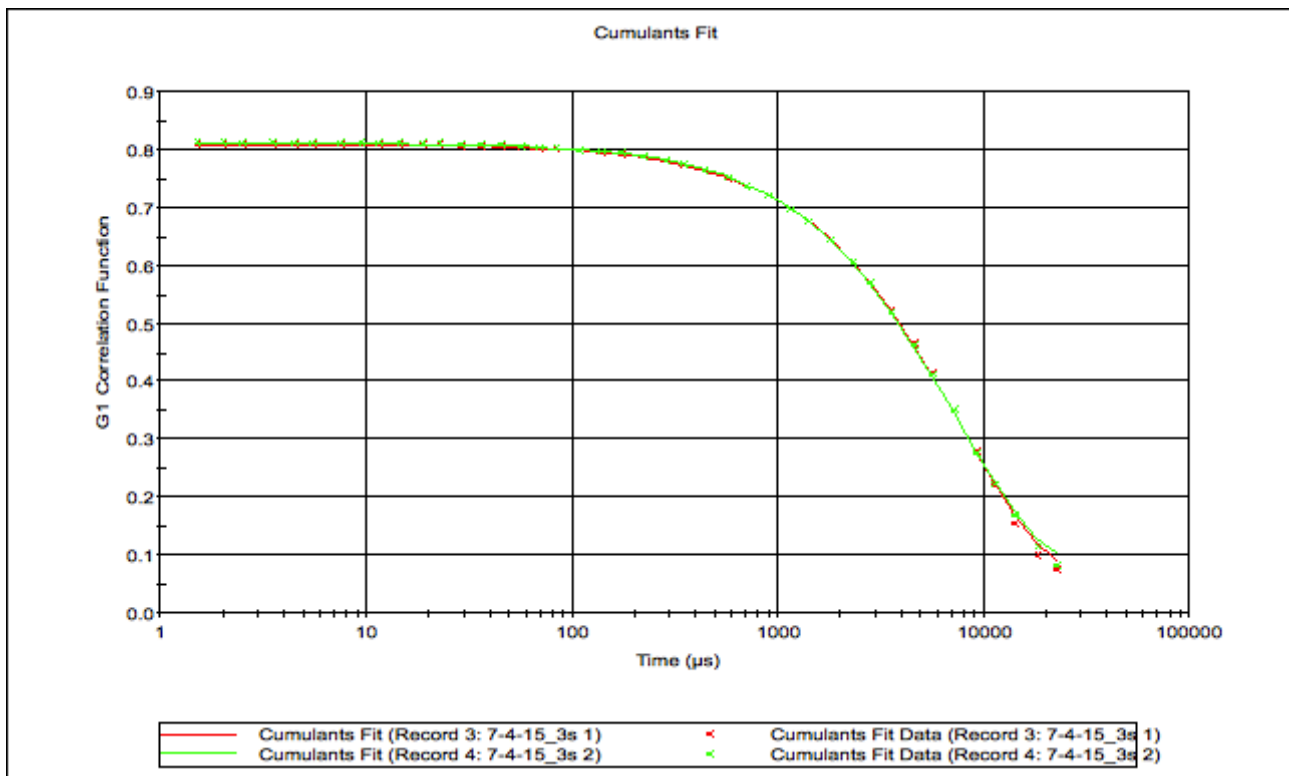
Δείγμα νούμερο 1

Record	Type	Sample No	Measurement °C	Z-Ave d.nm	PdI	Pk 1 Mean d.nm	Pk 2 Mean d.nm	Pk 3 Mean d.nm	Pk 1 Area Percent	Pk 2 Area Percent	Pk 3 Area Percent	Aggregatic Scattering Angle °	
3 Size		7-4-15_3s	Tuesday, A	24.9	2658	0.17	2972	0	0	100	0	0	173
4 Size		7-4-15_3s	Tuesday, A	24.9	2591	0.202	3086	0	0	100	0	0	173
Mean 3,4				24.9	2625	0.186	3029	0	0	100	0	0	173
Std Dev				0	47.38	0.023	80.61	0	0	0	0	0	0
RSD %				0	1.81	12.2	2.66	0	0	0	0	0	0
Maximum				24.9	2658	0.202	3086	0	0	100	0	0	173

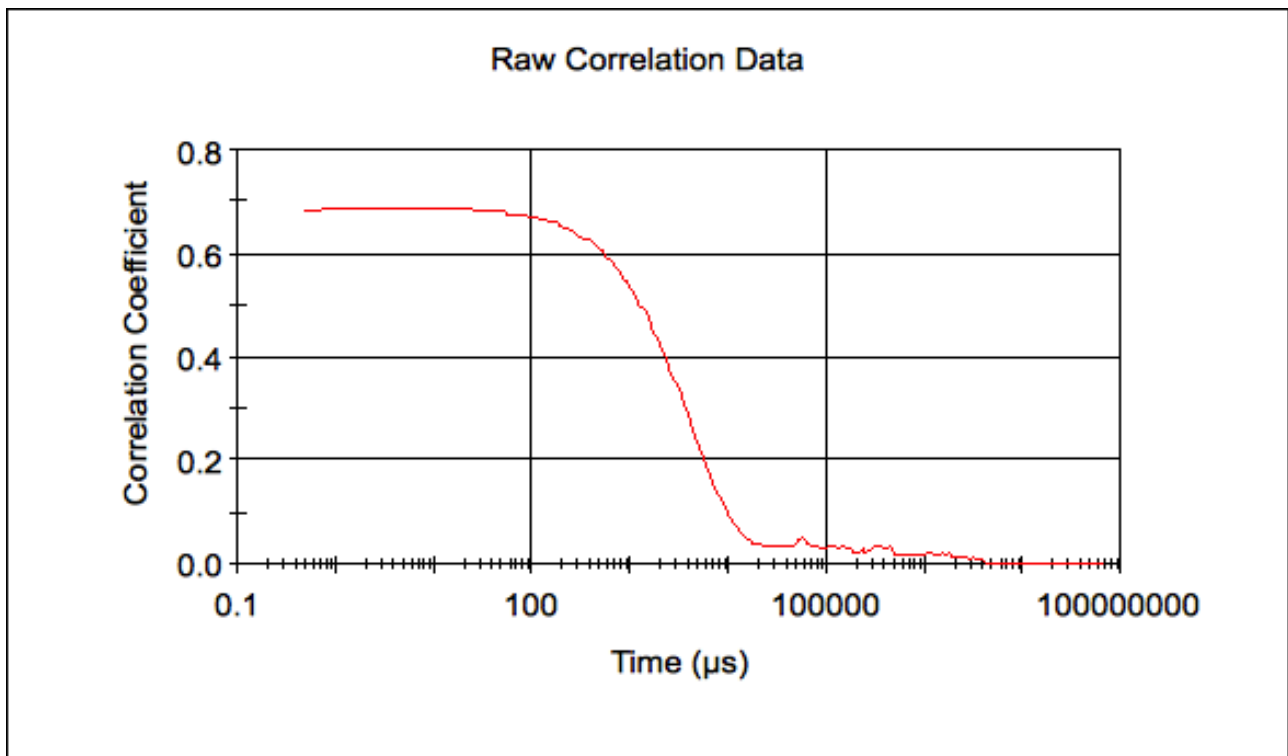
Εκ πρώτης όψεως, πρόκειται για ένα δείγμα *συμβατό* με το όργανο, όπως προκύπτει από τα εξής στοιχεία :

- ✓ Δεν παρουσιάζει συσσωμάτωση : Θεωρείται από την αρχική υπόθεση και σύνθεση του δείγματος ότι αυτό το στάδιο δεν υφίσταται.
- ✓ Ο δείκτης PdI ανήκει στο εύρος από 0,08 έως 0,7 : Αποτελεί το εύρος βέλτιστης λειτουργίας του οργάνου συν το γεγονός ότι ο δείκτης PdI στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι *μικρότερος από την τιμή 1*, το οποίο είναι βασική προϋπόθεση έτσι ώστε το δείγμα να είναι κατάλληλο προς μέτρηση από το Zetasizer.

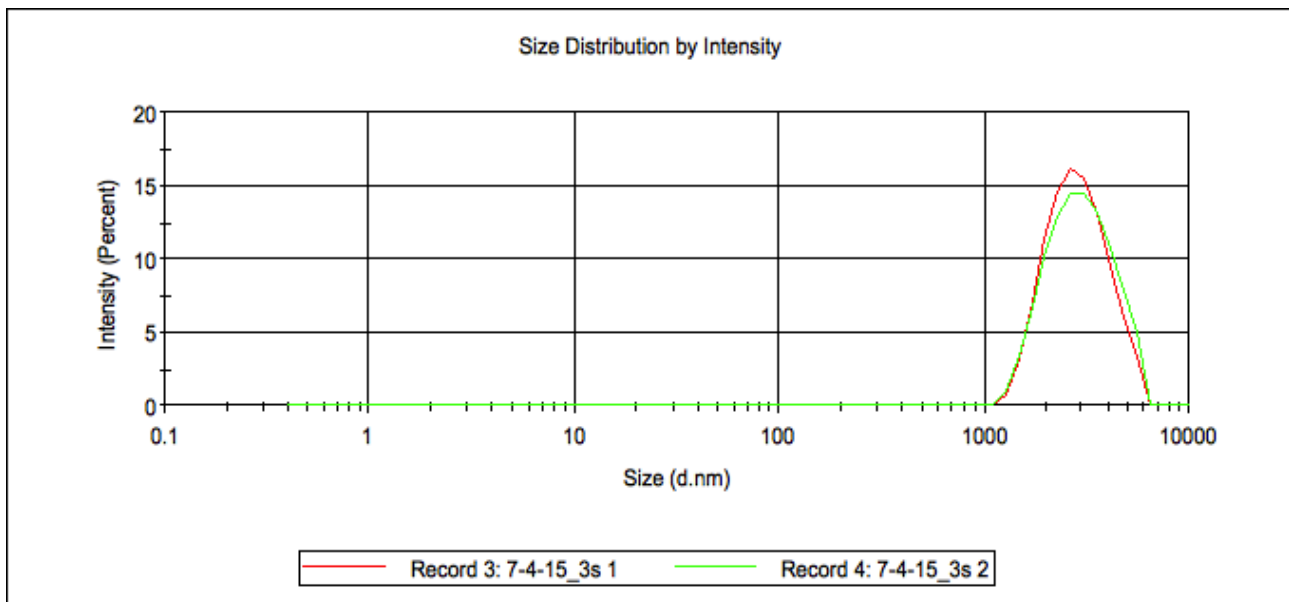
Παρ'όλα αυτά όμως, το αποτέλεσμα της μέτρησης δεν είναι ικανοποιητικό καθώς η μέση διάμετρος σωματιδίου είναι 2625 nm, γεγονός το οποίο δεν κατατάσσει το συγκεκριμένο δείγμα στην κατηγορία των νανοϋλικών.



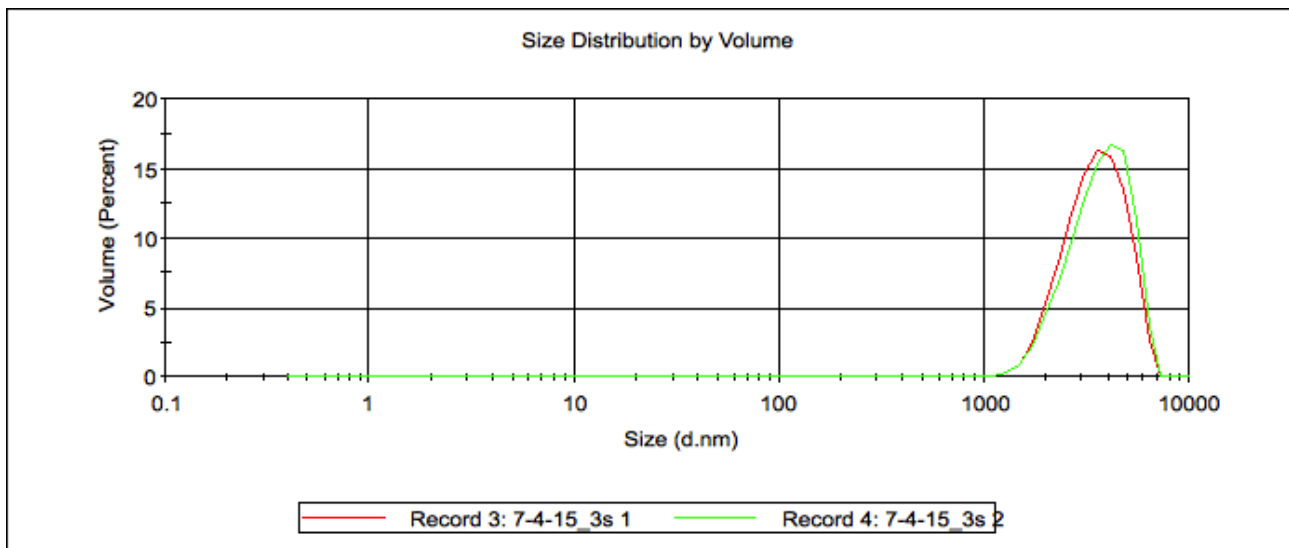
Η καλή ποιοτική ανταπόκριση στα πρότυπα του οργάνου φαίνεται και από το διάγραμμα cumulants fit που παρουσιάζει τη σχέση μεταξύ της συνάρτησης συσχέτισης G1 και του χρόνου. Παρατηρείται όχι μόνο πολύ καλή ταύτιση των δύο διαγραμμάτων, αλλά και $fit\ error < 0,005$. Ο δείκτης σφάλματος κατανομής (fit error) προκύπτει εμπειρικά εντός του έγκυρου εύρους και για τις δύο κατανομές καθώς τα μικρά σημεία που προκύπτουν και στα δύο διαγράμματα είτε ταυτίζονται με αυτά, είτε απέχουν μια ελάχιστη απόσταση από αυτά, η οποία ορίζεται ως το fit error. Έτσι λοιπόν, επιβεβαιώνεται η συμβατότητα δείγματος – οργάνου.



Παρατηρώντας το διάγραμμα του συντελεστή συσχέτισης σε σχέση με το χρόνο, επιβεβαιώνονται οι μεγάλες διαστάσεις των σωματιδίων, καθώς τα σωματίδια αργούν να αντιδράσουν ενεργειακά στην εφαρμογή της ασκούμενης τάσης. Στην baseline σχηματίζονται κορυφές αμελητέου μεγέθους, γεγονός το οποίο οφείλεται πιθανότατα στην συγχρονισμένη κίνηση μεγάλων σε μέγεθος, για τα δεδομένα του οργάνου, σωματιδίων. Η κίνηση αυτή μπορεί να θεωρηθεί ως στιγμιαία, καθώς η λειτουργία του οργάνου σχετίζεται με πολύ μικρά χρονικά περιθώρια. Υπάρχει επομένως κατά πάσα πιθανότητα το φαινόμενο της *διακύμανσης αριθμού*.



Παρατηρείται αρκετά μεγάλη ταύτιση στις κατανομές έντασης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Οι κατανομές αυτές παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία στην παρουσία μεγάλων σωματιδίων και ακαθαρσιών. Η διάμετρος Z_D , όπως απεικονίζεται και στον πίνακα των αποτελεσμάτων είναι ελαφρώς μεγαλύτερη στην πρώτη μέτρηση (κόκκινο χρώμα) από τη δεύτερη κατά σειρά (πράσινο χρώμα). Η καμπύλη της πρώτης μέτρησης παρουσιάζει ελαφρώς μια κύρτωση στην κορυφή με την παρουσία δύο ευδιάκριτων γωνιών, γεγονός το οποίο σημαίνει ότι η κατανομή μεγέθους δεν είναι τόσο ομοιόμορφη, καθώς για ένταση πάνω από 15 % φαίνεται ότι ο αριθμός των σωματιδίων που ακτινοβολήθηκαν δεν ήταν αρκετός έτσι ώστε το δείγμα να παρουσιάσει μια πιο συνολικά σταθερή εικόνα. Το αντίθετο συνέβη στη δεύτερη μέτρηση όπου οι ακτίνες του οργάνου συνέπεσαν σε τμήμα του δείγματος που περιείχε ελαφρώς περισσότερα σωματίδια και γι αυτό το λόγο πιθανόν η κατανομή παρουσιάζει ένα ελάχιστο ευθύγραμμο τμήμα στην κορυφή. Επιβεβαιώνεται η παρατήρηση επομένως για *διακυμάνσεις αριθμού*.



Σχηματικά αντίθετη εικόνα σε σχέση με τα διαγράμματα έντασης παρουσιάζεται στο παραπάνω διάγραμμα. Επιβεβαιώνεται όμως η υπόθεση που έγινε παραπάνω, δηλαδή ότι στην πρώτη μέτρηση ακτινοβολήθηκε λιγότερη ποσότητα σωματιδίων από ότι έπρεπε, κι έτσι ενώ η Z_D μετρήθηκε ελαφρώς μεγαλύτερη υπάρχει μικρότερος όγκος, ενώ το αντίθετο συνέβη στη δεύτερη κατά σειρά μέτρηση έγινε το αντίθετο. Η εικόνα αυτή οφείλεται στις διακυμάνσεις αριθμού που παρατηρούνται στο δείγμα εξαιτίας της παρουσίας λίγων (ποσοτικά) αλλά μεγάλων σε μέγεθος σωματιδίων, καθιστώντας έτσι τη σύσταση στην έκταση της επιφάνειας του δείγματος μη ομοιόμορφη.

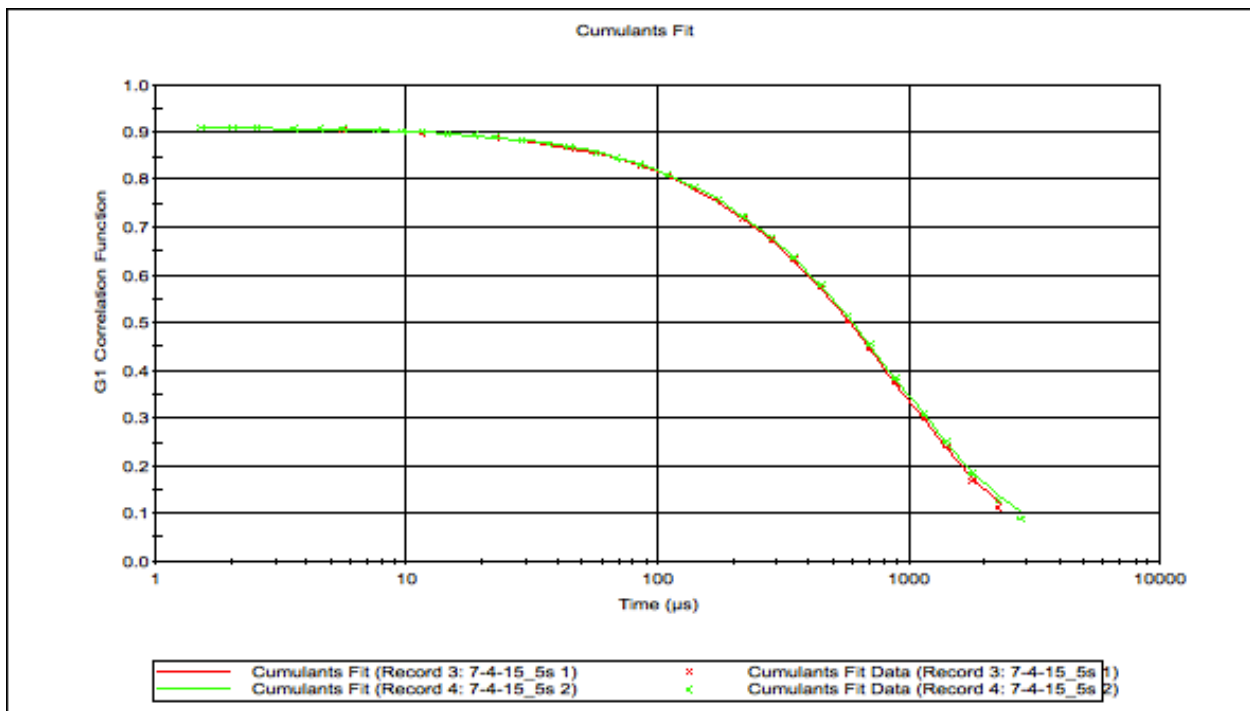
Δείγμα νούμερο 2

Record	Type	Sample No	Measurement °C	Z-Ave d.nm	Pdl	Pk 1 Mean d.nm	Pk 2 Mean d.nm	Pk 3 Mean d.nm	Pk 1 Area Percent	Pk 2 Area Percent	Pk 3 Area Percent	Aggregation Index	Scattering Angle °
3 Size		7-4-15_5s	Tuesday, A	24.9	314.1	0.164	384	0	0	100	0	0	173
4 Size		7-4-15_5s	Tuesday, A	25	321.6	0.181	380.5	0	0	100	0	0	173
Mean 3,4				25	317.9	0.172	382.3	0	0	100	0	0	173
Std Dev				0.1	5.303	0.012	2.475	0	0	0	0	0	0
RSD %				0.283	1.67	6.97	0.647	0	0	0	0	0	0
Maximum				25	321.6	0.181	384	0	0	100	0	0	173

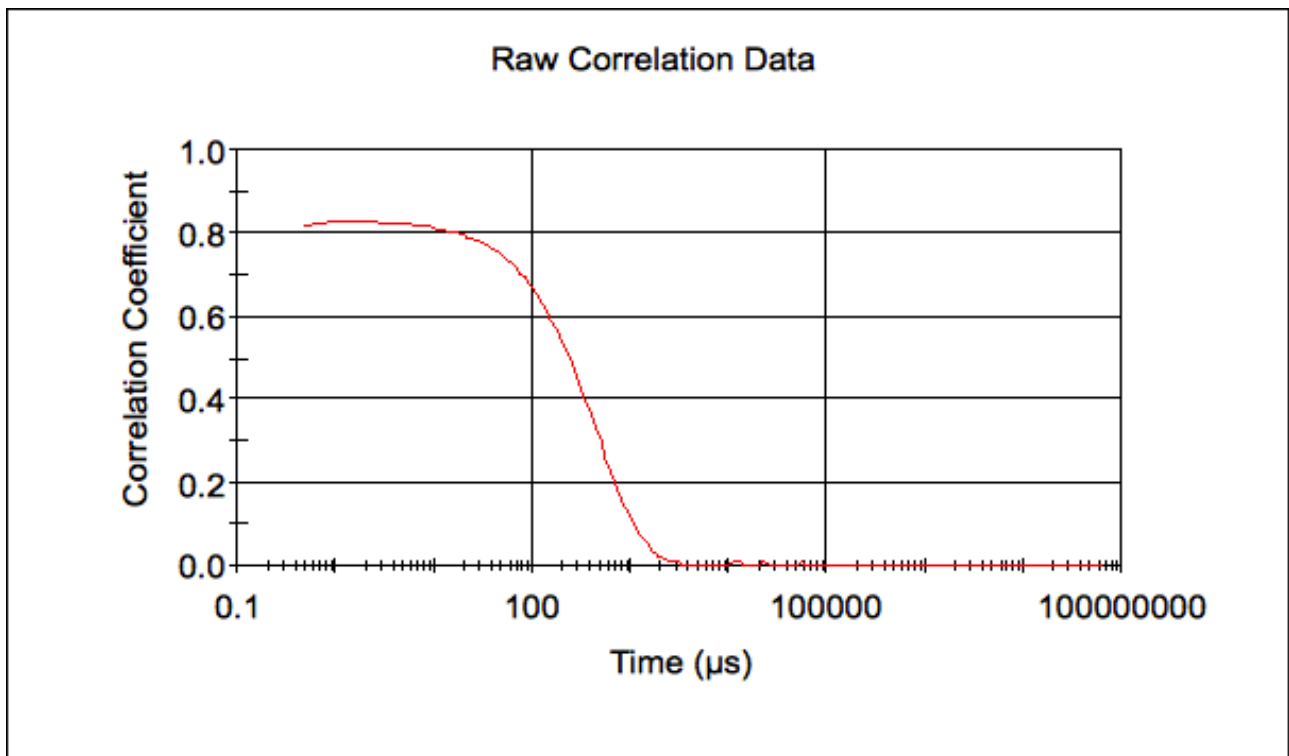
Εκ πρώτης όψεως, πρόκειται για ένα δείγμα *συμβατό* με το όργανο, όπως προκύπτει από τα εξής στοιχεία :

- ✓ Δεν παρουσιάζει συσσωμάτωση : Θεωρείται από την αρχική υπόθεση και σύνθεση του δείγματος ότι αυτό το στάδιο δεν υφίσταται.
- ✓ Ο δείκτης Pdl ανήκει στο εύρος από 0,08 έως 0,7 : Αποτελεί το εύρος βέλτιστης λειτουργίας του οργάνου συν το γεγονός ότι ο δείκτης Pdl στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι *μικρότερος από την τιμή 1*, το οποίο είναι βασική προϋπόθεση έτσι ώστε το δείγμα να είναι κατάλληλο προς μέτρηση από το Zetasizer.

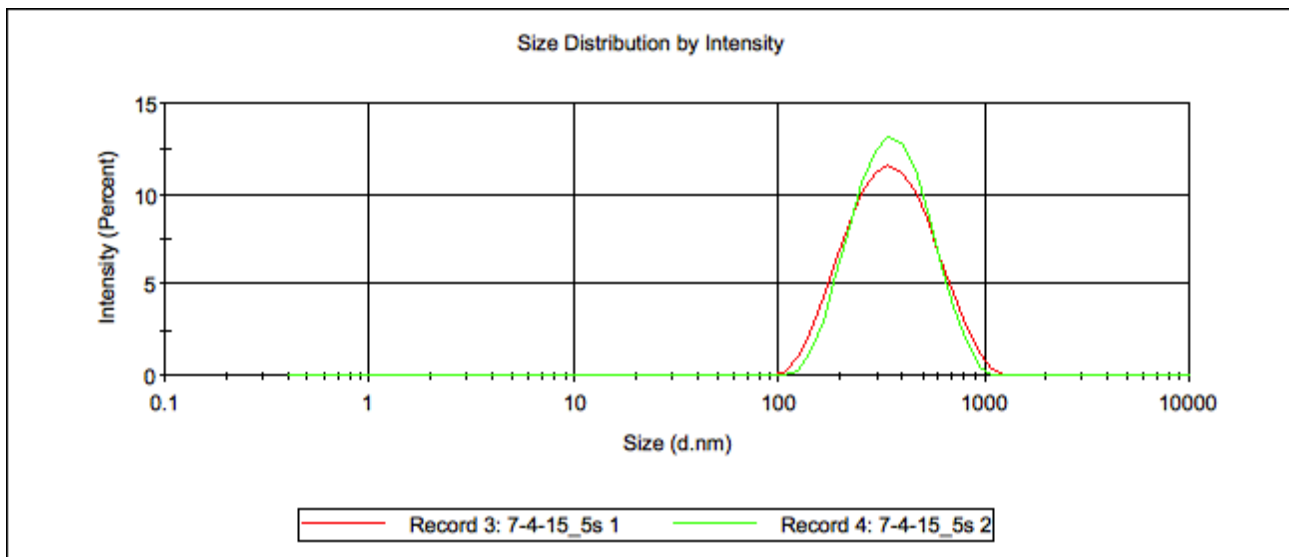
Παρ'όλα αυτά όμως, το αποτέλεσμα της μέτρησης δεν είναι ικανοποιητικό καθώς η μέση διάμετρος σωματιδίου είναι 382,3 nm, γεγονός το οποίο δεν κατατάσσει το συγκεκριμένο δείγμα στην κατηγορία των νανοϋλικών. Είναι σαφώς μικρότερο το μέγεθος των σωματιδίων σε σχέση με το προηγούμενο δείγμα, καθώς πρόκειται για βιομηχανικό σκεύασμα, αλλά για να εντάσσεται στην κατηγορία των νανοϋλικών θα πρέπει να έχει διάμετρο μικρότερη από 100 nm.



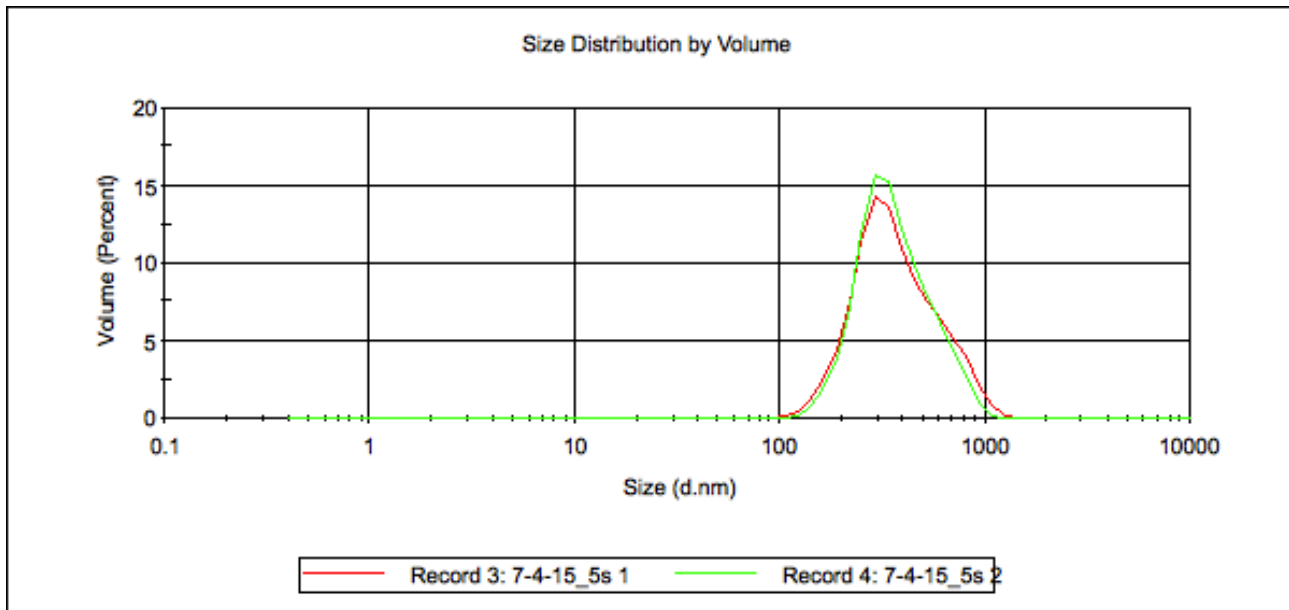
Η καλή ποιοτική ανταπόκριση στα πρότυπα του οργάνου φαίνεται και από το διάγραμμα cumulants fit που παρουσιάζει τη σχέση μεταξύ της συνάρτησης συσχέτισης G1 και του χρόνου. Λόγω της σχεδόν τέλει ταύτισης των δύο διαγραμμάτων, αλλά και της τιμής σφάλματος $fit\ error < 0,005$ λόγω της σχεδόν τέλει ταύτισης των σημείων με τα διαγράμματα, τότε επιβεβαιώνεται η συμβατότητα οργάνου – δείγματος.



Παρατηρώντας το διάγραμμα του συντελεστή συσχέτισης σε σχέση με το χρόνο, επιβεβαιώνονται οι μεγάλες διαστάσεις των σωματιδίων, καθώς τα σωματίδια αργούν να αντιδράσουν ενεργειακά στην εφαρμογή της ασκούμενης τάσης. Στην baseline δε σχηματίζονται κορυφές, γεγονός το οποίο πιστοποιεί ότι το δείγμα δεν παρουσιάζει κανένα απολύτως πρόβλημα. Οι τιμές του συντελεστή συσχέτισης καθ'όλη τη χρονική διάρκεια είναι μικρότερες της μονάδας, κάτι το οποίο είναι το απόλυτα φυσιολογικό.



Παρατηρείται αρκετά μεγάλη ταύτιση στις κατανομές έντασης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Οι κατανομές αυτές παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία στην παρουσία μεγάλων σωματιδίων και ακαθαρσιών. Η διάμετρος Z_D , όπως απεικονίζεται και στον πίνακα των αποτελεσμάτων είναι ελαφρώς μεγαλύτερη στη δεύτερη μέτρηση (πράσινο χρώμα) από την πρώτη κατά σειρά (κόκκινο χρώμα). Η καμπύλη της πρώτης μέτρησης παρουσιάζει ελαφρώς μια κύρτωση στην κορυφή με την παρουσία μιας όχι και τόσο ευδιάκριτης γωνίας, γεγονός το οποίο σημαίνει ότι η κατανομή μεγέθους χάνει λίγο σε ομοιομορφία, πιθανότατα πάλι λόγω του φαινομένου της *διακύμανσης αριθμού* (αλλά σε πολύ μικρότερη έκταση από το προηγούμενο δείγμα). Το ίδιο συνέβη και στη δεύτερη μέτρηση όπου παρουσιάζεται αυξημένη ένταση κατά 1 με 2 %. Αυτό το αποτέλεσμα είναι απολύτως λογικό, διότι στην πρώτη μέτρηση η διάμετρος σωματιδίου μετρήθηκε 384 nm ενώ στη δεύτερη μέτρηση 380 nm. Τα αποτελέσματα της μέτρησης, μέχρι στιγμής επιβεβαιώνονται *πλήρως* από τα διαγράμματα.



Στις κατανομές όγκου όμως, τα διαγράμματα που παρατηρούνται *δεν είναι επακριβή*. Πιο συγκεκριμένα, προσομοιάζουν σε μικρό βαθμό την ιδανική μορφολογία μιας ιδανικής κατανομής που θα έδινε με ακρίβεια μια ξεκάθαρη εικόνα για το τι συμβαίνει εντός του δείγματος. Η κατανομή παρουσιάζει μεγαλύτερη από ότι θα έπρεπε διασπορά και όχι σταθερή κλίση, έτσι ώστε να ακολουθήσει το πρότυπο της κανονικής κατανομής που υπό κανονικές συνθήκες εμφανίζεται στα διαγράμματα αυτά. Το θετικό βέβαια είναι ότι τα διαγράμματα των δύο μετρήσεων προσομοιάζουν μορφολογικά το ένα το άλλο, αλλά και το γεγονός ότι η δεύτερη κατά σειρά μέτρηση αντιστοιχεί σε υψηλότερο σήμα όγκου επί τις %. Αυτό επιβεβαιώνει ότι στο δείγμα δεν παρουσιάζεται καμία διακύμανση αριθμού. Η μορφολογία του διαγράμματος πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι το δείγμα αποτελείται από σωματίδια μεγάλου μεγέθους, τα οποία στιγμιαία μπορούν να παρουσιάσουν κάποια διακύμανση η οποία να ξεφεύγει λίγο από τα επιτρεπτά όρια.

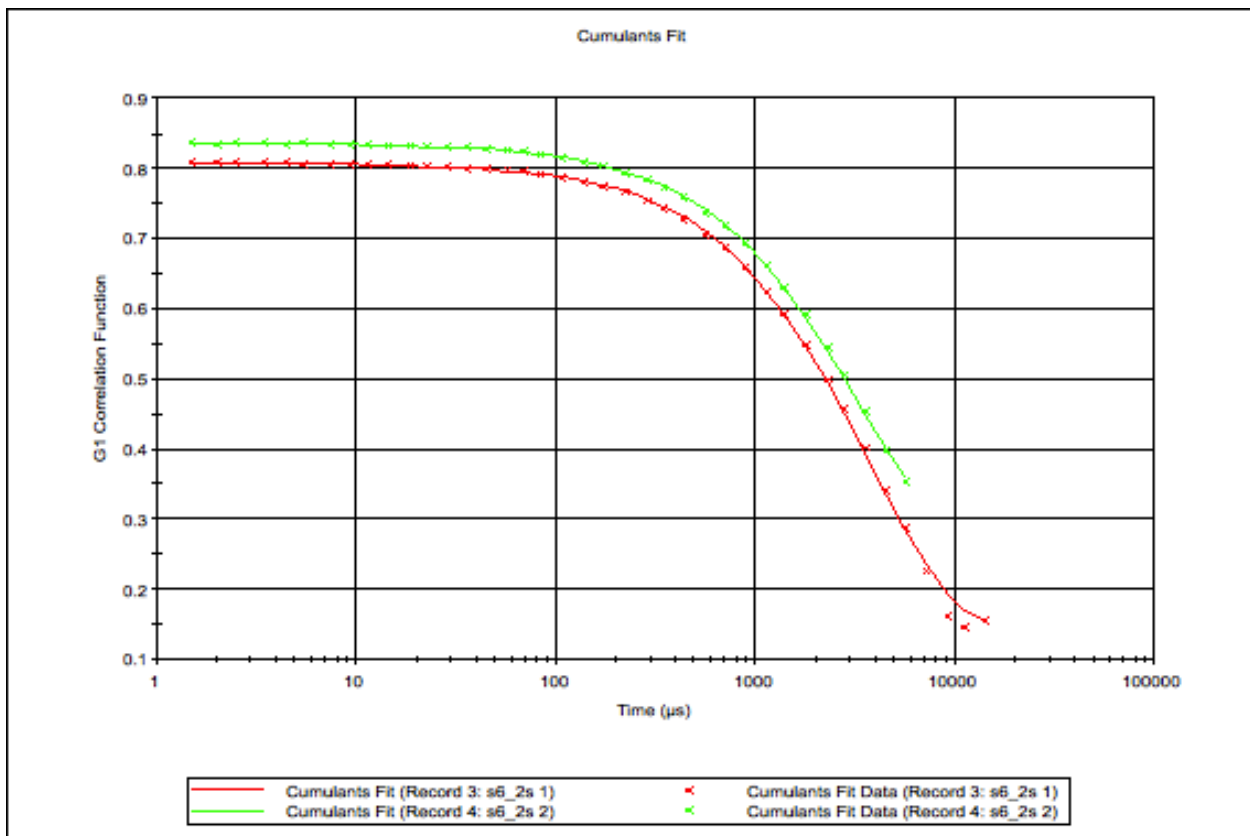
Δείγμα νούμερο 3

Record	Type	Sample Na	MeasuremT °C	Z-Ave d.nm	Pdl	Pk 1 Mean d.nm	Pk 2 Mean d.nm	Pk 3 Mean d.nm	Pk 1 Area Percent	Pk 2 Area Percent	Pk 3 Area Percent	Aggregation Index	Scattering Angle °
3 Size	s6_2s 1	Wednesda	25.1	1477	0.304	1326	5560	0	98.7	1.3	0		173
4 Size	s6_2s 2	Wednesda	25.1	1576	0.517	1049	0	0	100	0	0		173
Mean 3,4			25.1	1527	0.41	1188	2780	0	99.3	0.6	0		173
Std Dev			0	70	0.151	195.9	3932	0	0.9	0.9	0		0
RSD %			0	4.59	36.7	16.5	100	0	0.925	100	0		0
Maximum			25.1	1576	0.517	1326	5560	0	100	1.3	0		173

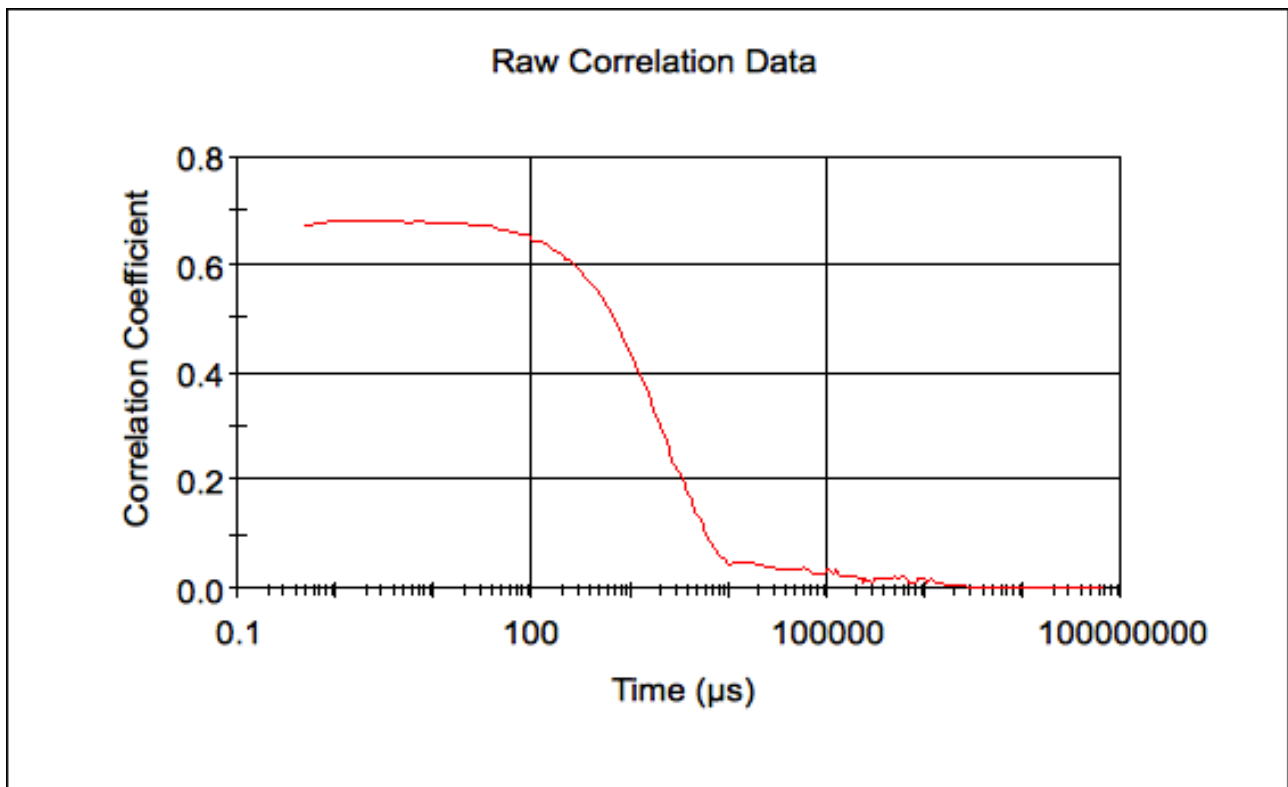
Εκ πρώτης όψεως, πρόκειται για ένα δείγμα *συμβατό* με το όργανο, όπως προκύπτει από τα εξής στοιχεία :

- ✓ Δεν παρουσιάζει συσσωμάτωση : Θεωρείται από την αρχική υπόθεση και σύνθεση του δείγματος ότι αυτό το στάδιο δεν υφίσταται.
- ✓ Ο δείκτης Pdl ανήκει στο εύρος από 0,08 έως 0,7 : Αποτελεί το εύρος βέλτιστης λειτουργίας του οργάνου συν το γεγονός ότι ο δείκτης Pdl στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι *μικρότερος από την τιμή 1*, το οποίο είναι βασική προϋπόθεση έτσι ώστε το δείγμα να είναι κατάλληλο προς μέτρηση από το Zetasizer.

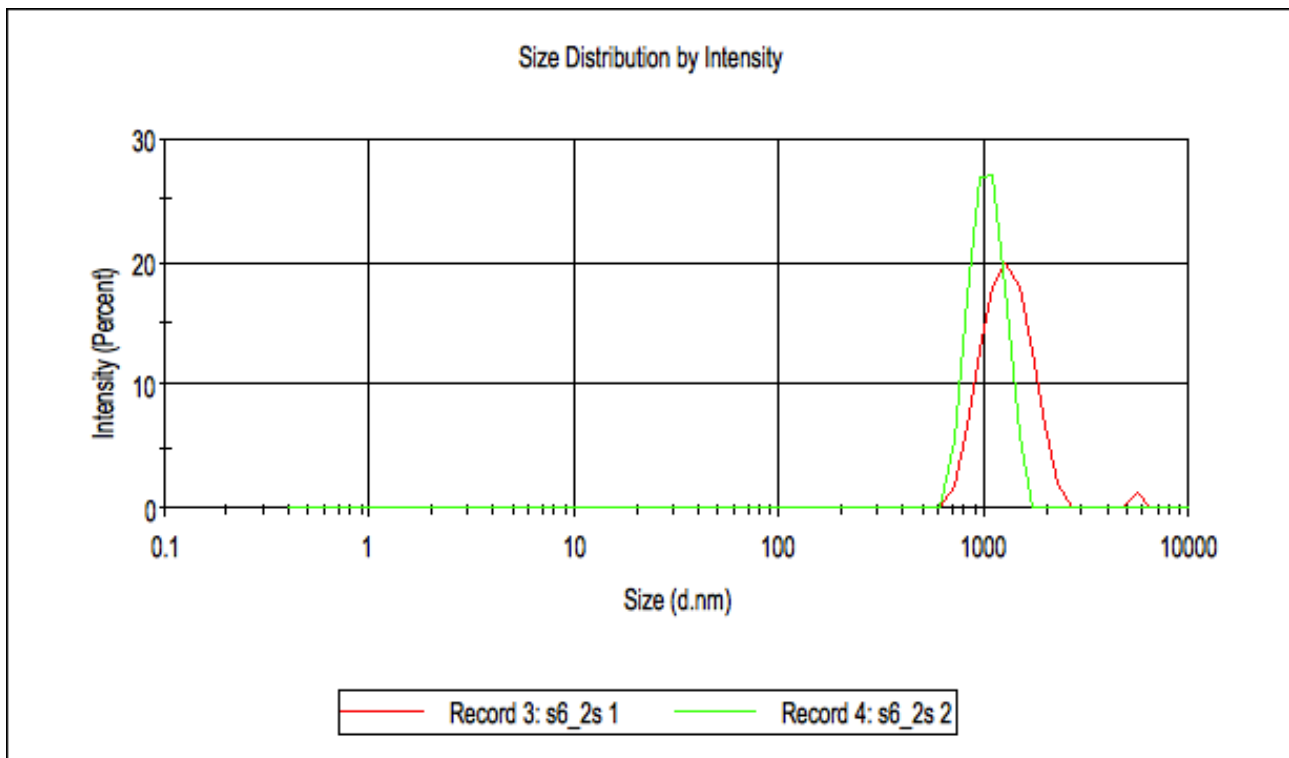
Παρ'όλα αυτά όμως, το αποτέλεσμα της μέτρησης δεν είναι ικανοποιητικό καθώς η μέση διάμετρος σωματιδίου είναι 1188 nm, γεγονός το οποίο δεν κατατάσσει το συγκεκριμένο δείγμα στην κατηγορία των νανοϋλικών. Είναι μέχρι στιγμής το δεύτερο μεγαλύτερο σε μέγεθος δείγμα σωματιδίων και δεν εντάσσεται στην κατηγορία των νανοϋλικών γιατί θα πρέπει να έχει διάμετρο μικρότερη από 100 nm.



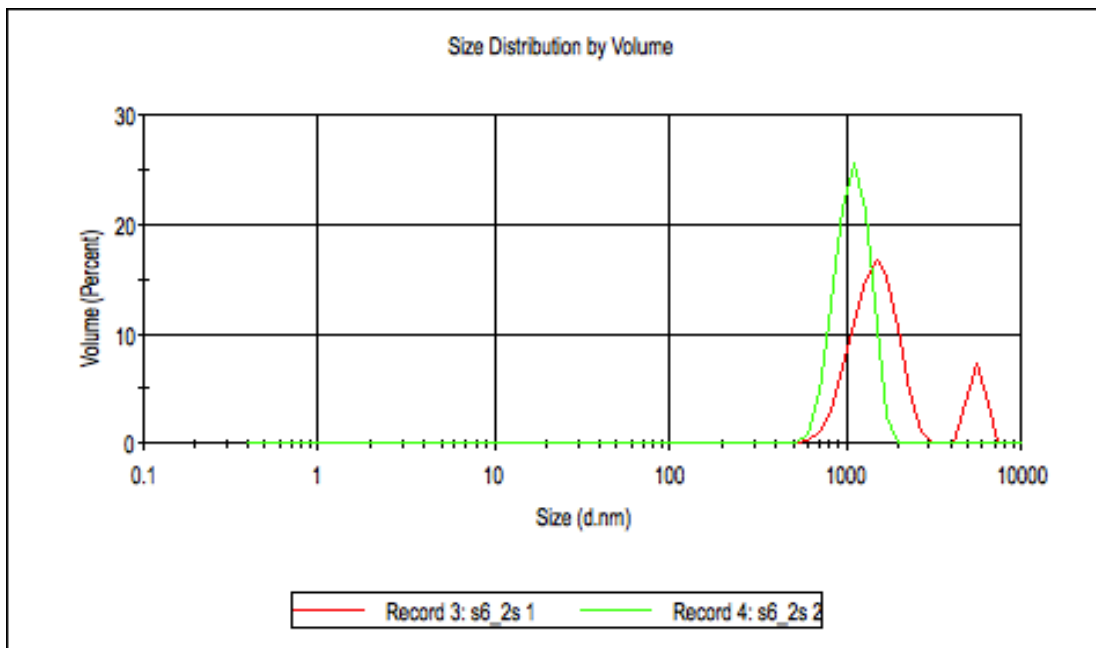
Στη συγκεκριμένη κατανομή παρατηρείται fit error *μικρότερο* από την τιμή 0,005, η οποία γενικά πιστοποιείται ως μια καλή και αποδεκτή εκτίμηση. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι στην πρώτη κατά σειρά μέτρηση (κόκκινο χρώμα) μόνο δύο σημεία δεν ταυτίζονται με την καμπύλη, ενώ στη δεύτερη (πράσινο χρώμα) συμπίπτουν όλα με το διάγραμμα. Έτσι λοιπόν, επιβεβαιώνεται η συμβατότητα δείγματος – οργάνου.



Παρατηρώντας το διάγραμμα του συντελεστή συσχέτισης σε σχέση με το χρόνο, επιβεβαιώνονται οι μεγάλες διαστάσεις των σωματιδίων, καθώς τα σωματίδια αργούν γύρω στα 100 μs να αντιδράσουν ενεργειακά στην εφαρμογή της ασκούμενης τάσης. Στην baseline δε σχηματίζονται κορυφές, γεγονός το οποίο πιστοποιεί ότι το δείγμα δεν παρουσιάζει κανένα απόλυτως πρόβλημα. Οι τιμές του συντελεστή συσχέτισης καθ'όλη τη χρονική διάρκεια είναι μικρότερες της μονάδας, κάτι το οποίο είναι το απόλυτα φυσιολογικό.



Δεν παρατηρείται μεγάλη ταύτιση στις κατανομές έντασης για τις δύο διαδοχικές μετρήσεις που διεξήχθησαν. Οι κατανομές αυτές παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία στην παρουσία μεγάλων σωματιδίων και ακαθαρσιών. Η διάμετρος Z_D , όπως απεικονίζεται και στον πίνακα των αποτελεσμάτων είναι αρκετά μεγαλύτερη στη δεύτερη μέτρηση (πράσινο χρώμα) από την πρώτη κατά σειρά (κόκκινο χρώμα). Για το λόγο αυτό παρουσιάζονται δύο διαφορετικές κατανομές έντασης όπου διαφέρουν μεταξύ τους πάνω από 5%. Στην πρώτη κατά σειρά μέτρηση μάλιστα παρατηρείται *διπλή κορυφή* με τη δεύτερη κορυφή να είναι πολύ μικρή βέβαια (μικρότερη από 3% της έντασης), γεγονός το οποίο δείχνει ότι υπάρχουν σωματίδια εντός του δείγματος τα οποία εντοπίζονται στην πρώτη και είναι πολύ μικρότερα σε ποσότητα από τα υπόλοιπα, γι αυτό και πιθανότατα δεν εντοπίζονται και στη δεύτερη μέτρηση. Από το διάγραμμα αυτό επομένως, αντλείται το συμπέρασμα ότι το δείγμα *δεν είναι ομοιογενές* καθώς υπάρχουν σωματίδια τα οποία πιθανότατα έχουν 2 ή 3 διαφορετικά μεγέθη. Για να επιβεβαιωθεί αυτό, πρέπει να εξεταστεί και το διάγραμμα κατανομής όγκου.



Στην πρώτη μέτρηση (κόκκινο χρώμα) παρατηρείται ότι παρουσιάζονται δύο κατανομές, με την πρώτη να αντιστοιχεί σε 17% του όγκου και την δεύτερη περίπου 10 ποσοστιαίες μονάδες λιγότερο. Αυτό οφείλεται στην παρουσία δύο τουλάχιστον μεγεθών σωματιδίων στο δείγμα, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται και στην κατανομή εντάσεων, αφού και εκεί εμφανίζεται διπλή κορυφή στην πρώτη μέτρηση. Στη δεύτερη κατά σειρά μέτρηση (πράσινο χρώμα), η κορυφή της κατανομής προσεγγίζει το 25% του όγκου, γεγονός το οποίο δείχνει ότι υπάρχει και τρίτη κατηγορία μεγέθους σωματιδίου, η οποία ανιχνεύεται στη δεύτερη μέτρηση. Έτσι λοιπόν προκύπτει ότι όντως τελικά το συγκεκριμένο δείγμα είναι *ανομοιογενές*, καθώς απαρτίζεται από διαφορετικών μεγεθών σωματίδια και η μέση διάμετρος που μετρήθηκε και βρέθηκε ίση με 1527 nm είναι συνισταμένη τριών κατηγοριών μεγέθους σωματιδίων. Η κατανομή έντασης επίσης είναι ανάλογη με την κατανομή όγκου, γεγονός το οποίο δείχνει ότι όλα τα σωματίδια παρουσιάζουν μεταξύ τους παρόμοια κινητικότητα.

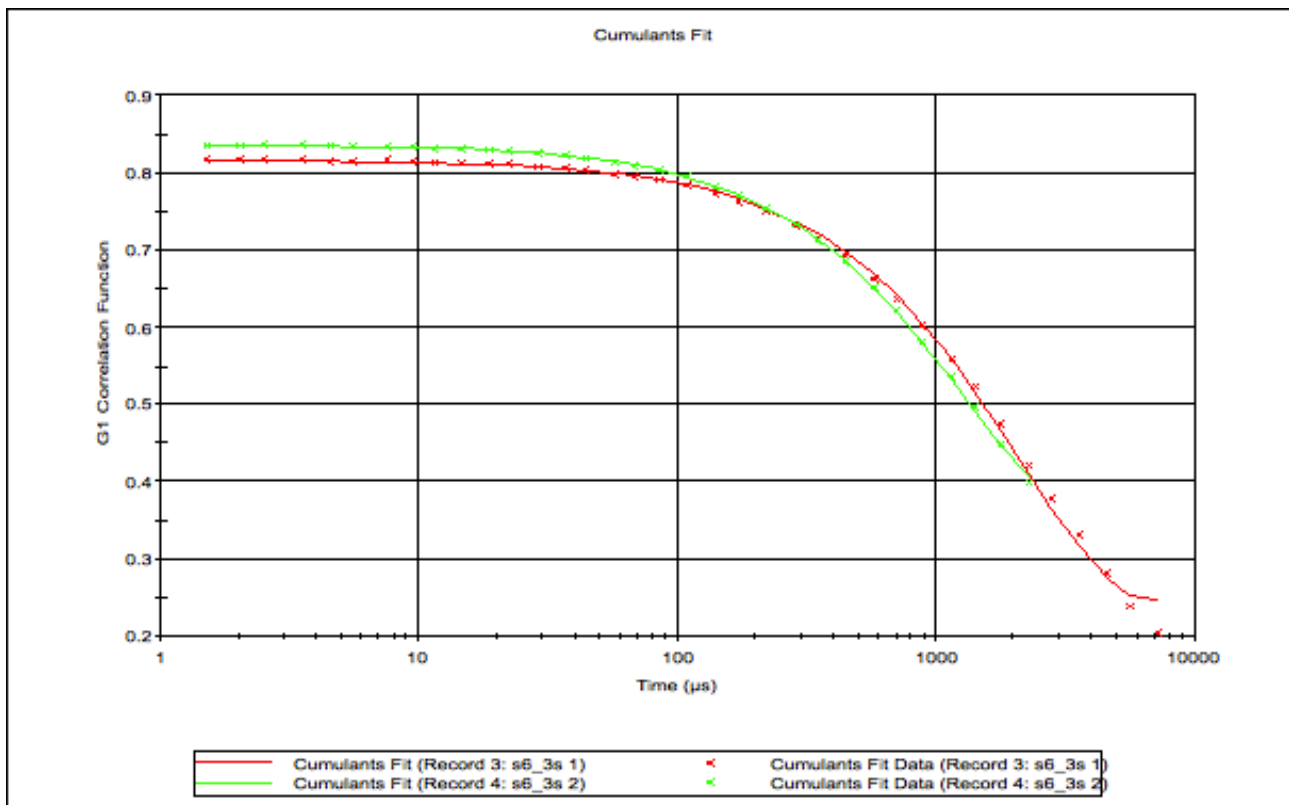
Δείγμα νούμερο 4

Record	Type	Sample Na	Measurem T °C	Z-Ave d.nm	Pdl	Pk 1 Mean d.nm	Pk 2 Mean d.nm	Pk 3 Mean d.nm	Pk 1 Area Percent	Pk 2 Area Percent	Pk 3 Area Percent	Aggregatio °	Scattering Angle
3 Size	s6_3s 1	Wednesda	25	948.2	0.415	936.8	191.5	5331	83.7	10.1	6.2		173
4 Size	s6_3s 2	Wednesda	25	720.5	0.622	809	212.3	5401	77.6	17.7	4.7		173
Mean 3,4			25	834.3	0.518	872.9	201.9	5366	80.7	13.9	5.4		173
Std Dev			0	161	0.146	90.37	14.71	49.5	4.3	5.4	1.1		0
RSD %			0	19.3	28.2	10.4	7.28	0.922	5.35	38.7	19.5		0
Maximum			25	948.2	0.622	936.8	212.3	5401	83.7	17.7	6.2		173

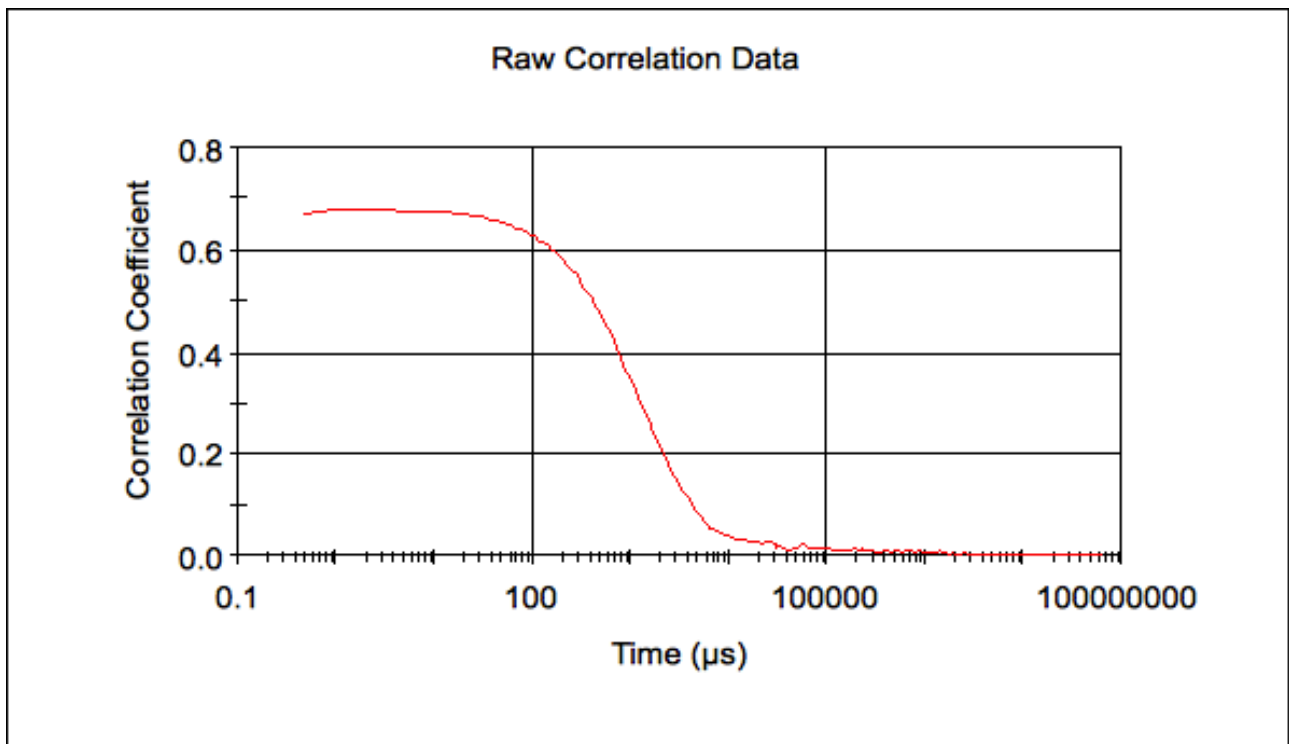
Εκ πρώτης όψεως, πρόκειται για ένα δείγμα *συμβατό* με το όργανο, όπως προκύπτει από τα εξής στοιχεία :

- ✓ Δεν παρουσιάζει συσσωμάτωση : Θεωρείται από την αρχική υπόθεση και σύνθεση του δείγματος ότι αυτό το στάδιο δεν υφίσταται.
- ✓ Ο δείκτης Pdl ανήκει στο εύρος από 0,08 έως 0,7 : Αποτελεί το εύρος βέλτιστης λειτουργίας του οργάνου συν το γεγονός ότι ο δείκτης Pdl στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι *μικρότερος από την τιμή 1*, το οποίο είναι βασική προϋπόθεση έτσι ώστε το δείγμα να είναι κατάλληλο προς μέτρηση από το Zetasizer.

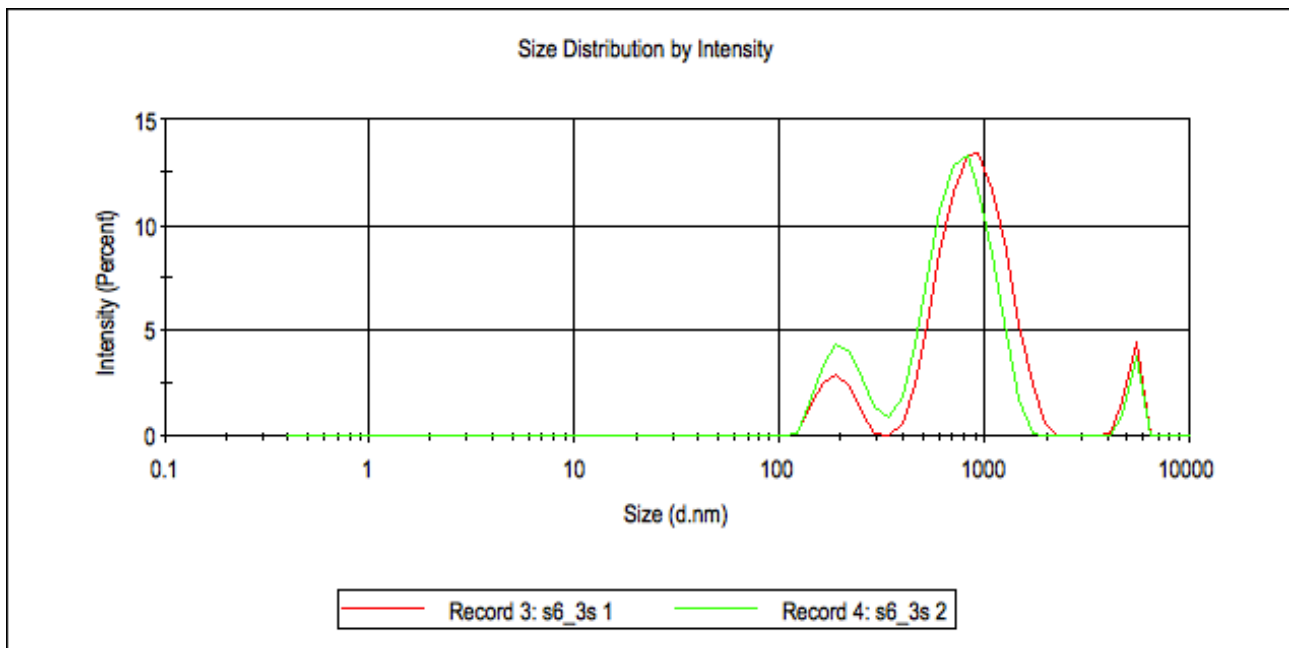
Παρ'όλα αυτά όμως, το αποτέλεσμα της μέτρησης δεν είναι ικανοποιητικό καθώς η μέση διάμετρος σωματιδίου είναι 872,9 nm, γεγονός το οποίο δεν κατατάσσει το συγκεκριμένο δείγμα στην κατηγορία των νανοϋλικών. Το συγκεκριμένο δείγμα προφανώς δεν εντάσσεται στην κατηγορία των νανοϋλικών γιατί θα πρέπει να έχει διάμετρο μικρότερη από 100 nm.



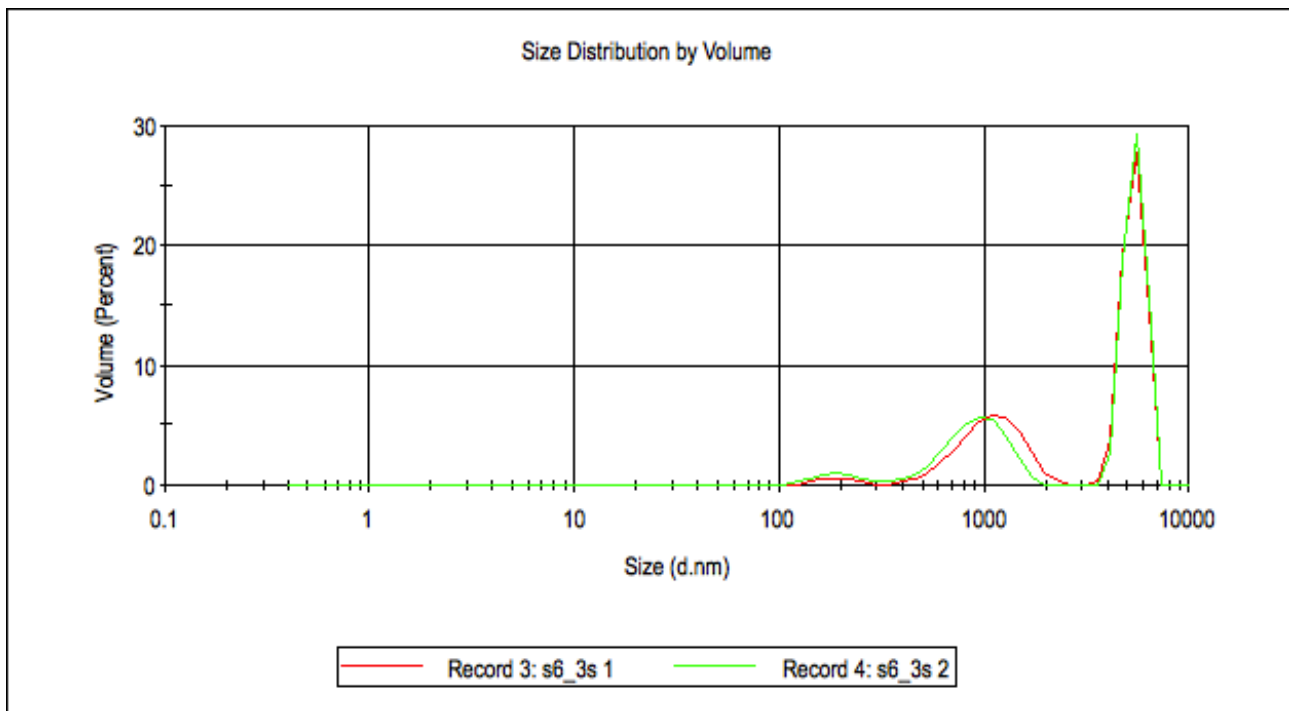
Στη συγκεκριμένη κατανομή παρατηρείται fit error *μικρότερο* από την τιμή 0,005, η οποία γενικά πιστοποιείται ως μια καλή και αποδεκτή εκτίμηση. Σε σχέση με τις προηγούμενες μετρήσεις που διεξήχθησαν, αυτή τη φορά παρατηρείται ότι στην πρώτη κατά σειρά μέτρηση (κόκκινο χρώμα) υπάρχουν περισσότερα σημεία τα οποία δεν ταυτίζονται με την καμπύλη, αλλά και πάλι η απόστασή τους από αυτήν ανήκει στο αποδεκτό εύρος. Έτσι λοιπόν, επιβεβαιώνεται η συμβατότητα δείγματος – οργάνου.



Παρατηρώντας το διάγραμμα του συντελεστή συσχέτισης σε σχέση με το χρόνο, επιβεβαιώνονται οι μεγάλες διαστάσεις των σωματιδίων, καθώς τα σωματίδια αργούν να αντιδράσουν ενεργειακά στην εφαρμογή της ασκούμενης τάσης. Στην baseline δε σχηματίζονται κορυφές, γεγονός το οποίο πιστοποιεί ότι το δείγμα δεν παρουσιάζει κανένα απολύτως πρόβλημα. Οι τιμές του συντελεστή συσχέτισης καθ'όλη τη χρονική διάρκεια είναι μικρότερες της μονάδας, κάτι το οποίο είναι το απόλυτα φυσιολογικό.



Οι δύο κατά σειρά μετρήσεις που διεξάγονται παρουσιάζουν μεταξύ τους αρκετά μικρή μετατόπιση αλλά και *ίδια μορφολογία*. Διακρίνονται τρεις κορυφές και στις δύο μετρήσεις και αυτό σημαίνει ότι στο δείγμα υπάρχουν σωματίδια που κατανέμονται σε *τρία διαφορετικά μεγέθη*. Η μεγαλύτερη διακύμανση παρατηρείται και στην μεγαλύτερη κορυφή η οποία προσεγγίζει το 13% της έντασης, ενώ οι κορυφές που είναι μικρότερες από 5% της έντασης παρουσιάζονται περισσότερο “στενές”. Αυτό σημαίνει ότι τα σωματίδια της κατηγορίας του 13% σκεδάζουν φως με μεγαλύτερη ένταση από τις άλλες δύο κατηγορίες, το οποίο δηλώνει ή ότι παρουσιάζουν πολύ *μεγαλύτερη κινητικότητα* σε σχέση με τα υπόλοιπα ή ότι είναι *περισσότερα κατά αριθμό* μέσα στο δείγμα. Είναι αναγκαία η μελέτη και των κατανομών όγκου για να εξεταστεί ποιά υπόθεση θα υπερισχύσει.



Το συγκεκριμένο διάγραμμα επιβεβαιώνει την υπόθεση που έγινε προηγουμένως, ότι τα σωματίδια της κορυφής που αντιστοιχεί στα 1000 nm παρουσιάζουν *πολύ μεγάλη κινητικότητα*. Αυτό φαίνεται από το γεγονός ότι η κορυφή στην κατανομή όγκου δεν είναι η μεγαλύτερη, γεγονός το οποίο εάν ίσχυε θα επιβεβαιωνόταν η υπόθεση του μεγαλύτερου αριθμού τους στο δείγμα που θα είχε ως αποτέλεσμα και μεγαλύτερη κατανομή όγκου. Το μεγαλύτερο μέρος του δείγματος απαρτίζεται από σωματίδια με μέση διάμετρο 5366 nm, καθώς η αντίστοιχη κορυφή στο συγκεκριμένο διάγραμμα αντιστοιχεί σε ποσοστό που προσεγγίζει το 28% του όγκου.

Συμπεράσματα

- ✓ Βασική προϋπόθεση και πάλι είναι ο χρήστης να βεβαιώνεται ότι το δείγμα είναι *συμβατό* με το όργανο. Οποιαδήποτε λάθος ερμηνεία στο συγκεκριμένο κομμάτι θα οδηγήσει σε τελείως λάθος αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Στις συγκεκριμένες μετρήσεις αρκεί ο έλεγχος δύο δεικτών : του δείκτη πολυδιαλυτότητας (*Pdl index*) και του σφάλματος της κατανομής (*fit error*).
- ✓ Ο δείκτης πολυδιαλυτότητας πρέπει να ανήκει ιδανικά στο εύρος από 0,08 έως 0,7, το οποίο είναι το άριστο εύρος λειτουργίας του οργάνου. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να ξεπερνά την τιμή 1. Το σφάλμα κατανομής προκύπτει από τα διαγράμματα *cummulants fit* και μέσα από τη σύγκριση των διαγραμμάτων για κάθε μέτρηση ξεχωριστά. Μία εκτίμηση της τάξης του 0,05 θεωρείται ικανοποιητική και οποιαδήποτε τιμή σφάλματος πάνω από αυτή την τιμή ισοδυναμεί με *άκυρη μέτρηση – μη συμβατό δείγμα*.
- ✓ Από το διάγραμμα συσχέτισης (*raw correlation data*) λαμβάνεται μία εικόνα σχετικά με το μέγεθος των σωματιδίων : μικρού μεγέθους σωματίδια αντιδρούν στην εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου γρηγορότερα από τα σωματίδια που είναι μεγαλύτερα. Αυτό πρακτικά ερμηνεύεται εάν η καμπύλη “πέφτει” γρηγορότερα (μικρά σωματίδια) ή όχι.
- ✓ Κατανομές σωματιδίων σύμφωνα με ένταση και όγκο θέλουν πολύ προσεκτική εξέταση με την προαναφερθείσα σειρά, καθώς αντλούνται πολύ σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με τις ιδιότητες του δείγματος.
- ✓ Οι μετρήσεις που διεξήχθησαν στη συγκεκριμένη εργασία, είχαν καθαρά πιλοτικό χαρακτήρα και γι αυτό το λόγο έγιναν μόνο δύο μετρήσεις σε κάθε δείγμα. Για να είναι τα αποτελέσματα που θα ληφθούν όσο το δυνατόν ακριβέστερα, προφανώς απαιτείται και μεγαλύτερος αριθμός μετρήσεων. Ένας αριθμός από 5 έως 10 μετρήσεις για κάθε δείγμα θα παρείχε μία αρκετά αντιπροσωπευτική και ακριβή εικόνα για κάθε δείγμα, ανάλογα βέβαια και την περίπτωση.

8.4 Ποσοτικοποίηση συσσωμάτωσης – Δείκτης Συσσωμάτωσης

Αναφέρθηκε προηγουμένως, ότι δείγματα στα οποία παρατηρείται το φαινόμενο της συσσωμάτωσης δεν είναι τα πλέον ιδανικά για να μετρηθούν από το Zetasizer και ότι αν συμβεί κάτι τέτοιο, ο χρήστης θα είναι σε θέση να το ερμηνεύσει μέσα από τα διαγράμματα. Τι συμβαίνει όμως όταν είναι επιθυμητή η ποσοτικοποίηση της συσσωμάτωσης ; Δηλαδή είναι αναγκαίο να είναι γνωστό το κατά πόσο ένα δείγμα υπόκειται στο συγκεκριμένο φαινόμενο.

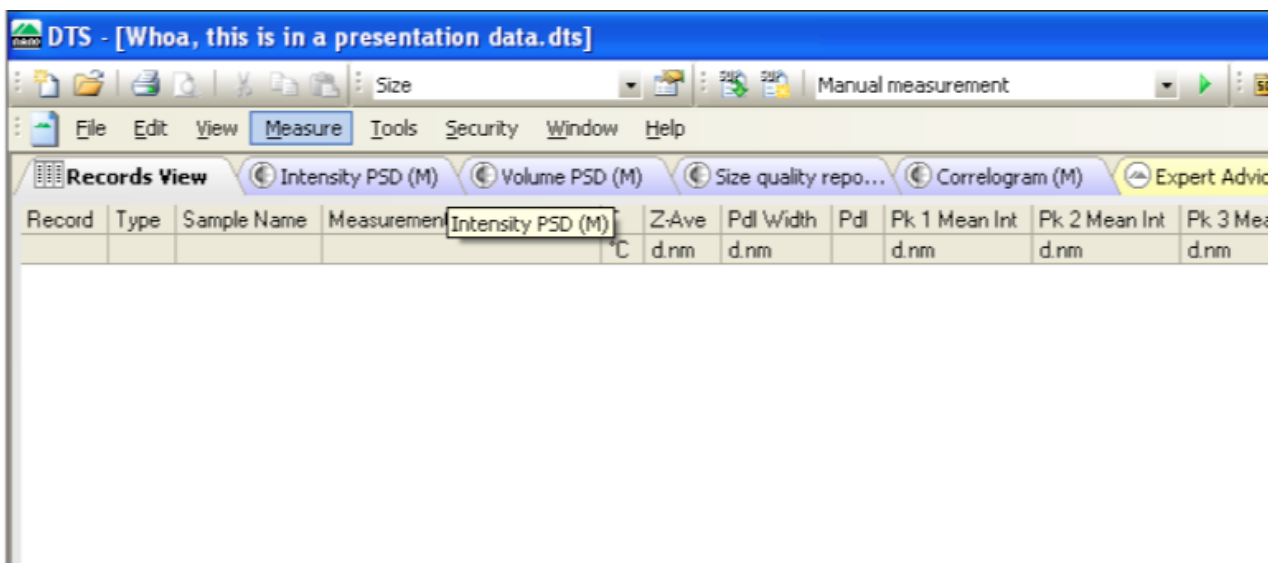
Το πρόβλημα αυτό επιλύεται μέσω ενός δείκτη που ονομάζεται *δείκτης συσσωμάτωσης* (aggregation index). Ο υπολογισμός αυτού του δείκτη είναι δυνατός στις μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων (size) και εκμεταλλεύεται το γεγονός ότι οι μετρήσεις μέσω της τεχνικής DLS δεν αλλοιώνουν το δείγμα και δεν παρεμβαίνουν στη σύστασή του κατά τη διάρκειά τους. Επίσης, ο υπολογισμός του δείκτη συσσωμάτωσης βρίσκει πρακτική εφαρμογή στην μέτρηση πρωτεϊνών κατά κύριο λόγο, αλλά ανάλογα με τους στόχους του χρήστη, μπορεί να εφαρμοσθεί σε οποιαδήποτε δείγμα. Ο δείκτης συσσωμάτωσης μπορεί να είναι είτε θετικός είτε αρνητικός αριθμός και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στις περιπτώσεις όπου παρατηρείται η συμπεριφορά ενός δείγματος σε παραπάνω από μία θερμοκρασίες.

Για να πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη μέτρηση, πρέπει να ενεργοποιηθεί στο σύστημα η *ρύθμιση διπλής γωνίας* (dual angle configuration). Αυτό συμβαίνει διότι η γωνιακή εξάρτηση του φωτός που υπόκειται σκέδαση σχετίζεται άμεσα με το μέγεθος των σωματιδίων μέσα στο δείγμα. Έστω ότι τα σωματίδια είναι πολύ μικρά σε σχέση με το μήκος κύματος λ του laser το οποίο ακτινοβολεί το δείγμα, τότε η γωνία από την οποία θα γίνει η ανάλυση του διασκεδασμένου φωτός δεν έχει καμία απολύτως σημασία, διότι το αποτέλεσμα θα είναι ίδιο σε όλες τις περιπτώσεις. Εάν όμως το μέγεθος του σωματιδίου (και κατ' επέκταση του συσσωματώματος) αυξάνεται, ξεπερνάει την τιμή $\lambda/10$ και προσεγγίζει το μήκος κύματος του laser , τότε η ένταση του φαινομένου της σκέδασης παρατηρείται σε εντονότερο βαθμός στην εμπρόσθια διεύθυνση του δείγματος. Έτσι λοιπόν, είναι αναγκαία η μέτρηση της έντασης του σκεδασμένου φωτός τόσο στην οπίσθια, όσο και στην εμπρόσθια διεύθυνση του δείγματος. Οι διευθύνσεις αυτές είναι συνήθως 173 μοίρες στην οπίσθια και 12,8 μοίρες στην εμπρόσθια διεύθυνση. Ο τύπος από τον οποίο προκύπτει ο δείκτης συσσωμάτωσης μέσα από τον αλγόριθμο του οργάνου είναι ο εξής :

$$\text{Δείκτης συσσωμάτωσης} = \frac{Z_D(\text{εμπρόσθια})}{Z_D(\text{οπίσθια})} - 1$$

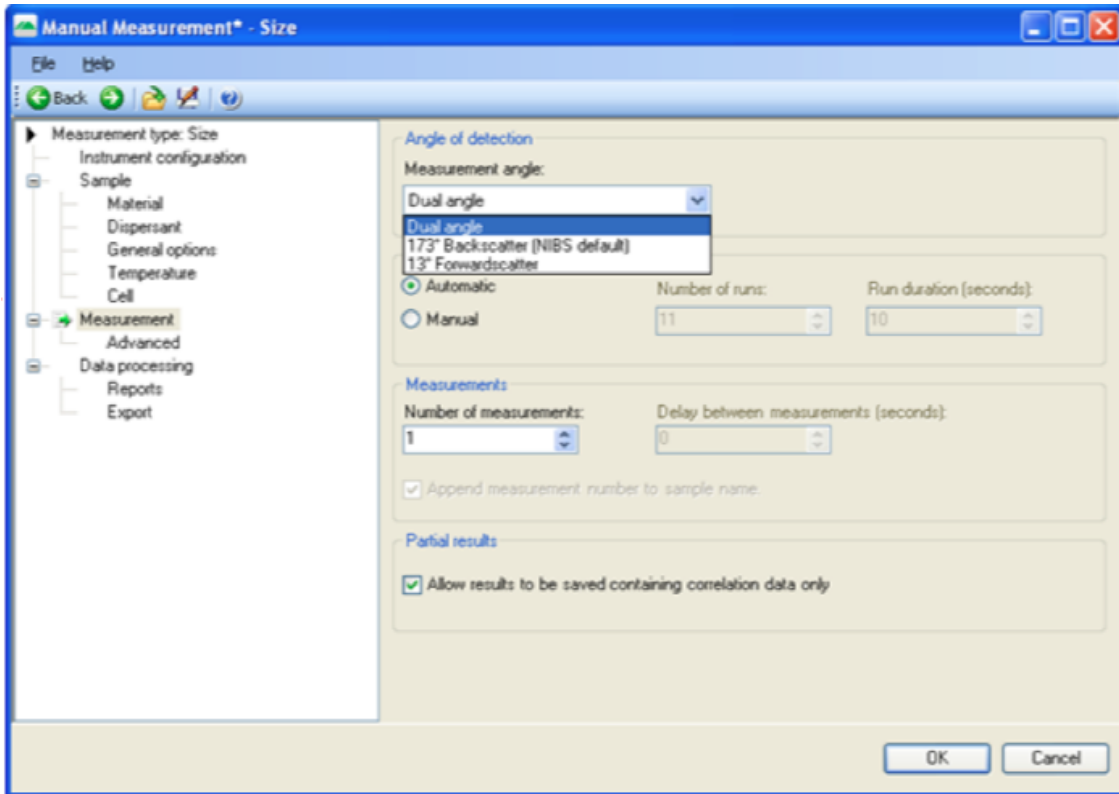
Η απαιτούμενη διαδικασία για να γίνει μέτρηση του μεγέθους αυτού είναι ιδιαίτερα απλή. Αρχικά να ξεκαθαριστεί ότι η συγκεκριμένη μέτρηση υπόκειται στη μέτρηση μεγέθους σωματιδίου. Επομένως οι διαδικασίες λήψης μέτρησης, προετοιμασίας του δείγματος κτλ είναι ίδιες (όπως έχει αναλυθεί στις προηγούμενες υποενότητες) με τη μόνη διαφορά ότι χρειάζεται ενεργοποίηση της ρύθμισης διπλής γωνίας (dual angle configuration). Αυτό το βήμα γίνεται μετά τη δημιουργία του αρχείου SOP σύμφωνα με τα εξής βήματα :

- Στο κύριο γραφικό περιβάλλον χρήσης, επιλέγεται η επιλογή MEASURE.



UI 2 : Ενεργοποίηση λειτουργίας διπλής ακτίνας

- Στο παράθυρο που ανοίγει, ο χρήστης επιλέγει με δεξί κλικ την καρτέλα MEASUREMENT ANGLE.
- Στη συγκεκριμένη καρτέλα εμφανίζονται όλες οι δυνατές επιλογές. Από αυτές επιλέγεται η ρύθμιση DUAL ANGLE και επιβεβαιώνεται με OK.



UI 3 : Ενεργοποίηση λειτουργίας διπλής ακτίνας

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι εξίσου απλή με τη ρύθμιση που μόλις περιγράφηκε. Παρακάτω παρουσιάζεται ένας πίνακας με τις περιοχές που εμφανίζονται σε αυτή τη μέτρηση και επεξηγούνται στο σχετικό υπόμνημα :

Record	Type	Sample Name	Measurement Date and Time	T °C	Z-Ave d.nm	Pdl	Scattering Angle	Aggregation Index
32	Size Group	Great sample	Sunday, May 04, 2008 5:35:53 PM				173	9.09e-4
33	Size	Great sample 1	Sunday, May 04, 2008 5:39:38 PM	25.0	4.235	0.107	173	
34	Size	Great sample 2	Sunday, May 04, 2008 5:41:54 PM	25.0	4.231	0.145	12.8	

UI 4 : Πίνακας τελικών αποτελεσμάτων

Πίνακας 14 : Ερμηνεία πεδίων οθόνης αποτελεσμάτων

Αριθμός περιοχής	Συμβολισμός	Μέγεθος
1	Record	Μετρήσεις. Πρώτα εμφανίζεται η συνολική και στη συνέχεια η οπίσθια και εμπρόσθια μέτρηση.
2	Z - Average	Μέση διάμετρος. Πρώτα εμφανίζεται η συνολική και στη συνέχεια η οπίσθια και εμπρόσθια μέτρηση.
3	Scattering Angle	Γωνία σκέδασης. Πρώτα εμφανίζεται η μέτρηση προεπιλογής (γίνεται κατά την οπίσθια διεύθυνση 173°), στη συνέχεια η οπίσθια μέτρηση 173° και έπειτα η εμπρόσθια μέτρηση 12,8°.
4	Aggregation index	Δείκτης συσσωμάτωσης

9. Τεχνικό μέρος

9.1 Ρύθμιση Ακτίνας Αναφοράς (Reference Beam)

Ένα κύριο χαρακτηριστικό των οργάνων Zetasizer, και κατ' επέκταση του Zetasizer Nano ZS 173, είναι η μικρή παρεμβολή του χρήστη στα εσωτερικά μέρη του. Δηλαδή ο χρήστης δεν επεμβαίνει εσωτερικά της συσκευής καθόλου κατά τη διάρκεια των μετρήσεων που εκτελεί. Αυτό μπορεί να επεκταθεί και μέχρι ενός σημείου σε τεχνικό επίπεδο συντήρησης.

Το Zetasizer δεν είναι το κλασσικό όργανο, το οποίο μπορεί ο χρήστης να βαθμονομήσει με έναν τυπικό τρόπο, ελέγχοντας έτσι τον τρόπο με τον οποίο θα λειτουργεί και θα συμπεριφέρεται το όργανο. Αντίθετα, το όργανο προέρχεται *βαθμονομημένο* και ρυθμισμένο κατάλληλα από το εργοστάσιο. Η μόνη “παρέμβαση” που μπορεί να κάνει ο χρήστης είναι να πιστοποιήσει εάν το όργανο λειτουργεί στις προδιαγραφές που έχουν τεθεί από την εργοστασιακή ρύθμιση, χρησιμοποιώντας κατάλληλα πρότυπα διαλύματα.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση έγινε ρύθμιση της ακτίνας αναφοράς (reference beam). Αυτό έγινε μέσω της παρασκευής ενός προτύπου δείγματος μέτρησης για μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων (size). Στη συνέχεια έγινε εισαγωγή του δείγματος αυτού σε folded capillary cell, το οποίο είναι το πλέον ενδεδειγμένο για τέτοιες μετρήσεις και έγιναν μετρήσεις στο όργανο, όπως θα γινόταν με κάθε συμβατικό δείγμα. Με αυτόν τον τρόπο έγινε έλεγχος εάν η ακτίνα αναφοράς λειτουργεί με τον τρόπο που είναι εργοστασιακά προκαθορισμένη.

Η διαδικασία παρασκευής πρότυπου διαλύματος μέτρησης για μετρήσεις μεγέθους σωματιδίων είναι η εξής :

- Ξεπλένεται το σκεύος (και στη συγκεκριμένη περίπτωση το ποτήρι ζέσεως) που θα χρησιμοποιηθεί με φυσιολογικό ορό.
- Ξεπλένεται αντίστοιχα και η σύριγγα που θα χρησιμοποιηθεί με φυσιολογικό ορό.
- Στο σκεύος εισάγονται 40 mL φυσιολογικού ορού με χρήση φίλτρου 0,45 μm μέσα από τη σύριγγα.
- Στο διάλυμα αυτό, προστίθενται 8 σταγόνες προτύπου 60 nm.

Στο όργανο που υπάρχει στο εργαστήριο, πιστοποιήθηκε με αυτόν τον τρόπο ότι η ακτίνα αναφοράς λειτουργεί με εξαιρετική ακρίβεια, καθώς οι μετρήσεις που προέκυψαν συμβάδιζαν απόλυτα με τις εργοστασιακές προδιαγραφές.

9.2 Εξωτερική ρύθμιση της βαλβίδας του οργάνου

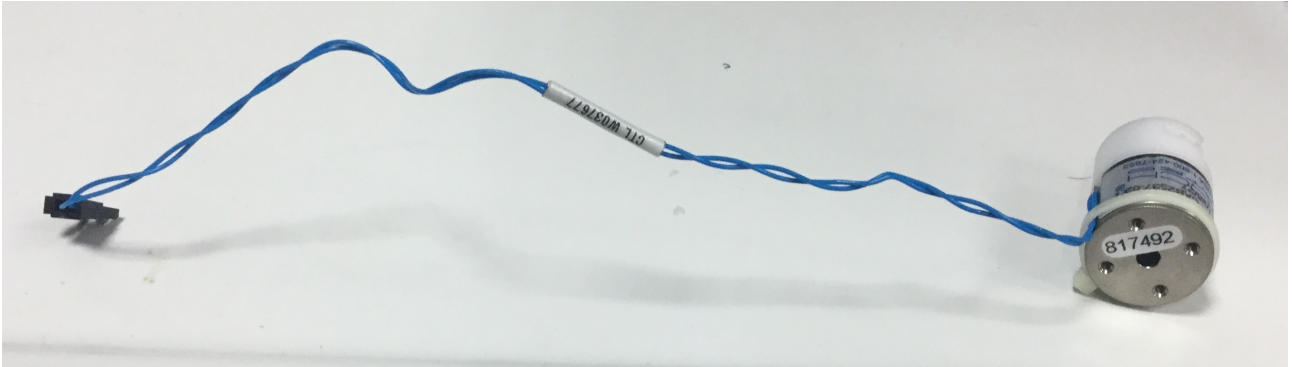
Η κατασκευή που παρουσιάζεται στη συγκεκριμένη εργασία λειτουργεί ως ένα σύστημα αυτόματης τιτλοδότησης. Στόχος του είναι η αυτόματη ρύθμιση του pH ενός δείγματος το οποίο πρόκειται να εισαχθεί σε ένα folded capillary cell, και στη συνέχεια να διεξαχθούν οι απαραίτητες μετρήσεις δυναμικού Z όπως περιγράφονται στην ενότητα 4. Σημειώνεται ότι η τιτλοδότηση γίνεται *εξωτερικά* του κελιού, δηλαδή το διάλυμα με το διαφοροποιημένο pH πρώτα υπόκειται σε αυτή τη διαφοροποίηση και έπειτα εισάγεται μέσα στο κελί. Η τιτλοδότηση δηλαδή λαμβάνει χώρα πριν δοθεί η εντολή από το χρήστη στο όργανο να διεξαχθεί καινούργια μέτρηση.

Όπως φαίνεται στην ενότητα 2, και πιο συγκεκριμένα στην εικόνα υπ' αριθμόν 6 και στον πίνακα 3 που ακολουθεί από κάτω, το όργανο περιλαμβάνει στην εικονιζόμενη θέση C μία βαλβίδα, η οποία αποτελεί τη θέση υποδοχής του τιτλοδότη. Μέσα από το συγκεκριμένο σημείο του οργάνου διέρχονται δύο σωληνάκια, τα οποία συνδέουν το κελί με τη διάταξη που κατασκευάστηκε. Τα σωληνάκια αυτά επιτελούν το σκοπό της εισαγωγής και απομάκρυνσης του δείγματος από το κελί. Η βαλβίδα αντίστοιχα, επιτελεί το σκοπό της ρύθμισης ροής του δείγματος στο κελί. Αυτό επιτυγχάνεται με τον εξής τρόπο : όταν η βαλβίδα κλείνει, συμπιέζονται τα σωληνάκια που συνδέουν το κελί με τη διάταξη και έτσι η ροή δείγματος από και προς το κελί σταματάει. Η βαλβίδα αυτή διαθέτει μια οπή στο κέντρο της και από αυτή την οπή εισέρχεται και εξέρχεται ένας μεταλλικός πύρρος, ο οποίος φράσσει και αποφράσσει τη ροή. Αυτό παρουσιάζεται αναλυτικότερα στις παρακάτω εικόνες :



Εικόνα 43 : Έλεγχος της ροής από και προς το κελί με τη χρήση της βαλβίδας του οργάνου

Συνεπώς, η βαλβίδα αυτή πρέπει να παραμένει ανοιχτή κατά τη ρύθμιση του pH του διαλύματος και υποχρεωτικά πρέπει να είναι κλειστή κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής της μέτρησης, έτσι ώστε να μην παρουσιάζονται μεταβολές στον όγκο ελέγχου του δείγματος κατά τη διάρκεια που διεξάγεται η μέτρηση.

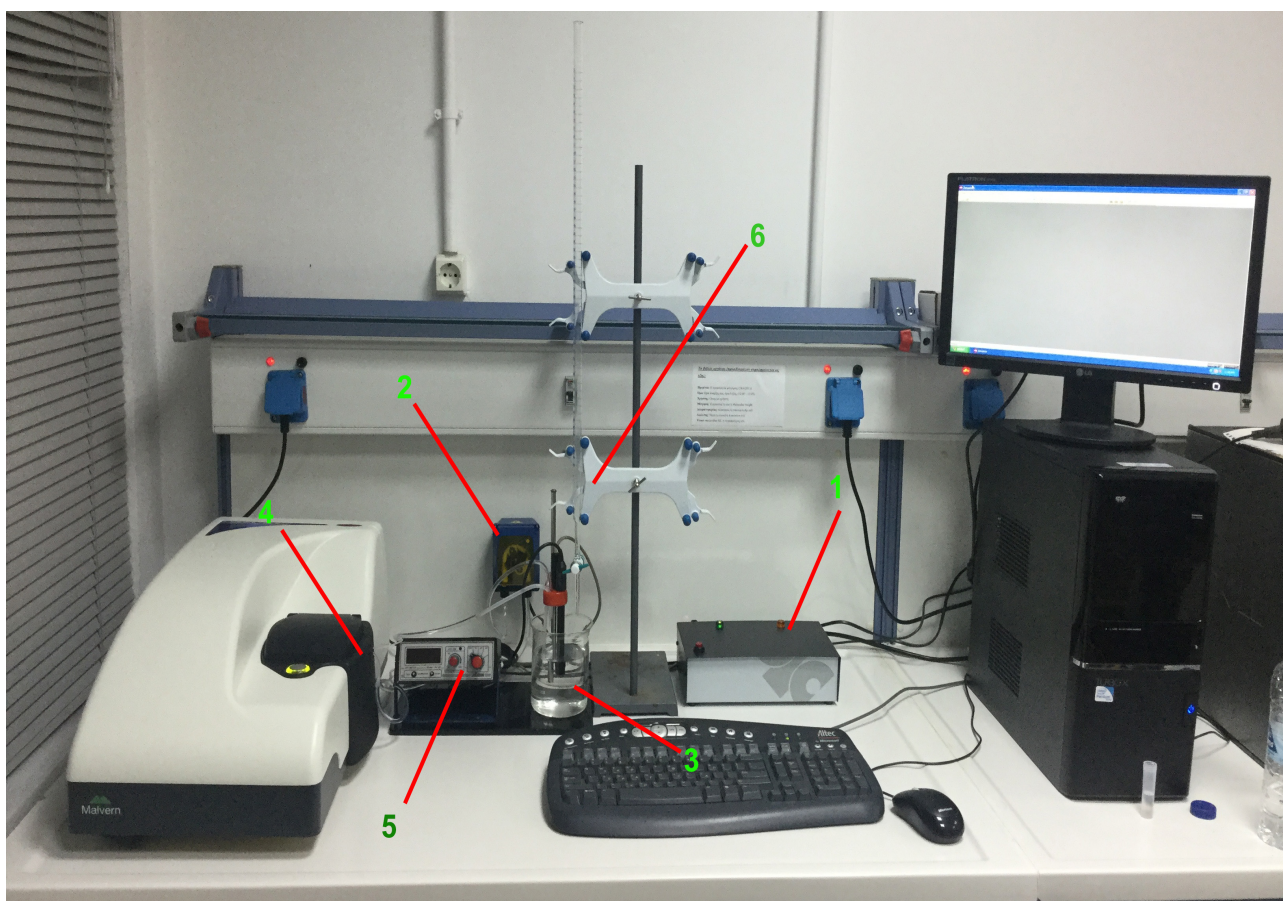


Εικόνα 44: Όψη της βαλβίδας του οργάνου

Το σύστημα του κατασκευάστηκε επομένως έχει ως σκοπό του την εξωτερική ρύθμιση της συγκεκριμένης βαλβίδας, και κατ' επέκταση τη ροή δείγματος από και προς το κελί.

9.3 Περιγραφή της διάταξης του τιτλοδότη

Η ρύθμιση της λειτουργίας της βαλβίδας επομένως, επιτυγχάνεται με την κατασκευή που έγινε. Η διάταξη αποτελείται από ένα **τροφοδοτικό (1)**, το οποίο ελέγχει τη λειτουργία της βαλβίδας του οργάνου αλλά και μίας **περισταλτικής αντλίας (2)**. Η περισταλτική αντλία επιτελεί το σκοπό του γεμίσματος αλλά και αδειάσματος του κελιού που βρίσκεται στο όργανο. Η περισταλτική συνδέεται σε δύο σημεία με σωληνάκια με το **ποτήριο ζέσεως του δείγματος (3)** και τη **ρυθμιστική βαλβίδα (4)** του οργάνου. Εντός του ποτηριού ζέσεως έχει τοποθετηθεί ένα **ηλεκτρονικό πεχάμετρο (5)**, με το οποίο γίνεται η ρύθμιση του pH του διαλύματος μέσω **μίας προχοϊδας των 50 mL (6)**. Στο σύστημα της προχοϊδας μπορεί να γίνει και συνδυασμός από περισσότερες προχοϊδες, ανάλογα με το στόχο της ζητούμενης ρύθμισης κάθε φορά του pH. Η διάταξη φαίνεται στην παρακάτω εικόνα σε πλήρη ανάπτυξη :



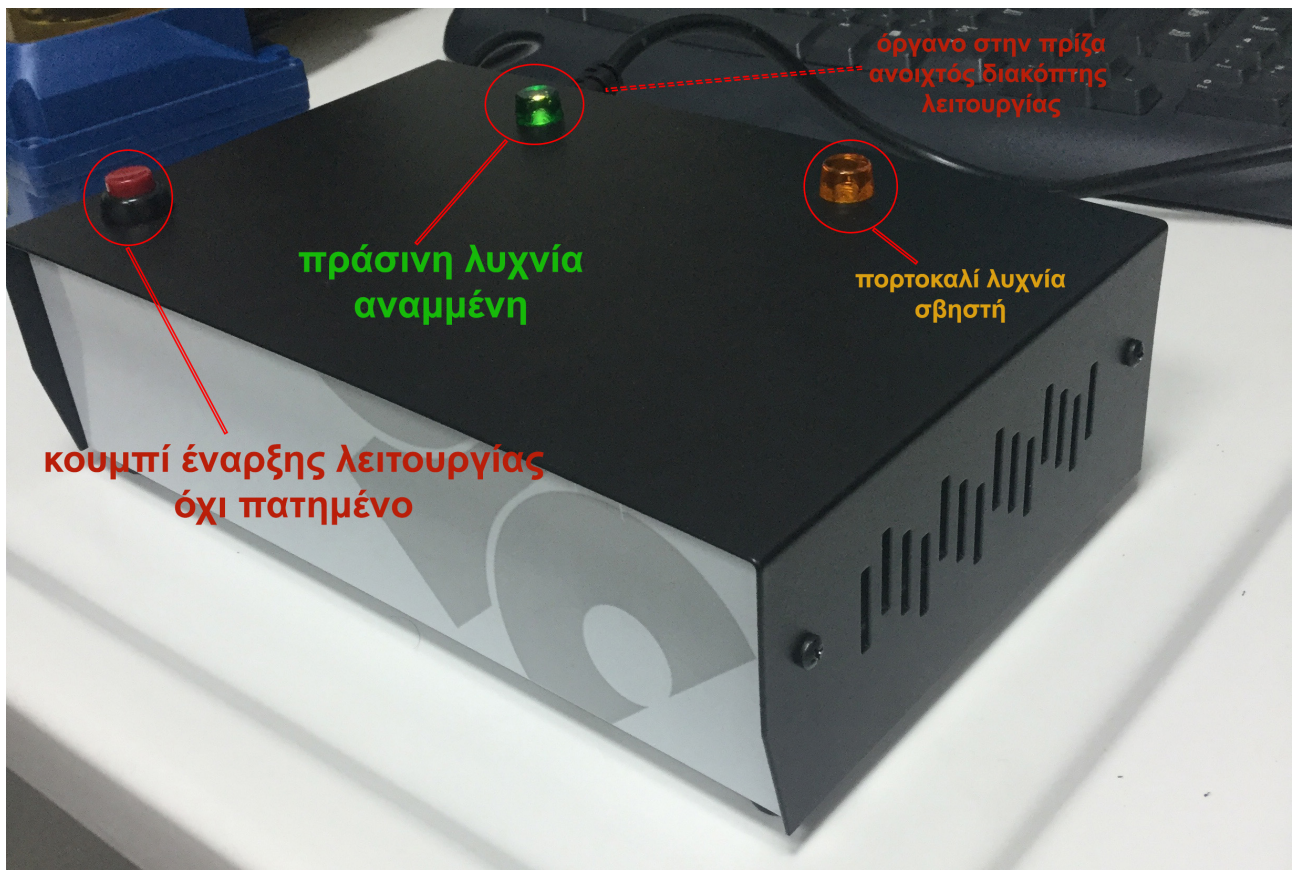
Εικόνα 45 : Πλήρης ανάπτυξη διάταξης

9.3 Ο ειδικός ρόλος του τροφοδοτικού

Καθοριστικό ρόλο στην εξωτερική ρύθμιση της βαλβίδας του οργάνου διαδραματίζουν δύο τμήματα της διάταξης : το τροφοδοτικό και η περισταλτική αντλία. Το τροφοδοτικό είναι σε μορφή rack, παρέχει ισχύ 156 Watt και έξοδο 24 Volts. Στο κύκλωμα που έχει κατασκευαστεί στο τροφοδοτικό, έχει τοποθετηθεί ένας διακόπτης και δύο φωτεινές ενδείξεις : μία πράσινη και μία πορτοκαλί. Όταν το τροφοδοτικό συνδεθεί στην πρίζα και τεθεί σε λειτουργία πατώντας το κουμπί που βρίσκεται στο πίσω μέρος του, τότε ανάβει η πράσινη λυχνία όπως φαίνεται παρακάτω.

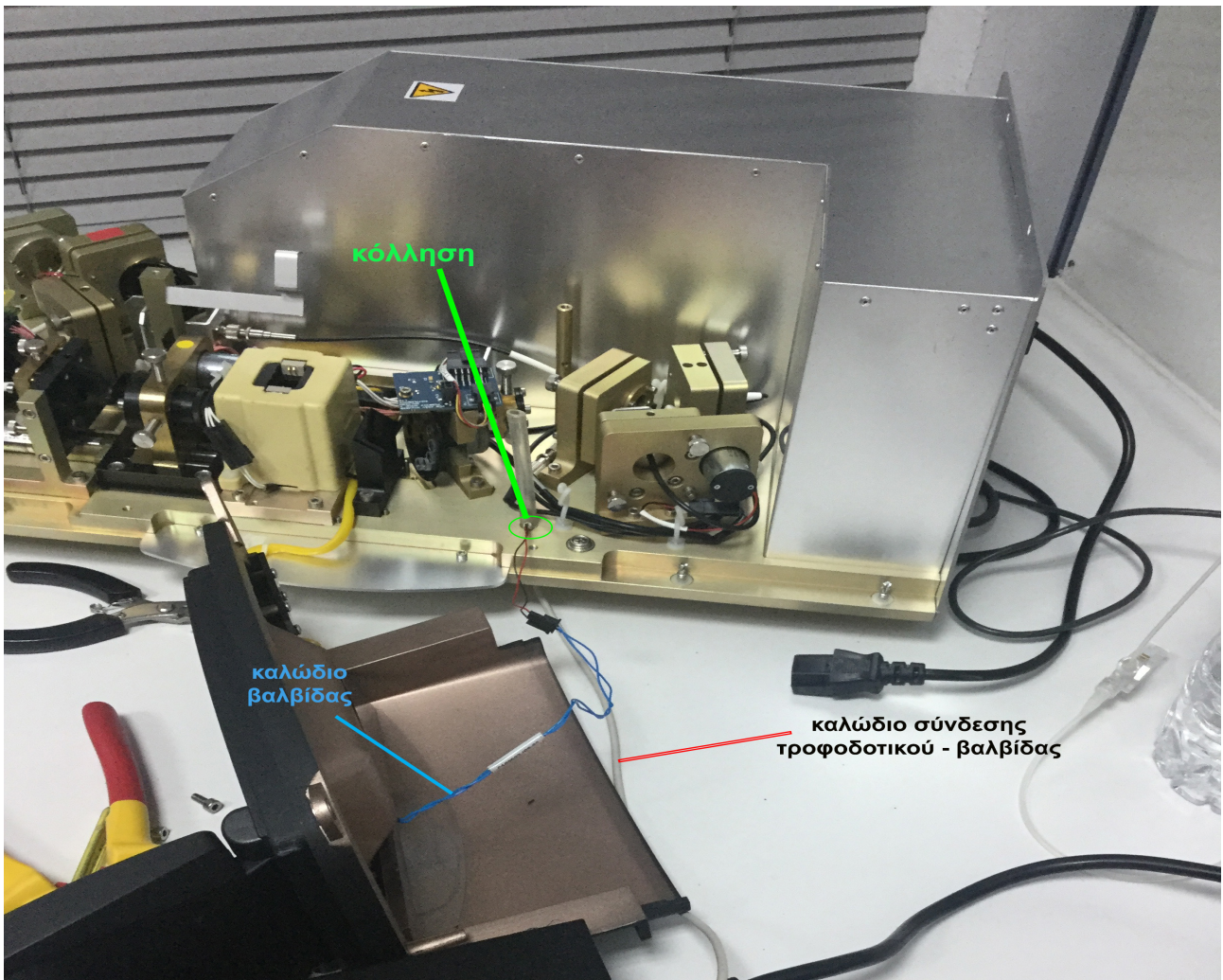


Εικόνα 46 : Κύκλωμα τροφοδοτικού



Εικόνα 47 : Λειτουργία πράσινης λυχνίας

Όταν η πράσινη λυχνία είναι *αναμμένη*, τότε η βαλβίδα στο Zetasizer παραμένει κλειστή και συνεπώς δεν υπάρχει ροή δείγματος από και προς το κελί που είναι τοποθετημένο στο όργανο. Αυτό συμβαίνει διότι μεταξύ του τροφοδοτικού και της βαλβίδας έχει γίνει η κατάλληλη σύνδεση, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.

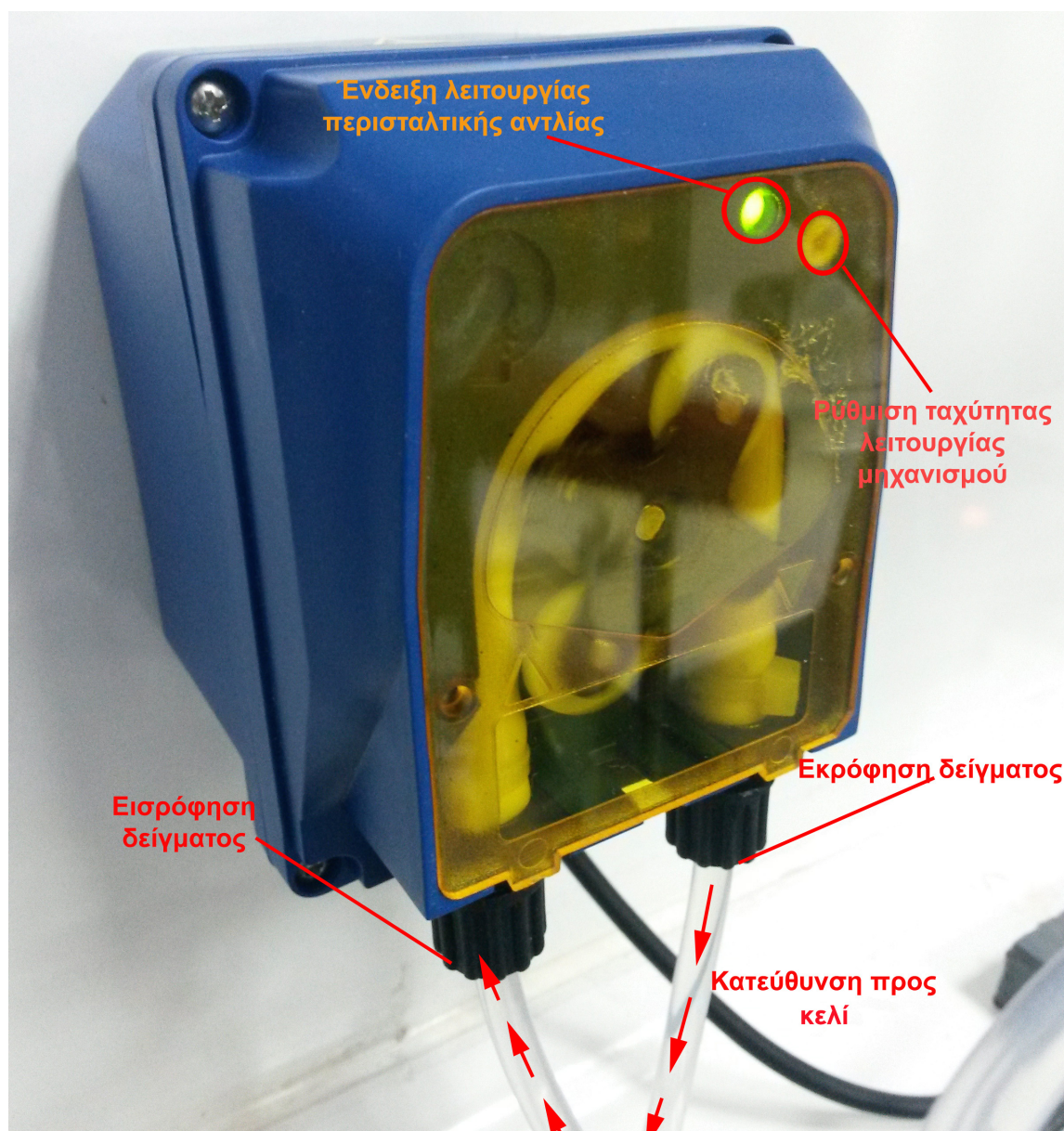


Εικόνα 48 : Σύνδεση τροφοδοτικού - βαλβίδας

Λόγω της συγκεκριμένης σύνδεσης, ο χρήστης έχει τη δυνατότητα πατώντας το κόκκινο κουμπί έναρξης λειτουργίας του τροφοδοτικού να επιφέρει τις εξής αλλαγές στη διάταξη : η βαλβίδα του οργάνου ανοίγει, επιτρέποντας έτσι τη ροή δείγματος από και προς το κελί μέσω της *περισταλτικής αντλίας*.

9.4 Η λειτουργία της περισταλτικής αντλίας

Η περισταλτική αντλία που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη διάταξη είναι μοντέλο PR – 7, η οποία λειτουργεί στα 24 Volts. Η μέγιστη παροχή που μπορεί να αποδώσει είναι $7 \text{ m}^3 / \text{h}$ και η ρύθμιση της ταχύτητας λειτουργίας της γίνεται χειροκίνητα με τη χρήση κατσαβιδιού. Ο σκοπός που επιτελεί η περισταλτική αντλία είναι η μεταφορά του δείγματος από το ποτήρι ζέσεως στο κελί εντός του Zetasizer καθώς και η επιστροφή του πίσω στο ποτήρι ζέσεως. Η περισταλτική αντλία τίθεται σε λειτουργία με το πάτημα του κουμπιού του τροφοδοτικού όπου και ανάβει η πορτοκαλί λυχνία. Αναλυτικότερη περιγραφή της περισταλτικής αντλίας ακολουθεί στην παρακάτω εικόνα.



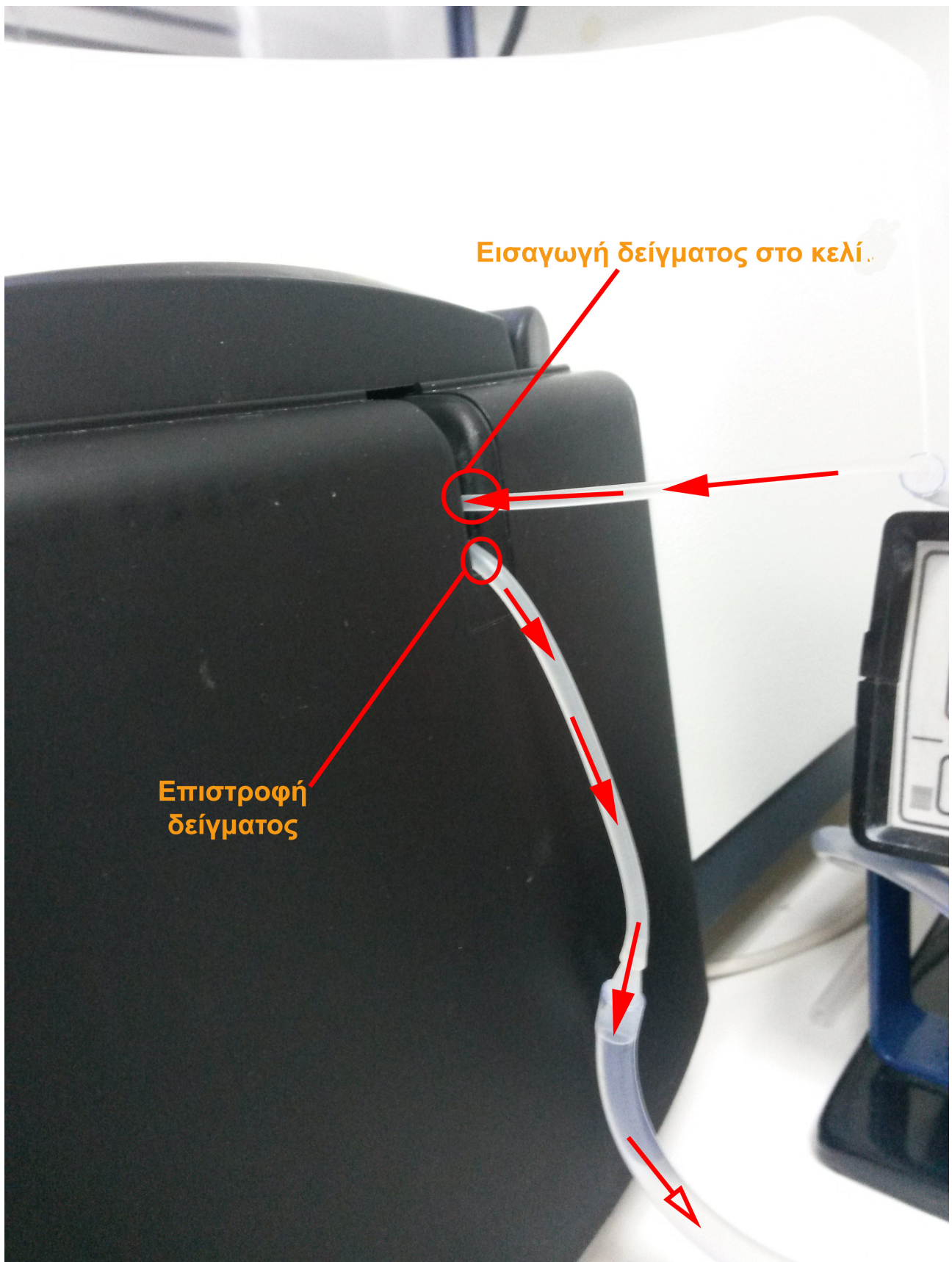
Εικόνα 49 : Περισταλτική αντλία.

9.5 Μορφοποίηση κελιού για τη χρήση με τον τιτλοδότη

Το κελί που χρησιμοποιείται στη συγκεκριμένη διάταξη είναι ένα ελαφρώς μορφοποιημένο κελί τύπου Folded Capillary Cell (DTS1060), όπως περιγράφεται στην ενότητα 5.2. Η μόνη διαφορά έγκειται στο γεγονός ότι στα ακροφύσια του συγκεκριμένου κελιού έχουν εφαρμοστεί δύο βιδωτοί σύνδεσμοι οι οποίοι ονομάζονται lue connectors. Η λειτουργία αυτών των συνδέσμων είναι να μικρύνει σε διάμετρο τα ακροφύσια του συγκεκριμένου κελιού, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η καλύτερη δυνατή εφαρμογή με τα σωληνάκια που μεταφέρουν το δείγμα από και προς σε αυτό. Μία παρόμοια εφαρμογή των συγκεκριμένων συνδέσμων, συναντάται στα συστήματα μεταφοράς φυσιολογικού ορού στα νοσοκομεία, όπου ο ορός συνδέεται με lue connectors με το σωληνάκι που εκτελεί τη μεταφορά του υγρού προς τον ασθενή. Το μορφοποιημένο αυτό κελί απεικονίζεται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 50 : Μορφοποιημένο κελί διάταξης



Εικόνα 51 : Ροή δείγματος διαμέσω της βαλβίδας

9.6 Διεξαγωγή μετρήσεων

Μετά από την εγκατάσταση του τιτλοδότη, ακολουθεί ένα πείραμα πιλοτικού χαρακτήρα, έτσι ώστε να γίνει δοκιμή της διάταξης σε κανονικές συνθήκες μέτρησης. Η διαδικασία είναι απλή και συγκεκριμένη : πριν την διεξαγωγή κάθε μέτρησης (δηλαδή πριν ο χρήστης δώσει την εντολή στο όργανο μέσω του λογισμικού να ξεκινήσει τη μέτρηση), γίνεται χρήση του τιτλοδότη. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι να πρόκειται για δείγμα συμβατό με τα πρότυπα του Zetasizer αλλά και να έχει προηγηθεί η διαδικασία της προετοιμασίας του, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 6.

Το δείγμα τοποθετείται σε ένα ποτήρι ζέσεως και στη συνέχεια εισάγονται τα εξής σωληνάκια : το πρώτο καλώδιο αφορά την περισταλτική αντλία και εκτελείται η εκρόφηση του δείγματος και η μεταφορά του προς το κελί και το δεύτερο σωληνάκι έρχεται ως επιστροφή στο ποτήρι ζέσεως από το δείγμα εντός του οργάνου. Τοποθετείται επίσης το κελί εντός του οργάνου, με τα καλώδια εισαγωγής και επιστροφής δείγματος να διαπερνούν τη βαλβίδα, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η ρύθμιση του pH γίνεται όταν το κουμπί του τροφοδοτικού δεν είναι πατημένο και έχει πράσινο χρώμα και στη διαδικασία αυτή χρησιμοποιείται το βαθμονομημένο ηλεκτρονικό πεχάμετρο και οι προχοϊδες. Οι προχοϊδες σε αριθμό μπορούν να είναι μία ή και περισσότερες και ανάλογα το στόχο της μέτρησης μπορούν να περιέχουν είτε οξύ είτε βάση, τα οποία μπορεί να είναι είτε ισχυρά είτε ασθενή. Αυτό καθορίζει το βήμα ρύθμισης του pH : για παράδειγμα η παρουσία ισχυρού οξέως στο εξεταζόμενο δείγμα χαμηλώνει την τιμή του pH με μεγαλύτερο ρυθμό από ότι ένα ασθενές, κ.ο.κ. Μετά την ολοκλήρωση της ρύθμισης του pH, πατάει ο χρήστης το κουμπί του τροφοδοτικού, ανάβει η πορτοκαλί λυχνία και τίθεται σε λειτουργία η διάταξη.

Κατά τη διάρκεια της λειτουργίας της διάταξης, το διάλυμα πρέπει να αφήνεται 5-6 λεπτά να ανακυκλοφορεί στο κελί. Έτσι διασφαλίζεται η καλύτερη ποιότητα των αποτελεσμάτων, καθώς θα γίνεται ουσιαστικά έκπλυση του κελιού με το καινούργιο δείγμα. Σε συνδυασμό με την ιδιομορφία του folded capillary cell όσον αφορά το γέμισμα, τον εγκλεισμό αλλά και τον καθαρισμό του, όπως περιγράφονται στην ενότητα 5.2, οι διαδικασίες αυτές είναι κατ' αναλογία ισοδύναμες.

Στη συνέχεια, αφού έχει καθοριστεί η τιμή του pH και έχει αφεθεί το δείγμα να ανακυκλοφορήσει στο κελί, κλείνεται ο διακόπτης του τροφοδοτικού. Ανάβει η πράσινη λυχνία, η βαλβίδα κλείνει και ο χρήστης δίνει την εντολή για την εκτέλεση της μέτρησης. Η διαδικασία της ανακυκλοφορίας του δείγματος επαναλαμβάνεται κάθε φορά που το pH υπόκειται σε νέα μεταβολή.

Υλικά μετρήσεων

Όπως ειπώθηκε προηγουμένως, η μέτρηση που παρουσιάζεται έχει πιλοτικό χαρακτήρα και γίνεται με το σκοπό της λειτουργίας του οργάνου σε πραγματικές συνθήκες μέτρησης. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται δείγμα το οποίο είναι γνωστό εξ' αρχής ότι δεν αντιμετωπίζει προβλήματα συμβατότητας με τα πρότυπα του οργάνου. Το δείγμα αποτελείται από 5 mg σκόνης Aeroxide TiO₂ P25 διαλυμένη σε 100 mL νερού. Το pH του δείγματος ισούται με 7. Γίνεται εύρεση του δυναμικού Z για τιμές pH δείγματος από 3 έως 10 και για το λόγο αυτό γίνεται χρήση ενός διαλύματος βάσης και ενός διαλύματος οξέος κατά τη διάρκεια της τιτλοδότησης. Το διάλυμα βάσης είναι διάλυμα NaOH 1 M, ενώ το διάλυμα οξέος είναι διάλυμα HNO₃ 0,5 M. Τα διαλύματα που επιλέχθηκαν είναι εντελώς συμβατικά, καθώς η διαδικασία αυτή επικεντρώνεται στη λειτουργία της διάταξης του τιτλοδότη. Να σημειωθεί ότι προηγήθηκε η κατάλληλη προετοιμασία του δείγματος, όπως περιγράφεται αναλυτικά στην ενότητα 6. Αναλυτικά τα χαρακτηριστικά του δείγματος παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 15 : Δείγμα πρότυπης μέτρησης

Συστατικά δείγματος	pH	Δείκτης Διάθλασης (RI)	Απορροφητικότητα (ABS)
0,05 mg Aeroxide TiO ₂ διαλυμένα σε 100 mL νερού	7	1,33	0,350

Στη διάταξη εισάγεται το δείγμα και στο σύστημα χρησιμοποιούνται δύο προχοϊδες των 50 mL : η μία περιέχει το διάλυμα βάσης NaOH 1 M και η άλλη περιέχει το διάλυμα οξέος HNO₃ 0,5 M με συνδυασμούς των οποίων, το pH του δείγματος διαφοροποιείται κάθε φορά.

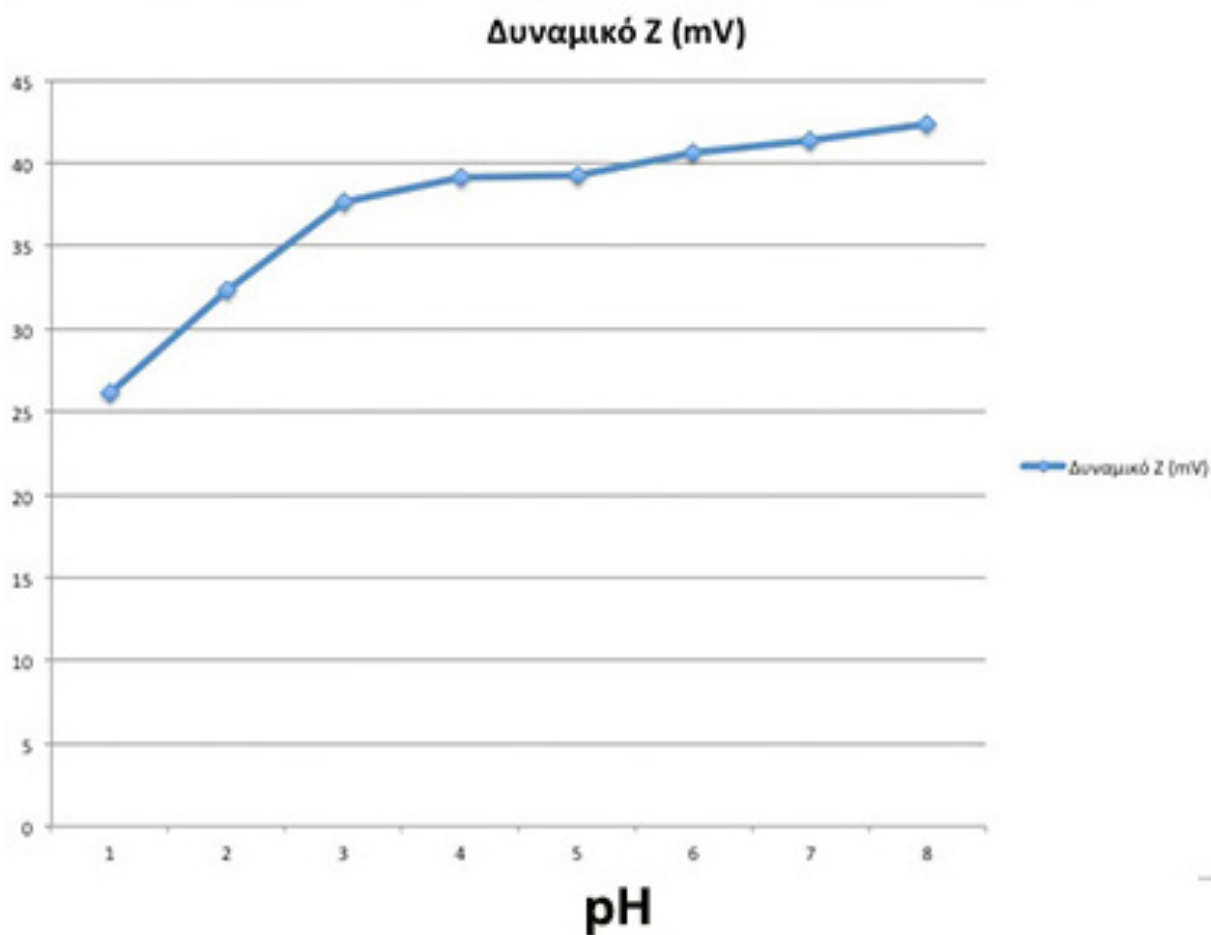
Αποτελέσματα μετρήσεων

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα. Η αρχική τιμή pH του δείγματος είναι 7, και οι τιτλοδοτήσεις ξεκίνησαν με αφετηρία το διάλυμα αυτό. Στον πίνακα αυτό η τιμή του δυναμικού Z που παρουσιάζεται είναι η απόλυτη τιμή, καθώς όπως προκύπτει από τη θεωρητική θεμελίωση, η απόλυτη τιμή του δυναμικού Z έχει ουσιαστική σημασία. Αναλυτικότερα τα αποτελέσματα προκύπτουν ως εξής :

Πίνακας 16 : Αποτελέσματα τιτλοδότησης

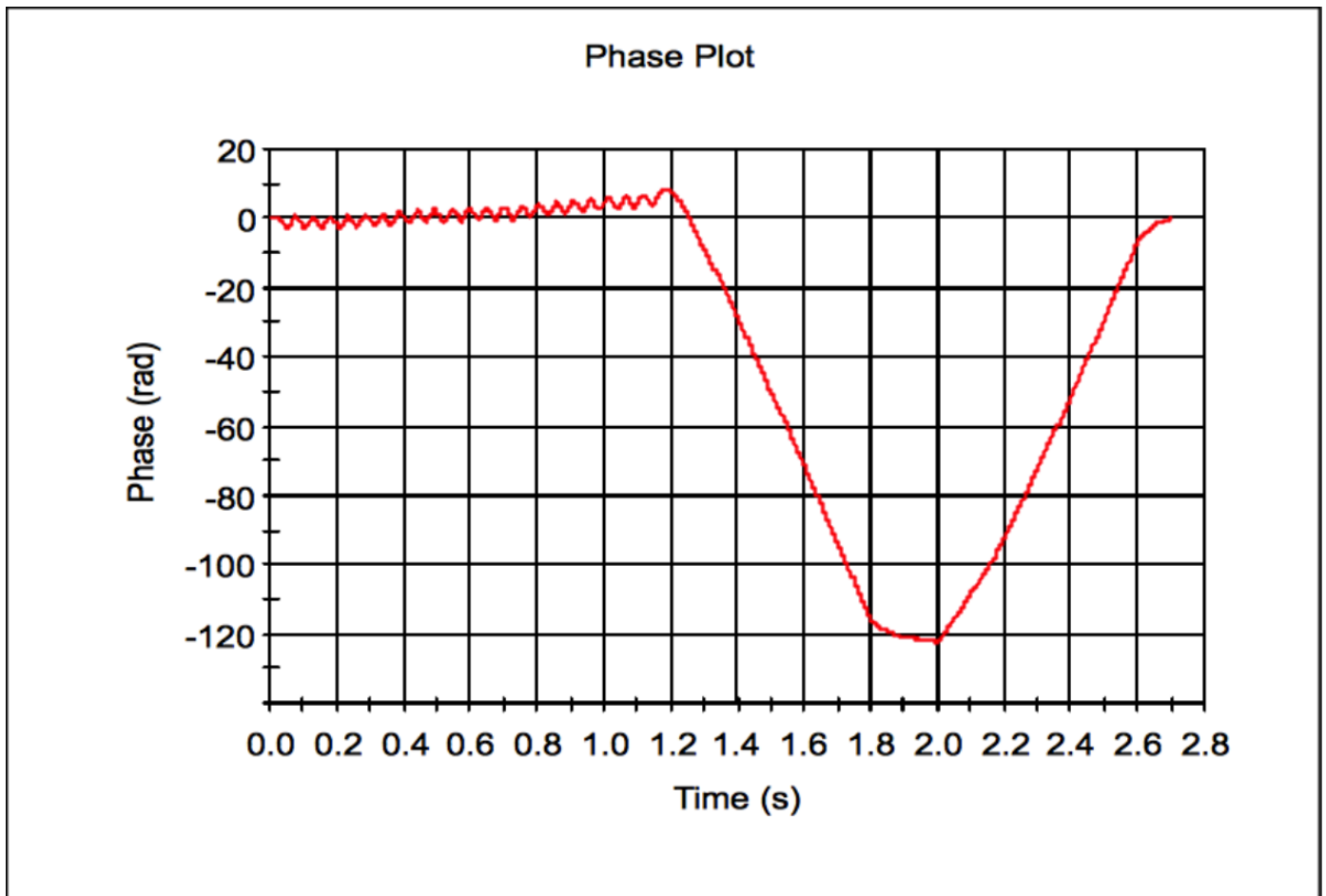
pH Δείγματος	Τιμή Δυναμικού Z (mV)
3	26,1
4	32,3
5	37,7
6	39,1
7	39,3
8	40,6
9	41,3
10	42,3

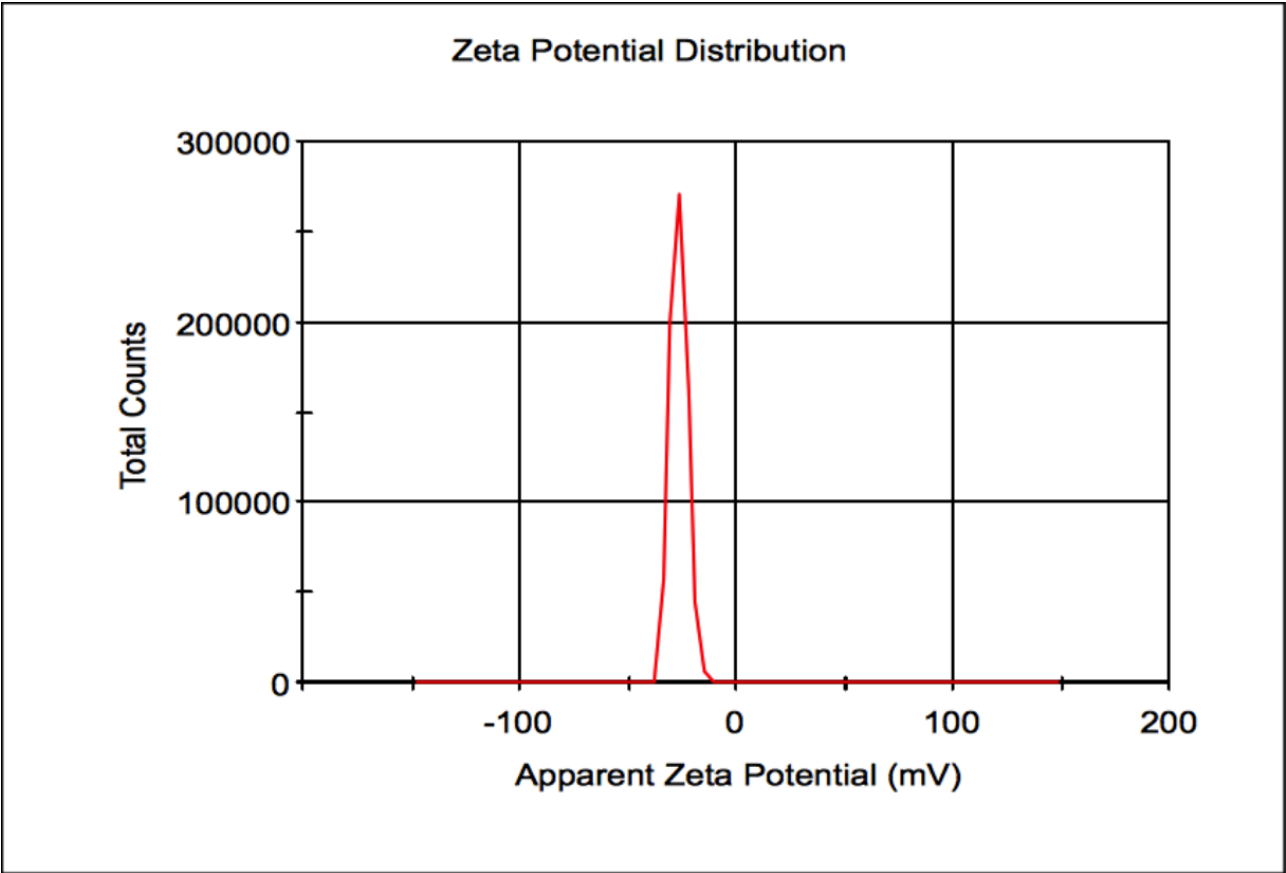
Με βάση τον πίνακα των αποτελεσμάτων, καταστρώνεται και γραφική παράσταση με τις διάφορες τιμές pH που έλαβε το δείγμα.



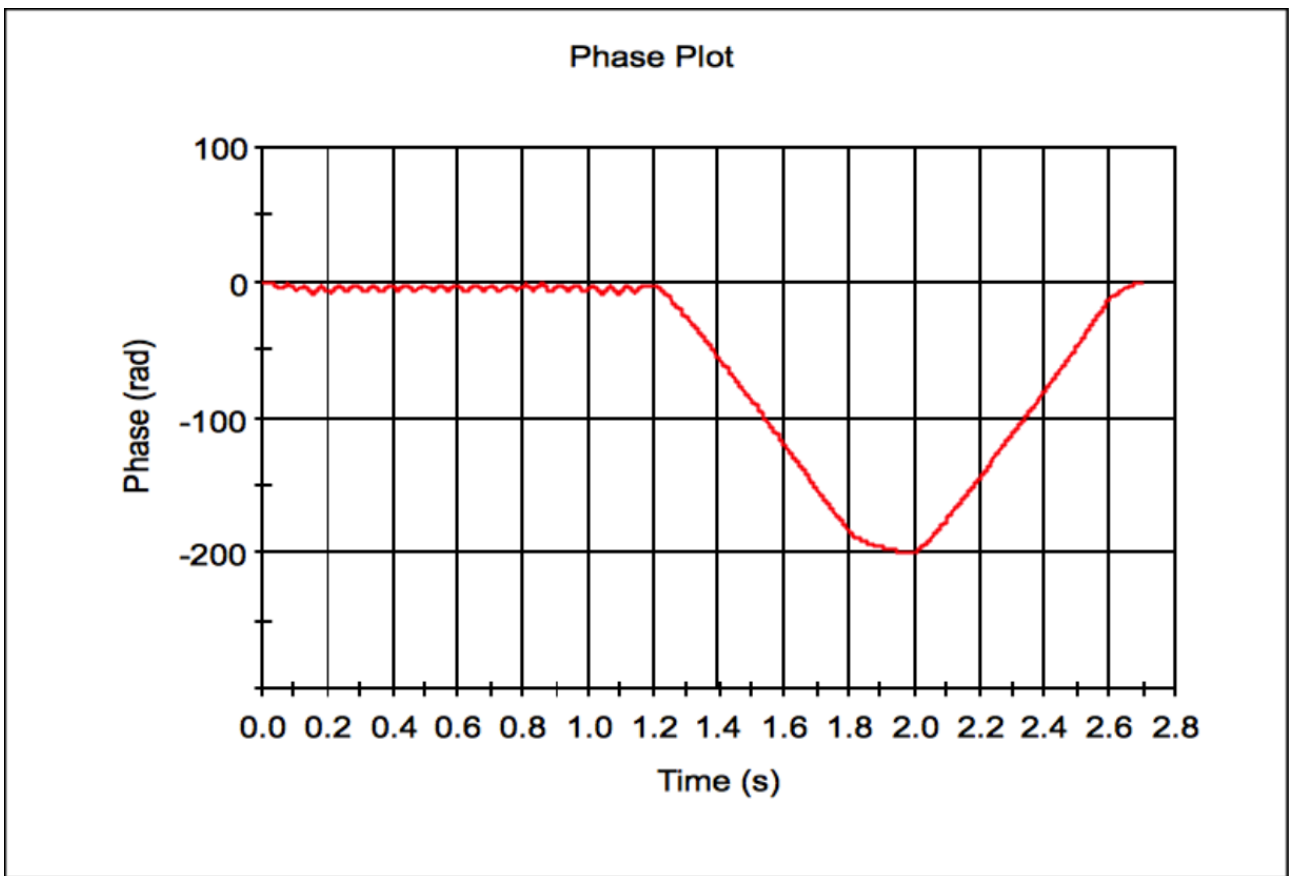
Παρακάτω παρουσιάζονται για κάθε μέτρηση αναλυτικά τα διαγράμματα φάσης και κατανομής δυναμικού Z.

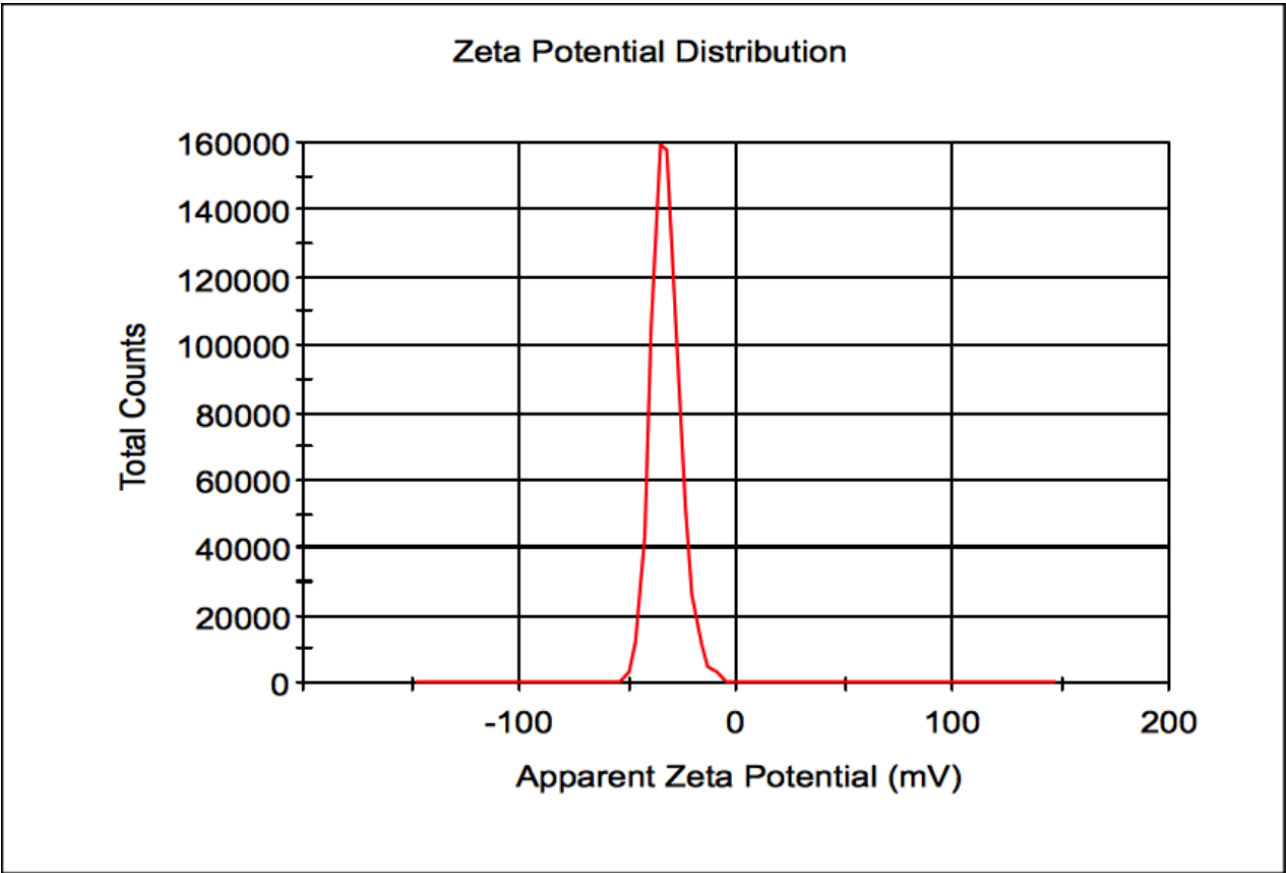
Δείγμα με τιμή pH ίση με 3



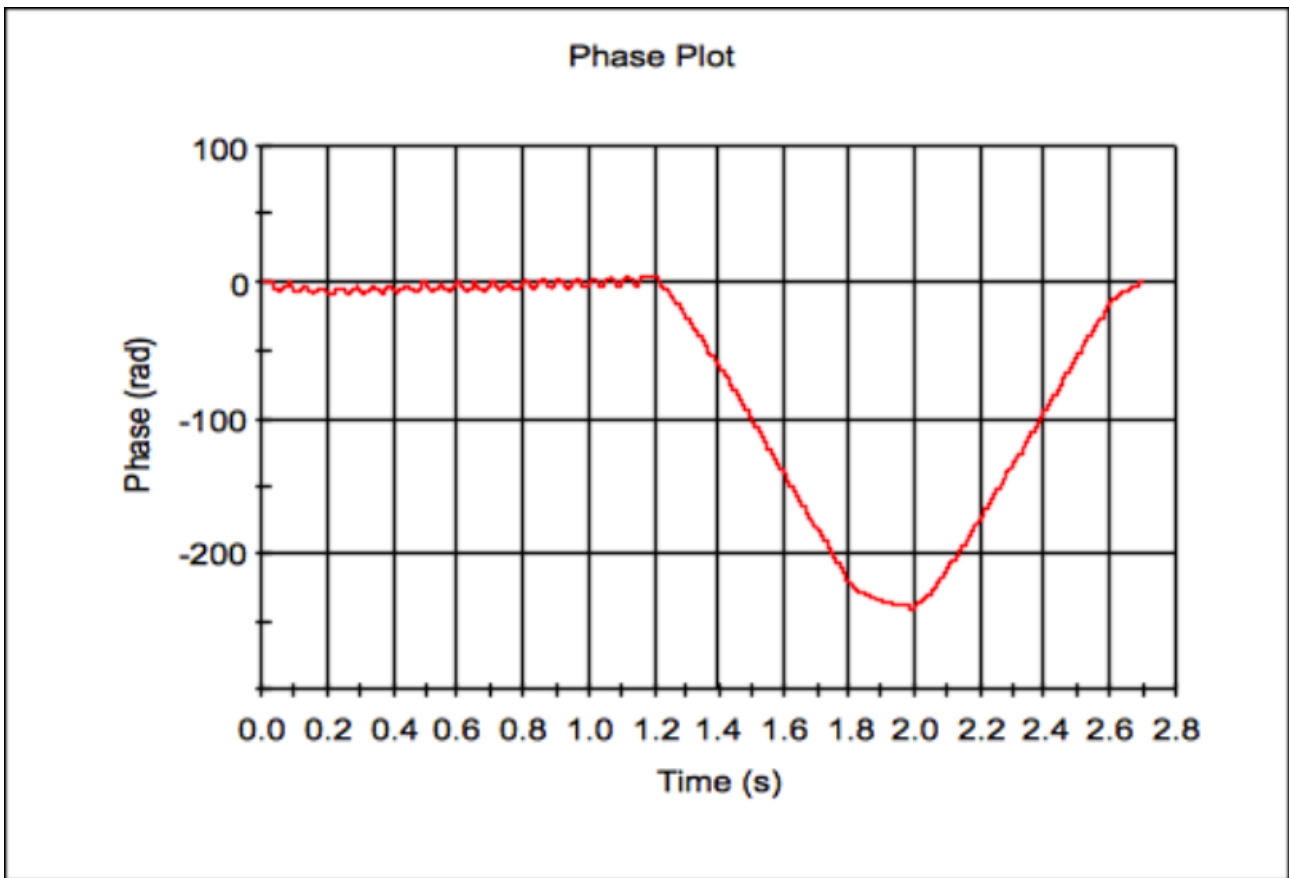


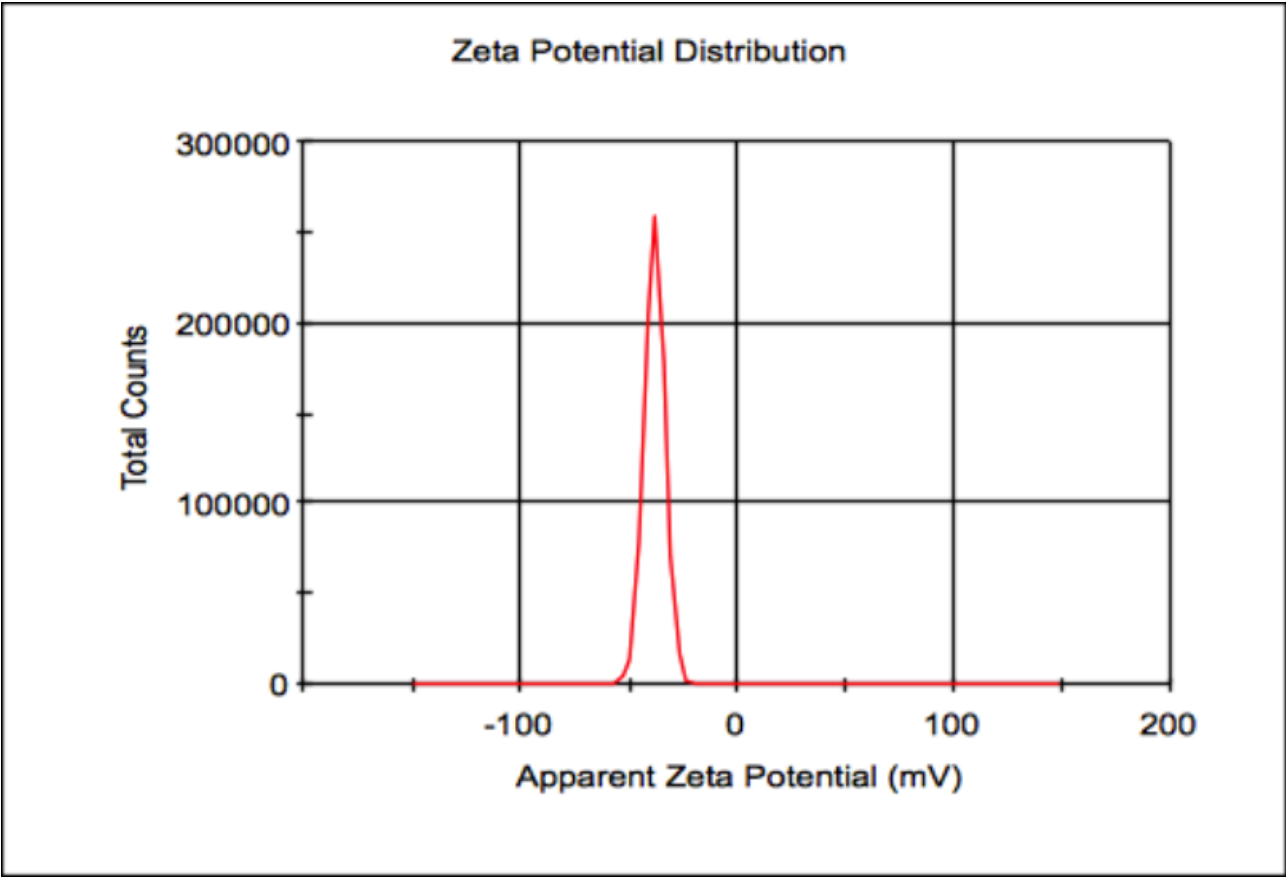
Δείγμα με τιμή pH ίση με 4



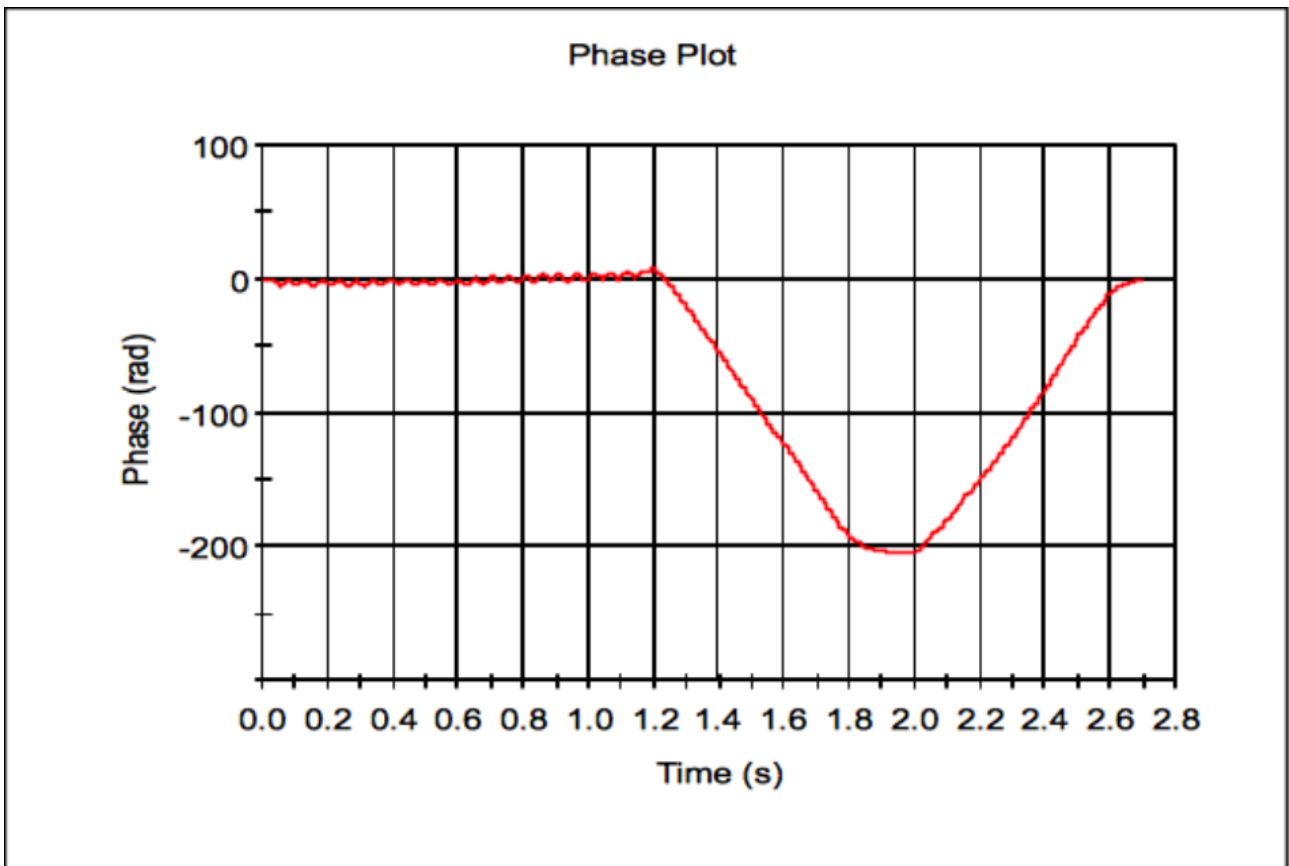


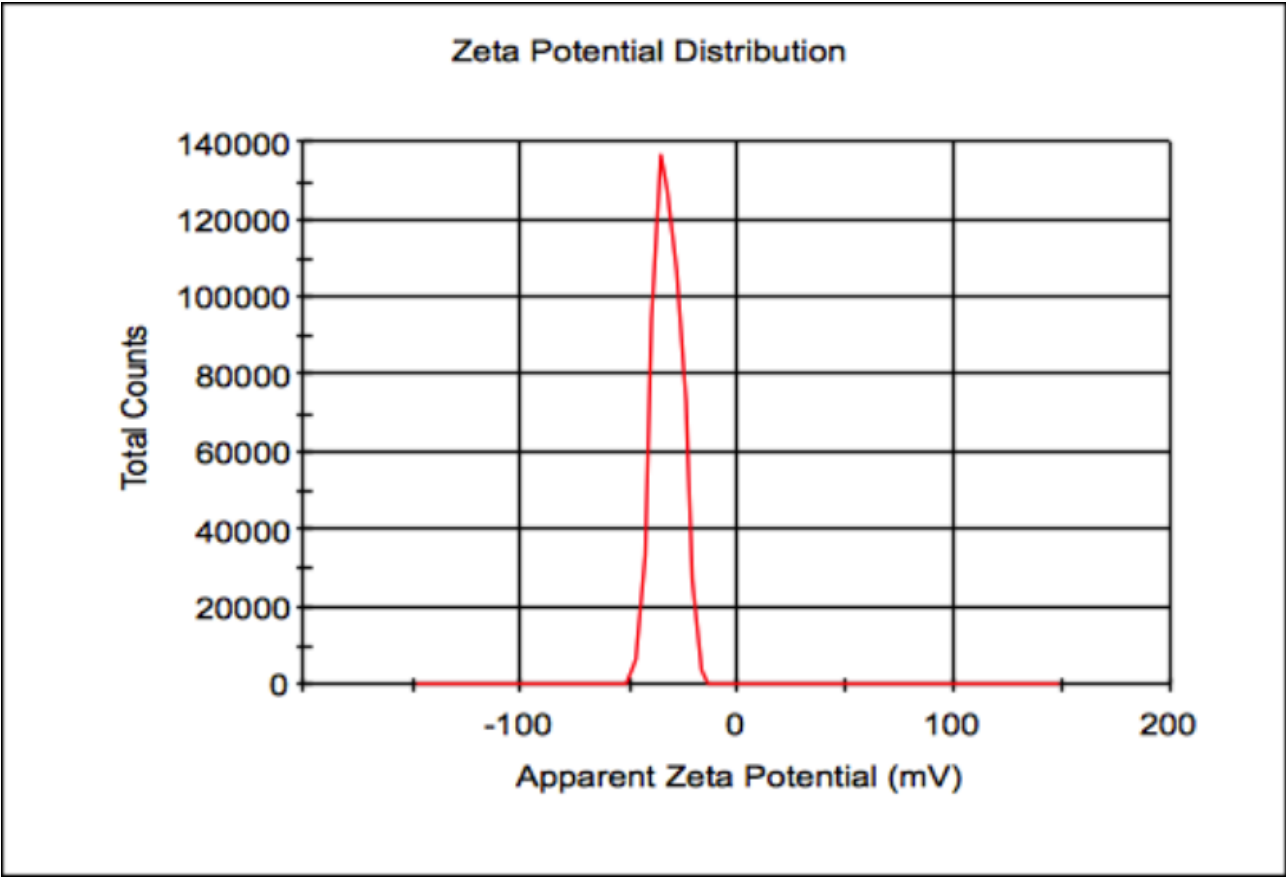
Δείγμα με τιμή pH ίση με 5



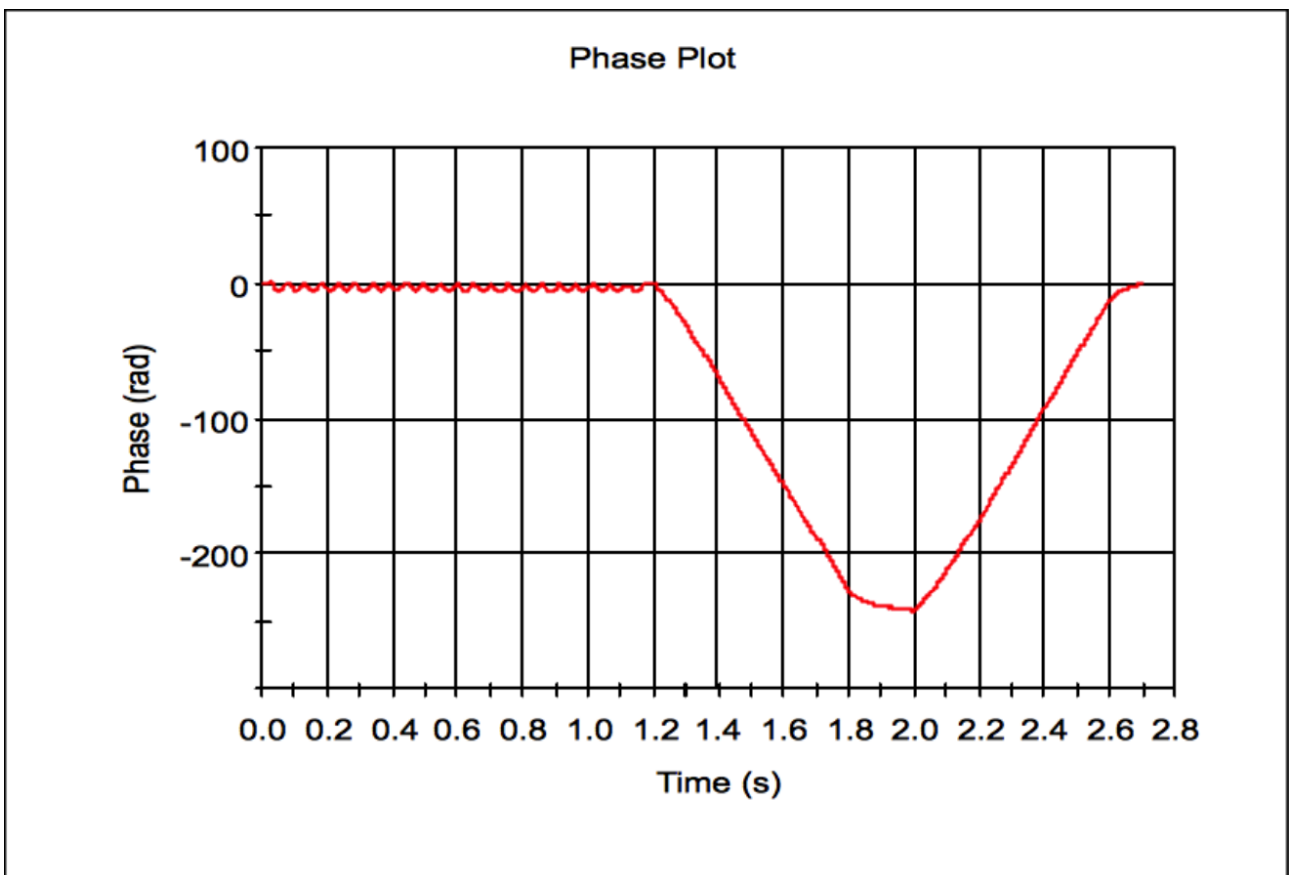


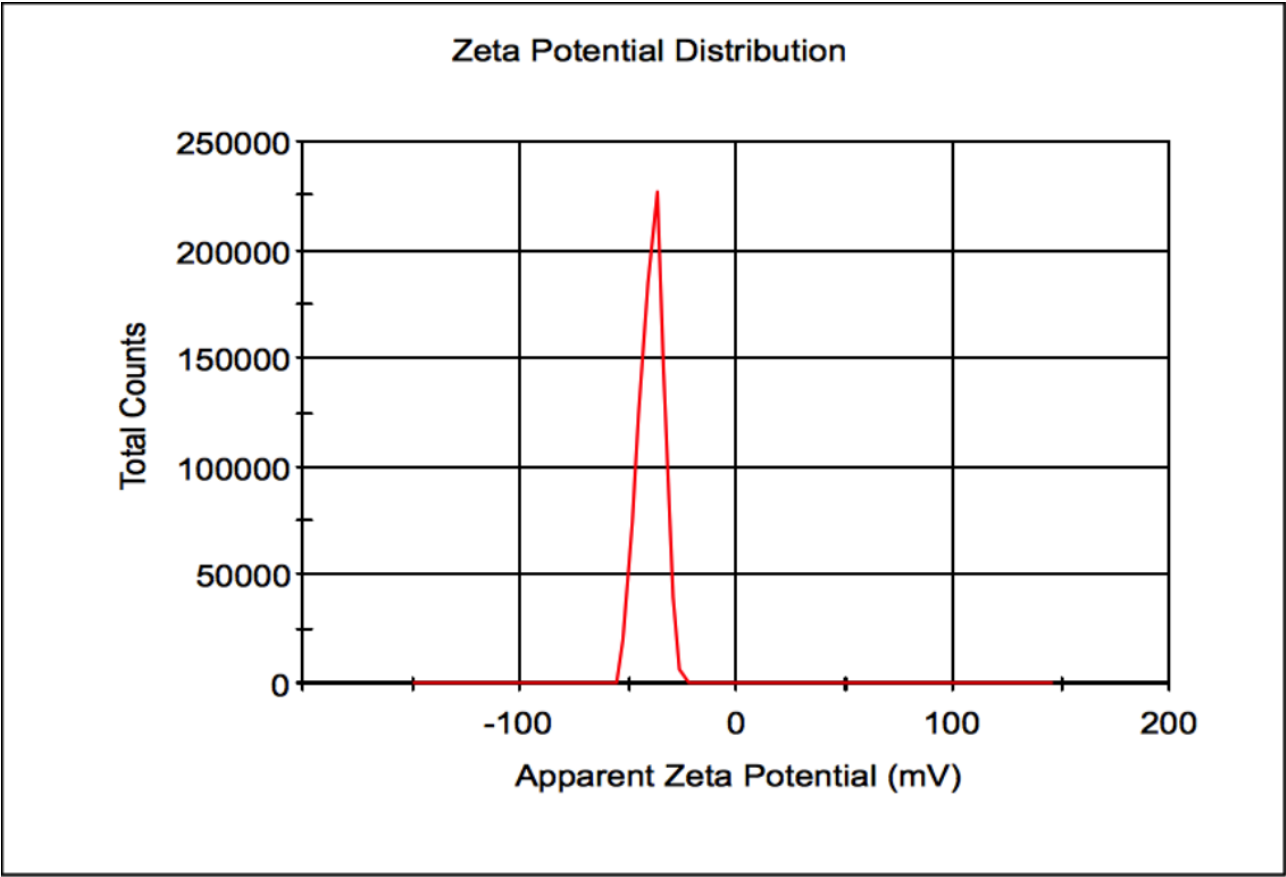
Δείγμα με τιμή pH ίση με 6



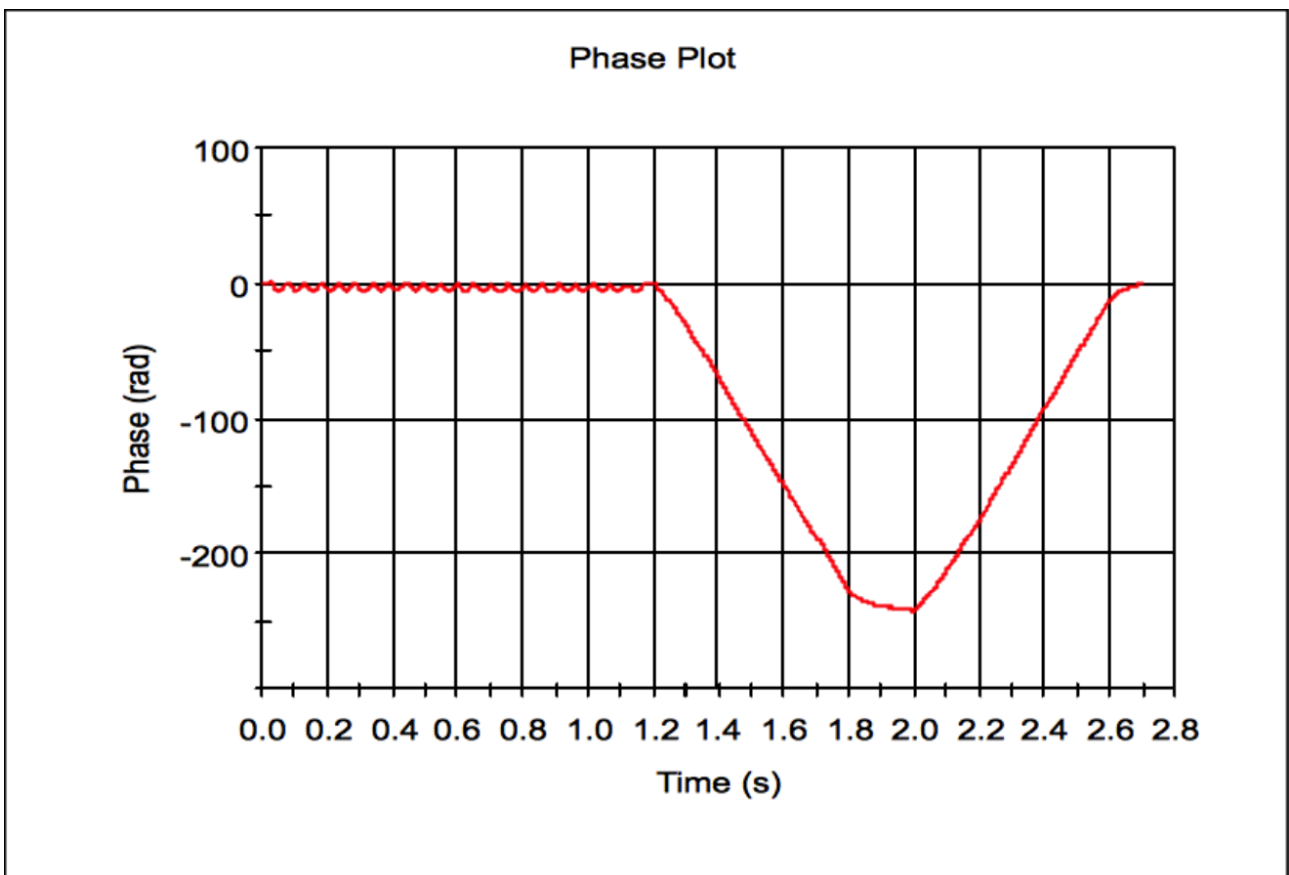


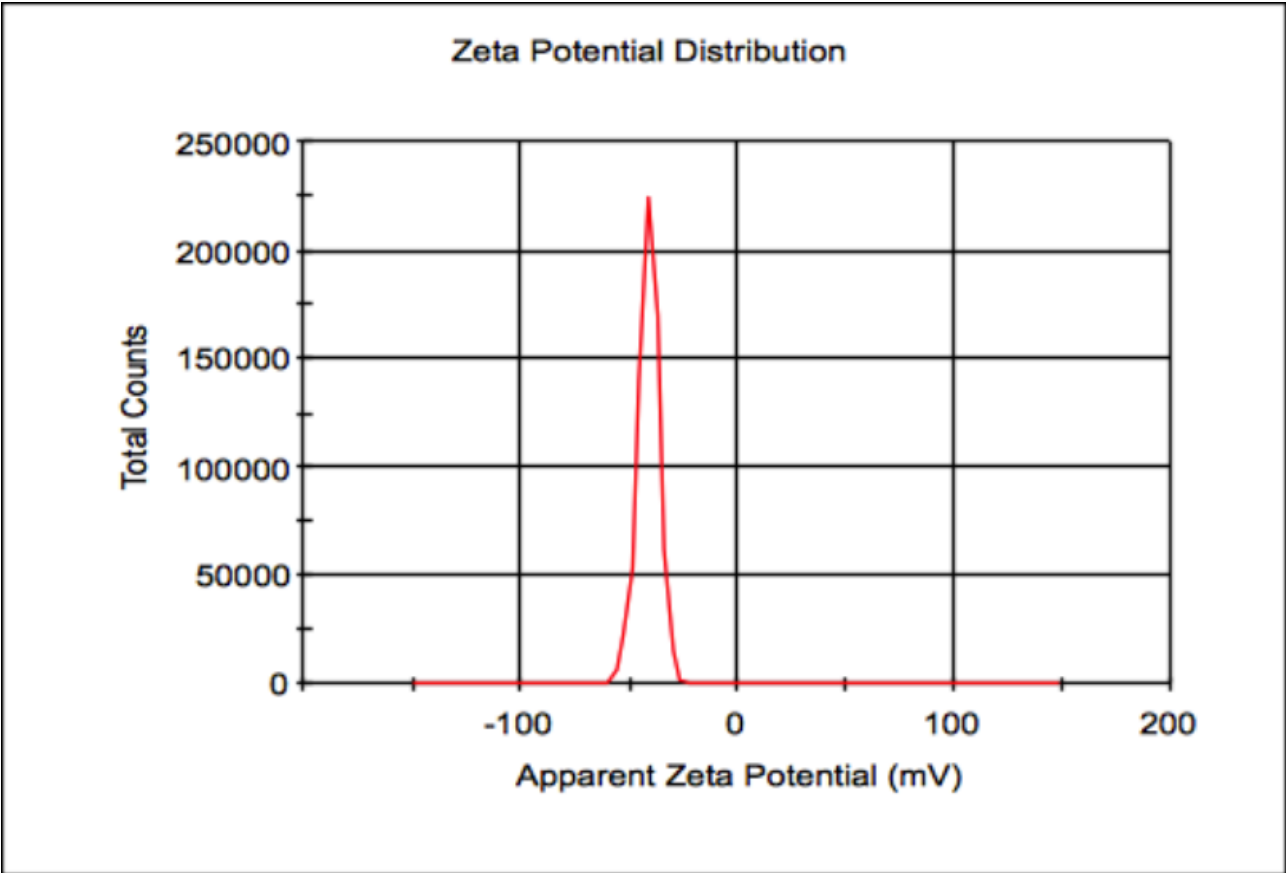
Δείγμα με τιμή pH ίση με 7



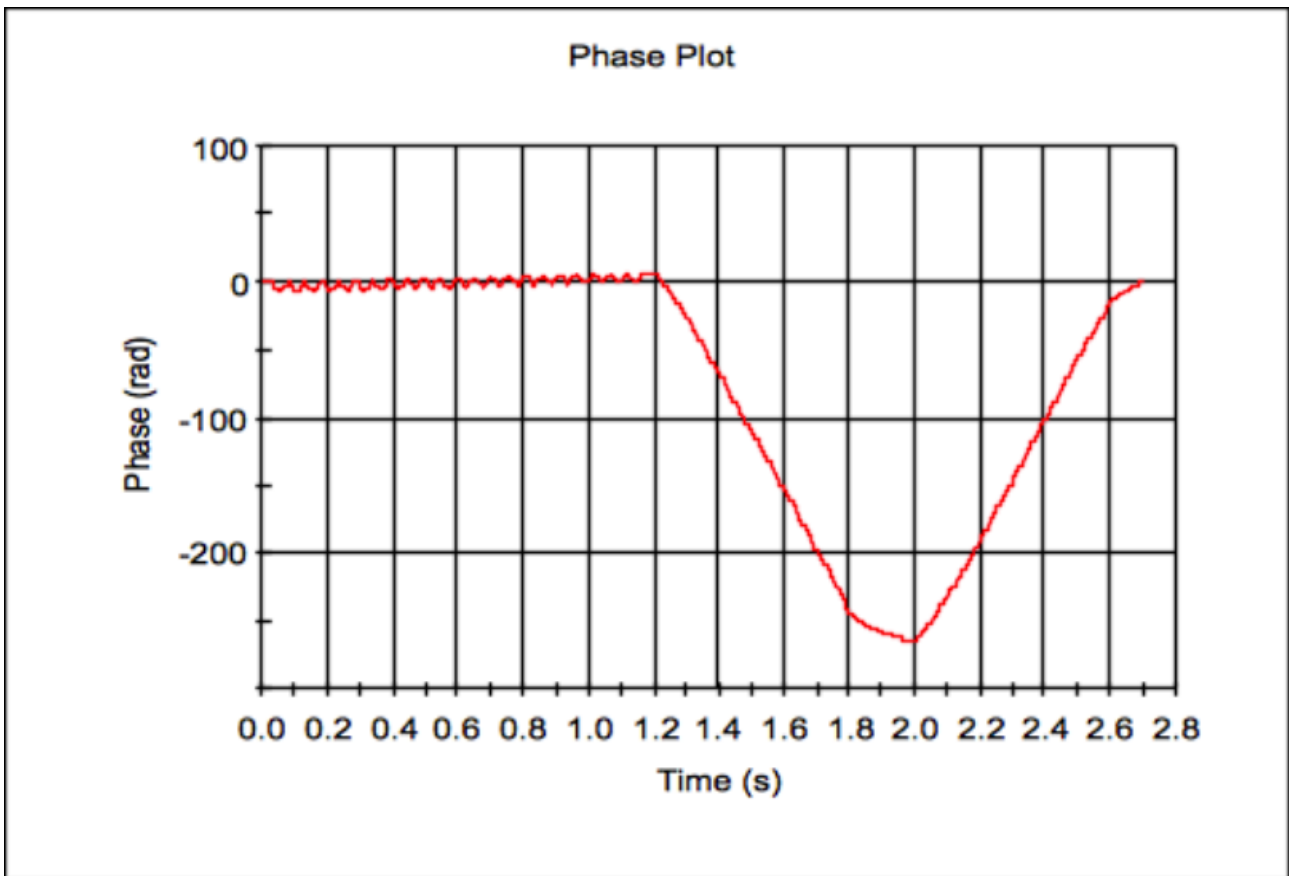


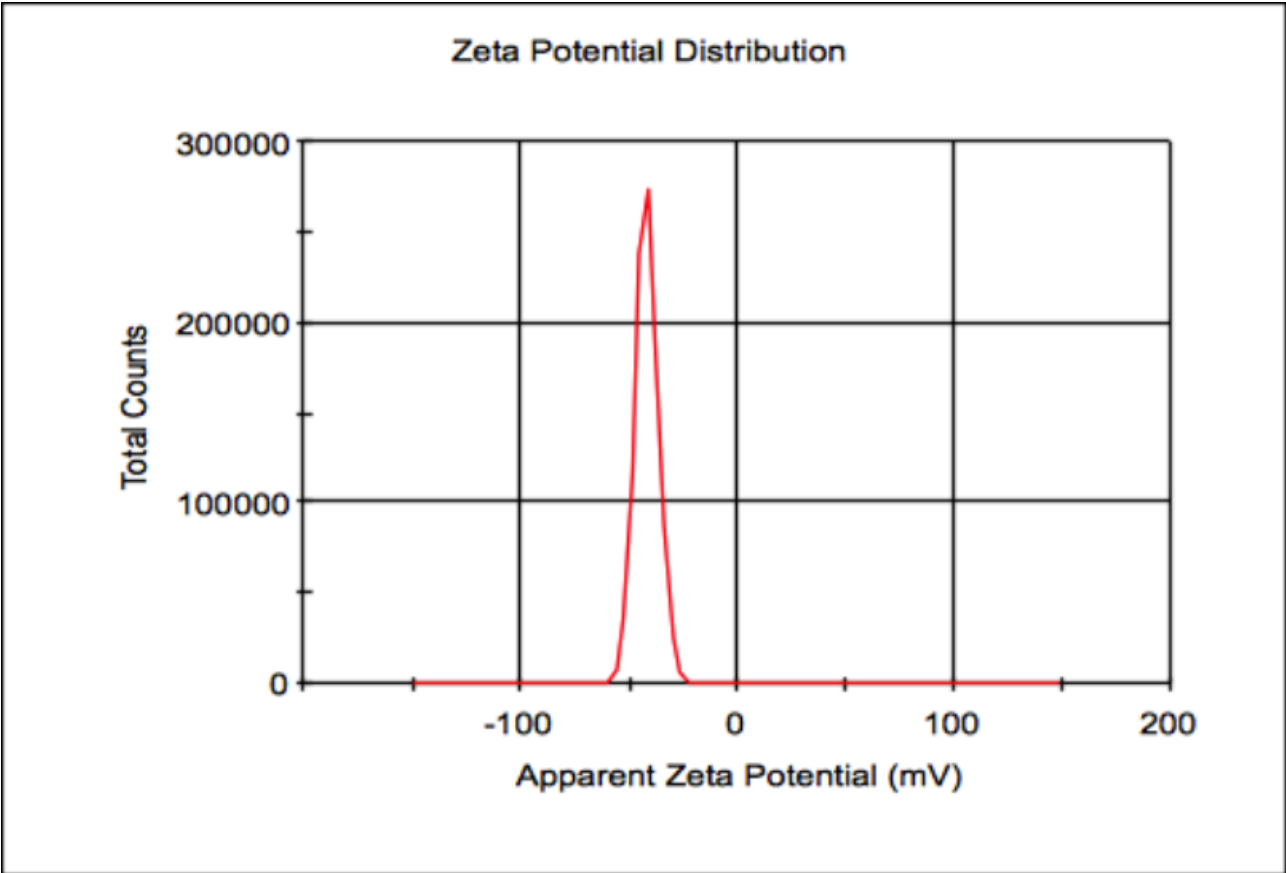
Δείγμα με τιμή pH ίση με 8



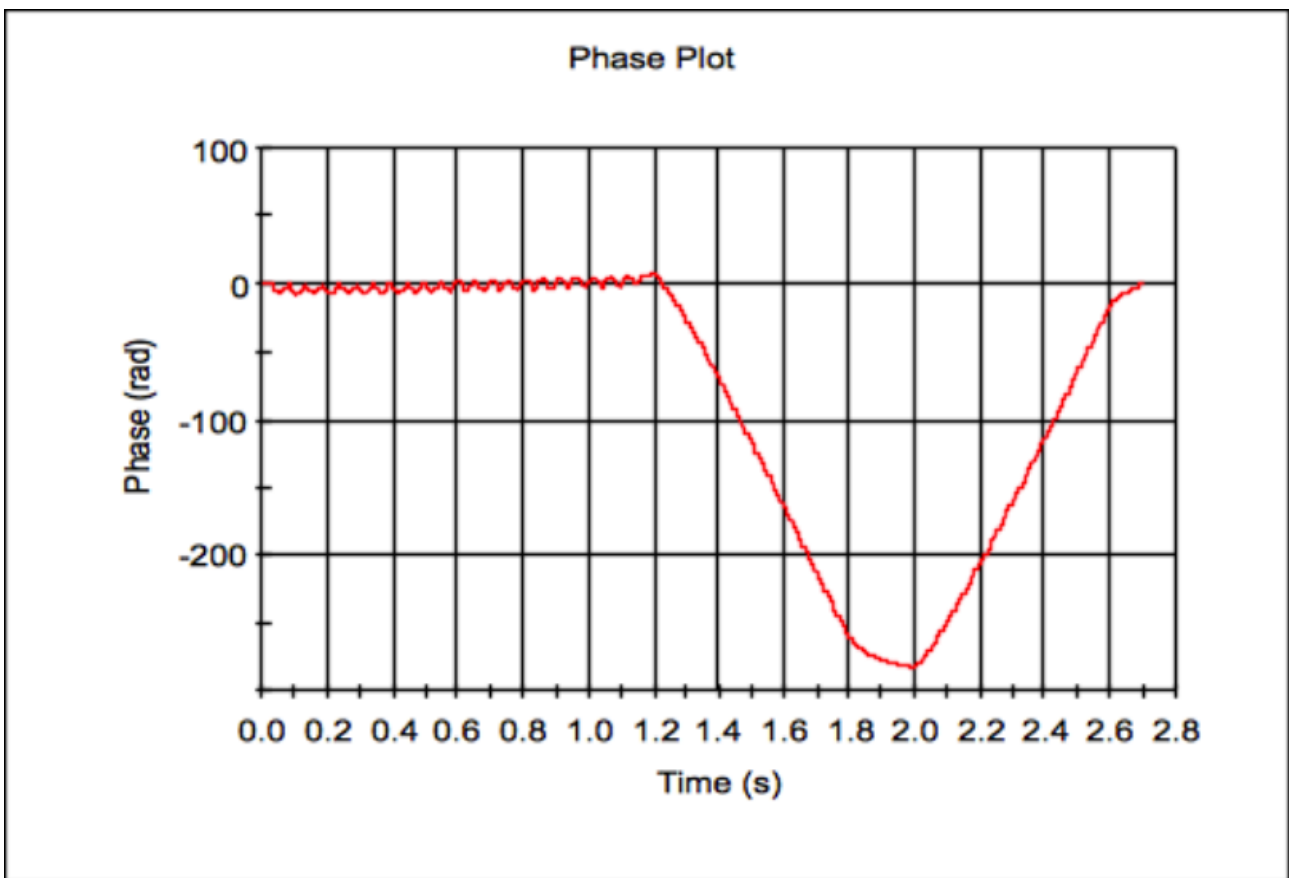


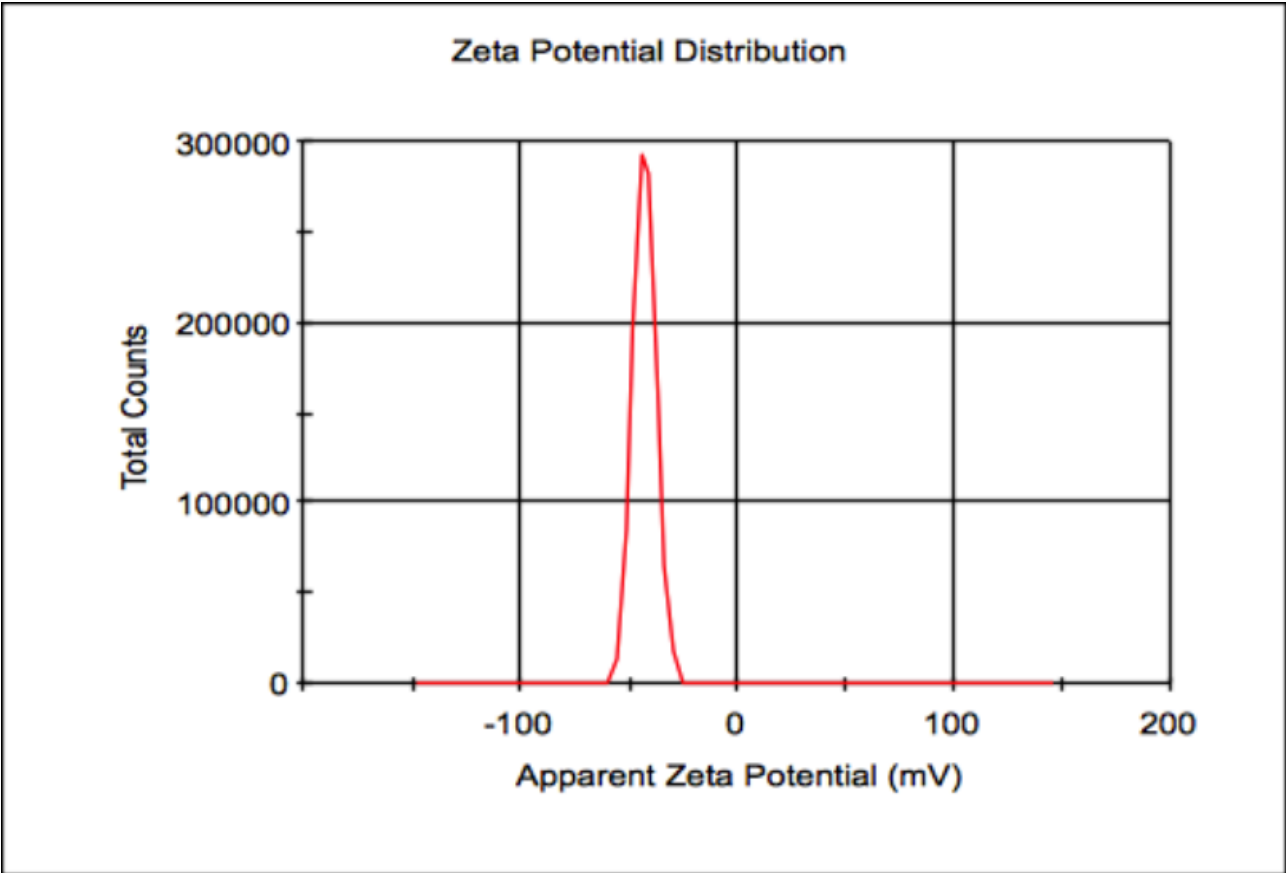
Δείγμα με τιμή pH ίση με 9





Δείγμα με τιμή pH ίση με 10



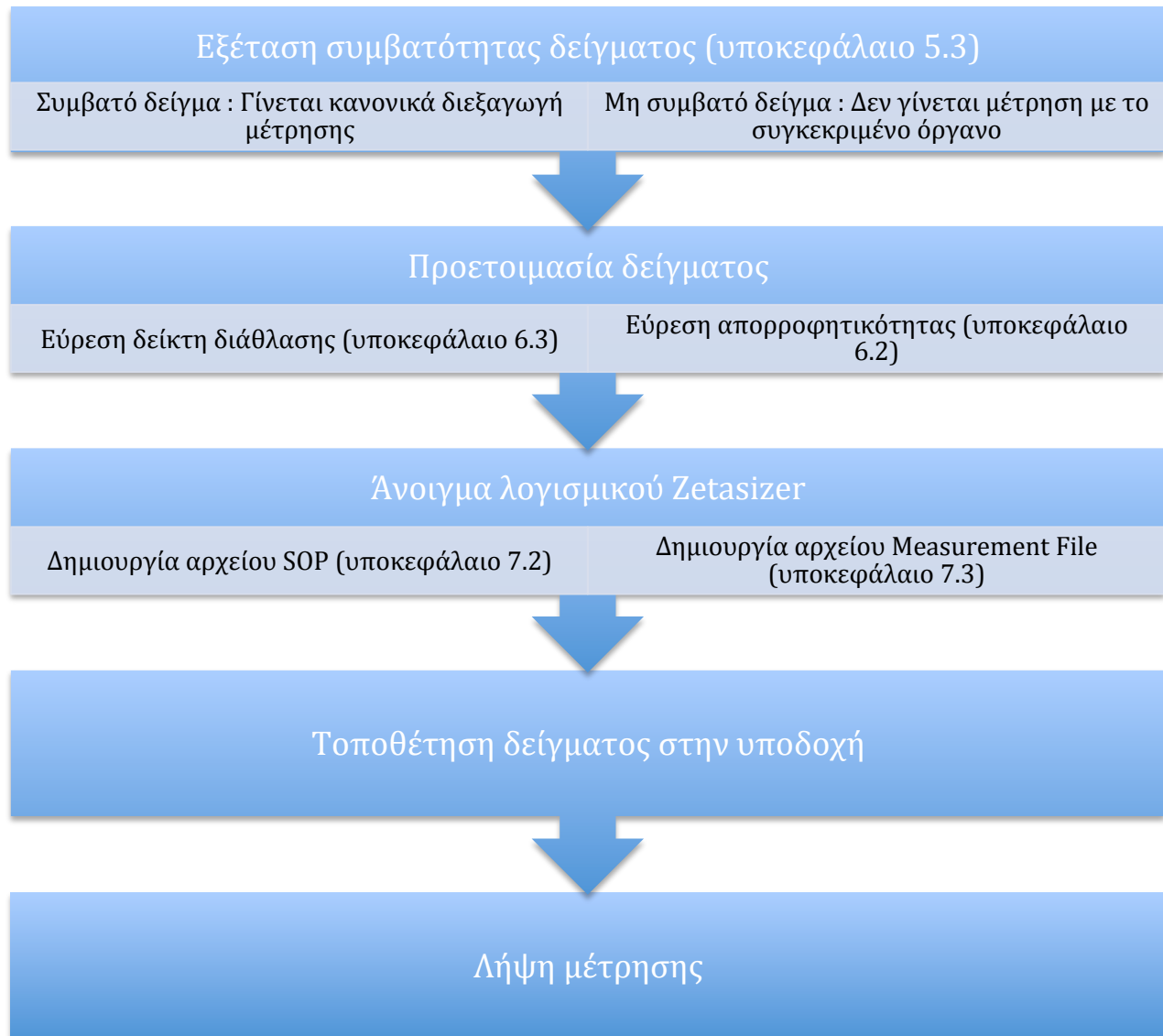


9.7 Συμπεράσματα μετρήσεων

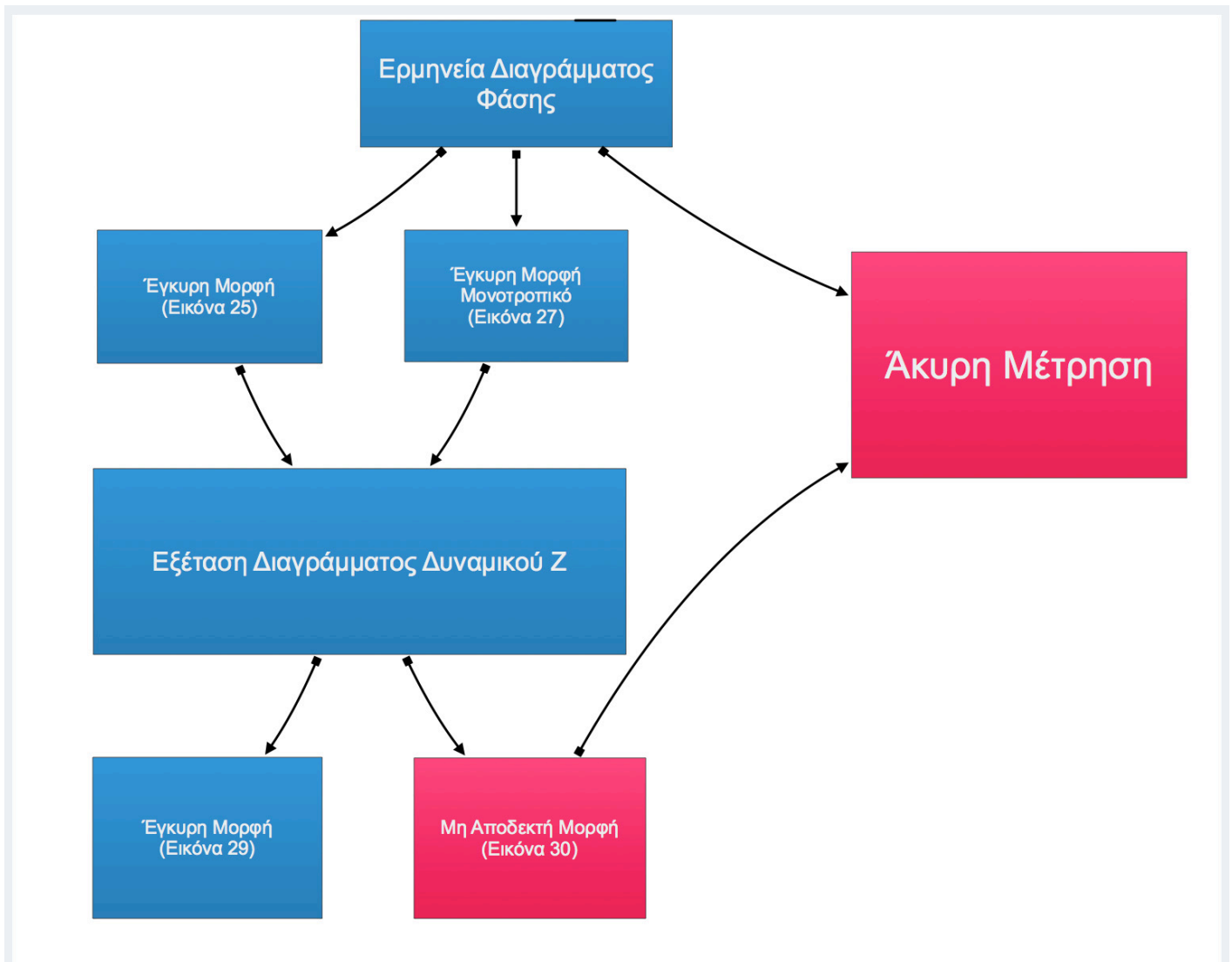
- ✓ Με τη διατάξη του τιτλοδότη που κατασκευάστηκε, είναι δυνατή η μέτρηση δυναμικού Z σε περισσότερες από μία τιμές pH χωρίς να γίνεται αλλαγή της κυψελίδας που περιέχει το αρχικό διάλυμα.
- ✓ Βασική προϋπόθεση είναι το προς μέτρηση δείγμα να είναι συμβατό με τα πρότυπα του οργάνου (ενότητα 5.3) αλλά και επιπλέον να μην δημιουργείται πρόβλημα κατά την τιτλοδότηση. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να γίνεται κατάλληλη επιλογή των διαλυμάτων που ρυθμίζουν το pH, έτσι ώστε το δείγμα για κάθε τιμή pH που θα προκύπτει να εξακολουθεί να είναι συμβατό με το όργανο.
- ✓ Στις μετρήσεις πιλοτικού χαρακτήρα που παρουσιάζονται γίνεται χρήση αρχικού δείγματος που αποτελείται από 0,05 mg Aeroxide TiO₂ διαλυμένο σε 100 mL νερού, του οποίου το pH έχει τιμή ίση με 7. Με χρήση διαλύματος βάσης NaOH 1M με pH = 14 και διαλύματος οξέος HNO₃ 0,5M με pH = 0, το δείγμα λαμβάνει τιμές pH από 0 έως 10 και γίνεται μέτρηση δυναμικού Z για κάθε τιμή pH που προκύπτει.
- ✓ Όπως προκύπτει από τα διαγράμματα κάθε μέτρησης ξεχωριστά, τα διαλύματα που προκύπτουν με τιτλοδότηση του αρχικού δείγματος είναι συμβατά με το όργανο (διάγραμμα φάσης) αλλά και οι γραφικές παραστάσεις δυναμικού Z έχουν την απαιτούμενη μορφολογία. Σταθερότερο όλων είναι το δείγμα με τιμή pH ίση με 10.
- ✓ Θα ήταν αρκετά χρήσιμο το αρχικό δείγμα να ισομοιράζεται σε δύο ποτήρια ζέσεως όπου στο ένα θα γίνεται αύξηση του pH, ενώ στο δεύτερο μείωσή του. Αν και οι ποσότητες διαλύματος τιτλοδότησης που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι υποχρεωτικά μικρές σε σχέση με τον όγκο του διαλύματος, ισομοιράζοντας το δείγμα σε δύο ποτήρια ζέσεως αποφεύγεται η όποια πιθανότητα αραίωσής του.
- ✓ Μετά το πέρας των μετρήσεων, η διάταξη πρέπει να καθαρίζεται έτσι ώστε να είναι δυνατή και η επιτυχής διεξαγωγή επόμενων και διαφορετικών μετρήσεων. Κατ' αναλογία με την ενότητα 5.3, όπου περιγράφεται ο πρότυπος καθαρισμός ενός folded capillary cell, πρέπει να αφήνεται να κυκλοφορήσει εντός της διάταξης για 3-5 λεπτά αιθανόλη και μετά να γίνεται το ίδιο με απιονισμένο νερό. Εάν τα επόμενα δείγματα περιέχουν διαλύτη που δεν είναι το νερό, αντί για ανακυκλοφορία με απιονισμένο νερό τίθεται ο εκάστοτε συμβατός με το όργανο διαλύτης πριν τη μέτρηση κάθε δείγματος.
- ✓ Ακολουθούν συνοπτικοί οδηγοί χρήσεως του οργάνου αλλά και της διάταξης του τιτλοδότη για περαιτέρω ευκολία του χρήστη.

10. Οδηγοί γρήγορης χρήσης του οργάνου

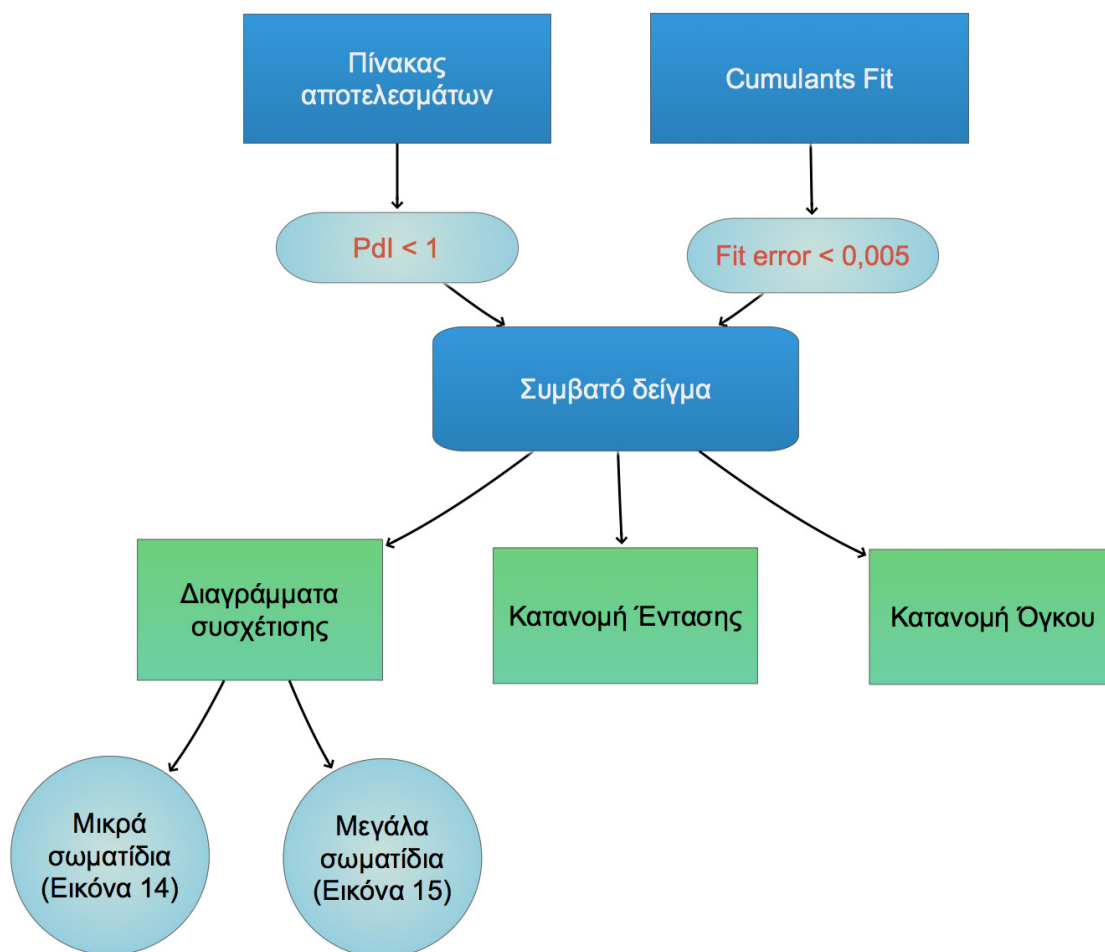
10.1 Οδηγός γρήγορης λήψης μέτρησης



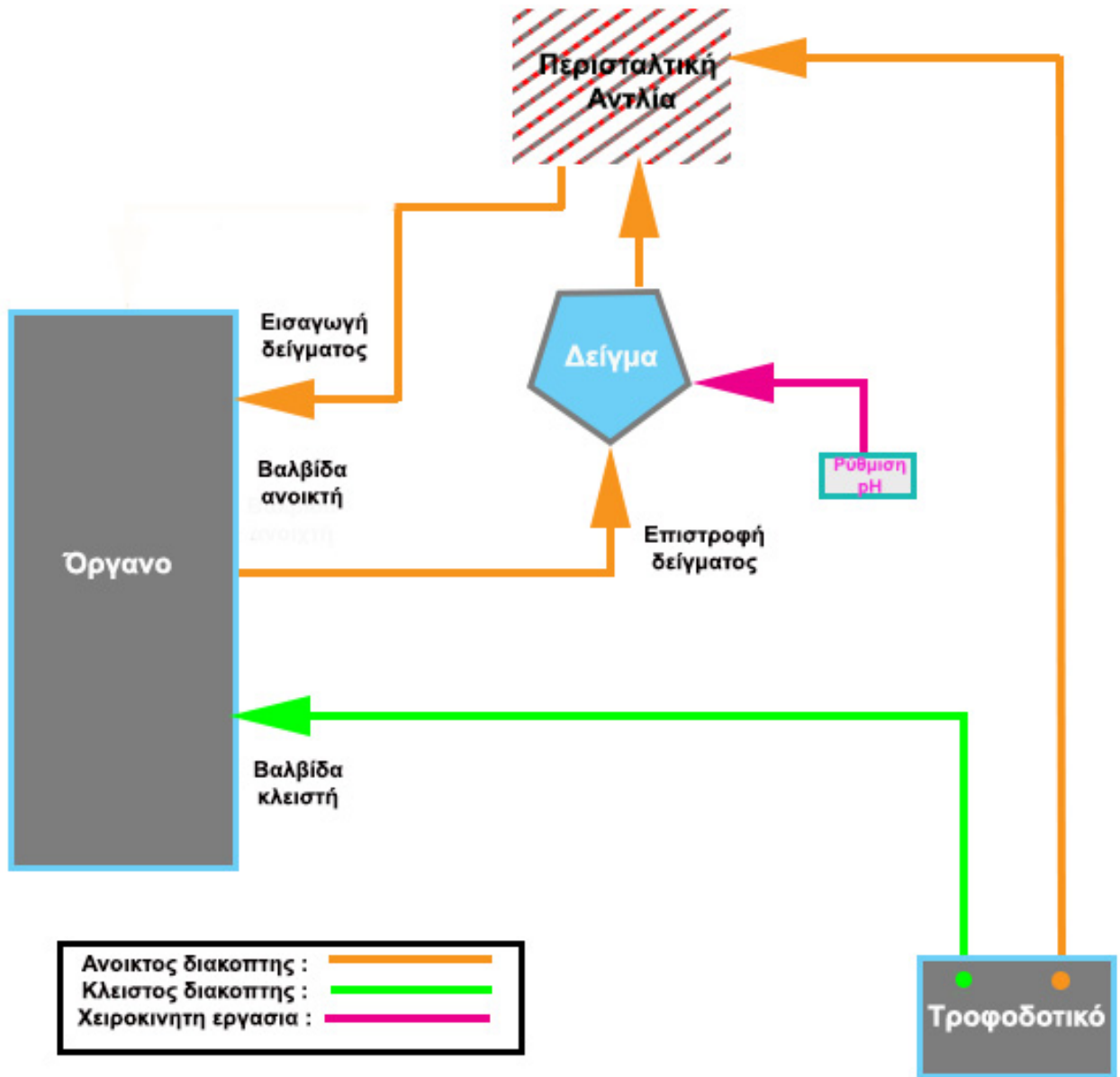
10.2 Οδηγός γρήγορης ερμηνείας αποτελεσμάτων δυναμικού Z



10.3 Οδηγός γρήγορης ερμηνείας αποτελεσμάτων μετρήσεων μεγέθους σωματιδίων



10.4 Διάγραμμα γρήγορης χρήσης τιτλοδότη



11. Επίλογος

Η συγκεκριμένη εργασία κινείται σε δύο άξονες. Ο πρώτος είναι η επεξήγηση και βαθύτερη κατανόηση του οργάνου Malvern Zetasizer Nano ZS 173 και της παράθεση παραδειγμάτων έτσι ώστε ένας νέος ή και πεπειραμένος χρήστης να το έχει ως σημείο αναφοράς για μελλοντική χρήση. Ο δεύτερος άξονας είναι η λειτουργία του ως εγχειρίδιο χρήσης για την διάταξη του αυτόματου τιτλοδότη που κατασκευάστηκε ως πρόσθετο εξάρτημα στο ήδη υπάρχον όργανο. Δεν παραμένει απλά όμως ένα κοινότυπο εγχειρίδιο, αλλά εξηγεί σε βάθος τα μέρη της διάταξης που προστέθηκαν, έτσι ώστε ο χρήστης εκτός από τη δυνατότητα να λειτουργήσει με επιτυχία τη συγκεκριμένη διάταξη, να έχει και μια βαθύτερη γνώση για το πως συνεισφέρει κάθε τμήμα αυτής της διάταξης στη συνολική λειτουργία. Ένα σημείο της εργασίας όπου είναι ιδιαίτερα χρηστικό είναι οι οδηγίες γρήγορης χρήσης, οι οποίοι εξηγούν σχηματικά το πως πρέπει να γίνεται η ερμηνεία των αποτελεσμάτων αλλά και πως λειτουργεί συνοπτικά η διάταξη του τιτλοδότη. Όλες οι εικόνες είναι επιμέλεια δική μου και όπως κάθε εγχειρίδιο οποιουδήποτε οργάνου, αποτελούν αναγκαίο συμπλήρωμα για την κατανόηση της διάταξης, γεγονός το οποίο είναι αναγκαίο και ιδιαίτερα εάν προκύψει κάποιο πρόβλημα.

Σε καμία περίπτωση όμως ο χρήστης δεν επιτρέπεται να επέμβει στα μηχανικά μέρη του οργάνου, καθώς αυτό μπορεί να αποβεί μοιραίο για τη λειτουργία και του οργάνου αλλά και της διάταξης που κατασκευάστηκε. Στην περίπτωση οποιουδήποτε προβλήματος, είναι απαραίτητη η επικοινωνία με την κυρία Παυλάτου, η οποία με τη σειρά της θα έρθει σε επικοινωνία με τον εξειδικευμένο τεχνικό. Οποιοσδήποτε πληροφορίες τεχνικού περιεχομένου που παρέχονται δεν έχουν σκοπό να αντικαταστήσουν την παρουσία του τεχνικού, απλά είναι προς πληρέστερη γνώση και κατανόηση των παραμέτρων που διέπουν τη λειτουργία του οργάνου.

12. Βιβλιογραφία

- 1) Brian J. Kirby, Ernest F. Hasselbrink Jr., Zeta potential of microfluidic substrates, 2004
- 2) Dahneke, B.E. (ed) Measurement of Suspended Particles by Quasi-elastic Light Scattering, Wiley, 1983.
- 3) Explaining the difference between Non – Invasive Backscatter (NIBS) and Backscatter – they are not the same, Technical Note, Malvern Corporation
- 4) Intensity – Volume – Number, Technical Note, Malvern Corporation
- 5) International Standard ISO22412:2008 Particle Size Analysis, Dynamic Light Scattering (DLS)
- 6) Johnson, C.S. Jr. and Gabriel, D.A. Laser Light Scattering, Dover Publications, Inc., New York 1981
- 7) Malvern Corporation, Assessing the quality of a zeta potential measurement on the Zetasizer Nano, Technical Note
- 8) Malvern Corporation, Electrophoretic Mobility, Zeta potential and the Zetasizer quality factor, Technical Note
- 9) Malvern Corporation, Introduction to the calculators in the Zetasizer Software, Technical Note
- 10) Malvern Corporation, Zetasizer APS Specifications DLS Minimum Size, Technical Note
- 11) Malvern Corporation, Zetasizer cells and cuvettes : Description and uses, Technical Note
- 12) Malvern Corporation, Zetasizer Nano Series User Manual issue 1.1, February 2004
- 13) Malvern Corporation, Zetasizer Nano Z/ZS/ZS90 Specifications Zeta Potential Minimum Size Limit 3.8 (d.nm), Technical Note
- 14) Pecora, R. Dynamic Light Scattering: Applications of Photon Correlation Spectroscopy, Plenum Press, 1985.
- 15) Washington, C. Particle Size Analysis In Pharmaceuticals And Other Industries: Theory And Practice, Ellis Horwood, England, 1992