

MUNI PHARM



LASEROVÁ DIFRAKCE: stanovení distribuce velikosti částic

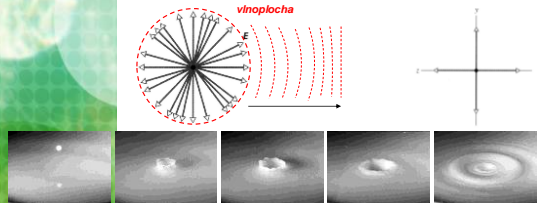
Doc. Mgr. Jan Muselík, Ph.D.

Instrumentální analytické metody ve farmaceutické technologii | Ústav farmaceutické technologie

2

SVĚTLO JAKO ELEKTROMAGNETICKÉ VLNĚNÍ: šíření světla

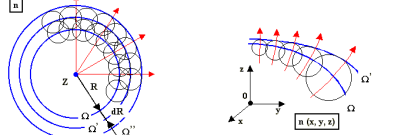
Světlo se šíří v optickém prostředí. Z bodového zdroje se šíří přímočaře v **kulových soustředných vlnoplochách** (tj. plochách, jejichž body **kmitají se stejnou fází**), ve velké vzdálenosti od zdroje potom ve vlnoplochách **rovinných**. Směr šíření vlnění v daném bodě určuje kolmice k vlnoploše, která se nazývá **paprsek**. Záření ze zdroje je ovlivněno vlastnostmi prostředí, a proto můžeme pozorovat tzv. **optické jevy**.



4

SVĚTLO JAKO ELEKTROMAGNETICKÉ VLNĚNÍ: Huygensův princip

Každý bod vlnoplochy, do něhož dospělo vlnění v určitém časovém okamžiku, můžeme pokládat za zdroj **elementárního vlnění**, které se z něho šíří v **elementárních vlnoplochách**. Elementární vlnoplochy se navzájem prolínají. Tato vlnění jsou koherentní, interferují a vzniká **vlnění výsledné** (elementární vlnění se ruší ve všech bodech kromě bodů ležících na kulové ploše, která obaluje všechny elementární vlnoplochy. Vlnoplocha v dalším časovém okamžiku je tedy **vnější obalová plocha všech elementárních vlnoploch**).



Šíření vlnění ze zdroje Z homogenním prostředím o indexu lomu n

Šíření vlnění nehomogenním prostředím o indexu lomu n (x, y, z)

5

DIFRAKCE ZÁŘENÍ: superpozice a interference

Superpozice: šíří-li se bodovou řadou dvě nebo více vlnění, lze je složit, a to tak, že okamžitá výchylka (amplituda) výsledného bude součtem okamžitých výchylek dílčích vlnění.

V konečném důsledku skládání vln se může původní vlnění zesílit, zeslabit, případně zcela vyrušit a tomuto jevu říkáme **interference**. Tzn., že v místech, kde se vlnění překrývají, kmitají body s větší nebo menší amplitudou než jinde.




Zesílení (a, b), zeslabení (c) nebo úplné vyrušení (d) vlnění při interferenci dvou vln

6

OHYB SVĚTLA NA PŘEKÁŽCE

Překážku může tvořit buď ostře ohraničená, pro světlo nepropustná nehomogenita v prostředí, ve kterém se světlo šíří (tj. předmět s rovinnou hranou zabráňující průchodu části světelného záření), nebo naopak otvor geometrického tvaru v předmětu pro světlo nepropustném. V tomto případě se otvor odborně nazývá **aperturou**.



Důležitým předpokladem je, že **rozměry překážky/otvoru jsou menší nebo srovnatelné s vlnovou délkou vlnění**. Pokud je překážka příliš velká, k ohybovým jevům nedochází a za překážkou vzniká **geometrický stín**.

7

DIFRAKCE ZÁŘENÍ

Jak vznikají tmavé a světlé obrazce?

Odpověď na tuto otázku není až tak složitá a bude nám jasná, jakmile pochopíme některé základní principy, jako je **difrakce** (nebo-li **ohyb vlnění**), **superpozice** (nebo-li **překrývání vlnění**) a **interference** (nebo-li **skládání vlnění**).

Když vlnění dospěje k překážce, stává se každý bod ležící na vlnoploše zdrojem nového vlnění, které se šíří v **elementárních vlnoplochách všemi směry, a to i za překážku**. Vnější obalová plocha všech vlnoploch je novou výslednou vlnoplochou, přičemž má stejnou vlnovou délku jako dopadající vlna. Elementární vlnění z krajních bodů otvoru se šíří i do míst, kde by měl být stín. Není zde totiž rušené interferencí vlnění ze sousedních bodů na vlnoploše, které se nacházejí mimo výšeč otvoru. To je příčina ohybu vlnění za překážkou.



8

DIFRAKCE ZÁŘENÍ

Jako *ohyb světla (difrakce)* označujeme jev, kdy se světlo šíří za okraje nepropustných překážek, a to i do oblasti tzv. geometrického stínu. Na jeho okraji rozlišujeme neostrou hranici a pozorujeme difrakční obrazec tvořený světlymi či tmavými proužky různé šířky a intenzity.

9

DIFRAKCE ZÁŘENÍ: difrakční obrazec

Kromě neostřího stínu za přepážkou bychom měli na stínítku jako důsledek difrakce pozorovat za jistých podmínek také tzv. *difrakční obrazec*, který se může i značně lišit od původní geometrie překážky (apertury).

10

DIFRAKCE ZÁŘENÍ: vznik obrazu na stínítku

Pro jednoduchost se zaměříme pouze na základní případ interference dvou vlnění o stejné vlnové délce a amplitudě, postupujících stejnou fázovou rychlostí a stejným směrem.

Vzdálenost dvou bodů, v nichž mají obě vlnění stejnou fázi se nazývá *dráhový rozdíl δ* .

úhel θ = úhel ohybu paprsku na přepážce

11

DIFRAKCE ZÁŘENÍ: difrakční minima a maxima

Pokud je *dráhový rozdíl roven sudému počtu půlvln*, pak se interferující vlnění setkávají v každém jejich bodě ve stejné fázi a vzniká vlnění, jehož amplituda je dvojnásobná. Jestliže amplitudy původních vlnění nejsou stejné, pak se *amplituda výsledného vlnění rovná součtu amplitud původních vlnění*.

$$\delta = 2k \cdot \lambda/2$$

for $\delta = m\lambda$, get constructive interference

Pokud je *dráhový rozdíl roven lichému počtu půlvln*, setkávají se vlnění v každém bodě s opačnou fází a navzájem se ruší. *Amplituda výsledného vlnění je nulová, případně se rovná absolutní hodnotě rozdílu amplitud původních vlnění*.

$$\delta = (2k + 1) \cdot \lambda/2$$

for $\delta = (m+1/2)\lambda$, get destructive interference

kte k nabývá hodnot 0, 1, 2 ...

Výsledná amplituda při interferenci dvou stejných vlnění je největší v místech, v nichž se obě vlnění setkávají se stejnou fází (maxima), a nejmenší je v místech, v nichž mají obě vlnění fázi opačnou (minima).

12

DIFRAKCE ZÁŘENÍ: difrakční minima a maxima

Difrakční obrazec je potom v důsledku interference světelných vln tvořen *maximiy a minimiy v intenzitě osvětlení* stínítka. Difrakční obrazec začíná ve středě, který je velmi intenzivně osázen. Následuje tmavá linie (tzv. 1. minimum) vznikající jako následek destruktivní interference vln. Další linie je opět světlá atd. Obrazec tvořený těmito liniemi odpovídá vlnové délce použitého světla a velikosti překážky (apertury).

Rozměrnější částice (překážky) ohybají zpravidla více světelných paprsků, ale obvykle v užším úhlu, zatímco *velmi malé částice* vedou ke vzniku jemnějších a složitějších difrakčních obrazců, jež se rozšiřují do větších úhlů.

13

DIFRAKCE ZÁŘENÍ: typy difrakce

O...difrakční objekt (překážka, otvor v překážce)
 r...vzdálenost objektu od zdroje záření
 Z...zdroj záření
 s...vzdálenost objektu od roviny pozorování difrakčního obrazce
 R...rovina pozorování

Pokud jsou vzdálenosti r a s konečné, pak Fresnelova difrakce
Pokud jsou vzdálenosti r a s nekonečné, pak Fraunhoferova difrakce

zuzování velikosti štěrby a vzdalování stínítko a překážky

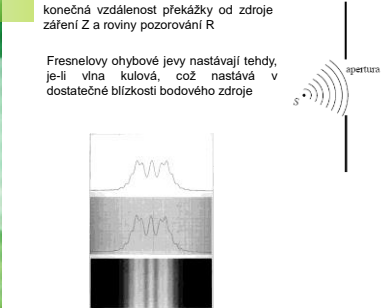
Přechod od Fresnelovy k Fraunhoferově difrakci

14

FRESNELOVA DIFRAKCE

podmínka: konečná vzdálenost překážky od zdroje záření Z a roviny pozorování R

Fresnelovy ohybové jevy nastávají tehdy, je-li vlna kulová, což nastává v dostatečné blízkosti bodového zdroje



15

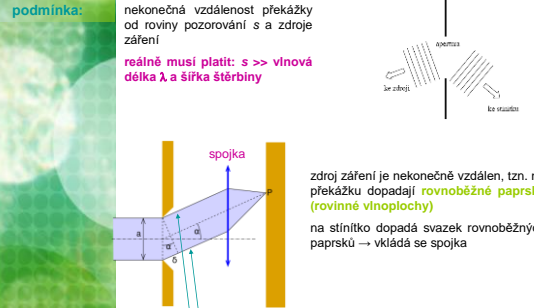
FRAUNHOFEROVA DIFRAKCE

podmínka: nekonečná vzdálenost překážky od roviny pozorování s a zdroje záření

reálně musí platit: $s \gg \lambda$ a šířka štěrbin

zdroj záření je nekonečně vzdálen, tzn. na překážku dopadají **rovnoběžné paprsky (rovinné vlnoplochy)**

na stínítku dopadá svazek rovnoběžných paprsků → vkládá se spojka



ohnuté paprsky se protnou v nekonečnu

16

FRAUNHOFEROVA DIFRAKCE

Fraunhoferova difrakce záření kulovými částicemi různé velikosti

poloha 1. minima je nepřímo úměrná velikosti překážky



17

FRAUNHOFEROVA vs. MIEHO TEORIE



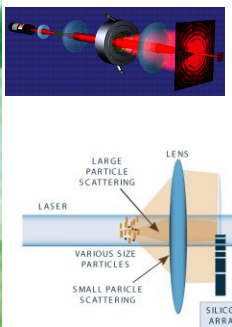
Fraunhoferova difrakce je použitelná pro částice neporézní, neprůhledné, větší (obvykle 10-2000 μm) než je vlnová délka použitého záření.

Pokud nejsou uvedené podmínky splněny je třeba použít Mieho teorii, ale je nutné znát index lomu disperzního prostředí a index lomu materiálu měřené částice.

Vypočtená velikost částic není absolutní velikost, ale odpovídá velikosti teoretické koule.

18

MĚŘENÍ VELIKOSTI A DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC METODOU LASEROVÉ DIFRAKCE (LD)



Světlo je z laseru vyzařováno ve formě úzkého svazku; na rozdíl od světla přirozených zdrojů je **polarizované, koherentní** (vlnění o stejné frekvenci, stejného směru kmitání a stejno fázi) a **monochromatické**.

Detekční systém se skládá z řady jednotlivých senzorů (jejich počet ovlivňuje přesnost měření). Typy: **křemíkové detektory, CCD detektory** (vhodné i k analýze tvaru částic).

19

VÝHODY x NEVÝHODY LASEROVÉ DIFRAKCE

Výhody LD

- pravděpodobně nejpoužívanější technika měření velikosti a distribuce velikostí částic
- nevyžaduje kalibraci
- určuje úplnou distribuci velikostí částic ve vzorku
- rychlost (proměření jednoho vzorku trvá cca 5 minut)
- proměření velkého souboru částic
- **možnost měření v kapalině i suchou cestou**
- široké rozmezí měřených velikostí 0,1 – 3000 μm
- použití různých disperzních médií
- poměrně snadná obsluha přístrojů
- vysoká reprodukovatelnost výsledků (v rámci měření na jednom přístroji)
- měření prášků, granulátů, mikročástic, suspenzí, emulzí

Nevýhody a omezení LD

- drahé přístrojové vybavení
- obtížná submikronová analýza
- variabilita výsledků při jejich porovnání s jinými metodami

20

LASEROVÉ DIFRAKCE: OPTIMALITACE PODMÍNEK MĚŘENÍ

Optimalizované parametry měření

- kapalné médium – vzorek se v něm nesmí rozpouštět a musí být dobře smáčen
- přísadky smáčedla – pokud je třeba zajistit lepší smáčení vzorku
- index lomu média (z tabulek) a index lomu vzorku (např. výpočtem na základě strukturního vzorce) – při použití Mieho teorie pro výpočet
- rychlost míchání (z důvodu oddělení jednotlivých částic)
- doba a intenzita ultrazvuku (z důvodu oddělení jednotlivých částic)
- koncentrace částic

Zdroje chyb

- aglomerace nebo drcení původních částic
- rozpouštění částic
- nesférické částice
- příliš hrubý povrch částic
- přítomnost bublin vzduchu

21

LASEROVÁ DIFRAKCE (LD) vs. MIKROSKOPIE

22

DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA

24

DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA: PRINCIP

- DLS umožňuje měřit částice ve velikostním rozmezí 5 nm – 1 μ m.
- Princip DLS je založen na rozptylu světelných paprsků (laser) procházejících skrz analyzovaný vzorek (suspenze, emulze) umístěný v kyvetě.
- Termální pohyb molekul média způsobuje změnu pozic sledovaných částic (**Brownův pohyb**) a díky tomu dochází ke změně intenzity sledovaného bodu difrakčního obrazce.

- Čím menší je rozměr částic, tím rychleji se pohybují a úměrně velikosti částic se zvyšuje i fluktuace rozptýleného záření.

25

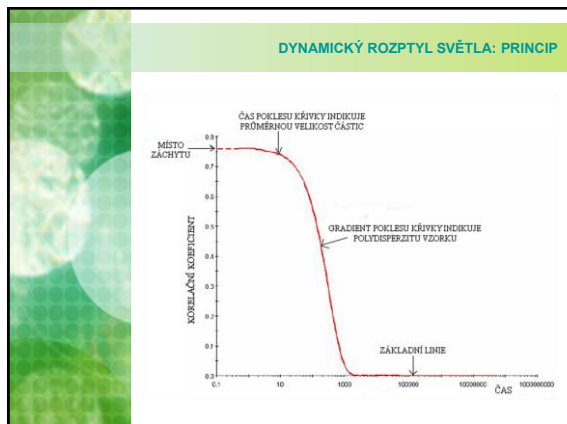
DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA: PRINCIP

- Změny intenzity na čase sleduje tzv. **korelační funkce**.
- Korelační funkce je využívána pro získání informace z časové závislosti signálu v přítomnosti šumu.

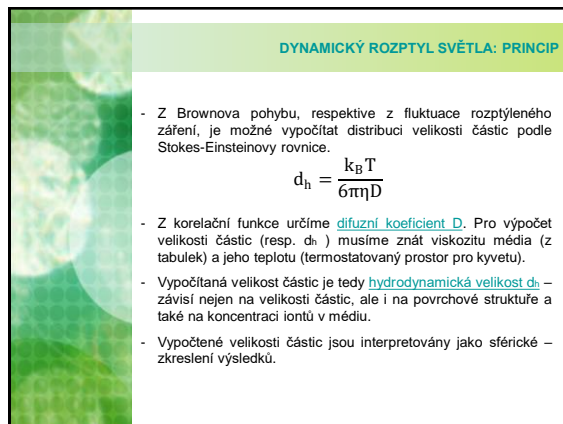
26

DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA: PRINCIP

27



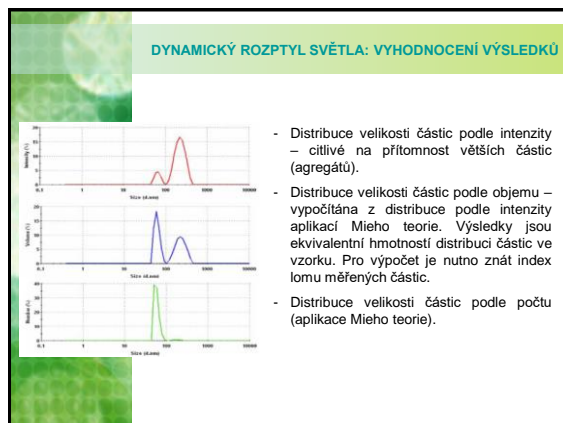
28



29



30



31