



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۲۱۶۲۵

چاپ اول

۱۳۹۵

INSO

21625

1st.Edition

2017

فناوری نانو - اندازه‌گیری توزیع اندازه
نانومواد در سوسپانسیون (تعلیق) به روش
طیف‌سنجی همبستگی فوتون - روش آزمون

**Nanotechnology - Measurement of partic
size distribution of nanomaterials in
suspension by photon correlelation
spectroscopy (PCS) -Test methods**

ICS:71.100.01

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذی صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/ یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری کند. همچنین، برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن ها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization

2 - International Electrotechnical Commission

3- International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«اندازه‌گیری توزیع اندازه نانو مواد در سوسپانسیون به روش طیف‌سنجی همبستگی فوتون - روش آزمون»

رئیس:

رحمانی، کوروش
(دکتری مهندسی مواد و طراحی)

دبیر:

فارسپانی، فاطمه
(کارشناسی صنایع غذایی)

سمت و / یا محل اشتغال:

ریاست اداره آزمایشگاه استاندارد قزوین

کارشناس اداره استاندارد قزوین

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفباء)

اسلامی‌پور، الهه
(کارشناسی ارشد زیست شناسی)

بابا خداوردی، مجتبی
(کارشناسی ارشد شیمی معدنی)

به‌افزاده، فتانه
(کارشناسی ارشد شیمی آلی)

پوی پوی، حسن
(کارشناسی ارشد شیمی)

پشامی، سیما
(کارشناس ارشد شیمی)

حاج حسینی، اشرف
(دکتری تخصصی شیمی)

حاجی نور محمدی، لیلا
(کارشناسی میکروبیولوژی)

رحمانی، کتایون
(کارشناسی صنایع غذایی)

کارشناس مسئول ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

کارشناس آزمایشگاه همکار پاسارگاد قزوین (سهامی خاص)

کارشناس انجمن آزمایشگاه‌های همکار استان قزوین

دبیر کمیته استاندارد - ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

کارشناس دانشگاه گیلان

هیئت علمی دانشگاه زنجان

کارشناس آزمایشگاه همکار دانش محور

کارشناس انجمن آزمایشگاه‌های همکار استان قزوین

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفباء)

رحمانی، مهسا
(کارشناسی صنایع غذایی)

سهرابی جهرمی، ابوذر
(دکتری نانو)

شیخ احمدی، مهدیه
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

شاه باقی، مریم
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

عبدالحسینی، مهناز
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

فاضلی کجور، فخرالدین
(مهندسی مواد)

قویدل، ایرج
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

مصلایی، آبرادات
(کارشناسی ارشد صنایع غذایی)

ویراستار:

سیفی، مهوش
(کارشناس ارشد مدیریت دولتی)

سمت و/ یا محل اشتغال:

کارشناس آزمایشگاه همکار پاسارگاد قزوین (سهامی خاص)

مدیر عامل شرکت راصد توسعه فناوری‌های پیشرفته

کارشناس اداره استاندارد قزوین

کارشناس مسئول آزمایشگاه دانش محور البرز

مدیرعامل آزمایشگاه دانش محور البرز

کارشناس ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

کارشناس شرکت نوآوران صنایع لبنی سلطان (سهامی خاص)

کارشناس مسئول سازمان جهاد کشاورزی استان قزوین

کارشناس استاندارد- بازنشسته سازمان ملی استاندارد ایران

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۱	۳ اصطلاحات و تعاریف، نمادها و کوتاه‌نوشت‌ها
۱	۳-۱ اصطلاحات و تعاریف نوشت‌ها
۵	۳-۲ نمادها و کوتاه‌نوشت‌ها
۵	۴ کلیات
۵	۵ اهمیت و کاربرد
۶	۶ مواد و واکنشگرها
۶	۷ روش اجرایی
۶	۷-۱ صحت‌گذاری
۸	۷-۲ اندازه‌گیری
۱۱	۷-۳ پیشینه نظریه تابع همبستگی
۱۴	۸ تفسیر تابع همبستگی
۱۴	۸-۱ کلیات
۱۴	۸-۲ تجزیه و تحلیل خطی
۱۴	۸-۳ نمونه‌های بس پراکنده
۱۸	۸-۴ فرآیند اندازه‌گیری
۱۹	۸-۵ نمونه‌برداری
۲۰	۸-۶ پراکنده‌سازی
۲۱	۸-۷ غلظت ذرات

صفحه	عنوان
۲۲	۸-۸ فرآیند اندازه‌گیری
۲۳	۹-۸ تفسیر و مقایسه با سایر روش‌ها
۲۴	۸-۱۰ تبدیل توزیع شدت به سایر توزیع‌های اندازه ذرات
۲۵	۹ ارائه گزارش
۲۶	۱۰ دقت واریبی
۲۶	۱۰-۱ دقت
۲۷	۱۰-۲ واریبی
۳۱	پیوست الف
۳۵	کتاب‌نامه

پیش‌گفتار

استاندارد « فناوری نانو – اندازه‌گیری توزیع اندازه نانومواد در سوسپانسیون به روش طیف‌سنجی همبستگی فوتون-روش آزمون » که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط تهیه و تدوین شده است، در چهل و پنجمین اجلاس کمیته ملی استاندارد فناوری نانو مورخ ۱۳۹۵/۱۲/۱۶ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوه نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد. منابع و مآخذی که برای تهیه و تدوین این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

1- ASTM E 2490:2015- Standard Guide for Measurement of Particle Size Distribution of Nanomaterials in Suspension by Photon Correlation Spectroscopy (PCS).

فناوری نانو – اندازه‌گیری توزیع اندازه نانومواد در سوسپانسیون (تعلیق) به روش طیف‌سنجی همبستگی فوتون – روش آزمون

۱ – هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه روش آزمون اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات سوسپانسیون که غالباً زیر ۱۰۰ نانومتر هستند با استفاده از فناوری طیف‌سنجی همبستگی فوتون است. در این استاندارد یک روش کامل اندازه‌گیری برای نانوماده خاصی ارائه نمی‌شود، ولی یک دیدگاه کلی برای انجام صحیح مراحل کار توصیه می‌شود. در این استاندارد تمامی جنبه‌های ایمنی کاربران در نظر گرفته نشده است. بنابراین پیش از استفاده از این استاندارد، کاربران مسئول رعایت اصول ایمنی و بهداشت و محدودیت‌های وضع شده مرتبط هستند.

۲ – مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به صورت الزامی به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب، آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند. در صورتی که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام‌آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی برای این استاندارد الزام‌آور است. استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

- 2-1** ISO 13320-1 Particle Size Analysis— Laser Diffraction Methods—Part 1: General Principles.
- 2-2** ISO 14488 Particulate Materials— Sampling and Sample Splitting for the Determination of Particulate Properties.
- 2-3** ISO 13321 Particle Size Analysis— Photon Correlation Spectroscopy.
- 2-4** ASTM Standard, E 177 Practice for Use of the Terms Precision and Bias in ASTM Test Methods.
- 2-5** ASTM Standard, E 691 Practice for Conducting an Interlaboratory Study to Determine the Precision of a Test Method.
- 2-6** ASTM Standard, E 1617 Practice for Reporting Particle Size Characterization Data.
- 2-7** ASTM Standard, F 1877 Practice for Characterization of Particles.

۳ اصطلاحات و تعاریف، نمادها و کوتاه‌نوشت‌ها

۱-۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات با تعاریف زیر به کار می‌رود.

یادآوری ۱- برخی از اصطلاحات خاصی که در این استاندارد به کار رفته است از جمله تجدیدپذیری^۱ و تکرار پذیری^۲ با تعاریفی که در سایر استانداردهای مربوط به اندازه ذرات می باشد اندکی متفاوت است.

یادآوری ۲- در این استاندارد فقط از تعاریف معینی استفاده شده است که توانایی تفکیک خطاهای ممکن یا اختلاف اندازه‌گیری مربوط به سامانه‌های دستگاهی، نمونه برداری و توزیع ذرات را مشخص می کند.

۱-۱-۳

ضریب همبستگی

correlation coefficient

معیار همبستگی (یا تشابه/ مقایسه) بین دو سیگنال متفاوت با هم و یا یک سیگنال منفرد با خودش در زمان دیگر است.

یادآوری - برای همبستگی کامل، عدد ۱ و برای عدم وجود همبستگی، عدد صفر در نظر گرفته می‌شود.

۲-۱-۳

کوریلوگرام یا تابع همبستگی

correlogram or correlation function

نمایش گرافیکی ضریب همبستگی بر حسب زمان که به‌طور معمول به‌صورت تابع نمایی نزولی می باشد.

۳-۱-۳

تجزیه و تحلیل کومولانت

cumulants analysis

پردازش ریاضی تابع همبستگی به صورت بسط چند جمله‌ای که تخمینی از پهنای توزیع اندازه ذرات است.

۴-۱-۳

ضریب نفوذ (در خود یا جمعی)

diffusion coefficient

میزانی از جابجایی حرکت براونی ذره (ذرات) در یک محیط است.

یادآوری ۱- بعد از اندازه‌گیری، مقدار به دست آمده، در معادله استوکس - انیشتین (مطابق معادله ۱) قرار داده می‌شود.

یادآوری ۲- واحدهای ضریب نفوذ در اندازه‌گیری‌های طیف‌سنجی همبستگی فوتون به‌طور معمول بر حسب $\mu\text{m}^2/\text{s}$ (میکرومتر مربع بر ثانیه) است.

1- Repeatability

2 -Reproducibility

۵-۱-۳ ناحیه مای

mie-region

در این ناحیه (معمولاً وقتی اندازه ذرات بزرگتر از نصف طول موج پرتوی نور تابشی باشد) رفتار پراکندگی نور پیچیده بوده و آن را می‌توان با یک تئوری خیلی دقیق و صحیح تفسیر کرد.

یادآوری – این تئوری بسیار دقیق‌تر را می‌توان به جای فرضیه رایلی و رایلی-گانز-دبای شرح داده‌شده در زیربند ۳-۱-۷ و ۳-۱-۸ استفاده کرد. معمولاً تفاوت بین این فرضیه و تئوری، در محدوده اندازه‌های این استاندارد، کوچک هستند. تئوری مای برای تبدیل توزیع شدت به یک توزیع بر اساس حجم یا جرم مورد نیاز است.

۶-۱-۳ شاخص بس پراکندگی

Polydispersityindex (PI)

توصیف‌گری از پهنای توزیع اندازه ذرات است که از کومولانت دوم و سوم به دست آمده است (به زیربند ۳-۸ مراجعه شود).

۷-۱-۳ ناحیه رایلی – گانز-دبای

Rayleigh- Gans- Debye-region

در این ناحیه (که گفته می‌شود که در آن قطر ذرات بیشتر از نیمی از طول موج نور تابشی است)، پراکندگی ایجادشده تمایل به حرکت رو به جلو داشته و می‌توان با توجه به نور پراکنده‌شده، از تقریبی برای توصیف رفتار ذرات استفاده کرد.

۸-۱-۳ ناحیه رایلی

Rebye-region

محدوده اندازه‌های کوچکتر از آن حدی که موجب همسانگرد شدن شدت پراکندگی شود. در این ناحیه، برای نور قطبیده^۱ نشده، هیچ وابستگی زاویه‌ای وجود ندارد.

یادآوری – معمولاً در این ناحیه قطر ذرات کمتر از 0.1 طول موج تابشی است. در این ناحیه تقریب ریاضی برای پیش‌بینی رفتار پراکنش نور می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

۹-۱-۳ تکرارپذیری

repeatability

در روش PCS و سایر روش‌های تعیین اندازه ذرات، معمولاً دقت در تکرار اندازه‌گیری‌های متوالی به روی همان گروه ذرات انجام می‌شود و به‌طور معمول به‌عنوان انحراف استاندارد نسبی یا ضریب تغییرات^۱ بیان می‌شود.

یادآوری - مقدار تکرارپذیری، نشان‌دهنده پایداری (دستگاهی و بیشتر نمونه‌ای) سامانه اندازه‌گیری در طول زمان است. تغییرات ایجادشده در نمونه شامل پراکندگی و ته‌نشینی می‌شود.

۱۰-۱-۳

تجدیدپذیری

reproducibility

در روش PCS و اندازه‌گیری ذرات، تجدیدپذیری، معمولاً به میزان مساوی نمونه‌های دوم (و یا بیشتر) از نمونه توده^۲ (بهر) اشاره دارد (که در نتیجه موجب همگونی ماده اولیه و روش نمونه‌گیری به کار رفته می‌شود).

یادآوری - در یک سامانه دوغابی^۳، اغلب خطاهای بزرگ در هنگام نمونه‌گیری‌های تکراری حاصل شده است. همچنین تعاریف دیگر تجدیدپذیری نیز به تنوع‌پذیری میان نتایج یک نمونه از آزمایشگاه‌های مختلف زمانی که آزمون بین‌آزمایشگاهی انجام شده اشاره دارد. لازم به ذکر است که گروه‌های یکسان ذرات را هرگز نمی‌توان در چنین سامانه‌ای اندازه‌گیری کرد. در نتیجه، معمولاً مقادیر تجدیدپذیری به‌طور قابل توجهی بیشتر از مقدار تکرارپذیری خواهند بود.

۱۱-۱-۳

استواری

robustness

اندازه‌گیری تغییرات پارامترهای مورد نیاز در تغییرات، نظام‌مند و غیرنظام‌مند است که بر روی همه یا هیچ یک از نتایج کلیدی موثر است.

یادآوری - برای مثال، تقریباً به‌طور قطع (می‌توان گفت که) زمان پراکندگی (مدت زمان فراصوت) بر روی نتایج گزارش تاثیر می‌گذارد. تغییرات در pH نیز به احتمال زیاد بر میزان کلوخه‌ای شدن و غیره موثر است.

۱۲-۱-۳

نفوذ چرخشی

rotational diffusion

فرآیندی که در توزیع آماری تعادلی مولکول‌ها و ذرات در تمامی جهتها حفظ شده یا به حالت اول بازگردانده می‌شود.

۱۳-۱-۳

نفوذ انتقالی

1 -Coefficient of variation
2 -Bulk
3 -Slurry

translational diffusion

فرآیندی که در آن، توزیع آماری تعادلی مولکول‌ها یا ذرات در فضا حفظ شده یا به حالت اول بازگردانده می‌شود.

۱۴-۱-۳

متوسط z

Z-average

میانگین قطر ذرات توزین شده با شدت هماهنگ است. قطر تفکیک شده در آزمون PCS معمولاً از میانگین هماهنگ توزیع فراوانی به دست می‌آید که در تجزیه وتحلیل فرکانس رایج است (به زیربند ۹-۸ مراجعه شود)

۲-۳ نمادها و کوتاه نوشت‌ها

آشکارساز دیود نوری بهمنی	Avalanche photodiode detector	APD
ضریب تغییرات	Coefficient of variation	CV
پراکندگی نور پویا	Dynamic light scattering	DLS
حداقل مربعات غیر منفی	Non- negative least squares	NNLS
طیف سنجی همبستگی فوتون	Photon correlation spectroscopy	PCS
لوله تکثیرکننده فوتون	Photo multiplier tube	PMT
پراکندگی نور شبه کشسان	Quasi- elastic light scattering	QELS
ریلی - گانز - دبی	Rayleigh- Gans- Debye	RGD

۴ کلیات

در این استاندارد، روش طیف‌سنجی فوتون برای اندازه‌گیری اندازه ذرات سامانه در مایع به کار می‌رود که به عنوان پراکندگی نور پویا (DLS) یا پراکندگی نور شبه کشسان (QELS) نیز استفاده می‌شود. اصطلاحات DLS و QELS را نیز می‌توان به جای PCS استفاده کرد.

۵ اهمیت و کاربرد

روش PCS، یکی از معدود روش‌هایی است که قادر به اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات در محدوده نانو است. این استاندارد، روش پراکندگی نور را، که به‌طور کلی در محدوده اندازه ذرات زیر نانومتر تا شروع رسوب در نمونه قابل اجرا است، مورد بررسی قرار می‌دهد. روش PCS معمولاً برای دوغاب و یا سوسپانسیون از مواد جامد در محیط مایع استفاده می‌شود. اندازه‌گیری به این روش، پایه‌ای هیدرودینامیکی دارد و در نتیجه اطلاعات

اندازه را در حالت سوسپانسیون در محیط (معمولاً آب) ارائه می‌کند. بنابراین، می‌توان با قاطعیت گفت که قطر هیدرودینامیک (حاصل از این روش) با قطرهایی که از روش‌های دیگری به دست می‌آید، تفاوت داشته و کاربران روش PCS باید قبل از مقایسه با روش‌های گوناگون، از تعاریف متمایز و گوناگون مربوط قطر ذرات آگاهی داشته و بتوانند بین روش‌های مختلف مقایسه انجام دهند. با این وجود، در صنعت و دانشگاه از این روش به طور گسترده‌ای برای تحقیق و توسعه به‌عنوان یک روش کنترل کیفیت مشخصه‌یابی سامانه‌های زیر میکرومتر استفاده می‌شود.

۶ مواد و /یا واکنشگرها

معمولاً هیچ مواد یا واکنشگر خاصی در این روش مورد نیاز نیست. برای پایداری کلوئیدها در هنگام اندازه‌گیری، اغلب از عوامل توزیع‌کننده و پایدارکننده^۱ در آزمون استفاده می‌شود. در اندازه‌گیری از یک رقیق‌کننده مناسب برای تهیه غلظت مطلوب ذرات استفاده می‌شود.

با تغییررقت، قدرت یونی محیط و غلظت ذرات توزیع، احتمالاً اندازه ذرات، دستخوش تغییراتی می‌شود.

در مورد توزیع منفرد لاتکس‌ها در رقیق‌سازی، این موضوع از اهمیت بیشتری برخوردار است. هنگامی که قطر هیدرودینامیک لاتکس در محیطی با غلظت ۳-۱۰×۱ مولار NaCl به مقدار ۶۰ نانومتر است، در محیطی با غلظت ۶-۱۰×۱ مولار NaCl (نزدیک به آب یون زدایی شده) به میزان ۷۰ نانومتر تغییر می‌کند. برای کمینه کردن تغییرات در سامانه رقیق‌شده، عموماً از مایع مادر^۲ استفاده می‌شود.

در این مایع ذرات به شکل پایدار خود بوده و معمولاً به وسیله گریزدادن (سانتریفوژ کردن)، سوسپانسیون یا با ساختن مایعی با همان قدرت یونی انجام می‌شود (در صورتی که دانش آن موجود باشد).

بسیاری از مواد زیستی^۳ در بافرها (معمولاً فسفات) اندازه‌گیری می‌شود، به طوری که این بافرها شرایط (دامنه) مناسب از لحاظ pH و قدرت یونی را برای اطمینان از پایداری سامانه فراهم می‌کند. ناپایداری به این علت است که پتانسیل زتای مناسب باعث افزایش کلوخه‌ای شدن می‌شود که کلوخه‌ای شدن سبب ته‌نشینی^۴ و رسوب در سامانه‌های جامد-مایع یا خامه‌ای شدن در سامانه‌های مایع-مایع (امولسیون) می‌شود. چنین تغییرات اساسی به منزله ناپایداری سوسپانسیون تفسیرشده است و به دلیل این که کیفیت (صحت و تکرارپذیری) اندازه‌گیری گزارش شده را تحت تاثیر قرار می‌دهند، باید به حداقل مقدار خود برسند. این موارد در آزمایشات بررسی پایداری نتایج، بررسی می‌شوند.

1-Dispersing and stabilizing agents
2-Mother liquor
3-Biological Materials
4-Sedimentation

۷ روش اجرایی

۱-۲ صحنه‌گذاری

۱-۱-۷ دستگاه مورد استفاده برای مشخصه‌یابی، صحنه‌گذاری شود و عملکرد آن در محدوده‌های کنترل کیفیت از پیش تعریف شده (که از طریق پروتکل‌های صادر شده توسط سازنده تعیین شده است) صحیح باشد. این آزمون‌های تاییدی، معمولاً با استفاده از یک یا چند ماده مرجع قابل ردیابی با اندازه ذرات زیرمیکرون انجام می‌شود. این مواد مرجع، اغلب تمایل به تک‌پراکندگی^۱ (توزیع باریک و منفرد با شاخص بس پراکندگی کمتر از ۰/۱) دارند. البته باید توجه داشت که در حین تایید محور X (اندازه)، محور Y (یا مقدار) به‌طور همزمان مورد بررسی قرار نگیرد. به‌علاوه، در محدوده زیر ۲۰ نانومتر استاندارد موجود نیست و از این نظر خلاء بزرگی وجود دارد. بنابراین می‌توان از مواد زیستی (نظیر سرم گاوی آلبومین BSA، کلاسترول، همی^۲، درختسان‌های با اندازه مشخص، سل‌طلا) با اندازه مشخص که اغلب توسط مدل‌سازی مولکولی تعیین می‌شوند، استفاده نمود.

روش PCS از اولین روش‌های اندازه‌گیری بنیادی است و بنابراین از کالیبراسیون رسمی (تنظیم دستگاه برای خوانش درست و مقدار مشخص) نمی‌توان استفاده کرد.

در صورت خطا، در مرحله صحنه‌گذاری، موضوعات تأثیرگذار مانند کیفیت آب رقیق‌سازی، حالت توزیع پایداری مواد مرجع به‌علاوه شرایط مربوط به دستگاه، مانند پایداری حرارتی، پاکیزگی دستگاه، انطباق محوری قطعات نوری، باید کنترل شود.

در حین یا پس از استفاده از داده‌های خام همبستگی^۳ این اطلاعات باید مورد آزمایش قرار گیرد. این آزمایش‌ها نیاز به تجربه و آموزش دارد.

برخی از ذرات، مانند غبار و آلودگی می‌تواند باعث ایجاد داده‌های غیرواقعی (پرت) و تغییرات ناگهانی در محدوده اندازه‌گیری (نوسان اعداد) شود بنابراین برای به دست آوردن مقادیر ثابت در هنگام به‌دست آوردن آنها همه داده‌ها باید بررسی شود. در حالت ایده‌آل، تابع همبستگی شکل نمایی نزولی دارد که تا یک خط مجانب افقی (با مقداری نزدیک به تعداد فوتون‌ها در سامانه بدون نمونه) مستهلک می‌شود و صعود مجددی (صعود مجدد نشان نوسانات تعداد است) نیز ندارد. البته سازندگان دستگاه نیز ابزار دیگری را جهت حصول اطمینان از درستی داده‌ها ارائه می‌کنند.

۱-۲-۲ با توجه به ماهیت توزیع شدت ایجاد شده و محتمل بودن اندازه تایید شده برای آن توسط میکروسکوپ الکترونی (توزیع تعداد)، برای مقایسه مستقیم میان نتایج باید احتیاط لازم در نظر گرفته شود. برای یک نمونه کاملاً ناپراکنده شده، توزیع تعداد و شدت به‌دست آمده، مشخصه‌ای از آن هستند. در شرایط معمول، که اندکی بس پراکندگی^۴ (تعریض) در توزیع وجود دارد، انتظار می‌رود که توزیع تعداد کوچکتر از توزیع شدت باشد. هرچه میزان بس پراکندگی بیشتر باشد، تفاوت بین شدت، حجم و توزیع تعداد نیز بزرگتر

1-Monodisperse
2- Haem
3-row correlogram Data
4- Polydispersity

خواهد بود. باید توجه داشت که صحنه‌گذاری یک سامانه تنها نشان می‌دهد که دستگاه، با مواد استاندارد عملکرد درستی دارد. لذا برای مواد رایج موجود در دنیای واقعی (به خصوص اگر فرآیند «پراکنده‌سازی» انجام شود و یا اگر توزیع نسبتاً بس پراکنده باشد)، ملاحظات عملی دیگری نیز وجود دارد. این موضوع بدین معنی است که روش مورد استفاده برای اندازه‌گیری مواد در دنیای واقعی، باید دقت موردنظر (تکرارپذیری) را نیز داشته باشد.

۲-۲ اندازه‌گیری

۱-۲-۷ کلیات

۱-۱-۲-۷ اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات در ابعاد نانو (زیر ۱۰۰ نانومتر) با استفاده از روش پراکنش نور، به برهم‌کنش نور با ماده و حرکت تصادفی براونی ذرات در محیط مایع یا سوسپانسیون بستگی دارد. برای اینکه پراکنندگی نور رخ بدهد، باید بین ضرایب شکست ذرات و محیط تفاوت وجود داشته باشد. درغیراین صورت (به عنوان مثال، در سامانه‌هایی که به هم‌شاخص^۱ شناخته می‌شوند) هیچ پراکنندگی وجود نخواهد داشت و نمی‌توان اندازه‌گیری را به روش PCS یا هر یک از دیگر روش‌های پراکنندگی نوری انجام داد.

۲-۱-۲-۷ برای ذرات کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر، (مد نظر این استاندارد)، موارد زیر صادق است:

الف- میزان پراکنندگی، در شرایط نسبی ضعیف بوده و به میزان زیادی به اندازه ذره بستگی دارد. در منطقه تخمین رایلی (معمولاً $d < \lambda / 10$ که در آن d قطر ذرات و λ طول موج نور به کار رفته است)، شدت پراکنندگی متناسب با r^6 یا r^3 (حجم) یا r^3 (جرم مولکولی نسبی) است. با احتساب لیزرهای معمول مورد استفاده (هلیوم-نئون با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر)، این مقدار تقریباً ۶۰ نانومتر خواهد شد و در عمل به این مفهوم است که شدت پراکنندگی یک ذره ۶۰ نانومتری، ۱ میلیون برابر یک ذره ۶ نانومتری است. بنابراین، لازم است که نمونه‌ها را عاری از هرگونه ذرات آلودگی (به‌عنوان مثال گردوغبار که اغلب در محیط حضور داشته و به‌طور قابل‌توجهی نیز بزرگتر از مواد هستند) نگاه داشت. یعنی می‌توان از فیلتر نمودن مایعات، جهت نگهداری و یا رقیق کردن ذرات تا حدود اندازه مورد نیاز جهت مشخصه‌یابی استفاده کرد. پراکنندگی بسیار ضعیف حالتی است که آشکارسازهای^۲ نوری معمولی (به‌عنوان مثال، دیودهای نوری سیلیکونی) در روش-های پراکنندگی نور دیگر (مثلاً پراش لیزر)، قابل استفاده نیستند. در نتیجه از تلفیق روش‌های همبستگی سیگنال با خودش و روش‌های شمارش فوتون (که مبنای آن تصادفی بودن نوفه و ثابت بودن حرکت براونی است) استفاده می‌شود. با کم کردن پیوسته نوفه از سیگنال کلی، سیگنال حرکت براونی باقی می‌ماند.

ب - شدت پراکنندگی در منطقه رایلی با توان چهارم طول موج نور رابطه‌ای معکوس دارد. بنابراین، اگر طول موج نور تابشی نصف شود، شدت پراکنندگی ۱۶ برابر می‌شود. لذا استفاده از لیزرهای با طول موج کمتر از هلیوم-نئون (۶۳۲/۸ نانومتر) موجب افزایش میزان پراکنندگی و سیگنال می‌شود. البته معمولاً ترجیح داده

1- Index-matched

2- Detector

می‌شود که افزایش قدرت لیزر، با کمترین حد ممکن از اثرات نامطلوب (به عنوان مثال، حرارت، جریان همرفتی) همراه باشد. با این حال، باید توجه داشت که طول موج‌های کمتر، گاهی اوقات با لبه جذب برخی از گونه‌های مولکولی همپوشانی دارند که منجر به از دست دادن شدت سیگنال می‌شود. البته به دلیل اینکه آشکارسازهای مورد استفاده برای شمارش فوتون، معمولاً به محدوده طول موج وسیعی پاسخگو هستند، موضوعات بالقوه مربوط به فلورسانس نیز باید مورد توجه قرار گیرد. گاهی جهت حصول اطمینان از اینکه فقط نور دارای طول موج صحیح توسط آشکارساز شناسایی شود، می‌توان از فیلتر پهنای باند باریک^۱ استفاده کرد. چنین وسیله‌ای معمولاً موجب کاهش یا تطابق^۲ سیگنال دیده شده واقعی توسط آشکارساز می‌شود. آشکارسازها معمولاً یک لوله تکثیرکننده فوتون (PMT) و یا آشکارساز دیود نوری بهمنی (APD) هستند که هر دوی آنها فوتون‌های منفرد را می‌شمارند.

پ- در منطقه رایلی، (شدت حاصل از) پراکندگی نور ناقطبیده از ذرات کروی، وابستگی زاویه‌ای بسیار کمی دارد. این پراکندگی همسانگرد (یا مساوی) موثر به این معنی است که تنها لازم است از یک زاویه آشکارساز، برای اندازه‌گیری نور پراکندگی یافته استفاده شود. اما در ذرات غیرکروی، حرکت دورانی موجب ایجاد وابستگی زاویه‌ای (حتی در منطقه رایلی) می‌شود. در محدوده بالاتر از منطقه رایلی (< 60 نانومتر) نور شروع به پراکندگی به سمت زاویه روبه جلو^۳ می‌کند. در وضعیت لیمن (Layman) پراکنش به شکل تخم‌مرغی می‌شود که قسمت جلوی آن بیشتر از قسمت انتهایی آن است و تا به $\lambda/2$ می‌رسد (تقریباً 300 نانومتر برای یک لیزر هلیوم - نئون در $632/8$ نانومتر) افزایش می‌یابد. بنابراین، تقریب (رایلی-گانس-دبی) وقتی که ساختارهای کوچکی به صورت الگوهای قطبی پراکندگی وجود دارد، به درستی عمل می‌کند بنابراین در ناحیه کمتر از 100 نانومتر به کاربردن این تقریب مفید است و تفسیر کاملی از برهم‌کنش نور با ماده (تئوری مای) مورد نیاز نیست به جز در مواردی که اطلاعات بر حسب حجم یا تعداد وجود داشته باشد (به زیر بند ۹-۷ مراجعه شود).

ت- اندازه در ناحیه کمتر از 100 نانومتر بستگی به ضریب نفوذ ذره دارد که در معادله استوکس - انیشتین آمده است:

(۱)

$$R_h = \frac{kT}{(6\pi\nu D)}$$

که در آن:

R_h : شعاع هیدرودینامیکی

k : ثابت بولتزمن

T : دمای مطلق بر حسب کلونین

π : عدد پی

1-narrow bandwidth filters
2--Compromise
3 -Foreward angel

η: گرانیروی محیط مایع

D: ضریب نفوذ (اندازه گیری شده)

ث- باید توجه داشت که برخلاف انتظار، در معادله ۱، چگالی ذره هیچ نقشی در حرکت براونی ندارد (البته مطابق بند ۹، درته نشینی آن موثر است)، هرچند به ظاهر متضاد ماهیت اولیه است. در ضمن شعاع هیدرودینامیکی (قطر) معادل اندازه کره‌ای است که ذرات آن با همان ضریب نفوذ حرکت می‌کند. بنابراین برای ذراتی با شکل نامنظم^۱ یا شکل ریخت‌شناسی خاص (یا هردو)، قطر به دست آمده به احتمال زیاد مطابق هیچ یک از محورهای تصویر ذره نخواهند بود. گرانیروی به محیطی که ذره در آن پراکنده شده بستگی دارد. در سامانه‌های رقیق، فرض بر این است که ذرات با یکدیگر برهم‌کنش نداشته و لذا می‌توان گرانیروی را معادل گرانیروی محیط یا مایع فرض کرد. در غلظت‌های بالاتر، ذرات احتمالاً در ناحیه‌ای مانع تحریک یکدیگر شده و بنابراین گرانیروی موثر، بالاتر از گرانیروی محیط‌های سوسپانسیونی عاری از ذرات هستند.

ج- دو نوع ضریب نفوذ برای ذرات محیط‌های سوسپانسیون‌های نهایی رقیق وجود دارند:

۱- ضریب نفوذ انتقالی، که در اصطلاح رابطه استوکس- انیشتین بازنویسی می‌شود و بر اساس معادله ۱ به دست می‌آید:

(۲)

$$D_t = \frac{kT}{6\pi\eta R_h}$$

۲- ضریب نفوذ چرخشی، که در آن رابطه استوکس- انیشتین- دبای اعمال می‌شود:

(۳)

$$D_r = \frac{kT}{8\pi\eta(R_h)^3}$$

چ- تجمع ذرات (یا مولکول‌ها) منجر به تغییر ضریب نفوذ چرخشی شده و بر ضریب نفوذ انتقالی نیز اثرگذار است. از این رو، برهم‌کنش بین ذرات می‌تواند تفسیر ضریب نفوذ مشاهده شده که برای ذرات غیرکروی، تلفیقی از ضرایب نفوذ انتقالی و چرخشی است، را پیچیده نماید. این برهم‌کنش ذره- ذره، بیشتر به غلظت وابسته است تا اندازه ذره و لذا، هر دوی ضرایب نفوذ انتقالی و چرخشی وابسته به گرانیروی سیال اطراف ذرات هستند.

ح- حرکت ذره باید تصادفی باشد. حرکت غیرتصادفی ذرات دلیل اصلی غیرعملی یا کاربردی نبودن روش است که به علت جریان‌های همرفتی موجود در سامانه یا ته‌نشینی ذرات (که برای روش مذکور بیش از حد بزرگ و یا متراکم هستند) در هنگام اندازه‌گیری رخ می‌دهد. بنابراین کنترل دقیق دما و پایداری الزامی است.

در صورت ته‌نشینی یا رسوب در هنگام اندازه‌گیری به جز تغییرات در حد بسیار کم، نتایج تقریباً قابل مقایسه با یکدیگر هستند و نشان‌دهنده تغییر و ناپایداری سامانه است. در صورت مشاهده مواد جامد

رسوب‌یافته در ته ظرف، به احتمال خیلی زیاد، روش PCS توصیه نمی‌شود. بنابراین در این موارد روش پراکنش نور لیزر معمول (پراش لیزر) احتمالاً روش بهتری است.

در صورت ته‌نشینی در ظرف اندازه‌گیری یا کووت‌های^۱ اندازه‌گیری، قطعاً ماده اصلی اندازه‌گیری شده نانو نیست یا در زمان اندازه‌گیری ناپایدار بوده است.

خ - اندازه و چگالی محاسبات موجود در جدول ۱ را که بر اساس قانون استوکس انجام شده، در نظر بگیرید. ۵- از جدول ۱ نتیجه گرفته می‌شود که هرگاه مواد «نانو» (کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر) باشد، تمایل دارند که به صورت سوسپانسیون پایدار باقی مانده و تمایل کمتری به ته‌نشینی دارد، در بسیاری از موارد برای مثال در ژل که به علت همراه شدن آب با ساختار، ذرات چگالی ذرات به طور معناداری کاهش می‌یابد و بنابراین زمان ته‌نشینی متعاقباً افزایش می‌یابد.

ذ- در برخی از موارد قرار گرفتن ذرات در موادی با گرانشی بالاتر منجر به کاهش یا حتی حذف هرگونه تمایل به ته‌نشینی می‌شود. با وجود این، حرکت براونی نیز کاهش یافته و نتیجه‌ای حاصل نمی‌شود (همانطور که شناکردن در محیطی غلیظ، کندتر از شنا در آب خواهد بود).

بیشتر مواد پودری خشک را نمی‌توان به‌طور کامل و تا اندازه اولیه‌شان پراکنده کرد، لذا اندازه‌گیری (ذره) با استفاده از ضریب نفوذ می‌تواند نشانگر وضعیت کلوخه‌ای شدن سامانه نسبت به اندازه اولیه آن باشد. بنابراین در این استاندارد فرض می‌شود که کاربر، برای اندازه‌گیری سوسپانسیون مایع به خوبی پراکنده شده یا روش آماده‌سازی ذرات در مقیاس نانو، دسترسی دارد.

ر- در مورد معادله ۱ باید نکات زیر را مدنظر داشت:

ر-۱- با افزایش اندازه ذرات، سرعت حرکت براونی کاهش می‌یابد.

ر-۲- با افزایش گرانشی محیط سرعت حرکت براونی کاهش می‌یابد.

ر-۳- با افزایش دما، سرعت حرکت براونی به صورت مناسب افزایش می‌یابد.

۳-۷ پیشینه تئوری تابع همبستگی

۳-۷-۱ ضروری است برای بدست آوردن اندازه یک ذره، ضریب نفوذ در معادله ۱ اعمال شود (اندازه ذرات). در این معادله، برای هر ورودی یک خروجی منحصر به فرد وجود دارد. این بند به اندازه‌گیری ضریب نفوذ و به‌دست آوردن توزیع اندازه ذرات از داده‌های اندازه‌گیری شده می‌پردازد.

جدول ۱ - محاسبه تهنشینی بر اساس قانون استوکس به توان تابعی از اندازه و چگالی در دمای ثابت

قطر ذرات μm	قطر ذرات nm	چگالی(ماده) kg/m^3	چگالی(آب) kg/m	گرانروی (آب) 298K, Poise	زمان لازم برای ۱ سانتی متر رسوب گذاری		
					دقیقه ها	ساعت ها	روزها
۰/۰۱	۱۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱۸۱۵۴۹۴.۳۹	۳۰.۲۵۸	۱۲۶۱
۰/۱	۱۰۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱۸۱۵۴/۹۴	۳۰۲/۵۸	۱۲.۶۱
۱	۱۰۰۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱۸۱/۵۵	۳/۰۳	۰/۱۲۶
۱۰	۱۰۰۰۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱/۸۲	۰/۰۳	۰/۰۰۱
۱۰۰	۱۰۰۰۰۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۰/۰۲	۰	۰
۰/۰۱	۱۰	۳۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱۰۸۹۲۹۶/۶۴	۱۸۱۵۴/۹۴	۷۵۶
۰/۱	۱۰۰	۳۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱۰۸۹۲/۹۷	۱۸۱/۵۵	۷/۵۶
۱	۱۰۰۰	۳۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱۰۸/۹۳	۱/۸۲	۰/۰۷۶
۱۰	۱۰۰۰۰	۳۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۱/۰۹	۰/۰۲	۰/۰۰۱
۱۰۰	۱۰۰۰۰۰	۳۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۰/۰۱	۰	۰
۰/۰۱	۱۰	۴۲۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۸۵۱۰۱۳/۰	۱۴۱۸۳/۵۵	۵۹۱
۰/۱	۱۰۰	۴۲۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۸۵۱۰/۱۳	۱۴۱/۸۴	۵/۹۱
۱	۱۰۰۰	۴۲۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۸۵/۱۰	۱/۴۲	۰/۰۵۹
۱۰	۱۰۰۰۰	۴۲۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۰/۸۵	۰/۰۱	۰/۰۰۱
۱۰۰	۱۰۰۰۰۰	۴۲۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۰/۰۱	۰	۰
۰/۰۱	۱۰	۵۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۶۰۵۱۶۴/۸۰	۱۰۰۸۶/۰۸	۴۲۰
۰/۱	۱۰۰	۵۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۶۰۵۱/۶۵	۱۰۰/۸۶	۴/۲۰
۱	۱۰۰۰	۵۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۶۰/۵۲	۱/۰۱	۰/۰۴۲
۱۰	۱۰۰۰۰	۵۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۰/۶۱	۰/۰۱	۰
۱۰۰	۱۰۰۰۰۰	۵۵۰۰	۱۰۰۰	۰.۰۰۸۹۰۵	۰/۰۱	۰	۰

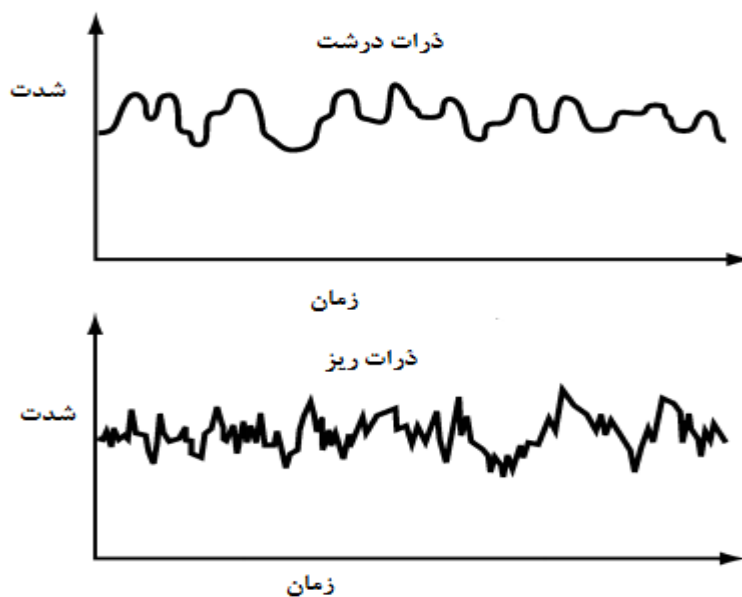
۷-۳-۲ در هنگام وزش باد به برگ‌های درخت میزان نور کاهش می‌یابد و نوسانی در نور در دوره‌های زمانی کوتاه اتفاق می‌افتد ولی میزان شدت کلی نور تغییر نمی‌کند. در مورد شدت نور پراکنده شده از مجموعه ذرات معلق در حال حرکت، یک نوسان گذرا در این شدت نور (الگوی اسپیکل^۱) وجود دارد. ذرات کوچکتر با سرعت بیشتری نفوذ کرده و بنابراین نوسانات بسیار سریع‌تری در زمان‌های کوتاه در مقایسه با

ذرات بزرگ که با سرعت بسیار پایینی نفوذ می‌کنند، نشان می‌دهد. در بازه زمان‌های بسیار کوتاه Δt (با واحدهای نانوثانیه یا میلی‌ثانیه) معمولاً شدت سیگنال لحظه‌ای، با سیگنال در زمان صفر، همبستگی مناسبی دارد. آن دسته از نوسانات نوری که با سرعت بیشتری رخ می‌دهند (ذرات کوچک) موجب از بین

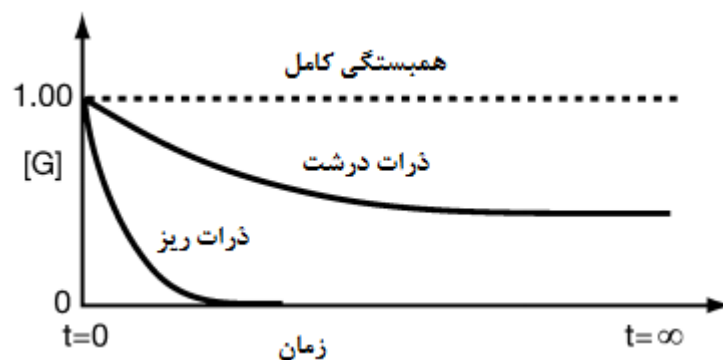
1- Speckle pattern

رفتن بیشتر این ارتباط، نسبت به ذرات بزرگتر می‌شوند. در صورتی که مقادیر سیگنال‌های لحظه‌ای ذخیره شوند، می‌توان مقادیر سیگنال‌های دریافتی در طول زمان را با مقادیر شروع آزمایش (یا در واقع هر دوره زمانی دیگر) مقایسه کرد. درجه مقایسه بین دو سیگنال (متفاوت) و یا یک سیگنال با خودش توسط ضریب همبستگی که با نماد [G] نشان داده می‌شود بیان می‌شود. مقدار [G] می‌تواند از یک (همبستگی کامل، سیگنال اندازه گیری شده با سیگنال مقایسه شده) تا صفر (عدم همبستگی) متغیر باشد. به راحتی قابل مشاهده است که این ضریب همبستگی برای ذرات پراکنده نشده که همه آنها اندازه یکسانی دارند، کاهش‌نمایی دارد (به شکل ۱ مراجعه شود).

کاهش ضریب در همبستگی برای ذرات کوچک در مقایسه با ذرات بزرگتر سریع‌تر مشاهده می‌شود. (به شکل ۲ مراجعه شود).



شکل ۱- نمایش تصویری نوسانات شدت برای ذرات ریز و درشت



شکل ۲- اندازه گیری مرسوم PCS که مشخص کننده اجزای اصلی سامانه معمولی است

۸ تفسیر تابع همبستگی

۱-۱ کلیات

روش‌های متعددی برای تفسیر تابع همبستگی وجود دارد که در این بند فقط به روش‌های کاربردی که بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند پرداخته می‌شود.

۲-۱ تجزیه و تحلیل خطی

در ساده‌ترین روش تجزیه و تحلیل نمودار ضریب همبستگی بر حسب زمان، با استفاده از لگاریتم‌گیری تابع کاهش نمایی به صورت خطی برازش می‌یابد. بنابراین نمونه پراکنده شده به صورت منفرد، خط راستی برای $\log[G]$ ایجاد می‌کند. شیب نمودار با عکس میانگین اندازه ذرات سامانه ارتباط دارد و عرض از مبدأ نشان دهنده نوفه نمونه است.

یادآوری - چنین تجزیه تحلیلی فقط میانگین اندازه ذرات را ارائه می‌کند و دامنه توزیع اندازه ذرات محاسبه نمی‌شود.

بدیهی است این فرض فقط برای دامنه توزیع ذرات با محدوده باریک و به صورت ایده آل در مورد ذرات توزیع شده به صورت منفرد، معتبر است.

هنگامی که از تجزیه و تحلیل کومولانت در مورد نمونه‌های دونمایه کامل استفاده می‌شود، مقدار میانگین منفردی حاصل می‌شود که به علت برازش خط راست به سری داده‌های $\log[G]$ می‌باشد. به طور کلی در مواردی که نمودار $\log[G]$ به صورت خطی نباشد، که معمولاً اینگونه نیست، مقدار میانگین Z ، بین دو مقدار میانگین هر یک از ترکیبات دو نمایه قرار دارد. به زیربند ۸-۳ مراجعه شود.

۳-۱ نمونه‌های بس پراکنده - تجزیه و تحلیل کومولانت

۳-۱-۱ ابتدا باید به این نکته مهم توجه داشت که بسیاری از روش‌هایی که در ادامه به آنها اشاره می‌شود، مربوط به شرایطی است که ذرات بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر در نمونه وجود داشته باشد (بنابراین توزیع گسترده-تری از پراکندگی منفرد وجود دارد). شرایط در نمونه‌هایی که تماماً اندازه‌هایی کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر (شاخص بس پراکندگی^۱ پایین‌تر) دارند، ساده‌تر است. اگرچه استانداردهای مربوط به مشخصه‌یابی بس-پراکندگی در این ناحیه وجود ندارد و لذا در عمل نمی‌توان این نکته را مورد توجه قرار داد.

۳-۱-۲ در نمونه‌هایی که دارای توزیع گسترده (دامنه‌ای از توزیع اندازه‌های مختلف) ذرات هستند نمودار کاهش لگاریتمی تابع همبستگی به صورت خطی نیست. منحنی آن را می‌توان با تابع چندجمله‌ای با تعداد جملات دلخواه برازش کرد یا در واقع با جمع انواع منحنی‌های ساده یا پیچیده برازش کرد. بنابراین نیاز است حداکثر احتیاط در این ناحیه انجام شود. هرچند، تعداد جملات چند جمله‌ای را می‌توان به دلخواه توسط رایانه محاسبه کرد ولی این کاربران هستند که باید تصمیم بگیرند که آیا فرآیند منطقی و قابل قبول بوده است، چراکه تعداد اعشار یا اعداد، تغییری در نتیجه نهایی میزان صحت یا تفکیک پذیری^۲ یا حساسیت ایجاد نمی‌کند. تمام ارزیابی‌های پیشین به روی کیفیت دستگاه و نتایج برای سامانه اندازه‌گیری باید صحت گذاری شود.

۳-۱-۳ در ساده‌ترین بسط (سری تیلور- مک لورن) تابع غیرخطی نزولی $\log[G]$ ، شکل منحنی را می‌توان به صورت زیر بیان کرد.

(۴)

$$\log[G] = a + b\tau + c\tau^2 + d\tau^3 + f\tau^4 \dots$$

که در آن:

a, b, c و d ثابت‌های برازش برای منحنی‌های تجربی هستند.

۳-۱-۴ جمله b برابر با اندازه میانگین است (به بیان دقیق‌تر میانگین وزنی شدت عدد Z) و کومولانت دوم

($c\tau^2$) نشان‌دهنده ارتباط واریانس (انحراف استاندارد) یا پهنای توزیع گاوسی^۳ فرضی بوده که به صورت زیر نشان داده می‌شود.

(۵)

$$PI = \frac{2c}{b^2}$$

شاخص چند پراکندگی

که در آن:

C انحراف استاندارد توزیع گاوسی بوده و عدد b میانگین گاسین (همان مد و میانه توزیع) است.

1-Polydispersivity Index
2- Resolation
3- Gaussian

۸-۳-۵ ساده‌سازی^۱ یک منحنی نمایی نزولی (اندازه‌گیری شده) به یک دسته از منحنی‌های نمایی است (هریک متناسب با یک اندازه بوده و برای ایجاد یک تابع نمایی واحد با هم جمع می‌شوند) که شرایط مشکل‌سازی را ایجاد می‌کند و لذا استفاده از جملاتی علاوه بر جمله ۵ (که یک برازش کامل با نقطه ۶ نقطه را ایجاد می‌کند) کاملاً بی‌معنی است. لذا معمولاً (برای برازش) تا جمله سوم در نظر گرفته می‌شود (۳). نتیجه منطقی این است که اطلاعاتی مانند X_{90} (حاصل از پراش که ۹۰ درصد ذرات، حجمی کمتر از آن دارند) که کاربر نهایی احتمالاً با این موضوع آشنایی دارد و در صورتی که تنها حداکثر ۶ کانال اطلاعاتی از ساده‌سازی مرتبه پنجم ممکن باشد، بی‌معنی می‌شود. وجود هر نوفه‌ای در سیگنال، عدم قطعیتی در پاسخ ایجاد می‌کند. حتی در صورت وجود نوفه، تعداد پاسخ‌های ممکن بی‌شمار شده و خطاهای موجود در پاسخ‌ها از لحاظ ریاضی، نامحدود می‌شود. به‌ویژه همواره می‌توان پیک‌های بیشتری را اضافه کرد و بنابراین برازش‌های بهتر و مناسب‌تری را بین نمودارهای نقاط مشاهده‌شده و محاسبه‌شده به دست آورد. البته این به این معنی نیست که پیک‌های بیشتر موجب نتیجه بهتری می‌شود (که نشان‌دهنده انحراف مقادیر اندازه‌گیری‌شده و منحنی‌های همبستگی محاسبه‌شده است). توجه کنید که برازش داده‌های اندازه‌گیری‌شده و ساده‌سازی محدوده خطاهای تجربی از پیش تعیین‌شده، دستیابی به پاسخ صحیح را تضمین نمی‌کند. البته این موضوع دور از انتظار است.

۸-۳-۶ بران و جانسون [۴] تجزیه و تحلیل داده‌های خام همبستگی را به شرح زیر فهرست کرده‌اند: کومولانت، مارکورات^۲، مجموع نمایی S شکل، تورفتگی لاند، برنامه نویسی خطی با آمارهای ترتیبی مانند جکس، زیمرمن ب، زیمرمن آ و زیمرمن ای. تبدیل Z با بازیابی به روش اسپایک^۳ (بازیابی با مقادیر مشخص)، نمونه‌گیری نمایی^۴، مقادیر منفرد پروفایل شده، نمودار ستونی (هیستوگرام)، Contin, Repes, Rilr و غیره. همچنین فاینسی [۵] با این ابزارهای تجزیه و تحلیل کار کرده است.

۸-۳-۷ علاوه بر این برنامه‌های دیگری نیز موجود است. در تمامی موارد بیان شده در زیربند ۶-۳-۸، نویسندگان نشان می‌دهند که الگوریتم‌های بالا می‌تواند در موقعیت‌های از پیش تعریف‌شده دچار خطا شود. از این رو، توزیع اندازه ذرات مختلف به صورت یک نتیجه بیان می‌شود. در بند ۷ متن استاندارد، چو^۵ [۶] به موضوعات مشابه پرداخته شده است.

استفان پروونچر^۶، این ساده‌سازی را به‌عنوان «مشکلات ناامیدکننده آشکار» بیان کرده است (خطوط ۸ و ۹ از صفحه ۹۳ در مرجع شماره ۷).

۸-۳-۸ با وجود هشدارهای بالا، رایج‌ترین روش به دست آوردن توزیع در نمودار همبستگی لگاریتمی غیرخطی، این است که ابتدا پاسخی برای به دست آوردن اندازه‌های مثبت (محور X) و درصدهای مثبت (محور Y) در روش حداقل مربعات غیرمنفی (NNLS)^۱ انجام می‌شود. این روش، اختلاف بین داده‌های

1- Deconvolution
 2- Marquardt
 3- Spike recovery
 4- Exponential sampling
 5- Chu
 6- Stephen Provencher

مشاهده شده و محاسبه شده را به حداقل می‌رساند (براساس کمترین اختلاف بین قدر مطلق سری داده‌ها) و فقط اجازه می‌دهد فقط مقادیر مثبت اندازه و کمیت بیان شود و سپس عملیات ریاضی بیشتری برای جداسازی یک توزیع به کار گرفته می‌شود.

۸-۳-۱ رویکرد CONTIN

این برنامه (رایگان) ریاضی توسط دکتر استفان پروونچر [مراجع ۱،۷،۸،۹] در زمان فعالیت در موسسه EMBI هیدلبرگ آلمان طراحی شده است. برنامه (بر اساس فورترن ۶۶) در ابتدا با معکوس معادلات خطی نوفه‌دار شامل (فرد هولم و لوتکا وولترا) فرمول‌بندی شد. استفاده از رویکرد CONTIN در طیف‌سنجی همبستگی فوتون به تجزیه و تحلیل عمومی تابع نزولی چندنمایی^۲ (لاپلاس معکوس) مربوط است. رویکرد CONTIN توانایی در نظر گرفتن شرایط اولیه را که احتمالاً دقت و تفکیک‌پذیری حل ریاضی را بهبود می‌دهد، دارد (برای مثال اندازه‌های ذرات منفی و درصدهای منفی ترکیبات به صورت ریاضی برای حل محتمل به دست می‌آید، در صورتی که می‌تواند با نرم افزار CONTIN حذف شود). این برنامه راه حل منحصر به فردی ارائه نمی‌کند، ولی بهترین راه حل را ارائه می‌دهد. تعدادی از راه حل‌های ممکن توسط نرم افزار ارائه شده و کاربر فرصت بررسی آنها را داشته و با استفاده از اطلاعات کمکی، بهترین راه حل کاربر انتخاب می‌شود. بهترین راه حل‌های مشخص شده بر اساس راه حل بهترین برازش/راحتین راه حل (واژه مردود کردن در این شرایط صحیح نیست چرا که راه حل‌ها مرزهای مشخصی ندارند) با حداقل تعداد پیک‌ها که به عنوان ایجاز^۳ خوانده می‌شود، ایجاد می‌کند. این فرض آشکارا در تضاد با مخلوط‌هایی با بیش از ۱ (احتمالاً تک پراکنده) جزء (توزیع اندازه ذرات تیز با پیک‌های متعدد) بوده و همچنین با سایر روش‌های ساده‌سازی که می‌تواند راه حل‌هایی که برای سامانه‌های شناخته شده صحیح نمی‌باشد، ایجاد کند و این سناریو همواره در مورد چنین الگوریتم‌هایی دچار شکست می‌شود. بنابراین همه اطلاعات کمکی (به ویژه با توجه به مقدار نوفه سیگنال اصلی که البته به سادگی قابل تعریف نیست) ضروری است تا تصمیم گرفته شود که آیا نتایج به دست آمده منطقی است یا خیر. همچنین در مرجع [۵]، پروونچر، نواحی‌ای که CONTIN دچار مشکل است و نیز نقایص مشاهده شده در سایر الگوریتم‌های ساده‌سازی مانند MAXENT را نشان می‌دهد. علاوه بر پیشینه مطرح شده در مورد این روش‌های کم کاربرد، بسیاری از سازندگان دستگاه‌های PCS یک پیاده‌سازی CONTIN را درون نرم افزار خود نصب نموده‌اند. با اطمینان نمی‌توان بیان کرد که چگونه همه مشخصات پیاده‌سازی این نرم افزار با پیاده‌سازی نوع اصلی آن تفاوت یا شباهت دارد. در واقع زبان رایانه ممکن است در شروع کار متفاوت باشد در نتیجه مطالعه راهنمای سازنده دستگاه لازم است.

۸-۳-۲ تجزیه و تحلیل چندنمایی یا تجزیه و تحلیل مقادیر انیشتینی تبدیل لاپلاس^۴

این روش، اولین روشی است که برای تعیین توزیع اندازه ذرات از منحنی نزولی ضریب همبستگی ارائه شده است و تاکنون مورد استفاده قرار گرفته است. این روش متعلق به پایک-استروسکی^۵ و شامل تعدادی کانال

1- Non-negative least square approach

2- Multi-exponential

3- Parsimony

4- Multi-Exponential analysis or Eigenvalue analysis of the laplace transform

5- Pike Ostrowski

اندازه هیستوگرامی و برازش چندباره مجموع مقادیر گسسته لگاریتمی با فواصل نمایی^۱ (۲۴ یا ۳۲) است. بنابراین، دسته‌ای از مقادیر نمایی پیش‌بینی شده، جمع شده تا مقادیر نمایی نهایی را به وجود آورد و قابل مقایسه با نتایج مشاهده شده در آزمون باشد. سپس مقادیر نمایی برای بهینه‌سازی برازش مدل و به حداقل رساندن باقی مانده اصلاح می‌شود.

(۶)

$$\left[\left(\text{مقدار نظری} - \text{مقدار مشاهده شده} \right)^2 \right] \text{ریشه مربع} = \text{باقیمانده}$$

که در آن:

رویکرد حداقل مربعات استاندارد قبلاً در بند NNLS شرح داده شده است.

۸-۳-۸ اطلاعات چند زاویه ای^۲

در مورد سامانه‌های بزرگ (بیش از ۱۰۰ نانومتر که در دامنه کاربرد این استاندارد قرار ندارد)، شدت پراکندگی با زاویه، تغییر می‌کند (پراکندگی در مقایسه با ناحیه حدوداً کمتر از ۱۰۰ نانومتر ناهمسان‌گرد^۳ است). از تئوری تغییرات زاویه‌ای در پراکندگی، حداقل می‌توان برای به دست آوردن اطلاعات توزیع اندازه ذرات استفاده کرد (با استفاده از خواص نوری شناخته شده سامانه ذره‌ای).

در حال حاضر این محدوده (۰/۱ میکرومتر و بیشتر) برای پراش لیزر در نظر گرفته می‌شود (برای مثال به ISO13320-1 مراجعه شود) که پراکندگی نور در آن اتفاق می‌افتد و مجموعه‌ای از سایر روش‌های غیراپتیکی (برای مثال ته‌نشینی، الک کردن و ناحیه حسگری الکتریکی)^۴ به دامنه اندازه ذرات سامانه بستگی دارد.

1 - Discrete logarithmically spaced exponentials

2 - Multi-Angle Information

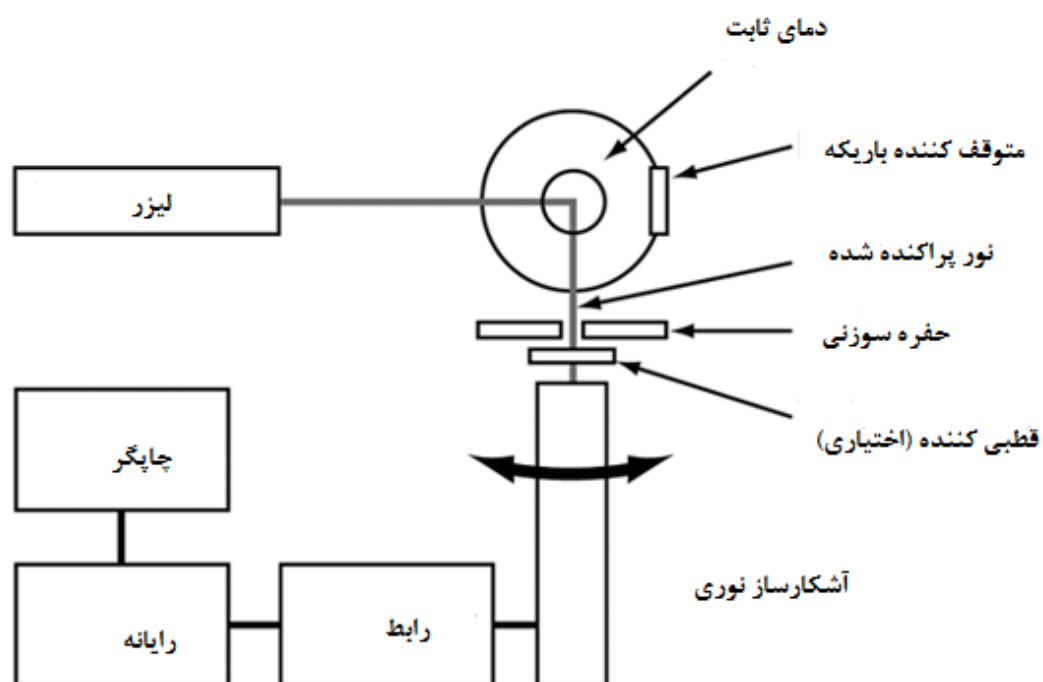
3- Non-isotropic

4- Electrical sensing zone

۴-۸ فرایند اندازه‌گیری

۱-۴-۸ نمودار کلی در شکل ۳ نشان داده شده است.

۲-۴-۸ شکل ۳ طراحی کلاسیکی را نشان می‌دهد که در آن نور پراکنده شده، در زوایای مختلف (معمولاً در ۹۰ درجه) آشکارسازی می‌شود. هرچند در سامانه‌های رقیق با ذرات کوچک کمتر از ۱۰۰ نانومتر وابستگی زاویه‌ای کمی وجود دارد.



شکل ۳ - بخش‌های اصلی سامانه قدیمی برای اندازه‌گیری PCS

۸-۴-۳ با مراجعه به پیشینه روش، مشاهده می‌شود که تعدادی از این روش‌ها، اصلاح شده و توسعه یافته‌اند و با مطالعه برگه‌های فنی سازندگان قابل دسترس است. بهتر است، مناسب بودن دستگاه خاص با توجه به الزامات کاربردی آن تعیین شود و پیشنهاد می‌شود که نمونه‌هایی برای تعیین تفکیک‌پذیری و حساسیت دستگاه، مورد آزمون قرار گیرد.

۸-۴-۴ نوری که معمولاً با طول موج ثابت، همدوس^۱، احتمالاً قطبیده شده^۲ و با شدت نسبتاً بالا، به نمونه تابیده شده (نورلیزر) و نور پراکنده شده، آشکارسازی و تجزیه و تحلیل می‌شود. سیگنال درون یک ارتباط دهنده^۳ (سخت افزار یا نرم افزار) ذخیره می‌شود و رایانه این داده‌های خام سیگنال را با عواملی مانند طول موج لیزر، ضریب شکست ذرات و مدل تحلیلی که کاربر آن را تعیین کرده است پردازش می‌کند. سپس نتیجه توزیع اندازه ذرات در قالب هیستوگرام یا فراوانی ایجاد می‌شود. نیاز است تا کاربر توزیع حاصل را از لحاظ منطقی بودن، مورد بررسی قرار دهد و با تکرار اندازه‌گیری، پایداری معقول پاسخ‌نهایی مشخص شود که به پایداری مواد و روش‌های ریاضی و ساده‌سازی مدل بستگی دارد. با تکرار آزمایش روی نمونه مشابه، تغییرات تفاوت نمونه‌ها مشخص می‌شود.

۸-۵ نمونه برداری

۸-۵-۱ برای تعیین صحت و معنادار بودن آزمون، تهیه نمونه‌ای پایدار و پراکنده شده که معرف کل ماده باشد بسیار مهم است. در این حالت به دست آوردن نمونه، از اهمیت زیادی برخوردار است. در این زمینه استفاده از راهنمای تخصصی اندازه‌گیری مشخصات اندازه ذرات به شماره 1-960 از فصل اول [10] که توسط NIST به چاپ رسیده است، مفید است. اندازه‌گیری اندازه ذرات توسط آلن [11] و در تعداد زیادی از استانداردهای ASTM ارائه شده است، در حالی که تعداد محدودی از آنها به سامانه‌هایی با اندازه نانومربوط است (مثال آیین کار C322). در حال حاضر، قسمت یک از مجموعه استانداردهای BS3406 که در خصوص نمونه‌برداری بوده و به ویژه در مورد استاندارد ISO14488 مورد استفاده قرار گرفته، ابطال شده است. برای حصول اطمینان از پایداری و اعتبار نتایج نهایی، مطالعه تکرارپذیری در آزمون روند زمانی (اندازه با زمان، اندازه‌گیری متوالی و انرژی فراصوت ورودی) برای توزیع اندازه ذرات بسیار مهم است. تجدیدپذیری تک تک نمونه‌ها را می‌توان با استفاده از تکرار مقادیر مشابه یا آزمایش بهر کلی، مورد ارزیابی قرارداد.

۸-۵-۲ برای گرفتن نمونه‌های مساوی از یک ماده که معرف کل نمونه باشد، نیاز است که ماده در حال جریان، نمونه‌برداری شود.

در نمونه‌های به صورت دوغاب یا سوسپانسیون، به وسیله پیپت مقدار مورد نیاز نمونه از ماده اولیه‌ای که داخل بشر در حال هم‌زدن است، نمونه‌برداری شود.

در نمونه ته‌نشین شده یا در حال ته‌نشینی و مواد استخراج شده از قسمت روی محلول، بدیهی است که نمونه حاوی مقادیر کمتری از نمونه کلی خواهد بود.

1- Coherent
2- Possibly polarized
3- Correlator

نمونه گیری درست، از نمونه های به صورت دوغابی بسیار دشوار است. در این موارد توصیه می شود از نمونه برداربرت^۱ (ذرات بصورت دوغابی روی یک دیسک چرخنده را نمونه گیری می کند) استفاده شود.

۸-۵-۳ در مورد توزیع اندازه یا دامنه گسترده تر، احتمالاً مشکلات بیشتری در تمام مراحل نمونه برداری اندازه گیری به ویژه زمانی که توزیع ذرات مدنظر است، رخ میدهد. از نظر آماری، ۱۰۰۰۰ ذره در نوار آخرین پهنای اندازه، باید خطای استاندارد یک درصد را داشته باشد بنابراین خطای استاندارد مناسب برابر با

$1/n^{0.5}$ است که در آن n تعداد ذرات می باشد. توزیع اندازه ذرات گسترده تر، احتمال جدایش یا ته نشین شدن را بیشتر می کند که منجر به پیچیده تر شدن موارد مرتبط با نمونه برداری و اندازه گیری می شود. هرچند در سامانه های با اندازه ذرات واقعی کمتر از ۱۰۰ نانومتر، این مشکلات به حداقل ممکن می رسد.

۸-۵-۴ از نظر آماری، تهیه نمونه های فرعی از مقادیر ناچیز از ماده، برای رسیدن به صحت مطلوب پذیرفته نیست و بنابراین تمام مقدار نمونه برای آزمون مورد استفاده قرار می گیرد. توجه کنید که در روش های میکروسکوپ الکترونی که متأسفانه در آن اغلب، ذرات کمی نمونه برداری می شوند (جرم کم در حد نانوگرم و پیکوگرم) محدودیت های مشابهی وجود دارد.

۸-۶ پراکنده سازی

۸-۶-۱ پیش از آغاز آزمون، تعیین هدف از اندازه گیری از اهمیت زیادی برخوردار است. متأسفانه گرایش به یافتن کوچک ترین پاسخ ممکن است بدون اینکه مشکلاتی همچون شارش شناسی (رتولوژی) و وسایل یا مسئله صاف کردن (که با اندازه توده ذرات کنترل می شود) یا (اطلاعات مورد نیاز مرتبط با اندازه ذرات مانند انحلال، واکنش پذیری، استخراج یون ها از محلول و غیره) در نظر گرفته شود.

نیازها و اهداف، میزان انرژی مورد نیاز پیش از آزمون را مشخص می کنند. این موضوع که از کدام نتایج نهایی استفاده شود، موضوع تعیین کننده ای است، به ویژه در مواردی که ارزش های اقتصادی (مانند کنترل بهر یا بر روی کالاهای درآمدزا) مدنظر باشد. بنابراین، نیاز است که یک نتیجه خارج از ویژگی مشخص شده، از لحاظ شرایط مالی نیز در نظر گرفته شود.

توجه کنید که این بیانیه مشخص کننده این است که در این مکان یک ویژگی وجود دارد و این ویژگی مجدداً مورد آزمون قرار می گیرد.

۸-۶-۲ معمولاً برای پراکنده سازی سامانه های حاوی اندازه ذرات کوچک (به خصوص اگر ماده پودری شکل باشد)، به اعمال انرژی فراصوت نیاز است. به ویژه انتظار نمی رود، بعضی از مواد زیستی یا موادی با نسبت منظری بالا در مقابل مقادیر زیاد انرژی ورودی، مقاوم باشد. با توجه به اینکه اندازه گیری حرکت براونی ذرات سامانه مدنظر است، در نتیجه گروه های به هم پیوسته^۱ (کلوخه سازی شده یا انبوهه سازی شده یا هردو) به عنوان یک ذره بزرگ مجزا در نظر گرفته می شود. به این واقعیت باید توجه داشت که حتی در روش

1- Burt

میکروسکوپی، قضاوت در مورد تعیین اینکه ذرات منفرد بوده یا اینکه پیوند قوی با ذرات همجوار دارد، بسیار دشوار می‌باشد.

۸-۶-۳ همچنین باید در نظر داشت که بر اساس جرم، یک ذره یک نانومتری معادل با یک میلیون ذره یک نانومتری است. اما بر اساس شدت که در آن d^6 به پراکندگی اندازه ذرات، از نوع مرتبه ۶ بستگی دارد. یک ذره منفرد ۱۰۰ نانومتری معادل با 10^{12} یا (یک هزار میلیارد) ذره‌های یک نانومتری است. بنابراین این روش به همه ذرات بزرگ یا کلوخه‌شده در سامانه حساس است. اغلب حتی جداسازی مقادیر کم تمامی مواد بزرگ موجود (به‌وسیله صاف کردن یا سانتریفوژ) که توزیع اندازه ذرات را به خصوص بر پایه جرم تغییر می‌دهد، مطلوب است. باید توجه داشت که وقتی اندازه‌گیری بر اساس تفسیر کورلوگرام باشد، توزیع شدت (استاندارد شده تا ۱۰ درصد) به وجود می‌آید. بنابراین کم کردن مقدار پس‌زمینه ناشی از محلول ممکن نیست، در نتیجه تمیزی حلال پس‌زمینه ضروری بوده و از صاف کردن آن با صافی ۲۰ نانومتر روشی رایج است.

۸-۷-۲ غلظت ذرات

۸-۷-۱ برای اینکه پراکندگی در حدی باشد که بتوان آن را در سامانه مشاهده نمود، غلظت مشخصی از ذرات نیاز است. به عبارت دیگر نسبت سیگنال مناسب به نوفه مورد نیاز است. این شرایط بسیار دشوار است. زیرا اندازه ذرات، ضریب شکست و غلظت حجمی ذرات در آن تاثیرگذار است. در هر صورت باید توجه داشت، در مواردی که غلظت‌های خیلی پایین از موادی که پراکندگی ضعیف‌تری دارند (به‌طور مثال پروتئین‌ها) انتظار نمی‌رود که برای تولید سیگنال کافی جهت اندازه‌گیری منطقی، مناسب باشد.

۸-۷-۲ متناسب با الزامات غلظت ذرات کافی، باید این اطمینان را بوجود آورد که غلظت نباید آنقدر زیاد باشد که موجب پراکندگی چندگانه شود.

این اتفاق زمانی رخ می‌دهد که پیش از رسیدن ذرات به آشکارساز، ذرات منفرد با سایر ذرات، برهم‌کنش کرده و همچنین به سامانه نوری مورد استفاده بستگی دارد، با وجود اینکه انتظار می‌رود این موضوع مانع انجام اندازه‌گیری شود (به‌جز در محلول‌هایی که غلظت آنقدر بالا باشد که نور نتواند به سامانه وارد یا خارج شود). با وجود این، اگر پراکندگی چندگانه اتفاق بیفتد، انتظار می‌رود تفسیر دچار ابهام شود. بنابراین ساخت سه یا چند غلظت متوالی برای تعیین ناحیه‌ای که اندازه ذرات در آن پایدار هستند انجام می‌شود.

در نواحی که کنترل مرحله رقیق‌سازی دشوار یا غیرممکن باشد و اندازه‌گیری هنوز مناسب باشد، توجه شود که باید غلظت ذرات کنترل و ثبت شوند. توجه کنید، در این موارد اندازه‌گیری‌های مقایسه‌ای می‌تواند قابل دسترسی باشد.

صحت این سامانه قابل تعیین نیست ولی تکرارپذیری آن قابل تعیین است. همچنین دستگاه اندازه‌گیری^۱ می‌تواند اثرات پراکندگی چندگانه را کاهش دهد و تغییرات تنظیمات آزمایشی، بیان‌کننده این موضوع است. نمونه‌های دیگر مربوط به کاربرد موردنظر، بهترین راه برای اطمینان‌یافتن از مناسب بودن سامانه، یا در غیر این صورت استفاده‌های مورد نظر آن را نشان می‌دهد.

۸-۸ فرایند اندازه‌گیری

۸-۸-۱ برای اندازه‌گیری حرکت براونی تصادفی، باید سامانه در پایداری دمایی کامل (± 0.1) درجه سلسیوس یا بهتر از آن) قرار داشته‌باشد و بدون وجود جریان‌های دمایی / همرفتی در سلول (کوت) اندازه‌گیری شود. برای گرم کردن و رسیدن به زمان تعادل نمونه، باید راهنمای سازنده دستگاه را مورد توجه قرار داد. شرایط اندازه‌گیری باید به خوبی انتخاب شود که از تنظیم صحیح پارامتر دستگاهی اطمینان حاصل شود و نمونه به درستی در مستندات شرح داده‌شود. بر اساس آیین کارهای (به مراجع الزامی ۱-۲ و ۱-۲ مراجعه شود) پارامتر مورد نیاز در تنظیم و ثبت شامل موارد زیر است.

۸-۸-۱-۱ طول موج لیزر مورد استفاده در آزمون‌ها

۸-۸-۱-۲ مدت زمان آزمون و همه آزمون‌های فرعی انجام شده:

به‌طور معمول توصیه می‌شود اندازه‌گیری‌ها به‌صورت یکسری آزمون‌های مشابه با زمان‌های یکسان انجام شود. در این صورت، هر نوع تغییر در زمان آزمون که از کلوخه‌ای شدن، کلوخه‌ای نشدن انحلال و ته‌نشین شدن را می‌توان در نظر گرفت.

۸-۸-۱-۳ مدل تحلیلی مورد استفاده در آزمون (به زیربند ۸-۲-۹ و ۸-۳-۶ مراجعه شود)؛

۸-۸-۱-۴ دمای تنظیمی یا اندازه‌گیری شده در زمان انجام آزمون؛

۸-۸-۱-۵ گرانروی مناسب مایع مورد استفاده در آزمون؛

۸-۸-۱-۶ ضریب شکست (حقیقی و موهومی)^۲ ذرات سوسپانسیون مایع (در صورتی که تبدیل به حجم لازم باشد).

۸-۸-۱-۷ نام کاربر

۸-۸-۲ برای ارزیابی پایداری، سامانه اندازه‌گیری‌های متوالی مشابه بیش از حد مطلوب (با حداقل ۵ بار در جایی که اغلب ۳ آزمون انجام می‌شود) استفاده می‌شود. با این روش می‌توان ته‌نشین شدن و سایر اثرات نامطلوب موجود در سامانه را مشاهده کرد. به‌طور کلی بهتر است که در ابتدا چندین اندازه‌گیری با زمان کوتاه انجام شود و سپس میانگین مقادیر آن را با مقدار حاصل از یک اندازه‌گیری منفرد با زمان طولانی‌تر مقایسه نمود. برای مثال، انتظار نمی‌رود، نوفه میانی برانجام آزمون نمونه‌های ذرات غبار، تاثیرگذار باشد و لذا با این روش می‌توان نتایج نامناسب را حذف نموده و در تابع همبستگی لحاظ نکرد. زمان مورد نیاز کلی اندازه‌گیری باید مطابق با پیشنهادهای سازنده دستگاه باشد. انتظار می‌رود برای اندازه‌گیری ذرات بزرگتر (دارای حرکت

1- Setup

2- Imaginary

براونی کمتر)، ذرات کوچکتر (دارای پراکندگی ضعیف) و یا ذراتی که ضریب شکست نزدیک به یک دارند (پراکندگی ضعیف) زمان‌های اندازه‌گیری بیشتری مورد نیاز باشد. سرعت شمارش (تعداد فوتون‌های ثبت شده در واحد زمان در پیش‌زمینه) می‌تواند در ارزیابی پهنای نور پراکنده‌شده در هنگام و پس از آزمون مفید باشد و ثبت آن دارای اهمیت است. در برخی از موارد ممکن است با تنظیم غلظت با روزه نور ورودی، نمونه یا هر دو سرعت‌های شمارش خیلی بالا یا خیلی پایین را تصحیح کرد.

۸-۸-۳ سلول/کوت پیش و پس از اندازه‌گیری، برای بدست آوردن شواهدی از وجود ته‌نشینی آزمون شود. در پایان اندازه‌گیری، توزیع اندازه ذرات به صورت گرافیکی و جدول ارائه می‌شود. تکرار در اندازه‌گیری‌ها موجب اطمینان از پایداری مواد در طول زمان می‌شود. میانگین چندین توزیع اندازه‌گیری شده اهمیت پیک‌های اتفاقی با سایر پیک‌های نادرست در توزیع را کاهش می‌دهد.

اساساً این روش میانگین‌گیری یکی از روش‌های مورد استفاده برای تنظیم است. در برخی از موارد با توجه به محدودیت‌های سامانه و مواد می‌توان پدیده‌های جنبشی را دنبال نمود.

۸-۸-۴ عوامل مورد استفاده در مدل‌سازی مانند برازش یا باقیمانده، اغلب در ارزیابی کیفیت نتایج حاصل و ثبت آن‌ها به نحو مقتضی مفید هستند.

۸-۸-۵ دو عامل مهم محاسبه شده یا بدست آمده که بیشتر مفید هستند شامل بندهای زیر است :

۸-۸-۵-۱ متوسط z (یا میانگین کومولانت)؛

۸-۸-۵-۲ ضریب بس پراکندگی (PI).

۸-۸-۶ سایر اطلاعات دیگر نیز می‌تواند ارائه شود. با این وجود، فرض مورد استفاده در به دست آوردن اطلاعات باید به دقت فهمیده شود و همچنین برداشت‌های گزارش این اطلاعات به دقت بررسی شود.

به طور مثال توزیع تعداد دو جسم حاصل از اندازه‌گیری پراکندگی نور پویا (DLS) بهترین کاربرد را برای مقایسات یا تخمین مقادیر نسبی نمونه‌های چندنمایه (با پیک‌های اندازه‌گیری چندگانه) دارند. بنابراین هرگز به صورت مطلق در نظر گرفته نمی‌شود.

۹-۱ تفسیر و مقایسه با سایر روش‌ها

۸-۹-۱ میانگین نتایج حاصل از میانگین وزنی شدت (معمولاً به عنوان z متوسط شناخته می‌شود) که مطابق با چگونگی حرکت ذرات در مایع و برهم‌کنش‌های آن‌ها با نور است.

ذراتی که کروی نیستند به صورت متفاوتی حرکت می‌کنند. بنابراین به صورت معادل و کره‌ای در نظر گرفته‌شوند که ضریب نفوذ مشابه داشته باشد.

وقتی که شدت مناسب با d^6 (یا V^2 یا MW^2) است، z به سمت مقادیر بالاتر توزیع اندازه ذرات وزن‌دهی می‌شود. اگر یک ذره ۱۰۰ نانومتری وجود داشته باشد، شدت معادل با 10^{12} برابر یک ذره ۱ نانومتری خواهد بود. این موضوع با آزمایش‌های کلاسیک پراش لیزر که در آن وزن‌دهی براساس حجم انجام می‌پذیرد، کاملاً متفاوت است (که براساس آن یک ذره ۱۰۰ نانومتری معادل با 10^6 ذره ۱ نانومتری در نظر گرفته می‌شود).

توجه کنید در همه روش‌های میکروسکوپی، وزن‌دهی یک ذره ۱ نانومتری معادل (یا هم وزن) با ذره ۱۰۰ نانومتری است، هر چند به لحاظ وزنی متفاوت باشند (در نتیجه مقادیر آنها). بنابراین تبدیل‌هایی برای سایر توزیع‌ها که انتظار می‌رود خواننده با آنها آشنایی داشته باشد (حجم و تعداد) با خطراتی همراه است (زیر بند ۸-۱۰ مراجعه شود). عموماً عوامل درصدی مانند X_{90} , X_{10} (قطرها یک متر از ۱۰ و ۹۰ درصد از توزیع موجود) برای گزارش‌دهی با استفاده در کنترل کیفی (رد یا قبول) معقول نخواهد بود.

۸-۹-۲ صحت پهنای توزیع موجود (بس پراکندگی) به مدل مورد استفاده (مانند CONTIN, NNIS, کومولانت، ذرات پوشش داده شده و غیره) توسط کاربر، که پیش از آزمون انتخاب می‌شود، بستگی دارد. بنابراین کاربر باید پیش‌اطلاعات مورد نیاز، مانند ماهیت نمونه را داشته باشد تا به معقول بودن یا نبودن، پاسخ گزارش شده، دست‌یابد و مقایسه با سایر روش‌ها برای قابل اطمینان بودن از یک‌دسته از نتایج ضروری است.

در همه موارد، برخی از روش‌های تصویرسازی (میکروسکوپ الکترونیکی تنها برای ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتری ممکن است) با تعداد ذرات معتبر از لحاظ آماری مناسب باشد. این موضوع قابل تلفیق با اطلاعات اندازه ذرات بوده تا تصویر کامل‌تری از مشخصه سامانه به دست آید.

باید توجه داشت اغلب، گرفتن تصاویری از تعدادی از سامانه‌های زیستی به‌طور مثال مانند میسل‌ها یا پروتئین‌ها یا سایر مواد مانند امولسیون‌های معمول در روش‌های خاص (مانند شکست انجمادی^۱) بسیار دشوارتر است.

۸-۹-۳ برای توزیع‌های باریک (با شاخص بس پراکندگی کمتر از ۰/۲) یک مشکل اساسی در ساده‌سازی اطلاعات خام، پراکندگی اندازه ذرات وجود دارد.

در توزیع‌های گسترده‌تر (با شاخص‌های بس پراکندگی بین ۰/۱ تا ۰/۷) الگوریتم‌های توزیع، احتمالاً مفید هستند. در شاخص‌های بس پراکندگی بالاتر (بیش از ۰/۷) انتظار می‌رود که نمونه مناسب برای آزمون طیف‌سنجی همبستگی فوتون نبوده و توزیع پایداری نسبت به زمان نداشته باشد.

۱-۱۰ تبدیل توزیع شدت به سایر توزیع‌های اندازه ذرات

۸-۱۰-۱ در جملات ریاضی، این ساده‌سازی نامناسب بوده و به اشتباه توصیه می‌شود. تغییرات کوچک در داده‌های جمع‌آوری شده می‌تواند موجب تغییرات بسیار زیادی در نتایج حاصل شده و چنین تغییراتی در نتایج باید با احتیاط و دقت مورد توجه قرار گیرد.

برای تبدیل توزیع شدت به توزیع حجمی باید داده‌های آزمون تجربی عاری از نوفه کامل را با ضریب شکست اندازه‌گیری شده صحیح بوسیله تئوری مای تصحیح کرد.

در صورتی که به دست آوردن توزیع تعداد، مورد نظر باشد، در گام نخست استفاده از تجهیزاتی که چنین اطلاعاتی را گردآوری می‌کنند، توصیه می‌شود.

۸-۱۰-۲ در توزیع‌های اولیه گسترده‌تر، خطاهای جدی‌تری در تبدیل وجود دارد و همانطوری که در بندهای قبل ارائه شده است، راه حل‌ها از مشکلات ریاضی نامناسب حاصل شده و بنابراین انتظار می‌رود در معرض خطاهای نامحدودی قرار گیرد.

۸-۱۰-۳ با وجود هشدارهای بالا، تبدیل به توزیع وزن‌دهی شده براساس حجم می‌تواند معیاری از اهمیت نسبی دو پیک و یا بیش از دو پیک باشد. معمولاً دوپیک دیده می‌شوند که پیکی با ظاهری بزرگ و در حال محوشدن و پیک دوم نیز پیکی کوچکتر و با شدت کمتر است که بعد از وزن‌دهی براساس حجم، «مد» شده است. بجز وقتی که ذرات و محیط، ضرایب شکست واقعی بسیار مشابه (تقریباً کمتر از ۰/۰۳) داشته باشند، این تبدیل نسبتاً غیرحساس به ضریب شکست خواهد بود (عوامل اضافی مورد نیاز برای تبدیل).

۹ ارائه گزارش

۹-۱ برای ارائه گزارش به آیین کار E ۱۶۱۷ مراجعه شود.

۹-۲ علاوه بر اطلاعات جداول و شکل‌ها، حداقل موارد (بندهای زیر) لازم جهت ارائه در گزارش عبارتند از:

۹-۲-۱ نوع دستگاه، سازنده و شماره سریال یا اموال آن، همچنین نسخه نرم‌افزار مورد استفاده؛

۹-۲-۲ تاریخ و نتایج آخرین صحنه‌گذاری جزئیاتی از ردیابی استانداردهای مورد استفاده؛

۹-۲-۳ تاریخ اندازه‌گیری به همراه نام و سمت کاربر؛

۹-۲-۴ جزئیات نمونه - شامل ترکیب شیمیایی - اطلاعات مرتبط با شکل آن به خصوص اگر با SEM بدست آمده باشد، مفیدتر خواهد بود؛

۹-۲-۵ جزئیات شرایط پراکنده‌سازی (غلظت مواد، مایع مورد استفاده، زمان فراصوت، بسامد و قدرت، مواد فعال‌کننده و پایدارکننده، در صورت استفاده و غلظت آنها) و شواهدی از فرایند کامل پراکنده‌سازی یا اندازه ذرات اولیه بدست آمده‌اند؛

۹-۲-۶ شرایط اندازه‌گیری؛

زمان اندازه‌گیری، طول موج لیزر، دوره‌زمانی پایداری پیش از اندازه‌گیری، دما و تعداد اندازه‌گیری؛

۹-۲-۷ حداقل ۵ آزمایش متوالی مشابه؛

این ۵ آزمون پایداری مواد (به‌ویژه) و دستگاه‌ها را در هنگام اندازه‌گیری تایید می‌کند؛

استفاده از انحراف استاندارد نسبی (RSD) یا ضریب تغییرات (CV) بسیار توصیه می‌شود؛

$$RSD = \frac{100s}{\text{میانگین}}$$

۹-۲-۸ حداقل ۳ نمونه، نمونه‌های مشابه جداگانه از یک‌بهر مشابه تحت شرایط یکسان اندازه‌گیری و حداقل اندازه‌گیری ۵ تکرار مشابه می‌شود؛

این کار همگن بودن یا ناهمگن بودن بهر اولیه و تک‌تک نمونه‌های مشابه را تایید می‌کند.

۹-۲-۹ شرایط ساده‌سازی.

۹-۲-۹-۱ گرانروی محیط (معادله استوکس انیشتین)؛

باید توجه داشت که گرانروی ذره (ها) مورد آزمون، با محیط برهم‌کنش کرده و در نتیجه به سمت تغلیظ بیشتر و سوسپانسیون با غلظت بالاتر می‌رود. این گرانروی معادل گرانروی در مقدار تنش صفر است؛

۹-۲-۹-۲ دما مطلق نمونه؛

۹-۲-۹-۳ غلظت؛

به‌طور ایده‌آل به تعداد ۳ غلظت متوالی یا بیشتر برای اطمینان از غلظت صحیح نتایج پایدار مورد نیاز است. بطور کلی :

الف - غلظت پایین‌تر باعث ایجاد خطر نسبت سیگنال به نوفه ضعیف‌تر (بنابراین تکرار پذیری ضعیف‌تر)؛

ب - غلظت بالاتر موجب احتمال بیشتر پراکندگی چندگانه شده و سبب کاهش اندازه ذرات ظاهری می‌شود. به احتمال زیاد محیطی مناسب غلظت خواهد بود (معمولاً بیش از سه دهه یا بیشتر) که ترکیب مناسبی از سیگنال به نوفه و بدون پراکندگی چند گانه داشته باشد این ناحیه با آزمون‌های تجربی بهتر مشخص می‌شود.

۱۰ دقت و اریبی^۱

۱-۱۰ دقت

این روش آزمون بر اساس مطالعات بین‌آزمایشگاهی بر اساس استاندارد ASTM E2490 است، اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات نانومواد در سوسپانسیون به روش طیف‌سنجی همبستگی فوتون (PCS) سال ۲۰۰۸ است. نتایج این مطالعه از ۲۶ آزمایشگاه همکار در ترکیبات متفاوت برای آزمون ۵ ماده مختلف به‌دست آمده است. همه نتایج آزمون گزارش شده نشان‌دهنده یک مقدار تعیین‌شده جداگانه است. هر آزمایشگاه همکار نتایج آزمون را برای هر ماده، بین ۱ و ۴ مشابه گزارش کرد، بجز در موارد محدودی که دو تکرار یا آزمون داده‌ها کمتر از ۶ آزمایشگاه به روی مواد خاص و ترکیبات آزمون، انجام شود. طراحی و آزمون داده براساس آیین کار ASTM E691 انجام می‌گردد که جزییات آن در گزارش تحقیق ASTM ارائه شده است.

۱-۱-۱۰ حد تکرارپذیری (R): دو نتیجه آزمون بدست آمده در یک آزمایشگاه در صورتی مساوی نیستند که اختلاف آن‌ها باید برای مواد بیشتر از مقدار R باشد.

فاصله بحرانی بین دو نتیجه آزمون برای مواد مشابه که توسط یک آزمون‌کننده و با استفاده از تجهیزات مشابه در یک روز و در آزمایشگاه مشابهی مورد آزمون قرار می‌گیرد، R می‌باشد. حدود تکرارپذیری در جدول ۲ فهرست شده است.

۲-۱-۱۰ حد تجدیدپذیری (R): دو نتیجه آزمون وقتی مساوی نیستند که اختلاف آن‌ها بیش از مقدار R برای مواد باشد. فاصله بحرانی بین دو نتیجه آزمون برای مواد مشابه که توسط یک آزمون‌کننده و با استفاده از تجهیزات مشابه در یک روز و در آزمایشگاه مشابهی مورد آزمون قرار می‌گیرد، R می‌باشد. حدود تجدیدپذیری در جداول ۲ تا ۸ فهرست شده است.

۳-۱-۱۰ اصطلاحات بالا (حد تجدیدپذیری و حد تکرارپذیری) بصورت ویژه در آیین‌کار E177 ارائه شده است.

۴-۱-۱۰ هرگونه قضاوت در مورد تطابق با بندهای ۱-۱-۱۰ و ۲-۱-۱۰ معمولاً با احتمال حدود ۹۵ درصد صحیح است، در صورتی که تمامی شاخص‌های آماری دقت بدست آمده در این ILS به عنوان مقادیر ریاضی معین در نظر گرفته نمی‌شود، با این وجود قابل اجرا برای تمامی شرایط و کاربردها هستند.

تعداد محدودی از آزمون‌های مشابه و نتایج گزارش آزمایشگاهی تضمین‌کننده این است که تفاوت‌هایی بیش از مقادیر پیش‌بینی شده به وسیله نتایج این ILS افزایش خواهد یافت که گاهی به دلیل افزایش قابل ملاحظه یا فرکانس‌های کوچکتر از حد احتمالی ۹۵٪ است. حدود تکرارپذیری و تجدیدپذیری بهتر است به عنوان راهنمای عمومی مورد توجه قرار بگیرد و احتمال ۹۵٪ به عنوان تنها یک شاخص دشوار مورد انتظار خواهد بود.

۲-۱۰ اریبی

۱-۲-۱۰ اریبی با توجه به مواد مرجع موجود، محاسبه می‌شود.

۳-۱۰ مواد مورد استفاده در محاسبه اریبی

دقت به وسیله آزمون‌های آماری حاصل از ۱۷۲۳ نتیجه توسط ۲۶ آزمایشگاه بر روی ۵ ماده شامل موارد زیر است.

۱-۳-۱۰ نمونه A نانوذرات طلا با قطر اسمی ۱۰ نانومتر (RM- 8011)؛

۲-۳-۱۰ نمونه B نانوذرات طلا با قطر اسمی ۳۰ نانومتر (RM- 8012)؛

۳-۳-۱۰ نمونه C نانوذرات طلا با قطر اسمی ۶۰ نانومتر (RM- 8013)؛

۴-۳-۱۰ نمونه D نمونه درختسان‌های G6 PAMAM-DAB (با عامل دارشدن OH)؛

۵-۳-۱۰ نمونه E نمونه درختسان‌های G6 PAMAM-DAB (با عامل دارشدن NH₂)

جدول ۲- مقدار میانگین مقدار Z، DLS (بر حسب نانومتر) برای تجزیه و تحلیل کومولانت داده‌ها

ماده	میانگین ^۱	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاه‌ها	تکرار پذیری انحراف استاندارد	تجدید پذیری انحراف استاندارد	حد تکرار پذیری	حد تجدید پذیری	تعداد گزارش آزمایشگاه‌ها
	\bar{X}	$\sigma_{\bar{X}}$	σ_r	σ_R	r	R	n
نمونه A- ترکیبی	۱۵/۸	۴/۲	۲	۴/۷	۵/۷	۱۳/۱	۱۳
نمونه B- ترکیبی	۳۱/۲	۳/۶	۲	۴/۱	۵/۷	۱۱/۵	۱۳
نمونه C- ترکیبی	۵۹/۸	۵/۰	۵	۶/۸	۱۳/۹	۱۹/۲	۱۳
نمونه D- ترکیبی	۸/۰	۲/۴	۰/۹	۲/۶	۲/۶	۷/۲	۱۲
نمونه E- ترکیبی	۶/۷	۱/۸	۰/۹	۲/۰	۲/۶	۵/۶	۱۲

۱ متوسط مقادیر میانگین محاسبه شده آزمایشگاه‌ها

یادآوری- تمام داده‌های آزمایشگاه‌های ۱۱ و ۲۲ از محاسبات قطر Z میانگین DLS پس از آنکه مشخص شد، داده‌های خارج از محدوده هستند، حذف شد

جدول ۳- شاخص بس پراکندگی DLS (بدون واحد) برای تجزیه و تحلیل کومولانت داده‌ها

ماده	میانگین ^۱	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاه‌ها	تکرار پذیری انحراف استاندارد	تجدید پذیری انحراف استاندارد	حد تکرار پذیری	حد تجدید پذیری	تعداد گزارش آزمایشگاه‌ها
	\bar{X}	$\sigma_{\bar{X}}$	σ_r	σ_R	r	R	n
نمونه A- ترکیبی	۰/۲۸۹	۰/۲۲۴	۰/۱۴۸	۰/۲۶۴	۰/۴۱۴	۰/۷۴۰	۱۲
نمونه B- ترکیبی	۰/۲۱۲	۰/۱۷۰	۰/۰۵۸	۰/۱۷۸	۰/۱۶۳	۰/۴۹۹	۱۲
نمونه C- ترکیبی	۰/۱۶۵	۰/۱۳۹	۰/۰۱۹	۰/۱۴۰	۰/۰۵۳	۰/۳۹۲	۱۲
نمونه D- ترکیبی	۰/۱۵۹	۰/۱۷۷	۰/۰۷۶	۰/۱۹۱	۰/۲۱۴	۰/۵۳۵	۱۲
نمونه E- ترکیبی	۰/۱۷۶	۰/۰۹۸	۰/۰۵۴	۰/۱۱۰	۰/۱۵۲	۰/۳۰۹	۱۲

۱ متوسط مقادیر میانگین محاسبه شده آزمایشگاه‌ها

یادآوری- تمام داده‌های آزمایشگاه ۱۱ از محاسبات شاخص بس پراکندگی DLS، بعد اینکه به عنوان داده‌های خارج از محدوده تشخیص داده شد، حذف شدند.

جدول ۴- قطر میانگین (بر حسب نانومتر) شدت DLS برای تجزیه و تحلیل توزیع

ماده	میانگین	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاهها	تکرار پذیری انحراف استاندارد	تجدید پذیری انحراف استاندارد	حد تکرار پذیری	حد تجدید پذیری	تعداد گزارش آزمایشگاهها
	\bar{X}	$\sigma_{\bar{X}}$	σ_r	σ_R	r	R	n
نمونه A- ترکیبی	۱۵/۲۱	۳/۳۰	۱/۰۲	۳/۴۴	۲/۸۷	۹/۶۴	۸
نمونه B- ترکیبی	۳۲/۷۴	۳/۱۵	۱/۳۷	۳/۴۱	۳/۸۵	۹/۵۴	۸
نمونه C- ترکیبی	۶۳/۰۵	۳/۶۵	۱/۰۹	۳/۷۹	۳/۰۶	۱۰/۶۱	۸
نمونه D- ترکیبی	۸/۵۱	۲/۱۷	۰/۹۳	۲/۳۴	۲/۶۱	۶/۵۵	۹
نمونه E- ترکیبی	۶/۷۴	۲/۳۱	۰/۶۳	۲/۳۹	۱/۷۸	۶/۶۹	۹

جدول ۵ - قطر میانگین حجمی DLS (بر حسب نانومتر) برای تجزیه و تحلیل توزیع و تبدیل قطر میانگین شدت

ماده	میانگین	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاهها	تکرار پذیری انحراف استاندارد	تجدید پذیری انحراف استاندارد	حد تکرار پذیری	حد تجدید پذیری	تعداد گزارش آزمایشگاهها
	\bar{X}	$\sigma_{\bar{X}}$	σ_r	σ_R	r	R	n
نمونه A- ترکیبی	۱۰/۸۰	۳/۳۰	۱/۰۲	۳/۴۴	۲/۸۷	۹/۶۴	۸
نمونه B- ترکیبی	۲۷/۳۷	۳/۱۵	۱/۳۷	۳/۴۱	۳/۸۵	۹/۵۴	۸
نمونه C- ترکیبی	۵۵/۳۷	۳/۶۵	۱/۰۹	۳/۷۹	۳/۰۶	۱۰/۶۱	۸
نمونه D- ترکیبی	۷/۶۶	۲/۱۷	۰/۹۳	۲/۳۴	۲/۶۱	۶/۵۵	۹
نمونه E- ترکیبی	۵/۸۸	۲/۳۱	۰/۶۳	۲/۳۹	۱/۷۸	۶/۶۹	۹

جدول ۶- قطر میانگین TEM (بر حسب نانومتر)

ماده	میانگین	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاهها	تکرار پذیری انحراف استاندارد	تجدید پذیری انحراف استاندارد	حد تکرار پذیری	حد تجدید پذیری	تعداد گزارش آزمایشگاهها
	\bar{X}	$\sigma_{\bar{X}}$	σ_r	σ_R	r	R	n
نمونه A- ترکیبی	۹/۱۵	۱/۰۱	۰	۱/۰۱	۰	۲/۸۴	۱۱
نمونه B- ترکیبی	۲۷/۴۷	۲/۱۸	۰	۲/۱۸	۰	۶/۱۰	۱۱
نمونه C- ترکیبی	۵۲/۲۱	۱۲/۲۸	۱/۹۶	۱۲/۳۵	۵/۴۹	۳۴/۵۹	۱۱

جدول ۷ - قطر میانگین SEM (برحسب نانومتر)

تعداد گزارش آزمایشگاه‌ها	حد تجدیدپذیری	حد تکرارپذیری	تجدید پذیری انحراف استاندارد	تکرارپذیری انحراف استاندارد	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاه‌ها	میانگین	ماده
n	R	r	σ_R	σ_r	$\sigma_{\bar{X}}$	\bar{X}	
۶	۴/۷۷	-	۱/۷۰	-	-	۹/۶۸	نمونه A- ترکیبی
۶	۱۰/۳۶	-	۳/۷۰	-	-	۲۹/۳۰	نمونه B- ترکیبی
۶	۷/۹۸	-	۲/۸۵	-	-	۶۰/۶۸	نمونه C- ترکیبی

جدول ۸ - میانگین حداکثر ارتفاع AFM (برحسب نانومتر)

تعداد گزارش آزمایشگاه‌ها	حد تجدیدپذیری	حد تکرارپذیری	تجدید پذیری انحراف استاندارد	تکرارپذیری انحراف استاندارد	انحراف استاندارد میانگین آزمایشگاه‌ها	میانگین	ماده
n	R	r	σ_R	σ_r	$\sigma_{\bar{X}}$	\bar{X}	
۸	۲/۹۸	۰/۱۱	۱/۰۶	۰/۰۴	۱/۰۶	۷/۶۳	نمونه A- ترکیبی
۸	۵/۰۴	۰/۰۶	۱/۸۰	۰/۰۲	۱/۸۰	۲۵/۵۶	نمونه B- ترکیبی
۸	۴/۸۹	۰/۶۶	۱/۷۵	۰/۲۴	۱/۷۴	۵۴/۵۵	نمونه C- ترکیبی

پیوست الف
(الزامی)
تفسیر نتایج بین آزمایشگاهی

الف - ۱ ابتدا باید به این نکته توجه داشت که این پیوست مربوط به یک مطالعه بین آزمایشگاهی است. لذا ارقام گزارش شده (دقت و اریبی) نشان‌دهنده عملکرد کلی آزمایشگاه در فرایند آماده‌سازی نمونه و ارائه گزارش است و نمی‌توان آن را کاملاً شاخصی از تنوع‌پذیری روش، قلمداد کرد.

همچنین یادآوری می‌شود که پیوست ب، گزارش RR:E56-1001 دستگاههای اندازه‌گیری متعدد، طول موج‌های لیزر و مدل‌های تجزیه و تحلیل مختلف و دماهای گوناگونی را برای اندازه‌گیری و آزمون‌های ثانویه در نظر گرفته‌است. وقتی که اثرات ناشی از اغلب این متغیرها، کوچک در نظر گرفته شده یا (برای مواردی مانند دما/ گرانی) اصلاح شده باشند، قطعاً تفاوت‌های مشخص (و معنادار) در نتایج ایجاد خواهد شد.

برای مثال زاویه اندازه‌گیری شده پراکندگی پیشین، عموماً حساس‌تر به ذرات با اندازه بزرگتر است و بنابراین حداقل از لحاظ تئوری ممکن است وابستگی زاویه کمی بروی نتایج گزارش شده داشته باشد. همه این عوامل بر اساس این واقعیت که با نمونه‌های درختسان و کلئیدی طلا دارای توزیع باریک (نزدیک توزیع منفرد) و نیز اندازه ناحیه رایلی ($d \leq \frac{\lambda}{10}$) که تغییرات زاویه‌ای وجود ندارد یا به مقدار کم وجود دارد کاهش می‌یابد. بنابراین مطالعات بین آزمایشگاهی بهتر است به طور معقولانه‌ای پایداری نتایج به تغییرات این دسته را داشته باشد. به همین نحو، مدل آزمون مورد استفاده احتمالاً اهمیت کمی در گستره توزیع در ۵ ماده مورد آزمون دارد.

الف - ۲ علیرغم توضیح بند فوق، هنگامی که اندازه ذرات به دقت اندازه‌گیری می‌شود، سه ماده کلئید طلا (RM8013, RM 8012, RM 8011) می‌تواند شاخص بسیار عالی برای انحراف بالقوه در یک آزمایشگاه باشد. آزمایشگاهی که نتواند تطابق قابل‌قبولی (± 3) با نتایج تاییدشده دست یابد، خطای مجاز بهتر است به وسیله روش اندازه‌گیری آن و نیز احتمال آسیب نمونه (بطور مثال انجماد) در حین کار، مورد آزمون قرار گیرد. بزرگترین مزیت چنین آزمایشگاه‌هایی این است که ماده طلای مورد آزمون بوسیله NIST آن‌طوری که آنها می‌خواهند قابل دسترس هستند. همچنین این موضوع در مورد درختسان‌های G6 نیز صادق است با این تفاوت که چالش بیشتری در اندازه‌گیری به وسیله PCS وجود دارد.

الف - ۳ هدف اصلی مطالعات بین آزمایشگاهی، ارائه دقت و انحراف یک استاندارد بوده و هدف دوم جمع‌آوری اطلاعات مربوط به اجرای روش PCS در مجموعه مواد نانومقیاس است. در هر صورت با توجه به اینکه تعداد زیادی از آزمایشگاه‌ها از سایر روش‌های مکمل که برای تایید نتایج PCS استفاده می‌کنند، به این باور رسیده شد که از شرکت کنندگان، استفاده از این روش‌ها (در صورت دسترس بودن) و داده‌های استنباط

شده از آن، سوال شود. روش‌های میکروسکوپی مورد استفاده در این استاندارد از لحاظ ارائه تصویری از مواد مورد آزمون بسیار ارزشمند بود .
یادآوری- در بخش استنباطی این استاندارد فقط از نمونه‌های طلا استفاده شده است .

جدول الف ۱- نتایج بین آزمایشگاهی

نمونه	Z میانگین بر حسب نانومتر	عدم قطعیت (±)	شاخص پراکندگی	عدم قطعیت (±)
RM8011	۱۳/۵	۰/۱	-	
متوسط ILS	۱۵/۳	۴/۴	۰/۲۸۹	۰/۲۲۴
RM8012 (۱۷۳ درجه)	۲۸/۶	۰/۹	-	
RM8012 (۹۰ درجه)	۲۶/۵	۳/۶	-	
متوسط ILS	۳۰/۷	۴/۰	۰/۲۱۲	۰/۱۷
RM8013 (۱۷۳ درجه)	۵۶/۶	۱/۴	-	
RM8013 (۹۰ درجه)	۵۳/۳	۸/۳	-	
متوسط ILS	۵۸/۹	۵/۷	۰/۱۶۵	۰/۱۳۹
نمونه G6(D)	۶/۷	-		
متوسط ILS	۷/۸	۲/۴	۰/۱۵۹	۰/۱۷۷
نمونه G6(D)	۶/۷	-		
متوسط ILS	۶/۴	۲/۰	۰/۱۷۶	۰/۰۹۸

یادآوری- آزمایشگاه ۱۱ و ۱۲ از محاسبات میانگین ILS از شاخص بس پراکندگی حذف شد. داده‌های NIST تنها به نمونه های ۳ RM اختصاص دارد و با ۹۵٪ از حدود اطمینان تقریباً ± 2 انحراف استاندارد مطابقت دارد

الف-۴ دو اندازه اصلی که از اندازه‌گیری به روش PCS به دست می‌آیند، شامل اندازه Z میانگین بس-پراکندگی (PI) هستند که ضریب بس‌پراکندگی برای بیان پهنای توزیع است. سایر عوامل گزارش شده (شامل میانگین حجم و ثروت) به انواع تجهیزات و مدل‌های آزمون بستگی دارند. تبدیل شدت به میانگین حجمی، وقتی که ورودی خواص نوری موردنیاز است، از لحاظ ریاضی نامناسب است. همچنین در مورد توزیع با ماهیت باریک مورد اشاره در این استاندارد احتمالاً این ذرات را به حداقل می‌رساند.

الف-۵ با در نظر گرفتن ملاحظات مقتضی فوق می‌توان نتایج بدست آمده بر روی مقادیر استاندارد به وسیله NIST را در آزمایشگاه‌های مختلف مقایسه کرد. همچنین باید توجه شود که مقادیر استاندارد NIST از اندازه‌گیری‌های خیلی دقیق بر مبنای اندازه‌گیری جداگانه برای هر زاویه پراکندگی تحت بهترین شرایط ممکن به دست آمده است. بدیهی است از این روش می‌توان برای اندازه‌گیری سایر روش‌ها استفاده کرد. البته این استاندارد تنها به روش اندازه‌گیری پراکنش نور محدود می‌شود. همچنین بدیهی است هر آزمایشگاه می‌تواند نتایج خود را با نتایج میانگین NIST مقایسه کند.

الف-۱-۶ در مورد مواد طلای مورد آزمون میانگین گروه بندی شده نتایج نزدیک بهم است ولی بیش از مقادیر آن در NIST است با توجه به تمام خطاهای بالقوه (آلودگی و زمان ناکافی برای به تعادل رسیدن) که احتمالاً موجب افزایش نتایج اندازه می‌شود مورد انتظار است. همچنین این موضوع به پراکندگی نتایج ILS این استاندارد اشاره می‌کند که تمایل به گسترده شدن نسبت به NIST دارد.

الف-۱-۷ تعداد اعشار میانگین Z در جدول الف-۱ تیک رقم گرد شده است. با توجه به عدم قطعیت در روش تجزیه و تحلیل داده‌ها، این بسیار غیرمحمتمل است که اندازه‌گیری PCS دارای دقت بهتری شود و یا افزودن اعداد اعشاری معنادار شود.

الف-۱-۸ به عنوان یک قانون کلی مشاهده می‌شود که با نمونه‌های مشابه ثانویه و بعدی بهبود در گزارش نتایج حاصل شود. این ممکن است به علت کسب تجربه بیشتر و افزایش پاکیزگی، به علت شست‌وشوی نمونه با نمونه‌های بعدی باشد.

به طور همزمان با مطالعه حاضر، مطالعات بین آزمایشگاهی (ILS#202, ILS#211) از نظر (همولیز و سمیت سلولی) و با همان مواد مورد آزمون انجام شد و نتیجه گرفته شد که آموزش و تمرین نقش مهمی در نزدیکی نتایج حاصل ایفا می‌کند. همین موضوع ممکن است با احتمال بسیار کمی درست باشد.

الف-۱-۹ سخت‌ترین اندازه‌گیری‌ها مربوط به کوچکترین مواد (RM 8011 و درختسان G6) بود که این موضوع مورد انتظار بود. یک نتیجه غیرقابل انتظار این بود که آزمایشگاه‌ها عملکرد خوبی در مورد دو نمونه خیلی کوچک ولی با یکنواختی بالا و مواد درختسان G6 با توزیع منفرد را داشتند. از نظر تئوری وقتی ضریب بس‌پراکندگی و مواد درختسان G6 نزدیک صفر باشند، به این معنی است که آنها به خوبی به اجزا مولکولی تفکیک شده‌اند. بنابراین هر مقدار به دست آمده از بس‌پراکندگی در اندازه‌گیری کاملاً درست بس‌پراکندگی این مواد، شاخصی از ماهیت نامناسب ساده‌سازی کورلوگرام است. بنابراین یک موضع مورد

بحث ریاضی در کورلوگرامها یا آلودگی به ذرات بزرگ در نمونه مورد آزمون، احتمالاً موجب بس پراکندگی آشکاری می شود.

کتابنامه

- [1] Provencher, S. W., "Contin: A General Purpose Constrained Regularization Program for Inverting Noisy Linear Algebraic and Integral Equations," *Comput. Phys. Commun.*, Vol 27, 1982, p. 229.
- [2] Hunter, R. J., *Zeta Potential in Colloid Science*, Academic Press, New York, 1981.
- [3] Cummins, H. Z., and Pike, E. R., Eds., "Photon Correlation and Light Beating Spectroscopy," *NATO Advanced Study Institute Series B*: ed., Academic Press, 1991.
- [4] Johnsen, R. M., and Brown W., "An Overview of Current Methods of Analysing QLS Data," *Laser Light Scattering in Biochemistry*, S.E, Harding, D. B. Sattelle, and V. A. Bloomfield, Eds., Royal Society of Chemistry (UK) Special Publication No. 99, 1992, pp. 77–91.
- [5] Finsy, R., de Jaeger, N., Sneyers, R., and Geladé, E., "Particle Sizing by Photon Correlation Spectroscopy. Part III: Mono and Bimodal Distributions and Data Analysis," *Particle and Particle Systems Characterization*, Vol 9, Issue 1–4, 1992, pp. 125–137.
- [6] Chu, B., *Laser Light Scattering Basic Principles and Practice*, 2nd ed., Academic Press, 1991.
- [7] Provencher, S. M., "Low-Bias Macroscopic Analysis of Polydispersity," *Laser Light Scattering in Biochemistry*, S. E. Harding, D. B. Sattelle, and V. A. Bloomfield, Eds., Royal Society of Chemistry (UK) Special Publication No. 99. *opp cit*.
- [8] Provencher, S. W., "A Constrained Regularization Method for Inverting Data Represented by Linear Algebraic or Integral Equations," *Comput. Phys. Commun.*, 27, 213, 1982.
- [9] Provencher, S. W., "Inverse Problems in Polymer Characterization: Direct analyze of Polydispersity with Photon Correlation Spectroscopy", *Makromol. Chem.*, 180, 201, 1979.
- [10] Jillavenkatesa, A., Lin-Sien H. Lum, and Dapkunas S. *Particle Size Characterization*, NIST SP 960.1. Available as a pdf download from <http://www.ceramics.nist.gov/pubs/practice.htm>
- [11] Allen, T., *Particle Size Measurement*, 5th Edition, Vol 1, Chapman & Hall, 1993. Chapter 1 deals with sampling.