

Kolloidanalytik

• In der Kolloidanalytik interessieren uns

- Eigenschaften von Partikeln

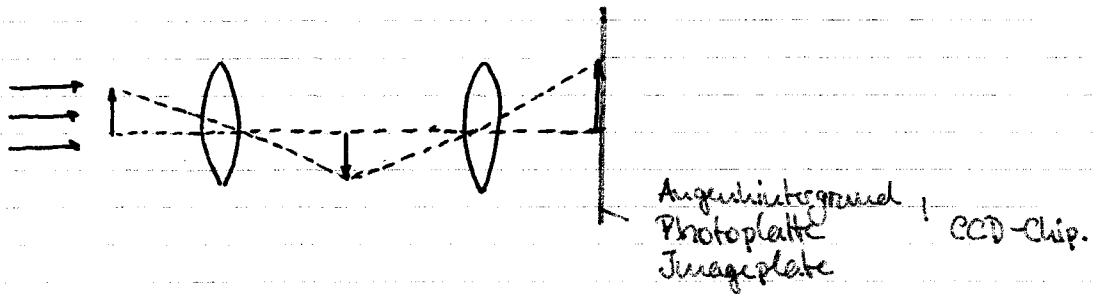
- Größe
- Form
- Ladung
- Kräfte zwischen Partikeln
- Brechungsindex, Schmelzpunkt, Dielektrizitätszahl

- Eigenschaften von Dispersionen

- Stabilität
- durchschnittliche Eigenschaften (Materialbezogen)
- Viskosität, viskoelastisches Verhalten

1) Größencharakterisierung:

Direkt abbildende Methoden (Linsenoptik, Spiegeloptik)



z.B. • Lichtmikroskop

- erlaubt Größenbestimmung bis hinunter auf ca. 1µm Durchmesser. Darunter begrenzen Beugungslimitierung und optische Fehler / Fehljustagen die Genauigkeit.
- Mikroskopie mit weißem Licht hat das Problem, dass die Fokusebene (geringfügig) von der Wellenlänge abhängt. Daher benutzt man dafür präzise Messungen häufig monochromat. Licht.
- Die Auflösung eines Mikroskops hängt nicht nur von der Wellenlänge der Strahlung, sondern auch von der Apparatur ab, d.h. von dem Öffnungswinkel unter dem sie Licht aus ihrer Probe sammeln.

Wenn zwischen Probe und Objektiv ein Luftspalt ist, wird durch die Lichtbrechung an der Probenoberfläche die Apparatur verkleinert.

Denn kann man begegnen, indem man das Objektiv in die Probe eintaucht, d.h. man füllt den Spalt mit einer sauberen, klaren Flüssigkeit, dem sog. Immersionsöl.

Diese Technik bedarf einer speziellen Immersionstechnik.

- Die Größe von Partikeln  $< 1 \mu\text{m}$  ist mit einem Lichtmikroskop nicht verlässlich erfassbar.
  - Aber Partikel  $< 1 \mu\text{m}$  sind als Beugungsmuster immer noch sichtbar.
  - Auch die Position eines Partikels lässt sich mit Augenhorn-Genauigkeit feststellen.
- Damit man Aussagen <sup>mit</sup> dieser Genauigkeit machen kann, muss das Mikroskop kalibriert und durch Linsenfehler bzw. sphärische Aberration entstehende Fehler entzerrt werden.

### Beleuchtungstechniken:

- Auflichtmikroskopie (Objekt wird von oben beleuchtet und betrachtet)
  - > ergibt guten Kontrast, wenn die Probe unterschiedliche reflektierende Bereiche aufweist.
  - > Topographieunterschiede ergeben jedoch keinen guten Kontrast
- Mikroskope mit schrägbeleuchtung
  - hilft Topographie-Kontraste sichtbar zu machen.

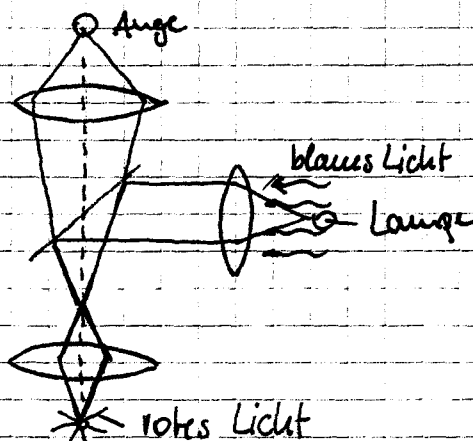
16.04.09

- Durchlichtmikroskopie (Objekt wird von unten beleuchtet und von oben betrachtet)
  - zeigt Unterschiede in der Transmission oder im Brechungsindex

### Bildbearbeitung:

- Subtraktion und Addition von Bildern.
- Zusammensetzen von Bildern aus Einzelbildern z.B. unter unterschiedlicher Fokussierung.

### Fluoreszenzmikroskopie:



- Bei der Fluoreszenzmikroskopie wird die Probe von der Blickrichtung des Objektivs aus mit Licht einer kurzen Wellenlänge beleuchtet

(- meist durch das Objektiv hindurch)

- Streulicht der gleichen Wellenlänge wird durch Spiegel und Filter ausgeblendet. Fluoreszenzlicht längerer Wellenlänge wird hingegen durch das Okular auf das Auge bzw. Camera abgebildet.

- Vorteil:
- Fluoreszenzmikroskopie erlaubt ein selektives Anfärben, z.B. auch von biologischen Proben, ohne deren Funktion zu beeinträchtigen
  - Erlaubt sehr hohe Beleuchtungsintensitäten ohne, dass Streulicht stört  
→ sehr hoher Kontrast.

- Nachteil:
- Auflösung wird schlechter bzw. Einstellen der Optik aufwendiger.

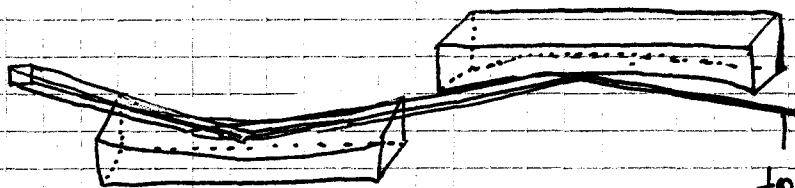
### Röntgenmikroskopie:

- ganz normale Lichtmikroskopie allerdings ist der Brechungsindexunterschied zwischen Vakuum und Materie äußerst gering.
- zum Fokussieren benötigen wir eine Linsenkaskade von mehreren dutzend Linsen

XXXXXXXX...

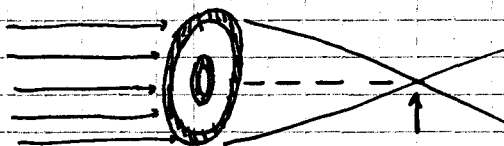
← für Röntgenlicht sind das Sammellinsen.

oder eine Spiegeloptik.



fokussierter Strahl

- Fresnelche Zoneplatten



konstruktive Interferenz in einem Punkt

(mit jeder Platte verringert sich ca. 50% der Intensität)

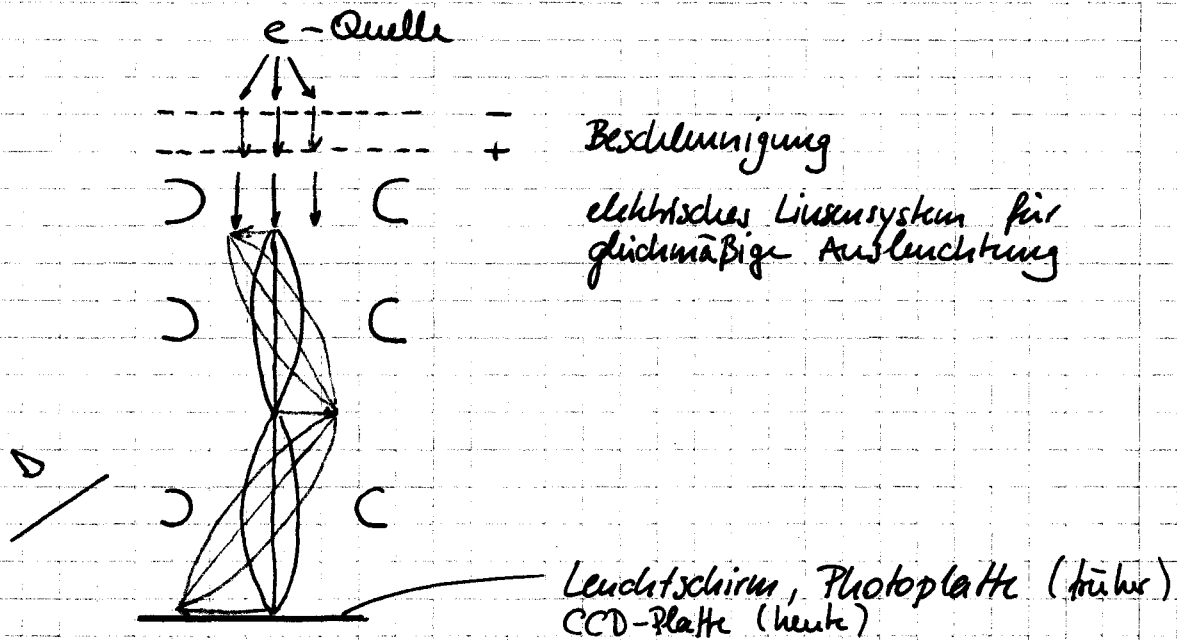
- alle drei Verfahren zur Bündelung von Röntgenstrahlung bedecken einen enormen Intensitätsverlust

→ man benötigt eine brillante Röntgenquelle.

23.04.09

Elektronenmikroskopie: (Transmissionselektronenmikroskopie TEM)

- Prinzip ist sehr ähnlich zu einem optischen Mikroskop
- es werden allerdings keine elektromagnetischen Strahlen verwendet sondern Elektronen
- durch gezielt gewählte elektrische und magnetische Felder werden die Flugbahnen der  $e^-$  so gesteuert, als hätte man Linsen.



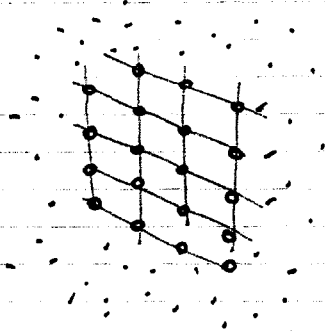
Vorteil: • eine deutlich bessere Auflösung als optische Transmissionsmikroskopie bis hinunter zu atomarer Auflösung

Nachteil: • um eine ausreichende Transmission zu erreichen, muss die Probe dünn sein

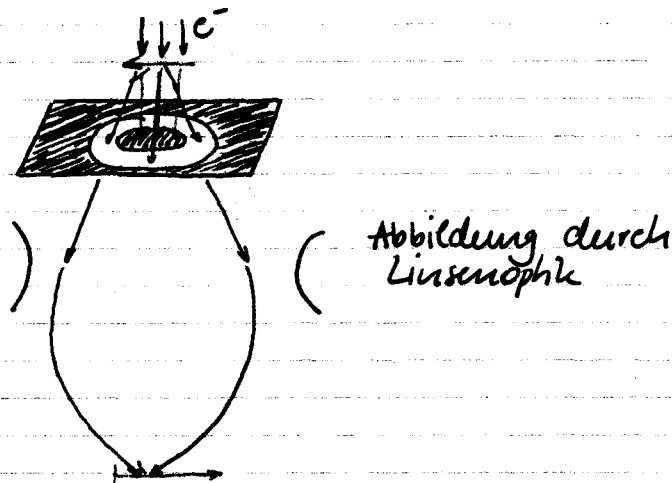
- Der Strahlengang muss gestreut sein

## Besondere Mikroskopietechniken

- Bestimmung von kristallinen Verbindungen aus Aufnahmen mit atomarer Auflösung (Vermessen der Elementarzellen oder charakteristische Abstände zwischen Gitterebenen.)



- Dunkelfeldaufnahme



- Bei einer polykristallinen Probe deren Kristallite chaotisch orientiert sind finden sich stets Kristallite die so orientiert sind, dass sie für eine bestimmte Netzebene die Braggsche Bedingung erfüllen.

- Wählt man durch eine kreisförmige Schlitzeblende die Elektronen aus, die die Probe unter diesem Winkel verlassen und blendet alle anderen Elektronen weg, so sind in der entsprechenden Aufnahme nur die Kristallite sichtbar, die zu der gesuchten Verbindung gehören (und günstig orientiert sind)

- Elektronenbeugung

- erlaubt im Prinzip die gleiche Strukturklärung wie die Röntgenstrukturanalyse, d.h. wir können mit dem Elektronenmikroskop einen interessanten Bereich sehen und nur von diesem eine Strukturklärung durchführen

• Elementspezifische Aufnahme durch Selektion elastisch gestreuter Elektronen

- Durch elastische Streuprozesse verliert ein geringer Teil der Elektronen einen charakteristischen Betrag an Energie. Dieser Energiebetrag hängt davon ab, an welchem Element das Elektron gestreut wurde.
- Wir können mit einem Energiefilter diejenigen Elektronen selektieren, die einen von uns gewählten Energiebetrag verloren haben und daher nur aus solchen Bereichen kommen können, die das von uns gesuchte Element enthalten.

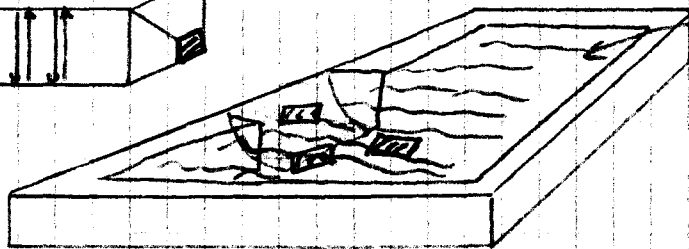
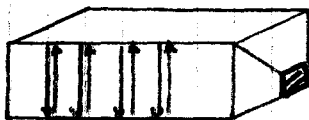
können, die das von uns gesuchte Element enthalten.

30.04.03

### Probenpräparation

Ziel: Herstellen einer durchstrahlbaren Probe

- Feststoffe werden geschnitten, geschliffen oder durch Strahlung ausgedünnt
- Schneiden erfolgt i.d.R. mit einem Mikrotom



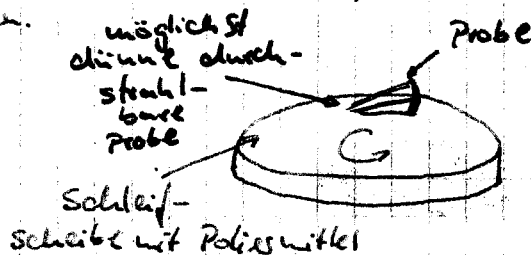
mit  $H_2O$   
(oder  $H_2O$ /Glycerin-  
Mischung)  
getaucht

Die abgeschliffenen Scheiben werden mit einem Elektronenmikroskopieobjektträger herausgefischt und ins

Elektronenmikros-  
TEM montiert.



- Proben, die zum Schneiden zu spröde sind, können geschliffen werden.



- FIB, Focused Ion Beam-Verfahren

Die Probe wird im Vakuum mit einem gebündelten Ionenstrahl beschossen ( $Ar^+$ ,  $Ga^+$ ). Der Strahlenschaden führt zu Produkten, die im Vakuum verdampfen.

Vorteil: - mit FIB vermeidet man an der Probe aufragende mechanische Kräfte, daher kann man aus der Probe nicht nur Kerne herauspräparieren, sondern Scheiben  
→ der durchstrahlbare Bereich ist deutlich größer

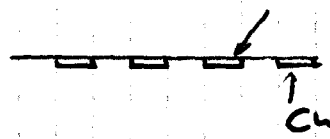
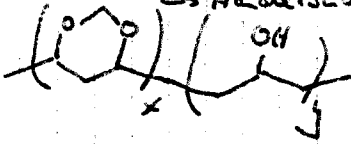
- FIB lässt sich mit Abbildung mit einem Elektronenmikroskop kombinieren, sodass man eine sehr gute Kontrolle über die erzeugten Schichten erhält.

Nachteil: - hohe Kosten, Zeitaufwändig

## Lösliche oder dispergierbare Proben

- Aufbringen auf ein Elektronenmikroskopie-Netzchen und Eintrocknen (setzt voraus, dass die Probe durch das Eintrocknen nicht verändert wird)  
Dies klappt umso besser, je kleiner die Poren des Netzchens sind bzw. es gibt Netzchen, die mit durchstrahlbaren Filmen überzogen sind.

(Folien vor, bzw. Kohle)  
↳ Handelsname



z.B. Kohlefilm

- Wenn das Eintrocknen die Probe verändert, geht man zu Cryo-TEM:
  - Ein Elektronenmikroskopnetzchen wird in die Dispersion eingetaucht und wieder herausgezogen, so dass die Poren einen dünnen Flüssigkeitsfilm aufspannen.
  - Unmittelbar im Anschluss wird diese Probe auf sehr niedrige Temperatur abgekühlt und unter Erhalt der kalten Temperatur in das TEM montiert.

Der Kontrast im Elektronenmikroskop ist i.A. bestimmt durch eine ungleichmäßige Verteilung schwerer und leichter Elemente. Gibt die Probe dies von sich aus nicht her, so kann man gezielt schwere Elemente einbauen.

Negativ-Kontrast: Hohlräume werden mit einer Lösung eines schweren Elementes z.B. Uranyl-acetat gefüllt z.B. bei Partikelsuspensionen richtet sich das Uranyl-acetat in den Zwickeln zwischen Partikel und Substrat an.



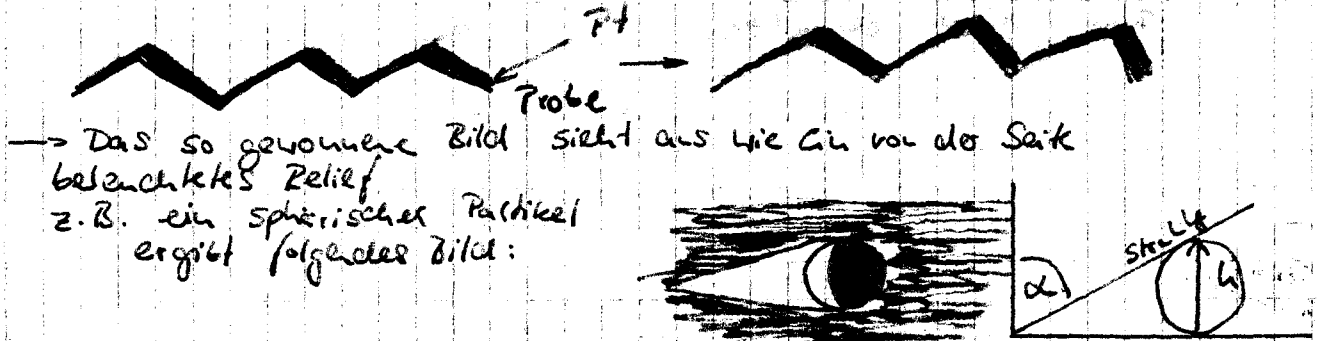
Positiv-Kontrast: In der Probe lösliche Schweratomhaltige Verbindungen werden durch spezifische Reaktionen an bestimmten Bestandteilen zu unlöslichen Verbindungen umgewandelt und dort angereichert.

- $\text{OsO}_4$  (Verbindung mit hohem Dampfdruck) reagiert mit  $\text{C}=\text{C}$  Doppelbindungen zu  $\text{Os}$
- $\text{ZnO}$  reagiert mit aromatischen Systemen
- $\text{HAuCl}_4$  (wasserlöslich) reagiert mit Basen

30.04.09/2

Replikation macht Topographien sichtbar

Eine nicht ebene Probe wird von der Seite mit einem Schwermetall bedampft, anschließend von oben mit einem Kohlefilm beschichtet, dieser von der Probe gelöst und im TEM abgebildet.



→ Das so gewonnene Bild sieht aus wie ein von der Seite beleuchtetes Relief  
z.B. ein sphärischer Partikel ergibt folgendes Bild:

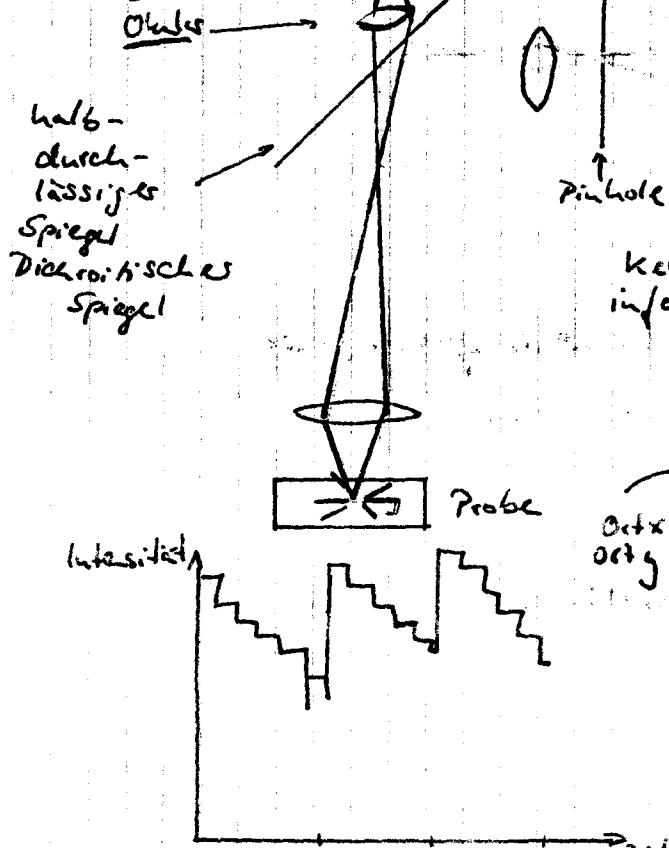
- Gefrierbruch-Präparation: Eine Dispersion wird eingefroren, und gebrochen. Von der Bruchfläche, die hauptsächlich in ihrer Topologie die interessantesten Objekte zeigt, wird eine Replik erzeugt und diese im TEM abgebildet. (bei unregelm. Partikeln)

- Gefrier - itzen: Nach dem Brechen wird die Oberfläche einem Vakuum ausgesetzt und durch Sublimation zum Teil abgetragen → Replikation abbilden, Abbilden der Replik mittels TEM

07.05.09

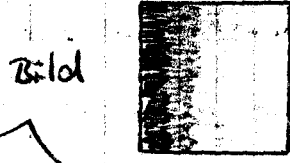
Abbildende Methoden mittels Rastertechniken

labiles Licht empfindl. Detektor  
labiles Pinhole = Konfokale Mikroskopie



- Spezielle Optik beleuchtet einen Punkt innerhalb der Probe intensiv und sammelt Fluoreszenz- bzw. Streulicht fast ausschließlich aus diesem Punkt.

- Die Probe wird kontrolliert 3-dimensional bewegt (bzw. die beiden Pinholes) und aus der Kenntnis von Orts- und Intensitätsinformation ein Bild erzeugt.

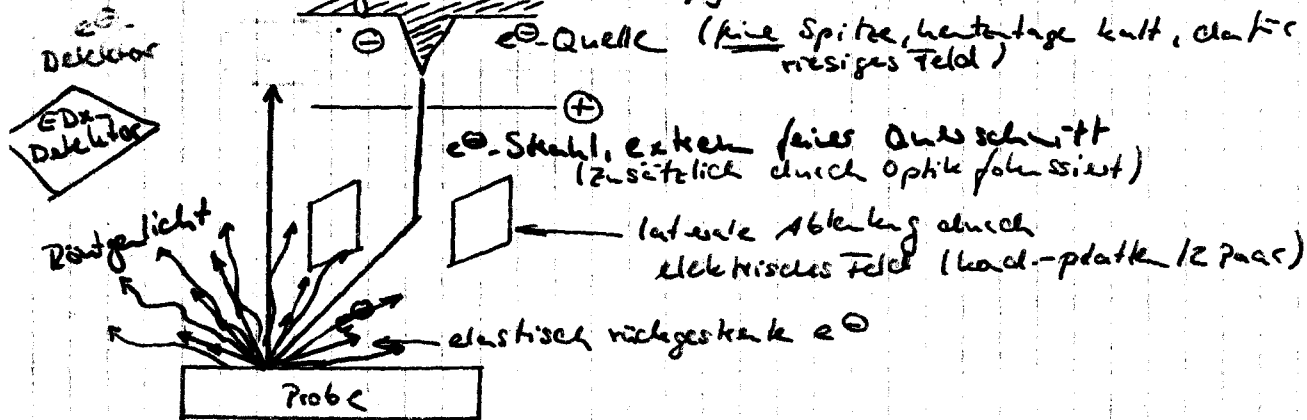


- Abbildungsqualität ist beugungslimitiert, d.h. ~~immer~~ nicht besser als konventionelle Lichtmikroskopie

- Vorteile:

- man erhält ein 3-dimensionales Bild mit qualitativem Ortsinformation
- man erhält intensives Fluoreszenzlicht ohne den Rest der Probe durch Beleuchtung zu belasten

• Rasterelektronenmikroskopie (REM)  
Scanning electron microscopy (SEM)



- Aus der Information Ort (Zeit) und Intensität am Detektor (Zeit) wird ein Bild konstruiert

Achtung: Ortsinformation hängt nicht davon ab, wo der Detektor steht  
→ keine Verzerrung (Ortsinformation durch Abstrahlwinkel, stets im Markt nur ein Punkt beleuchtet)

- Rückgestreute Elektronen geben Informationen über die Topographie (Kontrast ist häufig eine Funktion des Neigungswinkels der Oberfläche)

⇒ Röntgenstrahlung lässt sich mit einem EDX-Detektor messen

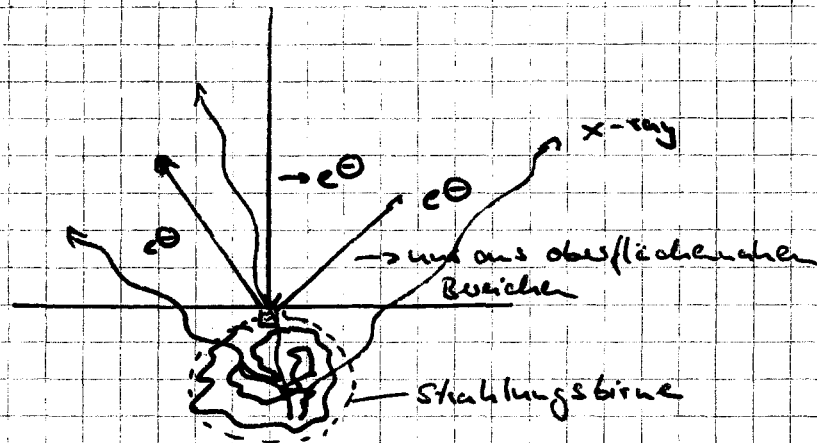
**EDX** (Energy-dispersive X-ray-Spectroscopy)

- sehr ähnlich ist die ESMA (Elektronenstrahlmikroanalyse)  
Bei EDX wird die Energie der Röntgenquanten mit einem Halbleiterdetektor gemessen, bei ESMA hingegen die Röntgenstrahlung erst mit einem Spektrometer nach Wellenlängen aufgespalten und mit einem scintillationsdetektor detektiert.

Vorteil EDX: simpel u. robust

Vorteil ESMA: höhere Empfindlichkeit, besonders für leichte Elemente

→ aus der Wellenlänge / Energie des Röntgenstrahlung kann man auf die elementare Zusammensetzung der Probe schließen 07.05.09/2



→ allerdings: Der Elektronenstrahl wird in der Probe zu einer Birne angeweitet. Elektronen haben nur eine geringe Eindringtiefe, kommen daher nur aus dem Hals der Birne → Das Bild aufgrund rückgestreuter Elektronen hat gute Auflösung (1µm).

Die Röntgenstrahlung hat eine große Eindringtiefe und kommt daher hauptsächlich aus dem "Bauch" der Birne

→ Das EDX-Bild hat schlechte Auflösung (50µm)

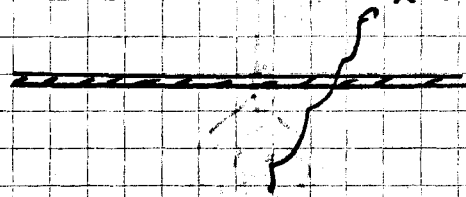
- Der Elektronenstrahl bewirkt eine Aufladung der Probeoberfläche, welche den Strahl defokussiert

→ Die Technik funktioniert nur mit elektrisch leitenden Oberflächen.

→ Proben müssen häufig mit leitfähigen Schichten überzogen werden.

Kohle, Pt-Kohle, Pt-Ir-Au-Legierungen

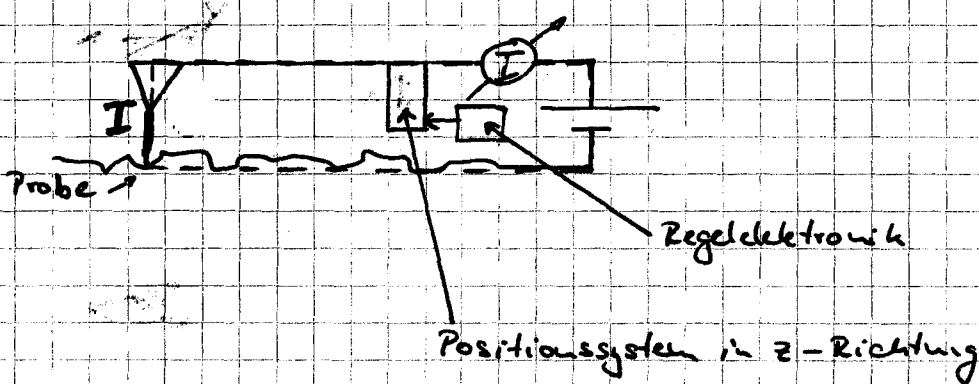
- Auflösung bei EDX: mehrere hundert Nanometer
- sehr von jeweiliger Probe abhängig



oder mehr leichte Elemente oder mehr schwere / Schwere

### Rastersondenmethoden

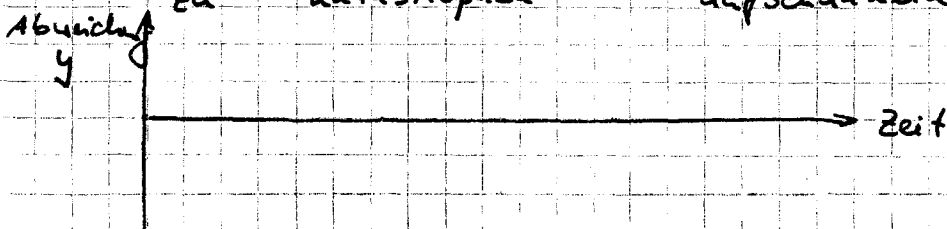
#### • Rastertunnelmikroskopie



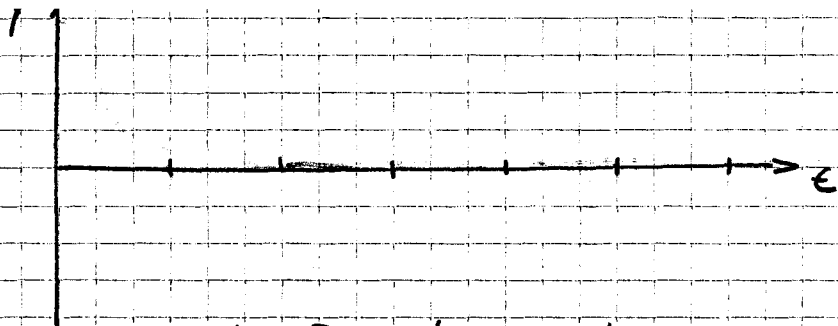
- man registriert  $I$  und  $z$  als Funktion von  $x$  und  $y$
- durch eine Rückkopplung hält man  $I$  konstant (oder  $dI/dz \dots$ )
- $(z)I$  als Funktion von  $x$  und  $y$
- ⇒ 2-dimensionales Bild (laterale Auflösung ist möglich)
- Dies ist nicht notwendigerweise die Topographie, sondern eine Kombination aus Topographie und Elektronendichte

→ Bei allen Rastersondenmethoden muss man sich entscheiden, wie das Gerät auf Abweichungen der Regelgröße vom Sollwert reagiert. Dies macht man in der Regel mit einer PID-Regelung (proportional, integral, differential)

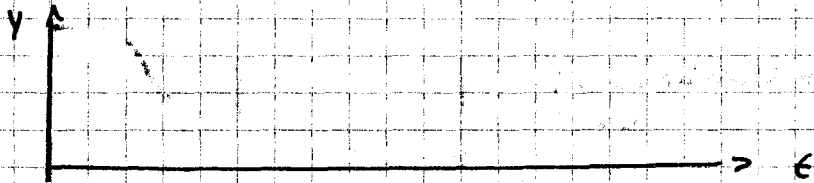
- Bei rein proportionaler Regelung besteht die Gefahr, dass eine Trägheit des Systems dazu führt, dass die Regelung zeitlich verzögert zur Abweichung am System ankommt. Dies führt zu Schwingungen, die sich ohne Dämpfung zu 'Katastrophen' aufschaukeln würden.



- Also benötigt man ein Dämpfungsglied, das proportional ist zur Ableitung der Abweichung nach der Zeit.

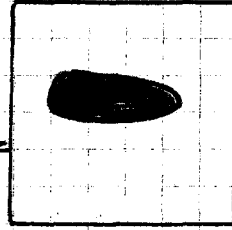
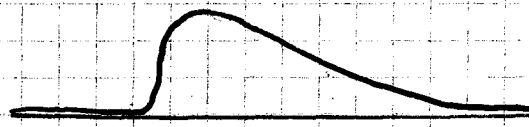


- Wenn die Dämpfung stark genug eingestellt ist, unterbleiben Schwingungen, aber das System benötigt u.U. viel zu lange um sich der Gleichgewichtslage anzunähern.
- Folglich führt man ein drittes Glied in die Regelung ein, das proportional ist zum Integral der Abweichung über die Zeit.

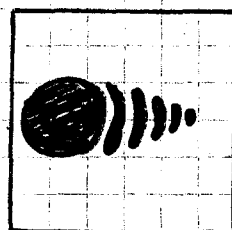
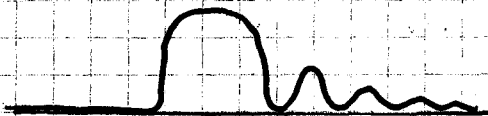


- Aus der Notwendigkeit das Nachregeln der Spitzenposition entsprechend zu kontrollieren ergeben sich zwei Abbildungsfehler:

- "Segel fliegen"



- "Zwitschern / Schwingen"



- ES empfiehlt sich immer neben dem Bild, das die geregelte Größe zeigt, auch das Bild anzusehen, das die Abweichung zeigt.

- Aber Achtung bei der Interpretation! ES ist nicht immer leicht sich zu erklären, wo der Kontrast herkommt.

- Weitere Artefakte:

- Geisterbild, wenn die Spitze nicht ein idealer Punkt ist, sondern eine Doppelspitze oder sonst irgendwie strukturiert ist.



- Artefakte durch die Bildglättung: Die Probe ist i.d.R. deutlich gegenüber der x-y-Ebene des Messkopfes geneigt  $\Rightarrow$  ohne dies zu korrigieren erhält man einen Kontrast, der fast ausschließlich die Neigung zeigt.

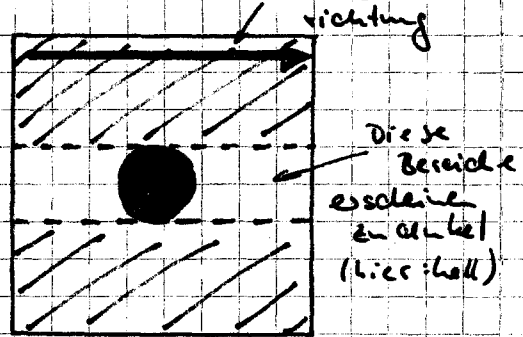
14.05.03

- Wenn das Bild vollständig aufgenommen ist, kann man an das gesamte Bild oder an bestimmte Bereiche eine Ebene anpassen und diese vom Bild abzielen.

- Während der Aufnahme ist dies nicht möglich. Man behilft sich, indem man zu jeder Zeit eine Gerade anpasst und diese von der Zeit abzieht

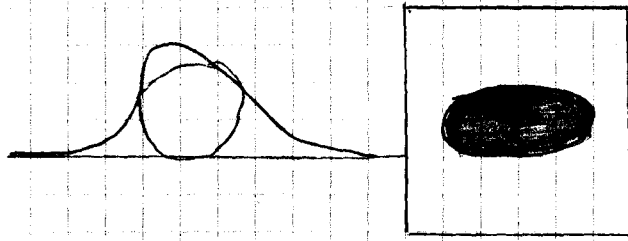
→ Höhe = 0, Steigung = 0

→ dies ergibt das Artefakt, dass 'rechts' und 'links' von hohen Objekten Gräben erscheinen



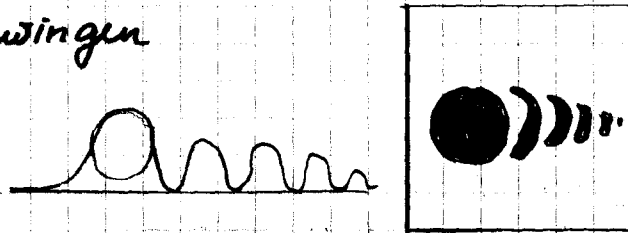
- Aus der Notwendigkeit der Nachregeln der Spitzenposition entsprechend zu kontrollieren ergeben sich zwei Abbildungsfehler

• "Segel flügen"



"Anlage" zur Fällung

• "Zwischen/Schwinger"

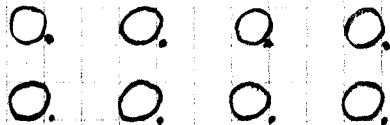


- Es empfiehlt sich immer neben dem Bild, das die geregelte Größe zeigt, auch das Bild anzusehen, das die Abweichung zeigt.

- Aber Achtung bei der Interpretation: Es ist nicht immer leicht sich zu erklären, wo der Kontrast herkommt.

- weitere Artefakte:

• Quaterbild, wenn die Spitze nicht ein idealer Punkt ist, sondern eine Doppelspitze oder sonst irgendwie strukturiert ist



• Artefakte durch die Bildglättung: Die Probe ist i.d.R. deutlich gegenüber der x-y-Ebene der Messkopfes geneigt. -> ohne dies zu korrigieren erhält man einen Kontrast, der fast ausschließlich die Neigung zeigt.

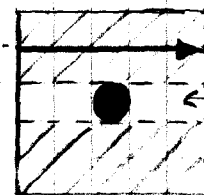
- Wenn das Bild vollständig aufgenommen ist, kann man an das gesamte Bild od. ausgesuchte Bereiche eine Ebene anpassen und diese vom Bild abziehen.

- Während dieser Aufnahme ist dies nicht möglich

Man behilft sich, indem man an jede Zeile eine Gerade anpasst und diese von der Zeile abzieht

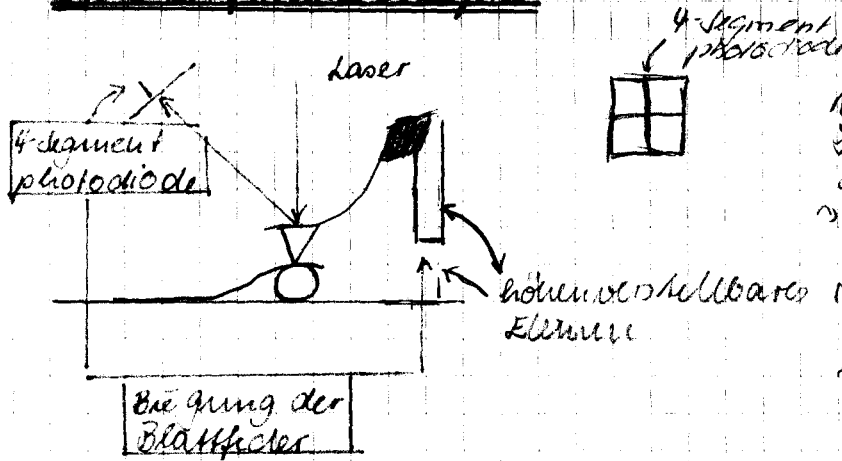
Zeilenlastkorrektur

=> Höhe = 0, Steigung = 0  
=> dies ergibt das Artefakt das 'rechts' und 'links' von hohen Objekten Gräben erscheinen



Bereich erscheint zu dunkel

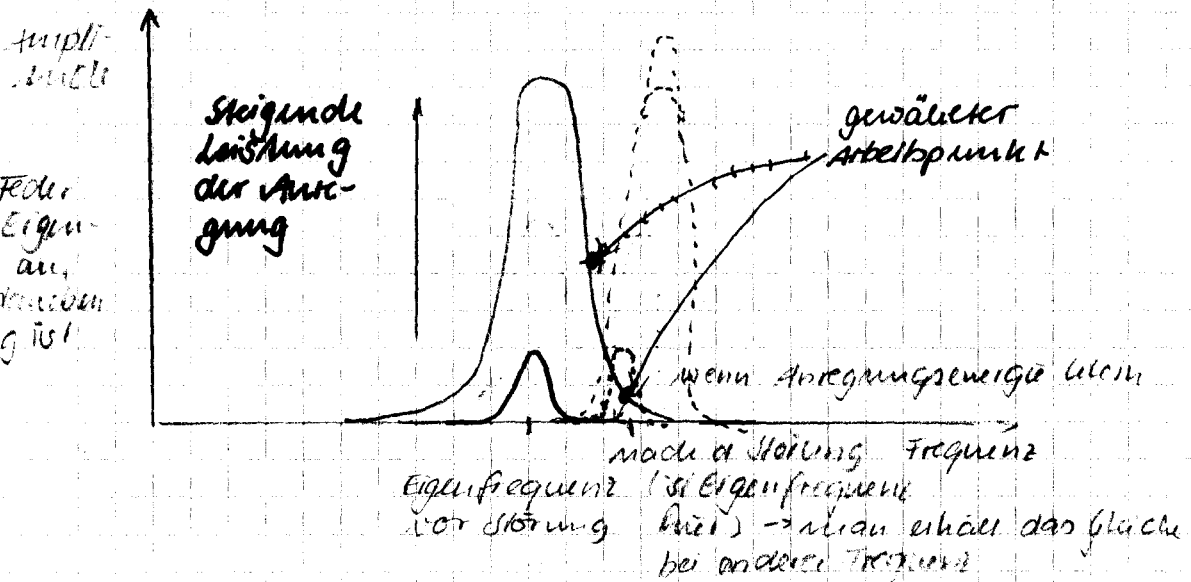
# Rasterkraftmikroskopie



Neben dem kleinen Flächenbereich des Lichtes  
 Positional das es genau bestimmen können empfindlichkeit im Bereich Verbiegung der Feder, wobei Kraft wird gemessen  
 Rasterkraftmikroskopie

Rasterkraftmikroskopie kann auf verschiedene Weisen beschrieben werden

- contact-mode: Feder wird auf die Probe gedrückt und mit konst. Kraft darüber geführt. Vergleichsweise leicht zu realisieren; starke Beanspruchung der Probe
- non-contact mode: Feder wird in eine erzwungene Schwingung versetzt, die nahe an der Resonanzfrequenz liegt. Bei Annäherung an eine Oberfläche erfährt die schwingende Feder zusätzliche Kräfte bzw. zusätzliche Dämpfung, dies vermindert die Amplitude der erzwungenen Schwingung



man hat Feder nicht bei Eigenfrequenz an, sonst die mechanische Belastung ist zu groß

wenn der Rückkopplungsmechanismus so eingestellt wird, dass die Höhe nachgeregelt wird, dass die Amplitude konstant bleibt, erhalten wir dreize Informationen / 3 Bilder

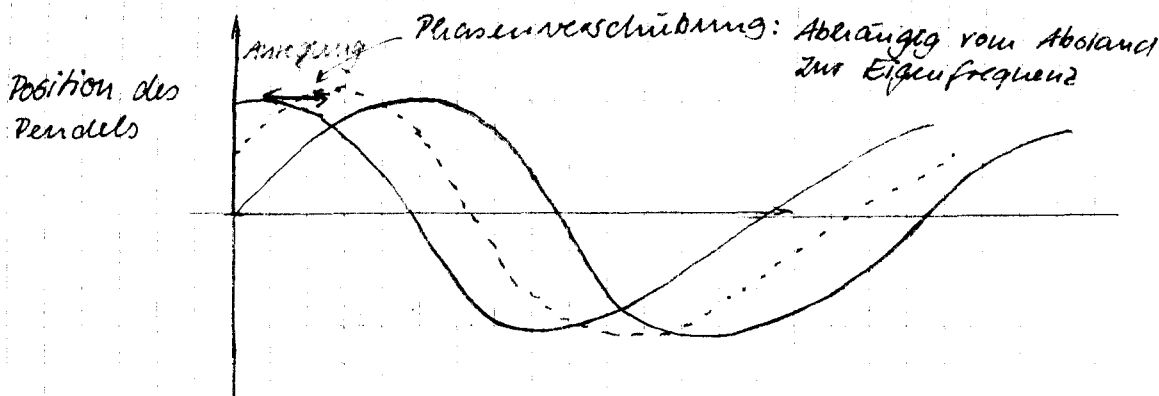
## 1.) Topographiebild

sollte hinreichend gute Höheninformation geben

## 2.) Amplitudenbild

sollte strukturlos sein sieht häufig aus wie ein 'Flachrelief'

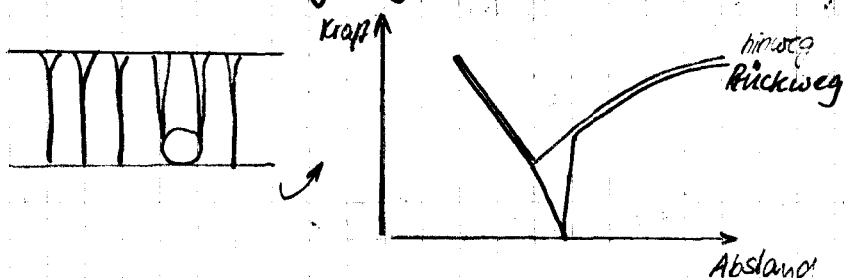
## 3.) Phasenbild



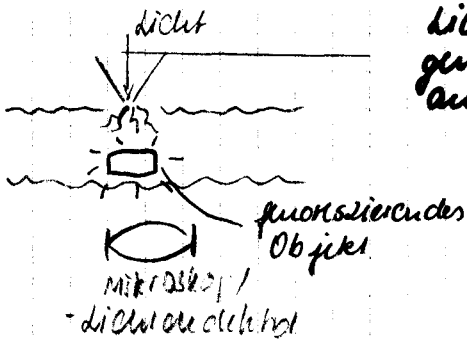
Phasenverschiebung gibt (diffuse) Information darüber, ob die Oberfläche stark dämpft oder eher elastisch ist

→ das Phasenbild ergibt einen Materialkontrast

- intermittent contact mode (tapping mode) ②:  
gleiches MFP-Prinzip wie non-contact, aber die Spitze ist so nah an der Oberfläche, dass sie bei jeder Schwingung kurz aufsetzt
- vollständige Kraft-Abstands-Beziehung an jedem Bildpunkt oder ausgewählten Bildpunkten ohne laterale Bewegung



## Nahfeldmikroskopie (SNOM)



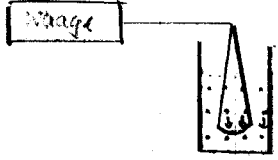
Licht durch Spitze gemessen wird Antwort der Probe auf Licht

Nachteil: - hohe Ansprüche an Probe (dünn genug und fluoreszierend)  
- hohe / große Lichtquellen

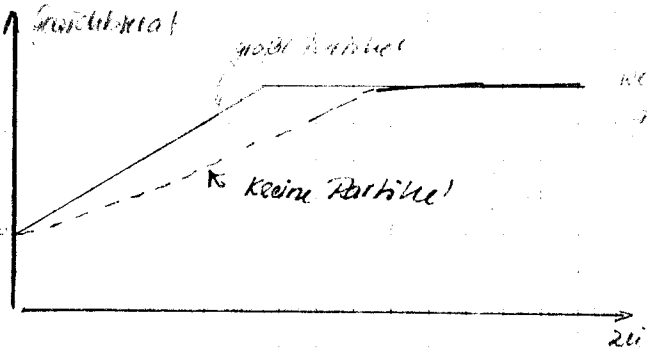
# Nichtabbildende Methoden zur Partikelcharakterisierung

## Sedimentationsanalyse (Zentrifugalanalyse)

Sedimentationsanalyse



Partikel setzen sich ab und bilden einen Sediment.



**Gewichtskraft** -  $(\Delta \rho) V = \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$

wenn alle Partikel abgesetzt

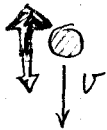
U Sedimentationsanalyse  
 $f =$  Reibungskoeffizient

**Reibungskraft** -  $v \cdot f = 6 \pi \eta \cdot r$

$$v \cdot 6 \pi \eta = \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$$

$$v = \frac{2}{9} \Delta \rho \eta r^2$$

Reibung



(Gewichtskraft - Auftrieb) =  $\Delta \rho \cdot V \cdot g$

$$= \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$$

Zusätzliche um zu gelieren, ob Stokes' Gesetz, ist nur relevant, da  $\tau$  lang ist. Wenn  $\tau$  klein ist, wird die Bewegung zu langsam.

**Reibungsk. einer Kugel (Stokes)** =  $v \cdot 6 \pi \eta r$

$$v \cdot 6 \pi \eta r = \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3 \cdot g$$

$$\tau^2 = \frac{9}{2} \eta \cdot \frac{1}{\Delta \rho \cdot g} \cdot v$$

Zentrifugalanalyse

Zentrifugalanalyse: häufig durchgeführt in einer 'Ultrazentrifuge'

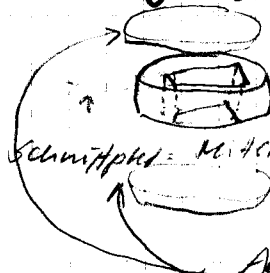


Beobachtung mit einem Mikroskop mit Stroboskopischer Beleuchtung

Anzahlöffnungen f. Probengefäße

wichtig ist die Richtige Beleuchtungszeit

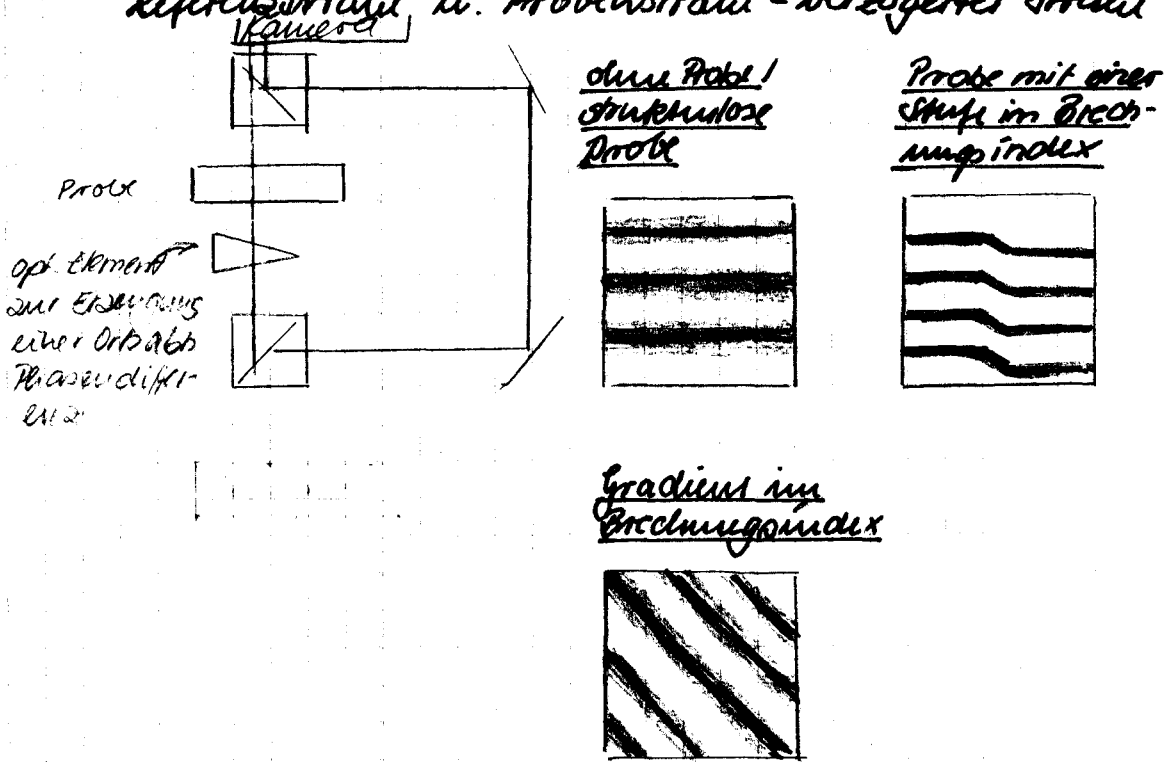
Zentrifugengefäß:



Abdeckscheiben aus optisch parallelen Scheiben

- Beobachtung durch das Mikroskop erlaubt Bestimmung der Partikelkonzentration

- Extinktion bei einer bestimmten Wellenlänge
- Trübung
- Schlierenoptik (Probe mit monochromat. Licht durchleuchtet  $\Rightarrow$  interferierende Lichtstrahlen zw. linken und rechten Rand)  
Referenzstrahl u. Probenstrahl - verzögerter Strahl



Steigung d. Linie = Funktion d. Brechungsindex

Ultrazentrifuge erlaubt 3 prinzipiell unterschiedliche Experimente:

- Sedimentationsanalyse, Sedimentationsgleichgewicht, Dichtegradienten-experiment

Zentrifugalkraft =  $M_2 \omega^2 R$

Auftrieb =  $V_2 \cdot \rho_1 \cdot \omega^2 \cdot R$   
 $= \frac{M_2}{\rho_2} \cdot \rho_1 \cdot \omega^2 \cdot R$

Reibung =  $v \cdot f$

$M_2$ ... Masse d. Partikels  
 $\omega^2$ ... Winkelgeschwindigkeit  
 $V_2$ ... Volumen d. Partikels  
 $\rho_1$ ... Dichte d. Flüssigkeit  
 $R$ ... Abstand von Mittelpk. d. Zentrifuge

1. Sedimentationsanalyse  
 $\downarrow$   
 man erhält  $\frac{S}{\rho}$

$v$ ... Geschwindigkeit (Sedim. geschw.)  
 $f$ ... Reibungskoeffizient

Zentrifugalkraft = Reibung + Auftrieb

$M_2 \omega^2 R = v \cdot f + \frac{M_2}{\rho_2} \cdot \rho_1 \cdot \omega^2 \cdot R$

$\frac{v}{\omega^2 R} = \frac{M_2}{f} \cdot \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right)$

$\uparrow$  für kompakte Kugeln (Stokeslaw Analyse)

$f \sim r \sim M^{1/3}$       $S \sim M^{2/3}$

zur Zeit Form (Kugel?), mit bekannter  $\rho$

Wie weit werden Partikel von Kugelform ab? Kugelform =  $\frac{4}{3} \pi r^3 \rho$

$$S = \frac{v}{\omega^2 R}$$

S... Sedimentationskonstante

Um die Masse zu erhalten benötigen wir Werte für die Dichte  $\rho_1$  und  $\rho_2$ ,  $\eta$  und eine Aussage über die Form des Partikels

- Je schwerer der Partikel, desto größer ist Sedimentationskonstante
- 'Faltchimariartige Partikel', die schwerer / blattchenförmig haben  $\Rightarrow$  kleine Sedimentationskonstante
- Zahl Luster Proteinen = Sedimentationskonstante

## 2. Sedimentationsgleichung

Man erhält  $M$ , wenn man  $\rho_1$  hat

- bei verminderter Drehzahl sedimentieren die Partikel nicht mehr, sondern verteilen sich gemäß einer Boltzmann-Verteilung über das Probenvolumen

'Fluss nach unten' =  $c \cdot v = c \cdot \omega^2 R \cdot s f \dots$  Konz. d. Teilchen

'Rückfluss durch Diffusion' =  $-\frac{k_B T}{f} \frac{dc}{dR}$

im Gleichgewicht  $-\frac{k_B T}{f} \frac{dc}{dR} = c \cdot s \cdot \omega^2 \cdot R$

$$\frac{1}{c} \cdot \frac{dc}{dR} = \frac{f \cdot s}{k_B T} \cdot \omega^2 \cdot R$$

$$\lg \frac{c}{c_0} = \frac{f \cdot s \cdot \omega^2}{k_B T} (R_0^2 - R^2)$$

$$s = \frac{M}{f} \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right)$$

$$\ln \frac{c}{c_0} = \frac{f \cdot \omega^2}{k_B T} \cdot \frac{M}{f} \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right) (R_0^2 - R^2)$$

$$\ln \frac{c}{c_0} = M \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right) \frac{\omega^2 (R_0^2 - R^2)}{k_B T}$$

$\Rightarrow$  ab hier ist unabhängig von Form des Partikels, d.h. unabhängig von  $f$

## 3. Dichtegradientenexperiment

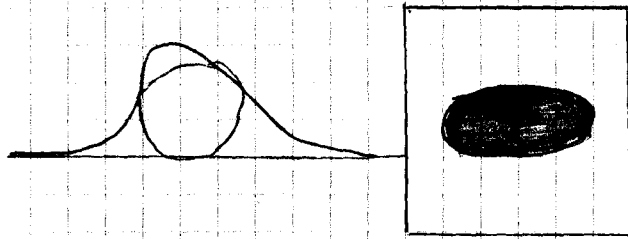
Man schält  $\rho$  zu Teil eines Gradienten. Es wird eine Lösung hergestellt

Im Dichtegradientenexperiment dispergiert man die Teilchen in einer Mischung (z.B.  $H_2O / C_6H_{12}O_6$ ) Alkan / Tetrachloroäthylenstoff) und zentrifugiert bei hoher Umdrehungsgeschwindigkeit so lange, bis sich ein Konzentrationsgradient dieser beiden Substanzen ausgebildet hat. Diesen Konzentrationsgradienten kann man ermitteln und in einen Dichtegradienten umrechnen.

Die zu analysierenden Partikel wandern in diesem Experiment an die Stelle, in der die Dichte der umgebenden Phase gleich der Dichte der Partikel ist.

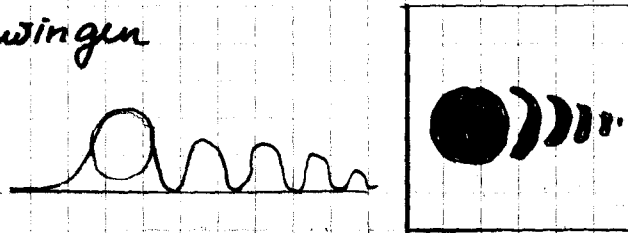
- Aus der Notwendigkeit der Nachregeln der Spitzenposition entsprechend zu kontrollieren ergeben sich zwei Abbildungsfehler

• "Segel flügen"



"Anlage" zur Fällung

• "Zwischen/Schwinger"

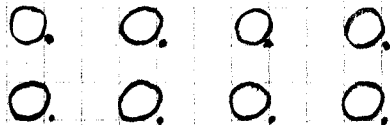


- Es empfiehlt sich immer neben dem Bild, das die geregelte Größe zeigt, auch das Bild anzusehen, das die Abweichung zeigt.

- Aber Achtung bei der Interpretation: Es ist nicht immer leicht sich zu erklären, wo der Kontrast herkommt.

- weitere Artefakte:

• Quotierbild, wenn die Spitze nicht ein idealer Punkt ist, sondern eine Doppelspitze oder sonst irgendwie strukturiert ist



• Artefakte durch die Bildglättung: Die Probe ist i.d.R. deutlich gegenüber der x-y-Ebene der Messkopfes geneigt. -> ohne dies zu korrigieren erhält man einen Kontrast, der fast ausschließlich die Neigung zeigt.

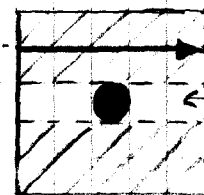
- Wenn das Bild vollständig aufgenommen ist, kann man an das gesamte Bild od. ausgesuchte Bereiche eine Ebene anpassen und diese vom Bild abziehen.

- Während dieser Aufnahme ist dies nicht möglich

Man behilft sich, indem man an jede Zeile eine Gerade anpasst und diese von der Zeile abzieht

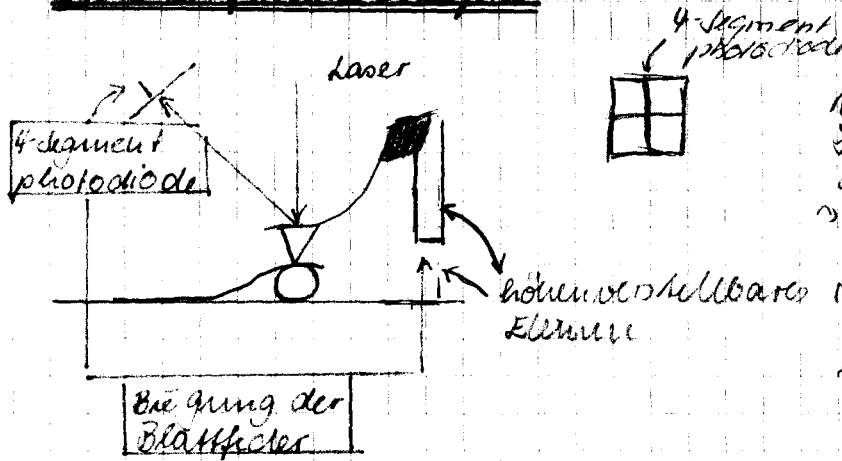
Zeilenkorrektur

=> Höhe = 0, Steigung = 0  
=> dies ergibt das Artefakt das 'rechts' und 'links' von hohen Objekten Gräben erscheinen



Bereich erscheint zu dunkel

# Rasterkraftmikroskopie

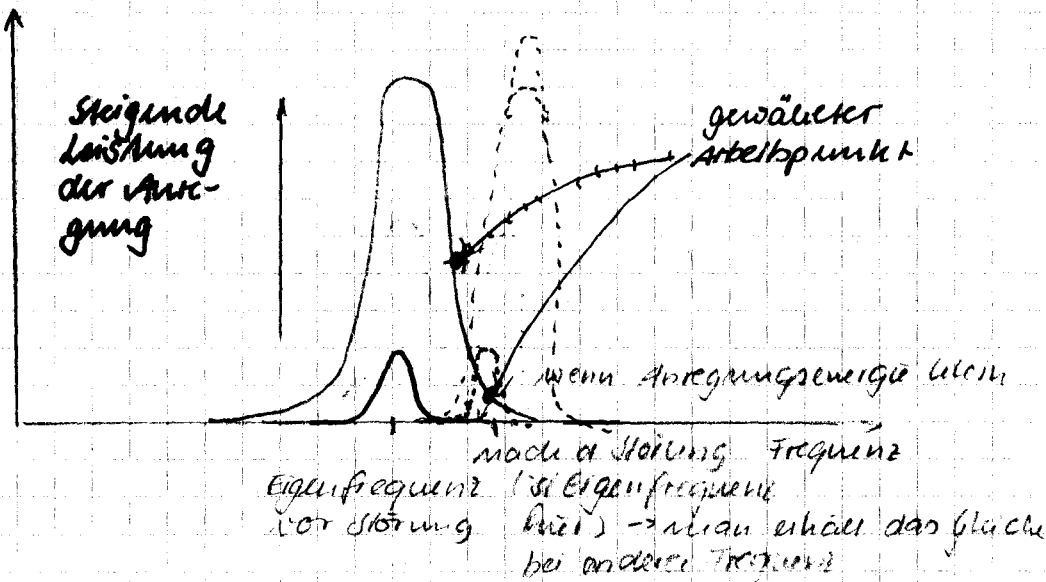


Neben dem kleinen Flächenanteil des Lichtes  
 Positional das es genau bestimmen können empfindlichkeit im Bereich Verbiegung der Feder, wobei Kraft wird gemessen  
 Rasterkraftmikroskopie

Rasterkraftmikroskopie kann auf verschiedene Weisen beschrieben werden

- contact-mode: Feder wird auf die Probe gedrückt und mit konst. Kraft darüber geführt. Vergleichsweise leicht zu realisieren; starke Beanspruchung der Probe
- non-contact mode: Feder wird in eine erzwungene Schwingung versetzt, die nahe an der Resonanzfrequenz liegt. Bei Annäherung an eine Oberfläche erfährt die schwingende Feder zusätzliche Kräfte bzw. zusätzliche Dämpfung, dies vermindert die Amplitude der erzwungenen Schwingung

Amplitude



wenn Kg! Feder nicht bei Eigenfrequenz an, sonst die Amplitude ist groß

nach d. Störung Frequenz (bei Eigenfrequenz vor Störung) -> man erhält das gleiche bei anderer Frequenz

wenn der Rückkopplungsmechanismus so eingestellt wird, dass die Höhe nachgeregelt wird, dass die Amplitude konstant bleibt, erhalten wir dreizeh Informationen / 3 Bilder

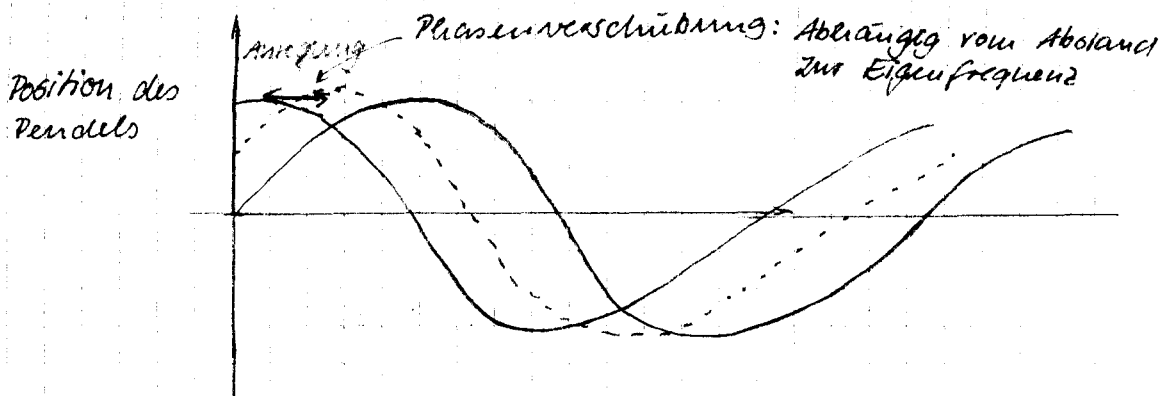
## 1.) Topographiebilder

sollte hinreichend gute Höheninformation geben

## 2.) Amplitudenbild

sollte strukturlos sein sieht häufig aus wie ein 'Flachrelief'

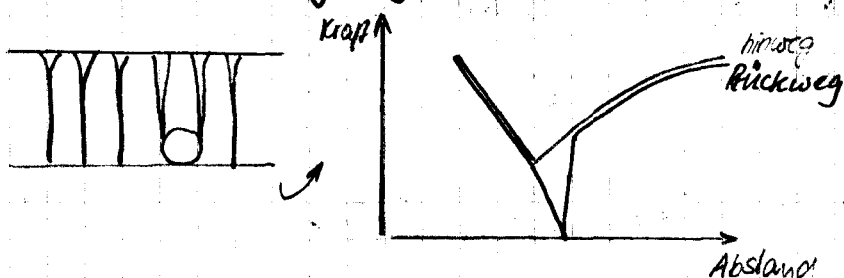
## 3.) Phasenbild



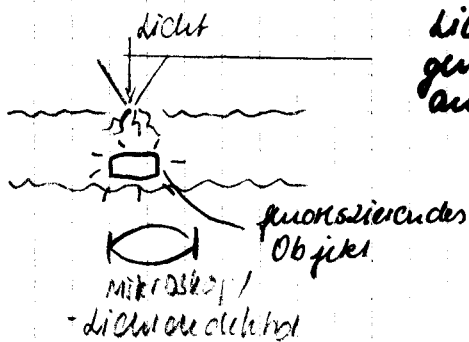
Phasenverschiebung gibt (diffuse) Information darüber, ob die Oberfläche stark dämpft oder eher elastisch ist

→ das Phasenbild ergibt einen Materialkontrast

- intermittent contact mode (tapping mode) ②:  
gleiches MFP-Prinzip wie non-contact, aber die Spitze ist so nah an der Oberfläche, dass sie bei jeder Schwingung kurz aufsetzt
- vollständige Kraft-Abstands-Beziehung an jedem Bildpunkt oder ausgewählten Bildpunkten ohne laterale Bewegung



## Nahfeldmikroskopie (SNOM)



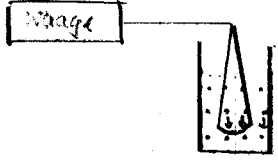
Licht durch Spitze gemessen wird Antwort der Probe auf Licht

Nachteil: - hohe Ansprüche an Probe (dünn genug und fluoreszierend)  
- hohe / große Lichtquellen

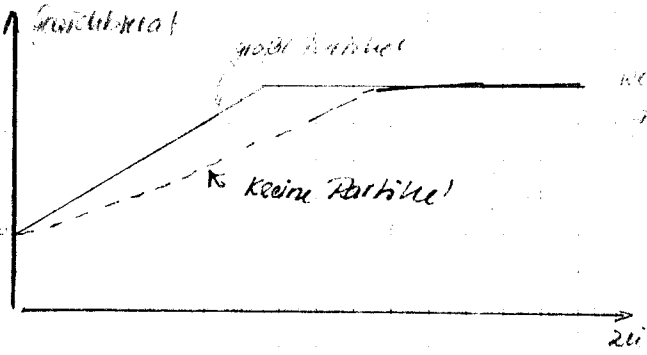
# Nichtabbildende Methoden zur Partikelcharakterisierung

## Sedimentationsanalyse (Zentrifugalanalyse)

Sedimentationsanalyse



Partikel setzen sich ab und bilden einen Sediment.



**Gewichtskraft** -  $(\Delta \rho) V = \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$

wenn alle Partikel abgesetzt

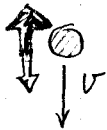
U Sedimentationsgeschwindigkeit  
 $f =$  Reibungskoeffizient

**Reibungskraft** -  $v \cdot f = 6 \pi \eta \cdot r$

$$v \cdot 6 \pi \eta = \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$$

$$v = \frac{2}{9} \Delta \rho \eta r^2$$

Reibung



(Gewichtskraft - Auftrieb) =  $\Delta \rho \cdot v \cdot g$

$$= \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3$$

Zu spät, um zu fallen, aber so, dass kein, ist nur zucken, da lang, 100 Sekunden für ein bisschen zu langsam

**Reibungskf. einer Kugel (Stokes)** =  $v \cdot 6 \pi \eta r$

$$v \cdot 6 \pi \eta r = \Delta \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3 \cdot g$$

$$r^2 = \frac{9}{2} \eta \cdot \frac{1}{\Delta \rho \cdot g} \cdot v$$

Zentrifugenanalyse

Zentrifugalanalyse: häufig durchgeführt in einer 'Ultrazentrifuge'

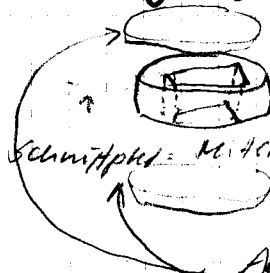


Beobachtung mit einem Mikroskop mit Stroboskopischer Beleuchtung

Ansaugöffnungen f. Probengefäße

wichtig ist die Richtige Beleuchtungszeit

Zentrifugengefäß:

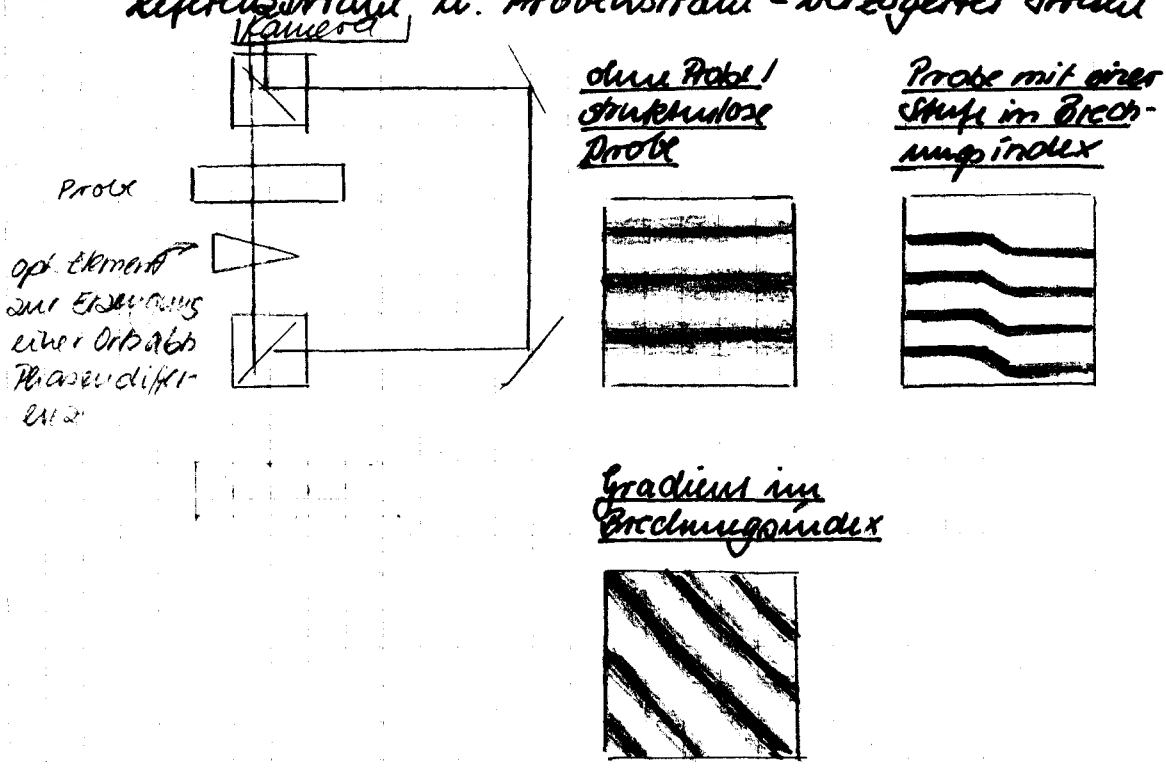


Schnittpl. = Metallpl. d. Rotors

Abdeckscheiben aus optisch parallelen Scheiben

- Beobachtung durch das Mikroskop erlaubt Bestimmung der Partikelkonzentration

- Extinktion bei einer bestimmten Wellenlänge
- Trübung
- Schlierenoptik (Probe mit monochromat. Licht durchleuchtet  $\Rightarrow$  interferierende Lichtstrahlen zw. linken und rechten Rand)  
Referenzstrahl u. Probenstrahl - verzögerter Strahl



Ultrazentrifuge erlaubt 3 prinzipiell unterschiedliche Experimente:

- Sedimentationsanalyse, Sedimentationsgleichgewicht, Dichtegradienten-experiment

Zentrifugalkraft =  $M_2 \omega^2 R$

Auftrieb =  $V_2 \cdot \rho_1 \cdot \omega^2 \cdot R$

$= \frac{M_2}{\rho_2} \cdot \rho_1 \cdot \omega^2 \cdot R$

$M_2$ ... Masse d. Partikels  
 $\omega^2$ ... Winkelgeschwindigkeit  
 $V_2$ ... Volumen d. Partikels  
 $\rho_1$ ... Dichte d. Flüssigkeit  
 $R$ ... Abstand von Mittelpk. d. Zentrifuge

1. Sedimentationsanalyse  
 $\downarrow$   
 man erhält  $S$

Reibung =  $v \cdot f$

$v$ ... Geschwindigkeit (Sedim. geschw.)  
 $f$ ... Reibungskoeffizient

Zentrifugalkraft = Reibung + Auftrieb

$M_2 \omega^2 R = v \cdot f + \frac{M_2}{\rho_2} \cdot \rho_1 \cdot \omega^2 \cdot R$

$\frac{v}{\omega^2 R} = \frac{M_2}{f} \cdot \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right)$

$\uparrow$  für kompakte Kugeln (Stokeses Gesetz)

$f \sim r \sim M^{1/3}$       $S \sim M^{2/3}$

zur Zeit Form (Kugel?), mit bekannter  $S$   
 $\downarrow$   
 wie weit werden Partikel von Kugelform ab? Kugelform =  $\frac{4}{3} \pi r^3$

$$S = \frac{v}{\omega^2 R}$$

S... Sedimentationskonstante

Um die Masse zu erhalten benötigen wir Werte für die Dichte  $\rho_1$  und  $\rho_2$ ,  $\eta$  und eine Aussage über die Form des Partikels

- Je schwerer der Partikel, desto größer ist Sedimentationskonstante
- 'Faltchimäreartige Partikel', die schwerer / blattchenförmig haben  $\Rightarrow$  kleine Sedimentationskonstante
- Zahl Luster Proteinen = Sedimentationskonstante

## 2. Sedimentationsgleichung

Man erhält  $M$ , wenn man  $\rho_1$  hat

- bei verminderter Drehzahl sedimentieren die Partikel nicht mehr, sondern verteilen sich gemäß einer Boltzmann-Verteilung über das Probenvolumen

'Fluss nach unten' =  $c \cdot v = c \cdot \omega^2 R \cdot S f$ ... Konz. d. Teilchen

'Rückfluss durch Diffusion' =  $-\frac{k_B T}{f} \frac{dc}{dR}$

im Gleichgewicht  $-\frac{k_B T}{f} \frac{dc}{dR} = c \cdot S \cdot \omega^2 \cdot R$

$$\frac{1}{c} \cdot \frac{dc}{dR} = \frac{f \cdot S}{k_B T} \cdot \omega^2 \cdot R$$

$$\lg \frac{c}{c_0} = \frac{f \cdot S \cdot \omega^2}{k_B T} (R_0^2 - R^2)$$

$$S = \frac{M}{f} \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right)$$

$$\ln \frac{c}{c_0} = \frac{f \cdot \omega^2}{k_B T} \cdot \frac{M}{f} \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right) (R_0^2 - R^2)$$

$$\ln \frac{c}{c_0} = M \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right) \frac{\omega^2 (R_0^2 - R^2)}{k_B T}$$

$\Rightarrow$  ab hier ist unabhängig von Form des Partikels, d.h. unabhängig von  $f$

## 3. Dichtegradientenexperiment

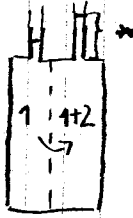
Man schält  $\rho$  zu Teil eines Gradienten. Es wird eine Lösung hergestellt

Im Dichtegradientenexperiment dispergiert man die Teilchen in einer Mischung (z.B.  $H_2O / C_6H_{12}O_6$ ) Alkan / Tetrachloroäthylolstoff) und zentrifugiert bei hoher Umdrehungsgeschwindigkeit so lange, bis sich ein Konzentrationsgradient dieser beiden Substanzen ausgebildet hat. Diesen Konzentrationsgradienten kann man ermitteln und in einen Dichtegradienten umrechnen.

Die zu analysierenden Partikel wandern in diesem Experiment an die Stelle, in der die Dichte der umgebenden Phase gleich der Dichte der Partikel ist.

→ dieses Experiment ergibt  $\sigma_2$  (die Dichte der Partikel)

Osmometrie



semipermeable Membran

\*  $\Delta h \Rightarrow \Delta p \cdot \bar{v} = \rho \cdot g \cdot \Delta h$

$\mu_1 = \mu_1^0 = \mu_1^0 + RT \ln a + \int_P^{P+\Pi} \bar{v} dp$

$\mu_1^0 = \mu_1^0 + RT \ln x_1 + \text{nicht ideale Terme}$

$+ \bar{v}_1 \int_P^{P+\Pi} dp$

$\mu$ ... chem. Potent; Hal des  $\mu$

$\bar{v}_1$  = Molvolumen

$n$ ... Stoffmenge

$M$ ... Molmasse

$c_2$ ... Massen-

Konzentration

$\mu_1 - RT \ln x_1 - \text{nicht ideale Terme} = \bar{v}_1 \int_{P_0}^{P_0+\Pi} dp$

$- RT \ln (1-x_2) - \text{nicht ideale Terme} = \bar{v}_1 \cdot \Pi$

$RT x_2 - \text{nicht ideale Terme} = \bar{v}_1 \cdot \Pi$

$RT (x_2 + B x_2^2 + C x_2^3 \dots) = \bar{v}_1 \cdot \Pi$

$x_2 + B x_2^2 \dots = \bar{v}_1 / RT \cdot \Pi$

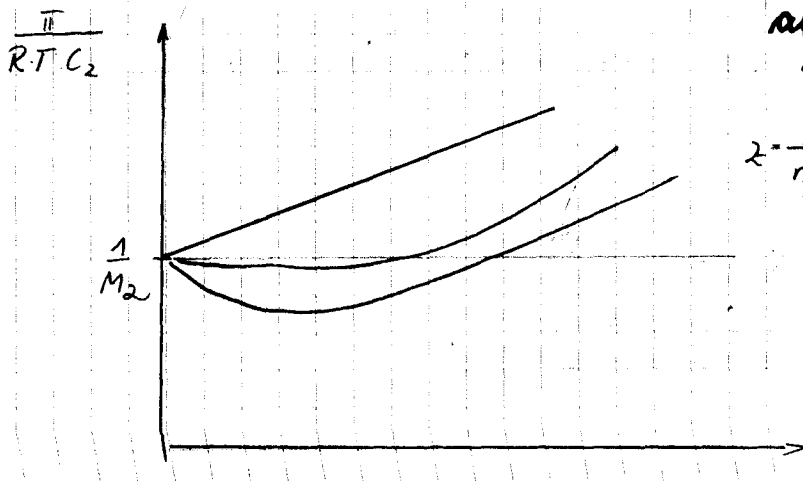
$x_2 = \frac{n_2}{n_1+n_2} \approx \frac{n_2}{n_1} = \frac{p_2 \cdot M_2}{p_1 \cdot M_1} \cdot \frac{\bar{v}_1 \cdot M_1 \cdot \rho_1}{M_2 \cdot \rho_1}$

$x_2 = \frac{n_2}{n_1+n_2} \approx \frac{n_2}{n_1} = \frac{p_2 \cdot M_2}{p_1 \cdot M_1} \cdot \frac{\bar{v}_1}{M_2} = c_2 \cdot \frac{\bar{v}_1}{M_2}$

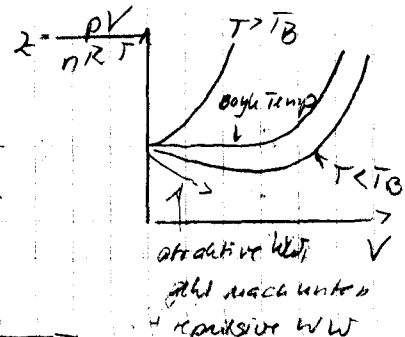
$c_2 \frac{\bar{v}_1}{M_2} + B \frac{\bar{v}_1^2}{M_2^2} c_2^2 \dots = \frac{\bar{v}_1 \Pi}{RT}$

$\frac{1}{M_2} + B \frac{\bar{v}_1}{M_2^2} \cdot c_2 \dots = \frac{\Pi}{RT c_2}$

$\frac{n_2}{n_1}$  da stark  $\approx \frac{n_2}{n_1}$  Näherung



analog: Auftragung bei realen Gasen



$\Pi$  = osmotischer Druck

Mit nur Molmasse, sondern

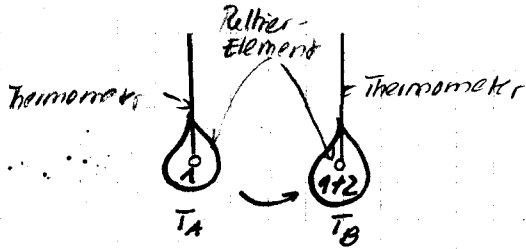
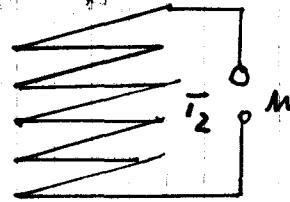
mit Verdichten  $B$  repulsiv (mit Steigung)

od. attraktiv WW (mit vor. Waals  $\rho$  pos. Steigung)

# Dampfdruckmessung

Das Prinzip ist das Erfinden eines Siedepunkt-  
erhöhung

Moderne Messtechnik kann  
mittels Referenz-Elementen  
Temp. differenzen  
extrem genau messen



Im Gasraum gleicher Druck,  
aber unterschiedliche Tempera-  
turen.

$a$  = Aktivität  
 $\Delta_{\text{vap}} H$  = ver-  
dampfungswärme  
 $\Delta_{\text{vap}} S$  = Ver-  
dampfungsentropie

$$\mu_{1, \text{gas}} = \mu_{1, \text{fl}} \quad \text{chem. pot. in Gas-} = \text{chem. pot. in Fl. phase}$$

$$= \mu_1^{\circ} + RT \ln a_1 \quad \text{da wir GG}$$

$$\mu_{1, \text{gas}} - \mu_1^{\circ} = RT \ln a_1 \quad \mu_{1, \text{gas}} - \mu_1^{\circ} = 0 = \Delta_{\text{vap}} H - T \Delta_{\text{vap}} S$$

$$\frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R T_A} - \frac{\Delta_{\text{vap}} S}{R} = 0$$

$$\frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R T_B} - \frac{\Delta_{\text{vap}} S}{R} = \ln a_1$$

$$\frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R T_B} - \frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R T_A} = \ln a_1$$

$$\frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R} \left( \frac{1}{T_B} - \frac{1}{T_A} \right) = \ln a_1$$

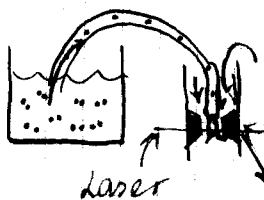
$$\frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R} \left( \frac{T_A - T_B}{T_A \cdot T_B} \right) = \ln a_1$$

$$T_A \approx T_B = T$$

$$\frac{\Delta_{\text{vap}} H}{R T^2} \cdot \Delta T = \ln a_1 \approx x_2 + \text{nicht ideale Terme}$$

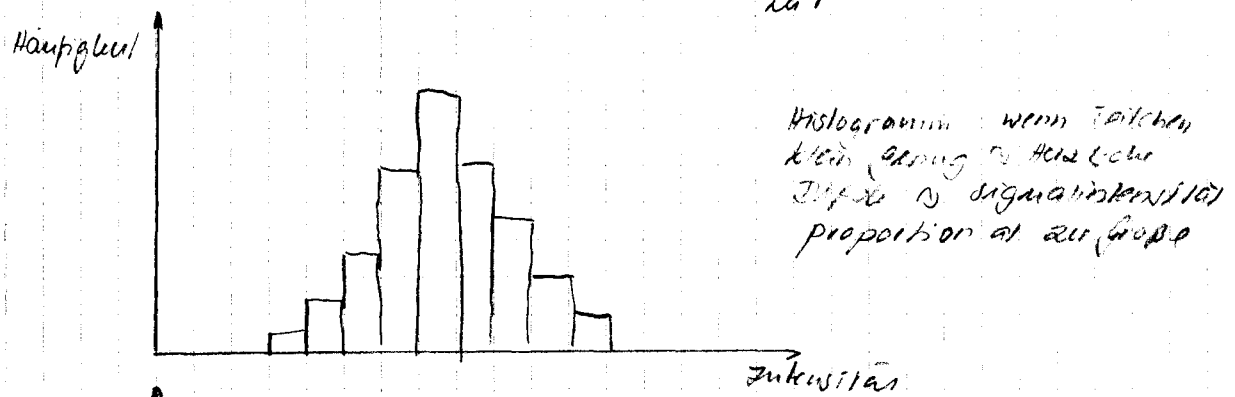
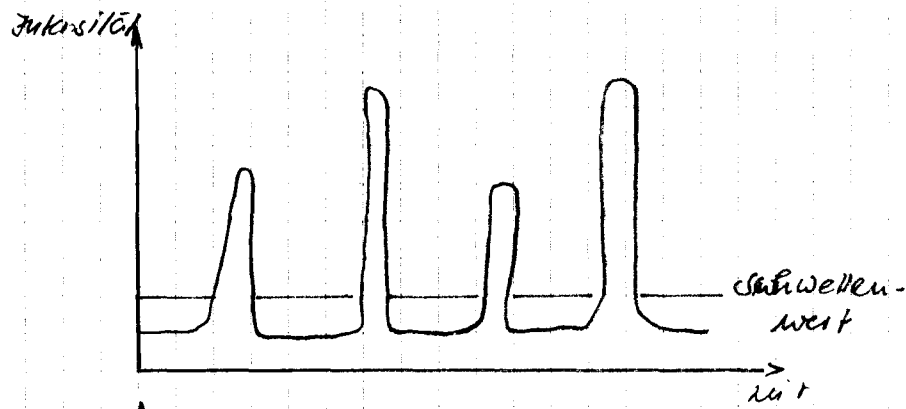
## Lichtstrahlung

Einzelteilchenlichtstrahlung  
Einzelteilchen-Spektroskopie

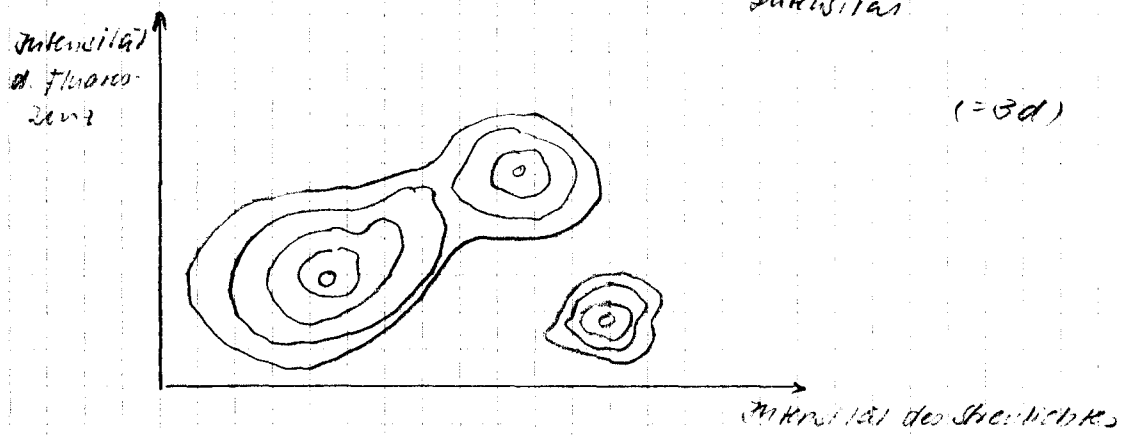


reines LM  
Abschirmung  
Strahl nicht erhöhen  
Streulicht  
Fluoreszenzlicht

Strom versengt sich (Partikel werden  
auf Schmirgel aufgebracht)  
1) nur Messfunktion mit 2 Partikel gleicher  
Zeitig



Histogramm wenn Teilchen klein genug für Heisenberg'sche Unschärferelation proportional zur Größe



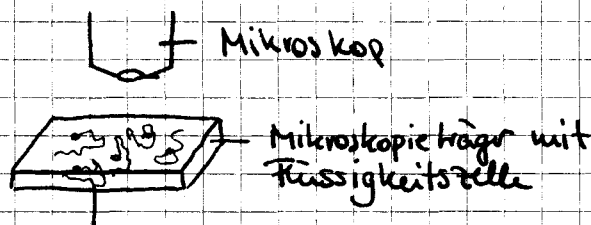
stat. Lichtstreuung ergibt: Massen der Objekte

dyn. Lichtstreuung ergibt: Diffusionskoeffizienten.

• es wird der hydrodynamische Radius ausgegeben einer harten Kugel mit dem gleichen Diffusionskoeffizienten wie die Probe.

→ ist nicht der Radius der Objekte der Probe. sondern nur ein Maß für die Diffusionskoeffizienten.

## Ermitteln von Diffusionskoeffizienten aus direkter Beobachtung

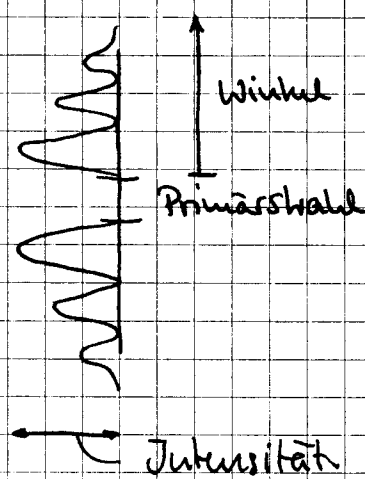
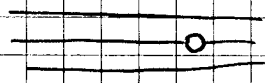


Partikel mit Brunschw-Bewegung

- mittleres Verschiebungsgeradrat  $\langle x^2 \rangle$  ist proportional zum Diffusionskoeffizienten bzw. umgekehrt proportional zum hydrodynamischen Radius.
- Partikel müssen dabei "schweben" d.h. i.d.R. nur für organische Partikel anwendbar.
- Bei kleinen Partikeln benötigt man intensive Seitenbeleuchtung um die Partikel noch zu sehen.
- Unter Beachtung der o.g. Randbedingungen ist das Verfahren robust und einfach durchsetzbar. Da es ein Einzelteilchenexperiment ist, erlaubt es uns auf einfache Weise Histogramme der Diffusionskoeffizienten zu erstellen.

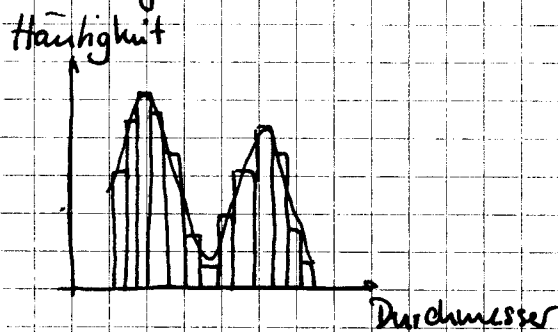
## Fraunhofer Beugung / Mie Streuung

- Bei der Beugung von Licht an "mittelgroßen Objekten" entsteht ein charakteristisches Muster aus konzentrischen Ringen.
- Die Abstände zwischen den Ringen und ihr Intensitätsmuster hängen von Größe, Form, Transparenz und Brechungsindex des Objektes ab.



- Wenn man einheitliche Objekte mit einem Laserstrahl beleuchtet, erhält man das charakteristische Beugungsmuster für diese Objekte, aus dem man Angaben über Form, Größe und Brechungsindex extrahieren könnte.
- Meist jedoch nimmt man Kugelform an und macht eine Annahme über den Brechungsindex, beleuchtet aber eine Mischung aus Partikeln unterschiedlicher Größe.

Man erhält ein charakteristisches Beugungsbild. Dieses versucht man anzupassen, indem man ein Histogramm der Größenverteilung annimmt, die sich daraus ergebenden theoretischen Beugungsbilder addiert, mit dem experimentellen vergleicht und in einer Marquart-Levenberg-ähnlichen Routine die Gewichtsfaktoren variiert, bis optimale Übereinstimmung zum Experiment erzielt ist.



- Wenn die Objekte groß genug sind, kann man ihre Beugungsbilder allein nach dem Fraunhofer Formalismus beschreiben. d.h. man nimmt an, dass sie das Licht blockieren bzw. retardieren und das dies zu einem charakteristischen Interferenzmuster führt. Zusätzlich koppelt jedoch das Licht in die Grenzfläche zwischen Partikel und Medium ein, pflanzt sich in wellenleiter-artiger Weise längs der Oberfläche fort und wird in einem ebenfalls winkelabhängigen Intensitätsmuster wieder abgestrahlt. Dieses Phänomen wurde von Mie vollständig beschrieben.

- Wenn die Partikel kleiner als ca. 300 nm werden, wird der Mie-Strahlungseffekt so merkbar, dass man ihn mit berücksichtig d.h. das theoretische Beugungs-Strahlungsmuster der Partikel einer individuellen Schicht im Histogramm sieht, jetzt etwas anders aus, die Anpassung bleibt jedoch die gleiche.