

2. Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Photonenkorrelationspektroskopie

Die molekulare Bewegung in der Probe führt zu zeitlichen Fluktuationen in der Intensität des Streulichts. Je kleiner das Streuvolumen, desto ausgeprägter die Fluktuationen

Die Formel für den differentiellen Streuquerschnitt der Probe unter Berücksichtigung der molekularen Bewegung wird zu

$$\frac{d\sigma(t)}{d\Omega} \approx \frac{\pi^2}{\lambda^4} |f_M(\vec{q}, t)|^2 I(\vec{q}, t)$$

Die **Streuamplitude des M -ten Teilchens** ist zeitabhängig auf Grund der molekularen Umorientierung und intramolekularer Bewegungen

$$f_M(\vec{q}, t) \approx \sum_{aM} \vec{e}_A \alpha_{aM}(t) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}\vec{r}_{aM}(t)}$$

Summe über alle Atome a (Polarisierbarkeiten α_{aM} des Moleküls M).

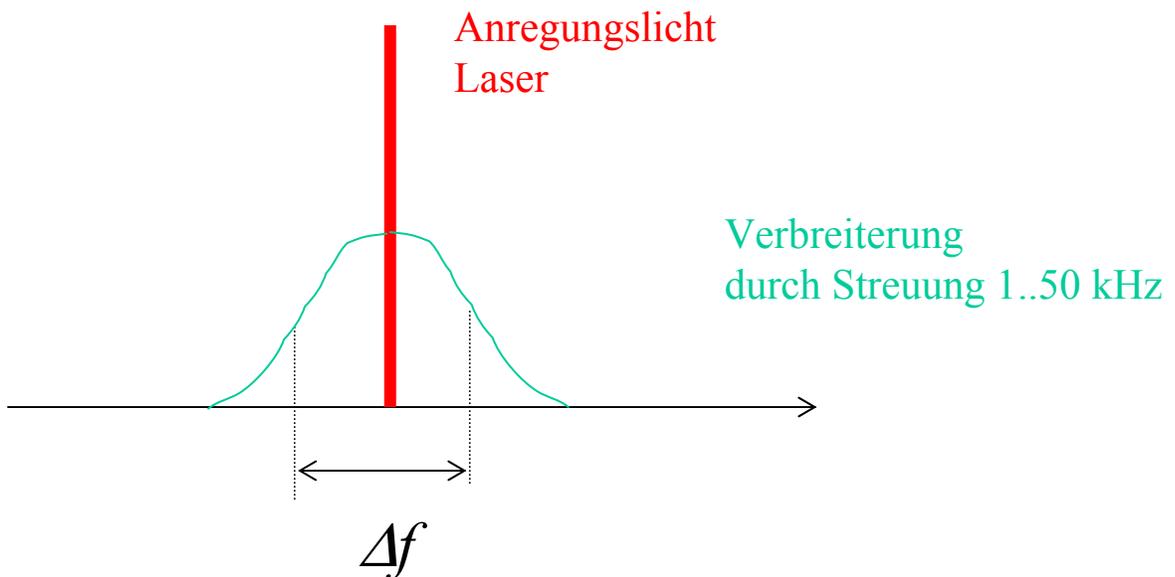
Die **Strukturfunktion** wird durch die translatorische Diffusion der Teilchen ebenfalls zeitabhängig:

$$I(\vec{q}, t) \approx \sum_{M, M'} e^{-i\vec{q}\vec{r}_{MM'}(t)}$$

$$\vec{r}_{MM'} = \vec{r}_M - \vec{r}_{M'}$$
 Abstandsvektor der Moleküle M und M'

Aus der Untersuchung der **zeitlichen Fluktuationen des differentiellen Streuquerschnitts** kann Information über dynamische Vorgänge in der Probe gewonnen werden.

Eine zeitliche Änderung der Intensität des Streulichts entspricht einer spektralen Verbreiterung der Linie (vgl. Dopplereffekt)



2.1. Autokorrelationsfunktionen(AKF) in der DLS

a) AKF der komplexen Amplitude $\underline{E}_0(t)$ des Streulichts

$$\underline{E}_0(t) \equiv E_0(t)e^{i\varphi(t)}$$

Die komplexe Amplitude enthält die reelle Amplitude $E_0(t)$ und die reelle Phase $\varphi(t)$ des Streulichts

$$\Gamma_E(\tau) \equiv \left\langle \underline{E}_0(t) \underline{E}_0^*(t + \tau) \right\rangle \equiv \left\langle \left| \underline{E}_0(t) \right|^2 \right\rangle g_1(\tau)$$

Der zeitliche Mittelwert der komplexen Amplitude \underline{E}_0 des Streulichts verschwindet auf Grund der stochastischen Anordnung und Bewegung der Streuteilchen

$$\left\langle \underline{E}_0(t) \right\rangle \equiv \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} \underline{E}_0(t + \tau) d\tau = 0$$

Die normierte AKF $g_1(\tau)$ erfüllt die Bedingungen

$$g_1(0) = 1$$

$$g_1(\tau \rightarrow \infty) \rightarrow 0$$

In einfachen Situationen gilt

$$g_1(\tau) = e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}$$

mit der **Korrelationszeit** τ_c

Die **Spektraldichte** $S(\omega)$ der Fluktuationen des Streulichts bei der **Winkelfrequenz** ω ist definiert als die Fouriertransformierte der AKF

$$S(\omega) \equiv \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} d\tau e^{-i\omega\tau} g_1(\tau)$$

Bei Exponentialabfall der AKF

$$g_1(\tau) = e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}$$

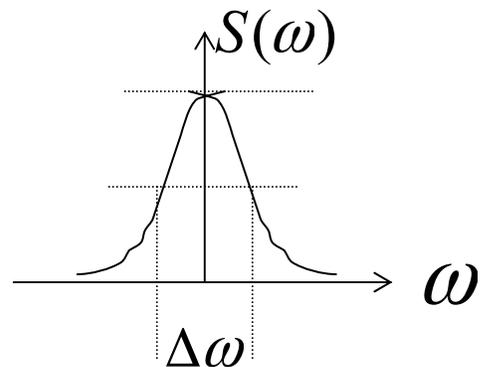
ist die Spektraldichte eine Lorentzkurve

$$S(\omega) \equiv \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} d\tau e^{-i\omega\tau} e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}} = \frac{1}{\pi} \cdot \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}$$

Die Halbwertsbreite der Lorentzkurve beträgt

$$\Delta\omega = \frac{2}{\tau_c} = 2\pi\Delta f$$

$$\Delta f = \frac{1}{\pi\tau_c}$$



Für $\tau_c = 32 \mu\text{s}$ ist $\Delta f = 10 \text{ kHz}$

b) AKF der Intensität $I(t) \equiv |\underline{E}_0(t)|^2$ des Streulichts

$$\Gamma_I(\tau) \equiv \langle I(t) \cdot I(t + \tau) \rangle = \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \cdot |\underline{E}_0(t + \tau)|^2 \rangle$$

PMT führt „optische Mischung“ des Streulichts durch, wobei die hohen Frequenzen ($\approx 10^{14}$ Hz) ausgemittelt und die niedrigen Frequenzen ($1 \dots 10^6$ Hz) herausgefiltert werden. Daher tritt in obiger Gl. nur die komplexe Amplitude auf.

Die komplexe Amplitude des Streulichts sei eine stochastische Größe, für die die folgende Beziehung gilt:

$$\underline{E}_0(t + \tau) = \underline{E}_0(t)g_1(\tau) + \tilde{\underline{E}}_0(t)\sqrt{1 - g_1^2(\tau)}$$

Die stochastische Amplitude $\tilde{\underline{E}}_0(t)$ besitzt die gleichen Eigenschaften wie $\underline{E}_0(t)$ und ist völlig unkorreliert zu $\underline{E}_0(t)$:

$$\langle \tilde{\underline{E}}_0(t) \rangle = 0$$

$$\langle \tilde{\underline{E}}_0^2(t) \rangle = \langle \underline{E}_0^2(t) \rangle$$

$$\langle \tilde{\underline{E}}_0(t)\underline{E}_0(t) \rangle = 0$$

Damit erhält man eine wichtige Beziehung zwischen den AKF der Intensität und der Amplitude, („Siegert“-Relation)

$$\begin{aligned} \Gamma_I(\tau) &= \left\langle |\underline{E}_0(t)|^2 \cdot \left[|\underline{E}_0(t)|^2 g_1^2(\tau) + |\tilde{\underline{E}}_0(t)|^2 (1 - g_1^2(\tau)) \right] \right\rangle = \\ &= \langle |\underline{E}_0(t)|^4 \rangle g_1^2(\tau) + \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle^2 (1 - g_1^2(\tau)) \end{aligned}$$

$$\Gamma_I(\tau) = A + Bg_1^2(\tau) \quad \text{Siegert-Relation}$$

$$A \equiv \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle^2 = \Gamma_I(\infty)$$

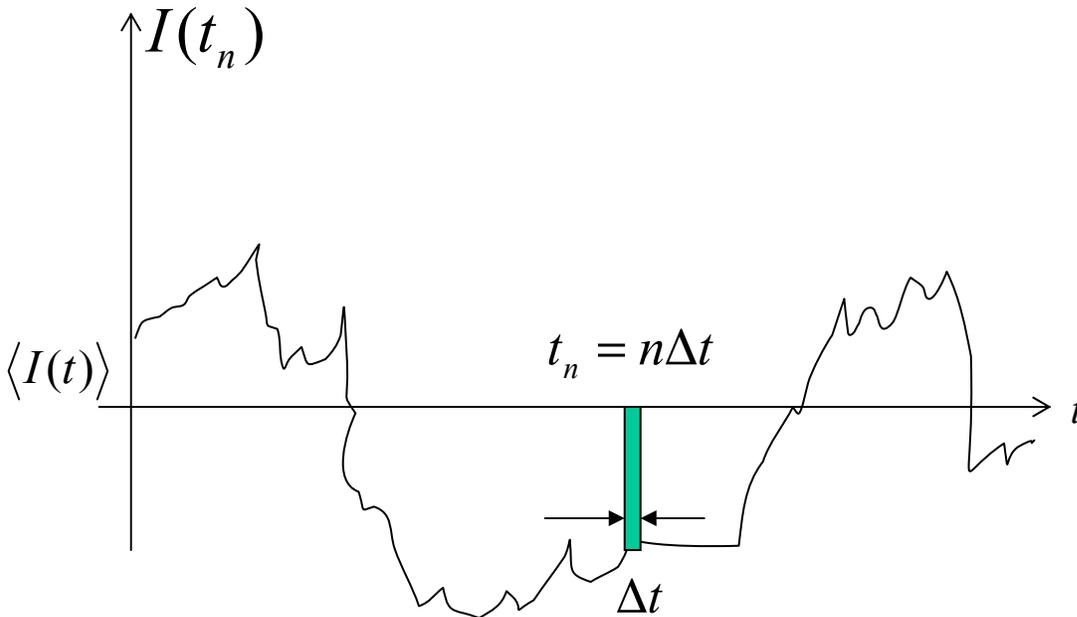
$$B \equiv \langle |\underline{E}_0(t)|^4 \rangle - \langle |\underline{E}_0(t)|^2 \rangle^2 = \Gamma_I(0) - \Gamma_I(\infty)$$

Misst man mit dem PMT die AKF $\Gamma_I(\tau)$ der Intensität des Streulichts, dann kann man bei Gültigkeit der Siegert-Relation die AKF $g_1(\tau)$ der Streulichtamplitude bestimmen:

$$g_1^2(\tau) = \frac{\Gamma_I(\tau) - \Gamma_I(\infty)}{\Gamma_I(0) - \Gamma_I(\infty)}$$

Messung der AKF $\Gamma_I(\tau)$ mit dem Korrelator

Bei der DLS ist das Streuvolumen klein (Größenordnung $0,2 \text{ mm}^3$) und die Registrierzeit Δt eines Signalpunktes durch den PMT $5 \text{ ns} \dots 100 \mu\text{s}$. Dann erhält man starke Intensitätsfluktuationen:



$$\Gamma_I(\tau = M \cdot \Delta t) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N I(t_n) \cdot I(t_{n+M})$$

Diese Operationen werden vom Korrelator durchgeführt

N liegt gewöhnlich in der Größenordnung 10^5
 τ etwa im Bereich 10 ns bis 1000 s

2.2 Translatorische und rotatorische Diffusion

Die komplexe Amplitude des in Analysatorrichtung liegenden elektrischen Feldes am Detektor zur Zt. t ist die Summe der von allen Teilchen M an den Orten $\vec{r}_M(t)$ mit der Polarisierung $\vec{\alpha}_M$ erzeugten E -Feld-Komponenten:

$$\vec{e}_A \underline{\vec{E}}_{\text{out}}(\vec{R}, t) \approx \frac{E_0}{R} \frac{\pi}{\lambda^2} \sum_M \vec{e}_A \vec{\alpha}_M(t) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}\vec{r}_M(t)}$$

Es wurden hierbei die Retardierungseffekte nur in erster Näherung berücksichtigt und wie bisher Effekte des inneren Feldes vernachlässigt.

Die AKF dieses elektrischen Feldes wird damit zu

$$\Gamma_E(\vec{q}, t) = \left\langle \vec{e}_A \underline{\vec{E}}_{\text{out}}(\vec{R}, t) \circ \vec{e}_A \underline{\vec{E}}_{\text{out}}^*(\vec{R}, 0) \right\rangle \approx$$
$$\approx A \left\langle \sum_{MM'} \vec{e}_A \vec{\alpha}_M(t) \vec{e}_P \circ \vec{e}_A \vec{\alpha}_{M'}(0) \vec{e}_P e^{-i\vec{q}[\vec{r}_M(t) - \vec{r}_{M'}(0)]} \right\rangle$$

Die hierbei eingeführte Konstante A ist für die weiteren Betrachtungen ohne Belang.

$$A \equiv \frac{E_0^2 \pi^2}{R^2 \lambda^4}$$

Der Exponentialterm auf der rechten Seite enthält die translatorische Bewegung der Teilchen, während das Produkt der Polarisierbarkeiten die rotatorischen und intramolekularen Bewegungen der Teilchen enthält.

Annahme:

Intramolekulare und rotatorische Bewegungen seien unabhängig von der translatorischen Bewegung, so dass die Mittelungen separat betrieben werden können.

Hat man es nur mit rotatorischer und translatorischer **Diffusion** der Teilchen zu tun und sind diese entkoppelt, dann gilt für die AKF des elektrischen Feldes bei hinreichend großer Verdünnung von N_M gleichen Teilchen im Probenvolumen

$$\Gamma_E(\vec{q}, t) \approx AN_M C_{\text{rot}}(t) C_{\text{trans}}(\vec{q}, t)$$

mit der Rotationskorrelationsfunktion

$$C_{\text{rot}}(t) = \langle \vec{e}_A \vec{\alpha}(t) \vec{e}_P \circ \vec{e}_A \vec{\alpha}(0) \vec{e}_P \rangle$$

und der Translationskorrelationsfunktion

$$C_{\text{trans}}(t) = \langle e^{-i\vec{q}[\vec{r}(t) - \vec{r}(0)]} \rangle \equiv \langle e^{-i\varphi(t)} \rangle$$

a) Auswertung der Translationskorrelationsfunktion

Der Startpunkt der translatorischen Diffusion sei der Koordinatenursprung:

$$\vec{r}(0) = 0$$

Die Phase $\varphi(t) = \vec{q}\vec{r}(t)$ ist bei isotroper Diffusion mit dem

Diffusionskoeffizienten D eine Gauß'sche Zufallsgröße mit verschwindendem Mittelwert $\langle \varphi(t) \rangle = 0$

und der Varianz

$$\begin{aligned} \langle \varphi^2(t) \rangle &= \langle (q_x x(t) + q_y y(t) + q_z z(t))^2 \rangle = \\ &= q_x^2 \langle x(t)^2 \rangle + q_y^2 \langle y(t)^2 \rangle + q_z^2 \langle z(t)^2 \rangle = q^2 \cdot 2Dt \end{aligned}$$

wegen

$$\langle x^2(t) \rangle = \langle y^2(t) \rangle = \langle z^2(t) \rangle = 2Dt$$

Die bedingte Wahrscheinlichkeit dafür, dass z. Zt. t die Phase φ beobachtet wird, wenn z. Zt. $t = 0$ die Phase null war, ist damit gegeben durch

$$p(\varphi, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi \cdot q^2 2Dt}} e^{-\frac{\varphi^2}{2 \cdot q^2 2Dt}}$$

Mit dieser Verteilung kann die Translationskorrelationsfunktion berechnet werden:

$$\langle e^{-i\varphi(t)} \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} d\varphi p(\varphi, t) e^{-i\varphi} = \frac{1}{\sqrt{4\pi q^2 Dt}} \int_{-\infty}^{+\infty} d\varphi e^{-\frac{\varphi^2}{4q^2 Dt}} e^{-i\varphi} = e^{-q^2 Dt}$$

Das Integral auf der rechten Seite wurde ausgewertet unter Verwendung des Integrals

$$\int_{-\infty}^{+\infty} e^{-\alpha x^2 - i\beta x} dx = \sqrt{\frac{\pi}{\alpha}} e^{-\frac{\beta^2}{4\alpha}}$$

Die Translationskorrelationsfunktion fällt demnach exponentiell mit der Zeit ab, wobei die Abfallzeitkonstante winkelabhängig ist:

$$C_{\text{trans}}(t) = e^{-q^2 Dt} = e^{-t \cdot \frac{16\pi^2 D}{\lambda^2} \sin^2 \theta}$$

Bei größeren Streuwinkeln erfolgt der Abfall schneller.
Die Diffusionskoeffizienten für Biomoleküle in wässrigen
Lösungen liegen bei $D \approx 10^{-12} \dots 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

Nach Stokes/Einstein ist der translatorische Diffusionskoeffizient D mit dem Teilchenradius R und der Viskosität η des Mediums verbunden:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (\text{Kugelförmige Teilchen})$$

Diese Beziehung wird ausgenutzt, um die Radienverteilung von z. B. Vesikeln oder Nanopartikeln zu bestimmen. Die Kalibrierung erfolgt an Lösungen mit bekanntem Teilchenradius

b) Auswertung der Rotationskorrelationsfunktion

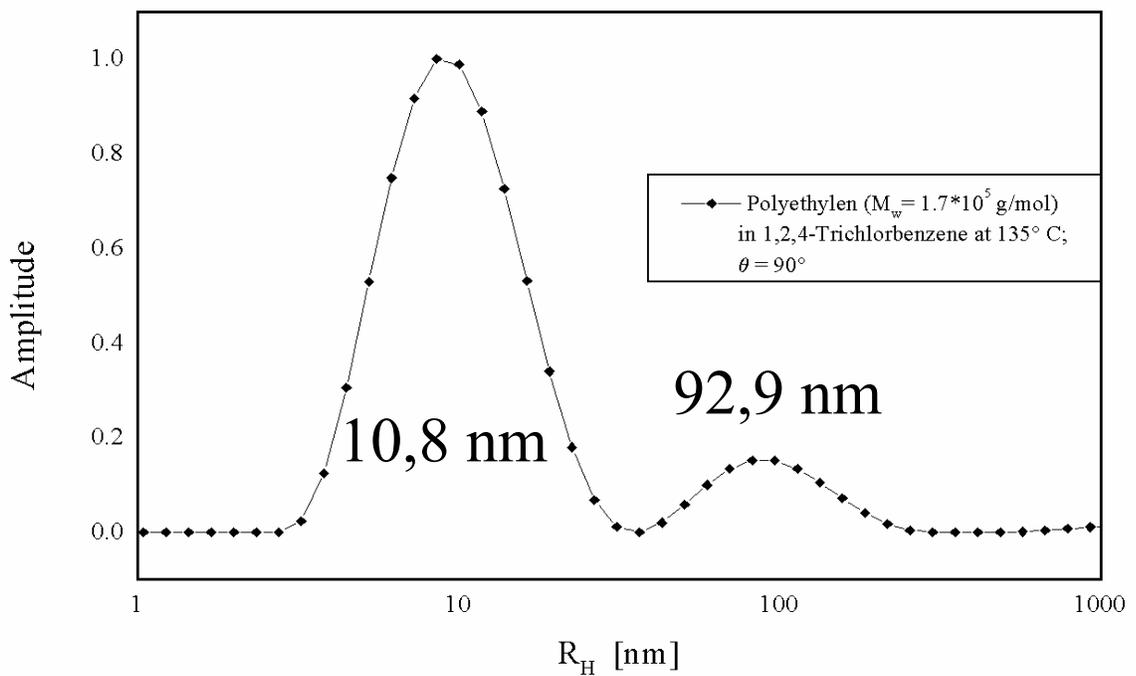
Bei anisotropen Molekülen führt die Umorientierung zu einem zusätzlichen Abfall der Korrelationsfunktion $\Gamma_E(t)$

Die bedingte Wahrscheinlichkeit dafür, dass z. Zt. t die Symmetrieachse der Polarisierbarkeit des Moleküls die Orientierung Ω besitzt, wenn sie z. Zt. $t = 0$ die Orientierung Ω_0 hatte, ist gegeben durch den „Propagator“

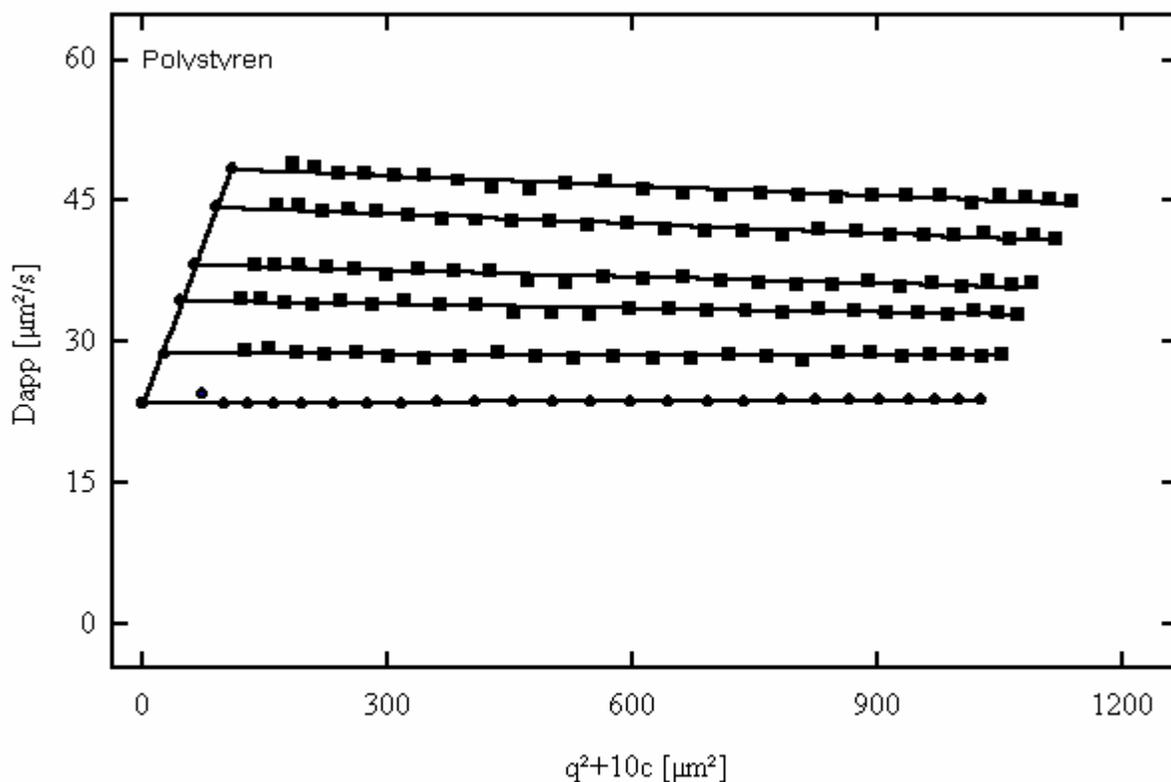
$$p(\Omega, \Omega_0, t) = \sum_{\ell, m} Y_{\ell, m}^*(\Omega_0) Y_{\ell, m}(\Omega) e^{-\frac{t}{\tau_\ell}}$$

Kugelfunktionen

Beispiel: Bestimmung der Radienverteilung von PolyethylenMolekülen mit $M_w = 1,7 \cdot 10^5$ g/mol mittels DLS (*M. Helmstedt*)



Dynamischer ZIMM-Plot (*M. Helmstedt*)



$Dz(c)$: 23.32 $\mu\text{m}^2/\text{s}$

$Dz(q^2)$: 23.49 $\mu\text{m}^2/\text{s}$

kD : 0.0988 dm^2/g

$C\langle S^2 \rangle$: 1.15e-5 μm^2

C:\Messdat\Ringversuch\RINGPR31.DAT

$$\frac{1}{\tau_\ell} = \frac{D_r}{R^2} \ell(\ell + 1)$$

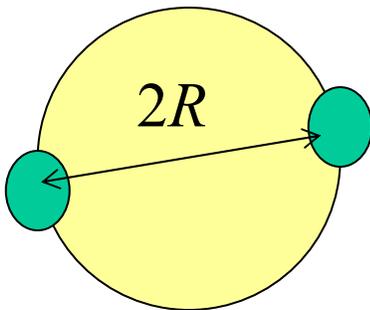
Abfallzeitkonstanten

Teilchenradius R

$$D_r = \frac{k_B T}{8\pi\eta R}$$

Rotations-Diffusionskoeffizient

Für ein kugelförmiges Teilchen mit zwei Polarisierbarkeitszentren im Abstand $2R$ gilt



$$C_{\text{rot}}(q, t) = \sum_{n=0}^{\infty} (4n + 1) [j_{2n}(qR)]^2 e^{-2n(2n+1) \frac{D_r}{R^2} \cdot t}$$

sphär. Besselfunktionen

Man erkennt, dass multiexponentieller Abfall auftritt. Die Analyse ist kompliziert.