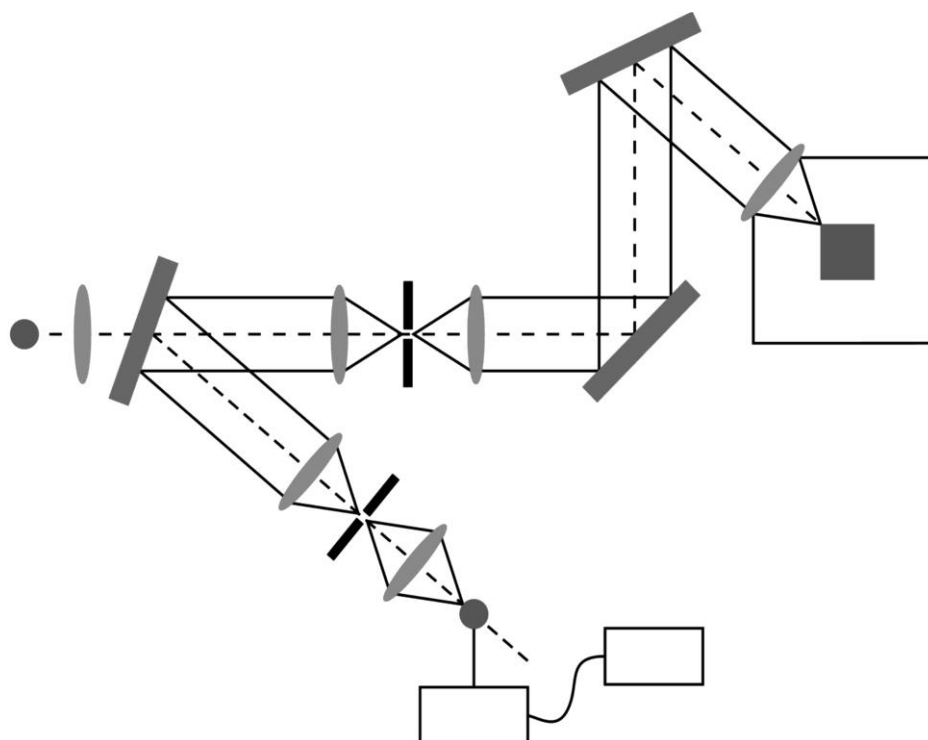


**О. В. Андреева, Н. В. Андреева, А. А. Дроздов,
Т. Б. Кузьмина, А. О. Исмагилов, Р. Н. Чигрин**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ОЦЕНКЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТИЦ ПО РАЗМЕРАМ В НАНОСУСПЕНЗИЯХ И НАНОЭМУЛЬСИЯХ



**Санкт-Петербург
2016**

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

**О. В. Андреева, Н. В. Андреева, А. А. Дроздов, Т. Б. Кузьмина,
А. О. Исмагилов, Р. Н. Чигрин**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ОЦЕНКЕ
РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТИЦ ПО РАЗМЕРАМ В
НАНОСУСПЕНЗИЯХ И НАНОЭМУЛЬСИЯХ**

Учебное пособие



Санкт-Петербург

2016

Андреева О.В., Андреева Н.В., Дроздов А.А., Кузьмина Т.Б., Исмагилов А.О., Чигрин Р.Н., Экспериментальный практикум по оценке распределения частиц по размерам в наносuspensions и наноэмульсиях. Учебное пособие – СПб: Университет ИТМО, 2016. – 30 с.

Учебное пособие включает описание лабораторных работ по определению размеров наночастиц в жидких суспензиях и эмульсиях методом динамического рассеяния света. Даны методические материалы, необходимые студентам для выполнения лабораторных работ и представления отчётов.

Предназначено для студентов, обучающихся по направлению “Фотоника и оптоинформатика” по программам подготовки бакалавров 12.03.03 для дисциплин “Нanomaterialы и нанотехнологии”, “Оптические нанотехнологии”, и подготовки магистров 12.04.03 для дисциплин “Оптическая диагностика биомедицинских объектов”, “Физические основы нанотехнологий фотоники и оптоинформатики”

Рекомендовано к печати Ученым советом факультета фотоники и оптоинформатики – протокол № 6 от 25.05.2016.



Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Университет ИТМО, 2016

© Андреева О.В., Андреева Н.В., Дроздов А.А., Кузьмина Т.Б.,
Исмагилов А.О., Чигрин Р.Н., 2016

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Метод динамического рассеяния света и его практическая реализация	6
2. Методика проведения измерений на приборе Horiba LB-550	11
2.1. Включение экспериментальной установки	11
2.2. Проведение измерений по анализу размеров частиц	11
2.3. Выключение экспериментальной установки.....	12
3. Исследование процесса седиментации водных суспензий тонкодисперсного кварца	13
3.1. Описание метода	13
3.2. Методика проведения работы	14
3.3. Ход проведения работы	15
3.4. Обработка цифровых голограмм	16
4. Определение размеров частиц в препаратах биологических жидкостей.....	17
4.1. Содержание белка в молоке	17
4.2. Содержание жира в молоке	19
4.3. Влияние температурной обработки на свойства молока	21
5. Исследование изменений структуры наноэмульсий при температурном воздействии.....	22
5.1. Проведение расчетов основных параметров ансамбля частиц	22
5.2. Примеры графиков, которые необходимо приводить в отчете	25
6. Форма представления отчёта по выполнению лабораторной работы ...	27
7. Контрольные вопросы для самопроверки.....	29

ВВЕДЕНИЕ

Осенью 2016-го года Университет ИТМО получил почетную медаль ЮНЕСКО «За вклад в развитие нанонауки и нанотехнологий» на торжественной церемонии, которая состоялась в Париже. Ректор вуза Владимир Васильев принял награду из рук генерального директора ЮНЕСКО Ирины Боковой. Вуз удостоился почести, согласно официальной формулировке, «За уникальную среду в вузе: наука – образование – инновации».

Разработки в области нанотехнологий сегодня актуальны практически во всех прикладных областях человеческой деятельности. В медицине особенно перспективны исследования в области адресной доставки лекарств для уменьшения общего токсикоза организма и для попадания в межклеточное пространство. Большие надежды ученых связаны с созданием так называемой «лаборатории на чипе». С ее помощью можно проводить химический анализ веществ на молекулярном уровне. Своеобразной идеей фикс на данный момент является использование нанотехнологий для информационных систем и систем безопасности: с помощью нанонауки можно существенно увеличить производительность и эффективность работы таких систем. Кроме того, по всему миру сейчас ведутся исследования по конструированию квантовых компьютеров, где не обойтись без нанофотоники.

Учебные программы кафедры фотоники и оптоинформатики включают дисциплины, имеющие прямое отношение к нанонауке и нанотехнологиям, и способствуют развитию этой области научно-технической деятельности. Информация по данному направлению в том или ином виде входит в программы практически всех общепрофессиональных дисциплин кафедры, как бакалаврской, так и магистерской подготовки.

Основные понятия о специфике и особенностях этого научно-технического направления даются студентам уже на первом курсе. В первую очередь студенты получают представление о том, что понятия, используемые для описания явлений макромира, как правило, неприменимы при рассмотрении наноразмерных объектов и наномасштабных процессов. Обучение направлено на то, чтобы студенты отличали рекламные термины с приставкой "НАНО" от тех случаев, когда это действительно оправдано, т.е. количественные изменения какого-либо параметра существенно изменяют функциональные свойства рассматриваемых объектов и приводят к появлению новых, необычных свойств и удивительных явлений. При этом большое внимание уделяется рассмотрению нанотехнологий, осуществляемых с помощью электромагнитного излучения оптического диапазона, применение которых значительно расширилось в последнее десятилетие.

Лекционные курсы дисциплин кафедры, связанные с данным направлением, поддерживаются соответствующими лабораторными практикумами. Данное пособие представляет междисциплинарный экспериментальный практикум по оценке распределения частиц по размерам методом динамического рассеяния света (метод фотонной корреляционной спектроскопии).

Экспериментальный практикум включает лабораторную работу по освоению методики оценки распределения частиц по размерам методом динамического рассеяния света с использованием прибора «Анализатор размера частиц HORIBA LB-550», а также исследование специальных объектов, включая биомедицинские, которые являются предметом пристального внимания в таких дисциплинах как «Нanomатериалы и нанотехнологии», «Оптические нанотехнологии», «Физические основы нанотехнологий фотоники и оптоинформатики», «Оптическая диагностика биомедицинских объектов».

Следует отметить, что представленные в данном практикуме лабораторные работы, использующие метод динамического рассеяния света, дают студентам возможность сопоставить результаты оценки размеров наночастиц, которые полученные разными методами. В лабораторных работах, наряду с методом динамического рассеяния, используются другие методы, позволяющие повысить достоверность полученных результатов, такие как метод седиментации, метод цифровой голографической интерферометрии, а также опыт аналитического представления изучаемых явлений и процессов.

Лабораторная работа по исследованию частиц тонкодисперсного кварца методом динамического рассеяния проводится для бакалавров, в целях ознакомления с методом динамического рассеяния, а также его практической реализации. Лабораторные работы по исследованию тонкодисперсного кварца методом цифровой голографической интерферометрии, по оценке распределения частиц в препаратах биологических жидкостей, а также по исследованию температурных воздействий на биологические препараты, проводится для магистерских программ, и дают студентам возможность выработать аналитический аппарат для оценки процессов, протекающих в наносuspensions и наномульсиях, при помощи доступных методик.

Авторы надеются, что данное пособие позволит студентам более осознанно выполнять лабораторные работы учебного плана и получить более глубокие и прочные знания в области современных представлений о наночастицах и их роли в современных технологиях.

1. Метод динамического рассеяния света и его практическая реализация

Для измерения размеров наночастиц используется метод динамического рассеяния света (ДРС). Данный метод позволяет определить коэффициент диффузии наночастиц в жидкости путем анализа характерного времени флуктуаций интенсивности рассеянного света. Рассеянный свет от частиц детектируется как сигнал с флуктуациями, соответствующими скоростям броуновского движения частиц. Полученный сигнал анализируется с помощью корреляционной спектроскопии, рассчитывается автокорреляционная функция и на этом основании строится распределение частиц по размерам.

Метод динамического рассеяния света используется также для измерения скоростей потоков жидкости и газа. Традиционно этот вариант метода носит название лазерной доплеровской анемометрии (ЛДА).

В качестве примера рассмотрим диффузию монодисперсных наночастиц, взвешенных в жидкости. Хаотическое броуновское движение частиц вызывает микроскопические флуктуации их локальной концентрации. В свою очередь, эти флуктуации приводят к локальным неоднородностям показателя преломления среды. При прохождении лазерного луча через такую среду часть света будет рассеяна на этих неоднородностях. Флуктуации интенсивности рассеянного света будут соответствовать флуктуациям локальной концентрации дисперсных частиц. Информация о коэффициенте диффузии частиц содержится в зависящей от времени корреляционной функции флуктуаций интенсивности. Временная автокорреляционная функция, согласно определению, имеет следующий вид:

$$G(\tau) = \langle I(0)I(t - \tau) \rangle = \lim_{t_m \rightarrow \infty} \frac{1}{t_m} \int_0^{t_m} I(t)I(t - \tau) dt, \quad (1)$$

где интенсивность I имеет различные значения во время t и $(t - \tau)$. t_m – это время интегрирования (время накопления корреляционной функции). Очевидно, что при $\tau = 0$ автокорреляционная функция равна среднеквадратичной интенсивности $\langle I^2 \rangle$. Для больших времен корреляция отсутствует, поэтому автокорреляционная функция равна квадрату средней интенсивности рассеяния:

$$G(\tau) = \langle I(0)I(t - \tau) \rangle = \langle I(0) \rangle \langle I(t - \tau) \rangle = \langle I \rangle^2. \quad (2)$$

В соответствии с гипотезой Онзагера релаксация микроскопических флуктуаций концентрации к равновесному состоянию может быть описана первым законом Фика (уравнением диффузии):

$$\frac{\partial c(\vec{r}, t)}{\partial t} = -D \nabla^2 c(\vec{r}, t), \quad (3)$$

где $c(\vec{r}, t)$ – концентрация и D – коэффициент диффузии частиц. Можно показать, что автокорреляционная функция интенсивности экспоненциально затухает во времени и характерное время релаксации однозначно связано с D . Корреляционная функция интенсивности рассеянного света имеет вид:

$$G(\tau) = a \exp\left(-2 \frac{\tau}{t_c}\right) + b, \quad (4)$$

где в соответствии с решением уравнения диффузии обратное время корреляции равно:

$$\frac{1}{t_c} = D_t q^2. \quad (5)$$

Волновой вектор флуктуаций концентрации описывается выражением:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right). \quad (6)$$

В выражениях (4) – (6): a и b – экспериментальные константы, n – показатель преломления жидкости, в которой взвешены дисперсные частицы, λ – длина волны лазерного света и θ – угол рассеяния.

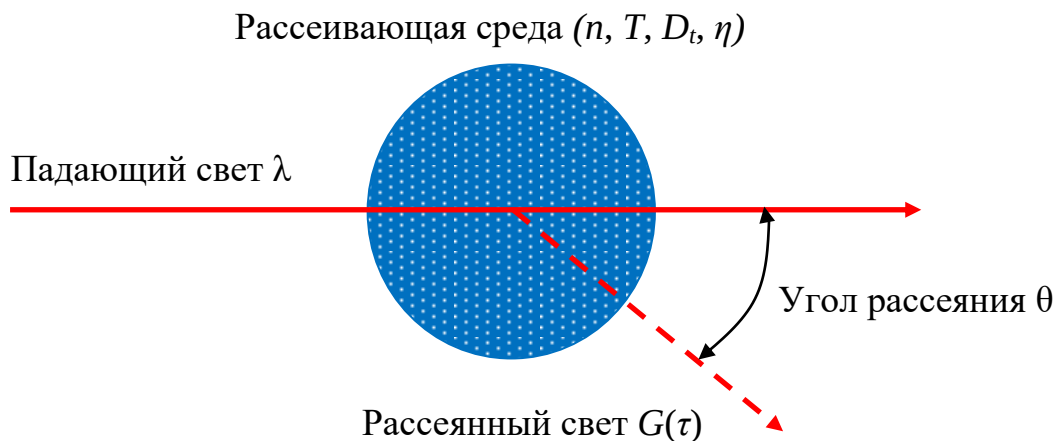


Рисунок 1. Схема процесса рассеяния света.

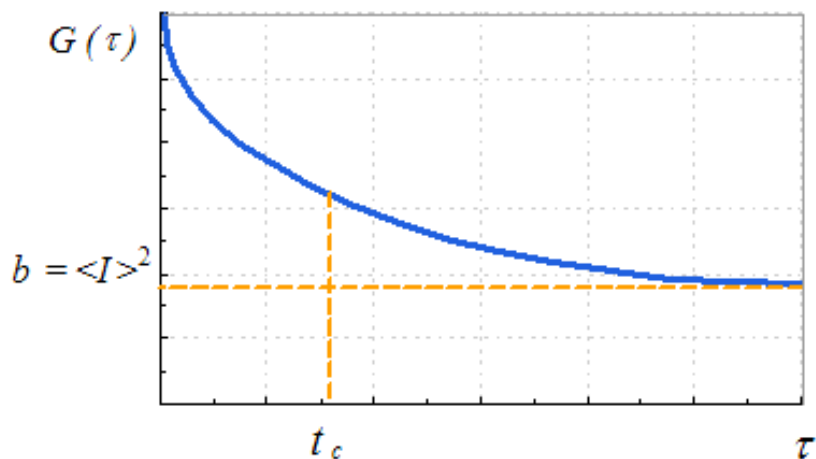


Рисунок 2. Автокорреляционная функция интенсивности рассеянного света $G(\tau)$; t_c – обратное время корреляции; b – экспериментальная константа.

Константы t_c , a и b могут быть найдены путем аппроксимации измеренной корреляционной функции теоретической экспоненциальной функцией. Если форма частиц известна или задана, их размер может быть рассчитан с использованием соответствующей формулы. Например, для сферических частиц можно использовать формулу Стокса–Эйнштейна:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R}, \quad (7)$$

где k_B – константа Больцмана, T – абсолютная температура и η – сдвиговая вязкость среды, в которой взвешены частицы радиуса R .

Проблема аппроксимации экспериментальных данных проста для рассмотренного случая рассеяния света монодисперсными сферическими частицами. Для полидисперсных образцов интерпретация экспериментальных данных усложняется. Для реально достижимой точности измерений могут быть получены только два–три параметра полидисперсного распределения: средний размер частиц, ширина распределения и асимметрия распределения.

Для ознакомления с практической реализацией метода динамического рассеяния рассмотрим работу прибора анализатора размеров частиц Horiba LB–550. Данный прибор является стандартным лабораторным оборудованием, предназначенным для измерения дисперсных параметров (размеров частиц и функций распределения частиц по размерам) суспензий, эмульсий и порошкообразных материалов. Принципиальная схема прибора представлена на рисунке 3.

Прибор способен определять размеры частиц от 1 нм до 6 мкм. Источником излучения служит лазерный диод с длиной волны 650 нм, при мощности 5 мВт. Количество жидкости, необходимое для оценки составляет от 2 мл до 4 мл.

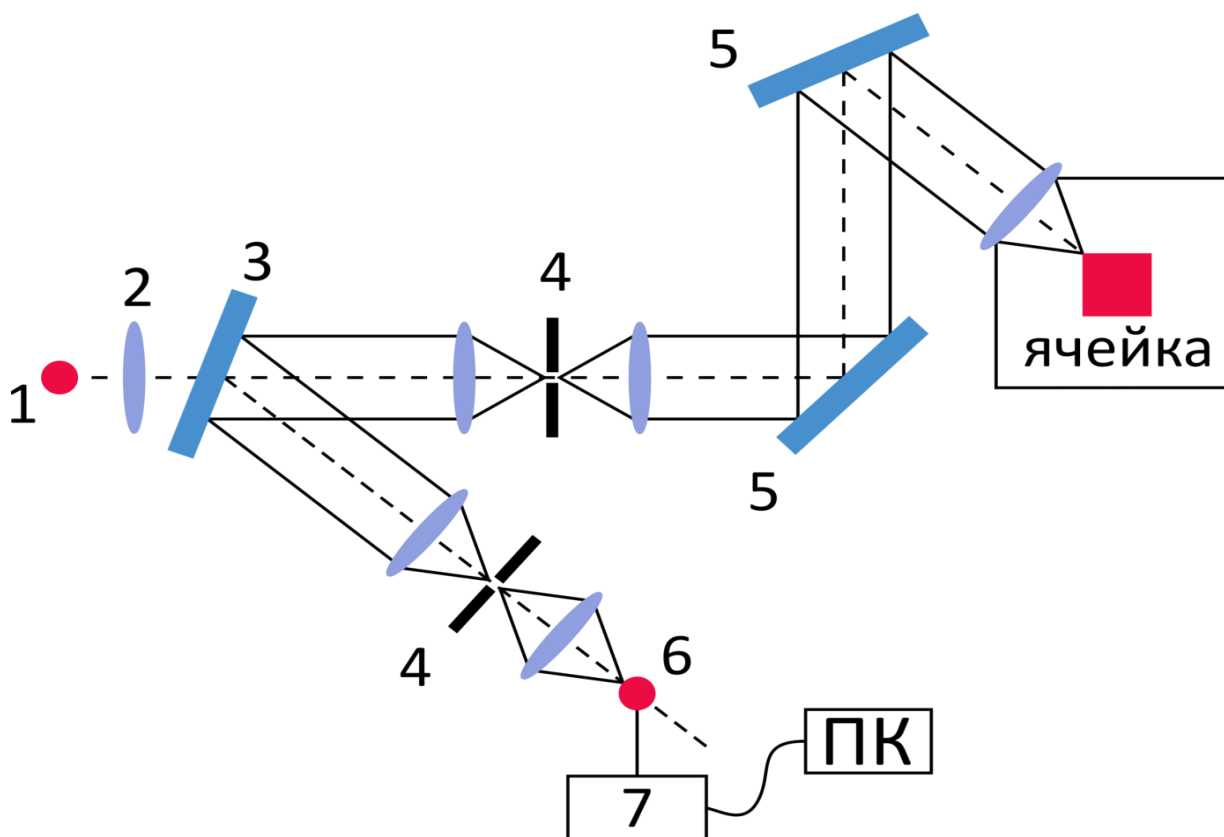


Рисунок 3. Принципиальная схема прибора HORIBA LB-550: 1 – лазерный диод, 2 – линза, 3 – полупрозрачное зеркало, 4 – микроотверстие, 5 – зеркало, 6 – датчик, 7 – блок преобразователя сигнала.

Излучение лазерного диода (1) проходит через микроотверстие (4) и распространяется на частицы образца в ячейке. Излучение, рассеиваемое частицами образца, возвращается через световод для входящего излучения и отражается полупрозрачным зеркалом (3), проходит через микроотверстие (4) и попадает на фотодетектор (6).

Обнаруженный аналоговый сигнал преобразуется в цифровой и передаётся на цифровой преобразователь сигнала (7). Преобразованный сигнал передаётся на компьютер, где подвергается математическим операциям.

Излучение, рассеиваемое частицами образца, содержит световое излучение, частотное распределение которого отличается от частоты входящего светового излучения вследствие эффекта Доплера, возникающего в результате броуновского движения частиц. Эти рассеянные световые лучи оказывают влияние друг на друга. Таким образом, интенсивность светового излучения, определяемая датчиком, меняется со временем.

После того, как информация об изменении определённой величины интенсивности светового излучения со временем будет передана на ПК и обработана при помощи БПФ, можно будет получить график частотного распределения (спектра мощности) изменений интенсивности излучения.

После сопоставления этих данных и их подсчёта с использованием вышеуказанных функций распределения с учётом интенсивности броуновского движения (коэффициента рассеяния) частиц различного размера, можно будет получить график гранулометрического состава частиц образца (распределение частиц по размерам).

2. Методика проведения измерений на приборе Horiba LB-550

2.1. Включение экспериментальной установки

- а) Включите электропитание прибора LB–550.
- б) Включите электропитание персонального компьютера.
- в) Запустите программу управления прибором LB–550 (ярлык «LB–550 for Windows», расположен на Рабочем столе).

Примечание 1:

Соблюдайте порядок включения оборудования экспериментальной установки! Прибор LB–550 необходимо включить до того, как будет запущен персональный компьютер. В противном случае работа на приборе LB–550 будет невозможна.

Примечание 2:

Стабилизация лазерного излучения и выход прибора LB–550 в рабочий режим происходит в течение 20 минут после его включения. Выполнение работ допускается только по прошествии указанного промежутка времени.

2.2. Проведение измерений по анализу размеров частиц

В качестве образцов для измерений используются водные суспензии частиц, а также эмульсии. Порядок выполнения работы предусматривает индивидуальное проведение измерений каждым студентом, включающее в себя следующие стадии:

1) Подготовка кюветы к измерениям.

Стеклянная кюветная ячейка (кювета) прибора LB–550 представляет собой полый вытянутый параллелепипед, одна из торцевых граней которого открыта и предназначена для залива исследуемого раствора. При проведении всех операций с кюветой разрешается держать ее только за две вытянутые находящиеся друг напротив друга грани, которые имеют рифленую поверхность. Вторая пара противоположных граней имеет полированную поверхность, выступает в роли окон для лазерного излучения и должна содержаться в чистоте.

Перед проведением серии последовательных измерений каждый студент должен подготовить кювету к работе и убедиться в ее достаточной для проведения измерений чистоте. Для этого необходимо промыть внутреннюю полость ячейки дистиллированной водой, протереть прозрачные грани кюветы смоченным в дистиллированной воде ватным тампоном и вытереть их насухо безворсовой тканью. Затем ячейка заполняется

дистиллированной водой, помещается в гнездо в приборе LB–550, и проводится ее анализ в программе управления процедурой «Cell Check». В случае программного подтверждения чистоты кюветы ее извлекают из гнезда и выливают из нее дистиллированную воду.

Примечание 3:

Запрещается проведение измерений без проверки чистоты кюветы. В случае если анализ ее чистоты не будет подтвержден, возможность дальнейших измерений блокируется программой управления, и требуется либо повторная очистка кюветы, либо использование другого экземпляра.

2) Подготовка образцов для измерений.

Осуществляется под руководством преподавателя путем смешивания необходимого объема одного из исследуемых образцов с дистиллированной водой. Соотношение смешиваемых частей в полученном препарате выбирается для каждого студента индивидуально.

3) Проведение анализа размеров частиц в приготовленном препарате.

Кювету с приготовленным препаратом помещают в гнездо прибора LB–550. Для проведения простейших измерений необходимо задать сначала время накопления сигнала командой «Conditions → Measure Conditions». Далее необходимо задать показатели преломления «Conditions → Display Conditions → Refractive index → Sample list», в открывшемся меню либо выбрать уже существующие значения, либо ввести новые. Время выставляемого параметра, а также показатели преломления сред уточнить у преподавателя. Провести серию из 5 последовательных измерений.

Результатом каждого измерения является набор данных в виде таблицы с характерными размерами частиц, которые были определены в ходе измерения, и соответствующее каждому размеру количество частиц, выраженное в процентном отношении количества частиц данного размера к общему количеству частиц в полученной выборке. Вместе с таблицей на экран после измерения автоматически выводится соответствующая ему гистограмма.

2.3 Выключение экспериментальной установки

- Закройте программное обеспечение прибора LB–550.
- Завершите работу операционной системы Windows.
- Выключите электропитание прибора LB–550.

3. Исследование процесса седиментации водных суспензий тонкодисперсного кварца

Цель работы: знакомство с возможностями стенда цифровой голографической интерферометрии для наблюдения процесса седиментации частиц неорганических веществ в жидкостях.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы:

- 1) Отработать методику оценки фазовых изменений суспензии по высоте столба жидкости, используя стенд цифровой голографической интерферометрии.
- 2) Провести регистрацию серии цифровых голограмм в процессе седиментации суспензии в кюветах различной геометрической формы и обработать полученные результаты.
- 3) Проанализировать полученные результаты.

3.1. Описание метода

Цифровая голографическая интерферометрия (ЦГИ) представляет собой отличный инструмент для анализа и визуализации различных процессов, протекающих в твердых и жидких пропускающих средах. Объектом исследования может быть любой пропускающий объект, изменяющий свой показатель преломления при воздействии каких-либо факторов.

В данной работе метод цифровой голографической интерферометрии используется для получения данных о распределении показателя преломления исследуемой суспензии по высоте столба жидкости в заданный момент времени, что позволяет оценить седиментационные изменения в суспензии.

Седиментация – оседание частиц дисперсной фазы в гравитационном поле, обусловленное различием плотностей этой фазы и дисперсной среды. Явление седиментации часто используется для анализа дисперсных систем.

В качестве объекта исследования в работе используется водная суспензия тонкодисперсного кварца, полученного измельчением на планетарно–центробежной мельнице. В настоящее время кварцевые частицы нашли множество применений, от конструкционных композиционных материалов до использования в биомедицинских технологиях.

Оптическая схема стенда цифровой голографической интерферометрии, используемого в данной работе, приведена на рис.4. Она представляет собой типичную интерферометрическую схему с монохроматическим источником излучения с большой длиной когерентности.

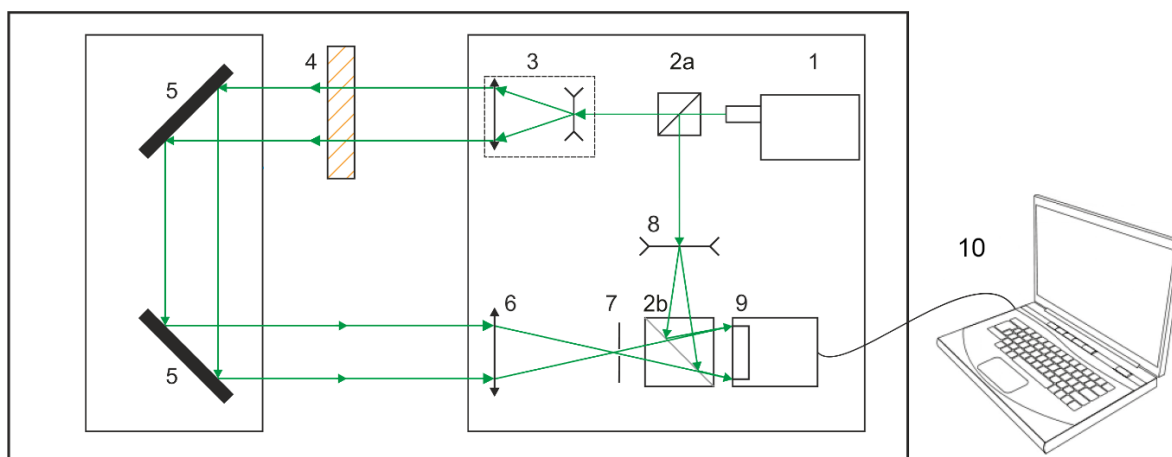


Рисунок 4. Оптическая схема экспериментального стенда цифровой голографической интерферометрии: 1 - лазер $\lambda=532$ нм, 2a, 2b – светоделители, 3 – коллиматор, 4 – кювета с суспензией, 5 – зеркала, 6,8 – линза, 7 – диафрагма, 9 – видеокамера, 10 – компьютерный терминал.

В качестве источника излучения 1 использован лазер с длиной волны излучения 532 нм. В данной схеме параллельный пучок зондирующего излучения проходит через объект исследования 4; размер области сканирования – не менее 25x25 мм. С помощью линзы 6 формируется объектный пучок требуемой расходимости, который интерферирует с опорным пучком в пространстве за светоделителем 2b. На CMOS-матрице видеокамеры 9 регистрируется голограмма сфокусированного изображения объекта 4. Используется видеокамера с максимальной частотой съемки 15 кадров в секунду и матрицей размером 1280x960 пикселей. Стенд имеет компьютерный терминал для управления регистрацией последовательности цифровых голограмм и их дальнейшей обработки.

3.2. Методика проведения работы

Методика проведения каждого эксперимента включает следующие основные этапы:

- регистрация последовательности цифровых голограмм, характеризующих текущее состояние образца в течение всего эксперимента: исходное состояние объекта до начала процесса седиментации (непосредственно после изготовления рабочего препарата) и в течение заданного времени наблюдения процесса седиментации.
- получение серии цифровых интерферограмм путем обработки зарегистрированных голограмм;
- обработка цифровых интерферограмм и представление результатов в удобном виде.

Цифровая интерферограмма текущего состояния объекта представляет собой пространственное распределение разности фаз тестирующего излучения в плоскости наблюдения объекта, соответствующее изменению образца в определенный момент времени по сравнению с исходным состоянием образца. Типичный вид интерферограммы состояния образца в определенный период процесса седиментации приведен на рис.5.а. Картина интерференции в данном случае имеет вид горизонтальных интерференционных полос, характеризующих изменение оптической толщины образца, по высоте кюветы, за счет изменения концентрации и размера частиц при их оседании. Изображения представлены в виде тангенциального распределения контраста, что позволяет определить направление изменения фазы; градиент от черного к белому соответствует изменению фазы на 2π . Исходя из данных об изменении оптической толщины можно рассчитать изменение показателя преломления суспензии по высоте столба жидкости (рис.5.б). Как можно заметить, метод обладает высокой чувствительностью, так как позволяет количественно оценить изменение показателя преломления Δn порядка 10^{-5} .

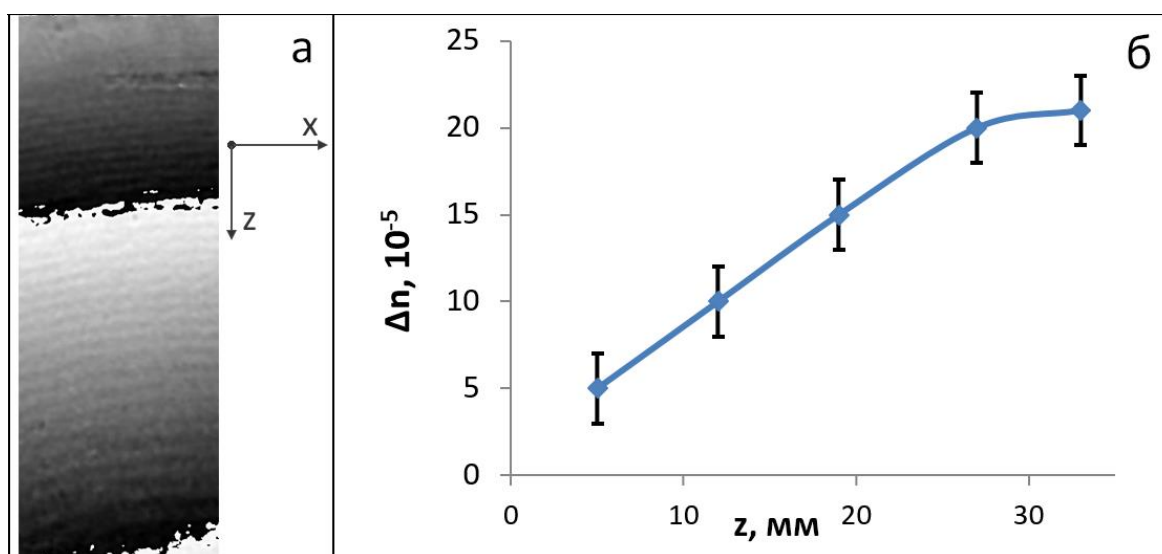


Рисунок 5. Исследование суспензии SiO_2 : а – интерферограмма суспензии при седиментации в течение 24 часов, б – изменение показателя преломления суспензии по высоте столба жидкости.

3.3. Ход проведения работы

Получение цифровых голограмм исследуемой суспензии.

1) Подготовка стенда ЦГИ:

а) включение экспериментальной установки;

Примечание! Выход в рабочий режим происходит в течение 20 минут после его включения, выполнение работ допускается только по прошествии указанного промежутка времени;

- б) включение персонального компьютера;
- в) запуск программ **EVSCap** и **Chore**;
- г) юстировка положения кювет в объектном пучке интерферометра.

2) Приготовление суспензии:

- а) в мерном стакане разбавляется 0,5 г кварцевого порошка в 100 мл дистиллированной воды и перемешивается;
- б) полученная суспензия устанавливается в ультразвуковую ванну для разделения слипшихся частиц;
- в) обработка ультразвуком производится в течение 5 минут.

3) Регистрация серии цифровых голограмм:

- а) в программе **Chore** задается режим съемки цифровых голограмм;
- б) кювета с суспензией устанавливаются в подготовленное место;
- в) запуск автоматической съемки;

Примечание! В связи с высокой чувствительностью стенда к вибрациям на время автоматической съемки рекомендуется покинуть помещение.

3.4. Обработка цифровых голограмм

1) В программе **XNView** переименовать полученные цифровые голограммы и выполнить «преобразование в серое».

2) В программном пакете **Matlab** запустить программу **start_work.m** для обработки цифровых голограмм.

3) Выбрать базовую голограмму (hologram 1), характеризующую исходное состояние объекта.

4) Выбрать голограмму (hologram 2), характеризующую измененное состояние объекта.

5) Построить интерферограмму объекта, характеризующую произошедшие изменения. Для этого необходимо у левого нижнего окна нажать кнопку "build", выбрать метод "Fourier", в качестве метода определения положения объектного поля – "define with mouse" (впоследствии можно выбирать последнюю используемую маску "load last mask"). В появившемся окне вручную выбрать область, от которой в процессе автоматической обработки будет посчитано обратное Фурье преобразование.

6) Для уменьшения шума на изображении применить фильтр к интерферограмме. (Вкладка «filter», пункт «disc» с параметром 5)

7) Сохранить полученную интерферограмму, нажав на кнопку "save".

8) Повторить пункты 4–7 для остальных голограмм в серии, обработанные данные занести в таблицу.

9) Проанализировать изменения на интерферограммах в течение времени съемки.

4. Определение размеров частиц в препаратах биологических жидкостей

Объектом исследования в данной части работы является цельное молоко и его производные, состав которых представляет собой сложное сочетание жиров, белков и других органических компонент в различных концентрациях и различной степени дисперсности. Подобные жидкие среды могут быть использованы как в качестве яркого примера эмульсий, так и для исследования влияния температурных эффектов на биологические жидкости.

Молоко является продуктом нормальной секреции молочной железы коровы и представляет собой сложную полидисперсную систему, в которой дисперсной средой является вода, а дисперсной фазой – вещества, находящиеся в молекулярном, коллоидном и эмульсионном состоянии. Молочный сахар и минеральные соли образуют молекулярные и ионные растворы. Белки находятся в растворенном (альбумин и глобулин) и коллоидном (казеин) состоянии, молочный жир – в виде эмульсии.

4.1. Содержание белка в молоке

Молоко содержит три вида белка: казеин (казеиноген), молочный альбумин (лактоальбумин) и молочный глобулин (лактоглобулин).

Основным по количеству белком в молоке является казеин, содержание которого достигает почти 3% и который содержится в молоке в виде кальциевых соединений. Лактоальбумин содержится в молоке в количестве около 0,5%, а лактоглобулин – в количестве всего около 0,05%.

Элементарный состав казеина, получаемого из молока различных животных, не имеет сколько-нибудь значительных различий. В составе казеина, кроме углерода, водорода, азота и кислорода, присутствует еще сера и фосфор, а поэтому казеин относится к группе сложных белков — фосфоропротеидам. Казеин обладает амфотерными свойствами. Он может связывать как щелочи, так и кислоты. Амфотерность казеина объясняется одновременным присутствием в нем свободных щелочных групп – NH_2 – и кислотных групп – COOH .

Из раствора казеин легко высаливается поваренной солью и осаждается спиртом, кислотами, солями тяжелых металлов.

Прибавление кислоты к щелочным солям казеина, например, к кальциевым его солям, в виде которых он присутствует в молоке, вызывает его осаждение в виде сгустков и хлопьев, выпадение которых обусловливается распадом соединения казеина с кальцием. Сама молекула казеина при этом не претерпевает никаких химических

превращений, и при прибавлении кальциевых или других разведенных щелочей казеин вновь растворяется, образуя соответствующие соли.

Эти свойства казеина и отношение его к кислотам и щелочам обуславливают те изменения в молоке, которые происходят при его скисании и изготовлении творога из молока или обрат (продукта, получающегося из молока после переработки его на масло).

При скисании молока или обрат молочная кислота, получающаяся из молочного сахара под влиянием молочнокислых бактерий, вступает в реакцию с казеино-кальциевыми солями. В результате этой реакции образуется молочнокислый кальций и казеин, выпадающий из молока в виде хлопьев.

Сычужный фермент – химозин (лабфермент), то есть фермент, содержащийся в желудке молодых животных, питающихся исключительно молоком, также вызывает выпадение из него сгустков казеина.

Белок, полученный из молока осаждением сычужным ферментом, называется параказеином, хотя химической разницы его с казеином не установлено. Разница, по-видимому, обуславливается различным лишь их физическим состоянием. Выпадение казеина из молока может происходить под влиянием (химозиноподобных) ферментов, вырабатываемых некоторыми бактериями.

Казеин содержит в достаточном количестве все «жизненно необходимые» аминокислоты, а поэтому является белком высокой биологической ценности.

Казеин молока коровы по аминокислотному составу почти полностью тождествен с казеином женского и козьего молока, однако казеин женского молока находится в молоке в состоянии более высокой степени дисперсности, чем казеин коровьего молока.

Альбумин. В отличие от казеина альбумин не содержит в своей молекуле фосфора или содержит последний в виде следов. Содержание серы в альбумине (1,92%) приблизительно в 2–2,5 раза выше, чем в казеине (0,72%) и глобулине (0,86%). Сравнительно большое содержание серы и непрочность ее связи в альбумине обуславливают выделение сероводорода при нагревании альбумина.

По сравнению с другими белками альбумин находится в молоке в наиболее высокой степени дисперсности. Альбумин, как и глобулин молока, в противоположность казеину не осаждается ни сычужным ферментом, ни кислотой.

Длительное нагревание молока при температуре выше 75°C вызывает свертывание альбумина. Частичная коагуляция альбумина, однако, наступает даже при 60°C, если молоко подвергается действию этой температуры достаточно продолжительное время.

Следовательно, при нагревании до 60–65°C небольшая часть альбумина через 10 минут коагулирует. При кипячении он почти полностью из молока выпадает.

Альбумин молока по аминокислотному составу является полноценным белком; в его состав входят все необходимые аминокислоты.

Глобулин присутствует в молоке только в очень небольшом количестве, около 0,05%, но молозиво содержит его сравнительно много. По элементарному составу глобулин не отличается заметно от лактоальбумина.

Отличие от альбумина состоит в более легком выпадении его из коллоидных растворов под влиянием некоторых солей. Эту разницу в отношении к солям можно объяснить различной величиной молекул альбумина и глобулина. Некоторое различие имеется также в аминокислотном составе глобулина, в котором присутствует глицин, которого нет или очень мало в альбумине. Глобулин молока по своим свойствам близок к глобулину крови. В слабокислой среде глобулин свертывается при нагревании до 72–75°C.

4.2. Содержание жира в молоке

Жиры молока представляют собой сложные эфиры жирных кислот и трехатомного спирта – глицерина. Они представляют собой смесь триглицеридов, так как в состав сложных эфиров входят соединения глицерина с различными жирными кислотами.

В смеси жирных кислот, входящих в состав молочного жира, имеются жирные кислоты с различным молекулярным весом, частью ненасыщенные. Из ненасыщенных жирных кислот в большом количестве в молочном жире содержится олеиновая кислота, относящаяся к жирным кислотам. В олеиновой кислоте один атом углерода имеет двойную связь. Свойства жиров зависят от свойств, входящих в их состав триглицеридов и от количественных сочетаний триглицеридов.

Наиболее тугоплавкими жирными кислотами молочного жира являются стеариновая (температура плавления 69,3°C), пальмитиновая (температура плавления 62,6°C) и миристиновая (температура плавления 53,8°C). Остальные кислоты имеют более низкую температуру плавления. Олеиновая кислота, содержание которой в общей сумме жирных кислот молочного жира достигает 30–44%, плавится при 14°C. Эта кислота в основном и обуславливает легкоплавкость молочного жира, температура плавления которого колеблется в пределах 28–36°C, в зависимости от соотношения количеств легкоплавких и тугоплавких триглицеридов.

Жирные кислоты, содержащие 10 и менее углеродных атомов, являются растворимыми в воде жирными кислотами. Остальные жирные

кислоты, содержащие более 10 атомов углерода, нерастворимы (лауриновая кислота слабо растворяется в горячей воде). Некоторые растворимые жирные кислоты являются летучими, способными отгоняться из водного раствора путем перегонки с водяным паром.

Смесь триглицеридов, а также входящих в их состав жирных кислот в молочном жире при обычных условиях кормления животных является относительно постоянной. Поэтому количество ненасыщенных жирных и летучих растворимых и нерастворимых жирных кислот в молочном жире является относительно постоянной величиной. Определение их производится для установления примеси других жиров.

Жир молока разбит на мельчайшие, микроскопической величины жировые шарики, которые взвешены в растворе белков, сахара и солей, составляющих плазму (сыворотку) молока.

Диаметр шариков у животных разных пород и в различные периоды лактации колеблется в пределах 0,1–10 мкм и в некоторых случаях достигает размера 22 мкм. При стоянии молока жировые шарики, вследствие невысокого удельного веса жира, поднимаются кверху, образуя слой сливок, но сколько-нибудь значительного слияния отдельных шариков в крупные жировые капли при этом не происходит. Устойчивости суспензии жировых шариков в молоке и отсутствию слияния жировых шариков друг с другом в соответствии с существовавшими гипотезами давалось двойное толкование.

Согласно первой гипотезе, в настоящее время отвергнутой, каждый жировой шарик покрыт белковой оболочкой, образующейся в процессе формирования шариков в железистых клетках молочной железы из протоплазмы этих клеток. Белковые оболочки, согласно этой гипотезе, препятствуют слипанию шариков.

Согласно второй гипотезе, принятой в настоящее время, отсутствие слипания шариков объясняется физическими силами, действующими между жировыми шариками и между составными веществами молочной плазмы, в которой эти шарики находятся. Эта плазма содержит белок, сахар и соли отчасти в коллоидном состоянии, отчасти в форме ионных и молекулярных растворов.

При нагревании в коллоидной системе, которую представляет молоко, вследствие денатурации белков, изменяются физические силы, действующие между отдельными частицами жира и белков. В результате этого шарики жира начинают сливаться в более крупные жировые массы, что наблюдается при кипячении молока в форме появления на его поверхности капелек жира. Такое же слияние жировых шариков происходит при механическом встряхивании молока, центрифугировании и прибавлении некоторых химических веществ.

В молоке присутствует в небольшом количестве холестерин – высокомолекулярный одноатомный спирт. В коровьем молоке

содержится около 0,1% холестерина, что значительно больше, чем в женском (около 0,05%).

Из фосфатидов в жире молока присутствует лецитин, представляющий собой эфир глицерино–фосфорной кислоты, жирных кислот и азотсодержащего вещества холина.

4.3. Влияние температурной обработки на свойства молока

Пастеризованное молоко сохраняет большую часть полезных составляющих. При пастеризации молоко нагревают до температуры от 65°C (30 минут) до 95°C (15–20 секунд), в зависимости от режима пастеризации. При этом уничтожается вся вегетативная патогенная флора, но выживают споры. Поэтому пастеризованное молоко хранится недолго (несколько суток), а потом может скиснуть (так как в нем после щадящей обработки остаются молочнокислые бактерии, приводящие к сквашиванию молока).

А вот при стерилизации молоко подвергают более серьезной (свыше 100°C) обработке в течение определенного времени (в среднем 15–30 минут). Такое молоко полностью стерильно (нет микробов и их спор) и имеет продолжительный срок хранения, однако теряет значительную часть полезных веществ. Так, при стерилизации для длительного хранения снижается вкусовая и пищевая ценность продукта: углеводы частично расщепляются, ферменты инактивируются, разрушается часть витаминов, изменяется цвет, вкус, запах молока. Кстати, если такое молоко на длительное время «забыть» в открытой упаковке в холодильнике, то оно не скиснет (так как при стерилизации полностью уничтожается молочнокислая флора), а прогорает, за счет проникновения в открытый пакет с молоком маслянокислых и других бактерий. Такая же ситуация может произойти и с ультрапастеризованным молоком.

Промежуточное положение занимает современный способ обработки молока — ультрапастеризация (или сверхпастеризация), при котором сырое молоко высшего качества проходит мгновенную (3–4 секунды) обработку при температуре 135–137 °C и быстро охлаждается до 4–5 °C. При этом в молоке уничтожается микрофлора и споры бактерий, а природные полезные свойства сохраняются с минимальными потерями. Часто упаковка такого молока осуществляется в стерильных условиях (асептический розлив). Молоко после такой обработки хранится 6 недель и дольше при комнатной температуре. Из молока, таким образом, убирается микрофлора и споры бактерий, которые приводят к скисанию молока, а природные полезные свойства сохраняются с минимальными потерями.

5. Исследование изменений структуры наноэмульсий при температурном воздействии

В соответствии с описанными выше свойствами, молоко является наиболее удобным и безопасным объектом для исследования таких сложных структур, как наноэмульсии.

Цель работы: оценка параметров ансамбля наноэмульсий животного происхождения, взвешенных в жидкости, при различных значениях температуры жидкости.

Задачи, решаемые в процессе выполнения работы:

1) Освоить методику проведения измерений параметров исследуемых образцов наноэмульсий животного происхождения при различных значениях температуры;

2) Освоить проведение расчетов основных параметров распределений наночастиц, содержащихся в образце;

3) Провести оценку параметров распределения наночастиц в исследуемых образцах и сравнить расчетные параметры:

а) полученные в ходе исследования одного образца,

б) полученные при изменении температурных параметров.

Для проведения точной оценки параметров наноэмульсий в данной лабораторной работе используется метод динамического рассеяния, реализуемый на приборе Horiba LB-550.

Ход проведения эксперимента аналогичен пункту 2 данного методического пособия. Подготовка препаратов для исследования, температурный режим и концентрация оговаривается с преподавателем перед началом работы.

5.1. Проведение расчетов основных параметров ансамбля частиц

Полученные в ходе проведения измерений размеров частиц данные должны быть обработаны в соответствии со следующими рекомендациями.

1. Для каждого из проведенных в серии измерений необходимо определить средний размер частиц в полученном измерении. Данная величина представляет собой среднеарифметическое значение характерного размера частиц $\bar{D}$ в распределении и рассчитывается по следующему уравнению:

$$\bar{D} = \sum \{q(j) \times D(j)\} \div \sum \{q(j)\},$$

где j – номер диапазона размеров частиц в распределении;

$q(j)$ – значение распределения по плотности (в %);

$D(j)$ – типовой размер (в нм) в j -ом диапазоне размеров частиц.

Средний диаметр частиц для серии ($\bar{D}_\Sigma$) вычисляется по формуле:

$$\bar{D}_\Sigma = \frac{\sum_{i=1}^n \bar{D}}{n}.$$

Для серии из проведенных экспериментов необходимо сопоставить полученные средние значения размеров частиц и сделать оценку средней для них величины с указанием интервала, в пределах которого она может меняться для данной серии (среднеквадратическое отклонение σ).

$$\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(D_i - \bar{D})^2}{n-1}}.$$

По заданной преподавателем доверительной вероятности α определите случайную погрешность измерений.

Случайная погрешность $\Delta \bar{D}_\Sigma$ – это составляющая погрешности измерения, изменяющаяся случайным образом при повторных измерениях одной и той же величины.

$$\Delta \bar{D}_\Sigma = \varepsilon \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

где величина ε – коэффициент, который связан с выбором доверительной вероятности α , находится для заданной доверительной вероятности по Таблице 1.

Доверительная вероятность (надежность) – вероятность найти измеряемую величину в указанном интервале.

Таблица 1.

ε	1	2	3
α	0.68	0.95	0.997

Окончательный результат представьте в форме:

$$D = \bar{D} \pm \Delta \bar{D}_\Sigma$$

2. В исходных данных указать, какое молоко было использовано в измерениях.

3. Необходимо оценить и построить форму распределения размеров частиц (в нанометрах) в зависимости от температуры биологического препарата (например, приготовленного студентом 1% раствора молока) при последовательном проведении серии из 5 измерений (см. рисунок 6.а.). Для каждой последующей температуры данные представлять на отдельном графике. Дополнительно требуется провести нормировку каждого из полученных распределений на максимальное значение по оси ординат, и построить соответствующие нормированные графики (см.

рисунок 6 б). После проведения данной операции можно сравнить, как изменяется форма распределения в ходе непрерывных последовательных измерений.

4. Оценить и построить на одном графике (см. рисунок 7) зависимости полуширины в нанометрах (по уровню 0,5 от максимума нормированного распределения) функции распределения частиц в препарате от температуры для каждой из серии последовательных измерений. Привести на графике погрешность измерения температуры ($1 - 2\text{ }^{\circ}\text{C}$).

5. Оценить и построить на одном графике (см. рисунок 8) зависимости характерных размеров частиц (в нанометрах) в препарате от температуры для измерений № 1 и № 5. Характерным размером обладают те частицы, число содержания которых в препарате максимально ($D_{\text{хар}}$ при $q = q_{\text{max}}$). Привести погрешность измерения температуры ($1-2^{\circ}\text{C}$). Точки на графике следует соединять плавными линиями (например, spline в программе «Origin»).

6. По аналогии с пунктом 5 провести оценку размеров частиц в препарате от температуры по уровню $q = 2\%$ для измерений № 1 и № 5 ($D_{\text{min}}, D_{\text{max}}$). В случае наложения значений D на одном графике целесообразно строить два отдельных графика для каждого из двух измерений.

5.2. Примеры графиков, которые необходимо приводить в отчете

Препарат № (указать № препарата, соответствующего варианту студента)

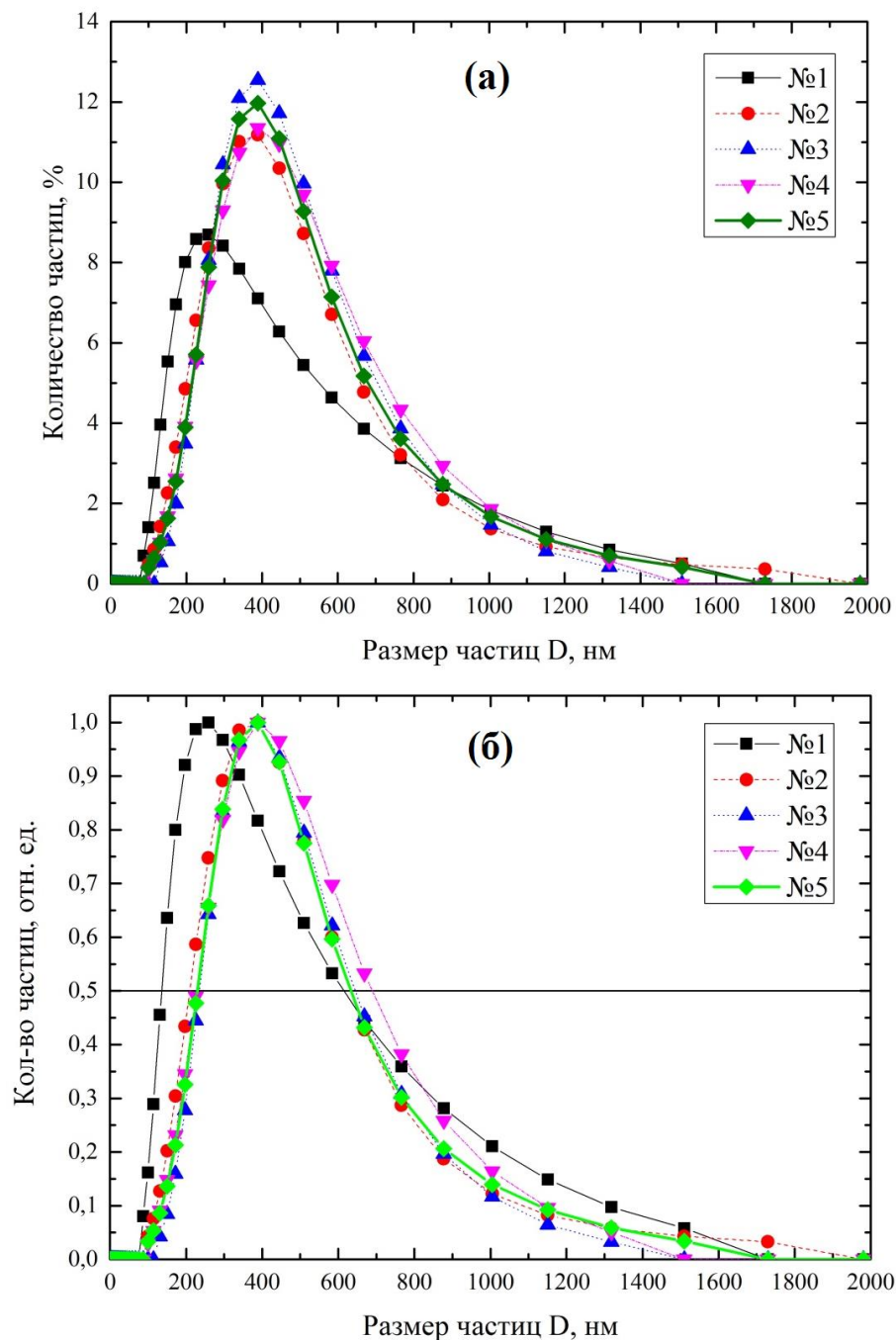


Рисунок 6. (а) Функции распределения частиц по размерам при комнатной температуре (в каждом отдельном измерении),
(б) – нормированный вид.

Среднее значение характерного размера частиц для приведенного образца: $D = 284.8 \pm 9.3$ нм.

Важно. Рисунок 6 необходимо приводить в отчете для всех исходных температур препаратов.

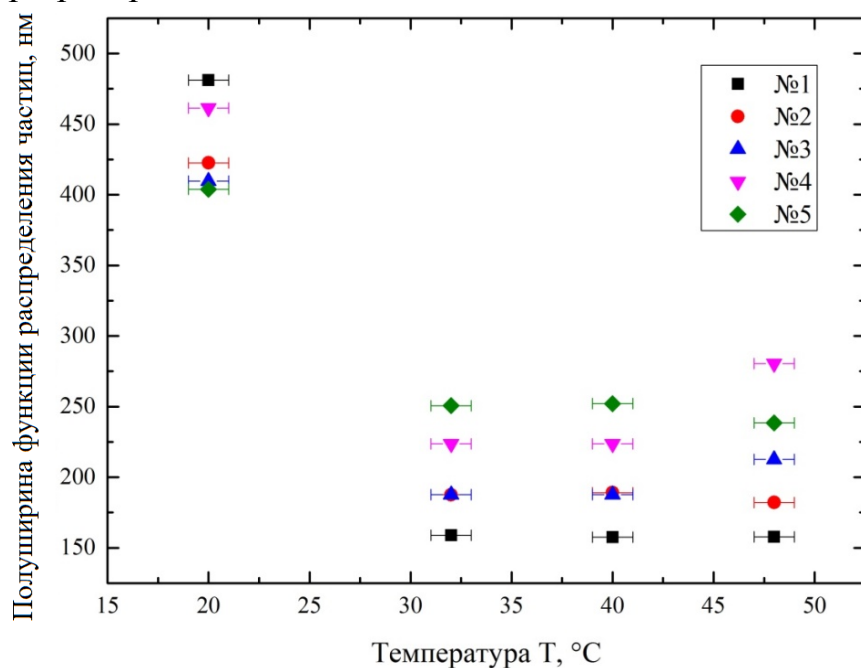


Рисунок 7. Полуширина функций распределения частиц в препарате при различной температуре (в каждом отдельном измерении).

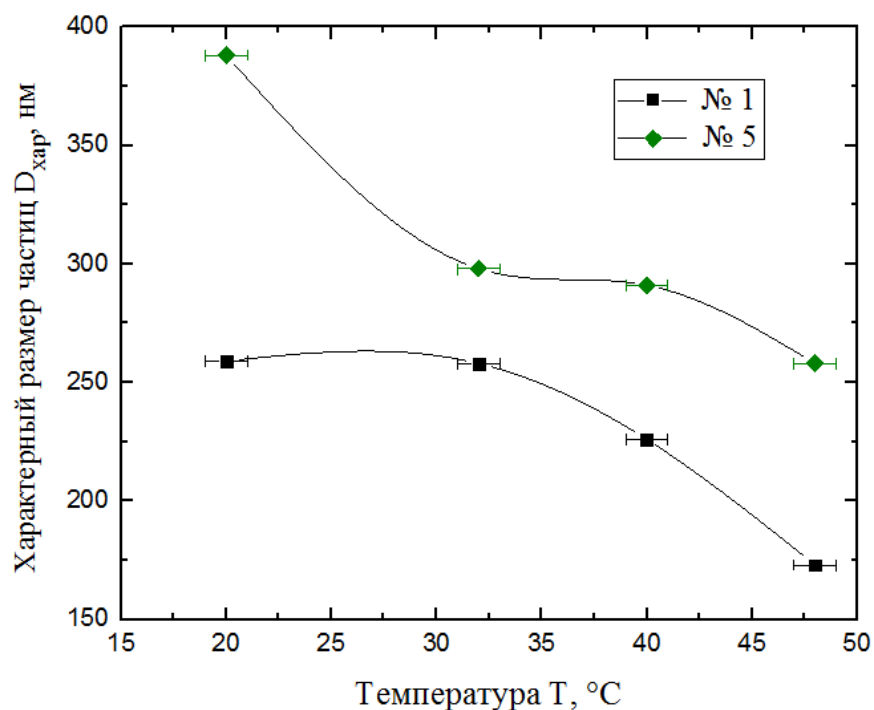


Рисунок 8. Характерный размер частиц в препарате при различной температуре для измерений № 1 и № 5.

6. Форма представления отчёта по выполнению лабораторной работы

Отчёт должен содержать титульный лист, включающий в себя название лабораторной работы, фамилию, имя и номер группы её исполнителей.

Содержание отчёта также должно включать в себя:

1. Цель, задачи и общую информацию по работе;
2. Таблицу 2, приведённую ниже, с результатами эксперимента и указанными в ней данными обработки;
3. Требуемые для объяснения исследуемых эффектов графики и таблицы (пример графиков приведен в пункте 5.2. данного пособия);
4. Анализ полученных результатов и выводы по проделанной работе, включающие в себя:
 - а) Заключение о характере распределения частиц по размерам в приготовленном растворе – симметричное либо несимметричное, монодисперсное либо полидисперсное и т.п.
 - б) Оценка разброса параметров исследуемого ансамбля частиц при многократном проведении измерений параметров одного и того же образца (с пояснением, какие параметры конкретно использовались при оценке).
 - в) Оценка наблюдаемых изменений в серии последовательных измерений с исследуемыми образцами (пояснить, чем могут быть обусловлены полученные изменения).

После обсуждения результатов эксперимента с преподавателем необходимо оформить отчет в окончательном виде и сдать преподавателю в виде бумажной копии.

Таблица 2. Результаты измерений.

Исследуемый препарат:					
Дата приготовления суспензии:					
Дата последнего перемешивания:					
Дата и время взятия 1ой пробы:					
Диаметр колбы:					
Номер п/п	Исполнитель	h_i , мм	Δh , мм	$D_{max, нм}$	$\Delta D, нм$
1					
2					
3					
⋮					
⋮					

7. Контрольные вопросы для самопроверки

1. Почему при подготовке к измерениям функции распределения частиц по размерам для получения, например, 1% раствора молока дистиллированную воду нагревали лишь до температуры в 50 ± 2 °C?
2. Для подготовки рабочих препаратов в ряде случаев можно использовать кипяченое охлажденное до комнатной температуры натуральное молоко. Чем кипяченое молоко отличается от некипяченого с точки зрения исследования его состава методом динамического рассеяния?
3. Какие различия в разных типах молока Вам удалось выявить с помощью исследования функции распределения частиц молока при его нагревании, и чем они обусловлены?
4. В продуктовых магазинах сейчас можно купить стерилизованное, пастеризованное и ультрапастеризованное молоко. Расскажите об основных способах обработки такого молока, сроках его хранения и структурных различиях, которые можно было бы выявить при исследовании молока методом динамического рассеяния.
5. Для чего перед началом измерений проводят процедуру «Cell Check»?
6. Каким методом производятся измерения функции распределения частиц по размерам? Опишите основные узлы используемого измерительного прибора.
7. Почему недостаточно одного измерения при оценке размеров частиц в исследуемых препаратах, и каким образом следует оценивать погрешность измерений, проведенных на приборе Horiba LB-550?

Миссия университета – генерация передовых знаний, внедрение инновационных разработок и подготовка элитных кадров, способных действовать в условиях быстро меняющегося мира и обеспечивать опережающее развитие науки, технологий и других областей для содействия решению актуальных задач.

КАФЕДРА ФОТОНИКИ И ОПТОИНФОРМАТИКИ

Кафедра Фотоники и Оптикоинформатики создана в 2002–м году и готовит бакалавров и магистров по образовательному направлению «Фотоника и оптикоинформатика» для одной из инновационных областей современной науки и техники, в которой разрабатываются и создаются оптические и квантовые технологии сверхбыстрой передачи и записи информации; оптические системы искусственного интеллекта и сверхбыстродействующие оптические процессоры; информационные оптические системы, строящиеся на основе новых физических принципов, в том числе на нанотехнологиях.

Научные подразделения кафедры включают международные лаборатории Международного института фотоники и оптикоинформатики Университета ИТМО: «Фемтосекундная оптика и фемтотехнологии», «Терагерцовая биомедицина»; «Цифровая и изобразительная голография» и «Квантовая информатика», а также учебно–научные лаборатории кафедры фотоники и оптикоинформатики: «Прикладная голография», "Программирование на суперкомпьютерах", «Оптические технологии искусственного интеллекта» и учебную лабораторию "Основы оптикоинформатики". Все учебные и учебно–научные лаборатории оснащены новейшим оборудованием

Студенты кафедры активно работают в научных центрах и лабораториях, участвуют в Международных конференциях, публикуют свои работы в ведущих мировых изданиях, являются членами Российских и Международных научных обществ, являются лауреатами стипендий и грантов международных научных обществ SPIE, IEEE, OSA, а также стипендий Правительства Санкт–Петербурга, Правительства РФ и Президента РФ.

Кафедра регулярно занимает ведущие места в конкурсах, проводимых в Университете ИТМО.

Андреева Ольга Владимировна,
Андреева Наталья Владимировна,
Дроздов Аркадий Анатольевич,
Кузьмина Татьяна Борисовна,
Исмагилов Азат Олфатович,
Чигрин Роман Николаевич.

**Экспериментальный практикум по оценке распределения
частиц по размерам в наносuspensions и наноэмульсиях. –
Учебное пособие.**

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

Редакционно-издательский отдел
Университета ИТМО
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49