

На правах рукописи

Садагов Антон Юрьевич

**ДИАГНОСТИКА КОЛЛОИДНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ
СОВМЕСТНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕКТРОВ АБСОРБЦИИ,
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ, СТАТИЧЕСКОГО И ДИНАМИЧЕСКОГО
РАСSEЯНИЯ СВЕТА**

01.04.05 - оптика

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва - 2018 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном унитарном предприятии «Всероссийском научно-исследовательском институте оптико-физических измерений» (ФГУП «ВНИИОФИ»)

Научный руководитель: доктор технических наук,
Левин Александр Давидович

Официальные оппоненты: **Беляев Виктор Васильевич**,
доктор технических наук,
профессор, ГОУ ВО «Московский
государственный областной университет»
(МГОУ), заведующий кафедрой
теоретической физики

Борисюк Пётр Викторович,
кандидат физико-математических наук,
доцент, НИЯУ «Московский инженерно-
физический институт (МИФИ)», заместитель
заведующего кафедрой физико-технических
проблем метрологии

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования «Санкт-Петербургский
национальный исследовательский
университет информационных технологий,
механики и оптики» (Университет ИТМО)

Защита состоится « ____ » _____ 2018 года в 15 час. на заседании
диссертационного совета Д308.006.01 при Всероссийском научно-
исследовательском институте оптико-физических измерений по адресу:
119361, г. Москва, ул. Озерная, 46.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУП
«ВНИИОФИ» и на веб-сайте <http://vniiofi.ru/disser.html>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 201__ года.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д308.006.01,

С.А. Москалюк

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Методы и средства оптической спектроскопии находят все более широкое применения при изучении состава и свойств веществ и материалов, как при проведении научных исследований, так и при решении разнообразных прикладных задач. К таким задачам относятся экологический мониторинг, контроль пищевых продуктов, продовольственного сырья и лекарственных препаратов, клиническая лабораторная диагностика, контроль некоторых видов промышленной продукции.

Для изучения состава и свойств веществ используются различные методы оптической спектроскопии, в том числе – абсорбционная спектроскопия в различных диапазонах, флуоресцентная спектроскопия, спектроскопия упругого и неупругого рассеяния света, фотонная корреляционная спектроскопия, чаще ее называют динамическим рассеянием света (ДРС). Каждый из этих методов имеет свои сильные и слабые стороны, позволяя извлекать определенную информацию о свойствах изучаемых объектов. По мере возрастания требований к объему и достоверности получаемой информации, данных, получаемых одним методом, становится недостаточно. В связи с этим в последние годы начали развиваться подходы, основанные на совместном использовании разных методов оптической спектроскопии. Появились работы, показывающие повышение эффективности анализа различных объектов при одновременном использовании нескольких типов оптических спектров, по сравнению с использованием спектров одного типа. Особенно эффективным такой подход оказывается при качественном анализе многокомпонентных смесей, например при контроле подлинности различных пищевых продуктов. Одновременно с этим растут и возможности для реализации таких подходов, что связано с совершенствованием и развитием, как измерительных

устройств, так и с развитием методов обработки полученных данных. Однако развитие мультиспектральных подходов в настоящее время находится на начальной стадии. Существующие методы совместной обработки спектральных данных различной физической природы требуют использования достаточно сложных математических алгоритмов, основанных на методах хемометрики. Не существует систематического подхода к решению таких задач, мало средств измерений, позволяющих получать спектры различной физической природы и совместно их обрабатывать.

Во многих случаях, когда требуется быстрое проведение анализа, необходимо использовать более простые и наглядные методы, позволяющие анализировать различные объекты с последующим их отображением в многомерной системе координат.

Исходя из аналитических возможностей современных приборов, можно сделать вывод, что целесообразно использовать комбинации таких оптических спектров, как спектры абсорбции, флуоресценции и рассеяния. Однако, вид спектров флуоресценции и рассеяния, измеряемых на спектрофлуориметрах, зависит от параметров прибора. Аппаратная зависимость является серьезной проблемой, которая приводит к тому, что спектры, измеренные на разных приборах, могут различаться между собой как по форме, так и по интенсивности. Это затрудняет проведение качественного анализа, так как спектры одного и того же образца, измеренные на разных приборах, могут существенно различаться между собой. Поэтому разработка методов и средств, обеспечивающих возможности измерения аппаратно независимых спектров флуоресценции и рассеяния, на спектрофлуориметрах является важной задачей.

В связи с развитием нанотехнологий становятся актуальными задачи комплексной характеристики наночастиц в коллоидных системах, в частности совместного измерения их размерных параметров и счетной концентрации. При этом важно контролировать параметры частиц

непосредственно в жидкости, так как, например, при синтезе наночастиц, или их биомедицинских приложениях, частицы находятся в коллоидных системах. Для этого целесообразно исследовать возможности совместного использования динамического рассеяния света и абсорбционной спектрофотометрии.

Таким образом, разработка методов и средств, позволяющих осуществлять комплексный анализ коллоидных систем с использованием оптических спектров различной физической природы, является актуальной задачей.

Цель работы

Целью данной работы является разработка методов и средств исследования химического и дисперсного состава жидких сред, прежде всего, коллоидных систем, основанных на совместном использовании абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии, статического и динамического рассеяния света.

Основные задачи исследования

1. Расширение возможностей метода ДРС путем разработки способа совместного измерения размеров и счетной концентрации наночастиц в коллоидных системах.
2. Создание усовершенствованных анализаторов ДРС, совместно измеряющих размерные параметры и счетную концентрацию наночастиц.
3. Разработка и реализация методов качественного анализа, основанных на совместном использовании спектров абсорбции, флуоресценции и статического рассеяния света (на примере винодельческой продукции).
4. Разработка методов и средств обеспечения аппаратной независимости спектров флуоресценции и статического рассеяния света.

Научная новизна

1. Впервые разработана концепция спектрального портрета, представляющего собой совокупность спектров (или их фрагментов) абсорбции, флуоресценции и рассеяния, однозначно характеризующих объект в составе достаточно широкой выборки и показана её применимость на примере качественного анализа винодельческой продукции.

2. Впервые изучены флуоресцентные свойства цветного оптического стекла СЗС-17 и разработана мера флуоресценции на его основе, выполненная в виде тонкой плоскопараллельной пластины, установленной под углом к возбуждающему излучению, для минимизации эффекта внутреннего фильтра. Мера воспроизводит аппаратно-независимое распределение интенсивности флуоресценции, позволяет проводить процедуру спектральной коррекции эмиссионного канала спектрофлуориметра и систематический контроль чувствительности прибора.

3. Впервые на основе фосфатного стекла, активированного ионами европия и тербия, разработана мера флуоресценции, позволяющая контролировать относительную спектральную чувствительность и оценивать погрешность эмиссионных каналов спектрофлуориметров по шкале длин волн в диапазоне от 400 до 750 нм. Мера разработана на основе образцов синтезированных в Университете ИТМО.

4. Впервые предложен и реализован метод, позволяющий при измерениях размеров частиц на анализаторе динамического рассеяния света определять их счётную концентрацию в коллоидном растворе. Метод позволяет вычислять счётную концентрацию с помощью теории рассеяния света по их размерным параметрам и оптической плотности экстинкции (патент РФ на изобретение № 2610942).

5. Впервые создан анализатор ДРС, позволяющий измерять как размерные параметры, так и счётную концентрацию наночастиц в коллоидных системах.

Практическая ценность и использование результатов работы

Разработанная концепция спектрального портрета была применена при анализе винодельческой продукции с целью установления её подлинности и идентификации марок вин и виноматериалов. Результаты этой работы легли в основу «Методических рекомендаций по идентификации образцов винодельческой продукции с помощью спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния». Кроме того, была разработана «Методика измерения спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния света в образцах винодельческой продукции» ФР.1.37.2014.18875. Данные методические рекомендации и методика применяются при измерениях, проводимых на спектрофотометрах-флуориметрах СФФ-2 «ФЛУОРАН», поставленных на заводы производителей винодельческой продукции в России.

Разработанные меры флуоресценции могут применяться на предприятиях и в лабораториях, использующих спектрофлуориметры для качественного анализа. Кроме того, использование таких мер желательно при реализации концепции спектрального портрета, особенно если необходимо проводить сравнение результатов, полученных на разных приборах. Такие меры будут представлять интерес для высокоточных производств, использующих флуоресцентные методы, таких как фармацевтические производства или изготовление сверхчистых растворителей.

Разработанный метод измерения счетной концентрации наночастиц на анализаторах ДРС представляет большой интерес при синтезе наночастиц. Совместное измерение размерных параметров и счётной концентрации очень полезно также в оптических наносенсорных системах, принцип действия которых основан на агрегации наночастиц в результате их взаимодействия с молекулами аналита. Применение данного метода подтверждается актом внедрения в ФГУП «ВНИИОФИ» изобретения «Способ оптического измерения счетной концентрации дисперсных частиц в жидких средах и устройство для осуществления».

ДРС анализатор, способный измерять счетную концентрацию наночастиц может найти применение в компаниях, занимающихся изготовлением и использованием различных наночастиц. Планируется серийный выпуск таких приборов.

Вклад автора

Все экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены лично автором.

При непосредственном участии автора разработана концепция спектрального портрета и осуществлен выбор фрагментов оптических спектров, использованных для его построения в целях идентификации винодельческой продукции.

При непосредственном участии автора разработаны:

- физические основы и алгоритмы обработки данных метода измерения счетных концентраций наночастиц на анализаторах ДРС;
- анализаторы ДРС, измеряющие, наряду с размерными параметрами наночастиц также их счетную концентрацию;
- меры флуоресценции на основе неорганических стекол.

Апробация работы

Основные материалы, представленные в диссертации, были доложены и обсуждены на следующих научно-технических конференциях: Первая всероссийская научно-техническая конференция «Метрология в нанотехнологиях» (г. Москва, 2014 г.), «Всероссийская научно-техническая конференция Метрологическое обеспечение фотоники» (г. Москва, 2015 г.), XII Международная конференция «Прикладная оптика-2016» (г. Санкт-Петербург, 2016), «Научная сессия НИЯУ МИФИ» (г. Москва, 2015 г.), «Первая конференции молодых специалистов национальных метрологических институтов» (г. Москва, 2015 г.), «Bremen Workshop on Light Scattering» (г. Бремен, 2016 г.), Научно-практическая конференция

«Научное приборостроение – современное состояние и перспективы развития (г. Москва, 2016 г.), Третий международный молодежный научный форум с международным участием «Новые материалы» (г. Москва 2017 г.), «Третий съезд аналитиков России» (г. Москва, 2017 г.), «Третья научно-техническая конференция Московского технологического университета» (г. Москва, 2018 г.).

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 22 научных работы, в том числе 7 статей в российских рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК, и в журналах, индексируемых в базе данных SCOPUS; 11 тезисов докладов на научно-технических конференциях; 2 патента на изобретения; 2 свидетельства о регистрации программ для ЭВМ.

Структура и объем работы

Полный объём диссертации составляет 181 страницу, в том числе 79 рисунков, 18 таблиц, 2 приложения. Список литературы содержит 105 источников.

Работа включает введение, четыре главы, заключение, список используемой литературы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Совмещение методов абсорбционной спектрофотометрии и динамического рассеяния света (ДРС) позволяет при измерении размеров частиц определять их счетную концентрацию. Для коллоидных систем с известной счётной концентрацией возможно решение обратной задачи - определение оптических постоянных по измеренным значениям гидродинамического диаметра и оптической плотности экстинкции.

2. Введение в схему анализатора ДРС приёмника излучения, прошедшего через образец, с диаметром приемной площадки не менее 5 мм,

расположенного на расстоянии не более 100 мм от кюветы с образцом, позволяет измерять оптическую плотность экстинкции A_{ext} коллоидного раствора наночастиц относительно фона, что дает возможность определить счетную концентрацию наночастиц.

3. Совокупность информативных фрагментов или параметров спектров абсорбции, флуоресценции и статического рассеяния может быть интерпретирована как «спектральный портрет» некоторых объектов искусственного и естественного происхождения, позволяющий однозначно идентифицировать объект по его уникальным признакам.

4. Разработанные меры флуоресценции на основе неорганических стекол позволяют воспроизводить спектральные распределения интенсивности флуоресценции, необходимые для определения функций спектральной коррекции, определения изменений чувствительности спектрофлуориметров при заданных значениях длин волн возбуждения и эмиссии, калибровку эмиссионных каналов спектрофлуориметров по шкале длин волн.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** сформулированы актуальность темы, цель работы и определены основные научно-технические задачи, решаемые в диссертации.

В **первой** главе представлен обзор различных методов оптической спектроскопии, используемых для исследования коллоидных систем, их особенностей, их возможности и применимости для качественного и количественного анализа. Показано, что методы абсорбционной спектрофотометрии, флуоресцентной спектроскопии, статического и динамического рассеяния света успешно применяются при изучении химического и дисперсного состава коллоидных систем. Рассматривается влияние параметров коллоидных систем на оптические спектры.

Так, приводятся данные связи интенсивности упругого рассеяния света с концентрацией, размерными параметрами и оптическими постоянными наночастиц. Так как коллоидная система представляет собой жидкость, содержащую в себе наночастицы, всестороннее исследование дисперсного состава такой системы представляет большой интерес. Знание концентрации частиц необходимо либо для контроля эффективности их синтеза, либо для подбора оптимального дисперсного состава жидкой среды для конкретной технологии. Причем во многих случаях наибольший интерес представляет счетная концентрация частиц, т.е. число частиц в единице объема, единицей измерения счетной концентрации может быть, например см^{-3} .

Рассматриваются различные оптические методы, в первую очередь методы, основанные на использовании спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния, используемые для анализа сложных коллоидных систем, на примере винодельческой продукции. Во всем мире проявляется значительный интерес к разработке достоверных физико-химических методов идентификации виноградных вин с целью определения их подлинности, выявления фальсификатов, определения и классификации вин, произведенных в различных географических регионах. Идентификация предусматривает выявление различий между винами по химическому составу, физическим и физико-химическим свойствам. Различные методы дают подробную информацию о составе и биохимии пищевых продуктов, в том числе вина, при этом подготовка проб и анализы занимают много времени, требуют весьма дорогостоящего оборудования и высококвалифицированного персонала, непригодны для работы в режиме «on line» (например, для контроля напитков в процессе их разлива). При этом, особое внимание уделяется обработке этих данных.

Помимо этого, в первой главе уделяется внимание методам и средствам, используемым для обеспечения единства флуоресцентных измерений. Для корректного проведения качественного анализа необходима аппаратная независимость спектров, так как в этом случае какие-либо

выводы делаются из формы спектра, характерного расположения пиков или соотношения между ними. Однако, так как каждый спектр измеряемый на приборе зависит не только от параметров образца, но и от параметров прибора, становится необходимым устранить или минимизировать влияние приборных факторов на результат измерений. Такая ситуация вносит дополнительную неопределенность и мешает объективной оценке результата измерений. В главе приводится подробный обзор различных материалов, используемых для создания мер и образцов сравнения флуоресценции по всему миру. Особое внимание уделяется мерам на основе неорганических стекол, таким как NIST SRM 2940-2943, и их преимуществам, таким как неограниченное количество использований, высокая изотропия, устойчивость к фотодеградациии и т.д.

Во **второй** главе представлены физические принципы предлагаемого метода измерения счётной концентрации наночастиц в коллоидной среде. Чтобы избежать измерений на нескольких дорогостоящих приборах или сложной пробоподготовки, повысить экспрессность измерений, а также проводить исследования непосредственно в жидкости, предлагается метод, совмещающий в себе возможности абсорбционной спектрофотометрии и ДРС. Основные результаты, полученные в данной главе, изложены в работах [7, 8, 11, 20].

Для реализации предложенного метода в диссертационной работе предлагается измерение оптической плотности (ОП). ОП следует измерять относительно фона (то есть жидкости, в которой взвешены частицы). Для этого можно использовать фотоприемник, измеряющий интенсивность излучения, прошедшего через кювету. Такой фотоприемник должен быть предусмотрен в ДРС анализаторах, которые планируется использовать для измерения счётной концентрации наночастиц. С помощью закона Бугера-Ламберта-Бера несложно показать, что для взвеси сферических частиц

радиуса a , находящихся в кювете с длиной оптического пути l , оптическая плотность A_{ext} относительно фона определяется выражением

$$A_{ext} = \frac{C_{ext} \cdot l \cdot N}{\ln 10} \quad (1)$$

Здесь N – счетная концентрация наночастиц; C_{ext} – сечение экстинкции. В частном случае сферических частиц $C_{ext} = Q_{ext} \pi a^2$ – где Q_{ext} эффективность экстинкции (отношение истинного сечения экстинкции частицы к ее геометрическому сечению). Для сферических частиц согласно теории рассеяния Ми.

$$Q_{ext} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) * \text{Re}(a_n + b_n) . \quad (2)$$

Здесь x , так называемый параметр дифракции, $x = k \cdot a$,

где $k = \frac{2 \cdot \pi \cdot n_{фон}}{\lambda_0}$ – волновой вектор (λ_0 – длина волны лазерного излучения в вакууме); a_n и b_n – коэффициенты ряда рассеяния, зависящие от параметра дифракции x и относительного показателя преломления среды m .

$$m = \frac{n_{част.} + i \cdot k_{част.}}{n_{фон.} + i \cdot k_{фон.}} , \quad (3)$$

Таким образом, метод базируется на вычислении счетной концентрации из оптической плотности экстинкции A_{ext} , измеренной при помощи абсорбционной спектрофотометрии и среднего гидродинамического диаметра наночастиц d_h , измеряемого при помощи динамического рассеяния света. Другими входными параметрами при измерениях этим методом являются значения действительной и мнимой части показателя преломления наночастиц, которые необходимо либо брать из литературных данных, либо оценивать по результатам специальных измерений.

Для проверки предложенного способа с его помощью были проведены измерения счетной концентрации сферических наночастиц в пяти образцах жидких дисперсий – четырёх дисперсиях на основе наночастиц двуокиси кремния и одной на основе наночастиц серебра.

Расчеты $Q_{\text{экт}}$ по формулам теории Ми производились в среде Matlab.

Комплексный показатель преломления для наночастиц, необходимый для расчётов, может быть получен из показателя преломления для объемного вещества, с поправкой на размерные эффекты. Такая коррекция зависит от материала наночастиц. Например, в случае серебряных и золотых наночастиц, коррекция необходима только для мнимой части показателя преломления и должна учитывать длину свободного пробега электронов и плазменную частоту.

$$\varepsilon_{\text{нч}}(\lambda, d) = \varepsilon_{\text{цельный}}(\lambda) + \varepsilon \Delta(\lambda, d) \quad (4)$$

Для золотых наночастиц справедливо выражение:

$$\Delta\varepsilon(\lambda) = i \frac{10}{d} \cdot \left(\frac{\lambda}{520}\right)^3 \quad (5)$$

Для наночастиц SiO_2 вводилась поправка на зависимость показателя преломления от диаметра частиц. Для этой зависимости использовалась аппроксимация

$$n(d) = n_{\text{объемн.}} - C_1 + C_2/d. \quad (6)$$

Коэффициенты C_1 и C_2 подбирались по экспериментально измеренным значениям оптической плотности для образцов с известными значениями массовой концентрации наночастиц, таким образом получено $C_1 = 0,1117$, $C_2 = 4,9625$.

В таблице 1 приводятся данные полученные при апробации метода.

Таблица 1 Результаты экспериментального опробования способа

Образец	Исходные данные о концентрации		$d_{\text{н}}$, нм	А при $\lambda=632,8$ нм	Расчетное значение счетной концентрации, см^{-3}
	массовая	счетная, см^{-3}			
$\text{SiO}_2\text{№}2 + \text{H}_2\text{O}$	5%	$4,31 \cdot 10^{15}$	22	0,1	$4,07 \cdot 10^{15}$
$\text{SiO}_2\text{№}16 + \text{H}_2\text{O}$	2%	$6,61 \cdot 10^{14}$	34	0,09	$6,07 \cdot 10^{14}$
$\text{SiO}_2\text{№}17 + \text{H}_2\text{O}$	1,5%	$1,99 \cdot 10^{14}$	40,5	0,065	$1,96 \cdot 10^{14}$

SiO ₂ №19 + O	2,75%	$7,67 \cdot 10^{14}$	27	0,062	$8,81 \cdot 10^{14}$
Ag + H ₂ O	78,0 мг/л	$1,24 \cdot 10^{11}$	48,6	0,062	$1,12 \cdot 10^{11}$

Кроме того, проводились измерения для образцов золотых наночастиц, как сферических так и несферических.

Наряду с этим, в данной главе демонстрируется модель ДРС анализатора, которая позволяет проводить измерения предложенным методом.

Схема устройства приведена на рисунке 1.

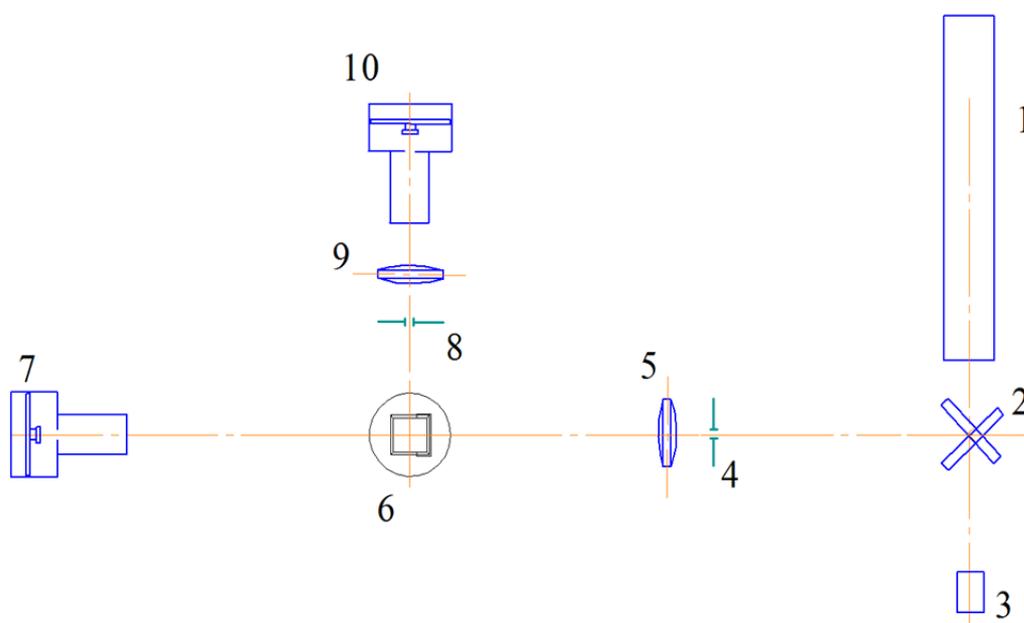


Рисунок 1 – Схема модифицированного ДРС анализатора

Она включает: основной источник излучения – лазер 1, поворотное зеркало 2, дополнительный источник излучения – светодиод 3, направление излучения которого совпадает с направлением излучения лазера 1, диафрагму 4, фокусирующую линзу 5, кювету с образцом 6, фотоприемник 7, измеряющий интенсивность излучения, прошедшего через кювету, систему сбора рассеянного излучения, состоящую из диафрагмы 8, собирающей

линзы 9 и фотоприемника 10 (обычно его роль выполняет модуль счета фотонов).

Общий вид анализатора приводится на рисунке 2



Рисунок 2 – Экспериментальный образец анализатора геометрических параметров наночастиц и дзета-потенциала

В **третьей главе** излагается и обосновывается концепция спектрального портрета и рассматривается ее применение на примере исследования винодельческой продукции. При этом упор делается на совместное использование нескольких типов оптических спектров. В данном случае спектральный портрет – это набор определенных оптических спектров, характеризующих исследуемый образец по совокупности характерных для него. Основные результаты, полученные в данной главе, изложены в работах [6, 10, 17, 22].

С учетом мирового опыта по классификации и идентификации вин, была выработана программа апробации концепции спектрального портрета на винодельческой продукции. Эта программа предусматривала измерение спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния. Построение спектрального портрета заключается в выборе типов измеряемых спектров, а также подборе тех фрагментов спектров, которые в совокупности позволяют однозначно

идентифицировать данный образец в составе определенной выборки. Выбранные фрагменты обладают, как правило, разной степенью информативности, поэтому необходимо их ранжировать. Фрагмент спектра можно считать тем более информативным, чем более значимы различия между различными образцами выборки.

В случае построения спектрального портрета винодельческой продукции, эта программа предусматривала измерение спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния.

Были проведены измерения спектров абсорбции, рассеяния и различных видов спектров флуоресценции (возбуждения, эмиссии, синхронного сканирования) более чем 40 образцов винодельческой продукции, как оригинальных вин и виноматериалов, так и фальсификатов, в основном из Краснодарского края и Крыма.

На основании изложенных выше критериев по полученному набору спектральных данных были выбраны наиболее информативные типы спектров, спектральные диапазоны и кратность разбавления исходных образцов, оптимальная для получения качественных спектров каждого из типов.

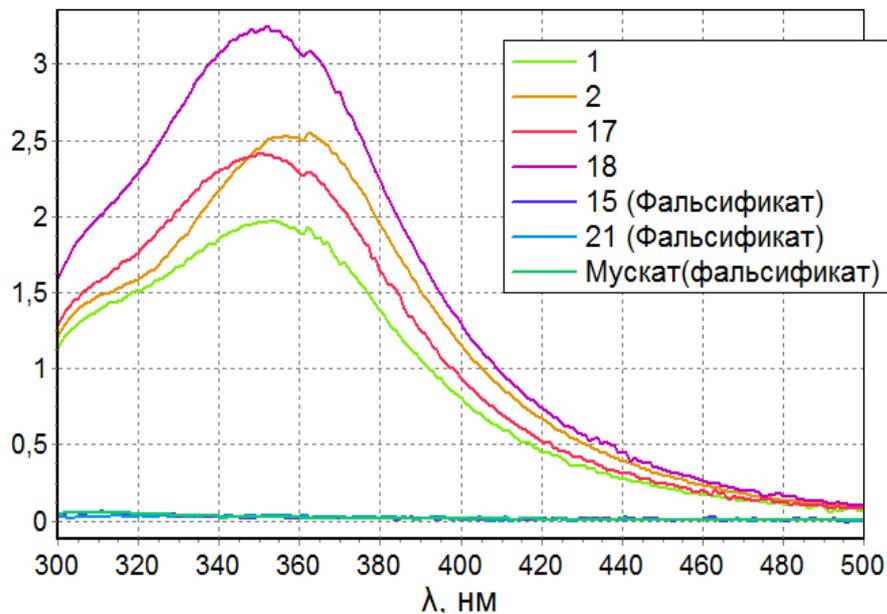
Фрагменты спектров, включаемых в состав спектрального портрета, ранжируются в порядке убывания информативности. Эти данные приводятся в таблице 2.

Таблица 2 – Фрагменты спектров, составляющих спектральный портрет образца винодельческой продукции.

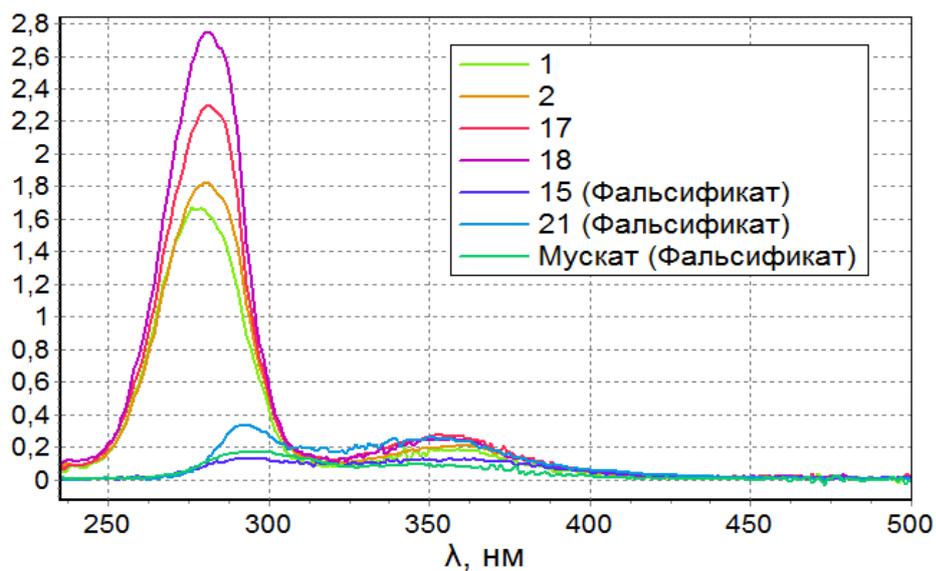
№	Вид спектра	Кратность разбавления	Спектральный диапазон, нм
1	Спектр эмиссии, возбуждение 272 нм	10 для белых	300-500 для белых
2	Спектр синхронного сканирования, $\Delta\lambda=50$ нм	10	235-500 для белых
3	Спектр рассеяния	10	200-800 для белых

4	Спектр абсорбции	10 и 50 для белых	230-500 для белых
5	Спектр эмиссии, возбуждение 229 нм	10	250-500

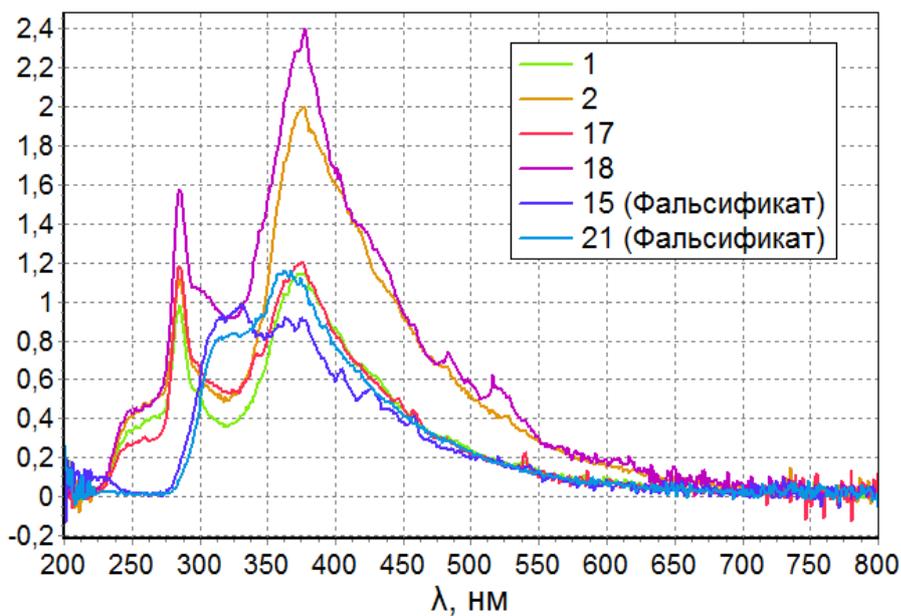
Примеры спектров, использованных для создания спектрального портрета приводятся на рисунках 3 а-г на примере вин марки Шардоне.



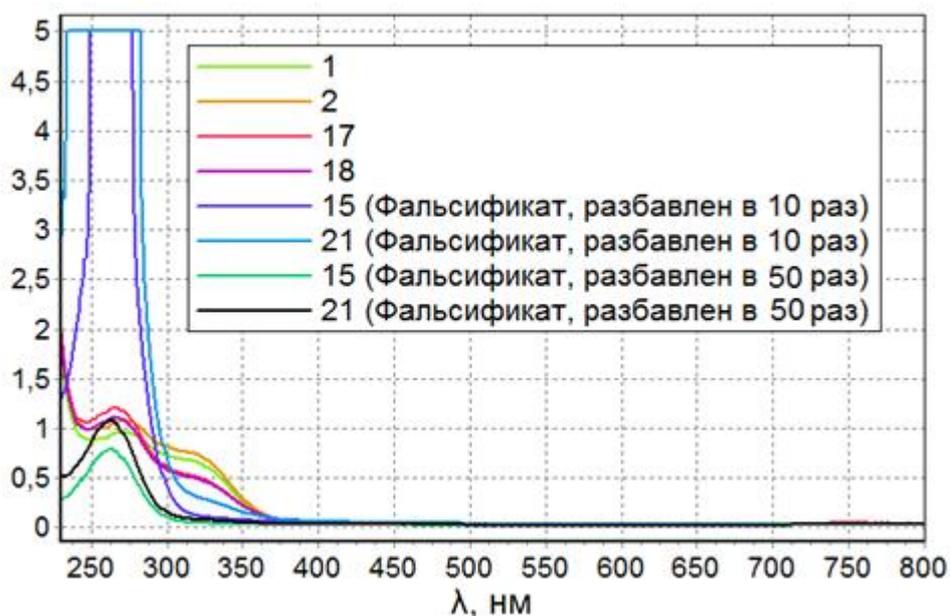
а)



б)



в)



г)

Рисунок 3 – Спектры образцов вин марки Шардоне. а) Эмиссия при возбуждении 272 нм, б) Синхронное сканирование, в) Рассеяние, г) Абсорбция (оптическая плотность)

При измерениях оптической плотности к фальсификатам было применено дополнительное разбавление в 50 раз, так как при разбавлении в

10 раз невозможно было обнаружить различия в форме спектров из-за высокой оптической плотности в коротковолновом диапазоне.

Возможно два подхода к использованию спектральных портретов для классификации исследованных образцов. Первый способ заключается в визуальном сравнении характерных фрагментов спектров.

На приведённых спектрах хорошо видны различия между оригинальными образцами и фальсификатами, так видно полное отсутствие флуоресценции данных образцов при возбуждении на 272 нм, очень слабый сигнал на спектрах синхронного сканирования и отсутствие коротковолнового пика на спектрах рассеяния. Это показывает экспересность и эффективность предлагаемого подхода для выявления фальсификатов. Однако для нахождения различий между оригинальными образцами необходима дополнительная обработка данных.

Второй подход предполагает отображение образцов в виде точек в многомерной системе координат. В этом случае от каждого из фрагментов спектров, входящих в состав спектрального портрета, используется один характерный параметр (чаще всего, амплитуда пика), значение которого откладывается по соответствующей оси. Если отбирать параметры из наиболее информативных спектров (первые строчки таблицы 2) может оказаться достаточным число осей системы координат, меньшее, чем число фрагментов в составе спектрального портрета. Такой подход проиллюстрирован на примере 7 оригинальных образцов вин и виноматериалов, для которых ранее были измерены спектры флуоресценции и синхронного сканирования в диапазонах, установленных методикой проведения измерений.

По этим спектрам для каждого зашифрованного образца были определены значения контролируемых параметров - интенсивностей коротковолнового пика в спектре синхронного сканирования $I_{\text{синх}}$ и пика эмиссии $I_{\text{эм}}$. В качестве исходных данных для идентификации были

использованы значения этих же параметров, определенные по ранее измеренным спектрам для всех образцов, отобранных для эксперимента.

Затем все данные наносились на график, в координатах $I_{\text{синх}}$ - $I_{\text{эм}}$. На этом графике каждой паре значений интенсивностей пиков соответствует точка. Для идентификации для каждой точки, соответствующей зашифрованному образцу, выбиралась ближайшая к ней точка, нанесенная по исходным данным. Результаты идентификации и их сопоставление с исходными данными приведены на рисунке 4. Видно, что для всех семи образцов идентификация оказалась правильной. Однако, как можно видеть из рисунка, близость данных, полученных при идентификации к исходным для разных образцов не является одинаковой. Например, для образца 14 она ниже, чем для остальных образцов.



Рисунок 4 – Идентификация вин по неполному спектральному портрету

Четвертая глава посвящена измерениям флуоресценции. В ней рассматривается обеспечение возможности измерения аппаратно-независимых спектров флуоресценции, их калибровки по спектральной и фотометрической шкалам, систематического контроля чувствительности. Для этого необходимы меры флуоресценции, разработка которых описана в

главе. Основные результаты, полученные в данной главе, изложены в работах [1, 9, 10].

Из-за аппаратной зависимости становится затруднительным сравнение с литературными данными или, например, измерение квантового выхода флуоресценции относительными методами, когда необходимо провести интегрирование полученного спектра, и численное значение интеграла будет зависеть от его формы, то есть значение квантового выхода флуоресценции, посчитанного относительным методом, начинает зависеть от приборных параметров. Особенно сильно данные проблемы мешают проведению сличения образцов по принципу «отпечатков пальцев», когда малейшие различия в спектральном портрете могут серьезно увеличить вероятность ошибочного отнесения образца к неправильному классу. Таким образом, решение задачи получения аппаратно-независимых спектров флуоресценции и рассеяния, является необходимой для эффективного создания спектральных портретов сложных коллоидных систем.

Меры флуоресценции должны обладать низкой зависимостью от температуры, стабильно воспроизводить флуоресцентный сигнал и высокой изотропией флуоресценции. Кроме того, мерам желательно иметь низкую оптическую плотность на длине волны возбуждения, чтобы минимизировать эффект внутреннего фильтра, приводящий к зависимости спектрального выхода флуоресценции меры от фокусировки возбуждающего излучения в конкретной оптической схеме спектрофлуориметра.

Были разработаны меры флуоресценции для коррекции спектров эмиссии и систематического контроля стабильности чувствительности спектрофлуориметров.

Для изготовления и исследования мер было использовано несколько типов стекла: специально разработанное для этих целей фосфатное стекло, активированное ионами одновалентной меди, разработанное в НИТИ ГОИ, стекло активированное ионами тербия и европия, разработанное в Научно – исследовательском центре оптического материаловедения ИТМО и серийное

цветное оптическое стекло СЗС-17. Мера может иметь известную геометрию имитатора кюветы или предложенную в диссертации геометрию плоской пластины. Геометрия, представляющая из себя плоскую пластину, позволяет минимизировать зависимость интенсивности флуоресценции меры от параметров оптической схемы прибора, которые могут оказывать влияние на результат из-за эффекта внутреннего фильтра, возникающего в первую очередь из-за высокой оптической плотности на длине волны возбуждения. Такая геометрия актуальна для образцов на основе цветного оптического стекла СЗС-17, поскольку они имеют высокую оптическую плотность на длине волны возбуждения.

Геометрия меры в виде имитатора кюветы и геометрия меры, предложенная для уменьшения влияния эффекта внутреннего фильтра, приводятся на рисунке 5.



Рисунок 5 – Сравнение геометрии мер флуоресценции

Исследована температурная зависимость интенсивности флуоресценции неорганических стёкол в интервале температур 18-26 °С. Данные, полученные для одного из образцов, приведены на рисунке 6. Там же представлена линейная аппроксимация полученной зависимости, которой соответствует значение температурного коэффициента порядка -0,02 %/град, что совпадает со значением этого коэффициента, определенного для стандартных образцов NIST 2943, изготовленных из фосфатного стекла, активированного ионами меди.

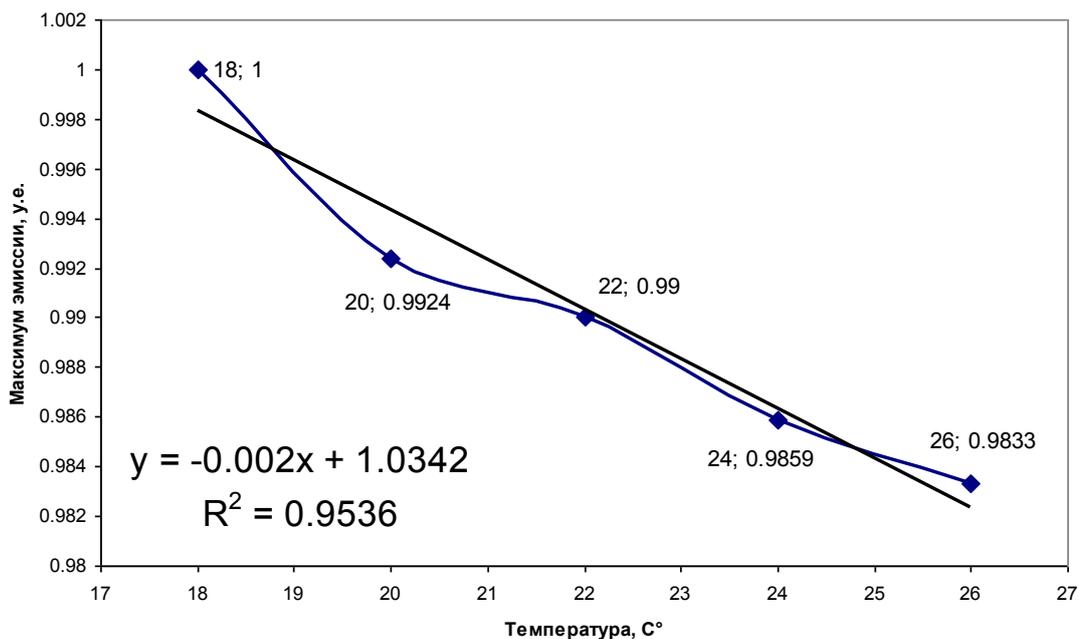


Рисунок 6 - Зависимость интенсивности флуоресценции от температуры

Учтена возможность использования мер флуоресценции в спектрофлуориметрах без термостатируемого кюветного отделения в диапазоне температур $25^0 \pm 5^0$. При этом аттестация мер должна производиться в термостатируемом отделении при температуре $25^0 \pm 0,5^0$. В этом случае вклад температурного фактора в неопределенность не будет превышать 0,1 %.

В процессе исследований контролировалась также стабильность флуоресцентных свойств неорганических стекол с течением времени. Результаты такого контроля для двух образцов этого стекла приведены на рисунке 7. Для учета колебаний чувствительности прибора в качестве контролируемой величины использовалось отношение измеренной интенсивности эмиссии стекла к интенсивности пика рамановского рассеяния дистиллированной воды.

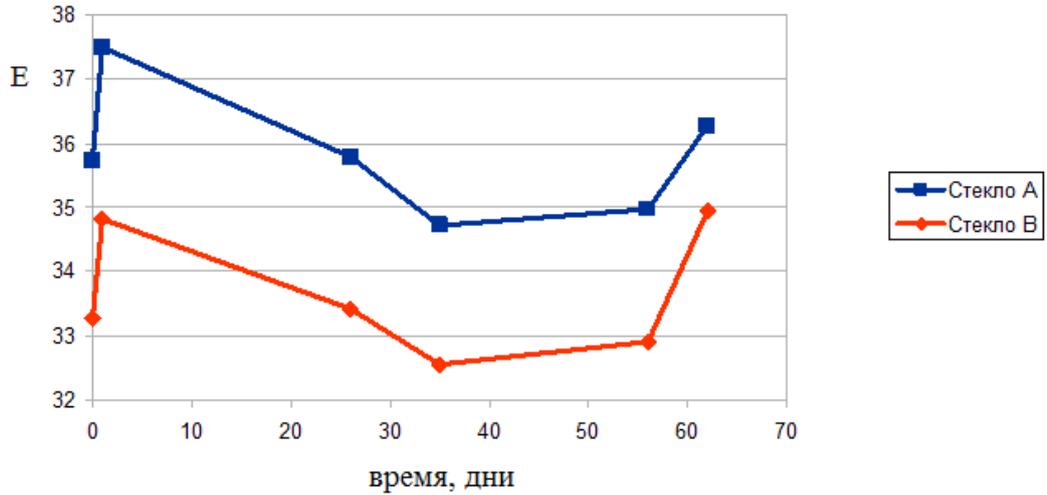


Рисунок 7 - Результаты контроля стабильности эмиссии флуоресценции

Кроме того, меры, изготовленные из неорганических стёкол, характеризуются высокой изотропией флуоресценции, что хорошо видно на рисунке 8, где показаны 4 спектра флуоресценции меры, записанные при разном её положении в кюветном отсеке прибора.

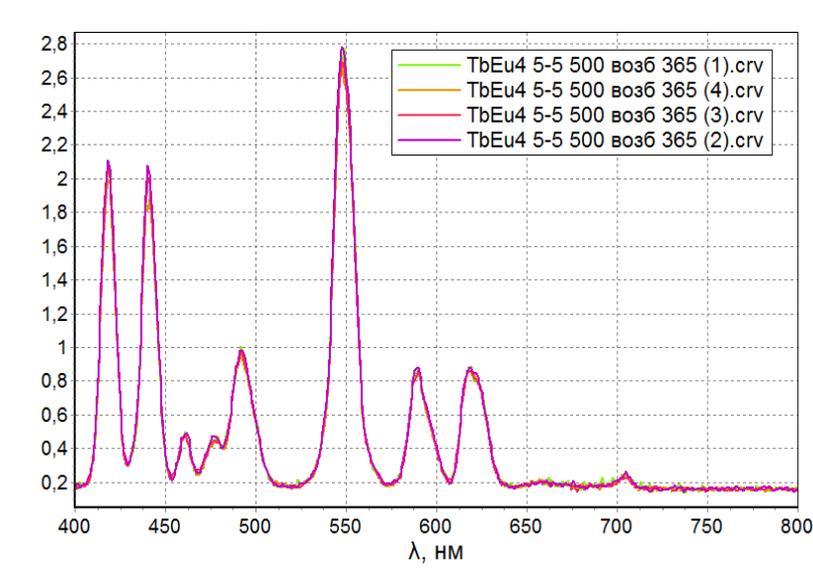


Рисунок 8 – Иллюстрация высокой изотропии мер флуоресценции на основе стекла, активированного ионами тербия и европия

Таким образом, были получены два варианта мер флуоресценции. Первый представляет собой плоскопараллельную пластину из цветного

оптического стекла СЗС-17, устанавливаемую в специальную оправку. Данная мера воспроизводит однопиковое распределение интенсивности флуоресценции в диапазоне от 370 до 660 нм, длина волны возбуждения 240 нм. Мера может использоваться как для получения аппаратно-независимых спектров, так и для ежедневного контроля стабильности спектрофлуориметра. Спектр флуоресценции данной меры приведён на рисунке 9.

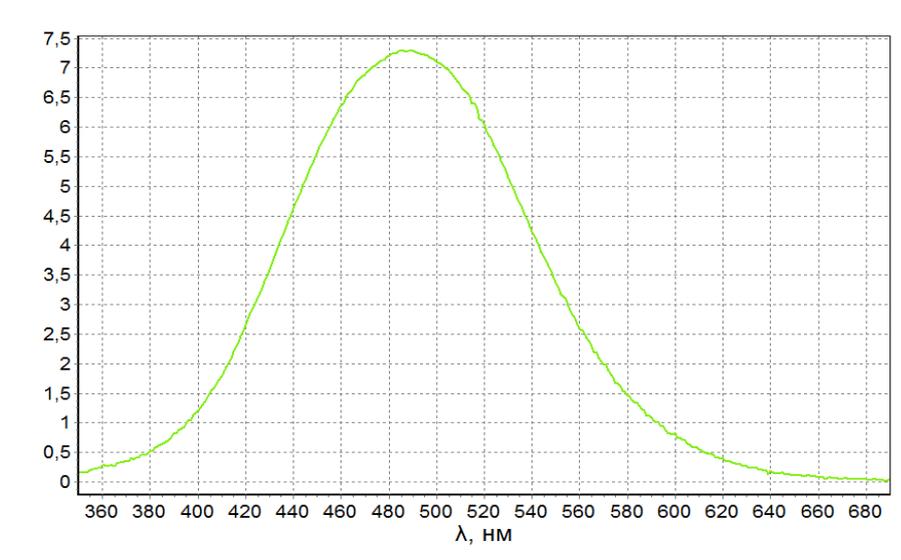


Рисунок 9 – Спектр флуоресценции меры на основе СЗС-17

Вторая разработанная мера изготовлена на основе фосфатного стекла, активированного ионами европия и тербия. Данная мера воспроизводит многопиковое спектральное распределение интенсивности флуоресценции в диапазоне 400-750 нм, при длине волны возбуждения 365 нм. Такие меры могут быть использованы для определения погрешности спектрофлуориметров по шкале длин волн. Спектр флуоресценции такой меры приведён на рисунке 10.

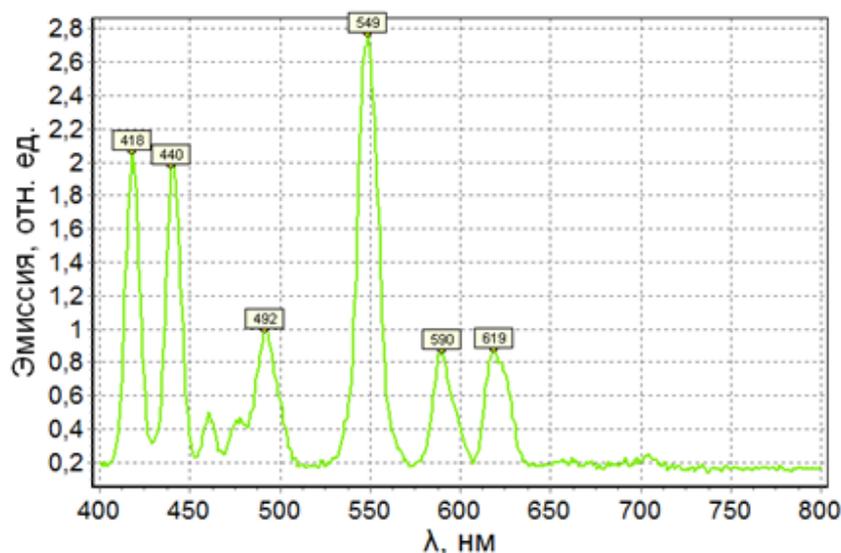


Рисунок 10 – Спектр флуоресценции меры на основе стекла, активированного ионами тербия и европия

Мера флуоресценции на основе цветного оптического стекла СЗС-17 в форме плоскопараллельной пластины была подготовлена к испытаниям в целях утверждения типа средства измерений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложен и экспериментально апробирован метод, позволяющий при измерениях размеров частиц на анализаторе динамического рассеяния света определять их счётную концентрацию в суспензии. Предложенный метод позволяет вычислять счётную концентрацию с помощью теории рассеяния света по их размерным параметрам, оптической плотности (экстинкции) (патент РФ на изобретение № 2610942).

2. Создан анализатор ДРС, позволяющий измерять как размерные параметры, так и счётную концентрацию наночастиц в сложных коллоидных системах. Прибор существует как в варианте экспериментального образца, позволяющего измерять размерные параметры и счётную концентрацию, так и в варианте малогабаритного прибора, который готовится к серийному производству.

3. Разработана концепция спектрального портрета, представляющего собой совокупность фрагментов спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния, однозначно характеризующий объект и показана её применимость на примере качественного анализа винодельческой продукции. Показано, что при правильном ранжировании выбранных признаков, становится возможным проводить идентификацию, отображая исследуемые образцы точками в многомерной системе координат, где по осям отложены значения выбранных признаков.

4. Разработана «Методика измерений спектров абсорбции, флуоресценции и рассеяния света в образцах винодельческой продукции» ФР.1.37.2014.18875. Кроме того, разработаны методические рекомендации по совместному использованию этих спектров в качестве спектрального портрета.

5. Поведены исследования различных неорганических стёкол с целью установления возможности изготовления на их основе мер флуоресценции. Исследованы температурная стабильность, стабильность воспроизведения флуоресцентного сигнала, анизотропия флуоресценции, влияние эффекта внутреннего фильтра. Исследовались такие стекла, как фосфатные стёкла, активированные ионами меди, фосфатные стекла активированные ионами редкоземельных металлов, цветное оптическое стекло СЗС-17

6. Исследованы флуоресцентные свойства цветного оптического стекла СЗС-17 и его пригодность для использования в качестве материала для изготовления мер флуоресценции.

7. Разработана мера флуоресценции на основе стекла СЗС-17, выполненная в виде тонкой плоскопараллельной пластины, установленной под углом 135° к возбуждающему излучению, для минимизации эффекта внутреннего фильтра. Мера воспроизводит аппаратно-независимое спектральное распределение интенсивности флуоресценции, что позволяет проводить процедуру спектральной коррекции эмиссионного канала

спектрофлуориметра и систематический контроль стабильности работы прибора.

8. Разработана мера флуоресценции на основе фосфатного стекла, легированного ионами тербия и европия, которая имеет распределение, содержащее несколько узких пиков, что позволяет использовать её для проверки точности настройки выходного монохроматора спектрофлуориметра. Мера позволяет проводить процедуру спектральной коррекции эмиссионного канала спектрофлуориметра и систематический контроль стабильности работы прибора.

Результаты работы опубликованы в статьях [1-7]; доложены на научно-технических конференциях [8-18]; защищены патентами на изобретения [19, 20] и свидетельствами о государственной регистрации программ для ЭВМ [21, 22].

Таким образом, в диссертационной работе решена актуальная научно-техническая задача разработки эффективных и производительных методов диагностики коллоидных систем на основе совместного использования спектров абсорбции, флуоресценции, статического и динамического рассеяния света.

В диссертации использованы результаты работ по проекту Минобрнауки России в рамках прикладного научного исследования (уникальный идентификатор RFMEFI62417X0045). Соглашение о предоставлении субсидии от 26.09.2017 г. № 14.624.21.0045.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Levin A.D., Pribytkov V.A., Nagaev A.I., Sadagov A.Yu. Reference Materials for Fluorescence Based on Inorganic Glass. 2015. Physics Procedia. 72. 213-217.

2. Левин А.Д., Прибытков В.А., Нагаев А.И., Садагов А.Ю., Шмыткова Е.А. Развитие оптико-спектральных методов измерений параметров наночастиц в жидких средах. Измерительная техника. №11. 2015.

A.D. Levin, A.I. Nagaev, V.A. Pribytkov, A.Yu. Sadagov, E.A. Shmytkova. Development of Optical-Spectral Methods for Measuring the Parameters of Nanoparticles in Liquid Media. Measurement Techniques, 58(11), 1274-1279

3. И.В. Кубракова, О.А. Тютюнник, И.Я. Кошечева, С.Н. Набиуллина, А.Ю. Садагов. Миграционное поведение платиновых металлов в природно-техногенных системах. ГЕОХИМИЯ. 2017. № 1. с. 68–85

Kubrakova I.V., Tyutyunnik O.A., Koshcheeva I.Y., Nabiullina S.N., Sadagov A.Y. Migration behavior of platinum group elements in natural and technogeneuous systems. Geochemistry International. 2017. T. 55. № 1. C. 108-124.

4. Ремпель С.В., Левин А.Д., Садагов А.Ю., Ремпель А.А. Оптические свойства квантовых точек сульфида кадмия в водных растворах. Физика твердого тела. 2015. том 57. вып. 6

Rempel' S.V., Rempel' A.A., Levin A.D., Sadagov A.Y. Optical properties of cadmium sulfide quantum dots in water solutions. Physics of the Solid State. 2015. T. 57. № 6. C. 1103-1107.

5. Левин А.Д. Садагов А.Ю., Щелконогов В.А., Синебрюхова А.М.. Оценка размеров наночастиц в многокомпонентных коллоидных системах методом динамического рассеяния света. Измерительная техника. №11. 2017

A.D. Levin, A.Yu. Sadagov, V.A. Shchelkonogov, A.M. Sinebryukhova. Estimation of the Dimensions of Nanoparticles in Multicomponent Colloidal

- Systems by Dynamic Light Scattering. Measurement Techniques, 60(11), 1091-1096
6. Левин А.Д., Нагаев А.И., Садагов А.Ю., Карахотин С.Н. Качественный анализ вин на основе совместного использования их оптических спектров различной физической природы. Аналитика и контроль. 2018. Т. 22, No 2. С. 147-156
 7. Левин А.Д., Нагаев А.И., Садагов А.Ю. Определение счётной концентрации и размеров наночастиц при измерениях методом динамического рассеяния света. Измерительная техника. №8. 2018.
 8. Levin A.D., Sadagov A.Yu. Extinction spectroscopy combined with dynamic light scattering for nanoparticles diagnostics. Proceedings of the Bremen Workshop on Light Scattering. Bremen, Germany 2016
 9. Левин А.Д., Нагаев А.И., Садагов А.Ю. Современные тенденции развития аналитических спектральных приборов и их использования в научных исследованиях. Тезисы докладов. Научно-практическая конференция «Научное приборостроение – современное состояние и перспективы развития» г. Москва, 2016
 10. Левин А.Д., Нагаев А.И., Садагов А.Ю., Кац Н.Д. Спектрофотометр-флуориметр СФФ-2 «ФЛУОРАН». Тезисы докладов. Научно-практическая конференция «Научное приборостроение – современное состояние и перспективы развития» г. Москва, 2016
 11. Левин А.Д., Нагаев А.И., Садагов А.Ю., Фурманский Е.А., Стольников Г.А., Кац Н.Д. Лазерный корреляционный спектрометр для характеристики наночастиц в жидких средах. Сборник трудов. Том 2. XII Международная конференция «Прикладная оптика-2016». Санкт-Петербург, 2016

12. Левин А.Д., Прибытков В.А., Нагаев А.И., Садагов А.Ю. Меры флуоресценции на основе неорганических стёкол. Аннотации докладов. Том 1. Научная сессия НИЯУ МИФИ. Москва, 2015
13. Садагов А.Ю. Меры флуоресценции на основе неорганических стёкол. Тезисы докладов. Первая конференции молодых специалистов национальных метрологических институтов. ФГУП «ВНИИОФИ». Москва, 2015
14. Левин А.Д., Прибытков В.А., Нагаев А.И., Садагов А.Ю. Разработка стандартных образцов для коррекции спектров флуоресценции на основе коллоидных растворов наночастиц. Тезисы докладов. Первая всероссийская научно-техническая конференция Метрология в нанотехнологиях. ФГУП «ВНИИОФИ». Москва, 2014
15. Ремпель С.В., Кузнецова Ю.В., Левин А.Д., Садагов А.Ю. Измерение квантового выхода флуоресценции полупроводниковых наночастиц. Тезисы докладов. Всероссийская научно-техническая конференция Метрологическое обеспечение фотоники. ФГУП «ВНИИОФИ». Москва, 2015
16. Садагов А.Ю. Развитие метода динамического рассеяния света для измерения геометрических параметров и счётной концентрации наночастиц. Тезисы докладов. Третий международный молодежный научный форум с международным участием «Новые материалы». Буки-Веди. Москва, 2017
17. Левин А.Д., Садагов А.Ю. Совместное использование методов оптической спектроскопии для идентификации веществ и их смесей. Тезисы докладов. Третий съезд аналитиков России. ГЕОХИ РАН. Москва, 2017

18. Садагов А.Ю. Определение счётной концентрации наночастиц в жидких средах при измерении их размеров методом динамического рассеяния света. Материалы конференции. Третья научно-техническая конференция Московского технологического университета. Москва, 2018
19. Патент РФ на изобретение «Способ определения размеров наночастиц, добавленных в исходный коллоидный раствор» № 2630447 07.09.2017
20. Патент РФ на изобретение «Способ оптического измерения счётной концентрации дисперсных частиц в жидких средах и устройство для его осуществления» № 2610942 17.02.2017
21. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программа обработки распределений размеров наночастиц и автокорреляционных функций для лазерного анализатора геометрических параметров наночастиц» № 2016610001 11.01.2016
22. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программа управления и обработки данных для спектрофотометра – флуориметра СФФ-2 «ФЛУОРАН» № 2015662353 20.11.2015