

Влияние малых концентраций частиц на определение их размеров методом ДРС

А.Т. Саноева, Л.Л. Чайков

Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН

Московский физико-технический институт (государственный университет)

Важным параметром для нефтехимической, фармакологической, пищевой и других видов промышленности является размер частиц в эмульсиях и взвесьях. Оптические методы определения размеров вносят наименьшее возмущение в изучаемую среду, легче всего реализуются и дают наиболее надежные результаты. Одним из таких методов является метод динамического рассеяния света (ДРС). Особенности применения ДРС посвящена работа.

Опишем суть метода.

Свет исследуемого участка направляется на фотокатод квадратичного по полю фотоприемника. На катоде возникают биения между различными частотными компонентами спектра падающего света. При этом освещенность фотокатода а, следовательно, и фототок будут промодулированы от нуля до частоты, равной ширине спектра.

Оптический спектральный прибор (решётка, интерферометр и т.п.) разлагает поле по его частотным компонентам, среднеквадратичные значения огибающих этих компонент регистрируются как спектральные плотности потока энергии на соответствующих частотах. Поэтому математическое выражение для спектра в случае стационарного поля $S(\omega)$ имеет вид:

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} \langle E(\tau)E^*(0) \rangle e^{-i\omega\tau} d\tau, \quad (1)$$

т.е. спектр – это Фурье-преобразование автокорреляционной функции (АКФ) поля, которая определяется выражением

$$g_E(\tau) = \langle E(\tau)E^*(0) \rangle. \quad (2)$$

Экспериментальное получение АКФ поля рассеянного света, однако, сопряжено с рядом трудностей, поэтому в работе использован метод спектроскопии самобиений, заключается он в том, что измеряется не функция $g_E(\tau)$, необходимая для нахождения спектра, а АКФ интенсивности света $g_I(\tau)$

$$g_I(\tau) = \frac{\langle I(\tau)I(0) \rangle}{\langle I_s \rangle^2}. \quad (3)$$

Связь между $g_E(\tau)$ и $g_I(\tau)$ для Гауссовой статистики рассеянного света определяется соотношением Зигерта:

$$g_I(\tau) = 1 + |g_E(\tau)|^2. \quad (4)$$

АКФ интенсивности света, рассеянного монодисперсной взвесью, имеющего Гауссову статистику и Лоренцев спектр, согласно [1] имеет вид

$$g_I(\tau) = 1 + A \exp\left(-2\tau/\tau_D\right), \quad (5)$$

где A – фактор пространственной когерентности, $\tau_D = 1/Dq^2$ – характерное время релаксации флуктуаций концентрации рассеивателей, D – коэффициент диффузии частиц, $\vec{q} = \vec{k}_S - \vec{k}_L$ – волновой вектор рассеяния, \vec{k}_S , \vec{k}_L – волновые вектора рассеянного и падающего света соответственно.

Искомый размер рассеивающих частиц определяется с помощью найденного из (5) коэффициента диффузии по формуле Стокса-Эйнштейна

$$r = \frac{k_b T}{6\pi\eta D}, \quad (6)$$

здесь η – вязкость дисперсионной среды, k – постоянная Больцмана.

Для полидисперсного раствора второе слагаемое в (5) следует заменить суммой экспонент с соответствующими D_i для каждого вида рассеивателей.

Выражение (5) верно для однократного рассеяния при вышеприведенных условиях. На практике в ряде случаев эти условия нарушаются.

Влияние многократного рассеяния света

АКФ интенсивности света в случае многократного рассеяния имеет форму, близкую к экспоненциальной, но её ширина $\Gamma_m = N\bar{\Gamma}$ может отличаться от ширины корреляционной функции однократно рассеянного света в несколько раз. N – среднее по возможным траекториям число актов рассеяния, а средняя ширина линии в каждом акте рассеяния Γ определяется как

$$\bar{\Gamma} = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \Gamma_i = \int_{4\pi} |G(\theta, \psi)|^2 \Gamma(\theta) d\omega. \quad (7)$$

Здесь Γ_i – ширина спектральной линии при i -ом акте рассеяния, $G(\theta, \psi)$ – форм-фактор рассеяния на частицах, $\Gamma(\theta)$ – угловая зависимость Γ для однократного рассеяния. Из (7) можно заключить [2], что увеличение кратности рассеяния приводит к уменьшению каждого из определяемых размеров.

Пыльность образцов

Трудности при использовании спектроскопии оптического смешения возникают также из-за наличия пыли в образце. Крупная пыль рассеивает свет сильнее, чем интересующие нас мелкие частицы взвеси. Однако наиболее сильно сказывается влияние пыли не на форму, а на нормировку корреляционной функции.

В традиционной оптической схеме рассеивающий объём оказывается порядка $V_{sc} \approx 0.8 \cdot 10^{-5}$ см. При таком малом объёме рассеяния в нём оказывается то несколько пылинок, то ни одной. Из-за этого, во-первых, флуктуации интенсивности света, рассеянного на пыли, имеют негауссову статистику, и из полученной функции корреляции (или спектра) не удаётся вышеупомянутыми методами получить истинное распределение по размерам всех частиц, включая и пылевые. Во-вторых, при такой статистике рассеяния света на пылинках изменяется фоновая постоянная составляющая получаемой АКФ интенсивности, что приводит к неадекватности стандартных методов обработки.

Негауссова статистика

Следует отметить, что число частиц в объеме рассеяния не фиксировано: любой рассеивающий центр может попасть в объем рассеяния или покинуть его во время проведения измерений. При большой концентрации рассеивателей вход-выход каждой частицы из объема рассеяния не оказывает значительного влияния на суммарную интенсивность рассеянного света. Однако при измерении размеров крупных частиц их концентрация должна быть мала, чтобы избежать многократного рассеяния, о влиянии которого было сказано выше. Если же концентрация рассеивателей мала, вклад каждого из них в суммарную интенсивность значителен, и последняя будет заметно увеличиваться, если частица попадет в объем рассеяния, и уменьшаться, если частица покинет его.

Вход-выход частиц из объема рассеяния не является Гауссовым случайным процессом, значит, при малых концентрациях и флуктуации поля перестают быть Гауссовыми [3].

На практике этот эффект приводит к появлению в распределении частиц по размерам дополнительного пика при исследовании взвесей малых концентраций.

Экспериментальная установка

Установка для получения АКФ и относительной интенсивности рассеянного света работает по методу самобиений. Рассеянный образцом свет попадает на квадратичный фотоприемник (ФЭУ), а фототок на выходе ФЭУ повторяет флуктуации интенсивности. В качестве анализатора фототока применялся цифровой многобитовым коррелятор «Photocor FCm» фирмы ООО «Антек-97», Москва.

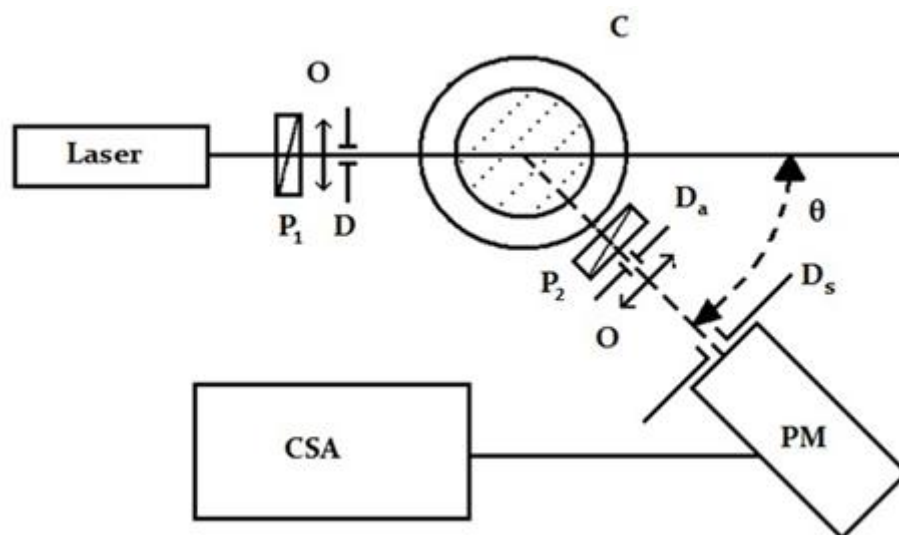


Рис. 1. Схема экспериментальной установки. Laser – He-Ne лазер, P_1 , P_2 – поляризаторы, O – объективы и линзы, C – кювета, θ – угол рассеяния, D_A – апертурная диафрагма, PM – фотоприемник, CSA – коррелятор, D_S – диафрагма перед фотоприемником.

Источником света служил He-Ne лазер мощностью 5-30 мВт. Стабильность интенсивности лазерного излучения контролировалась с помощью фотоэлемента Ф-5 и микроамперметра Щ-31. В качестве поляризаторов использовались призма Франка-Риттера (P_1) и пленочный поляризатор ПФ (P_2). Лазерный пучок линзой O_1 с фокусным расстоянием 300 мм фокусировался в кювету C с раствором.

Перед фотоприемником помещались затвор, катодная диафрагма D_S диаметром 150 мкм, ограничивающая эффективный объем рассеяния, линза O , передающая изображение лазерного луча на катодную диафрагму, и съемная апертурная диафрагма D_A диаметром 300 мкм.

Цилиндрическая кювета с исследуемым раствором устанавливалась соосно с гониометром. Юстировка кюветы производилась по совмещению отраженного от цилиндрической поверхности кюветы луча лазера с диафрагмой D и контролировалась по совпадению положения прямого луча лазера в отсутствие кюветы и луча, прошедшего через кювету.

Вместо коллиматора на алидаду гониометра помещался приемник рассеянного излучения. В качестве приемника рассеянного излучения использовался ФЭУ ЕМ1 9863 КВ 100, его источником питания служил высоковольтный источник ВС-22.

Сигнал с выхода ФЭУ поступал на усилитель-дискриминатор, откуда подавался на вход коррелятора. Темп счета фотонов контролировался по интенсивметру ПИ-4-1. Интенсивметр позволял дополнительно контролировать попадание изображения рассеивающего объема на диафрагму перед катодом ФЭУ.

Полученные АКФ раскладывались по экспонентам с характерными временами корреляции программным пакетом DynaLS. По формуле Стокса-Эйнштейна (6) с помощью этих времен вычислялись размеры рассеивателей.

Подготовка образцов

Для измерения использовались образцы растворов взвесей частиц латекса различных размеров в воде. Образцы подготавливались в промышленно приготовленных ампулах воды для инъекций с диаметром порядка 15 мм, не содержащих пыли. Ампулы для приготовления образцов выбирались так, чтобы отклонение их боковой поверхности от цилиндра составляло не более 0,02 мм. Для измерений ампулы помещались в иммерсионную кювету с водой диаметра 34 мм, что допускало их точную юстировку.

Результаты

Для изучения поведения артефактного пика была проведена серия измерений АКФ при малых концентрациях частиц латекса с радиусами $r=100, 375, 750$ нм. Полученные функции обрабатывались с помощью программного пакета для разложения АКФ по экспонентам DynaLS. Результаты обработки представлялись в виде гистограммы распределения интенсивности рассеяния по размерам частиц (рис. 2). Исследовались зависимости положения основного пика, площади и положения артефактного пика от количества частиц в объеме рассеяния при различных углах рассеяния. Диапазону исследуемых в работе концентраций взвесей $C_v = 1,15 \cdot 10^{-6} \div 1,25 \cdot 10^{-5}$ соответствовал диапазон $N = 40 \div 600$ частиц в объеме рассеяния.

На рис. 2 приведены примеры результатов обработки программой DynaLS АКФ света, измеренных в режиме Multiple tau под углом $\theta=30^\circ$ взвесями частиц латекса радиусов $r=100$ нм и $r=375$ нм соответственно.

Как видно, на гистограмме распределения для частиц латекса $r=100$ нм присутствует только один узкий пик (рис. 2а), который с хорошей точностью соответствует истинному радиусу частиц латекса. В то же время для частиц латекса $r=375$ нм в распределении появляется дополнительный пик (рис. 2б), который соответствует размерам несуществующих «частиц» радиуса на 3-4 порядка больше, чем радиус реальных. В образце с $r=100$ нм количество частиц латекса порядка 10^4 , поэтому артефактного пика нет.

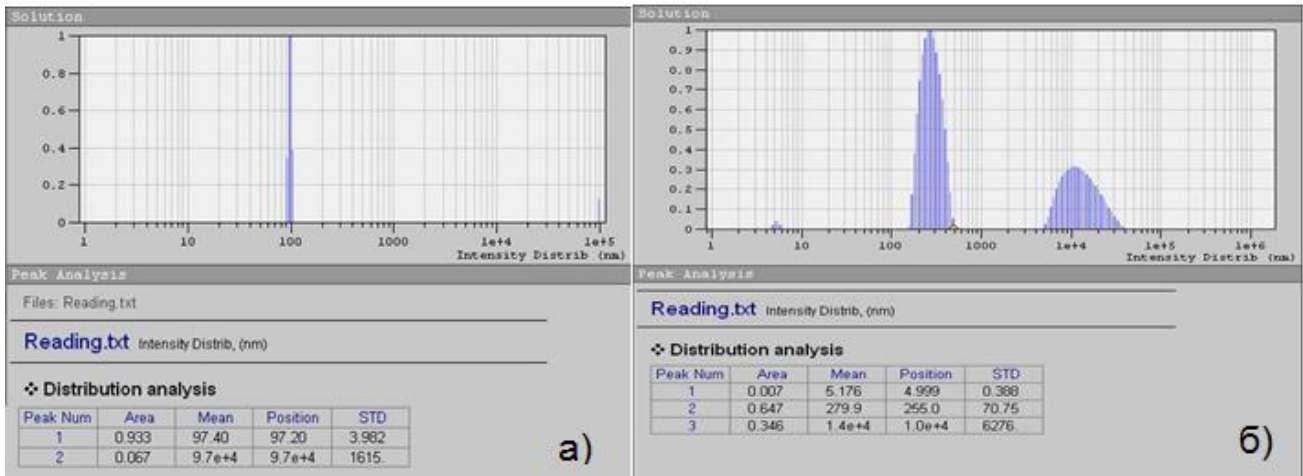


Рис. 2. Гистограмма распределения по размерам для частиц латекса а) $r=100$ нм. Число частиц в объеме рассеяния $N=930$, б) $r=375$ нм, число частиц в объеме рассеяния $N=320$.

Появление артефактного пика объясняется эффектом входа-выхода частиц латекса в объем рассеяния, характерное время которого, будучи переведенным в радиус по формуле (6), и находит отражение на гистограмме распределение частиц по размерам. С уменьшением концентрации рассеивателей этот пик растет, зависимость его площади от числа частиц в объеме рассеяния представлена на рис. 3,4.

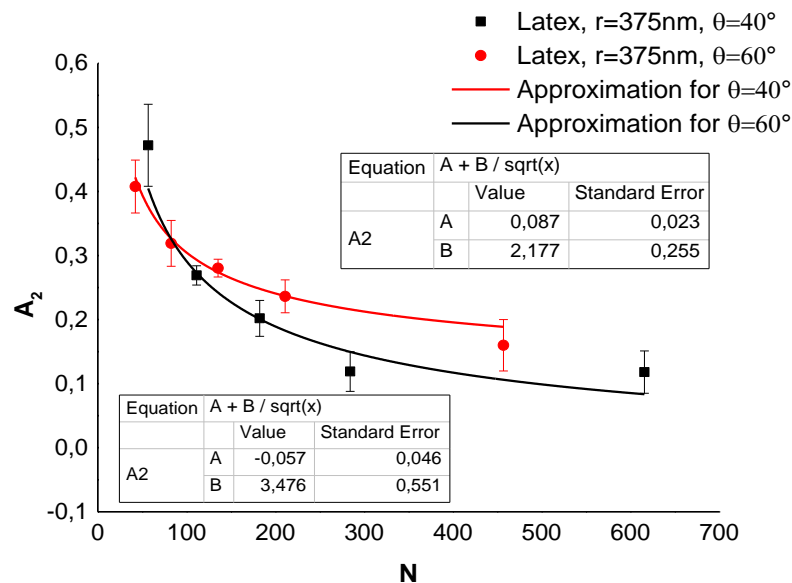


Рис. 3. Зависимость площади артефактного пика от числа частиц в объеме рассеяния для взвеси латекса $r=375$ нм для разных углов.

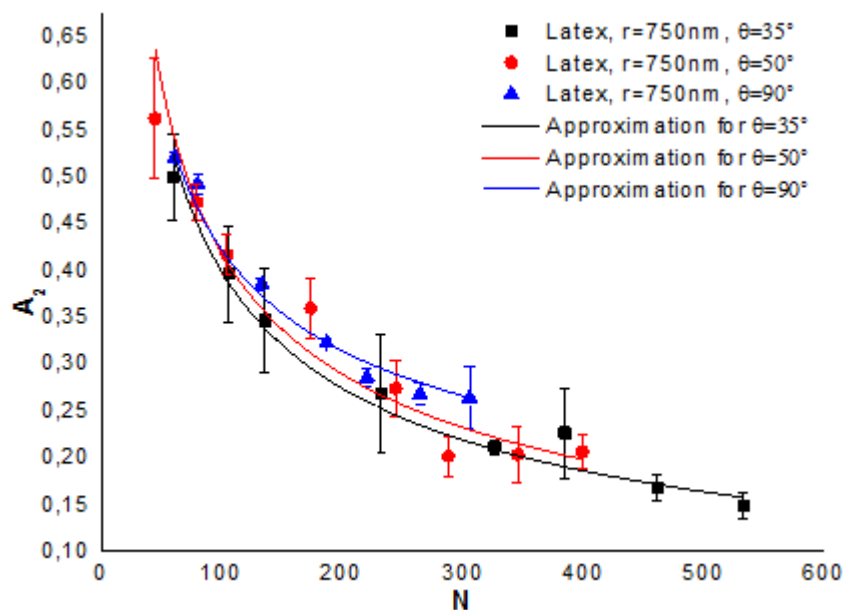


Рис. 4. Зависимость площади артефактного пика от числа частиц в объеме рассеяния для взвеси латекса $r=750\text{ нм}$ для разных углов.

Представляется, что площадь артефактного пика должна быть пропорциональна отношению флуктуаций интенсивности рассеянного света к полной интенсивности, зависящей от количества частиц в объеме рассеяния, другими словами $A_2 \sim \sqrt{N}/N \sim 1/\sqrt{N}$.

Положение артефактного пика практически не зависит от концентрации рассеивателей для каждого угла рассеяния и для каждого размера частиц.

Малые концентрации приводят не только к появлению артефактного пика, нарушение Гауссовой статистики также влечет за собой уменьшение измеренного радиуса по отношению к истинному (рис. 5,6).

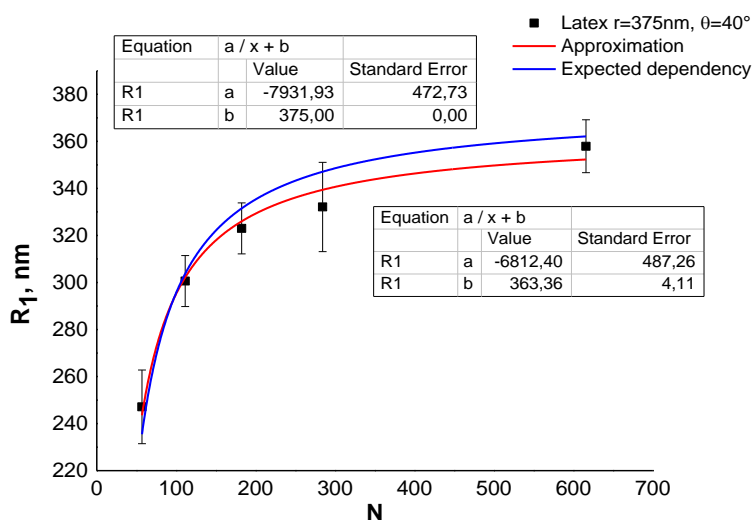


Рис. 5. Зависимость определяемого радиуса частиц от числа рассеивающих центров для взвеси латекса $r=375\text{ нм}$, $\theta=40^\circ$.

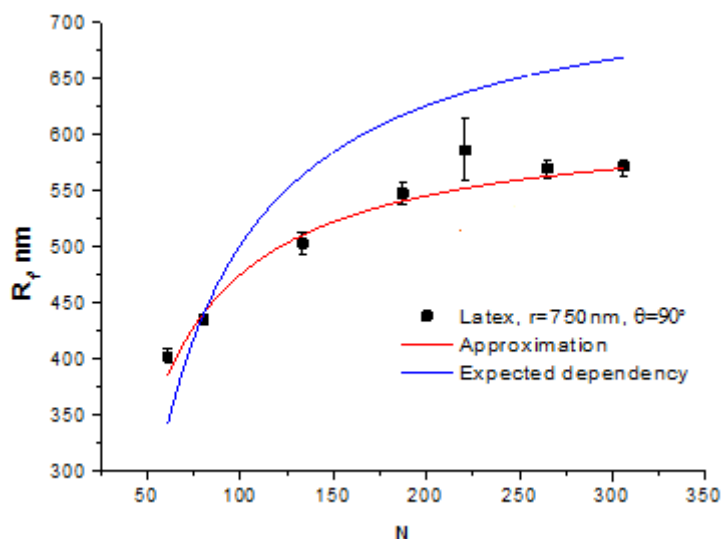


Рис. 6. Зависимость определяемого радиуса частиц от числа рассеивающих центров для взвеси латекса $r=750$ нм, $\theta=90^\circ$.

Для взвеси латекса с $r=375$ нм при $N>500$ измеренный размер соответствует истинному радиусу частиц.

Были предприняты попытки аппроксимации различными степенными функциями. Оказалось, что зависимость измеренного размера от концентрации частиц удовлетворительно описывается функцией вида $r = r_{ист} - \frac{const}{N}$ для частиц радиуса 375 нм. Для взвесей латекса 750 нм при больших концентрациях значительно сказывается эффект многократного рассеяния.

Результаты измерений демонстрируют необходимость контроля гауссовости распределения интенсивности света.

Проблема входа-выхода молекул из объема рассеяния возникает также при корреляционном исследовании растворов во флуоресцентной корреляционной спектроскопии. В работах [4-6] она решалась посредством домножения АКФ флуоресценции на АКФ освещенности молекулы,двигающейся внутри объема рассеяния с гауссовым профилем интенсивности освещения.

$$G_2(\tau) = \left(1 + A e^{-2\tau/\tau_{fl}} \right) \cdot G_M(\tau) - 1. \quad (8)$$

Здесь $G_2(\tau)$ – АКФ интенсивности рассеянного света, $G_M(\tau)$ – АКФ изменения интенсивности при входе-выходе молекул в объем рассеяния, τ_{fl} – характерное время флуоресценции, A – коэффициент пространственной когерентности.

$$G_M(\tau) = 1 + \frac{A}{N} \left(1 + \frac{4D}{r_0^2} \tau \right)^{-3/2}, \quad (9)$$

где D – коэффициент диффузии, N – концентрация рассеивателей, а r_0 – характерный размер объема рассеяния.

В случае рассеяния на частицах формула (8) примет вид:

$$G_2(\tau) = \left(1 + Ae^{-2Dq^2\tau}\right) \cdot G_M(\tau) - 1. \quad (10)$$

Однако функция $G_M(\tau)$ не описывает форму артефактного пика, т.к. при флуоресценции фазы излучения молекулами не связаны между собой, а при рассеянии на частицах их излучающие диполи сфазированы падающей световой волной.

Характерные времена релаксации, полученные из (8) и (9), также как и полученные из разложения по экспонентам в DynaLS оказываются на 1-2 порядка меньше $\tau = r_0^2 / 4D$.

В данный момент ведется теоретическое исследование, направленное на поиск аналитического вида функции входа-выхода частиц.

Литература

1. *Palberg T., Reiber H., Koller T.* Super-heterodyne light scattering on interacting colloidal suspensions: theory and experiment // arXiv:0811.2321v1 – 2008.
2. *Иванов Д.Ю., Костко А.Ф.*, Спектр многократно квазиупруго рассеянного света // Оптика и спектроскопия. – 1983 – P. 950.
3. *Schaefer D.W., Pusey P.N.* Statistics of Light Scattered by Non-Gaussian Fluctuations // Coherence Quantum Optics – 1973. – P. 839–850.
4. *Webb W.W.* Fluorescence correlation spectroscopy: inception, biophysical experimentations, and prospectus // Applied Optics – 2001. – V. 40, N 24. – P. 3969–3983.
5. *Schwille P.* Fluorescence Correlation Spectroscopy and Its Potential for Intracellular Applications // Cell Biochemistry and Biophysics – 2001. – V. 34, N 3. – P. 383–408.
6. *Gregor I., Patra D., Enderlein J.* Optical Saturation in Fluorescence Correlation Spectroscopy under Continuous-Wave and Pulsed Excitation // ChemPhysChem – 2005. – V. 6, N. 1. – P. 164 – 170.