

**Санкт-Петербургский политехнический университет
Петра Великого
Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций**

На правах рукописи

НЕПОМНЯЩАЯ ЭЛИНА КОНСТАНТИНОВНА

**Разработка метода и аппаратно-программного комплекса для
исследования размеров структур в биологических жидкостях**

Направление подготовки 03.06.01 Физика и астрономия

Код и наименование

Направленность 03.06.01_11 Лазерная физика

Код и наименование

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

**об основных результатах научно-квалификационной работы
(диссертации)**

Автор работы: Непомнящая Элина
Константиновна

Научный руководитель: доцент,
к.т.н., Величко Елена Николаевна

Санкт Петербург – 2019

Научно-квалификационная работа выполнена в ВШ прикладной физики и космических технологий Института физики, нанотехнологий и телекоммуникаций федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»

Директор ВШ:

– *Величко Елена Николаевна*
К.т.н., доцент

Научный руководитель:

– *Величко Елена Николаевна*
К.т.н., доцент

Рецензент:

– *Плешаков Иван Викторович*
д.ф.-м.н.,
Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Физико-технический институт
им. А. Ф. Иоффе Российской
академии наук, ведущий научный
сотрудник

С научным докладом можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» и на сайте Электронной библиотеки СПбПУ по адресу: <http://elib.spbstu.ru>

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Процессы агрегации наночастиц в результате их взаимодействия в растворах контролируются рядом сил, определяющих равновесное состояние наночастиц в жидкости. В биологических системах равновесное состояние главным образом определяется гидрофильными и гидрофобными участками молекулы. Металлические наночастицы агрегируют под влиянием электрических и магнитных взаимодействий.

В настоящее время тенденция к миниатюризации электронных компонент, создаваемых чипов и детекторов, а также широкое применение наночастиц и развивающаяся биомолекулярная электроника породили повышенный интерес к различным моделям и методам, позволяющим предсказать и проанализировать поведение наночастиц при их взаимодействии друг с другом. Детектирование процессов агрегации интересно, как при исследовании самих наночастиц, так и при изучении взаимодействия молекул в молекулярных кластерах. При этом, большая часть используемых в настоящее время наночастиц находится в составе жидкостей, особенно, если речь идет о биологических системах. Такие системы имеют высокую склонность к агрегации либо самосборке, что существенно ограничивает сроки хранения таких жидкостей. Для детектирования процессов агрегации и отслеживания стабильности коллоидной системы в целом таких наночастиц очень важны методы экспресс-диагностики.

В связи с этим становится необходимой разработка эффективного и производительного метода диагностики размерных параметров наночастиц в жидких средах, отслеживания изменений этих параметров при физико-химических превращениях и контроля стабильности наночастиц в коллоидных системах.

Для анализа процессов агрегации наночастиц в динамике требуется использование неинвазивных методов диагностики. Традиционно в основе

подобных методов лежат оптические подходы, позволяющие проводить исследования сред без внесения дополнительных воздействий, влияющих на характер протекающих процессов. Таким образом, разработка программно-аппаратного комплекса, основанного на оптическом методе анализа наночастиц в жидкостях с целью детектирования процессов их агрегации и определения агрегационной стабильности представляется актуальной задачей.

Цель и задачи исследования

Целью работы является разработка и создание малогабаритного программно-аппаратного комплекса для анализа размеров наночастиц и детектирования их агрегации в растворах.

Задачи:

1. Разработать программно-аппаратный комплекс, позволяющий детектировать размеры наночастиц и динамику их агрегации в жидкости.
2. Разработать алгоритмы проведения исследований и анализа данных, полученных при помощи разработанного программно-аппаратного комплекса.
3. Произвести апробацию и анализ погрешности измерений, получаемой при помощи разработанного программно-аппаратного комплекса.
4. Провести исследования процессов агрегации в растворах наночастиц различной природы.

Научная новизна

1. Впервые предложен и реализован программно-аппаратный комплекс для детектирования размеров и динамики агрегации наночастиц в составе растворов (патент РФ на полезную модель № 2018112326/28(019297) 05.04.2018).
2. Впервые разработан алгоритм анализа данных, позволяющий определить размеры наночастиц в полидисперсных растворах,

содержащих наночастицы с различными размерами (программное свидетельство №2016617178, 28.06.2016 и программное свидетельство №2017662374, 03.07.2017)

3. Впервые разработан метод и программно-аппаратный комплекс, позволяющий анализировать динамику агрегации наночастиц и оценить агрегационную устойчивость.
4. Впервые с использованием разработанного программно-аппаратного комплекса проведены исследования размеров наночастиц и динамики их агрегации в зависимости от времени и внешних условий.

Теоретическая и практическая значимость

Значимость результатов проведенной работы заключается в разработке и создании малогабаритного программно-аппаратного комплекса, позволяющего проводить оценку размеров наночастиц в составе растворов, а также детектировать процессы агрегации исследуемых наночастиц в растворах. В работе продемонстрированы результаты анализа агрегационной и седиментационной устойчивости наночастиц в составе магнитной жидкости, результаты агрегационного взаимодействия наночастиц со структурами в составе биологических жидкостей.

Разработанный программно-аппаратный комплекс может быть принят к внедрению в организациях, занимающихся производством и использованием наночастиц в составе жидких растворов. Области применения включают, но не ограничены следующими сферами: электроника, приборостроение, биомолекулярная электроника, пищевая и косметическая промышленность, медицина, фармацевтика и др.

Апробация работы

Основные положения и результаты исследований докладывались и обсуждались на конференциях: «Saint-Petersburg OPEN» (Санкт-Петербург, ежегодно 2014 - 2019 гг.); «Laser Optics» (Санкт-Петербург, 2014, 2016 и 2018

гг.); Международная конференция по магнитным жидкостям (Екатеринбург, 2015 г.); «Saratov fall meeting» (Саратов, ежегодно 2016 - 2018 гг.); Международная конференция по фотонике и информационной оптике (Москва, ежегодно 2017 - 2019 гг.); «Когерентная оптика и оптическая спектроскопия» (Казань, 2017 г.); SPIE Photonics Europe (Страсбург, Франция, 2018 г.); SPIE Photonics West (Сан-Франциско, США, 2019 г.).

Публикации

Результаты данной работы докладывались на 48 всероссийских и международных конференциях, вошли в 35 работ, входящих в базы ВАК и Scopus. В рамках работы было подготовлено и оформлено 3 РИД.

Представление научного доклада: основные положения

1. Предложенный в работе метод и разработанный программно-аппаратный комплекс позволяет детектировать динамику агрегации наночастиц в составе жидких растворов.
2. Предложенный алгоритм анализа данных, полученных при помощи разработанного программно-аппаратного комплекса, позволяет вычислять размеры наночастиц в диапазоне 1–500 нм, учитывая полидисперсность.
3. Проведенные исследования динамики агрегации наночастиц позволили обнаружить потерю агрегационной устойчивости наночастиц в растворе магнитной жидкости при её разбавлении.
4. Исследования динамики агрегации в биологических жидкостях позволили провести анализ процессов связывания белков в результате из взаимодействия друг с другом и наночастицами в исследуемых растворах.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении приводится актуальность работы, цель работы и задачи, поставленные в работе.

В первой главе приводится обзор типов наночастиц и растворов, используемых в промышленности и медицине. Обсуждаются методы и подходы к исследованию наночастиц.

В главе также приводится обзор существующих методов для исследования наночастиц. Обосновывается целесообразность использования оптических методов, в частности метода лазерной корреляционной спектроскопии для детектирования процессов агрегации наночастиц в жидкостях. В главе описывается теория метода лазерной корреляционной спектроскопии, а также рассматриваются существующие возможности модификации данного метода с целью применения его для анализа динамики агрегации наночастиц в полидисперсных растворах.

Во второй главе анализируются методы определения размеров наночастиц и их агрегатов в растворах, а также подробно рассматривается теория лазерной корреляционной спектроскопии. Выводятся соотношения для описания рассеяния когерентного монохроматического света в растворе наночастиц, совершающих броуновское движение. Показано, что автокорреляционную функцию рассеянного излучения $g^{(1)}(\tau)$ можно представить в виде

$$g^{(1)}(\tau) = F(D_T)e^{-q^2 D_T \tau}$$

Здесь $F(D_T)$ – функция распределения интенсивности рассеяния в зависимости от коэффициента диффузии частиц, D_T – коэффициент диффузии, который согласно формуле Стокса-Эйнштейна, задается следующим образом

$$D_T = k_b T / 6\pi\eta d$$

Здесь, η – вязкость жидкости, k_b – постоянная Больцмана, T – температура, и d – гидродинамический диаметр рассеивателей.

В главе разрабатывается схема метода лазерной корреляционной спектроскопии и алгоритм для исследования динамики агрегации частиц в растворах.

Разработанная схема программно-аппаратного комплекса приведена на рисунке 1.

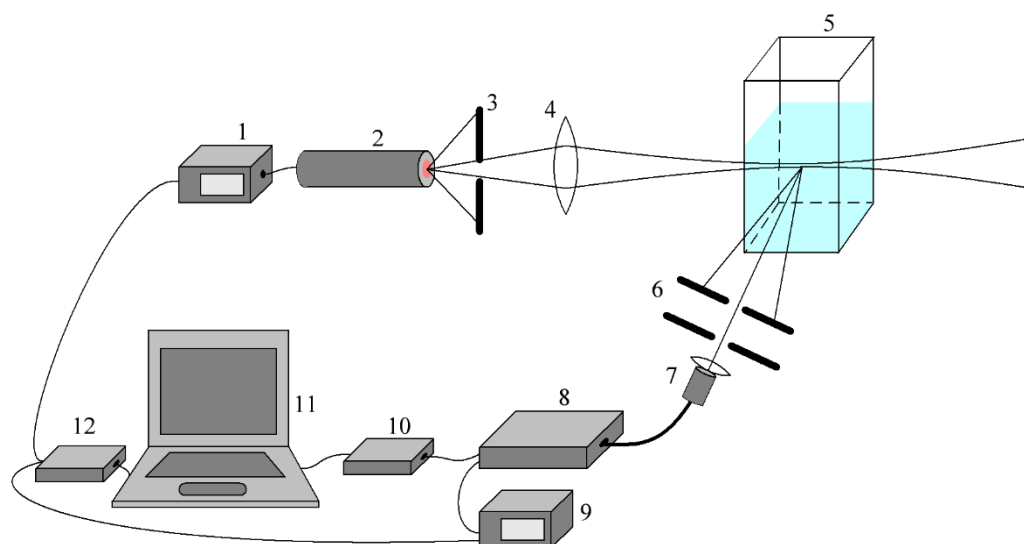


Рис.1. Схема лазерного корреляционного спектрометра. 1 — источник питания лазера, 2 — лазер, 3 — экран с отверстием, 4 — собирающие линзы, 5 — кювета с исследуемым раствором, 6 — система сбора излучения, 7 — многомодовое оптоволокну, 8 — ФЭУ, 9 — источник питания ФЭУ, 10 — АЦП модуль, 11 — персональный компьютер с программой обработки, 12 — модуль обратной связи

Параметры элементов схемы выбирались исходя из соображений максимизации отношения сигнал/шум. Соответствующие расчеты приведены во второй главе. В таблице 1 приведены расчетные значения отношения сигнал/шум для разного размера частиц в растворе (концентрация вещества $c = 1$ г/л) разного уровня мощности лазерного источника излучения P_0 и соответствующих мощностей регистрируемого рассеяния P_s .

Таб. 1. Расчетные значения отношения С/Ш

Размеры частиц, нм	P_0 , мВт	P_s , нВт	С/Ш
--------------------	-------------	-------------	-----

10	1,0	0,03	4,2
	5,0	0,15	20,8
	15,0	0,44	62,4
100	1,0	0,17	25,0
	5,0	0,87	124,8
	15,0	2,61	374,3

Система сбора рассеянного излучения и её параметры приведены на рисунке 2. Данные параметры представляются оптимальными для максимизации отношения С/Ш и минимизации размера схемы регистрации рассеяния.

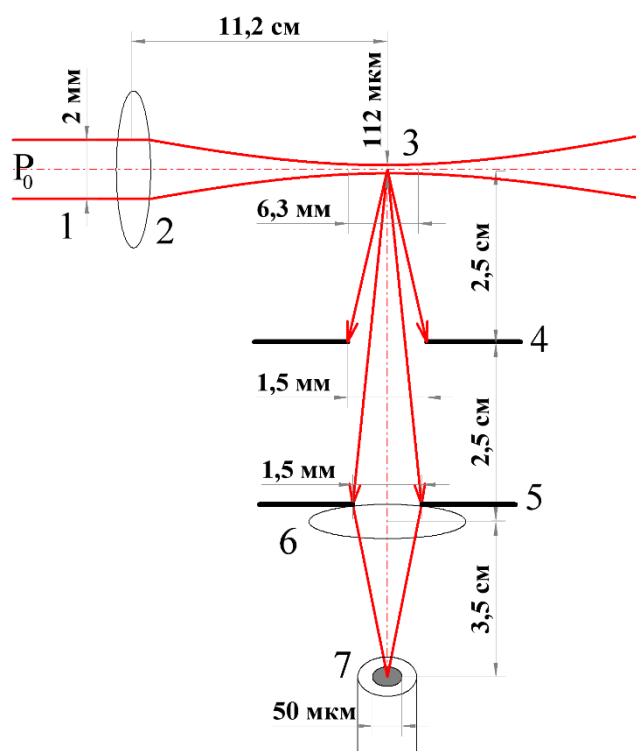


Рис.2. Система сбора рассеянного излучения. 1 — лазерный луч, 2 — фокусирующая сферическая линза, 3 — рассеивающий объём, 4, 5 — ирисовая диафрагма, 6 — объектив, 7 — входная апертура оптического волокна

Программно-аппаратный комплекс, собранный с использованием описанных элементов, был помещен в малогабаритный корпус с размерами 25x15x5 см и весом в сборе до 2 кг (рис.3).

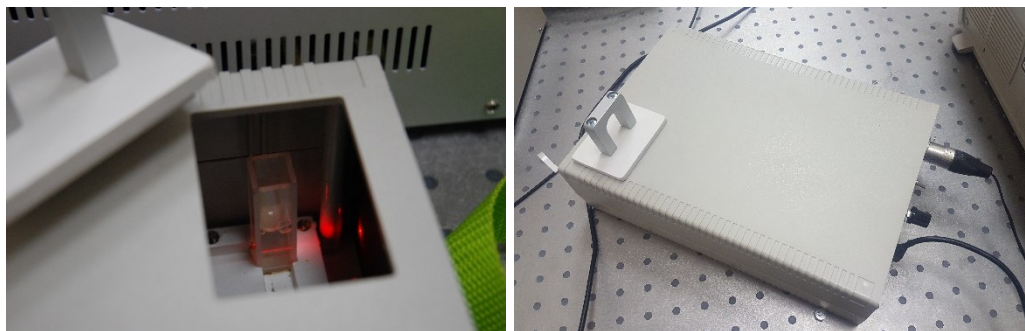


Рис.3. Фотография программно-аппаратного комплекса в корпусе

Разработанный алгоритм проведения измерений представлен на рисунке 4

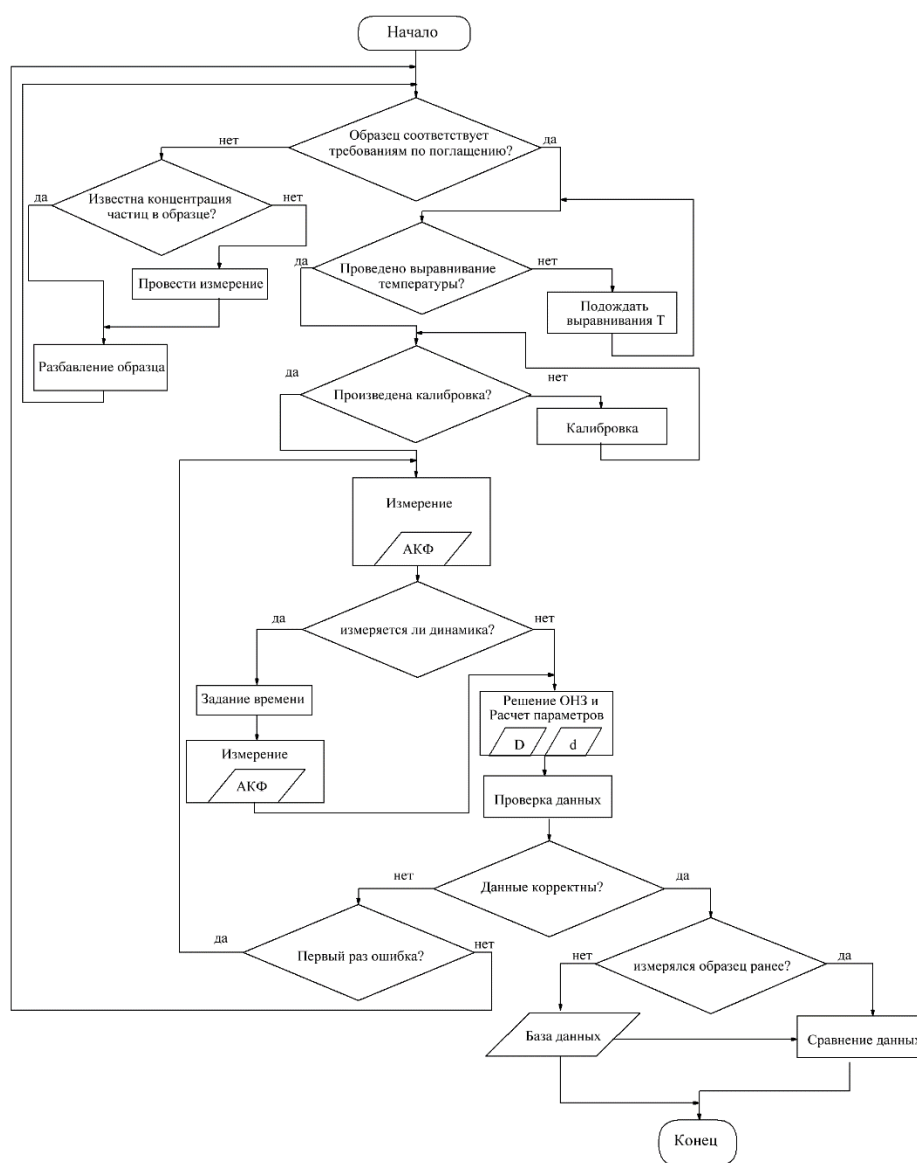


Рис. 4. Алгоритм проведения измерений размеров наночастиц и динамики их агрегации в растворах

В третьей главе рассматриваются методы решения обратной задачи лазерной корреляционной спектроскопии. Приводится сравнительная таблица для выбора наиболее эффективного метода. В работе был выбран метод регуляризации Тихонова. Схема реализации разработанного алгоритма на основе регуляризации Тихонова приведена на рисунке 5.

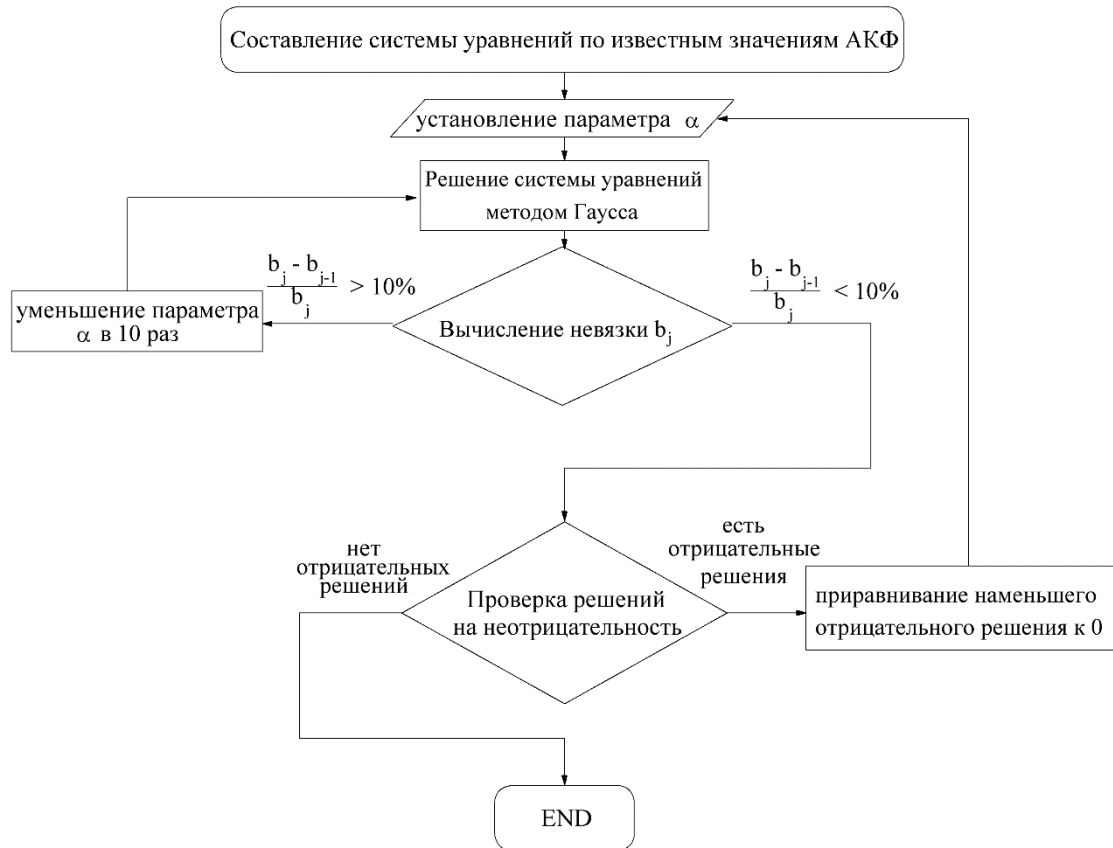


Рис. 5. Разработанный алгоритм обработки данных лазерной корреляционной спектроскопии

В главе показано, что при отношении сигнал/шум составляющем 100 успешно восстанавливаются до пяти компонент в модельном сигнале, что позволяет проводить исследования размеров наночастиц и их агрегатов в полидисперсных растворах.

Апробация предложенного алгоритма проведена при помощи сравнения результатов модельных экспериментов, проведенных при помощи разработанного алгоритма с результатами, полученными при помощи алгоритма CONTIN, используемого в коммерческих устройствах (Photocor -

программа DynaLS). Результат сравнения работы двух алгоритмов представлен на рисунке 6.

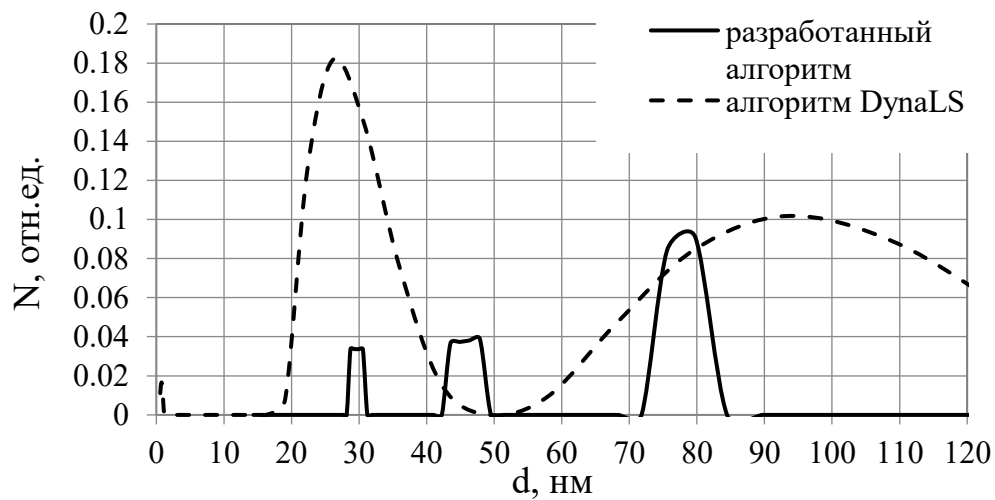


Рис. 6. Сравнение результатов расчета размеров частиц в смеси стеклянных микросфер, выполненных с использованием предлагаемого алгоритма и известного алгоритма программы DynaLS

В главе 4 приводятся результаты экспериментальной апробации разработанного программно-аппаратного комплекса. В первом разделе приводится оценка ошибки определения размеров наночастиц в растворах. Показано, что максимальная ошибка при исследовании полидисперсных растворов наночастиц с размерами до 500 нм составляет 10%. Результаты исследования полидисперсных растворов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Расчет размеров наночастиц в полидисперсной смеси и оценка погрешности

Размеры частиц, нм	60	90	150
Рассчитанный размер, нм	60,6	92,3	147,9
СКО, нм	1,6	2,6	7,2
Погрешность, %	5,5	5,9	9,9

Таким образом видно, что погрешность определения размеров наночастиц в полидисперсном растворе не превышает 10% с достоверностью 95%.

Во втором разделе исследуется динамика агрегации различных наночастиц. Продемонстрировано образование кластеров молекулы альбумина при изменении pH раствора. Известно, что белок альбумин образует агрегаты в изоэлектрической точке составляющей порядка $pH=4,2$. Обнаруженная в работе зависимость, представленная рисунком 7, согласуется с литературными данными.

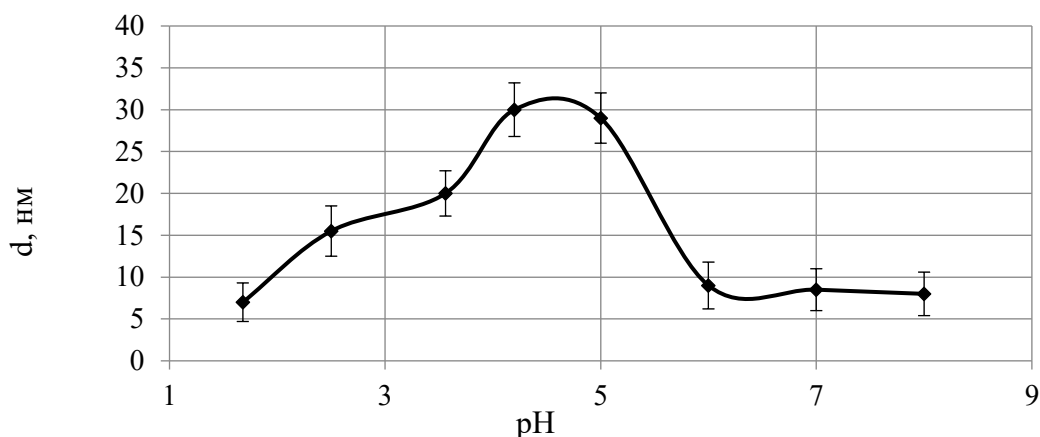


Рис.7. Зависимость диаметра агрегатов белка альбумина от pH раствора

В работе исследовалась агрегация монодисперсного раствора золотых наночастиц (средний диаметр 20 нм) с молекулами белка альбумина (средний диаметр 6 нм). Обнаружено, что наночастицы золота образуют агрегаты с белком альбумина с размерами в диапазоне 6–38 нм.

Агрегационная устойчивость растворов наночастиц исследовалась и на примере магнитной жидкости. Магнитные наночастицы в магнитной жидкости склонны образовывать агрегаты за счет наличия у них магнитного момента. Стабилизируют магнитные жидкости при помощи введения поверхностно-активных веществ или ионного баланса. Однако при изменении концентрации частиц — испарении несущего агента (обычно — воды) или наоборот, разбавлении растворов, наблюдается потеря агрегационной устойчивости и формирование крупных агрегатов. Аналогичные изменения могут наблюдаться при воздействии магнитного поля на исследуемый раствор. В работе проведены комплексные исследования агрегации магнитных наночастиц. На рисунке 8 представлено изменение размеров

агрегатов в магнитной жидкости, стабилизированной олеиновой кислотой, под воздействием магнитного поля. На рисунке H – величина магнитного поля в эрстедах.

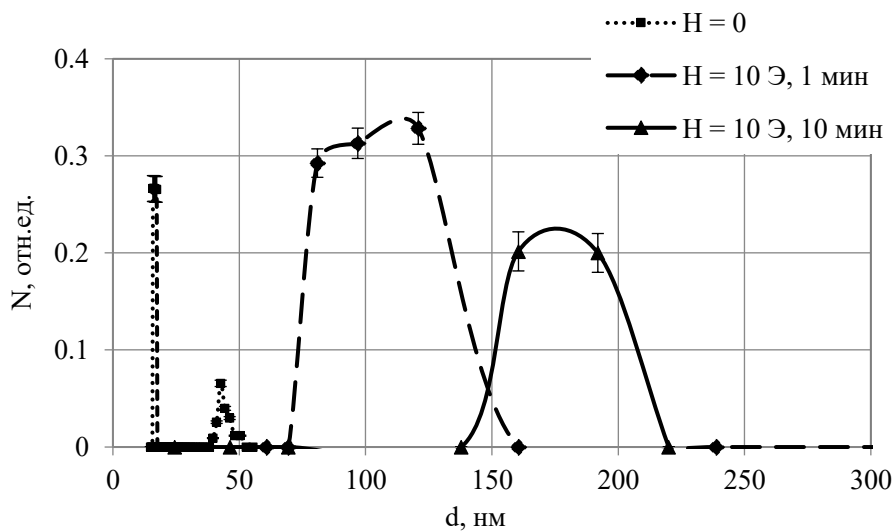


Рис. 8. Распределение частиц по размерам в растворе магнетита при воздействии магнитного поля

Распределение наночастиц в магнитной жидкости по размерам при разведении ионно-стабилизированной магнитной жидкости в 100 раз представлено на рисунке 9.

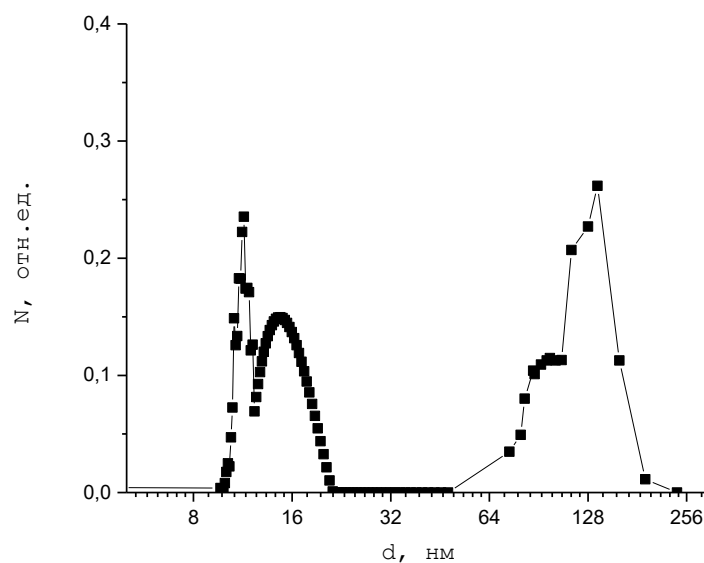


Рис. 9. Размеры наночастиц в магнитной жидкости, рассчитанные с использованием теории поляризационного рассеяния

Таким образом подтверждено нарушение агрегационной устойчивости магнитных жидкостей под воздействием магнитного поля и при разбавлении.

Динамика агрегации в работе исследовалась на примере образования молекулярных кластеров в биологических жидкостях. Такие реакции относительно долгие от 30 секунд до 4-х минут, в то же время длительность реакций позволяет ограничить время проведения измерений.

В качестве динамической реакции агрегации был рассмотрен процесс активации иммунной системы в сыворотке крови человека приводящий к образованию крупных комплексов. Реакция инициировалась добавлением в жидкость специального агента и наблюдалась в течении 245 секунд после инициации. На рисунке 10 представлен усредненный результат исследования динамики агрегации, проведенного в реальном времени. Наблюдается постепенное изменение размеров агрегатов наночастиц от 8 до 100 и более нанометров. Таким образом продемонстрирована возможность наблюдения динамики агрегации наночастиц в растворах.

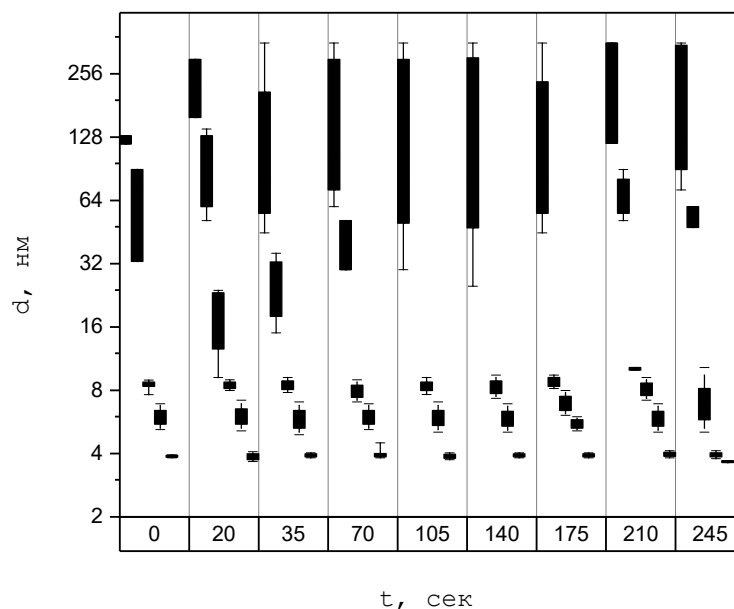


Рис. 10. Размеры наночастиц и их агрегатов в сыворотке крови до (0 с) и после (20–245 с) инициации реакции агрегации

В заключении работы сформулированы основные результаты работы. Сделан вывод о выполнении всех поставленных задач и достижении цели работы.

Объекты, (предмет) и методы исследования

Объект исследования в данной работе представляет собой программно-аппаратный комплекс для оценки размеров наночастиц и детектирования процессов их агрегации в растворах.

Предметом исследования являются компоненты информационного, методического, инструментального и программно-алгоритмического обеспечения программно-аппаратного комплекса для оценки размеров наночастиц и детектирования процессов их агрегации в растворах.

В работе использованы методы физико-математического моделирования, инженерного проектирования, схемотехнической разработки, цифровой обработки сигналов и объектно-ориентированного программирования, а также статистического анализа и обработки данных.

Результаты и их обсуждение

В качестве основных результатов выполнения работы можно отметить разработку и создание малогабаритного программно-аппаратного комплекса, позволяющего анализировать размеры наночастиц в растворах и динамику их изменения в процессе агрегации.

Погрешность определения размеров наночастиц и их агрегатов не превышает 10% в диапазоне 1–500 нм. Данная точность достигается за счет разработки оригинальных алгоритмов проведения измерений и анализа данных, а также за счет проведенного расчета и подбора оптимальных параметров элементов схемы программно-аппаратного комплекса, позволивших максимизировать отношение сигнал/шум в разработанном приборе.

Результаты экспериментальной апробации программно-аппаратного комплекса позволили обнаружить наличие изоэлектрической точки раствора

молекул альбумина, в которой наблюдается наибольший размер образующихся агрегатов. Кроме того, было проведено детектирование агрегации золотых наночастиц с молекулами альбумина и образование агрегатов с размерами до 38 нм. При исследовании магнитных жидкостей была обнаружена потеря агрегационной устойчивости под влиянием магнитного поля и при разбавлении магнитной жидкости. Данный результат для исследуемых магнитных жидкостей получен впервые.

В работе также продемонстрированы возможности применения разработанного программно-аппаратного комплекса для исследования динамики агрегации биологических наночастиц во времени. Показано, что при инициации реакции агрегации размеры кластеров увеличиваются от 8 до 100 и более нанометров в течение 105 секунд после инициации реакции. Такого рода исследования проведены впервые.

Таким образом разработанный программно-аппаратный комплекс выполняет требуемые для исследований процессов агрегации наночастиц функции и может быть внедрен в коммерческую деятельность.

Заключение

1. Разработан программно-аппаратный комплекс, позволяющий детектировать размеры наночастиц и динамику их агрегации в жидкости.
2. Разработаны алгоритмы проведения исследований и анализа данных, полученных при помощи разработанного программно-аппаратного комплекса.
3. Произведена апробация и анализ погрешности измерений, получаемой при помощи разработанного программно-аппаратного комплекса.
4. Проведены исследования процессов агрегации в растворах наночастиц различной природы.

Список работ, опубликованных по теме научно-квалификационной работы (диссертации)

Публикации в изданиях, рецензируемых ВАК

1. Непомнящая Э. К. и др. Применение лазерной корреляционной спектроскопии для исследования биологических суспензий // Оптический журнал. – 2015. – Т. 82. – №. 3. – С. 43-48.
2. Nepomniashchaia E. K., Velichko E. N., Aksenov E. T. Solution of the laser correlation spectroscopy inverse problem by the regularization method // Университетский научный журнал. – 2015. – №. 13. – С. 13-21.
3. Гришенцев А. Ю. и др. Синтез бинарных матриц для формирования сигналов широкополосной связи // Радиотехника. – 2015. – №. 9. – С. 51-58.
4. Непомнящая Э. К. и др. Исследование альбумина методами лазерной корреляционной и диэлектрической спектроскопий // Оптический журнал. – 2016. – Т. 83. – №. 5. – С. 50-54.

Публикации в других изданиях

1. Nepomnyashchaya E. et al. Optoelectronic method for analysis of biomolecular interaction dynamics // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2014. – Vol. 541. – N. 1. – P. 012039.
2. Nepomnyashchaya E. et al. Combination of laser correlation and dielectric spectroscopy in albumin investigations // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2015. – Vol. 643. – N. 1. – P. 012018.
3. Nepomnyashchaya E., Velichko E., Aksenov E. Inverse problem of laser correlation spectroscopy for analysis of polydisperse solutions of nanoparticles // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2016. – Vol. 769. – N. 1. – P. 012025.
4. Nepomniashchaia E. K. et al. Laser correlation spectroscopy and nonlinear magneto-optic response of structures formed by nanoparticles in magnetic

- fluid // 2016 International Conference Laser Optics (LO). – IEEE, 2016. – P. R9-9-R9-9.
5. Nepomnyashchaya E. K. et al. Investigation of magneto-optical properties of ferrofluids by laser light scattering techniques // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. – 2017. – Vol. 431. – P. 24-26.
 6. Prokofiev A., Nepomnyashchaya E., et al. Study of specific features of laser radiation scattering by aggregates of nanoparticles in ferrofluids used for optoelectronic communication systems // Internet of Things, Smart Spaces, and Next Generation Networks and Systems. – Springer, Cham, 2016. – P. 680-689.
 7. Nepomnyashchaya E. K. et al. Investigation of ferrofluid nanostructure by laser light scattering: Medical applications // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2017. – Vol. 841. – N. 1. – P. 012020.
 8. Nepomnyashchaya E. et al. Interaction of fullerenol with metals: the research by laser correlation spectroscopy // Saratov Fall Meeting 2016: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVIII. – International Society for Optics and Photonics, 2017. – Vol. 10336. – P. 103360H.
 9. Nepomnyashchaya E., Aksenov E., Velichko E. Molecular dynamics as studied by laser correlation spectroscopy // 2017 Progress In Electromagnetics Research Symposium-Spring (PIERS). – IEEE, 2017. – P. 3556-3562.
 10. Nepomnyashchaya E. et al. Modifications of laser correlation spectrometer for investigation of biological fluids // EPJ Web of Conferences. – EDP Sciences, 2017. – Vol. 161. – P. 02017.
 11. Savchenko E., Nepomnyashchaya E. et al. Investigation of mixed saliva by optoelectronic methods // Saratov Fall Meeting 2017: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIX. – International Society for Optics and Photonics, 2018. – Vol. 10716. – P. 107160J.
 12. Velichko E., Nepomnyashchaya E. et al. Investigation of the interaction of ferromagnetic fluids with proteins by dynamic light scattering // Saratov Fall Meeting 2017: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIX. –

- International Society for Optics and Photonics, 2018. – Vol. 10716. – P. 1071616.
13. Nepomnyashchaya E. et al. Spectroscopic techniques to study the immune response in human saliva // Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2018. – Vol. 956. – N. 1. – P. 012009.
 14. Nepomnyashchaya E. et al. Laser correlation spectroscopy as a powerful tool to study immune responses // Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care VI. – International Society for Optics and Photonics, 2018. – Vol. 10685. – P. 106852F.
 15. Nepomnyashchaya E. K. et al. Laser Correlation Spectroscopy for Immune Testing // 2018 International Conference Laser Optics (ICLO). – IEEE, 2018. – P. 561-561.
 16. Nepomnyashchaya E., Antonova E. Methods and Algorithms for Numerical Calculations in Dynamic Light Scattering Problems // 2018 IEEE International Conference on Electrical Engineering and Photonics (EExPolytech). – IEEE, 2018. – P. 136-140.

Аспирант _____ Э.К. Непомнящая