

Определение состава жидких полидисперсий цилиндрических микроорганизмов по степени деполяризации лазерного излучения

Аннотация

Экспериментально доказана независимость степени деполяризации света, рассеянного в жидких дисперсиях наночастиц, от их концентрации. Предложена модель зависимости степени деполяризации лазерного излучения от среднего аспектного отношения жидких полидисперсий цилиндрических микроорганизмов. Показана возможность использования предложенной модели для определения относительной концентрации примесей сферической формы в жидких полидисперсиях сложного состава.

Введение

Несферические наночастицы (НСЧ), такие как нанотрубки, наноцилиндры и наностержни, используются в медицине [1]-[7], химии и нефтехимии, в технике и электронике [8], [9]. В медицине они используются, например, в качестве онкомаркеров, светоприемников для фотодинамической терапии или для лечения различных заболеваний [1]-[7]. В медицинских приложениях эффективность использования несферических наночастиц существенно зависит от их геометрических параметров (длины, диаметра и аспектного отношения). Для измерения этих параметров, как правило, применяются различные виды микроскопии: растровую электронную микроскопию (РЭМ), просвечивающую электронную микроскопию (ПЭМ), атомно-силовую микроскопию (АСМ). Однако методы РЭМ, ПЭМ и АСМ не лишены недостатков; в частности, для визуализации наночастиц требуется достаточно много времени на подготовку образца и анализ полученного изображения. Как правило, наночастицы должны быть осаждены на подложку, что может приводить к изменению их свойств. При этом микроскопические методы обладают большой наглядностью и позволяют корректно оценивать относительную концентрацию компонентов в полидисперсных образцах.

Кроме того, использование микроскопии неизбежно ведет к большому количеству рутинной работы, что становится особенно заметно при большой концентрации наночастиц в жидких дисперсиях. Этих недостатков лишены физико-химические, в частности оптические, методы, позволяющие автоматизировать процедуру анализа наночастиц. Такие методы требуют сравнительно недорогого оборудования, существенно меньшего времени на подготовку и анализ образца. Наиболее перспективными являются методы рассеяния света, которые позволяют измерять размеры наночастиц в технологическом процессе и являются неразрушающими. Используя эти методы, можно оценить реологические морфологические свойства дисперсных наносистем, что является дополнительным преимуществом таких методов.

Наиболее широкое распространение для определения параметров наночастиц получил метод динамического деполяризованного рассеяния света (ДДРС) [10]-[13]. Метод основан на измерении интенсивности вертикально (VV) и горизонтально (VH) поляризованных компонент рассеянного света.

В рассматриваемой работе предлагается использовать метод измерения степени деполяризации лазерного излучения для определения геометрических параметров цилиндрических наночастиц. Использование предложенного метода позволит проводить экспресс-измерения жидких образцов цилиндрических микроорганизмов (например, бактерий) для определения их формы и наличия в них сферических примесей (например, вирусов) и может применяться для определения патогенов в медицине, микробиологии, пищевой промышленности, биотехнологии или при экологическом мониторинге. Известны работы, где использовались стандартные методы ДРС для определения формы и динамики роста бактерий, а также их концентрации в образце [14]-[16].

В рассматриваемой работе экспериментально показано, что степень деполяризации света не зависит от концентрации наночастиц. Представлена математическая модель для описания зависимости степени деполяризации лазерного излучения при рассеянии в жидкой дисперсии цилиндрических нанообъектов от их среднего аспектного отношения. Показана возможность использования этой модели для определения относительной концентрации примесей сферической формы в жидких дисперсиях цилиндрических наночастиц или микроорганизмов.

Материалы и методы

В исследовании использован анализатор размеров частиц «Photocor Complex» (ООО «Фотокор», Россия), предназначенный для измерения статического и динамического рассеяния света в жидкостях. На анализаторе размеров частиц исследован набор образцов дисперсий наноразмерных частиц коллоидного золота цилиндрической формы в диапазоне аспектного отношения от 2 до 12. Образцы, использованные в экспериментах, были синтезированы в лаборатории нанобиотехно-

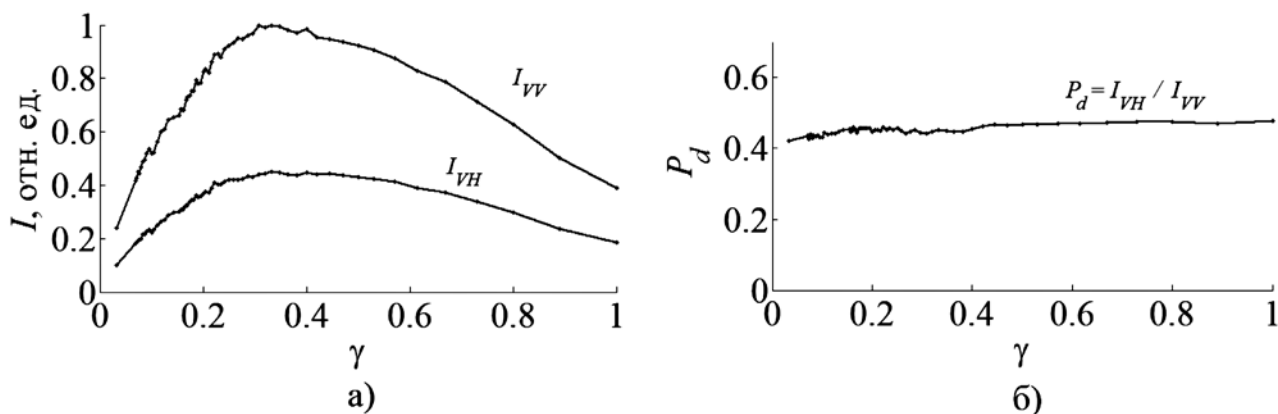


Рис. 1. Зависимость интенсивности I_{VV} рассеянного света при VV-поляризации и I_{VH} при VH-поляризации (а) и степени деполяризации P_d рассеянного света (б) от объемной концентрации γ исходной дисперсии наноцилиндров в разбавленной дисперсии

гии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН [17], [18].

Поскольку исследуемые водные дисперсии имеют разную концентрацию наночастиц, было проведено исследование зависимости интенсивности рассеянного света (рис. 1а) и степени деполяризации (рис. 1б) от концентрации частиц в дисперсии.

Как видно из рис. 1а, при малой концентрации наночастиц интенсивность рассеянного света увеличивается пропорционально концентрации. С увеличением концентрации наночастиц в дисперсии возникает многократное рассеяние, что приводит к тому, что интенсивность однократно рассеянного света, падающего на детектор, уменьшается. Дальнейшее увеличение концентрации наночастиц приводит к практически линейному уменьшению зарегистрированной интенсивности рассеянного света.

Однако, как видно из рис. 1б, степень деполяризации P_d при этом остается почти постоянной. Следовательно, образцы водных дисперсий наночастиц с разными концентрациями можно сравнивать по степени деполяризации.

Известно, что образцы коллоидного золота достаточно сложно изготовить с узким распределением по размерам; кроме того, в реальных синтезированных образцах присутствуют примеси в виде сферических наночастиц или частиц неопределенной формы (рис. 2). Вследствие полидисперсности исследуемых образцов результаты измерений поляризованной и деполяризованной компонент рассеянного света существенно искажаются.

На рис. 2а представлено ПЭМ-изображение одного из образцов наночастиц, использованных в исследовании. Видно, что помимо цилиндров в образце присутствуют различные примеси, форма которых близка к сферической. На рис. 2б показана гистограмма распределения наночастиц в образце по аспектному отношению, полученная из анализа рис. 2а.

Рассмотрим приближенную феноменологическую модель, устанавливающую зависимость степени деполяризации от аспектного отношения цилиндрических и цилиндроподобных наночастиц или микроорганизмов. Вследствие броуновского движения в жидкости частицы совершают не только хаотическое поступательное движение, но и вращение вокруг обеих осей с хаотически меняющейся угловой скоростью. Вращение цилиндра приводит к тому, что проекционная площадь его поверхности, на которой рассеивается лазерный луч, в отличие от рассеяния на сферических частицах зависит от ориентации цилиндра относительно луча лазера. Поскольку в рассеянии света участвует множество различно ориентированных частиц, необходимо усреднение по всевозможным ориентациям, что приводит к некоторой эффективной рассеивающей площади. При этом интенсивность рассеянного света пропорциональна этой эффективной площади.

Так как рассеянный свет частично сохраняет исходную поляризацию, а частично деполяризуется, можно ввести феноменологические коэффициенты, характеризующие долю эффективной площади, приводящую к поляризованной части рассеянного излучения, и долю эффективной площади, приводящую к деполяризованной части рассеянного излучения. Поверхность цилиндра состоит из боковой поверхности S_s и поверхностей торцов S_e . Тогда

$$\begin{cases} S_p = p_s^{(p)} S_s + p_e^{(p)} S_e; \\ S_d = p_s^{(d)} S_s + p_e^{(d)} S_e, \end{cases} \quad (1)$$

где S_p – площадь поверхности цилиндра, участвующей в образовании поляризованной части рассеянного света; S_d – площадь поверхности цилиндра, участвующей в образовании деполяризованной части рассеянного света; $p_s^{(p)}$ – доля площади боковой поверхности цилиндра, участвующей в образовании поляризованной части рассеянного света; $p_e^{(p)}$ – доля площади торцов цилиндра, участвующей в образовании поляризованной части рассеянного света; $p_s^{(d)}$ – доля площади боковой поверхности цилиндра, участвующей в образовании деполяризованной части рассеянного света; $p_e^{(d)}$ – доля площади торцов цилиндра, участвующей в образовании деполяризованной части рассеянного света.

Степень деполяризации $P_d(\theta)$ при рассеянии на угол θ с учетом выражения (1) можно записать следующим образом [18]:

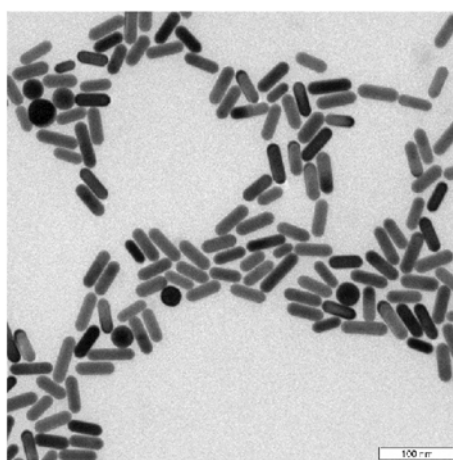
$$P_d = \frac{I_d(\theta)}{I_p(\theta) + I_d(\theta)} = \frac{S_d}{S_p + S_d} = \frac{p_s^{(d)} S_s + p_e^{(d)} S_e}{p_s^{(p)} S_s + p_e^{(p)} S_e + p_s^{(d)} S_s + p_e^{(d)} S_e}, \quad (2)$$

где $I_p(\theta)$ – поляризованная часть рассеянного света; $I_d(\theta)$ – деполяризованная часть рассеянного света. Часто можно считать торцы наночилиндров полусферическими или близкими к полусферическим (см. рис. 2а). Так как сферические частицы не изменяют поляризацию рассеянного света, можно положить $p_e^{(d)} = 0$. Тогда для P_d из уравнения (2) получим

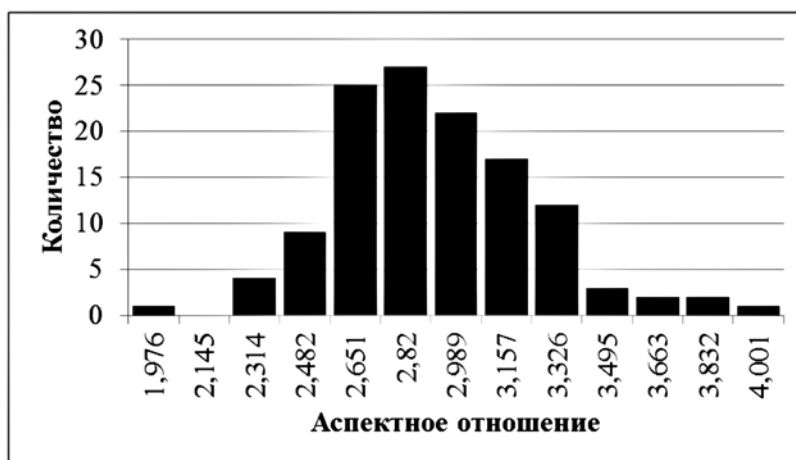
$$P_d = \frac{S_s}{\frac{p_s^{(p)}}{p_s^{(d)}} S_s + \frac{p_e^{(p)}}{p_s^{(d)}} S_e + S_s} = \frac{a}{(1 + p_1)a + p_2}, \quad (3)$$

где $p_1 = p_s^{(p)} / p_s^{(d)}$; $p_2 = p_e^{(p)} / p_s^{(d)}$; $a = S_s / S_e$ – аспектное отношение, для цилиндра высоты H и радиуса R с полусферическими торцами $a = H / R$.

Таким образом, можно считать, что степень деполяризации света, рассеянного в жидкой дисперсии идентичных нано-



а)



б)

Рис. 2. Определение аспектного отношения методом ПЭМ: микрофотография образца (а); распределение частиц в образце по размерам (б)

цилиндров, зависит только от их аспектного отношения. При этом коэффициенты p_1 и p_2 тоже могут зависеть от аспектного отношения. Предполагая независимость коэффициентов p_1 и p_2 от аспектного отношения, можно по измеренным значениям степени деполаризации для двух и более образцов с разными аспектными отношениями найти экспериментальные значения этих коэффициентов.

Дополнительные трудности возникают при одновременном наличии в дисперсии наночилиндров с разными аспектными отношениями. Обозначив количество различных типов цилиндров через N_1 , получим

$$P_d = \frac{\sum_{j=1}^{N_1} \left[(p_s^{(d)})_j (S_s)_j + (p_e^{(d)})_j (S_e)_j \right]}{\sum_{j=1}^{N_1} \left[(p_s^{(p)})_j (S_s)_j + (p_e^{(p)})_j (S_e)_j + (p_s^{(d)})_j (S_s)_j + (p_e^{(d)})_j (S_e)_j \right]}, \quad (4)$$

где $(S_s)_j$, $(S_e)_j$, $(p_s^{(p)})_j$, $(p_e^{(p)})_j$, $(p_s^{(d)})_j$, $(p_e^{(d)})_j$ – соответствующие формуле (2) величины для j -го типа цилиндров. Предполагая, что доли $(p_s^{(p)})_j$, $(p_e^{(p)})_j$, $(p_s^{(d)})_j$, $(p_e^{(d)})_j$ одинаковы для всех типов, и считая торцы наночилиндров полусферическими или близкими к полусферическим, получим

$$P_d = \frac{b}{(1 + p_1)b + p_2}, \quad (5)$$

где

$$b = \frac{\sum_{j=1}^{N_1} (S_s)_j}{\sum_{j=1}^{N_1} (S_e)_j}$$

– среднее аспектное отношение, а p_1 и p_2 такие же, как в формуле (3). Для цилиндров с полусферическими торцами

$$b = \frac{\sum_{j=1}^{N_1} R_j H_j}{\sum_{j=1}^{N_1} 2R_j^2}$$

R_j , H_j ($j = 1, 2, \dots, N_1$) – радиус и высота цилиндра j -го типа соответственно.

Так же, как и в случае монодисперсии, по измеренным значениям степени деполаризации для двух и более полидисперсных образцов с разными средними аспектными отношениями можно найти методом наименьших квадратов экспериментальные значения коэффициентов p_1 и p_2 , минимизируя квадратичный функционал $\Phi(p_1, p_2)$:

$$\Phi(p_1, p_2) = \sum_{i=1}^M \left[\frac{b_i}{(1 + p_1)b_i + p_2} - (P_d^{(E)})_i \right]^2, \quad (6)$$

где M – количество образцов; $(P_d^{(E)})_i$ – измеренная степень деполаризации i -го образца; b_i – среднее аспектное отношение i -го образца. Затем с помощью найденных коэффициентов можно найти неизвестное среднее аспектное отношение другого образца по измеренной степени деполаризации.

Результаты

В ходе эксперимента по изображениям, полученным с помощью ПЭМ (рис. 2а), для всех имеющихся образцов были получены средние аспектные отношения. Затем с помощью анализатора «Photocor Complex» были измерены значения степени деполаризации. Численной минимизацией функционала (6) было установлено, что $p_1 = 0,86$ и $p_2 = 1,56$. Полученная в соответствии с формулой (5) теоретическая зависимость степени деполаризации от среднего аспектного отношения и экспериментальные значения показаны на рис. 3.

Таблица 1

Определение количества примеси

Номер образца, i	b_i	P_d	c_i
1	1,93	0,2	2,74
2	3	0,26	2,71
3	5,58	0,44	0,59
4	7,61	0,28	7,1
5	9,83	0,39	3,39
6	9,99	0,46	1,1

Обращает на себя внимание значительное отличие экспериментальных значений от теоретической зависимости степени деполаризации. Одним из объяснений этого явления может быть наличие в образцах сферических и близких к сферическим частиц (рис. 2а). Такие частицы не дают вклада в подсчет среднего аспектного отношения, но влияют на интенсивность света, сохраняющего поляризацию. Учет этих частиц в модели приводит к следующему выражению:

$$P_d = \frac{b}{(1 + p_1)b + p_2(1 + c)}, \quad (7)$$

где c – отношение суммарной площади поверхности сферических частиц к суммарной площади торцов цилиндрических частиц (относительная концентрация).

Рассматривая сферические частицы как примесь, можно поставить задачу определения количества примеси в данном

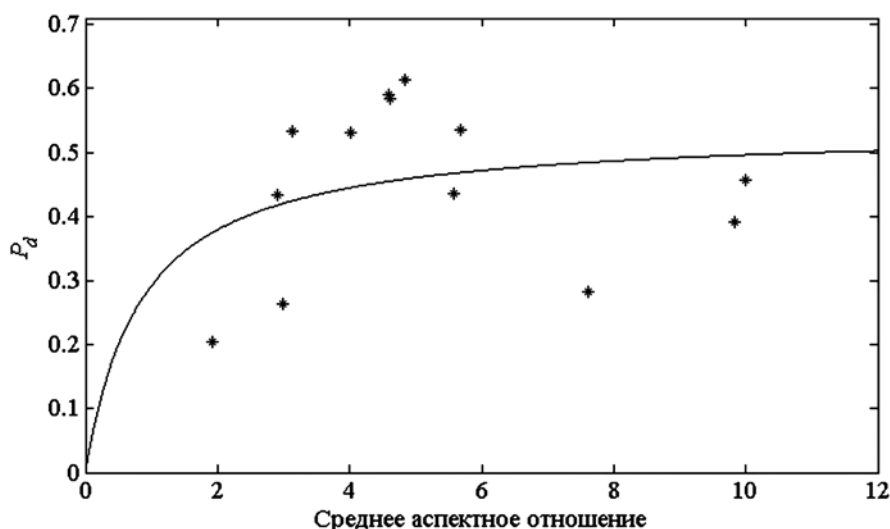


Рис. 3. Экспериментальные значения (*) и теоретическая зависимость (сплошная линия) степени деполаризации от среднего аспектного отношения

образце, считая p_1 и p_2 уже определенными по совокупности образцов:

$$c_i = \frac{b_i}{p_2} \left[\frac{1}{(P_d^{(E)})_i} - (1 + p_1) \right] - 1, \quad (8)$$

где c_i – относительная концентрация примеси в i -м образце. Естественно, формулу (8) нужно использовать, если $(P_d^{(E)})_i < b_i / [(1 + p_1)b_i + p_2]$.

В табл. 1 приведены результаты определения относительной концентрации сферических примесей в образцах.

Заключение

Экспериментально установлено, что степень деполяризации света, рассеянного в водных дисперсиях с разными концентрациями наночастиц, не зависит от их концентрации. Следовательно, образцы водных дисперсий с разными концентрациями наночастиц можно сравнивать по степени деполяризации. Предложена феноменологическая модель, устанавливающая зависимость степени деполяризации лазерного излучения при рассеянии в жидких полидисперсиях цилиндрических и цилиндроподобных наночастиц или микроорганизмов от их среднего аспектного отношения. Предложен метод определения относительной концентрации сферических или близких к сферическим примесей в полидисперсиях сложного состава.

Полученные результаты позволяют проводить экспресс-измерения жидких образцов цилиндроподобных микроорганизмов (например, бактерий) для определения их формы и наличия сферических примесей (например, вирусов), а также могут быть использованы для определения патогенов в медицине, микробиологии, пищевой промышленности, биотехнологии или при экологическом мониторинге.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 14.575.21.0090, идентификатор RFMEFI57514X0090).

Список литературы:

1. Nanoparticles in Biology and Medicine / Ed. M. Soloviev // Springer Protocols. 2012. Vol. 906.
2. Дыкман Л.А. и др. Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинское применение. – М.: Наука, 2008.
3. Tallury P. et al. Nanobioimaging and sensing of infectious diseases // Adv. Drug Deliv. Rev. 2010. Vol. 62. PP. 424-437.
4. Wang L., Zhao W., Tan W. Bioconjugated silica nanoparticles: Development and applications // Nano Res. 2008. Vol. 1. PP. 99-115.
5. Генина Э.А. и др. Визуализация распределения наночастиц золота в тканях печени ex vivo и in vitro методом оптической когерентной томографии // Квантовая электроника. 2012. Т. 42. № 6. С. 478-483.
6. Bentzen E.L. et al. Progression of respiratory syncytial virus infection monitored by fluorescent quantum dot probes // Nano Lett. 2005. Vol. 5. PP. 591-595.
7. Tripp R.A. et al. Bioconjugated nanoparticle detection of respiratory syncytial virus infection // Int. J. Nanomed. 2007. Vol. 2. PP. 117-124.
8. Burya E.G. et al. Colloidal properties of crude oils studied by dynamic light scattering // Int. J. Thermophys. 2001. Vol. 22. PP. 1397-1410.

9. Yudin I.K., Anisimov M.A. Dynamic light scattering monitoring of asphaltene aggregation in crude oils and hydrocarbon solutions. In «Asphaltenes, Heavy Oils and Petroleomics» / O.C. Mullins, E.Y. Sheu, A. Hammami, A.G. Marshall (Eds). – Springer, N.Y., 2007. PP. 439-468.
10. Badaire S. et al. In Situ Measurements of Nanotube Dimensions in Suspensions by Depolarized Dynamic Light Scattering // Langmuir. 2004. № 20. PP. 10367-10370.
11. Rodriguez-Fernandez J. et al. Dynamic Light Scattering of Short Au Rods with Low Aspect Ratios // J. Phys. Chem. C. 2007. Vol. 111. PP. 5020-5025.
12. Glidden M., Martin M. Characterizing Gold Nanorods in Solution Using Depolarized Dynamic Light Scattering // J. Phys. Chem. C. 2012. Vol. 116. PP. 8128-8137.
13. Shetty A.M. et al. Multiangle Depolarized Dynamic Light Scattering of Short Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes // J. Phys. Chem. C. 2009. Vol. 113. № 17. PP. 7129-7133.
14. Loske A.M. et al. Escherichia coli viability determination using dynamic light scattering: A comparison with standard methods // Archives of Microbiology. 2014. Vol. 196. PP. 557-563.
15. Merwe van de W.P. et al. Polarized light scattering for rapid observation of bacterial size changes // Biophys. J. 1997. Vol. 73 (1). PP. 500-506.
16. Herran Cuspinera R.M., Hore D.K. Cell growth characteristics from angle- and polarization-resolved light scattering: Prospects for two-dimensional correlation analysis // J. of Molecular Structure. 2016. Vol. 1124. PP. 85-91.
17. Khlebtsov B.N. et al. Overgrowth of gold nanorods by using a binary surfactant mixture // Langmuir. 2014. Vol. 30. № 6. PP. 1696-1703.
18. Долгушин С.А. и др. Деполяризация рассеянного света в водных дисперсиях наночастиц различной формы // Медицинская техника. 2015. № 6. С. 52-55.

Сергей Андреевич Терещенко,
д-р физ.-мат. наук, профессор,
Игорь Сергеевич Бурнаевский,
аспирант,
Сергей Анатолиевич Долгушин,
канд. физ.-мат. наук, ст. научный сотрудник,
Павел Владимирович Шалаев,
аспирант,
кафедра биомедицинских систем,
Национальный исследовательский университет «МИЭТ»,
г. Москва, г. Зеленоград,
Игорь Кронидович Юдин,
канд. техн. наук, ведущий научный сотрудник,
Виктор Альфредович Дешабо,
ст. научный сотрудник,
лаборатория фазовых переходов
и критических явлений,
ИПНГ РАН,
г. Москва,
e-mail: tsa@miee.ru

* * * * *