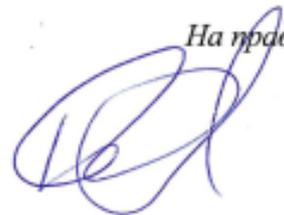


Федеральное государственное унитарное предприятие
«Всероссийский научно-исследовательский институт физико-
технических и радиотехнических измерений»»

На правах рукописи



Беленький Дмитрий Ильич

**«РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ И СРЕДСТВ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ И
ПЕРЕДАЧИ ЕДИНИЦЫ ДЗЕТА-ПОТЕНЦИАЛА ЧАСТИЦ В
ЖИДКОСТЯХ»**

специальность 05.11.15 - Метрология и метрологическое обеспечение

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:
к.т.н., Добровольский В.И.

Менделеево 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Глава 1. Электроповерхностные явления.....	11
1.1 Теория двойного электрического слоя	11
1.2 Электроосмос.....	16
1.3 Электрофорез.....	19
1.3.1 Потенциал и ток течения	21
1.3.2 Потенциал и ток оседания.....	22
1.4 Электрический ток или потенциал в потоке жидкости.....	23
1.5 Выводы по главе 1.....	24
Глава 2. Анализ и разработка методов измерения дзета-потенциала.....	25
2.1 Кинетические методы измерения дзета - потенциала.....	25
2.1.1 Метод подвижной границы в электрофорезе.....	32
2.2 Оптические методы.....	33
2.2.1 Метод электрофоретического рассеяния излучения	36
2.2.2 Фазовый анализ рассеянного излучения	38
2.2.3 Анализ траекторий наночастиц	40
2.3 Электроакустические методы.....	42
2.4 Разработка комплексированного метода измерений дзета-потенциала...	44
2.4.1 Электроакустический метод	45
2.4.2 Метод микроэлектрофореза	48
2.4.3 Комбинация оптических методов PALS+ELS	50
2.5 Выводы по главе 2.....	52
Глава 3. Разработка средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.....	54
3.1 Создание комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала.....	54

3.2 Исследование метрологических характеристик комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц.....	59
3.3 Разработка средств передачи единицы дзета-потенциала.....	66
3.4 Исследование метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц.....	84
3.5 Выводы по главе 3.....	88
Заключение.....	89
Список использованной литературы.....	92
Приложение 1. Список публикаций по теме работы.....	98
Приложение 2. Структурная схема деления разработанного комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.....	101
Приложение 3. Проект поверочной схемы.....	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Явление дзета - потенциала может трактоваться самым различным образом, так его определение встречается во множестве базовых монографий [1-5] и трактуется часто либо как потенциал на плоскости скольжения, возникающий в процессе движения заряженных частиц при приложении внешнего электрического поля к коллоидным системам, как мера интенсивности электрокинетических явлений, либо же как характеристика устойчивости коллоидной системы.

Несмотря на большое количество интерпретаций, общим фактом остается то, что дзета-потенциал - это параметр, который может быть использован для оценки долговременной стабильности суспензий и эмульсий, а также для изучения морфологии поверхности и адсорбции ионов на частицах и прочих поверхностях, контактирующих с жидкостью, и зависит от факторов и характеристик исходной системы [6].

Значение дзета-потенциала может быть получено по принципу измерения [7] электрофоретической подвижности, посредством обработки экспериментальных данных в рамках известных теоретических моделей. На сегодняшний день, в соответствии со стандартами ISO 13099-1:2012, ISO 13099-3:2012, ISO 13099-3:2014, выделяют 3 основные группы методов определения электрофоретической подвижности: оптические, кинетические и акустические. В рамках этих групп методов существует множество различных теорий, которые справедливы для определенных условий и для определенных групп дисперсных систем. Актуальность измерений дзета-потенциала заключается в том, что его величина связана с агрегативной устойчивостью коллоидных суспензий [6].

Для дисперсной фазы высокое абсолютное значение дзета-потенциала означает устойчивость к агрегации. Когда величина дзета-потенциала приближается к нулю, притяжение между частицами возрастает и частицы флокулируют, агрегируют и коагулируют. Таким образом, коллоидные частицы с высоким абсолютным значением

дзета-потенциала электрически стабильны, в то время как частицы с низким абсолютным значением дзета-потенциала могут агрегировать, коагулировать и флокулировать [6].

Из вышеуказанного следует, что исследование влияния различных факторов на изменение значения дзета-потенциала является важнейшей задачей в данной области.

Как известно, создание системы метрологического обеспечения измерений единицы конкретной величины, опирающейся на Государственный первичный эталон оправдано при широкой востребованности измерений этих величин. Фактическое количество измерителей дзета-потенциала, построенных на реализации различных принципов (на основе детектирования доплеровского сдвига; прямой визуализации фронта массопереноса при электрофорезе; потенциометрии), оценивается до нескольких сотен типов измерительных устройств (приборов) с заявленными производителями пределами относительной погрешности порядка 20 %. Потребность рынка в таких приборах оценивается в разы выше [8].

Модернизация Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163 (далее - ГЭТ 163) с целью обеспечения единства измерений дзета-потенциала суспензий и эмульсий частиц играет и своеобразную стимулирующую роль по внедрению этого вида измерений в практические и фундаментальные исследования. Метрологическое обеспечение данных измерений позволяет проводить испытания в целях утверждения типа средств измерений дзета-потенциала, что позволяет использовать средства измерений дзета-потенциала в сфере государственного регулирования, как прошедшие испытания на повторяемость и воспроизводимость.

Степень разработанности темы исследования

Электрокинетические явления, строение двойного электрического слоя, а также возникновение электрического потенциала на разделе границ сред исследуются учеными по всему миру уже более двухсот лет, однако, наиболее известные открытия в области применения теории двойного электрического слоя и электрокинетического

или дзета-потенциала связаны с такими именами как Ошима, Хантер, О'Брайн, Вайт, Смолуховский, Овербек и др.

В начале 20 века М. Смолуховский дал теоретическое описание электрокинетическим процессам в коллоидных системах, основываясь на трудах Гельмгольца (Smoluchowski, Maryan. "Przyczynek do teoryi endosm ozy elektrycznej i kilku zjawisk pokrewnych", 1903). Его теория стала основой для всех последующих исследований и применяется до сих пор, так как подходит для коллоидных систем с частицами любых размеров и концентраций. Однако, в ней существует ряд ограничений и приближений, например, она справедлива для очень тонкого двойного электрического слоя, намного меньше, чем радиус частиц и не учитывает вклад поверхностной проводимости частиц.

В 1943 году Дж. Овербек (Overbeek, J.Th.G. "Theory of electrophoresis — The relaxation effect", 1943) уточнил теорию Смолуховского и описал теорию, учитывающую вклад поверхностной проводимости и малые числа Духина как для электрокинетических, так и для электроакустических явлений.

Одним из наиболее значимых этапов в исследовании теории дзета-потенциала стала работа О'Брайна и Вайта (Richard W. O'Brien and Lee R. White. Electrophoretic mobility of a spherical colloidal particle, 1978), в которой ученые рассмотрели уравнения, управляющие распределениями и скоростями ионов, электростатическим потенциалом и полем гидродинамического течения вокруг твердой коллоидной частицы в приложенном электрическом поле. Используя линейность уравнений, определяющих электрофоретическую подвижность, было показано, что для коллоидной частицы любой формы подвижность не зависит от диэлектрических свойств частицы и электростатических граничных условий на поверхности частицы. Подвижность зависит только от размера и формы частиц, свойств раствора электролита, в котором они взвешены, и заряда внутри или электростатического потенциала на гидродинамической плоскости сдвига в отсутствие приложенного поля или какого-либо макроскопического движения.

В рамках данной работы были получены новые выражения для сил, действующих на частицу в приложенном электрическом поле, а также предложен вариант программы для расчета дзета-потенциала.

Новый взгляд на практическое применение измерений дзета-потенциала дали работы Хантера (R. J. Hunter. Zeta Potential In Colloid Science-Theory and Application, 1981) и Ошима (более 300 работ на протяжении 50 лет), посвященные зависимости стабильности реальных коллоидных систем от значений дзета-потенциала.

Цели и задачи

Целью настоящей работы являются разработка эталонных средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала частиц. Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Анализ существующих методов воспроизведения и измерений дзета-потенциала частиц в жидкостях и разработка комплексированного метода, реализованный в созданном комплексе эталонных средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала.

2. Разработка комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.

3. Исследование метрологических характеристик разработанного комплекса средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.

4. Разработка средств передачи дзета-потенциала частиц в жидкостях.

5. Исследование метрологических характеристик средств передачи дзета-потенциала частиц в жидкостях.

6. Разработка порядка передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.

Объект исследования – дзета-потенциал частиц в жидких средах в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ.

Предмет исследования – методы и средства измерений дзета-потенциала частиц.

Научная новизна

1. Впервые обосновано и реализовано применение супрамолекулярных систем на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра, N-ацетил-L-цистеина и ацетата серебра в качестве средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ.

2. Впервые созданы меры дзета-потенциала частиц в жидкостях с максимальной нестабильностью характеристик за год не более ± 4 %, позволяющие обеспечить передачу единицы от первичного эталона рабочим эталонам и средствам измерений.

3. Усовершенствован Государственный первичный эталон единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163-2020 в части функциональных возможностей по измерению дзета-потенциала частиц в жидкостях.

Практическая значимость работы

Создание эталонного комплекса воспроизведения, хранения и передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях, что позволит удовлетворить потребности промышленности в метрологическом обеспечении данной области измерений, а также в разработке и создании средств передачи единицы дзета-потенциала, которые могут быть применены при поверке, калибровке и испытаниях в целях утверждения типа (ИЦУТ) средств измерений. Данные средства можно использовать для проведения пилотных и ключевых международных сличений в рамках консультативного комитета по количеству вещества (CCQM), что повысит статус отечественной науки на международном уровне.

Методология и методы исследования

В ходе решения поставленных задач и достижения основной цели исследования применялись методы физической химии, в частности, коллоидной химии. Обработка экспериментальных данных проведена с использованием математической статистики.

Положения, выносимые на защиту

1. Удовлетворены требования промышленности по измерению дзета-потенциала частиц в жидкостях путем исследования и комплексирования методов измерения дзета-потенциала частиц в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ с расширенной неопределенностью измерений ($k=2$) менее 5 %.

2. Значения неисключенной систематической погрешности измерений при воспроизведении единицы дзета-потенциала частиц в жидкости и среднего квадратического отклонения результатов измерений дзета-потенциала на созданном комплексе эталонных средств не превышают ± 3 %.

3. Использование разработанных супрамолекулярных систем на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра, N-ацетин L-цистеина и ацетата серебра в качестве средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях обеспечивает передачу единицы в существующем диапазоне значений от минус 150 до плюс 150 мВ.

4. Средства передачи единицы дзета-потенциала на основе супрамолекулярных систем обеспечивают максимальную нестабильность метрологических характеристик не более ± 4 % на протяжении 1 года.

Достоверность и обоснованность результатов исследования подтверждается: корректным использованием существующих методов измерений; соответствием расчетных данных данным, полученным в экспериментах; проведением экспериментальных исследований разными методами.

По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 3 - в изданиях из базы Web of Science и Scopus (перечень публикаций приведен в Приложении 1).

Основные положения и результаты диссертации докладывались автором на более чем 10 российских (всероссийских) и международных конференциях.

Результаты работы прошли апробацию и внедрены при проведении совершенствования Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163-2020 и позволили расширить перечень воспроизводимых, хранимых и передаваемых эталоном единиц, а именно – дзета-потенциала частиц в жидкостях.

Получен патент на изобретение № 2746992 от 23.04.2021 г. "Способ получения стандартов сравнения для измерения электрокинетического (дзета) потенциала", заявка № 2020125729 от 03.08.2020.

Глава 1. Электроповерхностные явления

1.1 Теория двойного электрического слоя

Явление двойного электрического слоя ионов (ДЭС) и скачка потенциала на границе фаз играет важную роль в вопросах ионного обмена, электродных, электрокапиллярных и электрокинетических процессов, процессов массо- и энергообмена в пористых телах, электростатических взаимодействий коллоидных частиц, определяющих устойчивость дисперсных систем. Все эти процессы связаны между собой посредством существования ДЭС и называются электроповерхностными явлениями. Практически во всех электроповерхностных явлениях участвуют коллоидные частицы [1,2].

В 1879 г., Гельмгольц впервые разработал количественную теорию ДЭС, он рассматривал ДЭС как плоский конденсатор (рисунок 1.1). Внешняя обкладка конденсатора расположена в жидкости, параллельно поверхности на расстоянии, сравнимым с размером молекул, от нее [9]. Потенциал Ψ , в данном случае, отсчитывается от нулевого уровня Ψ_0 и уменьшается линейно с ростом расстояния от поверхности, по теории плоского конденсатора. В данной теории не учитывается наличие в растворах свободных ионов.

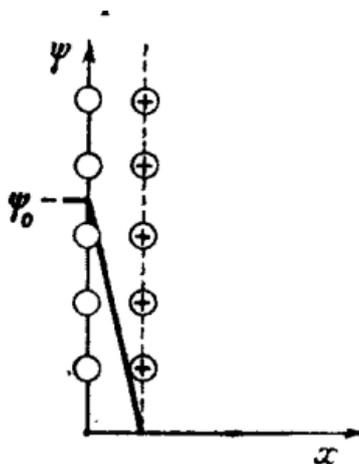


Рисунок 1.1 Плотный слой Гельмгольца [1].

В классической теории Гуи – Чэпмена (1910 и 1913 гг.) модель ионного двойного слоя основана на идее подвижности ионов на внешней обкладке (названных противоионами) и присутствием ионов с одноименным зарядом

(коионов). Электростатическое притяжение противоположно заряженных ионов к поверхности и отталкивание коионов, уравниваются диффузией ионов, размывающих поверхностные избытки, благодаря чему, устанавливается равновесное распределение «облака» зарядов с убывающей плотностью [1,2,3].

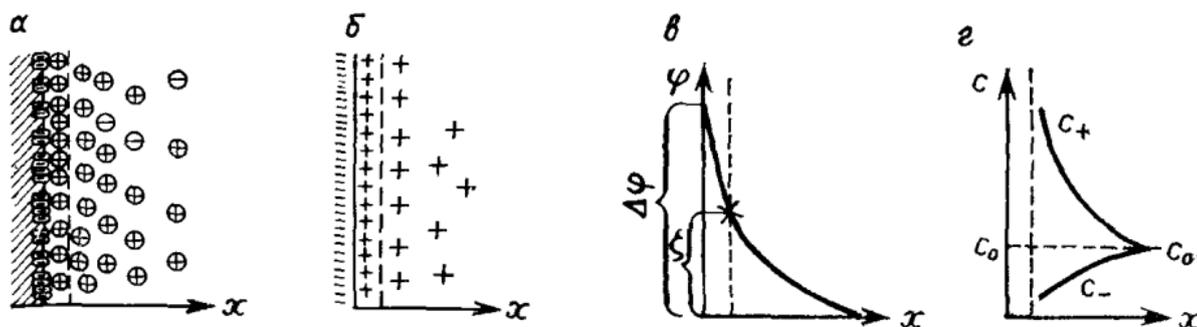


Рисунок 1.2 Модель ДЭС в модифицированной теории Гуи -Чепмена, а – распределение ионов; б – схематическое изображение избыточных ионов; в – распределение потенциала; г – концентрация ионов на различных расстояниях от поверхности [1].

Концентрация катионов и анионов в поверхностном слое и в объеме раствора представлена на рисунке 1.2, где поверхность заряжена отрицательно. Слой раствора с измененным составом катионов и анионов принято называть диффузным, поскольку именно диффузия определяет размытие этого слоя, толщина диффузного слоя зависит от параметров среды, и как будет показано ниже, является важной величиной при выборе методики расчета дзета-потенциала.

В изложенном кратко классическом варианте теории двойного слоя существует важное допущение, а именно, ионы рассматриваются в ней как точечные заряды, имеющие возможность неограниченно близко приближаться к поверхности раздела, что повлекло расхождение теоретических расчетов и экспериментально наблюдаемых данных, например, значение электрической емкости оказались завышенными относительно измеренных [1,3].

Штерн в 1924 г, модифицировал теорию ДЭС, введя дополнительно два новых параметра, связанных с наличием конечного размера ионов и их

специфической адсорбции. Данная теория и принята в современных исследованиях [2,4].

Модифицированные теории учитывают то, что противоионы, имеющие предельные значения размеров не могут приближаться к поверхности на бесконечно близкое расстояние, их подвижность ограничена диаметром, они образуют плотный слой, являющийся плоским конденсатором. Внешняя обкладка данного конденсатора находится в плоскости максимального приближения, величина которого примерно равна сумме радиусов гидратированных ионов и составляет десятые доли нм. Ионы, находящиеся на внешней обкладке конденсатора, формируют диффузный слой, в котором заряд уменьшается сначала линейно (в области плоского конденсатора), а затем экспоненциально в области диффузного слоя [1,4,5].

Теория ДЭС используется для интерпретации поверхностных явлений, однако, возможности напрямую измерить потенциал системы не существует, в связи с чем проводят измерения близкой по смыслу величины – электрокинетического потенциала или дзета - потенциала [1].

Согласно классическому определению, дзета - потенциал определяется как потенциал границы скольжения фаз, которая может быть установлена, например, при течении жидкости вдоль твердой поверхности и т.п., стоит также отметить, что точно не известно, где именно проходит эта граница. Стоит отметить также, ошибочность определения дзета - потенциала как потенциала, возникающего при относительном перемещении фаз, потому, что величина дзента - потенциала отражает уровень эквипотенциальной поверхности, проходящей по границе, вне зависимости от движения фаз [1,10].

Тем не менее, наиболее ярко дзета - потенциал можно проиллюстрировать на примере электрокинетических явлений, связанных с относительным смещением фаз [1,10].

Электрокинетические явления были открыты в 1808 г, профессором Рейссом, при проведении экспериментов по электролизу воды. В эксперименте Рейсс заполнял среднюю часть U-образного электролизера толченым кварцем, после чего при приложении внешнего напряжения к электродам, он наблюдал перемещение воды в сторону отрицательного заряда, что сопровождалось установлением разного уровня жидкости, который быстро выравнивался при выключении тока. Это явление получило название электроосмоса и характерно оно как для капиллярно-пористых тел, так и для одиночных капилляров (рисунок 1.3). [1,10].

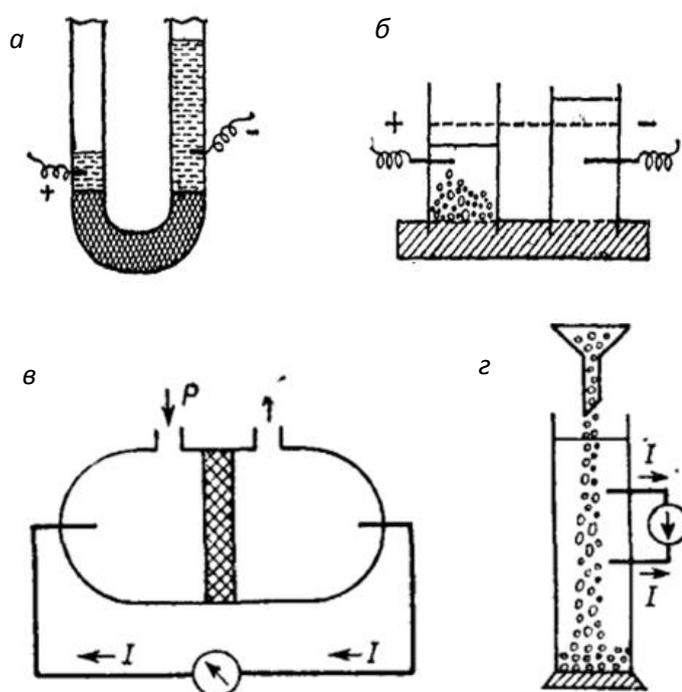


Рисунок 1.3 Схемы опытов Рейсса по электроосмосу (а) и электрофорезу (б), возникновение токов и потенциала течения (в) и оседания (г) [1].

Во второй серии экспериментов Рейсс наблюдал перемещение частиц дисперсной фазы глины в электрическом поле, это явление получило название электрофореза.

Потенциал течения был обнаружен Квинке во второй половине XIX века, при фильтрации воды через пористую диафрагму, этот эффект является обратным

по отношению к электроосмосу. Явление, обратное электрофорезу было открыто Дорном, при оседании частиц кварца, он регистрировал разность потенциала между электродами, расположенными на разной высоте. Это явление получило название – потенциал оседания либо эффект Дорна [1,2,10].

Эти явления называются электрокинетическими, так как в них проявляется связь между электрическим полем и полем скоростей движения частиц и жидкости. Это означает, что чем выше заряд диффузионного слоя, тем сильнее будут проявляться данные явления, дзета-потенциал на плоскости сдвига. С учетом этого, значение дзета-потенциал может рассматриваться в качестве показателя интенсивности электрокинетических явлений.

Существует также обратная зависимость – при наличии данных о параметрах этих явлений, дзета-потенциал может быть рассчитан на основе теорий, связывающих его с этими параметрами. Данная теория была разработана более ста лет назад Гельмгольцем и получила дальнейшее развитие в работах Перрена, Смолуховского и др.

1.2 Электроосмос

В бесконечно тонком слое жидкости dx , который движется по близкой к идеально плоской поверхности под действием внешнего электрического поля направленного параллельно плоскости скольжения, с напряженностью X , электрическая сила, воздействующая на ионы, равна силе трения, которая возникает в слое жидкости [1-10].

При условии стационарности и ламинарности режима, результирующая сила, которая воздействует на каждый слой, равняется нулю, а слои жидкости (каждый в отдельности) будут двигаться с неизменной скоростью, параллельно плоскости сдвига. Сила, которая действует на каждый заряд будет уравновешена силами трения отдельных слоев, соответственно равными $\eta (du/dx)$ на единицу площади боковой поверхности.

$$X\rho dx = \eta \left(\frac{du}{dx} \right)_x - \eta \left(\frac{du}{dx} \right)_{x+dx} = -\eta \frac{d^2u}{dx^2} dx, \quad (1.1)$$

где ρ – объемная плотность заряда;

η – коэффициент вязкости;

u – линейная скорость движения жидкости.

Если исходить из суперпозиции поля (равновесное распределение заряда и $d\varphi/dx$ в двойном электрическом слое по направлению нормали к плоскости сдвига, можно считать неизменным в случае наложения тангенциального внешнего поля) с учетом уравнения Пуассона, получаем:

$$\frac{X\varepsilon d^2\varphi}{4\pi dx^2} = \eta \frac{d^2u}{dx^2} \quad (1.2)$$

Интегрируя (1.2) при граничных условиях:

$$x = \infty; \varphi = 0; u = u_{\infty}; du/dx = 0; d\varphi/dx = 0; x = d'; \varphi = \zeta; u = 0; (X\varepsilon/4\pi)\zeta = \eta u_{\infty}$$

Находим:

$$\zeta = -4\pi\eta u_{\infty}/\varepsilon X, \quad (1.3)$$

где u_{∞} – электроосмотическая скорость; знак «-» означает, что жидкость движется против поля, если дзета-потенциал больше нуля.

Для капиллярно – пористых тел точные значения напряженности поля X и линейной скорости u обычно неизвестны вследствие извилистости и сложности структуры пор [1,4,5,11]. Поэтому целесообразно перейти к величинам, измеряемым, - объемной скорости жидкости Q и току I . При использовании закона Ома и выражения для R , X и Q :

$$I = E/R \quad (1.4.1)$$

$$R = 1/k \cdot l/A \quad (1.4.2)$$

$$X = E/l \quad (1.4.3)$$

$$Q = Au_{\text{эо}} \quad (1.4.4)$$

Подстановка значений $u_{\text{эо}}$ и X , дает уравнение Гельмгольца – Смолуховского для электроосмоса.

$$\zeta = -4 \pi \eta k Q / \epsilon I \quad (1.5)$$

Из уравнения 1.5 следует, что экспериментальное определение Q и I позволяет вычислить дзета – потенциал системы, вне зависимости от геометрических параметров системы.

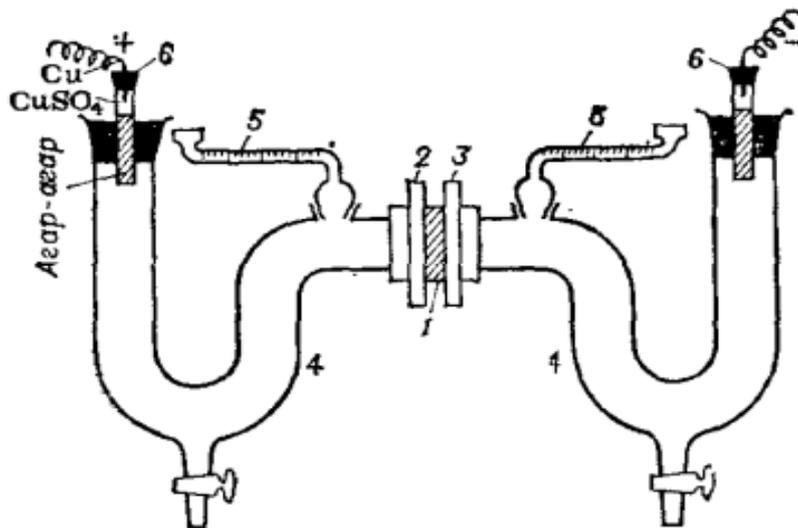


Рисунок 1.4 Прибор для измерения электроосмоса в мембранах.

1 – пористая мембрана; 2,3 – фланцы; 4 – стеклянные сосуды; 5 - отсеченные капиллярные трубки; 6 - неполяризующиеся электроды (Cu/CuSO_4 – агар) [1].

На рисунке 1.4 показана одна из установок для измерения электроосмоса в пористой мембране. Ячейка заполняется раствором электролита таким образом, чтобы мениски в жидкости располагались в средней части градуированных трубок. Электроды подключаются к внешнему источнику тока и измеряют объем жидкости, движущейся в течение определенного времени в капиллярных трубках из-за процесса электроосмоса в слое мембраны [1,2,5, 12].

В расчетах используется среднее значение скорости, нивелирующее любые отклонения скоростей из-за эффекта теплового расширения. Измерения производятся в несколько этапов, изменяя полярность приложенного напряжения. Значение тока измеряется миллиамперметром, а значения η , ϵ и κ - табличные. В этом случае значение дзета-потенциала рассчитывается в соответствии с формулой:

$$\zeta = \pi r^2 P / 2 \epsilon E \quad (1.6)$$

Таким образом, измерив равновесную высоту поднятия h , а следовательно величину гидростатического давления $P = g\rho h$, можно вычислить ζ , при известном радиусе пор мембраны.

Электроосмотические процессы применяются при осушения лишней влаги из почвы при прокладке автомобильных дорог и гидротехнических сооружений, при осушке торфа, в процессах водоочистки и очистки различных жидкостей [13-15].

1.3 Электрофорез

В опытах с использованием электрофореза для определения дзета-потенциала вводится понятие электрофоретической подвижности v , которая равна, соответственно, скорости частиц в приложенном электрическом поле [1,2].

$$v = u_{эф}/X \quad (1.7)$$

Уравнение дзета - потенциала, описанное в 1.5 при электрофорезе записывается:

$$\zeta = \pi\eta/\epsilon v \quad (1.8)$$

В классических экспериментах по электрофорезу методика измерений дзета – потенциала в своей сути имеет два основных подхода. Это либо непосредственное измерение скорости частиц дисперсной фазы с применением микроскопии (ультрамикроскопии) с градуированным окуляром, либо же, фиксируется скорость перемещения «фронта» золя с граничащей жидкостью, в градуированной U- образной трубке.

В случае применения электрофореза для измерения дзета-потенциала, учитываются два существенных эффекта, которые в приложенном электрическом поле влияют на подвижность частиц, что было подробно описано Овербека, Бутса, Генри и Духина и др. [1, 16]. Данные эффекты можно определить следующим образом:

- Эффект сферической релаксации возникает под воздействием приложенного электрического поля из-за сдвига фаз в противоположном направлении и заключается в нарушении сферической симметрии диффузионного слоя вокруг частиц. В данном случае структура системы похожа на диполь, что приводит к уменьшению X , следовательно $u_{эф}$ и дзета – потенциала.

- Эффект электрофоретического торможения, этот эффект характерен как для систем со сферической симметрией, так и без нее. Встречный поток противоионов, обеспечивает дополнительное трение, обусловленное электрическими силами, и затормаживает частицы. Генри в своих расчетах

показывает, что влияние данного эффекта возрастает с уменьшением r , а исчезает при значениях размеров частиц > 1 мкм, для 10^{-3} м раствора 1-1 зарядного электролита, для расчета дзета – потенциала при применении метода электрофореза, необходимо также учитывать влияние поверхностной проводимости [1-4].

1.3.1 Потенциал и ток течения

Током течения называют конвективный поверхностный ток, возникающий вследствие течения электролита через капилляр или поры. Из-за дисбаланса зарядов на выходе из капилляра формируется свободный заряд, а вдоль оси капилляра устанавливается градиент электрического поля (рисунок 1.5). Образование градиентного заряда, порождает, в свою очередь, встречные объемные противотоки, в целом система стремится к равновесию с постоянным потенциалом течения [1,3 - 5].

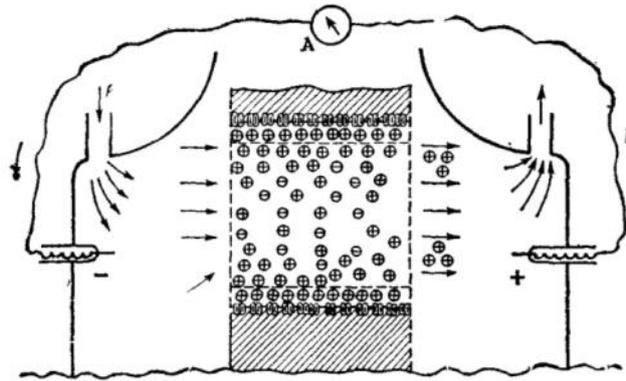


Рисунок 1.5 Схема возникновения потенциала течения через поры диафрагмы или мембраны [1].

Для стационарного состояния с постоянным потенциалом течения работает следующее уравнение Гельмгольца – Смолуховского:

$$\zeta = 4\pi\eta kE/\varepsilon P \quad (1.9)$$

Благодаря отсутствию внешней э.д.с., этот метод предпочтительнее в тех случаях, когда необходимо избежать побочных явлений, связанных с воздействием э.д.с., таких как нагревание и поляризация.

В результате большого числа экспериментальных исследований установлено существование линейной зависимости E от P на всей области течений при числах Рейнольдса вплоть до 10^4 . Данный факт указывает (косвенно) на то, что в коллоидных системах существуют граничные слои жидкости.

1.3.2 Потенциал и ток оседания

Потенциал и ток оседания рассчитываются с учетом допущения на форму частиц, так, при измерении дзета - потенциала частица считается сферической, и уравнение Смолуховского принимает следующий вид:

$$\zeta = \frac{3\eta kX}{\varepsilon r^3(d - d_0)gv} \quad (1.10)$$

Определенные трудности при измерении дзета – потенциала, связаны с тем, что далеко не все частицы реальных систем можно считать сферическими [1-5].

Аналогично уравнению Смолуховского, потенциал седиментации U_{sed} выражается формулой [17,18]:

$$U_{sed} = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 \zeta (\rho_p - \rho_m) g d \phi}{\eta K_m}, \quad (1.11)$$

где ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

ζ – дзета-потенциал, В;

ρ_p – плотность частицы, кг/м³;

ρ_m – плотность среды, кг/м³;

η – динамическая вязкость, Па·с;

K_m – проводимость дисперсионной среды, См/м;

d – расстояние между точками, между которыми измеряется разность потенциалов, м;

g – ускорение свободного падения, м/с².

1.4 Электрический ток или потенциал в потоке жидкости

В общем случае количественное определение распределения электрического поля и скоростей является невозможным в порах с заведомо сложной и неизвестной структурой. Однако эта трудность нивелируется в приближении Смолуховского, в случае такого же пространственного распределения гидродинамических и электродинамических полей [14, 15, 17,18].

В потоке жидкости U_{str} значение потенциала может быть получено если электропроводность и токи в потоке жидкости равны (сумма всех токов равна «0»). В данном случае уравнение Смолуховского принимает следующий вид:

$$\frac{U_{str}}{\Delta p} = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 \zeta}{\eta K_m}, \quad (1.12)$$

где U_{str} – значение потенциала в потоке жидкости, В;

Δp – разность давления в потоке жидкости, Па;

ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

ζ – дзета-потенциал, В;

K_m – проводимость дисперсионной среды, См/м.

Формула не содержит геометрические параметры, что делает ее удобной для определения дзета-потенциала и может быть применена при создании эталонных средств воспроизведения дзета-потенциала частиц.

1.5 Выводы по главе 1

Переходя от анализа электрокинетических явлений к анализу современных методов измерения дзета-потенциала, можно сделать вывод о том, что известные методы базируются на наблюдении движения частиц дисперсной фазы посредством различных приборных решений.

При измерениях дзета-потенциала важным элементом является выбор теории. Существуют элементарные и модифицированные теории дзета-потенциала [17,18]. В главе 1 описаны подходы к определению дзета-потенциала частиц в жидкости. При выборе определенного подхода следует учитывать основные ограничения:

- Единого теоретического описания дзета-потенциала для всех реальных дисперсных систем не существует.
- Существующие различные теории дзета-потенциала, действительны для реальных дисперсных систем только при определенных условиях.
- Каждая теория дзета-потенциала имеет ограниченную область применения.
- Применение теории дзета-потенциала вне соответствующей области приводит к существенной погрешности измерений.

Глава 2. Анализ и разработка методов измерения дзета-потенциала

2.1 Кинетические методы измерения дзета – потенциала

Электрофорез можно отнести [19] к кинетическим методам измерений дзета-потенциала. Этот метод широко используется во многих областях науки, однако наиболее востребован в биологии и фармацевтике при работе с нуклеиновыми кислотами и белками. Рассмотрим наиболее известные методики измерения дзета-потенциала с помощью вертикального и горизонтального электрофореза в пластинах.

Для электрокинетических явлений при определении области применения теории Смолуховского есть 3 условия [17,18]:

1. размеры двойного электрического слоя много меньше размеров гетерогенной системы $ka \gg 1$,

где k – обратная длина Дебая, m^{-1} ;

a – радиус частицы, м.

2. Поверхностная проводимость K^σ вносит незначительный вклад.

3. Отсутствие электропроводности на границе раздела фаз.

Уравнение Смолуховского для электрофоретической подвижности μ имеет вид:

$$\mu = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 \zeta}{\eta}, \quad (2.1)$$

где ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

ζ – дзета-потенциал, В.

Данное уравнение применимо к любой модели двойного электрического слоя.

Макромолекулы, находящиеся в буферном растворе, обладают суммарным электрическим зарядом, величина и знак которого зависят от рН среды. Если через этот раствор, заключенный в канал из изолирующего материала, начать пропускать электрический ток, то вдоль канала установится определенный градиент напряжения, т. е. сформируется электрическое поле. Его напряженность измеряется разностью потенциалов по концам рабочего канала (или его участка), отнесенной к его длине (В/см) [20-22].

Под действием поля макромолекулы в соответствии со своим суммарным зарядом мигрируют с разной скоростью в направлении катода или анода, причем их трение об окружающую среду ограничивает скорость миграции. С течением времени исходный препарат, разделяется на зоны молекул, мигрирующих с одинаковой скоростью, распределенные по длине канала. В современных приборах рабочий канал заполняют гелем, что на схеме изображено штриховкой (рисунок 2.1) [20,23].

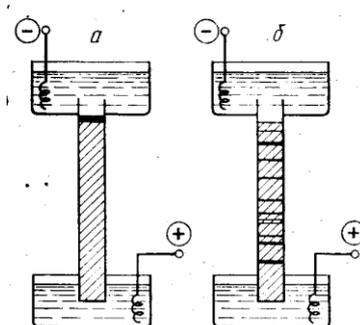


Рисунок 2.1. Схема устройства прибора для электрофореза в геле. а — до начала фракционирования, б — после его окончания [20]

Достаточно чистая и хорошо смачиваемая (гидрофильная) пространственная сетка геля удерживает жидкость от вытекания и препятствует конвекции. Вместе с тем используемые гели содержат очень много жидкости (80—99,5%), в которой (т. е. в рабочем буфере) и мигрируют макромолекулы [24].

Мигрирующие в геле макромолекулы любых размеров неизбежно сталкиваются с нитями полимера, образующего сетку геля, что увеличивает

эффективное трение о среду и снижает скорость движения молекул. Использование геля может вносить особенные ограничения в данный метод в случаях если, средний диаметр пространственных ячеек геля оказывается соизмерим с размерами макромолекул, либо же когда особенно крупные молекулы белков или нуклеиновых кислот вообще не смогут «протиснуться» через поры геля и их миграция прекращается, в связи с этими особенностями метода, в настоящее время почти исключительно используются полиакриламидные гели (ПААГ) и гели агарозы, поскольку изменяя концентрацию полимера, можно получать гели с очень широким диапазоном размеров пор, изменять электрические заряды макромолекул путем вариации рН буфера, а их конфигурацию путем введения в буфер денатурирующих агентов или детергентов. Все это придает методу электрофореза исключительную гибкость [23].

В ходе электрофореза зоны растворенных макромолекул остаются невидимыми. Для наблюдения за процессом в исходный препарат добавляют краситель, молекулы которого несут электрический заряд того же знака, что и фракционируемые макромолекулы, но не взаимодействуют с ними. Краситель передвигается в электрическом поле в виде окрашенной зоны, его подбирают таким образом, чтобы скорость миграции наиболее подвижных макромолекул была несколько ниже, чем у молекул красителя. Когда окрашенная зона доходит до конца трубки, электрофорез прекращают [21-23].

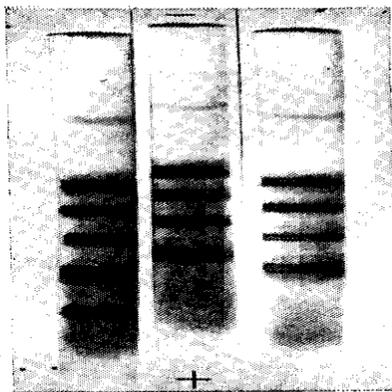


Рисунок 2.2. Трубки с ПААГ после окончания электрофореза
Горизонтальные полосы — окрашенные белковые зоны [20].

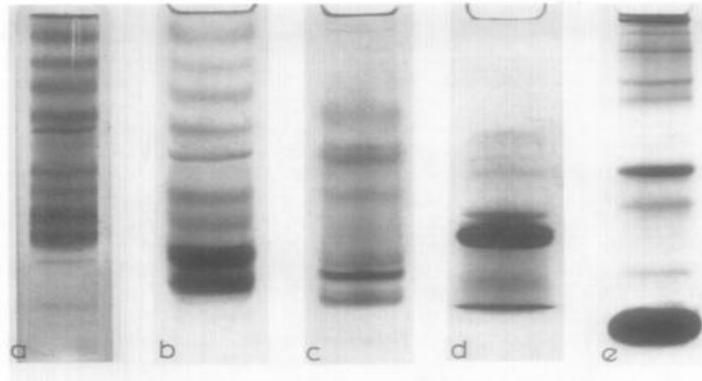


Рисунок 2.3. Пластина агарозного геля после разделения фрагментов ДНК
Разделившиеся зоны биополимеров во избежание их диффузии немедленно фиксируют, после чего (или одновременно) проводят окрашивание зон путем вымачивания геля в растворе красителя, прочно связывающегося с белком или нуклеиновой кислотой.

На фотографии окрашенного цилиндрического ПААГ (рисунок 2.2) хорошо видны четкие, узкие полосы разделившихся компонентов исходной смеси белков. Вместо цилиндрических часто используют гели в виде тонких пластин, заполимеризованные между двумя плоскими стеклами (рисунки 2.3 -2.5).

Такие пластины имеют важное преимущество: на них можно одновременно фракционировать несколько препаратов [25-27]. Обычно их вносят с одного края геля на равных расстояниях друг от друга. Каждый препарат разделяется в электрическом поле независимо от своих соседей, образуя свой набор зон. На фотографии такой пластины (рисунок 2.2) хорошо видна серия параллельных «треков», исчерченных поперечными полосами окрашенных зон, в которых располагаются (в данном случае) олигонуклеотиды различной длины [23].

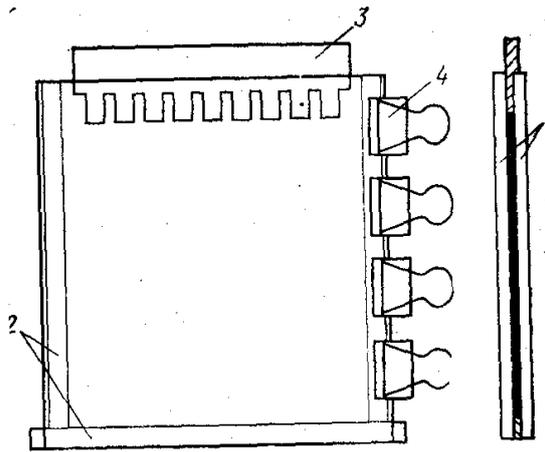


Рисунок 2.4. Форма ячейки для полимеризации вертикальной пластины геля
1 -стеклянные пластины; 2 - прокладки; 3 - гребенка; 4 - зажим [20].

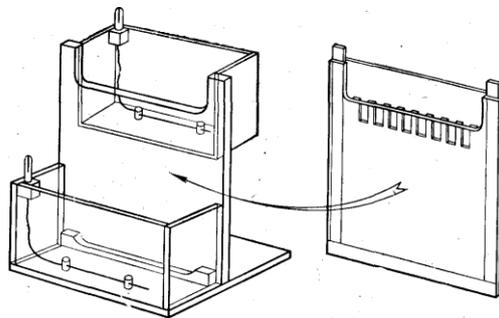


Рисунок 2.5. Схема устройства прибора Стадиера для электрофореза в
вертикальных пластинах [20].

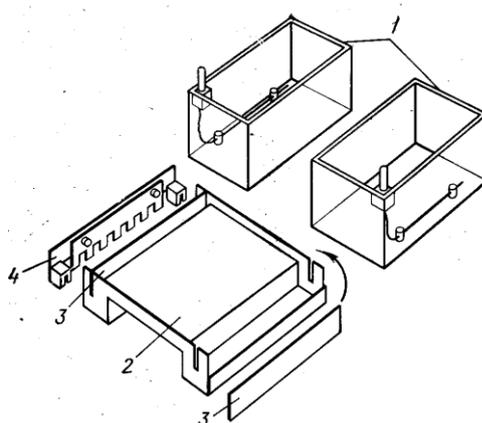


Рисунок 2.6. Схема устройства прибора для препаративного горизонтального электрофореза ДНК в агарозном геле с агарозными фитилями [20] 1 - электродные резервуары; 2 - форма для заливки агарозы; 3 - съемные перегородки; 4 - гребенка

Преимущество горизонтального расположения пластины состоит не только в компактности прибора, но и в отсутствии проблемы уплотнения. Оба электродных буфера находятся в резервуарах, расположенных ниже уровня горизонтального столика, на который кладут гель. Естественно, что этот столик используется и для отвода тепла от пластинки геля - в его каналах циркулирует охлаждающая вода (рисунок 2.6) [23].

Вместо окрашивания или наряду с ним часто используют методы обнаружения разделенных зон по их радиоактивности. К ним относятся приемы регистрации полос на фотопленке посредством автордиографии или флюорографии и различные способы счета радиоактивности в геле с помощью жидкостных сцинтилляционных счетчиков.

Исключительную популярность и преимущества пластин можно объяснить следующими фактами: гель заливают в форму для полимеризации жидким, поэтому его концентрация, состав буфера и содержание добавок строго одинаковы по всему сечению геля. Следовательно, плотность тока и напряженность электрического поля также одинаковы. Это обеспечивает строго идентичные условия фракционирования разных препаратов и дает возможность

достоверного сопоставления их состава путем сравнения положения полос в параллельных треках. Если добавить к этому значительно более выгодные условия теплоотвода от тонкой пластинки геля по сравнению с цилиндром, то станет понятной исключительная популярность этой системы электрофореза в последние годы.

2.1.1 Метод подвижной границы в электрофорезе

При длительном электрофорезе в U - образной трубке, компоненты раствора, имеющие различную электропроводимость, пространственно разделяются. Оптическая система устроена так, что свет, приходящий к сосуду по нормали, преломляется на границах раздела растворов, так что их визуализация и регистрация становится возможной [1,2, 28,29].

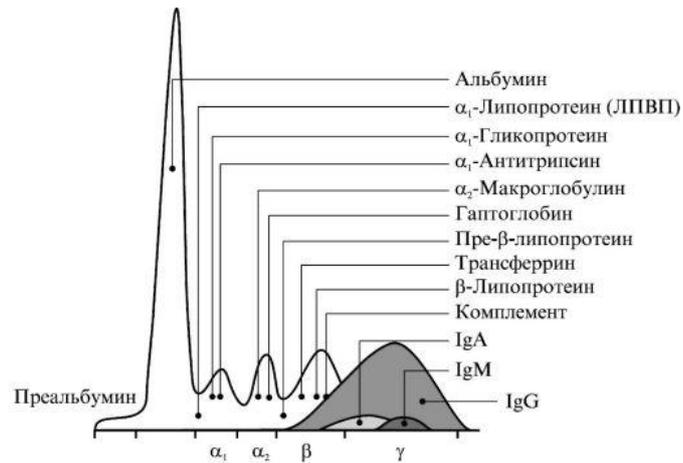


Рисунок 2.7. Электрофореграмма белков сыворотки крови [29].

В электрофореграмме абсцисса каждого пика дает значение v_i , индивидуальное для каждого компонента, позволяющее идентифицировать соединение, площадь под пиком позволяет оценить концентрацию i -го соединения (рисунок 3.12). Данный метод позволяет провести качественный и количественный анализ состава образца [1, 28].

В качестве разновидности данного метода, стоит указать бумажный электрофорез. В этом методе вещество наносится на полоску однородной бумаги, предварительно обработанной буферным раствором, концы полоски погружают в сосуды с электродами, заполненными тем же раствором буфера. Под действием электрического поля, компоненты вещества перемещаются с различной скоростью, и через некоторое время, останавливаются в определенной области, визуально распределение пятен можно оценить, применяя проявитель. Состав и концентрацию веществ в растворе оценивают по положению и интенсивности окраски пятен [1].

2.2 Оптические методы

На сегодняшний день существует два оптических метода контроля движения частиц в приложенном электрическом поле. Первый метод - это получение изображений частиц, которые наблюдаются с помощью микроскопа. Этот метод носит название «метод микроэлектрофореза». Другой оптический метод основан на измерении интенсивности рассеянного частицами лазерного излучения и определении электрофоретической подвижности по доплеровскому сдвигу частоты рассеянного излучения. Данный метод называется методом «электрофоретического рассеяния лазерного излучения» [19, 30, 31].

Метод микроэлектрофореза является весьма популярным методом для изучения коллоидных систем, наиболее часто данный метод применяется в биохимии и материаловедении. Исследования часто проводят в отношении биообъектов, либо высокомолекулярных соединений, а также при исследованиях ДНК, различных материалов, таких как керамика, например.

В основе метода лежит классический электрофорез, сущность метода заключается в следующем:

Частицы, движущиеся под действием постоянного или переменного электрического поля, освещаются источником света и наблюдаются за счет рассеяния оптического излучения на них. При получении изображения частиц применяются методы светлопольной или темнопольной микроскопии. Для частиц меньше 200 нм. светлопольная микроскопия неприменима. В данном случае для малых частиц применяется метод темнопольной микроскопии [19]. Образцы (например биологические объекты) вводят в агарозу либо микрогель с известным размером ячеек и проводят электрофорез.

В процессе электрофореза частицы образца двигаются, в зависимости от знака их заряда, к электродам, образуя на своем пути ореолы или полосы, в зависимости от заряда (рисунок 2.8). После электрофореза гели фиксируют и окрашивают для дальнейшего процесса визуализации [32, 33].

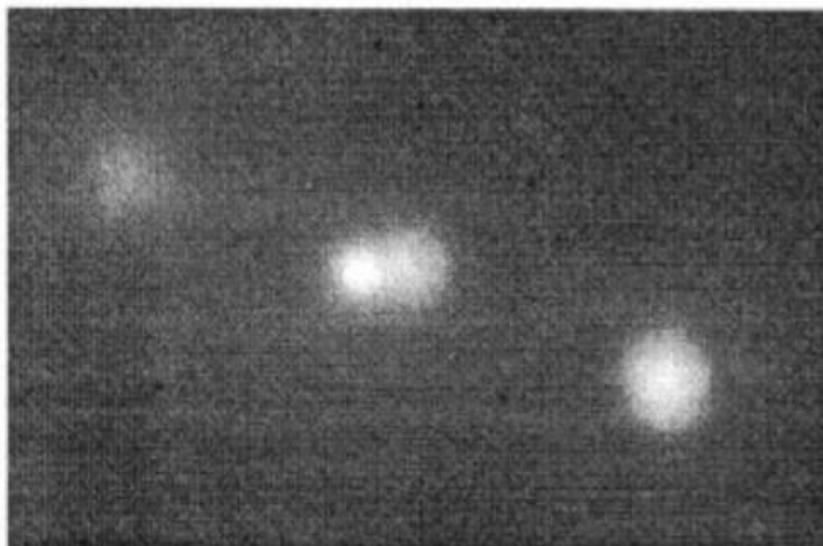


Рисунок 2.8. Компьютерное изображение ядерных матриц с ореолом [33].

Исследование электрофоретических следов (треков) проводится чаще всего методом оптической микроскопии при наличии калибровочной сетки или с помощью видеокамер с последующей обработкой полученных изображений на компьютере [33, 34].

Существует три типа обработки изображений в зависимости от степени их автоматизации: ручные, полуавтоматические и автоматические. Ручной метод основан на визуальном отслеживании оператором движения одной или нескольких частиц, является трудоемким, утомительным и неточным. В полуавтоматическом методе частицы наблюдаются через микроскоп оператором вручную, при этом микроскоп сканирует свет, освещающий ячейку, или перемещает отражающую изображение частиц призму. Возможно совмещение метода ручного наблюдения с автоматическим анализом электрофоретического рассеяния излучения для измерения полидисперсной электрофоретической подвижности. Применение CCD (устройств с зарядовой связью) позволяет получать изображения, передавать их на компьютер, а затем, посредством метода анализа изображений, реконструировать траектории движения частиц под действием электрического поля [30, 31, 35].

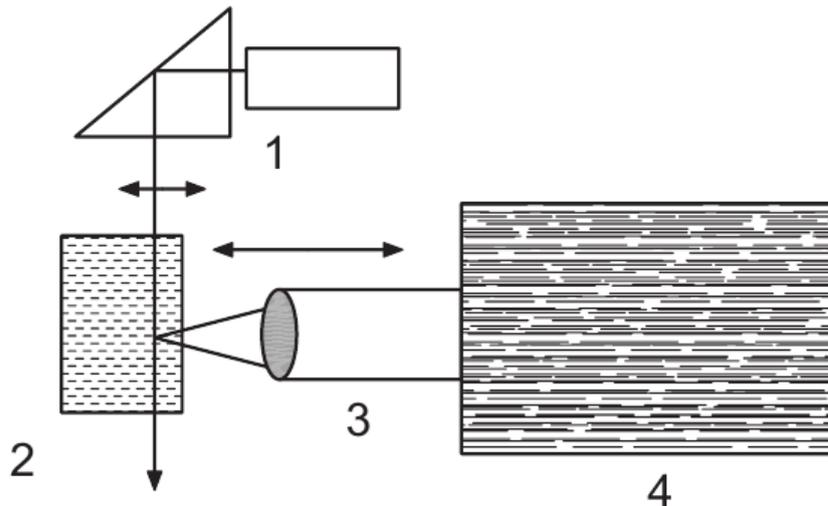


Рисунок 2.9. - Устройство микроскопа для электрофореза 1 - лазер, 2 - область пересечения, 3 - объектив микроскопа, 4 - видеокамера [19, 30, 31].

Устройство современных оптических приборов предусматривает, как правило, регистрацию рассеянного излучения под углом 90° . На рисунке 2.9 показана схема микроскопа, применяемого при электрофорезе. Лазер используется для освещения фокальной плоскости микроскопа. Лазерный луч и ось микроскопа перпендикулярны электрическому полю. Направление поля перпендикулярно плоскости рисунка [19, 30, 31]. Необходимо производить наблюдение в неподвижном слое жидкости для устранения погрешности, вызванной электроосмотическим движением жидкости [30-32, 36-38].

2.2.1 Метод электрофоретического рассеяния излучения

Электрофоретическое рассеяние излучения (ELS) [19] - это косвенный метод измерения электрофоретической подвижности, который основан на доплеровском сдвиге в рассеянном излучении. Когерентное излучение освещает частицы в объеме жидкости, находящиеся под воздействием приложенного поля [19, 30, 31, 39].

Положительный или отрицательный знак заряда на поверхности частиц определяет их движение к катоду или аноду, соответственно. Согласно эффекту Доплера, происходит смещение частоты рассеянного излучения при движении частиц. Распределение электрофоретической подвижности можно определить по распределению частотного сдвига [19, 30, 31, 24, 40,41].

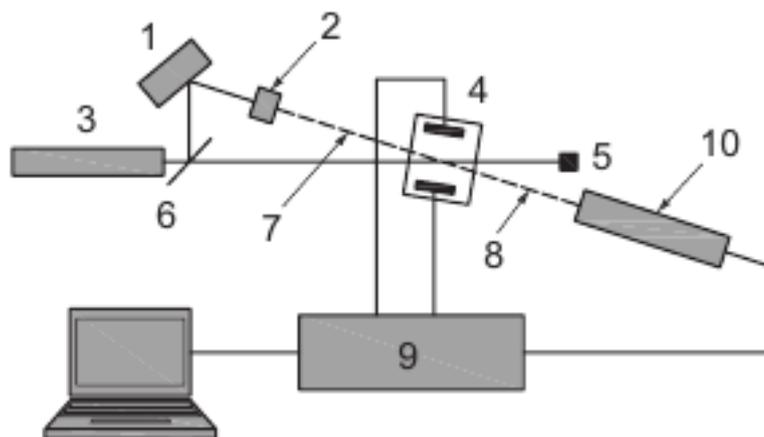


Рисунок 2.10. Оптическое устройство с использованием опорного излучения
1 - оптический модулятор, 2 - аттенюатор, 3 - лазер, 4 - ячейка для образца с электродами, 5 - оптический поглотитель, 6 - делитель луча, 7 - опорное излучение, 8 - рассеянный свет, 9 – процессор, 10 - фотоэлектрический детектор [30, 31].

Пример устройства с применением опорного излучения продемонстрирован на рисунке 2.10. В методе ELS используются различные типы электрофоретических ячеек. В ячейке предусмотрена фиксация образца в приборе; обеспечение воздействия электрического поля и обеспечение входа для падающего и выхода для рассеянного излучения [19, 30, 31].

Часто используются устройства для гетеродинного детектирования на основе малоуглового рассеяния света. Угол рассеяния, как правило, от 15° до 30° . В ячейку помещается образец и подается напряжение между электродами. Для нахождения разности потенциалов расстояние между электродами должно быть точно известно. Излучение лазера известной длины волны делится на два пучка, один из которых является падающим, а другой-опорным. Падающее излучение попадает на взвешенные частицы через стенки ячейки. Опорное и рассеянное излучение попадает на фотоэлектрический детектор, представляющий из себя фотоумножитель или фотодиод. Один из лазерных лучей проходит через оптический модулятор, изменяя частоту лазерного излучения на несколько сотен герц, при этом падающий и опорный лучи будут иметь разные частоты [30, 31]. Это дает возможность регистрации сигнала от источника сдвига, который вызван ненулевой скоростью частиц, а также позволяет определить направление движения частиц и свести к минимуму интерференцию излучения в низкочастотной области. Процесс управляется через программное обеспечение, позволяющее вычислить значение дзета-потенциала [39, 40].

2.2.2 Фазовый анализ рассеянного излучения

В методе анализа рассеянного излучения (PALS) [19] детектируется изменение не частоты рассеянного света, а сдвиг его фазы. С помощью метода PALS возможно детектирование разности фаз в несколько градусов. Данный метод почти в 1000 раз чувствительней, чем метод ELS. В ходе обработки результатов измерений, процессором производится генерация гармонического сигнала модулятора. Сигнал рассеянного излучения умножается на гармонический сигнал, что позволяет получить две функции: синфазную составляющую и квадратурную функцию. Амплитуда вектора арктангенса этих двух составляющих является произвольной. Скорость изменения амплитуды и разность фаз во времени равны [30, 31, 42, 43]. Дискретность сдвига частоты в методе PALS составляет 0,001 Гц, но несмотря на это в реальных средах из-за вклада флуктуаций ионов жидкости и электрических шумов прибора, добиться подобных результатов невозможно. Минимально детектируемые сдвиги частоты составляют 0,002 Гц. Основным недостатком данного метода является то, что с его помощью можно определить только средние значения электрофоретической подвижности частиц и, соответственно, средние значения дзета-потенциала [44].

В ряде реализаций используется комбинация PALS и ELS вместе с быстрой и медленной сменой напряжения для предотвращения поляризации электрода ячейки и разделения эффектов электрофореза и электроосмоса. Этими способами получают среднее значение и спектры значений электрофоретической подвижности. По этой технологии работают, в частности, анализаторы серии Zetasizer Nano компании Malvern Instruments. Данная технология является самой прогрессивной на сегодняшний день для измерения дзета-потенциала [30, 31].

Отношение между доплеровским сдвигом частоты рассеянного света и электрофоретической подвижностью частицы μ , зависит от оптического устройства приборов [19, 30, 31]. Для оптических устройств с использованием

опорного излучения электрофоретическая подвижность μ определяется по формуле [19, 30, 31]:

$$\mu = \frac{\Delta\omega\lambda_0}{4\pi n E \sin(\theta/2) \sin[(\theta/2)+\xi]}, \quad (2.2)$$

Для приборов, основанных на методе измерения кросс-излучения, электрофоретическая подвижность μ выражается формулой [19, 30, 31]:

$$\mu = \frac{\Delta\omega\lambda_0}{4\pi n E \sin(\theta'/2)}, \quad (2.3)$$

где $\Delta\omega$ – доплеровский сдвиг частоты, рад·с⁻¹;

λ_0 – длина излучения лазера в вакууме, м;

n – средний показатель преломления;

E – градиент напряжения на электродах, В/м;

θ – угол между падающим и рассеянным светом, рад;

ξ – угол между рассеянным светом и положением электрического поля, рад;

θ' – угол между двумя лучами, рад.

Расширенное уравнение Генри для непроводящих сфер, описывающее зависимость между дзета-потенциалом ζ и электрофоретической подвижностью μ , имеет вид [19, 30, 31]:

$$\mu = \frac{2\zeta\varepsilon}{3\eta_0} f(\kappa a), \quad (2.4)$$

где η_0 – средняя вязкость, Па·с;

κ – обратная длина Дебая, м⁻¹;

ε – диэлектрическая проницаемость среды, Ф·м⁻¹;

a – радиус сферы, м;

$f(\kappa a)$ – монотонная функция, изменяющаяся от $f(\kappa a)_{\kappa a \rightarrow 0} = 1$ до $f(\kappa a)_{\kappa a \rightarrow \infty} =$

3/2.

2.2.3 Анализ траекторий наночастиц

При броуновском движении существует зависимость траекторий движения частиц от их формы, размера, а также таких параметров среды как температуры и вязкость. С помощью метод анализа траекторий наночастиц (NTA) возможно определить концентрацию частиц в зависимости от их размеров [45, 46].

NTA применим для частиц в диапазоне размеров от 0,01 до 1 мкм в зависимости от природы и оптических свойств исследуемого образца [45,47]. Для разделения сигнал-шум частицы должны обладать сильно выраженными относительно среды оптическими свойствами. Для наночастиц золота и серебра минимальный порог определения – 0,01 мкм, тогда как для оксидов и белков данный порог составляет порядка 0,015 и 0,02 мкм, соответственно. Для определения верхнего порога (по размерам) существует ряд ограничений:

- Устойчивость дисперсной системы к седиментации. Субмолекулярные и молекулярные частицы ($d \approx 1$ мкм) с высокой плотностью быстро осаждаются, что делает подобные измерения некорректными или даже невозможными
- При наличии отдельных преобладающих направлений рассеяния может проявиться неравномерность (анизотропия) рассеянного частицами излучения.
- При недостаточной точности определения положения частиц на кадрах верхний порог обнаружения также может варьироваться.

Модификация метода NTA - Z-NTA, позволяет проводить измерения электрофоретической подвижности и дзета-потенциала частиц, также как и метод микроэлектрофореза. К электродам ячейки прикладывается постоянная разность потенциалов, вследствие чего заряженные частицы начинают двигаться к аноду или катоду в зависимости от знака поверхностного заряда. Измерения ведутся по уравнению Смолуховского,

С помощью Z-NTA существует возможность проведения одновременных измерений как размеров и концентраций частиц, так и их дзета-потенциала [48].

Данный метод является новым, однако он не получил широкого применения из-за сложности процесса измерений и дороговизны технических реализаций.

2.3 Электроакустические методы

Электроакустические методы определения дзета-потенциала применяются для концентрированных дисперсных систем. В этом их главное преимущество. Существующая элементарная электроакустическая теория, связывающая электрофоретическую подвижность с дзета-потенциалом, применяемая для концентрированных сред и имеющая ограниченный диапазон применения – это приближенная электроакустическая теория Смолуховского. [30, 49].

В электроакустическом методе с помощью ультразвука создаются локальные периодические возмущения в исследуемой среде. Основным преимуществом данного метода перед оптическими методами является возможность проведения измерений в высококонцентрированных образцах из-за поглощения УЗ волн разными средами.

Так как дисперсная фаза и дисперсионная среда различны по своей плотности, ультразвуковые волны выступают в роли побудителя движения частиц. Вследствие этого на границе раздела фаз происходит поляризация ДЭС. Периодические изменения потенциала индуцируют электрический ток, из-за чего по сдвигу фаз возможно проведение измерений дзета-потенциала [50,51].

Критическая частота гидродинамической релаксации (ω_{hd}) определяет диапазон инерции частиц и влияние коэффициента $G(s)$. Этот коэффициент становится незначительным, когда частота ω удовлетворяет условию [30, 49]:

$$\omega \ll \omega_{hd} = \frac{\eta}{\rho_m a^2}, \quad (2.5)$$

где η – динамическая вязкость, Па·с;

ρ_m – плотность среды, кг/м³;

a – радиус частицы, м.

Критическая частота электрической поляризации ДЭС ω_{MW} определяет диапазон частот, где становится незначительным функция $F(\omega')$ [30, 49]:

$$\omega \ll \omega_{MW} = \frac{K_m}{\varepsilon_m \varepsilon_0}, \quad (2.6)$$

где K_m – проводимость дисперсионной среды, См/м;

ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м.

Выражение для динамической электрофоретической подвижности в этом приближении было получено только для тока колеблющейся дисперсной системы и имеет вид [30, 49]:

$$\mu_d = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 \zeta K_s (\rho_p - \rho_s) \rho_m}{\eta K_m (\rho_p - \rho_m) \rho_s}, \quad (2.7)$$

где ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

ζ – дзета-потенциал, В;

ρ_p – плотность частицы, кг/м³;

ρ_m – плотность среды, кг/м³;

ρ_s – плотность дисперсной фазы, кг/м³;

K_s – проводимость дисперсной фазы, См/м;

K_m – проводимость дисперсионной среды, См/м.

Электроакустический метод измерений дзета-потенциала имеет крайне узкую область применения в силу высокого значения погрешности измерений, вызванного большим числом влияющих факторов, а также применимостью в основном в высококонцентрированных дисперсных системах.

2.4 Разработка комплексированного метода измерения дзета-потенциала

Для разработки комплексированного метода измерений дзета-потенциала частиц в жидкостях и средств воспроизведения единицы дзета-потенциала рассмотрены следующие существующие методы:

1. электроакустический метод;
2. метод микроэлектрофореза;
3. комбинация оптических методов – PALS + ELS.

В рамках работы производился анализ неопределенности измерений типа Б дзета-потенциала каждым методом.

2.4.1 Электроакустический метод

Применение электроакустики для измерения дзета-потенциала частиц в жидких средах является вынужденной мерой, так как оптические методы ограничены в области применения в части измерения дзета-потенциала в высококонцентрированных системах. С другой стороны, данный метод является наименее точным в силу большого количества влияющих факторов.

В существующих технических реализациях для измерения дзета-потенциала применяется нестрогое уравнение с допущениями (2.5, 2.6):

$$\zeta = \frac{S \cdot \eta \cdot K_m \cdot (\rho_p - \rho_m) \cdot \rho_s}{t \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot (\rho_p - \rho_s) \cdot \rho_m}, \quad (2.24)$$

где ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

$\frac{S}{t}$ – скорость движения частицы в приложенном поле, м/с;

E – градиент напряжения на электродах, В/м;

ρ_p – плотность частицы, кг/м³;

ρ_m – плотность среды, кг/м³;

ρ_s – плотность дисперсной фазы, кг/м³;

K_s – проводимость дисперсной фазы, См/м;

K_m – проводимость дисперсионной среды, См/м.

При анализе уравнения измерений, установлено, что основной вклад в неопределенность измерений типа Б вносят следующие факторы:

1. погрешность определения динамической вязкости;
2. погрешность определения времени движения частицы;
3. погрешность определения пути частицы;
4. погрешность определения градиента напряжения на электродах.
5. погрешность определения плотности частиц;
6. погрешность определения плотности среды;

7. погрешность определения плотности дисперсной фазы;
8. погрешность определения проводимости дисперсной фазы;
9. погрешность определения проводимости дисперсионной среды.

В этом случае:

$$\begin{aligned}
 u_B(S, \eta, K_m, \rho_p, \rho_m, \rho_s, t, K_s, E) = & \\
 = \sqrt{\frac{\left(\frac{du_B}{dS} \Delta S\right)^2 + \left(\frac{du_B}{d\eta} \Delta \eta\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dK_m} \Delta K_m\right)^2 + \left(\frac{du_B}{d\rho_p} \Delta \rho_p\right)^2 +}{\sqrt{3}}} & \\
 \sqrt{\frac{\left(\frac{du_B}{d\rho_m} \Delta \rho_m\right)^2 + \left(\frac{du_B}{d\rho_s} \Delta \rho_s\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dt} \Delta t\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dK_s} \Delta K_s\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dE} \Delta E\right)^2}{\sqrt{3}}}, & \quad (2.25)
 \end{aligned}$$

где:

$$\begin{aligned}
 \left(\frac{du_B}{dS} \Delta S\right)^2 = \frac{(\eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_p - \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_m)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_p - t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_s)^2} \Delta S^2 = & \\
 = c_S^2 \cdot \Delta S^2 & \quad (2.26)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \left(\frac{du_B}{d\eta} \Delta \eta\right)^2 = \frac{(S \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_p - S \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_m)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_p - t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_s)^2} \Delta \eta^2 = & \\
 = c_\eta^2 \cdot \Delta \eta^2 & \quad (2.27)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \left(\frac{du_B}{dK_m} \Delta K_m\right)^2 = \frac{(S \cdot \eta \cdot \rho_s \cdot \rho_p - S \cdot \eta \cdot \rho_s \cdot \rho_m)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_p - t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_s)^2} \Delta K_m^2 = & \\
 = c_{K_m}^2 \cdot \Delta K_m^2 & \quad (2.28)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \left(\frac{du_B}{d\rho_p} \Delta \rho_p\right)^2 = \frac{(S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m)^2} \cdot \Delta \rho_p^2 = c_{\rho_p}^2 \cdot \Delta \rho_p^2 & \quad (2.29)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \left(\frac{du_B}{d\rho_m} \Delta \rho_m\right)^2 = \frac{(S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_p - t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_s)^2} \cdot \Delta \rho_m^2 & \\
 = c_{\rho_m}^2 \cdot \Delta \rho_m^2 & \quad (2.30)
 \end{aligned}$$

$$\left(\frac{du_B}{d\rho_s} \Delta\rho_s\right)^2 = \frac{(S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_p - S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_m)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m)^2} \cdot \Delta\rho_s^2 = c_{\rho_s}^2 \cdot \Delta\rho_s^2 \quad (2.31)$$

$$\begin{aligned} \left(\frac{du_B}{dt} \Delta t\right)^2 &= \frac{(S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_p - S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_m)^2}{(E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_p - E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_s)^2} \cdot \Delta t^2 = \\ &= c_t^2 \cdot \Delta t^2 \end{aligned} \quad (2.32)$$

$$\begin{aligned} \left(\frac{du_B}{dK_s} \Delta K_s\right)^2 &= \frac{(S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_p - S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_m)^2}{(t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot \rho_m \cdot \rho_p - t \cdot E \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot \rho_m \cdot \rho_s)^2} \cdot \Delta K_s^2 = \\ &= c_{K_s}^2 \cdot \Delta K_s^2 \end{aligned} \quad (2.33)$$

$$\begin{aligned} \left(\frac{du_B}{dE} \Delta E\right)^2 &= \frac{(S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_p - S \cdot \eta \cdot K_m \cdot \rho_s \cdot \rho_m)^2}{(t \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_p - t \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_m \cdot K_s \cdot \rho_m \cdot \rho_s)^2} \cdot \Delta E^2 = \\ &= c_E^2 \cdot \Delta E^2 \end{aligned} \quad (2.34)$$

С учетом (2.26-2.34) уравнение (2.25) можно записать в общем виде:

$$\begin{aligned} u_B(S, \eta, K_m, \rho_p, \rho_m, \rho_s, t, K_s, E) &= \\ &= \sqrt{\frac{c_s^2 \cdot \Delta S^2 + c_\eta^2 \cdot \Delta \eta^2 + c_{K_m}^2 \cdot \Delta K_m^2 + c_{\rho_p}^2 \cdot \Delta \rho_p^2 + c_{\rho_m}^2 \cdot \Delta \rho_m^2 + c_{\rho_s}^2 \cdot \Delta \rho_s^2 +}{\sqrt{3}} + \frac{c_t^2 \cdot \Delta t^2 + c_{K_s}^2 \cdot \Delta K_s^2 + c_E^2 \cdot \Delta E^2}{\sqrt{3}}} \end{aligned} \quad (2.35)$$

Как видно из (2.35), данный метод имеет наибольшее по сравнению с другими рассматриваемыми методами количество влияющих факторов, некоторые из которых, например, погрешность определения плотности веществ пикнометрами, достигают 10 %. В большинстве случаев, неопределенность измерений дзета-потенциала частиц реальных дисперсных сред в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ электроакустическим методом составляет не менее 20 %.

2.4.2 Метод микроэлектрофореза

Как уже было описано ранее, данный метод является прямым, первичным и широко распространенным в силу простаты и доступности технических реализаций.

При описании метода измерения дзета-потенциала частиц используется уравнение Смолуховского:

$$\zeta = \frac{\eta\mu}{\varepsilon_m\varepsilon_0}, \quad (2.8)$$

где ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

$\mu = \frac{v}{E}$ – электрофоретическая подвижность, где:

$v = \frac{S}{t}$ – скорость движения частицы в приложенном поле, м/с;

E – градиент напряжения на электродах, В/м.

Уравнение (2.8) можно записать в виде:

$$\zeta = \frac{\eta \cdot S}{t \cdot E \cdot \varepsilon_m \cdot \varepsilon_0}, \quad (2.9)$$

При этом, основной вклад в неопределенность измерений типа Б вносят следующие факторы:

1. погрешность определения динамической вязкости;
2. погрешность определения времени движения частицы;
3. погрешность определения пути частицы;
4. погрешность определения градиента напряжения на электродах.

В этом случае:

$$u_B(\eta, S, t, E) = \frac{\sqrt{\left(\frac{du_B}{d\eta}\Delta\eta\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dS}\Delta S\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dt}\Delta t\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dE}\Delta E\right)^2}}{\sqrt{3}}, \quad (2.10)$$

где:

$$\left(\frac{du_B}{d\eta} \Delta\eta\right)^2 = \frac{S^2}{t^2 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_m^2 \cdot \varepsilon_0^2} \cdot \Delta\eta^2 = c_\eta^2 \cdot \Delta\eta^2 \quad (2.11)$$

$$\left(\frac{du_B}{dS} \Delta S\right)^2 = \frac{\eta^2}{t^2 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_m^2 \cdot \varepsilon_0^2} \cdot \Delta S^2 = c_S^2 \cdot \Delta S^2 \quad (2.12)$$

$$\left(\frac{du_B}{dt} \Delta t\right)^2 = \frac{\eta^2 \cdot S^2}{t^4 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_m^2 \cdot \varepsilon_0^2} \cdot \Delta t^2 = c_t^2 \cdot \Delta t^2 \quad (2.13)$$

$$\left(\frac{du_B}{dE} \Delta E\right)^2 = \frac{\eta^2 \cdot S^2}{t^2 \cdot E^4 \cdot \varepsilon_m^2 \cdot \varepsilon_0^2} \cdot \Delta E^2 = c_E^2 \cdot \Delta E^2 \quad (2.14)$$

С учетом (2.12 - 2.14) уравнение (2.10) можно записать в общем виде:

$$u_B(\eta, S, t, E) = = \frac{\sqrt{c_\eta^2 \cdot \Delta\eta^2 + c_S^2 \cdot \Delta S^2 + c_t^2 \cdot \Delta t^2 + c_E^2 \cdot \Delta E^2}}{\sqrt{3}} \quad (2.15)$$

Как правило, наибольший вклад вносится погрешностями определения динамической вязкости и времени движения частиц. В большинстве случаев, неопределенность измерений дзета-потенциала частиц реальных дисперсных сред с размерами не более 200 мкм методом микроэлектрофореза составляет менее 5 % в диапазоне значений дзета-потенциала от минус 150 до плюс 150 мВ.

2.4.3 Комбинация оптических методов PALS+ELS

Технические реализации оптических методов являются широко распространенными и автоматизированными. Для описания оптических методов в качестве уравнения измерений дзета-потенциала применяется расширенное уравнение Генри для непроводящих сфер, описывающее зависимость между дзета-потенциалом и электрофоретической подвижностью:

$$\zeta = \frac{3 \cdot S \cdot \eta}{2 \cdot \varepsilon_0 \cdot t \cdot E \cdot f(\kappa a)}, \quad (2.16)$$

где η – средняя вязкость, Па·с;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

$\frac{S}{t}$ – скорость движения частицы в приложенном поле, м/с;

E – градиент напряжения на электродах, В/м;

$f(\kappa a)$ – коэффициент Генри, изменяющийся от $f(\kappa a)_{\kappa a \rightarrow 0} = 1$ до $f(\kappa a)_{\kappa a \rightarrow \infty} = 3/2$ в зависимости от исследуемой системы.

При анализе уравнения измерений, установлено, что основной вклад в неопределенность измерений типа Б вносят следующие факторы:

1. погрешность определения динамической вязкости;
2. погрешность определения времени движения частицы;
3. погрешность определения пути частицы;
4. погрешность определения градиента напряжения на электродах;
5. погрешность определения коэффициента Генри.

В этом случае:

$$u_B(\eta, S, t, E, f(\kappa a)) = \frac{\sqrt{\left(\frac{du_B}{d\eta} \Delta\eta\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dS} \Delta S\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dt} \Delta t\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dE} \Delta E\right)^2 + \left(\frac{du_B}{df(\kappa a)} \Delta f(\kappa a)\right)^2}}{\sqrt{3}}, \quad (2.17)$$

где:

$$\left(\frac{du_B}{d\eta} \Delta\eta\right)^2 = \frac{9 \cdot S^2}{4 \cdot t^2 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_0^2 \cdot f^2(\kappa a)} \cdot \Delta\eta^2 = c_\eta^2 \cdot \Delta\eta^2 \quad (2.18)$$

$$\left(\frac{du_B}{dS} \Delta S\right)^2 = \frac{9 \cdot \eta^2}{4 \cdot t^2 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_0^2 \cdot f^2(\kappa a)} \cdot \Delta S^2 = c_S^2 \cdot \Delta S^2 \quad (2.19)$$

$$\left(\frac{du_B}{dt} \Delta t\right)^2 = \frac{9 \cdot \eta^2 \cdot S^2}{4 \cdot t^4 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_0^2 \cdot f^2(\kappa a)} \cdot \Delta t^2 = c_t^2 \cdot \Delta t^2 \quad (2.20)$$

$$\left(\frac{du_B}{dE} \Delta E\right)^2 = \frac{9 \cdot \eta^2 \cdot S^2}{4 \cdot t^2 \cdot E^4 \cdot \varepsilon_0^2 \cdot f^2(\kappa a)} \cdot \Delta E^2 = c_E^2 \cdot \Delta E^2 \quad (2.21)$$

$$\left(\frac{du_B}{df(\kappa a)} \Delta f(\kappa a)\right)^2 = \frac{9 \cdot \eta^2 \cdot S^2}{4 \cdot t^2 \cdot E^2 \cdot \varepsilon_0^2 \cdot f^4(\kappa a)} \cdot \Delta f(\kappa a)^2 = c_{f(\kappa a)}^2 \cdot \Delta f(\kappa a)^2 \quad (2.22)$$

С учетом (2.19 - 2.22) уравнение (2.17) можно записать в общем виде:

$$\begin{aligned} u_B(\eta, S, t, E, f(\kappa a)) = \\ = \frac{\sqrt{c_\eta^2 \cdot \Delta\eta^2 + c_S^2 \cdot \Delta S^2 + c_t^2 \cdot \Delta t^2 + c_E^2 \cdot \Delta E^2 + c_{f(\kappa a)}^2 \cdot \Delta f(\kappa a)^2}}{\sqrt{3}} \end{aligned} \quad (2.23)$$

Как правило, наибольший вклад вносится погрешностями определения динамической вязкости, времени движения частиц и коэффициента Генри. В большинстве случаев, неопределенность измерений дзета-потенциала частиц реальных дисперсных сред с размерами частиц не более 10 мкм оптическими методами составляет менее 5 % в диапазоне значений дзета-потенциала от минус 150 до плюс 150 мВ.

2.5 Выводы по главе 2

В главе 2 исследованы существующие методы измерения дзета-потенциала частиц в жидких средах и решена задача по анализу существующих методов воспроизведения и измерений дзета-потенциала частиц в жидкостях и разработке комплексированного метода для создания эталонных средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала.

Разработанный комплексированный метод измерений включает следующие методы:

- комбинация оптических методов PALS + ELS;
- метод микроэлектрофореза.

Комплексирование электрокинетических и оптических методов обеспечивает диапазон измерений дзета-потенциала частиц в жидкостях от минус 150 до плюс 150 мВ с расширенной неопределенностью измерений ($k=2$) менее 5 %.

Метод микроэлектрофореза является первичным и позволяет непосредственно измерять электрофоретическую подвижность и рассчитывать дзета-потенциал в соответствии с теоретической моделью, описывающей реальную систему в эксперименте. Данный метод является гибким в применении, а также прослеживаемым к эталонам единиц величин вольта, метра и секунды, так как в процессе измерения роль играют путь частицы, напряжение между электродами и время движения частицы. Также метод микроэлектрофореза позволяет проводить измерения дзета-потенциала как фронта частиц, так и единичных частиц, что может быть полезно при некоторых экспериментальных работах. Однако, единственным существенным недостатком данного метода является зависимость величины погрешности измерений от человеческого фактора, т.е. операторная погрешность, которую, тем не менее, возможно минимизировать при автоматизации отсчета времени и пройденного частицей пути.

Комбинация оптических методов PALS + ELS является эквивалентной и выбрана с учетом ее высокой точности, широкого диапазона решаемых задач и применяемых теорий (как элементарных так и модифицированных), низкой операторной погрешности, достаточного большого диапазона размеров частиц для которых могут проводиться измерения (от единиц нанометров до десятков микрометров).

Методы, предполагающие заполнение гелем ячейки и отсеянные как имеющие крайне большую (достигающую десятков процентов) операторную погрешность, тем не менее в целом являются экспресс-методами для лабораторных анализов при изучении свойств белков и нуклеиновых кислот.

Акустический метод является узким по области применения, так как подходит для небольшого количества концентрированных реальных систем, а также имеет наибольшую неопределенность типа Б в силу большого количества влияющих факторов.

Метод анализа траекторий наночастиц является модификацией метода микроэлектрофореза с большей степенью автоматизации, но он также был исключен, в силу высокой стоимости технических реализаций и отсутствия значительных отличий результатов измерений от первичного метода.

Глава 3. Разработка средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях

3.1 Создание комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала

В состав комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала вошли 2 системы: микроэлектрофоретическая и основанная на комбинации методов PALS + ELS. Характеристики составных частей комплекса приведены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристики составных частей комплекса

Составная часть	Рабочий диапазон размеров измеряемых частиц, мкм	Рабочий диапазон счетных концентраций измеряемых частиц, см ⁻³	Диапазон измерений дзета-потенциала частиц, мВ
Метод микроэлектрофореза	от 5 до 200	от 10 до 100	от -150 до +150 мВ
Методы PALS + ELS	от 0,001 до 10	от 70 до 1000	от -150 до +150 мВ

Для технической реализации метода микроэлектрофореза обозначен ряд критериев, которым должен удовлетворять готовый прибор:

1. Возможность фокусировки камеры в неподвижном слое для исключения систематической погрешности от электроосмотического движения жидкости.

2. Отсутствие пузырьков газа в процессе измерения. Здесь стоит дать пояснение - после подачи напряжения на электроды из-за электролиза молекул воды (при работе в водной среде) происходит выделение газов на каждом электроде. Пузырьки газа распознаются как частицы при автоматическом анализе образца и вносят искажение в картину реальной системы при ручном анализе. Размер пузырьков составляет от единиц нанометров до десятков и сотен микрометров, что делает дальнейшее исследование свойств образца невозможным.

3. Возможность приложение напряжения к электродам в широком диапазоне значений (от 20 до 300 В) для работы как со слабозаряженными системами, так и с сильнозаряженными.

4. Термостабилизация электрофоретической ячейки или наличие датчика температуры для контроля параметров среды и внесения поправок.

На рисунке 3.1 приведена фотография составной части комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях методом микроэлектрофореза.

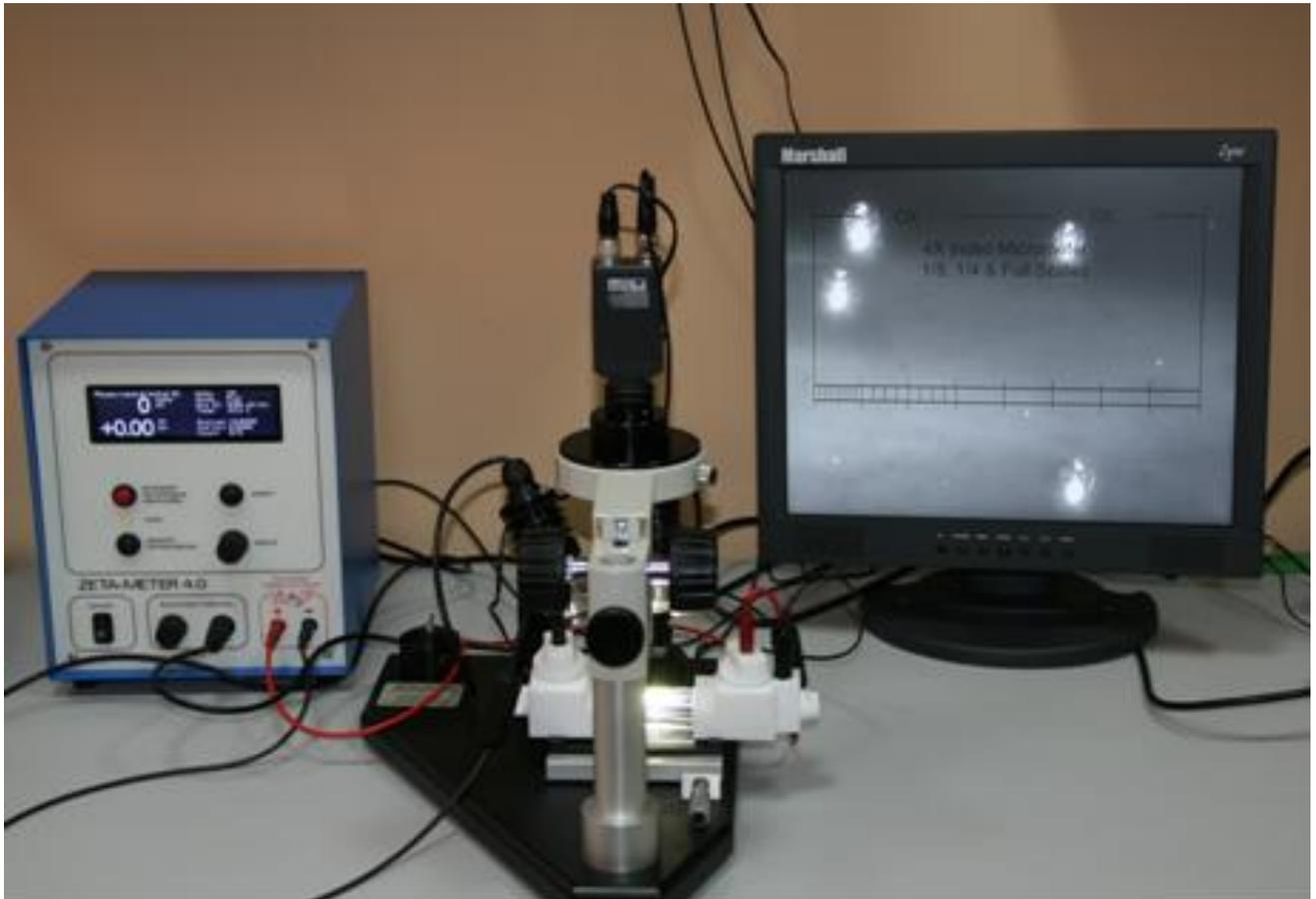


Рисунок 3.1. Составная часть комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях методом микроэлектрофореза на базе системы Zeta-Meter 4.0.

Составная часть включает в себя 4 основных блока:

1. Блок регулировки параметров измерения и вывода результатов измерения.
2. Столик с возможностью перемещения, осветителями и камерой для вывода изображения на экран.
3. Электрофоретическая ячейка.
4. Монитор для визуализации процесса измерения.

Электрофоретическая ячейка изготовлена из полированного плавленного кварца и тефлона и выдерживает как водные системы, так и органические растворители. Применение указанных материалов позволило добиться устойчивости к химическим веществам и механическим повреждениям (царапинам), и позволяет производить фокусировку камеры в неподвижном слое жидкости (критерий 1). В соответствии с критерием 2 камера катода открытая и выделяющийся в процессе измерений водород не попадает в образец. Камера анода закрытая, потому при образовании кислорода он должен вытеснять жидкость. В результате жидкость в трубке ячейки будет сдвигаться в сторону катода, приводя к ошибке в наблюдении коллоидных частиц. Данная ошибка является систематической составляющей погрешности и для ее устранения применяется молибденовый анод. Молибден соединяется с молекулами кислорода при их выделении, не давая образоваться пузырькам.

С помощью блока регулировки параметров существует возможность подачи напряжения на электроды в диапазоне от 20 до 300 В, а погружной термодатчик позволяет измерять температуру системы в процессе измерений для внесения необходимых корректировок в расчеты (критерии 3 и 4).

Составная часть комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях на основе комбинации методов PALS + ELS реализована на базе прибора Zetasizer Nano ZS, отобранного на заводе-производителе из серии как наилучшего по характеристикам элементной базы.

Процесс измерений электрофоретической подвижности и дзета-потенциала частиц автоматизирован полностью, за исключением процесса пробоподготовки.

В ходе измерений, пузырьки газа, растворенного в пробе, выделяются из-за приложения напряжения на электроды и распознаются прибором в качестве частиц, что вызывает большую систематическую погрешность (более 2 %). Для устранения данной систематической погрешности система доработана включением в нее дегазатора, в который до начала процесса измерений под давлением поступает образец. Внутри дегазатора расположена полупроницаемая мембрана, пропускающая газы и не пропускающая исследуемую суспензию.

Для обеспечения работы с реальными системами разной природы прибор доработан включением в его состав автотитратора с погружным электродом, позволяющего контролировать и изменять рН системы для нахождения изоэлектрических точек образцов и исследования влияния рН и ионной силы среды на значения дзета-потенциала частиц. Внешний вид доработанной системы показан на рисунке 3.2. Структурная схема деления разработанных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях приведена в Приложении 2.



Рисунок 3.2. Составная часть комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях на основе комбинации методов PALS + ELS.

а- Zetasizer Nano ZS, б - автотитратор, в- дегазатор.

3.2 Исследование метрологических характеристик комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц

Для разработанного комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц на основе метода микроэлектрофореза и комбинации оптических методов PALS+ELS вычислены значения среднего квадратического отклонения S (СКО), доверительных границ неисключенной систематической погрешности Θ_{Σ} (НСП) при доверительной вероятности $P=0,99$, неопределенности типа А u_a , неопределенности типа Б u_b , суммарной стандартной неопределенности u_c и расширенной неопределенности измерений U при коэффициенте охвата $k=2$. Условия проведения измерений приведены в таблице 2.

Таблица 2. Условия окружающей среды при измерения дзета-потенциала частиц

Дата измерения	Температура, °С	Влажность, %	Давление, кПа
23.10.2017	24	15,9	100,3
24.10.2017	24,5	16,1	101,5
25.10.2017	24,6	15,2	101,5
26.10.2017	24,6	18,3	99,86
27.10.2017	24,4	20,2	98,79
30.10.2017	24,9	22,7	96,53
31.10.2017	25,4	16,8	95,86
01.11.2017	24,9	15,1	101,5
02.11.2017	24,7	17,2	101,5
03.11.2017	22,1	20,3	101,1

В качестве образца применялся стандартный образец SRM 1980, прослеживаемый к Национальному институту метрологии США NIST.

Данный образец обеспечивает воспроизведение электрофоретической подвижности частиц в точке $2,53 \frac{\text{мкм} \cdot \text{см}}{\text{В} \cdot \text{с}}$ (соответствует дзета-потенциалу плюс 51 мВ) с расширенной неопределенностью измерений ($k=2$) $0,12 \frac{\text{мкм} \cdot \text{см}}{\text{В} \cdot \text{с}}$. Образец, созданный в США, является стабильным, однако обеспечивает

воспроизведение только одного значения дзета-потенциала. Это вызвано, прежде всего, негибкостью исходных материалов и условий существования образца в стабильном виде. Для создания SRM 1980 использован гётит (α -FeOOH), суспензия которого показала стабильные значения электрофоретической подвижности и дзета-потенциала в растворе электролита с pH = 2,5. SRM 1980 применялся при исследованиях эталонного комплекса из-за отсутствия в мире других образцов с утвержденными метрологическими характеристиками.

Значения среднего квадратического отклонения, выраженного в процентах, рассчитаны для десяти независимых измерений в соответствии с ГОСТ Р 8.736-2011 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения» по формуле (3.1):

$$S = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}}{\bar{x}} \cdot 100 \%, \quad (3.1)$$

где: x_i – i -й результат измерений дзета-потенциала в SRM 1980;

\bar{x} – среднее значение дзета-потенциала в SRM 1980 из 10-ти независимых измерений;

n – число измерений.

Результаты расчетов среднего квадратического отклонения значений дзета-потенциала в образце SRM 1980 приведены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты расчета среднего квадратического отклонения значений дзета-потенциала в образце SRM 1980

Метод измерения	
метод микроэлектрофореза	PALS+ELS
ζ_i , мВ	
54,64	52,27
51,52	51,97
51,35	53,43
51,77	54,76
54,45	54,73
51,5	53,2
53,05	54,86
52,71	54,84
53,41	52,54
52,83	53,01
$\bar{\zeta}$, мВ	
52,72	53,56
S , %	
2,3	2,2

Доверительные границы неисключенной систематической погрешности θ_{Σ} (НСП) при доверительной вероятности $P=0,99$ рассчитаны в соответствии с ГОСТ Р 8.736-2011 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения» по формуле (3.2):

$$\theta_{\Sigma}(P) = \pm k \sqrt{\sum_{i=1}^m \theta_i^2}, \quad (3.2)$$

где: P – доверительная вероятность, равная 0,99;

k - коэффициент, определяемый принятой доверительной вероятностью, числом составляющих НСП и их соотношением между собой. Для эталонного средства, основанного на комбинации оптических методов, коэффициент k равен 1,4. Для эталонного средства, основанного на методе микроэлектрофореза, коэффициент k найден графически (рисунок 3.3);

Θ_i – граница i -й НСП.

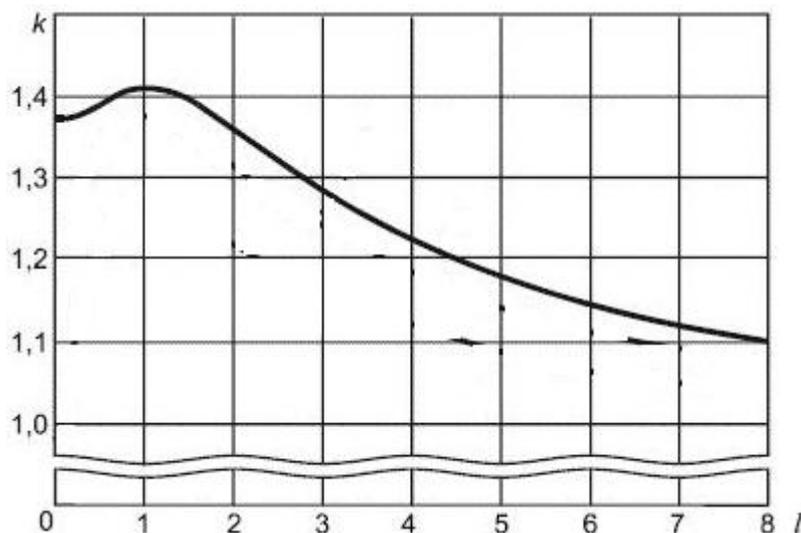


Рисунок 3.3. График зависимости $k(l)$ при $m=4$ [52].

Ось абсцисс соответствует значениям отношения $l = \Theta_1/\Theta_2$. При четырех суммируемых НСП в качестве Θ_1 принималась составляющая, по числовому значению наиболее отличающаяся от других – НСП определения пути частицы, в качестве Θ_2 принималась ближайшая к Θ_1 составляющая – НСП определения градиента напряжения на электродах [52]. Значение l находилось по уравнению (3.4):

$$l = \frac{\Theta_1}{\Theta_2} \approx 1,4 \quad (3.4)$$

Для метода микроэлектрофореза доверительные границы неисключенной систематической погрешности Θ_{Σ} (НСП) при доверительной вероятности $P=0,99$ находились по уравнению (3.5):

$$\Theta_{\Sigma}(0,99) = 1,4 \cdot \sqrt{\left(\frac{d\Theta_{\Sigma}}{d\eta} \Delta\eta\right)^2 + \left(\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dS} \Delta S\right)^2 + \left(\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dt} \Delta t\right)^2 + \left(\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dE} \Delta E\right)^2} \approx 2,1 \%, \quad (3.5)$$

где:

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{d\eta} \Delta\eta = \pm 0,8 \%$ - границы НСП определения динамической вязкости;

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dS} \Delta S = \pm 0,3 \%$ - границы НСП определения пути частицы;

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dt} \Delta t = \pm 1 \%$ - границы НСП определения времени движения частицы

толщина деления шкалы;

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dE} \Delta E = \pm 0,7 \%$ - границы НСП определения градиента напряжения на электродах.

Для комбинации оптических методов PALS+ELS доверительные границы неисключенной систематической погрешности Θ_{Σ} (НСП) при доверительной вероятности $P=0,99$ находились по уравнению (3.6):

$$\Theta_{\Sigma}(0,99) = 1,4 \cdot \sqrt{\left(\frac{du_B}{d\eta} \Delta\eta\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dS} \Delta S\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dt} \Delta t\right)^2 + \left(\frac{du_B}{dE} \Delta E\right)^2 + \left(\frac{du_B}{df(\kappa a)} \Delta f(\kappa a)\right)^2} \approx 2,4 \%, \quad (3.6)$$

где:

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{d\eta} \Delta\eta = \pm 0,8 \%$ - границы НСП определения динамической вязкости;

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dS} \Delta S = \pm 0,3 \%$ - границы НСП определения пути частицы;

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dt} \Delta t = \pm 1 \%$ - границы НСП определения времени движения частицы

толщина деления шкалы;

$\frac{d\Theta_{\Sigma}}{dE} \Delta E = \pm 0,7 \%$ - границы НСП определения градиента напряжения на электродах;

$\frac{du_B}{df(\kappa a)} \Delta f(\kappa a) = \pm 0,8 \%$ - границы НСП определения коэффициента Генри.

Значения неопределенности типа А находились в соответствии с ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC «Guide 98-3:2008 Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения» по формуле (3.7):

$$u_a = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n - 1)}}}{\bar{x}} \cdot 100 \%, \quad (3.7)$$

где: x_i – i -й результат измерений дзета-потенциала в SRM 1980;

\bar{x} – среднее значение дзета-потенциала в SRM 1980 из 10-ти независимых измерений;

n – число измерений.

Результаты расчетов неопределенности измерений типа А приведены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты расчетов неопределенности измерений типа А

Метод измерения	
метод микроэлектрофореза	PALS+ELS
ζ_i , мВ	
54,64	52,27
51,52	51,97
51,35	53,43
51,77	54,76
54,45	54,73
51,5	53,2
53,05	54,86
52,71	54,84
53,41	52,54
52,83	53,01
$\bar{\zeta}$, мВ	
52,72	53,56
u_a , %	
0,8	0,7

Значения неопределенности типа Б при доверительной вероятности $P=0,95$ находились по формуле (3.8), значения суммарной стандартной неопределенности находились по формуле (3.9), значения расширенной неопределенности при $k=2$ находились по формуле (3.10). Обобщенные результаты определения метрологических характеристик разработанного комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц на основе метода микроэлектрофореза и комбинации оптических методов PALS+ELS приведены в таблице 5.

$$u_b = \frac{\theta_{\Sigma}(P = 0,99)}{1,4 \cdot \sqrt{3}} \quad (3.8)$$

$$u_c = \sqrt{u_a^2 + u_b^2} \quad (3.9)$$

$$U(P = 0,95) = k \cdot \sqrt{u_a^2 + u_b^2} \quad (3.10)$$

Таблица 5. Обобщенные результаты определения метрологических характеристик разработанного комплекса эталонных средств

Метод измерения	
метод микроэлектрофореза	PALS+ELS
$S, \%$	
2,30	2,20
$\Theta, \%$	
2,10	2,40
$u_a, \%$	
0,80	0,70
$u_b, \%$	
0,90	1,00
$u_c, \%$	
1,21	1,23
$U, \%$	
2,41	2,45

3.3 Разработка средств передачи единицы дзета-потенциала

Критериями выбора исходных материалов являлись:

1. Сферичность частиц. Этот критерий крайне важен для оптических методов измерения дзета-потенциала, так как в расчетах характеристикой размера частиц применяется эквивалентный диаметр и любое отклонение от сферичности вызывает дополнительную погрешность;
2. возможность варьирования поверхностного заряда частиц для получения дзета-потенциала в диапазоне значений от минус 150 до плюс 150 мВ;
3. доступность исходных веществ и воспроизводимость их начальных характеристик.

В качестве возможных исходных веществ было рассмотрено более 30 материалов на основе латексных сфер, белков и белковых соединений, супрамолекулярных систем, оксидов веществ, наночастиц чистых веществ, липидов.

Несмотря на то, что в России уже проводились подобные исследования [53], всем трем критериям удовлетворяли только существующие меры размера и счетной концентрации частиц на основе полистирольных латексных сфер, бычий сывороточный альбумин и супрамолекулярные системы, синтезируемых совместно с кафедрой физической химии ТвГУ. Суспензии металлических наночастиц и оксидов металлов оказались непригодны для работы на их основе, так как подвержены слишком большому количеству разрушающих факторов (свет, нагрев свыше 30 °С, окисление при доступе воздуха).

В рамках исследования удовлетворяющих критериям материалов задача по выбору исходных материалов была разделена на 3 части:

- 1 Исследование существующих мер размера и счетной концентрации частиц на возможность их применения в качестве стандартных образцов дзета-потенциала частиц;
- 2 исследование частиц бычьего сывороточного альбумина, синтезируемого в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи на возможность его модификаций для создания стандартных образцов в требуемом

диапазоне;

3 исследование образцов на основе супрамолекулярных систем, синтезируемых совместно с кафедрой физической химии ТвГУ.

При описании первой части задачи следует дать пояснение: существующие меры размера и счетной концентрации частиц в жидкости являются крайне стабильными полимерными соединениями на основе стирола. В результате синтеза из "затравки" стирола образуются полистирольные частицы сферической формы с легко модифицируемой поверхностью (рисунок 3.4).

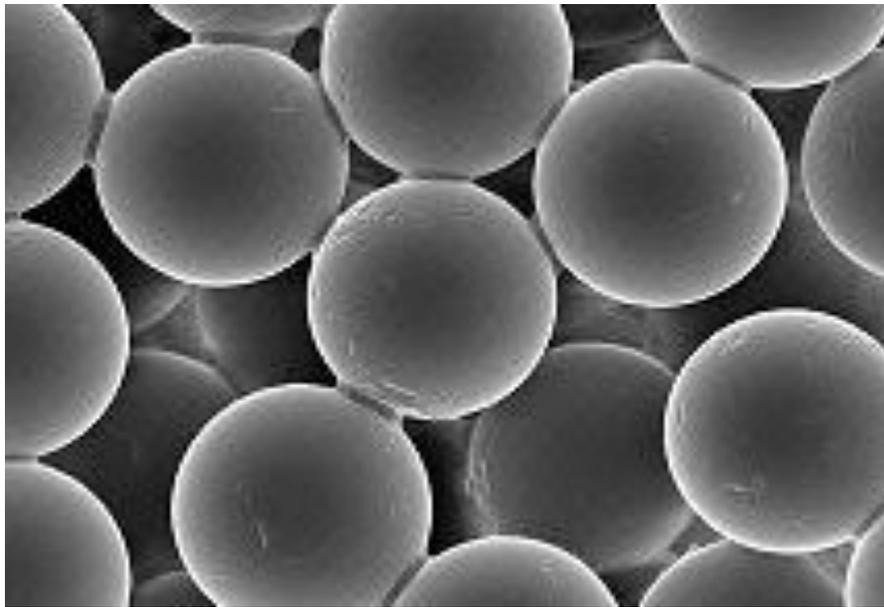


Рисунок 3.4. Полистирольные латексные сферы диаметром 40 нм

Было сделано предположение, что в зависимости от функциональных групп на поверхности латексных сфер, возможно получить разные значения поверхностного заряда и, соответственно, электрофоретической подвижности и дзета-потенциала частиц. В процессе практического решения данной задачи возник ряд трудностей, из-за которых пришлось отказаться от данного типа частиц.

Самыми распространенными модификаторами поверхности для полистирольных латексных сфер являются карбоксильные группы, которые в наиболее распространенном диапазоне рН обеспечивают наличие отрицательного поверхностного заряда на частицах латекса. Данный факт привел к тому, что при

измерении дзета-потенциала частиц латексных сфер с модифицированной поверхностью, в результате получался пик в области отрицательных значений дзета-потенциала (от -30 до -60 мВ в зависимости от модификатора). Результаты измерений представлены на рисунке 3.5.

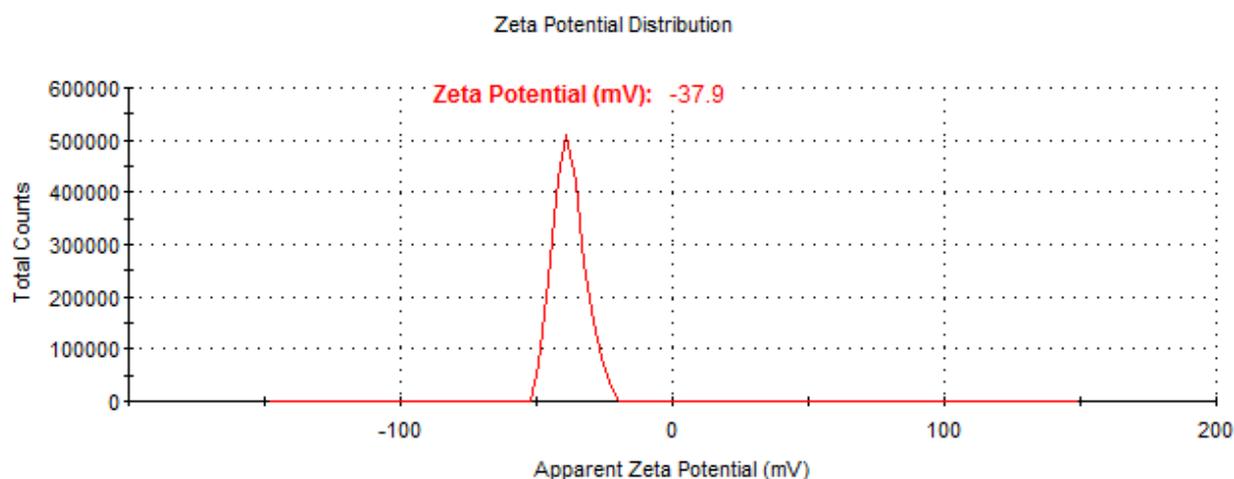


Рисунок 3.5. Измеренное значение (среднее по результатам 10 измерений) дзета-потенциала частиц латекса с поверхностью, модифицированной гидроксильными группами

Второй частью задачи являлось исследование частиц бычьего сывороточного альбумина, синтезируемого в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи на возможность его модификаций для создания стандартных образцов в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ.

Для приготовления суспензии применялись органические буферы PIPES, MES и Tris (рисунок 3.6).



Рисунок 3.6. Слева направо изображены буферы MES, Tris, PIPES. Под ними расположены суспензии бычьего сывороточного альбумина на основе данных буферов и измерительная кювета

На основе MES было приготовлено 3 образца с рН среды 6,2, 6,9, 7,3, соответственно. На основе PIPES также было приготовлено 3 образца с рН среды 5,5, 5,9, 6,2. На основе Tris был приготовлен 1 образец с рН среды 10,3. Для каждого значения рН было приготовлено 3 концентрации исходного вещества: 1 мг/мл, 10 мг/мл и 25 мг/мл.

В результате экспериментов наиболее стабильными оказались образцы с концентрацией бычьего сывороточного альбумина 1 мг/мл.

Результаты измерений (средние значения по результатам 10 измерений) полученных образцов представлены в таблице 6 и на рисунках 3.7-3.9.

Таблица 6. Результаты измерений (средние значения по результатам 10 измерений) дзета-потенциала частиц бычьего сывороточного альбумина в жидкости

№ п/п	Буфер	pH среды	Концентрация альбумина, мг/мл	Измеренное значение дзета-потенциала частиц альбумина, мВ	СКО по результатам 10 измерений дзета-потенциала, %
1	MES	6,2	1	-20,9	3,81
2	MES	6,9	1	-18,5	4,15
3	MES	7,3	1	-11,7	4,09
4	PIPES	5,5	1	-24,4	5,27
5	PIPES	5,9	1	-11,5	5,63
6	PIPES	6,2	1	-14,2	5,01
7	Tris	10,3	1	-37,3	6,88

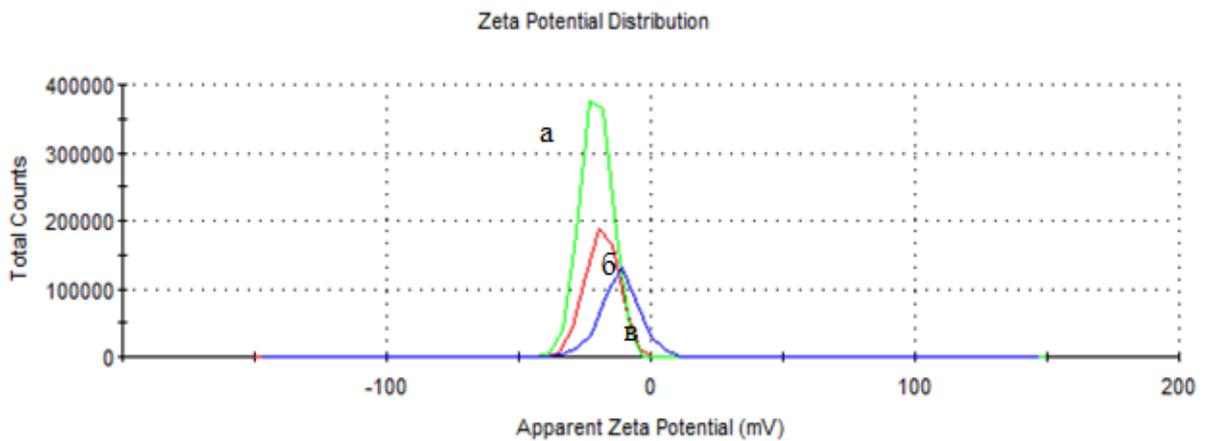


Рисунок 3.7. Результаты измерений (средние значения) дзета-потенциала частиц альбумина в буфере MES. а) с pH=6,2 (ζ =-20,9 мВ); б) с pH=6,9 (ζ =-18,5 мВ); в) с pH=7,3 (ζ =-11,7 мВ)

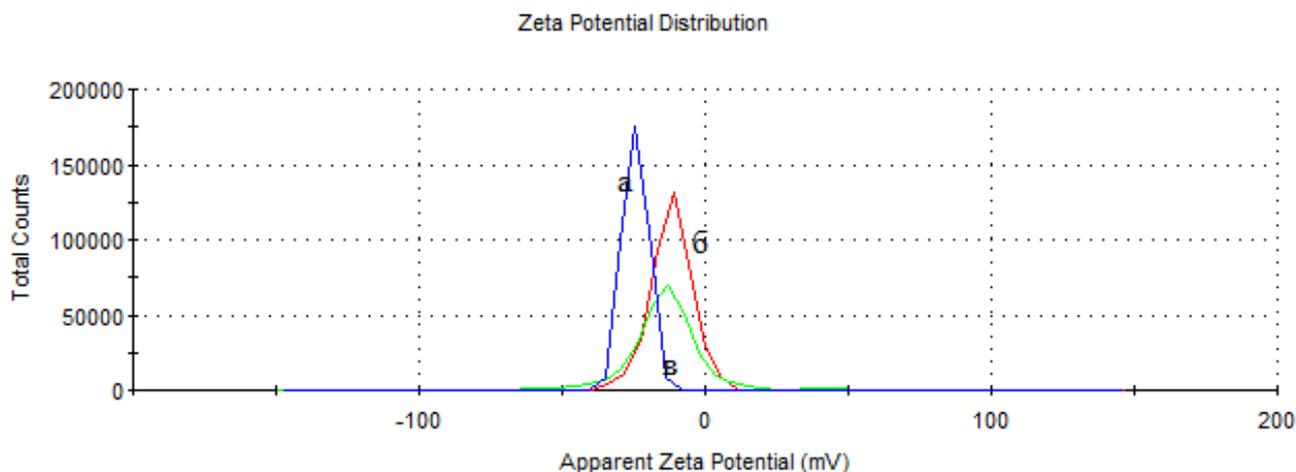


Рисунок 3.8. Результаты измерений (средние значения) дзета-потенциала частиц альбумина в буфере PIPES. а) с pH=5,5 (ζ =-24,4 мВ); б) с pH=5,9 (ζ =-11,5 мВ); в) с pH=6,2 (ζ =-14,2 мВ)

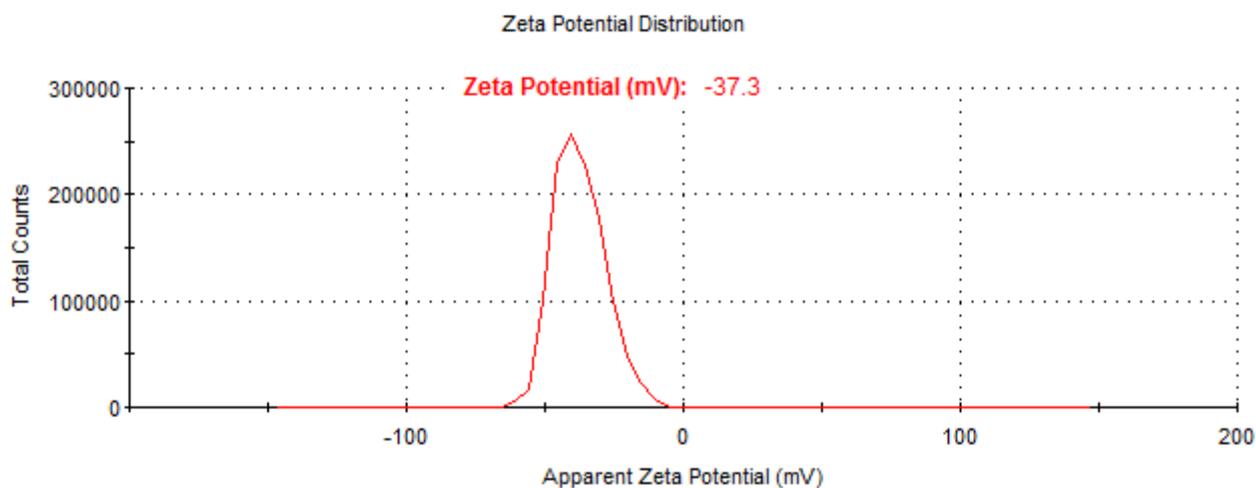


Рисунок 3.9. Результаты измерений (среднее значение) дзета-потенциала частиц альбумина в буфере Tris

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что бычий сывороточный альбумин реагирует на изменение среды (смена органических буферов и pH), но недостаточно для создания на его основе стандартных образцов.

Третьей частью задачи было исследование супрамолекулярных систем, изготовленных совместно с кафедрой физической химии ТвГУ.

Супрамолекулярные системы – это молекулярные ансамбли (или большие молекулы), которые обладают - как целое - специфическими свойствами, отличными от окружающей среды, и внутреннее строение и форма которых определяется нековалентными взаимодействиями атомов.

Это отличает супрамолекулярные системы от молекулярных систем, в которых строение определяется, в основном, ковалентными взаимодействиями.

Поскольку супрамолекулярные системы довольно устойчивые системы, они могут образовывать ансамбли – супрамолекулярные кристаллы, супрамолекулярные полимеры и т.д.

Возможность управлять строением супрамолекулярной системы при внешнем воздействии (например, при возбуждении светом) открывает возможность управления структурой получаемых супрамолекулярных кристаллов и полимеров и их свойствами.

С учетом вышесказанного, становится понятен выбор супрамолекулярных систем в качестве одного из возможных исходных материалов для создания стандартных образцов дзета-потенциала частиц в жидкости - возможность встраивания атомов одного вещества в структуру другого устойчивого вещества (например, аминокислоты), позволяет варьировать общий заряд системы и, соответственно, изменять дзета-потенциал образца.

В результате исследований исходных материалов выбраны системы на основе водных растворов L-цистеина (L-cysteine) и ацетата серебра (ЦСРац) и N-ацетил-L-цистеина (N-Acet-L-cysteine) и ацетата серебра (НАЦац). Сначала были исследованы параметры самоорганизации супрамолекулярных растворов для получения серии образцов в положительном диапазоне значений дзета-потенциала. Установлено, что основными параметрами в приготовлении растворов ЦСРац и НАЦац для задания значений дзета-потенциала является концентрация аминокислот и соли серебра в готовых растворах образцов. Также были исследованы изменения значений дзета-потенциала путем изменения молярных соотношений аминокислота/серебро. Известно, что в системах ЦСРац изменение молярных соотношений аминокислота/серебро ниже 1:1,23 и выше

1:1,27 приводит к разрушению систем и выпадению осадка меркаптида серебра [54,55], поэтому в качестве способов варьирования параметров синтеза образцов ЦСРац наиболее эффективно ограничиться изменением концентрации образцов при соотношении 1:1,25.

Для определения эффективных концентрационных условий для предлагаемых растворов были изучены размеры агрегатов с помощью методов динамического светорассеяния, так как этот метод позволяет оценить и сравнить размеры агрегатов в растворах не разрушая структуры супрамолекулярных систем. На рисунке 3.10 приведены распределения агрегатов по размерам в растворах ЦСРац на основе L-цистеина и ацетата серебра в зависимости от концентрации систем. Установлено, что по мере уменьшения концентрации агрегатов в растворе уменьшается степень полидисперсности агрегатов по размерам и увеличивается их размер. Так, увеличение объема воды и уменьшение концентрации в 2 раза от 3 мМ до 1,5 мМ приводит к увеличению гидродинамического диаметра частиц со 120 нм до 150 нм. Дальнейшее уменьшение концентрации не приводит к количественным изменениям значений дзета-потенциала агрегатов систем. Это указывает на то, что агрегаты в концентрации 1,5 мМ уже приобрели наиболее эффективный размер потенциалоопределяющего слоя ДЭС и дальнейшее разбавление лишь уменьшает число рассеивающих центров. Номинальные значения дзета-потенциала составили плюс 33,2 мВ для концентрации 3 мМ, плюс 67,8 мВ для концентрации 1,5 и плюс 131,6 мВ для концентрации 0,75 мМ (таблица 7). Контроль, производимый методом вибрационной вискозиметрией, показывает, что все системы обладают динамической вязкостью ниже 10 мПа·с – от 1,1 до 1,5 мПа·с при температуре 23 °С.

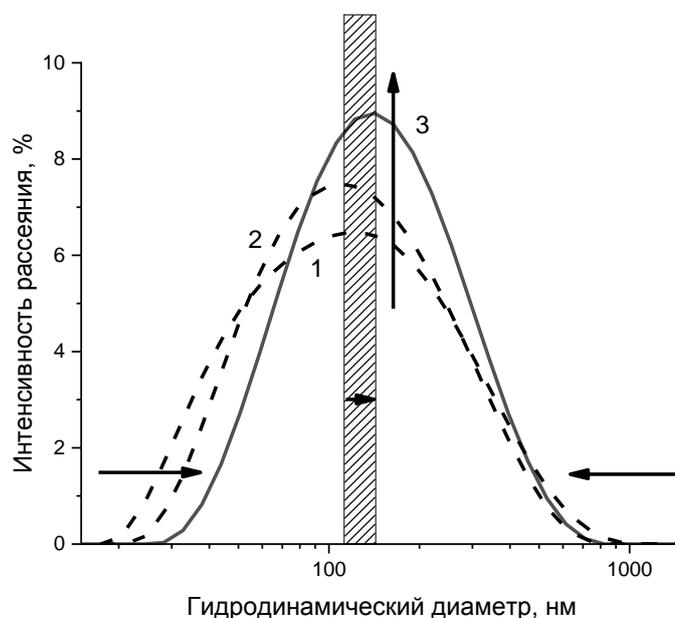


Рисунок 3.10. Изменение размеров агрегатов в системе на основе L-цистеина и ацетата серебра в зависимости от концентрации исходных веществ по аминокислоте в растворе, 1 – концентрация 3 мМ, 2 – 1,5 мМ, 3 – 0,75 мМ

Таблица 7. Результаты измерений (средние значения по результатам 10 измерений) дзета-потенциала в супрамолекулярных системах ЦСРац

№ п/п	Система	Концентрация аминокислоты	Значение дзета-потенциала, мВ
1	L-cysteine + AgCOOCH ₃	3 мМ	+33,2
2	L-cysteine + AgCOOCH ₃	1,5 мМ	+67,8
3	L-cysteine + AgCOOCH ₃	0,75 мМ	+131,6

В ходе работы по созданию образцов с отрицательными значениями дзета-потенциала были исследованы параметры самоорганизации супрамолекулярных растворов на основе НАЦац. В случае с системами НАЦац на основе N-ацетил-L-цистеина и ацетата серебра (рисунок 3.11) распределение агрегатов по размерам характерна би- и тримодальность с основными модами от 20 до 25 нм и свыше 7000 нм. В ходе исследований установлено, что уменьшение концентрации приводит к уменьшению степени полидисперсности для агрегатов в системе с размерами частиц более 100 нм, что дополнительно стабилизирует

систему и увеличивает значение дзета-потенциала [56]. Таким образом, было установлено, что изменения концентрации водных растворов-прекурсоров (N-ацетил-L-цистеина и ацетата серебра) в готовых образцах с отрицательным значением дзета-потенциала в меньшую сторону – от 5 мМ до 1 мМ по содержанию N-ацетил-L-цистеина приводило к уменьшению значения дзета-потенциала от минус 29,6 мВ до минус 124,3 мВ (таблица 8). Контроль, производимый методом вибрационной вискозиметрией, показывает, что все системы обладают динамической вязкостью ниже 10 мПа·с - от 2,3 мПа·с до 2,8 мПа·с.

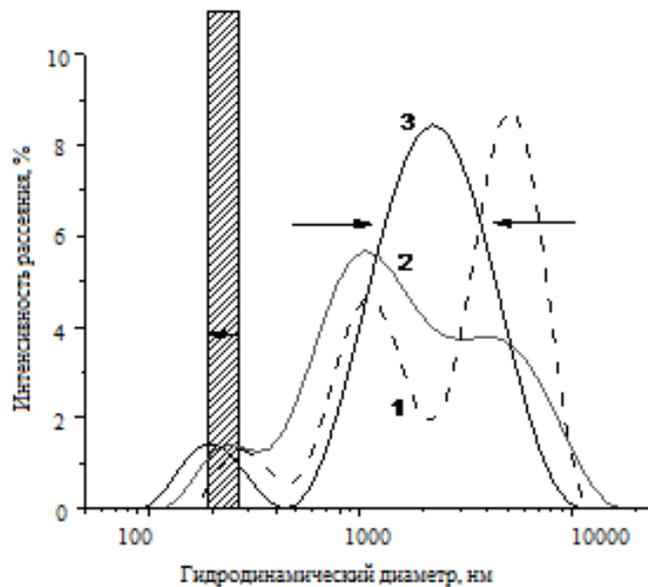


Рисунок 3.11. Изменение размеров агрегатов в системе НАЦац в зависимости от концентрации исходных веществ по аминокислоте в растворе,

1 – концентрация 5 мМ, 2 – 2,5 мМ, 3 – 1 мМ

Таблица 8. Результаты измерений (средние значения по результатам 10 измерений) дзета-потенциала в супрамолекулярных системах на основе НАЦац

№ п/п	Система	Концентрация аминокислоты	Значение дзета-потенциала, мВ
1	N-Acet-L-cysteine + AgCOOCH ₃	5 мМ	-29,6
2	N-Acet-L-cysteine + AgCOOCH ₃	2,5 мМ	-61,4
3	N-Acet-L-cysteine + AgCOOCH ₃	1 мМ	-124,3

Для систем НАЦац были проведены исследования влияния соотношений аминокислота/серебро в диапазонах от 0,7:1 до 1:1,3. Методом вибрационной вискозиметрии установлено, что при соотношениях от 0,7:1 до 0,9:1 происходит увеличение вязкости образцов до состояния гидрогелей (от 11 до 12 мПа·с) и они не пригодны для измерений дзета-потенциала и использования в качестве средств передачи, так как в них начинаются процессы гелеобразования. При увеличении содержания серебра происходит дополнительное увеличение вязкости систем до значений динамической вязкости 5 мПа·с и увеличение дзета-потенциала до значений минус 40 мВ. Исходя из полученных данных для образцов в положительном и отрицательном диапазоне дзета-потенциала, общим методом является варьирование концентрации аминокислоты и ацетата серебра в готовых образцах, для систем НАЦац в отрицательном диапазоне также возможно использование молярных соотношений 1:1 и 1:1,3. Увеличение молярного соотношения выше 1:1,4 приводит к разрушению систем. Данный результат позволяет сделать вывод о возможности в дальнейшем создания дополнительных образцов в диапазоне значений дзета-потенциала от минус 150 до плюс 150 мВ.

Следующей задачей в рамках создания средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях являлась разработка методов изменения значений дзета-потенциала синтезированных супрамолекулярных растворов. Были проведены исследования влияния введения электролитов на ДЭС агрегатов ЦСРац и НАЦац с целью определения эффективных способов их стабилизации и модернизации. Были использованы электролиты – хлорид натрия, сульфат натрия, вольфрамат натрия, молибдат натрия. Согласно проведенным ранее исследованиям [57, 58], в электролитах в равной степени на ДЭС влияют как катион, так и анион, а в случае их специфического сродства к агрегатам возможно разрушение систем. Поэтому были выбраны соли такого состава, что могут как разрядить слой противоионов агрегатов, тем самым увеличив его, так и не вступить во специфическое деструктивное взаимодействие. В результате было установлено, что введение молибдата натрия приводило к увеличению ДЭС агрегатов и, соответственно, увеличению дзета-потенциала до значений свыше

плюс 120 мВ вне зависимости от исходной концентрации ЦСРац (таблица 9). Введение хлорида натрия приводило к уменьшению значений дзета-потенциала до плюс 30 мВ в системах ЦСРац и постепенному выпадению белого осадка хлорида серебра (таблица 9). Введение вольфрамата натрия также приводило к уменьшению значений дзета-потенциала до значений плюс 40 мВ (таблица 9). Наиболее оптимальным по результатам проведенных исследований является введение малых количеств сульфата натрия – до 0,1 мМ – это приводит к уменьшению значений дзета-потенциала систем ЦСРац до значений плюс 55 мВ, при этом достигается наименьшее значение среднеквадратичного отклонения значений дзета-потенциала (таблица 9). Также все образцы, кроме сульфата натрия, со временем разрушались, что указывает на протекание специфических реакций. Введение 0,1% раствора по массовому содержанию поливинилового спирта ПВС не вызывало деструкции агрегатов растворов ЦСРац, происходило уменьшение значений дзета-потенциала до уровня плюс 55 мВ, предположительно, это достигалось путем уменьшения подвижности агрегатов ЦСРац за счет электростатических и водородных взаимодействий в капилляре кюветы с молекулами ПВС. Введение большего или меньшего количества ПВС либо не приводило к изменению дзета-потенциала агрегатов ЦСРац, либо приводило к уменьшению значений дзета-потенциала до плюс 25 мВ (таблица 9). Это предположение подтверждает сравнение графиков осцилляции агрегатов во время электрофореза (рисунок 3.12), на них видно, что увеличение концентрации ПВС приводит к уменьшению амплитуды осцилляции агрегатов. Уменьшение амплитуды осцилляции негативно влияет на достоверность полученных данных, поэтому изменение дзета-потенциала агрегатов ЦСРац введением ПВС нецелесообразно.

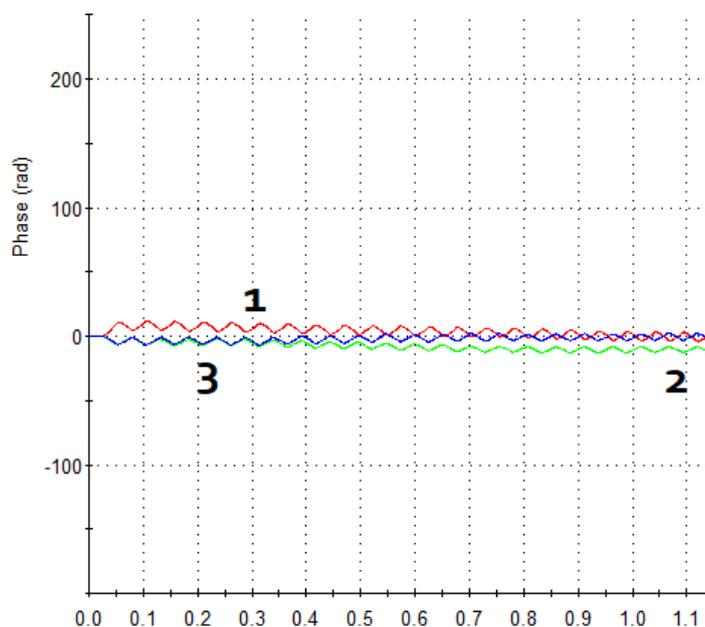


Рисунок 3.12 Графики осцилляции агрегатов ЦСРац во время электрофореза при переменном токе при введении различного количества ПВС: 1 – 0,01 мл 0,1% ПВС, 2 – 0,01 мл 1% ПВС, 3 - 0,01 мл 2,5% ПВС

Таблица 9. Измеренные значения дзета-потенциала частиц в системах ЦСРац в зависимости от добавляемых электролитов

№ п/п	Образец	Значение дзета-потенциала, мВ
1	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,25 мМ сульфата натрия	+37
2	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,1 мМ сульфата натрия	+40
3	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,25 мМ хлорида натрия	+39
4	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,1 мМ хлорида натрия	+48
5	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,25 мМ вольфрамата натрия	+57
6	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,1 мМ вольфрамата натрия	+46
7	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,25 мМ молибдата натрия	+97
8	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,1 мМ молибдата натрия	+85
9	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,01 мл 0,1% ПВС	+41
10	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,01 мл 1% ПВС	+33
11	ЦСРац 1:1,25 1,5мМ + 0,01 мл 2,5% ПВС	+23

В системах НАЦац введение различных электролитов приводило к разрушению систем и уменьшению дзета-потенциала до значений от минус 20 до минус 35 мВ (таблица 10).

Таблица 10. Измеренные значения дзета-потенциала частиц в системах ЦСРац в зависимости от добавляемых электролитов

№ п/п	Образец	Значение дзета-потенциала, мВ
1	НАЦац 1:1 0,75 мМ + 0,01 мл 0,1% ПВС	-26
2	НАЦац 1:1 0,75 мМ + 0,1 мМ сульфата натрия	-32
3	НАЦац 1:1 0,75 мМ + 0,1 мМ хлорида натрия	-19
4	НАЦац 1:1 0,75 мМ + 0,1 мМ вольфрамата натрия	-34
5	НАЦац 1:1 0,75 мМ+ 0,1 мМ молибдата натрия	-24
6	НАЦац 1:1,3 0,75 мМ + 0,01 мл 0,1% ПВС	-42
7	НАЦац 1:1,3 0,75 мМ+ 0,1 мМ сульфата натрия	-34
8	НАЦац 1:1,3 0,75 мМ + 0,1 мМ хлорида натрия	-28
9	НАЦац 1:1,3 0,75 мМ + 0,1 мМ вольфрамата натрия	-36
10	НАЦац 1:1,3 0,75 мМ+ 0,1 мМ молибдата натрия	-25

Дополнительно в рамках исследования способов стабилизации полученных образцов были проведены исследования влияния рН на значений дзета-потенциала агрегатов в выбранных на предыдущем этапе системах – для положительного диапазона это системы ЦСРац 1:1,25 в концентрациях 3 мМ и 1,5 мМ по аминокислоте, для отрицательного диапазона это системы НАЦац 1:1 и 1:1,3 в концентрациях 2,5 мМ и 1 мМ по аминокислоте (таблица 11). Установлено, что в системах ЦСРац рН равен 4 для выбранных концентраций. Увеличение значений рН от 4 до 7 путем титрования 0,01 Н щелочью гидроксида калия приводит к изменению ДЭС агрегатов и уменьшению значений дзета-потенциала вплоть до перезарядки системы в отрицательный диапазон значений минус 20 мВ (таблица 11). Согласно данным, регистрируемым УФ-спектрометрией, увеличение рН выше 5 снижает устойчивость систем и приводит к изменению и разрушению исходных агрегатов и непригодностью для дальнейших измерений дзета-потенциала. Уменьшение значений рН с 4 до 3 путем титрования 0,01 Н уксусной кислотой приводит к уменьшению значений дзета-потенциала систем ЦСРац до значений плюс 30 мВ. Это возможно объяснить укрупнением и дополнительной самоорганизацией агрегатов и уменьшении их эффективного ДЭС. В целом, изменение кислотности растворов по своему принципу действия на агрегаты схоже с введением электролитов. В

системах НАЦац 1:1 и 1:1,3 значений рН в выбранных образцах значение рН находится в диапазоне от 3,3 до 3,7. Изменение значений рН выше или ниже этого диапазона путем титрования 0,01 Н раствором щелочи гидроксида калия или 0,01 Н раствором уксусной кислоты приводит или к образованию гидрогеля, непригодного для измерений дзета-потенциала. При значениях рН меньше 3,3, значение динамической вязкости составила 11 мПа·с, при увеличении значения рН выше 3,7 происходило разрушение агрегатов и выпадение осадка меркаптида серебра. Эти явления доказывают чувствительность потенциалоопределяющего слоя и слоя противоионов ДЭС агрегатов систем НАЦац.

Таблица 11. Значение дзета-потенциала систем ЦСРац и НАЦац в зависимости от рН среды.

рН	Дзета- потенциал, мВ, НАЦац 1:1, 2,5 мМ	Дзета- потенциал, мВ, НАЦац 1:1, 0,75 мМ	Дзета- потенциал, мВ, НАЦац 1:1,3, 2,5 мМ	Дзета- потенциал, мВ, НАЦац 1:1,3, 0,75 мМ	Дзета- потенциал, мВ, ЦСРац 1:1,25, 3 мМ	Дзета- потенциал, мВ, ЦСРац 1:1,25, 1,5 мМ
3	-29	-33	-24	-27	+35	+35
4	-38	-41	-36	-39	+58	+63
5	-	-	-	-	+40	+45
6	-	-	-	-	-11	-15
7	-	-	-	-	-24	-26

По результатам проведенных исследований применимости супрамолекулярных систем ЦСРац и НАЦац в качестве средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях, а также методов их стабилизации, установлено, что системы, указанные в таблицах 7-8 удовлетворяют требованиям, предъявляемым к средствам передачи в части диапазона измерений от минус 150 до плюс 150 мВ. Результаты измерений значений дзета-потенциала частиц в ЦСРац и НАЦац (средние значения по результатам 10 измерений) приведены в таблицах 7-8 и на рисунках 3.13-3.14. Микрофотографии и результаты измерений размеров и концентрации частиц в полученных образцах приведены на рисунках 3.15-3.18.

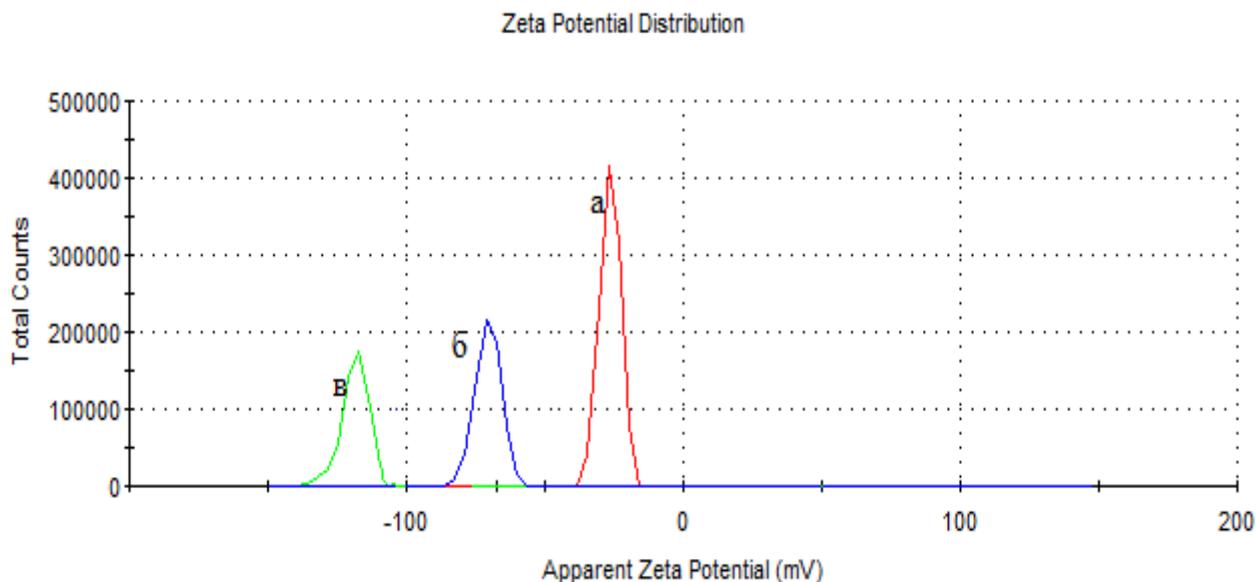


Рисунок 3.13. Результаты измерений (средние значения) дзета-потенциала в системе N-Acet-L-cysteine + AgCOOCH₃. а) с соотношением компонентов 1:1 ($\zeta = -29,6$ мВ); б) с соотношением компонентов 1:1,2 ($\zeta = -61,4$ мВ); в) с соотношением компонентов 1:1,3 ($\zeta = -124,3$ мВ)

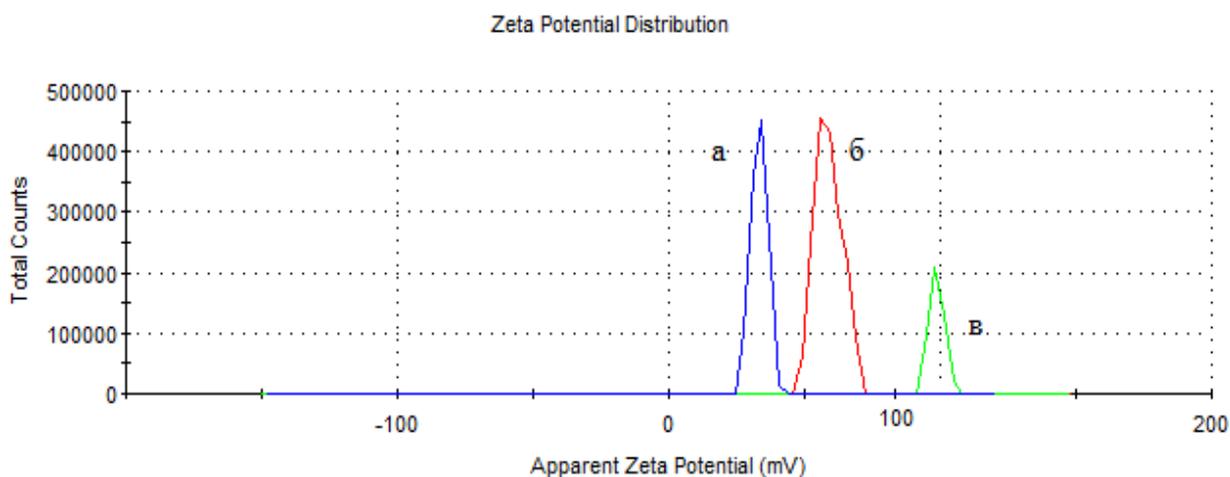


Рисунок 3.14. Результаты измерений (средние значения) дзета-потенциала в системе L-cysteine + AgCOOCH₃. а) с соотношением компонентов 1:1 ($\zeta = +33,2$ мВ); б) с соотношением компонентов 1:1,12 ($\zeta = +67,8$ мВ); в) с соотношением компонентов 1:1,25 ($\zeta = +131,6$ мВ)

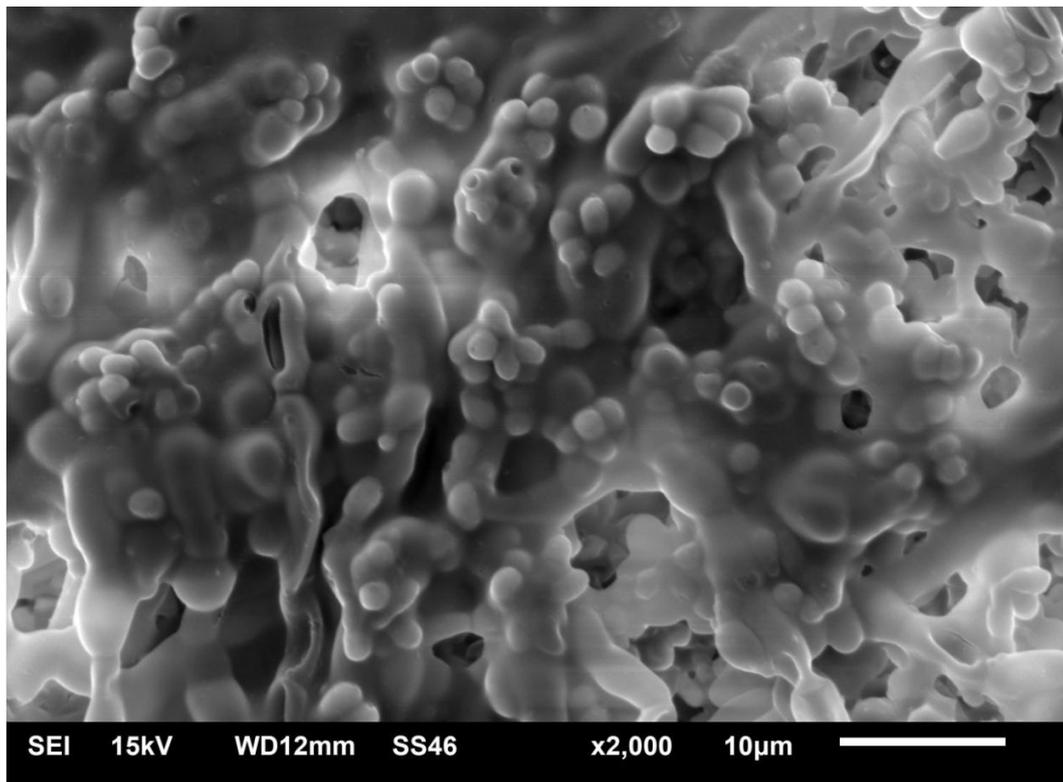


Рисунок 3.15. Микрофотография сканирующей электронной микроскопией частиц в системах НАЦац.

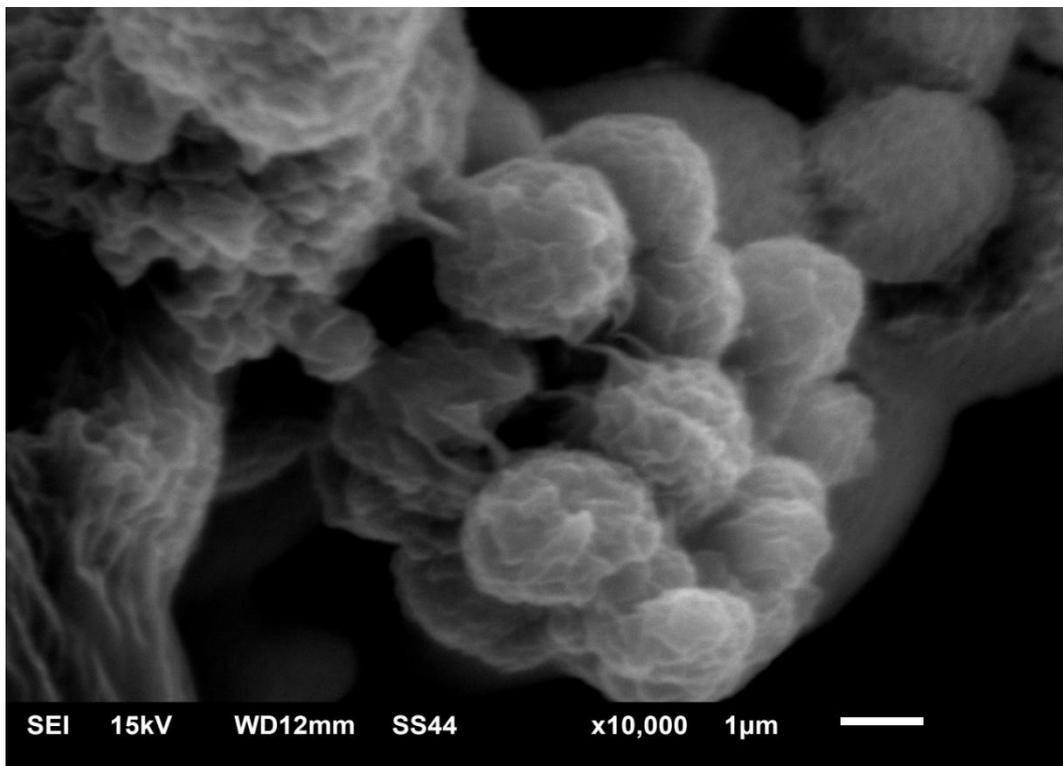


Рисунок 3.16. Микрофотография сканирующей электронной микроскопией частиц в системах ЦСРац

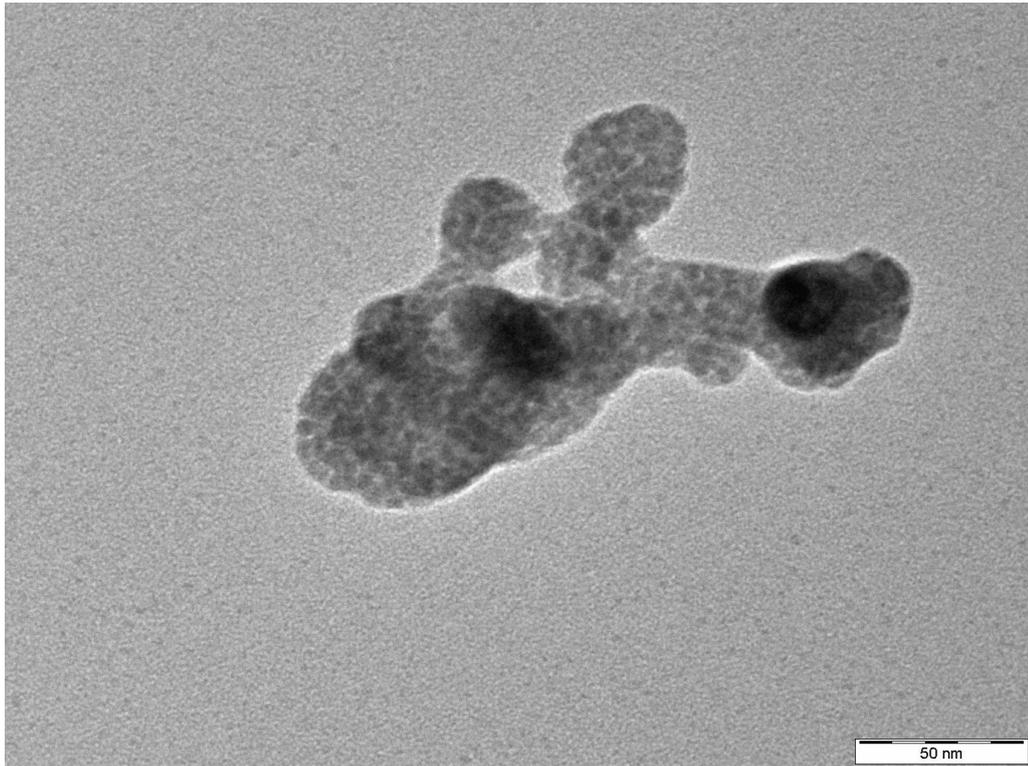


Рисунок 3.17. Микрофотография просвечивающей электронной микроскопией частиц в системах ЦСРац

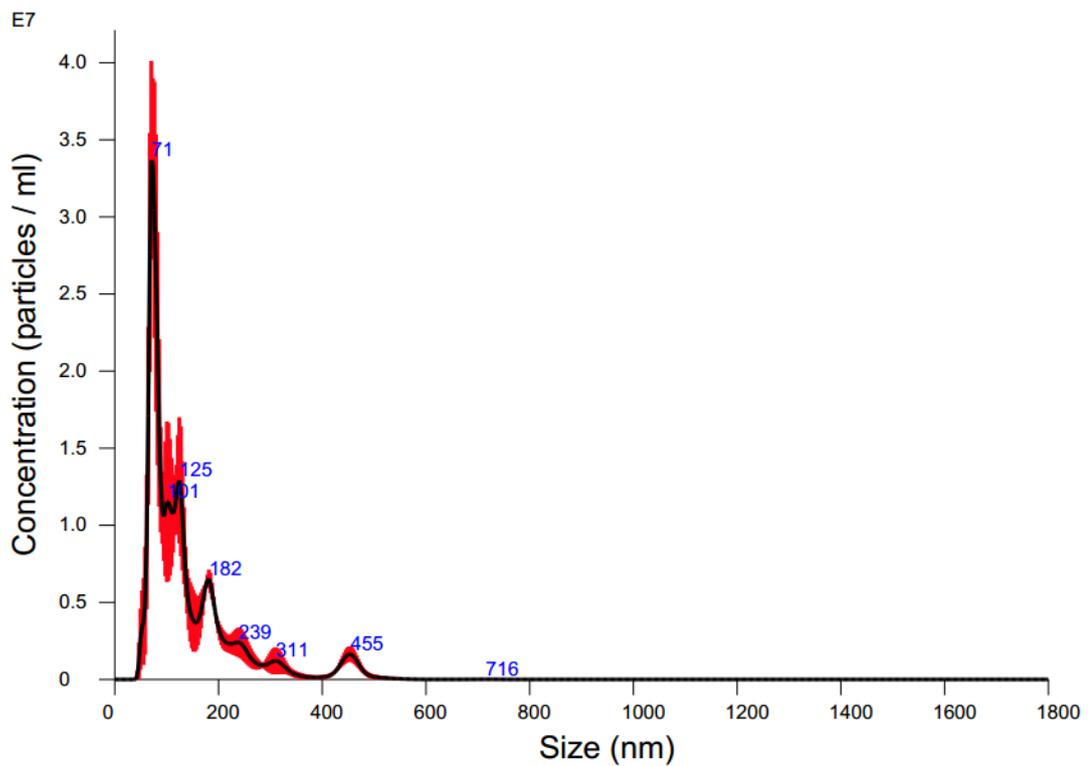


Рисунок 3.18. Результаты измерений методом анализа траекторий наночастиц размеров частиц в образцах ЦСРац

3.4 Исследование метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц

Работа по исследованию метрологических характеристик средств передачи единицы дзета-потенциала частиц велась с февраля 2018 года по декабрь 2019 года, измерения проводились не реже, чем раз в месяц (по 10 измерений для каждого образца). Измерения проводились на разработанном комплексе эталонных средств, прошедшем процедуру аттестации межведомственной комиссии Росстандарта в качестве первичного эталона. Метрологические характеристики комплекса приведены в таблице 12.

Таблица 12. Метрологические характеристики применяемого оборудования

Величина	Диапазон воспроизведения	S , %	Θ , %
Электрофоретическая подвижность частиц	от $-2 \cdot 10^{-7}$ до $+2 \cdot 10^{-7}$ м ² /(В·с)	1,4...1,6	1,6...1,8
Дзета-потенциал частиц	от -150 до +150 мВ	2,2...2,3	2,1...2,4
<p>Примечание – S – относительное среднее квадратическое отклонение результатов измерений при 10 независимых измерениях, Θ – неисключенная систематическая погрешность измерений при доверительной вероятности 0,99</p>			

В результате исследования долговременной стабильности за 18 месяцев установлено, что максимальная нестабильность значений дзета-потенциала не превышает 4 % (планки погрешности на рисунках 3.19-3.24)

Нестабильность средств передачи единицы дзета-потенциала

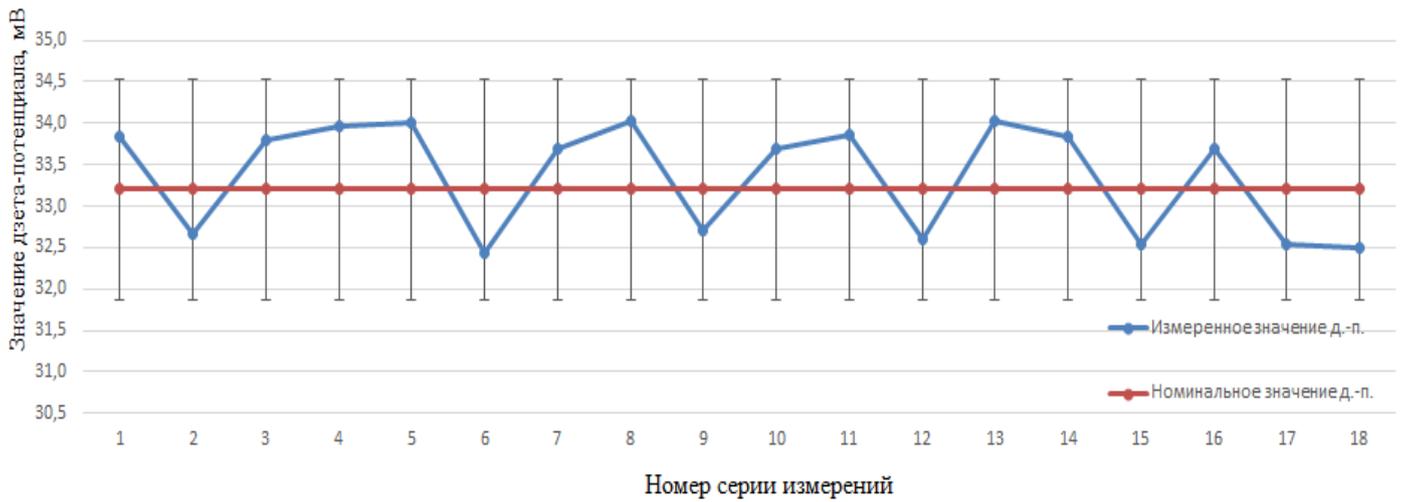


Рисунок 3.19. Максимальная нестабильность метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в образце +33,2 мВ

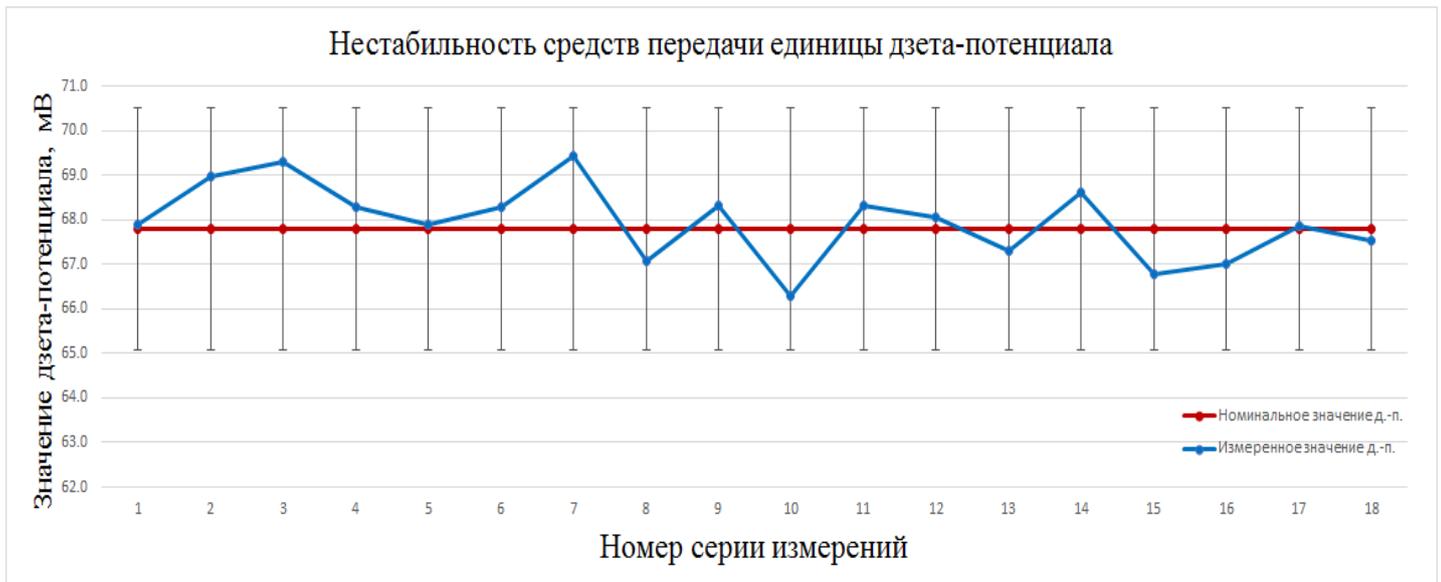


Рисунок 3.20. Максимальная нестабильность метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в образце +67,8 мВ

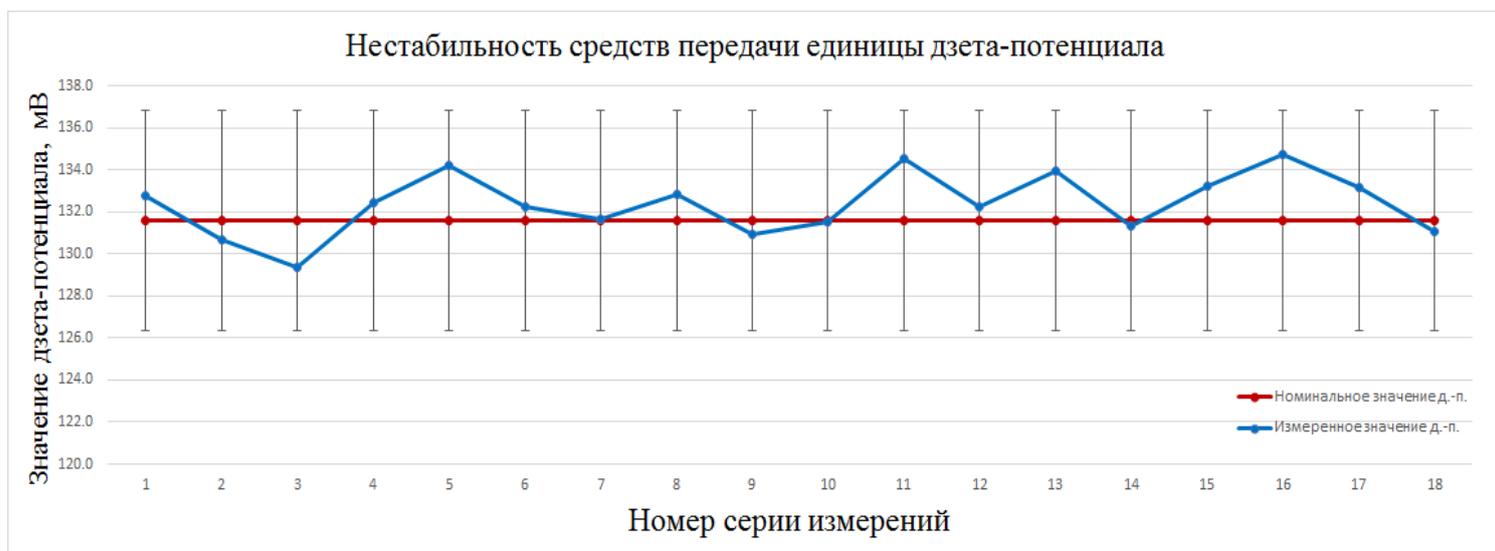


Рисунок 3.21. Максимальная нестабильность метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в образце +131,6 мВ

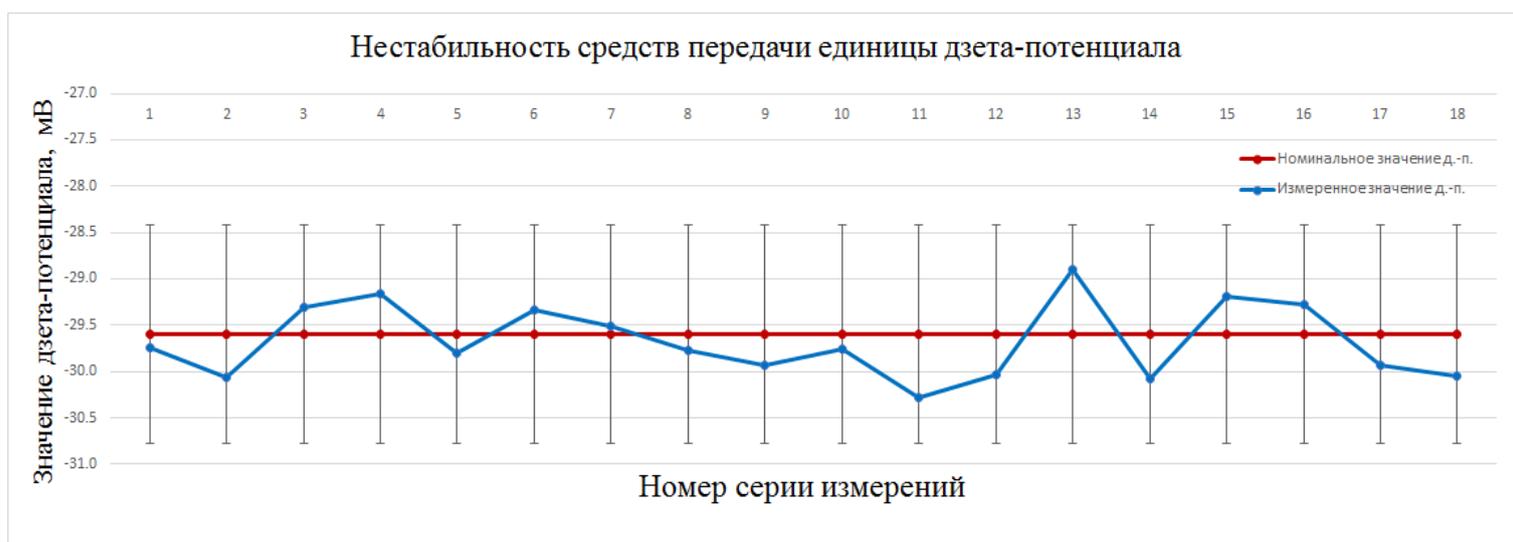


Рисунок 3.22. Максимальная нестабильность метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в образце -29,6 мВ

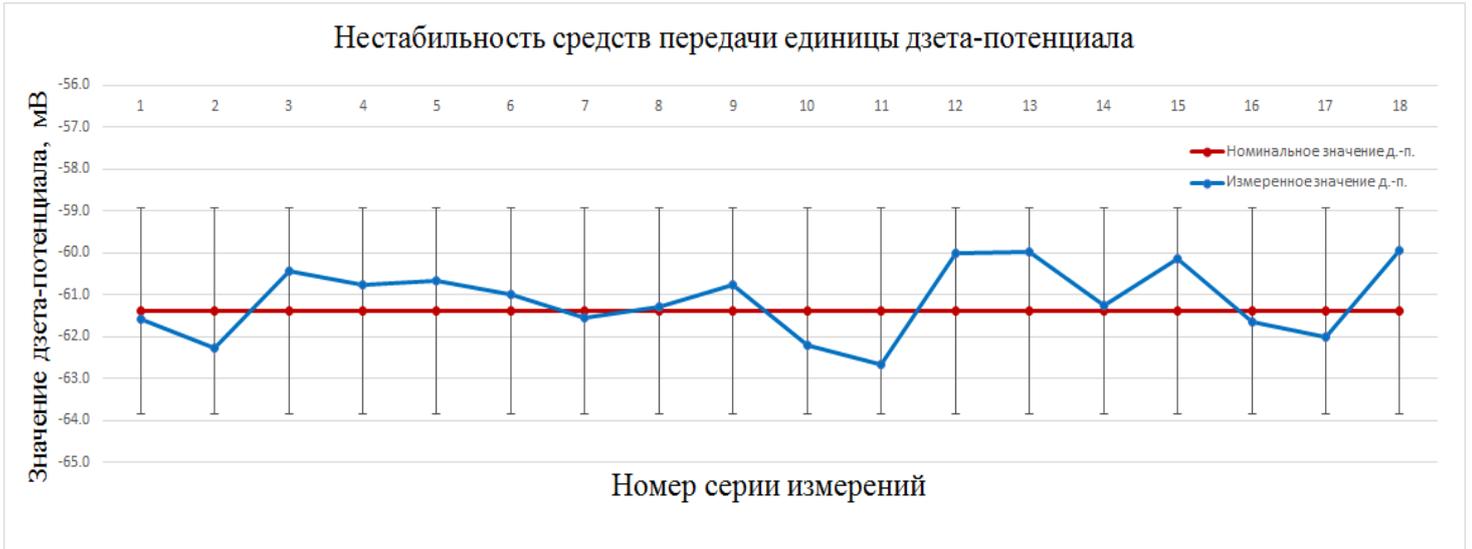


Рисунок 3.23. Максимальная нестабильность метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в образце -61,4 мВ



Рисунок 3.24. Максимальная нестабильность метрологических характеристик разработанных средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в образце -124,3 мВ

3.5 Выводы по главе 3

В рамках работы создан и испытан комплекс эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала, состоящий из двух составных частей: на основе микроэлектрофореза и комбинации оптических методов PALS + ELS.

Значения неисключенной систематической погрешности измерений при воспроизведении единицы дзета-потенциала частиц в жидкости и среднего квадратического отклонения результатов измерений дзета-потенциала на созданном комплексе эталонных средств не превышают $\pm 3\%$.

Данный комплекс прошел процедуру аттестации в качестве первичного эталона и по результатам межведомственной комиссии Росстандарта включен в состав Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163. Расширенная неопределенность измерений на эталонном комплексе дзета-потенциала не превышает 5% при $k=2$.

Использование разработанных супрамолекулярных систем на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра, N-ацетин L-цистеина и ацетата серебра в качестве средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях обеспечивает передачу единицы в существующем диапазоне значений от минус 150 до плюс 150 мВ.

Средства передачи единицы дзета-потенциала на основе супрамолекулярных систем обеспечивают максимальную нестабильность метрологических характеристик не более $\pm 4\%$ на протяжении 1 года.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы достигнута основная цель, заключающаяся в разработке методов и средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала частиц.

В процессе достижения основной цели работы, решены следующие задачи:

1. Проведен анализ существующих методов воспроизведения и измерений дзета-потенциала частиц в жидкостях и разработан комплексированный метод, реализованный в созданном комплексе эталонных средств воспроизведения и передачи единицы дзета-потенциала.

2. Разработан комплекс эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.

3. Исследованы метрологические характеристики разработанного комплекса средств воспроизведения единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.

4. Разработаны средства передачи дзета-потенциала частиц в жидкостях.

5. Исследованы метрологические характеристики средств передачи дзета-потенциала частиц в жидкостях.

6. Разработан порядок передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях.

Доказаны положения, выносимые на защиту:

1. Удовлетворены требования промышленности по измерению дзета-потенциала частиц в жидкостях путем исследования и комплексирования методов измерения дзета-потенциала частиц в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ с расширенной неопределенностью измерений ($k=2$) менее 5 %.

2. Значения неисключенной систематической погрешности измерений при воспроизведении единицы дзета-потенциала частиц в жидкости и среднего квадратического отклонения результатов измерений дзета-потенциала на созданном комплексе эталонных средств не превышают ± 3 %.

3. Использование разработанных супрамолекулярных систем на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра, N-ацетин L-цистеина и ацетата серебра в качестве средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях обеспечивает передачу единицы в существующем диапазоне значений от минус 150 до плюс 150 мВ.

4. Средства передачи единицы дзета-потенциала на основе супрамолекулярных систем обеспечивают максимальную нестабильность метрологических характеристик не более $\pm 4\%$ на протяжении 1 года.

Решена научная задача, заключающаяся в обосновании, разработке и исследовании средств передачи единицы дзета-потенциала коллоидных частиц в жидкостях в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ. Данное решение позволяет устранить и исключить отрицательные последствия недостоверных результатов измерений дзета-потенциала в пищевой промышленности, фармацевтике, микроэлектронной, нефтегазовой промышленности и других передовых отраслях промышленности.

Научная новизна работы заключается в том, что:

1. Впервые обосновано и реализовано применение супрамолекулярных систем на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра, N-ацетил-L-цистеина и ацетата серебра в качестве средств передачи единицы дзета-потенциала частиц в жидкостях в диапазоне от минус 150 до плюс 150 мВ.

2. Впервые созданы меры дзета-потенциала частиц в жидкостях с максимальной нестабильностью характеристик за год не более $\pm 4\%$, позволяющие обеспечить передачу единицы от первичного эталона рабочим эталонам и средствам измерений.

3. Усовершенствован Государственный первичный эталон единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163-2020 в части функциональных возможностей по измерению дзета-потенциала частиц в жидкостях.

Работа выполнена в рамках НИР «Дисперсия» и совершенствования Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163-2010 с целью расширения его динамического диапазона и функциональных возможностей.

Результаты работы внедрены в составе Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163-2020.

Получен патент на изобретение № 2746992 от 23.04.2021 г. "Способ получения стандартов сравнения для измерения электрокинетического (дзета) потенциала", заявка № 2020125729 от 03.08.2020.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии. —Л.: Химия, 1984. —368 с;
2. Фролов Ю. Г. « Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. - М.: Химия, 1988.— 464 с:
3. Салем Р.Р. Теория двойного слоя. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2003. — 104 с.
4. Антропов Л.И. Теоретическая электрохимия - М,: Высш. шк., 1984.-519с.
5. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М.: Химия, 1976.-512 с.
6. Балаханов Д.М., Лесников Е.В., Беленький Д.И. Совершенствование Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов. Альманах современной метрологии. 2018. № 14. С. 42-48.
7. РМГ 29-2013 ГСИ. Метрология. Основные термины и определения.
8. Беленький Д.И. Методы и средства измерения дзета-потенциала. Альманах современной метрологии. 2016. № 6. С. 27-48.
9. А.В. Протопопов. Лекции по коллоидной химии. Алтайский государственный университет, для кафедры ТППиЭ, 2013 год.
10. Hunter, R. J. Zeta potential in colloid science. Academic press.- 1981, 373 pp
11. Glover J. P. W. , Revil A., Pezard P.A. . Streaming potential in porous media. 1. Theory of the zeta potential Journal of geophysical research, Vol. 104, №. B9, 20021-20031pp
12. Sze A., Erickson D. Ren L., Li D., Zeta-potential measurement using the Smoluchowski equation. Journal of Colloid and Interface Science. 261 , 2003, 402–410pp
13. Александров А. А. Метод микроэлектрофореза в физиологии. — Л.: «Наука» 1983 — 148с.;
14. Brian J. Kirby, Ernest F. Hasselbrink Jr Zeta potential of microfluidic substrates: 1. Theory, experimental techniques, and effects on separations. Electrophoresis 2004, 25, 187–202.pp;
15. Brian J. Kirby, Ernest F. Hasselbrink Jr Zeta potential of microfluidic substrates: 2. Data for polymers.. Electrophoresis 2004, 25, 203–213

16. Christine S. Mangelsdorf and Lee R. White. Effects of Stern-layer Conductance on Electrokinetic Transport .Properties of Colloidal Particles J. CHEM. SOC. FARADAY TRANS., 1990, 86(16),
17. INTERNATIONAL STANDARD, ISO 13099-1:2012(E), Colloidal systems — Methods for zeta- potential determination — Part 1: Electroacoustic and electrokinetic phenomena)
18. ГОСТ 8.653.1-2016. Государственная система обеспечения единства измерений. Методы определения дзета-потенциала. Часть 1. Электрокинетические методы
19. Беленький Д., Балаханов Д., Лесников Е. Определение дзета-потенциала. Краткий обзор основных методов. Аналитика. 2017. № 3 (34). С. 82-89
20. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.: Наука, 1981. 288 с.;
21. Chad M. Warren, Paul R. Krzesinski, Marion L. Greaser. Vertical agarose gel electrophoresis and electroblotting of high-molecular-weight proteins, Electrophoresis 2003, 24, 1695–1702;
22. Olsson I., Britt U., Fredriksson A., Degerman M., Olsson B. Fast horizontal electrophoresis I. Isoelectric focusing and polyacrylamide gel electrophoresis using PhastSystemT, Electrophoresis 1988. 9, 16-22pp
23. Grg A., Obermaier C, Boguth G., Harder A., Scheibe B., Wildgruber R, Weiss W., Electrophoresis Review. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients, 2000, 21, 1037-1053pp
24. Reid M.S., Bielecki R.L. A Simple Apparatus for Vertical Flat-Sheet Polyacrylamide Gel Electrophoresis ANALYTICAL BIOCHEMISTRY 22, 1968, 374-381pp
25. Weiss W., Electrophoresis Review. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients 2000, 21, 1037±1053pp
26. Sajantila A., Lukka M. Improved separation of PCR amplified VNTR alleles by a vertical polyacrylamide gel electrophoresis Int J Leg Med (1993) 105 : 355-359pp

27. Gardiner K, Laas W, Patterson D. Fractionation of Large Mammalian DNA Restriction Fragments Using Vertical Pulsed-Field Gradient Gel Electrophoresis. *Somatic Cell and Molecular Genetics*, Vol. 12, No. 2, 1986, 185-195 pp.
28. Porath J Methodological studies of zone-electrophoresis in vertical columns I. fractionation in celluloses powder columns of substances of low molecular weight exemplified by amino acids and related compounds. *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA*, vol. 22, 1956, 151 – 175pp
29. Ткачук В. А. Клиническая биохимия . – М.: Медицина, 2004. – 515 с.
30. INTERNATIONAL STANDARD ISO 13099-2:2012(E). Colloidal systems — Methods for zeta- potential determination — Part 2: Optical methods
31. ГОСТ ISO 13099-2-2016. Государственная система обеспечения единства измерений. Методы определения дзета-потенциала. Часть 2. Оптические методы
32. Uskoković V., Dynamic Light Scattering Based Microelectrophoresis: Main Prospects and Limitations *J Dispers Sci Technol.* 2012 December 1; 33(12): 1762–1786.pp
33. Черненко В.Ю., Лукаш Л.Л., Мацевич Л.Л., Кочубей Т.П., Елесичев А.А., Клименко Е.А., Горбань Л.Н. Применение метода микроэлектрофореза ДНК для оценки генотоксических эффектов мутагенов в культуре гемопоэтических клеток человека // *Цитология и генетика*. – 2004. – 38, № 1. – С. 31-35.
34. Суходолов Н.Г., Гладилович В.Д., Колоницкий П.Д., Шрейнер Е. В., Янкович А.И, Селютин А. А., Краснов Н.В., Подольская Е.П. Исследование элеткрических свойств регулярных мультимолекулярных сорбентов на основе стеаратов трехвалентных металлов. *НАУЧНОЕ ПРИБОРОСТРОЕНИЕ*, 2013 ,том 23, No 1,с. 123–129
35. Jiang D, Sims CE, Allbritton NL. Microelectrophoresis platform for fast serial analysis of single cells. *Electrophoresis*. 2010 Aug; 31(15):2558-65. doi: 10.1002/elps.201000054.
36. Vuk Uskoković, Dynamic Light Scattering Based Microelectrophoresis: Main Prospects and Limitations *J Dispers Sci Technol.* 2012 December 1; 33(12): 1762–1786.pp;

37. Ueberfeld J, Ehrlich DJ. Scaling of nucleic acid assays on microelectrophoresis array devices: high-dynamic range multi-gene readout from less than ten transcripts. *Electrophoresis*. 2009 Jun; 30(12):2090-9..
38. Galneder R, Kahl V, Arbuzova A, Rebecchi M, Rädler JO, McLaughlin S. Microelectrophoresis of a bilayer-coated silica bead in an optical trap: application to enzymology. *Biophys J*. 2001 May;80(5):2298-309
39. Dalgleish D.G. Measurement of electrophoretic mobilities and zeta-potentials of particles from milk using laser Doppler electrophoresis. *Journal of Dairy Research* Volume 51 / Issue 03 / August 1984, pp 425-438
40. Kaszuba M, Corbett J, Watson FM, Jones A. High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2010 Sep 28;368(1927):4439-51. doi: 10.1098/rsta.2010.0175.;
41. Sattelle DB. Quasielastic laser light scattering and laser Doppler electrophoresis as probes of synaptic and secretory terminal function. *J Exp Biol*. 1988 Sep;139:233-52.
42. Dalgleish DG. Measurement of electrophoretic mobilities and zeta-potentials of particles from milk using laser Doppler electrophoresis. *Journal of Dairy Research* Volume 51 / Issue 03 / August 1984, pp 425-438
43. Tscharnuter W.W. Mobility measurements by phase analysis. *Appl Opt*. 2001 Aug 20;40(24):3995-4003.;
44. Ito T, Sun L, Bevan MA, Crooks RM. Comparison of nanoparticle size and electrophoretic mobility measurements using a carbon-nanotube-based coulter counter, dynamic light scattering, transmission electron microscopy, and phase analysis light scattering. *Langmuir*. 2004 Aug 3;20(16):6940-5
45. Filipe V., Hawe A., Jiskoot W., "Critical evaluation of Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) by NanoSight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates" , *Considerations in Particle Sizing. Part 2: Specifying a Particle Size Analyzer*;
46. Zhou C, Krueger AB, Barnard JG, Qi W, Carpenter JF.Characterization of Nanoparticle Tracking Analysis for Quantification and Sizing of Submicron Particles of Therapeutic Proteins. *J Pharm Sci*. 2015 May 27. doi: 10.1002/jps.24510

47. Griffiths D., Hole P., Smith J., Malloy A., Carr B."Size and Count of Nanoparticles by Scattering and Fluorescence Nanoparticle Tracking Analysis (NTA)
48. Sediq AS, Nejadnik MR, El Bialy I, Witkamp GJ, Jiskoot W. Protein-polyelectrolyte interactions: Monitoring particle formation and growth by nanoparticle tracking analysis and flow imaging microscopy. *Eur J Pharm Biopharm.* 2015 Jun;93:339-45. doi: 10.1016/j.ejpb.2015.04.021
49. ГОСТ 8.653.3-2016. Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Методы определения дзета-потенциала. Часть 3. Электроакустические и акустические методы
50. Dukhin et al. Use of Ultrasound for Characterizing Dairy Products. - *Journal of Dairy Science* Vol. 88, No. 4, 2005; .
51. Gulseren et al. Probing the colloidal properties of skim milk using acoustic and electroacoustic spectroscopy. Effect of concentration, heating and acidification. - *Journal of Colloid and Interface Science*, Volume 351, Issue 2, 15 November 2010, Pages 493–500;
52. ГОСТ Р 8.736-2011 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения.
53. А.Д. Левин, М.К. Аленичев, В.М. Масалов, Н.С. Сухина, Г.А. Емельченко. Разработка стандартных образцов электрокинетического(дзета) потенциала наночастиц // *Российские нанотехнологии.* 2018. Том 13. № 1-2. 93-99с.
54. Адамян А.Н., Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Пахомов П.М. // Гелеобразование в низкоконтрированных водных растворах, содержащих L-цистеин и ацетат серебра // *Вестник ТвГУ, Серия «Химия».* 2016. № 2 с. 89-98.
55. Супрамолекулярные гели / П. М. Пахомов, С. Д. Хижняк, М. М. Овчинников, П. В. Комаров : Тверь, ТвГУ, 2011, 270 с.
56. Аверкин Д.В., Вишневецкий Д.В., Петров В.Р., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Процесс самоорганизации в низкоконтрированных водных системах на основе

N-ацетил-L-цистеина, L-цистеина и ацетата серебра. // Вестник ТвГУ, Серия «Химия». 2020. № 4 с. 70-82. <https://doi.org/10.26456/vtchem2020.4.8>

57. Адамян А.Н., Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Процесс гелеобразования в водном растворе L-цистеина и ацетата серебра под воздействием сульфатов и хлоридов металлов // Вестник ТвГУ, Серия «Химия». 2018. № 3 с. 52-65.

58. Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Процессы самоорганизации в низкоконцентрированных водных растворах на основе l-цистеина, ацетата серебра и хлорида натрия // Вестник ТвГУ, Серия «Химия». 2019. № 2, с. 92-94.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Список публикаций по теме работы

1. Роль нейтрализации в обеспечении точности результатов измерений параметров аэрозольных наночастиц методом дифференциальной электрической подвижности Ефимов А.А., Лизунова А.А., Беленький Д.И., Мыльников Д.А., Калинина Е.Г., Зарубин С.С., Иванов В.В. Метрология. 2015. № 1. С. 53-59.
2. Методы экспресс-определения подлинности и контроля качества гомогенных водных растворов (бутилированные воды, пищевые продукты, лекарственные средства) Сыроешкин А.В., Добровольский В.И., Плетенева Т.В., Ульяновцев А.С., Успенская Е.В., Морозова М.А., Беленький Д.И., Лесников Е.В. Альманах современной метрологии. 2016. № 6. С. 107-116.
3. Методы и средства измерения дзета-потенциала Беленький Д.И. Альманах современной метрологии. 2016. № 6. С. 27-48.
4. Зависимость дзета-потенциала от ионной силы и рН среды Беленький Д.И. Альманах современной метрологии. 2016. № 6. С. 139-145
5. Определение дзета-потенциала. Краткий обзор основных методов Беленький Д., Балаханов Д., Лесников Е. Аналитика. 2017. № 3 (34). С. 82-89
6. Совершенствование Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов. Балаханов Д.М., Лесников Е.В., Беленький Д.И. Альманах современной метрологии. 2018. № 14. С. 42-48.
7. Комплекс эталонной аппаратуры для передачи и воспроизведения единицы дзета-потенциала. Беленький Д.И., Балаханов Д.М., Лесников Е.В. Альманах современной метрологии. 2018. № 14. С. 53-57.

8. Высокоточные измерения гранулометрического состава порошкообразных материалов на базе Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ-163. Магомедов Т. М., Беленький Д. И. VII Международная конференция с элементами научной школы для молодежи «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества». Суздаль. 1-5 октября 2018 г./ Сборник материалов. – М: ИМЕТ РАН, 2018. С. 282-283.

9. Экспресс-анализ размеров и дзета-потенциала наночастиц при контроле исходного материала на предприятиях порошковой индустрии. Беленький Д. И., Магомедов Т. М. VII Международная конференция с элементами научной школы для молодежи «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества». Суздаль. 1-5 октября 2018 г./ Сборник материалов. – М: ИМЕТ РАН, 2018. С. 283-284.

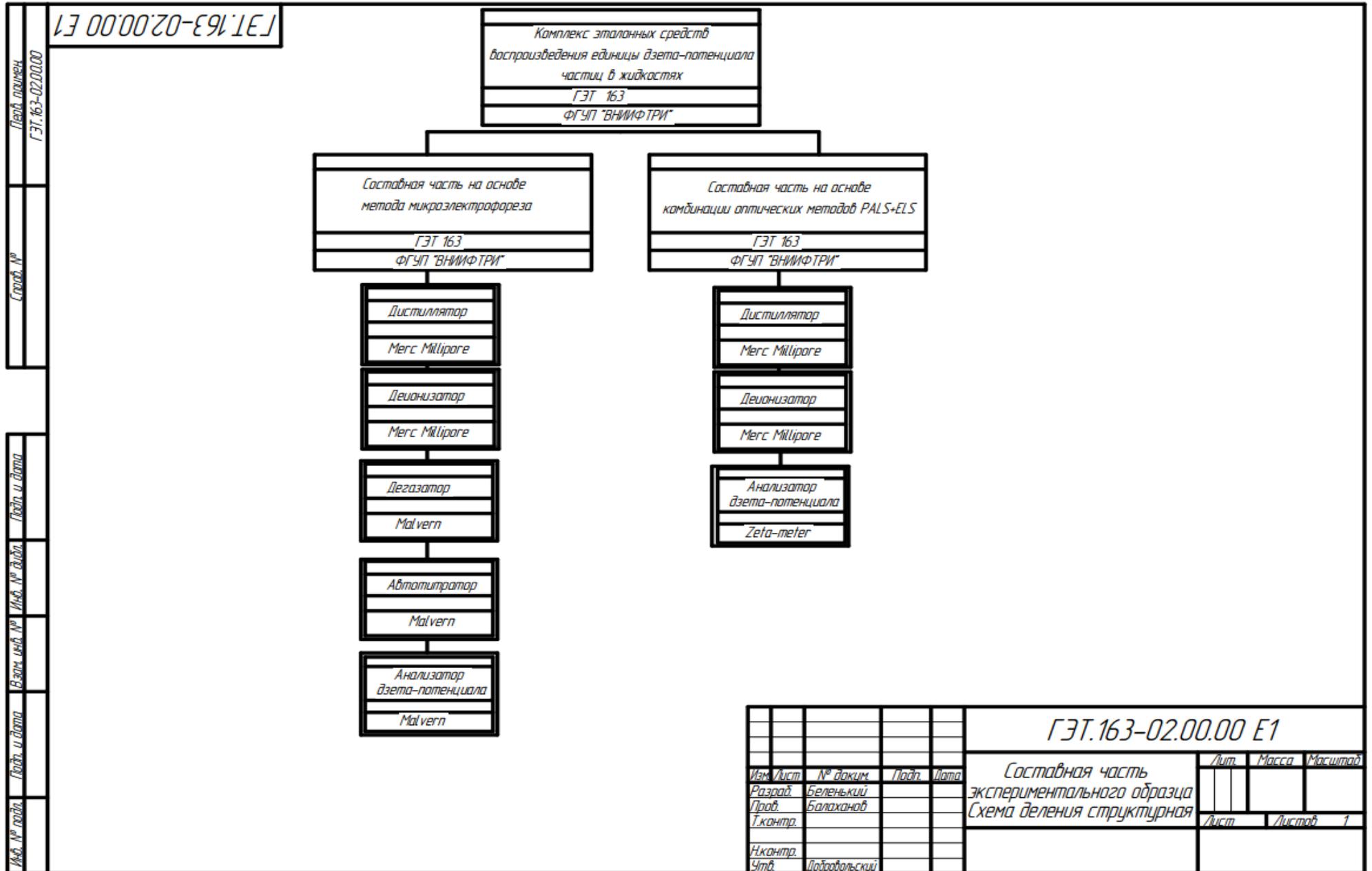
10. Nanoparticle size and zeta potential express analysis in initial material's control at the enterprises of powder industry. D I Belenkii, T M Magomedov. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1134 (2018) 012007

11. Precision measurements of the particle size distribution of powder materials based on State primary standard for the units of disperse parameters of aerosols, suspensions and powder materials GET-163. T M Magomedov, D I Belenkii. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1134 (2018) 012037

12. Static light scattering method applicability to determine the disperse components of peat hydrosol. Kosolapova N.I., Mirosnichenko O.V., Belenky D.I. Пятая международная конференция стран СНГ «Золь-гель синтез и исследование неорганических соединений, гибридных функциональных материалов и дисперсных систем «Золь-гель 2018»: Тезисы докладов Международной конференции, Санкт-Петербург, 27–31 августа 2018 г. – СПб.: ООО «Издательство «ЛЕМА», 2018. С. 198-200.

13. Совершенствование Государственного первичного эталона единиц дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов ГЭТ 163–2010. М. В. Балаханов, В. И. Добровольский, Д. М. Балаханов, Д. И. Беленький. Измерительная техника. 2018. № 12. С. 3-7.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Структурная схема деления комплекса эталонных средств воспроизведения единицы дзета-потенциала



ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Проект поверочной схемы

Государственная поверочная схема для средств измерений дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов

