

УДК 006.91:534.638

МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЯ ДЗЕТА-ПОТЕНЦИАЛА

Д.И. Беленький

ФГУП «ВНИИФТРИ», Менделеево, Московская обл.

belenky@vniiftri.ru

Измерение дзета-потенциала позволяет глубже понять и лучше контролировать механизмы диспергирования, агрегации или флокуляции и может применяться для улучшения свойств дисперсий, коллоидных растворов, эмульсий и суспензий на этапах разработки и производства.

В данной работе рассмотрены основные методы и средства измерений дзета-потенциала, позволяющие в полной мере охватывать диапазон измерений дзета – потенциала различных сред.

Measurement of zeta potential allows a more profound understanding and better control of the dispersion, aggregation and flocculation mechanisms and may be used to improve the properties of dispersions, colloidal solutions, emulsions, and suspensions in development and production stages.

In this work, main methods and instruments for the measurement of zeta potential are considered that make it possible to cover the whole range of measurements of the zeta potential of various media.

Ключевые слова: дзета-потенциал, методы и средства измерений

ВВЕДЕНИЕ

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

Несмотря на такое разнообразие трактовок, общим остается тот факт, что дзета-потенциал является частью общего скачка потенциала системы при приложении внешнего электрического поля к системе, а также является *производной (расчетной)* величиной от электрокинетической подвижности и зависит от многих факторов и характеристик исходной системы.

Из вышеуказанного следует, что выбор метода измерения, а также математического аппарата обсчета результатов измерений с учетом граничных условий методов, является одним из основных шагов для решения фундаментальных и прикладных задач в данной области.

Для лучшего понимания методов измерения ζ -потенциала приведем краткую историческую справку о возникновении и развитии методов измерения дзета - потенциала.

Двойной электрический слой и электроповерхностные явления. Существование двойного электрического слоя ионов (ДЭС) и скачка потенциала на границе фаз играет важную роль в вопросах ионного обмена, электродных процессов, электрокапиллярных и электрокинетических явлений, процессов массо- и энергообмена в пористых телах, явлений электростатических взаимодействий коллоидных частиц, определяющих

устойчивость дисперсных систем. Все эти явления 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. Внешняя обкладка конденсатора расположена в жидкости, параллельно поверхности на расстоянии молекулярного порядка от нее. Потенциал в данном случае отсчитывается от нулевого уровня и уменьшается линейно с ростом расстояния от поверхности по теории плоского конденсатора. В данной теории не учитывается наличие в растворах свободных ионов.

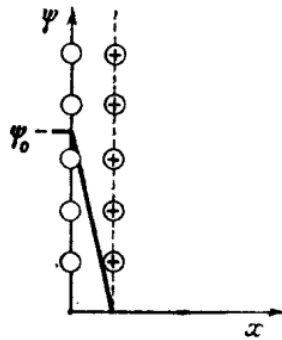


Рис. 1. Плотный слой Гельмгольца [1]

Классическая теория Гуи – Чэпмена (1910 и 1913гг). Модель ионного двойного слоя основана на идее подвижности ионов на внешней обкладке (названных противоионами) и присутствии ионов с одноименным зарядом (коионов). Электростатическое притяжение противоионов к поверхности и отталкивание коионов уравниваются диффузией ионов, размывающих поверхностные избытки, благодаря чему устанавливается равновесное распределение «облака» зарядов с убывающей плотностью [1,2,3].

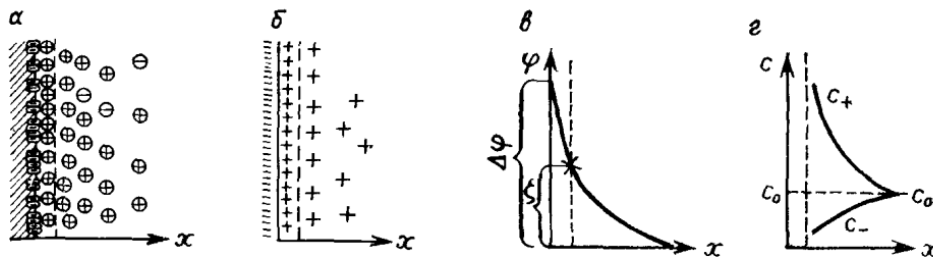


Рис. 2. Модель ДЭС в модифицированной теории Гуи -Чепмена, а – распределение ионов; б – схематическое изображение избыточных ионов; в – распределение потенциала; г – концентрация ионов на различных расстояниях от поверхности [1]

Концентрация катионов и анионов в поверхностном слое и в объеме раствора представлена на рис. 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 ζ -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, значения электрической емкости оказались завышенными относительно измеренных [1,3].

Штерн в 1924 г. модифицировал теорию ДЭС, введя дополнительно два новых параметра о конечном размере ионов и о специфической адсорбции ионов. Данная теория и принята в современных исследованиях [2,4].

В модифицированной теории противоионы конечных размеров не могут подходить к поверхности на неограниченно близкое расстояние, их подвижность лимитируется диаметром, они образуют плотный слой - плоский конденсатор, внешняя обкладка которого лежит в плоскости наибольшего приближения, эта величина близка к сумме радиусов гидратированных ионов и имеет порядок десятых долей нм. Ионы, расположенные на внешней обкладке, образуют диффузный слой, в котором наблюдается уменьшение заряда, сначала линейно (в области плоского конденсатора), а далее экспоненциально в диффузионном слое [1,4,5].

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

Согласно классическому определению, ζ - 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 ζ - потенциала как потенциала, возникающего при относительном перемещении фаз, в связи с тем, что величина ζ - потенциала репрезентует уровень эквипотенциальной поверхности, проходящей по границе вне зависимости от движения фаз [1,6].

Тем не менее, наиболее ярко явление ζ - потенциала можно проиллюстрировать на примере электрокинетических явлений, связанных с

Альманах современной метрологии, 2016, №6

относительным смещением фаз.

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 (рис.3). (Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии. —Л.: Химия, 1984. —368 с; Hunter R. J. Zeta potential in colloid science: Academic press, 1981, 373 pp).

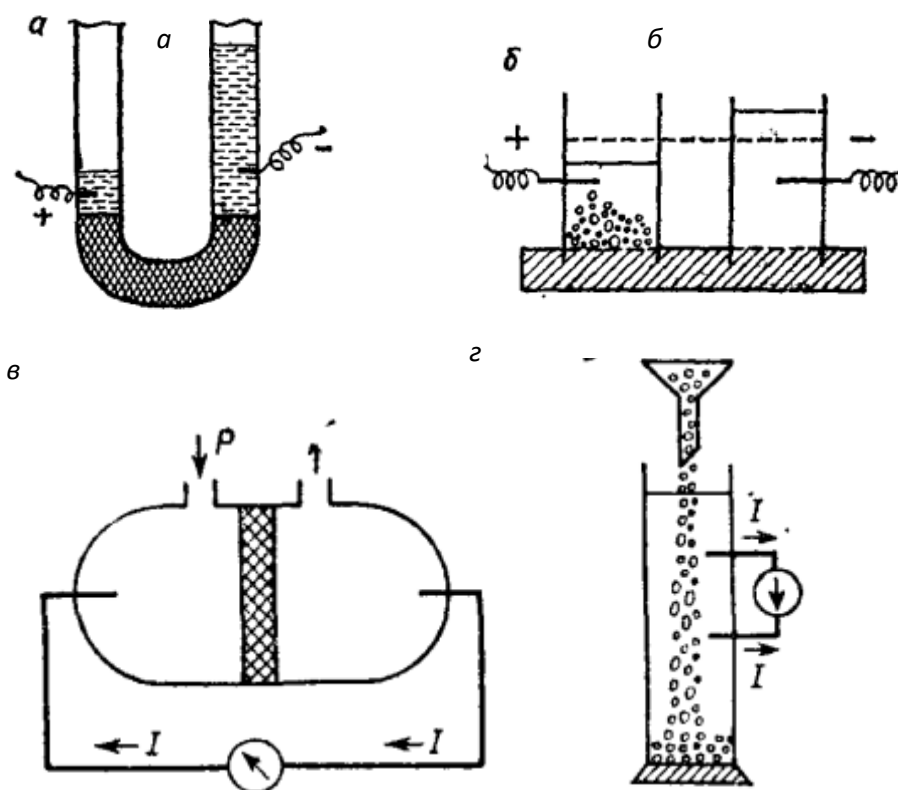


Рис. 3. Схемы опытов Рейсса по электроосмосу (а) и электрофорезу (б), возникновение токов и потенциала течения (в) и оседания (г) [1]

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 19-го в. 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 [1,2,6].

Эти явления названы электрокинетическими, поскольку они демонстрируют связь между электрическим полем и полем скоростей. Значит, чем выше заряд диффузионного слоя, тем сильнее будут развиты эти явления, а следовательно ζ - потенциал, поверхности скольжения, следовательно, ζ - потенциал можно определить как меру интенсивности электрокинетических явлений. Существует и обратная связь, зная параметры этих явлений, мы можем вычислять ζ - потенциал, на основе теорий, связывающих его с этими параметрами. Эти теории разработаны более ста лет назад Гельмгольцем и развивались далее в трудах Перрена, Смолуховского и др.

МЕТОДЫ И СРЕДСТВА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЗЕТА-ПОТЕНЦИАЛА

Кинетический метод измерения дзета - потенциала. Электрофорез можно классифицировать как кинетический метод измерения дзета-потенциала. Свое распространение данный метод получил во многих областях науки, но особенно популярен этот метод в биологических и фармацевтических науках среди методов исследования белков и нуклеиновых кислот. В связи с его востребованностью приведем несколько более полное описание методик измерения дзета-потенциала посредством вертикального и горизонтального электрофореза в пластинах.

Существуют три условия, определяющие область применения теории Смолуховского для любых электрокинетических явлений [7].

1. Размеры ДЭС должны быть малы по сравнению с размером гетерогенной системы

$$ka \gg 1,$$

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

a – радиус частицы, м.

2. Вклад поверхностной проводимости K^σ незначителен.

3. Граница раздела сред не проводит электрический ток между фазами.

Уравнение Смолуховского для электрофоретической подвижности μ имеет вид:

$$\mu = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 \zeta}{\eta}, \quad (1)$$

где ε_m – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – диэлектрическая постоянная, Ф/м;

η – динамическая вязкость, Па·с;

ζ – дзета-потенциал, В.

Уравнение справедливо для любой модели ДЭС.

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) [8,9,10].

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 (рис.4) [8,11].

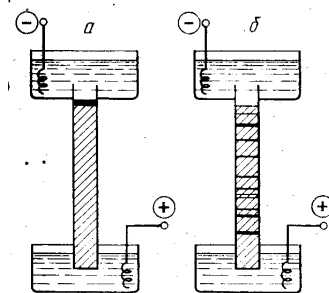


Рис. 4. Схема простейшего прибора для электрофореза в геле. а — до начала фракционирования, б — после его окончания [8]

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 [12].

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 [11].

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 [9, 10, 11].

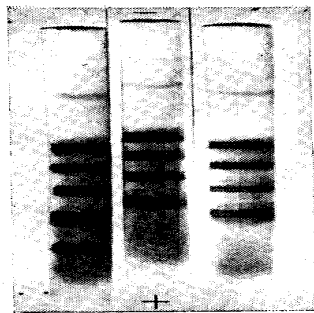


Рис. 5. Трубки с ПААГ после окончания электрофореза Горизонтальные полоски — окрашенные белковые зоны [8]

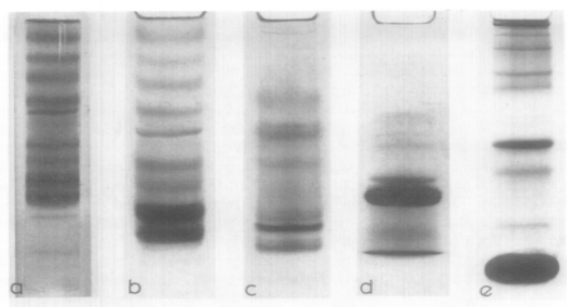


Рис. 6. Пластина агарозного геля после разделения фрагментов ДНК [11]

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 (рис. 5) хорошо видны четкие, узкие полосы разделившихся компонентов исходной смеси белков. Вместо цилиндрических часто используют гели в виде тонких пластин, заполимеризованные между двумя плоскими стеклами (рис. 6-8).

Такие пластины имеют важное преимущество: на них можно одновременно фракционировать несколько препаратов [13,14]. 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 (рис. 5) хорошо видна серия параллельных «треков», исчерченных поперечными полосами окрашенных зон, в которых располагаются (в данном случае) олигонуклеотиды различной длины [11].

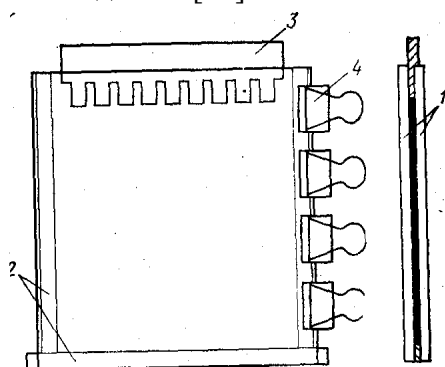


Рис. 7. Форма для полимеризации вертикальной пластины геля: 1 — стеклянные пластины; 2 — прокладки; 3 — гребенка; 4 — зажим [8]

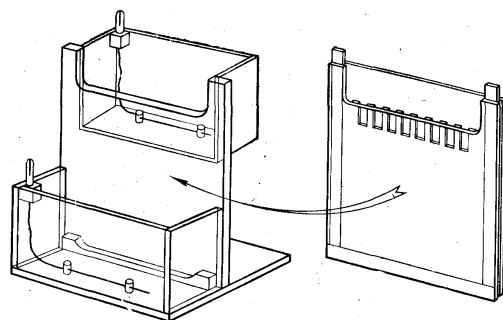


Рис. 8. Прибор Стадиера для электрофореза в вертикальных пластинах [8]

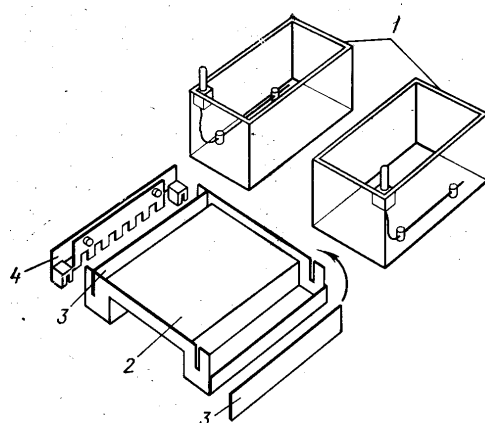


Рис. 9. Прибор для препаративного горизонтального электрофореза ДНК в агарозном геле с агарозными фитилями [8]

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 (рис. 9) [11].

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.

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 становятся возможной [1,2, 15,16].

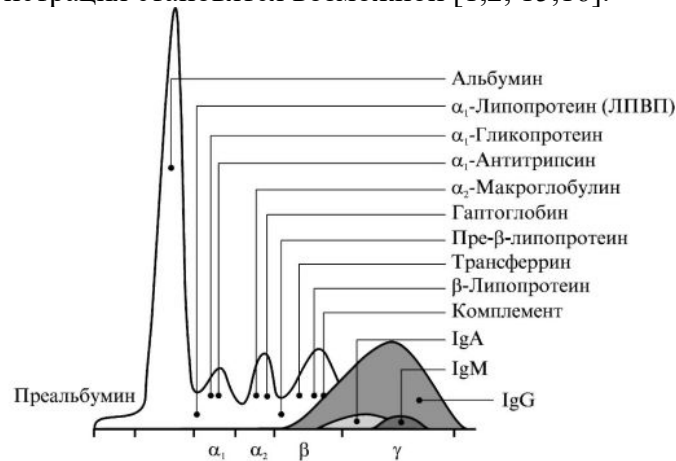


Рис. 10. Электрофореграмма белков сыворотки крови [16]

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 (рис. 10). Данный метод позволяет провести качественный и количественный анализ состава образца [1, 15].

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, визуальное распределение пятен можно оценить, применяя проявитель. Состав и концентрацию веществ в растворе оценивают по положению и интенсивности окраски пятен [1].

Оптические методы. Существуют два метода контроля движения частицы в электрическом поле. Первый метод с изображениями частиц, наблюдаемыми через микроскоп. Такой способ контроля называется «микроскопическим методом» или «микроэлектрофорез». Второй метод основан на измерении света, рассеянного частицами, и нахождении электрофоретической подвижности из доплеровского сдвига частоты рассеянного света. Этот метод называют «электрофоретическим методом рассеяния света» [17].

Метод микроэлектрофореза является весьма популярным методом для изучения коллоидных систем, наиболее часто он применяется в биохимии и материаловедении. Исследования часто проводят в отношении биообъектов либо высокомолекулярных соединений, а также в отношении изучения ДНК различных материалов, таких как керамика, например. В основе метода лежит классический электрофорез, сущность метода заключается в следующем:

Источник света освещает частицы, перемещающиеся под влиянием постоянного или переменного электрического поля. Освещенные частицы наблюдаются благодаря рассеянию света. Для получения изображения используются методы светлого или темного поля, либо оба метода совместно. Метод светлопольной микроскопии не применим для получения изображения частицы с размерами меньшими, чем 0,2 мкм. Применение темнопольной микроскопии подходит для получения изображений движущихся наночастиц с размерами нанометрового диапазона [17]. Исследуемые образцы, например, биообъекты вносят в микрогель (либо агарозу) с заданными размерами ячейки, после внесения образца на ячейке проводят электрофорез.

Под действием электрофореза частицы исследуемого образца перемещаются в зависимости от своей природы к катоду либо аноду, формируя ореолы либо полосы на своем пути, в зависимости от заряда. После электрофореза гели подвергают закреплению и окрашиванию для дальнейшей визуализации [18,19].

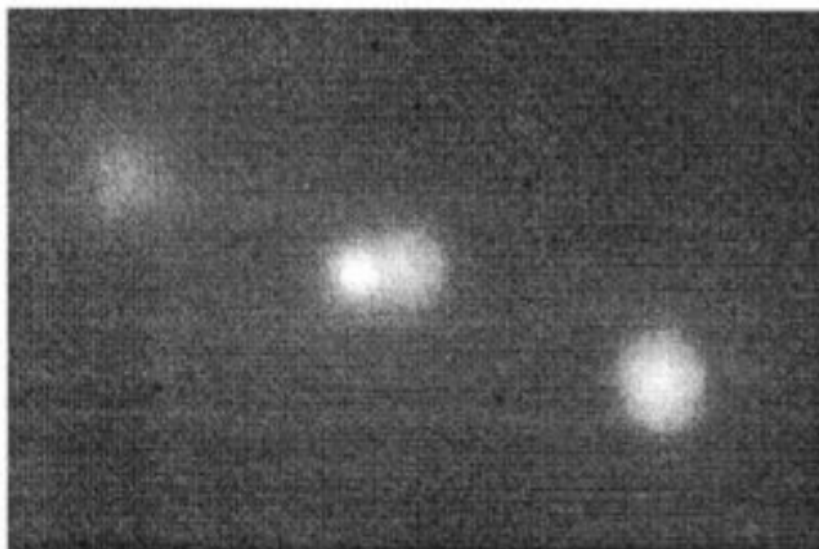


Рис. 11. Компьютерное изображение ядерных матриц с ореолом [19]

Изучение электрофоретических треков проводят посредством оптической микроскопии при наличии градировочной сетки, как правило, либо с применением видеокамер с последующей компьютерной обработкой изображений [19, 20].

В зависимости от степени участия оператора подходы к обработке изображений можно классифицировать следующим образом: ручной, полуавтоматический и автоматический. Ручной метод, основанный на визуальном отслеживании перемещения одной или нескольких отдельных частиц, трудоемок, утомителен и неточен. В полуавтоматических методах наблюдение за частицами через микроскоп ведется вручную, в то время как микроскоп сканирует освещающий ячейку свет или перемещает призму, отражающую освещенное изображение частиц. Возможны комбинации ручного метода наблюдений с автоматическим электрофоретическим анализом сигнала рассеяния света для измерений полидисперсной электрофоретической подвижности μ . Появление модемных устройств с зарядовой связью (CCD) позволило получать изображения, передавать их на компьютер и далее, используя анализ изображения, восстанавливать траектории частиц, перемещающихся под влиянием электрического поля [17, 21].

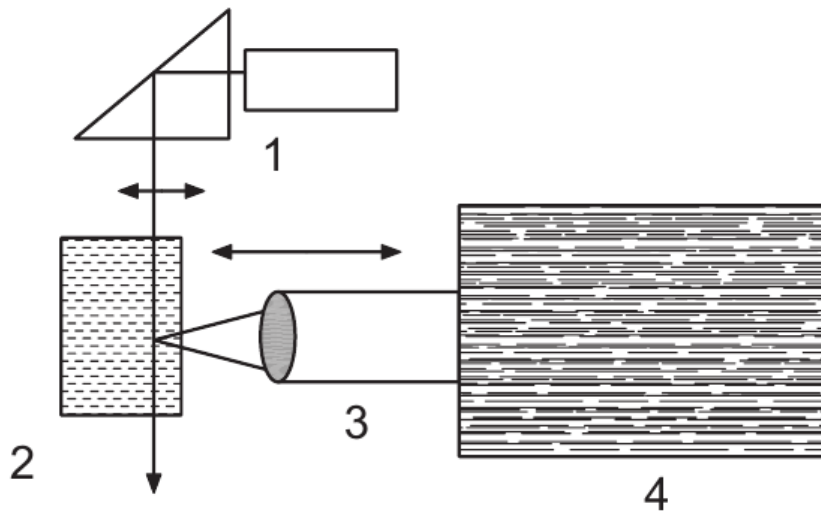


Рис. 12. Устройство микроскопа для электрофореза 1 - лазер, 2 - область пересечения, 3 - объектив микроскопа, 4 - видеокамера. [17]

В современных оптических приборах обычно применяется регистрация рассеянного света под углом 90° . На рис. 12 представлена схема устройства микроскопа для электрофореза. Лазер служит для освещения фокальной плоскости микроскопа. Лазерный луч и ось микроскопа перпендикулярны электрическому полю. Направление поля перпендикулярно плоскости рисунка. Лазерное освещение и микроскоп требуют использования неподвижного уровня для избежания электроосмоса, который объяснен в приложении А. Необходимо точно определить местоположение неподвижного уровня, чтобы точно измерить электрофоретическое движение частиц [17, 18, 22,23].

Метод электрофоретического рассеяния света (ELS). Электрофоретическое рассеяние света (ELS) является косвенным методом измерения электрофоретической подвижности, основанным на доплеровском смещении в рассеянном свете. В эксперименте ELS когерентный падающий свет освещает рассеянные частицы в жидкости, которые находятся под действием электрического поля [24].

Заряженные частицы двигаются к аноду или катоду в зависимости от знака их заряда. Из-за движения частота рассеянного света от частиц смещена в соответствии с эффектом Доплера. Из распределения частоты сдвига может быть определено распределение электрофоретической подвижности [17, 25, 26].

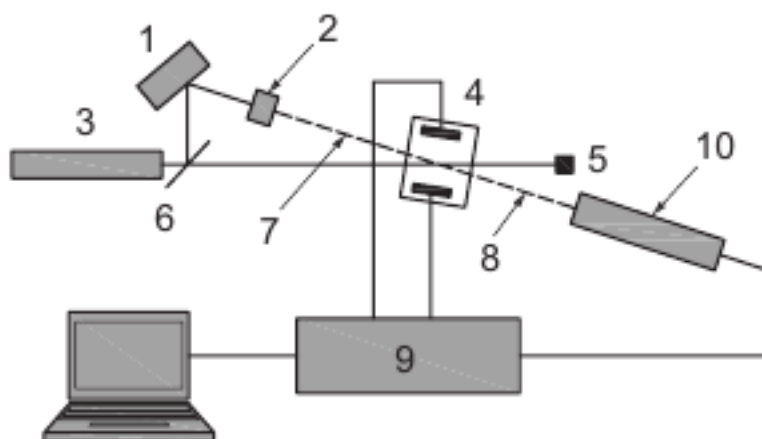


Рис. 13. Оптическое устройство с использованием опорного излучения 1 - оптический модулятор, 2 - аттенуатор, 3 - лазер, 4 - ячейка для образца с электродами, 5 - оптический поглотитель, 6 - делитель луча, 7 - опорное излучение, 8 - рассеянный свет, 9 – процессор, 10 - фотоэлектрический детектор [17]

Типичный пример оптического устройства с использованием опорного излучения показан на рис. 13. Для реализации метода ELS используются разные модели измерительных ячеек. В каждой ячейке должно быть предусмотрено следующее: фиксация в приборе образца измерений; обеспечение воздействия электрического поля и обеспечение входа для падающего света и выхода для рассеянного света [17].

Часто используются устройства для гетеродинного детектирования на основе малоуглового рассеяния света. Угол рассеяния обычно между 15° и 30° . В устройстве имеется ячейка с предварительно диспергированным образцом. Напряжение приложено между электродами ячейки, расстояние между которыми точно известно, для нахождения градиента потенциалов. Свет из когерентного лазерного источника известной длины волны разделен на два луча, один из которых падающий, а другой опорный луч. Падающий луч входит в ячейку непосредственно или преломляется через стенку ячейки для освещения частиц в образце. Опорный луч смешивается с рассеянным светом через стандартную или волоконную оптику на поверхности фотоэлектрического детектора, которым может быть фотоумножитель или лавинный фотодиод. Один из лазерных лучей проходит через оптический модулятор, чтобы сместить частоту излучения лазера на несколько сотен герц, при этом падающий и опорный лучи будут иметь разные частоты. Это дает возможность детектировать сигнал от источника доплеровского сдвига, *Альманах современной метрологии, 2016, №6*

вызванного отличной от нуля скоростью частиц, и позволяет распознать направление движения частицы и минимизировать интерференцию излучения в области низких частот. Управление осуществляется персональным компьютером (ПК), который вычисляет дзета-потенциал с помощью установленного программного обеспечения (ПО) [24, 25].

Фазовый анализ рассеяния света. Метод фазового анализа рассеянного излучения (PALS). PALS - метод представления очень маленького сдвига в частоте из-за дополнительного компонента частоты, вызванного электрофоретической подвижностью частиц. В PALS в процессоре генерируется гармонический сигнал модулятора. Сигнал рассеянного излучения умножается на гармонический сигнал, что дает возможность получить две функции: синфазную составляющую и квадратурную функцию. Вектор арктангенса этих двух компонент имеет произвольную амплитуду, но уровень ее изменения - разность фаз во времени [24, 27]. Метод PALS в состоянии обнаружить изменения в частоте 0,001 Гц. Однако из-за шума и других ограничений обычно это сделать невозможно. Экспериментально наблюдались сдвиги частоты всего 0,002 Гц. Но метод PALS может определить только среднее значение электрофоретической подвижности [28].

В некоторых реализациях используется комбинация PALS и спектрального анализа 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, позволяют измерять дзета-потенциал в водных и безводных дисперсных системах. Данная технология является самой прогрессивной на сегодняшний день для измерения дзета-потенциала.

Отношение между доплеровским сдвигом частоты рассеянного света и электрофоретической подвижностью частицы μ зависит от оптического устройства приборов [17]. Для оптических устройств с использованием опорного излучения электрофоретическая подвижность μ определяется по формуле:

$$\mu = \frac{\Delta\omega\lambda_0}{4\pi nE \sin(\theta/2) \sin\left[(\theta/2) + \xi\right]}. \quad (2)$$

Для приборов, основанных на методе измерения кросс-излучения, электрофоретическая подвижность μ выражается формулой:

$$\mu = \frac{\Delta\omega\lambda_0}{4\pi nE \sin(\theta'/2)}, \quad (3)$$

где $\Delta\omega$ – доплеровский сдвиг частоты, рад·с⁻¹;
 λ_0 – длина излучения лазера в вакууме, м;
 n – средний показатель преломления;
 E – напряженность электрического поля, В·м⁻¹;
 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:

$$\mu = \frac{2\zeta \varepsilon}{3\eta_0} f(\kappa a), \quad (4)$$

где η_0 – средняя вязкость, Па·с;
 κ – обратная длина Дебая, м⁻¹;
 ε – средняя диэлектрическая проницаемость, Ф·м⁻¹;
 a – радиус сферы, м;
 $f(\kappa a)$ – монотонная функция, изменяющаяся от $f(\kappa a)_{\kappa a \rightarrow 0} = 1$ до $f(\kappa a)_{\kappa a \rightarrow \infty} = 3/2$.

Трековый анализ наночастиц. Скорость броуновского движения наночастиц зависит от вязкости и температуры жидкости, а также размера и формы наночастицы. Наблюдение за скоростью движения наночастиц позволяет использовать данный принцип для измерения размера, интенсивности рассеяния света и состава наночастиц в коллоидных растворах, а также концентрацию каждой из фракций наночастиц [29, 30].

Метод анализа траекторий наночастиц может применяться для коллоидных растворов частиц размером от 10 до 1000 нм.

Диапазон сильно зависит от характера конкретного образца. Нижняя граница определяется оптическими свойствами материала наночастиц [29,31]. Наночастицы должны рассеивать достаточно света для того, чтобы быть различимыми на фоне шума. Так, для золотых и серебряных наночастиц нижняя граница составляет 10 нм, для оксидных материалов - 15-20 нм, для белков и полимеров - около 20-25 нм. Верхняя граница диапазона измерения может задаваться рядом лимитирующих факторов:

- Седиментационная устойчивость коллоидной системы. При высокой разнице в плотности материала частиц и раствора частицы размером, меньшим 1000 нм, уже будут быстро осаждаться, препятствуя измерениям.

- Проявление значительной анизотропии формы пятна рассеянного излучения вследствие появления преимущественных направлений рассеяния.

- При отсутствии упомянутых ограничений верхний предел диапазона задается точностью измерения положения частицы на отдельных кадрах в сравнении с ее смещением между кадрами. Для типичного случая водных растворов эта граница примерно равна 1000 нм, однако может варьироваться как в большую, так и в меньшую сторону в зависимости от вязкости используемого растворителя.

Модификация метода анализа траекторий наночастиц, носящая название Z-NTA, позволяет производить измерение ζ -потенциала отдельных частиц. При приложении постоянной разности потенциалов к раствору находящиеся в нем наночастицы начинают двигаться от одного электрода к другому со скоростью, зависящей от их ζ -потенциала. Усредненная скорость движения $\langle u \rangle$ в этом направлении используется для расчета ζ -потенциала каждой частицы по уравнению Гельмгольца-Смолуховского.

Как уже было сказано, ортогональные компоненты броуновского движения частиц независимы. Поэтому хаотическое движение частицы в направлении, перпендикулярном направленному электрофоретическому, может быть использовано для одновременного измерения ее размера. Это позволяет не только получить гистограмму распределения наночастиц по ζ -потенциалам, но и изучить, как он зависит от размера частиц [32].

Благодаря этим особенностям метод активно набирает популярность в научной среде. Так, на начало осени 2012 года количество научных публикаций с использованием метода анализа траекторий наночастиц достигло 400, из них более 100 - только за 2012 год.

Электроакустические методы. Электроакустические методы определения дзета-потенциала применяются для концентрированных дисперсных систем. В этом их главное преимущество. Существует только одна элементарная электроакустическая теория, связывающая электрофоретическую подвижность с дзета-потенциалом, применяемая для концентрированных сред, – это приближенная электроакустическая теория Смолуховского. Она имеет ограниченный диапазон применения [17].

В электроакустическом методе используется ультразвук для создания периодических возмущений в образце. Поскольку ультразвуковые волны

поглощаются различными средами, а также распространяются в весьма концентрированных образцах, он имеет преимущества перед традиционными методами измерений, такие как светорассеяние.

Поскольку среда и частицы различаются по плотности, ультразвук, проходя через образец, индуцирует движение частиц в среде. Благодаря движению частиц происходит поляризация двойного электрического слоя на границе частица-среда. Электрический ток возникает вследствие периодического изменения потенциала, что дает возможность рассчитать дзета-потенциал образца по сдвигу фазы тока [33,34].

Критическая частота гидродинамической релаксации (ω_{hd}) определяет диапазон инерции частиц и влияние коэффициента $G(s)$. Этот коэффициент становится незначительным, когда частота ω удовлетворяет условию [17]:

$$\omega \ll \omega_{hd} = \frac{\eta}{\rho_m a^2}, \quad (5)$$

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 $F(\omega')$:

$$\omega \ll \omega_{MW} = \frac{K_m}{\varepsilon_m \varepsilon_0}, \quad (6)$$

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:

$$\mu_d = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 \zeta K_s (\rho_p - \rho_s) \rho_m}{\eta K_m (\rho_p - \rho_m) \rho_s}, \quad (7)$$

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 среды, кг/м³;

K_s – проводимость дисперсной среды, См/м;

K_m – проводимость дисперсионной среды, См/м.

Применение электроакустики для расширения круга реальных дисперсных систем привело к развитию нескольких расширенных электроакустических теорий. Парк измерительной техники, использующий данный метод, довольно обширен. Как правило, приборы применяют для измерения дзета-потенциала высоко концентрированных дисперсных систем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью выполнения настоящей работы являлось рассмотрение методов и средств измерения дзета-потенциала и выбор метода (или сочетания методов), наиболее подходящего для решения фундаментальных и прикладных задач в данной области. Фактическое количество измерителей дзета-потенциала, построенных на реализации различных принципов (на основе детектирования доплеровского сдвига; прямой визуализации фронта массопереноса при электрофорезе; потенциометрии), оценивается до 3 тысяч измерительных устройств (приборов). Потребность рынка в таких приборах оценивается уровнем 15-17 тысяч приборов.

Приведенный обзор методов и анализ средств измерений дзета-потенциала позволил нам выявить несколько методов и приборов, позволяющих в полной мере охватить диапазон измерений дзета-потенциала различных сред, с тем чтобы решить задачи, поставленные в данной работе. Целесообразным считается сочетание таких методов как PALS-технология и метод лазерного доплеровского сдвига, метод микроэлектрофореза, а также метод трекового анализа (Z NTA).

Литература

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, 519 с.
5. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М.: Химия, 1976, 512 с.
6. Hunter R. J. Zeta potential in colloid science. Academic press, 1981, 373 p.

7. INTERNATIONAL STANDARD, ISO 13099-1:2012(E), Colloidal systems — Methods for zeta- potential determination — Part 1: Electroacoustic and electrokinetic phenomena).
8. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие).- М.: Наука, 1981, 288 с.
9. 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.
10. Olsson I., Britt U., Fredriksson A., Degerman M., Olsson B. Fast horizontal electrophoresis I. Isoelectric focusing and polyacrylamide gel electrophoresis using Phast SystemT, *Electrophoresis*, 1988. 9, p. 16-22.
11. Gorg 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, p. 1037-1053.
12. Reid M.S., Bielecki R.L. A Simple Apparatus for Vertical Flat-Sheet Polyacrylamide Gel Electrophoresis// *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*, 22, 1968, p. 374-381.
13. Sajantila A., Lukka M. Improved separation of PCR amplified VNTR alleles by a vertical polyacrylamide gel electrophoresis// *Int J. Leg Med*, 1993, 105, p. 355-359.
14. 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, p. 185-195.
15. 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*, v. 22 , 1956, p. 151 – 175.
16. Ткачук В. А. Клиническая биохимия. – М.: Медицина, 2004. – 515 с.
17. INTERNATIONAL STANDARD ISO 13099-2:2012(E). Colloidal systems — Methods for zeta- potential determination — Part 2, Optical methods.
18. Uskoković V. Dynamic Light Scattering Based Microelectrophoresis: Main Prospects and Limitations// *J. Dispers Sci Technol*, 2012, December 1, 33(12), p. 1762–1786.
19. 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.

20. 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, т. 23, № 1, с. 123–129.
21. Jiang D., Sims C.E., Allbritton N.L. Microelectrophoresis platform for fast serial analysis of single cells// Electrophoresis, 2010 Aug, 31(15):2558-65.
22. Ueberfeld J., Ehrlich D.J. 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.
23. Galneder R., Kahl V., Arbuzova A., Rebecchi M., Rädler J.O., McLaughlin S. Microelectrophoresis of a bilayer-coated silica bead in an optical trap: application to enzymology// Biophys J. 2001, May, 80(5), 298-309.
24. 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, p. 425-438.
25. Kaszuba M., Corbett J., Watson F.M., Jones A. High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques// Philos Trans A Math Phys Eng Sci, 2010, Sep 28, 368(1927).
26. Sattelle D.B. Quasielastic laser light scattering and laser Doppler electrophoresis as probes of synaptic and secretory terminal function// J. Exp Biol, 1988, Sep;139:233-52.
27. Tscharnuter W.W. Mobility measurements by phase analysis// Appl Opt, 2001, Aug, 20, 40(24):3995-4003.
28. Ito T., Sun L., Bevan M.A., Crooks R.M. 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), 6940-6945.
29. 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.
30. Zhou C., Krueger A.B., Barnard J.G., Qi W., Carpenter J.F. Characterization of Nanoparticle Tracking Analysis for Quantification and Sizing of Submicron Particles of Therapeutic Proteins// J. Pharm Sci. 2015, May, 27.
31. Griffiths D., Hole P., Smith J., Malloy A., Carr B. Size and Count of Nanoparticles by Scattering and Fluorescence Nanoparticle Tracking Analysis (NTA), Considerations in Particle Sizing.

32. Sediq A.S., Nejadnik M.R., El Bialy I., Witkamp G.J., 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.
33. Dukhin et al. Use of Ultrasound for Characterizing Dairy Products// *Journal of Dairy Science*, v. 88, №. 4, 2005.
34. 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, p. 493–500.