

На правах рукописи

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Игнатенко', enclosed in a hand-drawn oval shape with a long horizontal line extending to the right.

Игнатенко Дмитрий Николаевич

**АНАЛИЗ ДИСПЕРСНОГО СОСТАВА СИЛЬНОРАСSEИВАЮЩИХ СРЕД
МЕТОДАМИ ЛАЗЕРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

Специальность 1.3.19. Лазерная физика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

Москва, 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Федеральном исследовательском центре «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук».

Научный руководитель:

Гудков Сергей Владимирович, доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, руководитель Центра биофотоники ИОФ РАН.

Официальные оппоненты:

Олейников Владимир Александрович, доктор физ.-мат. наук, заведующий отделом биоматериалов и бионанотехнологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный Научный Центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Чайков Леонид Леонидович, кандидат физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией комбинационного рассеяния света Федерального государственного бюджетного учреждения науки Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Государственный университет просвещения».

Защита диссертации состоится 09 декабря 2024 г. в 15:00 заседании диссертационного совета 24.1.223.03 при ИОФ РАН по адресу: 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 38, корп. 1, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ИОФ РАН <https://diss.gpi.ru/all/>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.223.03
канд. физ.-мат. наук
тел.: +7 (499) 503-87-80



Осадчий
Александр
Валентинович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Дисперсные системы повсеместно встречаются в различных сферах науки и техники (включая физическую химию, геофизику, биомедицину и фармакологию, технологический контроль, мониторинг окружающей среды и сельское хозяйство, экологию, пищевую промышленность, нефтеперерабатывающую промышленность и т.д.) [1-5]. Существуют фундаментальные и прикладные проблемы, связанные с измерением размера и концентрации частиц в дисперсной среде. Определение характеристик частиц является важным компонентом исследований и разработки, производства и контроля качества дисперсных материалов, а также важным инструментом передовых научных направлений, таких как биотехнология или производство наночастиц. Существенный интерес представляет динамика дисперсных систем в процессе химических превращений или горения [6].

В настоящее время оптические методы являются наиболее распространенными для определения размера, формы и структуры дисперсных систем. К наиболее часто применяющимся методам исследования высокодисперсных коллоидных систем относятся спектрофотометрия, флуориметрия, оптическая когерентная томография, эллипсометрия и скаттерометрия [7, 8]. Сложные сильно рассеивающие дисперсные системы (суспензии, эмульсии, пены, пыль) обычно дополнительно исследуют с помощью оптической микроскопии. Для получения более точных данных часто обосновано применение сразу нескольких методов [9, 10].

Согласно определению из Большой Российской Энциклопедии: *«молоко — это биологическая жидкость, продукт нормальной физиологической секреции молочных желёз самок млекопитающих, вырабатываемый в период лактации; предназначена для грудного вскармливания и питания»*. Молоко представляет собой водный (86-88% воды) коллоид, содержащий жиры (3-6%), белки (наибольшее процентное содержание у казеина 2-4%), лактоза (3-6%), минеральные соли и в ряде случаев соматические клетки. С точки зрения взаимодействия компонентов молока с оптическим излучением, молоко — это многокомпонентная дисперсная сильно рассеивающая среда. Рыночная стоимость молока зависит главным образом от содержания жира и белка. Экспресс-анализ процентного содержания данных компонентов молока, а также лактозы, аминокислот, прогестерона, микробиологических примесей и соматических клеток дает необходимую информацию для оценки показателей качества молока, что дает возможность корректировать кормовой баланс для коров и диагностировать их клиническое состояние [11-13].

Одним из показателей качества молока является содержание соматических клеток (ССК), которое характеризуется количеством клеток в миллилитре молока. По результатам ветеринарных исследований концентрация ССК выше 10^5 клеток на 1 мл расценивается как признак заболевания коровы маститом [14, 15]. Для определения ССК в молоке используют, проточный цитометрический анализ требующий пробоподготовки, времени и дорогостоящих реактивов [16, 17].

Оперативную количественную оценку состава молока возможно также проводить и другими способами. В частности, существуют анализаторы молока на базе инфракрасной Фурье-спектроскопии (ИК-Фурье), такие анализаторы очень дороги и, как правило, громоздки. Помимо систем ИК-Фурье, все чаще используются менее дорогие и более компактные спектроскопические анализаторы состава молока в ближнем инфракрасном диапазоне (БИК) [18-20]. Как и спектроскопические анализаторы молока, светорассеивающие датчики состава молока весьма перспективны, поскольку их можно сделать компактными, быстрыми и дешевыми, обеспечивая при этом достаточную точность измерения процентного содержания жира и белка. Существует несколько исследований, предлагающих применение светорассеяния для определения процентного содержания компонентов в молоке [21-25], коммерческих предложений светорассеивающих датчиков состава молока в настоящее время представлено не так много (в качестве примера можно привести прибор Afimilk [19]). Анализаторы молока на основе однократного рассеяния требуют разбавления молока [26]. Для анализа размера и концентрации частиц в плотных средах, в том числе в пищевых продуктах, предлагаются приборы, воплощающие такие методы, как спектроскопия волн фотонной плотности (PDW) [27-29] и статическое многократное рассеяние света (SMLS) [30-32]. К сожалению, все выше перечисленные методы не способны получать данные требуемой точности в движущемся потоке, особенно в газомолочной смеси, идущей по доильным системам. В рамках данной работе предложен новый комбинированный подход диагностики дисперсного состава

молока, а также разработан прибор — датчик, предназначенный для диагностики компонентного состава молока в потоке.

Цель работы

Цель работы — исследование взаимодействия лазерного излучения со сложной полидисперсной системой для разработки технологии непрерывного измерения концентрации ключевых компонентов молока.

Задачи диссертационной работы

Для достижения поставленной цели в рамках диссертационной работы решались следующие задачи:

1. Исследовать возможности известных методов лазерной компонентной диагностики молока, определить их преимущества и недостатки.
2. Исследовать рассеяние лазерного излучения модельными дисперсными системами на основе молока и выявить зависимость индикатрисы рассеяния излучения от процентного содержания рассеивающих компонентов молока (жировые мицеллы и соматические клетки).
3. Изучить экспериментальную возможность независимой регистрации компонентов молока (жира и соматических клеток) на известных углах рассеяния.
4. Изучить флуоресцентные характеристики модельных дисперсных систем на основе молока в диапазоне УФ и видимого спектра для изучения возможности определения концентрации белка.
5. Разработать прототип прибора комбинирующего методы скаттерометрии и флуориметрии, позволяющего независимо друг от друга определять содержание компонентов молока: жира, белка и соматических клеток.

Научная новизна работы

Полученные в диссертационной работе результаты демонстрируют возможность создания прибора на основе методов лазерной диагностики для определения дисперсного состава сильнорассеивающих сред, сочетающих в себе простоту исполнения и достаточную точность в противовес дорогим лабораторным установкам. Исследования проводились с использованием молока в качестве образца, поскольку, с одной стороны, это эталонный пример широко доступной сильнорассеивающей мультикомпонентной среды, с другой — диагностика компонентного молока сама по себе является важной задачей для медицины, биологии и сельского хозяйства. Ранние исследования были направлены на поиск потенциального метода для внедрения в перспективный датчик, предназначенный для диагностики дисперсного состава сильнорассеивающих сред. Исследование дисперсного состава среды, находящейся в состоянии движущегося потока (расхода), представляет собой отдельную задачу. Благодаря экспериментам, проведённым с помощью метода лазерной поляриметр-скаттерометрии (ЛПС), было установлено, что несмотря на вырождение матрицы рассеяния света (МРС) при сильном рассеивании (что соответствует Теории Ми [33]) кривизна индикатрисы светорассеяния напрямую зависит от концентрации крупных частиц независимо от степени разбавления среды (так, в случае молока кривизна индикатрисы отвечает за концентрацию мицелл жира). Данный результат стал обоснованием для дальнейших экспериментов по определению жирности и крупномасштабных примесей в молоке путём простой регистрации рассеянного света. Так, впервые удалось установить функциональную зависимость между параметрами формы индикатрисы рассеяния и параметрами компонентного состава молока, что позволяет определять последние без предварительной процедуры обработки данных. В частности, было установлено, что жирность можно регистрировать по углам бокового рассеяния света, когда наличие крупномасштабных примесей регистрируется на углах прямого рассеяния. Данный метод успешно продемонстрировал себя в работе как со статическими образцами, так и с образцами в движущемся потоке. С целью определения содержания белка вышеописанный метод дополнен возможностью регистрации флуоресцентного сигнала. Эксперименты подтвердили, что белок флуоресцирует (за счёт наличия в составе тирамина, триптофана и фенилаланина) при длине волны возбуждающего излучения ≈ 280 нм, когда жир практически не флуоресцирует. Это позволяет по эмиссии флуоресценции определять содержание белка в образце молока.

Практическая значимость работы

Результаты диссертационной работы представляют интерес с точки зрения практического применения (регистрация и определение примесей в газообразных и жидких средах в рамках проведения исследований вне лабораторных условий, диагностирования контроля качества пищевых продуктов или обеспечения безопасности рабочей среды) и биологических исследований. Описанные в диссертационной работе результаты представляют в первую очередь практический интерес с точки зрения определения компонентного состава жидких полидисперсных органических сред, в частности молока. В рамках работы были разработаны методы регистрации сигнала от компонентов молока как в неподвижном состоянии, так и в движении. Описана зависимость наклона индикатрисы светорассеяния от жирности молока. Выявлен эффект, при котором присутствие жировых мицелл и крупномасштабных примесей может быть обнаружено на определённых углах рассеяния цилиндрической геометрии. Разработан метод прямой регистрации компонентов молока из индикатрисы светорассеяния без промежуточной обработки результатов измерения. Выявлена возможность регистрации белка в молоке посредством рассеяния флуоресценции. Разработан метод прямой регистрации белка измерения интенсивности рассеяния флуоресценции. Для проверки работоспособности вышеописанных методов была разработана серия датчиков — анализаторов компонентного состава молока и проверена их работоспособность.

Эти результаты могут послужить основой для создания простых и эффективных приборов, которые могут осуществлять экспресс-анализ дисперсного состава сред биологического характера. Такие приборы могут найти широкое применение в биологических исследованиях и сельском хозяйстве.

Положения, выносимые на защиту

1. Наклон индикатрисы светорассеяния зависит от содержания жира в молоке независимо от степени разбавления молока.

2. Независимо друг от друга возможно определение содержание жира на углах бокового рассеяния (72° - 108°) и содержание крупномасштабных примесей (в частности, соматических клеток) на углах прямого рассеяния (0° - 36°).

3. Определение содержания белка (казеина) в молоке возможно путём регистрации флуоресценции (длина волны возбуждения 280 нм) при вычете заранее определённого скаттерометрическим методом вклада содержания жира.

Личный вклад автора

Планирование и проведение измерений, обработка экспериментальных данных, интерпретация полученных результатов, проектирование и изготовление экспериментальных приборов выполнены автором лично либо при его непосредственном участии. Написание и обсуждение текстов статей и тезисов конференций выполнено в соавторстве или при непосредственном участии автора.

Апробация результатов работы

Результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на семинарах Центра Биофотоники Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН и Научного центра волновых исследований Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН, а также на национальных и международных конференциях: Международная научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов «Агробиоинженерные инновации в сельском хозяйстве» (Москва, 10-11 июня 2021); Школа-конференция молодых ученых ИОФ РАН «Прохоровские недели» (Москва, 19-21 октября 2021); 4-я всероссийская конференция «Физика водных растворов» (Москва, 20-22 декабря 2021); XII Всероссийская конференция «Необратимые процессы в природе и технике» (НППТ-2023, Москва, 31 января – 3 февраля 2023); X Международная конференция «Лазерные, плазменные исследования и технологии» (ЛаПлаз-2024, Москва, 26-29 марта 2024); 77-я Международная школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 15-19 апреля 2024); Всероссийская молодежная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы биологии, экологии и химии» (Путь в науку – 2024, Ярославль, 18 апреля 2024); II scientific conference «Advanced research on biological resources» (Москва, 25-27 апреля 2024).

Публикации

За время выполнения работы в ведущих рецензируемых научных журналах, определенных списком ВАК, опубликовано 12 статей, из них 8 по теме диссертации. Также результаты диссертационной работы отражены в 8 тезисах конференций и одном патенте.

Структура и объём работы

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения и списка цитируемой литературы. Общий объём диссертации составляет 157 страниц, включая 49 рисунков и 10 таблиц. Список цитируемой литературы содержит 260 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, сформулирована цель работы, обозначены основные задачи исследования, определены научная новизна и практическая значимость работы, обозначены защищаемые положения.

В первой главе представлен литературный обзор, охватывающий широкий спектр явлений, связанных с выбранной тематикой работы, и описывающий современное состояние исследований по теме диссертации. Значительная часть главы посвящена описанию спектрометрических методов на основе измерения в ближнем инфракрасном (БИК) диапазоне, среднем инфракрасном (СИК) диапазоне и спектрометрии в ИК-диапазоне с преобразованием Фурье (ИК-Фурье).

Во второй главе описываются методы оптической диагностики полидисперсных сред, которые по предварительным оценкам должны были стать основой перспективного прибора: метод лазер-люминесцентной спектроскопии, метод лазерной экстинкции и лазер-поляриметрический метод диагностики на основе Матрицы Мюллера (ММ). Выбор этих методов обоснован необходимостью измерять количественный состав в движущихся средах.

Раздел 2.1 является введением к Главе 2, в рамках которого обосновывается первоначальный выбор методов компонентной диагностики молока.

В разделе 2.2 описываются возможности метода лазер-люминесцентной спектроскопии на примере оптоволоконного прибора для определения жирности молока и его скорости потока. Метод показал некоторую применимость при измерении

В разделе 2.3 предлагается к рассмотрению метод лазерной экстинкции — метод регистрации затухания ответного сигнала при облучении лазером.

В разделе 2.4 рассматриваются особенности Мюллер-анализа, а именно лазер-поляриметрической скаттерометрии (ЛПС). Принцип работы поляриметрических приборов для измерения матриц Мюллера (ММ-поляриметров), в частности лазер-поляриметрического скаттерометра можно проиллюстрировать общей схемой (рисунок 1).

Общая схема ММ-поляриметра представляет собой установку из источника света, генератора состояния поляризации (ГСП), кюветы с тестовым образцом, анализатора состояния поляризации (АСП) и фотодетектора. Источники света могут варьироваться в зависимости от назначения поляриметрического прибора и точности измерений, от широкополосных ламп и суперлюминесцентных диодов до лазеров, в том числе перестраиваемых лазеров. Генератор состояния поляризации (ГСП) представляет собой пропускающую оптическую систему, которая позволяет генерировать любое произвольное состояние поляризации (обычно эллиптическое) и используется для преобразования поляризации исходного излучения, которое изначально не поляризовано или имеет постоянную поляризацию, в набор состояний поляризованного света, необходимых для измерения матрицы Мюллера произвольного объекта. ГСП могут иметь различный дизайн; наиболее распространенный ГСП в поляриметрических приборах состоит из комбинации фазовых модуляторов, фазовых пластин и линейного поляризатора. Следует отметить, что ГСП на основе жидких кристаллов так же весьма перспективны, так как они компактны и не имеют движущихся частей. Скаттерометры, измеряющие широкий диапазон углов рассеяния света, могут иметь гониометрическую конструкцию, в которой приемное плечо совершает угловые перемещения.

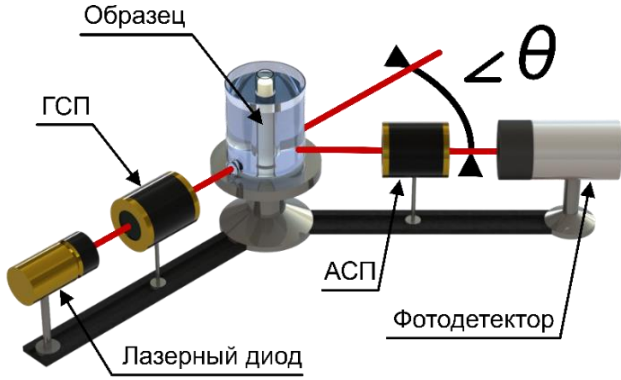


Рисунок 1.

Общая схема лазер-поляризметического скаттерометра (ГСП — генератор состояния поляризации, АСП — анализатор состояния поляризации).

Матрица Мюллера \mathbf{F} описывает преобразование вектора Стокса \vec{S} , который представляет собой состояние поляризации света вследствие взаимодействия света с объектом. Компоненты вектора Стокса, называемые параметрами Стокса, могут быть выражены через интенсивности основных поляризованных компонент световой волны следующим образом:

$$\vec{S} = \begin{bmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I_x + I_y \\ I_x - I_y \\ I_{45^\circ} - I_{-45^\circ} \\ I_R - I_L \end{bmatrix}, \quad (1)$$

где I, Q, U, V — параметры Стокса, I_x, I_y, I_{+45° — интенсивности линейно поляризованных компонент, ориентированных вдоль соответствующих направлений ($x, y, +45^\circ$), а $I_{R,L}$ — интенсивности право- и левополяризованных компонент.

$$\vec{S}_{out} = \mathbf{F}\vec{S}_{in}, \quad (2)$$

$$\mathbf{F} = \begin{bmatrix} F_{11} & F_{12} & F_{13} & F_{14} \\ F_{21} & F_{22} & F_{23} & F_{24} \\ F_{31} & F_{32} & F_{33} & F_{34} \\ F_{41} & F_{42} & F_{43} & F_{44} \end{bmatrix}, \quad (3)$$

где $F_{11} = F_{22}$, $F_{12} = F_{21}$, $F_{34} = -F_{43}$ и $F_{33} = F_{44}$.

В случае дисперсных сред матрица светорассеяния (МРС), определяемая как матрица Мюллера, содержит наиболее полную информацию о светорассеивающих частицах, доступную для статического рассеяния. Элементы МРС, являясь функциями угла рассеяния, зависят также от длины волны зондирующего излучения, оптических свойств и распределения по размерам дисперсного вещества. В частном случае сферических частиц она имеет блочно-диагональную структуру:

$$\mathbf{F} = \begin{bmatrix} F_{11} & F_{12} & 0 & 0 \\ F_{21} & F_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & F_{33} & F_{34} \\ 0 & 0 & F_{43} & F_{44} \end{bmatrix}, \quad (4)$$

где $F_{11} = F_{22}$, $F_{12} = F_{21}$, $F_{34} = -F_{43}$ и $F_{33} = F_{44}$. Физический смысл элемента $F_{11}(\theta)$ — индикатриса рассеяния, то есть угловое распределение интенсивности рассеянного света (θ — угол рассеяния).

Суть метода ЛПС заключается в чувствительности МРС к диспергированным компонентам молока.

Как известно [34, 35], мицеллы жира в молоке имеют диаметр от 0.1 до 15 мкм. Первичные мицеллы казеина имеют сферическую форму размером около 10 нм. Они имеют тенденцию агрегироваться во вторичные мицеллы, образуя казеиновые кластеры, которые имеют плотную упаковку размером до 100 нм. Как следует из теории рассеяния, кластеры из плотно упакованных сфер также имеют блочно-диагональную МРС.

При анализе дисперсного состава измеренная МРС представляется в виде суммы теоретических матриц рассеяния, рассчитанных для модельных частиц с различными размерами. Значения соответствующих весов, которые обеспечивали минимум среднеквадратичных отклонений теоретических и экспериментальных данных, определяли искомое распределение частиц по размерам. При измерениях МРС необходимо разбавление образцов молока для обеспечения режима одиночного рассеяния, чтобы представление измеренного МРС в виде линейной комбинации МРС, рассчитанной для отдельных частиц, было достоверным.

Чтобы проверить способность ЛПС анализировать состав молока, были проведены эксперименты с серией образцов коровьего молока с номинальным содержанием жира 0.05%, 1.5%, 2.5% и 3.5-4.5%, произведенных промышленным способом с использованием ультравысокотемпературной пастеризации и гомогенизации. Содержание белка во всех этих образцах молока составило 3,1 г на 100 г продукта. При подготовке к измерениям образцы молока были подвергнуты 1000-кратному разбавлению по объему очищенной водой, полученной с использованием Milli-Q Integral 5 (Merck Millipore, Мольсхайм, Франция) с $pH = 5.5$ при нормальных условиях. Степень разбавления была выбрана исходя из необходимости однократного рассеяния света дисперсными частицами в молоке, которое в своем первоначальном виде без разбавления является средой многократного рассеяния.

В экспериментах были измерены блочно-диагональных элементы матрицы рассеяния (4) F_{11} , F_{12} , F_{33} , F_{34} как функции угла рассеяния в диапазоне углов рассеяния 0-160° для образцов молока с жирностью 0.05%, 1.5%, 2.5%, 3.5-4.5%, и кратностью разбавления водой 1000 раз по объему. Соответствующие этим кратностям графики угловых зависимостей матричных элементов показаны на рисунке 2. Под f_{ij} подразумеваются элементы матрицы F_{ij} нормализованные к F_{11} ($f_{ij} = F_{ij} / F_{11}$). Абсолютная погрешность измерения нормализованных элементов матрицы составила 0.03.

Как видно из рисунка 2, угловые профили матричных элементов демонстрируют монотонную зависимость от содержания жира в молоке в следующих диапазонах углов рассеяния: ~50-120° (F_{11}); ~40-120° (F_{12}); ~80-150° (F_{33}) и ~100-140° (F_{34}).

Для восстановления распределения частиц по размерам используются элементы экспериментальной матрицы рассеяния F_{ij} , представленные в виде сумм вкладов частиц различных типов [36]:

$$F_{ij}(\theta_k) = \frac{\sum_p \alpha_p \cdot C_p^{sca} \cdot F_{ij}^{(p)}(\theta_k)}{\sum_p \alpha_p \cdot C_p^{sca}} \quad (5)$$

где θ_k — значение угла рассеяния из измеренного набора $\{\theta_k\}$, α_p — коэффициент вклада в матрицу рассеяния от частиц p -типа, C_p^{sca} — сечение рассеяния частиц p -типа, и $F_{ij}^{(p)}(\theta_k)$ — матричные элементы частиц p -типа. МРС для частиц каждого типа были рассчитаны в рамках модели сферических рассеивателей.

Коэффициенты вклада α_i , обеспечивающие минимальные по сумме квадратов отклонения теоретических элементов матрицы (5) от экспериментальных данных $\Phi(\{\alpha_i\})$, определяют искомое распределение частиц по размерам:

$$\Phi(\{\alpha_i\}) = \sum_k \left[(\Delta f_{11}(\theta_k))^2 + (\Delta f_{12}(\theta_k))^2 + (\Delta f_{13}(\theta_k))^2 \right] \quad (6)$$

где для всех элементов, кроме F_{11} , отклонения определяются как:

$$\Delta f_{ij}(\theta_k) = (f_{ij}^{(meop)}(\theta_k) - f_{ij}^{(эксн)}(\theta_k)) / h_{ij} \quad (7)$$

где h_{ij} — ошибка измерения матричного элемента. Для F_{11} отклонение определяется как:

$$\Delta f_{11}(\theta_k) = \left(\left[F_{11}^{meop}(\theta_k) / F_{11}^{эксн}(\theta_k) \right] - 1 \right) / h_{11} \quad (8)$$

Для поиска минимума функции $\Phi(\{\alpha_i\})$ был использован алгоритм Левенберга–Марквардта [17]. Массив значений α_i дают нам гистограмму размера, с помощью которой можно рассчитать содержание жира и белка в образце молока.

Восстановление гистограммы размеров осуществлялось путем выбора 28 каналов размера; каждый канал связан с определенным типом частиц, рассмотренных в разложении (5): 1-20 каналов представляют собой сферы (жировые мицеллы с относительным показателем преломления $n_r = 1.10$) и R варьируется в канале от 0.05 мкм (1-й канал ограничен 0.05-0.0646 мкм) до 8.34 мкм (20-й канал ограничен 6.46-8.34 мкм). Каналы 21-28 представляют собой агрегаты (мицеллы казеина с относительным показателем преломления $n_r = 1.18$); размеры агрегатов варьируются от $R_v = 34$ нм (радиус вращения $R_g = 35$ нм) в 28-м канале для $R_v = 204.8$ нм (радиус вращения $R_g = 238$ нм) в 21-м канале. Размер совокупности сферических мономеров. R_v определяется как радиус сферы эквивалентного объема:

$$R_v = a\sqrt[3]{N}, \quad (9)$$

где N — количество мономеров в агрегате казеина, a — радиус сферы, объем которой равен объему мономера.

Предполагалось, что радиус мономеров казеина $a = 10$ нм, а фрактальная размерность $D_f = 2.8$). Реконструкция проводилась по сумме квадратов отклонений экспериментальных и теоретических значений трех элементов F_{11} , F_{12} , F_{33} в диапазоне углов рассеяния 25-160°.

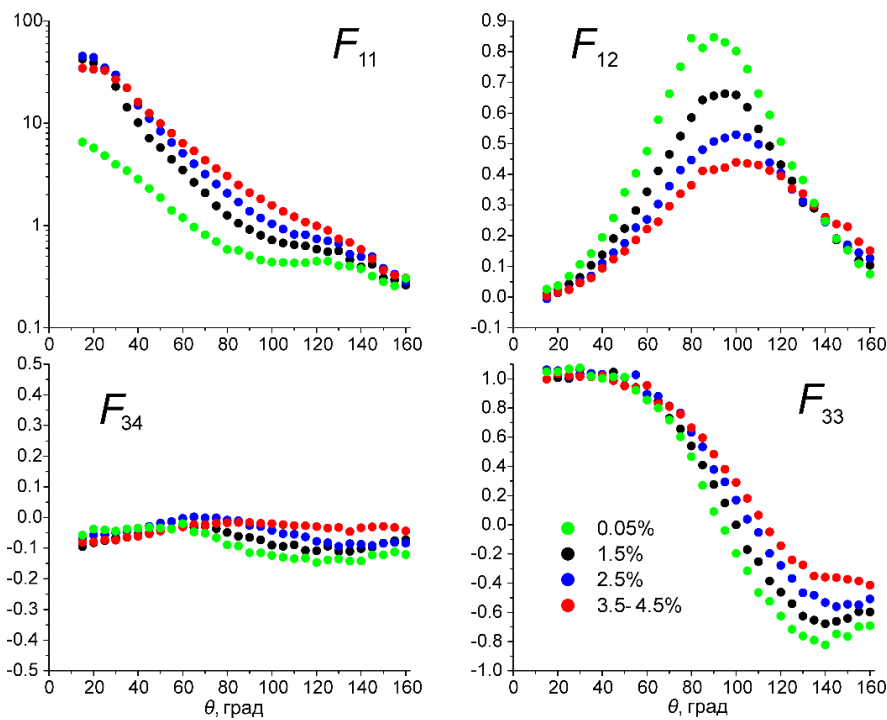


Рисунок 2.

Элементы MPC F_{11} , F_{12} , F_{33} , F_{34} в зависимости от угла рассеяния, экспериментально измеренного при длине волны света 532 нм для образцов коровьего молока с номинальным содержанием жира: 0.05% (зеленый), 1.5% (черный), 2.5% (синий), 3.5-4.5% (красный), с кратностью разбавления водой 1000 раз по объему.

В расчетах значения элементов F_{12} , F_{33} агрегатов казеина принимались равными соответствующим значениям элементов матрицы Рэлея из-за их малой разницы для агрегатов с размерами мономеров, много меньшими длины волны [37]. Значения элемента F_{11} и сечения рассеяния агрегатов казеина рассчитывались в приближении Рэлея–Ганса–Дебая, которое справедливо при условиях:

$$2X_m |m-1| \ll 1, \quad |m-1| \ll 1, \quad X_m = \frac{2\pi a}{\lambda}. \quad (10)$$

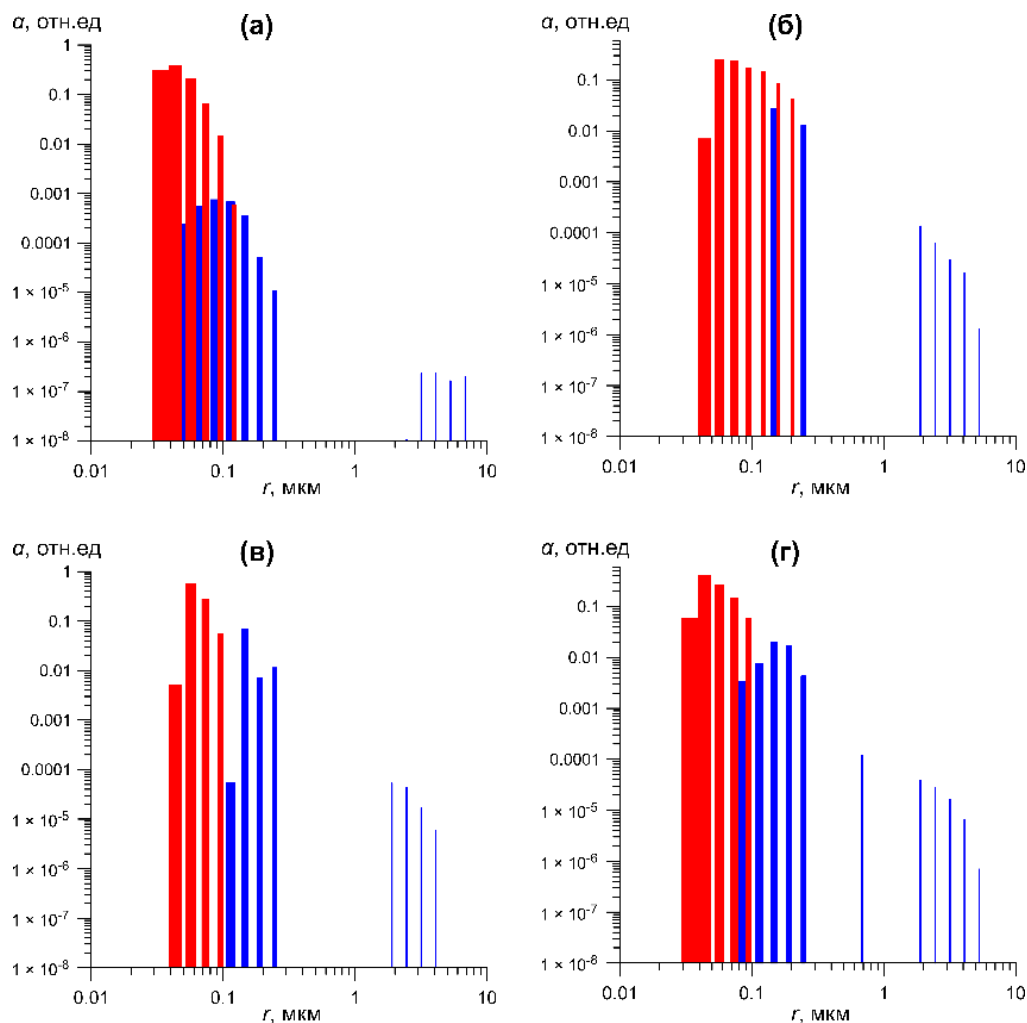


Рисунок 3.

Гистограммы размеров, полученные из данных матрицы рассеяния в диапазоне углов рассеяния 25-160° для разбавленных образцов коровьего молока с номинальным содержанием жира: (а) 0.05%, (б) 1.5%, (в) 2.5% и (г) 3.5-4.5%. Гистограммы нормализованы. Красные столбцы соответствуют белку, а синие — жиру.

На основе полученных данных матрицы рассеяния для коровьего молока с номинальным содержанием жира 0.05, 1.5, 2.5 и 3.5-4.5% было воспроизведено распределение частиц по размерам методом решения обратной задачи. Соответствующие гистограммы размеров показаны на рисунке 3. На каждом из графиков вклады мицелл жира и агрегатов казеина показаны разными цветами. Типичные размеры агрегатов казеина составляют 40-200 нм. Мицеллы жира характеризуются наличием крупных (2-7 мкм) и мелких (60-200 нм) фракций. Концентрация частиц мелкой фракции невелика, составляя 10^{-6} - 10^{-4} см⁻³.

Расчетное содержание жира равно 0.002, 0.011, 0.024 и 0.042 отн.ед., а расчетное содержание казеина равно 0.026, 0.030, 0.035 и 0.038 отн.ед. для коровьего молока с номинальным содержанием жира 0.05, 1.5, 2.5 и 3.5-4.5% и значениям отношения белка и жира составляют 13, 2.7, 1.5 и 1.1 соответственно.

В заключении к Главе 2 формулируются выводы на основе результатов экспериментов.

Исследованы возможности измерений компонентного состава молока методами лазерно-люминесцентной спектроскопии, лазерной экстинкции и лазер-поляризметрической скаттерометрии (ЛПС). Лучшие результаты получены с помощью метода ЛПС. Метод позволяет одновременно определять содержание нескольких элементов (жира и белка) с помощью алгоритма решения обратной задачи восстановления распределения дисперсных частиц, но при этом требует разбавления молока в 1000 раз. Экспериментально показано, что индикатриса светорассеяния в молоке имеет монотонную зависимость от процентного содержания жира в диапазоне ~0.01-10%.

В третьей главе описываются методы, которые впоследствии были внедрены в прибор: метод регистрации углового распределения (индикатрисы) рассеянного света и регистрации флуоресценции белка.

Раздел 3.1 является введением к Главе 3, в рамках которого обосновывается переход к комбинированному методу диагностики компонентного состава молока.

Раздел 3.2 посвящён описанию применения метода регистрации индикатрисы с целью определения жирности молока и крупномасштабных примесей. Индикатриса рассеяния измерялась на серии образцов коровьего молока, подвергнутого ультрапастеризации, с процентным содержанием жира 0.05%, 1.5%, 3.0%, 4.5% и 6% с использованием лазерного модуля (длина волны 650 нм, мощность 5 мВт, напряжение питания 3 В, рабочий ток 40 мА) и осевого массива из 8 фотодиодов, расположенных под углами рассеяния 0°, 18°, 54°, 72°, 90°, 126°, 144°, 162° в соответствии с схемой на рисунке 4.

С целью калибровки датчика по процентному содержанию жира в молоке, проведены эксперименты с серией образцов коровьего молока разного процентного содержанием жира: 0.05%, 1.5%, 3.0%, 4.5% и 6%. Данный набор процентной жирности был получен путем последовательного смешивания двух проб первичного молока, серийно произведенного по технологии ультрапастеризации и гомогенизации (обезжиренного молока номинальной жирностью 0,05% и молока повышенной жирности номинальной жирностью 6%) в равных пропорциях. Содержание белка в первичных пробах молока составило 3.0 г на 100 г продукта.

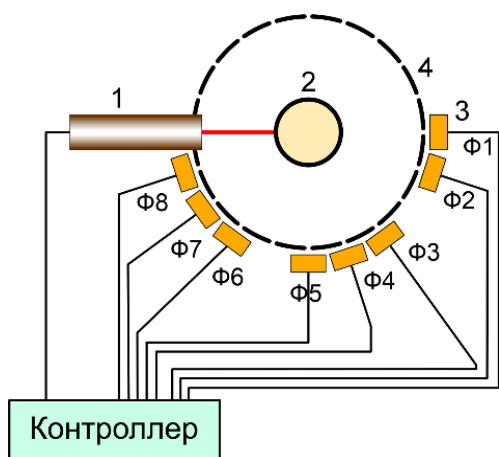


Рисунок 4.

Оптическая схема скаттерометрического датчика: (1) лазерный модуль с длиной волны 650 нм, мощностью 5 мВт, напряжением питания 3 В, рабочим током 40 мА, (2) цилиндрическая трубка диаметром 15 мм, через которую протекает молоко, (3) массив осевых фотодиодов Ф1-Ф8, (4) кольцо с прямоугольными диафрагмами.

Индикатрисы рассеяния для молока различной жирности, полученные усреднением по трём независимо приготовленным пробам каждой жирности, представлены в логарифмическом масштабе на рисунке 5. Среднеквадратическая ошибка логарифма интенсивности рассеяния не превышает 0.02.

Угловое поведение интенсивности рассеяния на рисунке 5 типично для многократно рассеивающей среды. Значения интенсивности рассеяния монотонно изменяются с увеличением жирности молока, что приводит к различному наклону индикатрисы рассеяния в диапазоне углов от обратного рассеяния к боковому рассеянию. Таким образом, наклон зависимости логарифма интенсивности рассеяния от угла рассеяния можно принять в качестве параметра, чувствительного к процентному содержанию жира. Его можно определить как разность логарифмов интенсивности рассеяния между боковыми углами рассеяния (72° или 90°) и углами обратного рассеяния (144° или 162°).

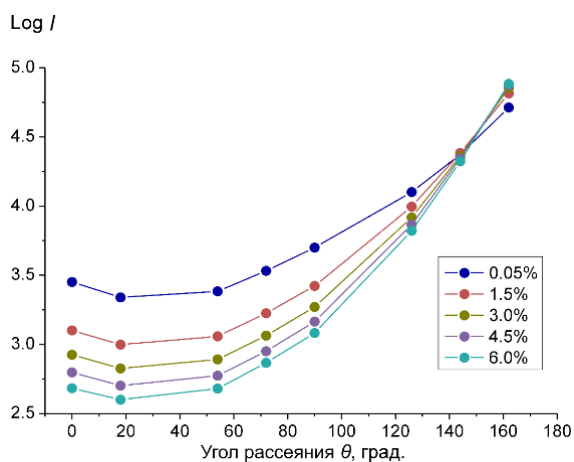


Рисунок 5.

Индикатрисы рассеяния (интенсивность рассеяния I в зависимости от угла рассеяния θ), измеренные для образцов ультрапастеризованного молока с процентным содержанием жира 0,05%, 1,5%, 3,0%, 4,5% и 6% при нулевой скорости потока в цилиндрическом кварцевом сегменте при нормальных условиях. условия. Тип лазера — диод, полупроводниковый, длина волны 650 нм, мощность 5 мВт, напряжение питания 3 В, рабочий ток 40 мА. Экспериментальная погрешность логарифма интенсивности не превышает 0.02.

Предложен более точный способ определения наклона путем расчета коэффициентов линейной регрессии, которые определяются методом наименьших квадратов для логарифмических значений интенсивности рассеяния $\text{Log}(I_{\text{скал}})$, измеренных при углах рассеяния 72° , 90° , 126° , 144° и 162° . Значения наклона X , полученные для исследуемых образцов молока в диапазоне жирности 0-6%, показаны на рисунке 6; данные представлены как среднее и стандартное отклонение.

Нормированный наклон
логарифмированной
индикатрисы рассеяния (X)

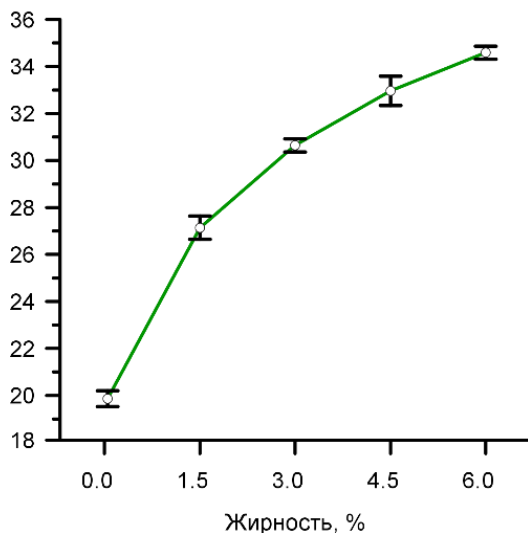


Рисунок 6.

Перемасштабированный наклон логарифмической индикатрисы рассеяния на угловом интервале (72° - 162°) X , рассчитанный методом наименьших квадратов для ультрапастеризованного молока с различной жирностью в диапазоне 0-6% с использованием данных, представленных на рисунке 5 после умножения на коэффициент 1548.

Как следует из рисунка 6, наклон индикатрисы рассеяния увеличивается примерно в 1.7 раза при увеличении содержания жира от 0 до 6%. В то время как логарифм интенсивности рассеяния под углом 162° увеличивается лишь в 1.04 раза при аналогичном увеличении содержания жира. Этот факт позволяет исключить внешние факторы (например, движения молока в потоке или нестабильности мощности лазера) при учёте свойства индикатрисы рассеяния смещаться вдоль вертикальной оси и, соответственно, делает метод измерения содержания жира в молоке по наклону индикатрисы достаточно надёжным.

Зависимость наклона индикатрис рассеяния от жирности нелинейная. С целью её приведения к более удобной калибровочной кривой, которой можно было бы характеризовать жирность молока, зависимость наклона индикатрисы необходимо линеаризовать.

Предполагалось, что поведение индикатрис будет соответствовать закону Бугера-Ламберта-Бера [38], а именно будет происходить уменьшение интенсивности на всех углах. Однако, как видно на рисунке 5, экспериментальные данные с фотодиодов под углами 144° и 162° выше ожидаемых. Это связано с тем, что многократно переотражённые фотоны усиливают сигнал на близкорасположенных к источнику излучения фотодиодах за счёт эффекта Тиндаля. В результате происходит отклонение от закона Бугера-Ламберта-Бера больших углах рассеяния.

Лучше всего показала себя гиперболическая линеаризация:

$$Y = \frac{1}{a - X} \quad (11)$$

где X — наклон логарифмированной индикатрисы рассеяния на каждом фотодиоде; a — экспериментально установленный параметр (для ультрапастеризованного молока $a = 43$); Y — характеристическая функция датчика измерения жирности молока, допускающая линеаризацию с достаточной точностью. При применении линейной регрессии в соответствии с алгоритмом наименьших квадратов, была получена формула линейной зависимости Y от жирности для ультрапастеризованного молока:

$$Y = 0.01253C + 0.04356, R^2 = 0.9998, \quad (12)$$

где C — процент жирности молока, а R^2 — коэффициент детерминации. Соответствующий характеристический график реакции сенсора на жирность молока представлен на рисунке 7.

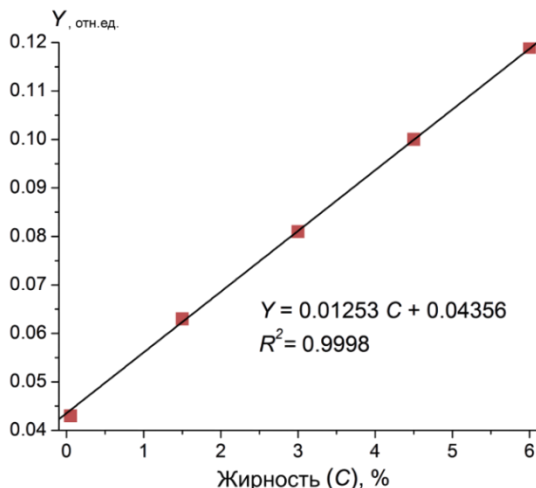


Рисунок 7.

Линеаризация характеристической кривой содержания жира в ультрапастеризованном молоке. Y — наклонная функция, определяемая формулой (12).

Статическая калибровка, определяемая характеристическими графиками (рисунки 6 и 7), остается справедливой для ламинарного потока молока при скорости потока до 100 мл/мин.

Таким образом удалось установить функциональную связь между параметрами, характеризующими форму индикатрисы лазерного рассеяния и жирностью молока.

Для изучения реакции индикатрис светорассеяния на содержание соматических клеток (ССК) в молоке были проведены сравнительные измерения индикатрис в образцах ультрапастеризованного молока разной жирности с добавлением и без добавления соматических клеток (СК) до конечной концентрации 10^6 см^{-3} (рисунок 8). Клетки карциномы молочной железы человека MCF-7 (АТСС № НТВ-22) со средним размером $\sim 20 \text{ мкм}$ добавлялись в образцы молока. Их можно использовать как аналог соматических клеток, которые появляются в молоке млекопитающих (в частности, коров) при заражении маститом. С помощью дозатора клетки были добавлены в исследуемые образцы молока с концентрациями 5×10^4 , 10^5 , 5×10^5 , 10^6 см^{-3} .

Как видно из графиков на рисунке 8, наличие в молоке крупномасштабных частиц-примесей оказывает специфическое влияние на форму индикатрисы рассеяния, приводя к значительному отклонению интенсивности света только в прямом рассеянии. Это является важным фактом для предлагаемого метода измерения содержания жира в молоке, поскольку наличие клеток не будет существенно искажать измеренные значения процентного содержания жира, полученные по наклону индикатрисы рассеяния при боковом и обратном рассеянии. По мере увеличения жирности молока влияние добавления клеток на индикатрису рассеяния начинает постепенно уменьшаться, вероятно, из-за их экранирования растущим количеством частиц жира.

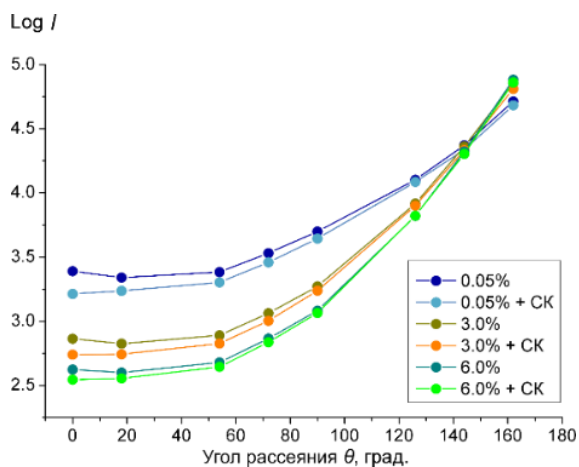


Рисунок 8.

Индикатрисы рассеяния (интенсивность рассеяния I в зависимости от угла рассеяния θ), измеренные для образцов ультрапастеризованного молока с процентным содержанием жира 0,05%, 3,0% и 6,0% с добавлением и без добавления фракций соматических клеток (СК) при уровне концентрации 10^6 см^{-3} . Скорость потока молока в трубе равна нулю. Тип лазера — диод, полупроводниковый, длина волны 650 нм, мощность 5 мВт, напряжение питания 3 В, рабочий ток 40 мА.

Отклонение индикатрисы рассеяния на крупных примесных частицах следует характеризовать падением интенсивности от обратного рассеяния к прямому, а именно разностью логарифмов интенсивности. Такой разностный параметр не зависит от флуктуаций мощности лазера. В качестве точки отсчета при обратном рассеянии наиболее подходящим представляется угол рассеяния 144° , вблизи которого пересекаются индикатрисы для разной жирности. Таким образом, был введен скаттерометрический параметр:

$$S(\theta) = \text{Log}I(144^\circ) - \text{Log}I(\theta_i), \theta_i = \{0^\circ, 18^\circ\}. \quad (13)$$

На рисунке 9 представлена зависимость скаттерометрического параметра при угле рассеяния 0° от наклона индикатрисы рассеяния X при углах 72° - 162° для ультрапастеризованного молока. X , в свою очередь, однозначно связан с процентом жирности молока (рисунок 9).

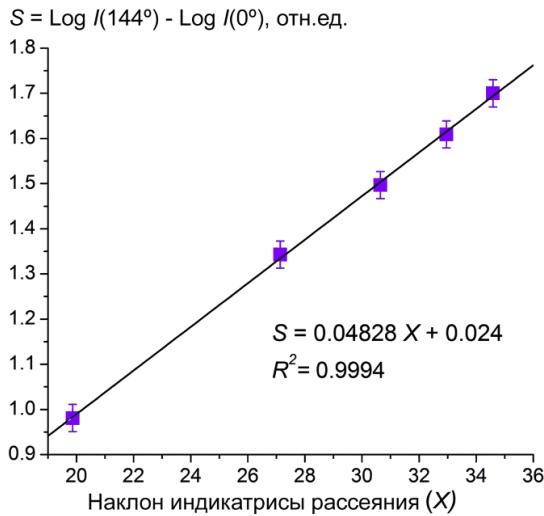


Рисунок 9.

Зависимость скаттерометрического параметра S при угле рассеяния 0° от наклона индикатрисы рассеяния, определенного в интервале углов (72° - 162°) для ультрапастеризованного молока.

Данные на рисунке 9 аппроксимируются функцией:

$$S = 0.04828X + 0.024, R^2 = 0.9994, \quad (14)$$

где X — наклон индикатрисы рассеяния, определяемый в угловом интервале (72° - 162°), а R^2 — коэффициент детерминации. Функцию (14) можно использовать в качестве эталонного уровня для расчета отклонения скаттерометрического параметра, вызванного появлением в молоке соматических клеток.

В качестве параметра, чувствительного к наличию в молоке крупномасштабных частиц примеси, измеряемого непосредственно датчиком, был введен индекс крупных частиц (ИКЧ), определяемый как относительное отклонение скаттерометрического параметра от значения, соответствующего незараженному молоку:

$$ИКЧ = \frac{S - S_{\text{чист}}}{S_{\text{чист}}}. \quad (15)$$

ИКЧ был измерен для различных концентраций СК, добавленных в ультрапастеризованное молоко с содержанием жира 3.0% в диапазоне 5×10^4 - 10^6 см $^{-3}$. Измерения были усреднены по трем независимо приготовленным образцам молока со суспендированными заменителями СК при каждой концентрации. Тем самым была установлена связь между ССК и ИКЧ (рисунок 10).

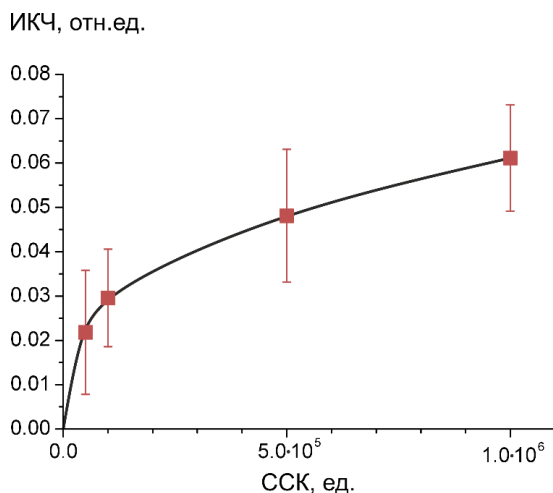


Рисунок 10.

Зависимость ССК от измеренного датчиком значения ИКЧ, полученного добавлением СК с концентрациями 5×10^4 , 10^5 , 5×10^5 , 10^6 см $^{-3}$ к образцам незараженного ультрапастеризованного молока жирностью 3.0%.

Однако из-за большой случайной ошибки в значениях ИКЧ оценка ССК, сделанная на основе ИКЧ, будет неточной. Из графика на рисунке 9 следует, что таким способом можно зарегистрировать лишь значительное превышение ССК молока сверх допустимого уровня 100000 на мл. Это значит, что по отношению к ССК датчик может работать только как индикатор отклонения ССК от нормального случая. Однако, усреднение на длительном интервале времени во время измерений может повысить надежность измерений среднего ИКЧ и, таким образом, лучше оценить уровень ССК.

С целью подтверждения полученных результатов измерений индикатрисы светорассеяния и решения задачи оптимизации конструкции была разработана имитационная модель сильнорассеивающей среды, в основе которой использован метод конечных элементов (МКЭ) [39]. В качестве ячейки задаётся модель частицы с определёнными характеристиками (размер, поглощение, боковое и обратное рассеяние), соответствующими интересующим частицам (для модельных частиц, имитирующих жировые мицеллы, задан размер клетки 0.1 мм; в силу малого размера ячейки, рассеяние в каждой ячейке мало, и условия рассеяния в каждой индивидуальной ячейке могут быть получены из матриц Мюллера). В сочетании с методом Монте-Карло [40], используемым для моделирования случайных процессов, модель позволяет имитировать рассеяние света при прохождении лазерного луча через рассеивающую среду (диаметр сечения среды принят 10 мм). Полученный результат моделирования представлен на рисунке 11(а) для серии заданных значений коэффициентов бокового рассеяния модели частицы (0.003-0.033). Рядом на рисунке 11(б) представлена визуализация модели рассеяния.

Как показывают результаты измерений, представленные на рисунке 11, моделирование многократного рассеяния достаточно просто реализуется с помощью МКЭ. Высокий уровень соответствия результатов моделирования реальным измерениям (рисунок 5) подтверждает достоверность выбранной модели. Также подтверждено, что с помощью модели может быть предварительно протестирована произвольная геометрия светорассеивающей системы. Стоит отметить, что на больших углах рассеяния данные аналогично экспериментальным расходятся с ожидаемыми. Однако, результаты для малых углов рассеяния заметно отличаются от экспериментальных. Это связано с тем, что мицеллы жира являются неединственной рассеивающей фракцией в молоке, и даже полностью обезжиренное молоко будет рассеивать свет за счёт содержания других более мелкодисперсных фракций: белка, лактозы и т.д.

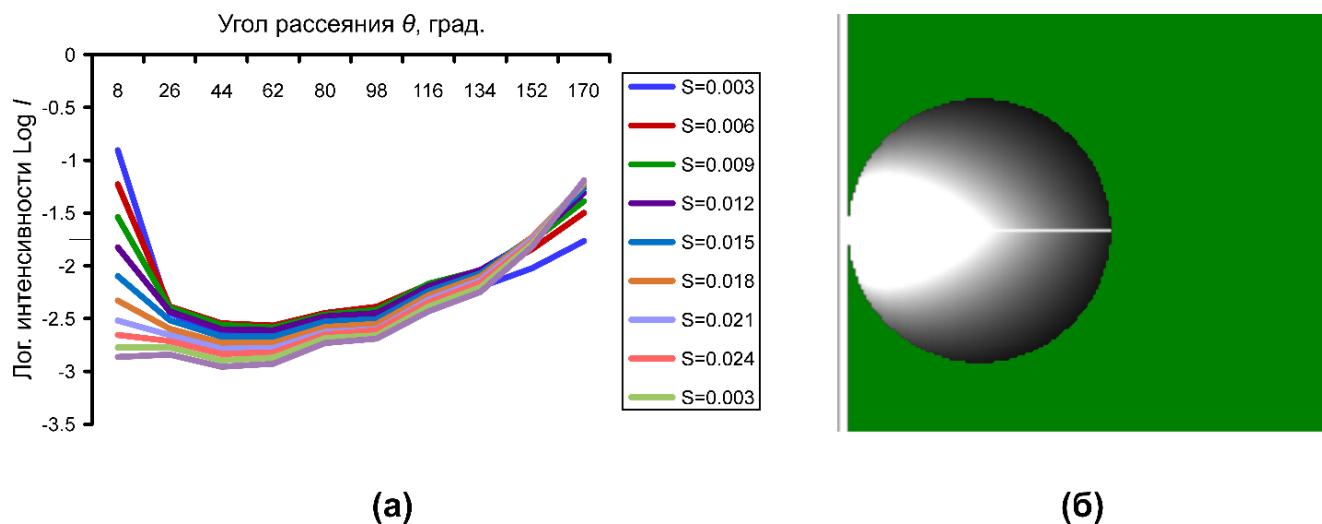


Рисунок 11.

Результаты моделирования светорассеяния в цилиндрической геометрии: (а) индикатрисы для разных значений бокового рассеяния S ; (б) визуализация модели (поглощение $A=0.001$, боковое рассеяние $S=0.01$, обратное рассеяние $B=0.01$, размер клетки 0.1 мм, диаметр цилиндра 10 мм, количество итераций 10^8 ; зелёное поле — игнорируемые при расчёте клетки, чёрно-белое поле — суммарная по направлениям интенсивность света в каждой клетке).

В разделе 3.3 рассматривается возможность комбинирования методов скаттерометрии и регистрации флуоресценции (рисунок 12). Необходимость в этом обусловлена тем, что средние

размеры частиц дисперсных компонентов могут отличаться на порядок (в частности, частицы жира и белка в молоке, которые составляют ~0.1-15 мкм и ~10-100 нм соответственно).

С целью измерения процентного содержания белка в молоке, в дополнение к измерению рассеяния света от лазерного модуля с длиной волны 532 нм, мощностью 5 мВт, напряжением питания 3 В и потребляемым током 250 мА, используется возбуждение флуоресценции молока УФ-светодиодом (длина волны 280 нм, мощность 12 мВт, напряжение питания 8 В и рабочий ток 100 мА) возникающей в полосе резонансного УФ-поглощения белков. Характерный диапазон эмиссии флуоресценции молочного белка (казеина) составляет ~305-400 нм, что позволяет измерять интенсивность флуоресценции на длинноволновой границе этой области с использованием той же матрицы кремниевых фотодиодов, которая используется для измерения рассеяния света. Данный вывод делается на основании исследования флуоресценции молочных продуктов. Карты эмиссии-возбуждения образцов (рисунок 13) были сняты на спектрофлуориметре JASCO-FP 8300P. Измерения проводили при комнатной температуре (23°C). Использовалась кварцевая кювета с оптической длиной пути 10 мм.

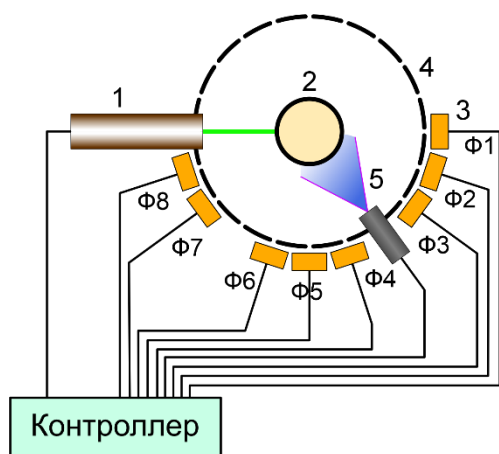


Рисунок 12.

Оптическая схема флуоресцентно-скаттерометрического датчика: (1) лазерный модуль с длиной волны 532 нм, мощностью 5 мВт, напряжением питания 3 В и потребляемым током 250 мА, (2) цилиндрическая трубка диаметром 15 мм, через которую протекает молоко, (3) массив осевых фотодиодов Ф1-Ф8, (4) кольцо с прямоугольными диафрагмами, (5) УФ-светодиод с длиной волны 280 нм, мощностью 12 мВт, напряжением питания 8 В и рабочим током 100 мА.

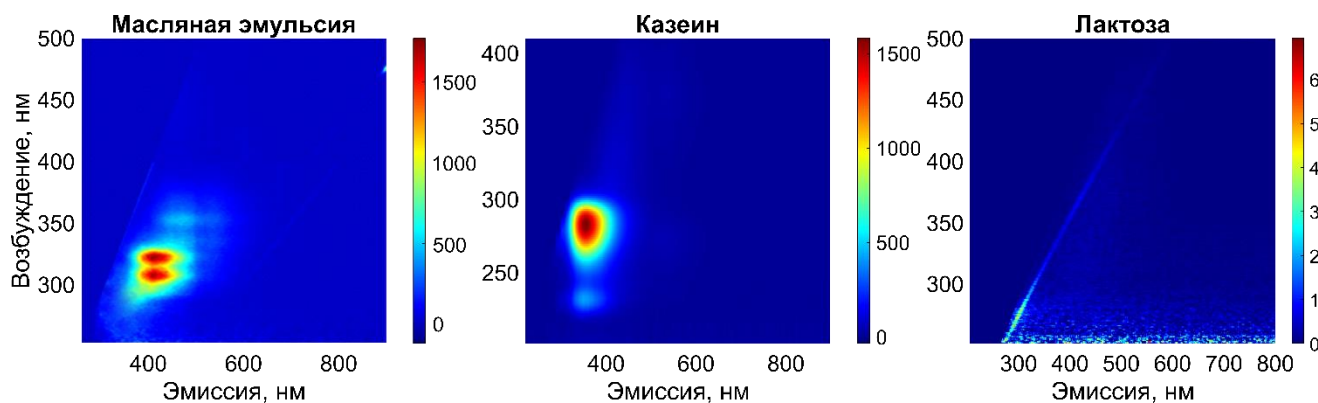


Рисунок 13.

Карты эмиссии-возбуждения образцов эмульгированного сливочного масла, казеина и лактозы.

При включении УФ-светодиода измерялась интенсивность флуоресценции образцов молока с номинальным содержанием жира 0.05, 0.5, 1.5, 3.2, 6% в цилиндрической кварцевой трубке.

Предполагается, что флуоресценция обезжиренного молока (содержание жира составляет 0.05%) вызвана только белком (нулевой уровень флуоресценции жира), содержание которого одинаково во всех образцах молока. Следовательно, оказывается возможным получение зависимостей флуоресценции компонента молочного жира от содержания жира в виде, показанном на рисунке 14(а). Для получения экспериментальной зависимости интенсивности флуоресценции от содержания белка (рисунок 14(б)) использовалось разведение обезжиренного молока с исходным содержанием белка 3% водой.

Функциональная аппроксимация интенсивности флуоресценции жирового компонента может быть получена делением кривой на две части (рисунок 14(а)):

$$F_f(x) = \begin{cases} 2700 \cdot \ln(x+1), & 0 < x < 1.5\% \\ 2250 \cdot x^{0.18}, & x > 1.5\% \end{cases}. \quad (16)$$

Необходимость в переходе к составной функции обусловлена тем, при росте концентрации частиц-флуорофоров происходит насыщение флуоресцентного ответа.

Кривая флуоресценции белкового компонента (рисунок 14(б)) также может быть аппроксимирована составной функцией:

$$F_p(x) = \begin{cases} 10100 \cdot x^{0.48}, & 0 < x < 1.5\% \\ 11550 \cdot x^{0.16}, & x > 1.5\% \end{cases}. \quad (17)$$

Для определения содержания белка по интенсивности флуоресценции следует использовать обратную функцию $F_p(x)^{-1}$. Принимая во внимание калибровочную функцию F_f и процентное содержание жира P_f , независимо измеренное с помощью светорассеяния, процентное содержание белка P_p может быть рассчитано на основе обнаруженной интенсивности флуоресценции молока $I_{\text{флуор}}$ следующим образом:

$$P_p = F_p^{-1}(I_{\text{флуор}} - F_f(P_f)). \quad (18)$$

Эксперименты показали, что измерения интенсивности рассеяния флуоресценции молока при возбуждении на длине волны 280 нм позволяют определять содержание белка с учетом содержания жира, независимо от метода измерения рассеяния света.

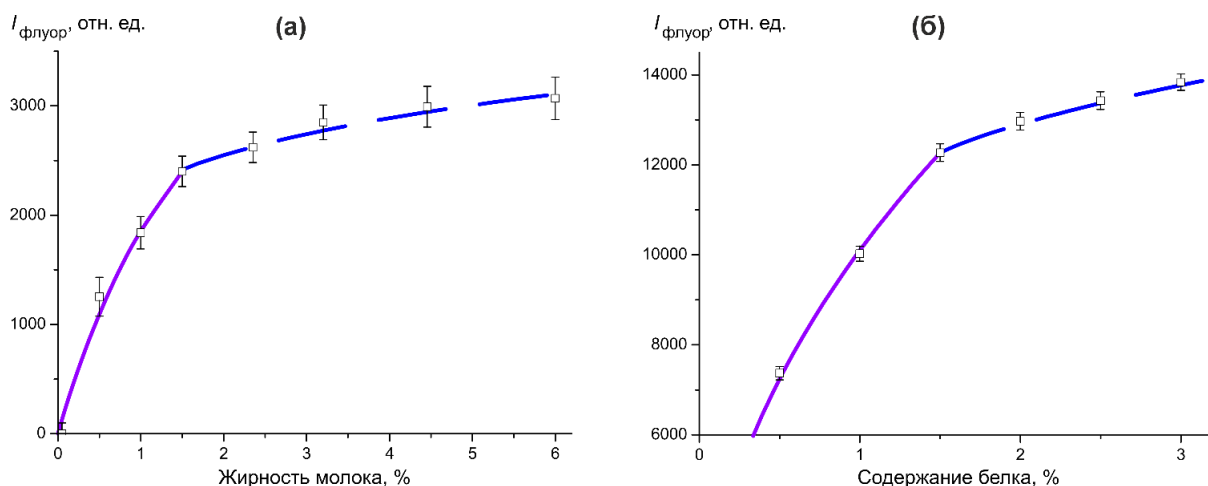


Рисунок 14.

Интенсивность флуоресценции: **(а)** жировой компонент молока в диапазоне жирности 0-6%, **(б)** обезжиренное молоко с процентным содержанием белка 0.5-3%. Температура — 20°C. Длина волны возбуждения составляет 280 нм.

В заключении к Главе 3 формулируются выводы на основе результатов экспериментов.

Исследовано рассеяние лазерного излучения модельными дисперсными системами на основе молока и выявлена зависимость индикатриссы рассеяния излучения от процентного содержания рассеивающих компонентов молока (жировые мицеллы и соматические клетки). Введен информативный скаттерометрический параметр в виде логарифма уменьшения интенсивности рассеяния от обратного к боковому.

Экспериментально показано, что скаттерометрический параметр высокочувствителен к жирности молока в диапазоне 0-10%, индикатрисса светорассеяния в молоке имеет монотонную зависимость от процентного содержания жира в диапазоне ~0.05-6%.

Построена регрессионная модель для калибровки датчика по жирности молока, основанная на полиномиальной аппроксимации интенсивности бокового рассеяния света в молоке, заполняющем цилиндрическую трубку.

Показано, что уровень интенсивности на углах прямого рассеяния чувствителен к наличию в молоке крупномасштабных частиц. Экспериментально установлено, что скаттерометрический параметр на углах прямого рассеяния увеличивается за счет присутствия соматических клеток, достигая относительного изменения ~ 0.1 при концентрации клеток 10^6 см^{-3} .

Проведены исследования спектров флуоресценции компонентов молока. Определена оптимальная длина волны возбуждения флуоресценции казеина, равная 280 нм. Получена зависимость интенсивности флуоресценции от содержания белка в молоке при возбуждении на данной длине волны.

Разработан математический аппарат определения процентного содержания белка в молоке по интенсивности флуоресценции молока при возбуждении на длине волны 280 нм с учетом содержания жира, независимо измеряемого по светорассеянию. Получено составное функциональное выражение для аппроксимации зависимости интенсивности флуоресценции молока от содержания белка.

Четвёртая глава посвящена разработке макета датчика, предназначенного для измерения компонентного состава молока на основе комбинированного метода, описанного в предыдущей главе.

Раздел 4.1 является введением к Главе 4, в рамках которого обосновывается необходимость разработки датчика компонентного состава молока.

В разделе 4.2 рассказывается о разработке датчика: обосновании конструкционных решений, описании компоновки и эволюции конструкции макета датчика.

Компоновка датчика формируется оптическим блоком, представленным на рисунке 15. Оптический блок состоит из лазерного модуля (длина волны 650 нм, мощность 5 мВт, напряжение питания 3 В, рабочий ток 40 мА, тип лазера — диод, полупроводниковый) и осевой фотодиодной матрицы. Лазерный луч направлен по диаметру цилиндрического сегмента из плавленого кварца, имеющего внешний диаметр 15 мм и толщину стенки 2 мм. Для записи индикатрисы рассеяния используется полукруглый массив из 8 кремниевых фотодиодов, расположенных в кольцевом держателе с шагом угла 18° . Кольцевой держатель имеет внешний диаметр 70 мм. Часть держателя, куда устанавливаются фотодиоды, имеет полуцилиндрическую внутреннюю поверхность диаметром 30 мм. Фотодиоды ФД-263-01 (номинальное рабочее напряжение 12 В, интегральная токовая фоточувствительность 0.12 мкА/лк, темновой ток 100 нА, постоянная времени фотоприемника < 0.02 мкс, область спектральной фоточувствительности 0.4-1.1 мкм, наибольшее постоянное рабочее (обратное) напряжение 30 В, рабочий интервал температуры окружающей среды $-50 \dots +50^\circ\text{C}$) имеют фотоприемную площадку размером $3 \times 3 \text{ мм}^2$, заключенную в пластиковый корпус с полусферической линзой. Фотодиоды скомпонованы в три группы для приема рассеянного света в прямом рассеянии (0° , 18°), боковом рассеянии (54° , 72° , 90°) и обратном рассеянии (126° , 144° , 162°). Перед каждым фотодиодом поле рассеянного света сужается прямоугольной диафрагмой с шириной щели 1 мм, вырезанной из внутренней поверхности кольцевого держателя фотодиода.

В разделе 4.3 приводится описание и принцип действия устройства, представленного на рисунках 15 и 16. Принцип действия. На фотодиодный массив поступает свет, рассеянный молоком, которое облучается лазерным модулем, работающим в режиме прямоугольных импульсов с длительностью импульса 5 с. Показания фототока снимаются с частотой 1 с^{-1} и подвергаются медианной фильтрации. Для каждого из 8 фотодиодов, расположенных под углами рассеяния (0° , 18° , 54° , 72° , 90° , 126° , 144° , 162°), разность между медианой фототока при включении лазера и медианой темнового тока записывается как значение интенсивности рассеяния со скоростью обновления, соответствующей частоте прямоугольных лазерных импульсов. По логарифмическим значениям интенсивности рассеяния, измеренным на углах рассеяния (72° , 90° , 126° , 144° , 162°), определяется средний наклон индикатрисы рассеяния методом наименьших квадратов.

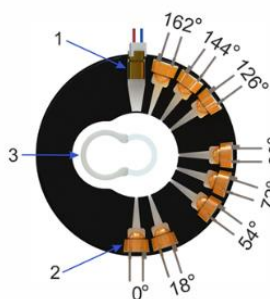
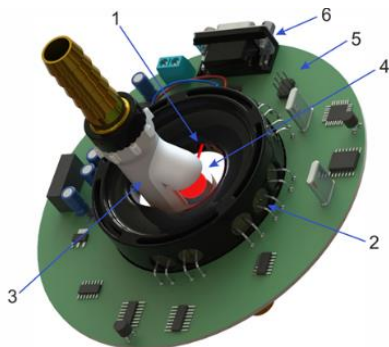


Рисунок 15.

Компоновка оптического блока: (1) лазерный модуль (длина волны 650 нм, мощность 5 мВт, напряжение питания 3 В, рабочий ток 40 мА), (2) аксиально расположенные фотодиоды, (3) проточный блок, (4) прозрачный цилиндрический сегмент, (5) плата контроллера, (6) RS-232 последовательный порт.



Рисунок 16.

Моноблочный светорассеивающий датчик процента жирности молока и ССК, собранный в корпусе. Установка УФ-светодиода для определения содержания белка опциональна.

С целью измерения процентного содержания белка в свободный промежуток между группами фотодиодов (0° , 18°) и (54° , 72° , 90°) внедряется УФ-светодиод (длина волны 280 нм, мощность 12 мВт, напряжение питания 8 В, рабочий ток 100 мА). УФ-светодиод включается между циклами измерения жирности и ССК, облучая молоко и возбуждая флуоресценцию. Флуоресценция белка (казеина) регистрируется теми же фотодиодами, что регистрируют рассеяние лазерного излучения, после чего из общей интенсивности флуоресценции исключается ранее определённая скаттерометрическим методом составляющая жира (с поправкой на обратную функцию флуоресценции белка).

В заключении к Главе 4 обсуждаются перспективы развития датчика и возможные пути развития его технологии.

Предложена конструкция макета датчика, комбинирующая измерения рассеяния света (скаттерометрия) и флуоресценции (флуориметрия) для определения компонентного состава молока, протекающего внутри оптически прозрачной цилиндрической трубки. Разработана оптическая схема малогабаритного проточного датчика, который использует два источника оптического излучения: полупроводниковый лазер (для получения светорассеяния в молоке) и УФ-светодиод с длиной волны 280 нм (для возбуждения флуоресценции молока), а также аксиальный фотодиодный массив для регистрации индикатрисы рассеяния света и интенсивности флуоресценции молока, заполняющего цилиндрическую кварцевую трубку. Экспериментально проверена работоспособность датчика на примере образцов коровьего молока различной жирности в проточном режиме в диапазоне расхода молока 0-100 мл/сек.

В Заключении представлены основные выводы диссертационной работы:

1. Исследованы возможности измерений компонентного состава молока методами лазер-люминесцентной спектроскопии, лазерной экстинкции и лазер-поляриметрической скаттерометрии. Лучшие результаты получены с помощью методы лазер-поляриметрической скаттерометрии. Метод позволяет одновременно определять содержание нескольких элементов (жира и белка) с помощью алгоритма решения обратной задачи восстановления распределения дисперсных частиц, но при этом требует разбавления молока в 1000 раз и имеет относительно низкую точность. Экспериментально показано, что наклон индикатрисы светорассеяния в молоке имеет монотонную зависимость от процентного содержания жира в диапазоне ~ 0.01 -10%.

2. Исследовано рассеяние лазерного излучения модельными дисперсными системами на основе молока и выявлена зависимость индикатриссы рассеяния излучения от процентного содержания рассеивающих компонентов молока (жировые мицеллы и соматические клетки). Введен информативный скаттерометрический параметр в виде логарифма уменьшения интенсивности рассеяния от обратного к боковому. Экспериментально показано, что скаттерометрический параметр высокочувствителен к жирности молока в диапазоне 0-10%, индикатрисса светорассеяния в молоке имеет монотонную зависимость от процентного содержания жира в диапазоне ~0.05-6%. Построена регрессионная модель для калибровки датчика по жирности молока, основанная на гиперболической аппроксимации интенсивности бокового рассеяния света в молоке, заполняющем цилиндрическую трубку.

3. Показано, что уровень интенсивности на углах близких к прямому рассеянию чувствителен к наличию в молоке крупномасштабных частиц. Экспериментально установлено, что скаттерометрический параметр на углах прямого рассеяния увеличивается за счет присутствия соматических клеток, достигая относительного изменения ~0.1 при концентрации клеток 10^6 см^{-3} .

4. Проведены исследования спектров флуоресценции компонентов молока. Определена оптимальная длина волны возбуждения флуоресценции казеина, равная 280 нм. Получена зависимость интенсивности флуоресценции от содержания белка в молоке при возбуждении на данной длине волны. Разработан математический аппарат определения процентного содержания белка в молоке по интенсивности флуоресценции молока при возбуждении на длине волны 280 нм с учетом содержания жира, независимо измеряемого по светорассеянию. Получено составное функциональное выражение для аппроксимации зависимости интенсивности флуоресценции молока от содержания белка.

5. Предложена конструкция макета датчика, комбинирующая измерения рассеяния света (скаттерометрия) и флуоресценции (флуориметрия) для определения компонентного состава молока, протекающего внутри оптически прозрачной цилиндрической трубки. Разработаны оптическая и электронная схемы малогабаритного проточного датчика, который использует два источника оптического излучения: полупроводниковый лазер (для получения светорассеяния в молоке) и УФ-светодиод с длиной волны 280 нм (для возбуждения флуоресценции молока), а также аксиальный фотодиодный массив для регистрации индикатриссы рассеяния света и интенсивности флуоресценции молока, заполняющего цилиндрическую кварцевую трубку.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kudryashova O. B. Dispersed Systems: Physics, Optics, Invariants, Symmetry // Book Dispersed Systems: Physics, Optics, Invariants, Symmetry / EditorMDPI, 2022. – С. 1602.
2. Sullivan J. M., Twardowski M. S. Angular shape of the oceanic particulate volume scattering function in the backward direction // Applied Optics. – 2009. – Т. 48, № 35. – С. 6811-6819.
3. Koestner D., Stramski D., Reynolds R. A. Polarized light scattering measurements as a means to characterize particle size and composition of natural assemblages of marine particles // Applied optics. – 2020. – Т. 59, № 27. – С. 8314-8334.
4. Optical methods and physics of colloidal dispersions. / Palberg T., Ballauff M., Kremer F., Lagaly G.: Springer, 1997.
5. Sobczyk K., Chmielewski R., Kruszka L., Rekucki R. Analysis of the Influence of Silty Sands Moisture Content and Impact Velocity in SHPB Testing on Their Compactability and Change in Granulometric Composition // Applied Sciences. – 2023. – Т. 13, № 8. – С. 4707.
6. Li L., Gubarev F., Mostovshchikov A. Synchronized Two-Camera Laser Monitor for Studying Combusting Powder Systems // Symmetry. – 2022. – Т. 14, № 4. – С. 656.
7. Ignatenko D. N., Shkirin A. V., Lobachevsky Y. P., Gudkov S. V. Applications of Mueller matrix polarimetry to biological and agricultural diagnostics: a review // Applied Sciences. – 2022. – Т. 12, № 10. – С. 5258.
8. Solovyeva D., Altunina A., Tretyak M., Mochalov K., Oleinikov V. Modern Methods of Fluorescence Nanoscopy in Biology (A Review) // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2024. – Т. 50, № 4. – С. 1215-1236.
9. Azema N. Sedimentation behaviour study by three optical methods—granulometric and electrophoresis measurements, dispersion optical analyser // Powder Technology. – 2006. – Т. 165, № 3. – С. 133-139.
10. Chaikov L. L., Kirichenko M. N., Krivokhizha S. V., Kupov M. R., Lobanov A. N., Sverbil P. P., Nagaev E. I., Shkirin A. V. Two Convenient Methods for Detection of Non-Dairy Fats in Butter by Dynamic Light Scattering and Luminescence Spectroscopy // Applied Sciences. – 2023. – Т. 13, № 15. – С. 8563.

11. Dairy fat products and functionality. / Truong T., Lopez C., Bhandari B., Prakash S.: Springer, 2020.
12. Milk quality. / Harding F.: Springer, 1995.
13. Alsafli Z. The obstacles to using milk composition as management tool in dairy cattle farms // J. Adv. Dairy. Res. – 2020. – T. 8. – C. 233.
14. EL-TAHAWY A. S., EL-FAR A. H. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability // International Journal of Dairy Technology. – 2010. – T. 63, № 3. – C. 463-469.
15. Cinar M., Serbest U., Ceyhan A., Gorgulu M. Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows // Italian Journal of Animal Science. – 2015. – T. 14, № 1. – C. 3646.
16. Widmer J., Descloux L., Brügger C., Jäger M.-L., Berger T., Egger L. Direct labeling of milk cells without centrifugation for counting total and differential somatic cells using flow cytometry // Journal of Dairy Science. – 2022. – T. 105, № 11. – C. 8705-8717.
17. Li N., Richoux R., Perruchot M.-H., Boutinaud M., Mayol J.-F., Gagnaire V. Flow cytometry approach to quantify the viability of milk somatic cell counts after various physico-chemical treatments // PloS one. – 2015. – T. 10, № 12. – C. e0146071.
18. Uusitalo S., Diaz-Olivares J., Sumen J., Hietala E., Adriaens I., Saeys W., Utriainen M., Frondelius L., Pastell M., Aernouts B. Evaluation of MEMS NIR spectrometers for on-farm analysis of raw milk composition // Foods. – 2021. – T. 10, № 11. – C. 2686.
19. Afimilk. Afilab Milk Analyzer. – 6 June 2023. – URL: <https://www.afimilk.com/parlor-automation/>.
20. Schmilovitch Z., Katz G., Maltz E., Kutscher M. I., Sarig M., Halachmi I., Hoffman A., Egozi H., Uner E. Spectroscopic fluid analyzer // Book Spectroscopic fluid analyzer / EditorGoogle Patents, 2007.
21. Kucheryavskiy S., Melenteva A., Bogomolov A. Determination of fat and total protein content in milk using conventional digital imaging // Talanta. – 2014. – T. 121. – C. 144-152.
22. Jain P., Sarma S. E. Light scattering and transmission measurement using digital imaging for online analysis of constituents in milk // Optical Measurement Systems for Industrial Inspection IX. – T. 9525 –SPIE, 2015. – C. 951-959.
23. Katsumata T., Aizawa H., Komuro S., Ito S., Matsumoto T. Quantitative analysis of fat and protein concentrations of milk based on fibre-optic evaluation of back scattering intensity // International Dairy Journal. – 2020. – T. 109. – C. 104743.
24. Ohtani S., Wang T., Nishimura K., Irie M. Milk fat analysis by fiber-optic spectroscopy // Asian-australasian journal of animal sciences. – 2005. – T. 18, № 4. – C. 580-583.
25. Angrasari F., Arifin A., Abdullah B. Fabrication of Milk Fat Sensor based on Plastic Optical Fiber // Journal of Physics: Conference Series. – T. 1341 –IOP Publishing, 2019. – C. 082038.
26. Shkirin A., Ignatenko D., Chirikov S., Vorobev A., Gudkov S. Application of Laser Polarimetric Scatterometry in the Study of Water-Based Multicomponent Bioorganic Systems on the Example of Cow Milk // Physics of Wave Phenomena. – 2022. – T. 30, № 3. – C. 186-195.
27. Hass R., Münzberg M., Bressel L., Reich O. Industrial applications of photon density wave spectroscopy for in-line particle sizing // Applied Optics. – 2013. – T. 52, № 7. – C. 1423-1431.
28. NanoPAT. Photon Density Wave Spectroscopy. – 1 November 2020. – URL: <https://www.nanopat.eu/process-analytical-technologies/photon-density-wave-spectroscopy/>.
29. Ruiz S. V., Hass R., Reich O. Optical monitoring of milk fat phase transition within homogenized fresh milk by Photon Density Wave spectroscopy // International dairy journal. – 2012. – T. 26, № 2. – C. 120-126.
30. MICROTRAC. Static Multiple Light Scattering (SMLS). – 3 February 2023. – URL: <https://www.microtrac.com/products/static-multiple-light-scattering/>.
31. Technex. Turbiscan LAB. – 1 July 2022. – URL: <https://technex.nl/en/producten/turbiscan/>.
32. Zhu H., Fu H., Yan P., Li X., Zhang L., Wang X., Chai C. Study on the release of GMZ bentonite colloids by static multiple light scattering technique // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2022. – T. 640. – C. 128374.
33. Tuchin V. V. Tissue optics –Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE) Bellingham, WA, USA, 2015.
34. Singh H., Gallier S. Nature's complex emulsion: The fat globules of milk // Food Hydrocolloids. – 2017. – T. 68. – C. 81-89.
35. Couvreur S., Hurtaud C., Marnet P.-G., Faverdin P., Peyraud J. Composition of milk fat from cows selected for milk fat globule size and offered either fresh pasture or a corn silage-based diet // Journal of Dairy Science. – 2007. – T. 90, № 1. – C. 392-403.
36. Chirikov S., Shkirin A. Determination of the disperse composition of a PbO suspension containing aggregates of particles of lamellar shape by the laser-polarimetry method // Optics and Spectroscopy. – 2018. – T. 124. – C. 575-584.
37. Wu Y., Cheng T., Zheng L., Chen H. Effect of morphology on the optical properties of soot aggregated with spheroidal monomers // Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer. – 2016. – T. 168. – C. 158-169.

38. Oshina I., Spigulis J. Beer–Lambert law for optical tissue diagnostics: current state of the art and the main limitations // *Journal of biomedical optics*. – 2021. – Т. 26, № 10. – С. 100901-100901.
39. Schweiger M., Arridge S., Hiraoka M., Delpy D. The finite element method for the propagation of light in scattering media: boundary and source conditions // *Medical physics*. – 1995. – Т. 22, № 11. – С. 1779-1792.
40. Zhu C., Liu Q. Review of Monte Carlo modeling of light transport in tissues // *Journal of biomedical optics*. – 2013. – Т. 18, № 5. – С. 050902-050902.

БЛАГОДАРНОСТИ

Диссертант выражает благодарность к.ф.-м.н. А.В. Шкирину за постоянную помощь и внимание; к.б.н. М.Е. Асташеву за ценные советы; к.т.н. Д.Ю. Павкину и сотрудникам ФНАЦ ВИМ за помощь в проведении натуральных испытаний датчика; всем сотрудникам Центра биофотоники ИОФ РАН за поддержку.

Диссертант выражает благодарность гранту на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям Научно-технологического развития: «Экология промышленных городов: создание единого комплекса нестандартных научно-технологических решений для мониторинга окружающей среды, нейтрализации и последующей глубокой переработки промышленных и бытовых отходов» (Соглашение от 12 июля 2024 г. № 075-15-2024-646).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Kirsanov, V. V., Shkirin, A. V., Pavkin, D. Y., **Ignatenko, D. N.**, Danielyan, G. L., Khakimov, A. R., Bunkin, N. F. Laser Fluorescence and Extinction Methods for Measuring the Flow and Composition of Milk in a Milking Machine. *Photonics* **8**, 390. (2021). (K1 BAK)
2. Shkirin, A. V., **Ignatenko, D. N.**, Chirikov, S. N., Bunkin, N. F., Astashev, M. E., Gudkov, S. V. Analysis of Fat and Protein Content in Milk Using Laser Polarimetric Scatterometry. *Agriculture* **11**, 1028 (2021). (K1 BAK)
3. Burmistrov, D. E., Pavkin, D. Y., Khakimov, A. R., **Ignatenko, D. N.**, Nikitin, E. A., Lednev, V. N., Lobachevsky, Y. P., Gudkov, S. V., Zvyagin, A. V. Application of Optical Quality Control Technologies in the Dairy Industry: An Overview. *Photonics* **8**, 551 (2021). (K1 BAK)
4. **Ignatenko, D. N.**, Shkirin, A. V., Lobachevsky, Y. P., Gudkov, S. V. Applications of Mueller Matrix Polarimetry to Biological and Agricultural Diagnostics: A Review. *Appl. Sci.* **12**, 5258 (2022). (K1 BAK)
5. Shkirin, A. V., Astashev, M. E., **Ignatenko, D. N.**, Suyazov, N. V., Vedunova, M. V., Gudkov, S. V. Laser Scatterometric Device for Inline Measurement of Fat Percentage and the Concentration Level of Large-Scale Impurities in Milk. *Appl. Sci.* **12**, 12517 (2022). (K1 BAK)
6. Shkirin, A. V., Astashev, M. E., **Ignatenko, D. N.**, Suyazov, N. V., Chirikov, S. N., Kirsanov, V. V., Pavkin, D. Y., Lobachevsky, Y. P., Gudkov, S. V. A Monoblock Light-Scattering Milk Fat Percentage and Somatic Cell Count Sensor for Use in Milking Systems. *Sensors* **23**, 8618 (2023). (K1 BAK)
7. Khakimov, A. R., Dorokhov, A. S., Pavkin, D. Y., Yurochka, S. S., Shkirin, A. V., Astashev, M., **Ignatenko, D. N.**, Izmailov, A. Y., Gudkov, S. V. Effects of Milking System Operating Conditions on the Milk-Fat-Percentage Measuring Accuracy of an Inline Light-Scattering Sensor. *Appl. Sci.* **13**, 11836 (2023). (K1 BAK)
8. Shkirin, A., Chirikov, S., Suyazov, N., Astashev M. E., **Ignatenko D. N.**, Gudkov S.V. Detection of Somatic Cells in Milk Using Laser Light Scattering. *Bull. Lebedev Phys. Inst.* **51**, 174–180 (2024). (K2 BAK)

Патент на изобретение. Гудков С.В., Шкирин А.В., **Игнатенко Д.Н.**, Асташев М.Е., Дорохов А.С., Павкин Д.Ю., Хакимов А.Р. Способ и проточное устройство для определения процентных концентраций компонентов молока в потоке. Номер регистрации (свидетельства): 2790807.