

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 18895

(13) С1

(46) 2015.02.28

(51) МПК

G 01N 13/00 (2006.01)

(54)

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ СТРУКТУРНО-РЕЛАКСАЦИОННОГО ПЕРЕХОДА ВЕЩЕСТВА

(21) Номер заявки: а 20111194

(22) 2011.09.12

(43) 2013.04.30

(71) Заявители: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет"; Общество с дополнительной ответственностью "Микротестмашины" (ВУ)

(72) Авторы: Стародубцева Мария Николаевна; Егоренков Николай Иванович; Суслов Андрей Анатольевич; Чижик Сергей Анатольевич (ВУ)

(73) Патентообладатели: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет"; Общество с дополнительной ответственностью "Микротестмашины" (ВУ)

(56) SU 536422, 1977.

ВУ 12868 С1, 2010.

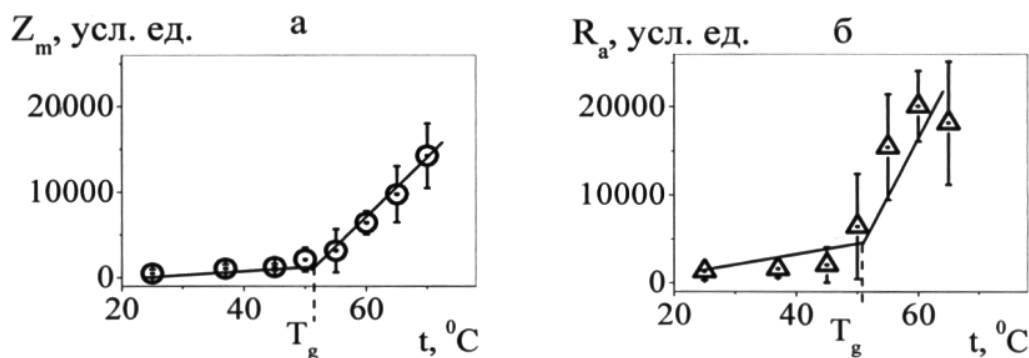
ВУ 13751 С1, 2010.

RU 2300097 С2, 2007.

RU 2005112547 А, 2005.

(57)

Способ определения температуры структурно-релаксационного перехода вещества, в частности стеклования-размягчения аморфных полимеров, денатурации белков, в котором сканируют поверхность исследуемого образца зондом-индентором атомно-силового (зондового) микроскопа, получают при различных температурах карты латеральных сил, возникающих при движении зонда по поверхности исследуемого образца, строят температурную зависимость средних значений латеральных сил и значений их разброса вокруг средних значений, а в качестве температуры структурно-релаксационного перехода принимают температуру, при которой на построенных температурных зависимостях наблюдают характерные для исследуемого перехода изменения.



Фиг. 1

Изобретение относится к технике испытаний (технологии, методам проведения испытаний), предназначенной для определения свойств вещества, а именно температуры, при которой происходят качественные изменения свойств вещества (стеклование-размягчение аморфных веществ, плавление-кристаллизация кристаллизующихся веществ, денатурация белков и т.п.).

Существуют разнообразные методы определения температуры структурно-релаксационных свойств вещества, основанные на измерении изменений их геометрических, то есть размерных, свойств (дилатометрические методы: удельный объем, коэффициент объемного расширения или изотермической сжимаемости, свободный объем и др.), механических характеристик (модулей упругости, относительных деформаций, тангенса угла механических потерь и др.), теплофизических (энтальпии-теплосодержания, энтропии, теплоемкости, теплопроводности и др.) и оптических (показателя поглощения) параметров и других свойств при изменении температуры образца.

Известен способ определения температуры релаксационного перехода в прозрачных и полупрозрачных полимерах, включающий нагрев исследуемого полимера до температуры разрушения, воздействие на исследуемый полимер монохроматическим электромагнитным излучением в диапазоне оптических частот [1]. При этом в процессе нагревания полимера измеряют угол преломления луча после прохождения его через призму из исследуемого полимера. По углу преломления рассчитывают показатель преломления полимера. Строят зависимость показателя преломления от температуры. По точкам перегиба кривой зависимости показателя преломления полимера от температуры определяют температуру релаксационного перехода.

Недостатками метода являются: требование прозрачности или полупрозрачности вещества для электромагнитного излучения оптического диапазона и необходимость формирования призмы из исследуемого вещества.

Известен способ определения температуры перехода в поляризующихся в электростатическом поле с переходом в электретное состояние низкомолекулярных (воск, масла, жиры, линейные углеводороды и др.) и высокомолекулярных (полиэтилен, поливинилхлорид, полистирол, полиметилакрилат и др.) диэлектриков, который включает поляризацию диэлектрика и его последующую деполяризацию с фиксацией тока деполяризации, заключающийся в том, что температуру перехода определяют как температуру, при которой происходят существенные изменения тока деполяризации исследуемых образцов [2].

Недостатком способа является: наличие способности у исследуемых веществ к переходу в электретное состояние.

Известен способ определения температуры размягчения тяжелых нефтепродуктов, включающий отбор вещества, воздействие на него электромагнитным излучением, регистрацию характеристик ядерно-магнитного резонанса, причем в качестве вещества используют тяжелый нефтепродукт, с избытком заполняя им объем датчика ЯМР, воздействие электромагнитным излучением осуществляют последовательностью радиочастотных импульсов на вещество, имеющее постоянную температуру не ниже температуры его вязкотекучего состояния, измеряют амплитуду (A) сигнала спин-эхо исследуемого вещества и амплитуду стандартного образца ($A_{ст}$) с последующим определением температуры размягчения T_p согласно зависимости $T_p = K_1 \exp(K_2 A / A_{ст})$, где K_1 и K_2 - коэффициенты, зависящие от вида тяжелого нефтепродукта и от температуры вещества в датчике [3].

Основным недостатком способа является ограничение типа исследуемых веществ веществами, находящимися в вязкотекучем или дисперсном состоянии.

Общий недостаток большинства известных способов определения температуры структурно-релаксационного перехода вещества состоит в том, что, как правило, фиксируется суммарный итог изменения исследуемого свойства для всего образца (например, его удлинение, показатель преломления и т.п.), что обедняет информацию о спектре изменения свойств, связанных с температурным воздействием на вещество (особенно для структурно неоднородных веществ).

Наиболее близким к предлагаемому способу является контактный способ определения температуры релаксационного и фазового перехода в полимерах, включающий их нагревание от 0 К до температуры разрушения, определение зависимости теплопроводности от температуры, построение графика этой зависимости, по скачкам которого определяют структурные переходы и их температуры (прототип) [4].

К недостаткам прототипа относится то, что фиксируется только одно свойство вещества (теплопроводность), фиксируется только суммарный итог воздействия температуры на это свойство (свойство целого образца), не учитывается неоднородность структуры и обусловленная ею неоднородность свойств вещества и не оценивается характер изменения этой неоднородности в процессе температурных воздействий. Кроме того, при использовании такого рода методов измерения свойств веществ, как правило, возникают проблемы с обеспечением постоянства площади контакта вещества с датчиками прибора при изменении температуры.

Задача, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, заключается в повышении точности способа определения температуры структурно-релаксационного перехода вещества (стеклования, плавления, денатурации).

Задача решается за счет того, что для изучения физических свойств вещества используется термонанозеластография - поверхность исследуемого образца сканируют зондом-индентором атомно-силового (зондового) микроскопа, получают при различных температурах карты латеральных сил, возникающих при движении зонда по поверхности исследуемого образца, строят температурную зависимость средних значений латеральных сил и значений их разброса вокруг средних значений, а в качестве температуры структурно-релаксационного перехода принимают температуру, при которой на построенных температурных зависимостях наблюдают характерные для исследуемого перехода изменения.

Предлагаемый нами способ основан на использовании серийно выпускаемого оборудования - атомно-силового микроскопа, имеющего контактный режим сканирования. Для анализа структурно-механических свойств поверхности образцов используются карты горизонтальных (латеральных), то есть боковых (опция "torsion"), отклонений зонда микроскопа - эластографические карты (карты сил трения).

Метод атомно-силовой микроскопии (АСМ) успешно используется при изучении структурно-механических свойств материалов, включая полимеры и металлы, клетки и ткани растений, животных и человека и другие объекты. Принцип работы АСМ основан на взаимодействии сканирующего зонда, представляющего собой острие, размещенное на свободном конце гибкой консоли, и поверхности образца. Управляющая система прибора следит за отклонением консоли зонда относительно поверхности образца в каждой измеряемой точке и поддерживает расстояние "острие зонда - образец" на постоянном заданном уровне.

Изменения горизонтальных (кручение консоли) отклонений (смещений) острия зонда в каждой точке от первоначального положения, вызванные как различной высотой микрорельефа поверхности, так и механическим сопротивлением материала образца при перемещении по нему зонда, образуют матрицы АСМ-данных, которые записываются в файл и используются в дальнейшем для обработки, визуализации и анализа. Как правило, конструкция системы детектирования АСМ предусматривает в контактном режиме одновременное измерение топографии (вертикальные отклонения острия зонда), а также картографирование локальных латеральных (боковых, горизонтальных) отклонений (сил).

Измерения латеральных сил поверхности образцов производятся на атомно-силовом микроскопе марки НТ-206 производства фирмы "Микротестмашины" (Республика Беларусь), укомплектованном термоплатформой ТТ-1 с автономным контроллером (максимальная температура нагрева +150 °С; точность измерений температуры - 0,1 °С; точность поддержания температуры - 0,1 °С). После сканирования участков поверхности образцов анализируются гистограммы распределения латеральных сил (или высот) на этих участ-

ках. Рассчитываются параметры гистограммы: Z_{mean} - среднее значение латеральных сил (или высот) на участке и R_a - разброс значений вокруг среднего значения (среднеквадратическое отклонение).

В качестве тест-образцов для определения температур структурно-релаксационных переходов используются: а) температуры стеклования-размягчения аморфных полимеров - поливинилбутираль (55-60 °С); б) температуры денатурации белков - эритроциты человека и крыс (40-90 °С).

Пример 1.

Используется порошкообразный поливинилбутираль (ацеталь поливинилового спирта и масляного альдегида) марки ПШ-1 (ГОСТ 9439-97). Пленки из него толщиной 500 мкм получают плавлением слоя порошка на алюминиевой фольге в среде воздуха при температуре 200 °С (время - 10 мин). Полученные пленки поливинилбутираля при комнатной температуре полупрозрачны, имеют белесый цвет. Исследуется поверхность пленки полимера, контактировавшего в процессе плавления порошка с воздухом. Размеры областей сканирования 10 × 10 мкм.

На фиг. 1 представлены температурные зависимости средних значений латеральных сил Z_{mean} (1) и разброса вокруг этих средних значений R_a (2) для участков поверхности аморфного полимера - поливинилбутираля. Результаты статистического анализа полученных экспериментальных данных на фиг. 1 представлены в виде границ доверительного интервала с доверительной вероятностью 0,95 ($n = 2-4$). Величина средних значений латеральных сил участка поверхности образца существенно не изменяется при его нагреве от комнатной температуры до температуры 50-55 °С. При температуре 55 °С и выше средние значения латеральных сил и разброс величин вокруг средних значений существенно увеличиваются (фиг. 1). При температуре выше 60 °С разброс значений по величине может достигать или превышает средние значения этих параметров. Визуально полимер становится прозрачным и практически бесцветным. Область температур 55-60 °С, как отмечалось выше, является температурной областью структурного стеклования-размягчения поливинилбутираля, она разделяет его стеклообразное и жидкое состояния - высокоэластическое (при значимой скорости механического воздействия) или вязкотекучее (при бесконечно медленной скорости механического воздействия) состояния.

Пример 2.

Цельную кровь беспородных здоровых 3-месячных крыс с добавлением антикоагулянта гепарина наносят на обезжиренные предметные стекла размером 0,8 × 0,8 см в виде тонкого мазка и высушивают мазок крови на воздухе.

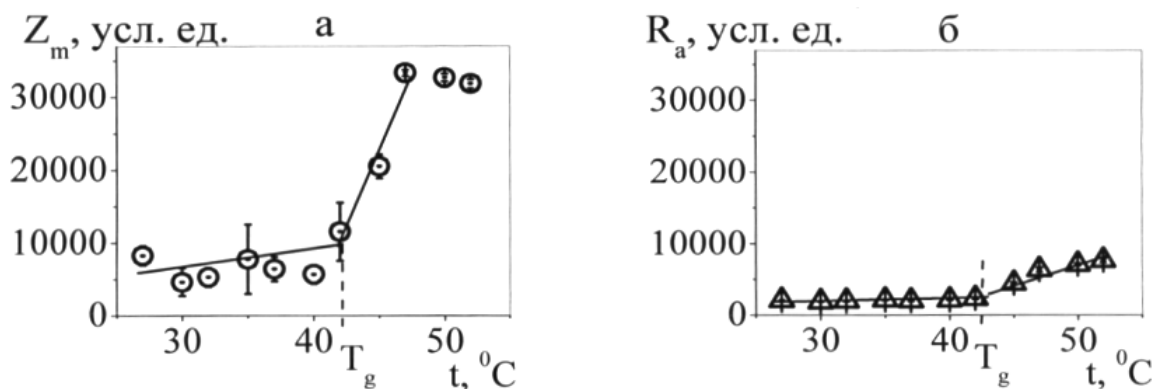
Механические, в том числе локальные микро- и наномеханические, свойства поверхности, биологических клеток, включая эритроциты, определяются в основном механическими свойствами цитоскелета клеток. Цитоскелет эритроцитов представляет собой двумерную сеть из филаментов двух белков (спектрина и актина), соединенную с плазматической мембраной с помощью специальных белков (корковый цитоскелет). Согласно современным представлениям, цитоскелет относят к структурам типа "мягкого стекла" [5].

На фиг. 2 представлены температурные зависимости средних значений латеральных сил Z_{mean} (1) и разброса вокруг этих средних значений R_a (2) для участков поверхности эритроцитов. Результаты статистического анализа полученных экспериментальных данных на фиг. 2 представлены в виде границ доверительного интервала с доверительной вероятностью 0,95 ($n=2-4$). Размеры областей сканирования 3 × 3 мкм. При температуре выше 40 °С средние значения латеральных сил и разброс величин вокруг средних значений существенно увеличиваются. Согласно литературным данным, в этой температурной области наблюдается раскручивание спиральных участков и денатурация белка спектрина [6]. Следует отметить, что примерно в этой же области температур для эритроцитов (40-50 °С) другими методами фиксируется фазовый переход в липидном бислое. Липидные монослои мембран могут находиться, как известно, в двух структурно различающихся

состояниях - в жидкокристаллическом состоянии и в состоянии геля. Однако экспериментально показано, что сдвиговая жесткость эритроцитов обусловлена только их мембранным скелетом. Липидный же бислой практически не оказывает влияния на модуль упругости эритроцитов при сдвиге (в отличие от модулей упругости эритроцитов при изотропном растяжении или изгибе). На величину боковых отклонений АСМ-зонда (параметр Z_{mean}) при сканировании поверхности материала оказывает влияние именно сопротивление деформации сдвига, а не изотропного растяжения или изгиба.

Источники информации:

1. Патент РФ С1 2234077, МПК G 01N 25/02, 2004.
2. Патент США 3680358, МПК G 01N 25/04, 1972.
3. Патент РФ С1 2135986, МПК G 01N 24/08, 1999.
4. Патент РФ 536422, МПК G 01N 25/02, 1976.
5. Stamenović D. Rheological behavior of mammalian cells // Cell. Mol. Life Sci. - 2008. - Vol. 65. - No. 22. - P. 3592-3605.
6. Law R. et al. Pathway shifts and thermal softening in temperature-coupled forced unfolding of spectrin domains // Biophys. J. - 2003. - Vol. 85. - No. 5. - P. 3286-3293.



Фиг. 2