

# **АНАЛИТИЧЕСКАЯ ДИСКОВАЯ ЦЕНТРИФУГА С ГИБРИДНЫМ ОПТИКО-МЕХАНИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ ЧАСТИЦ НА ТОНАРМЕ С ДИНАМИЧЕСКИМ ВЯЗКИМ ДЕМПФИРОВАНИЕМ ДЛЯ СИНХРОНИЗИРОВАННЫХ МИКРОСПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ, ПРОФИЛОМЕТРИЧЕСКИХ, МИКРОЭЛЕКТРОДНЫХ И (М)EMS- ИЗМЕРЕНИЙ**

## **ЧАСТЬ 1.**

**Адамович Е.Д.<sup>1</sup>, Bessnow Roman<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>ИНЭПХФ РАН (*внешт. сотр.*), <sup>2</sup>Koshka Inc.**

Разработана общедоступная конструкция многоскоростной дисковой центрифуги с возможностью многорежимного использования, позволяющего реализовать на ней как на единой рабочей станции множество взаимодополняющих методов исследования, включая фликкер-шумовую спектроскопию поверхности, микроиндентирование для определения механических свойств частиц, механическую профилометрию, микроэлектродные методы измерений с программируемым перемещением от фракции к фракции, а также получение спектров дисперсности и разнообразные оптические измерения *in situ* - без необходимости специальной пробоподготовки и переноса образца с прибора на прибор. Реализуя методы неразрушающего контроля, данная система позволяет производить измерения нескольких параметров одновременно без использования дорогостоящих приборов, предназначенных для измерения этих параметров в отдельности.

## **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время среди множества методов исследования дисперсности частиц и сепарации макромолекул [1-4], наиболее распространенными, но, в то же время, дающими лишь аддитивную информацию о фракциях частиц, а не об индивидуальных частицах, их форме и физических характери-

стиках, являются методы аналитического центрифугирования [5-8]. Одним из наиболее прогрессивных методов аналитического центрифугирования является использование дисковых центрифуг с детектированием светового пучка, взаимодействующего с сепарирующимися фракциями [9, 10]. Вместе с тем при использовании подобных аппаратов практически не решается проблема исследования морфологической гетерогенности частиц, принадлежащих к одним фракциям, в связи с чем возникает ряд фундаментальных трудностей при рассмотрении обратных задач аналитического центрифугирования [11]. Однако, методы профилометрии и зондовой микроскопии, обеспечивающие установление морфологии индивидуальных частиц, обеспечивают измерение только их размеров (при компьютерной морфометрии), а не удельного веса, что мешает их использованию для целей массовой сепарации. В связи с этим видится необходимым создание гибридной системы, способной работать и как центрифуга, и как система для исследования параметров малых частиц. В частности, было бы целесообразно синхронное измерение их механических, электрофизических (электрохимических) и оптических свойств, невозможное при обычных методах центрифугирования.

Для совмещения разделения частиц, их профильных измерений и неразрушающего контроля в одном аппарате необходимо использование системы, имеющей, как минимум, роторную часть и считывающую головку с детектором соответствующих свойств (зонда для контактных измерений или фотоприемника для бесконтактного режима работы). В качестве прототипа такого устройства может выступать обычный электропроигрыватель для пластинок. В настоящей статье описаны технологии, позволяющие путём изменений конструкции элементарного проигрывателя получить из него качественный лабораторный прибор с цифровым управлением и множеством аналитических функций. В целях увеличения информативности используемых методик (они описаны в тексте статьи) рассматриваются также вопросы цифровой обработки сигнала и научной визуализации микроскопических изображений поверхности плат с аналитом и центрифугатом.

## БАЗИС КОНСТРУКЦИИ УСТАНОВКИ - РАБОЧЕЙ СТАНЦИИ

Предпосылки для использования данного прототипа обусловлены его конструктивным сходством с дисковой центрифугой и наличием тонарма с иглой для контактных измерений т.е. минимального набора детектирующих и анализирующих компонент разрабатываемого прибора. Так как принципы воспроизведения грамзаписи [12] соответствуют принципам сканирования в методах механической профилометрии [13], можно использовать готовую к сканированию спиральных дорожек на диске конструкцию считывающего картриджа проигрывателя для регистрации фракционного состава анализа в случае его фракционирования в спиральных дорожках. Так как частицы до микронных/декамикронных размеров практически не влияют на регистрацию аудиосигнала макроскопическим по отношению к ним зондом проигрывателя - иглой, либо порождают поверхностный шум, который может быть изучен только с применением методов фликкер-шумовой спектроскопии (также, как это производится при статистическом накоплении сейсмического сигнала в прогнозировании землетрясений [14]) при сохранении исходного магнитного картриджа измерение параметров частиц субмикронных фракций требует внедрения в конструкцию оптического либо иного датчика, обеспечивающего изучение мелкодисперсных фракций. Так как количество возможных к установке сканирующих датчиков ограничено количеством тонармов, логично использовать в конструкции максимальное количество тонармов, соответствующее максимальному набору параметров, планируемых к измерению на данной установке

На илл. 1 а-в показаны примеры зарубежных систем с множественными тонармами: а - двумя, б - двумя и одним дополнительным, в - четырьмя. Мы, в частности, использовали систему на двух тонармах, заимствованную из конструкции аппарата «Эстония ЭП-010 С», звукосниматель которого представляет собой сочетание двух тонармов, на одном из которых стоит система АПЗ на базе датчика, реагирующего на изменение коэффициента отражения инфракрасных лучей при переходе от дорожки к дорожке.



а



б



в

Илл. 1: Примеры систем с большим количеством тонармов.

Исходно система АПЗ предназначена для автоматического распознавания перехода между дорожками, однако при отключении её управляющих функций и использования исключительно для регистрации и передачи на АЦП измерительного сигнала, термовизиографически характеризующего свойства фракционированного аналита, она не будет влиять на порядок считывания дорожек. Для механической стабилизации регистрации нами предлагается использование тонармов с динамическим вязким демпфированием - так наз. "яйца Лихницкого" [15-18] или его аналогов [19, 20].



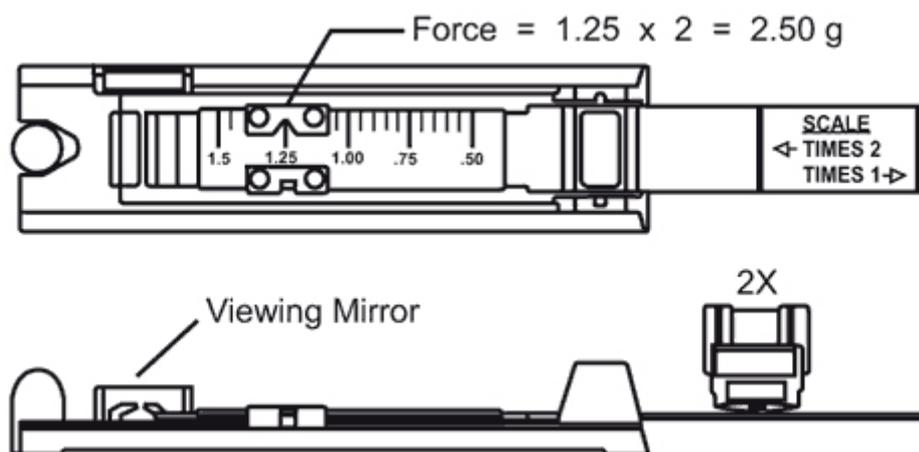
Илл. 2: Тонарм Лихницкого в установке Романа Бесснова, (Koshka Inc.).

Для создания аналитического прибора в конструкцию базы прототипа вводятся следующие изменения. Модернизируется движущая часть: для режима центрифугирования в центральном положении диска (не на пассиве) располагается мотор от стандартной центрифуги или любой его аналог, дающий возможность получать требуемые для сепарации частиц обороты, в то время как с целью обеспечения анализа сохраняется исходный привод на штатном двигателе (это может быть 2- или 4- полюсный асинхронный двигатель, асинхронный двухфазный двигатель с фазосдвигающей емкостью или синхронный, но в последнем случае будут возникать автоколебания из-за жесткой связи статора и ротора) либо, что более целесообразно, он заменяется на шаговый двигатель, управляемый (опять же не пассивом) в нашем случае через LPT - порт, что позволяет сканировать бороздки не всей пластинки це-

ликом, а зон фракционирования аналита по заданной программе с прецизионным позиционированием. В головках звукоснимателей на множественных тонармах для этого монтируются детекторы соответствующего типа. Нами были использованы четыре типа детекторов: игловые, выполнявшие функции зондов и инденторов (в последнем случае модифицировалась также система фиксации тонарма для возможности активных измерений); фотодетекторы на базе ПЗС (в ряде случаев дополнительно в головку звукоснимателя вводились лазерные диодные источники, но эта мера не всегда оправдывает себя) с короткофокусной оптикой; оптоволоконные зонды с подключением к спектрометрическим блокам типа Ocean Optics; микроэлектроды, коммутируемые к высокоточному электрометрическому оборудованию для измерения электрофизических и электрохимических параметров аналита (в последнем случае возможно также использование ионоселективных микроэлектродов). В идеальном случае с целью синхронизации измерений и обеспечения неразрушающего контроля все детекторы монтируются в единой головке на тонарме с динамическим вязким демпфированием так, чтобы разрушающая часть измерений (механическая) была последней в прохождении детекторов над исследуемым образцом.

Для контроля вращения диска используется строботахометр, не имеющий, в отличие от механического тахометра, точек соприкосновения с диском или движителем, то есть источников воздействия на прецизионные измерения на движущемся диске. Для стабилизации оборотов диска на стадиях аналитического центрифугирования апробировалось утяжеление массы диска, однако это приводило к ухудшению воспроизводимости при последующем сканировании образца. Применение для избавления от этого недостатка моторизованного тонарма - тангенса, сохраняющего угол слежения, а также калибровки антискейтинга - регулятора противоскатывающей силы, вместе с использованием амортизирующего основания стола, привело к улучшению статистических результатов регистрации, но не настолько, чтобы это имело определяющее значение в точности измерений. В связи с этим было принято

решение не перегружать диск при центрифугировании и сканировании его поверхности, сделав акцент на улучшении характеристик детектирующей механической части, для чего было апробировано применение эллиптических игл с двойными магнитами (а также специализированных головок с четырьмя магнитами на один канал), дополнительная юстировка микролифта тонарма, использование акриловых изоляторов вибраций типа Silencer Quadraspire QX и шок-адсорберов Technics SL-1210. Одновременно было улучшено качество электронной части установки. Так, для того, чтобы сбалансировать емкость, индуктивность и импеданс нагрузки, был использован фонокорректор особой схемы, отличный от обычно используемой при записи грампластинок RIAA коррекции, при которой, вопреки объективным требованиям планируемых на установке измерений, производится понижение низких частот и повышение высоких. Кроме того, был нивелирован фон 50 Гц электросети. Эквиализация с помощью встроенного в систему устройства до регистрации или на стадии обработки данных в цифровом формате является необходимым требованием при использовании описываемой системы, так как измерение дисперсности и иных характеристик, связанных с частотой итогового сигнала, невозможно без точного установления параметров эталонных сигналов и удаления частот артефактов из спектра. В сущности, вышеописанные корректурные операции являются ни чем иным как необходимо-неизбежной предэксплуатационной калибровочной эквиализацией установки.



Илл. 3: Весы для тонарма Shure SFG-2

Юстировку тонарма в элементарном случае можно осуществлять путем взвешивания с помощью весов типа Shure SFG-2 (илл. 3) и последующей его механической регуляции с целью избавления от эксцентриситета, заведомо мешающего правильному распределению детектируемых компонент в случае аналитического центрифугирования. В идеальном случае, допустимо ввести в конструкцию индикатор положения тонарма (Groove Indicator) из числа тех, что ставятся на аппаратуру Technics. Рекомендуемые для бытовых электропроигрывателей средства визуальной юстировки типа Millenium Audio Vision к использованию не рекомендуются, так как не обладают достаточно точной сеткой выравнивания. Сложной технической задачей, оправдывающей себя в случае проведения серийных измерений в различных режимах сканирования, является совмещение вышеуказанных типов тонармов с системой регуляции, включающей в себя регуляторы давления и угла наклона, аналогично ряду моделей Technics и их аналогов (см. илл. 4).



Илл. 4: Регуляторы: а) регулятор давления ЕМТ, б) регулятор угла наклона<sup>1</sup>.

Вертикальный угол считывания, уровень наклона и азимута системы тонарм - детекторная головка измеряется также не с помощью Millennium Audio Acrylblock, обычно используемого для юстировки электрофонов, а с помощью более усложненных средств, которые рассматриваются в специальном подразделе. Для точности калибровки не рекомендуется использование резиновых эластичных слип-матов, в связи с чем требуется проведение калибровки при центрифужном диске, наложенном на вращающуюся часть

<sup>1</sup> Илл. из: Антонов Л. Реставрация грамзаписей (Часть 2). Звукорежиссер, Вып. 8 (2004)

аппарата. Эта жесткость должна обеспечивать точность, следствием чего должно стать использование микрометров для верификации оптимального положения поверхности. Наиболее оптимальным средством, в таком случае, является использование лазерных и оптических микрометров. Простейшим средством оптической юстировки является встроенный в сдвоенный тонарм оптический датчик, заменяющий штатный датчик АПЗ системы "Эстония"\* (илл. 5) и выведенный на внешний АЦП\*\*. Он же может использоваться при некоторых оптических измерениях в процессе сканирования (см. ниже) или для перехода между распознаваемыми фракциями, аналогичного исходному принципу перехода между дорожками, в которых осаждаются фракции после аналитического центрифугирования. Настройка оптического датчика должна осуществляться с помощью процедуры сопоставления электрометрических параметров микрометрическим / фотометрическим параметрам в таблице или создания SCADA-систем (АСУ) на базе модулей АЦП, способных решать эти задачи (пересчет, табулирование и визуализацию) в автоматическом режиме.



Илл. 5: Сдвоенный тонарм ЭП-010 С.

\* Следует отметить, что при описываемой модификации крайне несовершенный узел крепления тонарм системы "Эстония" может быть заменен на аналогичный узел "Корвета" (при условии предварительного механического расчета и выточки деталей крепления, совместимых с "яйцом Лихницкого" и не ведущих к дефекту демпфирования) или удобный в прецизионной юстировке узел тонарм Technics (илл. 4). При этом надо учесть, что тип узла крепления избирается, исходя из того, какой основной детектор стоит на тонарме.

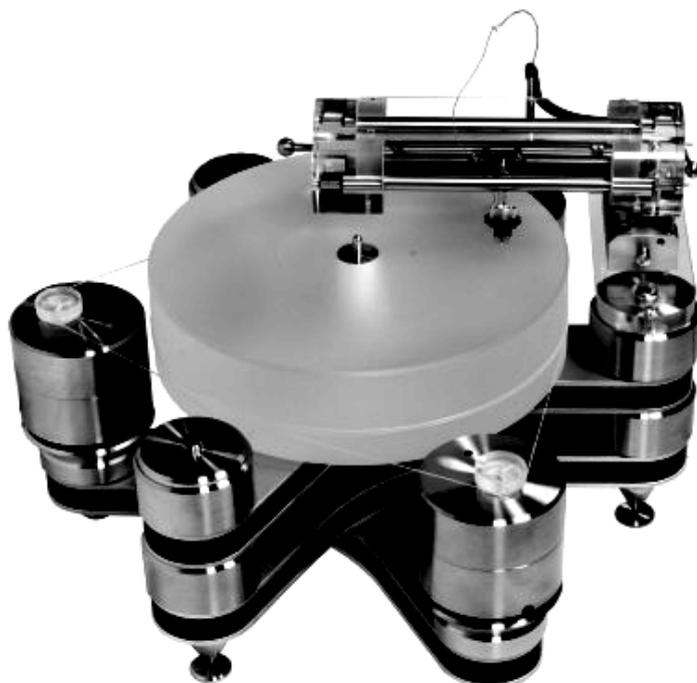
\*\* Нами для автоматизации установки в целом в завершающей версии использовался модуль АЦП / ЦАП типа ZET 210 на 16 синфазных / 8 дифференциальных каналов, что позволяло одновременно регистрировать информацию с множества датчиков, не считая микрофотографической информации, регистрировавшейся тубусной камерой типа DCM и обрабатывавшейся в формате сохраняемых изображений.

## ОСОБЕННОСТИ ДИСКОВОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Общеизвестно, что изготовление стандартной граммпластинки сопряжено с нарезкой борозд, соответствующих поверхности мастер-диска, посредством резца, совершающего колебательные движения, соответствующие сигналу, подаваемому электродинамическим преобразователем на катушку, которая сопряжена с резцом через якорь. Резец рекордера в соответствии с сигналом поперечной или глубинной модуляции формирует дорожки разной ширины или глубины. В случае модификации данной системы (станка) для нарезания борозд для аналитического центрифугирования достаточно нарезать борозды соответствующей ширины или глубины, меняющейся от центра к периферии, по которым будет происходить распределение аналита. Эта часть разработки представляет собой сугубо индивидуальный процесс, зависящий от свойств анализируемого вещества и предпочтительных режимов центрифугирования, поэтому рекомендаций по её проведению здесь не дается. Большой простор для инженерных решений в данном случае дает станок для стереофонической записи, в котором резец двигают два (а не один) преобразователя, которые устанавливаются перпендикулярно друг другу под углом  $45^\circ$  к поверхности диска, вследствие чего можно варьировать параметры нарезки каждой стенки отдельно по какому-либо каналу.

При считывании, в сущности происходит обратный процесс, при котором также целесообразно использование двух преобразователей и регистрации по двум каналам, что позволит оценивать по градиенту между каналами "загрязнения" борозд аналитом и центрифугатом параметры последних. Тогда колебания иглы в области инфранизких частот, соответствующие механическим колебаниям в канавке аналитического диска (нарезанного по принципу граммпластинки) должны фильтроваться или не учитываться при анализе данных, считываемых с диска. То есть, иными словами, считывающая сигнал система должна работать как механический фильтр верхних частот, а тональный арматурный блок обеспечивать корректное демпфирование отрицательно влияющих на сигнал аналита колебаний. В таком случае, разница между резцом, эллиптической и

сферической иглой может быть представлена как аналогия различий между типами зондов-инденторов [21] и соответствующими им режимами анализа в методах реологического индентирования [22, 23], а разница между режимами скоростного сканирования - как разница в эффективности воздействия зонда на материал.



а



б

Илл. 6: Тонармы с жесткой управляемой пространственной фиксацией иглы - прототипы альтернативных кареток аналитических центрифуг: а - опытная зарубежная конструкция; б - линейный тонарм слежения Rabco SL-8E.

Для жесткого индентирования необходимо использовать тонарм с жесткой пространственной фиксацией иглы (примеры таковых на илл. 6, 7). На подобных конструкциях может быть установлен рекорд-стабилизатор типа RSR и стабилизатор веса, как на тонармах типа SL-8E (на илл. 6 б приведен пример такого тонарма, установленного на роторной основе модели TD 125. Аналогичную функцию может выполнять тангенциальный тонарм, подобный ставившимся на системы типа Beogram 4000 (илл. 7), если подключить его управление к ЭВМ (нами использовалась платформа LabVIEW, позволявшая программировать функционал на графическом языке G и получать простые графические интерфейсы пользователя GUI для выполнения аналитических задач). Из этого следует, что выбор материала для изготовления пластинок для аналитического центрифугирования с целью реологических измерений должен учитывать механические возможности тонарма и иглы-индентора, а также удовлетворять по деформации и релаксации адаптивному потенциалу программ, управляющих механическими частями установки.



Илл. 7: Система Beogram 4000 с тангенциальным тонармом<sup>\*\*\*</sup>.

Для контроля подобных измерений на диске можно совмещать методы микромеханического и оптического детектирования. Так, в проекте IRENE (<http://irene.lbl.gov/>) национальной лаборатории Беркли для аналогичной цели предлагается использование принципов конфокальной микроскопии, за счет чего удастся в принципе избавиться от механического считывания дорожек,

---

<sup>\*\*\*</sup> Как следует из иллюстрации, этот диск можно использовать и для гематокритного центрифугирования.

перейдя к полностью неразрушающему контролю рельефа поверхности [24]. Помимо того, в промышленных масштабах изготавливается устройство ELP для лазерного считывания виниловых пластинок [25]. Нами для упрощения процесса предлагается использование некогерентного источника и методов визуализации данных, используемых в модуляционной интерференционной микроскопии [26]. В качестве сепарационных дисков-носителей имеет смысл использовать диски формата Floppy-ROM [27], используемые для цифровой записи на грампластинках, так как у них при нарезке можно детерминировать расположение канавок для сепарируемого анализа более четко и, при этом, иметь цифровую информацию о месторасположении того или иного "байта", однако, в силу малой распространенности данного формата и станков для его реализации, данная рекомендация не может носить обязательный характер для российских пользователей описываемой системы. Значительно более прост, но менее функционален (так как не допускает многократного использования вследствие воздействия анализа на поверхность) метод DMM - Direct Metal Mastering, в связи с чем приходится разделять стадии центрифугирования и изготовления пластинки территориально по месторасположению агрегатов, с помощью которых (станка и проигрывающего сканера) осуществляется опыт. Наиболее оптимальным, с экономических позиций, является использование одноразовых сменных носителей (целлулоидных или аналогичных), но, в то же время, с микромеханических позиций, требуется использовать массивные диски с низкой подвижностью; этот факт является основным противоречием описываемого принципа исследования седиментированных веществ и явной причиной того, что он не может быть внедрен в широких масштабах. В связи с перечисленными в тексте технологическими сложностями, решаемыми по-разному в различных лабораториях, данный метод остается в настоящее время, скорее, искусством, чем пригодным для сертификации протоколом работы. Это требует разнообразных цифровых методов обработки данных, дающих возможность извлечения полезной информации из регистрируемого массива.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Poole C.F., Cooke M., Wilson I.D. Encyclopedia of Separation Science (10 Vol.), 4502 p., Academic Press, 2000.
2. Aboul-Enein H.Y. Analytical and Preparative Separation Methods of Bio-macromolecules, 480 p., CRC Press, 1999.
3. Environmental Colloids and Particles: Behaviour, Separation and Characterisation, Ed. by K.J. Wilkinson, J.R. Lead, 702 p., Wiley-Blackwell, 2006.
4. Analysis of Aggregates and Particles in Protein Pharmaceuticals. Ed. by Mahler H.-C., Jiskoot W., 464 p., Wiley-Blackwell, 2012.
5. Analytical Ultracentrifugation - Techniques and Methods. Ed. by Scott D.J., Harding S.E., Rowe A.J., Royal Society of Chemistry Pub., 2005, 580 p.
6. Maechte W., Börger L. Analytical Ultracentrifugation of Polymers and Nanoparticles, 237 p., Springer, 2006.
7. Modern Analytical Ultracentrifugation: Acquisition and Interpretation of Data for Biological and Synthetic Polymer Systems, Ed. by Schuster T.M., Laue T.M., 360 p., Birkhauser Boston Inc., 1994.
8. Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science. Ed. by Harding S.E., Rowe A.J., Horton J.C., 644 p., Royal Society of Chemistry, 1992.
9. Fitzpatrick S.T. Structure and method for centrifugal sedimentation particle size analysis of particles of lower density than their suspension medium, US Patent No. 5,786,898, July 28, 1998,
10. Fitzpatrick S.T. 頻度別遠心沈降法による粒度分布測定 :  
利点と欠点、現状、将来展望 , Polymer News, Vol.24, pp.42-50 (1999).
11. Brookes E.H. New High Performance Computational Strategies for Inverse Problems with Application to Analytical Ultracentrifugation, 88 p., Proquest, Umi Diss. Publishing, 2011.
12. Kittler F. Gramophone, Film, Typewriter (Writing Science), 360 p., Stanford University Press, 1999.

13. Bodschwinn H. Oberflächenmesstechnik zur Beurteilung und Optimierung technischer Funktionsflächen, Habilitationsschrift, Uni Hannover, 191 p., Shaker Verlag, 2000.
14. Descherevsky A.V., Lukk A.A., Sidorin A.Ya., Vstovsky G.V., Timashev S.F. Flicker-noise spectroscopy in earthquake prediction research. *Natural Hazard and Earth System Sciences*. 2002, v.20, pp. 1-6.
15. Лихницкий А.М. Тонарм с динамическим вязким демпфированием. *Радио*, Вып. 11 - 1984, с. 42-44 (1984).
16. Лихницкий А.М. Звукосниматель с электромеханическим демпфированием основного резонанса. Авт. свид. СССР № 1504670, G 11 В 3/10, 30.08.89, бюл. 32.
17. Лихницкий А.М. Исследование и выбор перспективных направлений работ по созданию отечественных моделей электрофонов высшего класса. Научно-технический отчет ЛУНИР-175, 232 с., 1975.
18. Лихницкий А.М. Демпфирование основного резонанса звукоснимателя. *ТРПА*, Вып. 3, с. 34-47 (1978).
19. Joannou C.J. Viscous damping arrangement for record player tone arms. US Patent No. 4,154,445, May 15, 1979.
20. Sumachev J.N. Tone arm. US Patent No. 4,251,080, Feb. 17, 1981.
21. Fischer-Cripps A.C. *Nanoindentation*, 302 p., Springer, 2011.
22. Shinozaki D.M., Lu Y. Micro-indentation relaxation measurements in polymer thin films. *Journ. Electr. Mater.*, Vol. 26, Issue 7, pp. 852–858 (1997).
23. Sakai M., Sasaki M., Matsuda A. Indentation stress relaxation of sol-gel-derived organic hybrid coating. *Acta Materialia*, Vol. 53, Issue 16, pp. 4455–4462 (2005).
24. Cornell E.W., Fadeyev V., Golden M., Haber C., Nordmeyer R., Alyea P., Appelbaum L., DeAnna E., Eusman E., Hansen E., van der Reyden D. *3D Optical Scanning of Mechanical Sound Carriers*. Technical Desc. (Dep. Libr. of Congr.), Revised 6-29-2009.

- 25.LT-200STD Laser Turntable System Owner's Guide. ELP, Saitama-city, Saitama 336-0017, Japan, 25 p. (Sin. 1989).
- 26.Лопарев А.В., Игнатъев П.С., Индукаев К.В., Осипов П.А., Мазалов И.Н., Козырев А.В. Высокоскоростной модуляционный интерференционный микроскоп для медико-биологических исследований. Измерительная техника, № 11, стр. 60-64 (2009).
- 27.Jones R.S. The Floppy-ROM Experiment. Interface Age, No. 2, Issue 6, pp. 28, 83 (1977)