

УДК: 681.586.5, 535.372, 535.361

**ФЛУОРИСЦЕНТНО-СКАТТЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ
ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЭМУЛЬГИРОВАННЫХ
КОМПОНЕНТОВ В МОЛОКЕ**

Игнатенко Д.Н.,

*кандидат физико-математических наук, исполняющий обязанности младшего
научного сотрудника,*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук»,*

Москва, Россия

Асташев М.Е.,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук»,*

Москва, Россия

Гудков С.В.,

*доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, руководитель Центра
биофотоники,*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова
Российской академии наук»,*

Москва, Россия

Аннотация

В статье предлагается методика, сочетающая измерения рассеяния света (скаттерометрию) и флуоресценции (флуориметрию) для определения процентного содержания компонентов эмульсии, протекающей в оптически прозрачной цилиндрической трубке. На основе этой методики разработан проточный датчик, работоспособность которого экспериментально проверена на примере молока. Принцип работы датчика основан на измерении углового распределения рассеянного излучения полупроводникового лазера с длиной волны 650 нм и интенсивности флуоресценции молока при возбуждении ультрафиолетовым светодиодом с длиной волны 280 нм, с использованием осевой матрицы фотодиодов. Экспериментально показано, что индикатриса рассеяния света в молоке имеет вид монотонной зависимости интенсивности рассеяния от процентного содержания жира в диапазоне ~0,05–6 %. Была выявлена зависимость интенсивности флуоресценции от содержания белка.

Ключевые слова: рассеяние света, флуоресценция, оптические датчики, контроль качества молока

***FLUORESCENCE–SCATTEROMETRIC METHOD FOR MEASURING
THE PERCENTAGE CONTENT OF EMULSIFIED COMPONENTS IN MILK***

Ignatenko D.N.,

*Doctor of Philosophy (Physics and Mathematics), Acting Junior Researcher,
Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences
Moscow, Russia*

Astashev M.E.,

*Doctor of Philosophy (Biology), Senior Researcher,
Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences
Moscow, Russia*

Gudkov S.V.,

Doctor of Science (Biology), Professor, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Biophotonics Center, Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences Moscow, Russia

Abstract

The paper proposes a technique combining light scattering measurements (scatterometry) and fluorescence measurements (fluorometry) to determine the percentage content of emulsion components flowing through an optically transparent cylindrical tube. Based on this technique, a flow-through sensor has been developed, and its performance has been experimentally verified using milk as an example. The sensor operates by measuring the angular distribution of scattered radiation from a semiconductor laser with a wavelength of 650 nm and the fluorescence intensity of milk when excited by a UV light-emitting diode with a wavelength of 280 nm, using an axial photodiode array. It has been experimentally demonstrated that the light scattering indicatrix in milk exhibits a monotonic dependence of scattering intensity on fat content within the range of ~0,05–6%. A dependence of fluorescence intensity on protein content has also been identified.

Keywords: light scattering, fluorescence, optical sensors, milk quality control

Введение

Анализ процентного содержания многокомпонентных эмульсий в режиме реального времени — актуальная задача для контроля технологических процессов, например, в молочном производстве [1]. Оценка их качества основана на получении информации о количественном содержании компонентов молока. В настоящее время отсутствуют унифицированные системы, компактно встраиваемые в молочные линии и обеспечивающие

одновременное измерение как расхода, так и процентного содержания компонентов молока [2]. В связи с необходимостью применения специализированных устройств, которые оказывают минимальное воздействие на параметры давления в молокопроводе, представляется актуальным разработка новых сенсоров для контроля качества молока на молочных фермах. Данные сенсоры могут использовать оптические методы для диагностики физико-химических характеристик молока [3–6].

Существующие устройства для оперативного определения трёх основных компонентов молока (жира, белка и лактозы) основаны на спектральных методах, преимущественно на инфракрасной (ИК) спектроскопии [2]. Прецизионные системы, использующие ИК Фурье- спектроскопию, весьма дороги и в целом имеют большие габариты. Более компактной и менее дорогостоящей альтернативой ИК Фурье- спектрометрам служат коммерчески доступные короткодистанционные инфракрасные анализаторы [7]. С точки зрения дальнейшего улучшения соотношения цены и качества наиболее перспективны анализаторы, основанные на рассеянии света. Некоторые подходы к измерению содержания компонентов молока, основанные на рассеянии света, описаны в работах [8–12]; однако коммерческих реализаций таких датчиков пока не существует.

В рамках исследования предлагаются методика и прототип проточного датчика для определения процентного содержания двухкомпонентных эмульсий, в которых средние размеры частиц дисперсных компонентов различаются на порядок. Такая ситуация, в частности, возникает в молоке, где размеры частиц жира и белка составляют соответственно $\sim 0,1\text{--}15$ мкм и $\sim 10\text{--}100$ нм.

Наряду с измерением содержания основных компонентов молока актуальной задачей является также дополнительное обнаружение крупноразмерных примесей (> 10 мкм), роль которых в молоке

преимущественно играют соматические клетки. Согласно данным проведённых нами экспериментов, присутствие таких примесей в молоке вызывает изменение интенсивности прямого рассеяния по сравнению с чистым молоком. Это явление можно использовать для оценки превышения концентрации крупноразмерных примесей над допустимым уровнем.

Отметим, что ранее были разработаны различные скаттерометрические схемы для характеристики и контроля дисперсных сред [13–16]. Предложенная в рамках статьи методика зондирования имеет новую особенность: в отличие от подхода, широко применяемого в турбидиметрии (где измеряется общее ослабление света мутной средой), сравниваются формы угловых распределений рассеянного эмульсиями света при различном процентном содержании компонентов. Для этого используется безразмерный параметр — отношение интенсивностей при боковом или прямом рассеянии к интенсивности обратного рассеяния. Для измерения процентного содержания белка в молоке, помимо регистрации рассеяния света на длине волны 650 нм, применяется возбуждение флуоресценции молока на длине волны 280 нм — в полосе резонансного УФ-поглощения белков. Характерный диапазон флуоресценции молочного белка (казеина) составляет ~305–400 нм [17]. Это позволяет измерять интенсивность флуоресценции на длинноволновом краю данного диапазона с использованием той же матрицы кремниевых фотодиодов, которая применяется для регистрации рассеяния света.

Описанные в данной статье результаты являются развитием тем исследований, изложенных в статьях [18] и [19].

Оптическая схема датчика компонентной диагностики

Была собрана экспериментальная установка в соответствии с оптической схемой, представленной на Рис. 1, объединяющей лазерный скаттерометр и УФ-флуориметр. Лазерный диод с длиной волны 650 нм и

мощностью 5 мВт рассеивается в эмульсии, протекающей через прозрачную цилиндрическую кварцевую трубку (внешний диаметр — 15 мм, толщина стенки — 1 мм).

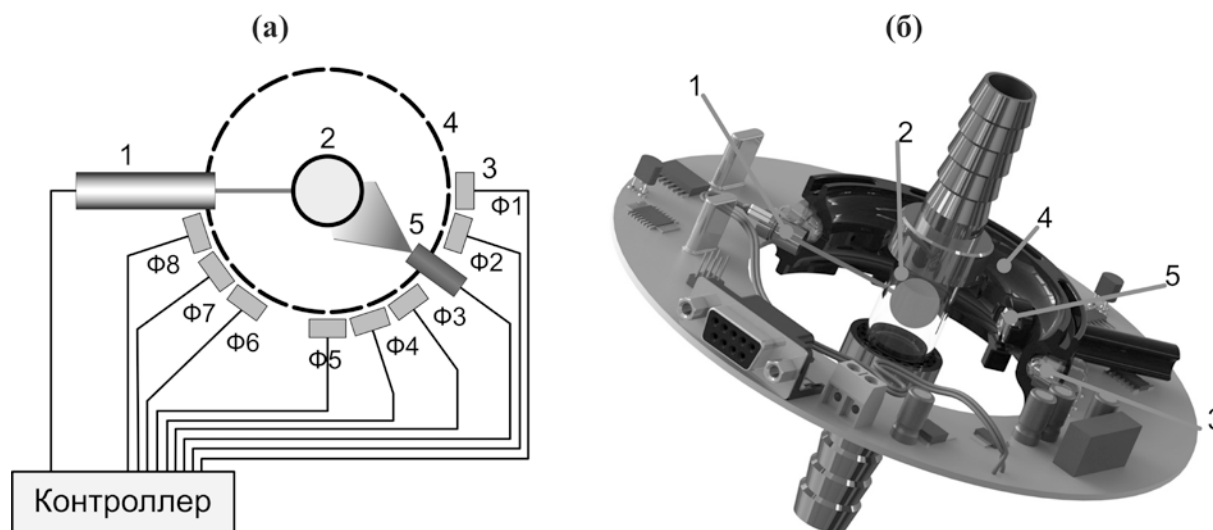


Рис. 1. Конструкция флуоресцентно-скаттерометрического датчика процентного содержания эмульсии. (а) Оптическая схема: (1) лазерный диод с длиной волны 650 нм; (2) цилиндрическая трубка диаметром 15 мм, заполненная протекающим молоком; (3) осевая матрица фотодиодов Ф1–Ф8; (4) кольцо с прямоугольными диафрагмами; (5) ультрафиолетовый светодиод с длиной волны 280 нм. (б) Трёхмерный вид электронно-оптического блока датчика.

Рассеянное излучение регистрируется осевым массивом фотодиодов Ф1–Ф8, разделённых промежутками на три группы, охватывающие угловые диапазоны: прямого рассеяния (0° , 18°); бокового рассеяния (54° , 72° , 90°); обратного рассеяния (126° , 144° , 162°). Перед попаданием на фотодиоды рассеянное световое поле ограничивается прямоугольными диафрагмами шириной 1 мм, выполненными в пластиковом кольце. Флуоресценция компонентов эмульсии возбуждалась УФ

-СВЕТОДИ

регистрируется фотодиодами Ф2–Ф3. Контроллер управляет работой лазерного модуля и светодиода в режиме прямоугольных импульсов, а также обрабатывает данные с фотодиодов.

Определение содержания жира в молоке по интенсивности светорассеяния

На Рис. 2 представлена угловая зависимость рассеянного света с длиной волны 650 нм (индикатриса рассеяния), измеренная фотодиодами Ф1–Ф8 для образцов молока с номинальным содержанием жира 0,05%, 1,5%, 3%, 4,5% и 6% при нормальных условиях (20° С) в статическом режиме. Молоко, заполняющее трубку диаметром 15 мм, является многократно рассеивающей средой. Это обусловлено тем, что его оптическая толщина, оценённая на основании данных о коэффициентах рассеяния и поглощения молока в видимой области [20], превышает 10. Таким образом, выполняется условие преобладания многократного рассеяния [21, 22]. В результате индикатрисы рассеяния (Рис. 2 (а)) имеют форму, типичную для многократно рассеивающей среды: интенсивность рассеяния возрастает от углов прямого рассеяния к углам обратного рассеяния. Это согласуется с результатами теоретического моделирования для сред с многократным рассеянием [23].

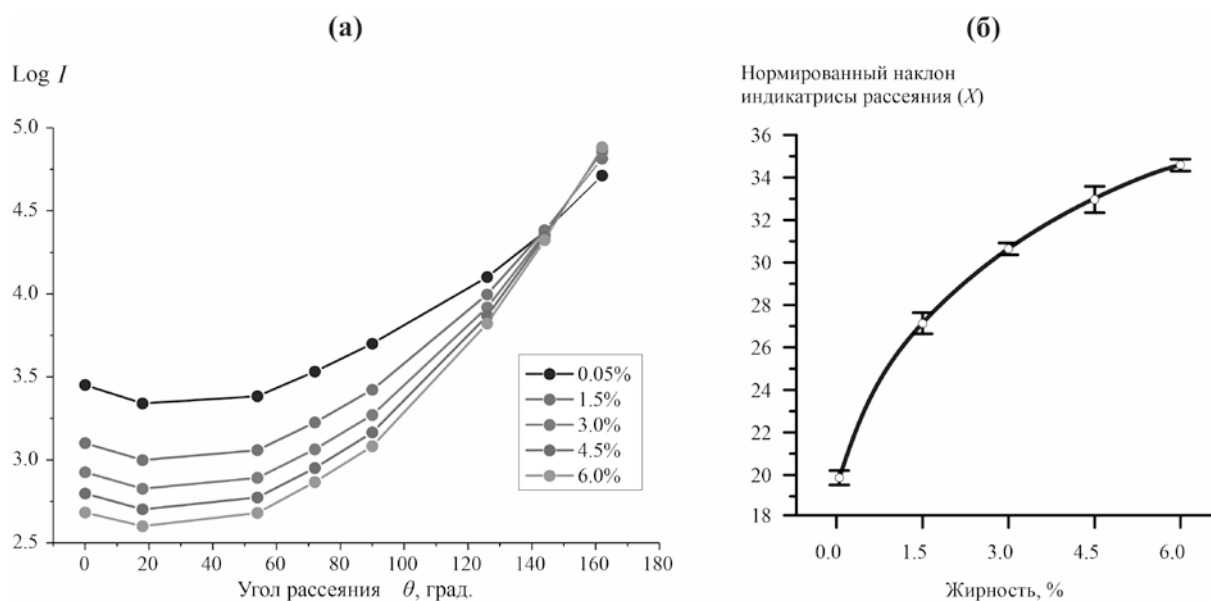


Рис. 2. а): индикатриса рассеяния, измеренная для образцов молока с номинальным содержанием жира 0,05 %, 0,5 %, 3 %, 4,5 % и 6 % при нулевой скорости потока в трубке; б) нормированный наклон логарифмированной индикатрисы рассеяния. Температура молока — 20°C. Длина волны лазера — 650 нм.

На Рис.2(а) видна монотонная зависимость логарифмированной интенсивности рассеяния $\text{Log}(I)$ от содержания жира при углах бокового (фотодиоды Ф3–Ф5) и прямого (Ф1–Ф2) рассеяния. Кроме того, можно заметить, что интенсивность рассеяния монотонно увеличивается от углов обратного рассеяния (Ф6–Ф8) к углам бокового (Ф3–Ф5) и прямого (Ф1–Ф2) рассеяния с ростом жирности молока. Соответственно, наклон зависимости логарифма интенсивности можно принять как чувствительный к жирности.

Точное определение наклона индикатрисы можно осуществить с помощью разработанной регрессионной модели, в рамках которой коэффициенты наклона определяются методом наименьших квадратов для логарифмированных значений интенсивности рассеяния $\text{Log}(I)$, измеренных при углах рассеяния 72°, 90°, 126°, 144° и 162°.

Значения наклона X , полученные для исследуемых образцов молока, показаны на Рис. 2(б).

Как видно на Рис. 2(б), наклон индикатрисы рассеяния увеличивается примерно в 1.7 раза при увеличении содержания жира от 0 до 6%. В то время как логарифм интенсивности на угле 162° увеличивается лишь в 1.04 раза при том же росте содержания жирности. Это позволяет получать точное значение содержания жира в молоке независимо от влияния внешних факторов, таких как нестабильная работа электроники или механическая тряска.

Определение содержания белка в молоке по интенсивности флуоресценции

При включении ультрафиолетового светодиода измерялась интенсивность флуоресценции образцов молока с номинальным содержанием жира — 0,05%, 0,5%, 1,5%, 3,2% и 6% — в цилиндрической кварцевой трубке.

Предполагалось, что флуоресценция обезжиренного молока (с содержанием жира 0,05%) обусловлена исключительно белком (нулевой уровень флуоресценции жира), причём содержание белка во всех остальных образцах молока идентично. На этом основании была получена зависимость флуоресценции жировой компоненты молока от содержания жира — её вид представлен на Рис. 3(а). Для построения экспериментальной зависимости интенсивности флуоресценции от содержания белка (Рис. 3(б)) применялись разведения обезжиренного молока водой. Исходное содержание белка в обезжиренном молоке составляло 3%.

ЭЛЕКТРОННЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ «ДНЕВНИК НАУКИ»

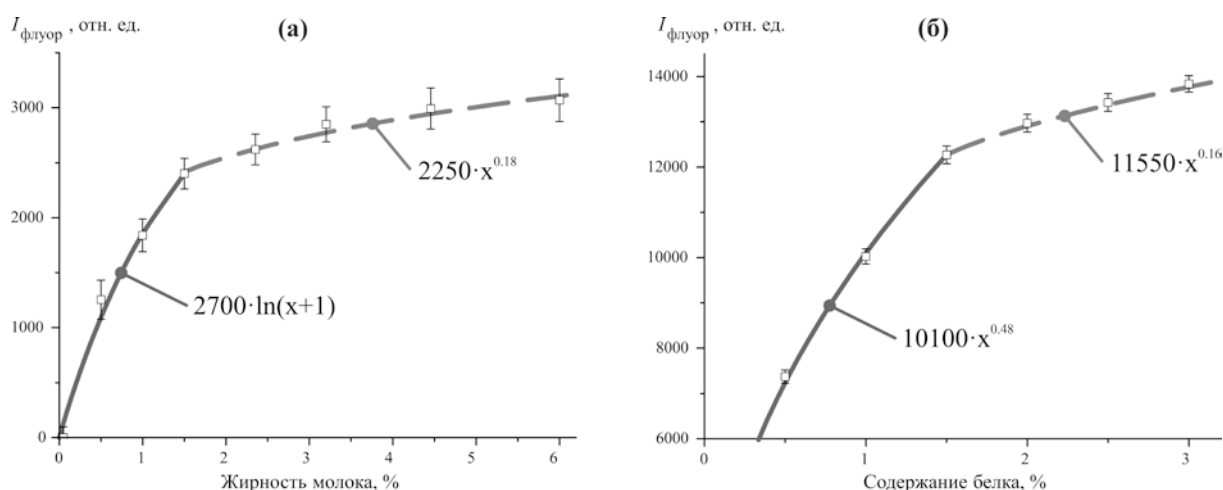


Рис. 3. Интенсивность флуоресценции: (а) жировой компоненты молока в диапазоне содержания жира 0–6 %; (б) обезжиренного молока при содержании белка 0,5–3 %. Условия эксперимента: температура — 20° С; длина волны возбуждения — 280 нм.

Разделив кривую (Рис. 3(а)) на две части, мы можем получить функциональную аппроксимацию интенсивности флуоресценции жировой компоненты молока. Кривая флуоресценции белковой компоненты (Рис. 3(б)) также может быть аппроксимирована составной функцией.

Для определения содержания белка по интенсивности флуоресценции следует использовать обратную функцию $F_p(x)^{-1}$. С учётом калибровочной функции F_f и независимо измеренного методом светорассеяния процента жира P_f , процентное содержание белка P_p может быть вычислено по зарегистрированной интенсивности флуоресценции молока $I_{\text{флуор}}$ следующим образом:

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

Заключение

Результаты экспериментальных измерений параметров рассеяния света и флуоресценции в цилиндрической геометрии позволили предложить комбинированный флуорисцентно-скаттерометрический метод определения

Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

процентного содержания компонентов эмульсии, а также разработать компактный датчик для измерения процентного содержания жира и белка в молоке.

Показано, что индикатриса лазерного светорассеяния в молоке имеет монотонную зависимость от содержания жира в диапазоне ~0.05-6%. Построенная регрессионная модель подтвердила возможность определения содержания жира с высокими точностью и стабильностью результатов.

Измерения флуоресценции молока при возбуждении на длине волны 280 нм позволяют дополнительно определять содержание белка — с учётом независимо измеренного методом рассеяния света содержания жира.

Библиографический список:

1. Kirichenko M. N. et al. New technique for identifying butter adulteration with palm fat by the DLS method //Bulletin of the Lebedev Physics Institute. – 2021. – Т. 48. – №. 6. – С. 181-185.
2. Burmistrov D. E. et al. Application of optical quality control technologies in the dairy industry: An overview //Photonics. – MDPI, 2021. – Т. 8. – №. 12. – С. 551.
3. Palberg T. et al. (ed.). Optical methods and physics of colloidal dispersions. – Steinkopff, 1997.
4. Xu R. Particle characterization: light scattering methods. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2002.
5. Lakowicz J. R. (ed.). Principles of fluorescence spectroscopy. – Boston, MA : springer US, 2006.
6. Khosroshahi M. E., Patel Y., Woll-Morison V. Non-destructive assessment of milk quality using pulsed UV photoacoustic, fluorescence and near FTIR spectroscopy //Laser Physics Letters. – 2022. – Т. 19. – №. 7. – С. 075602.

7. Uusitalo S. et al. Evaluation of MEMS NIR spectrometers for on-farm analysis of raw milk composition //Foods. – 2021. – Т. 10. – №. 11. – С. 2686.
8. Kucheryavskiy S., Melenteva A., Bogomolov A. Determination of fat and total protein content in milk using conventional digital imaging //Talanta. – 2014. – Т. 121. – С. 144-152.
9. 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. – SPIE, 2015. – Т. 9525. – С. 951-959.
10. Crofcheck C. L. et al. Fiber optic sensor response to low levels of fat in skim milk //Journal of Food Process Engineering. – 2000. – Т. 23. – №. 2. – С. 163-175.
11. Ohtani S. et al. Milk fat analysis by fiber-optic spectroscopy //Asian-australasian journal of animal sciences. – 2005. – Т. 18. – №. 4. – С. 580-583.
12. Angrasari F., Arifin A., Abdullah B. Fabrication of milk fat sensor based on plastic optical fiber //Journal of Physics: Conference Series. – IOP Publishing, 2019. – Т. 1341. – №. 8. – С. 082038.
13. Liao R. et al. Polarization measurements and evaluation based on multidimensional polarization indices applied in analyzing atmospheric particulates //Applied Sciences. – 2021. – Т. 11. – №. 13. – С. 5992.
14. Hussain R. et al. An ultra-compact particle size analyser using a CMOS image sensor and machine learning //Light: Science & Applications. – 2020. – Т. 9. – №. 1. – С. 21.
15. Jakmunee J. et al. A low-cost light-scattering detector for the flow-injection nephelometric determination of sulfate //Analytical Sciences. – 2003. – Т. 19. – №. 11. – С. 1495-1498.

16. Ignatenko D. N. et al. Applications of Mueller matrix polarimetry to biological and agricultural diagnostics: A review //Applied Sciences. – 2022. – Т. 12. – №. 10. – С. 5258.
17. Lang Y. et al. Effects of α -casein and β -casein on the stability, antioxidant activity and bioaccessibility of blueberry anthocyanins with an in vitro simulated digestion //Food Chemistry. – 2021. – Т. 334. – С. 127526.
18. Shkirin A. V. et al. Fluorescence-scatterometric method for measuring the percentage of dispersed components of emulsions as applied to assessing the quality of milk //Bulletin of the Lebedev Physics Institute. – 2023. – Т. 50. – №. 5. – С. 166-172.
19. Shkirin A. V. et al. A Monoblock Light-Scattering Milk Fat Percentage and Somatic Cell Count Sensor for Use in Milking Systems //Sensors. – 2023. – Т. 23. – №. 20. – С. 8618.
20. Aernouts B. et al. Visible and near-infrared bulk optical properties of raw milk //Journal of dairy science. – 2015. – Т. 98. – №. 10. – С. 6727-6738.
21. Jönsson J., Berrocal E. Multi-Scattering software: part I: online accelerated Monte Carlo simulation of light transport through scattering media //Optics express. – 2020. – Т. 28. – №. 25. – С. 37612-37638.
22. Regnima G. O. et al. Quantitative measurements of turbid liquids via structured laser illumination planar imaging where absorption spectrophotometry fails //Applied optics. – 2017. – Т. 56. – №. 13. – С. 3929-3938.
23. Tuchin V. V. et al. Tissue optics. – Bellingham, WA, USA : Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE), 2015.

Оригинальность 84%