

动态光散射图像法测量纳米颗粒粒度研究

王志永 蔡小舒 徐呈泽 刘丽丽

(上海理工大学颗粒与两相流测量研究所, 上海 200093)

摘要 提出了一种基于动态光散射原理的图像法测量纳米颗粒粒径的新方法, 采用面阵 CCD 数以万计的像素同时并行测量处于布朗运动的纳米颗粒空间分布的动态散射光信号, 对测得的信号进行数据处理, 得到了纳米颗粒粒径。对 27、79、482、948 nm 4 种不同粒径的纳米标准颗粒进行了实验研究, 针对面阵 CCD 拍摄帧率远低于光电倍增管测量频率的特点, 采用质量分数为 55% 高粘度甘油水溶液作为分散介质, 在 CCD 拍摄帧率为 8290 frame/s 时, 27 nm 颗粒的测量误差从以水为分散介质时的 15.1% 降至 1.9%。与目前动态光散射纳米颗粒测量方法相比, 该方法大幅度减少了测量时间, 仅为现有方法的 1% 以下, 并可大幅度简化测量装置。

关键词 散射; 纳米颗粒测量; 图像法; CCD

中图分类号 O436 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201434.0129002

Nanoparticle Sizing by Image Processing with Dynamic Light Scattering

Wang Zhiyong Cai Xiaoshu Xu Chengze Liu Lili

(Institute of Particle and Two-Phase Flow Measurement, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract Image processing for nanoparticle sizing with dynamic light scattering (DLS) technique is introduced. A CCD is used to capture the spatial distribution of the scattered light by nanoparticles under Brownian motion. The sizes of the nanoparticles can be determined with the post-processing of the recorded data by calculating the autocorrelation functions of the scattered light. Standard nanoparticles of four different sizes (27, 79, 482, 948 nm) are used in the experiments. Since the frame rate of CCD is far lower than the frequency of photomultiplier, 55% glycerol/water emulsion is employed as disperse medium here, therefore. The measurement deviation is dramatically reduced from 15.1% to 1.9% in 27 nm nanoparticles at frame rate of 8290 frame/s. Compared with conventional DLS, this technique is advantageous due to the compact and simple measurement system with short measurement time which is 1% of conventional DLS measurement time.

Key words scattering; nanoparticle sizing; image processing; CCD

OCIS codes 240.3695; 290.5850; 100.2000; 040.1490

1 引 言

基于动态光散射(DLS)原理发展的光子相关光谱法(PCS)经过 30 多年的发展已经成为测量纳米颗粒粒度的重要手段之一^[1]。近年来出现了一些新的基于动态光散射的测量方法, 例如动态光散射显微镜法^[2-3]、X 射线光子相关光谱法^[4]、纳米颗粒追踪法^[5]、光纤式动态光散射^[6]、激光自混频

法^[7-8]等。PCS 方法测量纳米颗粒的原理是基于悬浮颗粒的布朗运动, 在激光入射下, 由各个颗粒布朗运动造成散射光波相干叠加, 形成颗粒群散射光强的涨落。这种散射光的涨落与颗粒粒径有关, 颗粒越小, 涨落的频率越高。通过计算光强涨落的自相关函数, 可以得到颗粒粒径信息。传统技术上测量光强自相关函数的装置包括激光器、光电倍增管和

收稿日期: 2013-08-27; **收到修改稿日期**: 2013-09-09

基金项目: 教育部高等学校博士学科点专项科研基金-优先发展领域项目(20113120130001)、上海市科委纳米计划项目(11nm0507100)

作者简介: 王志永(1988—), 男, 硕士研究生, 主要从事动态光散射测量方面的研究。E-mail: amwangzhiyong@163.com

导师简介: 蔡小舒(1955—), 男, 博士, 教授, 主要从事两相流、颗粒测量方面的研究。E-mail: usst_caixs@163.com (通信联系人)

数字相关器等。光电倍增管采集纳米颗粒动态散射光信号,数字相关器计算散射光信号的自相关函数。为了获得足够的数据量以提高测量精度,得到合理的统计结果,根据粒度大小不同通常需要较长的测量时间,整个测量过程需要花费数十秒至百秒以上。由于颗粒的布朗运动对于温度很敏感,在较长测量期间内被测颗粒及分散介质的温度可能发生变化,这要求样品池加装控温装置以保持测量过程恒温,导致了整个测量系统较为复杂。

本文提出了一种基于动态光散射的利用图像测量纳米颗粒的方法,用面阵 CCD 捕捉悬浮液中随机运动颗粒的散射光的空间分布信号,以图像形式保存,并对记录的图像划分区进行数据处理。该方法等效于数以万计的 CCD 像素作为传感器同时并行测量,与采用 1 个传感器的传统 PCS 法相比,获取相同数据量测量时间可缩短至 1 s 以内。因此,可以认为在如此短的测量时间内被测系统温度没有发生变化,测量过程处于恒温状态,从而不必加装温控装置,仅需测温装置,简化了测量系统,能够实现纳米颗粒粒径信息的快速原位测量。

2 原理与装置

处于布朗运动中的纳米球形颗粒,其扩散系数 D_T 与颗粒粒径 D 之间的关系可以用斯托克斯-爱因斯坦(Stokes-Einstein)公式给出^[9]:

$$D_T = \frac{K_B T}{3\pi\eta D}, \quad (1)$$

式中 K_B 是波尔兹曼常数, T 为热力学温度, η 为分散介质的动力粘度。根据动态光散射理论,当一束激光入射到悬浮的纳米颗粒,其散射光的涨落反映了颗粒的布朗运动,涨落的快慢与扩散系数有关,可以用光强变化的自相关函数 $G(\tau)$ 来描述:

$$G(\tau) = \langle I(t)I(t+\tau) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t)I(t+\tau)dt, \quad (2)$$

式中 $I(t)$, $I(t+\tau)$ 是 t 及 $t+\tau$ 时刻测得的颗粒散射光光强信号, τ 是延迟时间。对于单分散颗粒,自相关函数是指数衰减函数,可表示为

$$G(\tau) = \exp(-2\Gamma\tau), \quad (3)$$

式中

$$\Gamma = D_T q^2, \quad (4)$$

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right), \quad (5)$$

式中 Γ 和 q 分别为衰减线宽和散射波矢量, n 为分

散介质的折射率, λ_0 为入射光波长, θ 为散射角。

由此,在对测量数据进行自相关计算得到散射光涨落的自相关函数后,就可由(3)~(5)式和(1)式得到纳米颗粒的粒度 D 。从(1)式还可知,颗粒的扩散系数与分散介质的温度以及粘度有关,温度增加,扩散系数增加;粘度增加,扩散系数减小。这就要求在测量过程中分散介质的温度和粘度保持不变,以保证粒度测量结果的准确性。

图 1 是基于上述原理的目前常用的 PCS 法纳米颗粒粒度测量原理示意图,其中 1 为激光器;2 为会聚透镜;3 为样品池;4 为盛有折射率匹配液的温控槽;5 为视场光阑;6 为成像透镜;7 为针孔;8 为光子计数模块;9 为数字式相关器+计算机,在该类仪器中均采用光电倍增管或雪崩管(图 1 中 8)在某个角度下测量颗粒的动态光散射信号,为获得足够数量的信号,测量时间一般在数十秒到百秒以上,依颗粒粒度大小而定。由于测量时间较长,为保证测量过程中颗粒的布朗运动特性不发生改变,须保持样品池温度恒定。

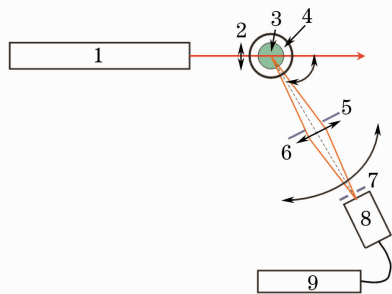


图 1 PCS 原理示意图

Fig. 1 Schematic drawing of PCS

实际上,颗粒的散射光分布在整个空间 4π 立体角中,如果同时测量空间的颗粒动态光散射信号,而不是仅测量 1 个点的信号,有可能极大缩短测量时间,实现纳米颗粒的原位在线测量。

实验装置如图 2 所示,其中 1 为激光器;2 为透镜;3 为样品池;4 为 CCD;5 为计算机。激光器发

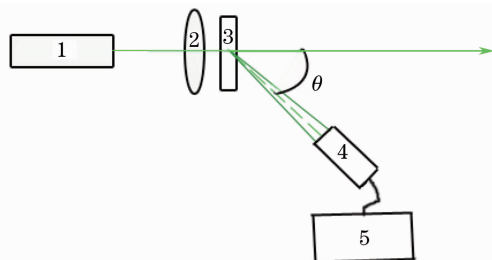


图 2 系统示意图

Fig. 2 Schematic drawing of experimental setup

出的激光经透镜会聚后入射到有纳米颗粒的样品池,颗粒受到激光照射产生散射光,由于颗粒的布朗运动,散射光信号出现起伏涨落,此时 CCD 在 45° 角连续捕捉散射光强信号,并以图像形式保存。装置中激光器发出的入射光与透镜中心、样品池中心、CCD 中心均处于同一水平面,入射光中心线与 CCD 中轴线的夹角为 45° 。

图 3 为 CCD 记录的纳米颗粒散射光强图像,图中可以很明显地看出颗粒的散射光斑。受颗粒布朗运动的作用,这些光斑呈现完全随机的变化,即动态光散射信号。在传统的 PCS 测量中,仅用 1 个光电倍增管测量纳米颗粒的动态光散射信号,需要测量较长时间来获得足够量的信号。而面阵 CCD 数以万计或百万计的像素同时记录纳米颗粒动态光散射信号的空间分布变化,等效于数以万计或百万计的传感器同时并行测量动态光散射信号,可以减少测量时间到 1 s 以内。样品池中被测纳米颗粒分散介质在如此短时间内温度基本保持不变。因此,现有 PCS 方法测量纳米颗粒所需要保持温度恒定的高精度控温系统可以用简单的高精度温度测量系统代替。控温系统的取消还使得该方法有可能用于纳米颗粒制备等领域的原位在线测量。

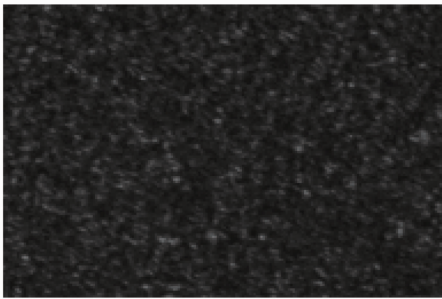


图 3 采集到的某时刻散射光空间分布图像
Fig. 3 Dynamic light scattering signals captured by CCD at one moment

3 数据处理方法及仿真

面阵 CCD 拍摄的每幅图像上的百万像素 ($m \times n$) 均记录了某时刻此位置的散射光强值,将每幅图像按同样大小划分为 $i \times j$ 个网格,如图 4 所示,一幅图像等效于 $i \times j$ 个测量视场,同时记录某时刻散射光强的空间分布信号。设一次测得的动态光散射信号图像共为 N 帧,每帧图像的时间间隔为 τ ,共获得 $i \times j$ 个样本数是 N 的信号序列函数。对这 $i \times j$ 个信号序列函数按 (1) ~ (5) 式进行数据处理,就可以得到被测纳米颗粒的粒度。

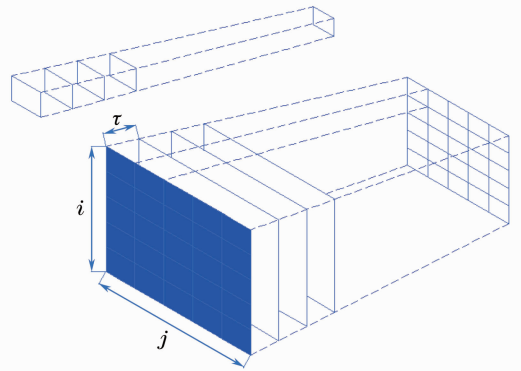


图 4 图像的网格处理
Fig. 4 Picture meshing

由于 CCD 记录的图像是个平面而不是个点,图像被分割成 $i \times j$ 个网格后,由图 5 可知每个网格的散射矢量 \mathbf{q} 方向各不相同,从理论上应该对每个网格计算其散射矢量 \mathbf{q} 。为研究不同位置网格散射角与中心网格 45° 散射角之间的差别带来的粒径偏差关系,以及所有网格采用各自真实散射角与 45° 散射角带来的粒径偏差关系,本文做了仿真计算。选取偏离图像中心最远的两个网格(图 5 中 1、2)以及所有网格作为仿真计算对象。仿真采用的参数与实验参数相同。实验中图像的中轴线与入射光中心线间夹角为 45° ,测量区中心到图像中心的距离为 f , L 为计算网格中心与图像中心点距离在水平面的投影长度, h 为计算网格中心距水平面的高度。 f 、 L 和 h 都是已知的几何量,由此可确定每个网格与图像中心间的水平偏转角 $\Delta\theta$ 和高度角 φ 。根据实验采用的 CCD 像素参数,得到网格 1 和网格 2 的 $\Delta\theta$ 分别为 $\pm 3.290884^\circ$, φ 为 0.572° 。利用模拟的单峰分布的纳米颗粒的动态光散射信号分别进行处理和比较。

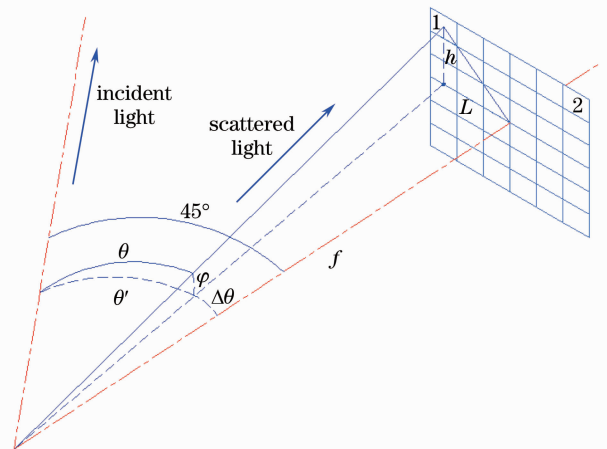


图 5 某网格散射角的几何关系图
Fig. 5 Geometrical diagram of scattering angle of one block

采用自回归(AR)模型^[10]、利用参数估计的方法模拟纳米颗粒的动态光散射信号,模拟条件为:采样时间 $t=0.24$ s,采样频率 $F=8290$ frame/s,模型阶数 $p=45$,入射光波长 $\lambda=532$ nm,分散介质(水)折射率为1.331,散射角分别为 $45^\circ, 41.712319^\circ, 48.293429^\circ$,测量温度为 27.4 $^\circ\text{C}$,玻尔兹曼常量为 1.3807×10^{-23} J $\cdot\text{K}^{-1}$,水的粘度系数为 0.8443×10^{-3} Pa $\cdot\text{s}$ 。

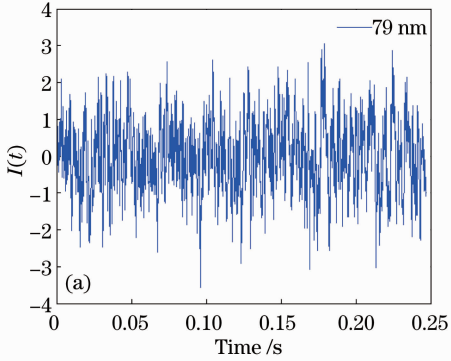


图 6(a)是模拟的 79 nm 单峰分布颗粒的散射光信号,图 6(b)是对散射光信号处理后得到的自相关曲线[其中横坐标是对数坐标,纵坐标为归一化的平均时间自相关函数 $G(\tau)$],表 1 是在 1,2 两个位置的网格采用各自网格的真实散射角和用 45° 角数据处理的结果及偏差,以及 1,2 两个网格平均的粒径和所有网格结果平均的粒径及偏差。

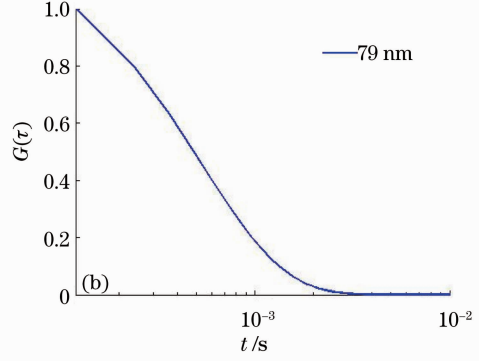


图 6 (a)模拟信号;(b)模拟信号的自相关曲线

Fig. 6 (a) Simulation signal; (b) normalized autocorrelation function of simulation signal

表 1 79 nm 标准纳米颗粒的模拟测量结果

Table 1 Simulation results of latex of 79 nm

	Size using actual angle /nm	Size using 45° /nm	Deviation /%
Block 1 (41.7°)	78.40	90.58	15.54
Block 2 (48.3°)	78.40	69.48	12.49
Block 1,2 average	78.40	79.97	1.52
All blocks	78.60	79.06	0.58

从表 1 可知,对于每个网格,当采用该网格实际散射矢量时的结果误差很小,但如果采用图像中心散射角 45° 代替某个网格的实际散射角计算,在本文情况下造成的粒径偏差最大达 15.54%。但由于对称性,对所有网格统一采用 45° 散射角得到的粒径平均后与实际粒径偏差仅为 0.58%。该结果表明,由于面阵 CCD 像素的对称结构,所有网格均采用 45° 散射角进行数据处理,得到的平均粒径以及采用各网格实际散射角得到的平均粒径的偏差均小于 1%,二者间的偏差仅为 0.58%,可以认为近似相同。因此,对于单分散颗粒系,可以采用图像中心散射角代替各个网格真实散射角进行数据处理,但在多分散颗粒系的情况下,由于颗粒分布的不确定性,该近似则可能会对结果产生一些影响,需要做进一步的研究证明。本文在下面的实验测量数据处理中,统一采用图像中心散射角 45° 。

粒径的标准纳米颗粒,分别是 27、79、482、948 nm。实验中分散介质为水,温度为 27.4 $^\circ\text{C}$,CCD 帧率为 8290 frame/s,每次拍摄 2000 frame 图像,约 0.24 s。图 7 是根据测得的图像信号进行网格分割处理后得到的 4 种标准颗粒的平均自相关衰减曲线。表 2 给

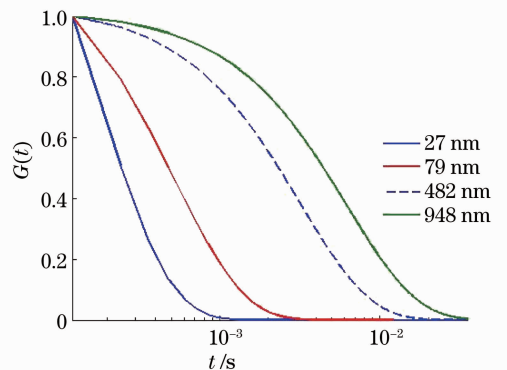


图 7 测得的 27,79,482,948 nm 标准单分散颗粒自相关衰减曲线

Fig. 7 Normalized average autocorrelation functions of latex of 27, 79, 482, 948 nm

4 实验研究和分析

为验证提出的测量方法,实验测量了 4 种不同

出了根据自相关函数计算得到的颗粒粒径。

表 2 27,79,482,948 nm 标准纳米颗粒的测量结果

Table 2 Measurement results of latex of 27, 79, 482, 948 nm dispersed

Nominal size /nm	Measured size /nm	Deviation /%
27	31.08	15.1
79	74.33	5.9
482	441.7	8.4
948	989.8	4.4

由表 2 可知在 CCD 帧率、介质粘度以及温度相同的条件下,粒径较小的纳米颗粒测量偏差大于粒径较大的纳米颗粒,在 8290 帧率下 27 nm 颗粒的测量误差达到 15.1%,即使是 948 nm 颗粒的测量误差也达到 4.4%。造成这个现象的原因在于 CCD 的帧率不够高,从图 7 可见自相关函数衰减很快,有效数据量太少。若要提高测量准确性,必须增加有效测量数据量。在常用 PCS 法中,光电倍增管的测量频率极高,由此对于很小的纳米颗粒也可以获得足够多的有效数据,而提高 CCD 的拍摄频率来增加有效数据量很困难。

根据(1)式,纳米颗粒的扩散系数与分散介质的粘度和温度有关,如果提高分散介质的粘度或者降低温度,可以减小扩散系数,从而延长自相关函数的衰减时间,提高测量精度。甘油是一种高粘度牛顿流体,与水相溶,很容易通过调整与水的混合比来获得合适的粘度。为此,采用质量分数(以下简称浓度)为 55%的甘油水溶液作为分散介质,该浓度甘油的粘度是 $6.15 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$,同温度水的粘度是 $0.87 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$,甘油的粘度是水粘度的 707%。图 8 是 27 nm 标准颗粒分别在水和 55%甘油水溶液中的自相关衰减曲线,二者实验时温度和 CCD 拍摄帧率相同。从图中可以看出,采用甘油作为分散介质后,自相关函数的衰减时间延长了近 10 倍。表 3 是 27,79,482 nm 标准颗粒在 55%甘油水溶液中的测量结果,可见不同粒径的测量误差均有不同程度的减小,尤其是 27 nm 的颗粒,测量误差从

15.1%减至 1.9%。这表明采用高粘度分散介质确实可以在相同的 CCD 帧率下提高测量准确性。

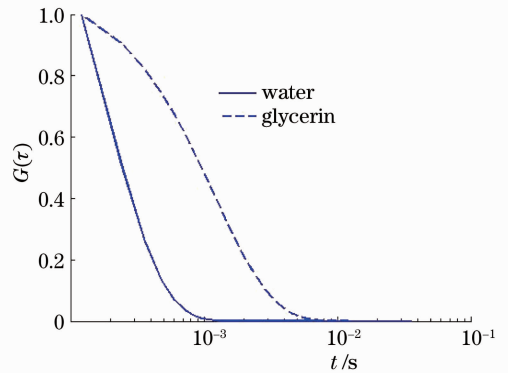


图 8 27 nm 标准颗粒的自相关衰减曲线

Fig. 8 Normalized average autocorrelation functions of latex of 27 nm

表 3 27,79,482 nm 标准颗粒在 55%浓度甘油水溶液中的测量结果

Table 3 Measurement results of latex of 27,79, 482 nm in 55% glycerin

Nominal size /nm	Measured size /nm	Deviation /%
27	27.5	1.9
79	80.3	1.6
482	485.6	0.75

尽管在 CCD 采用 8920 frame/s 后测量 27 nm 颗粒已可以得到很好的测量结果,但高速 CCD 的价格昂贵,体积大,不适合用于原位在线测量。近来采用 USB3 接口的低成本微型 CMOS 相机的性能有了很大提高,通过调整 CMOS 相机 ROI 大小可以改变相机的帧率,目前已可以达到 4000 frame。为研究在这样较低帧率下的测量准确性,分别进行了 CCD 在 2000、4000、8290 frame/s 时的测量实验。表 4 是在 27.4 °C, 55%甘油水溶液的条件下,27,79,482,948 nm 标准颗粒在不同帧率下的测量结果。从表 4 可知,在 5%测量偏差范围内,用 55%质量分数的甘油水溶液,CCD 4000 frame/s,所有颗粒的测量结果均可以满足要求。从文献[11]可知,在甘油浓度达到80%以上时,其粘度将以指数形式增

表 4 27,79,482,948 nm 标准颗粒在不同帧率时的测量结果

Table 4 Measurement results of latex of 27, 79, 482, 948 nm at different frame rates

Nominal size /nm	2000 frame/s		4000 frame/s		8290 frame/s	
	Measured size /nm	Deviation /%	Measured size /nm	Deviation /%	Measured size /nm	Deviation /%
27	29.2	8.1	28.2	4.3	27.5	1.9
79	84.6	7.1	82.3	4.2	80.3	1.6
482	462.5	4.1	465.8	3.4	485.6	0.75
948	926.5	2.3	957.1	0.1	---	---

加,在95%浓度时,粘度可以达到 $456.728 \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$,是55%浓度粘度的74倍。如果要进一步降低测量下限,可以采用更高浓度的甘油水溶液。

5 结 论

纳米颗粒的动态光散射信号实际上分布在整个 4π 空间,根据这一物理现象,本文提出了采用面阵 CCD 测量纳米颗粒的空间动态光散射信号,然后进行数据处理得到纳米颗粒的粒度。仿真和实验研究得到如下结论:

1) 面阵 CCD 高速连续拍摄纳米颗粒空间分布的动态光散射信号时 CCD 各个像素等效于数以万计到百万计的传感器同时并行测量,与目前的光电倍增管探测器比较,在获取同样数据量的前提下,可以大大减少测量时间,从通常的数十秒至百秒以上缩短到 1 s 以内,缩短的时间依被测颗粒的粒度大小而定。由于测量时间很短,可以认为温度在如此短时间内基本不变,从而可以取消复杂的恒温控制系统,仅须测温系统。

2) 对 27,79,482,948 nm 4 种标准颗粒测量的实验表明,以水为分散介质,在温度为 27.4 °C,CCD 帧率为 8290 frame/s 时,受拍摄帧率的限制,测量偏差随颗粒粒度增大而减小,27 nm 标准颗粒的测量偏差达 15.1%。提高分散介质的粘度,采用质量浓度为 55% 的甘油水溶液作为分散介质,其他测量条件不变时,27 nm 标准颗粒的测量偏差降低到 1.9%。进一步提高分散介质的粘度,可以进一步降低测量偏差,并降低测量下限。

3) 采用高粘度甘油水溶液作为分散介质可以降低对 CCD 帧率的要求,在浓度为 55% 的甘油水溶液为分散介质,帧率为 4000 frame/s 时,27 nm 标准颗粒的测量偏差小于 5%,可以满足测量要求。

4) 数值仿真结果表明,对单分散颗粒,所有网格采用统一的散射角进行处理,得到的平均粒径与采用网格实际散射角处理的误差仅为 0.58%,因此可以采用统一的散射角进行数据处理,对多分散颗粒系则需要进一步研究。

该方法具有测量时间短、结构简单、使用方便等特点,能实现纳米颗粒的原位测量。因此,可以为生物、化工、材料、微流体等领域的研究,尤其是动态过程的研究提供新的有效的纳米颗粒原位在线检测手段。

参 考 文 献

- 1 Renliang Xu. Particle Characterization: Light Scattering Methods [M]. The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 2000: 2-9.
- 2 Rhonda Dzakpasu, Daniel Axelrod. Dynamic light scattering microscopy: a novel optical technique to image submicroscopic motions. I: theory [J]. Biophysical Journal, 2004, 87(2): 1279-1287.
- 3 Rhonda Dzakpasu, Daniel Axelrod. Dynamic light scattering microscopy: a novel optical technique to image submicroscopic motions. II: experimental applications [J]. Biophysical Journal, 2004, 87(2): 1288-1297.
- 4 Aymeric Robert. Measurement of self-diffusion constant with two-dimensional X-ray photon correlation spectroscopy [J]. Appl Phys, 2007, 40: 34-37.
- 5 Andrew Malloy, Bob Carr. Nanoparticle tracking analysis-the Halo (TM) system [J]. Particle & Particle Systems Characterization, 2006, 23(2): 197-204.
- 6 Shen Jiaqi. On Dynamic Light Scattering Technique for Sizing Particles in Concentrated Colloids [D]. Shanghai: University of Shanghai for Science and Technology, 2010. 15-30.
沈嘉祺. 用于高浓度胶体粒径测量的动态光散射技术研究 [D]. 上海: 上海理工大学, 2010. 15-30.
- 7 H Wang, J Shen. Power spectral density of self-mixing signals from a flowing Brownian motion system [J]. Appl Phys B, 2012, 106(1): 127-134.
- 8 H Wang, J Shen, B Wang, *et al.*. Laser diode feedback interferometry in flowing Brownian motion system: a novel theory [J]. Appl Phys B, 2010, 101(1-2): 173-183.
- 9 Wang Naining. Measurement Techniques for Optical Particle Sizing and Its Applications [M]. Beijing: Atomic Press, 2000. 150-153.
王乃宁. 颗粒粒径的光学测量技术及应用 [M]. 北京: 原子能出版社, 2010. 150-153.
- 10 Wang Yajing, Zheng Gang, Shen Jin, *et al.*. Computer simulation of bimodal distribution ultrafine particles dynamic light scattering and precision analysis [J]. Acta Photonica Sinica, 2009, 38(9): 2338-2342.
王雅静, 郑刚, 申晋, 等. 双峰分布的超细颗粒动态光散射信号模拟及精度分析 [J]. 光子学报, 2009, 38(9): 2338-2342.
- 11 Xie Jinsong. Glycerol [M]. Beijing: Light Industry Press, 1984. 70-80.
谢劲松. 甘油 [M]. 北京: 轻工业出版社, 1984. 70-80.

栏目编辑: 李志兰