

# Совмещение методов нанокалориметрии и спектроскопии комбинационного рассеяния для исследования полиморфных превращений в полимерных материалах

## Nanocalorimeter and Raman microscope combination technique to study polymorphic transition processes in pharmacy materials

А.Ф. АХКЯМОВА<sup>1,2,4</sup>, А.Ф. АБУКАЕВ<sup>1,2,4</sup>, А.П. МЕЛЬНИКОВ<sup>2</sup>,

Е.В. КОМОВ<sup>2</sup>, И.И. РУЛЕВ<sup>4</sup>, Д.А. ИВАНОВ<sup>1,2,3,4</sup>

А.А. АХКИАМОВА<sup>1,2,4</sup>, А.Ф. АБУКАЕВ<sup>1,2,4</sup>, А.П. МЕЛЬНИКОВ<sup>2</sup>,

Е.В. КОМОВ<sup>2</sup>, И.И. РУЛЕВ<sup>4</sup>, Д.А. ИВАНОВ<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Московская обл., Черноголовка, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup> Научно-технологический университет «Сириус», Краснодарский край, Сочи, Россия

<sup>4</sup> Национальный исследовательский технологический университет МИСиС, Москва, Россия

<sup>1</sup> Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry RAS, Moscow region, Chernogolovka, Russia

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia

<sup>4</sup> National University of Science and Technology MISiS, Moscow, Russia

azig y@mail.ru

В данной статье описана экспериментальная установка для проведения совмещенных исследований методами сверхбыстрой калориметрии на чипе (нанокалориметрии) и рамановской спектроскопии (спектроскопии комбинационного рассеяния) для изучения фазовых превращений в полимерных материалах. В работе разработана методика калибровки нанокалориметрического сенсора при воздействии лазерного излучения рамановского микроскопа для проведения *in situ* измерений при различных температурах.

**Ключевые слова:** сверхбыстрая калориметрия, нанокалориметрия, рамановская микроскопия, полиморфные превращения, лекарственные препараты

This article describes an experimental setup for combining ultrafast on-chip calorimetry (nanocalorimetry) and Raman spectroscopy (Raman spectroscopy) to study phase transformations in polymer materials. A new method for calibration of a nanocalorimetric sensor under a laser beam of a Raman microscope for *in situ* measurements at various temperatures is developed.

**Keywords:** ultrafast calorimetry on a chip, nanocalorimetry, raman microscopy, polymorphism, pharmacy materials

DOI: 10.35164/0554-2901-2024-02-36-38

### Введение

Сверхбыстрая калориметрия на чипе и рамановская спектроскопия зарекомендовали себя как эффективные методы изучения теплофизических и структурных свойств материалов [1].

Стоит отметить, что в последние годы появляется все больше исследований, в которых широко применяются методы сверхбыстрой сканирующей калориметрии и рамановской спектроскопии в различных научных и промышленных областях, например, применительно к изучению полимерных материалов и лекарственных препаратов. Так, комбинация сверхбыстрой калориметрии и рамановской спектроскопии хорошо зарекомендовала себя для изучения метастабильных фаз полиэтилентерефталата (ПЭТФ) [2]. Оба метода являются достаточно эффективными для анализа фазового состава полибутилэнгликоль адипината и поливинилиденфторида [3]. В контексте разработок медицинских препаратов широко известно, что полиморфный состав может значительно влиять на процесс доставки лекарств, распределение лекарственного препарата в организме и метаболизм. Рамановская спектроскопия в этой области является одним из наиболее широко используемых методов анализа. Так, фазовый состав кофеина может быть определен с помощью низко- и высокочастотной рамановской спектроскопии [4].

В целом, сочетание сверхбыстрой калориметрии и рамановской спектроскопии, также известной как спектроскопия комбинационного рассеяния (КР), предоставляет мощный инструмент для изучения термического поведения и молекулярной структуры материалов. Такое сочетание имеет потенциальные применения в различных областях, включая науку о материалах, фармацевтику и биоинженерию. Однако, несмотря на высокий интерес исследователей к сверхбыстрым экспериментам, в литературе мало описано проведение *in situ* экспериментов с использованием нанокалориметрии. При этом проведение исследований такого типа может быть достаточно важно при комплексном анализе материалов несколькими методами. Таким образом, появляется необходимость в создании современной платформы, сочетающей открытый интерфейс прибора нанокалориметр и классического рамановского микроскопа.

### Материалы и методы

В данном исследовании была использована комбинация методов сверхбыстрой калориметрии на чипе и рамановского спектрометра LabRAM HR Evolution для изучения термического поведения двух материалов: индия и олова, которые были выбраны в качестве калибраторов из-за их известного термического поведения и удобного температурного диапазона точек плавления.

**Нанокалориметрия.** Эксперименты были проведены с помощью устройства нанокалориметр, разработанного на базе МГУ им. М.В. Ломоносова, с использованием коммерческих сенсоров Xensor Integration серии XEN-39392 с активной областью  $100 \times 100 \text{ мкм}^2$ .

**Рамановская микроскопия.** В работе использовался спектрометр комбинационного рассеяния LabRAM HR Evolution (HORIBA FRANCE S.A.S.), оснащенный высокостабильным конфокальным микроскопом BXFM с подвижным столиком с возможностью механического и автоматического управления. Длина волны узкополосного твердотельного Nd:Yag лазера с удвоением частоты составляла 532 нм, максимальная мощность – 100 мВт. Для фокусировки монохроматического лазерного луча на поверхность образца использовался объектив 50× (NA = 0,25, WD = 10,6 мм), размер пятна в фокальной плоскости не превышает 1 мкм. Съемка происходила в диапазоне волновых чисел 400–600 см<sup>-1</sup>. После рассеяния на дифракционной решетке (600 штр/мм) сигнал комбинационного рассеяния собирался многоканальным CCD-детектором (1024×256 пикселей), предварительно охлажденным до -60°C с помощью элемента Пельтье.

#### Методика пробоподготовки образцов

Процедура пробоподготовки на чипах была проведена стандартным образом. На нанокалориметрическом сенсоре ( $200 \times 200 \text{ мкм}^2$ ) было проведено двумерное лазерное картирование с шагом 10 мкм при уровнях мощности лазера в диапазоне от 0,1 до 10% при температурах 25°C и 100°C для оценки влияния лазерно-индуцированного нагрева сенсора и учета эффекта во время последующих экспериментальных исследований на изучаемых образцах.

Для образцов индия и олова сначала были выполнены стандартные калибровочные измерения на нанокалориметре и получены калибровочные коэффициенты. Затем с помощью разработанного и запатентованного держателя [5] сенсор помещался под лазерный луч рамановского микроскопа, после чего были повторно выполнены калибровочные измерения на нанокалориметре для образцов индия и олова для оценки любых изменений в поведении калибровочных образцов и получения новых калибровочных коэффициентов. Для каждой мощности на основе новых коэффициентов создавался отдельный калибровочный файл, учитывающий изменение температуры чипа под воздействием лазерного луча.

Для проверки воспроизводимости результатов каждый эксперимент проводился по пять раз. Полученные данные были проанализированы с использованием программного обеспечения OriginPro и среды разработки MATLAB для получения термических параметров, таких как температуры плавления и кристаллизации, энталпии и теплоемкость, а также положений и интенсивностей пиков на рамановском микроскопе.

#### Результаты и обсуждение

**Оценка температурного скачка на сенсоре.** Для совмещенной системы «рамановский микроскоп – нанокалориметр» был разработан многофункциональный держатель, включающий полимерную основу, выполненную методами 3D-печати, и коннектор с нанокалориметрическим сенсором.

Для проведения калибровки было необходимо измерить зависимость изменения температуры рабочей области сенсора от мощности лазерного излучения. В режиме непрерывной записи сигнала термопары чип подвергался облучению лазером различной мощности в течение 65 секунд. Величина регистрируемой температуры в зависимости от мощности лазера представлена на рис. 1.

Время стабилизации температуры на чипе составило менее 1 секунды. Величины температурных скачков на сенсоре при мощностях 0,1%, 1%, 5%, 10% и 25% составляли соответственно 0,02°C, 0,36°C, 2,47°C, 4,08°C, 18,1°C. Было установлено, что при мощности 50% лазер прожигает нитрид-кремниевую мембранны, поэтому подходящим является диапазон работы при мощностях лазера 10% и 25%, что соответствует 10 и 25 мВт. При мощности лазера 10% наблюдается оптимальное соотношение сигнал/шум рамановского спектра и температурного скачка на сенсоре, который составляет 4°C. Однако если рассматривать образцы с низкой интенсивностью сигналов комбинационного рассеяния, может потребоваться увеличение мощности лазера до 25% с применением дополнительных калибровочных коэффициентов, которые учитывают температурный скачок на 18°C на сенсоре.

**Калибровка сенсора.** В качестве калибраторов для разработки методики калибровки нанокалориметрических сенсоров для оценки температурного скачка на сенсоре при совмещении методов сверхбыстрой калориметрии на чипе и рамановской спектроскопии были использованы сверхчистые образцы порошков олова и индия (Alfa Aesar, США).

Стандартные калибровочные измерения на нанокалориметре предполагают позиционирование калибраторов в центре активной области сенсора и нагрев с шагом 0,1 В/мин в диапазоне от 0 до

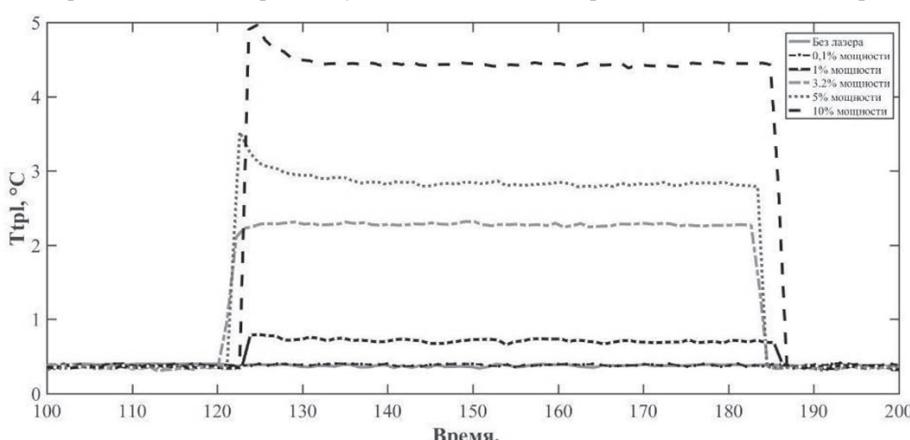


Рис. 1. Величина температурного скачка для индия и олова на сенсоре в зависимости от мощности лазера рамановского микроскопа.

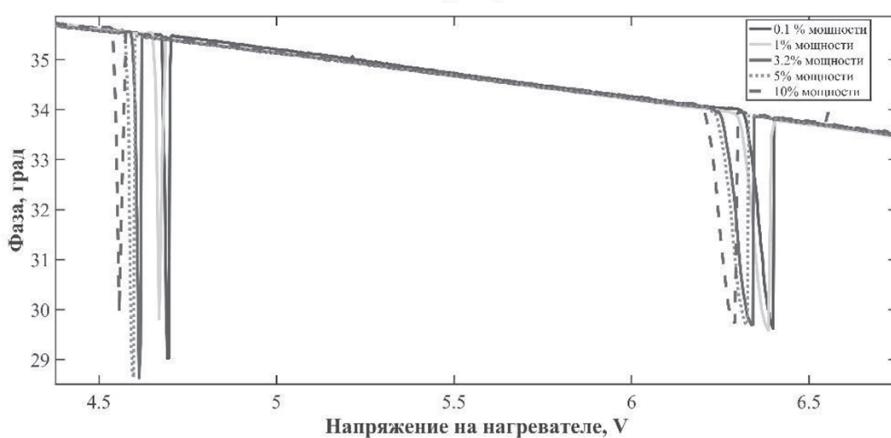


Рис. 2. Калибровочные графики индия (левый пик) и олова (правый пик) при различных мощностях лазера микроскопа комбинационного рассеяния.

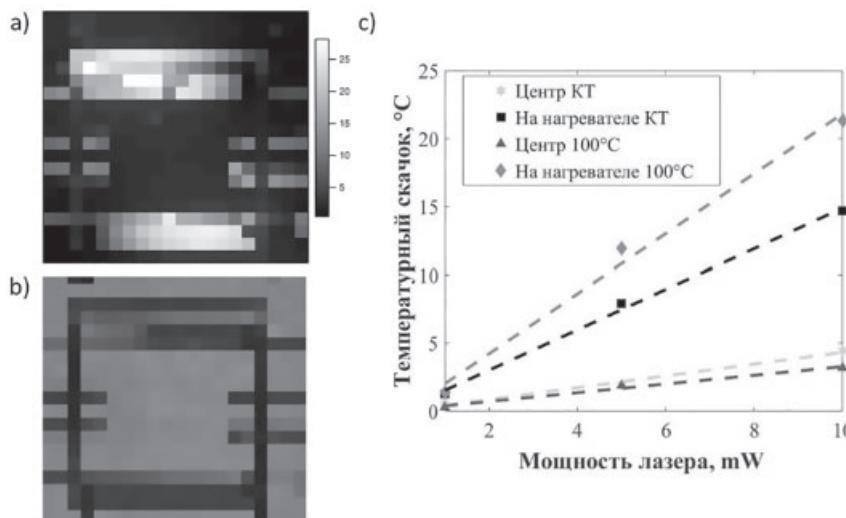


Рис. 3. Двумерные карты: скачок температуры нагревателя чипа (а), интенсивность фона КР-спектра (б), зависимость усредненного скачка температуры в активной области чипа и на нагревателе (с).

9 В. Такая процедура позволяет определить напряжение, соответствующее температуре плавления калибраторов. Сопоставив табличные значения температур плавления индия ( $156,6^{\circ}\text{C}$ ) и олова ( $231,9^{\circ}\text{C}$ ) с полученными величинами, можно рассчитать калибровочные коэффициенты.

Новая методика предполагает проведение процедуры *in situ* калибровки при включенном лазере рамановского микроскопа и получение калибровочных кривых, на которых будут заметны сдвиги пиков плавления индия и олова в зависимости от мощности лазерного пучка. Данные, полученные с помощью такой процедуры, позволяют получить калибровочные коэффициенты для каждой мощности лазера, то есть будут учитывать температурные скачки на чипе и позволят проводить исследования на образцах с высокой точностью. Калибровочные графики для индия и олова при различных интенсивностях лазера представлены на рис. 2.

Из графиков видно, что в зависимости от мощности лазерного излучения пик индия сдвигался в диапазоне от 4,50 до 4,67 В, а пик олова – от 6,17 В до 6,30 В.

*Карттирование чипа на рамановском микроскопе.* На рис. 3 представлены двумерные карты скачка температуры нагревателя нанокалориметрического чипа и интенсивности рамановского сигнала ( $400\text{--}600 \text{ см}^{-1}$ ) при комнатной температуре (КТ) и при  $100^{\circ}\text{C}$ , а также усредненные значения температурного скачка в выделенных областях.

Показано, что облучение активной области сенсора лазером с интенсивностью менее 10% в среднем приводит к изменению температуры менее чем на  $4,5^{\circ}\text{C}$ . При этом при облучении области нагревателя поправка более значительна: при 10% наблюдается скачок на  $14,7^{\circ}\text{C}$  (коэффициент пропорциональности  $1,4^{\circ}\text{C}/\text{мВт}$ ). В активной области чипа величина температурного скачка практически не изменяется при повышении температуры от комнатной до  $100^{\circ}\text{C}$ , тогда как в области нагревателя коэффициент пропорциональности возрастает до  $2,1^{\circ}\text{C}/\text{мВт}$ . Отклонение от линейного закона составляет около 6% и может быть обусловлено изменением размера лазерного пучка при различных мощностях лазера.

#### Заключение

Была разработана методика совмещения методов сверхбыстрой калориметрии на чипе (нанокалориметрии) и рамановской микроскопии для изучения полиморфных превращений лекарственных препаратов и полимерных материалов, а также разработан держатель для *in situ* теплофизических и спектроскопических экспериментов. Было исследовано влияние лазерного излучения на величину температурного скачка и показано, что совмещенная система работает в диапазоне мощностей лазера от 0,01 до 50%. Были подобраны оптимальные мощности для исследования лекарственных препаратов и полимерных материалов, которые составили 10 и 25%, соответственно.

В работе приводится описание методики калибровки нанокалориметрического сенсора под лазерным лучом рамановского микроскопа различной мощности, для проведения *in situ* измерений при различных температурах. Были получены величины сдвигов пиков плавления для стандартных калибровочных образцов индия и олова, на базе которых были получены калибровочные файлы для проведения дальнейших экспериментов.

Методом рамановского картирования нанокалориметрического сенсора были рассчитаны средние температуры на активной области чипа и нагревателе, которые будут учтены при различном позиционировании образцов на чипе.

#### Благодарности

Работы по стандартной калибровке сенсоров и пробоподготовке выполнены при поддержке государственного задания ААА-А-А19-119101590029-0. Работы на рамановском микроскопе выполнены при финансовой поддержке гранта РНФ в рамках проекта № 22-73-00081.

#### Литература

1. Furushima Y., Nakada M., Murakami M., Yamane T., Toda A., Schick C. (2015). Method for Calculation of the Lamellar Thickness Distribution of Not-Reorganized Linear Polyethylene Using Fast Scanning Calorimetry in Heating // Macromolecules. 2015. V.48. I.24. P. 8831–8837.
2. Wei L., Jiang J., Shan M., Chen W., Deng Y., Xue G., Müller A. J. Integration of ultrafast scanning calorimetry with micro-Raman spectroscopy for investigation of metastable materials. // Review of Scientific Instruments. 2014. V.85. I.7.
3. Anokhin D.V., Gorbunova M.A., Estrin Y.I., Komratova V.V., Badamshina E.R. The role of fast and slow processes in the formation of structure and properties of thermoplastic polyurethanes // Physical Chemistry Chemical Physics. 2016. V.18, P.31769.
4. Hédoux A., Decroix A.-A., Guinet Y., Paccou L., Derollez P., Descamps M. J. Thermodynamic properties of caffeine crystal forms// Physical Chemistry B. 2011. V.115. P.5746.
5. Иванов Д. А., Ахлямова А.Ф., Пирязев А.А., Комов Е.В., Бовсуновская П.В. Универсальная платформа для проведения комбинированных *in situ* измерений теплофизических, спектроскопических и структурных параметров образца// Патент RU 211395 U1. 2022.