



ULBS

Universitatea "Lucian Blaga" din Sibiu

Abstract of the Habilitation Thesis

**Techniques for nanoparticle
synthesis and characterization and for
monitoring nanoparticle aggregation in
aqueous solutions**

Dan Chicea

- **May 2014** -

1. Abstract

Nanoparticles (NP) are a class of modern and versatile materials that have an extremely wide range of possible applications that can really improve the quality of life for many people. My research in the field of NPs was focused in three directions: NP synthesis by coprecipitation, NP characterization and NP aggregation in diluted aqueous solutions monitoring.

In order produce NPs for being widely used in biomedical applications, substantial amounts of nanoparticles have to be produced at a reasonably low cost, therefore they have to be produced in an industrial manner. A section of this thesis presents the results of my work that was directed to researching, comparing, to improving existing recipes of manufacturing suspended in a low cost carrier fluid that can be used in biological applications, which is water.

Two recipes for manufacturing Fe_3O_4 NPs suspended in water were established, and used. The first procedure carries on at room temperature leading to bigger NPs, yet in the range of tens of nanometers. The advantage of simplicity comes with the disadvantage of containing maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) along with magnetite (Fe_3O_4). The NPs produced by this procedure can be used as drug carriers for biomedical applications, as the big size prevents them to penetrate the cell membrane. Fe_3O_4 presents the main advantage of being metabolized by the human body. During the second procedure the temperature was carefully monitored, controlled and maintained at 75°C during the co-precipitation stage of the synthesis. The change favored magnetite formation and to prevented maghemite formation at lower temperatures. The nanofluid we obtained was dark black with no red or brown reflexes, meaning that the nanoparticles were magnetite (Fe_3O_4) not maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Both these procedures are simple can be upscaled and turned into an industrial process and this is a possible direction of research in industrial engineering.

Once the nanofluid is synthesized, it must be characterized in order to make sure that the physical parameters are in the range required by the application they were designed for. The thesis presents the procedures that were used for measuring the electric conductivity, surface tension, thermal diffusivity and effusivity.

Nevertheless, NP size is crucial for this type of materials. The three methods used in assessing the NP dimension, the X Rays Diffraction (XRD), the Dynamic Light Scattering (DLS) and the Atomic Force Microscopy (AFM) are essentially different from each other and

my contribution on improving the DLS and AFM techniques are presented in detail in this thesis, while powder XRD was used a control.

The XRD diffraction pattern illustrates that the sample obtained in our synthesis conditions is magnetite Fe_3O_4 - cubic crystalline structure phase. We found that the crystallite mean size was 10.9 nm.

In the traditional DLS technique the width of the autocorrelation function of the time series is proportional to the diffusion coefficient, which, on its turn, depends of the particle diameter. My contribution to the DLS procedure consists of using the fit of the functional form of the Loretzian function to the power spectrum density rather than using the width at half maximum of the autocorrelation function of the time series. The improvement lays in using more data points for the fit, thus increasing the precision. Nowadays there are many commercial devices for particle sizing and they use different lasers and measure the signal at different angles, but in 2008 when my first article on this subject was published, this was an improvement.

The AFM technique uses an image reconstruction from successive lines acquired during a scan of the surface. The NP size determined by AFM is consistent with the results of the DLS and XRD techniques. Moreover, the AFM can be used to investigate the small size particle distribution “tail”, while the DLS is significantly less sensitive for smaller sized nanoparticles if the particles have a wider size distribution. My contribution in using the AFM technique for NP sizing lays in establishing a protocol for sample preparation, analysis and data processing together with the error analysis procedure.

As extensively presented in the literature, NPs are very promising for biomedical applications. The body fluids are aqueous solutions and Fe_3O_4 NPs aggregate fast in such an environment, therefore investigating NPs aggregation dynamics is of interest. A part of my efforts was directed to the development of this research area, as well.

First I improved the code I wrote for the modified DLS procedure to slice the time series into time slices of the desired length and to analyze each slice to assess the average diameter of the NP aggregates. The procedure is very flexible, leading to the desired time resolution and producing the average diameter variation in time.

The second procedure that I used in NP aggregation monitoring was the Static Light Scattering (SLS) procedure that uses the variation of the computed average anisotropy parameter g with the diameter. The far field was recorded and processed later on using the codes I wrote for this purpose to produce the values of the scattering anisotropy parameter g at different time values. Using the computed values of the average anisotropy parameter g

with the diameter, the variation of the aggregates dimension in time is quantitatively determined, thus enabling NP aggregation monitoring with the desired time resolution.

In addition to these two elaborated procedures, other two simple optical procedures were proposed for monitoring the nanoparticle aggregation process. The first procedure involves a precise and repeated measurement of the refractive index of the suspension after dilution using a modified Abbe type refractometer. The refractive index exhibits a fast increase during homogenization followed by a fast decrease and then a slow decrease. The fast decrease corresponds to the aggregates formation in the suspension and lasted for about 20 s but this time interval strongly depends of the geometry of the sample container.

The second procedure relies on the Rayleigh scattering approximation and requires recording the scattered light intensity at a small scattering θ angle and averaging the fluctuations. The increase of the averaged scattered light intensity corresponds to the aggregates formation and was found to be consistent with the time interval found using the first two procedures.

The time intervals assessed for aggregates formation are consistent with the results of the DLS and SLS aggregate size monitoring, therefore we can conclude that these two simple optical procedures can be used even in a quantitative manner in NP aggregation monitoring. They suggest that simple devices can be designed based on the physical principles presented in this work and can be used in monitoring different stages of industrial production of NPs or nanofluids. For this purpose a standard cuvette must be used and a calibration using a standard procedure, like DLS, should be performed in parallel with the two novel methods presented in this work.

In conclusion, the modified DLS technique, the SLS procedure, NP aggregates monitoring using the variation of the refractive index and the variation of the average scattered light intensity I proposed remain relatively simple procedures and this suggests several possible directions of research in the field of industrial engineering, which is developing low cost devices that can be used both for NP sizing in suspension and for monitoring the aggregation process, feature that is not available on the commercial DLS particle analyzers. Such a device can be attached to the recipient where the synthesis carries on in an industrial manner, to monitor the NP size during the coprecipitation phase, and this is a new direction of improving the NP synthesis or to monitor the aggregation process.

2. Rezumat

Nanoparticulele (NP) sunt o clasă de materiale moderne și versatile care prezintă un spectru foarte larg de potențiale aplicații practice și care promit să îmbunătățească viața multor oameni. Cercetarea pe care am desfășurat-o în domeniul nanoparticulelor a fost concentrată pe trei direcții: sinteza de NP prin coprecipitare, caracterizarea nanoparticulelor și urmărirea agregării lor în soluții apoase diluate.

Pentru a utiliza nanoparticulele în aplicații biomedicale, acestea trebuie produse în cantitate mare și la un cost relativ mic; aceste deziderate pot fi îndeplinite numai dacă se produc în mod industrial. O secțiune a acestei teze prezintă rezultatele cercetării mele în domeniul analizării, comparării, îmbunătățirii unor proceduri de fabricare a nanoparticulelor de Fe_3O_4 suspendate într-un fluid biocompatibil cu cost scăzut, cum este apa.

În urma acestor cercetări am ajuns la două procedee simple de fabricare a NP de Fe_3O_4 suspendate în apă. Primul procedeu decurge la temperatura camerei și are ca rezultat producerea de nanoparticule cu dimensiuni de ordinal zecilor de nm. Avantajul mare al simplității procedurii vine împreună cu dezavantajul că sunt produse și nanoparticule de maghemită ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) împreună cu magnetita (Fe_3O_4). Aceste nanoparticule pot fi folosite ca agenți purtători ai diferitelor medicamente, dacă nu deranjează prezența maghemitei, întrucât dimensiunile mari le împiedică să penetreze membrane celulei. Fe_3O_4 prezintă marele avantaj de a fi metabolizată de organismul uman. A doua procedură presupune un control atent al temperaturii și menținerea ei la 75°C în faza coprecipitării. Această schimbare favorizează producerea magnetitei și împiedică formarea maghemitei. Nanofluidul obținut avea culoarea negru închis, fără reflexe brune sau roșiatice, ceea ce arată că conține doar magnetită. Ambele proceduri sunt simple și pot fi ușor transformate în procedee industriale și aceasta este una din direcțiile viitoare de cercetare.

Odată ce nanoparticulele au fost fabricate și se află dizolvate într-un fluid purtător, acesta trebuie caracterizat pentru a verifica dacă parametrii fizici se găsesc în intervalele cerute de destinația nanoparticulelor sau nanofluidului. Teza prezintă procedeele simple care au fost utilizate și rezultatele obținute în determinare conductivității electrice, a coeficientului de tensiune superficială, a efuzivității și difuzivității termice a fluidului.

Însă dimensiunea nanoparticulelor din suspensie este caracteristica principală a acestui tip de material. Am folosit trei procedee principale pentru determinarea dimensiunii nanoparticulelor, respectiv difracția de raze X pe pulberi policristaline (XRD), Dinamica împrăștierei luminii (DLS) și microscopia de forță atomică (AFM). Cele trei metode folosesc

principii fizice diferite. DLS și AFM au fost folosite pentru determinarea dimensiunii nanoparticulelor iar XRD a fost folosită ca metodă de referință.

Analizând curba obținută folosind XRD am găsit că proba era cristalină, cu rețea cristalină cubică și distanța dintre planurile cristaline a arătat că este magnetită iar dimensiunea medie a N_p a fost de 10.9 nm.

Tehnica DLS în varianta tradițională presupune înregistrarea unei serii temporale și calcularea funcției de autocorelație. Lățimea la semi-înălțime a funcției de autocorelație este proporțională cu coeficientul de difuzie al particulelor, care, la rândul său, depinde de diametrul acestora, ceea ce permite determinare dimensiunii medii a particulelor. Contribuția mea la îmbunătățirea tehnicii DLS constă în fitarea formei funcționale a funcției Lorentz pe densitatea spectrală de putere a semnalului și găsirea diametrului particulelor din parametrii fitului. Acest procedeu are avantajul că fitarea se efectuează pe un număr mult mai mare de date experimentale, ceea ce îmbunătățește precizia fitării. În prezent există multe dispozitive comerciale care pot face o analiză dimensională a particulelor din suspensie. Aceste dispozitive folosesc simultan mai multe fascicule laser de diferite lungimi de undă și înregistrează semnalul la mai multe unghiuri. În anul 2008 când am publicat primul articol pe această temă îmbunătățirea a constituit o noutate.

Tehnica AFM constă în a înregistra profiluri succesive pe probă și a reconstitui topografia suprafeței din aceste profiluri. Dimensiunea nanoparticulelor pe care am determinat-o folosind tehnica AFM este în bună concordanță cu dimensiunile găsite prin DLS și prin XRD. În plus, după cum am arătat în articolele pe care le-am publicat, tehnica AFM poate fi folosită la investigarea părții de dimensiuni mici a distribuției nanoparticulelor, întrucât tehnica DLS este mai puțin sensibilă la această parte a distribuției. Contribuția mea la dezvoltarea tehnicii AFM constă în stabilirea protocolului pentru prepararea probei în vederea scanării, a procedurii de analizare a datelor și în determinarea erorilor sistematice ale metodei.

După cum a fost prezentat pe larg în literatură, nanoparticulele sunt materiale promițătoare referitor la aplicațiile biomedicale. Fluidele corpului uman sunt soluții apoase iar nanoparticulele de Fe_3O_4 se grupează rapid într-un astfel de mediu formând clusteri, agregate, ceea ce schimbă rapid proprietățile fizice și reologice ale fluidului în care sunt dizolvate. Din acest motiv investigarea dinamicii agregării nanoparticulelor este un domeniu de interes și o parte din eforturile mele de cercetare au fost direcționate în această direcție.

Pentru început am modificat programul care face analiza de tip DLS a unei serii temporale în sensul că transformă seria într-un număr de eșantioane de lungimea dorită și face analiza DLS pe aceste eșantioane succesive. Produce în felul acesta o succesiune de valori ale

diametrului mediu al nanoparticulelor. Procedura este foarte flexibilă întrucât se poate selecta durata unui eșantion și se poate obține ușor variația în timp a diametrului agregatelor, cu rezoluția temporală dorită.

Al doilea procedeu pe care l-am folosit pentru monitorizarea agregării nanoparticulelor este de tipul Static Light Scattering (SLS). Acest procedeu folosește faptul că coeficientul de anizotropie g la împrăștierea luminii monocromatice depinde puternic de diametrul particulei care împrăștie lumina. Câmpul de interferență a fost înregistrat și prelucrat ulterior folosind un program pe care l-am scris în acest scop, calculând valoarea coeficientului de anizotropie la diferite momente de timp. Folosind dependența calculată a coeficientului de anizotropie de diametrul centrilor de împrăștiere se calculează valoarea diametrului la diferite momente de timp, cu rezoluția temporală dorită, permițând o determinare cantitativă a variației diametrului agregatelor în timp.

În plus față de aceste două procedee elaborate am dezvoltat alte două procedee simple care permit monitorizarea procesului de agregare a nanoparticulelor. Primul constă în urmărirea variației indicelui de refracție a suspensiei în decursul dizolvării sau amestecării nanoparticulelor folosind un refractometru de tip Abbe modificat. La început are loc o creștere rapidă a indicelui de refracție, urmată de o scădere rapidă și apoi o scădere lentă. Scăderea rapidă corespunde formării agregatelor în suspensie și durata a fost similară cu cea măsurată folosind primele două procedee.

Al doilea procedeu se bazează pe aproximația Rayleigh referitoare la împrăștierea luminii și presupune înregistrarea variației intensității luminii împrăștiate la un unghi mic în timp și medierea fluctuațiilor. Creșterea valorii medii a intensității luminii împrăștiate corespunde formării agregatelor și durata acestui proces este comparabilă cu timpul de agregare determinat prin primele două metode folosite.

În concluzie, procedeele pe care le-am dezvoltat pentru monitorizarea agregării nanoparticulelor respective varianta modificată de DLS, de SLS, monitorizarea intensității medii a luminii împrăștiate și a indicelui de refracție sunt procedee simple și testate care sugerează câteva direcții de cercetare în domeniul ingineriei industriale. Aceste direcții pot consta în proiectarea și construirea unor dispozitive simple, conectate la un PC cu softul corespunzător, care pot fi folosite în procesele industriale de fabricare a nanoparticulelor pentru analizarea dimensională în diferite faze ale sintezei lor precum și în industria farmaceutică la evidențierea și monitorizare agregării nanoparticulelor în cazul folosirii acestora ca purtători ai diferitelor tipuri de medicamente.