ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРОВ НАНОЧАСТИЦ В КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРАХ МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА

DETERMINATION OF NANOPARTICLE SIZE IN COLLOIDAL SOLUTIONS BY DYNAMIC LIGHT SCATTERING

А.Марахова¹, В.Жилкина¹, Е.Блынская², К.Алексеев³, Я.Станишевский¹ / agentcat85@mail.ru
A.Marakhova¹, V.Zhilkina¹, E.Blynskaya², K.Alekseev³, Ya.Stanishevskiy¹

Проведен анализ литературных данных о методах экспериментального измерения линейных размеров наночастиц. Показано, что результаты применения некоторых методов отличаются на несколько порядков. При этом наибольшая сходимость результатов, а следовательно, и их достоверность, присуща методам сканирующей электронной микроскопии, низкотемпературной адсорбции и динамического светорассеяния. Экспериментально изучены распределения по размерам частиц суспензии серебра с глицином и препарата "Протаргол" с помощью приборов Zetasizer Nano ZS и NANOPHOX.

The analysis of literature data about different methods of nanoparticle size determination was carried out. It was shown, that particle sizes could differ in many times due to the method of analysis. But there is a good correlation between scanning electron microscopy, low-temperature adsorption and dynamic light scattering. Using Zetasizer Nano ZS and NANOPHOX devices the size distributions for particles in suspension "silver - glycine" and in Protargol was experimentally researched.

Большой интерес к исследованию наноструктур различного химического состава, строения и морфологии вызван необычными физико-химическими, электромагнитными, оптическими, механическими и другими свойствами наноматериалов, что открывает широкие перспективы их практического применения [1-4, 6]. Уникальность свойств наночастиц связана с их малыми размерами, которые колеблются от 1 до 100 нм [5]. К настоящему времени разработано большое число аналитических методов (табл.1) для определения размера наночастиц.

Каждый из приведенных в табл.1 методов имеет как определенные преимущества, так и ограничения. Учеными Сибирского государственного аэрокосмического университета им. акад. М.Ф.Решетнева были проведены измерения размера частиц железа различными способами (табл.2). Из данных табл.2 видно, что наи-

более сходимые результаты получены методами сканирующей электронной микроскопии, низкотемпературной адсорбции и динамического рассеяния света (фотонной корреляционной спектроскопии). Динамическое рассеяние света (ДРС) имеет ряд преимуществ, позволяя определять эффективный гидродинамический радиус частиц *in situ* в жидких средах и является эффективным методом исследования наноразмерных объектов различного происхождения [9, 11]. Этот метод не требует калибровки, а пробоподготовка сводится к обеспыливанию растворов, причем зачастую (для сильно рассеивающих систем) нет необходимости даже в этой простой, но весьма трудоемкой процедуре. Современные спектрометры ДРС относительно недороги, доступны, дают возможность достаточно быстро провести анализ [2]. Компактность приборов позволяет использовать их в экспресс-лабораториях.

¹ ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов" / Peoples' Friendship University of Russia.

² ГБОУ ВПО "Первый Московский государственный университет им. И.М.Сеченова" / Sechenov First Moscow State Medical University.

³ Московский медицинский университет «РЕАВИЗ» / Moscow Medical University REAVIZ.

Таблица 1. Методы определения размеров наночастиц

Table 1. Methods of determining nanoparticle size

Методы анализа Methods of analysis	Явления или процессы, лежащие в основе метода Phenomena or processes that underlie the method
Просвечивающая электронная микроскопия Transmission electron microscopy	Просвечивание образца пучком электронов с определением размера и внутренней структуры частиц Transmission of an electron beam through a sample with determination of the size and internal structure of particles
Сканирующая (растровая) электронная микроскопия Scanning electron microscopy	Сканирование поверхности образца пучком электронов с одновременной регистрацией вторичных электронов и получение объемного изображения Scanning the sample surface by an electron beam with simultaneous registration of secondary electrons and obtaining the three-dimensional image
Сканирующая туннельная микроскопия Scanning tunneling microscopy	Анализ рельефа токопроводящих поверхностей путем фиксирования величины туннельного тока, возникающего между острием зонда и поверхностью образца Analysis of the topography of the conductive surfaces by fixing the value of tunnel current between the tip of the probe and the sample surface
Атомно-силовая микроскопия Atomic force microscopy	Анализ рельефа и механических свойств поверхностей путем фиксирования величины Ван-дер-ваальсовых сил, возникающих между острием зонда и поверхностью образца Analysis of the topography and mechanical properties of surfaces by measurement of van der Waals forces generated between the tip of the probe and the sample surface
Светорассеяние (метод статического рассеяния света) Light scattering (Static light scattering)	Определение размера частиц по интенсивности рассеянного света Determination of particle size by intensity of scattered light
Фотонная корреляционная спектроскопия (метод динамического рассеяния света) Photon correlation spectroscopy (Dynamic light scattering)	Определение размера частиц по коэффициенту диффузии, рассчитываемого исходя из интенсивности и частотных характеристик рассеянного света Determination of the particle size by the diffusion coefficient, calculated on the basis of the intensity and frequency of ambient light
Малоугловое рассеяние рентгеновских лучей и нейтронов Small-angle X-ray and neutron scattering	Оценка размера частиц по угловой зависимости интенсивности диффузного рассеяния (в области малых углов) Determination of particle size by angular dependence of the intensity of diffuse scattering (small angle)
Дифракционные методы (рентгено-электро-нейронография) Diffraction methods (X-ray electron neurography)	Диффузия излучения на кристаллической решетке образца с получением дифрактограммы и оценка размеров кристаллов по величине уширения дифракционных максимумов Diffusion of the radiation on the crystal lattice of the sample with the obtaining of the diffraction pattern and estimation of the crystal size by the widening of diffraction peaks
Седиментация Sedimentation	Определения размера частиц по скорости их оседания Determination of particle size by the speed of their subsidence
Адсорбционный метод (БЭТ) Adsorption method (BET)	Определение удельной поверхности (размера частиц) образца путем измерения величины низкотемпературной адсорбции инертных газов (азота) Determination of the specific surface (particle size) of the sample by measuring the low-temperature adsorption of inert gases (nitrogen)

Great interest in the study of nanostructures of different chemical composition, structure and morphology is caused by extraordinary physicochemical, electromagnetic, optical, mechanical and other properties of nanomaterials that opens wide prospects of their practical applications [1–4, 6]. The small size of nanoparticles in the range from 1 to 100 nm determine the uniqueness of their properties [5]. The large number of analytical methods is developed

(table 1) to determine the size of nanoparticles.

Each of the methods listed in table.1, has certain advantages and limitations. Scientists of the Reshetnev Siberian State Aerospace University have measured the size of the iron particles in various ways (table.2). Table 2 shows that the most reproducible results were obtained using scanning electron microscopy, low-temperature adsorption and dynamic light scattering (photon correlation

spectroscopy). Dynamic light scattering (DLS) has a number of advantages, allowing to determine the effective hydrodynamic radius of the particles in situ in a liquids, and is an effective method of investigation of nano-objects of different origin [9, 11]. This method does not require calibration, the sample preparation is reduced to the dedusting, and often (for strongly scattering systems) this simple, but very time-consuming procedure is not necessary. Modern DLS

Таблица 2. Результаты определения размера частиц Fe различными методами

Table 2. Determination of Fe particle size by various methods

Методы анализа Methods of analysis	Размер частиц, нм Particle size, nm
Сканирующая электронная микроскопия Scanning electron microscopy	50–80
Просвечивающая электронная микроскопия Transmission electron microscopy	300–1000
Рентгенография Radiography	20
Малоугловое рассеяние: нейтрография Small-angle scattering, neutron diffraction analysis	24–64
Низкотемпературная адсорбция (БЭТ) Low-temperature adsorption (BET)	60
Статическое светорассеяние Static light scattering	500–8000
Динамическое светорассеяние Dynamic light scattering	70

Конечно, как и другие методы, ДРС не лишена недостатков, среди которых зависимость результата от адекватности математической модели, положенной в основу корреляционного анализа, сложность подбора в ряде случаев дисперсионной среды или необходимость знания ее состава, а также возможная агрегация частиц в исследуемых суспензиях [7]. Однако в ряде случаев

агломерации можно избежать путем замены дисперсионной среды, добавления стабилизаторов, применения диспергирования [4]. Таким образом, существенные достоинства и незначительные недостатки делают ДРС одним из наиболее популярных методов для определения размеров макромолекул [8, 9, 11].

Принцип определения размеров частиц методом ДРС основан на измерении и анализе флуктуаций во времени интенсивности рассеянного света в емкости, содержащей частицы в растворителе. Благодаря случайному (броуновскому) движению частиц, вызванному некомпенсированными толчками молекул растворителя, интенсивность света осциллирует относительно своего среднего значения. По частоте этих осцилляций можно получить информацию о коэффициенте диффузии частиц, который, в свою очередь, зависит от их размеров.

Когда световой луч падает на частицы, происходит взаимодействие электромагнитной волны с неоднородной средой и свет рассеивается. Основное предположение теории ДРС заключается в том, что рассеянный свет имеет ту же частоту, что и возбуждающий луч света [7]. Однако для стороннего наблюдателя возникает оптический эффект Доплера, обусловленный движением частиц. Частота рассеянного света смещается малыми сдвигами, пропорциональными скорости частиц. Интенсивность рассеянного света не постоянна, но флуктуирует около среднего значения. Проходящий сквозь среду луч

spectrometers are relatively inexpensive and allow to quickly perform the analysis [2]. The small footprint of the devices allows to use them in express laboratories.

Of course, like other methods, DLS has disadvantages: the dependence on the adequacy of the mathematical model that is in the basis of correlation analysis; in some cases, the complexity of selection of the dispersion medium or the need to know its composition; possible agglomeration of particles in the suspensions [7]. However, in some cases, agglomeration can be avoided by replacing the dispersion medium, adding stabilizer, or the use of dispersion [4].

Thus, significant advantages and minor disadvantages make DLS one of the most popular methods of determination of the size of macromolecules [8, 9, 11].

The determination of particle size by DLS is based on measurement and analysis of fluctuations in time of scattered light intensity in the capacity containing particles in the solvent. Due to random (Brownian) motion of particles caused by uncompensated impacts of the solvent molecules, the intensity of light oscillates about its average value. The frequency of these oscillations one can obtain information about the diffusion

coefficient of the particles, which, in turn, depends on their sizes. The frequency of these oscillations allows to estimate the diffusion coefficient of the particles, which, in turn, depends on their size.

When the light beam impinges on the particles, light is scattered due to the interaction of electromagnetic waves with an inhomogeneous medium. The basic assumption of the DLS is that the scattered light has the same frequency as the stimulating light beam [7]. However, an observer perceives optical Doppler effect caused by movement of particles. The frequency of the scattered light is shifted by small changes,

встречает на пути огромное количество частиц, движущихся во всех направлениях с различными скоростями. Таким образом, получается непрерывный спектр вероятности частотных сдвигов, который имеет центром частоту возбуждающего луча [7].

Для анализа размеров наночастиц часто используется прибор Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания) – высокоэффективный двухугловой анализатор размеров частиц и молекул (от 0,3 нм до 10 мкм) с оптикой неинвазивного обратного рассеяния NIBS. Прибор предназначен для точного обнаружения агрегатов и измерения небольших по объему или разбавленных образцов, а также образцов с очень высокой концентрацией методом ДРС [10, 12, 13].

Еще одним прибором, позволяющим установить размер частиц в жидкости, является NANOPHOX (Sympatec, Германия), основанный на спектроскопии кросс-корреляции фотонов (Photon Cross-correlation Spectroscopy, PCCS). Этот метод позволяет одновременно измерять размер частиц и агрегативную стабильность непрозрачных суспензий или эмульсий наночастиц в диапазоне от 1 нм до нескольких микрометров. В PCCS два независимых лазерных луча проходят через один и тот же объем образца, создавая при этом две независимые спектральные картины в результате многочисленного рассеяния на пути к приемнику. Детектируемые сигналы схожи по своему профилю, но на них накладываются шумы. Изменение интенсивности регистрируется двумя детекторами, установ-

Рис.1. Дифференциальная кривая распределения частиц серебра с глицином по объему в зависимости от их размера
Fig.1. Differential distribution in volume of the silver particles with glycine depending on their size

Рис.2. Корреляционная функция для частиц серебра с глицином
Fig.2. Correlation function for silver particles with glycine

which are proportional to the speed of the particles. The intensity of scattered light is not constant, but fluctuates about the mean value. Passing through the medium the beam passes on the way to a huge number of particles moving in all directions with different speeds. The beam passing through the environment, meets the huge number of particles moving in all directions with different speeds. Thus, the result is a continuous spectrum of the probability of frequency shifts, the center of which is the frequency of the exciting beam [7].

To study the size of the nanoparticles the Zetasizer Nano ZS (Malvern

Instruments, UK) is often used. It is a highly effective two-angle analyzer of size of particles and molecules (from 0.3 nm to 10 μ m) with non-invasive backscatter optics. The device is designed for accurate detection of aggregates and for measurement of small-volume or dilute samples and samples with a very high concentration using DLS method [10, 12, 13].

Another device that allows to measure the size of the particles in a fluid, is the NANOPHOX (Sympatec, Germany) based on photon cross correlation Spectroscopy (PCCS). This method allows the simultaneous measurement of

particle size and aggregate stability of opaque suspension or emulsions of nanoparticles in the range from 1 nm up to several micrometers. In PCCS two independent laser beams pass through the same sample volume creating two independent spectral pattern due to multiple scattering on the way to the receiver. The detected signals are similar in profile, but the noise is superimposed on them. The intensity fluctuations are observed by two detectors positioned such that the scattering vectors were the same. The advantage of this method is the possibility to compare signals of scattered light to isolate identical

Рис.3. Дифференциальная кривая распределения частиц "Протаргола" по объему в зависимости от их размера
Fig.3. Differential distribution in volume of the Protargol particles depending on their size

Рис.4. Корреляционная функция, полученная для "Протаргола"
Fig.4. Correlation function for Protargol particles

ленными таким образом, чтобы векторы рассеяния были одинаковыми. Преимуществом данного метода является возможность сравнения сигналов рассеянного света для изолирования идентичных пиков, которые генерируются единичными взаимодействиями рассеянных фотонов с частицами образца (рис.4). Для получения необходимого результата требуется определенное геометрическое положение лучей [5].

В рамках настоящего исследования был выполнен сравнительный анализ размеров частиц в суспензиях серебра с глицином и лекарственного препарата "Протаргол" с помощью приборов Zetasizer Nano ZS и NANOPHOX. Оба устройства работают как в автоматическом, так и в ручном режиме. Проведение пробоподготовки не требуется, так как исследуемые образцы жидкие. На рис.1 представлено полученное на приборе NANOPHOX распределение наночастиц серебра с глицином в зависимости от их размера. На рис.2 для того же образца приведена корреляционная функция, отражающая вероятность, что интенсивность рассеянного света, которая соответствует определенной конфигурации множества измеряемых частиц, достоверно измерена за корреляционное время [4]. По представленной корреляционной функции можно судить о стабильности суспензии серебра с глицином.

Распределение по объему в зависимости от размера частиц суспензии "Протаргол" представлено на рис.3, а корреляционная функция для этого образца – на рис.4. Анализ полученной

peaks, which are generated by single interactions of scattered photons with the particles in the sample (Fig.4). The specific geometric position of the beams is required to obtain the desired result [5].

In the framework of the present study the comparative analysis of particle sizes in suspensions of silver with glycine and Protargol using Zetasizer Nano ZS and NANOPHOX was carried out. Both devices operate both in automatic and in manual mode. Sample preparation is not required, as the studied samples are liquid. Fig.1 presents distribution of silver nanoparticles in glycine depending on their

size obtained using NANOPHOX device. Fig.2 shows cross-correlation function for the same sample, which reflects the probability that the intensity of scattered light corresponding to a particular configuration of a measured particles, is reliable measured during the correlation time [4]. Presented correlation function allows to estimate the stability of a suspension of silver with glycine.

The distribution in volume depending on the particle size of Protargol is presented in Fig.3, and Fig.4 shows the correlation function for this sample. The analysis of the correlation function indicates the

absence of aggregation or sedimentation in the Protargol.

Graphical interpretation of the results obtained using the Zetasizer device for silver particles with glycine, is represented in Fig.5. The results of determination of particle size in the samples are given in table.3.

The obtained data allow to conclude about the adequate convergence of results. Herewith the NANOPHOX device is characterized by a more user friendly software and interpretation of results with better speed of measurement. The studied samples have a size of particles above the nano-level in its classical sense. ■

Таблица 3. Размер частиц в исследуемых образцах

Table 3. Particle size in the samples

Исследуемый образец Investigated sample	Средний размер частиц, нм Average particle size, nm	
	Прибор NANOPHOX	Прибор Zetasizer
Частицы серебра с глицином Silver particles with glycine	309,9	321,7
Протаргол Protargol	514,5	502,8

корреляционной функции позволяет сделать вывод об отсутствии агрегации или седиментации в образце "Протаргола".

Графическая интерпретация результатов, полученных с использованием прибора Zetasizer на примере частиц серебра с глицином, представлена на рис.5. Результаты определения размера частиц в исследуемых образцах приведены в табл.3.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о достаточной сходимости результатов. При этом, прибор NANOPHOX отличается более удобным программным обеспечением и интерпретацией результатов, а также лучшей скоростью их получения. Исследуемые образцы имеют размеры частиц больше наноуровня в классическом его понимании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альмяшева О.В., Федоров Б.А., Смирнов А.В., Гусаров В.В. Размер, морфология и структура частиц нанопорошка диоксида циркония, полученного в гидротермальных условиях // Наносистемы: физика, химия, математика. 2010. Т. 1. № 1. С. 26–36.
2. Булавченко А.И., Поповецкий П.С. Определение гидродинамического радиуса мицелл АОТ с наночастицами серебра методом фотон корреляционной спектроскопии // Журнал физической химии. 2012. Т. 86. № 6. С. 1108–1112.
3. Гусев А.И., Ремпель А.А. Нанокристаллические материалы. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2001.
4. Крушенко Г.Г., Решетникова С.Н. Проблемы определения размеров наночастиц // Технологические процессы и материалы. Вестник СибГАУ. 2011. № 2. С. 67–170.
5. Марахова А.И., Станишевский Я.М., Жилкина В.Ю. Фармация будущего: нанолечения и методы их анализа // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 1. С. 72.
6. Пименова Н.В. Порошки вольфрама, полученные различными способами // Технология металлов. 2011. № 2. С. 25–27.
7. Спектроскопия оптического смешения и корреляция фотонов / Под ред. Г.Камминса и Э.Р.Пайка. – М.: Наука, 1978.
8. Dynamic Light Scattering – Applications of Photon Correlation Spectroscopy. R. Pecora ed. Plenum Press. N.Y. 1985.
9. Pecora R.(ed). Dynamic Light Scattering – Applications of Photon Correlation Spectroscopy. N.Y.: Plenum press, 1981.
10. Richtering W., Müller H. Comparison between viscosity and diffusion in monodisperse and bimodal colloidal suspensions. // Langmuir. 1995. V. 10. P. 3699–3704.
11. Schmitz K.S. An Introduction to Dynamic Light Scattering by Macromolecules. Academic Press. 1990.
12. D.D. et el. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. International Journal of Pharmaceutics. 258 (2003). P. 141–151.
13. Willemse A. Optical measuring techniques for particulate systems at the fringe of concentration. Ph. D. Thesis. TU Delft. 1998.

Рис.5. Распределение размера частиц серебра с глицином, полученное с использованием прибора Zetasizer

Fig.5. Distribution of particle size of silver with glycine obtained using the Zetasizer device