

Интегральная оценка эффектов агрегации наночастиц в растворах по автокорреляционным функциям интенсивности рассеянного излучения

А. Д. Левин¹, М. К. Аленичев¹, Е. Б. Дрожженникова¹, Е. С. Кострикина²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений, Москва, Россия, e-mail: levin-ad@vniiofi.ru
²ООО «Хема», Москва, Россия, e-mail: kostrikina@xema.ru

Предложен метод исследования процессов агрегации наночастиц в коллоидных растворах, основанный на оценке изменений коэффициентов ротационной диффузии наночастиц. Показано, что ротационная диффузия более чувствительна к изменениям размеров частиц, чем трансляционная. Проведена сравнительная оценка этих изменений и вычислен относительный индекс агрегации по интегральным значениям автокорреляционных функций деполаризованного динамического рассеяния света. Сопоставлены результаты численного моделирования предложенного метода и его экспериментальной апробации.

Ключевые слова: агрегация наночастиц, динамическое рассеяние света, ротационная диффузия, автокорреляционные функции, оптические наносенсоры.

Изучение агрегации наночастиц в коллоидных растворах представляет значительный интерес как для оптимизации синтеза и хранения таких частиц, так и для их применения в различных нанотехнологических приложениях. Эффекты агрегации наночастиц используются, например, в наносенсорных системах, предназначенных для обнаружения в растворах различных аналитов, таких как маркеры заболеваний, загрязнители пищевых продуктов или окружающей среды [1]. В наносенсорных системах в качестве зондов применяют конъюгаты на основе наночастиц, функционализированных молекулами-рецепторами. Число исходных наночастиц, входящих в состав агрегата, может варьироваться. Для экспериментального отслеживания процессов агрегации необходимы измерения в реальном времени размерных параметров наночастиц. Одним из наиболее эффективных методов таких измерений является динамическое рассеяние света (ДРС) или фотонная корреляционная спектроскопия [2].

Фотонная корреляционная спектроскопия позволяет определять коэффициенты трансляционной D_{trans} и ротационной D_{rot} диффузий наночастиц в растворах по флуктуациям интенсивности рассеянного ими когерентного линейно-поляризованного излучения. По найденным значениям коэффициентов D_{trans} , D_{rot} вычисляют размерные параметры наночастиц. Если частицы имеют сферическую форму, то для нахождения коэффициентов используют формулы Стокса–Эйнштейна [3]:

$$\left. \begin{aligned} D_{trans} &= k_B T / (6 \pi \eta R_h); \\ D_{rot} &= k_B T / (8 \pi \eta R_h^3), \end{aligned} \right\} \quad (1)$$

где k_B – постоянная Больцмана; T – абсолютная температура; η – динамическая вязкость; R_h – гидродинамический радиус частицы.

Для несферических частиц применимо понятие эквивалентного гидродинамического радиуса, который представляет

собой радиус сферической частицы, имеющей такие же значения коэффициентов диффузии, что и исследуемая частица. Агрегация частиц сопровождается увеличением их размеров и, как следует из формул (1), уменьшением коэффициентов диффузии. Причём более резкого уменьшения следует ожидать для коэффициентов ротационной диффузии, так как имеет место кубическая пропорциональность обратному радиусу частиц.

Чтобы по зависимости $I(t)$ интенсивности рассеянного излучения от времени восстановить значения коэффициентов диффузии, используют один из алгоритмов:

спектральный анализ зависимости $I(t)$, реализуемый с помощью преобразования Фурье;

вычисление и анализ автокорреляционных функций (АКФ) зависимости $I(t)$.

Метод, основанный на использовании АКФ, в настоящее время более проработан.

Оценка изменений коэффициентов ротационной диффузии по интегральным значениям АКФ деполаризованного рассеянного излучения. Для нахождения коэффициентов D_{rot} наночастиц можно применить метод частично-деполаризованного ДРС, предложенный ранее в [4]. Метод частично-деполаризованного ДРС предусматривает измерение составляющих интенсивности рассеянного излучения, направление поляризации которого составляет определённый угол φ с направлением падающего излучения.

Для АКФ 1-го порядка при произвольном значении угла φ справедливо соотношение

$$\begin{aligned} g^{(1)}(\varphi, \tau) &= A(\varphi) \exp \left[- \left(q^2 D_{trans} \right) \tau \right] + \\ &+ B(\varphi) \exp \left[- \left(q^2 D_{trans} + 6 D_{rot} \right) \tau \right], \end{aligned} \quad (2)$$

где $g^{(1)}$ – нормированная АКФ 1-го порядка; τ – время задержки, т. е. аргумент АКФ; q – модуль волнового вектора рассеянного излучения; $A(\varphi)$, $B(\varphi)$ – коэффициенты.

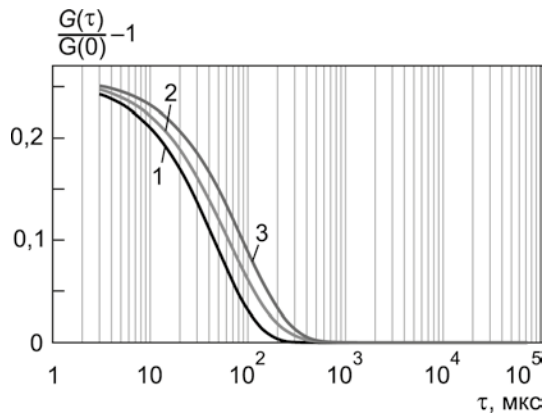


Рис. 1. Результаты расчётов АКФ растворов с различной долей α агрегатов:
1, 2, 3 – $\alpha=0; 0,4; 0,8$ соответственно

Величина $g^{(1)}$ непосредственно связана с измеряемой прибором АКФ интенсивности $G^{(2)}$ соотношением Сейгерта:

$$G^{(2)} = \alpha [1 + \beta |g^{(1)}(\tau)|^2],$$

где $\alpha = \lim_{\tau \rightarrow \infty} G^{(2)}(\tau)$ – базовая линия АКФ; β – инструментальный фактор, зависящий от оптической системы прибора – так называемый фактор когерентности АКФ.

Модуль волнового вектора q рассеянного излучения рассчитывают по формуле

$$q = 4\pi n \sin(\theta/2)/\lambda,$$

где n – показатель преломления жидкости; θ – угол рассеяния излучения; λ – длина волны лазера.

Из соотношения (2) следует, что в составе АКФ имеются две релаксационные моды – медленная, определяемая только трансляционной диффузией (см. первое слагаемое в правой части формулы (2)), и быстрая, определяемая ротационной диффузией (см. второе слагаемое в (2)). Соотношения между интенсивностями мод описывается коэффициентами $A(\varphi)$, $B(\varphi)$.

Теория частично-деполяризованного ДРС позволяет вывести следующие соотношения для этих коэффициентов:

$$A(\varphi) = A(0) / [1 + A(0)C \tan^2 \varphi]; \quad (3)$$

$$B(\varphi) = 1 - A(\varphi), \quad (4)$$

где $A(0)$ – значение коэффициента A при $\varphi=0$, зависящее от поляризуемости наночастиц; C – параметр, зависящий от поляризуемости и форм-фактора наночастиц.

Метод частично-деполяризованного ДРС является обобщением известного ранее метода деполяризованного ДРС, в котором задействованы только две поляризационные составляющие рассеянного излучения со значениями угла $\varphi=0^\circ$ (ко-поляризационная составляющая VV) и $\varphi=90^\circ$ (кросс-поляризационная составляющая VH) [5].

Для наличия кросс-поляризационной составляющей необходима оптическая анизотропия рассеивающих наночастиц. Поэтому в большинстве приложений метода деполяризованного ДРС объектами исследования были несферические частицы – наностержни и углеродные нанотрубки. Единственным известным авторам примером использования этого метода для сферических частиц является работа [6], в которой исследовалась ротационная диффузия золотых наносфер. В этом случае при изотропной форме частиц оптическая анизотропия возникала за счёт их поликристаллической структуры и её дефектов.

Во всех упомянутых случаях коэффициенты ротационной диффузии определяли для взвесей наночастиц с достаточно высокой монодисперсностью. При этом, как правило, решали обратную задачу для составляющей VH АКФ, т. е. с помощью одного из алгоритмов нелинейного метода наименьших квадратов вычисляли значение коэффициента D_{rot} , при котором обеспечивается наилучшее совпадение между экспериментальной АКФ и рассчитанной по формуле функцией.

Для полидисперсных систем, состоящих из нескольких фракций наночастиц, подобный подход не позволяет получать достоверную информацию о коэффициентах D_{rot} . Особенно это касается изменений указанных коэффициентов при физико-химических превращениях, происходящих с наночастицами. Агрегация наночастиц относится к одному из таких превращений. В настоящей работе авторы предлагают способ сравнительной оценки существующих различий размерных параметров полидисперсных наночастиц. Причём с помощью этого способа сравнение можно произвести при сопоставлении АКФ частиц, т. е. без решения обратной задачи.

Для нормированной составляющей $G_{VH}^{(2)}(\tau)$ функцию после вычитания базовой линии можно записать как

$$\frac{G_{VH}^{(2)}(\tau) - G_{VH}^{(2)}(0)}{G_{VH}^{(2)}(0)} \sim \beta \exp[-2(q^2 D_{trans} + 6D_{rot})\tau], \quad (5)$$

где $G_{VH}^{(2)}(\tau)$, $G_{VH}^{(2)}(0)$ – нормированные составляющие АКФ.

Гидродинамический радиус R_{ag} агрегатов, связанный с гидродинамическим радиусом R_h частицы, определяется из соотношения

$$R_{ag} = pR_h, \quad (6)$$

где p – коэффициент, зависящий от структуры агрегата, в том числе от числа частиц, входящих в его состав.

На ранних стадиях процесса агрегации, представляющих наибольший интерес для оптических наносенсоров, преобладает образование дублетов, иначе говоря, агрегатов, состоящих из двух частиц. Из работы [7] следует, что для дублетов, образованных двумя сферами и лишёнными возможности вращаться, коэффициент $p=1,38$.

Для коллоидных растворов, содержащих одиночные наночастицы и дублеты, справедливо соотношение

$$\frac{G^{(2)}(\tau) - G^{(2)}(0)}{G^{(2)}(0)} \sim \beta [(1-a) \exp(-\Gamma_1 \tau) + a \exp(-\Gamma_2 \tau)], \quad (7)$$

где a – доля дублетов в общем числе наночастиц; Γ_1 , Γ_2 – ско-

рости затухания флуктуаций для одиночных конъюгатов и дублетов, соответственно.

Из уравнений (1) и (3)–(7) можно записать выражения

$$\Gamma_1 = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} q^2 + \frac{3k_B T}{4\pi\eta R_h^3}; \quad (8)$$

$$\Gamma_2 = \frac{k_B T}{8,28\pi\eta R_h} q^2 + \frac{3k_B T}{10,51\pi\eta R_h^3}. \quad (9)$$

С помощью уравнений (7)–(9) авторы настоящей статьи рассчитали АКФ для разных значений α доли агрегатов в предположении, что доля димеров значительно превышает долю агрегатов других типов. Результаты вычислений представлены на рис. 1.

Из уравнения (8) и рис. 1 следует, что для времён задержки, сравнимых с $1/\Gamma_1$, $1/\Gamma_2$, параметр $(G_{VH}^{(2)}(\tau) - G_{VH}^{(2)}(0))/G_{VH}^{(2)}(0)$, т. е. кросс-поляризационная АКФ после вычитания базовой линии и нормировки возрастает с увеличением агрегации наночастиц и соответствующим уменьшением их коэффициентов D_{trans} , D_{rot} . В качестве критерия уменьшения коэффициентов диффузии авторы предлагают учитывать значения интеграла

$$I = \int_{\tau_1}^{\tau_2} \frac{G_{VH}^{(2)}(\tau) - G_{VH}^{(2)}(0)}{G_{VH}^{(2)}(0)} d\tau. \quad (10)$$

В зависимости от анализируемых наночастиц можно выбрать интервал $\tau_1 < \tau < \tau_2$ времён задержки, который определяет ротационную диффузию наночастиц заданных размера и формы. Относительную разность значений интеграла (10) для раствора после агрегации и исходного раствора представим как относительный индекс агрегации

$$\varepsilon(c) = I(c)/I(c=0) - 1, \quad (11)$$

где c – концентрация аналита.

Экспериментальная апробация метода. Апробацию предложенного метода авторы настоящей статьи провели на конъюгатах на основе золотых наночастиц, функционализированных двумя типами антител на онкомаркер СА-125. В качестве модельного аналита использовали мышинный иммуноглобулин (anti-mouse Ig). В ходе пробоподготовки 10 мкл буферного раствора на основе бычьего сывороточного альбумина смешали с 10 мкл раствора конъюгатов, функционализированных моноклональными антителами одного типа (Х52) и 10 мкл раствора конъюгатов, функционализированных антителами другого типа (Х306). Затем добавили 5 мкл раствора мышинного иммуноглобулина разных концентраций. Молекулы Ig имеют места узнавания на антитела каждого из типов – эпитопы. На следующем этапе полученную смесь инкубировали (выдерживали) при температуре 37 °С в течение 1 ч. Затем объём с помощью фосфатного буферного раствора довели до 2 мл и измерили АКФ деполяризованного рассеянного излучения. Измерения проводили на анализаторе размеров наночастиц АРН-2 (ВНИИОФИ,

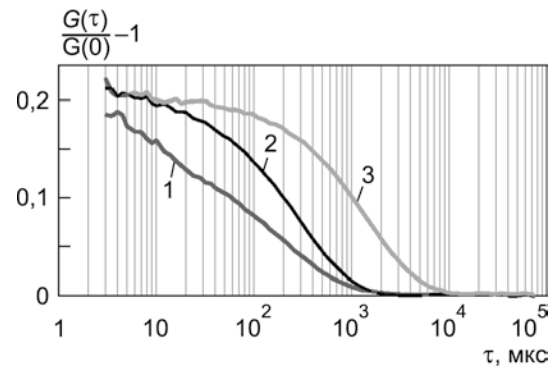


Рис. 2 Автокорреляционные функции рассеянного излучения конъюгатов золотых наночастиц при различных концентрациях аналита:

1–3 – $c=0$; 0,212; 1,060 мг/мл соответственно

Россия), описанном в работе [4], при угле рассеяния 90°. Оптическая схема данного прибора позволяет устанавливать значения углов φ между направлениями поляризации падающего и рассеянного излучений в интервале $0 \leq \varphi \leq 90^\circ$.

При $\varphi=90^\circ$ интенсивность рассеянного излучения (составляющая VH) слаба, поэтому было выбрано значение $\varphi=80^\circ$. При этом, как следует из формул (2)–(4), преобладающей является быстрая релаксационная мода, т. е. та, которая содержит информацию о коэффициенте ротационной диффузии. На рис. 2 приведены экспериментальные АКФ конъюгатов золотых наночастиц при разных концентрациях аналита.

Относительное расположение экспериментальных АКФ (см. рис. 2) качественно согласуется с полученным в результате расчётов и показанным на рис. 1. В таблице приведены значения относительного индекса агрегации ε конъюгатов, рассчитанные по экспериментальным АКФ с помощью формул (10), (11).

Относительные индексы агрегации конъюгатов

c , мкг/мл	ε
0	0
0,212	0,332±0,023
1,060	0,905±0,063

Закключение. Увеличение размеров наночастиц в растворах, происходящее в результате агрегации, приводит к замедлению их диффузии, причём ротационная диффузия более чувствительна к этим процессам, чем трансляционная. Уменьшение коэффициентов ротационной и трансляционной диффузий порождает возрастание интегральных значений нормированных АКФ интенсивности деполяризованного рассеянного излучения. Относительное увеличение указанных значений служит показателем возрастания агрегации наночастиц и может быть использовано в оптических наносенсорах, принцип действия которых основан на динамическом рассеянии света.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках прикладного научного исследования (уникальный идентификатор RFMEFI62417X0045). Соглашение о предоставлении субсидии от 26.09.2017 г. № 14.624.21.0045.

Литература

1. Мусихин С. Ф., Александрова О. А., Лучинин В. В., Максимов А. И., Маюшкин Л. Б., Мошников В. А. Сенсоры на основе металлических и полупроводниковых наночастиц для биомедицины и экологии // Биотехносфера. 2013. № 2. (26). С. 2–16.
2. Zheng T., Bott S., Huo Q. Techniques for accurate sizing of gold nanoparticles using dynamic light scattering with particular application to chemical and biological sensing based on aggregate formation // ACS Appl. Mater. Interfaces 2016. V. 8. No. 8. P. 21585–21594.
3. Philipse A. P. Notes on Brownian Motion. Holland: Utrecht University, Debye Institute, Van't Hoff Laboratory For Physical and Colloid Chemistry, 2011.

4. Левин А. Д., Лобач А. С., Шмыткова Е. А. Исследование геометрических параметров несферических наночастиц методом частично деполяризованного динамического рассеяния света // Российские нанотехнологии. 2015. Т. 10. № 5. С. 62–67.

5. Glidden M., Martin M. Characterizing gold nanorods in solution using depolarized dynamic light scattering // J. Phys. Chem. C. 2012. V. 116. P. 8128–8137.

6. Balog S., Rodriguez-Lorenzo L., Monnier C. A., Michen B., Obiols-Rabasa M., Casal-Dujat L., Rothen-Rutishauser B., Petri-Fink A., Schurtenberger P. Dynamic Depolarized Light Scattering of Small Round Plasmonic Nanoparticles: When Imperfection is Only Perfect // J. Phys. Chem. C. 2014. V. 118. P. 17968–17974.

7. Holthoff H., Egelhaaf S. U., Borkovec M., Schurtenberger P., Sticher H. Coagulation Rate Measurements of Colloidal Particles by Simultaneous Static and Dynamic Light Scattering // Langmuir. 1996. V. 12. P. 5541–5549.

Дата принятия: 29.10.2018.

Integral estimation of nanoparticles aggregation in solutions using intensity autocorrelation functions of the scattered light

A. D. Levin¹, M. K. Alenichev¹, E. B. Drozzennikova¹, E. S. Kostrikina²

¹All-Russian Research Institute for Optical and Physical Measurements, Moscow, Russia, e-mail: levin-ad@vniiofi.ru

²XEMA Company Limited, Moscow, Russia, e-mail: kostrikina@xema.ru

The method is proposed for studying the aggregation of nanoparticles in colloidal solutions, based on the estimation of the decrease of the rotational diffusion coefficients of nanoparticles, which are more sensitive to changes in particle size than their hydrodynamic radius, depending on translational diffusion. The possibility of a comparative evaluation of these changes and the calculation of the relative aggregation index from the integral values of the autocorrelation functions of depolarized dynamic light scattering is shown. The results of numerical simulation of the proposed method and its experimental approbation are compared.

Key words: nanoparticles aggregation, dynamic light scattering, rotational diffusion, autocorrelation functions, optical nanosensors.