Sinteza i kemijska modifikacija silikatnih i biorazgradivih nanočestica

Šafarik, Tatjana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:753575

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA KEMIJU
DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

TATJANA ŠAFARIK

SINTEZA I KEMIJSKA MODIFIKACIJA SILIKATNIH I BIORAZGRADIVIH NANOČESTICA

DIPLOMSKI RAD

MENTOR: doc.dr.sc. Aleksandar Sečenji

OSIJEK 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju, Diplomski studij kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija

SINTEZA I KEMIJSKA MODIFIKACIJA SILIKATNIH I BIORAZGRADIVIH NANOČESTICA

Tatjana Šafarik

Rad je izrađen na Odjelu za kemiju u Osijeku i Farmaceutskom fakultetu u Pečuhu

Mentor: doc.dr.sc. Aleksandar Sečenji

SAŽETAK RADA

Silikatne nanočestice su sintetizirane hidrolizom alkil silikata i postupnom kondenzacijom silikatne kiseline u alkoholnoj otopini uz amonijak kao katalizator. Promjena koncentracije amonijaka u rasponu od 0,05 moldm^{-3} do 0,70 moldm^{-3} uzrokuje promjenu veličine čestica od 13 nm do 87 nm. Funkcionalizacija silikatnih nanočestica je izvršena dodavanjem modifikatora nakon završene sinteze čestica. Matematičkim izračunima, podešavanjem pH vrijednosti i mjerenjem zeta potencijala postavljeni su uvjeti kontrolirane agregacije. Kontrolirana agregacija temelji se na elektrostatskim privlačnim silama između pozitivno i negativno nabijenih čestica koje tvore određeni uzorak agregiranja. Kitozanske nanočestice pripravljene su iz emulzije isparavanjem otapala, povećavanjem koncentracije polisorbata 20 u intervalu od $1 \cdot 10^{-4}$ moldm^{-3} do $5 \cdot 10^{-3}$ moldm^{-3} su dobivene kitozanske nanočestice veličine od 32,67 nm do 78,66 nm s 0,44% masenog udjela kitozana. Čestice su okarakterizirane dinamičkim raspršenjem svjetlosti (DLS) i transmisijskim elektronskim mikroskopom (TEM), mjerenja zeta potencijala izvršena su s elektroforetskim raspršenjem svjetlosti (ELS) te je kemijska modifikacija potvrđena infracrvenom spektroskopijom s Fourierovom transformacijom (FT-IR). Na kraju rada, opisan je i metodički dio na temu „Građa atoma“ za prvi razred gimnazijskog programa srednje škole.

Ključne riječi: kemijska modifikacija/kitozan/kontrolirana agregacija/ silikatne nanočestice/
Diplomski rad obuhvaća: 85 stranica, 41 slika, 12 tablica i 28 literaturna navoda
Jezik izvornika: hrvatski
Mentor: doc.dr.sc. Aleksandar Sečenji
Rad prihvaćen: 6.3.2018.
Stručno povjerenstvo: 1. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji
2. doc.dr.sc. Tomislav Balić
3. doc. dr. sc. Elvira Kovač-Andrić

Rad je pohranjen u knjižnici Odjela za kemiju, Ulica Franje Kuhača 20, 31000 Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Chemistry

Graduate Study of Chemistry
Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Chemistry

Synthesis and chemical modification of silica and biodegradable nanoparticles

Tatjana Šafarik

Thesis completed at Department of Chemistry Osijek and Faculty of Pharmacy Pecs

Supervisor: doc.dr.sc. Aleksandar Sečenji

Abstract

Silica nanoparticles are prepared with hydrolysis of alkyl silica followed by subsequent condensation silicic acid in alcohol with ammonia catalyst. Ammonia concentration ranging from 0,05 moldm^{-3} to 0,70 moldm^{-3}, causes a change in particles size from 13 nm to 87 nm. Silica nanoparticles are functionalized by post-modification. Mathematical calculation, adjusting pH and zeta potential measurement are necessary for controled aggregation. Electrostatic attractive forces between positive and negative particles are basis for controled agreggation with pattern. Emulgation solvent evaporation is method for preparation chitosan nanoparticles, changing concentration polysorbate 20 from $1 \cdot 10^{-4}$ moldm^{-3} to $5 \cdot 10^{-3}$ moldm^{-3}, resulted in particles size from 32,67 nm to 78,66 nm, with 0,44% chitosan. Particles are characterized with dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM), electrophoretic light scattering (ELS) is used to measure zeta potential, and chemical modification is confirmed with Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). Thesis contains a part with teaching method on subject “Atom structure” for first class of high school.

Thesis includes: 85 pages, 41 figures, 12 tables, 28 references
Original in: Croatian
Keywords: chemical modification/chitosan/controled aggregation/silica nanoparticles/
Thesis accepted: 6.3.2018.
Reviewers: 1. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji
2. doc.dr.sc. Tomislav Balić
3. doc. dr. sc. Elvira Kovač-Andrić

Thesis deposited in: Department of Chemistry library, Ul. Franje Kuhača 20, 31000 Osijek

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. LITERATURNI PREGLED 2
2.1.Općenito o nanotehnologiji 2
2.1.1. Tehnološki procesi sinteze nanočestica 3
2.2. Utjecaj nanotehnologije na medicinu 4
2.2.1. Nanotehnologija u procesu dostave lijekova u organizmu 5
2.3.Klasifikacija tehnika sinteze metalnih nanočestica 7
2.3.1. Sinteze u plinovitom stanju 8
2.3.2. Sinteze u tekućem stanju 8
2.3.3. Sinteze u čvrstom stanju 10
2.4.Silikatne nanočestice 10
2.4.1. Stöberova metoda sinteze 11
2.4.1.1.Mehanizam nastajanja čestica 11
2.4.1.2.Struktura Stöberovih čestica 13
2.5.Polimerne nanočestice 14
2.5.1. Kitozanske nanočestice 15
2.5.2. Metode sinteze polimernih nanočestica 16
2.5.2.1.Metode temeljene na polimerizaciji 16
2.5.2.2.Metode koje koriste unaprijed pripravljene polimere 16
2.6.Površinska modifikacija nanočestica 18
2.7.Metode karakterizacija nanočestica 19
2.7.1. Dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS) 19
2.7.2. Elektroforetsko raspršenje svjetlosti (ELS) 20
2.7.3. Infracrvena spektroskopija (IR) 22
2.7.3.1.Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR) 23
2.7.4. Transmisijski elektronski mikroskop (TEM) 25

3. EKSPERIMENTALNI DIO 28
3.1.Stöberova sinteza silikatnih nanočestica 28
3.2.Matematički izračun površinske potrebe molekule APTES-a 29
3.2.1. Kemijska modifikacija površine silikatnih nanočestica APTES-om 30
3.2.2. Kemijska modifikacija površine silikatnih nanočestica karboksilnim skupinama 31
3.3.Matematički izračun kontrolirane agregacije 32
3.3.1. Kontrolirana agregacija 33
3.4.Sinteza kitozanskih nanočestica 33
3.4.1. Deacetilacija kitozana 33
3.4.2. Metoda priprave kitozanskih nanočestica iz emulzije ispravanjem otapala 34
3.5.Instrumentalne metode i uređaji 36
4. REZULTATI I RASPRAVA 37
4.1.Sinteze i karakterizacija silikatnih nanočestica 37
4.1.1. Određivanje veličine DLS mjerenjem 37
4.1.2. Određivanje zeta potencijala ELS mjerenjem 44
4.1.3. TEM mjerenje veličine 45
4.2.Karakterizacija površine morfologije modificiranih silikatnih nanočestica 45
4.2.1. FTIR karakterizacija silikatnih nanočestica modificiranih APTES-om ... 45
4.2.2. TEM mjerenje veličine 47
4.2.3. Određivanje zeta potencijala modificiranih silikatnih nanočestica ELS mjerenjem 48
4.3.Priprava i karakterizacija kitozanskih nanočestica 53
4.3.2. Određivanje veličine DLS mjerenjem 53
4.3.3. TEM karakterizacija površine morfologije kitozanskih nanočestica 57
4.4.TEM karakterizacija površine i morfologije kontrolirane agregacije 61
5. METODIČKA OBRADA NASTAVNE CJELINE „GRAĐA ATOMA“ 64

5.1.Uvod u metodičku obradu 64
5.2.Priprema za nastavni sat 65
5.3.Primjer radnog listića 70
5.4.Rješenja radnog listića 72
6. ZAKLJUČAK 74

1. UVOD

Primarni cilj nanotehnologije je formiranje željenih struktura ili uzoraka materijala s novim svojstvima. Upravo zbog mogućnosti proizvodnje novih proizvoda s potpuno drugačijim svojstvima ili unapređenju postojećih, nanotehnologija pruža veliki potencijal u raznim poljima, od industrije, informacijskih i komunikacijskih znanosti pa sve do medicine i biologije. Konvergencijom nanotehnologije s medicinom postiže se bolje razumijevanje i tretman živih sustava, revolucionarni biotehnološki procesi, sinteze novih lijekova i njihovu ciljanu dostavu, regenerativnu medicinu te razvoj biokompatibilnih materijala. Jedan od takvih materijala je i kitozan, polisaharid izgrađen od glukozaminskih jedinica koji može stupiti u interakciju sa stanicama, tkivima, organima i ne izazivati imunološku reakciju. Silikatne nanočestice karakterizira relativno jednostavna sinteza, široka dostupnost, aktivne silanolne skupine na površini spremne za raznolike modifikacije.

Cilj ovog rada je sintetizirati silikatne nanočestice Stöberovom metodom, mijenjati početne parametre reakcije te karakterizirati površinu i morfologiju nastalih čestica. Čestice modificirati te na temelju elektrostatskih privlačenja pripraviti kontroliranu agregaciju točno određenog uzorka. Prirediti biorazgradive kitozanske nanočestice kao osnovu kontroliranom otpuštanju lijekova.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Općenito o nanotehnologiji

Nanotehnologija je dizajn, karakterizacija, proizvodnja i primjena struktura, uređaja i sustava kontroliranjem oblika i veličine na nanoskali [1]. Nanoskala pokriva raspon od jednog do sto nanometara. Na nanoskali fizikalna, kemijska i biološka svojstva materijala se značajno razlikuju od svojstava individualnih atoma, molekula ili osnovne tvari, odnosno na nanoskali vrijede kvatno mehanički i statističko mehanički efekti koji nemaju značajan utjecaj na makroskali [2].

Redukcijom veličine sustava na nanoveličinu direktno se utječe na strukturu energijske vrpce, indirektno uzrokujući promjene vezane uz atomsku strukturu, ovakvi efekti se generalno nazivaju *quantum confinement* koji mogu promijeniti ukupnu energiju samog sustava [3]. Mijenjajući strukturu energijske vrpce utječe se i na kemijsku reaktivnost jer je ona funkcija strukture i okupacije vanjskih elektronskih energijskih razina. Nadalje, može doći i do promjene fizikalnih svojstava (električna, magnetska, optička, termalna) koja ovise upravo o tom uređenju energijskih razina. Promjene u svojstvima nanostruktura uzrokovane redukcijom veličine su povezane s postotkom atoma koji su u kontaktu sa slobodnom površinom (u slučaju izoliranih nanočestica) ili unutarnjom međupovršinom (granice u nanokristalnim krutinama). Ukoliko se atomu koji se nalazi na površini smanjuje broj susjednih atoma to uzrokuje promjene u vezanju (vodeći k fenomenu površinske napetosti ili površinske energije) i promjene elektronske strukture [3].

Primarni cilj nanotehnologije je formiranje željenih struktura ili uzoraka materijala s novim svojstvima. Upravo zbog mogućnosti proizvodnje novih proizvoda s potpuno drugačijim svojstvima ili unapređenju postojećih, nanotehnologija pruža veliki potencijal u raznim poljima od industrije, informacijskih i komunikacijskih znanosti pa sve do medicine i biologije.

Kao otac i začetnik povijesti nanotehnologije smatra se američki nobelovac i fizičar Richard Feynman, koji u svom radu *There's Plenty of Room at the Bottom An Invitation to Enter a New Field of Physics*, poručuje znanstvenicima da manipulacijom materije na vrlo sitnoj,

atomskoj razini mogu doći do značajnih promjena u znanosti. Zasluge za uvođenje samog termina nanotehnologija preuzima Norio Taniguchi dok je Eric Dexler zaslužan za nanotehnologiju kakva postoji danas [3].

Znanstvenici nanotehnologiji pristupaju na tri različita načina: s područja fizike teži se minijaturizaciji uređaja, s područja kemije novim saznanjima o kompleksnim spojevima razvijaju se novi katalizatori, senzori, površinske tehnologije, te s područja biologije, kombinacijom živih sustava s nanostrukturiranim materijalima kreiraju se novi uređaji. Konvergencijom ova tri tradicionalna područja znanosti nastaje revolucija u načinu proizvodnje materijala. Nanomaterijal je materijal koji ima jednu ili više vanjskih dimenzija u nanoskali ili ima unutarnju ili površinsku strukturu u nanoskali. Stoga se nanomaterijali mogu podijeliti na nano-objekte i nanostrukturirane materijale. Nano-objekti kategorizirani su prema broju vanjskih dimenzija u nanoskali. Dijele se na nanočestice (tri vanjske dimenzije), nanovlakna (dvije vanjske dimenzije) i nanoploče (jedna vanjska dimenzija). Nanostrukturirani materijali posjeduju unutarnju ili površinsku strukturu nanoskale. Najrašireniji primjer nanostrukturiranih materijala su nanokompoziti sastavljeni od nano-objekta uronjenog u matriks [1].

Proizvodnja na nanoskali se može opisati na dva načina: *bottom-up i top-down*. *Top-down* proizvodnja započinje s osnovnim materijalom koji se potom usitnjava sve dok značajke koje ostanu nisu nanodimenzija. *Bottom-up* proizvodnja uključuje kreiranje objekta ili materijala iz individualnih atoma ili molekula koji se povezuju na specifičan način.

2.1.1. Tehnološki procesi sinteze nanočestica

Postoje tri pristupa sintezi nanočestica, *top-down* (pretvaranje u prah i disperzija), *bottom-up* (nukleacija i rast) i *bottom-to-bottom* mehanosinteza. *Top-down* pristup uključuje fragmentiranje početnog materijala mrvljenjem i mljevenjem. Glavne prednosti ovakvog pristupa su univerzalnost (primjenjivo je na bilo koji početni materijal) i niska cijena. Glavni nedostatci su polidisperznost finalnih čestica, unošenje defekata te nemogućnost postizanja praha nanoveličine. Smanjivanjem komprimiranog krhkog tijela povećava se njegova čvrstoća prijeloma sve dok ne nastane kritična veličina prijeloma pri kojoj je propagacija onemogućena. Veća monodisperznost čestica može se dobiti procesom elektroerozijske

disperzije s kojom se granulirani metal mrvi u fini prah električnim izbojima – pri nekoliko stotina volti u nekoliko mikrosekundi. Temperatura plazme filamenta izboja je nekoliko tisuća kelvina i dovoljna je da otopi bilo koji metal [4].

Bottom-up obuhvaća fazni prijelaz prvog reda iz atomsko disperzne faze u čvrstu kondenziranu fazu. Tijekom prve faze tranzicije, fluktuacije u metastabilnoj matičnoj fazi rezultiraju nastankom malih količina nove faze. Nepovoljnom procesu nastajanja međupovršine suprotstavlja se dobitak energije kroz redukciju superzasićenosti matične faze, vodeći do kritične veličine jezgre iznad koje brzo nastaje nova „bulk" faza. Prvo se atomi dispergiraju u mediju pri kojem je disperzija stabilna, potom se mijenjaju vanjski parametri kako bi nova „bulk" faza bila stabilna. Formacija „bulk" faze je prijelaz prvog reda koji uključuje nukleaciju [4].

Posljednjim pristupom *bottom-to-bottom* svaki atom materijala se stavlja u točno definirani položaj, te bih se njime mogli riješiti nedostatci prethodna dva načina sinteze poput polidisperznosti i postojanja defekata, no zbog malog iskorištenja trenutno nema komercijalnu važnost [4].

2.2. Utjecaj nanotehnologije na medicinu

Istraživanja biosustava na nanoskali tvore jednu od najdinamičnijih interdisciplinarnih istraživanja i primjene u domeni medicine. Odnosno konvergencijom nanotehnologije s medicinom postiže se bolje razumijevanje i tretman živih sustava, revolucionarni biotehnološki procesi, sinteze novih lijekova i njihovu ciljanu dostavu, regenerativna medicinu te razvoj biokompatibilnih materijala. Nanomedicina je primjena nanotehnologije u medicini i temelji se na tri uzajamno preklapajuće i progresivno još jače molekularne tehnologije:

1. Nanostrukturirani materijali i uređaji koji obećavaju uspjeh naprednim dijagnostičkim biosenzorima, ciljanu dostavu lijekova te pametne lijekove
2. Korist molekularne medicine kroz genetiku, proteomiku (proteomika se bavi proučavanjem proteina koji su nositelji svih bioloških funkcija i predstavljaju mete za lijekove) i umjetno proizvedene mikroorganizme

3. Molekularno-mehanički sustavi poput nanorobota koji bi omogućavali trenutnu dijagnozu s uništavanjem uzroka patologije, zamjenu kromosoma, individualnu operaciju stanica *in vivo*, te učinkovit napredak u prirodnom fiziološkom funkcioniranju [5].

2.2.1. Nanotehnologija u procesu dostave lijekova u organizmu

Nanomaterijali i uređaji nanoveličine koriste se od dijagnoze preko nadzora sve do tretmana bolesti, stoga nanotehnologija posjeduje veliki potencijal kao učinkovit sustav dostave lijekova. Dostava lijekova se može okarakterizirati kao sredstvo kojim se postiže da farmakološki aktivna tvar dolazi na relevantnu *in vivo* lokaciju dok se istovremeno minimizira toksičnost [1].

Nanomedicinski pristup dostavi lijekova u organizmu uključuje razvoj čestica ili molekula nanoveličine koje bi poboljšale biodostupnost lijeka, poboljšale topljivost, drugačije dozirale ili se koristile u svrhu boljeg istraživanja mehanizma djelovanja lijeka. Biodostupnost lijeka se odnosi na prisutnost lijeka na mjestu kojem je potreban te gdje će biti najkorisniji. Stoga se kontrolirana dostava lijekova fokusira na maksimiziranje biodostupnosti na specifičnim mjestima u tijelu te u određenom vremenskom periodu. To se postiže molekularnim ciljanjem pomoću nanouređaja [1]. Sustavi dostave lijekova, lipidi ili polimerne nanočestice se mogu pripremiti da poboljšaju farmaceutska i terapeutska svojstva lijeka. Snaga sustava dostave lijeka se odlikuje svojstvom da mijenja farmakološku kinetiku i biodistribuciju. Nanočestice imaju svojstvo da poboljšaju dostavu lijeka upravo zbog svoje veličine jer ih stanice uzimaju dok bi veće čestice bile izbačene iz tijela. Nanotehnologija se kreće prema promjeni načina na koji se spojevi formuliraju te produženju životnog vijeka postojećih spojeva.

Nanočestice kao nosioci lijekova

Nanočestice posjeduju niz prednosti kao nosioci za dostavu lijekova, a to uključuje: zaštitu lijeka od enzimatske degradacije, visoke koncentracije lijeka na ciljanom mjestu,

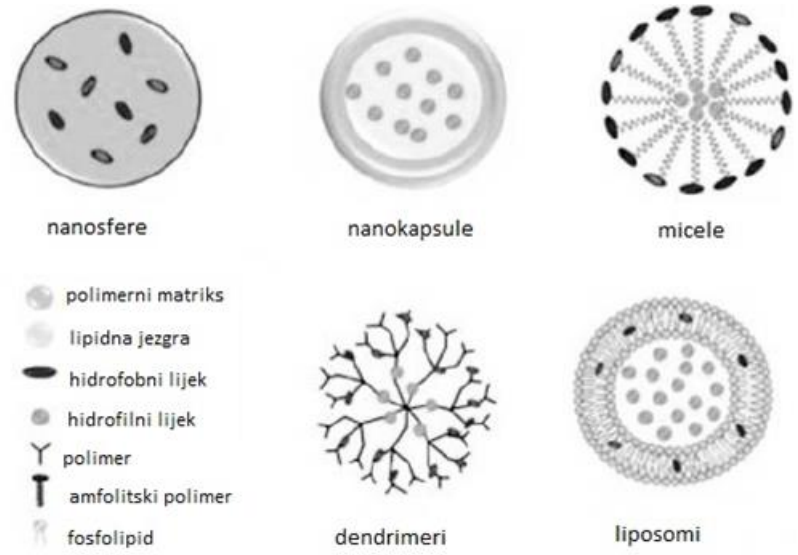
preferencijalno otpuštanje lijeka u ciljanom tkivu, kontrola kinetike otpuštanja lijeka, jednostavnost modifikacije čestica za nadzor ciljanih šupljina i površina [6].

Nanočestice koje se koriste u farmakološke svrhe se generalno mogu podijeliti u četiri kategorije :

1. Metalne nanočestice
2. Lipidne nanočestice
3. Polimerne nanočestice
4. Biološke nanočestice

Metalne nanočestice su općeniti naziv za nekoliko vrsta nanočestica koje uključuju: metalne okside i ne-oksidnu keramiku, metale, kalcijeve fosfate, zlato, silikatne i magnetske nanočestice. Lipidne nanočestice kombiniraju prednosti i izbjegavaju nedostatke koloidnog nosioca, stoga se smatraju alternativni sustav nosioca u odnosu na tradicionalni koloidni, a to su emulzije, liposomi i polimerne mikro i nanočestice. Polimerne nanočestice uključuju različite prirodne ili biokompatibilne sintetske polimere. One se mogu podijeliti na nanosfere (koje tvore kontinuirani polimerni matriks) i nanokapsule (koje se sastoje od polimernog sloja koji zatvara šupljinu ispunjenu fluidom). Ovakve nanočestice mogu biti kristalne ili amorfne, mogu adsorbirati i/ili zarobiti lijek. Povezivanjem bioloških molekula sa sintetskim polimerima može se poboljšati kontrola formiranja strukture na nanoskali koja se koristi za dostavu lijekova. Također se takvim vezanjem može reducirati toksičnost, spriječiti imunološku reakciju, poboljšati topljivost lijeka [1].

Nanosustav dostave lijeka sastoji se od jezgre odnosno emulzije čestica, pripremljene kemijskim metodama da služe kao nosilac. Funkcionalne skupine se dodaju jezgri, takve skupine mogu biti terapeutske molekule ili ligandi za ciljanje specifične lokacije. Uspješan sustav dostave lijeka mora imati optimalna svojstva doziranja i otpuštanja lijeka, dugo vrijeme sistemske cirkulacije i nisku toksičnost [1]. Široki spektar nanoformulacija se koristi u svrhu dostave lijekova uključujući liposome, dendrimere, mikroemulzije, micele, krute lipide, polimerne nanočestice, topive polimere povezane biorazgradivim vezama [6]. Na slici 1. se nalazi shematski prikaz nekoliko glavnih vrsta nanočestičnih formulacija koje se koriste u sustavu dostave lijekova.



Slika 1. Shematski prikaz nekoliko glavnih vrsta nanočestičnih formulacija koje se koriste u sustavu dostave lijekova [1]

2.3. Klasifikacija tehnika sinteze metalnih nanočestica

Tehnike kojima se sintetiziraju nanočestice su plamena piroliza, visoko temperaturna evaporacija, sinteza plazmom; sinteza fizikalne i kemijske depozicije pare; koloidne metode u kojima kemijskom reakcijom u otapalu dolazi do formacije koloida; molekularno samouređenje; i mehanički procesi smanjenja veličine poput mljevenja, mrvljenja i topljenja. Molekularno samouređenje je spontani proces kojim nastaju nanočestice od molekule. Osobito učinkovita metoda za proizvodnju polimernih nanočestica je od amfolitskih blok kopolimernih molekula. Veličina i oblik nanočestice se mogu kontrolirati izborom blok kopolimera, te izborom otapala i uvjeta [7].

Sve ove tehnike se mogu smjestiti u jednu od tri kategorije: metode sinteze u plinovitom stanju, metode sinteze u tekućem stanju i sinteze u čvrstom stanju.

2.3.1. Sinteze u plinovitom stanju

Sinteze plinovitog stanja se temelje na homogenoj nukleaciji superzasićene pare i postupnog rasta čestice kondenzacijom, koagulacijom i hvatanjem. Superzasićena para se može generirati na različite načine ovisno o kemijskoj prirodi materijala, najčešći način je grijanjem krutine i evaporacijom u struju plinske faze. Superzasićenost se postiže hlađenjem ili kemijskom reakcijom ili kombinacijom oba. Superzasićena para tvori jezgre homogeno u plinskoj fazi i heterogeno u kontaktu s površinama. Rast jezgre sudaranjem i kondenzacijom proizvodi distribuciju čestica različitih veličina i morfologija. Ovisno o procesima grijanja i hlađenja koji se koriste postoje različite metode poput plamene pirolize, grijane peći toka, laserom inducirana evaporacija i piroliza, termalne i mikrovalne plazme, laserske ablacije i prskanje [7].

Metode depozicije pare se temelje na formiranju pare pirolizom, potom redukcijom, oksidacijom i depoziciji pare na površinu. Kada postoji jezgra na površini, daljnji rast se može kontrolirati na različite načine.

2.3.2. Sinteze u tekućem stanju

Koloidalne metode se baziraju na precipitacijskim procesima u otopini. Sinteze u tekućoj fazi mogu se klasificirati na pet kategorija: sol-gel sinteza, metoda precipitacije, voda-ulje mikroemulzijska (obrnute micele) metoda, poliol metoda i hidrotermalna sinteza [8].

Sol-gel tehnika

Soli su stabilne disperzije čvrstih koloidnih čestica u tekućini. Disperzija je stabilna ukoliko se čvrste čestice ne talože ili anglomeriraju značajnom brzinom [9]. Ukoliko je tekućina voda, tada se disperzija naziva akvasol ili hidrosol, ukoliko je tekućina organsko otapalo onda je to organosol. Veličina čestice koloidnog stanja je dovoljno mala (manja od jednog mikrometra) da na nju ne utječu gravitacijske sile, no dovoljno velika (veća od jednog nanometra) da pokazuje odstupanja od prave otopine. U ovom rasponu veličina čestica

dominantne su sile kratkog dometa, poput van der Waalsovih privlačenja i površinskih sila [9]. Gelovi su kontinuirana mreža čestica s porama ispunjenim tekućinom ili polimerom koji sadrži tekućinu. U sol-gel procesu nastaje sol u tekućini, potom povezivanjem čestica sola (ili podjedinica spremnih za formiranje porozne mreže) nastaje mreža. Evaporacijom tekućine može nastati prah, film ili monolitska krutina [10].

U sol-gel metodi proizvodnje, reaktivni prekursor (primjerice metalni alkoksid) se hidrolizira, potom se hidrolizirana vrsta kondenzira tvoreći precipitat nanočestica metalnog oksida. Hidroliza metalnog alkoksida uključuje nukleofilnu reakciju s vodom, zatim slijedi kondenzacijska reakcija uslijed koje hidrolizirane vrste reagiraju međusobno uz izdvajanje molekula vode ili hidrolizirana vrsta reagira s nehidroliziranom vrstom uz izdvajanje molekula alkohola. Brzina hidrolize i kondenzacijske reakciju su važni parametri koji utječu na konačni produkt [8]. Precipitat se ispire i suši potom kalcinira na povišenim temperaturama tvoreći kristalne nanočestice metalnog oksida.

Metoda precipitacije

Anorganska metalna sol (poput klorida, nitrata, acetata ili oksiklorida) otapa se u vodi, metalni kationi u vodi postoje u formi metalnih hidrata. Metalni hidrati se hidroliziraju uz prisutnost otopine baze, potom se hidrolizirane vrste kondenziraju formirajući metalni hidroksid ili precipitat metalnog oksida uz povećanu koncentraciju hidroksidnih iona u otopini. Precipitat se ispire, filtrira i suši, suhi prah se kalcinira kako bi se zadržala kristalna faza metalnog oksida. Glavna prednost ovog procesa je ekonomičnost i univerzalnost, dok je glavni nedostatak nedovoljno precizna kontrola veličine čestica [8].

Voda u ulju mikroemulzijska metoda

Jednolične i veličinom kontrolirane nanočestice metala, poluvodiča i metalnih oksida mogu se pripremiti ovom metodom. Kapi vode nanoveličine se stabiliziraju tenzidom te se dispergiraju u uljnoj fazi. Kapi vode djeluju kao mikroreaktori, gdje se događa formacija čestica te pomažu kontroli veličine. Jedinstvena odlika ove metode je da čestice koje nastaju su većinom nanoveličine te monodisperzne, razlog tome je što molekule tenzida stabiliziraju kapi vode te se također adsorbiraju na površinu nanočestice kada se veličina čestice približi

veličini kapljice vode. Sinteza nanočestice unutar reverzne micele je postignuta jednom od dvije različite kemijske reakcije: hidrolizom metalnog alkoksida ili precipitacijom metalne soli bazom i redukcijom metalne soli s reducirajućim agensom. Čestice se potom filtriraju ili centrifugiraju te ispiru od ostataka ulja ili tenzida. Potom se prah kalcinira da nastane finalni produkt [8].

2.3.3. Sinteze u čvrstom stanju

Sve prijašnje navedene metode započinju sintezu na molekularnoj razini tvoreći nanočestice, u suprotnom smjeru mehaničkom redukcijom poput mljevenja i drobljenja se također mogu generirati nanočestice [7]. Sinteza u čvrstom stanju uključuje korak grijanja sustava potom mehaničko usitnjavanje. Nedostatci metode su nemogućnost kontrole nečistoća, distribucije veličina te površinskih karakteristika. Međutim ova tehnika se najčešće koristi za proizvodnju metalnih nanokristalnih mikroprahova [8].

2.4. Silikatne nanočestice

Relativno jednostavna sinteza i široka dostupnost silikatnih spojeva omogućuje široku primjenu silikatnih nanočestica. Silikatne nanočestice imaju aktivne silanolne skupine, čime je omogućena vrlo jednostavna površinska modifikacija. Koriste se rutinski u različitim poljima poput medicine, biologije, industrije, razvoju novih materijala. Povećava se važnost uporabe silikata u nanomedicini, nano-biotehnologiji, dostavi lijekova, straničnom nadzoru i drugo. Silikatne nanočestice prirodnih izvora sadrže veliku količinu metalnih nečistoća stoga nisu prikladne za industrijske aplikacije. Minerali silicija kristobalit, kvarc i tridimit su kristalne strukture. Sintetski silikati poput koloidnog silikata, pirogenog silikata, silika gela većinom posjeduju amorfnu strukturu [9]. Sol-gel sinteza je proces koji se najčešće koristi za sintezu silikatnih nanočestica jer omogućuje kontrolu veličine, te morfologije reguliranjem reakcijskih parametara.

2.4.1. Stöberova metoda sinteze

Stöber, Fink i Bohn 1968. su razvili sol-gel metodu sinteze sfernih, monodisperznih silikatnih mikro i nanočestica. Hidrolizom alkil silikata i postupnom kondenzacijom silikatne kiseline u alkoholnoj otopini uz amonijak kao katalizator. Veličina pripremljenih čestica ovisi o tipu alkil silikata, omjeru sastojaka i o vrsti alkohola koji se koristi kao otapalo. Najveća prednost Stöberove metode je mogućnost pripremanja sfernih silikatnih čestica s uskom raspodjelom veličine pri blagim uvjetima. S obzirom da čestice koje nastaju ovom metodom su u suspenziji, često se mogu koristiti različite tehnike poput superkritičnog sušenja, termalnog sušenja te hladnog sušenja za proizvodnju praha [9].

Tri kemijske reakcije se generalno koriste pri opisivanju ove metode: hidroliza, alkoholna i vodena kondenzacija. Hidrolitičkom reakcijom zamjenjuje se alkoksidna skupina s hidroksidnom. Potom slijedi kondenzacijska reakcija kojom nastaju siloksanske veze (Si-O-Si) uz izdvajanje vode (vodena kondenzacija) ili alkohola (alkoholna kondenzacija). Najčešće se kao prekursor koristi tetraetoksisilan (TEOS) ili tetrametoksisilan (TMOS).

Struktura nanosilikatnih čestica se proteže u trodimenzionalnu mrežu. Silanolne i siloksanske skupine na površini tvore hidrofilnu prirodu čestice. Površina čestice završava s tri različite vrste silanola: slobodni ili izolirani silanoli, vicinalni silanoli ili vezani vodikom i geminalni silanoli. Silanolne skupine susjednih čestica tvore vodikove veze i vode formiranju agregata [9].

2.4.1.1. Mehanizam nastajanja čestica

Postoje dvije vrste mehanizma koji objašnjavaju nastanak Stöberovih čestica. Prvi je „LaMer“ odnosno mehanizam rasta adicijom monomera. Opisuje nukleaciju koja prekorači granicu superzasićenosti i rast kondenzacijom monomera silikatne kiseline na postojećoj čestici (jezgri). Mehanizam se bazira na brzini hidrolize i kondenzacije te topivosti silikatne kiseline [11].

Hidroliza silikatnog prekursora je limitirajući korak koji određuje brzinu ukupne reakcije. Pojavljivanje vremena indukcije favorizira LaMer reakcijski mehanizam s obzirom da je potrebno određeno vrijeme za hidrolizu prekursora da prekorači ravnotežnu koncentraciju ili kritičnu koncentraciju nukleacije silikatne kiseline u otopini, što je onda popraćeno precipitacijom silikata [11].

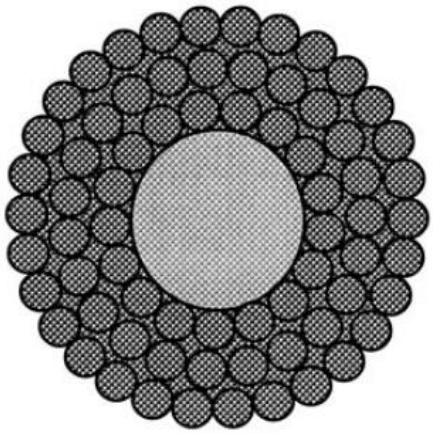
Drugi mehanizam kontrolirane agregacije popraćen je nukleacijom i rastom čestica. Koloidalna stabilnost, veličina jezgre, površinski naboj, difuzija i agregacija su važni parametri ovog modela [11]. Model pretpostavlja da se jezgre formiraju kontinuirano tijekom hidrolize i kondenzacije prekursora, te jezgre su koloidalno nestabilne te će koagulirati tvoreći veće jedinice. Iznad kritične veličine agregata su stabilne. Daljnji rast je popraćen adicijom primarnih jezgri na postojeću površinu aglomerata. Broj i veličine tih jedinica će biti određene ne samo reakcijskom kinetikom već i ionskom jakošću, temperaturom, nabojima površine, pH i svojstvima otapala [11]. Vrijeme indukcije odgovara formaciji nanometarskih podjedinica. Kondenzacijska reakcija može se odvijati paralelno s hidrolitičkom reakcijom od samog početka i dalje će biti potrebno određeno vrijeme (vrijeme indukcije) da nastanu primarne podjedinice koje mogu anglomerirati tvoreći novu jezgru ili vezati se na površinu postojeće čestice.

Stöberove čestice se mogu prvotno formirati agregacijskim mehanizmom iz nanometarskih podjedinica te u kasnijoj točki reakcije mehanizam se može promijeniti u adiciju monomera. Analiza reakcijske kinetike pokazala je da su međuprodukti Stöberove metode monomeri i dimeri silikatne kiseline [11]. Stoga nanometarske podjedinice nastaju tijekom prvog reakcijskog stadija što je popraćeno kontroliranom agregacijom na veće jedinice. Koloidalna stabilnost i vrijeme agregacije primarne jezgre određuje broj i veličinu čestica. Međutim mehanizam se mijenja u kasnijim stadijima reakcije stoga čestice rastu isključivo kondenzacijom monomera i dimera silikatnih jedinica na površinu čestice. Sporija reakcija favorizira mehanizam adicije monomera. Točka u kojoj se reakcijski mehanizam mijenja ovisi o ukupnim reakcijskim uvjetima [12].

2.4.1.2. Struktura Stöberovih čestica

Reakcijski mehanizam rasta čestice se promjeni tijekom faze hidrolize TEOS-a. S obzirom da je točka u kojoj se mehanizam promjeni određena ukupnim reakcijskim uvjetima, čestice mogu imati različite strukture ovisno o metodi proizvodnje.

Monodisperzne sferne čestice amorfnog silicijevog dioksida posjeduju kompliciranu fraktalnu intrinzičnu strukturu [13]. Velike sferne silikatne čestice posjeduju centralnu jezgru koja se sastoji od primarnih čestica okruženu s nekoliko slojeva sekundarnih čestica manjih od jezgre. Shematska struktura takve čestice je prikazana na slici 2.



Slika 2. Shematski prikaz čestice s centralnom jezgrom primarnih čestica te nekoliko slojeva sastavljenih od sekundarnih čestica [13]

Na temelju istraživanja strukture Stöberovih čestica, pretpostavlja se slijedeći mehanizam rasta. Uvođenjem TEOS-a u reakcijski medij te njegovom postupnom hidrolizom i kondenzacijskim reakcijama nastaju monomeri silikatne kiseline. Polimerizacija monomera nastaje kada koncentracija silikatne kiseline u otopini bude veća od 0,02-0,03% [14].

Prvo nastaju nisko molekularni polimeri, potom visokomolekularni koji se uslijed kondenzacije te formiranja dodatnih siloksanskih veza urušavaju, te tvore jezgre budućih čestica 1-2 nm. Potom slijedi porast u veličini jezgre uslijed vezanja monomera i polimera na površinu (LaMer mehanizam) sve do kritičnog promjera 5-7 nm (primarna čestica), a zatim počinju agregirati tvoreći rastuću SiO_2 česticu (kontrolirana agregacija) [14].

Proces nastanka primarne čestice se odvija neprekinuto sve dok koncentracija silikata u otopini premašuje vrijednost superzasićenosti za nukleaciju. Uslijed smanjenja

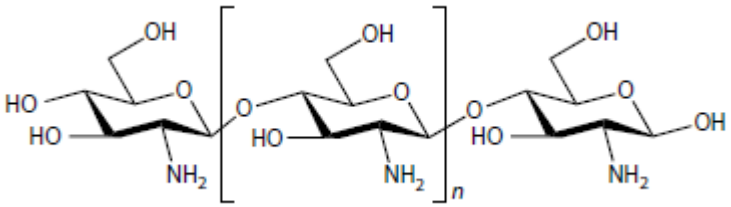
koncentracije TEOS i hidroliziranog produkta broj primarnih čestica formiranih po jedinici vremena se smanjuje, stoga se monomeri i dimeri pridružuju rastućoj čestici. Ciklus rasta završava formiranjem gustog silikatnog sloja na površini rastuće čestice što osigurava glatku površinu. Ukoliko se u reakcijski mehanizam dodaju nove količine TEOS-a čestice nastavljaju rasti navedenim mehanizmom. Čestica raste do kritičnog promjera od 350-370 nm, tada se generira dvostruki električni sloj s dovoljno potencijala da spriječi prodiranje primarnih čestica, stoga je primarnim česticama termodinamički povoljnije da se agregiraju u novo formirane (sekundarne) čestice. Sekundarna čestica pri 30-40 nm može savladati energijsku barijeru te se pridružuje rastućoj čestici. Tada nastaje ljuska čija je gustoća manja od gustoće jezgre jer posjeduje dodatni sustav pora. Ostatci hidrolize TEOS-a i neagregirane primarne čestice dovršavaju formaciju, dajući glatku površinu te regularnu sfernu formu [14].

2.5. Polimerne nanočestice

Polimerne nanočestice su čvrste formulacije čija veličina varira od 10 do 1000 nanometara te mogu biti sintetizirane iz prirodnih ili sintetskih polimera [6]. Prirodni polimeri ili biopolimeri se dobivaju direktno iz prirodnih resursa poput zelenih biljaka, životinja, algi, bakterija ili gljiva. Sintetski polimeri se modificiraju ili sintetiziraju u laboratoriju različitim kemijskim procesima. Sintetski polimeri koji se najčešće koriste su: polikaprolakton (PCL), polilaktična kiselina (PLA), polilaktid-ko-glikolid (PLGA), poliglikolna kiselina (PGA), polietilenglikol (PEG), poliortoester (PES), polivinilalkohol (PVA). Prirodni polimeri koji se koriste su: albumin, želatin, kolagen, kitozan i alginat. Navedene nanočestice se koriste u dostavi lijekova jer posjeduju veliku prednost nad ostalim sustavima dostave, a to su stabilnost i strukturalna rigidnost. Inkorporiraju lijekove na način da ih se: adsorbira, otopi, zarobi, omota ili kovalentno veže na nanočesticu [15].

2.5.1. Kitozanske nanočestice

Hitin je netoksičan, biorazgradivi polimer visoke molekularne mase. Sastoji se od linearnih lanaca acetilglukozaminskih skupina. Kitozan je derivat hitina, dobiva se uklanjanjem dovoljnog broja acetilnih skupina (CH_3-CO). Tim procesom deacetilacije nastaju slobodne amino skupine (NH_2) koje daju kitozanu kationski karakter. Deacetilacijske metode mogu biti enzimatske, metode s mikrovalnim zračenjem te najčešće reakcija s jakom bazom pri visokoj temperaturi i tlaku. Ukoliko se više od 50% acetilnih skupina ukloni s hitina, rezultirajući polimer se naziva kitozan [16]. Udio acetilnih skupina koji je uklonjen naziva se stupanj deacetilacije (DDA) te može varirati od 50% - 100% ovisno o uvjetima reakcije. Obrnuto, polimeri hitina su karakterizirani sa stupnjem acetilacije (DA). Kitozan je linearni polisaharid izgrađen od slučajno distribuiranih β-(1–4) veza D-glukozamina i N-acetil-D-glukozamina. Struktura kitozana je prikazana na slici 3.



Slika 3. Struktura kitozana [15]

Kao što je prikazano na slici 3. kitozan posjeduje reaktivne amino te hidroksidne skupine koje predstavljaju bazu interakcije s ostalim polimerima i biološkim molekulama.

Kitozan posjeduje svojstva poput hidrofilnosti, biokompatibilnosti, biorazgradivosti, antibakterijsko svojstvo te nisku toksičnost. Zbog biokompatibilnosti posjeduje mogućnost razvijanja novih materijala koji bi mogli stupiti u interakciju sa stanicama, tkivima, organima i ne izazivati imunološku reakciju. Kitozan se koristi za dostavu lijekova, gena i cjepiva. Formulacijom kitozana s lijekom može se promijeniti farmakokinetički i biodistribucijski profil.

2.5.2. Metode sinteze polimernih nanočestica

Postoje brojne metode pripremanja polimernih nanočestica; te metode se mogu generalno klasificirati u dvije glavne kategorije prema tome zahtjeva li formulacija polimerizacijsku reakciju ili se dobiva direktno iz makromolekule ili polimera koji je unaprijed pripremljen.

2.5.2.1. Metode temeljene na polimerizaciji

Monomer i prikladni katalizator se otope u vodenom sustavu koji sadrži emulgirane lipofilne kapljice ili micele. Na sučelju vodene i nevodene faze ili na sloju tenzida micele; monomeri reagiraju tvoreći oligomere potom polimere. Koncentriraju se u nevodenoj fazi tvoreći krute čestice. Ta reakcija može nastati spontano ili se može pokrenuti fizikalnim sredstvom poput topline ili zračenja. Reakcija traje sve dok su monomeri dostupni ili prisutne reaktivne skupine polimerne čestice [17].

2.5.2.2. Metode koje koriste unaprijed pripravljene polimere

Otapa se polimer u organskom otapalu koje se miješa ili ne miješa s vodom, ili u superkitičnom fluidu. Otopina se emulgira te se otapalo evaporira ili se primjenjuje kontrolirana desolvatacija. Kako bi čestice bile nanometarske veličine nužno je smanjiti kapi emulzije na željenu veličinu. U tu svrhu se koriste homogenizatori visokog pritiska, mikrofluidički čipovi ili ultrazvuk [17].

Metoda priprave iz emulzije evaporacijom otapala

Metoda se odvija kroz dva koraka, prvi je emulgiranje polimerne otopine u vodenu fazu a zatim evaporacija polimernog otapala, dok se polimer precipitira kao nanočestica. Metoda se temelji na topivosti polimera u organskom otapalu. Vodena otopina u kojoj se emulgira

polimer sadrži tenzid ili emulgirajući agens kako bi nastala emulzija ulje u vodi (o/w). Kada nastane stabilna emulzija, organsko otapalo se evaporira kontinuiranim miješanjem ili redukcijom tlaka. Veličina nanočestica ovisi o vrsti stabilizatora, koncentraciji polimera te brzini homogenizacije. Modifikacija ove metode uključuje pripravu emulzije potom homogenizaciju pri visokom tlaku uz miješanje da se ukloni organsko otapalo [17]. Ukoliko se lijek doda u polimernu otopinu, tada nanosfere sadrže lijek koji je molekularno dispergiran u polimernoj mreži matriksa [18].

Metoda spontanog emulgiranja ili difuzije otapala

Metoda je razvijena iz metode evaporacije, u kojoj se kao uljna faza koristi otapalo koje se djelomično miješa s vodom s malim količinama organskog otapala koje se ne miješa s vodom [19]. Miješanjem organske faze s vodenom fazom u kojoj se nalazi polimer i stabilizator, dolazi do brze difuzije otapala. Prilikom difuzije otapala smanjuje se topljivost polimera pri čemu se nanočestice precipitiraju. Uslijed difuzije otapala između dviju faza nastaju međupovršinske turbulencije što u konačnici dovodi do formacije malih čestica.

Metoda isoljavanja

Metoda uključuje separaciju otapala koje se miješa s vodom iz vodene otopine kroz efekt isoljavanja. Polimer se otapa u otapalu koje se postupno emulgira u vodeni gel koji sadrži agens za isoljavanje i stabilizator. Koriste se različiti agensi za isoljavanje (elektroliti; magnezijev klorid i kalcijev klorid i neelektroliti poput saharoze). Dolazi do formacije o/w emulzije koja se razrjeđuje s dovoljnom količinom vode kako bi se pojačala difuzija otapala u vodenu fazu i inducirala formacija nanočestica [19].

Metoda obrnute micelizacije

Obrnute micele su w/o kapljice za razliku od konvencionalnih micela koje nastaju u formi o/w. W/o mikroemulzija nastaje korištenjem lipofilnog tenzida koji se otapa u prikladnom organskom otapalu. Vodena faza koja sadrži polimer i stabilizator se dodaje organskoj fazi

uz konstantno miješanje, pri čemu nastaju obrnute micele. Nanočestice se ekstrahiraju evaporacijom otapala [20].

2.6. Površinska modifikacija nanočestica

Strategija modifikacije ili funkcionalizacije nanočestica ovisi o strukturi površine i njenoj interakciji s ligandima.

Tretmanom površine se dodirna napetost na sučelju nanočestica približava nuli što omogućuje termodinamičku stabilnost disperzije. Na površinu se mogu adsorbirati tenzidi ili blok kopolimeri kako bi pružili između čestica elektrostatske i/ili odbojne sile koje pružaju kinetičku stabilnost disperzije. Površinskom modifikacijom čestica postaje funkcionalna na brojne načine, jedna od njih uključuje promjenu hidrofilnosti/hidrofobnosti, sposobnost da veže enzime, molekule, enzime, DNA [7]. Modifikacijom se dobiva reaktivna skupina na površini. Ona se može postići reakcijom s alkoksisilanima ili halosilanima. Alkoksisilani reagiraju s površinskim silanolnim skupinama tvoreći 1-3 Si-O-Si veze kondenzacijskom reakcijom. Najčešće korištene površinske modifikacije uključuju *grafting* tiolnih tenzida ili polimera, adsorpcija nabijenih tenzida, liganada ili bioloških molekula te brojne druge. Površinski modificirane čestice se mogu koristiti za pasivizaciju vrlo reaktivne nanočestice, stabilizaciju nanočestica kako ne bi došlo do agregacije, funkcionalizaciju nanočestica za različite aplikacije poput molekularnog prepoznavanja, ili promoviranje samouređenja nanočestica.

Samouređenje je spontana organizacija gradivnih jedinica u uređene strukture, na takav način se tvore i organiziraju materijali u funkcionalne konstrukte dizajnirane za specifične namjene. Pokretačke sile samouređenja su elektrostatske interakcije, površinska napetost, kapilarne sile, hidrofobne interakcije i specifično biološko prepoznavanje.

2.7. Metode karakterizacije nanočestica

2.7.1. Dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS)

Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti koristi se za određivanje veličine nanočestica u koloidalnoj suspenziji. Tehnika koja određuje hidrodinamičku veličinu čestice. Hidrodinamička veličina može biti definirana za česticu iregularnog oblika kao i za efektivnu veličinu čestice dispergirane u tekućini. Za sferne čestice hidrodinamička veličina je ista kao i stvarna veličina čestice [10]. Raspršenje svjetlosti je posljedica interakcije svjetlosti s električnim poljem čestice ili molekule. Upadna zraka fotona inducira oscilirajući dipol u elektronskom oblaku, uslijed promjene dipola, energija se otpušta u svim smjerovima te se ta energija naziva raspršeno zračenje. Za male čestice čiji je promjer manji za desetinu valne duljine svjetlosti, vrijedi Rayleigheva teorija. Rayleighevo raspršenje je izotropno, odnosno jednako u svim smjerovima [21].

Tehnika ovisi o intenzitetu fluktuacija vidljivog svjetla raspršenog na česticama dok se gibaju Brownovim gibanjem u tekućini. Brownovo gibanje je slučajno kretanje čestica uslijed sudara uzrokovanim molekulama otapala koje okružuju čestice. DLS mjeri brzinu Brownovog gibanja. Na brzinu Brownovog gibanja utječu: veličina čestice, viskoznost uzorka i temperatura. Što je manja čestica, brzina Brownovog gibanja postaje veća i obrnuto. Također viša temperatura ubrzava Brownovo gibanje. Prema Stokes-Einstein relaciji (1) brzina Brownovog gibanja je definirana translacijskim difuzijskim koeficijentom, te se pomoću relacije (1) može izračunati hidrodinamički promjer čestice [22]

$$d_H = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad , \tag{1}$$

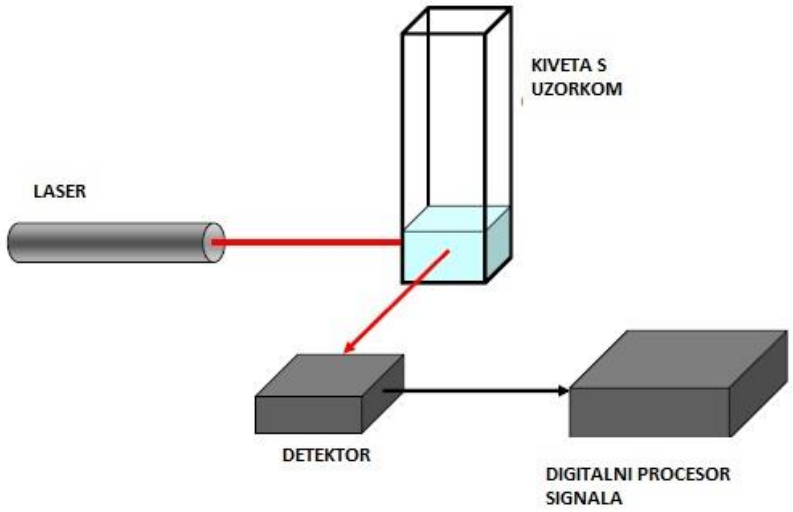
gdje je d_H hidrodinamički promjer, k Boltzmannova konstanta, T apsolutna temperatura, η koeficijent viskoznosti, a D difuzijski koeficijent.

Komponente DLS sustava su :

1. Izvor svjetlosti, najčešće laser (HeNe, u čvrstom stanju ili diodni laser)

2. Ćelija za uzorak, najčešće cilindrična kiveta s promjerom između 10-30 mm, te ako je moguće s termostatom
3. Detektor, fotomultiplikatorska cijev ili vrlo osjetljivi *avalanche photo diode* (APD), te uz njega povezana optika
4. Hardware komponente povezane na detektor, koje se koristi za obradu signala.

Standardni DLS sustav prikazan je na slici 4.

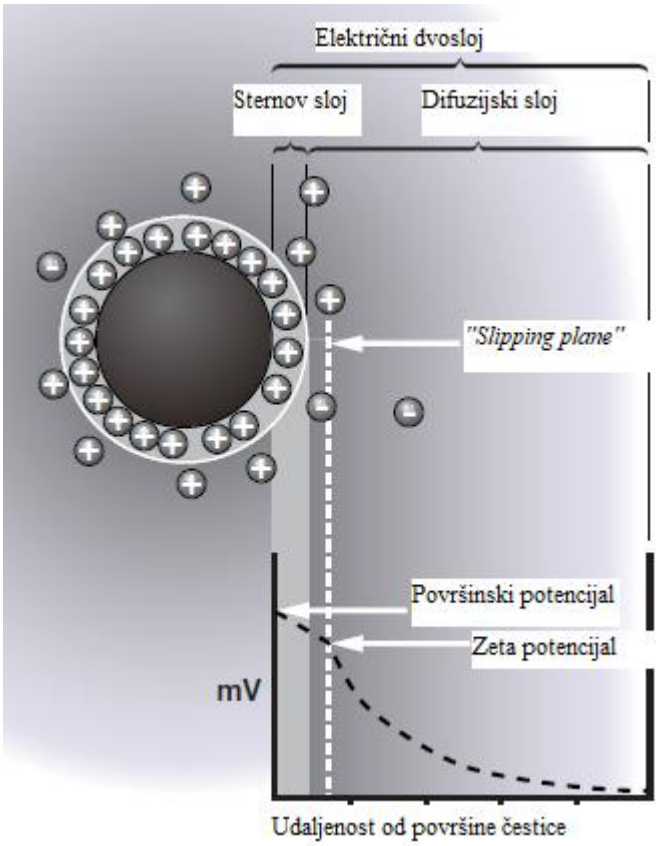


Slika 4. Komponentne DLS sustava[22]

2.7.2. Elektroforetsko raspršenje svjetlosti (ELS)

Elektroforetsko raspršenje svjetlosti je metoda mjerenja elektroforetske mobilnosti čestice u suspenziji ili molekule u otopini. Fundamentalni fizikalni princip ove metode je elektroforeza, odnosno gibanje nabijene čestice u tekućini u kojoj je suspendirana pod utjecajem primijenjenog električnog polja. Elektroda privlači suprotno nabijene čestice, dok se gibanju čestica suprotstavlja viskoznost. Kada se uspostavi ravnoteža te dvije sile, čestica se giba konstantnom brzinom odnosno brzina čestice u električnom polju je elektroforetska mobilnost. Na nju utječe zeta potencijal, viskoznost, dielektrična konstanta i jakost primijenjenog polja.

Razvoj naboja na površini čestice utječe na distribuciju iona u samoj okolini čestice, rezultirajući u nakupljanju suprotno nabijenih iona oko površine čestice. Tekući sloj oko čestice postoji u dva dijela; unutarnjoj regiji ili Sternovom sloju gdje su ioni čvrsto vezani i vanjskom difuzijskom sloju gdje ioni nisu tako čvrsto vezani. Stoga se oko nabijene čestice nalazi električni dvosloj. Unutar vanjskog sloja se nalazi zamišljena granica *slipping plane,* unutar koje ioni i čestica tvore stabilnu jedinku. Kada se čestica giba, gibaju se i ioni unutar te granice, a ioni izvan granice ne putuju s česticom. Potencijal koji se nalazi na toj granici je zeta potencijal. Shematski prikaz raspodjele iona oko čestice je prikazan slikom 5.



Slika 5. Raspodjela iona i potencijala u prostoru oko površine čestice [22]

Magnituda veličine zeta potencijala je indikator stabilnosti koloidnog sustava. Ako sve čestice u suspenziji imaju veliki pozitivan ili negativan zeta potencijal, onda će se odbijati i neće se agregirati. Ukoliko je taj potencijal mali, nema sile koja bi spriječila čestice da se zbliže i agregiraju. Općenita granica između stabilnih i nestabilnih suspenzija je +30 mV ili –30 mV [22]. Čestice s potencijalom izvan tih granica se smatraju stabilnim. Mjereći elektroforetsku mobilnost čestice može se izračunati zeta potencijal preko Henryjeve jednadžbe:

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(K_a)}{3\eta} \ , \qquad (2)$$

gdje je U_E elektroforetska mobilnost, ε dielektrična konstanta, ζ zeta potencijal, $f(K_a)$ Henryjeva funkcija, a η koeficijent viskoznosti.

ELS sustav se sastoji od istih komponenti kao i DLS prikazan slikom 4. Izvor svjetlosti je laser čija se zraka kod mjerenja zeta potencijala dijeli na upadnu i referentnu. Uzorak se unosi u ćeliju s elektrodama na oba kraja na koje se primjenjuje potencijal. Zraka prolazi kroz ćeliju s uzorkom. Čestice se uslijed primijenjenog električnog polja gibaju što će uzrokovati fluktuacije u intenzitetu detektirane svjetlosti.

2.7.3. Infracrvena spektroskopija (IR)

Infracrvena spektroskopija je najčešće korištena spektroskopska metoda. Metoda je brza, osjetljiva, jednostavna za korištenje te pruža različite tehnike za uzorkovanje plinova, tekućina te krutina. Odlike IR spektra (broj apsorpcijskih vrpca, njihovi intenziteti te njihov oblik) direktno su povezani s molekularnom strukturom spoja. IR spektar je jedinstveno fizikalno svojstvo individualnog spoja, odnosno molekularni otisak. Iako je IR spektar karakteristika cijele molekule, određene skupine atoma daju vrpce pri ili blizu istih frekvencija neovisno o ostatku strukture molekule. Osnovni princip rada ove metode temelji se na apsorpciji svjetlosti iz infracrvenog spektra što uzrokuje promjene u vibracijskim energijskim razinama. Apsorpcija IR energije je kvantizirana, no vibracijski spektri se javljaju kao vrpce a ne kao linije jer je promjena u vibracijskoj energiji popraćena nizom promjena rotacijske energije. Frekvencija ili valna duljina apsorpcije ovisi o relativnoj masi atoma, konstantama sile veza i geometriji atoma [24]. Srednje (osnovno) infracrveno područje (IR ili MIR) proteže se od 4000 cm^{-1} do 400 cm^{-1}. Okruženo je dalekim IR područjem (FIR) od 400 cm^{-1} do 10 cm^{-1} te vrlo važno blisko područje (NIR) od 12500 cm^{-1} do 4000 cm^{-1} [23].

S obzirom na smjer vibracijskog gibanja, razlikuju se vibracije istezanja (promjene duljine veze) i vibracije deformacije (promjene veznog kuta). Vibracije istezanja mogu biti simetrične i asimetrične dok vibracije deformacije mogu biti sjeckanje, ljuljanje, klanjanje, uvrtanje.

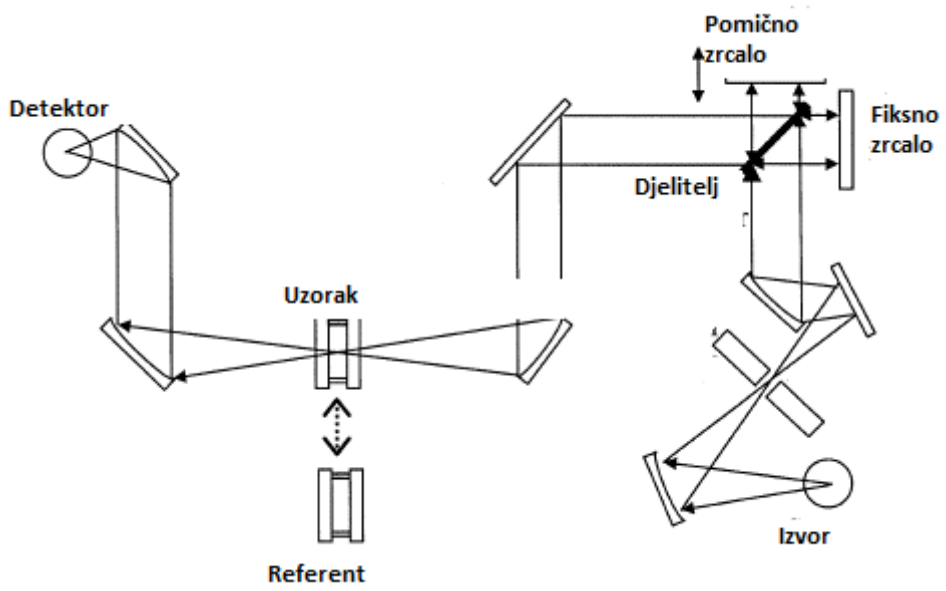
Samo one vibracije koje rezultiraju u ritmičkoj promjeni dipolnog momenta molekule mogu biti opažene u IR. Vibracije uzrokuju promjenu distribucije naboja pri čemu nastaje promjenjivo električno polje, spajaju se molekulske vibracije s oscilirajućim električnim poljem elektromagnetske radijacije.

2.7.3.1. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR)

Središnji uređaj FT-IR spektrometra je interferometar, uređaj koji s pomoću pruga interferencije mjeri valnu duljinu svjetlosti. Michelsonov interferometar se sastoji od djelitelja zrake i dva ravna zrcala. Jedno zrcalo je fiksirano na ruku interferometra a drugo je pomično te se nalazi u drugoj interferometarskoj ruci. Djelitelj treba imati refleksiju od 50% i ne apsorbirati unutar raspona uporabe [23].

Funkcionalnost Michelsonova interferometra se bazira na kolimiranoj IR zraci, koja se usmjerava na djelitelj koji razdvaja zraku u dva dijela jednakog intenziteta. Razdvojene zrake se reflektiraju pomičnim i fiksnim zrcalima ponovno na djelitelj gdje se rekombiniraju i interferiraju. Rekombinirana IR zraka prolazi kroz uzorak ili referent i dolazi do detektora. S obzirom da se ne koristi monokromator, cijelo zračenje prolazi kroz uzorak simultano što uzrokuje uštedu vremena (Felgetts prednost) [23].

Shematski dijagram FT-IR spektrometra je prikazan na slici 6.



Slika 6. Shematski prikaz FT-IR spektrometra s Michelsonovim interferometrom [23]

Matematička procedura koja se koristi da pretvori IR interferogram (intezitet o vremenu, naziva se vremenska domena) u IR spektar (intezitet o frekvenciji, naziva se još domena frekvencije) naziva se Fourierova transformacija. Interferogrami uzorka i referenta se transformiraju odvojeno, kasnije se omjer automatski računa i prikazuje kao instrument neovisni IR transmisijski spektar [23].

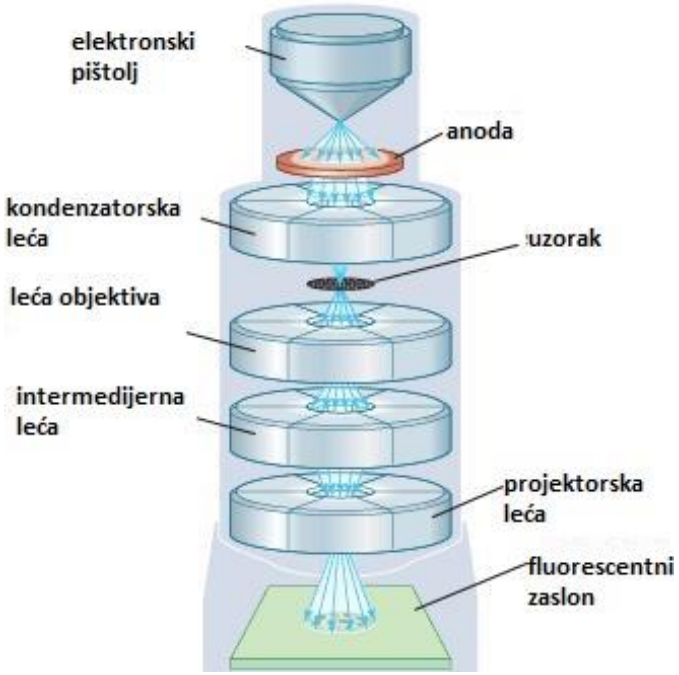
Dvije velike vrste detektora se koriste za MIR područje spektrometra, a to su deuterirani triglicin sulfat (DTGS) piroelektrični detektor i živa kadmijev telurid (MCT) fotodetektor. DTGS radi pri sobnoj temperaturi i pokazuje dobru linearnost cijele skale transmitancije, daje odziv signala frekvencija i do nekoliko tisuća hertza. MCT je mnogo osjetljiviji i brži od DTGS detektora. Radi na principu unutarnjeg foto efekta, svaka IR radijacija pobudi jedan vezani elektron materijala detektora u slobodno stanje pri čemu se poveća električna vodljivost [23].

Izvor zračenja FT-IR spektrometra su inertne krutine električno zagrijane na visoku temperaturu pri čemu dolazi do emitiranja IR zračenja. *Nernst glower* je cilindar napravljen od metalnih oksida, platinske žice su zataljene na krajevima cilindra kroz koji prolazi struja. *Globar source* je štapić silicijevog karbida koji se također električno zagrijava. Ukoliko je potrebno snimanje u FIR području tada se mogu koristiti i živine lampe pod visokim tlakom.

Nakon prolaska signala kroz detektor, signal dolazi u pojačalo u kojem se visoko frekventni signali eliminiraju preko filtra te odlazi u analogno-digitalni pretvornik koji analogni signal pretvara u digitalni kako bi podatci bili prikladnog oblika za obradu na računalu [23].

2.7.4. Transmisijski elektronski mikroskop (TEM)

Transmisijski elektronski mikroskop je idealan za istraživanje nanomaterijala jer se može postići uvećanje od 10^3 - 10^6. Slika se dobiva na temelju elektrona koji su transmitirani kroz uzorak. TEM se može podijeliti na tri područja: sustav osvjetljavanja, držač uzorka i sustav dobivanja slike [24]. Osnovne komponente TEM prikazane su slikom 7.



Slika 7. Osnovne komponente TEM-a [25]

Sustav osvjetljavanja se sastoji od elektronskog topa s dvije ili više kondenzatorskih leća koje fokusiraju elektrone na uzorak. Držač uzorka omogućuje stacionarnu poziciju tijekom snimanja te može biti umetnut i izvađen iz TEM-a. Mehanička stabilnost je važan faktor pri određivanju rezolucije slike. Sustav dobivanja slike sastoji se od najmanje tri leće koje daju uvećanu sliku (ili difrakcijski uzorak) na fluorescentnom zaslonu za trenutno gledanje ili za snimanje elektroničkim sustavom kamera.

Elektronski top

Elektronski top daje zraku elektrona čija je kinetička energija dovoljno visoka da im dopusti prolazak kroz tanki sloj TEM uzorka. Top se sastoji od elektronskog izvora odnosno katode (visoki negativni potencijal) te regije za ubrzavanje elektrona. Postoji nekoliko vrsta izvora elektrona [24].

Termionski elektronski top

Termionski elektronski top je volframov filament V-oblika zavaren u keramički ili stakleni džep. Struja grije filament do 2700 K, pri čemu dolazi do termionske emisije elektrona. Još jedna važna komponenta termionskog elektronskog topa je *Wehnelt* cilindar, metalna elektroda koja okružuje u potpunosti filament. Njena uloga je da kontrolira struju emisije elektronskog topa, u tu svrhu ima još negativniji potencijal nego katoda. Negativni potencijal sprječava elektrone u napuštanju katode osim ako nisu emitirani iz regije u blizini vrha, koji je smješten iznad rupe u *Wehnelt* elektrodi gdje je elektrostatski potencijal manje negativan. Povećavanjem magnitude negativnog prednapona reducira se područje emitiranja i emisijska struja [24].

Schottky emisija

Termionska emisija se može pojačati primjenom elektrostatskog polja na površinu katode. Polje smanjuje visinu barijere potencijala (koji zadržava elektrone unutar katode), takozvanim Schottky efektom. Schottky izvor se sastoji od zašiljenog kristala volframa zavarenog na kraj filamenta V-oblika. Vrh je pokriven cirkonijevim oksidom (ZrO), s obzirom da je vrh jako oštar elektroni se emitiraju iz vrlo malog područja što rezultira velikom gustoćom struje na površini [23].

Emisija u polju

Ukoliko se elektrostatsko polje na vrhu katode pojača dovoljno, širina barijere potencijala postaje dovoljno mala da omogući elektronima da pobjegnu kroz površinsku barijeru potencijala efektom kvantno-mehaničkog tuneliranja, a sam proces se naziva emisija u polju. Zamjenom *Wehnelt* cilindra ekstraktorskom elektrodom koja se održava na pozitivnom potencijalu u odnosu na vrh dobiva se jako električno polje. S obzirom da termalna pobuda nije potrebna, top radi pri sobnoj temperaturi, no ipak je potreban vakuum.

Nakon emisije s katode, elektroni se ubrzavaju pod utjecajem električnog polja paralelnog s optičkom osi. Polje se generira primjenom razlike potencijala katode i anode, okrugle metalne ploče koja sadrži centralnu rupu vertikalno ispod katode kroz koju zraka ubrzanih elektrona proizlazi. Kako bi nastalo ubrzanje elektrona, anoda mora biti dovoljno pozitivna u odnosu na katodu [24].

Držač uzorka

TEM uzorci imaju standardan kružan oblik promjera tri milimetra. Uzorak mora biti dovoljno tanak kako bi elektroni bili transmitirani a ne apsorbirani. Držač uzorka je mehanički uređaj dizajniran da drži uzorak stacionarnim, jer svaka vibracija ili pomak će biti uvećani na konačnoj slici, mijenjajući rezoluciju. Držač mora omogućavati uzorku da bude umetnuto bez prekidanja vakuuma TEM stupca. To se omogućuje umetanjem uzorka kroz zračnu bravu, malu komoru u koju se uzorak umeće i evakuira prije nego dođe do stupca [24].

TEM zaslon i sustav kamera

Leće za tvorbu TEM slike tvore uvećanu sliku ili elektron-difrakcijski uzorak na zaslonu ili sustavu kamera. Prostorna rezolucija slike ovisi o kvaliteti leća osobito leće objektiva. Uzorak je postavljen blizu centra leće objektiva gdje je magnetsko polje najveće. Nastaje jaki fokusirajući efekt upadnog osvjetljenja. Moderni TEM uređaju sadrže nekoliko leća između projektorske i leće objektiva. Jedna od njih se naziva intermedijerna te kombinira efekte ostalih. Svrha projektorske leće je da tvori sliku ili difrakcijski uzorak čiji je promjer nekoliko centimetara. Leća minimizira distorzije slike koju mogu uzrokovati elektroni kada dođu na zaslon [24].

Fluorescentni zaslon se koristi kako bi se elektronska slika pretvorila u vidljivu formu. Sastoji se od metalne ploče prekrivene tankim slojem pudera koji fluorescira prilikom bombardiranja elektrona. Najčešće se koristi cinkov sulfid (ZnS) s dodatkom metalnih nečistoća. Svjetlosno optička slika fluorescentnog zaslona se može snimati elektronskom kamerom. Kamera sadrži fotoosjetljivi matriks silikonskih dioda koje pružaju električni signal proporcionalan razini intenziteta [24].

3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Stöberova sinteza silikatnih nanočestica

Silikatne nanočestice su sintetizirane Stöberovom metodom. U tablici 1. su prikazane koncentracije i količine materijala koje su korištene za sintezu. Prema tablici 1. može se vidjeti da se u sustavu jedino mijenja koncentracija amonijeva hidroksida koja je proizvoljno određena, dok su koncentracije ostalih komponenti sustava stalne.

Tablica 1. Pripadne koncentracije (*c*) i volumeni (*V*) kemikalija korištenih pri sintezi nanočestica.

Ozn.	***c*(TEOS) (moldm^{-3})**	***V*(TEOS) (µL)**	***c*(NH_4OH) (moldm^{-3})**	***V*(NH_4OH) (µL)**	***V*(EtOH) (µL)**	***c*(H_2O) (mol dm^{-3})**	***V*(H_2O) (µL)**	***V*$_{ukupno}$ (µL)**
1	0,25	1108,14	0,70	1062,82	17830,43	2	0	20000
2	0,25	1108,14	0,50	752,71	17930,05	2	209,10	20000
3	0,25	1108,14	0,25	376,35	18050,96	2	464,55	20000
4	0,25	1108,14	0,12	188,18	18111,41	2	592,27	20000
5	0,25	1108,14	0,05	75,27	18147,68	2	668,91	20000

U niz od pet bočica za uzorke dodani su volumeni apsolutnog etanola navedeni u tablici 1., potom se u etanol dodaje voda. Konačni volumen svih pet uzoraka je zadržan na 20 mililitara. Postupno dodavanje komponenti u reakcijski sustav se odvija uz konstantno miješanje na magnetskoj miješalici uz temperaturu od 25 °C. Nakon razrjeđenja se dodaje tetraetoksisilan i na posljetku amonijev hidroksid. Uzorci se miješaju 24 sata na magnetskoj miješalici, nakon toga se skidaju s magnetske miješalice te se vrše daljnje analize.

U tablici 2. su prikazane koncentracije i količine materijala koje su korištene za sintezu nanočestica veličine 100, 200 i 300 nanometara. Mijenja se koncentracija prekursora, amonijaka i vode.

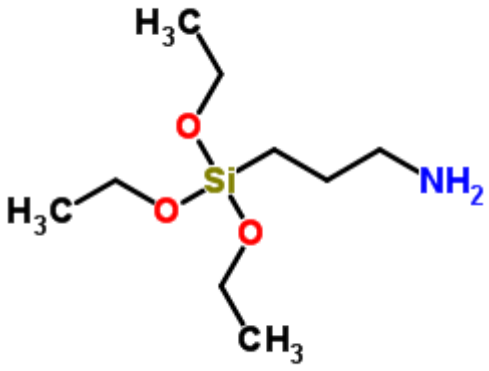
Tablica 2. Pripadne koncentracije (*c*) i volumeni (*V*) kemikalija korištenih pri sintezi nanočestica veličine 100, 200 i 300 nm

Veličina čestica (nm)	***c*(TEOS) (mol dm^{-3})**	***V*(TEOS) (µL)**	***c*(NH_4OH) (moldm^{-3})**	***V*(NH_4OH) (µL)**	***V*(EtOH) (µL)**	***c*(H_2O) (moldm^{-3})**	***V*(H_2O) (µL)**	V_{ukupno} **(µL)**
100	0,11945	529,49	0,11945	372,17	17658,34	6,65985	1440	20000
200	0,17715	785,25	0,17715	551,94	17222,81	6,94852	1440	20000
300	0,23485	1041,01	0,23485	731,70	16787,29	7,23719	1440	20000

U tri bočice za uzorke dodani su volumeni apsolutnog etanola navedeni u tablici 2., potom se u etanol dodaje voda. Konačni volumen svih pet uzoraka je zadržan na 20 mililitara. Postupno dodavanje komponenti u reakcijski sustav se odvija uz konstantno miješanje na magnetskoj miješalici uz temperaturu od 25 °C. Nakon razrjeđenja se dodaje tetraetoksisilan i na posljetku amonijev hidroksid. Uzorci se miješaju 24 sata na magnetskoj miješalici, nakon toga se skidaju s magnetske miješalice te se vrše daljnje analize. Već nakon pola sata miješanja dolazi do promjene boje reakcijske otopine iz potpuno bezbojne u opalnu.

3.2. Matematički izračun površinske potrebe molekule APTES-a

Matematički se može izraziti kolika je površinska potreba jedne APTES molekule, kada je taj podatak poznat tada se može točno izračunati kolika je količina alkoksisilana potrebna za modificiranje određenog postotka površine nanočestice.



Slika 8. Kemijska struktura 3 - aminopropiltrietoksisilana [26]

Na slici 8. se može vidjeti da je u središtu strukture APTES-a silicij koji je okružen s tri atoma kisika koji sudjeluju u kondenzacijskoj reakciji sa silanolnim skupinama površine. Silicij u ovoj strukturi je sp^3 hibridiziran, odnosno kut između silicija i kisika je tetraedarski i iznosi 109,5°. Duljina Si-O veze je 163 pm. Iz poznatih podataka i projekcijom unutarnjeg trokuta na bazu tetraedra može se izračunati prema jednadžbi:

$$r = \sin(180° - 109{,}5°) \cdot 163\ pm \tag{3}$$

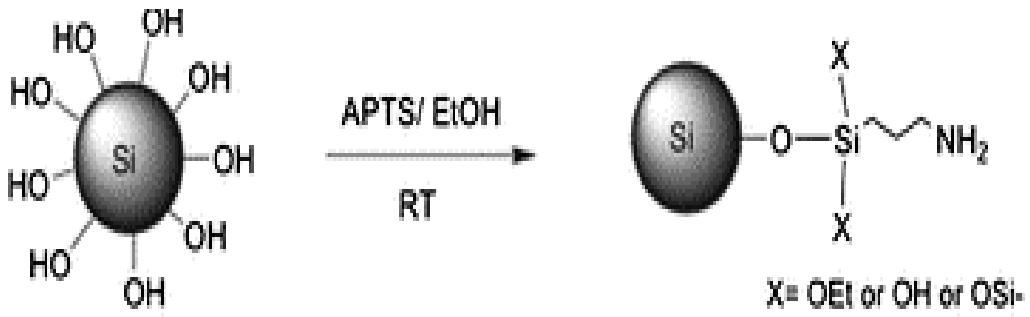
153 pm iznosi stranica trokuta, koja je ujedno i polumjer kruga. Krugom se aproksimira površinska potreba molekule APTES-a kako bi se smanjila greška računa.

Stoga površina kruga prema poznatoj relaciji iznosi:

$$P = 7{,}4168 \cdot 10^{-20} m^2$$

3.2.1. Kemijska modifikacija površine silikatnih nanočestica APTES-om

Površina silikatnih nanočestica se modificira 3-aminopropiltrietoksisilanom, koji tvori 1-3 Si-O-Si veze s površinskim silanolnim skupinama kondenzacijskom reakcijom, shematski je reakcija prikazana slikom 9.



Slika 9. Shematski prikaz kemijske modifikacije površine silikatnih nanočestica alkoksisilanima [26]

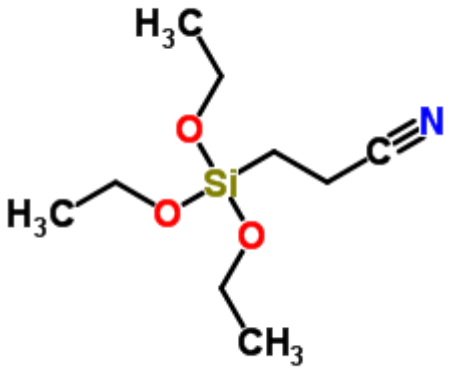
Volumen modifikatora naveden u tablici 3, se dodaje u 5 mL uzorka 200 nm silikatnih čestica uz konstantno miješanje 24 sata pri sobnoj temperaturi.

Tablica 3. Volumen modifikatora potreban za modificiranje 200 nm silikatnih čestica

Oznaka uzorka	Postotak modificirane površine	Volumen modifikatora (mL)
1	50%	0,002942
2	90%	0,005296

3.2.2. Kemijska modifikacija površine silikatnih nanočestica karboksilnim skupinama

2-cijanidno funkcionalizirane silikatne nanočestice su pripravljene miješanjem 0,2 g silikatnih nanočestica 200 nm s 16,6 mL apsolutnog etanola i 30 µL 25% amonijeva hidroksida, te na poslijetku 10 µL (2-cijanoetil)trietoksisilana (CETEOS). Struktura CETEOS-a je prikazana na slici 10. Uzorak se miješao na magnetskoj mješalici pri stalnoj temperaturi od 60 °C. Uzorak je nadopunjen etanolom do 20 mL od toga je 10 mL pomiješano s 30 mL klorovodične kiseline (HCl) koncentracije 0,012 moldm^{-3}. Nadalje, uzorak se miješa na 70 °C 120 minuta. Dolazi do kisele hidrolize cijanidnih skupina na površini silikatnih čestica u karboksilne skupine. Nakon toga se otpari amonijak iz sustava.



Slika 10. Kemijska struktura (2-cijanoetil)trietoksisilana [26]

3.3. Matematički izračun kontrolirane agregacije

Planirana kontrolirana agregacija se temelji na elektrostatskim silama. S obzirom da silikatne čestice modificirane APTES-om imaju pozitivni površinski naboj, oko njih se mogu agregirati nemodificirane silikatne čestice negativnog naboja. Jednostavnim geometrijskim pristupom može se izračunati količina modificiranih centralnih i nemodificiranih čestica koje su potrebne kako bi se prekrila površina centralne čestice.

Kada je poznat promjer centralne sferne čestice, pomoću njega se može izračunati njena površina prema jednadžbi:

$$P_c = 4r_c^2\pi \tag{5}$$

Površina centralne čestice se prekriva heksagonima koji su aproksimacija površine kugle nemodificiranih čestica. Kada je poznat polumjer (r_s) nemodificiranih odnosno sekundarnih čestica, može se izračunati površina heksagona (P_H) prema jednadžbi:

$$P_H = 2r_s^2\sqrt{3} \tag{6}$$

Kada su poznate obje površine, dijeljenjem površine centralne čestice s površinom heksagona dobiva se broj heksagona (N_H) prema jednadžbi (7), koji su potrebni kako bi se prekrila cijela površina centralne čestice.

$$N_H = \frac{P_c}{P_H} \quad (7)$$

3.3.1. Kontrolirana agregacija

Za kontroliranu agregaciju su korištene silikatne nanočestice koje su funkcionalizirane karboksilnom i amino propilnom skupinom. Karboksilatne čestice su predstavljale centralne čestice kontrolirane agregacije, njihova veličina je 200 nm. Dijelu uzorka karboksilatnih nanočestica je pH podešen dodavanjem 1M NaOH na 8,5. Veličine sekundarnih odnosno nanočestica funkcionaliziranih APTES-om su 50 nm i 100 nm. Kontrolirana agregacija čestica je priređena prema omjerima prikazanim u tablici 4, te je izvršena pri sobnoj temperaturi.

Tablica 4. Količine kemikalija korištene za kontroliranu agregaciju

Broj uzorka	***V*(Si-COOH) (µL)**	***V*(Si-COO^- Na^+) (µL)**	***V*(Si-NH_2 100 nm) (µL)**	***V*(Si-NH_2 50 nm) (µL)**
Uzorak 1.	50	-	500	-
Uzorak 2.	-	50	500	-
Uzorak 3.	25	-	-	750
Uzorak 4.	-	25	-	750

3.4.Sinteza kitozanskih nanočestica

3.4.1 Deacetilacija kitozana

Kako bi se smanjio broj acetilnih skupina kitozana, a samim time povećala topivost, radila se deacetilacija u lužnatom. 5 g kitozana molarne mase 200 000 - 300 000 g/mol se pomiješa s 50 mL 50% NaOH. Smjesa se zagrijava na 100 °C te se miješa na magnetskoj miješalici 120 minuta uz povratno hladilo. Nakon hlađenja reakcijske smjese, produkt se ispire vrućom

destiliranom vodom nekoliko puta. Produkt se suši u sušioniku na 80 °C sve dok se potpuno ne osuši.

3.4.2. Metoda priprave kitozanskih nanočestica iz emulzije isparavanjem otapala

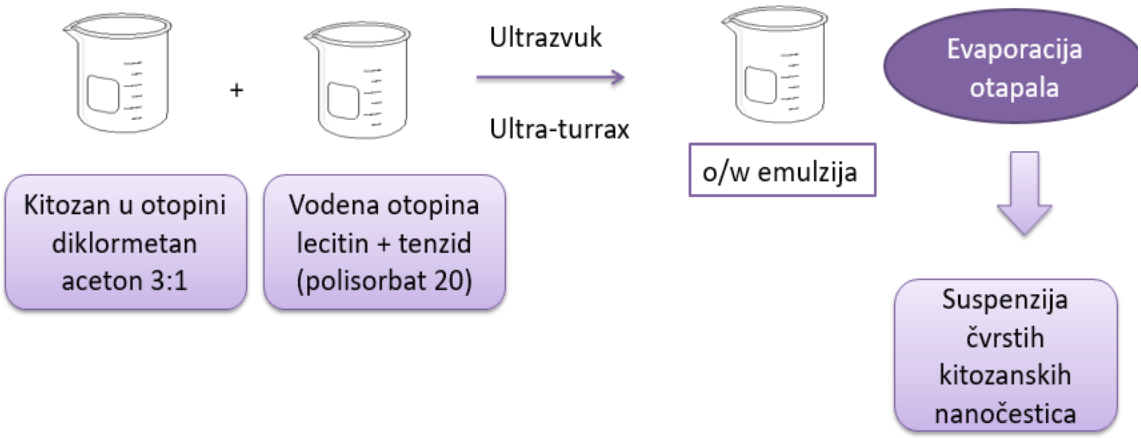
Nanočestice kitozana su pripravljene metodom iz emulzije isparavanjem otapala, materijali te njihove koncentracije prikazane su u tablici 5. Kitozan otopljen u smjesi diklormetan aceton omjera 3:1 se dodaje u vodenu otopinu koja sadrži lecitin i tenzid polisorbat 20. Pripremljene su različite koncentracije u rasponu od $1 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-3}$ moldm^{-3} polisorbata 20 (prikazano u tablici 6). Pripravljeno je sedam uzoraka ukupnog volumena 11 mL, od kojeg je 1 mL organske faze a 10 mL vodene faze. Napravljene su dvije serije uzoraka, čiji je sastav emulzije bio isti osim što je u prvoj seriji udio kitozana u emulziji 0,15%, dok je u drugoj seriji bio 0,44%. Smjesa organske i vodene faze se stavlja u ultrazvuk na 5 minuta potom homogenizira ultra-turraxom pri čemu nastaje emulzija. U nastaloj emulziji se diklormetan uklanja pod sniženim tlakom koristeći rotavapor pri sobnoj temperaturi. Shematski prikaz navedene metode je prikazan slikom 11.

Tablica 5. Materijali i njihove koncentracije korištene za pripravu kitozanskih čestica

	Sastav emulzije w/w (%)	
Lecitin	1,2	1,2
Polisorbat 20	0,8	0,8
Kitozan	0,15	0,44
Diklormetan : aceton (3:1)	12	12

Tablica 6. Sastav vodene faze korištene u sintezi kitozanskih čestica

Oznaka	***c* (polisorbat 20) (moldm^{-3})**	***V* (polisorbat 20) (*mL*)**	***V* (H_2O) (*mL*)**
1	$1 \cdot 10^{-4}$	0,22	9,78
2	$2 \cdot 10^{-4}$	0,44	9,56
3	$4 \cdot 10^{-4}$	0,88	9,12
4	$6 \cdot 10^{-4}$	1,32	8,68
5	$8 \cdot 10^{-4}$	1,76	8,24
6	$1 \cdot 10^{-3}$	2,20	7,80
7	$5 \cdot 10^{-3}$	3,30	6,70



Slika 11. Shematski prikaz metode priprave kitozanskih nanočestica iz emulzije isparavanjem otapala

3.5. Instrumentalne metode i uređaji

Nakon završenih sinteza silikatnih i kitozanskih nanočestica, njihova distribucija veličina i hidrodinamički promjeri su snimljeni dinamičkim raspršenjem svjetlosti (DLS) koristeći Malvern Zetasizer Nano S instrument. Zeta potencijal silikatnih nanočestica je određen elektroforetskim raspršenjem svjetlosti (ELS) koristeći instrument Malvern Zetasizer Nano Z. Sva DLS i ELS mjerenja su izvršena pri 25 °C.

Morfologija i veličina čestica je snimljena transmisijskim elektronskim mikroskopom (TEM), (JEOL JEM 1200 EX II). Uzorci za TEM se nanose na bakrene gridove promjera 3 mm, čiji je predtretman namakanje s 1% TEOS-u u etanolu, potom se na njih nanosi tanak film od nitroceluloze u etilacetatu. Uzorci su pripravljeni i na način da se na bakrene gridove nanosi tanki Butvar B-98 film.

IR spektri kemijske modifikacije silikatnih čestica s aminopropilnom skupinom su snimljeni na Shimadzu FT-IR 8400S spektrometru u području 4000 – 400 cm^{-1} . Uzorak je pripravljen na način da je pomiješano 3 mg uzorka s 100 mg silikatnih nanočestica.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1.Sinteza i karakterizacija silikatnih nanočestica

4.1.1. Određivanje veličine DLS mjerenjem

Kumulativnom analizom podataka DLS mjerenja određuje se distribucija veličine čestica po kojoj se računa srednja vrijednost veličine (Z-srednje) i širina distribucije odnosno polidisperzni indeks (PDI). PDI je bezdimenzijska mjera distribucije veličine izračunate kumulativnom analizom. PDI je u rasponu od 0 do 1, vrijednosti veće od 1 ukazuju na to da je uzorak toliko polidisperzan da nije prikladan za snimanje.

Prema tablici 7. PDI silikatnih nanočestica je u rasponu od 0,038 – 0,246 što označava srednje vrijednosti polidisperznog indeksa odnosno područje u kojem algoritmi distribucije najbolje rade.

Amonijak se u Stöberovoj sintezi silikatnih nanočestica koristi kao katalizator, mijenjajući njegovu koncentraciju u rasponu od 0,05 do 0,70 moldm^{-3} mijenja se i veličina čestica od 13 do 87 nm što je prikazano u tablici 7. Odnosno veća koncentracija amonijaka uzrokuje i nastanak većih čestica, prikazano grafički slikom 12.

Povećanjem koncentracije amonijaka, povećava se brzina reakcije hidrolize prikazana jednadžbom (8) i brzina reakcije kondenzacije prikazana jednadžbama (9) i (10). Nastajanje intermedijera $Si(OC_2H_5)_{4-x}(OH)_X$ će također biti brže uslijed hidrolitičke reakcije; kada dosegne područje superzasićenosti, brzina potrošnje intermedijera kondenzacijskom reakcijom je isto relativno brza, što skraćuje period nukleacije. Stoga ukupan broj jezgri koji nastaje je manji, a konačna veličina silikatnih čestica relativno velika.

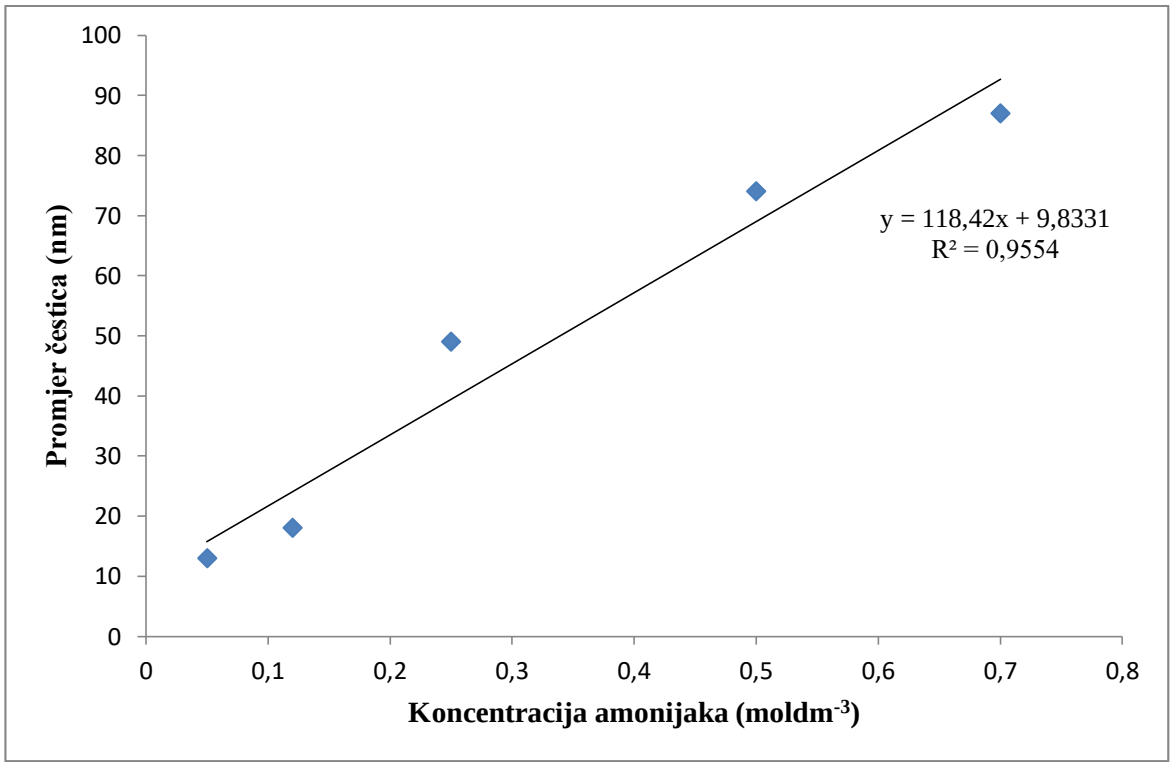
Tablica 7. Utjecaj promjene koncentracije amonijeva hidroksida na veličinu čestica

Oznaka	*c*(TEOS) (moldm^{-3})	*c*(NH_4OH) (moldm^{-3})	*c*(H_2O) (moldm^{-3})	V_{ukupno} (µL)	*Z*-srednje (nm)	PDI
1	0,25	0,70	2	20000	87	0,038
2	0,25	0,50	2	20000	74	0,183
3	0,25	0,25	2	20000	49	0,246
4	0,25	0,12	2	20000	18	0,187
5	0,25	0,05	2	20000	13	0,227

$$Si(OC_2H_5)_4 + xH_2O \rightarrow Si(OC_2H_5)_{4-x}(OH)_X + xC_2H_5OH \quad (8)$$

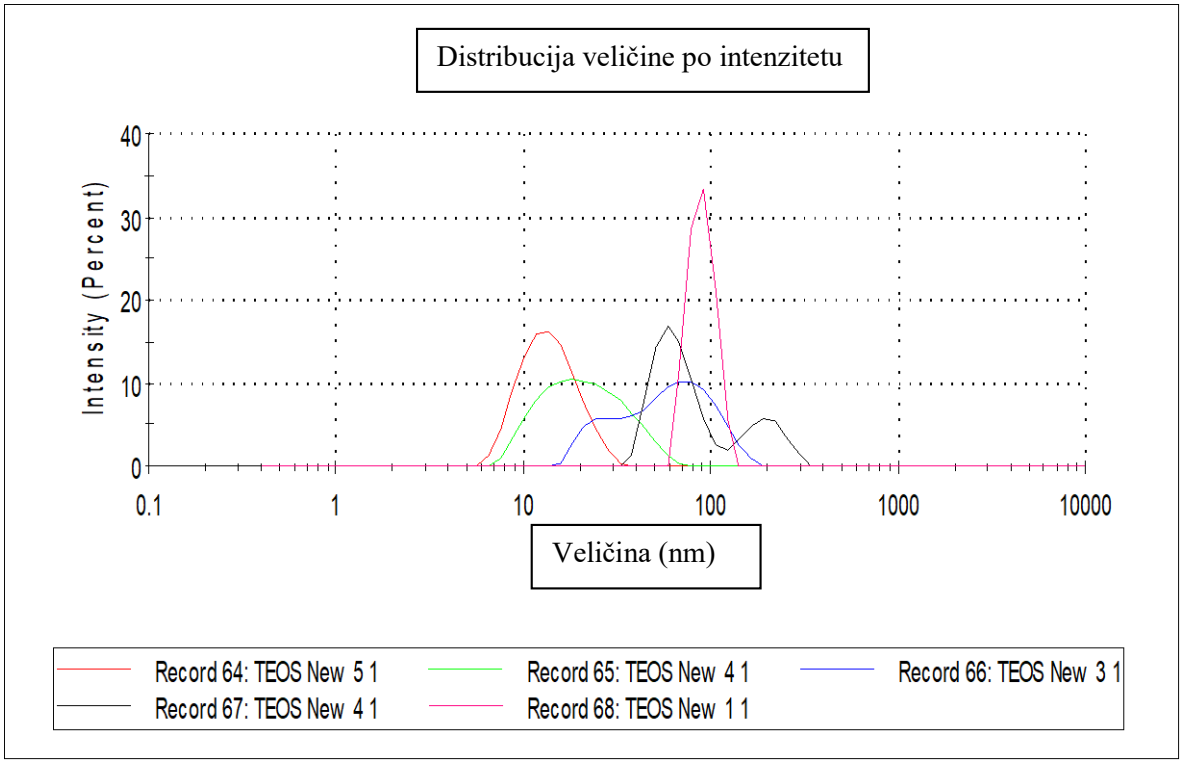
$$\equiv Si - OC_2H_5 + HO - Si \equiv \rightarrow \equiv Si - O - Si \equiv + C_2H_5OH \quad (9)$$

$$\equiv Si - OH + HO - Si \equiv \rightarrow \equiv Si - O - Si \equiv + H_2O \quad (10)$$



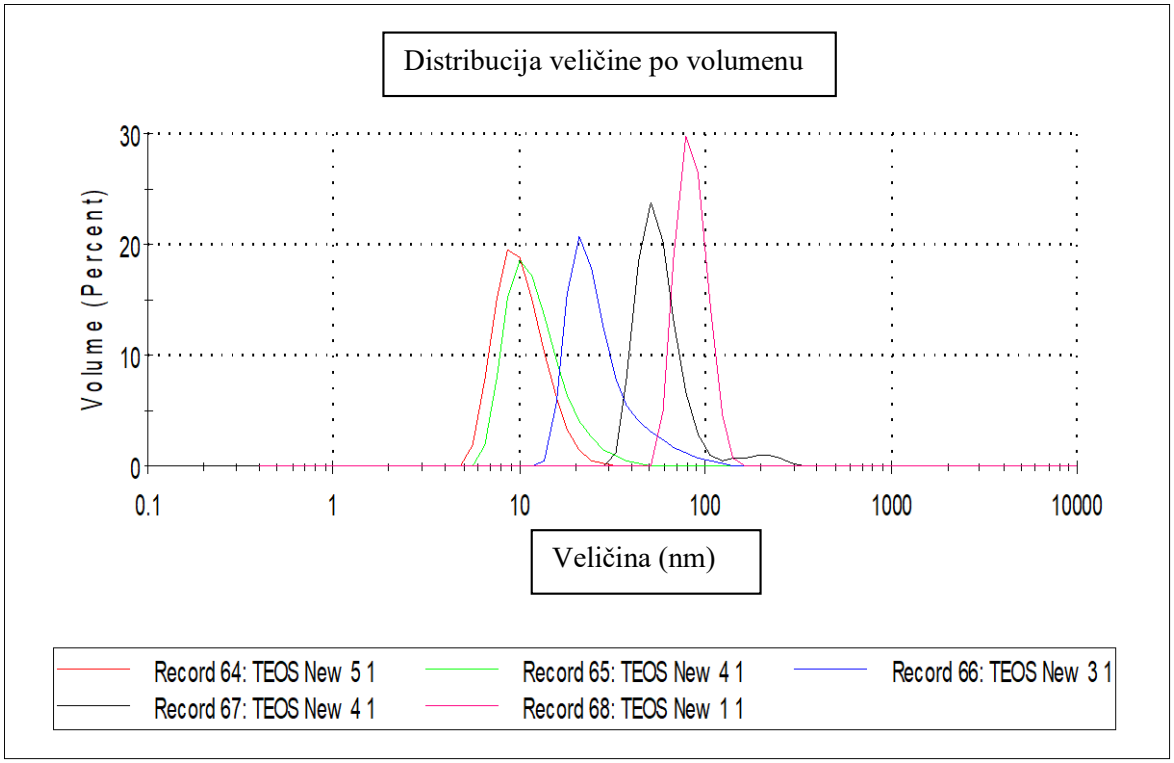
Slika 12. Graf ovisnosti promjera silikatnih čestica o koncentraciji amonijaka

Primarni rezultat koji se dobiva DLS mjerenjem je distribucija veličine po intenzitetu svjetlosti raspršenog česticama, prikazan na slici 13.



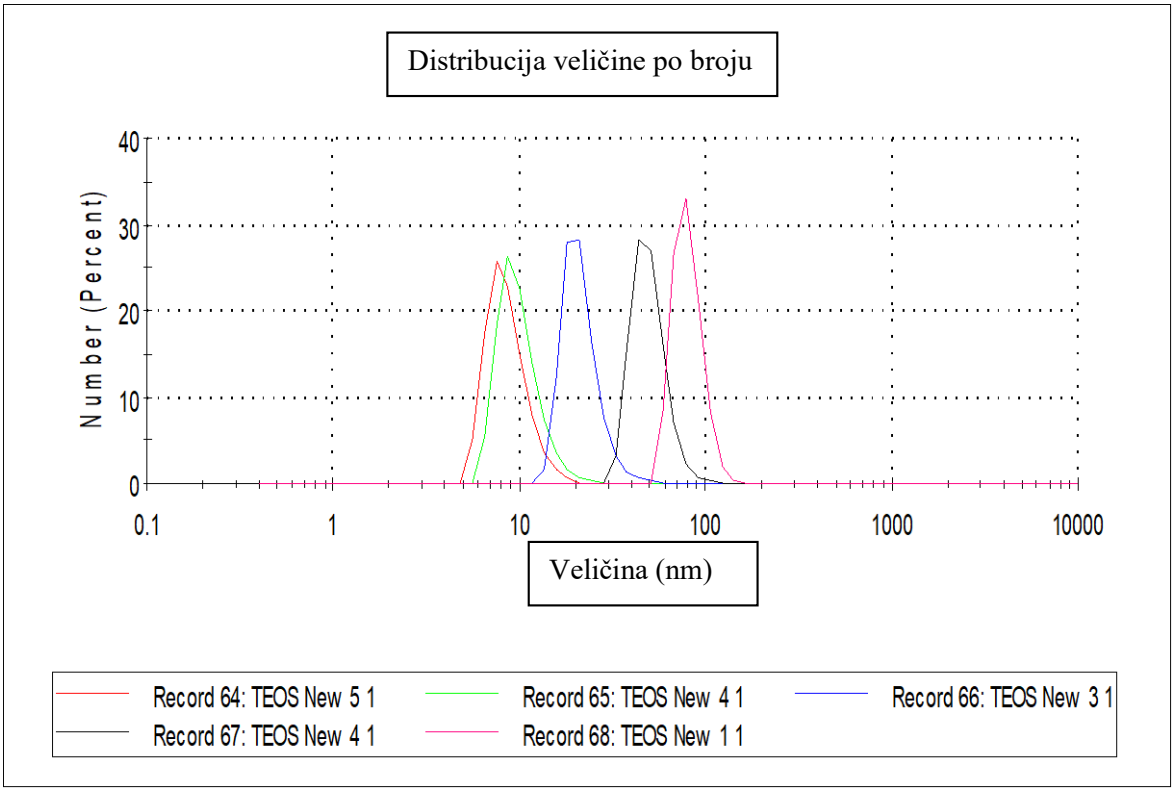
Slika 13. Graf distribucije veličine silikatnih čestica po intenzitetu

Pomoću Mie teorije se distribucija po intenzitetu pretvara u distribuciju po volumenu prikazanu na slici 14. Ova distribucija je ekvivalentna masi ili težini čestica, te se dalje distribucija po volumenu pretvara u distribuciju po broju čestica prikazanu na slici 15.



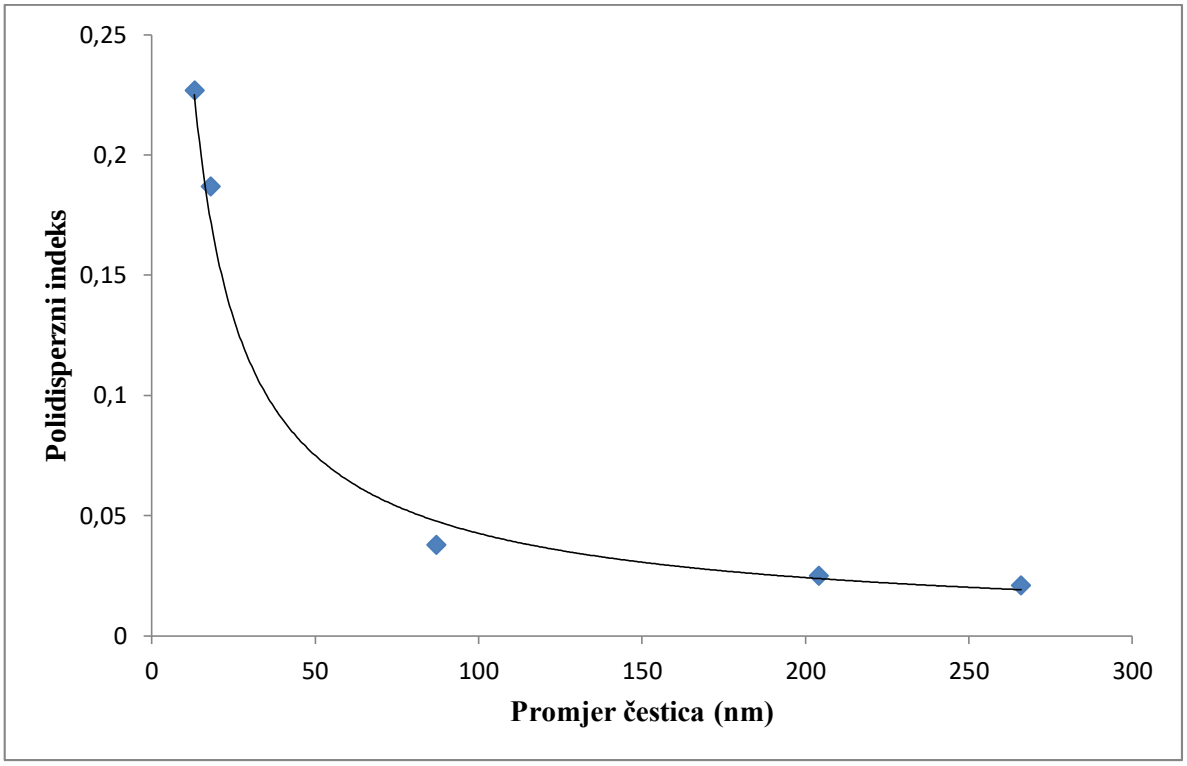
Slika 14. Graf distribucije veličine silikatnih čestica po volumenu

Transformacije iz jedne u drugu distribuciju počinju od određenih pretpostavki: sve su čestice sferne, homogene i ekvivalentne gustoće, optička svojstva su poznata. Prema slikama 13. i 14. može se uočiti da su dane distribucije veličine po volumenu i broju slične, što ukazuje na točnost mjerenja veličine čestica.



Slika 15. Graf distribucije veličine silikatnih čestica po broju

Prilikom sintetiziranja silikatnih nanočestica može se primijetiti trend porasta polidisperznog indeksa sa smanjenjem veličine čestica, trend rasta je prikazan na slici 16.



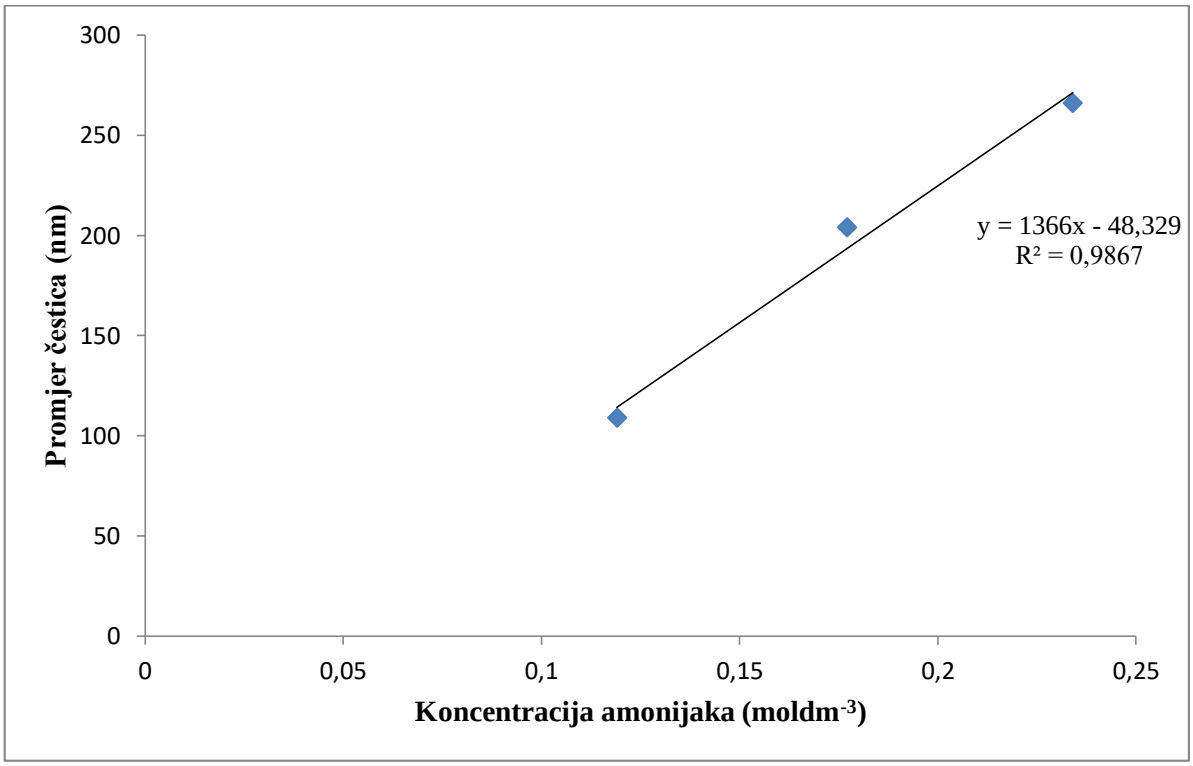
Slika 16. Grafički prikaz ovisnosti polidisperznog indeksa o veličini čestica

Visoka polidisperznost uzorka se javlja kod čestica promjena manjeg od 30 nm, dok je kod većih čestica distribucija širine veličina uzorka mnogo manja.

Tablica 8. Rezultati DLS mjerenja za nanočestice veličine 100, 200 i 300 nm

Veličina čestica (nm)	c(TEOS) (moldm^{-3})	c(NH_4OH) (moldm^{-3})	c(H_2O) (moldm^{-3})	V_{ukupno} (µL)	Z-prosjek (nm)	PDI
100	0,11945	0,11945	6,65985	20000	109	0,119
200	0,17715	0,17715	6,94852	20000	204	0,025
300	0,23485	0,23485	7,23719	20000	266	0,021

Prema tablici 8. može se vidjeti da se DLS mjerenja prosječnog promjera veličine čestica slažu s teorijskim izračunom. Povećavajući koncentraciju TEOS-a i amonijaka u intervalu od 0,119 moldm^{-3} do 0,235 moldm^{-3}, raste i veličina čestica od 109 nm do 266 nm, trend rasta je prikazan na slici 17.



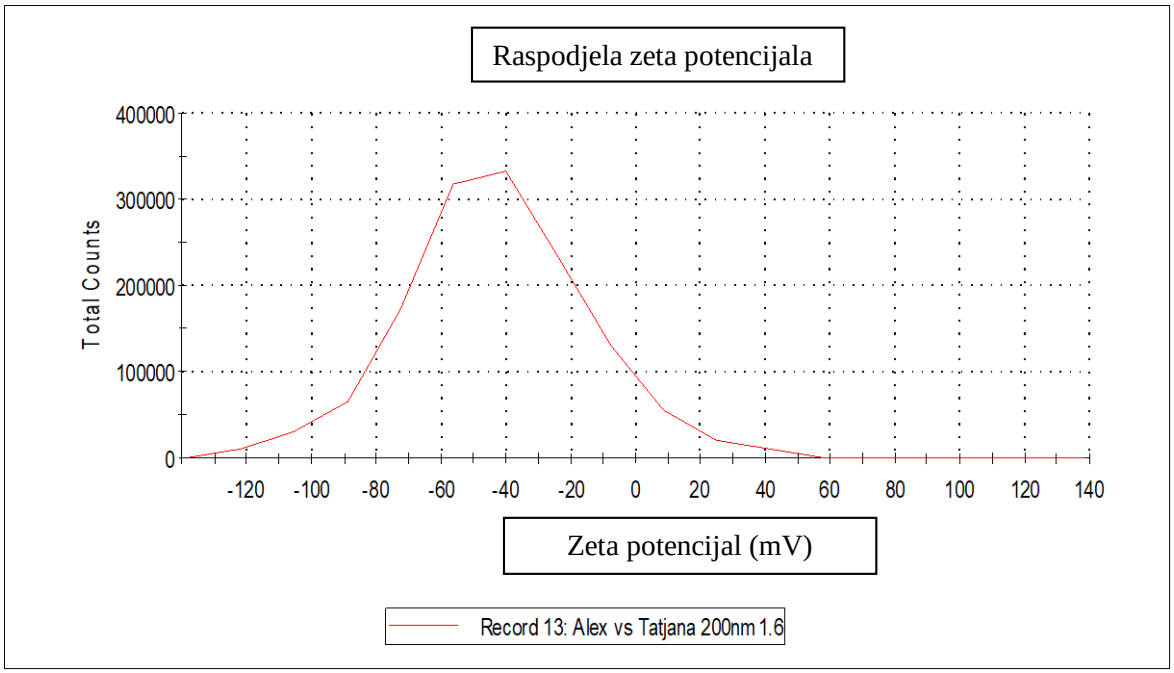
Slika 17. Graf ovisnosti promjera silikatnih čestica o koncentraciji amonijaka

PDI se također smanjuje porastom veličine nanočestica od 0,119 do 0,021 što predstavlja srednje vrijednosti pri kojima algoritmi distribucije veličine čestica najbolje rade. Na

slikama 12. i 17. može se uočiti gotovo linearna ovisnost koncentracije amonijaka i veličine čestica nastale Stöberovom metodom.

4.1.2. Određivanje zeta potencijala ELS mjerenjem

Silikatne čestice od 200 nm sintetizirane su prema tablici 2., njihov zeta potencijal iznosi -43mV te zeta devijacija 28,2 mV. Prema slici 18. može se vidjeti raspodjela zeta potencijala silikatnih nanočestica.

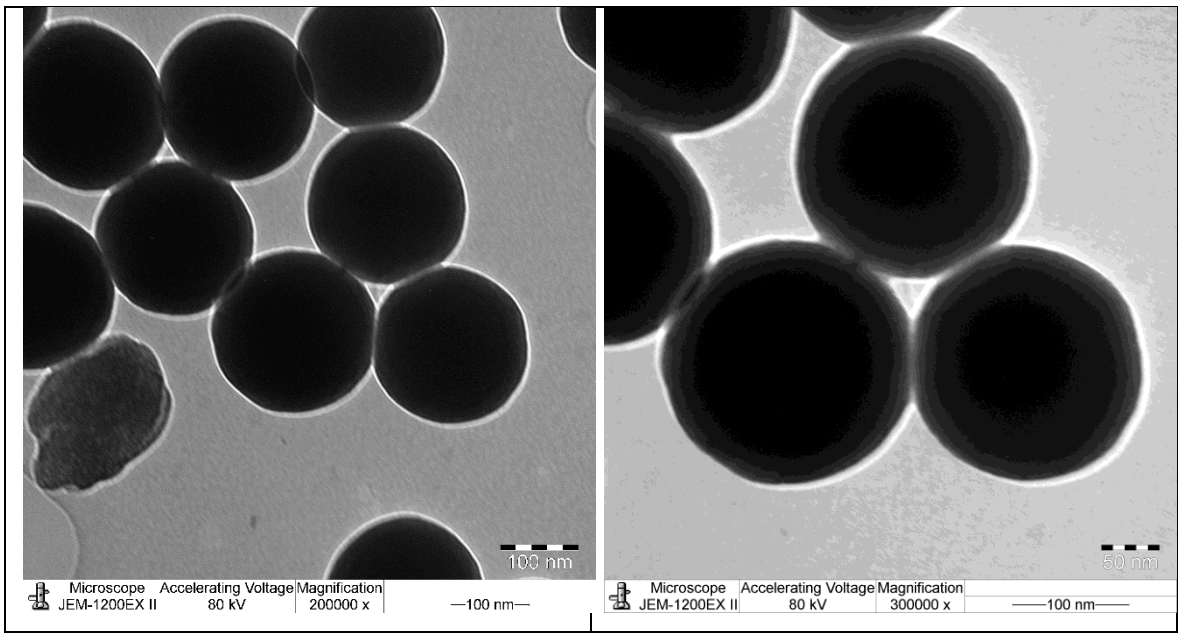


Slika 18. Graf raspodjele zeta potencijala 200 nanometarskih silikatnih čestica

Zbog velikog negativnog zeta potencijala velike su repulzivne sile među česticama stoga se neće agregirati i upravo zbog toga imaju povećanu stabilnost. Negativni naboj silikatnih čestica potječe od hidroksidnih skupina na površini. Ovaj visoko negativan zeta potencijal je snažan indikator visoke stabilnosti silikatnih čestica.

4.1.3. TEM mjerenje veličine

Površina i morfologija silikatnih nanočestica karakterizirana je TEM mjerenjem. Na slici 19. se nalaze silikatne nanočestice sintetizirane Stöberovom metodom. Rezultati TEM mjerenja se slažu s DLS mjerenjem veličine. Čestice su monodisperzne, sfernog oblika, glatke površine bez vidljivih pora.

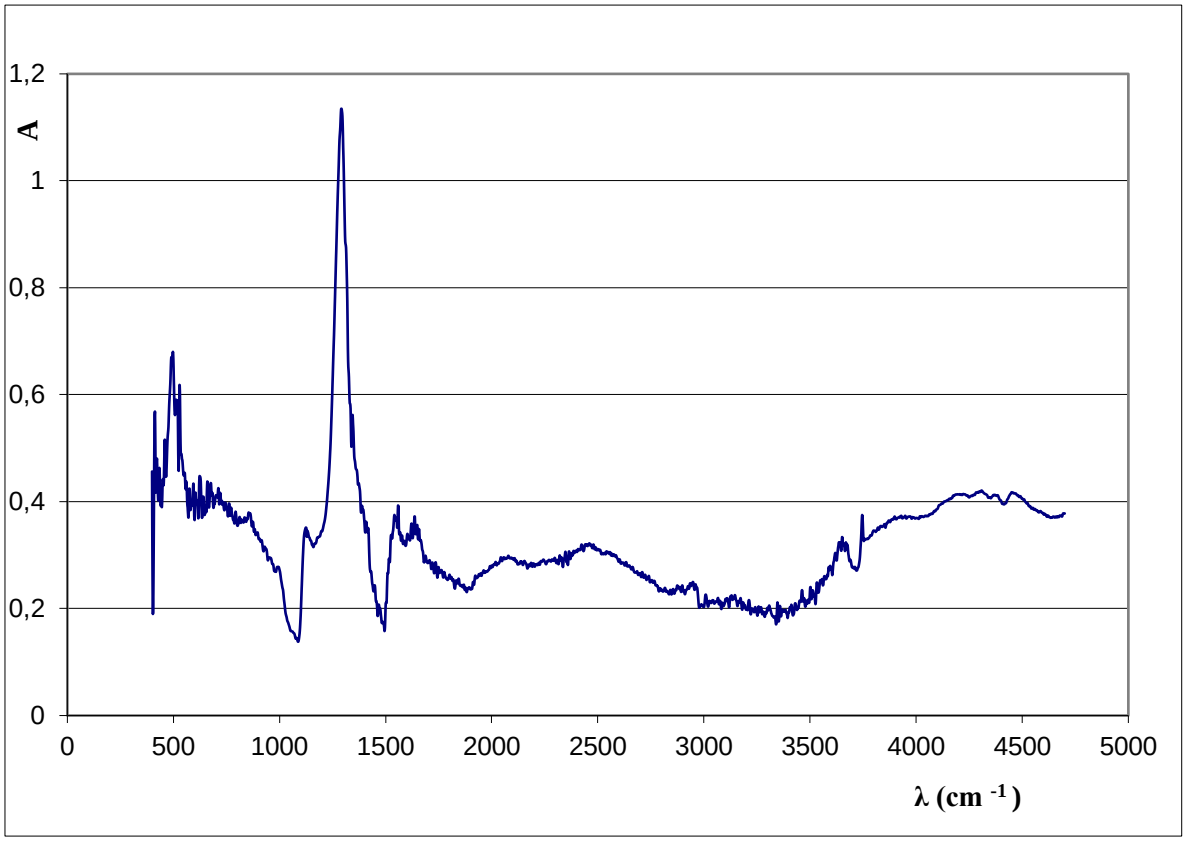


Slika 19. TEM slika silikatnih nanočestica veličine 200 nm

4.2.Karakterizacija površine i morfologije modificiranih silikatnih nanočestica

4.2.1.FT-IR karakterizacija silikatnih nanočestica modificiranih APTES-om

Na slici 20. se nalazi razlikovni FT-IR spektar modificiranih silikatnih čestica APTES-om. Odnosno od spektra APTES modificiranih silikatnih čestica se oduzme spektar silikatnih čestica kako bi ostale samo frekvencije koje su karakteristične za aminopropilne skupine.

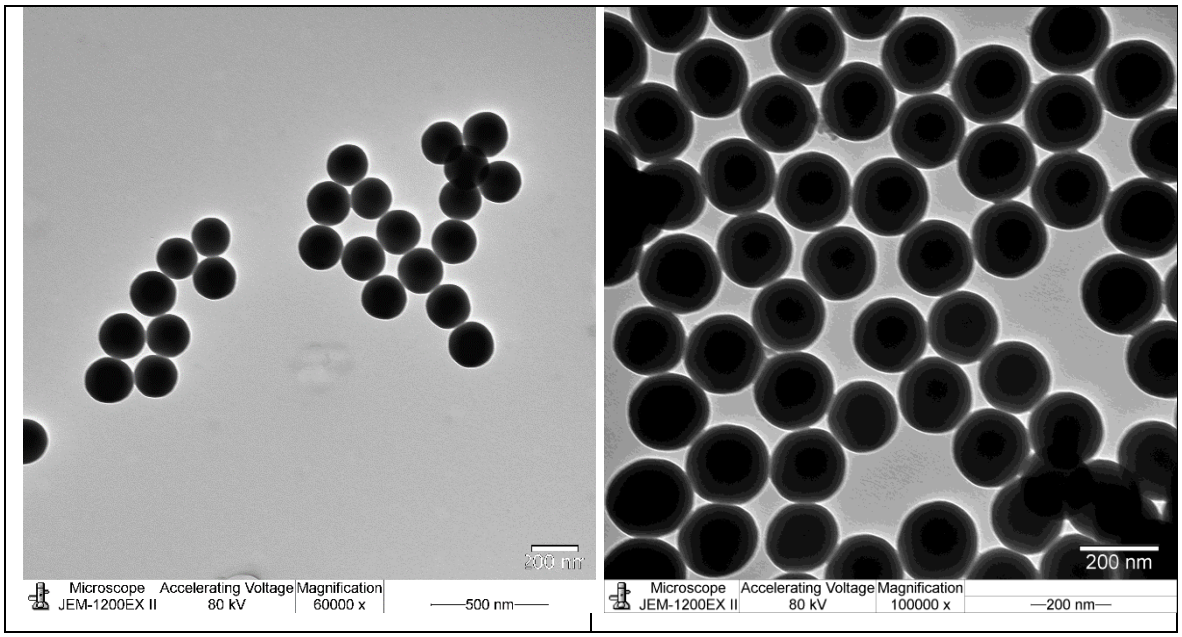


Slika 20. FT-IR spektar silikatnih nanočestica modificiranih APTES-om

Široka apsorpcijska vrpca između 1566 cm^{-1} i 1635cm^{-1} odgovara svijanju -NH_2 skupine. Vrpce u području oko 2961 cm^{-1} odgovaraju asimetričnom i simetričnom CH_2 istezanju u propilnom lancu. Oko 1298 cm^{-1} se nalaze Si-CH_2 vibracije. FT-IR spektar pokazuje da se na površini silikatnih čestica nalaze aminopropilne skupine.

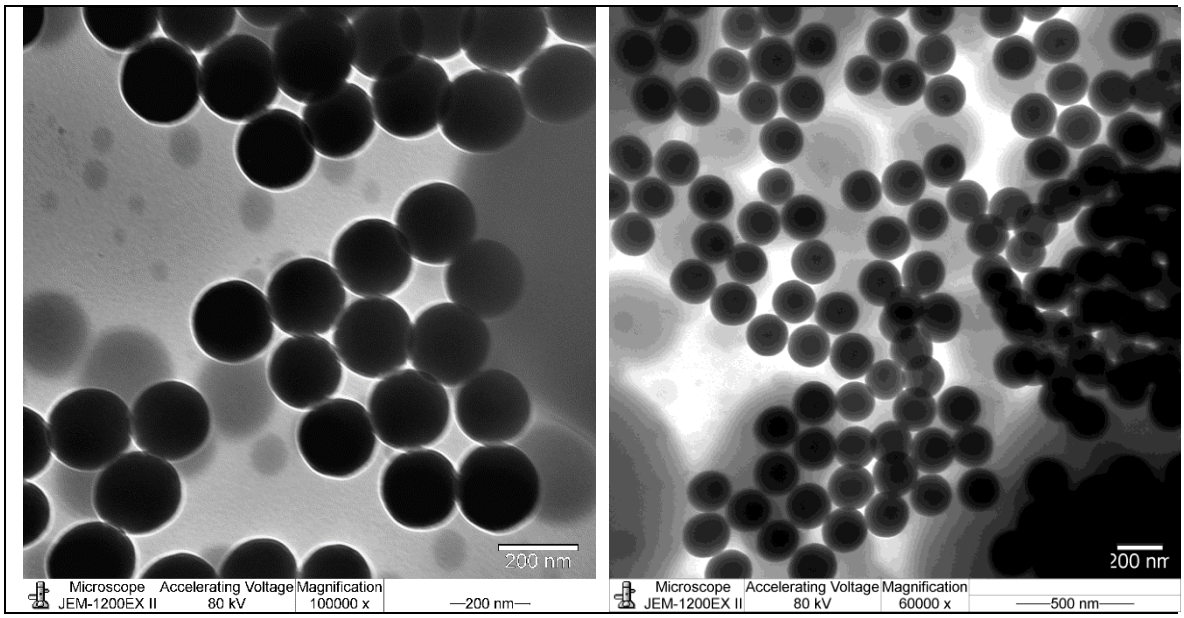
4.2.2. TEM mjerenje veličine

Na slici 21. se nalaze TEM slike silikatnih čestica veličine 200 nm kojima je 50 % površine modificirano APTES-om.



Slika 21. TEM slika silikatnih čestica s 50% modificirane površine APTES-om

Na slici 22. se nalaze TEM slike silikatnih čestica veličine 200 nm kojima je 90 % površine modificirano APTES-om.



Slika 22. TEM slika silikatnih čestica s 90% modificirane površine APTES-om

Čestice su sfernog oblika, glatke površine te nema zamjetne promjene u veličini unatoč modificiranju površine. Čestice su agregirane što može upućivati na nizak zeta potencijal.

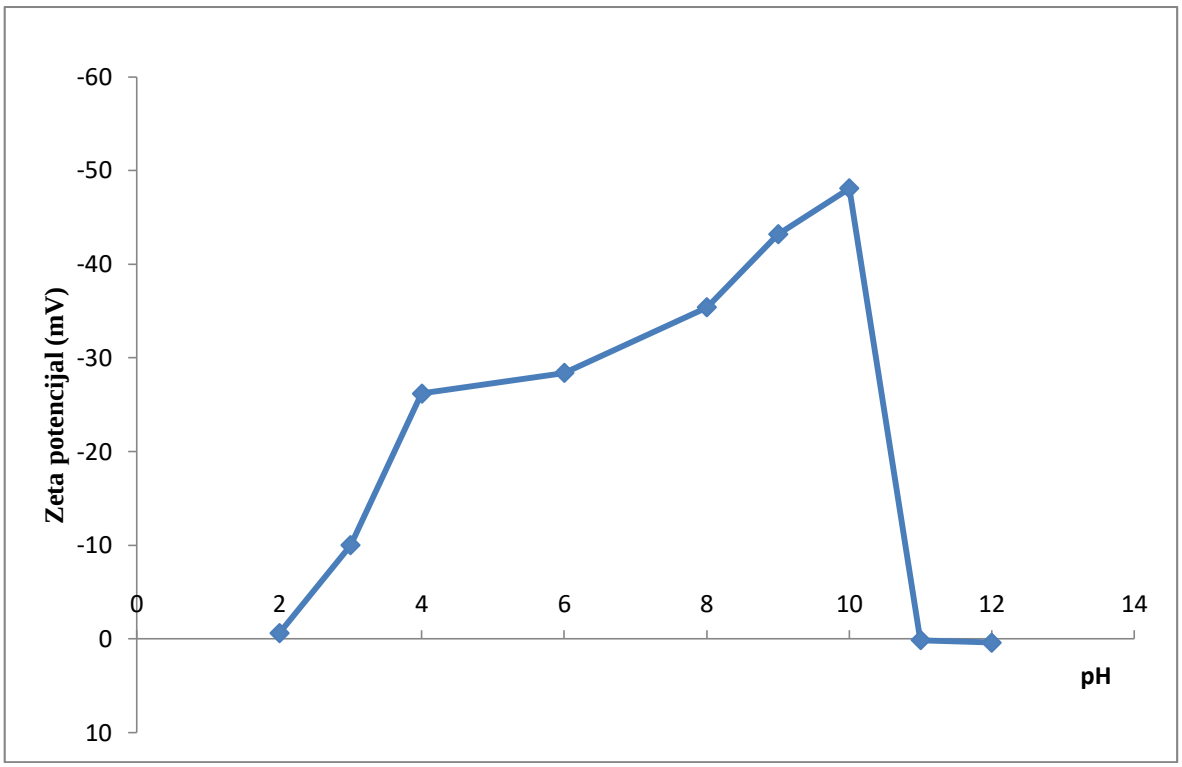
4.2.3.Određivanje zeta potencijala modificiranih silikatnih nanočestica ELS mjerenjem

Površina silikatnih nanočestica veličine 200 nm je modificirana karboksilnim skupinama. Zeta potencijal suspenzije takvih čestica pri pH 2 iznosi -0,602 mV kao što se može vidjeti u tablici 9. Sustavim dodavanjem lužine i promjenom pH jedinice u rasponu od 2 do 10, negativni zeta potencijal se povećava što odgovara deprotonaciji karboksilnih skupina. Maksimalan negativni zeta potencijal pri pH 10 iznosi -48,1 mV.

Tablica 9. Vrijednosti mjerenja zeta potencijala za silikatne nanočestice funkcionalizirane karboksilnom skupinom

Uzorak	**pH**	***T*(°C)**	**Zeta potencijal (mV)**	**Mobilnost (µmcm/Vs)**	**Vodljivost (mS/cm)**
1.Si-COOH	2	25	-0,602	-0,04718	4,61
2.Si-COOH	3	25	-10	-0,7862	0,458
3.Si-COOH	4	25	-26,2	-2,054	0,0679
4.Si-COOH	6	25	-28,4	-2,225	0,0267
5.Si-COOH	8	25	-35,4	-2,779	0,0183
6.Si-COOH	9	25	-43,2	-3,385	0,0216
7.Si-COOH	10	25	-48,1	-3,773	0,0514
8.Si-COOH	11	25	0,123	0,009668	0,000482
9.Si-COOH	12	25	0,388	0,03038	0,0017

Negativni zeta potencijal se povećava gotovo linearno s promjenom pH, kao što se može vidjeti i na slici 23, sve do izoelektrične točke u kojoj su svi negativni naboji neutralizirani na što ukazuje nagla promjena k pozitivnom potencijalu.



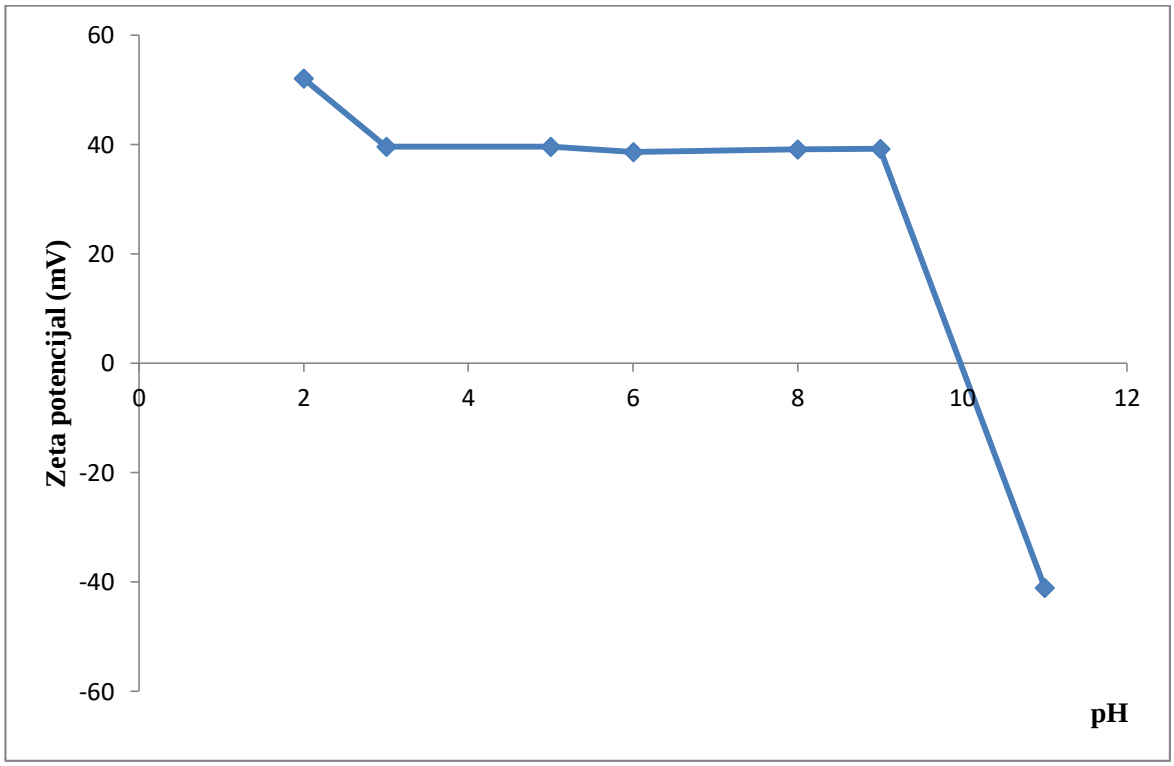
Slika 23. Promjena zeta potencijala silikatnih nanočestica funkcionaliziranih karboksilnom skupinom u ovisnosti o pH

Mjerenje zeta potencijala u ovisnosti promjene pH vrijednosti je izvršeno za 100 nm silikatne čestice modificirane amino propilnom skupinom što je prikazano tablicom 10. Pri pH 2 takva suspenzija čestica ima zeta potencijal od 52 mV, što odgovara jakom pozitivnom naboju površine. Visoki zeta potencijal ukazuje na stabilnost ovakvih modificiranih silikatnih čestica. Amino skupine su nosioci pozitivnog naboja površine, povećavanjem pH vrijednosti suspenzije smanjuje se i zeta potencijal.

Tablica 10. Vrijednosti mjerenja zeta potencijala za silikatne nanočestice veličine 100 nm funkcionalizirane aminopropilnom skupinom

Uzorak (100nm)	pH	*T*(°C)	Zeta potencijal (mv)	Mobilnost (µmcm/Vs)	Vodljivost (mS/cm)
1.Si-NH_2	2	25	52	4,077	4,92
2.Si-NH_2	3	25	39,6	3,101	0,857
3.Si-NH_2	5	25	39,6	3,105	0,303
4.Si-NH_2	6	25,1	38,6	3,025	0,294
5.Si-NH_2	8	25	39,1	3,068	0,273
6.Si-NH_2	9	25	39,2	3,072	0,152
7.Si-NH_2	11	25	-41,1	-3,221	0,724

U pH intervalu od 3 do 9 zeta potencijal je relativno stalan, linearna promjena zeta potencijala se može vidjeti na slici 24. Nakon toga povećavanjem pH vrijednosti dolazi do naglog pada vrijednosti zeta potencijala, što odgovara neutralizaciji pozitivnog naboja odnosno izoelektričnoj točci.



Slika 24. Promjena zeta potencijala silikatnih nanočestica veličine 100 nm funkcionaliziranih amino propilnom skupinom u ovisnosti o pH

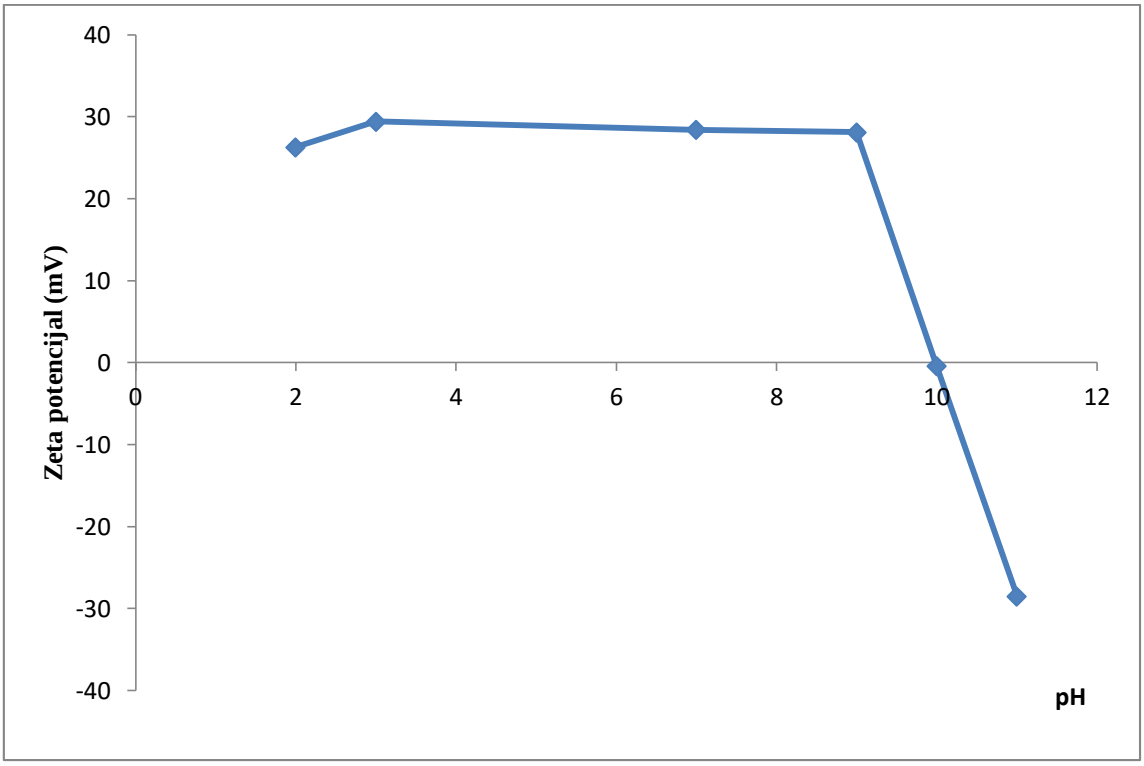
Pri pH 11 zeta potencijal silikatnih nanočestica funkcionaliziranih amino propilnom skupinom iznosi -41,1 mV što bi značilo da amino skupina na sebi nosi negativan naboj.

Mjeren je zeta potencijala i za nanočestice veličine 40 nm, vrijednosti su prikazane u tablici 11.

Tablica 11. Vrijednosti mjerenja zeta potencijala za silikatne nanočestice funkcionalizirane aminopropilnom skupinom

Uzorak (40nm)	**pH**	***T*(°C)**	**Zeta potencijal (mV)**	**Mobilnost (μmcm/Vs)**	**Vodljivost (mS/cm)**
Si-NH2	2	25	26,3	2,061	5,4
Si-NH2	3	25	29,4	2,302	1,07
Si-NH2	7	25	28,4	2,228	0,565
Si-NH2	9	25	28,1	2,202	0,504
Si-NH2	10	25	-0,392	-0,03076	0,0124
Si-NH2	11	25	-28,5	-2,235	0,54

Može se primjetiti isti trend promjene zeta potencijala u ovisnosti pH i za 40 nm čestice, prikazano slikom 25. Pri malim pH vrijednostima zeta potencijal je pozitivan, kako se pH vrijednost povećava tako se vrlo malo smanjuje zeta potencijal dok ne nastupi izoelektrična točka nakon nje amino skupine su nosioci negativnog naboja što odgovara potencijalu koji je negativan, u ovom slučaju pri pH 10 iznosi -0,392 mV.



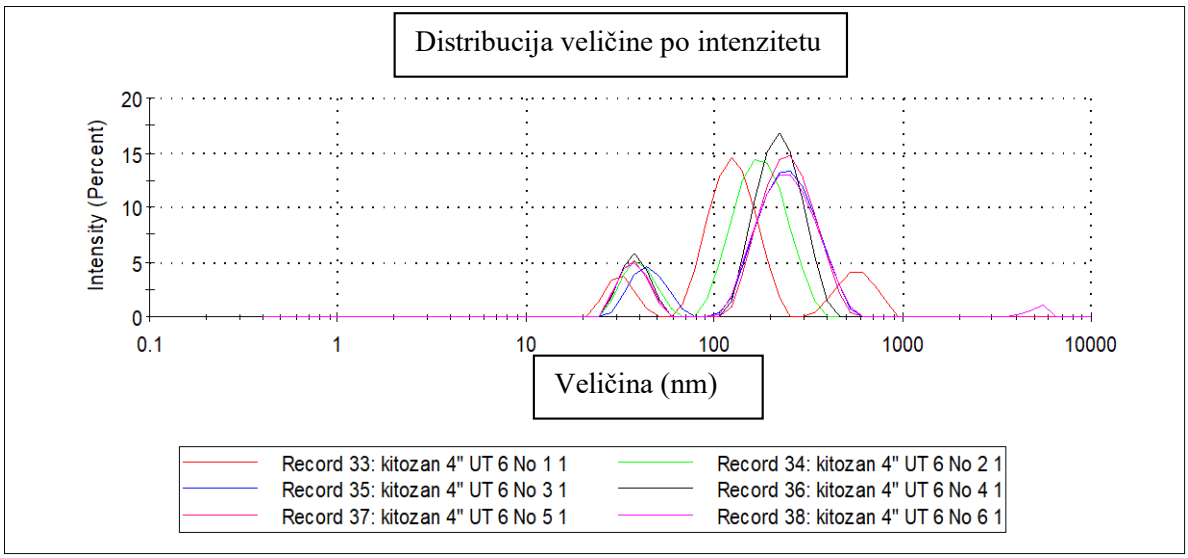
Slika 25. Promjena zeta potencijala silikatnih nanočestica veličine 40 nm funkcionaliziranih amino propilnom skupinom u ovisnosti o pH

Prema slikama 24. i 25. može se uočiti da su zeta potencijali većih čestica generalno veći. Maksimalna vrijednost zeta potencijala manjih čestica je 29,4 mV, dok kod većih čestica ta vrijednost iznosi 52 mV. Osim što zeta potencijal govori o stabilnosti suspenzije čestica, on je važan indikator zbivanja na površini čestice i oko nje. S obzirom da se planirana kontrolirana agregacija temelji na elektrostatskim privlačenjima suprotno nabijenih čestica, to privlačenje bi trebalo biti najveće pri maksimalnim vrijednostima zeta potencijala obje vrste čestica.

4.2. Priprava i karakterizacija kitozanskih nanočestica

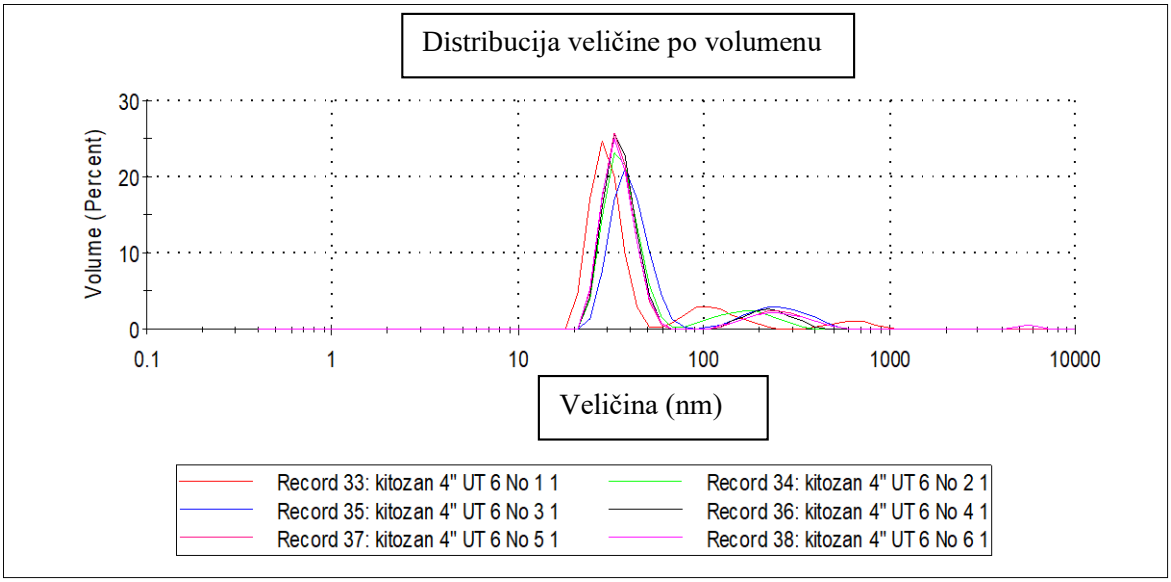
4.2.1. Određivanje veličine DLS mjerenjem

Mijenjanjem koncentracije polisorbata 20 vodene faze u intervalu $1 \cdot 10^{-4}$ moldm^{-3} do $5 \cdot 10^{-3}$moldm^{-3}, te zadržavajući sastav organske faze istom s masenim udjelom kitozana od 0,15% nastale su kitozanske nanočestice u intervalu veličina od 28,21 nm do 32,67 nm. PDI ove serije uzoraka iznosi 0,498, uzorak ima široku distribuciju veličine, što utječe na kvalitetu mjerenja DLS-om. Kao što se može vidjeti na slici 26. koja prikazuje raspodjelu veličina po intenzitetu, uzorci sadrže nekoliko frakcija veličina čestica.

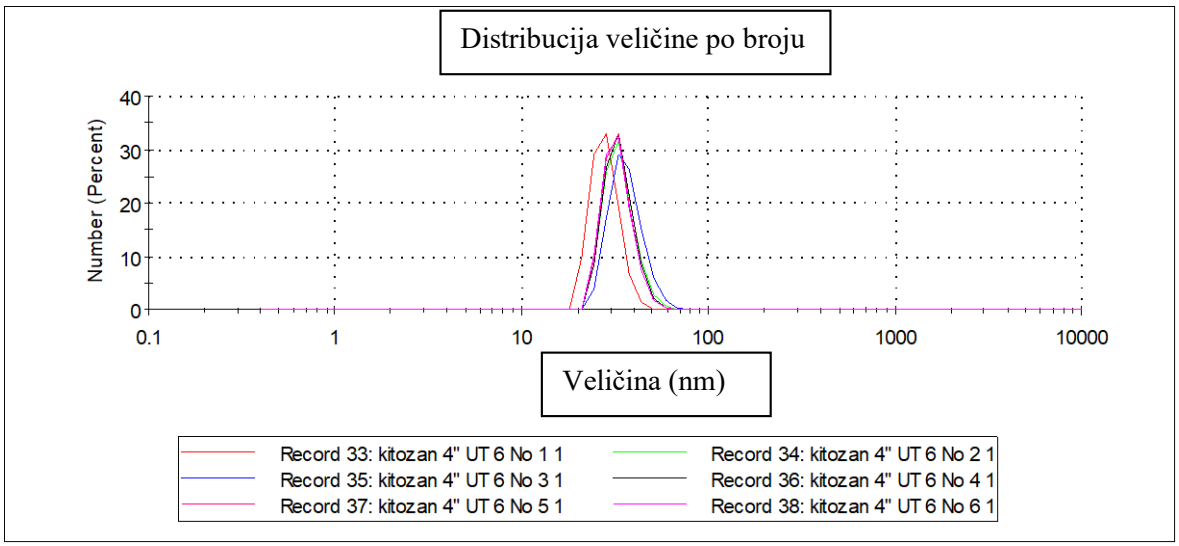


Slika 26. Raspodjela veličine kitozanskih nanočestica (udio kitozana 0,15%) po intezitetu

Distribucija veličina po volumenu prikazana slikom 27. ima nekoliko frakcija zbog polidisperznosti uzorka. Distribucija po broju čestica je prikazana na slici 28.



Slika 27. Raspodjela veličine kitozanskih nanočestica (udio kitozana 0,15%) po volumenu

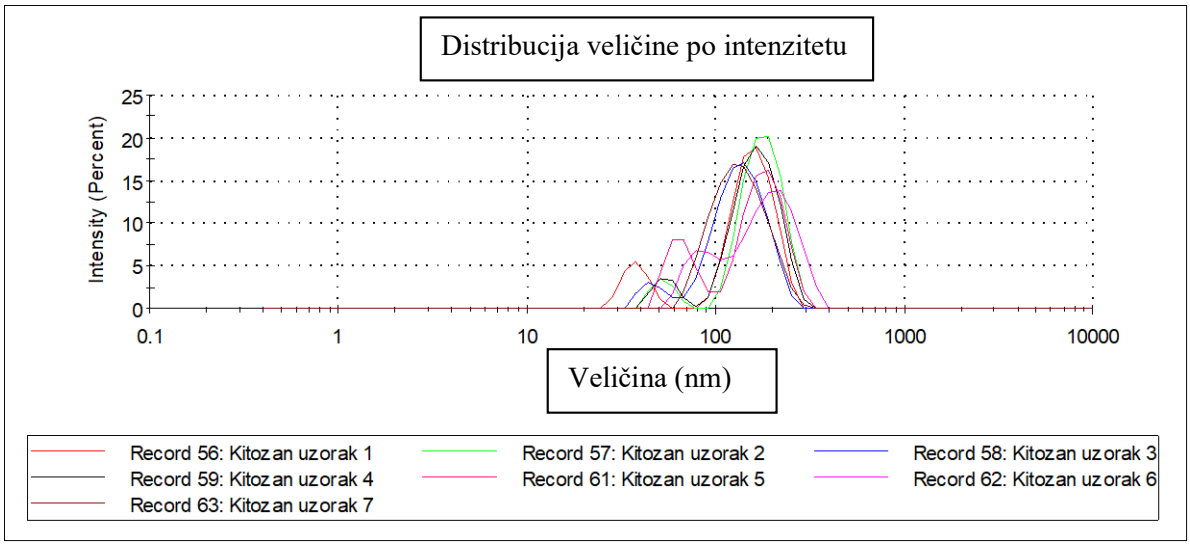


Slika 28. Raspodjela veličine kitozanskih nanočestica (udio kitozana 0,15%) po broju

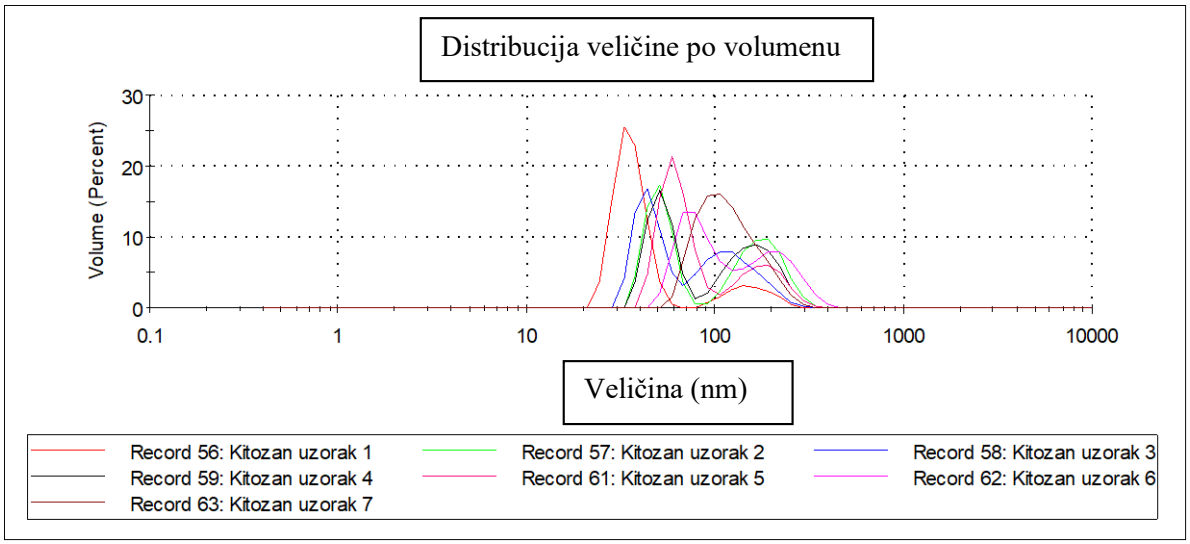
Za uzorak najmanje i najveće koncentracije tenzida razlika u veličini nanočestica je oko 4 nm. Svih šest uzoraka su jako slične veličine kao što se može i vidjeti na slikama od 26. do 28. Stoga iz ove serije uzoraka nije moguće zaključiti o povezanosti veličine kitozanskih nanočestica u ovisnosti o koncentraciji tenzida. Kitozan je zbog svoje strukture izuzetno stabilan polimer, stoga ga kao takvog nije bilo moguće otopiti više od 0,15%. Zbog male koncentracije kitozana, nanočestice su polidisperzne, malih veličina i ne ovise o promjeni u koncentraciji tenzida.

U drugoj seriji uzoraka sastav vodene faze ostaje isti, koncentracija polisorbata 20 varira od $1 \cdot 10^{-4}$ moldm^{-3} do $5 \cdot 10^{-3}$ moldm^{-3} no maseni udio kitozana organske faze je povećan na

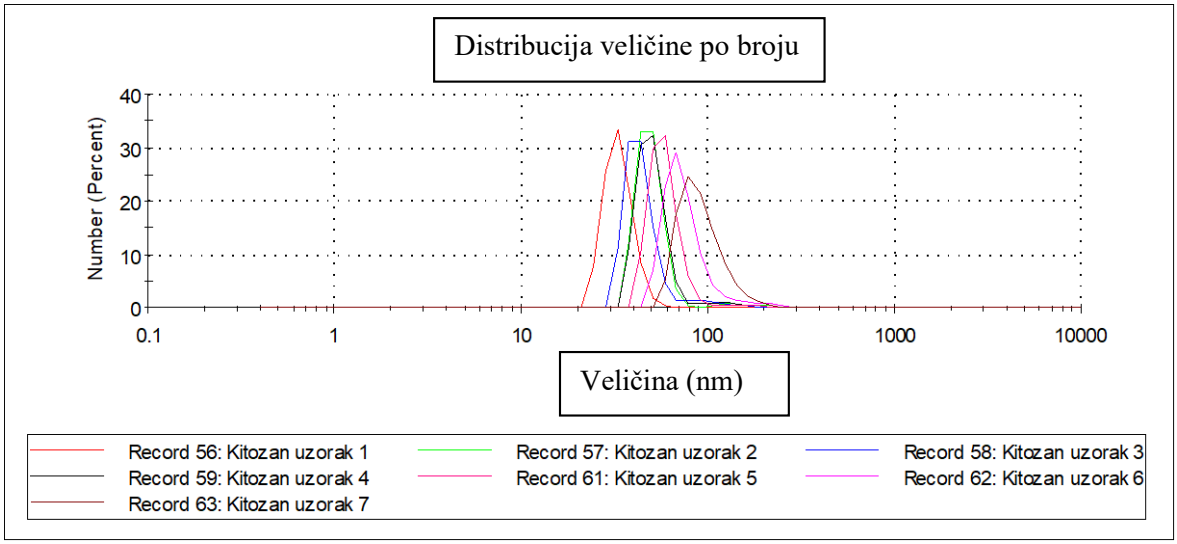
0,44%. Topivost kitozana je povećana postupkom deacetilacije. Dobivene su kitozanske nanočestice raspodjele veličine od 32,67 nm do 78,82 nm. PDI ove serije uzoraka iznosi 0,171 gotovo trostruko manji od prethodne serije. Na slici 29. je prikazana distribucija veličine po intenzitetu gdje se mogu uočiti frakcije veličina kitozanskih nanočestica, no ipak uža distribucija veličine nego prethodne serije. Slike 30. i 31. prikazuju distribucije veličine po volumenu i broju.



Slika 29. Raspodjela veličine kitozanskih nanočestica (udio kitozana 0,44%) po intenzitetu



Slika 30. Raspodjela veličine kitozanskih nanočestica (udio kitozana 0,44%) po volumenu



Slika 31. Raspodjela veličine kitozanskih nanočestica (udio kitozana 0,44%) po broju

U tablici 12. su prikazani rezultati mjerenja veličine kitozanskih nanočestica u ovisnosti o promjeni koncentracije neionskog tenzida polisorbata 20. Najveća veličina čestica iznosi 78,82 nm uz maksimalnu koncentraciju tenzida $5 \cdot 10^{-3}$ moldm^{-3}.

Tablica 12. Rezultati DLS mjerenja veličine kitozanskih nanočestica u ovisnosti o koncentraciji polisorbata 20

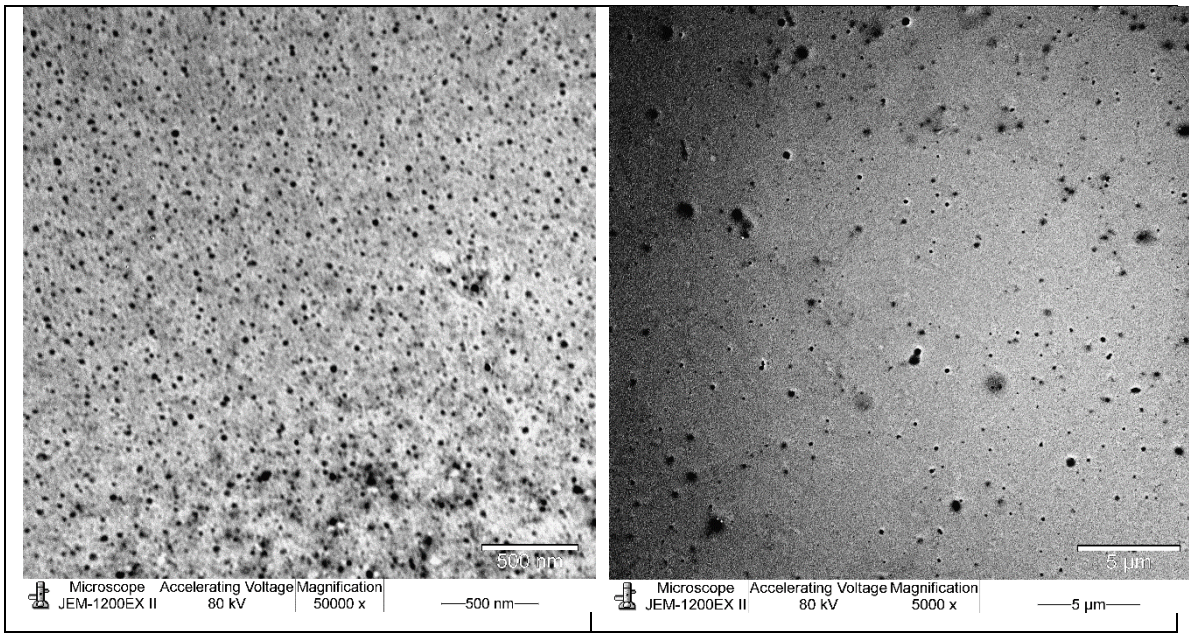
Oznaka	***c* (polisorbat 20)(moldm^{-3})**	**Veličina(nm)**
1	$1 \cdot 10^{-4}$	32,67
2	$2 \cdot 10^{-4}$	43,82
3	$4 \cdot 10^{-4}$	43,82
4	$6 \cdot 10^{-4}$	50,75
5	$8 \cdot 10^{-4}$	58,77
6	$1 \cdot 10^{-3}$	68,06
7	$5 \cdot 10^{-3}$	78,82

Povećanjem koncentracije tenzida nastaju veće kitozanske čestice. Metoda se bazira na topivosti kitozana u organskom otapalu. Usporedbom dvije serije uzoraka može se vidjeti da je povećanje masenog udjela kitozana s 0,15% na 0,44% bilo ključno za smanjenje PDI vrijednosti i za nastanak većih čestica. Vodena otopina sadrži lecitin koji služi kao

stabilizator i tenzid koji je emulgirajući agens za nastanak emulzije ulje u vodi. S obzirom da čestice nastaju iz kapljica emulzije nakon što se ukloni otapalo, njihova veličina je direktno povezana s veličinom kapljica i njihovom stabilnošću. Povećavanje koncentracije polisorbata 20 uzrokuje veće kapljice emulzije, koje se postupno izdvoje kao čvrste kitozanske nanočestice.

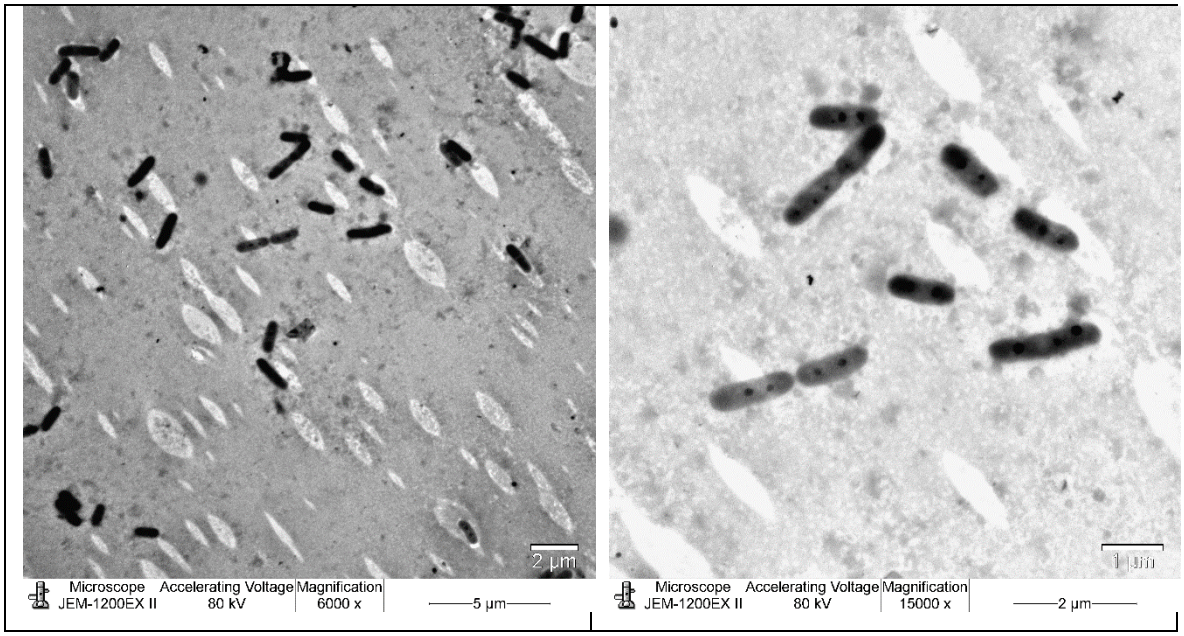
4.3.2. TEM karakterizacija površine i morfologije kitozanskih nanočestica

Površina i morfologija je karakterizirana TEM mjerenjem, koje je potvrdilo veličine čestica dobivene DLS mjerenjem. Na slici 32. se nalaze kitozanske nanočestice pripravljene iz emulzije isparavanjem otapala s masenim udjelom 0,15% kitozana.



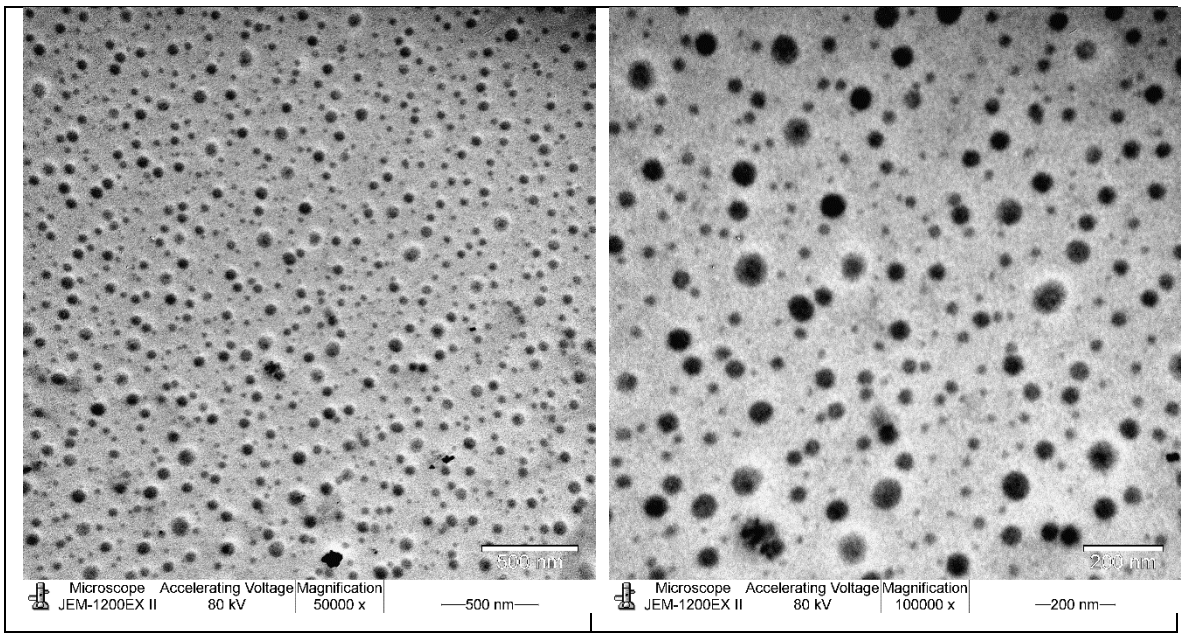
Slika 32. TEM slike kitozanskih nanočestica prosječne veličine 28 nm (lijevo) i 32 nm (desno) pripravljene metodom iz emulzije isparavanjem otapala s masenim udjelom kitozana organske faze 0,15%

Na slici 32. s lijeve strane se nalaze čestice prosječne veličine 28nm, a s desne strane prosječna veličina iznosi 32 nm. Može se vidjeti da je oblik čestica relativno sferan, s nekoliko čestica nepravilnog oblika. Također se vidi da su uzorci polidisperzni odnosno distribucija veličina je široka. Na slici 33. su prikazane kitozanske nanočestice prekrivene štapićastim bakterijama.



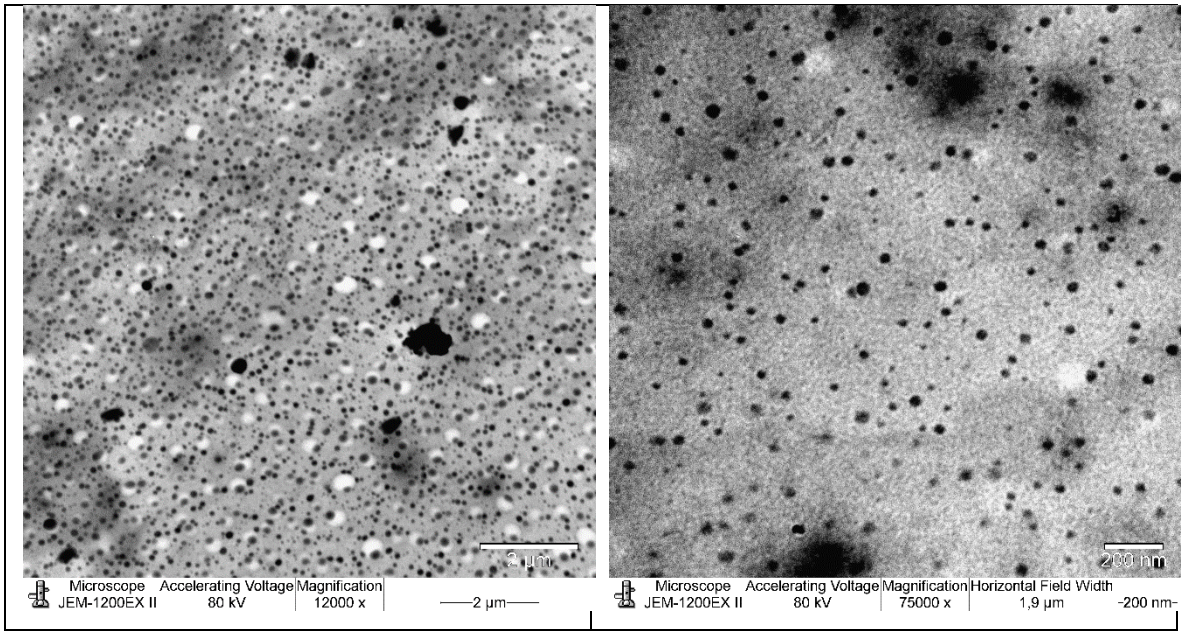
Slika 33. TEM slike bakterija u uzorku kitozanskih nanočestica

Bakterije su slučajnom pogrješkom dospjele u uzorke čestica i zamijećene tijekom snimanja uzorka TEM-om. Snimka može biti dokaz biorazgradivosti kitozanskih nanočestica. Na slici 34. se nalazi snimka kitozanskih nanočestica pripravljene iz emulzije isparavanjem otapala veličine 32 nm masenog udjela kitozana 0,44%.

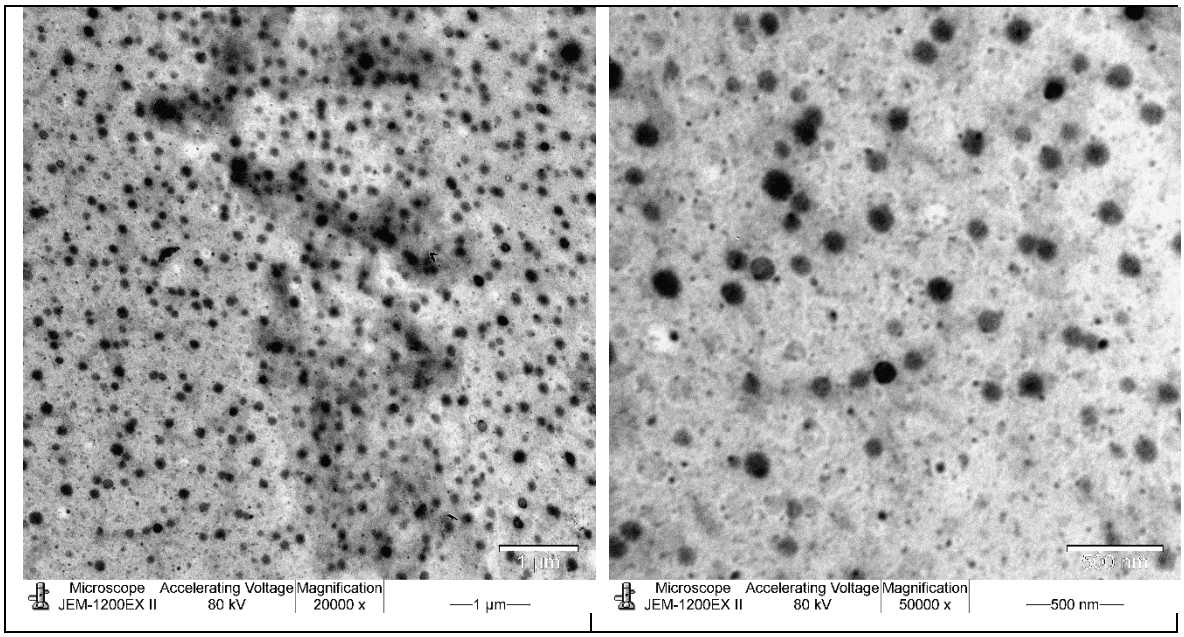


Slika 34. TEM slike kitozanskih nanočestica prosječne veličine 32 nm pripravljene metodom iz emulzije isparavanjem otapala s masenim udjelom kitozana organske faze 0,44%

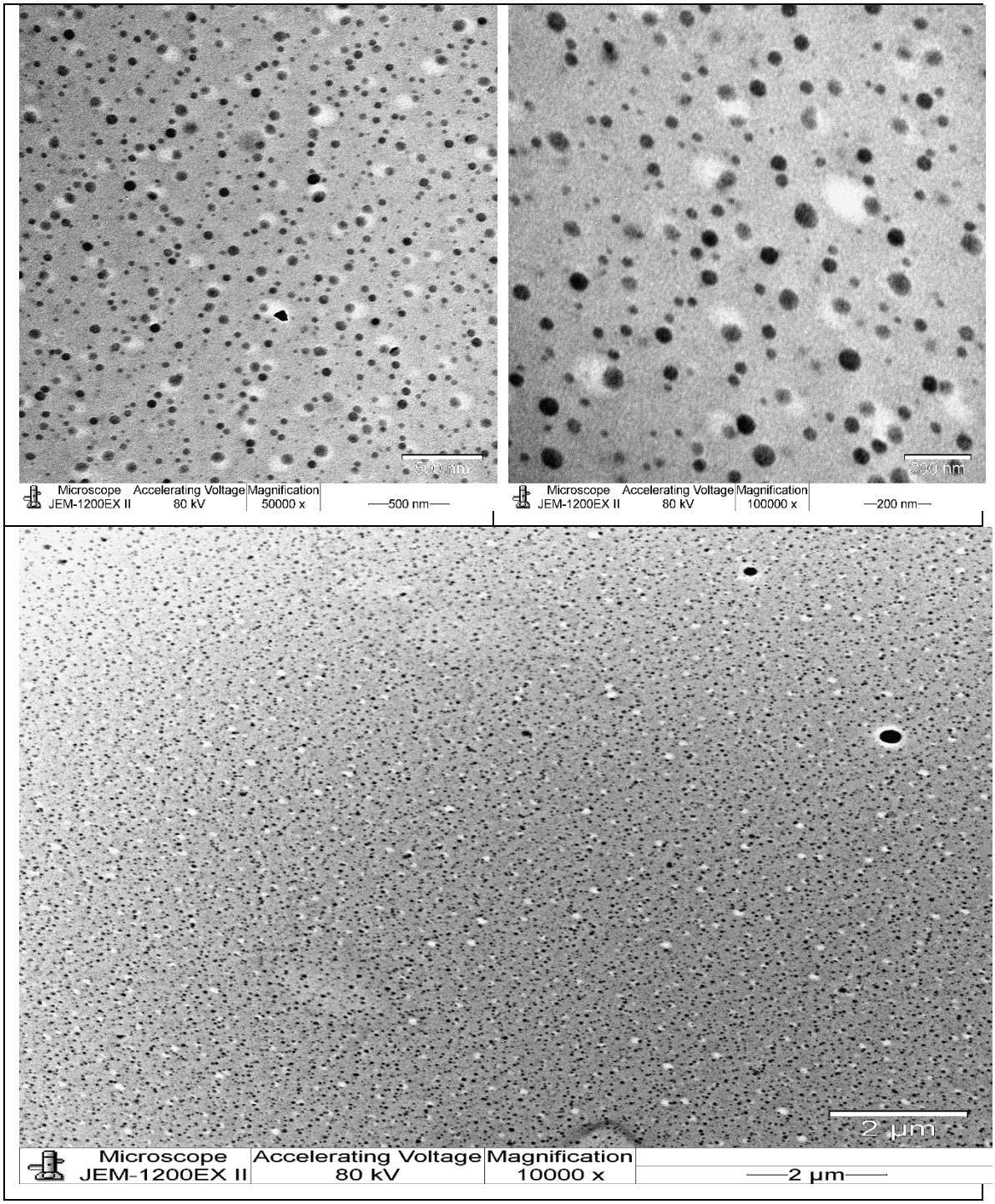
Na slici se može vidjeti da uzorak nije monodisperzan, no sadrži manje čestica nepravilnog oblika nego prethodna serija uzoraka. TEM snimkama na slikama 35.,36.,37., su također potvrđene prosječne veličine dobivene DLS mjerenjem koje iznose 43 nm, 68 nm, 78 nm.



Slika 35. TEM slike kitozanskih nanočestica prosječne veličine 43 nm pripravljene metodom iz emulzije isparavanja otapala s masenim udjelom kitozana organske faze 0,44%



Slika 36. TEM slike kitozanskih nanočestica prosječne veličine 68 nm pripravljene metodom iz emulzije isparavanja otapala s masenim udjelom kitozana organske faze 0,44%

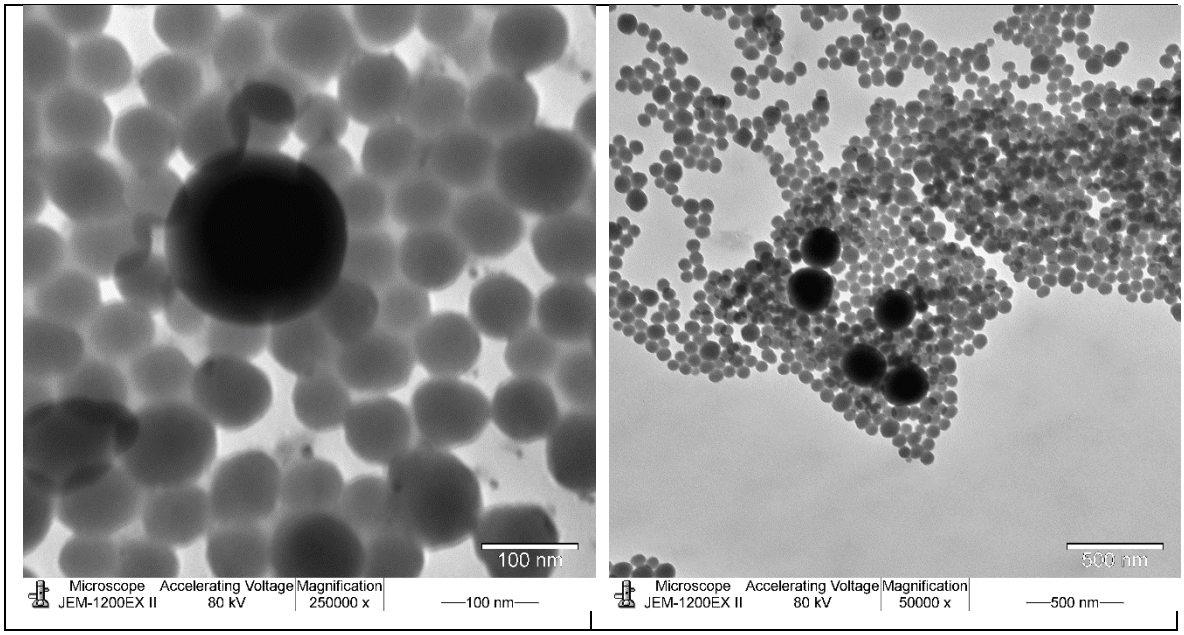


Slika 37. TEM slike kitozanskih nanočestica prosječne veličine 78 nm pripravljene metodom iz emulzije isparavanja otapala s masenim udjelom kitozana organske faze 0,44%

Kitozanske nanočestice dobivene iz emulzije isparavanjem otapala su većinom sfernom oblika, sa širokom distribucijom veličine. Distribucija veličine bi bila uža da su se iz uzoraka izolirale čestice određene veličine, primjerice centrifugiranjem ili filtracijom.

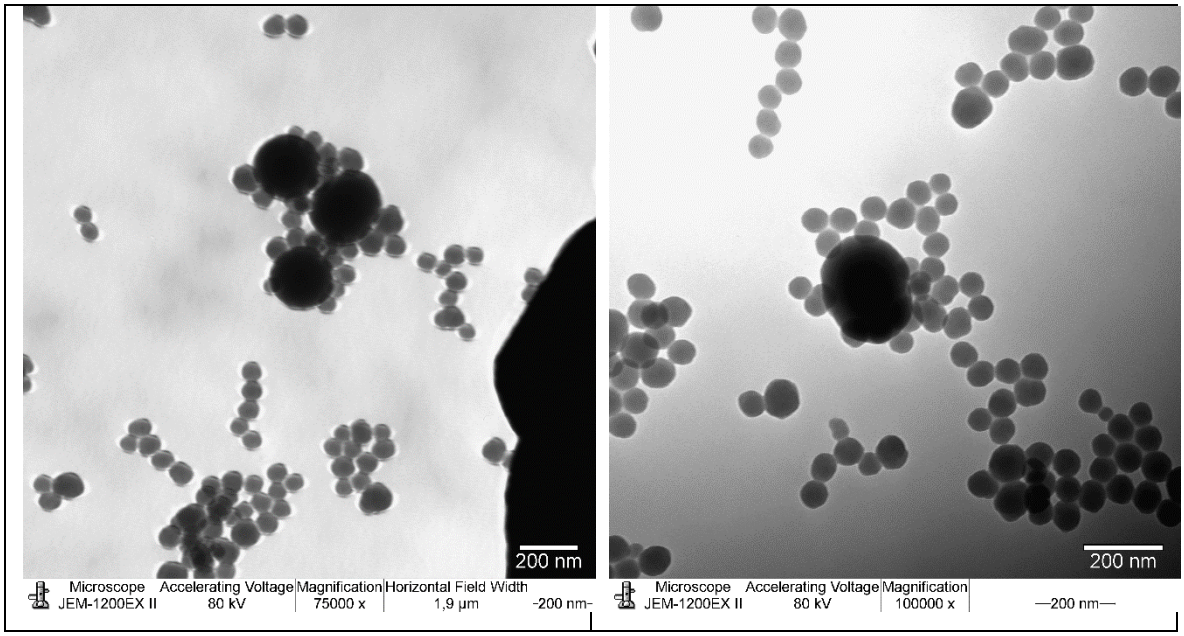
4.4. TEM karakterizacija površine i morfologije kontrolirane agregacije

Planirana kontrolirana agregacija je zamišljena kao uređeni sustav u kojem se nalazi centralna negativno nabijena čestica (Si-COOH) i monosloj sekundarnih pozitivno nabijenih čestica (Si-NH_2). Na slici 38. se nalazi sustav sastavljen od 50 μL 200 nm silikatnih čestica modificiranih karboksilnom skupinom i 500 μL 100 nm amino modificiranih silikatnih čestica.



Slika 38. TEM slika uzorka broj 1.

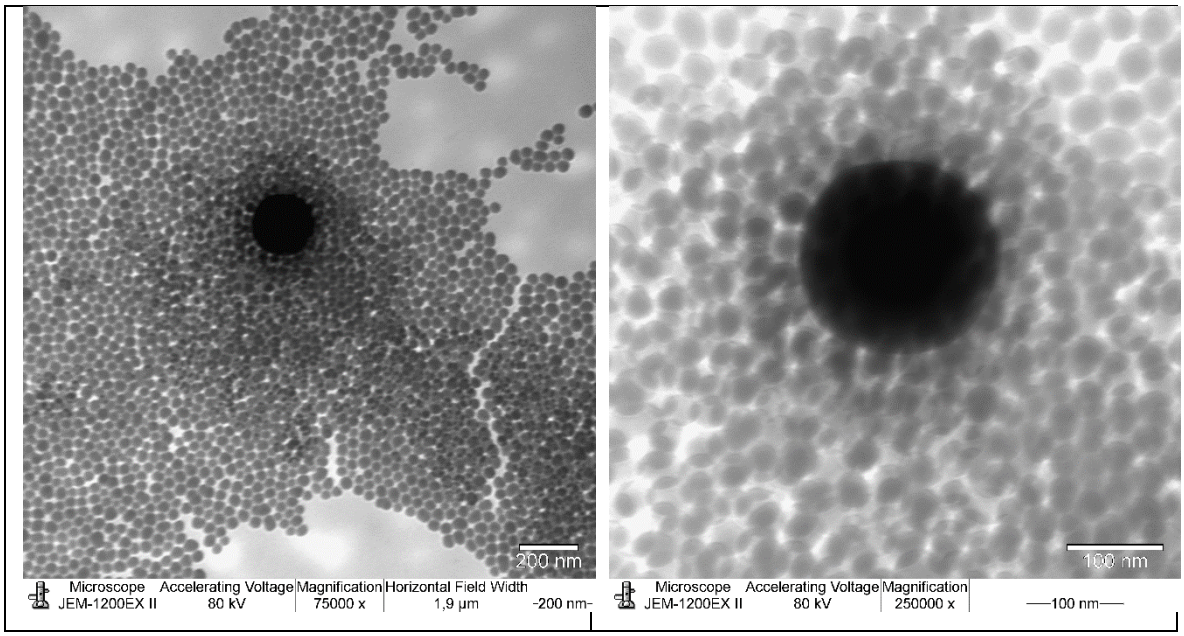
Može se vidjeti da se sekundarne čestice agregiraju oko centralne čestice i da tvore potpunu pokrivenost, no nije nastao monosloj čestica. Osim privlačenja pozitivnih i negativnih čestica dolazi i do agregiranja čestica istog naboja. Na slici 39. se nalazi sustav sastavljen od 50 μL 200 nm silikatnih čestica modificiranih karboksilnom skupinom koja se nalazi u deprotoniranom obliku i 500 μL 100 nm amino modificiranih silikatnih čestica.



Slika 39. TEM slike uzorka broj 2.

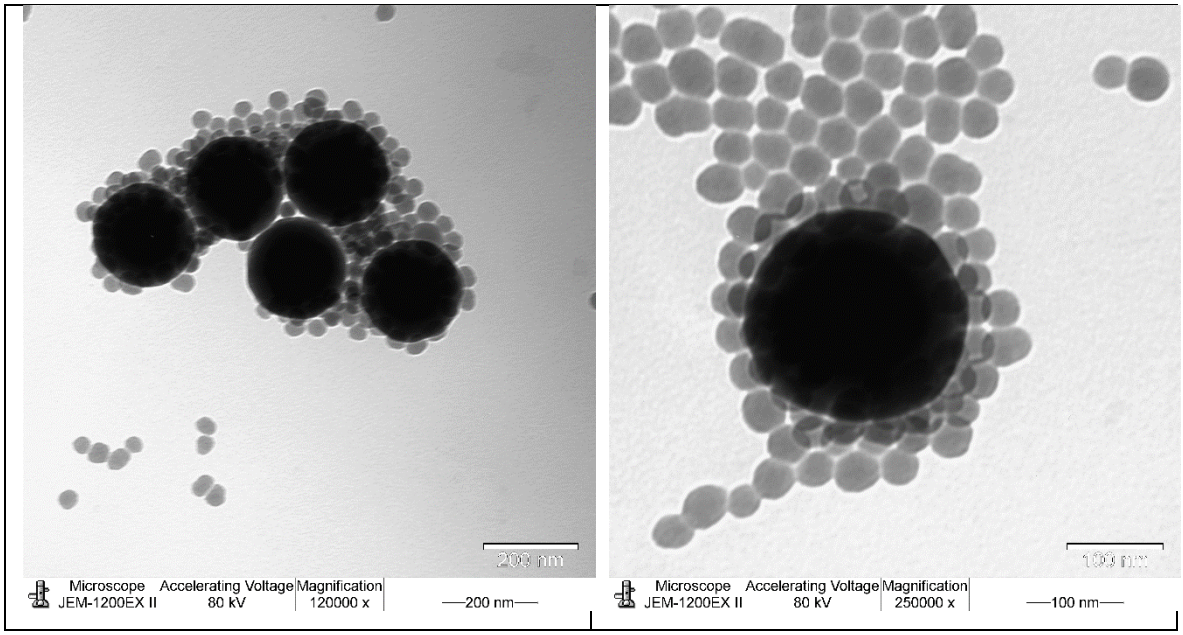
Deprotonacija karboksilne skupine daje izrazito negativan naboj centralne čestice te dolazi do nakupljanja pozitivnih sekundarnih čestica. U manjoj količini se međusobno agregiraju, no nije nastao pravilan monosloj i potpuna pokrivenost.

Na slici 40. se nalazi sustav sastavljen od 25 µL 200 nm silikatnih čestica modificiranih karboksilnom skupinom i 750 µL 50 nm amino modificiranih silikatnih čestica.



Slika 40. TEM slike uzorka broj 3.

Može se vidjeti da dolazi do agregacije isto nabijenih čestica. Na slici 41. se nalazi sustav sastavljen od 25 µL 200 nm silikatnih čestica modificiranih karboksilnom skupinom koja se nalazi u deprotoniranom obliku i 750 µL 50 nm amino modificiranih silikatnih čestica.



Slika 41. TEM slika uzorka broj 4.

U ovom sustavu dolazi do potpune prekrivenosti centralne čestice. Sekundarne čestice su okružile centralnu česticu na način da gotovo formiraju monosloj. Na lijevoj slici 41. se može vidjeti da se centralne čestice međusobno agregiraju. No ovaj uzorak najbliže opisuje planiranu kontroliranu agregaciju. Važni parametri koji se moraju uzeti u obzir osim matematičkog izračuna su zeta potencijal čestica, ionska jakost i pH vrijednost suspenzije. Agregacija isto nabijenih čestica ukazuje na mali zeta potencijal, podešavanjem pH vrijednosti kako bi zeta potencijal bio maksimalan, optimiziralo bi kontroliranu agregaciju na željeni način.

5. METODIČKA OBRADA NASTAVNE CJELINE „GRAĐA ATOMA“

5.1. Uvod u metodičku obradu

Cilj metodičkog dijela ovog diplomskog rada je upoznavanje učenika s osnovnim pojmovima uvoda u kvantnu kemiju. Ova nastavna jedinica je prikazana na srednjoškolskoj razini, gimnazijskog programa.

Tema je obrađena metodom frontalnog rada s obzirom da se učenici po prvi puta susreću s modelima atoma te samom građom atoma. U frontalni rad osim izlaganja je uključeno i prikazivanje video zapisa, te skiciranje na ploči. S obzirom na kompleksnost teme, vrlo važno je pomoći učenicima pri vizualizaciji građe atoma, pobuđivanja atoma i kvantnih stanja. Nakon frontalnog rada učenicima je omogućen rad u paru pri rješavanju radnog listića. Radom u paru učenici zajedno traže odgovore na zadanu problematiku te im je omogućeno interaktivno sudjelovanje u nastavi. Ukoliko sami izvedu zaključke o problematici teme, lakše usvajaju gradivo. Stoga radni listić služi kao alat kojim se može provjeriti količina usvojenog gradiva, te uočiti određeni dijelovi cjeline koje je potrebno dodatno pojasniti. Zbog opsega sadržaja i same tematike ove cjeline nije moguće ukomponirati pokus u nastavni sat.

5.2. Priprema za nastavni sat

NASTAVNI PREDMET:	Kemija
RAZRED:	Prvi
NASTAVNA CJELINA/TEMA:	2. Građa atoma
NASTAVNA JEDINICA:	• Bohrov model atoma • Relativne energije elektrona-ljuske, podljuske i orbitale • Dijagrami energijskih razina
KLJUČNI POJMOVI:	osnovno i pobuđeno stanje atoma, orbitale, ljuske, podljuske, spin, Paulijevo načelo isključenja
KORELACIJA:	fizika: Tijela i tvari
POTREBNA PREDZNANJA:	apsorpcijski i emisijski linijski spektri, svjetlost (frekvencija, valna duljina, dualna priroda), fotoni
OBLIK RADA:	frontalni, individualni, rad u paru
TIP SATA:	obrada novog sadržaja, ponavljanje i uvježbavanje
NASTAVNE METODE:	usmeno izlaganje, prezentacija, razgovor, diskusija
NASTAVNA POMAGALA:	ploča i kreda, računalo s projektorom, knjiga, radna bilježnica

Ishodi nastavne jedinice

Kognitivni:	-navesti osnovna obilježja Bohrovog modela atoma -razlikovati pojmove apsorpcija i emisija -povezati Bohrov model atoma s linijskim spektrima -uočiti razliku između Bohrovog modela atoma i valnomehaničkog -definirati orbitale -uočiti područja najveće gustoće elektrona u atomu -razlikovati ljuske, podljuske i orbitale -razlikovati oblike orbitala -objasniti redoslijed popunjavanja orbitala -primijeniti Paulijevo načelo isključenja na primjeru -definirati spin -povezati spin elektrona s Paulijevim načelom isključenja
Afektivni:	-aktivno se uključiti u razgovor -uvažavati pravila rada -inicirati postavljanje pitanja -poticanje znatiželje i interesa za kemiju kao dijela prirode koji nas okružuje

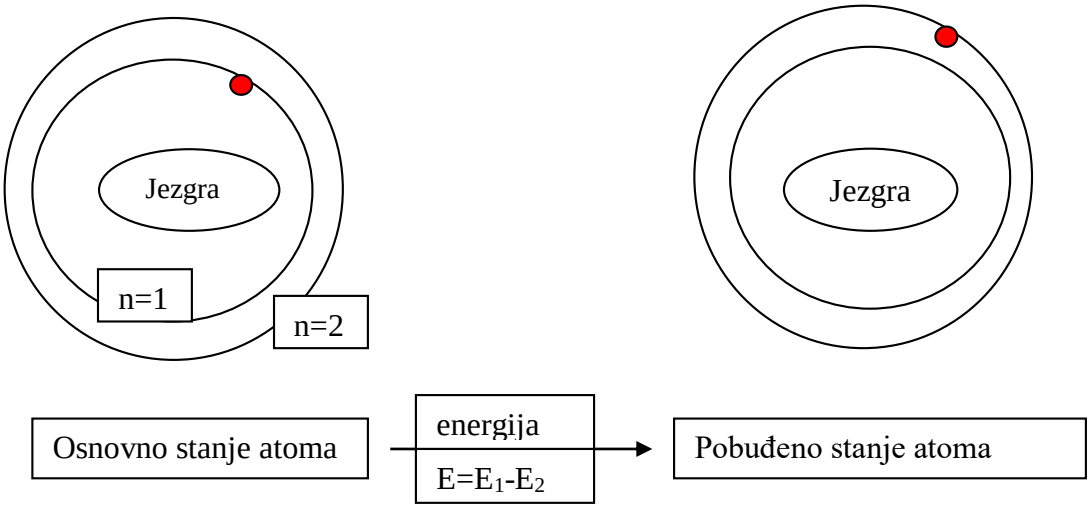
Tijek nastavnog sata

Etape nastavnog sata	**Aktivnosti učitelja**	**Aktivnosti učenika**	**Vrijeme etape**
Uvodni dio	-pozdraviti učenike -motivirati učenike za početak rada -kratko ponavljanje prethodnog gradiva	-priprema materijala za rad -sudjelovanje u uvodnom dijelu usmenim odgovaranjem na pitanja	5 minuta
Središnji dio	-definiranje ključnih obilježja Bohrovog modela atoma -crtanje na ploči prijelaze iz osnovnog stanja atoma u pobuđeno stanje -korelacija Bohrovog modela atoma s linijskim spektrima (puštanje videozapisa) -definiranje ključnih pojmova iz valnomehaničkog modela atoma -povezivanje pojmova ljuska,podljuska i orbitala -razgovor o redoslijedu popunjavanja orbitala te o energijskim principima -definiranje spina i Paulijevog načela isključenja -ponavljanje ključnih pojmova predavanja i njihovo međusobno povezivanje	-aktivno sudjelovanje u razgovoru -bilježenje ključnih pojmova -komentiranje videozapisa -crtanje modela atoma na ploču	30-35 minuta
Završni dio	-omogućiti vrijeme za postavljanje pitanja -zadati zadatke za ponavljanje -zadati domaću zadaću	-postavljanje pitanja u svrhu razjašnjavanja nejasnoća	5-10 minuta

		-rješavanje zadataka za ponavljanje	

Plan ploče

Bohrov model atoma



Valnomehanički model

Elektronska stanja se opisuju ORBITALAMA→vjerojatnost nalaženja elektrona u prostoru oko jezgre

LJUSKA(diskretna energijska razina (1-7))→ svaka ljuska se sastoji od PODLJUSAKA (*s,p,d,f*)→ORBITALA→oblikom daju mapu elektronske gustoće

Dijagrami energijskih razina

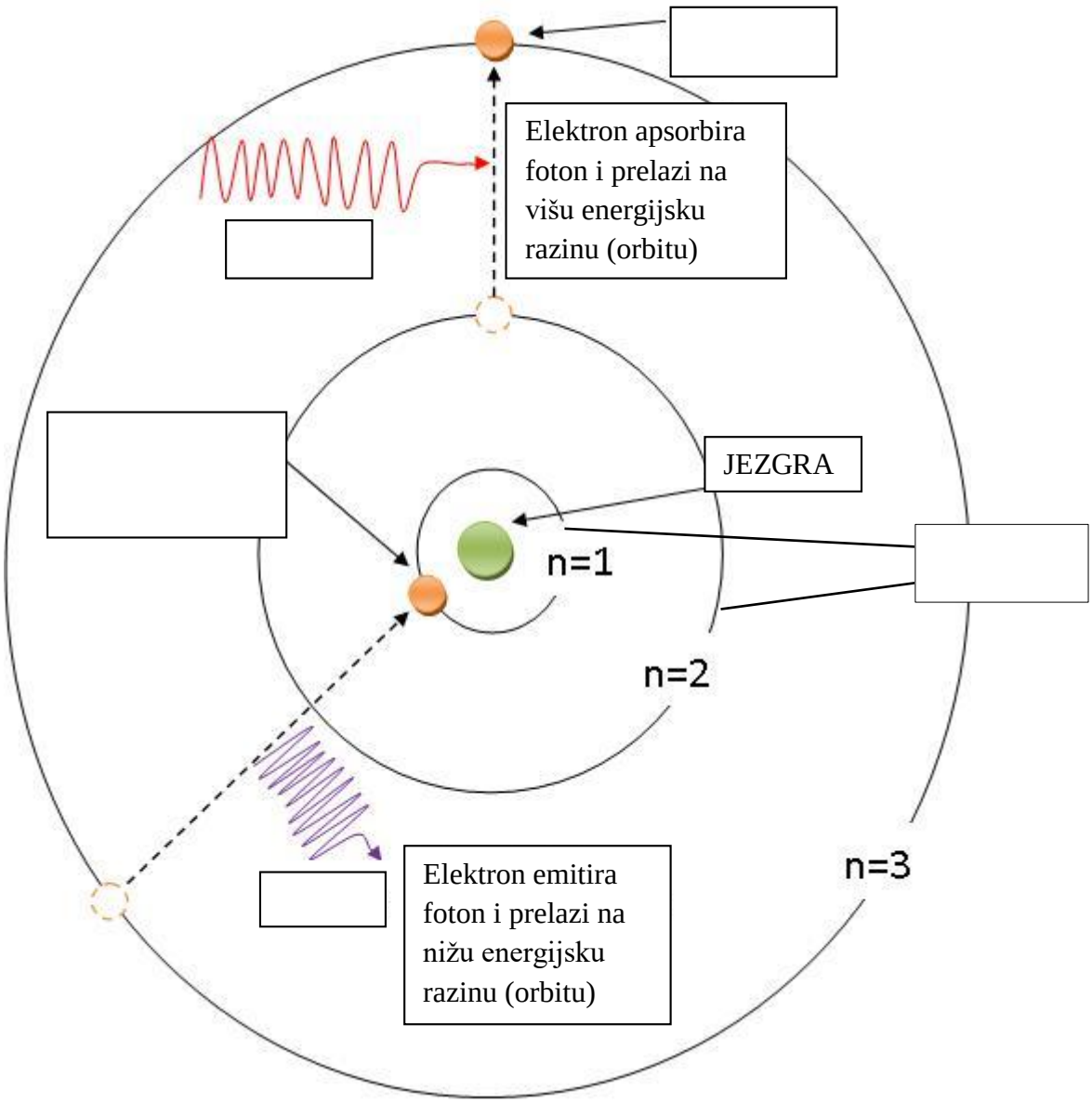
-elektroni prvo popunjavaju najniže energijske razine *s*→*p*→*d*→*f*

SPIN- vrtnja elektrona oko svoje osi

Paulijevo načelo isključenja- elektroni koji se nalaze u istoj orbitali imaju suprotne spinove

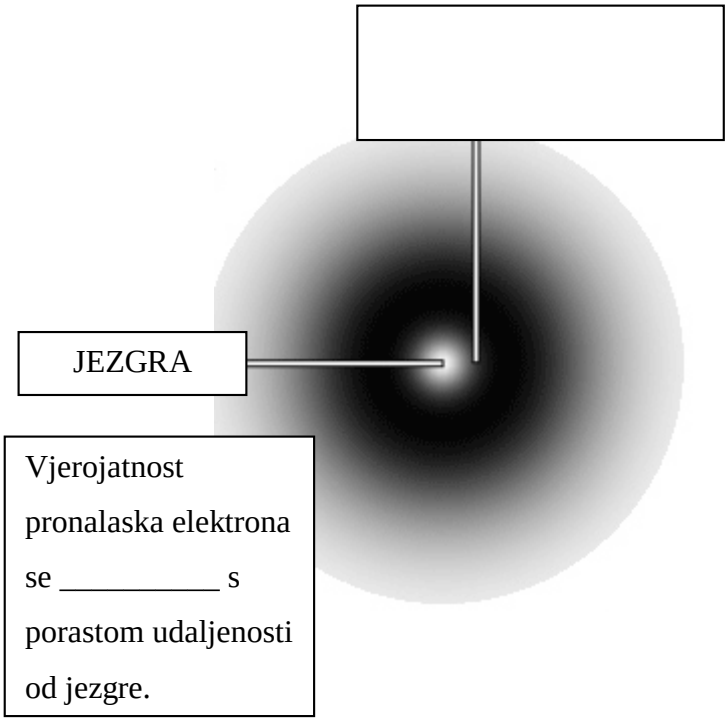
IZVORI ZA PRIPREMANJE UČENIKA:	1. Zora Popović, Ljiljana Kovačević, Kemija 1, udžbenik iz kemije za prvi razred gimnazije, ALFA d.d Zagreb, 2014. 2. Gordana Pavlović, Kemija 1, zbirka zadataka iz kemije za prvi razred gimnazije, ALFA d.d, Zagreb, 2014.
PRILAGODBA SADRŽAJA UČENICIMA S POSEBNIM ODGOJNO-OBRAZOVNIM POTREBAMA :	Učenicima podijeliti napisani plan ploče kako bi mogli pratiti tok predavanja
DODATNI MATERIJALI:	Radni listić za ponavljanje

5.3. Primjer radnog listića



Kako bi elektron prešao iz osnovnog stanja atoma u pobuđeno stanje mora apsorbirati _____u obliku _____, koja je jednaka _____, te se matematički može zapisati _____.

Prikazani model atoma naziva se _____.



Prema valnomehaničkom modelu atoma elektronska stanja (energija ili udaljenost elektrona) se opisuje pomoću _____, koje predstavljaju _____.

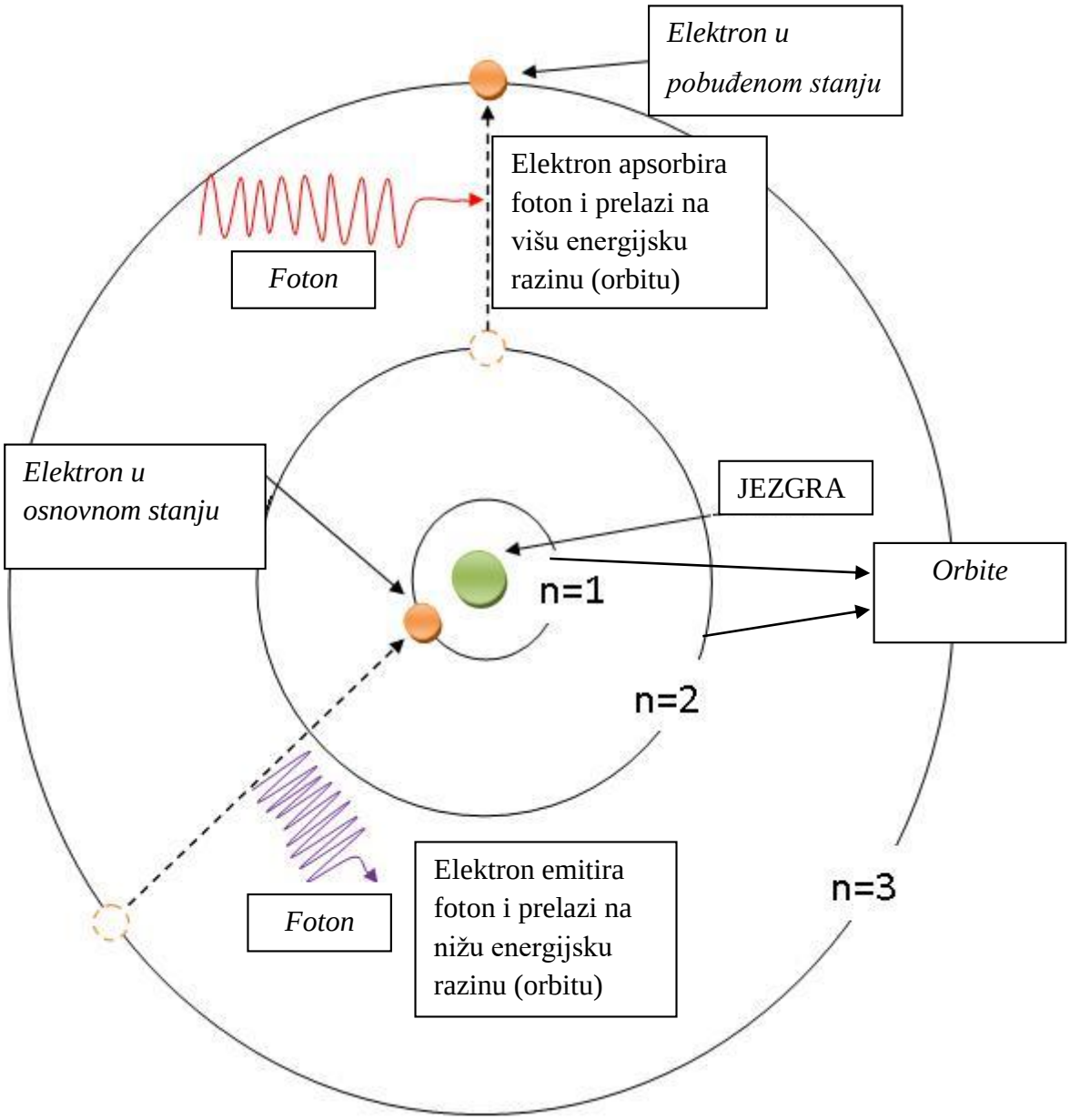
Znanstvenici koji su razvili valnomehanički model atoma su : _____ i _____.

ATOM → glavne energijske razine ili _____, sastoje se od _____ili _____, koje se označavaju slovima _,_,_,_.

Slovom *K* se označava _ ljuska, koja se sastoji od _ podljuske, koja sadrži _ orbitalu, koja može imati najviše _ elektrona.

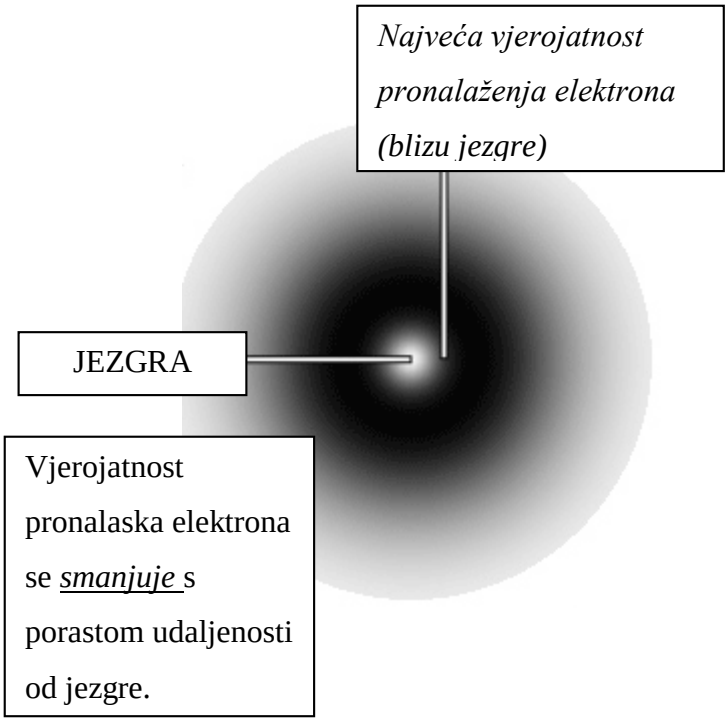
Slovom *M* se označava _ ljuska, koja se sastoji od _ podljuske, koja sadrži _ orbitala, koje ukupno mogu imati najviše _ elektrona.

5.4. Rješenja radnog listića



Kako bi elektron prešao iz osnovnog stanja atoma u pobuđeno stanje mora apsorbirati *energiju* u obliku *fotona*, koja je jednaka *razlici energije dvaju energijskih razina*, te se matematički može zapisati $h\upsilon = E_1 - E_2$.

Prikazani model atoma naziva se *Bohrov model atoma*.



Prema valnomehaničkom modelu atoma elektronska stanja (energija ili udaljenost elektrona) se opisuje pomoću *orbitala*, koje predstavljaju *vjerojatnost pronalaženja elektrona u prostoru oko jezgre.*

Znanstvenici koji su razvili valnomehanički model atoma su : *Louis Victor de Broglie i*

Ervin Schrödinger.

ATOM → glavne energijske razine ili *ljuske*, sastoje se od *podrazina* ili *podljuski*, koje se označavaju slovima *s,p,d,f.*

Slovom *K* se označava *1* ljuska, koja se sastoji od *1* podljuske, koja sadrži *1* orbitalu, koja može imati najviše *2* elektrona.

Slovom *M* se označava *3* ljuska, koja se sastoji od *3* podljuske, koja sadrži *9* orbitala, koje ukupno mogu imati najviše *18*elektrona.

6. ZAKLJUČAK

Stöberovom sintezom nastaju pravilne, sferne i monodisperzne silikatne čestice. Povećavanjem koncentracije amonijaka raste i veličina čestica. Sinteza je relativno jednostavna i brza, no u obzir se moraju uzeti različiti parametri poput vlažnosti i temperature zraka, čistoće laboratorija pa čak i utjecaj cvjetanja i peludi. Silikatne čestice zbog svojih aktivnih silanolnih skupina na površini su spremne za kemijske modifikacije. Funkcionalizacija površine silikatnih čestica skupinama poput aminopropilne i karboksilne omogućuje još širi spektar primjene. Dodavanje naboja površini predstavlja osnovu na kojoj se temelji samouređenje čestica odnosno kontrolirana agregacija s uzorkom od centralne čestice i savršene prekrivenosti suprotno nabijenih čestica. Kontrolom površinskog naboja, pH suspenzije, zeta potencijala i matematičkim izračunom moguće je potaknuti samouređenje odnosno kontrolirano agregirati čestice, s centralnom u sredini, te dobiti savršenu prekrivenost sekundarnim suprotno nabijenim česticama. Ovakva kontrolirana agregacija predstavlja temelj za kontrolu kinetike oslobađanja lijekova, na način da se kontrolira difuzijski procjep veličinom sekundarnih nanočestica. Kitozanske nanočestice su izuzetno biokompatibilne i ne izazivaju imunološke reakcije u kontaktu sa stanicama, tkivima i organima stoga su idealna osnova za kontrolu oslobađanja lijekova.

LITERATURNI IZVORI

[1] M.H.Fulekar, Nanotechnology: Importance and Applications, I.K. International Publishing House Pvt.Ltd., New Delhi, 2010.

[2] L.Gasman, Nanotechnology Applications and Markets, ARTECH HOUSE, Norwood, 2006.

[3] V.K.Varadan, Nanoscience and Nanotechnology in Engineering, World Scientific, 2010.

[4] J.J.Ramsden, Nanotechnology An introduction, Elsevier, 2011.

[5] K.K.Jain, The Handbook of Nanomedicine, Humana Press, Switzerland, 2008.

[6] D.Kane et al., Nanomaterials Science and Applications, PAN STANFORD PUBLISHING, 2016.

[7] R.Nagarajan, T.A.Hatton, Synthesis, Stabilization, Passivation and Functionalization, American Chemical Society, Washington DC, 2008.

[8] Y.Gogotsi, Nanomaterials Handbook, Taylor&Francis Group, Boca Raton, 2006.

[9] H.E.Bergna, W.O.Roberts, Colloidal Silica Fundamentals and Applications, Taylor&Francis, Boca Raton, 2006.

[10] S.K.Kulkarni, Nanotechnology: Principles and Practices, Springer, 2015.

[11] T.Sugimoto, FINE PARTICLES Synthesis,Characterization,and Mechanisms of Growth, Marcel Dekker, Inc.,New York, 2000.

[12] H.Giesche, Synthesis of Monodispersed Silica Powders, Journal of European Ceramic Society 14 (1994), 189-204

[13] I.A.Karpov, E.N.Samarov, V.M.Masalov, S.I.Bozhko, G.A.Emelchenko, The Intrinsic Structure of Spherical Particles of Opal, Physics of the Solid State 47 (2005), 347-351

[14] V.M.Masalov, N.S.Sukhinina, E.A. Kudrenko, G.A.Emelchenko, Mehanism of formation and nanostructure of Stober silica particles, Nanotechnology 22 (2011)

[15] S.Kim, CHITIN and CHITOSAN DERIVATIVES, Advances in Drug Discovery and Developments, CRC Press, Boca Raton, 2014.

[16] J.A.Jennings, J.D.Bumgardner, Chitosan Based Biomaterials, ELSEVIER, 2017.

[17] A.Lamprecht, NANOTHERAPEUTICS Drug Delivery Concepts in Nanoscience, PAN STANFORD PUBLISHING, Singapur, 2009.

[18] C. Pinto Reis, R.J.Neufeld, A.J.Ribeiro, F.Veiga, Nanoecapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2 (2006), 8-21

[19] S.Bhatia, Natural Polymer Drug Delivery Systems Nanoparticles, Plants and Algae, Springer, Switzerland, 2016

[20] A.Gremha, Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods, Journal of Drug Targeting 20 (2012), 291-300

[21] W.Schartl, Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions, Springer, Berlin, 2007

[22] www.atascientific.com.au(15.9.2017.)

[23] G.Gauglitz, T.Vo-Dinh, Handbook of Spectroscopy, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA, Weinheim, 2003

[24] R.F.Egerton, Physical Principles of Electron Microscopy, An Introduction to TEM, SEM and AEM, Springer, Switzerland, 2016

[25] https://www.britannica.com/technology/transmission-electron-microscope(15.9.2017.)

[26] http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/py/c2py00610c/unauth#!divAbstract (15.9.2017.)

[27] http://www.chemspider.com/(15.9.2017.)

[28] W.Stöber, A.Fink, Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range, Journal of Colloid and Interface Science 26 (1968), 62-69

ŽIVOTOPIS

OSOBNE INFORMACIJE	Šafarik Tatjana
	Kolodvorska 6.b, 31000 Sarvaš (Hrvatska) (+385)996571280 tatjana.safarik@gmail.com

RADNO ISKUSTVO

01/12/2017–16/02/2018 — Asistent u nastavi OŠ Sarvaš

Grad Osijek

- pomaganje tijekom nastave djetetu s hiperaktivnim poremećajem
- unapređenje djetetovih intelektualnih i socijalnih vještina

01/12/2016–22/02/2018 — Administrativni poslovi info pulta TC Portanova

Amplitudo D.D. Osijek, Osijek (Hrvatska)

- odgovaranje na upite posjetitelja
- rješavanje problema i poteškoća
- administrativni poslovi
- briga o vizualima i plakatima centra
- komunikacija s ostalim zaposlenicima i prenošenje obavijesti

20/12/2015–01/02/2017 — Promocija kozmetičkih proizvoda u dm poslovnicama

Lion Consulting d.o.o., Zagreb (Hrvatska)

01/06/2015–01/10/2015 — Administrativni poslovi i teleprodaja

Transcom Tele2, Osijek (Hrvatska)

2016 Studentska pravobraniteljica Odjela za kemiju

Odjel za kemiju, Osijek (Hrvatska)

- volonterski posao

2014 Studentska pravobraniteljica Odjela za kemiju

Odjel za kemiju, Osijek (Hrvatska)

- volonterski posao

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

02/10/2015–danas Diplomski studij kemije

Sveučilište J.J.Strossmayera Odjel za kemiju, Osijek (Hrvatska)

20/07/2012–02/10/2015 Prvostupnica kemije

Sveučilište J.J.Strossmayera Odjel za kemiju, Osijek (Hrvatska)

- fundamentalna znanja glavnih polja kemije
- vještine za samostalno učenje i sklonost istraživačkom radu
- komunikacijske i prezentacijske vještine
- laboratorijske vještine

01/09/2011–01/09/2015

Prva gimnazija Osijek, Osijek (Hrvatska)

OSOBNE VJEŠTINE

-Komunikacijske vještine sam stekla radom preko student servisa u telekomunikacijskim tvrtkama i prilikom promocije kozmetičkih proizvoda

- Sudjelovala sam u organizaciji Festivala znanosti 2015. i 2017. godine,
radila sam demonstracijske pokuse sa skupinama učenika različitih uzrasta

- Sudjelovala sam u organizaciji radionica na skupu prirodoslovno -
matematičkih fakulteta gdje sam održavala demonstracijske pokuse studentima

Priznanja i nagrade

- Rektorova nagrada za akademsku godinu 2015./2016.
- Pročelnikova nagrada za najboljeg studenta 3. godine preddiplomskog studija kemije za akademsku godinu 2014./2015.
- Pročelnikova nagrada za najboljeg studenta 1. godine diplomskog sveučilišnog studija kemije za akademsku godinu 2015./2016.
- Pročelnikova nagrada za najboljeg studenta 2. godine diplomskog sveučilišnog studija kemije za akademsku godinu 2016./2017.