Sinteza i površinska modifikacija superparamgnetnih nanočestica u protočnom mikrofluidičkom reaktoru

Živković, Pavo

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:182:291142

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

Pavo Živković

Sinteza i površinska modifikacija superparamagnetnih nanočestica u protočnom mikrofluidičkom reaktoru

Diplomski rad

Osijek, 2018.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski studij kemije

Pavo Živković

Sinteza i površinska modifikacija superparamagnetnih nanočestica u protočnom mikrofluidičkom reaktoru

Diplomski rad

Mentor: doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Komentor: doc. dr.sc. Olivera Galović

Osijek, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA Diplomski rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij kemija; istraživački smjer

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Sinteza i površinska modifikacija superparamagnetnih nanočestica u mikrofluidičkom protočnom reaktoru

Pavo Živković

Rad je izrađen na: Odjelu za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Farmaceutskom fakultetu u Pečuhu

Mentor: doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Komentor: doc. dr. sc. Olivera Galović

Sažetak: Nanočestice magnetita sintetizirane su koprecipitacijom iz otopine koja sadrži fero i feri ione otopinom natrijeva hidroksida u mikrofluidičkom reaktoru. Površina nanočestica magnetita modificirana je lizinom. Uvjeti sinteza su sistematski mijenjani kako bi se provjerio njihov utjecaj na veličinu nastalih nanočestica. Veličina nastalih nanočestica kontrolirana je promjenom početnih uvjeta, ukupnom brzinom protoka i omjerom brzine bočnih i srednjeg kanala. Povećanjem ukupne brzine protoka s 3 na 7,5 μL/s veličina nanočestica se smanjila s 8,59 na 4,22 nm, a povećanjem omjera brzine bočnih i srednjeg kanala s 1,5 na 4 veličina nanočestica se povećala sa 4,23 na 7,2 nm. Nastale nanočestice karakterizirane su IR spektrofotometrijom s Fourierovom transformacijom kako bi se dokazala površinska modifikacije te transmisijskom elektronskom mikroskopijom kojom smo odredili veličinu nastalih nanočestica.

Diplomski rad obuhvaća: 64 stranice, 32 sliku, 5 tablica i 66 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: magnetit, nanočestice, mikrofluidički reaktor

Rad prihvaćen: 10. srpnja 2018.

Stručno povjerenstvo za ocjenu:

1. doc. dr. sc. Tomislav Balić, predsjednik
2. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji, mentor i član
3. doc. dr. sc. Olivera Galović, članica
4. izv. prof. dr. sc. Berislav Marković, zamjena člana

Rad je pohranjen: *Knjižnica Odjela za kemiju, Ulica cara Hadrijana 8/A, Osijek*

BASIC DOCUMENTATION CARD Diploma Thesis

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Department of Chemistry

Graduate Study Chemistry; Research Study

Scientific Area: Natural Sciences

Scientific field: Chemistry

Synthesis and surface modification of superparamagnetic nanoparticles in microfluidic flow reactor

Pavo Živković

Thesis completed at: Department of Chemistry, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Supervisor: doc. Dr. sc. Aleksandar Sečenji

Co – Supervisor: doc. Dr. sc. Olivera Galović

Abstract: Magnetite nanoparticles are synthesized using co-precipitation method from solution containing ferrous and ferric ions with solution of sodium hydroxide in microfluidic reactor. Surface of magnetite nanoparticles is modified with lysine. Synthesis parameters are systematically changed to make sure which of them and how affect the size of obtained nanoparticles. Particle size has been controlled through adjustment of initial parameters, total flow rate and ratio of flow rates of side and main channel. Increasing total flow rate from 3 to 7,5 μL/s, size of nanoparticles is reduced from 8,59 to 4,22 nm. Increasing ratio of flow rates of side and main channel from 1,5 to 4 resulted in increasing nanoparticles size from 4,23 to 7,2 nm. Obtained nanoparticles are characterized with IR spectrophotometry to confirm surface modification and with transmission electron microscopy with which size of obtained nanoparticles is determined.

Thesis includes: 64 pages, 32 pictures, 5 tables and 66 references

Original in: Croatian

Key words: magnetite, nanoparticles, microfluidic reactor

Thesis accepted:

Reviewers:

1. Tomislav Balić, Ph. D., assistant prof., president
2. Aleksandar Sečenji, Ph. D., assistant prof., mentor and member
3. Olivera Galović, Ph. D., assistant prof., member
4. Berislav Marković, Assoc. Prof., alternate member

Thesis deposited in: *Library Department of Chemistry, Cara Hadrijana 8/A, Osijek*

Sadržaj

1. UVOD 1
2. LITERATURNI PREGLED 2
   2.1. NANOTEHNOLOGIJA 2
   2.2. NANOČESTICE 2
      2.2.1. PODJELA 3
      2.2.2. SINTEZA 5
   2.3. MAGNETIZAM 9
      2.3.1. DIJAMAGNETIZAM 10
      2.3.2. PARAMAGNETIZAM 10
      2.3.3. ANTIFEROMAGNETIZAM 11
      2.3.4. FEROMAGNETIZAM 12
      2.3.5. FERIMAGNETIZAM 14
      2.3.6. SUPERPARAMAGNETIZAM 14
   2.4. MIKROFLUIDIKA 16
      2.4.1. HIDRODINAMIKA U MIKROFLUIDICI 17
      2.4.2. DOMINANTNI EFEKTI U MIKROFLUIDICI 18
      2.4.3. HIDRODINAMIČKO FOKUSIRANJE 24
   2.5. MAGNETIT 28
      2.5.1. SVOJSTVA MAGNETITA 28
      2.5.2. SINTEZA 30
      2.5.3. PRIMJENA NANOČESTICA MAGNETITA 34
   2.6. METODE KARAKTERIZACIJE 36
      2.6.1. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA 36
3. EKSPERIMENTALNI DIO 40
   3.1. MATERIJALI 40
   3.2. PRIPREMA OTOPINA 41
   3.3. SINTEZA 42
   3.4. POVRŠINSKA MODIFIKACIJA STIJENKI I ISPIRANJE MIKROČIPA 43
   3.5. KARAKTERIZACIJA NANOČESTICA 44
4. REZULTATI I DISKUSIJA 45
   4.1. REZULTATI FTIR SPEKTROSKOPIJE 45
   4.2. REZULTATI TRANSMISIJSKE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE 47
5. ZAKLJUČAK 51
6. LITERATURA 52

1. UVOD

Glavni cilj nanotehnologije je razvoj novih materijala i unaprjeđenje već postojećih materijala te iskorištavanje njihovih izvanrednih svojstava koja su povezana s njihovom veličinom. Upravo ta unaprjeđena svojstva pružaju mogućnost za brojne primjene od kojih sasvim sigurno prednjači medicina. Nanočestice magnetita se koriste zbog njihovih svojstava od kojih se naviše iskorištava superparamagnetizam. Za sve primjene potrebne su nanočestice magnetita dobre kvalitete, monodisperzne i kontrolirane veličine. To je glavni razlog potrebe za dobrom sintetskom metodom kojom ćemo dobivati nanočestice magnetita primjerene za određenu primjenu. Glavni cilj ovog rada razvoj je sintetske metode magnetita u mikrofluidičkom reaktoru te kontroliranjem uvjeta reakcije i hidrodinamičkih uvjeta kontrolirati veličinu nastalih nanočestica. Za postizanje koloidne stabilnosti kao i za pojedinu primjenu, površinu nanočestica magnetita je potrebno modificirati. Dobivene nanočestice okarakterizirali smo IR spektrofotometrijom kako bismo dokazali površinsku modifikaciju te transmisijskom elektronskom mikroskopijom kako bismo provjerili veličinu nanočestica. U literaturnom dijelu dan je pregled podjele nanočestica, sintetskih metoda nanočestica, magnetskih svojstava te hidrodinamike u mikrofluidici. Postupak, kemikalije i uvjeti sinteze opisani su u eksperimentalnom dijelu, a rezultati su prikazani i objašnjeni u poglavlju Rezultati i diskusija.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. NANOTEHNOLOGIJA

Postoje brojne definicije nanotehnologije. Većina njih nanotehnologiju definira kao tehnologiju koja se bavi materijalima i strukturama koji su reda veličine nanometra. U nekim definicijama stoji kako se nanotehnologija bavi isključivo strukturama koje imaju barem jednu dimenziju između 1-100 nm. Sasvim je jasno da ne možemo govoriti o nekoj oštroj granici, ali sve definicije nanotehnologije se slažu u jednom: da veličina igra presudnu ulogu. Nanotehnologija se uvijek usko veže uz nanoznanost koju možemo definirati kao studiju fenomena i manipulacije materijalima na atomskoj, molekularnoj i makromolekularnoj razini gdje se svojstva materijala uvelike razlikuju od svojstava pri većim veličinama. Nanotehnologija podrazumijeva dizajn, karakterizaciju, proizvodnju i primjenu struktura, uređaja i sustava kontroliranjem oblika i veličina na nanometarskoj skali. [1] Istraživanje i razvoj na nanoskali pokazuje veliki potencijal da u budućnosti bude ključni pokretač za inovacije i ekonomski razvoj pri čemu okosnicu inovacija sačinjava potreba za istraživanjem i razvojem nanoalata, zatim procese molekulskog slaganja pomoću kojih bi se iz građevnih blokova veličine nanometra gradili novi unaprijeđeni materijali, mogućnost novih koncepata za informacijske tehnologije i u konačnici stvaranje novih saznanja koja će dovesti do velikih inovacija u biološkim znanostima i medicini. [2] U zadnje vrijeme se javlja sve veća potreba za razvojem novih tehnologija budući da se trenutna tehnologija susreće s velikim problemima koje ne može dovoljno učinkovito riješiti. Samo neki od tih problema su zaštita okoliša, drastično povećanje zdravstvenih troškova te ograničenja energetskih resursa. Za rješavanje ovakvih problema sve se više poseže za nanotehnologijom. Iako je previše za očekivati da će nanotehnologija riješiti sve gore navedene probleme, postoji veliki potencijal da će povećati učinkovitost rješavanja problema ili barem dati nova saznanja o njima.

2.2. NANOČESTICE

Literaturna definicija nanočestica je da su one ultrafine čestice čija je jedna dimenzija nanometarske veličine. Definicija ovisi o materijalu, području i primjeni nanočestica. U *Tablici 1.* vidimo nekoliko tipova nanočestica i njihove uobičajene veličine. U užem smislu definirane su kao čestice manje od 20 nm čija se fizikalna svojstva znatno mijenjaju

smanjivanjem veličine. U uobičajenom slučaju nanočestice definiramo kao čestice dimenzije 1-100 nm. [3]

Tablica 1. Osnovni tipovi nanočestica i uobičajene veličine [4]

Tip nanočestica	Veličina (nm)
Ugljične nanocijevi	0.5-3 promjer i 20-100 duljina
Dendrimeri	<10
Liposomi	50-100
Metalne nanočestice	<100
Nanokristali Kvantne točke	2-9.5
Polimerne micele	10-100
Polimerne nanočestice	10-1000

Sve čvrste čestice sastoje se od atoma i molekula. Kako čestice smanjujemo na njih sve veći utjecaj imaju atomi i molekule od kojih su izgrađeni i njihova se svojstva uvelike mijenjaju u odnosu na one u *bulk*[1] fazi. Primjerice, ako kocku čija je stranica 1 cm smanjujemo na kocku stranice 1 µm broj čestica se povećava na 10^{12} , a ako smanjimo na 10 nm broj se povećava na 10^{18} samim time se povećava broj atoma ili molekula koje se nalaze na površini te one, budući da su aktivnije od unutarnjih atoma ili molekula čestice, imaju glavnu ulogu u promjeni svojstava čestica. Osim povećanja aktivnosti površine, smanjenje veličine čestica također povećava i specifičnu površinu. Povećanje aktivnosti površine i povećanje specifične površine direktno utječe na svojstva kao što su topljivost i reaktivnost. [5]

2.2.1. PODJELA

Postoji nekoliko različitih pristupa za podjelu nanočestica, ali nanočestice uobičajeno klasificiramo u tri kategorije[3, 4]:

a) jednodimenzijske nanočestice
b) dvodimenzijske nanočestice

[1] *Bulk* se definira kao glavnina faze (čvrste ili tekuće) koja se nalazi u većem udjelu u odnosu na površinsku fazu gdje dolazi do svih interakcija.

c) trodimenzijske nanočestice.

Glavni predstavnik jednodimenzijskih nanočestica su tankoslojni (eng. *thin layer*) filmovi koji se već duže vremena koriste u elektronici, kemiji i inženjerstvu. Danas se uvelike koriste u proizvodnji solarnih panela, a još se koriste u sustavima za pohranu podataka, za proizvodnju kemijskih i bioloških senzora te magneto-optičkih i optičkih uređaja. [6]

U dvodimenzijske čestice ubrajamo ugljične nanocijevi. Ugljične nanocijevi su heksagonska mreža ugljikovih atoma promjera do 3 nm i do 100 nm duljine. Mala dimenzija ugljičnih nanocijevi s njihovim izuzetnim fizikalnim, mehaničkim i električnim svojstvima čini ih jedinstvenim materijalima. [7] Predstavnici trodimenzijskih nanočestica su fulereni, dendrimeri i kvantne točke. Fulereni su, najjednostavnije rečeno, šuplje lopte sastavljene od pentagona i heksagona ugljikovih atoma. [8] Zbog svoje strukture također pokazuju izuzetna svojstva. Dendrimeri predstavljaju novu grupu materijala s kontroliranom polimernom strukturom nanometarskih dimenzija, a koriste se za ciljanu dostavu lijekova te slikovne metode (eng. *imaging*).[9] Kvantne točke su mali uređaji koji sadrže mala područja slobodnih elektrona. To su mali koloidni poluvodički nanokristali veličine 2-10 nm. Možemo ih sintetizirati iz različitih tipova poluvodičkih materijala koloidnom sintezom ili elektrokemijom. Uobičajeni tipovi kvantnih točki su građeni od kadmijeva selenida, kadmijeva telurida, indijeva fosfida ili indijeva arsenida. [10]

Gledajući iz drugog aspekta nanočestice možemo podijeliti u tri skupine:

a) organske nanočestice
b) anorganske nanočestice
c) ugljikove nanočestice.

U organske nanočestice ubrajamo dendrimere, micele i liposome. Ove nanočestice su biorazgradive, netoksične, a neke od njih, kao što su micele i liposomi, imaju šuplju jezgru što ih čini idealnima za prijenos aktivnih tvari. Ova vrsta čestica se najviše koriste u području biomedicine. Anorganske nanočestice možemo podijeliti na one građene od metala i one građene od metalnih oksida. Gotovo svi metali se mogu sintetizirati u obliku nanočestica. Najčešće su one od aluminija, kadmija, kobalta, bakra, zlata, olova, srebra i cinka. Nanočestice metalnih oksida se sintetiziraju da modificiraju svojstva čistih metalnih nanočestica. Najčešće među njima su željezni oksidi (Fe_2O_3, FeO), aluminijev oksid (Al_2O_3), cerijev oksid (CeO_2), magnetit (Fe_3O_4), silicijev dioksid (SiO_2), titanijev oksid (TiO_2),

cinkov oksid (ZnO). Ugljikove nanočestice su: fulereni, grafen, ugljikove nanocijevčice i ugljična vlakna. [11]

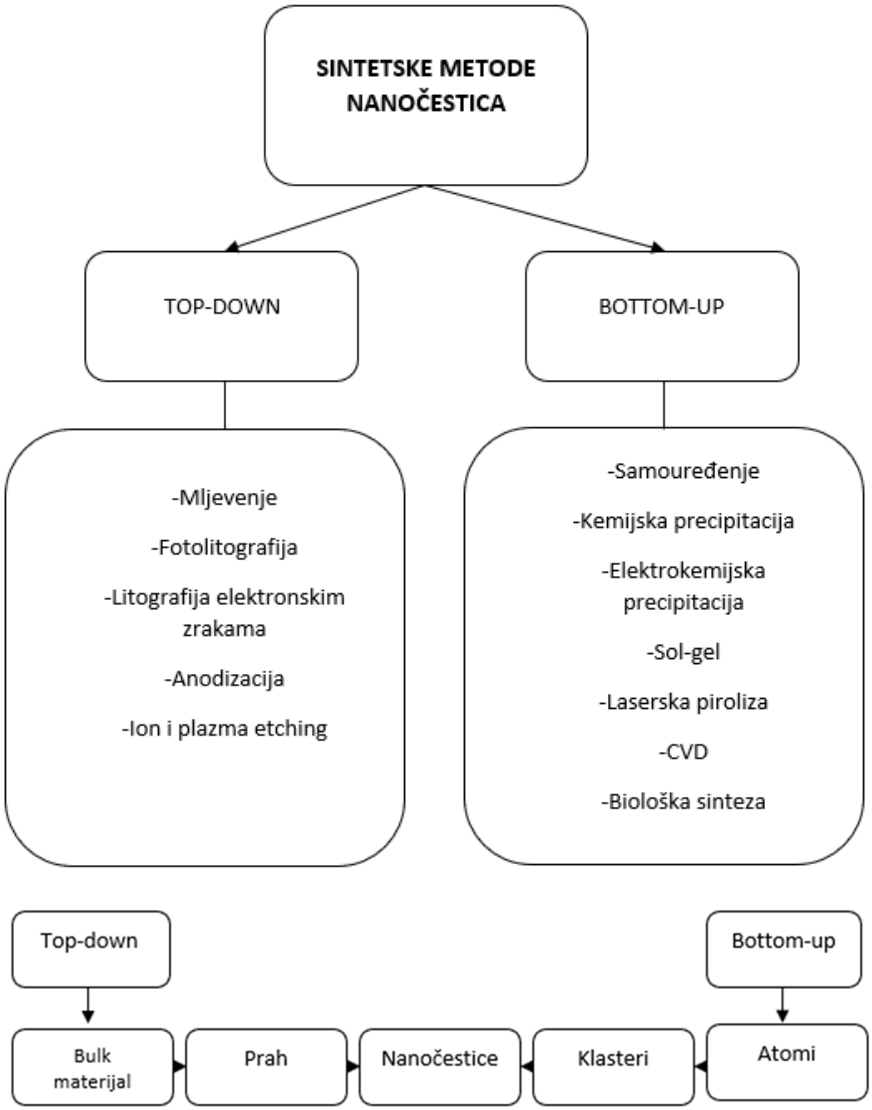
2.2.2. SINTEZA

Za sintezu nanočestica postoje brojne metode koje možemo podijeliti u dvije osnovne kategorije [12]:

a) *top-down* pristup
b) *bottom-up* pristup.

Top down pristup se odnosi na proces u kojem se materijalu određenim procesima veličina smanjuje do nanometarske skale. [13] Ovakav proces je energetski intenzivan, nastaje jako puno otpada i uključuje veliku potrošnju resursa, ali sumarno gledano velik je profit budući da nastaju materijali s poboljšanim svojstvima. U ovom pristupu koristi se destruktivan pristup u kojem se iz većih početnih materijala stvaraju manje jedinice koje se zatim prevode u primjerene nanočestice. Primjer takvih metoda je mljevenje, fotolitografija, litografija elektronskim zrakama, anodizacija te ion i plazma jetkanje (eng. *etching*).

U *bottom-up* pristupu veće strukture su izgrađene atom po atom ili molekulu po molekulu ili rastu kroz samoorganizaciju (eng. *self-assembly).* Samoorganizacija je metoda izgradnje u kojoj se komponente spontano samouređuju uobičajeno krećući se kroz otopinu ili u plinskoj fazi dok se ne formira stabilna struktura sa minimumom energije. Osim samouređenja, bottom-up pristupu pripadaju kemijska i elektrokemijska nanostrukturna precipitacija, sol-gel sinteza, laserska piroliza, CVD (eng. *Chemical Vapor Deposition*), sinteza raspršivanjem u plazmu ili plamen te bio-asistirana sinteza. Shematski prikaz podjele možemo vidjeti na *Slici 1*.



Slika 1. Shematski prikaz podjele sintetskih metoda nanočestica

Gledajući iz drugog aspekta, metode za sintezu nanočestica možemo podijeliti u tri grupe:

a) fizikalne metode
b) kemijske metode
c) bio-asistirane metode.

Podjelu i najčešće korištene metode vidimo u *Tablici 2*.

Tablica 2. Podjela sintetskih metoda i najčešće korištene metode

SINTETSKE METODE

FIZIKALNE METODE	BIOLOŠKE METODE	KEMIJSKE METODE
-Mljevenje	-Biogeneza potpomognuta mikroorganizmima	-Sol-gel sinteza
-Kondenzacija inertnim plinom	-Biogeneza pomognuta bio-templatima	-Mikroemulzijska tehnika
-Laserska piroliza	-Biogeneza pomognuta ekstraktima iz biljaka	-Hidrotermalna sinteza
-Elektroraspršivanje		-Poliol metoda

Fizikalne metode koriste mehanički tlak, radijaciju visoke energije, termalnu energiju ili električnu energiju koja uzrokuje abraziju, taljenje, isparavanje i kondenzaciju materijala za stvaranje nanočestica. Ove metode uglavnom koriste top-down pristup, a prednost im je što je u takvim metodama smanjena kontaminacija otapalom te nastaju monodisperzne nanočestice. Istovremeno nastaje puno otpada te su iz tog razloga ove metode manje ekonomične. Neke od tih metoda su kuglično mljevenje visoke energije (mehanokemijska sinteza), laserska ablacija, elektroraspršivanje, kondenzacija inertnim plinom, PVD (eng. *Physical Vapor Condensation*), laserska piroliza te miješanje uz taljenje.

Kemijske metode koje se uobičajeno koriste za sintezu nanočestica su sol-gel metoda, mikroemulzijske tehnike, hidrotermalna sinteza, poliol sinteza te sinteza kemijskim parama. Sol-gel metoda, kao što samo ime upućuje, sastoji se od stvaranja dviju različitih faza. Ovaj proces uključuje stvaranje sola u tekućini iz kojih nastaje mreža diskretnih čestica ili mreže polimera (gel) koja je povezana sol česticama. Dva glavna procesa koja se događaju tijekom sol - gel sinteze je hidroliza i kondenzacija. Mikroemulzije možemo definirati kao termodinamički stabilne, makroskopski homogene, optički transparentne i izotropske disperzije koje se sastoje od minimalno tri komponente: polarne faze, nepolarne faze i tenzida. Hidrotermalna sinteza se uobičajeno koristi za proizvodnju nanočestica metalnih oksida pri čemu se zadržava kontrola nad karakteristikama nastalih nanočestica mijenjanjem svojstava vrlo blizu ili u uvjetima superkritične vode kontroliranjem tlaka i temperature.

Ovom metodom možemo sintetizirati nanočestice u dva različita sustava: eng. *batch*[2] hidrotermalnom sustavu ili kontinuiranom hidrotermalnom sustavu. U *batch* sustavu možemo neposredno kontrolom uvjeta sinteze kontrolirati željeni omjer faza, dok u kontinuiranom sustavu možemo postići veću brzinu reakcije u kraćem vremenu. Sinteza metalnih nanočestica poliol metodom uključuje korištenje polietilen glikola kao reakcijskog medija koji ima ulogu kao otapalo, reducirajući agens i kompleksirajući agens. U reakciji se uz polietilen glikol još koriste stabilizacijski i zaštitni agensi. [14]

Bio-asistirane metode, biometode i zelene sinteze nanočestica omogućavaju ekološki prihvatljiv, nisko toksičan, ekonomski prihvatljiv i učinkovit način za proizvodnju nanočestica. Ove metode koriste biološke sustave kao što su bakterije, plijesni, viruse, gljivice, aktinomicete, ekstrakte biljaka. Bio-asistirane metode možemo ugrubo podijeliti u tri skupine:

a) biogena sinteza koja upotrebljava mikroorganizme
b) biogena sinteza koja koristi biomolekule kao predložak
c) biogena sinteza korištenjem biljnih ekstrakata.

Biogena sinteza koja upotrebljava mikroorganizme koristi prokariotske bakterije, aktinomicete gljivice, plijesni kao bio-reaktore za sintezu nanočestica. Mikroorganizmi uzimaju ciljane ione i pretvaraju ih u elementarne metale uz pomoć enzima koji nastaju staničnom aktivnošću. Ovu vrstu sinteze možemo podijeliti u dvije grupe s obzirom na mjesto gdje se odvijaju, intracelularno ili ekstracelularno. Intracelularne metode uključuju transport metalnih iona u mikrobiološke stanice kako bi nastale nanočestice u prisutnosti enzima. Ekstracelularna sinteza uključuje zarobljavanje metalnih iona na površini stanica gdje se reduciraju u prisutnosti enzima. [15]

Biogena sinteza koja kao template koristi biomolekule poput nukleinskih kiselina, membrana i virusa. Među navedenim se najviše koristi DNK budući da je DNK poznata kao biomolekularni templat zbog jakih interakcija s prijelaznim metalima. Pripravljaju se DNK hidrogelovi koji se mogu umrežiti prije nego se ugrade prijelazni metali na DNK molekulu te u konačnici nastanu nanočestice.[16]

[2] Batch reaktor je uobičajeni naziv za posude koje se koriste za sinteze u industrijskim procesima. Reaktante se u početku stavlja u posudu (batch reaktor) u kojoj se dobro pomiješaju te se ostave neko vrijeme da reagiraju.

Biosinteza nanočestica koja koristi biljne ekstrakte ili biljnu biomasu predstavlja vrlo učinkovitu, brzu, čistu, netoksičnu i ekološki prihvatljivu metodu. Ova metoda se koristi uglavnom za sintezu nanočestica plemenitih metala, metalnih oksida i bimetalnih legura.[17]

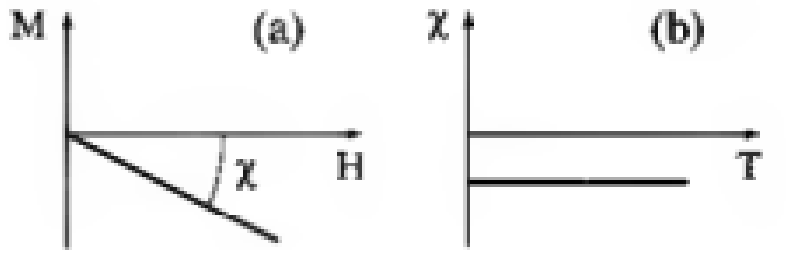
2.3. MAGNETIZAM

Magneti se u navigacijskim sustavima u Kini koriste još od 8. stoljeća, međutim prirodni magneti se koriste još od pradavnina u primitivnim ritualima za proricanje budućnosti. Prirodni organizmi kao posljedicu evolucije sintetiziraju magnetske nanočestice kako bi se orijentirale i migrirale pomoću geomagnetskog polja prema pogodnijim staništima. Nekoliko stotina godina prije Krista ljudsku pozornost zaokuplja prirodni kamen koji privlači željezo. 400 godina prije Krista Gui Guzi je primijetio da magnetski kamen privlači igle te također da se prirodni magnetski kamen orijentira prema Zemljinim geografskim polovima, a 120 godine prije Krista je Liu An primijetio da postoje materijale na koje magnetski kamen ne djeluje. U 18. stoljeću u Enciklopediji Denisa Diderota poznavanje magnetizma je opisano u tri dijela: magnetski polovi, privlačenje i prijenos magnetizacije. Bilo je poznato da magneti imaju dva pola između kojih su koncentrirane silnice magnetskog polja te da se suprotni polovi magneta međusobno privlače. Također je bilo i poznato da magnet može prenijeti magnetska svojstva na željezo ako ih međusobno približimo, ali u to vrijeme još ne postoji nikakva teorija magnetizma. U 19. stoljeću se tek pojavljuju opažanja koja detaljnije opisuju magnetizam. Prvo od njih je Coluombovo opažanje da se međusobno privlačenje magneta smanjuje s njihovom međusobnom udaljenošću. Nadalje, rad Michaela Faradaya i Pierrea-Simona de Laplacea pokazao je da polje može biti stvoreno magnetskim dipolom ili električnim nabojem koji se giba. U to vrijeme se javlja i analitička osnova magnetizma - Maxwellove jednadžbe elektromagnetizma koje je izveo 1864. godine James Clerk Maxwell. Faraday je bio prvi koji je iskoristio gibanje u gradijentu magnetskog polja za računanje magnetizma tvari. Primijetio je da primjena magnetskog polja može inducirati magnetski efekt u svim tvarima, ali su u nekim tvarima ti efekti puno manji nego oni primijećeni u željeza. Za određene tvari ovaj mali inducirani magnetski moment je suprotno usmjeren primijenjenom magnetskom polju koje ga inducira. Takve tvari nazivamo dijamagnetima i njih magnetno polje odbija. Kod paramagnetnih tvari efekt je obratan - njih magnetsko polje privlači. Ove su se pojave u početku činile paradoksalne dok nije shvaćeno da u tvarima može doći do spontane magnetizacije. Prvi uspješni teorijski opisi megnetskih

materijala se javljaju tek početkom 20. stoljeća kada Pierre Curie predstavlja ideje o dijamagnetizmu, paramagnetizmu i feromagnetizmu. 1970. godine dodijeljena je Nobelova nagrada Louisu Neelu za njegove teorije o antiferomagnetizmu i ferimagnetizmu.

2.3.1. DIJAMAGNETIZAM

Dijamagnetizam je karakteristika tvari koje imaju samo nemagnetične atome. Magnetizacija koju u njima inducira primijenjeno vanjsko magnetno polje je vrlo slaba i suprotno je usmjerena od smjera vanjskog magnetnog polja. Susceptibilnost[3] takvih materijala je negativna i ne ovisi o vanjskom polju i temperaturi što vidimo na *Slici 2.*, a reda veličine je 10^{-5}. Ova vrsta magnetizacije potječe od promjene orbitalnog gibanja elektrona pod utjecajem vanjskog magnetskog polja. Ovakva magnetizacija postoji i u tvarima koje imaju magnetične atome, ali zbog zanemarivo malih vrijednosti je u potpunosti maskirana doprinosom magnetičnih atoma. Jak dijamagnetizam je prisutan samo u superprovodljivim materijalima čija je susceptibilnost -1.



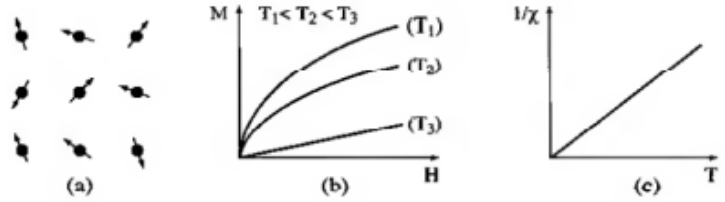
Slika 2. a) Ovisnost magnetizacije o polju b) ovisnost magnetske susceptibilnosti o temperaturi [18]

2.3.2. PARAMAGNETIZAM

U velikom broju slučajeva magnetizam paramagnetskih tvari potječe iz permanentnih magnetskih momenata jednog dijela ili svih atoma od kojih je tvar izgrađena. Ako ti magnetski momenti imaju zanemariv utjecaj jedni na druge i mogu se slobodno orijentirati u bilo kojem smjeru, tada to nazivamo paramagnetizam. Na *Slici 3.a)* možemo vidjeti

[3] Magnetska susceptibilnost je fizikalna veličina kojom se opisuje svojstvo tvari da mogu biti magnetizirane u magnetskom polju. (http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=69743)

slobodnu orijentaciju magnetskih momenata u paramagnetskim tvarima. U vanjskom magnetskom polju dolazi do izmjene prosječne usmjerenosti momenata i inducira se magnetizacija paralelna primijenjenom magnetskom polju. Ova magnetizacija je manja pri povišenim temperaturama što možemo vidjeti na *Slici 3.b).* Također na *Slici 3.b)* možemo vidjeti da povećanjem temperature ovisnost magnetizacije o primijenjenom polju postaje sve linearnija. Na *Slici 3.c)* je prikazan Curieov zakon koji kaže da je u idealnom slučaju ovisnost recipročne susceptibilnosti o temperaturi linearna.

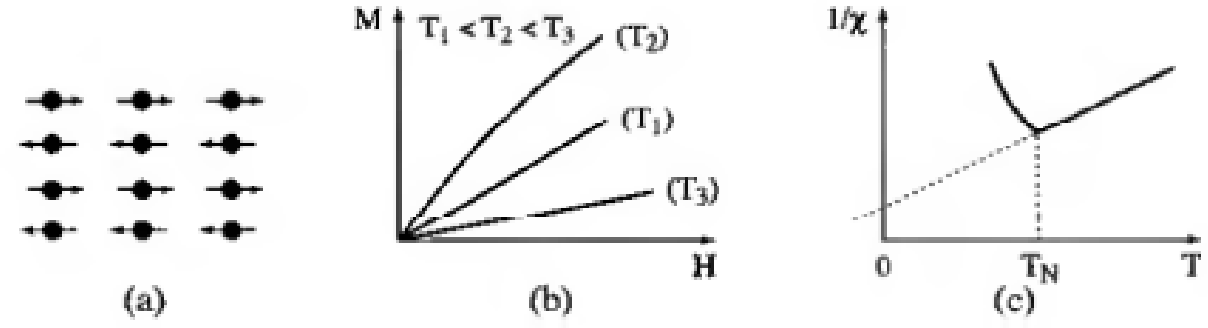


Slika 3.a) Orijentacija magnetskih momenata u paramagnetskim tvarima, b) Ovisnost magnetizacije o primijenjenom polju pri različitim temperaturama, c) Curieov zakon [18]

2.3.3. ANTIFEROMAGNETIZAM

Kada gledamo makroskopski, antiferomagnetizam je sličan paramagnetizmu. To je slab oblik magnetizacije s vrlo malom pozitivnom susceptibilnošću. Mjerenjem susceptibilnosti takvih materijala na različitim temperaturama vidljivo je da susceptibilnost s povećanjem temperature raste do određenog maksimuma i zatim pada. Maksimum susceptibilnosti se nalazi na temperaturi koju nazivamo Neelova temperatura što je prikazano na *Slici 4.c).* Neelova temperatura je specifična za svaki antiferomagnetski materijal. Ovaj maksimum susceptibilnosti potječe od antiparalelnog poravnanja magnetskih momenata. Najjednostavnije prikazano, vidljivo na *Slici 4.a),* dvije podjedinice antiferomagnetskog materijala imaju magnetske momente istog iznosa, ali različitog usmjerenja te je njihov zbroj nula. Antiparalelno poravnanje magnetskih momenata je rezultat interakcija između susjednih atoma (negativne interakcije izmjene). Ove interakcije se opiru utjecaju primijenjenog magnetskog polja koje ih pokušava posložiti paralelno. Pri niskim temperaturama, susceptibilnost se smanjuje kako se smanjuje termalna agitacija. Pri visokim temperaturama (iznad Neelove temperature) termalna agitacija nadvladava interakcijski

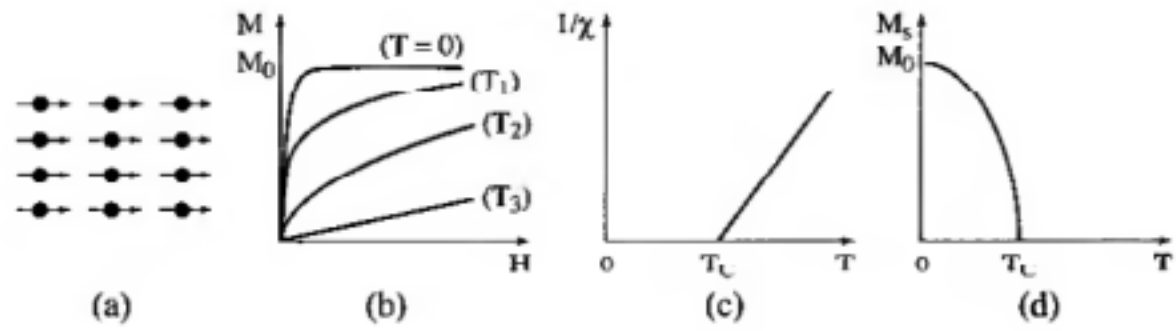
efekt susjednih atoma te se susceptibilnost s povišenjem temperature ponaša kao i kod paramagnetnih materijala što je prikazano na *Slici 4. b)* i *c).*



Slika 4.a) Orijentacija magnetskih momenata u antiferomagnetskim tvarima, b) Ovisnost magnetizacije o primijenjenom polju pri različitim temperaturama, c) Ovisnost recipročne vrijednosti susceptibilnosti o temperaturi [18]

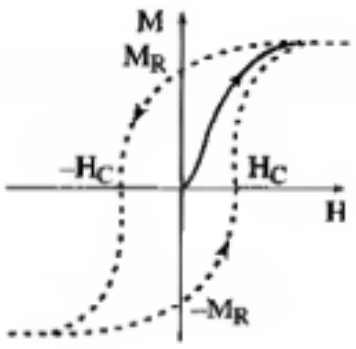
2.3.4. FEROMAGNETIZAM

Kod feromagnetskih materijala u susjednim atomima dolazi do pozitivne interakcije izmjene zbog čega se u takvim materijalima magnetski momenti susjednih atoma slažu paralelno. Kao i kod antiferomagnetizma, povišenje temperature dovodi do termalne agitacije pri čemu se susceptibilnost ponaša kao i ona kod paramagneta. Takva ovisnost pri povišenim temperaturama se naziva Curie-Weissov zakon čiji graf možemo vidjeti na *Slici 5.c).* Za razliku od paramagneta u kojih susceptibilnost postaje beskonačna pri temperaturi od 0 K, kod feromagneta susceptibilnost postaje beskonačna na karakterističnoj temperaturi koju nazivamo Curieva kritična temperatura, a označavamo ju sa T_C. Ispod ove temperature interakcije susjednih atoma nadvladavaju termalnu agitaciju i dolazi do spontane magnetizacije bez primjene vanjskog magnetskog polja. Spontana magnetizacija doseže svoj maksimum pri 0 K, što je prikazano na *Slici 5.d),* a možemo ju pripisati paralelnoj orijentaciji svih individualnih magnetskih momenata koji sačinjavaju materijal.



Slika 5.a) Orijentacija magnetskih momenata u feromagnetskim tvarima, b) Ovisnost magnetizacije o primijenjenom polju pri različitim temperaturama, c) Ovisnost recipročne vrijednosti susceptibilnosti o temperaturi, d) ovisnost spontane magnetizacije o temperaturi [18]

Iako ispod T_C dolazi do spontane magnetizacije, feromagnetski materijal ne mora nužno biti spontano magnetiziran, njegov magnetski moment može biti nula. Za takav materijal možemo reći da je on demagnetiziran. Razlog tomu je što je svaki materijal građen od više domena koje nazivamo Weissove domene. Svaka domena je sastavljena od velikog broja atoma te svaka može biti spontano magnetizirana. Gledajući od jedne domene do druge usmjerenje magnetskih momenata može biti različito što nazivamo lokalna spontana magnetizacija. Smjerovi više domena mogu biti tako usmjereni da je ukupni magnetski moment nula. Primjenom vanjskog magnetskog polja dolazi do izmjene usmjerenja u domenama te materijal postaje magnetičan. Pri vrlo jakim primijenjenim magnetskim poljima može doći do zasićenja magnetizacije. Ako primijenjeno magnetsko polje mijenjamo između dviju ekstremnih vrijednosti vanjskog magnetskog polja možemo primijetiti kako proces magnetizacije nije reverzibilan nego se pojavljuje petlja histereze što vidimo na *Slici 6.* .

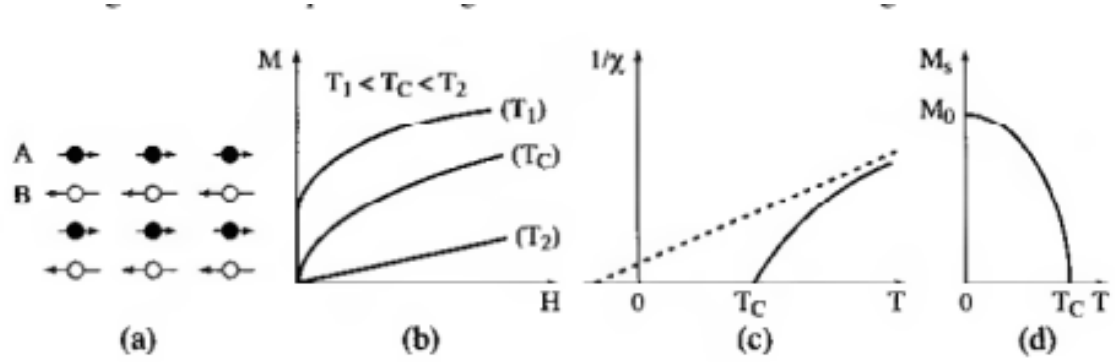


Slika 6. Petlja histereze [18]

Na *Slici 6.* je prikazana magnetizacija materijala u ovisnosti o primijenjenom vanjskom magnetskom polju. Punom crtom je označena početna magnetizacijska krivulja, a isprekidano petlja histereze. I početna magnetizacijska krivulja i petlja histereze su karakteristične za svaki feromagnetski materijal.

2.3.5. FERIMAGNETIZAM

Ferimagnetizam je pojam koji opisuje materijale čija su mikroskopska magnetska svojstva slična antiferomagnetskim materijalima, ali magnetizacija dvije podjedinice nisu jednakog iznosa. Dvije podjedinice ne kompenziraju međusobno jedna za drugu kao u antiferomagnetskih materijala. Pri višim temperaturama ovisnost recipročne vrijednosti susceptibilnosti o temperaturi je gotovo linearna, a odstupa sve više od linearnosti kako se približavamo T_C što je vidljivo na *Slici 7.c).* [18]



Slika 7.a) Orijentacija magnetskih momenata u ferimagnetskim tvarima, b) Ovisnost magnetizacije o primijenjenom polju pri različitim temperaturama, c) Ovisnost recipročne vrijednosti susceptibilnosti o temperaturi, d) ovisnost spontane magnetizacije o temperaturi [18]

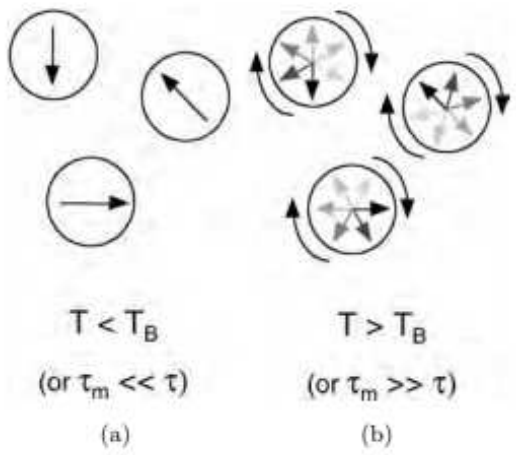
2.3.6. SUPERPARAMAGNETIZAM

Superparamagnetizam je tip magnetizma koji se javlja u izrazito malim feromagnetskim i ferimagnetskim nanočesticama. Upravo zbog male veličine nanočestica, te su čestice veličinom jednake ili manje od jedne magnetske domene. U takvoj jednoj domeni svi

magnetski momenti atoma od kojih je građena se poravnavaju u istom smjeru rezultirajući magnetskim momentom u određenom smjeru. Često takve čestice pokazuju preferiranu orijentaciju u samo jednom smjeru i tada govorimo o uniaksialnoj anizotropiji. Takve nanočestice mogu nasumično mijenjati smjer magnetizacije. Nasumična izmjena magnetizacije je termalno inducirani efekt, a prosječno vrijeme potrebno za jednu izmjenu smjera je dano jednadžbom relaksacijskog vremena:

$$\tau = \tau_0 \exp(\frac{\Delta E}{k_B T}) \qquad (1)$$

gdje je τ_0 (s) vrijeme karakteristično za svaki materijal, obično je reda veličine 10^{-9} do 10^{-12} . ΔE (J) je energetska barijera potrebna za jednu nasumičnu promjenu orijentacije koju termalna energija mora nadvladati. Oznaka k_B (J K^{-1}) predstavlja Boltzmanovu konstantu, a T (K) termodinamičku temperaturu. Promatranje nanočestica u superparamgnetskom stanju ne ovisi jedino o temperaturi T i energetskoj barijeri ΔE. Svaka eksperimentalna tehnika dolazi sa svojim vremenom mjerenja τ_m. U ovisnosti o tom vremenu možemo dobiti dva moguća slučaja kao što je prikazano na *Slici 8.*



Slika 8. Ovisnost mjerenog stanja u ovisnosti o vremenu mjerenja [19]

U prvom slučaju prikazanom na *Slici 8.a)* vrijeme mjerenja je puno manje od vremena potrebnog za nasumičnu promjenu orijentacije. Ono što u tom slučaju mjerimo je dobro definirano stanje u kojem možemo odrediti ukupnu magnetizaciju i kažemo da se čestica

nalazi u eng. *blocked* stanju. Temperatura pri kojoj se to događa naziva se eng. *blocked temperature*, a definiramo ju kao:

$$T_B = \frac{\Delta E}{k_B \ln(\frac{\tau_m}{\tau_0})} \quad (2)$$

Bez primijenjenog vanjskog magnetskog polja ukupan magnetni moment superparamagnetskih materijala je nula. Kad primijenimo vanjsko magnetsko polje takvi materijali reagiraju kao paramagneti uz razliku da je njihova susceptibilnost puno veća. [19]

2.4. MIKROFLUIDIKA

Zbog brojnih prednosti danas se sve više teži za minijaturizacijom. Gotovo je moguće minijaturizirati sve vrste sustava kao što su fluidički, elektromehanički ili termalni što donosi brojne prednosti u različitim područjima znanosti. Težnja za minijaturizacijom sustava 1980. godine rezultira razvojem novog područja poznatog pod akronimom MEMS (eng. *Microelectro-Mehanical Systems*) što označava mikroelektro mehaničke sustave. Od prve pojave pa do danas MEMS uređaji su pronašli brojne primjene u kemiji, biologiji, biokemiji i medicini. Ovi sustavi su koristili protok fluida pri neobičnim i neistraženim uvjetima te se javila potreba za novom disciplinom. Stoga se 1990-ih javlja nova disciplina - mikrofluidika. Mikrofluidiku najjednostavnije možemo definirati kao disciplinu koja se bavi proučavanjem protoka fluida koji mogu biti jednostavni ili kompleksni, jednofazni ili višefazni, koji prolaze kroz umjetne mikrosustave. U vrijeme početaka mikrofluidike puno se očekivalo, a većina očekivanja se i ostvaruje. U današnje vrijeme već je moguće u potpunosti kontrolirati protoke u kanalima mikrometarske veličine što nam omogućava konstrukciju vrlo kompleksnih mikrosustava gdje fluidi mogu kontrolirano protjecati i obavljati velik broj zadataka kroz labirint kanala. A upravo je to budućnost izgradnje sustava koji će biti minijaturizirani, prenosivi, jednostavni za uporabu i moći će obaviti čitav niz zadataka u jednom kompaktnom sustavu. Takvi sustavi namijenjeni za analizu bi zahtijevali vrlo male količine uzorka, a sama analiza bi bila vrlo brza s učinkovitom detekcijom. [20]

2.4.1. HIDRODINAMIKA U MIKROFLUIDICI

Proučavanje mikrofluidike je koncentrirano na kruženje fluida u kanalima čiji je promjer mikrometarske veličine. Za razumijevanje i rad s mikrofluidičkim sustavima potrebno je poznavanje dinamike fluida. Zbog malih dimenzija kanala drugačiji je utjecaj sila unutar sustava. Upravo zato su sile inercije zanemarive u usporedbi s viskoznim silama čak i pri vrlo velikim brzinama.

Slično kao i u mehanici, kad je zadovoljen zakon o očuvanju mase, Newtonovska tekućina se ponaša prema drugom Newtonom zakonu u kontinuiranoj formi. Za Newtonovske tekućine prema Stokesovom zakonu vrijedi da je stresni tenzor linearno povezan s deformacijskim tenzorom. Koristeći Newtonov drugi zakon dinamike i pretpostavku da je naprezanje fluida linearna kombinacija viskoznosti (proporcionalna gradijentu brzine) i gradijenta tlaka dobivamo Navier - Stokesovu jednadžbu:

$$\rho\left(\frac{\partial v}{\partial t} + (v \cdot \nabla)v\right) = -\nabla P + \mu\nabla^2 v + F \qquad (3)$$

gdje ρ (kg m^{-3}) predstavlja gustoću u jednadžbi, v je brzina (m s^{-1}), ∇ je operator divergencije[4], t (s) je vrijeme, P (Pa) je tlak, μ je viskoznost fluida (Pa s), a F (N) su ostale masene sile. Navier-Stokesova jednadžba opisuje inerciju (po volumenu, lijevi dio jednadžbe) koja je jednaka linearnoj kombinaciji divergencije naprezanja i ostalim masenim silama. Inercija po volumenu je opet jednaka promjenjivom ubrzanju $\frac{\partial v}{\partial t}$ i konvekcijskom ubrzanju $(v \cdot \nabla)v$ dok je divergencija naprezanja jednaka gradijentu tlaka $-\nabla P$ i difuziji $\mu\nabla^2 v$. U jednadžbi (3) jedini nelinearni uvjet je konvekcijsko ubrzanje u inerciji po volumenu i njega možemo zanemariti pa jednadžba glasi:

$$\rho\frac{\partial v}{\partial t} = -\nabla P + \mu\nabla^2 v + F \qquad (4)$$

Kada je protok stabilan, što je često slučaj u mikrofluidici, masene sile možemo zanemariti. Tako jednadžba (4) postaje:

$$\nabla P = \mu\nabla^2 v \qquad (5)$$

[4] Operator divergencije od vektorskog polja pravi skalarno polje:

$$v \cdot \nabla = \left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z}\right) \cdot \left(v_x, v_y, v_z\right) = \frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_y}{\partial y} + \frac{\partial v_z}{\partial z}$$

Prema jednadžbi (5) vidimo da je protok reverzibilan, može biti vrlo precizno predviđen te da bi fluid tekao kroz kanal potreban je dovoljan tlak koji bi nadvladao viskoznost. [21, 22]

Zbog tako malih dimenzija kanala postaju dominantne sile koje inače ne susrećemo u svakodnevnom svijetu. Efekti koji postaju dominantni u mikrofluidici su:

a) laminarni protok
b) difuzija
c) fluidička otpornost
d) površinska napetost.

2.4.2. DOMINANTNI EFEKTI U MIKROFLUIDICI

Bezdimenzijski brojevi su kako sam naziv upućuje brojevi bez dimenzije, a pomažu nam u opisivanju uvjeta koji prevladavaju unutar kanala. Reynoldsov broj je bezdimenzijski broj pomoću kojeg možemo opisati režim toka. Definiramo ga kao omjer inercijske i viskozne sile kako bismo odredili koja od njih dvije je dominantna.[23] Reynoldsov broj možemo izračunati prema:

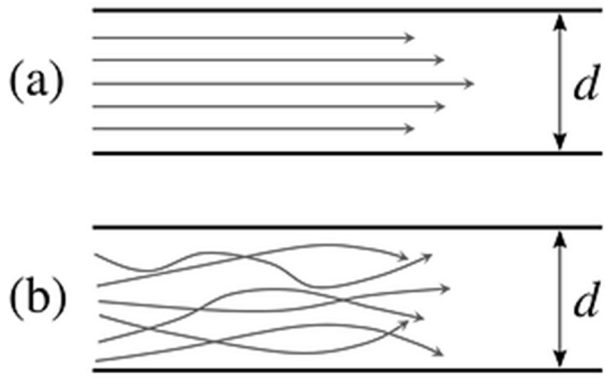
$$Re = \frac{\rho V D_h}{\mu} = \frac{V D_h}{\nu} \qquad (6)$$

gdje je V (m s^{-1}) je karakteristična brzina fluida, D_h (m) je hidraulički promjer, a ν (m^2 s^{-1}) je kinetička viskoznost. Hidraulički promjer je vrijednost koja ovisi o geometriji presjeka kanala. Za pravokutne kanale se računa prema relaciji:

$$D_h = \frac{2ab}{a+b} \qquad (7)$$

U jednadžbi (7) a (m) predstavlja širinu poprečnog presjeka kanala, a b (m) visinu. Budući da su vrijednosti a i b kod mikrofluidičkih sustava izuzetno male, hidraulički promjer je također vrlo mala vrijednost. Uvrštavanjem vrijednosti u jednadžbu (6) dobivamo također relativno male vrijednosti koje su uvijek ispod 2300, što govori da su viskozne sile unutar mikrokanala dominantne zbog čega je protok unutar mikrofluidičkog kanala laminaran pri svim uvjetima.[24] Laminaran protok je protok u kojem brzina čestica u toku fluida nije nasumična funkcija ovisna o vremenu. Posljedica laminarnog protoka je da dva ili više protoka u kontaktu se ne miješaju drugačije nego difuzijom. Ukoliko je unutar protoka brzina

čestica fluida nasumična funkcija ovisna o vremenu, tada govorimo o turbulentnom protoku. Laminarni i turbulentni protok prikazani su na *Slici 9.*



Slika 9. a) Laminaran protok b) Turbulentan protok [25]

Difuzija je proces u kojem će se koncentrirana grupa čestica u danom volumenu uslijed Brownovog gibanja s vremenom proširiti tako da prosječna koncentracija čestica kroz svaki dio volumena bude konstantna. Prosječna udaljenost koju čestica prođe uslijed difuzije je:

$$d = \sqrt{2Dt} \tag{8}$$

gdje d (m) predstavlja srednju udaljenost koju čestica prijeđe, a D (m^2 s^{-1}) je difuzijski koeficijent. Budući da je udaljenost difuzije kvadratno ovisna, ona ima velik utjecaj pri malim dimenzijama kanala, a vrijeme difuzije može biti vrlo kratko zbog čega se mogu stvoriti kompleksniji koncentracijski gradijenti unutar mikrokanala. [26]

Čestica suspendirana u tekućini je pod utjecajem inercijske i viskozne sile fluida te možemo definirati Reynoldsov broj čestice:

$$Re_p = Re\frac{a^2}{D_h^2} = \frac{Va^2}{D_h\nu} \tag{9}$$

U jednadžbi (9) a (m) predstavlja promjer čestice. Za analizu transporta mase u fluidu poželjno je definirati Pecletov broj i pomoću njega opisivati ponašanje čestice. Pecletov broj opisuje omjer transporta mase zbog konvekcije i difuzije, a definiramo ga sljedećom jednadžbom:

$$Pe_p = \frac{Va}{D} \tag{10}$$

gdje je D (m^2 s^{-1}) koeficijent difuzije, a možemo ga opisati Stokes - Einsteinovom jednadžbom:

$$D = \frac{k_B T}{3\pi\mu a} \tag{11}$$

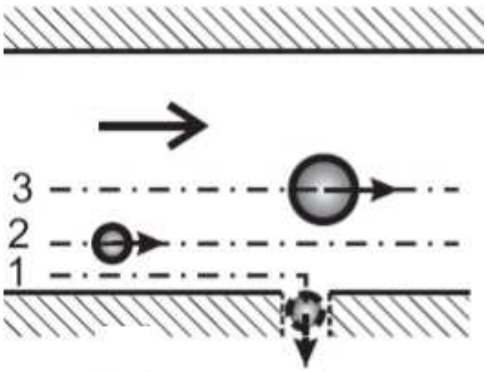
Koliko se brzo čestica prilagođava toku koji ubrzava i okružuje česticu opisujemo Stokesovim brojem koji definiramo omjerom relaksacijskog vremena čestice (τ_r) i karakterističnog vremena protoka (τ_f):

$$St = \frac{\tau_r}{\tau_f} = \frac{\rho_p a^2/18\mu}{D_h/V} = \frac{\beta a^2 V}{18\nu D_h} \tag{12}$$

gdje ρ_p (kg m^{-3}) predstavlja gustoću čestice, a β predstavlja omjer gustoće čestice i fluida. Što je veći Stokesov broj, čestica ima veću tendenciju nastaviti svojim putem nego slijediti trajektoriju fluida. Korištenjem bezdimenzijskih brojeva možemo opisati neke osnovne principe gibanja čestica unutar mikrofluidičkog sustava:

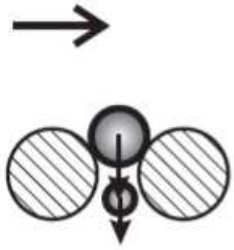
a) raspodjela na temelju veličine
b) filtriranje na temelju veličine
c) premještanje na temelju veličine
d) navođenje na temelju veličine.

Do raspodjele na temelju veličine dolazi kada je Reynoldsov broj mali i kada je mali Stokesov broj čestice. U tom će slučaju čestica slijediti trajektoriju protoka. Čestica će se ponašati kao protok u kanalu. Na *Slici 10*. je prikazano ponašanje čestice u takvim uvjetima. Istovremeno su čestice vrlo krute, a ne možemo zanemariti ni njihovu veličinu zbog toga se središta čestica mogu pojaviti u područjima gdje je udaljenost središta čestica od zida puno veća od njihovog polumjera. Posljedica toga je da se veće čestice ne mogu pojaviti u toku 1 na prikazanom na *Slici 10.*



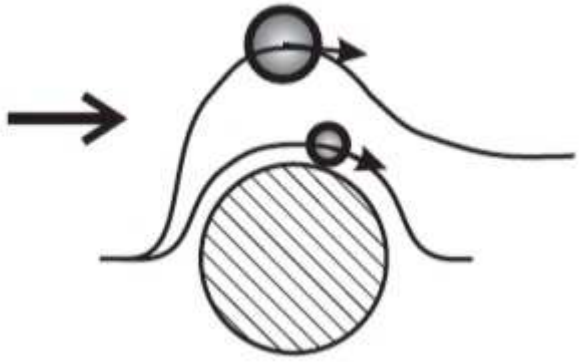
Slika 10. Raspodjela čestica na temelju veličina kretanjem u laminarnom protoku fluida [22]

Filtriranje na temelju veličina čestica se zasniva na principu da krute čestice ne mogu proći kruti procjep koji je manji od njihove veličine. Ovo je vrlo jednostavan princip prosijavanja, a prikazan je na *Slici 11*.



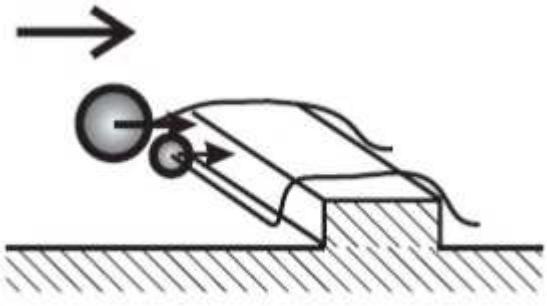
Slika 11. Filtriranje na temelju veličine kretanjem čestice u laminarnom protoku [22]

Do premještanja koje se temelji na veličini čestice dolazi kada čestica naiđe na prepreku na svom putu. Prilikom toga javljaju se dva moguća scenarija: u prvom, kada je čestica mala i ima mali moment, što znači da je i Stokesov broj mali, čestica će slijediti tok fluida. U drugom, čestica je veća i ima veći moment, kada naiđe na prepreku će skrenuti izvan toka u kojem se prvotno nalazio njen centar kao što je prikazano na *Slici 12.* U ovom slučaju će doći do separiranja većih i manjih čestica koje će se nalaziti u različitim slojevima toka, a isto tako će se veće čestice kretati sporije u odnosu na one manje.



Slika 12. Premještanje čestica na temelju njihove veličine u laminarnom toku [22]

Navođenje na temelju veličine se zasniva na principu da zid zbog svoje čvrstoće može navoditi tok u kanalima posebnog oblika i geometrije. Kada je Reynoldsov i Stokesov broj manji kretanje čestice može biti navođeno tokom u kanalu. Ukoliko u kanalu imamo izbočenje koje visinom odgovara veličini malih čestica, male čestice će biti navođene izbočenjem, dok će veće samo prijeći preko njega što možemo vidjeti na *Slici 13.*. Posljedica ovoga je da većim česticama treba manje vremena za put kroz kanal, dok je malim česticama, zbog prepreka, potrebno više vremena.



Slika 13. Navođenje na temelju veličine čestica u laminarnom protoku [22]

Premještanje i navođenje na temelju veličine iskorištava nelinearno ponašanje većih čestica dok se male čestice i dalje ponašaju linearno u laminarnom protoku. Ova 4 osnovna principa se mogu kombinirati i varirati u odnosu na potrebne uvjete i primjene, a koriste se za

hidrodinamičko razdvajanje čestica na temelju veličina. Takvo razdvajanje se temelji na interakcijama čestica s fluidom i sa stjenkama kanala, a sve se to događa slijedeći gore navedena 4 principa. [22]

Volumnu brzinu protoka možemo definirati kao:

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{\Delta P}{R} \tag{13}$$

gdje je V (m^3) volumen, ΔP (Pa) je pad tlaka kroz kanal, a R (Pa s m^{-3}) je fluidička otpornost kanala. Najčešća geometrija kanala je kružnog poprečnog presjeka, a otpornost kanala s kružnom geometrijom definiramo kao:

$$R = \frac{8\mu L}{\pi r^4} \tag{14}$$

Pri čemu je L (m) duljina kanala, a r (m) je polumjer kanala. Za pravokutni kanal kojem je širina približno jednaka dužini otpornost kanala možemo izračunati prema:

$$R = \frac{12\mu L}{wh^3}\left[1 - \frac{h}{w}\left(\frac{192}{\pi^5}\sum_{n=1,3,5}^{\infty}\frac{1}{n^5}\tan h\left(\frac{n\pi w}{h}\right)\right)\right]^{-1} \tag{15}$$

U jednadžbi (11) w (m) predstavlja širinu, a h (m) visinu kanala. Za kanale kojima se dužina i širina značajno razlikuju otpornost računamo prema:

$$R = \frac{12\mu L}{wh^3} \tag{16}$$

Kako je već navedeno da otpornost kanala ovisi o njegovoj geometriji, način na koji ju možemo izračunati za dane geometrije se može lako pronaći u literaturi .[24] Budući da je rad napravljen koristeći samo čipove koji imaju pravokutni poprečni presjek nema potrebe navoditi ih.

Još jedan efekt koji ima vrlo velik utjecaj na tako malim dimenzijama je površinska napetost. Površinska napetost je rezultat kohezije između molekula tekućine koja se javlja na dodirnoj površini između dviju faza, npr. tekućina/plin. Slobodna energija površine je veličina koja nam direktno govori kolika je površinska napetost vode. Visina koju će voda doseći u kapilari je direktno proporcionalna slobodnoj energiji površine, a obrnuto proporcionalna radijusu kapilare. Zbog toga kada koristimo čip čiji je radijus reda veličine mikrometra duljina koju će tekućina u njemu proći zbog površinske napetosti i kapilarnih sila je signifikantna. Tlak koji nastaje zbog površine tekućine koja ima međusobno okomite

radijuse zakrivljenosti R_1 (m) i R_2 (m) možemo izračunati Young-LaPlaceovom jednadžbom, γ (N m^{-1}) u jednadžbi predstavlja površinsku napetost tekućine:

$$\Delta P = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (17)$$

Tlak koji nastaje na granici tekućine između dvije konačno duge paralelne ploče koje su odvojene udaljenošću koja iznosi $2R$ možemo izračunati modificiranjem Young - LaPlaceove jednadžbe [27] te dobivamo:

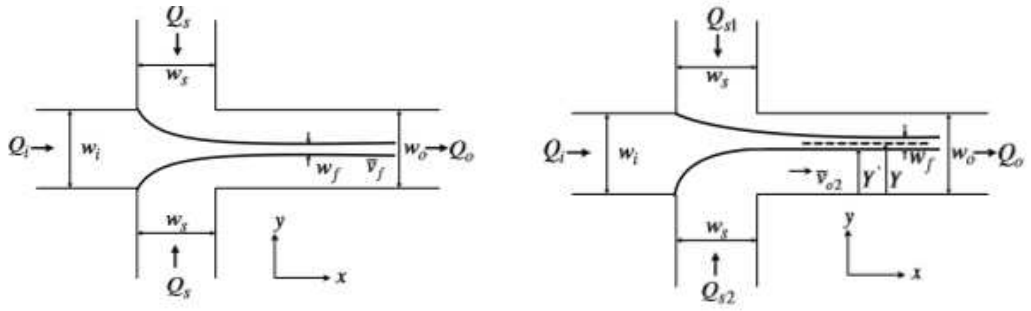
$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R} \quad (18)$$

2.4.3. HIDRODINAMIČKO FOKUSIRANJE

Kemijski reagensi i biološki uzorci se kroz mikrofluidičke sustave prenose gibanjem fluida. Upravo je iz tog razloga vrlo važno razviti učinkovite načine manipuliranja protoka fluida kroz mikrofluidički sustav. Tehnike fokusiranja pružaju vrlo učinkovit način kontroliranja prolaska kemijskih reagenasa kroz mikrofluidički sustav. Hidrodinamičko fokusiranje s obzirom na simetriju fokusiranog toka možemo podijeliti na dva načina:

a) simetrično fokusiranje
b) asimetrično fokusiranje.

Dvodimenzijsko (nema fokusiranja u smjeru z osi) simetrično fokusiranje je tehnika fokusiranja u kojoj je protok uzorka ograničen u centar kanala uz pomoć susjednih protoka iz bočnih kanala mikrofluidičkog čipa kao što je prikazano na *Slici 13. a).* Kod asimetričnog hidrodinamičkog fokusiranja protok uzorka je ograničen nejednakim volumetrijskim protokom susjednih kanala što vidimo na *Slici 13. b).* [28]



Slika 14. a) Simetrično hidrodinamičko fokusiranje b) Asimetrično hidrodinamičko fokusiranje [28]

Korištenjem hidrodinamičkog fokusiranja moguće je napraviti miksere u kojima će se tekućine miješati samo uz pomoć difuzije.[29] U takvim uređajima vrijeme potrebno da bi se postiglo miješanje uz pomoć difuzije ovisi o karakterističnoj duljini difuzije, koja opet ovisi o širini fokusiranog toka koji ovisi o brzini protoka glavnog i bočnih kanala. Vrijeme difuzije se smanjuje kako se smanjuje širina fokusiranog toka. Na taj način možemo direktno kontrolirati gradijent koncentracije reagenasa unutar mikrofluidičkog čipa. Da bismo to mogli predvidjeti potreban je dobar teorijski model koji opisuje položaj i širinu fokusiranog toka. Teorijski model koji opisuje širinu dvodimenzijskog hidrodinamički fokusiranog toka u pravokutnom mikrokanalu kreće od nekoliko osnovnih pretpostavki:

1. protok u mikrokanalu je laminaran
2. fluid je Newtonovski
3. fluid ima približno jednaku gustoću u svim ograncima mikrokanala
4. svi ogranci mikrokanala su jednake visine.

Prema zakonu o očuvanju mase (ZOM) količina fluida koja prolazi kroz ulazni kanal mora biti jednaka količini fluida koji prolaze kroz fokusirani tok:

$$Q_i = w_f v_f h \tag{19}$$

gdje je Q_i ($m^3\ s^{-1}$) je količina fluida koji ulazi na ulazni kanal, w_f (m) je širina fokusiranog toka, v_f ($m\ s^{-1}$) je brzina fokusiranog toka, a h (m) je visina kanala. Nadalje, prema ZOM količina fluida koji prolazi kroz izlazni kanal mora biti jednaka zbroju količine fluida koji ulazi na svaki pojedini kanala.

$$Q_i + Q_{s1} + Q_{s2} = w_o v_o h \tag{20}$$

gdje su Q_{s1} i Q_{s2} (m^3 s^{-1}) su volumetrijski protoci bočnih kanala, w_o (m) je širina izlaznog kanala, a v_o (m s^{-1}) je brzina protoka u izlaznom kanalu. Preuređivanjem jednadžbe (19) i (20) možemo dobiti odnos širine fokusiranog toka i volumetrijskih protoka glavnog i bočnih kanala:

$$\frac{w_f}{w_o} = \frac{Q_i}{\gamma(Q_i+Q_{s1}+Q_{s2})} \tag{21}$$

Pri čemu je:

$$\gamma = \frac{v_f}{v_o} \tag{22}$$

Da bismo postigli dvodimenzijsko hidrodinamičko fokusiranje u pravokutnom mikrokanalu volumetrijski protoci bočnih kanala moraju biti jednaki $Q_{s1} = Q_{s2} = Q_s$. Za određivanje širine fokusiranog toka potrebno nam je još odrediti omjer brzina fokusiranog toka i toka u izlaznom kanalu. Kako je ranije rečeno da u kanalima malih dimenzija Reynoldsov broj je malen, a i ulazni kanali su vrlo kratki može se pretpostaviti da je tok u izlaznom kanalu u potpunosti razvijen i da za njega vrijedi:

$$\frac{\partial^2 v}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial z^2} = \frac{dp}{\mu dx} = const. \tag{23}$$

U jednadžbi (23) v (m s^{-1}) je brzina, p (Pa) je tlak, a μ (Pa s) je viskoznost. Uvođenjem uvjeta ne kliženja fluida na stjenkama mikrokanala u jednadžbu (23), dobivamo Poiseuilleovu jednadžbu raspodjele brzina u pravokutnom mikrofluidičkom kanalu [24]:

$$v(y,z) = \frac{4h^2}{\mu\pi^3}\left(-\frac{dp}{dx}\right)\sum_{n=0}^{\infty}(-1)^n x\left\{1 - \frac{\cos h[(2n+1)\pi y/h]}{\cos h[(2n+1)\pi w_o/2h]}\right\}\frac{\cos h[(2n+1)\pi z/h]}{(2n+1)^3} \tag{24}$$

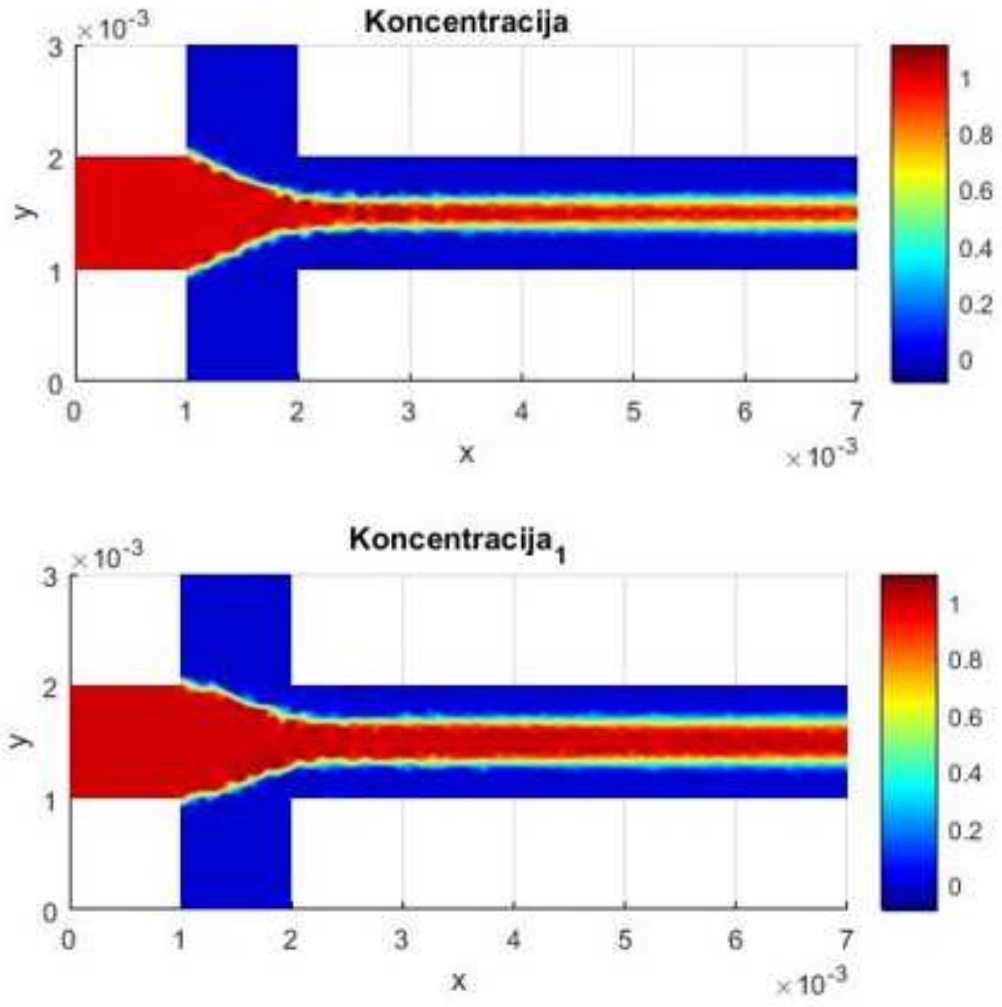
Da bi smo dobili brzinu samo u smjeru y osi potrebno je jednadžbu (24) integrirati po z osi u granicama integracije $-h/2$ do $h/2$ jer je $-h/2 \leq z \leq h/2$.

$$v(y) = \frac{1}{h}\int_{-h/2}^{h/2} v(y,z)dz = \frac{8h^2}{\mu\pi^4}\left(-\frac{dp}{dx}\right)\sum_{n=0}^{\infty}\frac{1}{(2n+1)^4} x\left\{1 - \frac{\cos h[(2n+1)\pi y/h]}{\cos h[(2n+1)\pi w_o/2h]}\right\} \tag{25}$$

Iz jednadžbe (25) možemo izračunati brzine fokusiranog toka i toka izlaznog kanala, te omjer brzina γ.

$$\gamma = \frac{v_f}{v_o} = \frac{\frac{2}{w_f}\int_0^{wf/2} v(y)dy}{\frac{2}{w_0}\int_0^{wo/2} v(y)dy} = \frac{\left\{1-\left(\frac{192h}{\pi^5 w_f}\right)\sum_{n=0}^{\infty}\frac{1}{(2n+1)^5}\frac{\sin h[(2n+1)\pi wf/2h]}{\cos h[(2n+1)\pi w_O/2h]}\right\}}{\left\{1-\left(\frac{192h}{\pi^5 w_o}\right)\sum_{n=0}^{\infty}\frac{\tanh[\frac{(2n+1)\pi wo}{2h}]}{(2n+1)^5}\right\}} \tag{26}$$

Korištenjem jednadžbe (26) i MATLAB-a moguće je proučavati širinu fokusiranog toka, utjecaj brzine bočnih kanala na širinu fokusiranog toka te područje difuzije što je prikazano na *Slici 15.* Na *Slici 15. a)* brzina bočnih kanala je dvostruko veća od brzine bočnih kanala prikazanih na *Slici 15. b).* U oba slučaja je brzina bočnih kanala jednaka zbog čega je došlo do simetričnog hidrodinamičkog fokusiranja. Također je vidljivo i područje difuzije koje je prikazano svjetlo plavom bojom pri čemu vidimo da je na *Slici 15. a)* to područje nešto šire što također odgovara teoriji koja kaže da je vrijeme difuzije manje ako je širina fokusiranog toka manja.



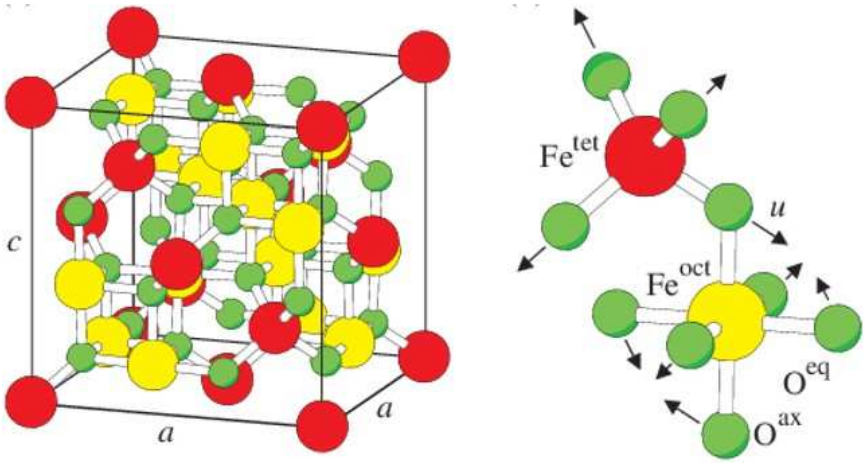
Slika 15. a) Fokusirani tok, brzina bočnih kanala dvostruko veća od brzine glavnog kanala b) Fokusirani tok, brzina bočnih kanala jednaka brzini glavnog kanala, modelirano u MATLABU

2.5. MAGNETIT

Magnetit je naziv koji se koristi za željezov oksid , Fe_3O_4, u kojem se izmjenjuje Fe^{2+} i Fe^{3+} ioni. Ime je dobio po pokrajini Magneziji u Maloj Aziji u kojoj su pronađena velika ležišta prirodnog magnetita. Magnetit koji se pronalazi u prirodi ima mnoga zanimljiva svojstva zbog čega se može koristiti u različite svrhe. Jedna od prvih upotreba bila je u navigacijskim uređajima koje su upotrebljavali kineski mornari, a imali su oblik sličan današnjim žlicama i spontano su se usmjeravali u smjeru Zemljinog magnetskog polja.

2.5.1. SVOJSTVA MAGNETITA

Magnetit ima strukturu inverznog spinela u kojem se izmjenjuju oktaedarski i tetraedarsko oktaedarski slojevi. Promatrajući magnetit kao gustu slagalinu možemo reći da je magnetit plošno centrirana kubična slagalina kisikovih atoma u čijim se oktaedarskim i tetraedarskim intersticijama nalaze željezni ioni. Fe^{2+} ioni popunjavaju polovicu oktaedarskih mjesta, a Fe^{3+} ioni popunjavaju drugu polovicu oktaedarskih mjesta te sva tetraedarska mjesta kao što je prikazano na *Slici 16.* [30]



Slika 16. Jedinična ćelija magnetita te tetraedarske i oktaedarske intersticije, crvenim kuglicama su označeni atomi željeza u tetraedarskim intersticijama, žutim u oktaedarskim intersticijama, a zelenim atomi kisika [31]

Jedinična ćelija magnetita je plošno centrirana gusta slagalina, a parametar jedinične čelije iznosi a = 0,8396 nm. Parametar ćelije nanokristalnog magnetita iznosi a = 0,8400 nm. Ova razlika je posljedica povećanja Laplaceovog tlaka zbog smanjenja radijusa čestice (jednadžba (17).) U jednoj jediničnoj čeliji ima 8 formulskih jedinki magnetita. 32 kisikova atoma tvore gustu slagalinu u čijim se intersticijama nalazi 24 željezna iona, 8 Fe^{2+} i 8 Fe^{3+} iona u oktaedarskim i 8 Fe^{3+} u tetraedarskim. U *Tablici 3*. su prikazani podaci kristalne strukture magnetita. [32]

Tablica 3. Podaci kristalne strukture magnetita

Podaci kristalne strukture magnetita

Kristalni sustav	Kubični
Prostorna grupa	Fd-3m
Duljina stranice	a=8,3941 Å
Kut ćelije	α=90,00°
Broj formulskih jedinki po jediničnoj čeliji	Z=8
Parametri atomskih pozicija	Fe1:8a, 0,1250, 0,1250, 0,1250 Fe2:16d, 0,5000, 0,5000, 0,5000 O:32e, 0,2549, 0,2549, 0,2549

Prirodni i sintetizirani magnetit mikro veličine ima metalni sjaj i crne je boje. Gustoća magnetita iznosi 5,18 g/cm^3. Pri sobnoj temperaturi magnetit ima tvrdoću 5,5 po Mohsovoj ljestvici, kao i staklo. Standardna slobodna Gibbsova energija stvaranja magnetita iznosi -1012,6 kJ/mol zbog čega je nastajanje magnetita termodinamički povoljno. Temperatura taljenja magnetita je 1590 °C, a temperatura vrenja je 2623 □. Smanjivanjem veličine nanočestica smanjuje se i temperatura tališta. Takvo ponašanje je predvidio Pawlow 1909. godine.[33]

$$\frac{T_{m(r)}}{T_{m(\infty)}} = 1 - \frac{4v_s^{2/3}}{L}\left(\gamma_s 2v_s^{2/3} - \gamma_l v_l^{2/3}\right)\frac{1}{d} \qquad (27)$$

U jednadžbi (27) T_m (K) predstavlja temperaturu taljenja, v (m^3 mol^{-1})je specifični molarni volumen, L (J mol^{-1}) je molarna toplina taljenja, γ (N m^{-1})je površinska napetost, a d (m) promjer.

Elektroni koordinirani oko željeznih iona u oktaedarskim intersticijama mogu biti termalno delokalizirani i migrirati unutar strukture magnetita. Ispod temperature od 118 K (temperatura Verweyovog[5] prijelaza) inhibirana je delokalizacija elektrona zbog uređenosti Fe^{2+} i Fe^{3+} iona u oktaedarskim intersticijama. Zbog efekta elektronske delokalizacije magnetit može biti metal deficijentan na oktaedarskim mjestima zbog čega je magnetit poluvodič. Dopiranjem magnetita možemo dobiti n- i p-tip poluvodiča.

Curieva temperatura za magnetit iznosi 850 K. Ispod te temperature magnetski momenti u tetraedarskim mjestima su feromagnetski posloženi, dok su magnetski momenti na oktaedarskim mjestima antiferomagnetski posloženi i međusobno se poništavaju. Kombiniranjem feromagnetskog i antiferomagnetskog poravnanja dobivamo ferimagnetsko poravnanje. Povećanjem temperature do Curieve, termalne fluktuacije narušavaju feromagnetsko poravnanje magnetskih momenata na tetraedarskim mjestima zbog čega se umanjuje ferimagnetični efekt. Kada se postigne Curieva temperatura ukupna magnetizacija je nula i uočava se superparamagnetsko ponašanje. Smanjivanjem veličine čestica povećava se udio površinskih spinova što kod nanočestica magnetita povećava dipolarnu anizotropiju i tako smanjuje Curievu temperaturu. [34] Također smanjivanjem veličine čestica smanjuje se udio izmjena spregnutih spinova koji se opiru spontanoj magnetskoj reorijentaciji što favorizira paramagnetsku ili superparamagnetsku magnetizaciju. Smanjivanjem veličine se smanjuje ferimagnetski efekt i povećava superparamagnetski. [30]

2.5.2. SINTEZA

Širok raspon primjena magnetita i materijala na bazi magnetita dovodi do vrlo velike potražnje magnetita. Odabir metode igra ključnu ulogu u određivanju veličina čestica i oblika, distribuciju veličina, kemiju površine i u konačnici primjenu dobivenih čestica. Da bismo dobili željene nanočestice potrebno je kontrolirati ključne parametre kao što su odvajanje procesa nukleacije od rasta, agregaciju, dostavu prekursora za dobivanje magnetita, temperaturu i pH vrijednost. Gotovo svi navedeni parametri su međusobno povezani i vrlo ih je teško odvojiti. Zbog toga je velika potreba za optimiziranom metodom sinteze u kojoj ćemo moći kontrolirati koncentraciju početnih materijala, temperaturu i pH

[5] Verweyov prijelaz je prijelaz u kojem dolazi do izmjene kristalne strukture magnetita iz monoklinske u kubičnu. Prilikom strukturne promjene dolazi i do promjene magnetskih, električnih i termalnih svojstava magnetita. Temperatura na kojoj se to događa naziva se temperatura Verweyovog prijelaza i iznosi 118 K.

vrijednost. Do sada su razvijene mnoge sintetske metode u kojima je moguće kontrolirati veličinu, polidisperznost, oblik, kristaliničnost i magnetska svojstva nastalih čestica. Najčešće korištene metode za sintezu nanočestica magnetita su koprecipitacija, termalna dekompozicija, hidrotermalna sinteza, mikrovalna sinteza, tehnika emulzija, piroliza, sol-gel metoda, a u manjoj mjeri i biološka sinteza. Za sintezu nanočestica korištena je metoda koprecipitacije i ona će biti detaljnije opisana.

Termalna dekompozicija je vrlo obećavajuća tehnika za dobivanje superparamagnetnih nanočestica magnetita. Metoda uključuje razgradnju prekursora na visokoj temperaturi u prisustvu stabilizirajućeg tenzida kao što je oleinska kiselina ili oleiamin. [35]

Hidrotermalna sinteza jedna je od najuspješnijih metoda za rast kristala mnogih materijala. Reakcija se provodi u vodenom mediju u autoklavu pri visokom tlaku i temperaturi. U autoklav se stavlja smjesa soli Fe^{3+}, etilen glikola, natrijeva acetata i polietilen glikola te se sve pomiješa dok se ne dobije homogena smjesa te se zagrije na 200 □ u vremenu od 8 - 72 sata. Na ovaj način se mogu dobiti monodisperzne nanočestice visoke kristaliničnosti. [36]

Mikrovalna sinteza je vrlo praktična jer omogućuje brzo zagrijavanje otopine prekursora uobičajeno željezovog triklorida ($FeCl_3$), etilen (C_2H_4) ili dietilen glikola ($(HOCH_2CH_2)_2O$) i hidrazina (N_2H_4) koji služi kao reducirajući agens, a kao baza se koristi natrijev hidroksid (NaOH), natrijev acetat (CH_3COONa) ili amonijak (NH_3). Ovom metodom se dobivaju vrlo male nanočestice uske distribucije veličina. [37]

Emulzijska tehnika koristi emulziju ulja u vodi za dobivanje magnetita. Mikroemulzijski sustav se sastoji od vodenih domena, reverznih micela, dispergiranih u uljnoj fazi. Ova metoda je prigodna za pripremu čistog magnetita kao i magnetita presvučenog različitim organskim ili anorganskim materijalima kao što su različiti tenzidi. [38]

Proces pirolize se sastoji od formiranja aerosoli iz razrijeđene otopine prekursora korištenjem ultrazvučnog generatora visokih frekvencija. Nastali aerosol se provodi kroz peć s plinom nosačem. U peći se događaju različiti procesi kao što su isparavanje, kalcinacija i zgušnjavanje praha. Na kraju kvarcne cijevi u peći se nalazi područje gdje se generira visoki napon za prikupljanje nanočestica. [39]

Sol-gel metoda se zasniva na nizu reakcija hidrolize i kondenzacije u kojima se dobivaju čestice sola nakon čega slijedi kondenzacija i polimerizacija anorganskih reaktanata kako bi

se dobila mreža - gel faza. Gel se zatim zagrijava kako bi dobili kristale. Magnetit se sol-gel metodom dobiva koristeći alkoksidne i nealkoksidne prekursore. [40]

Koprecipitacija je vrlo jednostavan i učinkovit način za pripremanje željeznih oksida iz vodenih otopina soli prekursora u lužnatim uvjetima. Na sintezu posebno utječe priroda i koncentracije prekursora, prisutnost dispergirajućeg agensa, temperatura sinteze, pH i brojni drugi parametri. Sinteza se odvija po jednadžbi :

$$Fe^{2+} + 2Fe^{3+} + 8OH^- \rightarrow Fe_3O_4 + 4H_2O \quad (28)$$

Gledajući termodinamiku reakcije potpuno taloženje se događa u rasponu pH 8 - 14. Reakcija je jako osjetljiva na prisutnost kisika jer nastali magnetit se oksidira u maghemit. Zbog toga je sintezu poželjno provoditi u inertnoj atmosferi. Glavna prednost ove metode je dobivanje velike količine magnetita koristeći jeftine prekursore, ali je kontrola raspodjele veličina čestica limitirana zbog toga što su kinetički faktori zaslužni za kontroliranje rasta kristala. Također dobiveni kristali su različite kvalitete jer nastaju pri različitim uvjetima budući da je brzina nastajanja čestica puno brža od homogenizacije reakcijske otopine. Proces koprecipitacije se odvija u dva stupnja. Prvi je nukleacija u kojem je koncentracija prekursora u prezasićenom području te nastaju jezgre. Drugi stupanj je spori rast jezgri. Uvjet za dobivanje monodisperznih nanočestica je da se ova dva stupnja ne preklapaju, odnosno da za vrijeme rasta jezgri ne dolazi do stvaranja novih jezgri. Kontrolu veličina nanočestica može se postići kontrolom početka prvog stupnja. Broj nastalih nanočestica ovisi o broju jezgri koje nastanu u prvoj fazi i ne mijenja se tijekom stupnja u kojem dolazi do rasta nanočestica. Sinteza koprecipitacijom u mikrofluidičkom čipu ima brojne prednosti jer pruža mogućnost kontrole nad ključnim parametrima važnim za kontrolu veličine nastalih nanočestica.[41]

U mikrofluidičkom čipu možemo na dva načina kontrolirati stupnjeve nastanka nanočestica. Prvi način je kontroliranjem ukupnog protoka otopine prekursora i baze unutar mikrofluidičkog čipa. Unutar mikrofluidičkog čipa dolazi do laminarnog strujanja hidrodinamički fokusiranog toka u kojem se nalaze otopljene soli, a fokusiramo ga bočnim protocima lužine. Do miješanja unutar čipa dolazi samo difuzijom kako je već prethodno navedeno. Kontroliranjem ukupnog protoka direktno kontroliramo gradijent koncentracije soli, gradijent pH te područje i vrijeme u kojem dolazi do nukleacije i rasta kristala. Što je veća ukupna brzina protoka, veća je udaljenost u mikrofluidičkom čipu u koje dolazi do nukleacije i kraće je vrijeme u kojem vladaju uvjeti prezasićenosti. Također, kraće je i

vrijeme u kojem dolazi do rasta nanočestica. Drugi način je kontroliranje omjera brzina glavnog i bočnih kanala. Na taj način direktno kontroliramo širinu fokusiranog toka. Što je manja širina fokusiranog toka, manja je karakteristična duljina difuzije, a time vrijeme difuzije je puno manje te brže dolazi do uvjeta prezasićenja i nukleacije.

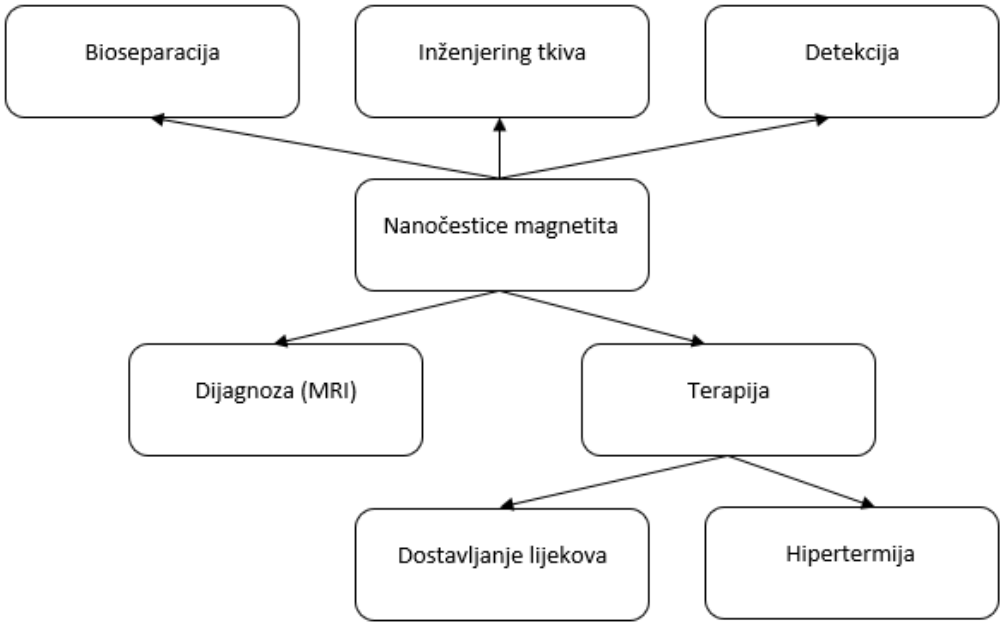
Osim kontroliranja nukleacije i rasta, omjer Fe^{3+} i Fe^{2+} također igra veliku ulogu u kvaliteti nastalih nanočestica. Ako je omjer vrlo velik (>20) nastaje jako puno goetita (FeO(OH)). Molarni omjer Fe^{3+} i Fe^{2+} između 20 i 10 povećava udio nastalog udjela oksihidroksida. Ako je vrijednost molarnog udjela između 10 i 3 nastaje oksihidroksidna faza s malim udjelom Fe^{2+} iona te faza s velikim česticama stehiometrijskog magnetita varijabilnih veličina i sastava. Kada je molarni omjer malo ispod 3 nastaje čisti magnetit u kojem je omjer Fe^{2+}/Fe^{3+}= 0,35, a kada je između 2 i 3 nastaju čestice nestehiometrijskog magnetita. Čestice stehiometrijskog magnetita nastaju kada je omjer Fe^{3+}/ Fe^{2+} = 2. Čisti željezov oksid (FeO) nastaje kada je omjer Fe^{3+}/Fe^{2+} jako mali. [42]

Na veličinu, oblik, sastav i magnetska svojstva nastalih nanočestica utječe i ionska jakost. Magnetit pripremljen sa dodatkom 1 mol/L NaCl u vodenoj otopini je otprilike 1,5 nm veći od onog pripremljenog bez dodatka NaCl. [41] Temperatura sinteze je također vrlo važan parametar koji određuje kvalitetu nastalih nanočestica magnetita. Optimalna temperatura za sintezu magnetita je iznad 80℃. Precipitacijom na temperaturi ispod 60℃ većinom nastaje amorfni hidrirani oksihidroksid koji se može lako prevesti u hematit (Fe_2O_3). [44]

Tijekom sinteze potrebno je voditi računa o još jednoj stvari, a to je koloidna stabilnost. Nanostrukture dispergirane u mediju se zbog Brownovog gibanja međusobno sudaraju, a koloidna stabilnost disperzije je diktirana sudbinom svake čestice nakon sudara. Kada između dispergiranih čestica prevladavaju privlačne sile Brownovo gibanje dovodi do ireverzibilne agregacije nanočestica. U slučaju nanočestica magnetita, magnetske dipol-dipol interakcije rezultiraju dodatnom privlačnom silom. Zbog toga je vrlo važno površinsko modificiranje nanočestice s molekulama zbog kojih se javljaju odbojne sile koje su dovoljne da nadvladaju privlačne kada dolazi do sudara.[31] Odbojne sile možemo postići elektrostatskom stabilizacijom [45] (električni dvosloj na čestici) ili steričkom stabilizacijom (u prisustvu polimernih lanaca). [46, 47]

2.5.3. PRIMJENA NANOČESTICA MAGNETITA

Magnetske nanočestice se koriste još od sredine 20-tog stoljeća za pročišćavanje otpadnih voda. Od onda do danas se upotreba magnetskih nanočestica poprilično povećala, a među njima i upotreba nanočestica magnetita koji se primjenjuje u industriji i biomedicini kako je prikazano na *Slici 17*. [41]



Slika 17. Primjena magnetita u biomedicini

Nanomedicina je relativno nova disciplina koja pruža nove pristupe za rješavanje mnogih medicinskih problema. Jedan od njih je razvoj bakterijske rezistencije na antibiotike. Kombinacijom antibiotika s nanočesticama postiže se sinergistički efekt i mogu se liječiti infekcije s manjim dozama antibiotika. [48]

Sedamdesetih godina prošlog stoljeća se javila prva ideja korištenja magnetskih nanočestica za dostavljanje lijekova. [49] Magnetske nanočestice su obećavajući materijal za dostavljanje lijekova u ciljane organe. Kretanje ovih čestica kroz tijelo se postiže primjenom vanjskog magnetskog polja. Postojanost ovih čestica u tijelu ovisi o veličini čestica i kemiji površine. Jednom kad se čestice nakupe u ciljanom organu dolazi do oslobađanja lijeka, a brzina oslobađanja ovisi o mehanizmu dostave, pH, temperaturi, prirodi i morfologiji čestica. Svi ovi parametri se moraju uzeti u obzir prilikom dizajniranja ovakvih čestica za dostavu lijekova. [50, 51]

Još jedna od primjena nanočestica magnetita je za postizanje hipertermije. Hipertermija je metoda liječenja koja se zasniva na podizanju temperature dijela tijela koji je pogođen rakom. U tkivu koje je pogođeno rakom podiže se temperatura na 41-43 □ i zadržava se oko 20-60 min. Temperatura za postizanje stanja hipertermije se postiže na različite načine: mikrovalovima, ultrazvukom ili infracrvenim zračenjem. Korištenjem nanočestica za postizanje hipertermije predstavlja mogućnost za smanjivanje upotrebe citostatika u liječenju raka. Prednost korištenja nanočestica magnetita je u mogućnosti njihove ciljane dostave u oboljelo tkivo. Zagrijavanje se potom vrši primjenom vanjskog elektromagnetskog polja. Vanjsko magnetsko polje može puno brže mijenjati frekvenciju nego li se nanočestice mogu prilagoditi promjeni i zbog toga se zagrijavaju. Ovo je najučinkovitiji način zagrijavanja i najmanje je agresivan. Nanočestice koje se koriste za postizanje hipertermije moraju imati monomodalnu raspodjelu veličina imati visoku magnetizaciju, visoku kristalnost, mogućnost dispergiranja u vodi te trebaju biti što manje toksične. [52]

Na površini magnetita su hidroksidne skupine koje mogu tvoriti vodikove veze, ali i kovalentne veze sa biomolekulama. Zbog toga se magnetit koristi za učinkovitu separaciju biomolekula. Uloga magnetita u bioseparaciji može biti aktivna i pasivna. Za aktivnu ulogu magnetita koristi se njegovo magnetsko svojstvo i do separacije dolazi upotrebom vanjskog magnetskog polja. [55]

Inženjering tikva je još jedno područje u kojem magnetit pokazuje izvanredne mogućnosti za primjenu. Magnetit je zbog visoke susceptibilnosti vrlo lako magnetski navoditi do ciljanih mjesta, a osim toga ima i pozitivan utjecaj na neke stanice kao što su osteoblasti. Korištenje magnetita u rekonstrukciji kostiju se pokazala vrlo učinkovitom jer prisutnost magnetita povećava proliferaciju stanica. [54]

Još jedna važna upotreba magnetita u biomedicini je korištenje ferofluida kao kontrasta za MRI (eng. *Magnetic Resonance Imaging*). Ferofluid dobiven korištenjem nanočestica presvučenih oleinskom kiselinom i dispergiranih u otopini kitozana je korišten kao MRI kontrast i uspoređen sa komercijalno dostupnim kontrasnim agensima. Ferofluid je pokazao poboljšanja u odnosu na komercijalni kontrast. [55]

2.6. METODE KARAKTERIZACIJE

2.6.1. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA

Infracrvena spektroskopija je analitička tehnika koja koristi interakciju infracrvenog zračenja i molekula za kvantitativnu i kvalitativnu kemijsku analizu. Infracrveni spektar se dobiva određivanjem koji udio infracrvenog zračenja je apsorbiran prilikom prolaska zračenja kroz materijal. Energija pri kojoj se pojavljuje apsorpcijski maksimum u spektru odgovara frekvenciji vibracije pojedinog dijela molekule.

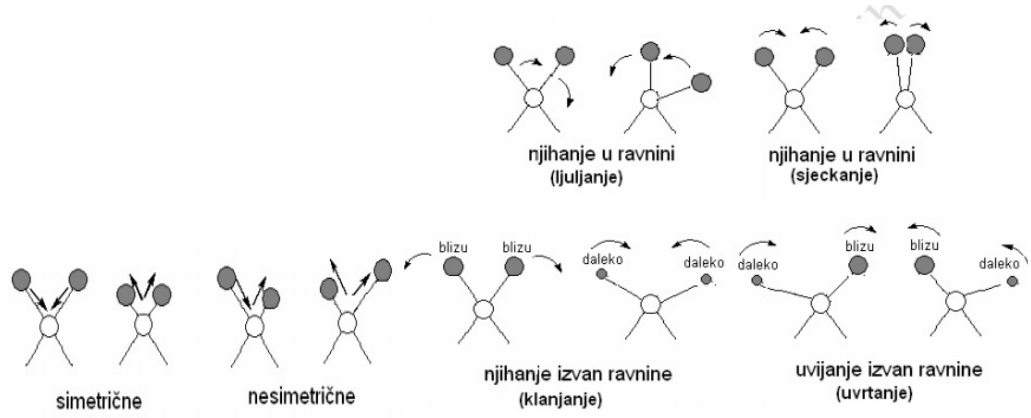
Da bi molekula apsorbirala infracrveno zračenje molekula mora posjedovati električni dipolni moment koji se mijenja kada određeni dio molekule vibrira. Interakcije infracrvenog zračenja sa materijom se mogu objasniti promjenama dipolnih momenata povezanih s vibracijom i rotacijom unutar molekule. Molekulu možemo promatrati kao skupinu atoma koji imaju određenu masu povezanih vezama koje imaju svojstva opruge. Atomi u molekuli mogu se pomicati relativno u odnosu jedan na drugi prilikom čega dolazi do promjene u duljini i kutu veze. Te promjene nazivamo vibracijama. Frekvenciju vibracija možemo opisati Hookovim zakonom, a proporcionalna je konstanti veze k (N m^{-1}) te obrnuto proporcionalna masi atoma koji vibriraju. Korištenje reducirane mase, μ, omogućava pojednostavljenje kalkulacija kombiniranjem masa pojedinih atoma.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{m1} + \frac{1}{m2} \tag{30}$$

m_1 i m_2 (kg) predstavljaju mase atoma na krajevima veze. Frekvencija takve veze je:

$$\nu = 1/2\pi\sqrt{k/\mu} \tag{31}$$

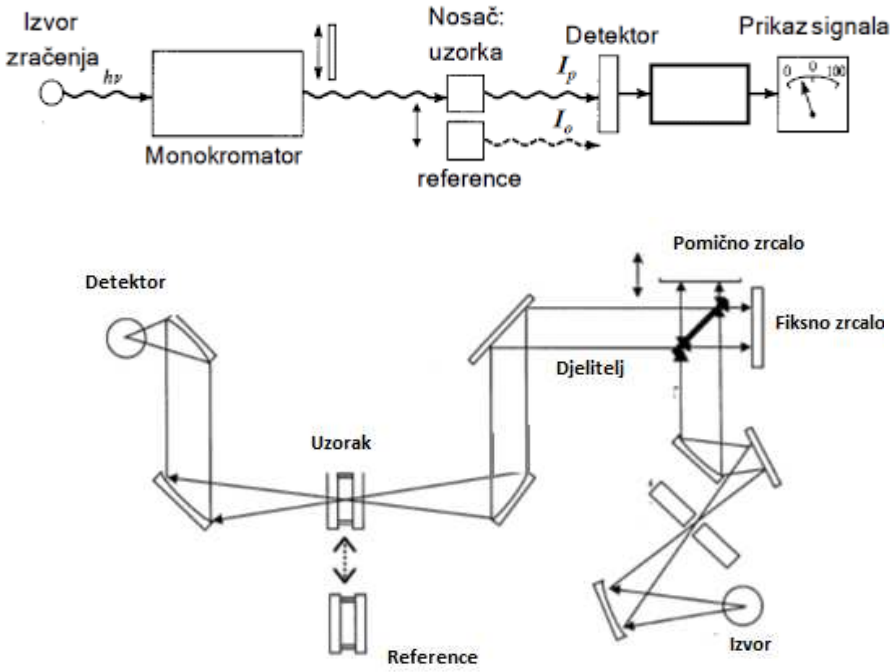
Vibracije mogu uključivati promjene u duljini veze što se naziva istezanje ili promjene u kutu veze što nazivamo savijanje. Istezanje može biti simetrično (u fazi) ili asimetrično (izvan faze), a savijanje može biti ljuljanje, sjeckanje, klanjanje i uvrtanje kao što je prikazano na *Slici 18.*



Slika 18. Vibracije istezanja i savijanja [56]

Najčešće se IR spektar dobiva mjerenjem apsorpcije IR zračenja, ali nešto rjeđe se koristi mjerenje IR emisije i refleksije. Iz IR spektra nekog spoja možemo dobiti brojne informacije o kemijskoj prirodi spoja, ali i njegovoj molekulskoj strukturi. Svaki IR spektar možemo podijeliti u dva dijela. Prvi dio je područje funkcionalnih skupina (4000-1000 cm^{-1}) i područje otiska prsta (<1000 cm^{-1}). [57] Instrumenti za infracrvenu spektroskopiju su raspršivali energiju emitiranu iz izvora zračenja na individualne frekvencije što se postizalo prizmom ili pukotinom. A detektor je mjerio količinu energije za svaku određenu frekvenciju. Da bi se izbjegla ograničenja IR instrumenata razvijeni su FTIR instrumenti - infracrvena spektroskopija sa Fourierovom transformacijom. Shematski prikaz IR i FTIR uređaja prikazan je na *Slici 19.* Glavni napredak je bio mjerenje svih frekvencija simultano, a ne individualno. Ovo je omogućeno korištenjem interferometara. Interferometar koristi razdjelnik zraka koji ulaznu zraku raspršuje na dva dijela. Jedna zraka se reflektira na zrcalu koje je fiksirano, a druga se reflektira na zrcalu koje se može pomicati. Reflektirane zrake se rekombiniraju kada se ponovo vrate na razdjelnik. Budući da je put jedne zrake uvijek isti, a put druge se stalno mijenja kako se pomiče zrcalo signal koji se mjeri je rezultat interferencije te dvije zrake. Rezultirajući signal je interferogram koji ima svojstvo da u svakoj točki (koja je funkcija pozicije zrcala koje se pomiče) koja je dio signala ima informaciju o svakoj frekvenciji koja dolazi od izvora zračenja. Ono što mjerimo je interferogram koji treba dekodirati da bi postao spektar. Za to se koristi Fourierova transformacija. Fourierov teorem kaže kako se svaka funkcija može prikazati kao superpozicija sinusnih i kosinusnih valova. Fourierova transformacija se može koristiti za računanje superpozicije sinusnih i kosinusnih valova za danu funkciju i obratno, za računanje funkcije iz superpozicije sinusnih i kosinusnih valova. Interferogram je superpozicija

kosinusnih valova. Korištenjem Fourierove transformacije možemo dobiti funkciju koja odgovara interferogramu. Dobivena funkcija je IR spektar. Prednosti FTIR-a su da je on brži, osjetljiviji i mehanički jednostavniji. [58, 59]



Slika 19. Shematski prikaz IR (gore)[60] i FTIR (dolje) spektroskopa [58]

2.6.2. TRANSMISIJSKA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

Transmisijski elektronski mikroskop radi na istom principu kao i obični svjetlosni mikroskop. Umjesto svjetlosti koristi elektrone, a za fokusiranje umjesto staklenih leća koristi elektromagnetsko fokusiranje. Ono što vidimo svjetlosnim mikroskopom je ograničeno valnom duljinom svjetla, a elektronskim mikroskopom možemo vidjeti predmete veličine manje od 1 nm budući da je uvećanje elektronskog mikroskopa 10^3-10^6. Također je moguće proizvesti uzorke elektronske difrakcije koji su korisni za analizu kristalne strukture analita. Glavne prednosti transmisijskog elektronskog mikroskopa su da pruža iznimno veliko uvećanje, iz njega dobivamo informacije ne samo o veličini uzorka, nego i obliku, strukturi i karakteristikama površine. Nedostaci su da je vrlo velik i iznimno skup te

je potrebna posebna obuka za rukovanje. Potrebna je pravilna priprema uzoraka koji mora biti transparentan za elektrone i može podnositi vakuum.

Transmisijski elektronski mikroskop se sastoji od tri glavna dijela. Prvi dio je elektronski pištolj koji služi za proizvodnu snopa elektrona. U prvom djelu se još nalaze elektromagnetske leće koje fokusiraju snop elektrona na uzorak. Drugi dio je zadužen za stvaranje slike. Sastoji se objektivne leće, pomičnim dijelom za uzorak, srednje i projektorske leće. Uloga srednje i projektorske leće je da fokusiraju zraku elektrona koja prolazi kroz uzorak i stvaraju realnu, uvećanu sliku uzorka. Treći dio transmisijskog elektronskog mikroskopa je sustav za prikazivanje slike. Njegova uloga je stvaranje slike koju možemo vidjeti, a sastoji se od fluorescentnog zaslona na kojem možemo vidjeti uzorak i digitalne kamere za snimanje. Budući da je snop elektrona osjetljiv na čestice prisutne u zraku potrebno je snimanje obaviti u vakuumu. Zbog toga TEM ima i vakuumski sustav koji se sastoji od vakuumske pumpe i ventila. [61] Osnovni dijelovi transmisijskog elektronskog mikroskopa mogu se vidjeti na *Slici 20.*

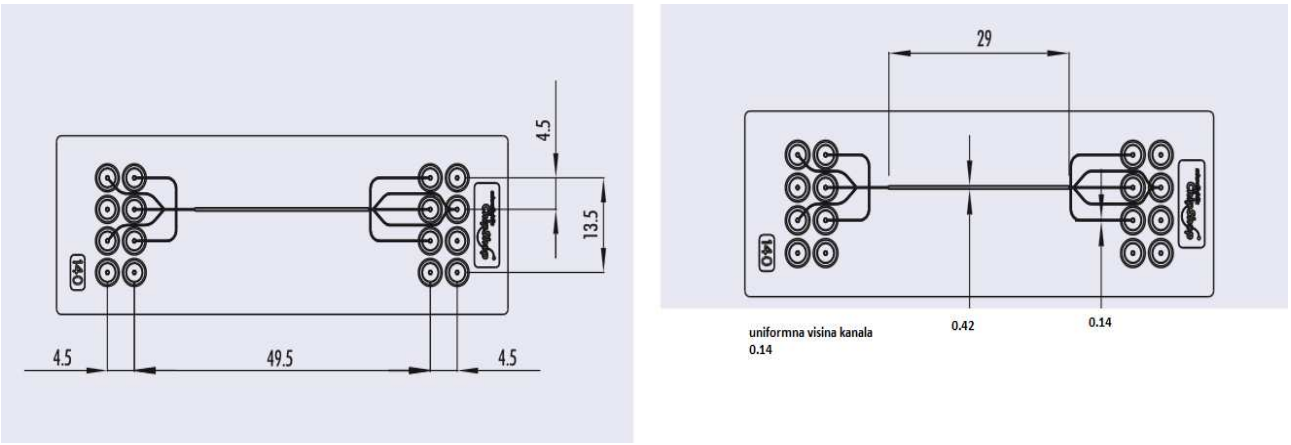


Slika 20. Shematski prikaz glavnih dijelova TEM-a [62]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

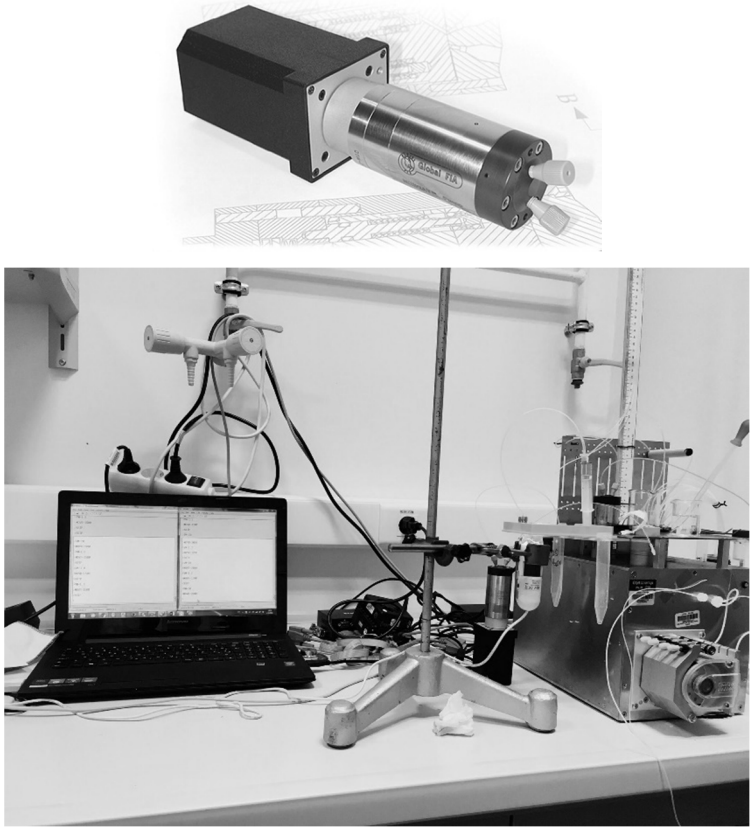
3.1. MATERIJALI

Za sintezu nanočestica magnetita korišten je eng. *droplet generator* mikrofluidički čip kojemu su širina ulaznih i izlaznih kanala 140 µm, a širina središnjeg kanala je 420 µm. Visina svih kanala je 140 µm što je prikazano na *Slici 21* . Mikrofluidički čip je napravljen od polikarbonata. Izabran je čip koji ima 5 ulaznih i 5 izlaznih kanala. Srednji ulazni kanal se koristi za uvođenje otopine soli potrebnih za sintezu, 2 bočna kanala se koriste za uvođenje otopine NaOH, a ujedno se koriste i za hidrodinamičko fokusiranje. Dodatna 2 bočna ulazna kanala se mogu koristiti za uvođenje prekursora potrebnog za površinsku modifikaciju nastalih nanočestica. Sveukupno 5 izlaznih kanala se mogu koristiti za razdvajanje nanočestica na temelju veličina. Najmanje nanočestice će izlaziti na prvim kanalima na koje naiđu, a najveće na srednji izlazni jer je on posljednji u nizu, a budući da manje čestice imaju manji Pecletov i Stokesov broj izraženija im je difuzija od konvekcije i brže se prilagođavaju promjeni toka.



Slika 21. Shematski prikaz čipa korištenog za sintezu [63]

Za kontroliranje protoka unutar čipa korištene su dvije MilliGAT pumpe, prikazano na *Slici 22.* [63] Brzina protoka je kontrolirana digitalno uz pomoć računala programom HyperTerminal. Raspon brzine protoka je 0.001-167 µL/s.



Slika 22. MilliGAT pumpa [64]i instrumentacija za sintezu

Kemikalije korištene za sintezu su: željezov triklorid heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), kalijev jodid (KI), Lizin ($C_6H_{14}N_2O_2$), natrijev hidroksid (NaOH) i natrijev klorid (NaCl). Za modificiranje površine čipa korišten je Zonyl (neionski tenzid), a za čišćenje između sinteza klorovodićnu kiselinu (HCl , 1 mol/L).

Prilikom pripreme otopina korištena je ultrazvučna kupelj (Bandelin Sonorex, Njemačka), a za karakterizaciju nastalih nanočestica korišten je FT-IR spektrometar (Shimadzu FTIR-8400S, Japan) i transmisijski elektronski mikroskop (JEOL JEM 1200 EX II).

3.2. PRIPREMA OTOPINA

Otopina željezovih soli u kojima je omjer Fe^{3+}/Fe^{2+} što bliže vrijednosti 2 je potrebna za sintezu magnetita. Otopina je pripremljena otapanjem 13,515 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ u 75 mL

deionizirane vode. U tu otopinu je dodana otopina koja je pripremljena otapanjem 2,7665 g KI u 25 mL deionizirane vode. Fe^{3+} ioni su reducirani I^- ionima do Fe^{2+} iona prema jednadžbi:

$$2Fe^{3+} + 2I^- \rightarrow 2Fe^{2+} + I_2 \quad (32)$$

U konačnici dobijemo 100 mL otopine u kojoj omjer Fe^{3+}/Fe^{2+} iznosi 2. Koncentracija Fe^{3+} u ovako pripremljenoj otopini iznosi 0,33335 mol/L, a Fe^{2+} 0,16665 mol/L. 25 mL ove otopine razrijedimo deioniziranom vodom do 100 mL. U razrijeđenoj otopini koncentracija Fe^{3+} iznosi 0,08333 mol/L, a Fe^{2+} 0,04167 mol/L. Otopina lizina je pripremljena otapanjem 2,7396 g lizina u 50 mL deionizirane vode. U otopinu lizina je dodano 0,4383 g NaCl zbog povećavanja ionske jakosti. Otopina NaOH koncentracije 0,5 mol/L je pripremljena otapanjem 2 g NaOH u 100 mL deionizirane vode, a otopina koncentracije 0,25 mol/L je pripremljena razrjeđivanjem prethodno navedene otopine.

3.3. SINTEZA

Sinteza magnetita je vršena u mikrofluidičkom čipu. Otopina za sintezu je pripremljena miješanjem 5 mL otopina soli i 5 mL otopine lizina. Nakon dodatka lizina u otopinu soli boja otopine je potamnila. Ovako pripremljena otopina je uvođena kroz srednji kanal u mikrofluidički čip, a otopina NaOH kroz bočne kanale. Uvjeti sinteze su mijenjani sustavno kako bi se u konačnici provjerio utjecaj pojedinih uvjeta na veličinu nastalih nanočestica. U prvoj seriji sinteza uzorci su pripremljeni mijenjajući uvjete reakcije, a protoci prilikom sinteze su bili jednaki. Brzina protoka glavnog kanala iznosila je 1,2 µL/s, a bočnih 1,8 µL/s. Uzorak 1 je sintetiziran tako što je prethodno snižen pH početne otopine dodatkom 1 mol/L otopine HCl dok se boja iz tamno smeđe (nakon dodatka lizina) nije vratila u početnu boju (svijetlo smeđu) otopine soli. Uzorak 2 je sintetiziran bez prethodnog snižavanja pH, a uzorak 3 je sintetiziran u reakcije s otopinom NaOH koncentracije 0,25 mol/l.

Druga serija uzoraka nanočestica je sintetizirana tako da se mijenjala ukupna brzina protoka koja predstavlja linearnu kombinaciju brzina srednjeg i bočnih kanala, a omjer brzine bočnih i srednjeg kanala se držao konstantnim. Uvjeti sinteze su prikazani u *Tablici 4.*

Tablica 4. Uvjeti sinteze druge serije nanočestica magnetita

	Uzorak 4	Uzorak 5	Uzorak 6
Brzina srednjeg kanala μL/s	1,2	2	3
Brzina bočnih kanala μL/s	1,8	3	4,5
Ukupna brzina μL/s	3	5	7,5
Omjer brzine bočnih i srednjeg kanala	1,5	1,5	1,5
c(NaOH) (mol/l)	0,5	0,5	0,5

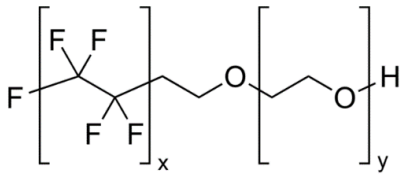
Treća serija uzoraka je pripremljena tako da je ukupan protok bio konstantan, a mijenjan je omjer brzina. Uvjeti za sintezu druge serije su prikazani u *Tablici 5*.

Tablica 5. Uvjeti sinteze treće serije nanočestica

	Uzorak 4	Uzorak 5	Uzorak 6
Brzina srednjeg kanala μL/s	3	2,2	1
Brzina bočnih kanala μL/s	4,5	5,3	6
Ukupna brzina μL/s	7,5	7,5	7,5
Omjer brzine bočnih i srednjeg kanala	1,5	2,33	4
c(NaOH) (mol/l)	0,5	0,5	0,5

3.4. POVRŠINSKA MODIFIKACIJA STIJENKI I ISPIRANJE MIKROFLUIDIČKOG ČIPA

Prije svake sinteze čip je bio natopljen otopinom Zonyla. Otopina je pripremljena dodavanjem jedne kapi Zonyla u 100 mL deionizirane vode. Zonyl je neionski tenzid čija je struktura prikazana na *Slici 23*.



Slika 23. Struktura Zonyla [65]

Površina kanala čipa je modificirana Zonylom kako bi se smanjilo lijepljenje nanočestica za površinu kanala čipa. Zonyl je zbog velikog broja fluorovih atoma vrlo inertan i na njega se manje lijepe nanočestice magnetita nego za površinu polikarbonatnog čipa. Budući da su se nanočestice magnetita lijepile za stjenke čipa, čip je bilo potrebno ispirati nakon svake sinteze otopinom HCl koncentracije 1 mol/L.

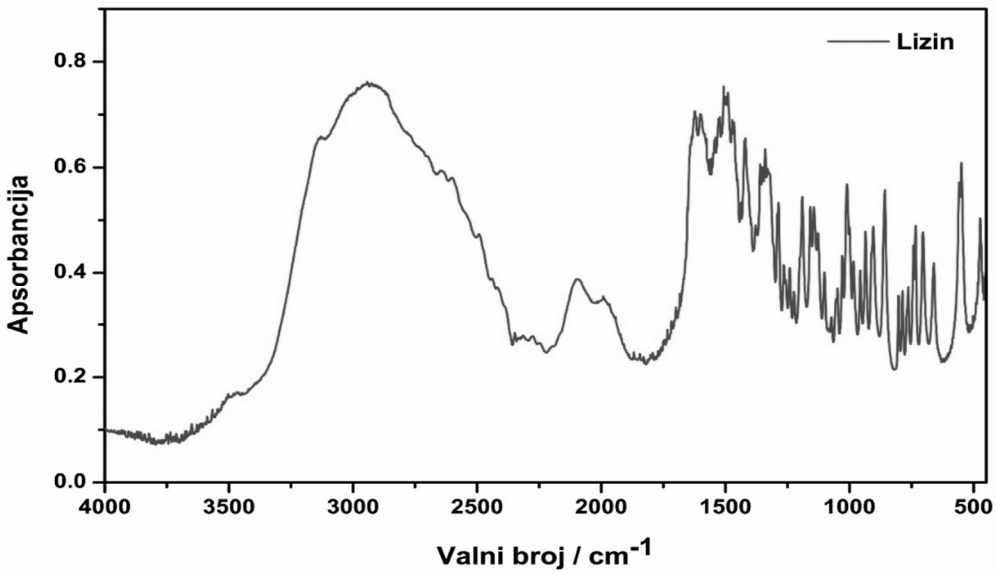
3.5. KARAKTERIZACIJA NANOČESTICA

Nastale nanočestice su karakterizirane FTIR spektroskopijom i transmisijskim elektronskim mikroskopom. FTIR spektroskopijom su utvrđene funkcionalne skupine na površini nanočestica, a TEM-om je odrađena veličina, morfologija i karakteristika površine. Kako bismo pokazali razliku između modificiranih i nemodificiranih nanočestica napravljen je FTIR spektar čistog lizina, nemodificiranih nanočestica magnetita i nanočestice magnetita čija je površina modificirana lizinom. Transmisijskim elektronskim mikroskopom je snimljeno svih 9 uzoraka nanočestica kako bi se utvrdila razlika u veličini i morfologiji nanočestica sintetiziranih pri različitim uvjetima. FTIR spektar je sniman tako što je mala količina uzorka pomiješana s KBr, homogenizirana u ahatnom tarioniku te snimljena FTIR spektrofotometrom.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

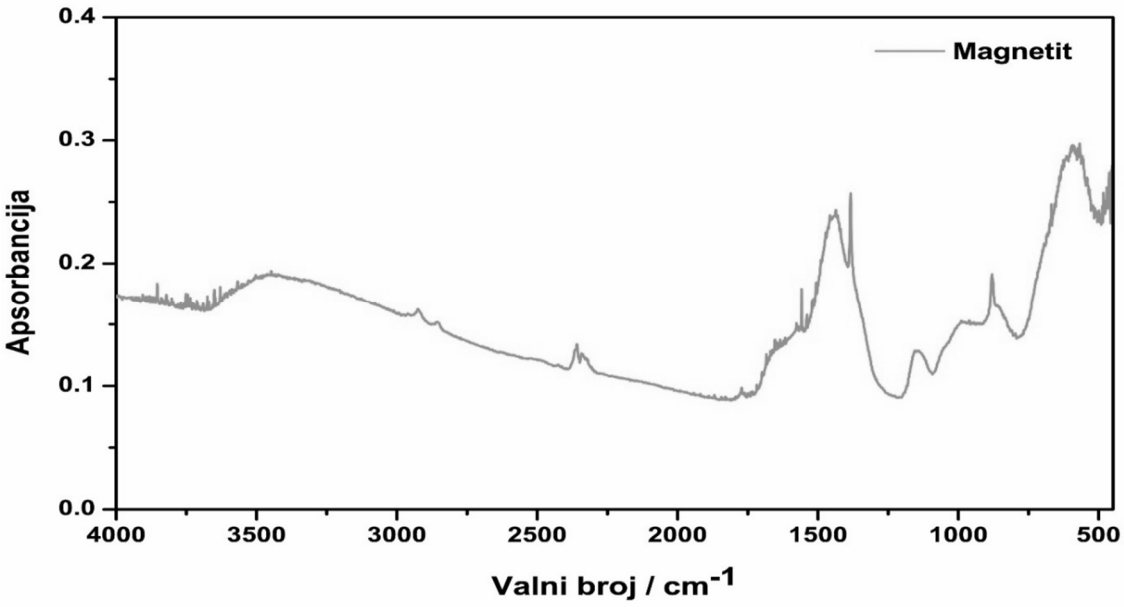
4.1. REZULTATI FTIR SPEKTROSKOPIJE

U IR spektru lizina koji je prikazan na *Slici 24.*, široka vrpca u području 2500-3500 cm^{-1} odgovara asimetričnom i simetrično istezanju CH_2 veze te istezanju OH veze. U ovom području se preklapa i apsorpcijski maksimum N-H istezanja. Apsorpcijski maksimumi koji protječu od C=O istezanja i asimetričnog istezanja karboksilne skupine se nalaze na 1500-1600 cm^{-1}. Ovi maksimumi bi inače bili vrlo uski i istaknuti, ali se preklapaju s asimetričnim i simetričnim savijanjem NH_3^+ skupine. Skupina maksimuma od 1000-1450 cm^{-1} odgovaraju deformaciji CH_2 veze (1450 cm^{-1}), simetričnom istezanju karboksilne skupine (1413 cm^{-1}), istezanje C-OH veze (1255 cm^{-1}) i asimetrično ljuljanje NH_3^+ skupine (1300 cm^{-1}, 1180 cm^{-1} i 1150 cm^{-1}).



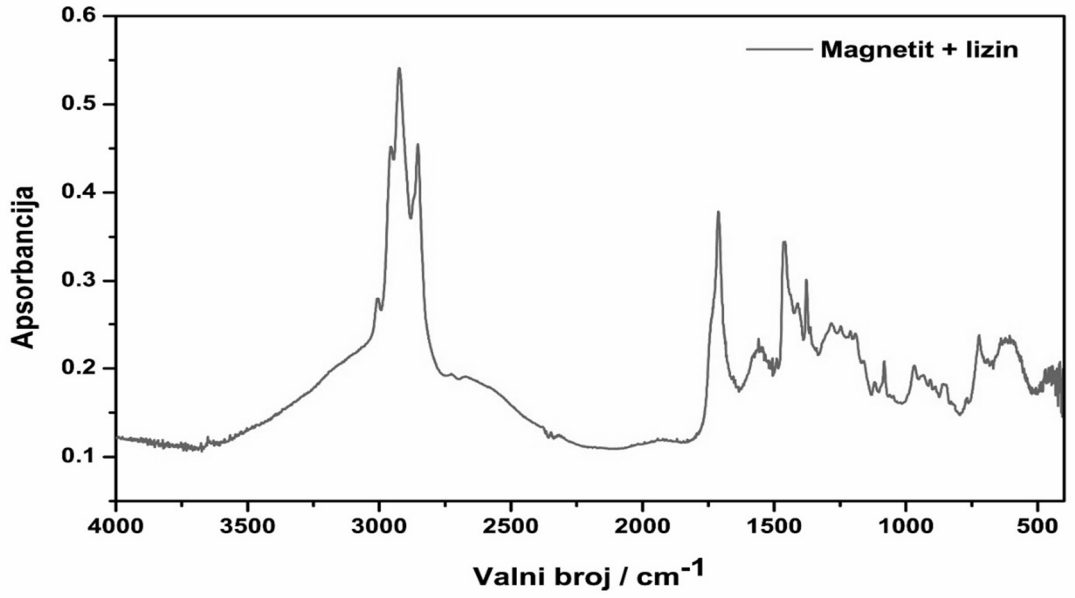
Slika 24. IR spektar L-lizina

Na *Slici 25.* prikazan je IR spektar magnetita kojemu nije modificirana površina. Apsorpcijski maksimum koji se nalazi na 580 cm^{-1} i 650 cm^{-1} odgovara istezanju Fe-O veze. Površina magnetita u vodenoj otopini je modificirana hidroksidnim skupinama. Vrpca u području 1500 cm^{-1} odgovara savijanju OH veze, a široka u području 3500 cm^{-1} istezanju OH veze.



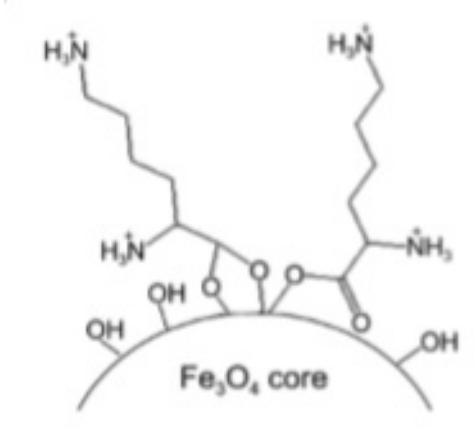
Slika 25. IR spektar magnetita

IR spektar magnetita prikazan je na *Slici 26*. Fe-O apsorpcijski maksimumi koji su karakteristični za magnetit uočavaju se na 640 cm^{-1} koji je podijeljen u dva maksimuma (drugi dio je ispod 500 cm^{-1}). Apsorpcijski maksimumi vibracija istezanja C=O skupine se nalaze na približno 1700 cm^{-1}, a C-O na 1400 cm^{-1}. Maksimum apsorpcije vibracije istezanja C-H, N-H i O-H veze se preklapaju u području 2900-3000 cm^{-1}.



Slika 26. IR spektar magnetita kojemu je površina modificirana lizinom

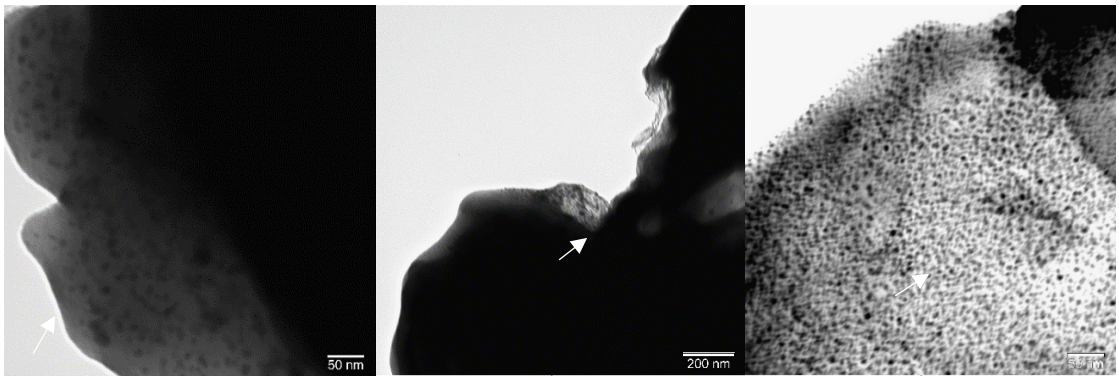
U usporedbi sa IR spektrom čistog lizina, apsorpcijski maksimum istezanja karboksilne skupine kod IR spektra magnetita modificiranog lizinom je manji, a razlog tomu je interakcija s OH grupama na površini nanočestice. Budući da je površina magnetita pozitivno nabijana, lizin se elektrostatskim interakcijama veže preko karboksilnih skupina na površinu kao što je prikazano na *Slici 27.*



Slika 27. Čestica magnetita kojemu je površina modificirana lizinom [66]

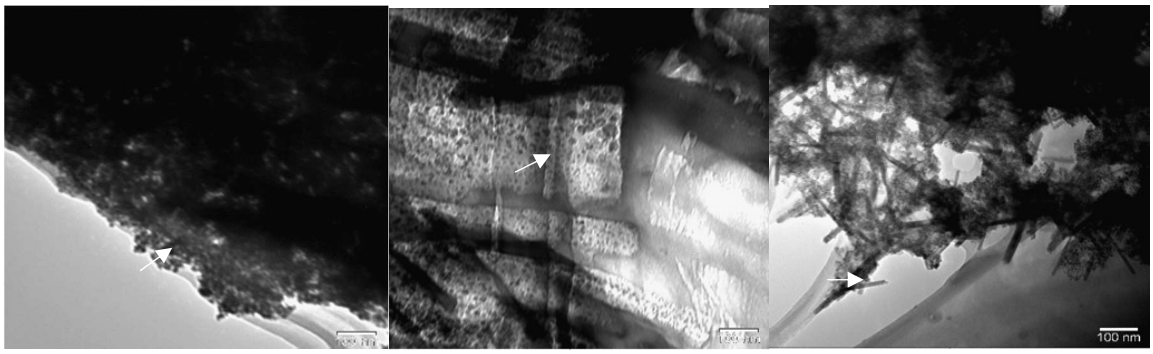
4.2. REZULTATI TRANSMISIJSKE ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE

U prvoj seriji sinteza nanočestice su dobivene mijenjanjem uvjeta reakcije, a ukupna brzina protoka i omjer brzine bočnih i srednjeg kanala su bili konstantni. Prvi uzorak nanočestica magnetita je sintetiziran uz prethodno dodavanje HCl-a u otopinu soli. Srednja vrijednost veličina čestica tako sintetiziranog magnetita iznosi 10 nm. Uzorak 2 je sintetiziran bez prethodnog dodavanja HCl-a, a srednja veličina čestica iznosi 14 nm. Treći uzorak u prvoj seriji sinteza je pripremljen koprecipitacijom s 0,25 mol/L NaOH. Srednja veličina čestica trećeg uzorka iznosi 5,5 nm. TEM slike uzoraka sintetiziranih u prvoj seriji sinteza je prikazan na *Slici 28.*



Slika 28. TEM slike uzoraka sintetiziranih u prvoj seriji sinteza s desna na lijevo: Uzorak 1 – 10 nm, Uzorak 2 – 14 nm, Uzorak 3 – 5,5 nm

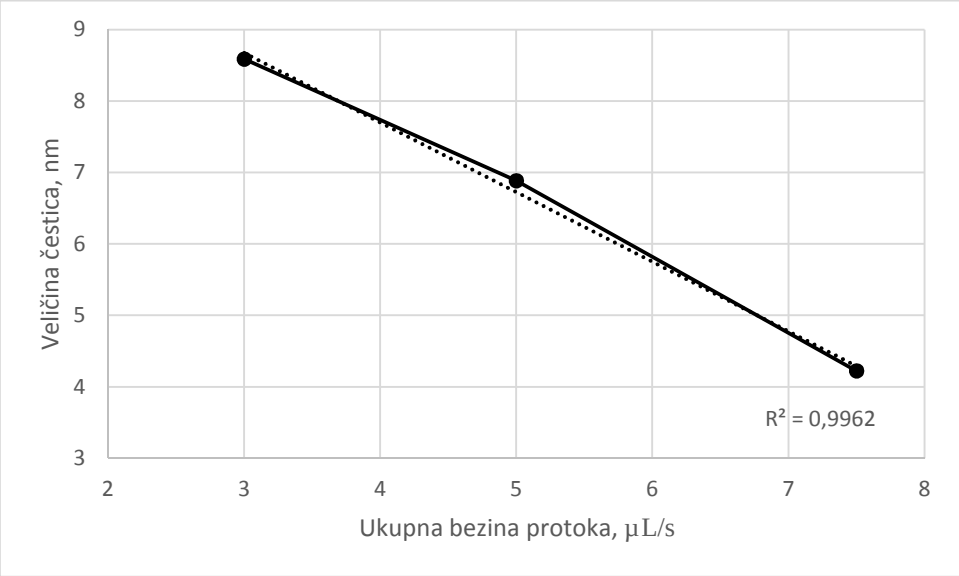
Druga serija uzoraka sintetizirana je promjenom brzine ukupnog protoka, a ostali parametri su bili konstantni. Brzina ukupnog protoka predstavlja linearnu kombinaciju brzine protoka kroz srednji i brzine protoka kroz bočne kanale. Uzorak 4 je sintetiziran pri brzini ukupnog protoka 3 µL/s, uzorak 5 pri 5 µL/s, a uzorak 6 pri 7,5 µL/s. Omjer brzine bočnih i srednjeg kanala, koncentracija soli i NaOH je držana konstantnima za vrijeme sinteza druge serije uzoraka. Srednja veličina čestica uzorka 4 iznosi 8,59 nm, uzorka 5 iznosi 6,88 nm, a uzorka 6 iznosi 4,22 nm. TEM slike druge serije uzoraka prikazane su na *Slici 29.*



Slika 29. TEM slike uzoraka sintetiziranih u drugoj seriji sinteza s desna na lijevo: Uzorak 4 – 8,59 nm, Uzorak 5 – 6,88 nm, Uzorak 6 – 4,22 nm

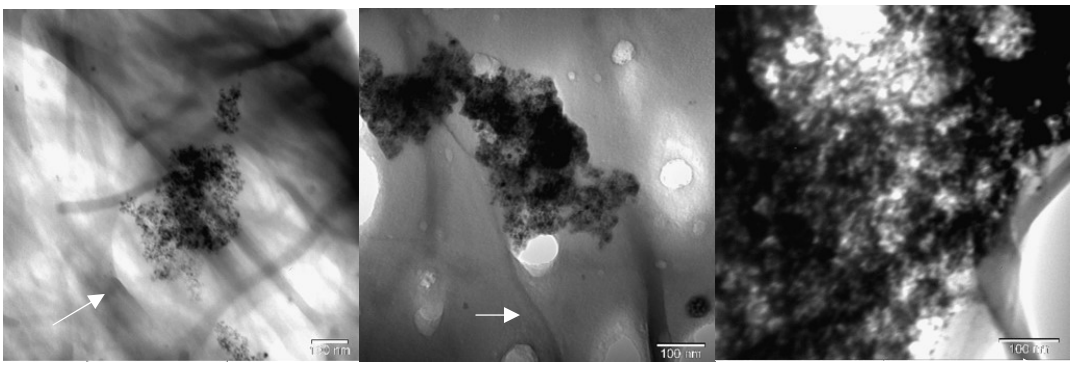
Graf koji prikazuje ovisnost veličine nanočestica o ukupnoj brzini protoka prikazan je *Slici 29.* Na grafu je vidljivo kako povećanjem ukupne brzine protoka nastaju manje čestice. Povećanjem ukupne brzine protoka veća je duljina u kojoj prevladava nukleacija, a kraća u

kojoj prevladava rast. Zbog toga, povećanjem ukupne brzine protoka nastaje više čestica manjih dimenzija.



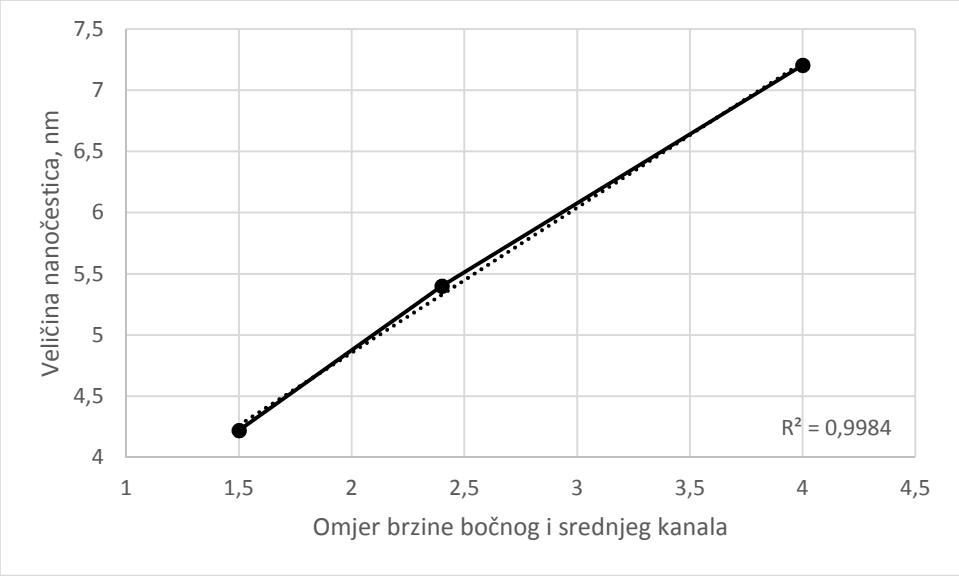
Slika 30. Ovisnost veličine nanočestica o ukupnoj brzini protoka-puna crta, pravac dobiven linearnom regresijom-isprekidana crta

Prilikom treće serije sinteza ukupna brzina protoka je bila konstantna, a mijenjan je omjer brzine bočnog i srednjeg kanala. Koncentracija prekursora je bila kao i u drugoj seriji sinteza. Prilikom sinteze uzorka 7 omjer brzine bočnog i srednjeg kanala je bio 1,5, za uzorak 8 omjer je bio 2,4, a za uzorak 9 je bio 4. Srednja veličina čestica uzorka 7 je 4,23 nm, uzorka 8 je 5,4 nm, a uzorka 9 je 7,2 nm. TEM slike uzoraka treće serije su prikazane na *Slici 30*.



Slika 31. *TEM slike uzoraka sintetiziranih u trećoj seriji sinteza s desna na lijevo: Uzorak 7 – 4,23 nm, Uzorak 8 – 5,4 nm, Uzorak 9 – 7,2 nm*

Na *Slici 31.* prikazan je graf ovisnosti veličine nanočestica o omjeru brzine bočnih i srednjeg kanala. Povećanjem omjera brzine sve je uži fokusirani tok, difuzija je brža, a samim time brže dolazi do nukleacije i rasta te nastaju veće nanočestice.



Slika 32. Ovisnost veličine nanočestica o omjeru brzine protoka bočnog i srednjeg kanala- puna crta, pravac dobiven linearnom regresijom-isprekidana crta

Iako graf ovisnosti veličine nanočestica o ukupnoj brzini protoka pokazuje kako se povećanjem brzine linearno smanjuje veličina nanočestica, a graf ovisnosti veličine nanočestica o omjeru brzine bočnog i srednjeg kanala pokazuje kako se povećanjem omjera linearno povećava i veličina nanočestica te rezultate treba uzeti s zadrškom. Povećanjem ukupne brzine protoka veličina nanočestica neće monotono padati nego će padati do određene veličine nakon čega se, daljnjim povećanjem brzine, veličina nanočestica neće značajno mijenjati ili će se povećavati zbog rasta koji neće biti kontroliran hidrodinamičkim uvjetima. Povećanjem omjera brzine bočnog i srednjeg kanala veličina nanočestica će rasti jer se povećava brzina difuzije i rasti će do vrijednosti kada hidrodinamičkim uvjetima više ne možemo utjecati na brzinu difuzije, tj. kada brzina difuzije postigne maksimalnu vrijednost. Kombinacijom kontrole ukupne brzine protoka i omjera brzina bočnog i srednjeg kanala može se postići dobra kontrola brzine difuzije i vremena u kojem prevladavaju uvjeti nukleacije i rasta te je moguće dobiti spektar veličina nanočestica.

5. ZAKLJUČAK

Zbog široke upotrebe nanočestica magnetita razvila se potreba za unaprjeđenjem sintetskih metoda kojima će se moći kontrolirati veličina i kvaliteta nastalih nanočestica. Najjednostavnija sintetska metoda je koprecipitacija, ali je u njoj najteže kontrolirati ključne parametre za dobivanje nanočestica ciljane veličine i kvalitete. Korištenje mikrofluidičkog reaktora pruža mogućnost kontrole koja je potrebna za sintezu nanočestica magnetita željene veličine. U mikrofluidičkom reaktoru uvjete za sintezu željene veličine nanočestica možemo postići na dva načina: kontroliranjem ukupne brzine protoka čime neposredno kontroliramo nukleaciju i rast te kontroliranjem omjera brzine bočnih i srednjeg kanala čime utječemo na brzinu difuzije i vrijeme potrebno za postizanje uvjeta za nukleaciju i rast. Povećanjem ukupne brzine protoka nastaju manje nanočestice, a povećanjem omjera brzine bočnih i srednjeg kanala nastaju manje nanočestice. Ovu bi ovisnost trebalo ispitati na većem broju uzoraka kako bi se odredilo područje linearne ovisnosti i ekstremi (minimalna i maksimalna veličina koju je moguće dobiti). Osim dobivanja nanočestica magnetita različitih veličina kontroliranjem hidrodinamičkih uvjeta, veličinu nanočestica magnetita možemo kontrolirati promjenom početnih uvjeta sinteze kao što su koncentracija lužine, prethodno dodavanje kiseline te koncentracija soli. Prilikom sintetiziranja nanočestica magnetita u mikrofluidičkom reaktoru treba dodatno pripaziti na lijepljenje nanočestica za stjenke čipa što može dovesti začepljenja te zbog toga je poželjno stjenke modificirati. Modifikacija Zonylom se pokazalo kao vrlo dobro rješenje tog problema jer se smanjila količina nanočestica magnetita adsorbiranih na stjenke. Adsorpciji nanočestica magnetita na stjenke mikročipa doprinosi i dvodimenzionalno hidrodinamičko fokusiranje. Budući da nema fokusiranja u vertikalnoj osi, nanočestice magnetita su u stalnom kontaktu s gornjom i donjom stjenkom mikrofluidičkog čipa. Kako bismo dobili usporedbu s opisanim istraživanjem, bilo bi poželjno provesti sintezu u mikrofluidičkom čipu s trodimenzionalnim hidrodinamičkim fokusiranjem.

6. LITERATURA

[1] G. Schmid, Nanotechnology, John Wiley and Sons, Weinheim, Njemačka, 2010.

[2] H. Brune, H. Ernst, Nanotechnology Assessment and perspective, Springer, Berlin, 2006.

[3] L. P. Sovan, J. Utpal, P.K. Manna, G. P. Mohanta, R. Manavalan, Nanoparticle: An overview of preparation and characterization, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2011, 228-234

[4] Bhatia S., Natural Polymer Drug Delivery Systems, Springer, Berlin, 2016.

[5] M. Hosokawa, N. Kiyoshi, N. Makio, Y. Toyokazu, Nanoparticle Technology Handbook, Elsevier, Tokyo, 2007.

[6] L. B. Freund, S. Suresh, Thin Film Materials, Cambridge University Press, London, 2004.

[7] V. N. Popov, Carbon nanotubes: properties and application, Materials Science and Engineering, 2004, 61–102

[8] S. Thakral, R. M. Mehta, Fullerenes: An Introduction and Overview of Their Biological Properties, Indian Journal of Pharmaceutical Science, 2006, 13-16

[9] E. Abbasi, *et al*., Dendrimers: synthesis, applications, and properties, Nanoscale Research Letters 2014, 9:247

[10] A. Valizadeh *et al*.: Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. Nanoscale Research Letters, 2012, 7:480.

[11] A. M. Ealias, M. P. Saravanakumar, A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application, Materials Science and Engineering 263 (2017) 03201

[12] I. Khan, K. Saeed, I. Khan, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, Arabian Journal of Chemistry, 2017, ???-???

[13] A. Hett, Nanotechnology: Small Matter, Many Unknowns, Swiss Reinsurance Company, Pennysylvania, 2009.

[14] C. Dhand, *et al*, Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview, RSC Adv., 2015, 105003-105037

[15] X. Zhang, *et al*, Synthesis of nanoparticles by microorganisms and their apllication in enhancing microbiological reaction rates, Chemosphere, 2011, 489-494

[16] A. Zinchenko, *et al*, DNA Hydrogel as a Template for Synthesis of Ultrasmall Gold Nanoparticles for Catalytic Applications, Appl. Mater. Interfaces 2014, 3226−3232

[17] S. Iravani, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, Green Chem., 2011, 2638–2650

[18] E. T: Lacheisserie, D. Gignoux, M. Schlenker, Magnetism fundamentals, Springer, Boston, 2005.

[19] M. Benz, Superparamagnetism: Theory and Applications, 2012

[20] P. Tabeling, Introduction to Microfluidics, Oxford University Press, New York, 2005

[21] Z. Wu, K. Hjort, Microfluidic Hydrodinamic Cell Separation: A Review, Micro and Nanosystems, 2009, 1-12 [22] W. W. Liou, Y. Fang, Microfluid mechanics: principles and modeling, McGraw-Hill, New York, 2006.

[23] T. J. Mueller, Low Reynolds Number Aerodinamics, Springer, Indiana, 1989.

[24] F. M. White, Viscous Fluid Flow, McGraw-Hill, New York, 1991

[25] https://www.simscale.com/forum/t/what-is-laminar-flow/70247 (12.07.2018.)

[26] S. K. W. Dertinger, *et al*, Generation of Gradients Having Complex Shapes Using Microfluidic Networks, Anal. Chem., 2001, 1240-1246

[27] D. J. Beebe, G. A. Mensing, G. M. Walker, Physics and Applications of Microfluidics IN Biology, 2002, 264-286

[28] G. B. Lee, C. C. Chang, S. B. Huang, R. J. Yang, The hydrodynamic focusing effect inside rectangular microchannel, J. Micromech. Microeng., 2006, 1024–1032

[29] J. B. Knight, A. Vishwanath, J. P. Brody, Robert H. Austin, Hydrodinamic Focusing on a Silicon Chip: Mixing Nanoliters in Microseconds, Physical Review Letters, 1998, 3863-3866

[30] L. Blaney, Magnetite: Properties, Synthesis, and Applications, Lehigh Review, 2007, 33-81

[31] M. Friak, et al, Ab initio study of the half-metal to metal transition in strained magnetite, New Journal of Physics, 2007, 1-14

[32] P. Majewski, B. Thierry, Functionalized Magnetite Nanoparticles—Synthesis, Properties, and Bio-Applications, Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences, 2007, 203–215

[33] P. Pawlow, Ober die Abhängigkeit des Schmelzpunktes von der Oberflächenenergie eines festen Körpers, Zeitschrift für Physikalische Chemie, 2017, 545-548

[34] D. Thapa, V. R. Palkar, Properties of magnetite nanoparticles synthesized through a novel chemical route, 2004, 2692-2694

[35] D. Maity, S.G. Choo, J. Yi, J. Ding, J. M. Xue, Synthesis of magnetite nanoparticles via a solvent-free thermal decompositions route, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2009, 1256-1259

[36] H. Deng, X. Li, Q. Peng, X. Wang, J. Chen, Y. Li, Monodisperse Magnetic Single-Crystal Ferrite Microspheres, Angew. Chem. Int. Ed. 2005, 2782–2785

[37] W. Xiao, *et al*, Microwave-assisted synthesis of magnetite nanoparticles for MR blood pool contrast agents, Journals and Magnetism and Magnetis Materials, 2012, 488-494

[38] M. Gotić, T. Jurkin, S. Musić, Factors that may influence the micro-emulsion synthesis of nanosize magnetite particle, Colloid Polym Sci, 2007, 793–800

[39] H. K. Kammler, L. Mädler, S. E. Pratsinis, Flame Synthesis of Nanoparticles, Chem. Eng. Technol. 2001, 583-596

[40] N. Florini, G. Barrera, P. Tiberto, P. Allia, F. Bondioli, Nonaqueous Sol–Gel Synthesis of Magnetic Iron Oxides Nanocrystals, J. Am. Ceram. Soc., 2013, 1-7

[41] G. Unso, *et al*, Magnetite: From Synthesis to Applications, Current Topics in Medicinal Chemistry, 2015, 1622-1640

[42] J. P. Jolivet, P. Belleville, E. Tronc, J. Livage, Influence of Fe(II) on the Formation OF the Spinel Iron Oxide in Alkaline Medium, Clays and Clay Minerals, 1992,531-539

[43] X. P. Qui, Synthesis and characterization of magnetis nanoparticles, Chinese Journal oh Chemistry, 2000, 834-837

[44] L. Shen, P. E. Laibinis, T. A. Hatton, Bilayer Surfactant Stabilized Magnetic Fluids: Synthesis and Interactions at Interfaces, 447Langmuir 1999, 447-453

[45] S. Khoshnevisa, Z. Hassanib, M. Torkzadeh-Mahanic, M. Mahani, Water-based Double Layer Functionalized Iron Oxide Nanoparticles for Enhanced Gene Delivery Applications, Biomacromol. J., 2016, 152-161

[46] T. L. Pineda, M. O. Rivera, O. P. Perez, F. R. Velasquez, Synthesis and Characterization of Alginate Based – Magnetic Nanocomposites, NSTI – Nanotech, 2009, 495-498

[47] X. N. Pham, *et al*, Synthesis and characterization of chitosancoated magnetite nanoparticles and their application in curcumin drug delivery, Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol., 2016, 1-9

[48] F. Kahraman, *et al*, Relationship between microstructure and superconducting properties in hot-pressed Bi-2212/Ag ceramic composites, Ceramics Internationsl, 2015, 14924-14929

[49] K.J. Widder, A.E. Senyei , D.F. Ranney, Magnetically responsive microspheres and other carriers for the biophysical targeting of antitumor agents, Adv Pharmacol Chemother. 1979., 213-271

[50] G. Unsoy, *et al*, Chitosan magnetic nanoparticles for pH responsive Bortezomib release in cancer therapy, Biomedicine & Pharmacotherapy, 2014, 2628-2635

[51] G. Unsoy, et al, Synthesis of Doxorubicin loaded magnetic chitosan nanoparticles for pH responsive targeted drug delivery, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014, 243-250

[52] J. P. Fortin, *et al*, Size-Sorted Anionic Iron Oxide Nanomagnets as Colloidal Mediators for Magnetic Hypertermia, J. Am. Chem. Soc., 2007, 2628-2635

[53] Z. Liu, et al, The use of multifunctional magnetic mesoporous core/shell heteronanostructures in a biomolecule separation system, Biomaterials, 2011, 4683-4690

[54] S. Panserl, *et al*, Intrisically superparamagnetic Fe-Hydroxypatite nanoparticles positively influence osteoblast-like cell behaviour, Journal of Nanobiotechnology, 2012, 1-10

[55] E. H. Kim, *et al*, Synthesis of ferrofluid with magnetic nanoparticles by sonochemical method for MRI contrast agent, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005, 328-330

[56] T. G. Kraljević, Određivanje struktura organskih spojeva, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilšte u Zagrebu, Nastavni materijal

[57] B. Stuart, Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, Wiley, New Jersey, 2004

[58] Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry, Thermo Nicolet Corporation, 2001

[59] G. Gauglitz, D. S. Moore, Handbook of Spectroscopy, Wiley-VCH, Weinheim, 2014

[60] https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRkshXMlP4-FXfiY1hDCEmPJr8GsWlOSVopulz6186SwzccTAFd0Q (25.06.2018)

[61] R. F. Egerton, Physical Principles of Electron Microscopy, Springer, USA, 2005

[62] https://www.britannica.com/technology/transmission-electron-microscope (25.06.2018.)

[63] microfluidic ChipShop, Lab-on-a-Chip-Catalogue, 01/2018

[64] milliGAT Pump Manual, Global FIA, Inc., 2005

[65] http://www.chemnet.com/cas/en/65545-80-4/Zonyl-FSN-100-Fluorinated-Surfactant.html (25.06.2018.)

[66] A. et al, Impact of Amino-Acid Coating on the Synthesis and Characteristics of Iron-Oxide Nanoparticles (IONs), Bull. Korean Chem. Soc. 2012, 3957-3962

Životopis

Pavo Živković

Kolodvorska 8, 32252, Otok
(+385)953611820
zivkovic.pavo@gmail.com

ISKUSTVO

2017-2018 **Demonstrator na Praktikumu fizikalne kemije 2**, *Odjel za kemiju*
Cara Hadrijana 8/A (Hrvatska)
http://www.kemija.unios.hr/
Djelatnost ili sektor Odgoj I Obrazovanje

2016-2018 **Predsjednik Studentskog zbora Odjela za kemiju**
Volonterski posao

2016-2017 **Demonstrator na Praktikumu biokemije** , *Odjel za kemiju*
Cara Hadrijana 8/A (Hrvatska)
http://www.kemija.unios.hr/
Djelatnost ili sektor Odgoj I Obrazovanje

2016-2017 **Demonstrator na praktikumu Opće kemije 1**, *Odjel za kemiju*
Cara Hadrijana 8/A (Hrvatska)
http://www.kemija.unios.hr/
Djelatnost ili sektor Odgoj I Obrazovanje

2015-2016 **Potpredsjednik Studentskog zbora Odjela za kemiju**, Odjel za kemiju
Volonterski posao

OBRAZOVANJE

2016-2018 **Diplomski sveučilišni studij**, istraživački smjer
Odjel za kemiju
Cara Hadrijana 8/A
http://www.kemija.unios.hr/

2013-2016 **Preddiplomski sveučilišni studij kemije**
Odjel za kemiju

Cara Hadrijana 8/A
http://www.kemija.unios.hr/

2012-2014 **Nadbiskupijska glazbena škola**
Đakovačko – osječka nadbiskupija

2009-2013 **Opća gimnazija**
Trg bana Josipa Šokčevića, 32100, Vinkovci
http://gimnazija-mareljkovica-vk.skole.hr/

AKTIVNOSTI

Sudjelovanja**:**

1. Smotra Sveučilišta J. J. Strossmayera 2015., Ekonomski fakultet, Osijek
- predstavljanje Odjela za kemiju

2. Festival znanosti 2016., Odjel za kemiju, Osijek

3. Smotra Sveučilišta J. J. Strossmayera 2016., Poljoprivredni fakultet, Osijek
- predstavljanje Odjela za kemiju

4. 3. Simpozij studenata kemičara, 2016.,
-održano izlaganje I sudjelovanje u organizaciji

5. Primatijada 2017.,
-održano izlaganje i sudjelovanje u organizaciji

6. Smotra Sveučilišta J. J. Strossmayera 2017., Građevinski fakultet, Osijek
- predstavljanje Odjela za kemiju

7. Festival znanosti 2017., Odjel za kemiju, Osijek
- predavanje Vrijeme u kemiji

8. Dani otvorenih vrata Odjela za kemiju, 2017.
- predavanje i radionica Bilo kuda polimeri svuda

9. Centar za informiranje i savjetovanje o karijeri (CISOK), 2017.
-predstavljanje programa Odjela za kemiju zainteresiranim srednjoškolcima

10. Festival znanosti 2018., Odjel za kemiju, Osijek
-predavanje Otkrića u kemiji
-predavanje i radionica Spektroskopija

11. Centar za informiranje i savjetovanje o karijeri (CISOK), 2018.
-predstavljanje programa Odjela za kemiju zainteresiranim srednjoškolcima

12. Primatijada 2018.,
-sudjelovanje u organizacji

13. Great Shimadzu Tech Tour, 2018.
-seminar and workshop on successful analysis and future challenges

14. Međunarodna studentska GREEN konferencija, 2018.
-postersko i usmeno izlaganje

NAGRADE I PRIZNANJA

2017. **Rektorova nagrada u akademskoj godini 2016. / 2017.**