

CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

Parte 1 – Medição do tamanho hidrodinâmico por espalhamento dinâmico de luz

NOTA TÉCNICA

Maio 2020



PROCEDIMENTO OPERACIONAL PARA A MEDIÇÃO DO TAMANHO DE NANOPARTÍCULAS POR ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ

SUMÁRIO

- 1 Objetivo
- 2 Campo de aplicação
- 3 Responsabilidade
- 4 Documentos de referência
- 5 Definições
- 6 Breve descrição da técnica
- 7 Equipamentos e materiais
- 8 Preparação das amostras
- 9 Cuidados e recomendações
- 10 Procedimento de medição
- 11 Análise dos dados de tamanho DLS
- 12 Referências bibliográficas
- 13 Quadro de aprovação

1 OBJETIVO

Este documento descreve o procedimento usado na Divisão de Metrologia de Materiais (Dimat) do Inmetro para a medição do tamanho hidrodinâmico médio e de distribuições de tamanho hidrodinâmico de dispersões de nanopartículas aproximadamente esféricas, monodispersas e diluídas. Cabe destacar que o documento não possui caráter compulsório ou taxativo, apenas serve como um guia para a medição do tamanho hidrodinâmico usando a técnica de espalhamento dinâmico de luz.

2 CAMPO DE APLICAÇÃO

Este é um procedimento desenvolvido especificamente para uso com um equipamento Zetasizer Nano-ZS HT, da Malvern Instruments como o utilizado na Dimat. Caso seja usado um equipamento diferente, este procedimento poderá necessitar algumas modificações.

3 RESPONSABILIDADE

A responsabilidade pela emissão, revisão e cancelamento do presente documento é da Dimat.

4 DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

Este documento foi redigido usando como base os seguintes documentos:

NIT-Dimat-069	Procedimento para realização de ensaios no sistema de espalhamento de luz dinâmico Zetasizer Nano-ZS da Malvern. Rev. 01. 2018
ISO 22412:2017	<i>Particle size analysis -- Dynamic light scattering (DLS)</i>
NANoREG D2.08	SOP 02: <i>Measurement of hydrodynamic Size-Distribution and Dispersion Stability by DLS</i> . http://www.nanoreg.eu/

5 DEFINIÇÕES

5.1 Siglas

NM	nanomaterial
NP	nanopartícula
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i> (espalhamento dinâmico de luz)
MR	Material de referência
MRC	Material de referência certificado

5.2 Termos

- Nano-objeto: material com uma, duas ou três dimensões externas dentro da nanoscala. Definição baseada na ISO/TS 80004-2 [1].
- Nanopartícula: nano-objeto com as três dimensões externas dentro na nanoescala.
- Nanomaterial: material natural, incidental ou manufaturado que contem partículas livres ou agregadas ou aglomeradas e donde, para 50% ou mais da distribuição numérica de tamanho, uma ou mais dimensões externas está na nanoscala.

Nota – Esta definição está baseada nas recomendações da União Europeia no estabelecimento do marco regulatório para o uso de nanomateriais em produtos de consumo [2]. A importância desta definição é que a mesma determina que além de medir, devem-se contar os nano-objetos.

- Nanoscala ou escala nanométrica: escala que vai de aproximadamente 1 nm a 100 nm.
- Partícula primária: partícula individual e fonte original de agregados ou aglomerados [1].

- Agregado: partículas fortemente ligadas ou fundidas para as quais a área superficial externa é significativamente menor que a soma das áreas dos componentes individuais [1].
- Aglomerado: grupos de partículas ou agregados, ou mistura de ambos, unidos por ligações fracas, para os quais a área superficial externa é similar à soma das áreas superficiais dos componentes individuais [1].
- Tamanho: neste documento este termo se refere ao diâmetro hidrodinâmico das partículas em suspensão.
- *General purpose model*: modelo genérico para o cálculo do tamanho médio e da distribuição de tamanhos.

6 BREVE DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

O Espalhamento dinâmico de luz é uma técnica para caracterização de sistemas coloidais baseada no espalhamento da luz devido à diferença entre os índices de refração das partículas dispersas e do meio. O movimento browniano das partículas em suspensão faz com que a luz laser seja espalhada com intensidades diferentes. O movimento browniano varia em função do tamanho das partículas e causa variação na intensidade da luz espalhada em função do tempo.

Para amostras monodispersas e diluídas, isto é, com partículas não-interagentes, em movimento browniano, a análise das flutuações da intensidade da luz espalhada resulta no tamanho da partícula, ou mais precisamente, no diâmetro hidrodinâmico da mesma. Deve-se notar que, como o tamanho hidrodinâmico inclui a dupla camada elétrica com moléculas adsorvidas ao redor da partícula, o tamanho medido por DLS é fundamentalmente diferente do tamanho da partícula sozinha.

7 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

- Equipamentos de proteção individuais (luvas, jaleco, óculos de proteção)
- DLS Zetasizer Nano-ZS HT, da Malvern Instruments.
- Nota – Caso seja utilizado um equipamento diferente, este procedimento poderá necessitar algumas modificações.
- Cubetas para DLS (podem ser de poliestireno descartáveis ou de vidro reutilizáveis).
- Pipetas e ponteiras de pipetas descartáveis.
- Filtros.

8 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para garantir medições confiáveis e precisas, a preparação da amostra é extremamente importante. A seguir são apresentadas algumas diretrizes gerais para a preparação das dispersões, mas é recomendado seguir algum protocolo de dispersão [3-6] adequado à amostra que se quer medir.

8.1 Concentração

O ensaio deve ser realizado no intervalo de concentrações em que os valores de tamanho não apresentem dependência com a concentração. De maneira geral, esses efeitos normalmente não são observados para concentrações abaixo de 0,1% em volume, porém, eles podem ocorrer no caso de concentrações maiores que 1% em volume, devido às interações entre as partículas em suspensão. No manual do usuário [7] tem uma guia de concentrações máximas e mínimas dependendo do tamanho.

8.2 Filtração

No caso de diluição da amostra, todos os líquidos utilizados para diluir a amostra (dispersantes e solventes) devem ser filtrados antes do uso para evitar contaminação da amostra. O tamanho do filtro será determinado pelo tamanho das partículas suspensas.

As amostras não devem ser filtradas, pois os filtros podem remover as partículas por absorção, bem como por filtração física. Apenas filtrar a amostra se estiver ciente da existência de partículas de maior tamanho que não são de interesse.

8.3 Sonicação

A sonicação pode ser usada para remover bolhas de ar ou quebrar aglomerados, no entanto, deve ser aplicada com cuidado para evitar danificar as partículas primárias na amostra. Os limites para o uso da sonicação, em termos de intensidade e o tempo de aplicação, dependem fortemente da amostra.

9 CUIDADOS E RECOMENDAÇÕES

- Sempre deixar a tampa do compartimento da amostra fechada.
- Verificar as condições da cubeta antes da medição. Deve estar completamente limpa, sem manchas e sem arranhões.
- Limpar a parte externa da cubeta após adição da amostra com um papel ou tecido macio que não solte fiapos.

10 PROCEDIMENTO DE MEDIÇÃO

- a. Ligar o computador e o DLS
- b. Permitir que o equipamento estabilize uns 30 minutos antes de iniciar as medidas. Esse tempo em geral é o suficiente para que estabilize a intensidade do laser e se atinja um equilíbrio à temperatura desejada.
- c. Abrir o software e especificar as condições analíticas de operação:
 - escolher o meio de dispersão (ou incluir um novo meio [8]);
 - usar um tempo de equilíbrio de 120 s;
 - selecionar a temperatura de medição;
 - selecionar automático para a posição e atenuação do laser;
 - selecionar 10 corridas sem pausa entre as mesmas;
 - selecionar o modelo “*general purpose*” para uma avaliação inicial dos dados.
- d. Recomenda-se realizar 10 (dez) subcorridas por alíquota em um total de 3 (três) alíquotas para estabelecer diâmetros médios.
- e. Escolher uma cubeta de 1 mL e verificar as condições da mesma: deve estar completamente limpa, sem manchas e sem arranhões.
- f. Inserir 1 mL da amostra dentro da cubeta e limpar a parte externa da cubeta após adição da amostra com um papel ou tecido macio que não solte fiapos.
- g. Colocar a cubeta imediatamente no compartimento e iniciar as análises.

11 ANÁLISE DOS DADOS DE TAMANHO DLS

- O tamanho médio pode ser aceito imediatamente se o software indicar uma boa qualidade do resultado.
- Se a análise sugerir que a amostra tem uma distribuição de tamanho bi- ou multimodal, o resultado da distribuição de tamanho deve ser cuidadosamente avaliado recalculando os dados: selecionar o algoritmo de alta resolução em “*Data processing*” no menu “*Edit result ...*”

Nota – não apagar os dados originais.

- Exportar os dados de interesse para calcular as incertezas conforme protocolo específico do laboratório (ver [9] por exemplo)

12 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ISO/TS 80004-2:2015. *Nanotechnologies – Vocabulary – Part 2: Nano-objects*. 2015, ISO: Geneva, Switzerland.
- [2] L 275/38 *Official Journal of the European Union* 20.10.2011.
- [3] ISO 22412:2017. *Particle size analysis -- Dynamic light scattering (DLS)*, 2017. ISO: Geneva, Switzerland.
- [4] NANoREG, *A common European approach to the regulatory testing on nanomateriais*, 2014-2017. Protocolos disponíveis em: <http://www.nanoreg.eu/>
- [5] NPL: Boyd, R.D., et al., *Good practice guide for the determination of the size distribution of spherical nanoparticle samples*, in Measurement Good Practice Guide No. 119. 2011, National Physical Laboratory: Teddington, Middlesex, UK.
- [6] ISO 14887:2000. *Sample preparation -- Dispersing procedures for powders in liquids*, 2000. ISO: Geneva, Switzerland.
- [7] Zetasizer Nano Series - User Manual. Man0317-1.1, 2004.
- [8] Os parâmetros ópticos de muitos materiais podem ser encontrados em sites da internet como <http://webmineral.com>.
- [9] NIT-Dimat-070: *Procedimentos para cálculo e avaliação da incerteza de valores de tamanho (diâmetro hidrodinâmico) de partículas a partir de ensaios de espalhamento de luz dinâmico (DLS)*. Rev. 01. 2018.

13 QUADRO DE APROVAÇÃO

Elaborado por	Sandra Marcela Landi	Pesquisadora -Tecnologista
Aprovado por	Oleksii Kuznetsov	Chefe da Dimat