



**Politecnico di Torino**

---

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA CHIMICA E DEI MATERIALI

Corso di Laurea in Ingegneria chimica e dei processi sostenibili

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

# Sintesi di nanoparticelle d'oro in continuo con sistema microfluidico

Candidato:

**Baldassare Ingraldi**

Relatore:

**Prof. Roberto Pisano**

---

Dicembre 2017



*Alla mia famiglia...*

*"To mechanical progress there is apparently no end: for as in the past so in the future, each step in any direction will remove limits and bring in past barriers which have till then blocked the way in other directions; and so what for the time may appear to be a visible or practical limit will turn out to be but a bend in the road."*

*Osborne Reynolds*

# Ringraziamenti

Un primo doveroso ringraziamento va verso il Professor Kasper-Moth Puoulsen, che mi ha permesso di svolgere questo progetto di tesi, ed a tutto il suo gruppo di ricerca alla Chalmers, che mi ha accolto come una famiglia e mi ha supportato continuamente durante il mio lavoro; grazie al Dott. Christian Rohner, per i quotidiani aiuti in questa mia esperienza nel mondo della ricerca scientifica.

Ringrazio la Chalmers University of Technology per l'ospitalità e il programma Erasmus + attraverso cui ho potuto compiere questa per me importante esperienza. Ringrazio il Professor Roberto Pisano per la cordiale disponibilità e il supporto offerto nella stesura del manoscritto di tesi.

Il più grande ringraziamento va alla mia famiglia, a cui dedico la mia tesi, il cui immancabile ed incondizionato sostegno ha sempre funto da motore per le mie sfide quotidiane, e il cui apprezzamento mi spinge a puntare sempre più in alto. Ai miei amici, che mi hanno permesso di affrontare questi anni di università con un po' di ironia e sempre con un sorriso.

Ad Anna, a cui devo davvero troppo per poterlo riassumere in poche righe...

Infine, un ringraziamento speciale a Bill e Bull.



# Indice

<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>1</b>
1.1	Le nanoparticelle: sintesi e le loro applicazioni . . . . .	1
1.2	Sistemi e reattori microfluidici . . . . .	7
1.3	Il metodo Turkevich . . . . .	13
1.4	Obiettivo della tesi . . . . .	19
<b>2</b>	<b>Materiali e metodi</b>	<b>21</b>
2.1	Sostanze utilizzate e preparazione reagenti . . . . .	21
2.2	Sistema microfluidico <i>Syrris Asia</i> e il suo utilizzo nella sperimentazione . . . . .	22
2.2.1	Descrizione del sistema <i>Syrris Asia</i> . . . . .	23
2.2.2	Utilizzo del sistema nelle sperimentazioni . . . . .	27
2.3	Metodi di caratterizzazione . . . . .	28
2.3.1	Misura del pH dei reagenti e della fase reattiva. . . . .	29
2.3.2	Spettroscopia UV-Vis . . . . .	29
2.3.3	Microscopia elettronica a trasmissione (TEM) . . . . .	30
2.3.4	Analisi dimensionale con ImageJ . . . . .	30
<b>3</b>	<b>Risultati e discussione</b>	<b>33</b>
3.1	Tempo di permanenza nel reattore . . . . .	33
3.1.1	Analisi spettrofotometrica . . . . .	34
3.1.2	Analisi TEM e distribuzioni dimensionali . . . . .	36
3.2	Temperatura del reattore . . . . .	42
3.2.1	Analisi spettrofotometrica . . . . .	43
3.2.2	Analisi TEM e distribuzioni dimensionali . . . . .	45
3.2.3	Sintesi ad alta temperatura . . . . .	48
3.3	Rapporto molare . . . . .	53
3.3.1	Analisi spettrofotometrica . . . . .	54
3.3.2	Analisi TEM e distribuzioni dimensionale . . . . .	56
3.3.3	Valutazione del pH di reazione . . . . .	59
3.4	Produzione continua . . . . .	63
3.4.1	Analisi spettrofotometrica . . . . .	64
3.4.2	Analisi TEM e distribuzioni dimensionali . . . . .	65

## INDICE

---

<b>4</b>	<b>Considerazioni finali e problemi riscontrati</b>	<b>71</b>
4.1	Effetto dei parametri operativi sulla sintesi delle nanoparticelle . . .	71
4.2	Confronto con i risultati in letteratura e nanoparticelle disponibili in commercio . . . . .	73
4.3	Il "coating" interno del reattore . . . . .	76
4.3.1	Pompaggio di $\text{Na}_3\text{Cit}$ in continuo . . . . .	80
4.3.2	Effetto dell'alta temperatura e terza configurazione micro- fluidica . . . . .	83
<b>5</b>	<b>Conclusioni e prospettive future</b>	<b>91</b>

# Elenco delle figure

1.1	Dimensioni a confronto . . . . .	1
1.2	Temperatura di fusione relativa a nanoparticelle di oro in funzione della loro dimensione . . . . .	2
1.3	La Coppa di Licurgo . . . . .	3
1.4	Oscillazione plasmonica della nuvola di elettroni rispetto al nucleo della nanoparticella metallica . . . . .	5
1.5	Spettro di assorbimento di nanoparticelle di diverse dimensioni . . . . .	5
1.6	Tipologie di pompe per sistemi microfluidici . . . . .	9
1.7	Schematizzazione delle due diverse tipologie di reattore per i sistemi microfluidici . . . . .	10
1.8	Esempi reali di reattori microfluidici. . . . .	10
1.9	Schematizzazione di un generico sistema microfluidico nelle sue diverse parti . . . . .	12
1.10	Principali reazioni di ossidoriduzione tra il precursore metallico $\text{HAuCl}_4$ e il citrato di sodio che si sviluppano in soluzione . . . . .	14
1.11	Diagramma di La Mer per la descrizione della nucleazione . . . . .	16
1.12	Schematizzazione del processo di sintesi delle nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich nelle sue due fasi. . . . .	18
2.1	Schema di funzionamento pompaggio V-2V. . . . .	23
2.2	Schema di funzionamento della valvola a sei vie del sistema di iniezione reagenti. . . . .	24
2.3	Schema di funzionamento del regolatore di pressione con valvola a diaframma. . . . .	25
2.4	Micro-miscelatore utilizzato in questo lavoro di tesi. . . . .	26
2.5	Configurazione base del sistema microfluidico Asia utilizzato in questo progetto. . . . .	26
3.1	Spettro di assorbimento per i campioni sintetizzati con $t_R$ di 1 e 3 min. . . . .	35
3.2	Spettro di assorbimento per i campioni sintetizzati con $t_R$ di 5, 7, 10, 12 minuti . . . . .	35
3.3	Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con $t_R = 5 \text{ min.}$ . . . . .	37

## ELENCO DELLE FIGURE

---

3.4	Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con $t_R = 7 \text{ min}$ .	37
3.5	Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con $t_R = 5 \text{ min}$ dopo 48 ore dalla sintesi. . . . .	38
3.6	Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con $t_R = 7 \text{ min}$ dopo 48 ore dalla sintesi. . . . .	38
3.7	Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con $t_R = 10 \text{ min}$ .	40
3.8	Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con $t_R = 12 \text{ min}$ .	40
3.9	Distribuzioni di dimensione delle nanoparticelle d'oro sintetizzate per diversi tempi di permanenza $t_R$ . . . . .	41
3.10	Spettro di assorbimento dei campioni di nanoparticelle d'oro sintetizzate per diverse temperature $T_R$ . . . . .	44
3.11	Immagini ottenute al TEM dei campioni di prodotti sintetizzati per $T_R = 100^\circ\text{C}$ [Figure (a),(b)], $T_R = 105^\circ\text{C}$ [Figure (c),(d)], $T_R = 110^\circ\text{C}$ [Figure (e),(f)] . . . . .	46
3.12	Distribuzione delle dimensioni delle nanoparticelle sintetizzate a diverse temperature $T_R$ . . . . .	47
3.13	Spettro di assorbimento UV-Vis normalizzato delle soluzioni colloidali prodotte a più alta temperatura. . . . .	49
3.14	Immagini TEM relative ai campioni sintetizzati a diversa temperatura e diverso tempo di permanenza. . . . .	50
3.15	Immagini TEM ricavate dai campioni dei prodotti sintetizzati ad alta temperatura. . . . .	51
3.16	Spettro di assorbimento normalizzato ottenuto dai prodotti sintetizzati con diverso rapporto molare tra i due reagenti. . . . .	55
3.17	Spettro di assorbimento assoluto ottenuto dai prodotti sintetizzati con diverso rapporto molare tra i due reagenti. . . . .	55
3.18	Immagini TEM ricavate dai campioni dei prodotti a diversi valori di rapporto molare M.R. tra i due reagenti . . . . .	57
3.19	Distribuzioni delle dimensioni delle nanoparticelle sintetizzate per diversi valori di rapporto molare tra i due reagenti M.R. . . . .	58
3.20	Grafico riassuntivo dei risultati ottenuti dalla sintesi delle nanoparticelle d'oro con diverso rapporto molare, unitamente alla valutazione del pH di reazione. . . . .	61
3.21	Immagini TEM e spettro di assorbimento relativi ad un campione di prodotti sintetizzati con pH della soluzione di citrato modificato (pH = 6) . . . . .	62
3.22	Spettro di assorbimento dei diversi campioni prelevati da diversi volumi di collezione della produzione in continuo. . . . .	64
3.23	Fase iniziale della produzione (10-20 minuti di utilizzo del sistema).	66
3.24	Fase intermedia della produzione (25-160 minuti di utilizzo del sistema). . . . .	67
3.25	Fase finale della produzione (240-260 minuti di utilizzo del sistema).	68

4.1	Spettro di assorbimento del campione commerciale Sigma-Aldrich 20 nm. . . . .	74
4.2	Immagini TEM del campione Sigma-Aldrich 20 nm. . . . .	74
4.3	Distribuzione dimensionale ottenuta dall'analisi del campione Sigma-Aldrich 20 nm. . . . .	75
4.4	Soluzioni colloidali prodotte in successione in una sessione sperimentale di prova, tutte alle stesse condizioni operative: la variazione di colore della soluzione colloidale testimonia la riduzione del quantitativo di prodotti nei diversi volumi collezionati ( $T_R = 100$ °C, $t_R = 10$ min). . . . .	77
4.5	Spettro di assorbimento ottenuto dai campioni presenti in Figura 4.4 prodotti con le medesime condizioni operative. . . . .	77
4.6	Immagini TEM e relative distribuzioni dimensionali ottenute dai volumi campionati presenti in Figura 4.4. . . . .	79
4.7	Schematizzazione del flusso all'interno del reattore con pompaggio continuo di $\text{Na}_3\text{Cit}$ . . . . .	80
4.8	Variazione percentuale di assorbimento registrata nei due casi: (a) caso base con iniezione di entrambi i reagenti; (b) caso con flusso di citrato in continuo ( $T_R = 100$ °C, $t_R = 10$ min). . . . .	81
4.9	Immagini TEM e relative distribuzioni dimensionali ottenute da diversi volumi campionati prodotti attraverso la nuova configurazione microfluidica con citrato di sodio in continuo ( $T_R = 100$ °C, $t_R = 10$ min). . . . .	82
4.10	Volumi campionati prodotti dalla sintesi operata con $T_R = 105$ °C e ricoprimento del reattore al termine della sessione di produzione. . . . .	84
4.11	Volumi campionati prodotti dalla sintesi operata con $T_R = 110$ °C e ricoprimento del reattore al termine della sessione di produzione. . . . .	85
4.12	Configurazione finale del sistema microfluidico Asia utilizzato nel corso del progetto. . . . .	86
4.13	Spettro di assorbimento ricavato da due volumi prodotti consecutivamente attraverso la terza configurazione microfluidica adottata. . . . .	87
4.14	Variazione dello spettro di assorbimento dei diversi volumi di produzione campionati con funzionalizzazione preliminare e nel caso base. . . . .	88



# Elenco delle tabelle

1.1	Proprietà fisico-chimiche dell'oro . . . . .	4
1.2	Principali metodi chimici per la sintesi di nanoparticelle d'oro . . . . .	7
3.1	Lunghezza d'onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale per nanoparticelle d'oro prodotte per diversi tempi di permanenza nel reattore a 95 °C. . . . .	36
3.2	Dati relativi alla valutazione dimensionale delle nanoparticelle sintetizzate per diverso $t_R$ . . . . .	41
3.3	Dati relativi allo spettro di assorbimento dei prodotti ottenuti attraverso la sintesi operata con diverse temperature nel reattore $T_R$ . . . . .	43
3.4	Dati relativi alla valutazione dimensionale delle nanoparticelle sintetizzate per diversa $T_R$ . . . . .	48
3.5	Dati relativi allo spettro di assorbimento dei prodotti ottenuti attraverso la sintesi a più alta temperatura. . . . .	49
3.6	Dati relativi alla valutazione dimensionale delle nanoparticelle sintetizzate ad alta temperatura . . . . .	52
3.7	Rapporto volumico e molare imposto per i diversi esperimenti . . . . .	54
3.8	Dati relativi allo spettro di assorbimento dei prodotti ottenuti attraverso la sintesi operata con diverso rapporto molare tra i reagenti M.R.. . . . .	56
3.9	Riassunto dei risultati ottenuti dall'analisi delle immagini ricavate al TEM per i prodotti sintetizzati con diverso rapporto molare M.R. . . . .	59
3.10	Valori di pH ottenuti dalla misurazione della miscela di reagenti per uno specifico rapporto molare M.R. utilizzato nella sintesi. . . . .	60
3.11	Riassunto delle caratteristiche dello spettro di assorbimento ricavato dai campioni ottenuti da diverso volume di produzione. . . . .	64
3.12	Riassunto delle caratteristiche dimensionali ricavate dai campioni ottenuti da diverso volume di produzione. . . . .	69
4.1	Tabella riassuntiva dei risultati di caratterizzazione del campione di nanoparticelle d'oro acquistato Sigma-Aldrich 20 nm. . . . .	75

*ELENCO DELLE TABELLE*

---

4.2	Risultati ottenuti dall'analisi delle immagini TEM ottenute dai campioni ricavati dalle soluzioni influenzate dall'effetto del ricoprimento del reattore . . . . .	78
4.3	Riassunto delle caratteristiche dimensionali ottenute nel caso della sperimentazione con soluzione di citrato in continuo. . . . .	83

# Capitolo 1

## Introduzione

In questo capitolo di introduzione vengono delineati i principali aspetti riguardanti le nanoparticelle in genere, con particolare attenzione verso quelle d'oro, con la descrizione degli aspetti teorici del metodo di sintesi, denominato "metodo Turkevich", unitamente agli aspetti fondamentali del sistema di reazione microfluidico utilizzato.

### 1.1 Le nanoparticelle: sintesi e le loro applicazioni

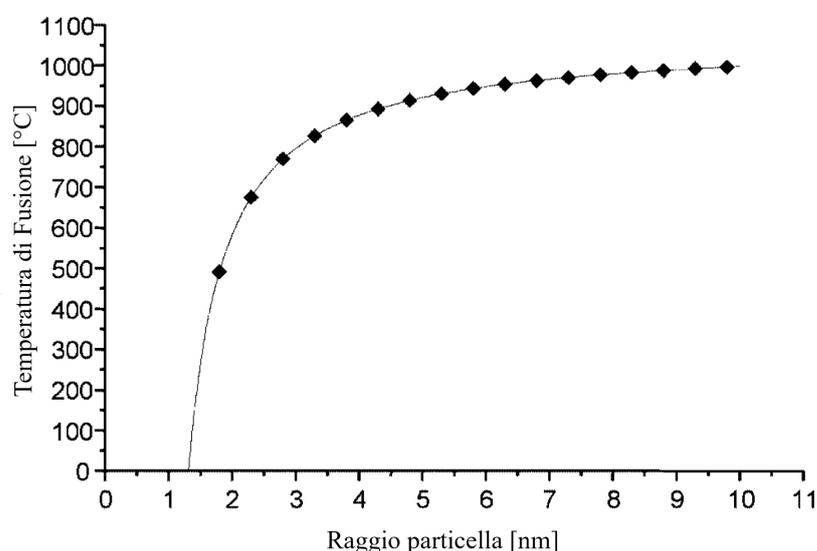
Negli ultimi decenni il mondo scientifico ha focalizzato sempre di più la sua attenzione verso il campo dei nanomateriali, materiali aventi caratteristiche morfologiche dell'ordine dei nanometri. Un nanometro corrisponde a  $10^{-9}$  m, per avere un'idea figurativa della grandezza in oggetto basti pensare che una nanoparticella di qualche nanometro di diametro è, rispetto ad un pallone da calcio, quello che lo stesso pallone da calcio è per l'intero globo terrestre, come schematizzato in Figura 1.1.



**Figura 1.1:** Dimensioni a confronto: la grandezza di una nanoparticella rispetto ad un pallone da calcio può essere approssimativamente paragonata a quella dello stesso pallone rispetto al pianeta Terra.

I nanomateriali possono presentare diverse morfologie, che si differenziano in base al diverso rapporto d'aspetto, ovvero il rapporto tra le dimensioni massima e minima [1].

Con il termine nanoparticelle si suole riferirsi a particelle approssimativamente sferiche, quindi con rapporto d'aspetto circa uguale ad 1, aventi diametro compreso tra 1 e 100 nm [2]. Avendo forma approssimativamente sferica, le nanoparticelle sono termodinamicamente più stabili rispetto ad altri materiali nanometrici aventi altre morfologie: ciò è dovuto alla minore energia superficiale [2]. Considerando la scala nanometrica, le proprietà fisiche e chimiche dei nanomateriali sono alterate e risultano essere talvolta notevolmente differenti rispetto alle corrispettive proprietà valutate macroscopicamente; ciò è dovuto al fatto che gli atomi superficiali sono caratterizzati da uno stato di legame diverso da quello degli atomi nel bulk. Un esempio esplicativo è la *depressione della temperatura di fusione*, un fenomeno per cui il punto di fusione di un materiale si abbassa al ridursi delle dimensioni (Figura 1.2).



**Figura 1.2:** Temperatura di fusione relativa a nanoparticelle di oro in funzione della loro dimensione. Figura tratta da [3] con modifiche.

Come è possibile osservare, la dimensione delle particelle influenza la temperatura di fusione solo per valori di raggio inferiori a circa 5 nm, mentre per maggiori dimensioni l'effetto è via via poco influente. Questo particolare comportamento, insieme alle altre proprietà che un materiale mostra nella scala nanometrica, ha come ragione di causa il fatto che la percentuale di atomi superficiali è di gran lunga maggiore, rendendo le nanoparticelle molto più reattive e sensibili all'ambiente circostante [4]. La branca della scienza che si occupa dello studio delle nanoparticelle e dei nanomateriali in genere è la *nanotecnologia*: questa opera in diversi campi della scienza, data la vasta applicabilità dei nanomateriali, come ad esempio la medicina, l'ingegneria molecolare, la catalisi. Lo sviluppo delle nanotecnologie

nelle varie discipline scientifiche è in particolar modo dovuto ai notevoli progressi nella sintesi e nella caratterizzazione dei nanomateriali attraverso diverse metodologie via via sempre più efficaci. Questo progetto si concentra sulle nanoparticelle metalliche, in particolare le nanoparticelle d'oro. L'oro in forma nanoparticellare viene menzionato già da egizi e cinesi nel V secolo a.C., poiché si credeva avesse delle proprietà curative. Tra i reperti dell'antica Roma sono stati ritrovati vetri colorati con sospensioni colloidali d'oro, il quale produce una particolare sfumatura di rosso. Un esempio molto noto è la *Coppa di Licurgo*, custodita al British Museum, risalente al IV secolo d.C; la particolarità di tale artefatto sta nel vetro di cui è costituita: se illuminata frontalmente, la coppa assume una colorazione verdastria, mentre se illuminata posteriormente il colore è rossastro (Figura 1.3).



**Figura 1.3:** La Coppa di Licurgo, esposta al British Museum di Londra, nelle diverse colorazioni assunte in base all'illuminazione a cui è soggetta. Immagini tratte dalla collezione online del British Museum [5].

In luce frontale, le nanoparticelle presenti sono grandi a sufficienza da riflettere la luce senza eliminare la trasmissione; invece, in caso di luce trasmessa le nanoparticelle disperdono la luce blu in modo più efficace rispetto a quella rossa, producendo il caratteristico colore rosso [6]. Lo straordinario effetto prodotto si crede sia tuttavia un risultato casuale dovuto alla contaminazione del vetro della coppa, durante la lavorazione, con oro e argento di possibili altri manufatti. La sintesi e l'uso di nanoparticelle nel corso della storia si sono evoluti progressivamente. Il primo studio scientifico riferito alle nanoparticelle ed in particolar modo all'oro colloidale fu effettuato da Michael Faraday intorno al 1857 [7], lavoro che funse da ispirazione per molteplici successive ricerche relative alle possibili tecniche di

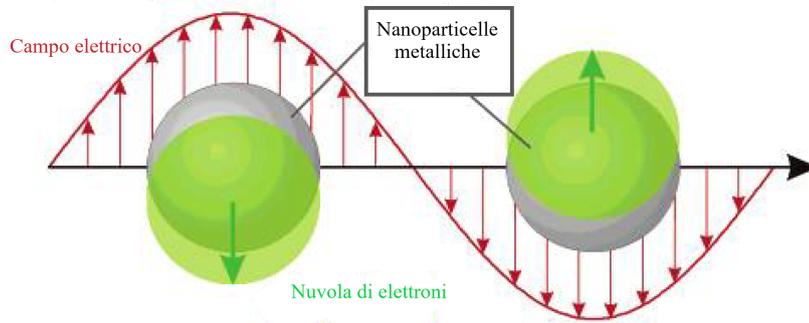
sintesi e alle diverse proprietà di queste nanoparticelle. A partire dal XX secolo importanti miglioramenti nel campo della tecnologia analitica, in particolar modo l'introduzione della microscopia elettronica, hanno dato un notevole contributo alla ricerca. Il miglioramento delle tecniche di caratterizzazione ha difatti permesso lo studio e l'affinamento di un gran numero di metodi di sintesi attraverso cui ottenere nanoparticelle aventi determinate caratteristiche. Tutto ciò ha quindi permesso di focalizzarsi su quelli che possono essere gli utilizzi pratici nei diversi campi della scienza. Le nanoparticelle d'oro sono ormai riconosciute nel mondo scientifico per le loro rimarchevoli proprietà. L'oro elementare possiede una combinazione unica di proprietà fisiche e chimiche sia nello stato macroscopico che nello stato microscopico: a livello macroscopico ha un'eccellente stabilità ed è caratterizzato da un elevato potenziale di riduzione. Le principali proprietà dell'oro elementare sono riassunte in Tabella 1.1.

**Tabella 1.1:** Proprietà fisico-chimiche dell'oro. Tabella tratta da [8] con modifiche.

<b>Proprietà</b>	
Numero atomico	79
Massa atomica	196.9665 Da
Configurazione elettronica	$[Xe]4f^{14}5d^{10}6s^1$
Struttura	fcc
Raggio metallico	0.1442 nm
Densità	19.32 g/cm <sup>3</sup>
Affinità elettronica	222.749 kJ/mol
Elettronegatività	2.4
Prima energia di ionizzazione	890.128 kJ/mol

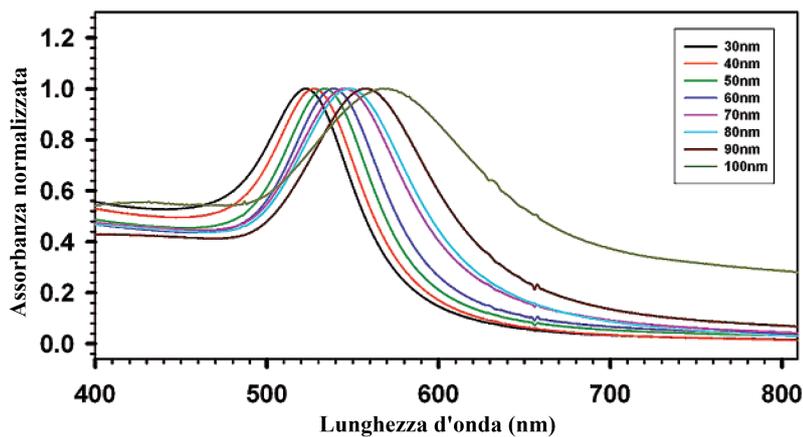
In scala nanometrica, l'oro presenta altrettante importanti proprietà, le quali giustificano il crescente interesse verso la produzione e l'uso su scala industriale delle sue forme nanoparticellari. Queste sono:

- Elevata superficie per unità di volume: su scala microscopica l'oro è caratterizzato da un elevato rapporto di atomi superficiali su atomi di bulk, rendendo le proprietà superficiali preponderanti [8]. Ciò rende le nanoparticelle di oro delle perfette candidate per applicazioni di tipo catalitico nella chimica di processo.
- Caratteristiche ottiche, in particolar modo la *risonanza plasmonica superficiale localizzata* (LSPR): questo fenomeno è responsabile della caratteristica colorazione rossa delle soluzioni di oro colloidale. Le radiazioni elettromagnetiche come la luce producono un campo elettrico oscillante che porta gli elettroni della banda di conduzione del legame metallico ad oscillare di conseguenza [9], come possibile osservare in Figura 1.4.



**Figura 1.4:** Oscillazione plasmonica della nuvola di elettroni rispetto al nucleo della nanoparticella metallica. Figura tratta da [9] con modifiche.

Ciò comporta lo sviluppo di una diversa distribuzione di carica superficiale, come ad esempio la formazione di un dipolo, ognuna delle quali è caratterizzata da una specifica energia di risonanza, che è appunto il LSPR. Quando la radiazione elettromagnetica incidente ha un'appropriata lunghezza d'onda, la sua energia viene immagazzinata, determinando l'assorbimento e la dispersione della luce [10]. La specifica lunghezza d'onda di risonanza che provoca il LSPR varia in base alle caratteristiche della particella, tra cui, ad esempio, la dimensione: all'aumentare della grandezza delle nanoparticelle nella sospensione colloidale, il picco di assorbimento dovuto al LSPR subisce uno spostamento verso lunghezze d'onda maggiori (*red-shift*) (Figura 1.5).



**Figura 1.5:** Spettro di assorbimento di nanoparticelle di diverse dimensioni. Figura tratta da [11] con modifiche

- **Morfologia:** le interazioni tra nanoparticelle e l'ambiente che le circonda sono fortemente influenzate anche dalla forma, di conseguenza la morfologia dei nanomateriali diviene un parametro di particolare importanza. Su scala nanometrica infatti le modalità attraverso cui molecole o complessi macromolecolari interagiscono con la superficie delle nanoparticelle sono fortemente influenzate dalle caratteristiche della superficie stessa. Anche le proprietà ottiche delle nanoparticelle, come ad esempio il LSPR risultano essere influenzate da tale parametro [12].

Nel corso degli anni sono molteplici i metodi che sono stati sviluppati per la sintesi di nanoparticelle metalliche. Generalmente si possono distinguere in due categorie: metodi fisici e metodi chimici. Relativamente alla sintesi di nanoparticelle d'oro, i metodi fisici più importanti sono [2]:

- Ablazione laser
- Metal evaporation

Data la bassa economicità ed efficienza dei suddetti metodi fisici, la sintesi delle nanoparticelle viene effettuata, anche a livello industriale, attraverso metodi chimici, in particolar modo la riduzione di sali metallici in ambiente organico o acquoso. La sintesi di nanoparticelle metalliche in soluzione è condotta tramite l'uso di tre componenti:

- (i) Precursore metallico
- (ii) Agente riducente
- (iii) Agente stabilizzante

Come precursore metallico si usa in genere un sale, come ad esempio  $\text{AgNO}_3$  nella sintesi di nanoparticelle d'argento, o  $\text{HAuCl}_4$  nella sintesi delle nanoparticelle di oro, oggetto di questo progetto. Il processo di formazione delle nanoparticelle può essere suddiviso in 2 fasi fondamentali: la *nucleazione* e la *crescita*. Durante la fase di nucleazione le molecole del sale metallico interagiscono con l'agente riducente il quale riduce il metallo dal suo stato di ossidazione ( $M^+$ ) nel sale allo stato atomico ( $M^0$ ). Gli atomi metallici formati cominciano ad unirsi tra di loro andando a formare i primi nuclei, punti di partenza per la formazione delle nanoparticelle finali. Durante la fase di crescita, i nuclei precedentemente formati si accrescono, grazie ulteriore riduzione del sale metallico e alla formazione di altri atomi metallici che prendono posto nella struttura cristallina della particella in accrescimento. Affinché si possano ottenere nanoparticelle aventi una dimensione omogenea è necessario che le due fasi siano ben distinte cronologicamente, ovvero che la fase di accrescimento cominci a svilupparsi al termine di quella di nucleazione; se le due si sviluppano in contemporanea è molto probabile che si ottengano particelle aventi una distribuzione delle dimensioni piuttosto ampia. L'agente stabilizzante ha lo scopo di stabilizzare le nanoparticelle al termine e durante il processo di sintesi:

le molecole dell'agente stabilizzante si adsorbono sulla superficie delle nanoparticelle evitando che queste possano aggregarsi e precipitare, soprattutto nei lunghi tempi di stoccaggio che intercorrono tra produzione ed utilizzo. In molti casi, la particolare combinazione tra agente riducente e agente stabilizzante può portare all'ottenimento di nanoparticelle di diverse dimensioni, come "nanorod", "nanocage" e nanocubi. Diversamente dai metodi fisici, i metodi chimici permettono in genere di ottenere un quantitativo di nanoparticelle maggiore, convenientemente rivestite dalle molecole dell'agente stabilizzante, il quale oltre che prevenire l'aggregazione, fornisce anche protezione dall'ambiente circostante [13]. Di seguito si riportano in Tabella 1.2 le principali combinazioni di agenti riducenti e stabilizzanti per la sintesi delle nanoparticelle d'oro.

**Tabella 1.2:** *Principali reagenti usati per la sintesi di nanoparticelle d'oro con metodi chimici. Tabella tratta da [2] con modifiche.*

Agente riducente	Agente stabilizzante	Range dimensioni (nm)
Glicole etilenico	PVP	2-14
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH · BH <sub>3</sub>	PAMAM	1-8
KBH <sub>4</sub>	polystyrene-b-poly(methacrylic acid)	3
KBH <sub>4</sub>	polystyrene-b-poly(ethylene oxide)	5
NaBH <sub>4</sub>	PAMAM	1.8-3.7
THPC	THPC	1.0-4.2
NaBH <sub>4</sub>	polymethylphenylphosphazene	5.1-7.4
NaBH <sub>4</sub>	alcantioli	1-3
NaBH <sub>4</sub>	tetraalkylammonium halide	4.5-10.5
N <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	CTAC, SDS	15-40
Acido ascorbico	Citrato di sodio	
Citrato di sodio	Citrato di sodio	10-900
Formammide	PVP	26-36

## 1.2 Sistemi e reattori microfluidici

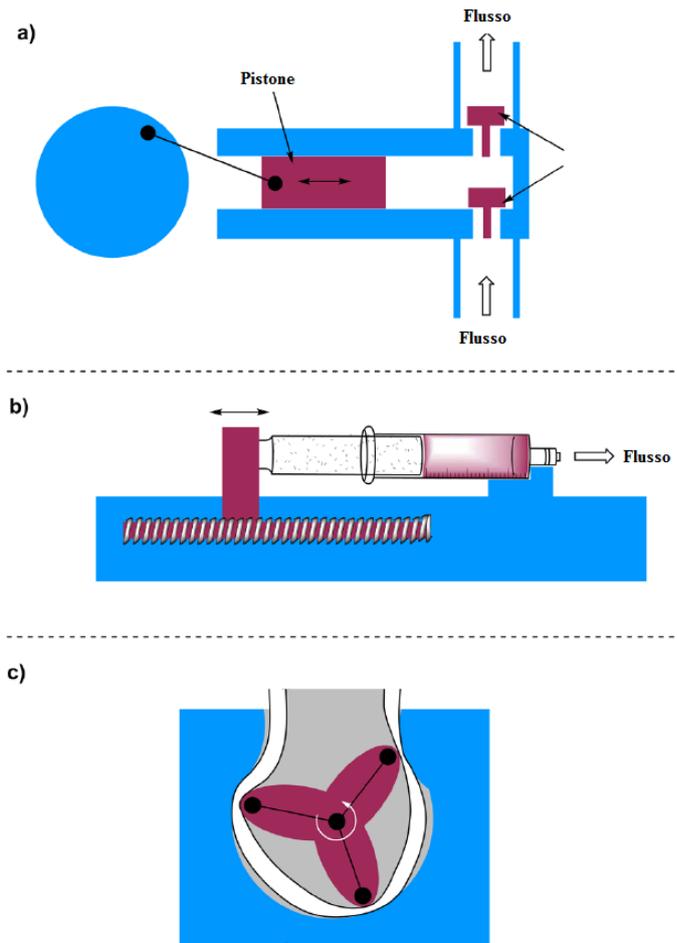
Data la loro versatilità, le nanoparticelle d'oro occupano una posizione centrale nello sviluppo delle nanotecnologie, e di conseguenza sono state effettuate numerose ricerche volte a migliorare e a rendere più efficienti le differenti vie di sintesi. Come osservato nella precedente sezione, esistono diverse combinazioni di reagenti che permettono la sintesi delle nanoparticelle d'oro, ognuna delle quali viene continuamente studiata al fine di migliorare la qualità dei prodotti finali. Quando si parla di nanoparticelle metalliche il principale interesse è quello di produrre nanomateriali aventi delle specifiche caratteristiche, in termini specialmente di forma

e dimensione. La reazione che porta alla formazione delle nanoparticelle è caratterizzata da un meccanismo piuttosto complesso: in particolare, l'ottenimento delle caratteristiche morfologiche prefissate dipende fortemente dalla miscelazione dei reagenti e dai parametri di processo; affinché si ottenga un risultato monodisperso è necessario che ci sia omogeneità in tutto il volume di reazione. Di conseguenza, il sistema utilizzato per condurre la reazione risulta essere di primaria importanza: la maggior parte degli studi scientifici riguardanti la produzione di nanoparticelle metalliche si basano sull'utilizzo di sistemi *batch* miscelati, ovvero sistemi di reazione discontinui. Questi sistemi presentano una serie di svantaggi nella produzione di nanoparticelle: nonostante la miscelazione, all'interno del volume della fase reattiva si possono sviluppare dei gradienti di temperatura e di concentrazione dei reagenti; tale fenomeno si manifesta maggiormente durante le fasi di scale-up, dove le dimensioni del sistema vengono incrementate e di conseguenza diventa meno efficiente il controllo sui parametri di processo. Le disomogeneità di temperatura e concentrazione possono portare a risultati molto dispersi e irregolari, con nanoparticelle di forma e dimensioni molto differenti [14]. Negli ultimi decenni, la ricerca scientifica nell'ambito della sintesi di nanomateriali ha spostato la sua attenzione sulle possibilità offerte dai sistemi microfluidici. La microfluidica è la scienza e la tecnologia di sistemi che processano o manipolano piccole quantità di fluidi (da  $10^{-9}$  a  $10^{-18}$  litri), utilizzando canali tubolari aventi dimensioni dell'ordine dei micrometri [15]. Tali sistemi permettono un controllo molto più efficace delle variabili di processo, permettendo quindi di avere delle specifiche condizioni di reazione in tutto il volume reattivo. Dimostrando la possibilità di operare con prestazioni nettamente superiori, e dimostrandosi versatili per la produzione di nanomateriali, l'utilizzo della microfluidica ha preso sempre più spazio nell'agenda della ricerca scientifica, in particolar modo l'utilizzo di reattori microfluidici in continuo (*Continuous-flow microfluidic reactors*) [14]. Un reattore microfluidico in continuo è generalmente caratterizzato da tre unità fondamentali:

- Unità di pompaggio reagenti
- Unità di reazione
- Unità di collezione prodotti

L'unità di pompaggio è caratterizzata da un sistema di pompe con lo scopo di alimentare due o più fluidi reagenti verso il reattore: il sistema di pompaggio ha un'elevata precisione, dovendo assicurare specifici rapporti molari tra i reagenti che vengono miscelati prima di entrare nel reattore ed uno specifico tempo di permanenza all'interno di esso. Nella maggior parte dei sistemi, il pompaggio si basa sulla formazione di un gradiente di pressione tra la sezione di ingresso e la sezione di uscita del sistema. Le tipologie di pompa più comuni, utilizzate per i sistemi microfluidici, sono: pompa HPLC, pompa a siringa, pompa peristaltica, il cui schema di funzionamento è mostrato in Figura 1.6. Le pompe HPLC sono generalmente utilizzate nel caso di portate elevate, utilizzabili a diversi livelli di pressione, mentre le pompe a siringa risultano più vantaggiose nel caso si richiedano valori bassi

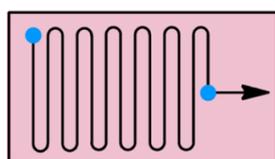
e precisi di portata di pompaggio: in base alla loro configurazione le pompe a siringa possono iniettare un preciso volume ("single shot") o essere adoperate per un pompaggio continuo; le pompe peristaltiche vengono utilizzate nel pompaggio di sospensioni liquido-solido ad alta viscosità, dato che le parti meccaniche in movimento non sono in diretto contatto con il liquido da pompare [16].



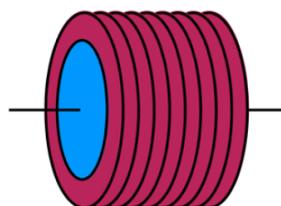
**Figura 1.6:** Tipologie di pompe per sistemi microfluidici: a) pompa HPLC; b) pompa a siringa; c) pompa peristaltica. Immagine tratta da [16] con modifiche.

L'unità di reazione ha un volume che va dai microlitri ( $\mu l$ ) ai millilitri ( $ml$ ). Le tipologie di reattore microfluidico più comuni sono il reattore tubolare a bobina (*coil-based reactor unit*, Figura 1.7a ), utilizzato nel caso di volumi dell'ordine dei millilitri, e il reattore a microchip (*chip-based reactor unit*, Figura 1.7b), per volumi di reazione minori. Il reattore a bobina è costituito da un tubo di materiale polimerico o metallico avvolto su un supporto cilindrico (Figura 1.8b); il reattore microchip è caratterizzato da un chip in vetro o polidimetilsilossano (PDMS) al-

l'interno del quale si sviluppano i canali attraverso cui scorrono i reagenti (Figura 1.8a). L'unità di reazione è in genere provvista di un sistema di riscaldamento o refrigerazione, che conferisce una specifica temperatura a tutto il volume di reazione. In generale il materiale di costruzione dei reattori microfluidici varia in base alle condizioni di reazione e al tipo di reagenti utilizzati. L'unità di collezione prodotti è caratterizzato da un sistema più o meno automatizzato nella quale i prodotti di reazione vengono raccolti.

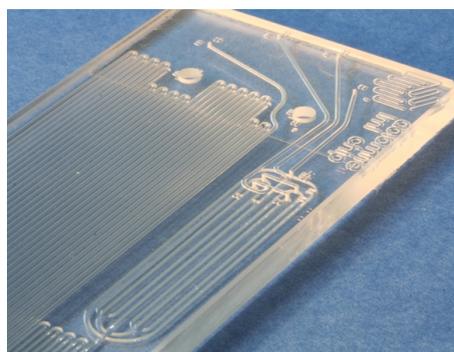


(a) Reattore microchip



(b) Reattore a bobina

**Figura 1.7:** Schematizzazione delle due diverse tipologie di reattore per i sistemi microfluidici. Immagine tratta da [16] con modifiche.



(a) Reattore microchip



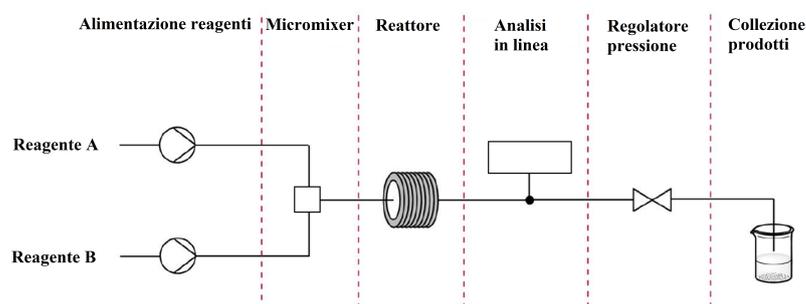
(b) Reattore a bobina

**Figura 1.8:** Esempi reali di reattori microfluidici.

Le tre sezioni principali del sistema microfluidico possono essere affiancate da delle unità ausiliarie aventi diverse funzionalità:

- **Micromixer:** dato il diametro molto piccolo e la semplice geometria, il regime fluidodinamico nei sistemi microfluidici è prevalentemente laminare ( $Re < 4000$ ), e quindi la miscelazione dei reagenti avviene per semplice diffusione, la quale risulta talvolta troppo lenta [17]. Per rendere la miscelazione dei reagenti più veloce sono state ideate delle unità di micromiscelazione; queste si suddividono in unità attive ed unità passive [16]: nelle unità attive la miscelazione viene prodotta tramite l'ausilio di energia fornita dall'esterno (esempio: ultrasonificazione); nelle unità passive la miscelazione dipende dalle caratteristiche del flusso. I micromixer passivi più comuni si basano sulla ripetuta suddivisione della corrente di reagenti in diverse sottocorrenti e successiva ricombinazione, e sulla creazione di un moto turbolento tramite la presenza di ostacoli; grazie allo sviluppo della tecnologia di stampa 3D, sono oggi realizzabili micromixer con geometrie molto complesse. Il volume delle unità di micromiscelazione è generalmente molto piccolo, di conseguenza i tempi di miscelazione sono particolarmente ridotti e permettono così di ottenere rapidamente un ambiente di reazione omogeneo [17]. Molti reattori microchip presenti in commercio sono costituiti da una sezione di pre-micromiscelazione integrata. I micromixer sono particolarmente efficienti nel caso di reazioni rapide, in cui la velocità di reazione è fortemente dipendente dalla velocità di miscelazione.
- **Unità di regolazione della pressione (*back pressure regulator*, BPR):** tale unità viene posizionata prima dell'unità di collezione e permette di mantenere un certo livello minimo di pressione all'interno del sistema. Ciò permette di operare anche a temperature al di sopra di quella di ebollizione per i liquidi di reazione, e anche di operare con reagenti gassosi. I sistemi di regolazione della pressione sono in genere di due tipologie: sistemi con pressione minima predefinita e sistemi con pressione minima regolabile.
- **Unità di analisi *in-line*:** questo tipo di analisi sono di notevole importanza nell'ottimizzazione di un processo di sintesi in continuo. Molte tecniche analitiche possono essere condotte in tempo reale, come le diverse tecniche di spettroscopia (UV-Vis, NMR, FTIR). L'utilizzo di queste unità sta alla base della progettazione dei sistemi di controllo per questo tipo di processi di sintesi.
- **Unità di iniezione:** queste unità vengono utilizzate nel caso si usino reagenti costosi, dato che permettono l'iniezione sotto forma di fase discreta dei reagenti all'interno del flusso nel reattore.

In Figura 1.9 è rappresentata una semplice schematizzazione di un generico sistema microfluidico per la reazione tra due reagenti A e B.



**Figura 1.9:** Schematizzazione di un generico sistema microfluidico nelle sue diverse parti. Immagine tratta da [16] con modifiche.

L'utilizzo di un sistema microfluidico in continuo per le sperimentazioni di laboratorio presenta numerosi vantaggi rispetto al classico sistema di sintesi in batch. Il ridotto volume permette di operare sintesi e conseguenti analisi sul processo utilizzando ridotti volumi di reagenti, riducendo notevolmente i costi della sperimentazione; nel caso in cui si utilizzino reagenti pericolosi, un sistema microfluidico permette inoltre di operare in condizioni di maggiore sicurezza [16]. L'aspetto più interessante riguardo l'utilizzo dei sistemi microfluidici sta nella straordinaria capacità di controllo delle variabili di processo. La sintesi delle nanoparticelle metalliche in genere è un processo complicato e fortemente dipendente dalle condizioni di reazione, di conseguenza il processo di sintesi necessita di un controllo eccellente dal punto di vista cinetico e termodinamico, al fine di ottenere un risultato monodisperso con le caratteristiche prefissate [13]. I sistemi microfluidici sono difatti caratterizzati da un elevato rapporto superficie su volume, approssimativamente tra 10000 e 50000  $m^2/m^3$ , rispetto ai reattori convenzionali che si aggirano tra 100 e 1000  $m^2/m^3$ ; ciò conferisce ai sistemi microfluidici eccezionali capacità di trasferimento di massa ed energia e migliore controllo delle variabili di reazione come temperatura e pressione [14]. L'utilizzo di sistemi di miscelazione come i micromixer precedentemente descritti permette di raggiungere rapidamente omogeneità nel volume di reazione. Grazie al piccolo volume, il sistema risponde molto velocemente alle perturbazioni, di conseguenza si presta alla possibilità di modifica delle condizioni di reazione in tempo reale per "regolare" le caratteristiche dei nanomateriali prodotti [17]. Nel passaggio dalla scala di laboratorio alla scala industriale, piuttosto che lo scale-up dell'impianto produttivo si effettua il *number-up*: invece di incrementare le dimensioni del sistema, si incrementa il numero di sistemi, identici tra loro e operanti alle medesime condizioni; in questo modo il processo di reazione risulta già ottimizzato nella fase di studio in laboratorio e l'incremento di volume di prodotti è ottenuto tramite l'utilizzo di un certo numero di sistemi operanti in parallelo [14]. Ciò permetterebbe di produrre grandi quantitativi di nanoparticelle, aventi già le caratteristiche previste, riducendo notevolmente le operazioni di post produzione come la purificazione. I sistemi microfluidici inoltre

permettono di studiare l'effetto dei parametri di processo su fenomeni che si sviluppano su scala microscopica, cosa difficilmente valutabile nei reattori convenzionali.

### 1.3 Il metodo Turkevich

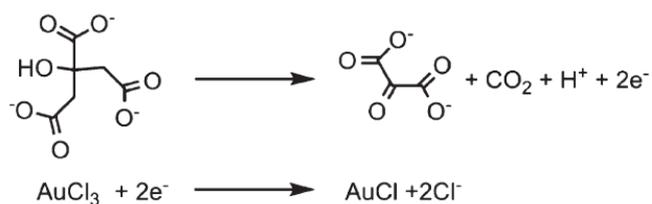
Come osservato in Tabella 1.2, sono diverse le combinazioni di reagenti utilizzate per la sintesi delle nanoparticelle d'oro. Tra tutte le varie metodologie, la più utilizzata e studiata è quella sviluppata da John Turkevich nel 1951 [18], denominata appunto *Metodo Turkevich*. Tale metodo si basa sulla riduzione in soluzione acquosa dell'acido tetracloroaurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) ad opera del citrato di sodio ( $\text{Na}_3\text{Cit}$ ), che funge anche da agente stabilizzante, ad alte temperature [19]. L'utilizzo del citrato di sodio per la riduzione di  $\text{HAuCl}_4$  era stata già precedentemente descritta da Ernst A. Hauser e J. Edward Lynn nel 1940 [20]. Il grande successo avuto dal metodo Turkevich si deve alla relativa semplicità del protocollo sperimentale e dall'ottenimento di nanoparticelle sferiche monodisperse stabilizzate elettrostaticamente dagli ioni citrato [19]. Il protocollo originale del metodo Turkevich ha subito numerose modifiche nel corso degli anni, volte al miglioramento delle caratteristiche delle nanoparticelle ottenute e alla riproducibilità del metodo; quest'ultimo aspetto è infatti uno dei maggiori limiti: utilizzando le medesime condizioni di reazione diversi studi hanno dimostrato come sia possibile ottenere nanoparticelle aventi range di dimensione differenti [19]. Nel 2016, Frieder Kettmann et al. [19] hanno messo appunto un protocollo di sintesi basato sul metodo Turkevich con migliore riproducibilità. Il meccanismo attraverso cui viene descritta la sintesi di nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich è definita come *crescita mediata da nuclei* o "seed mediated growth". Tale meccanismo è caratterizzato da due fasi distinte [21]:

- (i) Formazione dei nuclei: in questa prima fase, gli ioni  $\text{AuCl}_4^-$  del precursore vengono ridotti dalle molecole di citrato portando alla formazione di oro metallico  $\text{Au}^0$ . Gli atomi di oro metallico formati tendono ad aggregarsi tra di loro fino alla formazione di nuclei termodinamicamente stabili costituiti da un centinaio di atomi e aventi diametro intorno ai 2-3 nm. In questa prima fase, solo una piccola parte del precursore metallico (1-2% approssimativamente) prende parte alla reazione di formazione dei nuclei.
- (ii) Crescita mediata da nuclei: la rimanente parte del precursore metallico viene ridotta nel doppio strato elettrico dei nuclei formati producendo l'accrescimento fino alla formazione delle nanoparticelle finali. Questa fase procede fino al completo consumo del precursore.

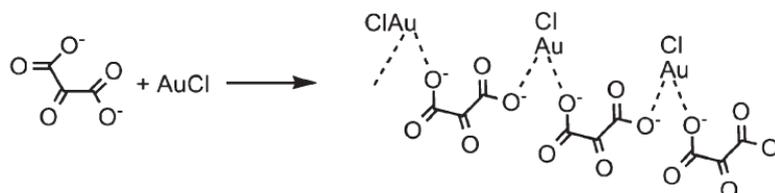
La fase (i) è definita come "size-determining step", ovvero la fase che determina il numero di nuclei (= numero di particelle) e quindi la grandezza finale delle nanoparticelle. Nella prima fase infatti vengono formati i nuclei stabili delle particelle ("seed-particles") le quali poi si accrescono nella fase (ii). In quest'ultima

fase non si ha formazione di nuovi nuclei, di conseguenza il precursore rimanente dalla prima fase si distribuisce idealmente in maniera omogenea tra i nuclei formati: se il numero di nuclei formati è alto, le nanoparticelle saranno quindi più piccole, poiché il precursore si distribuisce su più entità; al contrario se il numero di nuclei formati è basso, le nanoparticelle avranno diametro maggiore in virtù del fatto che il precursore si distribuisce su un numero minore di elementi. La netta divisione tra le due fasi è uno degli aspetti fondamentali per l'ottenimento di nanoparticelle monodisperse: nel caso in cui la fase di nucleazione si protragga durante la fase di crescita, il risultato finale sarebbe fortemente polidisperso, con nanoparticelle aventi grandezze in un range relativamente molto ampio. Di conseguenza la grandezza finale delle nanoparticelle ottenute dipende dal numero di nuclei che vengono formati nella prima fase.

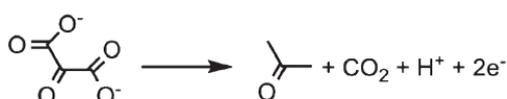
**a) Reazione redox tra  $\text{HAuCl}_4$  e il citrato:**



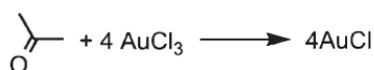
**b) Complessazione tra  $\text{AuCl}$  e DCA (dicarboxy acetone):**



**c) Decomposizione di DCA in acetone:**



**d) Reazione redox tra  $\text{HAuCl}_4$  ed acetone:**



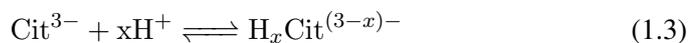
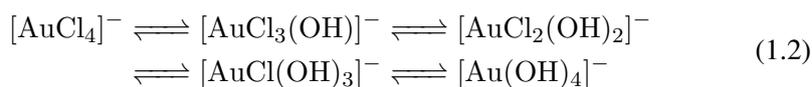
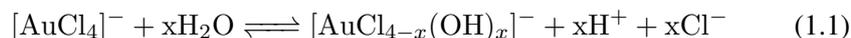
**e) Disproporzionamento di  $\text{AuCl}$ :**



**Figura 1.10:** Principali reazioni di ossidoriduzione tra il precursore metallico  $\text{HAuCl}_4$  e il citrato di sodio che si sviluppano in soluzione. Immagine tratta da [10] con modifiche.

La formazione dei nuclei nella fase (i) avviene tramite una serie di reazioni che si

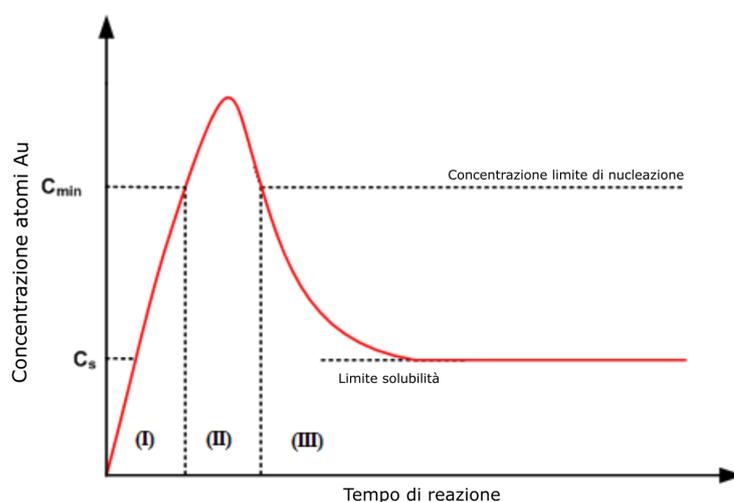
sviluppano in serie ed in parallelo [22]. Il primo step è la reazione di ossidoriduzione tra il precursore metallico  $\text{HAuCl}_4$  e il citrato di sodio  $\text{Na}_3\text{Cit}$ : in tale reazione il citrato si ossida producendo dicarboxy acetone (DCA) mentre il sale  $\text{AuCl}_3$  si riduce a  $\text{AuCl}$ , ovvero l'oro passa dallo stato di ossidazione +3 a +1 (Figura 1.10a). Le molecole di  $\text{AuCl}$  sviluppano poi una reazione di complessazione con gli ioni di DCA, formando delle macromolecole in cui ogni molecola di  $\text{AuCl}$  interagisce con due molecole di DCA (Figura 1.10b). La formazione di questo complesso macromolecolare facilita la successiva reazione di disproporzionamento di  $\text{AuCl}$  [22], che porta alla formazione di oro metallico  $\text{Au}^0$  e a  $\text{AuCl}_3$  (Figura 1.10e). Contemporaneamente a questa reazione si sviluppa la decomposizione del DCA in acetone e  $\text{CO}_2$  (Figura 1.10c); l'acetone formato può sviluppare una reazione di ossidoriduzione con il sale aurico  $\text{AuCl}_3$  portando alla formazione del sale auroso  $\text{AuCl}$  (Figura 1.10d). A questo set di reazioni si aggiungono le reazioni di equilibrio di speciazione di  $\text{AuCl}_4^-$  e degli ioni citrato:



L'equilibrio definito da queste equazioni dipende fondamentalmente da tre parametri: il pH dell'ambiente di reazione, la concentrazione degli ioni  $\text{Cl}^-$  e dalla temperatura. Gli atomi di oro metallico formati in questa prima fase si aggregano in clusters nanometrici fino alla formazione dei nuclei. Il processo di nucleazione può essere descritto attraverso la teoria di La Mer, nella quale esso è suddiviso in tre fasi, come illustrato in Figura 1.11:

- (I) La concentrazione degli atomi d'oro metallico  $\text{Au}^0$  cresce in soluzione a causa della progressiva riduzione del sale precursore ad opera del citrato di sodio, attraverso le reazioni descritte precedentemente.
- (II) Al raggiungimento del valore limite di nucleazione, gli atomi d'oro metallico si aggregano formando i primi cluster che evolvono poi nei nuclei delle nanoparticelle: in questa fase la formazione dei nuclei sottrae gli atomi dalla soluzione facendo decrescere la concentrazione.
- (III) Appena la concentrazione scende al disotto del valore critico la nucleazione si arresta e si sviluppa la crescita dei nuclei precedentemente formati fino all'ottenimento delle nanoparticelle finali.

La cinetica di nucleazione risulta di fondamentale importanza: durante la fase di nucleazione infatti è possibile che si sviluppi la crescita dei primi nuclei formati e

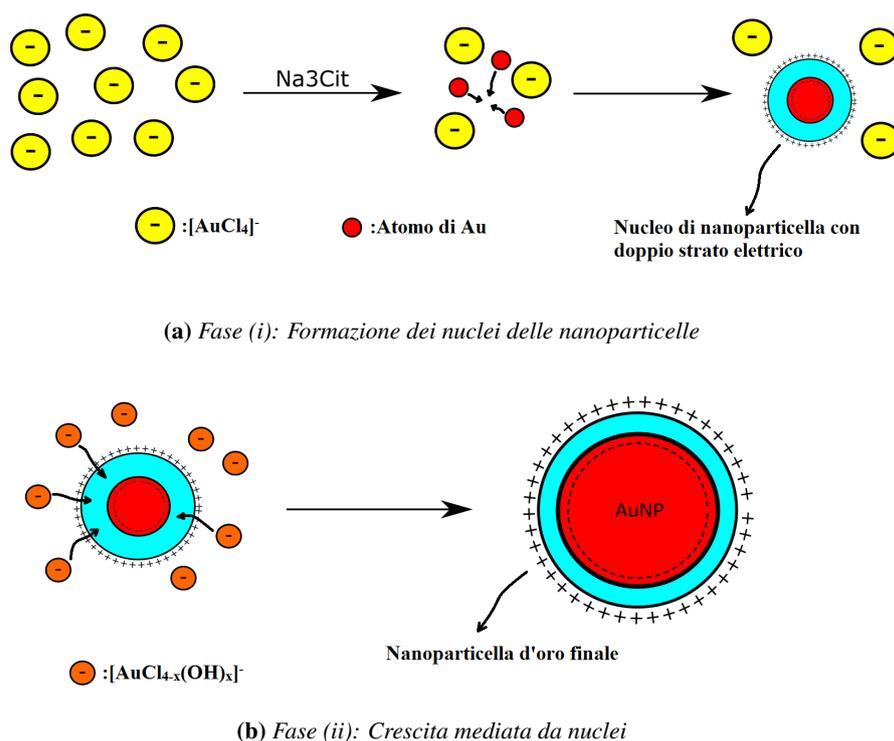


**Figura 1.11:** Diagramma di La Mer per la descrizione della nucleazione. Immagine tratta da [23] con modifiche.

ciò può portare a risultati polidispersi; al fine di ottenere un risultato monodisperso, è quindi necessario che la fase di nucleazione sia più rapida possibile [24]. Nella sintesi delle nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich, la teoria di La Mer da sola non è sufficiente a spiegare il meccanismo che sta alla base della formazione dei nuclei e la loro successiva crescita. Come osservato da Turkevich nel suo studio, tale teoria non permette di spiegare l'effetto marcato di alcuni parametri come la temperatura e il periodo di induzione osservato nelle sue sperimentazioni [18]. Lo sviluppo della tecnologia ha permesso di andare più a fondo nell'analisi del meccanismo di nucleazione delle nanoparticelle d'oro; si è osservato che in generale il numero di nuclei che vengono formati, e che quindi determinano la grandezza finale delle nanoparticelle, dipende da due fattori fondamentali: il quantitativo di  $\text{Au}^{3+}$  che viene ridotto dalla reazione con il citrato di sodio, influenzato dai cambiamenti nel meccanismo di riduzione, e la stabilità colloidale dei nuclei delle particelle, che definisce la minima dimensione termodinamicamente stabile [19]. Le equazioni di reazione 1.1, 1.2, 1.3 stanno alla base del cambiamento del meccanismo di riduzione. Tra le diverse specie descritte da tali equazioni, quelle più reattive per l'ossidazione sono rispettivamente  $[\text{AuCl}_4]^-$  e  $\text{HCit}^{2-}$  [19]; queste due specie sono quelle che prendono parte alla fase di nucleazione, poiché reagiscono velocemente in soluzione portando alla formazione di oro metallico. Le specie più idrossilate che si formano in seguito alla variazione di pH che si sviluppa alla miscelazione delle soluzioni di  $\text{HAuCl}_4$  (acido,  $\text{pH} \approx 2-3$ ) e  $\text{Na}_3\text{Cit}$  (basico,  $\text{pH} \approx 7-8$ ), risultano essere meno reattive. Di conseguenza lo shift verso le forme idrossilate rappresenta il processo di terminazione della nucleazione. Difatti, al raggiungimento dell'equilibrio, il quantitativo di  $[\text{AuCl}_4]^-$  risulta minimo o nullo,

di conseguenza la reazione di riduzione non si sviluppa in soluzione e non vengono prodotti ulteriori atomi di oro metallico per la formazione dei nuclei. Lo shift verso l'equilibrio dipende dal pH, che influenza quanto l'equilibrio della reazione 1.2 sia spostato verso le forme idrossilate, e dalla temperatura, che influisce sulla cinetica del raggiungimento dell'equilibrio. Da tali fattori dipende quindi il quantitativo di  $\text{Au}^{3+}$  viene ridotto ad  $\text{Au}^0$ . Le forme idrossilate  $[\text{AuCl}_{4-x}(\text{OH})_x]^-$  prendono parte alla reazione di riduzione durante la seconda fase del meccanismo di sintesi, ovvero la crescita dei nuclei formati [21]. Il secondo fattore che influenza la nucleazione, in termini di numero di nuclei formati, è la stabilità colloidale. La stabilità colloidale è il risultato delle forze di attrazione e di repulsione che si sviluppano tra le nanoparticelle; essa influenza la dimensione minima dei nuclei delle nanoparticelle: nel caso di bassa stabilità colloidale i nuclei formati tendono ad essere più grandi, mentre in un sistema avente alta stabilità colloidale i nuclei delle nanoparticelle stabili hanno dimensioni minori. A parità di quantitativo di oro metallico ridotto, nel caso a bassa stabilità colloidale si avrà un numero minore di nuclei e di conseguenza nanoparticelle finali di maggiori dimensioni; nel caso ad alta stabilità colloidale il numero di nuclei formato sarà più alto e quindi le nanoparticelle finali saranno più piccole [25]. La valutazione della dimensione minima stabile dei nuclei basata sul concetto di stabilità colloidale, e quindi l'effetto di quest'ultima sul processo di nucleazione, viene fatta dal punto di vista energetico considerando le curve di stabilità, che definiscono la barriera (energetica) di aggregazione in funzione del raggio della particella; in generale, al crescere del raggio cresce il valore della barriera di aggregazione, ovvero le particelle tendono meno ad aggregarsi a formare particelle di maggiori dimensioni. L'andamento della curva di stabilità dipende sostanzialmente dalla composizione chimica della soluzione colloidale. Nella definizione della stabilità colloidale, la barriera di aggregazione viene confrontata con l'energia termica disponibile ( $E_{kT}$ ), la quale dipende sostanzialmente dalla temperatura dell'ambiente di reazione. Se, per un certo raggio dei nuclei, la barriera di aggregazione è al di sotto del valore di  $E_{kT}$ , i nuclei tendono ad aggregarsi tra di loro formando nuclei di grandezza maggiore; se invece la barriera di aggregazione è al di sopra del valore di  $E_{kT}$ , allora i nuclei risultano essere grandi a sufficienza per essere stabili. Il raggio dei nuclei al quale corrisponde l'uguaglianza tra la barriera di aggregazione e l'energia termica disponibile rappresenta la dimensione minima di stabilità colloidale [21, 25]. La fase (ii), ovvero la fase di crescita mediata da nuclei, si sviluppa al termine della fase di nucleazione. I nuclei formati sono caratterizzati dalla presenza di un doppio strato elettrico ("electric double layer", EDL) nel loro intorno, determinato dalla presenza di una carica residua negativa distribuita sulla superficie dei nuclei. Le forme idrossilate degli ioni del precursore metallico  $[\text{AuCl}_{4-x}(\text{OH})_x]^-$ , insieme agli ioni citrato, vengono attratte all'interno del doppio strato elettrico: in prossimità della superficie del nucleo si sviluppa quindi la reazione di ossidoriduzione che porta alla formazione di oro metallico. Come precedentemente descritto, gli ioni  $[\text{AuCl}_{4-x}(\text{OH})_x]^-$  non sono reattivi a sufficienza da potersi ridurre in soluzione, ma sviluppano facilmente la reazione di riduzione in prossimità della superficie della nanoparticella

dalla quale si produce l'oro metallico : in questa fase, si considera infatti che la superficie metallica della nanoparticella funge da catalizzatore per la reazione di ossidoriduzione che produce l'accrescimento della nanoparticella stessa [21]. La fase di crescita mediata da nuclei procede fino al completo consumo del precursore metallico in soluzione. Il quantitativo di precursore residuo dalla fase di nucleazione risulta essere intorno al 97-98%, di conseguenza la fase di crescita è quella che richiede più tempo durante il processo di sintesi. Le temperatura standard per la sintesi con il metodo Turkevich è di circa 100 °C, tuttavia sono stati effettuati numerosi studi in cui sono state utilizzate temperature differenti, sia più alte che più basse. Il tempo di reazione necessario al completamento e alla formazione di nanoparticelle stabili è dell'ordine della decina di minuti, e dipende fortemente dalla temperatura utilizzata. L'intero processo di sintesi è schematizzato in Figura 1.12.



**Figura 1.12:** Schematizzazione del processo di sintesi delle nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich nelle sue due fasi.

## 1.4 Obiettivo della tesi

Il seguente progetto di tesi ha avuto come obiettivo principale l'esplorazione delle condizioni operative del processo di sintesi delle nanoparticelle d'oro, operato in continuo attraverso un sistema microfluidico automatizzato. Diversamente dalla classica sintesi batch, i cui risultati sono ampiamente descritti in letteratura, in questo progetto è stato utilizzato un sistema continuo di produzione: tale scelta rappresenta una importante innovazione in questo campo, permettendo di determinare e studiare delle nuove metodologie di sintesi che possano porsi come valide alternative nella produzione delle nanoparticelle metalliche, e in particolar modo nella sintesi delle nanoparticelle d'oro. Adottando come base la metodologia messa a punto da Turkevich, descritta precedentemente, sono state testati gli effetti delle condizioni operative sulle nanoparticelle prodotte, avendo come scopo quello di determinare i parametri di processo per l'ottenimento di prodotti di alta qualità, in termini morfologici e dimensionali, sfruttando quelli che sono i pregi della sintesi attraverso la microfluidica. In particolar modo, nel corso delle sperimentazioni effettuate, sono stati testati gli effetti dei seguenti parametri:

- Tempo di permanenza nel reattore
- Temperatura di sintesi
- Rapporto molare

I parametri operativi ritenuti ottimali in questa valutazione sono stati poi utilizzati per la sintesi in continuo di un volume di produzione maggiore. Oltre alla valutazione sull'effetto delle condizioni operative di processo, è stata anche valutata la funzionalità del sistema microfluidico nello sviluppo della produzione in continuo, in particolar modo la capacità di sintetizzare nanoparticelle d'oro aventi caratteristiche dimensionali regolari anche per volumi di produzione maggiori, adottando opportune soluzioni per ovviare alle criticità riscontrate. La parte sperimentale di questo progetto e la conseguente analisi dei risultati ottenuti dalle diverse sperimentazioni, attraverso i metodi di caratterizzazione utilizzati, sono state svolte nell'arco temporale di sei mesi, trascorsi presso la Chalmers University di Göteborg, Svezia, sotto la supervisione del Professor Kasper Moth-Poulsen. Il seguente manoscritto è il risultato delle valutazioni e delle conclusioni redatte da tale attività sperimentale, i cui risultati vengono riassunti e discussi nelle pagine seguenti. Il presente manoscritto si articola, a valle di questo primo capitolo di introduzione all'argomento, di tre ulteriori capitoli. Il secondo capitolo è relativo ai materiali e ai materiali e metodi, in cui si descrivono le sostanze ed il loro relativo utilizzo nel corso delle sperimentazioni effettuate, unitamente ad un'attenta descrizione del sistema microfluidico impiegato in tutti i suoi diversi componenti; infine si descrivono i metodi di caratterizzazione applicati per la valutazione dei prodotti sintetizzati. Nel terzo capitolo è presente il riassunto dei risultati ottenuti dalle diverse sperimentazioni effettuate, diviso in diverse sezioni relative al parametro

## *CAPITOLO 1. INTRODUZIONE*

---

operativo studiato con i relativi risultati ottenuti dalla caratterizzazione e la discussione degli stessi. Il quarto capitolo è relativo al confronto dei risultati ottenuti con quanto presente in letteratura relativamente alla sintesi delle nanoparticelle, analizzando i pro e i contro della sintesi in continuo; vengono poi descritti i problemi di funzionalità del sistema incontrati nel corso delle sintesi e le soluzioni adottate. Al termine vengono poi redatte le conclusioni e le prospettive future relative alla tematica trattata in questo manoscritto.

## Capitolo 2

# Materiali e metodi

Tutte le attività di laboratorio, e quindi l'intera parte sperimentale svolta per lo sviluppo di questo progetto, sono state effettuate presso la Chalmers University of Technology di Göteborg, Svezia. L'attività laboratoriale di sintesi e l'analisi spettrofotometrica dei prodotti si sono svolte presso il "Chemistry and chemical engineering department", mentre le attività di caratterizzazione al microscopio elettronico a trasmissione (TEM) sono state effettuate presso il "Chalmers Materials Analysis Laboratory". Nelle seguenti sezioni sono descritti i protocolli di sperimentazione adottati per la preparazione dei reagenti, l'utilizzo del sistema microfluidico nella sintesi delle nanoparticelle unitamente alle tecniche di caratterizzazione e di valutazione dei risultati ottenuti.

### 2.1 Sostanze utilizzate e preparazione reagenti

Il metodo Turkevich, utilizzato in questo progetto per la sintesi delle nanoparticelle d'oro prevede l'uso di due reagenti, nella fattispecie  $\text{HAuCl}_4$ , e  $\text{Na}_3\text{Cit}$ . L'acido tetracloroaurico si presenta a temperatura ambiente come un solido giallo-arancio ed è comunemente utilizzato in ambito industriale come precursore metallico per altri composti a base di oro. Questo composto può essere ottenuto in diversi modi, generalmente tramite reazione di oro metallico con composti acidi a base di acido cloridrico e acido nitrico. Per la preparazione della soluzione di precursore è stata utilizzata una soluzione 23,82 mM di  $\text{HAuCl}_4$  fornita dal laboratorio e conservata sotto refrigerazione. Diversi volumi di soluzione di  $\text{HAuCl}_4$  sono stati preparati periodicamente diluendo determinati quantitativi della soluzione originale fino ad una concentrazione di 1 mM, utilizzando acqua MilliQ. Il citrato di sodio è un sale dell'acido citrico, che si presenta a temperatura ambiente come un solido bianco inodore: generalmente è utilizzato nell'industria alimentare come additivo o conservante; in ambito chimico viene spesso usato per la preparazione di soluzioni tampone per la stabilizzazione del pH delle soluzioni. Nell'ambito della produzione delle nanoparticelle è ampiamente utilizzato come agente riducente e stabilizzante, data la sua eccezionale capacità di buffering e il basso impatto am-

bientale. Per la preparazione della soluzione di citrato di sodio, diversi quantitativi del sale diidrato ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , puro, Fischer Scientific) sono stati disciolti in acqua MilliQ al fine di formare soluzioni aventi una molarità pari a 6 mM. Le specifiche concentrazioni utilizzate per i due reagenti sono state scelte in modo da avere, alla miscelazione dei reagenti nel sistema microfluidico, il rapporto 1:6 tra precursore ed agente riducente, come previsto dal protocollo del metodo Turkevich con migliorata riproducibilità [19]. Prima dell'utilizzo nel sistema microfluidico, le soluzioni dei reagenti sono state sottoposte a degassamento e sonicazione per almeno 30 minuti, al fine di evitare la formazione di bolle d'aria all'interno delle tubazioni del sistema durante il processo di sintesi. Entrambe le soluzioni sono state preparate con cadenza settimanale, in modo da evitare che l'invecchiamento delle soluzioni potesse influenzare i risultati della sintesi. L'acqua MilliQ, utilizzata come fluido di processo e nella preparazione delle soluzioni reagenti, è stata ottenuta tramite il sistema di purificazione Millipore presente nel dipartimento. La vetreria utilizzata per la preparazione dei reagenti e gli agitatori magnetici sono stati puliti con acqua distillata MilliQ e acetone prima di ogni preparazione. La pulizia del sistema microfluidico è stata effettuata facendo scorrere acqua regia all'interno delle tubazioni, al fine di eliminare residui del processo di sintesi. L'acqua regia è stata preparata periodicamente, miscelando acido nitrico e acido cloridrico al fine di ottenere un rapporto molare tra i due acidi pari a 1:3. Alla miscelazione, acido nitrico e acido cloridrico reagendo liberano delle componenti volatili in forma gassosa, di conseguenza la soluzione di acqua regia prodotta è stata lasciata riposare almeno 24h prima del suo utilizzo al fine di evitare la formazione di bolle di gas durante lo scorrimento della soluzione acida nelle tubazioni, le quali riducono l'efficacia del processo di pulizia.

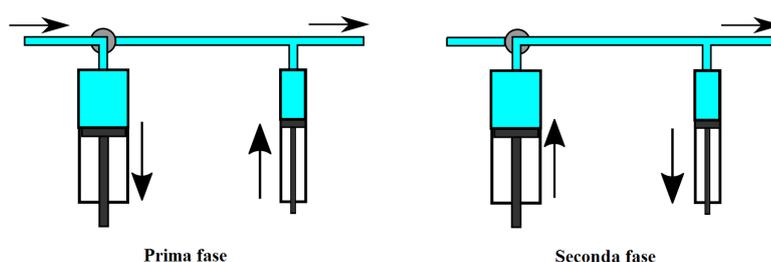
## 2.2 Sistema microfluidico *Syrris Asia* e il suo utilizzo nella sperimentazione

Nella seguente sezione sono descritte le caratteristiche e le componenti del sistema microfluidico *Syrris Asia* utilizzato nel corso delle sperimentazioni. Prima dell'inizio delle attività sperimentali relative al progetto di tesi, è stata svolta un'attività di training volta al completo apprendimento sull'uso e la gestione dei vari componenti del sistema microfluidico in oggetto, comprendente anche di un'attenta analisi dei manuali di utilizzo forniti per ogni componente. I moduli costituenti il sistema sono stati configurati in modo diverso durante le varie sessioni sperimentali effettuate: le configurazioni adottate e le loro caratteristiche saranno descritte in seguito. Sul sistema non sono state apportate modifiche, se non una semplice attività di manutenzione periodica, come la sostituzione di tubazioni e connettori.

### 2.2.1 Descrizione del sistema *Syrris Asia*

Di seguito si riportano le caratteristiche fondamentali di ciascun componente del sistema.

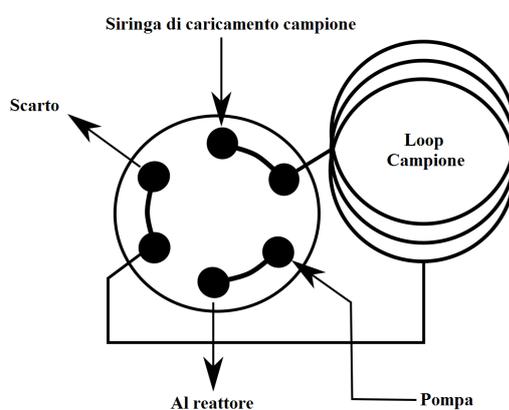
- Asia pressurized input store: modulo costituito da 4 bottiglie in vetro all'interno del quale possono essere contenuti reagenti o fluidi di processo pressurizzati fino ad 1 bar con gas inerte (azoto). Tale modulo è collegato direttamente con il sistema di pompaggio tramite tubazione in PFA con punto di aspirazione filtrato.
- Asia syringe pumps: ogni modulo di pompaggio è costituito da due canali indipendenti; il sistema di pompaggio per ogni canale è di tipo "a siringa", in grado di pompare in maniera precisa i reagenti con portata compresa tra  $1 \mu\text{l}/\text{min}$  e  $10 \text{ ml}/\text{min}$ ; ogni canale è costituito da due siringhe, montate in serie, una (la siringa sinistra) avente volume doppio rispetto all'altra. Il meccanismo di pompaggio continuo si basa sul sistema V-2V diviso in due fasi: nella prima fase la siringa sinistra avente volume 2V si riempie aspirando il fluido direttamente dalle bottiglie di contenimento dei fluidi di processo, mentre la siringa destra pompa il volume V nel sistema; nella seconda fase la pompa sinistra si svuota pompando 2V: metà di tale volume viene utilizzato per il riempimento della siringa destra, mentre l'altra metà viene pompata nel sistema. In ogni fase avviene il pompaggio di un certo volume V nel sistema, e l'alternanza delle due fasi in modo ciclico permette lo sviluppo di un flusso continuo. In ogni canale del modulo è presente un sensore per la valutazione della pressione di pompaggio: la pressione massima operativa è pari a 10 bar; nel caso di raggiungimento di tale valore di pressione, il sistema si arresta in modo automatico al fine di prevenire danni alla strumentazione.



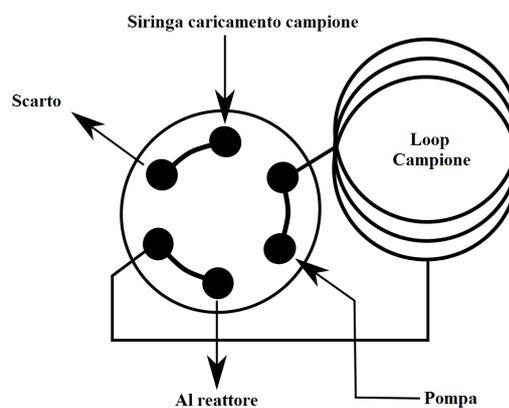
**Figura 2.1:** Schema di funzionamento pompaggio V-2V.

- Asia reagent injector: questo modulo permette l'iniezione discreta di piccole quantità di reagente all'interno del flusso di solvente ed è localizzato solitamente tra pompe e reattore. Anche questo modulo è costituito da due canali indipendenti. Il funzionamento si basa sull'utilizzo di una valvola a sei vie

collegata ad un loop campione; si distinguono due fasi di funzionamento: durante la fase di caricamento del campione, la valvola collega la pompa direttamente con il reattore, e il punto di caricamento con il loop di contenimento del campione (Figura 2.2a), permettendo quindi il riempimento del loop con il reagente; nella fase di iniezione del campione la valvola collega la pompa con il loop campione e quindi con il reattore (Figura 2.2b) in modo che il fluido di processo funga da fluido di spinta del campione contenuto nel loop verso il reattore. Il volume dei loop campione nel sistema utilizzato in questo progetto è di 5 ml.



(a) Fase di caricamento campione



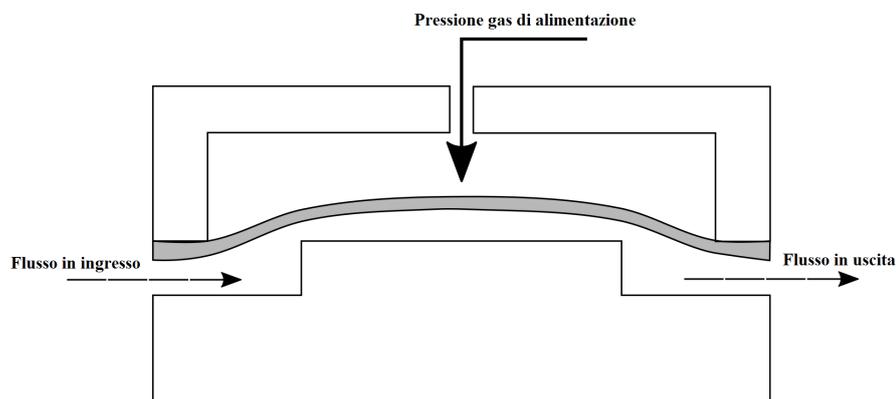
(b) Fase di iniezione campione nel reattore

**Figura 2.2:** Schema di funzionamento della valvola a sei vie del sistema di iniezione reagenti.

- Asia heater tube reactor: modulo costituito da un reattore tubolare a bobina del volume di 4 ml, con sistema di riscaldamento diretto fino alla temperatura

di 125 °C: il sistema di controllo permette di mantenere una temperatura accuratamente costante durante il processo di sintesi (temperatura minima controllabile di 40 °C). La tubazione che costituisce il reattore è in PFA. La pressione massima operativa nel reattore coerentemente con il materiale che lo costituisce è di 10 bar.

- Asia pressure controller: tale modulo è utilizzato per pressurizzare il sistema, regolando la pressione di uscita: in tal modo, tutto il sistema opera ad una pressione superiore al valore impostato. Permette di operare con fluidi fino a 150 °C, con una range di portata compreso tra 1  $\mu\text{l}/\text{min}$  e 10  $\text{ml}/\text{min}$ ; il range di pressione di lavoro è compreso tra 1 e 20 bar, ma per il funzionamento richiede un gas di alimentazione avente una pressione di ingresso compresa tra 2 e 25 bar: naturalmente, la massima pressione di lavoro è limitata dalla pressione del gas in ingresso nel modulo. La regolazione della pressione ad opera del gas di alimentazione avviene tramite una valvola a diaframma, come illustrato in Figura 2.3. Affinché si possa sviluppare il flusso attraverso la valvola, è necessario che ci sia equilibrio tra la pressione del gas di alimentazione, regolata dall'utente, e la pressione del fluido: di conseguenza, impostando una certa pressione per il gas di alimentazione, la pressione del fluido dall'altra parte del diaframma, grazie all'azione di pompaggio delle pompe, cresce fino al raggiungimento del valore di equilibrio. In tal modo la pressione di uscita corrisponde al valore impostato dall'utente. Tale modulo è stato collegato all'alimentazione dell'aria compressa del laboratorio (6 bar).

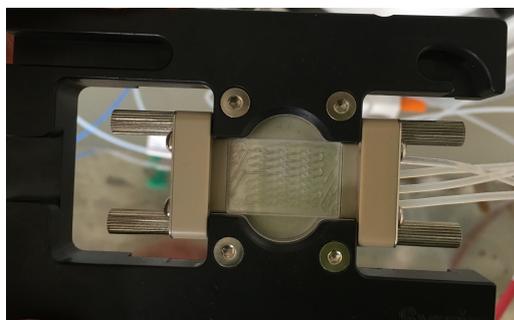


**Figura 2.3:** Schema di funzionamento del regolatore di pressione con valvola a diaframma.

- Asia automated product collector: modulo costituito da un braccio automatizzato che permette la collezione dei prodotti di reazione in volumi predefiniti. Il sistema di collezione è costituito da una valvola a 2 vie che permette

di deviare il fluido di processo verso gli scarti e di collezionare solo gli effettivi prodotti della sintesi, unitamente ad un certo volume regolabile di fluido di processo pre e post prodotti.

Il materiale che costituisce le parti in contatto con il fluido di processo dei vari moduli è di matrice polimerica (PTFE) o in vetro. Le tubazioni che collegano i vari moduli e che costituiscono il reattore tubolare sono in PFA, un fluoropolimero largamente utilizzato in ambito laboratoriale, avente proprietà simili al PTFE, come l'eccezionale resistenza agli attacchi chimici. Il diametro interno di tutte le tubazioni utilizzate nel sistema è di 0.5 mm. Tra le pompe e il reattore a bobina è stato posizionato un micro-miscelatore per migliorare la miscelazione dei reagenti nel caso di portate minori (Figura 2.4), mentre in Figura 2.5 si riporta il sistema Asia nella sua configurazione base.



*Figura 2.4: Micro-miscelatore utilizzato in questo lavoro di tesi.*



*Figura 2.5: Configurazione base del sistema microfluidico Asia utilizzato in questo progetto.*

Il micro-miscelatore utilizzato in questo progetto è costituito da tre sezioni di ingresso e una singola sezione di uscita. Il volume è particolarmente ridotto e fa sì che il tempo di permanenza dei reagenti al suo interno sia trascurabile rispetto a quello all'interno del reattore. Il processo di miscelazione è di tipo passivo e avviene tramite suddivisione della corrente in diverse sottocorrenti e successiva ricombinazione.

### 2.2.2 Utilizzo del sistema nelle sperimentazioni

Per l'utilizzo del sistema *Syrris Asia* è stato seguito un semplice protocollo costituito da quattro fasi fondamentali: caricamento reagenti, impostazione degli esperimenti della sessione, sviluppo automatizzato degli esperimenti, collezione prodotti. Prima di ogni utilizzo, quotidianamente, il sistema è stato pulito con acqua regia, al fine di eliminare l'influenza dei residui delle precedenti sessioni: in tale fase 10 ml di soluzione di acqua regia, introdotti tramite l'iniettore dei reagenti, sono stati fatti fluire nel sistema con una portata di 800 ml/min. Al termine della fase di pulizia, le soluzioni dei reagenti preparate precedentemente sono state caricate nel sistema in diverse modalità, in base alla configurazione microfluidica utilizzata nelle sperimentazioni: in particolar modo, sono state adottate tre diverse configurazioni, a cui è corrisposto una diversa modalità di utilizzo dei reagenti. Queste sono:

1. Iniezione di entrambi i reagenti tramite loop campione: sia la soluzione di  $\text{HAuCl}_4$  e sia quella di  $\text{Na}_3\text{Cit}$  sono state caricate nel loop campione degli iniettori di reagenti.
2. Iniezione del precursore metallico tramite iniettore reagenti e flusso continuo della soluzione di citrato di sodio: in questo caso solo la soluzione di  $\text{HAuCl}_4$  è stata caricata nel loop campione, mentre quella di  $\text{Na}_3\text{Cit}$  è stata utilizzata con flusso continuo (caricamento nelle bottiglie dello store pressurizzato)
3. Flusso continuo di entrambi i reagenti: entrambe le soluzioni sono state caricate nello store pressurizzato ed utilizzate in continuo.

A caricamento effettuato, tramite il software fornito dalla Syrris è stato possibile configurare le condizioni operative dei diversi esperimenti della sessione, in particolar modo:

- Rapporto volumico dei reagenti
- Temperatura reattore
- Tempo di permanenza nel reattore
- Pressione minima di processo
- Volume prodotti
- Volume fluido di processo collezionato a collezione dei prodotti avvenuta.

Lo svolgimento degli esperimenti impostati, con i relativi parametri di processo, avviene in automatico e in modo continuo. All'avvio della sessione di sperimentazione, il sistema avvia il sistema di pompaggio e il sistema di riscaldamento per il raggiungimento della temperatura di processo. Il fluido di processo viene pompato nel sistema con una portata corrispondente al tempo di permanenza impostato per il reattore. Al raggiungimento della temperatura di processo, avviene l'iniezione dei reagenti nel sistema: la valvola a sei vie dell'iniettore dei reagenti passa dalla modalità di caricamento alla modalità di iniezione per un tempo che dipende dalla portata del fluido di processo e dal quantitativo di reagente da iniettare; al termine dell'iniezione la valvola passa nuovamente in modalità di caricamento. In modo automatico, in base ai volumi delle tubazioni e dei moduli utilizzati nella configurazione del sistema, il software calcola il tempo che intercorre tra l'iniezione e la collezione, collezionando così i prodotti di reazione in modo preciso; nel caso in cui non venga sfruttata l'iniezione dei reagenti, il tempo di permanenza e di collezione viene valutato partendo dal momento in cui vengono raggiunte tutte le condizioni operative. Nel corso delle diverse sperimentazioni effettuate i prodotti sono stati collezionati in fiale da 2 ml posizionate sulla griglia di contenimento del modulo di collezione automatizzato e trasferiti successivamente in cuvette monouso standard (cammino ottico di 1 cm) in polistirene al termine del processo di sintesi per le successive operazioni di caratterizzazione. Le operazioni di pulizia del sistema sono state effettuate caricando i loop campione con acqua regia per la successiva iniezione di questa nel sistema. Il processo di pulizia preliminare ad ogni sessione sperimentale è stato effettuato a temperatura ambiente, dato che la reazione tra l'acido e le nanoparticelle di oro residue nel sistema genera componenti gassose che, nel caso di temperature elevate generano delle bolle all'interno delle tubazioni le quali riducono l'efficacia dell'operazione di pulizia; tuttavia la pulizia intermedia tra singoli esperimenti è stata anche operata ad alta temperatura (70-80 °C).

### **2.3 Metodi di caratterizzazione**

Al fine di valutare l'effetto dei vari parametri operativi testati nel corso di questo progetto sulle caratteristiche delle nanoparticelle d'oro prodotte sono state utilizzate diverse tecniche di caratterizzazione, dalle quali è stato possibile ricavare informazioni di tipo qualitativo e quantitativo sulla sintesi effettuata: attraverso tali analisi è stato possibile valutare diversi aspetti delle nanoparticelle prodotte, in particolar modo valutarne la morfologia, le dimensioni, il grado di dispersione e alcune delle proprietà ottiche tipiche di questi nanomateriali. Per la valutazione dei risultati sono state adottate due tecniche di caratterizzazione, ovvero l'analisi spettrofotometrica delle soluzioni colloidali prodotte e l'analisi al microscopio elettronico a trasmissione. Durante le sperimentazioni sono state fatte delle misurazioni con oggetto il pH delle soluzioni reagenti, essendo anche quest'ultimo un importante parametro alla base della buona riuscita della sintesi.

### 2.3.1 Misura del pH dei reagenti e della fase reattiva.

Il pH è uno dei parametri che maggiormente influenza la sintesi delle nanoparticelle d'oro tramite il metodo Turkevich, poichè influenza l'equilibrio delle reazioni di speciazione che determinano la separazione tra nucleazione e crescita nel processo di sintesi. Il pH delle soluzioni reagenti è stato quindi valutato al termine della loro preparazione prima dell'utilizzo nel sistema microfluidico. Il pH di miscele 1:1 dei reagenti è stato misurato altrettanto al fine di valutare il valore del pH nell'ambiente di reazione durante la sintesi. Tutte le misure sono state effettuate con pH-metro portatile (Jenway Model 570, Jenway Ltd., UK) con le soluzioni a temperatura ambiente. Prima di ogni utilizzo il pH-metro è stato opportunamente calibrato con delle soluzioni tampone a pH noto.

### 2.3.2 Spettroscopia UV-Vis

La spettroscopia UV-Vis è una delle tecniche più utilizzate nell'ambito della chimica analitica, data la notevole quantità di informazioni che permette di ricavare, come ad esempio lo studio sulla composizione e sulla concentrazione di soluzioni di composti organici ed inorganici. Nell'ambito delle nanoparticelle metalliche, l'analisi spettrofotometrica, data le notevoli proprietà ottiche delle nanoparticelle d'oro, è di particolare importanza, poichè permette di definire alcune delle caratteristiche della soluzione colloidale e delle nanoparticelle prodotte. Il funzionamento si basa sulla valutazione della quantità della radiazione elettromagnetica (avente una certa lunghezza d'onda  $\lambda$  (nm)) emessa da una sorgente che viene assorbita dal campione, prima di raggiungere il fotorilevatore. Da tale analisi è possibile quindi valutare la lunghezza d'onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale localizzata, l'entità dell'assorbimento e la forma dello spettro, le quali permettono di fare delle valutazioni preliminari, circa la dimensione, la forma, la distribuzione delle nanoparticelle nel campione, prima dell'analisi più dettagliata effettuata con la microscopia elettronica: due aspetti molto importanti sono la rapidità e la semplicità con cui può essere effettuata l'analisi, che rappresentano due grossi vantaggi di questa tecnica di caratterizzazione. Le soluzioni colloidali prodotte dalle varie sperimentazioni, trasferite nelle cuvette monouso, sono state quindi sottoposte ad analisi spettrofotometrica nel campo UV-Visibile, valutandone l'assorbimento nella regione compresa tra 300 e 800 nm di lunghezza d'onda. In alcuni casi la soluzione prodotta è stata diluita con acqua MilliQ, in altri casi è stato utilizzato il volume di fluido di processo post-prodotti collezionato come volume di diluizione. Lo spettro UV-Vis dei prodotti ottenuti nelle varie sintesi è stato valutato tramite lo spettrofotometro Lambda 900 (Perkin Elmer Instruments, US). La valutazione delle caratteristiche dello spettro di assorbimento è stata effettuata elaborando i dati ottenuti tramite foglio di calcolo Excel.

### 2.3.3 Microscopia elettronica a trasmissione (TEM)

La microscopia elettronica si basa sull'utilizzo di un fascio di elettroni come sorgente di radiazioni: gli elettroni sviluppano lunghezze d'onda minori rispetto alla luce visibile, di conseguenza la risoluzione dei microscopi elettronici è di gran lunga maggiore rispetto ai microscopi ottici, essendo che il potere di risoluzione del microscopio è inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda della radiazione utilizzata. Nella microscopia elettronica a trasmissione avviene il passaggio degli elettroni attraverso il campione, il quale deve avere uno spessore molto basso in modo da assicurare la trasmissione. In base al contenuto del campione, gli elettroni del fascio possono essere dispersi in seguito all'interazione con i materiali presenti, variando quindi la loro direzione rispetto al fascio diretto verso il campione. Al disotto del campione, uno schermo fluorescente raccoglie gli elettroni trasmessi, convertendoli in un'immagine ingrandita della sezione del campione sottoposta al passaggio del fascio di elettroni: le immagini sono in scala di grigi, in cui in genere le parti chiare sono le parti in cui gli elettroni vengono trasmessi più facilmente, mentre le parti più scure sono quelle dove gli elettroni non riescono a passare direttamente e quindi vengono dispersi. La microscopia elettronica a trasmissione è stata effettuata con un microscopio Tecnai T20 (200 kV, catodo LaB<sub>6</sub>); per la caratterizzazione TEM, 5  $\mu$ l di soluzione colloidale prodotta, opportunamente diluita, sono stati fatti cadere su delle griglie in rame con rivestimento al carbonio (Ted Pella Inc., US). Altri tipi di analisi possono essere condotti con il microscopio TEM: tra queste è doveroso menzionare la spettroscopia EDX, attraverso cui è possibile valutare la composizione chimica della sezione analizzata del campione, e gli schemi di diffrazione, i quali permettono di valutare struttura cristallina delle nanoparticelle analizzate. La microscopia elettronica a trasmissione rappresenta quindi uno strumento di valutazione di eccezionale potenza, avendo una capacità di osservazione fino a livello atomico: di conseguenza si presta alla valutazione dei nanomateriali per analisi di tipo qualitativo.

### 2.3.4 Analisi dimensionale con ImageJ

Le immagini ricavate dall'analisi al TEM sono state analizzate tramite il programma open source ImageJ (versione 1.6.0.24): tramite questo software, dopo aver impostato la scala che definisce la grandezza di ogni pixel in scala nanometrica, le immagini ricavate dal TEM sono state convertite in formato binario (bianco e nero) per permettere il conteggio delle nanoparticelle in ogni immagine e il calcolo delle loro dimensioni; da tali valutazioni è stato possibile ricavare la distribuzione delle dimensioni delle nanoparticelle per ogni campione analizzato ed altre valutazioni di tipo statistico tramite foglio di calcolo Excel. Il software produce come risultato dell'analisi la superficie di ogni nanoparticella all'interno del campione: assumendo quindi che le nanoparticelle sono di forma sferica (approssimazione generalmente accettata) è possibile valutare il diametro delle nanoparticelle del campione ed altre caratteristiche come circolarità e rapporto d'aspetto. I dati otte-

nuti sono stati epurati tramite la metodologia Tukey, la quale permette di eliminare dalla valutazione statistica i valori di dimensione più lontani dal valore medio delle misure: in tal modo si ottiene una distribuzione meno influenzata dai valori estremi delle misure. Tutti i grafici elaborati e presenti in questo progetto di tesi sono stati prodotti tramite Excel.



## Capitolo 3

# Risultati e discussione

Lo scopo di questo progetto di tesi è stato quello di esplorare le diverse condizioni operative per la sintesi di nanoparticelle di oro in continuo, e di valutare l'effetto dei diversi parametri sui prodotti finali ottenuti. A tal fine sono state condotte diverse sessioni di esperimenti, utilizzando la procedura descritta nel Capitolo 2, volte a valutare gli effetti della variazione delle condizioni operative sulla funzionalità del sistema microfluidico, e sulle caratteristiche delle nanoparticelle prodotte, confrontando i risultati ottenuti con quanto contenuto nei diversi studi presenti in letteratura, riguardanti la classica sintesi in batch. Come descritto nel Capitolo 1, il metodo di sintesi utilizzato in questo progetto è quello di Turkevich, attraverso cui si possono sintetizzare nanoparticelle di forma sferica: l'ottenimento di tale morfologia è stato adottato di conseguenza come indice della buona riuscita del processo di sintesi. Le condizioni di processo di base per le diverse sperimentazioni effettuate sono state scelte tenendo conto dei parametri operativi presenti in letteratura riguardanti la sintesi batch ampiamente discussa. Nelle seguenti sezioni di questo capitolo si riportano i risultati ottenuti dalle diverse sintesi effettuate nello sviluppo del progetto, unitamente ai dati ricavati dalla caratterizzazione effettuata sui campioni prodotti.

### 3.1 Tempo di permanenza nel reattore

Il tempo di permanenza, nell'ambito dei processi chimici di sintesi, rappresenta uno dei parametri operativi fondamentali, poiché da esso dipende il grado di estensione del processo, o, in altri termini, di quanto procede la reazione nella trasformazione dei reagenti in prodotti. Il tempo necessario affinché la reazione chimica giunga a completamento dipende sostanzialmente dalla velocità di reazione, che, nel caso della sintesi di nanoparticelle, dipende dalla temperatura adottata nella sintesi. Come descritto nel Capitolo 1, il metodo messo a punto da John Turkevich prevede un tempo di reazione di circa 10 minuti affinché la sintesi delle nanoparticelle sia completa: in letteratura sono presenti diversi articoli riguardanti lo studio delle tempistiche di reazione del metodo Turkevich in base alla temperatura di

processo adottata [26, 27]. Il primo parametro analizzato nel corso delle sperimentazioni è stato quindi il tempo di permanenza dei reagenti all'interno del reattore ( $t_R$ ). Lo scopo di questa parte della sperimentazione è stato quello di valutare le tempistiche di reazione tali per cui la sintesi di nanoparticelle si possa considerare completa e di valutare eventuali differenze con la classica sintesi batch. A tal scopo sono stati testati diversi tempi di permanenza, basandosi sui dati presenti in letteratura; per il sistema sono state utilizzate le seguenti condizioni operative, valide per i diversi esperimenti:

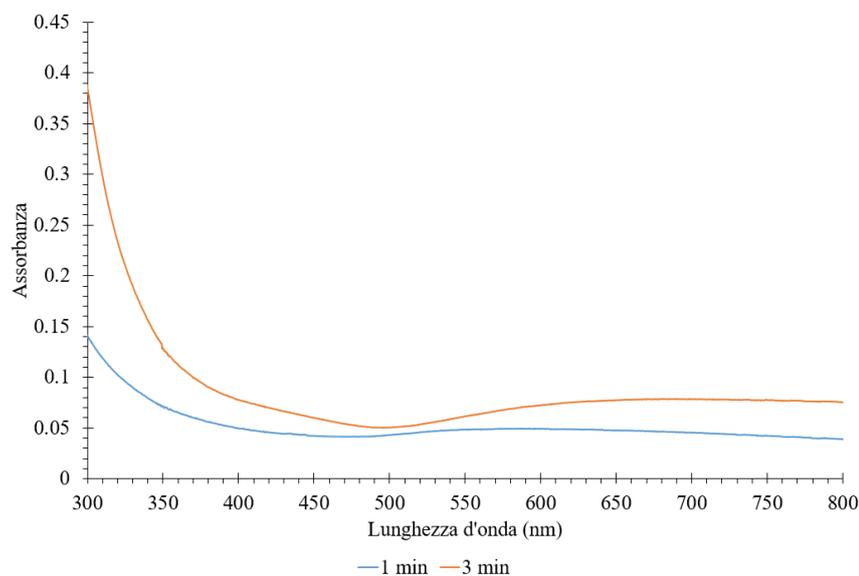
- $T_R = 95\text{ }^\circ\text{C}$
- $p_{out} = 1\text{ bar}$
- Rapporto  $\text{HAuCl}_4/\text{Na}_3\text{Cit} = 1:6$
- $V_p = 1.5\text{ ml}$

Come tempi di permanenza sono stati effettuati esperimenti in cui la reazione è stata sviluppata per 1, 3, 5, 7, 10, 12 minuti. I prodotti ottenuti hanno dimostrato caratteristiche differenti: per tempi di permanenza bassi (1, 3 minuti) la soluzione dei prodotti si presenta incolore, denotando la possibile mancanza di nanoparticelle d'oro prodotte. Le soluzioni prodotte per tempi di permanenza maggiore hanno pienamente sviluppato la classica colorazione rossastra tipica delle soluzioni d'oro colloidale.

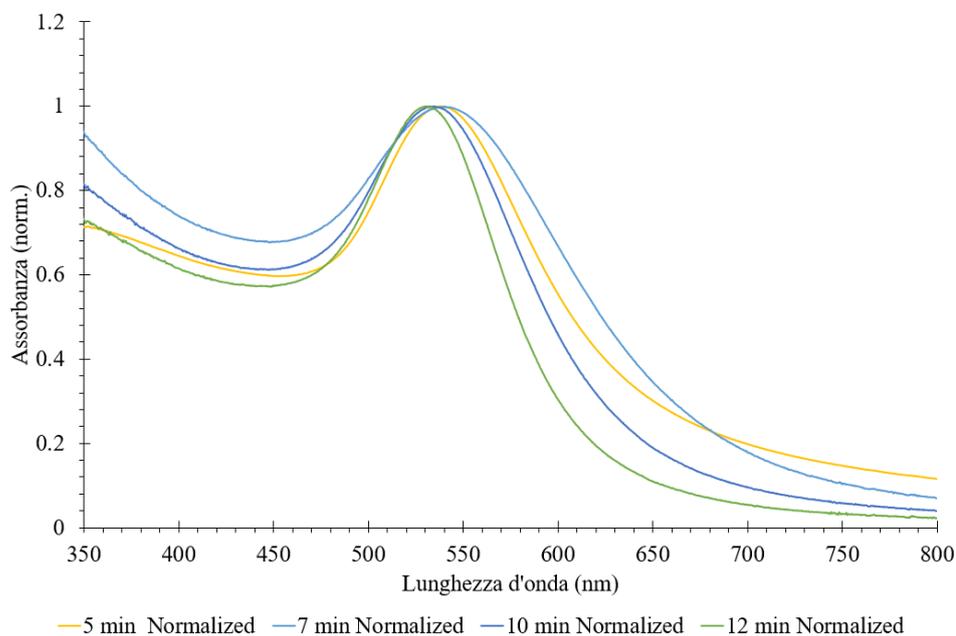
### 3.1.1 Analisi spettrofotometrica

A sessione completata, i prodotti sono stati trasferiti in cuvette monouso e diluiti con 0.5 ml di acqua MilliQ e ne è stato valutato lo spettro di assorbimento nel campo UV-Vis attraverso analisi spettrofotometrica. Per  $t_R$  più bassi, in particolare i campioni sintetizzati con  $t_R = 1\text{ min}$  e  $t_R = 3\text{ min}$  non presentavano la classica colorazione rossastra tipica delle soluzioni colloidali di oro nanoparticellare: ciò è stato considerato come prova del mancato sviluppo e completamento della reazione di sintesi. Dall'analisi spettrofotometrica dello spettro di assorbimento di questi campioni (Figura 3.1) è possibile osservare che l'assorbanza registrata è particolarmente bassa e, con ogni probabilità, relativa ai reagenti rimasti non reagiti nel campione. L'assorbanza per lunghezze d'onda inferiori a 350 nm non è infatti relativa alla presenza di nanoparticelle d'oro, le quali, se presenti, producono assorbimento per lunghezze d'onda sensibilmente maggiori; inoltre le nanoparticelle con dimensioni inferiori a 3 nm non sviluppano SPR [28], di conseguenza non è tanto meno valutabile l'eventuale presenza dei nuclei formati. Lo spettro di assorbimento osservato quindi conferma che tempi di permanenza bassi come 1 e 3 minuti, alle condizioni operative scelte in termini di concentrazione reagenti e temperatura nel reattore, non risultano sufficienti per il completamento del processo di sintesi. I campioni di prodotti sintetizzati per tempi di permanenza maggiori, al contrario, mostrano il caratteristico colore dell'oro colloidale e dall'analisi del

loro spettro si sono ottenute le prime informazioni circa il funzionamento del sistema e circa l'influenza del tempo di permanenza nel reattore sulla sintesi delle nanoparticelle, come mostrato in Figura 3.2.



**Figura 3.1:** Spettro di assorbimento per i campioni sintetizzati con  $t_R$  di 1 e 3 min.



**Figura 3.2:** Spettro di assorbimento per i campioni sintetizzati con  $t_R$  di 5, 7, 10, 12 min. L'assorbanza è stata normalizzata al valore di assorbimento registrato per la LSPR, che è riportato in Tabella 3.1.

Lo spettro di assorbimento relativo ai campioni sintetizzati per 5 e 7 minuti si presenta più ampio rispetto a quello relativo alla sintesi operata per 10 e 12 minuti; l'ampiezza dello spettro può essere direttamente collegata con la varianza delle nanoparticelle nel campione: nanoparticelle aventi un range di dimensione più ampio e quindi varianza maggiore sviluppano uno spettro di assorbimento più largo, mentre particelle aventi varianza di dimensione minore sviluppano uno spettro di assorbimento più definito e "concentrato" nell'intorno della lunghezza d'onda del LSPR. Di conseguenza, la sintesi operata per tempi di permanenza maggiori risulta essere, da questa preliminare analisi, più efficace. Un'altra informazione importante è la lunghezza d'onda alla quale si sviluppa l'assorbimento massimo, ovvero la risonanza plasmonica superficiale. I dati relativi sono riportati in Tabella 3.1.

**Tabella 3.1:** Lunghezza d'onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale per nanoparticelle d'oro prodotte per diversi tempi di permanenza nel reattore a 95 °C.

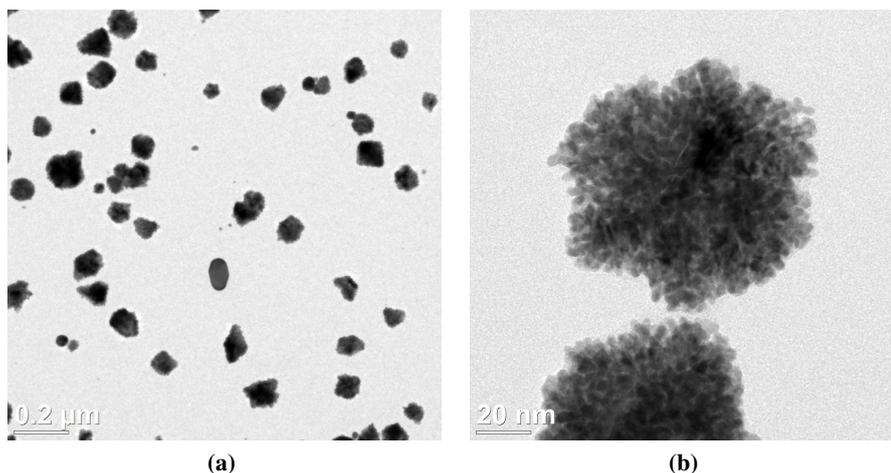
Tempo di permanenza $t_R$ (min)	Lunghezza d'onda SPR (nm)
5	538
7	540
10	535
12	530

Come è noto da letteratura, la lunghezza d'onda di assorbimento massimo, corrispondente con la risonanza plasmonica superficiale, può essere direttamente collegata con la grandezza media delle nanoparticelle presenti nel campione [29]. Dai valori riportati in Tabella 3.1 è possibile osservare come le nanoparticelle sintetizzate per  $t_R$  minori abbiano una lunghezza d'onda sensibilmente maggiore rispetto a quella relativa ai campioni sintetizzati per  $t_R$  maggiori.

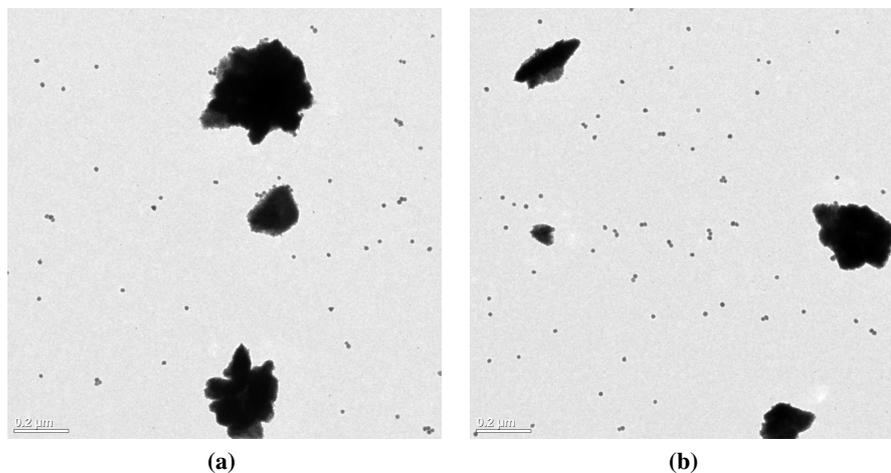
### 3.1.2 Analisi TEM e distribuzioni dimensionali

Per verificare i risultati ottenuti dall'analisi dello spettro, sono stati preparati dei campioni per l'analisi al microscopio elettronico a trasmissione (TEM). Dalle immagini TEM risulta come i prodotti sintetizzati per  $t_R$  pari a 5 e 7 minuti siano caratterizzati dalla presenza di macrostrutture, aventi dimensioni nell'ordine delle centinaia di nanometri, con struttura irregolare e porosa (Figura 3.3, Figura 3.4). Queste strutture possono essere considerate come dei macro-aggregati molecolari non del tutto stabili. Nel campione prodotto dalla sintesi operata per 5 minuti la presenza di tali macro-strutture è molto più evidente che nel caso in cui la sintesi è stata operata per 7 minuti: di conseguenza la discriminante per la presenza o meno di tali strutture è il tempo di reazione. Nel campione sintetizzato per 7 minuti è possibile osservare come, unitamente alla presenza delle macro-strutture, ci sia anche un'evidente presenza di nanoparticelle ben formate, la cui dimensione è nell'ordine di 10-20 nm. Ciò avvalorava l'ipotesi che la discriminante per la formazione di tali

strutture irregolari è l'insufficiente tempo di permanenza all'interno del reattore, e che tali strutture sono probabilmente degli intermedi "in evoluzione". La presenza di queste macrostrutture giustifica i risultati ottenuti dall'analisi spettrofotometrica, ovvero la maggiore lunghezza d'onda di SPR registrata.



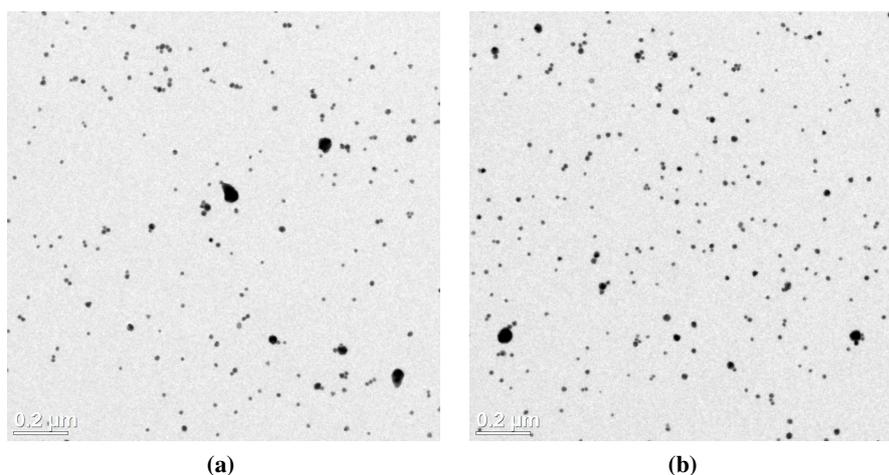
**Figura 3.3:** Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con  $t_R = 5$  min.



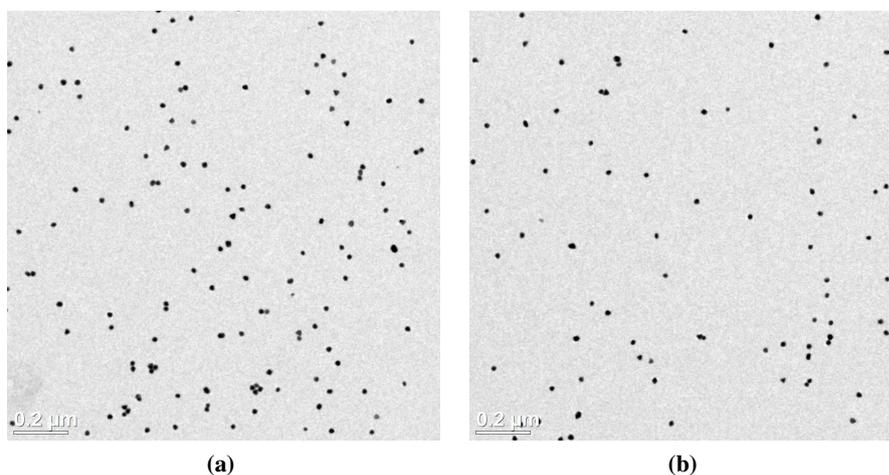
**Figura 3.4:** Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con  $t_R = 7$  min.

Al fine di chiarire la natura di tali strutture, un'ulteriore analisi al microscopio elettronico è stata effettuata dopo circa 48 ore dalla sintesi, preparando nuovi campioni TEM; durante questo tempo, i prodotti della sintesi sono stati tenuti a temperatura ambiente al riparo dalla luce. Dai risultati ottenuti sono emersi notevoli cambiamenti all'interno dei prodotti di sintesi (Figura 3.5, Figura 3.6): è possibile osservare come la presenza di macro-strutture irregolari si sia ridotta drasticamente in entrambi i campioni. Questo porta all'ipotesi che tali campioni abbiano subito un

evoluzione nel corso del tempo che ha portato tali macro-strutture a dividersi ed ad evolvere verso la formazione di nanoparticelle di forma più regolare e di grandezza notevolmente ridotta. Nonostante a temperatura ambiente la reazione si sviluppi con estrema lentezza, è possibile che le 48 ore intercorse tra la preparazione dei due campioni abbiano permesso al processo di sintesi di giungere a completamento, e che quindi la reazione condotta nel sistema microfluidico sia stata soltanto parziale.



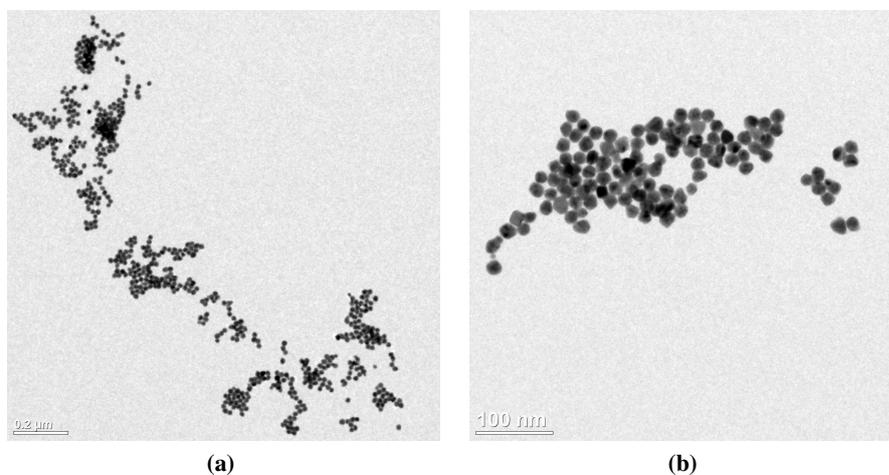
**Figura 3.5:** Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con  $t_R = 5$  min dopo 48 ore dalla sintesi.



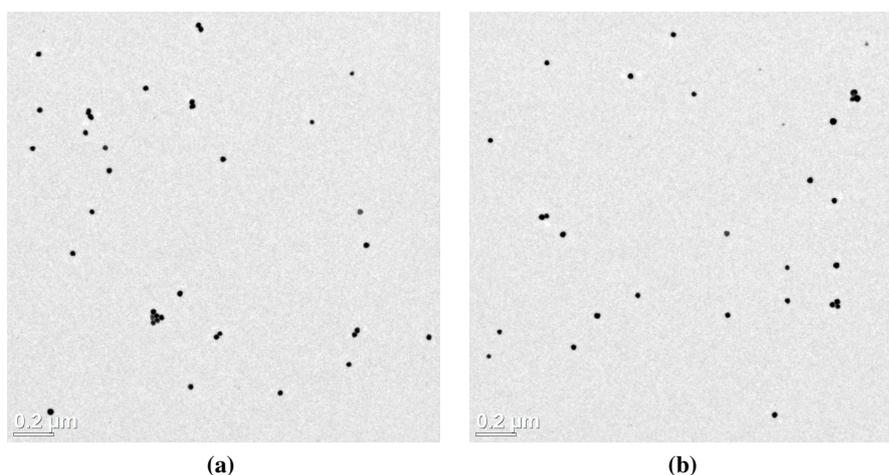
**Figura 3.6:** Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con  $t_R = 7$  min dopo 48 ore dalla sintesi.

Da una preliminare osservazione, il campione relativo al  $t_R$  di 5 minuti è costituito da nanoparticelle aventi dimensione piuttosto varia, mentre il campione relativo al  $t_R$  di 7 minuti è molto più regolare e presenta nanoparticelle aventi tutte una dimen-

sione piuttosto simile. Tale differenza può essere originata dal fatto che nel caso del campione sintetizzato con  $t_R = 5$  min non è stata riscontrata, immediatamente al termine della sintesi, la presenza di nanoparticelle ben formate se non in presenza minima: la quasi totalità del campione era infatti costituita dalle macro-strutture irregolari; al contrario, nel caso di  $t_R = 7$  min si è formato un buon quantitativo di nanoparticelle, e il numero delle macro-strutture irregolari era sensibilmente più basso. Di conseguenza l'evoluzione non controllata delle macro-strutture presenti in nanoparticelle è avvenuta con maggiore grado nel caso di sintesi per  $t_R = 5$  min: l'evoluzione non controllata porta all'ottenimento di nanoparticelle con dimensione piuttosto varia (data l'assenza di un buon grado di miscelazione e di conseguenza caratteristiche non omogenee), quindi questo tipo di sviluppo post-sintesi ha influenzato notevolmente le dimensioni molto variabili delle nanoparticelle ottenute all'interno del campione sintetizzato con tempo di permanenza di 5 minuti. Nel caso di  $t_R$  di 7 minuti il fenomeno risulta essere molto meno marcato. Per quanto riguarda i campioni sintetizzati con tempo di permanenza maggiore, questi mostrano invece risultati differenti: coerentemente con quanto osservato dall'analisi dello spettro di assorbimento, il quale, per entrambi i campioni, risultava più regolare, dalle analisi al microscopio elettronico a trasmissione si osserva come in questi casi la formazione di nanoparticelle sia giunta a completamento (Figura 3.7, Figura 3.8); in entrambi i casi sono quasi del tutto assenti le macro-strutture porose ed irregolari riscontrate negli altri casi, e si ha una presenza molto più evidente di nanoparticelle ben formate. Di conseguenza, non sono stati analizzati ulteriori campioni TEM come nei due casi precedenti. Tale risultato rispetta quanto descritto in letteratura circa la sintesi delle nanoparticelle secondo il metodo Turkevich: il tempo di reazione per la classica sintesi in batch di nanoparticelle d'oro seguendo tale metodo è infatti dell'ordine dei 10-15 minuti; il risultato ottenuto quindi è in linea con le classiche tempistiche di sintesi in batch. Dall'analisi al TEM sono state ricavate numerose immagini, in modo da poter utilizzare un maggior numero di nanoparticelle al fine di poter fare delle valutazioni statistiche valide. Le immagini ottenute sono state analizzate con ImageJ, da cui è stato possibile ricavare le caratteristiche dimensionali delle nanoparticelle presenti nei vari campioni di sintesi. Da tali valutazioni è stato possibile ricavare alcune utili informazioni riguardo queste prime sperimentazioni dell'utilizzo del sistema microfluidico per la sintesi delle nanoparticelle d'oro. La distribuzione delle grandezze delle nanoparticelle sintetizzate per diversi tempi di permanenza sono raggruppate in Figura 3.9 e i dati relativi a tali distribuzioni contenuti in Tabella 3.2. Le distribuzioni per i campioni sintetizzati per tempi di permanenza pari a 5 e 7 minuti sono relative ai campioni TEM preparati dopo 48 ore dalla sintesi. Il campione che presenta la distribuzione più ampia è quello prodotto con  $t_R = 5$  min, la quale rispecchia quanto osservato preliminarmente dalle relative immagini TEM e quanto ipotizzato dall'analisi spettrofotometrica. Il campione sintetizzato con tempo di permanenza pari a 7 minuti è quello che mostra maggiore monodispersione: è evidente come in questo caso l'evoluzione non controllata delle poche macro-strutture irregolari nel campione non abbia particolarmente influenzato la distribuzione delle grandezze.



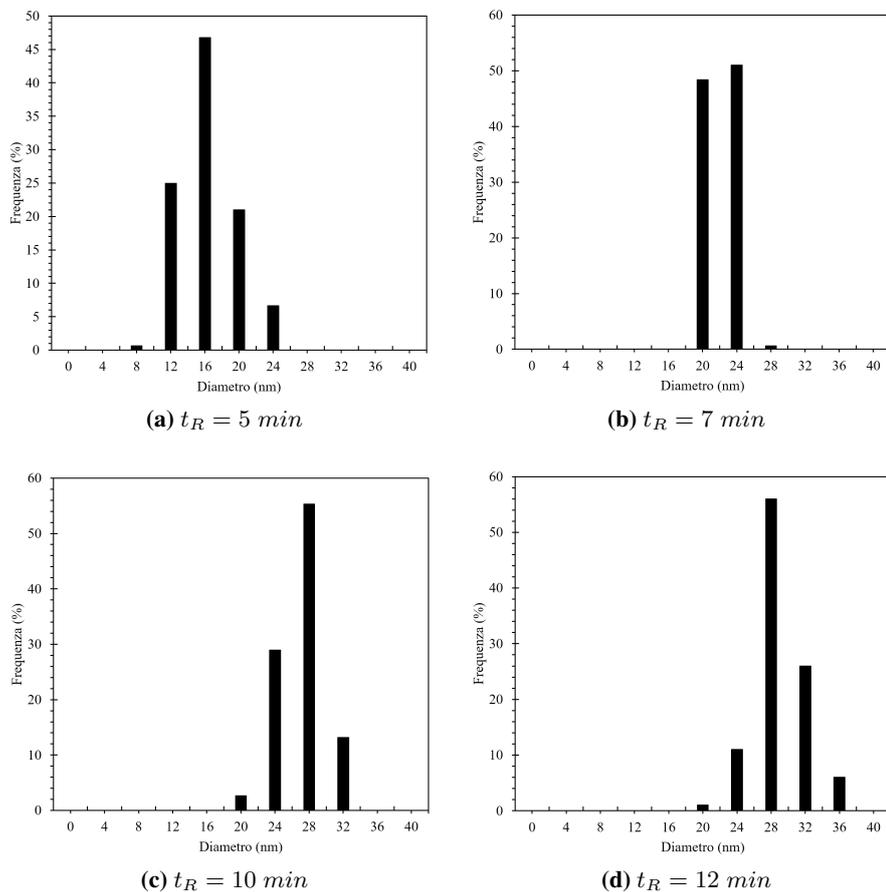
**Figura 3.7:** Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con  $t_R = 10$  min.



**Figura 3.8:** Immagini TEM prodotte dal campione sintetizzato con  $t_R = 12$  min.

I prodotti ottenuti per tempi di permanenza maggiori sono caratterizzati da una distribuzione più ampia rispetto al caso precedente, ma comunque migliore rispetto al caso ottenuto per  $t_R$  pari a 5 minuti, in cui la distribuzione è stata notevolmente influenzata dallo sviluppo non controllato delle macro-strutture irregolari presenti in evidenti qualità. In questi casi la sintesi è giunta a completamento all'interno del reattore senza ulteriore evoluzione nel tempo, dato che le particelle sintetizzate si sono mantenute stabili. Un'aspetto di notevole importanza è il diametro medio ottenuto nelle diverse sintesi: come è possibile osservare nei dati riassunti in Tabella 3.2, il diametro medio delle nanoparticelle d'oro sintetizzate cresce all'aumentare del tempo di permanenza nel reattore. Considerando che in tutti e quattro i casi in analisi la reazione è comunque giunta a completamento (nel caso di  $t_R = 5$  min e

$t_R = 7$  min completamente nelle 48 ore successive alla sintesi), si osserva come il diverso tempo di permanenza impostato abbia influenzato la fase di nucleazione, responsabile per le diverse dimensioni delle nanoparticelle ottenute.



**Figura 3.9:** Distribuzioni di dimensione delle nanoparticelle d'oro sintetizzate per diversi tempi di permanenza  $t_R$ .

**Tabella 3.2:** Riassunto dei risultati riguardo la valutazione delle dimensioni delle nanoparticelle d'oro sintetizzate nel sistema microfluidico per diversi tempi di permanenza  $t_R$ .

Tempo di permanenza (min)	Diametro medio (nm)	Deviazione standard (%)
5	16.31	19.66
7	22.08	6.91
10	27.29	9.07
12	28.92	10.05

Al diverso tempo di permanenza utilizzato corrisponde un diverso valore di portata volumica del sistema: la portata influenza notevolmente la miscelazione dei reagenti, essendo che la miscelazione utilizzata è di tipo passivo e dipende dalle condizioni del flusso. Si può considerare quindi che nel caso di tempo di permanenza minore, la maggiore velocità del flusso abbia permesso una migliore miscelazione dei reagenti rispetto ai casi con tempi di permanenza maggiori: il diverso grado di miscelazione ha portato quindi ad avere diverso grado di nucleazione nei diversi casi. Bisogna tuttavia considerare che l'evoluzione delle nanoparticelle nei casi per  $t_R$  pari a 5 e 7 minuti si è sviluppata a temperatura ambiente, e la minore temperatura rispetto a quella di reazione ( $T_R = 95\text{ °C}$ ) abbia favorito la stabilità colloidale di nuclei di minori dimensioni, con le note conseguenze. L'effetto del grado di miscelazione può essere tuttavia ritenuto valido considerando i prodotti di reazione ottenuti per  $t_R$  rispettivamente uguale a 10 e 12 minuti. Il campione prodotto con  $t_R = 12\text{ min}$  sviluppa nanoparticelle aventi dimensioni maggiori rispetto al caso del campione prodotto con  $t_R = 10\text{ min}$ . Il livello di miscelazione tuttavia si mostra essere adeguato per entrambi i casi, essendo che la deviazione standard, in termini percentuali rispetto al valore medio, è dello stesso ordine di grandezza. Per tutti i tempi di permanenza utilizzati si può assumere che la nucleazione si sia sviluppata, dato che, a livello temporale, si sviluppa nei primi minuti della sintesi (1-2 minuti); di conseguenza, assumendo che la reazione si sia completata in tutti i casi, lo sviluppo della nucleazione è quindi influenzato dalla portata dei reagenti che definisce il tempo di permanenza nel reattore. Dai risultati ottenuti in questa prima sessione di esperimenti, si è scelto di utilizzare il tempo di permanenza di 10 minuti come costante nelle valutazioni sugli altri parametri operativi.

### 3.2 Temperatura del reattore

Nella sintesi delle nanoparticelle d'oro, la temperatura è considerato come uno dei parametri operativi più importanti, data la notevole influenza che assume nel processo di sintesi. Come descritto nel corso del Capitolo 1, la temperatura di sintesi infatti è in grado di determinare variazioni nella fase di nucleazione, portando all'ottenimento di risultati differenti in base alla temperatura che viene adoperata. Come dimostrato da Turkevich nei suoi studi che hanno determinato la nascita del metodo usato in questo progetto, l'aumento della temperatura di sintesi permette inoltre di ridurre notevolmente il tempo necessario al completo sviluppo del processo di sintesi, accelerando le reazioni di riduzione [18]. Dopo aver osservato l'effetto del tempo di permanenza si è scelto quindi di operare diverse sintesi volte alla valutazione dell'effetto della temperatura sulla sintesi delle nanoparticelle nel sistema continuo: sono stati studiati diversi valori di temperatura nel reattore, tenendo costanti le rimanenti condizioni operative per tutti gli esperimenti effettuati:

- $t_R = 10\text{ min}$
- $p_{out} = 4\text{ bar}$

- Rapporto  $\text{HAuCl}_4/\text{Na}_3\text{Cit} = 1:6$
- $V_p = 2 \text{ ml}$  (collezione di  $1 \text{ ml}$  di fluido di processo post-prodotti come volume di diluizione)

Tramite BPR è stato possibile impostare una pressione minima di uscita dal sistema più alta di quella atmosferica, per poter testare temperature al disopra di quelle di ebollizione dei reagenti e del fluido di processo (acqua MilliQ) utilizzati. Nel corso di queste sperimentazioni è stata adottata una diversa configurazione del sistema microfluidico, ove la soluzione di citrato di sodio è stata pompata in continuo unitamente all'acqua MilliQ, discussa in seguito. Sono stati testati tre diversi valori di temperatura, rispettivamente 100, 105 e 110 °C, ed è stato effettuato un confronto tra i risultati ottenuti dalla caratterizzazione delle soluzioni prodotte per le tre diverse temperature. Per tutte le sessioni di esperimenti effettuate la reazione si è assunta che la reazione sia giunta al completamento, data la tipica colorazione assunta dalle soluzioni colloidali prodotte.

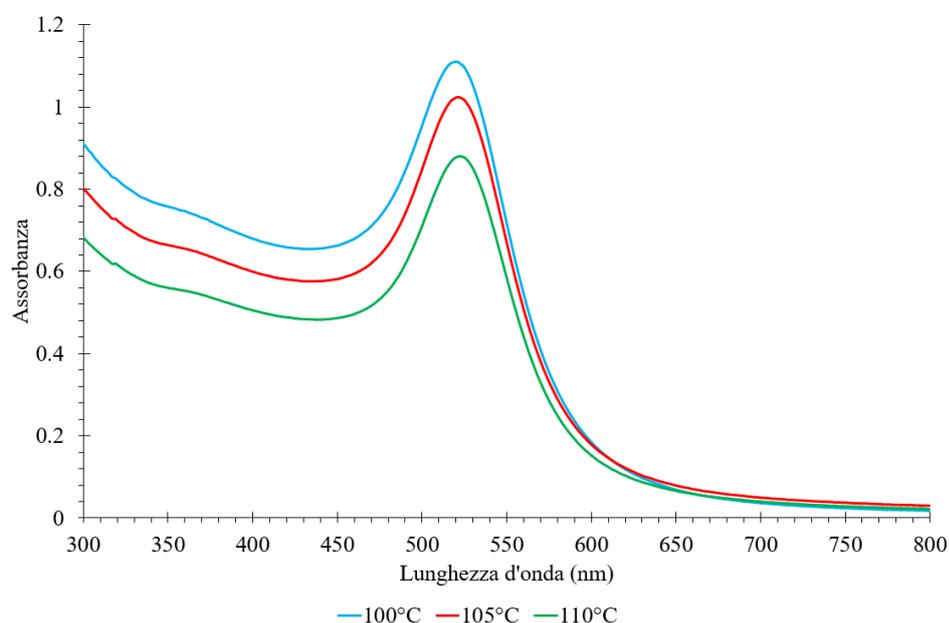
### 3.2.1 Analisi spettrofotometrica

Al termine delle sessioni sperimentali, i prodotti di reazione sono stati trasferiti in cuvette monouso in polistirene per procedere all'analisi spettrofotometrica. Dallo spettro di assorbimento ottenuto (Figura 3.10) è possibile osservare la variazione dello spettro al variare della temperatura di sintesi: per temperature minori la soluzione colloidale sviluppa un assorbimento maggiore, mentre per temperature maggiori il massimo valore di assorbanza risulta essere più basso. Oltre al massimo dell'assorbanza, anche la lunghezza d'onda relativa alla SPR subisce una variazione, in particolare all'aumentare della temperatura si ha l'aumento della lunghezza d'onda di massimo assorbimento. Dalla forma dello spettro è inoltre possibile dedurre che la forma delle nanoparticelle prodotte in tutti e tre i casi sia sufficientemente regolare: difatti l'ampiezza dello spettro di assorbimento è ristretta nell'intorno della lunghezza d'onda di risonanza plasmonica. I dati relativi all'analisi spettrofotometrica sono riassunti in Tabella 3.3.

*Tabella 3.3: Dati relativi allo spettro di assorbimento dei prodotti ottenuti attraverso la sintesi operata con diverse temperature nel reattore  $T_R$ .*

Temperatura reattore $T_R$ (°C)	Max Assorbanza	Lunghezza d'onda LSPR (nm)
100	1.11	520
105	1.02	521
110	0.88	523

La temperatura è uno dei parametri che influenza il cambiamento del meccanismo di riduzione che porta alla sintesi delle nanoparticelle e che quindi influenza maggiormente la dimensione delle nanoparticelle prodotte. Tenendo conto del meccanismo di nucleazione e di formazione delle nanoparticelle d'oro attraverso il



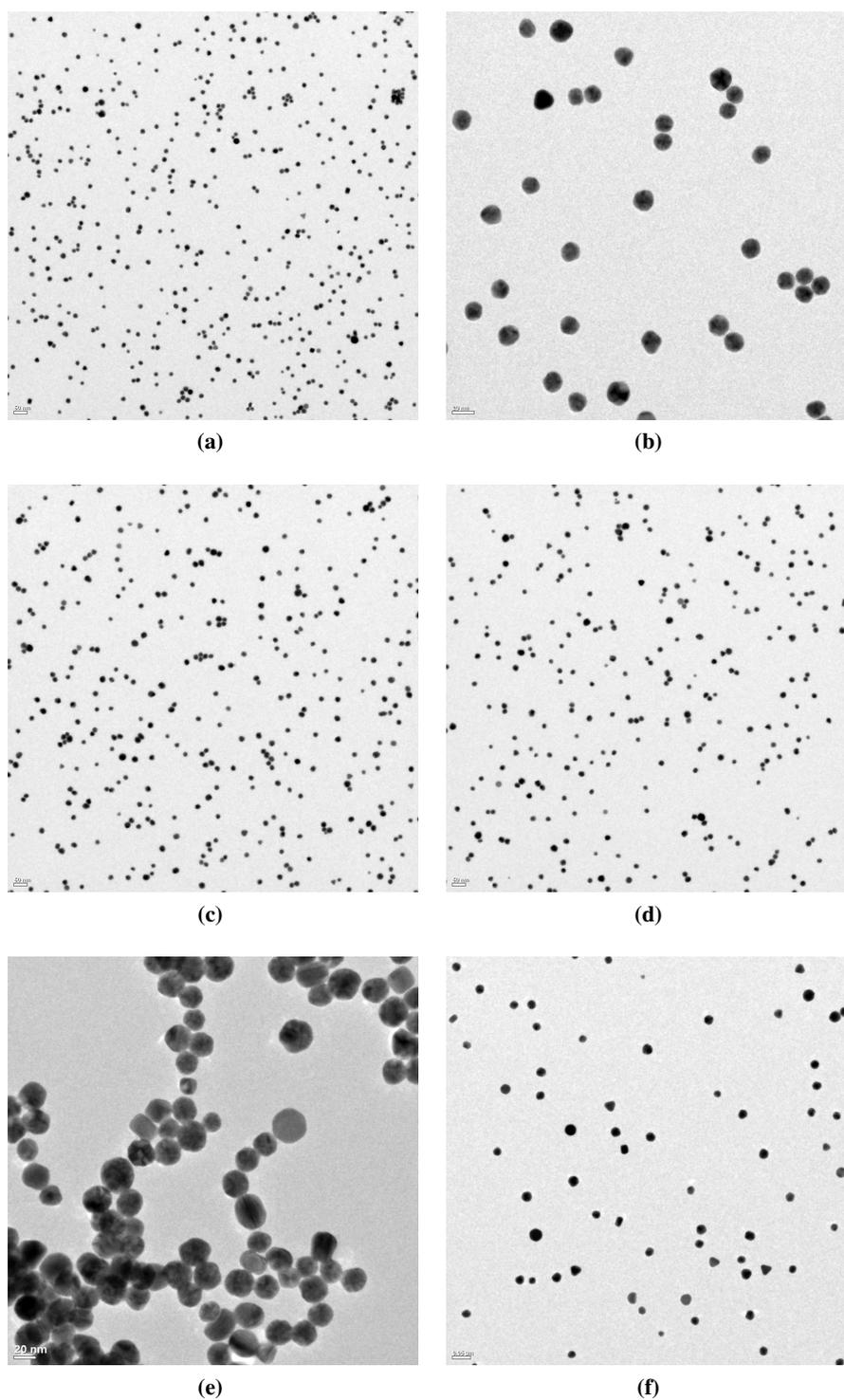
**Figura 3.10:** Spettro di assorbimento dei campioni di nanoparticelle d'oro sintetizzate per diverse temperature  $T_R$ .

metodo Turkevich utilizzato, l'aumento della temperatura infatti influenza il meccanismo di formazione delle nanoparticelle in due modi: variando la cinetica delle reazioni di equilibrio di speciazione delle specie reagenti in soluzione, e determinando un aumento dell'energia termica disponibile nel sistema. All'aumentare della temperatura, infatti, si ha un aumento della velocità della reazione di speciazione degli ioni  $\text{AuCl}_4^-$  (Equazioni 1.1, 1.2) dai quali si sviluppano le forme idrossilate che prendono parte alla sola fase di accrescimento, determinando quindi un'accorciamento della finestra temporale durante la quale si sviluppa la fase di riduzione in soluzione e conseguente nucleazione: di conseguenza, il quantitativo di  $\text{Au}^{3+}$  che si riduce ad  $\text{Au}^0$  nella fase di nucleazione è minore, causando una diminuzione del numero di nuclei formati, i quali determinano, a parità di quantitativo di precursore metallico, la maggiore dimensione finale delle nanoparticelle. La temperatura di sintesi influenza anche la stabilità colloidale delle nanoparticelle: difatti l'aumento della temperatura dell'ambiente di reazione determina l'aumento dell'energia termica disponibile, la quale, come descritto nel Capitolo 1, influisce sulla dimensione minima stabile dei nuclei delle nanoparticelle durante la fase di nucleazione: l'aumento dell'energia termica disponibile provoca un aumento della dimensione minima di stabilità dei nuclei, di conseguenza, i nuclei formati tendono ad essere più grandi e quindi a parità di atomi di oro disponibili, in numero minore. Entrambe i fenomeni sono ragioni di causa per quanto osservabile sui prodotti ottenuti dal processo di sintesi, ovvero che la dimensione media delle nanoparticelle sinte-

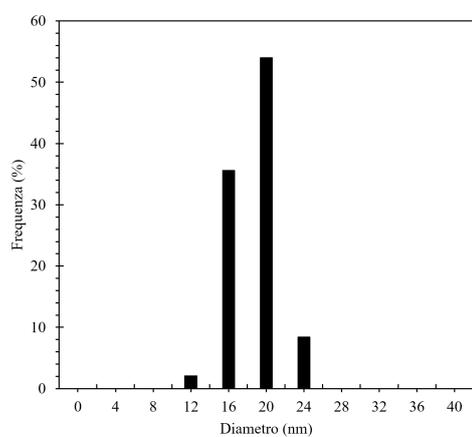
tizzate cresce all'aumentare della temperatura del reattore  $T_R$ . I risultati ottenuti dall'analisi dello di assorbimento dei campioni sintetizzati a temperatura crescente mostrano come le valutazioni teoriche fatte riguardo l'effetto dell'aumento della temperatura del reattore trovano riscontro nella sperimentazione: l'aumento della lunghezza d'onda di LSPR rispecchia l'ipotizzato aumento della dimensione delle nanoparticelle prodotte, cosa che può essere verificata successivamente tramite analisi al microscopio elettronico a trasmissione. La riduzione del massimo valore di assorbimento può essere collegata alla riduzione del numero di particelle nella sospensione colloidale prodotta: all'aumentare delle dimensioni delle nanoparticelle ottenute, a parità di precursore metallico  $\text{HAuCl}_4$  utilizzato, risulta minore il numero di nanoparticelle presenti: essendo quindi minore il numero di elementi che provocano l'assorbimento alla relativa lunghezza d'onda di risonanza plasmonica, il valore assoluto dell'assorbimento prodotto dalla soluzione colloidale si riduce.

### 3.2.2 Analisi TEM e distribuzioni dimensionali

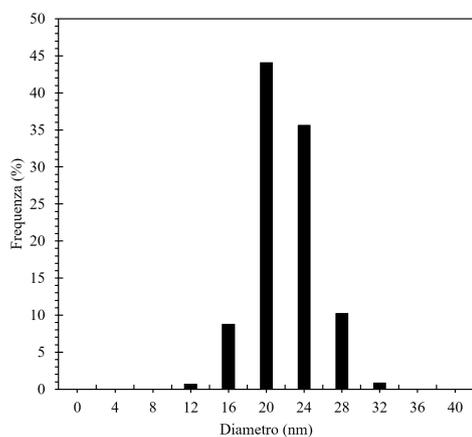
Dalla soluzione colloidale dei prodotti ottenuta per ogni temperatura investigata sono stati preparati diversi campioni per l'analisi al TEM. I risultati ottenuti dall'osservazione dei risultati al microscopio elettronico confermano quanto dedotto dalle valutazioni sullo spettro di assorbimento: dalle diverse immagini prodotte si osserva come, qualitativamente, le nanoparticelle prodotte hanno tutte forma approssimativamente sferica, come previsto dalla metodologia applicata; tramite il software ImageJ le immagini ottenute sono state analizzate in modo più dettagliato al fine di ottenere dati statistici circa la popolazione delle nanoparticelle costituenti i diversi campioni analizzati. Alcune delle diverse immagini ottenute al TEM sono rappresentate in Figura 3.11: dalla valutazione di queste immagini è stato possibile quindi ottenere i dati relativi alla dimensione media delle nanoparticelle prodotte a diverse temperature e le relative distribuzioni delle dimensioni, indice della qualità dei prodotti ottenuti. Le distribuzioni delle dimensioni relative alle diverse temperature di sintesi testate sono rappresentate in Figura 3.12. Da quanto è possibile osservare dalle immagini TEM e dalle relative distribuzioni dimensionali ottenute, si trova piena conferma di quanto dedotto in seguito ai risultati dello spettro di assorbimento: le nanoparticelle sintetizzate a più alta temperatura risultano avere diametro medio maggiore; il range di variabilità di dimensione delle nanoparticelle non risulta variare particolarmente al variare della temperatura, testimoniando il fatto che comunque le due fasi di nucleazione e crescita si sviluppano in maniera abbastanza distinta nel range di temperatura adottato, conducendo all'ottenimento di prodotti di buona qualità in termini di omogeneità dimensionale e morfologica. Le informazioni ricavate dalle immagini TEM sono riassunte in Tabella 3.4. Dalle valutazioni effettuate sui risultati ottenuti da questa sessione di esperimenti si ottiene che la temperatura può essere utilizzata, a parità delle altre condizioni operative, come parametro di gestione dimensionale delle nanoparticelle d'oro prodotte.



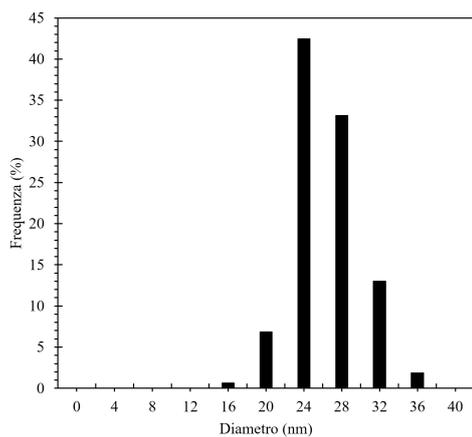
**Figura 3.11:** Immagini ottenute al TEM dei campioni di prodotti sintetizzati per  $T_R = 100^\circ\text{C}$  [Figure (a),(b)],  $T_R = 105^\circ\text{C}$  [Figure (c),(d)],  $T_R = 110^\circ\text{C}$  [Figure (e),(f)]



(a)  $T_R = 100\text{ }^\circ\text{C}$



(b)  $T_R = 105\text{ }^\circ\text{C}$



(c)  $T_R = 110\text{ }^\circ\text{C}$

**Figura 3.12:** Distribuzione delle dimensioni delle nanoparticelle sintetizzate a diverse temperature  $T_R$ .

**Tabella 3.4:** Dimensione delle nanoparticelle d'oro sintetizzate nel sistema microfluidico per diverse temperature del reattore  $T_R$ .

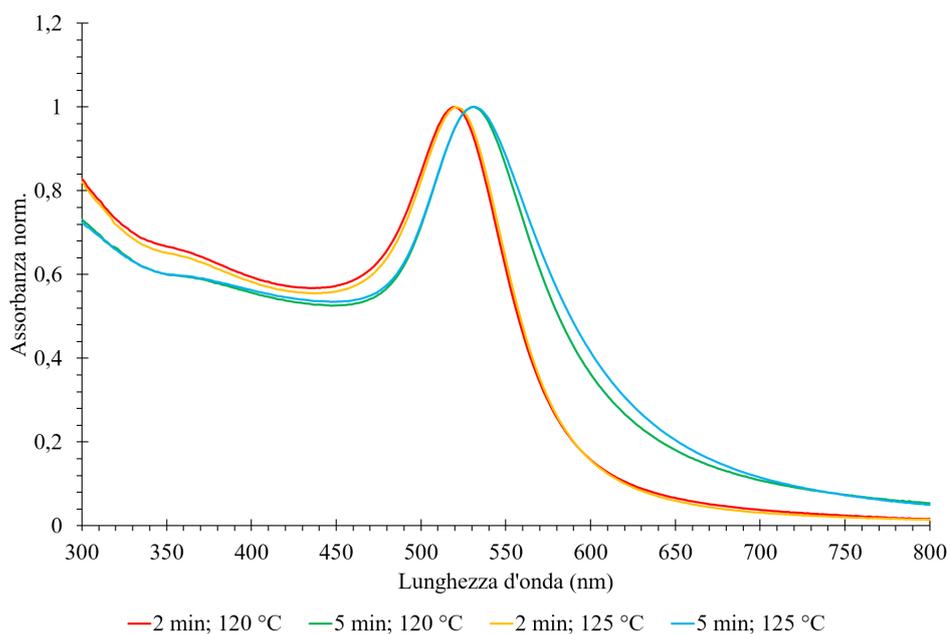
Temperatura reattore $T_R$ (°C)	Diametro medio (nm)	Deviazione standard (%)
100	18.75	11.73
105	21.90	14.60
110	26.30	12.50

### 3.2.3 Sintesi ad alta temperatura

Ulteriori sperimentazioni sono state effettuate in merito all'effetto della temperatura sulla sintesi delle nanoparticelle in continuo; in particolar modo sono state testate temperature più alte, al limite dell'operabilità del sistema. La configurazione utilizzata nelle precedenti sperimentazioni non è tuttavia sufficiente per riuscire a produrre dei risultati accettabili, di conseguenza sono state operate delle modifiche riguardante la modalità di gestione degli esperimenti. L'utilizzo di elevate temperature infatti provoca un sensibile aumento del "coating" del reattore, fenomeno già osservato nelle precedenti sperimentazioni. Di conseguenza è stata adottata una terza modalità di sperimentazione con cicli di pulizia intermedi con acqua regia, durante l'intero processo di sintesi. Con la nuova impostazione microfluidica degli esperimenti sono stati valutati due valori di temperatura, rispettivamente 120 °C e 125 °C, ognuna delle quali è stata testata per due diversi valori di tempo di permanenza nel reattore. Da una serie di valutazioni preliminari si è osservato come l'utilizzo di elevate temperature nel reattore permetta di ridurre notevolmente il tempo di permanenza nello stesso, portando comunque a compimento il processo di sintesi: di conseguenza si è scelto di valutare la sintesi delle nanoparticelle alle due temperature menzionate utilizzando come tempi di permanenza di prova rispettivamente 2 e 5 minuti, valutando quindi come varia il processo di sintesi utilizzando valori elevati di temperatura. Lo scopo di tali esperimenti è stato proprio quello di valutare la possibilità di operare a temperature più elevate riducendo così in modo netto le tempistiche di sintesi. Adottando quindi  $T_R$  e  $t_R$  come variabili di processo, per tutti gli esperimenti effettuati sono state fissate le medesime condizioni operative utilizzate nella valutazione dell'effetto della temperatura, ovvero pressione minima di uscita  $p_{out} = 4$  bar, rapporto molare tra precursore metallico  $\text{HAuCl}_4$  e citrato di sodio pari a 1:6 e volume di prodotti collezionati pari a 2 ml con 1 ml di fluido di processo post-prodotti come volume di diluizione.

#### Analisi spettrofotometrica: caso alta temperatura

Come da prassi le soluzioni colloidali prodotte sono state trasferite in cuvette monouso in polistirene per permettere l'analisi dello spettro UV-Vis.



**Figura 3.13:** Spettro di assorbimento UV-Vis normalizzato delle soluzioni colloidali prodotte a più alta temperatura.

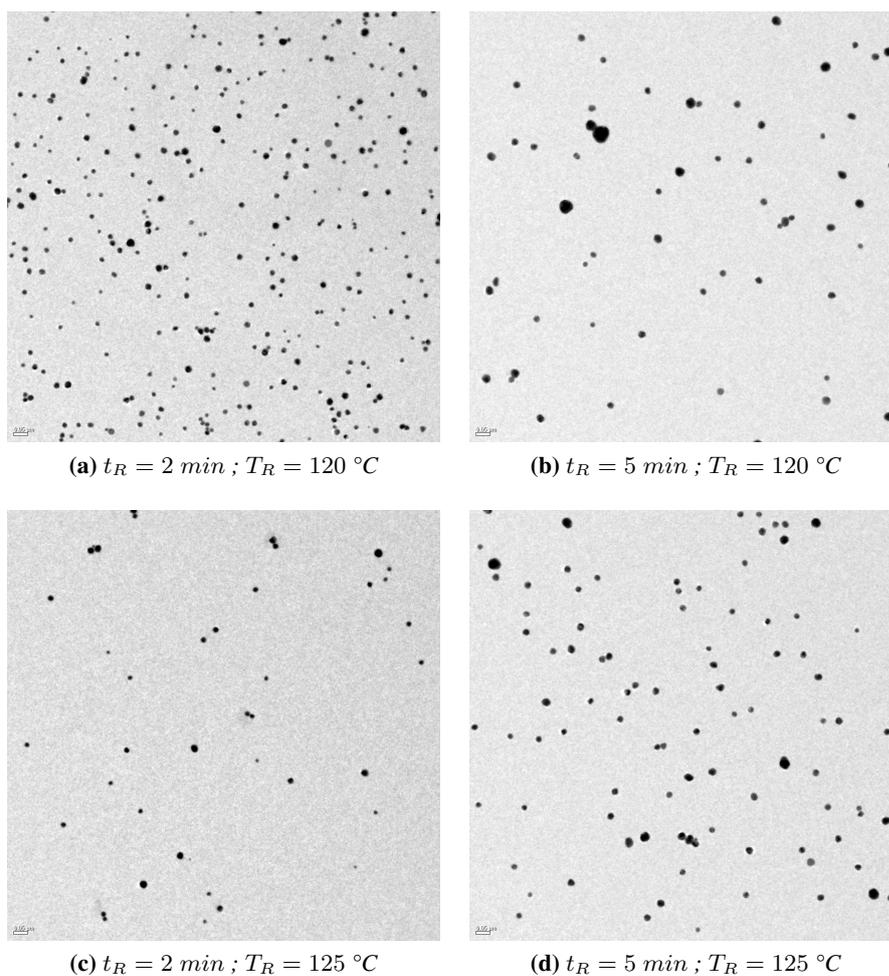
Dall’analisi dello spettro di assorbimento si osserva l’evidente differenza tra le soluzioni sintetizzate con  $t_R = 2$  min e quelle sintetizzate con  $t_R = 5$  min: la lunghezza d’onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale è maggiore nel caso ottenuto con tempo di permanenza maggiore, rispettando quanto osservato nel corso delle sperimentazioni sulla variazione dell’effetto di  $t_R$ , ovvero che al crescere del tempo di permanenza, aumenta il diametro medio delle nanoparticelle ottenute. I dati relativi alla lunghezza d’onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale dei diversi casi sono riassunti in Tabella 3.5.

**Tabella 3.5:** Dati relativi allo spettro di assorbimento dei prodotti ottenuti attraverso la sintesi a più alta temperatura.

$T_R$ (°C)	$t_R$ (min)	Lunghezza d’onda LSPR (nm)
120	2	520
120	5	531
125	2	520
125	5	532

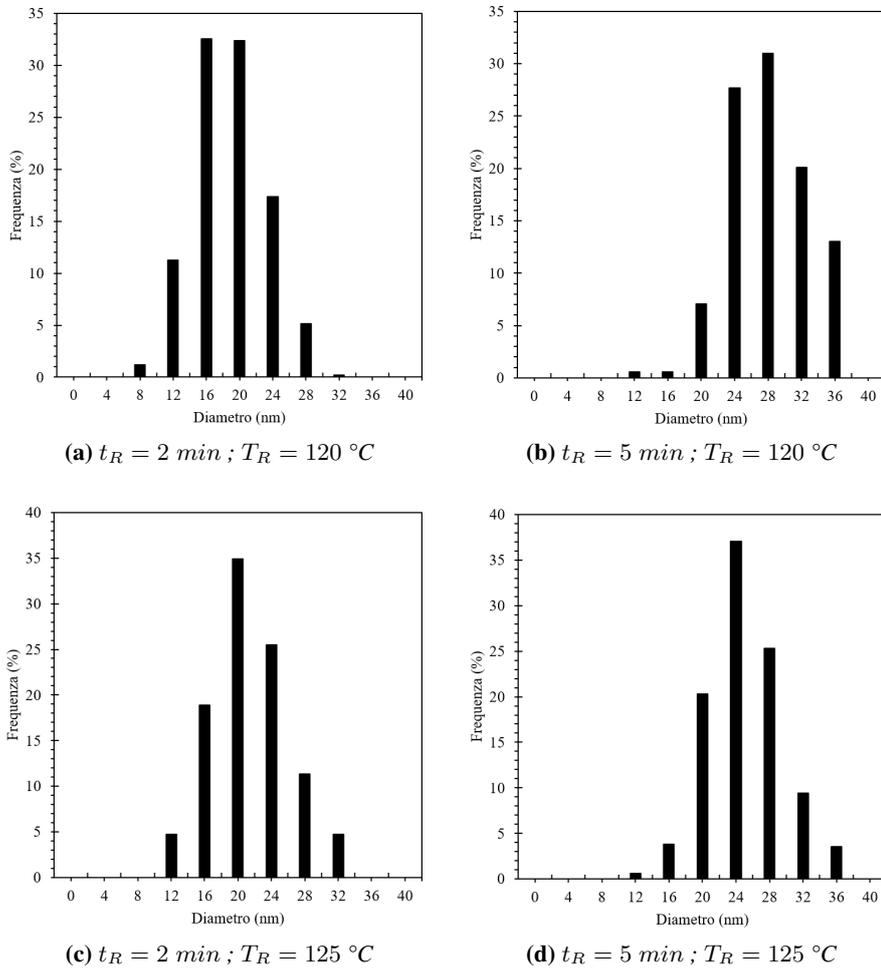
### Analisi TEM e distribuzioni dimensionali: caso alta temperatura

Al fine di poter trarre delle valide conclusioni riguardanti il set di esperimenti effettuato e confermare quanto osservato dallo spettro di assorbimento sono stati osservati alcuni campioni al microscopio elettronico a trasmissione, da cui sono state prodotte alcune immagini rappresentanti le nanoparticelle prodotte. Alcune delle immagini ottenute sono rappresentate in Figura 3.14.



**Figura 3.14:** Immagini TEM relative ai campioni sintetizzati a diversa temperatura e diverso tempo di permanenza.

Dalle immagini ottenute dell'analisi al TEM sono state effettuate delle valutazioni statistiche riguardanti il diametro medio delle nanoparticelle prodotte e la relativa deviazione standard per ogni set di temperatura e tempo di permanenza testato. Come è possibile osservare dalle distribuzioni delle dimensioni, rappresentate in Figura 3.15, non tutti i risultati ottenuti dalla precedente valutazione sull'effetto della temperatura trovano riscontro.



**Figura 3.15:** Immagini TEM ricavate dai campioni dei prodotti sintetizzati ad alta temperatura.

In questo set di sperimentazioni trova conferma quanto osservato dall'analisi sul tempo di permanenza nella sezione precedente, ovvero l'ottenimento di nanoparticelle aventi diametro medio maggiore nel caso di tempo di permanenza nel reattore maggiore: in particolar modo, l'uso di temperature elevate permette di ottenere nanoparticelle più grandi di quelle sintetizzate nelle precedenti sessioni di esperimenti. Tuttavia, diversamente da quanto si poteva prevedere, le nanoparticelle sintetizzate con  $T_R = 120^\circ\text{C}$  risultano avere dimensione media maggiore rispetto a quelle sintetizzate con  $T_R = 125^\circ\text{C}$ , considerando i campioni sintetizzati con tempo di permanenza pari a 5 minuti. Nel caso della sintesi operata con tempo di permanenza di 2 minuti i risultati sono invece in linea con quanto osservato nella precedente sessione sulla valutazione dell'effetto della temperatura del reattore, ovvero nel caso di temperatura maggiore la dimensione delle nanoparticelle

sintetizzate sarà maggiore. Uno degli aspetti fondamentali che risalta dall'analisi dei risultati ottenuti da questa sessione è l'ampiezza della distribuzione delle dimensioni delle nanoparticelle prodotte: rispetto a tutti i casi precedenti analizzati, l'ampiezza della distribuzione è notevolmente maggiore, ovvero i prodotti sintetizzati risultano essere maggiormente polidispersi; di conseguenza, il diametro medio valutato nelle varie distribuzioni risulta essere meno significativo dal punto di vista statistico. In generale si osserva inoltre che i campioni sintetizzati con  $t_R = 2$  min sono caratterizzati da una maggiore polidispersità dei risultati rispetto al caso con tempo di permanenza maggiore. A livello morfologico, le nanoparticelle sintetizzate hanno forma prevalentemente sferica, come previsto dal metodo di sintesi utilizzato. I risultati ricavati dall'analisi al TEM sono riassunti in Tabella 3.6.

**Tabella 3.6:** Riassunto dei risultati ottenuti dall'analisi sulle immagini ricavate al TEM per i prodotti sintetizzati ad alta temperatura a diversi tempi di permanenza.

$T_R$ (°C)	$t_R$ (min)	Diametro medio (nm)	Deviazione standard (%)
120	2	18.79	21.97
120	5	28.82	18.51
125	2	21.19	22.35
125	5	24.94	18.12

Dai risultati ottenuti da questa sessione di esperimenti, si osserva come l'utilizzo di elevate temperature per la sintesi di nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich attraverso il sistema microfluidico non abbia prodotto risultati di notevole rilevanza: l'incongruenza riscontrata riguardo la variazione del diametro medio al variare della temperatura di sintesi necessita di ulteriori sperimentazioni in modo da poter determinare i fenomeni a cui consegue il risultato ottenuto, tuttavia, da una prima valutazione, è possibile ipotizzare che il meccanismo di nucleazione, ad elevate temperature, subisca delle variazioni rispetto a quanto osservato nella sintesi alle condizioni base del metodo. L'elevato valore della deviazione standard percentuale ottenuto dall'analisi delle dimensioni può essere determinato dal fatto che le due fasi di nucleazione e crescita non siano perfettamente distinte, portando all'ottenimento di un risultato molto polidisperso: tale ipotesi è avvalorata dal fatto che, per temperature elevate, la dimensione minima stabile dei nuclei risulta essere elevata, di conseguenza è molto probabile che i primi nuclei formati comincino la fase di crescita mentre si sviluppa la formazione di ulteriori nuclei; un'ulteriore ipotesi è che l'elevata temperatura permetta l'aggregazione irregolare di diverse nanoparticelle formate, venendo meno efficiente l'effetto della barriera di aggregazione a causa dell'alta energia termica disponibile. A conclusione si può quindi dedurre che, la strategia di operare a più alta temperatura al fine di sviluppare una sintesi decisamente più veloce necessita di ulteriore sperimentazione: i risultati ottenuti sono infatti irregolari e fortemente polidispersi, di conseguenza appare poco chiaro l'effetto dell'alta temperatura sulla sintesi in continuo che, per il momen-

to, non ha prodotto risultati qualitativamente accettabili: l'utilizzo di temperature elevate è stato quindi accantonato nel corso delle successive sperimentazioni, e si è proceduto con le condizioni standard del metodo per la valutazione degli altri parametri operativi.

### 3.3 Rapporto molare

Il metodo Turkevich è generalmente considerato come una "fortuita coincidenza" [21] dovuta alle diverse favorevoli condizioni che si sviluppano, determinando una sintesi ottimale delle nanoparticelle d'oro. Come descritto nel capitolo introduttivo, il processo di sintesi che porta alla formazione delle nanoparticelle è piuttosto complesso ed, ancora oggi, oggetto di molteplici studi; di conseguenza risulta interessante studiare come la variazione delle condizioni operative influisce sui risultati della sintesi. Uno dei parametri largamente utilizzato come strumento di controllo per le dimensioni e la polidispersità delle nanoparticelle d'oro prodotte attraverso il metodo Turkevich è il rapporto molare tra i reagenti [30]: di conseguenza sono stati condotti una serie di esperimenti volti a valutare l'effetto di tale parametro sulla sintesi in continuo. I reagenti, preparati alle medesime concentrazioni delle precedenti sessioni sperimentali ( $[HAuCl_4] = 1 \text{ mM}$  ;  $[Na_3Cit] = 6 \text{ mM}$  ), sono stati miscelati in quantitativi volumici differenti nella formazione del volume di reazione, al fine di testare diversi rapporti molari: per far ciò, le pompe responsabili del pompaggio dei due reagenti sono state settate con due portate differenti, la cui somma permettesse comunque di rispettare il valore del tempo di permanenza nel reattore impostato. Impostando quindi il rapporto volumico tra i reagenti tramite il software di controllo del sistema è stato possibile configurare i diversi esperimenti, facendo in modo che nel volume di produzione impostato ci fosse uno specifico rapporto tra i due reagenti utilizzati, a cui corrispondesse un certo rapporto molare. In questa fase di esperimenti è stata adottata una terza ed ultima configurazione microfluidica, utilizzando la soluzione di citrato e l'acqua MilliQ come fluidi di processo ed iniezione discreta di  $HAuCl_4$ . Di seguito si riportano le condizioni operative fissate per tutti gli esperimenti effettuati in questa sezione:

- $t_R = 10 \text{ min}$
- $T_R = 95^\circ\text{C}$
- $p_{out} = 2 \text{ bar}$
- $V_p = 2 \text{ ml}$  (con  $1 \text{ ml}$  di fluido di processo post prodotti come volume di diluizione)

Considerando il volume di collezione di  $2 \text{ ml}$ , sono impostati quattro diversi valori di rapporto volumico tra due reagenti pompati in modo da ottenere quattro diversi rapporti molari da poter testare, due maggiori e due minori rispetto a quello standard di 1:6 previsto dal metodo Turkevich; i valori di rapporto molare tra

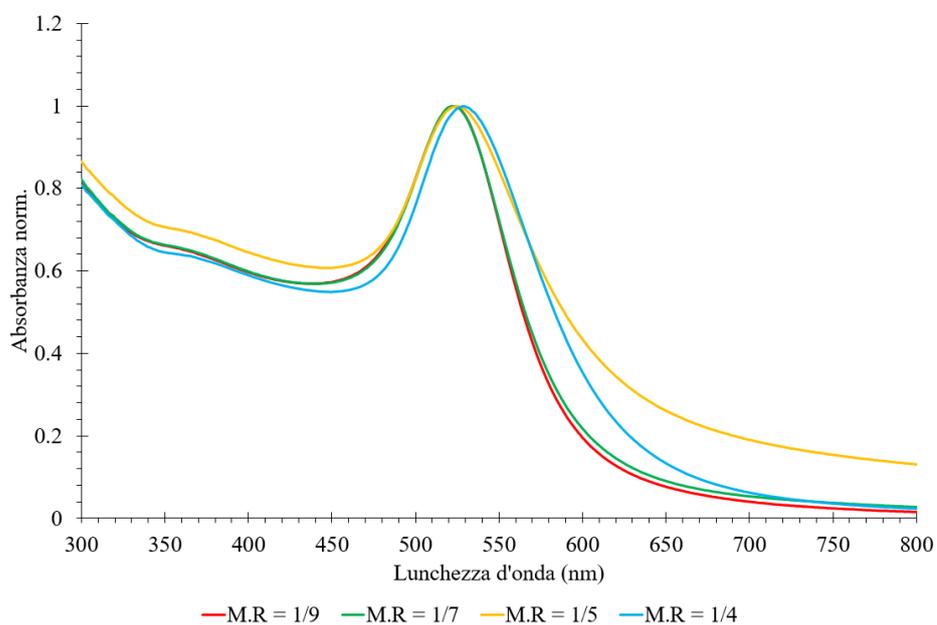
$\text{HAuCl}_4$  e  $\text{Na}_3\text{Cit}$  (M.R.) testati sono approssimativamente 1:9, 1:7, 1:5, 1:4. Nelle sperimentazioni in cui viene utilizzato il rapporto molare standard, le due pompe responsabili del pompaggio dei due reagenti nel reattore operano alla medesima portata considerando appunto rapporto volumico pari a 1:1; andando a variare il rapporto volumico imposto, le portate delle due pompe variano mantenendo come precedentemente accennato portata totale uguale, essendo fissato il tempo di permanenza  $t_R$ . Per i diversi esperimenti è stato quindi imposto un diverso quantitativo volumico dei due reagenti che vanno a costituire il volume  $V_p$ , ottenendo un diverso rapporto molare per ogni esperimento. Le specifiche imposte per ogni esperimento e il corrispettivo M.R. ottenuto sono riassunti in Tabella 3.7.

**Tabella 3.7:** Rapporto volumico e molare imposto per i diversi esperimenti effettuate in questa sessione.  $V_{\text{HAuCl}_4}$  e  $V_{\text{Na}_3\text{Cit}}$  sono rispettivamente i quantitativi volumici del precursore metallico e dell'agente riducente nel volume di reazione imposto  $V_p$ .

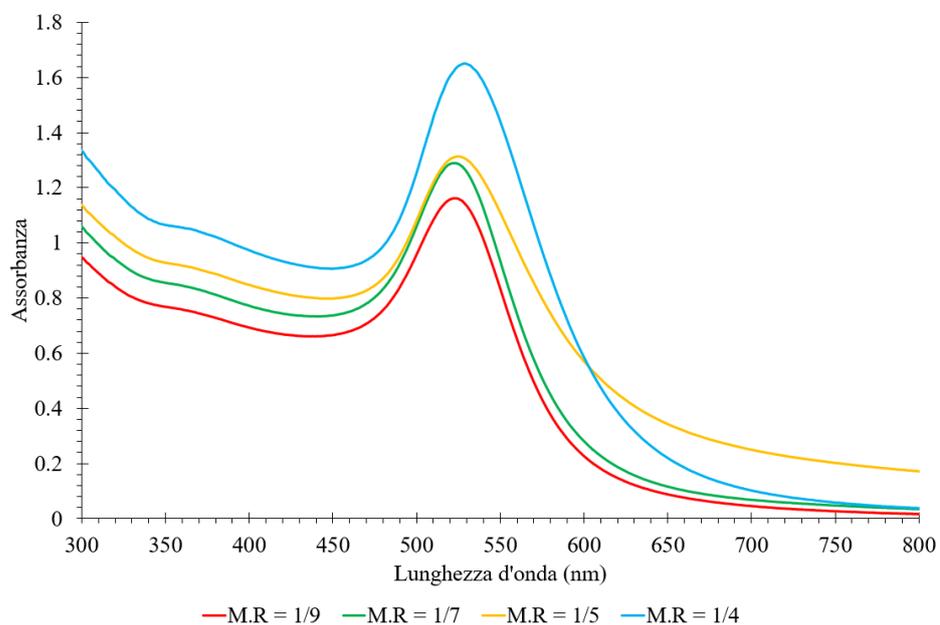
$V_{\text{HAuCl}_4}$ (ml)	$V_{\text{Na}_3\text{Cit}}$ (ml)	M.R.
0.8	1.2	$0.111 \approx 1/9$
0.9	1.1	$0.136 \approx 1/7$
1.1	0.9	$0.203 \approx 1/5$
1.2	0.8	$0.25 = 1/4$

### 3.3.1 Analisi spettrofotometrica

I prodotti ottenuti dai quattro diversi esperimenti sono stati quindi raccolti in cuvette monouso in polistirene al fine di valutare lo spettro di assorbimento delle soluzioni colloidali prodotte. In Figura 3.16 si riporta lo spettro di assorbimento normalizzato ottenuto dall'analisi delle diverse soluzioni prodotte con diverso rapporto molare tra i reagenti. Come è possibile osservare dai risultati dell'analisi spettrofotometrica si osservano delle importanti differenze tra le curve di assorbimento nel campo UV-Vis. In prima analisi è possibile osservare come lo spettro relativo ad un maggior quantitativo di  $\text{HAuCl}_4$  nella fase reattiva (M.R. pari a 1/5 e 1/4) sia notevolmente più ampio rispetto ai due casi a M.R. minore; lo spettro riferito ai due rapporti molari minori del valore standard risulta infatti più definito, indice di una maggiore regolarità delle nanoparticelle nella soluzione colloidale prodotta. La lunghezza d'onda relativa alla LSPR, indicativa della dimensione media delle nanoparticelle ottenute, varia al variare del rapporto molare utilizzato: per valori di M.R. minori essa risulta essere minore e cresce al crescere del M.R.: all'aumentare del rapporto molare cresce il quantitativo di precursore metallico utilizzato e di conseguenza il quantitativo di oro metallico ridotto cresce, determinando un aumento della dimensione delle nanoparticelle ottenute. In questa fase risulta importante anche la valutazione del picco di assorbimento registrato dall'analisi delle soluzioni prodotte. A tal fine si riporta lo spettro di assorbimento (assoluto) in Figura 3.17.



**Figura 3.16:** Spettro di assorbimento normalizzato ottenuto dai prodotti sintetizzati con diverso rapporto molare tra i due reagenti.



**Figura 3.17:** Spettro di assorbimento assoluto ottenuto dai prodotti sintetizzati con diverso rapporto molare tra i due reagenti.

Da tale spettro di assorbimento si osserva come il picco di assorbimento registrato per i prodotti sintetizzati con maggiore concentrazione del precursore metallico sia notevolmente più alto: ciò è dovuto alla maggiore quantità di oro metallico ridotto in soluzione, il quale porta all'ottenimento, a parità delle restanti condizioni operative, di un maggior numero di nanoparticelle, che quindi determinano un maggiore assorbimento in seguito alla risonanza plasmonica superficiale di un maggior numero di elementi: come precedentemente specificato e maggiormente visualizzabile sullo spettro normalizzato (Figura 3.16) il picco di assorbimento si sviluppa a lunghezze d'onda differenti, in quanto differente è la dimensione delle nanoparticelle prodotte. Non sono state effettuate ulteriori sperimentazioni al fine di verificare che la variazione osservata sul picco di assorbimento sia effettivamente dovuta alla variazione delle condizioni operative e non ad incertezza sperimentale. Da queste preliminari osservazioni, si deduce come il rapporto tra i reagenti possa notevolmente influenzare il processo di sintesi in continuo, variando le caratteristiche delle nanoparticelle prodotte. La Tabella 3.8 riassume i dati ricavati dall'analisi spettrofotometrica discussa in questa sezione.

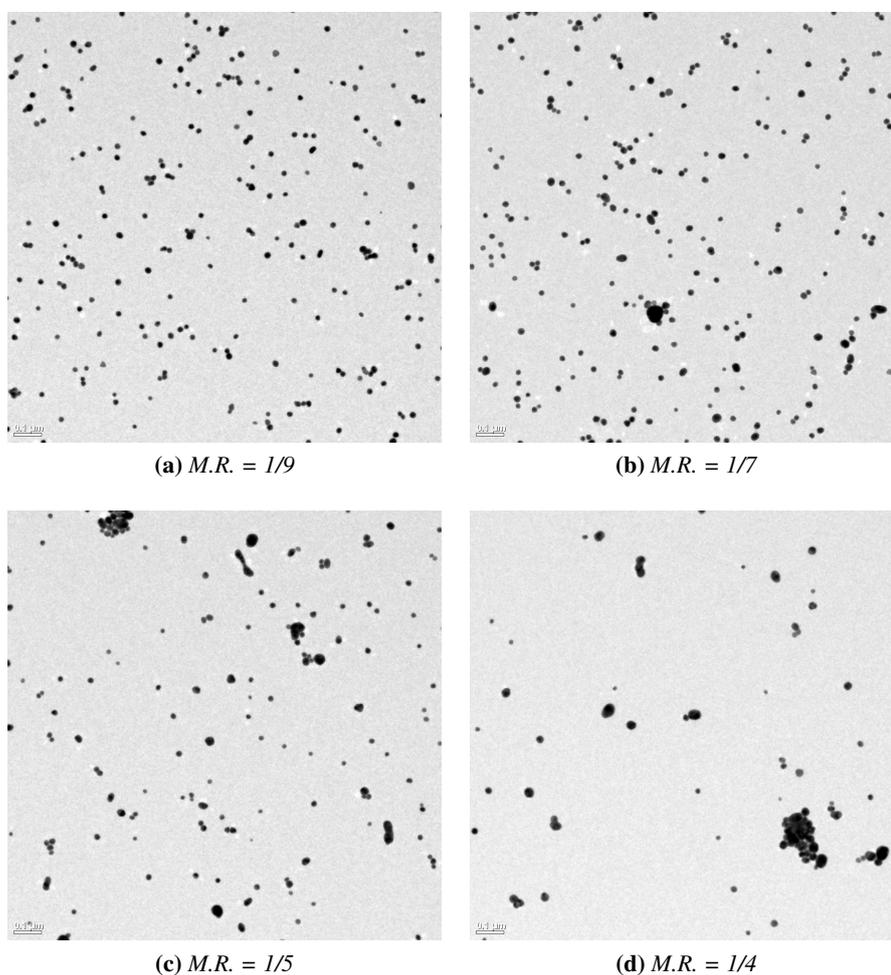
**Tabella 3.8:** Dati relativi allo spettro di assorbimento dei prodotti ottenuti attraverso la sintesi operata con diverso rapporto molare tra i reagenti M.R..

Rapporto molare M.R.	Max Assorbanza	Lunghezza d'onda LSPR (nm)
1/9	1.16	523
1/7	1.28	523
1/5	1.31	525
1/4	1.65	529

### 3.3.2 Analisi TEM e distribuzioni dimensionale

Ulteriori conferme di quanto osservato nel corso dell'analisi spettrofotometrica sono state ottenute dall'analisi di alcuni campioni al microscopio elettronico a trasmissione per ogni rapporto molare testato. Da tale analisi sono state prodotte diverse immagini, di seguito se ne riportano alcune più rappresentative ottenute dall'analisi TEM (Figura 3.18) dei diversi campioni prodotti. Come è possibile osservare dalle immagini ricavate, le nanoparticelle prodotte per M.R. più basso, e quindi maggiore concentrazione di citrato di sodio nella miscela reagente rispetto al valore standard del metodo, risultano essere notevolmente più regolari, in termini dimensionali e morfologici, rispetto alle nanoparticelle prodotte per M.R. più alti: le immagini prodotte dai campioni per M.R. minore del valore standard (Figura 3.18a, Figura 3.18b) sono caratterizzate da particelle prevalentemente sferiche, avente dimensione approssimativamente piuttosto simile; per valori di M.R. maggiori rispetto allo standard del metodo la situazione è differente, difatti le nanoparticelle ottenute dalla sintesi sono piuttosto irregolari, aventi morfologie diversa

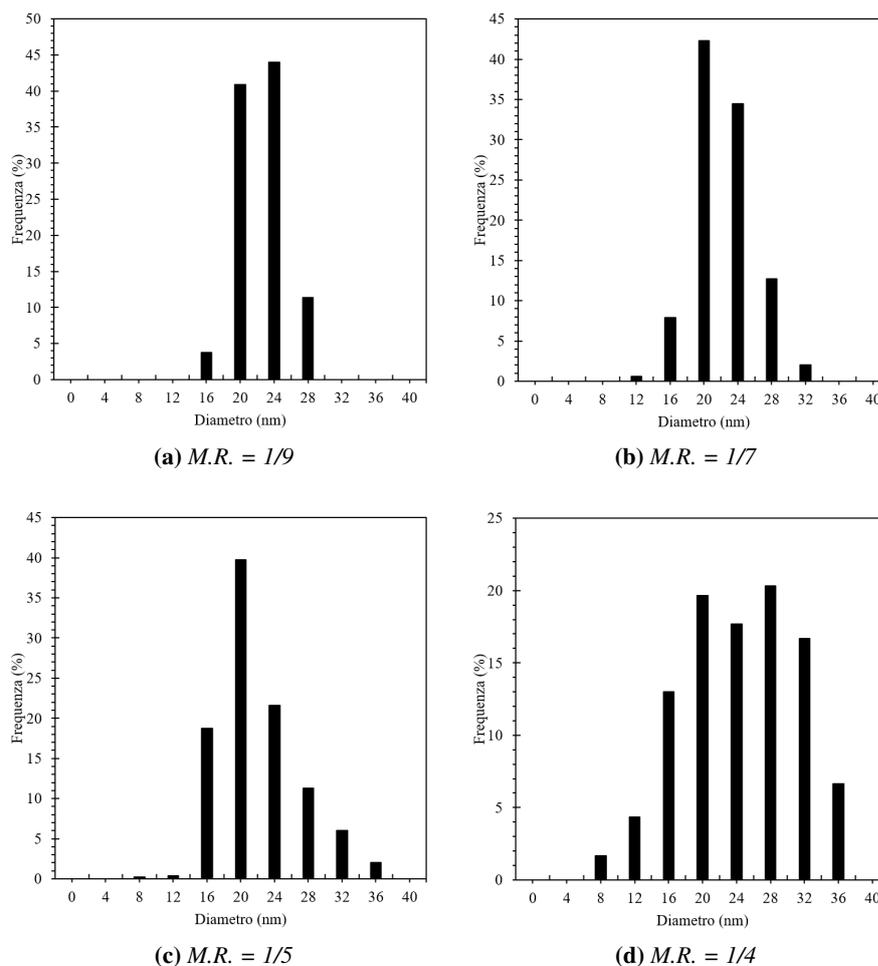
da quella sferica (Figura 3.18c, Figura 3.18d) e dimensioni talvolta notevolmente differenti.



**Figura 3.18:** Immagini TEM ricavate dai campioni dei prodotti a diversi valori di rapporto molare  $M.R.$  tra i due reagenti del processo.

Nel corso di questa valutazione non è stato possibile effettuare un conteggio delle strutture irregolari ottenute in modo da avere una valida valutazione statistica, ma semplicemente un'osservazione di carattere qualitativo. Le strutture irregolari osservate non sono della stessa natura di quelle osservate nel corso dello studio sul tempo di permanenza, in quanto in questo caso sono strutture di oro metallico ben formate e non aggregati macromolecolari "di transizione". Attraverso la valutazione dimensionale effettuata tramite il software ImageJ sono state ricavate le distribuzioni delle dimensioni dei diversi campioni ottenuti attraverso le diverse condizioni di sintesi, rappresentate in Figura 3.19. Dai risultati ottenuti da tale analisi si osserva che il range dimensionale ottenuto per le diverse sintesi sia simile

per quanto riguarda i rapporti molari inferiori a quello standard; per M.R. pari a 1/5 il diametro medio risulta essere simile a quello dei campioni a M.R. minore, invece per M.R. pari a 1/4 il diametro medio ottenuto dall'analisi dimensionale risulta essere maggiore degli altri casi, coerentemente con quanto ipotizzato dall'analisi preliminare effettuata sullo spettro di assorbimento.



**Figura 3.19:** Distribuzioni delle dimensioni delle nanoparticelle sintetizzate per diversi valori di rapporto molare M.R. tra precursore metallico e agente riducente.

Ciò che risalta dalla valutazione sulle distribuzioni delle dimensioni delle nanoparticelle prodotte è che per i campioni sintetizzati con M.R. maggiore la distribuzione è sensibilmente molto più ampia rispetto agli altri due casi, con M.R. minore dello standard. Confermando quanto osservato dalle immagini TEM prodotte, e quanto dedotto dall'analisi dello spettro di assorbimento delle diverse soluzioni colloidali, le nanoparticelle prodotte con eccesso di citrato di sodio rispetto alla concentrazione standard prevista dal metodo Turkevich porta all'ottenimento di nanoparticelle

dimensionalmente maggiormente omogenee, difatti la distribuzione dimensionale è ristretta nell'intorno del diametro medio. Al contrario, nel caso di eccesso del precursore  $\text{HAuCl}_4$  rispetto allo standard, le nanoparticelle prodotte hanno dimensione molto varia, rendendo la valutazione del diametro medio molto meno significativa. I risultati ottenuti dall'analisi dimensionale delle nanoparticelle prodotte sono riassunti in Tabella 3.9.

**Tabella 3.9:** Riassunto dei risultati ottenuti dall'analisi delle immagini ricavate al TEM per i prodotti sintetizzati con diverso rapporto molare M.R.

M.R.	Diametro medio (nm)	Deviazione standard (%)
1/9	22.54	11.96
1/7	22.22	18.75
1/5	22.00	34.27
1/4	26.46	39.45

Dalla sessione sperimentale descritta in questa sezione, e dai relativi risultati ottenuti, si osserva quindi come il mantenimento del corretto rapporto molare tra i reagenti che portano alla sintesi delle nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich sia di particolare importanza al fine di ottenere un risultato qualitativamente accettabile. La variazione del rapporto molare tra  $\text{HAuCl}_4$  e  $\text{Na}_3\text{Cit}$  determina infatti delle sostanziali modifiche nei prodotti ottenuti: per M.R. minore del rapporto standard previsto dal metodo si ha una maggiore azione stabilizzante da parte del citrato di sodio, permettendo quindi l'aumento della stabilità colloidale delle nanoparticelle nella soluzione; allo stesso tempo, la riduzione del quantitativo di precursore utilizzato determina una riduzione del quantitativo d'oro che viene ridotto e quindi nanoparticelle più piccole. Nel caso in cui si opera con M.R. maggiore rispetto allo standard del metodo si ha che il minore quantitativo di citrato di sodio porta ad una riduzione dell'azione stabilizzante degli ioni citrato, che insieme all'aumento del quantitativo di precursore utilizzato, porta le nanoparticelle prodotte ad essere generalmente di maggiore dimensione.

### 3.3.3 Valutazione del pH di reazione

La variazione del quantitativo volumico dei singoli reagenti utilizzati nella formazione del volume totale di reazione, e la conseguente la variazione del rapporto molare determina anche il cambiamento del pH: il pH è uno dei parametri che maggiormente influenza il meccanismo di nucleazione e crescita che porta alla formazione delle nanoparticelle d'oro, di conseguenza il cambiamento del pH dell'ambiente di reazione che si ottiene alla miscelazione dei due reagenti causa l'ottenimento dei differenti risultati ottenuti. Come osservato da Nguyen *et al.* [23], si possono identificare due diversi percorsi di sintesi in base al range di pH nell'ambiente di reazione: in generale si osserva che per bassi valori di pH ( $pH \approx 3.7 - 6.5$ ) la

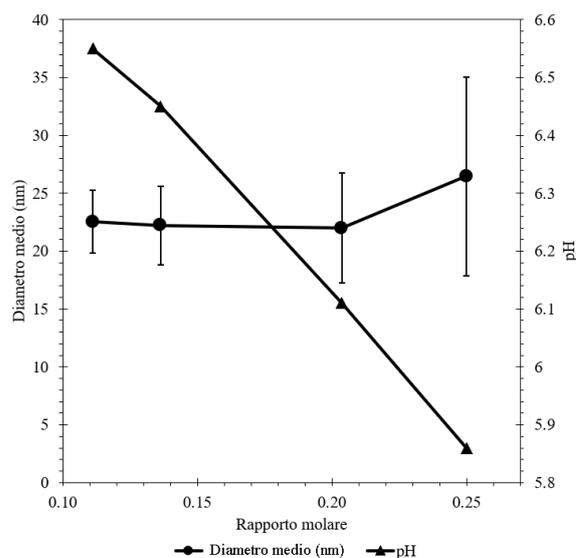
reazione procede molto più velocemente, portando all'ottenimento di risultati maggiormente irregolari in termini dimensionali e morfologici, mentre nel caso di pH maggiore ( $pH \approx 6.5 - 8$ ) la reazione di nucleazione procede più lentamente con l'ottenimento di nanoparticelle più regolari [31]. Come già descritto nel Capitolo 1, il pH influenza le reazioni di speciazione delle due specie reattive: il pH più basso permette di avere in soluzione un maggior quantitativo di  $AuCl_4^-$  disponibile per la nucleazione, che quindi si sviluppa più velocemente, mentre nel caso di pH maggiore lo shift degli ioni  $AuCl_4^-$  verso le forme più idrossilate causa un rallentamento della fase di nucleazione. Nel caso in esame, la variazione del pH dell'ambiente di reazione è concomitante alla variazione del rapporto molare tra i reagenti. Il pH di reazione per i diversi casi valutati in questa sezione è stato valutato, a temperatura ambiente, miscelando secondo il corretto rapporto volumico, i due reagenti. In Tabella 3.10 si riportano i valori di pH misurati per i diversi valori di rapporto molare utilizzato.

**Tabella 3.10:** Valori di pH ottenuti dalla misurazione della miscela di reagenti per uno specifico rapporto molare M.R. utilizzato nella sintesi.

M.R.	pH
1/9	6.55
1/7	6.45
1/6 (standard Turkevich)	$\approx 6.3$
1/5	6.11
1/4	5.86

I valori del pH dell'ambiente di reazione misurati sono in linea con i risultati ottenuti. Utilizzando un rapporto molare basso si ottiene quindi che il più alto valore di pH determina un processo di sintesi più regolare, e la maggiore concentrazione di citrato nel volume di reazione migliora la stabilità colloidale riducendo quindi la tendenza all'aggregazione dei nuclei delle nanoparticelle, come descritto anche da Xiaohui *et al.* [32], portando quindi all'ottenimento di nanoparticelle di dimensione minore e sensibilmente più regolari. Invece per rapporti molari più elevati il pH si abbassa e rende il processo di sintesi, nella fattispecie la nucleazione, più rapido ed irregolare che insieme alla minore concentrazione di citrato nella miscela di reazione, porta all'ottenimento di nanoparticelle di dimensione e morfologia piuttosto variabile. In Figura 3.20 si riassume quanto ottenuto dalla sintesi descritta e discussa in questa sezione. Tra le varie prove svolte nella preparazione di questo progetto di tesi sono state adoperate delle sintesi basate sulla valutazione dell'effetto del pH di reazione nel processo continuo. A tal fine il pH della soluzione di citrato di sodio utilizzato nella sintesi è stato variato utilizzando una soluzione uguale molarità di acido citrico  $C_6H_8O_7$  avente la stessa molarità della soluzione di  $Na_3Cit$  utilizzato nella sintesi, in modo tale da non modificare la concentrazione di ioni citrato che prendono parte alla sintesi. Nel corso delle diverse sperimentazioni

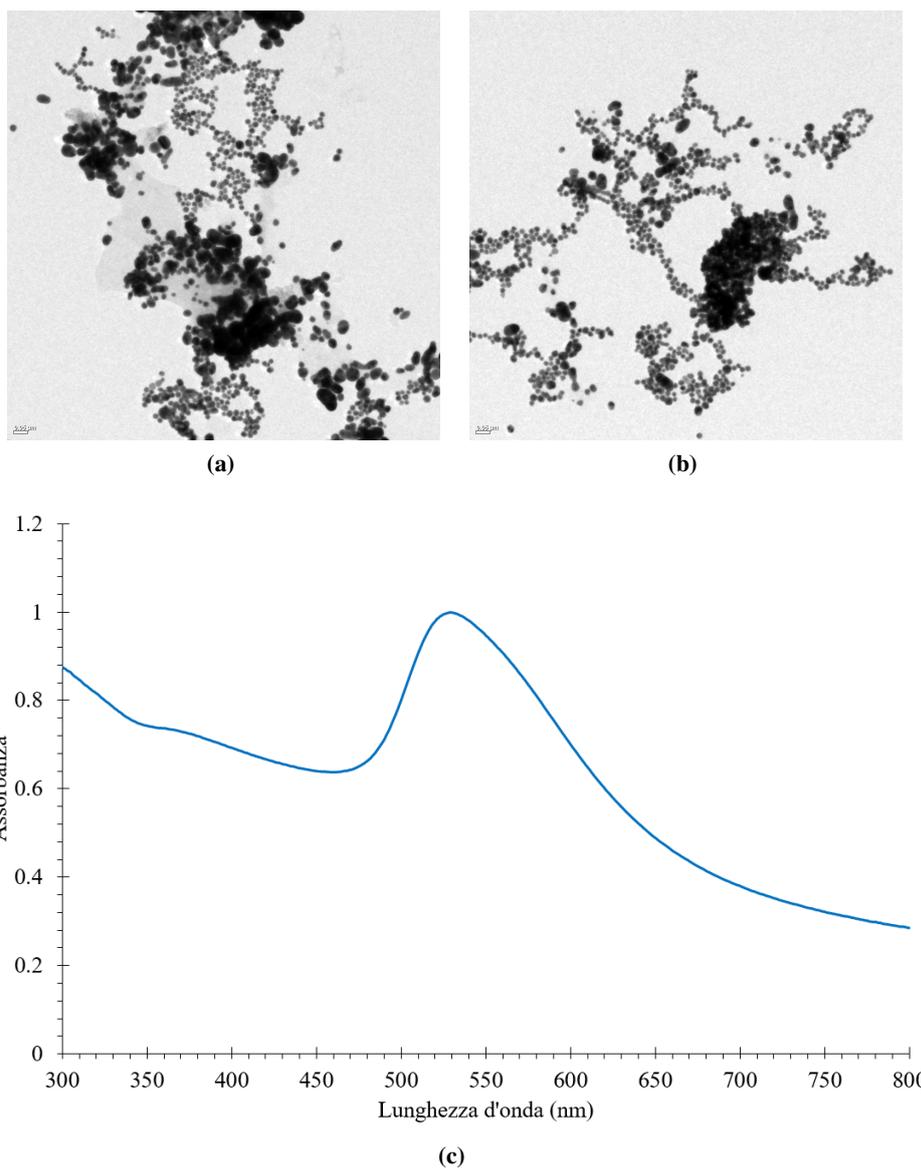
effettuate il pH della soluzione di citrato è stato cambiato fino a raggiungere dei valori definiti, in modo da avere un diverso pH di reazione in seguito alla miscelazione della soluzione di citrato con pH modificato con la soluzione di  $\text{HAuCl}_4$ : in particolare sono stati effettuati esperimenti in cui il pH della soluzione 6 mM del citrato di sodio è stato portato fino al valore di 6, 6.25, e 6.5, a cui è conseguito come detto un diverso pH alla miscelazione.



**Figura 3.20:** Grafico riassuntivo dei risultati ottenuti dalla sintesi delle nanoparticelle d'oro con diverso rapporto molare, unitamente alla valutazione del pH di reazione.

I risultati di tali sperimentazioni sono stati notevolmente insufficienti, ragion per cui vengono solo accennati in questa discussione: in molti casi la sintesi non ha prodotto risultati qualitativamente accettabili, in altri casi la soluzione prodotta durante il processo non ha presentato la tipica colorazione, testimoniando la probabile assenza di nanoparticelle; contemporaneamente alle sperimentazioni sul pH è stato tentato l'utilizzo di uno spettrofotometro "in linea", ma la cella di analisi attraverso cui scorre la soluzione di prodotti del processo ha subito dei danneggiamenti andando a determinare la contaminazione delle soluzioni prodotte. A causa di tutto ciò, la maggior parte delle sperimentazioni svolte al fine di valutare l'effetto del pH è stata considerata come fallita. Un aspetto generale, riscontrato in tutti i campioni TEM analizzati per i rispettivi pH testati, è che le nanoparticelle presenti hanno morfologie irregolari talvolta molto diversa da quella sferica e dimensioni piuttosto variabili: la riduzione del pH di reazione tramite l'aggiunta di acido citrico alla soluzione di  $\text{Na}_3\text{Cit}$  determina quindi, come accade nel caso di M.R. alto, un cambiamento nel meccanismo di formazione e crescita delle nanoparticelle, sviluppando quindi dei risultati irregolari. Tale risultato è stato in alcuni casi riscontrabile dallo spettro di assorbimento, la cui morfologia è differente da quello

relativo ad una soluzione colloidale con nanoparticelle di forma prevalentemente sferica; di seguito si riportano alcune immagini ricavate al microscopio elettronico TEM (Figura 3.21a, Figura 3.21b) relative ad un campione sintetizzato con soluzione di citrato con  $pH = 6$ ,  $t_R = 10$  min ed  $T_R = 100^\circ C$  e il relativo spettro di assorbimento normalizzato (Figura 3.21c).



**Figura 3.21:** Immagini TEM e spettro di assorbimento relativi ad un campione di prodotti sintetizzati con  $pH$  della soluzione di citrato modificato ( $pH = 6$ )

Come è possibile osservare dalle immagini TEM contenute in Figura 3.21 le nanoparticelle sintetizzate con  $pH$  modificato sono molto irregolari con forme e dimen-

sioni molto diverse: la forma dello spettro di assorbimento è chiaramente molto differente rispetto ad altre curve di assorbimento osservate nel corso delle precedenti sperimentazioni e ciò è direttamente collegabile a quanto osservato al microscopio elettronico. A seguito dei risultati ottenuti non sono state effettuate valutazioni dettagliate derivanti dalla caratterizzazioni dei prodotti di sintesi, motivo per cui non si riportano dati specifici relativi in questa discussione.

### 3.4 Produzione continua

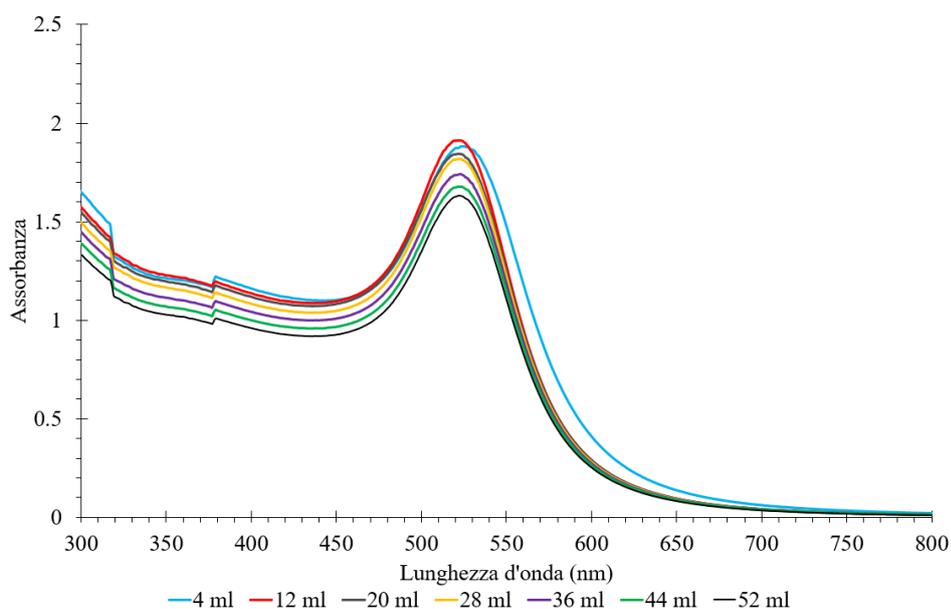
Nel corso delle diverse sperimentazioni effettuate per la valutazione dell'effetto dei vari parametri di processo testati è stata operata una sintesi che è possibile definire "discreta" con produzione di volumi di prodotti limitati, in modo tale da poter testare, in una singola sessione di esperimenti, diverse condizioni di processo. Il naturale proseguimento nello sviluppo del progetto è stato allora l'utilizzo delle migliori condizioni di sintesi per una produzione continua, simulando quindi una produzione di nanoparticelle d'oro in continuo su una più larga scala. Difatti, nello scale-up del processo continuo, si presume di operare senza la produzione discreta, in modo da ottenere un maggior quantitativo di prodotto in una più breve finestra temporale. Al fine di operare un processo di sintesi continuo è stata quindi utilizzata una diversa modalità di gestione dei reagenti: entrambe le soluzioni di  $\text{HAuCl}_4$  e  $\text{Na}_3\text{Cit}$ , preparate in volume sufficiente ed alla concentrazione base utilizzata per tutte le diverse sessioni di esperimenti effettuate, sono state caricate nelle bottiglie dello store dei reagenti pressurizzato con  $\text{N}_2$ , di conseguenza non è stato fatto uso dell'iniettore dei reagenti, ma entrambi i reagenti sono stati pompati in modo continuo all'interno del reattore dove si potesse sviluppare la reazione. Si noti che in questo caso non è stato fatto uso di acqua MilliQ come fluido di processo. Come parametri di processo sono stati selezionati quelli che hanno permesso di ottenere, nel corso delle varie sperimentazioni, i risultati migliori:

- $t_R = 10 \text{ min}$
- $T_R = 95^\circ\text{C}$
- $p_{out} = 2 \text{ bar}$

Il volume di produzione impostato è di 56 ml, la cui collezione è avvenuta soltanto al completo raggiungimento di tutti i parametri operativi, con particolare attenzione per la temperatura. L'intero volume di prodotti è stato campionato in modo automatizzato in fiale da 2 ml ciascuna, dalle quali sono stati ottenuti i diversi campioni per le successive fasi di caratterizzazione, difatti i vari campioni per l'analisi spettrofotometrica e per l'analisi al microscopio elettronico a trasmissione sono stati prelevati dalle diverse fiale in modo da ottenere dei risultati inerenti all'evoluzione cronologica dei prodotti ottenuti durante il processo di sintesi e mettere in evidenza eventuali differenze osservate tra i prodotti sintetizzati alle medesime condizioni di processo; per una più attenta caratterizzazione, sono stati presi molti campioni di analisi ognuno da un diverso volume di collezione.

### 3.4.1 Analisi spettrofotometrica

Da diversi volumi di collezione contenuti nelle diverse fiale da 2 ml sono stati prelevati 600  $\mu$ l di soluzione colloidale per essere trasferita in microcuvette (cammino ottico 1 cm) per l'analisi spettrofotometrica nel range UV-Vis. Lo spettro di assorbimento prodotto dai diversi campioni è rappresentato in Figura 3.22 ed i dati relativi in Tabella 3.11.



**Figura 3.22:** Spettro di assorbimento dei diversi campioni prelevati da diversi volumi di collezione della produzione in continuo.

**Tabella 3.11:** Riassunto delle caratteristiche dello spettro di assorbimento ricavato dai campioni ottenuti da diverso volume di produzione.

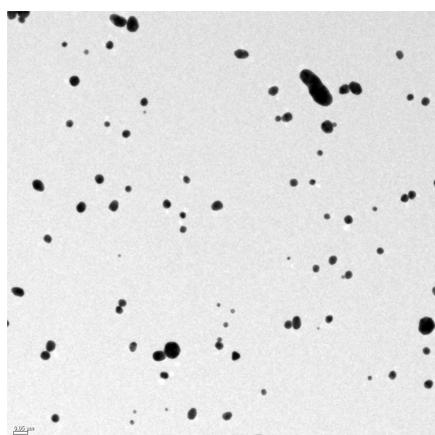
Volume prodotto (ml)	Max assorbanza	Lunghezza d'onda LSPR (nm)
4	1.88	525
12	1.91	523
20	1.84	521
28	1.82	523
36	1.74	523
44	1.68	522
52	1.63	522

Si osserva che l'assorbimento ottenuto dalla soluzione colloidale prodotta varia

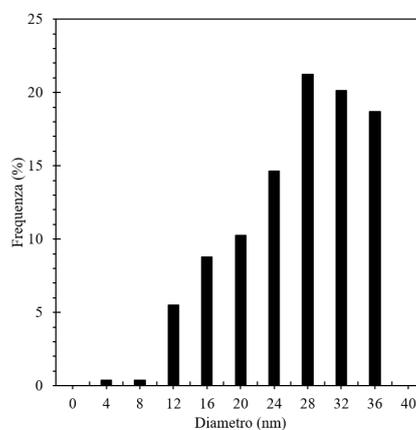
per i diversi volume di collezione ottenuti, in particolare si ha una riduzione del massimo valore di assorbimento ottenuto dalla risonanza plasmonica superficiale. Per quanto riguarda la lunghezza d'onda di massimo assorbimento relativa alla risonanza plasmonica superficiale essa subisce una variazione nella prima fase di produzione per poi assestarsi intorno ai 522 nm circa: ciò denota un possibile stato di transizione che si sviluppa durante le prime fasi della sintesi, per poi raggiungere uno stato stazionario per maggiori volumi di soluzione prodotta. Quest'ipotesi dello stato di transizione iniziale viene avvalorata dal fatto che lo spettro relativo ai 4 ml di collezione risulta essere decisamente più ampio rispetto a quello relativo ad altri volumi di collezione: basandosi sui risultati ottenuti dalle precedenti sperimentazioni si può quindi ipotizzare che i prodotti relativi a tale volume siano maggiormente irregolari.

### 3.4.2 Analisi TEM e distribuzioni dimensionali

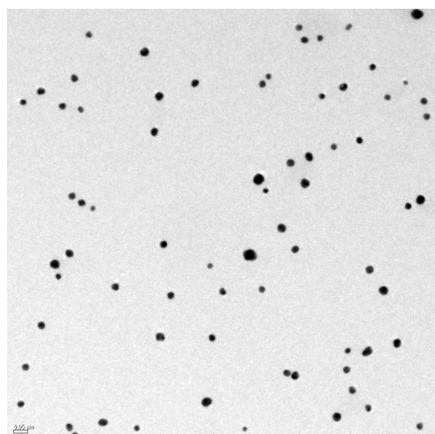
Alcuni campioni TEM sono stati preparati dai diversi volumi di collezione per effettuare una valutazione sulla variazione delle caratteristiche dimensionali delle nanoparticelle prodotte durante tutto il processo di sintesi in continuo; in particolar modo sono stati presi campioni dalle prime quattro fiale di campionamento, corrispondenti ai primi 2, 4, 6, 8 ml di soluzione colloidale prodotta, in modo da verificare l'evoluzione iniziale osservata dall'analisi dello spettro di assorbimento. Alcune delle immagini prodotte dall'analisi TEM sono riportate in Figura 3.23, relativamente alla prima fase di produzione, in Figura 3.24 relativamente alla fase intermedia di produzione e in Figura 3.25 per l'ultima fase di produzione. Come è possibile osservare, i campioni ottenuti dai prodotti della prima fase di sintesi (Figura 3.23) risultano mostrare delle differenze, in particolar modo il campione preso dai primi 2 ml prodotti dalla sintesi in continuo è fortemente caratterizzato da nanoparticelle avente dimensione varia e forma generalmente irregolare e diversa da quella sferica prevista dal metodo. L'aspetto morfologico delle nanoparticelle prodotte successivamente, ottenute da campioni presi dai successivi 4, 6, 8 ml di soluzione colloidale prodotta, migliora progressivamente, e il quantitativo di particelle irregolari con morfologia diversa da quella sferica si riduce drasticamente; la variabilità dimensionale delle nanoparticelle presenti in questi campioni si riduce, difatti dalle diverse immagini analizzate le nanoparticelle presenti hanno dimensione piuttosto simile. Le immagini TEM ottenute da campioni ottenuti da volumi di produzione maggiori sono invece molto più regolari. In questa seconda fase di sintesi, le nanoparticelle ottenute hanno tutte forma prevalentemente sferica e dimensioni molto simili, mostrando che il processo di sintesi dopo una fase iniziale di "assestamento" si sia stabilizzato. Dalle immagini prodotte dall'analisi TEM sono state ricavate le distribuzioni delle dimensioni per ogni campione di volume prodotto analizzato: i risultati ottenuti confermano quanto osservato e quanto dedotto dall'analisi dello spettro di assorbimento; nelle prime fasi di produzione, le nanoparticelle sintetizzate sono caratterizzate da una distribuzione delle dimensioni piuttosto ampia, in particolar modo per il primo volume campionato.



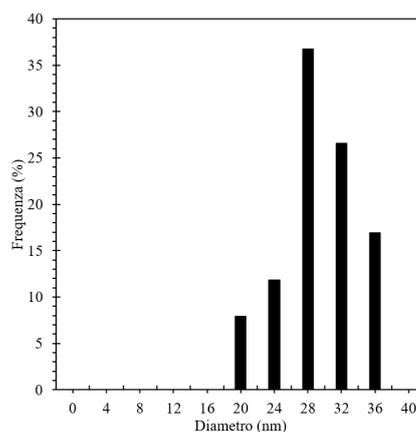
(a) 2 ml



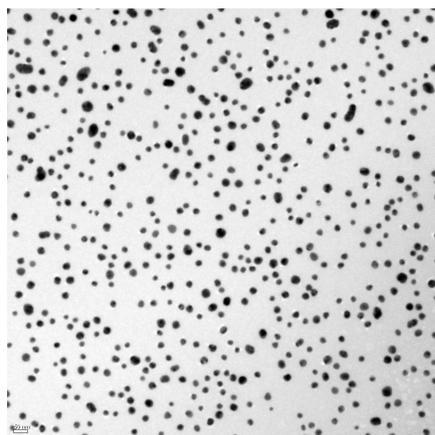
(b) 2 ml



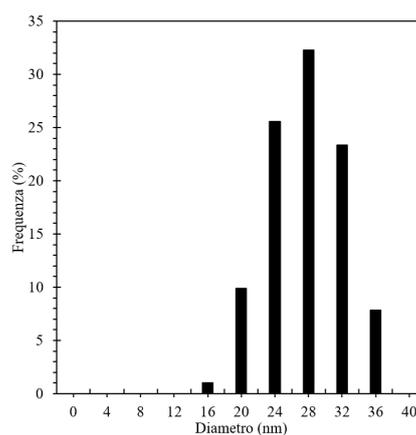
(c) 4 ml



(d) 4 ml

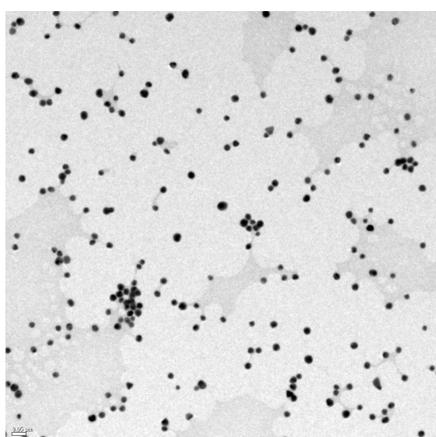


(e) 6 ml

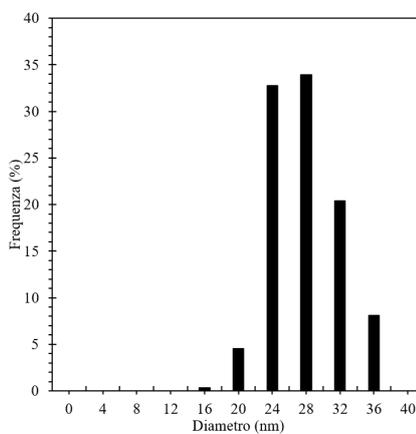


(f) 6 ml

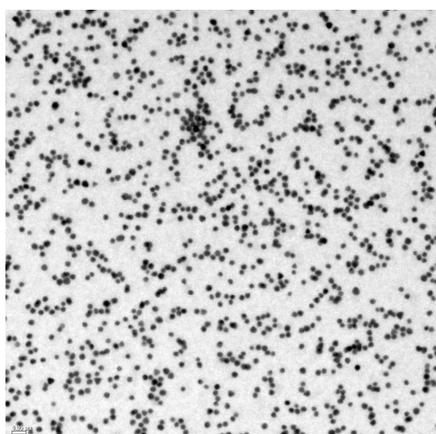
Figura 3.23: Fase iniziale della produzione (10-20 minuti di utilizzo del sistema).



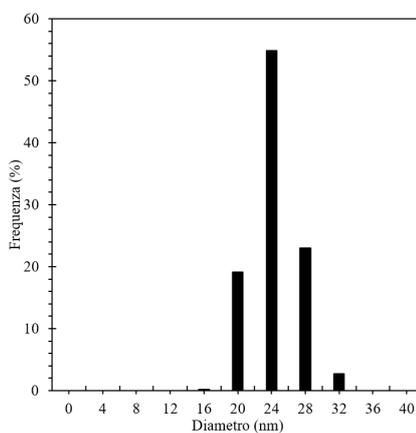
(a) 8 ml



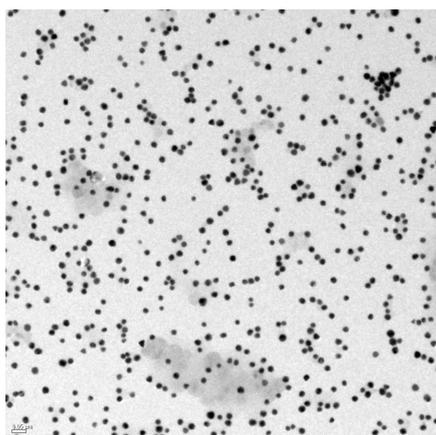
(b) 8 ml



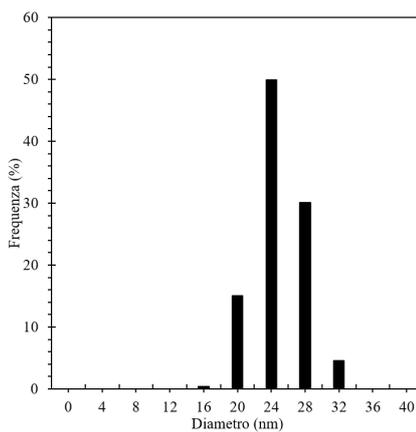
(c) 20 ml



(d) 20 ml

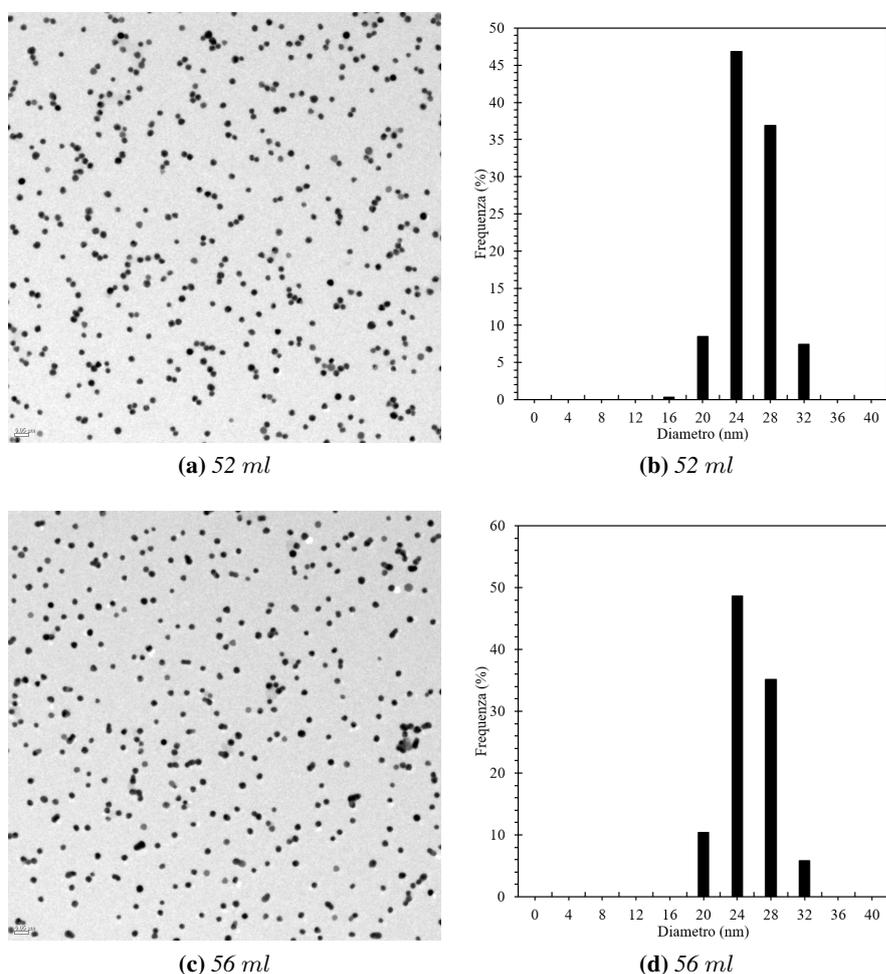


(e) 36 ml



(f) 36 ml

Figura 3.24: Fase intermedia della produzione (25-160 minuti di utilizzo del sistema).



**Figura 3.25:** Fase finale della produzione (240-260 minuti d'utilizzo del sistema).

Con l'aumento del volume di soluzione colloidale prodotta l'ampiezza delle distribuzioni relative ai diversi volumi campionati decresce, fino a raggiungere il 10-11 % di deviazione standard percentuale per i campioni ottenuti dagli ultimi volumi campionati. Dall'analisi delle immagini e le relative distribuzioni dimensionali ottenute si ha che, nella prima fase, la sintesi delle nanoparticelle è in qualche maniera in uno stato di assestamento: l'ampiezza delle distribuzioni relativamente maggiore rispetto alle restanti diverse sintesi operate in questo progetto mostra come le condizioni di sintesi non siano perfettamente omogenee nelle prime fasi di sintesi, determinando i risultati irregolari osservati. Nel corso della fase intermedia del processo di sintesi effettuato si osserva un assestamento delle caratteristiche dimensionali delle nanoparticelle prodotte in termini sia di diametro medio sia di deviazione standard percentuale, mentre nella fase terminale della sintesi le nanoparticelle prodotte hanno caratteristiche molto simili. Tali risultati quindi mostrano

come nel processo di sintesi in continuo sia necessario un certo tempo affinché si raggiungano determinate condizioni nel sistema di reazione, tali che permettano di raggiungere un risultato il più possibile omogeneo. Dal confronto tra i risultati dell'analisi dimensionale effettuata tramite le immagini ricavate al TEM e lo spettro di assorbimento ricavato dai volumi campionati, si conferma quanto osservato nel caso del primo volume campionato, ovvero che la maggiore ampiezza dello spettro di assorbimento relativo ai primi 2 ml campionati è dovuta alla maggiore irregolarità dimensionale e morfologica delle nanoparticelle prodotte per tale volume. L'andamento della lunghezza d'onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale rispecchia l'andamento della dimensione delle nanoparticelle prodotte nel corso della sintesi. In Tabella 3.12 si riportano i dati relativi alle distribuzioni ottenute. I risultati ottenuti da questa sperimentazione sono molto positivi: difatti, l'ottenimento di nanoparticelle aventi morfologia regolare e distribuzione dimensionale non troppo ampia mostrano come la sintesi in continuo delle nanoparticelle d'oro sia particolarmente vantaggiosa. Il problema dello start-up iniziale necessita di ulteriori sperimentazioni, in modo da chiarire i fenomeni che fanno sì che, nonostante si utilizzino le medesime condizioni, la sintesi dei primi volumi di prodotti risulta essere diversa da quella che si sviluppa nelle fasi successive di processo.

**Tabella 3.12:** Riassunto delle caratteristiche dimensionali ricavate dai campioni ottenuti da diverso volume di produzione.

<b>Volume prodotto (ml)</b>	<b>Diametro medio (nm)</b>	<b>Deviazione standard (%)</b>
2	30.07	31.23
4	30.99	19.56
6	28.10	17.71
8	27.78	13.87
20	24.36	10.76
36	25.07	11.38
52	25.68	11.26
56	25.50	10.70



## Capitolo 4

# Considerazioni finali e problemi riscontrati

In questa sezione si pone a confronto i risultati ottenuti dalle varie sperimentazioni con quanto osservato in letteratura riguardo l'ampiamente studiata sintesi batch, valutando aspetti negativi e positivi del processo di sintesi adottato. Si descrivono infine le problematiche riscontrate nel corso delle sperimentazioni e le soluzioni adottate per il proseguimento delle sessioni sperimentali.

### 4.1 Effetto dei parametri operativi sulla sintesi delle nanoparticelle

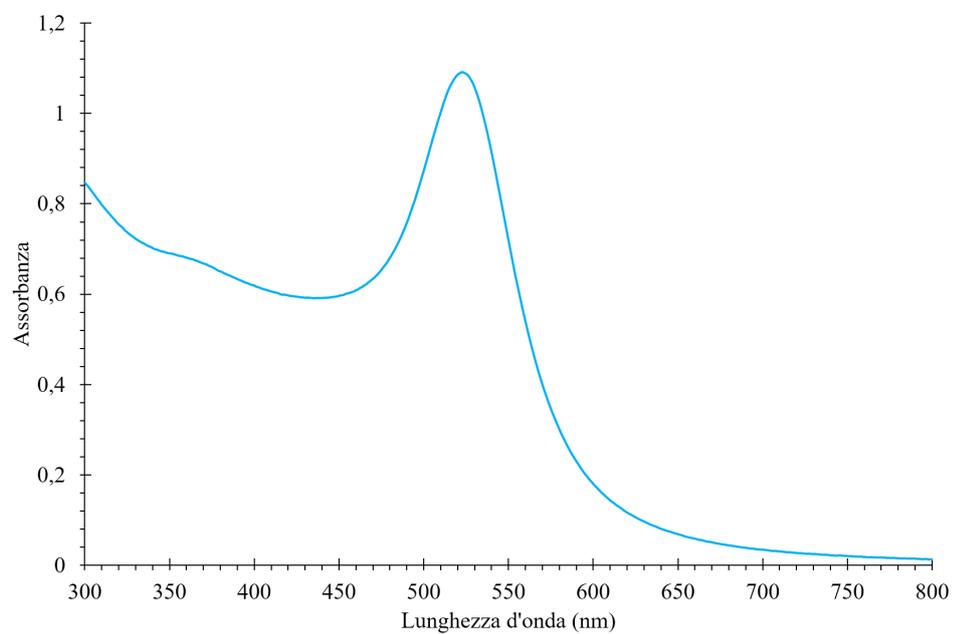
Nel corso delle diverse sperimentazioni effettuate per lo sviluppo di questo progetto di tesi sono state esplorate diverse condizioni operative in modo da valutare il modo attraverso cui i diversi parametri influenzano la crescita delle nanoparticelle. In generale, i risultati ottenuti nei diversi esperimenti trovano riscontro in quanto descritto in letteratura, ciò quindi avvalorava la possibilità di operare una sintesi in continuo delle nanoparticelle d'oro. L'utilizzo del sistema microfluidico ha dimostrato diversi vantaggi nello sviluppo della sintesi: aspetto di fondamentale importanza è stato l'eccezionale controllo dei parametri operativi durante le varie sessioni di sintesi, che ha permesso di ottenere, nella maggior parte dei casi testati, risultati abbastanza omogenei. Dall'esplorazione sull'influenza dei parametri operativi nella sintesi delle nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich si possono tracciare delle linee guida riguardanti la sintesi in continuo con sistema microfluidico. Dalla valutazione sul tempo di permanenza si è osservato come, ad alta temperatura, l'utilizzo di un tempo di reazione sufficientemente lungo sia fondamentale per ottenere nanoparticelle d'oro ben formate: il range temporale necessario per lo sviluppo delle due fasi di formazione delle nanoparticelle risulta essere simile a quello valutato per la sintesi batch descritto in letteratura, tuttavia la sintesi in continuo permette di operare la sintesi di un maggiore quantitativo volu-

mico in minor tempo e con un controllo notevolmente superiore su tutti i parametri di processo. Un altro aspetto di primaria importanza è il grado di miscelazione dei reagenti, che garantisce l'omogeneità nella distribuzione dei due reagenti nell'ambiente di reazione: operando con portate volumiche più elevate si riesce a garantire un grado di miscelazione maggiore e quindi un risultato maggiormente monodisperso; in questa fase l'uso della micromiscelazione ha garantito di ottenere un buon livello di miscelazione tra i reagenti con i diversi valori di portata utilizzati. La temperatura di processo utilizzata ha dimostrato di avere una notevole influenza sulla produzione delle nanoparticelle d'oro, in termini soprattutto dimensionali: la variazione della temperatura operativa si dimostra essere un valido parametro di controllo dimensionale delle nanoparticelle prodotte, che grazie all'uso del sistema di regolazione della pressione minima di uscita (BPR), può essere impostata a valori superiori a quello di ebollizione dei reagenti; in generale si è ottenuto che al crescere della temperatura la dimensione delle nanoparticelle prodotte aumenta, a parità delle restanti condizioni operative; per motivi di tempo non sono stati sviluppati esperimenti con sintesi a bassa temperatura. L'utilizzo di elevate temperature ha tuttavia mostrato come il meccanismo di formazione possa subire delle modificazioni portando all'ottenimento di risultati irregolari, tuttavia ulteriori sperimentazioni possono permettere di valutare l'uso di temperature più alte al fine di ridurre le tempistiche di produzione, ampliando così il range di operabilità della sintesi in continuo. Unitamente alla temperatura, un altro parametro di notevole importanza nell'ambito della gestione della dimensione e della morfologia delle nanoparticelle prodotte è il rapporto molare: dalle sperimentazioni effettuate si dimostra come il mantenimento del rapporto di sintesi permetta di ottenere nanoparticelle di morfologia regolare e con dimensione poco variabile, ovvero la produzione di un prodotto abbastanza monodisperso; incrementando il quantitativo di precursore metallico in rapporto al citrato di sodio utilizzato si produce una miscela reagente più acida dalla quale si sviluppa una sintesi irregolare con formazione di nanoparticelle di forma variabile e dimensioni generalmente maggiori, al contrario l'utilizzo di una maggiore concentrazione di citrato di sodio in rapporto al  $\text{HAuCl}_4$  permette di ottenere un pH più elevato a cui conseguono nanoparticelle molto più regolari e di minori dimensioni, grazie alla maggiore azione stabilizzante degli ioni citrato. La variazione del pH di reazione determina dei cambiamenti del meccanismo di sintesi, ma per ragioni tecniche le sperimentazioni riguardo l'effetto del pH non sono andate a buon fine, di conseguenza non sono state effettuate valutazioni approfondite. I parametri con cui sono state ottenute le migliori prestazioni in termini di nanoparticelle ottenute e funzionalità del sistema sono state utilizzate nel test per la produzione continua, dal quale è stata confermata la straordinaria capacità produttiva del sistema microfluidico in continuo per la produzione di nanoparticelle d'oro. Difatti il sistema permette di operare la sintesi di volumi consistenti di soluzione colloidale in cui le nanoparticelle presenti sono di buona qualità in termini morfologici e soprattutto con dimensione in un range abbastanza ristretto, grazie al connubio tra produzione in continuo ed eccezionale abilità di controllo di tutti i parametri operativi. In definitiva si può considerare la pro-

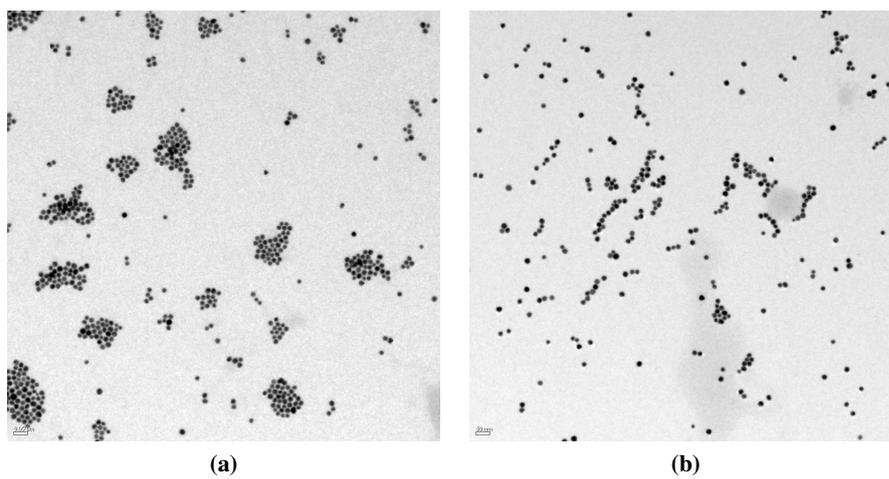
duzione in continuo come una valida alternativa alla classica sintesi batch, grazie ai diversi aspetti positivi che la contraddistinguono, che, unitamente all'utilizzo di un sistema microfluidico, pongono la sintesi delle nanoparticelle d'oro attraverso il metodo Turkevich su un piano qualitativo totalmente innovativo.

## 4.2 Confronto con i risultati in letteratura e nanoparticelle disponibili in commercio

Le nanoparticelle prodotte nel corso delle diverse sperimentazioni effettuate sono state confrontate qualitativamente con le nanoparticelle d'oro prodotte attraverso differenti metodi batch presenti in letteratura. Nel corso degli anni il metodo Turkevich è stato ampiamente studiato e il suo relativo protocollo modificato in modo da aumentare la riproducibilità ed ottenere risultati più monodispersi: ad oggi esistono diversi studi che, oltre che ai classici reagenti previsti dal metodo, integrano ulteriori sostanze che permettono di ridurre la polidispersità delle nanoparticelle prodotte: un esempio è dato dalla sintesi messa a punto da Schulz *et al.* [33] che introduce l'uso di EDTA per ottenere un risultato notevolmente più monodisperso (deviazione standard percentuale  $\approx 6-8\%$ ) [33]; un altro esempio è l'utilizzo di  $\text{AgNO}_3$  per assistere la riduzione del precursore metallico [34]. In generale tuttavia il metodo Turkevich permette la produzione di nanoparticelle con range di variabilità abbastanza limitato, solitamente compreso tra 10-14% di deviazione standard percentuale [19, 21, 26, 35]. Confrontando quindi i risultati ottenuti con quelli presenti in letteratura si osserva che le nanoparticelle prodotte nel corso di questo progetto sono qualitativamente accettabili in termini di monodispersità, considerando che per la sintesi è stato utilizzato il protocollo base del metodo Turkevich, con l'utilizzo di due soli reagenti. Al fine di avere un ulteriore riscontro circa la qualità dei prodotti ottenuti dalla sintesi in continuo sviluppata, le nanoparticelle prodotte sono state inoltre confrontate con un campione presente sul commercio: un lotto di nanoparticelle d'oro di 20 nm di diametro medio stabilizzate in buffer di citrato di sodio sono state acquistate da Sigma-Aldrich e sottoposte alle consuete analisi di caratterizzazione effettuate per tutti i campioni prodotti nel corso delle sperimentazioni; le caratteristiche qualitative del campione acquistato sono state quindi verificate tramite l'analisi spettrofotometrica e l'analisi al microscopio elettronico a trasmissione da cui è stata poi ottenuta una distribuzione dimensionale da cui valutare l'effettivo grado di dispersione delle dimensioni delle nanoparticelle presenti nel campione commerciale. Di seguito si riporta lo spettro di assorbimento (Figura 4.1 e alcune delle immagini ottenute al TEM (Figura 4.2). Dalle analisi effettuate si conferma quanto descritto nella certificazione di analisi del lotto acquistato; i dati ottenuti dalla caratterizzazione del campione sono riassunti in Tabella 4.1. Lo spettro di assorbimento ottenuto dal campione acquistato è molto regolare con picco di assorbimento netto e ristretto nell'intorno della lunghezza d'onda della risonanza plasmonica superficiale.

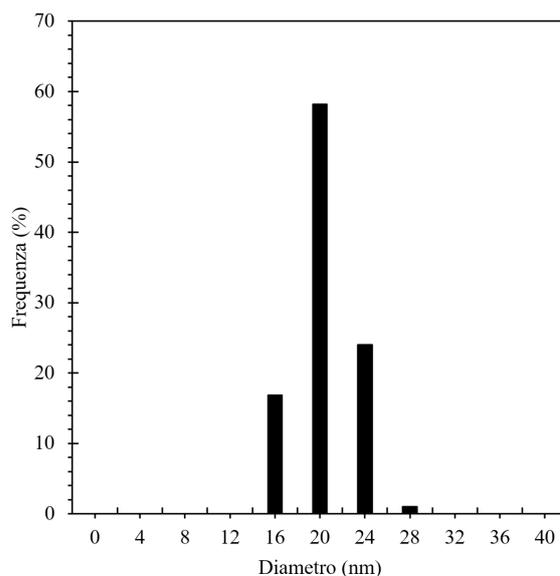


**Figura 4.1:** Spettro di assorbimento del campione commerciale Sigma-Aldrich 20 nm.



**Figura 4.2:** Immagini TEM del campione Sigma-Aldrich 20 nm.

La regolarità dello spettro di assorbimento viene confermato da quanto osservato dalle immagini ottenute dall'analisi al microscopio elettronico a trasmissione: le nanoparticelle d'oro presenti nel campione acquistato risultano essere molto regolari in termini sia dimensionali che morfologici, come confermato dall'analisi dimensionale e la conseguente distribuzione ottenuta (Figura 4.3).



**Figura 4.3:** Distribuzione dimensionale ottenuta dall'analisi del campione Sigma-Aldrich 20 nm.

**Tabella 4.1:** Tabella riassuntiva dei risultati di caratterizzazione del campione di nanoparticelle d'oro acquistato Sigma-Aldrich 20 nm.

<b>Caratteristica</b>	<b>Valore</b>
Max assorbanza	1.09
Lunghezza d'onda SPR (nm)	523
Diametro medio (nm)	20.40
Deviazione standard (%)	12.19

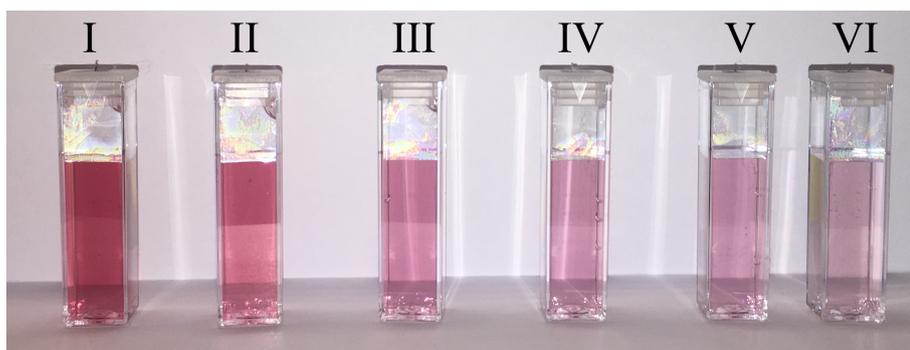
In ambito commerciale, le nanoparticelle d'oro acquistabili hanno sempre coefficiente di variazione intorno al 12%, cosa confermata dall'analisi dimensionale sul campione. Il valore ottenuto può essere utilizzato come criterio per la valutazione della qualità delle nanoparticelle prodotte durante le sperimentazioni effettuate, in particolar modo con le nanoparticelle prodotte durante la sperimentazione del processo continuo, in cui sono stati fissati i diversi parametri operativi testati nel corso delle sperimentazioni. Considerando appunto i dati contenuti in Tabella 3.12, si

osserva come la produzione in continuo tramite sistema microfluidico, dalla quali si ottiene una deviazione standard percentuale di circa il 10%, abbia permesso di produrre nanoparticelle aventi un range di dimensione più ristretto rispetto al campione presente sul mercato, avendo, in termini assoluti, una deviazione standard di circa 2.7 nm contro i 2.5 nm di deviazione standard riscontrato nel campione commerciale: questo tipo di produzione si pone allora come validissima alternativa nell'ambito della sintesi delle nanoparticelle d'oro. In generale, la produzione delle nanoparticelle sia in ambito laboratoriale che su scala industriale è generalmente caratterizzata da una serie di processi post-sintesi volte alla rimozione degli elementi irregolari e dimensionalmente esterni al range previsto dal processo di sintesi, in modo da ridurre notevolmente la variabilità delle nanoparticelle nel lotto che viene messo in commercio; considerando che nelle diverse sperimentazioni effettuate non sono stati effettuate operazioni di raffinazione post produzione, il risultato ottenuto si dimostra essere particolarmente positivo, inoltre l'uso di citrato di sodio come fluido di processo oltre che come reagente permette di produrre soluzione colloidale di nanoparticelle ad un più alto livello di stabilità.

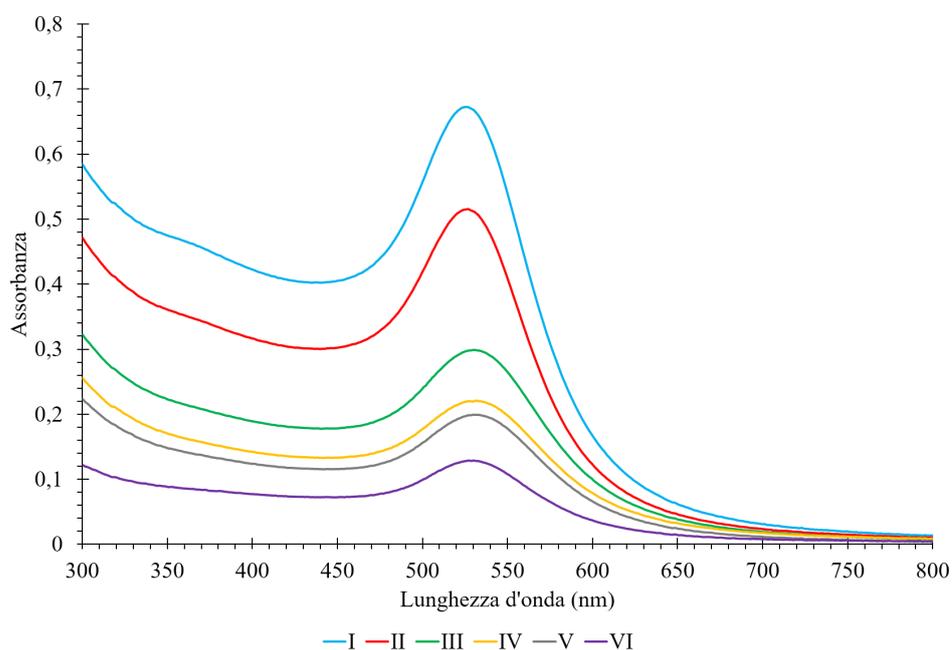
### **4.3 Il "coating" interno del reattore**

Nel corso delle prime sperimentazioni di sintesi attraverso il sistema microfluidico Asia utilizzato in questo progetto, è stato riscontrato il problema del "coating" interno al reattore, ovvero un progressivo ricoprimento della superficie interna del reattore tubolare bobina, causando una progressiva riduzione della funzionalità del sistema reattivo: di conseguenza nel caso di esperimenti eseguiti in successione, questo ricoprimento influisce notevolmente sui risultati ottenuti. Lo sviluppo di questo ricoprimento non avviene in maniera omogenea ed equamente distribuita su tutta la superficie interna del reattore tubolare, ma si sviluppa prevalentemente nelle prime sezioni del reattore: ciò testimonia che sono i nuclei o in alcuni casi le nanoparticelle di minori dimensioni ad attaccarsi alle rugosità della superficie interna del reattore, rimanendo trattenute quindi all'interno e determinando il progressivo ricoprimento. Un esempio rappresentante l'effetto del fenomeno è dato dalle soluzioni colloidale presenti in Figura 4.4: i 2 ml di soluzione colloidale contenuta in ognuna delle cuvette presenti nell'immagine sono stati prodotti alle medesime condizioni operative, in successione, nella medesima sessione di esperimenti; in tale immagine è possibile osservare l'evidente riduzione della colorazione della soluzione colloidale prodotta, testimoniando un mancato sviluppo del processo o, come appurato successivamente, una riduzione dei prodotti sviluppati nella sintesi nel volume collezionato. Nella medesima sessione sperimentale da cui sono stati ottenute le soluzioni presenti in Figura 4.4 è stato infatti possibile osservare, grazie alla trasparenza del tubo del reattore a bobina, lo sviluppo di una colorazione rosea fissa all'interno della tubazione e via via sempre più intensa con il proseguo degli esperimenti, confermando che, parte dei prodotti di reazione rimanessero nella tubazione del reattore. Dalla valutazione dello spettro di assorbimento (Figura

4.5) ottenuto dall'analisi spettrofotometrica dei prodotti di tale sessione si ottiene un' ulteriore conferma di quanto osservato: la curva di assorbimento infatti subisce una progressiva riduzione dell'intensità di assorbimento per ogni lunghezza d'onda utilizzata nella valutazione, confermando quanto osservato preliminarmente.



**Figura 4.4:** Soluzioni colloidali prodotte in successione in una sessione sperimentale di prova, tutte alle stesse condizioni operative: la variazione di colore della soluzione colloidale testimonia la riduzione del quantitativo di prodotti nei diversi volumi collezionati ( $T_R = 100\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t_R = 10\text{ min}$ ).



**Figura 4.5:** Spettro di assorbimento ottenuto dai campioni presenti in Figura 4.4 prodotti con le medesime condizioni operative.

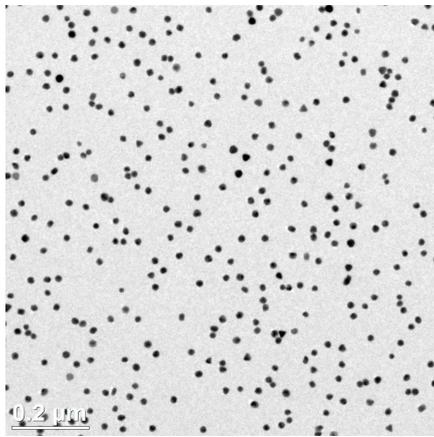
Considerando che le condizioni operative sono le medesime per ogni esperimento,

appare chiaro come l'effetto primario del ricoprimento del reattore sia quello di ridurre il quantitativo di nanoparticelle prodotte: ciò, tuttavia, non è stato verificato durante le sperimentazioni, di conseguenza è frutto di deduzioni derivanti dai risultati ottenuti dalla caratterizzazione spettrofotometrica. Al fine di operare una caratterizzazione completa dei prodotti ottenuti ed affetti dal fenomeno del ricoprimento, alcuni campioni delle soluzioni sono stati analizzati al microscopio elettronico a trasmissione: ciò che si osserva dalle diverse immagini prodotte (Figura 4.6) è comunque la presenza di nanoparticelle ben formate con assenza di struttura di morfologia irregolare; dalla valutazione statistica sulla dimensioni delle nanoparticelle si osserva che, generalmente, il grado di dispersione delle dimensioni cresce con il proseguo degli esperimenti, man mano che l'effetto del ricoprimento si fa più importante, e allo stesso tempo si ottiene un aumento della dimensione media delle nanoparticelle prodotte. La diversa dimensione e relativa distribuzione dimensionale osservata nei diversi campioni mostra quindi come il ricoprimento progressivo del reattore influenza notevolmente il processo di sintesi: da un lato si riduce il quantitativo di prodotti contenuti nel volume di collezione, dall'altro variano le caratteristiche dimensionali delle nanoparticelle che vengono prodotte. In Tabella 4.2 si riportano le caratteristiche dimensionali delle nanoparticelle osservate al TEM dai campioni analizzati.

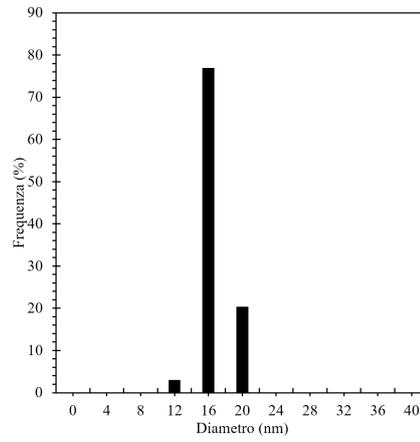
**Tabella 4.2:** Risultati ottenuti dall'analisi delle immagini TEM ottenute dai campioni ricavati dalle soluzioni influenzate dall'effetto del ricoprimento del reattore; l'identificativo per i campioni si riferisce alla Figura 4.4.

<b>Campione</b>	<b>Diametro medio (nm)</b>	<b>Deviazione standard (%)</b>
I	16.90	8.54
III	23.35	10.00
V	27.62	11.61

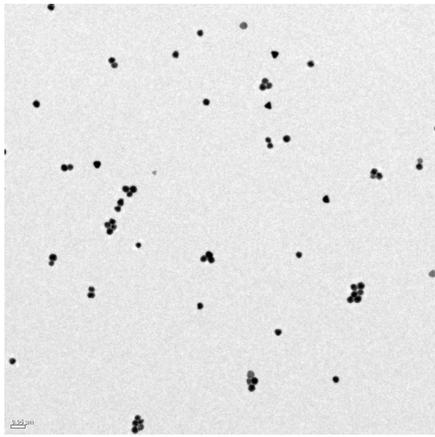
La notevole influenza che il progressivo ricoprimento ha sui risultati ottenuti dalle diverse sintesi dimostra che, nonostante il flusso continuo dei reagenti nella tubazione del reattore, e quindi il contatto con le sezioni del reattore soggette al ricoprimento avvenga per un tempo molto limitato, questo determini una modificazione nelle fasi di nucleazione e crescita: il quantitativo di precursore metallico disponibile per la formazione di nanoparticelle si riduce progressivamente all'aumentare del ricoprimento con il proseguo negli esperimenti, determinando una riduzione del numero di nuclei formati; considerando infatti la maggiore dimensione media ottenuta nei campioni prodotti cronologicamente successivi è possibile dedurre che il ricoprimento influenzi particolarmente la fase di nucleazione, ovvero, nonostante il minor quantitativo di precursore disponibile per la formazione delle nanoparticelle possa condurre ad ottenere nanoparticelle di minori dimensioni, il minor numero di nuclei formati ha con ogni probabilità un effetto maggiore, determinando quindi il più elevato diametro medio osservato.



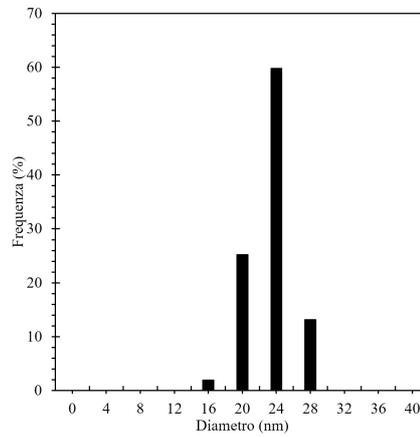
(a) I



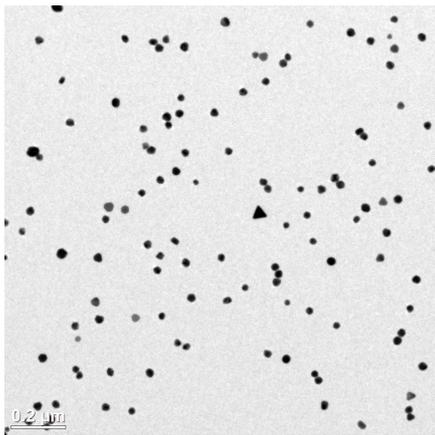
(b) I



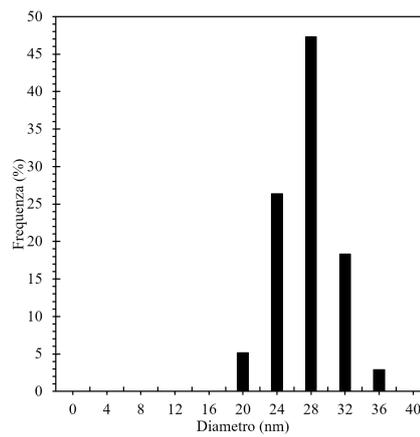
(c) III



(d) III



(e) V

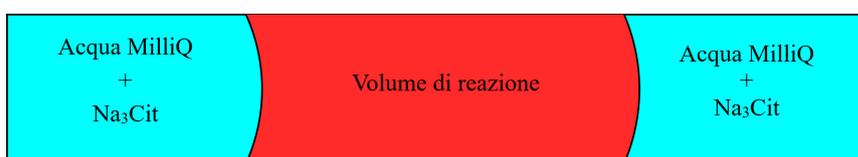


(f) V

**Figura 4.6:** Immagini TEM e relative distribuzioni dimensionali ottenute dai volumi campionati presenti in Figura 4.4.

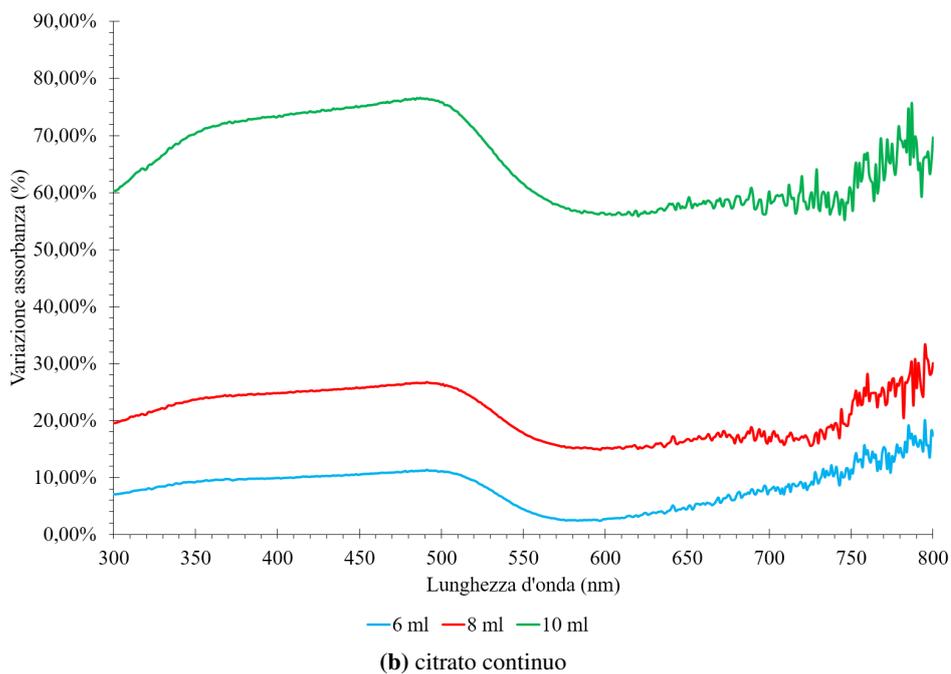
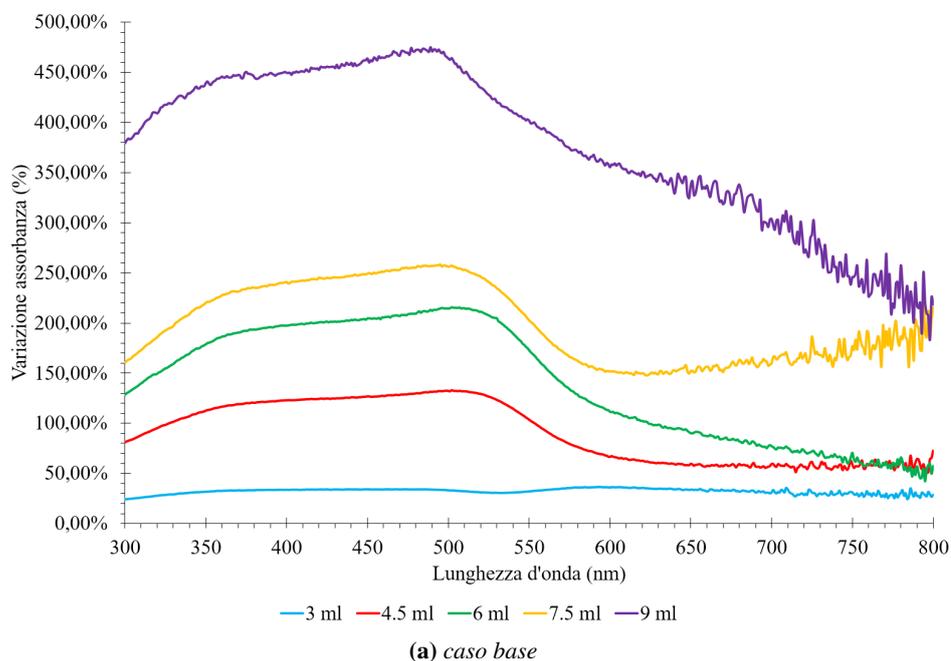
### 4.3.1 Pompaggio di $\text{Na}_3\text{Cit}$ in continuo

In seguito ai risultati ottenuti, al fine di limitare il più possibile il fenomeno del coating è stata adottata una diversa modalità di gestione dei due reagenti: in particolare, la soluzione di citrato è stata utilizzata non come semplice reagente ma come ulteriore fluido di processo insieme all'acqua MilliQ responsabile del trasporto del precursore metallico verso il punto di miscelazione. In questo modo, il volume di reazione, scorrendo nel reattore, viene preceduto e seguito da una soluzione di acqua MilliQ e citrato di sodio (Figura 4.7), il quale, grazie alle sue proprietà stabilizzanti, permette di limitare l'adesione di nanoparticelle alla superficie del interna del reattore: il citrato di sodio infatti interagisce con la superficie del tubo di reazione funzionalizzandolo, determinando una parziale carica negativa che produce un' azione repulsiva verso le nanoparticelle, avendo queste carica superficiale negativa.

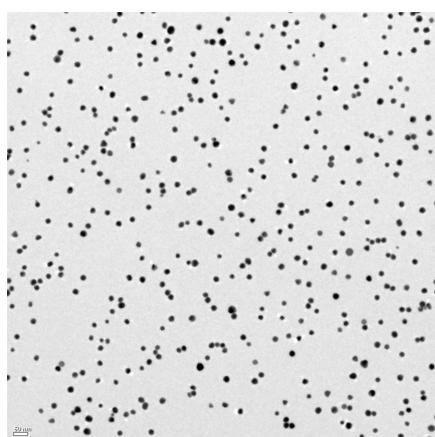


**Figura 4.7:** Schematizzazione del flusso all'interno del reattore con pompaggio continuo di  $\text{Na}_3\text{Cit}$ .

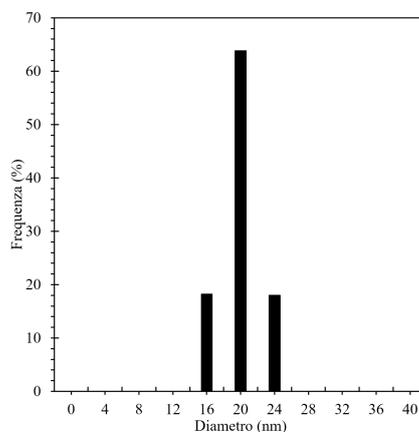
Una serie di esperimenti in successione sono stati effettuati alle medesime condizioni del caso precedentemente descritto, impostando in questo caso un volume di collezione maggiore: dalle soluzioni colloidali prodotte si è osservato un notevole miglioramento nella sintesi delle nanoparticelle; difatti, anche i volumi di collezione relativi ad esperimenti cronologicamente successivi della sessione risultano avere la colorazione tipica dell'oro colloidale. Al fine di verificare il miglioramento ottenuto sono state eseguite diverse sessioni sperimentali con le medesime condizioni, in cui è stata valutata la variazione delle caratteristiche delle soluzioni colloidali prodotte da ciascun esperimento della sessione. I risultati ottenuti dalle singole sperimentazioni sono stati poi sottoposti a caratterizzazione: dallo spettro di assorbimento ottenuto nei diversi casi, si osserva come la variazione subita dalla curva di assorbimento nel campo UV-Vis sia molto minore rispetto al caso precedente con l'iniezione di entrambi i reagenti: ciò testimonia il netto miglioramento nell'operabilità del reattore attraverso la nuova configurazione fluidica adottata, dimostrando come la presenza di citrato di sodio come fluido di processo permetta di limitare il fenomeno del ricoprimento riducendo l'influenza che questo ha sugli esperimenti eseguiti in una singola sessione; infatti, andando a valutare la variazione percentuale di assorbimento dei diversi volumi prodotti, utilizzando come riferimento il primo volume campionato, si osserva come, nel caso in cui si usa la soluzione di citrato in continuo, la variazione dell'intensità dell'assorbimento tra i diversi volumi campionati sia notevolmente minore (Figura 4.8). In Figura 4.9 si riportano poi le distribuzioni dimensionali ottenute.



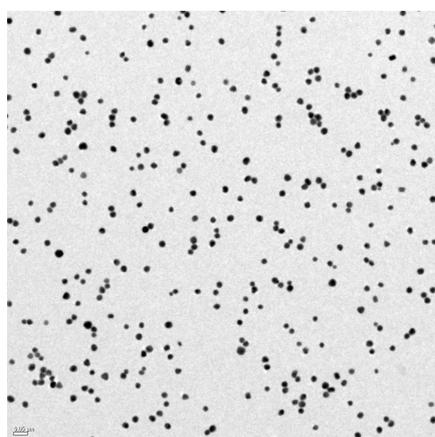
**Figura 4.8:** Variazione percentuale di assorbimento registrata nei due casi: (a) caso base con iniezione di entrambi i reagenti; (b) caso con flusso di citrato in continuo ( $T_R = 100$  °C,  $t_R = 10$  min).



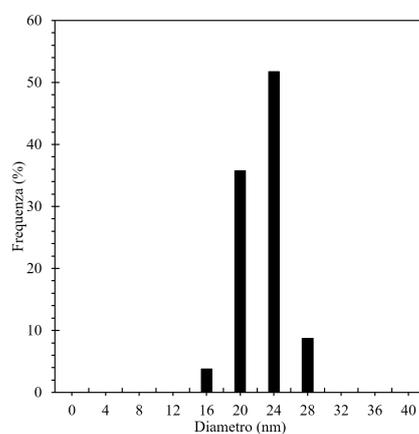
(a) 2 ml



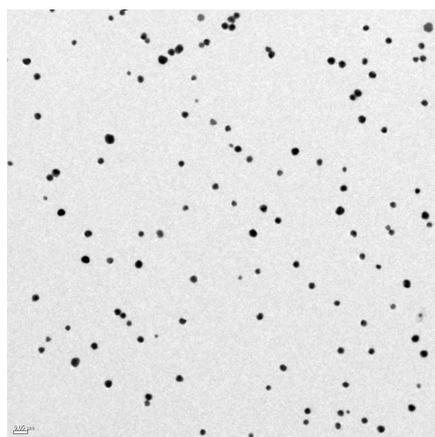
(b) 2 ml



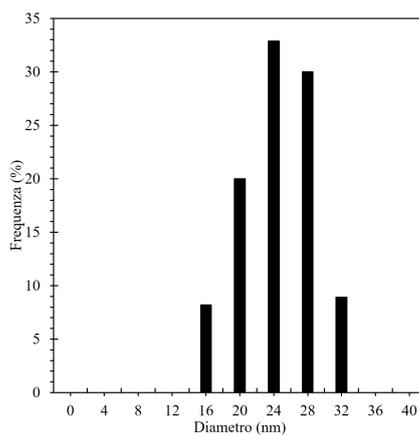
(c) 6 ml



(d) 6 ml



(e) 10 ml



(f) 10 ml

**Figura 4.9:** Immagini TEM e relative distribuzioni dimensionali ottenute da diversi volumi campionati prodotti attraverso la nuova configurazione microfluidica con citrato di sodio in continuo ( $T_R = 100\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t_R = 10\text{ min}$ ).

Come è possibile osservare dalla Figura 4.8a e dalla Figura 4.8b, nonostante il maggior volume di produzione, l'uso della soluzione di citrato in continuo permetta di ridurre notevolmente l'effetto del ricoprimento; visivamente inoltre, a differenza del caso precedente, non si osserva accumulo di nanoparticelle sulle pareti interne del reattore. Da ulteriori valutazioni condotte al microscopio elettronico a trasmissione si osserva come anche la dimensione media delle nanoparticelle prodotte in esperimenti in successione subisca una variazione minore rispetto al caso precedente, tuttavia si osserva un leggero aumento della deviazione standard percentuale: di conseguenza, è possibile che l'uso della soluzione di citrato in continuo abbia anche una piccola influenza sul processo di sintesi delle nanoparticelle rispetto al caso in cui questa viene semplicemente iniettata insieme al precursore metallico; in tutti i casi le nanoparticelle prodotte hanno morfologia regolare, come osservabile in Figura 4.9. Di seguito si riporta in Tabella 4.3 i dati relativi all'analisi dimensionale per la sessione sperimentale in oggetto.

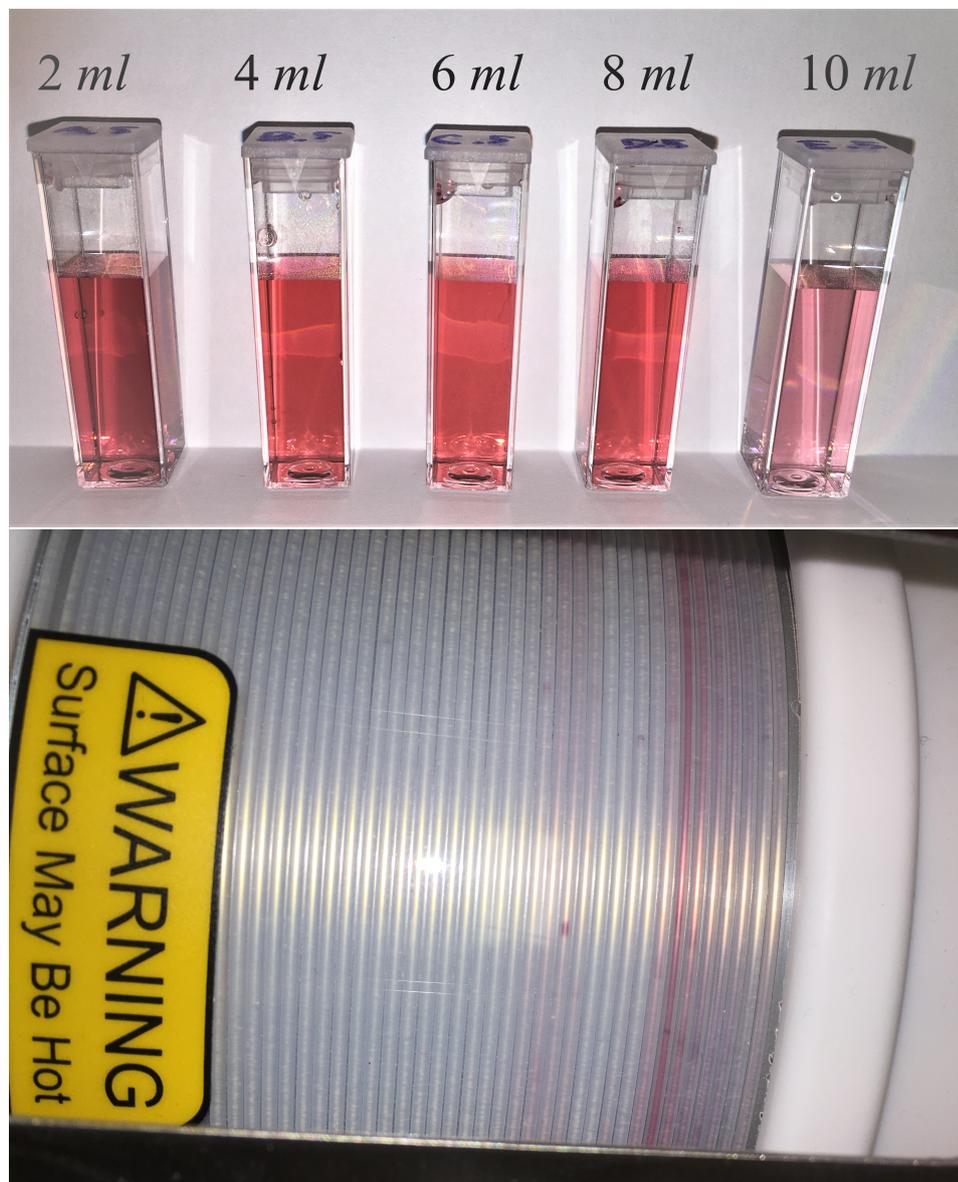
**Tabella 4.3:** Riassunto delle caratteristiche dimensionali ottenute nel caso della sperimentazione con soluzione di citrato in continuo.

<b>Volume prodotto (ml)</b>	<b>Diametro medio (nm)</b>	<b>Deviazione standard (%)</b>
2	20.06	10.83
6	22.65	10.64
10	24.38	16.85

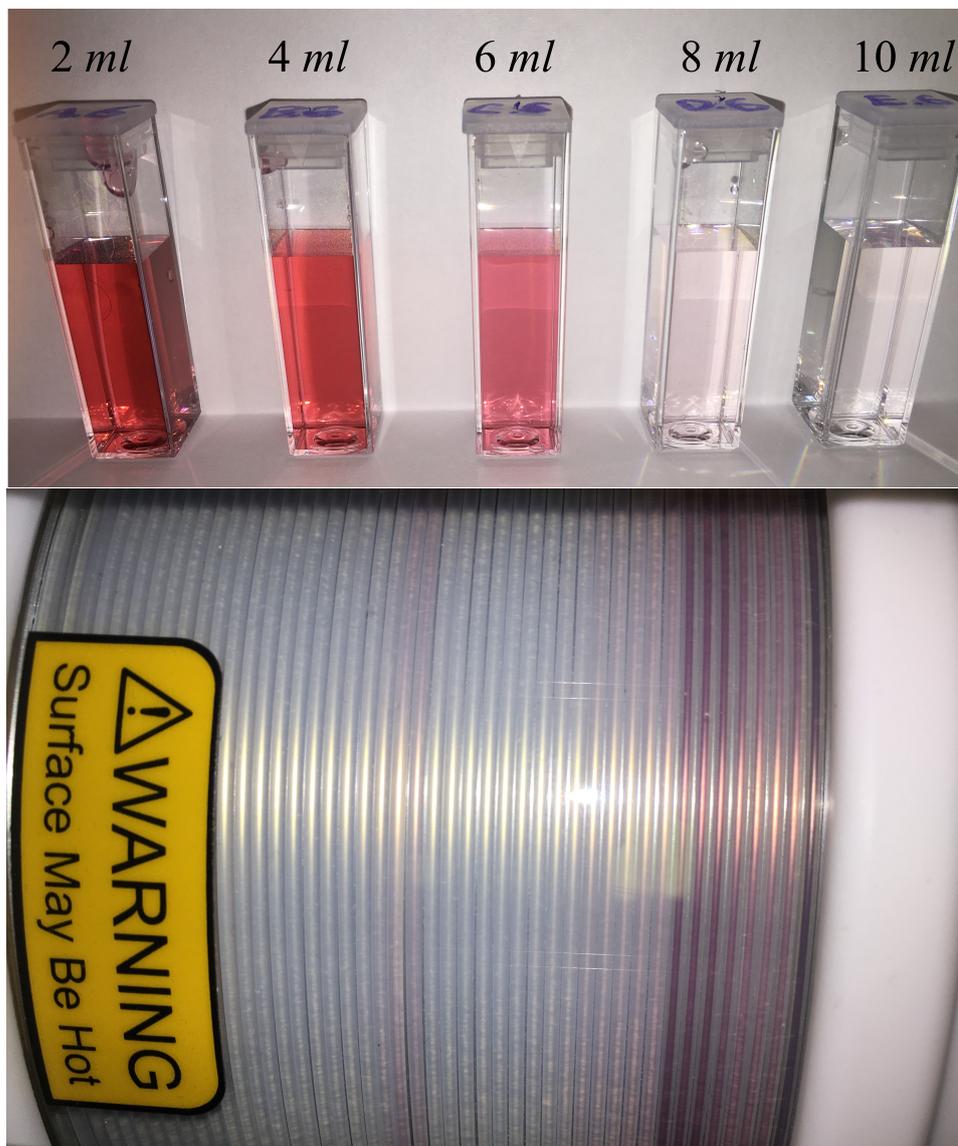
La nuova configurazione adottata si è quindi dimostrata funzionale al corretto proseguimento delle sperimentazioni per l'analisi degli effetti delle diverse condizioni operative.

### **4.3.2 Effetto dell'alta temperatura e terza configurazione microfluidica**

Durante gli esperimenti con oggetto l'effetto della variazione della temperatura sulla sintesi delle nanoparticelle attraverso la metodologia Turkevich, è stato osservato che, nonostante l'utilizzo della soluzione di citrato di sodio in continuo, il ricoprimento del reattore risulta molto più evidente e problematico. Ciò dimostra che l'uso di temperature elevate nel reattore catalizza il processo di ricoprimento: temperature più elevate determinano un ricoprimento molto più evidente per volumi di produzione minori, ovvero la funzionalità del sistema microfluidico ha una durata molto più limitata in termini di quantitativo di prodotto ottenuto. Come è possibile osservare dalla Figura 4.10 e dalla Figura 4.11, al termine delle sessioni sperimentali condotte a più alta temperatura, in cui sono stati prodotti rispettivamente 10 ml di soluzione colloidale, il ricoprimento del reattore è chiaramente visibile ad occhio nudo, ed altrettanto i relativi effetti sui volumi campionati.



*Figura 4.10: Volumi campionati prodotti dalla sintesi operata con  $T_R = 105^\circ\text{C}$  e ricoprimento del reattore al termine della sessione di produzione.*



*Figura 4.11: Volumi campionati prodotti dalla sintesi operata con  $T_R = 110^\circ\text{C}$  e ricoprimento del reattore al termine della sessione di produzione.*

#### CAPITOLO 4. CONSIDERAZIONI FINALI E PROBLEMI RISCONTRATI

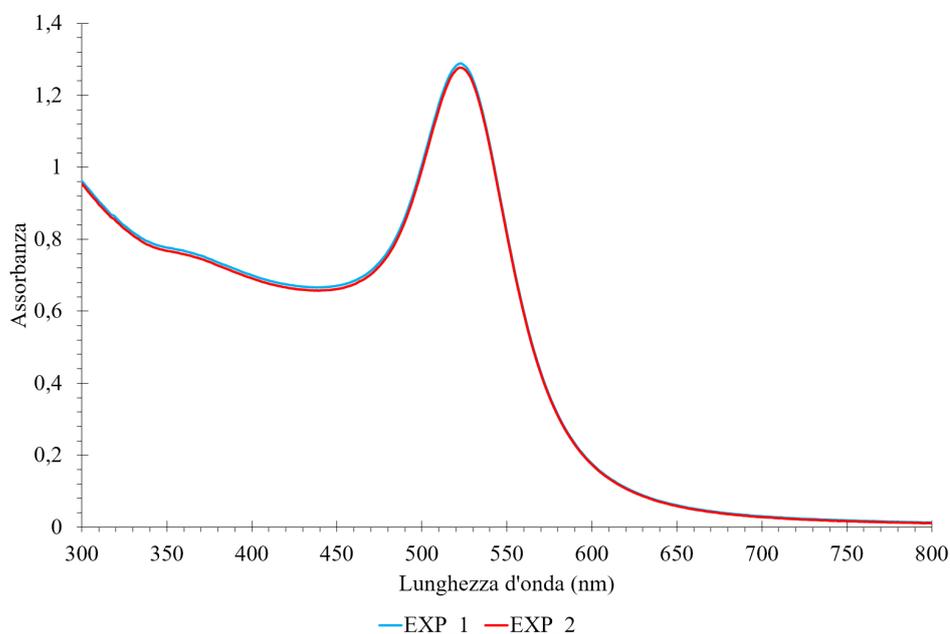
Confrontando le due figure si osserva come la maggiore temperatura di reazione imposta nel reattore renda il ricoprimento e i suoi relativi effetti molto più marcati. In seguito a queste sperimentazioni si è deciso quindi di utilizzare una terza configurazione microfluidica, tale da eliminare definitivamente l'effetto del ricoprimento e limitare il più possibile l'influenza di un esperimento sui successivi all'interno della medesima sessione sperimentale. In questa terza configurazione utilizzata sono stati adottati diversi accorgimenti: innanzitutto è stato aggiunto un ulteriore canale di pompaggio attraverso cui poter pompare in continuo la soluzione di citrato di sodio; gli altri due canali collegati con lo storage pressurizzato contenente acqua MilliQ sono stati collegati con gli iniettori dei reagenti, uno contenente la soluzione di  $\text{HAuCl}_4$  e l'altro contenente acqua regia. In questo modo è stato possibile configurare gli esperimenti nella seguente modalità:

- I Esperimento: iniezione della soluzione di  $\text{HAuCl}_4$  e reazione con la soluzione di  $\text{Na}_3\text{Cit}$  pompata nel reattore alle specifiche condizioni operative impostate.
- II Fase di pulizia con iniezione di acqua regia nel reattore per eliminare qualsiasi residuo del precedente esperimento.
- III Funzionalizzazione delle pareti del reattore con  $\text{Na}_3\text{Cit}$  il quale viene pompato nel reattore a bassa velocità, in modo da limitare l'adesione di nanoparticelle durante l'esperimento successivo.



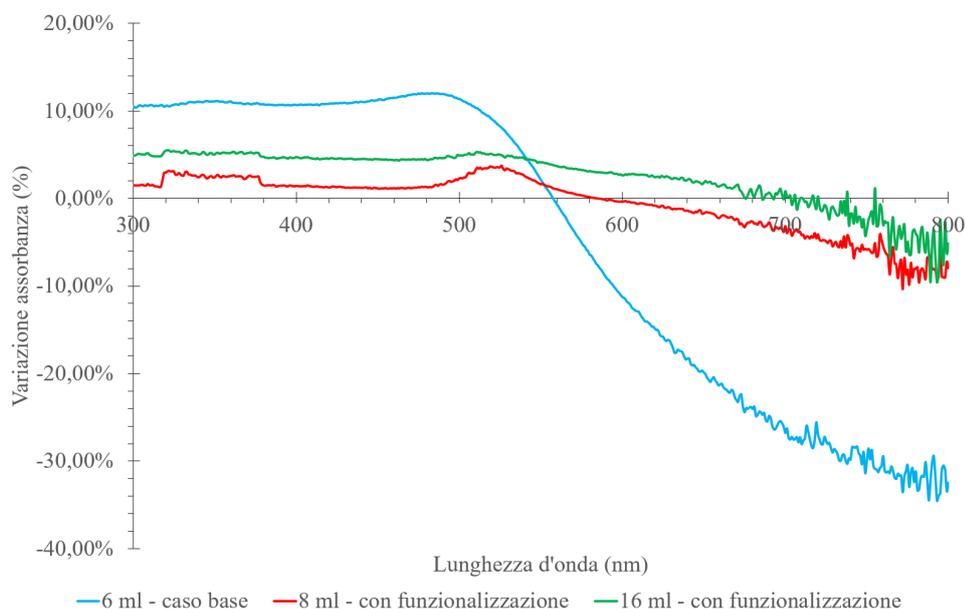
**Figura 4.12:** Configurazione finale del sistema microfluidico Asia utilizzato nel corso del progetto.

Con la configurazione adottata è quindi possibile effettuare una fase di pulizia del reattore intermedia ad ogni esperimento effettuato nella singola sessione, in modo da evitare che un esperimento possa influenzare il risultato del successivo. La possibilità di funzionalizzare le pareti del reattore tubolare con soluzione a pH basico, in modo da determinare una residua carica negativa al fine di ridurre l'adesione delle nanoparticelle durante la sintesi è una tecnica già descritta in letteratura [36]: nel caso in esame è stata utilizzata la stessa soluzione di citrato di sodio come soluzione funzionalizzante nella fase III, lasciata a contatto con le pareti del reattore per un tempo sufficiente affinché la funzionalizzazione si potesse sviluppare correttamente. In Figura 4.12 è possibile osservare il sistema microfluidico Asia nella configurazione finale appena descritta: si noti come, a differenza del sistema rappresentato in Figura 2.5, è presente un secondo modulo di pompaggio, tramite il quale è stato possibile sfruttare un ulteriore canale per il pompaggio continuo di  $\text{Na}_3\text{Cit}$  e la configurazione delle ripetute operazioni di pulizia. Con la configurazione microfluidica descritta sono stati condotti una serie di test per testare la funzionalità del sistema: sono stati impostati una serie di esperimenti tutti alle medesime condizioni operative, intervallati dalle fasi di pulizia e funzionalizzazione con  $\text{Na}_3\text{Cit}$ : i risultati ottenuti sono stati particolarmente positivi. Dall'analisi dello spettro di assorbimento di due volumi campionati prodotti in successione (Figura 4.13) si osserva come le differenze tra i due spettri, e di conseguenza le differenze tra le due soluzioni colloidali prodotte, siano ridotte al minimo.



**Figura 4.13:** Spettro di assorbimento ricavato da due volumi prodotti consecutivamente attraverso la terza configurazione microfluidica adottata.

Sia il la massima assorbanza che la lunghezza d'onda relativa alla risonanza plasmonica superficiale delle nanoparticelle prodotte sono molto simili, mentre è identica la forma dello spettro. Da tale risultato consegue che la nuova configurazione adottata, seppur con tempistiche molto maggiori, risulta ideale a livello laboratoriale per lo studio delle condizioni operative del processo continuo di sintesi delle nanoparticelle attraverso il metodo Turkevich. Difatti, annullando del tutto il ricoprimento, permette di eliminare del tutto l'influenza che un esperimento ha sul successivo. La funzionalizzazione ad opera del citrato risulta sufficientemente efficace: nel caso dei singoli esperimenti, il tempo impostato per la funzionalizzazione è stato di circa 5 minuti, risultato sufficiente per la funzionalizzazione tra i singoli esperimenti; nel caso della sessione di "Produzione continua" descritta nella Sezione 3.4 del Capitolo 3, la funzionalizzazione preliminare alla sintesi è stata effettuata per un tempo molto maggiore di circa 1 ora. Ciò ha permesso di operare con il sistema a piena funzionalità per un volume di produzione molto maggiore: l'efficacia della funzionalizzazione è stata testata mettendo a confronto i dati relativi ad una produzione continua con e senza preliminare funzionalizzazione con la soluzione di  $\text{Na}_3\text{Cit}$ . In Figura 4.14 è rappresentata la variazione dello spettro di assorbimento per diversi volumi di produzione campionati.



**Figura 4.14:** Variazione dello spettro di assorbimento dei diversi volumi di produzione campionati con funzionalizzazione preliminare e nel caso base.

Si ha che la variazione subita nel caso con funzionalizzazione sia sensibilmente minore che nel caso base: infatti, nonostante il maggior volume di produzione campionato, la variazione dello spettro è molto più limitata che nel caso base in cui,

nonostante si sia prodotto un volume di soluzione colloidale minore, la variazione subita dallo spettro a causa del fenomeno di ricoprimento è comunque maggiore. In definitiva è possibile concludere che la funzionalizzazione con  $\text{Na}_3\text{Cit}$  rappresenta un valido metodo per migliorare l'operabilità del sistema microfluidico in continuo per produzione di volumi maggiori di prodotti; la configurazione microfluidica descritta in questa sezione, tramite l'alternanza di fasi di pulizia e breve funzionalizzazione per ogni esperimento permette di effettuare sperimentazioni precise eliminando l'influenza di un esperimento sull'altro durante una singola sessione. Come ultimo aspetto, si noti che dal monitoraggio della pressione all'interno del sistema non sono stati riscontrati evidenti innalzamenti, di conseguenza il ricoprimento osservato nei vari casi analizzati in queste sezioni non ha determinato occlusione della sezione di passaggio tale da provocare un sensibile aumento della pressione di pompaggio e il possibile conseguente arresto di sicurezza del sistema.



## Capitolo 5

# Conclusioni e prospettive future

Nel corso di questo progetto è stata operata la sintesi di nanoparticelle d'oro in continuo attraverso l'utilizzo di un sistema microfluidico. Il crescente interesse verso la sintesi nanomateriali si deve all'eccezionale versatilità che questi dimostrano, avendo proprietà tali da rendersi perfetti candidati per l'ottimizzazione dei processi esistenti e su cui basare l'innovazione tecnologica. La necessità di produrre nanomateriali morfologicamente e dimensionalmente omogenei ha spostato l'attenzione verso metodologie di sintesi sempre più efficaci e precise: in questa ottica, la sintesi in continuo tramite sistemi microfluidici si pone come principale candidata su cui basare il processo di innovazione nell'ambito della produzione sia su scala laboratoriale, sia su più larga scala. Utilizzando come base le informazioni contenute in letteratura circa l'ampiamente studiato metodo Turkevich, usato per la sintesi delle nanoparticelle in questo progetto, è stata testata la sintesi delle nanoparticelle d'oro in continuo, esplorando diverse condizioni operative come tempo di permanenza, temperatura di sintesi, rapporto molare, effetto del pH; i prodotti ottenuti dalla sintesi nelle diverse condizioni sono stati quindi caratterizzati attraverso due diversi tipi di analisi, in modo da ottenere le informazioni necessarie circa la qualità del prodotto sintetizzato. Le informazioni ricavate dall'esplorazione dei parametri operativi sono quindi state utilizzate nel testare il sistema per una produzione su più larga scala, al fine di valutare l'effettiva operabilità del sistema microfluidico in questo ambito. Dai risultati ottenuti si può confermare che la produzione in continuo tramite microfluidica si presta come prima alternativa alla classica sintesi batch, proponendo una produzione di nanoparticelle d'oro di notevole qualità, confrontabile con quanto richiesto dalle specifiche di mercato in termini di omogeneità delle caratteristiche. Dalla caratterizzazione delle nanoparticelle d'oro ottenute si è osservato come i prodotti della sintesi effettuata siano qualitativamente dello stesso livello di quanto acquistabile da rivenditori specializzati, senza dover effettuare ulteriori operazioni di screening post-sintesi: di conseguenza, la maggior precisione del sistema microfluidico nel definire i parametri operativi, permette di ottenere un risultato molto preciso riducendo notevolmente le perdite dovute ai prodotti non qualitativamente accettabili originati dalle diso-

mogeneità delle caratteristiche dell'ambiente di reazione che, nella maggior parte dei casi, caratterizzano la classica sintesi in batch.

In ottica futura, questo progetto di tesi si pone come base per ulteriori sviluppi della sintesi delle nanoparticelle d'oro in continuo: ulteriori sperimentazioni possono essere effettuate al fine di esplorare su una scala più ampia l'effetto delle diverse condizioni operative testate nel corso dello sviluppo di questo progetto, in modo da avere un'ottica più generale riguardo l'effetto dei vari parametri sulle nanoparticelle prodotte, come ad esempio la sintesi a bassa temperatura per tempi di permanenza maggiori, o una più attenta analisi dell'effetto delle elevate temperature. Un ulteriore parametro da poter sottoporre a valutazione è il pH, essendo che i tentativi svolti in questo progetto sono risultati fallimentari. In generale, data la notevole precisione nel definire le condizioni operative, il sistema si presta all'integrazione di un sistema di controllo dei parametri al fine di definire la dimensione delle nanoparticelle ottenute: tramite un sistema di caratterizzazione in-line è possibile definire un sistema di controllo simultaneo basato sui dati ottenuti dalla caratterizzazione ed aggiustare le variabili di processo in modo da ottenere il risultato voluto: grazie al piccolo volume che caratterizza la microfluidica, il sistema reagisce prontamente alla variazione dei parametri operativi, con tempi di induzione molto limitati. Inoltre, la soluzione di acqua regia utilizzata per la pulizia del sistema, può essere recuperata e successivamente utilizzata per il recupero dell'acido cloroaurico da poter riutilizzare nella sintesi delle nanoparticelle d'oro. Da queste considerazioni è possibile concludere come la sintesi delle nanoparticelle d'oro in continuo sia una via percorribile in futuro, che può portare a notevoli miglioramenti in questo specifico ambito di produzione: tramite ulteriori valutazioni ed ottimizzazioni si può far sì che l'uso della microfluidica in continuo diventi la metodologia su cui basare lo sviluppo dei processi di sintesi futuri, su diverse scale di produzione.

## Lista simboli

---

---

$E_{kT}$	Energia termica disponibile
$p_{out}$	Pressione di uscita dal reattore
$Re$	Numero di Reynolds
$t_R$	Tempo di permanenza nel reattore
$T_R$	Temperatura reattore
$V_p$	Volume di prodotto di campionamento

---

## Abbreviazioni

---

---

AuNP	Nanoparticelle d'oro
BPR	Back pressure regulator
EDL	Electric double layer
DLS	Dynamic light scattering
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
LSPR	Localized surface plasmon resonance
M.R.	Rapporto molare tra i reagenti
NMR	Nuclear magnetic resonance
TEM	Trasmission electron microscope

---



# Bibliografia

- [1] Aspect ratio. *In:* Wikipedia, The Free Encyclopedia. [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Aspect\\_ratio&oldid=772540886](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Aspect_ratio&oldid=772540886). Access date, November 30, 2017.
- [2] Tan, Y., Li, Y., & Zhu, D. 2004. Noble metal nanoparticles. In *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 8, 9-40. American Scientific Publishers, Valencia, California, USA.
- [3] Schmid, G., & Corain, B. 2003. Nanoparticulated gold: syntheses, structures, electronics, and reactivities. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2003(17), 3081-3098.
- [4] Zhang, M., Efremov, M. Y., Schiettekatte, F., Olson, E. A., Kwan, A. T., Lai, S. L., Wisleder, T., Greene, J. E., & Allen, L. H. 2000. Size-dependent melting point depression of nanostructures: nanocalorimetric measurements. *Physical Review B*, 62(15), 10548.
- [5] The Lycurgus Cup. *In:* British Museum website. [http://www.britishmuseum.org/research/collection\\_online/collection\\_object\\_details.aspx?objectId=61219&partId=1&searchText=lycurgus+cup&page=1](http://www.britishmuseum.org/research/collection_online/collection_object_details.aspx?objectId=61219&partId=1&searchText=lycurgus+cup&page=1). Access date, November 30, 2017.
- [6] Henderson, J. *The Science and Archaeology of Materials: an Investigation of Inorganic Materials*. Routledge, London, UK, 2013.
- [7] Reddy, V. R. 2006. Gold nanoparticles: synthesis and applications. *Synlett*, 2006(11), 1791-1792.
- [8] Louis, C., & Pluchery, O. *Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology*. World Scientific Publishing Company, Toh Tuck Link, Singapore, 2012.
- [9] Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. 2003. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *Journal of Physical Chemistry B*, 107(3), 668-677.
- [10] Voliani, V. *Update on Gold Nanoparticles*. Smithers Rapra, Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, UK, 2013.

## BIBLIOGRAFIA

---

- [11] Njoki, P. N., Lim, I. I. S., Mott, D., Park, H. Y., Khan, B., Mishra, S., Sujakumar, R., Luo, J., & Zhong, C. J. 2007. Size correlation of optical and spectroscopic properties for gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(40), 14664-14669.
- [12] Orendorff, C. J., Sau, T. K., & Murphy, C. J. 2006. Shape-Dependent Plasmon-Resonant Gold Nanoparticles. *Small*, 2(5), 636-639.
- [13] Song, Y., Hormes, J., & Kumar, C. S. (2008). Microfluidic synthesis of nanomaterials. *Small*, 4(6), 698-711.
- [14] Makgwane, P. R., & Ray, S. S. 2014. Synthesis of nanomaterials by continuous-flow microfluidics: a review. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(2), 1338-1363.
- [15] Whitesides, G. M. 2006. The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 442(7101), 368-373.
- [16] Plutschack, M. B., Pieber, B., Gilmore, K., & Seeberger, P. H. 2017. The Hitchhiker's Guide to Flow Chemistry. *Chemical Reviews*, 117(18), 11796-11893.
- [17] Abou-Hassan, A., Sandre, O., & Cabuil, V. 2010. Microfluidics in inorganic chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(36), 6268-6286.
- [18] Turkevich, J., Stevenson, P. C., & Hillier, J. 1951. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 11(1), 55-75.
- [19] Kettemann, F., Birnbaum, A., Witte, S., Wuithschick, M., Pinna, N., Kraehnert, R., Rademann, K., & Polte, J. 2016. Missing piece of the mechanism of the turkevich method: the critical role of citrate protonation. *Chemistry of Materials*, 28(11), 4072-4081.
- [20] Hauser, E. A., & Lynn, J. E. Experiments in Colloid Chemistry. McGraw-Hill book Company, Incorporated, New York, USA, 1940.
- [21] Wuithschick, M., Birnbaum, A., Witte, S., Sztucki, M., Vainio, U., Pinna, N., Rademann, K., Emmerling, F., Kraehnert, R., & Polte, J. (2015). Turkevich in new robes: key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis. *ACS nano*, 9(7), 7052-7071.
- [22] Kumar, S., Gandhi, K. S., & Kumar, R. (2007). Modeling of formation of gold nanoparticles by citrate method. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46(10), 3128-3136.
- [23] Nguyen, T. D., & Do, T. O. Size-and shape-controlled synthesis of mono-disperse metal oxide and mixed oxide nanocrystals. In *Nanocrystal*. InTech, London, UK, 2011.

- [24] Cardone, G. 2008. Controllo della forma di nano strutture metalliche disperse in polimero (Doctoral dissertation, Università degli Studi di Napoli Federico II).
- [25] Polte, J. 2015. Fundamental growth principles of colloidal metal nanoparticles—a new perspective. *CrystEngComm*, 17(36), 6809-6830.
- [26] Li, C., Li, D., Wan, G., Xu, J., & Hou, W. Facile synthesis of concentrated gold nanoparticles with low size-distribution in water: temperature and pH controls. *Nanoscale Research Letters*, 6(1), 440-450.
- [27] Mohamed, M. B., Wang, Z. L., & El-Sayed, M. A. 1999. Temperature-dependent size-controlled nucleation and growth of gold nanoclusters. *The Journal of Physical Chemistry A*, 103(49), 10255-10259.
- [28] Ftouni, J., Penhoat, M., Addad, A., Payen, E., Rolando, C., & Girardon, J. S. 2012. Highly controlled synthesis of nanometric gold particles by citrate reduction using the short mixing, heating and quenching times achievable in a microfluidic device. *Nanoscale*, 4(15), 4450-4454.
- [29] Haiss, W., Thanh, N. T., Aveyard, J., & Fernig, D. G. 2007. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra. *Analytical chemistry*, 79(11), 4215-4221.
- [30] Shi, L., Buhler, E., Boué, F., & Carn, F. 2017. How does the size of gold nanoparticles depend on citrate to gold ratio in Turkevich synthesis? Final answer to a debated question. *Journal of Colloid and Interface Science*, 492, 191-198.
- [31] Thanh, N. T., Maclean, N., & Mahiddine, S. 2014. Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution. *Chemical Reviews*, 114(15), 7610-7630.
- [32] Ji, X., Song, X., Li, J., Bai, Y., Yang, W., & Peng, X. 2007. Size control of gold nanocrystals in citrate reduction: the third role of citrate. *Journal of the American Chemical Society*, 129(45), 13939-13948.
- [33] Schulz, F., Homolka, T., Bastús, N. G., Puentes, V., Weller, H., & Vossmeier, T. (2014). Little adjustments significantly improve the Turkevich synthesis of gold nanoparticles. *Langmuir*, 30(35), 10779-10784.
- [34] Xia, H., Bai, S., Hartmann, J., & Wang, D. 2009. Synthesis of monodisperse quasi-spherical gold nanoparticles in water via silver (I)-assisted citrate reduction. *Langmuir*, 26(5), 3585-3589.
- [35] Bayazit, M. K., Yue, J., Cao, E., Gavriilidis, A., & Tang, J. 2016. Controllable synthesis of gold nanoparticles in aqueous solution by microwave assisted flow chemistry. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(12), 6435-6442.

## *BIBLIOGRAFIA*

---

- [36] Rahman, M. T., & Rebrov, E. V. 2014. Microreactors for gold nanoparticles synthesis: from Faraday to flow. *Processes*, 2(2), 466-493.