

Universitatea Babeș-Bolyai  
Facultatea de Fizică

Fabricarea și caracterizarea  
nanoparticulelor de FeB pentru  
aplicații ca agent de contrast în MRI

Rezumatul Tezei de Doctorat

Prezentat de:

**Oprea Bogdan Florin**

Conducător Științific

Prof. Dr. Simon Simion

Cluj-Napoca, Octombrie 2013





Universitatea  
BABEŞ-BOLYAI



# Fabricarea și caracterizarea nanoparticulelor de FeB pentru aplicații ca agent de contrast în MRI

Rezumatul Tezei de Doctorat

Cluj-Napoca, Octombrie 2013

## Conținut

<b>I. Obiectivele și motivația</b> .....	<b>1</b>
<b>II. Tehnicile utilizate pentru fabricarea nanoparticulelor</b> .....	<b>3</b>
II.1. Procedura de sinteză a NPs de FeB .....	3
II.1.2. Funcționalizarea la suprafață a NPs de FeB cu polyethylene-glycol.....	4
II.1.2.1. Funcționalizarea directă a suprafeței depozitului de NPs .....	4
II.1.2.2. Funcționalizarea cu PEG a NPs dispersate.....	4
<b>III. Creșterea și caracterizarea nanoparticulelor de FeB</b> .....	<b>5</b>
III.1. Caracterizarea morfologică: AFM .....	5
III.2. Caracterizarea structurală: TEM .....	6
III.3. Caracterizarea chimică: XPS .....	7
III.4. Caracterizarea magnetică: SQUID .....	16
<b>IV. Funcționalizarea și caracterizarea suprafeței nanoparticulelor de FeB</b> .....	<b>19</b>
IV.1. Funcționalizarea directă pe substratul de siliciu a suprafeței NPs de FeB .....	19
IV.1.1. Caracterizarea chimică: XPS.....	19
IV.1.1.1. Caracterizarea compativă a suprafeței NPs de FeB depozitate inițial/funcționalizate .....	19
IV.1.1.2. Caracterizarea profilului în adâncime al NPs de FeB funcționalizate pe substrat.....	23
IV.1.2. Caracterizarea structurală: Raman.....	30
IV.2. NPs de FeB dispersate și funcționalizate pentru aplicații „in vitro” ca și agent de contrast în MRI.....	32
IV.2.1. Caracterizarea structurală: UV-Vis .....	32
IV.2.2. Caracterizarea sarcinii suprafeței: Potențial Zeta .....	34
IV.2.3. Aplicațiile “in vitro”: agent de contrast în MRI.....	35
IV.2.3.1. Îmbunătățirea contrastului în funcție de concentrația de NPs .....	35
IV.2.3.2. Influența acoperirii cu PEG asupra îmbunătățirii contrastului și a stabilității coloidale .....	37
<b>Concluzii</b> .....	<b>39</b>

## Referințe

**Cuvinte cheie:** FeB, Nanoparticule, Sursă de Clustere de Ioni, Suprafață, Profil în adâncime, Superparamagnetism, PEG, Funcționalizare, Agent de contrast în MRI

## I. Obiectivele și motivația

Compușii pe bază de metal și bor, așa cum sunt și particulele de fier și bor, prezintă o varietate de posibile aplicații, ca și catalizatori, materiale magnetice, materiale electronice etc <sup>1</sup>, datorită compoziției lor structurale și a ariei mari a suprafeței comparativ cu volumul <sup>2,3</sup>. Marele avantaj datorat utilizării borului în structura nanoparticulelor (NPs) de fier a fost deja investigat anterior <sup>4</sup>. În special Narita et al. a demonstrat că nanoparticulele pe bază de FeB arată o protecție mai mare împotriva oxidării și uzurii, dar și faptul că, caracterul izolator al borului contribuie la reducerea interacțiunii magnetice dintre nanoparticule.

În acest studiu, nanoparticulele de FeB au fost investigate pentru aplicațiile lor ca și agent de contrast în MRI. Ideea folosirii nanoparticulelor bazate pe fier în acest domeniu a fost deja discutată în trecut <sup>5</sup>. Mai întâi am înfățișat proprietățile morfologice, structurale, chimice și magnetice ale nanoparticulelor de FeB fabricate folosind o sursă de clustere de ioni (ICS) bazată pe tehnica de sputtering și încărcată cu o țintă cu compoziția chimică atomică de Fe<sub>50</sub>B<sub>50</sub>. Sursa de clustere de ioni este o metodă de sputtering pentru fabricarea nanoparticulelor, care are ca avantaj operarea în mediu de vid ultra-înalt, permițând astfel o puritate chimică ridicată. Mai mult, dimensiunea și fluxul nanoparticulelor, fabricate prin această tehnică, sunt independente de condițiile substratului. Tehnica permite deasemenea oxidarea sau nitrurarea nanoparticulelor într-un mod controlat, prin ajustarea fluxului de oxigen sau de azot, în timpul procesului de depozitare <sup>6-9</sup>. Deși rezultatele raportate în prima parte a acestui studiu pot fi catalogate ca fiind mai mult fundamentale decât aplicative, o astfel de fabricare și caracterizare a nanoparticulelor este necesară pentru viitoarele aplicații în medicină ca și agent de contrast în MRI.

În continuare, funcționalizarea cu PEG a suprafeței nanoparticulelor a fost obligatorie pentru a evita eliminarea rapidă a acestora din circulație, cauzată de posibila lipsă a biocompatibilității sau a stabilității coloidale în soluția apoasă <sup>10,11</sup>. Legarea lanțurilor chimice specifice ale PEG-ului de suprafața nanoparticulelor, dar și schimbările chimice și structurale, au fost investigate. Au fost realizate două tipuri diferite de atașare a PEG-ului de suprafața nanoparticulelor. Mai întâi, pentru investigarea atașamentului PEG-ului și a schimbărilor în proprietățile chimice și structurale, depozitul de nanoparticule a fost direct funcționalizat pe substratul de siliciu. După aceasta, pentru investigarea îmbunătățirii contrastului, nanoparticulele au fost mai întâi separate de pe substrat și doar apoi funcționalizate cu polyethylen-glycol (PEG).

Analizele MRI ‘in vitro’ au fost realizate aplicând un câmp magnetic de 7 T. Acest aspect este important, ținând cont că analizele clinice, pentru investigarea îmbunătățiri contrastului nanoparticulelor în MRI, se realizează la câmpuri magnetice mai mari <sup>12</sup>. Raspunsul ca agent de contrast în MRI al nanoparticulelor de FeB, atât neacoperite cât și acoperite cu PEG, este promițător pentru viitoarele studii ‘in vivo’.

Teza este împărțită în cinci capitole, după cum urmează:

Primul capitol amintește câteva caracteristici despre fabricarea nanoparticulelor superparamagnetice și aplicațiile lor în domeniul biomedical. În mod special, aplicațiile nanoparticulelor ca și agent de contrast în MRI și factorii care influențează eficiența acestora, cum sunt dimensiunea, biocompatibilitatea, modificarea suprafeței, au fost discutate. Tehnicile de imagistică existente au fost de asemenea amintite.

Capitolul II descrie procedurile de fabricare (ICS) și de acoperire (funcționalizare cu PEG) a nanoparticulelor, dar și câteva principii de bază ale tehnicilor și echipamentelor utilizate pentru analiza nanoparticulelor de FeB.

Capitolul III înfățișează studiul proprietăților morfologice, chimice, structurale și magnetice ale nanoparticulelor fabricate utilizând o sursă de clustere de ioni (ICS). Un flux de azot a fost utilizat în timpul procesului de depozitare pentru a reduce nivelul de oxidare. Analizele realizate prin AFM și TEM au fost utilizate pentru a investiga dimensiunea nanoparticulelor din punct de vedere al înălțimii și respectiv al diametrului. Măsurătorile TEM au fost de asemenea folosite pentru a determina natura amorfă sau cristalină a depozitului de nanoparticule. Evoluția chimică cu adâncimea a fost urmărită prin măsurători XPS, realizate pe proba fabricată inițial, dar și după diferiți timpi de bombardament cu ioni de Ar<sup>+</sup>, până la 490 de minute, corespunzând unui interval de adâncime între 0 și 38.5 nm. Măsurătorile SQUID au fost implicate pentru a investiga proprietățile magnetice ale nanoparticulelor de FeB la temperatura camerei, dar și la temperaturi joase. De asemenea, două metode teoretice, și anume Langevin fit și Triple fit, au fost utilizate pentru a determina dimensiunea superparamagnetică a nanoparticulelor.

În Capitolul IV au fost realizate atât o analiză comparativă între nanoparticulele neacoperite și cele acoperite cu PEG, cât și o analiză în adâncime a celor acoperite cu PEG. În primul rând, pentru a demonstra atașamentul PEG-ului dar și schimbările care apar în proprietățile structurale și chimice, a fost investigat depozitul de nanoparticule funcționalizat

direct pe substratul de siliciu. Analiza XPS comparativă, între scan-urile largi și spectrele de înaltă rezoluție ale nanoparticulelor neacoperite și acoperite, indică schimbări importante în structura chimică a suprafeței. Măsurătorile XPS au fost însoțite de asemenea de analizele FTIR și Raman, pentru a confirma prezența lanțurilor chimice provenite de la polyethylene-glycol în proba funcționalizată. Analiza în adâncime a fost folosită pentru a investiga structura nanoparticulelor funcționalizate, dar și grosimea stratului de PEG legat de suprafața depozitului. Schimbările care apar la nivelul grupurilor chimice, între suprafață și interiorul nanoparticulelor funcționalizate, au fost înfățișate în intervalul 0-19.1 nm adâncime. Următorul pas a constat în investigarea îmbunătățirii contrastului, iar pentru aceasta, au fost utilizate nanoparticule de FeB care mai întâi au fost separate de substrat și mai apoi funcționalizate cu PEG. Nanoparticulele dispersate și funcționalizate individual au fost investigate prin măsurători UV-Vis și Zeta Potențial, pentru a demonstra interacțiunea chimică dintre suprafața acestora și lanțurile chimice caracteristice PEG-ului, în bună corelare cu rezultatele XPS, Raman și FTIR obținute pe nanoparticulele funcționalizate pe substrat. Trei concentrații diferite de nanoparticule (0.15 mM, 0.30 mM și 0.44 mM) au fost utilizate pentru a investiga schimbările contrastului în funcție de creșterea concentrației. Pentru a înfățișa schimbările contrastului după funcționalizare, nanoparticulele de FeB cu concentrația de 0.30 mM au fost urmărite înainte și după funcționalizare. Stabilitatea coloidală a fost de asemenea urmărită în funcție de timp, după dispersia în soluția apoasă.

În final, Capitolul V prezintă concluziile acestui studiu.

## II. Tehnicile utilizate pentru fabricarea nanoparticulelor

### II.1. Procedura de sinteză a NPs de FeB

Probele au fost crescute la Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid, pe substraturi de siliciu de dimensiunea  $10 \times 10 \text{ mm}^2$  și pe grile de carbon (pentru măsurători TEM) folosind o Sursă de Clustere de Ioni (ICS) de la Oxford Applied Research <sup>9</sup> (vezi figura 1), conectată la o cameră de vid ultra-înalt cu o presiune de bază de aproximativ  $10^{-9}$  mbar. ICS a fost echipată cu o sursă de sputtering (un magnetron de 2 inci) încărcată cu o țintă cu structura  $\text{Fe}_{50}\text{B}_{50}$ . În timpul procesului de depozitare presiunile în zona de agregare și în sistemul de vid ultra-înalt au fost de aproximativ  $10^{-3}$  mbar și respectiv  $10^{-5}$  mbar.

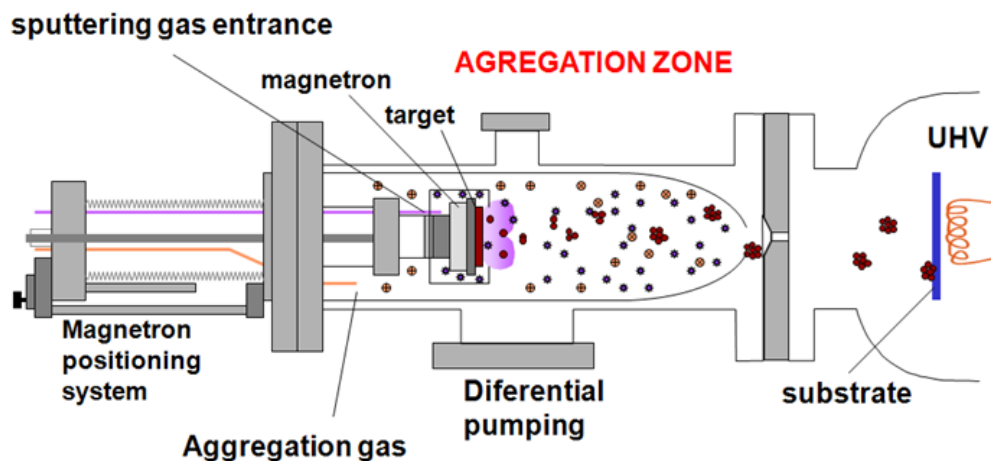


Figura 1: Vedere schematică a Sursei de Clustere de Ioni <sup>7</sup>.

## II.2. Funcționalizarea la suprafață a NPs de FeB cu polyethylene-glycol

Luând în calcul necesitățile tehnicilor de caracterizare utilizate, atașarea PEG-ului de NPs de FeB s-a realizat prin două metode diferite.

### II.2.1. Funcționalizarea directă a suprafeței depozitului de NPs

Pentru caracterizarea proprietăților structurale și chimice, nanoparticulele au fost funcționalizate direct pe substraturile de  $\text{SiO}_x$  (vezi figura 2). O soluție apoasă a fost preparată amestecând 50  $\mu\text{l}$  de PEG 400 cu 5 ml de apă deionizată ultrapură și, pentru o mai bună diluție, amestecul a fost agitat timp de 5 minute. Depozitul de NPs a fost suspendat în această soluție și interacțiunile dintre PEG și suprafața depozitului de NPs au fost permise timp de 4 ore la temperatura camerei <sup>13</sup>. În acest timp amestecul rezultat a fost agitat ușor. După acest proces, înainte de a fi analizat, depozitul a fost spălat de patru ori în apă deionizată ultrapură pentru a înlătura moleculele libere de PEG, și uscat în etuvă (în aer) la 37  $^{\circ}\text{C}$ .

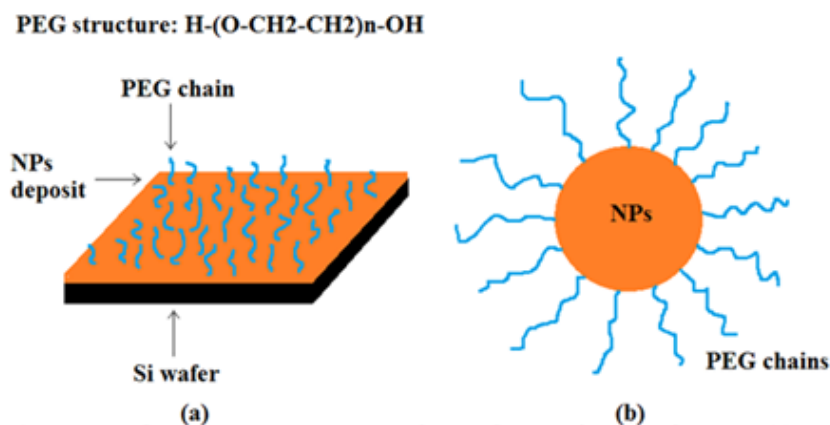
### II.2.2. Funcționalizarea cu PEG a NPs dispersate

În cazul analizării comportamentului ca și agent de contrast, NPs au fost mai întâi separate de pe substratul de siliciu (vezi figura 2b). Substratul cu NPs de FeB depuse pe suprafața lui a fost introdus în 5 ml de apă deionizată ultrapură și sonicat la temperatura camerei, folosind baia de ultrasunete Elma E 60 H Elmasonic. După separarea de substrat, interacțiunile dintre NPs au fost aproape neglijabile, acestea fiind bine dispersate în soluția apoasă. Acest comportament va fi prezentat în detaliu în Capitolul III, unde va fi înfățișată lipsa interacțiunii din punct de vedere magnetic dintre NPs.



Pentru a obține o imagine comparativă relevantă între NPs de FeB nelegate și cele legate de PEG în același mediu, au fost preparate două soluții dintre care una a fost amestecată cu soluția apoasă de PEG.

Astfel, în ferofluidul format a fost adăugată o cantitate de 50  $\mu$ l de PEG 400, compusul rezultat fiind ușor agitat timp de 4 ore<sup>13</sup>. Pentru a înlătura moleculele de PEG nelegate și pentru a



**Figura 2:** Reprezentare schematică a depozitului de NPs funcționalizat (a) și a NPs dispersate și funcționalizate (b) cu polyethylene-glycol (PEG)

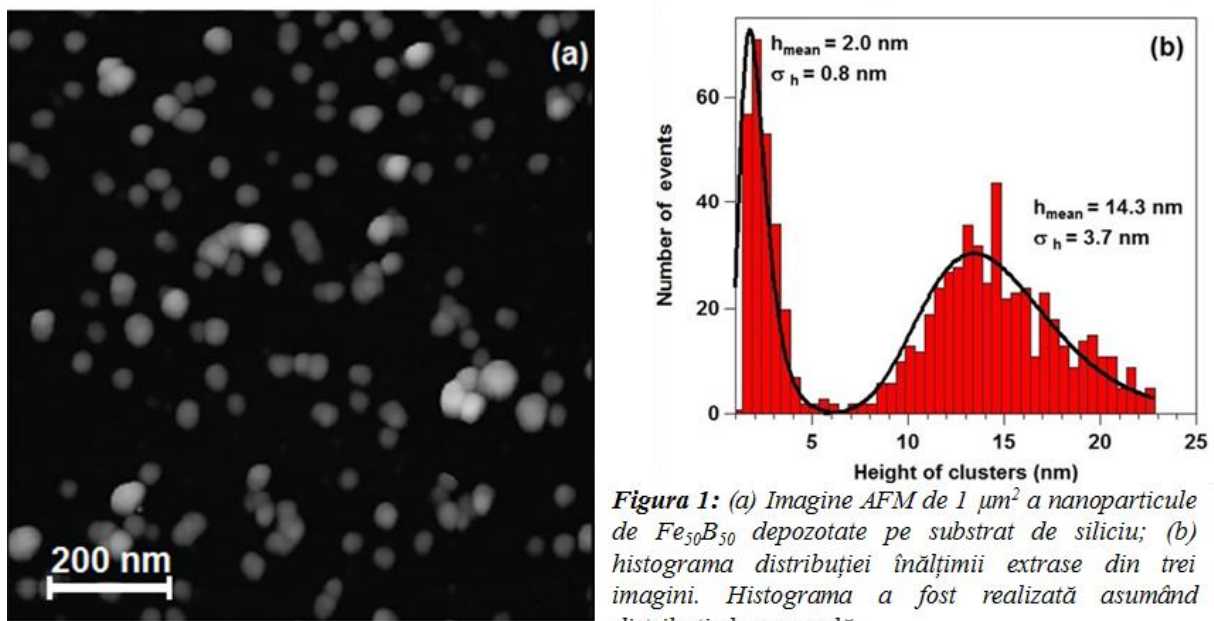
obține un ferofluid stabil, evitând astfel eventualele agregări inter-particule, soluția a fost apoi centrifugată la o viteză de 15000 rpm, cu ajutorul echipamentului Micro 22 Hettich.

### III. Creșterea și caracterizarea nanoparticulelor de FeB

#### III.1. Caracterizarea morfologică: AFM

AFM a fost utilizat pentru a caracteriza depozitul pe substratul de siliciu. Înălțimea și densitatea particulelor au fost extrase din imaginile AFM și corelate cu parametrii de lucru ai ICS: puterea magnetronului, fluxul de sputter cu Ar, fluxul de sputter cu azot și lungimea de agregare, mărimea aperturii fiind fixată<sup>14</sup>. Parametrii de lucru au fost ajustați pentru a obține un flux mare de nanoparticule cu înălțimea medie apropiată de 15 nm. Nanoparticulele cu o astfel de dimensiune este posibil să prezinte o circulație destul de lungă în mediile biologice<sup>15,16</sup> și ar trebui să aibă un comportament superparamagnetic, ca și în cazul nanoparticulelor pe bază de oxid de fier ( $Fe_3O_4$ ,  $Fe_2O_3$ ) cu o dimensiune similară<sup>15,17</sup>. În figura 1a am expus o imagine reprezentativă care a fost înregistrată pe un depozit unde NPs au dimensiunea și rata de depozitare ca cele folosite în acest studiu. Parametrii de lucru corespunzători au fost: lungimea de agregare de 100 mm, fluxul de Ar de 100 sccm, fluxul de azot de 0.5 sccm, puterea magnetronului de 43,5 W și timpul de depozitare de 30 s care a dat o rată de depozitare apropiată de  $9 \text{ NPs s}^{-1} \cdot \mu\text{m}^2$ . Distribuția înălțimilor în figura 1b a fost extrasă din mai multe imagini ca și cea prezentată în figura 1a. Aceasta a însumat un total de

767 entități distribuite în 2 populații distincte de NPs, determinarea înălțimilor medii realizându-se utilizând distribuția lognormală<sup>18</sup>. Prima populație a avut înălțimea medie de  $h_{\text{mean}} \approx 2.0$  nm cu o deviație standard de  $\sigma_h \approx 0.6$  nm. Această populație reprezintă aproximativ 30% din întreaga cantitate de NPs și 0.13% din greutatea totală. Cea de-a doua populație a avut o înălțime medie de  $h_{\text{mean}} = 14.3$  nm cu o deviație standard de  $\sigma_h = 2.6$  nm. După cum s-a dedus din distribuția dimensiunilor, populația de nanoparticule mai mari este dominantă atât din punct de vedere al numărului cât și al masei lor. Este de așteptat ca într-un câmp magnetic aplicat, semnalul magnetic provenit de la nanoparticulele mai mici să fie aproape neglijabil în comparație cu cel provenit de la nanoparticulele mai mari.

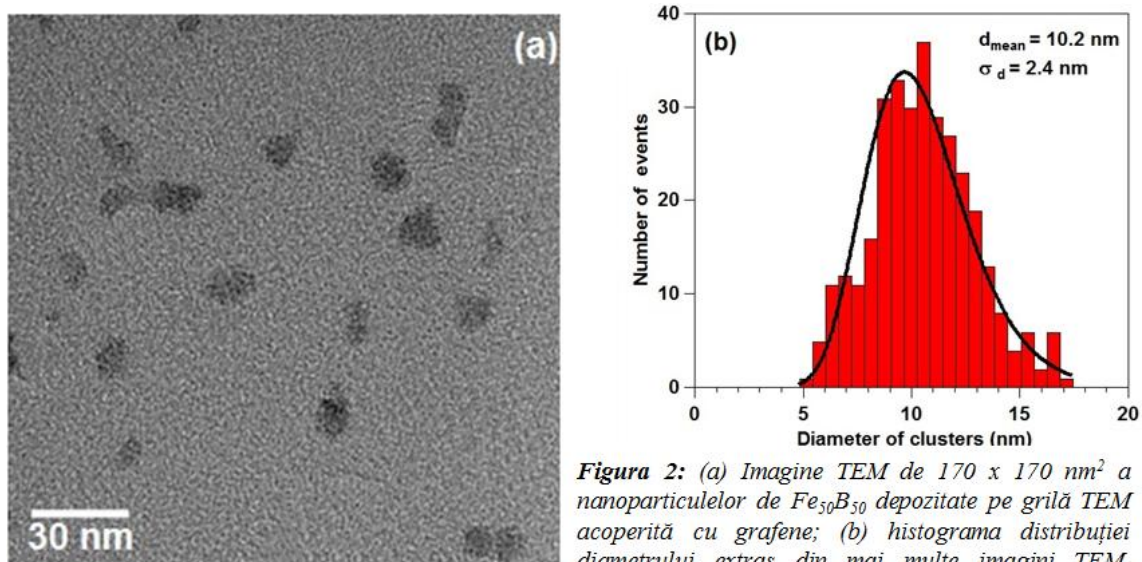


**Figura 1:** (a) Imagine AFM de  $1 \mu\text{m}^2$  a nanoparticule de  $\text{Fe}_{50}\text{B}_{50}$  depozitate pe substrat de siliciu; (b) histograma distribuției înălțimii extrase din trei imagini. Histograma a fost realizată asumând distribuția lognormală.

### III.2. Caracterizarea structurală: TEM

Pentru a stabili forma nanoparticulelor au fost realizate măsurători TEM. Chiar dacă AFM este potrivită pentru a determina înălțimea și densitatea nanoparticulelor, această tehnică nu ne poate da informații despre diametru datorită convoluției inerente dintre tip și nanoparticule<sup>19</sup>. Astfel, distribuția diametrului nanoparticulelor a fost determinată folosind imagini TEM cu vedere plană, așa cum este cea prezentată în figura 2a. Imaginile TEM au arătat o distribuție omogenă din punct de vedere al diametrului și lipsa agregării între particule. Deasemenea a fost evidențiată lipsa cristalinității, nanoparticulele având o natură amorfă. De notat că această natură amorfă a NPs de  $\text{Fe}_{50}\text{B}_{50}$  este comparabilă cu natura amorfă a filmelor subțiri pe bază de fier și bor, unde faza cristalină este observată doar pentru concentrații atomice ale fierului mai mari de 80%<sup>20</sup>.

Distribuția diametrului extrasă din analiza mai multor imagini TEM este înfățișată în figura 2b. Numarul total de evenimente folosit în distribuția dimensiunii este de 315 și, ca și pentru distribuția pe înălțime, a fost utilizată funcția lognormală pentru a calcula diametrul mediu. Astfel, diametrul mediu și deviația standard rezultate sunt  $d_{\text{mean}} = 10.1 \text{ nm}$  și  $\sigma_d = 1.8 \text{ nm}$ . Luând în calcul înălțimea medie și diametrul mediu măsurate, dar și deviațiile standard ale acestora, se poate afirma că NPs de FeB au o formă sferică. Deviația mai mare dintre înălțimea și diametrul măsurate, în comparație cu alte sisteme <sup>7</sup>, poate proveni de la caracterul higroscopic ridicat al NPs de FeB care dă o înălțime ușor mai mare când sunt măsurate în modul dinamic. Aceasta indică faptul că nanoparticulele nu sunt deformate în timpul procesului de depozitare, datorită unei “aterizări ușoare”, după cum deja s-a arătat în alte studii <sup>7</sup>. Datorită contrastului scăzut dintre grilele TEM acoperite cu carbon și nanoparticulele de FeB, ne-a fost imposibil să observăm populația mai mică de nanoparticule.

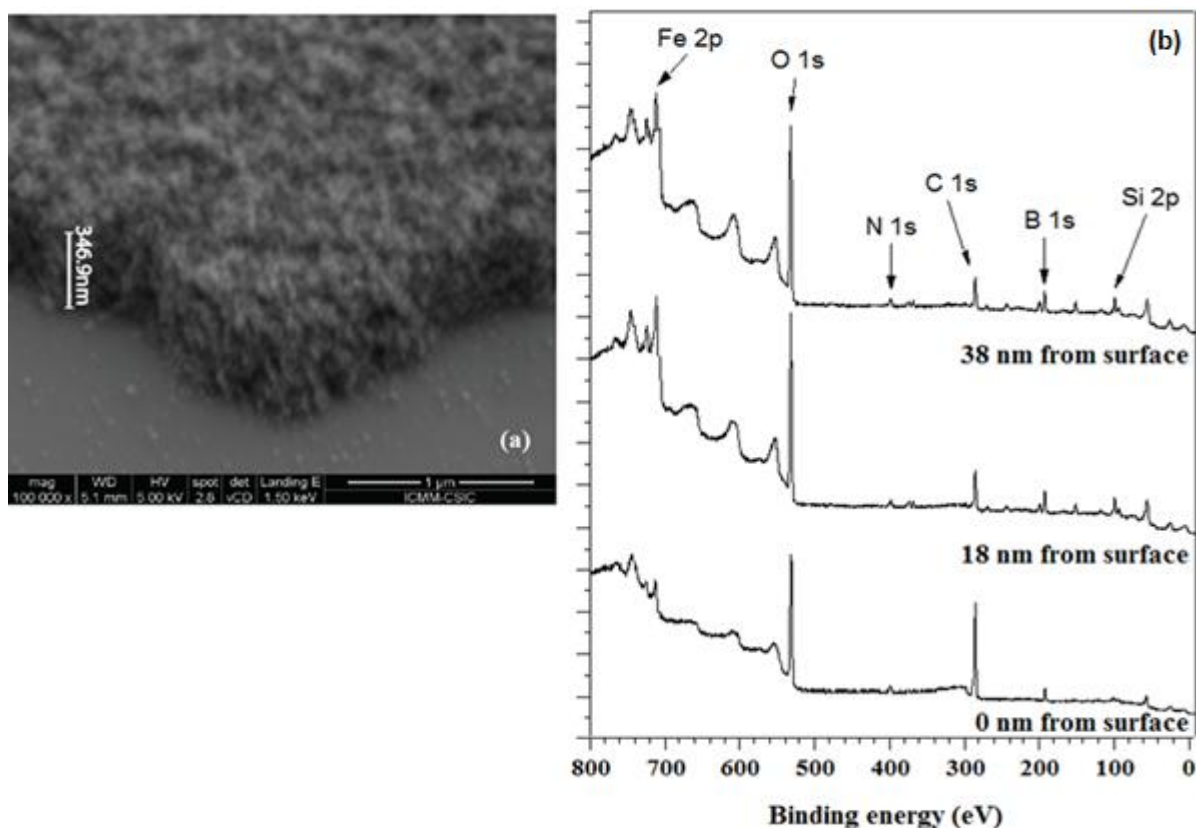


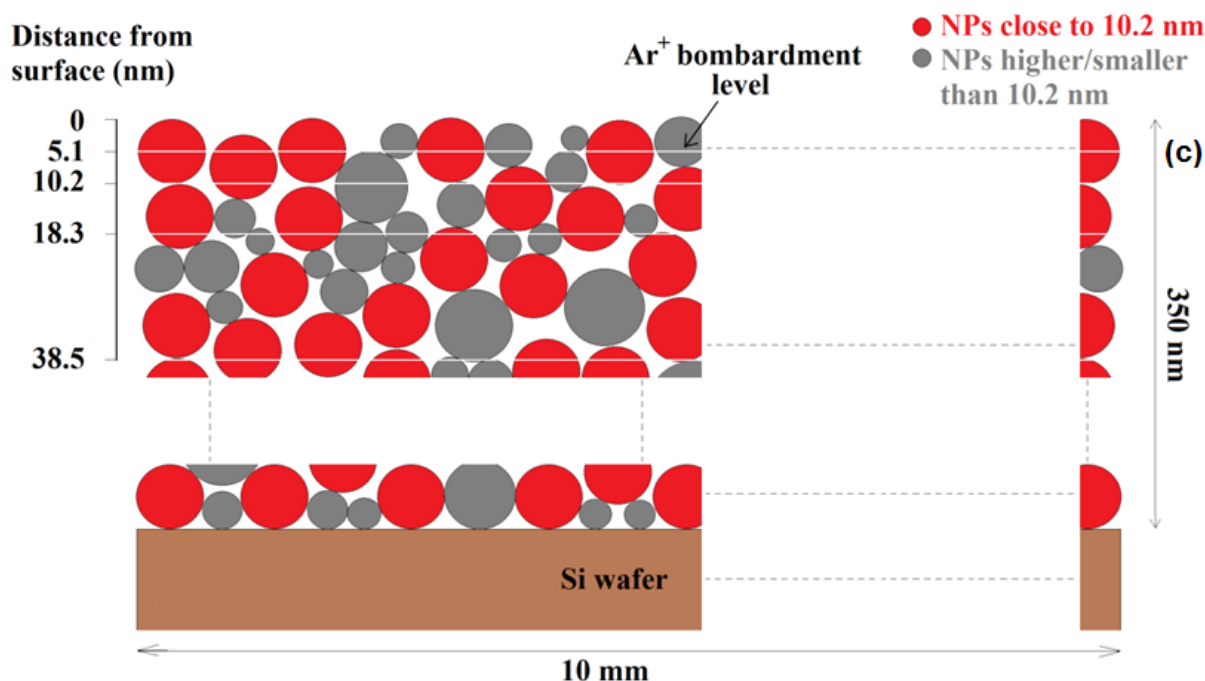
**Figura 2:** (a) Imagine TEM de  $170 \times 170 \text{ nm}^2$  a nanoparticulelor de  $\text{Fe}_{50}\text{B}_{50}$  depozitate pe grilă TEM acoperită cu grafene; (b) histograma distribuției diametrului extras din mai multe imagini TEM. Histograma a fost realizată asumând o distribuție lognormală.

### III.3. Caracterizarea chimică: XPS

Analiza XPS s-a realizat pe o probă formată din mai multe straturi de NPs de FeB pentru a minimiza semnalul de fotoemisie provenit de la substratul de siliciu. Grosimea acestei probe a fost determinată de măsurătorile SEM ca fiind de 350 nm (vezi figura 3a). Depozitul a fost transferat din ICS în camera de analiză XPS (fiind expus la aer în timpul transferului) și măsurat inițial și după diferiți timpi de sputtering pentru a investiga profilul pe adâncime al structurii NPs din punct de vedere al compoziției chimice. Bombardamentul cu ioni de  $\text{Ar}^+$  sau coroziunea a fost realizată până la 490 de minute. Adâncimea corespunzătoare

a fost calculată luând în calcul faptul că rata de coroziune este similară cu cea a compusului de FePd<sup>21</sup>. Ținând cont de această presupunere, adâncimea maximă a fost găsită ca fiind 38.5 nm. Figura 3b arată scan-urile XPS extinse pentru proba inițială și după diferite adâncimi intermediare până la 38.5 nm. Componentele elementelor prezente în probă sunt indicate. După cum se poate observa, componentele care reprezintă O 1s și C 1s sunt cele mai intense la suprafața probei analizată inițial, după depozitare (spectrul de jos), datorită contaminării atmosferice apărute în timpul transferului. În urma bombardamentului cu Ar<sup>+</sup>, intensitățile relative ale vârfurilor XPS, care aparțin celorlalte elemente, cresc ca rezultat al înlăturării contaminării atmosferice. După cum poate fi observat în figura 3, componenta C 1s este destul de intensă chiar și la adâncimea maximă. Acest comportament este datorat porozității ridicate a depozitului<sup>8</sup> care permite penetrarea carbonului în adâncime, în interiorul straturilor de NPs, în timpul transferului efectuat în condiții atmosferice.



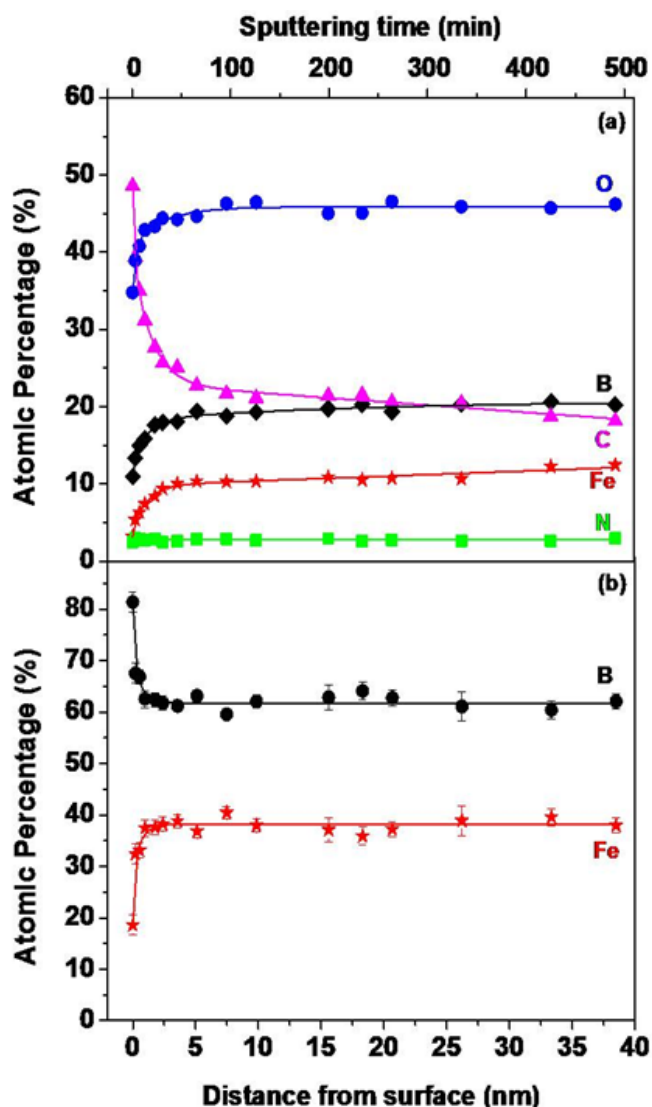


**Figura 3:** (a) Imagine SEM ilustrând grosimea depozitului de nanoparticulelor de  $Fe_{50}B_{50}$  de pe substratul de siliciu; (b) Scan-urile XPS largi ale NPs de FeB depozitate inițial și după diferiți timpi de sputtering; (c) Vedere schematică a depozitului de NPs după diferite nivele de bombardament cu ioni de argon.

Înainte de a trece la o analiză în detaliu a diferitelor specii chimice prezente în probă în funcție de distanța față de suprafață, mai întâi am înfățișat în figura 4a evoluția în funcție de adâncime a elementelor de interes Fe, B, N, O și C (în procente atomice) extrase din scanurile XPS extinse ca și cele prezentate în figura 3. În graficul din figura 4a semnalul XPS provenit de la Si 2p a fost ignorat, având în vedere faptul că nu conține informații despre depozitul de NPs. Deși neglijabilă, contribuția la semnalul O 1s a oxidului de siliciu a fost de asemenea extrasă din evoluția oxigenului cu adâncimea prezentată în figura 4a. Acest lucru a putut fi realizat prin deconvoluția spectrului O 1s, după cum va fi detaliat mai târziu. Graficul din figura 4a indică o cantitate foarte mică (aproximativ 3%) și stabilă de azot în interiorul straturilor de NPs, în comparație cu conținutul mare de C 1s care scade semnificativ cu creșterea distanței față de suprafață. În timp ce scăderea puternică a concentrației de carbon este pusă pe seama contaminării atmosferice<sup>22</sup> a straturilor poroase de nanoparticule<sup>8</sup>, conținutul scăzut și stabil de azot este probabil să indice faptul că provine de la sinteza

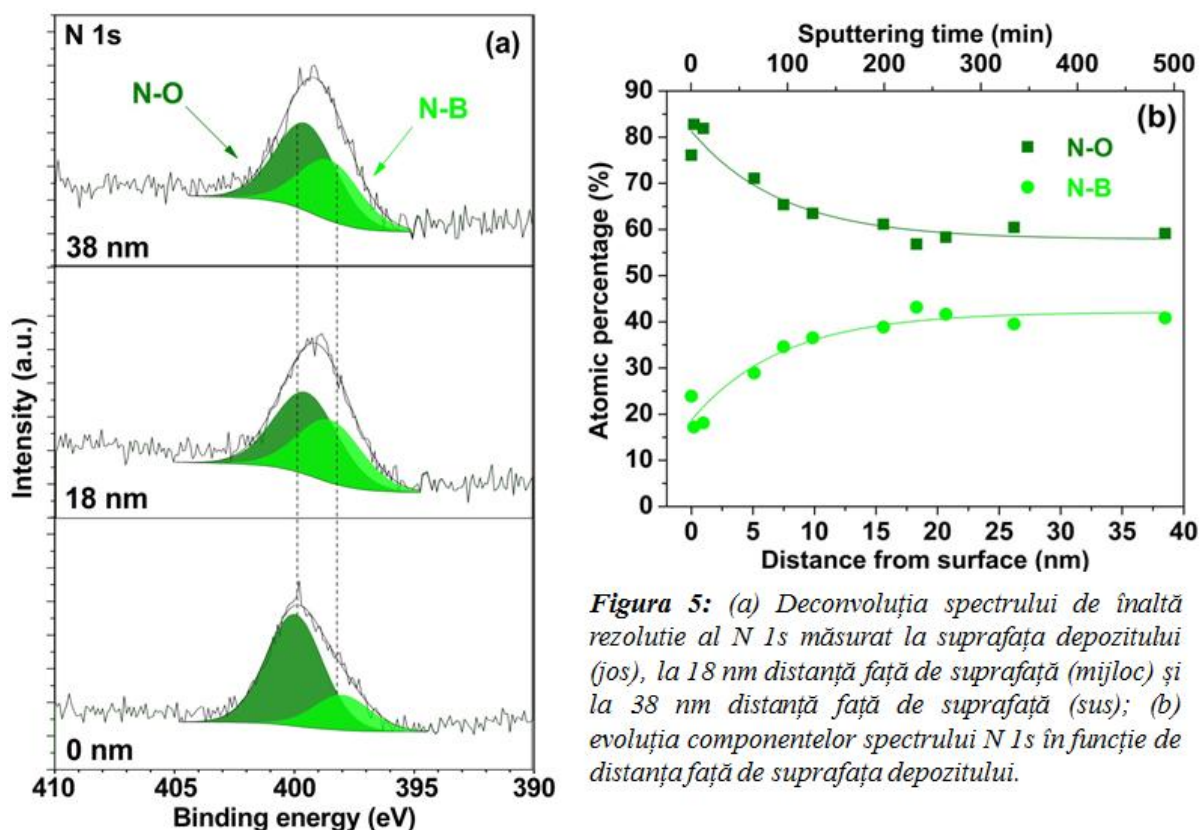
nanoparticulelor. Figura 4a arată deasemenea un comportament similar al borului, fierului și oxigenului, a caror concentrație crește ușor odată cu creșterea distanței față de suprafață, atingând rapid un echilibru. Un astfel de comportament este în concordanță cu ideea că oxigenul acționează ca un ligant între fier și bor, după cum a fost raportat în literatură în cazul structurilor nanometrice de  $\text{Fe}_3\text{BO}_6$ <sup>23</sup>. Deasemenea este interesant faptul că oxigenul este dominant la toate adâncimile investigate ale filmului, făcând excepție suprafața exterioară, unde carbonul din contaminare este dominant. Aceasta reflectă clar faptul că oxigenul a penetrat foarte eficient între straturile de nanoparticule, având în vedere faptul că nu este de așteptat ca să participe în procesul de fabricare, care este realizat în condiții de puritate ridicată. În graficul din figura 4b am reprezentat concentrațiile atomice ale fierului și borului în funcție de distanța față de suprafață. În această analiză, concentrațiile atomice ale celorlalte elemente au fost ignorate. Surprinzător, este observat că starea stoichiometrică ( $\text{Fe}_{50}\text{B}_{50}$ ) nu este niciodată atinsă, evidențiind o cantitate mai ridicată de bor care este probabil datorată procesului de fabricare și în particular, unui randament de sputtering mai ridicat în cazul borului decât în cazul fierului<sup>24</sup>.

Pentru o înțelegere mai bună a compoziției chimice a nanoparticulelor și a evoluției acesteia în funcție de distanța față de suprafața depozitului, prezentăm o analiză detaliată a spectrelor de înaltă rezoluție ale N 1s, Fe 2p, B 1s și O 1s.



**Figura 4:** (a) Evoluția concentrației atomice a elementelor de interes în funcție de distanța față de suprafața depozitului; (b) evoluția concentrației atomice a fierului și borului în funcție de distanța față de suprafața depozitului.

Deși este mic în comparație cu celelalte elemente (vezi figura 4a), este interesant de investigat natura diferitelor componente ale spectrului de înaltă rezoluție al N 1s. După cum este evidențiat în figura 5a, sunt identificate două contribuții sub anvelopa acestuia, înregistrat la suprafața depozitului, după 18 nm și după 38 de nm față de suprafață. Cea mai intensă contribuție, care apare la energia de legătură de 399.5 - 400 eV, poate fi atribuită legăturilor N-O, în timp ce componenta mai puțin intensă de la 398-398.5 eV, legăturilor N-B<sup>25</sup>. Contribuția mai ridicată a legăturilor N-O este în concordanță cu concentrația ridicată de oxigen la toate adâncimile investigate ale filmului (vezi figura 4a). După cum va fi arătat mai jos, legăturile oxigenului cu fierul și borul sunt predominante peste celelalte legături chimice. Profilul din figura 5b deasemenea reflectă faptul ca azotul se leagă preferențial de oxigen decât de bor și că, compoziția chimică atinge o fază stabilă la aproximativ 15 nm de la suprafața depozitului, care corespunde aproximativ unui strat de nanoparticule.

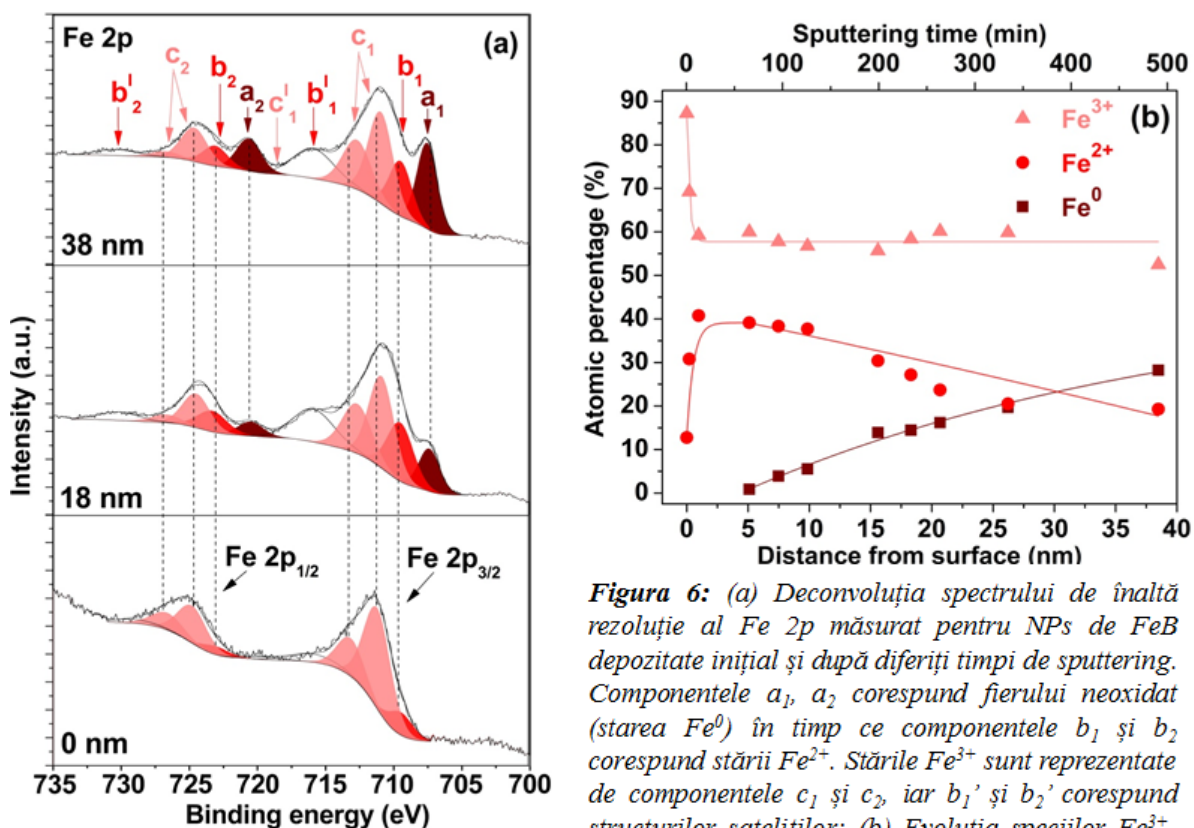


**Figura 5:** (a) Deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al N 1s măsurat la suprafața depozitului (jos), la 18 nm distanță față de suprafață (mijloc) și la 38 nm distanță față de suprafață (sus); (b) evoluția componentelor spectrului N 1s în funcție de distanța față de suprafața depozitului.

Ne-am îndreptat apoi atenția către figura 6, unde au fost reprezentate deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al Fe 2p (figura 6a) și evoluția rezultată, în funcție de distanța față de suprafața depozitului, a diferitelor specii (figura 6b). După cum poate fi observat în figura 6a, forma și valorile energiei de legătură ale celor două maxime, Fe 2p<sub>1/2</sub> și Fe 2p<sub>3/2</sub>, ale spectrului de înaltă rezoluție suferă o evoluție puternică odată cu creșterea distanței față de

suprafața depozitului. Aceasta indică foarte clar existența mai multor entități în interiorul componentelor măsurate.

Astfel, am realizat o deconvoluție a spectrelor de înaltă rezoluție ale Fe 2p<sub>1/2</sub> și Fe 2p<sub>3/2</sub> cu diferite componente, care la rândul lor au fost atribuite speciilor Fe<sup>0</sup>, Fe<sup>2+</sup> și Fe<sup>3+</sup>, în bună corelare cu literatura<sup>23,26-31</sup>. Componentele marcate cu a<sub>1</sub> și a<sub>2</sub> corespund fierului neoxidat (starea Fe<sup>0</sup>) în timp ce componentele b<sub>1</sub> și b<sub>2</sub> corespund stării Fe<sup>2+</sup>. Stările Fe<sup>3+</sup> sunt reprezentate de componentele c<sub>1</sub> și c<sub>2</sub>, iar componentele b<sub>1</sub>' și b<sub>2</sub>' reprezintă structurile sateliților Fe<sup>2+</sup> și Fe<sup>3+</sup>. După cum poate fi observat în figura 6b, starea dominantă de-a lungul întregii adâncimi studiate este Fe<sup>3+</sup>. Încă din primele stagii de sputtering cu ioni de Ar<sup>+</sup> ambele stări, Fe<sup>2+</sup> și Fe<sup>3+</sup>, suferă schimbări importante în concentrație. În timp ce starea Fe<sup>3+</sup> se stabilizează, starea Fe<sup>2+</sup> scade cu creșterea adâncimii, împreună cu o creștere a concentrației fierului în starea Fe<sup>0</sup>, care nu a fost prezent la suprafața depozitului. După cum este detaliat în această discuție, diferitele stări în care există fierul sugerează faptul că atomii de fier nu se leagă de cei de bor sau de azot, ci mai degrabă de cei de oxigen, după cum a fost arătat și în literatură<sup>32</sup>.

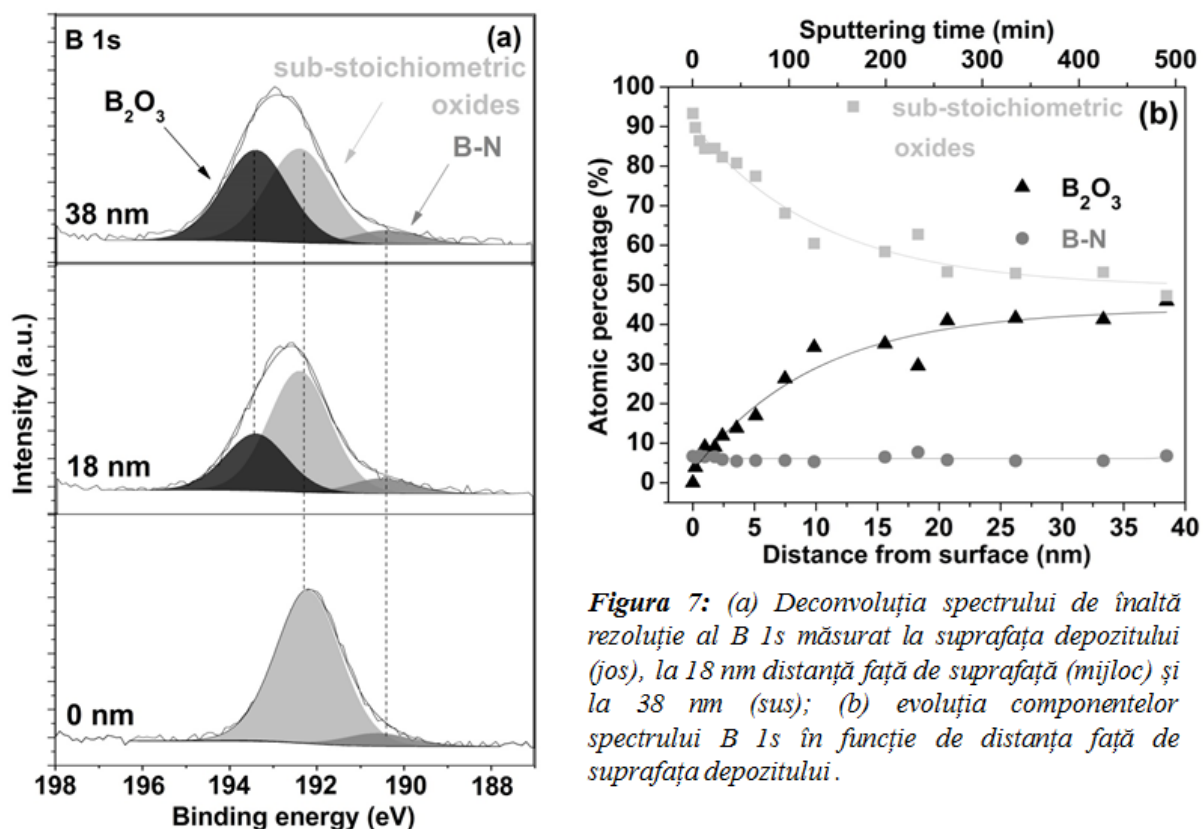


**Figura 6:** (a) Deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al Fe 2p măsurat pentru NPs de FeB depozitate inițial și după diferiți timpi de sputtering. Componentele a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub> corespund fierului neoxidat (starea Fe<sup>0</sup>) în timp ce componentele b<sub>1</sub> și b<sub>2</sub> corespund stării Fe<sup>2+</sup>. Stările Fe<sup>3+</sup> sunt reprezentate de componentele c<sub>1</sub> și c<sub>2</sub>, iar b<sub>1</sub>' și b<sub>2</sub>' corespund structurilor sateliților; (b) Evoluția speciilor Fe<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup> și Fe<sup>0</sup> în funcție de distanța față de suprafața depozitului de NPs de FeB.

Ca și în cazul spectrelor de înaltă rezoluție ale N 1s și Fe 2p, cel al B 1s a fost

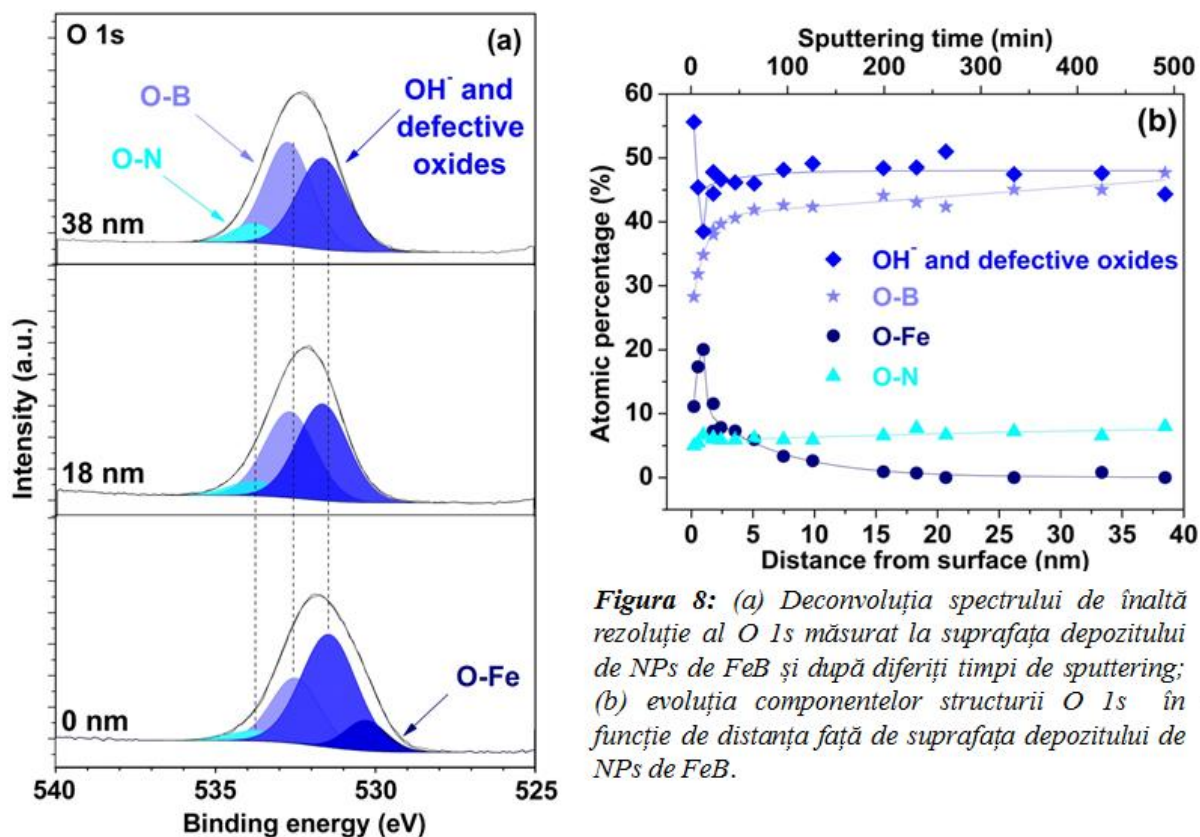


deasemenea înregistrat și analizat în detaliu, după cum se poate vedea în figura 7a. Trei componente diferite au fost utilizate în deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al B 1s. Componenta de la energia de legătură cea mai joasă (190.4-190.6 eV) este atribuită legăturilor B-N<sup>13,33,35</sup>, în timp ce componenta de la energia de legătură cea mai ridicată (193.4-193.6 eV) este asociată formării oxidului stoichiometric B<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>35-39</sup>. Componenta intermediară, găsită la 192.2-192.4 eV, este asociată prezenței oxidului sub-stoichiometric B<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>35,40</sup>. Este interesant de menționat că nu există nici o componentă, la 188 eV, care ar putea semnifica existența legăturilor B-Fe<sup>41</sup>, indicând faptul că atomii de bor sunt preferențial legați de atomii de oxigen și azot mai degrabă decât de cei de fier. După cum poate fi observat în figura 7b, cantitatea de B-N este semnificativ mai mică decât cea de B-O. Această caracteristică este în bună corelare atât cu concentrația mică de azot din deposit, cât și cu un studiu anterior<sup>40</sup>, unde acest comportament este datorat unui proces de nitrurare mai puțin favorizat decât cel de oxidare al speciilor de bor din punct de vedere termodinamic. Deasemenea este remarcabilă concentrația constantă a legăturilor de B-N de-a lungul adâncimii studiate. Situația este diferită în cazul evoluției oxidului sub-stoichiometric B<sub>2</sub>O<sub>2</sub> și stoichiometric B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. În timp ce concentrația oxidului sub-stoichiometric scade odată cu creșterea distanței față de suprafață, concentrația de oxid stoichiometric suferă un trend opus, înfățișând o variație puternică în gradul de oxidare al borului în funcție de adâncimea în depozitul de NPs.



**Figura 7:** (a) Deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al B 1s măsurat la suprafața depozitului (jos), la 18 nm distanță față de suprafață (mijloc) și la 38 nm (sus); (b) evoluția componentelor spectrului B 1s în funcție de distanța față de suprafața depozitului.

În final ne-am îndreptat atenția către spectrele de înaltă rezoluție ale O 1s și deconvoluția lor, prezentate în figura 8a. O analiză rezonabilă a putut fi obținută folosind 4 componente. Componenta de la energia de legătură mai mică ( $530.4 \pm 0.1$  eV) a fost găsită doar aproape de suprafața depozitului și a fost atribuită oxidului metalic stoichiometric (în cazul nostru legăturile O-Fe)<sup>31</sup>. Componenta localizată la energia de legătură de  $531.5 \pm 0.2$  eV a fost găsită la toate grosimile și a fost atribuită existenței grupurilor hidroxil  $OH^-$ <sup>42</sup>, deși ar putea fi deasemenea datorată prezenței defectelor<sup>43-46</sup>. Deasemenea, o componentă compatibilă cu prezența oxidului de bor<sup>35,47,48</sup> a fost identificată la energia de legătură de aproximativ 532.5 eV. În final, existența unei a patra componente, care apare la valoarea cea mai mare a energiei de legătură, la  $533.7 \pm 0.1$  eV, a fost necesară pentru a realiza o deconvoluție completă a spectrului de înaltă rezoluție al O 1s. Această ultimă componentă este compatibilă cu prezența legăturilor O-N<sup>49</sup>. După cum poate fi observat în figura 8b, intensitatea componentei O-Fe scade rapid odată cu creșterea distanței față de suprafața depozitului și devine neglijabilă. Deasemenea componenta asociată cu legăturile de O-N este relativ mică, după cum este de așteptat din concentrația mică de azot din sistem (vezi figura 4). Pe de altă parte, se pare că, componentele  $OH^-$  și O-B sunt dominante în depozit, cu o intensitate aproximativ constantă, exceptând suprafața depozitului, unde intensitățile acestora cresc rapid.



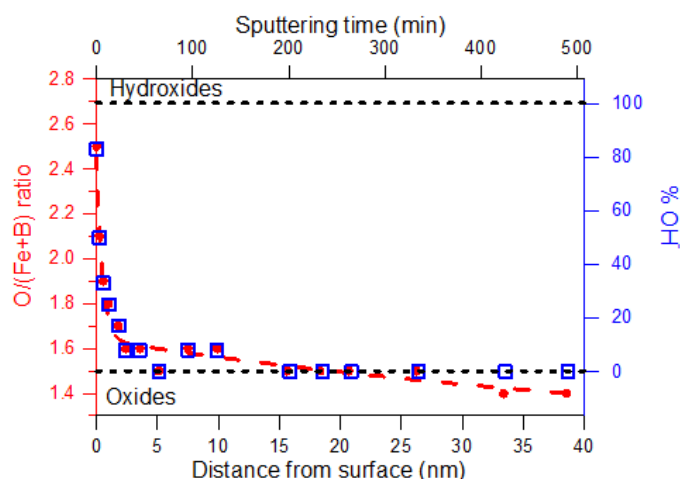
**Figura 8:** (a) Deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al O 1s măsurat la suprafața depozitului de NPs de FeB și după diferiți timpi de sputtering; (b) evoluția componentelor structurii O 1s în funcție de distanța față de suprafața depozitului de NPs de FeB.

Rezumând, din analizele XPS am observat că acesta este un sistem complex, format în principal din oxizi de bor și de fier. Nu au fost identificate legături Fe-B, indicând că aceste elemente nu formează același compus. Studiile anterioare descriu existența posibilității ca oxigenul să acționeze ca și un ligant între fier și bor (formând  $\text{Fe}_3\text{BO}_6$ )<sup>23</sup>. Totuși, nu suntem în măsură să confirmăm cu certitudine prezența unui astfel de compus în sistemul nostru. În completare, azotul a fost găsit ca fiind legat de O și B. În concordanță cu Xie et al.<sup>40</sup>, putem considera formarea compusului  $\text{B}_2\text{O}_{3-x}\text{N}_x$ . Dacă asumăm că tot azotul din sistem formează acest oxinitrid de bor (având în vedere că nu există evidențe ale existenței grupurilor Fe-N) și tot oxidul de bor sub-stoichiometric (figura 7) formează acest compus, este posibil să fie extrasă valoarea lui  $x$  după fiecare măsurătoare XPS. Valoarea obținută a lui  $x$  a fost de  $0.4 \pm 0.1$  de-a lungul sputtering-ului, conducând la formarea oxinitridului de bor cu stoichiometria  $\text{B}_2\text{O}_{2.6}\text{N}_{0.4}$ .

Astfel, din analiza XPS am observat că, chiar dacă majoritatea Fe și B sunt legați de O, proporția oxigenului în oxidul de fier este destul de mică, neputând explica în totalitate cantitatea de  $\text{Fe}^{2+}$  și  $\text{Fe}^{3+}$ . În tentativa de a clarifica dacă componenta de la 531.5 eV din spectrul de înaltă rezoluție al O 1s este în principal datorată speciilor OH<sup>-</sup> sau prezenței oxigenului cu vacante, în oxid, într-o primă aproximație am calculat raportul O/(Fe+B), considerând procentele atomice ale O, Fe și B extrase din spectrele largi (figura 4).

Rezultatele sunt plotate în figura 9a. Dacă tot oxigenul există în forma  $O^{2-}$ , acest raport ar trebui să fie 1.5 pentru starea lor de oxidare cea mai ridicată ( $Fe_2O_3$  și respectiv  $B_2O_3$ ). Totuși, presupunând că aceste elemente au fost în formă de hidroxid ( $Fe(OH)_2$  și  $B(OH)_3$ ) și considerând că, cantitatea de bor este de două ori mai mare decât cea de fier, raportul  $O/(Fe+B)$  minim ar trebui să fie 2.7. În sistemul nostru, acest raport variază între 2.5, la suprafața depozitului de nanoparticule, și 1.4 la 38.5 nm față de suprafață.

Un raport cu valoarea de 2.5 reprezintă faptul că aproximativ 80% din oxigen este în formă de hidroxid. Odată cu procesul de sputtering, raportul  $O/(Fe+B)$  scade rapid și la 2.4 nm față de suprafață, conținutul de hidroxid este sub 10% (la valoarea raportului de 1.6). La o analiză mai în adâncime valoarea acestui raport scade sub 1.5, sugerând faptul că nu există nici o contribuție din partea



**Figura 9:** Evoluția raportului  $O/(Fe+B)$  și proporția echivalentă a hidroxizilor în sistem, în funcție de distanța față de suprafața depozitului.

hidroxizilor. Printr-o comparare a acestor calcule cu atribuirile componentelor în analiza spectrului de înaltă rezoluție al O 1s (figura 8), este evident că, componenta de la 531.5 eV nu poate fi atribuită exclusiv prezenței hidroxizilor, în mod special la adâncimi mai mari, unde aparenta contribuție a grupurilor  $OH^-$  în  $O/(Fe+B)$  este nulă, în timp ce componenta de la 531.5 eV a O 1s este predominantă. De altfel, în spectrul înfățișat în figura 8a pentru analiza la 18 nm, componenta datorată legăturilor O-Fe a dispărut deja, și din valoarea calculată a raportului  $O/(Fe+B)$  observăm că nu există nici o contribuție a hidroxidului la această adâncime. Astfel, putem concluziona că hidroxizii sunt prezenți doar în primii 15 nm (aproximativ primul strat de NPs). După aceasta, toată contribuția componentei de la 531.5 eV este datorată oxizilor cu defecte și în particular oxidului de fier.

#### III.4. Caracterizarea magnetică: SQUID

Măsurătorile SQUID au fost realizate pe o probă cu densitate ridicată a depozitului, pentru a investiga proprietățile magnetice ale ansamblului de NPs<sup>19</sup>.

Figura 10 prezintă curba de histereză măsurată la temperatura camerei și la 10 K după “zero field cooling” (ZFC). După cum poate fi observat, NPs indică un comportament superparamagnetic la temperatura camerei și un ușor ferromagnetism la 10 K.

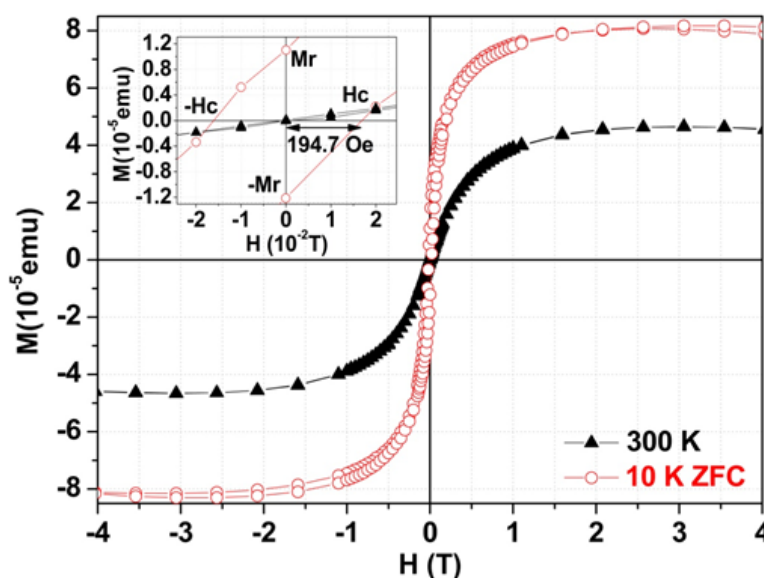
Evoluția magnetizării în funcție de temperatură, în condiții de ZFC și FC, a fost investigată după cum poate fi văzut în figura 11.

O temperatură de blocare foarte bine definită (limita temperaturii peste care apare comportamentul superparamagnetic și unde magnetizarea

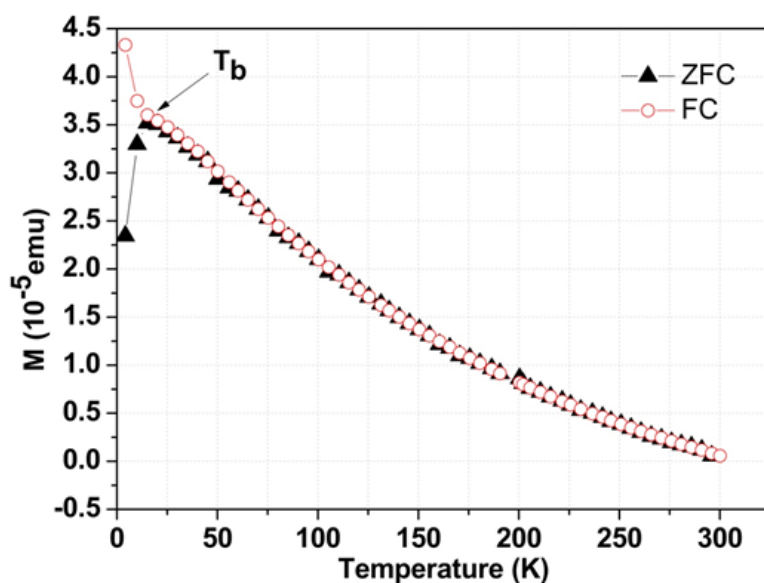
nanoparticulelor este liberă să se alinieze în direcția câmpului magnetic aplicat <sup>50</sup>), de aproximativ 17.5 K, este indicată din curbele înfățișate în figura 11. Acest rezultat indică foarte clar faptul ca NPs pot fi utilizate în aplicații medicale, unde comportamentul

superparamagnetic este o cerință cheie.

Pentru o mai bună înțelegere a interacțiunii dintre particule, determinarea dimensiunii superparamagnetice a particulelor este foarte importantă pentru viitoarele aplicații. Doua metode teoretice au fost alese pentru



**Figura 10:** Magnetizarea în funcție de câmpul magnetic aplicat (curba de histereză B-H) la temperatura camerei într-un câmp magnetic aplicat de 50 kOe versus dependența curbei de magnetizare de câmpul magnetic în ZFC pentru proba de FeB măsurată la temperatură joasă (10K) într-un câmp magnetic aplicat de 50 kOe. În inset este prezentat un zoom care arată un câmp coercitiv mic, cu o magnetizare remanentă mică la temperatura camerei versus magnetizarea remanentă și câmpul magnetic la ZFC.



**Figura 11:** Dependența temperaturii de magnetizare pentru nanoparticulele de FeB în condiții ZFC (linia neagră) și FC (linia roșie), într-un câmp magnetic aplicat de 1.5kOe.

a o calcula. O metodă bună pentru a realiza acest lucru este reprezentarea magnetizării normalizate experimentale de la temperatura camerei și medierea “Langevin fit”. Luând în calcul magnetizarea de saturație maximă, medierea prin funcția Langevin a fost realizată folosind procedura descrisă în literatură <sup>51</sup>. A doua metodă utilizată este “Triple Fit” și a fost realizată deasemenea folosind procedura descrisă în literatură, în care o triplă ajustare simultană este aplicată curbei magnetizării experimentale <sup>52</sup>. Din ambele tehnici, a fost găsit că dimensiunea superparamagnetică a nanoparticulelor este  $\approx 2.9$  nm, ceea ce înseamnă că este mai mică decât 9 nm, limita superparamagnetică a fierului raportată în literatură <sup>53</sup>. Aceste rezultate confirmă faptul că la temperatura camerei majoritatea nanoparticulelor nu interacționează între ele, după cum poate fi observat în figura 10.

Interacțiunile sau lipsa interacțiunilor dintre nanoparticulele de FeB au fost deasemenea dovedite de valoarea magnetizării remanente la temperatură joasă, după ce câmpul magnetic aplicat este înlăturat. Modelul Stoner-Wohlfarth indică faptul că nanoparticulele care sunt apropiate între ele sunt cuplate prin interacțiuni de schimb, iar nanoparticulele între care este o distanță mai mare, sunt cuplate magnetostatic. Diferența între aceste două situații poate fi văzută în valoarea magnetizării remanente. Dacă raportul dintre magnetizarea remanentă și cea de saturație este mai mare de 0.5, aceasta este o dovadă a existenței interacțiunilor de schimb, în timp ce dacă acest raport este mai mic de 0.5, nanoparticulele sunt cuplate magnetostatic. În cazul nostru un astfel de raport este mai mic de 0.5, ca o consecință a interacțiunilor magnetice foarte scăzute dintre nanoparticulele de FeB. Aceste rezultate pot fi foarte bine corelate cu analiza XPS pe proba depozitată inițial, unde a fost demonstrat că, la suprafața NPs, cantitatea în procente atomice a fierului este de aproximativ 18.6%, iar cea de bor de aproximativ 81.4%. Ca o consecință, nanoparticulele sunt orientate aleator înainte de aplicarea unui câmp magnetic, cu o anizotropie uniaxială.

#### IV. Funcționalizarea și caracterizarea suprafeței nanoparticulelor de FeB

##### IV.1 Funcționalizarea directă pe substratul de siliciu a suprafeței NPs de FeB

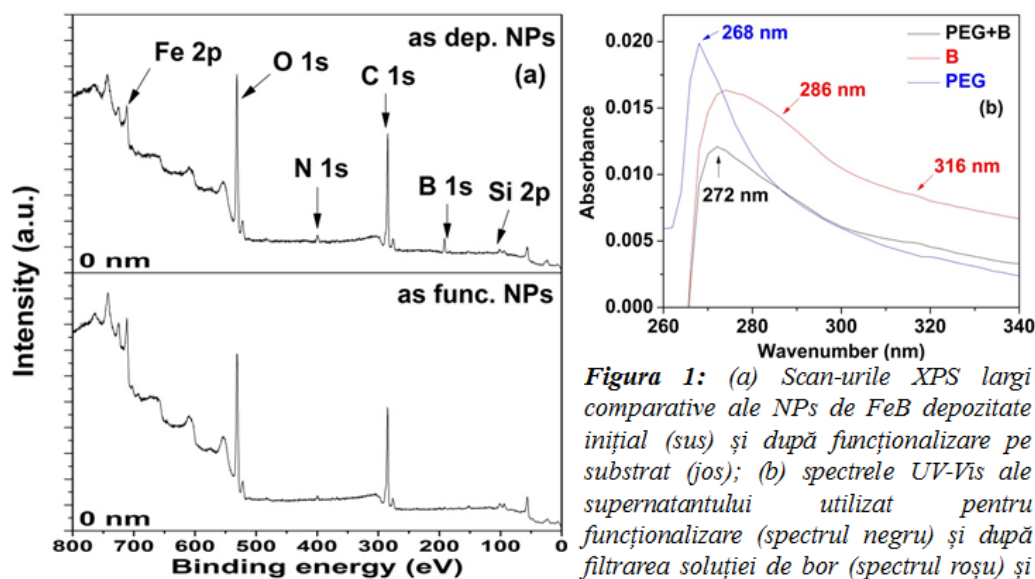
###### IV.1.1. Caracterizarea chimică: XPS

###### IV.1.1.1. Caracterizarea compatativă a suprafeței NPs de FeB depozitate inițial/funcționalizate

Folosind aceeași procedură ca și în cazul NPs de FeB depozitate inițial (vezi secțiunea III.3, Capitolul III), a fost determinată compoziția elementală la suprafață și în adâncime prin analiza XPS. Datorită folosirii unui substrat de siliciu pentru depozitarea NPs, analiza suprafeței a fost realizată pe un depozit format din mai multe straturi de NPs și acoperit cu PEG, pentru a minimiza semnalul de fotoemisie al Si. Depozitul a fost măsurat după funcționalizare <sup>22</sup>, iar dovezile atașamentului PEG-ului de suprafața NPs de FeB au fost mai apoi discutate. Analizele la diferite distanțe față de suprafață au fost deasemenea performate pentru a confirma schimbările în compoziția chimică în funcție de adâncime, a NPs funcționalizate, și pentru a încerca determinarea grosimii stratului de PEG legat de suprafața NPs. Bombardamentul cu Ar<sup>+</sup> sau coroziunea a fost realizat până la 235 de minute. Asumând aceeași rată de coroziune ca și un cazul compusului de FePd <sup>54</sup>, am identificat adâncimile individuale pentru fiecare timp de sputtering și astfel, adâncimea totală a fost calculată ca fiind 19.1 nm.

Figura 1a arată scan-urile extinse pentru proba depozitată inițial înainte și după funcționalizarea suprafeței cu PEG. Contribuțiile dominante în ambele spectre suprapuse sunt componentele C1s și O 1s. Aceasta este o evidență a nivelului de contaminare la suprafața depozitului <sup>22</sup>, care rămâne ridicat și după procesul de funcționalizare. Acest comportament poate fi legat în ambele cazuri de expunerea la aer înainte de analiză. Analiza procentajelor atomice relevă schimbări importante în timpul procesului de funcționalizare, în cea ce privește structura. Putem observa o scădere clară a cantității de bor la suprafață după funcționalizare, la 2.0%, comparând cu cantitatea corespunzătoare din proba depozitată inițial, de 13.1%. Din analiza UV-Vis (vezi figura 1b) făcută pe soluția în care au fost funcționalizate nanoparticulele, am găsit prezența borului <sup>55</sup>, fiind o evidență a diluării unei cantități de bor de la suprafața NPs în timpul funcționalizării și explicând astfel scăderea concentrației de bor din depozitul de NPs după acest proces. Ca o consecință a dislocării borului, concentrația de fier crește la suprafața NPs de la 3.0% la 6.0%. În timp ce

concentrația de azot nu se schimbă prea mult, scăzând ușor de la 2.6% la 1.9% după atașamentul PEG-ului, concentrațiile atomice ale oxigenului și carbonului cresc după funcționalizare de la 33.6% la 47.6% și respectiv de la 37.0% la 53.1%. Având în vedere că structura lanțurilor de PEG conține legături bazate pe oxigen și carbon, creșterea concentrațiilor acestor elemente poate fi legată de atașamentul PEG-ului de NPs, după cum vom discuta în cele ce urmează.



**Figura 1:** (a) Scan-urile XPS largi comparative ale NPs de FeB depozitate inițial (sus) și după funcționalizare pe substrat (jos); (b) spectrele UV-Vis ale supernatantului utilizat pentru funcționalizare (spectrul negru) și după filtrarea soluției de bor (spectrul roșu) și soluției de PEG (spectrul albastru).

Pentru o mai bună înțelegere a schimbărilor structurale care apar la suprafață în timpul procesului de funcționalizare, au fost înregistrate spectrele de înaltă rezoluție ale elementelor de interes și deconvoluțiile Lorentzian-Gaussiane au fost realizate pentru fiecare dintre ele.

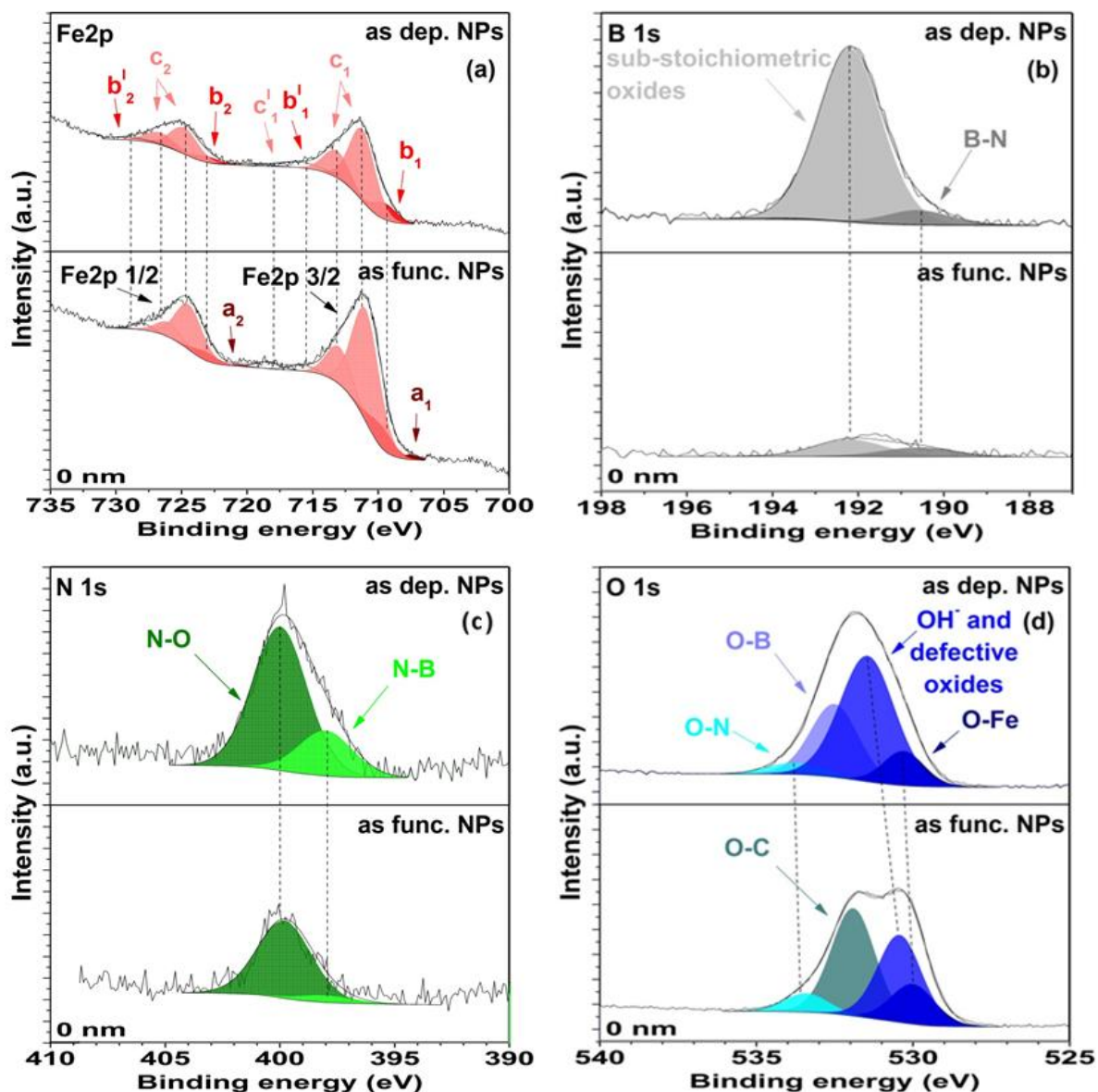
În figurile 2a, b și c am prezentat deconvoluțiile spectrelor de înaltă rezoluție ale Fe 2p B 1s și N 1s. Deși în aceste componente nu există dovezi ale atașamentului PEG-ului în timpul procesului de funcționalizare, sunt observate totuși schimbări importante în evoluția fierului și borului. Distanța despicării spin-orbită între Fe 2p<sub>3/2</sub> și Fe 2p<sub>1/2</sub> a fost găsită ca fiind 13.6 eV<sup>56</sup> pentru ambele spectre (figura 2a). După cum sa produs și în cazul NPs depozitate inițial (vezi secțiunea III.3, Capitolul III), spectrele de înaltă rezoluție Fe 2p<sub>1/2</sub> și Fe 2p<sub>3/2</sub> ale probei funcționalizate au fost deconvolute ținând cont de existența a trei specii diferite de fier Fe<sup>0</sup>, Fe<sup>2+</sup> și Fe<sup>3+</sup><sup>23,27-31</sup>, care indică diferite nivele de oxidare ale fierului (vezi figura 2a). Toate aceste specii de fier au fost identificate ținând cont de separarea corespunzătoare energiei de legătură a Fe<sup>0</sup>, Fe<sup>2+</sup> și Fe<sup>3+</sup> și de poziția lor în spectrul XPS. În spectrul de înaltă rezoluție al Fe 2p<sub>3/2</sub> a fost identificat faptul că contribuția de la 707.5 eV corespunde fierului



neoxidat  $\text{Fe}^0$ , oxizii de fier  $\text{Fe}^{2+}$  au fost reprezentați de componenta de la 709.5 eV și starea de oxidare  $\text{Fe}^{3+}$  a fost compusă din două componente, la 711.2 eV și 713.2 eV. În proba funcționalizată au fost observate o contribuție dominantă de  $\text{Fe}^{3+}$  și una mică de  $\text{Fe}^{2+}$ . Totuși, este evidențiată o descreștere a nivelului de oxidare, prin prezența unei cantități mici de fier neoxidat  $\text{Fe}^0$  la suprafață, comparativ cu NPs depozitate inițial (unde nu a fost găsită nici o dovadă a existenței acestei contribuții la suprafață).

Una dintre cele mai importante modificări, observată în structura NPs funcționalizate, este legată de concentrația de bor, care influențează deasemenea evoluția conținutului fierului în structura NPs. În figura 2b am înfățișat spectrele de înaltă rezoluție ale B 1s înainte și după funcționalizare. În bună corelare cu spectrul de înaltă rezoluție al probei depozitate inițial, am considerat posibilitatea existenței a două specii de bor în spectrul probei funcționalizate, B-O sub-stoichiometric și grupul B-N, cu pozițiile energiilor de legătură corespunzătoare fiecăruia. Componenta mică, care apare la energia de legătură mai joasă, la 190.6 eV, a fost atribuită legăturilor B-N<sup>25,33,34</sup>, fiind în bună corelare cu concentrația scăzută de azot. După cum poate fi observat în spectrele extinse din figura 1, concentrația de bor scade dramatic după procesul de funcționalizare. Cantitatea de oxid sub-stoichiometric din proba funcționalizată, care apare la 192,2 eV<sup>35,37,40</sup>, confirmă și clarifică acest comportament. Din figura 2b, comparând cu proba depozitată inițial, este evident că, contribuția oxidului sub-stoichiometric B-O scade dramatic în timp ce conținutul de B-N scade ușor și nu arată schimbări semnificative după atașarea PEG-ului.

Figura 2c prezintă schimbările care apar în structura azotului după funcționalizare. Sunt comparate deconvoluțiile spectrelor de înaltă rezoluție ale N 1s înainte și după funcționalizare. Deși contribuția azotului la suprafața NPs este foarte scăzută în proba depozitată inițial (< 3%), este foarte importantă pentru aplicațiile viitoare, având în vedere că schimbările din punct de vedere al concentrației sau structurii azotului influențează nivelul de oxidare al depozitului. Cu o scădere ușoară și simetrică cauzată de procesul de funcționalizare, structura chimică a azotului arată aceleași grupuri structurale. Contribuția cea mai intensă este cea a legăturilor N-O, care apar la 400 eV, iar componenta mai puțin intensă corespunde legăturilor N-B și apare la 398 eV<sup>25</sup>. Nu sunt observate schimbări semnificative după atașarea PEG-ului.



**Figura 2:** (a) Deconvoluția comparativă a spectrelor XPS de înaltă rezoluție ale Fe 2p măsurate pe NPs de FeB depozitate inițial (sus) și funcționalizate pe substrat (jos). Componentele  $a_1$ ,  $a_2$  corespund fierului neoxidat (starea  $Fe^0$ ) în timp ce componentele  $b_1$  și  $b_2$  corespund stării  $Fe^{2+}$ . Stările  $Fe^{3+}$  sunt reprezentate de  $c_1$  și  $c_2$ , iar componentele  $b'_1$  și  $b'_2$  corespund structurilor satelitelor; (b) Deconvoluția comparativă a spectrelor XPS de înaltă rezoluție ale B 1s măsurate pe NPs de FeB depozitate inițial (sus) și funcționalizate pe substrat (jos); (c) Deconvoluția comparativă a spectrelor XPS de înaltă rezoluție ale N 1s măsurate pe NPs de FeB depozitate inițial (sus) și funcționalizate pe substrat (jos); (d) Deconvoluția comparativă a spectrelor XPS de înaltă rezoluție ale O 1s măsurate pe NPs de FeB depozitate inițial (sus) și funcționalizate pe substrat (jos).

Deconvoluțiile spectrelor de înaltă rezoluție ale Fe 2p, B 1s și N 1s au arătat că funcționalizarea nu schimbă legăturile chimice din NPs. Atomii de fier sunt legați de cei de oxigen, atomii de bor formează legături cu cei de oxigen și de azot mai degrabă decât cu cei de fier, și atomii de azot formează legături cu cei de oxigen și de bor<sup>32</sup>.

Modificările cele mai importante, care de altfel confirmă atașamentul lanțurilor de PEG de depozitul de NPs, sunt evidențiate prin deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al

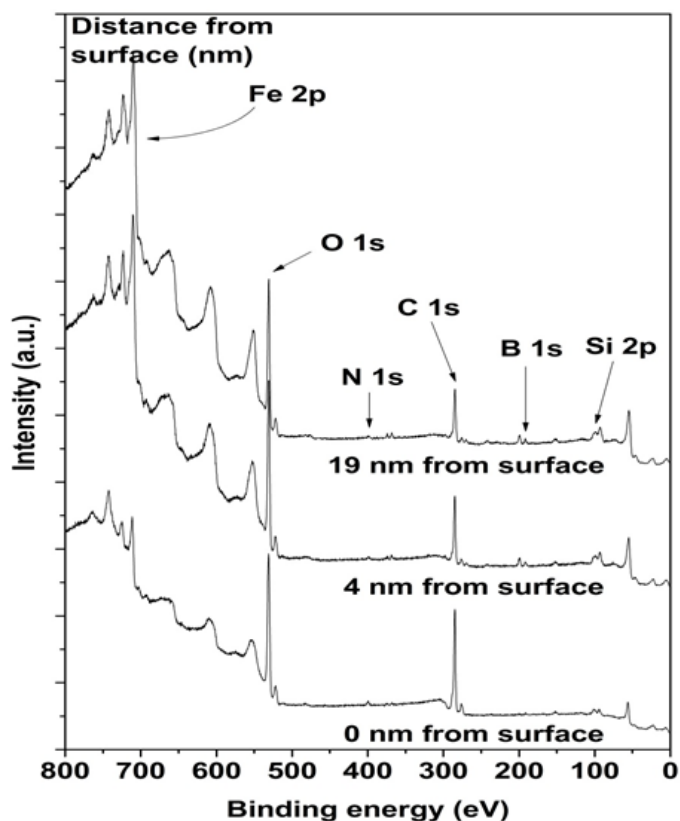
O 1s. Comparând structurile deconvolute ale oxigenului, putem distinge diferite entități sub anvelopa componentei O 1s (vezi figura 2d). După cum am discutat deja în secțiunea III.3, Capitolul III, spectrul O 1s al probei depozitate inițial a fost structurat în patru componente, luând în calcul posibilele legături care pot forma structura NPs. Contribuția dominantă a fost atribuită legăturilor OH<sup>-</sup>, care apar la 531.45 eV<sup>42</sup>. O altă concentrație importantă, care apare la 532.50 eV, a fost atribuită, ca și în alte studii și în bună corelare cu cantitatea găsită în scan-urile largi, legăturilor O-B<sup>35,47,48</sup>. Componenta localizată la energia de legătură mai joasă, aproape de 530.30 eV, este atribuită contribuției oxidului metalic stoichiometric O<sup>2-</sup> (legăturile O-Fe)<sup>13,23,31</sup>. La valori mai mari ale energiei de legătură, în jur de 533.75 eV, o bandă de intensitate scăzută completează deconvoluția<sup>49</sup> și este datorată prezenței legăturilor O-N. Comparând spectrele de înaltă rezoluție ale O 1s, înainte și după funcționalizare, am observat o schimbare importantă în cazul grupurilor O-B, care sunt prezente într-o cantitate prea mică și sunt prea apropiate de contribuțiile O-N și O-C, pentru a putea fi identificate după atașarea PEG-ului. Aceasta este o consecință a diluării borului și apariției unei noi benzi în jur de 531.90 eV, aproape de cea a legăturilor O-B, atribuită oxigenilor O-C<sup>57</sup> din lanțurile PEG. Apar deasemenea și alte schimbări importante după funcționalizare, în spectrul de înaltă rezoluție al O 1s. Oxigenii O<sup>2-</sup> se deplasează cu 0.3 eV, la 530.00 eV, aproape de valoarea oxigenului stoichiometric O<sup>2-</sup><sup>13,23,31</sup>, iar contribuția oxigenilor OH<sup>-</sup> este deplasată cu 1.05 eV, la 530.40 eV. Această ultimă deplasare a energiei de legătură este pusă pe seama formării carbonaților ca și o consecință a interacțiunilor chimice cu lanțurile PEG<sup>58</sup>. Banda O-N apare la 533.40 eV după atașarea PEG-ului<sup>49</sup>, fiind deplasată cu 0.35 eV în comparație cu proba depozitată inițial. Această deplasare poate fi datorată defectelor de oxigen, interacțiunii cu lanțurile PEG sau unei mici contribuții de oxid de bor în interiorul acestei anvelope. După atașarea PEG-ului componenta O-N apare ușor crescută în spectrul O 1s. Această evoluție este anormală ținând cont că, concentrația de azot este mai mică după funcționalizare. Astfel, deplasarea către energii de legătură mai mici este mai probabil să fie cauzată de prezența unei cantități reduse de oxid de bor.

#### **IV.1.1.2. Caracterizarea profilului în adâncime al NPs de FeB funcționalizate pe substrat**

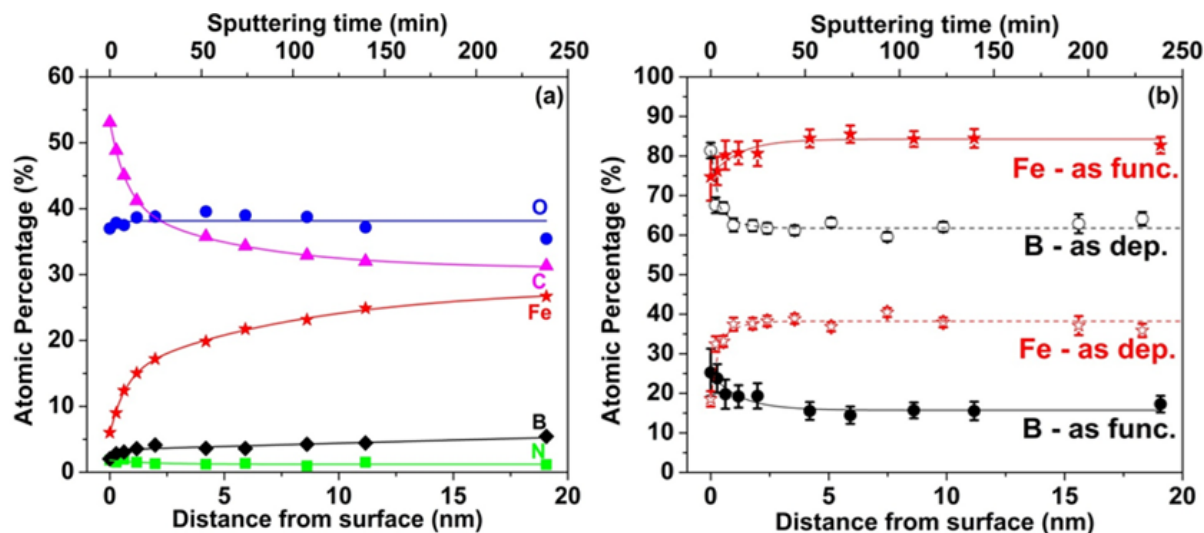
Pentru o mai bună înțelegere a modificărilor chimice care apar ca o consecință a funcționalizării NPs, dar și pentru o mai bună estimare a grosimii stratului de PEG legat de suprafața depozitului, profilul XPS în adâncime a fost deasemenea realizat.

Spectrele XPS extinse ale NPs funcționalizate cu PEG direct pe substrat, înregistrate la suprafață dar și după diferite distanțe față de aceasta, sunt prezentate în figura 3. Concentrațiile de carbon și oxigen de la suprafață sunt cele mai vizibile, acest lucru fiind datorat și expunerii la aer după procesele de depozitare și funcționalizare. Figura 4a prezintă evoluția elementală în funcție de adâncime. Concentrația ridicată și constantă de O 1s este o consecință a prezenței diferitelor specii de oxigen la suprafața și în interiorul NPs, după cum vom vedea mai târziu. Concentrația de C 1s scade cu creșterea gradului de înlăturare al contaminării și al stratului de PEG. Chiar și în această situație, în interiorul depozitului încă avem o concentrație ridicată de carbon <sup>8</sup> care dovedește porozitatea depozitului. În cazul conținutului de azot nu apar evoluții importante, cu distanța față de suprafața, în timpul procesului de funcționalizare.

Evoluția concentrațiilor de Fe și B, excluzând celelalte elemente, în funcție de distanța față de suprafața, este redată în figura 4b. În ciuda scăderii concentrației de bor la 25.3% după atașarea PEG-ului (în proba depozitată inițial fiind de 81.4%), trendul în funcție de distanța față de suprafață este același ca și în cazul probei depozitate inițial, crescând cantitatea de fier în același timp cu scăderea cantității de bor.

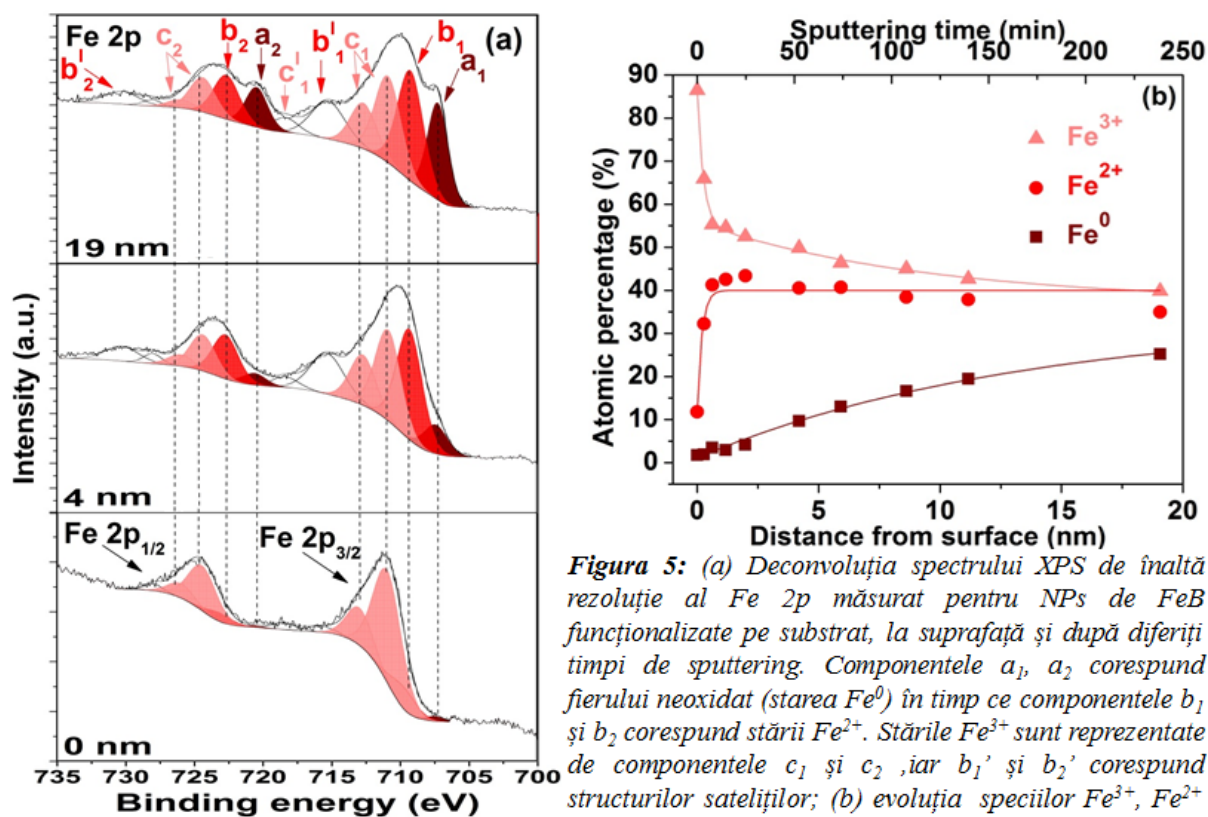


**Figura 3:** Spectrele XPS largi ale NPs de FeB funcționalizate, la suprafața acestora și după diferiți timpi de sputtering.



**Figura 4:** (a) Evoluția concentrației atomice a elementelor relevante din NPs de FeB funcționalizate pe substrat, în funcție de distanța față de suprafața depozitului; (b) evoluția comparativă, dintre NPs de FeB depozitate inițial (linia roșie) și funcționalizate pe substrat (linia neagră), ale concentrațiilor atomice ale fierului și borului în funcție de distanța față de suprafața depozitului.

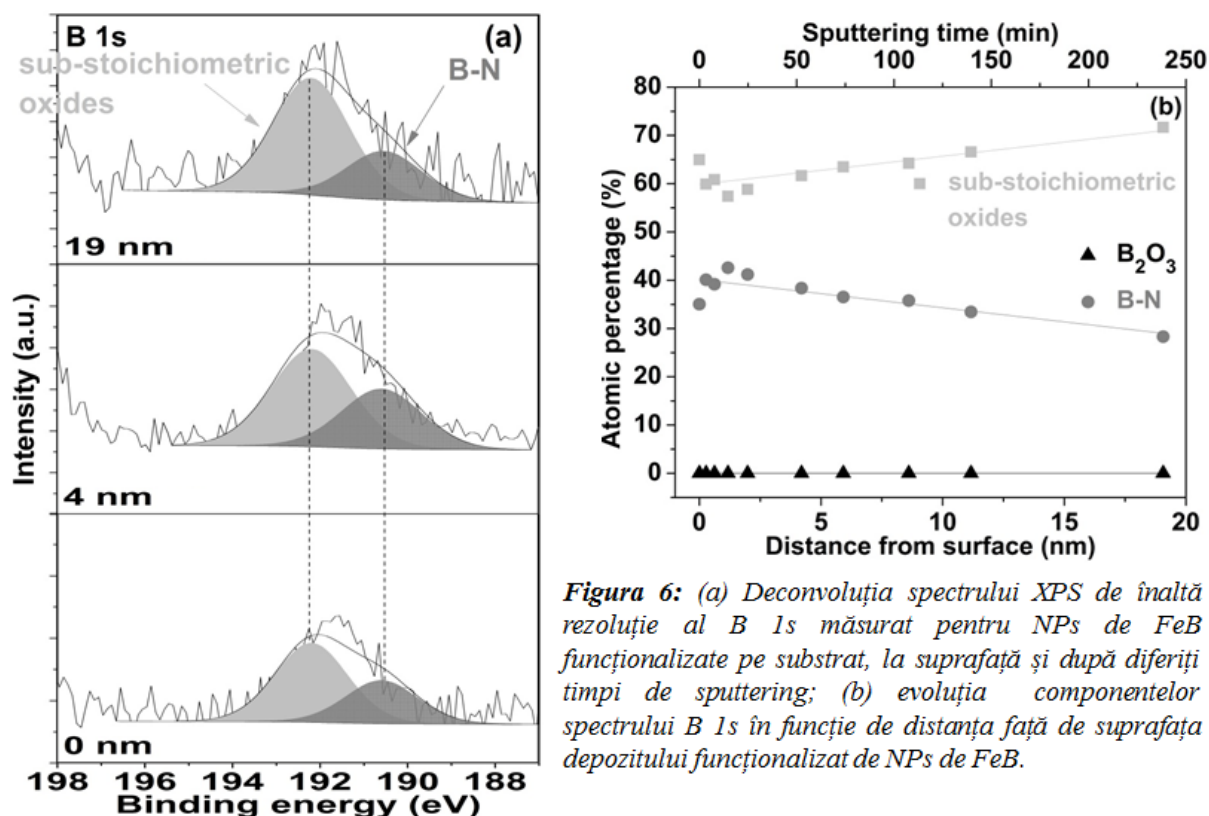
Deconvoluțiile în funcție de distanța față de suprafață, ale spectrelor de înaltă rezoluție ale Fe 2p, după atașarea PEG-ului, sunt prezentate în figura 5a, în timp ce figura 5b indică evoluția speciilor cu creșterea adâncimii față de suprafață. Modificările pot fi observate prin evoluția formei spectrelor de la 0 la 19.1 nm distanță față de suprafață. Nu apar schimbări importante din punct de vedere al deplasării acestora, indiferent de adâncime. Chiar dacă scade rapid în primele stadii de adâncime, după 1.2 nm, starea  $\text{Fe}^{3+}$  este încă dominantă la aproape toate adâncimile studiate. Evoluția concentrației de  $\text{Fe}^{2+}$  este opusă, crescând până la 1.2 nm, după care arată o distribuție omogenă de-a lungul întregii adâncimi. Cea mai importantă schimbare este legată de creșterea concentrației fierului  $\text{Fe}^0$  neoxidat. Deși fierul metalic este localizat mai aproape de suprafață decât în NPs depozitate inițial, evoluția concentrației lui cu adâncimea indică un trend crescător similar. Menționăm că astfel de creștere cu adâncimea este simultană cu scăderea concentrației de  $\text{Fe}^{3+}$ . Într-un mod similar ca și în cazul NPs depozitate inițial, profilul pe adâncime indică faptul că atomii de fier se leagă preferențial de cei de oxigen <sup>32</sup>.



**Figura 5:** (a) Deconvoluția spectrului XPS de înaltă rezoluție al Fe 2p măsurat pentru NPs de FeB funcționalizate pe substrat, la suprafață și după diferiți timpi de sputtering. Componentele  $a_1$ ,  $a_2$  corespund fierului neoxidat (starea  $Fe^0$ ) în timp ce componentele  $b_1$  și  $b_2$  corespund stării  $Fe^{2+}$ . Stările  $Fe^{3+}$  sunt reprezentate de componentele  $c_1$  și  $c_2$ , iar  $b_1'$  și  $b_2'$  corespund structurilor sateliților; (b) evoluția speciilor  $Fe^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$  și  $Fe^0$  în funcție de distanța față de suprafața depozitului funcționalizat de NPs de FeB.

Deconvoluția spectrului de înaltă rezoluție al B 1s, arătată în figura 6a, a fost realizată pentru NPs funcționalizate direct pe substrat, la suprafața acestora și după diferite distanțe față de suprafață, pentru a identifica evoluția chimică a structurii borului de la suprafață către interior (figura 6b). După cum am discutat deja, spectrul de înaltă rezoluție al B 1s de la suprafață arată o structură formată din două grupuri chimice, legăturile B-O substoichiometrice și legăturile B-N. Când comparăm structura borului care caracterizează interiorul probei depozitate inițial (nu este arătată aici – vezi secțiunea III.3, Capitolul III), unde oxidul stoichiometric  $B_2O_3$  crește cu creșterea adâncimii față de suprafață, și cea al probei funcționalizate pe substrat, este observat că, în cazul acesteia din urmă, nu sunt diferențe majore între structura suprafeței și a interiorului. Astfel, nu apare nici o contribuție a structurii  $B_2O_3$  după 235 minute de sputtering, care corespunde unei distanțe față de suprafață de 19.1 nm. Deasemenea nu au putut fi observate deplasări importante din punct de vedere al energiei de legătură. Din scan-urile largi analizate în figura 4, a fost dedusă o ușoară creștere a borului cu adâncimea. Această evoluție este indicată și de intensitățile componentelor din figura 6a. Evoluția profilului din figura 6b reflectă faptul că, cu creșterea distanței față de suprafață, concentrația atomică scade ușor ca o consecință a creșterii oxidului de bor substoichiometric. Această caracteristică evidențiază că, după funcționalizare, concentrația

oxidului sub-stoichiometric este ușor mai ridicată în interior decât la suprafața NPs, datorită unui grad mai mare de expunere al suprafeței la soluția apoasă (în timpul procesului de funcționalizare). Profilul pe adâncime al spectrului de înaltă rezoluție al B 1s deconvoluat indică o dizolvare aproape omogenă a borului în timpul procesului de funcționalizare. Porozitatea ridicată a depozitului facilitează un grad ridicat de dizolvare al grupurilor B-O, indiferent de adâncime.



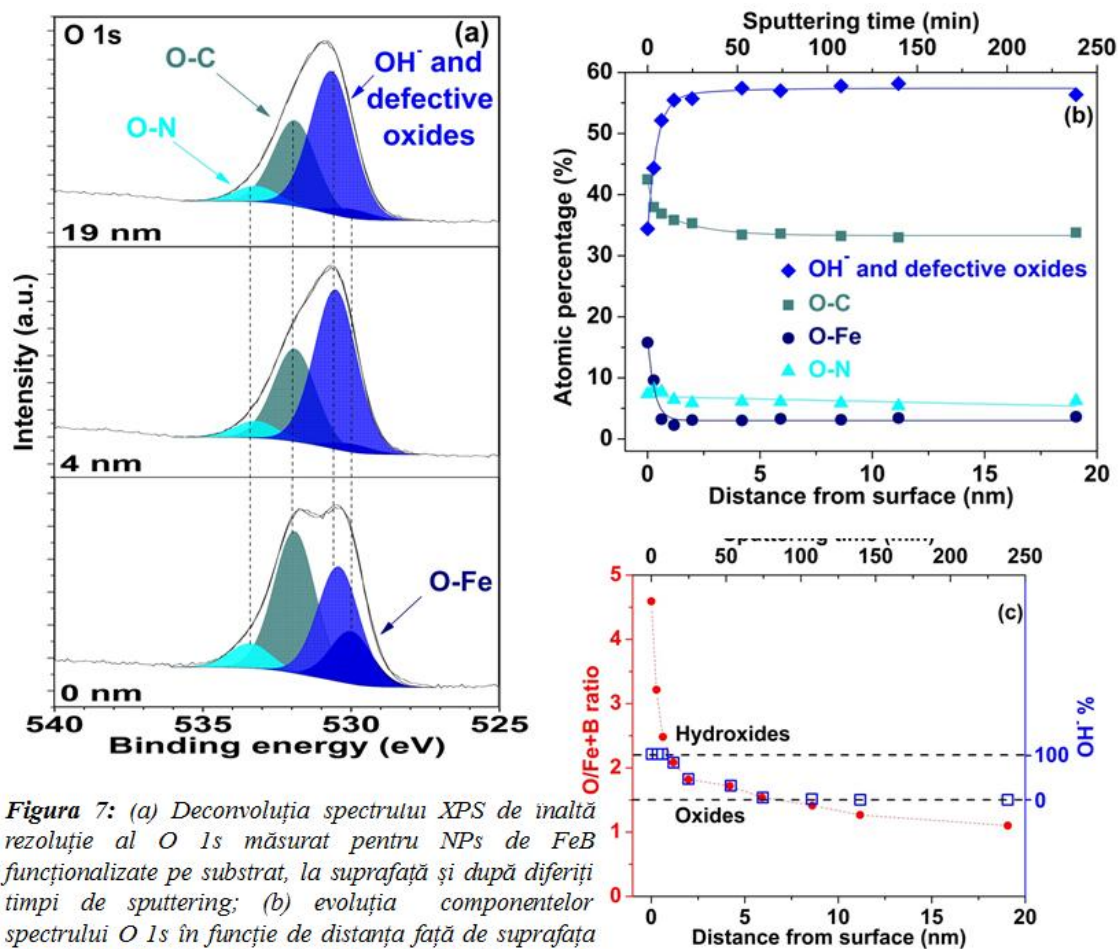
**Figura 6:** (a) Deconvoluția spectrului XPS de înaltă rezoluție al B 1s măsurat pentru NPs de FeB funcționalizate pe substrat, la suprafață și după diferiți timpi de sputtering; (b) evoluția componentelor spectrului B 1s în funcție de distanța față de suprafața depozitului funcționalizat de NPs de FeB.

Deși pentru funcționalizare a fost folosit un depozit format din mai multe straturi de NPs, porozitatea ridicată a acestuia a dus la o dizolvare a borului și din interior, nu numai de la suprafața NPs localizate în partea superioară a depozitului. Acest comportament a fost dovedit de analiza profilului în adâncime al structurii B 1s deconvolute, care înfățișează faptul că, până la 19.1 nm distanță față de suprafață, nu au fost găsite modificări importante din punct de vedere al structurii și al concentrațiilor atomice ale speciilor care conțin bor.

Informațiile cele mai importante evidențiate din analiza XPS, legate de atașamentul PEG-ului și grosimea stratului de PEG de la suprafața depozitului, au fost obținute din analiza profilului în adâncime al spectrelor de înaltă rezoluție ale O 1s deconvolute, prezentate în figura 7a. Evoluția chimică în funcție de distanța față de suprafață este reprezentată în figura 7b. Nu sunt observate deplasări chimice cu creșterea distanței față de

suprafață, în cazul componentelor O-C și O-Fe. Benzile care corespund grupurilor OH/oxid cu defecte și O-N indică doar variații mici ale energiei de legătură, apropiate de valorile suprafeței, în intervalele 530.40-530.65 eV și respectiv 533.40-533.20 eV. Oxidul stoichiometric O-Fe a fost găsit într-o cantitate considerabilă doar la suprafață, până la 0.62 nm distanță față de aceasta. La adâncimi mai mari, concentrația oxidului O-Fe scade dramatic la o valoare minimă și constantă. Totuși, este știut din analiza profilului în adâncime a scanurilor largi că fierul are o concentrație crescută și în interiorul NPs funcționalizate. Astfel, evoluția componentei OH/oxid cu defecte observată la toate adâncimile, poate fi de asemenea atribuită unei creșteri a oxizilor cu defecte odată cu adâncimea<sup>43,44,46</sup>, și astfel, explică acest comportament anormal (similar ca și în cazul probei depozitată inițial – vezi secțiunea III.3, Capitolul III). Contribuția dominantă de O-C este strâns legată de existența PEG-ului pe suprafața depozitului de NPs. Datorită porozității ridicate a probei depozitate inițial, evoluția acestei contribuții dovedește că, după funcționalizare, există o concentrație ridicată de structuri PEG care sunt legate de NPs localizate în interiorul depozitului. Din figura 7b este dedus că, după distanța față de suprafață de 4.2 nm, contribuția O-C încetează să scadă și devine constantă. Luând în calcul această evoluție, se poate afirma că stratul de PEG legat de suprafața depozitului de NPs are o grosime de aproximativ 4.2 nm. Concentrația legăturilor de O-N arată doar o ușoară scădere cu adâncimea, având o distribuție scăzută și aproape constantă în structura NPs.





**Figura 7:** (a) Deconvoluția spectrului XPS de înaltă rezoluție al O 1s măsurat pentru NPs de FeB funcționalizate pe substrat, la suprafață și după diferiți timpi de sputtering; (b) evoluția componentelor spectrului O 1s în funcție de distanța față de suprafața depozitului funcționalizat de NPs de FeB; (c) evoluția raportului oxid/(fier și bor) și a concentrației oxidului/hidroxidului în funcție de distanța față de suprafață

Astfel, majoritatea fierului și borului sunt legați de oxigen, însă cantitatea de oxigen sub formă de  $O^{2-}$ , fiind relativ mică, nu poate explica proporția de  $Fe^{2+}$  și  $Fe^{3+}$ . Considerând procentajele atomice de O, Fe și B extrase din scan-urile largi (figura 4), am calculat raportul  $O/(Fe+B)$  pentru a determina originea componentei O 1s localizată la 531.5 eV, care poate proveni de la speciile  $OH^-$  sau de la oxigenul cu vacanțe din oxid. Rezultatele sunt expuse în figura 7c. Acest raport ar trebui să fie maxim 1.5, dacă toți oxigenii există în starea de oxid ( $Fe_2O_3$  și respectiv  $B_2O_3$ ), și minim 2.2, dacă toți oxigenii există în starea de hidroxid (asumând faptul că, cantitatea de Fe este de patru ori mai mare decât cantitatea de B și că  $Fe_2O_3$  și  $B_2O_3$  sunt în formă de hidroxizi,  $Fe(OH)_2$  și  $B(OH)_3$ ). Uitându-ne către sistemul nostru, acest raport variază de la 4.6, la suprafață, până la 1.1, la 19.1 nm distanță față de suprafață.

100% din cantitatea de oxigen ar trebui să fie în starea de hidroxid dacă raportul este 4.6. Raportul  $O/(Fe+B)$  scade foarte rapid datorită procesului de sputtering într-o așa manieră

încât, după 2 nm față de suprafață, devine 1.8. Aceasta înseamnă că, contribuția hidroxidului este sub 45%. Mai în adâncime, valoarea raportului ajunge sub 1.5, după 6 nm de la suprafață, înfățișând faptul că hidroxidul nu mai are nici o contribuție. Dacă suprapunem aceste calcule cu atribuirea componentelor din analiza spectrului de înaltă rezoluție al O 1s (vezi figurile 2d și 7), este evident că, componentele de la 530.40 eV și 530.00 eV nu pot fi atribuite în totalitate prezenței hidroxizilor și respectiv a oxizilor. Analiza relevă că la suprafață nu a fost găsită nici o evidență a existenței oxidului, structurile dominante fiind cele de hidroxid de fier și bor. La polul opus, mai în adâncimea stratului, contribuția OH<sup>-</sup> în raportul O/Fe+B este nulă, în contradicție cu asumarea componentei predominante de la 530.40 eV grupurilor OH<sup>-</sup>. Astfel, mai în adâncimea stratului de NPs, compoziția dominantă provine de la oxizi.

#### IV.1.2. Caracterizarea structurală: Raman

O analiză Raman compatativă, între NPs depozitate inițial și după funcționalizare, a fost realizată folosind o putere a laserului de 0.14 mW (vezi figura 8). Spectrul Raman de referință al substratului de siliciu a fost deasemenea prezentat (înregistrat cu puterea laserului de 19.6 mW<sup>59</sup>). Am utilizat o putere a laserului așa de joasă pentru a evita arderea depozitului de NPs și a lanțurilor PEG.

Cantitatea ridicată de Fe-O și cea scăzută de B-O, dovedite de analiza XPS în proba funcționalizată pe substrat, sunt în concordanță cu creșterea intensității și deplasarea structurii Raman largi de la 625 cm<sup>-1</sup> și 688 cm<sup>-1</sup> după funcționalizare. Pe lângă banda care corespunde vibrațiilor de întindere asimetrice (în jur de 625 cm<sup>-1</sup>), alte două benzi au fost găsite la lungimi de undă mai mari, în jur de 690 cm<sup>-1</sup> și respectiv 736 cm<sup>-1</sup>. Schimbările relatate pot fi explicate prin creșterea grupurilor  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> și a interacțiunii chimice dintre grupurile Fe-O/grupurile B-O rămase, cu lanțurile PEG. Aceste lungimi de undă, apropiate de cele raportate în literatură<sup>60</sup>, dovedesc formarea legăturilor chimice între grupurile Fe-O, localizate la suprafață, și structurile de PEG 400. Deasemenea, intensitatea relativă a acestor benzi este mai mare decât a NPs de FeB depozitate inițial, ceea ce este în concordanță cu modificările structurale determinate de analiza XPS (vezi figura 3).

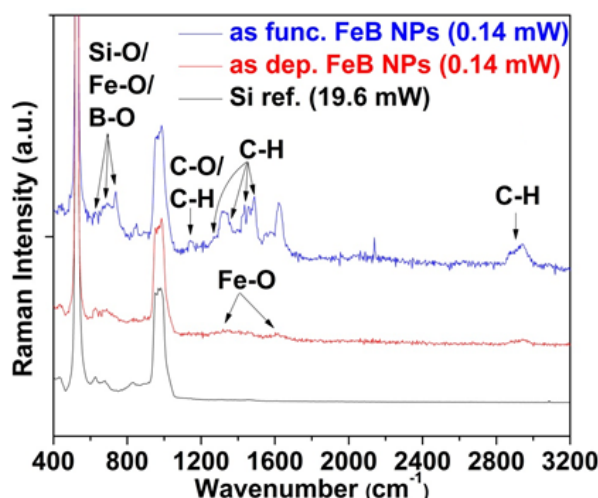
Cea mai importantă informație Raman, care dovedește prezența PEG-ului legat de suprafața depozitului, este legată de creșterea la lungimi de undă mai mari, în intervalul 1070-1800 cm<sup>-1</sup>, a unei structuri largi și intense, sugerând un grad ridicat de interacțiune între lanțurile de polimer și suprafața depozitului de NPs.

Astfel, în literatură, în intervalul  $1040-1160\text{ cm}^{-1}$ , au fost identificate benzile reprezentând grupurile de vibrații simetrice și asimetrice C-O-C<sup>61-64</sup> și grupul de vibrație simetrică CH<sub>2</sub><sup>61</sup>, din structura PEG-ului. Mai mult, grupurile CH<sub>2</sub> asimetrice, de forfecare și de pendulare au fost prezente în jur de  $1220-1270\text{ cm}^{-1}$ <sup>63,65-68</sup>,  $1350\text{ cm}^{-1}$ <sup>61,66</sup> respectiv  $1450-1510\text{ cm}^{-1}$ <sup>61,63-66,68</sup>. Spectrul Raman al NPs de FeB funcționalizate pe substrat indică mai multe benzi, la  $1145\text{ cm}^{-1}$ ,  $1268\text{ cm}^{-1}$ ,  $1356\text{ cm}^{-1}$ ,  $1456\text{ cm}^{-1}$ ,  $1489\text{ cm}^{-1}$ , corespunzând vibrațiilor simetrice și asimetrice C-O-C/ vibrațiilor simetrice CH<sub>2</sub>, vibrațiilor asimetrice CH<sub>2</sub>, vibrațiilor de forfecare CH<sub>2</sub> și respectiv vibrațiilor de pendulare CH<sub>2</sub> (în cazul ultimelor două benzi).

Au fost evidențiate deasemenea două benzi largi cu posibilele maxime în jur de  $1323\text{ cm}^{-1}$ <sup>69,70</sup> și  $1620\text{ cm}^{-1}$ <sup>71,72</sup>. Aproape de aceste două structuri, în NPs depozitate inițial a fost descoperită o structură formată din două faze, hematită și respectiv maghemită. Intensitatea crescută a ambelor benzi după funcționalizare este cauzată de o cantitate mai mare în care grupurile Fe-O sunt observate în apropierea suprafeței.

Un alt rezultat important din spectrele Raman, referitor la existența PEG-ului pe suprafața depozitului de NPs, poate fi găsit la valori mai mari ale lungimii de undă, în intervalul  $2800 - 3100\text{ cm}^{-1}$  (vezi figura 8). Benzile caracteristice din acest interval sunt reprezentate de vibrațiile de întindere simetrice și asimetrice<sup>64,65,67,68</sup>. O structură largă, în intervalul  $2846 - 3032\text{ cm}^{-1}$ , apare în spectrele Raman ale NPs depozitate inițial (spectrul roșu) și după funcționalizare (spectrul albastru). Două maxime diferite sunt distinse, la aproximativ  $2880\text{ cm}^{-1}$  și  $2940\text{ cm}^{-1}$ , și sunt atribuite vibrațiilor de întindere simetrice și respectiv asimetrice ale grupurilor CH. Intensitatea crescută a acestor structuri după funcționalizare (spectrul albastru), este o evidență a grupurilor CH provenite de la structura lanțurilor PEG.

Analiza Raman a demonstrat clar faptul că grupurile eter din stratul polyethylene-glycol-ului sunt prezente pe suprafața depozitului de NPs<sup>73</sup>.



**Figura 8:** Spectrele Raman comparative ale substratului de Si (spectrul negru), NPs de FeB depozitate inițial (spectrul roșu) și NPs de FeB funcționalizate pe substrat (spectrul albastru), înregistrate la puterea laserului de  $0.14\text{ mW}$

## IV.2 NPs de FeB dispersate și funcționalizate pentru aplicații „in vitro” ca și agent de contrast în MRI

Luând în calcul proprietățile care caracterizează aceste NPs, prezentate în Capitolul III, o distribuție omogenă și forma sferică demonstrate prin AFM și TEM, proprietatea superparamagnetică dar și structura “core-shell” dovedită prin XPS, și estimările teoretice ale dimensiunii magnetice folosind funcțiile “Langevin fit” și “Triple fit”, am considerat ca fiind potrivite pentru viitoarele aplicații ca și SPIO NPs. După cum vom puncta mai târziu, formarea unei soluții de ferrofluid este demonstrată, chiar și în NPs de FeB neacoperite cu PEG.

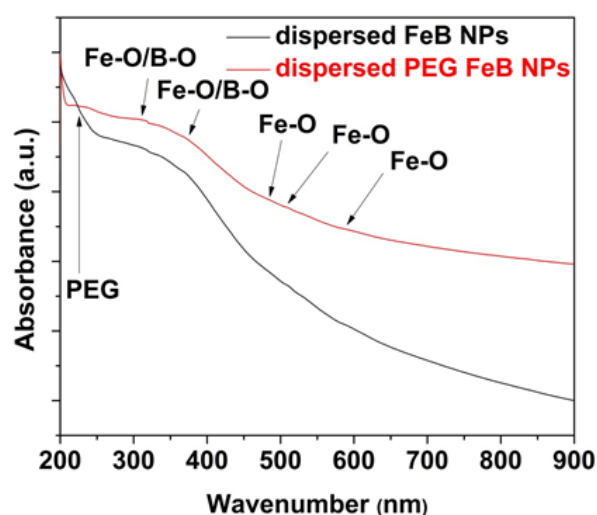
Pentru testarea ca și agent de contrast în MRI, a fost important de utilizat NPs individuale, care, când sunt dispersate în soluție apoasă, au abilitatea de a forma un ferrofluid, neexistând interacțiuni magnetice între ele. De aceea, o metodă diferită de funcționalizare, comparativ cu proba funcționalizată direct pe substrat, a fost realizată, pentru a obține o acoperire completă a NPs. Astfel, funcționalizarea a fost efectuată după cum am descris în secțiunea experimentală și am numit aceste entități rezultate PEG-FeB NPs.

Chiar dacă deja am caracterizat, din punct de vedere al structurii chimice, NPs depozitate inițial și după funcționalizare pe substrat, luând în calcul modul diferit de funcționalizare utilizat pentru obținerea PEG-FeB NPs, înainte de a performa analiza MRI, au fost realizate analize UV-Vis și de potențial Zeta, pentru a indica posibila acoperire a NPs cu PEG.

### IV.2.1. Caracterizarea structurală: UV-Vis

Investigarea chimică și structurală, efectuată pe NPs funcționalizate direct pe substrat, care au fost deasemenea imersate în apă deionizată ultrapură în timpul procesului de funcționalizare, indică grupurile Fe-O și O-C ca fiind structurile dominante, și deasemenea o cantitate mică de grupări B-O sub-stoichiometrice. Analiza UV-Vis a investigat modificările în structura chimică a suprafeței, datorate acoperirii cu PEG a NPs dispersate în soluția apoasă (vezi figura 9). Procesul de atașare al polimerului PEG de suprafața NPs de FeB conduce la câteva schimbări în spectrul UV-Vis. Spectrele de absorpție au fost înregistrate, înainte și după adăugarea PEG-ului, în intervalul lungimilor de undă 200 – 900 nm și linia de corecție, corespunzătoare semnalului de absorpție al solventului, a fost deasemenea aplicată.

O evidență importantă a prezenței PEG-ului în soluția apoasă este banda care apare doar în PEG FeB NPs dispersate, la 230 nm. În concordanță cu Sionkowska et al.<sup>74</sup>, această bandă reprezintă dovada prezenței PEG-ului. În studiul lor, aceștia au raportat faptul că banda PEG-ului pur ar trebui să apară sub 220 nm, dar coada de absorpție a benzii PEG-ului ar putea să ajungă până la 400 nm. Din acest motiv, absorbanta ridicată a spectrului corespunzător PEG FeB NPs dispersate poate fi înțeleasă prin contribuția acestei cozi, ca urmare a prezenței PEG-ului. O structură largă a fost văzută în ambele spectre, în intervalul 250-467 nm. Această structură ar putea fi atribuită existenței și posibilei suprapunerii a mai multor specii în acest interval de lungimi de undă. Astfel, unul din maximele posibile apare la 312 nm. În concordanță cu literatura, acest maxim poate fi datorat ionilor  $\text{Fe}^{2+}$ <sup>75,76</sup> și  $\text{Fe}^{3+}$ <sup>75,77-80</sup>, dar și benzii de  $\text{B}^{2+}$ <sup>55</sup>. Aratând evoluția acestei structuri după atașamentul PEG-ului, caz în care a fost înfățișată mai predominantă, pot fi evidențiate modificările în simetria oxidului de fier și oxidului de bor, ca o consecință a interacțiunilor dintre NPs și lanțurile PEG, prin intermediul atomilor de oxigen. Lățimea structurii sugerează prezența mai multor benzi. Contribuția de la lungimi de undă mai mici a fost atribuită existenței oxizilor  $\text{Fe}^{3+}$  tetraedali, care a fost găsită în studiile anterioare la aproximativ 275 nm<sup>81-87</sup>. O intensitate largă a acestei benzi, care apare indiferent de procesul de funcționalizare, poate fi o evidență a simetriei dezordonate a speciilor  $\text{Fe}^{3+}$  tetraedrale<sup>75,87</sup> sau a posibilei existențe simultane a ionilor  $\text{Fe}^{2+}$ <sup>75</sup>. Banda de la 340 nm, de o vizibilitate mai scăzută, care este observată în ambele spectre, poate fi datorată oxizilor  $\text{Fe}^{3+}$  octaedrali<sup>75,83,84,87</sup>. Alte studii au raportat deasemenea faptul că ionii de oxid  $\text{Fe}^{3+}$ <sup>75,78,87</sup> și oxid  $\text{B}^{2+}$ <sup>55</sup> ar trebui să genereze benzi în jur de 370 nm. Spectrul nostru prezintă deasemenea un semnal de absorpție aproape de această valoare, dar nu pot fi distinse entități individuale. La extremitatea mai ridicată a acestei structuri largi, o altă bandă posibilă poate apărea la aproximativ 30 nm, reprezentând ionii  $\text{Fe}^{3+}$  octaedrali, după cum a fost raportat și de alții<sup>75,79,80,88-91</sup>.



**Figura 9:** Spectrele UV-Vis comparative ale NPs dispersate de FeB (linia neagră) și NPs disperse de PEG FeB (linia roșie).

Pe lângă aceste structuri, au fost observate și alte benzi de intensitate scăzută la valori ale lungimii de undă de 484 nm, 508 nm și 589 nm, corespunzând ionilor  $\text{Fe}^{3+}$ <sup>79,80,87</sup>, oxizilor

Fe<sup>3+</sup> octaedrali<sup>83,84,87,92</sup> și respectiv grupurilor Fe-O localizate în structurile FeO<sub>4</sub><sup>75</sup>. Totuși, Rada et al.<sup>75</sup> a raportat posibilă existență a Fe<sup>2+</sup> în intervalul 450-550 nm. Este important de menționat că nu au fost vizibile modificări la aceste lungimi de undă între cele două spectre.

#### IV.2.2. Caracterizarea sarcinii suprafeței: Potențial Zeta

Modificările stabilității NPs și NPs acoperite, suspendate în apă deionizată ultrapură, au fost investigate cu ajutorul potențialului Zeta.

Variațiile sarcinii suprafeței au fost măsurate prin analiza potențialului zeta (vezi figura 10). Aceste măsurători au fost performate pentru a studia, chiar și după funcționalizarea totală a NPs dispersate, acoperirea suprafeței acestora cu PEG. O creștere a potențialului zeta al NPs a fost evidențiată după adăugarea PEG-ului. În cazul NPs de FeB dispersate, a fost observată o sarcină negativă de -28.23 mV, cu o deviație standard de 7.66 mV, în concordanță cu un studiu anterior pe NPs de oxid de fier<sup>93</sup>, în timp ce, pentru PEG FeB NPs dispersate, a fost determinat un potențial pozitiv de 9.31 mV, cu o deviație standard de 5.95 mV. Existența grupurilor COOH la suprafața NPs de FeB a fost corelată cu sarcina negativă mare a NPs de FeB dispersate<sup>94</sup>.

Luând în calcul un studiu anterior al Hu et al.<sup>66</sup>, unde autorii explică fluctuația valorii potențialului zeta ca fiind dependentă de neutralizarea sarcinii suprafeței<sup>95</sup> sau de efectul de “screening” al NPs acoperite cu PEG, am asumat că, această creștere a potențialului zeta a PEG FeB NPs, poate fi cauzată de neutralizarea sarcinii negative a suprafeței sau de efectul de “screening” al FeB NPs acoperite cu PEG. Acest rezultat confirmă așteptările noastre și modificarea în cea ce privește sarcina sunt o evidență a legării cu succes a lanțurilor de PEG de suprafața NPs (dominate de grupuri de oxid de fier și o cantitate mică de oxid de bor). Este deasemenea de interes faptul că, deși în absența unui ligand, creșterea potențialului zeta al PEG FeB NPs a fost semnificativă, indicând că există o densitate mare de lanțuri PEG legate de suprafața NPs.

Acest fapt este corelat cu analiza realizată pe NPs funcționalizate direct pe substrat și cu alte studii, indicând stabilitatea coloidală sterică a NPs de oxid de fier dispersate

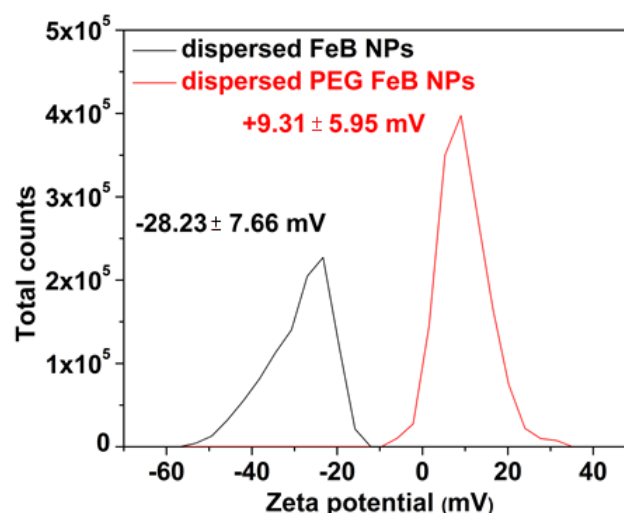


Figura 10: Potențialul Zeta al NPs dispersate de FeB (linia neagră) și NPs dispesate de PEG FeB (linia roșie).

și funcționalizate cu PEG<sup>93,96-98</sup>. După acoperirea cu PEG a NPs, a fost demonstrată stabilitatea NPs dispersate în soluție apoasă.

Prezența lanțurilor PEG la suprafața NPs poate induce o reducere a nivelului de toxicitate al suprafeței. Deasemenea, pentru analiza “in vitro”, poate juca un rol important în procesele de endocitoză și fagocitoză, după cum a fost relatat în alte lucrări<sup>97</sup>. Ei au găsit că, cu cât potențialul zeta este mai apropiat de zero, cu atât endocitoza este mai scăzută. În sens contrar, cu cât sarcina este mai negativă sau mai pozitivă, fagocitoza crește<sup>97,99</sup>.

### IV.2.3. Aplicațiile “in vitro”: agent de contrast în MRI

În acest studiu, scopul nostru a fost să determinăm eficacitatea NPs de FeB cu structura “core/shell”, acoperite cu un strat biocompatibil de polimer, în reducerea semnalului  $T_2$  prin analiza MRI *in vitro*. Dependența de contrast a concentrației de NPs, dar și a NPs funcționalizate împreună cu stabilitatea lor în timp, au fost evaluate. Pentru analiza MRI au fost folosite NPs dispersate în soluție apoasă, raportate la o soluție blanc de apă (ca și control).

#### IV.2.3.1. Îmbunătățirea contrastului în funcție de concentrația de NPs

Trei imagini diferite, corespunzând la trei concentrații de NPs, 0.15 mM, 0.30 mM și 0.44 mM în soluție apoasă, au fost înregistrate pentru a determina dependența de contrast a NPs (vezi figura 11a).

Posibilitatea folosirii NPs superparamagnetice de FeB ca și agent de contrast a fost monitorizată prin modificările timpului de relaxare transversal  $T_2$  al protonilor de apă<sup>100</sup>, în prezența diferitelor concentrații de NPs.

Scăderea timpului de relaxare  $T_2$  a fost determinată pentru fiecare concentrație de NPs și comparată cu valoarea  $T_2$  corespunzătoare apei deionizate ultrapure. Analiza comparativă în funcție de concentrația de NPs arată un trend de atenuare al semnalului  $T_2$  odată cu creșterea concentrației de NPs. Astfel, proba care are cea mai scăzută concentrație de NPs evidențiază o atenuare de 23.1% a semnalului  $T_2$ , comparabil cu cea a controlului (vezi Tabelul 1). O atenuare crescută a fost observată pentru probele cu concentrație mai mare de NPs, semnalul

NPs concentration (mM)	$T_2$ (s)	$R_2$ ( $s^{-1}$ )	$r_2$ ( $s^{-1}mM^{-1}$ )
0.00	0.143	6.99	-
0.15	0.110	9.09	13.99
0.30	0.076	13.16	20.55
0.44	0.073	13.70	15.24

**Tabelul 1:** Valorile obținute ale timpului de relaxare, ratei de relaxare și relaxivității, în funcție de concentrația NPs de FeB

$T_2$  reducându-se cu 46.9% și 49.0% pentru 0.30 mM și respectiv 0.44 mM (vezi Tabelul 1). Aceste valori au fost găsite în concordanță cu alte valori raportate în literatură<sup>100,101,102</sup>, care indică creșterea semnalului MRI cu atenuarea  $T_2$  (care va conduce la obținerea unei imagini cu un contrast mai ridicat).

Acest comportament sugerează ca îmbunătățirea contrastului  $T_2$  este dependentă de concentrație. O stare aproape de saturație poate fi atinsă, din punct de vedere al contrastului, prin creșterea concentrației de NPs, datorată distanței dintre entitățile dispersate vecine, care atinge un minim.

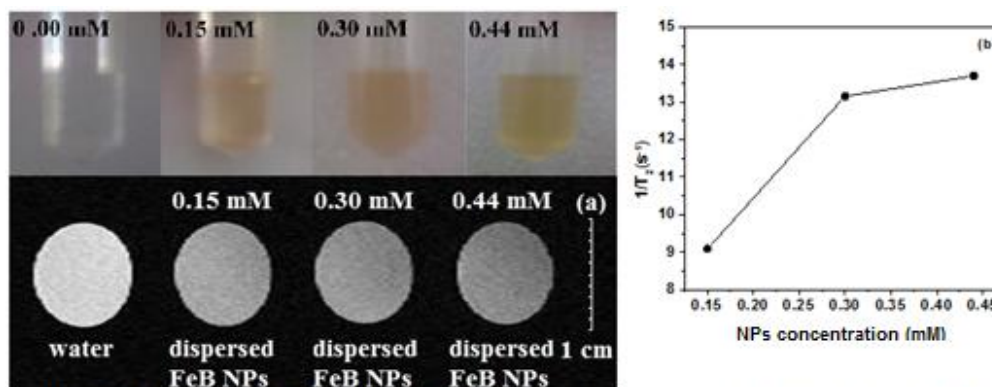
Ratele de relaxare au fost deasemenea evidențiate aici, în funcție de concentrația de NPs de FeB dispersate, arătând o continuă îmbunătățire a  $R_2$  cu creșterea concentrației de NPs (vezi figura 11b, Tabelul 1).

Pentru a evidenția clar posibilitatea utilizării NPs ca și agent de contrast, relaxivitatea transversală  $r_2$  a fost deasemenea determinată pentru toate concentrațiile. Evoluția acestui parametru poate indica posibila utilizare a NPs ca și agent de contrast în MRI<sup>12</sup>.

După cum a fost așteptat, modificările relaxivității  $r_2$  sunt evidente cu creșterea concentrației de NPs. Valorile  $r_2$ , calculate pentru fiecare concentrație (0.15 mM, 0.30 mM și 0.44 mM), au fost  $13.99 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,  $20.55 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  și respectiv  $15.24 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (vezi Tabelul 1). Chiar dacă rata de relaxare  $R_2$  are o creștere continuă cu concentrația (vezi figura 11b), am observat că relaxivitatea  $r_2$  scade pentru proba cu concentrația cea mai ridicată, comparativ cu celelalte. Un comportament similar a fost discutat într-o lucrare anterioară<sup>103</sup>, unde a fost indicat că o concentrație ridicată de NPs împreună cu rata de relaxare ridicată, pot să atingă un contrast similar cu o concentrație scăzută de NPs și o rată de relaxare mai mică. O dependență de concentrație a fost corelată cu o evoluție a contrastului și un punct de inversie a fost înfățișat, unde, creșterea densității de NPs, dispersate în soluție apoasă, nu mai îmbunătățește eficiența ca și agent de contrast, indiferent de trendul crescător al ratei de relaxare  $R_2$ .

Lipsa unei creșteri lineare a lui  $R_2$  poate fi explicată prin scăderea distanțelor dintre particule, ca o consecință a unei agregări parțiale, într-un câmp magnetic aplicat. Acest fapt reflectă că, pentru a evita agregarea între particule, concentrația optimă de NPs de FeB, pentru aplicații ca și agent de contrast în MRI, este 0.30 mM.





**Figura 11:** (a) Ponderile  $T_2$  ale imaginilor de rezonanță magnetică, la 7 T, comparând contrastul  $T_2$  al apei deionizate ultrapure și NPs de FeB dispersate, cu trei concentrații diferite 0.15 mM, 0.30 mM și 0.44 mM; (b) rata de relaxare  $R_2$  în funcție de concentrația NPs de FeB dispersate.

#### IV.2.3.2. Influența acoperirii cu PEG asupra îmbunătățirii contrastului și a stabilității coloidale

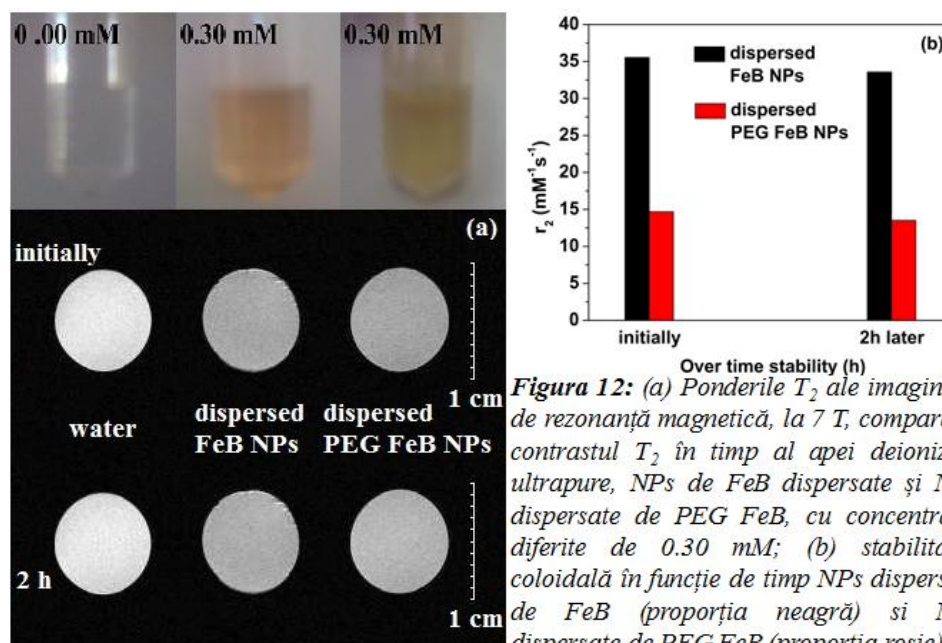
Următorul pas a fost să determinăm diferențele din punct de vedere al contrastului și peste timp, între NPs de FeB dispersate în soluție apoasă și cele acoperite cu PEG și deasemenea dispersate în soluție apoasă, folosind în ambele cazuri concentrația de 0.30 mM (vezi figura 12b). Timpii de relaxare  $T_2$  au fost determinați pentru ambele, NPs de FeB și cele de PEG FeB, și comparați cu valoarea  $T_2$  înregistrată pentru apa deionizată ultrapură. Imaginile MR cu ponderile  $T_2$  au fost înregistrate imediat după funcționalizare și 2 ore mai târziu (vezi figurile 12a,b). Chiar dacă a fost folosită aceeași concentrație de NPs, o reducere mai scăzută a  $T_2$  a fost observată pentru NPs de PEG FeB (vezi figura 12a). Reducerea semnalului  $T_2$  al NPs funcționalizate cu PEG a fost de 39.9%, în comparație cu cea a NPs de FeB nefuncționalizate, care a fost indicată ca fiind 61.6%. Acesta este un comportament normal, luând în considerare că dimensiunea medie a NPs de PEG FeB (și astfel, suprafața) și masa moleculară sunt crescute în comparație cu NPs dispersate și neacoperite<sup>100</sup>, datorită contribuției lanțurilor PEG la suprafața NPs și astfel, distanța dintre “core”-urile magnetice vecine fiind crescută. Astfel, relaxivitatea  $r_2$  a fost găsită mult mai ridicată în cazul NPs neacoperite, în jur de  $35.55 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , în timp ce, cea a NPs acoperite a fost identificată în jur de  $14.69 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (vezi figura 12b). Această reducere a fost legată de scăderea semnalului superparamagnetic<sup>100</sup>.

Stabilitatea în timp a fost dovedită de măsurătorile MRI înregistrate după 2 ore. Alterările  $T_2$ , pentru NPs dispersate și NPs cu PEG dispersate, au fost determinate ca fiind

59.6% și 37.6%, ceea ce evidențiază faptul că nu apar schimbări importante peste timp din punct de vedere al timpului de relaxare  $T_2$ .

O scădere foarte mică a relaxivității  $r_2$  a fost observată după 2 ore de imersie pentru ambele probe, NPs de FeB și NPs de FeB acoperite cu PEG. Valorile relaxivității au scăzut cu  $1.97 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  și respectiv cu  $1.18 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  față de cele înregistrate inițial, reprezentând 7.7% și respectiv 8.0%. Această modificare redusă peste timp poate fi atribuită existenței unui ușor feromagnetism, după cum a fost evidențiat de măsurătorile SQUID, realizate pe NPs depozitate inițial (vezi secțiunea III.4, Capitolul III), și cauzată probabil de distribuția de NPs mici, evidențiată de analiza AFM a probei depozitate inițial (nu este arătată aici). Aceste NPs pot agrega mai rapid sub influența unui câmp magnetic, datorită unei magnetizari remanente mai mari. Această descoperire susține ideea că nu apar modificări importante, din punct de vedere al stabilității coloidale, în funcție de timp, după dispersia în soluție apoasă.

Din analiza de mai sus este dedus că, prezența stratului de PEG, pe suprafața depozitului de NPs de FeB, afectează reflexivitatea, indicând o eficiență scăzută ca și agent de contrast, în comparație cu NPs de FeB neacoperite. Chiar dacă NPs neacoperite dezvoltă o reflexivitate mai ridicată, atașamentul PEG-ului reprezintă o soluție de compromis din punct de vedere al biocompatibilității NPs<sup>10-12,15-17,104-106</sup>.



**Figura 12:** (a) Ponderile  $T_2$  ale imaginilor de rezonanță magnetică, la 7 T, comparând contrastul  $T_2$  în timp al apei deionizate ultrapure, NPs de FeB dispersate și NPs dispersate de PEG FeB, cu concentrația diferite de 0.30 mM; (b) stabilitatea coloidală în funcție de timp NPs dispersate de FeB (proporția neagră) și NPs dispersate de PEG FeB (proporția roșie).

## Concluzii

Scopul inițial al acestei lucrări a fost de a fabrica și caracteriza nanoparticulele superparamagnetice și amorfe de FeB, cu diametrul în intervalul 10-20 nm, care pot fi folosite în medicină, de exemplu ca agent de contrast în MRI, și deasemenea în domeniul aplicațiilor tehnologice.

Caracterizările AFM și TEM au demonstrat forma sferică a nanoparticulelor fabricate. Măsurătorile TEM au indicat deasemenea natura amorfă a depozitului de nanoparticule.

Compoziția elementală rezultată din analiza XPS în adâncime a fost caracterizată de o schimbare a compoziției de la suprafață către interior, cu o creștere a raportului Fe/B (de la 0.29 la 0.56, și după un timp mai lung de bombardament cu ioni de  $Ar^+$ , corespunzând unei adâncimi de 1.8 nm, raportul devine relativ constant) și a nivelului de oxidare. Nanoparticulele de FeB sunt caracterizate de o structură de tip “core-shell” compusă din fier și o structură a învelișului formată din amestecul fierului cu borul. Nanoparticulele nu prezintă comportament feromagnetic la temperatura camerei, deoarece atomii de fier din structura învelișului sunt izolați într-o matrice de oxid de bor. Caracterizarile AFM și TEM relevă o distribuție a dimensiunii NPs de FeB foarte largă. Dimensiunea superparamagnetică relativ mică, dedusă din măsurătorile SQUID, poate fi înțeleasă prin prezența unui invelis foarte gros de oxid distribuit pe un interval variat de grosimi, care deasemenea indică o influență puternică a oxigenului în proprietățile rezultate ale nanoparticulelor.

Valoarea redusă a dimensiunii magnetice efective determinată prin reprezentările “Langevin fit” și “Triple fit”, împreună cu prezența învelișului de oxid de diferite dimensiuni care înconjoară componenta magnetică, sunt în contradicție cu distribuția îngustă a temperaturii de blocare. Acest comportament ciudat poate fi explicat prin faptul că structura învelișului nu este magnetică, și din acest motiv, nu sunt influențe, datorate diferitelor grosimi ale învelișului de oxid, în răspunsul magnetic al nanoparticulelor.

Pentru a evita eliminarea prematură din mediile biologice, după creșterea lor, nanoparticulele au fost acoperite cu polyethylene-glycol (PEG).

Au fost folosite două metode diferite de acoperire. Mai întâi, pentru o mai bună evidențiere a atașamentului PEG-ului și a modificărilor în proprietățile chimice și structurale, depozitul de nanoparticule a fost funcționalizat direct pe substratul de siliciu.

Analizele XPS între scan-urile extinse și spectrele de înaltă rezoluție ale nanoparticulelor neacoperite și a celor acoperite cu PEG direct pe substrat, reflectă schimbări importante în structura chimică a suprafeței, caracterizate prin scăderea cantității de bor după funcționalizare, de la 81.4% la 25.3%, în timp ce contribuția fierului crește de la 19.6% la 74.7%. Dizolvarea unei cantități importante de bor după imersia depozitului de nanoparticule a fost demonstrată de analiza UV-Vis, efectuată pe soluția apoasă folosită pentru funcționalizare, care indică prezența borului. Atașarea PEG-ului de suprafața depozitului de nanoparticule a fost foarte bine indicată de creșterea cantităților de oxigen și de carbon datorită contribuției adiționale a unităților  $\text{CH}_2\text{-O}$ , originare din componența lanțurilor PEG. Datele XPS au fost deasemenea susținute de analizele structurale Raman și IR, care evidențiază, în nanoparticulele acoperite, prezența grupurilor de eter din stratul de polyethylene-glycol.

Modificările din punct de vedere al grupurilor chimice, între suprafața și interiorul nanoparticulelor funcționalizate, au fost investigate în intervalul 0 - 19.1 nm distanță față de suprafață. În ciuda scăderii concentrației de bor după atașarea PEG-ului, evoluția cu adâncimea este similară ca și în cazul probei depozitate inițial, cu o creștere a concentrației de fier de la suprafață către interior, ca o consecință a scăderii borului. Evoluția chimică în funcție de adâncime indică o oxidare ușor mai ridicată în primele stagii de adâncime studiate, până la 1.2 nm distanță față de suprafață. Într-un mod similar ca și în cazul nanoparticulelor depozitate inițial, profilul în adâncime a arătat că atomii de fier se leagă preferențial de cei de oxigen. Fierul metalic apare mult mai aproape de suprafața nanoparticulelor după funcționalizare. Porozitatea ridicată a depozitului duce la dizolvarea borului și din interiorul depozitului. Comparând cu structura borului care caracterizează interiorul nanoparticulelor depozitate inițial, nu sunt observate diferențe importante între 0 nm și 19.1 nm după funcționalizarea pe substrat, cu o distribuție aproape omogenă a oxidului sub-stoichiometric B-O, indiferent de adâncime. Concentrația de azot indică deasemenea o distribuție relativ omogenă de-a lungul întregii adâncimi studiate. Din evoluția în funcție de distanța față de suprafață a grupurilor O-C, originare de la structura PEG-ului, a fost determinată grosimea stratului de PEG de deasupra depozitului de nanoparticule, ca fiind 4.2 nm. Totuși, în interiorul straturilor de nanoparticule s-a găsit o cantitate constantă și substanțială de legături O-C, fiind cauzată de porozitatea ridicată a depozitului. În timp ce oxigenul de la suprafață a fost găsit sub formă de hidroxid, a fost observată o tranziție către starea de oxid și, după 6 nm distanță față de suprafață, contribuția hidroxidului a fost nulă.

Pentru investigarea îmbunătățirii contrastului, a doua cale utilizată pentru a funcționaliza nanoarticulele a constat mai întâi în separarea acestora de pe substrat și doar apoi acoperirea lor cu polyethylene-glycol. Măsurătorile UV-Vis și de potențial Zeta, efectuate pe nanoparticulele dispersate și funcționalizate, evidențiază, în concordanță cu măsurătorile XPS, Raman și IR pe proba funcționalizată pe substrat, interacțiunea chimică dintre suprafața nanoparticulelor și lanțurile PEG.

Trei concentrații diferite de 0.15 mM, 0.30 mM și 0.44 mM au fost utilizate pentru investigarea schimbărilor în contrast în funcție de concentrația nanoparticulelor. Lipsa unei linearități în creșterea ratei de relaxare  $R_2$  poate fi explicată de scăderea distanțelor dintre particule ca o consecință a unei agregări parțiale sub influența unui câmp magnetic aplicat. Pentru a preveni agregarea dintre particule, concentrația optimă de nanoparticule de FeB, pentru aplicații ca și agent de contrast în MRI, ar trebui să fie 0.30 mM, cu o relaxivitate de  $20.55 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ .

Pentru a investiga evoluția din punct de vedere a contrastului după acoperirea cu PEG, concentrația de nanoparticule de 0.30 mM a fost investigată înainte și după funcționalizare. O scădere a semnalului superparamagnetic a fost observată în cazul nanoparticulelor acoperite cu PEG, fiind cauzată de diminuarea relaxivității, care a fost găsită mult mai scăzută ( $14.69 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) în comparație cu cea a nanoparticulelor neacoperite ( $35.55 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Nanoparticulele acoperite cu PEG au arătat o eficiență mai scăzută ca și agent de contrast. Totuși, atașamentul acestuia reprezintă o soluție de compromis din punct de vedere al biocompatibilității nanoparticulelor. Nu au fost evidențiate schimbări importante în funcție de timp, după dispersarea în soluția apoasă, în cea ce privește stabilitatea coloidală.

După cum s-a menționat deja, analiza MRI “in vitro” a fost realizată sub influența unui câmp magnetic de 7 T. Acest lucru este important, având în vedere că analizele MRI clinice implică de asemenea valori mari ale câmpului magnetic pentru nanoparticulele utilizate ca și agent de contrast <sup>12</sup>.

Idea folosirii nanoparticulelor pe bază de fier ca și agent de contrast în MRI a mai fost studiată <sup>5,107</sup>. Este bine știut faptul că dimensiunea nanoparticulelor reprezintă un parametru important din punct de vedere al evoluției relaxivității. Cu cât sunt mai mici nanoparticulele, cu atât relaxivitatea este mai scăzută <sup>16,100</sup>, în bună corelare cu magnetizarea de saturație, care scade cu scăderea dimensiunii <sup>108</sup>. În particular, nanoparticulele de oxid de fier cu dimensiunea de 4 nm indică o relaxivitate de aproximativ  $75 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  <sup>16</sup>. Luând în

calcul că dimensiunea superparamagnetică a nanoparticulelor de FeB a fost găsită ca fiind 2.9 nm (vezi secțiunea III.4, Capitolul III), valoarea relaxivității este apropiată de cea din literatură. Un studiu similar pe nanoparticule de FeB a fost deasemenea observat <sup>109</sup>. Comparând cu acesta, unde valoarea relaxivității a fost de  $9.96 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , nanoparticulele de FeB din studiul de față indică o relaxivitate mai ridicată și astfel o îmbunătățire a contrastului pe  $T_2$  mai eficientă. În concluzie, din analiza de mai sus, răspunsul ca și agent de contrast în MRI al nanoparticulelor superparamagnetice de FeB, atât neacoperite cât și funcționalizate cu PEG, este promițător pentru viitoarele studii “in vivo”.

## Referințe

- <sup>1</sup> M. L. Liu, H. L. Zhou, Y. R. Chen, Y. Q. Jia, *Materials Chemistry and Physics*, **89**, 289 (2005).
- <sup>2</sup> Y. Fan, Z. Hu, J. Shen, Q. Yan, Y. Chen, *J. Mater. Sci. Lett.* **12**, 596 (1993).
- <sup>3</sup> H. Wang et al., *Appl. Catal. A*, **129**, L143 (1995).
- <sup>4</sup> I. Narita, T. Oku, H. Tokoro and K. Suganuma, *Journal of Electron Microscopy*, **55** (3), 123 (2006).
- <sup>5</sup> L. Calucci, G. Ciofani, D. De Marchi, C. Forte, A. Menciasci, L. Menichetti, V. Positano, *J. Phys. Chem. Lett.* **1**, 2561–2565 (2010).
- <sup>6</sup> J. Bansmann, S. H. Baker, C. Binns, J. A. Blackman, J. P. Bucher, J. Dorantes-Davila, V. Dupuis, L. Favre, D. Kechrakos, A. Kleibert, K. H. Meiwes-Broer, G. M. Pastor, A. Perez, O. Toulemonde, K. N. Trohidou, J. Tuaille, Y. Xie, *Surf. Sci. Rep.* **56**, 189 (2005).
- <sup>7</sup> M. Diaz, E. Roman, L. Martinez, R. Fermento, M. M. Ruano, M. Garcia-Hernandez, A. Cebollada, D. Llamosa P, C. Ballesteros, G. Armelles, Y. Huttel, *J. Nanopart. Res.* **13**, 5321 (2011).
- <sup>8</sup> L. Martínez, M. Díaz, E. Román, M. Ruano, D. Llamosa P., Y. Huttel, *Langmuir*, **28**, 11241 (2012).
- <sup>9</sup> Oxford Applied Research, <http://www.oaresearch.co.uk>.
- <sup>10</sup> C. Corot, P. Robert, J. M. Idée, M. Port, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **58**, 1471–1504 (2006).
- <sup>11</sup> C. Barrera, A. P. Herrera, C. Rinaldi, *Journal of Colloid and Interface Science*, **329**, 107–113 (2009).
- <sup>12</sup> A. Carvalho, M. Clara Gonçalves, M. B. F. Martins, D. Meixedo, G. Feio, *Magnetic Resonance Imaging*, **31**, Issue 4, 610–612 (2013).
- <sup>13</sup> Y. Zhang, J. Zhang, *Journal of Colloid and Interface Science*, **283**, 352–357 (2005).
- <sup>14</sup> S. A. Koch et. al, *Appl. Phys. Lett.* **84**, 26 (2004).
- <sup>15</sup> J. E. Rosen, L. Chan, D. –B. Shieh, DDS, DMSc, Frank X. Gu, PhD, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* (2011).
- <sup>16</sup> M. A. Hahn, A. K. Singh, P. Sharma, S. C. Brown, B. M. Moudgil, *Anal Bioanal Chem.* **399**, 3–27 (2011).
- <sup>17</sup> C. C. Berry and A. S. G. Curtis, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **36**, R198 (2003).
- <sup>18</sup> K. O’Grady, A. Bradbury, *J. Magn. Mater.* **39**, 91 (1983).
- <sup>19</sup> M. M. Ruano, M. Díaz, L. Martínez, E. Navarro, E. Román, M. García-Hernandez, A. Espinosa, C. Ballesteros, R. Fermento, Y. Huttel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 316 (2013).
- <sup>20</sup> I. Fernandez-Martinez, M. S. Martin-Gonzalez, R. Gonzalez-Arrabal, R. Alvarez-Sancheza, F. Brionesa, J. L. Costa-Kramer, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **320**, 68–75 (2008).
- <sup>21</sup> M. S. Martin-Gonzalez, Y. Huttel, A. Cebollada, G. Armelles, F. Briones, *Surf. Sci.* **571**, 63 (2004).
- <sup>22</sup> O. Ponta, C. Gruian, E. Vanea, B. Oprea, H.J. Steinhoff, S. Simon, *Journal of Molecular Structure*, 1044, 2-9 (2013);
- <sup>23</sup> K. Kumari, S. Ram, R. K. Kotnala, *Materials Chemistry and Physics*, **129**, 1020 (2011).
- <sup>24</sup> F. Stobiecki, S. Schwarzl, T. Stobiecki and H. Hoffmann, *Colloque C8, suppliment au n<sup>o</sup>8, Tome 41, page C8-171* (1980).
- <sup>25</sup> A. Essafti, A. Abouelaoualim, J. L. G. Fierro, E. Ech-chamikh, *Thin Solid Films*, **517**, 4281 (2009).
- <sup>26</sup> G. D. Khattak, M. A. Salim, L. E. Wenger, A. H. Gilani, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **244**, 128 (1999).
- <sup>27</sup> P. C. J. Graat, M. A. J. Somers, *Surf. Interf. Anal.* **26** (11), 773 (1998).
- <sup>28</sup> P. C. J. Graat, M. A. J. Somers, *Appl. Surf. Sci.* **101**, 36 (1996).

- <sup>29</sup> A. P. Grosvenor, B. A. Kobe, M. C. Biesinger, N. S. McIntyre, *Surface and Interface Analysis*, **36**, 1564 (2004).
- <sup>30</sup> S. J. Roosendaal, I. A. M. E. Giebels, A. M. Vredenberg, F. H. P. M. Habraken, *Surf. Interf. Anal.* **26** (10), 758 (1998).
- <sup>31</sup> K. Wandelt, *Surf. Sci. Rep.* **2**, 75 (1982);
- <sup>32</sup> M. Grafouté, C. Petitjean, C. Rousselot, J. F. Pierson, J. M. Grenèche, *Scr. Mater.* **56**, 153 (2007).
- <sup>33</sup> C. D. Wagner, W. M. Riggs, L. E. Davis, J. F. Moulder, in: G.E. Muilenberg (Ed.), Perkin-Elmer Co., Minnesota, 1979.
- <sup>34</sup> D. Schild, S. Ulrich, J. Ye, M. Stüber, *Solid State Sciences*, **12**, 1903-1906 (2010).
- <sup>35</sup> C. L. Perkins, M. Trenary, T. Tanaka, S. Otani, *Surface Science*, **423**, 222–228 (1999).
- <sup>36</sup> C. W. Ong, H. Huang, *Journal of Applied Physics*, **95**, 7 (2004).
- <sup>37</sup> Y. Wang, M. Trenary, *Chem. Mater.* **5**, 199-205 (1993).
- <sup>38</sup> B. Van Devener, J. P. L. Perez, S. L. Anderson, *J. Mater. Res.* **24**, 11 (2009).
- <sup>39</sup> O. M. Moon, B. C. Kang, S. B. Lee, J. H. Boo, *Thin Solid Films*, **464–465**, 164–169 (2004).
- <sup>40</sup> Y. P. Xie, G. Liu, G. Q. Lub, H. -M. Cheng, *Nanoscale*, **4**, 1267 (2012).
- <sup>41</sup> J. F. Pierson, C. Rousselot, *Surf. Coat. Technol.* **180–181**, 44 (2004).
- <sup>42</sup> G. Bhargava, I. Gouzman, C. M. Chun, T. A. Ramanarayanan, S. L. Bernasek, *Applied Surface Science*, **253**, 4322–4329 (2007).
- <sup>43</sup> A. Ennaoui, S. Fiechter, W. Jaegermann, H. Tributsch, *Journal of the Electrochemical Society*, **133**, 97-106 (1986).
- <sup>44</sup> S. Karthe, R. Szargan, E. Suoninen, *Applied Surface Science*, **72**, 157-170 (1993).
- <sup>45</sup> K. Sasaki, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **58**, 4649-4655 (1994).
- <sup>46</sup> C. M. Eggleston, J. J. Ehrhardt, W. Stumm, *American Mineralogist*, **81**, 1036-105 (1996).
- <sup>47</sup> D. J. Joyner, D. M. Hercules, *J. Chem. Phys.* **72**, 1095 (1980).
- <sup>48</sup> B. Oprea, T. Radu, S. Simon, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **379**, 35–39 (2013).
- <sup>49</sup> J. F. Moulder, W. F. Stickle, P. E. Sobol, K. D. Bomben, *Physical Electronics, Inc.* (1995).
- <sup>50</sup> C. P. Bean, J. D. Livingston, *J. Appl. Phys.* **30**, 120 (1959).
- <sup>51</sup> Y. Shiratsuchi, M. Yamamoto, Y. Endo, D. Li, S. D. Bader, *J. Appl. Phys.* **94**, 767 (2003).
- <sup>52</sup> A. Tamion, M. Hillenkamp, F. Tournus, E. Bonet, V. Dupuis, *Appl. Phys. Lett.* **95**, 062503 (2009).
- <sup>53</sup> J. Carvell, E. Ayieta, A. Gavrin, R. Cheng, V. R. Shahand, P. Sokol, *Journal of Applied Physics*, **107**, 103913 (2010).
- <sup>54</sup> M. S. Martin-Gonzalez, Y. Huttel, A. Cebollada, G. Armelles, F. Briones, *Surf. Sci.* **571**, 63 (2004).
- <sup>55</sup> Q. Ling, J. Sun, Q. Zhou, Q. Zhao, H. Ren, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **200**, 141–147 (2008).
- <sup>56</sup> J. F. Moulder, W. F. Stickle, P. E. Sobol, K. D. Bomben, *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy*, Perkin-Elmer Corporation, Physical Electronics Division, Eden Prairie (1992).
- <sup>57</sup> Y. Fu, H. Du, S. Zhang, W. Huang, *Materials Science and Engineering A*, **403**, 25–31 (2005).
- <sup>58</sup> V. Datsyuk, M. Kalyva, K. Papagelis, J. Parthenios, D. Tasis, A. Siokou, I. Kallitsis, C. Galiotis, *CARBON*, **46**, 833–840 (2008).



- <sup>59</sup> P. Borowicz, M. Latek, W. Rzdokiewicz, A. Łaszcz, A. Czerwinski, J. Ratajczak, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* **3** (2012).
- <sup>60</sup> Y. GOURBEYRE, E. GUILMINOT, F. DALARD, *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE*, **38**, 1307 – 1313 (2003).
- <sup>61</sup> H. Y. Jung, R. K. Gupta, E. O. Oh, Y. H. Kim, C. M. Whang, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **351**, 372–379 (2005).
- <sup>62</sup> B. Bozzini, L. D'Urzo, C. Mele, V. Romanello, *J. Mater. Sci.: Mater. Electron*, **17**, 915 (2006).
- <sup>63</sup> V. Califano, F. Bloisi, L. R. M. Vicari, P. Colombi, E. Bontempi, L. E. Depero, *Applied Surface Science*, **254**, Issue 22, 7143–7148 (2008).
- <sup>64</sup> E. Tamariz, A. C. A. Wan, Y. S. Pek, M. Giordano, G. Hernandez-Padron, A. Varela-Echavarria, I. Velasco, V. M. Castano, *J Mater Sci: Mater Med.* **22**, 2097–2109 (2011).
- <sup>65</sup> N. B. Colthup, L. H. Daly, S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy* (Academic Press, Boston) (1990).
- <sup>66</sup> L. Hu, D. Hach, D. Chaumont, C. -H. Brachais, J. -P. Couvercelle, A. Percheron, *J Sol-Gel Sci Technol*, **49**, 277–284 (2009).
- <sup>67</sup> S. Gunasekaran, E. Sailatha, S. Seshadri, S. Kumaresan, *Indian Journal of Pure & Applied Physics*, **47**, 12-18 (2009).
- <sup>68</sup> L. D'Urzo, B. Bozzini, *J Mater Sci: Mater Electron*, **20**, 217–222 (2009).
- <sup>69</sup> M. H. Sousa, F. A. Tourinho, J. C. Rubim, **31**, Issue 3, 185-191 (2000).
- <sup>70</sup> X. Bo, G. Li, X. Qiu, Y. Xue, L. Li, *Journal of Solid State Chemistry*, **180**, Issue 3, 1038–1044 (2007).
- <sup>71</sup> L. Slavov, M. V. Abrashev, T. Merodiiska, C. Gelev, R. E. Vandenberghe, I. Markova-Deneva, I. Nedkov, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **322**, Issue 14, 1904–1911 (2010).
- <sup>72</sup> C. Guo, Y. Hu, H. Qian, J. Ning, S. Xu, *Materials Characterization*, **62**, Issue 1, 148–151 (2011).
- <sup>73</sup> T. -W. Lin, C. G. Salzmann, L. -D. Shao, C. -H. Yu, M. L. H. Green, *Carbon*, **47**, Issue 6, 1415–1420 (2009).
- <sup>74</sup> Sionkowska, *Polymer Degradation and Stability*, **91**, 305-312 (2006).
- <sup>75</sup> S. Rada, A. Dehelean, E. Culea, *J Mol Model*, **17**, 2103–2111 (2011).
- <sup>76</sup> E. J. Friebele, D. R. Ullmann, N. J. Kreidl, *American Ceramic Society*, Westerville, 205 (1991).
- <sup>77</sup> Y. Tanabe, S. Sugano, *J. Phys. Soc. Jpn.* **9**, 753 (1954).
- <sup>78</sup> D. M. Sherman, T. D. Waits, *Am. Mineral.* **70**, 1262 (1985).
- <sup>79</sup> S. Peulon, Q. Baraize, A. Chausse, *Electrochimica Acta*, **52**, 7681–7688 (2007).
- <sup>80</sup> S. J. Palmer, B. J. Reddy, R. L. Frost, *Spectrochimica Acta Part A*, **71**, 1814–1818 (2009).
- <sup>81</sup> L. Capek, V. Kreibich, J. Dedecek, T. Grygar, B. Wichterlova, Z. Sobalik, J.A. Martens, R. Brosius, V. Tokarova, *Microporous Mesoporous Mater.* **80**, 279 (2005).
- <sup>82</sup> J. Perez-Ramirez, J. C. Groen, A. Brückner, M. S. Kumar, U. Bentrup, M. N. Debbagh, L. A. Villaescusa, *J. Catal.* **232**, 318 (2005).
- <sup>83</sup> M. Schwidder, M. S. Kumar, K. Klementiev, M. M. Pohl, A. Brückner, W. Grünert, *J. Catal.* **231**, 314 (2005).
- <sup>84</sup> M. S. Kumar, M. Schwidder, W. Grünert, U. Bentrup, A. Brückner, *J. Catal.* **239**, 173 (2006).
- <sup>85</sup> P. Balle, B. Geiger, S. Kureti, *Appl. Catal. B.* **85**, p. 109, (2008).
- <sup>86</sup> M. Schwidder, S. Heikens, A. De Toni, S. Geisler, M. Berndt, A. Brückner, W. Grünert, *J. Catal.* **259**, 96 (2008).

- <sup>87</sup> J. Gurgul, K. Łatka, I. Hnat, J. Rynkowski, S. Dzwigaj, *Microporous and Mesoporous Materials*, **168**, 1–6 (2013).
- <sup>88</sup> G. R. Hunt, R. P. Ashely, *Econ. Geol.* **74**, 1613 (1979).
- <sup>89</sup> M. D. Dyar, C. McCammon, M. W. Schaefer (Eds.), *The Geochem., Soc. Special Pub.* **5**, 23. (1996).
- <sup>90</sup> J. L. Bishop, E. Murad, *Am. Mineral.* **90**, 1100 (2005)
- <sup>91</sup> N. S. Hush, F. A. Cotton (Ed.), *Progress in Inorganic Chemistry*, vol. 8, Interscience Publishers, New York, 391 (2006)
- <sup>92</sup> M. S. Kumar, M. Schwidder, W. Grünert, U. Bentrup, A. Brückner, *J. Catal.* **227**, 384 (2004).
- <sup>93</sup> N. Griffete, M. J. D. Clift, A. Lamouri, R. G. Digigow, A. M. Mihut, A. Fink, B. Rothen-Rutishauser, H. Dietsch, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **415**, 98–104 (2012).
- <sup>94</sup> C. Hoskins, L. Wang, W. P. Cheng, A. Cuschieri, *Nanoscale Research Letters*, **7**, 77 (2012).
- <sup>95</sup> A. H. Lu, E. L. Salabas, F. Schuth, *Angew Chem Int Ed.* **46**, 1222 (2007).
- <sup>96</sup> J. Gautier, E. Munnier, A. Paillard, K. Hervé, L. Douziech-Eyrolles, M. Soucé, P. Dubois, I. Chourpa, *International Journal of Pharmaceutics*, **423**, 16–25 (2012).
- <sup>97</sup> S. Zhang, L. Zou, D. Zhang, X. Pang, H. Yang, Y. Xu, *J Nanopart Res.* **13**, 3867–3876 (2011).
- <sup>98</sup> M. Kim, J. Jung, J. Lee, K. Na, S. Park, J. Hyun, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **76**, 236–240 (2010).
- <sup>99</sup> T. Neuberger, B. Schopf, H. Hofmann, M. Hofmann, B. V. Rechenberg, *J Magn Magn Mater.* **293**, 483–496 (2005).
- <sup>100</sup> D. Patel, A. Kell, B. Simard, B. Xiang, H. Y. Lin, G. Tian, *Biomaterials*, **32**, Issue 4, 1167–1176 (2011).
- <sup>101</sup> R. Weissleder, A. Moore, U. Mahmood, R. Bhorade, H. Benveniste, E. A. Chiocca *et al.*, *Nat Med.* **6**, 351–354 (2000).
- <sup>102</sup> Y. M. Huh, Y. W. Jun, H. T. Song, S. Kim, J. S. Choi, J. H. Lee *et al.*, *J Am Chem Soc.* **127**, 12387–12391 (2005).
- <sup>103</sup> T. Ahmad, H. Bae, I. Rhee, Y. Chang, J. Lee, S. Hong, *Current Applied Physics*, **12**, Issue 3, 969–974 (2012).
- <sup>104</sup> A. K. Gupta, M. Gupta, *Biomaterials*, **26**, 3995–4021 (2005).
- <sup>105</sup> Y. Lee, H. Lee, Y. B. Kim, J. Kim, T. Hyeon, H. W. Park, P. B. Messersmith, T. G. Park, *Adv. Mater.* **20**, 4154–4157 (2008).
- <sup>106</sup> M. Mahmoudi, A. Simchi, A.S. Milani, P. Stroeve, *Journal of Colloid and Interface Science* **336**, 510–518 (2009).
- <sup>107</sup> L. Menichetti, D. De Marchi, L. Calucci, G. Ciofani, A. Menciassi, C. Forte, *Applied Radiation and Isotopes* **69**, 1725–1727 (2011).
- <sup>108</sup> M. Vallet, P. Rodriguez, X. Obradors, A. Isalgue, J. Rodriguez, M. Pernet, *JOURNAL DE PHYSIQUE C6*, **09**, 46, C6-335 (1985).
- <sup>109</sup> M. D. Shultz, S. Calvin, P. P. Fatouros, S. A. Morrison, E. E. Carpenter, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **311**, 464–468 (2007).

