

11/10

2018, continuación...

*Curso Universitario de  
Especialización en  
NanoPrevención*

**iesmat**

**UC**

UNIVERSIDAD  
DE CANTABRIA

Tamaño de Nanopartícula/Concentración/Separación... Nanotoxicidad

# TAMAÑO DE PARTÍCULAS: TECNOLOGÍAS TRADICIONALES



Microscopía



Imagen



Tamices



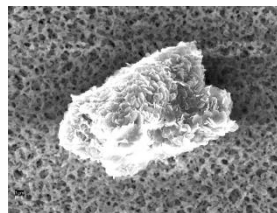
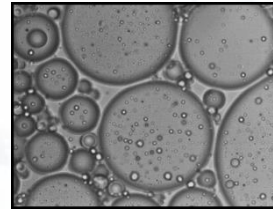
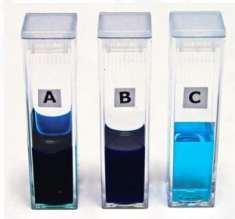
Grindómetro

Sedimentación

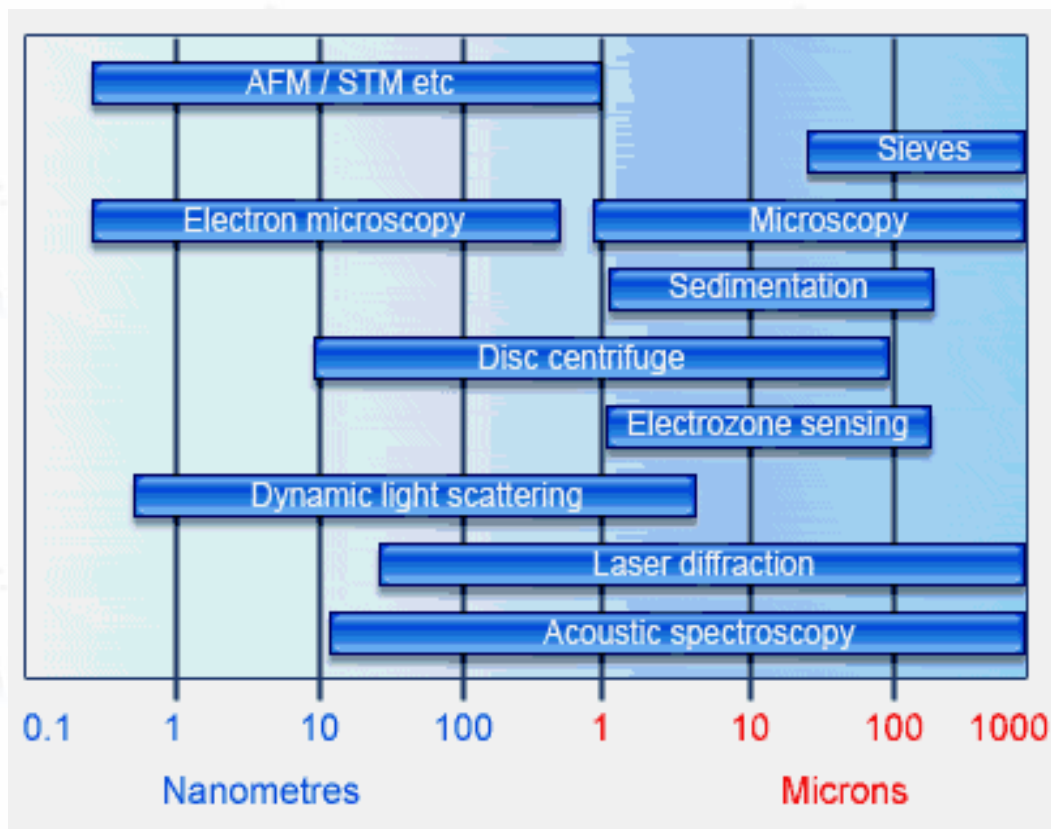
- Pipeta de Andreasen
- Rayos X



# ¿Qué queremos medir?



# RANGO DE TAMAÑO



Hay muy pocas técnicas que son capaces de medir por debajo de 10nm, DLS es una de ellas.

Zetasizer Nano

0.6nm –6000 nm  
(sedimentación)

# Tamaño de Nanopartícula / Visualización / Concentración / Separación... Nanotoxicidad

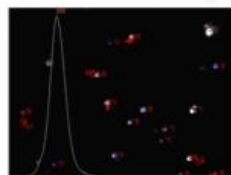


## Difracción Láser/Microtecnología

Tamaños desde las micras hasta 3.5 mm.

## DLS - Dynamic Light Scattering/Nanotecnología

Tamaños desde 0.3 nanómetros hasta... sedimentación.



## Nanoparticle Tracking Analysis - NTA

Tamaños de 10nm a 2000 nm. Concentración

## FFF - Field Flow Fractionation

Separación de Nanopartículas



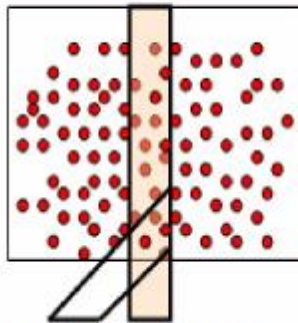
# DLS - DYNAMIC LIGHT SCATTERING

## M3-PALS - Mixed Mode Measurement

### *Tamaño de partícula y Potencial Z*



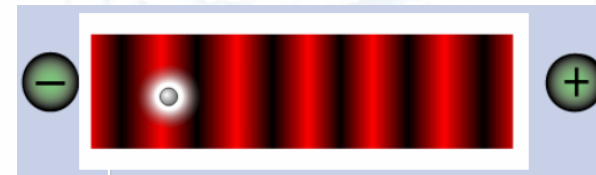
**DLS-NIBS™**



Detector    Láser

**Zetasizer Nano**

**M3-PALS**



# DLS y Movimiento browniano



**Dynamic Light Scattering (difusión dinámica de luz)**

ó

**Photon Correlation Spectroscopy (espectroscopía de correlación de fotones)**

ó

**Quasi-Elastic Light Scattering (difusión casi elástica de luz)**

**Es una técnica para medir tamaño submicrónico.**

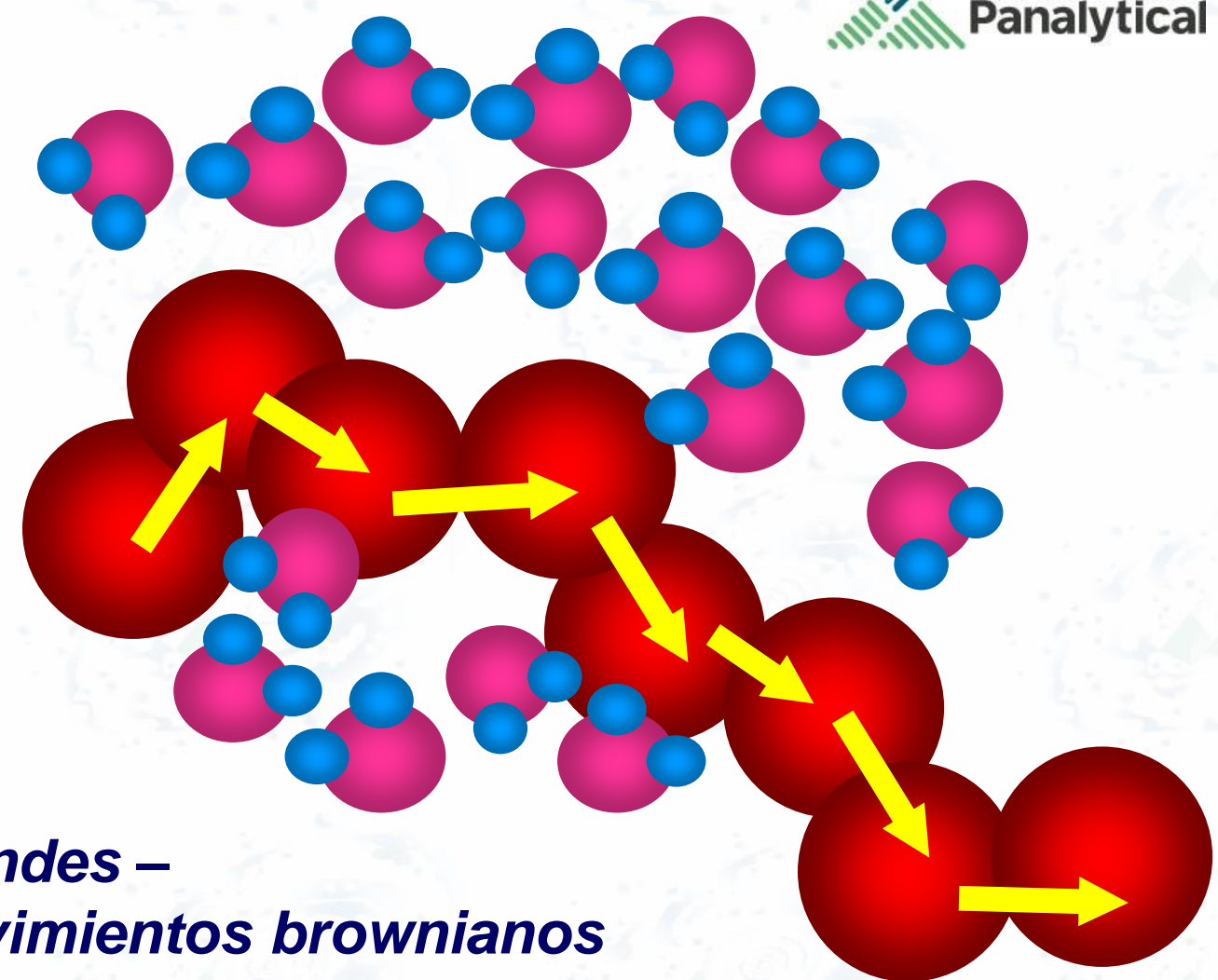
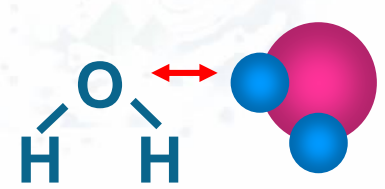
**Mide el movimiento Browniano y lo relaciona con el tamaño**

## ¿Cómo funciona ?

- **Necesitamos una forma de medir el movimiento Browniano de las partículas y relacionarlo con el tamaño.**
- **En DLS, medimos mediante la fluctuación de intensidad de la luz dispersada que proviene del movimiento Browniano.**
- **¿Cómo surgen estas fluctuaciones?**



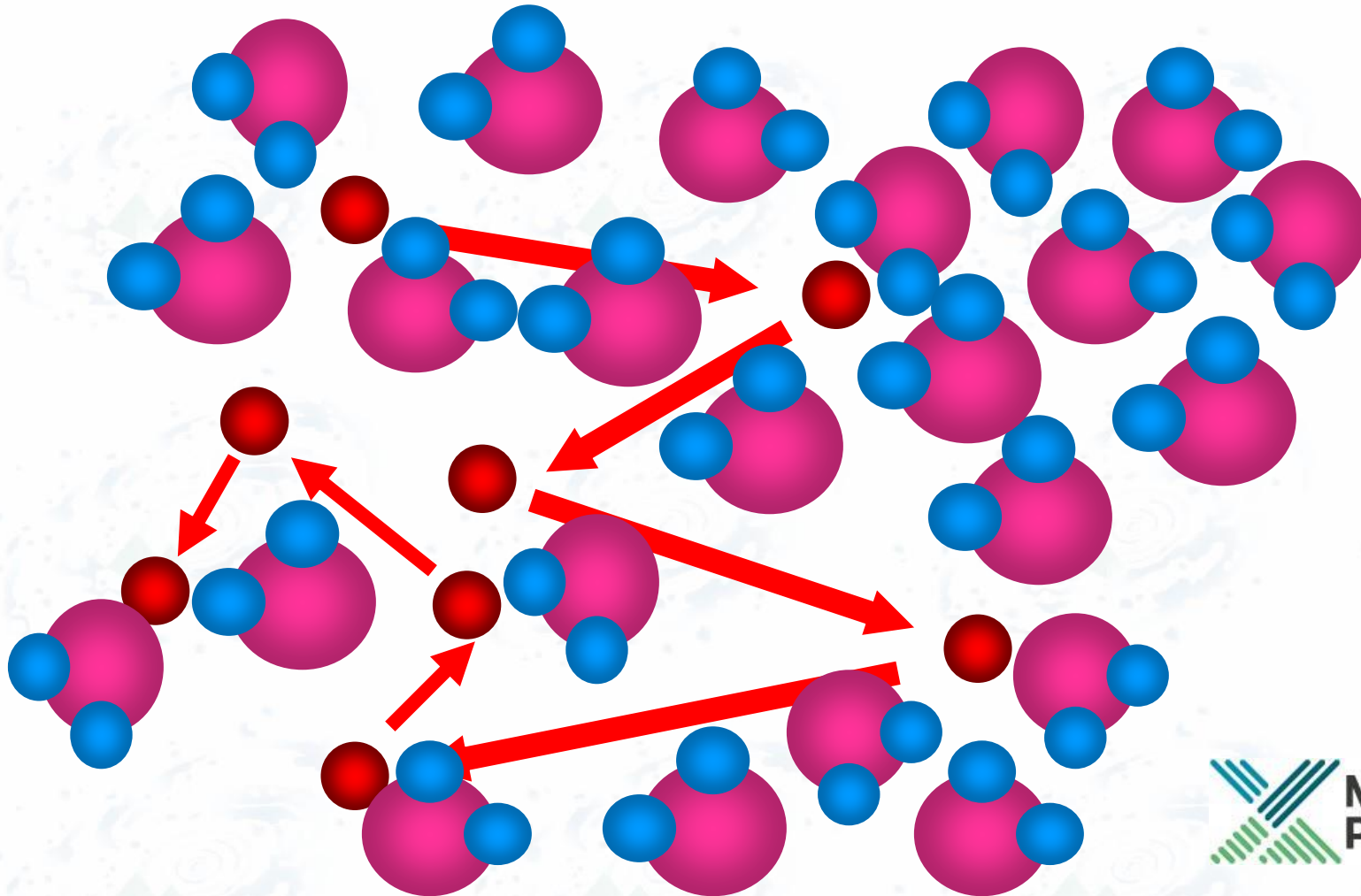
# MOVIMIENTO BROWNIANO



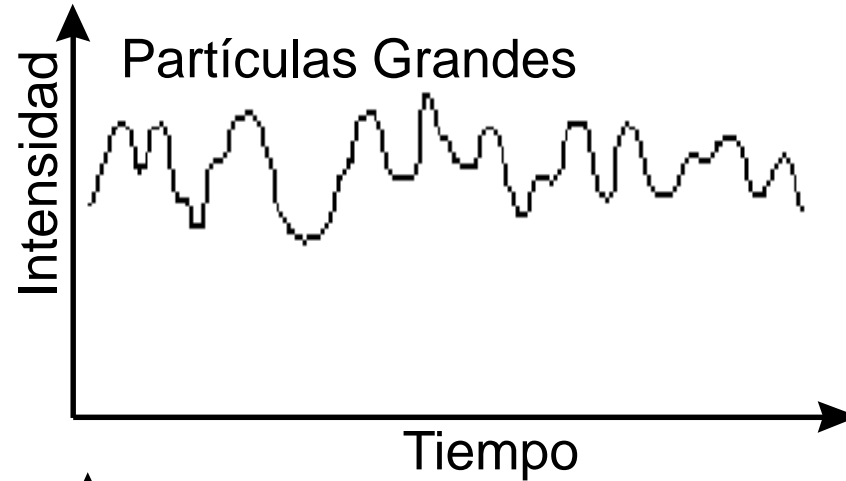
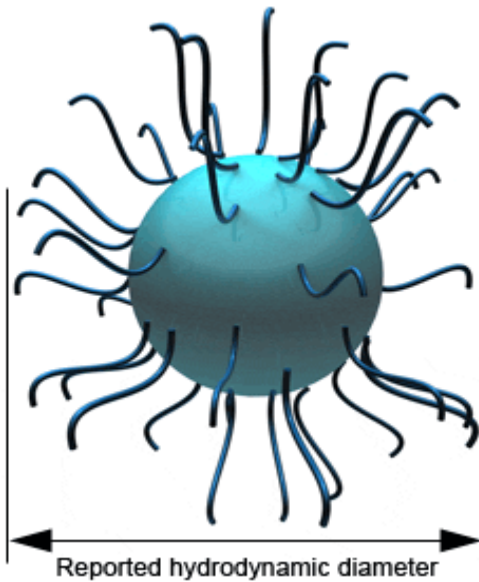
***Partículas grandes –  
Pequeños Movimientos brownianos***

# MOVIMIENTO BROWNIANO

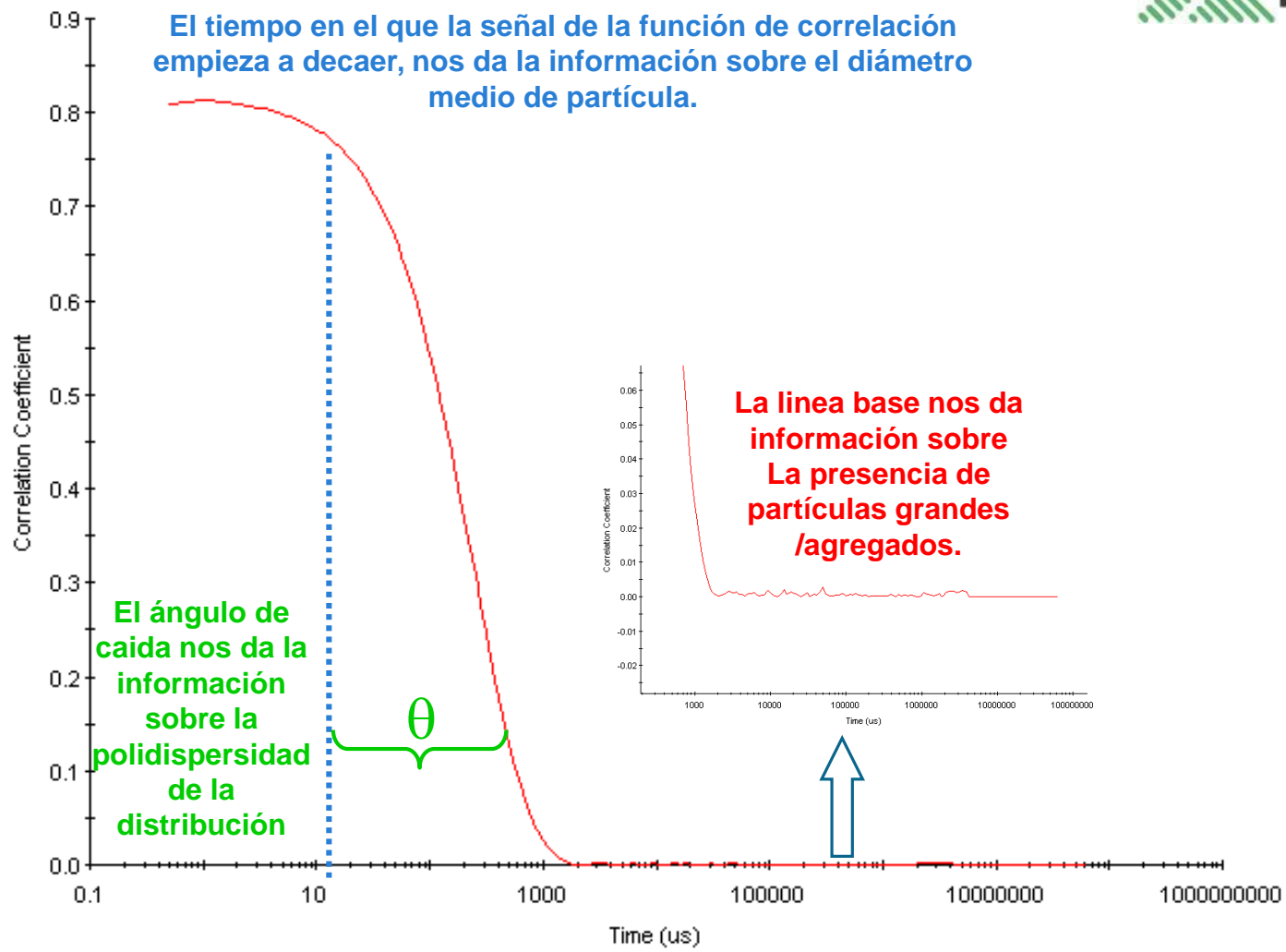
*Partículas pequeñas – Rápido movimiento browniano*



# Cambios de intensidad

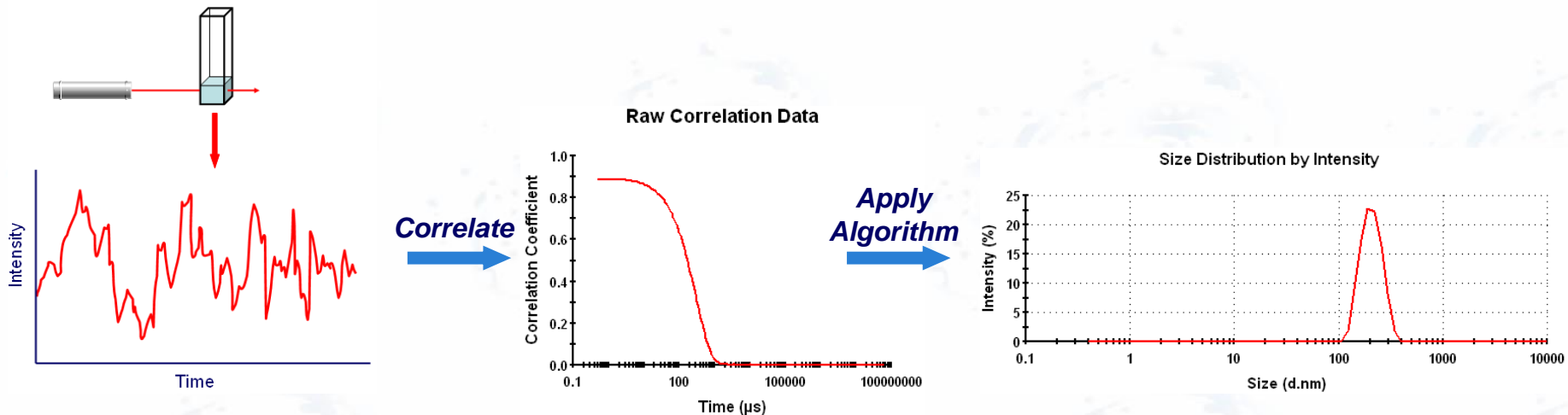


# Interpretación del Correlograma



# Dynamic Light Scattering

- Una técnica no invasiva para caracterizar el tamaño de nanopartículas en dispersión macromoléculas en disolución



## Sample Details

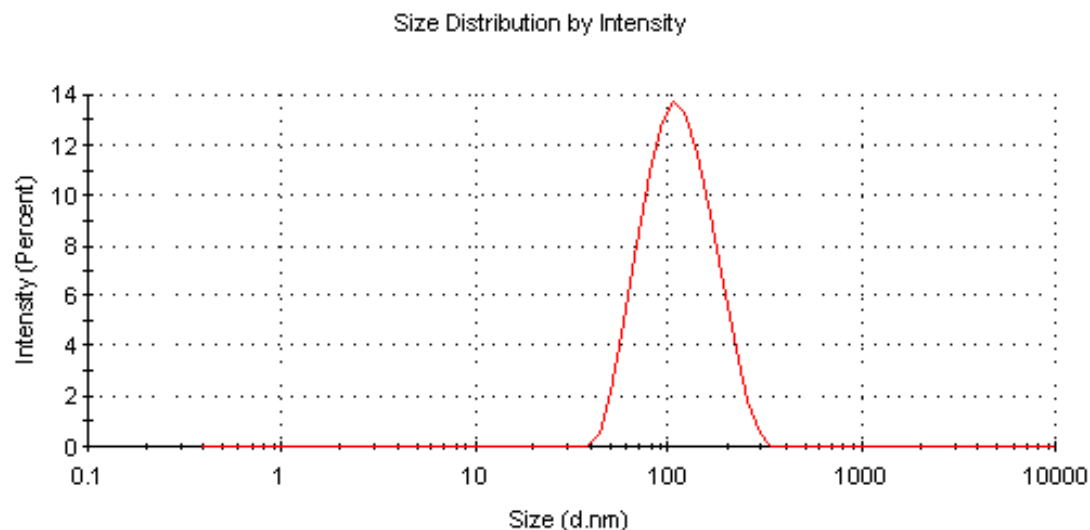
**Sample Name:** Muestra a 2  
**SOP Name:** mansettings.nano  
**General Notes:**

## System

**Temperature (°C):** 25,0  
**Count Rate (kcps):** 251,6  
**Cell Description:** Disposable sizing cuvette  
**Duration Used (s):** 10  
**Measurement Position (mm):** 1,05  
**Attenuator:** 3

**File Name:** lesmat.dts  
**Record Number:** 6  
**Material RI:** 1,59  
**Material Absorbtion:** 0,010

**Dispersant Name:** Water  
**Dispersant RI:** 1,330  
**Viscosity (cP):** 0,8872  
**Measurement Date and Time:** martes, 29 de abril de 201...



iesmat

Malvern  
Panalytical

## Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)
<b>Z-Average (d.nm):</b> 104,5	<b>Peak 1:</b> 119,3	100,0	47,71
<b>Pdl:</b> 0,170	<b>Peak 2:</b> 0,000	0,0	0,000
<b>Intercept:</b> 0,890	<b>Peak 3:</b> 0,000	0,0	0,000

**Result** **Good**

# NTA - Nanoparticle Tracking Analysis



***Visualización, medición de tamaño y  
de concentración de nanopartículas  
Aplicado a nanotoxicidad***

# Tamaño y concentración de nanopartículas



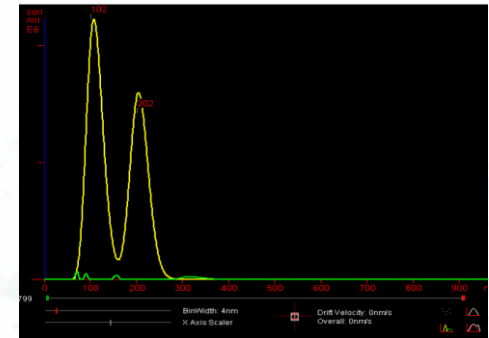
## NTA – Nano tracking analysis – Gama Nanosight

Tecnología de seguimiento del movimiento browniano de un número estadísticamente significativo de nanopartículas.

Permite visualizar las nanopartículas como puntos de dispersión de luz o por marcado fluorescente. Para ello hay disponibles láseres de 404, 488 y 532 nm, de esta forma se pueden excitar fluoróforos y quantum dots.



- Tamaño de nanopartículas 10-1000 nm
- Concentración  $10^7$  –  $10^9$  part/mL.
- Exosomas, Vesículas extracelulares
- Liposomas
- Toxicidad de nanopartículas
- Análisis de virus.
- Liberación de fármacos.
- Agregación de proteínas.
- Polímeros y colóides.

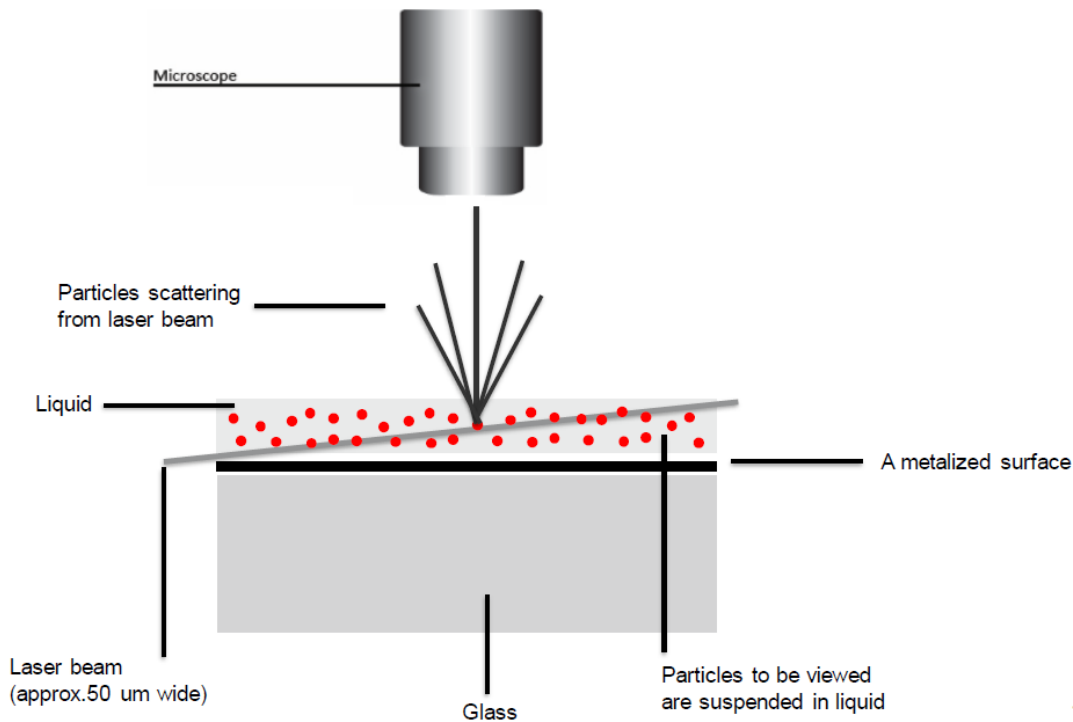




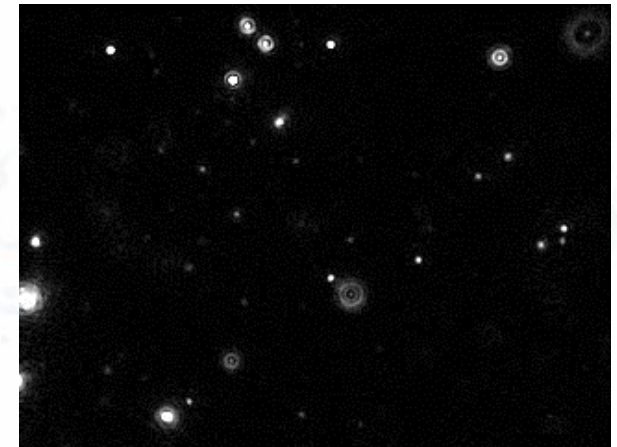
# Tecnología NanoSight



- Proporciona la distribución de tamaño en número, tecnología partícula a partícula.
- Concentración total en nano partículas por mL.



Schematic of laser sample chamber

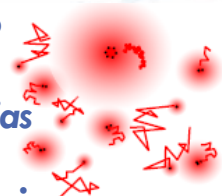


*Nano partículas en suspensión con movimiento browniano*

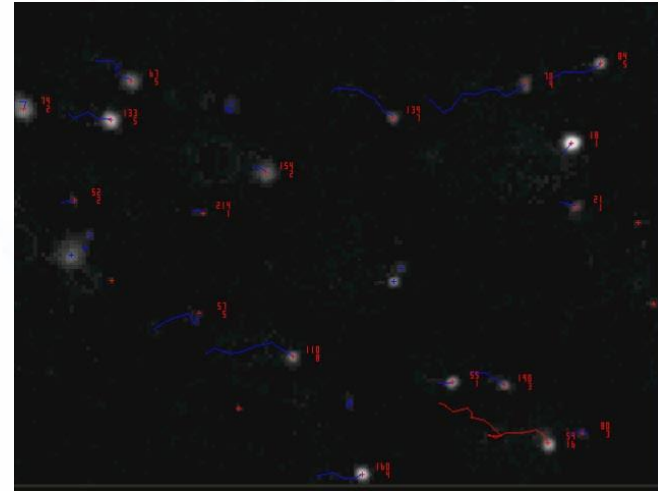
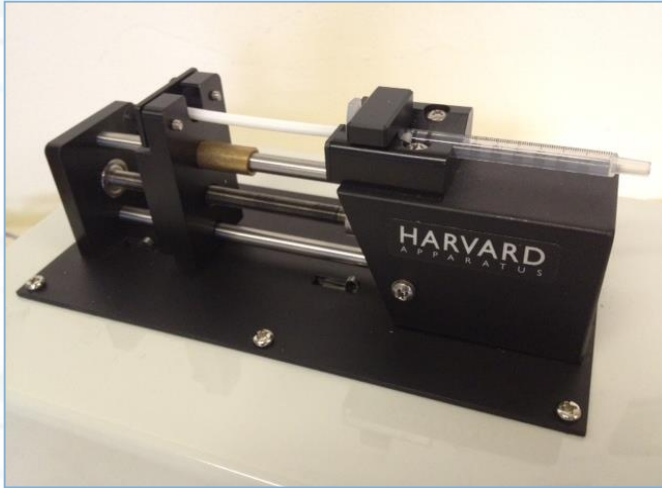
*Se determinan sus trayectorias*

*Se aplica Stokes-Einstein*

$$Dt = \frac{TK_B}{3\pi\eta d}$$



# Opción de fluorescencia



**405nm**

**488nm**

**532nm**

**635nm**

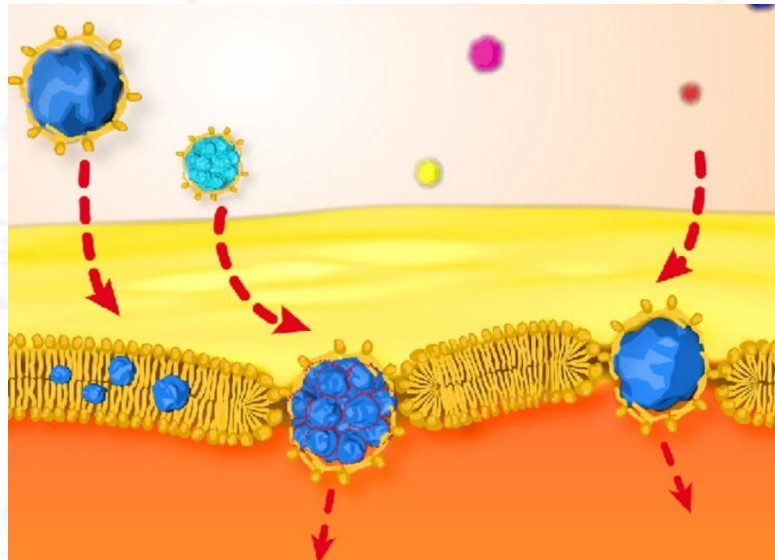
- La opción de fluorescencia nos permite marcar de forma selectiva las nano partículas de interés con un determinado fluoróforo que se excite a la longitud de onda del láser. Esto permite medir las partículas en un medio complejo.
- Para evitar fenómenos de foto blanqueo y para mejorar la estadística se trabaja en flujo con una bomba de jeringa.

# Nanotoxicidad



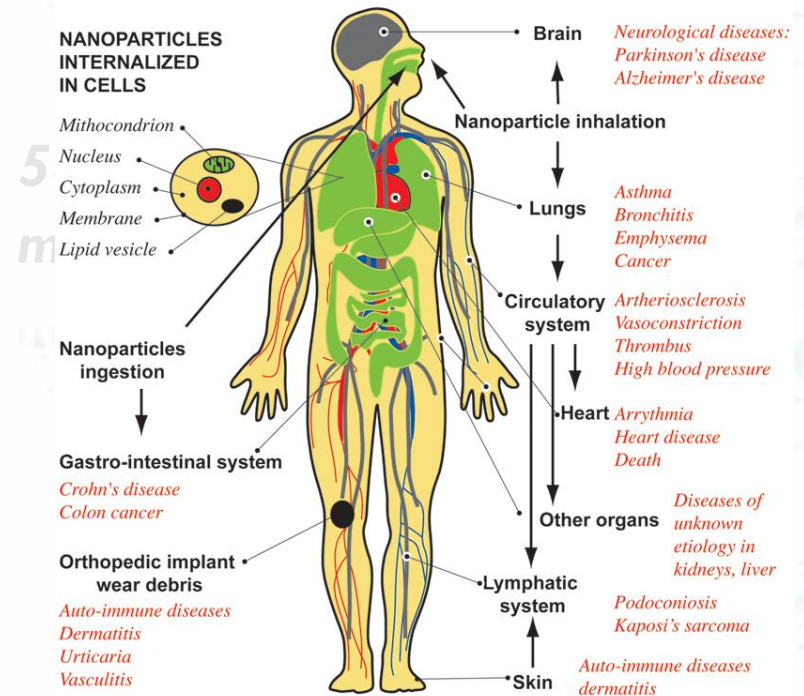
Una de las aplicaciones principales de Nanosight es la nanotoxicidad, por ejemplo:

- Citotoxicidad – Determinar la concentración de nano partículas a distintos tiempos de exposición frente a células concretas. Para estudiar si las partículas son capaces de atravesar barreras biológicas.
- Toxicidad en agua marina y en aguas en general  
Medición de trazas y concentración de nano partículas en aguas en general para cuantificar el riesgo.



## DISEASES ASSOCIATED TO NANOPARTICLE EXPOSURE

C. Buzca, I. Pacheco, & K. Robbie, Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity, BioInterphases 2 (2007) MR17-MR71

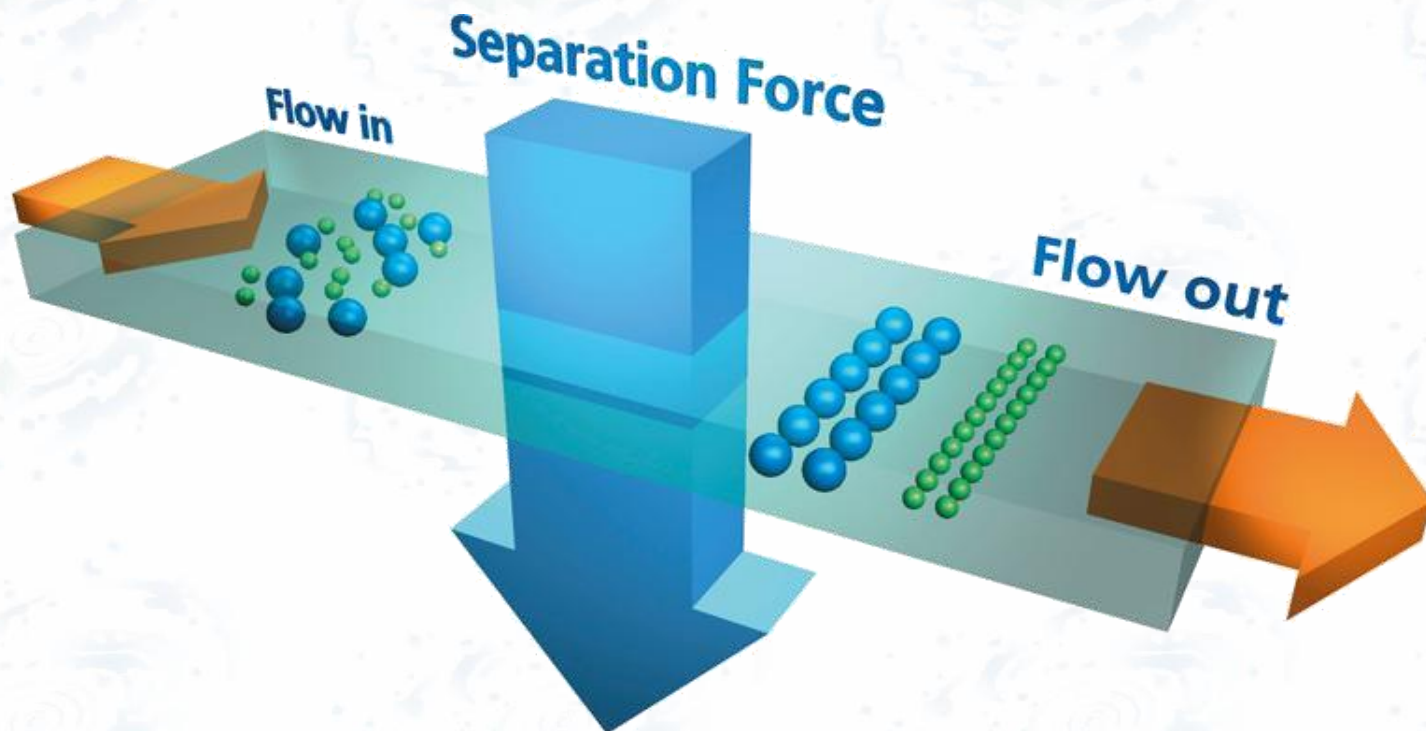


# FFF - Field Flow Fractionation



POSTNOVA

## *Mecanismo de separación*



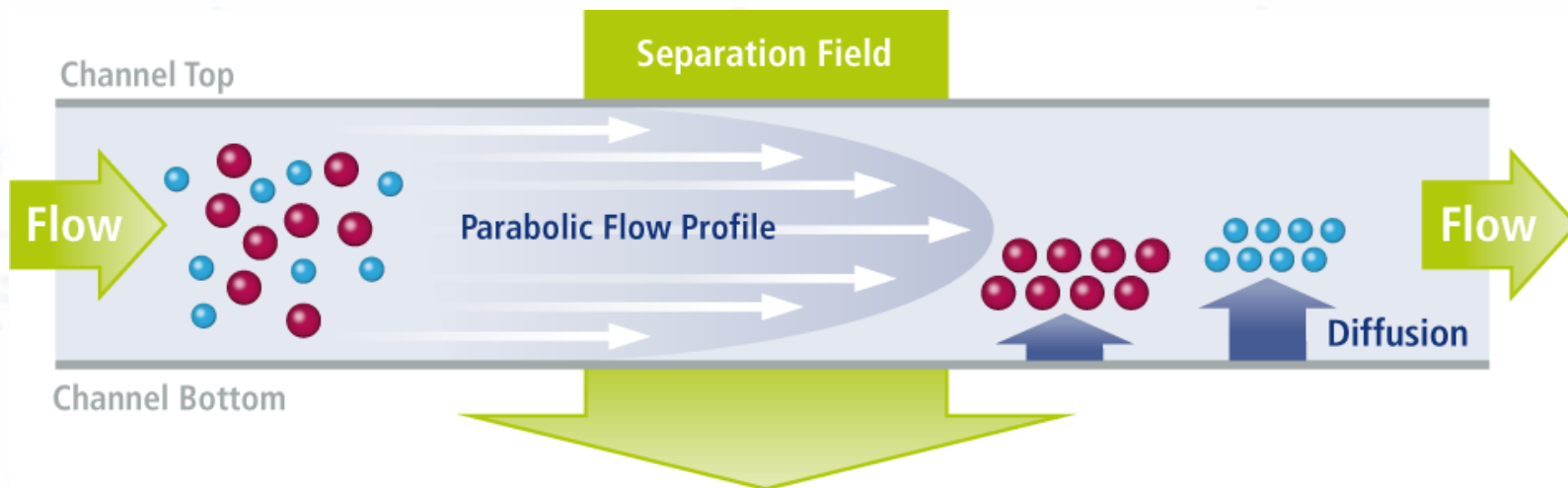
# FFF-Field Flow Fractionation

Separación / Nanotoxicidad



*Separación en un canal estrecho  
en lugar de una columna*

*Altura típica del  
canal: 350 micras*



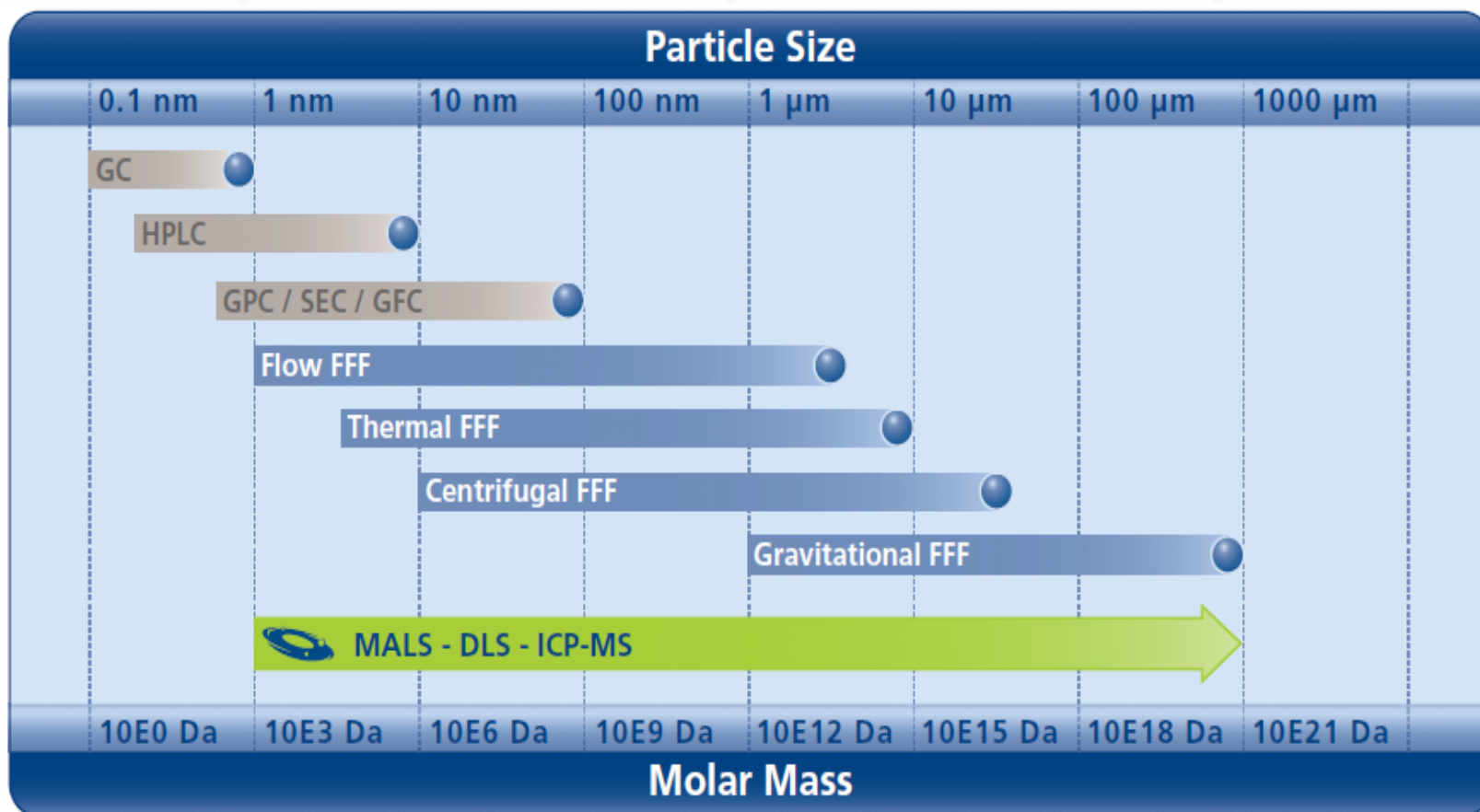
# FFF-Field Flow Fractionation



## Rango de separación



POSTNOVA



# *FFF-Field Flow Fractionation*



## ***Ejemplo de Nanotoxicidad: Nanotubos de Carbono-CNTs***

### ***Incorporación en productos de consumo y Liberación:***

- ***Productos poliméricos***
- ***Tratamiento de aguas residuales***
- ***Transporte a través de medios superficiales y subterráneos***
- ***Interacciones con partículas de suelo y sedimento***
- ***Tejidos***

El potencial de efectos negativos causados por la liberación de CNTs en el medio ambiente es una preocupación importante y numerosos proyectos de investigación han investigado posibles vías de liberación ambiental, el destino y la toxicidad.

# FFF-Field Flow Fractionation



POSTNOVA

**AF2000 MultiFlow FFF  
Universal Separator**



1 nm 10  $\mu$ m

**CF2000 Centri FFF  
Particle Separator**



10 nm 50  $\mu$ m

**TF2000 Thermal FFF  
Polymer Separator**



1 nm 10  $\mu$ m

**SF2000 Splitt FFF  
Particle Fractionator**



1  $\mu$ m 300  $\mu$ m



# OTRAS APLICACIONES



**Campos de aplicación: Ingeniería Química, Química Analítica, Físico Química, Químico Física, Biología Estructural**

## **Aplicaciones:**

- **Liposomas**
- **Nanoesferas, Nanocápsulas**
- **Sistemas coloidales de liberación de fármacos**
- **Eliminación de materiales tóxicos en las aguas de consumo o residuales**
- **Nanoemulsiones poliméricas (látex, poliestireno...)**
- **Quantum dots/Nnocristales (brillo)**
- **Micelas de surfactantes (estabilidad)**
- **Nanotoxicidad-nanopartículas**
- **Oro coloidal**
- **Dióxido de Titanio (blancura)**
- **Óxidos metálicos**

**En general: LA NANOTECNOLOGÍA, LAS NANOPARTÍCULAS**

***i Muchas gracias  
por su atención !***

