

Tropfenbasierte Mikroreaktoren für die Synthese von magnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln**

Lucas Frenz, Abdeslam El Harrak, Matthias Pauly, Sylvie Bégin-Colin, Andrew D. Griffiths* und Jean-Christophe Baret*

Mikrofluidiksysteme sind leistungsstarke Werkzeuge zur Untersuchung und Optimierung einer Vielzahl von biologischen und chemischen Reaktionen.^[1] Darüber hinaus findet ihr Einsatz in der Synthese von Nanopartikeln eine zunehmende Aufmerksamkeit. Im Vergleich zu herkömmlichen Synthesestrategien im Labormaßstab ermöglichen Mikrofluidiksysteme eine präzisere Kontrolle der Reaktionsbedingungen, wodurch kleinere Partikelgrößen und niedrigere Polydispersitäten möglich werden.^[2] Mehrere Arten von Nanopartikeln sind bereits durch Mikrofluidiksysteme synthetisiert worden: CdSe, CdS, TiO₂, Böhmit, Au, Co, Ag, Pd, Cu, BaSO₄ und CdSe-ZnS-Kern-Schale-Nanopartikel.^[2,3] Es gibt zwar einen vorläufigen Bericht über die Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln in einem „Millifluidiksystem“,^[4] eine echte Mikrofluidikmethode zur Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln wurde bisher jedoch nicht vorgestellt. Eisenoxid-Nanopartikel mit Spinellstruktur sind interessant für Anwendungen in Speichermedien^[5] und auch in der Biomedizin, z. B. als Kontrastmittel in der Kernspinszonanztomographie oder als Wirkstoffträger.^[6,7] Eine präzise Kontrolle der Synthesebedingungen ist dabei besonders wichtig, da diese für die physikalischen Eigenschaften der Nanopartikel ausschlaggebend sind.^[8]

Einphasige Mikrofluidiksysteme sind durch den diffusionskontrollierten Mischvorgang und die Dispersion der Reagentien limitiert. Tropfenbasierte Systeme unterliegen diesen Einschränkungen nicht: Sie fungieren als räumlich

isierte Mikroreaktoren mit genau definierten Volumina, in denen ein schnelles Mischen erfolgt,^[9–11] und ermöglichen so eine präzise Kontrolle über die Reaktionsbedingungen.^[12,13] In tropfenbasierten Mikrosystemen werden die Reagentien gewöhnlich durch parallelen Fluss (co-flow) zusammengebracht, bevor die Tropfen gebildet werden.^[9] Für schnelle Reaktionen, in denen Präzipitate entstehen, ist diese Methode jedoch ungeeignet. Um solche Reaktionen kontrollieren zu können, muss man die Reagentien zunächst in unabhängige Tropfen einkapseln und die Reaktion dann durch Tropfenfusion starten. Das Hauptproblem hierbei ist das präzise Paaren der Tropfen, das durch kleine Abweichungen in den Kanaltiefen und Flussgeschwindigkeiten erschwert wird.^[14] Es hat Versuche gegeben, Tropfen über ein Leiternetzwerk zu synchronisieren,^[15] erfolgversprechender ist es jedoch, eine Synchronisationsmethode direkt an der Düse anzuwenden. Zu diesem Zweck wurden aktive elektrische Tropfenabgabemechanismen entwickelt,^[16] oder man nutzt passives hydrodynamisches Koppeln an einer einzelnen Düse.^[17,18] Allerdings fehlt diesen Methoden die Möglichkeit, unterschiedliche Volumenakombinationen zur Optimierung der Reaktionsstöchiometrie zu erzeugen, und es gibt spezielle hydrodynamische Bereiche, in denen es zu ungewollter Koaleszenz kommen kann.

Wir präsentieren hier eine zuverlässige Methode zur Erzeugung von Tropfenpaaren, die auf der hydrodynamischen Kopplung von zwei räumlich getrennten Düsen basiert. Wir belegen die Nützlichkeit dieses Systems anhand der Fällung von Eisenoxid-Nanopartikeln in einer schnellen (\approx ms) und reproduzierbaren Reaktion durch Elektrokoaleszenz von Tropfenpaaren.^[14]

Das Mikrofluidikmodul (Abbildung 1a) besteht aus zwei Düsen, die hydrodynamisch gekoppelt sind. Während sich an einer Düse ein Tropfen bildet, blockiert dieser Wasserstrahl das Öl aus dem zentralen Kanal, wodurch es zu einem erhöhten Ölfluss durch die zweite Düse kommt. Nachdem dieser Tropfen sich gelöst hat, schaltet der Ölfluss zum ersten Kanal um, und es kann sich ein Tropfen an der zweiten Düse bilden. Dieses Alternieren des Ölflusses ermöglicht es, perfekte Tropfenpaare bei unterschiedlichen Kombinationen von Flussgeschwindigkeiten zu erzeugen. Eine quantitative Analyse erfolgte durch die Markierung der Tropfen mit Fluorophoren (Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen). So erzeugte eine Düse Tropfen mit 10 μ M Fluorescein, und die zweite Düse erzeugt Tropfen mit 50 μ M Resorufin. Durch Auswerten der Fluoreszenzsignale konnte die Zuverlässigkeit der Tropfenpaarung von Millionen von Tropfen auf $\geq 99.99\%$ bemessen werden (Tabelle 1). Die Tropfenpaarung war nicht nur bei gleichen Flussgeschwindigkeiten der wässrigen

[*] L. Frenz, Dr. A. El Harrak, Prof. A. D. Griffiths, Dr. J.-C. Baret
Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires (ISIS)
Université Louis Pasteur, CNRS UMR 7006
8, allée Gaspard Monge, BP 70028
67083 Strasbourg Cedex (Frankreich)
Fax: (+ 33) 3-9024-5115
E-Mail: griffiths@isis.u-strasbg.fr
jc.baret@isis.u-strasbg.fr
M. Pauly, Prof. S. Bégin-Colin
Institut de Physique et Chimie des Matériaux (IPCMS)
Université Louis Pasteur, 67034 Strasbourg Cedex 2 (Frankreich)
Fax: (+ 33) 3-8810-7247

[**] Wir danken D. A. Weitz, D. Link und den übrigen Mitarbeitern von Raindiance Technologies für ihre Unterstützung, P. Schultz, M. Erhardt und C. Ulhaq-Bouillet für ihre Hilfe mit dem TEM und A. Derory für die SQUID-Messungen. Weitere Unterstützung erfolgte durch: EC FP6 Marie Curie Research Training Network, ProSA (L.F.), EC-FP6-Projekt MiFem (A.E.H.), DGA (Direction Générale de l'Armement) (M.P.), ein EMBO-Langzeitstipendium (ALTF 915-2006) (J.-C.B.), das Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, CNRS und ANR [ANR-05-BLAN-0397].

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200801360> zu finden.

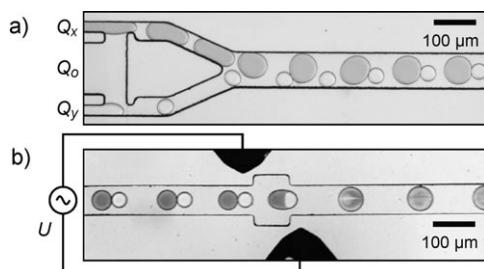


Abbildung 1. a) Synchronisationsmodul: Zwei wässrige Phasen werden durch die beiden äußeren Kanäle injiziert und durch den zentralen Ölstrom synchron emulsiert. Die Flussgeschwindigkeiten sind $Q_o = 800 \mu\text{L h}^{-1}$ für das Öl und $Q_x = 400 \mu\text{L h}^{-1}$, $Q_y = 100 \mu\text{L h}^{-1}$ für die wässrigen Phasen. b) Fusionsmodul: Tropfenpaare werden durch das Anlegen einer elektrischen Spannung U zwischen den beiden Elektroden fusioniert. $Q_o = 650 \mu\text{L h}^{-1}$, $Q_x = 100 \mu\text{L h}^{-1}$, $Q_y = 60 \mu\text{L h}^{-1}$. Videos (M1, M2) sind in den Hintergrundinformationen verfügbar.

Tabelle 1: Langzeitstabilitätstests bei unterschiedlichen Kombinationen von Flussgeschwindigkeiten.^[a]

Q_o [$\mu\text{L h}^{-1}$]	Q_x [$\mu\text{L h}^{-1}$]	Q_y [$\mu\text{L h}^{-1}$]	n_{Tropfen}	t [min]	f [s^{-1}]	ungepaart	Fehler
400	50	30	226 800	15.7	120.22	10	4×10^{-5}
500	100	60	4019 100	124.7	268.58	22	5×10^{-6}
800	200	100	1224 300	15.1	675.72	4	3×10^{-6}
800	250	200	2252 501	23.3	806.11	3	1×10^{-6}
800	500	100	3 711 800	30.7	1007.62	39	1×10^{-5}

[a] Q_o ist die Flussgeschwindigkeit des Öls, Q_x und Q_y sind die Flussgeschwindigkeiten der wässrigen Phasen. Der Fehler errechnet sich aus dem Verhältnis von ungepaarten Fällen zur Gesamtzahl der Tropfen (n_{Tropfen}) während der Messzeit t . f ist die Frequenz, mit der die Tropfen an jeder Düse generiert werden.

Phasen stabil, sondern auch noch bis zu einem Verhältnis der Flussgeschwindigkeiten von 1:5. Auch größere stöchiometrische Verhältnisse (1:25) können deshalb ohne Probleme realisiert werden, da das Tropfenvolumenverhältnis gleich dem Flussgeschwindigkeitsverhältnis in diesem System ist.

Um die Reaktion zu starten, werden die Tropfenpaare durch das Anlegen eines elektrischen Feldes zwischen zwei auf dem Chip positionierten Elektroden fusioniert (Abbildung 1b). Wie Abbildung 2a zeigt, ist bei parallelem Fluss

der Mischvorgang innerhalb eines Tropfens auf jeweils eine Hemisphäre beschränkt,^[19] wodurch weitere Mischmodule nötig werden.^[9] Dieses Problem tritt nicht auf, wenn man hintereinander angeordnete Tropfen fusioniert, da die zweite Komponente nun homogen in jede Hemisphäre injiziert wird (Abbildungen 1b und 2b). Der Mischvorgang wird zudem durch das dynamische Verschmelzen der Tropfen unterstützt.^[10]

Wir haben dieses Mikrofluidiksystem verwendet, um durch Zusatz einer Base zu einer $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ -Salzlösung in einer Copräzipitationsreaktion magnetische Eisenoxid-Nanopartikel zu synthetisieren. Hierbei ist bekannt, dass zunächst Magnetit (Fe_3O_4) gebildet wird, das später leicht bei Luftkontakt zu Maghämít ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) weiteroxidiert.^[7,8] Die Copräzipitation erfolgt so schnell, dass die gebildeten Partikel in einem System mit parallelem Fluss die Kanäle verstopfen, insbesondere bei höheren Konzentrationen (Daten nicht gezeigt). Mit dem Prinzip der Tropfenfusion kann dieses Problem gelöst werden,^[18] allerdings ist es schwierig, ohne Detergentien^[18] eine kontrollierte paarweise Tropfenfusion zu realisieren.^[20] In unserem System vermischen sich die Reagenzien niemals unbeabsichtigt, da die Düsen räumlich getrennt liegen und die Tropfen durch Detergentien stabilisiert werden. Eine volle Kontrolle über die Tropfenfusion lässt sich erreichen, indem man die Fusion durch ein elektrisches Feld aktiviert und deaktiviert. Durch diesen Ansatz war es uns möglich, um zwei bis drei Größenordnungen höhere Konzentrationen zu verwenden als in vorherigen tropfenbasierten Mikrofluidikmethoden.^[18,21] Im Detail wurde eine Eisenchloridlösung durch einen Arm der Düse injiziert und eine Ammoniumhydroxidlösung durch den anderen, wodurch Tropfenpaare mit beiden Reagenzien gebildet wurden. Nach der Elektrokoaleszenz bildete sich ein Eisenoxidpräzipitat nach etwa 2 ms (Abbildung 3). Da die Reaktionsbedingungen für alle Tropfen identisch waren, blieben auch die Fällungs-kinetik und die Präzipitatpartikelmorphologie während des gesamten Experiments nahezu gleich.

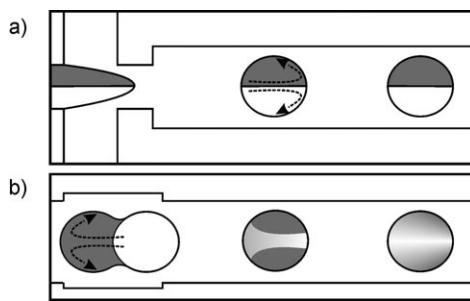


Abbildung 2. a) Mischen in Tropfen: Die Reagenzien werden durch parallelen Fluss zusammengebracht und dann emulsiert; Mischen über die Symmetriearchse ist nur durch Diffusion möglich (100–1000 ms). b) Tropfenfusion: Die Reagenzien werden in beide Tropfenhemisphären injiziert, wodurch das konvektive Mischen verstärkt wird, was zu kürzeren Mischzeiten führt (ca. 2 ms).

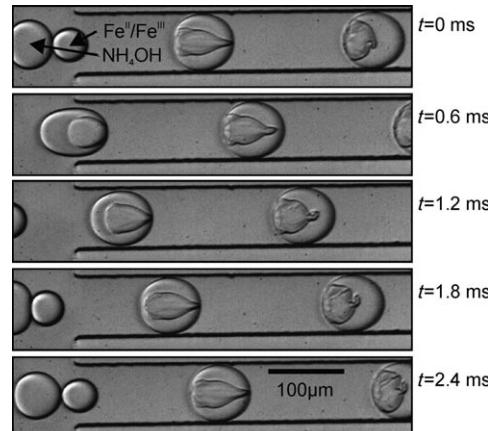


Abbildung 3. Bildung von Eisenoxid-Nanopartikel-Präzipitaten nach Fusionierung der Tropfenpaare durch ein elektrisches Feld. $Q_o = 650 \mu\text{L h}^{-1}$ (Öl), $Q_x = 60 \mu\text{L h}^{-1}$ (Eisenchloridlösung S1), $Q_y = 120 \mu\text{L h}^{-1}$ (Ammoniumhydroxidlösung). Ein Video des Vorgangs (M3) ist in den Hintergrundinformationen verfügbar.

Größenanalysen durch Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) (Abbildung 4a) belegen, dass beim schnellen mikrofluidischen Mischen (4 ± 1 nm) im Durchschnitt kleine

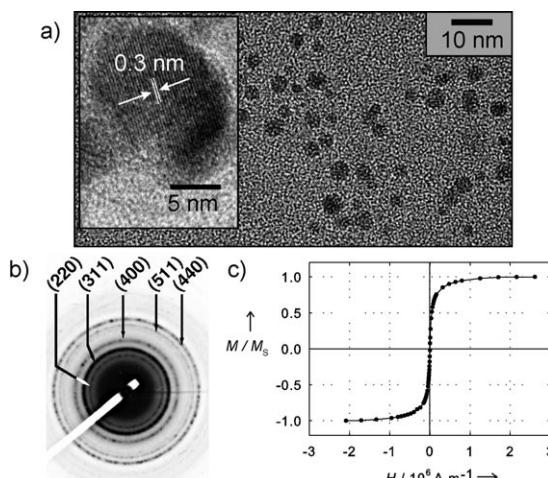


Abbildung 4. Charakterisierung der Eisenoxid-Nanopartikel, hergestellt mit der S2-Lösung (siehe Abschnitt Experimentelles): a) TEM-Aufnahme der Nanopartikel; Einstich: HRTEM-Aufnahme eines Partikels, die die (220)-Spinellebene zeigt. b) Das Elektronenbeugungsmuster zeigt charakteristische Spinellebenen auf. c) Die Magnetisierung M/M_s (M_s ist die Sättigungsmagnetisierung) als Funktion des magnetischen Feldes H .

nerne Partikel entstehen als beim konventionellen makroskopischen Mischen (9 ± 3 nm). Darüber hinaus zeigen hochauflöste TEM-Bilder (Einstich in Abbildung 4a), dass die Partikel monokristallin sind und keine Stapelfehler enthalten. Die Abstände zwischen den Ebenen betragen etwa 0.3 nm, was charakteristisch für (220)-Spinellebenen ist. Das Elektronenbeugungsmuster, das von einer größeren Fläche aufgenommen wurde (Abbildung 4b), bestätigt die Spinellstruktur, und die Abwesenheit einer Hysterese in der Magnetisierungskurve (Abbildung 4c) belegt, dass die Partikel superparamagnetisch sind, was charakteristisch für Eisenoxid-Nanopartikel mit Abmessungen unter 15 nm ist.

Zusammenfassend haben wir erstmals die Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln in einem Mikrofluidiksystem beschrieben. Der neuartige Aspekt an diesem Ansatz ist, dass die Reagentien in Tropfen kompartimentiert wurden, die als unabhängige Mikroreaktoren fungieren. Hierzu wurde ein robustes und flexibles Mikrofluidikmodul entwickelt, mit dem kontrolliert Tropfenpaare erzeugt werden können. Die Fehlerquote liegt in der Größenordnung von 10^{-5} . Die Reaktion lässt sich präzise durch Elektrokoaleszenz aktivieren, was ein schnelles Mischen innerhalb der Tropfen bewirkt (ca. 2 ms). Eine Vielzahl von chemischen Synthesestrategien für Eisenoxid-Nanopartikel wurde bereits entwickelt, und in manchen Fällen wurden sogar sehr gute Monodispersitäten erhalten.^[7] Unsere mikrofluidisch synthetisierten Partikel liegen in der selben Größenordnung (4 nm) wie die kleinsten Partikel, die durch andere Methoden synthetisiert wurden. Es besteht die Möglichkeit, solche „auf einem Chip“ synthetisierten Partikel weiter zu funktionalisieren, indem man einen

weiteren Tropfenfusionsschritt einbaut. Derartige ummantelte Partikel könnten dann optimierte Eigenschaften bezüglich Biokompatibilität, Wirkstoffverankerung und Zell-Targeting erhalten.^[22] Für Eisenoxid ist dieses von besonderer Bedeutung, da so die Weiteroxidation von Magnetit zu Maghämiet (Magnetit hat eine höhere Sättigungsmagnetisierung als Maghämiet) verhindert werden könnte. Neben diesen Anwendungen erwarten wir, dass dieses System sehr nützlich für eine Vielzahl von Reaktionen mit Millisekundenkinetik in der Biologie und Chemie sein kann.

Experimentelles

Die 25 μm tiefen Strukturen für die fluidischen Kanäle und für die Elektroden wurden in Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) durch weiche Lithographie abgeformt.^[23] Die für die Tropfenfusion benötigten Elektroden wurden in dieselbe Ebene und mit geringem Abstand zu den Kanälen abgeformt.^[24] Die Kanäle wurden mit einem Oberflächenbeschichtungsreagens (Aquapel, PPG Industries) behandelt. Die Flussgeschwindigkeiten wurden mit Spritzenpumpen (Harvard Apparatus PHD2000) gesteuert. Die kontinuierliche Ölphase war ein Perfluorkohlenstofföl FC40 (3M) mit 2.5% (w/w) Detergentien, hergestellt aus dem Ammoniumsalz eines perfluorierten Polyethers (PFPE) (Krytox FSL-Dupont),^[25] um die Emulsion zu stabilisieren. Für die Eisenoxidfällung wurden $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Acros Organics), Ammoniumhydroxid (28% NH₃, Fluka) und Salzsäure (37% HCl, Acros Organics) verwendet. Nach einstündigem Entgasen von 0.5 M HCl in Milli-Q-Wasser unter einem Argonfluss wurden die Eisenchloridsalze hinzugefügt, und die Lösung wurde unter einer Argonatmosphäre gehalten. Zwei unterschiedliche Lösungen mit $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}} = 2:1$ wurden getestet: 480 mM $\text{FeCl}_3 + 240$ mM FeCl_2 (S1) und 60 mM $\text{FeCl}_3 + 30$ mM FeCl_2 (S2). Als Base wurde 2 M Ammoniumhydroxidlösung verwendet, die ebenfalls mit entgastem Milli-Q-Wasser zubereitet wurde. Um jegliche Oxidation des Fe^{II} während der Reaktion zu vermeiden, wurde das PDMS-Modul über Nacht in einer Vakuumkammer aufbewahrt, das Öl wurde mit Stickstoff 1 h lang entgast, es wurden gasundurchlässige Polyethylenschläuche (Becton Dickinson) verwendet, und die Reaktionsprodukte wurden in einer Stickstoffatmosphäre gesammelt. Die Tropfen wurden durch eine Wechselspannung von $U = 200$ V (Peak-Peak) bei 30 kHz, die über die Elektroden auf beiden Seiten des Kanals angelegt wurde, fusioniert. TEM- und HRTEM-Bilder wurden mit einem Transmissionselektronenmikroskop Topcon 002B bei 200 kV aufgenommen, das eine punktweise Auflösung von 0.18 nm hat. Für die magnetischen Messungen verwendeten wir ein SQUID-Magnetometer (Quantum Design MPMS-XL) bei 200 K.

Eingegangen am 20. März 2008
Online veröffentlicht am 21. Juli 2008

Stichwörter: Eisenoxide · Mikrofluidik · Mikroreaktoren · Nanopartikel · Synthese in Tropfen

- [1] G. M. Whitesides et al., *Nature* **2006**, *442*, 368–418.
- [2] S. Krishnadasan, R. J. C. Brown, A. J. deMello, J. C. deMello, *Lab Chip* **2007**, *7*, 1434–1441.
- [3] L. H. Hung, A. P. Lee, *J. Med. Biol. Eng.* **2007**, *27*, 1–6.
- [4] A. Abou Hassan, O. Sandre, V. Cabuil, P. Tabeling, *Chem. Commun.* **2008**, 1783–1785.
- [5] G. Reiss, A. Hutten, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 725–726.
- [6] S. Mornet, S. Vasseur, F. Grasset, E. Duguet, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 2161–2175.
- [7] A.-H. Lu, E. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1242–1266; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222–1244, zitt. Lit.

- [8] T. J. Daou, G. Pourroy, S. Begin-Colin, J. M. Greeneche, C. Ulhaq-Bouillet, P. Legare, P. Bernhardt, C. Leuvrey, G. Rogez, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 4399–4404.
- [9] H. Song, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 792–796; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 768–772.
- [10] F. Sarrazin, L. Prat, N. Di Miceli, G. Cristobal, D. R. Link, D. A. Weitz, *Chem. Eng. Sci.* **2007**, *62*, 1042–1048.
- [11] B. T. Kelly, J.-C. Baret, V. Taly, A. D. Griffiths, *Chem. Commun.* **2007**, 1773–1788.
- [12] H. Song, D. L. Chen, R. F. Ismagilov, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7494–7516; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7336–7356.
- [13] S.-Y. Teh, R. Lin, L.-H. Hung, A. P. Lee, *Lab Chip* **2008**, *8*, 198–220.
- [14] K. Ahn, J. Agresti, H. Chong, M. Marquez, D. A. Weitz, *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *88*, 264105.
- [15] M. Prakash, N. Gershenfeld, *Science* **2007**, *315*, 832–835.
- [16] D. R. Link, E. Grasland-Mongrain, A. Duri, F. Sarrazin, Z. Cheng, G. Cristobal, M. Marquez, D. A. Weitz, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2618–2622; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2556–2560.
- [17] B. Zheng, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 4977–4982.
- [18] L. H. Hung, K. M. Choi, W. Y. Tseng, Y. C. Tan, K. J. Shea, A. P. Lee, *Lab Chip* **2006**, *6*, 174–178.
- [19] E. Rio, A. Daerr, B. Andreotti, L. Limat, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 024503.
- [20] N. Brémond, A. Thiam, J. Bibette, *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *100*, 024501.
- [21] I. Shestopalov, J. D. Tice, R. F. Ismagilov, *Lab Chip* **2004**, *4*, 316–321.
- [22] F. X. Gu, R. Karnik, A. Z. Wang, F. Alexis, E. Levy-Nissenbaum, S. Hong, R. S. Langer, O. C. Farokhzad, *Nano Today* **2007**, *2*, 14–21.
- [23] Y. N. Xia, G. M. Whitesides, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1998**, *28*, 153–184.
- [24] A. C. Siegel, S. S. Shevkoplyas, D. B. Weibel, D. A. Bruzewicz, A. W. Martinez, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7031–7036; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6877–6882.
- [25] K. P. Johnston, K. Harrison, M. Clarke, S. Howdle, M. Heitz, F. Bright, C. Carlier, T. W. Randolph, *Science* **1996**, *271*, 624.