

УДК 537

**МОРФОЛОГИЯ И ДИСПЕРСНОСТЬ ПОРОШКОВ МАГНЕТИТА,
ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАЗВУКА**

д-р физ.-мат. наук, проф. В.Н. ШУТ, С.Е. МОЗЖАРОВ
(ГНУ «Институт технической акустики НАН Беларуси, Витебск»);
В.Ф. КУКСЕВИЧ
(Витебский государственный технологический университет)

Описана методика получения порошков магнетита химическим и сонохимическим (при воздействии ультразвука) методами. Интенсивное перемешивание, сопровождающее ультразвуковую кавитацию и образование большого количества зародышей, позволяет провести реакцию за короткое время, что способствует монодисперсности полученного продукта. Исследованы дисперсность и морфология порошков магнетита. Показано, что воздействие ультразвука позволяет получить порошки магнетита округлой формы со средним размером частиц ~ 25 нм.

Ключевые слова: *ультразвуковое воздействие, наночастицы магнетита, монодисперсность, морфология поверхности.*

Введение. Магнитные наночастицы имеют очень широкий спектр практических применений: магнитные уплотнители и магнитные чернила для банковских чеков, магнитные носители информации и многочисленные биомедицинские приложения [1]. При этом для каждого конкретного применения магнитные наночастицы должны иметь разные свойства. В большинстве приложений магнитные материалы работают лучше всего, если их размер ниже некоторого критического значения, зависящего от состава материала (10–20 нм). При таких размерах магнетики переходят в однодоменное состояние и проявляют суперпарамагнитное поведение. Магнитный момент таких частиц может случайным образом менять направление под влиянием температуры, и при отсутствии внешнего магнитного поля средняя намагниченность равна нулю. Эта особенность делает суперпарамагнитные наночастицы очень привлекательными для широкого спектра биомедицинских применений, поскольку уменьшается риск образования агломератов при комнатной температуре. Тем не менее неизбежна проблема, связанная с внутренней нестабильностью частиц малого размера в течение длительного периода времени. Ультрамелкодисперсные частицы имеют тенденцию образовывать агломераты, чтобы уменьшить поверхностную энергию. Более того, «голые» металлические наночастицы химически высокоактивны и легко окисляются на воздухе, что обычно приводит к потере магнетизма и диспергируемости. Поэтому для многих приложений крайне важно разработать стратегии защиты для химической стабилизации магнитных наночастиц против деградации во время или после синтеза. Дополнительно: для биомедицинских применений *in vivo* магнитные наночастицы должны быть нетоксичными и неиммуногенными. Основными областями биомедицинского назначения магнитных наночастиц являются диагностика и инструменты исследований (биосенсоры, MRI, маркеры биомолекул, биосепарация и пробоподготовка, исследования молекулярного взаимодействия), а также адресное терапевтическое воздействие (целевая доставка терапевтических молекул, управляемая локальная гипертермия опухолей) [2–5].

В настоящее время синтезирован широкий спектр магнитных наночастиц на основе металлов Co, Fe, Ni, оксидов железа, ферритов $MgFe_2O_4$, $CoFe_2O_4$, $MnFe_2O_4$, $LiFe_5O_8$, а также CoPt, FePt, MnAl, $SmCo_5$, $Fe_{14}Nd_2B$ [6–9]. Оксидные частицы обладают более слабыми магнитными свойствами, чем наночастицы на основе металлов, однако они более устойчивы к окислению, обладают низкой токсичностью и хорошей биосовместимостью. Наиболее широкое применение в биомедицине получили суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (Superparamagnetic iron oxide nanoparticles – SPION), что обусловлено их низкой токсичностью и стабильностью магнитных характеристик. SPION представляют собой небольшие синтетические частицы γ - Fe_2O_3 (маггемит), Fe_3O_4 (магнетит) или α - Fe_2O_3 (гемматит) с размерами от 10 до 100 нм. Кроме того, смешанные оксиды железа с ионами переходных металлов, такими как медь, кобальт, никель и марганец, также обладают суперпарамагнитными свойствами, и попадают в категорию SPIONs. Суперпарамагнитные порошки оксида железа являются единственными клинически одобренными наночастицами оксидов металлов и наиболее широко используемыми SPION в различных биомедицинских применениях [10–12].

Наиболее распространенный способ получения наночастиц магнетита – жидкофазный метод химической конденсации, предложенный Элмором [13] и модернизированный Массартом [14], в основе которого лежит процесс осаждения солей двух- и трехвалентного железа концентрированным водным раствором щелочи. Несмотря на длительную историю применения, наночастицы магнетита сохраняют

огромный потенциал для использования в различных областях науки, техники и медицине. Разработка методов получения магнитных порошков является наиболее важной проблемой, поскольку от способа синтеза зависят форма и размер наночастиц, распределение по размерам, морфология поверхности, доля структурных дефектов или примесей, распределение дефектов внутри кристаллитов. В совокупности все это определяет магнитные свойства и магнитное поведение материалов. В настоящее время наноструктурные материалы все более интенсивно получают с помощью методов, основанных на ультразвуковых (УЗ) эффектах, возникающих в жидких средах [15]. Воздействие УЗ излучения связано в первую очередь с развитием такого эффекта, как акустическая кавитация, возникающего в среде при распространении ультразвука и представляющего собой эффективное средство превращения энергии звуковой волны низкой плотности в энергию высокой плотности, связанную с пульсациями и захлопыванием кавитационных пузырьков [16].

В настоящей работе приведены результаты исследований влияния ультразвуковой обработки на дисперсность и морфологию порошков магнетита и показана возможность их применения для разделения клеток крови.

Методика эксперимента. Известно, что при использовании хлоридов железа (II и III) для получения магнитной жидкости на основе Fe_3O_4 , в процессе осаждения на поверхности магнетита адсорбируются ионы $(\text{FeCl})^+$, $(\text{FeCl})^{2+}$, $(\text{FeClOH})^+$, ухудшающие магнитные свойства [17]. Некоторые исследователи для получения магнетита высокой чистоты с улучшенными свойствами исключают Cl^- -ионы из исходного раствора или же пытаются уменьшить их содержание, используя для осаждения $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [18]. Подобный подход использовали и мы. Для этого 0,278 г. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 0,540 г. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ с молярным соотношением (1:2) растворяли в 50 мл бидистиллированной воды при комнатной температуре. Полученный раствор разделяли на две части по 25 мл. В одну часть при перемешивании одновременно вливали 10 мл 1 % раствора аммиака. Выпавший осадок отделяли с помощью магнита, многократно промывали водным раствором этилового спирта и высушивали в вакууме. Стакан со второй частью раствора солей железа термостатировали, опускали в него ультразвуковой диспергатор и при интенсивной кавитации с помощью шприца медленно, в течение 5 мин, вводили 10 мл 1 % раствора аммиака. Полученный осадок также отделяли с помощью магнита, многократно промывали водным раствором этилового спирта и высушивали в вакууме.

Микроскопические исследования полученных порошков проводились на сканирующем электронном микроскопе высокого разрешения "Mira" фирмы "Tescan" (Чехия). Для анализа размеров частиц использовался прибор ANALYSETTE 22 MicroTec plus фирмы «FRITZSCH».

Результаты и обсуждение. На рисунке 1, а показаны результаты гранулометрического анализа магнетита, полученного при воздействии ультразвука. Среднеарифметический диаметр частиц полученного магнетита составлял 490 нм. Для сравнения, на рисунке 1, б приведены результаты гранулометрического анализа магнетита, полученного без ультразвука – среднеарифметический диаметр 4,7 мкм. Метод лазерного сканирования не дает представления о морфологии частиц. Образовавшиеся конгломераты считаются за частицу крупных размеров. Соответственно, измеренный средний размер частиц получается большим, чем при микроскопическом анализе, результаты которого представлены ниже.

На рисунке 2 приведены СЭМ-фотографии порошков магнетита, полученных без применения ультразвука и с использованием УЗ колебаний.

Сравнив СЭМ-фотографий отметим, что ультразвук оказывает очень сильное влияние на дисперсность и морфологию полученного порошка. Обычно реакции осаждения проходят в два этапа – образование зародыша (ядра) и затем его рост. Для того чтобы получить однородные по размерам частицы (достигнуть монодисперсности) в таком процессе, эти две стадии должны быть отделенными друг от друга и, кроме того, следует избегать зародышеобразования в процессе роста кристаллитов. При возникновении кавитации каждый захлопывающийся пузырек представляет собой источник, генерирующий какое-то количество центров кристаллизации [19]. Интенсивное перемешивание, сопровождающее кавитацию, и образование большого количества зародышей, позволяет провести реакцию за короткое время, что способствует монодисперсности полученного продукта. Средний размер частиц магнетита, полученного в условиях воздействия ультразвука составлял 20–25 нм. Вторая характерная особенность материалов, полученных при УЗ воздействии, – округлая форма частиц (отсутствие острых углов). Известно, что при многократном воздействии импульсных нагрузок и замыкании кавитационных пузырьков на поверхности уже образовавшихся частиц, имеющих неровности, микротрещины и сростки, происходит отщепление выступающих участков материала. Кроме того, имеет место измельчение за счет соударения частиц порошка при их беспорядочном движении под действием ультразвука. При этом скорость измельчения увеличивается за счет увеличения числа соударений кристаллитов друг о друга. В результате происходит диспергация частиц и сглаживание их поверхности. Этот момент очень важен в контексте

применения магнетита при адресном терапевтическом воздействии. Например, для терапевтического лечения опухолей управляемой локальной гипертермией – методом, основанном на разогреве магнитных материалов, введенных в зону опухоли, электромагнитными полями. В этом случае необходимо, с одной стороны, локализовать наночастицы в заданной области, а с другой – равномерно распределить их. И этим требованиям соответствуют материалы, синтезированные при наложении ультразвуковых колебаний, поскольку имеют нанометрические размеры и форму близкую к сферической.

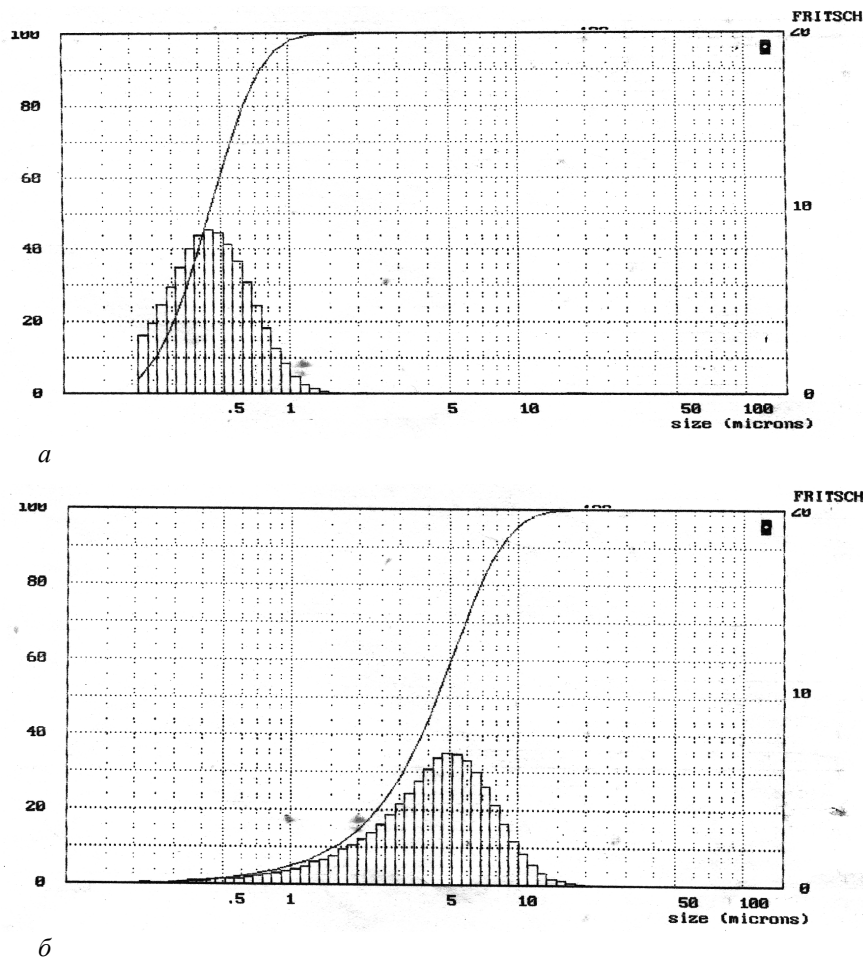
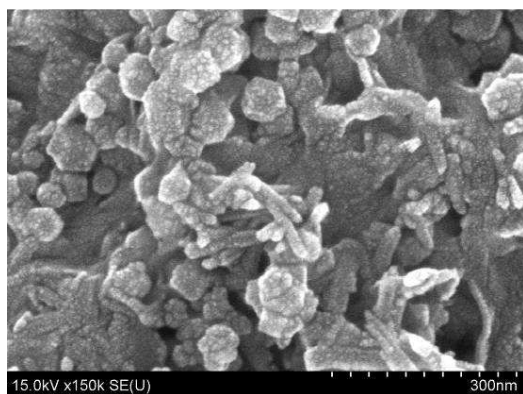
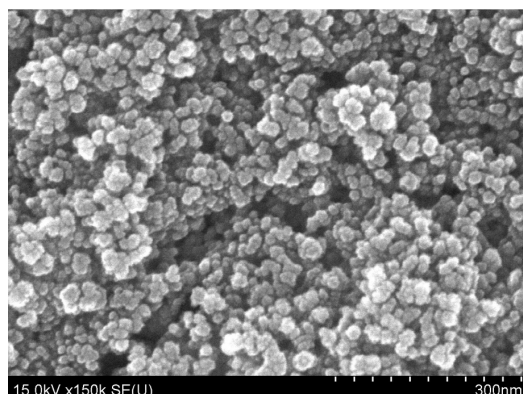


Рисунок 1. – Графики Fritsch-анализа порошка магнетита, полученного при воздействии ультразвука (а) и без ультразвука (б)



а



б

Рисунок 2. – Морфология порошков магнетита, полученных без применения ультразвука (а) и с использованием УЗ колебаний (б)

Для применений *in vivo* частицы высокодисперсных магнитных материалов должны быть покрыты биосовместимым полимером для защиты от биоразложения и предотвращения их коагуляции. Это можно сделать как в процессе получения, так и при переводе частиц в коллоидное состояние в дисперсионной среде.

Применяемые покрытия можно разделить на органические (сурфактанты и полимеры) и неорганические (кремнезем, углерод, благородные металлы). Наиболее распространенными органическими покрытиями наночастиц являются декстран, полиэтиленгликоль (ПЭГ), крахмал, поливиниловый спирт, гепарин, высшие карбоновые кислоты, в том числе лимонная кислота [4, 5, 8, 20, 21]. Помимо защиты от агрегации, окисления, кислотной и щелочной коррозии покрытие может играть роль спейсера для присоединения фармацевтических агентов или биомолекул к магнитному носителю. Благодаря покрытию можно модифицировать поверхность наночастиц различными функциональными группами: азидо-, амино-, карбоксильными, сульфгидрильными, гидроксильными, имидными и другими, что позволяет ковалентно связывать наночастицы с биомолекулами или лекарственными средствами. Дополнительной важной функцией покрытия наночастиц является повышение их биосовместимости. Поливиниловый спирт (ПВС) можно использовать для стабилизации наночастиц благодаря его биоразлагаемости и гидрофильным свойствам [22]. Однако гидрофильная природа ПВС может снизить его эффективность, и необходим сшивающий агент для предотвращения деградации связи наночастица-полимер. Для этого довольно часто используется глутаровый альдегид [23, 24].

Магнетит для магнитной сепарации из цельной крови лейкоцитов готовили также с использованием ультразвука. По методике, описанной выше, с использованием ультразвука, осаждением получали оксид железа. Не промывая и не выключая ультразвука в суспензию по каплям добавляли 10 мл 7 % раствора ПВС и 150 мкл 25 % глутарового альдегида. Модификация проводилась в течение 10 мин. Порошок осаждался в магнитном поле, многократно промывался водным раствором этилового спирта и сушился под вакуумом.

Перед применением порошок выдерживался в 25% водном растворе глутарового альдегида в течение одного часа при 40 °С и pH = 2. Активированные частицы отмывались в воде. К 10 % суспензии частиц добавляли раствор моноклональных антител CD4 клон S3.5, изотип mIgG_{2a}, Mouse Anti-Human с pH = 7,2 в концентрации 0,3 г/л, перемешивали на вортексе IKA Genius 3 через каждые 15 мин в течение первых 3 ч и инкубировали при 4 °С в течение суток. Затем частицы снова отмывали дистиллированной водой.

Готовые ферромагнитные частицы с моноклональными антителами использовали для магнитной сепарации из цельной крови CD4 лейкоцитов. Степень очистки лейкоцитов составляла 87–92 %.

Заключение. Описана методика получения порошков магнетита химическим и сонохимическим (при воздействии ультразвука) методами. Интенсивное перемешивание, сопровождающее ультразвуковую кавитацию и образование большого количества зародышей, позволяет провести реакцию за короткое время, что способствует монодисперсности полученного продукта. Исследованы дисперсность и морфология порошков магнетита. Показано, что воздействие ультразвука позволяет получить порошки магнетита со средним размером частиц ~ 25 нм. Вторая характерная особенность материалов, полученных при ультразвуковом воздействии, – округлая форма частиц (отсутствие острых углов). Проведены эксперименты по использованию порошков магнетита для сепарации из цельной крови CD4 лейкоцитов. Степень очистки лейкоцитов составляла 87–92%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Использование магнитных наночастиц в биомедицине / А.Г. Першина [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – № 2. – С.70–78.
2. Biological applications of magnetic nanoparticles / M. Colombo [et al.] // Chem. Soc. Rev. – 2012. – Vol. 41, № 11. – P. 4306–4334.
3. Lu, A.-H. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application, Reviews / An-Hui Lu, E. L. Salabas, Ferdi Schuth // Angew. Chem. Int. Ed. – 2007. – № 46.– P. 1222–1244.
4. Medical Application of Functionalized Magnetic Nanoparticles / Akira Ito [et al.] // Journal of bioscience and bioengineering. – 2005. –Vol. 100, № 1. – P. 1–11.
5. Bonnemain, B. Superparamagnetic Agents in Magnetic Resonance Imaging: Physicochemical Characteristics and Clinical Applications, a Review / B. Bonnemain // Journal of Drug Targeting. – 1998. – Vol. 6, № 3. – P. 167–174.
6. Баранов, Д.А. Магнитные наночастицы: достижения и проблемы химического синтеза / Д.А. Баранов, С.П. Губин // Радиоэлектроника, Наносистемы, Информационные технологии. – 2009. – Т. 1, № 1–2. – С. 129 – 146.

7. Berryl, C.C. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine - Topical review / Catrine C. Berryl, Adam S. G. Curtis // J. Phys. D: Appl. Phys. – 36. – 2003. – R198–R206.
8. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine - Topical review // Q.A. Pankhurst [et al.] // J. Phys. D: Appl. Phys. – 36. – 2003. – R167–R181.
9. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine / P. Tartaj [et al.] // J. Phys. D: Appl. Phys. – 36. – 2003. – R182–R197.
10. Mohapatra, M. Synthesis and applications of nano-structured iron oxides/hydroxides – a review / M. Mohapatra, S. Anand // International Journal of Engineering, Science and Technology. – 2010. – Vol. 2, № 8. – P. 127–146.
11. Нанокompозиты медико-биологического назначения на основе ультрадисперсного магнетита / А.П. Шпак [и др.] // Физикохимия наноматериалов и супрамолекулярных структур. – Киев : Наук. Думка. – 2007. – Т. 1. – С. 45–87.
12. Structure and magnetic properties of iron oxide nanopowders / N. V. Lukashova [et al.] // Metal Science and Heat Treatment. – January, 2013. – Vol. 54, Nos. 9 – 10. – P. 550–554.
13. Elmore, W.C. Ferromagnetic Colloid for Studying Magnetic Structures / W.C. Elmore // Phys. Rev. – 1938. – V. 54. – P. 309–310.
14. Massart, R. Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media / R. Massart // IEEE Transactions on magnetics. – March, 1981. – V. MAG-17, № 2. – С. 1247–1248.
15. Mason, T.J. Applied Sonochemistry: Use of Power Ultrasound in Chemistry and Processing / T.J. Mason, J.P. Lorimer. – Wiley, 2002. – 314 p.
16. Leighton, T.G. The Acoustic Bubble / T.G. Leighton. – London : Academic Press, 1994. – 611 p.
17. Блум, Э.Я. Магнитные жидкости / Э.Я. Блум, М.М. Майоров, А.О. Цеберс. – Рига : Зинатне, 1989. – С. 347.
18. Synthesis and characterisation of rod-like magnetic nanoparticles / Vlasta Zavišova [et al.] // NANOCON-2010, 12–14.10.2010, Olomouc, Czech Republic, EU.
19. Толочко, Н.К. Закономерности ультразвуковой кристаллизации растворов / Н.К. Толочко, С.Е. Мозжаров // *Вестник Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта*. – 2005. – № 2 (36). – С. 118–121.
20. Synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles without surfactants at room temperature / I. Martinez-Mera [et al.] // Materials Letters – 61. – 2007. – P. 4447–4451.
21. Bruce, Ian J. Surface Modification of Magnetic Nanoparticles with Alkoxysilanes and Their Application in Magnetic Bioseparations // Ian J. Bruce, Tapas Sen // Langmuir. – 2005. – 21. – P. 7029–7035.
22. Muppalaneni, S. Polyvinyl Alcohol in Medicine and Pharmacy: a Perspective / Srinath Muppalaneni, Hossein Omidian // J Develop Drugs. – 2013. – V. 2, Is. 3. – P. 1–5.
23. Synthesis and Characterization of Fe₃O₄ Nanoparticles using Polyvinyl Alcohol (PVA) as Capping Agent and Glutaraldehyde (GA) as Crosslinker / Lale Budi Hutami Rahayu [et al.] // International Conference on Chemistry and Material Science (IC2MS) // 2017 IOP Publishing IOP Conf. Series : Materials Science and Engineering 299. – 2018.
24. Kim, S.Y. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-grafted Fe₃O₄ magnetic nanoparticles through glutaraldehyde [Electronic resource] / Su Yeon Kim, B. Ramaraj and K. R. Yoona // Surf. Interface Anal. – 2012. – Published online in Wiley Online Library. – Mode of access: wileyonlinelibrary.com/journal/sia.

Поступила 28.03.2019

MORPHOLOGY AND DISPERSION OF MAGNETITE POWDERS PREPARED BY SONOCHEMICAL METHODS

V. SHUT, S. MOZZHAROV, V. KUKSEVICH

The technique for producing magnetite powders by chemical and sonochemical methods is described. Intensive mixing accompanying ultrasonic cavitation and the formation of a large number of nucleuses allows to conduct the reaction in a short time. This contributes to the monodispersity of the obtained product. The dispersion and morphology of magnetite powders are investigated. It is shown that the ultrasound effect allows to obtain round-shaped magnetite powders with an average particle size of ~ 25 nm.

Keywords: *ultrasonic action, magnetite nanoparticles, monodispersity, surface morphology.*