

УДК 54.057+54.31+577.1

Н.О. Дудченко, канд. біол. наук, О.Б. Брик, д-р фіз.-мат. наук, О.М. Пономаренко, В.П. Іваницький, канд. геол.-мін. наук, Є.Г. Мзюков

Технології створення та властивості синтетичних аналогів біогенного наномагнетиту

Образец наномагнетита, синтезированный методом гидротермического осаждения двухвалентного железа в присутствии слабого окислителя, исследовали методами трансмиссионной электронной микроскопии, ядерной гамма-резонансной спектроскопии, магнитометрии, а также магнитного резонанса. Показано, что синтезированный образец наномагнетита проявляет мультирезонансное поглощение в широком диапазоне квазипостоянных магнитных полей. Предположили, что природа обнаруженного явления обусловлена осцилляциями магнитного момента наночастиц магнетита. Установлено, что характеристики синтезированного наномагнетита соответствуют характеристикам биогенных наномагнетитов.

Nanomagnetite sample, synthesized by the method of hydrothermal ferrous iron precipitation in the presence of weak oxidant, was analysed by the methods of transmission electron microscopy, nuclear gamma-resonance spectroscopy, magnetometry and magnetic resonance spectroscopy. It was shown, that synthesized nanomagnetite sample reveals room-temperature multiresonance adsorption in a wide range of quasi-constant magnetic field. It was supposed, that the character of observed phenomena is depend on the oscillation of magnetic moment of magnetite nanoparticles. It was found, that the characteristics of synthesized nanomagnetite are corresponding to the characteristics of biogenic magnetites.

Вступ

Протягом останніх років галузь синтезу магнітних наночастинок оксидів заліза інтенсивно розвивається як в інтересах фундаментальної науки, так і для багатьох практичних застосувань [1], наприклад: як магнітних носіїв даних, для біосенсорних та медичних застосувань (підсилення контрасту ЯМР зображень, відновлення тканин, імуноаналіз, детоксикація біологічних рідин, гіпертермія, направлена доставка ліків та сепарація клітин [2]).

Живі істоти також мають механізми синтезу наночастинок оксидів заліза шляхом біохімічних процесів – процесів біологічно контрольованої мінералізації. Так, біогенний магнетит знайдено у

складі магнетотактичних бактерій [3], в тканинах птахів [4], кажанів [5], бджіл [6], риб [7], людини [8] та деяких інших представників тваринного світу. Після виявлення нанокристалів біогенного магнетиту в тканинах тварин та людини постало питання про роль цих нанокристалів в функціонуванні організму. В багатьох дослідженнях було виявлено, наприклад, що при нейродегенеративних хворобах кількість магнітних нанокристалів оксидів заліза в тканинах мозку підвищується. Дослідження біогенного магнетиту зараз дуже поширені, ще й завдяки тому, що його вважають основним компонентом, який бере участь в детектуванні магнітного поля Землі та магніторецепції [9]. В наших попередніх роботах [10, 11] було показано, що біогенний магнетит демонструє унікальні властивості: методом магніто-резонансної спектроскопії було виявлено високотемпературні квантові ефекти нанобіомагнетиту в тканинах тварин, резонансні характеристики якого сильно відрізняються від інших матеріалів.

Сьогодні відомо дуже небагато про причини та способи біологічної мінералізації заліза. Тому, метою даної роботи було створення та дослідження синтетичного зразка наномагнетиту, який би демонстрував унікальні властивості, притаманні біогенному наномагнетиту. Це важливо для подальшого дослідження ролі магнітних наночастинок оксидів заліза в функціонуванні біологічних тканин, а також має велике значення для вирішення широкого кола медико-біологічних задач.

Матеріали та методи

Матеріали. Для синтезу використовували наступні матеріали: вода бідистильована, сульфат заліза (II) семиводний $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, нітрат калію KNO_3 , гідроксид калію KOH , γ -амінопропілтриетоксисилан, все – Sigma-Aldrich. Всі розчини готували на бідистильованій воді.

Синтез наномагнетиту. Всі маніпуляції проводили в боксі в безкисневій атмосфері. Розчини реагентів (1400 мл бідистильованої води, 200 мл розчину 1.5M KOH , 200 мл розчину 2M KNO_3 та 200 мл розчину 1M $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) швидко змішували в реакційній посудині, температура реакційної суміші доводилася до 90 °C. Час реакції – 2 години після встановлення необхідної температури. Після цього утворені наночастинки магнетиту

відмивали 0,05M KOH з використанням методу магнітної сепарації. Одразу ж після отримання наночастинок, до їх суспензії в 0,05M KOH додавали 100 мл 2 % розчину γ -амінопропілтриетоксисилану в 0,05M KOH, вміщували посудину в термостат та витримували суміш в термостаті при 90 °C протягом 2,5 годин та при слабкій ультразвуковій обробці. Потім, залишали посудину в термостаті протягом ночі. Після закінчення реакції утворені наночастинок магнетиту відмивали бідистильованою водою з використанням методу магнітної сепарації.

Трансмісійна електронна мікроскопія. Розмір та морфологію магнітних наночастинок досліджували методом трансмісійної електронної мікроскопії за допомогою приладу ПЕМ-У (Суми, Україна). При дослідженнях трансмісійною електронною мікроскопією зразок на тонкій плівці просвічувався пучком прискорених електронів з енергією 75 кеВ. При приготуванні зразків для трансмісійної електронної мікроскопії були застосовані засоби, що дозволяють уникати агрегації наночастинок, яка заважає отриманню інформації про розмір та розподілення наночастинок за розміром.

ЯГР-спектроскопія. Кристалохімічні особливості стану катіонів заліза в структурі магнетиту та співіснуючих залізовмісних фаз, їх валентність, координація та розподіл по нееквівалентних позиціях, а також внутрішні магнітні поля на їх ядрах вивчалися з використанням методу ЯГР-спектроскопії. ЯГР-спектри отримані на спектрометрі "Wissel" (ФРГ) з використанням джерела ^{57}Co в матриці Cr. Обробка спектрів проведена з використанням програми, що реалізує метод найменших квадратів.

Реєстрація кривих намагніченості. Магнітні дослідження були виконані за допомогою магнітометра з сенсором Хола, що призначений для вимірювань параметрів петлі гістерезису за граничними та частковими гістерезисними циклами порошкових ізотропних та анізотропних матеріалів. Для визначення абсолютної величини магнітного моменту (намагніченості) досліджуваних зразків виконувалась калібровка за еталонним зразком з відомою намагніченістю насичення. В якості еталонного зразку використовувалась чистий нікель, намагніченість насичення якого визначена з високою точністю ($54,4 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$ при кімнатній температурі).

Спектроскопія магнітного резонансу. Для дослідження характеристик магнітного резонансу, зразок синтетичного наноманетиту вагою 0,0001 г фіксували за допомогою скотчу. Спектри феромагнітного резонансу реєстрували на спектрометрі електронного парамагнітного резонансу, які працюють в трьохсантиметровому діапазоні довжин хвиль.

Результати та обговорення

Розмір та морфологія синтезованого зразка наноманетиту були визначені за допомогою ТЕМ-мікроскопії (рис. 1). Показано, що розмір наночастинок синтетичного манетиту складає, в середньому, 25 нм.

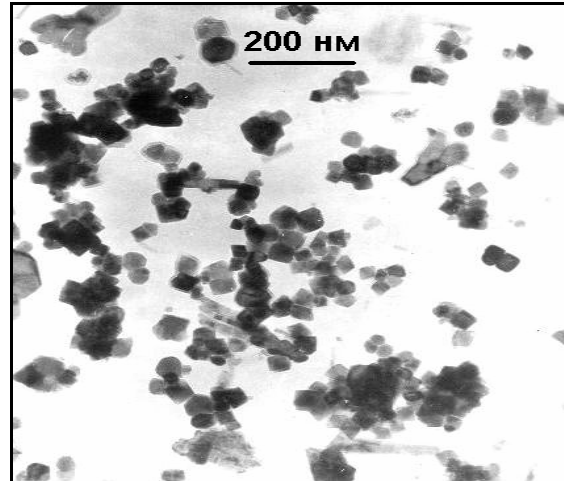


Рис. 1. Електронна мікрофотографія синтезованих наночастинок магнетиту

Магнітні властивості наночастинок синтетичного манетиту було визначено за допомогою кривої намагніченості (рис. 2). Відомо, що криві гістерезису характеризуються намагніченістю насичення (M_s), залишковою намагніченістю (M_r) та коерцитивною силою (H_c). Аналіз значень цих величин, а також співвідношення M_r/M_s дає можливість робити висновки про особливості магнітного стану зразків. Намагніченість насичення M_s синтезованого зразка дорівнює $55 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$.

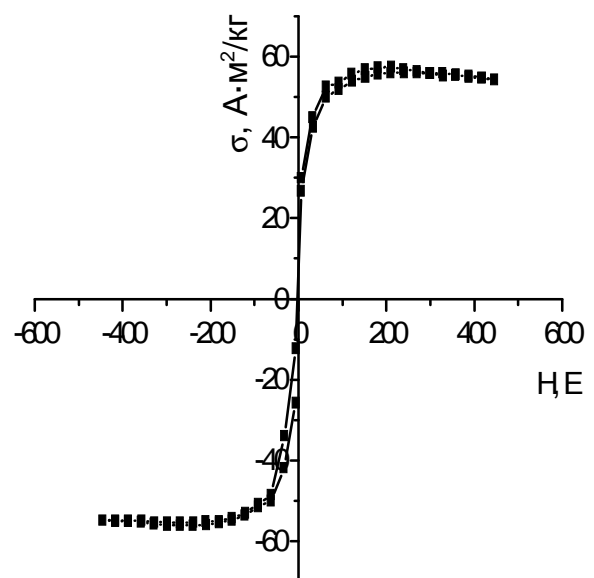


Рис. 2. Крива намагніченості для зразку синтетичного наноманетиту

Визначення співвідношення M_r/M_s є важливим тестом у диференціації між одно- та багатодоменними частинками. В нашому випадку, форма кривих гістерезису синтезованого зразку наномагнетиту надзвичайно тонка, тобто $M_r/M_s \approx 0$, що є характерною ознакою суперпарамагнітних наночастинок. А саме, суперпарамагнітні наночастинки демонструють дуже стрімке початкове зростання намагніченості із зростанням поля, а потім має місце поступове підвищення намагніченості до насичення. Крім того, суперпарамагнітні частинки не проявляють залишкової намагніченості та коерцитивності, що також є характерним для синтезованого зразку наномагнетиту.

Ядерна гама-резонансна спектроскопія широко використовується для досліджень фазового складу оксидів заліза в біологічних системах. В наших дослідженнях спектроскопія ЯГР була використана для визначення фазового складу синтетичного наномагнетиту. Спектр ЯГР зразку наведено на рис. 3, а параметри цього спектру в Таблиці 1.

Спектри зразку синтетичного наномагнетиту представлені суперпозицією трьох секстетів магнітного розщеплення, два з яких, з більшими значеннями магнітного розщеплення, за значеннями параметрів віднесено нами до магнетиту.

Величина співвідношення S_A/S_B в спектрі зразку дорівнює 0,992, що свідчить про зростання в його структурі ступеню окислення заліза.

Третій секстет з мінімальним значенням розщеплення, на основі порівняння його параметрів з літературними даними [12], віднесений нами до гетиту (α -FeOOH). Резонансний вклад гетиту в сумарний спектри зразку складає приблизно 5,8 %.

Спектр ЯГР синтетичного наномагнетиту, зареєстрований при кімнатній температурі, складається з секстету резонансних ліній, з чого можна зробити висновок, що такий зразок є магніто-упорядкованим.

В наведених вище дослідженнях показано, що наночастинки синтетичного зразку мають розмір, в середньому, 25 нм та складаються, здебільшого, з магнетиту, а криві гістерезису цього зразка не виявляють коерцитивності. Критичний розмір наночастинок магнетиту коливається, за даними різних авторів, від 80 нм [13] до 128 нм [14] в залежності від форми наночастинок. Ґрунтуючись на розрахунках критичних розмірів наночастинок, при яких реалізується однодомений стан, можемо зробити висновок про магнітний та домений стан синтезованого наномагнетиту. Отже, згідно до наведених вище даних, синтезовані наночастинки магнетиту є суперпарамагнітними.

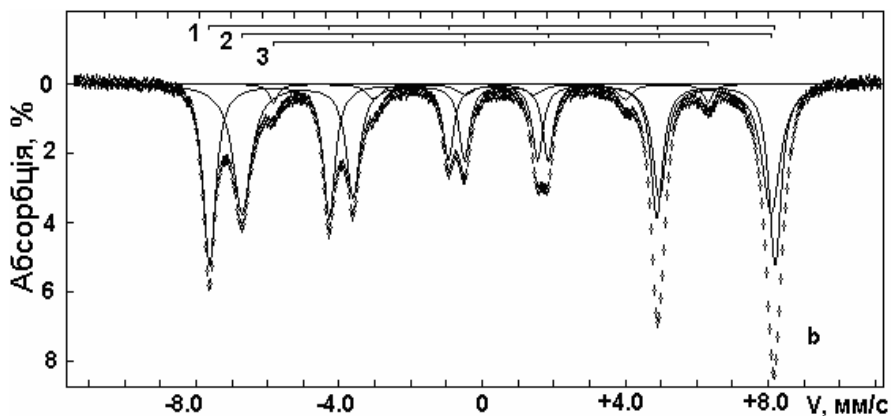


Рис. 3. ЯГР-спектр зразку синтетичного магнетиту

Таблиця 1. Параметри ЯГР-спектрів синтезованих зразків

Фаза, позиція заліза		$H_{\text{ефф}}$, кЕ	І. З., мм/с	К. Р., мм/с	Γ , мм/с	S, %	S_A/S_B
Магнетит	А-позиція	490	0,29	0,02	0,36-0,41	46,9	0,992
	В-позиція	459	0,67	0,01	0,35-0,61	47,3	
Гетит		376	0,35	0,25	0,31-0,57	5,8	

Примітка: $H_{\text{ефф}}$ – ефективне магнітне поле на ядрі заліза; І. З. – ізомерний зсув відносно α -заліза; К. Р. – квадрупольне розщеплення; Γ – напівширина ліній поглинання; S – відносна площа компоненти. Похибка вимірів $H_{\text{ефф}}$ – ± 5 кЕ, І. З., К. Р., Γ – $\pm 0,03$ мм/с, S – ± 5 %

Разом з тим спектр ЯГР цього зразку описується секстетом магнітного розщеплення і ознак суперпарамагнетизму не проявляє. Це пояснюється тим фактом, що умовою реєстрації магнітних переходів є відповідність часу, протягом якого проводять вимірювання магнітних властивостей, часам магнітної релаксації наночастинок. Розбіжності даних статичних магнітних вимірів (з часом реєстрації магнітних властивостей, що дорівнює 100 с та більше) та даних, отриманих методом спектроскопії ЯГР, пов'язані з особливостями умов (часами) вимірювання кожним із методів і можуть бути пояснені виходячи із рівняння часу релаксації та магнітних моментів однодомених одновісних частинок під впливом теплових флуктуацій в відсутності прикладеного зовнішнього магнітного поля [15]:

$$\tau = \tau_0 \cdot \exp(KV/kT) \quad (1),$$

де τ_0 – постійна порядку $10^{-9} - 10^{-10}$ с, K – константа ефективної анізотропії, V – об'єм наночастинок, k – постійна Больцмана, T – температура. Отже, та чи інша поведінка системи малих частинок, залежить від часу впродовж якого проводять виміри магнітних властивостей. Оскільки (як вже було вказано вище), час реєстрації магнітних властивостей статичними методами дорівнює приблизно 100 с, і тоді перехід у суперпарамагнітний стан відбувається за умови $KV=25kT$.

Якщо виходити із умов зіставлення часів релаксації магнітних моментів і часів вимірів методами спектроскопії ЯГР (10^{-8} с) та статичних магнітних вимірів (100 с та більше), то рівняння (1) буде справедливим при значеннях $KV/kT < 2,3$ ($V < 2,3 kT/K$) і $KV/kT < 25$ ($V < 25 kT/K$), відповідно. Тобто, перехід від суперпарамагнітного до магнітного упорядкування в вимірах ЯГР-спектроскопії спостерігається на частинках більше ніж на порядок менших за об'ємом, ніж в статичних магнітних вимірах.

Синтезовані наночастинок магнетиту досліджували також за допомогою магнітного резонансу. На рис. 4 продемонстровано мультирезонансний спектр синтетичного наномангнетиту. Ось абсцис на цих рисунках показує значення індукції квазіпостійного магнітного поля в мТл, а ось ординат інтенсивність резонансних сигналів в відносних одиницях. Ми вважаємо, що природа виявленого явища мультирезонансу обумовлена квантовими осциляціями магнітного моменту синтетичних наночастинок магнетиту.

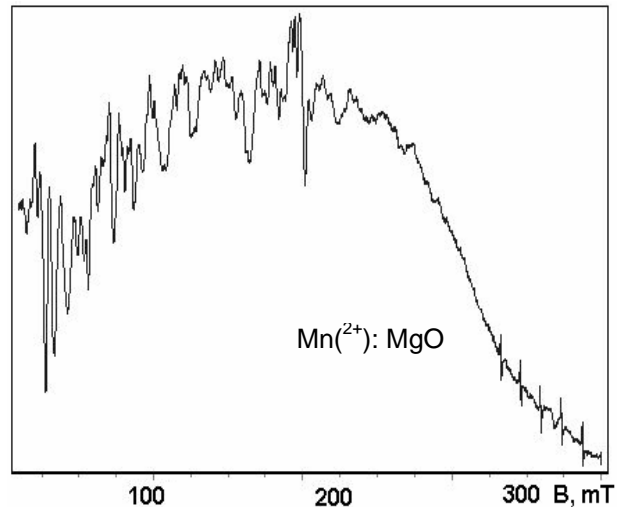


Рис. 4. Мультирезонансний спектр синтетичного наномангнетиту

Такі ж мультирезонансні спектри було зареєстровано і в наших попередніх роботах [9, 10] для зразків відпаленої кісткової тканини. Отже, синтезований зразок наномангнетиту демонструє такі ж самі властивості, що і біогенний наномангнетит в відпаленій кістковій тканині.

Висновки

Зразок нанорозмірного магнетиту з покриттям γ -амінопропілтриетоксисиланом синтезовано методом гідротермічного осадження двовалентного заліза в присутності слабкого окисника. Отриманий зразок має наступні властивості: розмір наночастинок згідно даним трансмісійної електронної мікроскопії становить 25 нм, намагніченість насичення згідно вимірів кривих намагніченості – $55 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{kg}$, склад магнітної фази згідно даним ЯГР-спектроскопії – магнетит з невеликою домішкою гетиту. Синтезований зразок наномангнетиту демонструє явище мультирезонансу, що обумовлене, на наш погляд, осциляціями магнітного моменту наночастинок магнетиту.

Ми вважаємо, що явище мультирезонансу відчиняє унікальні можливості для вирішення проблем біомедицини, які пов'язані із з'ясуванням механізмів функціонування і захворювань мозку та розробкою відповідних засобів профілактики захворювань, а також створення нового класу матеріалів (гібридних органо-мінеральних наноструктур) для збереження та обробки інформації на нових принципах, в тому числі, на принципах функціонування мозку.

Література

1. S. Laurent, D. Forge, M. Port, et. al. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications // *Chem. Rev.* – 2008. – v. 108, № 6. – P. 2064–2110.
2. Gupta A. K.; Gupta, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications // *Biomaterials.* – 2005. – v. 26, № 18. – P. 3995-4021.
3. Blakemore R. P. Magnetotactic bacteria // *Science.* – 1975. – v. 19. – P. 377-379.
4. Gould J. L. The map sense of pigeons // *Nature.* – 1982. – v. 296. – P. 205-211.
5. Holland R.A., Kirschvink J.L., Doak T.G., Wikelski M. Bats Use Magnetite to Detect the Earth's Magnetic Field // *PLoS ONE.* – 2008. – v. 3, № 2. – P. e1676.
6. Gould J. L., Kirschvink J. L., Dereyes K. S. Bees have magnetic remanence // *Science.* – 1978. – v. 201. – P. 1026-1028.
7. Walker M.M., Kirschvink J. L., Chang S.-B. R., and Dizon A. E. A candidate magnetic sense organ in the yellowfin tuna, *thunnus albacares* // *Science.* – 1984. – v. 224. – P. 751-753.
8. Kirschvink J.L., Kobayashi-Kirschvink A., Woodford B.J. Magnetite biomineralization in the human brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – v. 89. – P. 7683–7687.
9. Walker M.M., Diebel C.E., Kirschvink J.L.. Detection and Use of the Earth's Magnetic Field by Aquatic Vertebrates. In: *Sensory Processing in Aquatic Environments*, (S. P. Collin & N. J. Marshall, eds.), Springer-Verlag, New York, pp. 53-74, 2003.
10. Шпак А. П., Розенфельд Л. Г., Брик О. Б. и др. Магнітний резонанс магнітовпорядкованих частинок у тканинах мозку // *Фізіологічний журнал.* – 2005. – т. 51, № 5. – С. 16-22.
11. Brik A. B. Anomalous signals registered by EPR spectrometer in nanoscale particles of organic and mineral components of biominerals // *Mineralogical Journal.* – 2002. – v. 24, № 5/6. – P. 29-39.
12. Takada T., Kiyama M., Bando Y. et.al. Mossbauer study of α -, β - and γ -FeOOH // *J. Phys. Soc. Japan.* – 1964. – v. 19, № 9. – P.1774-1779.
13. *Hitchhiker's Guide to Magnetism.* Bruce M. Moskowitz// http://www.magneticmicrosphere.com/resources/hitchhikers_guide.php
14. Чернавский П. А. Новое в магнитных методах металлнанесённых катализаторов // *Рос. Хим. ж.* – 2002. – т. XLVI, № 3. – С. 19-30.
15. Ayoub N., Kobeissi M. A., Chantrell R. W. et.al. Magnetic and Mossbauer studies of finely dispersed iron particles // *J. Phys. F: Met. Phys.* – 1985. – v. 15. – P. 2229-2235.