

УДК 544.77.051

РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ОДНОРОДНЫХ ПО ХИМИЧЕСКОМУ СОСТАВУ И РАЗМЕРАМ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЕЙ

¹Марнаутов Н.А., ¹Комиссарова Л.Х., ¹Татиколов А.С., ²Ларкина Е.А.,
³Елфимов А.Б., ³Васильков О.О.

¹*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук,
Москва, e-mail: norron@mail.ru;*

²*Институт тонких химических технологий, Московский технологический университет, Москва;*

³*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва*

В работе представлены результаты по разработке оптимального способа получения однородных по химическому составу и размерам наночастиц магнетита в атмосфере инертного газа на основе метода химического соосаждения. Исследованы структура и химический состав полученных наночастиц методами просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), электронной дифракции с селективной диафрагмой (SAED) и рентгенофазового анализа. Впервые обнаружено, что при проведении синтеза в инертной атмосфере и температуре 70 °С при значениях pH исходной смеси в диапазоне 6,5–2,0 наблюдается наличие примеси наностержней (гоэтит). Показано, что при проведении синтеза в атмосфере азота при pH 1,8–1,9 и температуре 70 °С полученные наночастицы являются магнетитом и не содержат примеси наностержней. Средний диаметр полученных наночастиц составил 12 ± 4 нм. Обсуждается механизм образования наностержней.

Ключевые слова: наночастицы магнетита, метод соосаждения, атмосфера инертного газа, химический состав, наностержни, гоэтит, гидролиз Fe(III)

WORKING OUT THE OPTIMAL METHOD TO OBTAIN CHEMICAL-AND-SIZE HOMOGENOUS MAGNETITE NANOPARTICLES FOR BIOMEDICAL PURPOSES

¹Marnautov N.A., ¹Komissarova L.Kh., ¹Tatikolov A.S., ²Larkina E.A.,
³Elfimov A.B., ³Vasilkov O.O.

¹*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Moscow, e-mail: norron@mail.ru;*

²*Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow Technological University, Moscow;*

³*Russian Chemico-Technological University of D.I. Mendeleev, Moscow*

The work presents the results of working out the optimal method to obtain chemical content-and-size homogenous magnetite nanoparticles in the inert gas atmosphere on the basis of co-precipitation method. The structure and chemical content of obtained particles were studied by transmission electron microscopy (TEM), selected area electron diffraction (SAED) and X-ray diffraction (XRD). It was discovered for the first time that while synthesizing in inert gas atmosphere at pH of initial mixture in the range of 6,5–2,0 and 70 °С there are availability of admixture of nanorods (goetit). It has been shown that while synthesizing in the nitrogen atmosphere at pH of initial mixture 1,8–1,9 and 70 °С obtained nanoparticles are the magnetite itself without admixture of nanorods. The average diameter of the obtained nanoparticles is 12 ± 4 nm. The mechanism of nanorods formation is discussed.

Keywords: magnetite nanoparticles, chemical precipitation method, inert gas atmosphere, chemical composition, nanorods, goetit, hydrolysis of Fe(III)

С каждым годом магнитные наночастицы находят все более широкое применение в биомедицине, они применяются для гипертермии опухолей и адресной доставки лекарственных средств, на их основе создаются МРТ-контрастирующие агенты и высокоточные биосенсоры [1, 2]. Наибольшее распространение среди магнитных наночастиц в области биомедицины находят наночастицы магнетита. Наноразмерный магнетит может быть получен различными способами, такими как гидротермальный синтез, высокотемпературное разложение органических солей железа, а также методом соосаждения [3, 4]. Метод соосаждения является наиболее доступным способом получения на-

ночастиц магнетита, т.к. в отличие от других методов он не требует высоких температур, экологически безопасен и сравнительно прост в реализации. Тем не менее, несмотря на его распространенность и простоту реализации, не существует единой методики его проведения: варьируют физико-химические условия синтеза, что отражается на характеристиках получаемых наночастиц. Обычно наибольшая неоднозначность в методике получения наноразмерного магнетита по методу соосаждения двух- и трехвалентных солей железа из водного раствора аммиака заключается в вопросе использования инертной атмосферы. Ряд авторов проводят реакцию в присутствии кислорода воздуха [4, 5],

в то время как, по мнению других авторов [6, 7], необходимо использовать инертную атмосферу. Присутствие кислорода воздуха создает опасность окисления двухвалентного железа до трехвалентного, в результате чего вместо магнетита (Fe_3O_4), обладающего сильными ферромагнитными свойствами, может образоваться маггемит ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), магнитные свойства которого выражены значительно слабее, или $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, который ими вообще не обладает. Наш собственный опыт показывает, что желательнее проводить реакцию в инертной атмосфере, это позволяет получать наиболее воспроизводимые результаты. Однако, даже используя инертную атмосферу, можно наблюдать довольно необычные результаты при получении наноразмерного магнетита.

Цель исследования

Разработка оптимального способа получения однородных по химическому составу и размерам наночастиц магнетита в инертной атмосфере на основе метода соосаждения путем подбора физико-химических условий синтеза наночастиц для их использования в биологии и медицине.

Материалы и методы исследования

В работе использовались хлорид железа (III) $\times 6\text{H}_2\text{O}$, сульфат железа (II) $\times 7\text{H}_2\text{O}$ марок «хч» (99%, «Acros»), аммиак водный (98,5%, «Компонент Реактив»). Во всех экспериментах использовалась дистиллированная вода, если не указано иное. Для магнитной сепарации использовали постоянный цилиндрический неодимовый магнит D 60x30 мм (Россия) с индукцией на поверхности 3 мТл. Для характеристики размеров, структуры и химического состава наночастиц использовали ряд методов, в том числе просвечивающую электронную микроскопию (LEO-912AB, Zeiss, Германия), рентгенофазовый анализ (дифрактометр DRON-3M). Для расшифровки полученных спектров рентгенофазового анализа использовали электронную базу данных ICDD. Электронно-микроскопическое исследование полученных наночастиц на просвечивающем электронном микроскопе было сделано при ускоряющем напряжении 120 кВ. Для этого 6 мкл суспензии наносили на медную сетку с формваровой подложкой и сушили при комнатной температуре.

Методика получения наночастиц магнетита

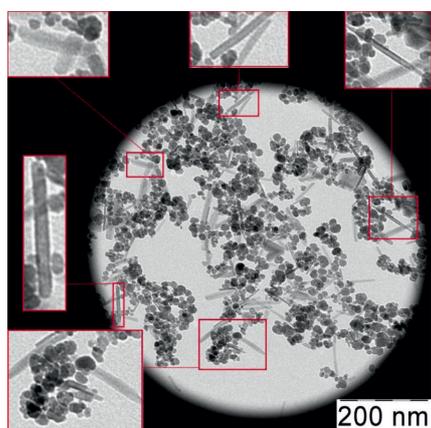
Реакция проводится в атмосфере азота в трехгорлой колбе на магнитной мешалке

с использованием масляной бани. Навески сульфата железа (II) и хлорида железа (III) в мольном соотношении 2:1 растворяют в дистиллированной воде. В опытах № 1–3 дистиллированная вода предварительно кипятилась в атмосфере инертного газа. В опытах № 4–6 прокипяченная дистиллированная вода дополнительно подкислялась до pH 2,1–2,2 раствором соляной кислоты. В опытах № 7–10 прокипяченная дистиллированная вода подкислялась раствором соляной кислоты до pH 1,8–1,9. В результате образуется водный раствор, содержащий смесь хлоридов железа (II) и (III) с концентрацией 2_{мас.}%. Полученный раствор нагревают до 70 °С при постоянном перемешивании в токе азота. После чего приливают аммиачный азот (4 объем.%) со скоростью 240 мл/мин. Затем реакционная смесь выдерживается при постоянном перемешивании в токе азота при температуре 70 °С в течение 30 минут. Полученные наночастицы осаждают путем магнитной сепарации на постоянном неодимовом магните, с индукцией на поверхности 3 мТл, супернантант отбрасывают, осадок промывают дистиллированной водой, процедуру повторяют многократно, до достижения значения pH 7,0 в промывных водах. После отмывки наночастицы осаждают на магните и ресуспендируют в дистиллированной воде, предварительно прокипяченной в атмосфере инертного газа. Образовавшуюся суспензию переносят в емкость, предварительно продувную азотом, и хранят в герметичной емкости при температуре 2–4 °С. Для определения концентрации полученной суспензии из суспензии после тщательного перемешивания отбирают пять аликвот по 1 мл, которые сушат до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 120 °С.

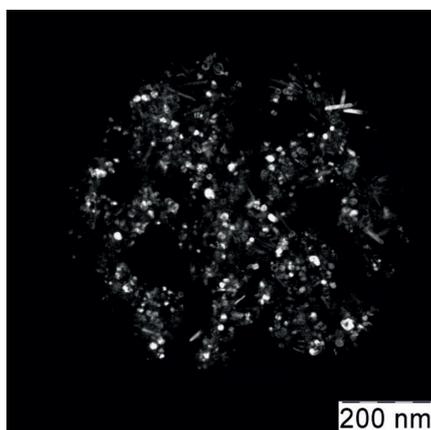
Результаты исследования и их обсуждение

При проведении первой серии опытов (опыты № 1–3) были получены наночастицы магнетита с примесью наностержней. На рис. 1, а представлена микрофотография частиц, полученных в опыте № 1, на данной микрофотографии отчетливо видны наностержни длиной от 20 до 400 нм и толщиной порядка 2 нм. Наностержни являются побочным продуктом реакции и их наличие нежелательно. Рис. 1, б представляет собой микрофотографию тех же частиц в темном поле. На микрофотографии частиц в темном поле наиболее отчетливо видны вещества, обладающие кристаллической решеткой, в то время как аморфные вещества будут слабо различ-

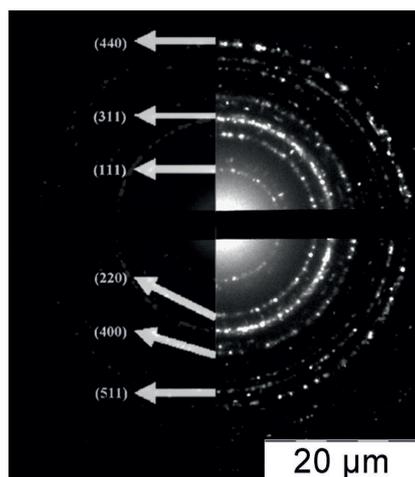
мы, поэтому можно заключить, что данные стержни имеют кристаллическую решетку и, скорее всего, являются монокристаллами.



а)



б)



в)

Рис. 1. Электронные микрофотографии наночастиц, синтезированных в первой серии опытов: а) в светлом поле; б) в темном поле; в) электронная дифракция (SAED)

Согласно спектру SAED (рис. 1, В), можно утверждать, что данные наностержни имеют состав отличный от магнетита, т.к. на спектре, помимо колец характерных для магнетита наблюдаются кольца ему не соответствующие. Не характерные для магнетита кольца очень слабо выражены, что указывает на то, что наностержни являются примесью. Из-за слабой выраженности нехарактерных колец, а также из-за их наложения на кольца магнетита охарактеризовать их и однозначно определить химический состав наностержней довольно затруднительно. Основываясь на литературных данных, можно предположить, что по химическому составу наностержни представляют собой гоэтит (α -FeOOH). Так, в работе Rosalia Marino-Fernandez и коллег был синтезирован гоэтит по методу аналогичному методу соосаждения [8]. Из анализа электронных микрофотографий, приведенных в этой работе, видно, что наноразмерный гоэтит представляет собой наностержни, похожие на те, что были получены нами. Наиболее вероятной причиной образования наностержней является гидролиз трехвалентного железа с образованием нерастворимых соединений, предшествующий гидролизу двухвалентного железа. Осаждение нерастворимых гидроокисей трехвалентного железа наблюдается уже при pH 2,2, тогда как для образования нерастворимых гидроокисей двухвалентного железа требуется pH не меньше 7,0, а для их полного осаждения требуется pH 9,0–14,0 [9–11]. Таким образом, возможна ситуация, когда гидролиз трехвалентного железа с образованием нерастворимых соединений уже начался, а гидролиз двухвалентного железа еще не происходит. В этом случае образование магнетита становится невозможным, так как для его получения требуется одновременное соосаждение как Fe^{2+} , так и Fe^{3+} . В результате преждевременного гидролиза Fe^{3+} образуется гидроксид железа, который затем переходит в ферригидриты переменного состава: $5Fe_2O_3 \cdot x \cdot 9H_2O$ или $Fe_2O_3 \cdot xH_2O$ ($x = 1 \div 5$). В результате старения полученные ферригидриты переходят в оксигидроксид трехвалентного железа (III) FeO(OH). Избежать преждевременного осаждения трехвалентного железа можно путем подкисления исходного раствора до pH, при котором не будет наблюдаться гидролиз Fe^{3+} . Затем к подкисленному раствору необходимо быстрое прибавление раствора аммиака до достижения значений

pH 9,0–14,0, при которых будет протекать одновременный гидролиз Fe^{3+} и Fe^{2+} с образованием магнетита. Для того, чтобы предотвратить преждевременное осаждение Fe^{3+} , во второй серии опытов (опыты № 6–8), раствор солей железа предварительно подкислялся до pH 2,0–2,3. В остальном опыт был аналогичен опыту № 1. При подкислении количество и размер

образовавшихся наностержней значительно уменьшились. Тем не менее, все равно можно было наблюдать их незначительное присутствие, что видно на рис. 2, а.

Спектры SAED, полученные во второй серии опытов, имели схожий вид со спектром SAED, полученным в опыте № 1, и на них также присутствовали кольца не характерные для магнетита.

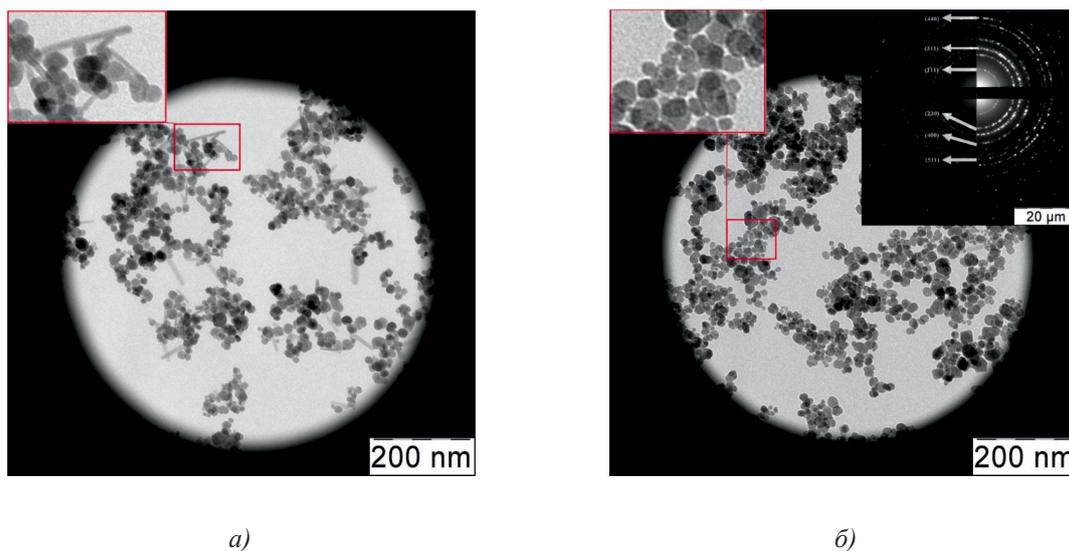


Рис. 2. Электронные микрофотографии наночастиц: а) синтезированных во второй серии опытов; б) синтезированных в третьей серии опытов

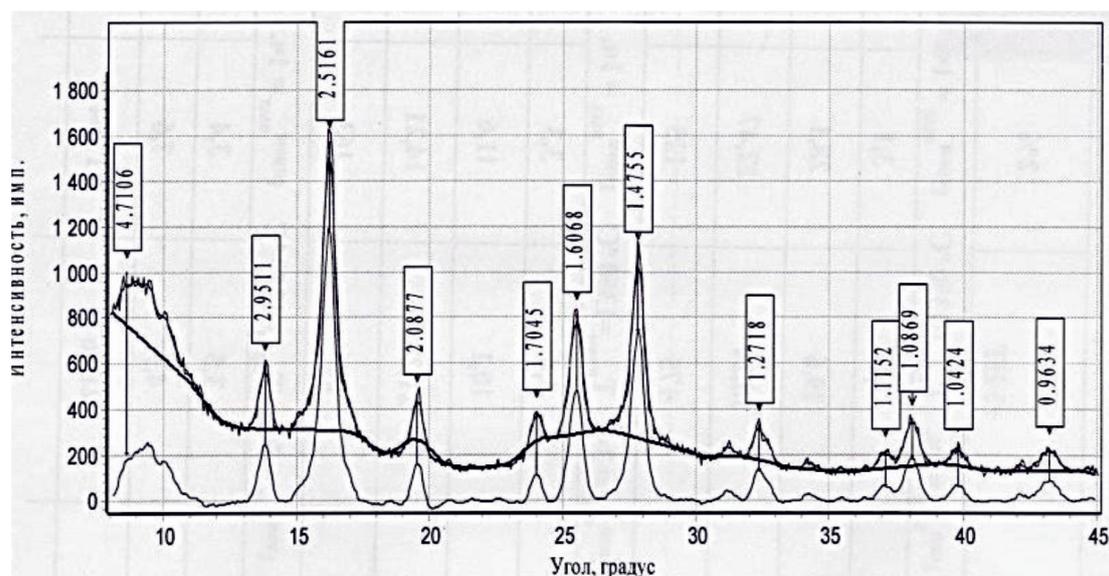


Рис. 3. Рентгенограмма образца, синтезированного в третьей серии опытов

Для того, чтобы полностью предотвратить образование наностержней, была проведена третья серия опытов, в них исходный раствор солей железа был подкислен еще сильнее до pH 1,8–1,9, в остальном способ проведения реакции остался неизменным. Благодаря подкислению исходной реакционной смеси удалось полностью избавиться от нежелательной примеси. На рис. 2, а представлена микрофотография наночастиц, синтезированных из маточного раствора, подкисленного до pH 1,8–1,9. На данной микрофотографии отчетливо видно, что в ходе реакции образовались только наночастицы магнетита. Химический состав полученных наночастиц соответствует магнетиту (Fe_3O_4) и подтвержден с помощью рентгенофазового анализа (рис. 3) и электронной дифракции (рис. 2, б). Отсутствие примесей в конечном продукте, подтверждается как химическим составом конечного продукта, так и отсутствием наностержней.

Основываясь на анализе данных, полученных с помощью электронной микрофотографии (рис. 2, а), электронной дифракции (SAED) и данных рентгенограммы наночастиц (рис. 3), можно утверждать, что наночастицы, полученные в третьей серии опытов, являются наночастицами магнетита со средним диаметром частиц 12 ± 4 нм.

Заключение

Таким образом, на основе анализа и подбора физико-химических условий синтеза наночастиц магнетита методом осаждения разработан оптимальный способ получения однородных по химическому составу и размерам наночастиц магнетита в атмосфере инертного газа (азот) при температуре 70°C . Методами просвечивающей электронной микроскопии, электронной дифракции с селективной диафрагмой SAED и рентгенофазового анализа показано, что при проведении синтеза в атмосфере азота при pH 1,8–1,9 и температуре 70°C полученные наночастицы являются магне-

титом со средним диаметром частиц 12 ± 4 нм без примесей других соединений железа (гоэтит). Полученные наночастицы магнетита могут быть использованы для биомедицинских целей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке фонда РФФИ, проект № 16-03-00735.

Список литературы

1. Pankhurst Q.A., Thanh N.T.K. et al. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine // Journal of Physics D: Applied Physics. – 2009. – Т. 42, № 22. – С. 224001.
2. Брусенцов Н.А., Байбуртский Ф.С., Комиссарова Л.Х., Филиппов В.И. и др. Технологии получения и применения полифункциональных магнитоуправляемых супермагнитных препаратов (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, № 4. – С. 32–40.
3. Lu A.H., Salabas E.L., Schüth F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application // Angewandte Chemie International Edition. – 2007. – Т. 46, № 8. – С. 1222–1244.
4. RuizMoreno R.G., Martinezet A.I. et al. Synthesis and Characterization of Citrate Coated Magnetite Nanoparticles. // J.of Superconductivity and Novel Magnetism. – 2013. – V. 26, № 3. – P. 709–712.
5. Петракова А.В., Урусов А.Е., Костенко С.Н., Придворова С.М., Васильев М.А., Жердев А.В. Синтез магнитных наночастиц оксида железа для применения в иммуноанализе // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5; URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=10559> (дата обращения: 27.04.2017).
6. Sun J., Zhou S., Hou P. et al. Synthesis and characterization of biocompatible Fe_3O_4 nanoparticles // Journal of biomedical materials research Part A. – 2007. – Т. 80, № 2. – С. 333–341.
7. Комиссарова Л.Х., Татиколов А.С., Марнаутов Н.А. и др. Оптимизация метода массарта для получения биосовместимых наночастиц магнетита с заданными размерами // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2016. – № 1–2. – С. 44–47.
8. Marino-Fernandez R., Masunaga S. H., et al. Goethite ($\alpha\text{-FeOOH}$) nanorods as suitable antiferromagnetic substrates // The Journal of Physical Chemistry C. – 2011. – Т. 115, № 29. – С. 13991–13999.
9. Нгуен А.Т. Механизм формирования наночастиц LaFeO_3 , полученных золь–гель методом // Всероссийский журнал научных публикаций. – 2011. – № 6. – С. 80–82.
10. Dousma J., Den Ottelander D., De Bruyn P. L. The influence of sulfate ions on the formation of iron (III) oxides // Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry. – 1979. – Т. 41, № 11. – С. 1565–1568.
11. Назаренко В.А. Гидролиз ионов металлов в разбавленных растворах / В.А. Назаренко, В.Н. Антонович, Е.М. Невская. – М.: Атомиздат, 1979. – С. 139–149.