

ساخت، مشخصه‌یابی و ارزیابی سمیت سلولی نانوذرات مگنتیت پوشش‌دهی شده
با پلی وینیل الکل برای کاربردهای پزشکی

محمد رضا تحریری، فتح‌الله مضطرزاده، مجید راز و مازیار عاشوری*
دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر

(دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۳/۲۸ - دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۱/۰۸/۰۲)

چکیده -

3T3

واژگان کلیدی :

**Synthesis, Characterization and Evaluation of Cytotoxicity
Characteristics of Magnetite Nanoparticles Coated by Polyvinyl Alcohol
for Biomedical Applications**

M.Tahriri, F. Moztarzadeh, M. Raz and M. Ashuri

1. Biomaterials Group, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran,
Iran

Abstract: *In this study, magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles were synthesized by chemical co-precipitation from the solution containing iron salts in alkaline medium under N_2 gas and room temperature. Magnetite nanoparticles were characterized by X-*

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: abbasashuri@aut.ac.ir

ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectrometer (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), thermal gravimetric analysis (TGA), differential thermal analysis (DTA), Brunauer-Emmet-Teller (BET), and vibrating-sample magnetometer (VSM). The rheological properties of magnetite ferrofluid were examined by rheology apparatus. The biocompatibility and cytotoxicity of magnetite nanoparticles were evaluated by 3T3 and fibroblast cells. The results showed that the Fe_3O_4 magnetite nanoparticles coated by polyvinyl alcohol (PVA) could be an appropriate candidate for biomedical applications.

Keywords: Synthesis; Magnetite nanoparticles; Coating; Polyvinyl alcohol; Biomedical applications

۱- مقدمه

نانوذرات مغناطیسی برای انتقال دارو بسیار مورد توجه‌اند، این نانوذرات که قابلیت حرکت به سمت یک آهن‌ربا را دارند، به عنوان عوامل انتقال‌دهنده دارو مورد مطالعه‌اند. ردیابی سلولها به کمک نانوذرات مغناطیسی قابل رؤیت با تصویربرداری تشدید مغناطیسی^{۱۳}، راه جدیدی را برای مشاهده‌ی تجربی درمان‌های سلولی ارائه می‌دهد. به هر حال نیاز نیست که همه این ذرات با مقدار یکسانی پخش شوند. در واقع یافتن نانوذرات مناسب برای کاربردهای خاص می‌تواند پتانسیل‌های این نانوحاملها^{۱۴} را آشکار کند. تا امروز اکسید آهن به دلیل پایداری شیمیایی و تطبیق‌پذیری بیولوژیکی و نیز فرایند تولید نسبتاً ساده نانوذرات مگنتیت پزشکی بیشترین توجه را به خود جلب کرده است [۱-۳]. مخلوط‌هایی از این دو نانوذره را می‌توان از طریق رسوب‌دهی آلکالاین‌ها از نمک‌های یون‌های آهن (فروس و فریک)، طی یک فرایند تک‌مرحله‌ای سنتز کرد. این فرایند عموماً در یک محلول آبی از ماکرومولکول‌های خاص انجام می‌گیرد. ماکرومولکول‌ها فرایند رشد هسته‌های ذرات مغناطیسی را از طریق ایجاد پوششی که قابلیت کنترل پراکندگی و به هم چسبیدن ذرات را دارد، کنترل می‌کنند. آزمون‌های عملی نشان می‌دهد که بازیابی ترکیبات اکسید آهن از چنین مخلوط‌هایی به طور طبیعی و منظم امکان‌پذیر است [۴ و ۵]. ترکیبات مختلف موجود در بدن انسان از قبیل پروتئین‌ها، فریتین‌ها، هموسیدرین‌ها^{۱۵}، ترنسفرین^{۱۶} و هموگلوبین حاوی سه تا چهار گرم آهن هستند. هنگامی که نانوذرات مغناطیسی درون بدن شروع به تجزیه می‌کنند، آهن‌های قابل حل وارد مخازن آهن موجود در بدن شده و در آنجا میزان آهن را تنظیم می‌کنند. دوزهای پزشکی برای بدن احتمالاً از چند میلی‌گرم کمتر است،

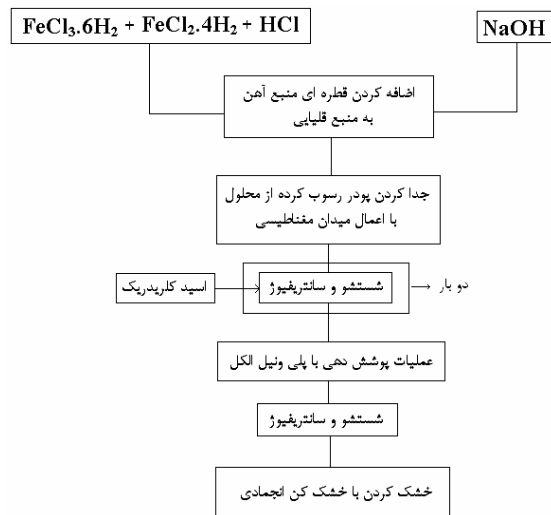
این در حالی است که احتمال بالاتر بودن این دوز از این حد تقریباً محال می‌نماید. ذرات نانومتری مگنتیت، در دمای اتاق رفتاری ابرپارامغناطیسی^{۱۷} از خود نشان می‌دهند. به عبارت دیگر، آنها تحت یک میدان مغناطیسی تا حد زیادی مغناطیده می‌شوند که این مغناطش دائمی نیست و با حذف میدان از بین می‌رود [۵-۷]. به کمک این رفتار مغناطیسی، نانوذرات اکسید آهن از طریق حمل عوامل درمانی و تحت اعمال یک میدان مغناطیسی می‌توانند توانایی دارورسانی را بدون انحراف مسیر در بدن اصلاح کنند. سویچ روشن/خاموش در این سیستم به معنای بعید بودن احتمال چسبیدن ذرات به یکدیگر در حین فرایند ساخت بوده و یا اینکه این ذرات پس از حذف میدان مغناطیسی به راحتی قابل پراکندگی باشند [۸]. استفاده از نانوذرات مغناطیسی که می‌توانند به دارورسانی کمک کنند، هنوز فاصله زیادی تا مراحل عملی دارد. با این وجود، استفاده عملی از ترکیبات مگنتیت فقط به استفاده از آنها به عنوان عوامل مورد استفاده در تصویربرداری تشدید مغناطیسی منحصر می‌شود. این عوامل با تغییر در آهنگ هم‌جهت شدن پروتون‌های آب با میدان مغناطیسی اعمال شده (این میدان از طریق پالس‌هایی با فرکانس رادیویی ایجاد می‌شوند) به فرایند تصویربرداری کمک می‌کنند [۹]. این عوامل اگر ذرات مجزای بزرگتر از ۵۰ نانومتر باشند، به صورت اکسیدهای آهن ابر پارامغناطیس رفتار می‌کنند و اگر دارای قطری کوچکتر از ۵۰ نانومتر باشند، ذرات اکسید آهن ابرپارامغناطیس فوق ریز^{۱۸} هستند. ذرات اکسید آهن ابرپارامغناطیس فوق ریز بیشتر در تصویربرداری ارگانهای وابسته به سیستم‌های رتیکولاندوتلیال استفاده می‌شوند؛ در حالی که عوامل کوچکتر (ذرات اکسید آهن ابرپارامغناطیس فوق ریز) به خاطر تمایل به تجمع در

به عنوان سورفکتانت استفاده شد. پس از سنتز، مشخصه‌یابی ذرات مگنتیت توسط تکنیک‌های مختلف انجام شد. همچنین رئولوژی نانوذرات مگنتیت با پوشش و بدون پوشش تحت میدان مغناطیسی اندازه‌گیری و با هم مقایسه شد که این نتایج مهر تأییدی بر نوآوری این پژوهش می‌زند.

۲- مواد و روش آزمایش

نمودار جریان‌ی سنتز نانوذرات مگنتیت در شکل (۱) نشان داده شده است. ابتدا محلولی شامل ۱/۲۸ مولار کلرید فریک ۶-آبه [FeCl₃.6H₂O > 99%] و ۰/۶۴ مولار کلرید فروس ۴-آبه [FeCl₂.4H₂O > 99%] و ۰/۴ مولار اسید کلریدریک [HCl > 37%] به عنوان منبع آهن با حل کردن مواد فوق در آب دوبار تقطیر تحت همزن مکانیکی با سرعت بالا تهیه شد. در همین راستا محلول دیگری از ۱/۵-۰/۹ مولار هیدروکسید سدیم [NaOH > 99%] به عنوان منبع قلیایی آماده شد و همچنین یک محلول ۱/۵ مولار از اسید کلریدریک برای خنثی سازی بار آنیونی بر روی سطح نانوذرات سنتز شده تهیه شد. گاز نیتروژن نیز در حین فرایند سنتز از محیط واکنش در یک سیستم بسته جریان داده شد. ۲۵۰ میلی لیتر از منبع آهن به صورت قطره‌ای به ۲۵۰ میلی لیتر منبع قلیایی بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۷۵۰ rpm اضافه شد و عمل همزدن به مدت ۳۰ دقیقه به طول انجامید. در جدول (۱) میزان غلظت هیدروکسید سدیم برای نمونه‌های مختلف سنتز آورده شده است.

پودر رسوب کرده با اعمال یک میدان مغناطیسی خارجی از محلول جدا شد و مایع فوقانی رسوب به آرامی به بیرون ریخته شد. سپس پودر حاصل با آب مقطر دوبار تقطیر شستشو داده و به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. فرایند شستشو و سانتریفیوژ دو بار صورت گرفت. پس از این فرایند محلول ۰/۰۱ مولار از اسید کلریدریک تهیه شده به ذرات برای خنثی سازی بار سطحی‌شان اضافه شد. عملیات پوشش‌دهی سطح نانوذرات، ۴ گرم پلی وینیل الکل را در آب



شکل ۱- نمودار جریان‌ی تهیه نانوذرات مگنتیت با پوشش PVA

جدول ۱- غلظت هیدروکسید سدیم برای نمونه‌های مختلف

نمونه	pH	NaOH (M)
S1	۹	۰/۹
S2	۹	۱/۱
S3	۹	۱/۳
S4	۹	۱/۵

گره‌های لنفای، برای تصویربرداری سیستم‌های لنفای مناسب‌اند. با این وجود می‌توان گفت که ذرات اکسید آهن می‌توانند توانایی تصویربرداری بر پایه تشدید مغناطیسی در سیستم‌های سلولی را توسعه دهند. این کاربرد عملی نوظهور، حوزه کاربرد ابزارهای تصویربرداری تشدید مغناطیسی در تصویربرداری‌های پیشرفته از رفتارهای سلولی را توسعه می‌دهد [۱۱۰].

در این مطالعه، ذرات مگنتیت با استفاده از روش هم‌رسوبی شیمیایی سنتز شد. در این فرایند، از اتمسفر نیتروژن خشک برای محافظت نمک‌های آهن از اکسیداسیون استفاده شد. همچنین از پلی وینیل الکل که زیست‌سازگاری مطلوبی دارد،

حل کرده و سپس به محلول افزوده شد و این محلول به مدت ۳۰ دقیقه بر روی همزن با سرعت ۷۵۰ rpm و دمای ۹۰°C قرار گرفت و عملیات شستشو و سانتریفیوژ بار دیگر تکرار شد. در پایان نمونه‌ها توسط خشک‌کن انجمادی خشک شدند.

۳- مشخصه‌یابی پودرها

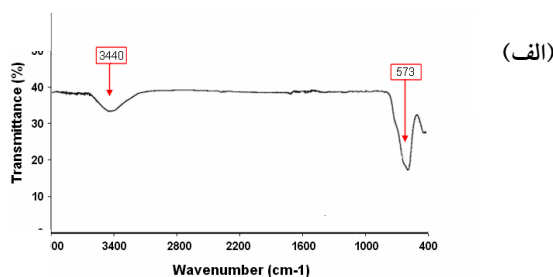
به منظور شناسایی فاز مگنتیت در پودرهای سنتزی، الگوی پراش آنها توسط پراش پرتوی ایکس (XRD) مدل زمینس تحت ولتاژ ۳۰ کیلوولت و جریان ۲۵ میلی آمپر صورت گرفت. در تمام آزمایش‌ها از اشعه ایکس Cu-ka با طول موج ۱/۵۴۰۶ انگستروم استفاده شد. زمان اقامت در هر گام، یک ثانیه و اندازه گام ۰/۲ درجه و محدوده‌ی رویش بین ۱۰ تا ۷۰ درجه انتخاب شد. همچنین میانگین اندازه‌ی دانه‌ها توسط تکنیک XRD با استفاده از فرمول شرر طبق معادله (۱) تعیین شد:

$$d = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

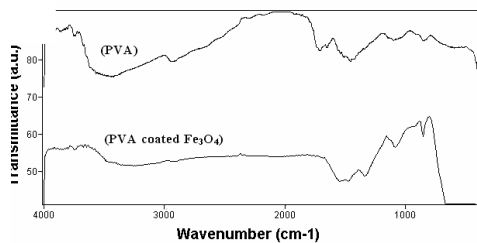
که در آن، β عرض پیک در نصف ارتفاع (برحسب رادیان)، λ طول موج پرتو مورد استفاده بر حسب nm، θ زاویه پراش بلندترین پیک برحسب رادیان و d قطر میانگین دانه‌ها بر حسب نانومتر است. طیف‌سنجی فروسرخ توسط مدل BOMEM MB100 ساخت آلمان در گستره‌ی عدد موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ در حالت عبوری انجام شد. برای بررسی ریخت‌شناسی از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری CM200-FEG-Philips و میکروسکوپ الکترونی روبشی Tescan Vega 2XMU استفاده شد. در بررسی رفتار حرارتی از دستگاه تحلیل حرارتی همزمان Polymer Laboratories PL-STA 1640 ساخت انگلستان استفاده شد. سرعت گرمایش $10^\circ\text{C}/\text{min}$ از دمای اتاق تا 1200°C در بوت‌های آلومینایی بود و گرمانگاشت‌های تغییر جرم و تغییر دما تهیه شد. برای بررسی ویژگی‌های

مغناطیسی نانوپودرها از دستگاه مغناطش‌سنج ارتعاشی (VSM- PAR 155) با حساسیت ۱۰-۳ emu و شدت میدان‌های مغناطیسی تا ۲۰ kOe استفاده شد. برای این منظور شدت میدان مغناطیسی (H) به طور یکنواخت در گستره‌ی ۵ Oe تا ۵ kOe با آهنگ ۶۶ Oe/S تغییر یافت و خصوصیات مغناطیسی نمونه‌ها از قبیل وادارندگی^{۱۹}، مغناطش اشباع^{۲۰} و مغناطش باقیمانده^{۲۱} در دمای اتاق (300°K) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه سطح ویژه نانوذرات به دست آمده از روش Brunauer-Emmet-Teller (BET) از دستگاه BET-Quantasorb استفاده شد. قبل از اندازه‌گیری سطح ویژه، ابتدا پودرها (نمونه‌ها) برای ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و با فشار ۰/۱ پاسکال گازگیری شد. بررسی تغییرات تنش برشی با سرعت برشی (رئولوژی) و ویسکوزیته توسط یک دستگاه رئومتر مدل MCR300 شرکت آنتون پار که مجهز به یک سیستم اعمال میدان مغناطیسی تا ۱ تسلا بود، انجام شد. هدف از انجام این آزمایش به دست آوردن یک الگوی کلی از رفتار فروسیال بود که برای این منظور روند تغییرات ویسکوزیته با سرعت برشی بررسی شد.

برای ارزیابی سمیت سلولی نانوذرات مگنتیت از سلول‌های 3T3 (که نوعی سلول فیبروبلاست موشی هستند) با چگالی اولیه $2 \times 10^5 \text{ cell}/\text{mM}$ و غوطه‌وری در محلول DMEM و FBS ۱۰٪ در زمانهای ۴، ۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت استفاده شد. بدین منظور از انکوباتور با دمای 37°C و حاوی ۵٪ گاز CO_2 استفاده شد. سلول‌ها در پلیت‌های ۲۴ خانه کشت داده شدند و سپس نمونه‌ها در زمان‌های مذکور به این پلیت‌ها اضافه شدند. سلول‌ها ۲ بار با محلول PBS شسته شده و محیط کشت کهنه با محیط کشت تازه تعویض شد. درصد بقای سلولی توسط دستگاه Bio-Tek EL-311 microplate reader در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. در ضمن در بررسی سمیت سلولی، غلظت‌های مختلف نانوذرات مگنتیت (۱، ۱۰ و ۲۰ mM)



(الف)



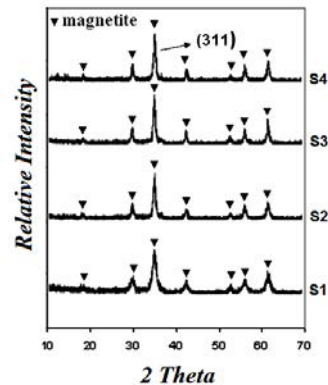
(ب)

شکل ۴- الف) طیف فروسرخ مگنتیت خالص، (ب) طیف فروسرخ پلی وینیل الکل خالص و نمونه S1 (مگنتیت پوشش داده شده با PVA)

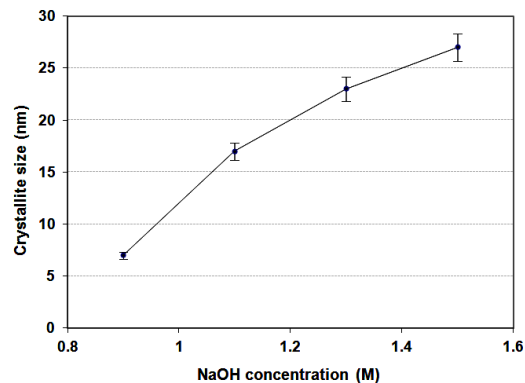
امر با توجه به معادله (۱) و شکل (۳) حاکی از افزایش اندازه بلورکهاست.

شکل (۴-الف) طیف IR مربوط به مگنتیت خالص را نشان می‌دهد که در آن دو قله (باند جذبی) قابل مشاهده است. اولین باند جذبی در محدوده‌ی عدد موج 3440 cm^{-1} است که ناشی از ارتعاش کششی قوی توسط پیوند هیدروژنی ایجاد شده با گروه‌های هیدروکسیل (OH) است که توسط نمونه از محیط جذب شده است. دومین باند جذبی در محدوده‌ی عدد موج 573 cm^{-1} دیده می‌شود که ناشی از باند ارتعاشی Fe-O موجود در مگنتیت است. قابل ذکر است که تحلیل طیف‌سنجی فروسرخ نیز وجود مگنتیت را در نمونه‌ها تأیید می‌کند.

شکل (۴-ب) طیف IR مربوط به نمونه S1 و پلی وینیل الکل که توسط طیف‌سنجی فروسرخ در مد عبوری به دست آمده است، را نشان می‌دهد. همان‌طور که از این شکل مشخص است، تفاوت چندانی در طیف فروسرخ پلی وینیل الکل و نمونه S1 وجود ندارد که این موضوع نشان می‌دهد که



شکل ۲- الگوی پراش پرتوهای ایکس برای نمونه‌های S1-S4



شکل ۳- میزان تغییرات اندازه‌ی بلورک‌های مگنتیت

پوشش‌دهی شده با PVA بر حسب غلظت هیدروکسید سدیم

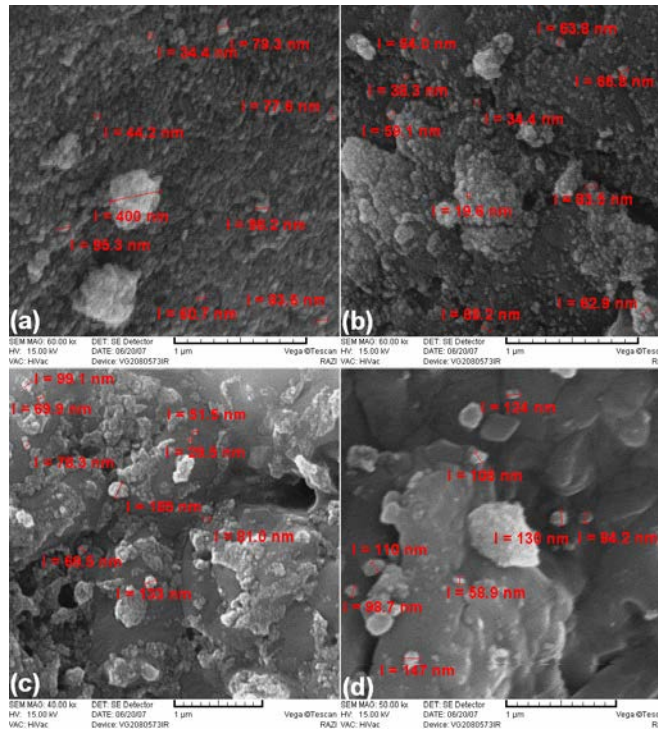
به‌کار برده شد. برای مطالعات میکروسکوپ نوری نیز از رده سلولی L929 دم موش استفاده شد.

۴- نتایج و بحث

۴-۱- تحلیل پراش پرتو ایکس و طیف‌سنجی فروسرخ

شکل (۲) الگوی پراش پرتو ایکس برای نمونه‌های S1-S4 را نشان می‌دهد. این الگوها نشان‌دهنده‌ی آن هستند که مگنتیت، فاز غالب در تمام نمونه‌هاست.

همچنین مشاهده شد که هرچه از نمونه S1 به سمت نمونه S4 که دارای هیدروکسید سدیم بیشتری در فرایند سنتز است، پیش رویم، پهنای قله‌های اصلی شروع به کاهش می‌کند که این



شکل ۵- تصاویر SEM مربوط به نمونه‌های S1-S4

برای بررسی و ارزیابی بلورک‌های پودرها از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی عبوری پودرهای سنتزی در شکل (۶) و میانگین اندازه بلورک‌ها در جدول (۲) نشان داده شده است. همان‌طور که از تصاویر مشخص است، ذرات تقریباً به صورت کاملاً مجزا دیده می‌شوند. آگلومره‌های ایجاد شده با توجه به شکل (۶)، باعث افزایش دمای انسداد^{۳۳} ذرات می‌شوند [۱۲]. نکته‌ی جالب در تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری این است که ریخت‌شناسی ذرات بر خلاف سایر مقالات به صورت کروی نیستند بلکه به صورت اکتاهدرال‌اند.

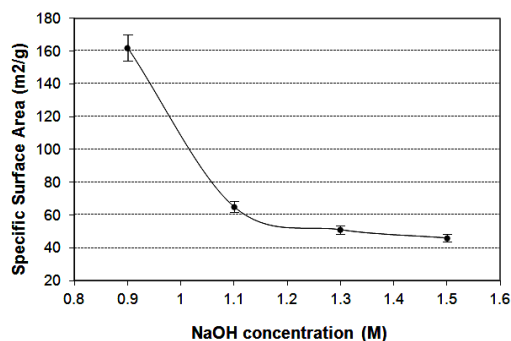
۴-۳- تحلیل BET

شکل (۷) نمودار مربوط به تغییرات سطح ویژه‌ی نانوذرات تهیه‌شده بر حسب غلظت هیدروکسید سدیم را نشان می‌دهد. با توجه به این نمودار با افزایش میزان هیدروکسید سدیم و یا به

سطح نانوذرات مگنتیت در نمونه S1 کاملاً با پلی‌وینیل الکل پوشیده شده است.

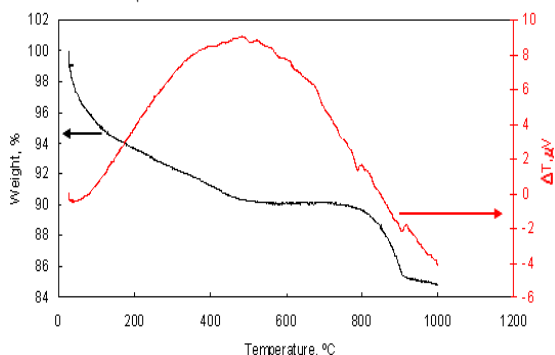
۴-۲- مشاهدات مورفولوژی پودر

ریزساختار پودرهای سنتز شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی شکل (۵)، مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که این تصاویر نشان می‌دهند، ذرات شدیداً آگلومره‌ای (کلوخه‌ای) شده‌اند. در حقیقت با کاهش اندازه‌ی ذرات، نسبت سطح به حجم آنها افزایش یافته و در نتیجه نیروی جاذبه بین ذرات افزایش می‌یابد که نتیجه آن ایجاد آگلومره‌های شدیدی است که این آگلومره‌ها می‌تواند دلیلی بر کوچکی زیاد ذرات سنتز شده باشد. قابل ذکر است که در تصاویر اندازه‌ی برخی از ذرات مشخص شده‌اند که نتایج به دست آمده از تحلیل پراش پرتو ایکس را که با افزایش میزان هیدروکسید سدیم اندازه‌ی بلورک‌ها افزایش داشته را تأیید می‌کند.



شکل ۷- تغییرات سطح ویژه نانوذرات سنتز شده

برحسب میزان هیدروکسید سدیم



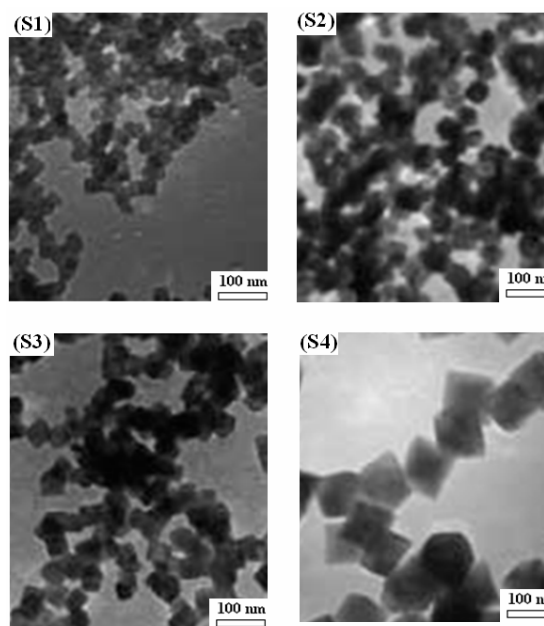
شکل ۸- نمودار تحلیل همزمان مربوط به نمونه S1

وینیل الکل باشد و به عبارت دیگر، پلی وینیل الکل شروع به سوختن می‌کند و در دمای حدود 500°C تمام زنجیره‌های آن تخریب شده است. ناحیه بعدی کاهش دما از 75°C تا دمای حدود 900°C است که این کاهش وزن ناشی از دو عامل است:

الف) تبدیل مگنتیت به ووستیت^{۳۳} البته نه در حضور اکسیژن بلکه در حضور کربن (گرافیت) باقیمانده از تخریب زنجیره‌های پلی وینیل الکل که این تبدیل طبق واکنش (۲) اتفاق می‌افتد [۱۳]:



ب) ممکن است به علت به هم چسبیدن و یا آگلومره شدن ذرات، هنوز مقداری هیدروکسید در شبکه نانوذرات موجود باشد که در این گستره دمایی شروع به تخریب کند و سبب کاهش وزن در نمودار TGA شود [۱۴].



شکل ۶- تصاویر TEM نمونه‌های S1-S4

جدول ۲- میانگین اندازه‌ی بلورک‌ها برای

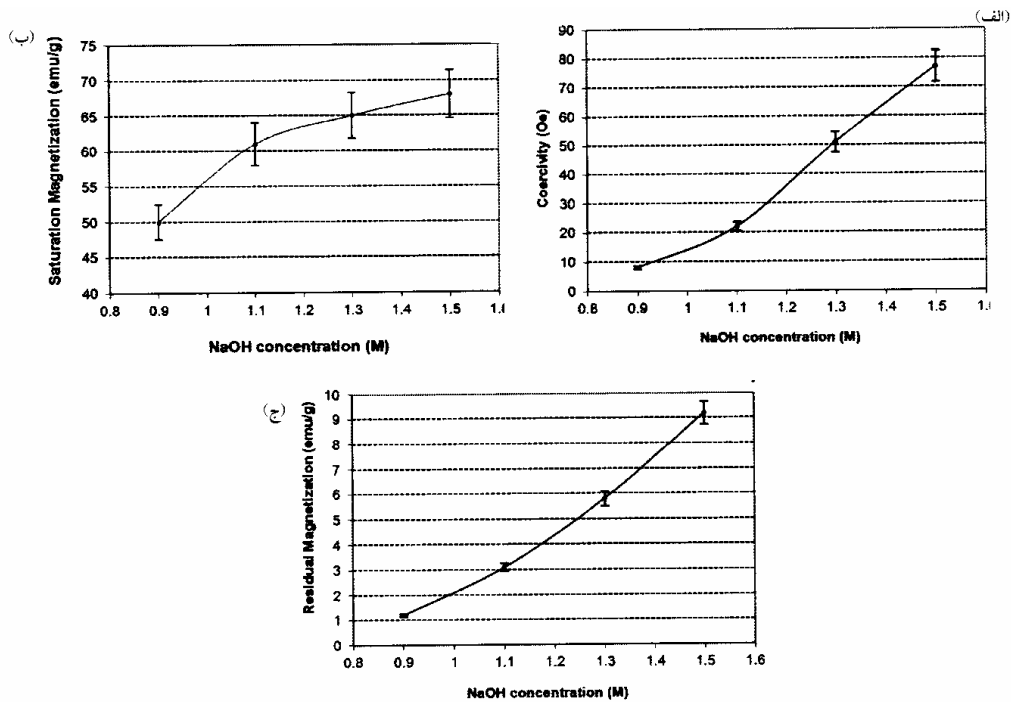
نمونه‌های مختلف

نمونه	میانگین اندازه‌ی بلورک‌ها (nm)
S1	۱۷
S2	۳۵
S3	۴۲
S4	۸۵

عبارت دیگر با افزایش اندازه ذرات، سطح ویژه‌ی آن‌ها کاهش می‌یابد.

۴-۴- بررسی رفتار حرارتی

برای بررسی رفتار حرارتی نمونه S1 پوشش داده شده با پلی وینیل الکل منحنی‌های TGA و DTA مربوط به آن در شکل (۸) نشان داده شده است. با توجه به شکل، یک کاهش وزن از دمای حدود 40°C تا دمای حدود 75°C وجود دارد که این کاهش وزن می‌تواند ناشی از تخریب زنجیره‌های پلی



شکل ۹- رابطه (الف) وادارندگی، (ب) مغناطش اشباع و (ج) مغناطش باقیمانده با میزان هیدروکسید سدیم

۴-۵- تحلیل های مغناطیسی

در نمودار شکل (۹-الف) رابطه‌ی اندازه نانوذرات و یا به عبارتی دیگر میزان هیدروکسید سدیم با میزان وادارندگی (H_c) بیان شده است. اگر ذرات خیلی کوچک باشند، معادله (۳) برای پیش‌بینی مقدار وادارندگی به کار می‌رود [۱۵]:

$$H_c = P_2 \frac{K^4 d^6}{J_s A} \quad (3)$$

که در آن K ثابت ناهمسانگردی مؤثر، A سفتی تبدلی، J_s چگالی انرژی تبدلی، d اندازه ذرات، P_2 یک فاکتور ثابت و H_c وادارندگی است. پس در این معادله چون وادارندگی با اندازه ذرات رابطه مستقیم دارد، در نتیجه اگر ذرات خیلی کوچک باشند، با افزایش اندازه ذرات میزان وادارندگی افزایش می‌یابد.

قابل ذکر است که در نمونه‌هایی که اندازه ذرات مگنتیت بیشتر از پهنای دیواره‌ی حوزه‌ها^{۲۴} باشد در نتیجه پدیده کاهش وادارندگی با افزایش اندازه‌ی ذرات به علت حرکت حوزه‌ست^{۲۵}. وقتی دیواره‌های حوزه‌ها در طول نمونه شروع به حرکت می‌کند، این حوزه‌ها می‌توانند در مرزخانه‌ها قفل شوند.

در نتیجه انرژی بیشتری نیاز است تا این حوزه‌ها را به حرکت در بیاورد. قفل‌شدگی^{۲۶} یکی از منابع اصلی وادارندگی است. برای این مورد نظریه مناسب برای پیش‌بینی مقدار وادارندگی به شرح زیر است:

$$H_c = P_1 \frac{\sqrt{AK}}{J_s D} \propto d^1 \quad (4)$$

که در آن P_1 یک فاکتور ثابت است، A به سفتی تبدلی^{۲۷} مربوط می‌شود، K ثابت آنیزوتروپی مؤثر^{۲۸} است، J_s چگالی انرژی تبدلی^{۲۹} و d اندازه‌ی ذرات است. بنابراین کاهش اندازه‌ی ذرات منجر به ایجاد مکان‌های بیشتر قفل‌شدگی^{۳۰} می‌شود و در نتیجه میزان وادارندگی افزایش می‌یابد. در نتیجه، نظریه ذکر شده در بالا، فقط برای ذرات بزرگ قابل اجراست [۱۵]. اگر ذرات خیلی کوچک باشند، نظریه دیگری برای پیش‌بینی مقدار وادارندگی به کار می‌رود که این معادله به شرح زیر است:

$$H_c = P_2 \frac{K^4 d^6}{J_s A} \propto d^6 \quad (5)$$

که آن P_2 یک ثابت دیگر است. در این معادله چون وادارندگی با اندازه ذرات رابطه مستقیم دارد. در نتیجه اگر اندازه ذرات

خیلی کوچک باشند، با افزایش اندازهی ذرات میزان وادارندگی افزایش می‌یابد [۱۵].

برای محاسبه اندازهی ذرات از معادله (۶) استفاده شد:

$$d = \sqrt{\frac{A}{K}} \quad (6)$$

با توجه به پارامترهای مربوط به مگنتیت که در این تحقیق به کار رفته است یعنی:

$$K = 1.35 \times 10^4 \text{ J/cm}^3, A = 10^{-11} \text{ J/m}$$

با جایگذاری اعداد فوق در معادله (۶) مقدار d برای مگنتیت در

حدود ۲۷ nm می‌شود. قابل ذکر است که از آنجایی که تمام نمونه‌های با پوشش پلی وینیل الکل زیر ۲۷ nm اند، در نتیجه،

تمام نمونه‌ها سوپراپارامگناطیس‌اند که مقدار بسیار ناچیز وادارندگی (برای مثال مقدار ۷ Oe برای نمونه S1) دلیلی بر این

مدعا (ابراپارامگناطیس شدن نانوذرات مگنتیت) است. در نمودار شکل (۹-ب) رابطهی میزان پلی وینیل الکل با میزان مغناطش

اشباع (M_s) ذکر شده است. همان طور که از این شکل مشخص است، در اینجا نیز با کاهش اندازهی ذرات نمونه‌ها، میزان

مغناطش اشباع نیز کاسته می‌شود. البته باید یادآور شد که میزان مغناطش اشباع نه تنها به اندازه ذرات وابسته است بلکه به

فاکتور مهم دیگری مثل دما نیز وابسته است. این ارتباط با دما به این صورت است که با کاهش دما، میزان مغناطش اشباع

و همچنین وادارندگی افزایش پیدا می‌کند یعنی اینکه مغناطش اشباع و وادارندگی بر خلاف اندازهی ذرات، با دما رابطه‌ای

معکوس دارند. مغناطش اشباع (M_s) در دمای اتاق با کاهش اندازهی ذرات (d) به شدت کاهش می‌یابد که این رفتار

غیرعادی نانوکریستالهای فرومگناطیس به دلیل پدیدهی اسپین‌های سطحی ذرات 31 است که توسط واکنش‌های تبدیلی

آنتی‌فرومگناطیس رقابتی 32 در سطح ایجاد می‌شوند. با فرض اینکه یک ساختار هسته-پوسته 33 در نظر گرفته

شود که لایه پوسته (پوسته غیرمگناطیس) دارای یک ضخامت ثابت t باشد و همچنین دارای یک مغناطش اشباع کمتر از

مغناطیس اشباع حجمی 34 (M_{s0}) باشد، لو 35 و همکارانش

معادله‌ای تجربی برای ارتباط مغناطیس اشباع با اندازه ذرات ارائه کردند که به شرح زیر است:

$$M_s(D)/M_{s0} = 1 - 6t/D \quad (7)$$

اگر چه مقدار t یک پارامتری است که از شرایط آزمایش به دست می‌آید، ولی تلاش‌ها برای پیدا کردن یک رابطه‌ی کاملاً

نظریه‌ی بسیار نادر است [۱۶].

البته قابل ذکر است که اندازه ذره مغناطیسی 36 از روی

منحنی پسماند با توجه به معادله (۸) قابل محاسبه است:

$$\frac{M_s(D)}{M_{s0}} = 1 - \frac{6t}{D} \quad (8)$$

که در آن χ_i ، قابلیت مغناطیس‌پذیری اولیه 37 است که شیب

قسمت اولیه منحنی پسماند است $(\frac{dM}{dH})_{H \rightarrow 0}$ ، ρ ، چگالی

مگنتیت و K_B : ثابت بولتزمن هستند [۱۷].

در شکل (۹-ج) رابطه‌ی میزان هیدروکسید سدیم با میزان

مغناطش باقیمانده (M_r) ذکر شده است. با توجه به شکل با

افزایش اندازه ذرات میزان مغناطش باقیمانده افزایش پیدا می‌کند. یکی از دلایل این رخداد می‌تواند سوپراپارامگناطیس

بودن ذرات باشد، یعنی با افزایش اندازهی ذرات تا ۲۷ nm (گستره‌ی ابرپارامگناطیس بودن برای مگنتیت)، میزان مغناطش

باقیمانده افزایش می‌یابد و حلقه‌ی پسماند شروع به باز شدن می‌کند و در نتیجه از خاصیت ابرپارامگناطیس دور و نزدیک به

خاصیت فری مغناطیس می‌شود. باید خاطر نشان کرد که پایین بودن میزان مغناطش باقیمانده ($9/2 - 1/2 \text{ emu/g}$) برای نمونه‌های

S1 تا S4 تأییدی بر ابرپارامگناطیس بودن ذرات است.

۴-۶- بررسی رئولوژی

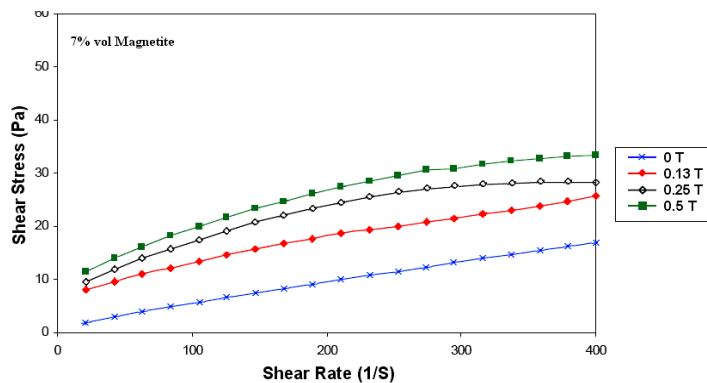
بررسی رئولوژی فروسیال‌ها تحت جریان برشی و میدان

مغناطیسی، افزایش ویسکوزیته با افزایش شدت میدان

مغناطیسی 38 و کاهش ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی 39 را نشان می‌دهند [۱۸]. علت پیدایش این نتایج به نظر می‌رسد که

ایجاد ساختارهایی در فروسیال با افزایش شدت میدان

مغناطیسی و شکسته شدن این ساختارها در سرعت‌های برشی



شکل ۱۰- تغییرات تنش برشی با آهنگ برشی برای نمونه S1

بالا باشد. نتایج نشان دادند که ویسکوزیته‌ی فروسیال‌ها تابعی از شدت میدان مغناطیسی است. تغییرات تنش برشی با سرعت برشی نمونه S1 با پوشش پلی وینیل الکل در شکل (۱۰) آورده شده است.

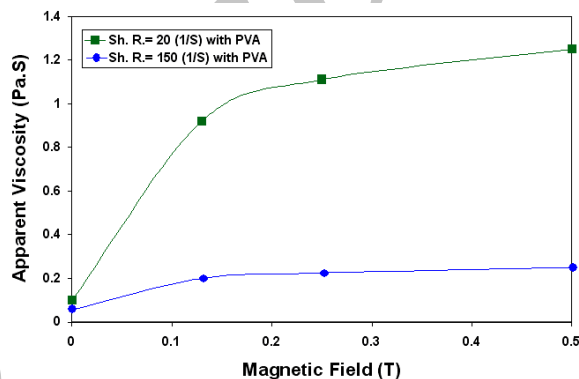
همان طور که از شکل (۱۰) مشخص است، تنش برشی دینامیک تقریباً یک رابطه‌ی خطی با آهنگ کرنش برشی در آهنگ‌های برشی پایین‌تر دارد، که این پدیده می‌تواند با معادله بینگهام، معادله (۹)، بیان شود:

$$\tau = \tau_y + \mu_p \dot{\gamma} \quad (9)$$

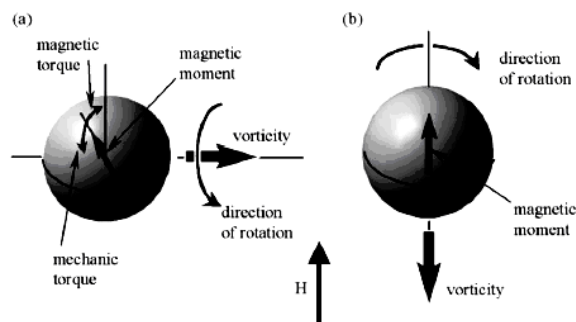
تنش برشی به طور پیوسته با افزایش آهنگ برشی افزایش می‌یابد. قابل ذکر است که در سرعت‌های برشی بالاتر انحراف از رابطه خطی وجود دارد که این موضوع به علت رفتار فروسیال‌هاست.

تغییرات در ویسکوزیته‌ی ظاهری برای فروسیال پوشش داده شده با اعمال میدان مغناطیسی در آهنگ‌های برشی متفاوت در شکل (۱۱) نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، افزایش در ویسکوزیته‌ی ظاهری با اعمال میدان مغناطیسی قابل ملاحظه است.

علت افزایش ویسکوزیته در فروسیال‌ها را می‌توان با توجه به شکل (۱۲) توجیه کرد. یک سیال مغناطیسی را در حالت سیلان برشی در نظر می‌گیریم که ذرات داخل آن شروع به گردش موازی با جریان گردابی شارش می‌کنند. با اعمال میدان



شکل ۱۱- تغییرات در ویسکوزیته‌ی ظاهری برای فروسیال‌های پوشش داده شده با اعمال میدان مغناطیسی در سرعت‌های برشی متفاوت



شکل ۱۲- طرحواره‌ای از منشأ افزایش ویسکوزیته‌ی فروسیال‌ها در اثر اعمال میدان

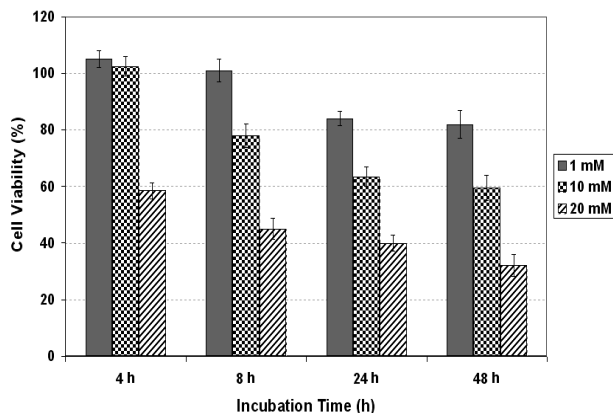
۴-۷- ارزیابی سمیت سلولی

شکل (۱۳) زیست‌سازگاری سلولی با غلظت‌های گوناگون از نانوذرات مگنتیت پوشش داده شده با پلی وینیل الکل در زمان‌های مختلف را نشان می‌دهد. با توجه به این نمودار در زمان‌های کشت یکسان، سمیت سلولی برای نانوذرات با غلظت ۱ mM نسبت به دو غلظت دیگر (۱۰ mM و ۲۰ mM) بیشتر بود که این تفاوت در زمان‌های کشت طولانی‌تر، آشکارتر است. همچنین با افزایش زمان کشت، سمیت سلولی به طور محسوسی کاهش دارد. به عبارت دیگر نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات پوشش داده شده با پلی وینیل الکل دارای سمیت سلولی کمتری هستند هنگامی که غلظت نانوذرات مگنتیت کمتر از ۱۰ mM باشد.

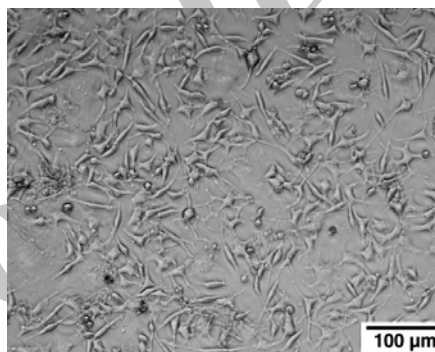
بر اساس تعداد و شکل سلول‌هایی که سطح نمونه‌ها را پوشانده‌اند، مقدار سمیت با استفاده از تصاویر میکروسکوپ نوری نشان داده شده در شکل (۱۴) ارزیابی شد. مطابق شکل (۱۴) دیده می‌شود که لایه‌ای از سلول‌های دوکی شکل فیروبیلاست سطح نمونه مگنتیت را پوشانده است. سمیت نمونه از روی گسترش لایه سلولی فیروبیلاست و شکل دوکی آنها تشخیص داده می‌شود. سلول‌های مرده به صورت کروی در زیر میکروسکوپ نوری دیده می‌شوند. علت مرگ این سلول‌ها ناشی از عدم وجود غذاست. بنابراین نمونه‌ی Fe_3O_4 در برابر سلول‌های فیروبیلاست سمیتی ندارد.

۵- نتیجه‌گیری

نانوذرات مگنتیت با اندازه بلورک کمتر از ۲۷ nm از طریق روش هم‌رسوبی شیمیایی تهیه شد. نتایج پراش پرتو ایکس نشان داد که با افزایش غلظت هیدروکسید سدیم اندازه ذرات نیز افزایش می‌یابد. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و عبوری نشان داد که ذرات به دلیل کاهش نسبت سطح به حجم، شدیداً آگلومره شده‌اند. نتایج تحلیل دستگاه مغناطیس‌سنج مغناطیسی نشان داد که با افزایش میزان هیدروکسید سدیم، مقادیر M_s و H_c افزایش یافتند. بررسی ویژگی‌های فروسیال‌ها تحت جریان برشی و میدان مغناطیسی،



شکل ۱۳- منحنی رشد سلولی برای نمونه‌ی مگنتیت با غلظت‌های مختلف در زمان‌های گوناگون کشت



شکل ۱۴- تصویر میکروسکوپ نوری از رشد سلول‌ها روی نمونه مگنتیت با غلظت ۱ mM

مغناطیسی خارجی به سیستم و با فرض اینکه میدان با حالت گردابی سیلان هم راستاست، بردار مغناطیسی ذره در جهت میدان قرار گرفته و ذره در جهت میدان می‌چرخد و در نتیجه هیچ تغییری در سیالیت مشاهده نمی‌شود. در مقابل اگر میدان عمود بر جهت حالت گردابی سیلان باشد، اگر بردار مغناطیسی در داخل ذره ثابت باشد، اصطکاک ویسکوز موجب چرخش بردار مغناطیسی در مقابل جهت میدان می‌شود که نتیجه آن ایجاد یک زاویه محدود بین بردار مغناطیسی و جهت میدان است و در نتیجه آن گشتاور مغناطیسی ایجاد شده در مقابل گشتاور ویسکوز سعی در همراستا شدن بردار با جهت میدان دارد، که در اثر آن ویسکوزیته افزایش می‌یابد [۱۹].

این تفاوت در زمان‌های کشت طولانی‌تر، آشکارتر است. در پایان، با افزایش زمان کشت، سمیت سلولی کاهش محسوسی یافته است.

افزایش ویسکوزیته را با افزایش شدت میدان مغناطیسی و کاهش ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی را از خود نشان می‌دهند. بررسی‌های بیولوژیکی نشان دادند که در زمان‌های کشت یکسان، سمیت سلولی برای نانوذرات با غلظت ۱ mM نسبت به دو غلظت دیگر (۲۰mM و ۱۰mM) کمتر است که

واژه نامه

- | | | |
|--|---|---|
| 1. magnetite (Fe ₃ O ₄) | 15. hemosiderin | 30. pinning sites |
| 2. polyvinyl Alcohol (PVA) | 16. transferrin | 31. particles surface spins |
| 3. surfactant | 17. superparamagnetic | 32. competing antiferromagnetic exchange interactions |
| 4. X-ray diffraction(XRD) | 18. ultrasmall superparamagnetic iron oxide (USPIO) | 33. core-shell |
| 5. Fourier Transform Infra-Red (FT-IR) | 19. coercivity | 34. bulk magnetic saturation |
| 6. scanning Electron microscopy (SEM) | 20. saturation magnetization | 35. Lu |
| 7. transmission electron microscopy (TEM) | 21. residual magnetization | 36. magnetic particle size |
| 8. thermal gravimetric analysis (TGA) | 22. blocking temperature | 37. Initial Magnetic susceptibility |
| 9. differential thermal analysis (DTA) | 23. Wüstite (FeO) | 38. magnetoviscous effect |
| 10. Brunauer-Emmet-Teller (BET) | 24. domain wall width | 39. shear thinning |
| 11. vibrating sample magnetometer (VSM) | 25. domain Wall Motion | |
| 12. optical microscopy (OM) | 26. pinning | |
| 13. magnetic resonance imaging (MRI) | 27. exchange stiffness | |
| 14. nanocarrier | 28. effective anisotropy constant | |
| | 29. exchange energy density | |

مراجع

- Levy, L., Sahoo, Y., Kim, K. S., Bergey, E. J., and Prasad, P. N., "Nanochemistry: synthesis and Characterization of Multifunctional Nanoclinics for Biological Applications," *Chem. Mater.*, Vol. 14, pp. 3715-3721, 2002.
- Lian, S., Wang, E., Kang, Z., Bai, Y., Gao, L., Jiang, M., Hu, C., and Xu, L., "Synthesis of Magnetite Nanorods and Porous Hematite Nanorods," *Solid State Commun.*, Vol. 129, pp. 485-490, 2004.
- Zaitsev, V. S., Filimonov, D. S., Presnyakov, I. A., Gambino, R. J., and Chu, B., "Physical and Chemical Properties of Magnetite and Magnetite-Polymer Nanoparticles and Their Colloidal Dispersions," *Journal of Colloid Interface Science*, Vol. 212, pp. 49-57, 1999.
- Lian, S., Kanga, Z., Wang E, Jiang, M., Hu and C., Xu, L., "Convenient Synthesis of Single Crystalline Magnetic Fe₃O₄ Nanorods," *Solid State Commun.*, Vol. 127, pp. 605-608, 2003.
- Sun, Y. K., Ma, M., Zhang, Y., and Gu, N., "Synthesis of Nanometer-size Magnetite Particles from Magnetite," *Colloid Surfactant A: Physico-Chemical Engineering Aspects*, Vol. 245, Vol. 15-19, 2004.
- Todd, P., Cooper, R., Doyle, J., Dunn, S., Vellinger, J., and Deuser, M., "Multistage Magnetic Particle Separator," *J. Magn. Magn. Mater.*, Vol. 225, pp. 294-300, 2001.
- Chen, S., Feng, J., Guo, X., Hong, J., and Ding, W., "One-Step Chemistry for Preparation of Magnetite Nanorods," *Mater. Lett.*, Vol. 59, pp. 985-988, 2005.
- Bae, D. S., Han, K. S., Cho, S. B., and Choi, S. H., "Synthesis of Ultrafine Fe₃O₄ Powder by Glycothermal Process," *Mater. Lett.*, Vol. 37, pp. 255-258, 1998.
- Pei, W., Kumada, H., Natusme, T., Saito, H., and Ishio, S., "Study on Magnetite Nanoparticles Synthesized by Chemical Method," *J. Magn. Magn. Mater.*, Vol. 310, pp. 2375-2377, 2007.
- Mürbe, J., Rechtenbach, A., and Topfer, J., "Synthesis and Physical Characterization of Magnetite Nanoparticles for Biomedical Applications," *Mater. Chem. Phys.*, Vol. 110, pp. 426-433, 2008.
- Kim, D. H., Lee, S. H., Im, K. H., Kim, K. N., Kim, K. M., Shim, I. B., Lee, M. H., and Lee, Y., "Surface-Modified Magnetite Nanoparticles for Hyperthermia: Preparation, Characterization, and

- Cytotoxicity Studies," *Current Appl. Phys.*, Vol. 6, pp. 242-246, 2006.
12. Kim, D. K., Zhang, Y., Voit, W., Rao, K. V., and Muhammed, M., "Synthesis and Characterization of Surfactant-Coated Superparamagnetic Monodispersed Iron Oxide Nanoparticles," *J. Magn. Magn. Mater.*, Vol. 225, pp. 30-36, 2001.
 13. Bocanegra-Diaz, A., Mohallem, N., and Sinisterra, R., "Preparation of a Ferrofluid Using Cyclodextrin and Magnetit," *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 14, pp. 936-941, 2003.
 14. Huang, Z., Tang, F. and Zhang, L., "Morphology Control and Texture of Fe₃O₄ Nanoparticle-Coated Polystyrene Microspheres by Ethylene Glycol in Forced Hydrolysis Reaction," *Thin Solids Film*, Vol. 471, pp. 105-112, 2005.
 15. Dutz, S., Hergt, R., Murbe, J., Muller, R., Zeisberger, M., Andra, W., Topfer, J., and Bellemann, M. E., "Hysteresis Losses of Magnetic Nanoparticle Powders in the Single Domain Size Range," *J. Magn. Magn. Mater.*, Vol. 308, pp. 305-312, 2007.
 16. Lu, M. H., Zheng, W. T., and Jiang, Q., "Saturation Magnetization of Ferromagnetic and Ferromagnetic Nanocrystals at Room Temperature," *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol. 40, pp. 320-325, 2007.
 17. Liu, Z. L., Liu, Y. J., Yao, K. L., Ding, Z. H., Tao, J., and Wang, X., "Synthesis and Magnetic Properties of Fe₃O₄ Nanoparticles," *J. Mater. Syn. Proc.*, Vol. 10, pp. 83-87, 2002.
 18. Bacri, J. C., Perzynski, R., Cabuil, D. S. V., and Massart, R., "Ionic Ferrofluids: A Crossing of Chemistry and Physics," *J. Magn. Magn. Mater.*, Vol. 85, pp. 27-32, 1990.
 19. Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., and Dobson, J., "Applications of Magnetic Nanoparticles in Biomedicine", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol. 36, pp. 167-181, 2003.

Archive of SID