



Optimization of Magnetic Nanoparticles Synthesis for Biological Applications

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Ghasemi R.¹ *PhD*,
Mirahmadi Zare Z.^{*2} *PhD*,
Nasr-Esfahani M.H.² *PhD*,
Allafchian A.R.³ *PhD*,
Behmanesh M.^{*1} *PhD*

How to cite this article

Ghasemi R, Mirahmadi Zare Z, Nasr-Esfahani M.H, Allafchian A.R, Behmanesh M. Optimization of Magnetic Nanoparticles Synthesis for Biological Applications. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(2):287-295.

¹Nanobiotechnology Department, Biology Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Molecular Biotechnology Department, Cell Science Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran

³Nanotechnology & Advanced Materials Institute, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

*Correspondence

Address: Royan Institute for Biotechnology, Royan Street, Salman Street, Khorasgan, Isfahan, Iran. Postal Code: 8165131378

Phone: +98 (31) 95015680

Fax: +98 (31) 95015687

mirahmadi_zare@yahoo.com

Article History

Received: August 19, 2017

Accepted: October 24, 2017

ePublished: January 11, 2018

ABSTRACT

In recent years, many studies have been performed on magnetic nanoparticles synthesis for use in various field of sciences. The design and synthesis of these nanoparticles have a direct impact on their physico-chemical properties and their applications, especially in the field of biological sciences. One of the simplest and most efficient methods for synthesis of magnetic nanoparticles is a chemical co-precipitation method, which is mainly associated with aggregation of nanoparticles. In this study, the synthesis of magnetic nanoparticles by co-precipitation method was performed in the presence of sodium hydroxide, ammonium hydroxide, and sodium citrate, and then coated with tetraethyl ortho-silicate. The size, surface charge, superparamagnetic properties, crystalline structure, and surface functional groups of nanoparticles were characterized by transmission electron microscopy (TEM), dynamic light scattering (DLS), zeta potential, vibrating sample magnetometer (VSM), X-ray diffraction (XRD) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR).

The results showed that the synthesis of magnetic nanoparticles in the presence of citrate or acidic acid and silica coating increase zeta potential of nanoparticles up to -70.8 and -79.2mV and leads to increase their stability and dispersion and prevents aggregation of magnetic nanoparticles without significant effect on their superparamagnetic properties.

Keywords Magnetic Nanoparticles; Co-precipitation Method; Silica Coating; Aggregation; Dispersion

CITATION LINKS

[1] Targeted magnetic iron oxide nanoparticles ... [2] Nitrotriacetic acid-modified magnetic ... [3] Optimization of ferrofluids and protocols ... [4] Magnetizable implants and functionalized ... [5] Preparation and characterization of dendritic ... [6] Synthesis of ferrofluid with magnetic ... [7] Innovative developments in bacterial detection ... [8] Antitumor immunity induction by ... [9] Synthesis of magnetic nanoparticles and their ... [10] Superparamagnetism: Theory and ... [11] Magnetic nanoparticles: Design and characterization ... [12] Synthesis of magnetic and fluorescent ... [13] Engineering nanomaterial surfaces for biomedical ... [14] Immobilization of cellulase enzyme on superparamagnetic ... [15] Synthesis and application of magnetic ... [16] Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization ... [17] Synthesis and catalytic abilities of silica-coated Fe₃O₄ ... [18] Enhancement of stability and catalytic activity of immobilized ... [19] Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface ... [20] Imaging gap junctions with silica-coated upconversion ... [21] Preparation of multifunctional nanoparticles and ... [22] Large-scale Fe₃O₄ nanoparticles soluble in water synthesized by ... [23] Core-shell Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles synthesized with ... [24] Copper immobilized ferromagnetic nanoparticle triazine dendrimer ... [25] Controlled synthesis of magnetite-silica nanocomposites ... [26] Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline ... [27] Colloidal semiconductor nanocrystals: Controlled synthesis ... [28] Chemical synthesis of magnetic ... [29] DLS and zeta potential - what they are and ... [30] Organic-dye-coupled magnetic nanoparticles encaged inside thermoresponsive PNIPAM ... [31] Preparation of inert magnetic nanoparticles for the directed immobilization of ... [32] Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with various ... [33] Matrix-mediated synthesis of nanocrystalline γ -Fe₂O₃ ... [34] Bilayer surfactant stabilized magnetic fluids: Synthesis ... [35] Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles without inert gas ... [36] Alkaline synthesis of colloidal magnetite ... [37] Size-controlled synthesis of magnetite ... [38] Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI ... [39] Physico-chemical regularities of obtaining highly ... [40] Surface-modified superparamagnetic ... [41] Synthesis and characterization of surfactant ...

بهینه‌سازی سنتز نانوذرات مغناطیسی به‌منظور کاربرد در علوم زیستی

راضیه قاسمی PhD

گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

زهره میراحمدی زارع PhD

گروه زیست‌فناوری مولکولی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشگاه زیست‌فناوری رویان، جهاد دانشگاهی، اصفهان، ایران

محمدحسین نصر اصفهانی PhD

گروه زیست‌فناوری مولکولی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشگاه زیست‌فناوری رویان، جهاد دانشگاهی، اصفهان، ایران

علیرضا علافچیان PhD

پژوهشکده نانوفناوری و مواد پیشرفته، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

مهرداد بهمنش PhD

گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

در سال‌های اخیر مطالعات فراوانی در جهت ساخت نانوذرات مغناطیسی به‌منظور کاربرد در زمینه‌های مختلف علوم صورت گرفته است. طراحی و روش سنتز این نانوذرات، بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و کاربردهای متنوع آنها به‌ویژه در زمینه علوم زیستی به‌صورت مستقیم تأثیرگذار است. یکی از ساده‌ترین و کارآمدترین روش‌های سنتز نانوذرات مغناطیسی روش هم‌رسوبی شیمیایی است که عمدتاً با توده‌ای شدن نانوذرات همراه است. در این پژوهش سنتز نانوذرات مغناطیسی به روش هم‌رسوبی در حضور هیدروکسیدسدیم، هیدروکسید آمونیوم و سیترات سدیم صورت گرفت و سپس با تترائیل‌اورتوسیلیکات پوشش داده شد. نانوذرات حاصل از نظر اندازه، بار سطحی، خاصیت ابرپارامغناطیسی، ساختار کریستالی و گروه‌های عاملی سطحی با تکنیک‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، پراکندگی دینامیک نور (DLS)، پتانسیل زتا (Zeta potential)، مگنتومتر (VSM)، پراش پرتو X (XRD) و طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سنتز نانوذرات مغناطیسی در حضور سیترات یا اسیدسیتریک و پوشش سیلیکا با افزایش پتانسیل زتای نانوذرات تا ۷۰/۸- و ۷۹/۲- میلی‌ولت موجب افزایش پایداری و پراکندگی و جلوگیری از توده‌ای شدن نانوذرات می‌شود، بدون اینکه تأثیری بر خاصیت سوپر پارامغناطیس نانوذرات داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات مغناطیسی، روش هم‌رسوبی، سیلیکا، توده‌ای شدن، پراکندگی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۵/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۲

* نویسنده مسئول: mirahmadi_zare@yahoo.com

* نویسنده مسئول: behmanesh@modares.ac.ir

مقدمه

فناوری نانو به‌عنوان یک دانش بین‌رشته‌ای، یکی از مهم‌ترین زمینه‌های توسعه و تحقیق در میان علوم جدید را فراهم نموده است. نانوذرات به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی وابسته به اندازه خود، مزایای بسیاری را در این زمینه ایجاد کرده‌اند. در میان بسیاری از نانومواد شناخته‌شده، نانوذرات مغناطیسی به‌دلیل خواص مغناطیسی منحصر به فرد خود و توانایی پاسخ به میدان مغناطیسی خارجی، کاربردهای گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف پزشکی، محیط زیست، علوم مواد، فناوری زیستی، علوم مهندسی و کامپیوتر پیدا کرده و توجهات به سمت ساخت انواع مختلفی از این نانوذرات معطوف شده است.

در بین تعداد بیشمار نانوذرات مغناطیسی موجود، نانوذرات آهن و اکسید آهن، بیشتر از سایر ذرات مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌دلیل توانایی این نانوذرات در پاسخ به میدان مغناطیسی و نیز اتصال به مولکول‌های زیستی مانند پپتیدها، آنتی‌بادی‌ها و سایر پروتئین‌ها

و اسیدهای نوکلئیک، این نانوذرات به ابزارهای مفیدی در زمینه فناوری زیستی و پزشکی تبدیل شده‌اند^[1]. از جمله کاربردهای زیستی نانوذرات مغناطیسی می‌توان به استفاده از این نانوذرات در جداسازی و تغلیظ مولکول‌های زیستی^[2]، جداسازی مغناطیسی و نشان‌دار کردن سلولی^[3]، انتقال هدفمند دارو و اسیدهای نوکلئیک^[4]، تثبیت آنزیم^[5]، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی (MRI)^[6]، تشخیص باکتری^[7] و هایپرترمیای^[8] اشاره کرد. علی‌رغم کاربردهای گسترده نانوذرات مغناطیسی، در استفاده از این نانوذرات در زمینه‌های زیستی چندین چالش مهم وجود دارد. خاصیت مغناطیسی بالا، اندازه کوچک‌تر از ۱۰۰ نانومتر و توزیع اندازه یکنواخت، پایداری بالا، سمیت کم، اتصال هدفمند به مولکول‌های زیستی و پراکندگی بالا در حلال‌های آبی از جمله این چالش‌ها است. عواملی مانند اندازه، شکل، ترکیب هسته، بار و پوشش سطحی در میزان پایداری و پراکندگی این نانوذرات نقش اساسی دارند. گروه‌های شیمیایی سطحی از جمله عوامل تأثیرگذار بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذرات مغناطیسی مانند حلالیت و پراکندگی و نیز قدرت مغناطیسی هستند^[9].

کاهش اندازه ذرات مغناطیسی، موجب ایجاد پدیده‌ای به نام ابرپارامغناطیس می‌شود، در این حالت ذره پارامغناطیس، رفتاری با ممان مغناطیسی بالا داشته و در حضور میدان مغناطیسی خارجی به‌راحتی مغناطیس می‌شود^[10]. به‌دلیل این که ویژگی‌های منحصر به فرد نانوبلورها وابسته به اندازه آنها است؛ بنابراین ساخت نانوذراتی که دارای اندازه یکنواخت بوده و پراکندگی بسیار خوبی در حلال‌های آلی و آبی دارند، از نکات کلیدی ساخت این نانوذرات به شمار می‌آید. پایداری طولانی مدت نانوذرات مغناطیسی و توسعه روش‌هایی به‌منظور جلوگیری از توده‌ای شدن و رسوب این نانوذرات، نیز موضوع قابل توجهی است، زیرا پایداری این نانوذرات در به‌کارگیری آنها در حوزه‌های مختلف علوم به‌ویژه علوم زیستی اهمیت دارد. یکی از مشکلات سنتز نانوذرات مغناطیسی، توده‌ای شدن نانوذرات مغناطیسی پس از اتمام روش سنتز و کاهش پراکندگی آنها در حلال است. خاصیت ابرپارامغناطیسی، افزایش انرژی سطح نانوذرات به‌دلیل کاهش اندازه در مقیاس نانومتری و افزایش نسبت سطح به حجم در نانوذرات مغناطیسی، منجر به افزایش واکنش‌پذیری آنها می‌شود. این افزایش واکنش‌پذیری موجب می‌شود تا هسته‌های هیدروفوب نانوذرات مغناطیسی با یکدیگر ترکیب شده و توده‌های بزرگی از نانوذرات را ایجاد کند. هر کدام از این توده‌های بزرگ یک میدان مغناطیسی تولید کرده و نانوذرات با نزدیک شدن به یکدیگر، به‌صورت مغناطیسی جذب هم می‌شوند. با افزایش اندازه نانوذرات، پایداری و پراکندگی در حلال آبی کاهش یافته و کاربرد گسترده نانوذرات مغناطیسی را با محدودیت مواجه می‌کند^[11]. برقراری تعادل بین نیروهای دافعه و جاذبه بین نانوذرات و اصلاح سطح نانوذرات مغناطیسی با قراردادن پوشاننده‌های آلی یا معدنی روی سطح نانوذرات مغناطیسی تنها راهکار مقابله با این مساله است^[12]. پوشش‌دار کردن ذرات اکسید آهن این امکان را فراهم می‌کند که آنها به مایعات مغناطیسی یکنواخت و پایدار تبدیل شوند. نانوذرات اکسید آهن عموماً با پوشش‌هایی از جمله پلیمرهای آلی مانند دکستران، کیتوسان، پلی‌اتیلن‌گلیکول، پلی‌آنیلین؛ سورفکتانت‌های آلی مانند اولئات سدیم و دودسیل‌آمین؛ فلزاتی مانند طلا؛ اکسیدهای معدنی مانند سیلیکا و کربن؛ مولکول‌ها و ساختارهای زیستی مانند لیپوزوم‌ها، پپتیدها، پروتئین‌ها، لیگاندها، گیرنده‌ها پوشانده می‌شوند^[13, 14]. سیلیکا یکی از پوشش‌های متداول مورد

عبوری (TEM)، پراکندگی دینامیک نور، پتانسیل زتا، مگنتومتر، پراش پرتو X و طیف‌سنجی مادون قرمز مورد بررسی کامل قرار گرفت. در نهایت، تاثیر این پارامترها بر توزیع اندازه، پراکندگی، میزان توده‌ای شدن نانوذرات مغناطیسی و پایداری آنها در محلول‌های آبی مشخص شد تا یک پروتکل ساده و تکرارپذیر برای ساخت نانوذرات مغناطیسی با توزیع اندازه مناسب و پراکندگی بالا در محلول‌های آبی به منظور استفاده در کاربردهای علوم زیستی بهینه‌سازی و معرفی شود.

مواد و روش‌ها

مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

کلرید آهن II، نیترات آهن III، اتانول خالص، هیدروکسید آمونیوم (۲۵٪)، استون، هیدروکسید سدیم و تری‌سدیم‌سیترات (مرک؛ آلمان) و TEOS (سیگما؛ ایالات متحده) به کار رفتند. همه مواد شیمیایی مورد نیاز دیگر با درجه خلوص بالا تهیه شدند. برای تهیه محلول‌ها و بافرها از آب دو بار تقطیر استفاده شد.

تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی TEM با استفاده از مدل EM208S (فیلیپس؛ هلند) با ولتاژ ۱۰۰ کیلوولت، پراش پرتو ایکس با PW 1800 (فیلیپس؛ هلند) و آنالیزهای FTIR با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل TENSOR 70 (BRUCKER؛ ایالات متحده آمریکا) و آنالیز پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه زئاسایزر (مالورن؛ ایالات متحده) و سونیکاسیون نانوذرات با استفاده از حمام اولتراسونیک ۵۰ هرتز پارسونیک صورت گرفت. اندازه‌گیری اندازه ذرات براساس الگوی تفرق دینامیک نور (DLS) با استفاده از دستگاه آنالیز لیزری ذرات مدل Vasco Flex TM (کوردوان؛ فرانسه) و در طول موج ۶۵۷ نانومتر مورد آنالیز قرار گرفت.

روش‌های استفاده‌شده

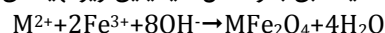
پروتکل اول) سنتز نانوذرات مغناطیسی با استفاده از هیدروکسید سدیم: ابتدا محلول ۵۰/۵۰ مولار هیدروکسید سدیم با حل کردن ۵/۰ گرم هیدروکسید سدیم در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بالن سه دهانه ۵۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد. سپس گاززدایی محلول با استفاده از گاز نیتروژن در دمای اتاق (۱۵ تا ۲۰°C) به مدت ۳۰ دقیقه همراه با هم‌زدن مکانیکی انجام شد. در مرحله بعد، محلول آبی ۴۰/۴۰ مولار هیدروکلریدیک اسید با حل کردن ۸۳/۰ میلی‌لیتر از محلول ۱۲ مولار هیدروکلریدیک اسید در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه و گاززدایی آن به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت. سپس ۹/۷۰ گرم نمک آهن (III) نیترات ۹ آب (۲۴/۰ مول) و ۲/۴۸ گرم از نمک آهن کلرید ۴ آب (۱۰۲/۰ مول) به محلول هیدروکلریدیک اسید اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه گاززدایی همراه با هم‌زدن صورت گرفت تا نمک‌های آهن در محلول حل شوند. سپس محلول هیدروکسید سدیم تا ۴۰°C گرم شده و سپس محلول آهن به آرامی به آن اضافه شد. واکنش به مدت یک ساعت در دمای ۸۰°C و تحت هم‌زدن شدید ادامه یافت. در نهایت با استفاده از یک مگنت، نانوذرات به دست آمده رسوب داده شدند و محلول روبی خارج شد. شست‌وشوی نانوذرات چند مرتبه با استفاده از ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول یا آب همراه با سونیکاسیون به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت و در نهایت نانوذرات تحت شرایط خلا در دمای ۶۰°C به مدت یک ساعت خشک شدند.

برای سیلیکاپوش کردن نانوذرات مغناطیسی، ابتدا سوسپانسیون نانوذرات با اضافه کردن یک میلی‌مول (۲/۰ گرم) نانوذرات اکسید آهن به ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و پراکنده کردن آنها با سونیکاسیون تهیه شد. سپس محلول اسیدسیتریک با حل کردن ۵۵/۰ گرم

استفاده برای افزایش پراکندگی و پایداری نانوذرات مغناطیسی است[12].

در سال‌های اخیر مطالعات فراوانی در جهت ساخت نانوذرات مغناطیسی به منظور کاربرد در زمینه‌های مختلف علوم صورت گرفته است. طراحی و روش سنتز مناسب این نانوذرات، بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و کاربردهای متنوع آنها به صورت مستقیم تاثیرگذار است. روش‌های مختلفی برای ساخت نانوذرات مغناطیسی وجود دارد. سنتز در فاز مایع، تجزیه حرارتی، روش هیدروترمال، روش سونوشیمیایی، سنتز به روش احتراق، پیرولیز لیزر و رسوب بخار شیمیایی از جمله این روش‌ها است که راهکارهای مختلفی را در کنترل شکل و اندازه این نانوذرات و همچنین پایداری و حلالیت آنها ارائه می‌دهند. هم‌رسوبی، روش میکروامولسیون و ساخت نانوذرات با استفاده از فراصوت از جمله روش‌های سنتز در فاز مایع است[15].

یکی از ساده‌ترین و کارآمدترین روش‌های سنتز نانوذرات مغناطیسی (اکسیدهای فلزی و فریت‌ها)، روش هم‌رسوبی شیمیایی است. در این روش با اضافه کردن یک ترکیب قلیایی مانند هیدروکسید سدیم یا آمونیوم به محلول آبی نمک‌های آهن، تحت جو خنثی (بدون حضور اکسیژن) در دمای اتاق یا بالاتر، مقادیر زیادی از نانوذرات مغناطیسی به دست می‌آید. در این روش، نانوذرات اکسید آهن ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ یا Fe_3O_4) و فریت‌ها معمولاً در محیط آبی با واکنش شیمیایی زیر تهیه می‌شوند:



M می‌تواند یکی از فلزات Fe^{2+} ، Mn^{2+} ، Co^{2+} ، Cu^{2+} ، Mg^{2+} ، Zn^{2+} و Ni^{2+} باشد. طبق ترمودینامیک این واکنش، هم‌رسوبی کامل در pH بین ۸ تا ۱۴ با نسبت مولی ۲:۱ ($\text{Fe}^{3+}:\text{M}^{2+}$) در شرایط فاقد اکسیژن اتفاق می‌افتد. نوع نمک مورد استفاده (برای مثال کلرید، سولفات یا نیترات)، نسبت مولی $\text{Fe}^{3+}:\text{M}^{2+}$ ، دمای واکنش و pH محیط، نوع ترکیب قلیایی مورد استفاده، سرعت مخلوط کردن مواد با یکدیگر و ترتیب اضافه کردن آنها، قدرت یونی محیط و نیز حباب‌های گاز نیتروژن همگی در اندازه، شکل و ترکیب نانوذرات مغناطیسی ساخته شده به این روش تاثیرگذار هستند[16].

همان‌گونه که گفته شد، برای افزایش پایداری و پراکندگی نانوذرات مغناطیسی از پوشش سیلیکا استفاده می‌شود. دو روش مختلف برای سیلیکاپوش کردن نانوذرات اکسید آهن وجود دارد. در روش اول که مبتنی بر روش شناخته شده استوبر است، لایه سیلیکا به صورت درجا از طریق هیدرولیز و تراکم پیش‌ساز آلکوکسید تشکیل می‌شود؛ مانند هیدرولیز و متراکم شدن تترااتوکسی‌اورتوسیلیکات (TEOS) [17, 18]. در روش دیگر که براساس سنتز میکروامولسیون است، میسل یا میسل معکوس به عنوان کنترل‌کننده پوشش سیلیکا روی هسته نانوذرات استفاده می‌شود. این روش توسط *استانگ* و همکاران برای تولید نانوذرات مگنتیت سیلیکاپوش استفاده شد که در نهایت از آن برای تثبیت بتالاکتاماز استفاده نمودند[19]. گروه‌های عاملی که در سطح سیلیکایی می‌توانند قرار بگیرند، شامل کربوکسیل، آمین، تیول (SH, NH₂, COOH) و غیره هستند[20].

در این پژوهش نانوذرات مغناطیسی به روش هم‌رسوبی با استفاده از چهار پروتکل مختلف در حضور انواع نمک، ترکیبات بازی، سیترات و شرایط دمایی مختلف ساخته شد. نانوذرات حاصل از نظر اندازه، بار سطحی، خاصیت ابرپارامغناطیسی، ساختار کریستالی و گروه‌های عاملی سطحی با تکنیک‌های میکروسکوپ الکترونی

اسیدسیتریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر همراه با سونیکیشن به دست آمد. دو محلول را به یکدیگر اضافه کرده و به مدت ۵ دقیقه سونیکاسیون صورت گرفت تا از یکدست شدن محلول اطمینان حاصل شود. سپس محلول آبی آمونیاک ۲۵٪ به آن اضافه شد تا pH محلول به وضعیت خنثی برسد. یک محلول حاوی ۶۸۰ میلی‌لیتر اتانول، ۸۰ میلی‌لیتر آب، ۴۵ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم، ۴۵ میلی‌لیتر نانوذره پایدار شده و ۳/۴۷ میلی‌لیتر TEOS ساخته شد. محلول در دمای صفر درجه به مدت یک ساعت سونیکیت شد. سپس نانوذرات به دست آمده با اتانول و سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۱۰۰۰g و در دمای اتاق) تا رسیدن به pH خنثی شست و شو داده شد، سپس رسوب حاصله جمع‌آوری و به مدت یک ساعت در دمای ۶۰°C در شرایط خلا خشک شد [21].

پروتکل دوم) سنتز نانوذرات مغناطیسی با استفاده از هیدروکسید آمونیوم: ۱/۲۵ گرم از نمک آهن کلرید ۴ و ۴/۸۴ گرم از آهن (III) نیترات ۹ آب (نسبت مولی ۲:۱) به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. محلول به دست آمده به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در حمام ماورای صوت در دمای ۶۰°C سونیکیت شده و هم‌زمان گاززدایی با عبور گاز نیتروژن از محلول صورت گرفت. سپس ۶ میلی‌لیتر محلول آبی آمونیاک ۲۵٪ به صورت قطره‌قطره به آن اضافه شد. رنگ محلول در این مرحله از نارنجی به سیاه تغییر و محلول به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه همراه با گاززدایی سونیکیت شد. سپس شست و شوی نانوذرات با اتانول صورت گرفت و در نهایت نانوذرات به دست آمده در دمای ۱۰۰°C خشک شد. برای سیلیکاته کردن نانوذرات به دست آمده با این روش، ۱۴۵ گرم نانوذره مغناطیسی با ۴۰ میلی‌لیتر اتانول مخلوط شده و اولتراسونیکاسیون به مدت ۱۰ دقیقه تحت جریان نیتروژن انجام شد. سپس ۰/۴ میلی‌لیتر TEOS به آرامی همراه با همزنی شدید به محلول اضافه شد. در نهایت ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم و ۶ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. محلول به مدت ۵ ساعت در دمای ۵۰°C تا ۶۰°C تحت همزنی و گاززدایی قرار گرفت و سپس نانوذرات به دست آمده با اتانول و آب شست و شو و در دمای ۱۰۰°C خشک شد [18].

پروتکل سوم) سنتز نانوذرات مغناطیسی با استفاده از سیترات سدیم و هیدروکسید سدیم: ابتدا سیترات سدیم یک میلی‌مولار، ۴/۰ میلی‌مول هیدروکسید سدیم و ۰/۲ مول NaNO_3 در آب مقطر حل شده و تا ۱۰۰°C حرارت داده شدند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول ۲/۰ مولار نمک آهن $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ به محلول بالا اضافه شده، واکنش به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰°C همراه با همزنی مکانیکی ادامه یافت. در نهایت شست و شو با آب و سونیکاسیون و خشک کردن در دمای ۵۰°C صورت گرفت [22]. برای سیلیکاته کردن نانوذرات، ۴۵ میلی‌گرم از نانوذرات به دست آمده در این روش در ۱۶ میلی‌لیتر آب همراه با سونیکاسیون حل شده و سپس ۲ میلی‌لیتر محلول آبی آمونیاک و ۸۰ میلی‌لیتر اتانول به آن اضافه شد. در نهایت ۰/۸ میلی‌لیتر TEOS به این محلول اضافه شد و واکنش در دمای اتاق همراه با هم‌زدن شدید به مدت ۲۴ ساعت ادامه یافت. سپس شست و شو با آب و خشک کردن در دمای ۵۰°C صورت گرفت [23].

پروتکل چهارم) سنتز نانوذرات مغناطیسی با استفاده از سیترات سدیم و هیدروکسید آمونیوم: ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم ۲۵٪ به ۱۲۰ میلی‌لیتر محلول آب دیونیزه حاوی ۱۰ میلی‌مول آهن کلرید ۴ آب و ۲۰ میلی‌مول آهن (III) نیترات ۹ آب به تحت جو نیتروژن همراه با هم‌زدن مکانیکی اضافه شد. به هنگام

اضافه کردن هیدروکسید آمونیوم، رنگ محلول از نارنجی به سیاه تبدیل می‌شود که نشان‌دهنده تولید ذرات مگنتیت است. مخلوط واکنش تا دمای ۶۰°C حرارت داده شد و به مدت یک ساعت در این شرایط قرار گرفت. پس از سرد شدن محلول و رسیدن به دمای محیط، نانوذرات به دست آمده توسط آهنربا جمع‌آوری شده و در ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول تری‌سدیم سیترات ۰/۳۰ مولار حل شد و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰°C تحت همزنی مکانیکی شدید و جو نیتروژن قرار گرفتند. رسوب به دست آمده در نهایت با استفاده از یک آهنربا جدا و به منظور حذف تری‌سدیم سیترات‌های باقی‌مانده با استون شست و شو داده شدند. در نهایت نانوذرات به دست آمده در دمای ۶۰°C به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. در مرحله بعد به منظور سیلیکاپوش کردن نانوذرات به دست آمده، ۱۰ گرم از نانوذرات مغناطیسی سنتز شده در مرحله قبل در ۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه پراکنده و به مدت ۴۵ دقیقه تحت شرایط اولتراسونیک قرار گرفت. سپس ۲/۰ میلی‌لیتر فلئوئید مغناطیسی به محلول حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب، ۵/۰ میلی‌لیتر آمونیاک و ۱۴۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه شده و تحت شرایط هم‌زدن مکانیکی در دمای ۴۰°C قرار گرفت. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر محلول TEOS حل شده در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول، به آرامی تحت شرایط همزنی مکانیکی پیوسته اضافه شد. واکنش به مدت ۱۴ ساعت در دمای ۲۵°C ادامه یافت. نانوذرات مغناطیسی سیلیکاپوش با آهنربا جدا شده و با آب دیونیزه و اتانول شست و شو و در نهایت در دمای ۴۰°C به مدت ۲ ساعت خشک شدند [24, 25].

یافته‌ها

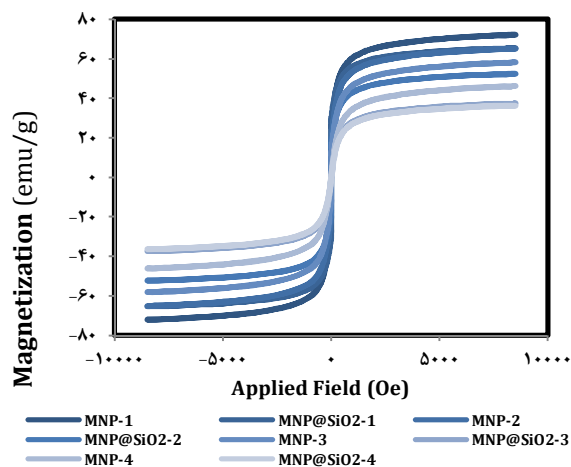
به منظور بررسی شرایط مختلف تاثیرگذار بر مورفولوژی، اندازه و توزیع سایز و نیز میزان پراکندگی یا توده‌ای شدن نانوذرات ساخته شده، پس از انجام هر پروتکل، تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. علاوه بر این، آنالیز VSM به منظور بررسی خواص مغناطیسی نانوذرات سنتز شده با پروتکل‌های مختلف صورت گرفت. پیک‌های FTIR نانوذرات سنتز شده نیز بررسی شد و میزان پایداری نانوذرات با مقایسه پتانسیل زتای آنها به دست آمد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات ساخته شده در شکل ۱ نشان داده شده است.

همان‌گونه که در شکل مشخص است، نانوذرات مغناطیسی ساخته شده با پروتکل اول و دوم، کاملاً به صورت توده‌ای هستند و لایه سیلیکا اطراف یک توده از نانوذرات مغناطیسی را پوشانده است. به دلیل توده‌ای بودن این نانوذرات، محاسبه اندازه دشوار است. در پروتکل اول لایه نازکی از سیلیکا اطراف توده نانوذرات مغناطیسی را پوشانده است، در حالی که در پروتکل دوم ضخامت لایه سیلیکا بیشتر است.

در پروتکل سوم، از یک نوع نمک آهن استفاده شد و به دلیل استفاده از سیترات، نانوذرات پراکندگی بیشتری دارند. هر چند توده‌ای بودن نانوذرات مغناطیسی همچنان در این شکل دیده می‌شود.

نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 پایدار شده با اسیدسیتریک در پروتکل چهارم از هم جدا بوده و اندازه متوسط آنها در حدود ۱۵ نانومتر است. ساختار هسته پوسته نانوذرات سیلیکاپوش با اندازه متوسط ۶۰ نانومتر به وضوح در شکل قابل مشاهده است. ضخامت پوسته سیلیکا در این ساختار تقریباً ۴۵ نانومتر بود که این ضخامت را می‌توان با تغییر مقدار TEOS استفاده شده در مراحل سنتز کاهش

مغناطیسی کاهش می‌یابد. این پدیده به علت خاصیت دیامغناطیس پوسته سیلیکا در اطراف نانوذرات مغناطیسی و نیز افزایش جرم کلی نسبت به ماده مغناطیس اتفاق می‌افتد، هر چند علی‌رغم کاهش MS، خاصیت مغناطیسی این نانوذرات هنوز هم برای کاربرد در جداسازی زیستی کافی است (جدول ۱).



نمودار ۱) لوپ‌های هیستریزس نانوذرات مغناطیسی ساخته شده با پروتکل‌های مختلف

جدول ۱) مغناطیس اشباع نانوذرات مغناطیسی (emu.g) ساخته شده با پروتکل‌های مختلف

MN	MNP@Si	MN	MNP@Si	MNP-	MNP@Si	MN	MNP@Si
P-1*	O2-1	P-2	O2-2	3	O2-3	P-4	O2-4
۱۷	۶۵/۳۸	۱۷	۵۲/۳۸	۱۷۵۴	۳۷/۳۸۰۱	۱۷	۳۶/۰۴
۷۲		۶۵	۵۸	۵۸		۴۶	

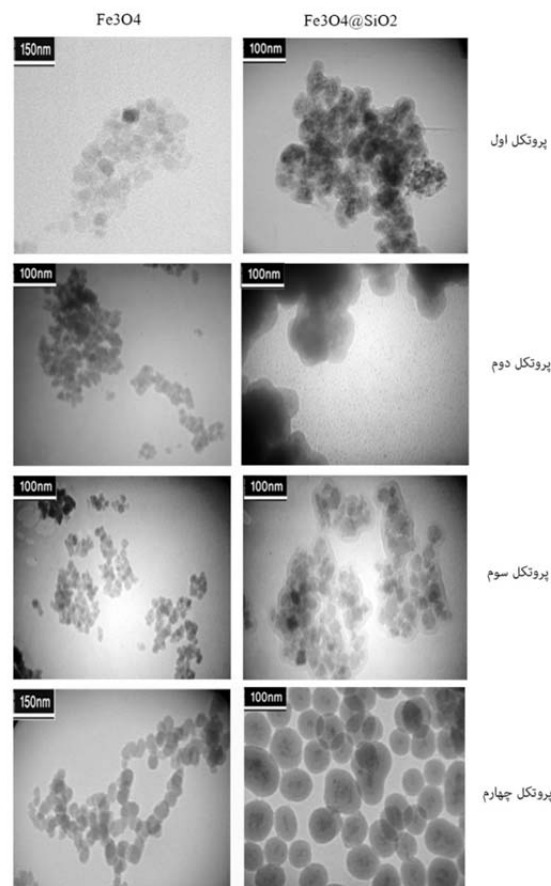
* نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 / نانوذرات مغناطیسی پوشیده شده با سیلیکا: $MNP@SiO_2$ اعداد ۱ تا ۴ شماره پروتکل انجام شده را نشان می‌دهد.

تغییرات گروه‌های عاملی و اصلاح سطح نانوذرات ساخته شده در این پژوهش در مراحل مختلف سنتز توسط تکنیک FT-IR مورد بررسی قرار گرفت. نمودار ۲، طیف FT-IR نانوذرات Fe_3O_4 ، Fe_3O_4 سیتراته و نانوذرات مغناطیسی سیلیکاپوش را نشان می‌دهد.

پیک قوی در محدوده 570 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی Fe-O و تشکیل نانوذرات اکسید آهن است. پیک‌های 1645 cm^{-1} و 985 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی و دو پیک در 1399 cm^{-1} و 1571 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی کربوکسیلیک اسید است که حضور اسیدسیتریک در سطح نانوذرات مغناطیسی را تایید می‌کند. باند جذبی قوی و پهن در محدوده 1100 cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی غیرمتقارن پیوند Si-O است. وجود گروه هیدروکسیل در پیوند Si-OH موجب پهن شدن پیک در این ناحیه شده است. علاوه بر این، مشخصه پیوند Fe-O-Si پیکی است که در محدوده 985 cm^{-1} ظاهر می‌شود و ایجاد پیوند بین نانوذرات مغناطیسی و TEOS و تشکیل لایه سیلیکا را تایید می‌کند (نمودار ۲).

تکنیک پراش پرتو X (XRD) به منظور شناسایی ساختار بلوری نانوذرات اکسید آهن و نوع شبکه آنها، مورد استفاده قرار گرفت. الگوهای پراش پرتو X نانوذرات ساخته شده در این پژوهش در نمودار ۳ نشان داده شده است. جایگاه و شدت نسبی پیک‌های مشاهده شده، مرتبط با ساختار بلوری مکعبی Fe_3O_4 است. پیک قوی و پهن اطراف $2\theta = 20-25^\circ$ مربوط به فاز بی‌شکل (آمورف)

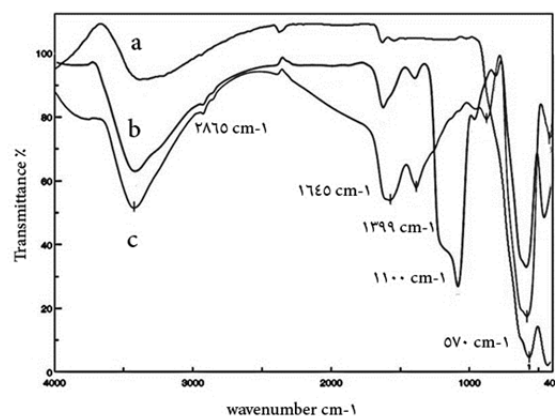
یا افزایش داد. همان‌گونه که در شکل نشان داده شده است، همه نانوذرات Fe_3O_4 به طور کامل با پوسته سیلیکا، از طریق هیدرولیز TEOS روی نانوذرات مغناطیسی با روش اصلاح شده استوبر، پوشش داده شده‌اند. تصاویر TEM نانوذرات به دست آمده از پروتکل چهارم به وضوح، پراکندگی بسیار خوب و یکنواخت نانوذرات مغناطیسی را نشان می‌دهند (شکل ۱).



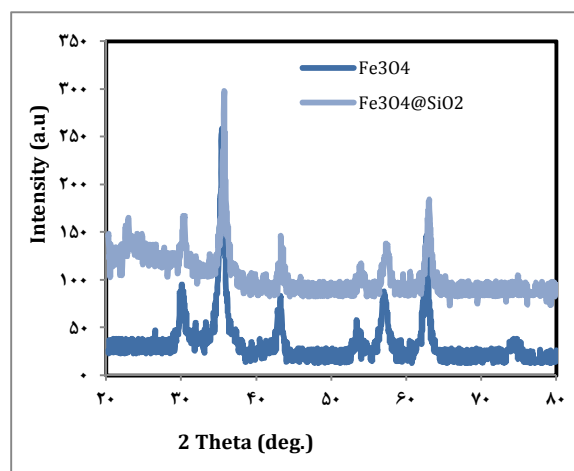
شکل ۱) تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات سنتز شده با پروتکل‌های مختلف (ستون سمت چپ: Fe_3O_4 ، ستون سمت راست: $Fe_3O_4@SiO_2$)
الف) نانوذرات سنتز شده با استفاده از پروتکل اول
ب) نانوذرات سنتز شده با استفاده از پروتکل دوم
ج) نانوذرات سنتز شده با استفاده از پروتکل سوم
د) نانوذرات سنتز شده با استفاده از پروتکل چهارم
ضخامت لایه سیلیکا و نیز میزان توده‌ای شدن نانوذرات و پراکندگی آنها در شکل قابل مشاهده است.

نمودار ۱ مربوط به لوپ‌های هیستریزس و جدول ۱ مربوط به مغناطیس اشباع نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 ، نانوذرات مغناطیسی پایدار شده با اسیدسیتریک و نانوذرات مغناطیسی سیلیکاپوش ساخته شده با پروتکل‌های مختلف است. زمانی که میدان مغناطیسی بین ۱۰- تا ۱۰ کیلوگوس اعمال می‌شود، وادارندگی صفر به دست می‌آید که ویژگی ابرپارامغناطیسی نانوذرات ساخته شده را نشان می‌دهد. علاوه بر این تصویر نشان می‌دهد، با توده‌ای شدن نانوذرات، مغناطیس اشباع (MS) آنها افزایش می‌یابد، به طوری که نانوذرات به دست آمده با پروتکل‌های اول و دوم، خاصیت مغناطیسی بیشتری دارند. هر چه ضخامت لایه سیلیکا بیشتر شود، به دلیل افزایش بار منفی در سطح نانوذرات و دافعه کولومبی، پراکندگی نانوذرات بیشتر می‌شود، ولی ویژگی

سیلیکا است و نشان می‌دهد سیلیکای آمورف با موفقیت روی سطح Fe_3O_4 نشانده شده است (نمودار ۳).



نمودار ۲) نتایج طیف FT-IR نانوذرات ساخته شده: (a) Fe_3O_4 ، (b) Fe_3O_4 سیترا، (c) نانوذرات مغناطیسی سیلیکاپوش پیک 570 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی Fe-O، پیک‌های 1645 cm^{-1} و 1399 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی و دو پیک در 1399 cm^{-1} و 1578 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی کربوکسیلیک اسید، باند جذبی قوی و پهن در محدوده 900 cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی غیرمتقارن پیوند Si-O و پیک محدوده 985 cm^{-1} مشخصه پیوند Fe-O-Si است.



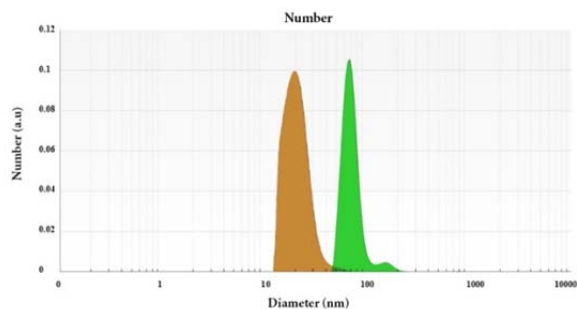
نمودار ۳) الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات Fe_3O_4 و نانوذرات $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$

نمودار ۴ نتایج مربوط به اندازه‌گیری اندازه ذرات براساس الگوی تفرق دینامیک نور را نشان می‌دهد. با توجه به اینکه نمونه‌های سنتز شده با پروتکل‌های یک تا ۳ بسیار توده‌ای بوده، به دلیل عدم پایداری نانوذرات و رسوب آنها در محلول، اندازه‌گیری اندازه آنها توسط DLS امکان‌پذیر نبود. همان‌گونه که در نمودار دیده می‌شود، بیشترین تعداد نانوذرات مغناطیسی ساخته شده با پروتکل چهارم در بازه ابعادی $21/32$ نانومتر و نانوذرات سیلیکاپوش در بازه ابعادی $69/19$ نانومتر هستند که این ابعاد کمی بزرگ‌تر از اندازه مشاهده شده در تصاویر میکروسکوپ الکترونی (به ترتیب 15 نانومتر و 60 نانومتر) است.

جدول ۲ نتایج پتانسیل زتای نانوذرات سنتز شده در $\text{pH}=7$ را نشان می‌دهد. به دلیل حضور گروه‌های OH در سطح نانوذرات مغناطیسی پتانسیل زتای این نانوذرات منفی است. هر چه ضخامت لایه سیلیکا افزایش یابد، این پتانسیل زتا منفی‌تر می‌شود. تری‌سدیم سیتراتی که در سنتز نانوذرات مغناطیسی به کار می‌رود، به دلیل دارا بودن سه گروه کربوکسیل، پتانسیل زتای منفی‌تری را در

سطح نانوذرات ایجاد می‌کند. منفی‌تر شدن پتانسیل زتا باعث افزایش دافعه الکتروستاتیک و افزایش پراکندگی نانوذرات مغناطیسی در آب و کاهش توده‌ای شدن نانوذرات مغناطیسی می‌شود.

البته در نمونه‌هایی که کاملاً به صورت توده‌ای هستند، امکان اندازه‌گیری پتانسیل زتا به دلیل عدم پایداری نانوذرات و رسوب آنها در محلول وجود ندارد (نمودار ۴، جدول ۲).



نمودار ۴) نتایج اندازه‌گیری DLS نانوذره سنتز شده با استفاده از پروتکل چهارم (خاکستری: نانوذره Fe_3O_4 ; سبز: نانوذره سیلیکاپوش)

جدول ۲) پتانسیل زتای نانو ذرات به دست آمده با پروتکل‌های مختلف

MN	MNP@Si	MN	MNP@Si	MN	MNP@Si	MN	MNP@Si
P-1*	O2-1	P-2	O2-2	P-3	O2-3	P-4	O2-4
-۲۰۴	-۴۳۱	-۱۶۵	-۱۷۹	۶۳/۰	-۶۸/۳	۷۰/۸	-۷۹/۲

* نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4

نانوذرات مغناطیسی پوشیده شده با سیلیکا: MNP@SiO_2
اعداد ۱ تا ۴ شماره پروتکل انجام شده را نشان می‌دهد.

بحث

روش هم‌رسوبی برای اولین بار توسط *ماسارت* برای سنتز نانوذرات مغناطیسی ارائه شد. این واکنش، یک واکنش قوی و پربازده برای تولید نانوذرات کوچک ابرپارامغناطیس است که در یک زمان واکنش کوتاه به طور مستقیم با سیلان عامل‌دار می‌شود [26].

تهیه نانوذراتی با اندازه یکنواخت در روش هم‌رسوبی با نمودار LaMer (نمودار ۱) قابل توضیح است. پس از این که غلظت نمک‌های مورد استفاده به یک حد اشباع می‌رسد، هسته‌زایی رخ می‌دهد و سپس با پخش شدن اتم‌ها روی هسته‌های تشکیل شده و توده‌ای شدن برگشت‌ناپذیر هسته‌ها، رشد تدریجی هسته‌ها صورت می‌پذیرد [27]. اندازه نانوذرات را می‌توان با تنظیم پارامترهای واکنش مانند زمان، دما و غلظت واکنش‌دهنده‌ها و سورفکتانت‌های تثبیت‌کننده کنترل کرد. به طور کلی، اندازه ذرات با طولانی شدن زمان واکنش، به دلیل تولید بیشتر گونه‌های مونومری و با بالا بردن دمای واکنش به دلیل زیاد شدن سرعت واکنش افزایش می‌یابد [28] (نمودار ۵).

در برخی مواقع لازم است برای جدا نگه داشتن ذرات از یکدیگر و ممانعت از توده‌ای شدن آنها، نیروی دافعه بین ذرات به حداقل مقدار ممکن برسد. اگر بار به اندازه کافی بزرگ باشد، نانوذرات به صورت جدا از هم و پراکنده در سوسپانسیون باقی می‌مانند. مقدار پتانسیل زتا می‌تواند میزان پایداری نانوذرات در محلول را نشان دهد. نانوذراتی با مقادیر پتانسیل زتای بزرگ‌تر از 30 میلی‌ولت یا کمتر از -30 میلی‌ولت درجات بالایی از پایداری را نشان می‌دهند. ذرات با مقادیر پایین پتانسیل زتا (بین صفر تا ± 10) بسیار ناپایدار بوده و به صورت توده‌ای در خواهند آمد. ذراتی با

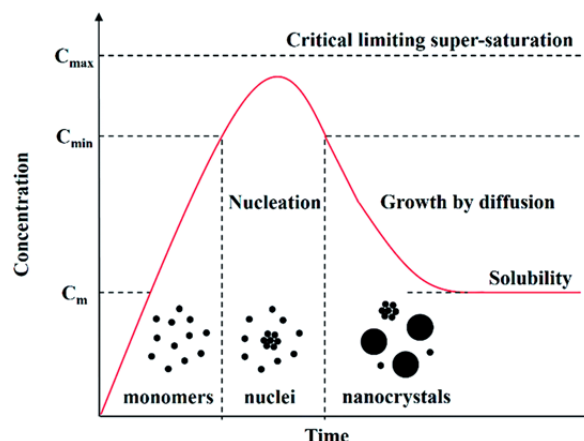
را تا $\text{pH}=3$ کاهش دهد، بنابراین نانوذره در این pH با پراکندگی خوبی پایدار خواهد ماند^[30]. در نهایت پوشش سیلیکا مزایای مشخص‌تری نسبت به سورفکتانت‌های رایج مانند اسیدلوریک و اسیداولئیک دارد، به این دلیل که مشکل جدا شدن پوسته سیلیکا که به‌صورت کووالانسی به سطح نانوذره مغناطیسی متصل شده است، وجود ندارد^[31]. همچنین با تغییر غلظت سیلیکا می‌توان به راحتی ضخامت پوشش سطحی نانوذره را کنترل نمود.

پوشش سیلیکا نه تنها می‌تواند ذرات مگنتیت را از اکسید شدن محافظت کند و پایداری نانوذرات را در محلول فراهم نماید، بلکه می‌تواند شرایط انواع تغییرات سطحی را نیز فراهم و به اتصال لیگاند های زیستی مختلف در سطح نانوذرات کمک کند. علاوه بر سیلیکا، تری‌سدیم‌سیترات استفاده شده در این روش سنتز، سه گروه کربوکسیل دارد که با قرار گرفتن در سطح نانوذرات مغناطیسی دافعه الکتروستاتیک را افزایش داده و باعث افزایش پراکندگی و جلوگیری از توده‌ای شدن نانوذرات می‌شود. /ید/ و همکاران در سال ۲۰۰۷، نانوذرات Fe_3O_4 را با استفاده از هیدرولیز در محلول آبی حاوی نمک‌های فرو و فریک در نسبت‌های مختلف، با استفاده از ۶۰۱-هگزاندی‌آمین به‌عنوان ترکیب قلیایی سنتز کردند. در این مطالعه مشخص شد که نسبت فرو به فریک روی سازوکار واکنش تشکیل Fe_3O_4 اثرگذار است. هنگامی که نسبت یون‌های فرو به فریک افزایش یافت، تشکیل ذرات هیدروکسید بزرگ به‌عنوان پیش‌ساز Fe_3O_4 بیشتر شد که منجر به افزایش اندازه نانوذرات Fe_3O_4 شد. علاوه بر این، هنگامی که درصد مولی یون‌های فرو با در نظر گرفتن کل یون‌های آهن از ۳۳ به ۱۰۰٪ افزایش یافت، قطر متوسط نانوذرات Fe_3O_4 از ۹ به ۳۷ نانومتر تغییر کرد. علاوه بر این در این مطالعه نشان داده شد که خواص مغناطیسی نانوذرات Fe_3O_4 با تنظیم نسبت مولی فرو به فریک و همچنین قطر ذره کنترل می‌شود. علاوه بر این مقدار مغناطیس اشباع نانوذرات سنتز شده با نمک‌های سولفات و کلرید آهن فرو و فریک به ترتیب $46/7 \text{ yemu g}^{-1}$ و $55/4$ به دست آمد که بیانگر تاثیر نوع نمک و نیز غلظت نمک‌های آهن روی اندازه و خواص مغناطیسی نانوذرات است^[32].

یکی دیگر از مهم‌ترین عوامل موثر بر سنتز، غلظت آهن است که به‌طور کلی مقدار مطلوب آن بین ۳۹ و ۷۸ میلی‌مولار است^[16]. در سنتز Fe_3O_4 رسوب در دمای زیر 60°C به‌طور معمول یک اکسی‌هیدروکسید هیدراته آمورف تولید می‌کند که به راحتی می‌تواند به Fe_2O_3 تبدیل شود، در حالی که درجه حرارت واکنش بالاتر (80°C) به تشکیل Fe_3O_4 کمک می‌کند^[33]. میزان pH مناسب برای تشکیل سریع Fe_3O_4 به وسیله افزودن مقدار اضافی ترکیب قلیایی به دست می‌آید. شن و همکاران مشاهده کردند که اگر دمای رسوب زیر 60°C درجه باشد، یا مقدار هیدروکسید آمونیوم اضافه شده ناکافی باشد، محصولی با رنگ قهوه‌ای که نشانه‌ای از حضور Fe_2O_3 است، تولید می‌شود^[34]. هنگ و همکاران گزارش کردند زمانی که هم‌رسوبی با استفاده از هیدروکسید آمونیوم به جای هیدروکسید سدیم صورت گیرد، بلورینگی بهتر، مغناطش اشباع بالاتر و اندازه کوچک‌تر به دست می‌آید^[35].

اندازه متوسط ذرات مگنتیت به شدت وابسته به اسیدیته و قدرت یونی محیط هم‌رسوبی است. میزان pH و قدرت یونی بالاتر منجر به اندازه کوچک‌تر ذرات می‌شود، زیرا این پارامترها ترکیب شیمیایی سطح بلوری و در نتیجه بار سطحی الکترواستاتیک ذرات را تعیین می‌کنند. در مصالحه‌ای تاثیر قدرت یونی محلول واکنش در شکل‌گیری مگنتیت بررسی شد. مگنتیت تهیه شده با افزودن

پتانسیل زتای بین ± 10 تا ± 30 نسبتاً پایدار هستند. پتانسیل زتای داده‌هایی در ارتباط با نیروهای دافعه الکتروستاتیک فراهم می‌کند، ولی در ارتباط با نیروهای جاذبه و اندروالس اطلاعاتی ارایه نمی‌دهد، در حالی که پایداری یک کلئید به مجموع نیروهای جاذبه و اندروالس و نیروهای دافعه الکتروستاتیک بستگی دارد، بنابراین غیرمعمول نیست کلئیدهای پایداری با پتانسیل زتای پایین یا کلئیدهای ناپایداری با پتانسیل زتای بالا نیز وجود داشته باشد. از طرف دیگر، خاصیت مغناطیسی نانوذرات مغناطیسی و ایجاد دوقطبی‌های مغناطیسی با ممان بالا نیز می‌تواند باعث افزایش نیروهای جاذبه بین نانوذرات شده و بر داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پتانسیل زتا تاثیر گذارد.



نمودار ۵) نمودار هسته‌زایی و رشد هسته نانوبلورها (نمودار LaMer)

در ابتدا پیش‌سازها برای تشکیل مونومرها درون حلال حل شده و سپس تشکیل هسته و رشد نانوبلورها با تجمع اتم‌ها روی هسته‌های تشکیل شده اتفاق می‌افتد^[28].

به دست آوردن داده‌هایی با کیفیت بالا از نانوذرات توده‌ای بسیار دشوار است زیرا توده‌های بزرگ‌تر، نور را بیش از اندازه پراکنده می‌کنند و می‌توانند به آشکارساز آسیب برسانند. پراکندگی زیاد نور همچنین نورهای پراکنده شده با شدت پایین توسط ذرات کوچک‌تر را می‌پوشاند. در نتیجه پیک‌های گسترده‌ای ظاهر می‌شود که اطمینان به داده‌ها را از بین می‌برد^[29].

با توجه به این نکات، پتانسیل زتای به دست آمده از نانوذرات ساخته شده با پروتکل اول و دوم هر چند مقادیری بزرگ‌تر از ± 30 میلی‌ولت دارند، ولی بسیار ناپایدار بوده و بلافاصله در محلول رسوب می‌کنند و مقادیر پتانسیل زتای آنها نمی‌تواند میزان پایداری این نانوذرات را نشان دهد.

به دلیل تمایل زیاد نانوذرات به توده‌ای شدن، سورفکتانت‌های متفاوتی برای تولید نانوذراتی با پراکندگی پایدار در محلول استفاده می‌شود. پوشش سیلیکا به دلیل دارا بودن بار منفی باعث افزایش دافعه کولومبی نانوذرات مغناطیسی و در نتیجه جلوگیری از توده‌ای شدن نانوذرات و افزایش پراکندگی آنها در محلول‌های آبی می‌شود. از امتیازات دیگر سیلیکا نسبت به سایر پوشش‌ها این است که سطح سیلیکا به راحتی عامل‌دار می‌شود و اتصال شیمیایی ترکیبات مختلف به سطح را فراهم می‌سازد. جنبه مهم دیگر این است که پوشش سیلیکا هر گونه تاثیر سمی بالقوه نانوذرات برهنه را کاهش می‌دهد. به دلیل اینکه نقطه ایزوالکتریک مگنتیت در $\text{pH}=7$ است، بهترین روش برای جلوگیری از توده‌ای شدن این ذرات، تغییر نقطه ایزوالکتریک با اصلاح سطح نانوذرات مغناطیسی است^[25]. ایجاد یک لایه نازک از سیلیکا می‌تواند نقطه ایزوالکتریک

نانوذرات می‌شود. افزایش ضخامت سیلیکا که دافعه الکتروستاتیک را افزایش می‌دهد، روی ویژگی مغناطیسی نانوذرات تاثیر مستقیم دارد؛ بنابراین در کاربردهای علوم زیستی، ضخامت این لایه بایستی به‌گونه‌ای طراحی شود که هم‌زمان با افزایش پراکندگی و پایداری در محلول آبی، ویژگی مغناطیسی نانوذرات در حد مطلوبی باقی بماند. نانوذرات پراکنده و پایداری که در این پژوهش سنتز شد، می‌توانند در کاربردهای زیستی مانند جداسازی سلولی و باکتریایی، MRI، تثبیت آنزیم و جداسازی ماکرومولکول‌های زیستی استفاده شوند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از همکاری و مساعدت پژوهشگران گروه زیست‌فناوری مولکولی پژوهشگاه روبان و دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس و همه عزیزانی که در این پژوهش یاری نموده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایند.

تاییدیه اخلاقی: طرح حاضر دارای کد اخلاق ملی به شماره IR.ACECR.ROYAN.REC.1395.17 است که در سامانه وزارت بهداشت ثبت شده است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: راضیه قاسمی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۶۰٪)؛ سیده‌زهره میراحمدی‌زارع (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۵٪)؛ محمدحسین نصر اصفهانی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۵٪)؛ علیرضا علافچیان (نویسنده چهارم)، نگارنده بحث (۵٪)، مهرداد بهمنش (نویسنده پنجم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۵٪)

منابع مالی: این تحقیق با پشتیبانی مالی معاونت پژوهشی وزارت بهداشت در قالب طرح نیماد به شماره ۹۴۰۹۹۰ و معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

منابع

- 1- Peng XH, Qian X, Mao H, Wang AY, Chen ZG, Nie S, et al. Targeted magnetic iron oxide nanoparticles for tumor imaging and therapy. *Int J Nanomedicine*. 2008;3(3):311-21.
- 2- Xu C, Xu K, Gu H, Zhong X, Guo Z, Zheng R, et al. Nitrilotriacetic acid-modified magnetic nanoparticles as a general agent to bind histidine-tagged proteins. *J Am Chem Soc*. 2004;126(11):3392-3.
- 3- Liberti, PA, Rao CG, Terstappen LWMM. Optimization of ferrofluids and protocols for the enrichment of breast tumor cells in blood. *J Magn Magn Mater*. 2001;225(1-2):301-7.
- 4- Rosengart AJ, Kaminski MD, Chen H, Caviness PL, Ebner AD, Ritter JA. Magnetizable implants and functionalized magnetic carriers: A novel approach for noninvasive yet targeted drug delivery. *J Magn Magn Mater*. 2005;293(1):633-8.
- 5- Zeng L, Luo K, Gong Y. Preparation and characterization of dendritic composite magnetic particles as a novel enzyme immobilization carrier. *J Mol Catal B Enzym*. 2006;38(1):24-30.
- 6- Kim EH, Lee HS, Kwak BK, Kim BK. Synthesis of ferrofluid with magnetic nanoparticles by sonochemical method for MRI contrast agent. *J Magn Magn Mater*. 2005;289:328-30.
- 7- Bohara RA, Pawar SH. Innovative developments in

محلول آبی یک‌مولار سدیم‌کلرید، نانوذرات اکسید آهنی با اندازه ۱۵/۵ نانومتر کوچک‌تر از محلول فاقد سدیم‌کلرید را تولید می‌کند. علاوه بر این، این نانوذرات کوچک‌تر ساخته شده در محلول‌های با قدرت یونی بالاتر، مغناطیس اشباع پایین‌تری (63 emug^{-1}) را در مقایسه با محلول فاقد سدیم‌کلرید نشان می‌دهد (71 emug^{-1}). مغناطیس کمتر به کاهش اندازه ذرات در محلول‌های با قدرت بالاتر نسبت داده می‌شود^[16]. برخی عوامل دیگر روی اندازه نانوذرات تاثیر می‌گذارند. به‌عنوان مثال، افزایش سرعت مخلوط‌کردن پیش‌سازها، اندازه ذرات را کاهش دهد، ولی توزیع اندازه نانوذرات را پراکنده می‌سازد^[36].

افزایش دمای واکنش، تاثیر قابل توجهی در تشکیل بهینه بلورهای مغناطیس دارد. پژوهش‌های مختلف نشان داده است که تشکیل ذرات مگنتیت با افزایش دما کاهش می‌یابد که این پدیده با نظریه هسته‌زایی و رشد ذرات قابل توجیه است^[37-39]. از طرف دیگر اکسیژن‌زدایی محلول با استفاده از گاز نیتروژن نه تنها از اکسیداسیون مگنتیت جلوگیری می‌کند، بلکه در مقایسه با روش‌های بدون گاززدایی، اندازه ذرات را کاهش می‌دهد. در صورتی که حذف اکسیژن صورت نگیرد، یک کلئید قرمز مایل به قهوه‌ای تولید می‌شود که نشان‌دهنده حضور سایر فازهای اکسید آهن است، علاوه بر این مغناطیس اشباع به دلیل حضور سایر فازهای اکسید آهن تا ۳۵٪ کاهش می‌یابد^[40, 41].

تهیه نانوذرات مغناطیسی فرآیندی حساس و پیچیده است که به شدت تابع دما، زمان، pH، نسبت مولی و میزان اختلاط مواد اولیه است. تهیه نانوذراتی با خواص تکرارپذیر، به صرف وقت و دقت بالایی نیاز دارد و اساس تمام آزمایش‌های بعدی است. خاصیت مغناطیسی نانوذرات منجر به رسوب نانوذرات شده و آنالیزهای مربوط به اندازه‌گیری پتانسیل زتا و نیز DLS را با مشکل مواجه می‌سازد. در مطالعات آینده بهتر است تا روش‌های ساخت و پوشش‌دار کردن دیگر تا رسیدن به سیال مغناطیسی پایدار امتحان شده و تاثیر آن در کاربردهای زیستی مانند جداسازی، گرمادرمانی و انتقال و رهایش دارو مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، چهار پروتکل رایج سنتز نانوذرات مغناطیسی در دسترس با انجام اصلاحاتی در این روش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر عوامل مشابه روی ساخت نانوذرات است تا این نتیجه حاصل شود که آیا این عوامل با توجه به امکانات موجود در یک آزمایشگاه قابل جایگزینی هستند یا خیر؟ در مطالعات مختلفی که صورت می‌گیرد، پژوهشگر به دنبال یک ویژگی خاص از نانوذرات مغناطیسی، برای مثال پراکندگی بالا در تهیه سیالات مغناطیسی یا خاصیت مغناطیسی بیشتر در هایپرترمی است. بنابراین این مطالعه می‌تواند در انتخاب راهکار سنتز کمک کند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، روش هم‌رسوبی یک روش ساده و پربازده برای تولید نانوذرات اکسید آهن است. در این روش دما و زمان واکنش به نسبت روش‌های دیگر کمتر بوده و واکنش در محیط آبی به راحتی صورت می‌گیرد. هر چند در این روش کنترل اندازه و شکل نانوذرات و نیز پراکندگی آنها در محیط آبی دشوار است. بهترین روش برای به‌دست‌آوردن ذراتی با پراکندگی بالا و توزیع مناسب و نیز ویژگی ابرمغناطیسی بالا، استفاده از پوشش سیلیکا همراه با سنتز نانوذرات مغناطیسی در حضور سیترات یا اسیدسیتریک است که باعث افزایش پایداری و پراکندگی و جلوگیری از توده‌ای شدن

- 2011;3(2):701-5.
- 24- Bahrami K, Sheikh Arabi M. Copper immobilized ferromagnetic nanoparticle triazine dendrimer (FMNP@TD-Cu(II))-catalyzed regioselective synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles. *New J Chem*. 2016;40(4):3447-55.
- 25- Yang D, Hu J, Fu Sh. Controlled synthesis of magnetite-silica nanocomposites via a seeded sol-gel approach. *J Phys Chem C*. 2009;113(18):7646-51.
- 26- Massart R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *IEEE Trans Magn*. 1981;17(2):1247-8.
- 27- Chang J, Waclawik ER. Colloidal semiconductor nanocrystals: Controlled synthesis and surface chemistry in organic media. *RSC Adv*. 2014;4(45):23505-27.
- 28- Hyeon T. Chemical synthesis of magnetic nanoparticles. *Chem Commun (Camb)*. 2003;(8):927-34.
- 29- Bhattacharjee S. DLS and zeta potential - what they are and what they are not?. *J Control Release*. 2016;235:337-51.
- 30- Guo J, Yang W, Deng Y, Wang C, Fu S. Organic-dye-coupled magnetic nanoparticles encaged inside thermoresponsive PNIPAM microcapsules. *Small*. 2005;1(7):737-43.
- 31- Fuentes M, Mateo C, Guisán JM, Fernández-Lafuente R. Preparation of inert magnetic nano-particles for the directed immobilization of antibodies. *Biosens Bioelectron*. 2005;20(7):1380-7.
- 32- Iida H, Takayanagi K, Nakanishi T, Osaka T. Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles with various sizes and magnetic properties by controlled hydrolysis. *J Colloid Interface Sci*. 2007;314(1):274-80.
- 33- Ziolo RF, Giannelis EP, Weinstein BA, O'Horo MP, Ganguly BN, Mehrotra V, et al. Matrix-mediated synthesis of nanocrystalline γ -Fe₂O₃: A new optically transparent magnetic material. *Science*. 1992;257(5067):219-23.
- 34- Shen L, Laibinis PE, Alan Hatton T. Bilayer surfactant stabilized magnetic fluids: Synthesis and interactions at interfaces. *Langmuir*. 1999;15(2):447-53.
- 35- Hong RY, Li JH, Li HZ, Ding J, Zheng Y, Wei DG. Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles without inert gas protection used as precursors of magnetic fluids. *J Magn Magn Mater*. 2008;320(9):1605-14.
- 36- Massart R, Cabuil V. Alkaline synthesis of colloidal magnetite: control of particle yield and particle size. *Journal de Chimie Physique*. 1987;84:967-73. [French]
- 37- Sun Sh, Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. *J Am Chem Soc*. 2002;124(28):8204-5.
- 38- Babes L, Denizot B, Tanguy G, Jacques Le Jeune J, Jallet P. Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI contrast agents: A parametric study. *J Colloid Interface Sci*. 1999;212(2):474-82.
- 39- Gribovanov NM, Bibik EE, Buzunov OV, Naumov VN. Physico-chemical regularities of obtaining highly dispersed magnetite by the method of chemical condensation. *J Magn Magn Mater*. 1990;85(1-3):7-10.
- 40- Gupta AK, Wells S. Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies. *IEEE Trans Nanobiosci*. 2004;3(1):66-73.
- 41- Kim DK, Zhang Y, Voit W, Rao KV, Muhammed M. Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. *J Magn Magn Mater*. 2001;225(1-2):30-6.
- bacterial detection with magnetic nanoparticles. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015;176(4):1044-58.
- 8- Yanase M, Shinkai M, Honda H, Wakabayashi T, Yoshida J, Kobayashi T. Antitumor immunity induction by intracellular hyperthermia using magnetite cationic liposomes. *Jpn J Cancer Res*. 1998;89(7):775-82.
- 9- Osaka T, Matsunaga T, Nakanishi T, Arakaki A, Niwa D, Iida H. Synthesis of magnetic nanoparticles and their application to bioassays. *Anal Bioanal Chem*. 2006;384(3):593-600.
- 10- Benz M. Superparamagnetism: Theory and applications [Internet]. Zürich: ETH Zürich; 2012 [cited 2017 may 20]. Available from: https://www.microstructure.ethz.ch/FILE/1302_Superparamagnetism_ManuelBenz.pdf
- 11- Reddy LH, Arias JL, Nicolas J, Couvreur P. Magnetic nanoparticles: Design and characterization, toxicity and biocompatibility, pharmaceutical and biomedical applications. *Chem Rev*. 2012;112(11):5818-78.
- 12- Ma J, Fan Q, Wang L, Jia N, Gu Z, Shen H. Synthesis of magnetic and fluorescent bifunctional nanocomposites and their applications in detection of lung cancer cells in humans. *Talanta*. 2010;81(4-5):1162-9.
- 13- Wang X, Liu LH, Ramström O, Yan M. Engineering nanomaterial surfaces for biomedical applications. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2009;234(10):1128-39.
- 14- Khoshnevisan K, Bordbar A, Zare D, Davoodi D, Noruzi M, Barkhi M, et al. Immobilization of cellulase enzyme on superparamagnetic nanoparticles and determination of its activity and stability. *Chem Eng J*. 2011;171(2):669-73.
- 15- Khan K, Rehman S, Rahman H, Khan Q. Synthesis and application of magnetic nanoparticles. In: Gonzalez Estevez JM. *Nanomagnetism*. One Central Press (OCP): UK; 2014.
- 16- Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Vander Elst L, et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem Rev*. 2008;108(6):2064-110.
- 17- Liu CX, Liu Q, Guo CC. Synthesis and catalytic abilities of silica-coated Fe₃O₄ nanoparticle bonded metalloporphyrins with different saturation magnetization. *Catal Lett*. 2010;138(1-2):96-103.
- 18- Ranjbakhsh E, Bordbar A, Abbasi M, Khosropour AR, Shams E. Enhancement of stability and catalytic activity of immobilized lipase on silica-coated modified magnetite nanoparticles. *Chem Eng J*. 2012;179:272-6.
- 19- Wu W, He Q, Jiang C. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale Res Lett*. 2008;3(11):397-415.
- 20- Nagarajan S, Li Z, Marchi-Artzner V, Grasset F, Zhang Y. Imaging gap junctions with silica-coated upconversion nanoparticles. *Med Biol Eng Comput*. 2010;48(10):1033-41.
- 21- McCarthy SA, Davies GL, Gun'ko YK. Preparation of multifunctional nanoparticles and their assemblies. *Nat Protoc*. 2012;7(9):1677-93.
- 22- Hui C, Shen C, Yang T, Bao L, Tian J, Ding H, et al. Large-scale Fe₃O₄ nanoparticles soluble in water synthesized by a facile method. *J Phys Chem C*. 2008;112(30):11336-9.
- 23- Hui C, Shen C, Tian J, Bao L, Ding H, Li C, et al. Core-shell Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles synthesized with well-dispersed hydrophilic Fe₃O₄ seeds. *Nanoscale*.