

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

* محمد رضا تحریری، فتح الله مضطربزاده، 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 Fe₃O₄ magnetite nanoparticles coated by polyvinyl alcohol (PVA) could be an appropriate candidate for biomedical applications.

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

این در حالی است که احتمال بالاتر بودن این دوز از این حد تقریباً محال می‌نماید. ذرات نانومتری مگنتیت، در دمای اتفاق رفتاری ابرپارامغناطیسی^{۱۷} از خود نشان می‌دهند. به عبارت دیگر، آنها تحت یک میدان مغناطیسی تا حد زیادی مغناطیسی می‌شوند که این مغناطش دائمی نیست و با حذف میدان از بین می‌رود [۷-۵]. 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 بعيد 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 مجرای 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 رتیکولاندوتیال استفاده می‌شوند؛ در حالی که عوامل کوچکتر (ذرات اکسید آهن ابرپارامغناطیس فوق ریز) به خاطر تمایل به تجمع در

۱- مقدمه

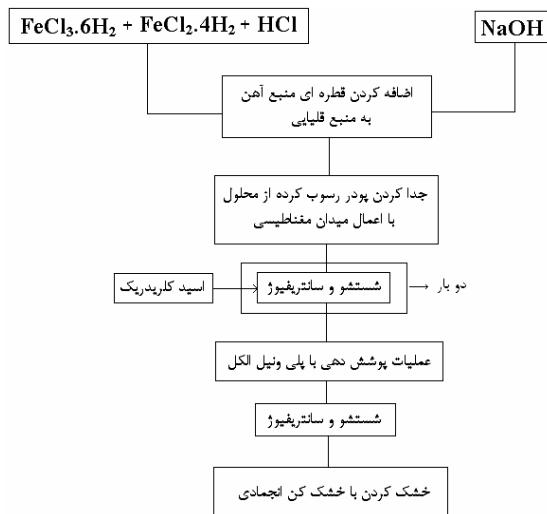
نانوذرات مغناطیسی برای انتقال دارو بسیار مورد توجه‌اند، این نانوذرات که قابلیت حرکت به سمت یک آهنربا را دارند، به عنوان عوامل انتقال‌دهنده دارو مورد مطالعه‌اند. ردیابی سلولها به کمک نانوذرات مغناطیسی قابل رؤیت با تصویربرداری تشدید مغناطیسی^{۱۳}، راه جدیدی را برای مشاهده‌ی تجربی درمان‌های سلولی ارائه می‌دهد. به هر حال نیاز نیست که همه این ذرات با مقدار یکسانی پر 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 تک مرحله‌ای ستبر 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 پرووتین‌ها، فریتین‌ها، هموسیدرین‌ها^{۱۵}، ترانسفرین^{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،

به عنوان سورفکتان استفاده شد. پس از سترز، مشخصه یابی 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 نواوری این پژوهش می‌زنند.

۲- مواد و روش آزمایش

نمودار جریانی سترز نانوذرات مگنتیت در شکل (۱) نشان داده شده است. ابتدا محلولی شامل $1/28$ مولار کلرید فریک $- آبه [FeCl_3 \cdot 6H_2O > 99\%]$ و $0/64$ مولار کلرید فروس $- آبه [FeCl_2 \cdot 4H_2O > 99\%]$ و $0/4$ 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 $0/9 - 1/5$ مولار هیدروکسید سدیم $[NaOH > 99\%]$ به عنوان منبع قلیایی آماده شد و همچنین یک محلول $1/5$ مولار از اسید کلریدریک برای خشندانی بار آنیونی بر روی سطح نانوذرات سترز شده تهیه شد. گاز نیتروژن نیز در حین فرایند سترز از محیط واکنش در یک سیستم بسته جریان داده شد. 250 میلی لیتر از منبع آهن به صورت قطره‌ای به 250 میلی لیتر منبع قلیایی بر روی همزن مغناطیسی با سرعت 750 rpm اضافه شد و عمل همزدن به مدت 30 دقیقه به طول انجامید. در جدول (۱) میزان غلظت هیدروکسید سدیم برای نمونه‌های مختلف سترز آورده شده است.

پودر رسوب کرده با اعمال یک میدان مغناطیسی خارجی از محلول جدا شد و مایع فوکانی رسوب به آرامی به بیرون ریخته شد. سپس پودر حاصل با آب مقطر دوبار تقطیر شستشو داده و به مدت 15 دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. فرایند شستشو و سانتریفیوژ دو بار صورت گرفت. پس از این فرایند محلول $0/01$ مولار از اسید کلریدریک تهیه شده به ذرات برای خشندانی بار سطحی شان اضافه شد. عملیات پوشش دهی سطح نانوذرات، 4 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 لنفاوی، برای تصویربرداری سیستم‌های لنفاوی مناسب‌اند. با این وجود می‌توان گفت که ذرات اکسید آهن می‌توانند توانایی تصویربرداری بر پایه تشذیبد مغناطیسی در سیستم‌های سلولی را توسعه دهند. این کاربرد عملی نوظهور، حوزه کاربرد ابزارهای تصویربرداری تشذیبد مغناطیسی در تصویربرداری‌های پیشرفته از رفتارهای سلولی را توسعه می‌دهد [۱۰].

در این مطالعه، ذرات مگنتیت با استفاده از روش همرسوبی شیمیایی سترز 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،

مغناطیسی نانوپودرها از دستگاه مغناطش سنج ارتعاشی (VSM- PAR 155) با حساسیت ۳-۱۰ emu و شدت میدان های مغناطیسی تا ۲۰ kOe ۲۰ 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 (۳۰۰K) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه سطح ویژه نانوذرات به دست آمده از روش Brunauer-Emmet-Teller (BET-Quantasorb) از دستگاه BET ایجاد شد. قبل از اندازه‌گیری سطح ویژه، ابتدا پودرها (نمونه‌ها) برای ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و با فشار ۱۰۰ پاسکال گازگیری شد. بررسی تغییرات تنفس 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 1×10^5 cell/mM و غوطه‌وری در محلول DMEM و FBS ۱۰٪ در زمانهای ۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت استفاده شد. بدین منظور از انکوباتور با دمای ۳۷°C و حاوی ۵٪ CO₂ 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 نانومتر خوانده شد. در ضمن در بررسی سمیت سلولی، ۵۷۰ غلظت‌های مختلف نانوذرات مگنتیت (۱، ۱۰ و ۲۰ mM)

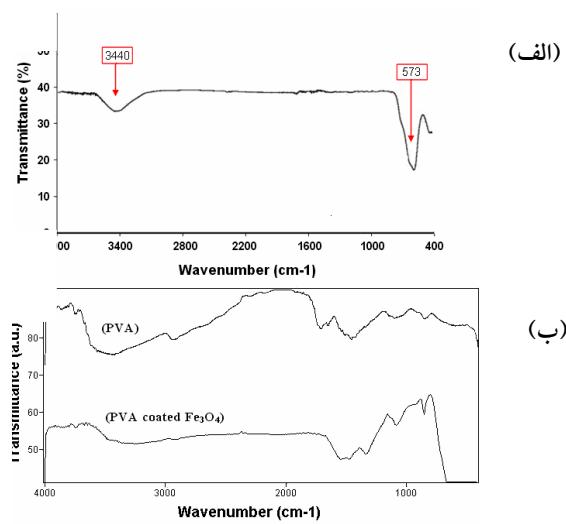
حل کرده و سپس به محلول افزوده شد و این محلول به مدت ۳۰ دقیقه بر روی همزن با سرعت ۷۵۰ rpm و دمای ۹۰°C قرار گرفت و عملیات شستشو و سانتریفیوژ بار دیگر تکرار شد. در پایان نمونه‌ها توسط خشک‌کن انجامدی خشک شدند.

۳- مشخصه‌یابی پودرها

به منظور شناسایی فاز مگنتیت در پودرهای سنتزی، الگوی پراش آنها توسط پراش پرتوی ایکس (XRD) مدل زیمنس 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 ۰/۰۲ درجه و محدوده‌ی روش بین ۱۰ تا ۷۰ درجه انتخاب شد. همچنین میانگین اندازه‌ی دانه‌ها توسط تکنیک XRD با استفاده از فرمول شرط 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 فروسخ توسط مدل BOMEM MB100 ساخت آلمان در گستره‌ی عدد موج $4000-40000 \text{ cm}^{-1}$ در حالت عبوری انجام شد. برای بررسی ریخت‌شناسی از دستگاه میکروسکوپ الکترونی CM200-FEG-Philips و میکروسکوپ الکترونی CM200-FEG-Philips استفاده شد. در بررسی روبشی Tescan Vega 2XMU 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 بوته‌های آلومینایی بود و گرمانگاشت‌های تغییر جرم و تغییر دما تهیه شد. برای بررسی ویژگی‌های

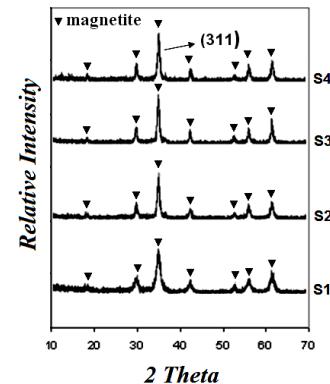


شکل ۴-(الف) طیف فروسرخ مگنتیت خالص، (ب) طیف فروسرخ پلی وینیل الکل خالص و نمونه S1 (مگنتیت پوشش داده شده با PVA)

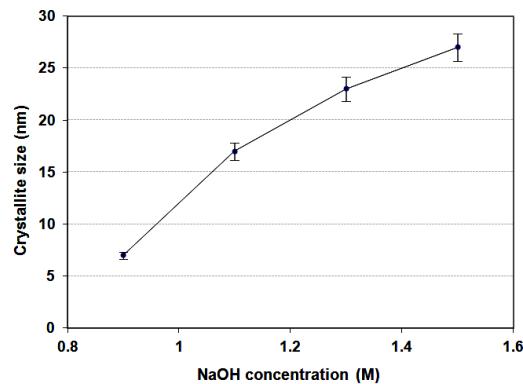
امر با توجه به معادله (۱) و شکل (۳) حاکی از افزایش اندازه بلورک هاست.

شکل (۴-الف) طیف IR مربوط به مگنتیت خالص را نشان می دهد که در آن دو قله (باند جذبی) قابل مشاهده است. اولین باند جذبی در محدوده 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 محدوده عدد موج 573 cm^{-1} دیده می شود که ناشی از باند ارتعاشی Fe-O موجود در مگنتیت است. قابل ذکر است که تحلیل طیفسنجی فروسرخ نیز وجود مگنتیت را در نمونه ها تأیید می کند.

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 می دهد. همان طور که از این شکل مشخص است، تفاوت چندانی در طیف فروسرخ پلی وینیل الکل و نمونه S1 وجود ندارد که این موضوع نشان می دهد که



شکل ۲- الگوی پراش پرتوهای ایکس برای نمونه های S1-S4



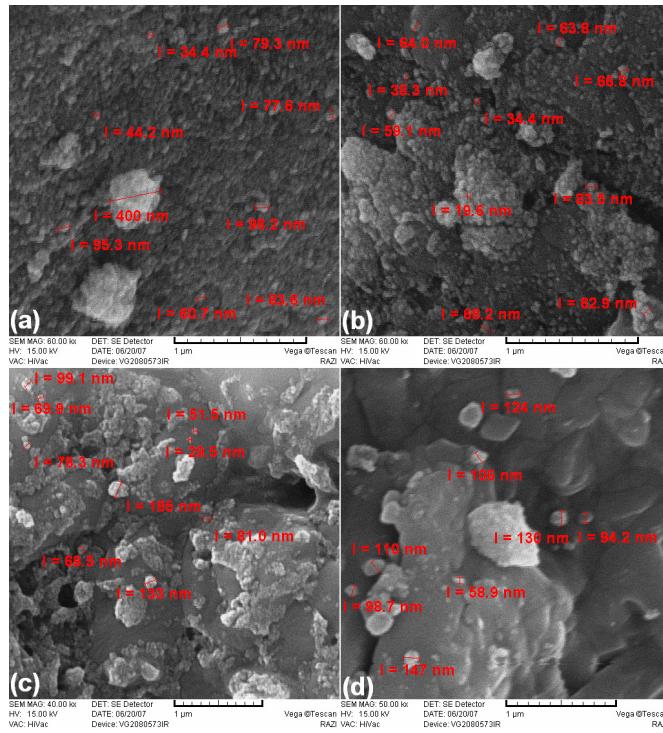
شکل ۳- میزان تغییرات اندازه های بلورک های مگنتیت پوشش دهی شده با PVA بر حسب غلظت هیدروکسید سدیم

به کار برده شد. برای مطالعات میکروسکوپ نوری نیز از ردۀ سلولی L929 دم موش استفاده شد.

۴- نتایج و بحث

۱-۴- تحلیل پراش پرتو ایکس و طیفسنجی فروسرخ
شکل (۲) الگوی پراش پرتو ایکس برای نمونه های S1-S4 را نشان می دهد. این الگوهای نشان دهنده آن هستند که مگنتیت، فاز غالب در تمام نمونه هاست.

همچنین مشاهده شد که هرچه از نمونه S1 به سمت نمونه S4 که دارای هیدروکسید سدیم بیشتری در فرایند سنتز است، پیش رویم، پهنانی قله های اصلی شروع به کاهش می کند 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. آگلومرهای ایجاد شده با توجه به شکل (۶)، باعث افزایش دمای انسداد^{۲۲} 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 اکتاهدراال‌اند.

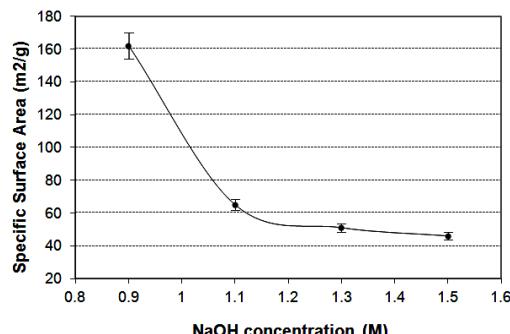
۳-۴- تحلیل BET

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

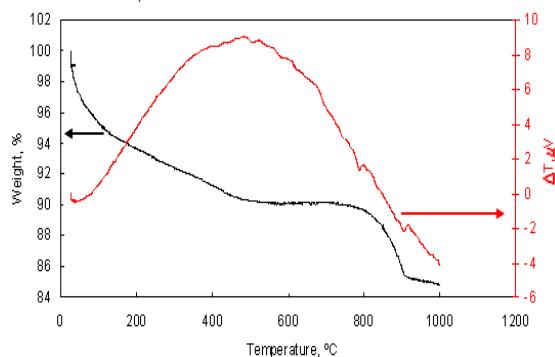
سطح نانوذرات مگنتیت در نمونه S1 کاملاً با پلی وینیل کلر پوشیده شده است.

۴-۲- مشاهدات مورفولوژی پودر

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



شکل ۷- تغییرات سطح ویژه نانوذرات سنتز شده بر حسب میزان هیدروکسید سدیم



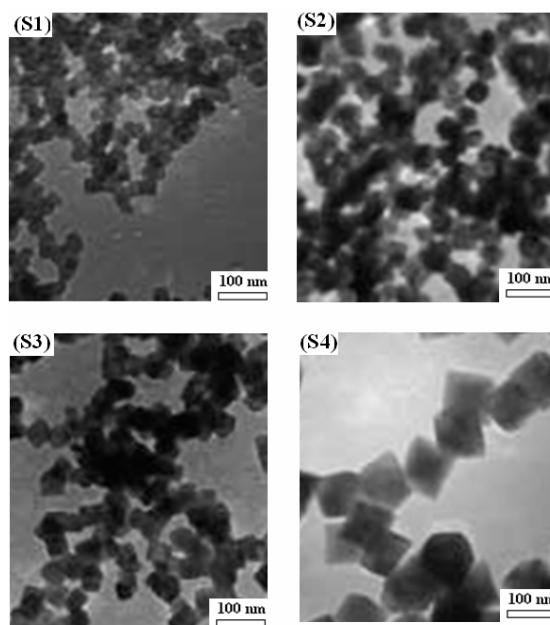
شکل ۸- نمودار تحلیل همزمان مربوط به نمونه S1

وینیل الکل باشد و به عبارت دیگر، پلی وینیل الکل شروع به سوختن می‌کند و در دمای حدود 50°C تمام زنجیره‌های آن تخریب شده است. ناحیه بعدی کاهش دما از 75°C تا 90°C حدود 90°C است که این کاهش وزن ناشی از دو عامل است:

الف) تبدیل مگنتیت به ووستیت^{۲۳} 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 تبخیر کند و سبب کاهش وزن در نمودار TGA شود [۱۴].



شکل ۶- تصاویر TEM نمونه‌های S1-S4

جدول ۲- میانگین اندازه‌ی بلورک‌ها برای

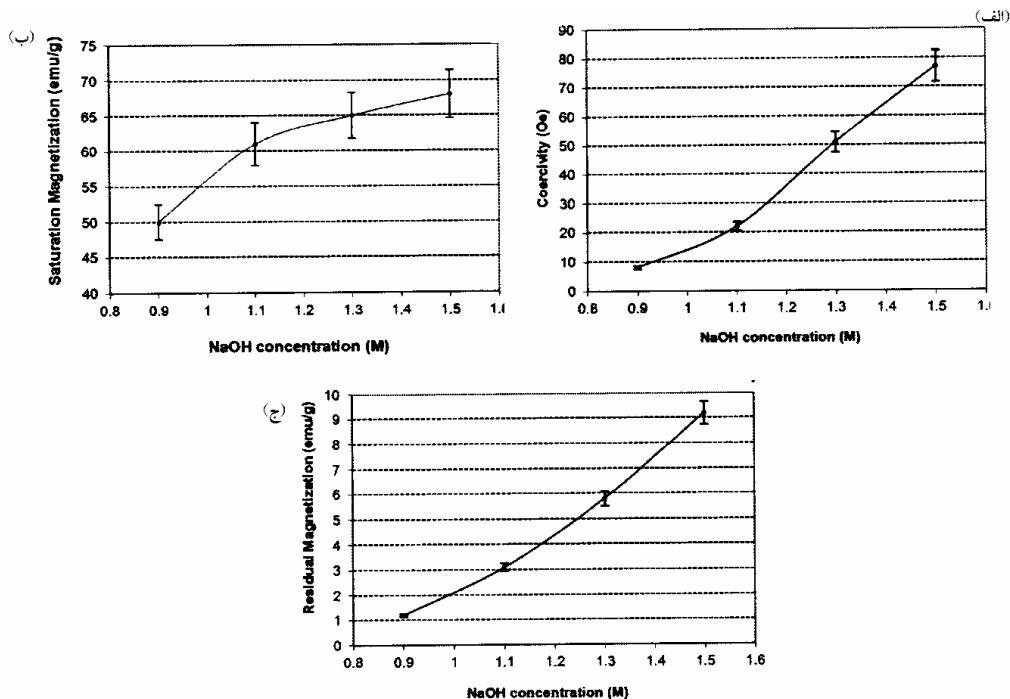
نمونه‌های مختلف

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

عبارة دیگر با افزایش اندازه ذرات، سطح ویژه 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) و ادارندگی، (ب) مغناطش باقیمانده با میزان هیدروکسید سدیم

در نتیجه انرژی بیشتری نیاز است تا این حوزه‌ها را به حرکت در بیاورد. قفل شدنگی^۶ یکی از منابع اصلی و ادارندگی است. برای این مورد نظریه مناسب برای پیش‌بینی مقدار و ادارندگی به شرح زیر است:

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

که در آن P_1 یک فاکتور ثابت است، A به سفتی تبادلی^۷ مربوط می‌شود، K ثابت آنیزوتروپی مؤثر^۸ است، J_s چگالی انرژی تبادلی^۹ و d اندازه‌ی ذرات است. بنابراین کاهش اندازه‌ی ذرات منجر به ایجاد مکان‌های بیشتر قفل شدنگی^{۱۰} می‌شود و در نتیجه میزان و ادارندگی 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 و ادارندگی 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 و ادارندگی با اندازه‌ی ذرات رابطه مستقیم دارد. در نتیجه اگر اندازه‌ی ذرات

۴-۵- تحلیل‌های مغناطیسی

در نمودار شکل (۹-الف) رابطه‌ی اندازه نانوذرات و یا به عبارتی دیگر میزان هیدروکسید سدیم با میزان و ادارندگی (H_c) بیان شده است. اگر ذرات خیلی کوچک باشند، معادله (۳) برای پیش‌بینی مقدار و ادارندگی 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 تبادلی، J_s چگالی انرژی تبادلی، d اندازه‌ی ذرات، P_2 یک فاکتور ثابت و H_c و ادارندگی است. پس در این معادله چون و ادارندگی با اندازه‌ی ذرات رابطه مستقیم دارد، در نتیجه اگر ذرات خیلی کوچک باشند، با افزایش اندازه‌ی ذرات میزان و ادارندگی افزایش می‌یابد.

قابل ذکر است که در نمونه‌هایی که اندازه‌ی ذرات مگنتیت بیشتر از پهنهای دیواره‌ی حوزه‌ها^{۱۱} باشد در نتیجه پدیده کاهش و ادارندگی با افزایش اندازه‌ی ذرات به علت حرکت حوزه‌ست^{۱۲}. وقتی دیواره‌های حوزه‌ها در طول نمونه شروع به حرکت می‌کند، این حوزه‌ها می‌توانند در مرزدانه‌ها قفل شوند.

معادله‌ای تجربی برای ارتباط مغناطیسی 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 ، قابلیت مغناطیسی پذیری اولیه 37 است که شبیه قسمت اولیه منحنی پسماند است $\rightarrow H_{(H)} = \frac{dM}{dH} \rho$ ، چگالی مگنتیت و K : ثابت بولتزمن هستند [۱۷].

در شکل (۹-ج) رابطه‌ی میزان هیدروکسید سدیم با میزان مغناطش باقیمانده (M_f) ذکر شده است. با توجه به شکل با افزایش اندازه ذرات میزان مغناطش باقیمانده افزایش پیدا می‌کند. یکی از دلایل این رخداد می‌تواند سوپرپارامغناطیس بودن ذرات باشد، یعنی با افزایش اندازه ذرات تا 27 nm (گستره‌ی ابرپارامغناطیس بودن برای مگنتیت)، میزان مغناطش باقیمانده افزایش می‌یابد و حلقه‌ی پسماند شروع به باز شدن می‌کند و در نتیجه از خاصیت ابرپارامغناطیس دور و نزدیک به خاصیت فریمغناطیس می‌شود. باید خاطر نشان کرد که پایین بودن میزان مغناطش باقیمانده (emu/g) $1/2 - 9/2$ است. البته بازدید از شکل (۹-ج) تأییدی بر ابرپارامغناطیس 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

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

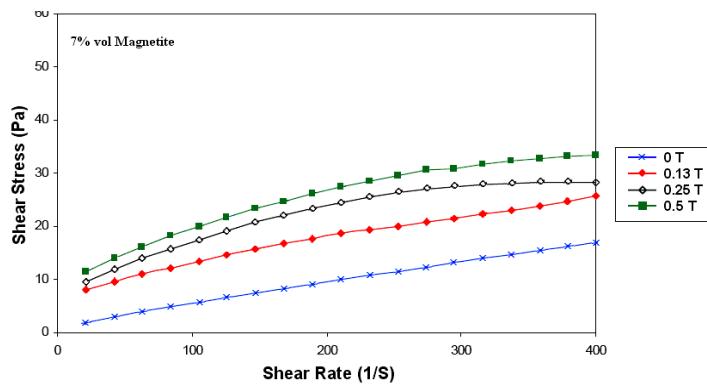
برای محاسبه اندازه ذرات از معادله (۶) استفاده شد:

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

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 27 nm می‌شود. قابل ذکر است که از آنجایی که تمام نمونه‌های با پوشش پلی وینیل الكل زیر 27 nm اند، در نتیجه، تمام نمونه‌ها سوپرپارامغناطیس‌اند که مقدار بسیار ناچیز وادارندگی (برای مثال مقدار 7 Oe برای نمونه S1) دلیلی بر این مدعای (ابرپارامغناطیس شدن نانوذرات مگنتیت) است. در نمودار شکل (۹-ب) رابطه‌ی میزان پلی وینیل الكل با میزان مغناطش اشباع (M_s) ذکر شده است. همان طور که از این شکل مشخص است، در اینجا نیز با کاهش اندازه ذرات نمونه‌ها، میزان مغناطش اشباع نیز کاسته می‌شود. البته باید یاداور شد که میزان مغناطش اشباع نیز کاسته می‌شود. فاکتور مهم دیگری مثل دما نیز وابسته است بلکه 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 اندازه ذرات، با دما رابطه‌ای معکوس دارند. مغناطش اشباع (M_s) در دمای اتاق با کاهش اندازه ذرات (d) به شدت کاهش می‌یابد که این رفتار غیرعادی نانوکریستالهای فرومغناطیس به دلیل پدیده‌ی اسپین‌های سطحی ذرات 40 است که توسط واکنش‌های تبادلی آنتی فرومغناطیس رقابتی 41 در سطح ایجاد می‌شوند.

با فرض اینکه یک ساختار هسته-پوسته 42 در نظر گرفته شود که لایه پوسته (پوسته غیرمغناطیس) دارای یک ضخامت ثابت t باشد و همچنین دارای یک مغناطش اشباع کمتر از مغناطیس اشباع حجمی 43 (M_{s0}) باشد، لو 44 و همکارانش



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.

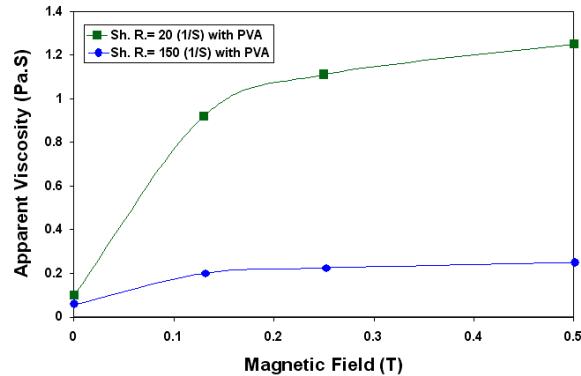
همان طور که از شکل (۱۰) مشخص است، تنش برشی دینامیک تقریباً یک رابطه‌ی خطی با آهنگ کرنش برشی در آهنگ‌های برشی پایین‌تر دارد، که این پدیده می‌تواند با معادله بینگهام، معادله (۹)، بیان شود:

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

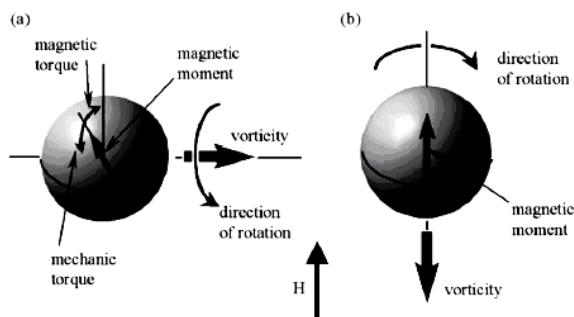
تنش برشی به طور پیوسته با افزایش آهنگ برشی افزایش می‌یابد. قابل ذکر است که در سرعت‌های برشی بالاتر انحراف از رابطه خطی وجود دارد که این موضوع به علت رفتار فروسیال‌هاست.

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

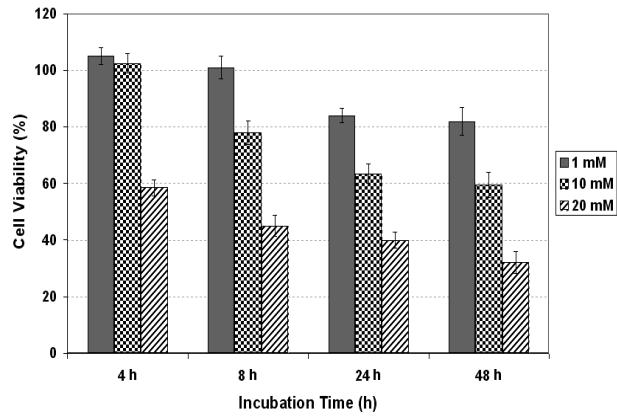
۴- ارزیابی سمیت سلولی

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 1 mM ۱ نسبت به دو غلظت دیگر (10 mM و 20 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 دارای سمیت سلولی کمتری هستند هنگامی که غلظت نانوذرات مگنتیت کمتر از 10 mM باشد.

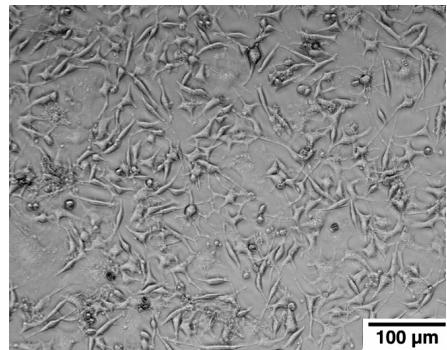
بر اساس تعداد و شکل سلول‌هایی که سطح نمونه‌ها را پوشانده‌اند، مقدار سمیت با استفاده از تصاویر میکروسکوپ نوری نشان داده شده در شکل (۱۴) ارزیابی شد. مطابق شکل (۱۴) دیده می‌شود که لایه‌ای از سلولهای دوکی شکل فیبروبلاست سطح نمونه مگنتیت را پوشانده است. سمیت نمونه از روی گسترش لایه سلولی فیبروبلاست و شکل 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 نمونه Fe_3O_4 در برابر سلول‌های فیبروبلاست سمیتی ندارد.

۵- نتیجه‌گیری

نانوذرات مگنتیت با اندازه بلورک کمتر از 27 nm از طریق روش همروسویی شیمیایی تهیه شد. نتایج پراش پرتو ایکس نشان داد که با افزایش غلظت هیدروکسید سدیم اندازه ذرات نیز افزایش می‌یابد. همچنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی رویشی و عبوری نشان داد که ذرات به دلیل کاهش نسبت سطح به حجم، شدیداً آکلومره شده‌اند. نتایج تحلیل دستگاه مغناطیسی سنج مغناطیسی نشان داد که با افزایش میزان هیدروکسید سدیم، مقادیر M_{H} و H_{e} 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 1 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 هم راستا 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 (۱۰ mM و ۲۰ mM) کمتر است که

واژه نامه

1. magnetite (Fe_3O_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 Nanoclincies 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 Fe_3O_4 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 Fe_3O_4 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.