УДК 539.143.43:544.032.53

МАГНИТНЫЕ НАНОПОРОШКИ FE@C, CO@C, NI@C И FE₃O₄ КАК МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОСЕНСОРИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЯДЕРНОЙ МАГНИТНОЙ РЕЛАКСОМЕТРИИ

Бызов И.В., Мысик А.А., Минин А.С., Уймин М.А., Ермаков А.Е., Конев А.С., Новиков С.И.

Институт физики металлов имени М.Н. Михеева Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, e-mail: uimin@imp.uran.ru

Магнитные наночастицы могут быть использованы как усилители контраста в МРТ исследованиях и в биосенсорике. Для их успешного применения необходимо изучение их характеристик в различных магнитных полях. В данной работе были приготовлены суспензии нескольких магнитных нанопорошков – Fe@C, Co@C, Ni@C и Fe₃O₄, измерены времена поперечной релаксации протонов воды T2 суспензий с разной концентрацией частиц в зависимости от величины магнитного поля ЯМР релаксометра. Определена релаксивность порошков, проанализирована зависимость релаксивности от намагниченности и от величины магнитного поля. Показано, что релаксивность изменяется с намагниченностью гораздо слабее, чем предполагается в теории. Это может быть связано с явлением агрегирования частиц порошка. Среди исследованных нанопорошков наиболее перспективным для биосенсорики является Fe@C.

Ключевые слова: магнитные наночастицы, релаксивность, ядерный магнитный резонанс, поперечная релаксация, намагниченность, магнитное поле

MAGNETIC NANOPOWDERS FE@C, CO@C, NI@C AND FE₃O₄ AS MATERIALS FOR BIOSENSORICS BASED ON NUCLEAR MAGNETIC RELAXOMETRY

Byzov I.V., Mysik A.A., Minin A.S., Uymin M.A., Ermakov A.E., Konev A.S., Novikov S.I. M.N. Mikheev Institute of Metal Physics of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, e-mail: uimin@imp.uran.ru

Magnetic nanoparticles can be used as contrast enhancers in MRI studies and in biosensorics. For their successful application it is necessary to study their characteristics in different magnetic fields. Suspensions of several magnetic nanopowders – Fe @ C, Co @ C, Ni @ C and Fe3O4 – were prepared in this paper, the times of transverse relaxation of water protons of T2 suspensions with different particle concentrations were measured as a function of the magnetic field strength of the NMR relaxometer. It is shown that relaxivity changes with magnetization much weaker than assumed in theory. This may be due to the phenomenon of aggregation of powder particles. Among the nanopowders investigated, the most promising for biosensories is Fe@C.

Keywords: magnetic nanoparticles, relaxivity, nuclear magnetic resonance, transverse relaxation, magnetization, magnetic field

Магнитные наночастицы различного состава уже несколько десятилетий рассматриваются в плане применения их в биомедицине, для клеточных исследований и для диагностических применений. В частности, некоторое время в США действовало разрешение FDA на применение в качестве контрастирующего агента для ЯМР томографии вещества на основе нанопорошков оксида железа с коммерческим названием FERIDEX [1]. Контрастирующее действие этого вещества основано на том, что вблизи наночастиц оксида железа Fe₂O₂ увеличивается скорость релаксации протонов, и это создает дополнительный контраст на томографических снимках [2]. При локализации частиц в том или ином органе или патологическом узле это позволяет получить более четкое изображение данного места. Способность магнитных частиц изменять время релаксации окружающих их протонов называется релаксивностью и измеряется на модельных объектах [3]. Как правило, берутся

водные суспензии с различной концентрацией магнитных частиц, и после измерения времени релаксации (продольной – Т1 или поперечной – Т2) строится зависимость величины R1 = 1/T1 (или R2 = 1/T2) от концентрации. Обычно она оказывается линейной, и тогда релаксивность r1 или r2 тех или иных частиц определяется как производная $r = dR/dC_m$, где $C_m - молярная$ концентрация вещества в воде. Для веществ на основе железа принято относить изменение обратного времени релаксации R к концентрации железа в молях на литр (обозначается как М). Чем выше релаксивность, тем более эффективно это вещество влияет на время релаксации и тем больший контраст оно будет создавать на томографических изображениях [4]. Релаксивность r2 упомянутого контрастера FERIDEX составляет по литературным данным около 100 с⁻¹мМ⁻¹. В литературе также приводятся величины релаксивности для других магнитных частиц, в частности для железо-углеродных

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЖУРНАЛ ПРИКЛАДНЫХ И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ № 1, 2018 композитов эта величина составляет около 300 с⁻¹мМ⁻¹. К сожалению, зачастую не указывается, в каких условиях была измерена эта характеристика вещества, в частности в каком магнитном поле. Это затрудняет сравнение веществ, исследованных разными авторами. Авторами [5] приводится формула, описывающая влияние на T2 намагниченности насыщения вещества.

$$\frac{1}{T_2} = \frac{\left(\frac{256\pi^2\gamma^2}{405}\right)V^* * M_s^2 a^2}{D\left(1 + \frac{L}{A}\right)},$$

где γ – это гиромагнитное отношение для протона, V^* , M_s и a – объем фракции, намагниченность насыщения и радиус ферромагнитного ядра соответственно, D – коэффициент диффузии молекул воды, L и a – толщина и проницаемость покрытия магнитной частицы [6].

Однако в реальных измерениях зачастую намагниченность порошков не достигает насыщения, и поэтому данная формула может оказаться неприменима на практике. Кроме того, здесь никак не учитывается процесс агрегирования, часто имеющий место при работе с суспензиями, особенно в магнитном поле. Следует отметить также, что в этой формуле не учитывается величина магнитного поля, хотя в ряде работ, например [7], зависимость величины Т2 тканей печени животных, содержащих железо в ионной форме, от напряженности магнитного поля была обнаружена и изучена экспериментально. Было установлено, что величина 1/Т2 линейным образом зависит от магнитного поля по крайней мере до полей порядка 15 кЭ. Авторы работы [4] нашли, что величина 1/Т2 для магнитных частиц в желатине зависит от поля гораздо более сложным образом, а именно, как функция Ланжевена с аргументом (mH/kT) в степени 1,5, где m – магнитный момент частицы, Н – магнитное поле, к-постоянная Больцмана, Т-температура. По нашему мнению, использование такой сложной функции не имеет достаточного физического обоснования. Если же больше принимать во внимание экспериментальные факты, то приведенная в работе [8] полевая зависимость явно обнаруживает эффект насыщения величины 1/Т2 в полях больше 5 кЭ. Таким образом, в литературе нет теоретической основы для анализа полевой зависимости релаксивности, а экспериментальные результаты достаточно противоречивы.

Целью данной работы было измерение релаксивности четырех типов магнитных частиц – нанокомпозитов состава металлчическое ядро – углеродная оболочка: Fe@C, Со@С и Ni@С в релаксометре с разными магнитными полями, а именно 0,5, 1 и 2 кЭ. Наночастицы состава ядро – оболочка обладают рядом преимуществ перед обычными частциами, они более химически стабильны, менее токсичны и их относительно легко модифицировать [9]. Также анализировался более распространенный нанопорошок оксида железа Fe_3O_4 . Эти измерения, как предполагалось, должны были позволить определить наиболее оптимальный выбор порошка и величины поля для дальнейшей разработки методов диагностики на основе ЯМР релаксометрии.

Нанопорошки Fe@C, Co@C, Ni@C и Fe₃O₄ получали на установке газофазного синтеза в ИФМ УрО РАН. Методика синтеза описана в работе [10]. Суть метода состоит в испарении металла и последующей конденсации в потоке аргона с добавкой углеводорода. Для получения стабильных водных суспензий порошки металл-углеродных композитов помещали в водную среду, содержащую достаточное количество DSPE-PEG-2000, играющего роль ПАВ. Стабилизация суспензий Fe₃O₄ достигалась добавлением цитрата натрия.

Магнитные свойства сухих исходных порошков измерялись с помощью вибромагнитометра. Для более точного определения концентрации магнитных нанопорошков в воде проводились измерения суспензий с помощью весов Фарадея. Измерения релаксивности проводили с помощью релаксометра, разработанного в ИФМ УрО РАН. В экспериментах использовался один и тот же электронный блок как источник импульсов переменного поля и приемник сигнала от образца. Отличие состояло в величине постоянного магнитного поля: эта величина составляла 0,5, 1 и 2 кЭ, а измерения проводились на частоте около 2, 4 и 8 МГц соответственно. В качестве измерительной ячейки был использован стандартный стаканчик от планшета для иммуноферментного анализа, объем жидкости составлял 40-100 мкл.

Результаты исследования и их обсуждение

Как показали измерения, наибольшей намагниченностью насыщения характеризуется нанокомпозит Co@C (110 emu/g), несколько меньшей намагниченностью обладает Fe@C (100 emu/g). Величина намагниченности нанокомпозита Ni@C составила 20 emu/g, т.е. меньше в 5 раз. Намагниченность оксида железа Fe₃O₄ в больших полях (15 кЭ) составляет около 65 emu/g, что примерно на 20% меньше намагниченности насыщения для массивного оксида железа Fe₃O₄. Принято считать, что это уменьше-

INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED AND FUNDAMENTAL RESEARCH № 1, 2018 ние намагниченности нанопорошка Fe₂O обусловлено разупорядочением ориентаций магнитных моментов вблизи поверхности наночастиц. Следует учитывать, что в исследуемых суспензиях частицы агрегируют до размеров порядка 150 нм, поэтому собственно намагниченность насыщения недостаточно полно характеризует материал в плане процессов релаксации протонов. Не менее важным становится знание намагниченности агрегата в поле релаксометра. Эта намагниченность в полях несколько килоэрстед (поля релаксометров) довольно сильно отличается от намагниченности каждой частицы, являющейся однодоменной и поэтому остающейся всегда в насыщении. Агрегат намагничивается в поле за счет поворота либо магнитных моментов внутри каждой частицы, либо за счет поворота самой частицы. Именно векторная сумма магнитных моментов агрегата создает внешнее магнитное поле, действующее на магнитный момент протона. На рис. 1 приведены кривые намагничивания в данном диапазоне полей, снятые на суспензиях и пересчитанные с учетом содержания порошка в воде. Надо отметить, что для суспензий характерно то же соотношение намагниченностей в пересчете на порошок, что и для сухих исходных порошков.

Концентрационные зависимости обратной величины времени релаксации для всех исследованных суспензий были достаточно линейными. Для примера на рис. 2 приведена такая зависимость для композита Fe@C

Величины релаксивности, определенные из таких зависимостей, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Релаксивность частиц разного типа в разных магнитных полях

Тип частиц	Магнитное поле релаксометра			
	0,5 кЭ	1 кЭ	2 кЭ	
Co@C	154	231	282	
Fe@C	202	269	347	
Ni@C	29	45	55	
Fe ₃ O ₄	233	268	281	



Рис. 1. Кривые размагничивания суспензий магнитных нанопорошков Co@C (1), Fe@C (2), Ni@C (3)



Рис. 2. Концентрационные зависимости обратного времени релаксации R2 водных суспензий Fe@C для разных полей – 0,5 кЭ (1), 1 кЭ (2) и 2 кЭ (3)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЖУРНАЛ ПРИКЛАДНЫХ И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ № 1, 2018



Рис. 3. Зависимости релаксивности от напряженности магнитного поля

Для удобства сравнения величины намагниченности в разных полях для разных частиц приведены в табл. 2. Как видно из табл. 1 и 2, величина поля достаточно сильно влияет на релаксивность, особенно для металл-углеродных нанокомпозитов. Если сравнивать близкие по структуре композиты Fe@C и Ni@C, то следует отметить, что релаксивность Ni@C во всех трех полях в 5–6 раз меньше релаксивности Fe@C, то есть уменьшается практически пропорционально первой степени намагниченности (табл. 1 и 2).

Таблица 2

Намагниченность частиц разного типа в полях, использованных для измерений релаксивности, рассчитанная из измерений суспензий

Тип частиц	Магнитное поле		
	0,5 кЭ	1 кЭ	2 кЭ
Co@C	33	58	90
Fe@C	33	54	78
Ni@C	6	10	14

Таким образом, для нанокомпозитных порошков Fear Зависимость релаксивности от намагниченности носит не квадратичный характер, как должно было следовать из формулы, приведенной в работе [5], а линейный. Для порошка оксида железа релаксивность изменяется даже медленнее, чем намагниченность. Линейный характер имеет и зависимость релаксивности от поля для композита Fe@C. Этот результат согласуется с работой [7], где также наблюдалась линейная зависимость величины 1/Т2 от напряженности поля. Для Co@C и Fe₃O₄ рост релаксивности с полем замедляется при полях около 2 кЭ. Но в любом случае использование больших полей при измерениях должно обеспечивать более высокую релаксивность, а значит, и чувствительность при применении этого метода детекции для диагностики.

С другой стороны, необходимо учитывать также влияние магнитного поля на стабильность суспензий. В данной работе этот эффект проявил себя при измерении суспензий Со@С, которые агрегировали в течение нескольких часов. Этому способствовали, по-видимому, два фактора – более высокая намагниченность, чем у остальных порошков, и более высокие значения коэрцитивной силы, составляющей 110 Э. Такие частицы сохраняют магнитный момент даже в отсутствие поля, что приводит к их агрегированию за счет магнитных сил в процессе приготовления и хранения суспензий.

Выводы

1. Среди четырех исследованных нанопорошков – Fe@C, Co@C, Ni@C и Fe₃O₄ – наибольшей релаксивностью обладает порошок Fe@C, несмотря на чуть меньшую величину намагниченности насыщения, чем Co@C.

2. Для порошка Fe@C характерна наиболее высокая чувствительность величины 1/Т2 к величине поля, поэтому именно этот порошок следует применять для разработки диагностических приборов с использованием высоких магнитных полей.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема «Магнит», № 01201463328), разработка и изготовление релаксометра финансировались за счет гранта РНФ№ 17-15-01116.

Список литературы

1. Bulte J.W.M., Kraitchman D.L. Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging // NMR Biomed. – 2004. – vol. 17, no 7. – P. 484–499.

INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED AND FUNDAMENTAL RESEARCH № 1, 2018 2. Cortajarena A.L., Ortega D., Sandra O.M., Gonzalez-García A., Couleaud P., Rodolfo M., Belda-Iniesta C., Ayuso-Sacido A. Engineering Iron Oxide Nanoparticles for Clinical Settings // Nanobiomedicine. – 2014. – vol. 1, no 2. – P. 1–10.

3. Shao H., Yoon T.J., Liong M., Weissleder R., Lee H. Magnetic nanoparticles for biomedical NMR-based diagnostics // Beilstein Journal of Nanotechnology. – 2010. – vol. 1, no 1. - P. 142–154.

4. Chatterjee K., Sarkar S., Jagajjanani R.K., Santanu P. Coreshell nanoparticles in biomedical applications // Adv. Colloid Interface Sci. Elsevier B.V. – 2014. – vol. 209. – P. 8–39.

5. Gillis P., Koenig S.H. Transverse relaxation of solvent protons induced by magnetized spheres: Application to ferritin, erythrocytes, and magnetite // Magn. Reson. Med. – 1987. – vol. 5, no. 4. – P. 323–345.

6. Tong S., Hou S, Zheng Z., Zhou J., Bao G. Coating optimization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles for high T2 relaxivity // Nano Lett. – 2010. – vol. 10, no 11. – P. 4607–4613. 7. Bulte J.W.M., Miller G.F., Vymazal J., Brooks R.A., Frank J.A. Hepatic hemosiderosis in non-human primates: Quantification of liver iron using different field strengths // Magn. Reson. Med. – 1997. – vol. 37, no. 4. – P. 530–536.

8. Bulte J.W.M., Laughlin P.G., Jordan E.K., Tran V.A., Vymazal J., Frank J.A. Tagging of T Cells with Superparamagnetic Iron Oxide : Uptake Kinetics and Relaxometry // Acad Radiol. – 1996. – N 3. – P. S301–S303.

9. Thatai S., Khurana P., Boken. J., Prasad. S., Kumar D. Nanoparticles and core – shell nanocomposite based new generation water remediation materials and analytical techniques : A review // Microchem. J. Elsevier B.V. – 2014. – vol. 116. – P. 62–76.

10. Galakhov V.R. Shamin S.N., Mesilov V.V., Ovechkina N.A., Uimin M.A., Yermakov A.Ye., Schneider L., Balinsky K., Senkovskiy B.V. X-Ray Absorption and Photoelectron Characterization of Carbon Shell Extracted from Ni@C Nanoparticles // J. Phys. Chem. C. – 2014. – vol. 118. – P. 30216–30220.