



Biyomedikal Uygulamalar için Fe₃O₄ Nano Parçacıklarının Karakterizasyonu

Characterization of Fe₃O₄ Nano Particles for Biomedical Applications

K. Onar¹ and M. E. Yakinci^{1,2}

¹İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, 44280-Malatya, Turkey
E-mail: kubra.onar@inonu.edu.tr

²İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi., Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, 44280-Malatya, Turkey
E-mail: eyyuphan.yakinci@inonu.edu.tr

Özetçe

30-60 nm boyutlarında Fe₃O₄ nano parçacıkları kimyasal ardışık çöktürme metodu kullanılarak sentezlenmiştir. Manyetik özelliklerine göre parçacık boyutu etkisi reaksiyon süresi ve kristalleşme sıcaklığı ile birlikte incelenmiştir. Yapısal olarak üretilen örneklerin kübik Fe₃O₄ yapıda olduğu bulunmuştur. Üretilen örneklerin süperparamanyetizma özelliği gösterdiği görülmüştür. Fe²⁺/Fe³⁺ oranı %50 artırıldığında parçacık boyutunun yaklaşık olarak bir kat arttığı bulunmuştur. Bu boyutlarda üretilen Fe₃O₄ parçacıklarının biyomedikal uygulamalar için uygun olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler — Kimyasal ardışık çöktürme metodu, Fe₃O₄ nano parçacıklar, Biyomedikal uygulamalar.

Abstract

Nano particles of Fe₃O₄ with the range of 30 and 60 nm were synthesized by using chemical coprecipitation method. Particle size effects according to magnetic properties were investigated together with the constant reaction and crystallization temperature. According to calculations peaks were indexed as cubic Fe₃O₄ for all samples. The hysteresis loops shows superparamagnetic behavior. It was found that when Fe²⁺/Fe³⁺ ratio increase to 50% the particle size increases approximately one fold. We realized that chemical coprecipitation method is suitable for biomedical applications of Fe₃O₄ nano particles.

Keywords — Chemical coprecipitation method, Fe₃O₄ nano particles, Biomedical applications.

1. Giriş

Günümüzde kanser ve buna bağlı gelişmeler insan hayatında önemli bir yer almaya başlamıştır. Kanserin tamamen ortadan kaldırılması (doğuştan itibaren) en çok arzulanan bir olaydır.

Ancak genetik mühendislerinin de önemle belirttiği gibi bunun günümüz imkânları ile mümkün olamayacağı görülmektedir. Buna bağlı olarak kanserin erken teşhis ve tedavisi için de önemli çalışmalar yapılmaktadır. Kanser hücrelerinin tamamen yok edilmesi başarılı bir tedavi için vazgeçilmez olduğundan, tamamını almak mümkünse tercih edilen tedavi yöntemidir. Tümör' ün konumuna ve etrafındaki doku ile ilişkisine bağlı olarak her zaman ameliyat mümkün olmayabilir. Bu koşullar altında, kemoterapi veya radyoterapi başlaması gereklidir. Ancak her iki tedavi metodu da tedavi süresi boyunca bir takım komplikasyonlar içermektedir. Bununla birlikte birkaç seans sonrasında sağlam hücrelerinde yok olmasına neden olmaktadır. Bu yüzden yeni tekniklerin geliştirilmesi kaçınılmaz hale gelmiştir..

Son zamanlarda geliştirilen nano medikal teknolojileri özellikle kanser araştırmaları için uygun metotlar olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda, nano boyuttaki parçacıkların mükemmel özellikleri geleneksel kemoterapi ve radyoterapi metotlarının tıbbi etkilerini büyük ölçüde arttırabildiği görülmüş ve kanser hücrelerinin incelenip tedavi edilmesinde kullanılabileceğinin uygun olacağı düşünülmektedir. Diğer nano parçacıklara göre yüksek biyo güvenliği, kolay elde edilebilirliği ve özelliklerinin incelenebilir ve kontrol edilebilir olması, manyetik demir oksit (Fe₃O₄) geçtiğimiz on yılda klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmıştır [1-6]. Günümüzde birçok bilgi ve üretim metotları, alt nano manyetik parçacıkları elde etmek için incelenmektedir [7-10]. Özellikle 2-15 nm boyutlarındaki parçacıkların başlıca kanser tedavileri ve klinik uygulamalar için en iyi oldukları bulunmuştur. Ancak, üretim metotları genellikle zor ve zahmetli olup fiziksel ve manyetik olarak iyi özelliklerde elde etmek için büyük çaba gerekmektedir. Bu çalışmada, nano parçacıkların üretimi ve parçacık boyutunun fiziksel, manyetik ve elektriksel özelliklere etkileri üzerinde yoğunlaşarak ve elde edilen sonuçları paylaştık.

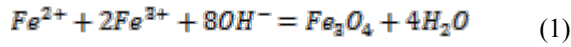
2. Deneysel Çalışmalar

Bu çalışmada, Fe₃O₄ nano parçacıkları daha önceki araştırma gruplarının elde ettiklerine benzer şekilde kimyasal ardışık

Biyomalzeme

2. Gün / 16 Ekim 2015, Cuma

çöktürme metodu kullanılarak hazırlandı [10-12]. Başlangıç materyalleri $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ and $NH_3 \cdot H_2O$ (Alfa Aesar) olup bir demir tuz çözeltisi ve demirli tuz çözeltisi $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ ve deiyonize su' dan hazırlandı. Bu iki çözelti karıştırılarak ve reaksiyon sıcaklığında ısıtıldı. Daha sonra $NH_3 \cdot H_2O$ çöktürücü çözeltisi yüksek hıza (800 rpm) sahip karıştırıcı ile pH 5 değerine kadar 25 dakika boyunca karıştırılan çözeltiye eklendi. Bundan sonra, yaklaşık % 22 wt Fe_3O_4 ihtiva eden Sodyum Oleat ultrasonik karıştırıcı ile deiyonize su içerisine konularak bu çözelti oda sıcaklığında 800 rpm ile karıştırıldı ve pH' ı 5 olan reaksiyon çözeltisine eklendi. Son olarak 135 °C' de 50 dakika kristalleşme gerçekleşti ve bunu yıkama ve dondurma-kurutma işlemleri izledi. Kimyasal ardışık çöktürme [6];



olarak ifade edilebilir. Eşitlik (1) kullanılarak, reaksiyonun pH değeri 10 olarak seçildi ve Fe^{2+} tamamen çöktürüldüğünde reaksiyon sıcaklığının 70 °C olduğu görüldü. Hızlı çekirdeklerin oluşmasından kaçınmak için $NH_3 \cdot H_2O$ ' u çöktürücü madde olarak kullanıldı. Fe^{2+}/Fe^{3+} oranı 0,5-1.0 aralığında seçildi ve demir tuz çözeltisinin yoğunluğu 0,6 mol/L' de sabit olarak ayarlandı. Kurutma süreci Fe^{2+} ' nin oksitlenmesinden kaçınmak için bir vakum fırınında gerçekleştirildi. Yapısal analiz için, 20°' den 80°' ye kadar 2θ aralığında 0.2°/s oranında tarama yapan Cu Kα radyasyonuna sahip ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), a Rigaku Dmax2 X-ray difraktometresi (XRD) kullanıldı. Manyetik özellikler, ±9 T aralığında titreşimli örnek magnetometresi (Quantum design VSM-9T) kullanılarak tespit edildi ve Fourier dönüşümlü Infrared spektrometre bağ yapısını belirlemek için kullanıldı.

3. Sonuç ve Tartışma

Elde edilen sonuçlar ve parametreler Tablo 1' de özetlenmektedir. Bizim deney düzeneğimize göre en iyi pH değerinin 10 olduğu bulunarak deneyler boyunca pH sabit 10 değerine ayarlandı. Ancak, pH' ın materyallerin kimyasal hazırlamaları için önemli bir faktör olduğunu ve materyaller üzerine pH' ın etkilerinin geliştiğini bilinmektedir. Ayrıca literatürde nanomanyetik parçacıklar için pH' ın etkisini açıklayan sonuçlar da bulunmaktadır [13].

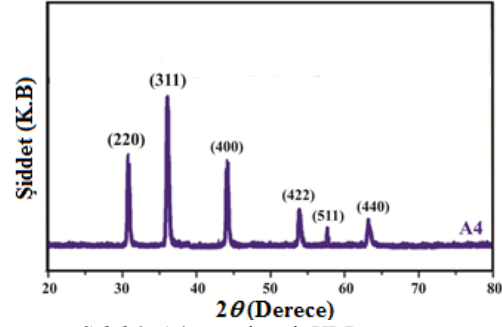
Tablo 1: Kullanılan parametrelerin ve elde edilen sonuçların özeti

Örnek	pH	Fe^{2+}/Fe^{3+}	Demir Tuz Kon. (mol/L)	Reak. Sıcak. (°C)	Kristalleşme Sıcaklığı (°C)	Ort. Parçacık Boyutu (nm)	Mag. (emu/g)	Oda Sıcaklığı Direnci (ohm)
A1	10	0.5	0.16	60	75	30	3.1	1.0
A2	10	0.7	0.16	60	75	30	6.8	1.0
A3	10	0.8	0.16	60	75	40	11.4	1.2
A4	10	0.9	0.16	60	75	50	15.7	1.3
A5	10	1.0	0.16	60	75	60	18.8	2.0

3.1. XRD Sonuçları

Şekil 1, örnek olması açısından Fe^{2+}/Fe^{3+} oranı 0,9 olan A4 örneğinin XRD sonucunu göstermektedir. Şekil 1 de görüldüğü

gibi, örnekte safsızlık ve ikinci faza ait piklerin olmadığı görülmektedir. Hesaplamalarına göre, pikler bütün örnekler için kübik Fe_3O_4 olarak belirlenmiştir. Ancak, ortalama parçacık boyutu azaldığında, beklenildiği gibi, piklerin şiddeti az miktarda azalma ve genişleme olacağı düşünülmektedir.



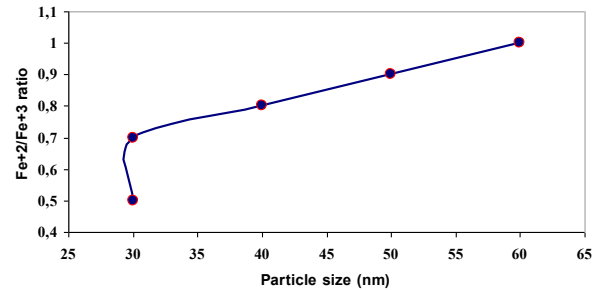
Şekil 1: A4 örneğine ait XRD sonucu

3.2. Parçacık Boyutu Hesaplamaları

Hazırlanan örneklerin tanecik boyutu Scherer eşitliği kullanılarak belirlendi [12-14];

$$d = \frac{0,89\lambda}{B \cos \theta} \quad (2)$$

Burada, λ , x-ışını dalga boyu ($Cu_{K\alpha}=1.5406 \text{ \AA}$), θ pik konumu ve B yarı maksimum yoğunluğundaki tüm pik genişliğidir (FWHM). Eşitlik (2) ile yapılan hesaplamalara göre, parçacıkların boyutu Tablo 1' de verildiği gibi 30 ve 60 nm arasında bulundu. Elde edilen sonuçlar, Fe^{2+}/Fe^{3+} oranının parçacık boyutu için önemli bir rol oynadığını gösterir. Deneylerin üçüncü kez tekrar edilmesinden sonra, tablo 1 ve şekil 2' de gösterildiği gibi Fe^{2+}/Fe^{3+} oranı arttığında parçacık boyutunun da arttığını fark edildi. Şekil 2' de görüldüğü gibi, Fe^{2+}/Fe^{3+} oranı %50 artırıldığında parçacık boyutu yaklaşık olarak bir kat artmaktadır. Uygulamalara göre, bu manyetik parçacıkların biyomedikal kullanımı için parçacık boyutunun 40 nm' den daha az olması gerekmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuç bu aşamada tutarlıdır. Bununla birlikte, parçacık boyutu için reaksiyon sıcaklıkları ve demir tuz konsantrasyonunun etkisi ve manyetik özellikler arasındaki ilişki inceleme aşamasındadır.



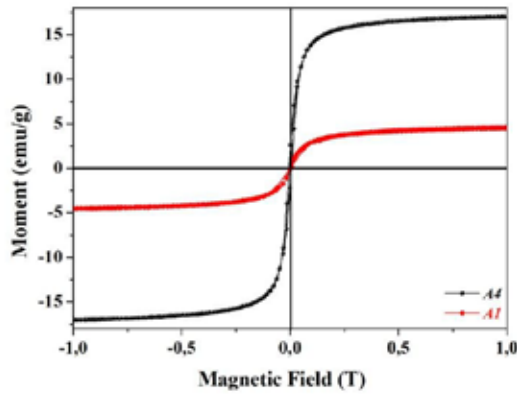
Şekil 2: Hazırlanan örneklerin Fe^{2+}/Fe^{3+} oranına karşı parçacık boyutu grafikleri

Biyomalzeme

2. Gün / 16 Ekim 2015, Cuma

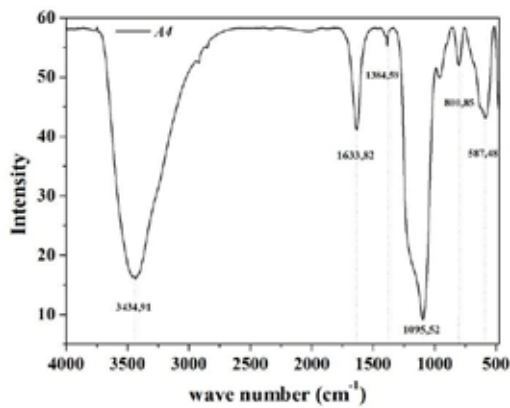
3.3. Manyetik Özellikler

Şekil 3, A1 ve A4 örneklerinin manyetik alana karşı manyetizasyon grafiklerini göstermektedir. Histerisiz döngüleri, süper-paramanyetizma özelliği göstermektedir. Her iki durum için düşük doyum manyetizasyonu elde edildi ve Fe₃O₄ metalik örneklerinin tipik özelliği olan remanans göstermedikleri görülmektedir. Doyum noktası A1 ve A4 örnekleri için sırasıyla 3.1 ve 15.7 emu/g' dır. Küçük parçacık boyutuna sahip olan büyük olana göre düşük manyetizasyon göstermektedir.



Şekil 3: Oda sıcaklığında A1 ve A4 örneklerinin M-H eğrileri

Şekil 4, A4 örneğine ait FT-IR grafiğini göstermektedir. Bütün örnekler benzer bir yaklaşım gösterirler ve iyi bilinen Fe-O titreşim modları Fe₃O₄' ün 587, 1384 and 800 cm⁻¹ olarak elde edildi. 1633 ve 3408 cm⁻¹ de elde edilen pikler, daha önce diğer araştırma grupları tarafından da elde edildiği gibi Fe₃O₄ nano parçacıklarını absorbe eden -OH ve OH⁻ nin stretching titreşimlerine dayanır [9, 12]. Ayrıca daha önce elde edilen ve -CH, -CH₂ and -CH₃ olarak saptanan 1650 ve 3400 cm⁻¹ arasında herhangi diğer piklere rastlanılmadı [13-16].



Şekil 4: Oda sıcaklığında A4 örneğine ait FT-IR sonucu

4. Sonuçlar

Biyomedikal uygulamalar için 30 ve 60 nm arasında parçacık boyutlarına sahip yüksek saflıktaki Fe₃O₄ nano parçacıklarını kimyasal ardışık çöktürme metodunu kullanarak başarılı bir şekilde sentezledik. Parçacık boyutunun Fe₃O₄ nano materyalinin manyetik özellikleri üzerine etkisini tespit ederek

bu özelliklerin özellikle bozulmuş kanser hücrelerin tedavilerindeki tıbbi süreçte çok önemli olacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda uygulamalar için pozitif bir etki olan oda sıcaklığı direncinde herhangi farklı sonuca rastlanılmadı. Bu bulgulara dayanarak "Kimyasal ardışık çöktürme metodunun" küresel ve nano Fe₃O₄ parçacıkları için uygun bir metod olduğu görüşündeyiz.

5. Kaynakça

- [1] Chieh J. J., Huang K. W., and Shi J. C., "Sub-tesla-field magnetization of vibrated magnetic nanoreagents for screening tumor markers", *Applied Physics Letters*, 106, 073703, 2015.
- [2] Oghabian M. A., Gharehaghaji N., Amirmohseni S., Khoei S., and Guiti M. "Detection sensitivity of lymph nodes of various sizes using USPIO nanoparticles in magnetic resonance imaging", *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.* 6, 496-499, 2010.
- [3] Müller S., "Magnetic fluid hyperthermia therapy for malignant brain tumors-an ethical discussion", *Nanomed. :Nanotechnol. Biol. Med.* 5, 387-393, 2009.
- [4] Kim J. S., Yoon T. J., Yu K. N., Kim B. G., Park S. J., Kim H. W., Lee K. H., Park S. B., Lee J. K., and Cho M. H., "Toxicity and Tissue Distribution of Magnetic Nanoparticles in Mice", *Toxicol. Sci.* 89, 338-347, 2006.
- [5] Mody V. V., Cox A., Shah S., Singh A., Bevins W., and Parihar H., "Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor", *Appl. Nanosci.* 4, 385-392, 2014.
- [6] Onar K., Yakinci M. E., "Synthesis of Fe₃O₄ Nano Particles for Biomedical Applications", to be published.
- [7] Liu Y., Liu P., Su Z., Li F., Wen F., "Attapulgit-Fe₃O₄ magnetic nanoparticles via co-precipitation technique", *Applied Surface Science* 255, 2020-2025, 2008.
- [8] Zhi J., Wang Y., Lu Y., Ma J., Luo G., "In situ preparation of magnetic chitosan/Fe₃O₄ composite nanoparticles in tiny pools of water-in-oil microemulsion", *Reactive and Functional Polymers*, 66, 1552-1558, 2006.
- [9] Liu Y., Jiang W., Li S., Li F., "Electrostatic self-assembly of Fe₃O₄ nanoparticles on carbon nanotubes", *Applied Surface Science*, 255, 7999-8002, 2009.
- [10] Meng H., Zhang Z., Zhao F., Qiu T., Yang J., "Orthogonal optimization design for preparation of Fe₃O₄ nanoparticles via chemical coprecipitation", *Applied Surface Science*, 280, 679-685, 2013.
- [11] Hong R., Li J., Wang J. and Li H., "Comparison of schemes for preparing magnetic Fe₃O₄ nanoparticles", *China Particuology*, 5, 186-191, 2007.
- [12] Kim D. K., Zhang Y., Voit W., Rao K. V., Muhammed M., "Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225, 30-36, 2001.
- [13] Sun J., Zhou S., Hou P., Yang Y., Weng J., Li X. and Li M., "Synthesis and characterization of biocompatible



Biyomalzeme

2. Gün / 16 Ekim 2015, Cuma

- Fe₃O₄ nanoparticles”, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2, 333-341, 2007.
- [14] Ahmad S., Riaz U., Kaushik A., Alam J., “Soft Template Synthesis of Super Paramagnetic Fe₃O₄ Nanoparticles a Novel Technique “, *J Inorg Organomet Polym*, 19, 355–360, 2009.
- [15] Ghandoor H. E., Zidan H. M., Khalil M. M. H. and Ismail M. I. M., “Synthesis and Some Physical Properties of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles”, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7, 5734-5745, 2012.
- [16] Jordan A., Wust P., Scholz R., Tesche B., “Cellular uptake of magnetic fluid particles and their effects on human adenocarcinoma cells exposed to AC magnetic fields in vitro”, *International Journal of Hyperthermia*, 12, 705–722, 1996