

Méretvariált magnetit nanorészecskék előállítása és felületmódosítása polianionos védőrétegekkel

Doktori (Ph.D.) értekezés

Tóth Ildikó

Témavezetők:

Dr. Tombácz Etelka
egyetemi tanár, MTA doktora

Dr. Illés Erzsébet
tudományos munkatárs

Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék

Szeged

2013

Tartalomjegyzék

Rövidítések	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés és célkitűzés	6
2.1. Vas-oxidok	6
2.2. Mágnesesség	8
2.3. Mágneses folyadékok (MF)	10
2.4. Szilárd/folyadék határfelület vizes rendszerekben	12
2.4.1. Felületi töltés felhalmozódása szilárd/folyadék határfelületben	13
2.4.2. Az elektromos kettősréteg	15
2.5. Részecske-részecske kölcsönhatások kolloid diszperziókban	16
2.6. Kolloidstabilitás	19
2.7. Mágneses vas-oxidok szintézise	20
2.8. Mágneses vas-oxid nanorészecskék felületmódosítása	21
2.9. Az MNP felületmódosításához használt polielektrolitok bemutatása	24
2.10. Célkitűzés	25
3. Kísérleti anyagok és módszerek	27
3.1. Kísérleti anyagok	27
3.2. Vas-oxid nanorészecskék szintézise	28
3.2.1. Magnetit nanorészecskék előállítása ko-precipitációval	28
3.2.2. Vas-oxid nanorészecskék előállítása oxidációs-precipitációval	29
3.3. Kísérleti módszerek	31
3.3.1. Röntgen diffrakciós analízis (XRD)	31
3.3.2. Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM)	32
3.3.3. Vibrációs magnetometria (VSM)	33
3.3.4. Potenciometriás sav-bázis titrálás	33
3.3.5. Ultraibolya (UV) spektrofotometria	35
3.3.6. Sűrűségmérés	37
3.3.7. Adszorpció izoterma meghatározása	37
3.3.8. Gyengített totálreflexiós Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR)	38
3.3.9. Dinamikus fényszórás mérés (DLS)	40
3.3.10. A zéta-potenciál meghatározása	42
3.3.11. Koagulálás kinetikai mérések	43
3.3.12. Atomspektroszkópia (induktív csatolású plazmával, ICP)	44
3.3.13. A citotoxicitás vizsgálata	45
3.3.14. A vérsüllyedés mérése	46
4. Kísérleti eredmények bemutatása és értelmezése	48
4.1. Mágneses vas-oxid nanorészecskék előállítása	48
4.1.1. Ko-precipitációs eljárással előállított magnetit nanorészecskék	48
4.1.2. Oxidációs-precipitációs eljárással előállított vas-oxid nanorészecskék	49
4.1.2.1. Az oxidációs-precipitációs eljárás paramétereinek optimalizálása mágneses vas-oxid nanorészecskék előállítása céljából	49
4.1.2.2. A részecskék összenövésének megakadályozása az oxidációs-precipitációs szintézis során	56
4.1.3. A ko-precipitációs és az oxidációs-precipitációs eljárásokkal előállított magnetit nanorészecskék összehasonlító jellemzése	61

4.2. A szuperparamágneses magnetit nanorészecskék felületmódosítása	66
4.2.1. A felületmódosításhoz használt polielektrolitok pH- és ionerősségfüggő töltésállapotának jellemzése potenciometriás sav-bázis titrálással	66
4.2.2. A polielektrolitok adszorpciós izotermái magnetit nanorészecskéken	70
4.2.3. A polielektrolitok megkötődésének vizsgálata magnetit nanorészecskék felületén ATR-FTIR módszerrel	73
4.2.3.1. A PAA/MNP rendszer jellemzése	74
4.2.3.2. A PAM/MNP rendszer jellemzése	76
4.2.3.3. A CSA/MNP rendszer jellemzése	79
4.2.4. A polielektrolitok mennyiségének és a pH-nak a hatása a magnetit nanorészecskék töltésállapotára és aggregációjára	82
4.2.4.1. A polielektrolitok mennyiségének hatása a magnetit nanorészecskék töltésállapotára és aggregációjára pH ~6,3-nál	82
4.2.4.2. A PE/MNP rendszerek izoelektromos pontjának (IEP) és az adszorpció mechanizmusának kapcsolata pH ~6,3-nál	83
4.2.4.3. A pH hatása a magnetit nanorészecskék töltésállapotára és aggregációjára a polielektrolitok különböző mennyiségeinek jelenlétében	86
4.2.5. A PE/MNP rendszerek sötűtésének vizsgálata koagulálás kinetikai kísérletekkel	88
4.2.6. A PE/MNP rendszerek oldott vastartalmának meghatározása	91
4.2.7. A PE/MNP rendszerek citotoxicitásának vizsgálata	92
4.2.8. A PE/MNP rendszerek hatása a vérsüllyedésre	94
5. Összefoglalás	96
6. Summary	101
Irodalomjegyzék	106
Köszönetnyilvánítás	118

RÖVIDÍTÉSEK

ATR-FTIR	gyengített totálreflexiós Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia
BSA	szarvasmarha szérum albumin (bovin serum albumin)
CCC	kritikus koaguláló elektrolitkoncentráció
–COOH/–COO [–]	karboxil- és karboxilátcsoporthoz tartozó együttes mennyisége
CSA	kondroitin-szulfát-A nátrium sója (az itt használt minta speciálisan előkészített, részben kondroitin-szulfát-C-t tartalmaz), a mennyisége (mmol) –COOH/–COO [–] csoportra, azaz ismétlődő egységenként van megadva
CSA/MNP	kondroitin-szulfát-A-val felületmódosított magnetit nanorészecske
DLS	dinamikus fényszórás
ESR	eritrocita süllyedés (erythrocyte sedimentation rate)
≡Fe–OH	a magnetit felületi –OH helye
ICP	induktív csatolású plazma (emissziós atomspektroszkópia)
IEP	izoelektromos pont
karboxil(át)csoport	karboxil- és karboxilátcsoporthoz tartozó együttes mennyisége
magnetit	magnetit, ami részben maghemitet tartalmazhat
mmol/g	a polielektrolitok (PAA, PAM, CSA) fajlagos mennyiségének megadása: a savas csoportok (–COOH/–COO [–]) összmennyisége (mmol) 1 g magnetitre vonatkoztatva
MF	mágnesező folyadék
MNP	(magnetite nanoparticle) magnetit nanorészecske
MTT-teszt	citotoxicitás vizsgálata MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromid]-reagenssel
NaHCSA	részben hidrogén formájú kondroitin-szulfát-A
Na ₂ CSA	kondroitin-szulfát-A nátrium sója (általában csak a CSA rövidítés használt)
PAA	poliakrilsav (az itt használt minta ~1800 Da), a mennyisége (mmol) –COOH/–COO [–] csoportra, azaz ismétlődő egységenként van megadva
PAA ₅₀₀₀	poliakrilsav (~5000 Da)
PAA ₁₀₀₀₀₀	poliakrilsav (~100000 Da)
PAA/MNP	poliakrilsavval (~1800 Da) felületmódosított magnetit nanorészecske
PAM	poli(akrilsav-ko-maleinsav) (~3000 Da), a mennyisége (mmol) –COOH/–COO [–] csoportra, azaz 1/3 ismétlődő egységenként van megadva
PAM/MNP	poli(akrilsav-ko-maleinsav)-val felületmódosított magnetit nanorészecske
PE	polielektrolit
PE/MNP	polielektrolittal felületmódosított magnetit nanorészecske
PEG	polietilén-glikol (~20000 Da)
PZC	(point of zero charge) zérustöltés pontja
SPION	(superparamagnetic iron oxide nanoparticles) szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskék
TEM	transzmissziós elektronmikroszkópia
UH	ultrahangos kezelés
UV	ultraibolya
VSM	vibrációs magnetometria
XRD	röntgen diffrakciós analízis
Z _{átlag}	DLS módszerrel mért átlagos hidrodinamikai részecskeméret (átmérő)

1. Bevezetés

A vas széles körben elterjedt a természetben, II-es és III-as oxidációs formája számos vas-oxidot / vas-hidroxidot és vas-oxid-hidroxidot képez, például a ferrimágneses tulajdonságú magnetitet (Fe_3O_4) és maghemitet ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (Cornell and Schwertmann, 1996). A kolloid mérettartományban (1 - 1000 nm) a mágneses anyagok mágneses tulajdonságai függenek a részecskék méretétől. A tömbfázisú magnetit multi-domén szerkezetű ferrimágneses tulajdonságú anyag, melynek az egy-domén multi-domén határánál (~120 nm) a legnagyobb a maradó (remanens) mágnesezettsége. A nanorészecskék a szuperparamágneses méretlimit (magnetit esetén ~20 nm) alatt szuperparamágneses tulajdonságot mutatnak, azaz a részecskék mágneses momentumai csak külső mágneses tér hatására rendeződnek, a remanens mágnesezettségük így nulla (Cornell and Schwertmann, 1996; Dunlop and Özdemir, 1997).

Az irodalomból számos módszer ismert a magnetit szintézisére: szol-gél eljárás, mikroemulziós eljárás, hidrotermális szintézis, magas hőmérsékletű lebontás, kicsapásos (precipitációs) szintézis, stb.. A precipitációs szintézis kedvelt, mert vizes közegben, egyszerű eszközökkel, nagyobb mennyiségű magnetitet lehet így előállítani. Változatai a ko-precipitációs, az oxidációs-precipitációs és redukciós-precipitációs eljárás (Cornell and Schwertmann, 1996; Gupta and Gupta, 2005; Lu et al., 2007; Laurent et al., 2008; Teja and Koh, 2009; Nyirő-Kósa et al., 2009; Roca et al., 2009; Boyer et al., 2010; Krishnan, 2010; Lodhia et al., 2010). Az irodalomban publikált szintézisek reprodukálása azonban számos esetben problémás, és a közölt részecskeméretek több esetben meglehetősen eltérőek.

A szuperparamágneses vas-oxid (magnetit, maghemit) nanorészecskék egyik alkalmazási területe a mágneses folyadékok (MF) előállítása, mely iránt egyre nagyobb az érdeklődés a napjainkban folyó kutatások számos területén (Pankhurst et al., 2003; Sahoo et al., 2005; Scherer and Figueiredo Neto, 2005). A MF-ok különleges tulajdonságai közé tartozik, hogy külső mágneses térrel mozgathatók (Zrínyi, 1999; Butter, 2003). A szerves közegű MF-ok technikai alkalmazásokban terjedtek el (pl. merevlemezek tengelytömítése, HiFi hangszórók membránjainak felfüggesztése). A vizes közegű MF-ok használatát pedig az orvostudományok területén tervezik: MRI (magnetic resonance imaging) kontrasztanyag, hatóanyag célzott szállítása, hipertermiás kezelés, mágneses sejt szeparáció (Fauconnier et al., 1999; Pankhurst et al., 2003; Gupta and Gupta, 2005; Jain et al., 2008; Munnier et al., 2008).

A mágneses folyadékok orvos-biológiai felhasználhatóságának kritériuma, hogy a részecskék ne tapadjanak össze, ne aggregálódjanak fiziológiás körülmények között (pl. a vérben pH ~7,2 – 7,4; 0,15 mol/dm³ NaCl) (Fauconnier et al., 1999; Gonzalez et al., 2002; Şincai et al., 2002; Park et al., 2009). A csupasz magnetit nanorészecskék nem teljesítik ezt a feltételt, így a részecskék felületét módosítani kell, hogy elérjük a MF-ok elvárt kolloidstabilitását. Az irodalomból számos lehetőség ismert a MF-ok stabilitásának növelésére (Pankhurst et al., 2003; Saiyed et al., 2003; Bahadur and Giri, 2003; Gupta and Gupta, 2005). Az egyik az elektrosztatikus taszítóerők növelésére törekszik, például több karboxilcsoportot tartalmazó kismolekulákat (pl. citromsav) kötnek a magnetit nanorészecskék felületére, így azok pH ~7,4-n deprotonálódva nagy negatív töltést alakítanak ki a felületi rétegben, meggátolva a részecskék aggregációját. Másik lehetőség, hogy makromolekulákat (pl. dextrán) kötnek a nanorészecskékre, amik sztérikusan akadályozzák meg azok összetapadását. Lehetséges a kettő hatás kombinálása is, például karboxilcsoportokat tartalmazó makromolekulákkal (pl. poliakrilsav) módosítják a magnetit nanorészecskék felületét, így kialakítva egy kombinált elektrosztérikus védőréteget (Laurent et al., 2008; Amstad et al., 2011). A kolloidstabilitás korrekt jellemzése koagulálás kinetikai vizsgálatokkal lehetséges.

A mágneses folyadékok orvos-biológiai felhasználhatóságának másik kritériuma, hogy a MF nem lehet toxikus, ennek vizsgálata többek között akut és krónikus toxicitási mérések elvégzésével lehetséges, például MTT-teszt alkalmazásával.

A Szegedi Tudományegyetem volt Kolloidkémiai Tanszékén, jelenleg Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszékén, a Vizes Kolloidok Kutatócsoportban már egy évtizede foglalkoznak mágneses folyadékokkal. Az első MF-ot a környezeti rendszerek tanulmányozása során állították elő, ez humuszanyaggal felületmódosított magnetit nanorészecskéket tartalmazott. A későbbiekben szisztematikus vizsgálatok indultak a mag/héj nanorészecskék felhasználásával előállított mágneses folyadékok lehetséges orvos-biológiai alkalmazásait szem előtt tartva.

2. Irodalmi áttekintés és célkitűzés

2.1. Vas-oxidok

A vas a litoszféra harmadik leggyakoribb eleme, a környezetben elemi állapotban nem fordul elő, de a II-es és III-as oxidációs formája 16 ismert vas-oxidot, vas-hidroxidot és vas-oxid-hidroxidot képez. Ezek közül néhányat a jellemző tulajdonságaikkal együtt a 2.1. táblázatban mutatok be (Bigham et al, 2002; Cornell and Schwertmann, 1996).

2.1. táblázat Néhány vas-oxid, vas-hidroxid illetve vas-oxid-hidroxid és jellemző tulajdonságaik (Cornell and Schwertmann, 1996)

vegyület	képlet	mágneses tulajdonság (szobahőmérsékleten)	szín
magnetit	Fe_3O_4	ferrimágneses	fekete
hematit	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	antiferromágneses	vörös
maghemit	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	ferrimágneses	barna
goethit	$\alpha\text{-FeOOH}$	antiferromágneses	sárga
vas(II)-hidroxid	$\text{Fe}(\text{OH})_2$	antiferromágneses	színtelen
zöldrozsda	$[\text{Fe}^{\text{II}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2]^{+x}$	antiferromágneses	kékeszöld

A természetben előforduló, változatos összetételű vas-tartalmú ásványok a különböző körülmények (hőmérséklet, kémhatás, hidratáltság mértéke, oxidáció foka, anionok jelenléte, stb.) megváltozásával képesek egymásba átalakulni. Ezeknek a vegyületeknek a képződését és az átalakulási folyamataikat a 2.1. ábrán mutatom be a megjelölt irodalomból (Cornell and Schwertmann, 1996) vett reprezentációval. Fontos megjegyezni, hogy a 2.1. ábra nem ad teljes képet a rendszerről, például nem tartalmazza a magnetit zöld rozsdán keresztül történő keletkezését, mégis jól jellemzi a rendszer komplexitását.

A vas-oxidok, vas-hidroxidok és a vas-oxid-hidroxidok átalakulásai során a legstabilabb a hematit (vörösvasérc, $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), ami vörös színű, antiferromágneses vas-oxid. A hematit stabilitásának oka, hogy benne a vasionok csak III-as oxidációs formában vannak jelen, és az anyag további vízvesztést sem szenvedhet. A hematit a hexagonális kristályosztályba tartozik (Cornell and Schwertmann, 1996; Pápay, 1994).

A goethit (tűzvasérc, bársonyvasérc, $\alpha\text{-FeOOH}$) sárga színű, antiferromágneses ásvány, ami tűszerű kristályokat alkot. A vasionokat csak III-as oxidációs formában tartalmazza, azonban vízvesztés során hematitté alakulhat (Cornell and Schwertmann, 1996; Pápay, 1994).

2.2. Mágnesesség

Minden anyagban külső mágneses erőter hatására mágneses momentum indukálódik. A mágneses tér és az anyag kölcsönhatásának jellemzésére a mágnesezettség (\vec{M}) és a mágneses szuszceptibilitás (χ_m) szolgál, ugyanis egy \vec{H} erősségű mágneses térbe helyezve az anyagot, abban az 1. egyenlettel megadható \vec{M} nagyságú mágnesezettség indukálódik.

$$\vec{M} = \vec{H} \cdot \chi_m \quad (1)$$

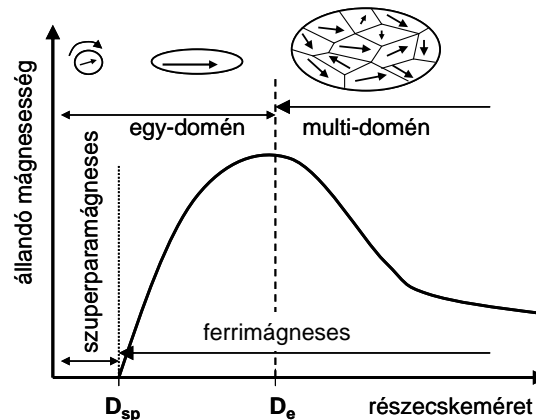
A kölcsönhatás erőssége és iránya alapján megkülönböztetünk diamágneses, paramágneses, ferromágneses, ferrimágneses, antiferromágneses és szuperparamágneses anyagokat. Diamágnesesek azok a részecskék, melyek alapállapotban nem rendelkeznek mágneses momentummal, mert a lezárt elektronhéjakban a spinek kompenzálják egymás hatását. Mágneses erőter hatására azonban a molekula vagy ion elektronfelhője polarizálódik és mágneses momentum indukálódik, ami ellentétes az alkalmazott külső mágneses tér irányával. Paramágnesesek azok a részecskék, amelyek alapállapotban úgynevezett permanens mágneses momentummal rendelkeznek, mivel a molekulában párosítatlan elektronspinek találhatók. Ezek a permanens mágneses momentumok az alkalmazott külső térrel párhuzamosan állnak be. Egy adott hőmérséklet (Curie- illetve Néel-hőmérséklet) alatt a paramágneses anyagok fázisátalakuláson mennek át, a rendeződés után háromféle mágnesezettség alakulhat ki (2.2. ábra). Ha a részecske elemi cellájában lévő ionok mágnesessége azonos irányú, az anyag ferromágneses. Ha az elemi cella kétféle ionjának mágnesezettsége ellentétes irányú és egyenlő nagyságú, akkor ez antiferromágneses anyagot eredményez. Ferrimágneses tulajdonság pedig akkor alakul ki, ha az elemi cella kétféle ionjának mágnesezettsége két különböző főirányba mutat, de azok nem oltják ki egymást (Atkins, 2002; Cornell and Schwertmann, 1996).



2.2. ábra A mágneses momentumok elrendeződése atomról atomra
a) ferromágneses, b) antiferromágneses, c) ferrimágneses anyagokban

A ferromágneses illetve ferrimágneses anyagok részecskéi úgynevezett doménekből (tartományokból) épülnek fel, egy-egy doménen belül a mágneses spinek

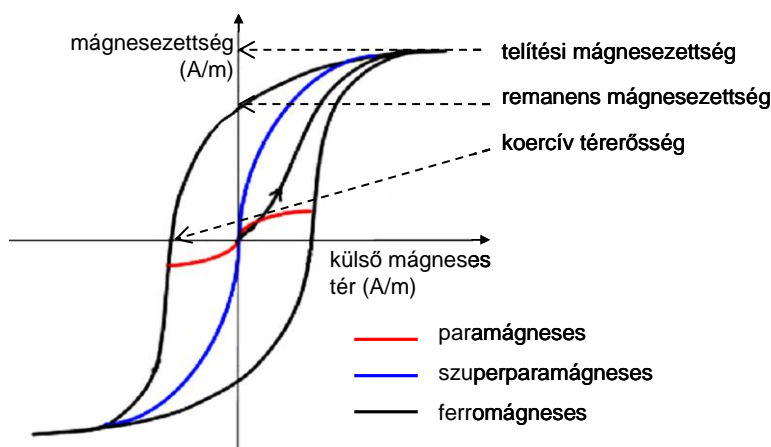
azonos irányban állnak. Egy adott részecske domén-szerkezete függ annak anyagi minőségétől, alakjától és méretétől (Harris, 2002; Blanco-Mantecon and O'Grady, 2006), ez utóbbit a 2.3. ábrán mutatom be. Az úgynevezett egy-domén limit (D_e) alatti részecskeméret esetében a kristályok mágneses egy-domén állapotban vannak, azaz egyetlen mágneses domént tartalmaznak, ennek következtében általában nagy állandó mágneses momentummal rendelkeznek. Az úgynevezett szuperparamágneses limitnél ($D_{sp} < D_e$) kisebb méretű részecskék mintájában a mágneses indukció iránya a hőmozgás miatt folyamatosan változik, így az anyag nem rendelkezik állandó mágneses momentummal, a részecskék szuperparamágnesesek. A D_e -nél nagyobb szemcseméret esetén a részecskékben kettő vagy több domén alakul ki (multi-domén szerkezet), melyekben a mágneses momentum iránya eltérő, így ezeknek a részecskéknek az állandó mágneses momentuma kisebb, mint az egyetlen domént tartalmazó részecskéké. A magnetit esetében a $D_{sp} \sim 20$ nm és a $D_e \sim 120$ nm (Dunlop and Özdemir, 1997; Baumgartner et al., 2013; Krishnan, 2010).



2.3. ábra Domén-szerkezetek és mágneses tulajdonságok a részecskeméret függvényében
(D_{sp} : szuperparamágneses limit, D_e : egy-domén limit)

A paramágneses, ferromágneses (és ferrimágneses) illetve szuperparamágneses anyagok külső mágneses térrel szembeni viselkedése mágnesezettségi görbékkel jellemezhető (2.4. ábra). A paramágneses anyagok esetében a külső mágneses tér hatására kismértékű mágnesezettség alakul ki, ami megszűnik a mágneses tér kikapcsolásával. Hasonló viselkedést mutatnak a szuperparamágneses anyagok is, azonban az ekkor kialakuló mágnesezettség nagysága összemérhető a ferromágneses anyagok esetében kapott értékekkel. A ferromágneses (és ferrimágneses) anyagok esetében a mágnesezettségi görbe hiszterézis hurkot tartalmaz és maradó mágnesezettség figyelhető

meg. A mágnesezettségi görbéknek három karakterisztikus pontja van: a telítési mágnesezettség (M_s), a remanens mágnesezettség (M_r) és a koercitív térerősség (H_c).

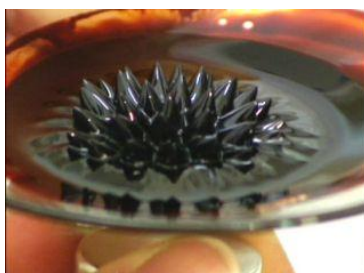


2.4. ábra A paramágneses, a szuperparamágneses, valamint a ferromágneses (és ferrimágneses) anyagok jellemző mágnesezettségi görbéi

Tömbfázisban a magnetit és maghemit ferrimágneses tulajdonságú, a részecskeméretet a D_{sp} alá csökkentve viszont szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskék (superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPION) keletkeznek. A SPION részecskéket megfelelő közegben diszpergálva mágneses folyadékokat (MF) lehet előállítani, ferrimágneses vas-oxid nanorészecskék felhasználásával pedig magnetoreológiai folyadékok készíthetők (Zrínyi, 1999; Jun et al., 2005; Vekas, 2008).

2.3. Mágneses folyadékok (MF)

A mágneses folyadékok (MF) szuperparamágneses nanorészecskék folyadék fázisú közegben történő diszpergálása során keletkeznek. A mágneses részecske általában vas-oxid (magnetit, maghemit) vagy kobalt-ferrit, az alkalmazott közeg pedig lehet szerves (hexán, kerozin, transzformátor olaj, stb.) és vizes fázisú is. A mágneses folyadékokban a mágneses részecskék térbeli eloszlása homogén a gravitációs térben és külső mágneses tér jelenlétében is, így kolloidálisan stabilak. Ha a mágneses folyadék elegendően sok részecskét tartalmaz, akkor a külsőleg alkalmazott mágneses tér a részecskékkel együtt a közeget is mozgatja, így a mágneses folyadékok külső mágneses térrel manipulálhatóak (2.5. ábra) (Pankhurst et al., 2003; Sahoo et al., 2005; Scherer and Figueiredo Neto, 2005; Zrínyi, 1999; Butter, 2003).



2.5. ábra Külső mágneses térrel manipulált mágneses folyadék

A mágneses folyadék az ember által előállított mesterséges anyag. A legkorábbi forrás szerint W. R. Grove 1845-ben Londonban magnetit részecskéket szuszpendáltatott vizes közegben, majd vizsgálta a mágneses tér hatását a rendszer fényáteresztő képességére (McKeehan, 1940). A mágneses folyadékok intenzív kutatása az 1960-as években indult meg a NASA kutatási központjában. A szerves közegű mágneses folyadékok alkalmazása manapság széles körben elterjedt mind az iparban, mind a mindennapi használati tárgyaink körében is (tengelyek tömítése például vákuumban vagy számítógépek merevlemezében, HiFi hangszórók membránjának felfüggesztése, autók lengéscsillapítója, tinta tintasugaras nyomtatókban) (NASA hivatalos honlapja; Zahn, 2001; US 20120225264 A1).

A vizes közegű mágneses folyadékok felhasználását biológiai rendszerekben tervezik (Bee et al., 1995; Blanco-Mantecona and O'Grady, 2006). A lehetséges orvos-biológiai alkalmazások a következők: MRI (magnetic resonance imaging) kontrasztanyaga, hatóanyag célzott szállítása, hipertermiás kezelés, mágneses sejt szeparáció (Fauconnier et al., 1999; Pankhurst et al., 2003; Gupta and Gupta, 2005; Jain et al., 2008; Munnier et al., 2008). Az orvos-biológiai célokra történő felhasználás során a mágneses folyadéknak számos feltételt kell kielégítenie. A MF nem lehet toxikus, kémiaiilag stabilnak kell lennie, a diszpergált részecskének egységes méreteloszlással kell rendelkezniük, és jól diszpergált, koloidálisan stabil rendszert kell alkotniuk az alkalmazás körülményei között is. Ez utóbbi azt jelenti, hogy a mágneses folyadék nem aggregálódhat a szervezetben, mindenképpen stabilnak kell lennie a fiziológiás körülmények között, például a vérben pH $\sim 7,2 - 7,4$ és $0,15 \text{ mol/dm}^3$ NaCl mellett, hogy ne alakulhasson ki veszélyt jelentő trombus vagy embólus. A koloidstabilitás koagulálás kinetikai vizsgálatokkal tesztelhető. Ezeket a feltételeket a borítatlan vas-oxid nanorészecskék nem teljesítik, így az alkalmazhatóság érdekében a részecskék felületét módosítani kell (Pankhurst et al., 2003; Tombácz et al., 2007; Tombácz et al., 2008; Hajdú et al., 2008). Annak biztosítása érdekében, hogy a MF ne legyen toxikus, főleg vas-oxidot alkalmaznak mágneses részecskéként. A toxikusság

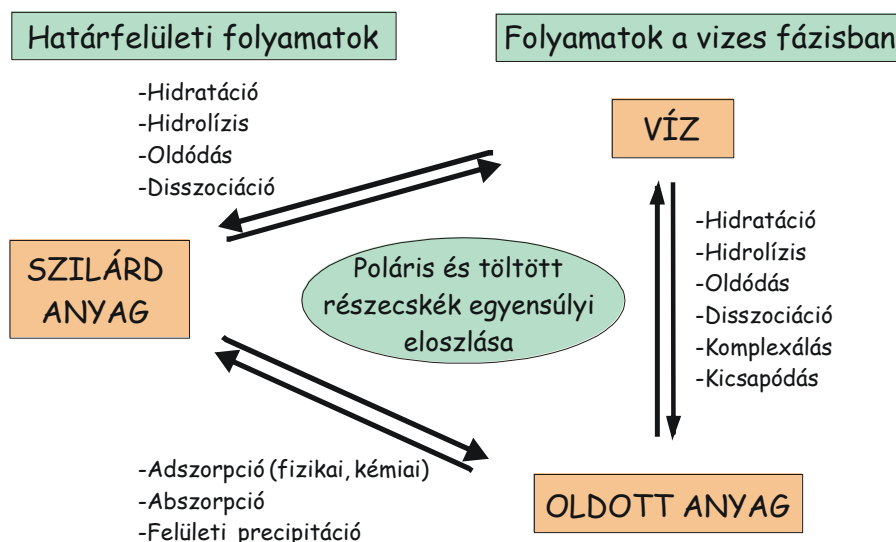
típusai közé tartozik például a karcinogén illetve mutagén hatás, az immun- és a neurotoxicitás, a fejlődési és reprodukció toxicitása. Adott anyag mérgezőképessége rendszerint erőteljesebb nanorészecskék esetében a nagy fajlagos felület miatt. A nanorészecskék toxicitását olyan tényezők is befolyásolják, mint a felületi töltés vagy a vasionok szabadgyök képzése által előidézett oxidatív stressz (Krishnan, 2010; Valko et al., 2005).

A szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskéknek a lehetséges orvos-biológiai alkalmazásokhoz meg kell felelniük a gyógyszerek jogszabályzásának. A gyógyszerek vizsgálata alapvetően két nagy csoportra osztható, preklinikaira és klinikaira. A preklinikai vizsgálatok során akut toxicitást (egyszeri beadás, rövid távú hatás), krónikus toxicitást (többszöri beadás, hosszú távú hatás) és farmakológia kísérleteket (gyógyszernek a szervezetre gyakorolt hatása) végeznek el. Az ISO 10993 szabvány (Orvostechikai eszközök biológiai értékelése) alapján lehetséges az adott anyag biokompatibilitásának a klinikai vizsgálatok előtti értékelése (ISO 10993; Krishnan, 2010). A preklinikai vizsgálatok során *in vitro* („üvegben”) és *in vivo* („élő szervezetben”) kísérletekre van lehetőség. Az előbbi során sejtenyészetet, vagy adott szervet, szövetet (pl. vér) használnak, az utóbbiak pedig az állatkísérletek. Közismert eljárás például az akut és a krónikus toxicitás vizsgálata humán sejteken MTT-tesztel elvégzett citotoxicitási kísérletekkel, a fehérje adszorpció vizsgálata elektroforézises eljárással vagy a vérrel való kölcsönhatás tanulmányozása vérsüllyedéssel (Gupta and Curtis, 2004; Krishnan, 2010; Piva et al., 2007; Westergren, 1926; Mosmann, 1983; Soenen and Cuyper, 2009). A klinikai vizsgálatokat szigorú szabályozás mellett (Russel and Burch, 1959) embereken végzik el megkülönböztetve 1-es, 2-es, 3-as és 4-es fázisú klinikai vizsgálatokat. Így készültek el például az MRI kontraszt anyagként kifejlesztett termékek is, a dextránnal borított SPION (Endorem) és a karboxidextránnal borított SPION (Resovist) (Qiao et al., 2009).

2.4. Szilárd/folyadék határfelület vizes rendszerekben

Amikor szilárd anyag és folyadék érintkezik, a szilárd/folyadék határfelület a szilárd anyag, az oldott spécieszek és az oldószer között lejátszódó egyensúlyi folyamatok eredményeként alakul ki. Vizes rendszerekben a következő egyensúlyi folyamatokat kell figyelembe venni: hidratáció, hidrolízis, oldódás, adszorpció, abszorpció, a funkció

csoportok disszociációja, komplexképződési és kicsapódási (precipitációs) reakciók. Ezeknek a folyamatoknak a kapcsolatát sematikusán a 2.6. ábrán mutatom be (Tombácz, 2002; Illés, 2005).



2.6. ábra A szilárd/folyadék határfelület és a homogén vizes fázis lehetséges egyensúlyainak sematikus ábrázolása (Tombácz, 2002; Illés, 2005)

A 2.6. ábrán bemutatott folyamatok egymással bonyolult egyensúlyban vannak, így bármelyik részfolyamat egyensúlyának eltolódása hatással van a többi folyamatra is. Például az irodalomból ismert, hogy pH ~6,5-nél elhanyagolható mennyiségű vas oldódik ki a magnetitből (Cornell and Schwertmann, 1996; Illés and Tombácz, 2006), azonban ha erős komplexképző van jelen a rendszerben, akkor az a kioldott vasionok komplexálása révén nagymértékben eltolja az oldódási egyensúlyt (Mehra and Jackson, 1958). Ez a folyamat fontos lehet a mágneses folyadékok orvos-biológiai felhasználása során, mert az esetlegesen nagy mennyiségben kioldódott vasionok jelenléte káros lehet a szervezetre, például megnövekedett oxidatív stresszt eredményezve (Krishnan, 2010; Valko et al., 2005).

2.4.1. Felületi töltés felhalmozódása szilárd/folyadék határfelületben

A vízben diszpergált szilárd részecskék kétféleképpen válhatnak töltéshordozóvá, egyrészt a szilárd fázis szerkezetében rögzített állandó (permanens) töltéseket hordozhatnak, másrészt különböző folyamatok eredményeként kialakulhatnak a vizes fázis összetételétől függő, változó töltéseik (Sposito, 1992).

Állandó töltés alakul ki például agyagásványok és zeolitok esetében, ha a kristályrácsban izomorf, de nem sztöchiometrikus ion-helyettesítés következik be (Al^{3+} -, illetve Si^{4+} -ionok helyettesítése Mg^{2+} - illetve Al^{3+} -ionokkal). A rácsban így negatív töltésfelesleg alakul ki, a töltéshelyek száma pedig független a közeg összetételétől (kémhatás, ionerősség, stb.) (Johnston and Tombácz, 2002).

A vizes fázis összetételétől függő, változó töltések különböző határfelületi folyamatokban alakulhatnak ki: potenciál-meghatározó ionok adszorpciója (például Ag^+ -ion az AgI felületen), más típusú ionok adszorpciója (például H^+ -ion oxidfelületen), kovalens kötésű felületi csoportok disszociációja (például szulfát- és karboxilcsoport) (Lyklema, 1991; Sposito, 1992). A változó felületi töltéssel rendelkező szilárd anyagok esetében a kialakuló töltés előjelét és nagyságát a részecske anyagi minősége és a specifikusan adszorbeálódó ionok oldatbeli aktivitása együttesen határozza meg.

Az oxid-típusú szilárd részecskék felületi (S) csoportjainak (S-OH) vizes közegben történő protonálódási és deprotonálódási reakcióit a 2. és 3. egyenletek írják le (Lyklema, 1995).



Az oxidok esetében a potenciál-meghatározó ion a H^+ és az OH^- , így a H^+ oldatbeli aktivitása, vagyis a pH határozza meg a felületi töltés előjelét és nagyságát (Lyklema, 1995; Lyklema, 1983). Az oxidokon kialakuló felületi töltéssűrűséget (σ_0) a 4. egyenlet írja le:

$$\sigma_0 = F \cdot (\Gamma_{\text{H}^+} - \Gamma_{\text{OH}^-}) \quad (4)$$

ahol a $(\Gamma_{\text{H}^+} - \Gamma_{\text{OH}^-})$ a H^+ - és OH^- -ionok Gibbs-többletének a különbsége, F pedig a Faraday-állandó. A részecskék felületi potenciálját (ψ_0) az 5. egyenlet határozza meg:

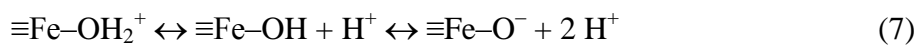
$$\psi_0 = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \frac{[H^+]}{[H^+]_{\psi_0=0}} \quad (5)$$

ahol R az egyetemes gázállandó, T a hőmérséklet, F a Faraday-állandó, és $\psi_0 = 0$ az anyagi minőségre jellemző referenciaállapot. Mivel a $\lg[H^+]_{\psi_0=0} = \text{PZC}$, így a felületi potenciál a 6. egyenlettel is megadható.

$$\psi_0 = 2,303 \cdot \frac{R \cdot T}{F} \cdot (\text{PZC} - \text{pH}) \quad (6)$$

Az oxidok felületi töltéssűrűségét kísérletileg meg lehet határozni, potenciometriás sav-bázis titrálás segítségével a nettó proton felületi töltéssűrűség közvetlenül mérhető (3.3.4. fejezet) (*Sposito, 1984; Sposito, 1992; Szekeres és Tombácz, 2012*). Az oxidok esetében a krisztallográfiai adatokból számított teljes felületi aktív hely sűrűség ~10 %-a válik töltéshordozóvá a titrálás során. A különböző ionerősségeknél meghatározott nettó felületi protontöbbleteket (3.3.4. fejezet) a pH függvényében ábrázolva olyan görbéket kapunk, melyek egymást egy pontban metszik. Ez a közös metszéspont a CIP (common intersection point). Amennyiben a CIP pontja egyértelmű és egybeesik a felület nulla töltésállapotával ($\sigma_0 = 0$), akkor az ehhez tartozó pH értéke a zérustöltés pont (PZC, point of zero charge). A PZC pH-értékénél az ideális körülmények között lévő oxid részecskéi indifferens elektrolit mellett töltésmentes állapotban vannak (*Lyklema, 1991, Lyklema, 1995, Kosmulski, 2001*).

A magnetit (Fe_3O_4) is ilyen oxid-típusú szilárd anyag, felületén $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ helyek találhatóak (*Sposito, 1984; Johnston and Tombácz, 2002; Cornell and Schwertmann, 1996; Sposito, 1992; Fokkink et al., 1987; Tombácz et al., 2001*). Az irodalmi adatok alapján a PZC értéke nagyon széles tartományt ölel fel (pH ~ 3,8 – 9,9) (*Cornell and Schwertmann, 1996; Sun et al., 1998; Marmier et al., 1999; Regazzoni et al., 1983*). Ennek oka az lehet, hogy a minták eredetében (természetes, szintetikus), előkészítésében, részecskeméretében és a mérési módszerekben is nagy eltérések vannak (*Tombácz et al., 2007; Szekeres and Tombácz, 2012*). A magnetit részecskéken a PZC-nél alacsonyabb pH-k esetében pozitív töltés alakul ki az $\equiv\text{Fe}-\text{OH}_2^+$ helyek miatt, a PZC-nél magasabb pH-értékeknél pedig a felületen a negatív töltés túlsúlyban van az $\equiv\text{Fe}-\text{O}^-$ helyek következtében. A felületi csoportokon lejátszódó reakciókat a 7. egyenlet írja le.



2.4.2. Az elektromos kettősréteg

A részecskék felületén lévő töltések a felületi potenciál kialakulásával lokális elektrosztatikus teret hoznak létre, ahol a töltések véges távolságon belül kiegyenlítődnek az elektroneutralitás miatt. Ez az úgynevezett elektromos kettősréteg kialakulását eredményezi, melynek külső, diffúz részében az ellenionoknak nagyobb, a ko-ionoknak

pedig kisebb a koncentrációja, mint az egyensúlyi tömbfázisban. A határfelület diffúz rétegében a potenciál változását a 8. egyenlet írja le:

$$\psi = \psi_0 \cdot e^{-\kappa \cdot x} \quad (8)$$

ahol ψ_0 a felületi potenciál, ψ az adott helyen lévő potenciál, x a távolság a felülettől, κ pedig a Debye-Hückel paraméter. A κ az ionerősség négyzetgyökével arányos ($\kappa = 3,288 \cdot \sqrt{I}$ (1/nm); 25 °C-on vízben, ha az I számolásnál az ionok koncentrációja mol/dm³-ben van megadva), a reciproka pedig megadja az elektromos kettős réteg kiterjedését, a diffúz réteg fiktív vastagságát (Debye távolság, $\delta = 1/\kappa$). Ennek alapján, ha nő az oldatfázisban az elektrolit koncentrációja, akkor a diffúz réteg vastagsága csökken, ugyanakkor az elektrolit mennyiségének csökkenése a kettős réteg diffúzabbá válását eredményezi. Amennyiben az ellenionok nem indifferentek, specifikus adszorpciójuk a részecske felületének áttöltődését is eredményezheti (Szántó, 1998; Everett, 1988; Hunter, 1987; Shaw, 1986).

Számos elmélet létezik, ami az elektromos kettős rétegben a határfelület töltéseinek megoszlását írja le. Az elektrosztatikai közelítések közé tartozik a Helmholtz-féle síkkondenzátor-modell (lineáris potenciálesés), a Gouy-Chapmann vagy diffúz kettősréteg modell (exponenciális potenciálesés), a Stern-modell (az adszorpciót és a felületi réteg szerkezetét is figyelembe veszi) valamint a Stern-Graham-modell (hármassréteg feltételezése a határfelületen: két lineáris és egy exponenciális potenciálesés). A töltéshordozó spécieszek felület közeli megoszlásának leírásához az elektrosztatika mellett a kémiai hozzájárulásokat is figyelembe kell venni. Ezek az úgynevezett felületi komplexálási modellek, melyek közül legközismertebbek a konstans kapacitás modell, a diffúz-réteg modell és a Stern-Graham vagy hármassréteg-modell (Sposito, 1984; Lyklema, 1995; James and Parks, 1982).

2.5. Részecske-részecske kölcsönhatások kolloid diszperziókban

A kolloid mérettartományba (~1 – 500 nm) eső részecskék a hőmozgás miatt véletlenszerűen, áramlás illetve ülepedés hatására pedig irányítottan ütközhetnek egymással. A részecskék az ütközés során bizonyos távolságra megközelítik egymást, így a határfelületi rétegeik átlapolódnak. A részecske-részecske kölcsönhatásokat lényegében a határfelületi réteg szerkezete határozza meg. Az ütköző részecskék közötti kölcsönhatás

alapvetően kétféle lehet: a vonzás és a taszítás. Megkülönböztethetőek a van der Waals kölcsönhatás, az elektromos kettősréteg kölcsönhatás és a szerkezeti (szterikus) erők. Mind a három kölcsönhatás lehet vonzó és taszító is (Hunter, 1987; Tombácz, 2003, Shaw, 1986; Elimelech et al., 1995).

A részecskék és a közeg anyagi minőségétől, valamint a részecskék geometriájától függő van der Waals kölcsönhatás általában vonzó, gömb alakú részecskék esetén leírására a 9. egyenletben bemutatott vonzási energia alkalmas:

$$V_A = -\frac{A_{132} \cdot a_1 \cdot a_2}{6 \cdot h \cdot (a_1 + a_2)} \quad (9)$$

ahol a_1 és a_2 a gömb alakú ütköző részecskék sugarai, h ($\ll a_1$) a részecskék távolsága, A_{132} pedig az 1 és 2 részecskék 3-s közegen keresztül történő kölcsönhatására vonatkozó Hamaker-állandó, ami mindig pozitív azonos minőségű (pl. 1-1 vagy 2-2) részecskék között, azonban különböző minőségű (pl. 1-2) részecskék között negatív értéket is felvehet (Hamaker, 1937; Israelachvili, 1985; Shaw, 1986).

Az elektromos kettősrétegek kölcsönhatása lehet vonzás és taszítás is, amit a részecskék töltésállapota és geometriája valamint a közegben lévő elektrolit mennyisége és minősége határoz meg. A gömb alakú részecskék elektromos kettősrétegeinek kölcsönhatását a 10. egyenlet írja le:

$$V_R = \frac{128 \cdot \pi \cdot a_1 \cdot a_2 \cdot n_\infty \cdot k \cdot T}{(a_1 + a_2) \cdot \kappa} \cdot \gamma_1 \cdot \gamma_2 \cdot e^{-\kappa \cdot h} \quad (10)$$

ahol a_1 és a_2 a gömb alakú ütköző részecskék sugarai, n_∞ az elektrolitkoncentráció a felülettől végtelen távolságra, κ a Debye-Hückel paraméter, h a részecskék távolsága, k a Boltzmann-állandó, T a hőmérséklet. A γ_1 és γ_2 az adott részecskék körüli diffúzió réteg potenciáljától (ψ_d) függő paraméter, kiszámítása a 11. egyenlet segítségével történik:

$$\gamma = \frac{e^{(z \cdot e \cdot \Psi_d)/(2 \cdot k \cdot T)} - 1}{e^{(z \cdot e \cdot \Psi_d)/(2 \cdot k \cdot T)} + 1} \quad (11)$$

ahol z az ion töltése és e az elemi töltés. Azonos minőségű részecskék kölcsönhatása mindig taszító, ellentétes töltésű részecskék esetében azonban a $V_R < 0$, azaz a kölcsönhatás vonzó (Elimelech et al., 1995).

A van der Waals kölcsönhatásból és az elektromos kettősréteg kölcsönhatásából származó erők együttesen az úgynevezett DLVO erők (Gyeryagin, Landau, Verwey és Overbeek híres elméleti fizikusok neveinek kezdőbetűiből) (Elimelech et al., 1995).

Az úgynevezett nem-DLVO erők közé tartoznak például a részecskéken adszorbeált rétegek jelenléte miatt fellépő rövid hatótávolságú hidratációs vagy szerkezeti (sztérikus) erők, amit gömb alakú részecskéken adszorbeálódó polimerek esetén a 12. egyenlet ír le:

$$V_S = 4 \cdot \pi \cdot a \cdot k \cdot T \cdot \left(\frac{1}{2} - \chi \right) \cdot \Gamma^2 \cdot e^{\left(1 - \frac{h}{2\delta} \right)} \quad (12)$$

ahol a a gömb alakú részecske sugara, χ a Flory-Huggins paraméter, Γ az adszorbeált többletmennyiség, h a részecskék távolsága, δ a Debye távolság, k a Boltzmann-állandó és T a hőmérséklet (*Elimelech et al., 1995*).

A diszperziót alkotó részecskék lehetnek mágnesek is, ebben az esetben a mindig vonzó mágneses kölcsönhatást a 13. egyenlet írja le:

$$V_M = - \frac{32 \cdot \pi^2 \cdot \chi_m^2 \cdot a^6 \cdot B_0^2}{9 \cdot \mu_0 \cdot h^3} \quad (13)$$

ahol a a gömb alakú részecske sugara, χ_m a részecske mágneses szuszceptibilitása, B_0 a mágneses indukció, μ_0 a mágneses permittivitás vákuumban és h a részecskék távolsága (*Svoboda and Zofka, 1983*).

A mágneses részecskéket tartalmazó szilárd/folyadék diszperz rendszerek kolloidstabilitást leíró eredő potenciál (V_T) (14. egyenlet) tartalmazza a van der Waals kölcsönhatást, az elektromos kettős réteg kölcsönhatását, a szerkezeti (sztérikus) erőket és a mágneses kölcsönhatást is (*Svoboda and Zofka, 1983; Ederbeck et al., 2006; Laurent et al., 2008*).

$$V_T = V_A + V_R + V_S + V_M \quad (14)$$

A diszperz rendszerek diszperzitásfoka a részecskék összetapadásával (aggregáció) csökken így a rendszer jó kolloidstabilitásának feltétele, hogy a részecskék ütközésekor azok összetapadása ne (vagy minél kisebb arányban) következzen be ($V_T > 0$). Ez vagy elektrosztatikus stabilizálással (V_R tag) vagy sztérikus stabilizálással (V_S tag) érthető el. Eszerint a részecskék vagy nagy mennyiségű és azonos előjelű töltéseket kell, hogy hordozzanak, ami taszítást eredményez a kettősrétegek átlapolódásakor; vagy a részecskéken adszorbeálódott molekulák a nagy felületi koncentrációjuk illetve a határfelületek átlapolódása során lokálisan kialakuló nagy koncentrációjuk révén biztosítanak megfelelő távolságot a részecskék között. Lehetséges a két hatás kombinálása is, ekkor a részecskék elektrosztérikusan stabilizálhatóak (*Shaw, 1986; Tombácz, 2003*).

2.6. Kolloidstabilitás

A diszperz rendszerek kolloidstabilitásán azt értjük, hogy a rendszer mennyire képes megtartani a diszperzitásfokát és viszonylag homogén méreteloszlását. A diszperzitásfok csökkenése a részecskeméret növekedésével jár, ez történhet folyamatosan lassú méretnövekedéssel (Ostwald-féle öregedés), vagy gyors folyamatban a részecskék összetapadásával (aggregáció vagy koaguláció) (Szántó, 1998). A koagulálás növekvő elektrolit-koncentrációval előidézett kolloid destabilizálás.

A kolloid mérettartományban a diszperz rendszerek termodinamikailag sohasem stabilak, a részecskék időben összetapadnak, aggregálódnak. A diszperzió koagulációjának sebessége attól függ, hogy a részecskék milyen valószínűséggel ütköznek és az összeütközött részecskék milyen valószínűséggel tapadnak össze (Shaw, 1986). A kolloidstabilitást, vagyis a részecskék ütközési hatékonyságát az érintkezésüket akadályozó energiágnak (teljes potenciál maximuma) a hőmozgás energiájához viszonyított nagysága határozza meg. A részecskék termikus energiája $\sim 20 - 25 k \cdot T$ (k a Boltzmann-állandó, T a hőmérséklet), ha az energiát magassága ennél nagyobb, akkor a diszperzió kinetikusan állandó. Az olyan rendszerekben azonban, ahol az energiát magassága a hőmozgás energiájával összevethető, az ütköző részecskék egy része már meg tudja közelíteni egymást annyira, hogy elérjék az eredő potenciál elsődleges minimumát, ahol a van der Waals vonzás már összetartja őket (Shaw, 1986).

A diszperz rendszerek az úgynevezett stabilitási tényezővel (W) jellemezhetőek, amit közelítőleg a 15. egyenlet ad meg:

$$W = \frac{1}{\kappa \cdot (a_1 + a_2)} \cdot e^{\frac{V_{T,max}}{k \cdot T}} \quad (15)$$

ahol a_1 és a_2 a gömb alakú ütköző részecskék sugarai, κ a Debye-Hückel paraméter, $V_{T,max}$ a teljes potenciál függvény maximuma, k a Boltzmann-állandó és T a hőmérséklet (Szántó, 1998). Mivel a részecskék akkor tapadnak össze, ha a termikus energiájuk révén le tudják küzdeni az érintkezésüket akadályozó energiát, így állandó hőmérséklet esetén a koagulálás a teljes potenciál maximumának csökkentésével érhető el. A közeg elektrolit tartalmának növelésével az ionerősség nő, ami a κ értékének növekedését és a $V_{T,max}$ értékének csökkenését eredményezi, ez pedig a stabilitási tényező csökkenését okozza. Egy diszperz rendszer koagulálása tehát adott hőmérsékleten a közeg elektrolit tartalmának növelésével előidézhető.

A koagulálás sebessége a $V_{T,max}$ értékétől függ. Amennyiben a $V_{T,max}$ összevethető a részecskék termikus energiájával, akkor a részecskék ütközésének bizonyos hányada azok összetapadásához fog vezetni, és lassú koagulálás játszódik le. Ha a részecskék között nincs taszítás, vagyis nincs a teljes potenciál függvényének maximuma, akkor a részecskék minden ütközése összetapadást eredményez, és a gyors koagulálás történik.

A gyors koagulálás kinetikájának elméleti hátterét Smoluchowski dolgozta ki, a lassú koagulálás tartományára pedig Fuchs vezette be a 16. egyenlettel megadott, kísérleti úton meghatározható lassítási vagy stabilitási tényezőt (W_{exp}):

$$W_{exp} = \frac{k_0}{k} \quad (16)$$

ahol k_0 a gyors és k a lassú koagulálás sebességi állandója. A kritikus koaguláltató elektrolitkoncentráció (CCC) az a legkisebb elektrolit koncentráció, ahol gyors koagulálás játszódik le ($k_0 = k$) (Holthoff et al., 1996; Schudel et al., 1997; Tombácz, 2003). A kolloidstabilitás korrekt kísérleti jellemzése koagulálás kinetikai mérésekkel lehetséges. Az elektrolit koncentrációjától függő koagulálás kinetikáját a részecskeszám, a zavarosság, a szórt fény intenzitás vagy a részecskeméret időbeli változásának mérésével követhető (Ottewill and Shaw, 1966).

A diszperz rendszerekről gyakran vizuális megfigyeléssel is eldönthető, hogy stabil vagy koagulált állapotban vannak-e. Kisebb részecskeméretű diszperzióknál (vas-oxid szol) a koagulált rendszerek zavarosabbak, mint a stabilok; nagyobb részecskeméretű minták (kaolin szuszpenzió) esetében pedig a koagulált rendszerek éles határfelülettel ülepednek és az üledékük laza szerkezetű, könnyen rediszpergálható (Tombácz, 2003).

2.7. Mágneses vas-oxidok szintézise

A mágneses vas-oxid nanorészecskék szintézisére számos módszer ismert az irodalomból (Schwertmann and Cornell, 1996; Gupta and Gupta, 2005; Lu et al., 2007; Laurent et al., 2008; Teja and Koh, 2009; Nyirő-Kósa et al., 2009; Roca et al., 2009; Boyer et al., 2010; Krishnan, 2010; Lodhia et al., 2010). Alkalmas módszer például a magas hőmérsékletű lebontás (Veintemillas-Verdaguer et al., 2002), a szol-gél eljárás (Casasa et al., 2002) a mikroemulziós eljárás (Lee et al., 1999), a hidrotermális szintézis (Daou et al., 2006; Wang et al., 2003), a precipitációs szintézisek, a γ -sugárzással kiváltott

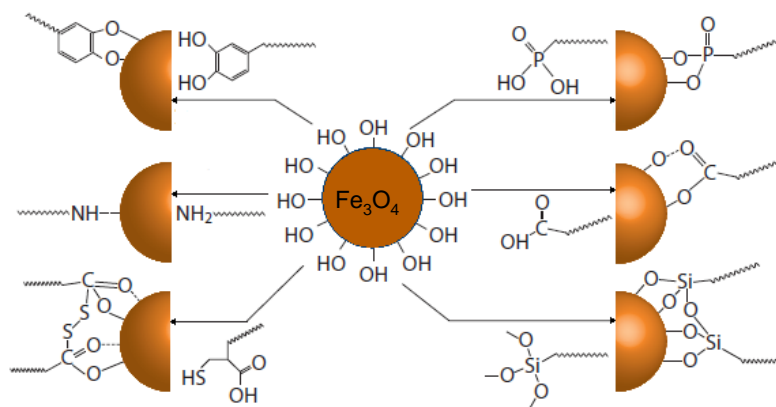
szintézis (Lee and Kang, 2004) és a Fe^{2+} -ionok ultrahangos kezelése (Vijayakumar et al., 2000) is a magnetit nanorészecskék előállítására.

A precipitációs szintézis kedvelt, mert vizes közegben, egyszerű eszközökkel, nagyobb mennyiségű magnetitet lehet így előállítani, három változata ismert, a ko-, az oxidációs- és a redukciós-precipitációs eljárás. A ko-precipitációs előállítás során Fe^{2+} - és Fe^{3+} -ionokat csapnak ki lúgos közegben (Liu et al., 2002; Asmatulu et al., 2005; Sipos, 2006; Bica et al., 2007; Vékás et al., 2006; Illés and Tombácz, 2006). Az oxidációs-precipitációs szintézis során Fe^{2+} -ionok kicsapásával és részleges oxidálásával (oxidálószer: NO_3^-) állítanak elő magnetitet (Vereda et al., 2008; Nishio et al., 2007; Thapa et al., 2004; Guang et al., 2007), a redukciós-precipitációs eljárás során pedig Fe^{3+} -ionok kicsapása és részleges redukálása (redukálószer: SO_3^{2-}) során keletkezik a magnetit (Qu et al., 1999).

Az irodalomban publikált szintézisek alapján a keletkező magnetit nanorészecskék alakja (kerekded, oktaéderes stb.) és mérete változtatható (Roca et al., 2009), azonban a közölt eljárások reprodukálása számos esetben problémás. A publikált részecskeméreteket több esetben megkérdőjelezték, ennek oka lehet a méret-meghatározási módszerek nem körültekintő alkalmazása, például a röntgen diffraktogramok Scherrer-módszer szerinti kiértékelését túl nagy részecskénél is alkalmazzák (Ungár, 2004).

2.8. Mágneses vas-oxid nanorészecskék felületmódosítása

A vizes közegű mágneses folyadékok nem stabilak a fiziológiai körülmények között (pH ~7,2 - 7,4; 0,15 mol/dm³ NaCl), így szükség van a kolloidstabilitásuk növelésére (Fauconnier et al., 1999; Gonzalez et al., 2002; Şincai et al., 2002; Park et al., 2009). A magnetit nanorészecskék felületmódosítása számos funkció csoporton keresztül történhet, ezek egy részét a 2.7. ábrán mutatom be (Boyer et al., 2010).



2.7. ábra Lehetséges funkciós csoportok magnetit nanorészecskék felületmódosítására
(Boyer et al., 2010)

A magnetit nanorészecskék stabilizálása a 2.5. fejezetnek megfelelően háromféle módon lehetséges: elektrosztatikus, sztérikus és elektrosztérikus védőréteg segítségével (Laurent et al., 2008; Amstad et al., 2011, Hajdú et al., 2008).

Az elektrosztatikus stabilizálás során a magnetitre a PZC-nél alig alacsonyabb pH esetben jellemző kicsi pozitív töltését nagy abszolút értékű negatív töltéssé módosítják, ehhez negatív töltést hordozó funkciós csoportokra van szükség az MNP felületén, például karboxilát-, vagy foszfátcsoportra. Olyan kismolekulákkal lehetséges az elektrosztatikus stabilizálás, melyeknek az MNP felületére történő adszorpciója után is van még az oldatfázis felé szabadon lévő funkciós csoportja. Az irodalomban az egyik legszélesebb körben alkalmazott ilyen molekula a citromsav (Laurent et al., 2008; Kallay and Matijević, 1985; Weissleder et al., 1989, Weissleder et al. 1990; Bee et al., 1995; Goodarzi et al., 2004; Sahoo et al., 2005; Răcuciu et al., 2006; Wilhelm and Gazeau, 2008; Munnier et al., 2008).

A sztérikus stabilizálás során a magnetit nanorészecskék felületén töltés nélküli makromolekulák találhatóak, melyek a részecskéket megfelelő távolságban tartják egymástól. Az irodalomban széles körben alkalmazott ilyen felületmódosító anyag például a természetes eredetű dextrán (Laurent et al., 2008; Berry et al., 2003; Molday and MacKenzie, 1982; Xu et al., 2005; US 4101435 A; US 5411730 A) vagy a szintetikus poli(etilén-glikol) (Laurent et al., 2008; Zhang et al., 2002; Barrera et al., 2009; Masoudi et al., 2012; Amici et al., 2011).

Az elektrosztérikus stabilizálás során két különböző típusú felületmódosító ágens használható. Az egyik során jellemzően karboxilátcsoportot tartalmazó amfifil molekulák találhatóak az MNP felszínén, úgynevezett kettős réteget kialakítva. Ebben az esetben az első réteg a felületre adszorbeálódik a karboxilátcsoporton keresztül, az apoláris láncokhoz

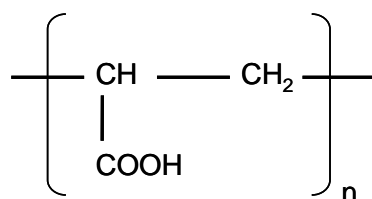
pedig a második réteg apoláris láncai kapcsolódnak hidrofób kölcsönhatáson keresztül. Így a második réteget alkotó molekuláknak a karboxilátcsoportjai a vizes fázis felől találhatóak. Az irodalomban az egyik legszélesebb körben alkalmazott ilyen molekula az olajsav (*van Ewijk et al., 1999; Avdeev et al., 2004; López-López et al., 2005; Bica et al., 2007*). Az elektrosztatikus stabilizálás polielektrolitokkal is lehetséges, ekkor az MNP felületén található makromolekuláknak a vizes fázis felé szabadon lévő funkciós csoportjai rendszerint negatív töltéseket alakítanak ki. Az irodalomban széles körben alkalmazott ilyen felületmódosító anyag például a szintetikus polakrilsav (*Laurent et al., 2008; Liao and Chen, 2002; Si et al., 2004; Lin et al., 2005; Liu et al., 2009*).

A felületmódosítást kétféleképpen lehet elvégezni (*Laurent et al., 2008*), a magnetit részecskék szintézise közben „in-situ” módon vagy a SPION részecskék szintézise és tisztítása után. Amennyiben a felületmódosító ágens a magnetit nanorészecskék előállításában adagoljuk (*Laurent et al., 2008; Liu and Huang, 1999; Molday and MacKenzie, 1982; Pardoe et al., 2001; US 5427767 A; Aoyagi et al., 2001; Lin et al., 2005*), akkor ennek jelenléte az előállítás közben szabályozhatja a keletkező részecskék méretét, alakját. Az így előállított mintákban a tisztítási folyamat után rendszerint nem jól definiált a felületmódosító ágens tényleges mennyisége. Amennyiben a magnetit nanorészecskéket először felületmódosító ágens jelenléte nélkül előállítják (ko-precipitáció) és tisztítják, akkor a részecskék jól jellemezhetőek a felületmódosítás előtt (*Hafeli et al., 1997; Arshady, 2001; Okassa et al., 2005; Hajdu et al., 2009; Hajdu et al., 2008*).

A magnetit nanorészecskék szintézise utáni felületmódosítás mennyiségi jellemzésére az oldatból meghatározott adszorpciós izotermák alkalmazhatóak. Az oldat adszorpció kísérleti úton történő vizsgálata egyszerűbb a gáz adszorpciónál, ugyanakkor a kiértékelése sokkal összetettebb feladat. Giles csoportosítása alapján négy izotermatípust különböztethetünk meg, az S-, az L- (Langmuir), a H- (high affinity), és a C- (constant) típusút (*Giles et al., 1974*). Polielektrolitok adszorpciója során a makromolekula csak néhány ponton kapcsolódik a felülethez, a polimer-lánc többi része többé vagy kevésbé mozgékony hurkok és láncvégek formájában a folyadékfázisban marad (*Shaw, 1986; Eirich, 1977; Fleer et al., 1993*).

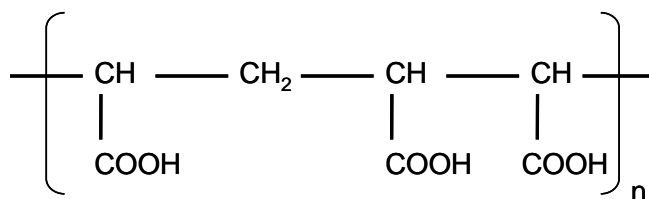
2.9. Az MNP felületmódosításához használt polielektrolitok bemutatása

A mesterségesen előállított poliakrilsav (PAA) akrilsav monomeregységekből épül fel, szerkezete a 2.8. ábrán látható. A molekula karboxilcsoportokat tartalmaz, ami a pH emelésével deprotonálódik ($pK_{\text{akrilsav}} \sim 4,25$), így a makromolekula negatív töltéseket fog hordozni (Furka, 1998; Bruckner, 1990). A PAA egy monomer egysége egy karboxil(át)csoportot tartalmaz, így a $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ csoportok összesített mennyiségére vonatkozó molekulatömege ~ 72 g/mol.



2.8. ábra A poliakrilsav (PAA) szerkezeti képlete

A mesterségesen előállított poli(akrilsav-ko-maleinsav) (PAM) ismétlődő egysége (2.9. ábra) egy akrilsav és egy maleinsav molekulából épül fel. A PAM molekula a PAA-hoz hasonlóan karboxilcsoportokat tartalmaz, ami a pH emelésével deprotonálódik ($pK_{\text{akrilsav}} \sim 4,25$, $pK_{\text{maleinsav},1} \sim 2,00$, $pK_{\text{maleinsav},2} \sim 6,26$), így a makromolekula szintén negatív töltéseket fog hordozni (Furka, 1998; Bruckner, 1990). A PAM egy ismétlődő egysége három karboxil(át)csoportot tartalmaz, így a $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ csoportok összesített mennyiségére vonatkozó molekulatömege $\sim (72 + 116)/3 = \sim 62$ g/mol.



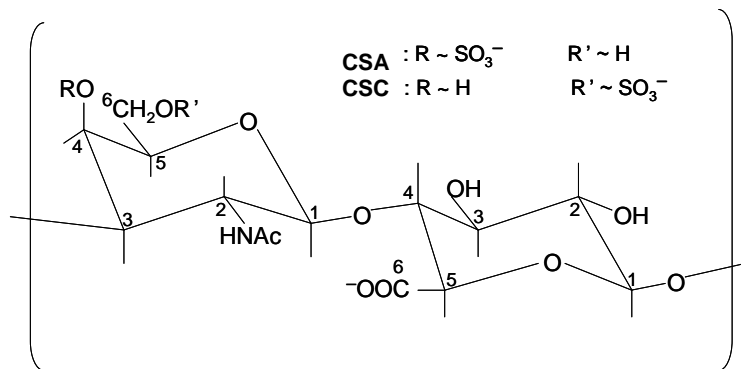
2.9. ábra A poli(akrilsav-ko-maleinsav) (PAM) szerkezeti képlete

A kondroitin-szulfát (CS) egy természetes eredetű poliszacharid, amely egy β -glükuronsav és egy N-acetil- β -galaktózamin egységből épül fel. A makromolekula szulfátcsoportokat is tartalmaz, azonban ezeknek a helye és mennyisége is különböző lehet. A szulfátcsoport helyétől függően a természetben előforduló leggyakoribb típusok az A, C, D és E (2.2. táblázat). Az emberi szervezetben a kondroitin-szulfát legfontosabb

feladata strukturális, a proteoglikánok részeként ugyanis az ízületi folyadék egyik alkotója (Lauder, 2009; Sugahara et al., 2003; Adam et al., 2004). A marhanyelöcsőből kinyert kondroitin-szulfát nátrium sója legalább 60 %-ban CSA-t tartalmaz, a maradék pedig CSC, ezek ismétlődő egységeinek szerkezete a 2.10. ábrán látható. A poliszacharid szulfátcsoportja az élő szervezetben uralkodó pH-viszonyok között ($\text{pH} > \sim 7$) deprotonált állapotban található (Bathe et al., 2005), a makromolekula karboxilcsoportja pedig a pH emelésével deprotonálódik ($\text{pK}_{\beta\text{-glükuronsav}} \sim 2,93$) (Wang et al., 1991), így a CS is negatív töltéseket hordozó polielektrolit. A CSA egy ismétlődő egysége egy karboxil(át)csoportot tartalmaz, így nátrium sójának a $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ csoportok összesített mennyiségére vonatkozó molekulatömege $\sim 503 \text{ g/mol}$.

2.2. táblázat A kondroitin-szulfát legfontosabb típusai

típus	jele	szinonima	szulfátcsoport helye	
			β -glükuronsav	N-acetil- β -galaktózamin
kondroitin-szulfát-A	CSA	kondroitin-4-szulfát		4-es szén
kondroitin-szulfát-C	CSC	kondroitin-6-szulfát		6-os szén
kondroitin-szulfát-D	CSD	kondroitin-2,6-szulfát	2-es szén	6-os szén
kondroitin-szulfát-E	CSE	kondroitin-4,6-szulfát		4-es és 6-os szén



2.10. ábra A kondroitin-szulfát-A (CSA) és kondroitin-szulfát-C (CSC) ismétlődő egységének szerkezete

2.10. Célkitűzés

Disszertációm fő célja az volt, hogy különböző méretű mágneses vas-oxid nanorészecskéket állítsak elő, illetve a szuperparamágneses magnetit nanorészecskék (MNP) felhasználásával olyan vizes közegű mágneses folyadékokat készítsék, melyek polielektrolittal (PE) burkolt mag/héj nanorészecskéket tartalmaznak, stabilitásukat hosszú

időn át megőrzik és fiziológiás körülmények mellett sem aggregálódnak. Erre a célra két, csak karboxil(át)csoportot tartalmazó szintetikus polielektrolit (poliakrilsav (PAA; $M_w \sim 1800$ Da) és poli(akrilsav-ko-maleinsav) (PAM; $M_w \sim 3000$ Da)), illetve egy természetes eredetű, a karboxil(át)csoport mellett szulfátcsoportot is tartalmazó poliszacharid (kondroitin-szulfát-A (CSA)) használatát terveztem.

A munkám során az alábbi rész-célkitűzéseket fogalmaztam meg:

- méretvariált mágneses vas-oxid (magnetit, részben maghemit) nanorészecskék előállítása ko-precipitációs és oxidációs-precipitációs eljárással;
- az oxidációs-precipitációs szintézis során (*Guang et al., 2007 módosítása*) a szisztematikusan változtatott paraméterek hatásának vizsgálata a keletkező vas-oxid röntgen diffrakciós analízissel (XRD) és transzmissziós elektronmikroszkópiával (TEM) meghatározható anyagi minőségére, méretére és morfológiájára;
- az előállított magnetit nanorészecskék összehasonlító jellemzése, aminek során a mágneses tulajdonság vibrációs magnetometriával (VSM), a nanorészecskék pH- és ionerősségfüggő töltésállapota potenciometriás sav-bázis titrálással és elektroforézissel, a részecskék aggregációja pedig dinamikus fényszórás (DLS) méréssel vizsgálható;
- a szuperparamágneses magnetit nanorészecskék felületmódosításához használt polielektrolitok pH- és -függő töltésállapotának jellemzése potenciometriás sav-bázis titrálással;
- a PE-ok magnetit részecskéken történő adszorpciójának ($\text{pH} \sim 6,3$ és $0,01 \text{ mol/dm}^3 \text{ NaCl}$) mennyiségi jellemzése adszorpciós izotermákkal, valamint a létrejött kötések meghatározása ATR-FTIR spektrumok elemzésével;
- a polielektrolittal burkolt mag/héj nanorészecskék felületi töltésállapot-változásának vizsgálata elektroforézissel, valamint az aggregációjának nyomonkövetése dinamikus fényszórás (DLS) méréssel;
- az előállított mágneses folyadékok tesztelése a lehetséges orvos-biológiai felhasználást szem előtt tartva, aminek során a sötétítést jellemző kritikus koaguláltató elektrolitkoncentrációt (CCC) koagulálás kinetikai mérésekkel, a készítmények oldott vastartalmát ICP atomspektroszkópia segítségével, a toxicitást MTT-teszttel, a vérrel való kompatibilitás pedig vérsüllyedés méréssel terveztem vizsgálni.

3. Kísérleti anyagok és módszerek

3.1. Kísérleti anyagok

Kísérleti munkámban rendszeresen használtam HCl-, NaOH-, KOH-, NaCl- és KCl-oldatot, melyeket Molar gyártmányú analitikai tisztaságú vegyszerekből készítettem.

A vas-oxidok szintézise és jellemzése során a következő vegyszereket használtam: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Molar); $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Alfa Aesar); $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Molar); NaNO_3 (Reanal); poliakrilsav: PAA₅₀₀₀ (Janssen Chimica, ~5000 Da, az 50 tömegszázalékos oldatból liofilizálva), PAA₁₀₀₀₀₀ (Aldrich, ~100000 Da, a 35 tömegszázalékos oldatból liofilizálva); H_2O_2 (Molar); polietilén-glikol: PEG (Sigma-Aldrich, ~20000 Da).

A ko-precipitációval előállított ~10 nm-es magnetit nanorészecskék felületmódosításánál felhasznált anyagok: poliakrilsav: PAA (Sigma-Aldrich, ~1800 Da); poli(akrilsav-ko-maleinsav): PAM (Sigma-Aldrich, ~3000 Da, 50 tömegszázalékos oldat); kondroitin-szulfát-A nátrium sója: Na_2CSA / CSA (Sigma-Aldrich, ≥ 60 % CSA, a maradék kondroitin-szulfát-C; a felhasználás előtt az anyagot speciálisan előkezelttem); kondroitináz ABC (Sigma-Aldrich, Proteus vulgarisból nyert); szarvasmarha szérum albumin: BSA (Sigma-Aldrich); trisz-(hidroximetil)-aminometán (Reanal); nátrium-acetát (Reanal).

A PAA és a CSA liofilizált por formájában állt a rendelkezésemre, így ezek víztartalmát termogravimetriás (TG, MOM 1500D derivatográf) mérés segítségével meghatároztuk, és a további számolások során ezt mindig figyelembe vettem. A CSA esetében a TG mérések során meghatározott hamutartalomból meg tudtam becsülni a poliszacharid ismétlődő egységeinek szulfonáltsági fokát is, ami 95 %-ra adódott.

A Na_2CSA -ból bizonyos mérésekhez hidrogén formát állítottam elő: Na_2CSA vizes oldatának pH-ját tömény sósavval pH ~1-re állítottam, majd az oldatot ultra tiszta vízzel szemben dializáltam, végül fagyaszttva szárítással por alakban kaptam meg a hidrogén formát.

A polielektrolitok (PAA, PAM, CSA) koncentrációját minden esetben a karboxil- és a karboxilátsoportok ($-\text{COOH}/-\text{COO}^-$) mmol mértékegységben megadott összmenyiségére vonatkoztatom.

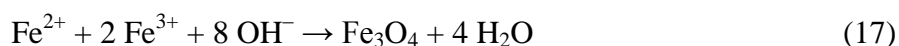
A különféle méréseket beállított pH-kon és rögzített NaCl koncentrációnál végeztem. A pH-t HCl- vagy NaOH-oldatok hozzáadásával állítottam be, például a fízológias körülményeket $6,3 \pm 0,3$ -as (~6,3) értékkel közelítve.

A minták elkészítéséhez ultra tiszta vizet (Millipore) használtam. A méréseket 25 ± 1 °C-on végeztem, kivéve a CSA enzimes bontását és a citotoxicitás vizsgálatot, amiket 37 °C-on termosztáltunk.

3.2. Vas-oxid nanorészecskék szintézise

3.2.1. Magnetit nanorészecskék előállítása ko-precipitációval

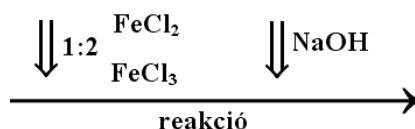
Ko-precipitációs szintézissel állítottam elő magnetit nanorészecskéket, FeCl_2 és FeCl_3 tömény oldatából NaOH-dal történő kicsapással, szobahőmérsékleten levegő jelenlétében (Bica et al., 2007; Vékás et al., 2006; Illés and Tombácz, 2006). A reakció során felhasznált oldatok összetételét a 3.2.1. táblázat tartalmazza. A lejátszódó reakciót a 17. egyenlet írja le.



3.2.1. táblázat A magnetit ko-precipitációs szintézise során felhasznált oldatok

reagens	bemért tömeg	oldáshoz ultra tiszta víz
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	135 g	100 cm ³
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	55 g	100 cm ³
NaOH	82 g	100 cm ³

A 3.2.1. táblázat alapján elkészített vas-só-oldatokat 0,2 µm mikroszűrőn szűrtem, hogy eltávolítsam a kristályosodás során gócként működő porszennyezést és fel nem oldódott mikrokristályokat. Intenzív keverés (Velp Scientifica, Stirrer ES keverőmotorhoz rögzített üveg keverőbot) mellett ~200 cm³ ultra tiszta vízhez 0,2 cm³ tömény vas-só-oldatot adtam, majd néhány csepp koncentrált lúgoldattal kicsaptam, amitől az sárga és zavaros lett. Intenzív keverés mellett ~20 perc alatt hozzácepegtettem a lúgoldat ~felét, ekkor vörösbarna csapadék képződik és a rendszer folyamatosan melegszik. A lúg másik felét egyszerre adtam hozzá, ekkor a minta megfeketedik, sűrű masszává áll össze, ami az intenzív keverés hatására homogénné válik. A szintézis sematikus vázlatát a 3.2.1. ábra mutatja be.



3.2.1. ábra A magnetit ko-precipitációs szintézisének sematikus menete

Néhány perces intenzív keverés után a csapadékot ultra tiszta vízzel dekantálva többször mostam, amíg a pH ~9-re csökkent. Ezt követően pH ~2-ig savanyítottam a magnetit szuszpenziót tömény sósavval. A mintát 1 mmol/dm³-es HCl-oldattal addig mostam, míg a magnetit nem peptizálódott. A publikált szintézist (*Illés and Tombácz, 2006*) továbbfejlesztve a mintát ultrahangos kádban (Elmasonic, Elma S 30H) intenzív szonikálás közben ~80 °C-ra melegítettem fel, az egységesebb méret elérése (hidrotermális öregítés) és a diszpergálás elősegítése céljából. A szobahőmérsékletre visszahűlt mintát nagy térerejű mágnesre helyezve eltávolítottam az aggregált részecskéket, majd 1 mmol/dm³-es HCl-val szemben dializáltam a maradék só eltávolítására. A megtisztított szol szárazanyagtartalmát meghatároztam, majd a mintát hűtőszekrényben tároltam.

3.2.2. Vas-oxid nanorészecskék előállítása oxidációs-precipitációval

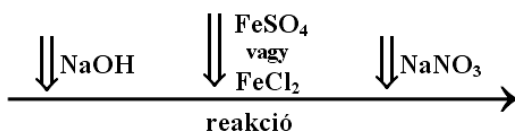
Az oxidációs-precipitációs szintézis (*Guang et al., 2007 módosítása*) során emelt hőmérsékletet és levegő atmoszférát alkalmaztam. Fe(II)-só oldatát NaOH-oldatban kicsaptam, majd részlegesen oxidáltam NaNO₃-oldattal. A szintézisek során vizsgáltam a NaNO₃ mennyiségének (a sztöchiometriai arány 1 – 9-szerese), a reakció hőmérsékletének (40 – 90 °C), a Fe(II)-só minőségének (FeSO₄; FeCl₂) és a reakció idejének (5 perc – 16 óra) hatását, hogy optimalizálhassam a magnetit szintézisének körülményeit. A reakció során felhasznált oldatok összetételét a 3.2.2. táblázat tartalmazza.

3.2.2. táblázat A magnetit oxidációs-precipitációs szintézisének felhasznált oldatok

reagens	bemért tömeg	oldáshoz ultra tiszta víz (N ₂ -nel buborékolgatott)
FeCl ₂ ·4H ₂ O	9,95 g	35 cm ³
FeSO ₄ ·7H ₂ O	13,95 g	35 cm ³
NaOH	4,50 g	50 cm ³
NaNO ₃	1,35 g *	15 cm ³

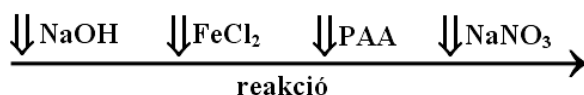
* a sztöchiometriai aránynak megfelelő egyszerez mennyiség

A 3.2.2. táblázat alapján elkészített NaOH-oldatot gömblombikban lassú mágneses keverés mellett fűtőkosárban felmelegítettem a szintézis hőmérsékletére. A vas-só-oldatot 0,2 μm mikroszűrőn szűrtem, majd intenzív keverés mellett ~5 perc alatt belecsöpögtettem a NaOH-oldatba, közben kékes-zöldes csapadék keletkezik. További ~5 perc kevertetés után ~3 perc alatt hozzácepegtettem reakcióelegyhez a szintén szűrt NaNO_3 -oldatot. További intenzív keverés mellett a reakcióelegy színe fokozatosan változik: sárgul, zöldül vagy sötétedik, majd megfeketedik. A terméket ultra tiszta vízzel dekantálva mostam. Mágneses vas-oxid képződése esetén (fekete szín) a szuszpenziót pH ~2-ig savanyítottam, és addig folytattam a minta mosását 1 mmol/dm^3 -es HCl-oldattal, amíg az só-mentes nem lett. A szintézis sematikus vázlatát a 3.2.2 ábrán mutatom be.



3.2.2. ábra A magnetit oxidációs-precipitációs szintézisének sematikus menete

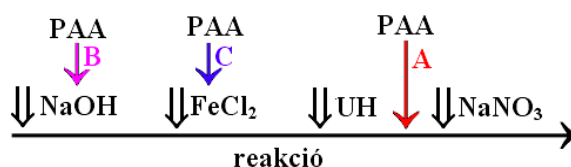
Az optimalizált körülmények között történő oxidációs-precipitációs magnetit szintézisnél vizsgáltam továbbá a polielektrolit jelenlétének illetve az ultrahangozásnak (UH, Elmasonic, Elma S 30H) a hatását a keletkező magnetit részecskeméretére és morfológiájára. Polielektrolitként poliakrilsavat (PAA) használtam, amit az optimalizálás során a 3.2.3. ábrának megfelelően az Fe(II)-só NaOH-oldatban történő kicsapása után és a NaNO_3 -tal való oxidálás előtt adtam a szintéziselegyhez (pár csepp NaOH-oldat hozzáadásával 10 cm^3 ultra tiszta vízben feloldva). Az előállítások során változtattam a molekulatömeget (5000 és 100000 Da) illetve a PAA hozzáadott mennyiségét (0 - 2,8 mmol karboxil(át)/ g magnetit). A PAA jelenlétében történő szintézisekkor a minta mosását csak ultra tiszta vízzel végeztem el.



3.2.3. ábra A magnetit PAA jelenlétében végzett oxidációs-precipitációs szintézisének sematikus menete (a PAA molekulatömegének és mennyiségének optimalizálása, FeCl_2 , 90 °C, sztöchiometriai mennyiségű NaNO_3)

Végezetül megvizsgáltam az optimalizált mennyiségű poliakrilsav 3.2.4. ábrán bemutatott lehetséges beadagolási sorrendjeinek (A: a kicsapást követően, B: a NaOH-

oldatban, C: a Fe(II)-só oldatában) hatását a szintetizált magnetit nanorészecskék méretére, alakjára. Az ultra tiszta vízzel mosott mintákat H_2O_2 -dal kezeltem (9 cm^3 tömény H_2O_2 3 részletben adagolva 1 óra oxidálási idővel), hogy a szintézis során használt PAA-at eltávolíthassam a magnetit részecskék felületéről. Ezután a szuszpenziókat pH ~2-ig savanyítottam, és addig folytattam a minták mosását 1 mmol/dm^3 -es HCl-oldattal, amíg azok só-mentesek nem lettek.



3.2.4. ábra A PAA beadagolási sorrendjének vizsgálata a magnetit oxidációs-precipitációs szintézise során (FeCl_2 , $90\text{ }^\circ\text{C}$, sztöchiometriai mennyiségű NaNO_3 , $0,7\text{ mmol/g PAA}_{5000}$, 2 perc ultrahangos kezelés)

3.3. Kísérleti módszerek

3.3.1. Röntgen diffrakciós analízis (XRD)

A röntgensugarak olyan elektromágneses hullámok, melyek $100\text{ eV} - 100\text{ keV}$ fotonenergiával rendelkeznek, hullámhosszuk pedig a 100 pm -es tartományba esik. Ez a nagyságrendje a legtöbb kristályos anyag rácsállandójának is, így azokon átbocsátva a röntgensugarakat elhajlás és interferencia lép fel. Az így keletkező interferenciakép egyértelmű információt szolgáltat a kristály szerkezetéről és anyagi minőségéről (*Burger, 1999*).

A különböző szintézisek során előállított vas-oxid részecskék anyagi minőségét röntgen diffrakciós módszerrel azonosítottam. A vas-oxid szuszpenziókból $\sim 0,5\text{ cm}^3$ -t szobahőmérsékleten üveglapra szárítottam, majd a méréseket Bruker D8 Advance röntgen diffraktométerrel végeztük el, reflexiós módban, $2\theta = 20^\circ - 70^\circ$ szögtartományban, $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda = 0,154\text{ nm}$) sugárforrást alkalmazva. A detektor által mért intenzitást a 2θ szög függvényében ábrázolva megkapom az úgynevezett röntgen diffraktogramokat, ahol θ a kristálysíkok és a beesési sugár által bezárt szöget jelenti. A diffraktogramok alapján a minták azonosítását JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) kártyák és irodalmi adatok alapján végeztem el.

A röntgen diffraktogramon a csúcsok kiszélesedését az instrumentális paraméterek és a rácshibák mellett a nanorészecskék szemcsemérete is eredményezheti (Ungár, 2004; Nagy, 2008). A Scherrer-egyenlet (18) kapcsolatot teremt a diffraktogram csúcsainak félértékszélessége és a minta átlagos primer részecskeátmérője (D) között:

$$D = \frac{k \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \Theta} \quad (18)$$

ahol k a Scherrer-állandó ($k = 0,94$), λ a röntgensugár hullámhossza (Cu-K $_{\alpha}$ esetében 0,154 nm), β a nanorészecske által okozott kiszélesedés (a csúcs félértékszélesség és a makrokristályos anyag mérésénél a műszerre jellemző félértékszélesség értékeinek a különbsége radiánban megadva), θ pedig a diffrakciós csúcs maximumához tartozó szög.

Magnetit nanorészecskék esetében a Scherrer-egyenlettel a $\sim 35,7^{\circ}$ 2θ értéknél található csúcsból határoztam meg a primer részecskék méretét. A Scherrer-egyenlet alkalmazhatósága azonban korlátozott. Amennyiben a részecskék mérete nagyobb egy, az adott anyagra jellemző értéknél, a diffraktogramon megjelenő kiszélesedés már csak az instrumentális paraméterek miatt jelentkezik, és nincs lehetőség a félértékszélességből a minta primer részecskeméretének kiszámítására (Nagy, 2008).

3.3.2. Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM)

A transzmissziós elektronmikroszkópokban (TEM) a minta leképezéséhez 4 - 5 pm hullámhosszúságú, >50 keV energiájú elektron sugárnyalábokat használnak. Az elektronoptikai kép az elektronoknak a szilárd test atommagjain történő rugalmas szóródásának illetve elhajlásának következtében jön létre. Az elektronsugarakat inhomogén térrel (mágneses illetve elektromos) fókuszálják, és fluoreszkáló anyaggal bevont felületre, vagy más detektorra vetítik.

Az előállított vas-oxid, vas-oxid-hidroxid nanorészecskék morfológiáját és méretét Philips CM-10 transzmissziós elektronmikroszkóppal, Megaview-11 kamera segítségével határoztam meg. Az előállított szuszpenziókból ultra tiszta víz felhasználásával nagy hígítású mintát készítettem, és ennek egy cseppjét egy polimer és szén réteggel fedett kisméretű rézhálóra (grid-re) cseppentettem. A rézhálókat infralámpa alatt hagytam megszáradni, majd az adott mintára jellemző területekről fényképeket készítettem (Illés, 2005; Tombácz et al., 2007). A nanorészecskék méretét a JMicroVision 1.2.7. program segítségével határoztam meg.

3.3.3. Vibrációs magnetometria (VSM)

A vibrációs magnetometria (VSM - vibrating sample magnetometry) segítségével az anyagok mágneses tulajdonságait lehet jellemezni. A mérés során a mintát állandó mágneses térbe helyezik, így a mágneses folyadék az alkalmazott mágneses térrel kölcsönhatásba lép, és a mintában jelenlévő mágneses domének a tér irányának megfelelően rendeződnek. A minta mágneses dipólmomentuma lokális mágneses teret alakít ki, így ha a mintát fel-le mozgatják (rezegtetik), akkor az önmaga indukált mező időben változni fog, ami pedig nyomon követhető egy tekercssel. A tekercsben a váltakozó mágneses tér elektromos jelet generál (Faraday-féle indukciós elv) és az áram arányos a minta magnetizációjával/mágnesességével (Foner, 1956; Foner, 1959).

Az előállított mágneses vas-oxid minták magnetizációs görbéit (a mintában lévő magnetit tömegére fajlagosított mágnesezettség az alkalmazott mágneses tér függvényében) a temesvári mágneses folyadék laboratóriumban (Center for Fundamental and Advanced Technical Research, Temesvár, Románia) található készülékkel (VSM 880, DMS/ADE Technologia, USA) vettük fel.

A mérés ideje alatt a minta nem ülepedhet, mert ez zavarná a magnetizációs görbe meghatározását. A gravitációs térben ülepedő mintákhoz annyi ~ 20000 Da molekulatömegű polietilén-glikolt (PEG) adtam, hogy azok 30 tömegszázalékosak legyenek a PEG-re nézve. Az így előállított, nagy viszkozitású rendszerben a részecskék már nem ülepedtek a mérés ideje alatt.

3.3.4. Potenciometriás sav-bázis titrálás

A potenciometriás sav-bázis titrálás alkalmas az oldategyensúlyok jellemzésére és a protonálódási folyamatok nyomon követésével lehetőséget biztosít mind a makromolekulák, mind a szilárd részecskék töltésállapotainak jellemzésére. A titrálás során a mért értékeket a vizsgált reakció mellett számos más tényező is befolyásolja: az elektród állapota, a háttérelktrolit minősége és mennyisége, a hőmérséklet, a beoldódott CO_2 stb.), így elengedhetetlen a mérő rendszer összetett kalibrációja (Illés and Tombácz, 2004; Tombácz et al., 1999; Tombácz et al., 2004, Szekeres and Tombácz, 2012).

A potenciometriás titrálásokat a volt Kolloidkémiai Tanszéken, a Vizes Kolloidok Kutatócsoportban kifejlesztett GIMET1 automata titráló berendezéssel végeztem. A

berendezés két 665 Dosimat (Metrohm) bürettából (sav és lúg adagolása) és egy konverteren keresztül kapcsolódó potenciométerből van felépítve, amihez a pH-mérő kombinált üvegelektrod (Radelkis OP-0808 P) és a gázáramlást szabályzó szelep kapcsolódik. A berendezést egy személyi számítógépen futó, a tanszéken kifejlesztett AUTOTITR elnevezésű szoftver vezérli, ami a megfelelő beállítások elvégzése után a titrálásokat a megadott paramétereknek megfelelően elvégzi és a mérési adatokat rögzíti. A sav-bázis titrálásokhoz szükséges CO₂ mentes atmoszférát nitrogéngáz áramoltatásával, a reaktánsok homogén eloszlását pedig mágneses kevertetéssel biztosítottam. A titrálások előtt az oldatokat 15 percen keresztül N₂-gázzal buborékolttam át.

A mérések során a pH kalibrációját kétnaponta végeztem, három ismert pH-jú pufferoldat (Radelkis) segítségével, az illeszkedés regressziós együtthatója minden esetben 0,9998 feletti volt. A lúg (~0,1 mol/dm³) mérőoldat hatóértékét átkristályosított benzoessavból készített mérőoldattal, a sav (~0,1 mol/dm³) koncentrációját pedig a már ismert lúg koncentrációjának segítségével határoztam meg. A lúg oldat karbonát-mentességét hidrazin-szulfát mérőoldat segítségével ellenőriztem. A titrálásokat három különböző ionerősség mellett végeztem, ehhez háttérelktrolitot (adott sav és adott lúg sója) használtam. A csak az adott minőségű és mennyiségű háttérelktrolitot tartalmazó oldatok esetében elvégzett titrálásoknál a mért pH-ból számolt H⁺/OH⁻ aktivitását a számított koncentráció függvényében ábrázolva az illesztett egyenes meredekségéből meghatározható a H⁺/OH⁻-ionok kísérleti aktivitási együtthatója.

A minták és a háttérelktrolitoldatok titrálási adataiból a nettó felületi protontöbbletet (Δn^σ), vagyis a H⁺- ($n_{H^+}^\sigma$) és OH⁻-ionok ($n_{OH^-}^\sigma$) felületi többleteinek egységnyi tömegű mintára vonatkoztatott különbségét számítjuk ki. A felületi többletmennyiséget (n_i^σ) híg oldatból történő adszorpció esetén a 19. egyenlet írja le:

$$n_i^\sigma = \frac{V \cdot (c_{i,0} - c_{i,e})}{m} \quad (19)$$

ahol $c_{i,0}$ az i oldott anyag kezdeti koncentrációja, $c_{i,e}$ az i oldott anyag egyensúlyi koncentrációja, V a folyadékfázis térfogata és m az adszorbens tömege. A $c_{i,0}$ a hozzáadott sav/lúg térfogatából és koncentrációjából, a $c_{i,e}$ pedig a mért pH-ból kapott aktivitásból és a H⁺/OH⁻-ionokra meghatározott kísérleti aktivitási együtthatókból számítható. Ezeket felhasználva a titrálás minden pontjában kiszámíthatóak az $n_{H^+}^\sigma$ és a $n_{OH^-}^\sigma$ értékek, és így

elkészíthetők a pH függvényében ábrázolt nettó felületi protontöbblet görbék is (*Tombácz et al., 1999; Szekeres and Tombácz, 2012*).

Munkám során válogatott magnetit minták felületi töltésállapotának, illetve a ~10 nm-es magnetit nanorészecskék felületmódosításához használt polielektrolitok disszociációjának pH- és ionerősségfüggését vizsgáltam ezzel a módszerrel. Magnetit minták esetében pH ~3,5 - ~10,0 között végeztem el a titrálásokat, 0,005 mol/dm³, 0,05 mol/dm³ és 0,5 mol/dm³ NaCl háttérelktrolit mellett, HCl- és NaOH-oldattal, növekvő (U) majd csökkenő (D) pH-értékek mellett. A polielektrolitok esetében pH ~3,0 - ~10,0 között végeztem el a titrálásokat, 0,005 mol/dm³, 0,05 mol/dm³ és 0,5 mol/dm³ KCl (PAA és PAM) illetve NaCl (CSA) háttérelktrolit mellett, HCl- és KOH- illetve NaOH-oldattal, növekvő (U) majd csökkenő (D) pH-értékek mellett.

3.3.5. Ultraibolya (UV) spektrofotometria

Az ultraibolya (UV, 200 nm < λ < 400 nm) fény elnyelése (abszorpciója) során megváltozik a molekulák, atomok elektroneloszlása, az elektronok a kisebb energiájú pályákról nagyobb energiájúakra ugranak át, vagyis gerjesztődnek. Az abszorpciós spektrofotométerek az anyagok áteresztőképességének változását detektálják a hullámhossz, hullámszám vagy a frekvencia függvényében. Az így meghatározott színekben megjelent elnyelési sávok helye minőségi információkat szolgáltat. Az UV spektrofotometria mennyiségi analitikai alkalmazása a 20. egyenlettel leírt Lambert-Beer-törvényen alapul:

$$A = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (20)$$

ahol A az abszorbancia, I_0 a beeső fény intenzitása, I a transzmittált fény intenzitása, ε a moláris abszorbancia, c a kromofor koncentrációja és l a rétegvastagság (küvetthossz) (*Burger, 1999*).

A méréseimet Ocean Optics spektrofotométer (küvetttartó és fényforrás: USB-ISS-UV-VIS, detektor: USB4000) segítségével végeztem el. A poliakrilsav (PAA, ~1800 Da) és a poli(akrilsav-ko-maleinsav) (PAM) esetében a spektrumok felvételéhez 1 cm-es, a kondroitin-szulfát-A (CSA) mérése során pedig 0,1 cm-es kvarc küvetttát használtam.

A PAA és a PAM esetében a kalibrációs sorozatban a karboxil(át)csoport koncentrációja 0 - 5 mmol/dm³ között változott, a pH ~6,3 ± 0,3 az ionerősség pedig 0,01

mol/dm³ NaCl volt. Az abszorbancia értékeket 223 nm-nél és 250 nm-nél olvastam le, és a kettő különbségét ($Abs_{223nm} - Abs_{250nm}$) használtam a kiértékelések során. Erre azért van szükség, mert a kalibráció során illetve az egyensúlyi oldatokból meghatározott spektrumok alakja kismértékben eltért egymástól, az alapvonal szisztematikusan emelkedik a PE koncentrációjának növekedésével.

A CSA esetében az UV méréseket a poliszacharid enzimes bontása után végeztem el. Az enzimes bontást a Sigma-Aldrich (*Sigma-Aldrich hivatalos honlapja*) ajánlás kismértékű módosításával végeztem el Proteus vulgarisból nyert kondroitináz ABC enzimmel. A felhasznált oldatok a következők:

- enzim oldata: 2 egységnyi enzim 30 cm³ 0,01 tömegszázalékos BSA-oldatban, jeges vízben tárolva
- puffer oldata: 3 g trisz-(hidroximetil)-aminometán, 2,5 g nátrium-acetát, 51 mg BSA 56 cm³ vizes oldatban, pH ~8,0; 37 °C-on tárolva
- KCl oldata: 0,94 g KCl 250 cm³ vizes oldatban, pH ~1,8; 37 °C-on tárolva
- CSA oldata: a kalibráció során a kiindulási koncentráció 0 – 5 mmol/dm³, az ionerősség 0,01 mol/dm³ NaCl-oldat, pH 6,3 ± 0,3; szobahőmérsékleten tárolva.

A bontási eljárás a következő lépésekből áll:

- 0,4 cm³ adott hígítású CSA-oldatot 2 cm³-es Eppendorf mintatartóban 37 °C-ra termosztálók
- 0,1 cm³ termosztált pufferoldatot adok hozzá
- 0,5 cm³ enzimet 37 °C-ra termosztálók, majd hozzáadom a CSA-puffer oldatához
- 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 és 21 perc termosztálás után alkalmanként 0,1 cm³ CSA-puffer-enzimoldatot 0,9 cm³ KCl-oldatba mérek és további 10 percig 37 °C-on tartom
- a mintát jeges vízbe teszem
- a mintát 3 percig 14500 rpm fordulatszámmal lecentrifugálom (Eppendorf, MiniSpin plus)
- mérem a felülúszó UV spektrumát.

A 232 nm-nél mért abszorbancia értékeket az idő függvényében ábrázolva maximum görbéket kapok adott CSA koncentrációk esetén. A kalibráció során a CSA koncentrációja és a 232 nm-nél meghatározott abszorbancia értékek maximuma ($Abs_{232,max}$) között áll fent lineáris kapcsolat. A kalibráció során 1 mmol/dm³-nél hígabb kiindulási CSA mennyiségek esetében nem volt mérhető az $Abs_{232,max}$.

3.3.6. Sűrűségmérés

A polielektrolitok oldatának sűrűsége számos tényező mellett függ a polielektrolit koncentrációjától is. Amennyiben feltételeztük, hogy a sűrűség a koncentráció és a hőmérséklet függvényeként megadható, illetve, hogy a koncentráció a hőmérséklettel csak elhanyagolható mértékben változik, akkor a sűrűségnek (ρ) a polielektrolit koncentrációjától (c) és az oldat hőmérsékletétől (T) való függése ($\rho(c,T)$) a 21. egyenlettel írható le:

$$\rho(c,T) = \rho_0(T) + A \cdot c + B \cdot c^{1.5} \quad (21)$$

ahol $\rho_0(T)$ a tiszta víz sűrűsége T hőmérsékleten (*Söhnel and Novotny, 1986*).

A 21. egyenletet használtam fel $B = 0$ mellékfeltétellel a CSA mennyiségének meghatározásához, a méréseket $25,000 \pm 0,010$ °C-ra termosztált rezgőcsöves sűrűségmérővel (DMA58, Anton Paar) végeztem el. A CSA kalibrációs sorozatában a karboxil(át)csoport koncentrációja $0 - 2$ mmol/dm³ között változott, a pH $\sim 6,3 \pm 0,3$ az ionerősség pedig $0,01$ mol/dm³ NaCl volt. Referencia értéknek a pH $\sim 6,3$ -as $0,01$ mol/dm³ NaCl-oldat sűrűségét (ρ_{NaCl}) vettem, és az adott CSA koncentráció esetén meghatározott sűrűségértéknek a referenciától való eltérését ábrázoltam a CSA mennyiségének függvényében (22. egyenlet).

$$\Delta(\rho_c - \rho_{NaCl}) = A \cdot c \quad (22)$$

3.3.7. Adszorpciós izoterma meghatározása

A ko-precipitációval előállított, ~ 10 nm-es magnetit nanorészecskéken vizsgáltam a különböző polielektrolitok adszorpcióját. A sorozatok összeállításánál azonos körülmények biztosítására törekedtem: végtérfogat 10 cm³, ionerősség $0,01$ mol/dm³ (NaCl-oldat hozzáadásával), pH $\sim 6,3 \pm 0,3$ (HCl- és NaOH-oldatok hozzáadásával), magnetit (MNP) mennyisége 10 g/dm³. A polielektrolitok (PE) kiindulási koncentrációja (c_0) PAA és PAM esetében $0 - 14$ mmol/dm³, CSA esetében pedig $0 - 10$ mol/dm³ volt. A sorozat tagjainak összeállítás után a mintákat 20 másodpercig ultrahangoztam, ezzel elősegítve a polielektrolitok adszorpcióját a magnetit felületén. A 24 órás adszorpciós idő letelte után ellenőriztem a pH-t, majd 60 percen keresztül 14000 rpm fordulatszámmal centrifugáltam (Eppendorf, MiniSpin plus) a mintákat. A felülúszót pipetta segítségével távolítottam el,

vigyázva arra, hogy a leülepedett nanorészecskéket ne diszpergáljam vissza a felülúszóba. Egyes minták felülúszója halványsárga színű volt, és egy lézer ceruzával átvilágítva kimutattam, hogy részecskék maradtak a felülúszóban. Ezekhez a mintákhoz NaCl-oldatot adtam, majd a részecskék ülepedésének elkezdődése után újra centrifugáltam a mintákat. Ezután a felülúszók színtelenek voltak, a lézerfény útja pedig nem volt látható. Az ilyen módon előkészített egyensúlyi felülúszókban meghatároztam a PE egyensúlyi koncentrációját. Az egyensúlyi koncentrációk (c_e) és a kiindulási koncentrációk (c_0) ismeretében pedig kiszámoltam az adszorbeált többlet mennyiséget (n^σ) a híg oldatokból történő adszorpció esetén alkalmazható 23. egyenlet segítségével (Everett, 1986):

$$n^\sigma = \frac{V \cdot (c_0 - c_e)}{m} \quad (23)$$

ahol V a szuszpenzió térfogata és m a V térfogatban lévő magnetit mennyisége. A fajlagos adszorbeált mennyiségeket az egyensúlyi koncentráció függvényében ábrázolva megkaptam az adott PE adszorpciós izotermáját az adott feltételek mellett.

Az egyensúlyi koncentráció meghatározását PAA és PAM esetében UV-spektrofotometriás analízissel végeztük a 3.3.5. fejezetben leírtaknak megfelelően. A CSA esetében az egyensúlyi koncentráció meghatározását két módon is elvégeztem, UV-méréssel az enzim bontás után a 3.3.5. fejezetben leírtak szerint, illetve sűrűségméréssel a 3.3.6. fejezetnek megfelelően. Az izotermák meghatározásakor a PAA és a PAM adszorpciója során $\pm 0,05$ mmol/g, CSA esetében pedig $\pm 0,01$ mmol/g a mérés átlagos hibája.

3.3.8. Gyengített totálreflexiós Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR)

Az infravörös spektroszkópia (IR) a kémiai szerkezetazonosítás egyik széles körben alkalmazott módszere. Mivel a molekulát alkotó atomcsoportokban lévő kémiai kötések rezgéseinek energiaszintjei kvantáltak, így azok között csak adott energiájú foton elnyelése vagy emittálása következtében jöhet létre átmenet. Ezek a rezgési átmenetek infravörös sugárzással (hullámszám: $\tilde{\nu} \sim 14000 \text{ cm}^{-1} - 20 \text{ cm}^{-1}$) gerjeszthetők, így az IR spektrum elnyelési sávjai a molekula szerkezetéről hordoznak minőségi információt. A kisebb energiájú (azaz kisebb hullámszámú) tartományon megjelenő sávok az adott molekulára

jellemzők, míg a nagyobb energiáknál (azaz nagyobb hullámszámoknál) található elnyelési sávok egy-egy atomcsoport, funkciós csoport meglétét vagy hiányát jelzik. Kétféle rezgés különböztethető meg, a vegyértékrezgések és a deformációs rezgések. A vegyértékrezgések (szimmetrikus és aszimmetrikus) a nagyobb hullámszámoknál jelennek meg, és az egymáshoz kapcsolódó atomok valamint atomcsoportok közötti kötéstávolságok megváltozásának eredményei. A deformációs rezgések (ollózó, kaszáló, torziós és bólogató) elnyelése pedig a kisebb hullámszámoknál találhatóak, és a molekulára jellemző kötésszögek megváltozásának eredményei (*Burger, 1999*). Az infravörös spektroszkópia azonban nem csak a szerkezetazonosításra használható, hanem intramolekuláris és intermolekuláris kölcsönhatások (hidrogénkötés, komplexképzés, stb.) érzékeny detektálására is alkalmas. A vizsgált molekula atomcsoportjait jellemző elnyelési sávok helyzete, intenzitása és kiszélesedése eltérő lehet különböző molekuláris környezetben, így ezeknek a változásaiból következtetni lehet a kölcsönhatás jellegére és erősségére (*Atkins, 2002*).

A gyengített totálreflexiós Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (ATR-FTIR) módszer a teljes belső visszaverődés jelenségén alapszik. Az adott hullámhosszúságú elektromágneses sugárzás a mintatartó kristályba lépve teljes belső reflexiót szenved, ha a beesési szöge meghalad egy adott határszöget (θ) a minta és a kristály közötti határfelületen. Ez a határszög a két fázis törésmutatójának függvénye. A kristályon található minta az elektromágneses sugárzás egyes összetevőit abszorbeálja, ugyanakkor a mintával kölcsönhatásba nem lépő sugarak pedig reflektálódnak. Az így kialakult gyengített sugárzást detektálják és a hullámszám függvényében ábrázolják (*Stuart, 2004*). A kapott abszorpciós spektrum nem a minta egészét, hanem annak a kristályhoz közel eső részét jellemzi, így az ATR-FTIR módszer lehetővé teszi a részecskék felületén található adszorpciós réteg szerkezetének vizsgálatát.

Az ATR-FTIR méréseket egy DTGS detektorral felszerelt Bio-Rad Digilab Division FTS-65A/896 FTIR spektrofotométerrel, Harrick's Meridian Split Pea egyreflexiós gyémánt ATR mérőfejen végeztük el. Háttérként a tiszta, száraz gyémántfej levegőn felvett spektrumát használtam, a választott mintákat pedig a gyémántra rászárítva mértem abszorbancia módban, 4 cm^{-1} -es felbontásban $400 - 4000\text{ cm}^{-1}$ -es tartományban 256 szkennelést végezve. A magnetit és a felületmódosító ágensek közötti kölcsönhatást pH ~6,3 mellett 0,01 M NaCl jelenlétében összeállított rendszerekben vizsgáltam. Az MNP mennyisége 10 g/dm^3 , a felületmódosított magnetit mintákban a hozzáadott PE mennyiségei MNP-re vonatkoztatva 1,2 mmol/g PAA, 1,4 mmol/g PAM illetve 0,2

mmol/g CSA. Referenciaként felvettem a polielektrolitok ATR-FTIR spektrumát is az adott pH és ionerősség mellett.

3.3.9. Dinamikus fényszórás mérés (DLS)

Az egyedi vagy aggregált részecskéket tartalmazó vizes rendszerek átlagos hidrodinamikai részecskemérete dinamikus fényszórás mérés (DLS) útján is meghatározható. A DLS mérések során a részecskeméret meghatározásának alapja az, hogy egy szabadon diffundáló részecske két térbeli pozíciója között korreláció áll fent egy adott t és egy későbbi $t+\tau$ időben. A késleltetési idő (τ) az az idő, ami ahhoz szükséges, hogy a két részecskének egymáshoz viszonyított elmozdulása következtében a szórt fény relatív fázisa 0-ról π radiánra változzon. A késleltetési idő függ a részecskék méretétől és a szórásvektortól (q), ami pedig a közeg törésmutatójából (n), a fény hullámhosszából (λ) és a detektálás szögéből (Θ) a 24. egyenlet segítségével kiszámítható.

$$q = \frac{4 \cdot \pi \cdot n}{\lambda} \cdot \sin\left(\frac{\Theta}{2}\right) \quad (24)$$

A Brown mozgás következtében a foton sokszorozó által megfigyelt kicsiny térrészben folyamatosan változik a részecskék száma és így változik a szórt fény intenzitása is. A részecskék (szórócentrumok) diffúziójából eredő fluktuáció abban az esetben korrelál, amennyiben a megfigyelési idő a rendszer relaxációs idejénél rövidebb. A DLS mérések során a vizes közegben szabad translációs diffúziós mozgást végző részecskék által szórt fény intenzitásának idő (t) szerinti korrelációs függvényét ($C(t)$) méri a műszer. A korrelátor az úgynevezett normalizált intenzitás korrelációs függvényt ($g^{(2)}(\tau)$) számítja ki a 25. egyenletnek megfelelően:

$$g^{(2)}(\tau) = 1 + \left| g^{(1)}(\tau) \right|^2 = 1 + e^{-2 \cdot D_T \cdot q^2 \cdot \tau} \quad (25)$$

ahol $g^{(1)}(\tau)$ a normalizált térkorrelációs függvény, D_T a translációs diffúziós együttható, q pedig a szórás vektor (24. egyenlet). Amennyiben a rendszer monodiszperz (egyféle méretű részecskéket tartalmaz) és csak translációs diffúziós mozgást végző részecskéket tartalmaz, akkor a $g^{(1)}(\tau)$ az idő függvényében exponenciálisan csökken (Pecora, 1985, Holthoff et al., 1996). Az így meghatározott translációs diffúziós együtthatóból (D_T) a

részecske hidrodinamikai sugara (R_h) kiszámítható a Stokes-Einstein (26. egyenlet) összefüggés alapján:

$$R_h = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D_T} \quad (26)$$

ahol η a közeg viszkozitása, T a hőmérséklet és k a Boltzmann-állandó.

Az ideálistól eltérő rendszerben, például polidiszperz (különböző méretű részecskéket tartalmazó) mintában nem írható le az egyszerű exponenciális összefüggéssel (25. egyenlet) a korrelációs függvény, hanem a különböző méretű részecskék diffúziós együtthatóit (D_i) tartalmazó exponenciális tagok összegével illeszthető. Ebből a diffúziós együtthatók, illetve a méreteloszlási görbék inverz Fourier transzformációval számíthatóak a 27. egyenlet alapján (*Pecora, 1985, Phillies, 1990*).

$$C(t) = \left[\sum_i A_i \cdot e^{-D_i \cdot q^2 \cdot t} \right]^2 + B \quad (27)$$

Ez a módszer nagyon érzékeny a mért adatok zajszintjére, ugyanakkor ilyen esetekben egy egyszerűbb eljárás, az úgynevezett kumuláns analízis is alkalmazható (*Pecora, 1985, Phillies, 1990*). A kumuláns analízis során a késleltetési időnek (τ) a 28. egyenlet alapján leírható eloszlását tételezik fel:

$$\ln|g^{(1)}(\tau)| = -\Gamma \cdot \tau + \frac{\mu_2 \cdot \tau^2}{2!} - \frac{\mu_3 \cdot \tau^3}{3!} + \dots \quad (28)$$

ahol Γ az első kumuláns (a késleltetési idő reciproka, $\Gamma = D_T \cdot q^2$), μ_2 a második kumuláns (az eloszlás szélessége) és μ_3 a harmadik kumuláns (az eloszlás szimmetriktól való eltéréseinek tényezője). A harmadiknál magasabb rendű tagok fizikailag nincsenek értelmezve, a mért adatok kiértékelése így rendszerint harmadrendű kumuláns analízissel történik (*Pecora, 1985; Phillies, 1990; Holthoff et al., 1996; Tombácz et al., 2007*).

A méréseimet Zetasizer NanoZS (Malvern) dinamikus fényszórásmérő berendezéssel végeztem, melyben a korrelátor folyamatosan végzi az adatok gyűjtését és feldolgozását. A műszer fényforrása egy 4 mW teljesítményű, 633 nm hullámhosszú He-Ne lézer, a szórt fény detektálása 173°-nál (back scattering mode) történik. A berendezés 0,6 és 6000 nm közötti átmérőjű részecskék méretének meghatározására alkalmas. A minták jellemzésére a műszer által számított, úgynevezett átlagos hidrodinamikai részecskeméretet ($Z_{\text{átlag}}$) használtam.

A magnetit részecskéket tartalmazó vizes rendszerek átlagos hidrodinamikai részecskeméretének meghatározása során állandó értéken tartottam a magnetit mennyiségét

(0,1 g/dm³) és az ionerősséget (0,01 g/dm³ NaCl). Meghatároztam a ko-precipitációval előállított (~10 nm-es) és az optimalizált körülmények között oxidációs-precipitációval 2 perc ultrahangozás mellett előállított (~75 nm-es) magnetit részecskék pH függő részecskeméretét a pH ~3 – 10-es tartományon. A ~10 nm-es magnetit nanorészecskék esetében megvizsgáltam a különböző felületmódosító ágensek (PAA, PAM és CSA) mennyiségének az MNP átlagos hidrodinamikai mértére gyakorolt hatását pH ~6,3 ± 0,3 mellett. Ezután különböző mennyiségű polielektrolit jelenlétében (PAA: 0,10; 0,48 és 1,15 mmol/g; PAM: 0,10; 0,47 és 1,30 mmol/g; CSA: 0,05; 0,10; 0,20 és 0,40 mmol/g) meghatároztam a PE/MNP rendszerek pH függő részecskeméretét a pH ~3 – 10-es tartományon.

A minták elkészítésekor az ionerősséget NaCl-oldat hozzáadásával, a kívánt pH-értéket HCl- és NaOH-oldatokkal állítottam be. A szuszpenziókat 20 másodpercig ultrahangoztam, majd 24 óra adszorpció után ellenőriztem a pH-t. A mérés előtt a mintákat minden alkalommal 10 másodpercig ultrahangoztam, majd DTS 1060 (disposable zeta cell) mérési cellát használva 2 perc elteltével elindítottam a részecskeméret meghatározást. A stabil minták esetében ($Z_{\text{átlag}} < \sim 200 \text{ nm}$) ± 5 %, aggregált mintáknál pedig ± 15 % a mérések hibája.

3.3.10. A zéta-potenciál meghatározása

A szilárd részecskék felületén töltések alakulhatnak ki például a felületi –OH csoportokon lejátszódó protonálódási/deprotonálódási folyamatokban (2.4.1. fejezet), a vizes közeg ionos komponensei pedig kompenzálják ezt az elektromos kettősréteg diffúz részében. Ha a töltéssel rendelkező részecskéket elektrosztatikus térbe helyezünk, akkor azok a töltésükkel ellentétes pólus felé fognak vándorolni (elektroforézis). Ekkor az elektromos kettősréteg két (a rögzített és a mobilis) része egymáshoz viszonyítva elmozdul az úgynevezett hidrodinamikai nyírási síkban, vagyis a határfelület elhasad. A hasadási sík és a folyadék belseje között kialakuló potenciál különbséget elektrokinetikai potenciálnak vagy zéta-potenciálnak nevezzük (Hunter, 1988; Tombácz, 2003).

Az elektroforetikus mérésekre alkalmas lézerefényszórás műszerek működési elve a Doppler-effektus illetve a foton korrelációs spektroszkópia kombinációján alapul. A részecskék elektroforetikus vándorlási sebessége kiszámítható a mozgó részecskékről szóródó lézer fény frekvenciájának Doppler-eltolódásából. Az eltolódás mértékéből a

részecskék sebessége, a potenciálesés ismeretében pedig az elektroforetikus mobilitás számítható a 29. egyenlet alapján:

$$v = \frac{q \cdot E}{6\pi \cdot \eta \cdot a} = u \cdot E \quad (29)$$

ahol v a részecske sebessége, q a részecske töltése, E az elektromos mező térerő vektora, η a közeg viszkozitása, a a részecske sugara, u pedig a részecske elektroforetikus mobilitása.

Az elektroforetikus mobilitást Zetasizer NanoZS (Malvern) készülékkel mértem, autokorrelációs üzemmódban. A készülék a sebesség koszinuszos összetevőjét ábrázolja a frekvencia függvényében, majd Fourier transzformációt alkalmazva meghatározza az elektroforetikus mobilitást. Amennyiben teljesül a 30. egyenlőtlenséggel leírt feltétel,

$$\kappa \cdot a \gg 1 \quad (30)$$

ahol a a részecskeméret és κ a kettősréteg-vastagságának reciproka, akkor az elektroforetikus mobilitásból (u) a Smoluchowski-egyenlet (31) segítségével meghatározható a zéta-potenciál (ζ , elektrokinetikai potenciál):

$$u = \frac{\varepsilon \cdot \zeta}{\eta} \quad (31)$$

ahol ε a közeg permittivitása, η pedig a közeg viszkozitása (Hunter, 1988; Tombácz, 2003).

A részecskék elektromos kettősrétegének szerkezetét befolyásolja az indifferens és a specifikus ionadszorpció. Így a vizes közeg ionos összetétele, az ionok minősége, töltésszáma és mennyisége meghatározó, ezek változásával megváltozik a lokális elektrosztatikai tér szerkezete, a potenciál távolságfüggése, ami pedig a zéta-potenciál abszolút értékének, specifikus ionadszorpció esetén még az előjelének megváltozását is eredményezheti. Ennek következtében a szilárd/folyadék határfelületen lejátszódó adszorpciós folyamatok bizonyíthatóak a zéta-potenciál értékének változásával.

A 3.3.9. fejezetben bemutatott sorozatok esetében mértem meg a részecskék elektroforetikus mobilitását a Zetasizer NanoZS (Malvern) készülékkel, a méréseket ugyanabban a cellában, közvetlenül a részecskeméret meghatározása után végeztem el. A mért zéta-potenciál értékek hibája ± 5 mV.

3.3.11. Koagulálás kinetikai mérések

Az előállított mágneses folyadékok sótűrését koagulálás kinetika mérésel jellemeztem. Minden polielektrolit esetén két különböző hozzáadott mennyiséget

tartalmazó mintát készítettem. Az elsőben a hozzáadott mennyiségek az adszorpciós izotermák telítéseinek megfelelő értékek, a másodikban pedig nagyobb feleslegben adagoltam a felületmódosító ágenseket. Ennek megfelelően 0,6 mmol/g és 1,1 mmol/g a PAA/MNP, 0,9 mmol/g és 1,2 mmol/g a PAM/MNP, valamint a CSA/MNP rendszer esetén 0,2 mmol/g és 1,0 mmol/g volt a PE hozzáadott mennyisége. Az előállított minták MNP tartalma 10 mg/dm^3 volt, a pH $\sim 6,3$. Az összeállítás után 1 percig ultrahangoztam a mintát, majd 1 óra adszorpciós idő után kezdtem el a koagulálás kinetikai méréseket.

Az adott borításoknál különböző NaCl tartalom mellett DLS méréssel (3.3.9. fejezet) követtem nyomon a részecskék időbeli aggregációját. Közvetlenül a mérés előtt adagoltam a PE/MNP törzsszolhoz annak kétszeres hígítását és a kívánt NaCl koncentrációt elérve a megfelelő mennyiségű, $\sim 6,3$ -as pH-jú ultra tiszta vizet és NaCl-oldatot, majd 10 s ultrahangos kezelés után a mintát küvettába töltöttem és az ultrahangozás befejezése után 50 s-mal elindítottam a mérést. Az idő függvényében meghatároztam az átlagos hidrodinamikai méreteket, majd ezeknek a kezdeti szakaszára illeszthető egyenesek meredekségeiből számolt (16. egyenlet) lassítási tényezők (W) logaritmusát ábrázoltam az alkalmazott sókoncentráció (mmol/dm^3 -ben kifejezve) logaritmusának a függvényében. A számított $\lg W$ értékek hibája $\pm 0,12$. Ennek alapján az ábrázolt lassú koagulálási szakaszoknak az x tengellyel adott metszéspontjaikból meghatározható a különböző PE/MNP rendszerekhez tartozó CCC (kritikus koaguláltató elektrolitkoncentráció) értékek (*Hunter, 1987; Ottewill and Shaw, 1966; Schudel et al., 1997; Illés and Tombácz, 2004; Hajdú et al., 2008*).

3.3.12. Atomspektroszkópia (induktív csatolású plazmával, ICP)

Az atomspektroszkópiai módszerek az elemek minőségi és nagy érzékenységgű mennyiségi meghatározására alkalmasak. A vizsgált mintában jelenlevő elemeket a méréshez szabad atomokká kell alakítani magas hőmérsékletű láng, elektromos ív, szikra vagy plazma (egyenáramú, induktív, kapacitív csatolású) segítségével. A szabad atomokról atomemissziós, atomabszorpciós vagy atomfluoreszcens módszerrel szerezhető információ (*Burger, 1999*). A méréseket induktív csatolású plazma (ICP) segítségével atomizáló, atomemissziós spektroszkópiával végeztük (Agilent 7700x, ICP-MS spektrométer), a célom a PE/MNP rendszerekben kioldott vas mennyiségének meghatározása volt.

Az atomemissziós spektrometriában a vizsgált elem gerjesztett atomjait állítjuk elő, majd az ezek által kisugárzott fény színekéből a jellemző hullámhosszak alapján minőségi elemzés, az adott hullámhosszúságú színeképvonalának relatív intenzitásából (I_{rel}) pedig mennyiségi elemzés végezhető. Az adott hullámhosszúságú színeképvonal relatív intenzitása (I_{rel}) és a koncentráció (c) közötti általános összefüggést a Scheibe-Lomakin egyenlet (32) írja le:

$$I_{rel} = K \cdot c^n \quad (32)$$

ahol K állandó, n pedig egy anyagszerkezeti tényező, és ezek kalibrációval meghatározhatóak (*Burger, 1999*).

A kioldott vasionok mennyiségének meghatározásához a vizsgált PE/MNP rendszereket azonos körülmények között (MNP: 10 g/dm³, pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl) állítottam össze. Egy nap adszorpciós idő után az egyensúlyi felülúszókat 500 mmol/dm³ NaCl jelenlétében elvégzett centrifugálással (Sorvall RC 5b Plus, Du Pont) (60 perc, 10000 rpm) távolítottam el; majd 0,22 µm-es mikroszűrőn is átszűrtem őket, mivel lézerceruzával lebegő részecskéket mutattam ki bennük. Az ICP mérésekhez a mintákat tízszeresen hígítottuk, és He ütközési cellát használtunk a spektrális zavaró hatások csökkentésére, a belső standard ⁴⁵Sc. A méréseket ⁵⁶Fe és ⁵⁷Fe izotópokra végeztük el, természetes izotóparányt feltételezve. Az ICP mérések során jelenlévő nagy mennyiségű NaCl mátrix kis mértékben befolyásolhatja ugyan azonos irányban a kapott mennyiségek abszolút értékét, azonban az eredmények nagyságrendileg helyesek, és egymással jól összehasonlíthatóak. A mérések hibája ± 25 µg/dm³.

3.3.13. A citotoxicitás vizsgálata

A válogatott PE/MNP minták citotoxikus hatásának vizsgálata humán sejtvonalakon történt (MRC5 – egészséges tüdő, HeLa – méhnyakrák, A431 – bőrrák, MCF7 – emlőrák) MTT-teszt segítségével. A vizsgálat során a sejtek a tesztelt anyagok jelenlétében azok citotoxikus (mérgező) hatásának függvényében maradnak életben és szaporodnak tovább, így a minta citotoxikus hatása arányos a sejttenyészetekben meghatározott élő sejtek számával (*Mosmann, 1983; Gupta and Curtis 2004*).

A méréseket a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Karának Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetén végezték el, a PAA/MNP (1,1 mmol/g)

esetén MRC5 és HeLa, a PAM/MNP (1,0 mmol/g) és a speciálisan összeállított CSA/MNP (0,2 mmol/g) esetében pedig A431 és MCF7 humán sejtvonalakon. A negatív kontroll nem tartalmazott PE/MNP mintát, hanem csak tenyésztőmédiúmot (10 %-os magzati szarvasmarha szérúm oldatának és 1 % antibiotikum / antimycoticum oldatának keveréke).

A sejtek tenyésztése 37 °C-on, 5 % CO₂ és magas páratartalom mellett történt. A sejteket 5000 sejt/ lyuk sejtszámmal 96-lyukú sejttenyésztő edénybe helyeztük, majd egy éjszakás inkubációs időt alkalmaztunk. A második nap az eredeti közeg eltávolítását követően a PE/MNP mintákat pufferoldatban elosztatva (0,2 cm³) elterítettük a sejttenyésztet tetején, a végső MNP tartalom 5, 20 és 100 µg/cm³. Ezután 72 órás inkubációs időt alkalmaztunk.

Az élő sejtek számát egy intakt mitokondriális reduktáz enzim által katalizált színreakció segítségével fotometriásan határoztuk meg. Ennek során 0,02 cm³ 5 g/dm³-es koncentrációjú MTT-oldatot ([3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromid]) adtunk a sejtszuspenziókhoz. Az MTT-reagenst csak az élő sejtek képesek a mitokondriumukban átalakítani, aminek eredményeként 4 óra kontaktidő elteltével kék színű kristályok válnak ki. A közeg eltávolítását követően a csapadékot oldottuk 60 perces ráztatás során 0,1 cm³ dimetil-szulfoxidban, majd 545 nm-en fotometriásan detektáltuk a színváltozás, kontrollként a kezeletlen sejteket alkalmazva (*Réthy et al., 2007*). A minták sejtsztódásra gyakorolt gátlását százalékban fejeztük ki, a hiba mértéke ± 1,5 %.

3.3.14. A vérsülyyedés mérése

A válogatott PE/MNP mintákkal vérsülyyedés méréseket is végeztünk, aminek segítségével a plazmában diszpergált vörösvérsejtek stabilitásának változása határozható meg (*Piva et al., 2007*). Az egészséges donorok vérének kolloidális állapotát vörösvérsejtek sülyyedésével, vagyis ESR méréssel (erythrocyte sedimentation rate) jellemeztük. Az eredeti Westergren módszer (*Westergren, 1926*) az egy óra alatt éles határfelülettel ülepedő vörösvérsejtek szintjét detektálja, a tiszta felülúszó a plazma. A méréseket Sedi-15 automata vérsülyyedést mérő készülékkel (BD Inc., U.S.) és Seditainer 1.8 vákuumos vérvételi csövekkel (BD Inc., U.S.; 1,8 cm³-es végtérfogat, 0,45 cm³ 0,105 mol/dm³-es nátrium-citrát-oldattal) végeztük el ~30 perces ülepedési idővel. Egészséges donorok esetében a jól stabilizált vörösvérsejtek ülepedését jellemző ESR érték < 20

mm/óra. Az ESR érték növekedése a vörösvérsejtek aggregációjára utal, azonban biokompatibilis anyag jelenlétében a vérsüllyedés mértéke nem változhat meg.

A méréseket a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központjának Laboratóriumi Medicina Intézetében végezték el, PAM/MNP (1,0 mmol/g), PAA/MNP (1,0 mmol/g) és a speciálisan összeállított CSA/MNP (0,2 mmol/g) mágneses folyadékok felhasználásával (pH ~6,3; 0,01 mol/dm³ NaCl, MNP: 10 g/dm³). A PAM/MNP mintából 0,01 mol/dm³-es NaCl-oldattal (pH ~7,3 ± 0,1) olyan hígításokat készítettünk, hogy annak MNP tartalma 0,25; 0,50; 1,2 és 2,4 mg/cm³ legyen. A vizsgálatok során három-három egészséges donor citráttal alvadásgátolt vérért használtuk, és először a kezeletlen vérminták ESR értékeit határoztuk meg. Ezután a tesztcsövekből homogenizálás után 0,18 cm³-t eltávolítottunk és azt az adott hígítású PE/MNP mintákkal pótoltuk, így újabb tízszeres hígítást értünk el a magnetitre nézve. A referencia nem tartalmazott PE/MNP mintát, hanem csak 0,01 mol/dm³-es, pH ~7,3-as NaCl-oldatot. Az így összeállított PE/MNP-t is tartalmazó vérminták ESR értékeit újra megmértük (*Tóth et al., 2012*). A PAA/MNP és a CSA/MNP rendszerek esetében a méréseket csak a legnagyobb MNP tartalom (0,32 mg/cm³-es végső koncentráció) mellett végeztük el. Az ESR mérések pontossága ± 5 mm/óra.

4. Kísérleti eredmények bemutatása és értelmezése

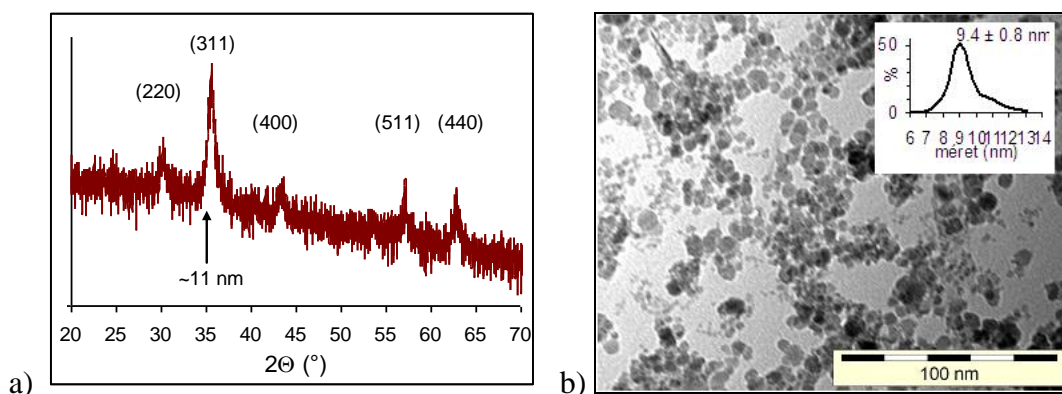
4.1. Mágneses vas-oxid nanorészecskék előállítása

4.1.1. Ko-precipitációs eljárással előállított magnetit nanorészecskék

A 3.2.1. fejezetben leírtak szerinti ko-precipitációs eljárással előállított és tisztított, savas kémhatású (pH ~3,0) magnetit szuszpenzió fényes, sötét barna színű, ami a jól stabilizált magnetit nanorészecskékre jellemző.

A nanorészecskék röntgen diffraktogramján (4.1.1. ábra) a magnetitre jellemző csúcsok azonosíthatók $30,4^\circ$, $35,7^\circ$, $43,2^\circ$, $57,5^\circ$ és $63,1^\circ$ 2θ szögeknél (*Cornell and Schwertmann; 1996; Tombácz et al., 2007*). A JCPDS kártyák alapján ezekhez a csúcsokhoz a (220), (311), (400), (511) és (440) Miller indexek tartoznak. A magnetit csúcsai nagyon közel esnek a maghemit csúcsaihoz, megkülönböztetésük nem könnyű. Ebben az esetben elfogadjuk azt, hogy a minta részben maghemitet is tartalmazhat, azonban ez nem befolyásolja a kísérleteinket, mivel a maghemit és a magnetit felületi és mágneses tulajdonságai nagyon hasonlóak (*Tombácz et al., 2007*).

A röntgen diffraktogram $35,7^\circ$ 2θ szögnél található csúcs kiszélesedéséből a Scherrer-egyenlet (18) segítségével meghatározott részecskeméret ~ 11 nm, ami jó egyezést mutat a TEM képek (4.1.1. ábra) alapján meghatározott $9,4 \pm 0,8$ nm-es értékkel. A TEM képek alapján a nanorészecskék egységes méretűek, kerekded alakúak és egyedi részecskékként jelennek meg a felvételen.



4.1.1. ábra Ko-precipitációval előállított magnetit nanorészecskék
a) röntgen diffraktogramja (az intenzitást önkényes egységben kifejezve), b) TEM-képe

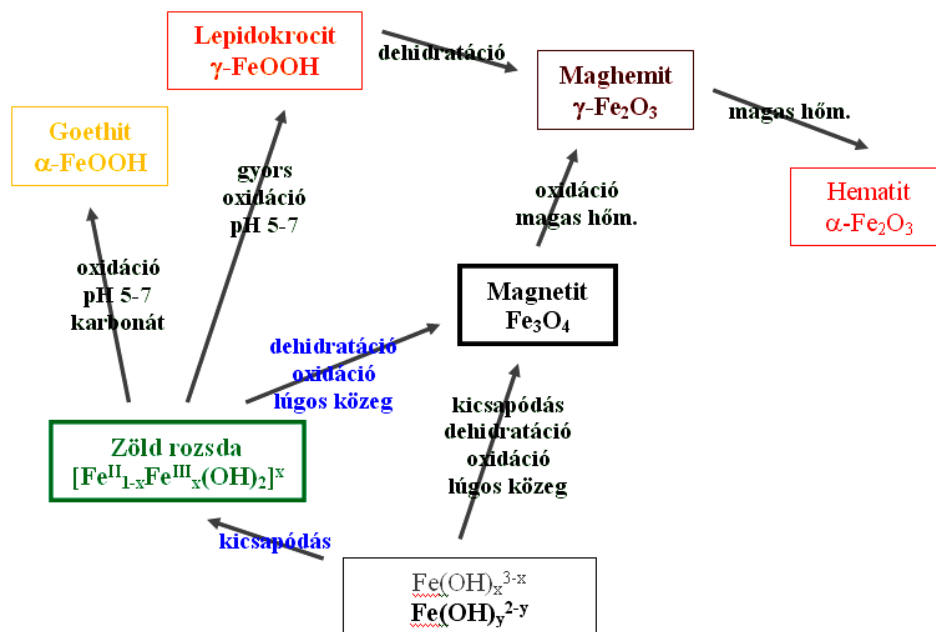
Az ultrahangos kádban 80 °C-on elvégzett hidrotermális öregítés eredményeként a ko-precipitációval előállított MNP részecskék mérete ~10 nm, ami lényegesen nagyobb, mint az anélkül szintetizált minták TEM alapján meghatározott mérete ($6,7 \pm 1,7$ nm) (Tombácz *et al.*, 2007). Ez a különbség fontos lehet majd a mágneses folyadékok hipertermiás tulajdonságainak vizsgálatakor, mert a nagyobb méretű, szuperparamágneses részecskékkel nagyobb hőmérsékletemelkedés érhető el (Pankhurst *et al.*, 2009).

4.1.2. Oxidációs-precipitációs eljárással előállított vas-oxid nanorészecskék

A 3.2.2. fejezetben leírtak alapján elvégzett oxidációs-precipitációs szintézisekkel célom volt méretvariált, egyedi, mágneses vas-oxid nanorészecskék előállítása. Az előállítások során az irodalomban elterjedt inert atmoszféra helyett levegőt alkalmazva több paramétert változtattam (oxidálószer mennyisége, hőmérséklet, alkalmazott Fe(II)-só minősége, reakcióidő, a szintézis során különböző időpillanatokban adagolt poliakrilsav minősége, mennyisége, ultrahangos kezelés).

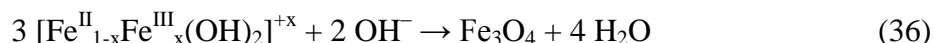
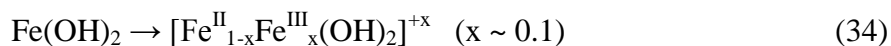
4.1.2.1. Az oxidációs-precipitációs eljárás paramétereinek optimalizálása mágneses vas-oxid nanorészecskék előállítása céljából

Az oxidációs-precipitációs szintézisek során a paramétereket (oxidálószer mennyisége, hőmérséklet, alkalmazott Fe(II)-só minősége, reakcióidő) szisztematikusan változtatva először optimalizáltam a szintézis körülményeit annak érdekében, hogy termékként mágneses vas-oxid nanorészecskéket (magnetit, esetleg maghemit) kapjak. Az Fe^{2+} -ionokból kiinduló előállítások során az irodalmi adatok alapján (Cornell and Schwertmann, 1996; Guang *et al.*, 2007; Dufour *et al.*, 1997) összeállított 4.1.2. ábrán bemutatott vas-oxidok, vas-hidroxidok, vas-oxid-hidroxidok keletkezése lehetséges.

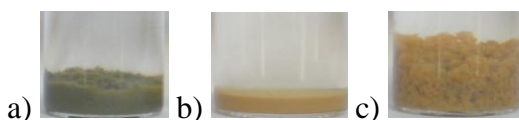


4.1.2. ábra Vas-oxidok, vas-hidroxidok, vas-oxid-hidroxidok keletkezési sémája Fe^{2+} -ionok vizes oldatából kiindulva

Először a szintézis során alkalmazott oxidálószer (NaNO_3) mennyiségét változtattam, az előállítás során FeSO_4 sóból indultam ki, és 16 órán keresztül tartottam a rendszereket 40°C -on. A szintézis során az FeSO_4 mennyiségéből és a 33-36. egyenletek lejátszódását feltételezve számítottam ki a NaNO_3 elméleti sztöchiometrikus mennyiségét.



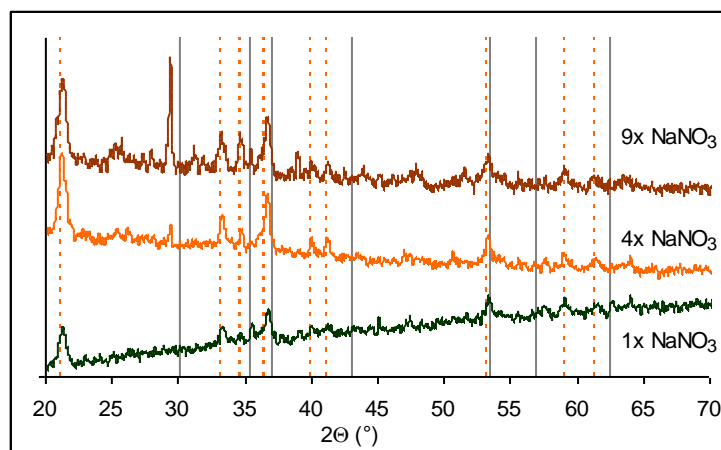
A számított érték alapján egyszeres ($1x \text{ NaNO}_3$), négyszeres ($4x \text{ NaNO}_3$) és kilencszeres ($9x \text{ NaNO}_3$) oxidálószer mennyiséggel is elvégeztem a szintézist. A kapott termékek fényképeit a 4.1.3. ábrán mutatom be.



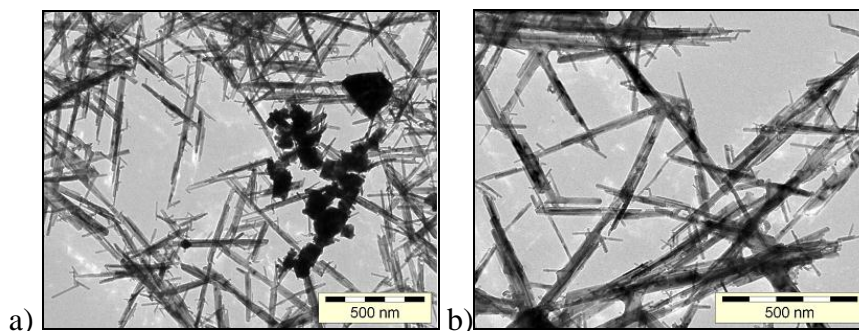
4.1.3. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis (FeSO_4 , 40°C , 16 óra) termékei különböző mennyiségű oxidálószer (NaNO_3) alkalmazása esetén;
a NaNO_3 a sztöchiometriai mennyiség a) egyszerese, b) négyszerese, c) kilencszerese

Az egyszeres NaNO_3 -tartalmú szintézis terméke zöld színű, enyhén mágneses anyag, ugyanakkor a négyszeres és kilencszeres NaNO_3 -tartalmú szintézisek termékei

okkersárga színűek és nem mágnesesek. A minták röntgen diffraktogramjait a 4.1.4. ábrán mutatom be. A négyszeres és kilencszeres NaNO_3 -tartalmú szintézisek termékeiben a goethitre jellemző csúcsokat határoztam meg: $21,2^\circ$, $33,2^\circ$, $34,7^\circ$, $36,6^\circ$, $40,0^\circ$, $41,2^\circ$, $53,2^\circ$, $59,1^\circ$ és $61,4^\circ$ (*Cornell and Schwertmann, 1996*). A $29,4^\circ$ és $38,9^\circ$ 2θ -nál található csúcsok a sósavval történő savazás után képződött és a mintában maradt NaCl -hoz tartoznak. Az egyszeres NaNO_3 -tartalmú szintézis esetében a goethit nagy intenzitású csúcsai mellett $35,7^\circ$ 2θ -nál megjelenik a magnetitre jellemző csúcs is. Ez jó összhangban van azzal, hogy ennek a mintának már van enyhe mágneses tulajdonsága. Ezeket a megállapításokat a TEM-képek (4.1.5. ábra) is alátámasztják, ugyanis a nagy feleslegben (kilencszeres) alkalmazott NaNO_3 esetében a minta csak több száz nanométeres, szálak szerkezetű anyagot tartalmaz, ami a goethit jellemző megjelenési formája (*Cornell and Schwertmann, 1996*), ugyanakkor az egyszeres mennyiségben jelen lévő NaNO_3 esetében elvégzett szintézis termékében a goethitre jellemző szálak mellett kisebb részecskemérettel rendelkező, robosztusabb részecskék is megfigyelhetők.



4.1.4. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis (FeSO_4 , 40°C , 16 óra) termékeinek röntgen diffraktogramjai (az intenzitást önkényes egységben kifejezve) különböző mennyiségű (a sztöchiometriai mennyiségének 1x-, 4x- és 9x-e) oxidálószer (NaNO_3) alkalmazása esetén (a szürke vonalak a magnetit, a sárga szaggatott vonalak pedig a goethit jellemző csúcsainak helye)



4.1.5. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis (FeSO_4 , 40 °C, 16 óra) termékeinek TEM képei különböző mennyiségű oxidálószer (NaNO_3) alkalmazása esetén, a NaNO_3 a sztöchiometriai mennyiség a) egyszerese, b) kilencszerese

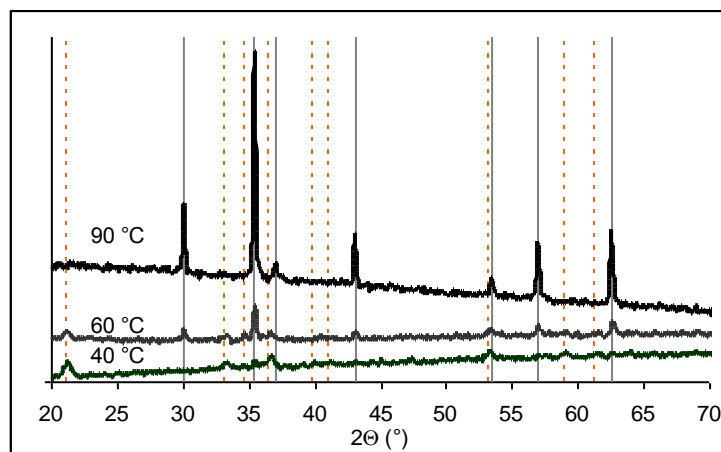
Ezek alapján megállapítottam, hogy az oxidálószer nagyobb mennyiségben való jelenléte a reakciót a magnetit (maghemit) képződése helyett a goethit ($\alpha\text{-FeOOH}$) képződésének irányába tolja el, így a további szintézisek során a NaNO_3 -ot a sztöchiometriának megfelelő arányban alkalmaztam.

Következő lépésként a szintézis reakció hőmérsékletét változtattam. FeSO_4 sóból indultam ki és a NaNO_3 -ot a sztöchiometriának megfelelő arányban alkalmaztam. A hőmérsékletet 40, 50, 60, 80 és 90 °C-ra állítottam be és a szintéziseket 16 órán keresztül, vagy a magnetitre jellemző fekete szín megjelenéséig folytattam. A különböző hőmérsékleteken végrehajtott szintézisek reakcióidejét és a termékek színét a 4.1.1. táblázatban mutatom be.

4.1.1. táblázat A különböző hőmérsékletű oxidációs-precipitációs szintézisek (FeSO_4 , NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) reakcióideje és a termékek színe

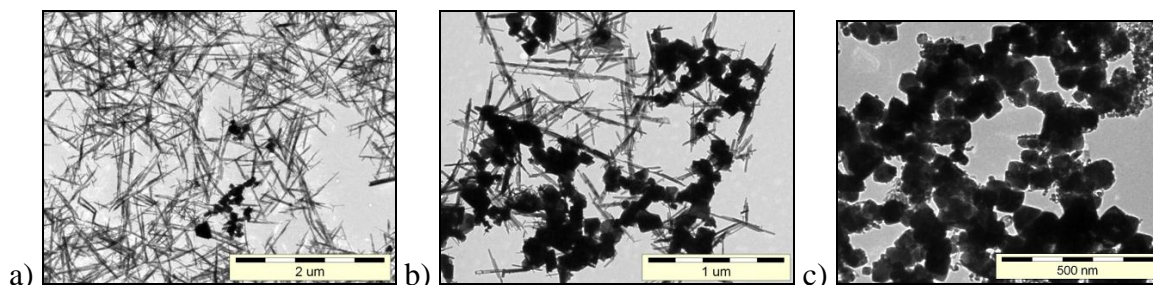
reakció hőmérséklete	40 °C	50 °C	60 °C	80 °C	90 °C
reakcióidő	16 óra	16 óra	2 óra	22 perc	15 perc
termék színe	zöld	sötétzöld	fekete	fekete	fekete

A 40, 60 és 90 °C-on előállított termékek röntgen diffraktogramjait a 4.1.6. ábrán mutatom be. A 40 °C-on elvégzett szintézis terméke zömmel goethitet tartalmaz, csak minimális mennyiségben található benne magnetit. A 60 °C-os szintézis termékében már a magnetitre jellemző csúcsok határozzák meg a diffraktogram képét, de a goethitre jellemző csúcsok is jól kivehetők. A 90 °C-on szintetizált minta az XRD alapján csak magnetitet tartalmaz, melléktermékként nincs benne goethit.



4.1.6. ábra A különböző hőmérsékletű oxidációs-precipitációs szintézis (FeSO_4 , NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) termékeinek röntgen diffraktogramjai (az intenzitást önkényes egységben kifejezve) (a szürke vonalak a magnetit, a sárga szaggatott vonalak pedig a goethit jellemző csúcsainak helye)

A röntgen diffraktogramokból levont következtetéseket alátámasztják a TEM-képek (4.1.7. ábra) is, a 40 °C-os szintézis termékében legnagyobb mennyiségben a szálas goethit található, a 60 °C-os szintézis során a magnetit és a goethit is látható, míg a 90 °C-os szintézis termékében már nem találtam szálas terméket, a keletkezett magnetit részecskék ~90 nm-esek.



4.1.7. ábra A különböző – a) 40 °C, b) 60 °C, c) 90 °C – hőmérsékletű oxidációs-precipitációs szintézis (FeSO_4 , NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) termékeinek TEM képei

A reakcióidők és a képződött termékek összetétele alapján megállapítottam, hogy alacsonyabb hőmérsékleten a reakció lassú és túlnyomó mennyiségben goethit képződik. Magasabb hőmérsékleten (80 – 90 °C) a magnetit képződése gyors reakcióban történik, és melléktermékként goethit nem, legfeljebb kis mennyiségű maghemit keletkezhet.

Az oxidációs-precipitációs szintézis reakció sebességét döntően az oxidálószer mennyisége és a hőmérséklet befolyásolja. A szintézisek során a pH végig magas ($> \sim 12$), ami előnyös a magnetit képződésnél, az alacsony hőmérséklet és a nagy mennyiségben alkalmazott NaNO_3 mégis a goethit képződése felé tolja el a reakciót. A 4.1.2. ábra alapján a goethit képződésének oka részben az lehet, hogy a szintézist levegő atmoszférán hosszú

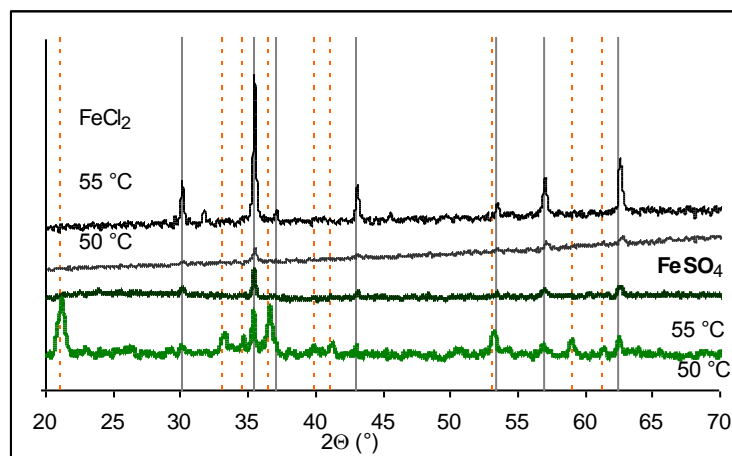
reakcióidővel végezve a lúgos közeg miatt jelentős a CO_2 beoldódás, ami megnöveli az oldatfázisban a karbonátionok mennyiségét (4.1.2. ábra).

Megvizsgáltam továbbá az alkalmazott Fe^{2+} -só minőségének, és így az ellenionoknak a szerepét. Az oxidációs-precipitációs előállítások során FeSO_4 sóból valamint FeCl_2 sóból indultam ki, a NaNO_3 -ot a sztöchiometriának megfelelő arányban alkalmaztam, a reakciót 50 és 55 °C-on játszottam le, 16 órán keresztül, vagy a magnetitre jellemző fekete szín megjelenéséig. A különböző Fe(II) -sók és hőmérsékletek esetében alkalmazott reakcióidőket és a termékek színét a 4.1.2. táblázatban mutatom be.

4.1.2. táblázat A különböző Fe(II) -sókból kiinduló oxidációs-precipitációs szintézis (NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) jellemzése

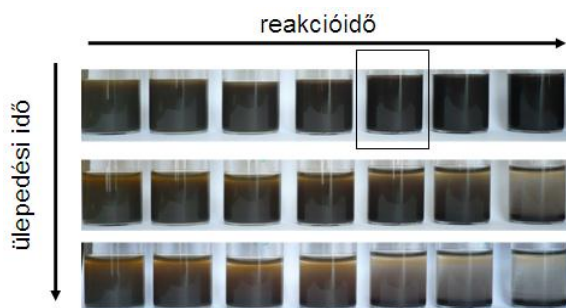
alkalmazott Fe(II) -só	FeSO_4		FeCl_2	
reakció hőmérséklete	50 °C	55 °C	50 °C	55 °C
reakcióidő	16 óra	3 óra	2,5 óra	40 perc
termék színe	sötétzöld	fekete	fekete	fekete

A termékek röntgen diffraktogramjait a 4.1.8. ábrán mutatom be. Az FeSO_4 esetében 50 °C-on elvégzett szintézis terméke sötétzöld színű, és az XRD alapján jelentős mennyiségben tartalmaz goethitet a magnetit (részben maghemit) mellett. Az XRD alapján a másik három előállítás során a magnetit (részben maghemit) mellett nem keletkezik goethit melléktermékként az XRD által detektálható mennyiségben, mert egyik esetben sincs csúcs a goethitre legjellemzőbb $21,2^\circ 2\theta$ értéknél. Azonos körülmények között az FeCl_2 -sót alkalmazva gyorsabb reakcióban és nagyobb valószínűséggel kapok mágneses vas-oxidot termékként. Tehát az Fe(II) -só minőségének hatását vizsgálva megállapítottam, hogy a FeCl_2 oldatából történő magnetit szintézis kedvezményezettebb a FeSO_4 oldatából történő előállításhoz képest. Ennek oka az lehet, hogy a szulfácionok a goethit képződésének kedvezhetnek (*Cornell and Schwertmann, 1996*).



4.1.8. ábra A különböző Fe(II)-sókból kiinduló és hőmérsékletű oxidációs-precipitációs szintézis (NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) termékeinek röntgen diffraktogramjai (az intenzitást önkényes egységben kifejezve) (a szürke vonalak a magnetit, a sárga szaggatott vonalak pedig a goethit jellemző csúcsainak helye)

A reakcióidő hatását azokra az esetekre általánosítva mutatom be, amikor a termék mágneses vas-oxid részecske (magnetit, részben maghemit). Egy tetszőlegesen kiválasztott szintézis képeit a 4.1.9. ábrán, jellemző tulajdonságait pedig a 4.1.3. táblázatban mutatom be.



4.1.9. ábra Egy tetszőlegesen kiválasztott, termékként magnetitet adó oxidációs-precipitációs szintézis során különböző reakcióidő után vett minták és azok ülepedése

4.1.3. táblázat Egy tetszőlegesen kiválasztott, termékként magnetitet adó oxidációs-precipitációs szintézis során különböző reakcióidő után vett minták jellemző tulajdonságai

reakcióidő	→		
szín	kékeszöld	fekete	fekete
mágneses	nem	igen	igen
ülepedés	lassan	gyorsabban	nagyon gyorsan
megjegyzés	állás közben barnul	magnetit részecskék	nagymértékben összenőtt magnetit részecskék

Az Fe(II)-só oldatának NaOH-oldatban történő kicsapásakor a reakcióelegy színe kékes-zöld a kiváló zöldrozsdától $[(\text{Fe}(\text{OH})_2, \text{ pontosabban } [\text{Fe}^{\text{II}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2]^{+x}, \text{ ahol } x \sim 0,1)]$, majd a NaNO_3 hozzáadagolásával és a reakció előre haladásával szürkésbarnán keresztül feketébe megy át. Ekkorra befejeződik a magnetit képződése, a továbbiakban a részecskék összekristályosodnak, amit a minták egyre gyorsabb ülepedése jelez. A reakciót akkor kell leállítani, amikor a magnetit nanorészecskék képződése befejeződött.

A 4.1.2.1. fejezet alapján a magnetit nanorészecskék levegő jelenlétében történő oxidációs-precipitációs szintézisének optimális körülményei a következők: FeCl_2 oldatát csapom ki 90°C -on NaOH-oldatban, a NaNO_3 mennyiségét a sztöchiometriai aránynak megfelelően állítom be és a reakciót további ~ 15 percig engedem lejátszódni. Az így előállított és megtisztított vas-oxid röntgen diffraktogramján lévő csúcsok nagy intenzitásúak és élesek, a jól kristályosodott, nagyobb részecskeméretű magnetit mellett kis mennyiségű maghemit lehet jelen melléktermékként. A TEM képek (4.1.10. ábra) alapján azonban a részecskék nem egységes méretűek és nagymértékben összenőttek.

4.1.2.2. A részecskék összenövésének megakadályozása az oxidációs-precipitációs szintézis során

A 4.1.2.1.-es fejezetben a levegő atmoszférán elvégzett oxidációs-precipitációs szintézis paramétereit (oxidálószer mennyisége, reakció hőmérséklete, Fe(II)-só minősége, reakcióidő) optimalizáltam a mágneses vas-oxid részecskék előállítására. A továbbiakban az optimalizált paraméterek mellett előállított részecskék összenövésének megakadályozását vizsgáltam. Ehhez részben polielektrolitot, részben pedig ultrahangos kezelést (UH), szonokémiai eljárást alkalmaztam.

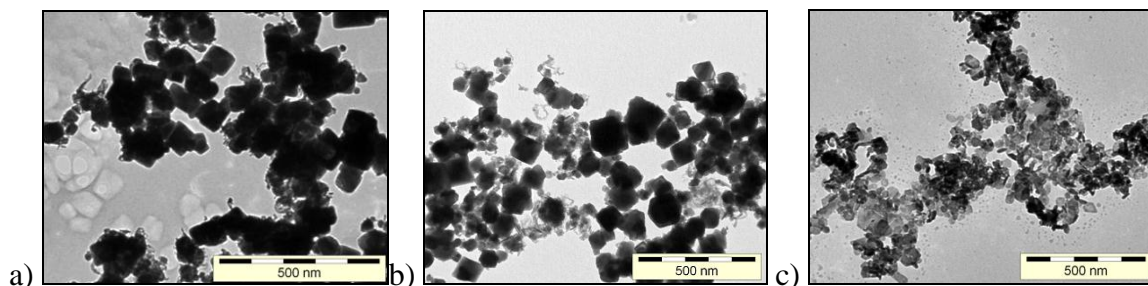
Az irodalomból is ismert, hogyha a részecskék szintézise során makromolekula van jelen a rendszerben, akkor az szabályozhatja a keletkező részecskék méretét, alakját, továbbá a részecskéken adszorbeálódva sztérikus védőréteget képezve növelheti azok stabilitását (*Lin et al., 2005*). A magnetit részecskék oxidációs-precipitációs szintézissel történő előállítása során poliakrilsavat használtam erre a célra. A poliakrilsav karboxilcsoportot ($-\text{COOH}$) tartalmaz, ami deprotonálódva ($\text{pK}_{\text{akrilsav}} \sim 4,25$ (*Furka, 1998*;

Bruckner, 1990)) karboxilátcsoportokat ($-\text{COO}^-$) eredményez a polimerláncon. A polielektrolit karboxil(át)csoportjai a szintézis során a vasionokkal komplexet képeznek, valamint a magnetit felületén adszorbeálódnak és így stabilizálhatják a keletkező részecskéket. A 3.2.2. fejezetben leírtaknak megfelelően a 3.2.3. ábra alapján végeztem el a szintéziseket, vagyis a poliakrilsavat az FeCl_2 -oldat NaOH -ba való becsepegtetése után és az oxidálószer adagolása előtt adtam a reakcióelegyhez, változtatva a PAA molekulatömegét és a hozzáadott mennyiségét. A szintéziseket FeCl_2 -oldatból, $90\text{ }^\circ\text{C}$ -on, a sztöchiometriai arálynak megfelelő mennyiségű NaNO_3 -tal játszottam le, a fekete szín megjelenéséig engedve a reakciót.

A molekulatömeg hatásának vizsgálatához két különböző PAA-t használtam, amiknek jellemző M_w értéke $\sim 5000\text{ Da}$ (PAA_{5000}) illetve $\sim 100000\text{ Da}$ (PAA_{100000}) volt. A hozzáadott PAA mennyiségét $0,7\text{ mmol/g}$ (mmol karboxil(át)csoport / gramm keletkező magnetitre vonatkoztatva) értéknek választottam. Az előállítások jellemző adatait a 4.1.4. táblázatban mutatom be, a minták TEM képei a 4.1.10. ábrán láthatóak. A PAA_{5000} esetében a részecskék mérete kismértékben csökkent ($\sim 85\text{ nm}$) és a TEM képek alapján úgy tűnik, hogy a részecskék összenövése nem jelentős. A PAA_{100000} esetében kapott termékre jellemző vöröses fekete szín arra utal, hogy a szintézis során a reakció erőteljesen a maghemit valamint a hematit irányába tolódik el. A TEM képek alapján megállapítható, hogy a részecskék méretét nagymértékben csökkentette ($\sim 32\text{ nm}$) a PAA_{100000} jelenléte, ugyanakkor a részecskék továbbra sem egyediek, aminek oka az lehet, hogy a polielektrolit molekulatömege túl nagy, így a makromolekula az egyedi részecskék stabilizálása helyett összekapcsolja azokat. Megállapítható, hogy a PAA molekulatömegének növekedésével a reakcióidő nő, a részecskék mérete csökken és a termék a magnetit helyett a maghemit és hematit irányába tolódik el.

4.1.4. táblázat A különböző molekulatömegű poliakrilsav jelenlétében az oxidációs-precipitációs szintézis optimalizált körülményei között (FeCl_2 , $90\text{ }^\circ\text{C}$, NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) elvégzett előállítások reakcióideje, a termékek színe és részecskemérete [a PAA mennyisége $0,7\text{ mmol/g}$]

molekulatömeg	-	5000 Da	100000 Da
reakcióidő	12 perc	26 perc	32 perc
termék színe	fekete	fekete	vöröses fekete
méret (TEM)	$\sim 90\text{ nm}$	$\sim 85\text{ nm}$	$\sim 32\text{ nm}$



4.1.10. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis optimalizált körülményei között (FeCl_2 , 90°C , NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) különböző – a) nincs, b) 5000 Da, c) 100000 Da – molekulatömegű poliakrilsav (PAA) jelenlétében elvégzett előállítások termékeinek TEM képei
[a PAA mennyisége 0,7 mmol/g]

A továbbiakban az ~5000 Da-os molekulatömegű poliakrilsavval vizsgáltam a polielektrolit hozzáadott mennyiségének hatását a keletkező részecskék anyagi minőségére és méretére. A hozzáadott PAA_{5000} mennyiségét 0; 0,7; 1,4 és 2,8 mmol/g értéknek választottam. Az előállítások jellemző adatait a 4.1.5. táblázatban mutatom be. Jól látható, hogy a PAA_{5000} relatív mennyiségének növelésével a részecskék mérete csökken, a reakcióidő nő, ugyanakkor a termék képződése ismét erőteljesen a maghemit és a hematit irányába tolódott el.

4.1.5. táblázat A különböző mennyiségben alkalmazott poliakrilsav (PAA, 5000 Da) jelenlétében az oxidációs-precipitációs szintézis optimalizált körülményei között (FeCl_2 , 90°C , NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) elvégzett előállítások reakcióideje, a termékek színe és részecskemérete

hozzáadott PAA (mmol/g)	0	0,7	1,4	2,8
reakcióidő	12 perc	26 perc	28 perc	33 perc
termék színe	fekete	fekete	vöröses fekete	vöröses fekete
méret (TEM)	~90 nm	~85 nm	~45 nm	~35 nm

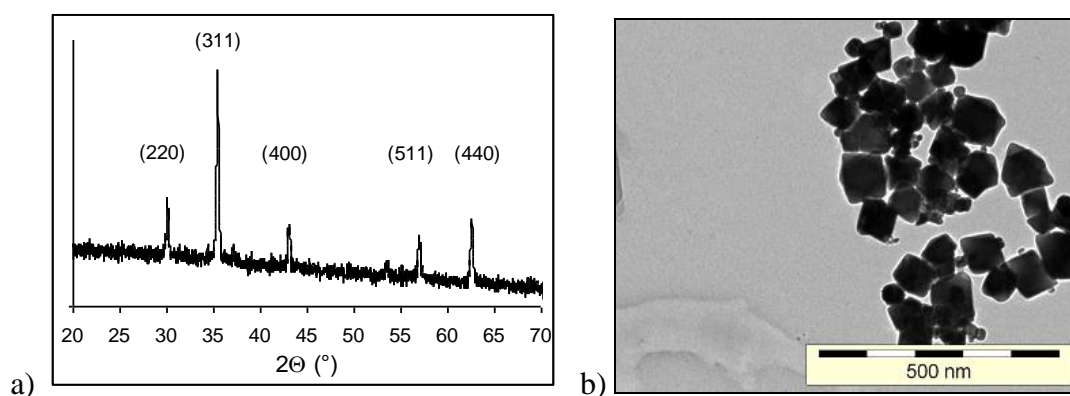
Az eddigi eredmények alapján megállapítható, hogy a kisebb molekulatömegű PAA_{5000} polielektrolit nem túl nagy mennyiségben (0,7 mmol/g) történő adagolása esetén a keletkező mágneses vas-oxid részecskék mérete kis mértékben csökken, a részecskék összenövését pedig nagymértékben megakadályozza.

Az ultrahang (UH) diszpergáló hatása jól ismert az irodalomból (*Nguyen et al., 2011*), így a részecskék összenövésének megakadályozása érdekében UH-os kezelést is alkalmaztam. A 3.2.2. fejezetben leírtaknak megfelelően a végeztem el a szintéziseket, az ultrahangos kezelést az FeCl_2 -oldat NaOH -ba való becsepegtetése után és az oxidálószer adagolása előtt végeztem el, az UH-ozás közben is emelt hőmérsékleten tartva a rendszert.

A szintéziseket FeCl_2 -oldatból, 90 °C-on, a sztöchiometriai aránynak megfelelő mennyiségű NaNO_3 -tal hajtottam végre, a fekete szín megjelenéséig engedve a reakciót.

Az UH alkalmazása során annak diszpergáló hatása miatt az $\text{Fe}(\text{OH})_2$ gócok mérete csökken, eloszlása egyenletesebb lesz, így nő az egyedi részecskék megmaradásának valószínűsége. Ugyanakkor az UH oxidáló hatással is rendelkezik (*Vijayakumar et al.*, 2000), így hosszabb idejű alkalmazás esetén a reakciót erőteljesen a maghemit illetve a hematit képződésének irányába tolja el, ami jól nyomon követhető a vörösbarna szín megjelenésével.

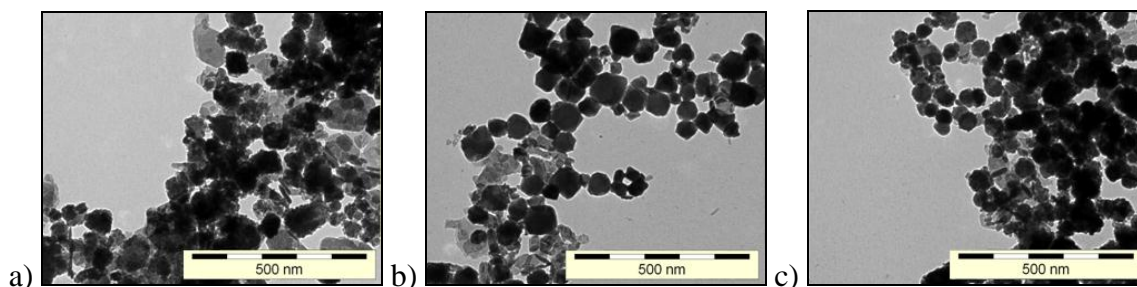
Ezek alapján megállapítható, hogy az $\text{Fe}(\text{OH})_2$ gócok kialakítása után alkalmazott rövid idejű ultrahangozás (~2 perc) előnyösen hat a magnetit nanorészecskék képződésére, a termék ~75 nm-es, oktaéderes magnetit és a TEM képen (4.1.11. ábra) a részecskék egyediek. A röntgen diffraktogram (4.1.11. ábra) alapján a termék magnetit (részben maghemit), a csúcsok élesek, ami jól kristályosodott anyagra utal.



4.1.11. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis optimalizált körülményei között (FeCl_2 , 90 °C, NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) 2 perc ultrahangos kezelés alkalmazásával előállított termék
a) röntgen diffraktogramja (az intenzitást önkényes egységben kifejezve), b) TEM képe

A következőkben az ultrahangos kezelést és a poliakrilsav adagolást kombináltam. Az optimalizált körülmények között (FeCl_2 -oldatból, 90 °C-on, a sztöchiometriai aránynak megfelelő mennyiségű NaNO_3 -tal, a fekete szín megjelenéséig engedve a reakciót) ~5000 Da molekulatömegű poliakrilsavat 0,7 mmol/g mennyiségben alkalmazva vizsgáltam a PAA₅₀₀₀ beadagolási sorrendjének hatását a keletkező részecskék méretére, morfológiájára. A beadagolási sorrendeket a 3.2.2. fejezetben leírtaknak megfelelően a 3.2.4. ábra alapján végeztem el, és az $\text{Fe}(\text{OH})_2$ gócok kialakulása után minden esetben 2 perc UH-os kezelést is alkalmaztam. A minták tisztítása után a poliakrilsavat hidrogén-peroxiddal eltávolítottam a 3.2.2 fejezetben leírtaknak megfelelően, majd az MNP részecskéket tartalmazó

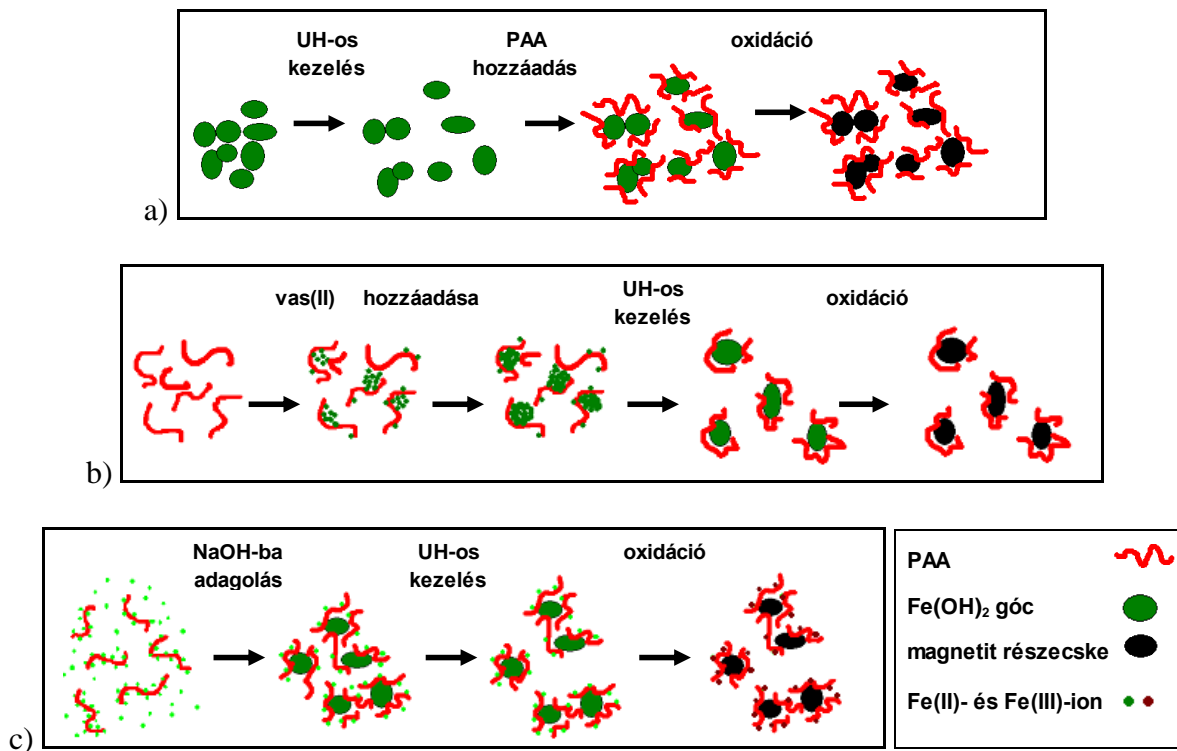
diszperziókat pH ~3-on tároltam. A három különböző helyen beadagolt PAA₅₀₀₀ esetében kapott termékek TEM képeit a 4.1.12. ábrán mutatom be.



4.1.12. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis optimalizált körülményei között (FeCl_2 , 90 °C, NaNO_3 sztöchiometriai mennyiségben) 2 perc ultrahangos kezelés és a reakció során különböző helyen – a) ultrahangos kezelés után, b) NaOH-oldatban, c) FeCl_2 -oldatban – beadagolt poliakrilsav (PAA, 5000 Da, 0,7 mmol $-\text{COOH}$ / g MNP) jelenlétében elvégzett előállítások termékeinek TEM képei

A 4.1.12. ábra alapján jól látszik, hogy a poliakrilsav adagolásának sorrendjétől is függ a részecskék mérete és alakja. Csak az UH-os kezelést alkalmazva a részecskék oktaéderek és ~75 nm-esek (4.1.11. ábra), azonban a PAA₅₀₀₀ alkalmazásával a részecskék mérete minden esetben csökkent, és az alakjuk is kerekded lett. Ha a PAA₅₀₀₀-at a NaNO_3 hozzáadása után vagy a NaOH-oldatban adtam a rendszerhez, a részecskeméret ~60 nm lett, azonban az FeCl_2 -oldathoz adva a PAA₅₀₀₀-at nagyobb mértékű csökkenést tapasztaltam, a részecskeméret így ~50 nm. A részecskeméret PAA₅₀₀₀ beadagolásának helyétől való függésének oka a különböző mechanizmusokban keresendő. A három különböző beadagolás során a feltételezett mechanizmusokat sematikusán a 4.1.13. ábrán mutatom be.

Az oxidációs-precipitációs szintézis optimalizálásával három, egyedi részecskékből álló, különböző méretű magnetit állítottam elő, a ~75 nm-es, oktaéderez nanorészecskéket 2 perc UH-os kezelést alkalmazva, illetve a ~60 nm-es és ~50 nm-es kerekded nanorészecskéket 2 perc UH-os kezelés és PAA₅₀₀₀ szintézis közbeni beadagolásával. A minták 3.3.3. fejezetben leírt módon elvégzett VSM mérései alapján (4.1.17. ábra) ezeknek a részecskéknek a mágneszettségi görbéi minden esetben hiszterézist tartalmaznak, vagyis az előállított nanorészecskék állandó mágneses momentummal rendelkeznek. A továbbiakban a ko-precipitációval előállított ~10 nm-es és az oxidációs-precipitációval 2 perc UH-os kezelés mellett előállított ~75 nm-es magnetit nanorészecskék részletesebb összehasonlító jellemzésével foglalkoztam.

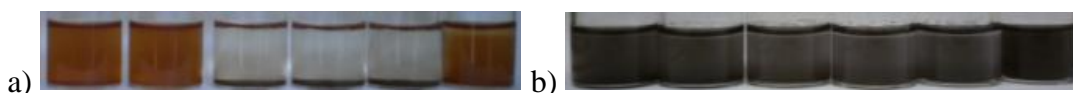


4.1.13. ábra Oxidációs-precipitációs szintézis során a különböző helyen – a) ultrahangos kezelés után, b) NaOH-oldatban, c) FeCl_2 -oldatban – beadagolt PAA jelenlétében feltételezett mechanizmusok

4.1.3. A ko-precipitációs és az oxidációs-precipitációs eljárásokkal előállított magnetit nanorészecskék összehasonlító jellemzése

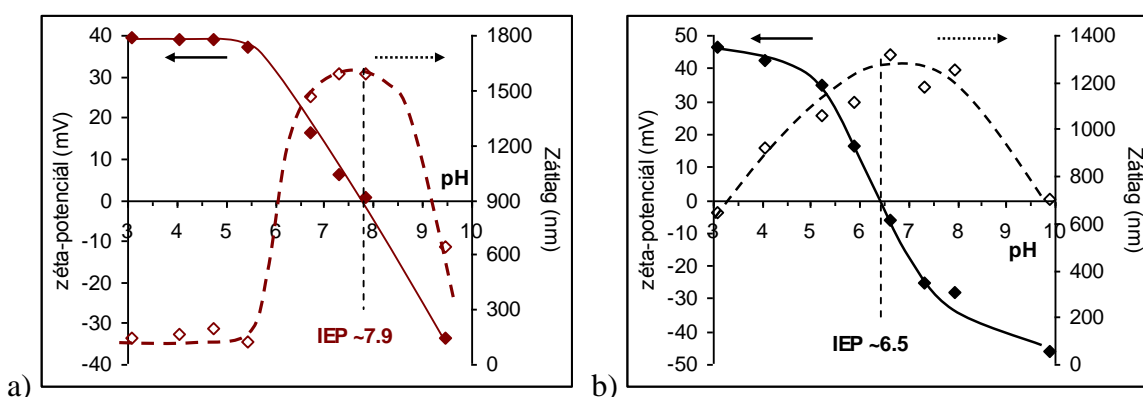
A ko-precipitációval, levegő atmoszférán, szobahőmérsékleten előállított magnetit TEM képei (4.1.1. ábra) alapján a nanorészecskék kerekded alakúak, átlagosan ~ 9 nm-esek, ami jól egyezik a röntgen diffraktogram (4.1.1. ábra) alapján a Scherrer-egyenletből meghatározott ~ 11 nm-es értékkel. A liofilizált minta fajlagos felülete $\sim 100 \text{ m}^2/\text{g}$. Az optimalizált oxidációs-precipitációs körülmények között (FeCl_2 -oldatból, 90°C -on, a sztöchiometriai aránynak megfelelő mennyiségű NaNO_3 -tal, a fekete szín megjelenéséig engedve a reakciót) ~ 2 perc UH alkalmazása mellett, de PAA jelenléte nélkül lejátszódó szintézis során előállított magnetit a TEM kép alapján (4.1.11. ábra) átlagosan ~ 75 nm-es oktaéderes, jól kristályosodott nanorészecskékből áll. A röntgen diffraktogram (4.1.11. ábra) alapján a csúcsok kiszélesedéséből már nem határozható meg a részecskék mérete. A liofilizált minta fajlagos felülete $\sim 10 \text{ m}^2/\text{g}$, ami a ko-precipitációs részecskék értékének egy tizede.

A két különböző módon előállított magnetit részecskék pH-függő felületi töltésállapotát és a diszperziók kolloidstabilitását zéta-potenciál és dinamikus fényszórás méréseivel vizsgáltam a 3.3.9. és 3.3.10. fejezetben leírt módon. Az összeállított sorozatokat a 4.1.14. ábrán, a mérési eredményeket pedig a 4.1.15. ábrán mutatom be.



4.1.14. ábra A magnetit nanorészecskék (MNP) stabilitásának pH-függése
(pH ~3 - ~10, $I = 0,01 \text{ mol/dm}^3$, MNP: $0,1 \text{ g/dm}^3$)

a) ko-precipitációs részecskék (~10 nm) 1 nap ülepedés után,
b) az oxidációs-precipitációs részecskék (~75 nm) 5 perc ülepedés után



4.1.15. ábra A magnetit nanorészecskék (MNP) zéta-potenciáljának és részecskeméretének pH-függése
($I = 0,01 \text{ mol/dm}^3$, MNP: $0,1 \text{ g/dm}^3$) és a rendszerek izoelektromos pontjai (IEP),

a) ko-precipitációs (~10 nm) részecskék, b) oxidációs-precipitációs (~75 nm) részecskék

A ko-precipitációs (~10 nm) MNP zéta-potenciál mérései alapján (4.1.15. ábra) a részecskék a nulla értéket az izoelektromos pontban (IEP) pH ~7,9-nél érik el, az ennél alacsonyabb pH-k esetében pozitív ($\equiv\text{Fe-OH}_2^+$), magasabb pH-értékek esetében pedig negatív ($\equiv\text{Fe-O}^-$) töltéssel rendelkeznek a részecskék. A dinamikus fényszórás mérések eredményeiből megállapítható, hogy az IEP-től távoli pH-kon a részecskék átlagos hidrodinamikai átmérője kicsi ($Z_{\text{átlag}} \sim 150 \text{ nm}$), a részecskék nem aggregálódnak, amit a minták stabilitása is alátámaszt (4.1.14. ábra) az irodalomban közölt eredményeknek megfelelően (Tombácz *et al.*, 2007).

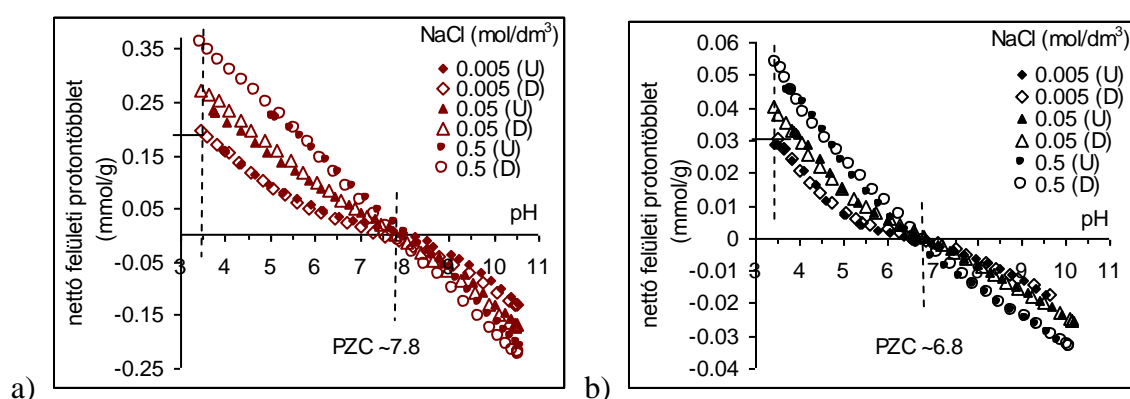
Az oxidációs-precipitációs (~75 nm) MNP esetében a zéta-potenciál mérések alapján (4.1.15. ábra) a részecskék IEP-je pH ~6,5-nél található, ami alacsonyabb a ko-precipitációs részecskékre kapott pH ~7,9-es értéknél. Az IEP alacsonyabb pH-érték felé való eltolódása figyelhető meg öregített magnetit minták esetében is, ahol párhuzamosan játszódik le a magnetit részecskék oxidálódása maghemitté és a részecskék méretének

növekedése (*Tombácz et al., 2007*). A dinamikus fényszórás mérések eredményeiből megállapítható, hogy az oxidációs-precipitációs MNP esetében az IEP-től távoli pH-kon is nagy a részecskék átlagos hidrodinamikai átmérője ($Z_{\text{átlag}} \sim 650 \text{ nm}$), vagyis a részecskék a teljes vizsgált pH-tartományban aggregálódnak (4.1.14. ábra). A felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ csoportok protonálódásból származó pozitív felületi töltések által létrehozott potenciáltér taszítása nem elegendő a nagy részecskék közötti mágneses vonzás ellensúlyozásához, a nagyobb méretű részecskék stabilizálásához.

A kétféle előállításból származó magnetit nanorészecskék pH- és ionerősségfüggő töltésállapotát potenciometriás sav-bázis titrálással (*Illés and Tombácz, 2004; Tombácz et al., 1999; Tombácz et al., 2004; Szekeres and Tombácz, 2012*) jellemeztem. A méréseket pH $\sim 3,5$ - $\sim 10,0$ között végeztem el, $0,005 \text{ mol/dm}^3$, $0,05 \text{ mol/dm}^3$ és $0,5 \text{ mol/dm}^3$ NaCl háttérelktrolit mellett. HCl- és NaOH-oldattal végeztem a titrálást a növekvő (U) majd a csökkenő (D) pH-k irányába. Az oxidok potenciometriás sav-bázis titrálása során teljesülniük kell a következő feltételeknek: az oxid felületi töltése a felületi $-\text{OH}$ csoportok protonálódásából/deprotonálódásából származik, csak ezen csoportok protonálódása/deprotonálódása fogyaszt savat/lúgot a titrálás során, és az alkalmazott háttérelktrolit indifferens. A magnetit minták titrálásánál ezen kritériumok teljesülnek, amennyiben a kiértékeléskor figyelembe vesszük a savas körülmények között (pH ~ 3) tárolt magnetit diszperzióban található protonok kiindulási mennyiségét (*Tombácz and Szekeres, 2001; Szekeres and Tombácz, 2012*). Ekkor a mért adatokból közvetlenül számítható nettó protonfogyasztás megfeleltethető a nettó felületi protontöbbletnek (*James and Parks, 1982; Lykleman, 1995; Szekeres and Tombácz, 2012*). A kísérleti eredményeket a 4.1.16. ábrán mutatom be.

A 4.1.16. ábra alapján megállapítható, hogy a ko-precipitációs magnetit nanorészecskék zérustöltés pontja (PZC) pH $\sim 7,8$ -nál, az oxidációs-precipitációs magnetit esetében pedig pH $\sim 6,8$ -nál található. Ezek az értékek jó összhangban vannak a zéta-potenciál mérésekből meghatározott IEP értékekkel. Az irodalomban a magnetitre található PZC értékek széles pH-tartományban ($3,8 - 9,9$) változnak (*Kosmulski, 2001; Marmier et al., 1999; Cornell and Schwertmann, 1996; Tombácz et al., 2007*). Általánosságban megállapítható, hogy a ko-precipitációval előállított kicsi méretű MNP részecskék esetében inkább pH ~ 8 körüli értékeket határoztak meg, míg a nagyobb részecskeméretekkkel rendelkező tömbfázisú magnetit minták esetében rendszerint alacsonyabbak a mért PZC értékek. Az IEP alacsonyabb pH-érték felé való eltolódását szulfát prekursor

alkalmazásakor a specifikus anionadszorpció is eredményezhetné (Kosmulski, 2001), azonban az itt vizsgált magnetitek vas-klorid sókból készültek. A titrálás során a ko-precipitációval előállított MNP nem frissen volt szintetizálva, ugyanakkor az oxidációs-precipitációs szintézissel előállított magnetit részecskék a mérés előtti nap lettek előállítva. Ennek alapján a ~75 nm-es MNP-vel összehasonlítva a ~10 nm-es MNP minta nagyobb arányban tartalmaz maghemitet a magnetit mellett, így összességében a PZC értékének csökkenése valószínűleg a részecskeméret növekedésének eredménye. Az MNP részecskéken a PZC-nél kisebb pH-jú oldatokban a pozitív ($\equiv\text{Fe}-\text{OH}_2^+$), nagyobb pH-júakban pedig a negatív ($\equiv\text{Fe}-\text{O}^-$) felületi helyek dominálnak.



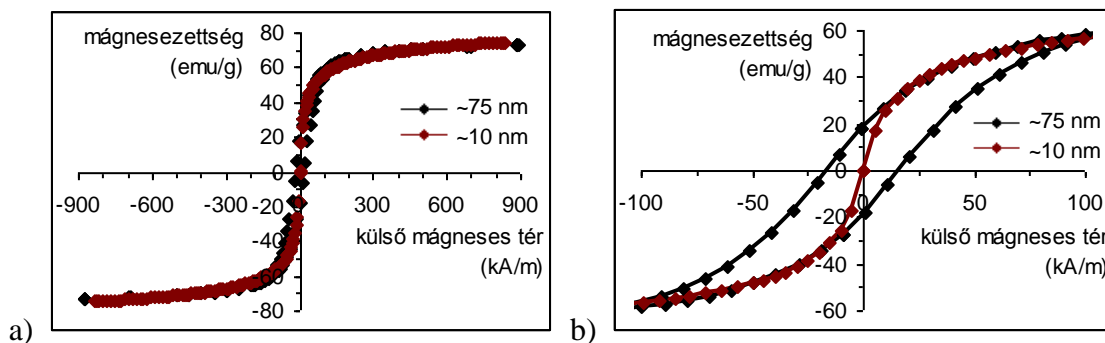
4.1.16. ábra Magnetit nanorészecskék potenciometriás sav-bázis titrálásából számított nettó felületi protontöbblet pH függvények
pH ~3,5 - ~10,0 tartományon, két ciklusban titrálva, NaCl háttélektrolit mellett,
a) ko-precipitációs (~10 nm) részecskék, b) oxidációs-precipitációs (~75 nm) részecskék,
(U: növekvő pH-k felé, D: csökkenő pH-k felé)

A potenciometriás sav-bázis titrálás alapján 0,005 M NaCl jelenlétében a ko-precipitációs (~10 nm) magnetit nanorészecskéken pH ~3,5-ön a felületi töltés mennyisége ~0,2 mmol/g, míg ugyanilyen körülmények között az oxidációs-precipitációs (~75 nm) MNP-nél ~0,03 mmol/g. A pH ~3,5-nél meghatározott felületi töltés mennyiségeinek viszonya hétszeres, a BET mérésekből korábban meghatározott fajlagos felületek aránya pedig tízszeres, ennek alapján a ko-precipitációs és az oxidációs-precipitációs részecskék felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ borítottsága nagyságrendileg ugyanakkora, miközben a tömegükre vonatkoztatott fajlagos töltésmennyiségek között nagyságrendnyi eltérés van.

A ko-precipitációs (~10 nm) MNP potenciometriás sav-bázis titrálása alapján az adszorpciónak megfelelő pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl körülmények között a felület az $\equiv\text{Fe}-\text{OH}_2^+$ csoportok jelenléte miatt pozitív töltésű, és a nettó protontöbblet értéke 0,05

mmol/g. Ugyanakkor a felületen nagy mennyiségben található töltés nélküli $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ hely is.

A ko-precipitációs (~10 nm) és az oxidációs-precipitációs (~75 nm) magnetit nanorészecskék mágneses tulajdonságait VSM mérésekkel jellemeztem, a minták mágnesezettségi görbéit a 4.1.17. ábrán mutatom be. A ko-precipitációs MNP telítési mágnesezettségi értéke ~74 emu/g, a mágnesezettségi görbéje pedig reverzibilis, vagyis a részecskék szuperparamágnesesek. Az oxidációs-precipitációs MNP részecskék telítési mágnesezettsége ~73 emu/g, ami jó egyezést mutat a szuperparamágneses részecskék esetében mért értékkel. Ugyanakkor a ~75 nm-es MNP mágnesezettségi görbájén hiszterézis látható (remanens mágnesezettség ~18 emu/g, koercív erő ~16 kA/m), ami igazolja, hogy ezek a részecskék ferrimágnesesek, állandó mágneses momentummal rendelkeznek. Az irodalmi adatok alapján is ezt vártuk, mivel a magnetitre ismert szuperparamágneses limit értéke ~20 nm (Dunlop and Özdemir, 1997; Baumgartner et al., 2013; Krishnan, 2010).



4.1.17. ábra Magnetit nanorészecskék (MNP) magnetizációs görbéi (ko-precipitációs (~10 nm) és oxidációs-precipitációs (~75 nm) részecskék), a) teljes mért tartományon, b) kinagyítva a -100 – 100 kA/m külső mágneses tér esetében

Az eddigi eredmények alapján megállapítható, hogy sikeresen szintetizáltam méretvariált magnetit nanorészecskéket ko-precipitációs (~10 nm) és oxidációs-precipitációs eljárással (~75 nm, ~60 nm és ~50 nm). Az oxidációs-precipitációs eljárással előállított MNP részecskék ferrimágnesesek, míg a ko-precipitációval előállított MNP részecskék szuperparamágneses tulajdonságúak. A továbbiakban a szuperparamágneses (~10 nm-es) részecskék felületmódosításával foglalkoztam, orvos-biológiai felhasználásra alkalmas mágneses folyadékok előállítását célul tűzve.

4.2. A szuperparamágneses magnetit nanorészecskék felületmódosítása

A ko-precipitációval előállított magnetit nanorészecskék (MNP) felületmódosításához három különböző anionos polielektrolitot használtam, a szintetikus poliakrilsavat (PAA, $M_w \sim 1800$ Da) és poli(akrilsav-ko-maleinsav)at (PAM, $M_w \sim 3000$ Da), valamint egy természetes eredetű poliszacharidot, a kondroitin-szulfát-A-t (CSA). A polielektrolitokkal burkolt mag/héj nanorészecskékből vizes közegű mágneses folyadékokat állítottam elő. A polielektrolitok mennyiségét minden esetben a karboxil- és a karboxilátcsoportok ($-\text{COOH}/-\text{COO}^-$) mmol mértékegységben megadott összmenyiségére vonatkoztatom.

4.2.1. A felületmódosításhoz használt polielektrolitok pH- és ionerősségfüggő töltésállapotának jellemzése potenciometriás sav-bázis titrálással

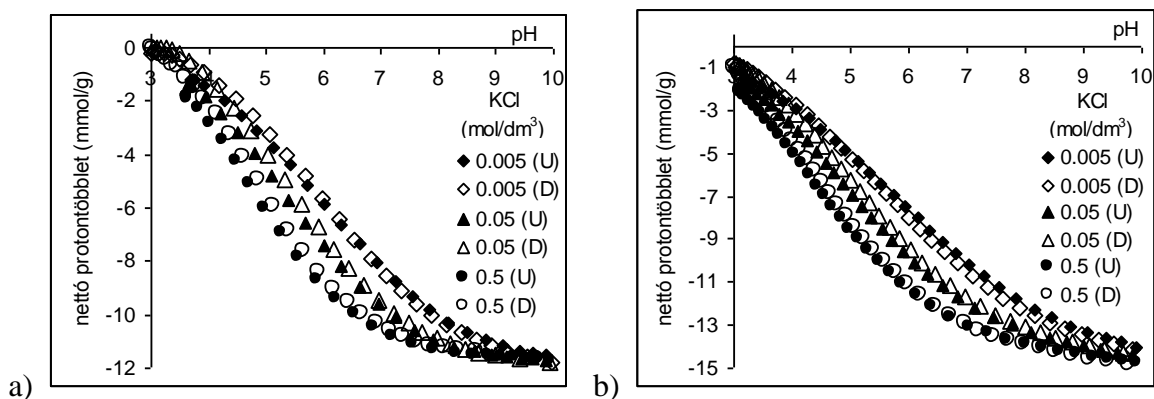
A polielektrolitok pH- és ionerősségfüggő töltésállapotát potenciometriás sav-bázis titrálással (*Illés and Tombácz, 2004; Tombácz et al., 1999; Tombácz et al., 2004; Szekeres and Tombácz, 2012*) jellemeztem. A méréseket adott pH-tartományban és háttérelktrolit mellett, ionerősségenként külön-külön beméréssel végeztem el. KCl-ot (PAA és PAM), illetve NaCl-ot (CSA) használtam háttérelktrolitként, így a titrálást HCl- és KOH-oldattal (PAA és PAM), illetve HCl- és NaOH-oldattal (CSA) végeztem el, a növekvő (U) majd csökkenő (D) pH-k irányába a protolitikus folyamatok reverzibilizálásának ellenőrzése céljából. A potenciometriás sav-bázis titrálás során teljesülniük kell a következő feltételeknek: a polielektrolit töltése a disszociálabilis csoportok deprotonálódásából származik, csak a funkciós csoportok deprotonálódása fogyaszt lúgot a titrálás során és az alkalmazott háttérelktrolit indifferens. Ekkor a mért adatokból közvetlenül számítható nettó protonfogyasztás megfeleltethető a nettó protontöbbletnek, amiből pedig meghatározható a funkciós csoportok disszociációfoka (*James and Parks, 1982; Lykleman, 1995; Szekeres and Tombácz, 2012*).

A csak karboxil(át)csoportot tartalmazó PAA és PAM esetében a kísérleti körülmények teljesítik a korábban felsorolt kritériumokat (*Hajdú et al., 2012; Tóth et al., 2012*). A titrálásokból nyert pH-függő nettó protontöbbleteket a 4.2.1. ábrán mutatom be. A görbék reverzibilisek és határozott ionerősségfüggést mutatnak, a funkciós csoportjaik

protonálódását/deprotonálódását a pH mellett az alkalmazott sókoncentráció is befolyásolja. A polisavak esetében jól ismert jelenség, hogy a titrálási görbéik eltérnek a monomerük titrálási görbájától (*Borkovec et al., 2001*). Egy polimerben a monomerre jellemző funkciós csoportok egymáshoz közel helyezkednek el, így azok disszociált állapotban elektrosztatikus teret hoznak létre a polianion környezetében. Ennek következtében a deprotonálódási folyamat előrehaladásával a negatív töltést hordozó térből az újabb protonok leszakadása elektrosztatikusan gátolt, ami a Boltzmann eloszlással (37. egyenlet) írható le:

$$n_{i,x} = n_i \cdot e^{\frac{-z_i \cdot e \cdot \Psi}{k \cdot T}} \quad (37)$$

ahol $n_{i,x}$ az i ion lokális koncentrációja x helyen, n_i a tömbfázisbeli koncentráció, z_i az ion töltése, e az elemi töltés, Ψ a potenciál, k a Boltzmann-állandó és T a hőmérséklet. A jelen lévő indifferent elektrolit ionjai ugyanakkor árnyékoló hatásúak, az árnyékolás mértéke az indifferent elektrolit aktuális ionerősségétől függ (*Oosawa, 1971*). Ez magyarázza, hogy PE titrálásakor jellegzetes ionerősségfüggést figyelhetünk meg: minél nagyobb az ionerősség, annál nagyobb a disszociációfok állandó pH-nál összehasonlítva a növekvő ionerősségnél mért görbéket (4.2.2. ábra).



4.2.1. ábra Csak karboxil(át)csoportot tartalmazó polielektrolitok potenciometriás sav-bázis titrálásából számított nettó protontöbblet görbék pH ~3,0 - 10,0 tartományon, növekvő (U) és csökkenő (D) pH-k irányában, KCl háttérelktrolit mellett, a) poliakrilsav b) poli(akrilsav-ko-maliensav)

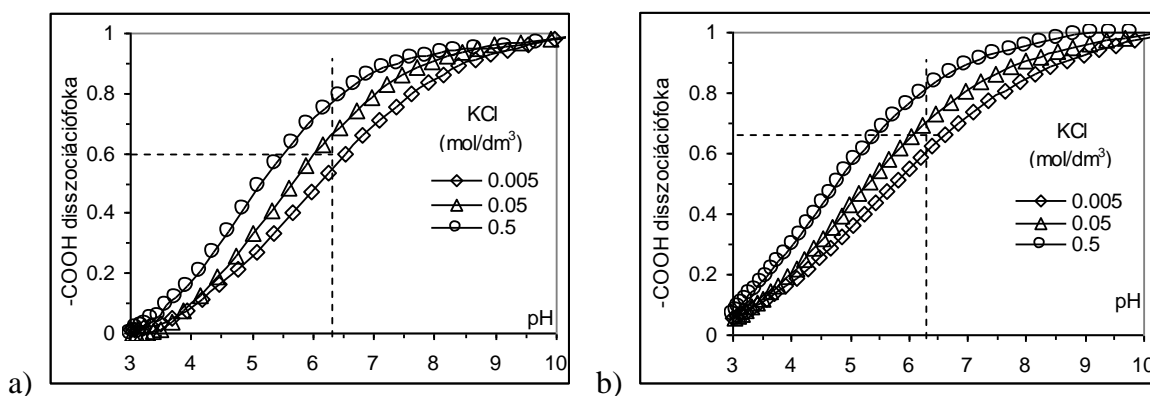
A PAA és a PAM titrálása során a karboxil(át)csoportjaiknak deprotonálódását/protonálódását vizsgáltam (38. egyenlet).



A PAA nettó protontöbblete teljes deprotonáltság esetében -11,7 mmol/g értéket vesz fel, ez az érték kevesebb a molekulaszervezetből számított értéknél. A PAA-t felépítő

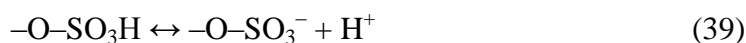
akrilsav egységekből számolva 1 mol, azaz 72 g anyagra 1 mol $-\text{COOH}$ csoport jut, ami 1000 mmol negatív töltésnek felel meg, vagyis a számított nettó protontöbblet ($-1000 \text{ mmol} / 72 \text{ g}$) $-13,9 \text{ mmol/g}$. A mért adatok alapján a PAA $-\text{COOH}$ csoportjainak csak 84 %-a deprotonálódik a pH emelésével. A PAM nettó protontöbblete teljes deprotonáltság esetében $-14,7 \text{ mmol/g}$ értéket vesz fel, ugyanakkor a számított nettó protontöbblet ($-1000 \text{ mmol} / 63 \text{ g}$) $-15,9 \text{ mmol/g}$. Tehát a mért adatok alapján a PAM esetében a $-\text{COOH}$ csoportoknak csak 92 %-a deprotonálódik a pH emelésével. Meg kell jegyezni, hogy a kvantitatív proton analitikával kapott eredmények eltérése a karboxilcsoportok sztöchiometriai mennyiségétől nem feltétlenül a savas csoportok gátolt disszociációjával értelmezhető, az eltérés oka lehet, hogy nem analitikai tisztaságú polisavakkal dolgoztunk.

A mérési adatokból kiszámolható a polielektrolitok $-\text{COOH}$ csoportjainak pH- és ionerősségfüggő disszociációs foka is. Ennek kiszámítása során a titrálási eredmények alapján elért maximális nettó protontöbblet értékeire vonatkoztattam az aktuális értékeket, az eredményt a 4.2.2. ábrán mutatom be. A későbbiek során kiemelt jelentőséggel vizsgálom a polielektrolittal felületmódosított magnetit nanorészecskéket (PE/MNP) pH $\sim 6,3$ és $0,01 \text{ mol/dm}^3$ NaCl mellett. Ezen körülmények között a PAA és a PAM disszociáció foka $\sim 60 \%$, illetve $\sim 65 \%$ (Hajdú *et al.*, 2012; Tóth *et al.*, 2012).

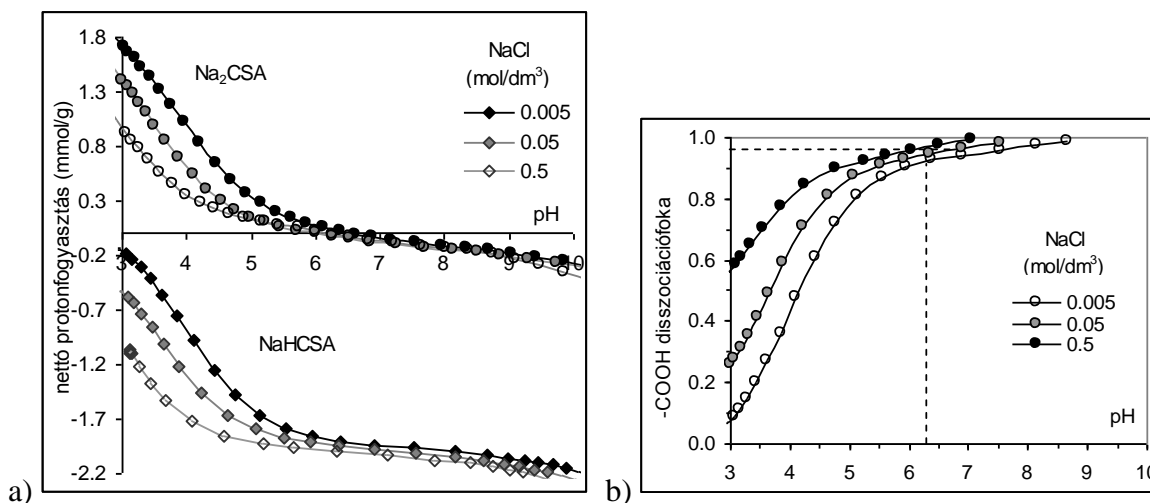


4.2.2. ábra Csak karboxil(át)csoportot tartalmazó polielektrolitok nettó protontöbblet görbéiből számított disszociációs fokai pH $\sim 3,0$ - $\sim 10,0$ tartományon, KCl háttérelktrolit mellett
a) poliakrilsav, b) poli(akrilsav-ko-maliensav)

A CSA nátrium sójának (Na_2CSA) titrálása során a nettó protonfogyasztás nagy pH-tartományban pozitív értéket vett fel (4.2.3. ábra), ami pozitív töltéseket feltételez a polielektroliton, ez azonban ellentmond a makromolekula szerkezetéből várható tulajdonságokkal (2.9. fejezet). A CSA disszociálási funkciós csoportjai alapján a titrálásnak ugyanis a 39. és 40. egyenlet alapján leírt reakciókkal összhangban kell lennie.



A pozitív értékű nettó protonfogyasztási érték oka lehet a mintában található lúgszennyezés, illetve hibaforrás az is, ha a vizsgált polielektrolit adott funkciós csoportja nem monokationos formában van jelen (Tombácz and Szekeres, 2001; Szekeres and Tombácz, 2012). Ennek kiküszöbölése érdekében a CSA nátrium sójából hidrogén formát állítottam elő a 3.1. pontban leírt módon. A hidrogén forma előállítása során pH ~1-ig savaztam a rendszert, az erősen savas szulfátcsoport még ezen a pH-n is teljesen deprotonált állapotban van (Bathe et al., 2005; Cleland, 1991). Ezek alapján az előállított polielektrolitban a funkciós csoportok állapota $-\text{O}-\text{SO}_3^- \cdot \text{Na}^+$ és $-\text{COOH}$, vagyis az összegképletet felírhatjuk NaHCSA alakban. Az előállított NaHCSA mintából megismételtam a potenciometriás sav-bázis titrálásokat, az így kapott nettó protonfogyasztás értékeit szintén a 4.2.3. ábrán mutatom be. Az NaHCSA titrálási eredményei már jó összhangban vannak a szerkezetből várt tendenciákkal. Ezután a Na_2CSA esetében kapott mérési eredményeket újra kiértékeltem lúgszennyezést feltételezve a mintában, ilyen paraméterek mellett a Na_2CSA titrálási görbéi jó összhangban voltak a NaHCSA eredményeivel. A kiinduláskor feltételezett lúgszennyezés alapján a Na_2CSA ismétlődő egységeinek egy moljára ~0,95 mol OH^- jut.



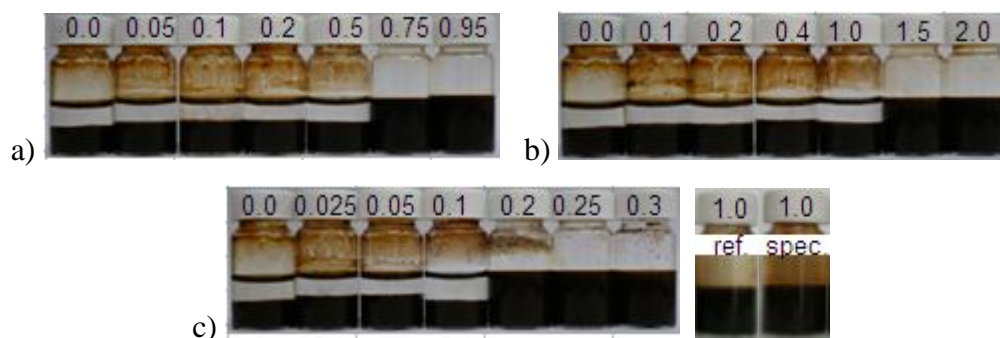
4.2.3. ábra a) A kondroitin-szulfát-A potenciometriás sav-bázis titrálásából kapott nettó protonfogyasztási görbék nátriumsó (Na_2CSA) és hidrogén forma (NaHCSA) esetén pH ~3,0 - ~10,0 tartományon, NaCl háttélektrolit mellett
b) az NaHCSA (és az Na_2CSA) karboxilcsoportjának számított disszociációs foka pH ~3,0 - ~10,0 tartományon, NaCl háttélektrolit mellett

A NaHCSA titrálásaiból kapott nettó protonfogyasztásból meghatározott nettó protontöbbletek alapján a --O--SO_3^- csoport a titrálás során állandó negatív töltésként értelmezhető és a vizsgált pH-tartományban csak a --COOH/--COO^- csoporton lejátszódó reakciókat mértem. A nettó protontöbblet teljes deprotonáltság esetében $-2,1 \text{ mmol/g}$ értéket vesz fel, ami jól egyezik a számított ($-1000 \text{ mmol/ 481 g}$) $-2,08 \text{ mmol/g}$ értékkel. Tehát a mért adatok alapján az NaHCSA, és így az Na_2CSA esetében is a --COOH csoportok 100 %-ban deprotonálódnak a pH emelésével. A CSA --COOH csoportjainak pH- és ionerősségfüggő disszociációs fokát a 4.2.3. ábrán mutatom be. A Na_2CSA -ban pH $\sim 6,3$ és $0,01 \text{ mol/dm}^3$ NaCl mellett a --COOH csoport teljesen deprotonált állapotban található, így ismétlődő egységre vonatkoztatva a --COO^- aránya 100 %. Az --O--SO_3^- csoportok is teljesen deprotonált állapotban vannak, azonban 100 ismétlődő egység közül csak ~ 95 -ön található meg (3.1. fejezet), így ismétlődő egységre vonatkoztatva az --O--SO_3^- aránya 95 %. Ezek alapján a Na_2CSA ismétlődő egységére vonatkoztatva a negatív töltések mennyisége pH $\sim 6,3$ és $0,01 \text{ mol/dm}^3$ NaCl mellett ~ 195 %.

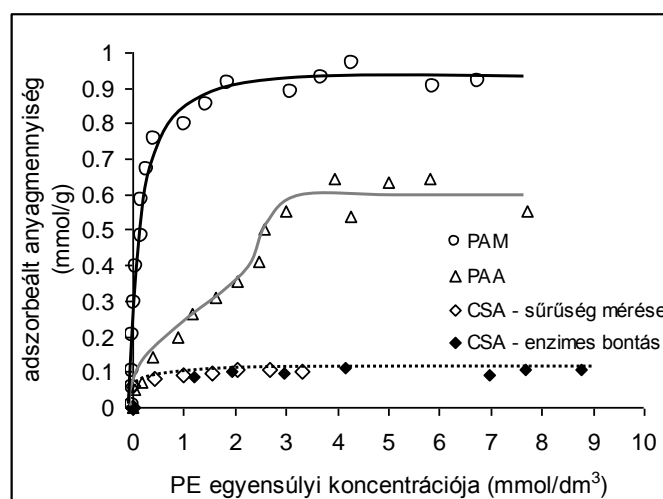
4.2.2. A polielektrolitok adszorpcióis izotermái magnetit nanorészecskéken

A ko-precipitációs ($\sim 10 \text{ nm}$) magnetit nanorészecskéken a különböző polielektrolitok (PAA, PAM és CSA) adszorpcióját vizsgáltam választott (pH $\sim 6,3$, $0,01 \text{ mol/dm}^3$ NaCl, magnetit tartalom: 10 g/dm^3 , adszorpció idő: 1 nap) feltételek mellett. Az elkészített PE/MNP sorozatok válogatott tagjai a 4.2.4. ábrán láthatóak egy napos állás után. A 3.3.7. fejezetben leírtak szerint meghatározott adszorpcióis izotermákat a 4.2.5. ábrán mutatom be.

A 4.2.4. ábrán jól látható, hogy mind a három polielektrolit esetében elegendően nagy mennyiségű felületmódosító ágens hozzáadásával stabilizálhatóak a PE/MNP minták. Kis mennyiségű PE hozzáadásakor a minták nem stabilak, a részecskék 1 napos állás alatt kiülepednek, a felülúszó tiszta, ugyanakkor az üvegfalra aggregált részecskék tapadnak. A PAA/MNP és PAM/MNP sorozat esetében a stabil mintáknál az üveg fala teljesen tiszta, ugyanakkor a CSA/MNP rendszernél a stabil mintáknál is található az üveg falán aggregálódott részecske.



4.2.4. ábra A PE/MNP rendszerek adszorpciós sorozatainak (pH ~6,3, 0,01 mol/dm³ NaCl, MNP: 10 g/dm³, adszorpciós idő: 1 nap) válogatott tagjai, a) PAA/MNP, b) PAM/MNP c) CSA/MNP (a feltüntetett számok a hozzáadott PE mmol/g mennyiségét jelentik, a szavak pedig a minták összeállítására utalnak: ref. ~ a leírtak szerint, spec. ~ speciális körülmények között)



4.2.5. ábra A PAA, PAM és CSA adszorpciós izotermái magnetit nanorészecskék felületén (pH ~6,3, I = 0,01 mol/dm³ NaCl, MNP: 10 g/dm³, adszorpciós idő: 1 nap)

A PAA adszorpciós izotermája ~0,6 mmol/g (mmol –COOH/–COO[–] összmenyisége / g magnetit) adszorbeált mennyiségnél éri el a telítési értéket. Jól látható, hogy ~0,4 mmol/g felületi borítottságnál az izotermának inflexiós pontja van, ami feltehetően a PAA polidiszperzitásával (a PAA növekvő mennyiségével a kisebb molekulák fokozatos kiszorulása miatt változó felületi réteg összetétellel) illetve a felületen adszorbeált PAA nagyobb mennyiségű polielektrolit jelenlétében lejátszódó konformációs változásával magyarázható (Zaman *et al.*, 2002; Chibowski *et al.*, 2005; Liufu *et al.*, 2005; Milkova and Radeva, 2006; Bremmell *et al.*, 1998). Hasonló izoterma alakokat határoztak meg kis molekulatömegű (2000 - 5000 Da) poliakrilsavak különböző oxidfelületeken történő adszorpciója során (Zaman *et al.*, 2002; Chibowski *et al.*, 2005; Liufu *et al.*, 2005; Klein Wolterink *et al.*, 2006; Pina *et al.*, 1999; Schwarz *et al.*, 1998). PAA alumínán

történő adszorpciójánál pedig megállapították, hogy az adszorpció izoterma telítési értéke függ a szilárd/folyadék aránytól (*Pan et al., 2001*), amiből arra következtettek, hogy a polielektrolit adszorpciója nem éri el az egyensúlyi állapotot az adott körülmények között.

A PAM adszorpció izotermájának alakja teljesen eltér a PAA esetében meghatározottétól. A PAM/MNP rendszert H-típusú izoterma írja le: a nagy affinitású szakasz vége $\sim 0,3$ mmol/g adszorbeált mennyiségnél található, majd $\sim 0,9$ mmol/g adszorbeált mennyiségnél éri el a telítési értéket. A PAM nagy affinitású határértéke lényegesen nagyobb az MNP-re pH $\sim 6,3$ és $0,01 \text{ mol/dm}^3$ NaCl mellett jellemző pozitív töltéssűrűség $0,05$ mmol/g értékénél. Ugyanakkor jól megegyezik a citromsav adszorpciójára hasonló körülmények között meghatározott nagy affinitású határértékkel (*Hajdú et al., 2009*), ami $\sim 0,1$ mmol/g citromsavra nézve, vagyis szintén $\sim 0,3$ mmol/g – COOH/–COO[−] csoportra számolva. Ez arra utal, hogy a kismolekulájú citromsav és a PAM makromolekula adszorpció mechanizmusa hasonló. A PAM ismétlődő egysége (akrilsav-ko-maleinsav) három karboxilcsoportot tartalmaz, amiből a maleinsavhoz tartozó kettő alkalmas a citromsav esetében jól ismert fém-karboxilát komplex képzésére (*Felthouse et al., 2007; Hsiou et al., 1989; Rosenqvist et al., 2003; Nigam et al., 2011; Todorovsky et al., 2002*).

A CSA adszorpció izotermája két analitikai eljárás felhasználásával lett meghatározva. A sűrűségmérések és az enzimes bontás segítségével elvégzett UV-mérések alapján (3.3.7. fejezet) meghatározott izoterma szakaszok jól összeilleszthetőek, és egy H-típusú izotermát adnak. Az izoterma alakja a PAM esetében meghatározottéhoz hasonló, ugyanakkor telítési értéke $\sim 0,1$ mmol/g adszorbeált értéknél található. Az adszorbeált érték karboxil(át)csoportban értendő, így ez $\sim 0,2$ mmol/g negatív töltésnek felel meg, ami lényegesen kisebb a PAM esetében meghatározott $\sim 0,9$ mmol/g telítési értéknél, de még mindig jóval nagyobb az MNP-re jellemző $0,05$ mmol/g pozitív értéknél. A PAM-ra jellemző telítési értéktől való ilyen nagy eltérés molekulaszervezeti és szterikus okokra vezethető vissza. A CSA töltéssel rendelkező funkciós csoportjainak polielektrolit lánc menti töltéssűrűsége (2.10. ábra) lényegesen kisebb, mint akár a PAM, akár a PAA polisavaknál (2.8. és 2.9. ábrák), és szerkezete nagyon összetett a PAA és a PAM szerkezetéhez képest. A CSA magnetit felületén való megkötődése során donor csoport lehet a karboxil(át)csoport, a szulfátcsoport, az alkoholos hidroxilcsoport, a β -glikozidos kötésben, az éter kötésben valamint a karbonilcsoportban található oxigén és az

amidcsoportban található nitrogén is (Sipos *et al.*, 1995). A szulfát- és a karboxil(át)csoportok messze vannak egymástól a láncon, ugyanakkor a β -glikozidos kötésben lévő oxigén illetve az alkoholos hidroxilcsoportok szintén koordinálódhatnak az adszorpció során (Sipos *et al.*, 1995; Liu and Laskowski, 1989; Nagy *et al.*, 1986; Sterk *et al.*, 1985; Gyurcsik, 2010), ami már magyarázat lehet az izotermára jellemző nagy affinitásra. A CSA poliszacharid váza lényegesen merevebb, mint a PAA vagy PAM szénlánc. A fentiekben részletezett többféle adszorpciós donor csoport és a lánc kisebb mértékű flexibilitása együttesen okozhatja, hogy a CSA szorosan illeszkedik a felülethez, így az adszorpció telítési értéke lényegesen alacsonyabb lehet, mint a lazább hurkokban adszorbeálódó PAA és PAM telítési értékei.

A CSA/MNP adszorpciós sorozatot jellemző fényképen megfigyelhető (4.2.4. ábra), hogy a stabil rendszerek esetében is voltak aggregációra utaló részecskék az üvegek falán, illetve a minták alján is található valamennyi kiülepedett rész. Ennek az lehet az oka, hogy a természetes eredetű, marha légcsőből előállított CSA a kinyerési eljárás következtében szennyezésként cetil-piridínium-kloridot (CPC) tartalmaz (Garnjanagoonchorn *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2011), és ez adszorbeálódva a magnetit részecskéken azok egy részét hidrofobizálja, destabilizálja. UV méréssel tudtam igazolni a szennyező jelenlétét, ugyanis a CPC-nak jellemző elnyelése van 260 nm-nél (Lima *et al.*, 2011; Roach *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2007). Ez a csúcs megjelent a CSA oldatában mért UV spektrumon, azonban az adszorpció után az egyensúlyi felülúszó már nem tartalmazta ezt a csúcsot, még nagy feleslegben alkalmazott CSA esetében sem. A cetil-piridínium-klorid jelenléte kedvezőtlenül befolyásolja a magnetit részecskék stabilizálást, azonban a CSA/MNP rendszer speciális körülmények közötti összeállítása során ez a hatás kiküszöbölhető, és jól stabilizált rendszer állítható elő (4.2.4. ábra).

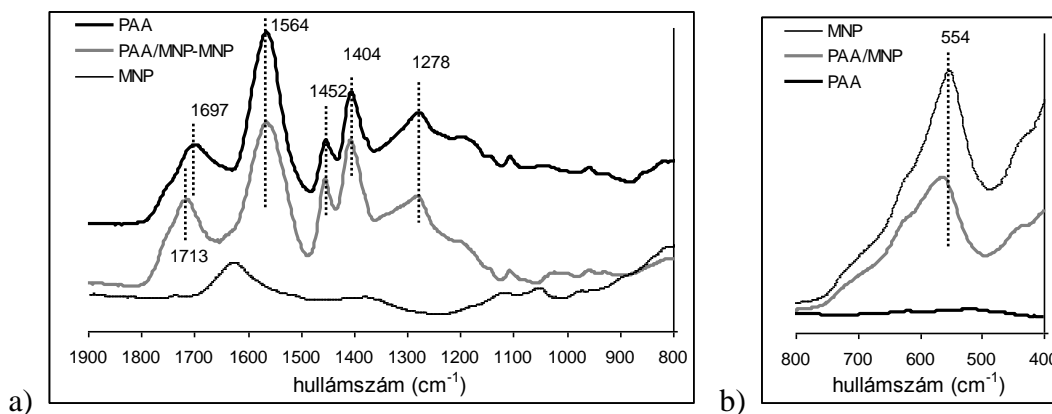
4.2.3. A polielektrolitok megkötődésének vizsgálata magnetit nanorészecskék felületén ATR-FTIR módszerrel

A ko-precipitációs (~10 nm) magnetit nanorészecskék és a felületmódosításhoz használt polielektrolitok kölcsönhatását ATR-FTIR módszerrel vizsgáltam. A gyémántfejre pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl tartalmú mintákat (magnetit, felületmódosító ágens, felületmódosító ágenssel módosított magnetit) szárítottam, majd a spektrumokat 400 cm⁻¹ és 4000 cm⁻¹ között vettem fel. Az ábrázolás során a spektrumnak a 400 – 800 cm⁻¹

tartományát az MNP-re jellemző részként, a 800 – 1900 cm^{-1} -es tartományát pedig a polielektrolitra jellemző részeként mutatom be. A 800 – 1900 cm^{-1} -es tartomány kiértékelése során minden esetben a PE/MNP spektrumokból kivontam az MNP spektrumát. Az ATR-FTIR módszer alkalmas arra, hogy a felületmódosító ágensnek a felületre való kötődésekor lejátszódó reakció miatt bekövetkező szerkezeti változásokat detektáljam, amiből az adszorpció során kialakult kötésekre, az adszorpció mechanizmusára következtethetek.

4.2.3.1. A PAA/MNP rendszer jellemzése

A PAA/MNP rendszer ATR-FTIR-rel történő jellemzéséhez 1,2 mmol/g PAA tartalmú PAA/MNP mintát használtam. A PAA, MNP és PAA/MNP illetve PAA/MNP-MNP spektrumainak jellemző tartományait a 4.2.6. ábrán mutatom be, a legjellemzőbb csúcsok helyét pedig a 4.2.1. táblázatban foglalom össze.



4.2.6. ábra A PAA, MNP és PAA/MNP (MNP: 10 g/dm^3 , pH ~6,3 és 0,01 mol/dm^3 NaCl) szuszpenziókból szárított minták ATR-FTIR spektrumai (az intenzitást önkényes egységben kifejezve),
a) a polielektrolitra jellemző 800 - 1900 cm^{-1} -es tartomány
b) a magnetitre jellemző 400 - 800 cm^{-1} -es tartomány

A PAA spektrumán (4.2.6. ábra) az 1697 cm^{-1} -es csúcs a $-\text{COOH}$ csoport C=O részéhez tartozó nyújtó rezgés, 1278 cm^{-1} -nél pedig a $-\text{COOH}$ csoporthoz tartozó C-OH rezgés található. Az 1564 cm^{-1} -es és az 1404 cm^{-1} -es csúcsok a $-\text{COO}^-$ csoport C-O részéhez tartozó aszimmetrikus és szimmetrikus rezgések (*Vermöhlen et al., 2000; Liufu et al., 2005; Hajdú et al., 2012*). Ez azt mutatja, hogy a PAA funkciós csoportjai részben protonált ($-\text{COOH}$) és részben deprotonált ($-\text{COO}^-$) formában vannak jelen pH ~6,3 és 0,01 mol/dm^3 NaCl esetében, ami jó egyezést mutat a potenciometriás sav-bázis titrálásból

kapott, adott körülmények közötti disszociáltsági állapottal. A PAA-nak az MNP-re történő adszorpciója során a C=O csoport rezgése 1697 cm⁻¹-ről 1713 cm⁻¹-re tolódik el, ugyanakkor a C–O aszimmetrikus és szimmetrikus rezgéseinek helye nem változott.

A disszociált karboxilátcsoporthoz (C–O) jellemző $\Delta\nu = \nu_{\text{asym}} - \nu_{\text{sym}}$ érték jellemző a karboxilátanion és a fém kationok között kialakult komplex típusára, mint például a monodentát, ionos, monodentát-hidas vagy bidentát komplex (*Baigorri et al., 2007; Vermöhlen et al., 2000; Taylor and Sigmund 2010; Hiemstra et al., 2004*). Mivel a PAA MNP-re történő adszorpciója (pH ~6,3 és I = 0,01 mol/dm³ NaCl) során nem változik meg a $\Delta\nu$ érték a PAA-oldatban mért állapotával összehasonlítva, így a vasionok és a karboxilátcsoporthoz közötti komplexképződés nem valószínűsíthető (*Hajdú et al., 2012*).

Ugyanakkor a nem disszociált karboxilcsoporthoz (–COOH) jellemző 1697 cm⁻¹-es csúcs nagyobb hullámszámok felé, 1713 cm⁻¹-re történő elcsúszása arra utal, hogy az adszorpció mechanizmusában a protonált karboxilcsoporthoz vesznek részt a deprotonált karboxilátcsoporthoz helyett (*Zhu et al., 2010; Hajdú et al., 2012*). Valószínűleg a protonált karboxilcsoporthoz (–COOH) H-kötéseket alakít ki közvetlenül a magnetit felületén található nem töltött $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ helyekkel ($\equiv\text{Fe}-\text{OH}\cdots\text{O}(\text{HO})\text{C}-$). Illetve a H-kötés kialakulhat még a pozitívan töltött felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}_2^+$ helyek és a negatívan töltött karboxilátcsoporthoz (–COO⁻) között is protonátadás segítségével. Az ellentétes töltésű részek közötti protonátadás jobban valószínűsíthető az ATR-FTIR eredményekből, mert a C–O kötéseikhez tartozó csúcsok relatív intenzitásának csökkenése nagy, míg a C=O részhez tartozó csúcs relatív intenzitásának változása elhanyagolható az adszorpció során, de a semleges spécieszek közötti reakció sem zárható ki. A PAA MNP-re történő adszorpciójának feltételezett reakciói tehát a 41. és 42. egyenletekkel írhatóak le.



A PAA-nak H-kötéssel történő adszorpciója a magnetiten jó analógiája az irodalomból ismert PAA hematiten történő adszorpciójának, ahol pH ~7 esetében a PAA H-kötésen keresztül köt a felületre (*Jones et al., 1998*).

A PAA másik jellemző csúcsa a –CH₂– csoportok ollózó rezgése 1452 cm⁻¹-nél (*Baigorri et al., 2007; Vermöhlen et al., 2000; Liufu et al., 2005; Hajdú et al., 2012*). A csúcs változatlanul marad az adszorpció során, ami arra utal, hogy a PAA hurkokban adszorbeálódik a magnetit felületére.

A borítatlan magnetit spektrumán található 1629 cm^{-1} -es és 1058 cm^{-1} -es csúcs az adott protonáltsági állapotoknak megfelelő felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ helyekhez tartozó rezgések. A magnetitre jellemző $\text{Fe}-\text{O}$ csúcs (Cornell and Schwertmann, 1996; Krishnamurti and Huang, 1991; Jubb and Allen, 2010; Mehta et al., 2006; Gotic and Music, 2007) 554 cm^{-1} -ről 563 cm^{-1} -re tolódik el az adszorpció során, ami a polielektrolit adszorpcióját igazolja (Hajdú et al., 2012).

4.2.1. táblázat MNP, PAA és PAA/MNP-MNP spektrumok jellemző elnyeléseinek helye és az adszorpció (MNP: 10 g/dm^3 , pH $\sim 6,3$ és $0,01\text{ mol/dm}^3\text{ NaCl}$) során történő eltolódásuk értéke cm^{-1} -ben kifejezve

	MNP	PAA	PAA/MNP-MNP	$\Delta\nu = \nu_{\text{ads}} - \nu_{\text{ref}}$
$\equiv\text{Fe}-\text{OH}^*$	554		563 **	9
C–OH (–COOH)		1278	1278	0
C=O (–COOH)		1697	1713	16
C–O (szim., –COO [–])		1404	1404	0
C–O (aszim., –COO [–])		1564	1564	0

(* adott protonáltsági állapotnak megfelelően)

(** a PAA/MNP spektrumból vett adat)

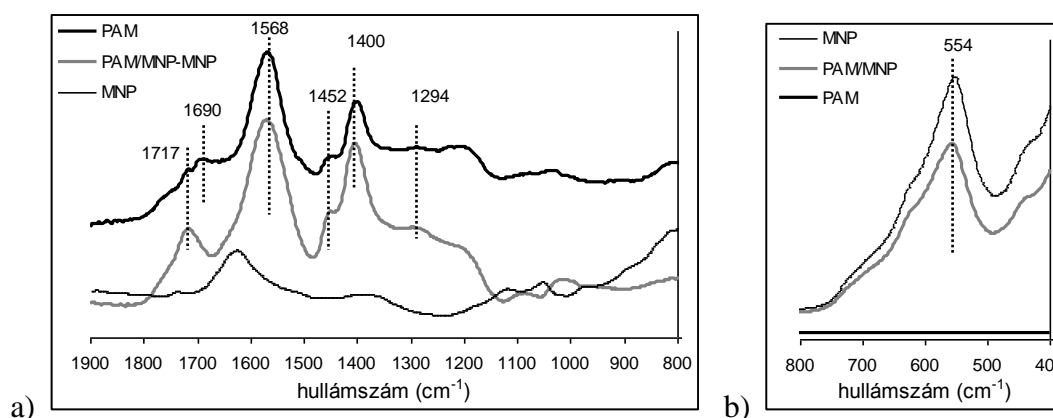
Az adszorpciós izoterma és az ATR-FTIR mérések eredményei alapján az MNP PAA-val történő felületmódosításakor az adszorpció és a kialakult adszorpciós réteg struktúrája a következő módon jellemezhető. A flexibilis PAA lánc hurkokban kapcsolódik az MNP felületére és így egy vastag polielektrolit réteg alakul ki az MNP körül, így lehetővé teszi a sztérikus stabilizálást, ami fontos a mágneses térben történő alkalmazhatóság szempontjából. A hurkokon és szabad láncvégeken található –COOH csoportok pH $\sim 6,3$ esetében részben deprotonálódva elektrosztatikus taszítást fejtenek ki az oldat fázisban lévő polielektrolit molekulákra, így gátolják azok adszorpcióját. Továbbá az ATR-FTIR eredmények azt mutatják, hogy az adszorpció során nem alakul ki belső szférás ($\equiv\text{Fe}-\text{OOC}-\text{R}$) komplex, így ez a két kísérleti tény együtt már megmagyarázza, hogy a PAA adszorpciós izotermája miért nem nagy affinitású izoterma.

4.2.3.2. A PAM/MNP rendszer jellemzése

A PAM/MNP rendszer jellemzéséhez $1,4\text{ mmol/g}$ PAM tartalmú PAM/MNP mintát használtam. A PAM, MNP és PAM/MNP illetve PAM/MNP-MNP spektrumainak

jellemző tartományait a 4.2.7. ábrán mutatom be, a legjellemzőbb csúcsok helyét pedig a 4.2.2. táblázatban foglalom össze.

A PAM spektrumán (4.2.7. ábra) az 1690 cm^{-1} -es csúcs a protonált állapotban lévő karboxilcsoport ($-\text{COOH}$) $\text{C}=\text{O}$ részéhez tartozó nyújtó rezgés, a $-\text{COOH}$ csoporthoz tartozó $\text{C}-\text{OH}$ elnyelése pedig 1294 cm^{-1} -nél található. Az 1568 cm^{-1} -es és az 1400 cm^{-1} -es csúcsok a deprotonált állapotban lévő karboxilátcsoport ($-\text{COO}^-$) $\text{C}-\text{O}$ kötéseikhez tartozó aszimmetrikus és szimmetrikus rezgések (Hajdú et al, 2012; Tóth et al., 2012). Ez azt mutatja, hogy a PAM funkciós csoportjai a PAA-hoz hasonlóan részben protonált ($-\text{COOH}$) és részben deprotonált ($-\text{COO}^-$) formában vannak jelen $\text{pH} \sim 6,3$ és $0,01\text{ mol/dm}^3$ NaCl esetében, ami jó egyezést mutat a potenciometriás sav-bázis titrálásból kapott disszociáltsági állapottal.



4.2.7. ábra A PAM, MNP és PAM/MNP (MNP: 10 g/dm^3 , $\text{pH} \sim 6,3$ és $0,01\text{ mol/dm}^3$ NaCl) szuszpenziókból szárított minták ATR-FTIR spektrumai (az intenzitást önkényes egységben kifejezve),
a) a polielektrolitra jellemző $800 - 1900\text{ cm}^{-1}$ -es tartomány
b) a magnetitre jellemző $400 - 800\text{ cm}^{-1}$ -es tartomány

A PAM-nak az MNP-re történő adszorpciója során (4.2.7. ábra) a karboxilcsoportra jellemző $\text{C}=\text{O}$ csoport rezgése 1690 cm^{-1} -ről 1717 cm^{-1} -re tolódik el és a csúcs relatív intenzitása megnő az oldott állapotban lévő PAM esetében mértékhez képest, ugyanakkor a $\text{C}-\text{OH}$ csoport elnyelése nem változik. A $\text{C}=\text{O}$ csúcsának eltolódása alapján megállapíthatjuk, hogy a protonált állapotban lévő karboxilcsoportok részt vesznek az adszorpciós folyamatban, a relatív intenzitásának növekedéséből pedig arra következtethetünk, hogy ezek a $-\text{COOH}$ csoportok részben az adszorpció során keletkeznek. Ez a jelenség jól magyarázható a PAA esetében már taglalt protonátadás során kialakult H-kötéses komplexképződéssel (Hajdú et al, 2012; Tóth et al., 2012). A PAM MNP-re történő adszorpciójának feltételezett reakciói tehát PAA/MNP rendszerénél már bemutatott és itt újból felírt 41. és 42. egyenletekkel írhatóak le.



A PAM-nak az MNP-re történő adszorpciója során (4.2.7. ábra) a deprotonált karboxilátcsoportjára ($-\text{COO}^-$) jellemző C–O aszimmetrikus és szimmetrikus rezgései 1568 cm^{-1} -ről és 1400 cm^{-1} -ről szintén a magasabb hullámszámok felé, 1574 cm^{-1} -re és 1404 cm^{-1} -re tolódtak el. Ez arra utal, hogy az adszorpció során közvetlen fém-karboxilát komplex alakul ki (*Baigorri et al., 2007, Tóth et al., 2012*), a belső szférás $\equiv\text{Fe}-\text{OOC}-$ komplex kialakulása feltehetően ligandumcserével történik. A komplexképződés során feltételezett reakciókat a 43. és 44. egyenletekben mutatom be.



A borítatlan magnetit spektrumán található 1629 cm^{-1} -es és 1058 cm^{-1} -es csúcs szintén az adott protonáltsági állapotoknak megfelelő felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ helyekhez tartozó rezgések (*Krishnamurti and Huang, 1991*). A magnetitre jellemző Fe–O csúcs (*Cornell and Schwertmann, 1996; Jubb and Allen, 2010; Mehta et al., 2006; Gotic and Music, 2007*) 554 cm^{-1} -ről 557 cm^{-1} -re tolódik (4.2.7. ábra) el az adszorpció során, ami a PAA-val analóg módon a polielektrolit adszorpcióját igazolja (*Hajdú et al., 2012*). A PAM $-\text{CH}_2-$ csoportjaihoz tartozó ollózó rezgését az 1450 cm^{-1} -nél található váll jellemzi, ami az adszorpció során változatlan, ami arra utal, hogy a PAM a PAA-hoz hasonlóan hurkokban adszorbeálódik a felületre (*Hajdú et al., 2012*).

A belső szférás $\equiv\text{Fe}-\text{OOC}-$ komplex képződése a PAA MNP-re történő adszorpciója során nem volt megfigyelhető (*Hajdú et al., 2012*), így az ATR-FTIR segítségével határozott különbséget tudunk tenni a PAA és a PAM MNP-re történő adszorpciójának ($\text{pH} \sim 6,3$ és $I = 0,01\text{ mol/dm}^3\text{ NaCl}$) mechanizmusa között. A belső szférás $\equiv\text{Fe}-\text{OOC}-$ komplex kialakulása azt jelzi, hogy a PAM egy erős kémiai kötéssel kapcsolódik az MNP felületéhez és így a folyamatot leíró izoterma nagy affinitású (H-típusú) (4.2.5. ábra). Ugyanakkor a PAA adszorpciója során nem alakul ki közvetlen Fe-karboxilát komplex, így az adszorpciót leíró izoterma (4.2.5. ábra) sem H-típusú.

A PAA és a PAM kémiai szerkezete nagyon hasonló, mégis a PAA nem képes felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OOC}-$ komplex kialakítására a magnetit felületén. A PAA esetében ismétlődő egységenként két láncmenti szénatomra egy funkciós csoport jut (2.8. ábra), míg a PAM esetében egy ismétlődő egységben (2.9. ábra) a négy láncmenti szénatomra három funkciós csoport jut és a maleinsavból származó egységben a két karboxil(át)csoport két szomszédos szénatomhoz kapcsolódik. Megállapíthatjuk, hogy a közvetlen $\equiv\text{Fe}-\text{OOC}-$

komplex kialakulásának feltétele, hogy a polielektrolit két karboxil(át)csoportot tartalmazzon a megfelelő geometriai elrendeződésben. Ez ellentétben van az irodalomban található adatokkal, miszerint a PAA is fém-karboxilát komplexet képez számos fénoxid esetében (*Ma et al., 2009 ; Mishra et al., 2010; Zaman et al., 2002*).

4.2.2. táblázat MNP, PAM és PAM/MNP-MNP spektrumok jellemző elnyeléseinek helye és az adszorpció (MNP: 10 g/dm³, pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl) során történő eltolódásuk értéke cm⁻¹-ben kifejezve

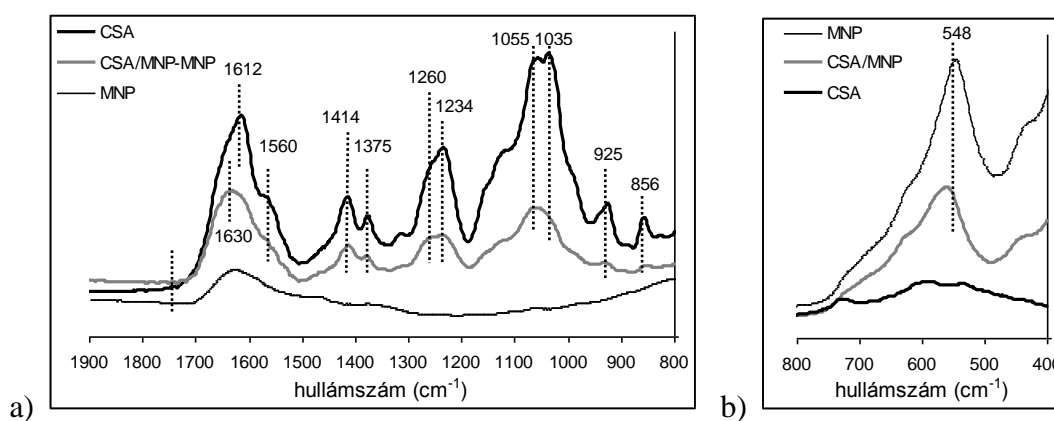
	MNP	PAM	PAM/MNP-MNP	$\Delta\nu = \nu_{\text{ads}} - \nu_{\text{ref}}$
$\equiv\text{Fe}-\text{OH}^*$	554		557 **	3
C-OH (-COOH)		1294	1294	0
C=O (-COOH)		1690	1717	27
C-O (szim., -COO ⁻)		1400	1404	4
C-O (aszim., -COO ⁻)		1568	1574	6

(* adott protonáltsági állapotnak megfelelően)

(** a PAM/MNP spektrumból vett adat)

4.2.3.3. A CSA/MNP rendszer jellemzése

A CSA/MNP rendszer jellemzéséhez 0,2 mmol/g CSA tartalmú CSA/MNP mintát használtam. A CSA, MNP és CSA/MNP illetve CSA/MNP-MNP spektrumainak jellemző tartományait a 4.2.8. ábrán mutatom be, a legjellemzőbb csúcsok helyét pedig a 4.2.3. táblázatban foglalom össze.



4.2.8. ábra A CSA, MNP és CSA/MNP (MNP: 10 g/dm³, pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl) szuszpenziókból szárított minták ATR-FTIR spektrumai (az intenzitást önkényes egységben kifejezve),
a) a polielektrolitra jellemző 800 - 1900 cm⁻¹-es tartomány
b) a magnetitre jellemző 400 - 800 cm⁻¹-es tartomány

A CSA spektrumán (4.2.8. ábra) $\sim 1740\text{ cm}^{-1}$ -nél nincs csúcs, ami azt jelenti, hogy nincs protonált állapotban lévő karboxilcsoport ($-\text{COOH}$) (*Uchisawa et al.*, 2001; *Merce et al.*, 2002). Az 1612 cm^{-1} -es és az 1375 cm^{-1} -es csúcsok a deprotonált állapotban lévő karboxilátcsoport ($-\text{COO}^-$) C–O részéhez tartozó aszimmetrikus és szimmetrikus rezgések (*Uchisawa et al.*, 2001; *Merce et al.*, 2002; *Tian et al.*, 2012; *Xiao et al.*, 2008). Ez azt mutatja, hogy a CSA karboxilcsoportjai teljesen deprotonált ($-\text{COO}^-$) formában vannak jelen pH $\sim 6,3$ és $0,01\text{ mol/dm}^3$ NaCl esetében, ami jó egyezést mutat a potenciometriás sav-bázis titrálásból kapott disszociáltsági állapottal.

A CSA-nak az MNP-re történő adszorpciója során (4.2.8. ábra) a karboxilcsoportra jellemző C=O csoport rezgése nem jelenik meg, tehát az adszorpció során sem keletkezik protonált forma, vagyis a PAA és PAM esetében feltételezett hidrogénkötés kialakulásával járó mechanizmus itt nem játszódik le.

Ugyanakkor a CSA-nak az MNP-re történő adszorpciója során (4.2.8. ábra) a deprotonált karboxilátcsoportjára ($-\text{COO}^-$) jellemző C–O aszimmetrikus és szimmetrikus rezgései 1612 cm^{-1} -ről és 1375 cm^{-1} -ről a magasabb hullámszámok felé, 1630 cm^{-1} -re és 1379 cm^{-1} -re tolódtak el. Ez arra utal, hogy az adszorpció során közvetlen fém-karboxilát komplex alakul ki (*Uchisawa et al.*, 2001; *Tóth et al.*, 2012). A CSA/MNP komplexképződés során a PAM esetében is feltételezett és leírt reakcióegyenletek lejátszódása valószínűsíthető, ezeket ismét a 43. és 44. egyenletekkel mutatom be.



Az 1260 cm^{-1} -es és a 856 cm^{-1} -es csúcsok a deprotonált állapotban lévő $-\text{O}-\text{SO}_3^-$ csoporthoz tartozó S=O és C–O–S kötésekre jellemző csúcsok (*Sipos et al.*, 1995; *Tian et al.*, 2012; *Garnjanagoonchorn et al.*, 2007; *Xiao et al.*, 2008). A 856 cm^{-1} -es csúcs igazolja, hogy a vegyszerként rendelkezésemre álló kondroitin-szulfát minta szinte teljes mértékben ténylegesen kondroitin-szulfát-A típusú (*Garnjanagoonchorn et al.*, 2007). A CSA MNP-re történő adszorpciója során ezek a csúcsok nem tolódnak el, ami arra utal, hogy nem vesznek részt az adszorpcióban. Ennek valószínűleg szterikus oka van (*Sipos et al.*, 1995).

Az 1414 cm^{-1} -es csúcs a CSA láncának vázrezgése, az 1234 cm^{-1} -es, az 1055 cm^{-1} -es, 1035 cm^{-1} -es és a 925 cm^{-1} -es csúcsok pedig az alkoholos hidroxilcsoportok valamint a piranóz gyűrű rezgéseikhez tartoznak (*Tian et al.*, 2012). Az adszorpció során ezek a csúcsok nem tolódnak el számottevő mértékben, azonban az egymáshoz viszonyított

arányuk változik. Ugyanez igaz az 1560 cm^{-1} -nél található vállra is, ami az amidcsoporthoz rendelhető elnyelés (Merce *et al.*, 2002; Sipos *et al.*, 1995; Tian *et al.*, 2012).

A borítatlan magnetit spektrumán található 1629 cm^{-1} -es és 1058 cm^{-1} -es csúcs az adott protonáltsági állapotoknak megfelelő felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ helyekhez tartozó rezgések (Krishnamurti and Huang, 1991). A magnetitre jellemző $\text{Fe}-\text{O}$ csúcs (Cornell and Schwertmann, 1996; Jubb and Allen, 2010; Mehta *et al.*, 2006; Gotic and Music, 2007) 548 cm^{-1} -ről 559 cm^{-1} -re tolódik (4.2.8. ábra) el az adszorpció során, ami a PAA-val és a PAM-mal analóg módon a polielektrolit adszorpcióját igazolja (Hajdú *et al.*, 2012; Tóth *et al.*, 2012).

A CSA szerkezete nagyon különbözik mind a PAA mind a PAM szerkezetétől, az adszorpció során mégis a PAM-hoz hasonló, H-típusú izotermát határoztunk meg. Az ATR-FTIR mérési eredmények értelmezése során megmutattam, hogy az adszorpció során feltehetően közvetlen fém-karboxilát komplex alakul ki az MNP részecske és a CSA deprotonált karboxilátcsoportja között, mivel a $-\text{COO}^-$ -ra jellemző $\text{C}-\text{O}$ aszimmetrikus és szimmetrikus rezgései a magasabb hullámszámok felé tolódtak el. Ugyanakkor azt is megállapítottam, hogy a CSA alkoholos $-\text{OH}$ csoportjaira jellemző csúcsok intenzitás arányai változnak, így valószínűsíthető, hogy ezek a csoportok is részt vesznek az adszorpcióban, a $-\text{COO}^-$ csoport mellett ezek is koordinálódnak a felülethez (Sipos *et al.*, 1995; Gyurcsik, 2010; Liu and Laskowski, 1989; Nagy *et al.*, 1986; Sterk *et al.*, 1985). Ennek következtében már kialakulhat egy olyan erős kölcsönhatás az MNP felület és a CSA polielektrolit között, ami biztosítja a nagy affinitást az adszorpció során.

4.2.3. táblázat MNP, CSA és CSA/MNP-MNP spektrumok jellemző elnyeléseinek helye és az adszorpció (MNP: 10 g/dm^3 , pH $\sim 6,3$ és $0,01\text{ mol/dm}^3\text{ NaCl}$) során történő eltolódásuk értéke cm^{-1} -ben kifejezve

	MNP	CSA	CSA/MNP-MNP	$\Delta\nu = \nu_{\text{ads}} - \nu_{\text{ref}}$
$\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ *	548		559 **	11
$\text{C}=\text{O}$ ($-\text{COOH}$)		-	-	-
$\text{C}-\text{O}$ (szim., $-\text{COO}^-$)		1375	1379	4
$\text{C}-\text{O}$ (aszim., $-\text{COO}^-$)		1612	1630	18
$\text{C}-\text{O}-\text{S}$ ($-\text{O}-\text{SO}_3^-$)		856	856	0
$\text{S}=\text{O}$ ($-\text{O}-\text{SO}_3^-$)		1260	1260	0

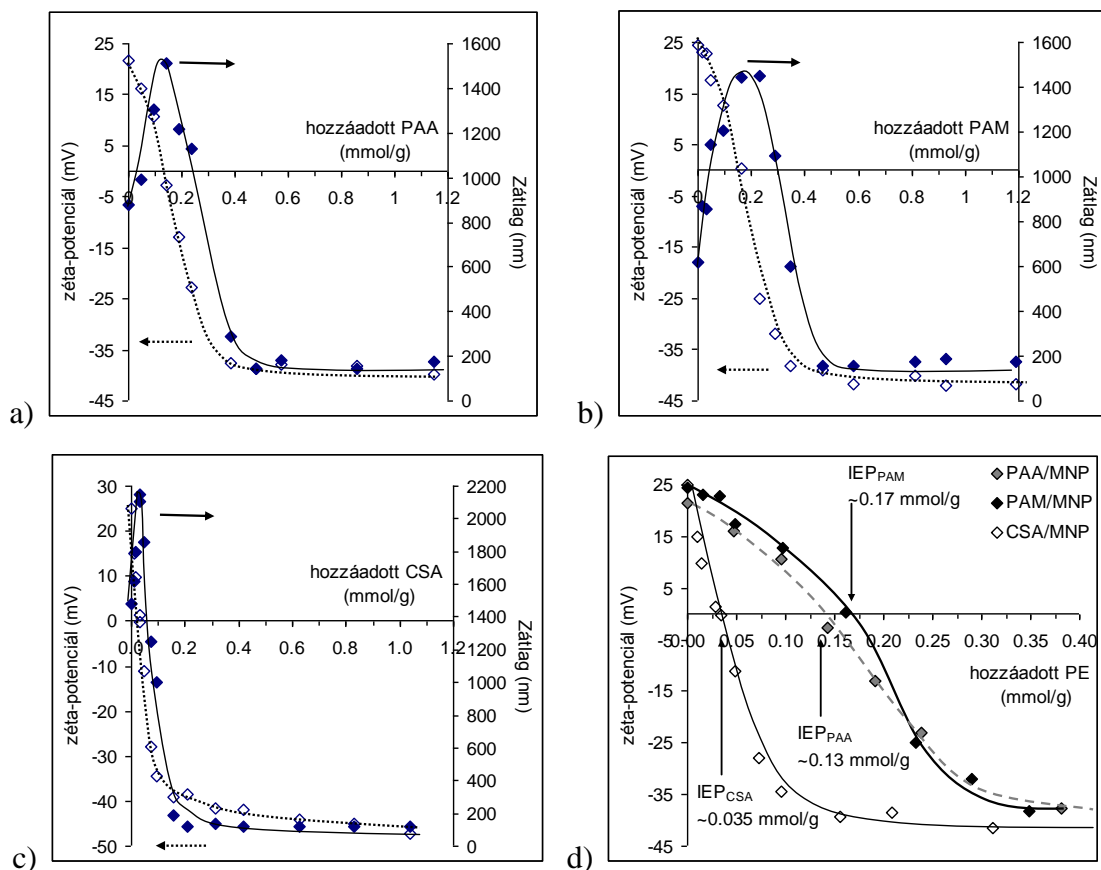
(* adott protonáltsági állapotnak megfelelően)

(** a CSA/MNP spektrumból vett adat)

4.2.4. A polielektrolitok mennyiségének és a pH-nak a hatása a magnetit nanorészecskék töltésállapotára és aggregációjára

4.2.4.1. A polielektrolitok mennyiségének hatása a magnetit nanorészecskék töltésállapotára és aggregációjára pH ~6,3-nál

A ko-precipitációs (~10 nm) magnetit nanorészecskék töltésállapotát (zéta-potenciál) és aggregációját (átlagos hidrodinamikai részecskeméret, $Z_{\text{átlag}}$) a felületmódosító ágensek mennyiségének függvényében vizsgáltam pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl mellett. A mért eredményeket a 4.2.9. ábrán mutatom be.



4.2.9. ábra A magnetit részecskék zéta-potenciáljának és részecskeméretének változása a polielektrolitok növekvő mennyiségével (pH ~6,3, $I = 0,01 \text{ mol/dm}^3$, MNP: $0,1 \text{ g/dm}^3$)
a) PAA/MNP rendszer, b) PAM/MNP rendszer, c) CSA/MNP rendszer,
d) PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszerek izoelektromos pontjai (IEP)

A 4.2.9. ábrákon jól látható, hogy a PE mennyiségének növelésével a részecskék zéta-potenciálja fokozatosan csökken, ugyanis a polielektrolitok mennyiségének növelésével egyre több makromolekula adszorbeálódik a felületre, így annak a felülethez

nem kötött karboxilcsoportjainak (illetve CSA esetében szulfátcsoportjainak) disszociációjából származó negatív töltések dominánssá válnak.

A polielektrolittal burkolt mag/héj nanorészecskék IEP-jét, vagyis az izoelektromos pontját PAA-nál $\sim 0,13$ mmol/g, PAM-nál $\sim 0,17$ mmol/g és CSA-nál pedig $\sim 0,035$ mmol/g PE adagolással értem el. A PE-ok ezen mennyiségei az adszorpciós izoterma adatai alapján az MNP felületének csak részleges borítására elegendőek. A részleges borítottság következményeként a felületen folt-szerűen alakulnak ki eltérő töltésállapotú területek (a PE-tal borított részek negatívak, a borítatlan MNP felületek pedig pozitívak), ez pedig a részecskék erőteljes aggregációjához (heterokoaguláláshoz) vezet (*Illés and Tombácz, 2006*). Ezt igazolja az is, hogy a részecskék átlagos hidrodinamikai átmérőinek minden esetben az IEP-nél van maximuma.

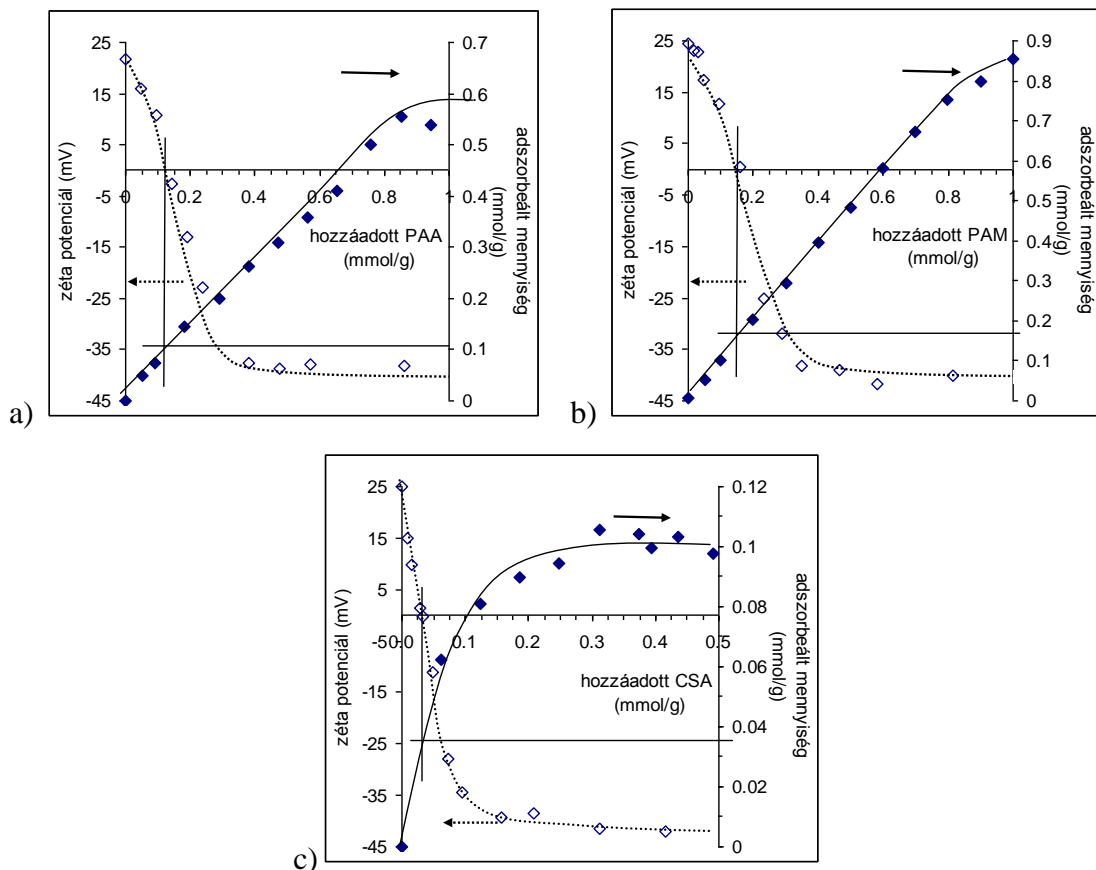
Az IEP eléréséhez szükséges mennyiség felett adagolva a PE-ot, az MNP felülete negatív töltésűvé válik és mind a három felületmódosító ágens elegendően nagy mennyiségének hozzáadásával elérhető a magnetit nanorészecske felületének teljes áttöltése, amit a nagy negatív zéta-potenciálok (~ -40 mV) jeleznek. Mind a három PE esetén van egy limit, ami fölötti mennyiségben adagolva a felületmódosító ágenst a PE/MNP rendszer már stabil lesz ($Z_{\text{átlag}} \sim 150$ nm). Ez az érték PAA és PAM adagolásnál $\sim 0,4$ mmol/g, CSA-nál pedig $\sim 0,2$ mmol/g.

Mind a három polielektrolit esetében egyaránt igaz az a megállapítás, hogy a PE kicsi mennyiségben való adagolása fokozza az MNP részecskék aggregációját, nagyobb mennyiségben adva a rendszerhez azonban stabilizálja azokat.

4.2.4.2. A PE/MNP rendszerek izoelektromos pontjának (IEP) és az adszorpció mechanizmusának kapcsolata pH $\sim 6,3$ -nál

A ko-precipitációs (~ 10 nm) magnetit nanorészecskék potenciometriás sav-bázis titrálásból megállapítható, hogy $0,01$ mol/dm³ NaCl jelenlétében pH $\sim 6,3$ -on a felületi pozitív töltések mennyisége $\sim 0,05$ mmol/g (4.1.16. ábra). A anionos felületmódosító ágensek különböző mennyiségeinek hozzáadásával pH $\sim 6,3$ és $0,01$ mol/dm³ NaCl mellett elérhető a részecskék izoelektromos pontja (IEP) (4.2.9. ábra és 4.2.4. táblázat), és ezek a mennyiségek nagyságrendileg összevethetőek a magnetit adott körülmények közötti pozitív töltésmennyiségével.

A pontosabb értelmezés érdekében az IEP értéke mellett figyelembe kell venni még pár paramétert (adszorpciós izoterma, funkciós csoport disszociáltsági foka). Az adott polielektrolit esetében az IEP-nél hozzáadott PE-nak a magnetit nanorészecskékre ténylegesen adszorbeálódott mennyisége meghatározható a 4.2.10. ábra alapján.



4.2.10. ábra A magnetit részecskék zéta-potenciáljának és a polielektrolitok adszorbeált mennyiségének változása a hozzáadott polielektrolitok növekvő mennyiségével, (pH ~6,3, $I = 0,01 \text{ mol/dm}^3$, MNP: $0,1 \text{ g/dm}^3$ (zéta-potenciál) és 10 g/dm^3 (adszorpció))
a) PAA/MNP rendszer, b) PAM/MNP rendszer, c) CSA/MNP rendszer

Figyelembe kell venni továbbá azt is, hogy a felületre adszorbeálódott PE mennyi töltést hordoz. Ehhez a potenciometriás sav-bázis titrálás során (4.2.1. fejezet) meghatározott, adott funkciós csoportra (PAA és PAM esetében $-\text{COOH}$, CSA esetében $-\text{O}-\text{SO}_3\text{H}$ és $-\text{COOH}$) jellemző disszociációs fokokat és a nettó protontöbbletek elvi és mért értékeiből kapott korrekciókat (nettó protontöbblet korrekció = (mért érték / elvi érték) $\cdot 100$) kell figyelembe vennünk. Ezeket a tényezőket számításba véve pontosan meghatározhatjuk az IEP pontban a polielektrolit 1 g magnetitre jutó töltésmennyiségeit. A korrekció lépéseinek részeredményeit és a kapott tényleges fajlagos töltésmennyiségeket a 4.2.4. táblázatban mutatom be.

4.2.4. táblázat A PAA, PAM és CSA magnetitre történő adszorpciója (MNP: 0,1 g/dm³, pH ~6,3, I = 0,01 mol/dm³) során meghatározott izoelektromos pontok (IEP) és az ezekből kiszámítható, magnetit tömegegységére jutó negatív töltések mennyisége

PE	PAA	PAM	CSA
mmol PE /g MNP az IEP-nél	0,13	0,17	0,035
adszorbeált mennyiség (mmol PE /g MNP)	0,10	0,17	0,035
funkciós csoportok disszociáltsági foka (%)	60	65	195
nettó protontöbblet korrekció (%) *	84	92	100
negatív töltés (mmol /g MNP)	0,05	0,10	0,07

(* a potenciometriás sav-bázis titrálással meghatározott nettó protontöbbletek maximum értékeiből számítva: nettó protontöbblet korrekció = (mért érték / elvi érték) · 100)

A PAA esetében a kapott negatív töltések mennyisége ~0,05 mmol/g, ami megegyezik az MNP-re ilyen körülmények között meghatározott ~0,05 mmol/g értékkel. Ebből arra következtethetünk, hogy a PAA adszorpciója során egy negatív töltés egy felületi pozitív helyet semlegesít. Ugyanakkor a CSA és PAM esetében a negatív töltések mennyisége ~0,07 és ~0,10 mmol/g, ami lényegesen nagyobb a magnetitre jellemző értéknél. Ennek alapján a CSA és a PAM felületi megkötődése során nem minden negatív töltés adszorpciója eredményezi egy felületi pozitív hely kompenzálását. Ezek alapján pontosíthatóak az ATR-FTIR alapján valószínűsített adszorpciós mechanizmusok (4.2.3. fejezet).

A PAA MNP-re történő, H-kötés kialakulásával járó adszorpciós mechanizmusát a legnagyobb valószínűséggel a 41. egyenlet írja le, melyben egy COO^- és egy Fe-OH_2^+ reagál, így a felület töltése teljes mértékben semlegesítődik (töltéskompenzáció).

A PAM MNP-re történő adszorpciója során az ATR-FTIR eredmények alapján szintén lejátszódik a PAA esetében leírt, H-kötés kialakulásával járó reakció, amelyben a felületi töltés semlegesítődik. Ugyanakkor a PAM/MNP rendszer IEP pontjának értelmezése alapján a belső szférás fém-karboxilát komplex kialakulása során feltételezhető, hogy az adszorpciós lépés nem jár felületi pozitív töltéshely kompenzálásával. Ezek alapján a PAM MNP-re történő adszorpciójának valószínűsített mechanizmusát a H-kötés kialakulásával járó 41. egyenlet és a belső szférás komplex kialakulásával járó 43. egyenlet írja le.

A CSA esetében az ATR-FTIR eredmények alapján csak belső szférás komplexek alakulnak ki az adszorpció során. A zéta-potenciál alapján meghatározott IEP segítségével pedig valószínűsíthető, hogy az adszorpciós lépés nagyobb mértékű töltéskompenzációval jár, mint a PAM adszorpciója, mivel a CSA esetében kapott tényleges töltés mennyisége kevesebb a PAM esetében meghatározott értéknél. Ugyanakkor az adszorpció során a

töltéskompenzációval nem járó ligandum-csere reakciót is fel lehet tételezni, mert a CSA töltésmennyisége nagyobb az MNP töltésmennyiségénél, így az adszorpciós lépés nem jár minden esetben a felületi pozitív töltéshely kompenzálásával. Ezek alapján a CSA MNP-re történő adszorpciójának valószínűsített mechanizmusát a 43. és 44. egyenlet írja le.

4.2.4.3. A pH hatása a magnetit nanorészecskék töltésállapotára és aggregációjára a polielektrolitok különböző mennyiségeinek jelenlétében

A következőkben a ko-precipitációs (~10 nm) magnetit nanorészecskék zéta-potenciálját és aggregációját vizsgáltam különböző mennyiségű polielektrolitok jelenlétében, 0,01 mol/dm³ NaCl mellett a pH függvényében (~3,0 - ~10,0). A mért eredményeket a 4.2.11. ábrán mutatom be.

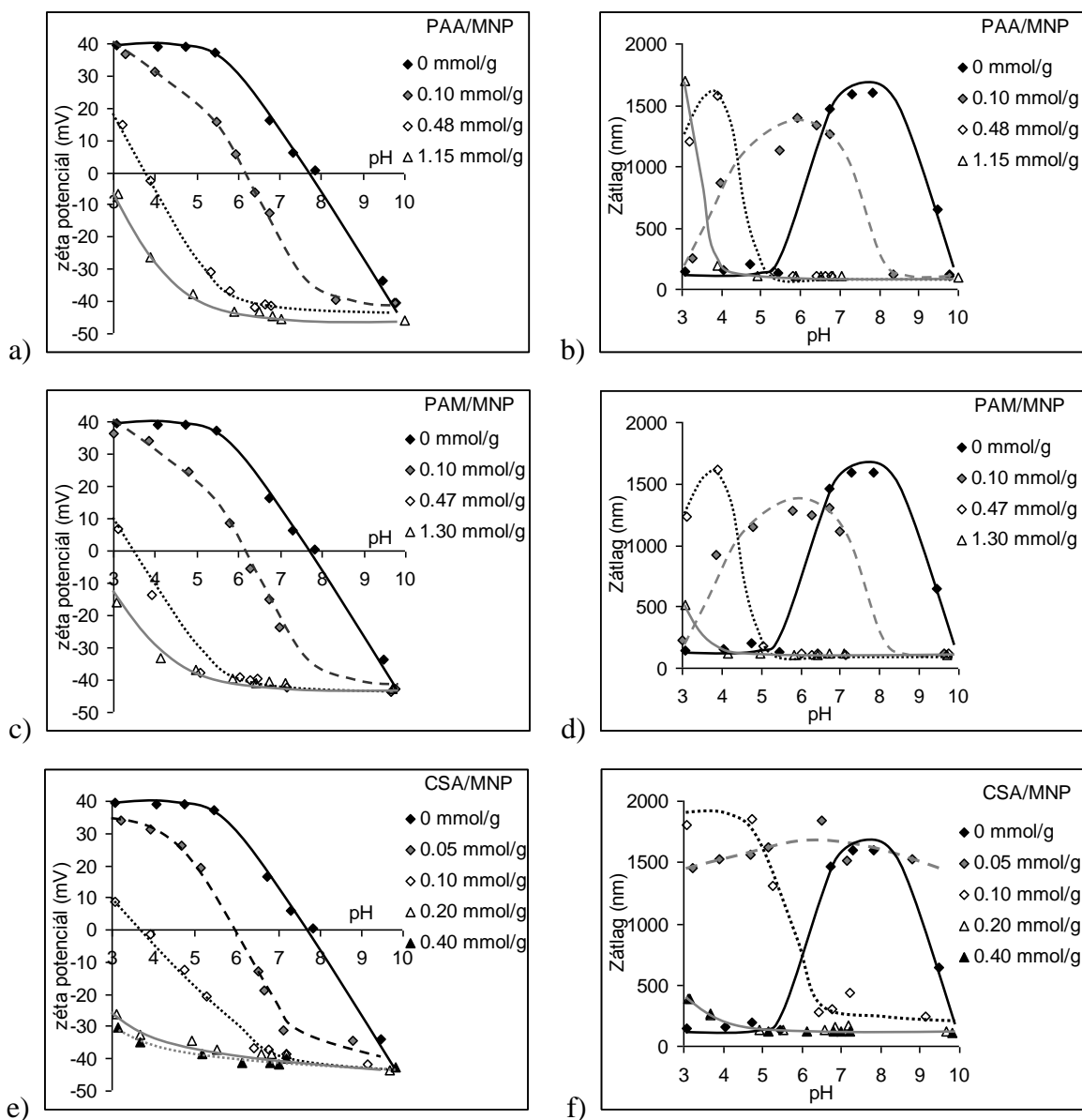
A 4.2.11. ábra alapján az látszik, hogy a PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszer viselkedése a kísérleti körülmények között nagyon hasonló. A felületmódosító ágenseket fokozatosan növekvő mennyiségben alkalmazva az IEP minden esetben a borítatlan magnetitre jellemző pH ~7,9 értékről az alacsonyabb pH értékek felé tolódik el. A pontos adatokat a 4.2.5. táblázatban foglaltam össze. Az is megállapítható, hogy növekvő PE mennyiség esetén a zéta-potenciál egyre negatívabb értéket vesz fel egy-egy állandó pH esetén az általunk vizsgált teljes tartományban.

Minimális borítottság esetén a nanorészecskék szinte a teljes vizsgált pH-tartományban aggregálódnak, a zéta-potenciál lefutása pedig nagyon hasonlít a borítatlan magnetitre jellemző görbére. Ennek oka, hogy az MNP felülete csak részlegesen borított, így ennek felületi $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ helyei a savas tartományban a részecskéken pozitív töltést eredményeznek, a pH emelkedésével pedig a felületi helyek deprotonálódása végett a zéta-potenciál előjelet vált, és egyre nagyobb negatív értékeket vesz fel.

A borítás mértékének növekedésével az aggregált zóna már csak az IEP körül figyelhető meg, és széles pH-tartományban stabil PE/MNP rendszer keletkezik.

Teljes borítás esetében a polielektrolittal burkolt mag/héj nanorészecskék széles pH-tartományban stabilak, a DLS mérések alapján csak pH < ~3,5 esetében figyelhető meg aggregáció. Ugyanakkor a mintákat 1 napig állva hagyva a PAA/MNP és a PAM/MNP rendszerek esetében a minták ülepedése már pH < ~5,5-nél megfigyelhető, míg a CSA/MNP rendszerben ülepedést csak pH < ~3,5-nél tapasztaltunk. A minták nagymértékű stabilizációja azzal magyarázható, hogy a magnetit nanorészecskék felületére

adszorbeálódott makromolekulák szabadon maradó funkciós csoportjai deprotonáltak (COO^- és O-SO_3^-), és így a PE-ok elektrosztérikusan stabilizálják az MNP részecskéket.



4.2.11. ábra A magnetit részecskék zéta-potenciáljának (bal oldal) és átlagos hidrodinamikai részecskeméretének (jobb oldal) változása a pH-függvényében a polielektrolitok különböző mennyiségeinek jelenlétében ($I = 0,01 \text{ mol/dm}^3$, MNP: $0,1 \text{ g/dm}^3$)
a-b) PAA/MNP rendszer, c-d) PAM/MNP rendszer, e-f) CSA/MNP rendszer

4.2.5. táblázat A PE minőségének és mennyiségének hatása a magnetit nanorészecskék IEP értékére és az aggregáció pH-tartományra (a pH ~3,0 - ~10,0 I = 0,01 mol/dm³)

PE	a magnetithez adott mennyiség (mmol/g)	a PE/MNP IEP-jéhez tartozó pH	a PE/MNP aggregációs zónájának pH-tartománya
-	-	7,9	6,0 - 9,5
PAA	0,10	6,2	3,5 - 7,5
	0,48	3,8	< 4,5
	1,15	< 3,0	< 4,0
PAM	0,10	6,2	3,5 - 7,5
	0,47	3,5	< 4,5
	1,30	< 3,0	< 3,5
CSA	0,05	6,0	3,0-10,0
	0,10	3,9	< 6,0
	0,20	< 3,0	< 3,5
	0,40	< 3,0	< 3,5

Az eddigi kísérleti eredményeink alapján a PAA, PAM és CSA esetében is előállítható olyan PE/MNP rendszer, mely széles pH-tartományban stabil 0,01 mol/dm³ NaCl mellett. Ezeket a rendszereket vizsgálom tovább a lehetséges orvos-biológiai felhasználás szempontjából fontos biokompatibilitási vizsgálatokkal.

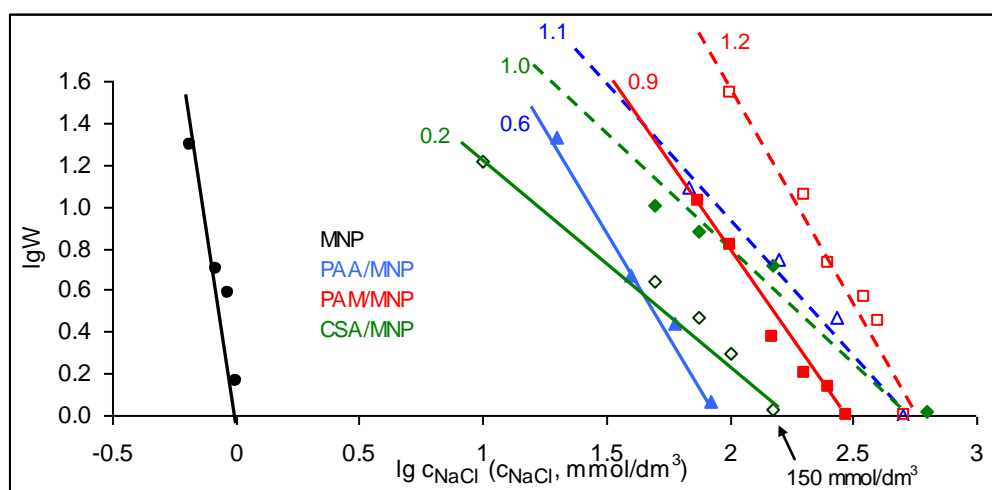
4.2.5. A PE/MNP rendszerek sötűtésének vizsgálata koagulálás kinetikai kísérletekkel

A biokompatibilitási vizsgálatok során meghatároztam a szuperparamágneses (~10 nm) magnetit nanorészecskék sötűtését koagulálás kinetikai mérésekkel a polielektrolitok különböző mennyiségének jelenlétében. A kísérlettel arról akartam megbizonyosodni, hogy várható-e a PE/MNP részecskék aggregációja a vér fiziológiás körülményei (pH ~7,2 - 7,4; 0,15 mol/dm³ NaCl) mellett. A mérések során a pH-t ~6,3-ra állítottam be, ami alacsonyabb ugyan a vér pH-értékénél, de ez a stabilitás vizsgálatára előnyösebb. Ennek oka, hogyha a felületmódosításra használt polielektrolit az egyszerűbben tartható pH ~6,3 mellett megfelelő stabilitást nyújt, akkor pH ~7,2 mellett is teljesítenie kell azt, hiszen a funkciós csoportjainak esetleges nagyobb mértékű deprotonálódása (4.2.1. fejezet) tovább növeli a részecske felületén kialakult negatív töltés mennyiségét (4.2.4.3. fejezet), javítva a stabilizáció elektrosztatikus tagját.

A koagulálás kinetikai kísérletek eredményeit a 4.2.12. ábrán mutatom be. Ennek alapján meghatározhatóak a különböző PE/MNP rendszerekhez tartozó CCC (kritikus koaguláltató elektrolitkoncentráció) értékek az ábrázolt lassú koagulálási szakaszoknak az

x tengellyel adott metszéspontjaikból. A számított CCC értékeket a 4.2.6. táblázatban foglaltam össze.

A felületmódosítás nélküli csupasz magnetit nanorészecskék CCC értéke ~ 1 mmol/dm³ NaCl, vagyis már minimális só a rendszer erőteljes aggregációját idézi elő (Hajdú et al., 2012; Tóth et al., 2012).



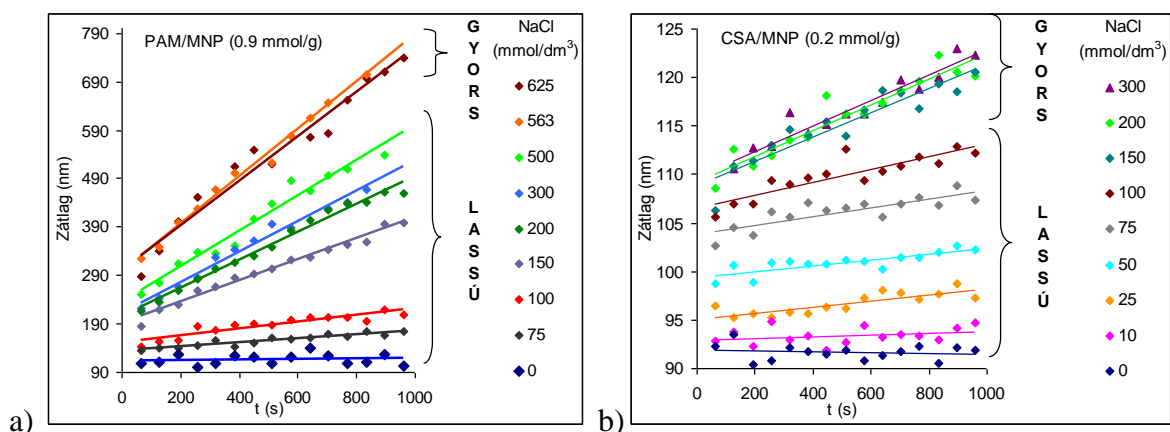
4.2.12. ábra MNP, PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszerek kolloidstabilitása: a koagulálás kinetikai mérésekből számolt lassítási tényező (W) az elektrolitkoncentráció függvényében; a feltüntetett számok a különböző hozzáadott PE-ok mennyiségei mmol/g-ban, a pH $\sim 6,3$

4.2.6. táblázat MNP, PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszerek kritikus koaguláltató elektrolitkoncentrációja (CCC) a hozzáadott PE minőségének és mennyiségének függvényében, pH $\sim 6,3$ -nál

	MNP	PAA/MNP		PAM/MNP		CSA/MNP	
PE hozzáadott mennyisége (mmol/g)	-	0,6	1,1	0,9	1,2	0,2	1,0
CCC (NaCl, mmol/dm ³)	1	80	500	270	500	150	500

Mind a három felületmódosításnál megfigyelhető, hogy a PE hozzáadása nagymértékben megnöveli az MNP részecskék sötétítését. Az adszorpciós izotermák (4.2.5. ábra) plató értékének megfelelő mennyiségben (PAA: 0,6 mmol/g, PAM: 0,9 mmol/g, CSA: 0,2 mmol/g) hozzáadott PE a PAA esetében még nem biztosítja a fiziológiás sókoncentráció melletti stabilitást, a PAM és CSA esetében azonban már ennyi PE hozzáadása is elegendő a kívánt stabilitás eléréséhez. A különbség oka az lehet, hogy a CSA és a PAM MNP-re történő adszorpciója nagy affinitású, vagyis a plató értékének megfelelő mennyiség az igen kicsi egyensúlyi koncentráció miatt elegendő lehet a teljes felületi borítottság kialakításához. Ugyanakkor a PAA adszorpciója során a plató eléréséhez igen nagy egyensúlyi PAA koncentrációt szükséges biztosítani a rendszerben,

így ebben az esetben az MNP részecskéken még nem alakul ki a teljes borítás. Érdekes megjegyezni továbbá, hogy a CSA/MNP rendszer esetében a 0,2 mmol/g hozzáadott mennyiségnél a CCC éppen csak eléri a 150 mmol/dm³ NaCl-ot, ami fele a PAM/MNP rendszer esetében meghatározott értéknek. Ugyanakkor az átlagos hidrodinamikai mérték növekedését bemutató 4.2.13. ábrán jól látható, hogy a CSA/MNP rendszerben a gyors koaguláció során a részecskeméret növekedése ~15 nm 15 perc alatt, míg a PAM/MNP rendszer esetében ez az érték ~400 nm 15 perc alatt (4.2.13. ábra).



4.2.13. ábra a) A 0,9 mmol/g PAM/MNP és b) a 0,2 mmol/g CSA/MNP rendszer koagulálás kinetikai vizsgálata pH ~6,3 mellett (az átlagos hidrodinamikai részecskeméret időbeli változása növekvő mennyiségű só jelenlétében)

A PE-kat nagyobb feleslegben adva a magnetit nanorészecskékhez a minták CCC értékei eléri az ~500 mmol/dm³ NaCl koncentrációt. Az, hogy az adszorpciós izoterma platóját meghaladó mennyiségben hozzáadott felületmódosító ágens nagymértékben tovább növeli a sótűrést; az adszorpciós réteg növekvő sókoncentráció hatására bekövetkező átrendeződésére utal (Hajdú *et al.*, 2012; Tóth *et al.*, 2012).

Az előállított mágneses folyadékok stabilitását a magnetit felületén kialakított kombinált elektrosztatikus réteg biztosítja, ami az adszorbeálódott polelektrolitok méretétől és a szabadon maradó csoportok deprotonálódásától függően változik. Az általunk vizsgált polielektrolitok esetében egyik tényező sem változna kedvezőtlen irányba, amennyiben a pH ~6,3 értéke kissé emelkedik, tehát az így előállított MF-ok a fiziológias pH ~7,2 és sókoncentráció (150 mmol/dm³) mellett is stabilak.

Fontos megjegyezni továbbá, hogy a 150 mmol/dm³ NaCl koncentráció melletti stabilitáshoz a CSA és a PAM esetében elegendő az adszorpciós izotermáik platóinak értékét minimális mértékben meghaladó mennyiségben adagolni a felületmódosító ágenszt a magnetithez, ugyanakkor PAA-at használva ennek az eléréséhez lényegesen nagyobb

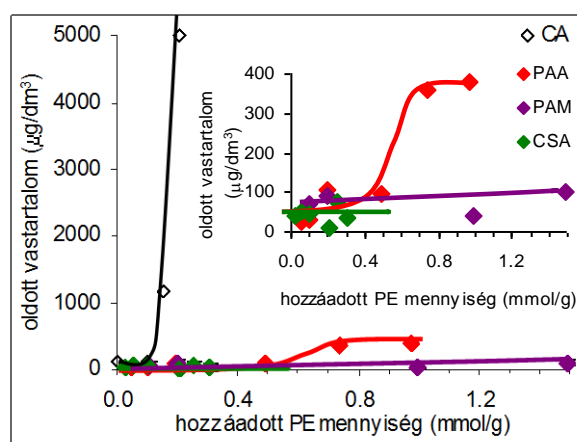
menyiségben kell meghaladni a telítési értéket. Ebből az következik, hogy a fiziológias körülmények között már stabil PAA/MNP rendszerben a PAA egyensúlyi koncentrációja elég magas (4.2.5. ábra). Ez kedvezőtlen lehet a jövőbeni alkalmazás szempontjából, például a célzott hatóanyag szállítás esetében, mivel a hatóanyag egy része nem a részecske felületén kötött PE-hoz kapcsolódik, hanem az oldat fázisban található makromolekulákhoz.

4.2.6. A PE/MNP rendszerek oldott vastartalmának meghatározása

A (2.6. ábra) alapján bemutatott egyensúlyi folyamatok között található a szilárd fázis oldódása vizes közegben. Az általunk alkalmazott pH ~6,3 mellett a magnetit a szilárd fázisának oldódása során az oldatba kerülő vasionok mennyisége elhanyagolható (*Cornell and Schwertmann, 1996; Illés and Tombácz, 2006*). Az oldódási egyensúlyt azonban nagymértékben befolyásolja egyrészt az, hogy oldékonyabb nanorészecskék (Everett, 1988), másrészt az, hogy komplexképzők vannak jelen a vizes fázisban. Az MNP részecskék stabilizálása során a polielektrolitok egy része adszorbeálódik a részecske felületén, más része viszont oldatban marad, ami elősegítheti a szilárd részecskék oldódását (*Zhang et al., 1985*). A Vizes Kolloidok Kutatócsoport korábbi tapasztalatai alapján a kismolekulájú citromsav (CA) esetében ez a hatás nagyon erőteljes, ugyanakkor makromolekulák alkalmazása során feltételezhető, hogy az adszorpciós réteg passzíváló hatású, azaz megvédi a részecskéket az oldódástól. Az irodalomban erre utal a PAA esetében megfigyelt korróziógátló hatás is (*Amin et al., 2009*). Az orvos-biológiai felhasználás szempontjából fontos tudni az alkalmazott mágneses folyadékok oldott vastartalmát, mert annak nagy mennyisége káros hatással bírhat a szervezetre (*Valko et al., 2005; Soenen et al., 2011*).

A különböző mágneses folyadékok esetében az ICP mérések alapján meghatározott oldott vastartalom értékeit a 4.2.14. ábrán mutatom be. A PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszerek mellett összehasonlításként feltüntettem a citromsavval stabilizált (CA/MNP) rendszerre meghatározott értékeket is. A PE-oknál a hozzáadott mennyiség továbbra is a $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ csoportokra, a CA esetében azonban a molekulára vonatkozik. A 4.2.14. ábrán jól látható, hogy a citromsav kicsi hozzáadott mennyisége is igen nagy mértékű oldott vasat eredményez a felülszóban, míg a PAA, PAM és CSA alkalmazásakor ezek az értékek a citromsavhoz viszonyítva elhanyagolhatóan alacsonyak.

A CA esetében az adszorpciós izoterma nagy affinitású limitje $\sim 0,1$ mmol/g (Hajdú *et al.*, 2009; Hajdú, 2010). Ehhez képest kis feleslegben alkalmazva a felületmódosító ágenst ($\sim 0,5$ mmol/dm³ egyensúlyi koncentráció) is nagy oldott vastartalmat kapunk a felülúszóban (1,2 mg/dm³), ami további CA adagolásra erőteljesen tovább nő. Ehhez hasonlítva megállapíthatjuk, hogy a felületmódosításhoz használt PE-ok megvédik az MNP részecskék felületét. Még nagy egyensúlyi koncentráció esetén sem tapasztalható nagymértékű kioldódás. Ugyanakkor az is megfigyelhető, hogy amíg a PAM és a CSA nagyobb feleslegének alkalmazása során (~ 6 mmol/dm³ és ~ 2 mmol/dm³ egyensúlyi koncentráció) a hibahatáron belül nem változik az oldott vastartalom mennyisége, addig a PAA-t tartalmazó mintákban határozott növekedés figyelhető meg már $\sim 1,5$ mmol/dm³ egyensúlyi koncentrációnál is. Ezek alapján megállapítható, hogy a PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszereknél is elég kicsi a minta oldott vastartalma, ami előnyös az lehetséges orvosi-biológiai felhasználások szempontjából. Ugyanakkor az is megállapítható, hogy a PAM és a CSA jobban védi a felületet az oldódástól, mint a PAA. Ennek oka valószínűleg az, hogy a PAM és a CSA izotermája a nagy affinitású.



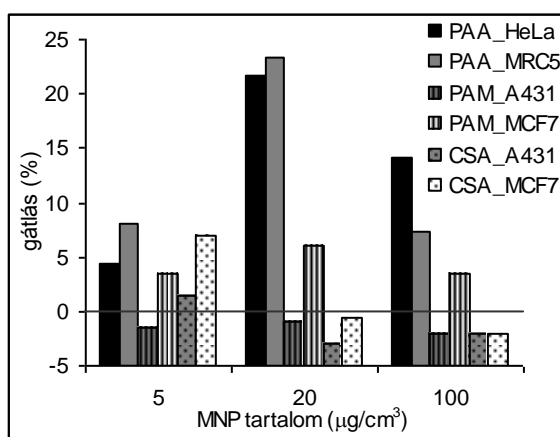
4.2.14. ábra A magnetit nanorészecskékből kioldódott vas koncentrációja a hozzáadott CA, PAA, PAM és CSA mennyiségének függvényében (pH $\sim 6,3$ és $I = 0,01$ mol/dm³)
(a CA-nál a hozzáadott mennyiség mmol értéke a CA molekulára vonatkozik)

4.2.7. A PE/MNP rendszerek citotoxicitásának vizsgálata

Az anyagok citotoxicitásának vizsgálata során azt mérik, hogy az anyagok milyen hatással vannak a sejtek életben maradására illetve a szaporodásukra. A rákos sejtek osztódása gyorsabb, így egyfelől a sejtes kísérletek elvégzése egyszerűbb rákos sejtvonalak

használatával, másrészt pedig a rákos sejtek rendszerint érzékenyebbek is a gátló hatásokkal szemben. Így amennyiben a rákos sejtvonalon nem tapasztalunk jelentős mértékű sejtosztódásgátlást, akkor az egészséges sejtvonalon sem várható (Mosmann, 1983; Gupta and Curtis 2004). Bár az MTT-teszt nem helyettesítheti a pre-klinikai toxicitási vizsgálatokat, mégis jól használható a minták toxicitásának előzetes jellemzésére.

A PAA/MNP (1,1 mmol/g) mintát egy egészséges (MRC5 - tüdő) és egy rákos (HeLa - méhnyakrák) humán sejtvonalon, a PAM/MNP (1,0 mmol/g) és CSA/MNP (0,2 mmol/g) mintákat pedig 2-2 rákos (A431 - bőrrák és MCF7 - emlőrák) humán sejtvonalon teszteltük. A CSA/MNP rendszer összeállításakor speciális körülményeket alkalmaztam. Az eredményeket a 4.2.15. ábrán mutatom be.



4.2.15. ábra A PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszerek citotoxicitás tesztje különféle sejtvonalakon; a sejtosztódás gátlása százalékban kifejezve, növekvő mennyiségű PE/MNP jelenlétében

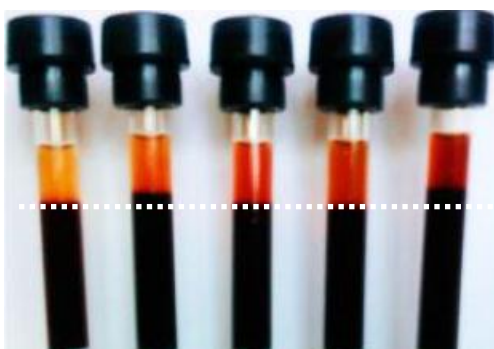
A 4.2.15. ábrán bemutatott oszlopdiagram alapján megállapítható, hogy a hozzáadott, különböző polielektrolitokkal stabilizált mágneses folyadékok hatása a sejtek osztódására minden esetben a 25 %-os gátlási érték alatt van. Ennek következtében nem számítható ki az úgynevezett IC50 (half maximal inhibitory concentration, a növekedést 50%-ban gátló koncentráció) érték. A kicsi gátlási értékek alapján mind a három PE/MNP rendszer a mérések során alkalmazott mennyiségei a szignifikáns toxicitási határérték alatt vannak (Gupta and Curtis 2004; Mosmann, 1983; Réthy et al., 2007). Ez az eredmény jó összhangban van azzal, hogy az irodalomban még nem határoztak meg LD50 (Lethal Dose 50%, letális dózis félérték) értéket magnetit alapú mágneses folyadékokra (Lübbe et al., 2001; Saiyed et al., 2003; Tombácz et al., 2006).

A PAA/MNP rendszerre meghatározott gátlási értékek szisztematikusan magasabbak a PAM/MNP és a CSA/MNP rendszerek esetében meghatározottaknál. Ennek

oka lehet az, hogy a PAA/MNP-t más sejtvonalakon vizsgáltuk, ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy a PAA/MNP rendszer esetében a felületmódosító ágens egyensúlyi koncentrációja többszöröse a PAM/MNP és a CSA/MNP rendszerekben lévő értékeknek. Mindazonáltal az MTT teszt alapján a PAA/MNP, PAM/MNP és CSA/MNP rendszer egyike sem toxikus, így ezen mágneses folyadékok orvos-biológiai felhasználásra egyaránt alkalmasak lehetnek.

4.2.8. A PE/MNP rendszerek hatása a vérsüllyedésre

A vérsüllyedési vizsgálatok során azt határozzuk meg, hogy a vörösvérsejtek egy óra alatt hány mm-t ülepednek. A PAM/MNP (1,0 mmol/g) rendszerrel elvégzett mérések során különböző mennyiségben adtuk a vérmintákhoz a magnetit, a tesztcsőveket a 4.2.16. ábrán mutatom be.



4.2.16. ábra A PAM/MNP(1,0 mmol/g) rendszer balról jobbra növekvő mennyiségének hatása a 2. donor mintájának vérsüllyedésére (MNP: 0; 0,025; 0,05; 0,12 és 0,24 mg/cm³)

A 4.2.16. ábra alapján megállapítható, hogy a vérsüllyedés mértéke a módszer hibahatárán belül az általunk vizsgált tartományban független a hozzáadott magnetit mennyiségétől. Az MNP koncentrációjának növekedésével a felülúszó (plazma) színe sötétedik, ami nagyobb magnetit tartalom esetében zavarhatja a vérsüllyedés értékének műszeres meghatározását az optimális kontraszt csökkenése miatt. A gépi mérés során először a levett vérminták vérsüllyedés (ESR) értékeit határozzuk meg, majd a megfelelő mennyiségű PE/MNP hozzáadása után újra megmérjük a vérsüllyedés értéket. A 4.2.7. táblázatban az adott vérminták esetében meghatározott vérsüllyedés értékek különbségeit ($\Delta\text{ESR} = \text{ESR}_{\text{MNP nélkül}} - \text{ESR}_{\text{MNP jelenlétében}}$) mutatom be.

4.2.7. táblázat PAA/MNP (1,0 mmol/g), PAM/MNP (1,0 mmol/g) és CSA/MNP (0,2 mmol/g) rendszerek hatása a vérsüllyedés értékére ($\Delta\text{ESR} = \text{ESR}_{\text{MNP nélkül}} - \text{ESR}_{\text{MNP jelenlétében}}$)

	MNP tartalom	ΔESR (mm/óra)		
	mg/cm ³	1. donor	2. donor	3. donor
PAM/MNP	0	1	4	4
	0,025	1	4	5
	0,050	2	5	6
	0,12	2	5	5
	0,24	2	7	-
PAA/MNP	0,24	5	2	2
CSA/MNP	0,24	-	3	7

(a táblázatban szereplő ΔESR értékek magasabb $\text{ESR}_{\text{MNP nélkül}}$ értékek esetében nagyobbak lehetnek)

A ΔESR értékek is alátámasztják a 4.2.16. ábra alapján levont következtetést, vagyis a PAM/MNP rendszer növekvő mennyiségben alkalmazva sem változtatja meg számottevően a vérsüllyedés mértékét. Ennek alapján a PAA/MNP (1,0 mmol/g) és a speciális körülményeket között összeállított CSA/MNP (0,2 mmol/g) rendszerek vizsgálatakor már csak az általunk alkalmazott legnagyobb MNP tartalommal végeztük el a méréseket. Az eredményeket szintén a 4.2.7. táblázat tartalmazza, és a vérsüllyedés értékek ekkor is a mérés hibáján belül függetlenek a polielektrolittal burkolt mag/héj nanorészecskék jelenlététől. Ezek az eredmények jó összhangban vannak azzal, hogy dextránnal fedett magnetitre sem figyeltek meg számottevő hatást az általunk is vizsgált MNP tartalom esetében (*Liu et al., 2011*). Mivel a vérsüllyedés értékek nagyon érzékenyek a vérben bekövetkező aggregációra, az elvégzett vérsüllyedésez vizsgálatok alapján megállapítható, hogy az általam előállított mágneses folyadékok nem okoznak aggregációt, így az általam kifejlesztett készítmények ígéretesek közvetlen a vérbe történő orvosi-biológiai alkalmazásokra is.

5. Összefoglalás

Különböző méretű magnetit nanorészecskéket szintetizáltam ko-precipitációs és oxidációs-precipitációs módszerekkel.

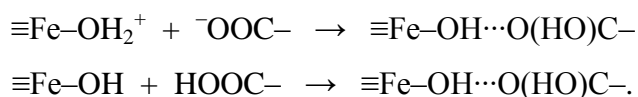
A ko-precipitációs módszerrel előállított magnetitet 80 °C-on ultrahang alkalmazása mellett hidrotermálisan öregítve csökkentettem a nanorészecskék polidiszperzitását, miközben a méretük átlagosan $6,7 \pm 1,7$ nm-ről $9,4 \pm 0,8$ nm-re (TEM) növekedett. Ez a méretnövekedés feltételezhetően kedvezően befolyásolja a részecskék hipertermiás hatását.

A magnetit nanorészecskék keletkezésére optimalizáltam az oxidációs-precipitációs szintézisek reakciókörülményeit az irodalomban elterjedt inert atmoszféra helyett levegőn végezve. Megállapítottam, hogy az MNP keletkezése a goethit képződésével szemben a sztöchiometriai arányban alkalmazott oxidálószer alkalmazásával, vas(II)-kloridból kiindulva, gyors reakcióban, emelt hőmérsékleten kedvezményezett. Tapasztalataim azt mutatták, hogy a magnetit nanorészecskék szintézis során történő összenövésének megakadályozása szonokémiai módszerrel (ultrahangos kezeléssel) és poliakrilsav alkalmazásával is lehetséges. Megfigyeltem, hogy (i) rövid idejű (~2 perc) ultrahangozás hatására egyedi, oktaéderes részecskék keletkeztek, méretük kicsit csökkent; (ii) nagyobb molekulatömegű, illetve nagyobb mennyiségű PAA a maghemit és a hematit képződés irányába tolja el a reakciót; (iii) a PAA beadagolási sorrendjétől függetlenül a keletkező részecskék egyediek, alakjuk kerekded és a méretük csökkent a PAA-t nem tartalmazó, azonos körülmények mellett előállított mintához viszonyítva; (iv) a PAA hidrogén-peroxidos kezeléssel eltávolítható az MNP felületéről.

A szintetizált részecskék kristályszerkezetét XRD, morfológiáját TEM és mágneses tulajdonságait VSM módszerekkel vizsgáltam. Megállapítottam, hogy ko-precipitációs szintézissel szuperparamágneses (VSM), ~10 nm-es kerekded (TEM) magnetit (XRD) nanorészecskék keletkeztek, míg PAA és UH használatával az oxidációs-precipitáció ferrimágneses (VSM) ~50 és ~60 nm-es kerekded illetve ~75 nm-es oktaéderes (TEM) magnetit (XRD) nanorészecskéket eredményezett. Megfigyeltem, hogy a ko-precipitációs (~10 nm) és oxidációs-precipitációs (~75 nm) magnetit nanorészecskék potenciometriás sav-bázis titrálásából meghatározott zérótöltés pontjai (PZC) különbözőek ($\text{pH}_{10 \text{ nm}} \sim 7,8$ és $\text{pH}_{75 \text{ nm}} \sim 6,8$) és jó egyezést mutatnak a minták elektroforézissel meghatározott izoelektromos pontjaival (IEP). Ezek alapján valószínűsítettem, hogy a PZC értéke függ a szintetikus magnetit nanorészecskék méretétől.

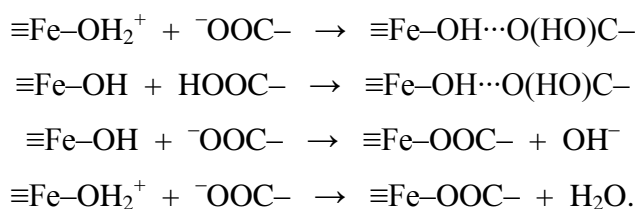
Biokompatibilis polielektrolitként poliakrilsavat (PAA), poli(akrilsav-ko-maleinsav)at (PAM) és kondroitin-szulfát-A-t (CSA) használtam a ko-precipitációs (~10 nm-es) magnetit részecskék felületmódosításához. Meghatároztam a polielektrolitok magnetiten történő adszorpciójakor lejátszódó reakciókat, felhasználva (i) az adszorpciós izotermákat; (ii) az MNP $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ és a PE funkciós csoportjai között kialakult, ATR-FTIR spektrumokból azonosított kötéseket; (iii) az izoelektromos pontban (IEP) adszorbeálódott PE-n lévő töltések pontos mennyiségét (elektroforézis, adszorpciós izoterma, potenciometriás sav-bázis titrálás); (iv) a magnetiten lévő felületi töltés mennyiségét (~0,05 mmol/g) pH ~6,3 és 0,01 mol/dm³ NaCl mellett.

A PAA MNP-n történő adszorpciójának izotermája telítésbe hajlik, de nem nagy affinitású, a platója ~0,6 mmol/g, inflexióspontja pedig ~0,4 mmol/g adszorbeált PAA-nál található; továbbá, hogy stabil mágneses folyadék csak nagy egyensúlyi PAA koncentráció mellett alakul ki. Az ATR-FTIR spektrumok alapján az MNP és a PAA között hidrogénkötést azonosítottam, mivel a PAA $-\text{COOH}$ csoportjára jellemző $\text{C}=\text{O}$ csúcs 1697 cm⁻¹-ről 1713 cm⁻¹-re toldódik, ugyanakkor a $-\text{COO}^-$ csoportra jellemző szimmetrikus és aszimmetrikus $\text{C}-\text{O}$ csúcsok 1404 cm⁻¹-nél és 1564 cm⁻¹-nél maradnak. Megállapítottam, hogy az IEP ~0,13 mmol/g hozzáadott PAA mennyiségnél található, így a PAA adott disszociációs állapotában az egységnyi tömegű MNP-re jutó negatív töltések mennyisége ~0,05 mmol/g, ami abszolút értékben megegyezik az MNP-re jellemző pozitív értékkel (~0,05 mmol/g). Ezek alapján valószínűsítettem, hogy a PAA MNP-re történő adszorpciójakor az ellentétes töltésű spícieszek között hidrogénkötések jönnek létre, de a semleges spícieszek közötti reakció sem zárható ki:



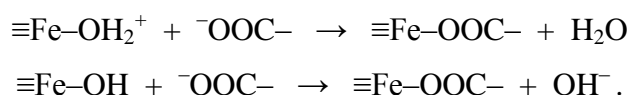
A PAM MNP-n történő adszorpciójának izotermája nagy affinitású, a platója ~0,9 mmol/g adszorbeált PAM-nál található és stabil mágneses folyadék már kicsi egyensúlyi PAM koncentráció mellett is kialakul. Az ATR-FTIR spektrumok alapján a PAM és az MNP között hidrogénkötést és belső szférás fém-karboxilát komplexet is azonosítottam, mivel a PAM $-\text{COOH}$ csoportjára jellemző $\text{C}=\text{O}$ csúcs 1690 cm⁻¹-ről 1717 cm⁻¹-re toldódik, a $-\text{COO}^-$ csoportra jellemző szimmetrikus és aszimmetrikus $\text{C}-\text{O}$ csúcsok pedig 1400 cm⁻¹-ről 1404 cm⁻¹-re és 1568 cm⁻¹-ről 1574 cm⁻¹-re tolódnak el. Megfigyeltem, hogy az IEP ~0,17 mmol/g hozzáadott mennyiségnél található, így a PAM adott disszociációs állapotában az egységnyi tömegű MNP-re jutó negatív töltések mennyisége ~0,10 mmol/g, ami abszolút értékben nagyobb az MNP-re jellemző pozitív értéknél (~0,05 mmol/g). Ezek

alapján valószínűsítettem, hogy a PAM MNP-re történő adszorpciójakor a PAA-hoz hasonlóan létrejött hidrogénkötések mellett belső szférás komplexek képződnek főleg a semleges felületi helyeken, de a pozitív felületi helyeken is kialakulnak:



Valószínűsítettem, hogy a magnetit felülethez a PAM nagy affinitással azért tud kötődni, mert alkalmas belső szférás fém-karboxilát kötés kialakítására, mivel a láncán az egymás melletti szénatomokon lévő $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ csoportok geometriája illeszkedik az MNP felületén lévő $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ csoportokhoz.

A CSA MNP-n történő adszorpciójának izotermája nagy affinitású, a platója $\sim 0,1$ mmol/g adszorbeált CSA-nál található és stabil mágneses folyadék már kicsi egyensúlyi CSA koncentráció mellett is kialakul, amennyiben az összeállításkor speciális körülményeket alkalmazunk a CSA lúg és cetil-piridínium-klorid tartalma miatt. Az ATR-FTIR spektrumok alapján a CSA és az MNP között belső szférás fém-karboxilát komplexet azonosítottam, mivel a CSA $-\text{COOH}$ csoportjára jellemző $\text{C}=\text{O}$ csúcs nem jelenik meg a spektrumokon, a $-\text{COO}^-$ csoportra jellemző szimmetrikus és aszimmetrikus $\text{C}-\text{O}$ csúcsok pedig 1375 cm^{-1} -ről 1379 cm^{-1} -re és 1612 cm^{-1} -ről 1630 cm^{-1} -re tolódnak el, valamint az $-\text{O}-\text{SO}_3^-$ csoportra jellemző $\text{C}-\text{O}-\text{S}$ és $\text{S}=\text{O}$ csúcsok 856 cm^{-1} -nél és 1260 cm^{-1} -nél maradnak. Az alkoholos csoportok valamint a piranóz gyűrű rezgéseikhez tartozó 1055 cm^{-1} -es, 1035 cm^{-1} -es és a 925 cm^{-1} -es csúcsok az adszorpció következtében nem tolódnak el, de az egymáshoz viszonyított arányuk változik. Megállapítottam, hogy az IEP $\sim 0,035$ mmol/g hozzáadott mennyiségnél található, így a CSA adott disszociációs állapotában az egységnyi tömegű MNP-re jutó negatív töltések mennyisége $\sim 0,07$ mmol/g, ami abszolút értékben nagyobb az MNP-re jellemző pozitív értéknél ($\sim 0,05$ mmol/g). Ezek alapján azt valószínűsítettem, hogy a CSA MNP-re történő adszorpciójakor a belső szférás komplexek kialakulása a semleges illetve a pozitív felületi helyeken egyaránt lejátszódik:



A tapasztalataim azt mutatták, hogy a CSA nagy affinitással tud kötődni a magnetit felülethez, mert alkalmas a belső szférás fém-karboxilát kötés kialakítására, továbbá az alkoholos $-\text{OH}$ csoportjai is koordinálódhatnak az MNP felületéhez az adszorpció során.

A mag/héj nanorészecskék pH-függő töltésállapota és kolloidstabilitása a biokompatibilis polielektrolitok minőségétől függően eltérő mennyiségeinek jelenlétében a PAA/MNP, a PAM/MNP és a CSA/MNP is hasonló viselkedést mutat: (i) a hozzáadott PE mennyiségének növelésével a PE/MNP részecskék IEP-je pH ~7,9-ről az alacsonyabb pH-értékek felé tolódik el; (ii) minimális PE hozzáadásával (PAA és PAM: 0,1 mmol/g, CSA: 0,05 mmol/g) a zéta-potenciál pH-függő lefutása a csupasz magnetitéhez hasonló, a pH növekedésével +40 mV-ról monoton csökkenve -40 mV-ot ér el, mivel az eredetileg pozitív felületi töltésű magnetit részecskéken a negatív töltésű PE láncok foltszerűen adszorbeálódnak ellentétes töltésű foltokat kialakítva, így a részecskék a teljes vizsgált pH-tartományban aggregálódnak; (iii) elegendően nagy mennyiségű PE hozzáadásával (PAA: 1,15 mmol/g, PAM: 1,30 mmol/g, CSA: 0,2 mmol/g) a részecskék teljes felülete borítottá válik, így a részecskék áttöltődnek, a zéta-potenciál a vizsgált pH-tartományban negatív és pH >4 esetén stabil kolloidállapotúak.

A PE/MNP rendszerek sóútírására jellemző kritikus koagulátó elektrolitkoncentráció (CCC) értékeket alapján megállapítottam, hogy: (i) a magnetiten nagy affinitással adszorbeálódó PAM és CSA esetében már az izoterma platójához közeli mennyiségben adagolt PE (PAM 0,9, CSA 0,2 mmol/g) is elegendő ahhoz, hogy ne aggregálódjon a PE/MNP ($CCC_{PAM\ 0,9\ mmol/g} \sim 270\ mmol/dm^3$; $CCC_{CSA\ 0,2\ mmol/g} \sim 150\ mmol/dm^3$) fiziológias körülmények ($\sim 150\ mmol/dm^3$ NaCl) között, ugyanakkor a PAA ilyen (a platóhoz közeli 0,6 mmol/g) mennyiségben történő adagolása még nem biztosít megfelelő kolloidstabilitást ($CCC_{PAA\ 0,6\ mmol/g} \sim 80\ mmol/dm^3$); (ii) az adszorpciós izoterma platóját meghaladó mennyiségben hozzáadott felületmódosító ágensek tovább növelik a sóútírást ($CCC_{PAA\ 1,1\ mmol/g} \sim CCC_{PAM\ 1,2\ mmol/g} \sim CCC_{CSA\ 1,0\ mmol/g} \sim 500\ mmol/dm^3$), ami az adszorpciós rétegek növekvő sókoncentráció hatására bekövetkező átrendeződésére utal.

Az orvos-biológiai alkalmazás céljával előállított mágneses folyadékok kémiai stabilitásának biztosítása fontos kritérium, mivel a magnetit nanorészecskék szélsőséges pH-kon, illetve erős komplexképzők (pl. a citrát antikoaguláns) jelenlétében kerülhetnek felhasználásra, így a magnetit maghemitté történő redox átalakulása mellett a pH illetve a komplexképződés hatására fokozottá váló vas-kioldódás oxidatív stressz formájában terhelheti az élő szervezetet. A PE/MNP rendszerek kémiai stabilitása a kioldódott vas mennyiségével jellemezhető, így a mért értékek alapján bizonyítottam, hogy: (i) mind a három PE/MNP mintában a kioldott vas mennyisége elhanyagolhatóan kicsi a széles körben elterjedt citromsavval stabilizált mágneses folyadékokhoz képest, tehát a vizsgált

polielektrolitok gátolják a MNP korrózióját, védik a magnetit nanorészecskék felületét; (ii) a PAM és a CSA esetében még nagy feleslegű PE adagolásakor sincs számottevő vas az oldatfázisban, a PAA rendszerben viszont a poliakrilsav nagy feleslege már kis mértékben növeli az oldatfázis vas-tartalmát; (iii) a magnetit részecskék legjobb kémiai stabilitását a nagy affinitással adszorbeálódó polielektrolitokkal lehet elérni.

A PAA/MNP, PAM/MNP és a speciálisan összeállított CSA/MNP stabil mágneses folyadékok MTT-tesztel elvégzett citotoxicitási vizsgálatai alapján megállapítottam, hogy: (i) a mágneses folyadékok hatása a sejtek osztódására mind a három rendszernél a szignifikáns toxicitási határérték alatt van; (ii) a sejtosztódás gátlásának PAA/MNP rendszerre meghatározott mértéke szisztematikusan magasabb a PAM/MNP és a CSA/MNP rendszerekre meghatározottaknál, aminek oka lehet az, hogy a PAA/MNP-t MRC5 egészséges tüdő sejtvonalon vizsgáltuk, ami kevésbé virulens, mint az MCF7 emlőrák sejtvonala, amit a másik két MF vizsgálatánál használtunk. A vérsüllyedéses vizsgálatokkal bizonyítottam, a PE/MNP jelenléte nem befolyásolja a vörösvérsejtek aggregációjára jellemző értékeket, így az általam előállított mágneses folyadékoknak akár a közvetlen vérbe történő beadással járó orvos-biológiai felhasználása is lehetséges.

Az oxidációs-precipitációval előállított ferrimágneses, méretvariált (~75 nm, ~60 nm, ~50 nm) mágneses vas-oxid nanorészecskék magnetoreológiai folyadékok készítésére lehetnek alkalmasak. Az elvégzett kísérletek alapján sikeresen állítottam elő olyan (a különböző karboxil(át)csoportokat tartalmazó biokompatibilis polielektrolitokkal stabilizált, szuperparamágneses (~10 nm-es) magnetit nanorészecskéket tartalmazó, fiziológiás körülmények között stabil, *in vitro* tesztekkel bizonyított biokompatibilitású) mágneses folyadékokat, melyek mind diagnosztikai, mind terápiás célra felhasználhatóak lehetnek. Ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy a PAA/MNP rendszernél a stabil mágneses folyadékokban a polielektrolit egyensúlyi koncentrációja elég nagy, ami a kémiai stabilitás vizsgálata és az MTT-teszt alapján is kedvezőtlen lehet a jövőbeni orvos-biológiai alkalmazás szempontjából.

6. Summary

I synthesized variable sized magnetic iron oxide (magnetite, partly maghemite) nanoparticles prepared by co-precipitation and oxidation-precipitation.

I observed that the polydispersity of magnetite decreased and the size of MNPs increased from $6,7 \pm 1,7$ nm to $9,4 \pm 0,8$ nm (TEM) in parallel when hydrothermal ageing combined with ultrasonication was performed at 80 °C during co-precipitation synthesis. This rise in particle size will probably influence the effect of MNPs in hyperthermia auspiciously.

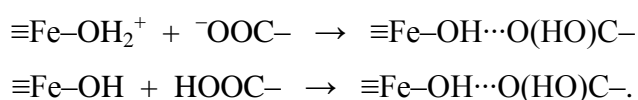
Since air atmosphere was used instead of inert atmosphere (typically reported in the publications), it was necessary to optimize the conditions of oxidation-precipitation synthesis of magnetite nanoparticles. Based on the results I can state that the formation of magnetite is preferred to the formation of goethite in case of preparation from FeCl_2 in fast reaction, by using the oxidation reagent in the stoichiometric amount and applying high temperature. My observations show that the coalescence of magnetite nanoparticles during the synthesis can be prevented by sonochemical method (ultrasonication treatment) and also by adding polyacrylic acid. I observed that (i) the shorter time of ultrasonication (~2 minutes) leads to individual, octahedral particles with slightly reduced size; (ii) the presence of PAA higher molecular weight PAA or addition of larger amounts shifts the formation of iron oxide from magnetite to maghemite; (iii) the prepared particles are individual, spherical and reduced in size independently of the point of PAA dosage compared with the particles synthesised at the same condition without PAA; (iv) the adsorbed polyacrylic acid can be removed from the surface of MNPs by hydrogen peroxide treatment.

I characterized the prepared nanoparticles, I determined the crystal structure by XRD, the morphology by TEM and the magnetic property by VSM. I proved that the nanoparticles prepared by co-precipitation are superparamagnetic (VSM), ~10 nm and spherical (TEM) magnetite (XRD) particles, simultaneously the products synthesised by oxidation-precipitation method using PAA and ultrasonication treatment are ferromagnetic (VSM) ~50 and ~60 nm spherical or ~75 nm octahedral (TEM) magnetite (XRD) nanoparticles. I observed that pH values of the point of zero charge (PZC) determined by potentiometric acid-base titration are different for MNPs prepared by co-precipitation ($\text{pH}_{10 \text{ nm}} \sim 7,8$) and oxidation-precipitation ($\text{pH}_{75 \text{ nm}} \sim 6,8$), and they agree with the pH

values of their isoelectric points (IEP) obtained from zeta potential measurements. Hence I can state that the value of PZC depends on the size of synthetic magnetite nanoparticles.

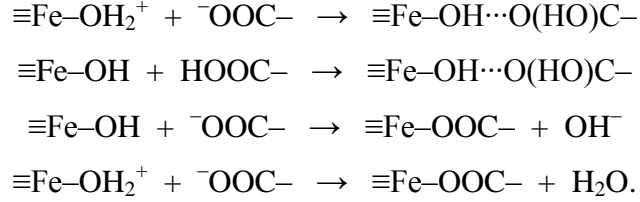
I used three different biocompatible polyelectrolytes for surface modification of MNPs synthesized by co-precipitation: polyacrylic acid (PAA), poly(acrylic acid-co-maleic acid) (PAM) and chondroitin-sulfate-A (CSA). I defined the reactions taking place during the adsorption of biocompatible polyelectrolytes on magnetite by using (i) the adsorption isotherms; (ii) the bonds between the MNP's $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ and the PE's functional groups identified by ATR-FTIR spectroscopy; (iii) the real quantity of charges on the adsorbed PE at the isoelectric point (IEP) (zeta potential measurement, adsorption isotherm, potentiometric acid-base titration); (iv) the amount of the surface charge ($\sim 0,05$ mmol/g) of MNP at pH $\sim 6,3$ and $0,01 \text{ mol/dm}^3$ NaCl.

I found that adsorption isotherm of PAA on MNPs is not of high affinity type, it reaches a plateau value at $\sim 0,6$ mmol/g, it has an inflection at $\sim 0,4$ mmol/g adsorbed amount, and higher equilibrium concentrations of PAA is necessary to get a stable MF. I identified H-bonds between MNP and PAA from the ATR-FTIR spectra, because the C=O vibration ($-\text{COOH}$) shifted from 1697 cm^{-1} to 1713 cm^{-1} , but the symmetric and asymmetric C–O vibrations (COO^-) remained unchanged at 1404 cm^{-1} and 1564 cm^{-1} . I observed that the IEP is at $\sim 0,13$ mmol/g added amount of PAA and this corresponds to $\sim 0,05$ mmol/g of negative charge effectively, which equals in absolute value with the positive charge typical for MNPs ($\sim 0,05$ mmol/g) at this pH. Thus it can be stated that the oppositely charged species form H-bonds during the adsorption of PAA on MNP, but the reaction between the neutral species is also possible:



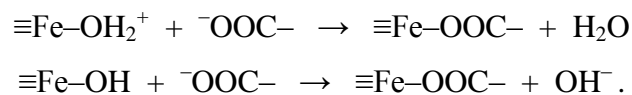
I discovered that adsorption isotherm of PAM on MNPs is of high affinity type, it reaches a plateau value at $\sim 0,9$ mmol/g adsorbed amount and in comparison with PAA it is not necessary to have high equilibrium concentration of PAM to get a stable MF. I also identified H-bonds and inner sphere metal-carboxylate complexes between MNPs and PAM from the ATR-FTIR spectra, because the C=O vibration ($-\text{COOH}$) shifted from 1690 cm^{-1} to 1717 cm^{-1} , and the symmetric and asymmetric C–O vibrations (COO^-) shifted from 1400 cm^{-1} and 1568 cm^{-1} to 1404 cm^{-1} and 1574 cm^{-1} in parallel. I observed that the IEP is located at $\sim 0,17$ mmol/g added amount of PAM and this corresponds to $\sim 0,10$ mmol/g of negative charge effectively, which is larger in absolute value than the positive charge typical for MNPs ($\sim 0,05$ mmol/g). Therefore I can state that the oppositely charged species

form H-bonds during the adsorption of PAM on MNP, but it can also take place between the neutral species. Simultaneously the neutral charged surface groups are involved in the formation of the inner sphere metal-carboxylate complexes, but the reaction on the positively charged surface groups is also possible:



My observations show that the PAM can bind to the MNP's surface with high affinity, because the PAM can form inner sphere metal-carboxylate complexes due to the carboxyl(ate) groups on the adjacent/neighbor carbon atoms, which makes the PE's geometry suitable to the MNP's $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ groups.

I experienced that adsorption isotherm of CSA on MNPs is of high affinity type, it reaches a plateau value at $\sim 0,1$ mmol/g, and like PAM lower equilibrium concentration of CSA is enough to get a stable MF if special pretreatments are applied during preparation because of the base and cetylpyridinium chloride contamination of the polysaccharide. I identified inner sphere metal-carboxylate complexes between MNP and CSA from the ATR-FTIR spectra, because the C=O vibration ($-\text{COOH}$) did not appear, the symmetric and asymmetric C–O vibrations (COO^-) shifted from 1375 cm^{-1} and 1612 cm^{-1} to 1379 cm^{-1} and 1630 cm^{-1} , and the C–O–S and S=O vibrations ($-\text{O}-\text{SO}_3^-$) remained unchanged at 856 cm^{-1} and 1260 cm^{-1} at the same time. Simultaneously the vibrations of the alcohol groups and pyranose rings remained unchanged at 1055 cm^{-1} , 1035 cm^{-1} and 925 cm^{-1} , but their relative ratio somewhat changed. I observed that the IEP can be found at $\sim 0,035$ mmol/g added amount of CSA and this corresponds to $\sim 0,07$ mmol/g of negative charge effectively, which is slightly higher in absolute value than the positive charge typical for MNPs ($\sim 0,05$ mmol/g) at these circumstances. Hence I can state that the neutral charged and positively charged surface groups are also involved in the formation of the inner sphere metal-carboxylate complexes:



My observations show that the CSA can bind to the MNP's surface with high affinity, because the CSA is also able to form inner sphere metal-carboxylate complexes due to the coordination of the alcohol groups to the nanoparticle.

I studied the pH-dependent surface charging and the aggregation of the core/shell magnetite nanoparticles coated by biocompatible polyelectrolytes. I proved that the PAA/MNP, PAM/MNP and CSA/MNP systems have the following very similar properties at various amounts of added biocompatible polyelectrolytes: (i) the IEPs of the PE/MNP particles shift from pH ~7,9 to the lower pH values with increasing amounts of added PE; (ii) the shape of the pH-dependent zeta potential curves at trace amounts of added PE (PAA and PAM: 0,1 mmol/g, CSA: 0,05 mmol/g) are very similar to the naked magnetite, i.e. the zeta potentials decrease monotonically from +40 mV to -40 mV, simultaneously the particles aggregate at the whole pH-range studied due to the patch-wise adsorption of the negatively charged PE on the originally positively charged MNP; (iii) the surface of the particles are totally covered at sufficiently high added amounts of PE (PAA: 1,15 mmol/g, PAM: 1,30 mmol/g, CSA: 0,2 mmol/g), in this case the zeta potentials of PE/MNP are negative at the whole pH-range studied, the particles are overcharged and colloidally stable at pH >4.

Based on the critical coagulation concentration (CCC) values I can conclude the following characteristics for the salt tolerance of PE/MNP systems: (i) the added amounts of PE close to the plateau value are high enough to protect the PE/MNP against the aggregation under physiological conditions ($\sim 150 \text{ mmol/dm}^3$) for PAM and CSA with high affinity type adsorption isotherm ($\text{CCC}_{\text{PAM } 0,9 \text{ mmol/g}} \sim 270 \text{ mmol/dm}^3$; $\text{CCC}_{\text{CSA } 0,2 \text{ mmol/g}} \sim 150 \text{ mmol/dm}^3$), in contrary this added amount of PAA does not guarantee the required colloidal stability ($\text{CCC}_{\text{PAA } 0,6 \text{ mmol/g}} \sim 80 \text{ mmol/dm}^3$) of PAA/MNP; (ii) the added amounts of PE well above the plateau values of adsorption isotherms increase the salt tolerance further ($\text{CCC}_{\text{PAA } 1,1 \text{ mmol/g}} \sim \text{CCC}_{\text{PAM } 1,2 \text{ mmol/g}} \sim \text{CCC}_{\text{CSA } 1,0 \text{ mmol/g}} \sim 500 \text{ mmol/dm}^3$) suggesting the rearrangement of PE chains in the adsorbed layers.

I revealed that the chemical stability of magnetite products for biomedical applications is very important, because they are used under extreme pH and in presence of strong complex forming agents (e.g. citrate like anticoagulant), so the redox transformation of magnetite to maghemite and the increased amount of iron dissolved by the complex forming agents can hurt the living systems through oxidative stress.

The chemical stability of PE/MNP systems can be characterised by the amount of the dissolved iron content, so using these data I proved that: (i) the PAA, PAM and CSA protect the surface of magnetite and hinder the corrosion of MNP much better than citric acid, because the dissolved iron content is very low for these PE/MNP magnetic fluids in contrary to the values measured in citric acid coated MNP systems; (ii) for PAM and CSA

coatings the concentration of dissolved iron remained unchanged even at high equilibrium concentration of PE, nevertheless the high equilibrium concentration of PAA slightly increased the iron dissolution; (iii) the best chemical stability can be guaranteed by polyelectrolytes that adsorb on magnetite with high affinity.

From the toxicity data measured by the MTT-assay I determined that for PAA/MNP, PAM/MNP and CSA/MNP prepared under special conditions: (i) all of the magnetic fluids have been found to be nontoxic; the viability of cells is below the significant toxicity level in the presence of MNPs; (ii) the averaged inhibition values of PAA/MNP product are systematically higher than the values of PAM/MNP and CSA/MNP, this can be caused by the difference between the used human cells: the MCF7 breast cancer cell line is more virulent (PAM/MNP and CSA/MNP) than the MRC5 normal lung tissue cell line (PAA/MNP). I proved by using the erythrocyte sedimentation rate experiments that the presence of the PE/MNP has no effect on the aggregation of red blood cells, so the prepared magnetic fluids in all probability can also be used in biomedical applications by directly injecting them into blood.

The ferrimagnetic, variable sized (~75 nm, ~60 nm, ~50 nm) iron oxide nanoparticles synthesized by oxidation-precipitation method can be used in preparation of magnetorheological fluids. The superparamagnetic (~10 nm) magnetite nanoparticles were stabilized with different biocompatible polyelectrolytes containing carboxyl(ate) groups. The prepared magnetic fluids are stable under physiological conditions and their biocompatibility was confirmed in biological tests. These products may be suitable in clinical diagnosis and also in therapeutic applications. It should be noted that in case of stable PAA/MNP magnetic fluids the equilibrium concentration of PE is pretty high and this can be unfavourable for later biomedical applications according to the MTT-assays and chemical stability experiments.

Irodalomjegyzék

- Ádám, V., Dux, L., Faragó, A., Fésű, L., Machovich, R., Mandl, J., Sümegi, B. (2004) Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó, Budapest
- Amici, J., Celasco, E., Allia, P., Tiberto, P., Sangermano, M. (2011) Poly(ethylene glycol)-Coated Magnetite Nanoparticles: Preparation and Characterization. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 212:411-416.
- Amin, M.A., Abd El-Rehim, S.S., El-Sherbini, E.E.F., Hazzazi, O.A., Abbas, M.N. (2009) Polyacrylic acid as a corrosion inhibitor for aluminium in weakly alkaline solutions. Part I: Weight loss, polarization, impedance EFM and EDX studies. *Corrosion Science*, 51:658-667.
- Amstad, E., Textor, M., Reimhult, E. (2011) Stabilization and functionalization of iron oxed nanoparticles for biomedical applications. *Nanoscale*, 3:2819-2843.
- Aoyagi, M., Sato, H., Yagi, K., Fukuda, N., Nishimoto, S. (2001) Redox reactions of nitrite ions on the surface of colloidal magnetite particles coated with chondroitin sulfate. *Colloid and Polymer Science*, 279: 46-52.
- Arshady, R. (2001) Radiolabeled and Magnetic Particles in Medicine and Biology. Critrus Books, London
- Asmatulu, R., Zalich, M.A., Claus, R.O., Riffle, J.S. (2005) Synthesis, characterization and targeting of biodegradable magnetic nanocomposite particles by external magnetic fields. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 292:108-119.
- Atkins P.W. (2002) Fizikai kémia II., Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest
- Avdeev, M.V., Balasoiu, M., Aksenov, V.L., Garamus, V.M., Kohlbrecher, J., Bica, D., Vekas, L. (2004) On the magnetic structure of magnetite/oleic acid/benzene ferrofluids by small-angle neutron scattering. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 270:371-379.
- Bahadur, D., Giri, J. (2003) Biomaterials and magnetism. *Sadhana*, 28:639-656.
- Baigorri, R., García-Mina, J.M., González-Gaitano, G. (2007) Supramolecular association induced by Fe(III) in low molecular weight sodium polyacrylate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 292:212-216.
- Barrera, C., Herrera, A.P., Rinaldi, C. (2009) Colloidal dispersions of monodisperse magnetite nanoparticles modified with poly(ethylene glycol). *Journal of Colloid and Interface Science*, 329:107-113.
- Bathe, M., Rutledge, G.C., Grodzinsky, A.J., Tidor, B. (2005) A Coarse-Grained Molecular Model for Glycosaminoglycans: Application to Chondroitin, Chondroitin Sulfate, and Hyaluronic Acid. *Biophysical Journal*, 88:3870-3887.
- Baumgartner, J., Bertinetti, L., Widdrat, M., Hirt, A.M., Faivre, D. (2013) Formation of Magnetite Nanoparticles at Low Temperature: From Superparamagnetic to Stable Single Domain Particles. *PLOS ONE*, 8:e57070.
- Bee, A., Massart, R., Neveu, S. (1995) Synthesis of very fine maghemite particles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 149: 6-9.
- Berry, C.C., Wells, S., Charles, S., Curtis, A.S. (2003) Dextran and albumin derivatised iron oxide nanoparticles: influence on fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 24:4551-4557.
- Bica, D., Vékás, L., Avdeev, M.V., Marinica, O., Socoliuc, V., Balasoiu, M., Garamus, V.M. (2007) Sterically stabilized water based magnetic fluids: Synthesis, structure and properties. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311:17-21.
- Bigham, J.M., Fritzpatrick, R.W., Schulze D.G. (2002) in Dixon, J.B., Schulze, D.G. (Eds.) *Soil Mineralogy with Environmental Applications*. SSSA, Madison, Wisconsin

- Blanco-Mantecon, M., O'Grady, K. (2006) Interaction and size effects in magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 296:124-133.
- Borkovec, M., Jönsson, B., Koper, G.J.M. (2001) Ionization processes and proton binding in polytropic systems: small molecules, proteins, interfaces and polyelectrolytes. In: Matijevic, E. (Ed) *Surface and Colloid Science*, Vol. 16., Kluwer, New York
- Boyer, C., Whittaker, M.R., Bulmus, V., Liu, J., Davis, T.P. (2010) The design and utility of polymer-stabilized iron-oxide nanoparticles for nanomedicine applications. *NPG Asia Materials*, 2:23–30.
- Bremmell, K.E., Jameson, G.J., Biggs, S. (1998) Polyelectrolyte adsorption at the solid/liquid interface Interaction forces and stability. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 139:199-211.
- Bruckner, Gy. (1990) *Szerves kémia I.* Tankönyvkiadó, Budapest
- Burger, K. (1999) *Az analitikai kémia alapjai: Kémiai és műszeres elemzés.* Semmelweis Kiadó, Budapest
- Butter, K. (2003) Iron (oxide) ferrofluids: synthesis, structure and catalysis. Postgradual paper, Utrecht University
- Casas, L.I., Roig, A., Molins, E., Greneche, J.M., Asenjo, J., Tejada, J., (2002) Iron oxide nanoparticles hosted in silica aerogels. *Applied Physics A - Materials Science and Processing*, 74:591-597.
- Chibowski, S., Opala Mazur, E., Patkowski, J. (2005) Influence of the ionic strength on the adsorption properties of the system dispersed aluminium oxide–polyacrylic acid. *Materials Chemistry and Physics*, 93:262-271.
- Cleland, R.L. (1991) Electrophoretic mobility of wormlike chains. I. Experiment: hyaluronate and chondroitin 4-sulfate. *Macromolecules*, 24:4386-4390.
- Cornell, R.M., Schwertmann, U. (1996) *The Iron Oxides. Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses.* VCH, Weinheim
- Daou, T.J., Pourroy, G., Begin-Colin, S., Greneche, J.M., Ulhaq-Bouillet, C., Legare, P., Bernhardt, P., Leuvrey, C., Rogez, G. (2006) Hydrothermal Synthesis of Monodisperse Magnetite Nanoparticles. *Chemistry of Materials*, 18:4399-4404.
- Dufour, J., Marron, J.O., Negro, C., Latorre, R., Formoso, A., Lopez-Mateos, F. (1997) Mechanism and kinetic control of the oxyprecipitation of sulphuric liquors from steel pickling. *Chemical Engineering Journal*, 68:173-187.
- Dunlop, D.J., Özdemir Ö. (1997) *Rock Magnetism.* Cambridge University Press, Cambridge
- Ederbeck, D., Wiekhorst, F., Steinhoff, U., Trahms, L. (2006) Aggregation behaviour of magnetic nanoparticle suspensions investigated by magnetorelaxometry. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18: S2829-S2846.
- Eirich, F.R. (1977) The conformational states of macromolecules adsorbed at solid-liquid interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 58:423-436.
- Elimelech, M., Gregory, J., Jia, X., Williams, R.A. (1995) *Particle Deposition and Aggregation: Measurement, Modelling and Simulation.* Butterworth, Oxford
- Everett, D.H. (1986) Reporting data on adsorption from solution at the solid/solution interface. *Pure and Applied Chemistry*, 58:967-984.
- Everett, D.H. (1988) *Basic Principles of Colloid Science.* RSC, London
- Fauconnier, N., Bée, A., Roger, J., Pons, J.N. (1999) Synthesis of aqueous magnetic liquids by surface complexation of maghemite nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 83: 233-242.
- Felthouse, T.R., Burnett, J.C., Horrell, B., Mummey, M.J., Kuo, Y.J. (2007) Maleic anhydride, maleic acid, and fumaric acid. In: Kroschwitz, J.I., Seidel, A. (Eds.)

- Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 5th ed., John Wiley & Sons: Hoboken, NJ.
- Fleer, G.J, Cohen Stuart, M.A., Scheutjens, J.M.H.M., Cosgrove, T., Vincent, B. (1993) Polymers at Interfaces. Chapman and Hall, London
- Fokkink, L.G.J., de Keizer, A., Lyklema, J. (1987) Specific ion adsorption on oxides: Surface charge adjustment and proton stoichiometry. *Journal of Colloid and Interface Science*, 118:454-462.
- Foner, S. (1956) Vibrating sample magnetometer. *Review of Scientific Instruments*, 27:548.
- Foner, S. (1959) Versatile and Sensitive vibrating-sample magnetometer. *Review of Scientific Instruments*, 30: 548-557.
- Furka, Á. (1998) Szerves kémia. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest
- Garnjanagoonchorn, W., Wongekalak, L., Engkagul, A. (2007) Determination of chondroitin sulfate from different sources of cartilage. *Chemical Engineering and Processing*, 46:465-471.
- Giles, C.H., Smith, D., Huitson, A. (1974) A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. *Journal of Colloid and Interface Science*, 47:755-765.
- Gonzalez, C.E., Pusiol, D.J., Ramia, M., Bee, A., Bourdon, A., Figueiredo Neto, A.M. (2002) Water dynamics in ionic magnetic colloids studied by ^1H nuclear magnetic resonance. *Physica B*, 320: 226-229.
- Goodarzi, A., Sahoo, Y., Swihart, M.T., Prasad, P.N. (2004) Aqueous Ferrofluid of Citric Acid Coated Magnetite Particles. *Materials Research Society Symposium Proceedings*, 789:6.6.1-6.6.6.
- Gotic, M., Music, S. (2007) Mössbauer, FT-IR and FE SEM investigation of iron oxides precipitated from FeSO_4 solutions. *Journal of Molecular Structure*, 834–836:445-453.
- Guang, Y.W., Lai, Z.T., Jing, Q.X., Guo, Z.J., Li, Y. (2007) Effects of synthetical conditions on octahedral magnetite nanoparticles. *Materials Science and Engineering: B*, 136:101-105.
- Gupta, A.K., Curtis, A.S.G., (2004) Lactoferrin and ceruloplasmin derivatized superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeting cell surface receptors. *Biomaterials*, 25: 3029-3040.
- Gupta, A.K., Gupta, M. (2005) Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26:3995-4021.
- Gyurcsik, B. (2010) Bioszervetlen kémia.
<http://www.staff.u-szeged.hu/~gyurcsik/indexh.htm> (2013.05.24.)
- Hafeli, U., Schütt, W., Teller, J., Zborowski, M. (1997) Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers. Plenum Press, New York
- Hajdú, A., Tombácz, E., Illés, E., Bica, D., Vékás, L. (2008) Magnetite nanoparticles stabilized under physiological conditions for biomedical application. *Progress in Colloid and Polymer Science*, 135: 29-37.
- Hajdú, A., Illés, E., Tombácz, E., Borbáth, I. (2009) Surface charging, polyanionic coating and colloid stability of magnetite nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 347:104-108.
- Hajdú, A., Szekeres, M., Tóth, I.Y., Bauer, R.A., Mihály, J., Zupkó, I., Tombácz, E. (2012) Enhanced stability of polyacrylate-coated magnetite nanoparticles in biorelevant media. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94:242-249.
- Hajdú, A. (2010) Mágneses folyadékok előállítása és stabilizálása fiziológiás körülmények között orvos-biológiai felhasználás céljából. Doktori (Ph.D.) értekezés, Szeged

- Hamaker H.C. (1937) The London-Van der Waals attraction between spherical particles. Physica, 4:1058-1072.*
- Harris, L.A. (2002) Polymer Stabilized Magnetite Nanoparticles and Poly(propylene oxide) Modified Styrene-Dimethacrylate Networks. Doktor of philosophy in chemistry, Blacksburg, Virginia*
- Hiemstra, T., Rahnemaie, R., van Riemsdijk, W.H. (2004) Surface complexation of carbonate on goethite: IR spectroscopy, structure and charge distribution. Journal of Colloid and Interface Science, 278:282-290.*
- Holthoff, H., Egelhaaf, S.U., Borkovec, M., Schurtenberger, P., Sticher, H. (1996) Coagulation rate measurements of colloidal particles by simultaneous static and dynamic light scattering. Langmuir, 12:5541-5549.*
- Hsiou, Y., Wang, Y., Liu, L.K. (1989) Structures of tetracarbonyl(2–3- η -maleic acid)iron, cis-[Fe(C₄H₄O₄)(CO)₄] (1) and tetracarbonyl(2–3- η -fumaric acid)iron, trans-[Fe(C₄H₄O₄)(CO)₄] (2). Acta Crystallographica Section C, 45:721-724.*
- Hunter, R.J. (1987) Foundations of Colloid Science. Clarendon Press, Oxford*
- Hunter, R.J. (1988) Zeta Potential in Colloid Science, Principle and Application. Academic Press, London*
- Illés, E., Tombácz, E. (2004) The role of variable surface charge and surface complexation in the adsorption of humic acid on magnetite. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 230:99-109.*
- Illés, E., Tombácz, E. (2006) The effect of humic acid adsorption on pH-dependent surface charging and aggregation of magnetite nanoparticles. Journal of Colloid and Interface Science, 295:115-123.*
- Illés, E. (2005) Huminsavak és magnetit nanorészecskék kölcsönhatása: a talajoktól a mágneses folyadékokig. Doktori (Ph.D.) értekezés, Szeged*
- ISO 10993: http://en.wikipedia.org/wiki/ISO_10993 (2013.05.24.)*
- Israelachvili, J.N. (1985) Intermolecular and Surface Forces. Academic Press, London*
- Jain, T.K., Richey, J., Strand, M., Leslie-Pelecky, D.L., Flask, C.A., Labhasetwar V. (2008) Magnetic nanoparticles with dual functional properties: Drug delivery and magnetic resonance imaging. Biomaterials, 29:4012-4021.*
- Jain, N., Wang, Y., Jones, S.K., Hawke, B.S., Warr, G.G. (2010) Optimized steric stabilization of aqueous ferrofluids and magnetic nanoparticles. Langmuir, 26:4465-4472.*
- James, R.I., Parks, G.A. (1982) Characterization of aqueous colloids by their electrical double-layer and intrinsic surface chemical properties. In: E. Matijevic (Eds.) Surface and Colloid Science, vol. 12. Plenum Publishing Corporation, New York.*
- Johnston, C.T., Tombácz, E. (2002) Surface Chemistry of Soil Minerals, Ch. 2. In: Dixon, J.B., Schulze, D.G. (Eds.) Soil mineralogy with environmental applications. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin*
- Jones, F., Farrow, J.B., van Bronswijk, W. (1998) An Infrared Study of a Polyacrylate Flocculant Adsorbed on Hematite. Langmuir, 14:6512-6517.*
- Jubb, A.M., Allen, H.C. (2010) Vibrational Spectroscopic Characterization of Hematite, Maghemite, and Magnetite Thin Films Produced by Vapor Deposition. Applied Materials and Interfaces, 2:2804-2812.*
- Jun, J.B., Uhm, S.Y., Ryu, J.H., Suh, K.D. (2005) Synthesis and characterization of monodisperse magnetic composite particles for magnetorheological fluid materials. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 260:157-164.*
- Kallay, N., Matijević, E. (1985) Adsorption at solid/solution interfaces. 1. Interpretation of surface complexation of oxalic and citric acids with hematite. Langmuir, 1:195-201.*

- Klein Wolterink, J., Koopal, L.K., Cohen Stuart, M.A., Van Riemsdijk, W.H. (2006) Surface charge regulation upon polyelectrolyte adsorption, hematite, polystyrene sulfonate, surface charge regulation. Theoretical calculations and hematite-poly(styrene sulfonate) system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 291:13-23.
- Kosmulski, M. (2001) Chemical properties of material surfaces. Marcel Dekker, New York
- Krishnamurti, G.S.R., Huang, P.M. (1991) Influence of citrate on the kinetics of Fe(II) oxidation and the formation of iron oxyhydroxides. *Clays and Clay Minerals*, 39:28-34.
- Krishnan, K.M. (2010) Biomedical Nanomagnetism: A Spin Through Possibilities in Imaging, Diagnostics, and Therapy. *IEEE Transactions on Magnetics*, 46:2523-2558.
- Kumagai, M., Imai, Y., Nakamura, T., Yamasaki, Y., Sekino, M., Ueno, S., Hanaoka, K., Kikuchi, K., Nagano, T., Kaneko, E., Shimokado, K., Kataoka, K. (2007) Iron hydroxide nanoparticles coated with poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer as novel magnetic resonance contrast agents for in vivo cancer imaging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 56:174-181.
- Lauder, R.M. (2009) Chondroitin sulphate: A complex molecule with potential impacts on a wide range of biological systems. *Complementary Therapies in Medicine*, 17:56-62.
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander-Elst, L., Muller, R.N. (2008) Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chemical Reviews*, 108:2064-2110.
- Lee, H. S., Lee, W.C., Furubayashi, T. (1999) A comparison of coprecipitation with microemulsion methods in the preparation of magnetite. *Journal of Applied Physics*, 85:5231-5233.
- Lee, D.K., Kang, Y.S. (2004) Preparation and characterization of magnetic nanoparticles by γ -irradiation. *Materials Science and Engineering C*, 24:107-111.
- Liao, M.H., Chen, D.H. (2002) Preparation and characterization of a novel magnetic nano-adsorbent. *Journal of Materials Chemistry*, 12:3654-3659.
- Lima, M.A., Rudd, T.R., de Farias, E.H.C., Ebner, L.F., Gesteira, T.F., de Souza, L.M., Mendes, A., Córdula, C.R., Martins, J.R.M., Hoppensteadt, D., Fareed, J., Sasaki, G.L., Yates, E.A., Tersariol, I.L.S., Nader, H.B. (2011) A New Approach for Heparin Standardization: Combination of Scanning UV Spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance and Principal Component Analysis. *PLoS ONE*, 6 e15970.
- Lin, C.L., Lee, C.F., Chiu, W.Y. (2005) Preparation and properties of poly(acrylic acid) oligomer stabilized superparamagnetic ferrofluid. *Journal of Colloid and Interface Science*, 291:411-420.
- Liu, C., Huang, P.M. (1999) Atomic Force Microscopy and Surface Characteristics of Iron Oxides Formed in Citrate Solutions. *Soil Science Society of America Journal*, 63:65-72.
- Liu, Q., Laskowski, J.S. (1989) The interactions between dextran and metal hydroxides in aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 130:101-111.
- Liu, Z.L., Liu, Y.J., Yao, K.L., Ding, Z.H., Tao, J., Wang, X. (2002) Synthesis and Magnetic Properties of Fe₃O₄ Nanoparticles. *Journal of Materials Synthesis and Processing*, 10:83-87.
- Liu, G., Hong, R.Y., Guo, L., Liu, G.H., Feng, B., Li, Y.G. (2011) Exothermic effect of dextran-coated Fe₃O₄ magnetic fluid and its compatibility with blood. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 380:327-333.

- Liufu, S., Xiao, H., Li, Y. (2005)* Adsorption of poly(acrylic acid) onto the surface of titanium dioxide and the colloidal stability of aqueous suspension. *Journal of Colloid and Interface Science*, 281:155-163.
- Lodhia, J., Mandarano, G., Ferris, N.J., Eu, P., Cowell, S.F. (2010)* Development and use of iron oxide nanoparticles (Part 1): Synthesis of iron oxide nanopartocles for MRI. *Biomedical Imaging and Intervention Journal*, 6:e12.
- López-López, M.T., Durán, J.D.G., Delgado, A.V., González-Caballero, F. (2005)* Stability and magnetic characterization of oleate-covered magnetite ferrofluids in different nonpolar carriers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 291:144-151.
- Lu, A.H., Salabas, E.L., Schüth, F. (2007)* Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization and Application. *Angewandte Chemie*, 46:1222-1244.
- Lübbe, A.S., Alexiou, C., Bergemann, C.C. (2001)* Clinical Applications of Magnetic Drug Targeting. *Journal of Surgical Research*, 95:200-206.
- Lyklema, J. (1983)* Adsorption of Small Ions. In: Parfitt, G.D., Rochester, C.H. (Eds.) *Adsorption from Solution at the Solid/Liquid Interface*. Academic Press, London
- Lyklema, J. (1991)* *Fundamentals of Interface and Colloid Science, Vol. I: Fundamentals*. Academic Press, London
- Lyklema, J. (1995)* *Fundamentals of Colloid and Interface Science, Vol. II: Solid-Liquid Interfaces*, Academic Press, London
- Ma, Y. H., Wu, S.Y., Wu, T., Chang, Y.J., Hua, M.Y., Chen, J.P. (2009)* Magnetically targeted thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator bound to polyacrylic acid-coated nanoparticles. *Biomaterials*, 30:3343-3351.
- Marmier, N., Delisée, A., Fromage, F. (1999)* Surface Complexation Modeling of Yb(III), Ni(II), and Cs(I) Sorption on Magnetite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 211:54-60.
- Masoudi, A., Madaah Hosseini, H.R., Shokrgozar, M.A., Ahmadi, R., Oghabian, M.A. (2012)* The effect of poly(ethylene glycol) coating on colloidal stability of superparamagnetic iron oxide nanoparticles as potential MRI contrast agent. *International Journal of Pharmaceutics*, 433:129-141.
- McKeehan, L.W. (1940)* Optical and Magnetic Properties of Magnetite Suspensions, Surface Magnetization in Ferromagnetic Crystals. *Physical Review*, 57:1177-1178.
- Mehra, O.P., Jackson, M.L. (1958)* Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays and Clay Minerals*, 7:317-327.
- Mehta, R.V., Desai, R., Bhatt, P., Upadhyay, R.V. (2006)* Synthesis and characterization of certain nanomagnetic particles coated with citrate and dextran molecules. *Indian Journal of Pure and Applied Physics*, 44:537-542.
- Merce, A.L.R., Carrera, L.C.M., Romanholi, L.K.S., Recio, M.A.L. (2002)* Aqueous and solid complexes of iron(III) with hyaluronic acid: Potentiometric titrations and infrared spectroscopy studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 89:212-218.
- Milkova, V., Radeva, T. (2006)* Counterion release from adsorbed highly charged polyelectrolyte: An electrooptical study. *Journal of Colloid and Interface Science*, 298:550-555.
- Mishra, B., Patel, B.B., Tiwari, S. (2010)* Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6:9-24.
- Molday, R.S., MacKenzie, D. (1982)* Immunospecific ferromagnetic iron-dextran reagents for the labeling and magnetic separation of cells. *Journal of Immunological Methods*, 52:353-367.

- Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods*, 65: 55-63.
- Munnier, E., Cohen-Jonathan, S., Linassier, C., Douziech-Eyrolles, L., Marchais, H., Soucé, M., Hervé, K., Dubois, P., Chourpa, I. (2008) Novel method of doxorubicin–SPION reversible association for magnetic drug targeting. *International Journal of Pharmaceutics*, 363:170-176.
- Nagy, L., Burger, K., Kürti, J., Korecz, L., Kiricsi, I. (1986) Iron(III) complexes of sugar-type ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 124:55-59.
- Nagy, Cs.D.S. (2008) Magnetit nanokristályok szintézise és vizsgálata. Diplomamunka, Veszprém
- NASA hivatalos honlapja: http://science.nasa.gov/headlines/y2003/02apr_robotblood.htm (2013.05.24.)
- Nguyen, V.S., Rouxel, D., Hadji, R., Vincent, B., Fort, Y. (2011) Effect of ultrasonication and dispersion stability on the cluster size of alumina nanoscale particles in aqueous solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 382-388.
- Nigam, S., Barick, K.C., Bahadur, D. (2011) Development of citrate-stabilized Fe₃O₄ nanoparticles: Conjugation and release of doxorubicin for therapeutic applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 323:237-243.
- Nishio, K., Ikeda, M., Gokon, N., Tsubouchi, S., Narimatsu, H., Mochizuki, Y., Sakamoto, S., Sandhu, A., Abe, M., Handa, H. (2007) Preparation of size-controlled (30–100 nm) magnetite nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 310:2408-2410.
- Nyirő-Kósa, I., Nagy, Cs.D., Pósfai, M. (2009) Size and shape control of precipitated magnetite nanoparticles. *European Journal of Mineralogy*, 21:293-302.
- Okassa, L.N., Marchais, H., Douziech-Eyrolles, L., Cohen-Jonathan, S., Souce, M., Dubois, P., Chourpa, I. (2005) Development and characterization of sub-micron poly(D,L-lactide-co-glycolide) particles loaded with magnetite/maghemite nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, 302:187-196.
- Oosawa, F. (1971) *Polyelectrolytes*. Marcel Dekker, New York
- Ottewill, R.H., Shaw, J.N. (1966) Stability of monodisperse polystyrene latex dispersions of various sizes. In: *Colloid Stability in Aqueous and Non-aqueous media*, The Faraday Society, No. 42, London
- Pan, Z., Campbell, A., Somasundaran, P. (2001) Polyacrylic acid adsorption and conformation in concentrated alumina suspensions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 191:71-78.
- Pankhurst, Q.A., Connolly, J., Jones, S.K., Dobson, J. (2003) Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36:R167-R181.
- Pankhurst, Q.A., Thanh, N.K.T., Jones, S.K., Dobson, J. (2009) Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 42: 224001 (15pp)
- Pápay, L. (1994) *Kristálytani, ásványtani, közettani ismeretek*. JATEPress, Szeged
- Pardoe, H., Chua-anusorn, W., St. Pierre, T. G., Dobson, J. (2001) Structural and magnetic properties of nanoscale magnetic particles synthesised by coprecipitation of iron oxide in the presence of dextran or polyvinylalcohol. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225:41-46.
- Park, J.Y., Choi, E.S., Baek, M.J., Lee, G.H. (2009) Colloidal stability of amino acid coated magnetite nanoparticles in physiological fluid. *Materials Letters*, 63:379-381.

- Pecora, R. (1985) Dynamic Light Scattering Application of Photon Correlation Spectroscopy. Plenum Press, New York*
- Phillies, G.D.J. (1990) Quasielastic light scattering. Analytical Chemistry, 62:1049-1057.*
- Pina, A., Nakache, E., Feret, B., Depraetere, P. (1999) Copolymer polyelectrolyte adsorption onto titanium dioxide. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 158:375-384.*
- Piva, E., Pajola, R., Temporin, V., Plebani, M. (2007) A new turbidimetric standard to improve the quality assurance of the erythrocyte sedimentation rate measurement. Clinical Biochemistry, 40:491-495.*
- Qiao, R., Yang, C., Gao, M. (2009) Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. Journal of Materials Chemistry, 19:6274-6293.*
- Qu, S., Yan, H., Ren, D., Kan, S., Zou, G., Li, D., Li, M. (1999) Magnetite nanoparticles prepared by precipitation from partially reduced ferric chloride aqueous solutions. Journal of Colloid and Interface Science, 215:190-192.*
- Răcuciu, M., Creang, D.E., Airinei, A. (2006) Citric-acid-coated magnetite nanoparticles for biological applications. European Physical Journal E, 21:117-121.*
- Regazzoni, A.E., Blesa, M.A., Maroto, A.J.G. (1983) Interfacial properties of zirconium dioxide and magnetite in water. Journal of Colloid and Interface Science, 91:560-570.*
- Réthy, B., Csopor-Löffler, B., Zupkó, I., Hajdú, Z., Máthé, I., Hohmann, J., Rédei, T., Falkay, G. (2007) Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against human cancer cell lines. Part I. Phytotherapy Research, 21:1200-1208.*
- Roach, J.D., Premjee, M.M., Buddhavarapu, S., Hassib, A. (2013) A study of the partitioning of haloacetates into cetylpyridinium chloride micelles using semiequilibrium dialysis and ultrafiltration. Journal of Colloid and Interface Science, 394:293-300.*
- Roca, A.G., Costo, R., Rebolledo, A.F., Veintemillas-Verdaguer, S., Tartaj, P., González-Carreno, T., Morales, M.P., Serna, C.J. (2009) Progress in the preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. Journal of Physics D: Applied Physics, 42:224002*
- Rosenqvist, J., Axe, K., Sjöberg, S., Persson, P. (2003) Adsorption of dicarboxylates on nano-sized gibbsite particles: effects of ligand structure on bonding mechanisms. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 220:91-104.*
- Russel, W.M.S., Burch, R.L. (1959) The principles of humane experimental technique. Methuen and Co. Ltd., London*
- Sahoo, Y., Goodarzi, A., Swihart, M.T., Ohulchanskyy, T.Y., Kaur, N., Furlani, E.P., Prasad, P.N. (2005) Aqueous Ferrofluid of Magnetite Nanoparticles: Fluorescence Labeling and Magnetophoretic Control. The Journal of Physical Chemistry B, 109: 3879-3885.*
- Saiyed, Z.M., Telang, S.D., Ramchand, C.N. (2003) Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedicine. BioMagnetic Research and Technology, 1:23-33.*
- Scherer, C., Figueiredo Neto, A.M. (2005) Ferrofluids: Properties and Applications. Brazilian Journal of Physics, 35: 718-727.*
- Schudel, M., Behrens, S.H., Hothoff, H., Kretzschmar, R., Borkovec, M. (1997) Absolute Aggregation Rate Constants of Hematite Particles in Aqueous Suspensions: A Comparison of Two Different Surface Morphologies. Journal of Colloid and Interface Science, 196:241-253.*

- Schwarz, S., Buchhammer, H.M., Lunkwitz, K., Jacobasch, H.J. (1998) Polyelectrolyte adsorption on charged surfaces: study by electrokinetic measurements. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 140:377-384.
- Shaw, D.J. (1986) Bevezetés a kolloid- és felületi kémiába. Műszaki könyvkiadó, Budapest
- Si, S., Kotal, A., Mandal, T.K., Giri, S., Nakamura, H., Kohara, T. (2004) Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles in the Presence of Polyelectrolytes. *Chemistry of Materials*, 16:3489-3496.
- Sigma-Aldrich hivatalos honlapja:
http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/Enzyme_Assay/c2905enz.P ar.0001.File.tmp/c2905enz.pdf (2013.05.24.)
- Şincai, M., Deleanu, L., Argherie, D., Bica, D. (2002) The effects of magnetic fluids on blood parameters in dogs. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252:406-408.
- Sipos, P., Pierre, T.G., Tombácz, E., Webb, J. (1995) Rod-like Iron(III) Oxyhydroxide Particles in Iron(III)-Polysaccharide Solutions. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 58:129-138.
- Sipos, P. (2006) Manufacturing of size controlled magnetite nanoparticles potentially suitable for the preparation of aqueous magnetic fluids. *Romanian Reports in Physics*, 58:269-272.
- Soenen, S.J.H., De Cuyper, M. (2009) Assessing cytotoxicity of (iron oxide-based) nanoparticles: An overview of different methods exemplified with cationic magnetoliposomes. *Contrast Media and Molecular Imaging*, 4:207-219.
- Soenen, S.J.H., Himmelreich, U., Nuytten, N., De Cuyper, M. (2011) Cytotoxic effects of iron oxide nanoparticles and implications for safety in cell labelling. *Biomaterials*, 32:195-205.
- Song, H.Y., Oh, S.W., Moon, S.D., Kang, Y.S. (2007) Spectroscopic study on the precipitation of sodium alkyl sulfate with cetylpyridinium chloride. *Journal of Colloid and Interface Science*, 314:683-688.
- Söhnel, O., Novotny, P. (1986) Densities of Aqueous Solutions of Inorganic Compounds. Elsevier, Amsterdam
- Sposito, G. (1984) *The Surface Chemistry of Soils*. Oxford University Press, New York
- Sposito, G. (1992) Characterization of Particle Surface Charge. In: Buffle, J., van Leeuwen, H.P. (Eds.) *Environmental Particles*. Lewis, Boca Raton
- Sterk, H., Braun, M., Schmut, O., Feichtinger, H. (1985) Investigation of the hyaluronic acid-copper complex by N.M.R. spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 145:1-11.
- Stuart, B. (2004) *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and applications*. John Wiley and Sons
- Sugahara, K., Mikami, T., Uyama, T., Mizuguchi, S., Nomura, K., Kitagawa, H. (2003) Recent advances in the structural biology of chondroitin sulfate and dermatan sulfate. *Current Opinion in Structural Biology*, 13:612-620.
- Sun, Z.X., Su, F.W., Forsling, W., Samskog, P.O. (1998) Surface Characteristics of Magnetite in Aqueous Suspension. *Journal of Colloid and Interface Science*, 197:151-159.
- Svoboda, J., Zofka, J. (1983) Magnetic flocculation in secondary minimum. *Journal of Colloid and Interface Science*, 94:37-44.
- Szántó, F. (1998) *A kolloidkémia alapjai*. JATEPress, Szeged
- Szekeres, M., Tombácz, E. (2012) Surface charge characterization of metal oxides by potentiometric acid-base titration, revisited theory and experiment. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 414:302-313.

- Taylor, J.J., Sigmund, W.M. (2010)* Adsorption of sodium polyacrylate in high solids loading calcium carbonate slurries. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341:298-302.
- Teja, A.S., Koh, P.Y. (2009)* Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 55:22-45.
- Thapa, D., Palkar, V.R., Kurup, M.B., Malik, S.K. (2004)* Properties of magnetite nanoparticles synthesized through a novel chemical route. *Materials Letters*, 58:2692-2694.
- Tian, H., Chen, Y., Ding, C., Li, G. (2012)* Interaction study in homogeneous collagen/chondroitin sulfate blends by two-dimensional infrared spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 89:542-550.
- Todorovsky, D.S., Dumanova, D.G., Todorovska, R.V., Getsova, M.M. (2002)* Preparation and characterization of yttrium-iron citric acid complexes. *Croatica Chemica Acta*, 75:155-164.
- Tombácz, E., Szekeres, M. (2001)* Interfacial Acid-Base Reactions of Aluminium Oxide Dispersed in Aqueous Electrolyte Solutions. 1. Potentiometric Study on the Effect of Impurity and Dissolution of Solid Phase. *Langmuir*, 17:1411-1419.
- Tombácz, E., Filipcsei, G., Szekeres, M., Gingl, Z. (1999)* Particle aggregation in complex aquatic systems. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 151:233-244.
- Tombácz, E., Csanaky, Cs., Illés, E. (2001)* Polydisperse fractal aggregate formation in clay mineral and iron oxide suspensions, pH and ionic strength dependence. *Colloid and Polymer Science*, 279:484-492.
- Tombácz, E., Libor, Z., Illés, E., Majzik, A., Klumpp, E. (2004)* The role of reactive surface sites and complexation by humic acids in the interaction of clay mineral and iron oxide particles. *Organic Geochemistry*, 35:257-267.
- Tombácz, E., Illés E., Hajdú, A. (2006)* A novel use of humic acids in preparation of water based magnetic fluid with high pH and salt tolerance, a possible biomedical application. In: Frimmel, F., Abbt-Braun, G. (Eds) *Humic Substances - Linking Structure to Functions*. Karlsruhe
- Tombácz, E., Illés, E., Majzik, A., Hajdú, A., Rideg, N., Szekeres, M. (2007)* Ageing in the Inorganic Nanoworld: Example of Magnetite Nanoparticles in Aqueous Medium. *Croatica Chemica Acta*, 80:503-515.
- Tombácz, E., Bica, D., Hajdú, A., Illés, E., Majzik, A., Vékás, L. (2008)* Surfactant double layer stabilized magnetic nanofluids for biomedical application, *Journal of Physics: Condensed Matter*, 20:204103 (6pp)
- Tombácz, E. (2002)* Adsorption from Electrolyte Solutions. In: Tóth, J. (Ed.) *Adsorption: Theory, Modeling and Analysis*. Marcel Dekker, New York
- Tombácz, E. (2003)* Talajreleváns határfelületi és kolloid kölcsönhatások. MTA Doktori értekezés, Szeged
- Tóth, I.Y., Illés, E., Bauer, R.A., Nesztor, D., Szekeres, M., Zupkó, I., Tombácz, E. (2012)* Designed Polyelectrolyte Shell on Magnetite Nanocore for Dilution-Resistant Biocompatible Magnetic Fluids. *Langmuir*, 28:16638-16646.
- Uchisawa, H., Okuzaki, B., Ichita, J., Matsue, H. (2001)* Binding between calcium ions and chondroitin sulfate chains of salmon nasal cartilage glycosaminoglycan. *International Congress Series*, 1223:205-220.
- Ungár, T. (2004)* Microstructural parameters from X-ray diffraction peak broadening. *Scripta Materialia*, 51:777-781.
- US 20120225264 A1* <http://www.google.com/patents/US20120225264> (2013.05.24.)

- US 4101435 A <http://www.google.com/patents/US4101435> (2013.05.24.)
- US 5427767 A <http://www.google.com/patents/US5427767> (2013.05.24.)
- US 5411730 A <http://www.google.com/patents/US5411730> (2013.05.24.)
- Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T.D. (2005) Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12:1161-1208.
- van Ewijk, G.A., Vroege, G.J., Philipse, A.P. (1999) Convenient preparation methods for magnetic colloids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 201:31-33.
- Veintemillas-Verdaguer, S., Bomati-Miguel, O., Morales, M.P. (2002) Effect of the process conditions on the structural and magnetic properties of γ -Fe₂O₃ nanoparticles produced by laser pyrolysis. *Scripta Materialia*, 47:589-593.
- Vékás, L., Bica, D., Marinica, O. (2006) Magnetic nanofluids stabilized with various chain length surfactants. *Romanian Reports in Physics*, 58:257-267.
- Vékás, L. (2008) Ferrofluids and Magnetorheological Fluids. *Advances in Science and Technology*, 54:127-136.
- Vereda, F., Rodriguez-Gonzales, B., Vicente, J., Hidalgo-Álvarez, R. (2008) Evidence of direct crystal growth and presence of hollow microspheres in magnetite particles prepared by oxidation of Fe(OH)₂. *Journal of Colloid and Interface Science*, 318:520-524.
- Vermöhlen, K., Lewandowski, H., Narres, H.D., Koglin, E. (2000) Adsorption of polyacrylic acid on aluminium oxide: DRIFT spectroscopy and ab initio calculations, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 170:181-189.
- Vijayakumar, R., Koltypin, Y., Felner, I., Gedanken, A. (2000) Sonochemical synthesis and characterization of pure nanometer-sized Fe₃O₄ particles. *Materials Science and Engineering A*, 286:101-105.
- Wang, J., Sun, J., Sun, Q., Chen, Q. (2003) One-step hydrothermal process to prepare highly crystalline Fe₃O₄ nanoparticles with improved magnetic properties. *Materials Research Bulletin*, 38:1113-1118.
- Wang, H., Loganathan, D., Linhardt, R.J. (1991) Determination of the pK_a of glucuronic acid and the carboxy groups of heparin by ¹³C-nuclear-magnetic-resonance spectroscopy. *Biochemical Journal*, 278:689-695.
- Weissleder, R., Stark, D.D., Engelstad, B.L., Bacon, B.R., Compton, C.C., White, D.L., Jacobs P., Lewis J. (1989) Superparamagnetic Iron Oxide: Pharmacokinetics and Toxicity. *American Journal of Roentgenology*, 152:167-173.
- Weissleder, R., Elizondo, G., Wittenberg, J., Rabito, C.A., Bengel, H.H., Josephson, L. (1990) Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide: Characterization of a New Class of Contrast Agents for MR Imaging. *Radiology*, 175:489-493.
- Westergren, A. (1926) The technique of the red cell sedimentation reaction. *American Review of Tuberculosis*, 14:94-101.
- Wilhelm, C., Gazeau, F. (2008) Universal cell labelling with anionic magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 29:3161-3174.
- Xiao, X., He, D., Liu, F., Liu, R. (2008) Preparation and characterization of hydroxyapatite/chondroitin sulfate composites by biomimetic synthesis. *Materials Chemistry and Physics*, 112:838-843.
- Xu, X.Q., Shen, H., Xu, J.R., Xu, J., Li, X.J., Xiong, X.M. (2005) Core-shell structure and magnetic properties of magnetite magnetic fluids stabilized with dextran. *Applied Surface Science*, 252:494-500.
- Zahn, M. (2001) Magnetic fluid and nanoparticle applications to nanotechnology. *Journal of Nanoparticle Research*, 3:73-78.

- Zaman, A.A., Tsuchiya, R., Moudgil, B.M. (2002)* Adsorption of a lowmolecular-weight polyacrylic acid on silica, alumina, and kaolin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 256:73-78.
- Zhang, Y., Kallay, N., Matijević, E. (1985)* Interaction of metal hydrous oxides with chelating agents. 7. Hematite-oxalic acid and -citric acid systems. *Langmuir*, 1:201-206.
- Zhang, Y., Kohler, N., Zhang, M. (2002)* Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. *Biomaterials*, 23:1553-1561.
- Zhu, H., Chen, Z., Sheng, Y., Thi, T.T.L. (2010)* Flaky polyacrylic acid/aluminium composite particles prepared using in-situ polymerization. *Dyes and Pigments*, 86:155-160.
- Zrínyi, M. (1999)* *Intelligens anyagok*. *Magyar Tudomány*, 6:697-703.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni elsősorban **szüleimnek, testvéreimnek és páromnak**, hogy megteremtették számomra a Ph.D. fokozat eléréséhez szükséges családi, szellemi és lelki háttér.

Köszönetemet fejezem ki **Prof. Dr. Dékány Imre** Professzor Úrnak és **Prof. Dr. Erdőhelyi András** Professzor Úrnak hogy 2009-ig a Kolloidkémiai, majd a Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszéken lehetővé tették számomra a disszertációm elkészítését.

Köszönöm **Prof. Tombácz Etelkának** a szakmai háttér és a türelmét, mellyel a munkám során végig segítette az előrehaladásomat. Köszönöm **Dr. Illés Erzsébetnek** a disszertációm elkészítése során nyújtott segítségét.

Köszönöm **Dr. Szekeres Mártának** és **Dr. Hajdú Angélának** a szakmai segítségét.

Köszönet illeti **Bauer Adrea Ritát**, aki a diplomamunkásként a doktori munka több részében is részt vett.

Minden együttműködő partnernek köszönöm a közös munka lehetőségét, így **Dr. Galbács Gábornak** az ICP vizsgálatokat, **Dr. Vékás Lászlónak** a VSM méréseket, **Dr. Zupkó Istvánnak** a sejtes kísérletek, **Farkas Katalinnak** a vérsűlyedésem méréseket.

Köszönetet szeretnék mondani **Benkő Máriának** és **Ábrahám Nórának** barátságukért és támogatásukért.

Köszönöm a tanszéken dolgozó összes munkatársnak a munkám során nyújtott segítségüket és türelmüket.