

УДК 57.012.3

С.В. Горобець, О.Ю. Горобець, І.В. Дем'яненко

**САМООРГАНІЗАЦІЯ НАНОЧАСТИНОК МАГНЕТИТУ ПРИ НАДАННІ МАГНІТНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ ДРІЖДЖАМ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

We develop and conduct the comparative analysis of four evaluation methods of clusters parameters of magnetic nanoparticles. The magnetically-controllable biosorbent based on the *S. cerevisiae* culture is used as a model object for analyzing the adequacy of these models. Finally, we obtain the evaluation data on the depth of clusters penetration inside the biomembrane, typical sizes of clusters and dispersion of magnetic cluster sizes. Our analysis shows that all four methods can be used for single magnetic clusters. However, for clusters laying in chains with small distances between their centers, the model that takes into account the table meaning of magnetite magnetization can't be used, because this model doesn't take into account the nearest neighbors contribution of interaction of magnetic fields dipole with magnetic probe.

Вступ

Процеси самоорганізації та структурні фазові переходи в ансамблях феромагнітних і феритових нано- та мікрочастинок (далі – магнітні нано- та мікрочастинок) на міжфазовій поверхні з твердим тілом або рідиною становлять значний інтерес [1–5]. Також останнім часом активно вивчаються структурні властивості наноконструктивів зі штучно наданими магнітними властивостями на поверхні твердого тіла під впливом магнітного поля, зокрема магнітокеровані сорбенти (МКС), нанотрубки та ін. [1–5]. З фундаментальної точки зору інтерес до таких систем пов'язаний з тим, що магнітодипольна взаємодія в кластерах магнітних мікро- та наночастинок може призводити до явищ просторової самоорганізації, які під дією зовнішнього магнітного поля проявляються у формуванні на поверхні твердого тіла або рідини просторових структур із кластерів магнітних частинок у вигляді окремих ланцюгів, систем смуг, гексагональних ґраток тощо [1–5]. Задача ж про просторову локалізацію магнітних наночастинок та їх кластерів на поверхні біомембрани є особливо актуальною у зв'язку з актуальністю прикладних задач створення магнітокерованих наноконструктивів для очищення стічних вод від іонів важких металів магнітокерованими біосорбентами, цілеспрямованої доставки лікарських препаратів, гіпертермії, використання імплантатів при цілеспрямованій доставці лікарських препаратів та ін. У цих задачах визначення місця локалізації та структурних властивостей магнітної фази в околі поверхні біомембрани є додатковий ступінь вільності магнітних наночас-

тинок внаслідок принципової можливості їх проникнення через біомембрану.

На сьогодні основним методом детекції магнітної фази та встановлення місця її локалізації у біологічному об'єкті є використання магнітосилового режиму сканування (МСМ) скануючого зондового мікроскопа (СЗМ). Основним недоліком цього методу є те, що в результаті сканування отримуємо для кожної точки поверхні зсув фази коливання кантилевера СЗМ, який пов'язаний із силою взаємодії магнітної фази в складі досліджуваного зразка з робочою зоною феромагнітного зонда, що не дає можливості встановити, розміщена магнітна фаза (МФ) на біомембрані чи під нею. Визначення цього параметра є дуже важливим при створенні ефективного магнітокерованого біосорбенту або ліпосоми для цільової доставки ліків з магнітними властивостями.

Постановка задачі

Метою дослідження є вивчення самоорганізації наночастинок магнетиту в складній суперструктури при наданні магнітних властивостей дріжджам *Saccharomyces cerevisiae* та встановлення місця локалізації цих магнітних частинок на мембрані клітини.

Встановлення місця локалізації магнітних наночастинок у магнітокерованому сорбенті на основі *S. cerevisiae*

З використанням методів скануючої зондової мікроскопії (СЗМ) у режимах атомно-силової (АСМ) і магнітної силової мікроскопії

(МСМ) досліджувалась локалізація магнетиту на поверхні клітин дріжджів *S. cerevisiae* за допомогою скануючого зондового мікроскопа Solver PRO-M. У МСМ-режимі вимірюється зсув фази коливань кантилевера, що характеризує силу магнітодипольної взаємодії робочої зони магнітного зонда з магнітною фазою (МФ) у складі досліджуваних клітин дріжджів *S. cerevisiae*, при сталій відстані між зондом і поверхнею зразка. МФ може являти собою окремі магнітні наночастинки і/або їх кластери. Внаслідок обмеженості роздільної здатності скануючого зондового мікроскопа в МСМ-режимі неможливо відрізнити окрему магнітну наночастинку від кластеру з кількох магнітних наночастинок з розмірами приблизно 100 нм. Це зумовлено тим, що характерний розмір маг-

нітного відгуку в МСМ-режимі, який відрізняється від фонового значення, становить приблизно 100 нм, що пов'язано з розміром робочої зони магнітного зонда (80 нм). Тому далі будемо називати кластером магнітних наночастинок відокремлену локалізовану магніточутливу область на МСМ-зображенні зразка з розмірами близько 100 нм, як показано на рис. 1, в. При цьому зазначений кластер може складатися з однієї, двох чи більшої кількості магнітних наночастинок.

У даній роботі було досліджено параметри кластерів магнітних наночастинок, виявлених на поверхні клітин дріжджів у чотирьох видів зразків та в контролі. Виготвлення магнітної фази, тобто магнітних наночастинок у складі магнітної рідини, здійснювалося згідно з методикою [7].

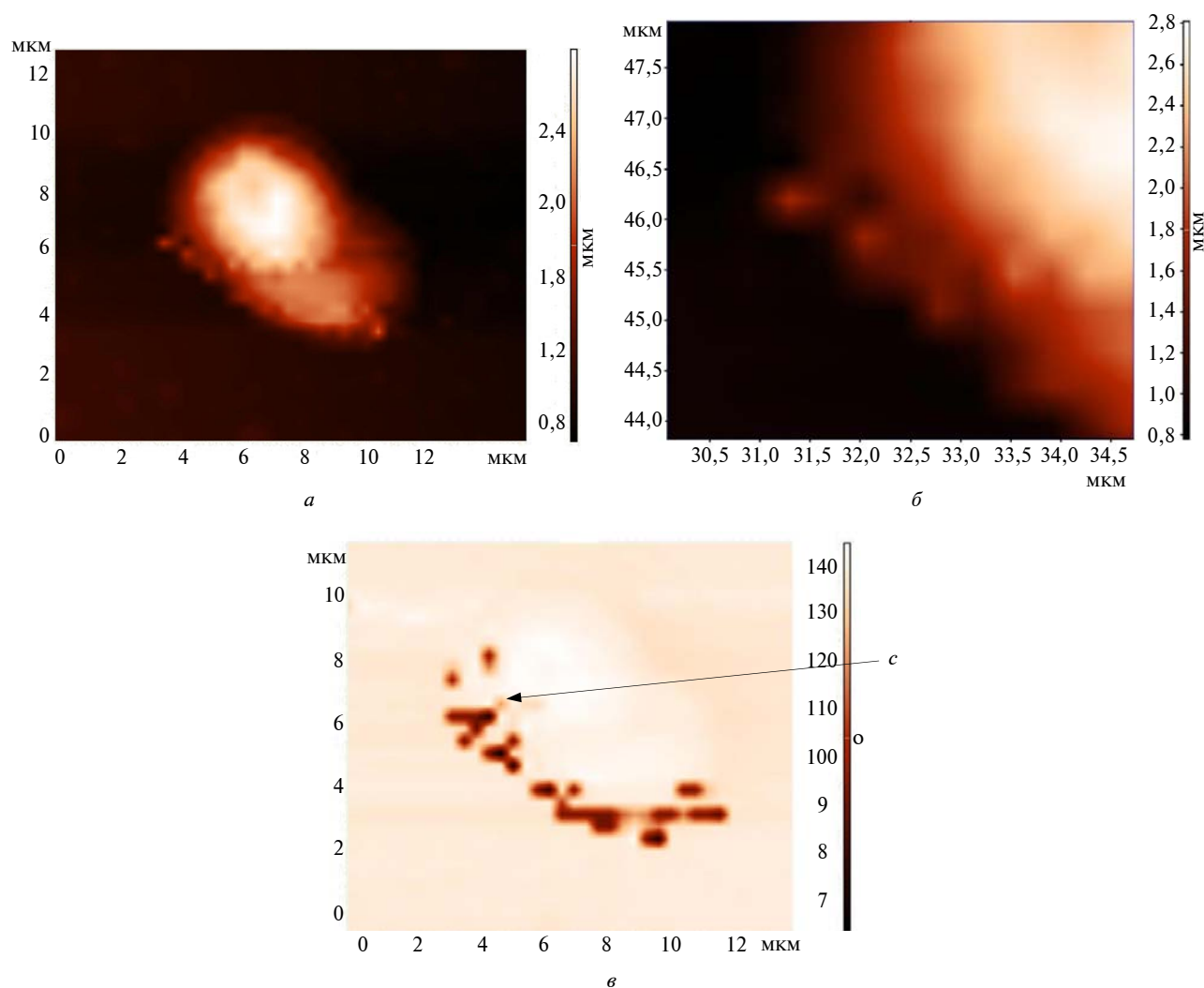


Рис. 1. СЗМ-зображення біосорбенту, отриманого механічним перемішуванням магнітних наноміток з дріжджовими клітинами протягом 10 хв: а – АСМ-зображення; б – кластери магнітних частинок; в – МСМ-зображення (с – одиничний кластер частинок)

Магнітокерований біосорбент (МКБС) отримувався за двома різними способами: перший і третій зразки – за методикою [6] при використанні механічного перемішування магнітних наноміток з дріжджовими клітинами протягом 10 хв (рис. 1) і 30 хв (рис. 3) відповідно. При отриманні біосорбенту цим методом значно знижується його сорбційна ємність [7]. Другий і четвертий зразки було одержано згідно з методом [7] багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування (МГДП) магнітних наноміток з дріжджовими клітинами протягом 10 хв (рис. 2) і 30 хв (рис. 4) відповідно. За даними досліджень [7], при такому методі отримання магнітокерованого біосорбенту його сорбційна ємність практично не змінюється. Контроль становив собою культуру нативних клітин дріжджів без додавання МФ.

Аналізуючи отримані МСМ-зображення зразків (рис. 1, а; 2, б; 3, в і 4, в), можна зробити висновок, що кластери магнітних наночастинок розміщуються в основному по контуру клітини у вигляді окремих кластерів або ланцюгів кластерів залежно від методу отримання МКБС. У першому і другому зразках кластери розміщені по контуру клітини у вигляді окремих одиниць; у клітинах третього зразка – переважно у вигляді довгих ланцюгів і незначної кількості окремих кластерів, які також розміщені по контуру клітини. А в клітинах четвертого зразка спостерігається досить мала кількість кластерів магнітних наночастинок (до 5 кластерів на клітину), і вони локалізовані зде-

більшого хаотично по поверхні клітини. Також четвертий зразок відрізняється від попередніх тим, що клітина має найбільш неоднорідну поверхню. Розміщення кластерів у вигляді ланцюгів в клітині є типовим згідно з літературними даними [1–6].

Для отримання інформації про глибину проникнення магнітних наночастинок або їх кластерів у біомембрану, характерні розміри кластерів, їх магнітний момент розглянемо більш детально процес сканування поверхні клітини в МСМ-режимі.

Як відомо, дипольне магнітне поле створюється однорідно намагніченою робочою зоною магнітного зонда в місці розташування кластеру магнітних наночастинок:

$$\vec{H}^{(m)} = \frac{3(\vec{m}_0 \cdot \vec{n})\vec{n} - \vec{m}_0}{r^3}, \quad (1)$$

$$\text{де } \vec{n} = \frac{\vec{r}}{r}.$$

Енергія взаємодії робочої області магнітного зонда, що являє собою намагнічену кулю з моментом \vec{m}_0 з кластером магнітних наночастинок, обчислюється як

$$U = -(\vec{m}\vec{H}^{(m)}), \quad (2)$$

де \vec{m} – магнітний момент кластеру.

Підставивши формулу (1) у (2), отримаємо

$$U = -\frac{3(\vec{m}\vec{r})(\vec{m}_0\vec{r}) - (\vec{m}\vec{m}_0)r^2}{r^5}. \quad (3)$$

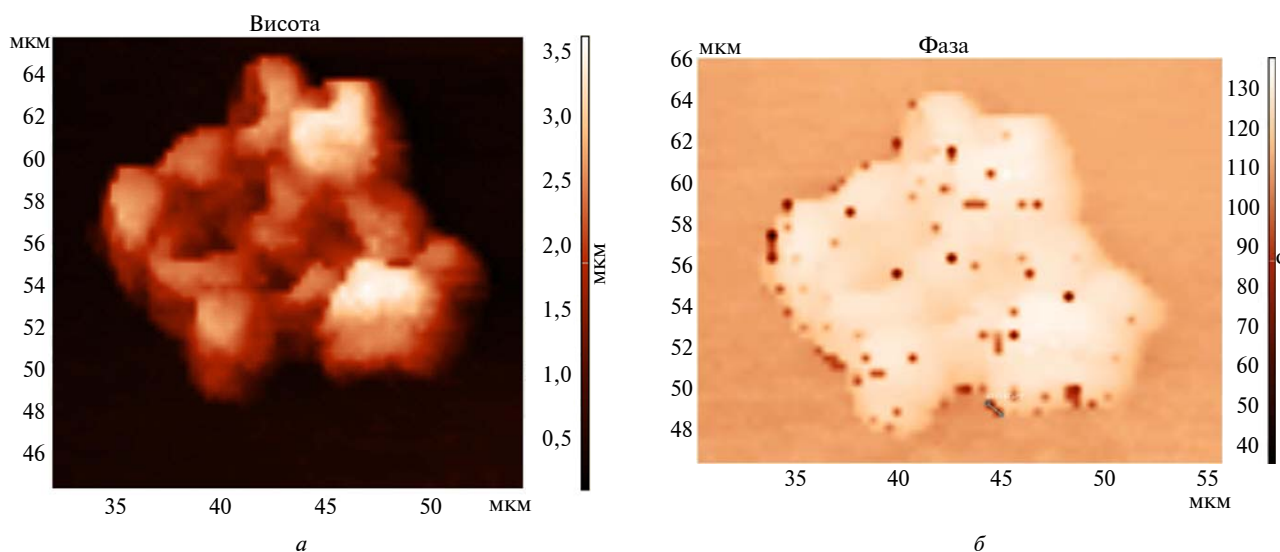


Рис. 2. СЗМ-зображення біосорбенту, отриманого багатовихровим магнітогідродинамічним перемішуванням магнітних наноміток з дріжджовими клітинами протягом 10 хв: а – АСМ-зображення; б – МСМ-зображення

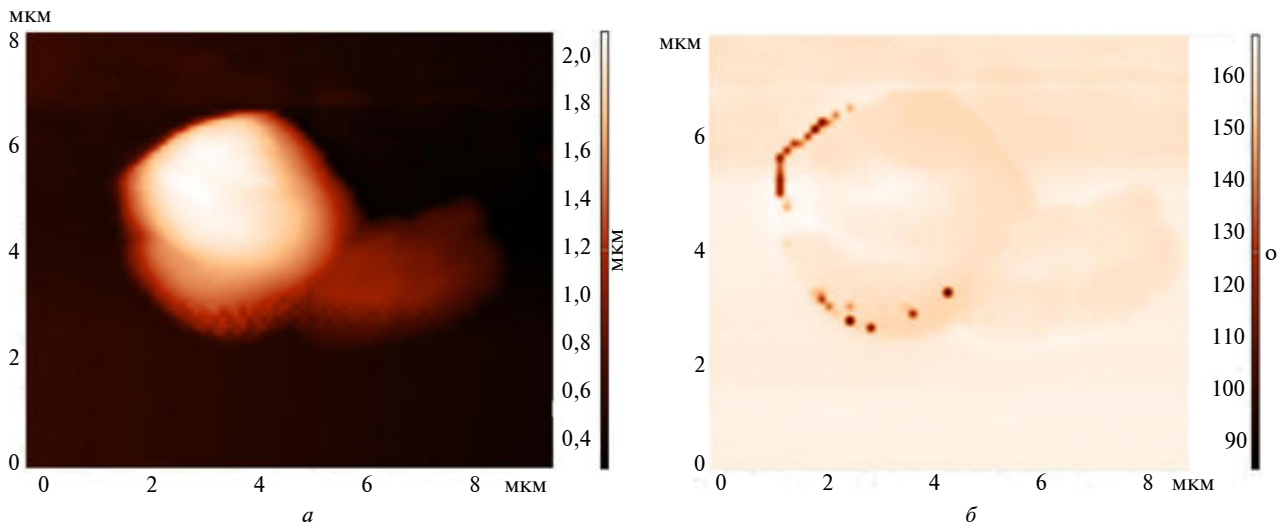


Рис. 3. СЗМ-зображення біосорбенту, отриманого механічним перемішуванням магнітних наноміток з дріжджовими клітинами протягом 30 хв: *a* – АСМ-зображення; *б* – МСМ-зображення

Оскільки зонд намагнічений уздовж осі *OZ* (відповідно, $\vec{m}_0 = (0, 0, m_0)$) і скалярний добуток $\vec{m} \vec{m}_0 = m_z m_0$, де m_z – проекція магнітного моменту кластеру магнітних наночастинок на вісь *OZ*, то вираз для енергії взаємодії матиме такий вигляд:

$$U = -\frac{2m_0 m_z}{z^3}.$$

Силу взаємодії магнітного зонда з кластером магнітних наночастинок можна записати як $\vec{F} = -\text{grad } U$. Розраховуючи силу взаємодії

магнітного зонда з кластером, отримаємо такий вираз:

$$\vec{F}_z = -\frac{6m_0 m_z}{z^4},$$

а похідна по координаті *z* від *z*-компоненти сили F_z має вигляд

$$\frac{\partial F_z}{\partial z} = \frac{24m_0 m_z}{z^5}. \tag{4}$$

Згідно з даними офіційного сайта виробника скануючого зондового мікроскопа Solver

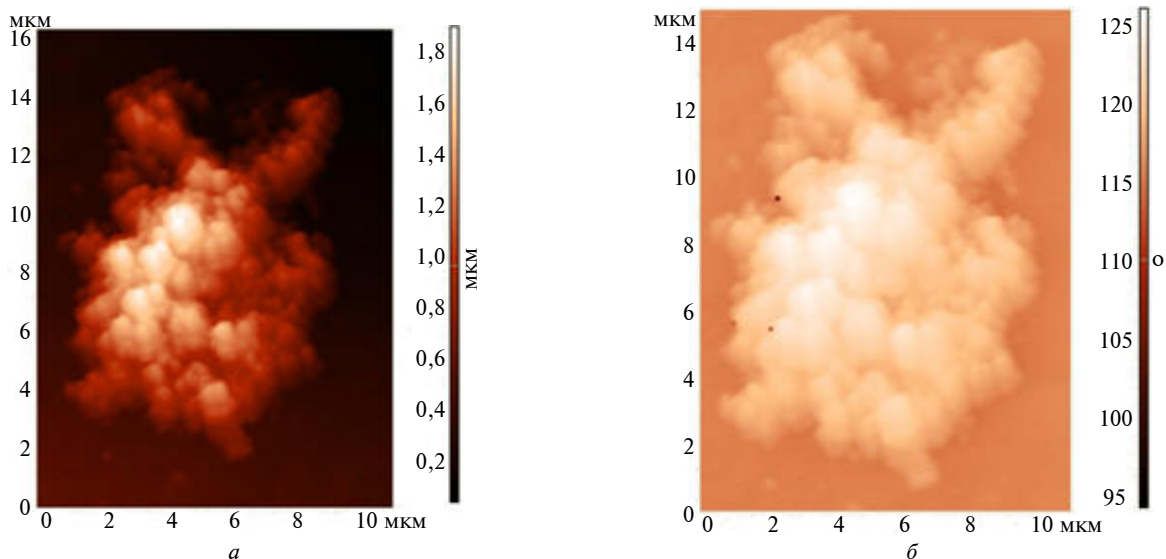


Рис. 4. СЗМ-зображення біосорбенту, отриманого багатовихровим магнітогідродинамічним перемішуванням магнітних наноміток з дріжджовими клітинами протягом 30 хв: *a* – АСМ-зображення; *б* – МСМ-зображення

PRO-M [8], $\frac{\partial F_z}{\partial z}$ – похідна по координаті z від z -компоненти сили взаємодії магнітного зонда з кластером магнітних наночастинок, пов'язана із зсувом фази коливань кантилевера $\Delta\phi$, який безпосередньо визначається в МСМ-режимі сканування об'єкта і обчислюється за формулою

$$\Delta\phi = CQ \frac{\partial F_z}{\partial z}, \quad (5)$$

де $C = 10^{-2}$ см/дін = 10 м/Н – коефіцієнт жорсткості кантилевера; $Q = 200$ – добротність кантилевера.

Підставивши (4) у (5), отримаємо

$$\Delta\phi = CQ \frac{24m_0m_z}{z^5}. \quad (6)$$

Як відомо [9], магнітний момент виражається через намагніченість матеріалу за формулою $m_0 = M_0V_0$, де M_0 – намагніченість зонда, яка для кобальтового зонда, що намагнічується до насичення, дорівнює $M_{Co} = 1447$ Гс [10];

$V_0 = \frac{4}{3}\pi r_0^3$ – об'єм робочої зони зонда.

Аналогічно для проекції магнітного моменту кластеру магнітних наночастинок на вісь OZ запишемо

$$m_z = M_z V,$$

де $V = \frac{4}{3}\pi r_m^3$ – об'єм кластеру магнітних наночастинок; M_z – z -компонента намагніченості кластеру магнітних наночастинок; r_m – радіус кластеру (в моделі про сферичну форму кластеру магнітних наночастинок).

Якщо процес МСМ-сканування однієї і тієї ж області зразка провести при двох різних значеннях z ($h = h_1$, $h = h_2$) та зіставити отримані дані щодо величини $\Delta\phi$ у МСМ-режимі сканування одного і того ж кластеру магнітних наночастинок, то можна знайти, в скільки разів $\Delta\phi$ змінюється залежно від відстані від зонда до поверхні сканування. Таке співвідношення отримаємо, використавши (4) і (6), і позначимо його γ :

$$\frac{\frac{\partial F_z}{\partial z}}{\frac{\partial F_z}{\partial z}} \Big|_{z=h_1+\Delta+r_0} = \frac{\Delta\phi_{z=h_1+\Delta+r_0}}{\Delta\phi_{z=h_2+\Delta+r_0}} = \frac{z_2^5}{z_1^5} = \gamma. \quad (7)$$

Якщо кластер магнітних наночастинок міститься на поверхні біомембрани, то $z = h_{1,2} + r_0 + r_m$. Підставивши цей вираз у формулу (7), отримаємо

$$\left(\frac{h_2 + r_0 + \Delta}{h_1 + r_0 + \Delta} \right) = \gamma, \quad (8)$$

звідки визначимо глибину проникнення кластеру магнітних наночастинок в біомембрану:

$$\Delta = \frac{\frac{1}{\gamma^5}(h_1 + r_0) - (h_2 + r_0)}{1 - \gamma^5}. \quad (9)$$

Якщо $\Delta < 0$, то кластер магнітних наночастинок розміщений на поверхні біомембрани. В цьому випадку можна оцінити $\Delta = -r_m$.

Розрахуємо магнітний момент кластеру магнітних наночастинок в проекції на вісь OZ . Для цього використовуємо формулу (5):

$$\frac{\Delta\phi_{x=0}}{CQ} = 24 \frac{m_0m_z}{z^5}, \quad (10)$$

$$m_z = \frac{z^5 \Delta\phi}{24m_0CQ}, \quad (11)$$

де z визначається за формулою (8).

Якщо магнітний момент кластеру намагнічений до насичення вздовж OZ і якщо припустити, що відома намагніченість насичення матеріалу магнітної частинки $M_0 = M_z$, то на основі формул (5) і (6) приблизний радіус кластеру магнітних наночастинок можна оцінити як

$$r = \sqrt[3]{\frac{\Delta\phi z^5}{24 \left(\frac{4}{3}\pi\right)^2 r_0^3 M_0 M_{Co} CQ}}. \quad (12)$$

Для розрахунку верхньої та нижньої границь радіуса кластерів застосовувались три методи: модель (9), яка використовує для розрахунку два МСМ-скани поверхні; геометричні вимірювання відстані між центрами сусідніх кластерів магнітних наночастинок в ланцюгу за допомогою вбудованих функцій програми Nova, яка є стандартним комп'ютерним забезпеченням скануючого зондового мікроскопа Solver PRO-M; модель (12), яка враховує таб-

личне значення намагніченості насичення магнетиту. Для встановлення глибини проникнення кластерів магнітних наночастинок в біомембрану клітин *S. cerevisiae* застосовувалась модель (9), для якої як вхідні дані використовувалось значення $\Delta\phi$, отримане в МСМ-режимі сканування при двох різних значеннях z ($h_1 = 60$, $h_2 = 40$). Розрахунок для кожного зразка здійснювався на вибірці з 22 значень.

У таблиці наведено значення глибини проникнення кластерів магнітних наночастинок в біомембрану клітини *S. cerevisiae*, отримані методом подвійного МСМ-сканування, та радіус кластеру, отриманий методом геометричного оцінювання верхньої границі розмірів та з використанням моделі (12).

Враховуючи дані, отримані методом подвійного МСМ-сканування, можна зробити висновок, що кластери магнітних наночастинок в усіх чотирьох зразках містяться на поверхні біомембрани, а отже, величину Δ можна використовувати як оцінку характерного радіуса кластеру магнітних наночастинок $\Delta = r_{\max}$, який варіюється в межах від 100 нм до 2 мкм. Проаналізувавши дані, отримані для другого та четвертого зразків трьома методами (таблиця), встановили, що розмір кластерів магнітних частинок коливається від 60 до 350 нм. Також отримані дані вказують на адекватність методів (12) і (9), тобто модель дипольного магнітного поля (1) для магнітодипольної взаємодії робочої зони зонда СЗМ з кластерами магнітних частинок досить добре застосовується для реальних систем. Це пов'язано з тим, що при виготовленні МКБС методом МГДП утворюються в

основному одиночні кластери, які розміщуються на поверхні мембрани на значній відстані один від одного, що, в свою чергу, дає змогу при розрахунку магнітодипольної взаємодії знехтувати взаємодією робочої зони зонда з найближчими сусідами даного кластеру.

Аналіз даних, отриманих для першого та третього зразків показав, що методи (12) і (9) не дають точної оцінки розмірів для частинок, які містяться в ланцюгу на близькій відстані один від одного (таблиця). Це, в свою чергу, пов'язано з тим, що модель магнітодипольної взаємодії (1) не враховує вклад дипольних магнітних полів близьких сусідів у силу взаємодії з магнітним зондом. Однак, як видно з АСМ-зображення (див. рис. 1, б), окремі кластери на поверхні біомембрани мають розміри приблизно в кілька мікронів, і отже, модель (9) дає адекватну оцінку розмірів окремо розміщених кластерів магнітних частинок, які для першого і третього зразків, очевидно, мають більший розмір, ніж кластери у ланцюгу. Великі розміри кластерів магнітних наночастинок можна пояснити тим, що оскільки їх водний колоїдний розчин дуже нестабільний і вони схильні до утворення агломератів, то їх здебільшого зберігають у розчині поверхнево-активних речовин для магнітних наночастинок – у перхлорній кислоті, а при контакті колоїдної системи з клітинами порушується її рівновага, що може призвести до утворення агломератів.

Таким чином, можна зробити висновок, що при використанні МГДП для створення МКБС розкид за розмірами кластерів магнітних частинок майже на порядок менший, ніж при виготовленні МКБС традиційним методом механічного перемішування.

Таблиця. Глибина проникнення в біомембрану і радіус кластерів магнітних наночастинок

Метод оцінювання	Зразок	Значення
Оцінка глибини проникнення Δ кластерів магнітних наночастинок в біомембрану за методом подвійного МСМ-сканування (формула (9))	1	-1250 ± 850
	2	-130 ± 70
	3	-980 ± 450
	4	-140 ± 80
Оцінка розмірів кластерів магнітних наночастинок r_{\max} за формулою (12) при допущенні, що вони є магнетитом (Fe_3O_4) при величині z з методу (9)	1	4800 ± 4100
	2	230 ± 120
	3	2900 ± 1900
	4	175 ± 85
Геометричне оцінювання верхньої границі розмірів кластерів магнітних наночастинок r_{\max} (див. рис. 1, а; 2, б; 3, б)	1	300 ± 100
	2	150 ± 80
	3	460 ± 100
	4	—

Висновки

У ході досліджень було розроблено та виконано порівняльну характеристику чотирьох методів оцінки розмірів кластерів магнітних частинок: модель (9), яка використовує для розрахунку два МСМ-скани поверхні; геометричні вимірювання відстані між центрами сусідніх кластерів на МСМ-зображенні магнітних наночастинок в ланцюгу за допомогою вбудованих функцій програми Nova, яка є стандартним комп'ютерним забезпеченням скануючого зондового мікроскопа Solver PRO-M; модель (12), яка враховує табличне значення намагніченості насичення магнетиту; безпосередніх геометричних розмірів окремих кластерів на їх АСМ-зображенні. Для аналізу адекватності цих методів як модельний об'єкт використовувався МКБС на основі клітин *S. cerevisiae*.

Аналіз показав, що моделі (9) і (12) можна застосовувати для одиночних кластерів магнітних частинок, але для кластерів, які розміщені в ланцюгах на близькій відстані один від одного, модель (12) не дає точних результатів, оскільки не враховує внесок в енергію взаємодії

магнітного моменту ферромагнітного зонда магнітних полів сусідніх (найближчих) кластерів до даного кластеру магнітних наночастинок. Метод оцінювання розмірів наночастинок за відстанню між центрами найближчих кластерів в ланцюгу на МСМ-зображенні можна застосувати тільки для кластерів у ланцюгу і неможливо – для одиночних кластерів.

Також розподіл розмірів кластерів магнітних частинок у МКБС залежить від методу виготовлення. При використанні МГДП розмір кластерів коливається від 60 до 350 нм, а при використанні традиційного методу механічного перемішування суспензії дріжджів з магнітною рідиною значення характерних розмірів досягає кількох мікрометрів.

В результаті використання МГДП отримується більш розгалужена поверхня клітини, що пояснює збільшення її біосорбційної здатності за рахунок збільшення кількості активних центрів зв'язування, наприклад з іонами важких металів.

Оскільки описані вище моделі виявились адекватними, то в подальшому вони будуть застосовуватись для дослідження структурованої магнітної фази в пухлинних клітах.

1. Cheng G., Romero D., Fraser G.T., Hight Walker A.R. Magnetic-field-induced assemblies of cobalt nanoparticles // Science and technology news. – 2005. – <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la0506473>
2. Gorobets S.V., Melnichuk I.A. Ordering of two-dimensional system of ferromagnetic particles in magnetic field // J. of Magnetism and Magnetic Materials. – 1998. – **182**. – P. 61–64.
3. Горобець С.В., Легенький Ю.А., Мельничук И.А. Поведение коллектива частиц Ni на границе раздела жидкость–твердая поверхность при импульсном включении магнитного поля // Магнитная гидродинамика. – 1998. – **34**, № 4. – С. 345–352.
4. Gorobets S.V., Legenkii Yu.A., Melnichuk I.A. Break-up of Ni microparticle clusters in a magnetic field // J. of Magnetism and Magnetic Materials. – 2000. – **222**. – P. 159–162.
5. Korneva Guzeliya, Ye Haihui, Gogotsi Yury et al. Carbon nanotubes loaded with magnetic particles // Nano Letters. – 2005. – **5**, N 5. – P. 879–884.
6. Wang J., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccaromyces cerevisiae* 1968 // Biotechnology Advances. – 2006. – **24**, N 5. – P. 427–451.
7. Горобець С.В., Карпенко Ю.В. Інтенсифікація сорбційної здатності дріжджів *S. cerevisiae* за допомогою багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування // Електроніка і зв'язь. – 2009. – № 2-3. – С. 191–195.
8. Офіційний сайт виробника скануючого зондового мікроскопа Solver PRO-M. – <http://www.ntmdt.ru/>
9. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теория поля. – Изд. 8-е, стереотипное. – М.: Физматлит, 2006. – 534 с.
10. Физические величины: Справ. / За ред. И.С. Григорьева, Е.З. Мейлихова. – М.: Энергоатомиздат, 1991. – 1232 с.