

Miskolci Egyetem

Műszaki Anyagtudományi Kar



SZAKDOLGOZAT

Ilosvai Mária Ágnes

2019.

Miskolci Egyetem
Műszaki Anyagtudományi Kar
Kémiai Intézet

**BIOLÓGIAI SZEPARÁCIÓS MŰVELETEKRE
ALKALMAZHATÓ MÁGNESES NANORÉSZECSEKÉK
SZINTÉZISE ÉS JELLEMZÉSE**

SZAKDOLGOZAT

Készítette:
Ilosvai Mária Ágnes

Konzulens:
Dr. Vanyorek László

Miskolc, 2019.

Igazolás

Alulírott Ilosvai Mária Ágnes (Neptun kód: T5OSRI, született: Tiszapéterfalva (Petrovo), Ukrajna; 1999.09.08.) igazolom, és büntetőjogi felelősségem tudatában kijelentem, hogy a leadott szakdolgozat a saját munkám.

Miskolc,

Ilosvai Mária Ágnes, hallgató

Az igazolást átvettem.

Miskolc,

Dr. Viskolcz Béla, tanszékvezető

A szerzői jogok részleges átadásáról szóló nyilatkozat

Alulírott Ilosvai Mária Ágnes (Neptunkód: T5OSRI, szül.hely: Tiszapéterfalva (Petrovo), Ukrajna; év:1999. hónap 09. nap: 08.) ezúton nyilatkozom, hogy a dolgozat nem tartalmaz a tudományos etikát, valamint vállalatok és intézmények érdekeit sértő bizalmas információkat. Dolgozatom az Egyetemi Könyvtár részére mind elektronikus-, mind nyomtatott formában átadható, és annak tartalma a Szerző nevének és a Dolgozat címének feltüntetésével nyilvános tárhelyre feltölthető.

Miskolc,

Ilosvai Mária Ágnes, hallgató

Az igazolást átvettem.

Miskolc,

I. Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretném megköszönni Dr. Vanyorek Lászlónak, a Miskolci Egyetem Műszaki Anyagtudományi Kara Kémia Intézetében oktató egyetemi docensnek, konzulensemnek, munkám során nyújtott segítségét, támogatását. Köszönettel tartozom Dr. Szőri-Dorogházy Emmának, a Miskolci Egyetem Műszaki Anyagtudományi Karának Kémiai Intézetében dolgozó tudományos munkatársának a DNS megkötési tesztekben való sok segítségért. Köszönet Prof. Dr. Kónya Zoltánnak, az SZTE Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék vezetőjének, hogy biztosította számunkra az SZTE tanszékén található transzmissziós elektronmikroszkóp használatát. Köszönet illeti Dr. Kristály Ferencet, a Miskolci Egyetem Ásványtani és Földtani Intézet tanszéki mérnökét, valamint Dr. Kocserha Istvánt, a Miskolci Egyetem Kerámia- és Polimermérnöki Intézet igazgatóját az XRD felvételekért. Köszönettel tartozom Sikora Emőkének, Prekob Ádámnak, és Hajdu Viktóriának, Miskolci Egyetem Kémiai Intézetében lévő PhD hallgatóknak a sok segítségért, és támogatásért. Végül, de nem utolsó sorban köszönetet mondok Dr. Viskolcz Béla Tanszékvezető Úrnak, hogy kutató munkámban támogatott és biztosította számomra a kutatási lehetőségek megteremtését.

A dolgozat: „Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-1. kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.”



NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI
ÉS INNOVÁCIÓS HIVATAL



Új Nemzeti
Kiválóság Program



MISKOLCI
EGYETEM

MŰSZAKI ANYAGTUDOMÁNYI KAR
KÉMIAI INTÉZET

Szakdolgozat feladatkiírás

Ilosvai Mária Ágnes – BSc. nappali tagozatos hallgató részére

Dolgozat címe:

Biológiai szeparációs műveletekre alkalmazható mágneses nanorészecskék szintézise és jellemzése

Elvégzendő feladatok:

- Mutassa be a mágneses nanorészecskék előállításai lehetőségeit irodalomkutatásra alapozva.
- Készítsen vas-oxid alapú mágneses nanorészecskéket szonokémia, valamint égetéses eljárás együttes alkalmazásával.
- Végezze el az előállított preparátumok morfológiai jellemzését és fázisazonosítását elektronmikroszkópia és röntgendiffraktometria alkalmazásával.
- Tesztelje az előállított készítmények alkalmazhatóságát DNS elválasztási műveletekben.
- Adjon meg olyan receptúrákat, amelyek eleget tesznek a célkitűzésben megfogalmazott elvárásoknak.

A Szakdolgozat leadási határideje: 2019. november 25.

A Szakdolgozat terjedelme: minimum 40, maximum 50 A/4 oldal

Külső konzulens: (név, beosztás, cég)

Belső konzulens: Dr. Vanyorek László egyetemi docens, Kémiai Intézet

Miskolc, 2019. május 3.

Dr. Viskolcz Béla
intézetigazgató

Dr. Viskolcz Béla

intézetigazgató, egyetemi tanár

H- 3 5 15 Miskolc – Egyetemváros, A/2 mf. sz.

Telefon: + 36 46 565 114, Fax: +36 46 565 115

viskolcz.bela@uni-miskolc.hu

www.ki.uni-miskolc.hu

II. Tartalomjegyzék

Bevezetés	1
1. Irodalmi áttekintés	3
1.1. A nanorészecskékről és nanotechnológiáról általánosan.....	3
1.2. A vas-oxidok tulajdonságai	3
1.3. Anyagok mágneses tulajdonságai.....	4
1.4. Vas-oxid nanorészecskék előállítási műveletei	5
1.5. A nanorészecskék felhasználási területei	7
1.6. Magnetit felhasználása biológiai célra	7
1.7. Az előállított nanorészecskék kombinálása bevonatokkal, polimerekkel	9
2. Célkitűzés	15
3. Kísérleti rész	16
3.1. Felhasznált anyagok	16
3.2. Vizsgálati módszerek.....	16
3.2.1. Hielsher homogenizátor	16
3.2.2. Transzmissziós elektronmikroszkóp (TEM).....	17
3.2.3. Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FTIR)	18
3.2.4. Röntgendiffrakció (XRD).....	18
3.2.5. Dinamikus fényszórás (DLS).....	18
3.2.6. CHNS elemanalizátor	19
3.3. A mágneses nanorészecskék előállítása	20
3.3.1. Vas-oxid nanorészecskék előállítása vas (II)-acetátból	20
3.3.2. Vas-oxid nanorészecskék előállítása vas (III)-citrátból.....	20
3.3.3. A D1/SiO₂ nanokompozit előállítása.....	21
3.4. A D1 minta stabilizálásához használt polimerek és agyagásvány előállítása....	22
3.4.1. Nátrium-bentonit alkalmazása D1 minta diszpergálásához	22
3.4.2. Polimerek alkalmazása D1 minta diszpergálására	22
3.5. DNS megkötési teszt	23
4. Kísérleti eredmények és értékelésük	25
4.1. A vas (II)-acetát (A1 minta) alapú nanorészecskék jellemzése.....	25
4.1.1. Részecskeméret és morfológia jellemzése transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM)	25

4.1.2. A részecskék felületén található funkciós csoportok azonosítása Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiával (FTIR).....	26
4.1.3. Az A1 minta fázisösszetételének meghatározása röntgendiffrakciós méréssel (XRD)	26
4.1.4. Az A1 minta részecskéinek elektrokinetikai potenciál mérése.....	27
4.2. A vas (III)-citrát (D1 minta) alapú nanorészecskék jellemzése.....	28
4.2.1. Részecskeméret és morfológia jellemzése transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM)	28
4.2.2. A részecskék felületén található funkciós csoportok azonosítása Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiával (FTIR).....	29
4.2.3. A D1 minta fázisösszetételének meghatározása röntgendiffrakciós méréssel (XRD)	30
4.2.4. A D1 minta részecskéinek elektrokinetikai potenciál mérése	30
4.2.5. A polimerekkel és agyagásvánnyal stabilizált maghemit diszperziók jellemzése	31
4.3. A D1/SiO₂ nanokompozit jellemzése.....	34
4.3.1. A D1/SiO₂ nanokompozit morfológia jellemzése transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM)	34
4.3.2. A D1/SiO₂ nanokompozit fázisösszetételének meghatározása röntgendiffrakciós (XRD) méréssel.....	35
4.3.3. A D1/SiO₂ nanokompozit vizes közegű diszperziójának mintasorozata.....	35
4.4. DNS megkötési teszt eredményei.....	36
Összefoglalás	38
Hivatkozások	40

III. Absztrakt

Szakdolgozatom során szonokémiai eljárással kombinált égetéssel állítottam elő szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskéket. Munkám során két vas tartalmú prekuzort használtam fel. Ezeket a vas (II)-acetát és vas (III)-citrát prekuzorokat 400 g/mol molekulatömegű polietilén-glikolban (PEG 400) diszpergáltattam egy nagy hatékonyságú ultrahangos technikával (Hielscher-homogenizátorral). Előállítottam olyan mágneses tulajdonságokkal rendelkező nanorészecskéket is, amelyek felületén szilícium-dioxid réteget alakítottam ki. A PEG alapú diszperziót hevítve elégettem a poliólt, így mindkét minta esetében mágneses nanorészecskéket kaptam eredményül. Az előállított mágneses részecskéket jellemeztem transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM), röntgendiffrakcióval (XRD) és infravörös spektroszkóppal (FTIR), CHNS elemanalízissel, valamint Zetasizer készülék segítségével elektroforetikus mobilitás mérés alapján zéta-pontenciált is mértem. A nanorészecskékből vizes közegű diszperzió sorozatot készítettem. Szakdolgozatom során különböző polimerek és felületaktív anyagok alkalmazásával a stabilizálási lehetőségeket tervezem megvizsgálni. Az előállított részecskéket DNS megkötési tesztekben próbáltam ki. A DNS jól adszorbeálódik mágneses nanorészecskék felületén, ennek köszönhetően mágneses tér alkalmazásával elválasztható az egyéb folyadék fázisban levő szennyezőktől. DNS izolálását és a mágneses szeparációs folyamatokat a Kémiai Intézet biológiai laboratóriumában, *Escherichia coli* baktérium törzsből végeztem el.

Bevezetés

Az elmúlt időkben rengeteget lehet hallani a „nanotechnológia”, „nanomedicina”, de maga a „nano” kifejezést is. A nanotechnológia nagyon kicsiny, 1 és 100 nm tartománnyal foglalkozik. A történelem során 1959: Richard P. Feynman Nobel-díjas tudós azt mondta: „Mihelyt ezt a témát megemlítem, az emberek rögtön a miniatürizálásról kezdenek beszélni, és hogy az manapság mennyire előrehaladt már. Beszélnek olyan elektromos motorokról, amelyeknek mérete akkora, mint a kisujjam körme. És van a piacon egy olyan szerkezet, amellyel a miatyánkot egy gombostű fejére lehet ráírni. Ez azonban mind semmi; ez a legprimitívebb, döcögő lépés [...] Miért ne tudnánk az *Encyclopaedia Britannica* teljes 24 kötetének tartalmát ráírni egy gombostű fejére?" Ezek után Feynman meggyőzően érvel amellelt, hogy az *Encyclopaedia Britannica* gombostűfejre való gravírozásához "csupán" annyi kell, a lineáris méreteket 25000-szeresére kell csökkenteni [1].

Szakdolgozatom során eredményesen kombináltam a szonokémiai és égetéses (combustion) módszereket a mágneses vas-oxidok szintéziséhez. Két vas tartalmú prekursorzt használtam fel a szintézis során, melyet polietilén-glikolban diszpergáltattam egy ultrahangos homogenizátor segítségével. A diszperziót hevítve elégettem a poliolt, és létrejöttek a mágneses nanorészecskék.

A nanorészecskék mágneses tulajdonságuk miatt különböző elválasztási műveletekben alkalmazhatók, ilyen alkalmazás többek között a DNS tisztítás, illetve poliszacharidok megkötése analitikai mintaelőkészítés során. Az említett biológiai területen történő alkalmazásuk lehetővé teszi, hogy nem feltétlenül a takarékosági szempontokat tartjuk szem előtt, hanem a készítmény hatékonyságát biztosítjuk. Jelenleg a kereskedelmi forgalomban kapható hasonló elven működő DNS szeparációs készletek magas áron érhetőek el. Példaként tudjuk felhozni DYKDDDDK magnetitet, amelynek jelenlegi árat 390 000 HUF körül mozog. Az említett anyag magnetit részecskéket tartalmaz, amelyet polimer mikrogöngyök felületén adszorbeáltattak.

Az eljárás hatékonyságát az biztosítja, hogy a DNS jól adszorbeálódik mágneses részecskék felületén, ennek köszönhetően mágneses tér alkalmazásával elválasztható az egyéb folyadék fázisban levő nem kívánatos szennyezőktől, elroncsolt sejtalkotóktól, egyéb makromolekuláktól (RNS, fehérje). A piacon elérhető készítmények magas árán kívül további probléma az is, hogy sokszor bonyolult nanoszerkezeteket állítanak elő, amelyre nem feltétlenül lenne szükség. A mágneses nanorészecskék különböző vas-oxidok (maghemit, magnetit)

önmagukban egyéb felületmódosítás nélkül is képesek reverzibilisen kötni a DNS-t. Ennek megfelelően hatékony anyagok lehetnek DNS izolálás, vagy többféle makromolekulát tartalmazó reakcióelegyekből a DNS specifikus kinyerése során.

A Miskolci Egyetem Kémiai Intézetében nem csak mágneses részecskék szintézisét lehet elvégezni, hanem az intézet biológiai laboratóriumában biztosítottak azok a körülmények, amelyekkel megoldható a DNS tisztítási és mágneses részecskékhez való kötődésének tesztelése is. Az említett vizsgálatok elvégzéséhez jól alkalmazható az *Escherichia coli* (*E. coli*) baktériumokból kinyert plazmid típusú DNS. Az *E. coli* baktérium nagy előnye, hogy nem patogén, gyors a szaporodási ciklusa és a plazmid DNS-t a baktériumsejt több példányban is tartalmazza. Ebből az következik, hogy rövid időn belül nagy sejtszám érhető el, melyből könnyen elegendő mennyiségű DNS izolálható.

1. Irodalmi áttekintés

1.1.A nanorészecskékről és nanotechnológiáról általánosan

A *nanosz* görög eredetű szó, jelentése *törpe*. Mint előtag, mértékegységek milliárdod (10^{-9}) részét jelzi. A nanométer körülbelül úgy aránylik a méterhez, mint egy kis dió a naphoz [2].

Bár formailag a nanoskála 1 és 1000 nm közé esik, a nanotechnológia főként az 1-100 nm tartományra fókuszál. A nanotechnológiát korunk „ipari forradalmának” tartják. Először is, egy olyan természeti jelenségen alapul, amelynek hosszú távú kihasználása minőségi változást hozhat a társadalmi fejlődésben. A nanotechnológia fejlődése rendkívül gyors ütemben zajlik. Első ismert alkalmazása óta (1974) rövid idő alatt, megközelítőleg 500 nanotechnológiával foglalkozó intézet létesült (2011-es adatok alapján) és számuk azóta is növekedett. Az USA-ban 2002-ig körülbelül 90 ezer nanotechnológiai szabadalmat nyújtottak be, mely évente megközelítőleg 1600-zal nő [2]. 2019-es adatok szerint a PUBMED több mint 95495 közleményt sorol fel, amelyben a „nano” szó szerepel, a Google-találatok száma alapján is kiemelkedő a „nanotechnology” a közel 67,6 millió, míg a „nanomedicine” a maga 7,92 millió találatával.

A különböző nanoanyagok előállítására és vizsgálatára azért is fordítanak különös figyelmet, mert amennyiben a részecskék mérete 10-100 nm között van, az anyagnál olyan fizikai, kémiai és biológiai összefüggések lépnek működésbe, melyek magasabb dimenziókban nem fordulnak elő [2]. Ezek a tulajdonságok keltették fel a mi érdeklődésünket is.

1.2.A vas-oxidok tulajdonságai

A vas a természetben széles körben fellelhető, a litoszféra harmadik leggyakoribb eleme, a környezetben elemi állapotban nem fordul elő [3], de II-es és III-as oxidációs formája 16 ismert vas-oxidot, vas-hidroxidot és vas-oxid-hidroxidot képez (ezek közül néhány az **1. táblázatban** látható [3]). Ilyen anyag például a ferromágneses tulajdonságú magnetit (mágnesevasérc, mágnesevaskő, Fe_3O_4) és a maghemit ($\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_4$) [4]. Rácsát az oxigénre vonatkoztatva tetraéderes (Fe^{2+}) és oktaéderes (Fe^{3+}) szimmetriájú vasionok alkotják. A magnetit oxidáció hatására maghemitté alakul [5-7].

1. táblázat: Néhány vas-oxid, vas-hidroxid, illetve vas-oxid-hidroxid és jellemző tulajdonságaik [3]

Vegyület	Képlet	Mágneses tulajdonság (szobahőmérsékleten)	Szín
<i>magnetit</i>	Fe_3O_4	ferrimágneses	fekete
<i>hematit</i>	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	antiferromágneses	vörös
<i>maghemit</i>	$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	ferrimágneses	barna
<i>goethit</i>	$\alpha\text{-FeOOH}$	antiferromágneses	sárga
<i>vas (II)-hidroxid</i>	$\text{Fe}(\text{OH})_2$	antiferromágneses	színtelen
<i>zöldrozsda</i>	$[\text{Fe}^{\text{II}}_{1-x}\text{Fe}^{\text{III}}_x(\text{OH})_2]^{+x}$	antiferromágneses	kékeszöld

A vas-oxidok, vas-hidroxidok és a vas-oxid-hidroxidok átalakulásai során a legstabilabb a hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), ami vörös színű, antiferromágneses anyag. A stabilitásának oka, hogy benne a vasionok csak III-as oxidációs formában vannak jelen. A hematit a hexagonális kristályosztályba tartozik [5].

1.3. Anyagok mágneses tulajdonságai

Egy anyag mágneses tulajdonságát a párosítatlan elektronjainak spinje határozza meg. A magnetitek doménekből állnak, melyek egyedi mágnesként viselkedő egységeket alkotnak [8]. A mágneses tulajdonságot a mágneses domének mennyisége határozza meg egy anyagban [9].

Mai ismereteink szerint az anyagok mágneses tulajdonságaik alapján három fő típusba sorolhatók: dia-, para- és ferromágneses típusba, de ezen felül léteznek antiferromágneses anyagok és ferritek is, emellett a szupravezetőket is külön kategóriába sorolják [10].

Általában az anyagok atomjai spontán mágneses momentummal rendelkeznek. Mágneses tér hatására két folyamat zajlik le [10].:

- 1) a spontán momentummal rendelkező atomok rendeződni igyekeznek, a mágneses tér a hőmozgással verseng, és ezt nevezik paramágneses folyamatnak;
- 2) járulékos mágneses momentum indukálódik az atomokban függetlenül attól, hogy a mágneses tér bekapcsolása előtt rendelkeztek-e mágneses momentummal.

Mind a para-, mind a diamágneses folyamat során a keletkező mágnesezettséget a külső mágneses tér hozza létre és az $\vec{M}(\vec{H})$ függvény a kérdéses anyagra jellemző. A diamágnesesség minden atomnál szerepet játszik, míg a paramágneses folyamat csak abban az esetben, ha az

atom spontán mágneses momentummal rendelkezik. Ha ez utóbbi a helyzet, akkor rendszerint a paramágneses felülmúlja a diamágneses folyamatot [10].

Maguk a nemesgázok, a bizmut, a réz, az ezüst, az arany, a higany, az ólom, a víz olyan anyagok, amelyek külső mágneses mező nélkül nem mutatnak mágneses tulajdonságokat. Ezeket az anyagokat diamágneses anyagoknak nevezzük. Ha a lezárt elektronhéjhoz még egy elektront hozzáveszünk, akkor annak a mágneses momentumát nem kompenzálhatja a többi elektron, tehát az alkálifémek (nátrium, kálium stb.) paramágnesesek. Külső mező híján ezek az anyagok sem mutatnak mágneses tulajdonságot [10].

A mágneses mező az atomi dipólusokat a maga irányába forgatja. Minél erősebb az alkalmazott mágneses mező, és minél alacsonyabb a hőmérséklet, annál jobban forгат. Ezt a jelenséget rendeződési polarizációnak nevezzük [10].

Előfordulnak olyan anyagok is, amelyek erősen mágnesezhető anyagok és mágneses mezőből kiemelve többé-kevésbé megőrzik a mágneses tulajdonságaikat. Ezeket nevezzük ferromágneses anyagoknak. Ilyenek pl. a vas, kobalt, nikkel és ezek ötvözetei, de olyan anyagok is lehetnek ferromágnesesek, amelyeknek egyik összetevője sem mutat ferromágneses jellemzőket, ilyen például a króm-dioxid [10].

Ezen három mágneses tulajdonság közül leginkább a paramágneses jelleg foglalkoztatott minket, ezen belül is a szuperparamágnesesség. Az anyag akkor mutat szuperparamágneses jellemzőket, amikor már csak egyetlen egy doménből épül fel. A domének a mágneses térrel azonos irányban rendeződnek el dipólus jellegüknek köszönhetően, amíg a mágneses tér hiányában diffúz eloszlásúak lesznek a Brownmozgás végett [9]. Ezt a viselkedést a vas-oxid részecskéknél is megfigyelhetjük nano tartományban.

Az 50-100 nm közötti nanorészecskék szuperparamágneses vas-oxidok (SPIO), amelyek 50 nm alatt vannak, azok ultra kicsi szuperparamágneses vas-oxidok (USPIO). Ezek közül a részecskék közül azok a széleskörűen alkalmazhatók, amelyeknek nincs toxikus, káros hatásuk, vagy csak minimális van [9].

1.4. Vas-oxid nanorészecskék előállítási műveletei

Az irodalomban számos helyen olvashatunk a vas-oxid nanorészecskék előállításának folyamatairól. Rengeteg kutatót foglalkoztat ez a rendkívüli anyag, melynek felhasználhatósága igen széleskörű. Előállítási módszerek [3] lehetnek például:

- szol-gél technológia,
- mikroemulziós eljárás,
- hidrotermális szintézis,
- magas hőmérsékletű lebontás,
- kicsapásos (precipitációs) szintézis,
- illetve ide sorolható még a szonokémiai (ultrahangos) szintézis is

Ezek közül a precipitációs szintézis a legnépszerűbb, mert egyszerű eszközökkel, vizes közegben nagyobb mennyiségű magnetit lehet előállítani [3].

A magnetit szintézisére a ko-precipitációs módszer a legáltalánosabb [11]. Tóth és munkatársai ezzel a módszerrel állítottak elő magnetit nanorészecskéket $\text{FeCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ és $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ tömény oldatából NaOH-dal történő kicsapással. Az oldatot $0,2 \mu\text{m}$ szűrőn szűrték a porszennyeződések eltüntetésére és a fel nem oldódott mikrokristályok végett. Erős keverés mellett kb.: 200 cm^3 ultra tiszta vízhez $0,2 \text{ cm}^3$ tömény vas-só-oldatot adtak. Ezt követően pár csepp lúg oldattal kicsapták, melytől sárga zavaros lett az eredmény. Keverés közben a lúg felét a mintához csepegtették, majd a másik felét egyszerre beleöntötték, és így végeredményként egy sűrű, fekete masszát kaptak [3].

Kuzmann és munkatársai az általuk alkalmazott módszerrel 30-50 nm átmérőjű magnetit részecskéket állítottak elő. A $\text{FeO}(\text{OH})$ -t olajsavval elegyítették, majd néhány cikluson át etanolos kicsapással szeparálták. Ezt követően egy szilícium-dioxid burkot alakítottak ki a vasmag felületén [12].

Marcelo és munkatársai készítettek egy tanulmányt, melyben a magnetit nanorészecskék előállítási folyamataival foglalkoztak, rengeteg forrást feldolgozva rendszereztek, és jellemezték a módszereket. A ko-precipitációs szintézist tartották a legjobb előállítási lehetőségnek [13].

Lee és csapata a magnetit előállítására szonokémiai módszert alkalmaztak. Az eljárás során két vas tartalmú prekuzort keverték össze, amit ultrahangfürdőben kezeltek, ezt követően ammónium-hidroxidot adtak a rendszerhez, mely során fekete részecskék jelentek meg. A következő lépésben a részecskéket anionmentesre mosták, majd szárították és ecetsav-kitozán oldattal elegyítették. Ultrahangos kezelést követően az elegyet lecentrifugálták. A ferrofluidot az alkáli oldat (NaOH/etanol/víz) felületére porlasztották. A kapott magnetit részecskék átlagosan 15 nm-es átmérőjűek lettek, az előállított mikrogömbök jó mágneses tulajdonságokkal rendelkeztek [14].

1.5.A nanorészecskék felhasználási területei

Az előállított nanorészecskéket számos területen felhasználják. Ezek lehetnek például [2,3]:

- gyógyszer-ipar
- élelmiszer-ipar
- biológiai
- geokémiai
- (környezeti) kémiai
- ipari kémiai technológiai
- elektronika
- energia
- információ-technika

Az előállított részecskékből három terméket kínálnak [2]:

- 1) nano alapanyagok: szén nanocsövek, részecskék, nanokristályok, polimerek, micellumok;
- 2) nano-késztermékek: memória chip-ek, gyógyszerek;
- 3) nano-termékekkel javított használati eszközök: nanofestékekkel fényesített autók, nanoötvözettel erősített munkaeszközök, konyhaeszközök, nanoezüsttel fedett háztartási gépek stb.

Az irodalomban számos helyen említik a mágneses nanorészecskék polimerekkel [15-16] való kombinálási lehetőségeit. Például a poliuretán (PUR) alapú mágneses részecskéket tartalmazó kompozitokat fel lehet használni elektromágneses zajcsökkentés céljából.

Rengeteg tanulmány olvasható a magnetit szén nanocsövekkel való kombinálásáról is, melyet CCVD (Katalitikus kémiai gőzleválasztás) eljárással állítanak elő. Ezeket a kompozitokat gázok adszorpciós vizsgálatára szokták felhasználni [17], illetve mágneses elven működő elválasztásra [18].

1.6.Magnetit felhasználása biológiai célra

A magnetit nanorészecskéket felhasználják mágneses folyadékok készítésére. Az első ilyen forrás szerint W. R. Grove 1845-ben Londonban magnetit részecskéket vizes közegben

szuszpendáltatott, majd vizsgálta a mágneses tér hatását a rendszer fényáteresztő képességére [19].

Vannak szerves közegű mágneses folyadékok (MF) is, melyek a technikai alkalmazásokban terjedtek el pl. merevlemezek tengelytömítése, HiFi hangszórók membránjainak felfüggesztése. A vizes közegű nanorészecskéket biológiai alkalmazásokban használják fel [20-26], mint pl.:

- MRI (magnetic resonance imaging) kontrasztanyag,
- hatóanyag célzott szállítás,
- hipertermiás kezelés,
- mágneses sejt szeparáció.

A mágneses nanorészecskék vizsgálata során rájöttek arra, hogy a magnetit nanorészecskék külső hatásra (váltakozó mágneses tér hatására) mozgásba jönnek miközben a mozgás energiája disszipálódik (az energia egy részének visszafordíthatatlan átalakulása hővé), és hő szabadul fel. Ha a hőmérséklet-emelkedés eléri a 42°C-ot és megfelelő ideig kitart (kb.: 30 perc) a sejtekben a fehérjék kicsapódnak és a sejt elpusztul. A terápia azért jó, mert a tumoros sejtek jóval érzékenyebbek a hőmérséklet emelkedésére, mint az egészséges sejtek. Ha ezt a hőmérséklet-emelkedést kis területre lehet lekorlátozni, úgy csak azon a területen pusztulnak el a sejtek, ahol szükséges. Ezt használják ki a rákos betegek esetén az egészséges sejtek megóvása érdekében, így kiegészítő kezelésként használhatók daganatos betegségek kezelésekor [27-30].

T. Takana és munkatársai DNS tisztítással foglalkoztak, mely során aminoszilánnal módosított nanorészecskék adszorpciós és deszorpciós viselkedését vizsgálták. A módosított nanorészecskéket úgy állították elő, hogy adott mennyiségű (10 g) magnetit nanorészecskéket desztillált vízben mosták, majd $\text{H}_2\text{O}:\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}_2$ (5:1:1) oldattal kezelték 25 °C-on, 10 percig. Mosás után metanollal (MeOH) mosták, majd inkubálták 20 ml, 2%-os AEEA (Aminoetil-amino-etanol) oldattal. Ezután 120 °C-on, 20 ml dimetil-formamidban (DMF) kezelték 30 percig (10 percenként ultrahangos keverés történt). Ezt követően háromszor mosták metanollal, majd metanolban tárolták 4 °C-on. Az inkubálás 10 mM Sulfo-LC-SPDP-ben 8,1 mM foszfát pufferben történt. Háromszor mosták a nanorészecskéket ebben a pufferben. Vizsgálták a γ DNS adszorpcióját és deszorpcióját AEEA-ban a mágneses nanorészecskékre. Kutatásaik azt mutatták, hogy a DNS adszorpciós és deszorpciós folyamat új megközelítés lesz a magas tisztítási arányú DNS tisztítás szempontjából [31].

Ghaemi és segítői a hering spermium DNS adszorpcióját vizsgálták mágneses nanorészecskékre. A vizsgálatokat elvégezték nem módosított és 1 hexil-3-metil-imidazolium

bromiddal ([C6MIM]-Br) módosított magnetit nanorészecskékkkel is. A nanorészecskéket hagyományosan, ko-precipitációs módszerrel állították elő. A 100 ml Fe_3O_4 szuszpenziójához 600 μl [C6MIM]-Br-ot adtak hozzá, majd keverték 30 percig, 50 °C-on. Ezt követően mágneses mezővel gyűjtötték össze a módosított [C6MIM]- Fe_3O_4 -et, majd ultrahangos kezelésnek vetették alá 10 percig. Az így előállított nanorészecskék átmérője 13 nm-nek adódott. A DNS adszorpciós eljárás során a DNS kb. $90 \pm 1,5$ %-át adszorbeálták. Ez fontos lehet élettanban, pl.: gyógyszerbejuttatást, biomakromolekulák tisztítását/elválasztását segítheti. Ez a módszer egyszerű, gyors és nem igényel szerves oldószereket vagy kifinomult berendezéseket [32].

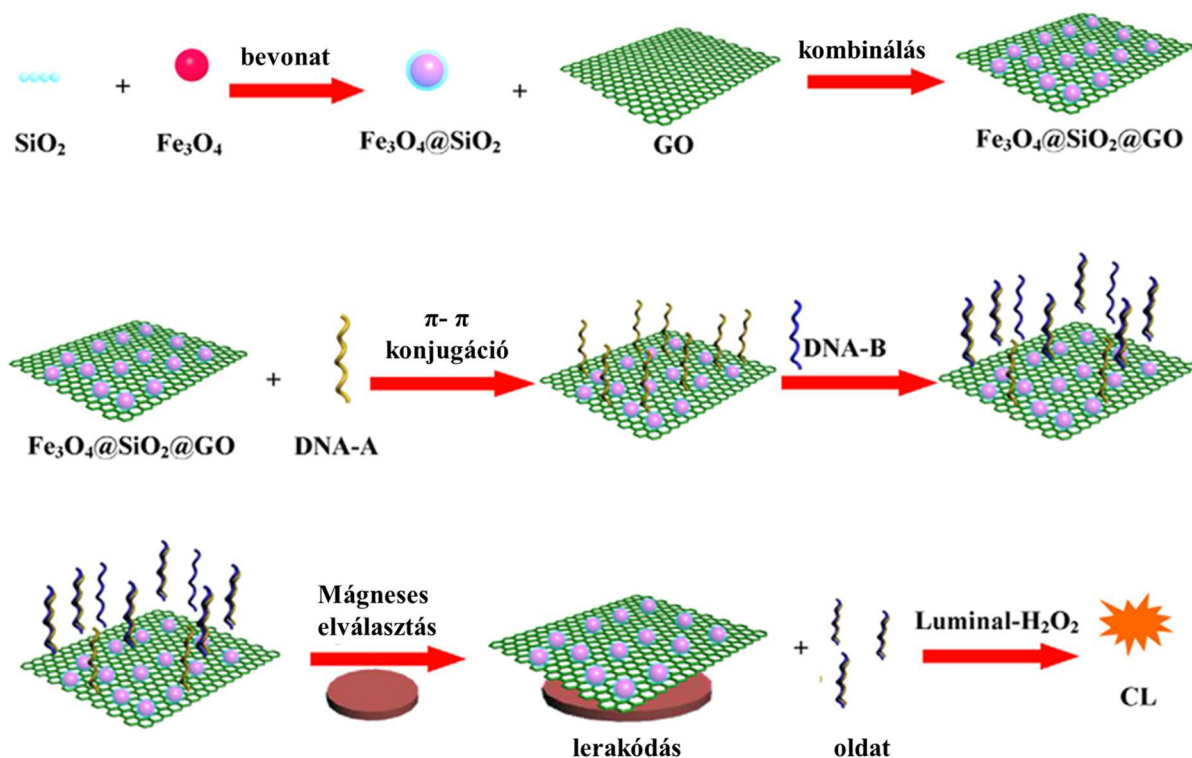
Saiyed kutatótársaival emlős sejtekből genomi (egy szervezet teljes örökítő információját jelenti, mely a DNS-ben van kódolva) DNS izolálására használták a mágneses részecskéket. Az előállítás során ko-precipitációs módszert alkalmaztak. A szuszpenziót ionmentes vízzel átmosták, majd tömegállandóságig kemencében, 60 °C-on szárították. Végül a részecskéket pufferoldatban (pH = 8,0) diszpergálták 10 mg/ml koncentráció mellett. A részecskék szobahőmérsékleten (kb: 25-30 °C) egy évig stabilak voltak. A TEM vizsgálatok kimutatták, hogy a részecskék átlagos átmérője 40 nm volt. Az izolálást kezdetben vérben, majd tenyésztett sejtekben, szövetekben próbálták meg. Megállapították, hogy ha Fe_3O_4 -et használnak szilárd fázisú adszorbensként, akkor a visszanyert genomi DNS hozama a vérre 1,2 $\mu\text{g}/30\mu\text{l}$ valamint 1,8 és 2,0 $\mu\text{g}/30\mu\text{l}$ szövetre nézve. Így elmondható, hogy ez az eljárás elegendő mennyiségű DNS-t eredményezett [33].

1.7. Az előállított nanorészecskék kombinálása bevonatokkal, polimerekkel

A nanoméretű vas-oxid részecske általában különböző burkolatokat kap, mely segíti a stabilitást, illetve bővíti az alkalmazási lehetőségeket például a biológiai rendszerekben [9].

Kuzmann és munkatársai szilícium-dioxid bevonatú vas-oxid nanorészecskéket állítottak elő. Arra jutottak, hogy ezek az új nanorészecskék ígéretes anyagok az orvosi képalkotáshoz, sejtkövetéshez és más biomedikai alkalmazásokhoz [12].

Yuanling Sun és kutató társai munkájuk során $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{GO}$ polimert állítottak elő (**1.ábra**), melyet a SiO_2 jó biokompatibilitási-, a Fe_3O_4 könnyű elválasztási- és a GO (grafén-oxid) nagy adszorpciós felületi tulajdonságai miatt szintetizáltak. A polimereket ultraérzékeny kemilumineszcenciás DNS-bioszenzor kialakításához alkalmazták, melyet DNS kimutatására használtak laboratóriumi mintákban [34].

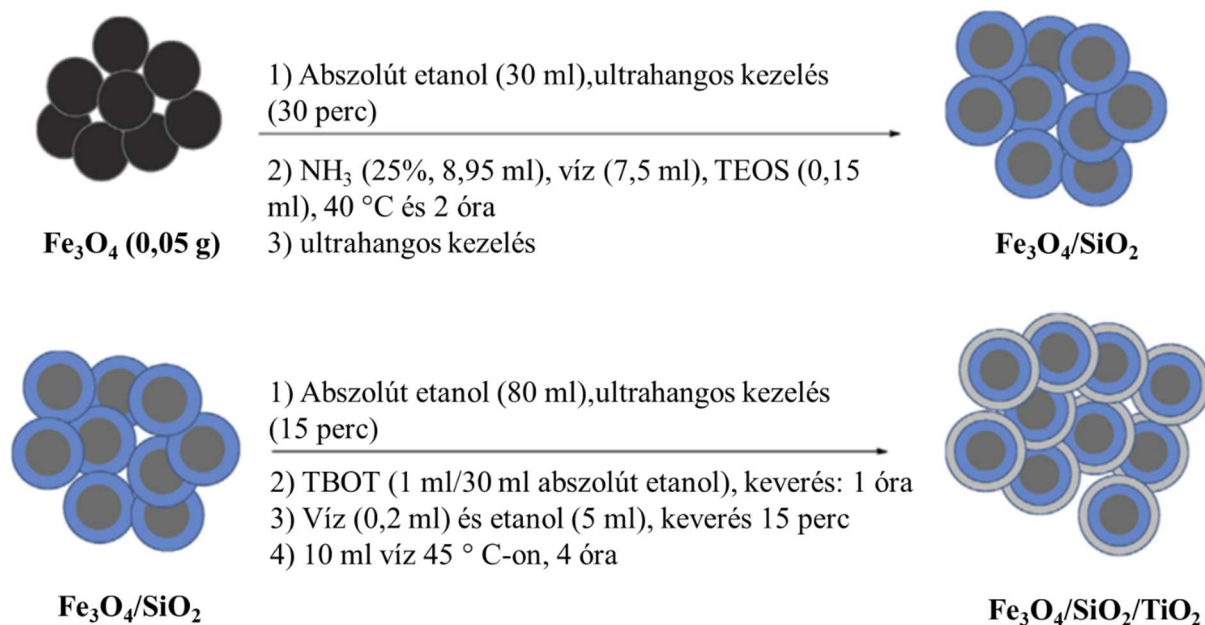


1. ábra: $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{GO}$ előállítási folyamata és bioszenzor [34]

Az előállított mintákat pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM), röntgendiffrakciós méréssel (XRD) és Fourier-transzformációs infravörös spektroszkóppal (FTIR) vizsgálták. A vizsgálatok kimutatták, hogy javult a szenzor pontossága, újrafelhasználhatósága és a mechanikai stabilitása. A kielégítő eredmények alapján a $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{GO}$ -DNA-CL bioszenzor alkalmazható lehet az emberi genetikai betegségek diagnosztizálásában és kezelésében [34].

A mágneses nanorészecskéket kedvező tulajdonságaik, mint például könnyű kezelhetőségük, egyszerűségük, automatizálhatóságuk és költséghatékonyságuk miatt nukleinsavak szétválasztásánál is alkalmazzák. Számos esetben kísérleteztek kutatók a mágneses nanorészecskék (MNP-k) felületének módosításával, ezzel javítva azok funkcionalitását és specifikációját [35].

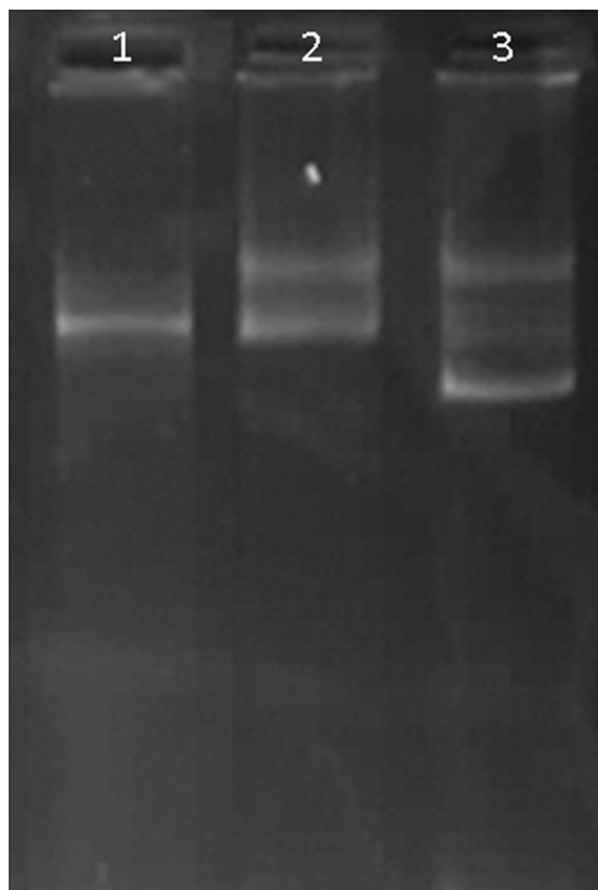
Rahnama és csapata funkcionáliszták a magnetit nanorészecskék felületét SiO_2 és TiO_2 réteg kialakításával (2. ábra), majd összehasonlították plazmid (kettős szálú, cirkuláris DNS) DNS molekulák adszorpciójában betöltött funkciójukat a tiszta Fe_3O_4 nanorészecskékkel [35].



2. ábra: A Fe_3O_4/SiO_2 és $Fe_3O_4/SiO_2/TiO_2$ nanorészecskék előállítása [35].

A kapott eredmények azt mutatták, hogy a Fe_3O_4 nanorészecskék felületének módosítása TiO_2 és SiO_2 rétegekkel javítja funkcionalitását a plazmid DNS adszorpciójában, az extrahált DNS tisztasága és mennyisége SiO_2 -val vagy SiO_2/TiO_2 -vel bevont Fe_3O_4 -kel magasabbak voltak, mint a tiszta Fe_3O_4 nanorészecskékénél. Az $Fe_3O_4/SiO_2/TiO_2$ nanorészecskéket ajánlották alternatívaként a DNS-molekulák biológiai forrásoktól történő elválasztására, mert sokkal kedvezőbb tulajdonságokkal rendelkeztek, mint társaik [35].

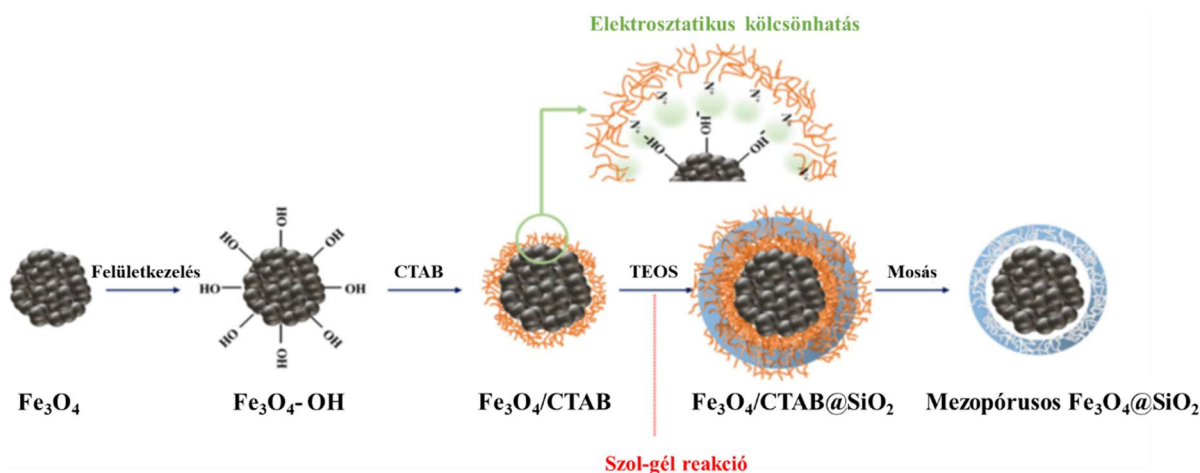
Egy másik tanulmányban Rahnema és csapata szintén ezt a három különböző részecskét használta: Fe_3O_4 , Fe_3O_4/SiO_2 és $Fe_3O_4/SiO_2/TiO_2$. A **3. ábrán** látható az általuk végzett DNS visszanyerési hatékonyság a plazmid DNS izolálásában. Az MNP-kel izolált DNS-t gélelektroforézissel vizsgálták, majd ultraibolya fényben láthatóvá tették Gelred utófestés után [36].



3. ábra: Fe_3O_4 , Fe_3O_4/SiO_2 és $Fe_3O_4/SiO_2/TiO_2$ összehasonlítása [36]

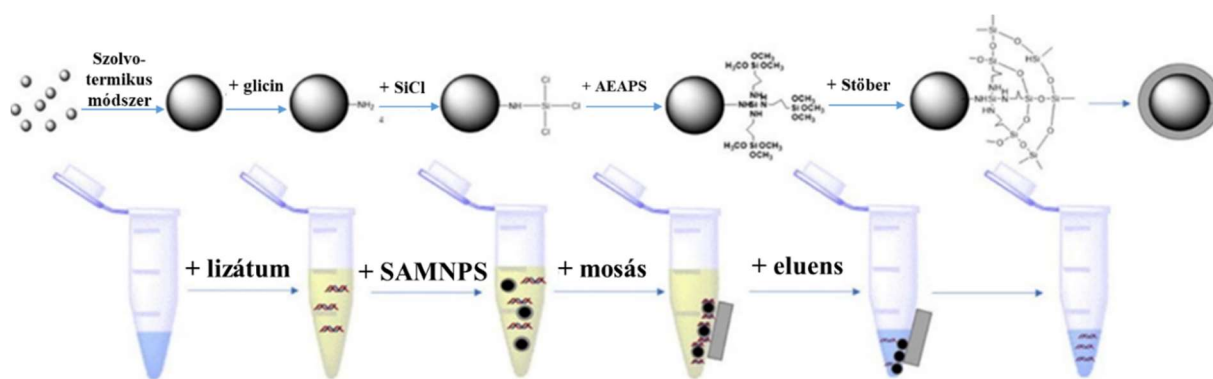
Nahid és segítői munkájuk során vízdoldható $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2$ -nikotinamid mágneses nanorészecskéket szintetizáltak. A Fe_3O_4 nanorészecskéket ko-precipitációs módszerrel szintetizálták, majd egy szilikagél bevonatot vittek fel a nanorészecskék felületére egy szol-gél eljárással. Ezután egy antioxidáns gyógyszert, a „nikotinamid”-ot alkalmazták, mely a felülethez az amidcsoportok hidrogénkötése révén jött létre. Az új vízdoldható MNP-eket XRD, FTIR, TEM és zéta-potenciál mérésekkel jellemezték. Az XRD és FTIR elemzések kimutatták az Fe_3O_4 jelenlétét, és ezek mellett a FTIR spektrumok megmutatták a szilícium-dioxid és a nikotinamid gyógyszer jelenlétét. A $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2$ -nikotinamid nanorészecskéket gömb alakúnak találták a TEM képeken, ahol megfigyelték, hogy a részecskék átlagos átmérője 28 nm. A zéta-potenciál elemzések alapján a nanorészecskék kolloidként is stabilak maradhatnak. Ezután megvizsgálták a $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2$ -nikotinamid részecskék potenciális alkalmazását rákellenes szerként. In vitro DNS-kötődési vizsgálatok azt mutatták, hogy a DNS hajlamos aggregálódni a $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3@SiO_2$ -nikotinamid MNP-ken. Ezen felül, az emissziós tulajdonságaikkal az MNP-k bioszenzorokként használhatók a gyógyászatban. Ezért ezek a nanorészecskék megfelelő jelöltek lehetnek a gyógyszerfejlesztés szempontjából, elősegítve a nanoanyagok biológiai alkalmazásokhoz való tervezését [37].

Gye Seok An és munktársai publikációjukban bemutatták az üreges szerkezetű $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ nanorészecskék hidrofil felületaktív anyaggal történő szintézisének új koncepcióját. CTAB-ot (cetil-trimetil-ammónium-bromid) alkalmaztak közbenső közegnek a mag részecskék és a bevonó réteg között, ami a felületi réteg alakjának megváltozását okozta. Felületaktív anyagként micelláris szerkezetet alakítottak ki a Fe_3O_4 felületén (4. ábra). A létrejött felület a plazmid DNS kötőhelyének megnövekedését eredményezte. Ezért lehetőséget kapott a plazmid DNS nagyon magas tisztaságú és koncentrációjú tisztítására [38].



4. ábra: Üreges szerkezetű $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ nanorészecskék előállításának vázlatos ábrája [38]

Qingqian és társai egy új módszert fejlesztettek ki a $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ mágneses mag-héj szerkezetű nanorészecskék előállítására, mely egy háromlépéses ojtási eljárást jelent. A kapott részecskék kiváló mágneses tulajdonságokat, jó felületi topográfiát és diszperziót mutattak a jellemzésük során. A nanorészecskék jellemzését FTIR, SEM és vibrációs magnetometriás módszer (VSM) segítségével végezték. A sósavval végzett kezelési kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a kapott nanorészecskék kiváló sav-ellenállással és stabil, kompakt SiO_2 bevonattal rendelkeztek. A részecskéket plazmid DNS extrakciójára *E. coli* DH5 sejtekből alkalmazták (5. ábra). A plazmid DNS extrakció kísérletben az előállított részecskék kiváló adszorpciós teljesítményt és magasabb eluálási sebességet mutattak, mint a kereskedelemben kapható mágneses gyöngyök. Ezért a kísérletben elkészített mágneses bevonattal ellátott szilícium-dioxid nanorészecskék potenciálisan alkalmazhatók orvosi biológiai és biogazdálkodás területeken [39].



5. ábra: Plazmid DNS extrakciója *E. coli* sejtekből [39].

Több kutatócsoport is fontolóra vette a mágneses nanorészecskék felhasználását baktériumok eltávolításában a monodiszperz méretük, illetve a funkcionizálhatóságuk miatt. Nazari és kutatótársai is ezért fejlesztettek egy új, amino-terminális poli-(amidoamin) 5. generációs (PAMAMG5) anyagot, melyet funkcionizáltak $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ mag-héj szerkezetű GPTMS mágneses nanoanyaggá. Az előállított nanokompozitot különböző anyagok antibakteriális tulajdonságainak meghatározására használták fel. A nanokompozitot FTIR, N_2 adszorpció/deszorpció, Zéta potenciál, FE-SEM, TEM, EDX, DLS, XRD, TGA és VSM technológiákkal jellemezték. Megvizsgálták ezen kívül a különböző paraméterek hatásait, az oldat pH-ját, a reakcióidőt, primer baktériumok számát és a nanokompozit dózisát is. A nanokompozit hatékonyan megakadályozta az *E. coli* és a *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*) baktériumtörzs növekedését. A szintetizált nanokompozit antibakteriális anyagként vizes oldatban 100% -os eliminációs hatékonyságot mutatott mindkét kiválasztott baktérium számára optimális körülmények között (pH = 7, nanokompozit adagolás = 16 μg / ml, futási idő = 60 perc, és a kezdeti baktériumok száma = 103 CFU / ml). A sejtek életképessége (16 μg / ml koncentrációban) 48, illetve 72 órás kezelés után 27,4, illetve 28,7%-kal csökkent. A tanulmány kimutatta, hogy a $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ -GPTMS-PAMAM-G5 nanokompozit képes olyan mértékben csökkenteni az ivóvízben az *E. coli* és *S. aureus* számot, amely megfelel a WHO irányelveinek megfelelő ivóvíz előírásoknak [40].

2. Célkitűzés

Munkám során a Miskolci Egyetem Kémiai Intézetének nanoszerkezetű anyagokkal foglalkozó kutatócsoportjába kapcsolódtam be. A kutatócsoport fő célja: nanoszerkezetű anyagok szintézise, tulajdonságaiknak jellemzése, illetve ezek ipari területen történő felhasználásának kutatásával foglalkozik.

Szakedolgozatom készítése során olyan mágneses tulajdonsággal rendelkező nanoszerkezetek előállítását tűztem ki célul, amelyek hatékonyan alkalmazhatók biológiai vizsgálatok területén. A DNS tisztítási műveletek során jelenleg is alkalmaznak mágneses elválasztási módszereket annak érdekében, hogy az elroncsolt sejtet szuszpenzióiból kinyerjék a DNS-t. Az eljárás lényege az, hogy a mágneses részecskék felületén a DNS reverzibilisen kötődik és ez oldószercserével megszüntethető. Mágneses teret használjuk ki annak érdekében, hogy a mágneses részecskék által megkötött DNS mellől a mosófolyadékot eltávolítsuk. Kereskedelmi forgalomban kapható hasonló elven működő termékek legnagyobb problémája a bonyolultságukon kívül a magas ára. Az általam előállítani kívánt vas-oxid alapú mágneses részecskék nem tartalmaznak egyéb stabilizáló rétegeket, sem polimereket, sem SiO_2 -t, mint a piacon elérhető anyagok. Az előállított mágneses nanorészecskéket tesztelni fogom *E. coli* baktériumokból nyert DNS tisztításában.

3. Kísérleti rész

3.1. Felhasznált anyagok

2. táblázat: Az előállítás során felhasznált anyagok

Anyagnév	Képlet	Forgalmazó
Vas (II)-acetát	$\text{Fe}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2$	Aldrich Chemistry
Vas (III)-citrát	$\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot x\text{H}_2\text{O}$	PanReac AppliChem
Polietilénlikol 400 (PEG 400)	$\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{H}$	Merck
Polietilénlikol 1000 (PEG 1000)	$\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n\text{CH}_2\text{OH}$	Fluka
Tetraetil-ortoszilikát (TEOS)	$\text{SiC}_8\text{H}_{20}\text{O}_4$	Alfa Aesar
Polivinilpirolidon K30 (PVPK30)	$(\text{C}_6\text{H}_9\text{NO})_n$	Acros Organics
Polivinil-alkohol (PVA)	$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$	VWR Chemicals BDH [®]
Karboximetil cellulóz (CMC)	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_8$	Alfa Aesar
Bentonit	$\text{Al}_2\text{H}_2\text{Na}_2\text{O}_{13}\text{Si}_4$	PubChem
Agaróz gél	-	VWR Chemicals BDH [®]

3.2. Vizsgálati módszerek

3.2.1. Hielsher homogenizátor

A magnetit nanorészecskék szintézise egy nagyhatékonyságú ultrahangos homogenizátorral, Hielsher UIP1000hdT készülékkel történt. Ez a berendezés arra szolgál, hogy a felhasznált anyagokat homogenizáljuk, azaz egy diszperz rendszert kapjunk végeredményként az elegyítés után. A homogenizátor 2 percen keresztül, 50 % amplitúdón, 340 W teljesítmény mellett és 19,4 kHz frekvencián üzemelt. Hatékony diszpergálási teljesítményén kívül egy nagyon érdekes jelenség játszódik le a diszperziós közegen belül. Ultrahanggal történő besugárzás hatására a folyadék egyes térfogataiban nyomás csökkenés következik be, ami az oldószer gőznyomásának csökkenését idézi elő és ennek megfelelően néhány mikrométer átmérőjű gőzbuborékok képződnek. Ezek a buborékok pulzáló növekedést végeznek egészen addig, amíg

a folyadék térfogat nagyobb nyomású tartományába jutnak, ahol a nyomásnövekedés hatására összeroppannak. Az összeroppanás kicsiny térfogatát nevezzük forró pontnak „hotspot”, ahol lokálisan hatalmas energia felszabadulás lép fel. Az ismertetett folyamatot nevezzük akusztikus kavitációnak. Ennek a jelenségnek köszönhető az energiatöbblet fedezni tudja egyes kémiai reakciók lejátszódásának energia szükségletét. Különböző vas-tartalmú sók poliollal reagálva hidroxidokat képeznek. A hidroxidokat tartalmazó polietilén-glikol közegű diszperziót elégetve jutunk a mágneses nanorészecskékhez.

3.2.2. *Transzmissziós elektronmikroszkóp (TEM)*

Az előállított nanorészecskéket transzmissziós elektronmikroszkóp (TEM) segítségével is megvizsgáltuk. A nanotechnológia számára ez egy nélkülözhetetlen műszer, amivel megvizsgálhatjuk a biológiai minták szövetét, kristályos anyagok szerkezetét, és akár ezek kémiai összetételét is meghatározhatjuk. Egyik fontos előnye a nagy felbontás, mellyel akár az anyagok atomi szerkezetét is megvizsgálhatjuk [41].

A TEM képképzési elve hagyományos üzemmódban a fénymikroszkópéval megegyezik: a vizsgálni kívánt mintát átvilágítva arról valós képet kapunk. A két mikroszkóp között lényeges különbség, hogy a TEM-vizsgálatokhoz a látható fény helyett elektronsugarat használunk a képképzéshez. A másik különbség az, hogy a transzmissziós mikroszkópoknál az elektronok terjedéséhez vákuumra van szükség a műszerben [41]. Az átvilágítás lehet folytonos (párhuzamos elektronsugárral) vagy pásztázó (konvergens elektronsugarakkal). A mintákat érő elektronok egy része irányváltoztatás nélkül átmegy, másik része pedig szóródik az anyagon. A képképzésben azokat az elektronokat használják fel, amelyek rugalmasan szórtak. A kapott képen a nagyobb rendszámú elemek sötét árnyékot idéznek elő, míg a kisebb rendszámú elemek az elektronokat kevésbé szórják, így nem adnak erős árnyékot. Képi üzemmódban a legjobb minőségű TEM lényegében atomi felbontású, ezt nevezzük HRTEM-nek (high-resolution transmission electron microscopy).

Az elkészített minták morfológiai vizsgálata FEI Technai G típusú 200 kV-os nagyfelbontású elektronmikroszkóppal történt. A mintaelőkészítés során a nanorészecskék vizes szuszpenzióját cseppentettük a rész grid (réz rostély) felületére, majd rászárítottuk. A rész grid jellemzői: Ted Pella gyártmány 300 Mesh finomságú, szénréteggel ellátott réz mintatartó rostély.

3.2.3. Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FTIR)

A Fourier-transzformációs infravörös spektroszkóp (FTIR) a molekulákban előforduló funkciós csoportok kötéseit infravörös fénnel gerjeszti, és az ennek hatására történő rezgések mértékének változásait vizsgáló berendezés. A kötések alaprezgései nehezen mérhetők, de ha gerjesztjük, akkor már mérhető tartományban lesznek. Minden funkciós csoport rezgése adott hullámszám-tartományba eső fénnel gerjeszthető, így ez a műszer felhasználható kötéstípusok, illetve atomcsoportok azonosítására. A számunkra legfontosabb rezgés az, amellyel az atomok közötti kötés megnyúlást és összehúzódást jellemezzük. Ez nem más, mint a vegyértékrezgés. Kiértékelésnél az abszorbanciát ábrázoljuk a hullámszám függvényében. A hullámszám tengelyen leolvasott értékekből, illetve a sávok helyzetéből állapítjuk meg, hogy milyen típusú kötések rezegnek [42].

Az FTIR spektrumok alapján a mintában szereplő komponensek rezgési sávjait tudjuk meghatározni. A mérésekhez Bruker Vertex 70 spektrométert használtunk. A spektrumokat ATR (gyengített teljes reflexiós) feltét alkalmazásával, $600\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományban vettük fel, 16 s^{-1} pásztázási sebességgel és 4 cm^{-1} felbontás mellett.

3.2.4. Röntgendiffrakció (XRD)

A röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálat (XRD) az egyik legfontosabb roncsolás mentes módszer porok, szilárd, tömbi minták szerkezetének meghatározásához [43]. Az XRD vizsgálat alapja a röntgensugarak rugalmas szóródása, mely segítségével azonosítani tudjuk a mintát alkotó anyagok kristályszerkezetére vonatkozó részleteket. Mivel a hullámhosszuk összemérhető a rácssíkok közötti távolsággal, így a röntgensugarak a kristályokon áthaladva diffrakciót szenvednek, és így minden kristályos szerkezetről egyedi diffrakciós kép jön létre.

Az előállított mintákból az XRD alkalmazásával a visszamaradó fémek, fémoxidok jelenlétét mutathatjuk ki, valamint a kristályszerkezetüket is megismerhetjük, illetve az elemösszetételt is meg tudjuk határozni. A vizsgálatához Rigaku Miniflex műszert alkalmaztunk, réz anódos röntgencsővel.

3.2.5. Dinamikus fényszórás (DLS)

A részecskék felületén töltések alakulhatnak ki, amit az elektromos kettősréteg diffúz részében a vizes közeg ionos komponensei kompenzálnak. Ha elektrosztatikus térbe helyezzük a töltéssel rendelkező részecskéket, akkor azok a töltésükkel ellentétes pólus felé fognak vándorolni (elektroforézis). Ekkor az elektromos kettősréteg két része egymáshoz viszonyítva

elmozdul, a határfelület elhasad. A hasadási sík és a folyadék belseje között kialakuló potenciál különbséget elektrokinetikai potenciálnak vagy zéta-potenciálnak nevezzük. A részecskék elektromos kettősrétegének szerkezetét befolyásolja az 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 [44]. A zéta-potenciál fel van osztva tartományok szerint, melyet a **3. táblázatban** szemléltetnek. A zéta-potenciál mértékéből jósolható a kolloid rendszerek kolloid kémiai stabilitása.

3. táblázat: Zéta-potenciál és stabilitás összevetése [45-46]

Zeta potenciál (mV)	Stabilitási viselkedés
$0 - \pm 5$	Gyors koaguláció (tömör üledék) vagy flokkuláció (laza halmaz)
$\pm 10 - \pm 30$	Incipiens (kezdődő) instabilitás
$\pm 30 - \pm 40$	Mérsékelt stabilitás
$\pm 40 - \pm 60$	Jó stabilitás
> 61	Kiváló stabilitás

A zéta-potenciál mérést Malvern, Zetasizer Nano-ZS készülékkel, desztillált vizes közegben DTS 1070 küvetát használva végezték el. A részecskék elektroforetikus mobilitásának meghatározásához hélium-neon lézer segítségével detektáljuk a nanorészecskék vándorlását a megfelelő pólus irányába.

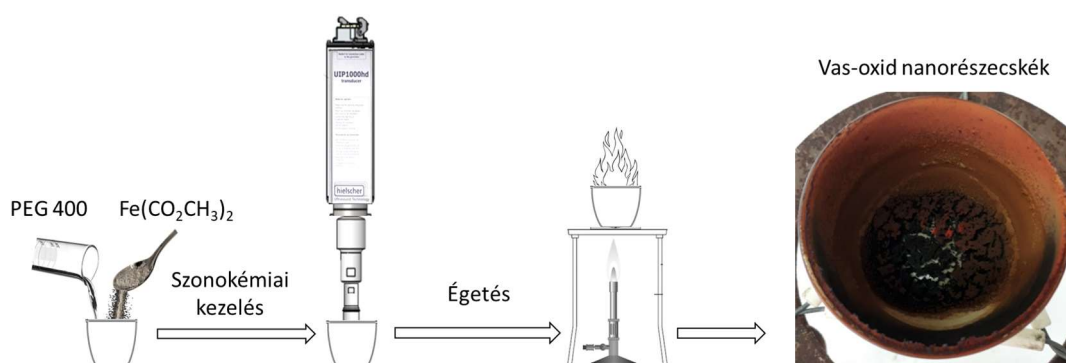
3.2.6. CHNS elemanalizátor

A CHNS elemanalizátort anyagrendszerek szén-, hidrogén-, oxigén- és kéntartalmának meghatározása használják fel. Vario MACRO típusú CHNS elemanalizátort használtam a nanorészecskék szén tartalmának meghatározására. A mérés során mindkét minta elégetése 99,995 % tisztaságú oxigénatmoszférában történt (az égetőcső hőmérséklete 1150 °C volt), illetve az inert atmoszférát 99,995 % tisztaságú héliummal biztosítottam (600 ml/perc). Az analízist CHNS üzemmódban végeztem el. A kiértékelés Vario EL szoftverrel történt [47].

3.3.A mágneses nanorészecskék előállítása

3.3.1. Vas-oxid nanorészecskék előállítása vas (II)-acetátból

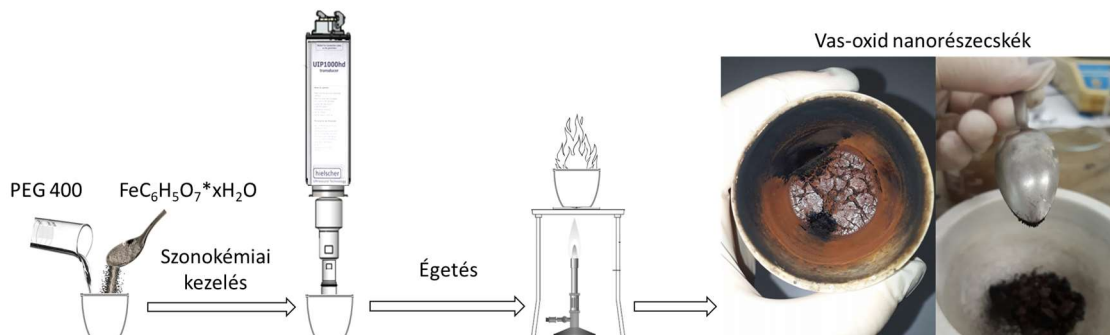
A szintézis során 2 g vas (II)-acetátot ($\text{Fe}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2$) (**A1 minta**) használtam fel, amit egy nagy hatékonyságú ultrahangos homogenizátorral diszpergáltattam 20 g, 400 g/mol molekulatömegű polietilén-glikolban (PEG). A homogenizálás Hielsher UIP1000hdT készülékkel történt, 19,4 kHz frekvencián, 2 percen keresztül. Miután végeztem a szonokémiai kezeléssel, ami megindította a vas-hidroxid részecskék képződését, a polietilén-glikolt Bunsen égő segítségével leégettem, ezzel létrehozva a mágneses tulajdonságú vas-oxid nanorészecskéket (**6. ábra**).



6. ábra: A1 minta, vas-oxid nanorészecskék előállítása vas (II)-acetátból

3.3.2. Vas-oxid nanorészecskék előállítása vas (III)-citrátból

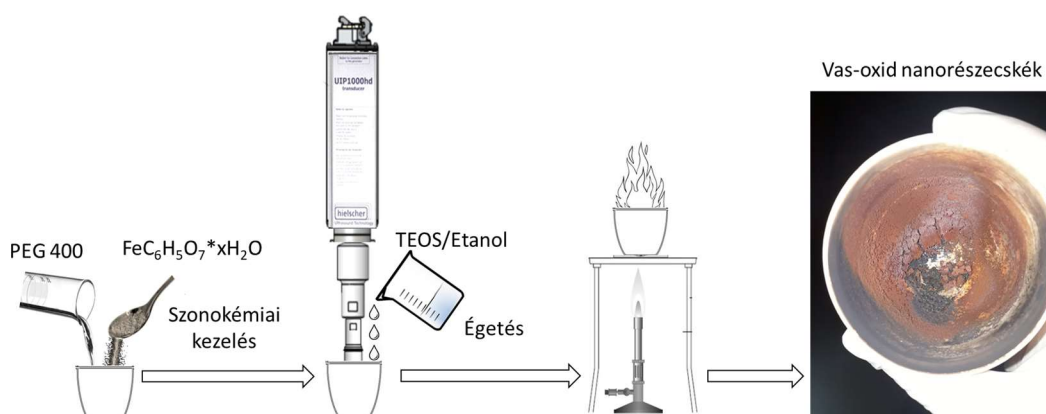
Az előállítás során 3,47 g vas (III)-citrátot ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) (**D1 minta**) használtam fel, és mint az előző esetben 20 g, 400 g/mol molekulatömegű polietilén-glikolt (PEG 400) adtam hozzá, majd ultrahangos kezelés következett. A homogenizálás szintén Hielsher UIP1000hdT készülékkel történt 2 percen keresztül, 19,4 kHz frekvencián. Miután véget ért a szonokémiai kezelés szintén égetést végeztem, melynek eredményeképpen létrejöttek a mágneses nanorészecskék (**7. ábra**).



7. ábra: A D1 minta, vas-oxid nanorészecskék előállítás vas (III)-citrátból

3.3.3. A **D1/SiO₂** nanokompozit előállítása

A kompozit előállítása úgy történt, hogy vas (III)-citrát és polietilén-glikol (PEG) diszperziójához 1 ml tetraetil-ortoszilikát (TEOS) és 5 ml abszolút etanol (absz. etanol) elegyét adagoltam ultrahangos homogenizálás közben. Ezt követően a PEG alapú diszperziót hevítve elégettem a poliolt, mellyel létrehoztuk a szilícium-dioxiddal burkolt mágneses nanorészecskéket. A folyamatot a **8. ábrán** szemléltettem:



8. ábra: A **D1/SiO₂** nanokompozit előállítási folyamata

Ezt követően mintasorozatot készítettem, hogy megvizsgáljam a **D1/SiO₂** stabilitását vizes közegben. A fent említett előállítási módszer szerint készítettem el a mintákat, csak a TEOS mennyiségét minden egyes mintánál más mennyiségben használtam fel. A mintasorozatot a **4. táblázat** szerint állítottam elő:

4. táblázat: **D1/SiO₂** mintasorozat előállítása

D1-SiO₂	m_{vas (III)-citrát} [g]	mPEG400[g]	V_{TEOS} [ml]	V_{absz.etanol} [ml]
1.	3,47	20	0,5	5
2.	3,47	20	1	5
3.	3,47	20	1,5	5
4.	3,47	20	2	5
5.	3,47	20	3	5

3.4.A D1 minta stabilizálásához használt polimerek és agyagásvány előállítása

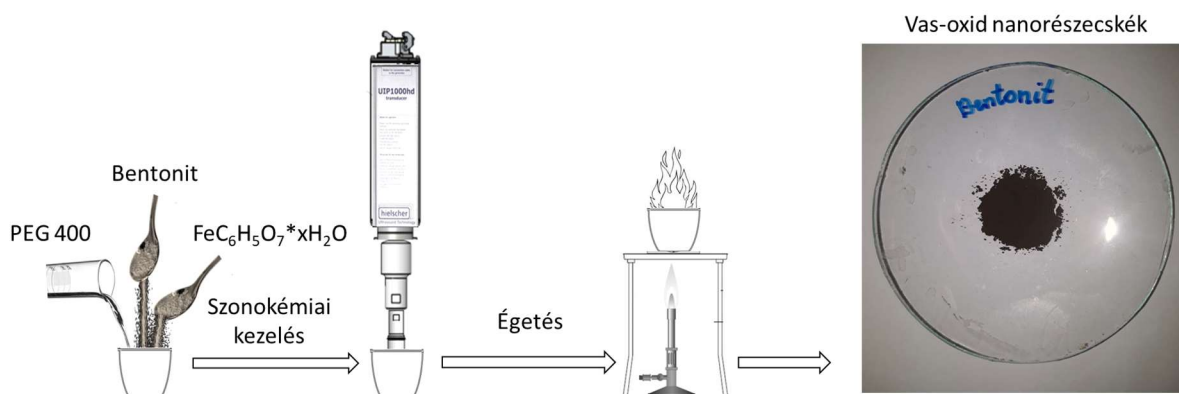
3.4.1. Nátrium-bentonit alkalmazása D1 minta diszpergálásához

A D1 mintát agyagásványban próbáltam meg stabilizálni. A mintasorozatot az 5. táblázatban megadott értékekkel végeztem el:

5. táblázat: A nátrium-bentonit mintasorozat előállítása

D1-bentonit	m _{vas} (III)-citrát [g]	m _{bentonit} [g]	mPEG400[g]
1.	3,47	0,5	20
2.	3,47	0,75	20
3.	3,47	1	20
4.	3,47	1,5	20

A kimért mintákat ezt követően ultrahangos homogenizátorral homogenizáltam 2 percen át, 19,4 kHz frekvencián. A diszperzióból égetéssel távolítottam el a polietilén-glikolt (9. ábra). Miután az anyagokat előállítottam mindegyik mintából egy-egy főzőpohárba 0,2 g mértem 10 ml desztillált vízhez, majd ezeket szintén homogenizáltam. Ezt követően a mintákat üvegedényekbe tettem, és megfelelő időközönként fényképet készítettem a diszperzió állandóság követése érdekében.



9. ábra: Nátrium-bentonit alapú nanorészecskék

3.4.2. Polimerek alkalmazása D1 minta diszpergálására

Az előállítás során számos polimert felhasználtam, hogy stabilizálni tudjam a mágneses nanorészecskéket. Négy polimert teszteltünk:

- PVP K30 (*Polivinilpirolidon*)
- PVA 115000 (*Polivinil-alkohol*)
- CMC (*Karboximetil-cellulóz*)
- PEG 1000 (*Polietilén-glikol 1000*)

Az előállítást a következő receptura alapján végeztem el. A polimerekből 100 ml, 10 g/l koncentrációjú törzsoldatot állítottam elő, majd felhasználásával növekvő koncentrációjú mintasorozatot készítettem az alábbiak (**6. táblázat**) alapján:

6. táblázat: Mintasorozathoz felhasznált mennyiségek

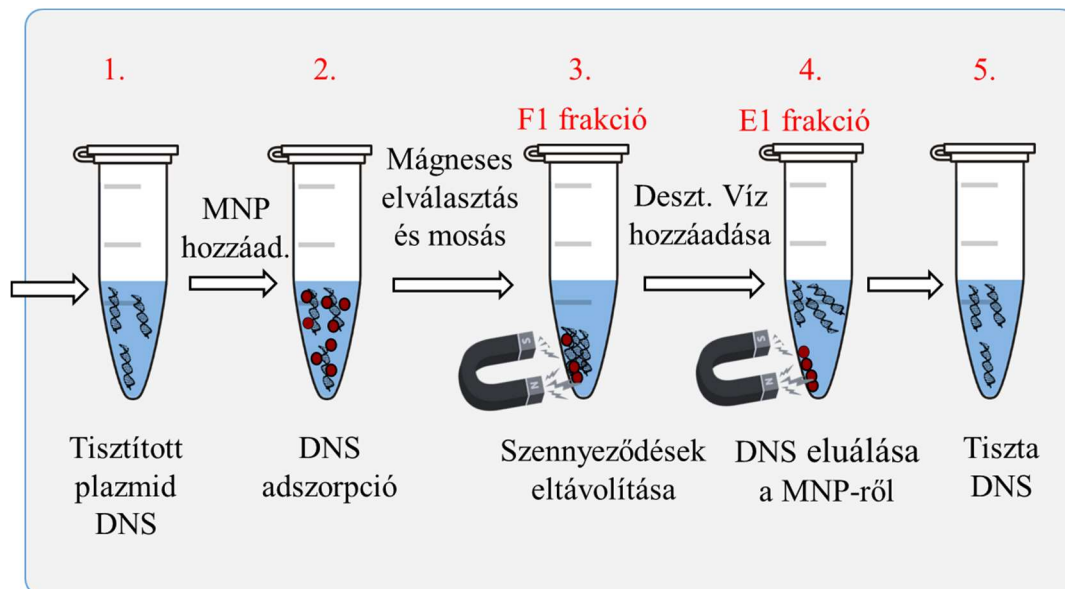
C_m [mg/l]	V_{törzs} [ml]	V_{víz} [ml]
500	0,5	9,5
1000	1	9
1500	1,5	8,5
2000	2	8
2500	2,5	7,5
3000	3	7
5000	5	5
7000	7	3
10000	10	-

A törzsoldatokból automata pipettával mértem ki a megfelelő mennyiségeket az üvegedényekbe. Ezt követően minden egyes üvegedénybe 0,2 g **D1 mintát** mértem be, majd homogenizáltam a mintákat és időközönként fényképeket készítettem 0; 5; 10 és 15 perc után, ezzel dokumentálva a stabilitás változását.

3.5.DNS megkötési teszt

Az általam előállított mágneses nanorészecskék (MNP) esetében meg kellett vizsgálni azt, hogy képesek-e a DNS molekulák megkötésére. A teszt első lépése (**10. ábra, 1 lépés**), hogy a tisztított plazmid típusú DNS-t és a tesztelni kívánt MNP-t meghatározott arányban összekevertem. Amennyiben a DNS és az MNP-k között megfelelő kölcsönhatások kialakulnak (**10. ábra, 2 lépés**) (azaz tudnak kötődni), akkor egy erős mágnes segítségével a részecskéket a megkötött DNS-sel a mintatartó cső aljára össze tudom gyűjteni (**10. ábra, 3. lépés**). Az összegyűjtött részecskék mellett a felülúszó frakcióból mintát lehet venni későbbi

tesztelésekhez. Itt lehetőség nyílik a nem kötő DNS és a szennyező anyagok eltávolítására, illetve a minta mosására. Ezt követi a DNS molekulák MNP-ről való leválasztása (**10. ábra, 4 lépés**). Végül az MNP-k felületéről eluált DNS-t egy külön mintatartóba tettem (**10. ábra, 5 lépés**).



10. ábra: A DNS megkötési teszt vázlata

Először az **A1 mintát** teszteltem, 0,2 g használtam fel. Azt, hogy az **A1 minta** reverzibilisen tud-e kötődni, gélelektroforézissel teszteltem. Az elektroforézishez 1 % agaróz gélt használtam fel. Ezeket a kísérleteket a **D1 mintára** is kipróbáltam. Két különböző arányban próbáltam ki a mintáinkat: egyszer 0,2 g, majd 0,02 g mintát használtam fel. Először a DNS kötődési képességet vizsgáltam, melynek lépései megegyeznek az **A1 mintáéval**.

4. Kísérleti eredmények és értékelésük

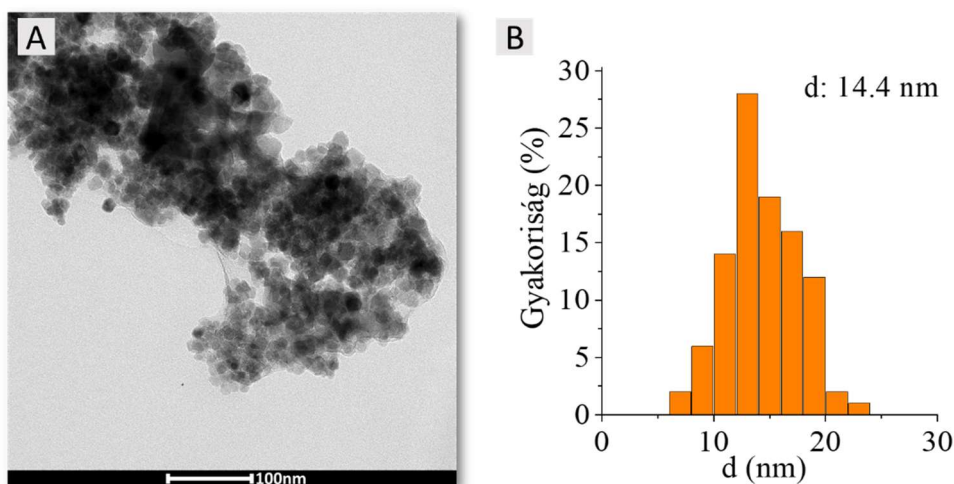
4.1. A vas (II)-acetát (**A1 minta**) alapú nanorészecskék jellemzése

4.1.1. *Részecskeméret és morfológiai jellemzése transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM)*

Az általam előállított **A1 mintát** transzmissziós elektronmikroszkópia segítségével jellemeztem.

Munkám során elvégeztem az **A1 minta** méret analízisét pixelarányok alapján a felvételen található méretskála (scalebar) felhasználásával, ami a **11/A. ábrán** látható. A TEM vizsgálatok során jól láthatók a szemcsés megjelenésű részecskék (**11/A. ábra**). A méret analízis (Vario Micro CHNS analízátorral) során ImageJ nevű programot alkalmaztam, mely segítségével több képről 100 db nanorészecske átmérőjét mértem meg a TEM felvételeken. Az átmérő értékeiből méreteloszlás diagramot szerkesztettem Origin Lab program felhasználásával (**11/B. ábra**). Az eloszlás függvényből kiderül, hogy a részecskék jelentős hányada 8 és 20 nm közötti átmérővel rendelkezik:

- az átlagos részecskeátmérő: 14,4 nm,
- a legkisebb részecskeátmérő: 7,68 nm,
- a legnagyobb részecskeméret: 23,5 nm.

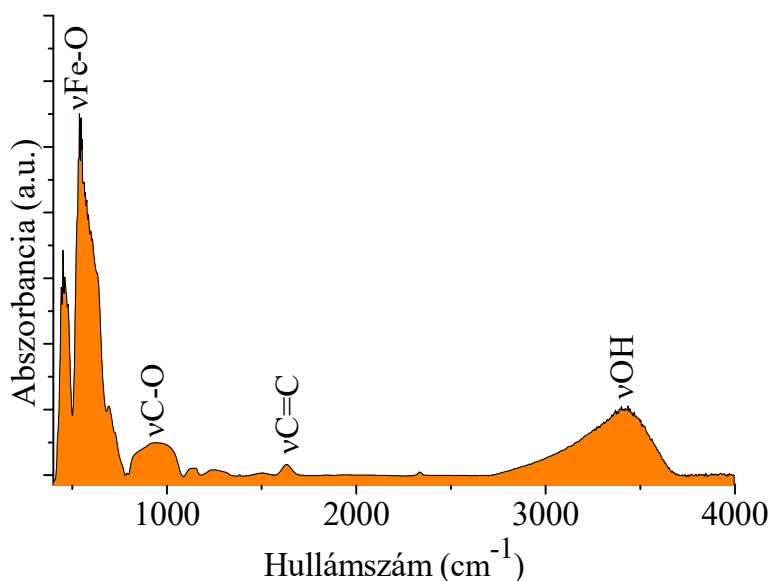


11. ábra: Az A1 minta: A) TEM felvétel; B) Méreteloszlás diagram

4.1.2. A részecskék felületén található funkciós csoportok azonosítása Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiával (FTIR)

Az **A1 mintát** infravörös spektroszkópiával (FTIR) is jellemeztem, így információt kaptam az előállított mintákban lévő kötésekről, funkciós csoportokról.

Az **12. ábrán** látható, hogy a mintában Fe-O vegyértékrezgés nagy intenzitású elnyelési sávot mutat 539 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél. A hidroxid-csoportok vegyértékrezgése 3441 $1/\text{cm}$ hullámszámnál mutat abszorpciós maximumot. A spektrumon található szén-oxigén (C-O) közötti vegyértékrezgés 962 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél mutat elnyelést, a C=C kötések 1635 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél mutat elnyelési sávot. Az említett szén tartalmú rezgések megjelenése azzal magyarázható, hogy a diszperziós közegként alkalmazott poliol nem égett el teljes egészében, annak bomlásából kis mennyiségű szén maradt vissza a mintában. Ezzel a vizsgálati módszerrel alátámasztottam azt, hogy az elkészített minta oxigén tartalmú funkciós csoportokat tartalmaz, amelyek hozzájárulnak a nanorészecskék vizes közegben történő diszpergálhatóságához.

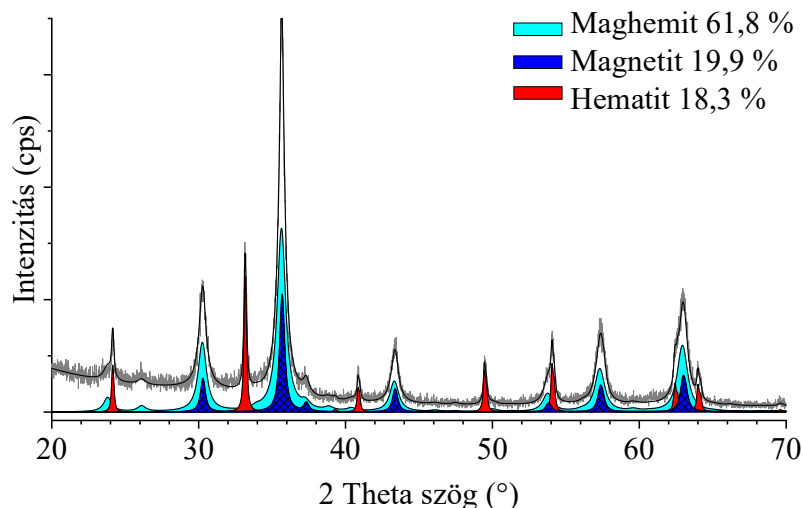


12. ábra: Az A1 minta FTIR spektruma

4.1.3. Az A1 minta fázisösszetételének meghatározása röntgendiffrakciós méréssel (XRD)

Az előállított mágneses nanorészecskéket röntgendiffrakciós mérésekkel is jellemeztem. Az eredményekből kiderült (**13. ábra**), hogy a mintában három különböző vas-oxid fázis található meg: a magnetit (Fe_3O_4), a hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) és a maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) fázisok.

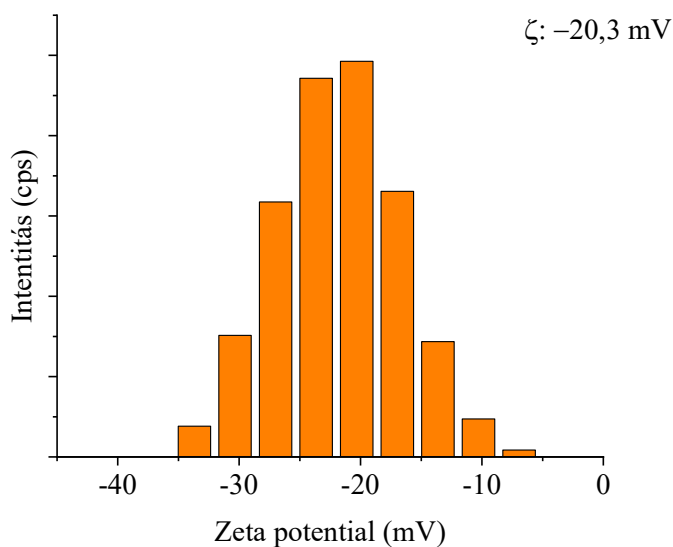
A mintában a legnagyobb mennyiségben megtalálható fázis a maghemit, ami 61,8 tömeg %, a második legmagasabb fázis a magnetit, a maga 19,9 tömeg %, a harmadik pedig a hematit, ami 18,3 tömeg % volt.



13. ábra: Az A1 minta röntgen diffraktogramja

4.1.4. Az A1 minta részecskéinek elektrokinetikai potenciál mérése

Az A1 minta zéta-potenciálját DLS készülék segítségével mértem. Három párhuzamos mérést végeztem. Az eredmények alapján (14. ábra), a minta átlagos potenciálja -20,3 mV volt, tehát az OH csoportok jelenléte a mágneses nanorészecskék felületén negatív zéta-potenciált eredményezett a hidroxil-csoportok deprotonálódása miatt. A zéta-potenciál csökkentésével növelhető a nanorészecskékből készített vizes diszperziók stabilitása.



14. ábra: Az A1 minta zeta-potenciál eloszlás diagramja

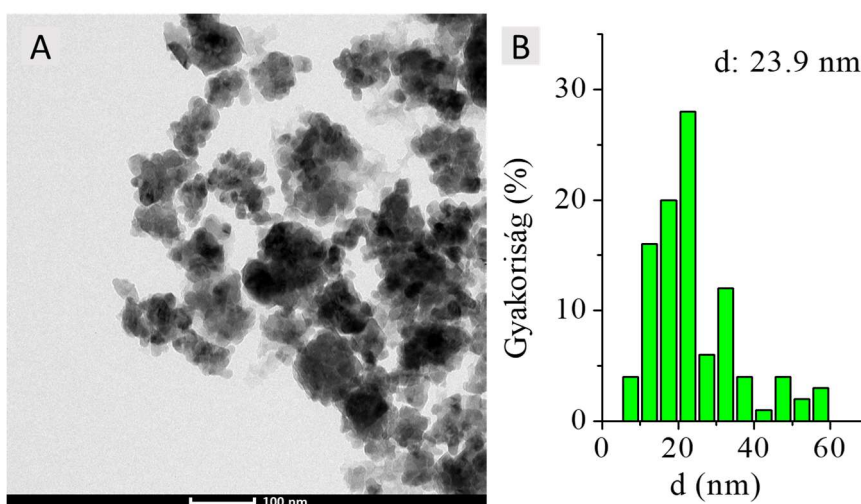
4.2.A vas (III)-citrát (**D1 minta**) alapú nanorészecskék jellemzése

4.2.1. Részecskeméret és morfológiai jellemzése transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM)

A fent bemutatott eredményekből kiderült, hogy az **A1 mintában** legmagasabb arányban megtalálható fázis a maghemit, ami 61,8 tömeg % volt, mellette található 19,9 tömeg %-ban a magnetit és ezek mellett hematit is keletkezett 18,3 tömeg %-ban, ami nem mágneses. Annak érdekében indultam ki egy másik vas-sóból, hogy a mágneses tulajdonsággal nem rendelkező hematit fázis mennyiségét tovább csökkentsem. A következő kísérlet sorozatban vas (II)-acetát helyet vas (III)-citrátot (**D1 minta**) alkalmaztam a korábbi szintézis eljárást használva.

Az általam előállított **D1 mintát** transzmissziós elektronmikroszkóppal jellemeztem. Szintén pixelarányok alapján méretanalízist végeztem el több TEM felvételen (**15/A. ábra**). Itt is, mint az **A1 mintánál** jól látható a szemcsés szerkezet. A **D1 minta** méretanalízisét ImageJ program segítségével hajtottam végre, egy Origin Lab program segítségével pedig méreteloszlás függvényt készítettem az általam leírt részecskékből (**15/B. ábra**). Vas (III)-citrátot alkalmazva a részecskeméret növekedését tapasztaltam. Az eloszlás diagramon látható, hogy a részecskék átmérője főleg a 10 és 25 nm, illetve 35 és 38 nm közötti tartományba esik:

- a legkisebb méretű részecskeátmérő: 6,8 nm,
- a legnagyobb méretű részecskeátmérő: 59,5 nm,
- az átlagos szemcseméret: 23,9 nm.



15. ábra: A **D1 minta**: A) TEM felvétel; B) Méreteloszlás diagram

4.2.2. A részecskék felületén található funkciós csoportok azonosítása Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiával (FTIR)

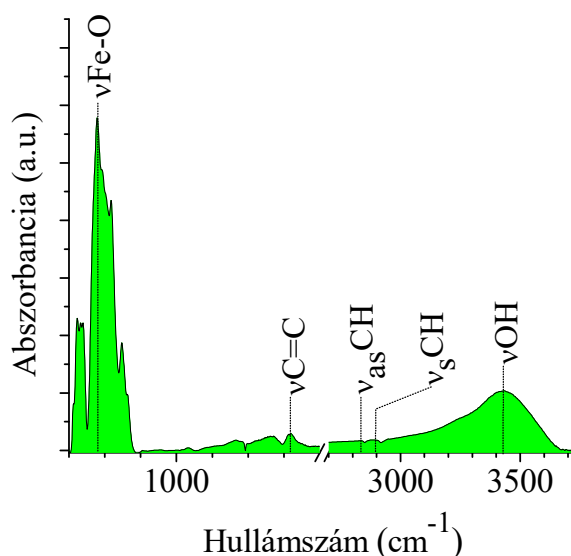
Az előállított **D1 mintán** is végeztem infravörös spektroszkópiával jellemzést, melyben az abszorpciós sávok azonosítását vizsgáltam meg a mintában. Az **16. ábrán** látható, hogy szintén (mint az **A1 mintában**) nagy intenzitású elnyelési sávot mutat az Fe-O vegyértékrezgés, csak ebben az esetben 561 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél. Az –OH csoportok vegyértékrezgése 3436 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél mutat elnyelést. Hasonlóan a korábbi **A1 mintánál** tapasztaltakhoz, ebben az esetben is azonosítottam szén tartalmú kötések (C=C kötés 1635 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél mutat elnyelési csúcsot) a mintába. Ezek alapján elvégeztem az említett két minta elemvizsgálását (**7. táblázat**), hogy a pontos szén mennyiséget megtudjam, mert ez befolyással lehet a részecskék DNS megkötő képességére.

7. táblázat: CHNS elemvizsgáló a jellemzett két mintára:

	N%	C%	H%	S%	SUM
A1	0,082	5,100	0,109	0,111	5,402
Fe-citrát	0,054	10,751	0,205	0,767	11,77642

Az elemvizsgálás során kiderült, hogy az **A1 mintában** 5,1 tömeg % volt a széntartalom, amíg a **D1 mintában** ez az arány az **A1 mintának** a kétszerese volt, ami 10,75 tömeg % volt.

Megtalálható két új rezgési sáv is, amely a C-H kötés szimmetrikus és aszimmetrikus vegyértékrezgési sáv. A szimmetrikus rezgések 2893 $1/\text{cm}$, míg az aszimmetrikus rezgések 2837 $1/\text{cm}$ hullámszám értéknél mutattak vegyértékrezgést.

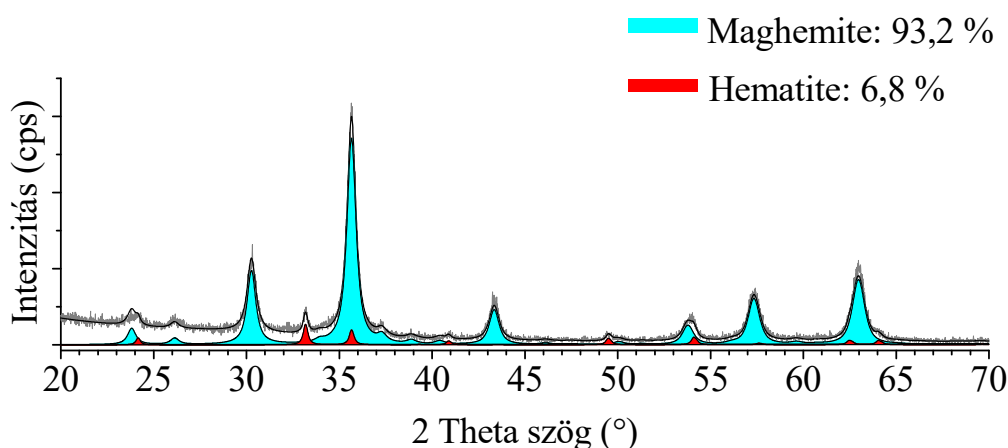


16. ábra: A **D1 minta** FTIR spektruma

4.2.3. A **D1 minta** fázisösszetételének meghatározása röntgendiffrakciós méréssel (XRD)

A **D1 mintát** röntgendiffrakciós méréssel is jellemeztem, hogy bizonyítani tudjam a visszamaradó fémek, fémoxidok jelenlétét, és megállapítsam, hogy milyen vas-oxid fázisok alkotják a mintát.

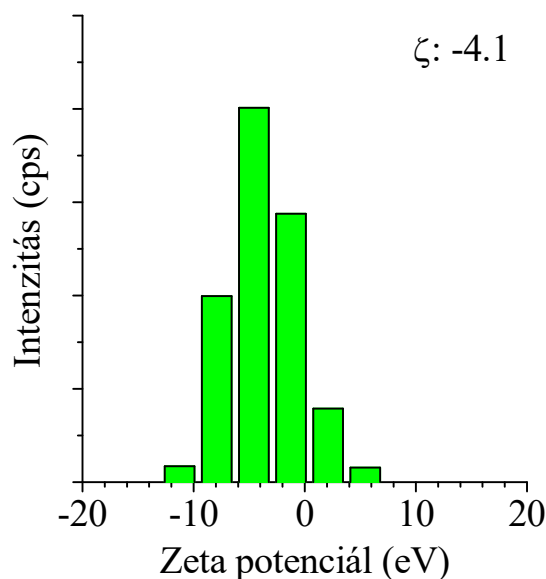
Az eredményből kiderül, hogy a mintánkban két fázis található meg (**17. ábra**): a maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) és hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) fázisok. Összehasonlítva az **A1 mintával**, itt nem volt megtalálható a magnetit fázis. A **D1 mintában** a legnagyobb mennyiségben megtalálható fázis a maghemité, ami 93,2 tömeg % volt, a másik fázis, ami a hematit, 6,8 tömeg % -ban volt jelen.



17. ábra: A **D1 minta** röntgen diffraktogramja

4.2.4. A **D1 minta** részecskéinek elektrokinetikai potenciál mérése

A **D1 mintának** is megmértem a zéta-potenciálját DLS alkalmazásával. Mint az **A1 mintánál**, itt is három párhuzamos mérést hajtottam végre. Ebben az esetben is negatív zéta-potenciál eredményt kaptam. A **18. ábrán** látható az eredmény, mely szerint az átlagos zéta-potenciál értéke -4,1 mV volt, ami jóval kisebb elektrokinetikai potenciált mutat, mint az **A1 mintában** (-20,3 mV).



18. ábra: Az D1 minta zéta-potenciál eloszlás diagramja

4.2.5. A polimerekkel és agyagásvánnyal stabilizált maghemit diszperziók jellemzése

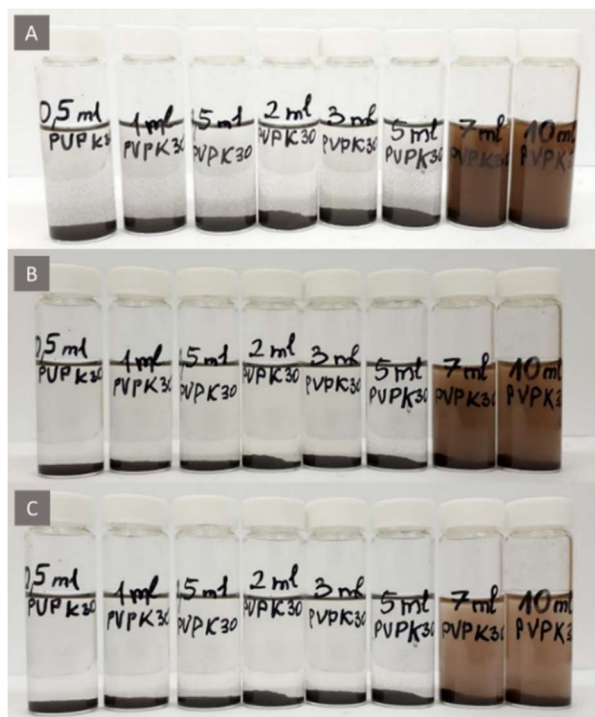
Munkám során, mint már említettem, a **D1 mintát** a magas maghemit tartalma miatt állítottam elő, és ezeket DNS megkötési műveletekben szeretném felhasználni. Kísérleteim során viszont kiderült, hogy ha a **D1 mintát** diszpergáltatom desztillált vízben, akkor egy nem stabil rendszert kapok eredményként. Ennek kiküszöbölésére megpróbáltam különböző polimerekben, illetve agyagásványban stabilizálni. Erre azért van szükség, mert a DNS megkötési műveletekhez nagyon fontos, hogy egy stabil, homogén eloszlású rendszert hozzak létre, biztosítva a reprodukálhatóságot.

Kísérleteim során először megpróbáltam a nátrium-bentonit agyagásványt. A **19. ábrán** jól látható, hogy a homogenizálást követően az első 3 minta (**19/A. ábra**) szinte azonnal elkezdett ülepedni, 5 és 15 perc után pedig már mindegyik minta leülepedett. Ez az anyag nem bizonyult megfelelőnek a részecskék diszpergálásában vizes közegben.



19. ábra: Bentonittal stabilizált diszperzió sorozat: A) összerázás után, B) 5perc után, C) 15 perc után

A polimerek esetében négy félélt próbáltam ki. Az első anyag, amit alkalmaztam a polivinil-pirolidon (PVPK30) volt. A fentiekben említettem, hogy a stabilitás bizonyítása érdekében 0; 5; 10 és 15 percenként fényképet készítettünk a homogenizált keverékből. A kiértékelés során megfigyelhető a mellékelt ábrán (**20. ábra**), hogy a homogenizálást követően rögtön ülepedni kezdett a minta (**20/A. ábra**), és 15 perccel később szinte teljes mértékben leülepedtek a nanorészecskék az üvegedény aljára (**20/C. ábra**). Ez az anyag nem minősült megfelelőnek a stabilitás szempontjából.



20. ábra: PVPK30 polimerrel stabilizált diszperzió sorozat: A) összerázás után, B) 5perc után, C) 15 perc után

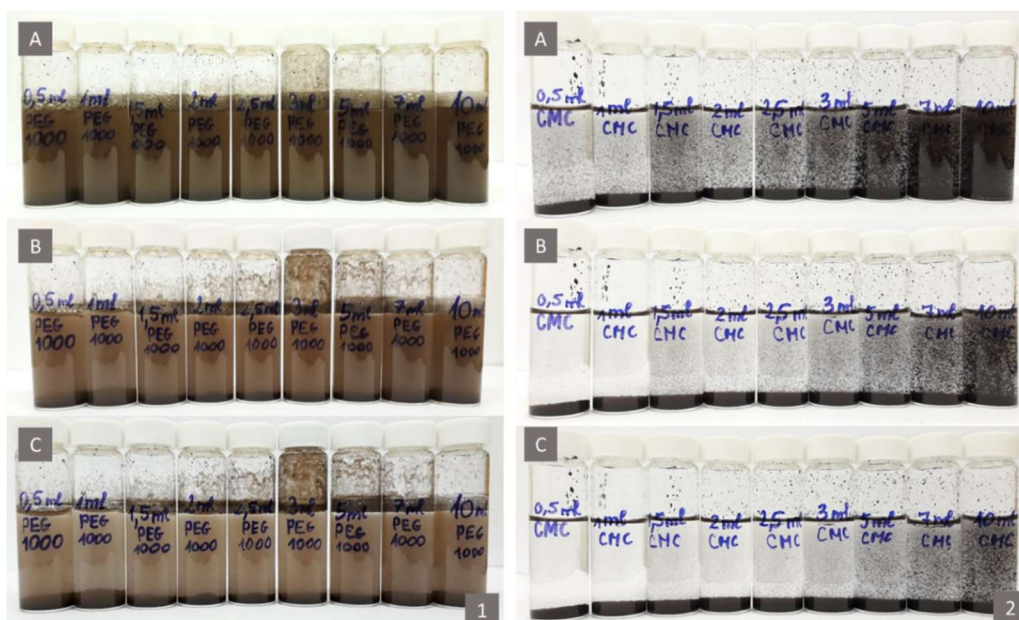
Ezt követően még 3 polimert kipróbáltam. A **21. ábrán** a polivinil alkohol 115000 (PVA 115000) látható, mely a kísérletek, illetve megfigyelések alapján ez bizonyult a legkevésbé

stabilnak. Ebben az anyagban ülepedett le leggyorsabban a **D1 minta** már az első pillanattól kezdve.



21. ábra: PVA polimerrel stabilizált diszperzió sorozat: A) összerázás után, B) 5perc után, C) 15 perc után

A 22. ábrán látható két anyag, ami a 1000 g/mol molekulatömegű polietilén-glikol (PEG 1000) és carboximetil-cellulóz (CMC) volt, bár az első pár percben ígéretesnek tűntek, de ebben a két esetben is szemmel láthatóan ülepedett a **D1 minta** az idő múlásával.



22. ábra: PEG 1000 ÉS CMC polimerekkel stabilizált diszperzió sorozat: A) összerázás után, B) 5perc után, C) 15 perc után

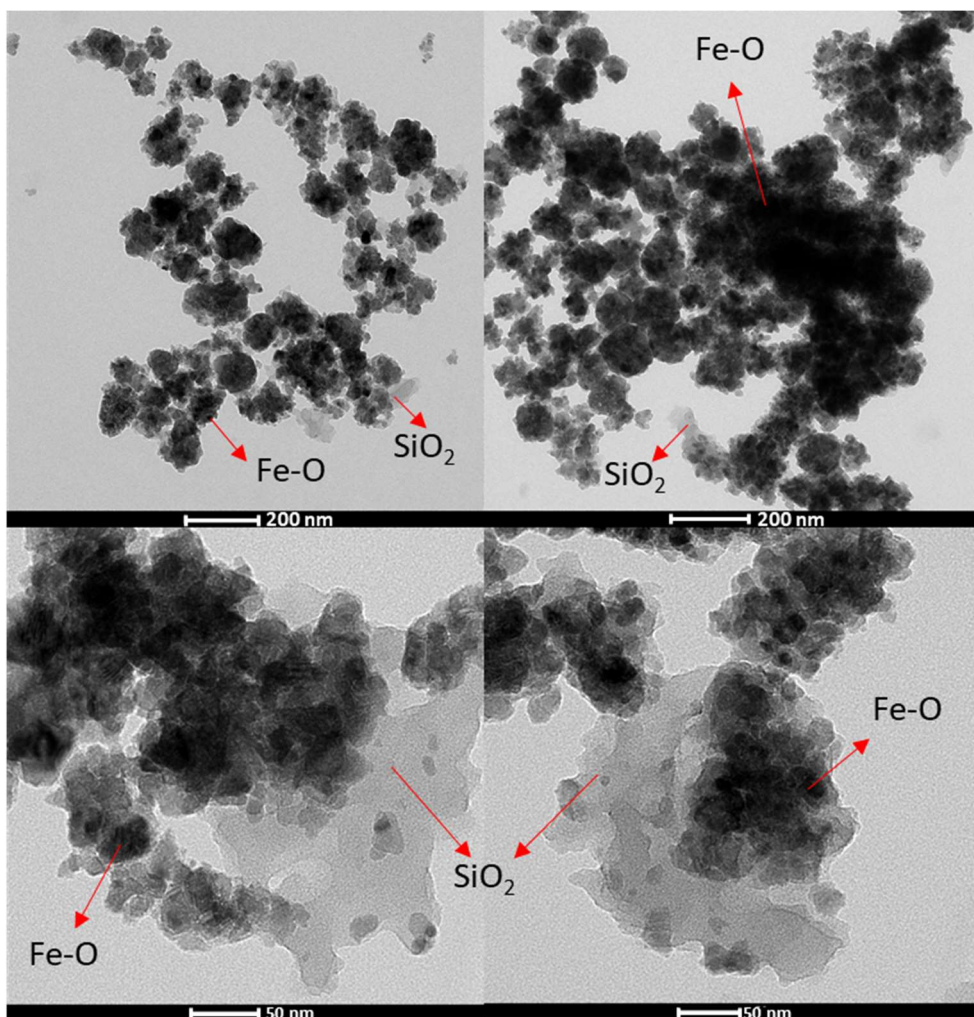
A kísérletekből megállapítható, hogy a polimerekkel nem tudtam stabilizálni a **D1 mintát**.

4.3.A D1/SiO₂ nanokompozit jellemzése

4.3.1. A D1/SiO₂ nanokompozit morfológia jellemzése transzmissziós elektronmikroszkóppal (TEM)

Mivel az előző esetekben nem sikerült stabilizálni az agyagásvánnyal és polimerekkel a **D1** mintát, így egy SiO₂ burkot alakítottam ki a vas (III)-citrát felületén. Az általam előállított D1/SiO₂ nanokompozitot transzmissziós elektronmikroszkópia segítségével jellemeztem.

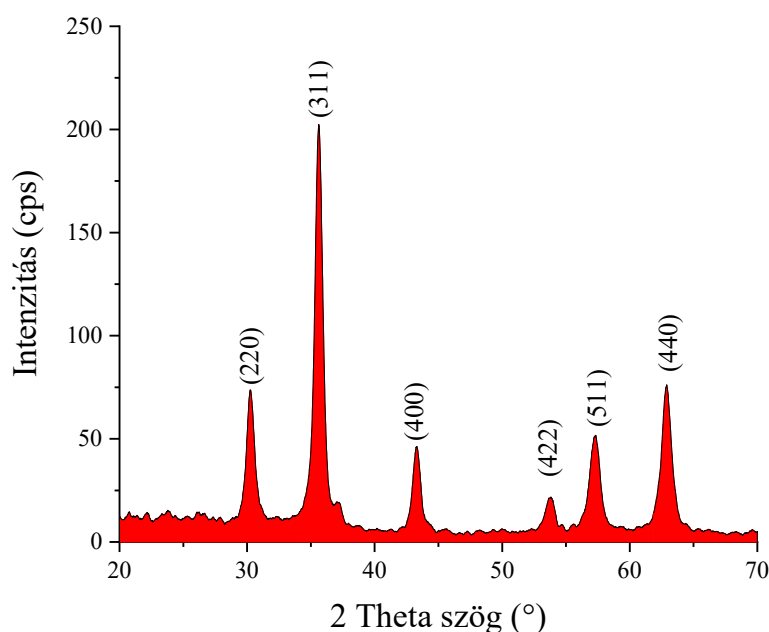
A D1/SiO₂ nanokompozit a **23. ábrán** látható, hogy a TEM vizsgálatok során kiderül, hogy szemcsés megjelenésű részecskék figyelhetők meg, mint az **A1** és **D1** mintáknál. A felvételen jól kivehető két fázis, az egyik a vas-oxid fázis, mely sötét színű, illetve a vas-oxid felületén kialakított világos burkok, ami nem más mint, a SiO₂. Ezzel bebizonyítottuk, hogy a **D1** minta felületén kialakult a SiO₂.



23. ábra: A D1/SiO₂ nanokompozit TEM képei

4.3.2. A **D1/SiO₂** nanokompozit fázisösszetételének meghatározása röntgendiffrakciós (XRD) méréssel

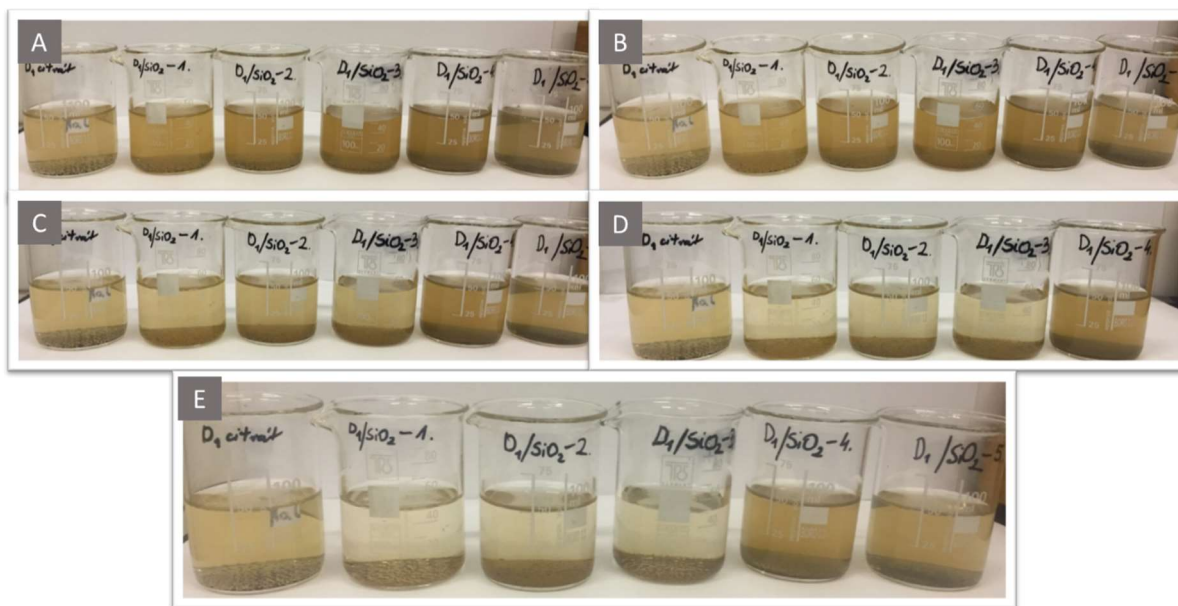
A **D1/SiO₂** nanokompozitot röntgendiffrakciós méréssel is jellemeztem. Ebben az esetben az XRD-adatok kiértékelése a DiffracPlus EVA alkalmazásával történt, ICDD PDF4 (2016) adatbázis alapján. A **24. ábrán** XRD felvételen a maghemit fázis röntgen diffraktogramja látható. A maghemitre jellemző a (220), (311), (400), (422), (511) és (440) Miller-indexű kristálysíkok. Hat jellemző diffrakciós csúcs található 2 Theta szög (°) értékeknél: 30,49 °, 35,99 °, 43,88 °, 54,23 °, 57,54 °, 62,95 °.



24. ábra: A **D1/SiO₂** nanokompozit röntgen diffraktogramja

4.3.3. A **D1/SiO₂** nanokompozit vizes közegű diszperziójának mintasorozata

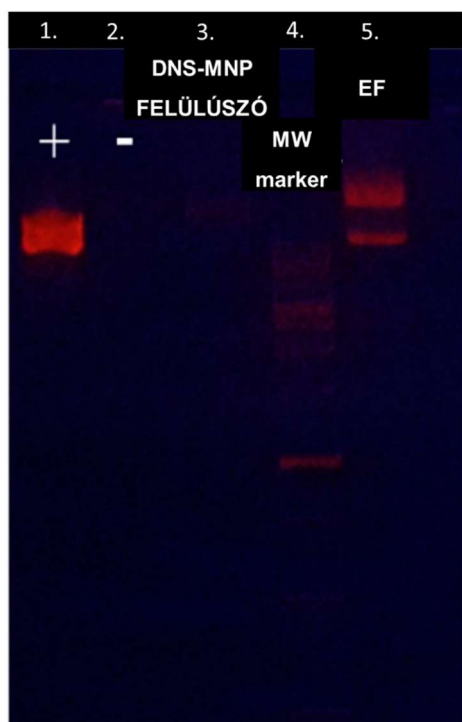
Az előállított nanokompozitaimból mintasorozatot készítettem. A sima **D1 mintát** hasonlítottam össze a **D1/SiO₂** nanokompozittal. Itt különböző időközönként fotókat készítettem a mintáimról. Ebben az esetben nem csak 0; 5; 10 és 15 percenként készítettem képet, hanem 1 óra és 2 óra után is. Itt azért készítettem több időpillanatban is, mert tudni akartam, hogy mi történik ennyi idő után a homogenizált mintákkal. A **25. ábrán** látható képekből megállapítható, hogy ez a nanokompozit sem diszpergálható vizes közegben, mint ahogy a **D1 minta** sem. Tehát megfigyelhető, hogy ezzel a mintával sem tudtam stabil vizes közegű kolloid oldatot létrehozni, így további kísérleteket szeretnék majd elvégezni a stabilizálással kapcsolatban.



25. ábra: A $D1/SiO_2$ nanokompozit stabilitás mérése: A) homogenizálás után, B) 5 perc után, C) 15 perc után, D) 1 óra után, E) 2 óra után

4.4.DNS megkötési teszt eredményei

Az **A1 minta** esetében a gélelektroforézis vizsgálatoknál a minták sorrendje a következő volt (25. ábra):



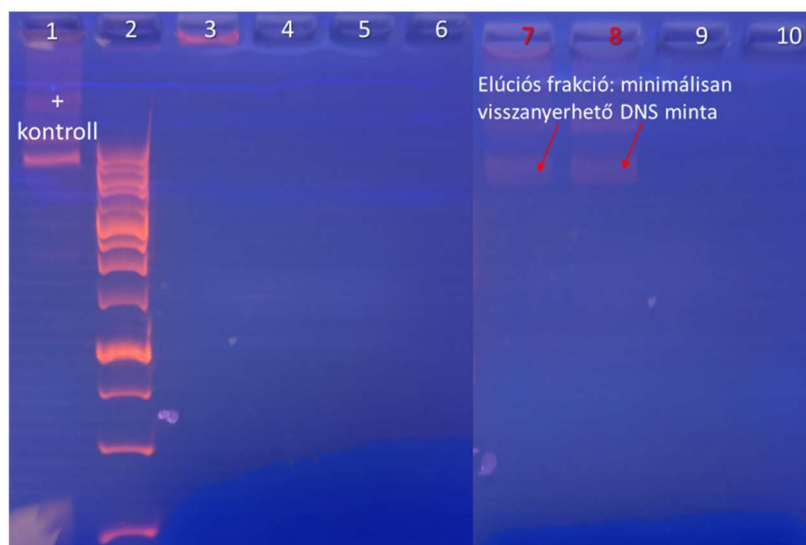
26. ábra: Az **A1 minta** gélelektroforézis vizsgálat

1. Ez itt a pozitív kontrol (+): itt az E.coli-ból tisztított plazmid DNS látható.
2. Negatív kontrol (-): Ebben az esetben az **A1 mintához** nem adtam DNS-t.
3. A 10. ábra, 3 lépésből származó minta (F1), ami DNS-MNP kötődést követően a felülúszó frakcióból vett mintát jelenti.
4. MW marker (molekulasúly marker): 1 kb DNS molekulasúly marker
5. Az MNP-ről visszanyert (eluált) DNS minta (EF= eluciós frakció)

Az eredmények azt mutatták, hogy az **A1 minta** jól látszódik az elektroforézis képen (26. ábra) a tesztelt MNP-hez a DNS reverzibilisen tudott kötődni, mivel

az EF a pozitív kontrollhoz viszonyítva a DNS jelenlétére utaló piros fluoreszcens sáv jól látható.

A **D1 minta** esetében az eredményeket a **27. ábra** szemléltetem:



27. ábra: A **D1 minta** DNS reverzibilis kötődésének vizsgálata gélelektroforézissel

Ebben az esetben a pozitív kontroll (+) az első oszlop, ami szintén *E. coli*ből vett plazmid DNS volt. Mellette a MW marker található, mely 1 kb DNS molekulásúly marker, 3-4. oszlopok az F1 frakciót jelölik. 5-6. oszlop a DNS minták felülúszó frakciója. A 7-8. oszlop az EF mutatják, ami a DNS-MNP rendszerről leválasztott DNS frakcióból vett frakciója.

A **D1 minta** az EF csak halvány jel látható, ami arra utal, hogy a **D1 minta** DNS megkötő képessége nem működött. A háttérbe az állhat, hogy a mintát nem tudtuk vizes közegben diszpergálni, valamint nem tudtuk stabilizálni különböző stabilizátorokkal sem. Ott, ahol nem volt DNS, ott nem is tapasztaltam ilyen piros, fluoreszcens jelet.

Levonva következtetéseimet megállapítható, hogy az általam előállított **A1 minta** és **D1 minta** DNS megkötő képességük szerint összehasonlítva az **A1 minta** jobbnak bizonyult.

Összefoglalás

Előállítottam különböző vas-prekurzorok felhasználásával mágneses nanorészecskéket, ezeket jellemeztem XRD, TEM, DLS és FTIR módszerrel. A részecskék szintézise során 2 olyan modern eljárást kombináltam, amelyet alkalmaznak nanoszerkezetű anyagok előállítása során. A mágneses vas-oxidok szintézisét szonokémiai és égetéses (combustion) módszerek kombinálással oldottam meg.

A részecskék XRD fázisazonosítása alapján megállapítható, hogy vas (II)-acetát alkalmazásával maghemit (61,8 tömeg %), magnetit (19,9 tömeg %) és hematit (18,3 tömeg %) összetételű mágneses termékhez jutottam. Vas (III)-citrátból kiindulva az előállított termék már csak két féle vas-oxid fázist, maghemitet (93,2 tömeg %), illetve hematitet (6,8 tömeg %) tartalmazott.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján arra a megállapításra jutottam, hogy vas (II)-acetát alkalmazásával kisebb részecskemérettel (átlagosan 14,4 nm) rendelkező szemcsék állíthatók elő, mint amely a vas (III)-citrát felhasználásával keletkezik (átlagosan 23,9 nm).

FTIR segítségével azonosítottam az oxigén tartalmú funkciós csoportokat a nanorészecskék felületén, melyek hidroxid-csoportok túlnyomó részt. Ezek deprotonállódása csökkenti a zéta-potenciált, és ez által a vizes diszperziók állandósága javítható. Mindkét vas-sóból előállított nanorészecskék esetében széntartalomra utaló rezgéseket azonosítottam, ezért elemanalízist végeztem. A kapott eredmények igazolták, hogy mindkét minta tartalmaz szenet különböző mennyiségben. **A1 minta** széntartalma 5,1 tömeg % volt, **D1 mintánál** 10,75 tömeg % szenet határoztam meg.

Mindkét minta vizes diszperzójából zéta-potenciált mértem. **A1 mintánál** -20,3 mV értéket mértem, amely jóval negatívabb volt, mint amit a **D1 minta** esetében mértük, ami -4,5 mV volt. Az **A1 minta** negatívabb zéta-potenciálját a felületén megtalálható OH-csoportok deprotonállódása eredményezte és ennek következtében arra számítottam, hogy vizes közegben nagyobb méretben diszpergálhatóak, mint a **D1 minta**.

Összehasonlítottam mindkét mintát DNS megkötési műveletekben. **A1 mintánál** mértem elfogadható hatékonyságot DNS megkötésben, míg a **D1 minta** erre a célra nem volt alkalmazható. Az eltérés oka azzal magyarázható, hogy a **D1 minta** több szenet tartalmazott, mint az **A1 minta**, ezáltal a vas-oxid felülete nem volt hozzáférhető a DNS számára. További okok, ami a gyenge kötést eredményezte, hogy a **D1 minta** nagyobb részecskeméretet

eredményezett, így kevesebb diszpergálható, illetve a zéta-potenciálja kevésbé negatív, emiatt nem képez stabil vizes közegű diszperziót, mint az **A1 minta** esetében.

Tehát levonva következtetéseimet az **A1 mintát** ajánlanám a két minta közül DNS tisztítási műveletekre, mivel ez a minta önmagában is a kis részecskeméretnek, továbbá negatív zéta-potenciáljának köszönhetően jól diszpergálható volt vizes közegben.

Hivatkozások

- [1] https://nanotechnologia.blog.hu/2009/06/16/lenn_boven_van_hely (2019.11.21.)
- [2] Szebeni J.: *Nanomedicina: A nanotechnológia alkalmazása az orvostudományban. Lehetőségek a neuropszichiátria területén.* Neuropsychopharmacologia Hungarica, **2011**, XIII. évf., 1. szám, 15-17.
- [3] Tóth I.: *Méretvariált magnetit nanorészecskék előállítása és felületmódosítása polianionos védőrétegekkel.* Doktori (Ph.D.) értekezés, Szegedi Tudományegyetem, **2013**.
- [4] Tóth I-Y.; Veress G.; Szekeres M.; Illés E.; Tombácz E.: *Magnetic hyaluronate hydrogels: preparation and characterization.* Journal of Magnetism and Magnetic Materials, **2015**, 175-180.
- [5] Cornell R.M.; Schwertmann U.: *The Iron Oxides. Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses.* VCH, Weinheim, **2003**.
- [6] Bigham J.M.; Fritzpatrick R.W.; Schulze D.G. in Dixon J.B.; Schulze D.G. (Eds.): *Soil Mineralogy with Environmental Applications.* SSSA, Madison, Wisconsin, **2002**.
- [7] Pápay L.: *Kristálytani, ásványtani, kőzettani ismeretek.* JATEPress, Szeged, **1994**.
- [8] Szittya O.: *Digitális és Analóg Technik.* LSI Oktatóközpont, Mikroelektronika Alkalmazásának Kultúrájáért Alapítvány, **1999**.
- [9] Juhászné Sz-A.; Baumli P.: *Vas-oxid nanorészecskék előállítási lehetőségei kloridokból.* Anyagmérnöki tudományok, **2012**, 157-164.
- [10] Kovács E.; Paripás B.: *FIZIKA II. (4)*, Digitális Egyetem, **2011**, 3-6.
- [11] Figuerola A.; Di Coratob R.; Mannaa L.; Pellegrino T.: From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. *Pharmacological Research*, **2010**, 126–143.
- [12] Kunzmann A.; Andersson B.; Vogt C.; Feliu N.; Ye F.; Gabrielsso S.; Toprak M. S.; Buerki-Thurnherr T.; Laurent S.; Vahter M.; Krug H.; Muhammed M.; Scheynius A.; Fadeel B.: Efficient internalization of silica-coated iron oxide nanoparticles of different sizes by primary human macrophages and dendritic cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2011**, 81–93.
- [13] Meiorin C.; Muraca D.; Pirota K.; Aranguren M.; Mosiewicki M.: Nanocomposites with superparamagnetic behavior based on a vegetable oil and magnetite nanoparticles. *European Polymer Journal*, **2014**, 90-99.

- [14] Lee H. S.; Kim E. H.; Shao H.; Kwak B. K.: Synthesis of SPIO-chitosan microspheres for MRI-detectable embolotherapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **2005**, 102–105.
- [15] Santos L.M.; Ligabue R.; Dumas A.; Le Roux Ch.; Micoud P.; Meunier J-F.; Martin F.; Einloft S.: New magnetic nanocomposites: Polyurethane/ Fe_3O_4 -synthetic talc. *European Polymer Journal*, **2015**, 38–49.
- [16] Karat P.; Anuvat S.: Magneto-electro-responsive material based on magnetite nanoparticles/polyurethane composites. *Materials Science and Engineering*, **2016**, 312–323.
- [17] Pénzeli X.; Dr. Vanyorek L.: *Szén nanocsövek előállításának optimalizálása. szakdolgozat*, Miskolc, **2016**.
- [18] Abdalla A. M.; Ghosh S. and Puri I. K.: Decorating Carbon Nanotubes with Coprecipitated Magnetite Nanocrystals. *Diamond and Related Materials*, **2016**, 90–97.
- [19] McKeehan L.W.: Optical and Magnetic Properties of Magnetite Suspensions, Surface Magnetization in Ferromagnetic Crystals. *Physical Review*, **1940**, 1177-1178.
- [20] Bee A.; Massart R.; Neveu S.: Synthesis of very fine maghemite particles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **1995**, 6-9.
- [21] Blanco-Mantecon M.; O'Grady K.: Interaction and size effects in magnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **2006**, 124-133.
- [22] Fauconnier N.; Bée A.; Roger J.; Pons J.N.: Synthesis of aqueous magnetic liquids by surface complexation of maghemite nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, **1999**, 233-242.
- [23] Pankhurst Q.A.; Connolly J.; Jones S. K.; Dobson J.: Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics; Applied Physics*, **2003**, R167-R181.
- [24] Gupta A.K.; Gupta M.: Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, **2005**, 3995-4021.
- [25] Jain T.K.; Richey J.; Strand M.; Leslie-Pelecky D.L.; Flask C.A.; Labhasetwar V.: Magnetic nanoparticles with dual functional properties: Drug delivery and magnetic resonance imaging. *Biomaterials*, **2008**, 4012-4021.
- [26] Munnier E.; Cohen-Jonathan S.; Linassier C.; Douziech-Eyrolles L.; Marchais H.; Soucé M.; Hervé K.; Dubois P.; Chourpa I.: Novel method of doxorubicin–SPION reversible association for magnetic drug targeting. *International Journal of Pharmaceutics*, **2008**, 170-176.

- [27] Babincová M.; Sourivong P.; Leszczynska D.; Babinec P.: Blood-specific whole-body electromagnetic hyperthermia. *Med Hypotheses*, **2000**, 459–460.
- [28] Pankhurst Q. A.; Connolly J.; Jones S. K.; Dobson J.: Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J. Phys. D Appl. Phys.*, **2003**, 167–181.
- [29] Bahadur D.; Giri J.: Biomaterials and magnetism, *Sādhanā*, **2003**, 639–656.
- [30] Blue L. M.; Sewel M. K.; Kim D. H.; Brazel C. S.: Fluid Dynamics and Heating of Magnetic Nanoparticles in Simulated Blood Vessels. *Journal of Science & Health at the University of Alabama*, **2009**, 25-28.
- [31] Tsuyoshi T.; Ririko S.; Ryosuke K.; Keiichi H. and Tadashi M.: Contributions of Phosphate to DNA Adsorption/Desorption Behaviors on Aminosilane-Modified. *Magnetic Nanoparticles Department of Biotechnology*, Tokyo UniVersity of Agriculture and Technology, **2008**.
- [32] Maryam G. & Ghodratollah A.: Study on the adsorption of DNA on Fe₃O₄ nanoparticles and on ionic liquid-modified Fe₃O₄ nanoparticles. *Microchim Acta*, **2014**, 45–53.
- [33] Saiyed Z.M.; Bochiwal C.; Gorasia H.; Telang S.D.; Ramchand C.N.: Application of magnetic particles (Fe₃O₄) for isolation of genomic DNA from mammalian cells. *A Department of Biochemistry, Faculty of Science*, Maharaja Sayajirao University of Baroda, Sayajigunj, **2006**.
- [34] Yuanling S.; Jianbo L.; Yanhui W.; Chaofan D.; Yanna L.; Weiyan S.; Chuannan L.: A chemiluminescence biosensor based on the adsorption recognition function between Fe₃O₄@SiO₂@GO polymers and DNA for ultrasensitive detection of DNA. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, University of Jinan, China, **2017**
- [35] Rahnama H.; Sattarzadeh A.; Kazemi, F.; Ahmadi N.; Sanjarian F.; Zand Z.: Comparative study of three magnetic nano-particles (FeSO₄, FeSO₄/SiO₂, FeSO₄/SiO₂/TiO₂) in plasmid DNA extraction. *Analytical Biochemistry*, **2016**, 68-76.
- [36] Lafer E.M.; Sousa R.J.; Rich A.: Z-DNA-binding Proteins in Escherichia coli Purification, Generation of Monoclonal Antibodies and Gene Isolation. *J. Mol. Biol.* **1988**, 511-516.
- [37] Nahid S.; Alireza A.; Mina J.; Monireh F.: Functionalization of Fe₃O₄@SiO₂ magnetic nanoparticles with nicotinamide and in-vitro DNA interaction. *Journal of Molecular Liquids*, **2016**, 227–233.

- [38] Gye S.A.; Dong H. C.; Jae U.H.; Ah H. O.; Hyun-Hee C.; Sung-Churl C.; Yoon-Suk O.; Yeon-Gil J.: Hollow-structured $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ nanoparticles: Novel synthesis and enhanced adsorbents for purification of plasmid DNA. *Ceramics International*, **2018**, 18791–18795.
- [39] Qingqian F.; Yueping G.; Zhi Z.; Guoli X.; Yu Y.; Chen G.: A new method of synthesis well-dispersion and dense $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ magnetic nanoparticles for DNA extraction. *Chemical Physics Letters*, **2019**, 7–13.
- [40] Shahram N.; Mitra G.; Mahdi F.; Fakhraddin A. D.; Mohsen A.; Roshanak R. K.: Synthesis and evaluation of the antibacterial effect of silica-coated modified magnetic poly-(amidoamine) G5 nanoparticles on *E. coli* and *S. aureus*. *Journal of Molecular Liquids*, **2019**, 93–104.
- [41] Hegman N., Pekker P., Kristály F., Váczi T.: *Nanometrológia*, Miskolci Egyetem, **2011**, 87-92.
- [42] Boros B.; Bufa A.; Csóka B.; Dörnyei Á.; Farkas N.; Felinger A.; Kiss I.; Kilár A.; Kilár F.; Lambert N.; Makszin L.; Páger Cs.; Petz A.: *Műszeres analitika gyakorlatok*. Pécsi Tudományegyetem, **2010**, 4.fejezet.
- [43] <http://nanotest.hu/szerkezetvizsgalat/> (2019.10.20.)
- [44] Dr. Szőri M.: *Kolloidkémiai gyakorlatok, Laboratóriumi jegyzet*. Miskolci Egyetem, **2019**, 43-44.
- [45] Greenwood R.; Kendall K.: Electroacoustic studies of moderately concentrated colloidal suspensions. *Journal of the European Ceramic Society*, **1999**, 479–488.
- [46] Hanaor D.A.H.; Michelazzi M.; Leonelli C.; Sorrell C.C.: The effects of carboxylic acids on the aqueous dispersion and electrophoretic deposition of ZrO_2 . *Journal of the European Ceramic Society*, **2012**, 235–244.
- [47] Dr. Vanyorek L.; Dr. Lakatos J.; Dr. Kónya Z.: *Szén nanoszorbensek és katalizátorok előállítása és alkalmazási lehetőségei a kémiai és a környezetvédelmi technológiákban*. Doktori Értekezés, Miskolc, **2015**, 40.