

УДК 546.05:546.06

МИКРОФЛЮИДНЫЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА И ЕГО СРАВНЕНИЕ С СИНТЕЗОМ В ОБЪЕМНОМ РЕАКТОРЕ

**©2024 г. А. И. Никифоров^{1,2}, Е. О. Лазарева^{1,2}, Е. В. Едемская^{1,2},
В. Г. Семенов⁴, К. Г. Гареев^{1,2}, Д. В. Королев^{1,3,*}**

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, пр. Пархоменко, д. 15, лит. Б, Санкт-Петербург, 194156 Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)», ул. Профессора Попова, д. 5, лит. Ф, Санкт-Петербург, 197022 Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Льва Толстого, д. 6-8, Санкт-Петербург, 197022 Россия

⁴ Институт химии, Санкт-Петербургский государственный Университет, Университетский пр., д. 26, Петергоф, Санкт-Петербург, 198504 Россия
*e-mail: dimon@cardioprotect.spb.ru

Поступила в редакцию 28.04.2024 г.

После доработки 28.05.2024 г.

Принята к публикации 28.05.2024 г.

В работе рассматривается синтез наночастиц магнетита микрофлюидным способом. Были исследованы основные характеристики полученных наночастиц, включая химический состав, распределение по размеру, удельный магнитный момент насыщения и коэрцитивную силу. Для оценки возможности использования наночастиц в медико-биологических целях была рассчитана гемолитическая активность суспензии наночастиц магнетита.

Ключевые слова: оксиды железа, магнетит, маггемит, наночастицы, микрофлюидный синтез.

MICROFLUIDIC SYNTHESIS OF MAGNETITE NANOPARTICLES AND ITS COMPARISON WITH SYNTHESIS IN A VOLUME REACTOR

**©2024 A. Nikiforov, E. Lazareva, E. Edemskaya, V. Semenov,
K. Gareev, D. Korolev**

This work discusses the synthesis of magnetite nanoparticles using the microfluidic method. The main characteristics of the resulting nanoparticles were investigated, including chemical composition, size distribution, saturation mass magnetization, and coercive force. To assess the possibility of using nanoparticles for medical and biological purposes, the hemolytic activity of a suspension of magnetite nanoparticles was calculated.

Key words: iron oxides, magnetite, maghemite, nanoparticles, microfluidic synthesis.

ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы (НЧ) могут выступать в качестве носителей для адресной доставки лекарств [1]. При этом доставлять можно как терапевтические, так и диагностические агенты [2]. Наноразмерные носители для доставки лекарств улучшают терапевтическую эффективность и минимизируют побочные эффекты, позволяют разрабатывать новые классы терапевтических средств, которые ранее считались недоступными в практической реализации [3]. В последние два десятилетия в качестве перспективной технологии для производства наноматериалов с точно контролируемыми свойствами в большом масштабе рассматривается непрерывный (поточный) синтез с использованием вместо объемных реакторов (ОР) микрореакторов на основе микрофлюидных чипов (МФЧ) [4, 5]. Подходы микрофлюидики используются в биологическом анализе, химическом синтезе, тканевой инженерии, создании коллоидов и инкапсуляции клеток [6]. К отдельному классу МФЧ, которые в сочетании с нанотехнологиями могут в будущем заменить традиционные подходы к синтезу наноматериалов, относятся «лаборатории-на-чипе» (ЛНЧ) [7]. ЛНЧ позволяет реализовать в рамках единой платформы и синтез, и анализ получаемых НЧ в непрерывном режиме [8]. НЧ, полученные с применением микрофлюидного синтеза, нашли применение в таких областях, как медицина [9], электроника [10], косметология [11], солнечная энергетика [12] и другие.

Для промышленного производства МФЧ традиционно используются кремний, кварц и стекло из-за их термостабильности и совместимости с агрессивными растворителями. Для изготовления МФЧ широко используются методы «мягкой» и фотолитографии [13]. Одним из часто используемых в лабораторных исследованиях материалов является полидиметилсилоксан (ПДМС). ПДМС представляет собой эластомер с физиологической инертностью, хорошей стойкостью к биodeградации, биосовместимостью, химической стабильностью, хорошими механическими свойствами,

оптической прозрачностью и простотой изготовления путем формования реплик [14–18]. Благодаря этим характеристикам ПДМС нашел широкое применение в микронасосах [19], обработке поверхностей катетеров [20], повязках и бинтах [21], микроклапанах [22], оптических системах [23], в лабораторных исследованиях *in vitro* [8]. Более того, технология «мягкой» литографии привела к использованию ПДМС в приложениях микроэлектромеханических систем и в микрожидкостных компонентах [24, 25].

Синтез НЧ микрофлюидным способом в настоящее время по-прежнему относят к сравнительно новым и перспективным [26]. Данный способ синтеза предполагает улучшенный контроль формы и размеров частиц. По своим характеристикам НЧ, полученные таким способом, могут превосходить характеристики частиц, получаемых в ОР [27], в силу ряда преимуществ:

— легкость в использовании и масштабировании, что позволяет быстро переходить от лабораторных исследований к промышленному производству, значительно сокращая время и затраты

— высокая степень автоматизации микрофлюидных систем, что позволяет точно контролировать все аспекты процесса и ведёт к повышению качества продукции и уменьшению человеческого фактора;

— реакторы обеспечивают идеальное смешивание реагентов и эффективный теплообмен, что критически важно для многих химических процессов. Это обеспечивает равномерность реакций и предотвращает образование нежелательных побочных продуктов.

Целью работы являлись микрофлюидный синтез магнитных наночастиц (МНЧ) для биомедицинского применения и сравнение их характеристик с МНЧ, получаемыми с использованием ОР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

При синтезе МНЧ использовали железо сернокислое (II) 7-водное ЧДА, железо сернокислое (III) 9-водное ЧДА, аммоний щавелевокислый 1-водный ХЧ, аммиак водный ЧДА (Ленреактив, РФ).

Для заливки МФЧ использовался Sylgard 184 Silicone Elastomer Kit (Dow Europe GMBH C/O Dow Silicones, Германия).

Синтез МНЧ в объемном реакторе

В основе способа синтеза МНЧ лежит метод осаждения из сульфатных электролитов железа II и III разбавленным раствором аммиака в присутствии оксалата аммония [28].

Синтез МНЧ отработывался традиционным методом в химическом стакане объемом 250 мл при постоянном перемешивании магнитной мешалкой. К раствору, содержащему смесь сульфатов железа (II), железа (III) и оксалата аммония в мольном соотношении 2 : 1 : 0.1 и объемом 100 мл, при постоянном перемешивании со скоростью 200 мин⁻¹, подавали раствор аммиака с водой в соотношении 1 : 1 со скоростью 1.5 мл/мин. Предварительно и на протяжении всего синтеза раствор барботировался сухим азотом для вытеснения растворенного кислорода. Синтез проводили до фиксации насыщенно черной окраски и установления значения pH 8–8.5. Затем продукт промывали пятикратно дистиллированной водой с магнитной сепарацией.

Изготовление микрофлюидных чипов

МФЧ на основе ПДМС изготавливались при помощи методов мягкой литографии. Для этого сначала смешивалась база ПДМС с отвердителем в массовом соотношении 10 : 1 и заливалась в мастер-форму, изготовленную из кремния методом фотолитографии, с

макромасштабным рисунком. Для удаления пузырьков воздуха использовалось устройство дегазации на основе вакуумного наноса и эксикатора. Дегазированный ПДМС помещали в печь для отверждения на 4 ч при 60 °С. Отвержденная реплика из ПДМС удалялась с подложки при помощи острого лезвия. Герметизацию реплики из ПДМС со стеклянной пластиной проводили в плазме воздействием токов высокой частоты [29]. После этого МФЧ был готов к работе. В данном виде он достаточно давно используется в микрофлюидных исследованиях и хорошо отработан [30, 31–33].

Мастер-форма для данной топологии была изготовлена в СПб АУ РАН.

Исследование физико-химических свойств полученных магнитных наночастиц

Морфология МНЧ изучалась методом просвечивающей электронной микроскопии ПЭМ при помощи прибора HT7800 (Hitachi, Япония). Были использованы подложки Nickel Grids Formvar Support Films 200 Mesh (Zongjingkei Technology, Китай).

Содержание кристаллических фаз в образцах исследовалось на автоматическом порошковом дифрактометре D2Phaser (Bruker, США), излучение рентгеновской трубки — $\text{CuK}_{\alpha 1+2}$, режим работы трубки 30 кВ/10 мА, позиционно-чувствительный детектор, геометрия на отражение, схема фокусировки Брегг–Брентано, $T = 25^\circ\text{C}$, атмосфера – воздух.

Идентификация фаз проводилась в программном комплексе PDXL-2 (Rigaku, Япония) с использованием базы порошковых дифракционных данных Powder Diffraction File (PDF-2, International Center for Diffraction Data, 2011).

Количественное содержание фаз в образцах исследовалось методом спектроскопии ядерного гамма-резонанса (ЯГР, или мессбауэровская спектроскопия). Измерения были проведены на мессбауэровском спектрометре фирмы WISSEL (Германия), работающем в режиме постоянных ускорений при комнатной температуре. В качестве источника был использован изотоп ^{57}Co в матрице родия.

Статические магнитные свойства МНЧ изучались с помощью вибрационного магнитометра Lake Shore 7410 (Lake Shore Cryotronics Inc., США) в воздушной среде при стандартной температуре.

Распределение частиц по размерам изучали в водной среде при помощи метода динамического рассеяния света (ДРС) с помощью прибора Zetasizer Ultra (Malvern Instruments, Великобритания). Использовали следующие параметры прибора: время накопления корреляционной функции составляло – 120 с, распределение по размерам измерялось с тройной повторностью, температура образца составляла 25°C, метод анализа – General Purpose. Дополнительные настройки были выставлены по умолчанию. Обеспыливание коллоидного раствора не проводилось. За средний гидродинамический размер принималось значение Z-average, которое рассчитывалось по первичным данным Size Distribution Intensity.

Исследование гемолитической активности полученных суспензий наночастиц

Гемолитическая активность суспензии МНЧ, полученных микрофлюидным способом, изучалась в цельной крови двух здоровых доноров (кровь донора № 1; кровь донора № 2). Исследовались концентрации МНЧ $C = 2; 1; 0.5; 0.25$ мг/мл. По 0.5 мл каждого из четырех тестируемых образцов МНЧ инкубировали по отдельности с равным объемом крови от каждого из доноров в течение 1, 2, 4 и 24 ч в биологическом термостате при 37°C. Готовили холостые образцы; добавляли дистиллированную воду в качестве положительного контроля (ПК) и физиологический раствор в качестве отрицательного контроля (НК). После инкубации образцы центрифугировали в течение 20 мин при скорости вращения ротора 2000 мин⁻¹.

Гемолитическую активность оценивали по коэффициенту гемолиза, который определяли спектрофотометрически на приборе Unico 2802 (Unico Sys, США) по

оптической плотности образцов на длине волны 415 нм, соответствующей полосе поглощения оксигемоглобина. Для измерения оптической плотности 200 мкл пробы доводили до 6 мл физиологическим раствором.

Гемолитическая активность рассчитывалась по следующей формуле:

$$КГ = \frac{O - НК}{ПК - НК} \times 100\%,$$

где O – измеренная оптическая плотность образца, $НК$ – отрицательный контроль (0% гемолиза холостого образца), а $ПК$ – положительный контроль (100% гемолиз холостого образца).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Микрофлюидный синтез наночастиц

За основу была взята химическая реакция осаждения магнетита из сульфатов железа (II) и (III) гидроксидом аммония (рис. 1а). Экспериментально установлено, что при достижении значения pH 8–9 происходит образование кристаллитов размером 15–20 нм. Для увеличения буферной емкости используется аммоний щавеливокислый. Это связано с величиной произведения растворимости оксидов железа (II) и (III). Выбор реактивов был продиктован простотой отмывки от сульфата и аммиака. Установка, использованная для микрофлюидного синтеза, работала на принципе вытеснения реагентов из пробирок Эппендорфа под действием повышенного регулируемого давления. Для этого были предусмотрены прецизионные регуляторы давления ITV0010-2ML (3–6, SMC Corporation, Япония), которые управлялись микроконтроллером Arduino Nano (12, Arduino, Италия) в зависимости от сигналов датчиков давления MPX5050GP (7–10, Freescale Semiconductor, США). Исходным источником давления служил безмасляный компрессор (1), давление которого контролировалось входным датчиком давления MPX5700 (2, Freescale

Semiconductor, США). Реагенты подавались в МФЧ (11). Протекание реакции контролировали при помощи микроскопа со встроенной видеокамерой (13). Видеокамера и микроконтроллер управлялись персональным компьютером (14).

Рис. 1. Микрофлюидный синтез МНЧ. Схема синтеза МНЧ (а) и экспериментальная установка (б): безмасляный компрессор (1), входной датчик давления (2), регуляторы давления в каналах дозатора (3–6); выходные датчики давления в каналах (7–10), микрофлюидный чип (11); микроконтроллер (12); микроскоп (13); персональный компьютер (14).

Применение способа регулирования скорости подачи реагентов методом вытеснения под давлением обусловлено масштабируемостью процесса. В отличие от шприцевых дозаторов, обеспечивающих периодическую подачу, метод вытеснения давления может обеспечить непрерывность процесса.

Топологии, обычно используемые в капельной микрофлюидике, представляют собой разветвляющиеся каналы с несколькими перекрестиями.

В работе использовалась топология, показанная на рис. 2в. Топология представляла собой два контура с двумя перекрестиями, тремя портами подачи реагентов и одним портом удаления продуктов реакции. Ширина и высота каналов в зоне смешения составляла 50 мкм. Сначала с помощью устройства дозирования раствор сульфатов железа (II), железа (III) и оксалата аммония в заданной концентрации непрерывно подавался в порт 3. Одновременно с этим в порт 1 подавался раствор гидрата аммиака. Дополнительный порт 2 использовался при необходимости подачи поверхностно-активных веществ (ПАВ). Первоначально продукты реакции удалялись из порта 5.

Было установлено, что МНЧ в ходе проведения химической реакции оседают на стенках канала, создавая агрегаты, что в узком проходе апертуры приводит к закупориванию канала и сильно затрудняет протекание потоков (рис. 2а). Увеличивая давление, преодолеть закупоривание канала возможно, но в конечном итоге вся его поверхность загрязняется, и проведение синтеза становится невозможным (рис. 2б). Не решает проблему и добавление различных ПАВ (были исследованы добавки Tween 80, ПЭГ 400 и Ecosurf SA-9 в различных количествах). Поэтому было принято решение доработать топологию МФЧ, чтобы устранить проблему закупоривания. Сделано это было путем смещения порта удаления продуктов реакции таким образом, чтобы они удалялись непосредственно из перекрестия, в котором проходила химическая реакция (рис. 2в, порт 4).

Рис. 2. МФЧ с Т-образной топологией при синтезе МНЧ: первоначальное загрязнение (а), полное заполнение (б), рабочая топология (в).

Экспериментально установлено, что синтез идет при давлении подачи смеси сульфатов железа (II), (III), аммония щавеливокислого 12 кПа и гидроксида аммония – 10 кПа.

Исследование физико-химических свойств полученных магнитных наночастиц

Изучение морфологии образцов ПЭМ (рис. 3а) для МНЧ, полученных при помощи МФЧ и в ОР, позволило сделать вывод о приблизительно одинаковых результатах. Образцы состоят из сферических НЧ с размером кристаллитов 15–20 нм и более мелких игольчатых кристаллов, которые, согласно данным рентгенофазового анализа (РФА, рис. 3в, 3г), состоят из магнетита (маггемита) и гетита соответственно.

Анализ распределения частиц по размерам методом динамического рассеяния света (ДРС) показал, что оба образца в водных растворах образуют агрегаты (рис.3.б). При проведении синтеза в ОР образуются частицы двух фракций со средними размерами 135 и 420 нм с индексом полидисперсности 0.356. Микрофлюидный способ синтеза обеспечивает получение МНЧ с одномодальным распределением по размеру и со средним размером агрегатов 190 нм. Индекс полидисперсности составил 0.255.

Для определения фазового состава дополнительно к методу РФА был применен метод спектроскопии ЯГР.

РФА показал в обоих образцах наличие магнетита (маггемита) и гетита. Причем в образце, полученном с использованием ОР, присутствует наибольшее количество различных рефлексов гетита (рис. 3в). В образце, полученном в МФЧ, напротив, присутствует наибольшее количество рефлексов магнетита и/или маггемита (рис. 3г). Согласно базе данных Powder Diffraction File, появление гало в малоугловой области образца ОР связано с образованием соединения $Fe_2O(OH)_3(NO_3)(H_2O)$. По-видимому, это связано со значительно более длительным процессом синтеза по сравнению с МФЧ (порядка 10 мин) и тем фактом, что железо является катализатором окисления аммиака до оксидов азота. Различить между собой фазы этих оксидов железа, имеющих кристаллическую решетку типа шпинели, только по данным РФА без дополнительных методов анализа не всегда возможно [34]. Для количественного определения этих фаз был проведен анализ образцов методом спектроскопии ЯГР (мессбауэровской спектроскопии).

Рис. 3. Морфология и состав МНЧ: ПЭМ-изображения образца МНЧ (а), распределение МНЧ по размерам (б), рентгеновские дифрактограммы образцов МНЧ (в, г), полученные в ОР(в), полученные в МФЧ (г).

С помощью мессбауэровской спектроскопии на поглощение было изучено образование железосодержащих фаз в синтезированных частицах. Для частиц размерами порядка нескольких нанометров, как правило, невозможно использовать метод РФА из-за сильного уширения дифракционных линий, при этом мессбауэровская спектроскопия на изотопе ^{57}Fe является одним из наиболее информативных методов. В табл. 1 приведены результаты обработки экспериментальных спектров измеренных образцов (рис. 4), а также для сравнения параметров кристаллического магнетита, спектр которого приведен на рис. 4а.

Рис. 4. Спектры ЯГР: кристаллический магнетит (а), МНЧ, полученные в ОР (б, в), МНЧ, полученные в МФЧ (г, д), измерения в магнитном поле (в, д), парамагнитная составляющая (■).

Из анализа спектров синтезированных образцов можно сделать вывод, что в спектрах присутствует парамагнитная компонента (в таблице выделена серым фоном). По параметрам изомерного химического сдвига и величине квадрупольного расщепления можно уверенно сказать, что эта компонента соответствует атомам железа в фазе $\beta\text{-FeOOH}$. Разница только в том, что доля этой фазы в образце, полученном в ОР, больше чем в два раза по сравнению с образцом, полученным в МФЧ. Важно отметить, что эта парамагнитная фаза никак не влияет на магнитные свойства синтезированных частиц. Что касается железосодержащих фаз, находящихся в магнитоупорядоченном состоянии, то их доля в образце МФЧ, по-видимому, намного больше. Наличие магнитных подспектров свидетельствует о существовании двух магнитных подрешеток, характерных для магнетита, при этом величины эффективного магнитного поля сверхтонкого взаимодействия H_{eff} несколько занижены. Такое уменьшение поля характерно для

наночастиц магнетита. Увеличенные ширины линий магнитных подспектров для всех образцов свидетельствуют о больших вариациях в локальных окружениях атомов железа и характерны для наноразмерных объектов, а также свидетельствуют о возможном наличии суперпарамагнитной релаксации. Для прояснения причин такого поведения, были проведены дополнительные измерения этих образцов в присутствии постоянного внешнего продольного магнитного поля, создающего индукцию $B = 0.17$ Тл. Однородность магнитного поля в области образца определялась конструкцией магнита и не превышала 5%. Такое магнитное поле должно привести не только к стабилизации магнитного момента частиц, но и исключить влияние суперпарамагнетизма. Уменьшение величин второй и пятой линий в магнитных подспектрах за счет внешнего магнитного поля характеризует возникновение наведенной магнитокристаллической анизотропии частиц.

Спектры образцов, помещенных во внешнее магнитное поле, позволили для образца, полученного в ОР, установить, что в спектре наблюдаются три магнитные подспектра вместо двух: один подспектр соответствует γ - Fe_2O_3 (маггемиту), а два других – двум подрешеткам Fe_3O_4 . Для второго образца МФЧ по-прежнему наблюдаются три магнитные составляющие, две из которых соответствуют двум подрешеткам Fe_3O_4 (соответствует атомам железа в ядре МНЧ), а третья составляющая со сверхтонким полем $B = 39$ Тл и приведенными в табл. 2 параметрами изомерного химического сдвига и квадрупольного расщепления соответствует атомам железа в фазе α - FeOOH . Полученные в работе мессбауэровские параметры железосодержащих фаз хорошо согласуются с литературными данными [35]. Причины заниженных значений химического сдвига для октаэдрических позиций железа в наноразмерных частицах магнетита были подробно рассмотрены в работе [36], где автор объясняет это уменьшением доли Fe^{2+} в этой позиции.

Таблица 1. Результаты обработки экспериментальных спектров образцов

Образец	№ подспектра	IS ± 0.02 (мм/сек)	QS ± 0.03 (мм/сек)	H_{eff} ± 0.2 (Тл)	A ± 0.1 (%)
ОР	I (β -FeOOH)	0.35	0.61	–	49.3
	II (Fe_3O_4 -A)	0.27	0.03	47.2	19.7
	III (Fe_3O_4 -B)	0.40	–0.10	43.2	31.0
МФЧ	I (β -FeOOH)	0.35	0.56	–	15.4
	II (Fe_3O_4 -A)	0.33	0.03	46.7	18.9
	III (Fe_3O_4 -B)	0.37	0.01	43.2	32.7
	IV (α -FeOOH)	0.36	–0.02	36.2	33.0
Fe_3O_4	I (Fe_3O_4 -A)	0.24	0.04	48.5	33.9
	II (Fe_3O_4 -B)	0.69	–0.04	46.1	66.1

Таблица 2. Результаты обработки экспериментальных спектров образцов в присутствии постоянного внешнего продольного магнитного поля индукцией $B = 0.17$ Тл

Образец	№ подспектра	IS ± 0.02 (мм/сек)	QS ± 0.03 (мм/сек)	H_{eff} ± 0.2 (Тл)	A ± 0.1 (%)
ОР+ магнитное поле	I (β -FeOOH)	0.37	0.60	–	47.4
	II (γ - Fe_2O_3)	0.16	–0.28	49.1	7.8
	III (Fe_3O_4 -A)	0.36	0.04	47.3	20.9
	IV (Fe_3O_4 -B)	0.41	0.18	43.5	23.9
МФЧ +магнитное поле	I (β -FeOOH)	0.39	0.61	–	13.8
	II (Fe_3O_4 -A)	0.40	0.08	47.2	21.0
	III (Fe_3O_4 -B)	0.35	–0.16	43.9	31.8
	IV (α -FeOOH)	0.53	0.07	39.0	33.4

Рис. 5. Статическая кривая перемангничивания МНЧ: зависимость удельного магнитного момента (M) от величины поля (H); общий вид (а) и в области слабых полей (б)

Результаты исследования образцов методом вибрационной магнитометрии приведены на рис. 5. Сравнение МНЧ двух типов показало, что при синтезе в МФЧ удельный магнитный момент насыщения ниже ($27 \text{ А}\cdot\text{м}^2/\text{кг}$), чем при синтезе в ОР ($37 \text{ А}\cdot\text{м}^2/\text{кг}$). Возможно, это связано с тем, что частицы, полученные микрофлюидным способом, состоят в основном из смеси магнетита и маггемита, тогда как МНЧ, полученные с использованием ОР, содержат преимущественно стехиометричный магнетит, удельный магнитный момент насыщения которого составляет $92\text{--}94 \text{ А}\cdot\text{м}^2/\text{кг}$, что на $12\text{--}20 \text{ А}\cdot\text{м}^2/\text{кг}$

выше, чем у маггемита [37]. В обоих случаях значение удельного магнитного момента насыщения достаточно для реализации магнитоуправляемой доставки. Так, например, намагниченность насыщения магнитных жидкостей лежит в диапазоне 10–12 А·м²/кг [38]. Коэрцитивная сила образцов составила ~10 Э в случае синтеза в МФЧ и ~30 Э в случае синтеза в ОР, что выше характерных значений для МНЧ на основе оксидов железа при таких размерах кристаллитов [28]. Одним из возможных вариантов объяснения этих результатов, если опираться на более ранние работы авторов по МНЧ Fe_mO_n-SiO₂ [34, 39], может быть влияние магнитостатического взаимодействия между отдельными МНЧ внутри агрегатов. Это предположение согласуется с данными о формировании агрегатов, полученными методом ДРС, и не противоречит наличию МНЧ в парамагнитном (или суперпарамагнитном) состоянии согласно данным спектроскопии ЯГР. Иным возможным объяснением более высоких значений коэрцитивной силы могло бы быть влияние фазы с малым магнитным моментом насыщения, но существенной коэрцитивностью (например, гематита), но согласно данным РФА и спектроскопии ЯГР, а также исходя из ранее полученных авторами результатов (см., например, [34, 39]) и литературных данных [37], такие фазы в составе МНЧ отсутствуют.

Сравнение результатов синтеза в микрофлюидном чипе и в объемном реакторе

Сравнение результатов синтеза МНЧ в МФЧ и в ОР [28] показало, что размер получаемых кристаллитов приблизительно одинаков (табл. 3). При этом исследование среднего гидродинамического диаметра (рис. 3б) показало, что при микрофлюидном синтезе получаются отдельные МНЧ, состоящие из нескольких кристаллитов. При синтезе в ОР формируются агрегаты, средний размер которых может быть различен, а распределение по размеру мультимодально. По данным РФА (рис. 3в, 3г) состав получился идентичным: кристаллические фазы представлены магнетитом (и/или маггемитом) и

FeOОН (в форме гетита и/или акагенита). Дифрактограмма для МНЧ, полученных в МФЧ, характеризуется более высоким уровнем фонового сигнала, что может быть обусловлено большей долей аморфной фазы в составе частиц [39]. Исследования методом спектроскопии ЯГР (рис. 4) показали близкий состав МНЧ, полученных разными способами. Доля магнетита в обоих случаях близка к 50%, остальная фаза – парамагнитная (гетит и/или акагенит). То, что удельный магнитный момент насыщения существенно больше у МНЧ, полученных в ОР, при меньшей доле ферримагнитной фазы (магнетита) в составе частиц, не противоречит данным спектроскопии ЯГР, так как парамагнитный дублет может свидетельствовать и о МНЧ в суперпарамагнитном состоянии, как было ранее показано в наших экспериментах [34]. Предположение о вкладе частиц в суперпарамагнитном состоянии также не противоречит наличию меньшей по размеру фракции МНЧ согласно данным ДРС для частиц, полученных в ОР.

Из этого можно сделать вывод, что получаемые микрофлюидным способом МНЧ более однородны по размеру и химическому составу.

Таблица 3. Сравнительная характеристика МНЧ, полученных разными способами

Характеристика	МФЧ	ОР
Размер кристаллитов, нм	15±5	15±5
Средний гидродинамический диаметр, нм	190	135/420
Состав по РФА	Магнетит (маггемит) и FeOОН (гетит и/или акагенит)	Магнетит (маггемит) и FeOОН (гетит и/или акагенит)
Состав по спектроскопии ЯГР	Парамагнитная составляющая — 48.4% Fe ₃ O ₄ — 51.6%	Парамагнитная составляющая — 49.3% Fe ₃ O ₄ — 50.7%
Удельный магнитный момент насыщения, А·м ² /кг	27.0	37.0
Коэрцитивная сила, Э	10.0	30.0

Исследование гемолитической активности полученных суспензий наночастиц

Поскольку согласно ранее полученным результатам МНЧ, синтезированные с использованием ОР, гемолитической активностью не обладают [28], исследовалась гемолитическая активность МНЧ, синтезированных в МФЧ. Результаты измерения и расчета гемолитической активности приведены в табл. 4. Как и МНЧ, синтезированные с использованием ОР, частицы, полученные в МФЧ, не обладают выраженной гемолитической активностью, то есть являются гемосовместимыми и могут применяться в биомедицине для доставки лекарств, гипертермии опухолей и других задач.

В некоторых случаях были получены отрицательные значения коэффициента гемолиза. Это можно объяснить тем, что в отрицательном контроле, как и в крови, содержится некоторое количество свободного гемоглобина, а синтезированные МНЧ способны его адсорбировать. Этот факт может быть использован на практике.

Таблица 4. Интенсивность поглощения образцами разных концентраций

Время, ч	Объем крови, мл	Объем раствора, мл	Концентрация МНЧ, мг/мл	Интенсивность поглощения на длине волны 415 нм		Коэффициент гемолиза, %	
				Донор 1	Донор 2	Донор 1	Донор 2
1	0.5	0.5	0.25	0.0637	0.0171	-0.62	-1.53
	0.5	0.5	0.5	0.0326	0.0833	-1.33	-0.03
	0.5	0.5	1	0.0368	0.0592	-1.23	-0.58
	0.5	0.5	2	0.0693	0.0924	-0.50	0.17
	0.5	0.5	0 (ФР)	0.0912	0.0848	0	0
	0.5	0.5	0 (вода)	4.4966	4.496	100	100
2	0.5	0.5	0.25	0.0441	0.0553	-1.46	-0.08
	0.5	0.5	0.5	0.0491	0.0994	-1.35	0.91
	0.5	0.5	1	0.0878	0.0643	-0.47	0.12
	0.5	0.5	2	0.0773	0.1082	-0.71	1.11
	0.5	0.5	0 (ФР)	0.1083	0.059	0	0
	0.5	0.5	0 (вода)	4.496	4.496	100	100
4	0.5	0.5	0.25	0.0887	0.0504	-0.49	-0.53
	0.5	0.5	0.5	0.0728	0.0707	-0.85	-0.07
	0.5	0.5	1	0.1020	0.0369	-0.18	-0.84
	0.5	0.5	2	0.0756	0.0523	-0.78	-0.49
	0.5	0.5	0 (ФР)	0.1100	0.0739	0	0
	0.5	0.5	0 (вода)	4.4974	4.4974	100	100
24	0.5	0.5	0.25	0.0662	0.0770	-0.77	-0.02
	0.5	0.5	0.5	0.0453	0.0583	-1.25	-0.44
	0.5	0.5	1	0.0625	0.0544	-0.86	-0.53
	0.5	0.5	2	0.1037	0.0969	0.08	0.43
	0.5	0.5	0 (ФР)	0.1001	0.0778	0	0
	0.5	0.5	0 (вода)	4.4956	4.4956	100	100

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнение формы, размеров, фазового состава и магнитных (гистерезисных) характеристик полученных МНЧ с результатами, описанными в публикациях по микрофлюидному синтезу подобных объектов, позволило сделать следующие выводы. Занижение намагниченности (удельного магнитного момента) насыщения может быть обусловлено выбранным соотношением между потоками осадителя (гидроксид натрия, гидроксид аммония и др.) и прекурсоров (обычно – хлоридов железа (II) и железа (III) [40, 41, 42] или комбинации хлорида железа (III) и сульфата железа (II) [41, 42]), а также

температурой процесса [43]. Значение коэрцитивной силы полученных МНЧ завышено относительно характерных значений для кристаллитов оксида железа размерами порядка 10–20 нм. Так как фазы с малым удельным магнитным моментом и высокой коэрцитивностью в составе МНЧ отсутствуют, это может быть обусловлено магнитостатическим взаимодействием между собой отдельных кристаллитов оксида железа. Экспериментально установлено, что в идентичных условиях синтез МНЧ в микрофлюидном реакторе обеспечивает лучшие однородность по размерам и магнитные характеристики, чем синтез в ОР [40]. При этом средний размер частиц может варьироваться в более широком диапазоне – от единиц [44] до десятков [43] нанометров, и во многом определяется значением pH в реакционной среде [41]. Таким образом, можно сделать предположение о необходимости обеспечения контроля в реальном времени температуры процесса, pH реакционной среды и состава газовой среды в условиях масштабируемого микрофлюидного синтеза [42], подобных достигнутым ранее при проведении синтеза МНЧ в ОР.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 24-25-00056).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Park K.* Facing the truth about nanotechnology in drug delivery // *ACS Nano*. 2013. V. 7. № 9. P. 7442–7447. <https://doi.org/10.1021/nm404501g>
2. *Liu D., Zhang H., Fontana F. et al.* Current developments and applications of microfluidic technology toward clinical translation of nanomedicines // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2018. V. 128. P. 54–83. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.08.003>
3. *Juliano R.* Nanomedicine: Is the wave cresting? // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013. V. 12. №3. P. 171–172. <https://doi.org/10.1038/nrd3958>
4. *Liu D., Zhang H., Fontana F. et al.* Microfluidic-assisted fabrication of carriers for controlled drug delivery // *Lab. Chip*. 2017. V. 17. №11. P. 1856–1883. <https://doi.org/10.1039/c7lc00242d>
5. *Makarshin L.L., Pai Z.P., Parmon V.N.* Microchannel systems for fine organic synthesis // *Russ. Chem. Rev.* 2016. V. 85. №2. P. 139–155. <https://doi.org/10.1070/RCR4484>
6. *Martins J.P., Torrieri G., Santos H.A.* The importance of microfluidics for the preparation of nanoparticles as advanced drug delivery systems // *Expert Opin Drug Deliv.* 2018. V. 15. № 5. P. 469–479. <https://doi.org/10.1080/17425247.2018.1446936>
7. *Song Y., Hormes J., Kumar C.S.* Microfluidic synthesis of nanomaterials // *Small*. 2008. V. 4. № 6. P. 698–711. <https://doi.org/10.1002/sml.200701029>
8. *Gonçalves I.M., Carvalho V., Rodrigues R.O. et al.* Organ-on-a-Chip Platforms for Drug Screening and delivery in tumor cells: A systematic review // *Cancers*. 2022. V. 14. № 4. P. 935. <https://doi.org/10.3390/cancers14040935>
9. *El-Housiny S., Shams Eldeen M.A., El-Attar Y.A. et al.* Fluconazole-loaded solid lipid nanoparticles topical gel for treatment of pityriasis versicolor: formulation and clinical study // *Drug Deliv.* 2018. V. 25. № 1. P. 78–90. <https://doi.org/10.1080/10717544.2017.1413444>

10. *Millstone J.E., Kavulak D.F., Woo C.H. et al.* Synthesis, properties, and electronic applications of size-controlled poly(3-hexylthiophene) nanoparticles // *Langmuir*. 2010. V. 26. № 16. P. 13056–13061. <https://doi.org/10.1021/la1022938>
11. *Arroyo G.V., Madrid A.T., Gavilanes A.F. et al.* Green synthesis of silver nanoparticles for application in cosmetics // *J. Environ. Sci. Health. Part A*. 2020. V. 55. № 11. P. 1304–1320. <https://doi.org/10.1080/10934529.2020.1790953>
12. *Gao Y., Wu Y., Lu H. et al.* CsPbBr₃ perovskite nanoparticles as additive for environmentally stable perovskite solar cells with 20.46% efficiency // *Nano Energy*. 2019. V. 59. P. 517–526. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2019.02.070>.
13. *Lin Ch.H., Lee G.B, Lin Y.H., Chang G.L.* A fast prototyping process for fabrication of microfluidic systems on soda-lime glass // *J. Micromech. Microeng.* 2000. V. 11. P. 726. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/11/6/316>
14. *van Poll M.L., Zhou F., Ramstedt M. et al.* A self-assembly approach to chemical micropatterning of poly(dimethylsiloxane) // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007. V. 46. № 35. P. 6634–6637. <https://doi.org/10.1002/anie.200702286>
15. *Berthier E., Young E.W., Beebe D.* Engineers are from PDMS-land, Biologists are from Polystyrenia // *Lab. Chip*. 2012. V. 12. № 7. P. 1224–1237. <https://doi.org/10.1039/c2lc20982a>
16. *Merkel T.C., Bondar V.I., Nagai K. et al.* Gas sorption, diffusion, and permeation in poly(dimethylsiloxane) // *Journal of Polymer Science Part B*. 2000. V. 38. № 3. P. 415–434. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0488\(20000201\)38:3<415::AID-POLB8>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0488(20000201)38:3<415::AID-POLB8>3.0.CO;2-Z)
17. *Kuddannaya S., Bao J., Zhang Y.* Enhanced in vitro biocompatibility of chemically modified poly(dimethylsiloxane) surfaces for stable adhesion and long-term investigation of brain cerebral cortex cells // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2015 V. 7. № 45. P. 25529–25538. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b09032>

18. *Cho H., Lee D., Hong S. et al.* Surface modification of ZrO₂ nanoparticles with TEOS to prepare transparent ZrO₂@SiO₂-PDMS nanocomposite films with adjustable refractive indices // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. № 14. P. 2328. <https://doi.org/10.3390/nano12142328>
19. *Johnston I.D., Tracey M.C., Davis J.B., Tan C. K.L.* Micro throttle pump employing displacement amplification in an elastomeric substrate // *J. Micromech. Microeng.* 2005. V. 15. P. 1831. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/15/10/007>
20. *Dardouri M., Bettencourt A., Martin V. et al.* Using plasma-mediated covalent functionalization of rhamnolipids on polydimethylsiloxane towards the antimicrobial improvement of catheter surfaces // *Biomater. Adv.* 2022. V. 134. P. 112563. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112563>
21. *Kumar R., Kumar Sahani A.* Role of superhydrophobic coatings in biomedical applications // *Materials Today: Proceedings*. 2021. V. 45. P. 5655–5659. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.457>
22. *Wu X., Kim S.H., Ji C.H., Allen M.G.* A solid hydraulically amplified piezoelectric microvalve // *J. Micromech. Microeng.* 2011. V. 21. P. 095003. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/21/9/095003>
23. *Bozukova D., Pagnouille C, Jérôme R, Jérôme C.* Polymers in modern ophthalmic implants—Historical background and recent advances // *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2010. V. 69. I. 6. P. 63–83. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2010.05.002>
24. *Chen W., Lam R. H., Fu J.* Photolithographic surface micromachining of polydimethylsiloxane (PDMS) // *Lab Chip*. 2012. V. 12. № 2. P. 391–395. <https://doi.org/10.1039/c1lc20721k>
25. *Weibel D.B., Diluzio W.R., Whitesides G.M.* Microfabrication meets microbiology // *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. V. 5. № 3. P. 209–218. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1616>
26. *Kulkarni M.B., Goel S.* Microfluidic devices for synthesizing nanomaterials—A review // *Nano Express*. 2020. V. 1. № 3. P. 032004. <https://doi.org/10.1088/2632-959X/abcca6>

27. Kumar K., Nightingale A.M., Krishnadasan S.H. *et al.* Direct synthesis of dextran-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles in a capillarybased droplet reactor // *J. Mater. Chem.* 2012. V. 22. № 11. P. 4704–4708. <https://doi.org/10.1039/c2jm30257h>
28. Toropova Y.G., Golovkin A.S., Malashicheva A.B. *et al.* In vitro toxicity of Fe_mO_n , Fe_mO_n - SiO_2 composite, and SiO_2 - Fe_mO_n core-shell magnetic nanoparticles // *Int. J. Nanomedicine.* 2017. V. 12. P. 593–603. <https://doi.org/10.2147/IJN.S122580>
29. Ivanov S., Trachevskii V., Stolyarova N., Zozulya L.A. Plasmochemical modification of polymer surfaces // *Russian Journal of Applied Chemistry.* 2006. V. 79. P. 445–447. <https://doi.org/10.1134/S1070427206030220>
30. Kim D.N.H., Kim K.T., Kim C. *et al.* Soft lithography fabrication of index-matched microfluidic devices for reducing artifacts in fluorescence and quantitative phase imaging // *Microfluid Nanofluidics.* 2018. V. 22. № 1. P. 2. <https://doi.org/10.1007/s10404-017-2023-3>
31. Costa P.F., Albers H.J., Linssen J.E.A. *et al.* Mimicking arterial thrombosis in a 3D-printed microfluidic in vitro vascular model based on computed tomography angiography data // *Lab Chip.* 2017. V. 17. № 16. P. 2785–2792. <https://doi.org/10.1039/c7lc00202e>
32. Prabhakar A., Agrawal M., Mishra N. *et al.* Cost-effective smart microfluidic device with immobilized silver nanoparticles and embedded UV-light sources for synergistic water disinfection effects // *RSC Adv.* 2020. V. 10. № 30. P. 17479–17485. <https://doi.org/10.1039/d0ra00076k>.
33. Lopez C., Oza G., Casanova-M. J. *et al.* A Proposal to Develop a Microfluidic Platform with GMR Sensors and the Use of Magnetic Nanoparticles in Order to Detect Cancerous Cells // Preliminary experimentation. 2019 Global Medical Engineering Physics Exchanges/ Pan American Health Care Exchanges (GMEPE/PAHCE). Buenos Aires. Argentina. 2019. P. 1–5. <https://doi.org/10.1109/GMEPE-PAHCE.2019.8717341>

34. *Kharitonskii P., Kamzin A., Gareev K. et al.* Magnetic granulometry and Mössbauer spectroscopy of $\text{Fe}_m\text{O}_n\text{-SiO}_2$ colloidal nanoparticles // *J. Magn. Magn. Mater.* 2018. V. 461. P. 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2018.04.044>
35. *Kuzmann E, Nagy S, Vértes A.* Critical review of analytical applications of Mössbauer spectroscopy illustrated by mineralogical and geological examples (IUPAC Technical Report) // *Pure and Applied Chemistry.* 2003. V. 75. № 6. P. 801–858. <https://doi.org/10.1351/pac200375060801>
36. *Суздаев И.П.* Электрические и магнитные переходы в нанокластерах и наноструктурах. Москва: URSS: КРАСАНД, 2012. 474 с
37. *Gareev K.G.* Diversity of iron oxides: Mechanisms of formation, physical properties and applications // *Magnetochemistry.* 2023. V. 9. № 5. P. 119. <https://doi.org/10.3390/magnetochemistry9050119>
38. *Mehta R.V., Upadhyay R.V., Dasannacharya B.A. et al.* Magnetic properties of laboratory synthesized magnetic fluid and their temperature dependence // *J. Magn. Magn. Mater.* 1994. V. 132. № 1–3. P. 153–158. [https://doi.org/10.1016/0304-8853\(94\)90309-3](https://doi.org/10.1016/0304-8853(94)90309-3)
39. *Kharitonskii P.V., Gareev K.G., Ionin S.A. et al.* Microstructure and magnetic state of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ colloidal particles // *Journal of Magnetism.* 2015. V. 20. № 3. P. 221–228. <https://doi.org/10.4283/JMAG.2015.20.3.221>
40. *Thu V.T., Mai A.N., Van Trung H. et al.* Fabrication of PDMS-based microfluidic devices: Application for synthesis of magnetic nanoparticles // *Journal of Electronic Materials.* 2016. V. 45. P. 2576–2581. <https://doi.org/10.1007/s11664-016-4424-6>
41. *Bemetz J., Wegemann A., Saatchi K. et al.* Microfluidic-Based Synthesis of Magnetic nanoparticles coupled with miniaturized NMR for online relaxation studies // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. № 16. P. 9975–9982. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b02374>
42. *Fuentes O.P., Cruz J.C., Mignard E. et al.* Life cycle assessment of magnetite production using

microfluidic devices: Moving from the laboratory to industrial scale // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2023. V. 11. № 18. P. 6932–6943.

<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.2c06875>

43. Zou L., Huang B., Zheng X. *et al.* Microfluidic synthesis of magnetic nanoparticles in droplet-based microreactors // Materials Chemistry and Physics. 2021. V. 276. P. 125384.

<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.125384>

44. Chircov C., Dumitru I.A., Vasile B.S. *et al.* Microfluidic synthesis of magnetite nanoparticles for the controlled release of antibiotics // Pharmaceutics. 2023. V. 15. № 9. P. 2215.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15092215>

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ

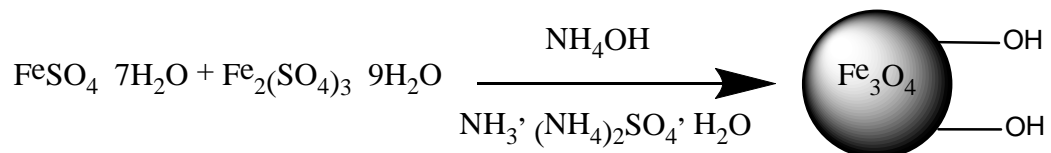
Рис. 1. Микрофлюидный синтез МНЧ. Схема синтеза МНЧ (а) и экспериментальная установка (б): безмасляный компрессор (1), входной датчик давления (2), регуляторы давления в каналах дозатора (3–6); выходные датчики давления в каналах (7–10), микрофлюидный чип (11); микроконтроллер (12); микроскоп (13); персональный компьютер (14).

Рис. 2. МФЧ с Т-образной топологией при синтезе МНЧ: первоначальное загрязнение (а), полное заполнение (б), рабочая топология (в).

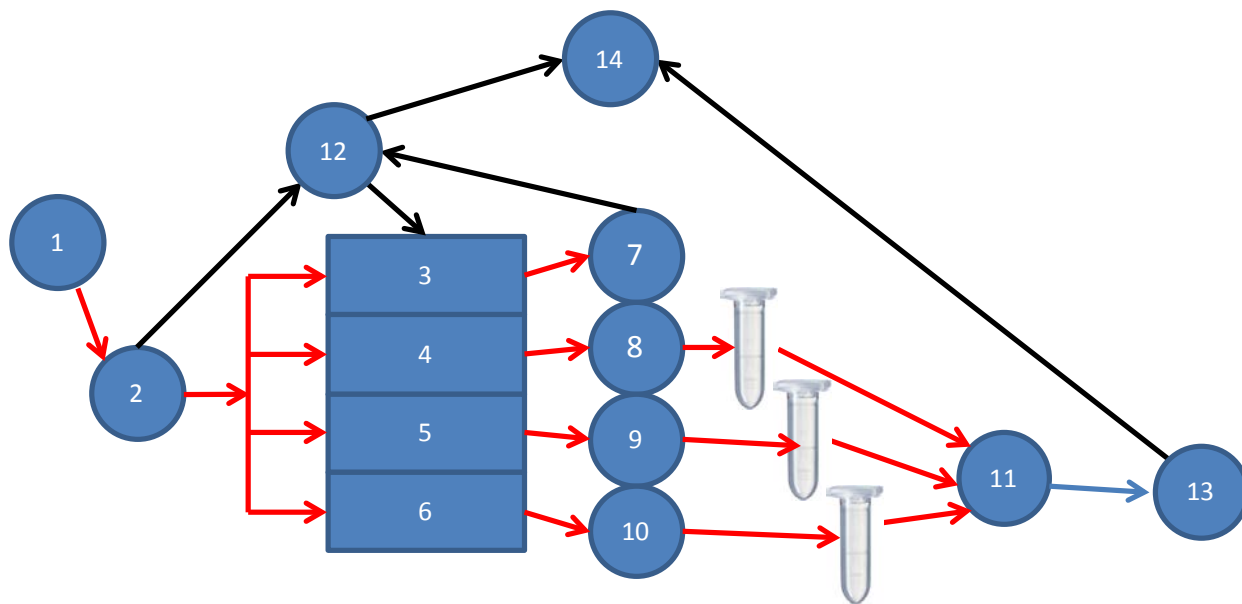
Рис. 3. Морфология и состав МНЧ: ПЭМ-изображения образца МНЧ (а), распределение МНЧ по размерам (б), рентгеновские дифрактограммы образцов МНЧ (в, г), полученные в ОР(в), полученные в МФЧ (г).

Рис. 4. Спектры ЯГР: кристаллический магнетит (а), МНЧ, полученные в ОР (б, в), МНЧ, полученные в МФЧ (г, д), измерения в магнитном поле (в, д), парамагнитная составляющая (■).

Рис. 5. Статическая кривая перемангничивания МНЧ: зависимость удельного магнитного момента (M) от величины поля (H); общий вид (а) и в области слабых полей (б).

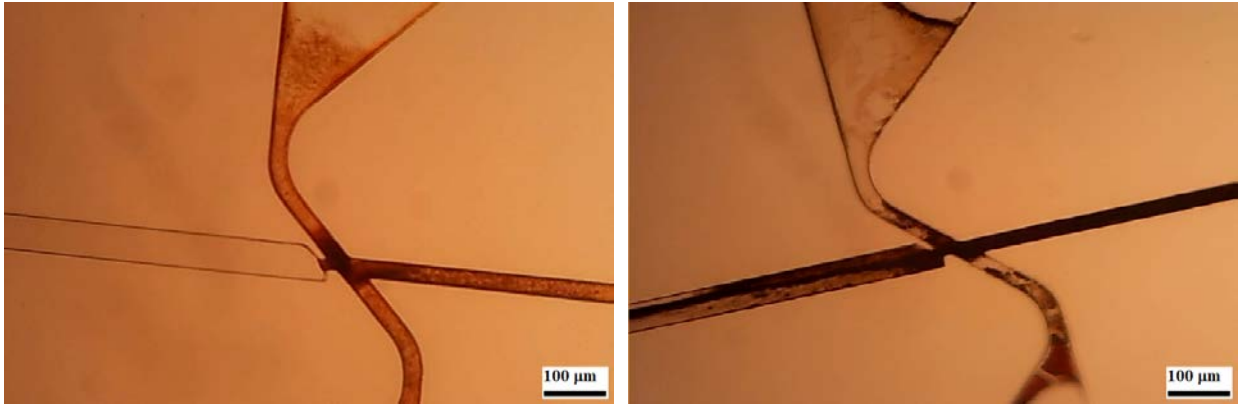


(a)



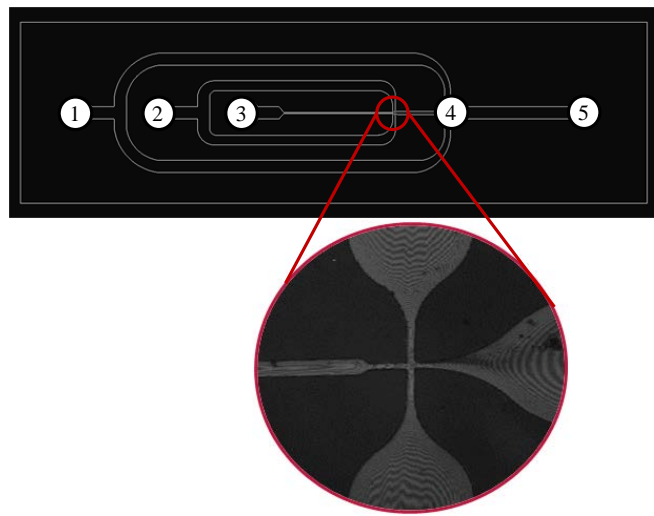
(б)

Рисунок 1. Никифоров



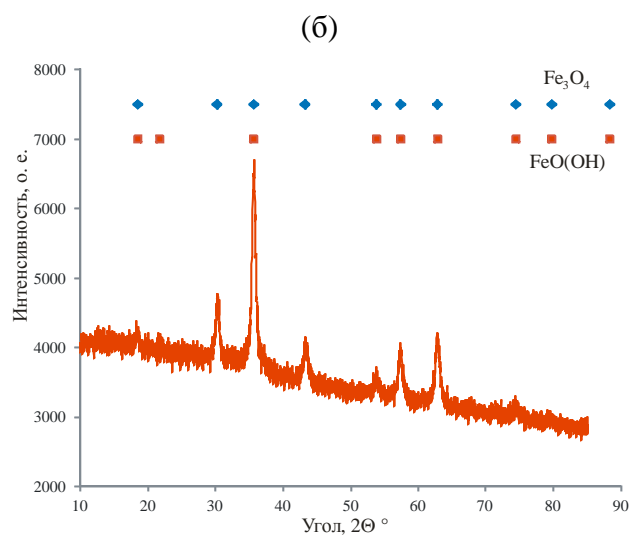
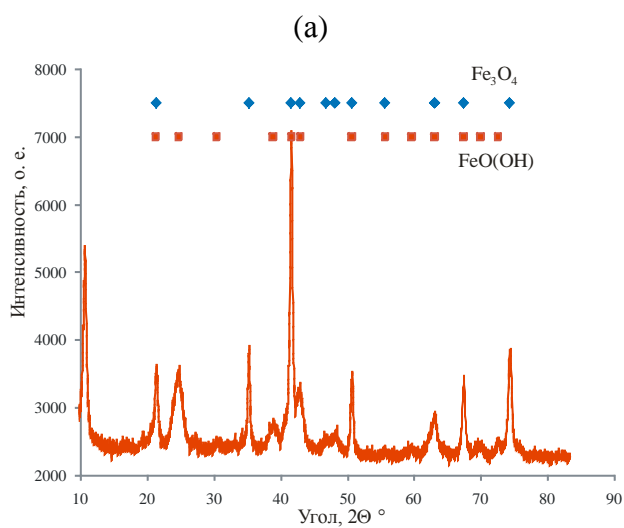
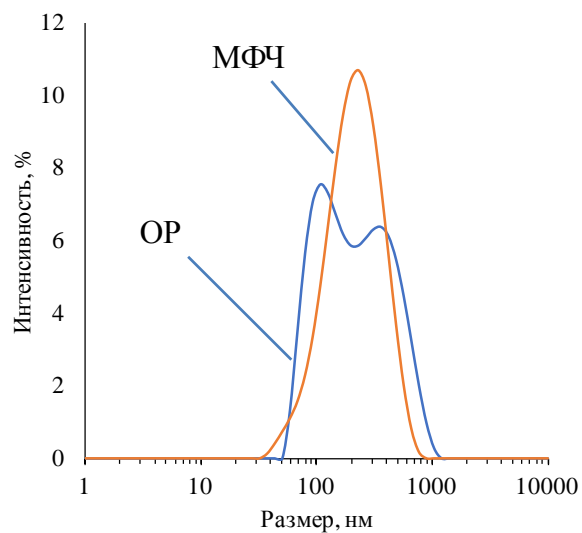
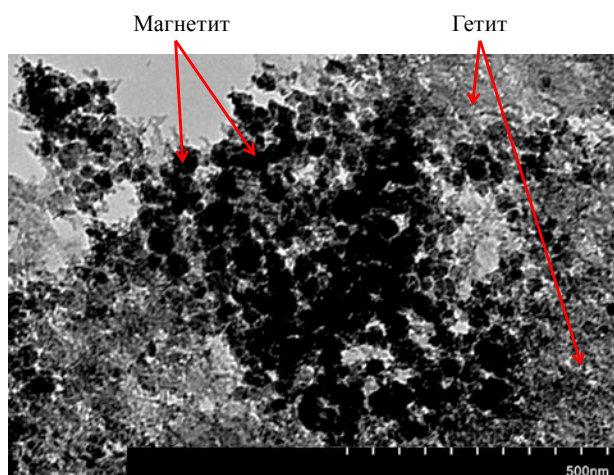
(a)

(б)



(в)

Рисунок 2. Никифоров



(в)

(г)

Рисунок 3. Никифоров

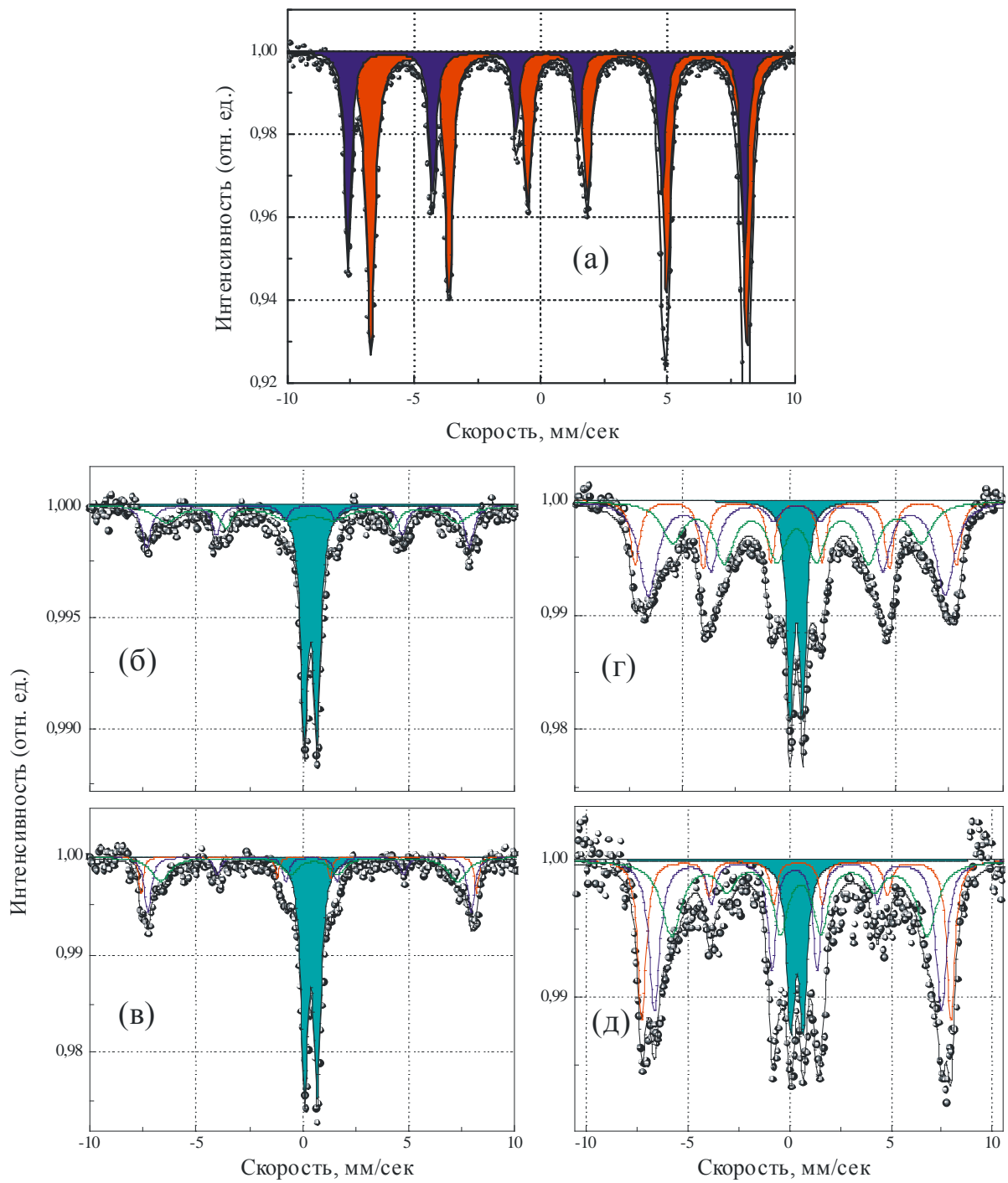
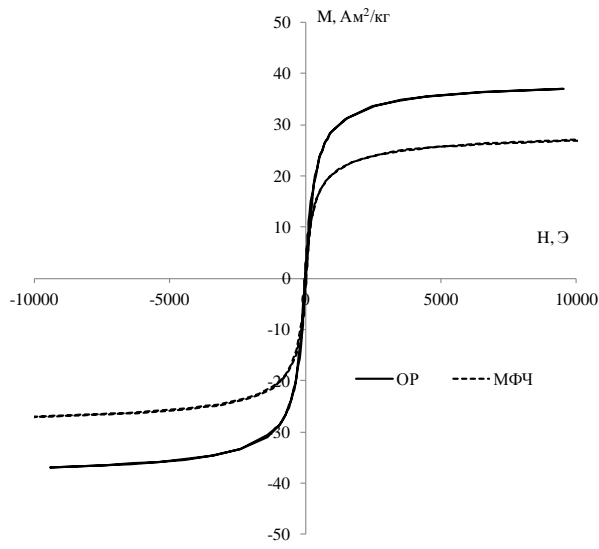
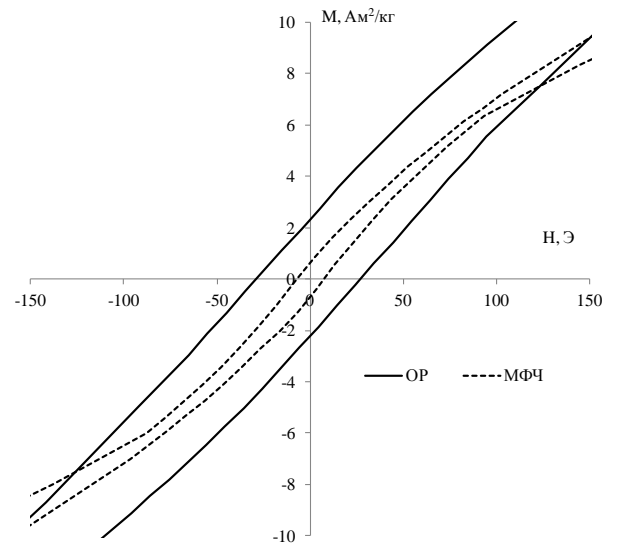


Рисунок 4. Никифоров



(a)



(б)

Рисунок 5. Никифоров