

TỔNG HỢP HẠT NANO SIÊU THUẬN TỪ Fe_3O_4 VÀ QUI TRÌNH PHỦ LỚP VỎ TRÊN HẠT NANO Fe_3O_4

Dương Hiếu Đầu¹, Lâm Văn Ngoán², Lê Minh Tùng³ và Trần Hoàng Hải⁴

ABSTRACT

The magnetite nanoparticle coated with SiO_2 were synthesized by co-precipitation method. This nanoparticle has the spherical form with 20 nm size and saturated magnetization at 57 emu/g. The Magnetite nanoparticle ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$) were crusted with GPTMS for enhancing adhesion of nanoparticle with antibodies in other to get early diagnosis for cancer treatment more efficient.

Keywords: Magnetite nanoparticle, Co-precipitation method, Antibodies

Title: Synthesizing super paramagnetic nanoparticle Fe_3O_4 and crusting procedure

TÓM TẮT

Hạt nano ôxit sắt từ bọc SiO_2 được tổng hợp theo phương pháp đồng kết tủa với phân tử hình cầu có kích thước hạt khoảng 20 nm, độ từ hóa bão hòa khá cao (khoảng 57 emu/g). Hạt nano từ ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$) được phủ lớp vỏ GPTMS tăng cường khả năng kết dính của hạt với các kháng thể để góp phần chẩn đoán sớm và chính xác các bệnh ung thư nhằm điều trị bệnh được hiệu quả hơn.

Từ khóa: Hạt nano từ, Phương pháp đồng kết tủa, Kháng thể

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Hạt nano từ đã được quan tâm nghiên cứu vì khả năng ứng dụng của chúng trong nhiều lĩnh vực kỹ thuật và đời sống như làm bộ nhớ dung lượng cao, (Tran Hoang Hai và CCS; 2003), mực in từ tính (Peikov, V. T; 1999); ... Đặc biệt trong lĩnh vực sinh y học, hạt nano giả sinh học có thể dùng để chẩn đoán và điều trị các bệnh nan y như ung thư (Tran Hoang Hai and Masanori Abe; 2004), phân phối thuốc đến đúng các mô bị bệnh trong cơ thể để tiêu diệt mầm bệnh (Fricker J. ; 2001), làm chất tương phản trong phép chụp ảnh cộng hưởng từ để chẩn đoán chính xác các cơ quan bị bệnh (Coroiu, I.; 1999), Công nghệ chế tạo các hạt nano từ rất đa dạng, tùy theo yêu cầu và mục đích sử dụng của chúng là nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, hay trên cơ thể người từ đó mà xác lập các thông số như kích thước, hình dạng, các tính chất từ, tính độc hại và độ bền cơ học của hạt.... Trong nghiên cứu này, chúng tôi chi tiết quá trình chế tạo hạt nano siêu thuận từ Fe_3O_4 và quá trình phủ các lớp vỏ trên bề mặt hạt để làm vật liệu sử dụng trong phép chẩn đoán sớm bệnh viêm gan siêu vi C và ung thư gan thời kỳ đầu.

¹ Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

² Lớp Cao học Vật lý kỹ thuật K15, Trường Đại học Cần Thơ

³ Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Tiền Giang

⁴ Phân Viện Vật lý, TP Hồ Chí Minh

1.1 Đặc tính của hạt nano siêu thuận từ

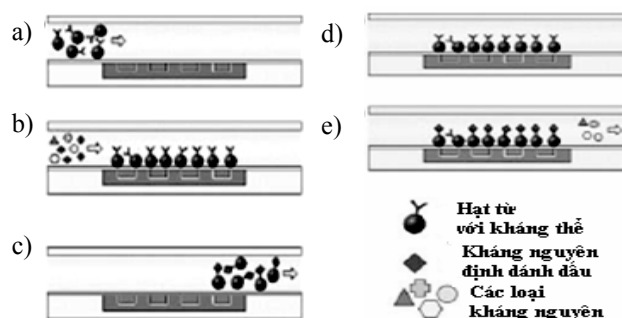
Nếu kích thước của hạt giảm đến một giá trị ngưỡng (từ vài chục đến vài trăm nm tùy vào loại phân tử cụ thể), thì tính sắt từ biến mất, chuyển động nhiệt thắng thế, vật liệu trở thành siêu thuận từ, khi đó từ dư và lực kháng từ bằng không. Điều đó có nghĩa là, nếu ngừng tác động của từ trường ngoài, vật liệu sẽ không còn từ tính nữa, đây là đặc tính quan trọng khi dùng hạt nano siêu thuận từ cho ứng dụng y sinh học.

Thực tế, người tạo ra các dung dịch chứa các hạt nano từ gọi là chất lỏng từ, bên trong có ba thành phần: hạt nano từ, chất hoạt hóa bề mặt và dung môi. Hạt nano từ là thành phần duy nhất quyết định tính chất từ, chất hoạt hóa bề mặt có tác dụng làm cho hạt nano phân tán trong dung môi, tránh kết tụ lại với nhau ngay khi có mặt của từ trường ngoài.

1.2 Ứng dụng hạt nano từ trong chẩn đoán y học

Hiện nay thế giới quan tâm nhiều đến việc ứng dụng hạt nano từ để chuẩn đoán và điều trị bệnh nhất là các căn bệnh ung thư. Các công trình liên quan có thể liệt kê là sử dụng hạt nano từ để chẩn đoán ung thư cổ tử cung (Wolfgang Meschede và CCS; 1998), cúm gia cầm H5N1 (Juergen Pipper và CCS; 2007), viêm gan siêu vi B, siêu vi C (Wang YF và CCS; 2003)... Tuy nhiên, việc ứng dụng thực tế còn hạn hẹp do công nghệ chế tạo hạt nano theo yêu cầu mong muốn chưa hoàn thiện. Để tăng tính tương thích sinh học, các hạt nano được bao phủ bởi một loại hóa chất có tính phù hợp sinh học như là dextran, polyvinyl alcohol (PVA), ...

Kháng thể (*antibody*) là các phân tử immunoglobulin (bản chất glycoprotein), do các tế bào lympho B cũng như các tương bào tiết ra để hệ miễn dịch nhận biết và vô hiệu hóa các tác nhân lạ, chẳng hạn các vi khuẩn hoặc virus. Mỗi kháng thể chỉ nhận diện một kháng nguyên duy nhất. Liên kết giữa kháng thể và kháng nguyên, tương tự như giữa enzyme và cơ chất, có tính thuận nghịch. Liên kết mạnh hay yếu tùy vào số lượng liên kết và độ đặc hiệu giữa vùng nhận diện kháng nguyên trên kháng thể và cấu trúc kháng nguyên tương ứng. Như vậy mỗi kháng nguyên sẽ tương ứng với một loại tế bào bệnh do vi khuẩn hay virus gây ra và chỉ liên kết với một kháng thể tương ứng. Việc cấy các kháng thể lên bề mặt các hạt nano từ có thể giúp cho việc sử dụng từ trường để tăng nồng độ các kháng thể và do đó tăng được nồng độ của các kháng nguyên giúp cho việc chẩn đoán dịch bệnh được thực hiện chính xác.



Hình 1: Đính các kháng thể lên các hạt từ để chẩn đoán bệnh

Quá trình khuếch đại nồng độ được thực hiện nhờ một gradient từ trường ngoài, tạo một lực hút lên các hạt nano từ tính có mang các tế bào được dính các kháng nguyên. Các tế bào không được dính sẽ bị đẩy và thoát ra ngoài.

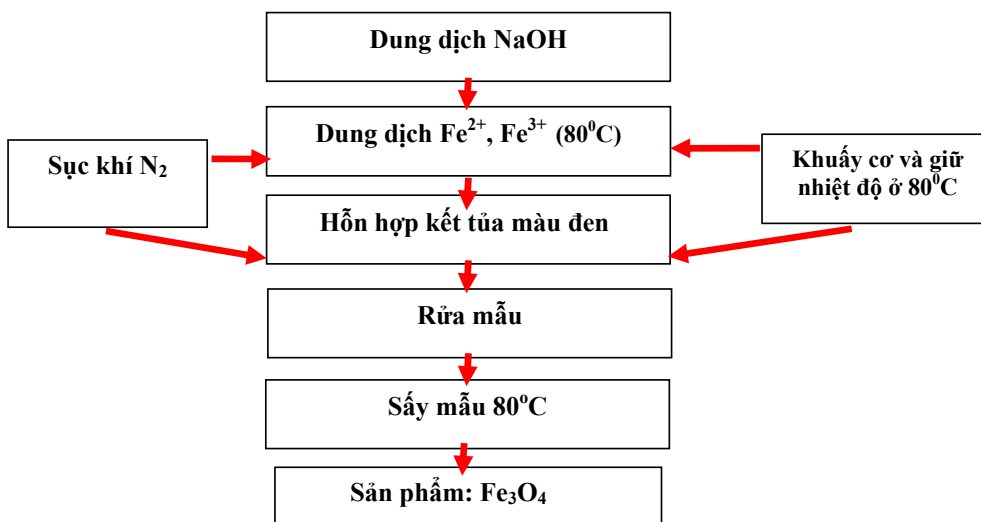
2 QUY TRÌNH TỔNG HỢP CÁC HẠT NANO TỪ VÀ CÁC LỚP BỌC

2.1 Tổng hợp hạt nano ôxít sắt từ Fe_3O_4 bằng phương pháp đồng kết tủa

Cho hỗn hợp muối sắt $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ và $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ theo tỉ lệ mol là 1:2 vào bình cầu chứa 50ml nước khử ion. Khuấy hỗn hợp này bằng máy cơ với tốc độ 1000 vòng/phút, trong quá trình khuấy ta nâng nhiệt độ của dung dịch muối lên 80°C và liên tục sục khí N_2 cho đến khi kết thúc quá trình tạo hạt.

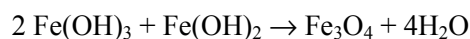
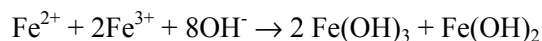
Khi đạt nhiệt độ (80°C), cho dung dịch NaOH vào dung dịch hỗn hợp trên với tỉ lệ mol $8\text{OH}^- : 1\text{Fe}^{2+} : 2\text{Fe}^{3+}$ đến khi có sự chuyển màu từ cam sang nâu và cuối cùng là màu đen. Để phản ứng xảy ra hoàn toàn cần tiếp tục giữ nhiệt độ trên 80°C và khuấy hỗn hợp khoảng một giờ.

Các hạt nano siêu thuận từ thu được bằng cách đổ dung dịch trên vào cốc và đặt trên một nam châm vĩnh cửu, nó có tác dụng giữ các hạt lại khi rửa mẫu. Sau đó tiếp tục cho nước khử ion vào và khuấy 5 phút rồi đặt lên nam châm vĩnh cửu, thao tác được lặp lại như cũ, tiếp tục rửa khoảng 6 lần với nước khử ion để loại bỏ hết dung dịch muối. Việc loại bỏ dung dịch muối ra khỏi hạt nano siêu thuận từ là rất quan trọng, vì nếu không, muối bám lên trên hạt sẽ cản trở các quá trình phủ lớp vỏ sinh học. Suốt quá trình chế tạo, phải luôn sục khí N_2 để chống sự ôxy hóa.



Hình 2: Quy trình tổng hợp hạt từ Fe_3O_4

Quá trình tạo hạt nano từ được biểu diễn theo phương trình phản ứng sau:

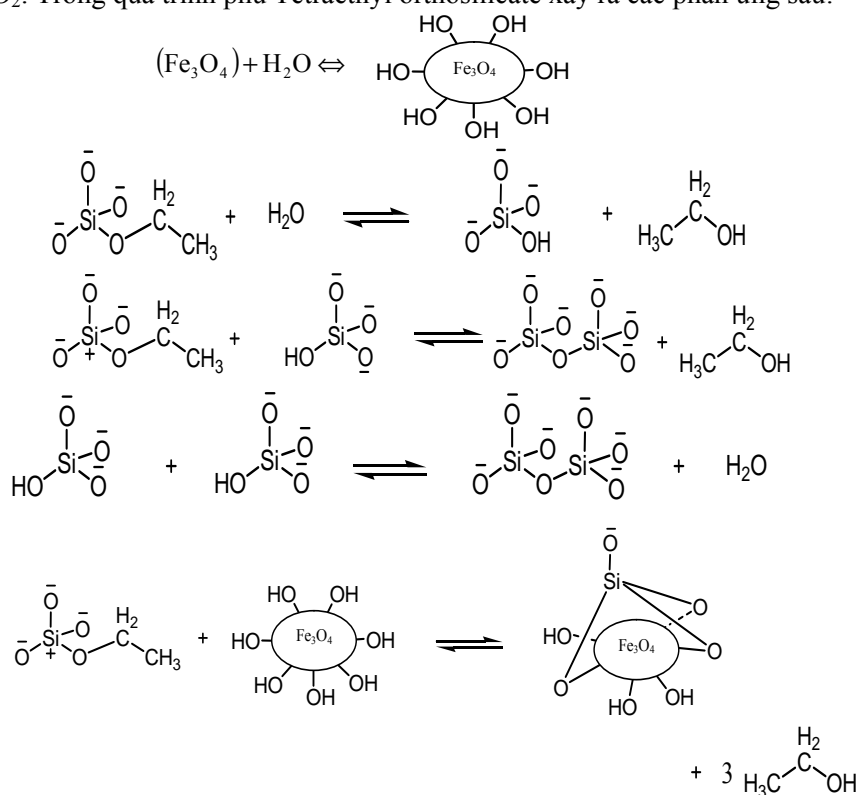


Sấy mẫu ở 80°C ta thu được hạt từ Fe_3O_4 . Quy trình được mô tả ở hình 2

Để có được mẫu tốt nhất, sự tổng hợp được thực hiện trên 50 mẫu hạt từ Fe_3O_4 theo các nồng độ dung dịch NaOH biến thiên từ 1M đến 5M. Qua khảo sát định tính cho thấy, mẫu hạt nano từ tổng hợp với dung dịch NaOH nồng độ 2M là có chất lượng tốt nhất.

2.2 Tổng hợp hạt nano từ lõi Fe_3O_4 được phủ lớp vỏ SiO_2

Hạt nano từ được pha với nước, etanol và amoniac theo tỉ lệ 1:50:10:30 về khối lượng, sau đó được đưa qua bộ rung siêu âm hoạt động trong 40 phút để hạt nano phân tán đều. Hỗn hợp trên được khuấy bằng động cơ với tốc độ 1000 vòng/phút; Tetraethyl orthosilicate được cho từ từ vào dung dịch theo tỉ lệ khối lượng của Tetraethyl orthosilicate với hỗn hợp là 1:450, hệ được khuấy tiếp trong 9 giờ. SiO_2 được tạo thành trên bề mặt các hạt nano Fe_3O_4 thông qua sự thủy phân và ngưng tụ Tetraethyl orthosilicate. Hạt nano từ Fe_3O_4 đã phủ lớp SiO_2 được thu nhận trong cốc và được rửa sạch giống như qui trình rửa hạt nano siêu thuận từ Fe_3O_4 . Hạt nano sau khi rửa sạch và sấy khô ở 120°C (khoảng 7 giờ) được tiếp tục ủ ở 600°C trong thời gian 12 giờ, sản phẩm thu được là hạt nano siêu từ Fe_3O_4 có lớp phủ SiO_2 . Trong quá trình phủ Tetraethyl orthosilicate xảy ra các phản ứng sau:



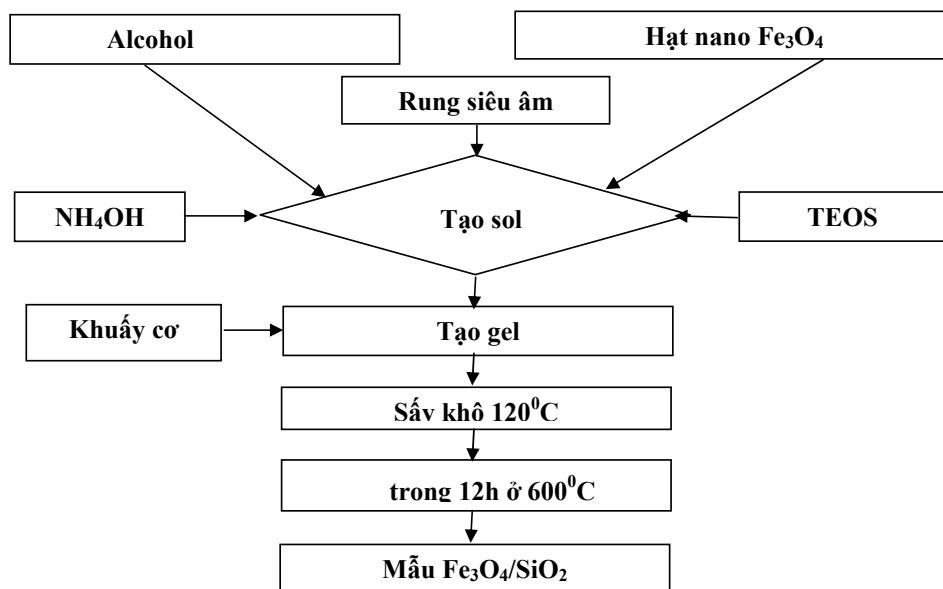
Hình 3: Các phản ứng trong quá trình phủ SiO_2 lên hạt nano từ Fe_3O_4

Qui trình phủ SiO_2 lên hạt nano từ Fe_3O_4 được mô tả ở hình 4. Thiết bị phủ SiO_2 lên hạt nano từ Fe_3O_4 được thiết kế tại Phân viện Vật lý TP.HCM và được chụp lại

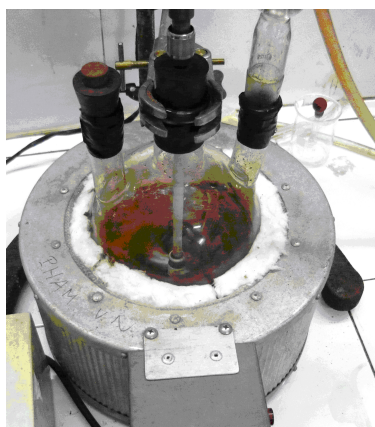
trên hình 5. Hình 6 là ảnh chụp sản phẩm hạt nano từ Fe_3O_4 sau khi phủ SiO_2 tạo lớp vỏ bên ngoài màu đỏ cát.

2.3 Bọc GPTMS lên hạt $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$

Bọc phủ lớp [3-(2,3-Epoxypropoxy)-propyl] - trimethoxysilan (gọi tắt là GPTMS) lên hạt nano từ được thực hiện theo phương pháp Stober (phương pháp tạo mầm) với một vài thay đổi (Tran Hoang Hai và CCS; 2007, 2008) và được chia làm hai giai đoạn, giai đoạn đầu mầm: GPTMS được tạo ra trên bề mặt SiO_2 của $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$; giai đoạn hai các mầm này phát triển trên bề mặt SiO_2 ; giai đoạn này là sự phát triển mầm nên cần có nhiều thời gian để mầm tăng trưởng, nếu thời gian không đủ lớn thì việc phủ GPTMS sẽ thất bại, tùy vào từng loại chất khác nhau mà thời gian phát triển mầm cũng khác nhau. Quy trình được tiến hành như sau:



Hình 4: Quy trình phủ SiO_2 lên hạt nano từ Fe_3O_4

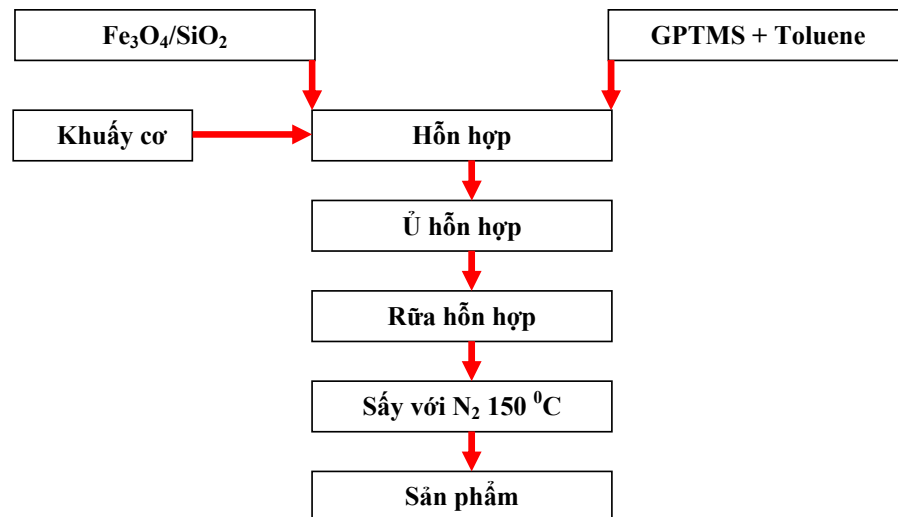


Hình 5: Thiết bị để phủ SiO_2 lên hạt



Hình 6: Hạt Fe_3O_4 phủ lớp vỏ SiO_2

Pha 10ml benzen với 5ml GPTMS cho 5g hạt $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ và khuấy 1g hỗn hợp này để ủ theo thời gian khảo sát. Sau khi ủ xong hỗn hợp được rửa sạch với benzen và etanol. Hỗn hợp sau khi rửa sạch được sấy trong môi trường N_2 ở 150°C trong 4 giờ, sản phẩm thu được là hạt $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{GPTMS}$. Quy trình bao phủ được trình bày ở hình 7, sản phẩm thu được có ảnh chụp chi tiết ở hình 8, trong đó ảnh chụp mẫu nano từ được phủ với lớp vỏ GPTMS. Do có sự kết dính bởi lực từ nên các hạt nano bị hút lại và tạo dạng các hạt với kích thước khá lớn.



Hình 7: Quy trình trình phủ lên hạt $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$



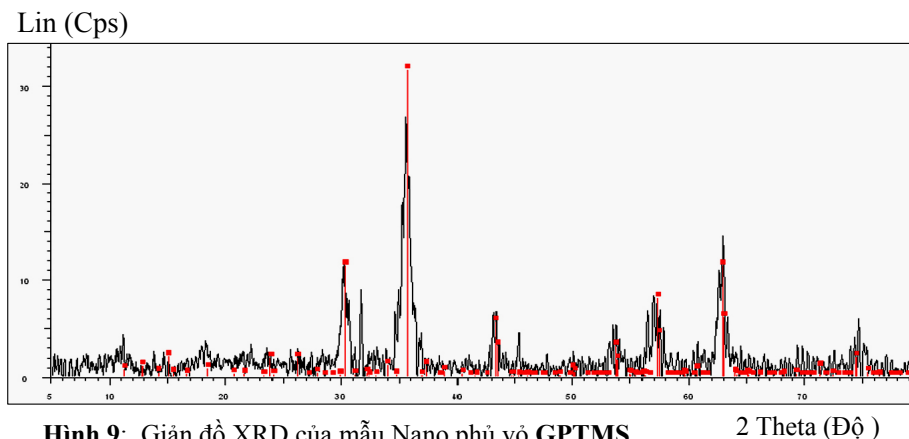
Hình 8: Sản phẩm hạt nano sau khi phủ

3 KẾT QUẢ PHÂN TÍCH CẤU TRÚC HẠT NANO BỌC VỎ GPTMS

Các mẫu hạt nano sau khi được phủ vỏ sẽ tiếp tục được sấy khô tạo dạng bột mịn để đem đi phân tích bằng máy nhiễu xạ tia X. Phổ nhiễu xạ qua máy X-ray (Bruker D8 XRD) được khảo sát với điện cực đồng có bước sóng ($K\alpha$) là $\lambda=0,154056$ nm, góc nhiễu xạ 2θ biến thiên từ $5,0$ đến $80,0$ độ, hiệu điện thế hoạt

động là 35kV, cường độ là 50mA, đặt tại Viện Khoa học Vật liệu, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ XRD của mẫu được cho bởi hình 9.

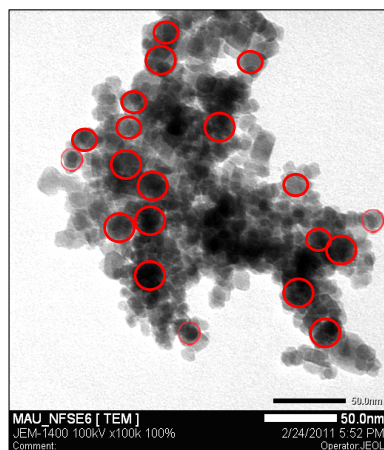
Hình thái và kích thước của hạt nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ được bọc bởi GPTMS



Hình 9: Giản đồ XRD của mẫu Nano phủ vỏ GPTMS

Hình 9 cho thấy các đỉnh nhiễu xạ của phổ X-ray xuất hiện tại các góc nhiễu xạ $2\theta = 30.12^\circ, 35.52^\circ, 43.12^\circ, 57.02^\circ$ và 62.62° đặc trưng cho các pha của các hạt Fe_3O_4 . Như vậy, khi phủ GPTMS lên hạt $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ thì cấu trúc của SiO_2 chuyển từ dạng tinh thể thành dạng vô định hình. Từ đỉnh phổ X-ray mở rộng, ta có thể tính được kích thước trung bình của hạt nano từ bằng công thức Scherrer. Theo đó, kích thước trung bình của các hạt nano Fe_3O_4 khoảng từ 10nm đến 13nm và hạt nano $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ có kích thước trung bình khoảng từ 17nm đến 20nm.

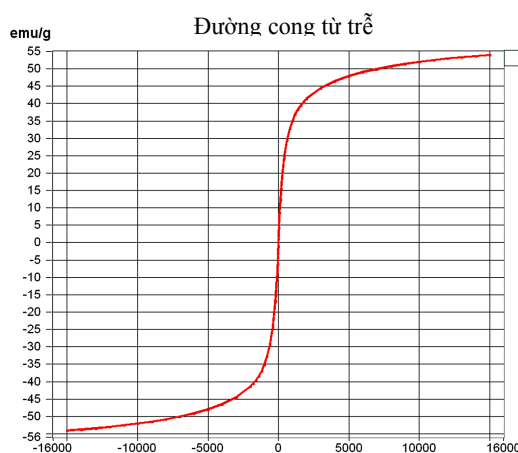
Hình 10 là ảnh chụp bởi kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) chụp mẫu đã phủ bọc vỏ, trên ảnh ta thấy hạt nano có dạng hình cầu và đường kính khoảng 20 – 30 nm. Kích thước hạt này không lớn hơn nhiều so với hạt được bọc SiO_2 vì GPTMS bám vào hạt từ đã bọc SiO_2 , một phần do hạt phân tán kém trong môi trường không phân cực (Tran Hoang Hai và CCS; 2007).



Hình 10: Ảnh TEM chụp mẫu đã phủ bọc vỏ GPTMS

Qua phân tích bằng phương pháp hóa học, giản đồ X-ray và TEM ta có thể kết luận quá trình phủ GPTMS đã đạt được kết quả bám dính đáng kể.

Hình 11 là đường cong từ trễ đo độ từ hóa của mẫu đã phủ bọc vỏ, đồ thị cho thấy mẫu được phủ vỏ có lực kháng từ và độ từ dư bằng không. Điều này chứng tỏ rằng mẫu khảo sát có tính siêu thuận từ. Độ từ hóa đạt 54 emu/g, cho thấy lớp bọc GPTMS làm thay đổi không đáng kể độ từ hóa của hạt. Với độ từ hóa bão hòa tương đối cao sau khi phủ vỏ GPTMS, hạt nano với vỏ GPTMS đạt yêu cầu cho việc gắn kháng thể lên hạt (Tran Hoang Hai và CCS; 2008) và sẽ nhanh chóng được ứng dụng trong y học để chẩn đoán bệnh viêm gan siêu vi C và ung thư gan thời kỳ đầu.



Hình 11: Đường cong từ trễ đo độ từ hóa của mẫu đã phủ bọc vỏ

4 KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thử nghiệm và tổng kết qui trình tổng hợp các hạt nano ôxít sắt từ bọc SiO_2 với dạng hình cầu có kích thước hạt khoảng 20 nm, độ từ hóa bão hòa khá cao (khoảng 57 emu/g). Lớp phủ SiO_2 đồng đều, ổn định và tương đối mỏng (sau khi so sánh kích thước trung bình của hạt trước và sau khi phủ). Hạt nano $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ được phủ lớp vỏ GPTMS tương đối đồng đều và ổn định trên bề mặt có các nhóm chức giúp tăng cường khả năng kết dính của hạt nano với các thành phần sinh học của cơ thể. Tóm lại, với chức năng phòng sinh học và độ ổn định, hạt nano ôxít sắt được tổng hợp sẽ nhanh chóng đáp ứng cho công đoạn gắn kháng thể để góp phần chẩn đoán sớm và chính xác các bệnh ung thư, giúp cho việc điều trị bệnh được dễ dàng và hiệu quả hơn, nhờ đó giảm chi phí điều trị, giảm tải cho các bệnh viện tuyến trên và quan trọng hơn nữa là ngăn chặn các đợt bùng phát dịch đối với các bệnh truyền nhiễm cấp tính giúp bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Coroiu I, (1999), Relaxivities of different superparamagnetic particles for application in nmr tomography, *J. Magn. Magn. Mater*, 201, 449
- Fricker J, (2001), Drugs with a magnetic attraction to tumours. *Drug Discov Today* 6(8): 387-89.
- Tran Hoang Hai, Ha Thi Bich Van, Tran Canh Phong and Masanori Abe, (2003), Spinel ferrite thin-film synthesis by spin-spray ferrite plating, *Physica B* 327p. 194-197.
- Tran Hoang Hai and Masanori Abe, (2004), Untrasound enhanced ferrite plating for encapsulating microsphere, *proc. of The second international Workshop on nanophysics and nanotechnology (IWONN'04)*, Hanoi, p.297-300.
- Tran Hoang Hai, Le Hong Phuc, Doan Thi Kim Dung, Nguyen Thi Le Huyen, Bui Duc Long, Le Khanh Vinh and Nguyen Thi Thanh Kieu, (2007), Iron Oxide Nanoparticles with Biocompatible Starch and Dextran Coatings for Biomedicine Applications, *The 10th Asia Pacific Physics Conference 21-24 August, Pohang, KOREA*.
- Tran Hoang Hai, Le Hong Phuc, Doan Thi Kim Dung, Nguyen Thi Le Huyen, Bui Duc Long, Le Khanh Vinh, Nguyen Thi Thanh Kieu, Dang Mau Chien, and Nguyen Thi Phuong Em, (2008), Iron Oxide Nanoparticles with Biocompatible Starch and Dextran Coatings for Biomedicine Applications, *Advances in Natural Sciences*, Vol. 9, No. 1 (89– 94).
- Juergen Pipper, Masafumi Inoue, Lisa F-P Ng, Pavel Neuzil, Yi Zhang & Lukas Novak, (2007), Catching bird flu in a droplet, *Nature Medicine* 13, 1259 - 1263
- Peikov, V. T.; Jeon, K. S.; Lane, A. M, (1999), Characterization of magnetic inks by measurements of frequency dependence of AC susceptibility . *J. Magn. Magn. Mater*. 193, 307.
- Wang YF, Pang DW, Zhang ZL, Zheng HZ, Cao JP, Shen JT, (2003), Visual gene diagnosis of HBV and HCV based on nanoparticle probe amplification and silver staining enhancement, *J Med Virol. Jun*; 70(2):205-11
- Wolfgang Meschede, Klaus Zumbach, Joris Braspenning, Martin Scheffner, Luis Benitez-Briebesca, Jeff Luande, Lutz Gissmann, and Michael Pawlita, (1998), Antibodies against Early Proteins of Human Papillomaviruses as Diagnostic Markers for Invasive Cervical Cancer, *Journal of Clinical Microbiology*, p. 475-480, Vol. 36, No. 2