

Ondřej Kaman

Příprava, struktura a vlastnosti hybridních nanočástic s jádry
perovskitového a spinelového typu

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta
Katedra anorganické chemie

a

Fyzikální ústav
Akademie věd České Republiky

Disertační práce

Praha 2009

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou disertační práci vypracoval sám a v seznamu literatury uvádím všechny prameny, z nichž jsem čerpal.

V Praze dne 13.8.2009

Ondřej Kaman

Poděkování

První řádky předložené práce by po zásluze a po přednosti měly patřit Doc. Ing. Emilu Pollertovi, DrSc., který se dlouhodobě věnuje přípravě a studiu magnetických částic vícesložkových oxidů a možnostem jejich použití v medicíně a základním biologickém výzkumu. Vyvinul také postup přípravy nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ a uskutečnil jejich základní studium. Cílem autora tohoto textu pak bylo přispět k dlouhodobému projektu věnovanému právě magnetickým částicím a zejména perovskitové fázi $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. Rád bych tedy osobně poděkoval Emilu Pollertovi za aktivní a každodenní pomoc se všemi aspekty práci, od synthesy až po interpretaci. Dále také děkuji Doc. RNDr. Davidovi Havlíčkovi, CSc. z Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty UK za pomoc s prací, jejíž výsledky do předkládané práce nakonec nezahrnuji, ale které představují další větev a vlastně hlavní osnovu mého studia na jmenované katedře.

Blízkému spolupracovníkovi Ing. Pavlovi Veverkovi, Ph.D. bych chtěl poděkovat, že mi nad obyčej pomohl nejen v začátcích mého působení na novém pracovišti, ale po celou dobu systematicky přispíval vlastní prací k přípravě a fyzikálnímu studiu pojednávaných materiálů a to i přesto, že se paralelně věnoval vlastní tématice týkající se hexagonálních feritů. Ing. Evě Hadové jsem zavázán za pomoc se syntesou nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, ale i za poskytnutí cenných znalostí a zkušeností se sol-gel metodou. Prom. Chem. Dagmar Zemanové jsem velmi vděčný za všechny chemické analýzy vstupních materiálů, za vývoj metodiky a obětavou pomoc týkající se rozkladu hybridních částic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ obalených oxidem křemičitým, ale i za pracné stanovení kyslíkové nestechiometrie.

Rád bych poděkoval dalším spolupracovníkům z Fyzikálního ústavu AV ČR, kteří k této práci alespoň dílem přispěli a především mi pomohli osvojit si určité metody, jež jsem ke studiu hojně používal. Tak za pomoc se statickými magnetickými vlastnostmi děkuji Ing. Miroslavu Maryškovi, CSc., za měření řady rtg difraktogramů děkuji RNDr. Karlovi Knížkovi, Ph.D., který mě rovněž předal řadu zkušeností týkající se Rietveldovy analýzy. A současně chci poděkovat Ing. Miroslavu Veverkovi, Ph.D., který se na tomto pracovišti spinelovým věnuje fázím, za poskytnutí dalšího materiálu ke studiu a to CoFe_2O_4 .

Tato disertační práce však zahrnuje i další výsledky, na nichž jsem se obvykle podílel pouze syntesou materiálu a vyhodnocením získaných dat. Studium nanočástic by se stěží obešlo bez transmisní elektronové mikroskopie, s níž nejvíce času strávil Ing. Jaroslav Boháček, kterého v tomto roce zastoupil Ing. Jaroslav Kupčík z Ústavu anorganické chemie AV ČR. Současně děkuji RNDr. Marianě Klementové, Ph.D. za HRTEM studie vybraných vzorků provedené na témže ústavu. Pro celé studium byly důležité i testy viability kmenových buněk, které zajistila RNDr. Pavla Jendelová, Ph.D. na Ústavu neurověd 2. lékařské fakulty UK a relaxometrické studie prováděl Mgr. Vít Herynek Ph.D. z Institutu klinické a experimentální medicíny, kterým bych chtěl poděkovat. Za měření hydrodynamické velikosti obalených částic pomocí PCCS děkuji Ing. Veronice Grünwaldové ze Zentivy a.s. Doc. Ing. Petru Kašparovi, CSc. bych chtěl poděkovat za měření AC hysterezních smyček. Dále děkuji Mgr. Lukášovi Falteiskovi a Doc. RNDr. Janu Černému, Ph.D. za provedení testů viability HeLa buněk a fibroblastů na Katedře buněčné biologie PřF UK. Děkuji také RNDr. Vladimíru Šepelákovi, DrSc. za provedení vysokoenergetického mletí. Dále děkuji Doc. RNDr. Ivanu Němcovi, Ph.D. z Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty UK za konzultace týkající se vibrační spektroskopie.

Konečně pak děkuji řadě spolupracovníků z Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux, CNRS/université Bordeaux-1, kteří mi pomohli při mé stáži, ale i později s proměřením magneticky indukovaného zahřívání některých vzorků. Poděkování patří jmenovitě Romainovi Epherrovi, MSc., Dr. Stéphanovi Mornetovi a prof. Etiennovi Duguetovi.

Jsem rád, že mohu také upřímně poděkovat vedoucímu Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty UK prof. RNDr. Ivanu Lukešovi, CSc., za jeho pomoc při mém doktorském studiu a také že spolu se svými spolupracovníky navazuje na práci, jejíž výsledky zde předkládám.

Obsah

| | |
|---|----|
| 1. Seznam zkratk a zvláštní notace | 9 |
| 2. Seznam použitých symbolů | 12 |
| 3. Předmluva | 16 |
| 4. Úvod | 17 |
| 4.1. Magnetické nanočástice | 17 |
| 4.1.1. O magnetických nanočásticích | 17 |
| 4.1.2. Základní magnetické vlastnosti | 19 |
| 4.2. Magneticky indukovaná hypertermie | 23 |
| 4.2.1. Hypertermie - jeden z prostředků terapie rakoviny | 23 |
| 4.2.2. Metody hypertermie a vývoj k využití magnetických částic | 24 |
| 4.2.3. Fyzikální principy hypertermie | 27 |
| 4.3. Magnetické nanočástice v MRI a další biomedicínální aplikace | 31 |
| 4.3.1. Magnetické nanočástice jako kontrastní látky | 31 |
| 4.3.2. Další biomedicínální aplikace | 33 |
| 4.4. Ternární oxidové fáze pro magneticky indukovanou hypertermii | 37 |
| 4.4.1. Perovskitové fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ | 39 |
| 4.4.2. Spinelová fáze $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ | 43 |
| 4.5. Enkapsulace do oxidu křemičitého a příbuzné křemičité obaly | 45 |
| 4.5.1. Stöberův proces a princip sol-gel metody | 45 |
| 4.5.2. Metody enkapsulace | 47 |
| 4.5.3. Kovalentní modifikace křemičité vrstvy | 51 |
| 5. Cíl práce | 53 |
| 6. Experimentální část | 54 |
| 6.1. Použité látky a materiály | 54 |
| 6.2. Přístroje a instrumentální metody | 55 |
| 6.2.1. Prášková rentgenová difrakce | 55 |
| 6.2.2. Transmisní elektronová mikroskopie – TEM a HRTEM | 55 |
| 6.2.3. Magnetometrie ve statickém poli | 56 |
| 6.2.4. Měření AC hysterezních smyček | 56 |
| 6.2.5. Měření hydrodynamické velikosti | 56 |
| 6.2.6. Měření zeta-potenciálu | 56 |

| | |
|---|----|
| 6.2.7. IR spektroskopie | 57 |
| 6.2.8. UV-Vis spektroskopie | 57 |
| 6.2.9. Experimenty s magneticky indukovaným zahříváním | 57 |
| 6.2.10. Relaxometrické studie | 58 |
| 6.2.11. Válcování, mletí a vysokoenergetické mletí | 58 |
| 6.2.12. Ultrazvukové a mechanické míchání | 59 |
| 6.2.13. Centrifugy | 59 |
| 6.3. Postupy chemické analýsy | 59 |
| 6.3.1. Stanovení obsahu Mn v hybridních částicích | 59 |
| 6.3.2. Stanovení celkové oxidační schopnosti vůči Fe ²⁺ | 60 |
| 6.3.3. Stanovení hustoty povrchově dostupných aminoskupin | 60 |
| 6.4. Biologické studie | 61 |
| 6.4.1. Studium viability kmenových buněk | 61 |
| 6.4.2. Studium viability HeLa buněk a fibroblastů | 62 |
| 6.4.3. Magnetické značení kmenových buněk | 63 |
| 6.5. Synthesa materiálů | 63 |
| 6.5.1. Příprava magnetických nanočástic La _{1-x} Sr _x MnO ₃ | 63 |
| 6.5.1.1. Příprava prekursoru La _{1-x} Sr _x MnO ₃ a jeho zpracování před výpalem | 63 |
| 6.5.1.2. Příprava surových nanočástic La _{1-x} Sr _x MnO ₃ (LS(ag)) | 64 |
| 6.5.1.3. Mechanické zpracování surových nanočástic La _{1-x} Sr _x MnO ₃ (LS) | 64 |
| 6.5.2. Enkapsulace magnetických nanočástic do křemičitého obalu | 64 |
| 6.5.2.1. Enkapsulace nanočástic pomocí TEOS – postup A | 64 |
| 6.5.2.2. Enkapsulace nanočástic PVP metodou pomocí TEOS – postup B | 65 |
| 6.5.2.3. Enkapsulace nanočástic pomocí směsi APS a TEOS – postup C | 66 |
| 6.5.3. Isolační postupy | 66 |
| 6.5.3.1. Isolace typu I – příprava suspenzí LS@Si a CZ@Si | 66 |
| 6.5.3.2. Isolace typu II – příprava suspence LS@Si | 67 |
| 6.5.3.3. Isolace typu III – příprava suspence LS@SA | 67 |
| 6.5.4. Další postupy | 68 |
| 6.5.4.1. Vakuová purifikace suspenzí pro biologické studie | 68 |
| 6.5.4.2. Stabilizace nanočástic pomocí PVP | 68 |
| 6.5.4.3. Kondenzace v glycerolu | 68 |

| | |
|---|-----|
| 6.6. Přehled blíže pojednávaných vzorků | 69 |
| 7. Výsledky a diskuse | 73 |
| 7.1. Příprava, struktura a krystalografické vlastnosti nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ | 73 |
| 7.1.1. Příprava surových nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS(ag)) | 73 |
| 7.1.2. Příprava nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS) mechanickým zpracováním LS(ag) | 80 |
| 7.1.3. Strukturní vlastnosti nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ | 88 |
| 7.2. Magnetické vlastnosti $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ a srovnání s CoFe_2O_4 | 94 |
| 7.2.1. Magnetické vlastnosti nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ v závislosti na složení | 94 |
| 7.2.2. Magnetické vlastnosti nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ | 97 |
| 7.2.3. Magnetické vlastnosti nanočástic CoFe_2O_4 a srovnání s $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ | 104 |
| 7.3. Příprava a charakterizace LS@Si | 106 |
| 7.3.1. Enkapsulace pomocí TEOS - postup A | 106 |
| 7.3.2. Enkapsulace nanočástic PVP metodou pomocí TEOS – postup B | 117 |
| 7.3.3. Koloidní stabilita | 122 |
| 7.3.4. IR spektroskopie | 124 |
| 7.4. Využití enkapsulačního postupu pro další magnetické nanočástice | 127 |
| 7.4.1. Enkapsulace CZ pomocí TEOS | 127 |
| 7.4.2. Charakterizace CZ@Si | 128 |
| 7.5. Příprava a charakterizace LS(0,25)@SA | 131 |
| 7.5.1. Postup enkapsulace LS pomocí směsi APS a TEOS | 131 |
| 7.5.2. Charakterizace | 134 |
| 7.6. Magnetické vlastnosti LS(0,25)@Si | 139 |
| 7.7. Magneticky indukované zahřívání a AC hysterezní smyčky LS(0,25) a LS(0,25)@Si | 144 |
| 7.7.1. Magneticky indukovaný zahřívání | 144 |
| 7.7.1.1. Vliv parametrů experimentálního uspořádání | 144 |
| 7.7.1.2. Srovnání LS(0,25) a LS(0,25)@Si | 151 |
| 7.7.2. AC hysterezní smyčky | 154 |
| 7.8. Relaxometrické vlastnosti LS@Si | 155 |
| 7.9. Biologické studie | 160 |
| 7.9.1. Viabilita kmenových buněk a optimalizace enkapsulace LS | 160 |

| | |
|--|-----|
| 7.9.2. Studium viability dalších typů buněk | 164 |
| 7.9.3. Využití LS(0,25)Si pro buněčné značení | 165 |
| 8. Závěr | 167 |
| 9. Literatura | 169 |
| 10. Přílohy | 181 |

1. Seznam zkratek a zvláštní notace

Zkratky obecného významu

| | |
|--------|--|
| AC | související se střídavým proudem (Alternating Current) |
| AEH | hypertermie s arteriální embolizací (Arterial Embolization Hyperthermia) |
| APS | 3-aminopropyltriethoxysilan |
| BET | teorie adsorpce podle S. Brunauera, P. Emmetta a E. Tellera |
| CMR | kolosální magnetoresistance (Colossal Magnetoresistance) |
| DC | související se stejnosměrným proudem (Direct Current) |
| DIH | hypertermie s přímou injekcí (Direct Injection Hyperthermia) |
| DLS | dynamický rozptyl světla (Dynamic Light Scattering) |
| DMEM | Dubelccovo modifikované Eaglova médium (Dulbecco/Vogt modified Eagle's minimal essential medium) |
| DRIFTS | technika měření FTIR založená na difusní reflexi (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform) |
| EDTA | ethylendiamintetraoctová kyselina (ethylenediaminetetraacetic acid) |
| FC | měření při chlazení v poli (Field Cooled) |
| GMR | gigantická magnetoresistance (Giant Magnetoresistance) |
| HRTEM | transmisní elektronová mikroskopie vysokého rozlišení (High-resolution Transmission Electron Microscopy) |
| IH | intracelulární hypertermie (Intracellular Hyperthermia) |
| IR | infračervená spektroskopie (Infrared) |
| LO | transversální optický vibrační mód |
| MAR | relaxační režim v NMR (viz str. 158) (Motional Averaging Regime) |
| MFH | magnetická fluidní hypertermie (Magnetic Fluid Hypethermia) |
| MIR | střední infračervená oblast (Mid Infrared Region) |
| MRI | magnetická zobrazovací resonance (Magnetic Resonance Imaging) |
| PCCS | fotonová křížová korelační spektroskopie (Photon Cross Correlation Spectroscopy) |
| PEG | poly(ethylenglykol) |
| PVP | polyvinylpyrrolidon |
| RCF | relativní centrifugační síla (Relative Centrifugal Force) |

| | |
|------------|--|
| RES | retikuloendotheliální systém (Reticuloendothelial System) |
| rMSC | kryší mesenchymální kmenové buňky (Rat Mesenchymal Stem Cells) |
| rpm | počet otáček za minutu (rotations per minute) |
| rtg | rentgenová, ve spojení s difrakční analysou |
| sci | nůžková vibrace (scissoring) |
| SEM | skenovací elektronová mikroskopie (Scanning Electron Microscopy) |
| SMR | relaxační režim v NMR (viz str. 158) (Slow Motion Regime) |
| SQUID | magnetometr typu Superconducting Quantum Interference Device |
| SPIO | malé superparamagnetické nanočástice oxidů železa (Superparamagnetic Iron Oxides) |
| TEOS | tetraethoxysilan |
| TEM | transmisní elektronová mikroskopie (Transmission Electron Microscopy) |
| THF | tetrahydrofuran |
| TO | transversální optický vibrační mód |
| USPIO | velmi malé superparamagnetické nanočástice oxidů železa (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxides) |
| ZFC | měření po chlazení v nulovém poli (Zero Field Cooled) |
| δ | deformační vibrace nebo rovinná deformační vibrace (in-plane bending) |
| ν | valenční vibrace (stretching) |
| ν_{as} | antisymetrická valenční vibrace |
| ν_s | symetrická valenční vibrace |

Dále jsou běžně používány zavedená označení alkylových zbytků, jako je Me, Et, Pr, Bu pro methyl, ethyl, propyl a butyl.

Notace materiálů

Magnetická jádra

| | |
|-----------|---|
| LS | nanokrystalický $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ |
| CF | nanokrystalický CoFe_2O_4 |
| CZ | nanokrystalický $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ |

Bližší specifikace magnetických jader

Parametry upřesňující povahu magnetických jader jsou uvedeny v kulatých závorkách hned za označením příslušné oxidové fáze. Tímto způsobem se vyjadřuje její chemické složení a skutečnost, zda se jedná o surové nanočástice či mechanicky zpracované nanočástice. V případě specifikace složení, která může nebo u obecného vyjádření nemusí být provedena, je použita symbolika „(x)“, kde číslo $x \in (0;1)$ vyjadřuje parametr x ve vzorci $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ nebo $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$. Při specifikaci mechanické historie materiálu se explicitně vyjadřuje pouze okolnost, že jde o surové nanočástice, které tedy nebyly mechanicky zpracovány, a to písmeny „ag“ od spojení „as grown“ rovněž uvedenými v závorce. Vyjádření má pak tvar „(x)“, popřípadě „(xag)“. Například vzorek surových nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ před mechanickým zpracováním bude označen **LS(0,25ag)** a po mechanickém zpracování **LS(0,25)**.

Obaly

V této práci se u hybridních nanočástic používá speciální označení dvou chemicky různých obalů, přičemž příslušný zápis se uvádí za znakem „@“ po označení magnetického jádra dle výše uvedené konvence. Obal z hydratovaného oxidu křemičitého připravený z TEOS je označován „Si“, zatímco křemičitý obal připravený působením TEOS a APS, je zapisován jako „SA“. Například hybridní nanočástice fáze $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ enkapsulované do čistého oxidu křemičitého se označují **LS(0,25)@Si**.

Úplná specifikace konkrétního materiálu

Úplná specifikace diskutovaného materiálu, ke kterému je v experimentální části vyčerpávajícím způsobem uveden postup přípravy zahrnující všechny detaily týkající se přípravy vzorku, je provedeno připojením specifické kombinace alfanumerických znaků na konec výše uvedených obecných kódů, které buď končí závorkou u neobalených vzorků, anebo označením obalu u enkapsulovaných produktů. Všechny blíže diskutované připravené či měřené materiály mají kodifikovány jedinečný kód v 6.6.

2. Seznam použitých symbolů

| | |
|-----------------------------|--|
| A | absorbance |
| A_i | $i \in \{0,1,2\}$, regresní konstanty rovnic (40) a (41) |
| A_r | relativní atomová hmotnost |
| a | mřížkový parametr – délka translace a |
| a_2 | regresní konstanta rovnice (22) |
| A_a | regresní konstanta rovnice (24) |
| B | magnetická indukce |
| B_0 | magnetická indukce pole NMR spektrometru či MRI skeneru |
| B_a | regresní konstanta rovnice (24) |
| b_2 | regresní konstanta rovnice (22) |
| c | mřížkový parametr – délka translace c |
| C_p | isobarická tepelná kapacita |
| c_{hm} | hmotnostní koncentrace, $[c_{hm}] = \text{g/l}$ |
| c_M | molární koncentrace |
| c_μ | molalita $[c_\mu] = \text{mol/g(solvent)}$ |
| $c_{\mu, Mn}(s\text{NH}_2)$ | molární obsahy povrchově dostupných aminokyselin vztažené na hmotnost manganu |
| c_p | specifická isobarická tepelná kapacita |
| d | průměr |
| D_c | kritická velikost částice pro přechod do jednodoménového stavu |
| d_{hydro} | hydrodynamická velikost |
| $d_{hydro,x}$ | x -procentní kvantila hydrodynamické velikosti |
| d_{XRD} | střední velikost krystalitu |
| e | tloušťka obalové vrstvy magnetického jádra dle TEM |
| E | energie |
| f | faktor (obsahu analytu a definovaný jako podíl stanoveného molárního obsahu ku předpokládanému obsahu) |
| f_m | frekvence mletí |
| f_t | toleranční faktor perovskitové struktury |
| H | intenzita magnetického pole |
| H_c | koercivita |

| | |
|---------------------------|---|
| H_{max} | amplituda intenzity střídavého magnetického pole |
| H_s | enthalpie |
| I | intenzita signálu v rtg difrakci |
| IEP | isoelektrický bod |
| k_B | Boltzmanova konstanta |
| K | konstanta magnetokrystalová anisotropie |
| K_{ef} | efektivní konstanta magnetické anisotropie |
| K_I | konstanta K_I rozvoje magnetické krystalové anisotropie pomocí směrových kosinů |
| m | hmotnost |
| \mathbf{m} | magnetický moment |
| \mathbf{m}_r | remanentní magnetický moment |
| \mathbf{m}_s | nasycený magnetický moment |
| M | specifická magnetizace |
| $M_{750kA/m}$ | specifická magnetizace při magnetickém poli $H = 750 \text{ kAm}^{-1}$ |
| $M_{750 \text{ kA/m,mp}}$ | specifická magnetizace v magnetickém poli $H = 750 \text{ kAm}^{-1}$ vztažená na obsah vlastní magnetické fáze |
| M_m | molární hmotnost |
| M_{mp} | specifická magnetizace vztažená na obsah vlastní magnetické fáze |
| M_R | specifická remanentní magnetizace |
| M_r | relativní molekulová hmotnost |
| M_V | magnetizace |
| M_{VR} | remanentní magnetizace |
| M_{VS} | nasycená magnetizace |
| n_v | počet válcovacích cyklů |
| p | tlak |
| P_B | příspěvek k topnému výkonu daný Brownovou rotací |
| P_{FM} | příspěvek k topnému výkonu daný hysterezními ztrátami ve střídavém magnetickém poli |
| $P_{FM,Mn}$ | příspěvek k topnému výkonu daný hysterezními ztrátami ve střídavém magnetickém poli vztažený na hmotnostní obsah Mn |
| pH | vodíkový exponent $pH = -\log[H^+]$ |
| r | poloměr |
| r_l | longitudální relaxivita kontrastní látky |

| | |
|-------------------------------|--|
| r_2 | transversální relaxivita kontrastní látky |
| r_i | iontový poloměr atomového iontu i |
| R^2 | koeficient determinace |
| SAR_t | specifický absorpční výkon při teplotě t (Specific Absorption Rate) |
| SAR_c | korigovaná hodnota SAR_t pro magnetické pole o daných v a H_{max} |
| t | čas |
| t_i | $i \in \{0,1,2\}$, regresní konstanty rovnic (40) a (41) |
| $t_{Celsius}$ | teplota v Celsiově stupnici |
| t_a | teplota výpalu |
| t_e | teplota při enkapsulaci |
| t_{li} | $i \in \{0,1\}$, regresní konstanty rovnic (40) a (41) |
| t_{ns} | interakční člen efektivního přenosu elektronu mezi atomy v sousedících polohách, tj. energie příslušné výměnné interakce |
| T | absolutní teplota |
| T_1 | longitudální relaxační doba |
| T_2 | transversální relaxační doba |
| T_B | teplota blokace |
| T_C | Curieova teplota |
| $T_{C,A}$ | Curieova teplota stanovená metodou Arrottova grafu |
| $T_{C,FC}$ | Curieova teplota stanovená z průběhu χ_m při měření FC |
| T_m | maximální teplota dosažená v experimentech s magneticky indukovaným zahříváním |
| $u_A(X)$ | standardní nejistota typu A veličiny X |
| V | objem elementární buňky |
| V_i | objem fáze i (např. přidávaného činidla či magnetických částic) |
| v_b | viabilita buněk |
| $w(A)$ | hmotnostní zlomek složky A |
| $w_a(\text{Mn}^{\text{III}})$ | zdánlivý hmotnostní zlomek Mn^{III} (viz str. 92) |
| W | práce |
| $x(A)$ | molární zlomek složky A |
| $x_a(\text{Mn}^{\text{III}})$ | zdánlivý molární zlomek Mn^{III} (viz str. 92) |
| 2θ | difrakční úhel |

| | |
|-----------------|---|
| α | mřížkový parametr α – úhel α |
| γ | gyromagnetický poměr |
| γ_s | empirická konstanta v rovnici (35) |
| γ_m | empirická konstanta v rovnici (35) |
| Γ_l | podíl e a d_{XRD} |
| Γ_V | podíl objemu TEOS V_{TEOS} a magnetických částic V_{MN} |
| δ_i | parametr nestechiometrie entity i ve stechiometrickém vzorci |
| ζ | zeta-potenciál |
| η | dynamická viskozita |
| θ_{ns} | úhel mezi sousedními spiny |
| θ_{ijk} | úhel sevřený atomy i, j a k |
| λ | vlnová délka |
| λ_{max} | vlnová délka maxima absorpčního pásu |
| μ_0 | permeabilita vakua |
| ν | frekvence střídavého magnetického pole |
| ξ | rozsah reakce |
| ρ | hustota |
| τ_0 | předexponenciální faktor v závislosti relaxačního času na teplotě |
| τ_a | doba výpalu |
| τ_B | relaxační čas Brownovy rotace |
| τ_e | doba enkapsulace |
| τ_i | doba uložení produktu mezi přípravou a testy viability |
| τ_m | doba mletí |
| τ_N | relaxační čas Néelovy rotace |
| τ_o | měřicí čas vyjadřující časovou škálu experimentální techniky |
| φ | fázové posunutí |
| φ_{log} | hustota rozdělení intensity DLS signálu ve škále $\log d_{hydro}$ |
| χ | magnetická susceptibilita |
| χ_m | měrná magnetická susceptibilita |
| ω_0 | Larmorova frekvence |
| ω_i | úhlová rychlost centrifugace v isolačním postupu i (viz 6.5.3) |

3. Předmluva

„Hunc spiritum, incognitum hactenus, novo nomine Gas, voco, qui nec vasis cogi, nec in corpus visibile reduci, nisi extincto prius semine potest.“

Jan Babtist van Helmont (1577 - 1644), *Ortus medicinae*, str. 106

Slova výše uvedená napsal známý iatrochemik (ιατρος - lékař) a především zakladatel chemie pneumatické (πνευμα - vzduch) Jan Babtist van Helmont, jemuž bychom patrně mohli vytknout příliš důvěřivý vztah k alchymii, zrcadlící se i v jeho víře v transmutaci, ale kterému právem náleží pozornost, ohlížíme-li se po údobí raných snah o chemické poznání. I přes nepřízeň středověké scholastiky a obecnou nadvládu nesprávných vědeckých paradigmat, která se však dále vršila třeba i vinou mnohem mladších flogistiků (φλογιστός - spálený), dokázal van Helmont krásně experimentovat. Fysiologům rostlin je dobře známý jeho pokus s vrbou. Van Helmont, zasadiv 5 liber vážící sazenici do nádoby s 200 librami zeminy, zaléval ji obyčejnou a ničím neobohacenou vodou a po pěti letech, odděliv od jejích kořenů veškerou zeminu, shledal, že váha půdy se vůbec nezměnila, zatímco vrba vážila o 164 liber více. Z toho pak uzavřel, že dotyčnou vrbu tvoří nejméně 164 liber vody. Neuvažoval, že by vrba byla mohla využít ke svému růstu vzduch, popřípadě asimilovat jeho složku, již je - jak obecně dnes známo - oxid uhličitý. Snad ironií osudu byl právě tento skvělý pozorovatel a experimentátor současně i objevitelem *gas sylvestre*, jak nazval oxid uhličitý čili produkt hoření dřeva. Citovaná slova jsou prvním použitím termínu plyn nebo-li *gas* (zřejmě od chaos, jak dokládá výslovnost v holandštině chaos = chas = gas), kterým chtěl van Helmont odlišit zvláštní látky, jež nelze tak snadno zkapalnit jako páry různých kapalin.

Van Helmontův pokus s vrbou neobohatil jen fyziologii rostlin; představoval totiž experiment přesně definovaný a řádně popsany, jehož interpretace se díky objevu fotosyntetických pochodů sice změnila, avšak výpovědní hodnota zůstala. Práce, již autor následujícího textu předkládá, pojednává převážně o experimentu, popisuje syntesu, analýsy a měření, aby vsled byly vyvozeny určité závěry. A zatímco nyní se teprve rozvíjejí teorie popisující závislost relaxometrických vlastností na agregaci magnetických částic či se stále vyvíjí studium uplatnění různých mechanismů v disipaci energie střídavého pole magnetickými nanočásticemi, experimentální činnost, pokud je náležitě dokumentována, zachovává vlastní a základní hodnotu, lhostejno jakých interpretací dojde.

4. Úvod

4.1. Magnetické nanočástice

4.1.1. O magnetických nanočásticích

V posledních dvou dekadách se magnetické nanočástice opakovaně staly středem pozornosti různých a namnoze vzdálených oborů, které stěží spojuje něco více, než je pouhá potřeba nových a lepších materiálů a metod rozšiřujících jejich možnosti. Mohlo by se také zdát, a to zcela mylně a nesprávně, že magnetické materiály se promyšleně začínají využívat v lékařství až nyní. O magnetismu a jeho použití v medicíně polemizoval již Avicenna v desátém století našeho letopočtu, když při náhodném požití rezavého materiálu doporučoval polknout malé množství magnetitu s trochou mléka, aby rez magneticky navázal, a ta rychle prošla trávicím traktem [1]. Ale teprve nyní probíhají první klinické zkoušky metod založených na magnetických nosičích léčiv cílených pomocí vnějšího magnetického pole [2,3] a teprve zcela nedávno se klinicky začala používat magneticky indukovaná hypertermie, kdy magnetické nanočástice co mediátory absorbující energii vnějšího elektromagnetického pole přímo v nádoru produkují teplo, a tím poškozují rakovinné buňky [4]. Obrovský potenciál magnetických nanočástic a magnetických mikročástic byl rozpoznán nejen v biomedicíně [5-8] a základním biologickém výzkumu [9], v biotechnologiích [10-12], nýbrž i v separacích a analytické chemii [10,13-15], v remediaci polutantů z přírody [16,17] a v katalýze [18-20].

Takový byť neúplný výčet aplikací vytváří dojem, že magnetické nanočástice jsou obecným a velmi universálním základem, který lze různě v ohledu dané potřeby rozvinout. Samozřejmě se pak v kontextu chemickém zdají úvahy, že magnetické nanočástice lze rozličně povrchově modifikovat, nebo snad lépe řečeno, funkcionalizovat, a tím je lze prostřednictvím konkrétních molekul a strukturních motivů vytvořených na jejich povrchu obdat požadovanými funkcemi, jež se budou uskutečňovat nekovalentními interakcemi a chemickými reakcemi povrchových struktur s jejich chemickým okolím – světem mimo částici. Nesmíme však opomenout, že magnetické jádro, jímž je zřejmě anorganický materiál, není jen jednoduchým, neměnným a universálním základem, nýbrž magnetické jádro determinuje fyzikální, ergo magnetické chování výsledných, třebaže různě

funkcionalizovaných částic. Jednotlivé aplikace, ať již možnosti zatím uvedené či další jako technologie ukládání dat [21-23], sensory na bázi magnetických částic [24-25] etc postulují určité optimální magnetické vlastnosti lišící se pro to které použití, přičemž tyto magnetické požadavky jsou orthogonální k chemickým požadavkům kladeným na jejich povrch. Tak nanočástice zamýšlené co kontrastní látky pro intravaskulární administraci v MRI musí splňovat náležitosti předpokládané pro jejich přímé zavedení do krevního oběhu člověka - jejich povrch musí být především biokompatibilní. Současně sama zobrazovací technika předpokládá, že vykazují vysokou molární spin-spinovou relaxivitu, která souvisí s dosaženým kontrastem snímků, ale nepřímo úměrně také určuje i nezbytnou dávku, a tedy zatížení lidského organismu. Naproti tomu magnetické nanočástice perspektivní pro konstrukci datových nosičů musí mít zřejmě zcela jiné magnetické vlastnosti, zejména poměr energetické bariéry pro otočení magnetického momentu částice a energie tepelného pohybu (viz rovnice (1)) musí splňovat podmínku $\Delta E/k_B T > 50 - 80$ [27]. Z tohoto hlediska pak vyplývá přirozené schisma – přirozené rozdělení principů studia a vývoje magnetických nanočástic na náležitosti spojené s magnetickou fází tvořící jádro magnetických částic na jedné straně a na úkoly a otázky spojené s jejich povrchem, který vytváří více či méně aktivní rozhraní magnetické nanočástice a okolí, na druhé straně.

Magnetické nanočástice však nejsou jen pragmatickým objektem zajímavým z praktických důvodů spojených s vývojem nových metod a nových materiálů. Magnetické chování vlastnosti krystalitů stále se zmenšujících rozměrů nás provádí pozoruhodným světem od vícedoménoých částic, přes magnetické částice jednodoménové až staneme ve světě tak malých rozměrů, že se tu setkáváme s jevy, jež nemají na škále větších rozměrů patřičnou analogii. Superparamagnetismus částic s magnetickými momenty relaxujícími vlivem tepelné energie je toho příkladem, ale nadto se tu pozorované jevy často komplikují třeba vzájemnými interakcemi částic a resultujícími stavy superspinových skel a superferomagnetismu [28], distribucemi velikostí částic a distribucemi jejich tvarů, ale i výraznou závislostí na teplotě či závislostí na časové škále experimentální metody, kterými je pozorovatelka či pozorovatel vnímá. Ve světě malých částic se pak setkáme i s tím, že partikule s čistě antiferomagnetickou strukturou mohou mít magnetický moment, setkáme se zde s významným vlivem povrchových jevů na jedné straně a na druhé straně těžce podstaty, již je malá dimense, s efekty danými konečným a omezeným rozměrem krystalové mřížky magneticky uspořádaného objektu. Magnetické nanočástice tak tvoří nesmírně atraktivní pole pro fyzikální výzkum magnetismu a jevů spojených s povrchovými efekty a efekty konečné

velikosti. Současně nanočástice představují přitažlivou výzvu pro syntesu a vytvářejí pozoruhodnou oblast chemie – zcela bez pragmatického zřetele ke konkrétním aplikacím.

V tomto krátkém textu, v úvodu k práci, jejíž hlavní motivací se stal vývoj nanočástic pro magneticky indukovanou hypertermii, se po zběžném seznámení se s magnetickými vlastnostmi částic o velikosti mikronů až nanometrů, podíváme na zmíněnou terapeutickou aplikaci v souvislostech její historie a různých hypertermických metod, podrobněji se pak budeme věnovat jejím fyzikálním principům, tedy hlavně mechanismům disipace energie střídavého magnetického pole. Pro dokreslení smyslu tohoto projektu se zmíníme o využití magnetických nanočástic v MRI a připojíme zevrubnou přehlídku dalších příkladů biomedicínálních aplikací, které však budou uvedeny bez nároku na vyčerpávající přehled všech metod a možností. Dále se vrátíme k hypertermii a to v kontextu ternárních oxidických fází, kde zmíníme jisté překážky, na něž magnetická hypertermie naráží a jejich možné řešení vysvětlíme na příkladu perovskitové fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. V dané diskusi bude nezbytné důsledněji se věnovat strukturním a fyzikálním aspektům. Pro vytvoření určité představy o povaze vyvíjených materiálů, ale i o jejich synthese se zmíníme ještě o další ternární oxidové fázi - o spinelové fázi $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$. Přirozeným pokračováním načrtnuté hypertermické osy bude nakonec pojednání o nutnosti enkapsulace takových magnetických částic spojené s vytvořením vysoce stabilního, netoxického, biologicky inertního a snadno derivatizovatelného obalu, za nějž podle současného stavu znalostí budeme považovat obal křemičitý. V textu se ovšem nebudeme věnovat dalším funkcionalizacím obalených magnetických nanočástic a jejich specifickým derivatizacím, neboť bychom tím daleko přesahovali rámec této práce. Podobně musíme rezignovat i na systematické a vyčerpávající rešeršní přehledy diskutovaných témat vzhledem k pojaté šíři, která dovolí uvést toliko přehled důležitých příkladů a odkázat na souborné referáty podrobně rozebírající daná témata.

4.1.2. Základní magnetické vlastnosti

Představme si magneticky uspořádaný feromagnetický či ferimagnetický materiál s typickou hysterezní smyčkou a dále se zabývejme tím, jak se bude smyčka vyvíjet při zmenšující se velikosti zrna tohoto materiálu. V částicích o velikosti mikronů a větších se uplatňuje vícedoménná struktura spojená s poměrně úzkými hysterezními smyčkami, neboť změny magnetizace takové částice v měnícím se vnějším magnetickém poli souvisí s pohybem doménových stěn, který není tolik energeticky náročný.

Při zmenšování částic na velikost řádově desítky až stovky nanometrů se však objevuje jednodoménový stav, kterému odpovídají částice tvořené toliko jedinou doménou. K tomuto jevu dochází právě tehdy, když energetické nároky na vytvoření doménových stěn při dané velikosti částice by již nebyly dostatečně kompenzovány poklesem magnetostatické energie, která roste s objemem magnetického materiálu [29]. Kritická velikost částice pro přechod do jednodoménového stavu D_c závisí na velikosti nasycené magnetizace, energie anisotropie a výměnné interakci mezi spiny. Kritická velikost D_c bývá pro kulové částice v rozsahu 10 – 800 nm [30], např. pro částice Fe a Co je to 15, respektive 35 nm, ale např. pro SmCo_5 750 nm [31]. U jednodoménových částic se setkáme se širokými hysterezními smyčkami. Změna magnetizace podél hysterezní smyčky totiž souvisí s otáčením magnetického momentu částice proti magnetické anisotropii krystalitu, a tak i koercivita výrazně vzroste proti vícedoménovým částicím, neboť je to proces energeticky náročnější než pohyb doménových stěn. Další důležitý aspekt projevující se na výrazně na úrovni nanočástic je tvarová anisotropie. Ta může zásadně zvýšit koercivitu, ale i kritickou velikost pro přechod do jednodoménového stavu [32].

Pokud budeme rozměr částic dále zmenšovat, dostáváme v jistém momentě, závislém na teplotě, ale i na měřící metodě, stav, kdy mizí hystereze, ale magnetizační křivky stále zachovávají sigmoidální průběh. Jedná se o superparamagnetický stav, který na mikroskopické úrovni charakterizuje volná fluktuace magnetického momentu celé částice daná tepelnou energií, kdy individuální magnetické momenty atomů zachovávají vzájemné uspořádání dané magnetickou strukturou. Z makroskopického pohledu materiál tvořený superparamagnetickými částicemi nemá po vypnutí vnějšího magnetického pole žádnou remanentní magnetizaci. Přechod do superparamagnetického stavu závisí na relaxačním času τ_N , pro který v případě aktivačního procesu platí vztah, objevující se již v pracích L. Néela a W. F. Browna [33,34]:

$$\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{\Delta E}{k_B T}\right), \quad (1)$$

kde τ_0 je souhrnný předexponenciální faktor, který pro neinteragující částice bývá typicky 10^{-10} - 10^{-12} s [35]. Součin Boltzmanovy konstanty k_B a teploty T udává tepelnou energii, zatímco energetická bariéra ΔE obnáší energii potřebnou na překlopení magnetického momentu částice. Tato energie je určena sumou vnitřních i vnějších vlastností zahrnujících

magnetickou krystalovou anisotropií, ale i tvarovou anisotropií. V jednoduchém modelu uniaxiálních částic popsaných efektivní konstantu magnetické anisotropie K_{ef} píšeme:

$$\Delta E = K_{ef} V_k, \quad (2)$$

kde V_k obnáší objem krystalitu. Z tohoto předpisu vyplývá, že superparamagnetický stav se může uplatnit teprve u malých částic, typicky pak při velikostech několik nanometrů.

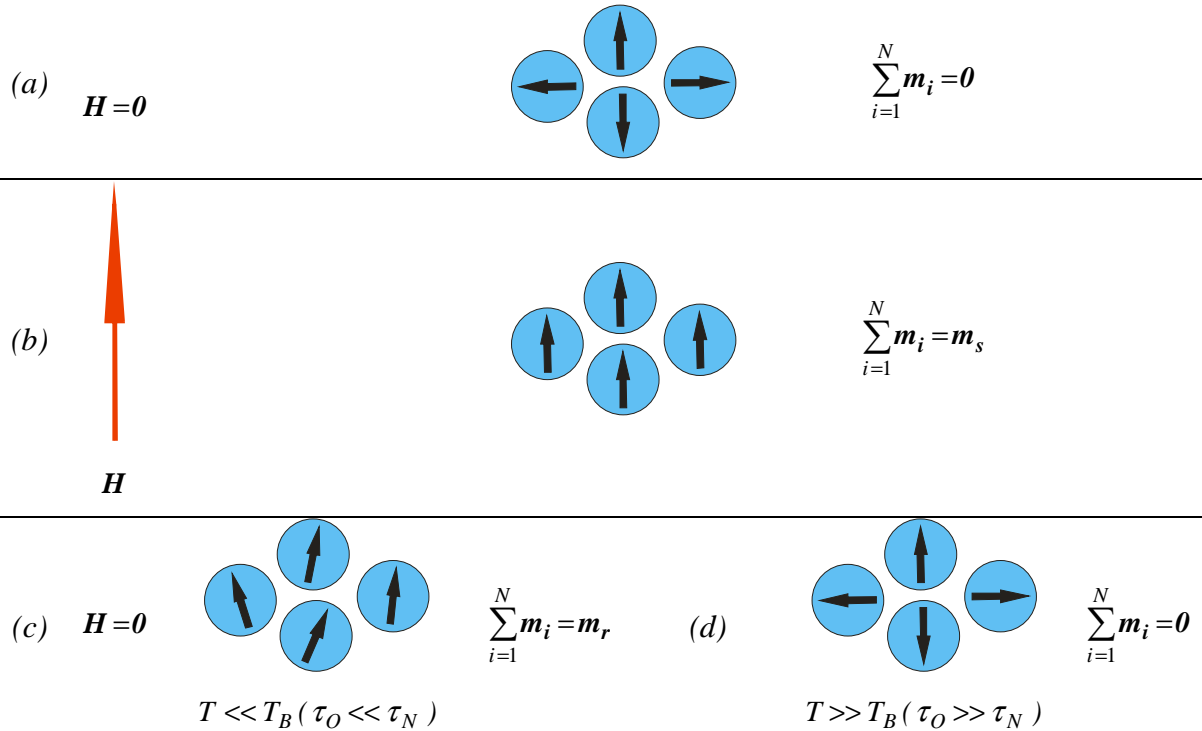
Z pojmu relaxačního času také vyplývá, jak relativní je koncept superparamagnetického stavu vzhledem k časové škále měření, kterou můžeme popsat měřícím časem τ_o . Pokud budeme systém částic o daném relaxačním čase τ_N studovat technikou s mnohem větším τ_o , budou se nám jevit jako částice v superparamagnetickém stavu. Jestliže ale měřící čas bude řádově menší než τ_N , fluktuace magnetického momentu částice nebudou v měřící škále experimentální techniky patrné, a tedy se budou jevit jako částice v tzv. blokováném stavu. Orientační přehled měřících časů základních metod studia magnetických materiálů uvádí tab. 1. Současně ale zdůrazněme, že relaxační čas je funkcí teploty. S klesající teplotou se prodlužuje, a proto částice, které byly z hlediska dané experimentální techniky při výchozí teplotě v superparamagnetickém stavu, přecházejí při nižších teplotách do blokováného stavu, tzv. „zamrzají“. Zavádí se proto teplota blokace T_B tvořící hranici obou stavů, dlužno opět dodat, z pohledu daného měření. Jedná se tedy o parametr, pro který je relaxační čas určený podmínkou:

$$\tau_N = \tau_o. \quad (3)$$

Vznik superparamagnetického stavu v pojmech tepelného pohybu a měřícího času názorně popisuje obr. 1.

Tab. 1. Časové škály základních metod studia magnetických částic [6,36]:

| Typ měření | τ_o [s] |
|---|---------------------|
| DC magnetizace | 10^2 |
| AC susceptibilita | $10^{-1} - 10^{-5}$ |
| ^{57}Fe Mössbauerova spektroskopie | $10^{-7} - 10^{-9}$ |
| Feromagnetická resonance | 10^{-9} |



Obr. 1. Chování systému N neinteragujících jednodoménových částic: (a) bez magnetického pole odpovídají magnetické momenty \mathbf{m} jednotlivých částic směru snadné magnetizace a ve vzorku bez přednostní orientace jsou tyto směry náhodně orientovány, (b) po zavedení dostatečně velkého vnějšího magnetického pole \mathbf{H} se všechny magnetické momenty orientují do směru pole. V okamžiku τ_0 po vypnutí mohou nastat dva případy: (c) energie tepelného pohybu není dostatečná na překonání energie anisotropie a částice vykazují remanentní magnetický moment, (d) anebo energie tepelného pohybu způsobuje tak rychlou fluktuaci, že se magnetický moment vzorku vytratí – superparamagnetický stav.

Ovšem zmenšování velikosti magnetických částic nelze redukovat pouze na změny tvaru hysterezní smyčky, respektive na efekty spojené s přechodem od vícedoménových částic k částicím jednodoménovým a na vznik superparamagnetického stavu. Obecně dochází ke změnám, které lze rozdělit do dvou kategorií [36]. První skupina, kam náleží vznik jednodoménových částic a superparamagnetismu u magneticky uspořádaných struktur, se dá označit jako efekty konečné velikosti [37]. Druhá skupina jevů souvisí s rostoucím poměrem povrchu ku objemu a se vzrůstajícím uplatněním povrchových projevů, které odrážejí ukončení translačně periodické krystalové mříže na povrchu částice. Mezi nimi jde zejména o nekolinearitu spinů, sklánění spinů (spin-canting) a vznik spinově skelného chování (spin-glass-like behaviour) [32]. Se zmíněným rozpořádáním spinů na povrchu částice v tzv. magneticky mrtvé vrstvě je spojen pokles nasycené magnetizace s její klesající velikostí. Jako další příklad povrchových jevů uveďme, že i čistě antiferomagnetické materiály mohou v případě nanočástic vykazovat superparamagnetické chování, neboť povrchové spiny nejsou v malé nanočástici dokonale zkompenzovány, a tím se vytváří její magnetický moment.

4.2. Magneticky indukovaná hypertermie

„Quae medicamenta non sanat; ferrum sanat. Quae ferrum non sanat; ignis sanat. Quae vero ignis non sanat; insanabilia reportari oportet.“

Hippocrates, 460-370 př. n. l.

4.2.1. Hypertermie - jeden z prostředků terapie rakoviny

Použití tepla k léčebným účelům sahá ve své historii do dávných dob a bezpochyby provázelo medicínu od jejího zrodu. Využívalo se v souvislosti s celou řadou chorob a fyziologických malfunkcí, a tak nepřekvapí, že teplo je zmiňováno již před 5000 lety i jako možný prostředek proti rakovině prsu [38]. Hippokrates ve výše uvedeném citátu vyjadřuje své přesvědčení, že nemoci, které neléčí medikamenty, léčí železo a ty nemoci, které neléčí ani železo, léčí oheň. Nemoci, které neléčí ani oheň, je pak dle něj nutno označit za neléčitelné. Základním starověkým přístupem k odstraňování povrchových nádorů byla kauterizace a právě Hippokrates píše, že by se nádory měly ničit přiložením horkého železa.

Od starodávných dob, od dob kauterizace nádorů rozžhaveným železem se léčba rakoviny vyvíjela, avšak určité terapie souborně označované jako hypertermie vycházejí ze stejné podstaty, o níž hovořil již Hippokrates. Dějinnou hříčkou či ironií historie je, že dnes se nejen teplo, ale právě i železo samé v podobě nanočástic svých oxidů začíná znovu používat jako hypertermický prostředek k ničení nádorů. Hypertermie se postupně vyvíjela přes lokální aplikaci horké vody, i celotělové koupele, přes inokulaci pyrogenů jako některých bakteriálních toxinů vyvolávajících horečku až k moderním instrumentálním metodám, které vycházejí z lokalizované disipace energie elektromagnetického či ultrazvukového pole [39,40,35].

Obecným rysem hypertermické terapie rakoviny zůstává využití tepla k ničení nádorů, jež může probíhat buď přímou termoablací, kdy dochází k nekróze rakovinné tkáně, anebo při mírné hypertermii do 46 °C, uplatňující se při nescifické imunoterapii rakoviny, nastává jen tepelná stimulace imunitní odpovědi [41]. Musíme dále doplnit, že rakovinné buňky jsou citlivější k tepelnému stresu než normální tkáňové buňky, z čehož vycházely i klinické studie publikované již v roce 1970 a využívající teploty 42 - 46 °C [42]. Ovšem rozdíl v teplotách,

při nichž dochází k nevratnému tepelnému poškození rakovinných a zdravých buněk, je poměrně malý, a tudíž není technicky možné zajistit selektivní ničení nádorových buněk řízením teploty. Z tohoto hlediska je potřeba aplikovat zvýšenou teplotu pouze lokálně, popřípadě pracovat v kombinovaném módu mírné hypertermie a dalšího terapeutického přístupu jako chemoterapie nebo radioterapie. Právě radioterapii je výhodné obohatit o hypertermický aspekt, protože hypoxické rakovinné buňky (narozdílné od rakovinných buněk s normálním režimem kyslíkového zásobení) jsou poměrně resistantní k ozáření, avšak jsou citlivější k tepelnému stresu více než euoxické rakovinné buňky [43]. Klinické studie rovněž už dokládají, že radioterapie kombinovaná s hypertermií vedla k výraznému terapeutickému zlepšení [44]. Současně si uvědomme velkou přednost hypertermie v porovnání s radioterapií a chemoterapií. Přednost spočívá v lokalizovaném provedení hypertermické léčby, která má proto malé vedlejší účinky a neprojevuje se systémově.

4.2.2. Metody hypertermie a vývoj k využití magnetických částic

Existují dvě přirozené klasifikace hypertermických metod. Můžeme je diskutovat z hlediska úrovně onkologické aplikace na celotělové metody, metody lokalizované do určité orgánové či anatomické oblasti, resp. do vlastního rakovinného nálezu a konečně v souvislosti s magnetickými nanočásticemi byly vypracovány i metody na buněčné úrovni. Posledně jmenovanou kategorií se míní intracelulární hypertermie, která byla poprvé navržena Gordonem et al roku 1979 v památné práci „Intracellular hyperthermia. A biophysical approach to cancer treatment via intracellular temperature and biophysical alterations.“ [45]. Druhé klasifikační kritérium hypertermických metod zohledňuje vlastní tepelný zdroj a podle něho vyděluje skupiny. Zdroje pro hypertermii jsou:

- 1) zahřátá kapalina
- 2) bezkontaktní zařízení přivádějící energii na principu infračerveného, mikrovlnného, radiofrekvenčního záření či ultravukového vlnění
- 3) zdroj umístěný přímo *in situ* jako optická vlákna, antény, sondy a mediátory.

Mohlo by se zdát, že poslední invazivní varianta je nevýhodná ve srovnání s bezkontaktními aplikátory, ale zejména obtíže spojené s fokusací a dodáním potřebného množství elektromagnetické či ultrazvukové energie v bezkontaktních metodách vedou k vývoji zdrojů aplikovaných *in situ* [1]. Tato strategie předpokládá chirurgický zákrok

v případě makroskopických modulů, nebo pouhé injekční zavedení suspenzí mikro- či nanočástic. Zatímco některé ze zmíněných zdrojů jako optická vlákna a antény energii pouze přivádějí, mediátory přeměňují energii vnějšího elektromagnetického pole na teplo.

Mediátory lze v principu ohřívat buď kapacitně s využitím elektrické složky elektromagnetického pole, anebo induktivně na základě magnetické složky [46]. Kapacitní ohřev by využíval disipaci energie vířivými proudy v materiálech s vysokou elektrickou vodivostí, zatímco induktivní ohřev využívá procesy spjaté s chováním magnetického materiálu v AC magnetickém poli. První přístup naráží na problém vodivosti biologických objektů, kde by rovněž vznikaly vířivé proudy, a tím by docházelo k nespecifickému zahřívání, ale také na rozdíly v elektrické permeabilitě různých tkání, které by generovaly výrazné nehomogenity vnějšího elektrického pole. Je tedy zřejmé, že klinické využití mohou spíše najít induktivní metody, ale i zde se pochopitelně setkáme s nežádoucím příspěvkem nespecifického zahřívání biologického objektu vlivem vířivých proudů. Proto existuje určitý limit působení střídavého magnetického pole, který se dá vyjádřit jako součin jeho frekvence a amplitudy intenzity magnetického pole $\nu \cdot H_{max}$. Podle Brezoviche [47] se dá při hodnotě $\nu \cdot H_{max} = 4,85 \cdot 10^8 \text{ Am}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a průměru smyčky indukovaného proudu asi 30 cm o testovaných osobách říci, že jsou schopny “withstand the treatment for more than one hour without major discomfort“. Existují ovšem i další omezení, která brání užití technicky dostupných AC polí a to zejména z hlediska frekvence [48,49]. Frekvence musí přesahovat 50 Hz, aby se zabránilo neuromuskulární stimulaci skeletálního i periferního svalstva, případné srdeční stimulaci a arytmií. Současně je stále nutné mít na paměti omezení kvůli nespecifickému zahřívání, a tak jsou často uváděny doporučené intervaly $\nu = 0,05 - 1,2 \text{ MHz}$ a $H_{max} = 0 - 15 \text{ kAm}^{-1}$ [6], popřípadě i užší s $\nu = 0,1 - 0,5 \text{ MHz}$ [50]. Experimentální studium zabývající se expozicí AC magnetickým polím o vyšších frekvencích popisuje např. Oleson et al v práci „Clinical experience with concentric electrodes“ [51]. Nicméně radiofrekvenční pole o $\nu > 10 \text{ MHz}$ nemá už dostatečnou penetrační hloubku [52].

Klasickými makroskopickými mediátory magneticky indukované hypertermie prostudovanými na různých typech nádorů jsou feromagnetické tyčinky či jádra (thermoseeds) zaváděné do nádoru [53]. Jejich typické rozměry činí 1 mm v průměru a 1 - 7 cm v délce, přičemž bývají zhotoveny ze slitin Ni-Cu, Fe-Pt a Pd-Co a na povrchu jsou chráněny pláštěm proti korozi. Hlavními nevýhodami takových mediátorů jsou invazivita chirurgického zákroku při jejich aplikaci, nepoužitelnost u obtížně dostupných tumorů,

nebezpečí migrace těles mediátorů a velmi nehomogenní profil teploty při hypertermické aplikaci.

Přirozeným vývojem magneticky indukované hypertermie bylo směřování k suspensím mikročástic a nanočástic. Zřejmě první experimentální práce s takovým materiálem se datuje do padesátých let minulého století. V roce 1957 totiž Gilchrist et al publikoval výsledky magneticky indukované hypertermie na vzorcích různých tkání s částicemi maghemitu $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ o velikostech 20-100 nm, které byly vystaveny AC poli s frekvencí 1,2 MHz [53]. Posléze se začaly hojně objevovat další studie, které zachycují použití různých magnetických materiálů, odlišné parametry střídavého magnetického pole, různé postupy povrchových modifikace magnetických jader a jejich administrace, případně i funkcionalizace s ohledem na dokonalejší cílení. V devadesátých letech se objevil také důležitý koncept spojený s použitím superparamagnetických nanočástic oxidů pro magneticky indukovanou hypertermii [54]. V této souvislosti se objevil název magnetická fluidní hypertermie (Magnetic Fluid Hyperthermia), neboť suspence malých superparamagnetických částic tvoří magnetickou kapalinu (magnetic fluid) či tzv. ferrofluid. Nicméně označení magnetická fluidní hypertermie se dnes obvykle používá pro magneticky indukovanou hypertermii s magnetickými nanočásticemi bez ohledu na jejich konkrétní magnetický stav.

Pro koloidně stabilní disperse magnetických částic přichází z hlediska administrace v úvahu přímá intratumorální injekce, intravaskulární, resp. vyloženě intravenózní aplikace, pokud by byly vyřešeny aspekty spojené s cirkulací v krevním řečišti jako je biokompatibilita, neimunogenita a cílení. Pro hypertermii s magnetickými částicemi lze pak navrhnout tři možné strategie: hypertermie s přímou injekcí (DIH), hypertermie s arteriální embolizací (AEH) a již zmíněná intracelulární hypertermie (IH) [55]. Základní aspekty, výhody a nevýhody těchto strategií shrnuje tab. 2.

Nové práce namnoze odkazují na kombinace hypertermie magnetických částic s dalšími terapeutickými postupy [56] či monitorovacími možnostmi [57]. Ale i dnes se stále vyvíjí vlastní chemická a fyzikální podstata jádra i obalu magnetických částic a to k vyšším topným výkonům a ke specifickým povrchovým vlastnostem dosahovaných konkrétní funkcionalizací. Každopádně významný přínos koncepce hypertermie s magnetickými částicemi spočíval již v její rané formě, kdy se vyřešil hlavní problém hypertermických metod a to nežádoucí zahřívání okolní zdravé tkáně spojené s použitím makroskopických mediátorů

a silně nehomogenní teplotní profil. Zároveň se ale s tímto novým přístupem objevila důležitá otázka a to jak zajistit dodání patřičného množství magnetických částic do rakovinného ložiska, které vyprodukuje takový tepelný výkon, že bude dosaženo teploty alespoň 42 °C po dobu 30 min za splnění výše uvedených lékařských limitů omezujících AC magnetické pole. Její řešení klade důraz na potřebu vysokého specifického absorpčního výkonu (SAR_T) magnetického nanomediátoru, který bude v dostupné dávce produkovat řádově 10^2 mWcm^{-3} [6].

Tab. 2. Strategie magneticky indukované hypertermie s nanočásticemi [35]:

| Přístup | DIH | AEH | IH |
|-----------------------------|--|---|--|
| Administrace | přímá intratumorální injekce | intraarteriální do tepny zásobující tumor | různě: intravaskulárně, popř. přímá injekce |
| Lokalizace mediátoru | extracelulární | intravaskulární | intracelulární |
| Výhody | není závislé na krevním řečišti nejsou tu rizika spojená s pohybem v krevním oběhu | menší teplotní gradienty mezi nádorem a zdravou tkání | zvýší terapeutickou účinnost stačí AC pole o menším $v \cdot H_{max}$ lze aplikovat na metastáze |
| Nevýhody | vyžaduje přesnou lokalizaci nádoru u velkých nálezů více injekcí do různých míst riziko rozšíření maligních buněk prostřednictvím jehly | pouze pro nádory s dobrým tepenným zásobením nebezpečí embolizace a nekrózy zdravé tkáně | vysoké nároky na architekturu magnetických nanočástic |

4.2.3. Fyzikální principy hypertermie

Než budeme rozebírat a popisovat mechanismy magneticky indukovaného ohřevu, zavedeme čistě fenomenologickou veličinu specifický absorpční výkon SAR , který vyjadřuje velikost práce AC magnetického pole dW realizovanou prostřednictvím magnetických částic o hmotnosti m_{MN} za infitezimální úsek času dt při teplotě T :

$$SAR_T \equiv \frac{1}{m_{MN}} \frac{dW}{dt} \Big|_T, \quad (4)$$

který přechází v adiabatickém systému částic za předpokladu, že systém nekoná žádnou další práci, a za isobarických podmínek dle první věty termodynamické a dle definice enthalpie na:

$$SAR_T = \frac{1}{m_{MN}} \left. \frac{dH_s}{dt} \right|_T = \frac{C_p}{m_{MN}} \left. \frac{dT}{dt} \right|_T, [ad., p], \quad (5)$$

kde H_s je enthalpie systému, C_p představuje isobarickou tepelnou kapacitu systému. Dodejme, že systémem se samozřejmě rozumí určitá modelová soustava, třeba vodná suspence magnetických částic. Zmíněná veličina tedy vyjadřuje energii absorbovanou magnetickými částicemi a disipovanou na teplo, vyjadřuje tak jejich specifický topný výkon. Druhá identita v (5) je důležitá z hlediska experimentálního studia magnetických částic, protože umožňuje měření topných výkonů pomocí sledování teploty a dovoluje také srovnávání topných výkonů různých částic.

Z hlediska mechanismu produkce tepla musíme rozdělit magnetické částice na dvě skupiny, u nichž disipaci energie AC magnetického pole popíšeme odlišnými modely. První skupinou jsou feromagnetické či ferimagnetické jednodoménové či vícedoménové částice, zatímco druhou skupinu tvoří částice v superparamagnetickém stavu.

Částice první skupiny vykazují v AC poli hysteretní chování, které je spojeno s magneticky indukovaným ohřevem prostřednictvím hysteretních ztrát P_{FM} , přičemž pro objemovou jednotku magnetické fáze můžeme tyto ztráty vyjádřit výrazem:

$$P_{FM} = \mu_0 \nu \oint M_V dH, \quad (6)$$

který popisuje závislost hysteretních ztrát na frekvenci pole ν a ploše hysteretní smyčky. Hysteretní ztráty P_{FM} představují topný výkon nepohyblivých částic vztažený na jejich objem, přičemž se neuvažují příspěvky vířivých proudů a feromagnetické resonance. Nicméně částice jsou příliš malé a frekvence příliš nízké, aby se vířivé proudy uplatnily. Podobně i feromagnetická resonance by přicházela v úvahu teprve u mnohem vyšších frekvencí.

Pokud bychom vzali v úvahu vztah (6), předpokládali bychom, že výrazné topné výkony nalezneme u silně anisotropních magnetických materiálů jako Nd-Fe-B nebo Sm-Co. Ale hypertermické aplikace zavádí zásadní omezení pro amplitudu AC magnetického pole, které vede k tomu, že se u takových materiálů stejně nevyužije plně saturovaná smyčka, ale projeví se pouze malá nesaturovaná smyčka s výrazně menší plochou. Další závěr, plynoucí z rovnice (6), konstatuje, že maximální hysteretní ztráty bychom získali pro pravoúhlou hysteretní smyčku. Takovou smyčku bychom však obdrželi pouze za předpokladu

uspořádaného souboru jednoosých částic orientovaných ve směru intenzity magnetického pole, což je naprosto nerealistický model pro suspensi nanočástic aplikovanou *in vivo*. Pro soubor náhodně orientovaných částic lze dosáhnout asi jedné čtvrtině takového hypotetického maxima [6].

Při výše zmíněném ztotožnění hysterezních ztrát P_{FM} s topným výkonem ve smyslu rovnice:

$$P_{FM} / \rho = SAR_T, [\text{fer.}] \quad (7)$$

kde ρ je hustota magnetických částic, jsme předpokládali, že částice jsou imobilizované, že se nepohybují vzhledem ke svému okolí, a tak jsme se mohli vyhnout příspěvku, který souvisí s Brownovou rotací. Tímto pojmem se rozumí rotace celých částic v kapalině, která je spojená s působením frikčních sil. Působení vnějšího magnetického pole vyvolávajícího rotaci magnetických částic můžeme snadno popsat ve stacionárním stavu, kdy se vyrovná moment frikční síly působící na rotující částici a točivý moment magnetického pole [62]. Pro kulové částice o objemu V a remanentní magnetizaci M_{VR} je tato rovnost dána vztahem:

$$12\pi\eta V = \mu_0 M_{VR} HV, \quad (8)$$

Pro práci vykonanou jednotkovým objemem magnetických částic za jednotku času vlivem Brownovy rotace P_B pak snadno dostaneme vynásobením rovnice (8) úhlovou rychlostí ω :

$$P_B = 24\pi^2 \eta V^2 = 2\pi V \mu_0 M_{VR} HV, \quad (9)$$

Částice v superparamagnetickém stavu disipují energii magnetického pole ale jiným mechanismem, než jsou výše popsané hysterezní ztráty. Tímto mechanismem je Néelova relaxace, jež se projevuje rotací magnetického momentu celé částice bez její vlastní fyzikální rotace. U volných částic v suspensi se nadto může uplatnit Brownova rotace, která také vede v konečném čase k relaxaci magnetizace po vypnutí vnějšího magnetického pole. U suspence částic v superparamagnetickém stavu lze tedy rozlišit dva relaxační časy, z nichž jeden odpovídá Brownově relaxaci τ_B a druhý Néelově relaxaci τ_N . Relaxační čas τ_B závisí na velikosti částic a na hydrodynamických vlastnostech média. Právě ale velikost částice také rozhoduje o energii magnetické anisotropie, a tím také o hodnotě τ_N - viz rovnice (2) a (1). Obecně se pak pro danou velikost částic zvyšuje význam Brownova příspěvku s klesající frekvencí pole.

Uvážíme-li situaci u imobilizovaných částic v superparamagnetickém stavu, omezuje se topný výkon na Néelův příspěvek P_N . K popisu mechanismu disipace energie při Néelově relaxaci se pak využívá Debeyův model [63] a vychází se z představy, že ve střídavém magnetickém poli nastává změna magnetizace s konečnou rychlostí, která se tak nutně opožďuje za intenzitou magnetického pole a můžeme ji vyjádřit pomocí komplexní susceptibility:

$$\chi = \chi' + i\chi'' , \quad (10)$$

kde reálná i imaginární složka jsou závislé na frekvenci pole. Imaginární složka susceptibility pak souvisí s P_N prostřednictvím relace [např. 64]:

$$P_N = \mu_0 \pi \nu \chi'' H^2 , \quad (11)$$

přičemž frekvenční závislost imaginární susceptibility vyjádříme dobře známými vztahy [např. 65]:

$$\chi'' = \chi_0 \frac{\nu \tau_N}{1 + (\nu \tau_N)^2} , \quad (12)$$

$$\chi_0 = \frac{\mu_0 M_{VS}^2 V}{kT} . \quad (13)$$

a současně odkážeme na již uvedený vztah (1) pro Néelův relaxační čas. Při výhradním uplatnění Néelovy relaxace jako jediné složky topného výkonu pak SAR_T dostaneme z P_N přepočtem objemové jednotky na jednotku hmotnostní:

$$P_N / \rho = SAR_T , \text{ [spm.] } \quad (14)$$

Kombinací rovnic (1), (11), (12) a (13) pak dostáváme pro specifický absorpční výkon imobilizovaných částic v superparamagnetickém stavu výraz:

$$SAR_T = \frac{\tau_0 \mu_0^2 \pi \nu^2 M_{VS}^2 V \exp\left(\frac{KV}{kT}\right) H^2}{\rho kT \left(1 + \nu^2 \tau_0^2 \exp\left(2 \frac{KV}{kT}\right)\right)} , \quad \text{[spm.] } (15),$$

z něhož vyplývá, že pro nízké frekvence, kdy je $\nu \ll 1$ a kdy jsou částice z hlediska velikosti Néelova relaxačního času a délky periody jednoho cyklu střídavého pole v superparamagnetickém stavu, závisí SAR_T na frekvenci kvadraticky, zatímco pro vysoké frekvence, kdy je $\nu \gg 1$, se topný výkon blíží nasycené hladině. Mezi těmito limitami se objevuje výrazné maximum, které odpovídá maximu na spektru imaginární susceptibility. Poloha tohoto maxima je u daného materiálu určena Néelovým relaxačním časem, který exponenciálně závisí na energii anisotropie, a ta je zase závislá na třetí mocnině velikosti částic. Z této skutečnosti pak vyplývá výrazná závislost SAR_T na velikosti částic [66,67] a také

potřeba velmi úzké distribuce velikosti částic a magnetické anisotropie, pokud chceme využít Néelovu relaxaci.

4.3. Magnetické nanočástice v MRI a další biomedicínální aplikace

4.3.1. Magnetické nanočástice jako kontrastní látky

Magnetická zobrazovací resonance MRI se stala jednou z nejúčinnějších neinvazivních zobrazovacích metod, které používá současná medicína [68,69]. Její principy vycházející ze stejné podstaty jako NMR spektroskopie, které jsou tak dobře známy, že si v tomto kontextu nežadají samostatného výkladu. Připomeneme pouze důležité pojmy související s použitím kontrastních látek, zejména pojem relaxace, relaxačního času a relaxivity kontrastní látky.

Zabývejme se situací v NMR či MRI experimentu právě poté, co byl vypnut daný radiofrekvenční puls kolmý na magnetickou indukci \mathbf{B}_0 silného magnetického pole spektrometru či skeneru. Předpokládejme, že puls byl dost dlouhý na to, aby vyvolal koherentní odpověď magnetických momentů studovaných vodíkových jader ve vzorku. V důsledku toho se magnetizace vzorku, daná vodíkovými spiny, nalézá v orientaci více či méně skloněné oproti původnímu směru paralelnímu s hlavním magnetickým polem. Po odstranění příčného pole radiofrekvenčního pulsu působí na magnetické momenty již jen pole \mathbf{B}_0 , a tudíž se výsledná magnetizace vzorku vrací do původní orientace procesem spojeným s disipací energie, který označujeme jako relaxace. Ve skutečnosti se uplatňují dva samostatné relaxační procesy označované jako longitudální a transversální relaxace. V prvním případě sledujeme nárůst průmětu magnetizace do směru \mathbf{B}_0 (T_1 -recovery), zatímco v druhém případě jde o zmenšování průmětu magnetizace do roviny kolmé k \mathbf{B}_0 (T_2 -decay). Takové události sedají sledovat pomocí sběrných cívek v NMR spektrometru či MRI skeneru, v nichž se indukují změnou magnetického momentu určité proudy. Z fyzikálního hlediska mají oba relaxační procesy odlišný základ. U longitudální relaxace disipují excitované jaderné spiny energii v podobě tepla do svého blízkého okolí, tzv. mřížky, a to prostřednictvím dipólových interakcí magnetických momentů s okolím. Longitudální relaxace se proto také označuje jako spin-mřížková relaxace. Naproti tomu příčná relaxace je dána ztrátou fázové koherence

precedujících spinů, která nastává poměrně rychle v důsledku jejich vzájemných magnetických interakcí a magnetických interakcí s dalšími fluktuujícími momenty v y systému. Transversální relaxace se proto také nazývá spin-spinová relaxace.

Představme si, že aplikujeme kolmý puls tzv. 90-stupňový puls, který sklopí čistou magnetizaci vzorku právě do roviny kolmé k \mathbf{B}_0 . Potom longitudální relaxaci popisuje rovnice:

$$M_z = M(1 - \exp(-t/T_1)), \quad (16)$$

kde M_z označuje složku vektoru \mathbf{M} rovnoběžnou s \mathbf{B}_0 (osa z byla zvolena podél \mathbf{B}_0) a M označuje jeho velikost. Parametr T_1 je longitudální (spin-mřížková) relaxační doba. Podobnou kinetikou se řídí i transversální relaxace, kde pro zvolený směr sledování magnetizace, jímž je rovina kolmá k \mathbf{B}_0 (rovina xy), můžeme odpovídající průmětu magnetizace M_{xy} vyjádřit:

$$M_{xy} = M \sin(\omega_0 t + \varphi) \exp(-t/T_2), \quad (17)$$

kde ω_0 značí Larmorovu frekvenci precedujících spinů, φ fázovou konstantu a parametr T_2 je příčná (spin-spinová) relaxační doba.

Relaxační doby, které se lokálně ve studovaném objektu liší, rozhodují také o příslušných kontrastech na výsledném MRI snímku. Relaxivity lze také cíleně ovlivnit pomocí speciálních kontrastních činidel, a tím vytvořit zřetelné kontrastní projevy na MRI snímcích. Existují T_1 a T_2 kontrastní činidla, látky, které zkracují především T_1 , resp. T_2 relaxační časy. Míra těchto změn se vyjadřuje veličinami longitudální relaxivity r_1 a transversální relaxivity r_2 :

$$r_i = \frac{1}{c_M} \left(\frac{1}{T_i} - \frac{1}{T_i(H_2O)} \right), \quad (18)$$

kde $i \in \{1,2\}$, c_M označuje molární koncentraci kontrastního činidla, T_i relaxační čas ve vzorku s kontrastním činidlem a $T_i(H_2O)$ relaxační čas ve vzorku čisté vody. K T_1 kontrastním látkám patří dobře známá skupina gadolinitých komplexů, popřípadě jiných vysokospinových paramagnetických iontů, které zrychlují longitudální relaxaci. Jejich působení předpokládá přímou interakci protonu ^1H a magnetického iontu, tedy magnetické složky kontrastního činidla [70]. Zkracování T_1 relaxačních časů se objevuje i u magnetických nanočástic, ale může být umenšeno obalovou vrstvou magnetického jádra [71]. Magnetické nanočástice se proto primárně využívají jako T_2 kontrastní látky, které zrychlují transversální relaxaci ^1H molekul vody difundujících gradientem magnetického pole vytvářeného v okolí částice, kdy

původně synchronně precedující spiny ztrácejí fázovou koherenci [72,73]. Magnetické nanočástice čili T_2 činidla se proto označují v MRI také jako susceptibilitní činidla. Z hlediska vzniklé magnetické nehomogenity vyjádřené jako změna vnějšího magnetického pole ΔB_0 můžeme pro nový longitudální relaxační čas T_2^* psát:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \gamma \frac{\Delta B_0}{2}, \quad (19)$$

kde γ značí gyromagnetický poměr vodíkového jádra [74].

V dnešní době se jako T_2 činidla klinicky používají koloidní suspence na bázi nanočástic oxidů železa v superparamagnetickém stavu, které se označují jako SPIO (Superparamagnetic Iron Oxides) a jako kontrastní činidla jsou aktivně studovány již přes dvě desetiletí [72]. Magnetickou fází v nich tvoří nestechiometrické oxidy na přechodu mezi magnetitem a maghemitem. Z konkrétních klinicky materiálů [75,76] uveďme ferumoxsil, který je dostupný pod obchodními značkami GastroMARK® a Lumiren®. Ferumoxsil je tvořen částicemi SPIO obalenými křemičitou vrstvou [77,78] a používá se pro vizualizaci trávicího traktu, přičemž je podáván perorálně. Naopak dobře známá jména Endorem™, Feridex® a Feridex I.V. jsou obchodními značkami ferumoxidu tvořeného SPIO částicemi obalenými dextrans. Tento materiál je určený pro intravenózní administraci a používá se k detekci jaterních lézí. Kromě nanočástic typu SPIO se v brzké době budou pravděpodobně používat ještě menší částice typu USPIO (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxides), mezi které patří např. ferumoxtran registrovaný pod značkami Sinerem® a Combidex®. Ferumoxtran je specifikován jako kontrastní činidlo pro lymfatické uzliny a v současnosti prochází závěrečnou fází klinických zkoušek [79].

4.3.2. Další biomedicínální aplikace

Magnetické nanočástice skýtají daleko více biomedicínálních aplikací, než je magneticky indukovaná hypertermie a jejich využití jako kontrastní látek v MRI. Snad nejčastěji skloňovanou možností v souvislosti s magnetickými částicemi je doručování léčiv (drug delivery) do vybraného místa pomocí magnetického cílení, přičemž zacíleným místem se většinou míní nádor. Magnetické nanočástice, respektive mikročástice se pak stávají magnetickými nosiči, které mají do tumoru doručit cytostatika, jež se na daném místě uvolní. Představa, že různé léky budou dodávány do přesně zacílených míst je velice přitažlivá a nepochybně výhody takové aplikace léčiv převyšují možnosti prosté administrace bez

magnetického cílení. Základní úvaha vychází z toho, že se potlačí systémová distribuce léčiva podaného do krevního oběhu, a tím se odstraní či umenší nežádoucí účinky a také se nepochybně sníží potřebná terapeutická dávka.

Návrhy na využití magnetických nosičů a magnetického cílení do nádorů pocházejí ze sedmdesátých let [80-82]. Je potřeba si však uvědomit vysoké nároky nejen na magnetické nosiče, na vazbu cytostatik a mechanismus jejich uvolňování a také na vlastní techniku magnetického cílení, které vyplývají ze samotného principu intravaskulární administrace, tedy intravenózní, popřípadě intraarteriální administrace. Magnetické nosiče musí být především biokompatibilní, tedy netoxické a neimunogenní, přičemž je potřeba zajistit, aby nosiče pro danou aplikaci měly dostatečně dlouhou dobu cirkulace v krevním řečišti a nebyly okamžitě odstraněny retikulo-endotheliálním systémem (RES). Vedle chemické toxicity magnetických nosičů je nezbytné zamezit i případnému mechanickému zablokování tenkých kapilár. Z tohoto hlediska lze uvažovat pouze velikostní frakce menší než 5 μm . Dále je nutné diskutovat velikost i z farmakokinetického hlediska intravaskulární administrace. Částice byt menší než 5 μm , ale větší než 0,2 μm jsou v důsledku mechanické filtrace sekvestrovány slezinou. Obecně větší částice jsou také rychleji rozpoznávány fagocytujícími buňkami RES. Naproti tomu nanočástice menší než 10 nm vykazují vysokou clearance v ledvinách [5]. Při intravenózní administraci (abstrahujeme tedy od intraarteriálního podání) s ohledem na velmi tenké kapiláry v některých tkáních, pokud jsou právě tyto zacíleny, velikostní optimum v intervalu 10-100 nm. Ve farmakokinetice systémově podaných částic se také uplatňují další důležité parametry částic, a to hlavně jejich chemický povrch a náboj. Tyto parametry vedle velikosti částice také rozhodují o době cirkulace částic v krevním oběhu a o jejich biologické dostupnosti [83]. Pro zajištění delší cirkulační doby magnetických nosičů v krvi je nutné provádět specifické modifikace jejich povrchu, z nichž se nejvíce osvědčily funkcionalizace některými biologickými, ale i syntetickými organickými polymery. V tomto kontextu zmiňme dobře známý pojem „stealth“ technologie nosičů, nosičů neviditelných pro imunitní systém, která využívá zejména poly(ethyleglykol) – PEG.

Zajímavou koncepcí je využití magnetických nosičů pro radiofarmaka, tedy pro doručování radionuklidů do tumorů. Strategie se může plně omezit na pevné spojení magnetického nosiče s radionuklidy a rovněž se nemusí řešit případná internalizace nosičů buňkami, neboť stačí jejich prostá lokalizace v tumoru. Za výchozí studie s *in vitro* a *in vivo* experimenty můžeme označit práce Häfeli et al. V první studii věnované této metodě byl jako

radionuklid využít β -emitor ^{90}Y [84], který byl spolu s magnetitem inkorporován do polyaktidových mikrosfér. Pozdější práce využívaly i β -emitor ^{188}Re [85,86].

Tkáňové inženýrství může v kombinaci s magnetickými nanočásticemi a metodikou magnetické manipulace dosáhnout mimořádných výsledků, které by mohly řešit řadu problémů spojených s transplantacemi orgánů [87]. Ito et al vypracoval např. metodiku, která se dá využít ke konstrukci tkání, přičemž klíčovou roli v ní hrají magnetické nanočástice umístěné v kationických liposomech [88]. Konkrétně se v citované práci inkubovali keratinocyty s magnetickými kationickými liposomy a buňky vykazovaly vysoký příjem magnetického materiálu. Magneticky značené keratinocyty se pak pomocí magnetického pole lokalizovaly na nenabitý hydrogel co podložku, na které bez asistence magnetického pole neadherovaly. Vznikaly tak blány s keratinocyty, jež se daly sklízet pomocí permanentních magnetů. Dodejme, že keratinocyty tvoří základní složku epidermis a lze je využít k rekonstrukci lidské kůže [89,90]. Větší výzvu však představuje konstrukce heterotypických tkáňových systémů, které obsahují například definované vrstvy různých typů buněk. V navazující práci manipuloval Ito et al endotheliální buňky izolované z aorty a značené výše uvedenými kationickými liposomy pomocí magnetického pole a umístil je na vrstvu hepatocytů. Ukázalo se, že pod endotheliálními buňkami se vytváří monovrstva hepatocytů exprimujících albumin, zatímco jeho sekrece hepatocyty v kontrolním experimentu bez magnetického pole nebyla prokázána ani po delší době.

Významným problémem tkáňové reparace s širšími možnostmi v biomedicíně je spojování různých tkání, ke kterému se dá použít mimo jiné technika spojování za vyšší teploty, kdy se tkáň přiblíží a zahřeje [91]. Předpokládá se, že dochází k určité denaturaci proteinů a k souvisejícímu propletení topologicky blízkých proteinových struktur [92]. Typicky lze využít k lokálnímu zahřátí jako silně absorbující mediátory zlaté nanovrstvy, které absorbují světelnou energii laseru [93,94]. Technika využívající takové nanočástice je s ohledem na nezbytný příkon energie do systému šetrnější. Potenciál magnetických nanočástic je zřejmý s ohledem na jejich možnou hypertermickou roli či roli nosičů zlatých nanovrstev. S tkáňovou reparací *in vivo* také souvisí možnost nasazení kmenových buněk, které se mohou diferencovat a obnovovat různé tkáně, ať již poškozené nebo degenerované, pokud tedy kmenové buňky dostávají příslušné biochemické signály. Zajištění zmíněné signalizace a dodání kmenových buněk na místo určení představuje překážku v širším využití. Ale magnetické nanočástice mohou zprostředkovat zavedení kmenových buněk i zacílení

signálních látek nezbytných k aktivaci náležitých biologických funkcí kmenových buněk. Taková terapie založená na kmenových buňkách by výrazně změnila léčbu např. Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby [95], srdečních chorob [96], ale i cukrovky [97] a rakoviny [98].

S rostoucím významem zavádění cizorodých genů do buněk při genové terapii a při vytváření geneticky modifikovaných organismů vzniká potřeba stále zdokonalovat současné transfekční metody, případně vyvíjet metody nové, mezi něž patří i magnetofekce. Magnetofekce je tedy transfekce nukleových kyselin založená na magnetických částicích, které se používají jako nosiče DNA či RNA a jejichž působení je spojeno s aplikací magnetického pole. Mezi hlavní problémy současné genové terapie nesporně patří nízká účinnost nevirových vektorů, závislost na membránových receptorech u adenovirálních vektorů a nízké titry retrovirálních vektorů. Magnetofekce obecně nevyužívá žádné specifické membránové receptory, a tím se dá namnoze rozšířit i na jinak resistantní buňky. V *in vitro* experimentech se superparamagnetickými nanočásticemi oxidů železa se ukázalo, že magnetofekce zvyšuje účinnost transfekce virových i nevirových vektorů a je rychlá a snadná [99].

Poměrně běžně *in vitro* i *in vivo* používaná metoda genové transfekce založená na transdukcii adenovirální DNA [100] naráží u některých buněk na to, že buňky neexprimují receptory tohoto viru, a tedy k transdukcii nemůže dojít [101]. Kamei et al [102] připravil magnetické nanočástice na bázi oxidů železa o střední velikosti 26 nm, na něž navázal menší zlaté nanočástice za vzniku kompozitních magnetických částic s hydrodynamickou velikostí 240 nm a současně byl zkonstruován adenovirus s genem pro fluorescentní protein EGFP (enhanced green fluorescence protein) Při inkubaci zkonstruovaného viru s kompozitními nanočásticemi došlo k navázání virionů na zlaté nanočástice prostřednictvím cysteinových a methioninových zbytků virových proteinů. Vzniklý transfekční systém byl testován na buňkách myšího melanomu za působení magnetického pole a prokázal, že dochází k účinné transdukcii ve srovnání s kontrolou tvořenou samotným adenovirem. Dále bylo prokázáno, že transfekční systém vstupuje do buněk přímou penetrací cytoplasmatické stěny za účasti magnetické síly, tedy nikoli endocytosou.

4.4. Ternární oxidové fáze pro magneticky indukovanou hypertermii

Jedním z kritických úskalí hypertermická terapie je problém řízení teploty během aktivní aplikace tepelného zdroje v rakovinném nálezu, protože i při lokalizovaném působení hrozí přehřátí a poškození okolní zdravé tkáně, pokud by regulace teploty nebyla vyřešena. Určitým řešením je invazivní termometrie, kdy se do nádoru zavede sonda měřící teplotu *in situ*. Jako měřící systém lze použít diamagnetickou sondu komunikující s vyhodnocovací jednotkou pomocí optického vlákna, kterou neruší AC magnetické pole [103]. Vedle aspektu invazivity zůstává zřejmou nevýhodou i to, že optické vlákno s čidlem měří teplotu pouze v jednom místě, ale ve skutečnosti se hypertermie aplikuje na makroskopický nádor. Alternativou by mohlo být bezkontaktní měření teploty využívající teplotní závislost relaxačních dob vodíkových jader, které lze sledovat pomocí magnetické resonance. Takový přístup byl navržen zejména pro ultrazvukovou hypertermii [104], kde situaci nekomplikují magnetické nanočástice. Nicméně v poslední době se naopak objevují metody mapování teplotních gradientů, které cíleně využívají magnetické nanočástice či paramagnetické kontrastní látky na bázi oktaedricky koordinovaného železnatého kationtu [57]. Tyto techniky se opírají o teplotní závislost i dalších parametrů měřitelných pomocí MRI, mezi něž patří i fázový posun. Další možnosti zahrnují použití termochromných fluorescentních a optických filmů [105].

Naprosto odlišný a elegantní přístup regulace teploty během hypertermie lze uskutečnit přímo fyzikálním mechanismem na úrovni hypertermického mediátoru. Dovolují to feromagnetické materiály s Curieovou teplotou T_C ležící nepříliš vysoko nad teplotou lidského těla. Jestliže mediátor dosáhne této teploty, přechází do paramagnetického stavu a nevykazuje již hysteretní ztráty ani nemůže disipovat energii Néelovou relaxací jako částice v superparamagnetickém stavu. Tak lze zajistit, že z principu nebude překročena určitá teplotní hladina. Curieovy teploty by dosáhl pouze mediátor v adiabatickém systému vystavený AC magnetickému poli. V reálném termodynamickém systému, tedy v lokalizovaném tumoru *in vivo*, který je otevřený, se však teplota tkáně vzhledem ke konečné rychlosti disipace energie a nenulové rychlosti odvodu tepla může dosáhnout pouze určité maximální teploty ležící pod T_C . Z hlediska zvolených hranic systému mediátor - cílová tkáň se uplatňují vedle produkce tepla tepelné ztráty různého charakteru a ty vedou ke stabilizaci teploty v ustáleném stavu. Taková strategie byla navržena a vyvinuta pro makroskopické

mediátory typu topných jader z feromagnetických slitin [106]. Jako přirozené vývojové pokračování tohoto přístupu se zdají být koloidní magnetické částice s vhodnou Curieovou teplotou. Je však zřejmé, že to nemohou být mikro- ani nanočástice oxidů železa, ačkoli těmto nanomateriálům nelze upřít řadu předností pro biomedicínální aplikace. Ale jejich problém spočívá ve velmi vysokých hodnotách T_C , u magnetitu je $T_C = 834$ K a u maghemitu se odhaduje $T_C \approx 918$ K (γ - Fe_2O_3 je metastabilní) [107]. Mediátory na bázi těchto oxidů by v AC magnetickém poli mohly lokálně zvyšovat teplotu k velmi vysokým hodnotám.

Je tedy nutné uvažovat jiné sloučeniny a jedno z možných řešení předpokládá složitější oxidové materiály, kde alespoň jeden nastavitelný parametr složení či struktury umožňuje modifikovat magnetické vlastnosti kýženým způsobem, a tak i vhodně nastavit T_C . Konkrétní variantou těchto alespoň ternárních oxidových sloučenin jsou substituční tuhé roztoky na bázi oxidů kovů, kde postupná záměna určitého kationtu na dané krystalografické pozici kationtem jiným mění fyzikální, *sensu stricto* magnetické vlastnosti, a tak dovoluje nastavovat chování magnetické fáze ve střídavém magnetickém poli [108]. Druhou důležitou možností přípravy alespoň dvoufázových systémů, v nichž se kombinují dvě magneticky odlišné fáze [109].

V roce 2002 zveřejnil Kuznetsov et al na konferenci 4th International Conference on Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers na Floridě příspěvek [110] o přípravě částic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ a $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ získaných postupem „freeze-drying“, jejichž velikost byla posléze snížena vysokoenergetickým mletím na 100-200 nm a dále zde byly popsány experimenty ve střídavém magnetickém poli ($\nu = 800$ kHz, $H_{max} = 7,2$ kAm⁻¹), ve kterém částice $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ vyhřály celou na 46 °C a částice $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ na 38 °C. Fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ představuje tuhý roztok se strukturou perovskitového typu, který je i beztak dobře známý pro jeho fyzikální vlastnosti týkající se změny odporu v magnetickém poli.

Podotkněme, že zmíněný pojem strukturního typu lze s výhodou použít pro zavedení obecné roviny diskuse materiálů zajímavých pro magneticky indukovanou hypertermii a případně další biomedicínální aplikace. Jednotlivé strukturní typy umožní analyzovat, které krystalochemické aspekty lze využít k modifikaci určitých fyzikálních vlastností. Jmenovitě nám teď umožní na vybraných příkladech vyložit magnetické vlastnosti a jejich proměny v souvislosti s variabilitou danou obsazováním tetraedrických a oktaedrických dutin v těsně

uspořádaných mřížkách oxidových aniontů, popřípadě jiných krystalografických poloh v obecnějších mřížkách různými kationty a možnosti postupného dopování takových struktur, kdy zaváděním určitých příměsí fázi modifikujeme až provádíme rozsáhlou rekonstrukci jejích krystalografických poměrů spojenou se změnou magnetických vlastností.

4.4.1. Perovskitové fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

Perovskitový strukturní typ stejně jako typ spinelový je natolik znám, že by bylo zbytečné jej představovat. Ovšem podívejme se na skupinu látek, které odpovídají tomuto strukturnímu typu a které mají unikátní magnetické a elektrické vlastnosti a mezi které patří právě i fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. Jedná se o skupinu perovskitových sloučenin $\text{RE}_{1-x}\text{AE}_x\text{MnO}_3$ s obsahem kovů vzácných zemin RE, alkalických zemin AE (či velmi podobných kationtů) a manganu, kde trojmocným kationtem RE^{3+} je např. La^{3+} , Pr^{3+} , Nd^{3+} , Sm^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Ho^{3+} , Tb^{3+} , Y^{3+} atd., ale třeba i Bi^{3+} . Jako dvoumocný kation kovů alkalických zemin vystupuje Sr^{2+} , Ca^{2+} a Ba^{2+} , popřípadě i Pb^{2+} . U látek tohoto typu byl popsán obrovský pokles elektrického odporu při aplikaci magnetického pole, který byl později označen jako kolosální magnetoresistance (CMR), aby se tento jev odlišil od gigantické magnetoresistance (GMR) popsané u vrstevnatých a částicových systémů přechodných kovů [111]. Dodejme, že Searle a Wang již v roce 1969 publikovali [112] závislost resistivity monokrystalu $\text{La}_{1-x}\text{Pb}_x\text{MnO}_3$ na magnetickém poli a jeho velkou magnetoresistanci v blízkosti T_C .

Dopování výchozí sloučeniny REMnO_3 prvkem AE, které vzhledem k podmínce elektroneutrality a za předpokladu absence vakancí vede ke kombinaci $\text{RE}^{\text{III}}_{1-x}\text{AE}^{\text{II}}_x\text{Mn}^{\text{III}}_{1-x}\text{Mn}^{\text{IV}}_x\text{O}_3$, a tak s ohledem na B polohy dochází k děrovému dopování. Princip využití AE k nastavení oxidačního stavu manganu představuje metodu řízené valence. Popsaným děrovým dopováním měníme dva základní parametry: obsazení vodivostního pásu (e_g pásu) a šířku vodivostního pásu, která odpovídá interakci elektronu při přeskokování z jednoho MnO_6 na další. Oba uvedené parametry pak určují kinetickou energii vodivostních elektronů (e_g elektrony Mn^{3+}), která rozhoduje o přechodu vodič - izolátor a o soutěžících magnetických interakcích, feromagnetické a antiferomagnetické [113]. Tím se tedy dostávají elektrické i magnetické vlastnosti pod chemickou kontrolu.

Perovskitová struktura je sice v ideálním případě kubická, ale krystalické látky, které k ní řadíme jako třeba $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, vykazují namnoze mřížkové distorse porušující

kubickou symetrii. Velmi typickou distorsí je právě deformace oktaedrů MnO_6 vycházející z Jahnova-Tellerova efektu vysokospinového kationtu Mn^{3+} ($3d^4$), jehož tři 3d elektrony obsazují t_{2g} a jeden e_g hladinu. Elektron na e_g hladině vede k Jahnovu-Tellerovu efektu spojenému s axiální oktaedrickou distorsí původního oktaedru symetrie O_h za vzniku tetragonální bipyramidy symetrie D_{4h} . V krystalu fáze LaMnO_3 se pak uplatňuje kolektivní Jahnův-Tellerův efekt a dochází ke koherentní distorsi [114]. Ovšem statická Jahnova-Tellerova distorse s děrovým dopováním v $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ mizí. Dále dodejme, že další krystalografická distorse vyplývá z propojení oktaedrů MnO_6 sdílejících vrcholy a vede ke klencové nebo ke kosočtverečné mřížce (viz dobře známý GdFeO_3). Z hlediska obecné perovskitové struktury ABO_3 můžeme na přítomnost těchto dvou distorsí usuzovat dle hodnoty tolerančního faktoru f_t :

$$f_t = \frac{(r_A + r_O)}{\sqrt{2}(r_B + r_O)}, \quad (20)$$

kde r_i označuje iontové poloměry A, B a O, přičemž v případě více iontů na jedné krystalografické pozici uvažujeme stechiometricky vážené průměry. Pokud se f_t blíží hodnotě 1, vzniká kubická perovskitová struktura. Pokud ale f_t klesá, nutně se vyvíjí distorse. Pro $0,96 < f_t < 1$ vzniká klencová mřížka a pro ještě nižší hodnoty $f_t < 0,96$ mřížka kosočtverečná. Uvedme, že mateřská nedopovaná sloučenina řady $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, tedy LaMnO_3 krystaluje v prostorové grupě $Pbnm$ čili jako kosočtverečná.

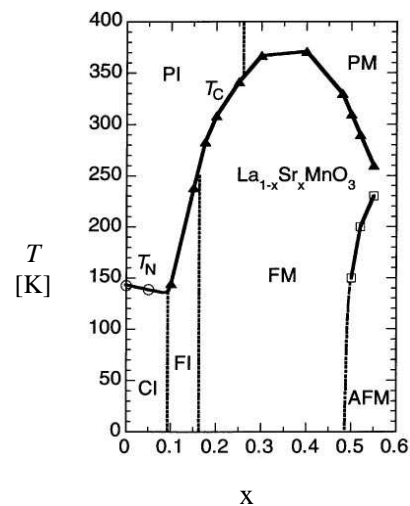
V distortované struktuře se pak úhel svíraný atomy B, O a B θ_{BOB} mění v závislosti na f_t . Tento úhel je důležitý z hlediska fyzikálních vlastností, najmě z hlediska vodivosti, protože geometricky určuje úhel mezi spiny sousedících atomů θ_{ns} . V určité aproximaci totiž dostáváme pro efektivní interakční člen přenosu elektronu t_{ns} z jednoho atomu v B poloze na sousedící atom v B poloze (jedná se tedy o energii výměnné interakce) Andersonovu-Hasegawovu rovnici [115]:

$$t_{ns} = t_{ns}^0 \cos\left(\frac{\theta_{ns}}{2}\right), \quad (21)$$

odkud vyplývá i význam t_{ns}^0 odpovídající $\theta_{ns} = 0^\circ$, který dostáváme pro $\theta_{\text{BOB}} = 180^\circ$. Šířka e_g vodivostního pásu v jedoelektronové aproximaci je přitom úměrná přibližně kvadrátu členu t_{ns} . V tomto kontextu se opět vraťme ke kosočtverečné struktuře LaMnO_3 s největší distorsí struktury, která je nevodivá. Při dopování stronciem se struktura stává klencová, úhel se mění a fáze se později stává vodivá. V dalším se však zaměříme výhradně na magnetické vlastnosti a jejich strukturní aspekty.

Manganitová fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ je nejvíce kanonický systém s dvojitou výměnou, neboť vykazuje největší jednoelektronovu šířku vodivostního pásu, a tedy je méně ovlivněna elektronově–mřížkovými a coulombickými korelačními efekty [113]. Jak již jsme ale zmínili, výchozí nedopovaný člen LaMnO_3 je poznamenán Jahnovým-Tellerovým efektem, ale také elektronovými korelačními efekty spojenými se stupněm zaplnění e_g vodivostního pásu (pouze kationty vysokospinové Mn^{3+}). LaMnO_3 je antiferomagnetický s Néelovou teplotou $T_N = 140$ K, přičemž se uplatňuje vrstevnaté uspořádání spinů (tzv. A typ), kde jsou feromagnetické roviny (001) antiferomagneticky spojeny podél směru [001]. Při malém děrovém dopování, náhradou Mn^{3+} za Mn^{4+} , uskutečněným zaváděním kationtů Sr^{2+} do A poloh se spiny sklánějí směrem k ose [001]. Původní vysvětlení odpovídajícího magnetického chování, které bylo navrženo při studiu $\text{La}_{1-x}\text{Ca}_x\text{MnO}_3$ [116], postulovalo přítomnost směsi feromagnetických a antiferomagnetických domén. Později ale de Gennes publikoval [117], že rozšíření vlnové funkce díry podél osy [001] může zprostředkovat feromagnetickou interakci, která způsobuje sklánění spinů směrem k příslušnému směru. S rostoucím děrovým dopováním $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ se úhel náklonu spinů zvyšuje a nad složení o $x > 0,10$ jde téměř o feromagnetické uspořádání, byť do $x < 0,15$ se zdá, že antiferomagnetická fáze se skloněnými spiny ještě přetrvává [118,119]. Současně dochází vlivem ztráty kolektivní Jahnovy-Tellerovy distorse k transformaci symetrie mříže na klencovou strukturu $R\bar{3}c$. Pro vyšší obsah Sr dostáváme při nižších teplotách čistě feromagnetickou fázi. Curieova teplota prudce roste až do složení o $x = 0,3$, kdy můžeme pozorovat určité její nasycení. V silně dopovaném systému, který se blíží $x = 0,5$ se však opět objevuje při nízkých teplotách antiferomagnetické uspořádání. Tyto přechody jsou zachyceny na diagramu magnetických a elektrických vlastností na obr. 2.

Obr. 2. Magnetický a elektrický fázový diagram $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$:
 CI – izolant se skloněnými spiny,
 FI – feromagnetický izolant,
 FM – feromagnetický kovový vodič,
 AFM – antiferomagnetický kovový vodič,
 PI – paramagnetický izolant,
 PM – paramagnetický kovový vodič,
 převzato z práce Tokura et al [113].



Nyní se posuňme na metrické škále k daleko menším rozměrům, a to k magnetickým nanočásticím až mikročásticím $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, jejichž vlastnosti se sice budou řídit zákonitostmi, které jsme obecně vyložili v kapitole 4.1.2, ale budou odpovídat právě popsaným strukturním a elektronovým poměrům, které zůstávají zachovány. Vedle již citovaného příspěvku Kuznetsov et al o přípravě a studiu perovskitová fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ se v posledních letech objevilo několik prací, které se zabývají přípravou těchto nanočástic a studiem pro případné využití v magneticky indukované hypertermii. Podíváme se zejména na možnosti jejich syntesy.

Přípravu nanočástic o složení $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$, které bylo dle prozatímních úvah vybráno s ohledem na Curieovu teplotu vhodnou pro magneticky indukovanou hypertermii, popisují práce Pollerta a Vasseura et al z roku 2005 a 2007 [120,121]. K přípravě nanočástic byla použita citrátová metoda a La_2O_3 , SrCO_3 a MnCO_3 sloužily jako výchozí látky. Postup zahrnuje rozpouštění v kyselinách, dále přípravu směsi kationtů La^{3+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , citrónové kyseliny a ethylenglykolu v molárním poměru 0,75 : 0,25 : 1,00 : 1,25 : 2,25, zahuštění, sušení a kalcinaci, při které se získá prekursor se zárodky manganitů. Prekursor se dále tepelně zpracovává a vznikají částice o střední velikosti krystalitů 20 - 180 nm. Jednofázový nanokrystalický produkt $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ se podařilo získat při teplotách výpalu od 650 °C a velikost připravovaných částic určuje právě teplota a doba výpalu. Autoři upozornili také na potřebu mechanického zpracování kvůli tendenci k sintrování, zejména se projevující při vyšších teplotách výpalu. Vedle magnetických vlastností v závislosti na velikosti krystalitů jsou zde dále prezentovány základní studie s magneticky indukovaným zahříváním surových nanočástic stabilizovaných agarosovým gelem, které poukazují na jejich potenciál pro magnetickou hypertermii a potvrzují, že v AC magnetickém poli dosahují suspence maximální teploty pod hodnotou T_C . Současně Uskoković publikoval dvě práce, týkající se přípravy magnetických částic $\text{La}_{0,74}\text{Sr}_{0,26}\text{MnO}_3$ daleko větších rozměrů [122, 123] (práce se liší pouze rozsahem, detaily jsou zahrnuty do podrobnějšího článku [122]), ale autor také diskutuje připravený materiál jako mediátor pro hypertermii. Materiály byly připraveny tradiční cestou pro získání oxidové keramiky – kalcinací směsí Mn_3O_4 , La_2O_3 a SrCO_3 na vzduchu při 1200 °C po dvě hodiny, kdy narůstaly nepochybně velké krystality, a tak bylo zapojeno vysokoenergetické mletí v kulovém mlýnu při 300 rpm po dobu 4 hod a teprve tehdy se podařilo získat částice, jejichž velikost odhadnutá na základě měření specifického povrchu stanoveného BET isothermou byla kolem 100 nm. Částice byly bez předchozí stabilizace a bez jakýchkoli úprav enkapsulovány s využitím TEOS. Vznikaly tak poměrně

velké útvary s průměrem řádově 250 nm, které jsou dle TEM nadto silně propojené až sloučené a vytvářejí spíše materiál typu nanočástic rozptýlených v matici.

V letech 2005 a 2006 byly publikovány ještě i další práce [124,125] zabývající se syntésou vybraného složení tuhého roztoku $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ v nanokrystalické podobě. Ale tyto příspěvky pouze popisují preparaci, strukturu a magnetické vlastnosti připravených nanočástic, aniž by je adresovaly pro použití v magnetické hypertermii nebo pro biomedicinální aplikace. Experimentální část publikace Duan et al z roku 2005 v *Physica B* se omezuje na velmi lakonické sdělení o vlastní přípravě nanočástic $\text{La}_{0,7}\text{Sr}_{0,3}\text{MnO}_3$ o velikostech 16 - 47 nm, hovoří se v ní o „sol-gel metodě“, o blíže neurčeném „dispersním činidle“ a kalcinaci při různých teplotách bez udání konkrétních hodnot, byť následuje velmi vyčerpávající a zcela bezdůvodně detailní pasáž o konvenčním měření polykrystalické rtg difrakce. Moreira et al se věnoval přípravě nanočástic $\text{La}_{0,67}\text{Sr}_{0,33}\text{MnO}_3$ o velikostech 20 - 95 nm Pechiniho, tedy citrátovou metodou, vycházející přitom výhradně z dusičnanů.

4.4.2. Spinelová fáze $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$

Spinelový strukturní typ je známý stejně jako typ perovskitový a třebaže zcela podobně jej není potřeba představovat, zdůrazněme, že narozdíl od perovskitových struktur se u spinelového uspořádání oxidů AB_2O_4 setkáme s větší variabilitou, která vedle různých kombinací oxidačních stavů A a B souvisí s možností různé distribuce kationtů A a B do tetraedrických a oktaedrických dutin, přičemž musíme předpokládat vedle limitních forem normální a inverzní spinelové struktury i existenci různě neuspořádaných spinelových forem a případně i valenčně neuspořádaných strukturních stavů. Samotný magnetit Fe_3O_4 je učebnicovým příkladem inverzní spinelové struktury $(\text{Fe}^{\text{III}})_t[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}]_o\text{O}_4$, ale třeba právě takový ferit CoFe_2O_4 není ve skutečnosti čistý inverzní spinel, neboť vykazuje určité neuspořádání kationtů, které popíšeme formulí $(\text{Co}_x\text{Fe}_{1-x})_t[\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_{1+x}]_o\text{O}_4$, kde parametr x závisí na přípravě a zejména na tepelné historii vzorku. Například po žhání na 1200 °C byla po rychlém ochlazením získána fáze s $x = 0,20$, zatímco při pomalém chlazení na pokojovou teplotu se ustavovala distribuce s $x = 0,07$, tedy distribuce daleko bližší energeticky výhodnějšímu inverznímu uspořádání [126].

Téměř inverzní spinelovou fází CoFe_2O_4 charakterizuje vysoká Curieova teplota 790 K určená u sintrovaného materiálu s velkými krystality. Pod touto teplotou je fáze

ferimagnetická. Také vykazuje velmi vysokou magnetickou krystalovou anisotropii téměř čistě uniaxiální povahy. V rozvoji konstanty magnetokrystalové anisotropie pomocí směrových kosinů ji charakterizují konstanta $K_I = 270 \cdot 10^3 \text{ Jm}^{-3}$ při 293 K klesající na $90 \cdot 10^3 \text{ Jm}^{-3}$ při 363 K [127,128]. Tato magnetická anisotropie je dána velkým orbitální moment Co^{2+} kationtů, který se silně orientuje s trigonální osou [111]. S anisotropií souvisí vedle hodnot koercivity také skutečnost, že kritická velikost pro přechod do superparamagnetického stavu bude u nanočástic poměrně malá a magnetizace nebude tak výrazně klesat s velikostí částic. Například bylo ukázáno, že nanočástice CoFe_2O_4 o $d_{XRD} = 9 \text{ nm}$ vykazují při $T = 300 \text{ K}$ stále hysterizi s $H_c = 3,1 \text{ kAm}^{-1}$, zatímco superparamagnetismus za této teploty byl pozorován u částic s $d_{XRD} = 2 \text{ nm}$ [129].

O fázích $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ odvozených od ferimagnetického CoFe_2O_4 se dá *a priori* říci, že postupnou substituci kationtu Co^{2+} diamagnetickým kationtem Zn^{2+} , který má silnou preferenci tetraedrických poloh, půjde zajímavým způsobem modifikovat magnetické vlastnosti, neboť při nízké substituci lze očekávat vzrůst magnetizace a samozřejmě pokles koercivity [130], ale při rozsáhlé substituci musíme již předpokládat i narušení magnetického uspořádání. Destabilizaci magnetického uspořádání při vysokém obsahu Zn^{2+} potvrzuje srovnání $\text{Co}_{0,4}\text{Zn}_{0,6}\text{Fe}_2\text{O}_4$ a $\text{Co}_{0,2}\text{Zn}_{0,8}\text{Fe}_2\text{O}_4$ sintrovaných při teplotách 1100 - 1300 °C, z nichž první je při pokojové teplotě ferimagnetický, ale druhý již paramagnetický [131]. U sintrovaných vzorků bychom mohli očekávat distribuci iontů odpovídající zápisu $(\text{Zn}_x\text{Fe}_{1-x})_t[\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_{1+x}]_o\text{O}_4$ kvůli zmíněné silné preferenci Zn^{2+} známé ze sintrovaných vzorků. Obecně se však distribuce iontů u nanočástic komplikují nižší korespondencí s termodynamicky rovnovážným stavem a to zvláště při určitých postupech přípravy nezahrnujících žíhání na vyšší teplotu. Budeme muset tedy pro stechiometrii $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ předpokládat zatím obecnou formuli $(\text{Zn}_{x-y}\text{Co}_y\text{Fe}_{1+y-x-z})_t[\text{Zn}_y\text{Co}_{1-x-z}\text{Fe}_{1+x+z-y}]_o\text{O}_4$, kde kation Zn^{2+} obsazuje do jisté míry i nerovnovážné polohy oktaedrické a rovněž kation Co^{2+} uvažujeme alespoň částečně v tetraedrické poloze.

Problematika distribuce kationtů byla více studována u feritu $\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$, jehož nanočástice střední velikost krystalitů 4-13 nm připravil Rath et al hydrotermálním srážením [132] a v příslušné práci ukázal, jak nerovnovážná distribuce kationtů ovlivňují magnetické vlastnosti těchto nanočástic. V nich se uplatňuje právě metastabilní stav, kdy se výrazně liší distribuce kationtů od sintrovaných vzorků s rovnovážnou distribucí, v nichž Mn^{2+} a Zn^{2+} obsazují tetraedrické polohy, jak bychom očekávali z klasických krystalochemických úvah.

Tyto odchylky se mohou blížit až statisticky rovnoměrné distribuci kationtů po jednotlivých byt' neekvivalentních krystalografických pozicích. Chen et al pozoroval u nanočástic koncového členu této řady MnFe_2O_4 rozložení $(\text{Mn}_{0,33}\text{Fe}_{0,67})_t[\text{Mn}_{0,67}\text{Fe}_{1,33}]_o\text{O}_4$ [133], která skutečně odpovídá rovnoměrné distribuci, neboť obsazených oktaedrických poloh je dvakrát více než tetraedrických. Dlužno dodat, že zahříváním daných materiálů na vyšší teploty se díky dynamice kationtů posouvá distribuce k rovnovážnému stavu [134,135]. Podobné metastabilní distribuce diskutuje u nanočástic $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ zatím jenom Arulmurugan et al [136], který připravil nanočástice o střední velikosti krystalitů kolem 10 nm spolusrážením. Také pozoroval redistribuci kationtů při žhání na vyšší teplotu a skutečnost, že metastabilní uspořádání mělo odlišné magnetické vlastnosti.

Během posledních let se objevilo několik prací, které se zabývají přípravou nanočástic $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ spolusrážením, jako jsou příspěvky Arulmurugana a Vaidynahtana et al [136-140], ale i dalších [141]. Duong et al využil k přípravě nanočástic se střední velikostí krystalitů 3 nm nucenou hydrolysu v prostředí propan-1,2-diolu pomocí octanu sodného [142], přičemž takto připravené nanočástice převedl žháním při 500 °C po dobu 3 hod na 12 nm částice [143]. Gözüak et al připravil nanočástice hydrotermální metodou za využití PEG jako surfaktantu [144]. Sol-gel metoda využívající polyvinylalkohol posloužila Wangovi et al [145]. Roztok octanů kobaltnatého a zinečnatého a acetylacetonátu železetého v 2-ethylhexanové kyselině použil k přípravě nanočástic metodou „spin-coating“ na Pt substrátu Tomar et al. [146].

4.5. Enkapsulace do oxidu křemičitého a příbuzné křemičité obaly

4.5.1. Stöberův proces a princip sol-gel metody

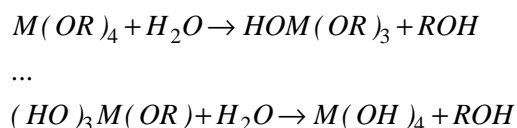
Obalování nanočástic oxidem křemičitým přináší řadu nesporných výhod. Oxid křemičitý vytváří kolem enkapsulovaných jader stabilní vrstvu, alespoň v neutrální a kyselé oblasti, kterou narušuje teprve alkalické působení. Samotná vrstva tak účinně stabilizuje a chrání enkapsulovanou částici. Jako netoxický a pro většinu organismů biologicky inertní materiál představuje dobrý základ pro biomedicínální aplikace. Nanočásticím dále zajišťuje vysokou koloidní stabilitu ve vodném prostředí, ale i v dalších rozpouštědlech. Velkou předností je snadná kovalentní modifikovatelnost vlastní křemičité vrstvy při její synthese, ale

i možnost postenkapsulační kovalentní funkcionalizace již pokrytých částic. Vlastní enkapsulace se provádí poměrně snadno, existuje několik metod a patří mezi dobře prostudované procesy.

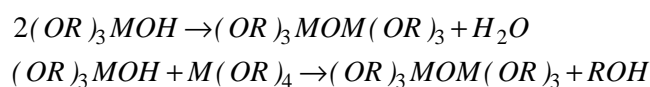
Základní metoda enkapsulace vychází z hydrolysy tetraethoxysilanu (TEOS), respektive z tetraalkylesteru kyseliny křemičité v ethanolovém, popřípadě alkoholovém prostředí za použití amoniaku jako katalyzátoru. Takové uspořádání bývá označováno jako Stöberův proces. Ve známé práci „Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range“ z roku 1968 publikoval Werner Stöber et al [147] metodu přípravy částic oxidu křemičitého s úzkou distribucí velikostí a tato metoda využívá zmíněných podmínek, poskytujíc částice o velikosti 50 nm až 2 μ m. Stöber nazval ve své práci amoniak morfologickým katalyzátorem a píše o něm: „In the absence of ammonia, the silica flocculated in irregularly shaped particles and no spheres could be observed under the electron microscope. Thus, ammonia apparently influenced the morphology, and created spherical particles whenever it was present during the reaction.“ Dodejme, že tehdy představovala příprava uniformních sférických částic oxidu křemičitého důležitou výzvu, neboť se v té době jako vysoce dispergovaná forma používal produkt získávaný spalováním chloridu křemičitého ve vodíkovém hořáku, který byl tvořen sice částicemi menšími než 100 nm, ale spojenými do hrubých agregátů nepravidelných tvarů [148]. Pro úplnost však zmiňme, že již Kolbe popsal ve své disertační práci „Das komplexchemische Verhalten der Kieselsäure“ z roku 1956 [149], jak pozoroval při reakci tetraethoxysilanu s vodou v alkoholových roztocích za přítomnosti určitých basí vznik, byť velmi pomalý, uniformních sférických částic oxidu křemičitého. Stöber však prostudoval při přípravě křemičitých částic zákonitosti, které jsou obecné pro růst křemičitých částic z tetraalkoxysilanů v podobných procesech:

- ve vyšších alkoholech probíhá tvorba částic pomaleji: $\text{MeOH} < \text{EtOH} < \text{n-PrOH} < \text{n-BuOH}$, přičemž v MeOH vznikají částice nejmenší a v n-BuOH největší
- u vyšších alkoholů se projevuje tendence k širší distribuci velikostí
- rychlost vzniku částic klesá s velikostí alkylových řetězců tetraalkoxysilanů: tetramethoxysilan \ll tetrapentoxysilan, ve stejném pořadí však roste velikost částic
- formování částic je silně ovlivněno koncentrací vody a amoniaku
- s rostoucí koncentrací amoniaku (až do nasycení směsi) roste velikost vznikajících částic
- různé koncentrace tetraalkoxysilanů nemají v určitých mezích vliv na velikost částic

Obecnější pohled na Stöberův proces a obalování křemičitými vrstvami dává koncepce sol-gelových metod. Těmi označujeme procesy založené na reakcích rozpuštěného anorganického nebo organoprvkového prekursoru vedoucí ke vzniku třídimensionální sítě [62]. Typickým příkladem je právě alkoxydová metoda, kdy se uplatňují hydrolysa kondenzační reakce obecného alkoxydu $M(OR)_4$ a resultujících produktů za vzniku trojrozměrné sítě příslušného oxidu. Hydrolyzační reakce:



a kondenzační reakce:



vytvářejí řadu kombinací a rovnováh, v nichž se postupně zapojuje výchozí prekursor i produkty za vzniku oligomerních molekul až trojrozměrné struktury [63].

4.5.2. Metody enkapsulace

Enkapsulační postupy vycházejí z téhož principu, ovšem nadto zavádějí cizorodé koloidní částice jako zárodky, na nichž vylučovaný oxid křemičitý roste, fungují tedy jako nukleační centrum i jako templát. Přesto možnost růstu křemičité vrstvy na povrchu daných nanočástic zřejmě nemusí být zcela přirozená. Některé materiály jsou vyloženě vitreofóbní, a tedy depozice oxidu křemičitého na nich je v takovém uspořádání obtížná. Nanočástice kovů a organické nanočástice se přímo Stöberovým procesem obalují velmi špatně a výsledky jsou stěží reprodukovatelné [150].

K řešení nastíněného problému nevhodných povrchových vlastností se využívají aktivátory, jakási spojovací činidla vážící se na povrch částice a umožňují růst oxidu křemičitého. Kromě toho tyto látky zajišťují koloidní stabilitu v příslušném prostředí, aby nedošlo k flokulaci koloidního systému. K takovým aktivátorům patří např. některé makromolekulární látky [151,152]. Alternativně se v prvním kroku vytváří organokřemičitá vrstva pomocí organosilanových derivátů či za speciálních podmínek se nechá vyloučit tenká křemičitá vrstva z rozpuštěného křemičitanu sodného. Oba postupy se i s výhodou kombinují. A teprve v následující fázi enkapsulace se nechává narůst obal z oxidu křemičitého za použití

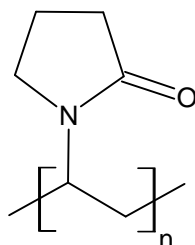
TEOS. Zvláště charakteristickým případem jsou zlaté nanočástice, které mají vitreofóbní povrch. Zlaté nanočástice se běžně připravují redukcí HAuCl_4 citrátem vedoucí k suspenzi koloidně stabilizované citrátem, jejíž částice nesou negativní náboj. Běžný postup jejich pokrývání oxidem křemičitým [153,154] zahrnuje použití 3-aminopropyltrimethoxysilanu, který substituuje citrátové anionty na povrchu zlaté nanočástice a váže se aminoskupinou na jejich povrch. Takto modifikované částice však stále vykazují negativní zeta potenciál. Dokonce dochází k poklesu elektroforetické mobility na ještě nižší zápornou hodnotu [155], a tudíž nehrozí flokulace koloidního systému. V druhém kroku se pak přidá křemičitan sodný a s ním reagují silanolové skupiny kotvícího organosilanového činidla za vzniku několik nanometrů tenké vrstvy oxidu křemičitého. Tyto částice se posléze převedou do alkoholového prostředí a vrstva se dále nechá narůst Stöberovou metodou za využití TEOS. Podobně se kromě 3-aminopropyltrimethoxysilanu a 3-aminopropyltriethoxysilanu (APS) také používá 3-merkaptopropyltrialkoxysilan, přičemž se opět jedná o ester methanolu nebo ethanolu. Zcela analogická je enkapsulace nanočástic sulfidu kademnatého, kdy se typicky využívá 3-merkaptopropyltrimethoxysilan [156].

Zmíněná tenká křemičitá vrstva připravovaná z křemičitanu sodného, tedy z „vodního skla“, se v řadě případů používá jako první krok, který zajistí odpovídající koloidní stabilitu pro enkapsulaci v alkoholovém prostředí. Metoda byla vyvinuta Philipsem et al a publikována v roce 1994 původně na částicích magnetitu [157], ale našla dosti široké použití. Byla použita třeba i k enkapsulaci jehliček böhmitu [158] apod. V původní práci, kde se pokrývaly magnetitové částice mající isoelektrický bod kolem 7, se vlastně řešila otázka, jak zajistit koloidní stabilitu v prostředí ethanol – voda. V tomto prostředí se částice magnetitu dají pokrýt oxidem křemičitým Stöberovým procesem. Phillipse využil vzniku tenké křemičité vrstvy ve vodném roztoku křemičitanu sodného, a tak posunul isoelektrický bod částic k hodnotě 3, zvýšila se jejich koloidní stabilita a částice bylo možno obalovat v prostředí ethanol – voda za vzniku produktu s dobrou morfologií.

Častým problémem, jak již vyplynulo, bývá právě koloidní stabilita výchozích částic, které se teprve mají pokrýt oxidem křemičitým, a přitom je třeba zajistit, aby se pokrývaly jednotlivé částice a nikoli jejich shluky. Nanočástice některých materiálů lze snadno rozptýlit ve vodném prostředí, potažmo v prostředí alkoholu a amoniaku, aniž by bylo třeba speciální stabilizace. Tak je tomu např. u jílových minerálů [64], hematitu [65] a oxidu titaničitého [159]. Naproti tomu nanočástice většiny ostatních materiálů, od kovových nanočástic, přes

řadu oxidů, ke kovovým sulfidům až k organickým nanočásticím, je nutné stabilizovat případně současně aktivovat a teprve poté přistoupit k vlastnímu pokrývání. Ke koloidní stabilizaci se vedle popsané tenké křemičité vrstvičky využívají surfaktanty a obecně disociující nízkomolekulární látky schopné vazby na dané nanočástice [160-162], dále také vzpomenuté látky makromolekulární [151,152].

Stabilizační působení a aktivační efekt pro růst oxidu křemičitého na vitreofóbních površích vykazují také některé organické makromolekulární látky. Např. v práci Wanga et al [151] se nanočástice železa před vlastním pokrýváním zahřívají v roztoku 1% želatiny až do jeho úplného vysušení a po 24 hod zrání při 120 °C se teprve suspendují ve směsi vody, amoniaku a isopropanolu, do které se pak přidává TEOS.



Obr. 3. Polyvinylpyrrolidon (PVP) vyráběný polymerací N-vinylpyrrolidonu tvořeného pětičlenným laktamovým kruhem a vinylovou skupinou

Na makromolekulárním stabilizátoru a současně i iniciátoru růstu oxidu křemičitého je založena nová enkapsulační metoda, tzv. PVP metoda, která používá různě dlouhé molekuly polyvinylpyrrolidonu (PVP) (viz obr. 3). Základní publikací této metody představuje článek Grafa et al z roku 2003 [152]. Polyvinylpyrrolidon je amfifilní neionogenní polymer běžně využívaný i ve farmaceutickém průmyslu, který se dobře rozpouští ve vodě a v mnohých rozpouštědlech [163]. Takové vlastnosti jsou dané přítomností vysoce polární amidové skupiny v pyrrolidonovém cyklu, ale na druhou stranu i apolárních methylenových a methinových skupin [164]. PVP se snadno adsorbuje na různé povrchy jako kovy (zlato, stříbro, železo), kovové oxidy (oxidy železa, oxid titaničitý, oxidy hlinitý, kaolinit, oxid křemičitý) [165,166], ale i na grafit [167] a na polymerní látky jako na celulosu [168] a polystyren [164]. Adsorpce PVP na povrch různých nanočástic pak umožňuje vytvořit jejich stabilní suspence ve vodě, ale třeba i v alkoholovém prostředí. PVP metoda proto jako první krok zavádí stabilizaci nanočástic pomocí PVP ve vodném prostředí, následné převedené stabilizovaných částic do systému ethanol – voda – amoniak a konečně enkapsulaci TEOSem. Již v původní práci byla aplikována na několik různých materiálů s velmi odlišnými

povrchovými vlastnostmi a to na nanočástice zlata, stříbra, na böhmitové tyčinky, gibbsitové hexagonální destičky a konečně i na polystyrénové částice. PVP metoda byla ale také použita na enkapsulaci fulleren; a uhlíkových nanotub [169]. Graf et al ukázal, že existují optimální velikosti polyvinylpyrrolidonových molekul pro enkapsulaci vybraných nanočástic, přičemž se optimum mění zejména s jejich velikostí. Delší řetězce stabilizují nanočástice lépe, ale při použití PVP o příliš vysoké M_r nebývá povrch obalených částic tak hladký. Výjimkou v tomto směru byly negativně nabitě nanočástice polystyrenu, kde pravděpodobně i dlouhé řetězce PVP vytvářely tenkou adsorpční vrstvu. Ale u ostatních nanočástic se zřejmě příliš dlouhé řetězce již nemohli účinně adsorbovat na povrch, a tak oxid křemičitý vyrůstající přímo na podkladě polyvinylpyrrolidonových molekul vytvářel členitější obal. Pokud se však s ohledem na velikost částic použily příliš krátké řetězce, nebyla stabilizace tak účinná a v produktu se objevovaly poněkud agregované útvary.

Zcela odlišnou metodou enkapsulace, jež také nalezla rozsáhlé využití, je reversně mikroemulsní technika, kterou zavedl Tago et al [170]. V citované práci byly připraveny nanočástice magnetitu Fe_3O_4 a kobaltnatého feritu $Co_xFe_{3-x}O_4$ v reversní micelární fázi typu w/o („water-in-oil“). Magnetické částice byly pak v této fázi i obaleny působením hydrolyzujícího se TEOSu, přičemž se testovaly tři surfaktanty: neionogenní polyoxyethylene(15)cetyether a iontové bis(2-ethylhexyl)sulfosukcinát sodný a cetyltrimethylammonium chlorid. Jako lipofilní fáze sloužil cyklohexen, respektive hexanol u cetyllového surfaktantu, protože netvoří s cyklohexenem reversní micelární fázi. Z těchto kombinací se ukázal jako nejúspěšnější polyoxyethylene(15)cetyether v cyklohexenu poskytující monodispersní obalené nanočástice s magnetickými jádry v jejich středech. Velmi často se však reversně mikroemulsní přístup omezuje na obalování nanočástic bezprostředně po jejich přípravě v původním systému, tedy na obalování *in situ*. Takové preparativní postupy se týkají zejména nanočástic oxidů železa a železa samotného [170-174]. Ve své práci Yi et al ukázal, že i v případě mikroemulsní techniky lze dobře regulovat tloušťku vrstvy oxidu křemičitého prostřednictvím objemu TEOS přidaného na dané množství částic. Ale velikost obalených částic rovněž závisela i na koncentraci surfaktantu a době enkapsulace. Zmiňme dále, že reversní micelární technikou v lipofilní fázi se enkapsulovaly i nanočástice feritů $CoFe_2O_4$ a $MnFe_2O_4$ připraveném v nezávislém předcházejícím kroku [175]. Magnetické nanočástice byly pak rozptýleny v koncentrovaném amoniaku a reversní micelární fáze se vytvořila s cyklohexanem za využití polyoxyethylen(5)nonylfenyletheru (Igepal CO-520) jako surfaktantu.

4.5.3. Kovalentní modifikace křemičité vrstvy

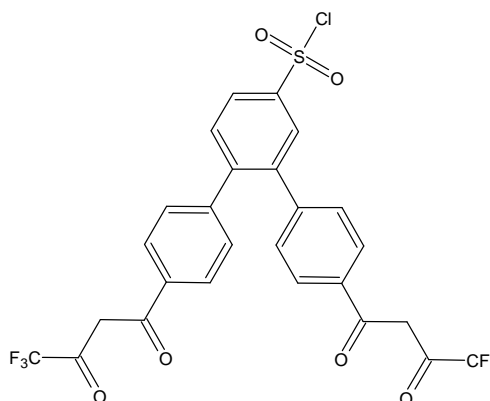
Velmi významnou předností enkapsulace nanočástic křemičitým obalem je snadná modifikovatelnost vrstvy samotné, možnost zavedení jiných funkčních skupin [136] a s tím související možnost téměř jakékoli funkcionalizace vytvářející neobyčejný potenciál pro biomedicínální aplikace [5,176]. Jedním ze základních přístupů používaných v souvislosti s vývojem materiálů pro biologické aplikace je použití 3-aminopropyltriethoxysilanu (APS) k zavedení aminoskupin, které se nechají dále snadno derivatizovat základními metodami organické synthesy. APS lze buď použít pro dodatečnou modifikaci vrstvy oxidu křemičitého již obalených částic [177] nebo jej lze inkorporovat do vytvářené vrstvy, jestliže se použije směs TEOS a APS [178], nebo se také částice pokrývají křemičitou typicky tenkou vrstvou za výlučného použití APS bez mezivrstvy čistého oxidu křemičitého a bez současného uplatnění TEOS [179,180]. Dodejme, že APS je ve vodném prostředí autokatalyzátorem vlastní hydrolysy a kondenzace díky přítomnosti aminoskupiny. Vodné roztoky vykazují pH 11 [181,182] a ke kondenzaci hydrolyzátů dochází během několika minut. Pomaleji reaguje APS s vodou v prostředí různých organických rozpouštědel, mezi nimiž jsou nerychlejší jeho reakce v polárních solventech [183].

Z prací citovaných u přímé derivatizace nanočástic pomocí APS bez předchozího kroku stojí za zvláštní pozornost závěry zveřejněné Bruce et al [179], který se systematicky věnoval vlivu různých podmínek zahrnujících rozpouštědlo, reakční čas, teplotu a koncentraci APS na povrchovou modifikaci magnetitu. Vznikající produkty byly charakterizovány mimo jiné fotometrickým stanovením povrchově dostupných aminoskupin a rovněž byla studována morfologie pomocí TEM. Bruce dovozuje především, že z různých rozpouštědel (tetrahydrofuranu (THF), ethanol, vody a směsí s vodou a v poměru 1 : 1) je nejlepší voda. V případě aprotického THF se vytvářela kolem částic vrstvička adsorbátu hydrolyzačních a kondenzačních produktů APS, která se však na vlastní částice nenavázala příliš pevně, tedy nenavázala se chemicky a mizela během opakovaného promývání vodou. Vysvětluje se to tím, že THF nesoutěží s molekulami hydrolyzátů odvozenými od APS tak významně v adsorpčních rovnováhách jako protické molekuly EtOH a voda. Tím se pak na povrchu oxidických částic v prostředí THF snadno zakládá adsorbovaná vrstva, aniž by se kompetující rovnováhou s rozpouštědlem zajistilo setrvání pouze pevně vázaných struktur.

Otázkou, zda je lepší nejdříve obalovat nanočástice byt' tenkou vrstvou oxidu křemičitého a teprve pak provádět další derivatizaci pomocí APS, nebo rovnou vytvářet vrstvu vzniklou kondenzací hydrolyzátů APS, se zabývá práce Čampelje et al [177]. Hodnotícím kritériem byl obsah aminoskupin ve vzorcích různě obalených nanočástic maghemitu, stanovený pomocí konduktometrické titrace s HCl. Autoři uzavírají, že nanočástice nejdříve obalené vrstvou oxidu křemičitého se dají modifikovat pomocí APS za dosažení vyššího obsahu aminoskupin, než kterého lze dosáhnout u částic bez vrstvy oxidu křemičitého obalovaných přímo pomocí APS. Zmíněné enkapsulace s APS byly prováděny při teplotě 50 °C. Autoři ovšem nezohlednili morfologii modifikovaných nanočástic, ani nedokumentují žádný produkt snímky z TEM. Stejnou problematiku studovali del Campo et al v práci věnované enkapsulaci magnetitu [184]. Modifikace s APS se prováděla při teplotách 18 a 70 °C. Nakonec se přímo stanovovala koncentrace povrchově dostupných aminoskupin pomocí kolorimetrické analýsy za využití reversibilní derivatizace aminovaných produktů 4-nitrobenzaldehydem. Produkt modifikovaný APS při 18 °C po předchozí enkapsulaci do oxidu křemičitého vykazoval vyšší koncentraci aminoskupin než částice pokrývané přímo APS, zatímco při vyšší teplotě byl výsledek opačný.

Zajímavou alternativu k výše uvedeným postupům představuje současné použití APS a TEOS, kdy vzniká hybridní vrstva, která spojuje určité výhody enkapsulace pomocí TEOS a současně zavádí přítomnost aminoskupin do resultujícího obalu, byt' je jejich obsah vztažený na hmotnost nanočástic ve výsledku nižší. Takovou enkapsulaci lze uskutečnit s výhodou pomocí PVP metody, jejíž využití popisuje Wu et al v roce 2007 na nanočásticích magnetitu [178]. V dotčené práci navíc autoři nejdříve derivatizovali APS pomocí (4,4'-bis(1'',1'',1''-trifluoro-2'',4''-butandion-4''-yl)chlorosulfo-*o*-terfenyl)europitého komplexu (viz obr. 4) zajišťujícího fluorescenci a teprve poté provedli enkapsulaci za použití zmíněného komplexního silanu, APS a TEOS.

Obr. 4. β -diketonový ligand 4,4'-bis(1'',1'',1''-trifluoro-2'',4''-butandion-4''-yl)chlorosulfo-*o*-terfenyl použitý k chelataci Eu^{3+} a derivatizaci APS v [178].



5. Cíl práce

Předložená disertační práce *Příprava, struktura a vlastnosti hybridních nanočástic s jádry perovskitového a spinelového typu* byla od samého počátku vedena motivací připravovat a studovat hybridní magnetické nanočástice založené převážně na perovskitové fázi $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ jako magnetickém jádru a vrstvě oxidu křemičitého jako obalu. Takové zaměření vycházelo z naděje, že by dané nanomateriály mohly být využity jako mediátory pro magneticky indukovanou hypertermii nebo by alespoň mohly ukázat směr budoucího vývoje nových prostředků pro tuto terapeutickou metodu. Nadto se však ukázalo, že vyvíjené částice jsou zajímavé i co kontrastní látky pro MRI, a tím se ke smyslu pojaté práce přidal další rozměr. Pro dosažení jisté obecnosti vyvíjených postupů a pro zajištění možného srovnávání získávaných poznatků jsme k hlavní náplni, již byl tedy manganit, připojili i aspekty týkající se spinelové fáze CoFe_2O_4 , resp. $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$. Výčet hlavních cílů předložené práce, jejichž obecný význam a smysl byl vyložen výše, uvádí následující přehled:

- I. Prostudovat možnosti přípravy nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ různého složení a nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ různé velikosti a provést základní charakterizace.
- II. Provést magnetické studie připravených nanočástic a vyhodnotit vliv velikosti a složení částic a posoudit vliv mechanického zpracování. Srovnat magnetické vlastnosti těchto částic se nanočásticemi CoFe_2O_4 .
- III. Obalit nanočástice $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ o střední velikosti krystalitů 20 nm hydratovaným oxidem křemičitým a získat koloidně stálou suspensi produktu vysoké morfologické kvality. Vyzkoušet optimalizovaný enkapsulační postup na nanočásticích $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$.
- IV. Připravit hybridní částice $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ s křemičitým obalem nesoucím volné aminokupiny a charakterizovat produkt.
- V. Provést magnetické studie částic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ obalených oxidem křemičitým.
- VI. Změřit topné výkony obalených částic v experimentech s magneticky indukovaným zahříváním a porovnat je s výsledky AC hysterezních smyček.
- VII. Vyhodnotit potenciál nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ jako T_2 kontrastních látek pro MRI.
- VIII. Zajistit studium toxikologických vlastností částic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ obalených oxidem křemičitým formou testů viability buněk in vitro a na základě výsledků případně modifikovat enkapsulační postup.

6. Experimentální část

6.1. Použité látky a materiály

Standards, odměrné roztoky, speciální indikátory

Standardní roztok Mn o $c_{Mn} = 0,1 \text{ mg/ml}$ – k přípravě využit elektrolyticky přečištěný Mn, jehož povrch byl před vlastním rozpuštěním omyt HNO_3 a vysušen, poté považován za základní látku vhodnou pro přípravu standardního roztoku

Standardní roztok $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ o $c_M = 0,1 \text{ mol/l}$ - Fluka, solution (volumetric), 0.1 M

Mohrova sůl $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – Lachema, p.a. – základní látka pro stanovení kyslíkové stechiometrie (stanovení celkové oxidační schopnosti vůči Fe^{2+}) a pro stanovení titru odměrného roztoku $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ na ferroin,

0,02 M odměrný roztok $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ – připraven z $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Veb Laborchemie Apolda, zur Analyse und für Cerimetrie, titr stanoven pomocí Mohrovy soli titrací na ferroin

0,05 M odměrný roztok Mohrovy soli – připraven z Mohrovy soli rozpuštěním v HCl ředěné 1:1, titr stanoven těsně před aktuálním použitím pomocí čtyřikrát ředěného standardního roztoku $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$

odměrný roztok chelatonu 3 – titr EDTA stanoven pomocí Mn jako základní látky na methylthymolovou modř

4-nitrobenzaldehyd – Fluka, puriss. p. a., >99 % (HPLC) základní látka pro stanovení povrchově dostupných aminoskupin

ferroin – zásobní roztok ferroinu před použitím v cerimetrickém stanovení zředěn vodou a přidána H_2SO_4 ředěná 1:1, poté vytitrováno 0,02 M odměrným roztokem $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ z červené do modré barvy

Synthesa hybridních nanočástic

oxid lanthanitý – Fluka, purum, stanovený faktor $f = 0,963$

uhličitan manganatý – Fluka, purum, stanovený faktor $f = 0,982$

uhličitan strontnatý – Fluka, purum, stanovený faktor $f = 0,958$

monohydrát citrónové kyseliny - Fluka, p. a. ACS; > 99,5 %

ethylenglykol – Lachema, TPD 31-822-61

tetraethoxysilan – Aldrich, ReagentPlus, >99 %

3-aminopropyltriethoxysilan – Aldrich, 99%

polyvinylpyrrolidon K 25 ($M_r \approx 24\,000$) – Aldrich

polyvinylpyrrolidon K15 ($M_r \approx 10\,000$) – Fluka

polyvinylpyrrolidon K 25 ($M_r \approx 360\,000$) – Fluka

Další materiály a vzorky

Nanočástice CoFe_2O_4 a $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$: Oba materiály syntetisoval Miroslav Veverka na Fyzikálního ústavu AVČR, v. v. i., příprava vzorků CoFe_2O_4 byla publikována v [185], přičemž složení produktu bylo upřesněno chemickou analysou na $\text{Co}_{0,95}\text{Fe}_{2,05}\text{O}_4$. Synthesa nanočástic feritu $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ se k publikaci připravuje [186]. Nanočástice $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ byly připraveny spolusrážením a tepelným zpracováním s dobou výpalu τ_a při teplotě t_a (viz tab. 5).

6.2. Přístroje a instrumentální metody

6.2.1. Prášková rentgenová difrakce

Fázové složení a střední velikosti krystalitů d_{XRD} se vyhodnocovaly z polykrystalických difrakčních záznamů měřených na difraktometru s Braggovým-Brentanovým uspořádáním (Bruker D8 diffractometer). Jako záření se využívala $CuK\alpha$ a difraktované paprsky byly detekovány SOL-X energiově dispersní detektorem. Difraktogramy se analysovaly Rietveldovou metodou s použitím programu FullProf.2k [187], přičemž fázové složení je založeno na záznamech v ICSD [188], popřípadě na vlastních standardech, pokud v ICSD nejsou. Hodnoty d_{XRD} se počítaly s využitím Thompson-Cox-Hastings pseudo-Voigtova profilu, který rozděluje rozšíření pásů na příspěvky instrumentální, příspěvek pnutí a velikosti částic. Instrumentální rozšíření bylo stanoveno měřením wolframového práškového standardu bez pnutí a s velikostí krystalitů 9,4 μm .

6.2.2. Transmisní elektronová mikroskopie – TEM a HRTEM

Vzorky nanočástic byly studovány transmisní elektronovou mikroskopií (standardně Philips EM 201, popř. Jeol JEM 3010, je-li explicitně uvedeno), kde jako zdroj elektronů sloužilo wolframové vlákno a pracovalo se při napětí až 100 kV. K detailnímu studiu mikrostruktury byla využita transmisní elektronová mikroskopie vysokého rozlišení (Jeol JEM 3010) pracující se zdrojem elektronů na bázi LaB_6 a s urychlovacím napětím až 300 kV. Vzorky na TEM a HRTEM se vždy připravovaly z velmi zředěné suspence, jejíž kapička se po přenesení na měděnou síťku pokrytou uhlíkem (STRUCTURE PROBE, Inc.) nechala volně odpařit při laboratorní teplotě. Suspence byly v případě částic obalených oxidem křemičitým vodné povahy, zatímco nanočástice obalené křemičitou vrstvou s aminoskupinami se rozptýlovaly v ethanolu. Pro lepší rozptýlení a potlačení agregace neobalených magnetických nanočástic při přípravě vzorku se nejdříve stabilizovaly PVP K25 (viz 6.5.4.2).

6.2.3. Magnetometrie ve statickém poli

Magnetické vlastnosti práškových vzorků i vodných suspenzí byly studovány na SQUID magnetometru (Quantum Design MPMS-5S) v magnetických polích do 4000 kAm^{-1} . Curieova teplota T_C byla stanovena pomocí Arrottova grafu ($T_{C,A}$) nebo z inflexního bodu teplotní závislosti magnetické susceptibility během experimentu typu FC ($T_{C,FC}$). Magnetická susceptibilita byla měřena nejprve při ohřívání vzorku po jeho ochlazení ($360 - 5 \text{ K}$) v nulovém poli (ZFC) a posléze během chlazení (FC) v poli $H = 7,96 \text{ kAm}^{-1}$.

6.2.4. Měření AC hysterezních smyček

Magnetické studie týkající se AC hysterezních smyček se prováděly ve střídavém magnetickém poli o $H_{max} = 16,7 \text{ kAm}^{-1}$ a $\nu = 100 \text{ kHz}$ při 25°C na aparatuře zkonstruované na Katedře měření FEL ČVUT [189]. Lehce stlačené práškové vzorky magnetických nanočástic byly připraveny do cylindrických křemenných kyvet, přičemž poměr délky a šířky magnetického vzorku činil přibližně 15. Výsledná AC hysterezní smyčka byla stanovena na základě průměrování 100 naměřených cyklů.

6.2.5. Měření hydrodynamické velikosti

Hydrodynamická velikost se studovala pomocí DLS za využití techniky PCCS (Sympatec GmbH NANOPHOX), která potlačuje násobný rozptyl. Měření se provádělo při 25°C na stabilní suspenzi, která byla půl hodiny před vlastním měřením krátce rozptylována v ultrazvukové lázni.

6.2.6. Měření zeta-potenciálu

K měření zeta-potenciálu se využívala laserová dopplerovská interferometrie interferometry pracující s He-Ne laserem (Zetasizer Malvern 3000 HSA). Měření bylo provedeno na sadě zředěných vzorků suspenzí, jejichž pH bylo přídatky roztoků HCl a NaOH upraveno v rozsahu 1 – 12.

6.2.7. IR spektroskopie

K měření IR spekter sloužil jednopaprskový FTIR spektrometr (Nicolet 6700 FT-IR), který byl obsazen KBr děličem paprsku a vybaven DTGS detektorem. Měření probíhalo za laboratorní teploty na vzduchu. Standardně byla využívána technika DRIFTS s KBr maticí, jehož čistý vzorek sloužil také k měření pozadí. Interferogramy byly akumulovány typicky ze 128 scanů v rozsahu $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, proveden dvouúrovňový zero-filling a podrobeny Happově-Genzelově apodizaci. Byla aplikována Mertzova fázová korekce. K naměření interferogramů a získání spekter se používal Omnic 8.0.

6.2.8. UV-Vis spektroskopie

UV-Vis spektra měřená na dvoupaprskovém spektrofotometru (UNICAM UV300) se využívala k fotometrii MnO_4^- při stanovení Mn a při kvantifikaci povrchově dostupných aminoskupin. Roztoky byly měřeny v křemenných kyvetách s geometrickou dráhou 1 cm. Krok činil 1 nm, rychlost scanu odpovídala algoritmu Intelliscan a sběr dat probíhal pomocí programu Vision 1.21.

6.2.9. Experimenty s magneticky indukovaným zahříváním

Experimenty s magneticky indukovaným zahříváním probíhaly na vodných dispersích magnetických částic ve střídavém magnetickém poli cívky připojené na generátor (Celes inductor C97104). Střídavé magnetické pole přítomné v cívce popisovaly parametry $H_{max} = 70 \text{ kAm}^{-1}$ a $\nu = 105 \text{ kHz}$. Vodné disperse v plastových zkumavkách měly objem 1 ml, popřípadě pouze 0,25 ml, je-li explicitně uvedeno. Samotné zkumavky pak byly izolovány polystyrenovou pěnou. Teplotu uvnitř dispersí během experimentů měřila nekovová diamagnetická sonda spojená s vyhodnocovací jednotkou optickým vláknem (Luxtron STF-2, BFi OPTiLAS S.A.S.). Neobalené nanočástice byly měřeny ve zředěném agarosovém gelu ($w(\text{agarosa}) = 0,025 - 0,05$). Nanočástice obalené oxidem křemičitým byly studovány v podobě suspensí v čisté vodě, popřípadě během srovnávacích experimentů i v agarosovém gelu.

6.2.10. Relaxometrické studie

Měření T_2 relaxačních časů suspenzí se uskutečnilo na relaxometru Bruker MiniSpec (Etlingen, Německo) pracujícím s magnetickým polem $B_0 = 0,5$ T (20 MHz). Relaxační čas T_2 byl měřen multispinovou sekvencí CPMG (Carr, Purcell, Meiboom a Gill) [190,191] s parametry: počet akumulací $AC = 4$, repetiční čas $TR = 5$ s, vzdálenost ech (echočas) $TE = 2$ ms. Počet ech byl zvolen v závislosti na skutečné T_2 hodnotě tak, aby poslední echo proběhlo v době kratší než $10 \cdot T_2$. Relaxační čas T_2 byl stanoven na základě proložení časového vývoje signálu I exponenciální závislostí:

$$I = a_2 \exp\left(\frac{-T_2}{TE}\right) + b_2 \quad (22)$$

Z hodnot získaných u dané suspence T_2 a čisté vody T_2 (H_2O) se určila molární relaxivita kontrastního činidla r_2 :

$$r_2 = \frac{\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_2(H_2O)}}{c_M(Mn)} \quad (23)$$

Měřicí sonda byla temperována vodou proudící z externího termostatu Hakke C10 (Thermo Scientific, Karlsruhe, Německo), a to v rozsahu $7 - 60^\circ C$, přičemž teplota byla měřena přímo ve vzorku.

6.2.11. Válcování, mletí a vysokoenergetické mletí

Válcování probíhalo na válcovacím zařízení s vertikálním uspořádáním (jednoduchá motorová válcna, Swah s. r. o.) vybaveném válci z kalené oceli o průměru 54 mm, které se otáčely rychlostí 9 otáček za min. Mletí se provádělo na vibračním kulovém mlýnu (Retsch MM 301) v mlecí nádobce z nerezové oceli o objemu 25 ml a s nerezovou mlecí kuličkou o průměru 20 mm. Vysokoenergetické mletí prováděl Dr. Vladimír Šepelák (Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig) [192].

6.2.12. Ultrazvukové a mechanické míchání

K rozptylování neobalených částic kromě případů rozptylování v kyselinách se využívala ultrazvuková sonda s užitným výkonem 200 W (UP200S, Hielscher Ultrasonics GmbH) vybavená hrotem o průměru 3 mm (Micro tip S3, Hielscher Ultrasonics GmbH) poskytujícím hustotu ultrazvukového výkonu 460 Wcm^{-2} . Enkapsulace se prováděly v ultrazvukové lázni o plnicím objemu 2,7 l se špičkovým výkonem $2 \times 320 \text{ W}$ a vysokofrekvenčním výkonem 200 W (Sonorex Longlife RK 103CH, Bandelin), rozptylování enkapsulovaných částic a rozptylování neobalených částic v kyselinách se provádělo v lázni o objemu 2 l s ultrazvukovým výkonem 60 W (K-2, Opting servis, Česká Republika). Mechanické míchání obstarávala mechanická míchačka (VELP BS, VELP Scientifica, Italy), přičemž vlastní aktivní část byla vyrobena na Fyzikálním ústavu AVČR, v. v. i. Tvořila ji nerezová hřídel zapuštěná pomocí ložisek v zábrusu z nerezové oceli, který byla izolována teflonovým těsněním. Na konci hřídele bylo vlastní výkyvné a demontovatelné míchadlo zhotovené z teflonu.

6.2.13. Centrifugy

K separaci částic ze suspence se využívala standardně centrifuga EBA 20 (Hettich Zentrifugen) vybavená úhlovým rotorem 8 x 15 ml. Poloměr rotoru byl 86 mm, náklon zkumavek 33° , maximální otáčky 8000 rpm, a tedy maximální RCF 3461. Dále se ke zpracování velkých objemů v určitých případech využívala i centrifuga NF800 (Nüve, Turecko) s úhlovým rotorem 6 x 50 ml s maximálními otáčkami 9000 rpm a maximálním RCF 9418.

6.3. Postupy chemické analýsy

6.3.1. Stanovení obsahu Mn v hybridních částicích

Vysušené vzorky hybridních částic i jejich suspence byly rozkládány za tepla působením směsi kyseliny dusičné a kyseliny chlorovodíkové. Poté byla přidána kyselina sírová a směs byla odpařována do jejích hustých dýmů, kdy kyselina chlorovodíková byla již ze směsi odstraněna. Současně se vylučovala kyselina křemičitá ve formě bílého zákalu, který

se zachytil na modrém filtru. Po jeho spálení se pevný zbytek vystavil působení směsi kyseliny sírové, kyseliny dusičné a kyseliny fluorovodíkové. Kyselina fluorovodíková byla odstraněna zahříváním do dýmů kyseliny sírové a vzniklý roztok se spojil s filtrátem jímaným v odměrné baňce. V alikvótním podílu tohoto roztoku se kationty Mn^{2+} oxidovaly jodičnanem sodným na anionty MnO_4^- a k jejich stabilizaci se přidávala kyselina fosforečná. K těmto roztokům byly analogicky připraveny rovněž body kalibrační křivky ze standardu manganatých kationtů a dále kontrolní vzorky získané metodou standardního přídatky. Posléze byly u všech roztoků spolu se slepým vzorkem měřeny UV-Vis absorpční spektra. Vyhodnocení obsahu Mn vycházelo z absorbance v maximu absorpčního pásu MnO_4^- při 526 nm. Měřené roztoky byly dále odbarvovány dusitanem sodným, aby se zkontrolovalo pozadí, zda není ovlivněné rozptylem vyloučením koloidní kyseliny křemičité.

6.3.2. Stanovení celkové oxidační schopnosti vůči Fe^{2+} (kyslíková stechiometrie)

Vakuově vysušená navážka vzorku **LS** nebo **LS(ag)** (40-60 mg) byla převedena do speciální titrační nádoby umožňující probublávání inertním plynem a zakončené zábrusem. Do nádoby se začal přivádět dusík a pipetou bylo přidáno 15,0 nebo 20,0 ml 0,05 M odměrného roztoku Mohrovy soli, která byla předtím probublána dusíkem. Na nádobu byl nasazen zpětný chladič a za důsledného udržení inertní atmosféry se směs povařila několik minut. Po rozpuštění vzorku se ukončilo zahřívání a směs se ochladila. Teprve po dosažení laboratorní či nižší teploty se ukončilo přivádění inertu. Dále proběhla tři různá cerimetrická stanovení s 0,02 M odměrným roztokem $Ce(SO_4)_2$ na ferroin z červené do modré. Nejdříve se stanovil titr použitého 0,05 M odměrného roztoku Mohrovy soli. Poté se určila spotřeba na titraci připraveného vzorku rozpuštěného **LS** (titrace 1). A nakonec se titrovala (titrace 2) směs získaná přidáním stejného množství 0,05 M odměrného roztoku Mohrovy soli (15 nebo 20 ml) do směsi po ukončení titrace rozpuštěného vzorku **LS**. Z difference titrace 2 a titrace 1 se určilo množství Fe^{2+} zoxidované kationty Mn^{3+} a Mn^{4+} , a na základě toho se pak formálně vyjádřit zdánlivý obsah Mn^{III} v původním vzorku.

6.3.3. Stanovení hustoty povrchově dostupných aminoskupin

Ethanolová suspence **LS@SA** se zvažila ve vytárované centrifugační zkumavce a kompletně se odstředila pevná fáze (centrifuga EBA 20, 6000 rpm, 60 min). V případě zředěné suspence se po odstranění supernatantu přidal za současného vážení další podíl

LS@SA odstředil se za stejných podmínek. Pevný zbytek byl promýván ve čtyřech cyklech po 4 ml roztoku 0,8 % ledové octové kyseliny v suchém methanolu (získán predestilováním MeOH refluxovaného s hořčíkem 6 hod pod sušící trubicí). Pevný zbytek byl kvantitativně převeden do zamrazovací zkumavky na objem 1,8 ml a opět se provedlo odstředění. Po pečlivém odebrání supernatantu se přidal 1 ml roztoku 4-nitrobenzaldehydu připraveného rozpuštěním 18,3 mg látky v 25 ml 0,8 % obj. ledové octové kyseliny v suchém methanolu. Suspense po důkladné dispergaci v ultrazvukové lázni byla umístěna na třepačku a 3 hod intensivně protřepáváno. Poté se částice odstředily a pevný zbytek se promýval ve čtyřech cyklech 0,8 % obj. ledovou octovou kyseliny v suchém methanolu. Po posledním promývacím cyklu byl odstraněn supernatant, přičemž residuální množství kapaliny v zamrazovací zkumavce činilo 0,25 ml dle předchozí kalibrace. K pevnému zbytku bylo přidáno 1,00 ml 0,13 % obj. roztoku ledové octové kyseliny v směsi methanol – voda 1 : 1. A směs byla umístěna do ultrazvukové lázně na 1 hod. Poté důkladné odstředění (centrifuga EBA 20, 6000 rpm, 100 min) a separace supernatantu, u kterého bylo měřeno UV-Vis absorpční spektrum. Současně změřena kalibrační řada roztoků 4-nitrobenzaldehydu. Stanovení analytu v supernatantu provedeno na základě kalibrační přímky absorbance při 268 nm.

6.4. Biologické studie

Buněčné kultury

HeLa - lidská linie původem z adenokarcinomu děložního krčku, adherentní, epitheloidní morfologie

Normální lidské fibroblasty - kožní fibroblasty odebrané ze zdravého dárce

Kmenové buňky rMSC – z kostní dřeně stehenních kostí dospělých potkanů kmene Wistar

6.4.1. Studium viability kmenových buněk

Ke kultivaci čerstvě izolovaných rMSC bylo využito DMEM médium obsahujícím 10% fetálního bovinního séra a směs antibiotik penicilinu a streptomycinu, přičemž po 24 hodinách byly odstraněny neadherentní buňky. Pro vlastní testy viability se používala 2. – 5.

pasáž, jejíž buňky se vysely do 12 jamkových destiček v množství 100 000, popřípadě 50 000 buněk (LS(0,25)@SiG1, LS(0,25)@SiG2, LS(0,25)@SiG3, LS(0,25)@SiG4, LS(0,25)@SiG6 a LS(0,25)@SiG7) na jamku. Druhý den byla v dubletu přidána suspenze studovaných nanočástic tak, aby obsah nanočástic v médiu odpovídal $0,11 \text{ mmol(Mn)ml}^{-1}$ a buňky se dále inkubovaly po dobu 48 hodin. Poté se slilo medium s plovoucími buňkami a pomocí trypsinu/EDTA se sklídily adherentní buňky. Sklizené buňky byly odstředěny (1000 rpm, 5min), promyly se PBS a spočítaly v Bürkerově komůrce. Viabilita se stanovila pomocí trypanové modři. Bürkerova komůrka se přitom naplnila 20 μl trypanové modři a 20 μl buněčné suspenze a určilo se, kolik mrtvých buněk (modrých) připadá na 100 buněk.

6.4.2. Studium viability HeLa buněk a fibroblastů

Buňky byly nasazeny do 24-jamkové mikrotitrační destičky na konfluenci cca 70 %. Po uplynutí 24 hod po nasazení byly buňky opláchnuty PBS (7,9 g NaCl; 0,11 g KCl; 2,9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$; 0,31 g KH_2PO_4 ; doplněno do 1 l destilovanou vodou) a vyměnilo se médium o objem 0,5 ml. Poté byla přidána suspenze nanočástic v dávce takové, aby obsah částic v médiu odpovídal koncentraci $c_M(\text{Mn}) = 0,1 \cdot c_M(\text{Mn},z)$, $0,5 \cdot c_M(\text{Mn},z)$, $1 \cdot c_M(\text{Mn},z)$, $2 \cdot c_M(\text{Mn},z)$ a $3 \cdot c_M(\text{Mn},z)$, přičemž $c_M(\text{Mn},z) = 0,11 \text{ mmol.l}^{-1}$ byla zvolena jako základní koncentrace pro testy viability. Jedna paralela byla ponechána jako negativní kontrola. Buňky byly inkubovány s nanočásticemi po 48 hod. Po inkubaci bylo odstraněno a uschováno médium obsahující mrtvé buňky a adherované buňky byly resuspendovány pomocí 0,5 ml roztoku trypsin/EDTA pro TK v PBS (výchozí roztok 10x Trypsin EDTA pro TK (Sigma) - 5 g prasečího trypsinu; 2 g EDTA; 0,9% (w/v) NaCl do 100 ml). Získaná suspenze byla spojena se suspenzí mrtvých buněk v médiu, obarvena propidium jodidem (1 kapka/ml, inkubace min. 5 min) a měřena na průtokovém cytometru Becton Dickinson LSR II (Nastavení fotonásobiče: FSC 120 V, SSC 150 V, FITC 300 V, PI 350 V; filtry (oba bandpass): FITC 530/30 nm, PI 610/20 nm; treshold: FSC, (15000 událostí); kompenzace: žádná) s ovládacím software BD FACSDiva 6.1.2. Živé a mrtvé buňky vytvářely při barvení propidium jodidem dostatečně odlišitelné populace. Bylo měřeno minimálně 5000 událostí u HeLa buněk a 2500 událostí u fibroblastů. Odečítal se poměr počtu událostí v gatu pro jednoznačně živé a jednoznačně mrtvé buňky.

6.4.3. Magnetické značení kmenových buněk

Magnetické značení kmenových buněk vycházelo z inkubací rMSC s nanočásticemi při testech viability, během nichž se studovaly produkty **LS@Si**. Po ukončení inkubační doby se buňky fixovaly 4% paraformaldehydem. Připravily se vzorky se známým množstvím buněk v 4 %-ní želatině a měřily se na relaxometru Bruker MiniSpec (viz 6.2.10.). T_2 relaxační doba byla sledována pomocí CPMG sekvence.

6.5. Synthesa materiálů

6.5.1. Příprava magnetických nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

6.5.1.1. Příprava prekursoru $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ a jeho zpracování před výpalem

Navážka La_2O_3 $((1-x) \cdot 0,02$ mol, korekce navážky na faktor) byla smíchána spolu s navážkou SrCO_3 $(x \cdot 0,04$ mol, korekce navážky na faktor) a ovlhčena vodou. Postupně se ke směsi přidávala ředěná kyselina dusičná (1:1), směs se míchala za tepla a přidávání kyseliny se ukončilo při rozpuštění výchozích látek v celkovém objemu asi 10 ml. V kádince o objemu 600 ml se rozkládalo odpovídající stechiometrické množství MnCO_3 (0,04 mol, korekce navážky na faktor) postupným přidávkem ředěné kyseliny dusičné (1:1). Současně docházelo k vylučování černohnědé sraženiny MnO_2 , který byl po rozpuštění uhličitanu redukován koncentrovaným peroxidem vodíku přikapaným za současného zahřívání. Posléze se čirý roztok vyvařil, aby došlo k rozkladu přebytečného peroxidu vodíku. Dále byl přidán připravený roztok La^{3+} a Sr^{2+} a kyselina citrónová v podobě monohydrátu (1,5 . 0,04 mol) rozpuštěného ve 25 ml vody a směs byla míchána na magnetické míchačce po dobu 1 hod za laboratorní teploty. Přidávkem amoniaku bylo upraveno pH na 7,6 a následovalo další míchání po dobu 30 min. Po přidávku ethylenglykolu o objemu 6 ml (2,25 . 0,04 mol) byla směs zahřívána na teplotu nepřevyšující 80 °C a dále se míchala do zhoustnutí, po kterém se vyndalo míchadlo a pokračovalo ruční míchání skleněnou tyčinkou. Po dalším vzrůstu viskozity, kdy hmota získala medovitou konsistenci, se kádinka přenesla na plotnu vyhřátou na 100 °C. Teplota plotny byla dále za občasných míchání zvyšována až na 170 °C, kdy docházelo k úplnému vysychání směsi. Po dokonalém vyschnutí byla kádinka překryta hodinovým sklem a teplota plotny se opatrně zvyšovala, až asi při 200 °C došlo ke vznícení

obsahu kádinky. Směs se nechala dále prohořívát a po dokončení exotermické reakce se kádinka odstavila z plotny. Materiál se převedl do achátové misky a pečlivě se homogenizoval. Následně se prováděla kalcinace při 400 °C po dobu 4 hod v platinové misce o průměru 15 cm, kde byla směs rozprostřena v tenké vrstvě. Kalcinovaný materiál se nechal volně vychladnout na laboratorní teplotu.

6.5.1.2. Příprava surových nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS(ag))

Připravený prekursor $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (0,04 mol $\text{Sr}^{2+} + \text{La}^{3+}$) se přenesl do platinové misky o průměru 15 cm a rozprostřel se po jejím dně do tenké vrstvy. Za laboratorní teploty se umístil do pece, kde byla poté spuštěna teplotní rampa 5°C/min a následující stabilizace při teplotě výpalu t_a . Doba výpalu τ_a byla stanoven jako doba od dosažení t_a po vyjmutí produktu z pece. Výpal probíhal na vzduchu a po ukončení výpalu se produkt vyndal z pece a nechal se volně vychladnout na laboratorní teplotu.

6.5.1.3. Mechanické zpracování surových nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS)

Surová perovskitová fáze nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS(ag)) byla několikastupňově válkována v n_v , cyklech ve třech. V každém cyklu byl materiál po malých dávkách nasypáván přímo mezi otáčející se válce. Po každém válčovacím cyklu byl produkt rozetřen v achátové misce. Uválčovaný materiál se poté mlel typicky v dávkách asi 0,5 g v 10 ml ethanolu po dobu τ_m s frekvencí mletí f_m . Nakonec se ethanol odstranil na plotně vyhřáté na teplotu 60°C a konečný produkt se ponechal v sušárně za normálního tlaku při 105°C po dobu 3 hod.

6.5.2. Enkapsulace magnetických nanočástic do křemičitého obalu

6.5.2.1. Enkapsulace nanočástic pomocí TEOS – postup A

Navážka mechanicky zpracovaných magnetických nanočástic $m_{MN} = 125-140$ mg, resp. 50 - 85 mg byla po dobu 15 min rozptylována ve vychlazené 0,1 M kyselině dusičné (20 ml) v ledové lázni za působení ultrazvuku (lázeň K-2). Částice byly separovány na odstředivce a dále byly vystaveny vychlazené 1 M citrónové kyselině (20 ml) opět po dobu 15 min v ledové lázni za působení ultrazvuku. Po odstředění částic z roztoku citrónové kyseliny se promyly vodou (20 ml), ve které byly nejdříve dispergovány ultrazvukem, a poté z ní

separovány odstředěním. Promyté nanočástice byly redispergovány ve vodě (v 10 ml) alkalizované amoniakem (několik kapek). Do zkumavky se suspensí částic byla zavedena ultrazvuková sonda a částice byly rozptylovány na plný výkon sondy po dobu přibližně 0,5 – 1 hod za současného chlazení. Mezitím bylo připraveno enkapsulační prostředí z ethanolu (300 ml, resp. 150 ml, 96%), vody (70 ml, resp. 30 ml) a amoniaku (20 ml, resp. 10 ml, 25 – 27 % roztok) v 500 ml, resp. 250 ml kulaté baňce. Baňka byla umístěna do ultrazvukové lázně (Sonorex Longlife RK 103CH) s teplotou vody t_e stabilizovanou vnějším termostatovaným obvodem. Za současného působení ultrazvuku byla do směsi přikapána suspence nanočástic a poté bylo přidáno vypočítané množství tetraethoxysilanu (V_{TEOS} – viz tab. 6). Následně bylo do baňky buď zavedeno mechanické míchání, anebo se baňka pouze uzavřela zátkou (viz tab. 6). Ultrazvuk se ponechal aktivní po celou dobu enkapsulace, anebo byl během několika prvních minut vypnut (viz tab. 6). Poté se směs ponechala v lázni po dobu τ_e . Po ukončení enkapsulačního kroku se isolovala a dále purifikovala frakce obalených nanočástic zvolených sedimentačních vlastností (viz dále postup izolace typu I a II).

6.5.2.2. Enkapsulace nanočástic PVP metodou pomocí TEOS – postup B

Navážka PVP K25 m_{PVP} (viz tab. 6) byla rozpuštěna v takovém objemu vody, aby obsah nanočástic (viz m_{MN}) po přidání jejich suspence činil $0,5 \text{ mgml}^{-1}$. Roztok byl umístěn do ultrazvukové lázně (Sonorex Longlife RK 103CH) s chladícím okruhem (teplota v lázni přibližně $25 \text{ }^\circ\text{C}$), kde byl vystaven ultrazvuku přibližně 1 hod. Navážka mechanicky zpracovaných nanočástic $m_{MN} \approx 130 \text{ mg}$, resp. 50 mg byla současně rozptylována ve 20 ml vody pomocí ultrazvukové sondy na maximální výkon po dobu asi 1 hod za současného chlazení. Suspence byla přikapána do roztoku PVP. Směs byla vystavena působení ultrazvuku po 24 hod. Následující den se částice separovaly od roztoku PVP na centrifuze tak, že supernatant zůstával jen nepatrně zbarven. Pevné zbytky byly pomocí ethanolu převedeny do jedné zkumavky a doplněny na 20 ml, po krátkém promíchání v ultrazvukové lázni K-2 se částice odstředily na centrifuze EBA 20 při 6000 rpm po dobu 90 min. Promývací kapalina byla odstraněna a pevný zbytek byl redispergován v takovém objemu ethanolu, aby obsah nanočástic (viz m_{MN}) činil $0,5 \text{ mgml}^{-1}$ v 500 ml, resp. 250 ml kulaté baňce umístěné v ultrazvukové lázni (Sonorex Longlife RK 103CH) s teplotou vody t_e stabilizovanou vnějším termostatovaným obvodem. Za současného působení ultrazvuku byl do směsi přidán tetraethoxysilan o objemu V_{TEOS} , přičemž bylo zavedeno mechanické míchadlo. Směs byla ponechána v lázni za současného mechanického míchání po dobu 24 hod. Ultrazvuk byl buď

zapnutý po celou dobu enkapsulace, anebo byl během několika prvních minut vypnut (viz tab. 6). Poté se směs nechala míchat po dobu τ_e . Po uplynutí této doby se isolovala a purifikovala frakce obalených nanočástic zvolených sedimentačních vlastností (viz dále postup izolace typu II).

6.5.2.3. Enkapsulace nanočástic pomocí směsi APS a TEOS – postup C

Navážka PVP K25 m_{PVP} (viz tab. 6) byla rozpuštěna v 370 ml vody a umístěna do ultrazvukové lázně (Sonorex Longlife RK 103CH) s chladícím okruhem (teplota v lázni přibližně 25 °C), kde byl roztok vystaven ultrazvuku přibližně 1 hod. Navážka mechanicky zpracovaných nanočástic $m_{MN} \approx 200$ mg byla současně rozptylována ve 20 ml vody pomocí ultrazvukové sondy na maximální výkon po dobu 1 hod za současného chlazení. Suspense byla přikapána do roztoku PVP. Směs byla vystavena působení ultrazvuku po 24 hod. Následující den se částice separovaly od roztoku PVP na centrifuze tak, že supernatant byl bezbarvý. Pevné zbytky byly pomocí ethanolu převedeny do jedné zkumavky a doplněny na 20 ml, po krátkém promíchání v ultrazvukové lázni K-2 se částice odstředily na centrifuze NF800 při 7500 rpm po dobu 80 min. Promývací kapalina byla odstraněna a pevný zbytek byl redispergován v 400 ml ethanolu v 500 ml kulaté baňce umístěné v ultrazvukové lázni (Sonorex Longlife RK 103CH) se zapojeným chladícím okruhem (teplota v lázni přibližně 25 °C). Za současného působení ultrazvuku byl do směsi přidán tetraethoxysilan o objemu V_{TEOS} , přičemž bylo hned zavedeno mechanické míchání a po krátkém promíchání byl do směsi přidán 3-aminopropyltriethoxysilan V_{APS} . Směs byla ponechána v ultrazvukové lázni za současného mechanického míchání a působení ultrazvuku po dobu τ_e . Po uplynutí doby se isolovala a purifikovala frakce obalených nanočástic zvolených sedimentačních vlastností (viz dále postup izolace typu III).

6.5.3. Isolační postupy

6.5.3.1. Isolace typu I – příprava suspensí LS@Si

Reakční směs získaná postupem A byla převáděna vždy po 12 ml do osmi centrifugačních zkumavek, ve kterých byla odstředována na centrifuze EBA 20 při úhlové rychlosti ω_I po dobu 15 min. Poté byl opatrně odebírán supernatant tak, aby nedocházelo k víření sedimentu. V momentě, kdy se kapalná fáze výrazněji kalila sedimentem, bylo

odebírání supernatantu z dané zkumavky ukončeno. Po zpracování celé reakční směsi byl nasbíraný supernatant odstředěn za úplné separace nanočástic do pevného zbytku (typicky centrifuga EBA 20, 8000 rpm, 50 min). Pevný zbytek byl redispergován ve 40 ml ethanolu za použití ultrazvukové lázně K-2 a poté se částice opět kvantitativně odstředily. Následoval další promývací cyklus v ethanolu a nakonec tři promývací cykly ve vodě. Purifikované nanočástice byly redispergovány ve vodě, jejíž objem byl upraven na 30 ml. Suspense se ponechala stát v 50 ml zásobní lahvičce v lednici do druhého dne, kdy byla převedena do čisté zásobní nádoby kromě minimálního zbytkového sedimentu na dně. Dále byla suspense skladována v lednici.

6.5.3.2. Isolace typu II – příprava suspense **LS@Si a CZ@Si**

Nanočástice byly z reakční směsi získané postupem A nebo postupem B kompletně odstředěny (typicky centrifuga NF 800, 8000 rpm, 50 min). Pevný zbytek byl redispergován ve 40 ml ethanolu za použití ultrazvukové lázně K-2 a poté se částice opět kvantitativně odstředily. Následoval druhý promývací cyklus v ethanolu a poté alespoň tři promývací cykly ve vodě. Posléze byly částice redispergovány pomocí ultrazvukové lázně ve vodě o objemu V_{fr} . Suspense byla odstředována ve zkumavkách po 12 ml na centrifuze EBA 20 při úhlové rychlosti ω_2 po dobu 15 min.

6.5.3.3. Isolace typu III – příprava suspense **LS@SA**

Nanočástice byly z reakční směsi získané postupem C kompletně odstředěny (centrifuga NF 800, 8000 rpm, 50 min), pevný zbytek byl redispergován ve 40 ml ethanolu za použití ultrazvukové lázně K-2 a poté se částice opět kvantitativně odstředily. Následovaly ještě dva promývací cykly v ethanolu a poté promývací cyklus ve směsi ethanol – voda 1 : 1. Posléze byly částice redispergovány pomocí ultrazvukové lázně v ethanolu V_{fr} . Suspense byla odstředována ve zkumavkách po 12 ml na centrifuze EBA 20 při 3000 rpm, 15 min. V závěrečném kroku byla případně zahuštěna centrifugací a redispergací v ethanolu.

6.5.4. Další postupy

6.5.4.1. Vakuová purifikace suspenzí pro biologické studie

Suspense určené pro biologické studie byly převedeny do 20 ml vody a umístěny ve 100 ml kádince na dvě hodiny do vakuové sušárny postupně vyhřáté na 40 °C. Po tomto kroku byla suspence teprve převedena do zásobní lahvičky a doplněna na 30 ml vodou. Další zpracování bylo analogické výše popsanému postupu.

6.5.4.2. Stabilizace nanočástic pomocí PVP

Připravený roztok PVP K25 o koncentraci 3% hm. a objemu 20 ml byl umístěn do ultrazvukové lázně temperované chladícím okruhem, kde se ponechal 1 hod. Za působení ultrazvuku se přidalo 10 mg magnetických částic a suspence zůstala v ultrazvuku 24 hod. Po úplném odstředění pevné fáze od roztoku se supernatant odstranil. Pevný zbytek se redispergoval ve 20 ml vody v ultrazvukové lázni a suspence byla ještě na krátko vystavena ultrazvukové sondě při maximálním výkonu. Vzorke určené pro TEM se připravovaly dalším ředěním čistou vodou.

6.5.4.3. Kondenzace v glycerolu

Suspense konečného produktu **LS@Si** byla kompletně odstředěna a voda nahrazena 10 ml glycerolu, v němž se pevný zbytek rozptyloval v ultrazvukové lázni a poté krátce ultrazvukovou sondou. Suspence se s použitím dalších 15 ml glycerolu převedla do prostorné kádinky a byla umístěna do vakuové sušárny evakuované olejovou vývěvou. Sušárna byla poté vyhřátá na 105 °C a evakuována po dobu 1 hod. Po vychladnutí se suspence zředila ethanolem a provedla se separace částic centrifugací, následoval jeden promývací cyklus v EtOH (40 ml) a pět promývacích cyklů ve vodě (40 ml). Produkt byl nakonec redispergován ve 20 ml vody v ultrazvukové lázni.

6.6. Přehled blíže pojednávaných vzorků

Tab. 3. Surové nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS(ag)):

| Vzorek | x | t_a [°C] | τ_a [h] |
|-------------|------|------------|--------------|
| LS(0,25ag)A | 0,25 | 750 | 3 |
| LS(0,25ag)B | 0,25 | 800 | 3 |
| LS(0,25ag)C | 0,25 | 850 | 3 |
| LS(0,25ag)D | 0,25 | 900 | 3 |
| LS(0,25ag)F | 0,25 | 900 | 6 |
| LS(0,25ag)E | 0,25 | 950 | 3 |
| LS(0,20ag)A | 0,20 | 750 | 3 |
| LS(0,30ag)A | 0,30 | 750 | 3 |
| LS(0,35ag)A | 0,35 | 750 | 3 |
| LS(0,35ag)B | 0,35 | 800 | 3 |
| LS(0,40ag)A | 0,40 | 750 | 3 |
| LS(0,40ag)B | 0,40 | 800 | 3 |
| LS(0,45ag)A | 0,45 | 800 | 3 |
| LS(0,45ag)B | 0,45 | 850 | 3 |
| LS(0,45ag)B | 0,45 | 850 | 3 |
| LS(0,45ag)C | 0,45 | 900 | 6 |
| LS(0,50ag)A | 0,50 | 800 | 3 |
| LS(0,55ag)B | 0,55 | 850 | 3 |

Tab. 4. Nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ po mechanickém zpracování (LS):

| Vzorek | Výchozí materiál | n_v | τ_m [min] | f_m [Hz] |
|------------|------------------|-------|----------------|------------|
| LS(0,25)B | LS(0,25ag)B | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,25)C | LS(0,25ag)C | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,25)D | LS(0,25ag)D | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,25)E1 | LS(0,25ag)E | 3 | - | - |
| LS(0,25)E2 | LS(0,25ag)E | 3 | 30 | 30 |
| LS(0,25)F1 | LS(0,25ag)F | 3 | - | - |
| LS(0,25)F2 | LS(0,25ag)F | 3 | 30 | 30 |
| LS(0,25)A1 | LS(0,25ag)A | 1 | - | - |
| LS(0,25)A2 | LS(0,25ag)A | 2 | - | - |
| LS(0,25)A3 | LS(0,25ag)A | 3 | - | - |
| LS(0,25)A4 | LS(0,25ag)A | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,25)A5 | LS(0,25ag)A | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,25)G | LS(0,25ag)A | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,20)A | LS(0,20ag)A | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,30)A | LS(0,30ag)A | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,35)A | LS(0,35ag)A | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,35)B | LS(0,35ag)B | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,40)B | LS(0,40ag)B | 3 | 60 | 30 |
| LS(0,45)B | LS(0,45ag)B | 3 | 60 | 21 |
| LS(0,50)A | LS(0,50ag)A | 3 | 60 | 30 |

LS(0,25)A6 - vysokoenergeticky mletý vzorek

Tab. 5. Nanočástice CoFe_2O_4 a $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ – připravoval M. Veverka na FZÚ AVČR:

| Vzorek | Složení | t_a [°C] | τ_a [h] | Mechan. zpracování ¹ | n_v | τ_m [min] | f_m [Hz] | d_{XRD} [nm] |
|------------------|---|---------------|-----------------|------------------------------------|-------|-------------------|---------------|-------------------|
| CFA | $\text{Co}_{0,95}\text{Fe}_{2,05}\text{O}_4$ ² | 400 | 3 | 0 | - | - | - | 18 |
| CFB | $\text{Co}_{0,95}\text{Fe}_{2,05}\text{O}_4$ ² | 600 | 3 | 0 | - | - | - | 29 |
| CFC | $\text{Co}_{0,95}\text{Fe}_{2,05}\text{O}_4$ ² | 800 | 3 | 0 | - | - | - | 41 |
| CZ(0,60)A | x = 0,60 | 550 | 3 | 1 | 3 | 60 | 30 | 16 |

Pozn.: ¹ Hodnota 0 znamená mechanické zpracování nebylo provedeno, hodnota 1 bylo provedeno. ² Složení stanovené chemickou analýsou produktu.

Tab. 6. Hybridní nanočástice **LS@Si**, **CZ@Si** a **LS@SA** (pokračování viz další strana):

| Vzorek | Výchozí materiál | Postup enkaps. | m_{MN} [mg] | m_{PVP} [g] | V_{TEOS} [μ l] | V_{APS} [μ l] | Ultr. ¹ | Mech. mích. ² | t_e [°C] | τ_e [hod] | Isol. typu | V_{fr} [ml] | ω_i [rpm] ³ | Další operace ⁴ |
|------------------------|------------------|----------------|---------------|---------------|-----------------------|----------------------|--------------------|--------------------------|------------|----------------|------------|---------------|-------------------------------|--|
| LS(0,25)@SiG1 | LS(0,25)G | A | 65,2 | - | 68,5 | - | 1 | 0 | 26 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG2 | LS(0,25)G | A | 58,9 | - | 61,8 | - | 1 | 0 | 26 | 13 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG3 | LS(0,25)G | A | 64,8 | - | 68,1 | - | 1 | 0 | 26 | 8 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG4 | LS(0,25)G | A | 65,2 | - | 68,4 | - | 1 | 0 | 26 | 4 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG5 | LS(0,25)G | B ⁵ | 49,8 | 3,33 | 68,4 | - | 1 | 1 | 26 | 20 | II | 100 | 3000 | |
| LS(0,25)@SiG6 | LS(0,25)G | A | 65,2 | - | 170 | - | 1 | 0 | 26 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG7 | LS(0,25)G | A | 65,5 | - | 498 | - | 1 | 0 | 26 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG8 | LS(0,25)G | A | 62,8 | - | 299 | - | 1 | 0 | 40 | 22 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG10 | LS(0,25)G | A | 65,2 | - | 310 | - | 1 | 0 | 50 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG11 | LS(0,25)G | A | 65,6 | - | 312 | - | 1 | 0 | 30 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG12 | LS(0,25)G | A | 53,9 | - | 256 | - | 1 | 0 | 60 | 23 | I | - | 3000 | |
| LS(0,25)@SiG13 | LS(0,25)G | B | 133,5 | 2,49 | 480 | - | 0 | 1 | 40 | 22 | II | 400 | 1500 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG14 | LS(0,25)G | B ⁶ | 133,2 | 2,46 | 479 | - | 0 | 1 | 40 | 22 | II | 400 | 1500 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG15 | LS(0,25)G | B | 133,0 | 4,95 | 1496 | - | 0 | 1 | 38 | 22 | II | 400 | 1500 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG16 | LS(0,25)G | A | 126,6 | - | 602 | - | 1 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |
| LS(0,25)@SiG17a | LS(0,25)G | A | 134,1 | - | 482 | - | 0 | 1 | 38 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG17b | LS(0,25)G | A | 65,0 | - | 234 | - | 0 | 1 | 39 | 24 | I | - | 3000 | vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG18 | LS(0,25)G | A | 133,9 | - | 482 | - | 0 | 1 | 41 | 24 | I | - | 3000 | kondenzace v glycerolu, pak vakuová purifikace |
| LS(0,25)@SiG19 | LS(0,25)G | A | 132,1 | - | 98,4 | - | 1 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |
| LS(0,25)@SiG20 | LS(0,25)G | A | 133,5 | - | 635 | - | 0 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |
| LS(0,25)@SiG21 | LS(0,25)G | A | 135,7 | - | 488 | - | 1 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |

Pozn.: ¹ Hodnota 0 znamená ultrazvuk vypnutý během enkapsulace, hodnota 1 zapnutý. ² Hodnota 0 znamená, že mechanické míchání nebylo aplikováno, hodnota 1 značí mechanické míchání po dobu τ_e . ³ $i \in \{1,2,3\}$ ⁴ Další operace jsou postupy kodifikované v 6.5.4. Především se jedná o purifikaci suspenzí pro biologické studie. ⁵ Při přípravě produktu **LS(0,25)@SiG5** nebylo prováděno promývání nanočástic separovaných z roztoku PVP ethanolem, ale rovnou se částice redispergovaly v ethanolu pro enkapsulaci. ⁶ Před stabilizací nanočástic pomocí PVP byly částice vystaveny působení chlazené 0,1 M HNO₃ zcela analogicky k postupu I.

Tab. 6 (pokračování). Hybridní nanočástice **LS@Si**, **CZ@Si** a **LS@SA**:

| Vzorek | Výchozí materiál | Postup enkaps. | m_{MN} [mg] | m_{PVP} [g] | V_{TEOS} [μ l] | V_{APS} [μ l] | Ultr. ¹ | Mech. mích. ² | t_e [°C] | τ_e [hod] | Isol. typu | V_{fr} [ml] | ω_i [rpm] ³ | Další operace ⁴ |
|----------------------|-------------------|----------------|---------------|---------------|-----------------------|----------------------|--------------------|--------------------------|------------|----------------|------------|---------------|-------------------------------|----------------------------|
| LS(0,25)@SiE2 | LS(0,25)E2 | A | 132,0 | - | 285 | - | 1 | 1 | 40 | 24 | I | - | 1500 | |
| LS(0,35)@SiB | LS(0,35)B | A | 136,4 | - | 648 | - | 1 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |
| LS(0,30)@SiA | LS(0,30)A | A | 77,7 | - | 280 | - | 0 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |
| LS(0,20)@SiA | LS(0,20)A | A | 65,0 | - | 234 | - | 0 | 1 | 40 | 24 | I | - | 3000 | |
| LS(0,25)@SAG1 | LS(0,25)G | C | 202,3 | 3,39 | 246 | 61,5 | 1 | 1 | 35 | 24 | III | 100 | 3000 | |
| LS(0,25)@SAG2 | LS(0,25)G | C | 198,9 | 3,65 | 242 | 60,5 | 1 | 1 | 35 | 24 | III | 200 | 3000 | |
| LS(0,25)@SAG3 | LS(0,25)G | C | 201 | 4,07 | 271 | 27,1 | 1 | 1 | 35 | 24 | III | 100 | 2000 | |
| CZ(0,60)@SiA | CZ(0,60)A | A | 62,2 | - | 198 | - | 1 | 1 | 40 | 24 | II | 400 | 1500 | |

Pozn.: ¹ Hodnota 0 znamená ultrazvuk vypnutý během enkapsulace, hodnota 1 zapnutý. ² Hodnota 0 znamená, že mechanické míchání nebylo aplikováno, hodnota 1 značí mechanické míchání po dobu τ_e . ³ $i \in \{1,2,3\}$ ⁴ Další operace jsou postupy kodifikované v 6.5.4. Především se jedná o purifikaci suspenzí pro biologické studie.

Další vzorky hybridních nanočástic:

LS(0,25)@SiG22

Vzorek byl připraven izolací a frakcionací pevného zbytku získaného při přípravě vzorku **LS(0,25)@SiG16**, který vznikl při první centrifugaci surové směsi. Pevný zbytek byl promyt ethanolem ve dvou cyklech a vodou ve třech cyklech. Poté se rozptýlil ve 300 ml vody za působení ultrazvuku a byla provedena centrifugace na NF800 při 2000 rpm po 10 min. Dále se zpracovával příslušný sediment, který byl opět rozptýlen ve 150 ml vody působením ultrazvuku. Následovala další centrifugace na NF800 při 750 min po 5 min, přičemž byl sbírán supernatant, z něhož se kvantitativně centrifugací separovala pevná fáze a redispergovala se v 10 ml vody.

7. Výsledky a diskuse

7.1. Příprava, struktura a krystalografické vlastnosti

nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

7.1.1. Příprava surových nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS(ag))

Magnetické nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ byly připraveny podle postupu použitého Pollertem a Vasseuerem et al pro syntesu $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ [120,121]. Tato procedura se označuje jako citrátová metoda a byla úspěšně užita k synthese nanočástic vícesložkových oxidů jako např. granátu $\text{Y}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$ (YIG) [193], spinelu CoFe_2O_4 [194], dopovaného oxidu ceričitého $\text{Ce}_{1-x}\text{Zr}_x\text{O}_2$ [195] nebo perovskitové fáze $\text{LaCo}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_3$ [196]. V našem případě se začalo rozpuštěním výchozích látek La_2O_3 , SrCO_3 a MnCO_3 v kyselině dusičné za tepla, přičemž poměr použitých sloučenin přesně určoval stechiometrické složení konečného produktu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, neboť se v přípravě neuplatňoval, kromě odvodu plynů jako CO_2 při rozkladu uhličitanů, vodní páry při zahušťování a sušení a plynných oxidačních produktů organických složek při zahřívání, žádný separační krok, natož taková separace, během níž by mohla nastávat segregace jednotlivých kationtů do odlučované fáze. Zdrojem chyby složení tuhého roztoku $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ z hlediska předpokládaného stechiometrického vzorce, čili zdrojem nejistoty parametru x , je pouze složení výchozích látek. Obsahy La, Sr a Mn byly však ve výchozích látkách stanoveny chemickou analysou a vyjádřeny příslušnými faktory (viz 6.1.).

Rozpuštění La_2O_3 , SrCO_3 vedlo přímo k roztokům hydratovaných kationtů La^{3+} a Sr^{2+} , ale během rozkladu MnCO_3 oxidující kyselinou dusičnou dochází ke vzniku sraženiny MnO_2 . Vyloučený MnO_2 se proto musel redukovat peroxidem vodíku, jehož přebytek se nakonec odstranil povařením. Kyselina citrónová se jako komplexátor kovových kationtů přidávala v 1,5-násobku celkového molárního množství jejich kationtů, přičemž patrně docházelo ke vzniku citratokomplexů Mn^{2+} a La^{3+} . Citrónová kyselina se přitom koordinuje jednak hydroxylovou skupinou za současné deprotonizace a jednak karboxylátem. Oba vazebné módy citrátu v analogicky připravovaném organickém prekursoru prokázal Montemayor [194]. Důležitým krokem je úprava pH, které bylo vždy nastaveno na hodnotu 7,6, čímž se

poněkud odchylujeme od úpravy na hodnotu 9 používanou při synthese $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ v [120]. Zásadní složkou nutnou pro zformování organického prekursoru je ethylenglykol, který byl přidáván v 2,25-násobku celkového látkového množství kationtu. Poté byla směs zahřívána. Ethylenglykol totiž snadno reaguje za mírných teplot (100 - 150 °C) s citrónovou kyselinou za vzniku esteru a dlouhodobější zahřívání spojené s odpařováním přebytečného ethylenglykolu vede k rozsáhlejší polyesterifikaci [197]. Kromě esterifikace probíhá také jako vedlejší reakce i vznik etheru, který byl např. identifikován v prekursoru při přípravě CoFe_2O_4 ^{13}C NMR spektroskopii [194]. Zmíněným zahříváním tak vznikala polymerní pryskyřice představující organický prekursor oxidu **LS**. Z hlediska reprodukovatelnosti synthesy oxidu se jako nejkritičtější zdála právě následující fáze zvyšování teploty, které bylo prováděno na vyhřívané plotně. Při určité teplotě začalo prohořívání organického prekursoru.

Výše zmíněné stechiometrické poměry citrónové kyseliny a ethylenglykolu vůči kovovým kationtům a hodnota pH se osvědčily při přípravě manganitů $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ s $x = 0,20 - 0,45$, u kterých se podařilo po výpalu získat čistý jednofázový produkt (viz tab. 7). Materiál vzniklý prohoříváním organického prekursoru (tzn. materiál ještě před kalcinací) obsahoval určitý podíl krystalických fází. Dle polykrystalických záznamů difraktoval velmi špatně, ale přesto se u něho daly identifikovat difrakce manganitové fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, popřípadě i SrCO_3 . Přítomnost SrCO_3 v materiálu před kalcinací i po kalcinaci při 400 °C nepředstavovala problém, neboť při vlastním výpalu za vyšších teplot uhličitán reagoval s již vytvořenou perovskitovou fází za uvolnění CO_2 . Důležité bylo, že jsme při volbě podmínek přípravy organického prekursoru a při jeho kalcinaci postupovali tak, že nedocházelo ke vzniku hausmanitu Mn_3O_4 , který by výrazně komplikoval získání čistého manganitu a to i při vysoké teplotě výpalu.

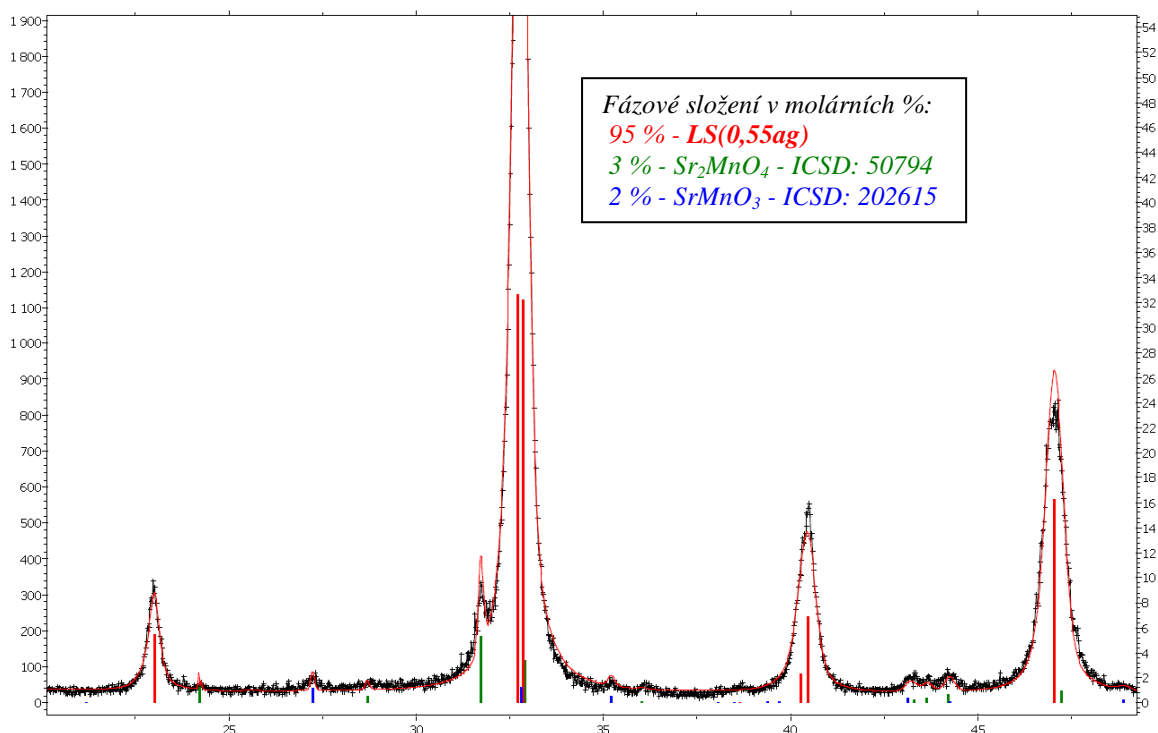
Další zpracování prohořelého a vysušeného materiálu zahrnovalo jeho kalcinaci a výpal na vzduchu při zvolené teplotě t_a po dobu τ_a , který vede k surovým nanočásticím $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (**LS(ag)**). Přehled všech v této práci diskutovaných vzorků **LS(ag)**, jejich fázového složení a krystalografických vlastností manganitové fáze uvádí tab. 7, kde jsou pro přehlednost rovněž zopakovány parametry výpalu. Fázové složení vzorků určené Rietveldovou analýsou je vyjádřeno v molárních procentech $100 \cdot x(\text{LS})$, $100 \cdot x(\text{SrCO}_3)$ a $100 \cdot x(\text{jf})$, které po řadě vyjadřují obsah $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, SrCO_3 a jiných fází, jako jsou oxidové fáze Sr a Mn typu SrMnO_3 a Sr_2MnO_4 . Z výčtu je vidět, že při rostoucím obsahu stroncia nevzniká čistý jednofázový produkt tak snadno jako při vyšším podílu lanthanu. Zatímco u

manganitů s $x = 0,20 - 0,35$ stačil výpal při $t_a = 750$ °C po dobu $\tau_a = 3$ hod, u manganitu s $x = 0,40$ zůstal při těchto podmínkách ve vypáleném produktu SrCO_3 byt' v množství jen asi 3%. Po zvýšení teploty výpalu při zachování doby výpalu uhličitán zcela zreagoval s perovskitovou fází a v produktu se již neobjevil. Při ještě vyšším obsahu stroncia pro $x = 0,40$ a $0,45$ byly na difraktogramech rozpoznány velmi slabé difrakce od dalších fází a to patrně od SrMnO_3 či Sr_2MnO_4 , respektive přechodných fází. Proto byla u složení $x = 0,45$ studována možnost přípravy zcela čisté fáze dalším zvyšováním teploty i doby výpalu, přičemž konečně při $t_a = 900$ °C po dobu $\tau_a = 6$ hod zmizely i stopy dalších fází. U složení s nejvyššími obsahy stroncia, jejichž částice byly ještě připravovány, a to u $x = 0,50 - 0,55$ se obsah těchto fází postupně zvyšuje, a to řádově až na jednotky procent. Jednoznačné určení jejich povahy je vzhledem k nízkému obsahu vyloučené a kvantifikace je rovněž na hranici možností analýsy difrakčních záznamů. Detail difrakčního záznamu s projevy těchto příměsí u **LS(0,55ag)B** je na obr. 5. Příklady polykrystalických difraktogramů **LS(ag)** o složení $x = 0,20 - 0,50$ s $d_{XRD} = 20 - 30$ nm pak uvádí obr. 6.

Tab. 7. Fázové složení vzorků **LS(ag)** a krystalografická data fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$:

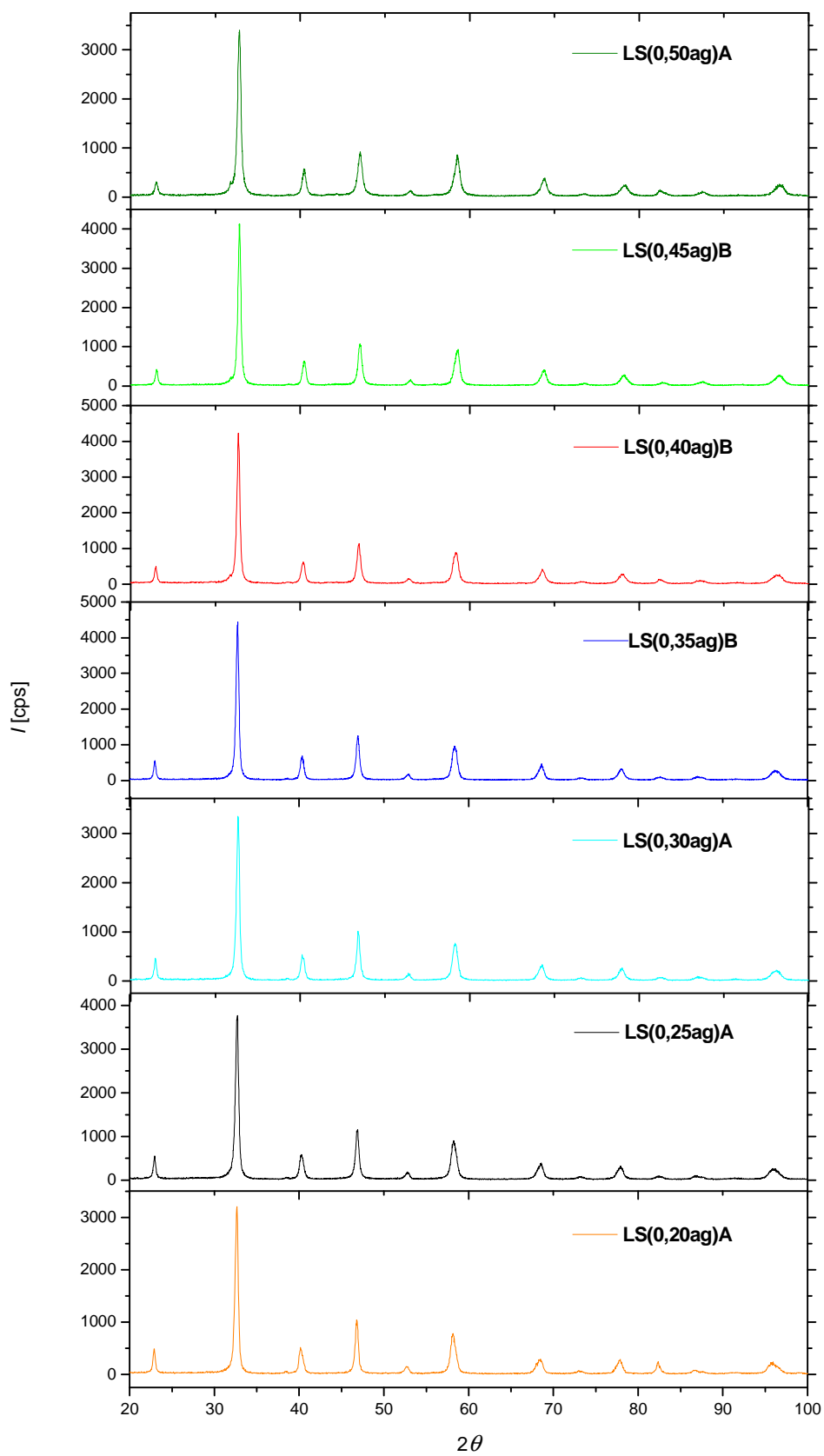
| Vzorek | t_a [°C] | τ_a [h] | 100·x (LS) [%] | 100·x (SrCO ₃) [%] | 100·x (jf) [%] ¹ | d_{XRD} [nm] | a [Å] ² | c [Å] ² | V [Å ³] |
|--------------------|---------------|-----------------|----------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| LS(0,25ag)A | 750 | 3 | 100 | 0 | 0 | 27 | 5,5010(2) | 13,3775(7) | 350,58(2) |
| LS(0,25ag)B | 800 | 3 | 100 | 0 | 0 | 34 | 5,5045(1) | 13,3759(7) | 350,99(2) |
| LS(0,25ag)C | 850 | 3 | 100 | 0 | 0 | 47 | 5,5076(2) | 13,3761(6) | 351,39(2) |
| LS(0,25ag)D | 900 | 3 | 100 | 0 | 0 | 70 | 5,5105(1) | 13,3743(4) | 351,71(1) |
| LS(0,25ag)F | 900 | 6 | 100 | 0 | 0 | 81 | 5,5109(1) | 13,3753(5) | 351,79(2) |
| LS(0,25ag)E | 950 | 3 | 100 | 0 | 0 | 105 | 5,5126(1) | 13,3738(4) | 351,97(1) |
| LS(0,20ag)A | 750 | 3 | 100 | 0 | 0 | 31 | 5,5073(2) | 13,3741(8) | 351,29(3) |
| LS(0,30ag)A | 750 | 3 | 100 | 0 | 0 | 28 | 5,4937(2) | 13,3823(12) | 349,78(4) |
| LS(0,35ag)A | 750 | 3 | 100 | 0 | 0 | 25 | 5,4906(3) | 13,3740(15) | 349,17(5) |
| LS(0,35ag)B | 800 | 3 | 100 | 0 | 0 | 31 | 5,4907(2) | 13,3788(10) | 349,30(3) |
| LS(0,40ag)A | 750 | 3 | 97 | 3 | 0 | 21 | - ³ | - ³ | - ³ |
| LS(0,40ag)B | 800 | 3 | 100 | 0 | 0 | 27 | 5,4874(3) | 13,3742(15) | 348,77(5) |
| LS(0,45ag)A | 800 | 3 | 100 | 0 | stopy o.f. ⁴ | 19 | 5,4723(15) | 13,385(7) | 347,15(23) |
| LS(0,45ag)B | 850 | 3 | 100 | 0 | stopy o.f. ⁴ | 27 | 5,4726(19) | 13,393(9) | 347,39(29) |
| LS(0,45ag)C | 900 | 6 | 100 | 0 | 0 | 50 | 5,4707(9) | 13,387(5) | 346,98(15) |
| LS(0,45ag)D | 800 | 4,5 | 100 | 0 | stopy o.f. ⁴ | 20 | 5,4744(8) | 13,415(4) | 348,17(13) |
| LS(0,50ag)A | 800 | 3 | ≈ 99 | 0 | ≈ 1 o.f. ⁴ | 19 | 5,4639(6) | 13,402(3) | 346,51(10) |
| LS(0,55ag)B | 850 | 3 | ≈ 95 | 0 | ≈ 5 o.f. ⁴ | - ³ | - ³ | - ³ | - ³ |

Pozn.: ¹x(jf) označuje molární zlomek jiných fází než manganitu. ²Klencová struktura byla transformována na šesterečnou mřížku, a proto jsou mřížové parametry v hexagonálních osách. ³Vzhledem k výskytu SrCO_3 či jiných fází nemá význam uvádět tyto parametry, protože složení perovskitové fáze neodpovídá předpokládanému stechiometrickému vzorci, a to se zvláště týká **LS(0,55ag)B**. ⁴ Výskyt oxidových fází Sr a Mn jako SrMnO_3 či Sr_2MnO_4

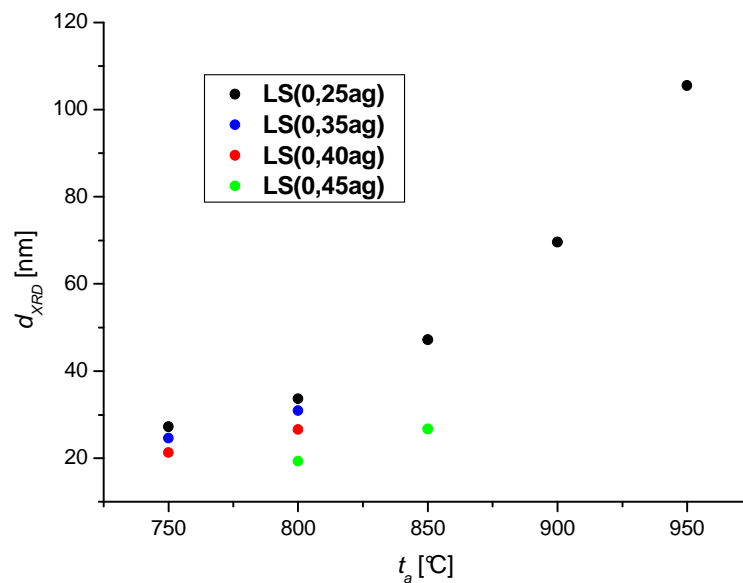


Obr. 5. Difraktogram $LS(0,55ag)B$, kde jsou vidět slabé difrakce dalších krystalických fází. Experimentální body jsou pro příklad doplněny prokladem po upřesňování Rietveldovou analýsou: 95 % - $LS(0,55ag)$, 3 % - Sr_2MnO_4 - ICSD: 50794, 2 % - $SrMnO_3$ - ICSD: 202615.

Z přehledu je na první pohled zřejmý vývoj střední velikosti krystalitů d_{XRD} s teplotou výpalu, zejména u nejméně studované fáze o složení $x = 0,25$. S rostoucí t_a roste hodnota d_{XRD} , jak ilustruje i obr. 7. Dále si všimněme, že vzorek $LS(0,25ag)F$ vypalovaný při stejné t_a jako $LS(0,25ag)D$, ale po dvakrát delší dobu má d_{XRD} větší o 11 nm. Tyto výsledky jsou konsistentní s daty již publikovanými pro složení $x = 0,25$ [120]. Z pozorování tedy vyplývá, že při vyšší teplotě výpalu je rychlost růstu krystalitů vyšší, přičemž u řady vzorků stejného složení můžeme pozorovat velmi progresivní nárůst velikosti krystalitů s teplotou. Uvažme, že pro reakce v pevné fázi, kterými se perovskitová fáze tvoří, lze předpokládat exponenciální závislost na teplotě, ačkoli jejich kinetika je dosti komplikovaná. A současně určitá rychlost růstu krystalitů při dané teplotě výpalu umožní větší nárůst krystalitů, jestliže výpal probíhá déle. Z čistě preparativního pohledu je konečná velikost krystalitů v určitém rozmezí poměrně citlivě závislá na teplotě t_a , uvažíme-li rozdíl 36 nm mezi krystality vzorků $LS(0,25ag)D$ a $LS(0,25ag)E$, jejichž t_a se lišily pouze o 50 °C. Naproti tomu ve studované oblasti je závislost velikosti na době τ_a mnohem méně výrazná. Dodejme, že nárůst velikosti krystalitů se zvyšující se teplotou výpalu je obecně známým jevem, který se často využívá k řízení velikosti připravovaných nanočástic, jak ilustrují i různé přípravy nanočástic $La_{1-x}Sr_xMnO_3$ různými metodami [125,198,199].

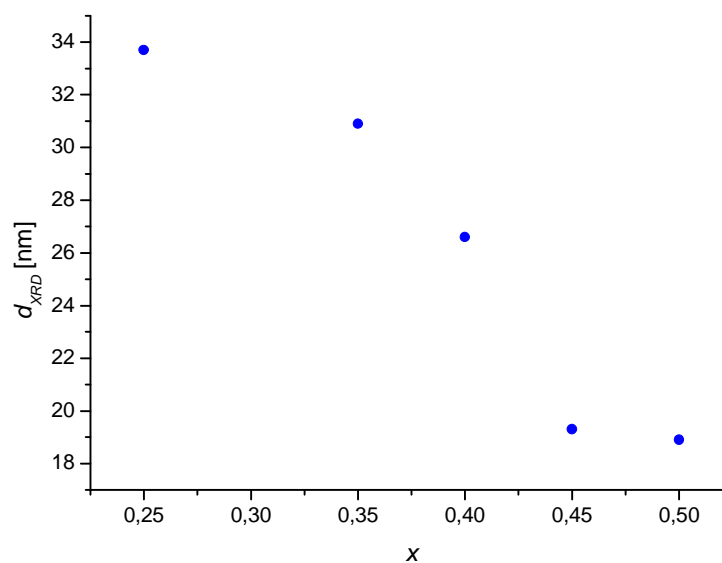


Obr. 6. Difraktogramy $LS(ag)$ o složení $x = 0,20 - 0,50$ s $d_{XRD} = 20 - 30$ nm.



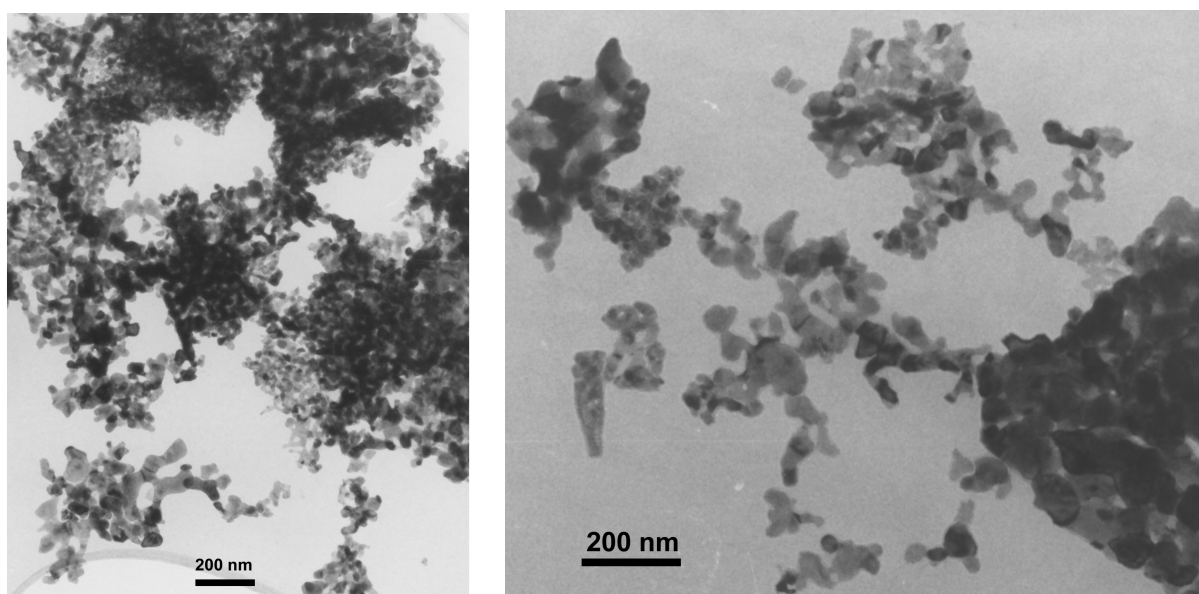
Obr. 7. Závislost velikosti krystalitů d_{XRD} **LS(ag)** na teplotě výpalu t_a při $\tau_a = 3$ hod.

Poměrně zajímavým aspektem, který souvisí s přípravou nanočástic **LS(ag)** o různém složení, je vývoj d_{XRD} s parametrem složení x při daných podmínkách přípravy, tedy při konstantní teplotě a době výpalu. Na obr. 8 s grafem d_{XRD} v závislosti na x při $t_a = 800$ °C a $\tau_a = 3$ hod vidíme, že s rostoucím obsahem stroncia klesá velikost krystalitů. Takové zjištění dokládá, že fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ pro vyšší x nevzniká tak rychle, tedy tak snadno, jako při nižším obsahu stroncia. Připomeňme si v této souvislosti výše zmíněné skutečnosti o fázové čistotě produktu a nutnosti zvyšovat teplotu výpalu pro vyšší x .



Obr. 8. Závislost d_{XRD} na x u **LS(ag)** připravených při $t_a = 800$ °C a $\tau_a = 3$ h.

Zatím jsme se zabývali pouze fázovou čistotou a střední velikostí krystalitů **LS(ag)**, přičemž příslušné údaje vycházely z měření rtg difrakce. Nesporně důležitou charakterizací nanočástic je elektronová mikroskopie, která teprve dokládá skutečnou velikost nanočástic a jejich morfologii. Reprezentativní snímky z TEM např. vzorku **LS(0,25ag)A**. jsou na obr. 9. Pro vysvětlení dodejme, že vzorky neobalených částic, ať již **LS(ag)** nebo **LS**, určené pro TEM byly připravovány po předchozí stabilizaci částic pomocí PVP K25 ve vodě a po převedení do čistého rozpouštědla, aby se zajistila alespoň určitá koloidní stabilita před vlastním zhotovením vzorku. Současně dodejme, že tento postup nebyl nikdy spojen s žádnou frakcionací, a tak stabilizovaný produkt plně odpovídá deklarovanému materiálu.



Obr. 9. TEM snímky vzorku **LS(0,25ag)A** stabilizovaného PVP K25.

Na snímcích jsou vidět nanokrystalické útvary různorodé morfologie, jejichž obecným základem jsou více či méně spojená kompaktní zrna. Tato zrna vykazují poměrně širokou distribuci tvarů a velikostí a pravděpodobně odpovídají jednotlivým krystalitům, popřípadě klastrům nejvýše několika krystalitů, třebaže dotčené distribuce brání zcela jednoznačným závěrům. Pozorované krčky až plynulejší přechody mezi jednotlivými zrny jsou výsledkem začínající slinování nanokrystalického materiálu, ke kterému docházelo během výpalu. Srůstání částic je nevyhnutelné a konečná morfologie produktu odpovídá již dříve publikovaným pozorováním [120,121] týkajících se přípravy částic o složení $x = 0,25$ stejnou metodou. Podobně při přípravě částic $\text{La}_{0,67}\text{Sr}_{0,33}\text{MnO}_3$ o velikostech 20 - 95 nm citrátovou metodou a výpalem při teplotách 873 – 1273 K pozoroval Moreira et al poměrně rozsáhlé sintrační spoje [125]. Zcela stejnou morfologii měly i částice $\text{La}_{0,7}\text{Sr}_{0,3}\text{MnO}_3$ o velikostech 40 - 120 nm (SEM) připravené nedávno publikovanou sonochemickou metodou [198], částice

stejného složení o $d_{XRD} = 18 - 55$ nm získané tepelným rozkladem octanů kovů [199] nebo nanočástice veliké 20 – 100 nm (TEM) připravené tepelným rozkladem roztoku dusičnanů s triethylaminem na vyhřívané plotně [200], neboť ve všech těchto případech třebaže poměrně rozdílných syntheses se rovněž využívala fáze tepelného zpracování za vysokých teplot, kdy manganitové krystality narůstají.

7.1.2. Příprava nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ (LS) mechanickým zpracováním LS(ag)

Ze snímků na obr. 9 je zřejmé, že určité mechanické zpracování produktů **LS(ag)** je potřebné, pokud chceme získat fyzicky oddělené nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ použitelné pro enkapsulaci a pro přípravu stabilních suspenzí. V původním příspěvku, který popisoval syntesu manganitu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ citrátovou metodou [120], bylo vyzkoušeno kulové mletí k rozrušení sintračních spojů. Navazující studium na FZÚ AV ČR ukázalo, že je výhodnější zapojit válcování surového materiálu a teprve v dalším kroku aplikovat mletí [121]. V nyní pojednávané práci se podíváme na výsledky podrobnějšího studia mechanického zpracování týkajícího se širšího souboru nanokrystalického materiálu. V našem případě mechanické zpracování **LS(ag)** standardně zahrnovalo tři válcovací cykly na jednoduchém válcovacím zařízení a posléze kulové mletí v ethanolu prováděné typicky po dobu 60 min s frekvencí kmitů mlecích nádob 30 Hz. Osvědčil se tedy určitý postup, který byl posléze používán jako rutinní krok při přípravě **LS**. Dále podrobně popíšeme aspekty spojené s mechanickým zpracováním, jež se dotýkají fázového složení vzorků, střední velikosti krystalitů a morfologie materiálu, ale podíváme se i na jednotlivé kroky mechanického zpracování.

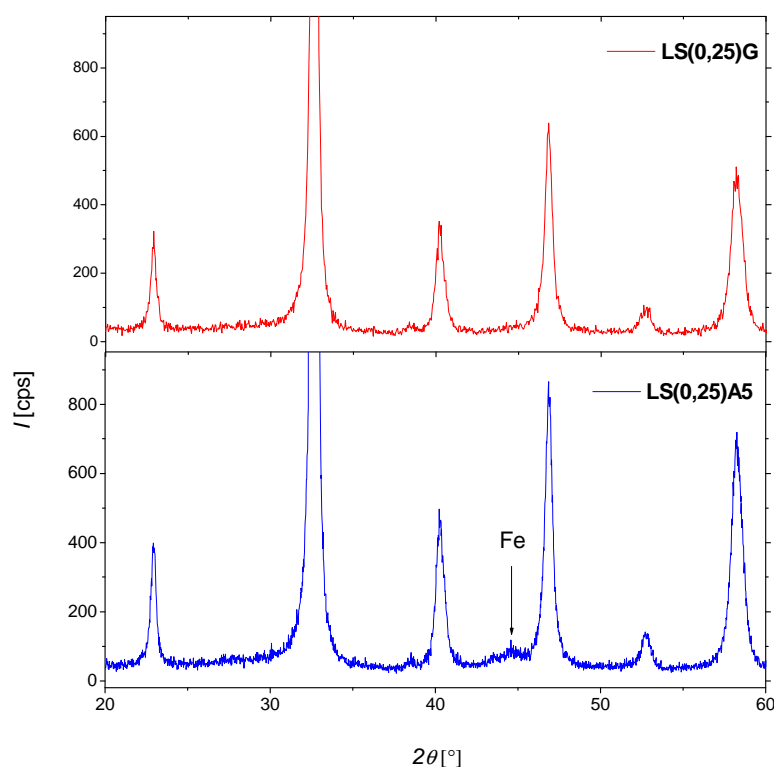
Tab. 8 přehledně uvádí všechny probírané mechanicky zpracované vzorky, jejichž příprava je přesně popsána v experimentální části. Pro lepší orientaci však nyní zdůrazníme, že mechanicky zpracovaný vzorek **LS** je označen v návaznosti na surový vzorek **LS(ag)** tak, že koncový písmenný kód vzorku **LS(ag)** zůstává zachován a případně je k němu připojena ještě číslovka, jak ostatně plyne z tab. 4. Fázové složení vzorků určené Rietveldovou analysou je vyjádřeno v molárních procentech, přičemž molární procenta jiných fází $100 \cdot x(\text{jf})$ zde označují nejen blíže neurčené oxidové fáze Sr a Mn, ale i případné příměsi oceli pocházející z nečistého mletí. Dále jsou uvedeny hodnoty d_{XRD} , krystalografické charakterizace a pro přehlednost opakujeme parametry mechanického zpracování, jimiž jsou počet válcovacích cyklů n_v , doba mletí τ_m a frekvence mletí f_m .

Tab. 8. Fázové složení vzorků **LS** a krystalografická data fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$:

| Vzorek | n_v | τ_m [min] | f_m [Hz] | 100·x (LS) [%] | 100·x (SrCO ₃) [%] | 100·x (jf) [%] ¹ | d_{XRD} [nm] | a [Å] ² | c [Å] ² | V[Å ³] |
|-------------------|-------|-------------------|---------------|----------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| LS(0,25)B | 3 | 60 | 30 | 100 | 0 | 0 | 21 | 5,5028(3) | 13,3828(14) | 350,95(5) |
| LS(0,25)C | 3 | 60 | 30 | 100 | 0 | 0 | 26 | 5,5055(2) | 13,3832(10) | 351,31(3) |
| LS(0,25)D | 3 | 60 | 30 | 100 | 0 | 0 | 30 | 5,5098(2) | 13,3792(9) | 351,75(3) |
| LS(0,25)E1 | 3 | - | - | 100 | 0 | 0 | 46 | 5,5118(2) | 13,3735(7) | 351,85(2) |
| LS(0,25)E2 | 3 | 30 | 30 | 100 | 0 | 0 | 40 | 5,5123(2) | 13,3765(8) | 351,99(3) |
| LS(0,25)F1 | 3 | - | - | 100 | 0 | 0 | 36 | 5,5116(2) | 13,3722(2) | 351,79(2) |
| LS(0,25)F2 | 3 | 30 | 30 | <100 | 0 | <3 Fe ³ | 35 | 5,5109(2) | 13,3751(8) | 351,79(3) |
| LS(0,25)A1 | 1 | - | - | 100 | 0 | 0 | 23 | 5,5028(2) | 13,3682(10) | 350,56(3) |
| LS(0,25)A2 | 2 | - | - | 100 | 0 | 0 | 23 | 5,5012(3) | 13,3752(13) | 350,55(4) |
| LS(0,25)A3 | 3 | - | - | 100 | 0 | 0 | 22 | 5,4993(5) | 13,3867(21) | 350,60(7) |
| LS(0,25)A4 | 3 | 60 | 30 | 100 | 0 | 0 | 19 | 5,5027(3) | 13,3665(11) | 350,51(4) |
| LS(0,25)A5 | 3 | 60 | 30 | <100 | 0 | < 3 Fe ³ | 20 | 5,5011(2) | 13,3697(8) | 350,39(3) |
| LS(0,25)G | 3 | 60 | 30 | 100 | 0 | 0 | 20 | 5,4990(4) | 13,3877(20) | 350,59(6) |
| LS(0,20)A | 3 | 60 | 30 | 100 | 0 | 0 | 21 | 5,5065(3) | 13,3815(14) | 351,39(5) |
| LS(0,30)A | 3 | 60 | 30 | 98 | 2 | 0 | 19 | 5,4913(6) | 13,3969(28) | 349,85(9) |
| LS(0,35)A | 3 | 60 | 30 | 96 | 4 | 0 | 18 | 5,4930(3) | 13,3635(14) | 349,20(5) |
| LS(0,35)B | 3 | 60 | 30 | 97 | 3 | 0 | 22 | 5,4928(2) | 13,3687(7) | 349,31(2) |
| LS(0,40)B | 3 | 60 | 30 | 95 | 5 | 0 | 19 | 5,475(3) | 13,395(15) | 347,8(5) |
| LS(0,45)B | 3 | 60 | 21 | 97 | 3 | stopy o.f. ⁴ | 20 | 5,4749(5) | 13,3841(28) | 347,43(9) |
| LS(0,50)A | 3 | 60 | 30 | 95 | 4 | ≈1 o.f. ⁴ | 16 | 5,4675(10) | 13,383(5) | 346,50(15) |

Pozn.: ¹Symbol x(jf) označuje molární zlomek jiných fází než manganitu; ²Klencová struktura byla transformována na šesterečnou mřížku, a proto jsou mřížové parametry v hexagonálních osách. ³Výskyt oceli. ⁴Výskyt oxidových fází Sr a Mn jako SrMnO₃ či Sr₂MnO₄

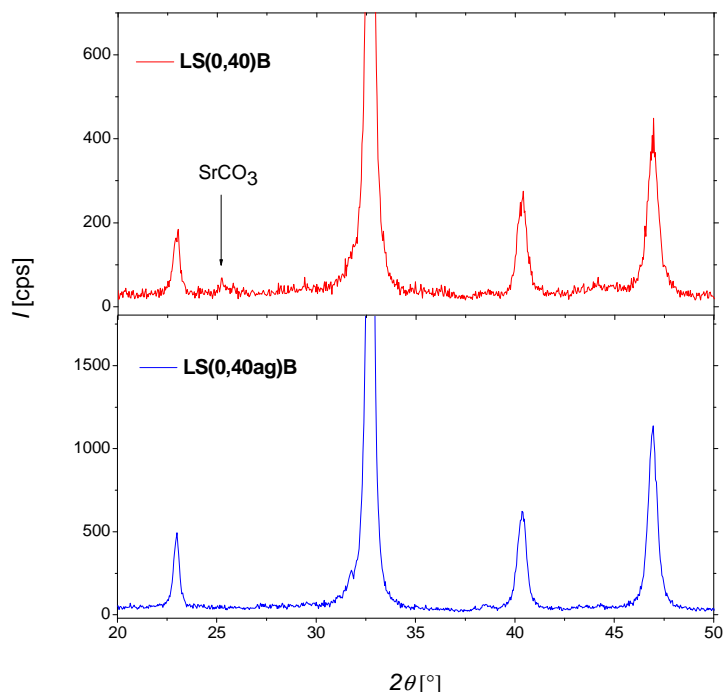
Podívejme se na fázové složení vzorků **LS** získaných mechanickým zpracováním **LS(ag)**, z nichž nebyly zpracovány pouze ty vzorky, které obsahovaly SrCO₃ nebo jiné fáze v množství jednotek procent. Určitým nebezpečím kulového mletí, které probíhalo v ocelové nádobě s ocelovou koulí, je možnost případné kontaminace produktu v důsledku abraze mlecí nádoby. Difraktogramy byly proto pečlivě kontrolovány na přítomnost železné fáze, která se v produktech standardně neobjevovala. Nicméně po několika letech používání se ocel vzácně v určitých vzorcích začala objevovat. Dlužno dodat, že k tomu začalo docházet v době, kdy určitá porucha u používaného mlýnu vedla k nestabilitě při mlecí operaci a patrně vyššími zatížení mlecí nádoby. Výskyt železné fáze si lze ukázat na příkladě vzorků **LS(0,25)F2** a **LS(0,25)A5** a jejich difrakčních záznamů (viz obr. 10). Vzhledem ke zřejmému opotřebením mlecí nádoby byla nahrazena nádobou novou a posléze železo nebylo v difraktogramech již indikováno.



Obr. 10. Zvětšená oblast difraktogramu **LS(0,25)A5** s výskytem železné fáze pocházející z narušené mlecí nádoby a porovnání s fázově čistým produktem **LS(0,25)G**.

Další poněkud překvapivou okolností týkající se fázového složení je výskyt SrCO_3 u všech mechanicky zpracovaných vzorků **LS** s $x \geq 0,30$. Přitom však tyto vzorky se připravily ze vzorků surových nanočástic **LS(ag)** prostých uhličitanu. Tato skutečnost byla často pro jednotlivá složení několikrát potvrzena, přičemž se v této souvislosti prováděly i výpaly při výrazně vyšších teplotách, aby bylo jisté, že žádný uhličitan nemůže ani v nepatrných residuích přetrvávat v surovém materiálu před vlastním mechanickým zpracováním. Z daných pozorování musíme uzavřít, že po mechanickém zpracování vzorků **LS(ag)** s $x \geq 0,30$, které byly dle rtg difrakce původně fázově čisté, se v nich objevuje v množství několika molárních procent SrCO_3 . Dokumentuje to např. porovnání difraktogramů **LS(0,40ag)B** a **LS(0,40)B** na obr. 11. Výskyt SrCO_3 po mechanickém zpracování se ale netýká nanokrystalických produktů s $x = 0,20 - 0,25$. Možným vysvětlením je vyšší citlivost nejmenších úlomků o velikosti výrazně nižší, než je střední hodnota velikosti krystalitů d_{XRD} , vznikajících během mechanického zpracování, která se projevuje u fáze o složení s $x \geq 0,30$ jako citlivost vůči atmosférickému CO_2 , s nímž reagují a poskytují SrCO_3 . Osud mateřské fáze uvolňující Sr zůstává nejasný vzhledem k rozsahu tohoto jevu (nejvýše několik procent). Předložené vysvětlení se tedy opírá o nižší termodynamickou stabilitu fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ s vyšším

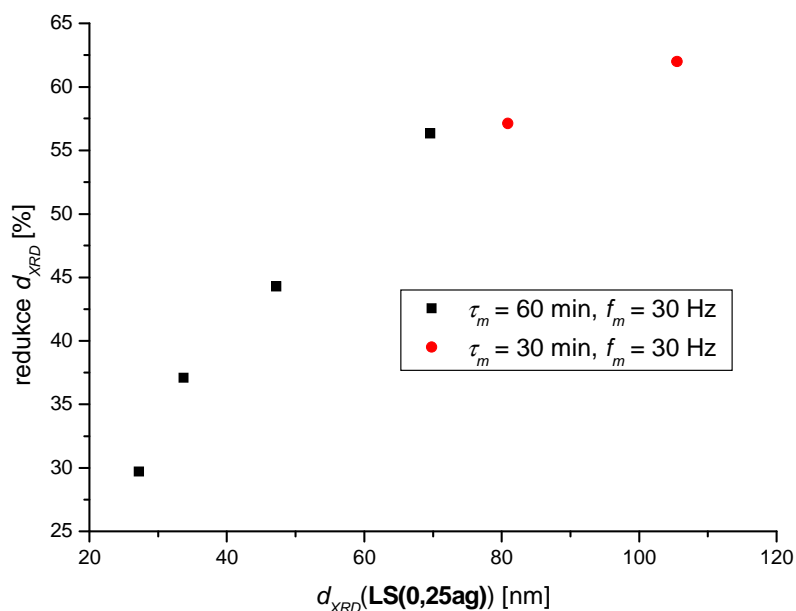
obsahem stroncia, kterou do jisté míry dokládají i pozorování týkající se závislosti d_{XRD} na x u **LS(ag)** (viz obr. 8) a rovněž také potřeba vyšší teploty, případně delší doby výpalu pro získání fázově čistého produktu **LS(ag)** (viz tab. 7).



Obr. 11. Difraktogramy nanokrystalického **LS(0,40)** před a po mechanickém zpracování.

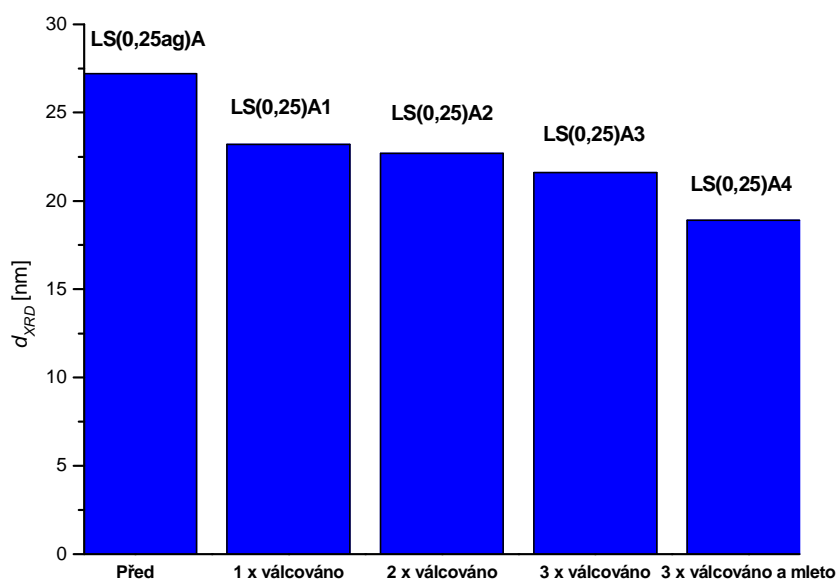
Surové produkty se sice mechanicky zpracovávají, aby se oddělila jednotlivá zrna nanokrystalického materiálu, ale průvodním jevem, který souvisí s mechanickým rozrušováním, je celkový posun střední velikosti krystalitů d_{XRD} k nižší hodnotě. Je pravděpodobné a výsledky některých magnetických měření to dokládají (viz 7.2.2), že výrazným vliv na tento pokles mají spíše menší úlomky, které vznikají při rozbíjení propojených zrn a sintračních můstků, než samotné rozbíjení vlastních zrn a krystalitů. Redukce velikosti krystalitů vyjádřená v procentech, o která se zmenšila původní hodnota d_{XRD} **LS(ag)** při poklesu na d_{XRD} **LS** během standardního mechanického zpracování o třech cyklech válcování a s mletím při 30 Hz, je uvedena pro částice různé výchozí velikosti o složení $x = 0,25$ na obr. 12. V daném intervalu velikostí se jedná o rostoucí funkci, i když je zřejmé, že materiál tvořený mnohem většími zrny by po mechanickém zpracování nemohl vykazovat tak výrazný pokles d_{XRD} . Přesto je pozoruhodné, že pro **LS(ag)** s $d_{XRD} \geq 70$ nm nastává za daných podmínek redukce o více než 50 %. To zdánlivě představuje určitou komplikaci při přípravě větších částic, ale uvědomme si, že se jedná o střední hodnoty a že

rozdělení velikostí vznikajících částic nemusí vůbec odpovídat log-normální distribuci, která se často uplatňuje při popisu velikosti nanočástic.



Obr. 12. Redukce d_{XRD} při mechanickém zpracování **LS(0,25ag)** o různých výchozích d_{XRD} .

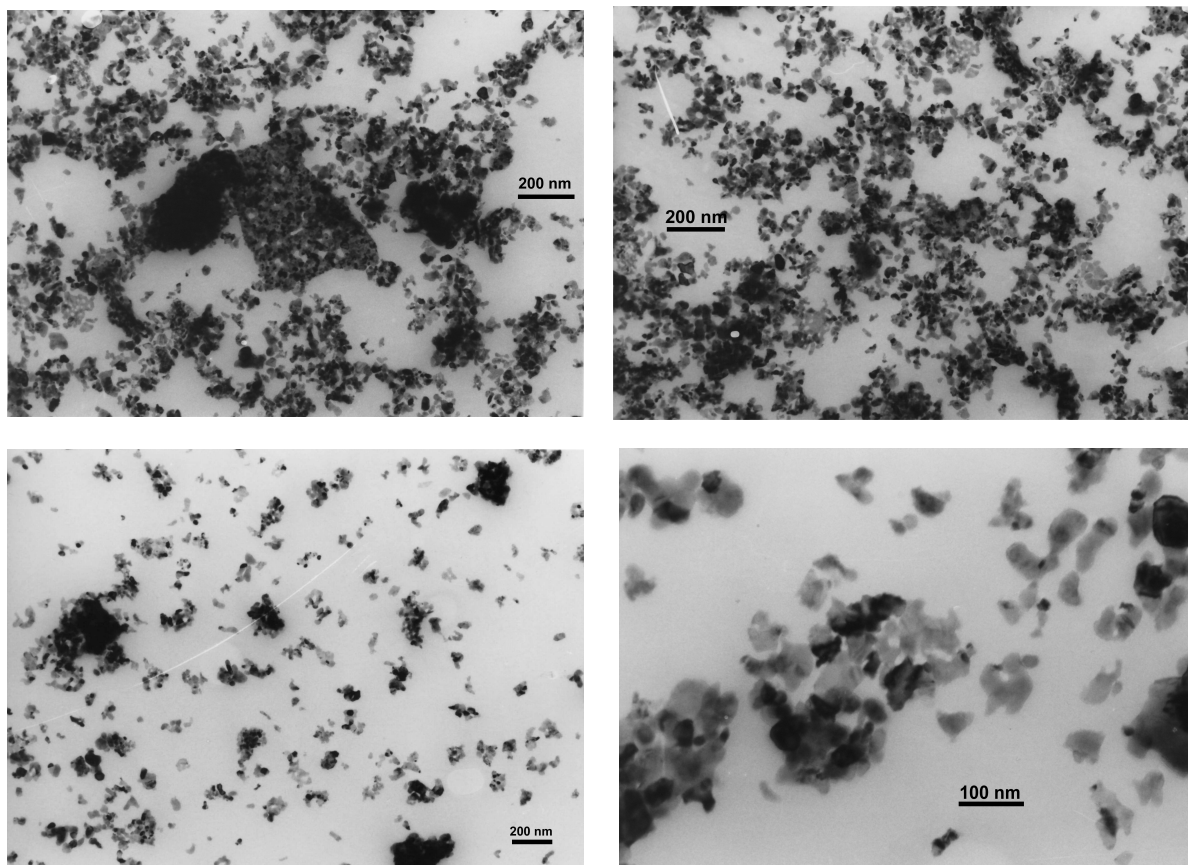
Abychom získali jasnější představu o poklesu d_{XRD} , zabývejme se jednotlivými kroky mechanického zpracování fáze s $x = 0,25$ a s konečnou velikostí krystalitů $d_{XRD} \approx 20$ nm. Tyto nanočástice se staly základním materiálem celé této práce. Surovým materiálem pro tento produkt je vzorek **LS(0,25ag)A** s $d_{XRD} = 27$ nm, který standardním mechanickým zpracováním poskytl **LS(0,25ag)A4** s $d_{XRD} = 19$ nm. Rozdíl pouhých 8 nm je samozřejmě malý, ale přesto hodnoty určené z rozšíření difrakčních čar ukazují určitý trend (viz obr. 13). Při prvním válcování dochází k největšímu poklesu d_{XRD} , dalšími válcovacími cykly se hodnota nepatrně zmenšuje, určitý pokles pak nastává až při mletí. Důležité však je, že pro redukcí velikosti krystalitů je významnější válcování a nikoli mletí. Jasný závěr plyne teprve z vyhodnocení d_{XRD} u vzorků připravených ze surových nanočástic **LS(0,25ag)F**, resp. **LS(0,25ag)E**, které měly největší krystality a to 81 nm, resp. 105 nm. Vzorky **LS(0,25ag)F1** a **LS(0,25ag)E1** připravené válcováním o třech cyklech mají $d_{XRD} = 36$ nm, resp. 46 nm. Navazujícím mletím vznikají vzorky **LS(0,25)F2**, resp. **LS(0,25)E2**, které mají jen nepatrně menší $d_{XRD} = 35$ nm, resp. 40 nm.



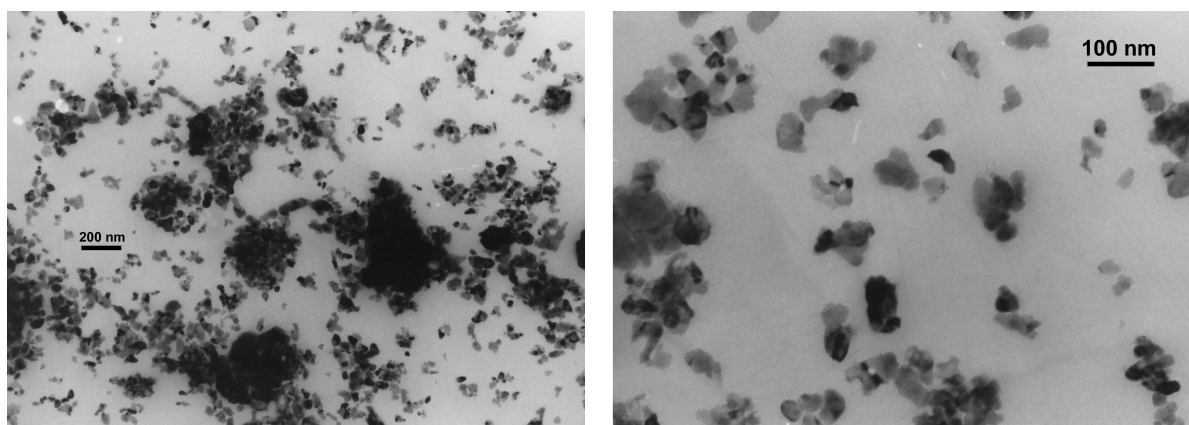
Obr. 13. Postupný vývoj d_{XRD} během mechanického zpracování vzorku **LS(0,25ag)A** s původní hodnotou $d_{XRD} = 27$ nm. (Pozn.: Pro konstrukci grafu byla použita ještě jedna platná cifra číselné hodnoty d_{XRD} , která není z pochopitelných důvodů uváděna v tab. 8, ale která je s ohledem na standardní nejistoty stanovené při analýze difraktogramů ještě relevantní.)

Diskusi morfologických změn v průběhu mechanického zpracování doloženou snímkem z TEM jsme ponechali nakonec, třebaže morfologie surových nanočástic **LS(ag)** byla právě podnětem pro jejich mechanické zpracování. Je však téměř nemožné objektivně vyhodnotit TEM studie, protože obrazová analýza snímků je jednak vzhledem k problémům s rozlišením pozorovaných útvarů (např. krystalit vs. klastr krystalitů, sintrovaný shluk zrn vs. fyzikální aglomerát zrn) a jednak pro značnou distribuci takřka neuchopitelných tvarů a také pro značně širokou distribuci velikostí téměř vyloučená. Určitý závěr je možné vytvořit na základě subjektivního vyhodnocení velkého souboru obrazů, které reprezentativně postihují skutečnou morfologii vzorků. Takové studium bylo provedeno na vzorcích **LS(0,25ag)A**, **LS(0,25)A1**, **LS(0,25)A2**, **LS(0,25)A3**, **LS(0,25)A4** a ukázalo, že právě tři válcovací cykly jsou užitečné k tomu, aby se převážná většina vyšších útvarů, vzniklých začínající sintrací, rozrušila. Současně byl vyhodnocen vliv mletí jako poměrně důležitý pro morfologii konečného produktu. Určitou ilustraci o morfologii během mechanického zpracování si lze udělat na základě příložených snímků na obr. 9, kde jsou surové nanočástice **LS(ag)**, a dále na sérii snímků na obr. 14 a obr. 15, která zachycuje vývoj během mechanického zpracování až po konečný produkt **LS** na obr. 17. Závěrem také zmiňme, že několikasupňové mechanické

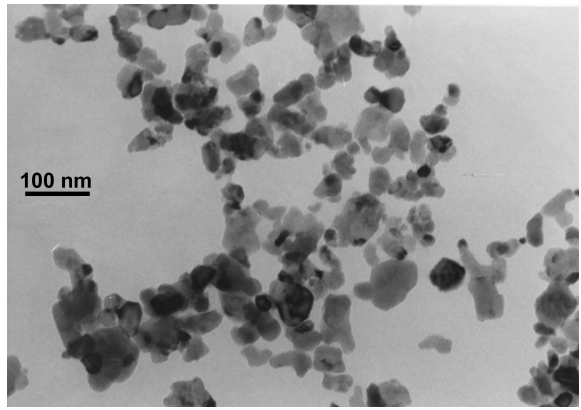
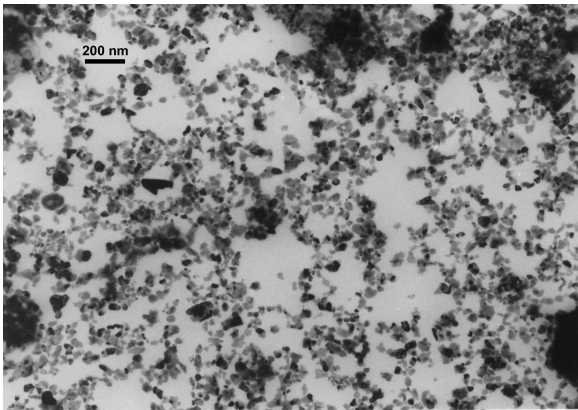
zpracování by se mohlo zdát jako problematické s ohledem na opakovatelnost vlastností připravovaných produktů. Ale na řadě šarží produktu **LS(0,25)** připraveného při dodržení stejných podmínek celého postupu jsme nenašli žádné měřitelné nebo pouze zcela zanedbatelné odchylky. Například dva uváděné vzorky **LS(0,25)A4** a **LS(0,25)G** byly připraveny za stejných podmínek s časovým odstupem asi půl roku a hodnoty jejich d_{XRD} , které citlivě odráží mechanické zpracování, činí 19, resp. 20 nm.



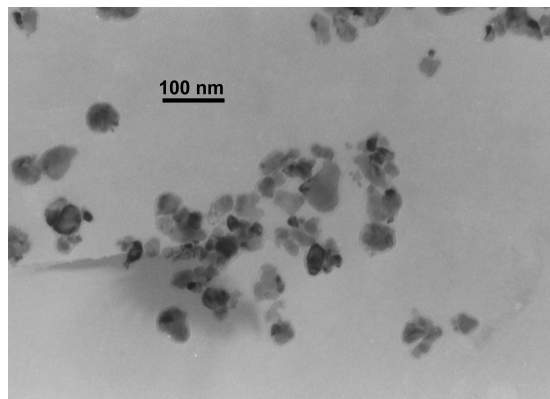
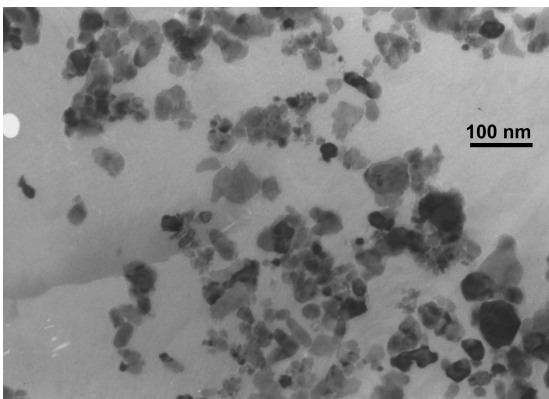
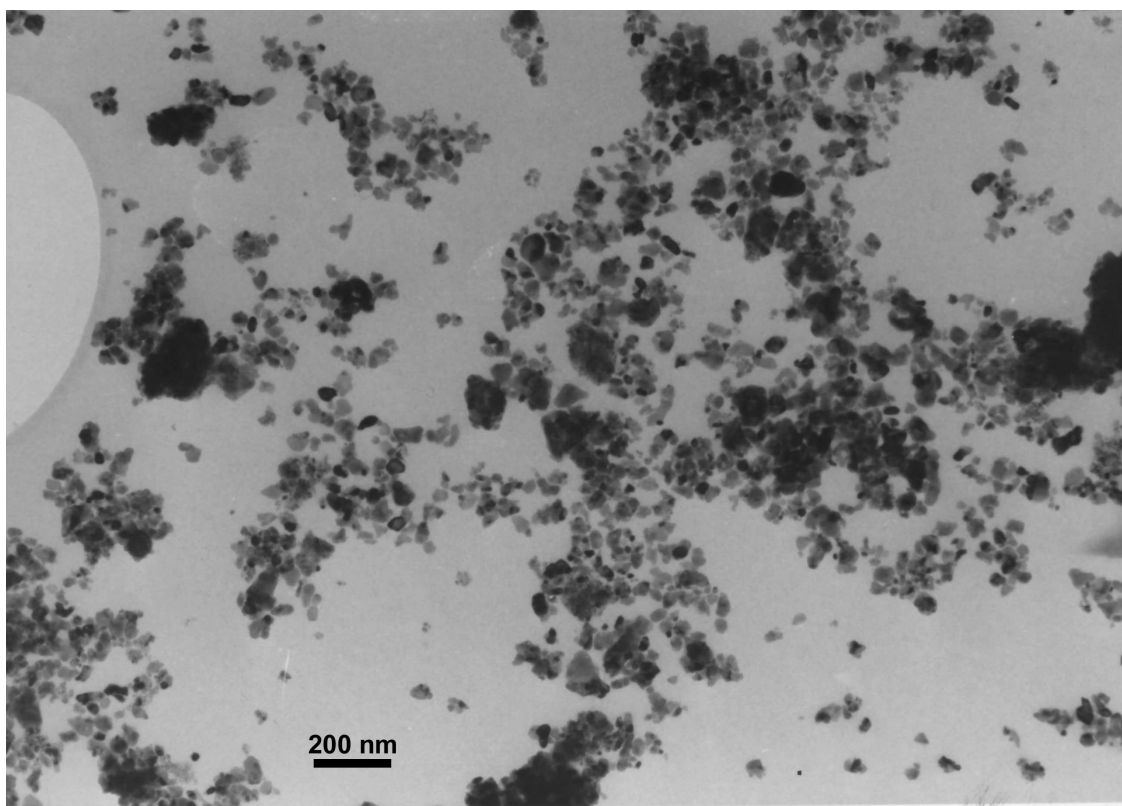
Obr. 14. TEM snímky LS(0,25)A1.



Obr. 15. TEM snímky LS(0,25)A2.



Obr. 16. TEM snímky LS(0,25)A3.



Obr. 17. TEM snímky LS(0,25)A4.

Pro úplnost také zmiňme, že surový materiál **LS(0,25ag)A** byl podroben rovněž vysokoenergetickému mletí. Získaný vzorek **LS(0,25)A5** s $d_{XRD} = 11$ nm byl s ohledem na jeho magnetické vlastnosti poměrně zajímavý. Je ale nepochybné, že po stránce morfologické byl však problematický, především s ohledem na širokou distribuci velikosti krystalitů, patrnou i z přímého pozorování vzorku pomocí TEM.

7.1.3. Strukturální vlastnosti nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

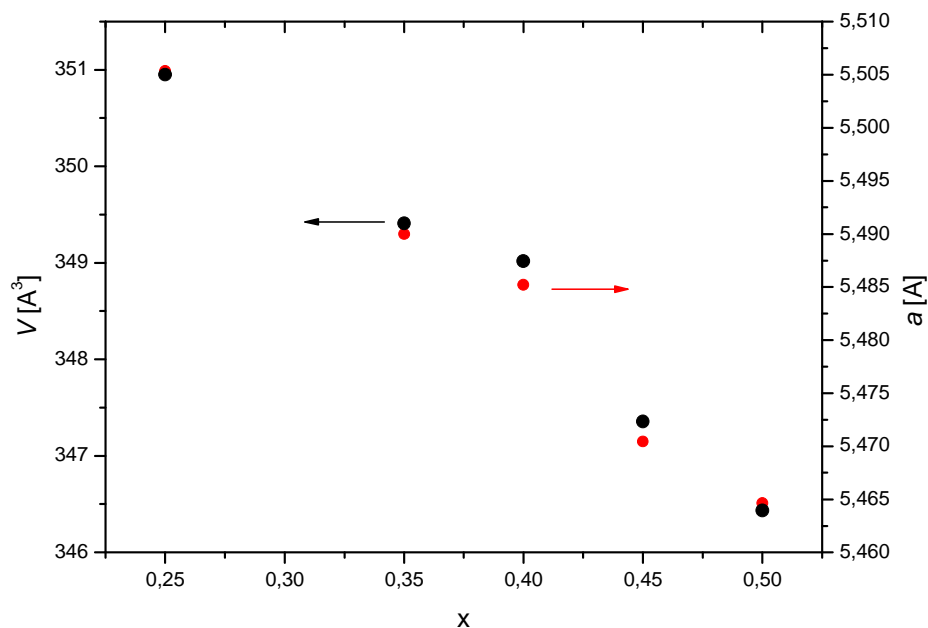
V tabulkách tab. 7 a tab. 8 jsou uváděny mřížkové parametry nanočástic **LS(ag)** a **LS**. Perovskitová fáze manganitu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ má, jak bylo uvedeno v úvodu, oproti kubickému perovskitu CaTiO_3 romboedricky distortovanou mřížku a popisuje ji prostorová grupa $R\bar{3}c$. Této grupě odpovídají i struktury všech uvedených vzorků upřesněných na základě polykrystalických rtg difraktogramů Rietveldovou analýzou v programu FullProf.2k [187]. Při tomto upřesňování však bylo nezbytné provést transformaci klencové mřížky na šesterečnou a popisovat strukturu v hexagonálních osách. Z těchto formálních důvodů rovněž ponecháváme původní hodnoty v hexagonálně symetrické mřížce. Podívejme se nyní na příkladu surových nanočástic **LS(ag)**, které ještě nebyly ovlivněny mechanickým zpracováním, jak se tyto mřížkové parametry mění v závislosti na složení tuhého roztoku, ale i v závislosti na podmínkách přípravy.

Závislost mřížkových parametrů na složení podává obr. 18, kde vidíme malý, ale systematický pokles délky hexagonální translace a a objemu elementární buňky V s rostoucím obsahem Sr^{2+} ve struktuře. Pro velikost translace c žádný zřetelný trend nalezen nebyl. Nárůst obsahu Sr^{2+} je samozřejmě spojen nejen s úbytkem La^{3+} , ale také s odpovídajícím nárůstem Mn^{4+} na úkor Mn^{3+} , čímž dochází k náhradě oktaedricky koordinovaného kationtu s Jahnovým-Tellerovým efektem za kation bez tendence k sejmutí degenerace obsazených d orbitalů. Proto bychom mohli očekávat, že závislost mřížkového parametru na x by nemusela tak dobře splňovat Vegardovo pravidlo [201] jako jednodušší systémy (např. binární tuhý roztok). Ale na druhou stranu sledovaný rozsah koncentrací ($x = 0,25 - 0,50$) je poměrně malý, a tedy nelze očekávat velké odchylky. To dokumentuje obr. 18, kde je závislost velikosti hexagonální translace a na parametru x proložena lineární funkcí:

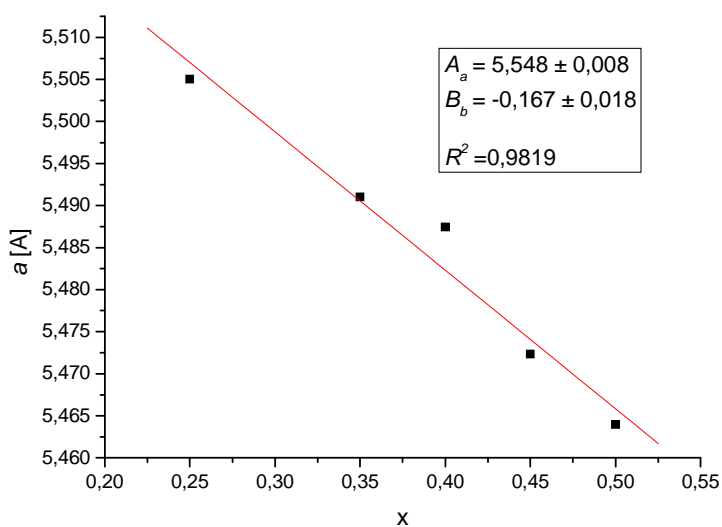
$$a = A_a \cdot x + B_a, \quad (24)$$

kde A_a a B_a značí regresní konstanty. Velmi dobrá shoda s Vegardovým pravidlem byla také prokázána u vzorků valenčně smíšené perovskitové fáze $\text{Sr}_{1-x}\text{La}_x\text{PbO}_{3-\delta}$ s $x = 0 - 0,15$

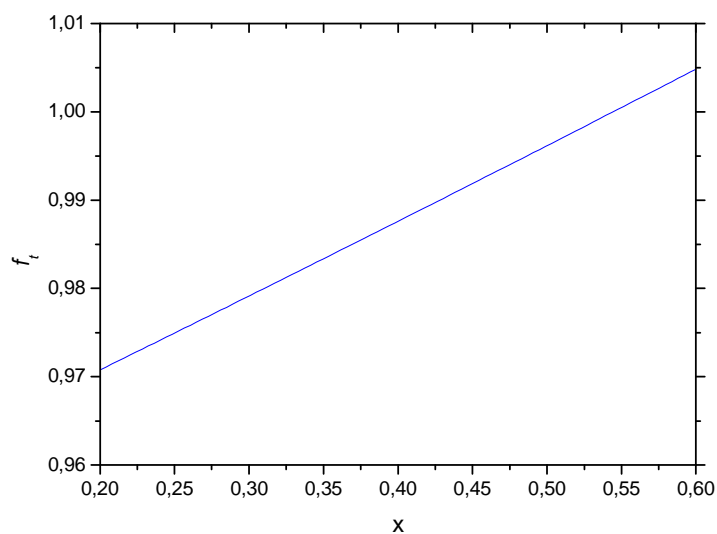
krystalující v kosočtverečné soustavě [202] nebo u tuhého roztoku $\text{Sr}_{1-3x/2+ax}\text{La}_x\text{TiO}_{3+\delta}$ s $x = 0 - 0,6$ (u 0,5 a 0,6 distorse původně kubické mřížky) se strukturou perovskitového typu [203]. Dále si na obr. 19 všimněme, že velikost hexagonální translace a a objemu elementární buňky roste spolu s poklesem tolerančního faktoru perovskitové struktury f_t , tzn. s rostoucí krystalografickou distorsí ideální kubické mřížky - viz obr. 20.



Obr. 18. Závislost objemu elementární buňky V a mřížového parametru a na složení stroncia u $\text{LS}(\text{ag})$ připravených při $t_a = 800^\circ\text{C}$ a $\tau_a = 3\text{ h}$.



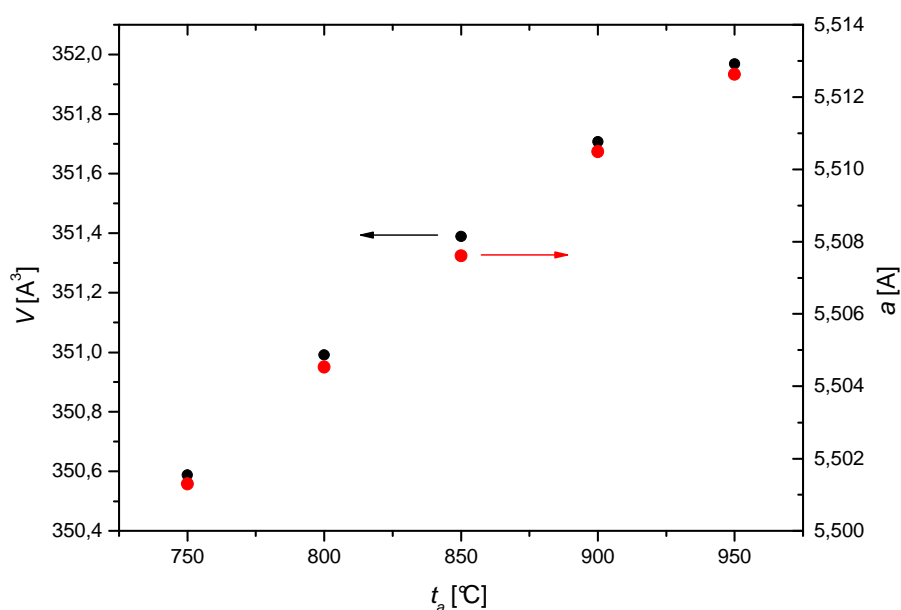
Obr. 19. Lineární proklad závislosti mřížového parametru a na složení stroncia u $\text{LS}(\text{ag})$ připravených při $t_a = 800^\circ\text{C}$ a $\tau_a = 3\text{ h}$ ve smyslu Vegardova pravidla.



Obr. 20. Průběh tolerančního faktoru $La_{1-x}Sr_xMnO_3$ pro $x = 0,20 - 0,60$ vypočítaný na základě Shannonových iontových poloměrů [204].

Budeme-li se zabývat vlivem podmínek přípravy nanočástic na strukturu, můžeme vynést objem elementární buňky a mřížový parametr a tentokrát však závislosti na teplotě výpalu t_a při konstantní době výpalu a to pro konkrétní složení $x = 0,25$ (viz obr. 21). Mřížový parametr a i objem elementární buňky rostou s rostoucí teplotou výpalu, parametr c je opět téměř konstantní. Tento růst by mohl souviset s měnícím se množstvím iontových defektů ve struktuře, tedy zejména vakancí, o jiném mechanismu a jeho příspěvku však promluvíme později. Na základě porovnání s vývojem mřížkového parametru při dopování mateřské fáze $LaMnO_3$ Sr vyplývá, že efekt vyšší t_a je analogický ke snížení děrového dopování, tedy ke snížení množství Mn^{IV} . Pokud bychom ve fázi **LS(0,25ag)** předpokládali kationtové vakance (viz dále), které vytvářejí kladnou kyslíkovou stechiometrií δ_O ve formálním zápisu $La_{1-x}Sr_xMnO_{3+\delta_O}$, měla by dle experimentálního průběhu mřížkového parametru a hodnota δ_O s rostoucí t_a klesat. S rostoucí t_a by tedy mělo klesat relativní množství kationtových vakancí. Tento závěr vyplývá i z podrobné termogravimetrické studie kosočtverečného $La_{0,74}Ca_{0,26}MnO_3$, kde byly mřížkové parametry korelovány s obsahem kyslíku ($3+\delta_O$) a klesaly s rostoucím δ_O [205]. Naznačili jsme však, že výklad založený na vakancích ve struktuře nemusí být jediným vysvětlením. Alternativně bylo u nanočástic podobných materiálů navrženo, že s velikostí krystalitu klesá i velikost mřížkových parametrů. A velikost krystalitu je určena právě t_a . V menších krystalitech se totiž předpokládá uplatnění komprese struktury v důsledku povrchového napětí, jehož význam roste se zmenšující se velikostí.

Tímto způsobem vysvětloval Trukhanov et al zmenšování elementární buňky u nanočástic kubické perovskitové fáze $\text{La}_{0,50}\text{Ba}_{0,50}\text{MnO}_3$ připravených při $t_a = 500 - 1500$ °C s parametrem $a = 3,787 - 3,904$ Å. Autoři dále uváděli, že dle termogravimetrické analýsy byla studovaná fáze stechiometrická v obsahu kyslíku [206]. Das et al se zabýval vývojem napětí v krystalitech LaMnO_3 a vyvodil, že vzrůstá s klesající velikostí a má kompresní povahu [207]. Nicméně musíme uzavřít, že rozbor vlivu obou mechanismů by vyžadoval komplexní studium mikrostruktury nanočástic připravených při různých teplotách včetně systematické analýsy kyslíkové stechiometrie řady vzorků.



Obr. 21. Závislost V a mřížového parametru a na teplotě výpalu u $\text{LS}(0,25\text{ag})$.

Nepochybně zajímavou otázkou s ohledem na mechanismus řízení valence Mn je problematika skutečné stechiometrie manganitové fáze, pro kterou v nejobecnějším případě musíme psát stechiometrický vzorec $\text{La}_{1-x+\delta_{\text{La}}}\text{Sr}_{x+\delta_{\text{Sr}}}\text{Mn}_{1-x}^{\text{III}}\text{Mn}_x^{\text{IV}}\text{O}_{3+\delta_{\text{O}}}$, kde jsme za referenční stav položili množství Mn. Ačkoli se zabýváme nanočásticemi, abstrahujme nyní od povrchových poruch a předpokládejme, že se neuplatňují kationtové nestechiometrie (kationtové vakance). Poté přechází dané vyjádření na jednodušší formu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{Mn}_{1-z}^{\text{III}}\text{Mn}_z^{\text{IV}}\text{O}_{3+\delta_{\text{O}}}$, kde bylo nezbytné redefinovat stechiometrické faktory Mn^{III} a Mn^{IV} , aby byla splněna podmínka elektroneutality s ohledem na přítomnost kyslíkové nestechiometrie δ_{O} , tedy záporně vzatého množství aniontových vakancí na vzorcovou jednotku tuhého roztoku. Chemickou analýsou je možné stanovit celkovou oxidační

schopnost vůči Fe^{2+} pomocí cerimetrie [208] či fotometrie [209]. Tato schopnost je určena látkovým množstvím Mn^{3+} a Mn^{4+} v navážce vzorku, avšak vzhledem k neznalosti parametru z v $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{Mn}_{1-z}^{\text{III}}\text{Mn}_z^{\text{IV}}\text{O}_{3+\delta_0}$ ji musíme formálně vyjádřit zdánlivým obsahem jediné entity, např. Mn^{III} , majíce tím na mysli Mn^{III} i Mn^{IV} . Na základě bilance oxidační schopnosti Mn^{3+} a Mn^{4+} vůči Fe^{2+} v roztoku můžeme psát:

$$x(\text{Mn}^{\text{III}}) + 2x(\text{Mn}^{\text{IV}}) = x_a(\text{Mn}^{\text{III}}) = \frac{w_a(\text{Mn}^{\text{III}})M_r(\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_{3+\delta_0})}{A_r(\text{Mn})}, \quad (25)$$

kde $x(A)$ představuje molární zlomek entity A ve vzorku manganitu, $x_a(\text{Mn}^{\text{III}})$, resp. $w_a(\text{Mn}^{\text{III}})$ je zdánlivý molární, resp. hmotnostní zlomek Mn^{III} a dále $A_r(A)$, resp. $M_r(A)$ značí relativní atomovou hmotnost, resp. relativní molekulovou hmotnost jednotky A . Tento vztah považujeme za definiční pro zdánlivý obsah Mn^{III} , který se dá stanovit. Pokud v rovnici (25) vyjádříme molární zlomky dle stechiometrického zápisu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{Mn}_{1-z}^{\text{III}}\text{Mn}_z^{\text{IV}}\text{O}_{3+\delta_0}$ dostáváme:

$$1 + z = \frac{w_a(\text{Mn}^{\text{III}})M_r(\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_{3+\delta_0})}{A_r(\text{Mn})}, \quad (26)$$

přičemž pro relativní molekulovou hmotnost můžeme psát:

$$M_r(\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_{3+\delta_0}) = (1-x)A_r(\text{La}) + xA_r(\text{Sr}) + A_r(\text{Mn}) + (3+\delta)A_r(\text{O}), \quad (27)$$

a třetí rovnici nezbytnou pro řešení systému získáme z podmínky elektroneutality fáze:

$$3(1-x) + 2x + 3(1-z) + 4z = 2(3+\delta). \quad (28)$$

Kombinací těchto rovnic, kterou přenecháváme laskavé čtenářce či čtenářovi, dostáváme výraz pro kyslíkovou nestechiometrii δ_0 , jejíž hodnoty jsou pro vybrané vzorky uvedeny v tab. 9. Jsou uvedeny také hodnoty $w_a(\text{Mn}^{\text{III}})$, které byly spočítány obvykle na základě alespoň pěti nezávislých cerimetrických stanovení. K vlastní analýze dodejme, že původní cerimetrický postup vyvinutý pro supravodivé fáze Y-Ba-Cu-O a Bi-Sr-Ca-Cu-O [208] byl modifikován nahrazením HBr za HCl, neboť rozklady $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ probíhaly snadno i v kyselině chlorovodíkové.

Tab. 9. Zdánlivý obsah Mn^{III} a nestechiometrie vybraných vzorků:

| Vzorek | t_a [°C] | τ_a [h] | $w_a(\text{Mn}^{\text{III}})$ | δ_0 | $u_A(\delta_0)^3$ | z |
|--------------------|------------|--------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|----------------|
| LS(0,20)A | 750 | 3 | 0,307 | 0,049 ¹ | 0,0019 | - ² |
| LS(0,25ag)A | 750 | 3 | 0,326 | 0,057 ¹ | 0,0012 | - ² |
| LS(0,35ag)B | 750 | 3 | 0,345 | 0,029 ¹ | 0,0017 | - ² |
| LS(0,45ag)A | 800 | 3 | 0,358 | -0,015 | 0,004 | 0,42 |
| LS(0,50ag)A | 800 | 3 | 0,373 | -0,016 | 0,007 | 0,47 |

Pozn.: ¹Kladná kyslíková stechiometrie odpovídá kationtovým vakancím, kvůli nimž se použitá představa stává neadekvátní a hodnoty δ_0 jsou čistě formální. ²Uvádění hodnoty z ztrácí smysl pro neplatnost předpokladu o zanedbatelných kationtových nestechiometriích. ³Standardní nejistota typu A byla stanovena jako součin standardní směrodatné odchylky

aritmetického průměru koeficientem závislým na počtu měření (pro 4, 5, resp. 6 titrací je roven 1,7; 1,4; resp. 1,3) a udává rozsah hodnot, kde se nalézá skutečná hodnota s pravděpodobností přibližně 68 % za předpokladu normálního rozdělení.

Vypočítané výsledky jsou poměrně zajímavé zejména s ohledem na kladné hodnoty kyslíkové nestechiometrie δ_{O} u vzorků **LS(0,20)A**, **LS(0,25ag)A** a **LS(0,35ag)B**. Kladná kyslíková nestechiometrie je totiž u oxidů perovskitového typu pozorována jen vzácně [210], ale dlužno dodat, že právě u tuhého roztoku $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ byla kladná kyslíková nestechiometrie popsána [211]. V tomto případě lze u oxidu obecně předpokládat buď výskyt kationtových vakancí nebo kyslíkových intersticiálů, ale u oxidu s perovskitovou strukturou nejsou intersticiální polohy kyslíku pravděpodobné vzhledem k jejímu těsnému uspořádání. Přítomnost kationtových vakancí u $\text{LaMnO}_{3+\delta}$ s $\delta > 0$ podporují i výsledky neutronové difrakce [212,213], i když Yoo et al navrhl v druhé polovině devadesátých let [214,215] na základě měření iontové vodivosti za různého parciálního tlaku O_2 , že iontové defekty jsou anti-Frenkelova typu, tedy za nízkých tlaků se objevují kyslíkové vakance a za vysokých tlaků kyslíkové intersticiály. Ale Miyoshi et al v roce 2002 [210] ukázal na fázi $\text{La}_{1-y}\text{MnO}_{3-1,5y+\delta}$ s $y = 0,04$ pomocí dilatometrických studií, že majoritní defekty v oblasti kladné kyslíkové nestechiometrie mají charakter kationtových vakancí.

Ve zbylých dvou vzorcích, s negativní kyslíkovou nestechiometrií δ_{O} , se již uplatňují vakance kyslíkové. Není možné blíže diskutovat vliv složení a separovat jej od vlivu teploty výpalu, ale dalo by se předpokládat, že výskyt kyslíkových vakancí u **LS(0,45ag)A** a **LS(0,50ag)A** v řádu 1 – 2 molárních procent je také důsledkem vyšší t_a . Dodejme, že hodnota δ_{O} u **LS(0,25ag)A** podporuje předpoklad o kationtových vakancích u **LS(0,25ag)A** použitý v diskusi závislosti mřížkového parametru a na t_a .

Konečně zdůrazněme, že smysl těchto experimentálně poměrně náročných analys nevedl pouze k získání představy o skutečné stechiometrii, ale byl motivován zejména tím, že magnetický fázový diagram je ve skutečnosti určen děrovým dopováním, tedy poměrem Mn^{III} a Mn^{IV} , a nikoli poměrem La a Sr. Magnetické vlastnosti závisí na poměru obou oxidačních stavů manganu poměrně citlivě. Manganitové fáze třebaže stejného nominálního složení, ale připravené různými metodami se mohou v elektrických a magnetických vlastnostech poměrně lišit, protože obsahují odlišný poměr Mn^{III} a Mn^{IV} , resp. odlišnou kyslíkovou stechiometrii [205].

7.2. Magnetické vlastnosti $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ a srovnání s CoFe_2O_4

7.2.1. Magnetické vlastnosti nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ v závislosti na složení

Jak jsme vyložili v úvodu (viz 4.4.1.), $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ vykazuje pro $x > 0,10$ téměř čisté feromagnetické uspořádání s malým pozůstatkem antiferomagnetismu, který úplně mizí při $x \approx 0,15$. Dále je fáze feromagnetická, přičemž antiferomagnetismus se znovu objevuje jen při nízkých teplotách až pro $x \approx 0,50$. Předložená práce se zaměřuje především na magnetické nanočástice o složení $x = 0,25$, ale základní magnetické vlastnosti byly studovány v rozsahu $x = 0,20 - 0,35$, kde se potvrdilo feromagnetické uspořádání. Hysterezní smyčky při laboratorní teplotě, resp. při $T = 300$ K jsou obecně u těchto materiálů poměrně úzké s nízkou specifickou remanentní magnetizací M_r a nízkou koercivitou H_c . Například magnetické nanočástice **LS(0,25)G** s $d_{XRD} = 20$ nm mají $H_c = 1$ kAm⁻¹ a $M_r = 0,7$ Am²kg⁻¹.

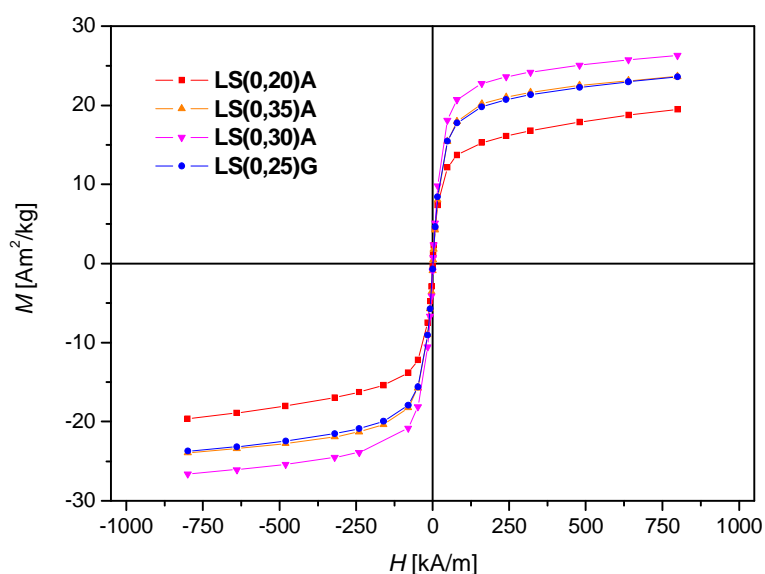
Tab. 10. Curieova teplota a specifická magnetizace nanočástic **LS** s $d_{XRD} \approx 20$ nm:

| Vzorek | d_{XRD} [nm] | $T_{C,A}$ [K] | $M_{750kA/m}$ [Am ² kg ⁻¹] |
|------------------|----------------|---------------|---|
| LS(0,20)A | 21 | 319 | 19,4 |
| LS(0,25)G | 20 | 336 | 23,6 |
| LS(0,30)A | 19 | 342 | 26,4 ¹ |
| LS(0,35)A | 18 | 346 | 23,7 ¹ |

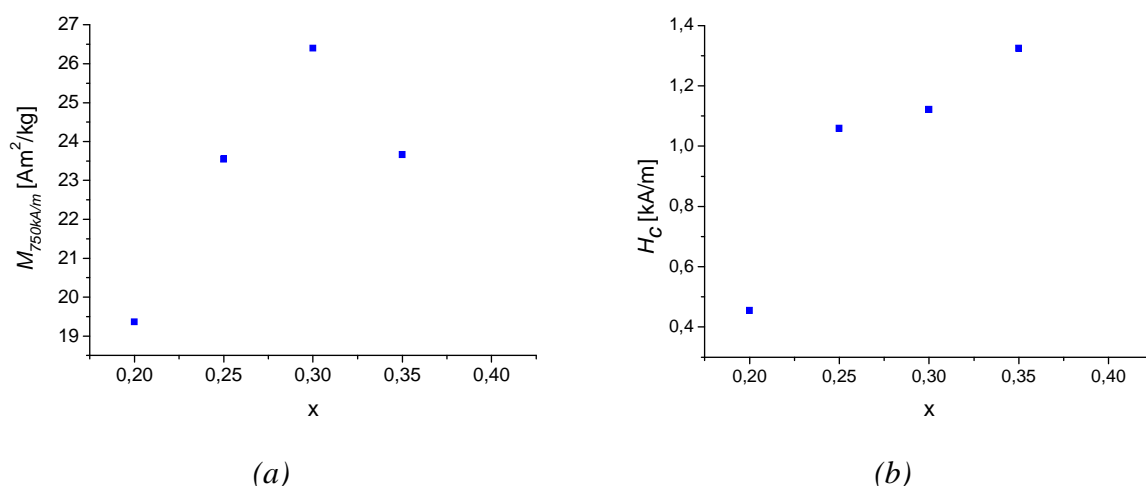
Pozn. ¹Hodnoty jsou korigované na obsah $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$.

Obr. 22 ukazuje magnetizační křivky **LS** různého složení, ale s přibližně stejnou střední velikostí krystalitů $d_{XRD} \approx 20$ nm v rostoucím magnetickém poli při $T = 300$ K. Vyplývá z nich, že specifická magnetizace M v této sérii vzorků postupně roste s obsahem stroncia a někde v prostoru $x = 0,25$ a $d_{XRD} = 20$ nm až $x = 0,35$ a $d_{XRD} = 18$ nabývá maxima, přičemž v rámci studované řady vykazovaly nejvyšší magnetizaci nanočástice o složení $x = 0,30$ a $d_{XRD} = 19$ nm. Nicméně je třeba si uvědomit, že pokles magnetizace u **LS(0,35)A** až na úroveň vzorku **LS(0,25)G** může být klamný při interpretaci vlivu složení s ohledem na rozdíl ve velikosti krystalitů. Hodnoty d_{XRD} se sice liší pouze o 2 nm, ale dále uvidíme, že v této oblasti velikosti částic magnetizace velmi citlivě závisí na d_{XRD} (viz obr. 26(a) a tab. 11). Hodnoty specifické magnetizace $M_{750kA/m}$ v magnetickém poli o intenzitě $H = 750$ kAm⁻¹ pak podává tab. 10 a na obr. 23(a) je zachycen vývoj $M_{750kA/m}$ v závislosti na x . Zde opět zdůrazněme zatížení pozorované závislosti vlivem různé velikosti částic. Hodnota $M_{750kA/m}$ vzorku **LS(0,35)A** by byla bývala nepochybně vyšší než hodnota u **LS(0,25)G**, pokud by vzorky byly měly zcela stejné d_{XRD} (a distribuce velikosti), neboť změna d_{XRD} u **LS(0,25)** z 19

nm na 11 nm vyvolala pokles $M_{750kA/m}$ z $23,0 \text{ kAm}^{-1}$ na $8,6 \text{ kAm}^{-1}$ (viz tab. 11). Spíše jen pro ilustraci velikosti koercivity H_c je také doplněn obr. 23(b). Uvedené výsledky se týkají pouze tuhých roztoků o složení $0,20 \leq x \leq 0,35$, neboť při vyšším x se v produktech po mechanickém zpracování objevovalo větší množství SrCO_3 , popřípadě v nich již od výpalu byly přítomny další oxidové fáze Sr a Mn. Tyto skutečnosti vytvářejí dva typy chyb. První typ se týká měřeného magnetického momentu a druhý skutečné stechiometrie fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. Genese SrCO_3 , který je sice diamagnetický, a tudíž měřený magnetický moment vzorku v porovnání s příspěvkem feromagnetické fáze $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ ovlivňuje zanedbatelným způsobem, je však spojena s chemickou a strukturální změnou výchozí látky $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. V předcházejícím textu (viz str. 82) jsme diskutovali hypotézu, že SrCO_3 vzniká pouze z těch nejmenších úlomků či na povrchu mechanicky narušovaných částic. Poté by důsledky příslušných chemických reakcí vedoucích k SrCO_3 za předpokladu nízké konverze měly mít jen malý vliv na studované magnetické vlastnosti (T_C a M) a na stechiometrii majoritního podílu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. Za těchto okolností je adekvátní provést korekci naměřených specifických magnetizací na skutečný obsah $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ zjištěný z rtg difrakce. Taková korekce se provedla i u vzorků **LS(0,30)A** a **LS(0,35)A**, kde obsah manganitové fáze činil 97, resp. 99 % hmotnostních. Z uvedených hodnot je však možné nahlédnout, že korekce je vyloženě formální a magnetická data jsou zřejmě spolehlivá. Nicméně v případě vyššího obsahu SrCO_3 (**LS(0,40)B**) a při výskytu dalších oxidických fází (**LS(0,45)B**, **LS(0,50)A**), jejichž přítomnost nutně předpokládá odlišnou stechiometrii $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ bylo od studia magnetických vlastností upuštěno.

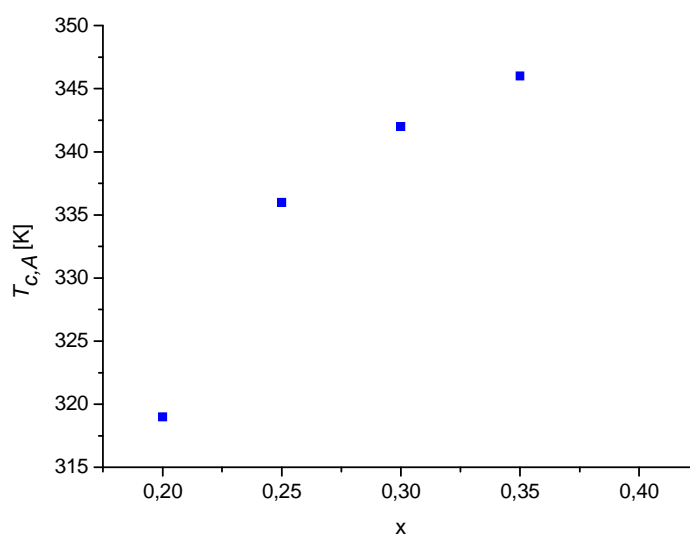


Obr. 22. Vývoj magnetizace v rostoucím magnetickém poli při 300 K u LS s $d_{XRD} \approx 20 \text{ nm}$.



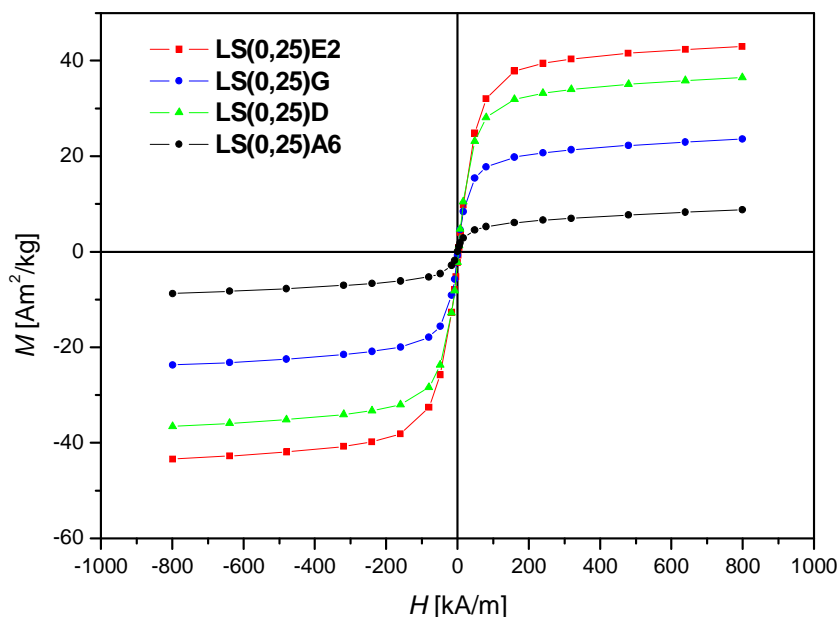
Obr. 23. Závislost $M_{750kA/m}$ (a) a H_c (b) na parametru složení x u LS s velikostí $d_{XRD} \approx 20$ nm.

Podívejme se na další magnetickou vlastnost, na Curieovu teplotu, která je důležitá pro možnost autoregulace topného výkonu při magneticky indukované hypertermii. Její hodnoty určené z Arrottova grafu $T_{C,A}$ [216] jsou uvedeny rovněž v tab. 10 a také vyneseny na obr. 24. Vidíme, že Curieova teplota stoupá v celé sérii studovaných vzorků od $x = 0,20$ do $x = 0,35$. Z klesajících přírůstků $T_{C,A}$ je však rovněž patrná tendence k dosažení určité nasycené hodnoty. Růst T_C při dopování stronciem pozoroval v daném rozsahu např. Uskoković et al na sérii vzorků $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ vypalovaných při 1200 °C po 2 hod, kdy vznikaly částice s velikostí řádově 500 nm (BET isoterma), kdy pro složení $x = 0,16$; $0,24$; $0,33$ a $0,5$ uvádí $T_C = 298$; 333 ; 363 a 373 K [122].



Obr. 24. Závislost $T_{C,A}$ vyhodnocené Arrottovým grafem na složení u LS s $d_{XRD} \approx 20$ nm.

7.2.2. Magnetické vlastnosti nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$

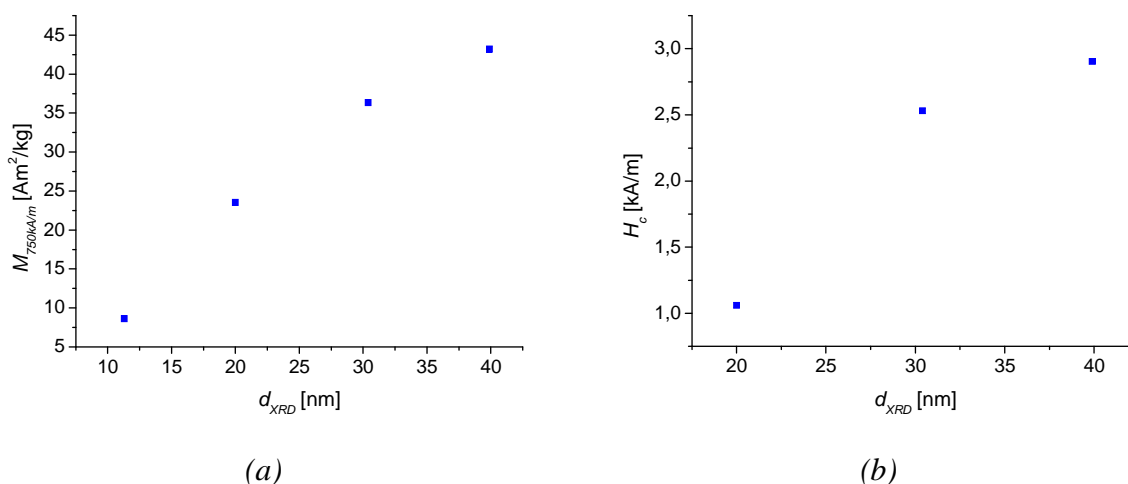


Obr. 25. Vývoj magnetizace v rostoucím magnetickém poli při 300 K u $\text{LS}(0,25)$ o různé velikosti d_{XRD} .

Na obr. 25 jsou uvedeny magnetizační křivky různě velkých nanočástic $\text{LS}(0,25)$ s $d_{XRD} = 11 - 40$ nm v rostoucím magnetickém poli při $T = 300$ K. Pozorovaný trend, kdy s klesající velikostí krystalitů klesá i hodnota specifické magnetizace při zvoleném poli, byl popsán již u nanočástic různých látek, např. u Fe_3O_4 [217], $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a $\gamma\text{-Co}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_3$ [218] NiFe_2O_4 [219] etc. Částice magneticky uspořádaného materiálu totiž uplatňují v povrchové vrstvě jiné orientace magnetických momentů, než jsou orientace dané magnetickým uspořádáním objemové fáze, a tak tato oblast částice nepřispívá patřičným způsobem k výsledné magnetizaci částice. S poklesem velikosti krystalitů bude vzhledem k růstu poměru povrchu ku objemu stoupat i objemový zlomek této tzv. magneticky mrtvé vrstvy na úkor feromagneticky uspořádaného objemu, a tudíž bude klesat také magnetizace. Zmíněnou skutečnost dokumentuje ještě graf $M_{750\text{kA/m}}$ při poli $H = 750$ kAm^{-1} na obr. 26(a). Podobnou závislost magnetizace také doložili autoři výše citované studie věnované nanočásticím $\text{La}_{0,67}\text{Sr}_{0,33}\text{MnO}_3$ [125], popřípadě Daengsakul et al při studiu nanočástic $\text{La}_{0,70}\text{Sr}_{0,30}\text{MnO}_3$ s $d_{XRD} = 18 - 55$ nm [199]. V naší řadě $\text{LS}(0,25)$ s $d_{XRD} = 40 - 20$ nm klesá také koercivita, jejíž hodnota při 300 K je však celkově velmi malá (viz obr. 26(b)). Koercivita pak úplně mizí u nanočástic $\text{LS}(0,25)\text{A6}$ s $d_{XRD} = 11$ nm získaných vysoenergetickým mletím, které se zřejmě nachází již v superparamagnetickém stavu.

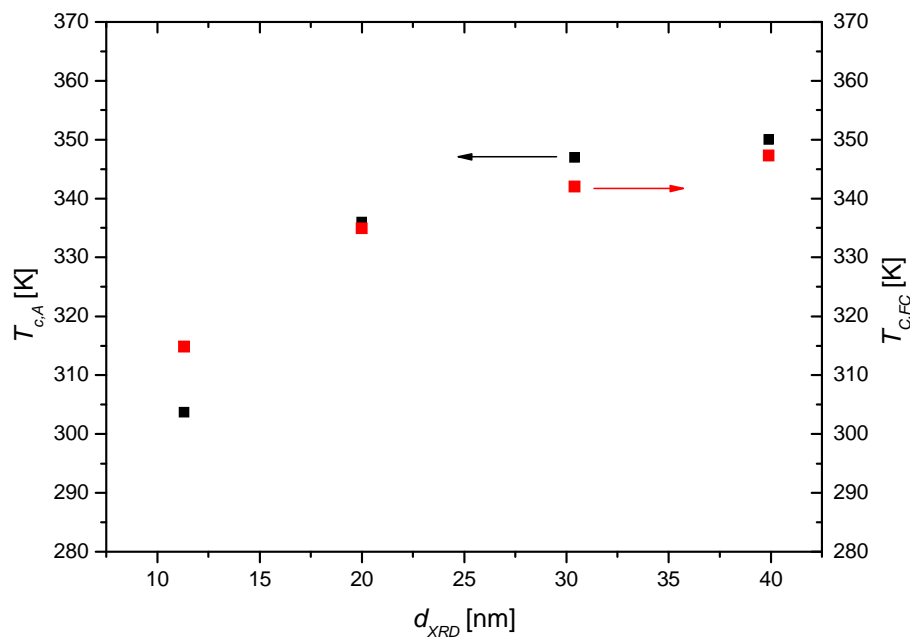
Tab. 11. Curieova teplota a specifická magnetizace nanočástic **LS a LS(ag)** při $T = 300\text{K}$:

| Vzorek | d_{XRD} [nm] | $T_{C,A}$ [K] | $T_{C,FC}$ [K] | $M_{750kA/m}$ [$\text{Am}^2\text{kg}^{-1}$] |
|--------------------|----------------|---------------|----------------|---|
| LS(0,25)E2 | 40 | 350 | 347 | 43,2 |
| LS(0,25)D | 30 | 347 | 342 | 36,3 |
| LS(0,25)G | 20 | 336 | 335 | 23,6 |
| LS(0,25)A6 | 11 | 304 | 315 | 8,6 |
| LS(0,25ag)A | 27 | 335 | 334 | 30,3 |
| LS(0,25)A4 | 19 | 336 | 335 | 23,0 |



Obr. 26. Závislost magnetizace $M_{750kA/m}$ (a) a koercivity H_c (b) při $T = 300\text{ K}$ u **LS(0,25)** na velikosti d_{XRD} .

Curieova teplota byla u diskutovaných vzorků s různou velikostí krystalitů stanovena jednak Arrottovým grafem ($T_{C,A}$) a jednak z teplotní závislosti susceptibility během FC měření ($T_{C,FC}$). Obě hodnoty jsou zachyceny v tab. 11 a na obr. 27 a vyplývá z nich zřejmý pokles Curieovy teploty s klesající velikostí krystalitů, způsobený stále významněji narušenou stabilitou magnetického uspořádání. Vzrůst T_C u **LS(0,25)** s d_{XRD} byl již publikován Pollertem et Vasseurem [120,121] a velmi podobný průběh T_C v závislosti na d_{XRD} zachycuje u $\text{La}_{0,67}\text{Sr}_{0,33}\text{MnO}_3$ práce Moreira et al [125]. Každopádně obě naše experimentální hodnoty $T_{C,A}$ a $T_{C,FC}$ vykazují u studovaných vzorků velmi dobrou shodu s výjimkou **LS(0,25)A6**, kde se rozcházejí o 11 K. Je třeba ale zdůraznit, že nezanedbatelné distribuce velikostí krystalitů způsobují i určité distribuce Curieových teplot, které pak při makroskopickém posuzování vzorku budou vytvářet neostré a pozvolné přechody. V případě vysokoenergetického mletí se dá očekávat ještě širší distribuce a ještě méně ostrý přechod v makroskopickém chování. Odtud pak vyplývá principiální problém v určení T_C u **LS(0,25)A6** a přirozená nekongruence různě určených hodnot. Můžeme však dodat, že jako spolehlivější metoda pro stanovení T_C u vzorků s malými krystalitami je teplotní průběh susceptibility oproti Arrottovu grafu, který je odvozen za předpokladu homogenního magnetického prostředí.

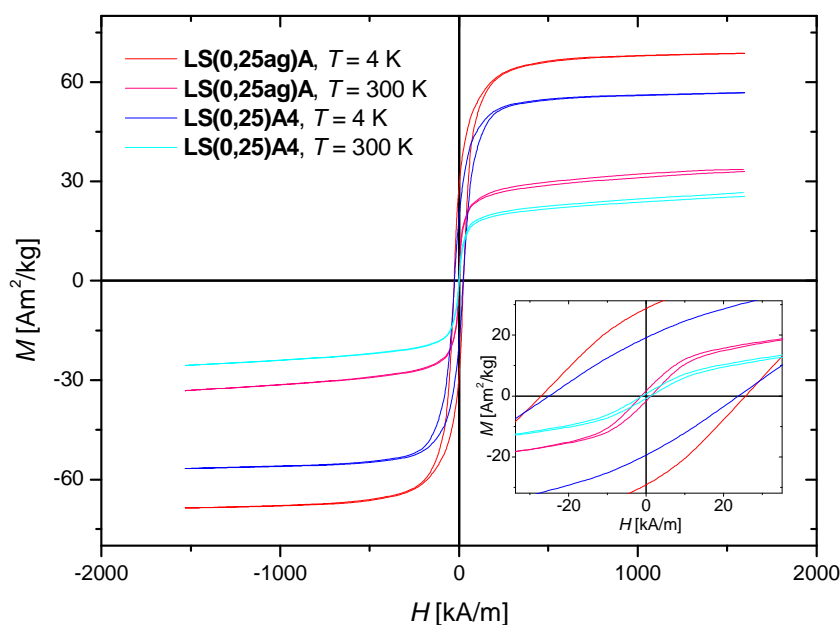


Obr. 27. Závislost Curieovy teploty na velikosti d_{XRD} u **LS(0,25)**: $T_{C,A}$ – Arrottův graf, $T_{C,FC}$ – průběh χ_m při FC měření.

Všechny výše diskutované výsledky se týkají výhradně nanočástic **LS**, které prošly standardním postupem mechanického zpracování, zahrnujícím tři válcovací cykly a posléze mletí. Zatímco fázové změny a morfologické aspekty byly již probrány, vzniká otázka, jak se při mechanickém zpracování mění magnetické vlastnosti $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. V tab. 11 je také uveden surový vzorek **LS(0,25ag)A**, z něhož byl příslušnými operacemi připraven **LS(0,25)A4**. Všimněme si, že tento materiál představuje pouze jinou šarži vzorku **LS(0,25)G**. Nyní můžeme také prostřednictvím porovnání magnetických vlastností doložit opakovatelnost přípravy a zejména mechanického zpracování surových nanočástic. Magnetické vlastnosti jsou totiž poměrně citlivé na velikost krystalitů a její distribuci. Pro vzorky **LS(0,25)A4** a **LS(0,25)G** se však obě hodnoty velmi dobře shodují. Tím se definitivně uzavírá pojem opakovatelnosti byť složité přípravy nanočástic manganitů $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$.

Vraťme se ke srovnání magnetických vlastností **LS(0,25ag)A** a **LS(0,25)A4**. Hodnoty specifické magnetizace $M_{750kA/m}$ se pro oba vzorky liší, ale snížení $M_{750kA/m}$ u **LS(0,25)A4** je plně v souladu s poklesem d_{XRD} z 27 na 19 nm. Surové nanočástice **LS(0,25ag)A** nadto hodnotou $M_{750kA/m}$ dobře zapadají do závislosti uvedené na obr. 26(a), která byla sestavena pro mechanicky zpracované vzorky. Jinými slovy specifická magnetizace surových nanočástic o

dané d_{XRD} přibližně odpovídá specifické magnetizaci mechanicky zpracovaných částic o stejné hodnotě d_{XRD} , třebaže takový závěr není zcela samozřejmý, uvědomíme-li si rozdíly v morfologii obou vzorků a aspekty distribuce velikostí krystalitů a jejich střední hodnoty. Příslušnou diskusi doplníme porovnáním hysterezních smyček těchto vzorků při $T = 4$ K a 300 K uvedených na obr. 28, kde je vidět pokles magnetizace po mechanickém zpracování. Současně u obou vzorků vychází najevo i očekávaný rozdíl hystereze při nízké a laboratorní teplotě. Při nízkých teplotách je výrazně omezen tepelný pohyb a magnetizace i koercivita vzrůstá.



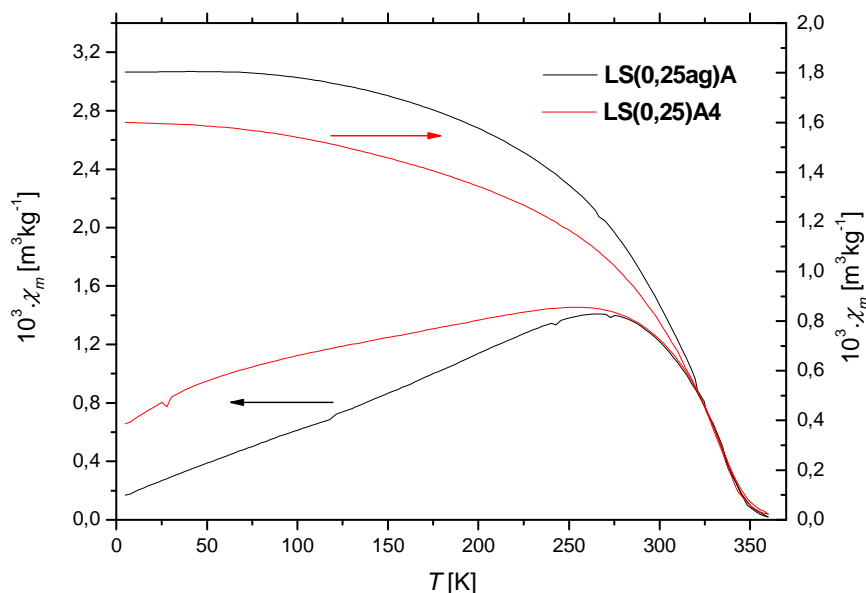
Obr. 28. Hysterezní smyčky nanočástic před (**LS(0,25ag)A**) a po mechanickém zpracování (**LS(0,25)A4**).

Dále tab. 11 poskytuje pozoruhodné zjištění, že surové i mechanicky zpracované částice mají identické hodnoty Curieovy teploty, třebaže se částice liší z hlediska d_{XRD} a třebaže jsme právě dokázali, že příslušná ač malá změna d_{XRD} ovlivnila hodnotu specifické magnetizace. Takové pozorování lze interpretovat na základě dvou různých pohledů, ale v žádném případě jej nelze potlačit diskusí o kritických úskalích vlastních metod a standardních nejistotách stanovení Curieovy teploty, neboť máme k dispozici dvě nezávislá stanovení T_C ve formě $T_{C,A}$ a $T_{C,FC}$. Tyto hodnoty se v případě **LS(0,25ag)A** a **LS(0,25)A4** až znepokojivě shodují a nadto je výsledek pro **LS(0,25)A4** dokonale opakován měřením **LS(0,25)G**, které poskytlo tytéž výsledky v souladu se stejnou d_{XRD} . První přístup k vysvětlení vychází ze závislosti $T_{C,A}$ a $T_{C,FC}$ na d_{XRD} uváděných na obr. 27 a přímého

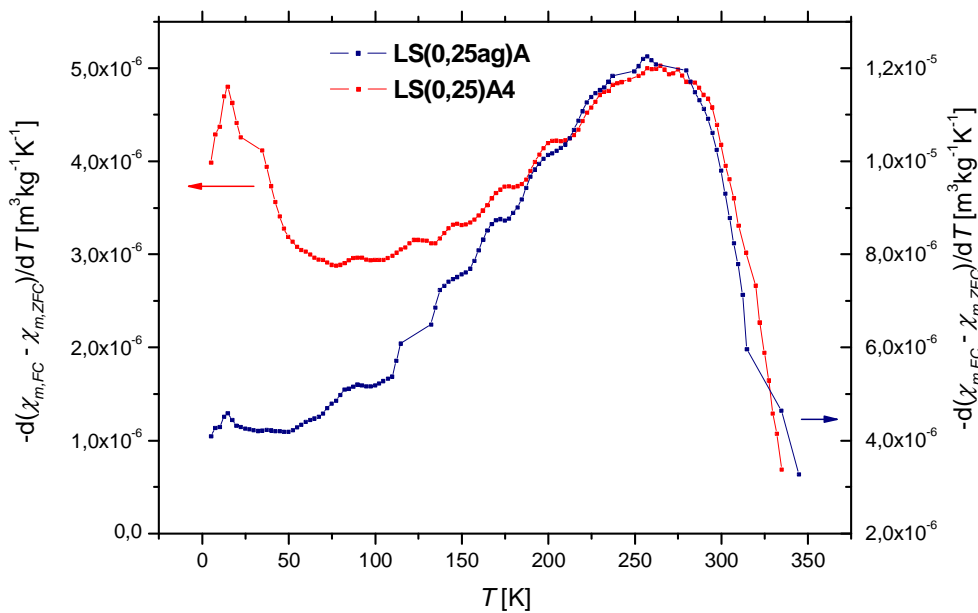
porovnání s vývojem $M_{750kA/m}$ s měnící se d_{XRD} . Stran obou experimentálních závislostech T_C na d_{XRD} v oblasti 20 - 30 nm se dá říci, že nejsou příliš citlivé, neboť celková změna obnáší 7, resp. 11 K při výchozí hodnotě 335 K. Naproti tomu v případě $M_{750kA/m}$ dostáváme celkovou změnu $12,7 \text{ Am}^2\text{kg}^{-1}$, ale na výchozí hodnotě $23,6 \text{ Am}^2\text{kg}^{-1}$. Přesto bychom pro **LS(0,25)A4** v porovnání s **LS(0,25ag)A** očekávali změnu hodnot $T_{C,A}$ a $T_{C,FC}$ kolem 6, resp. 9 K, která ale nenastala. Druhý přístup je méně formální, ale dotýká se poněkud spekulativních pojmů vývoje distribuce velikostí krystalitů během mechanického zpracování. V průběhu diskuse o výskytu SrCO_3 v produktech s $x \geq 0,30$ po mechanickém zpracování bylo naznačeno, že se může jednat o důsledek menší stability těch nejmenších úlomků vznikajících během zpracování. Jestliže budeme tyto nejmenší částice spojovat zejména s rozrušováním sintračních spojů a pokud bychom vzali v úvahu alespoň tak velké úlomky, jež poskytují koherentní difrakci, dá se předpokládat, že tato frakce efektivně snižuje střední hodnotu velikosti krystalitů d_{XRD} , zatímco většina původních krystalitů manganitu, tvořící víceméně samostatné částice nebo těsné klastry, zůstala zachována a nedošlo k jejich rozbití. Tedy předpokládáme, že vzniká bimodální rozdělení d_{XRD} , kde složka větších krystalitů přibližně odpovídá původní distribuci, ale druhá složka nalézající se při menších hodnotách snižuje d_{XRD} v porovnání s původním stavem. Nyní bychom mohli konstatovat, že T_C zůstává stejná, neboť velikost zrn nebyla příliš redukována a nově vzniklá frakce velmi malých úlomků nepřispívá významně k určení její hodnoty. Ale tyto úlomky pouze ředí větší částice s větší magnetizací, a tak snižují magnetizaci makroskopického vzorku.

Vyložené úvahy se opírají o pojem distribuce velikosti krystalitů, ale víme, že přímá obrazová analýza surových nanočástic před mechanickým zpracováním je stěžejní proveditelná a ani analýza mechanicky zpracovaného materiálu by neposkytla relevantní výsledky. Určitou nepřímou metodou, jak nahlédnout distribuce velikostí je stanovení distribuce blokačních teplot pro přechod mezi superparamagnetickým a blokováným stavem. Na obr. 29 jsou uvedeny průběhy měrné susceptibility při experimentech typu ZFC-FC pro vzorky **LS(0,25ag)A** a **LS(0,25)A4**. Záporně vzatá derivace rozdílu susceptibility určené při FC měření a susceptibility ze ZFC měření, která je vynesena na obr. 30, pak odpovídá distribuci blokačních teplot [220]. Z distribuce blokačních teplot můžeme v kvalitativním smyslu usuzovat i na průběh distribuce velikosti nanočástic, ale pokus o přímý přepočítání na distribuce velikostí by byl ze zřejmých důvodů formální. Surové částice **LS(0,25ag)A** charakterizuje jediný poměrně široký pás s plochým maximem v okolí $T = 260 \text{ K}$. U mechanicky zpracovaných částic **LS(0,25)A4** se v téže oblasti objevuje podobný pás, ale jeho náběh při

nižších teplotách je poněkud pozvolnější narozdíl od pravé poloviny, která odpovídá **LS(0,25ag)A**. Dále se tu objevuje ještě druhý pás při velmi nízkých teplotách, jemuž by měly odpovídat velmi malé částice s nízkou T_B reprezentující snad ony úlomky, o nichž jsme hovořili.

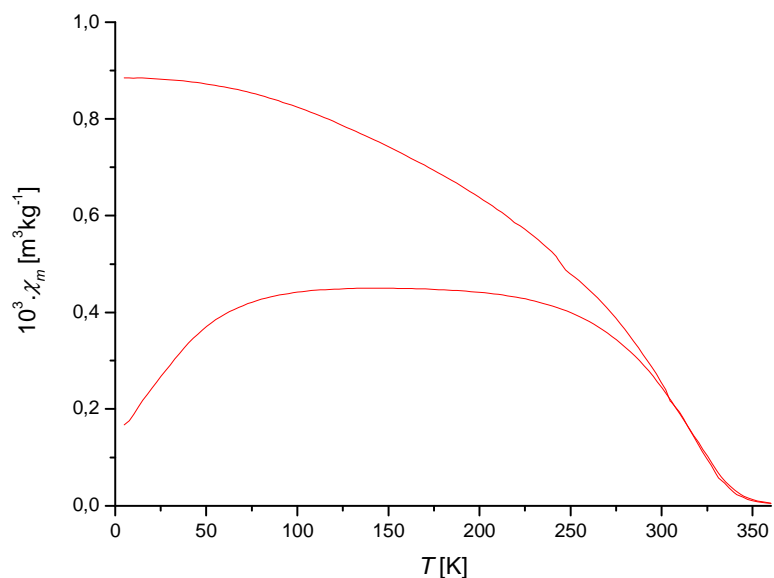


Obr. 29. Měření typu ZFC-FC ($H = 7,96 \text{ kAm}^{-1}$) před mechanickým zpracováním (**LS(0,25ag)A**) a po mechanickém zpracování (**LS(0,25)A4**).

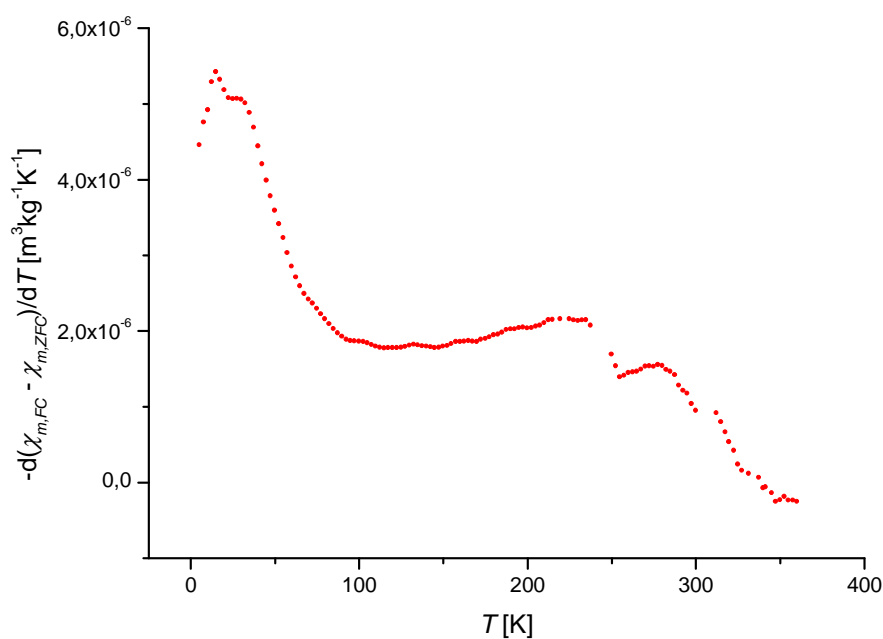


Obr. 30. Derivace rozdílu FC a ZFC susceptibility a její závislost na teplotě pro (**LS(0,25ag)A**) a po mechanickém zpracování (**LS(0,25)A4**).

Bude zajímavé podívat se na vzorek, který vznikl mechanickým zpracováním **LS(0,25ag)A** za jiných podmínek, a to při výrazně silnějším mechanickém působení, které poskytuje vysokoenergetické mletí. Na obr. 31 je průběh susceptibility během ZFC-FC měření **LS(0,25)A6**, z kterého je zřejmá výrazná změna v distribuci velikosti částic. Graf výše popsané derivace pak poukazuje na výrazné potlačení pásu původních velikostí krystalitů za současné posílení frakce nejmenších úlomků.



Obr. 31. Měření typu ZFC-FC ($H = 7,96 \text{ kAm}^{-1}$) pro **LS(0,25)A6**



Obr. 32. Derivace rozdílu FC a ZFC susceptibility a její závislost na teplotě pro **LS(0,25)A6**.

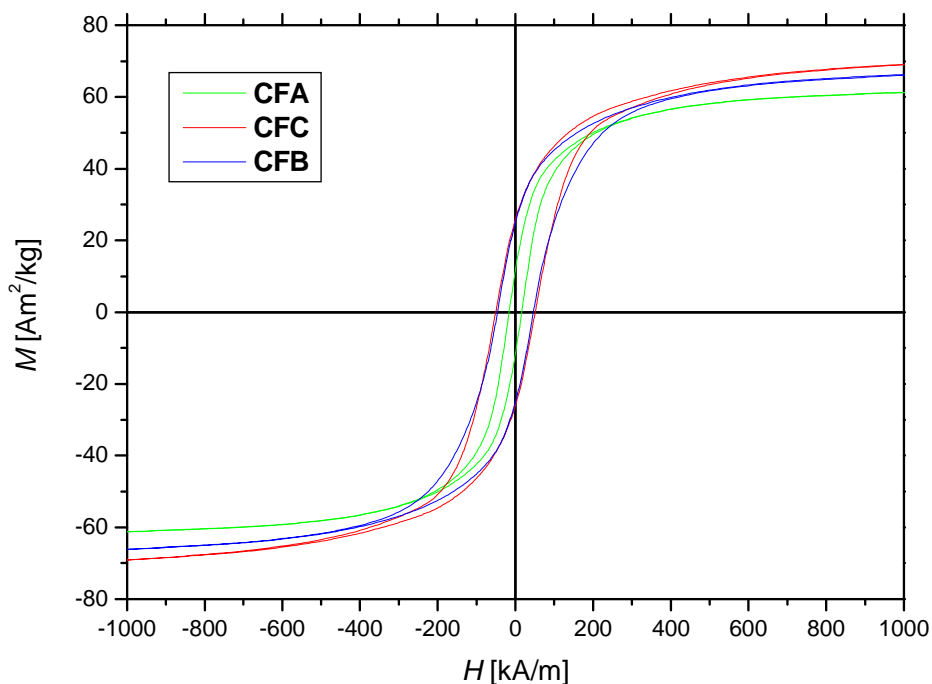
7.2.3. Magnetické vlastnosti nanočástic CoFe_2O_4 (CF) a srovnání s $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

Pro doplnění představy o magnetických vlastnostech nanočástic vícesložkových oxidů se podívejme ještě na další částice, na nanočástice ferimagnetické fáze CoFe_2O_4 , kde jsou magnetické vlastnosti řízeny poněkud jiným způsobem než u nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. Budeme se zabývat třemi vzorky kubického spinelu, jehož složení upřesněné na produktu chemickou analýzou bylo ve skutečnosti $\text{Co}_{0,95}\text{Fe}_{2,05}\text{O}_4$. Jednotlivé vzorky připravené při různých teplotách výpalu t_a se liší střední velikostí krystalitů d_{XRD} , přičemž základní popis vzorků je uveden v tab. 12.

Tab. 12. Vzorky CoFe_2O_4 a jejich magnetické vlastnosti při $T = 300$ K:

| Vzorek | t_a [°C] | d_{XRD} [nm] | $M_{750kA/m}$ [Am ² kg ⁻¹] | M_r [Am ² kg ⁻¹] | H_c [kAm ⁻¹] |
|------------|---------------|-------------------|--|--|-------------------------------|
| CFA | 400 | 18 | 60 | 14 | 19 |
| CFB | 600 | 29 | 64 | 25 | 45 |
| CFC | 800 | 41 | 67 | 26 | 53 |

V tabulkovém přehledu jsou také zahrnuty základní magnetické vlastnosti určené při $T = 300$ K z hysterezních smyček na obr. 33. Z hysterezních smyček i z odečtených hodnot $M_{750kA/m}$ je vidět, že specifická magnetizace klesá jen velmi málo se zmenšující se velikostí krystalitů, kdy $M_{750kA/m}$ se při více než dvounásobném poklesu d_{XRD} z 41 nm u **CFC** na 18 nm u **CFA** snížila jen o 10 %. To je dáno velmi vysokou magnetickou krystalovou anisotropií podmíněnou velkým orbitální momentem Co^{2+} kationtů, který se silně orientuje s trigonální osou $[111]$, jak bylo již vyloženo na str. 44. V porovnání s těmito vzorky teprve vyniká, jak je magnetizace nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ citlivá na velikost krystalitů. Při poklesu d_{XRD} z 40 nm u **LS(0,25)E2** na 19 nm u **LS(0,25)A4** klesá $M_{750kA/m}$ o 47%, tedy téměř na polovinu. Taková redukce je způsobena tím, že u $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ se neuplatňuje tak vysoká energie magnetické krystalové anisotropie, která by účinně zabránila destabilizaci magnetického uspořádání při zmenšení velikosti částic na 20 nm.



Obr. 33. Hysterezní smyčky vzorků CoFe_2O_4 při 300 K.

Podívejme se na další význačnou vlastnost fáze CoFe_2O_4 , na její koercivitu, která je řádově větší než u $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$. Koercivita nanočástic s $d_{XRD} \approx 40$ nm byla v případě **CFC** $H_c = 53 \text{ kAm}^{-1}$, zatímco u **LS(0,25)E2** činí $2,9 \text{ kAm}^{-1}$. Nicméně H_c **CF** velmi výrazně klesá se zmenšujícím se d_{XRD} , což je dáno klesajícím významem tvarové anisotropie [32]. Podobné hodnoty koercivity a stejně výrazný pokles uvádí např. Rashad et al [221] pro nanočástice CoFe_2O_4 připravené citrátovou metodou, kdy pro $d_{XRD} = 31$ nm, resp. 21 nm byla $H_c = 42 \text{ kAm}^{-1}$, resp. 14 kAm^{-1} . Ovšem obecně v literatuře udávané hodnoty H_c nanočástic CoFe_2O_4 poměrně kolísají a jsou závislé na metodě přípravy materiálu.

7.3. Příprava a charakterizace **LS@Si**

Bezpochyby nejdůležitějším úkolem předložené práce bylo převést magnetické nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ na koloidně stálou suspensi, která bude umožňovat nejen reprodukovatelné studium kapalně disperse částic, ale která především poskytne vhodný materiál pro základní biologické experimenty s tímto potenciálním hypertermickým mediátorem. Z tohoto důvodu byla velká pozornost věnována právě enkapsulaci do oxidu křemičitého za použití TEOS jako prekursoru. K získání obalených částic vysoké morfologické kvality byly využity dvě různé metody, a to enkapsulace pomocí TEOS po předchozí stabilizaci citrátem, v této práci označovaná jako postup A, a enkapsulace částic PVP metodou pomocí TEOS, označená jako postup B. Během vývoje se základní vlastnosti obalové vrstvy jako její souvislost, tloušťka, ale i morfologie obalených částic, jejich koloidní stabilita a hydrodynamická velikost soustavně studovaly a postup enkapsulace byl upravován tak, aby se dosáhlo požadovaných parametrů. Vedle těchto kritérií však byly pro optimalizaci postupu enkapsulace důležité také výsledky testů viability buněk inkubovaných *in vitro* s vybranými produkty. Tento aspekt, ač tedy byl neoddělitelně spjat s vývojem určitého standardního enkapsulačního postupu, nyní odložíme a vrátíme se k němu v kapitole 7.9.1., abychom se prozatím mohli věnovat základním vlastnostem obalených částic a vlastnímu enkapsulačnímu postupu. Podotkněme ale, že detailní charakterizace se budou týkat zejména těch materiálů, k nimž vedla optimalizace zohledňující i výsledky testů viability. Dále zdůrazníme, že celá práce včetně vývoje postupu enkapsulace se orientuje zejména na nanočástice **LS(0,25)** s $d_{XRD} \approx 20$ nm. Tyto nanočástice představují spíše modelová jádra a enkapsulaci lze zobecnit, jak později ukážeme.

7.3.1. Enkapsulace **LS** pomocí TEOS - postup A

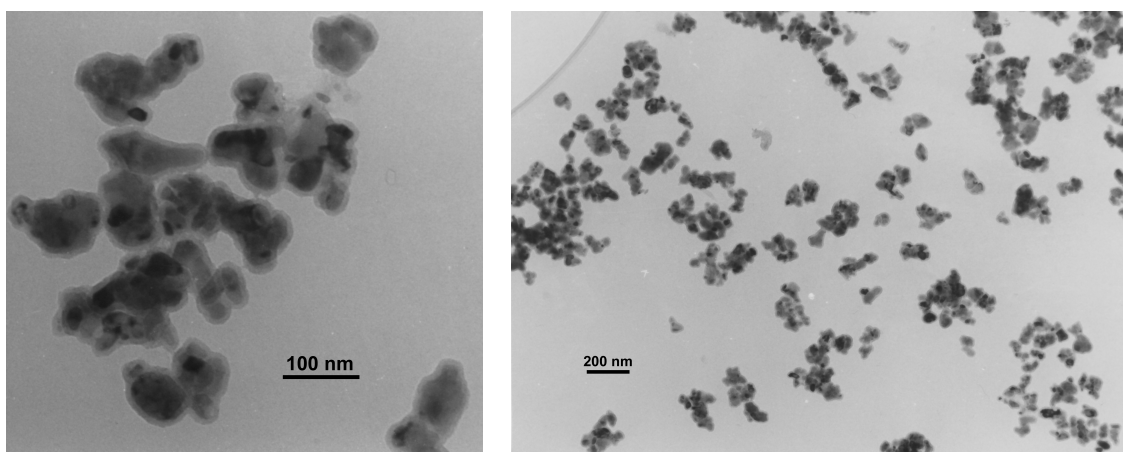
Magnetické nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ podobně jako nanočástice mnoha jiných oxidů nevytvářejí ve vodě, ani v řadě dalších rozpouštědlech koloidně stabilní suspensi, což se projevuje vznikem makroskopickým shluků a okamžitou sedimentací po ukončení aktivního rozptylování částic. V čisté vodě je taková okolnost zřejmá z hodnot zeta-potenciálu daných nanočástic, který neumožňuje dostatečnou coulombickou stabilizaci. Jednoduché pokusy o enkapsulaci takových nanočástic pomocí TEOS v prostředí alkohol - voda - amoniak bez předchozí stabilizace proto vedou k rozsáhlým agregátům nanočástic obalených vrstvou oxidu

křemičitého, přičemž morfologii vzorků nezlepšuje ani změna složení enkapsulačního prostředí jako podílu jednotlivých složek a záměna ethanolu za vyšší alkohol jako např. isopropylalkohol. Tyto skutečnosti byly pozorovány právě u magnetických nanočástic **LS**. Řešení tohoto problému představuje zapojení stabilizačního kroku před vlastní enkapsulací TEOS, kdy se na povrchu adsorbuje citrónová kyselina a posléze se zvýšením pH převádí na citrát, který zajišťuje dostatečně negativní zeta-potenciál pro udržení koloidní disperse ve vodném prostředí. Takový postup využil např. Mornet et al [222] při stabilizaci nanočástic $\text{Ba}_{0,6}\text{Sr}_{0,4}\text{TiO}_3$ před jejich enkapsulací a koloidní stabilitu doložil měřením zeta-potenciálu v závislosti na pH. Po stabilizaci kyselinou citrónovou vykazovaly nanočástice isoelektrický bod $IEP = 4,2$ a zeta-potenciál při pH vyšším než $\approx 4,5$ se stabilizoval na hodnotě ≈ 55 mV.

Popsaný problém koloidní stability a jeho úspěšné řešení adsorpcí citrónové kyseliny a následnou ionizací postihuje sice velmi důležitý moment celé enkapsulace nanočástic ale obalení těchto nanočástic s danými distribucemi velikosti a tvarů, jejichž příkladem jsou charakteristiky typického vzorku **LS(0,25)G**, resp. **LS(0,25)A4** (viz obr. 17), představuje náročný úkol a složitou optimalizační úlohu. Na základě velkého množství enkapsulačních experimentů a důsledného pozorování produktů pomocí TEM při současném zapojení dalších analys musíme zdůraznit, že enkapsulaci těchto částic, totiž morfologii, výtěžek kýžené velikostní frakce a toxikologické vlastnosti produktu ovlivňuje nejenom úspěšná stabilizace výchozích částic, avšak celá řada parametrů a experimentálních podmínek, jako je koncentrace částic v enkapsulační směsi, složení reakční směsi, poměr množství TEOS a magnetických částic, teplota při enkapsulaci a způsob míchání. Dále se z hlediska velikosti hybridních částic a výtěžku konečného produktu zásadně projevuje postup izolace zahrnující frakcionaci a její parametry. Pomineme-li technické problémy spojené s prováděním více paralelních experimentů za spolehlivého řízení všech podmínek, časovou nerealizovatelnost základního souboru enkapsulačních experimentů pro řešení optimalizační úlohy a nerealizovatelnost navazujících charakterizací (TEM, DLS, stanovení Mn v suspensi, popř. testy viability) nezbytných pro vyhodnocení jednotlivých experimentů, narážíme na další vážnou komplikaci. Ta je způsobena obtížemi s vyhodnocením morfologie produktů na základě analysy pomocí TEM. Již jsme uváděli potíže související s interpretací TEM snímků **LS(ag)** a **LS**, u obalených nanočástic se vše komplikuje jejich složenou strukturou a velkým množstvím kombinací, ke kterým může docházet při vylučování oxidu křemičitého v systému nanočástic. Z hlediska daných distribucí velikostí a tvarů výchozích částic pak existují velké rozptyly jednotlivých charakteristik, a tedy, má-li obrazová analyza z TEM poskytnout

relevantní hodnoty, je třeba vyhodnotit rozsáhlý soubor snímků. Nicméně ani to nevyřeší přirozené principiální rozptyly počítaných hodnot, které statisticky degradují smysl porovnávání různých vzorků. Srovnání produktů připravených za různých podmínek by pak navíc požadovalo opakování jednotlivých experimentů a stanovení směrodatných odchylek z hlediska pojmu opakovatelnosti. Cesta rigorózního postupu se při optimalizaci enkapsulace stává neúnosná. Proto zde nemůžeme prezentovat zvolený postup optimalizace enkapsulace a podložit jednotlivé závěry chemometricky přijatelnými výsledky. Pouze se dá konstatovat určitý standardní postup včetně jeho různých variant nakonec zvolený pro enkapsulace **LS**, ke kterému se dospělo po základní vývojové fázi, a popsat vliv některých podmínek na připravený produkt, pokud to tedy bude možné.

Obecný postup, který se osvědčil při přípravě suspence **LS@Si** s použitím citrátové stabilizace, je popsán v experimentální části v 6.5.2.1., kde figurují určité proměnné specifikované pro konkrétní produkty v tab. 6. Zde jsou rovněž odkazy na navazující isolační postupy. Obalování částic začíná tím, že mechanicky zpracovaný materiál **LS** je vystaven působení zředěné kyseliny dusičné při teplotě 0 °C v ultrazvukové lázni, čímž se povrch nanočástic očistí a připraví pro adsorpci citrónové kyseliny. Ta se na nanočástice nechává působit za stejných podmínek, ale při vyšším zředění. Částice po separaci od jejího roztoku se musí zbavit přebytečné kyseliny promytím čistou vodou, jež představuje kritický moment úspěšné stabilizace. Nanočástice separované z roztoku citrónové kyseliny se poměrně špatně rozptylují ve vodě a rychle probíhá sedimentace příslušných suspensí, což je jev spojený s přebytkem citrónové kyseliny. Pravděpodobně totiž dochází k agregaci částic za uplatnění mezivrstvy z citrónové kyseliny. Po jednom promývacím cyklu s použitím vhodného množství vody se částice chovají kvalitativně jinak. Ve vodě se rozptylují snadněji a sedimentace probíhá podstatně pomaleji, což se projevuje při jejich separaci zřetelnou potřebou vyšší relativní centrifugační síly, popř. delšího času odstředování v porovnání s částicemi před promývacím cyklem. Na druhou stranu se promývání nesmí provádět příliš důkladně, neboť při dalších promývacích cyklech poté příliš klesá množství adsorbované citrónové kyseliny a to se projeví nízkou stabilizací magnetických částic v enkapsulačním prostředí. Nízká stabilizace částic **LS** v enkapsulačním prostředí vede k vyššímu podílu shluků v obaleném produktu a jádra hybridních částic pak zřídka bývají tvořeny jednotlivými magnetickými zrny (viz obr. 34).



Obr. 34. TEM snímky obaleného produktu před optimalizací promývání po adsorpci citrónové kyseliny. Částice separované z citrónové kyseliny byly promyty vodou ve třech cyklech. Frakcionace produktu dle postupu I s $\omega_i = 3000$ rpm.

S působením kyseliny dusičné a citrónové kyseliny souvisí i další skutečnost, která vyšla najevo při opakovaném porovnávání středních velikostí krystalitů manganitové fáze d_{XRD} u výchozích nanočástic před enkapsulační procedurou a konečného produktu po obalení. Pro částice **LS(0,25)G** bylo nalezeno $d_{XRD} = 20$ nm, zatímco pro **LS(0,25)@SiG16** bylo určeno $d_{XRD} = 24$ nm. Uvedený rozdíl, třebaže je malý, byl opakovaně pozorován pro neobalené a obalené částice a byl dále nepřímo prokázán studiem statických magnetických vlastností (viz 7.6.), topných výkonů (viz 7.7.1.2.) a AC hysterezních smyček (viz 7.7.2.). Zvýšení d_{XRD} je dáno rozpuštěním nejmenších částic, nejmenších úlomků vznikajících při mechanickém zpracování, které se vzhledem k poměru povrchu ku objemu rozpouštějí daleko rychleji než částice větší. Pokud tedy tyto částice ubývají a velké částice se nerozpouštějí tak rychle, nutně vzroste střední hodnota velikosti krystalitů d_{XRD} . Současně však musíme zohlednit, že i frakcionace během izolace finálního produktu může ovlivnit distribuci velikostí jader, a tak i hodnotu d_{XRD} .

Dalším krokem po promytí částic je příprava jejich koloidní disperse s adsorbovanou citrónovou kyselinou, která se provádí rozptylováním v lehce amoniakem alkalizované vodě pomocí ultrazvuku. Takto stabilizované částice, které se vzájemně coulombicky odpuzují, se pak převádějí do vlastního enkapsulačního prostředí tvořeného ethanolem, vodou a amoniakem a temperovaného na danou teplotu. Do směsi se pak přidává určitý objem TEOS, který určuje konečné množství vyloučeného oxidu křemičitého, a směs se dále promíchává za zvolených podmínek. V této fázi se současně uplatňují hydrolyzační a kondenzační reakce TEOS a jeho produktů, které již byly obecně popsány pro alkoksidovou metodu v 4.5.1. Díky

těmto reakcím se vylučuje na nanočásticích jako centrech růstu obal z hydratovaného oxidu křemičitého po způsobu Stöberova procesu [147].

Z hlediska řízení tloušťky obalové vrstvy bylo nezbytné najít vztah mezi přidaným množstvím TEOS a silou obalu určenou přímým pozorováním z TEM. Čistě empirický přístup by byl však pro svoji omezenost nevhodný. Nejdříve se proto sestavil silně aproximativní fyzikální model, který se posléze, na základě teorie podobnosti a po zavedení dvou simplexů, využil pro odvození semiempirické rovnice, jejíž parametry byly určeny nelineární regresí z experimentální závislosti. Základní představou pro sestavení fyzikálního modelu bylo obalování monodispersních kulových nanočástic o poloměru r homogenní a uniformní vrstvou hydratovaného oxidu křemičitého $\text{SiO}_y(\text{OH})_z$ o síle e a hustotě ρ_{sil} , která vzniká hydrolysou a polykondenzací na povrchu nanočástic s úhrnným rozsahem reakce ξ z TEOS o objemu V_{TEOS} a čistotě $x(\text{TEOS})$. Hmotnost $\text{SiO}_y(\text{OH})_z$ vyloučeného danými reakcemi (ξ zohledňuje vedlejší reakce TEOS) je tedy identicky rovna hmotnosti obalů nanočástic. Předpokládáme-li navážku magnetických nanočástic o hmotnosti m_{MN} , která nebyla umenšena rozpouštěním ani ztrátami, s hustotou magnetické fáze ρ_{MN} , můžeme pro řečenou identitu psát:

$$\xi \cdot \frac{x(\text{TEOS}) V_{TEOS} \rho_{TEOS} M_m(\text{sil})}{M_m(\text{TEOS})} = \frac{3m_{MN}}{4\pi r^3 \rho_{MN}} \cdot \frac{4\pi \rho_{sil} [(r+e)^3 - r^3]}{3}, \quad (29)$$

kde $M_m(\text{sil})$, resp. $M_m(\text{TEOS})$ značí molární hmotnost $\text{SiO}_y(\text{OH})_z$, resp. TEOS a ρ_{TEOS} jeho hustotu. Levá strana identity vyjadřuje hmotnost $\text{SiO}_y(\text{OH})_z$ chemicky vyloučeného na povrchu částic a pravá strana představuje součin počtu magnetických nanočástic a hmotnosti kulové vrstvy na povrchu jedné částice. Algebraickými úpravami, třebaže s použitím jedné neekvivalentní úpravy (odmocňování však s ohledem na možné hodnoty zachovává fyzikální smysl) dostáváme pro tloušťku vrstvy:

$$e = r \left(\sqrt[3]{\frac{\xi x(\text{TEOS}) V_{TEOS} \rho_{TEOS} \rho_{MN} M_m(\text{sil})}{M_m(\text{TEOS}) m_{MN} \rho_{sil}} + 1} - 1 \right). \quad (30)$$

Všimněme si v tomto předpisu přirozeného výskytu určitých poměrů, které jsou velice příhodné pro zobecnění daného modelu prostřednictvím teorie podobnosti. Před jejich využitím si zavedeme označení průměru částice d a objemu magnetické fáze nanočástic V_{MN} vztahy:

$$d = 2r, \quad (31)$$

$$V_{MN} = \frac{m_{MN}}{\rho_{MN}}. \quad (32)$$

A nyní definujme dvě bezrozměrná kritéria, které mají povahu simplexů:

$$\Gamma_I = \frac{e}{d_{XRD}}, \quad (33)$$

$$\Gamma_V = \frac{V_{TEOS}}{V_{MN}} = \frac{V_{TEOS}\rho_{MN}}{m_{MN}}. \quad (34)$$

Simplex Γ_I představuje poměr tloušťky a střední velikosti krystalitu d_{XRD} výchozího materiálu a simplex Γ_V obnáší podíl objemu TEOS a objemu magnetické fáze. Dále navrhneme následující kritériální rovnici:

$$\Gamma_I \gamma_s = \sqrt[3]{\frac{1}{\gamma_m} \Gamma_V + 1} - 1, \quad (35)$$

přičemž γ_s a γ_m jsou konstanty. Navržená rovnice odpovídá fyzikálnímu modelu kulových nanočástic, pokud jej obohatíme o předpoklad, že tyto částice jsou tvořeny jednotlivými krystalitami magnetické fáze o velikosti d_{XRD} :

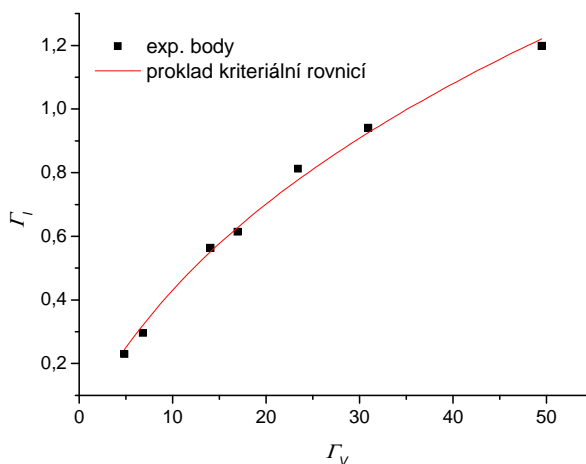
$$\gamma_s = 2, \text{ [kulová aproximace, } r = d_{XRD}] \quad (36)$$

$$\gamma_m = \frac{M_m(TEOS)\rho_{sil}}{\xi_X(TEOS)\rho_{TEOS}M_m(sil)} \text{ [kulová aproximace, } r = d_{XRD}]. \quad (37)$$

Podívejme se teď na experimentální výsledky uvedené v tab. 13 vycházející z TEM studie konečných produktů **LS(0,25)@Si**, jež byly připraveny s konstantní dobou enkapsulačního kroku $\tau_e = 24$ hod. Na obr. 35 jsou uvedeny vypočítané hodnoty obou simplexů a proklad experimentální závislosti kritériální rovnicí (35) provedený nelineární regresí, která poskytla konstanty $\gamma_s = 0,91$ a $\gamma_m = 5,91$ s $R^2 = 0,99567$.

Tab. 13. Tloušťka vrstvy e u obalených produktů **LS(0,25)@Si**:

| Vzorek | d_{XRD} [nm] | e [nm] | Γ_V |
|-----------------|-------------------|-------------|------------|
| LS(0,25)@SiG19 | 20 | 5 | 4,85 |
| LS(0,25)@SiG1 | 20 | 6 | 6,84 |
| LS(0,25)@SiE2 | 40 | 22 | 14,07 |
| LS(0,25)@SiG6 | 20 | 13 | 16,97 |
| LS(0,25)@SiG17b | 20 | 17 | 23,43 |
| LS(0,25)@SiG16 | 20 | 19 | 30,95 |
| LS(0,25)@SiG7 | 20 | 25 | 49,48 |

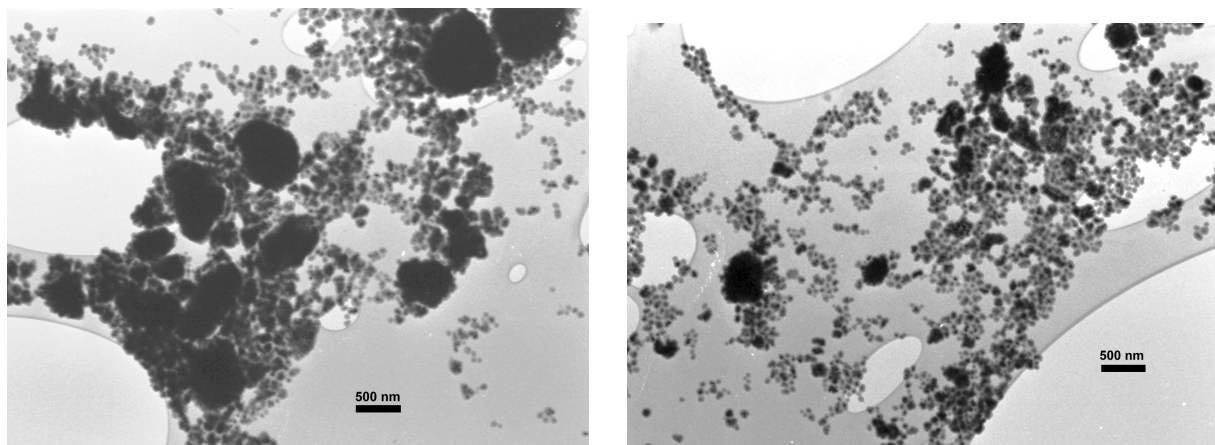


Obr. 35. Experimentální body a kritériální rovnice pro tloušťku vrstvy při enkapsulaci LS.

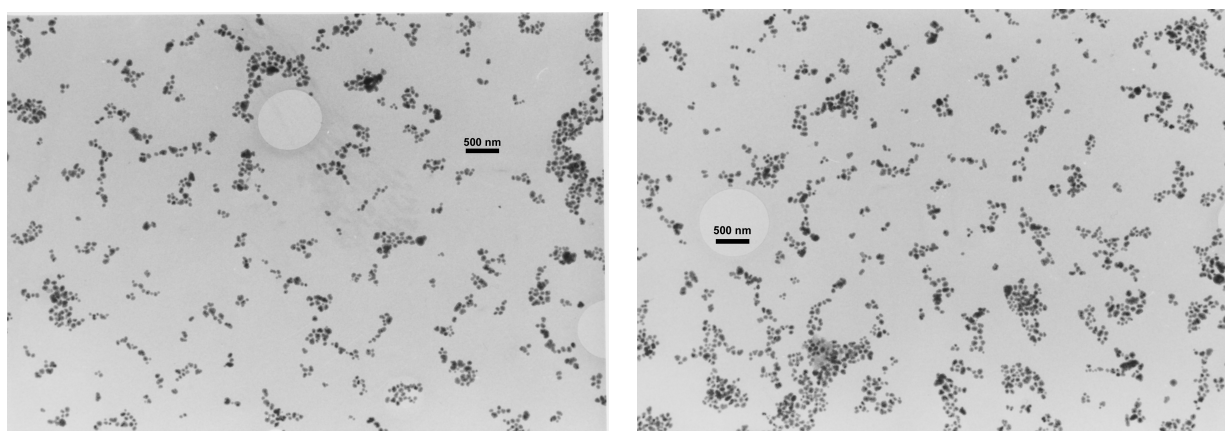
Získaná semiempirická rovnice představuje užitečnou a spolehlivou pomůcku pro přípravu částic **LS@Si** s vrstvou silnou 5 - 25 nm. Enkapsulace byly s ohledem na hlavní zaměření práce prováděny hlavně na částicích s $d_{XRD} = 20$ nm, ale vzorek **LS(0,25)@SiE2** připravený z nanočástic o $d_{XRD} = 40$ nm ilustruje, že závislost dobře vyhovuje i pro částice větší. Dá se předpokládat, že model můžeme případně použít v širším rozmezí e a d_{XRD} , ale i m_{MN} , eventuálně jej můžeme adaptovat upřesněním regresních konstant na širší intervaly. Zbývá se ještě zamyslet nad navrženou kriteriální rovnicí a významem konstant γ_s a γ_m . Rovnice a konstanty korespondují podle vztahů (36) a (37) s modelem kulových částic tvořených jednotlivými krystalitami pokrytými homogenní a na všech částicích stejnou vrstvou. Vzhledem ke skutečnému charakteru neobalených částic (viz např. obr. 17) by nemělo význam původní fyzikální model (29) zobecňovat použitím statistického aparátu distribučních funkcí a parametrizovat jej pomocí konkrétních fyzikálních a chemických představ jako např. tvarových faktorů, rozsahu rozpouštění a ztrát výchozího materiálu, rozsahu reakcí, matematického popisu agregačních rovnováh a pokrývání agregátů částic apod. Rozumné řešení tohoto komplexního problému je použití teorie podobnosti a zavedení empirických konstant, z nichž jednokaždá více či méně zahrnuje všechny možné příspěvky k odchylkám od jednoduché představy. Konstanta γ_s provádí lineární zobrazení poměru e/d_{XRD} , a tím zahrnuje především rozdíl mezi střední velikostí krystalitů a velikostí částic v kulové aproximaci, ale vedle toho odráží částečně i další příspěvky. Konstanta γ_m jednak shrnuje soubor konstant vyjádřený v (37), ale také efektivně koriguje objem magnetické fáze a objem TEOS vstupující do enkapsulace s ohledem na konečnou frakci produktu

Než se budeme věnovat dalším podmínkám enkapsulace, završme přehledný výklad celé procedury. Po ukončení enkapsulačního kroku totiž následuje nezbytný soubor operací, jehož cílem je přečištění obalených částic, ale také jejich frakcionace, abychom získali frakci přijatelných velikostí. Surová enkapsulační směs byla nejdříve podrobena základní frakcionaci pomocí centrifugace v definovaném poli odstředivé síly a po definované době, kdy se separovaly pevné útvary dle jejich sedimentačních vlastností. K dalšímu zpracování sloužil pak pouze odpovídající supernatant obsahující určitou frakci obalených částic, které byly v navazující centrifugaci kvantitativně separovány a následně důkladně promývány. Výtěžek této frakce při daném experimentálním uspořádání byl dle chemické analýzy Mn konečného produktu typicky v rozmezí 10 – 20 % hm. vzhledem k navážce částic **LS**. Musíme rovněž předpokládat, že frakcionační krok by mohl ovlivnit pozorovanou d_{XRD} konečného produktu v porovnání s výchozím materiálem, neboť distribuce velikostí

magnetických jader v supernatantu se obecně může lišit od distribuce velikostí magnetických jader v pevném zbytku, který již zpracováván nebyl. Ovšem sedimentační vlastnosti jsou pro dané množství TEOS určovány především počtem magnetických jader v obaleném útvaru, vzájemným slepením obalených částic a výskytem agregačních jevů. Význam popsaného isolačního postupu, respektive frakcionace na jejím počátku, si ilustrujeme na TEM snímcích surové suspence po enkapsulaci **LS(0,25)G** a konečného produktu **LS(0,25)@SiG21**, který byl ze surové směsi izolován (viz obr. 36).



(a)

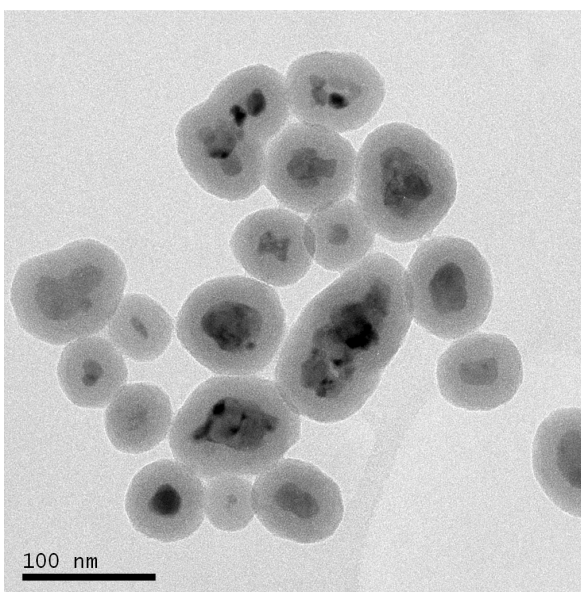
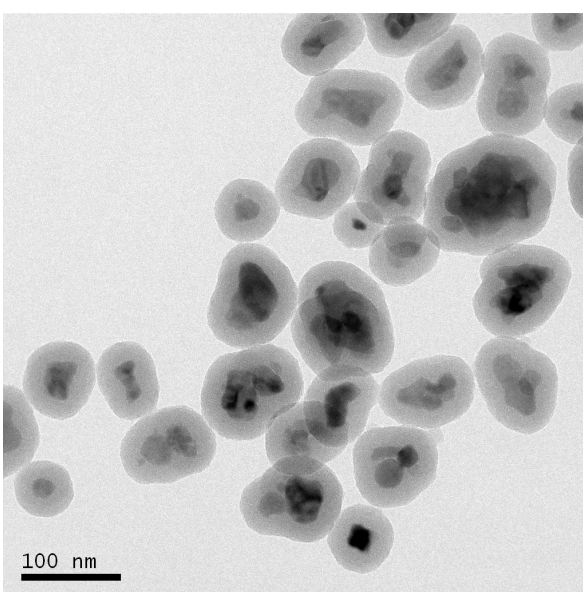
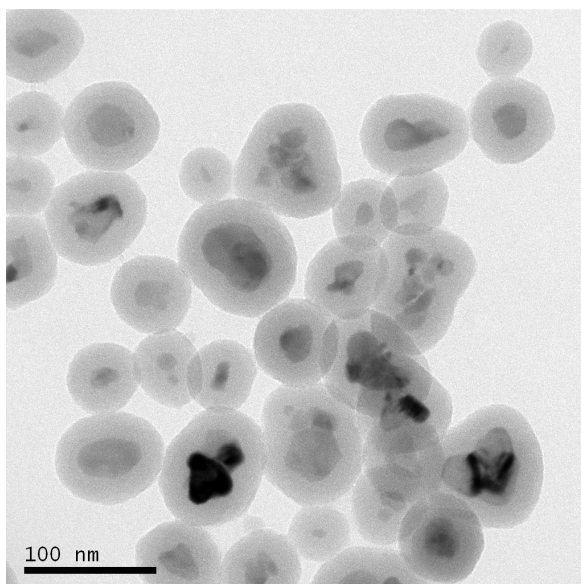
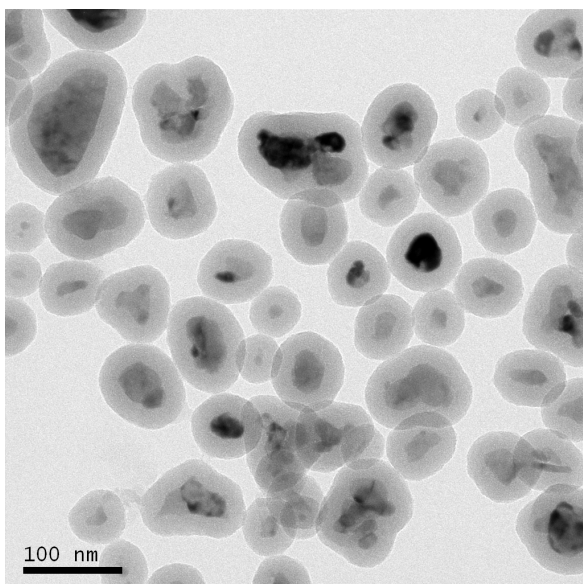
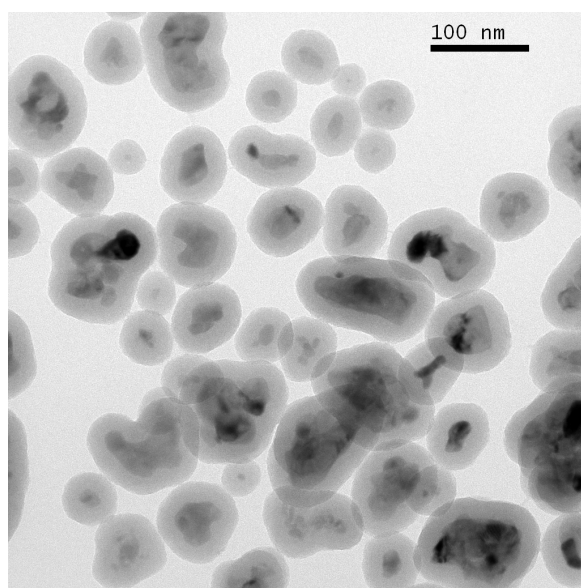
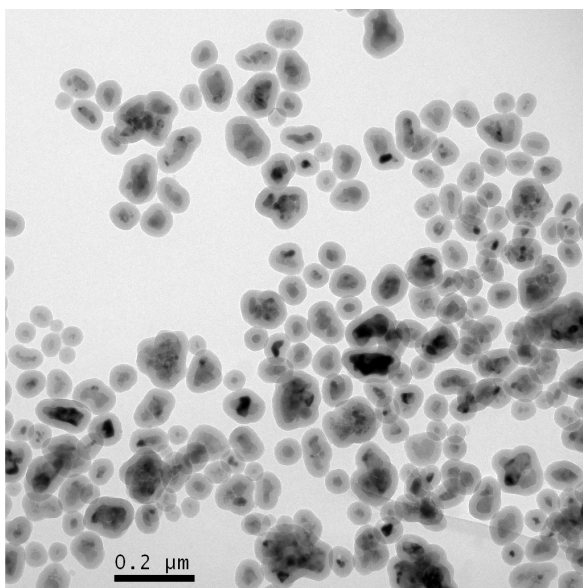


(b)

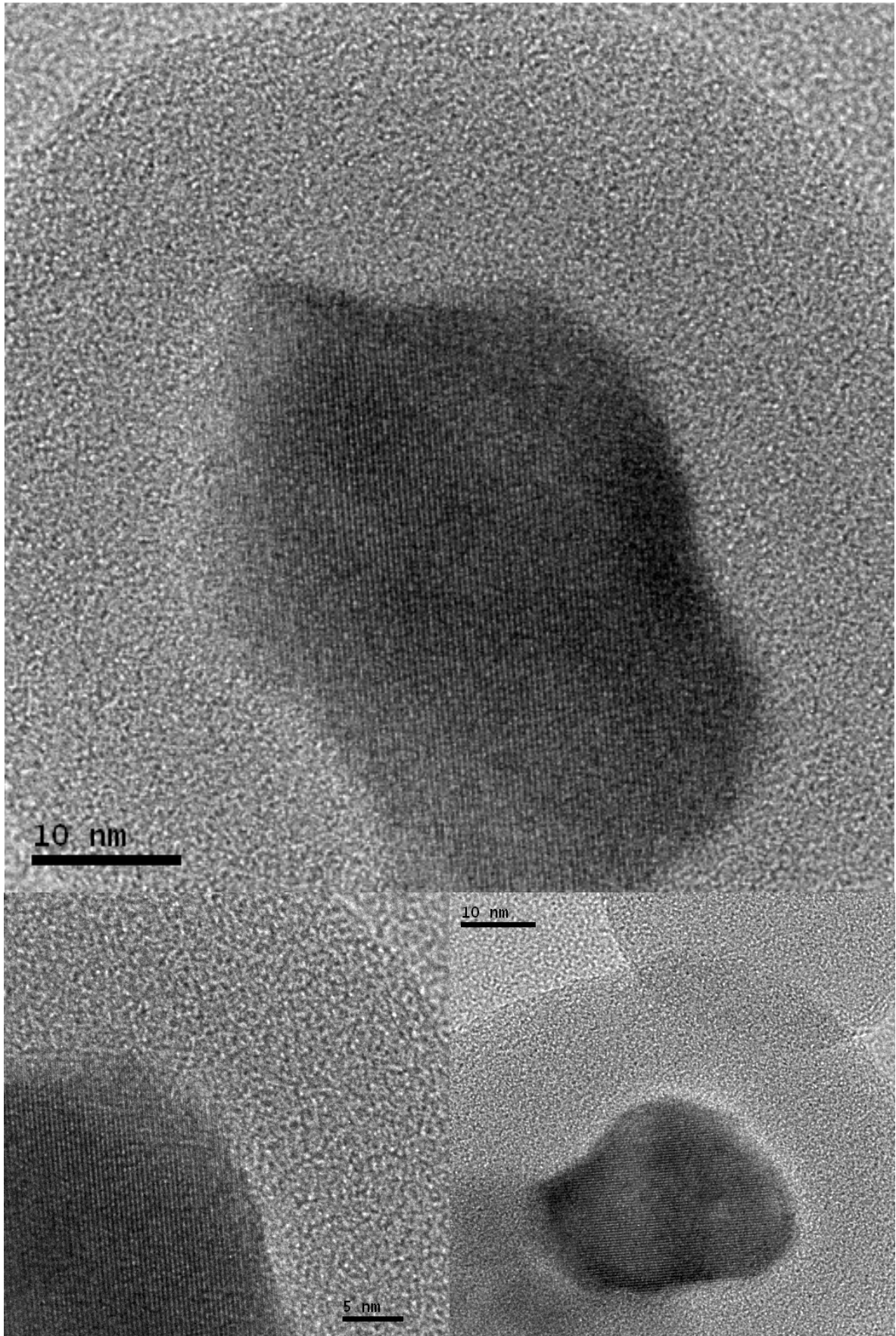
Obr. 36. TEM snímky z přípravy produktu **LS(0,25)@SiG21**: (a) surové suspence před frakcionací, (b) konečný produkt **LS(0,25)@SiG21**.

Další diskuse by se měla týkat podmínek vlastní enkapsulace, jmenovitě pak vlivu teploty enkapsulační směsi t_e , doby enkapsulačního kroku τ_e a způsobu míchání, které byly specificky obměňovány zejména kvůli optimalizaci zohledňující testy viability (viz 7.9.1.). Nicméně v kontextu těchto parametrů a diskuse základních vlastností **LS@Si** si uvědomme již diskutované problémy, které se týkají vyhodnocení TEM snímků a rozptylů hodnot (viz str. 85). Musíme se proto spokojit s víceméně kvalitativním pohledem. Především zdůrazníme, že u finálních produktů, tedy po izolaci obalených částic zahrnující popsanou

frakcionaci, nebyl při TEM studiích pozorován rozdíl mezi produkty připravenými za současného mechanického míchání a působení ultrazvuku a produkty připravenými buď za pouhého mechanického míchání, anebo za výlučného působení ultrazvuku. Není to překvapivé, protože konečné produkty byly získány frakcionací, která tak měla na morfologii izolovaných částic rozhodující vliv. Ovšem při aplikaci ultrazvuku byly výtěžky konečného produktu poněkud vyšší, než při pouhém mechanickém míchání. Podobně při posuzování morfologie obalených produktů **LS(0,25)@SiG1**, **LS(0,25)@SiG2**, **LS(0,25)@SiG3** a **LS(0,25)@SiG4**, které představují sérii připravenou při konstantní $t_e = 26$ °C za stejných podmínek s měnící se dobou τ_e v řadě 24, 13, 8 a 4 hod, se na TEM neobjevily žádné prokazatelné rozdíly. To znamená, že již po $\tau_e = 4$ hod u **LS(0,25)@SiG4** měla obalová vrstva konečnou tloušťku, která se nelišila od tloušťky obalu u **LS(0,25)@SiG1**, jehož enkapsulační krok trval 24 hod. Produkty série **LS(0,25)@SiG11**, **LS(0,25)@SiG8**, **LS(0,25)@SiG10** a **LS(0,25)@SiG12**, které byly připravovány s $\tau_e = 22 - 23$ hod za stejných podmínek s výjimkou teploty t_e nabývajících v dané řadě 30, 40, 50 a 60 °C, nevykazovaly sice dle TEM žádné relevantní rozdíly v tloušťce vrstvy, ale u vzorků připravených při teplotách 50 a 60 °C se poněkud zhoršovala jejich morfologie. Dodejme, že tyto série byly mnohem důležitější z hlediska studia toxikologických vlastností. Z důvodů dále uvedených byla pak věnována největší pozornost přípravě obalených částic při $t_e = 40$ °C a $\tau_e = 24$ hod s vrstvou silnou 20 nm ($F_V = 31$), přičemž se částice standardně enkapsulovaly za pouhého mechanického míchání. Nicméně na úrovni základních fyzikálních charakterizací konečného produktu žádné rozdíly mezi takovými obalenými částicemi a částicemi připravenými za odlišných podmínek homogenizace enkapsulační směsi nalezeny nebyly. Typické TEM snímky těchto produktů s dostatečným zvětšením jsou uvedeny na obr. 37. obr. 38 pak poskytuje snímky z HRTEM, na kterých vidíme, že obalová vrstva oxidu křemičitého je u takových produktů homogenní a nevykazuje žádné zřetelné poruchy. Konečně zmiňme, že obalováním manganitových nanočástic pomocí TEOS se zabýval rovněž Uskoković a publikoval dva příspěvky [122,123] popisující hybridní částice s magnetickými jádry $\text{La}_{0,76}\text{Sr}_{0,24}\text{MnO}_3$ o velikosti ≈ 100 nm a celkovém průměru obalených útvarů ≈ 250 nm. Obalené částice však vykazovaly různou tloušťku vrstvy, byly rozsáhle propojené a nanomateriál spíše ztrácel podobu diskretních nanočástic.

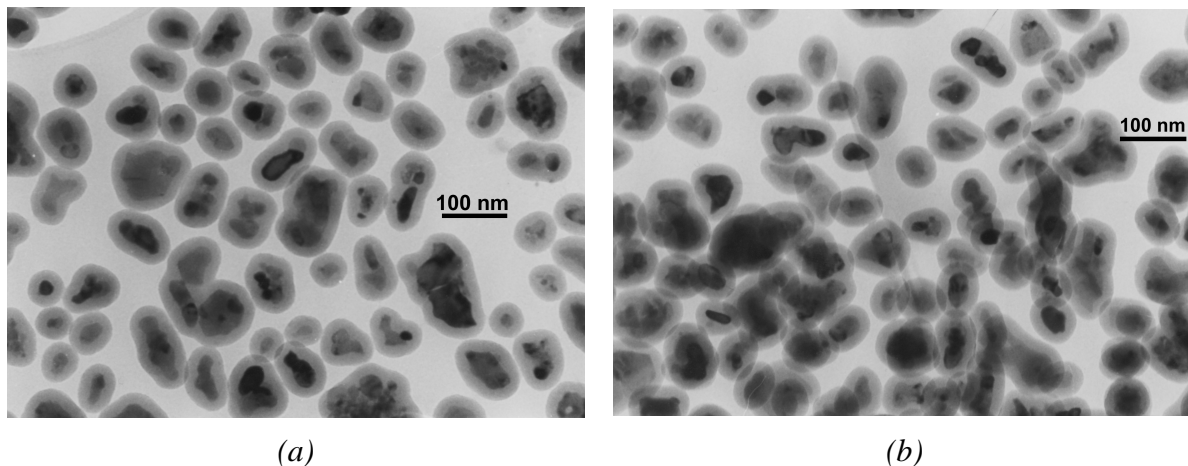


Obr. 37. TEM (Jeol JEM 3010) snímky $LS(0,25)@SiG16$.



Obr. 38. HRTEM snímky $LS(0,25)@SiG16$.

Zatím jsme diskutovali obalování částic stabilizovaných citrátem toliko pro složení $x = 0,25$, ale musíme dodat, že výše pojatý standardní postup enkapsulace nevyžaduje modifikaci ani pro jiné částice **LS** připravené standardním mechanickým zpracováním. Příklady obalených produktů s $x = 0,20$ a $0,30$ uvádí obr. 39.



Obr. 39. TEM snímky obalených částic: (a) $LS(0,20)@SiA$, (b) $LS(0,30)@SiA$.

7.3.2. Enkapsulace nanočástic PVP metodou pomocí TEOS – postup B

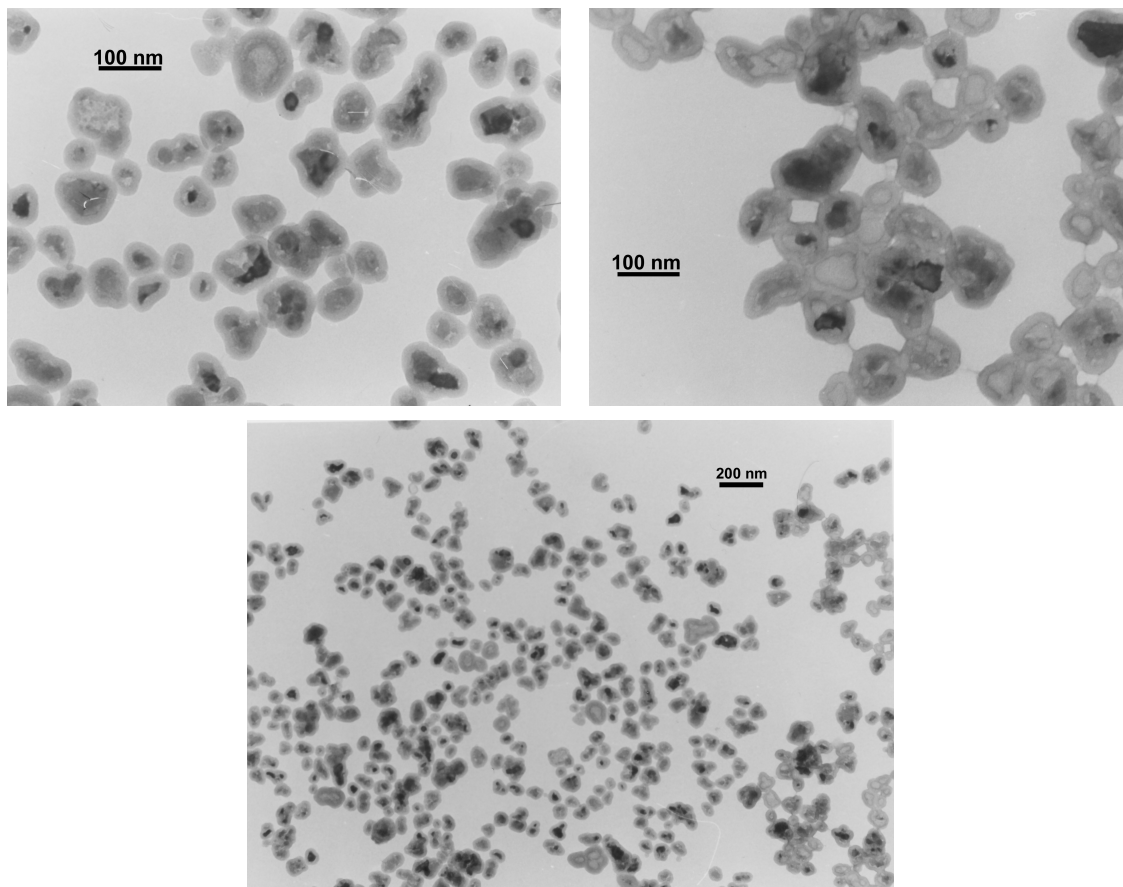
PVP metoda enkapsulace nanočástic pomocí TEOS byla použita pro nanočástice **LS(0,25)** s $d_{XRD} \approx 20$ nm, aby se zjistilo, jak se připravené produkty liší v testech viability od produktů získaných enkapsulací nanočástic stabilizovaných citrátem. V žádném případě zde tedy nešlo o systematickou přípravu enkapsulovaných nanočástic další metodou a o komplexní porovnávání s produkty získanými postupem A. Přesto je zřejmé, že bylo nutné provést určitou optimalizaci základních experimentálních podmínek. Postup, který se posléze osvědčil k získání produktů přijatelné morfologie, je uveden v experimentální části (viz 6.5.2.2.) a analogicky ke vzorkům připraveným postupem A jsou přesné specifikace parametrů shrnuty v tab. 6.

Při PVP metodě enkapsulace je třeba správně zvolit molekulovou hmotnost polymeru použitého ke stabilizaci nanočástic, a proto se na začátku studovala koloidní stabilita a stupeň rozptýlení u suspensí nanočástic **LS(0,25)** s $d_{XRD} \approx 20$ nm v roztocích různě dlouhých řetězců PVP, jmenovitě pak v PVP K15, PVP K25 a PVP K90 s $M_r = 10\,000$, $25\,000$ a $360\,000$. Z těchto polymerů se pro stabilizaci daných nanočástic dle TEM a na základě makroskopického pozorování časového vývoje suspensí a jejich chování při odstředování jevílo jako nejlepší PVP K25.

Na začátku stabilizace polymerem je důležité vlastní roztok polymeru nejdříve vystavit působení ultrazvuku, přičemž pouhé rozpouštění a homogenizace manuálním mícháním se neosvědčila. Naproti tomu se pravděpodobně teprve v roztoku vystaveném ultrazvuku dosáhne potřebného rozvolnění jednotlivých polymerních vláken, která se pak mohou účinně adsorbovat na přidané nanočástice. Nanočástice byly přidávány rovněž až po určité době rozptylování v čisté vodě pomocí ultrazvuku, což je patrně nadbytečný krok, neboť o stabilitě suspence částic v čisté vodě se hovořit nedá. Ale rozptýlení ve vodě umožňuje postupné a pomalejší přidávání požadovaného množství částic do roztoku PVP. Vzniklá suspence na bázi roztoku polymeru a nanočástic byla ponechána 24 hod v ultrazvukové lázni temperované na laboratorní teplotu, aby bylo dosaženo rovnováhy adsorpčních a agregačních procesů v daném ultrazvukovém poli. Vlastní separace nanočástic od roztoku PVP, kterého byl vůči nanočásticím a jejich specifickému povrchu enormní přebytek, probíhala odstředováním. Centrifugaci bylo nezbytné provádět při poměrně vysoké odstředivé síle a po dlouhou dobu, aby se zajistilo kvantitativní odstředění dispergovaných částic ze směsi. Tato okolnost dále dokládá účinnou stabilizaci částic polymerem.

Jako kritický moment enkapsulace se ukázala další operace související s transferem stabilizovaných částic do enkapsulačního prostředí. V jednom z prvních experimentů využívajícím PVP metodu byly stabilizované částice po separaci z roztoku polymeru přímo redispergovány v ethanolu, v němž se prováděla enkapsulace. Již v úvodu jsme se zmínili, že PVP vystupuje nejen jako stabilizátory, nýbrž i jako iniciátor růstu oxidu křemičitého při kondenzaci siloxanů. Hong et al. ve své práci pojednávající obalování polystyrenových mikrosfér PVP metodou konstatuje, že důležité jsou zejména dusíkové atomy v laktamovém kruhu, která vystupují jako basická centra při interakci s kyselým tetraethoxysilanem, resp. siloxanem [223]. Po vlastní enkapsulaci samozřejmě následovala izolace zahrnující frakcionační krok, přičemž obr. 40 zachycuje TEM snímky konečného produktu. Tento vzorek **LS(0,25)@SiG5** však vykazuje velmi zvláštní morfologii. Kromě enkapsulovaných částic manganitu vidíme mnoho křemičitých obalů kolem výrazně světlých míst, která v žádném případě nemohou být přiřazena manganitové fázi. Současně je patrné, že vlastní obaly jsou neporušené a souvisle obklopují domnělá jádra. Naskýtají se dvě možná vysvětlení. Do enkapsulační směsi se dostalo příliš mnoho PVP a polymer při enkapsulaci sám o sobě vytvářel centra pro vylučování oxidu křemičitého, který se formoval na jeho základě, aniž by byly přítomny magnetické nanočástice. Je však pozoruhodné, že světlé středy diskutovaných částic vykazují tvary a velikosti dobře odpovídající tvarům a velikostem

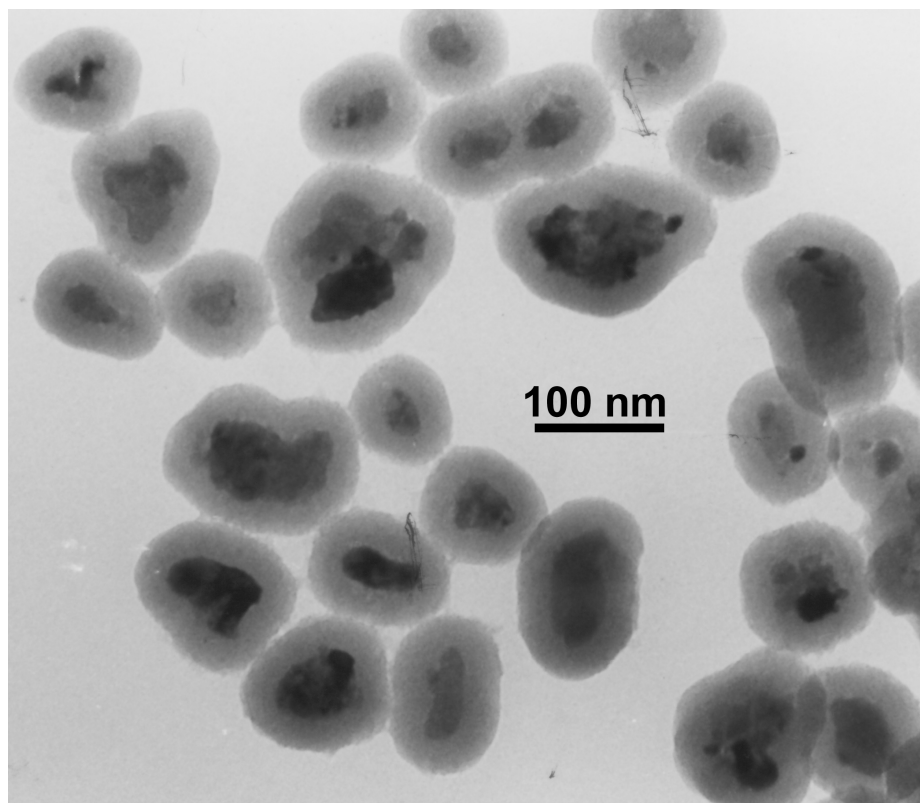
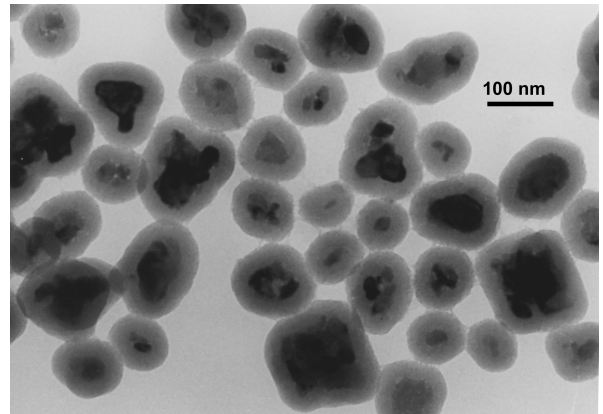
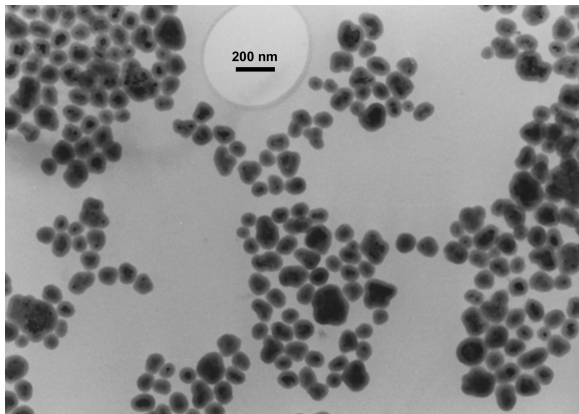
obalených částic manganitu a v produktu se již neobjevují jiné formy a velikosti světlých útvarů. Takový poznatek vede k alternativní hypotéze předpokládající, že se v těchto případech skutečně původně zformovala obalová vrstva na nanočásticích manganitu, ale posléze se oxidová jádra účinkem prostředí, do kterého bylo na dané množství manganitu přivedeno také nezanedbatelné množství polyvinylpyrrolidonu a které obsahovalo amoniak, částečně rozpouštěla. Povšimněme si rovněž, že samotná magnetická jádra v mnohých obalených částicích vykazují atypické tvary a místy značně členité okraje, jako by byla jádra naleptaná. Na některých částicích lze rovněž jasně pozorovat, že kromě manganitového jádra se pod obalem částečně uplatňuje diskutovaná světlá zóna. Tyto útvary by tedy mohly korespondovat s částicemi o částečně rozpuštěných jádrech. Výskyt pojednávaných „prázdných“ útvarů v produktu získaného PVP metodou se podařilo vyřešit zařazením promývacího cyklu, který následoval po separaci stabilizovaných částic od původního roztoku PVP. Tento promývací cyklus zahrnuje redispergaci v malém objemu ethanolu a odstředění. Pro úplnost se ještě zmiňme o tom, že v produktu **LS(0,25)@SiG5** se místy mezi dvěma zřetelně separovanými částicemi objevují jakási spojující filamenta. Tyto tenké spojky pravděpodobně odpovídají růstu oxidu křemičitého na polymerním vláknu, které přecházelo z jedné částice na druhou.



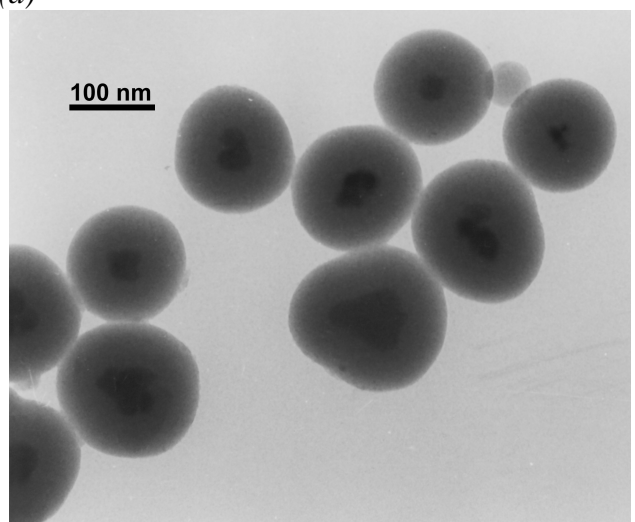
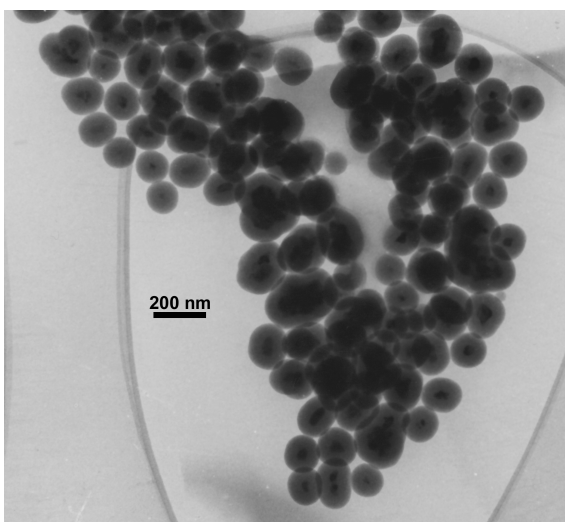
Obr. 40. TEM snímky produktu **LS(0,25)@SiG5**.

Vlastní enkapsulace částice pomocí TEOS byla prováděna v prostředí ethanolu, vody a amoniaku, ale na rozdíl od enkapsulace částic stabilizovaných citrátem se při PVP metodě používala směs s nižším podílem vody, která se do směsi přidávala pouze v podobě 25 – 27 % roztoku amoniaku a azeotropické směsi ethanolu. Po takovéto enkapsulaci, kdy se použité reakční prostředí lišilo polaritou a složením od prostředí v postupu A, stejně nebylo možné získat zcela identickou frakci jako v postupu A. Nebylo by to možné ani v případě, že by se zvolily stejné frakcionační parametry, neboť polarita i složení kapalně fáze ovlivňují agregační jevy v suspensi. Přistoupilo se tedy k separaci veškeré pevné fáze, bezprostředně následované purifikací obalených částic a teprve poté se prováděla dodatečná frakcionace v čisté vodě o definovaném objemu, kde byl surový enkapsulovaný produkt rozptýlen, a po centrifugaci v definovaném poli a po definovanou dobu se dále zpracoval pouze supernatant.

Na obr. 41 jsou uvedeny TEM snímky dvou vybraných konečných produktů připravených s odlišným poměrem navážky magnetických částic a objemu přidaného TEOS. Produkt **LS(0,25)@SiG15** náležitě ilustruje, že lze připravovat i obalené částice s velmi silnou vrstvou oxidu křemičitého, aniž by docházelo k jejich masivnímu spojování. Na tomto produktu je také zřetelně vidět, že s rostoucí tloušťkou vrstvy se částice se stále více blíží sférickým útvarům, ačkoli vlastní jádro vykazuje silně nekulový tvar. Další charakteristikou těchto částic je rovněž jejich hladký povrch obalu. To se zcela nedá říci o obalu částic **LS(0,25)@SiG14**, které byly připraveny s použitím menšího množství TEOS. V tomto případě není tak dokonale hladký, a tím se odlišuje i od produktů **LS@Si** získaných enkapsulací částic stabilizovaných citrátem. Souvisí to s vylučováním oxidu křemičitého přímo na vláknech organického polymeru zachycených na manganitových částicích. Vznik povrchu, který není zcela hladký, pozoroval i Graf et al [152], přičemž nehomogenita pro dané částice povrchu narůstala s velikostí použitého PVP. Při hodně silné obalové vrstvě se vliv adsorbovaného polymeru v dané vzdálenosti už neprojeví, tudíž obalené částice jsou hladké jako v případě částic stabilizovaných citrátem.



(a)

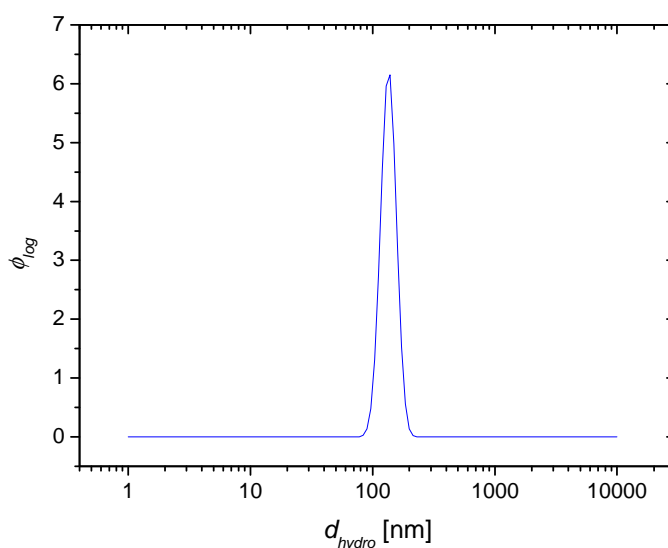


(b)

Obr. 41. TEM snímky: (a) $LS(0,25)@SiG14$ ($e = 27$ nm), (b) $LS(0,25)@SiG15$ ($e = 50$ nm).

7.3.3. Koloidní stabilita

O koloidní stabilitě za daných podmínek snad nejlépe vypovídají DLS měření, jednak měření hydrodynamické velikosti d_{hydro} a jednak měření zeta-potenciálu ζ . Hydrodynamická velikost ukazuje na aktuální agregační stav v daném prostředí, popřípadě na jeho vývoj v čase, zatímco zeta-potenciál odráží elektrický náboj povrchu částic, a tím dokládá jejich vzájemnou coulombickou repulsi.



Obr. 42. PCCS měření hydrodynamické velikosti **LS(0,25)@SiG16**.

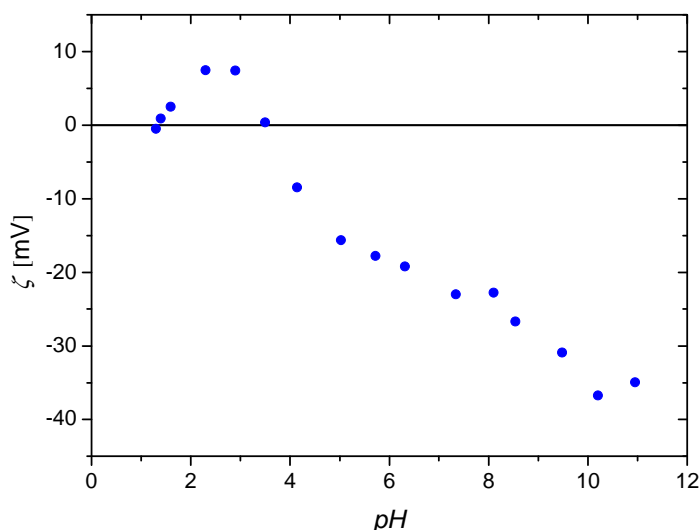
Na obr. 42 je znázorněno rozdělení DLS signálu ϕ_{log} měřené v uspořádání PCCS a normované pro logaritmické vynesení hydrodynamické velikosti částic. Téměř identické distribuce byly opakovaně získávány pro jednotlivé šarže produktů, jak dokládají např. základní kvantily včetně středních hodnoty v tab. 14, kde je popsána nejen distribuce hydrodynamické velikosti vzorku **LS(0,25)@SiG16** z obr. 42, ale i distribuce další šarže vzorku připraveného stejným způsobem. Samozřejmě se jednalo o reprezentativní měření vzorku, aniž by byl separován nějaký sediment. Tabulka poskytuje i další zajímavý údaj, který se týká časového vývoje suspenzí **LS@Si**. Zatímco jedna suspence byla měřena 5 dní po synthese, druhá byla studována 18 dní po přípravě, ale i tak příslušné výsledky jsou v rámci experimentálních rozptylů v podstatě stejné. Nadto z mnohých dalších experimentů, ale i ze subjektivního pozorování suspenzí vyplývá poměrně dlouhodobá koloidní stabilita. Pro úplnost dodejme, že se tyto pomocí PCCS sledované distribuce neměnily ani ředěním vzorku, což také svědčí o absenci agregačních jevů mezi rozptylujícími částicemi. Konečně je v tab. 14 popsána i distribuce hydrodynamické velikosti vzorku **LS(0,25)@SiG20**, který byl

připraven stejně jako **LS(0,25)@SiG16** až na ten rozdíl, že se během enkapsulace neaplikoval ultrazvuk. Porovnání příslušných hodnot dokazuje skutečnost uváděnou již výše na základě TEM studií a to, že působení ultrazvuku během enkapsulace nemá pozorovatelný vliv na morfologickou kvalitu produktu získaného po závěrečném isolačním kroku. Během zmíněné frakcionace se separují útvary podle jejich sedimentačních vlastností, které samozřejmě korelují s hydrodynamickou velikostí.

Tab. 14. Kvantily hydrodynamické velikostí a opakovatelnost enkapsulace:

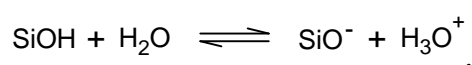
| Vzorek | LS(0,25)@SiG16 | jiná šarže LS(0,25)@SiG16 | LS(0,25)@SiG20 |
|---------------------|----------------|---------------------------|----------------|
| Datum syntesy | 8.9.2009 | 6.4.2008 | 2.7.2009 |
| Datum měření | 26.9.2009 | 11.4.2008 | 13.7.2009 |
| $d_{hydro,10}$ [nm] | 111 | 114 | 110 |
| $d_{hydro,50}$ [nm] | 135 | 142 | 131 |
| $d_{hydro,90}$ [nm] | 163 | 176 | 157 |

Koloidní stabilita u částic obalených oxidem křemičitým souvisí s jejich povrchovými vlastnostmi, především pak se zeta-potenciálem. Povrchová vrstva poskytuje acidobasické reakce, které dle jejich rozsahu při daném pH určují povrchový náboj, a tím zeta-potenciál nanočástice. Důležitým aspektem koloidní stability je tedy závislost zeta-potenciálu na pH. Z tohoto důvodu byl na sérii vzorků stejně koncentrované suspence obalených částic, které se lišily hodnotou pH, proměřen zeta-potenciál. Výsledná závislost na obr. 43 představuje tedy titrační křivku zeta-potenciálu.



Obr. 43. Závislost zeta-potenciálu obalených částic na pH – titrační křivka.

Na titrační křivce je patrný isoelektrický bod v kyselé oblasti pH s hodnotou $IEP = 3,5$. Tento výsledek je v poměrně dobré shodě s měřením nanočástic oxidu křemičitého připravených Stöberovým procesem bazické hydrolysy tetraethoxysilanu při 40 °C, pro které Ocaña et al uvádí $IEP = 2,9$ [224]. Podobnou hodnotu $IEP = 3,0$ pro oxid křemičitý uvádí Zhao, který dále u nanočástic magnetitu obalených oxidem křemičitým stanovil velmi blízký $IEP = 3,2$ [225]. Při nižších hodnotách pH se částice nabíjejí kladně díky jejich protonizaci. Při dalším snižování pH se objevuje zjevný pokles zeta-potenciálu způsobený zřejmě postupným rozpouštěním magnetických jader. Kyselé rozpouštění se však výrazněji projevuje až při hodnotách $pH \approx 2$ a nižších. Naproti tomu při zvyšování pH nad isoelektrický bod dochází k disociaci silanolových skupin:

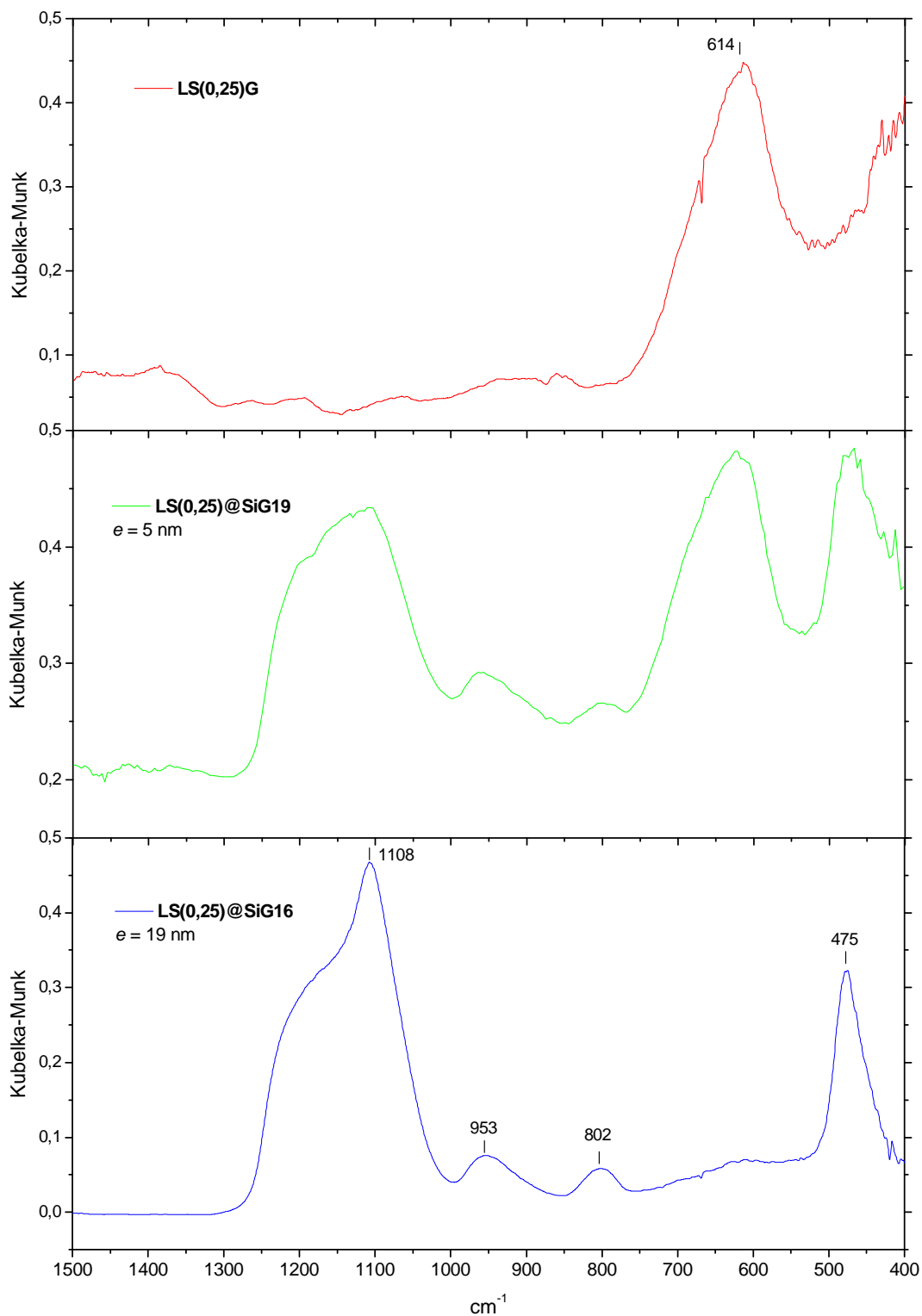


díky které dochází k negativnímu nabití povrchu. Rostoucí absolutní hodnota zeta-potenciálu pak značí vyšší koloidní stabilitu, neboť se částice silněji odpuzují. V silně zásadité oblasti, kde je ale měření pH zatíženo větší chybou (zásaditá chyba skleněné elektrody), by se na průběhu zeta-potenciálu rovněž projevilo rozpouštění obalu oxidu křemičitého, neboť v silně basicím prostředí obal z oxidu křemičitého stabilní není. Patrně náznak procesu narušování obalu můžeme pozorovat kolem $pH = 11$.

7.3.4. IR spektroskopie

Mezi charakterizacemi, které se prováděly na obalených částicích, získala poměrně důležité postavení IR spektroskopie, třebaže se na první pohled nejeví jako zcela zásadní. Podívejme se však na DRIFTS IR spektra neobalených manganitových nanočástic **LS(0,25)**, částic obalených 5 nm tenkou vrstvou oxidu křemičitého a částic obalených 20 nm silnou vrstvou. V MIR oblasti spektra se z hlediska struktury těchto materiálů jeví jako zajímavá pouze oblast nižších vlnočtů, zatímco u vyšších vlnočtů bychom našli valenční vibrace v(OH) silanolových skupin a především také zbytkové vody, která v určitém množství ve vzorcích přetrvává jako voda adsorbovaná. Relevantní oblast spekter těchto tří vzorků uvádí obr. 44, kde **LS(0,25)G** zastupuje neobalené nanočástice, vzorek **LS(0,25)@SiG19** má vrstvu silnou $e = 5$ nm a pro **LS(0,25)@SiG16** je $e = 19$ nm.

Ve spektru neobalených částic vidíme pouze jeden absorpční pás s maximem při 614 cm^{-1} odpovídající manganitové fázi. Li et al při studiu IR spekter $\text{La}_{0,67}\text{Ca}_{0,33}\text{MnO}_3$ přiřadil podobný vibrační pás při 596 cm^{-1} valenčním vibračním oktaedru MnO_6 [226] a podobně byl popsán pás různých manganitů Westinem et al jako pás valenční vibrace [227]. U nanočástic se silnou obalovou vrstvou jsou vidět zřetelné vibrační projevy amorfního oxidu křemičitého se silanolovými skupinami. Tak se tu vyskytují poměrně intenzivní pásy s maximy při 1108 a 475 cm^{-1} a slabší absorpční projevy při 953 a 802 cm^{-1} . Pás s maximem na 1108 cm^{-1} odpovídá asymetrické valenční vibraci $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$, zatímco symetrická valenční vibrace $\nu_{\text{s}}(\text{Si-O-Si})$ má nižší energii a odpovídá jí pás 802 cm^{-1} . Pás odpovídající vibraci $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$ vykazuje určité štěpení, které je typické pro skelný SiO_2 (nebo GeO_2) a kterému byla věnována systematická pozornost a snaha o důsledný teoretický výklad [228-231]. Ve spektru patrně dochází k vydělení pásu transversálního optického vibračního módu (TO) a pásu longitudálního optického vibračního módu (LO), ačkoli oxid křemičitý není krystalický. TO pás se objevuje při nižším vlnočtu a LO při vlnočtu vyšším vlnočtu. Motiv Si-O-Si vykazuje také deformační vibraci $\delta(\text{Si-O-Si})$, která se manifestuje při 475 cm^{-1} , deformační vibraci $\delta(\text{Si-OH})$ odpovídá pás při 953 cm^{-1} [232]. Nicméně v tomto spektru se ztrácí pás původní manganitové fáze, který je zde snad pouze naznačen. Naproti tomu ve spektru částic s tenkým obalem pozorujeme všechny zmíněné projevy, amorfního oxidu křemičitého se silanolovými skupinami i manganitu, přičemž intenzita silných pásů oxidu křemičitého je srovnatelná s projevem manganitu. Popsaný zánik absorpčního pásu manganitové fáze v produktu se silným obalem se dá vyložit zavedením pojmu stínící efekt. Silný obal stíní manganitové jádro, jehož absorpční projevy se ve spektru neuplatní. Je pak zřejmé, že tenká vrstva vykazující slabší stínící efekt geometricky neisoluje jádro dostatečně, a tudíž se jeho absorpce v DRIFTS projeví.



Obr. 44. DRIFTS IR spektra neobalených a obalených **LS** o různé tloušťce obalové vrstvy.

Z výše uvedeného pozorování lze také uzavřít, že DRIFTS IR spektroskopie je účinnou, velmi jednoduchou a nenáročnou metodou pro sledování enkapsulace nanočástic do oxidu křemičitého. V případě manganitové fáze **LS(0,25)** po úspěšném obalení jader s $d_{XRD} = 20$ nm asi 20 nm silnou vrstvou se pás manganitu ve spektru neobjevil. Pokud by vzorek byl směsí neobalených a obalených částic nebo pokud by částice měly topologicky nesouvislé a defektní obaly, pozorovali bychom manganitový pás ve spektru, třebaže by vrstva oxidu křemičitého byla podobně mohutná. Účinnost IR spektroskopie spočívá také v její citlivosti. Ovšem musíme si uvědomit, že ji nemůžeme použít k prokázání přímé kovalentní vazby křemičitého obalu na oxidové magnetické jádro. Vibrační projevy hypotetického motivu Mn-O-Si nejsou obecně v daných spektrech separovatelné od projevů výše diskutovaných.

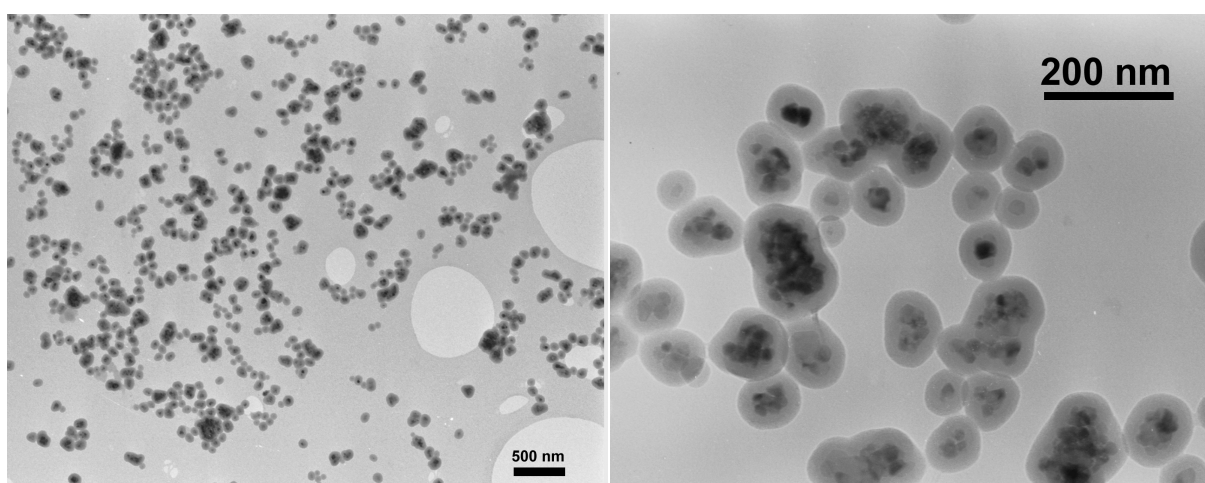
7.4. Využití enkapsulačního postupu pro další MN

7.4.1. Enkapsulace CZ pomocí TEOS

Kromě nanočástic manganitu $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ byla enkapsulace pomocí TEOS po předchozí stabilizaci citrátem (postup A) vyzkoušena i na dalším materiálu a to na nanočásticích spinelové fáze $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$. Konkrétně se pracovalo se vzorkem **CZ(0,60)A**, který již prošel mechanickým zpracováním a střední velikost krystalitů činila $d_{XRD} = 16$ nm. Tyto výchozí nanočástice byly podrobeny standardnímu postupu enkapsulace (viz 6.5.2.1.). Isolace konečného produktu se prováděla poněkud jiným způsobem, než který byl běžně používán u enkapsulovaného manganitu. V případě feritových částic se po enkapsulaci oddělila veškerá pevná fáze, která se promývala a teprve pak frakcionovala v čisté vodě. Frakcionaci lze realizovat i v surové reakční směsi jako při přípravě **LS@Si**, ale obecně je výhodnější provést nejdříve kvantitativní separaci částic a promytí a teprve dodatečně uskutečnit frakcionaci s ohledem na konkrétní požadavky.

Na obr. 45 jsou uvedeny TEM snímky konečného produktu **CZ(0,60)A**, na nichž je patrná i tloušťka vrstvy, která činí $e = 23$ nm. Snímky především ukazují na přítomnost souvislé vrstvy, která obaluje magnetická jádra, aniž by ve vzorku byly přítomny vyloučeniny samotného oxidu křemičitého či neobalená jádra. Rovněž je vidět, že během procesu enkapsulace nedocházelo ke splývání obalovaných jader. Ovšem při silnějším zvětšení je patrné, že mnohá magnetická jádra mají složitější mikrostrukturu a rovněž jejich velikosti

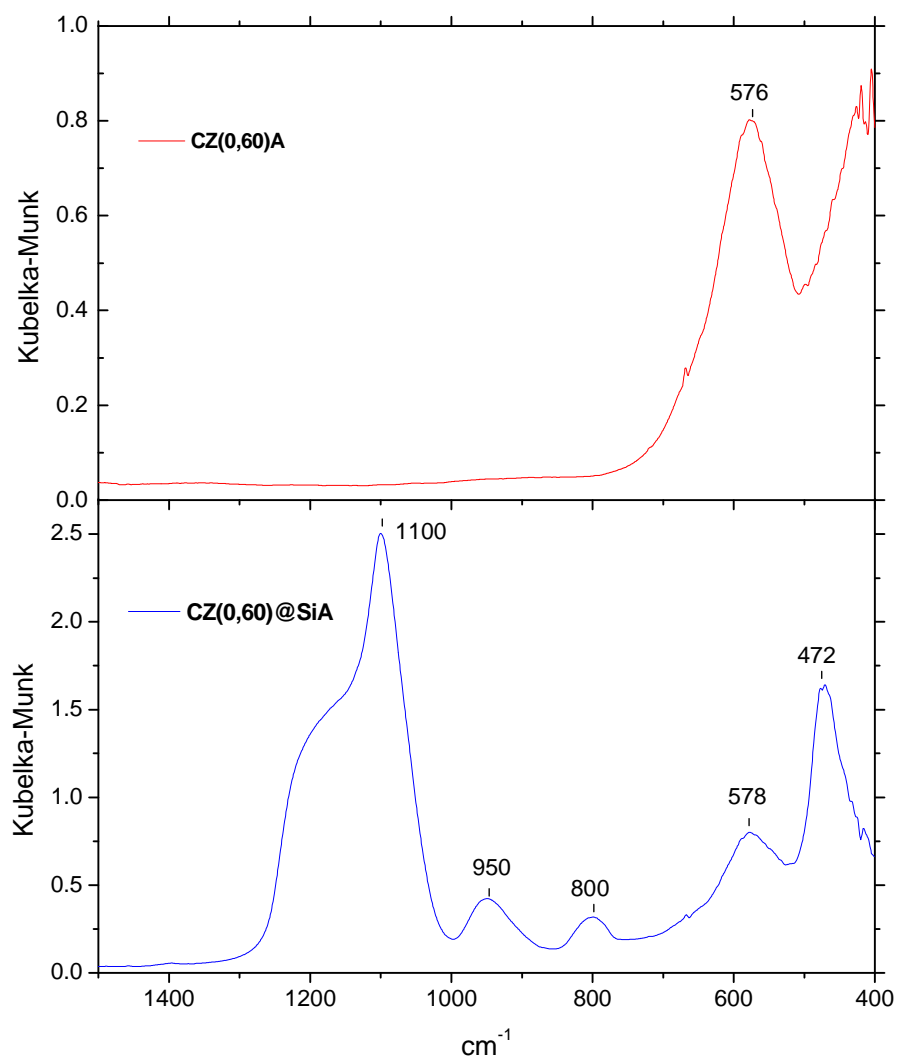
odkazují na přítomnost více než jednoho krystalitu, i když některé částice v pozorovaném souboru obsahují patrně monokrystalické jádro. Mikrostruktura větších jader místy upomíná na srůsty vlastních spinelových částic a na jejich fyzické spojení, než na prostou agregaci separovaných částic, kterou by ostatně měla řešit stabilizace citrátem. Domnělé srůsty pravděpodobně odpovídají residuálním spojům mezi částicemi, které přetrvaly i proces mechanického zpracování. Připomeňme si, že částice mají $d_{XRD} = 16$ nm a během mechanického zpracování proto mohly snad přetrvat i více propojené útvary. Další aspekt, který souvisí s výskytem těchto větších částic, je dán odlišnou frakcionací od postupu užívaného u standardního obaleného manganitu (viz dále).



Obr. 45. TEM snímky nanočástic CZ(0,60)A.

7.4.2. Charakterizace CZ@Si

Na vzorku neobalených částic $\text{Co}_{0,40}\text{Zn}_{0,60}\text{Fe}_2\text{O}_4$ CZ(0,60)A i vzorku obalených částic CZ(0,60)SiA byla změřena IR spektra technikou DRIFTS, jejichž relevantní oblasti jsou uvedeny na obr. 46. U výchozích neobalených částic se v MIR manifestuje pouze jeden absorpční pás náležící spinelové fázi, přičemž se dá přiřadit vibračním souvisejícím s tetraedrickými polohami [233]. Tento absorpční projev se objevuje jako slabý pás i ve spektru obaleného produktu CZ(0,60)@SiA, kde však výrazněji převažují vibrační projevy dané amorfním oxidem křemičitým se silanolovými skupinami. Konkrétní hodnoty vlnočtů těchto vibrací jsou shrnuté a interpretované v tab. 15 a velmi dobře korespondují s hodnotami nalezenými u LS(0,25)@SiG16. Vysvětlení přetrvávání absorpčního pásu magnetických jader v porovnání s LS@Si o srovnatelné tloušťce obalové vrstvy by se mohlo opírat o diskusi intenzity absorpčního pásu CZ v porovnání s LS, ale tato otázka přesahuje rámec základní charakterizace.

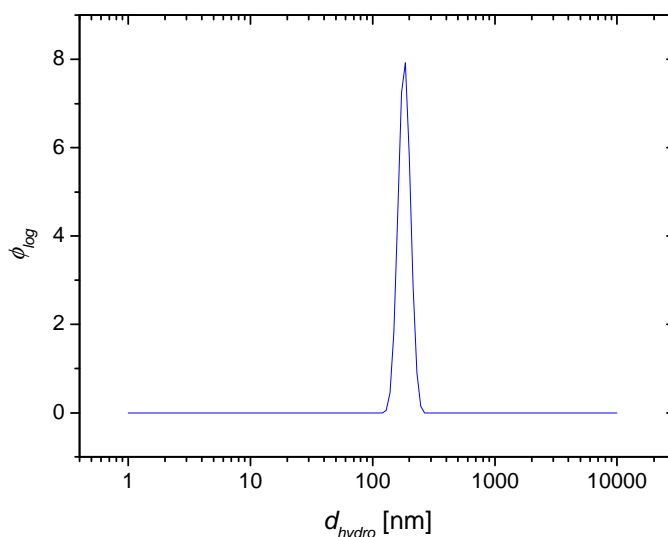


Obr. 46. DRIFTS IR spektra neobaleného a obaleného CZ.

Tab. 15. Vibrační projevy (1500 - 400 cm^{-1}) CZ(0,60)SiA a srovnání s LS(0,25)@SiG16:

| CZ(0,60)SiA | LS(0,25)@SiG16 | Přiřazení |
|------------------------------------|------------------------------------|--|
| $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] | $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] | |
| 1100 | 1108 | $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$ |
| 950 | 953 | $\delta(\text{Si-OH})$ |
| 800 | 802 | $\nu_{\text{s}}(\text{Si-O-Si})$ |
| 578 | - | spinelová fáze $\text{Co}_{0,40}\text{Zn}_{0,60}\text{Fe}_2\text{O}_4$ |
| 472 | 475 | $\delta(\text{Si-O-Si})$ |

Koloidní stabilitu obalených částic **CZ(0,60)SiA** potvrzuje měření hydrodynamické velikosti a příslušná hustota rozdělení DLS signálu ϕ_{log} normovaná pro semilogaritmické vynesení na obr. 47. Základní kvantily rozdělení jsou: $d_{hydro,10} = 157$ nm, $d_{hydro,50} = 182$ nm, $d_{hydro,90} = 211$ nm. Hydrodynamická velikost je větší u tohoto produktu než třeba u **LS(0,25)@SiG16**. Ale vysvětlení podává odlišný postup izolace, tedy odlišná frakcionace surového produktu obou vzorů, během které byly vytříděny částice s jinými sedimentačními vlastnostmi, a tak i s jinou hydrodynamickou velikostí. I kdybychom však postupovali naprosto stejně (prostředí frakcionace a obsah nanočástic), určitý rozdíl ve frakcionaci by byl způsoben samotným rozdílem hustot $\text{Co}_{0,40}\text{Zn}_{0,60}\text{Fe}_2\text{O}_4$ a $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$. Současně se vraťme i ke snímkům z TEM, které jsou rovněž v souladu s větší hydrodynamickou velikostí **CZ(0,60)SiA**.



Obr. 47. PCCS měření hydrodynamické velikosti **CZ(0,60)SiA**.

7.5. Příprava a charakterizace LS(0,25)@SA

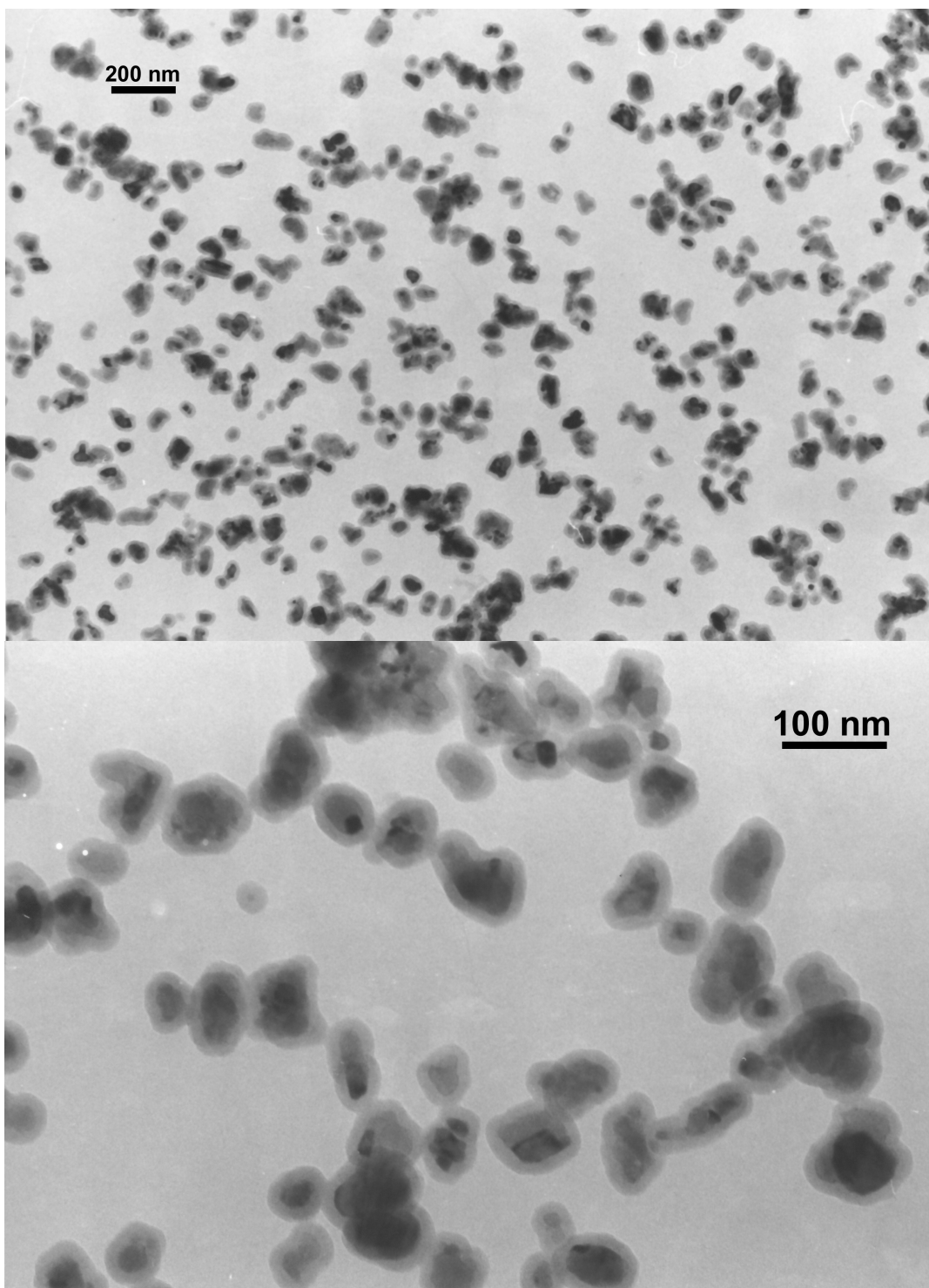
7.5.1. Postup enkapsulace LS pomocí směsi APS a TEOS

Na tomto místě bychom měli zopakovat problémy spojené s optimalizací metody a s vyhodnocením odpovídajících výsledků, které byly již diskutovány v části věnované enkapsulaci pomocí TEOS. Dlužno přiznat že PVP metoda nebyla zdaleka první volbou při pokusech o obalení magnetických nanočástic **LS** křemičitou vrstvou nesoucí aminoskupiny. Nicméně vyhněme se systematickému rozboru experimentů a podmínek, které nevedly ke kýženým produktům, a zmiňme teprve postup, jenž se osvědčil. Tento postup vychází z PVP metody a představuje adaptaci procedury, kterou použil Wu et al [178] při enkapsulaci magnetitu, který byl obalen směsí TEOS a APS, respektive derivátu APS po předchozí stabilizaci částic PVP.

PVP metodu jsme popsali již v 7.3.2. jako další postup pro enkapsulaci pomocí TEOS a na tomto místě byly také diskutovány jednotlivé kroky. Postup zapojující vedle TEOS ještě APS je pouze její variantou, v níž první kroky odpovídající přípravě materiálů před stabilizací, vlastní stabilizace a promývání před enkapsulací byly stejné. Rozdíl nastal v momentě, kdy se do enkapsulačního prostředí zavádělo jen určité množství TEOS a dále APS ve zvoleném poměru k TEOS, přičemž APS bylo přidáno vždy méně než TEOS. V základním postupu se pak používal pro daný objem TEOS V_{TEOS} , který je pro konkrétní navážku částic m_{MN} uveden v tab. 6, čtyřnásobně menší objem APS V_{APS} . Tento konkrétní poměr sice nepředstavuje nějakou kritickou hodnotu, ale obecně bylo při TEM studiích pozorováno, že při velkém podílu APS se zhoršovala morfologie produktu a hojněji se vyskytovaly samotné křemičité vyloučeniny. Postupným snižováním relativního množství APS se naopak morfologie produktu dle TEM zlepšovala a např. při poměru $V_{TEOS} : V_{APS} = 4 : 1$ se již křemičité vyloučeniny prosté magnetických jader v konečném produktu neobjevovaly.

Surový produkt po obalení tímto postupem podobně jako surová směs po enkapsulaci za výlučného použití TEOS obsahoval i frakci větších útvarů, tedy obalené shluky a slepence, a proto se musel také zapojit frakcionační krok. V případě **LS(0,25)@SA**, který na svém povrchu vedle silanolovým skupin vystavuje i aminopropylové řetězce, je koloidní stabilita v čisté vodě o neutrálním pH vyloučená. Naopak se ale ukázalo, že částice se dají dobře

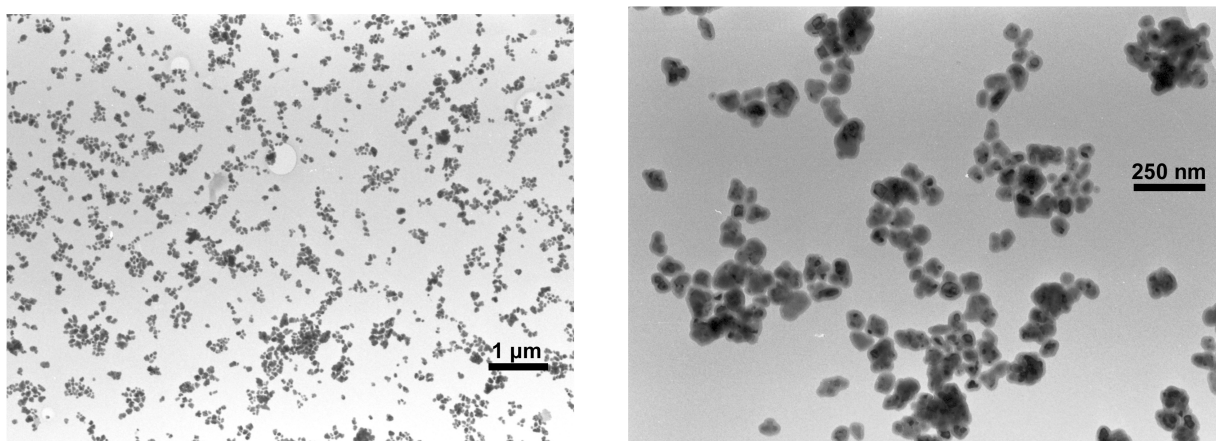
dispergovat v ethanolu, kde vytvářejí koloidně stálou suspensi. Isolační postup nejdříve zahrnoval důkladné čištění surového produktu, aby byly odstraněny příměsi ovlivňující koloidní stabilitu částic a poté byl materiál redispergován v definovaném objemu azeotropního ethanolu. Zde se provedla základní frakcionace prostřednictvím jedné centrifugace a dále se zpracovával pouze získaný supernatant obsahující lehčí frakci.



Obr. 48. TEM snímky produktu LS(0,25)@SAG1

Obr. 48 ukazuje TEM snímky konečného produktu připraveného základním postupem. Morfologie obalených částic je v porovnání s produkty různých enkapsulací využívajících APS velmi dobrá a částice se podobají produktu, jehož TEM snímky použil Wu et al v citované práci [178]. Pro porovnání s typickými výsledky v posledních letech používaných enkapsulačních postupů odkažme na produkty prezentované např. v klasické optimalizační práci Bruce et al (2005) [179], v práci o obalování magnetitu od Campo et al (2005) [184], v článku o obalování nanočástic SPIO (2007) [234] či ve studii, kde se rovněž pokrýval magnetit APS a dále funkcionalizoval (2009) [235]. Odpovídající produkty charakterizuje poměrně nízký stupeň dispergace částic a obecné uplatnění vyšších hybridních útvarů.

Obr. 49 pak zachycuje snímky produktu **LS(0,25)@SAG2**, který byl připraven za stejných podmínek jako **LS(0,25)@SAG1** s tím rozdílem, že surový obalený materiál byl po promytí frakcionován namísto ve 100 ml ethanolu ve 200 ml ethanolu, což zvýšilo výtěžek. Ten se poté pohyboval kolem 10 % (8 - 12 %). Je ale možné, že vyšší zředění dovolilo i poněkud větším útvarům setrvat v supernatantu při zvolených parametrech centrifugace, a tím se mohly do jisté míry zhoršit morfologické charakteristiky separované frakce. Nicméně tento produkt je dle TEM kvalitativně srovnatelný s předchozím produktem **LS(0,25)@SAG1**.



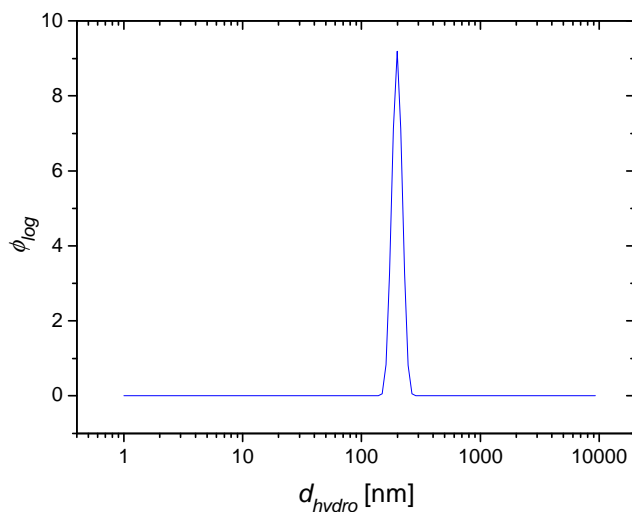
Obr. 49. TEM snímky produktu **LS(0,25)@SAG2**.

V souvislosti s občasným výskytem spojů mezi obalenými částicemi, které se častěji objevovaly u **LS@SA** než u **LS@Si** a které jsou nepochybně tvořené křemičitou hmotou, se musí uvést, že okolnosti jejich vzniku nejsou zcela jasné. Při výskytu obalených částic spojených větší plochou obalu, popřípadě až splývajících částic se dá předpokládat, že vznikají při přípravě produktu, tzn. během vlastní enkapsulace či možná i během komprese obalených částic při separaci odstřediváním v rané fázi zpracování enkapsulační směsi. U

částic, které jsou spojeny pouze malým krčkem či úzkým přechodem, vzniká rovněž v souvislosti se vzhledem těchto téměř výhradně plošných útvarů otázka, jestli se tyto minimální spoje nevytvářejí až při přípravě vzorku pro TEM. Suspense částic se nechává vyschnout na síťkovém nosiči vzorku a při procesu pomalého odpařování na rovné podložce je pochopitelně upřednostňováno dvoudimensionální uspořádání. Lze navrhnout, že dotýkající se nanočástice amorfni křemičité hmoty se silanolovými skupinami, popřípadě i s basickými centry na rozvolněném povrchu by mohly vzhledem k předpokládané reaktivitě částečně kondenzovat. Kondenzační proces by byl obzvláště pravděpodobný v prostředí vysokého vakua elektronového mikroskopu, kde se navíc může uplatnit i působení elektronového svazku. Naopak slepence vznikající během vlastní enkapsulace či v důsledku komprese při odstředování mají typicky trojrozměrné uspořádání, jak je dobře vidět na TEM snímcích surového materiálu před frakcionací. Vyslovení jednoznačného závěru by pochopitelně vyžadovalo provedení podrobných a časově náročných TEM studií.

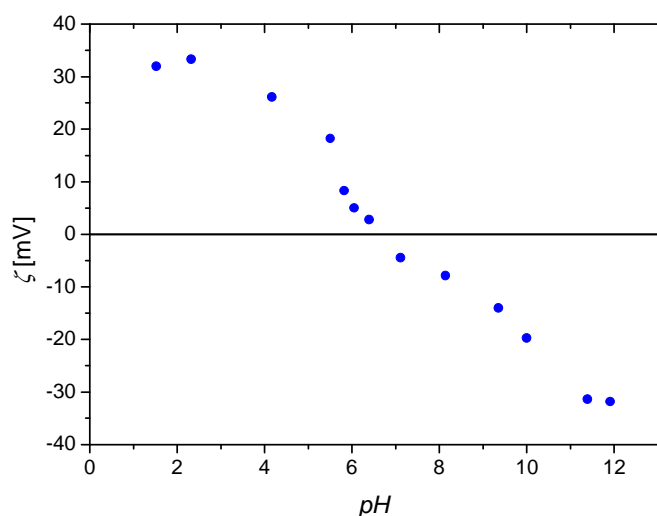
7.5.2. Charakterizace LS(0,25)@SA

Morfologii základního produktu s hybridní křemičitou vrstvou obsahující aminoskupiny **LS(0,25)@SAG1** či **LS(0,25)@SAG2** zachycují TEM snímky, k nimž dodejme, že samotné vzorky pro mikroskopii byly připraveny přímo z ethanolových suspensí. Suspense v ethanolu jsou poměrně stálé a ani při jejich delším uložení nedochází k sedimentaci materiálu. V ethanolové suspensi se také podařilo provést opakovatelná DLS měření. Na obr. 50 je znázorněna hydrodynamická velikost produktu, kterou charakterizují kvantily: $d_{hydro,10} = 175$ nm, $d_{hydro,50} = 199$ nm, $d_{hydro,90} = 227$ nm. Produkt **LS(0,25)@SAG2** vykazuje tedy větší hydrodynamickou velikost než produkty **LS(0,25)@Si**, což je v souladu s TEM snímky, kde lze pozorovat poněkud hojnější výskyt spojených útvarů než u produktů **LS(0,25)@Si**.



Obr. 50. PCCS měření hydrodynamické velikosti **LS(0,25)@SAG2** v ethanolu.

Chování nanočástic **LS(0,25)@SA** ve vodě, kde za neutrálního pH nejsou koloidně stabilní, vysvětluje měření zeta-potenciálu série vzorků **LS(0,25)@SAG2** o různém pH vynesené jako titrační křivka na obr. 51. Isoelektrický bod $IEP = 6,7$ téměř odpovídá neutrálnímu pH, a tudíž jsou částice v čisté vodě skoro elektroneutrální a přirozeně koagulují. Acidobasické vlastnosti a stupeň ionizace povrchu **LS(0,25)@SA** určují totiž jak silanolové skupiny, tak aminoskupiny, z nichž prvé, jak jsme viděli u **LS(0,25)@Si**, jsou kyselé a za neutrálního pH vedou k zápornému nabití povrchu a posouvají IEP k nižšímu pH, zatímco aminoskupiny jsou naopak basické, za neutrálních podmínek se protonizují, a tím přispívají ke kladnému nabití a IEP posouvají do zásadité oblasti. Konkrétní poloha IEP pak závisí na poměru aminoskupin a silanolových skupin, jejichž acidobasické rovnováhy tak determinují zeta-potenciál částice při daném pH. Hodnota IEP určená pro **LS(0,25)@SAG2** charakterizuje pouze produkt, který byl připraven při poměru objemu TEOS a APS 4 : 1 za daných experimentálních podmínek (teplota a složení směsi). U produktů získaných obalováním čistým APS bez TEOS by byl IEP posunut k vyšší hodnotě. Uvedme hodnotu $IEP = 10,5$, kterou určil u nanočástic magnetitu pokrytých pomocí APS Barrera et al [236]. Zajímavé je také uvést hodnotu $IEP = 8,7$, která byla nalezena u nanočástic oxidu křemičitého sekundárně pokrytých APS [237]. Tato nižší hodnota dokládá, že při zvoleném postupu přípravy se zřejmě poněkud více uplatňují kyselé silanolové skupiny, ale stále jsou aminoskupiny relativně četnější než v případě produktu **LS(0,25)@SAG2**.



Obr. 51. Závislost zeta-potenciálu na pH – titrační křivka – suspence **LS(0,25)@SAG2**.

S příslušnou diskusí také souvisí otázka, jaké množství aminoskupin je na povrchu připravených částic, resp. jaké je množství povrchově dostupných aminoskupin. To je důležitý údaj pro případné funkcionalizace, ale také pro srovnávání různě připravených produktů a při optimalizaci enkapsulace. Běžné analytické postupy nedovolují rozlišit tyto aminoskupiny od aminoskupin přítomných v hlubších vrstvách obalu, ale metoda pro stanovení absolutní povrchové koncentrace aminoskupin se objevila v práci Moona et al [238], poté byla adaptována i pro stanovení aminoskupin u nanočástic derivatizovaných APS [239]. Obdobný postup byl využit i pro vzorky **LS(0,25)@SA**. Dle této metody byla nejdříve provedena kovalentní derivatizace povrchově dostupných aminoskupin 4-nitrobenzaldehydem za vzniku iminu, následná hydrolyza v definovaném objemu uvolnila aldehyd a poté se tento UV-chromofor spektrofotometricky stanovil. V optimalizované podobě je analytický postup pro diskutované suspence **LS(0,25)@SA** podrobně popsán v 6.3.3. Opakované provádění analyz **LS(0,25)@SA** však ukázalo několik kritických momentů. Při použití uvedené metody je zejména nezbytné zajistit účinné promývání nanočástic po derivatizačním kroku, a to v několika cyklech, během nichž se odstraní nenávaný chromofor. V celém postupu je také důležité dodržovat kvantitativní separaci částic při odstředování, aby se neztrácel analyt, a konečně při poslední centrifugaci se musí důsledně separovat i residuální koloidní částice, aby absorpční spektrum nebylo zatíženo rozptylem. Z tohoto pohledu také není možné redukovat stanovení na pouhé měření maxima absorpčního pásu 4-nitrobenzaldehydu při $\lambda_{max} = 268$ nm, neboť je nutné proměřit pás v širším rozsahu a posoudit příspěvek potenciálního rozptylu k absorbanci. Ethanolové suspence **LS(0,25)@SA** analyzované na molalitu povrchově

dostupných aminoskupin $c_{\mu}(s\text{NH}_2)$ byly současně podrobeny chemické analýze obsahu Mn, a tím byl současně učena $c_{hm}(\text{Mn})$, hmotnostní koncentrace Mn. Stanovený obsah Mn umožnil pak vztáhnout stanovené molality povrchově dostupných aminoskupin na hmotnost částic. Je třeba si přiznat, že získané údaje $c_{\mu}(s\text{NH}_2)$ jsou však z hlediska správnosti (pravdivosti a přesnosti) zatíženy nezanedbatelnými zdroji nejistot a nadto dá se namítat, že představa absolutní povrchové koncentrace určitých skupin je u obalů nanočástic, byť zdánlivě kompaktních, do jisté míry problematická. Přesto se ukázalo, že stanovení je užitečné při porovnávání různých produktů, má velký potenciál pro optimalizaci enkapsulace využívající APS a patrně i pro sledování residuálních aminoskupin v derivatizovaných produktech. A konečně také umožňuje diskutovat rozsah případné funkcionalizace.

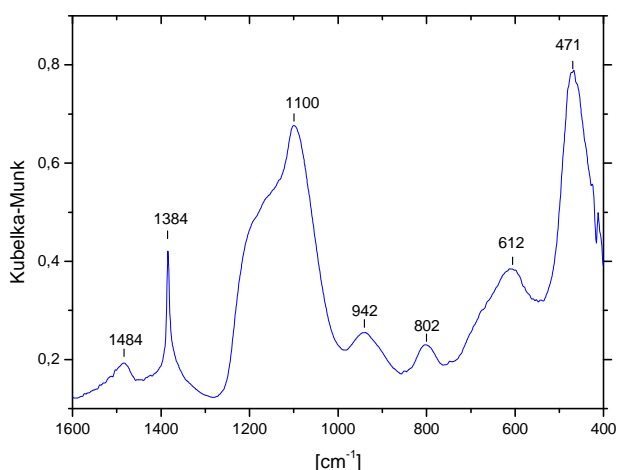
V tab. 16 jsou uvedeny koncentrační údaje $c_{\mu}(s\text{NH}_2)$ a $c_{hm}(\text{Mn})$, ale i vypočítané molární obsahy povrchově dostupných aminokyselin vztahované na hmotnost manganu $c_{\mu,Mn}(s\text{NH}_2)$. Připomeňme, že produkt **LS(0,25)@SAG1** byl připraven s poměrem objemu TEOS a APS 4 : 1, zatímco produkt **LS(0,25)@SAG3** obsahoval 2,5-krát méně APS. Současně se ale také lišil postup izolace obou produktů, neboť **LS(0,25)@SAG3** byl připraven jako méně jemná frakce s výskytem větších částic, ale získaná s vyšším výtěžkem. Z uváděných hodnot $c_{\mu,Mn}(s\text{NH}_2)$ je patrné, že v produktu **LS(0,25)@SAG3** je nižší podíl dostupných aminoskupin než v **LS(0,25)@SAG1**, ale redukce je výraznější než by odpovídalo relativnímu snížení použitého objemu APS. Přispívá k tomu ale i zvolená frakcionace, protože u **LS(0,25)@SAG3** došlo ke snížení poměru povrchu částic ku jejich objemu oproti **LS(0,25)@SAG1**, a tím i k další redukci $c_{\mu,Mn}(s\text{NH}_2)$.

Tab. 16. Koncentrace povrchově dostupných aminoskupin v produktech **LS(0,25)@SA**:

| Vzorek | $V_{\text{TEOS}}/V_{\text{APS}}$ | $c_{\mu}(s\text{NH}_2)$ [$\mu\text{mol/g}$] | $c_{hm}(\text{Mn})$ [mg/ml] | $c_{\mu,Mn}(s\text{NH}_2)$ [$\mu\text{mol/mg}(\text{Mn})$] |
|----------------------|----------------------------------|--|--------------------------------|---|
| LS(0,25)@SAG1 | 4 | 0,011 | 0,047 | 0,23 |
| LS(0,25)@SAG3 | 10 | 0,0077 | 0,15 | 0,051 |

Dále diskutujeme IR spektrum **LS(0,25)@SAG2**, respektive relevantní úsek jeho MIR oblasti změřený technikou DRIFTS. V kapitole 7.3.4. byl popsán projev manganitové fáze **LS(0,25)**, jejíž signál vidíme i ve spektru **LS(0,25)@SAG2**, protože manganitová jádra nejsou úplně odstíněna obalovou vrstvou. Dále se uplatňují již dříve popsané valenční a deformační vibrace amorfního oxidu křemičitého se silanolovými skupinami (viz tab. 17). Nově ale přibývají absorpční pásy při 1484 a 1384 cm^{-1} , které potvrzují přítomnost aminoskupin a methylenových skupin. Širší a slabší pás ležící při vyšším vlnočtu odpovídá

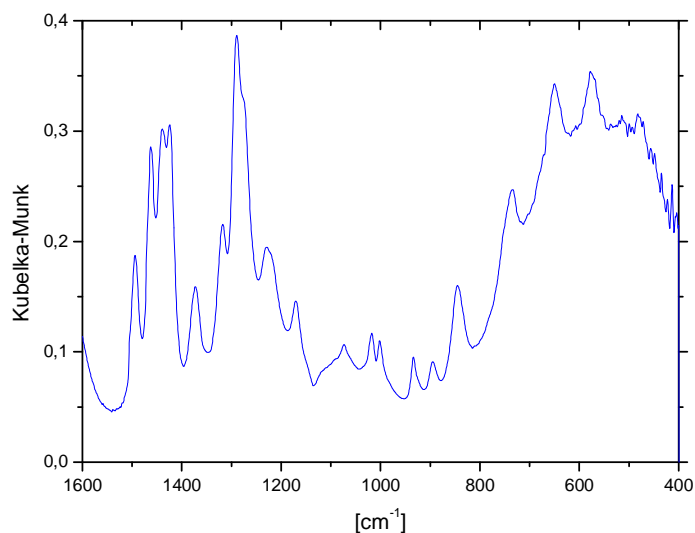
symetrické deformační vibraci protonizovaných aminoskupin $\delta(\text{NH}^{3+})$ [239] a poměrně úzký a intenzivní pás při 1384 cm^{-1} je způsoben nůžkovou vibrací methylenových skupin $\text{sci}(\text{CH}_2)$ [240]. Na obr. 52 je pro porovnání uvedeno IR spektrum PVP K25, z kterého plyne, že polyvinylpyrrolidonové molekuly se ve spektru **LS(0,25)@SAG2** nemanifestují a dle IR se v produktu tedy nevyskytují. Oblast vysokých vlnočtů je problematická kvůli rozsáhlému uplatnění valenčních vibrací silanolových skupin a adsorbované vody.



Tab. 17. Vibrační projevy ($1500 - 400\text{ cm}^{-1}$) **LS(0,25)@SAG2**:

| $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] | Přiřazení |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| 1484 | $\delta(\text{NH}^{3+})$ |
| 1384 | $\text{sci}(\text{CH}_2)$ |
| 1100 | $\nu_{\text{as}}(\text{Si-O-Si})$ |
| 942 | $\delta(\text{Si-OH})$ |
| 802 | $\nu_{\text{s}}(\text{Si-O-Si})$ |
| 612 | $\nu(\text{MnO}_6)$ |
| 471 | $\delta(\text{Si-O-Si})$ |

Obr. 52. IR spektrum **LS(0,25)@SAG2**: technika DRIFTS $1600 - 400\text{ cm}^{-1}$.



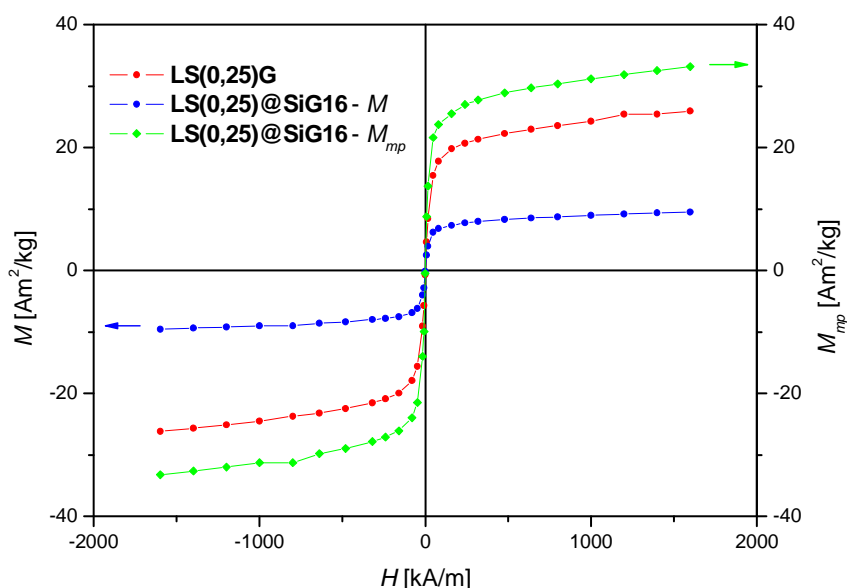
Obr. 53. IR spektrum PVP K25: technika DRIFTS $1600 - 400\text{ cm}^{-1}$.

7.6. Magnetické vlastnosti LS(0,25)@Si

Magnetické vlastnosti nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ s $d_{XRD} = 20$ nm byly v širším kontextu částic o různém složení i částic odlišné velikosti diskutovány v 7.2. Nyní se podíváme na magnetické vlastnosti materiálu **LS(0,25)** s výchozí $d_{XRD} = 20$ nm po jeho enkapsulaci pomocí TEOS. V diskusi věnované enkapsulaci jsme uvedli, že při přípravě obalených částic **LS(0,25)@SiG16** z magnetických jader **LS(0,25)G** byla prokázána změna střední velikosti krystalitů z původní hodnoty 20 nm na 24 nm, která se interpretovala rozpouštěním nejmenších úlomků během působení kyseliny dusičné a citrónové kyseliny před vlastní enkapsulací, popřípadě i vlivem frakcionace před získáním konečného produktu. Je tedy přirozené se ptát, zda se enkapsulované nanočástice magneticky liší od částic výchozích. Hydratovaný oxid křemičitý tvořící obal je diamagnetický, a tudíž lze předpokládat v prvním přiblížení pouze nepřímý vliv na magnetické chování. Z hlediska objemových i specifických veličin se uplatní diamagnetická fáze jako ředící složka, která snižuje hmotnostní obsah vlastní magnetické fáze. Z mikroskopického hlediska lze dále předpokládat, že silná obalová vrstva z oxidu křemičitého sniží význam magnetických interakcí mezi jednotlivými částicemi, a ty se tak lépe budou blížit modelu vzájemně neinteragujících částic. Těmto aspektům se však podrobněji věnovat nebudeme, neboť jsou komplikovány aspekty širokých distribucí fyzikálních vlastností nanočástic.

Obr. 54 zachycuje závislosti specifické magnetizace M na intenzitě magnetického pole H v rostoucím poli při $T = 300$ K u dvou vzorků, u výchozích částic **LS(0,25)G** a u obaleného vzorku **LS(0,25)@SiG16** s vrstvou silnou $e = 19$ nm, který byl získán vysušením původní suspence. U vysušeného materiálu **LS(0,25)@SiG16** se chemickou analysou stanovil obsah Mn, který umožňuje přepočítat jeho specifickou magnetizaci M na specifickou magnetizaci vztaženou na obsah vlastní magnetické fáze M_{mp} , tedy vztaženou na hmotnostní obsah $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$. Této magnetizaci odpovídá poslední křivka na obr. 54. Předpokládaný pokles specifické magnetizace M u **LS(0,25)@SiG16** v porovnání s **LS(0,25)G** je způsoben výše zmíněným ředěním diamagnetickou fází. Při srovnání grafu M_{mp} vzorku **LS(0,25)@SiG16** a grafu $M_{mp} = M$ vzorku **LS(0,25)G** je však zřejmé, že jádra obalených částic vykazují vyšší specifickou magnetizaci než jádra před obalením. Tento výsledek byl dále potvrzen nezávislým měřením stabilní vodné suspence **LS(0,25)@SiG16** se stanoveným obsahem Mn, která poskytuje poměrně nízkou magnetizaci M , ale po jejím přepočtu na M_{mp}

se shoduje s hodnotou nalezenou pro **LS(0,25)@SiG16** při stejném poli, uvážíme-li celkové standardní nejistoty obou hodnot. Hodnoty magnetizací $M_{750kA/m,mp}$ v poli $H = 750 \text{ kAm}^{-1}$ jsou uvedeny spolu s dalšími veličinami v tab. 18. Nalezené zvýšení magnetizace manganitových jader je důsledkem odstranění nejmenších úlomků magnetické fáze, které pouze snižovaly měřenou hodnotu specifické magnetizace vzorku vznikající středováním magnetizací všech částic. Nejmenších částice mají nízkou magnetizaci, což je způsobeno dříve popisovanou destabilizací magnetického uspořádání v důsledku magneticky mrtvé vrstvy na povrchu částic.



Obr. 54. Vývoj M v rostoucím magnetickém poli při 300 K u **LS(0,25)G** a **LS(0,25)@SiG16**.

Tab. 18. Magnetické vlastnosti a základní údaje neobalených a obalených částic:

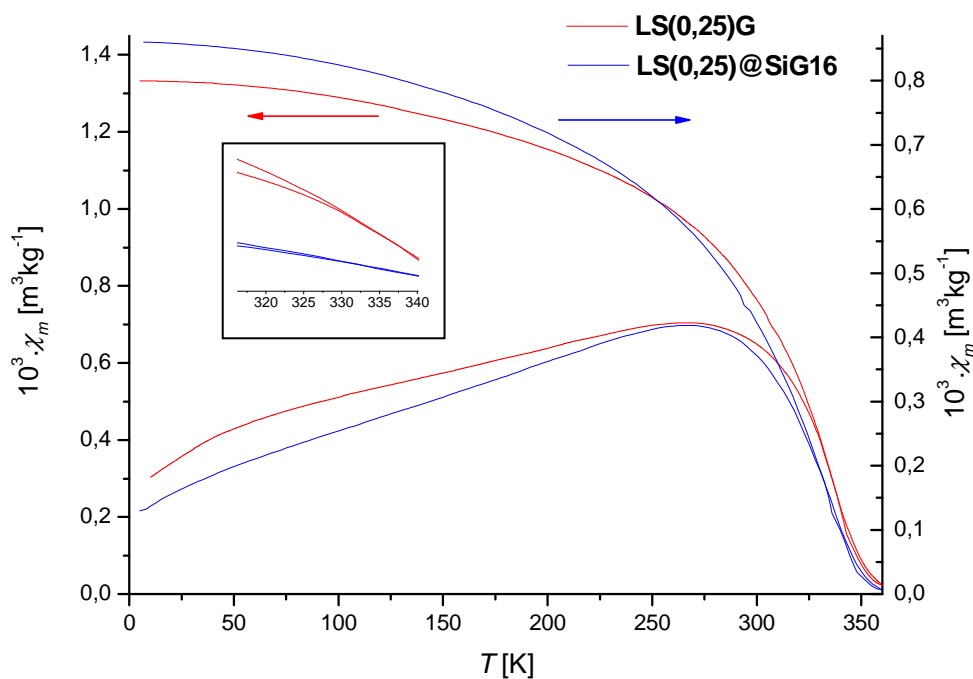
| Vzorek | LS(0,25)G | suchý vzorek LS(0,25)@SiG16 | suspense LS(0,25)@SiG16 |
|---|-----------|--------------------------------|----------------------------|
| 100.w(Mn) [%] | 100 | 6,9 | 0,35 |
| d_{XRD} [nm] | 20 | 24 | - ¹ |
| $T_{C,A}$ [K] | 336 | 335 | - ¹ |
| $M_{750 \text{ kA/m}}$ [$\text{Am}^2\text{kg}^{-1}$] | 24 | 8,8 | 0,49 |
| $M_{750kA/m,mp}$ [$\text{Am}^2\text{kg}(\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3)^{-1}$] | 24 | 31 | 33 |

Pozn: ¹Veličiny nelze nebo nemá smysl stanovovat na kapalně suspenzi (viz vysušený vzorek).

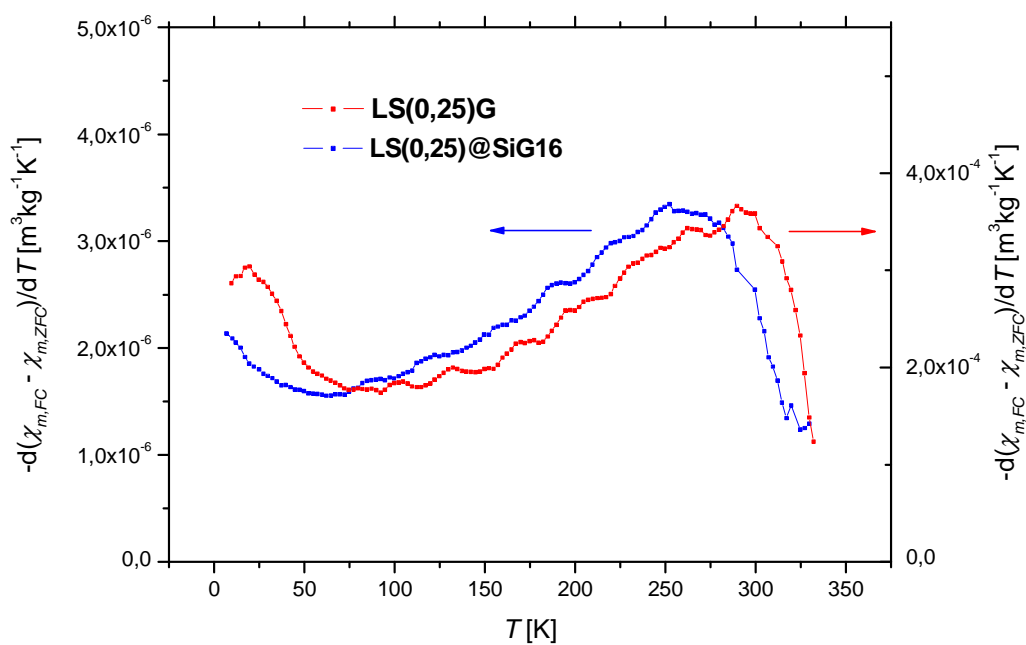
V tab. 18 jsou také uvedeny hodnoty Curieovy teploty stanovené metodou Arrottova grafu, které jsou pro oba vzorky identické, ačkoli se d_{XRD} efektivně zvýšila z 20 na 24 nm. Tato skutečnost je zcela analogická k identitě Curieovy teploty vzorků **LS(0,25ag)A** a **LS(0,25)A4** (=LS(0,25)G), tj. surových nanočástic před mechanickým zpracováním s $d_{XRD} =$

27 nm a nanočástic po mechanickém zpracování s $d_{XRD} = 19$ nm. Shoda jejich T_C byla již důkladně diskutována (viz str. 100) a výklad pro zde pojednávané vzorky je stejný. Během enkapsulace dochází totiž k odstranění především nejmenších úlomků.

Další studium se orientovalo na distribuce velikosti částic. Křivky na obr. 55 představují závislosti měrné susceptibility vzorků **LS(0,25)@SiG16** a **LS(0,25)G** během ZFC-FC měření. Záporně vzatá derivace rozdílu susceptibility určené při FC měření a susceptibility ze ZFC měření, popisující distribuci blokačních teplot, je zachycena na obr. 56. Interpretace závislosti pro neobalené nanočástice, tedy pro částice po mechanickém zpracování, již byla provedena (viz 7.2.2.) na vzorku **LS(0,25)A4** představujícím toliko jinou frakci **LS(0,25)G**. Porovnání příslušné funkce s jejím průběhem u **LS(0,25)@SiG16** dokládá jednak diskutované potlačení frakce nejmenších částic vykazujících T_B při velmi nízkých teplotách a jednak určité posunutí pásu hlavní distribuce směrem k nižším hodnotám T_B , které by se dalo patrně vysvětlit odstraněním frakce největších částic z **LS(0,25)G** během enkapsulační procedury, neboť během separace supernatantu po první centrifugaci surové směsi dochází k odstranění nejtěžších hybridních částic. Avšak relevantní může být i poměrné zmenšení všech částic při působení kyselin v prvotní fázi enkapsulačního postupu. Ve výsledku se tedy původně víceméně bimodální distribuce velikosti krystalitů mění na distribuci s jedním hlavním pásem, který se posouvá k nižším hodnotám. Tato okolnost zůstávala skryta při porovnávání základních magnetických vlastností, ale upozorňuje na ni právě distribuce T_B . Je nám ovšem dodat, že problém je poněkud komplikován změnou základní povahy materiálu, kdy zavedením 20 nm diamagnetické vrstvy kolem jednotlivých částic feromagnetické fáze potlačujeme magnetické interakce, jež mohly měření ovlivnit ZFC-FC ovlivnit. Přesný kvantitativní výklad ovšem vyžaduje další podrobné studium modelových systému s vhodnými vlastnostmi, co se tkne distribucí velikosti a tvarů. Výše uvedené kvalitativní závěry o změně distribuce z původně bimodálního rozdělení na distribuci s jediným pásem a o odstranění největších částic můžeme považovat za platné. Odstranění největších krystalitů dokresluje i teplota ireversibility, při které se ZFC a FC měření rozcházejí. Určení její hodnoty je poněkud problematické vzhledem k obtížím s definicí koincidence obou křivek, ale z výřezu na obr. 55 vyplývá, že je nižší **LS(0,25)@SiG16** než u **LS(0,25)G**. Teplota ireversibility se dá interpretovat jako teplota, od které se již všechny částice nacházejí v superparamagnetickém stavu [241,242], a tak lze dovodit, že v případě **LS(0,25)G** musí distribuce velikosti krystalitů zahrnovat frakci větších částic než u **LS(0,25)@SiG16**.



Obr. 55. Měření typu ZFC-FC ($H = 7,96 \text{ kAm}^{-1}$) u $LS(0,25)G$ a $LS(0,25)@SiG16$.

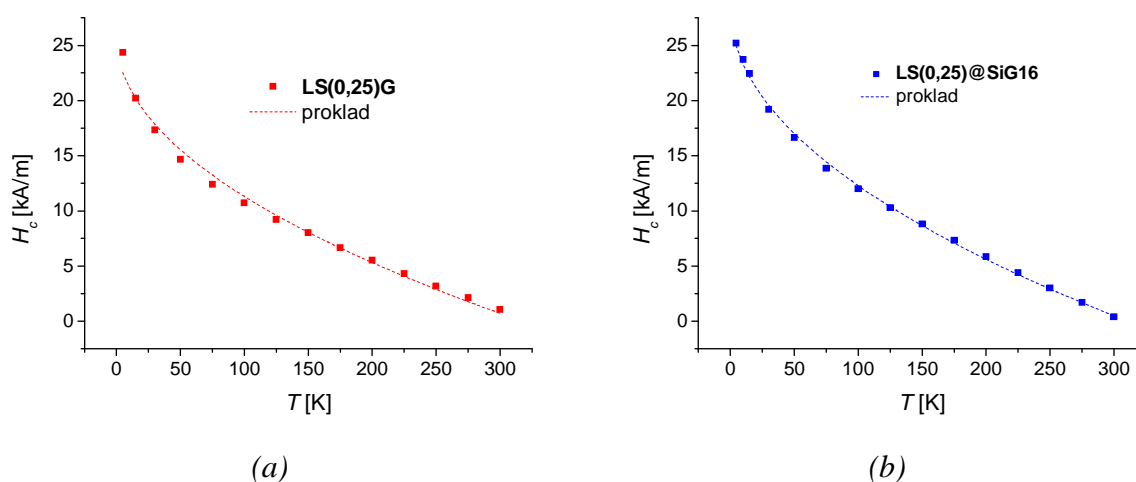


Obr. 56. Derivace rozdílu FC a ZFC susceptibilitě a její závislost na teplotě pro $LS(0,25)G$ a $LS(0,25)@SiG16$.

K dané diskusi patří i vlastní otázka superparamagnetismu a uplatnění dotčeného stavu u sledovaných částic. Samotná ZFC-FC měření těchto poměrně komplikovaných vzorků s širokými distribucemi částic nemohou poskytnout relevantní hodnoty T_B , a i stanovení přijatelného formálního matematického parametru, který ji zastoupí, je problematické. Doplňme ovšem měření koercivity H_c za různých teplot a vynesme její teplotní závislost na obr. 57. Dále uvedme dobře známý vztah pro koercivitu H_c při teplotě T platný pro jednodoménové částice s teplotou blokace T_B :

$$H_c = H_c(0) \left(1 - \sqrt{\frac{T}{T_B}} \right), \quad (38)$$

kde $H_c(0)$ je koercivita při 0 K [243,244]. Nyní se můžeme pokusit data získaná na obou vzorcích proložit regresním modelem na bázi této rovnice. V tab. 19 jsou výsledky obou prokladů včetně standardních nejistot stanovených na základě nelineární regrese (tyto nejistoty však číselně neodpovídají skutečným rozptylům a odpovídajícím standardním nejistotám fyzikálních parametrů $H_c(0)$ a T_B). Z prokladů plyne, že zvolený model lépe vyhovuje naměřené závislosti u **LS(0,25)@SiG16** než závislosti **LS(0,25)G**, přičemž statisticky určené standardní nejistoty upřesňovaných parametrů jsou výrazně vyšší pro **LS(0,25)G**. Z toho vyvodíme rovněž závěr o distribucích velikosti krystalitů. Zatímco jednodušší a užší distribuce velikosti krystalitů u **LS(0,25)@SiG16** lépe odpovídá předpokladům modelu (38), částice **LS(0,25)G** před enkapsulační procedurou, které popisuje spíše bimodální distribuce, se více odchylují od (38). Dále z parametrů T_B můžeme usuzovat, že i za pokojové teploty se určitý a patrně nezanedbatelný podíl částic vzorků **LS(0,25)@SiG16** a **LS(0,25)G** nalézají v superparamagnetickém stavu.



Obr. 57. Závislost koercivity H_c na teplotě: (a) **LS(0,25)G**, (b) **LS(0,25)@SiG16** a proklad regresním modelem (38).

Tab. 19. Nelineární regrese teplotních závislostí H_c u **LS(0,25)G** a **LS(0,25)@SiG16**:

| Vzorek | LS(0,25)G | LS(0,25)@SiG16 |
|-------------------------------|------------------|-----------------------|
| $H_c(0)$ [kAm ⁻¹] | 25,8 ± 0,5 | 28,39 ± 0,18 |
| T_B [K] | 317 ± 8 | 311 ± 3 |
| R^2 | 0,99072 | 0,99874 |

7.7. Magneticky indukované zahřívání a AC hysterezní smyčky

LS(0,25) a LS(0,25)@Si

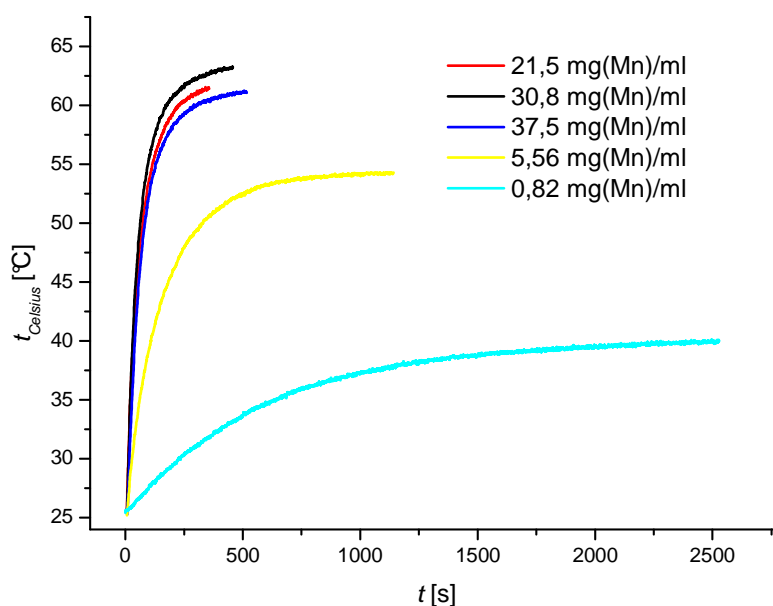
V první části budou probrány experimenty s magneticky indukovaným zahříváním vodných disperzí magnetických částic, které byly provedeny v cívce střídavého magnetického pole o frekvenci $\nu = 105$ kHz a amplitudě intenzity magnetického pole $H_{max} = 70$ kAm⁻¹. V těchto experimentech se sledovala teplota zvyšující se vlivem disipace energie AC pole magnetickými nanočásticemi po jeho zapnutí. Nejdříve však bude nutné provést rozbor vlivu parametrů experimentálního uspořádání na získané výsledky. Přitom se ukáží kritické momenty způsobující, že hodnoty specifických absorpčních výkonů SAR_T jsou ukazatele spíše vhodné ke vzájemnému srovnávání vzorků měřených na téže aparatuře než hodnoty obecně reprodukovatelné a spolehlivě použitelné ke vzájemnému porovnávání výsledků pocházejících z různých experimentálních uspořádání. Z tohoto pohledu se raději vyhneme diskusi získaných výsledků v kontextu již publikovaných hodnot a pouze zdůrazníme s případným odkazem na souborné články, které se patřičně diskusi věnují (např. [1]), že topné výkony studovaných nanočástic **LS(0,25)** jsou poměrně vysoké a překonávají řadu jiných materiálů. V další kapitole ukážeme, že hodnoty SAR_T stanovené za laboratorní teploty na suspensi nanočástic jsou po příslušných přepočtech ve shodě s výsledky AC hysterezních smyček, které byly změřeny na kompaktních vzorcích magnetického materiálu v poli o $\nu = 100$ kHz a $H_{max} = 16,7$ kAm⁻¹.

7.7.1. Magneticky indukované zahřívání

7.7.1.1. Vliv parametrů experimentálního uspořádání

Na obr. 58 jsou uvedeny závislosti teploty $t_{Celsius}$ na čase t pro disperse magnetických nanočástic **LS(0,25)G** v agarovém gelu připraveném ze suspense částic ve vodném roztoku

agarosy o koncentraci 5 % hmotnostních. Význam agarové složky spočíval toliko ve stabilizaci magnetických nanočástic, aby nedocházelo k jejich úplné agregaci a sedimentaci. Agarosový gel s nanočásticemi tedy představoval vodnou dispersi částic, která se vzhledem k obsahu agarosy blížila svou měrnou tepelnou kapacitou měrné tepelné kapacitě vody, jak již ukázal Vasseur ve své disertační práci [245]. Jednotlivé disperse na obr. 58 o rozdílných koncentracích částic se výrazně liší časovými průběhy teploty, což samozřejmě očekáváme, protože topný výkon by měl být přímo úměrný obsahu magnetické fáze, ať již uvažujeme produkci tepla formou hysterezních ztrát feromagnetické fáze či Néelovým mechanismem. Znepokojující jsou ovšem různé teploty ustáleného stavu, jehož závislosti pro rozdílné koncentrace dosahují. Samotné hodnoty maximálních dosažených teplot indikují, že se nejedná o teplotu přechodu do paramagnetického stavu, ale že měřicí systém není zcela adiabatický a pozorovaný ustálený stav odpovídá vyrovnaní tepelných ztrát a topného výkonu vzorků.



Obr. 58. Experimenty s magneticky indukovaným zahříváním vodných dispersí **LS(0,25)G** o různém obsahu magnetické fáze vyjádřeném hmotnostní koncentrací Mn.

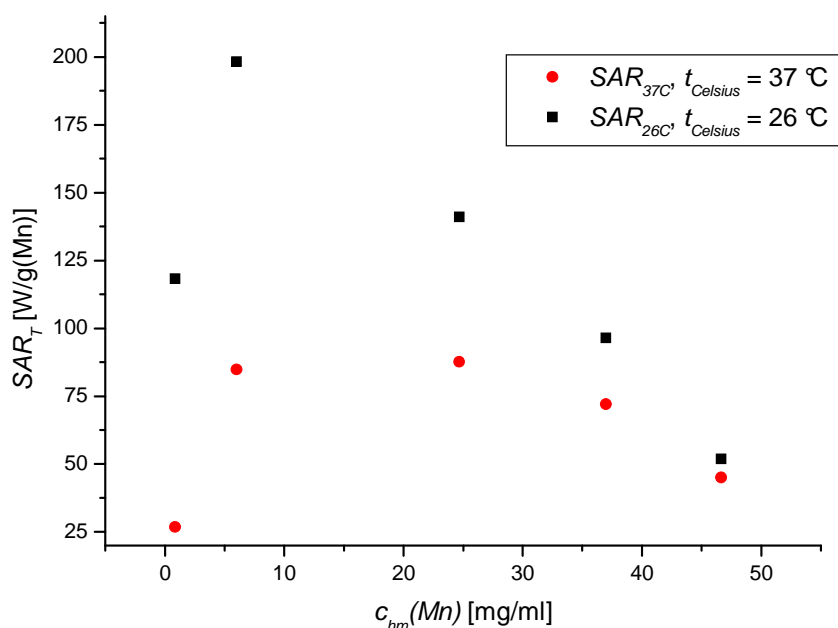
Pokud si specifický absorpční výkon SAR_T při teplotě T zavedeme obvyklým způsobem dle rovnice (39) a vztáhneme-li jej na obsah magneticky aktivního prvku a aproximujeme-li isobarickou tepelnou kapacitu systému $C_p(T)$ součinem hmotnosti vodné disperse m a specifické isobarické tepelné kapacity vody $c_p(H_2O, T)$ při teplotě T , dostaneme:

$$SAR_T = \frac{C_p(T)}{w(Mn)m} \frac{dT}{dt} \Big|_T = \frac{c_p(H_2O, T)}{w(Mn)} \frac{dT}{dt} \Big|_T, \quad (39)$$

kde $w(\text{Mn})$ obnáší hmotnostní zlomek manganu ve vzorku. Tím jsme získali předpis pro numerický výpočet SAR_T z naměřených závislostí. Uváděné hodnoty SAR_T se získali tak, že závislost byla v okolí dané teploty T lokálně proložena vhodnou funkcí, aby se vyhladily fluktuační (tento specifický přístup k vyhlazování šumu je v daném případě vhodnější než použití základních numerických algoritmů) a mohla se stanovit derivace. V tab. 20 jsou uvedeny hodnoty SAR_{26C} při 26 °C, což odpovídá začátku experimentu, ale také SAR_{37C} při 37 °C, který je zajímavý pro magneticky indukovanou hypertermii s ohledem na teplotu lidského těla. Obě tyto hodnoty se mění v závislosti na koncentraci vzorku. Na obr. 59 jsou pak hodnoty vyneseny v závislosti na $c_{hm}(\text{Mn})$.

Tab. 20. Magneticky indukovaný ohřev dispersí LS(0,25)G o různých koncentracích:

| $c_{hm}(\text{Mn})$ [mgml^{-1}] | SAR_{26C} [$\text{Wg}(\text{Mn})^{-1}$] | SAR_{37C} [$\text{Wg}(\text{Mn})^{-1}$] | t_{II} [$^{\circ}\text{C}$] |
|--|---|---|---------------------------------|
| 37,5 | 45 | 52 | 61,7 |
| 30,8 | 72 | 63 | 63,5 |
| 21,5 | 87 | 62 | 61,8 |
| 5,56 | 85 | 54 | 54,3 |
| 0,820 | 27 | 40 | 40,3 |



Obr. 59. Hodnoty SAR_T v závislosti na koncentraci Mn ve vodných dispersích LS(0,25)G.

Předně je z obr. 59 zřejmé, že hodnoty SAR_{37C} jsou menší než hodnoty SAR_{26C} , neboť s rostoucí teplotou klesají specifické hysterzní ztráty vzorku magnetických nanočástic. Tento pokles má ve skutečnosti složitější charakter. Jednak s rostoucí teplotou u částice dané

velikosti klesá magnetizace kvůli většímu tepelnému pohybu a jednak s rostoucí teplotou některé částice ve vzorku přecházejí do paramagnetického stavu, protože Curieova teplota vzorku představuje určitou střední hodnotu její distribuce dané distribucí velikosti částic. Tak některé malé částice přejdou do paramagnetického stavu dříve než „průměrná“ částice daného vzorku, čímž také klesá topný výkon. Zcela podobně s ohledem na distribuci velikosti se pak uplatňuje i přechod do superparamagnetického stavu při různých hodnotách T_B nižších než T_C , a tím se také mění efektivní topný výkon. Vliv velikosti částic na T_C byl již podrobně diskutován (viz 7.2.2.), ale připomeňme, že např. Curieova teplota vzorku **LS(0,25)A6** s $d_{XRD} = 11$ nm byla $T_{C,A} = 304$ K, resp. $T_{C,FC} = 315$ K. Mnohem zajímavější je ale závislost SAR_T na obsahu magnetických částic ve vzorku. Pokud srovnáme SAR_T vzorku silně zředěného o koncentraci $c_{hm}(Mn) = 0,820$ mgml⁻¹ se vzorkem o koncentraci $c_{hm}(Mn) = 5,56$ mgml⁻¹, ale i samotné průběhy teplot, vyplývá, že zředěný vzorek je výrazně ovlivněn tepelnými ztrátami neadiabatického měřicího prostoru do okolí. Pro zředěný vzorek proto vypočítaná hodnota SAR_T příliš nesouhlasí se skutečnými specifickými hysterezními ztrátami P_{FM}/ρ , které patrně lépe dokládá koncentrovanější vzorek. Na druhou stranu pro vyšší obsahy magnetické fáze vidíme, že stanovené hodnoty SAR_T klesají, což je z hlediska možného vlivu tepelných ztrát určených geometrií experimentálního uspořádání a gradientem teplot nepochopitelné. Toto pozorování lze vysvětlit závislostí topných výkonů na agregačním stavu částic, resp. na stupni jejich dispergace. S rostoucím obsahem neobalených magnetických částic roste jejich agregace, která pravděpodobně snižuje pozorované hodnoty SAR_T . Zvýšení topné účinnosti v případě dobré dispergace oproti agregovaným vzorkům bylo nedávno publikováno na příkladu nanočástic CoFe₂O₄ Kimem et al [246]. Tato pozorování, tedy vliv tepelných ztrát a vliv koncentrace částic, na hodnoty SAR_T měřené na neobalených částic vedou k tomu závěru, že měření neobalených částic poskytuje pouze hodnoty zajímavé pro srovnávací studie provedené za týchž podmínek a zejména, pokud se povede potlačit tepelné ztráty.

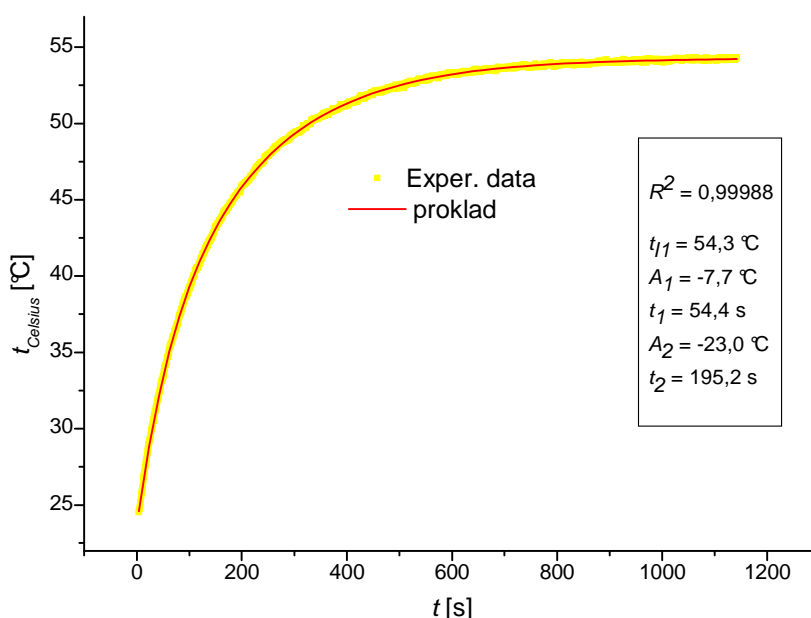
Dále se zabývejme vlastním průběhem teploty v závislosti na čase a možnostmi prokladu analytickou funkcí, který se ukáže vhodným pro vysvětlení principu autoregulace a který umožňuje analytické vyjádření jednoho neznámého členu v matematického modelu neadiabatického systému magnetických částic v AC poli. V literatuře se při popisu časového průběhu teploty v těchto experimentech objevuje jednoduchá exponenciální závislost [120]:

$$t_{Celsius} = t_{10} - A_0 \exp\left(-\frac{t}{t_0}\right), \quad (40)$$

kde t_{l0} , A_0 , a t_0 představují regresní konstanty, které se dají poměrně jednoduše interpretovat. Tato empirická rovnice nevystihuje naměřené závislosti na obr. 58 zcela dobře, a proto z důvodů výše uvedených navrhneme popsat naměřené závislosti lineární kombinací dvou funkcí použitých v (40):

$$t_{Celsius} = t_{l1} - A_1 \exp\left(-\frac{t}{t_1}\right) - A_2 \exp\left(-\frac{t}{t_2}\right), \quad (41)$$

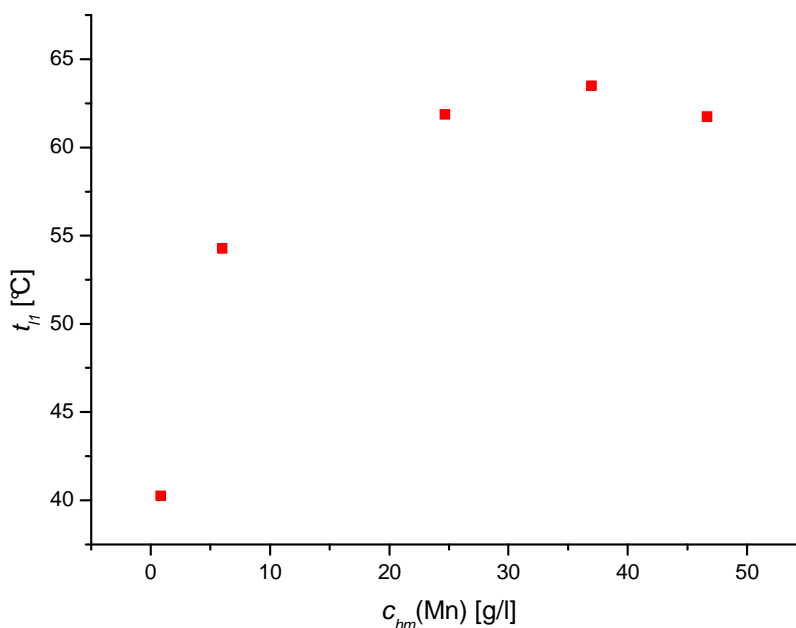
kde t_{l1} , A_1 , t_1 , A_2 , t_2 označují regresní konstanty získané nelineární regresí. Příklad použití takového prokladu je uveden na vzorku **LS(0,25)G** o obsahu $c_{hm}(Mn) = 5,56 \text{ mgml}^{-1}$ na obr. 60.



Obr. 60. Proklad časového průběhu teploty vodné disperse u **LS(0,25)G** o obsahu $c_{hm}(Mn) = 5,56 \text{ mgml}^{-1}$ s využitím regresního modelu (41).

Výše navržený regresní model nyní použijme pro všechny vzorky **LS(0,25)G** a podívejme se vývoj limity teploty $t_{Celsius}$ v nekonečnu, tedy na t_{l1} , jejíž hodnoty byly již uvedeny v tab. 20 a jsou vyneseny na obr. 61. Závislost této limity na koncentraci je pozoruhodná zejména při porovnání se závislostmi obou vypočítaných hodnot SAR_T na koncentraci. Limita t_{l1} roste a posléze dosahuje hodnoty něco přes 60 °C, kde se alespoň v sérii vzorků o koncentracích 21,5 – 37,5 mg(Mn)ml^{-1} víceméně stabilizuje. Víme, že význam tepelných ztrát roste s gradientem teploty mezi systémem a jeho okolím. Proto vliv tepelných ztrát pro daný vzorek bude největší při hodnotách t_{l1} , a tím také bude vyšší než třeba při 26 °C. Naproti tomu můžeme předpokládat, že agregace částic s teplotou neporoste,

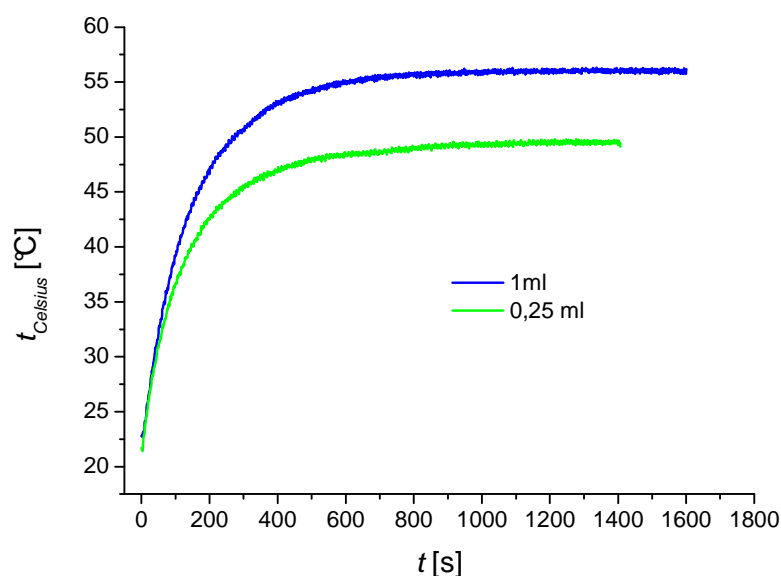
spíše naopak. Poté je přirozené, že tepelné ztráty v případě vzorku s $5,56 \text{ mg(Mn)ml}^{-1}$ jsou při jeho $t_{II} = 54 \text{ }^\circ\text{C}$ již tak velké, že dané množství částic neposkytuje takový topný výkon, jaký poskytne při stejné teplotě vzorek o obsahu $21,5 \text{ mg(Mn)ml}^{-1}$, třebaže při teplotě $36 \text{ }^\circ\text{C}$ topný výkon méně koncentrovaného vzorku byl díky menší agregaci vyšší než u vzorku o obsahu $21,5 \text{ mg(Mn)ml}^{-1}$. Tyto úvahy rovněž vysvětlují odlišnosti ve změnách SAR_T při změně teploty pro různě koncentrované vzorky na obr. 59.



Obr. 61. Hodnoty teploty určené v limitě regresního modelu (41) pro $t \rightarrow \infty$ v závislosti na obsahu magnetických nanočástic.

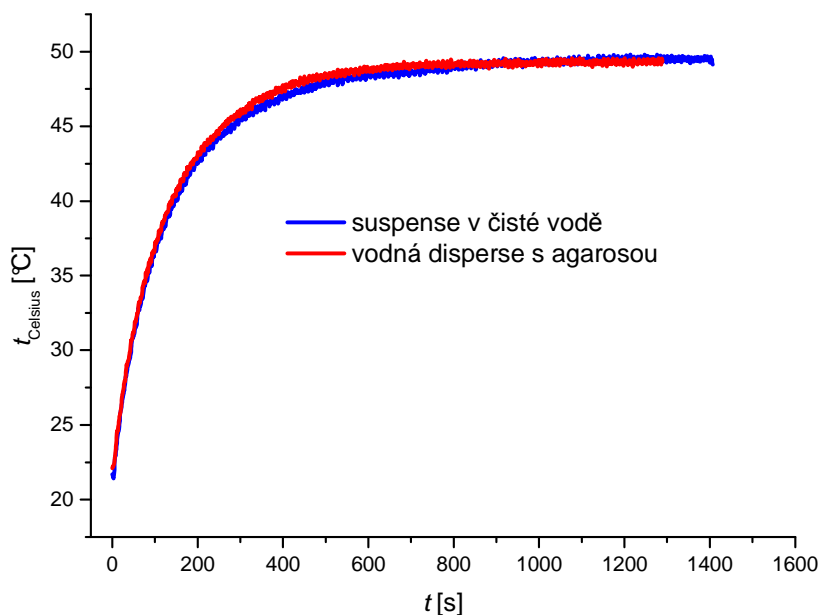
Při dalším studiu magneticky indukovaného zahřívání se zaměříme na koloidně stabilní suspence nanočástic obalených oxidem křemičitým, u nichž se neuplatňuje agregace díky coulombické repulsi částic. Takové suspence není potřeba stabilizovat v agarovém gelu a lze s nimi experimentovat přímo v čisté vodě. Důležitým parametrem experimentálního uspořádání je objem použitého vzorku. Na obr. 62 jsou výsledky dvou experimentů, kdy se sledovala teplota ve vzorku o objemu 1 ml, jak je tomu standardně v této práci, ale také ve vzorku o objemu 0,25 ml. V menším objemu je dosažena nižší maximální teplota a rovněž s rostoucí teplotou roste rozdíl směrnic obou závislostí, přičemž u menšího objemu klesá směrnice s teplotou rychleji. Je tak zřejmé, že v případě objemu suspence 0,25 ml, který sice vyměňuje teplo s okolím přes menší plochu než objem 1 ml, je relativní vliv tepelných ztrát vyšší, neboť odpovídající topný výkon vzorku je příliš nízký. Z těchto poznatků také vyplývá, že velmi nízké hodnoty SAR_T publikované v práci Prasada et al [247] věnované $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

a jeho směsi s Al-substituovaným maghemitem nemohou být srovnávány s výsledky našich studií, neboť dotčené hodnoty i když byly změřeny na stejné aparatuře, pocházejí z dispersí o objemu 0,25 ml, a tak jsou mnohem více zatíženy tepelnými ztrátami. Tento příklad názorně vystihuje okolnost, proč jsme resignovali na srovnávání našich výsledků s publikovanými daty, která byla navíc většinou získána za zcela odlišných podmínek.



Obr. 62. Magneticky indukované zahřívání suspence **LS(0,25)@SiG16** o různém objemu a stejném obsahu $c_{hm}(Mn) = 3,5 \text{ mgml}^{-1}$

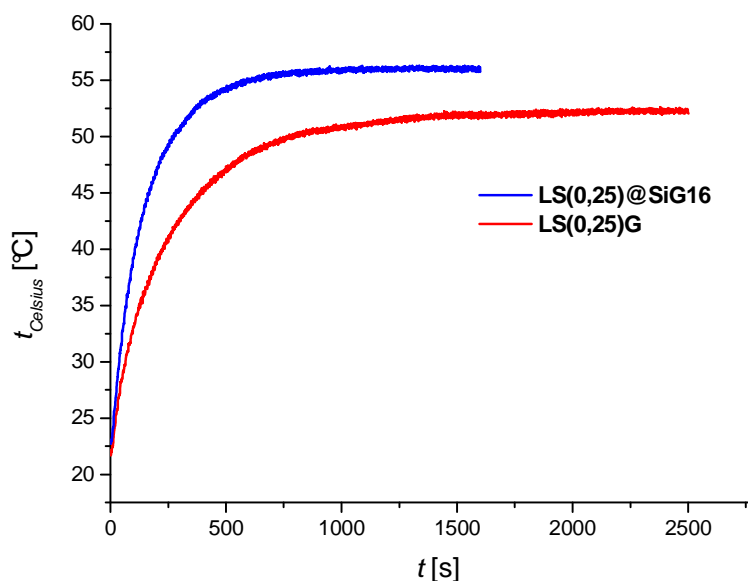
Na obr. 63 je uvedeno další srovnání založené na měření obalených nanočástic **LS(0,25)@SiG16**, kdy se provádělo měření v čisté vodě a měření vodné disperse (gelu) téhož vzorku stabilizovaného agarem o koncentraci 2,5 % hmotnostních. Z těchto měření zřetelně plyne, že se za daných podmínek topné výkony **LS(0,25)@Si** o $d_{XRD} \approx 20 \text{ nm}$ neliší, ať jsou měřeny v agarovém gelu či v čisté vodě.



Obr. 63. Magneticky indukovaný ohřev suspence **LS(0,25)@SiG16** a vodné disperse téhož vzorku stabilizovaného agarosou o stejném obsahu $c_{hm}(Mn) = 3,5 \text{ mgml}^{-1}$ v objemu 0,25 ml.

7.7.1.2. Srovnání **LS(0,25)** a **LS(0,25)@Si**

V souvislosti s obalováním magnetických nanočástic a s již dříve popsányi změnami magnetických vlastnostmi vzniká přirozená otázka, zda a popřípadě jak se změní topné výkony obalených částic oproti částicím neobaleným. Na obr. 64 jsou zachyceny časové průběhy teplot, které byly změřeny u výchozího neobaleného materiálu **LS(0,25)G** ve vodné dispersi stabilizované agarovou složkou a obalených částic **LS(0,25)@SiG16** v čisté vodě při magneticky indukovaném zahřívání za zcela stejných podmínek, a to při obsahu $c_{hm}(Mn) = 3,5 \text{ mgml}^{-1}$ v obou vzorcích. Vývoj teploty v závislosti na čase u **LS(0,25)@SiG16** charakterizuje velmi ostrý vzrůst následovaný stabilizací teploty při určité maximální teplotě T_m , zatímco nárůst u **LS(0,25)G** není tak prudký a teplota T_m je nižší. Připomeňme, že hodnoty T_C stanovené u obou vzorků byly identické. Nižší hodnota T_m u **LS(0,25)G** odpovídá níže ležícímu ustálenému stavu určenému rovností topného výkonu a tepelných ztrát. Jejich absolutní hodnoty musejí být v případě **LS(0,25)G** nižší než u **LS(0,25)@SiG16**, o čemž také svědčí rozdíl ve směrnicih obou závislostí.



Obr. 64. Magneticky indukované zahřívání suspence **LS(0,25)@SiG16** a vodné disperse neobalených částic **LS(0,25)G** stabilizovaných agarosou (2,5 % hm.).

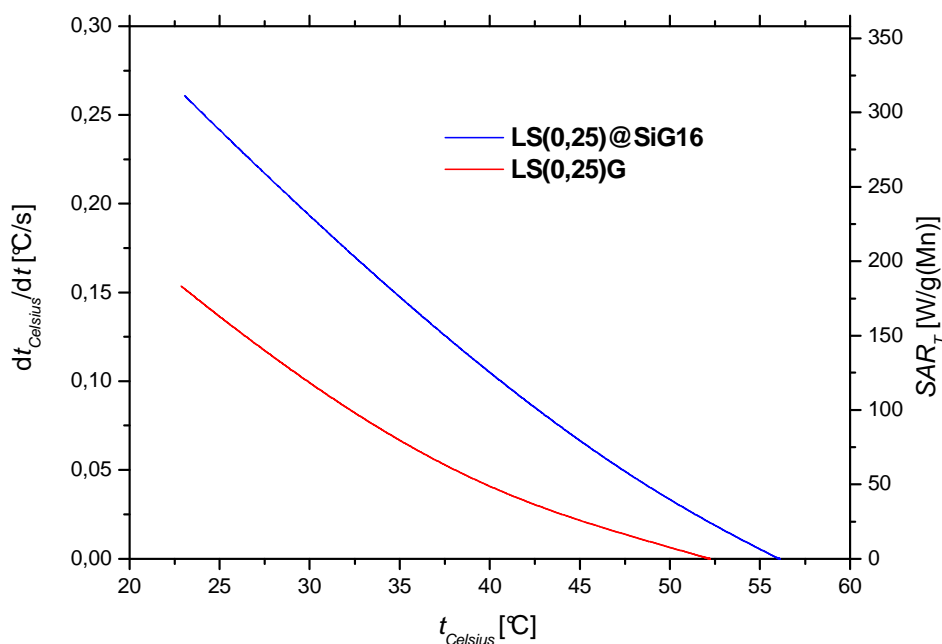
Základní hodnoty charakterizující oba experimenty shrnuje tab. 21, kde je zřejmá výrazně vyšší topná účinnost obaleného produktu **LS(0,25)@SiG16**. Výše jsme ukázali, že vliv zředěné agarosy používané ke stabilizaci neobalených nanočástic je zanedbatelný. Vyšší topný výkonem magnetických částic ve vzorku **LS(0,25)@SiG16** je fenomenologicky dán především větší hodnotou specifické magnetizace, které vede k větším hysterezním ztrátám. Z hlediska prokázaných distribucí velikostí jader je to způsobeno zejména odstraněním nejjemnější frakce, která efektivně snižovala specifickou magnetizaci i d_{XRD} . Nadto se nesmí opomenout případný vliv agregace u neobalených částic ve vodné dispersi **LS(0,25)G**, jež může synergicky zvětšovat pozorovaný rozdíl, avšak zvolený obsah magnetických částic by měl být z hlediska snižování topného výkonu agregací poměrně bezpečný.

Tab. 21. Magneticky indukované zahřívání disperse neobalených a obalených částic:

| Vzorek | $SAR_{37\text{ °C}}$ [$\text{Wg}^{-1}(\text{Mn})$] | $SAR_{25\text{ °C}}$ [$\text{Wg}^{-1}(\text{Mn})$] | T_m [K] |
|-----------------------|--|--|-----------|
| LS(0,25)G | 64 | 178 | 325 |
| LS(0,25)@SiG16 | 147 | 269 | 329 |

Dále s použitím regresního modelu (41) pro oba vzorky vypočítejme časové derivace teploty, které budou sice funkcemi času, ale pomocí téže výchozí rovnice (41), jež je implicitním předpisem pro čas v závislosti na teplotě, je můžeme transformovat na funkce teploty. Na obr. 65 jsou zmíněné derivace vyneseny už jako funkce teploty spolu s topným výkonem SAR_T , který po zanedbání teplotní závislosti specifické isobarické tepelné kapacity

vody $c_p(\text{H}_2\text{O})$ představuje lineární zobrazení této derivace, tedy lineární transformaci osy pořadnic. Zmíněná aproximace $c_p(\text{H}_2\text{O}, T)$ konstantou (střední hodnotou) je v daném teplotním intervalu zcela přijatelná, neboť $c_p(\text{H}_2\text{O}, 25^\circ\text{C}) = 4,1796 \text{ JK}^{-1}\text{g}^{-1}$ a $c_p(\text{H}_2\text{O}, 55^\circ\text{C}) = 4,1824 \text{ JK}^{-1}\text{g}^{-1}$ [248]. Z obr. 65 je dobře patrné, jak s rostoucí teplotou postupně klesá její nárůst, resp. topný výkon částic, jenž při dosažení určité teploty nabývá nulové hodnoty. Ovšem při případném poklesu teploty SAR_T opět vzrůstá. Tyto závislosti ilustrují unikátní mechanismus autoregulace topného výkonu **LS(0,25)**.



Obr. 65. Závislost časové derivace teploty a SAR_T na teplotě.

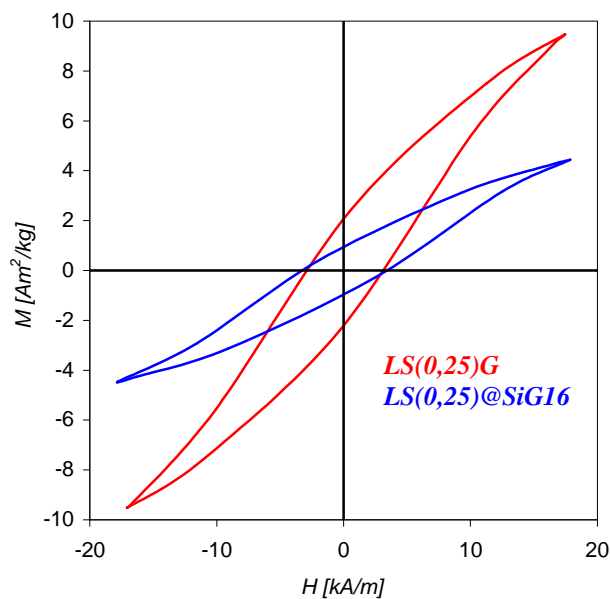
Zbývá ještě doplnit, že popsané snižování topného výkonu s rostoucí teplotou bylo pozorováno nejen u nanočástic tuhého roztoku $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$, ale i u dalších podobných oxidů. Tak Shlyakhtin et al publikoval v roce 2007 příspěvek [249] zabývající se manganitými $\text{La}_{1-x}\text{Na}_x\text{MnO}_3$, resp. $\text{La}_{1-x}\text{Ag}_x\text{MnO}_3$, u jejichž suspenzí pozoroval podobný vývoj teploty v AC magnetickém poli, který vysvětloval Curieovou teplotou ležící v oblasti $40\text{--}45^\circ\text{C}$, resp. $42\text{--}52^\circ\text{C}$.

7.7.2. AC hysterezní smyčky

Měření teploty zředěných suspenzí magnetických částic v AC magnetickém poli, které vedlo ke stanovení hodnot SAR_T , doplníme metodicky odlišnou studií, která by však měla poskytnout podobné výsledky. Příslušnou metodou je přímé měření střídavých hysterezních smyček v AC poli [189]. Kombinací rovnic (6) a (7), pokud tedy předpokládáme, že se SAR_T omezuje na hysterezní ztráty, dostáváme:

$$SAR_T = P_{FM,Mn} = \frac{P_{FM}}{w(Mn)\rho} = \frac{\mu_0 V}{w(Mn)\rho} \oint M_V dH = \frac{\mu_0 V}{w(Mn)} \oint M dH, \quad (42)$$

kde jsme tímto způsobem stanovené hysterezní ztráty vztažené na hmotnostní obsah Mn formálně označili jako $P_{FM,Mn}$. Hysterezní smyčky vzorků **LS(0,25)G** a **LS(0,25)@SiG16** změřené v AC poli o $\nu = 100$ kHz a $H_{max} = 16,7$ kAm⁻¹ při 25 °C jsou uvedeny na obr. 66. Bezprostřední porovnání s hodnotami stanovenými během experimentů s magneticky indukovaným zahříváním dle vztahu (42) možné není, protože obě studie byly prováděny v poli jiných parametrů. Z rovnice (42) však vyplývá lineární závislost $P_{FM,Mn}$, resp. SAR_T na frekvenci. Jejich závislost na amplitudě intenzity magnetického pole je obecně nelineární, ale konkrétní hodnoty H_{max} leží v rozsahu, pro něž byl v předcházející studii prokázán lineární průběh [121]. Tyto skutečnosti ospravedlňují přepoččet hodnot SAR_{25C} stanovených během magneticky indukovaného zahřívání na korigované hodnoty SAR_C předpokládající pole s parametry $\nu = 100$ kHz a $H_{max} = 16,7$ kAm⁻¹. V tab. 22 jsou shrnuty $P_{FM,Mn}$ určené dle (42) integrací AC hysterezních smyček a také korigované hodnoty SAR_C .



Obr. 66. AC hysterezní smyčky změřené na suchých vzorcích **LS(0,25)G** a **LS(0,25)@SiG16**.

Tab. 22. AC hysterezní smyčky a porovnání s magneticky indukovaným zahříváním:

| Vzorek | $P_{FM,Mn}$ [$Wg^{-1}(Mn)$] | SAR_c [$Wg^{-1}(Mn)$] |
|-----------------------|-------------------------------|---------------------------|
| LS(0,25)G | 37 | 42 |
| LS(0,25)@SiG16 | 65 | 65 |

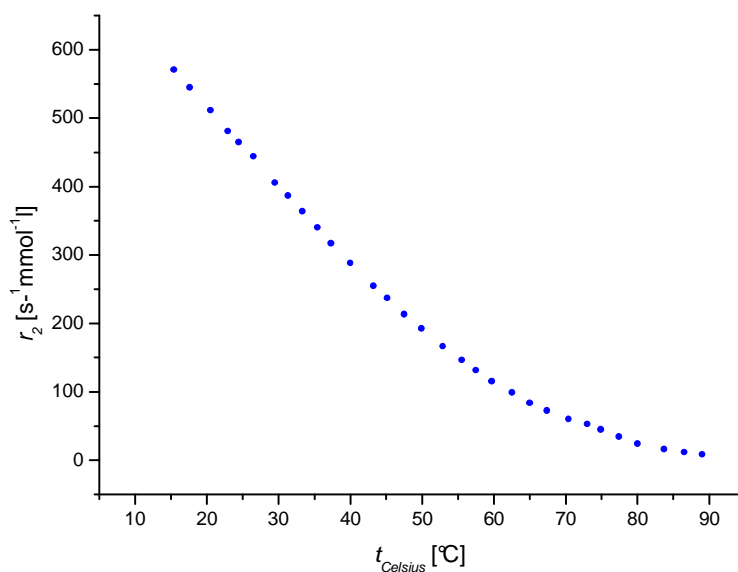
Už samotné hodnoty $P_{FM,Mn}$ potvrzují nalezené rozdíly mezi neobalenými částicemi a částicemi enkapsulovanými, a tak dokazují vyšší topnou účinnost produktu po enkapsulaci. Až překvapivá shoda korigovaných výsledků z měření teplot v závislosti na čase s hodnotami pocházejícími z AC hysterezních smyček je poněkud komplikovanější záležitostí, neboť ani zmíněné přepočty neřeší základní rozdíly v obou experimente experimentů. Topné experimenty byly provedeny na zředěných suspenzích, zatímco AC hysterezní smyčky se měřily na magneticky koncentrovaných vzorcích, a tím se skutečná vnitřní magnetická pole ovlivněná demagnetizačními procesy lišila. Dále polarizace magnetické fáze měřená během vlastního záznamu AC hysterezních smyček je ovlivněna dosti komplikovanou otázkou účinných průřezů magnetických jader ve studovaném vzorku. Z tohoto pohledu pak není numerická shoda příslušných hodnot tak jednoznačná, ale AC hysterezní smyčky potvrzují vyšší topnou účinnost **LS(0,25)@SiG16** oproti **LS(0,25)G**.

7.8. Relaxometrické vlastnosti LS@Si

Magnetické nanočástice $La_{1-x}Sr_xMnO_3$ byly sice původně vyvíjeny jako mediátor pro magneticky indukovanou hypertermii s autoregulací topného výkonu, ale při studiu základního prototypu těchto částic totiž **LS(0,25)** s $d_{XRD} \approx 20$ nm, kterému jsme se věnovali nejvíce, se zjistilo, že vykazuje velmi vysokou spin-spinovou relaxivitu r_2 , a tudíž by tyto částice mohly být zajímavým objektem pro relaxometrické studie a případným kandidátem pro vývoj speciálních kontrastních činidel.

Relevantní výsledky přineslo teprve studium částic obalených oxidem křemičitým, u nichž byla zajištěna dostatečná koloidní stabilita, a tak potlačena agregace magnetických jader, jež také ovlivňující výsledky relaxometrických měření v poli $B_0 = 0,5$ T. Na obr. 67 je uvedena teplotní závislost relaxivity r_2 produktu **LS(0,25)@SiG16** měřeného v širokém rozmezí teplot 15 – 90 °C, kde je vidět typický pokles. Relaxivita při 37 °C je neobvykle vysoká a činí $r_2 = 330 \text{ s}^{-1}\text{mmol}^{-1}$. A tak tyto nanočástice výrazně převyšují relaxivity r_2 kontrastních látek na bázi nanočástic oxidů železa. Pro srovnání uvedme v tab. 23 relaxivity r_2 komerčně dostupných kontrastních látek, které byly změřeny na stejné instrumentaci a

publikovány Horákem et al [250] a současně pro Feridex^{FM} uvádí Babič et al $r_2 = 126 \text{ s}^{-1} \text{mmol(Fe)}^{-1}$ [251]. V literatuře se často pro nanočástice oxidů železa objevují poněkud nižší hodnoty, např. v přehledném článku Wang et al [252]. Srovnávací studii základních typů kontrastních látek na bázi oxidů železa provedl Jung et al v poli 0,5 T při 39,5 °C, jehož hodnoty shrnuje tab. 24. Z obou těchto příkladů vyplývá, že již relaxivity vzorku **LS(0,25)@SiG16** přesahují hodnoty r_2 u nanočástic oxidů železa, třebaže u **LS(0,25)@SiG16** nebyla prováděna žádná optimalizace složení ani obalové vrstvy s ohledem na relaxometrická měření.



Obr. 67. Teplotní závislost spin-spinové relaxivity suspence **LS(0,25)@SiG16** při 0,5 T.

Tab. 23. Relaxivity r_2 komerčních kontrastních látek při 0,5 T [250]:

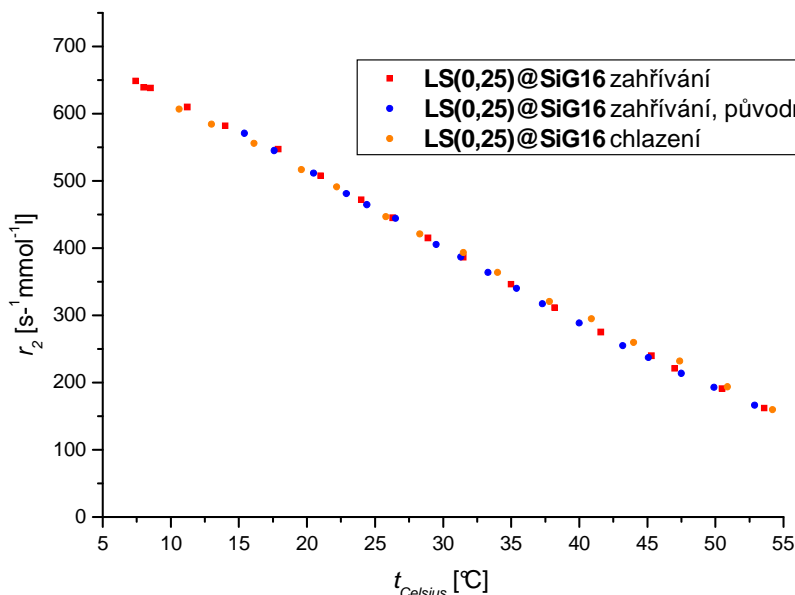
| Produkt | Endorem TM | Resovist® | Sinerem® |
|--|-----------------------|-----------|-------------|
| Chemické zařazení | ferumoxid | ferumoxid | ferumoxtran |
| $r_2 [\text{s}^{-1} \text{mmol(Fe)}^{-1}]$ | 156 | 217 | 129 |

Tab. 24. Charakterizace a r_2 kontrastních látek na bázi oxidů železa dle Junga et al [253]:

| Kontrastní látka | ferumoxid | ferumoxtran | ferumoxsil |
|--|-----------|-------------|------------|
| $d_{\text{XRD}} [\text{nm}]$ | 5,0 | 5,9 | 8,3 |
| $r_2 [\text{s}^{-1} \text{mmol(Fe)}^{-1}]$ | 107 | 53 | 72 |

Podívejme se nyní na měření téhož vzorku po dvouměsíčním uložení a porovnejme dané výsledky s původním měřením z obr. 68. Na obr. 68 jsou uvedeny ve skutečnosti tři závislosti, z nichž první byla získána při postupném zvyšování teploty, druhá při postupném snižování a poslední závislost odpovídá již uvedenému měření. Získané závislosti dokonale koincidují, a tak dokazují, že žádný časový vývoj relaxometrických vlastností při uložení

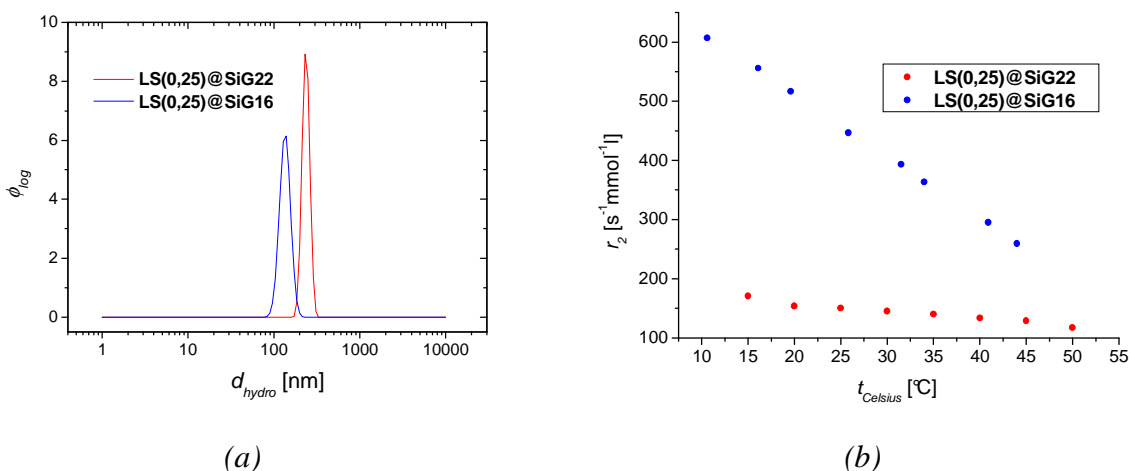
koloidně stabilní suspence vzorku po dobu dvou měsíců nenastal, a navíc, že se suspence vydržela beze změny vlastností i zahřátí na 55 °C. Tyto vlastnosti více než splňují základní požadavky na stabilitu pro využití v biomedicínálních experimentech.



Obr. 68. Opakované měření teplotní závislosti spin-spinové relaxivity suspence **LS(0,25)@SiG16** při 0,5 T.

Zajímavé je podívat se také na vliv agregace magnetických nanočástic na měřené hodnoty r_2 . Při našich prvních relaxometrických experimentech s $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ se používaly ještě neobalené částice stabilizované pouze agarosou a tyto experimenty doprovázely problémy s opakovatelností naměřených výsledků, třebaže už tyto experimenty indikovaly vysoké hodnoty r_2 . Proto existovalo zřejmé podezření, že měřená relaxivita r_2 může být ovlivněna agregačními jevy. Předpokládejme nyní, že by agregace magnetických částic byla omezena na trvalou existenci určité distribuce velikosti shluků a že jednotlivé shluky by již vykazovaly koloidní stabilitu, tedy dále by neagregovaly, přičemž během relaxometrického měření by se neprojevovala žádná sedimentace. Této modelové představě víceméně odpovídá produkt **LS(0,25)@SiG22**, který byl připraven specifickou frakcionací surové enkapsulační směsi jako těžší podíl obsahující obalené shluky magnetických částic. Ze stejné suspence se současně získával produkt **LS(0,25)@SiG16**. Na obr. 69(a) je zachycena hydrodynamická velikost **LS(0,25)@SiG22** a porovnána s hydrodynamickou velikostí standardního produktu **LS(0,25)@SiG16**. Pro úplnost vypočteme základní kvantily distribuční funkce DLS signálu normovaného pro semilogaritmické vynesení hydrodynamické velikosti částic tohoto produktu: $d_{hydro,10} = 207$ nm, $d_{hydro,50} = 235$ nm a $d_{hydro,90} = 269$ nm. Obr. 69(b) zobrazuje

relaxivitu r_2 obou vzorků. Z předloženého srovnání plyne, že se hodnoty relaxivity r_2 výrazně snížily u magnetických částic tvořících větší shluky. Intuitivní diskuse by sice mohla vycházet z jednoduché představy, že agregace částic vede k efektivnímu snížení objemu prostoru (respektive objemu prostoru normovaného hmotností magnetických částic), v němž mohou difundovat molekuly vody za současného ovlivnění lokální poruchou vnějšího magnetického pole, ale patrně není zcela adekvátní.

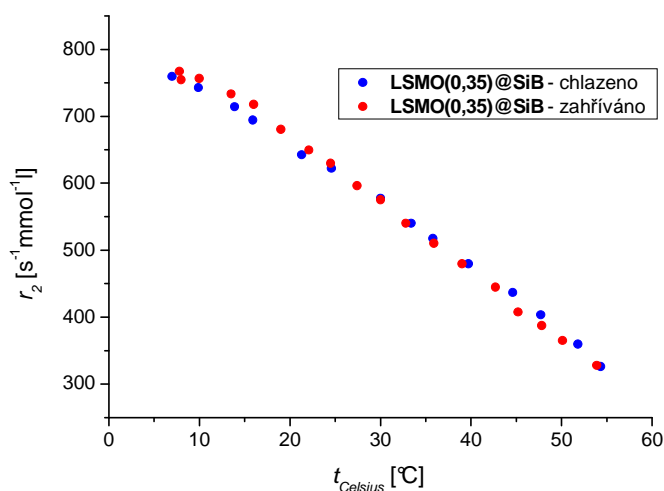


Obr. 69. Vliv agregace magnetických jader na spin-spinovou relaxivitu: (a) hydrodynamická velikost produktů LS(0,25)@SiG16 a LS(0,25)@SiG22, (b) měření r_2 relaxivity při 0,5 T.

V současnosti se totiž objevily studie, které se zabývají vlivem agregace částic na r_2 relaxivitu a to v případě nanočástic oxidů železa. Opakovaně se pozorovalo, že u velmi malých částic v superparamagnetickém režimu (USPIO) agregace magnetických jader zvyšuje r_2 relaxivitu oproti částicím dobře rozptýleným [254]. To bylo nedávno pozorováno dokonce také u monodispersních nanočástic MnFe₂O₄ o velikosti 8 nm (TEM). Naproti tomu agregace větších nanočástic oxidů železa způsobuje jako v našem případě pokles relaxivity r_2 , jak dokázala Atanasijevic et al u částic o velikosti 50 nm [255]. Současně Gillis, jeho kolega Brooks a spoluautoři publikovali rozsáhlé teoretické studie o závislosti r_2 relaxivity na velikosti částic [256-259], které rovněž pomáhají při interpretaci vlivu agregačních jevů [260]. Z těchto prací vyplývá, že magnetické částice dle své velikosti vedou při NMR experimentech ke dvěma různým relaxačním režimům – malé částice vedou k MAR (Motional Averaging Regime) a velké k SMR (Slow Motion Regime) [261,262]. Relaxační maximum se pak uplatňuje na přechodu mezi těmito režimy a označuje se jako mez statického defázování (static dephasing limit) [263]. V roce 2008 publikoval Matsumoto et al simulace Monte Carlo vztahující T_2 relaxační čas, velikost částic a agregační jevy včetně geometrie

shluků. A opřel se o aparát vypracovaný Gillisem a kolegy [260]. Ze simulací vyplynulo, že agregace částic v režimu MAR zvyšuje relaxivitu r_2 , zatímco v režimu SMR agregace částic hodnoty r_2 snižuje. Z těchto poměrně nových studií tedy vyvozujeme, že magnetické nanočástice **LS(0,25)@Si** s výchozí $d_{XRD} \approx 20$ nm (před enkapsulací) působí v režimu SMR a v důsledku agregace se relaxivita r_2 snižuje.

Dosud uvedená relaxometrická měření se týkají magnetických nanočástic o složení $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ s výchozí $d_{XRD} \approx 20$ nm. Jejich základní magnetické vlastnosti byly diskutovány spolu s magnetickými vlastnostmi stejně velkých částic odlišného složení v 7.2.1., přičemž vzorek **LS(0,25)G** s $d_{XRD} = 20$ nm vykazuje $T_{C,A} = 336$ K a $M_{750kA/m} = 23,6$ $\text{Am}^2\text{kg}^{-1}$. Pozorovaný pokles relaxivity r_2 s teplotou zřejmě souvisí s rostoucím významem tepelného pohybu v magneticky uspořádané fázi, kvůli kterému klesá magnetizace částic, až při Curieově teplotě dochází k zániku ferromagnetického uspořádání. Ze vzorků v tab. 10 má nejvyšší T_C vzorek o složení $x = 0,35$, přičemž částice o $d_{XRD} = 20$ nm mají nepochybně rovněž vyšší $M_{750kA/m}$, a tak by patrně mohl být lepším základem kontrastní látky používané při 37 °C. Dalo by se totiž předpokládat, že výše ležící T_C , a tedy vyšší stabilita magnetického uspořádání povede k vyšší relaxivitě při zvýšené teplotě, než je tomu u částic s nižší T_C . Na obr. 70 je uvedena teplotní závislost relaxivity r_2 pro obalené částice **LS(0,35)@SiB**, které byly připraveny stejným postupem jako **LS(0,25)@SiG16** a se stejnou tloušťkou obalové vrstvy. Vidíme, že relaxivita při 37°C $r_2 = 510$ $\text{s}^{-1}\text{mmol}^{-1}\text{l}$ je pro tento produkt podstatně vyšší než relaxivita u **LS(0,25)@SiG16**, a tím ještě výrazněji překonává hodnoty komerčně dostupných kontrastních látek.



Obr. 70. Opakované měření teplotní závislosti relaxivity r_2 suspence **LS(0,35)@SiB**.

7.9. Biologické studie

7.9.1. Viabilita kmenových buněk a optimalizace enkapsulace LS

Cílem obalování oxidem křemičitým nebylo jen získání koloidně stabilní suspence, ale také vytvoření biologicky inertní vrstvy, která obklopí jádro $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ a bude jej izolovat bariérou, jež zabrání chemickým projevům magnetické částice v okolí, tedy v případném biologickém prostředí. Při vývoji enkapsulačního postupu bylo proto důležité sledovat toxikologické vlastnosti získávaných suspensí a posuzovat vliv podmínek přípravy. Toxicita byla vyhodnocována na krysích kmenových buňkách (rMSC) a na základě prvních experimentů byla zvolena základní koncentrace pro 48-hodinové inkubace $c_M(\text{Mn}) = 0,11 \text{ mmol}^{-1}$. Typicky se v těchto studiích testovaly určité série enkapsulovaných produktů připravených za stejných podmínek s tím, že pouze jeden vybraný parametr se měnil. Každé takové sérii produktů pak odpovídala jedna biologická studie, která zahrnovala i kontrolní experimenty (vše v dubletu). Vlastní příprava vzorků pro testy viability ještě zapojovala krok vakuového čištění od případných stop ethanolu či těkavých složek, pokud by náhodou takové kontaminace i přes násobné promývání s použitím centrifugace v suspensích zůstávaly. Z experimentálního hlediska musíme zmínit ještě jeden aspekt a to případný časový vývoj toxikologických vlastností. Z technických důvodů nebylo možné provádět přípravu produktů dané řady současně, a zajistit tak, že všechny suspence určené pro biologickou studii budou stejně staré. Pro úplnost se tedy sledována i doba uskladnění produktu mezi jeho přípravou a testem viability τ_i .

Před vlastní diskusí viabilit v_b , stanovených jako poměr živých buněk ku celkovému počtu buněk, poznamenejme, že tyto údaje představují spíše orientační hodnoty, které měly posloužit při vývoji standardního postupu enkapsulace a v žádném případě se nejedná o definitivní hodnoty prověřené na úrovni opakovatelnosti s jejím experimentálně stanoveným rozptylem. Je mimo rozsah této práce vypočítávat experimentální zdroje chyb a pokoušet se kvantifikovat standardní nejistoty. Je proto třeba mít na paměti, že výsledky studia viability musí být nahlíženy kriticky. Z těchto důvodů se omezme na porovnávání viabilit v jednotlivých řadách, popřípadě na srovnání vzorků z různých řad, které se liší o desítky procent. A doufejme, že tyto hodnoty budou ilustrovat trendy v toxikologických vlastnostech **LS(0,25)@Si** při různém provedení enkapsulace. Tab. 25 přehledně shrnuje všechny dále

pojednáváné výsledky testů viability na rMSC, přičemž vyčerpávající popis podmínek přípravy produktů je uveden v tab. 6. Nicméně tab. 25 rovněž zdůrazňuje klíčové parametry přípravy studované v dané řadě. Vedle v_b jsou uvedeny i počty sklizených buněk v jednotlivých experimentech, které vypovídají o růstech buněčných kultur. Nicméně vzhledem k citlivosti těchto hodnot, omezenému souboru výsledků a možnosti interference některých nespecifických jevů opomíňme příležitost jejich diskuse.

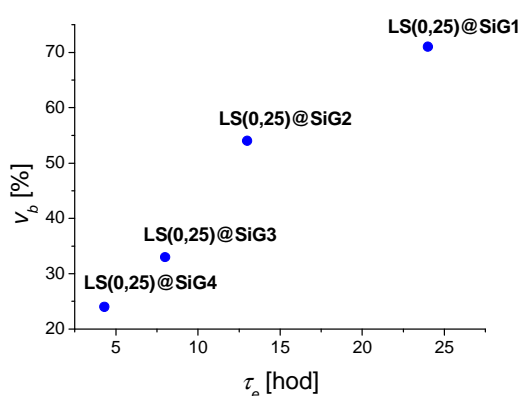
Tab. 25. Přehled testů viability kmenových buněk inkubovaných s produkty **LS(0,25)@Si**:

| Řada | Produkt | τ_i [dnů] | Sklizených buněk [10^3] | v_b [%] | Specifikace produktu |
|------|------------------------|----------------|-----------------------------|-----------|-----------------------------------|
| I | LS(0,25)@SiG1 | 10 | 20 ¹ | 71 | $\tau_e = 24$ hod |
| | LS(0,25)@SiG2 | 8 | 10 ¹ | 54 | $\tau_e = 13$ hod |
| | LS(0,25)@SiG3 | 6 | 10 ¹ | 33 | $\tau_e = 8$ hod |
| | LS(0,25)@SiG4 | 6 | 10 ¹ | 24 | $\tau_e = 4$ hod |
| | Kontrola | - | 80 ¹ | 97 | - |
| II | LS(0,25)@SiG6 | 10 | 45 ¹ | 40 | $e = 13$ nm |
| | LS(0,25)@SiG7 | 10 | 25 ¹ | 75 | $e = 25$ nm |
| | Kontrola | - | 60 ¹ | 92 | - |
| III | LS(0,25)@SiG8 | 30 | 190 | 62 | $t_e = 40^\circ\text{C}$ |
| | LS(0,25)@SiG10 | 36 | 90 | 71 | $t_e = 50^\circ\text{C}$ |
| | LS(0,25)@SiG11 | 38 | 50 | 54 | $t_e = 30^\circ\text{C}$ |
| | Kontrola | - | 580 | 97 | - |
| IV | LS(0,25)@SiG17a | 48 | 60 | 88 | bez ultrazvuku |
| | LS(0,25)@SiG17b | 26 | 80 | 92 | bez ultrazvuku |
| | LS(0,25)@SiG18 | 18 | 70 | 82 | kondenzace glycerolem |
| | Kontrola | - | 420 | 99 | - |
| V | LS(0,25)@SiG17a | 83 | 130 | 85 | opakování vzorku z IV |
| | LS(0,25)@SiG17b | 61 | 105 | 89 | opakování vzorku z IV |
| | Kontrola | - | 420 | 99 | - |
| VI | LS(0,25)@SiG13 | 41 | 95 | 58 | PVP, $e = 28$ nm |
| | LS(0,25)@SiG14 | 27 | 75 | 70 | PVP, HNO_3 , $e = 27$ nm |
| | LS(0,25)@SiG15 | 13 | 70 | 77 | PVP, $e = 50$ nm |
| | Kontrola | - | 190 | 97 | - |

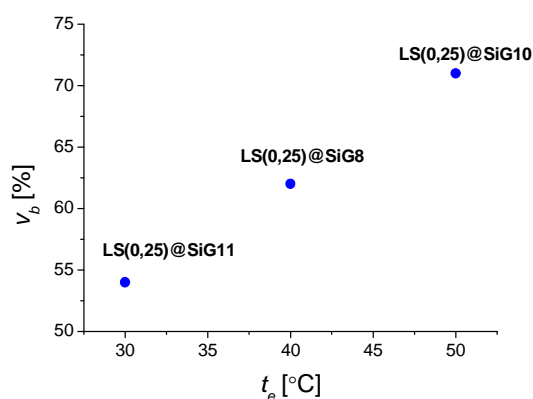
Pozn. ¹U těchto produktů výsev pouze 50 000 buněk na jamku, u ostatních produktů 100 000.

V řadě I se posuzoval vliv různé délky enkapsulačního kroku τ_e na viabilitu buněk inkubovaných se sérií produktů obalovaných při $t_e = 26$ °C se stejným poměrem navážky částic a objemu přidaného TEOS za působení ultrazvuku. Viability byly oproti kontrole poměrně nízké, ale v řadě 4, 8, 13 a 24 hod postupně rostly (viz obr. 71), přičemž relativní nárůst mezi 13 hod a 24 hod už nebyl tak vysoký jako při porovnání předcházejících period. Dále se proto používala delší doba enkapsulačního kroku. V řadě II se srovnávaly dva vzorky připravené při $t_e = 26$ °C a $\tau_e = 24$ hod za působení ultrazvuku, ale s rozdílným poměrem

objemu TEOS a magnetických částic. Vyšlo najevo, že buňky lépe snášejí přítomnost produktu se silnější slupkou, která patrně lépe izoluje jádro. A konečně v řadě III byl sledován vliv teploty enkapsulační směsi při přípravě obalených částic za působení ultrazvuku s $\tau_e \approx 24$ hod. V dané sérii viabilita v_b s rostoucí t_e vzrůstala (viz obr. 72). Vliv mohutnější vrstvy oxidu křemičitého při porovnání v řadě II byl interpretován lepší izolací manganitového jádra silnější vrstvou, ale interpretace výsledků řad I a III se spíše musí opírat o pojmy jako je souvislost a porozita vrstvy. Intuitivní pohled předpokládající strukturní zrání obalu a dosažení vyšší kompaktnosti při vyšší teplotě je zřejmý, ale na druhou stranu by explicitní vyslovení takové interpretace bylo příliš spekulativní, neboť nebyly prováděny žádné další studie, které by tyto závěry mohly potvrdit. Jednalo se především o optimalizaci postupu.



Obr. 71. Viability kmenových buněk inkubovaných s produkty řady I připravovaných s různou dobou enkapsulace.



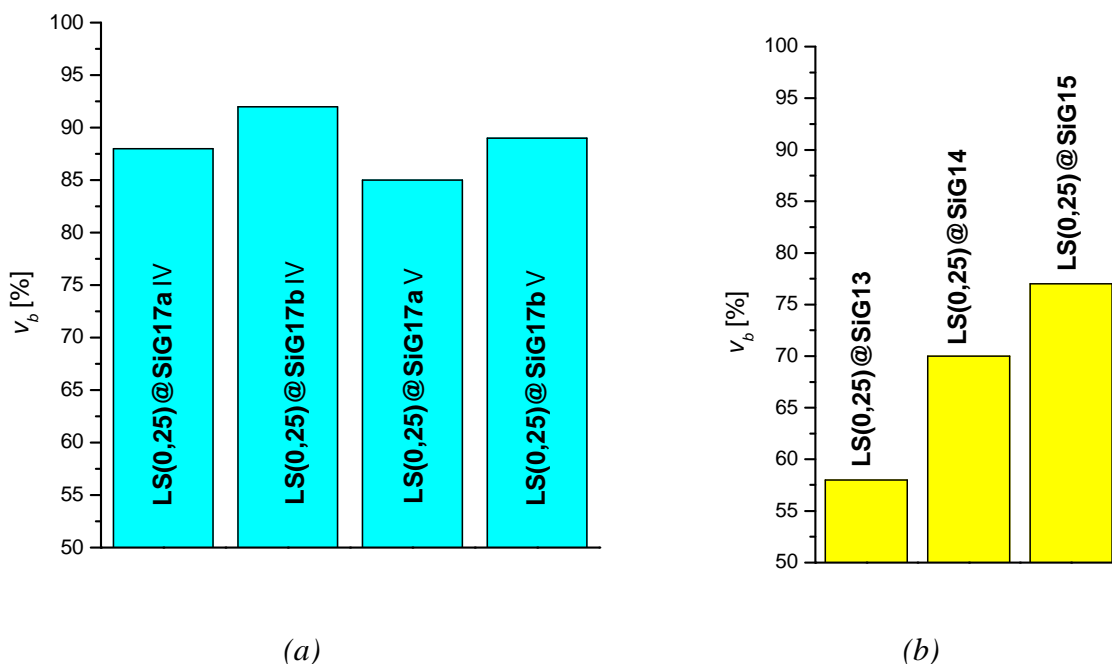
Obr. 72. Viability kmenových buněk inkubovaných s produkty řady III připravenými při různé teplotě enkapsulace.

I když jsme zmínili, že se z jistých důvodů nebudeme spekulativně interpretovat diskutované výsledky, přesto uvedeme, že na základě představy růstu obalu za nezbytného promíchávání vzniklo podezření, zda příliš intenzivní ultrazvuková sonifikace může narušit strukturu a souvislost vznikající vrstvy hydratovaného amorfního oxidu křemičitého. Proto se v dalších experimentech přistoupilo k nahrazení ultrazvuku mechanickým mícháním zajišťujícím rovněž dostatečné promíchávání suspence. Dosud diskutované hodnoty viability pocházely od produktů získaných s použitím ultrazvuku a výrazně nepřesahovaly 70 %, přičemž nejvyšší hodnota činila 75 %. Po nahrazení ultrazvukového působení mechanickým mícháním se hodnoty viability nových produktů opakovaně pohybovaly kolem 90%. Jako příklad si uveďme dva vzorky **LS(0,25)@SiG17a** a **LS(0,25)@SiG17b** ze série IV a posléze ještě opakované v sérii V. Oba vzorky jsou vlastně identické a představují pouze jednotlivé šarže téhož produktu, které explicitně uvádíme kvůli opakovatelnosti výsledků. V řadě IV

byly viability buněk 88, resp. 92 %. O více než měsíc později byly stanoveny viability téměř podobné, totiž 85, resp. 89 %. Z těchto údajů plyne, že výsledky pro jednotlivé šarže byly stejné a jejich časový vývoj byl zanedbatelný (viz obr. 73(a)). Konečně dodejme, že suspenze **LS(0,25)@SiG17a** i po téměř třech měsících od přípravy vedla k viabilitě kolem 90 %.

Vraťme se ještě k řadě IV, kde je mimo jiné uveden vzorek **LS(0,25)@SiG18**, jež představuje analogii k posledně diskutovanému vzorku (**LS(0,25)@SiG17a**, resp. **LS(0,25)@SiG17b**), ale který se po enkapsulaci převedl do glycerolu a v glycerolové suspensi byl vystaven vysokému vakuu a vyšší teplotě. Předpokládalo se přitom, že dojde k hlubší kondenzaci obalu tvořeného hydratovaným oxidem křemičitým, a tudíž ke zlepšení viability v_b . Nicméně zmíněný experiment to nepotvrdil. Dále se podívejme na řadu VI zahrnující produkty připravené PVP metodou (viz obr. 73(b)). Vzorky **LS(0,25)@SiG13** a **LS(0,25)@SiG15** se připravily základním postupem PVP metody enkapsulace popsaným v experimentální části jako postup B za využití mechanického míchání, nikoli ultrazvuku. Vzorky se lišily pouze tloušťkou obalové vrstvy, přičemž **LS(0,25)@SiG15** svoji obalovou vrstvou výrazně přesahoval obvyklé poměry. Vzorek **LS(0,25)@SiG14** je obdobou **LS(0,25)@SiG13**, ale při přípravě bylo před vlastní enkapsulací zařazeno působení kyseliny dusičné po způsobu postupu A. Kyselina dusičná měla rozpustit nejméně stálé útvary ve vzorku a očistit povrch manganitových částic tak, aby zůstala pouze chemicky odolnější jádra. Z pozorovaných výsledků je však patrné, že se ve srovnání se standardním postupem (postup A) se PVP metoda tolik neosvědčila a nevyrovnala se ani po zařazení kroku působení kyseliny dusičné, ani po zesílení vrstvy na 50 nm.

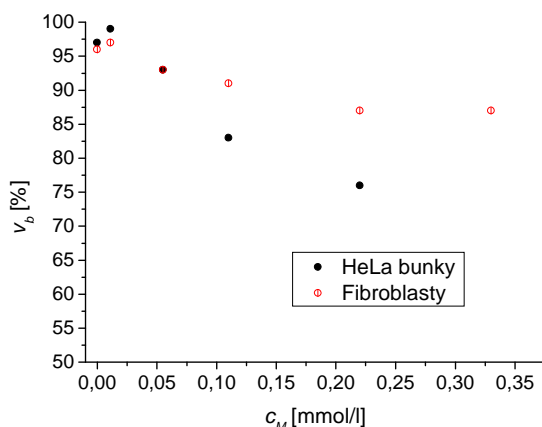
Nejdůležitější přínos těchto testů na rMSC spočívá v pozorování, že postup přípravy produktu **LS(0,25)@SiG17a** vede k viabilitě kolem 90 % při 48-hodinové inkubaci s nanočásticemi o koncentraci $0,11 \text{ mmol(Mn)l}^{-1}$. V práci Horáka et al [250], kde toxikologická část pochází ze stejného pracoviště a věnuje se mimo jiné viabilitě rMSC v přítomnosti různě obalenými nanočásticemi maghemitu o velikosti 10 nm (TEM), ale i s kontrastní látkou EndoremTM, se objevují výsledky získané podobnou metodikou. Inkubace probíhala však při pouhé koncentraci $0,028 \text{ mmol(Fe)l}^{-1}$, ale trvala 72 hod, přičemž pro čistý $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ byla viabilita rMSC v první pasáži pouze asi 25 %, pro EndoremTM v první pasáži lehce nad 90 %. Relevantní je také srovnání s dalšími výsledky Jendelové et al [264] o inkubacích s EndorememTM, kdy při ještě nižší koncentraci klesla viabilita kmenových buněk až na 50 %.



Obr. 73. Viability kmenových buněk inkubovaných s produkty: (a) připravenými bez ultrazvuku (řady IV a V), (b) připravenými PVP metodou (řada VI).

7.9.2. Studium viability dalších typů buněk

Vývoj metody obalování nanočástic **LS** pro biologické studie probíhal za využití testů viability kmenových buněk a samozřejmě také na základě dalších charakterizací, zejména TEM a DLS. Ustálil se tak určitý standardní postup přípravy vzorků, pomocí něhož byl připraven i produkt **LS(0,25)@SiG20** s vrstvou silnou 20 nm. Pro daný produkt pak byly stanoveny koncentrační závislosti viability u dvou kultur zcela odlišných buněk, jednak na HeLa buňkách a na lidských fibroblastech. Koncentrační řady pro studie se koncipovaly jako posloupnosti založená na základní koncentraci zvolené již u rMSC $c_M(\text{Mn}) = 0,11 \text{ mmol l}^{-1}$ a její násobky dle tab. 26, kde jsou i hodnoty viability stanovené průtokovou cytometrií. V těchto experimentech se HeLa buňky jeví jako citlivější (viz obr. 74) než fibroblasty, které i při trojnásobné koncentraci vykazovaly viabilitu téměř 90 %.



Obr. 74. Studium viability fibroblastů a HeLa buněk inkubovaných s **LS(0,25)@SiG20**.

Tab. 26. Viability fibroblastů a HeLa buněk s **LS(0,25)@SiG20** stanovené průtokovou cytometrií:

| c_M (Mn) [mmol ⁻¹] | v_b (fibr.) [%] | v_b (HeLa) [%] |
|----------------------------------|-------------------|------------------|
| kontrola | 96 | 97 |
| 0,011 | 97 | 99 |
| 0,055 | 93 | 93 |
| 0,11 | 91 | 83 |
| 0,22 | 87 | 76 |
| 0,33 | 87 | - ¹ |

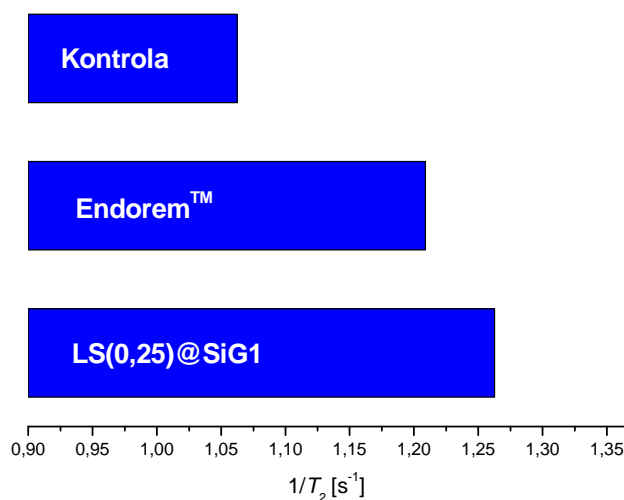
Pozn.: ¹Experiment zanikl z vnějších příčin.

V souvislosti s těmito výsledky i s výsledky z kmenových buněk může vznikat patrně mnohem více otázek, než kolik závěrů můžeme na jejich základě korektně vyslovit. Zejména je nejasné, jaké buněčné děje jsou spojeny s inkubací obalených nanočástic a jaký mechanismus způsobuje pozorované, třebaže nevelké odlišnosti ve vývoji buněčné kultury *in vitro* v přítomnosti částic a bez nich. Není ani jasné, zda pozorovaný pokles viability oproti kontrole mají základ v chemickém působení nanočástic, anebo zda vznikají v důsledku mechanických interferencí způsobených nezanedbatelným množstvím částic přidávaných do buněčné kultury. Tyto otázky a jejich řešení však přesahují rámec předložené práce. Nicméně poznamenejme, že i samotné nanočástice oxidu křemičitého snižují viabilitu buněk v *in vitro* experimentech, jak třeba ukazuje studie Napierske et al [265], která vyhodnocovala vliv různě velkých částic na endoteliální buňky linie EAHY926, nebo studie Yu et al [266], který se věnoval viabilitě keratinocytů inkubovaných s různě velkými nanočástic a u nejmenších částic prokázal interference s činností mitochondrií. Proto by se zřejmě dalo předpokládat, že výsledky v testech viability pro optimalizovaný produkt **LS(0,25)@Si** již značí dosažení maximální možné izolace magnetického jádra při enkapsulaci oxidem křemičitým a odrážení spíše působení nanočástic oxidu křemičitého jako takových.

7.9.3. Využití **LS(0,25)Si** pro buněčné značení

Kmenové buňky se již používají v klinických studiích při terapii ischemických chorob [267,268] a poranění míchy [269,270], přičemž magnetické značení představuje pro související výzkum nástroj, jak sledovat osud kmenových buněk v organismu. Proto kmenové buňky inkubované s produkty **LS(0,25)@Si** během testů viability byly použity jako modely

pro magnetické značení. Relaxometrická studie se provedla na vzorcích fixovaných kmenových buněk s magnetickými nanočásticemi, přičemž se měřili buňky inkubované s **LS(0,25)@Si**, buňky inkubované s EndorememTM a konečně kontrola bez magnetických částic. Obr. 75 uvádí reciproké hodnoty relaxačního času T_2 změřené na vzorcích obsahujících stejné množství buněk. Buňky, které byly inkubovány s **LS(0,25)@Si**, vykazují vyšší hodnoty $1/T_2$ než buňky inkubované s EndorememTM, třebaže koncentrace EndoremuTM byla při inkubaci 10-krát vyšší. Hodnoty stanovené u buněk značených částicemi **LS(0,25)@Si** se srovnávaly s čistou suspensí nanočástic o známé koncentraci a na základě toho byl proveden odhad obsahu magneticky aktivního prvku na 0,24 pg(Mn)/buňka. U vzorku buněk značených EndorememTM byl obsah železa stanoven chemickou analýsou a odpovídal 14,6 pg(Fe)/buňka. Z uvedených výsledků vyplývá, že buňky značené nanočásticemi **LS(0,25)@SiG1** vykazují vyšší relaxační rychlost $1/T_2$ než buňky značené EndorememTM, ale přitom obsah magneticky aktivního prvku je v těchto buňkách nižší než v případě buněk s EndorememTM.



Obr. 75. Magnetické značení kmenových buněk s **LS(0,25)@SiG1** a EndorememTM.

8. Závěr

Nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ o složení $x = 0,20 - 0,55$ byly připraveny citrátovou metodou a následným tepelným zpracováním, pomocí něhož se řídila velikost částic. Fázově čistý manganit se podařilo získat v rozsahu $x = 0,20 - 0,45$. Separaci individuálních magnetických jader umožnilo mechanické zpracování zahrnující válcování a mletí, jenž poskytlo nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ o střední velikosti krystalitů 11 – 40 nm. Studium krystalografických vlastností doplnily TEM studie podrobně se zabývající morfologií nanokrystalického produktu a také stanovení kyslíkové stechiometrie. Magnetické vlastnosti připravených částic byly studovány v závislosti na složení a na velikosti částic, jejíž pokles vede k destabilizaci magnetického uspořádání a rostoucímu příspěvku tzv. magneticky mrtvé vrstvy. Studium se dále zaměřilo na složení $x = 0,25$, jehož Curieova teplota nabývala hodnot 315 – 347 K při velikosti krystalitů 11 – 40 nm. Na základě ZFC-FC měření se podařilo zachytit změny magnetických vlastností při mechanickém zpracování surového produktu a posoudit vývoj distribuce velikosti částic. Magnetické nanočástice byly dále porovnány s nanočásticemi CoFe_2O_4 s krystalitami o velikosti 18 - 41 nm a charakterizovanými vysokou magnetickou anisotropií.

Nanočástice $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ se enkapsulovaly pomocí tetraethoxysilanu Stöberovým procesem po jejich předchozí stabilizaci citrátem v alkalickém prostředí nebo PVP metodou po stabilizaci polyvinylpyrrolidonem. Intenzivně byla rozvíjena zejména první varianta, jejíž postup a podmínky byly optimalizovány s ohledem na morfologii produktu a testy viability kmenových buněk inkubovaných s obalenými nanočásticemi. Tloušťka obalové vrstvy byla řízena v rozsahu 5 – 25 nm prostřednictvím použitého objemu tetraethoxysilanu na danou navážku částic. Obalené nanočástice tvořily koloidně stabilní suspenzi s úzkou distribucí hydrodynamické velikosti a s průběhem zeta-potenciálu odpovídajícím hydratovanému oxidu křemičitému. IR spektroskopie doložila kvalitu pokrývání a vyloučila přítomnost neobalených částic či nesouvislost obalu podobně jako HRTEM studie. Optimalizovaná enkapsulační procedura se využila také k obalení nanočástic spinelové fáze $\text{Co}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ a produkt byl komplexně charakterizován.

Dále byly připraveny hybridní nanočástice s obalem vytvořeným za současného použití tetraethoxysilanu a 3-aminopropyltriethoxysilanu, který umožňuje přímou kovalentní

derivatizaci částic. Kovalentní derivatizace byla také využita ke stanovení absolutní povrchové koncentrace aminoskupin pomocí navázání UV-chromoforu a jeho fotometrického stanovení. Přítomnost aminoalkylových řetězců nezávisle potvrdila IR spektroskopie a basické aminoskupiny se projevíly na průběhu zeta-potenciálu.

Srovnávací studium magnetických vlastností nanočástic $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ a jejich obaleného produktu odhalilo změnu distribuce velikosti částic během použitého postupu. Došlo totiž k odstranění frakce nejmenších úlomků a zúžení distribuce velikosti, což také vedlo k nárůstu střední velikosti krystalitů. Tato změna se projevila i vyšším topným výkonem obalených nanočástic v AC poli při magneticky indukovaném zahřívání jejich vodné suspence. Obecným rysem těchto experimentů byl strmý nárůst teploty pozorované suspence a mechanismus autoregulace topného výkonu, díky kterému dochází ke stabilizaci teploty v okolí Curieovy teploty. Vyšší topná účinnost obalených částic v porovnání s výchozími částicemi byla rovněž prokázána výpočtem hysterézních ztrát ze změřených střídavých hysterézních smyček.

Relaxometrická měření prokázala u obalených nanočástic $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ velmi vysoké spin-spinové relaxivity výrazně převyšující hodnoty r_2 komerčně dodávaných činidel. Pro nanočástice se složením $x = 0,35$ a s výchozí velikostí krystalitů 22 nm byla po obalení zjištěna relaxivita $r_2 = 510 \text{ s}^{-1}\text{mmol}^{-1}$ při 37°C . Obalené nanočástice se dále testovaly v experimentu s magnetickým značením kmenových buněk.

Toxikologické vlastnosti hybridních částic na bázi $\text{La}_{0,75}\text{Sr}_{0,25}\text{MnO}_3$ a oxidu křemičitého jako obalu byly studovány *in vitro* na mesenchymálních kmenových buňkách. Příslušné studie umožnily vylepšit enkapsulační proceduru a zajistit použitelnost nanočástic pro základní biologické studie. Srovnání s analogickými výsledky testů viability ukazuje, že se pravděpodobně podařilo spolehlivě izolovat magnetické jádro od biologického prostředí. Další testy viability se prováděly na lidských fibroblastech a HeLa buňkách, kde se sledovala koncentrační závislost.

9. Reference

1. S. Mornet, S. Vasseur, F. Grasset, E. Duguet, *J. Mater. Chem.*, **2004**, 14, 1.
2. A. S. Lubbe, C. Bergemann, H. Riess, F. Schriever, P. Reichardt, K. Possinger, M. Matthias, B. Dorken, F. Herrmann, R. Gurtler, P. Hohenberger, N. Haas, R. Sohr, B. Sander, A. J. Lemke, D. Ohlendorf, W. Huhnt, D. Huhn, *Cancer Res.*, **1996**, 56, 4686.
3. A. S. Lubbe, C. Alexiou, C. Bergemann, *J. Surg. Res.*, **2001**, 95, 200.
4. B. Thiesen, A. Jordan, *Int. J. Hyperthermia*, **2008**, 24, 467.
5. A. K. Gupta, M. Gupta, *Biomaterials*, **2005**, 26, 3995.
6. Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2003**, 6, R167.
7. P. Majewski, B. Thierry, *Crit. Rev. Solid State Mat. Sci.*, **2007**, 32, 203.
8. P. Tartaj, M. P. Morales, S. Veintemillas-Verdaguer, T. Gonzalez-Carreo, C. J. Serna, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2003**, 36, R182.
9. I. Šafařík, M. Šafaříková, *Mon. Chem.*, **2002**, 133, 737.
10. C. T. Yavuz, A. Prakash, J. T. Mayo, V. L. Colvin, *Chem. Eng. Sci.*, **2009**, 64, 2510.
11. S. J. H. Soenen, M. Hoenius, M. De Cuyper, *Nanomedicine*, **2009**, 4, 177.
12. M. Franzreb, M. Siemann-Herzberg, T. J. Hopley, O. R. T. Thomas, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2006**, 70, 505.
13. M. Magnani, L. Galluzzi, I. J. Bruce, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2006**, 6, 2302.
14. H. Yang, S. Zhang, X. Chen, Z. Zhuang, J. Xu, X. Wang, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 1316.
15. L. Stanciu, Y. Won, M. Ganesana, S. Andreescu, *Sensors*, **2009**, 9, 2976.
16. D. W. Elliott, W.-X. Zhang, *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, 35, 4922.
17. M. Takafuji, S. Ide, H. Ihara, Z. Xu, *Chem. Mater.*, **2004**, 16, 1977.
18. Y. Jun, J. Choi, J. Cheon, *Chem. Commun.*, **2007**, 1203.
19. M. Shokouhimehr, Y. Piao, J. Kim, Y. Jang, T. Hyeon, *Angew. Chem.-Int. Edit.*, **2007**, 46, 7039.
20. A.-H. Lu, W. Schmidt, N. Matoussevitch, H. Bonnemann, B. Spliethoff, B. Tesche, E. Bill, W. Kiefer, F. Schüth, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 4303.
21. T. Hyeon, *Chem. Commun.*, **2003**, 927.
22. H. Sato, T. Homma, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2007**, 7, 225.
23. B. D. Terris, T. Thomson, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2005**, 38, R199.
24. L. Stanciu, Y. H. Won, M. Ganesana, S. Andreescu, *Sensors*, **2009**, 9, 2976.

25. F. Wang, S. Hu, *Microchim. Acta*, **2009**, 165, 1.
26. S. X. Wang, G. Li, *IEEE Trans. Magn.*, **2008**, 44, 1687.
27. T. W. McDaniell, *J. Phys.: Condens. Matter.*, **2005**, 17, R315.
28. S. Bedanta, W. Kleemann, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2009**, 42, 013001.
29. J. S. Jacobs, C. P. Bean, in: G. T. Rado, H. Suhl (Eds.): *Magnetism III*. Academic, New York, **1963**. P. 275.
30. H. Zijlstra, in: E. P. Wohlfarth (Ed.): *Ferromagnetic Materials Vol 3*. North-Holland, Amsterdam, **1982**.
31. D. Givord, Q. Lu, M. F. Rosignol, in: G. C. Hadjipanayis, G. A. Prinz (Eds.): *Science and Technology of Nanostructured Materials*. Plenum Press, New York, **1991**. P. 635.
32. C. M. Sorensen: *Magnetism in: K. J. Klabunde (Ed.): Nanoscale Materials in Chemistry*. Wiley-Interscience Publication, New York, 2001.
33. L. Néel, *Ann. Geophys.*, **1949**, 5, 99.
34. W. F. Brown Jr., *Phys. Rev.*, **1963**, 130 1677.
35. P. Moroz, S. K. Jones, B. N. Gray, *Int. J. Hyperthermia*, **2002**, 18, 267.
36. A.-H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 1222.
37. X. Battle, A. Labarta, *J. Phys. D*, **2002**, 35, R15.
38. O. S. Nielsen, M. Horsman, J. Overgaard, *Eur. J. Cancer*, **2001**, 37, 1587.
39. P. Moroz, S. K. Jones, B. N. Gray, *J. Surg. Oncol.*, **2001**, 77, 259.
40. E. A. Gel'vich, V. N. Mazokhin, *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, **2001**, 29, 77.
41. A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Föhling and R. Felix, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1999**, 201, 413.
42. K. Overgaard, J. Overgaard, *Eur. J. Cancer*, **1972**, 8, 65.
43. K. G. Hofer, Abstracts of the 4th International Conference on Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, 9–11 May, **2002**, Tallahassee, Florida. P. 78.
44. J. B. Dubois, *Bull. Cancer/Radiother.*, **1995**, 82, 207.
45. R. T. Gordon, J. R. Hines, D. Gordon, *Med. Hypothesis* **1979**, 5, 83.
46. E. A. Gel'vich, V. N. Mazokhin, *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, **2001**, 29, 77.
47. I. A. Brezovich, *Med. Phys. Monogr.*, **1988**, 16, 82.
48. J. R. Oleson, T. C. Cetas, P. M. Corry, *Radiat. Res.*, **1983**, 95, 175.
49. J. P. Reilly, *Ann. New York Acad. Sci.*, **1992**, 649, 96.
50. S. E. Barry, *Int. J. Hyperthermia*, **2008**, 24, 451.
51. J. R. Oleson, R. S. Heusinkveld, M. R. Manning, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **1983**, 9, 549.

52. D. A. Hill, *Bioelectromagnetics*, **1985**, 6, 33.
53. R. K. Gilchrist, R. Medal, W. D. Shorey, R. C. Hanselman, J. C. Parrott, C. B. Taylor, *Ann. Surg.*, **1957**, 146, 596.
54. A. Jordan, P. Wust, H. Fahling, W. John, A. Hinz, R. Felix, *Int. J. Hyperthermia*, **1993**, 9, 51.
55. P. Moroz, S. K. Jones, B. N. Gray, *Int. J. Hyperthermia*, **2002**, 18, 267.
56. F. Gazeau, M. Levy, C. Wilhelm, *Nanomedicine*, **2008**, 3, 831.
57. R. Sharma, C. J. Chen, *J. Nanopart. Res.*, **2009**, 11, 671.
58. R. Hergt, S. Dutz, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2007**, 311, 187.
59. R. E. Rosensweig, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2002**, 252, 370.
60. L. D. Landau, E.M. Lifshitz, *Electrodynamics of Continuous Media*, Pergamon Press, London, **1960**.
61. L. Delaunay, S. Neveu, G. Noyel, J. Monin, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1995**, 149, L239.
62. R. A. Caruso, M. Antonietti, *Chem. Mater.*, **2001**, 13, 3272.
63. C. J. Brinker, G. W. Scherer: *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Academic Press, San Diego, **1990**.
64. R. K. Iler, U.S. Patent No. 2,885,366, **1959**.
65. M. Ohmori, E. Matijevic, *J. Colloid Interface Sci.*, **1992**, 150, 594.
66. R. Hergt, W. Andrä, C. G. d'Ambly, I. Hilger, W. A. Kaiser, U. Richter, H. G. Schmidt, *IEEE Trans. Magn.*, **1998**, 34, 3745.
67. R. Hergt, R. Hiergeist, I. Hilger, W. A. Kaiser, *Recent Res. Dev. Mater. Sci.*, **2002**, 3, 723.
68. D. Mitchell, M. Cohen: *MRI Principles*. Saunders, Philadelphia, PA, **2004**.
69. M. Brown, R. Semelka: *MRI: Basic Principles and Applications*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, **2003**.
70. Y. Okuhata, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **1999**, 37, 121.
71. C. Sun, J. S. H. Lee, M. Zhang, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2008**, 60, 1252.
72. R. Weissleder, A. Bogdanov, E. A. Neuwelt, M. Papisov, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **1995**, 16, 321.
73. C. Corot, P. Robert, J.M. Idee, M. Port, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2006**, 58, 1471.
74. M. O. Leach: *Spatially localised nuclear magnetic resonance in: S. Webb (Ed.): The Physics of Medical Imaging*. Adam Hilger, Bristol, UK, **1988**. Pp. 389–487.
75. Y. X. Wang, S. M. Hussain, G. P. Krestin, *Eur. Radiol.*, **2001**, 11, 2319.
76. B. Bonnemain, *J. Drug Target.*, **1998**, 6, 167.

77. M. S. Chagnon, E. V. Groman, L. Josephson, R. A. Whitehead, Eur. Pat. Appl. EP 125995, **1994**; Chem Abstr. **1985**, 102, 58899.
78. R. A. Whitehead, M. S. Chagnon, E. V. Groman, L. Josephson, U.S. Patent 4,554,088, **1984**, **1985** both to Advanced Magnetics.
79. M. G. Harisinghani, J. Barentsz, P. F. Hahn, W. M. Deserno, S. Tabatabaei, C. H. van de Kaa, J. de la Rosette, R. Weissleder, *N. Engl. J. Med.*, **2003**, 348, 2491.
80. K. J. Widder, A. E. Senyei, D. G. Scarpelli, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1978**, 58, 141.
81. A. Senyei, K. Widder, C. Czerlinski, *J. Appl. Phys.*, **1978**, 49, 3578.
82. K. Mosbach, U. Schröder, *FEBS Lett.*, **1979**, 102, 112.
83. C. Chouly, D. Pouliquen, I. Lucet, P. Jeune, J. J. Pellet, *J. Microencapsul.*, **1996**, 13, 245.
84. U. O. Häfeli, S. M. Sweeney, B. A. Beresford, J. L. Humm, *Nucl. Med. Biol.*, **1995**, 22, 147.
85. U. O. Häfeli, S. Casillas, D. W. Dietz, G. J. Pauer, L. A. Rybicki, S. D. Conzone, D. E. Day, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **1999**, 44, 189.
86. U. Häfeli, G. Pauer, S. Failing, G. Tapolsky, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2001**, 225, 73.
87. R. Langer, J. P. Vacanti, *Science*, **1993**, 260, 920.
88. A. Ito, M. Hayashida, H. Honda, K. Hata, H. Kagami, M. Ueda, T. Kobayashi, *Tissue Eng.*, **2004**, 10, 873.
89. E. Bell, H. P. Ehrlich, D. J. Buttle, T. Nakatsuji, *Science*, **1981**, 211, 1052.
90. I. V. Yannas, J. F. Burke, D. P. Orgill, E. M. Skrabut, *Science*, **1982**, 215, 174.
91. B. Lobel, O. Eyal, N. Kariv, A. Katzir, *Lasers Surg. Med.*, **2000**, 26, 4.
92. N. M. Fried, B. Choi, A. J. Welch, J. T. Walsh, *Lasers Surg. Med.*, **1999**, 25, 291.
93. A. M. Gobin, D. P. O'Neal, D. M. Watkins, N. J. Halas, R. A. Drezek, J. L. West, *Lasers Surg. Med.*, **2005**, 37, 123.
94. F. Ratto, P. Matteini, F. Rossi, L. Menabuoni, N. Tiwari, S. K. Kulkarni, R. Pini, *Nanomedicine: NBM*, **2009**, 5, 143.
95. S. U. Kim, J. de Vellis, *J. Neurosci. Res.*, **2009**, 87, 2183.
96. D. J. Lapar, I. L. Kron, Y. Q. Yang, *Curr. Opin. Organ Transpl.*, **2009**, 14, 79.
97. K. Docherty, A. S. Bernardo, L. Vallier, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **2007**, 18, 827.
98. M. F. Corsten, K. Shah, *Lancet Oncol.*, **2008**, 9, 376.
99. F. Scherer, M. Anton, U. Schillinger, J. Henke, C. Bergemann, A. Kruger, B. Gansbacher, C. Plank, *Gene Ther.*, **2002**, 9, 102.
100. I. Kovesdi, D. E. Brough, J. T. Bruder, T. J. Wickham, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **1997**, 5, 583.

101. P. L. Leopold, R. G. Crystal, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2007**, 8, 810.
102. K. Kamei, Y. Mukai, H. Kojima, T. Yoshikawa, M. Yoshikawa, G. Kiyohara, Takao, A. Yamamoto, Y. Yoshioka, N. Okada, S. Seino, S. Nakagawa, *Biomaterials*, **2009**, 30, 1809.
103. S. M. Maswadi, S. J. Dodd, J. H. Gao, R. D. Glickman, *J. Biomed. Opt.*, **2004**, 9, 711.
104. B. Quesson, F. Vimeux, R. Salomir, J. A. de Zwart, C. T. W. Moonen, *Magn. Reson. Med.*, **2002**, 47, 1065.
105. Y. Amao, I. Okura, *Analysis*, **2000**, 28, 847.
106. P. Moroz, S. K. Jones, B. N. Gray, *Int. J. Hyperthermia*, **2002**, 18, 267.
107. O. Ozdemir, S. K. Banerjee, *Geophys. Res. Lett.*, **1984**, 11, 161.
108. E. Pollert, P. Veverka, M. Veverka, O. Kaman, K. Závěta, S. Vasseur, R. Epherre, G. Goglio, E. Duguet, *Prog. Solid State Chem.*, **2009** (in press).
109. P. Veverka, K. Knížek, E. Pollert, J. Boháček, S. Vasseur, E. Duguet, J. Portier, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2007**, 309, 106.
110. A. A. Kuznetsov, O. A. Shlyakhtin, N. A. Brusentsov, O. A. Kuznetsov, Abstracts of the 4th International Conference on Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers, 9–11 May, **2002**, Tallahassee, Florida. P. 87.
111. Y. Tokura (Ed.): *Colossal Magnetoresistive Oxides*. Gordon & Breach Science Publishers, London, **1999**.
112. C. W. Searle, S. T. Wang, *Can. J. Phys.* **1969**, 47, 2023.
113. Y. Tokura, Y. Tomioka, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1999**, 200, 1.
114. J. Kanamori, *J. Appl. Phys.*, **1960**, 31, 14S.
115. P. W. Anderson, H. Hasegawa, *Phys. Rev.*, **1955**, 100, 67.
116. E. O. Wollan, W.C. Koehler, *Phys. Rev.*, **1955**, 100, 54.
117. P.-G. de Gennes, *Phys. Rev.*, **1960**, 118, 141.
118. A. Urushibara, Y. Moritomo, T. Arima, A. Asamitsu, G. Kido, Y. Tokura, *Phys. Rev. B*, **1995**, 51, 14103.
119. H. Kawano, R. Kajimoto, M. Kubota, H. Yoshizawa, *Phys. Rev. B*, **1996**, 53, 14709.
120. S. Vasseur, E. Duguet, J. Portier, G. Goglio, S. Mornet, E. Hadová, K. Knížek, M. Maryško, P. Veverka, E. Pollert, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2006**, 302, 315.
121. E. Pollert, K. Knížek, M. Maryško, P. Kašpar, S. Vasseur, E. Duguet, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2007**, 316, 122.
122. V. Uskoković, A. Košak, M. Drogenik, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*, **2006**, 3, 134.
123. V. Uskoković, A. Košak, M. Drogenik, *Mater. Lett.*, **2006**, 60, 2620.

124. Y. W. Duan, X. L. Kou, J. G. Li, *Physica B*, **2005**, 355, 250.
125. M. L. Moreira, J. M. Soares, W. M. de Azevedo, A. R. Rodrigues, F. L. A. Machado, J. H. de Araújo, *Physica B*, **2006**, 384, 51.
126. G. A. Sawatzky, F. van der Moude, A. K. Morrish, *J. Appl. Phys.*, **1968**, 39, 1204.
127. N. Bloembergen, *Proc. Inst. Radio. Eng.*, **1956**, 44, 1259.
128. P. E. Tannenwald, *Phys. Rev.*, **1955**, 99, 463.
129. I. K. Yeong, D. Kim, C. S. Lee, *Physica B*, **2003**, 337, 42.
130. G. V. Duong, R. S. Turtelli, N. Hanh, D. V. Linh, M. Reissner, H. Michor, J. Fidler, G. Wiesinger, R. Grössinger, *J. Magn. Magn. Mater.* **2006**, 307, 313.
131. A. K. M. A. Hossain, K. K. Kabir, M. Seki, T. Kawai, H. Tabata, *J. Phys. Chem. Solids*, **2007**, 68, 1933.
132. C. Rath, S. Anand, R. P. Das, K. K. Sahu, S. D. Kulkarni, S. D. Date, N. C. Mishra, *J. Appl. Phys.*, **2002**, 91, 2211.
133. J. P. Chen, C. M. Sorensen, K. J. Klabunde, G. C. Hadjipanayis, E. Delvin, A. Kostikas, *Phys. Rev. B*, **1996**, 54, 9288.
134. C. Rath, K. K. Sahu, S. Anand, S. K. Date, N. C. Mishra, R. P. Das, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1999**, 202, 77.
135. C. Rath, N. C. Mishra, S. Anand, R. P. Das, K. K. Sahu, C. Upadhyaya, H. C. Verma, *Appl. Phys. Lett.*, **2000**, 76, 475.
136. R. Arulmurugan, G. Vaidyanathan, S. Sendhilnathan, B. Jeyadevan, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2006**, 303, 131.
137. R. Arulmurugan, G. Vaidyanathan, S. Sendhilnathan, B. Jeyadevan, *J. Magn. Magn. Mater.* **2006**, 303, 131.
138. G. Vaidyanathan, S. Sendhilnathan, *Physica B*, **2008**, 403, 2157.
139. G. Vaidyanathan, S. Sendhilnathan, R. Arulmurugan, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2007**, 313, 293.
140. G. Vaidyanathan, S. Sendhilnathan, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2008**, 320, 803.
141. I. H. Gul, A. Z. Abbasi, F. Amin, M. Anis-ur-Rehman, A. Maqsood, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2007**, 311, 494.
142. G. V. Duong, R. S. Turtelli, N. Hanh, D.V. Linh, M. Reissner, H. Michor, J. Fidler, G. Wiesinger, R. Grössinger, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2006**, 307, 313.
143. G. V. Duong, R. S. Turtelli, W. C. Nunes, E. Schafner, N. Hanh, R. Grössinger, M. Knobel, *J. Non-Cryst. Solids*, **2007**, 353, 805.

144. F. Gözüak, Y. Köseoğlu, A. Baykal, H. Kavas, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 2170.
145. W. Li, L. Fa-Shen, *Chin. Phys. B.*, **2008**, 17, 1858.
146. M. S. Tomar, S. P. Singh, O. Perales-Perez, R. P. Guzman, E. Calderon, C. Rinaldi-Ramos, *Microelectron. J.*, **2005**, 36, 475.
147. W. Stöber, A. Fink, E. J. Bohn, *J. Colloid Interface Sci.*, **1968**, 26, 62.
148. E. Wagner, H. Brunner, *Angew. Chem.*, **1960**, 72, 744.
149. G. Kolbe: Das komplexechemische Verhalten der Kieselsäure, Dissertation. Jena, **1956**.
150. L. M. Liz-Marzán, A. P. Philipse, *J. Colloid Interface Sci.*, **1995**, 176, 459.
151. G. Wang, A. Harrison, *J. Colloid Interface Sci.*, **1999**, 217, 203.
152. C. Graf, D. Vossen, A. Imhof, A. van Blaaderen, *Langmuir*, **2003**, 19, 6693.
153. L. M. Liz-Marzán, M. Giersig, P. Mulvaney, *Chem. Commun.*, **1996**, 731.
154. L. M. Liz-Marzán, M. Giersig, P. Mulvaney, *Langmuir*, **1996**, 12, 4329.
155. T. Ung, L. M. Liz-Marzán, P. Mulvaney, *Langmuir*, **1998**, 14, 3740.
156. M. A. Correa-Duarte, M. Giersig, L. M. Liz-Marzán, *Chem. Phys. Lett.*, **1998**, 286, 497.
157. A. P. Philipse, M. P. B. van Bruggen, C. Pathmamanoharan, *Langmuir*, **1998**, 14, 2245.
158. M. P. B van Bruggen, *Langmuir*, **1998**, 14, 2245.
159. J. N. Ryan, M. Elimelech, J. L. Baeseman, R. D. Magelky, *Environ. Sci. Technol.*, **2000**, 34, 2000.
160. S. Mornet, C. Elissalde, V. Hornebecq, O. Bidault, E. Duguet, A. Brisson, M. Maglione, *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 4530.
161. M. Kanehara, Y. Watanabe, T. Teranishi, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2009**, 9, 673.
162. S. G. Kim, N. Hagura, F. Iskandar, K. Okuyama, *Adv. Powder Technol.*, **2009**, 20, 94.
163. P. Molyneux: Water-soluble synthetic polymers: properties and behaviour. CRC Press Inc., Boca Raton, FL, **1983**.
164. J. N. Smith, J. Meadows, P. A. Williams, *Langmuir*, **1996**, 12, 3773.
165. M. Pattanaik, S. K. Bhaumik, *Mater. Lett.*, **2000**, 44, 352.
166. K. Esumi, H. Matsui, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.*, **1993**, 80, 273.
167. H. Otsuka, K. Esumii, *J. Colloid Interface Sci.*, **1995**, 170, 113.
168. N. E. Kotelnikova, E. F. Panarin, N. P. Kudina, *Zh. Obshch. Khim.*, **1997**, 67, 335.
169. M. Asai, N. Fujita, M. Sano, S. Shinkai, *J. Mater. Chem.* **2003**, 13, 2145.

170. T. Tago, T. Hatsuta, K. Miyajima, M. Kishida, S. Tashiro, K. Wakabayashi, *J. Am. Ceram. Soc.*, **2002**, 85, 2188.
171. T. Atarashi, Y. S. Kim, T. Fujita, K. Makatsuka, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1999**, 201, 7.
172. S. Santra, R. Tapeç, N. Theodoropoulou, J. Dobson, A. Hebrad, W. Tan, *Langmuir*, **2001**, 17, 2900.
173. P. Tartaj, T. González-Carreño, C. J. Serna, *J. Phys. Chem. B*, **2003**, 107, 20.
174. D. K. Yi, S. S. Lee, G. C. Papaefthymiou, J. Y. Ying, *Chem. Mater.*, **2006**, 18, 614.
175. C. R. Vestal, Z. J. Zhang, *Nano Lett.*, **2003**, 3, 1739.
176. A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, T. Kobayashi, *J. Biosci. Bioeng.*, **2005**, 100, 1.
177. S. Čampelj, D. Makovec, M. Drofenik, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 1346.
178. J. Wu, Z. Ye, G. Wang, J. Yuan, *Talanta*, **2007**, 72, 1693.
179. I. J. Bruce, T. Sen, *Langmuir*, **2005**, 21, 7029.
180. C. Zhang, B. Wängler, B. Morgenstern, H. Zentgraf, M. Eisenhut, H. Untenecker, R. Krüger, R. Huss, C. Seliger, W. Semmler, F. Kiessling, *Langmuir*, **2007**, 23, 1427.
181. F. Beari, M. Brand, P. Jenkner, R. Lehnert, H. J. Metternich, J. Monkiewicz, H. W. Siesler, *J. Organomet. Chem.*, **2001**, 625, 208.
182. H. J. Kang, W. Meesiri, F. D. Blum, *Mater. Sci. Eng. A-Struct.*, **1990**, 126, 265.
183. F. D. Osterholtz, E. R. Pohl, *J. Adhes. Sci. Technol.*, **1992**, 6, 127.
184. A. del Campo, T. Sena, J-P. Lellouche, I. J. Bruce, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2005**, 293, 33.
185. M. Veverka, P. Veverka, O. Kaman, A. Lančok, K. Závěta, E. Pollert, Knížek, J. Boháček, M. Beneš, P. Kašpar, E. Duguet, S. Vasseur, *Nanotechnology*, **2007**, 18, 345704.
186. Veverka M. et al, *J. Magn. Magn. Mater.*, (in preparation)
187. J. Rodriguez-Carvajal J: FullProf.2k (Version 4.30 - Apr2008-ILL JRC, Version 4.30-Apr2008-ILL JRC). **2007, 2008**.
188. Inorganic Crystal Structure Database, version 2007, National Institute of Standards and Technology (NIST) and Fachinformationszentrum Karlsruhe (FIZ), **2007**.
189. A. Platil, J. Tomek, P. Kašpar *Sensor Lett.*, **2007**, 5, 311.
190. H. Y. Carr, E. M. Purcell, *Phys. Rev.*, **1954**, 94, 630.
191. S. Meiboom, D. Gill, *Rev. Sci. Instrum.*, **1958**, 29, 688.
192. E. Dutková, P. Baláž, P. Pourghahramani, A. V. Nguyen, V. Šepelák, A. Feldhoff, J. Kováč, A. Šatka, *Solid State Ionics*, **2008**, 179, 1242.

193. P. Vaqueiro, M. P. Crosnier-Lopez, M. A. López-Quintela, *J. Solid State Chem.*, **1996**, 126, 161.
194. S. M. Montemayor, L. A. García-Cerda, J.R. Torres-Lubián, *Mater. Lett.*, **2005**, 59, 1056.
195. S. R. Dhage, S. P. Gaikwad, P. Muthukumar, V. Ravi, *Mater. Lett.*, **2004**, 58, 2704.
196. G. N. Chaudharia, S.V. Jagtap, N. N. Gedam, M. J. Pawar, V. S. Sangawar, *Talanta*, **2009**, 78, 1136.
197. M. Kakihana, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **1996**, 6, 7.
198. P. V. Cuong, J. Dho, H. Y. Park, D. H. Kim, *Appl. Phys. A-Mater. Sci. Process.*, **2009**, 95, 567.
199. S. Daengsakul, C. Mongkolkachit, C. Thomas, S. Siri, I. Thomas, V. Amornkitbamrung, S. Maensiri, *Appl. Phys. A-Mater. Sci. Process.*, **2009**, 96, 691.
200. D. R. Sahu, B. K. Roul, P. Pramanik, J.-L. Huang, *Physica B*, **2005**, 369, 209.
201. L. Vegard. *Z. Kristall.*, **1921**, 6, 239.
202. B. Hadjarab, S. Bassaid, A. Bouguelia, M. Trari, *Physica C*, **2006**, 439, 67.
203. R. Moos, T. Bischoff, W. Menesklou, K. H. Härdtl, *J. Mater. Sci.*, **1997**, 32, 4247.
204. R. D. Shannon, *Acta Cryst.*, **1976**, A32, 751.
205. B. Dabrowski, P. W. Klamut, Z. Bukowski, R. Dybziński, J. E. Siewenie, *J. Solid State Chem.*, **1999**, 144, 461.
206. S. V. Trukhanov, A. V. Trukhanov, S. G. Stepin, H. Szymczak, C. E. Botez, *Phys. Solid State*, **2008**, 50, 886.
207. N. Das, P. Mondal, D. Bhattacharya, *Phys. Rev. B*, **2006**, 74, 014410.
208. J. Novák, Z. Maková, Z. Pokorná, V. Hamplová, *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 923.
209. Z. Malková, J. Novák, V. Hamplová, Z. Pokorná, J. Fresenius, *Anal. Chem.*, **1993**, 347, 478.
210. S. Miyoshi, J.-O. Hong, K. Yashiro, A. Kaimai, Y. Nigara, K. Kawamura, T. Kawada, J. Mizusaki, *Solid State Ionics*, **2002**, 154, 257.
211. J. Mizusaki, N. Mori, H. Takai, Y. Yonemura, H. Minamiue, H. Tagawa, M. Dokiya, H. Inaba, K. Naraya, T. Sasamoto, T. Hashimoto, *Solid State Ionics*, **2000**, 129163.
212. B. C. Tofield, W.R. Scott, *J. Solid State Chem.*, **1974**, 10, 183.
213. J. A. M. Roosmalen, E. H. P. Cordfunke, R. B. Helmholtz, H. W. Zandbergen, *J. Solid State Chem.*, **1994**, 110, 100.
214. C.-S. Kim, H.-I. Yoo, *J. Electrochem. Soc.*, **1996**, 143, 2863.
215. D.-K. Lee, H.-I. Yoo, *J. Electrochem. Soc.*, **2000**, 147, 2835.

216. A. Arrott, *Phys. Rev.*, **1957**, 108, 1394.
217. Y F. Krupyans, I. P. Suzdalev, *Zh. Éksp. Teor. Fiz.*, **1974**, 67, 736.
218. D. H. Han, J.P. Wang, H. L. Luo, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1994**, 136, 176.
219. K. Maaz, S. Karim, A. Mumtaz, S. K. Hasanain, J. Liu, J. L. Duan, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 1838.
220. J. J. Lu, H. Y. Deng, H. L. Huang, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2000**, 209, 37.
221. M. M. Rashad, R. M. Mohamed, H. El-Shall, *J. Mater. Process. Technol.*, **2008**, 198, 139.
222. S. Mornet, C. Elissalde, V. Hornebecq, O. Bidault, E. Duguet, A. Brisson, M. Maglione, *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 4530.
223. J. Hong, H. Han, C. K. Hong, S. E. Shim, *J. Polym. Sci. Pol. Chem.*, **2008**, 46, 2884.
224. M. Ocaña, M. Andres-Verges, R. Pozas, C. J. Serna, *J. Colloid Interface Sci.*, **2006**, 294, 355.
225. X. Zhao, Y. Shi, T. Wang, Y. Cai, G. Jiang, *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1188, 140.
226. K. Li, R. Cheng, S. Wang, Y. Zhang, *J. Phys.: Condens. Matter.*, **1998**, 10, 4315.
227. G. Westin, A. Pohl, M. Ottosson, K. Lashgari, K. Jansson, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **2008**, 48, 194.
228. F. L. Galeener, A. J. Leadbetter, M. W. Stringfellow, *Phys. Rev. B*, **1983**, 27, 1052.
229. G. Lucovsky, C. K. Wong, W. B. Pollard, *J. Non-Cryst. Solids*, **1983**, 59-60, 839.
230. C. T. Kirk, *Phys. Rev. B*, **1988**, 38, 1255.
231. A. M. Efimov, *J. Non-Cryst. Solids*, **1998**, 232, 99.
232. A. N. Murashkevich, A. S. Lavitskaya, T. I. Barannikova, I. M. Zharskii, *J. Appl. Spectrosc.*, **2008**, 75, 730.
233. F. Gözüak, Y. Köseoğlu, A. Baykal, H. Kavasa, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 2170.
234. S. Mohapatra, N. Pramanik, S. Mukherjee, S. K. Ghosh, P. Pramanik, *J. Mater. Sci.*, **2007**, 42, 7566.
235. H. Cao, J. He, L. Deng, X. Gao, *Appl. Surf. Sci.*, **2009**, 255, 7974.
236. C. Barrera, A. Herrera, Y. Zayas, C. Rinaldi, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 1397.
237. Z. Wu, H. Xiang, T. Kim, M.-S. Chun, K. Lee, *J. Colloid Interface Sci.*, **2006**, 304, 119.
238. J. H. Moon, J. H. Kim, K. Kim, T. H. Kang, B. Kim, C. H. Kim, J. H. Hahn, J. W. Park, *Langmuir*, **1997**, 13, 4305.
239. R. Peña-Alonso, F. Rubio, J. Rubio, J. L. Oteo, *J. Mater. Sci.*, **2007**, 42, 595.

240. L. Bistričić, V. Volovšek, V. Dananić, *J. Mol. Struct.*, **2007**, 834–836, 355.
241. S. K. Sharma, R. Kumar, S. Kumar, V. V. S. Kumar, M. Knobel, V. R. Reddy, A. Banerjee, M. Singh, *Solid State Commun.*, **2007**, 141, 203.
242. T. Bitoh, K. Ohba, M. Takamatsu, T. Shirane, S. Hikazawa, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **1995**, 64, 1305.
243. B. H. Sohn, R. E. Cohen, G. C. Papaefthymiou, *J. Magn. Magn. Mater.*, **1996**, 182, 216.
244. B. D. Cullity: Introduction to magnetic materials. Addison-Wesley, Reading, MA, **1972**. Pp. 410–418.
245. S. Vasseur : Thesis. Université Bordeaux-1, **2007**.
246. D. H. Kim, D. E. Nikles, D. T. Johnson, C. S. Brazel, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2008**, 320, 2390.
247. N. K. Prasad, L. Hardel, E. Duguet, D. Bahadur, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 1490.
248. J. Vohlídal, A. Julák, K. Štulík: Chemické a analytické tabulky. Grada Publishing, Praha, **1999**.
249. O. A. Shlyakhtin, V. G. Leontiev, Y.-J. Oh, A. A. Kuznetsov, *Smart Mater. Struct.*, **2007**, 16, N35.
250. D. Horák, M. Babič, P. Jendelová, V. Herynek, M. Trchová, K. Likavčanová, M. Kapcalová, M. Hájek, E. Syková, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2009**, 321, 1539.
251. M. Babič, D. Horák, M. Trchová, P. Jendelová, K. Glogarová, P. Lesný, V. Herynek, M. Hájek, E. Syková, *Bioconjugate Chem.*, **2008**, 19, 740.
252. Y.-X. J. Wang, S. M. Hussain, G. P. Krestin, *Eur. Radiol.*, **2001**, 11, 2319.
253. C. W. Jung, P. Jacobs, *Magn. Reson. Imaging*, **1995**, 13, 661.
254. J. M. Perez, L. Josephson, R. Weissleder, *Chembiochem*, **2004**, 5, 261.
255. T. Atanasijevic, M. Shusteff, P. Fam, A. Jasanoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2006**, 103, 14707.
256. R. N. Muller, P. Gillis, F. Moiny, A. Roch, *Magn. Reson. Med.*, **1991**, 22, 178.
257. R. A. Brooks, F. Moiny, P. Gillis, *Magn. Reson. Med.*, **2001**, 45, 1014.
258. R. A. Brooks, *Magn. Reson. Med.*, **2002**, 47, 388.
259. P. Gillis, F. Moiny, R. A. Brooks, *Magn. Reson. Med.*, **2002**, 47, 257.
260. Y. Matsumoto, A. Jasanoff, *Magn. Reson. Imaging*, **2008**, 26, 994.
261. V. G. Kiselev, S. Posse, *Magn. Reson. Med.*, **1999**, 41, 499.
262. J. H. Jensen, R. Chandra, *Magn. Reson. Med.*, **2000**, 43, 226.

263. D. A. Yablonskiy, E. M. Haacke, *Magn. Reson. Med.*, **1994**, 32, 749.
264. P. Jendelová, D. Horák, M. Babič, et al, *Regenerative Med.*, **2007**, 2, 635.
265. D. Napierska, L. C. J. Thomassen, V. Rabolli, D. Lison, L. Gonzalez, M. Kirsch-Volders, J. A. Martens, P. H. Hoet, *Small*, **2009**, 5, 846.
266. K. O. Yu, C. M. Grabinski, A. M. Schrand, R. C. Murdock, W. Wang, B. Gu, J. J. Schlager, S. M. Hussain, *J. Nanopart. Res.*, **2009**, 11, 15.
267. V. Schachinger, S. Erbs, A. Elsasser, W. Haberbosch, R. Hambrecht, H. Holschermann, J. T. Yu, R. Corti, D. G. Mathey, C. W. Hamm, T. Suselbeck, N. Werner, J. Haase, J. Neuzner, A. Germing, B. Mark, B. Assmus, T. Tonn, S. Dimmeler, A. M. Zeiher, *Eur. Heart J.*, **2006**, 27, 2775.
268. T. Bartsch, M. Brehm, T. Zeus, B. E. Strauer, *J. Cardiovasc. Nurs.* **2006**, 21, 430.
269. G. A. Moviglia, R. F. Vina, J. A. Brizuela, J. Saslavsky, F. Vrsalovic, G. Varela, F. Bastos, P. Farina, G. Etchegaray, M. Barbieri, G. Martinez, F. Picasso, Y. Schmidt, P. Brizuela, C. A. Gaeta, H. Costanzo, M. M. Brandolino, S. Merino, M. E. Pes, M. J. Veloso, C. Rugilo, I. Tamer, G. S. Shuster, *Cytotherapy*, **2006**, 8, 202.
270. E. Syková, A. Homola, R. Mazanec, H. Lachmann, S. L. Konradová, P. Kobyłka Kobyłka, R. Padr, J. Neuwirth, V. Komrska, V. Vavra, J. Štulík, M. Bojar, *Cell Transplant.*, **2006**, 15, 675.

10. Přílohy

Příloha 1

O. Kaman, E. Pollert, P. Veverka, M. Veverka, E. Hadová, K. Knížek, M. Maryško, P. Kašpar, M. Klementová, V. Grünwaldová, S. Vasseur, R. Epherre, S. Mornet, G. Goglio, E. Duguet: Silica encapsulated manganese perovskite nanoparticles for magnetically induced hyperthermia without the risk of overheating. *Nanotechnology* **2009**, 20, 275610.

Příloha 2

M. Veverka, P. Veverka, O. Kaman, A. Lančok, K. Závěta, E. Pollert, K. Knížek, J. Boháček, M. Beneš, P. Kašpar, E. Duguet, S. Vasseur: Magnetic heating by cobalt ferrite nanoparticles. *Nanotechnology* **2007**, 18, 345704.

Příloha 2

E. Pollert, P. Veverka, M. Veverka, O. Kaman, K. Závěta, S. Vasseur, R. Epherre, G. Goglio, E. Duguet: Search of new core materials for magnetic fluid hyperthermia: Preliminary chemical and physical issues. *Progress in Solid State Chemistry* **2009**, xx, 1-14, (article in press).