

NANOPARTICULE REACTIVE MAGNETITĂ-POLIETILENGLICOL-CLORURĂ DE CIANURIL MAGNETITE-POLYETHYLENEGLYCOL-CYANURYL CHLORIDE REACTIVE NANOPARTICLES

AURELIA CRISTINA NECHIFOR^{1,2}, LUCIAN DĂNUȚ GHINDEANU¹, CRISTINA ORBECI¹,
OCTAVIAN DORCA¹, EUGENIA EFTIMIE TOTU^{1*}

¹ Universitatea POLITEHNICA București, str. G. Polizu, nr. 1, Sector 1, 011061, București, România

² Institutul Național de Microtehnologie, Str. Erou Iancu Nicolae nr. 126A, 077190 București, România

În această lucrare este prezentată sinteza și caracterizarea unor nanoparticule de magnetită acoperite cu polietilenglicol (PEG) și funcționalizate cu clorură de cianuril. Sinteza miezului magnetic, prin metoda Massart modificată, pornește de la materii prime de înaltă stabilitate, iar polietilenglicolii utilizați au o masă moleculară variabilă (300, 600, 1000, 2000, 4000 și 10.000 D). Nanoparticulele obținute au fost analizate structural și morfologic prin SEM, TEM, spectroscopie FT-IR și EDAX. Capacitatea de reacție a nanoparticulelor obținute a fost evaluată prin spectrometrie FTIR, determinare și titrare electrochimică.

In this paper it is presented the synthesis and characterization of magnetite nanoparticles coated with polyethylene glycol (PEG) and functionalized with cyanuryl chloride. The synthesis of magnetic core through modified Massart method, starts from high stability materials and it uses polyethyleneglycols with variable molecular weight (300, 600, 1000, 2000, 4000 and 10,000 D). The obtained nanoparticles were structurally and morphologically analyzed by help of SEM, TEM, FT-IR spectroscopy and EDAX. The chemical responsiveness of the obtained nanoparticles was evaluated by help of FTIR spectrometry, titration and electrochemical evaluation.

Keywords: magnetic nanoparticles, PEG, cyanuril chloride

1. Introducere

Sinteza nanoparticulelor magnetice compozite organice-anorganice ocupă un loc aparte în cercetarea științifică din ultimii ani [1-13]. Utilizarea nanoparticulelor magnetice într-o gamă foarte mare de aplicații precum: transportul medicamentelor, ferrofluide, medii magnetice de înregistrare și stocare a datelor, rezonanța magnetică imagistică cu agenți de contrast și în tratamentul cancerului prin hipertermie, este condiționată de stabilizare [1-4], asigurarea biocompatibilității [5-8] și a posibilității de grefare [9-13]. Obținerea nanoparticulelor de magnetită a fost studiată intens, fiind abordată prin metode fizice [14-16], chimice [17-19] și tehnici combinate [20-22]. Stabilizarea cu substanțe tensioactive [23], polimeri [24,25] sau chiar substanțe anorganice [26,27] rămâne și în acest moment un obiectiv major care trebuie să răspundă cerințelor de aplicare primordiale: biocompatibilitate și posibilitate de grefare/funcționalizare ulterioară. În această lucrare se abordează obținerea nanoparticulelor de magnetită prin metoda Massart [28] utilizând materii prime care asigură stabilitatea ionilor ferici și feroși, studiul acoperirii cu polietilenglicoli cu masă moleculară variabilă și funcționalizarea cu clorură de cianuril. Noile nanoparticule obținute au fost caracterizate prin SEM, TEM, spectroscopie FT-IR și EDAX. Noile nanoparticule magnetice reactive pot fi utilizate pentru imobilizarea de compuși organici și biologici cu grupări reactive –OH, –NH– sau –SH.

1. Introduction

In recent years, the synthesis of organic-inorganic composite nanoparticles have a special place in scientific research [1-13]. The usage of magnetic nanoparticles in a huge range of applications such as drug transport, ferrofluids, magnetic recording media and data storage, magnetic resonance imaging contrast agents in cancer treatment by hyperthermia, is subject to stabilization [1-4], ensuring biocompatibility [5-8] and the possibility of grafting [9-13]. The preparation of magnetite nanoparticles was studied intensively, being addressed by physical [14-16] and chemical [17-19] methods, and also by combined techniques [20-22]. The stabilization with surfactants [23], polymers [24,25] or inorganic substances [26,27] still remains a key challenge which must meet the requirements of the primary application: biocompatibility and possibility of subsequent grafting / functionalization. This paper deals with obtaining magnetite nanoparticles by Massart method [28] using raw materials which assure ferrous ferric ions stability. The work was extended over the study of magnetite nanoparticles coating with variable molecular weight polyethylene and the subsequent functionalization with cyanuryl chloride. The new nanoparticles obtained were characterized by SEM, TEM, FT-IR spectroscopy and EDAX. These reactive magnetic nanoparticles could be used to immobilize organic and biologic compounds with reactive groups -OH, -NH- or -SH.

* Autor corespondent/Corresponding author,
Tel.: 0723653521; e-mail: eugenia_totu@yahoo.com

2. Parte experimentală

Sinteza nanoparticulelor propuse se realizează în trei etape: obținerea nanoparticulelor de magnetită, acoperirea cu polietilenglicol și funcționalizarea cu clorură de cianuril.

2.1. Reactivi

Sarea Mohr $((\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), oxalatul de fier și amoniu, $((\text{NH}_4)_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), *polietilen glicolii utilizați au o masă moleculară variabilă (300, 600, 1000, 2000, 4000 și 10,000 D, Loba Feinchemie)*, azotat de argint (AgNO_3 , Merck) hidroxid de potasiu (KOH, Fluka), clorură de cianuril ($\text{C}_3\text{Cl}_3\text{N}_3$, Sigma-Aldrich). Etanolul, alcoolul izopropilic, clorura de metilen și acetona provin de la Merck. Apa ultrapură a fost obținută cu un modul Millipore.

2.2. Sinteza nanoparticulelor de magnetită

0,01 moli sare Mohr și 0,02 moli oxalat de fier și amoniu se dizolvă într-un litru de apă ultrapură într-un vas de 5 L, tip autoclavă de sticlă (quartz), prevăzut cu un agitator elice, cu o turație de 300 rpm. Sub agitare energetică se adaugă 0,1 moli KOH soluție etanolică (1L). Se obține magnetită în suspensie coloidală, brun închis, care se separă după 4 ore, prin oprirea agitării și colectarea cu un magnet permanent. Suspensia se introduce într-o membrană cilindrică de celuloză regenerată și se dializează dinamic, timp de 24 de ore, prin verificarea permanentă a pH-ului (fig. 1).

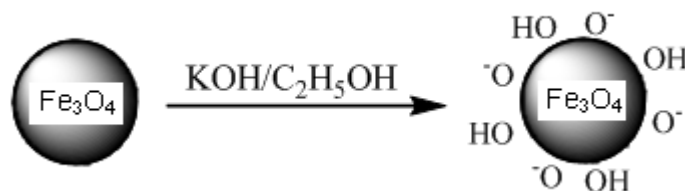


Fig. 1 - Obținerea nanoparticulelor de magnetită / Magnetite nanoparticles synthesis

2.3. Acoperirea nanoparticulelor cu PEG și funcționalizarea cu clorură de cianuril

200 mL de suspensie cu pH 8 se introduc pentru procesare în cuva de teflon a unei mori coloidale (Retsch^R P 100), împreună cu 100 corpuri de măcinare sferice de 2 mm și 100 mL soluție 1% PEG, la 250 rpm, timp de 3 ore. Particulele magnetice obținute au fost separate în câmp magnetic, uscate și spălate cu etanol, clorură de metilen și acetonă în proporții egale de 100 mL. Aceste particule au fost analizate FTIR, SEM și EDAX. Pentru funcționalizarea nanoparticulelor magnetice, particulele acoperite cu PEG au fost introduse într-o soluție saturată de clorură de

2. Experimental

The proposed nanoparticles synthesis was performed in three stages: obtaining magnetite nanoparticles, polyoxyethylene coating and functionalization with cyanuryl chloride.

2.1. Materials

Mohr's salt $((\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich), ferrous and ammonium oxalate $((\text{NH}_4)_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, from Sigma-Aldrich), polyethylene glycols (PEG) having a variable molecular weight (300, 600, 1000, 2000, 4000 and 10,000 D, Loba Feinchemie), silver nitrate (AgNO_3 , Merck) potassium hydroxide (KOH, Fluka), cyanuryl chloride ($\text{C}_3\text{Cl}_3\text{N}_3$, Sigma-Aldrich), ethanol, isopropyl alcohol, methylene chloride and acetone from Merck. Ultrapure water was obtained with a Millipore module.

2.2. Synthesis of magnetite nanoparticles

0.01 moles of Mohr salt and 0.02 moles of ferrous and ammonium oxalate were dissolved in one liter of ultrapure water placed in a bowl for 5 L glass autoclave type (quartz), equipped with a propeller stirrer at 300 rpm mixing rate. Under vigorous stirring it was added 0.1 moles KOH ethanolic solution (1L). Thus, it was obtained magnetite in colloidal suspension, a dark brown product, which was separated after 4 hours by turning off the stirring and collecting the magnetite with a permanent magnet. The suspension was introduced into a regenerated tubular cellulose membrane and it was dynamically dialyzed for 24 hours, while constantly checking the pH (Fig. 1).

2.3. The nanoparticles coating with PEG and their functionalization with cyanuryl chloride

200 mL of suspension with pH 8 was introduced for processing in a Teflon pan of a colloidal mill (Retsch^R P 100), along with 100 spherical grinding pieces of 2 mm and 100 mL solution of 1% PEG at 250 rpm for 3 hours. The obtained magnetic particles were separated in a magnetic field, then dried and washed with ethanol, methylene chloride and acetone in equal proportions of 100 mL. These particles were analyzed by FTIR, SEM and EDAX. For the functionalization of magnetic nanoparticles, PEG-coated particles were placed in a cyanuryl chloride

cianuril în diclormetan (60 mL) și agitate puternic timp de 4 ore, la temperatura camerei. Particulele funcționalizate au fost separate în câmp magnetic, spălate cu etanol și acetonă și apoi uscate. Reacția a fost efectuată la 25°C (când se înlocuiește doar un atom de clor). Schema de reacție este prezentată în figura 2.

saturated solution in dichloromethane (60 mL) and then vigorously stirred for 4 hours at room temperature. The functionalized particles were separated in a magnetic field, washed with ethanol and acetone and then dried. The reaction was carried out at 25° C (when only one atom of chlorine is replaced). The reaction scheme is shown in Figure 2.

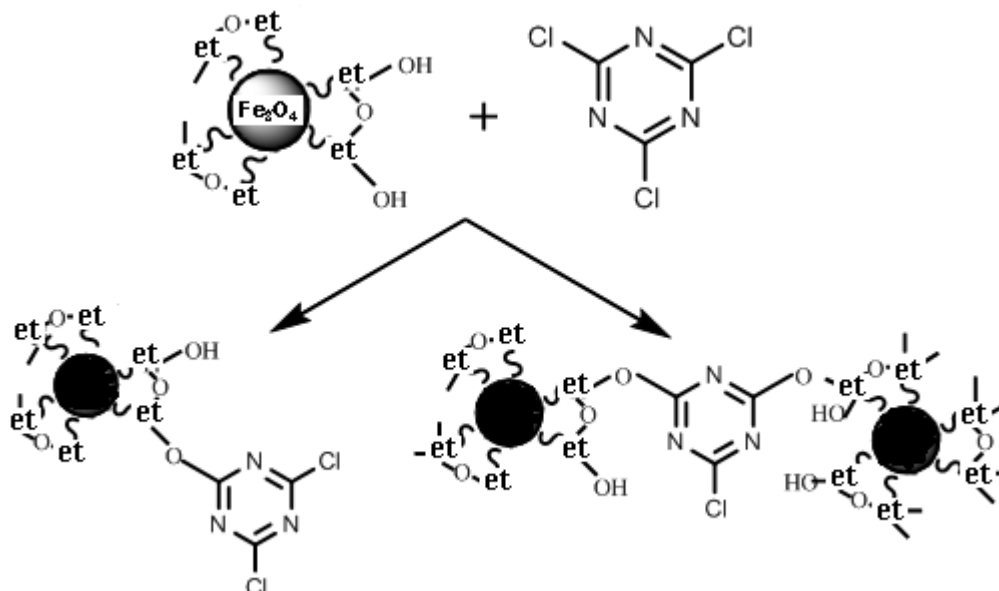


Fig. 2 - Reacții posibile între nanoparticulele acoperite și clorura de cianuril la 25°C / Possible reactions between covered nanoparticles and cyanuric chloride at 25°C.

2.4 Metode și tehnici analitice

Microscopia electronică a fost utilizată în două variante: microscopia electronică de baleiaj (SEM) și microscopia electronică de transmisie (TEM). Microscopia electronică de baleiaj a fost realizată prin intermediul unui aparat FESEM Hitachi S4500. Studiul prin microscopie electronică de transmisie s-a efectuat cu ajutorul microscopului electronic prin transmisie de înaltă rezoluție (HRTEM) de tip TECNAI F30 G² STWIN cu rezoluție liniară de 1Å și o rezoluție punctuală de 1,4 Å. Pentru prelevarea probelor s-a utilizat o grilă de cupru acoperită cu un strat (perforat) foarte subțire de carbon amorf. Pe această grilă s-au cules particule fine din suspensia omogenizată. Probele astfel prelevate au fost examinate prin microscopie electronică prin transmisie în câmp luminos (TEM BF) și difracție de electroni (SAED), microscopie electronică prin transmisie de înaltă rezoluție (HRTEM) și microanaliză de raze X dispersivă în energie (EDAX), caracterizându-se astfel probele din punct de vedere nanostructural și nanocompozițional.

Analizele spectrometrice au fost efectuate cu aparatul IR cu transformată Fourier (FTIR), Bruker Tensor 27, prevăzut cu dispozitiv din diamant pentru atenuarea reflexiei totale (ATR).

Evaluarea funcționalizării cu grupări reactive

2.4 Analytical Methods and Techniques Applied

The electronic microscopy was used in two ways: scanning electronic microscopy (SEM) and transmission electronic microscopy (TEM). Scanning electronic microscopy was performed using a Hitachi S4500 FESEM device. Transmission electronic microscopy study was performed using a high resolution transmission electronic microscopy (HRTEM) of type TECNAI F30 G² STWIN with linear resolution of 1Å and a punctual resolution of 1.4 Å. For sampling was used a copper grid coated with a very thin layer (perforated) of amorphous carbon. On this grid there were collected fine particles from the homogeneous suspension. The samples thus obtained were examined by transmission electronic microscopy in bright field (TEM BF) and electron diffraction (SAED), high resolution transmission electronic microscopy (HRTEM) and energy dispersive X-ray microanalysis (EDAX), characterizing the samples from nano-structural and nano-compositional point of view.

The spectrometry analyzes were performed by help of IR with Fourier transformed (FTIR), Bruker Tensor 27, fitted with diamond device for reducing the total reflection (ATR).

The functionalization with reactive groups assessment was achieved through three

a fost realizată prin trei tehnici: cu aparatul IR cu transformată Fourier (FTIR), Bruker Tensor 27, prevăzut cu dispozitiv din diamant pentru atenuarea reflexiei totale (ATR) prin raportarea la probe etalon la numărul de undă 2170 cm^{-1} , determinarea cu electrod ion-selectiv (ISE) și titrare micropotențiomtrică cu azotat de argint (MPT). Pentru evaluare s-a utilizat o probă de 10mg particule magnetice reactive (FTIR) și extractul apos (4 ore la 35°C) al acestora (ISE și MPT).

3. Rezultate și discuții

3.1. Analiza microscopiei electronice

Imaginile SEM, obținute cu instrumentul FEI Instpect F, care este echipat cu un detector de raze X dispersive în energie, arată formarea a numeroase agregate de magnetită care au o dispersibilitate relativ bună, fapt așteptat datorită activării nanoparticulelor de oxizi de fier care la suprafață au condus la formarea unui strat uniform și continuu de grupări hidroxi și hidroxizi (fig. 3). Prin măcinarea nanoparticulelor de magnetită cu PEG și apoi acoperirea cu clorură de cianuril, se obține o nanodispersie a cărei distribuție a mărimii particulelor scade de la 12-20 nm (fig. 3) la 8-10 nm (fig. 4). Microscopia electronică de transmisie confirmă atât compoziția miezului magnetic, ca fiind magnetită, cât și dimensiunea nanoparticulelor compozite (fig 5 și 6).

Nanoparticulele acoperite cu înveliș organic au fost analizate prin EDAX pentru evaluarea compoziției elementare principale (Fe, O și C) și aprecierea gradului de acoperire (fig. 7). Datele subliniază un raport organic/anorganic favorabil activării ulterioare.

techniques: by help of IR with Fourier transformed (FTIR) Bruker Tensor 27, fitted with diamond device for reducing the total reflection (ATR) against to a standard sample at the wave number 2170 cm^{-1} ; by determining with an ion-selective electrode (ISE) and by micro-potentiometric titration with silver nitrate (MPT). For evaluation it was used a sample of 10mg reactive magnetic particles (FTIR) and their aqueous extract (4 hours at 35°C) (ISE and MPT).

3. Results and Discussions

3.1. Electronic microscopy analysis

SEM images obtained with FEI instrument Instpect F, which is equipped with an energy dispersive X-ray detector showed the formation of several aggregates of magnetite which have a relatively good dispersion. Such behaviour was expected due to the activation of iron oxide nanoparticles which resulted in a uniform and continuous hydroxo and hydroxy groups layer over the surface (Fig. 3). By grinding the magnetite nanoparticles with PEG and then covering them with cyanuryl chloride, it was obtained a nanodispersion whose distribution of particles size decreases from 12 - 20 nm (Fig. 3) to 8 - 10 nm (Fig. 4). Transmission electronic microscopy confirmed both the magnetic core composition, as being magnetite, and the composite nanoparticle's size (Fig. 5 and Fig. 6).

The covered nanoparticles with organic coating were analyzed by EDAX for evaluating the primary elemental composition (Fe, O and C) and to estimate the covering degree (Fig. 7). The data highlighted a favorable organic / inorganic ratio for subsequent activation.

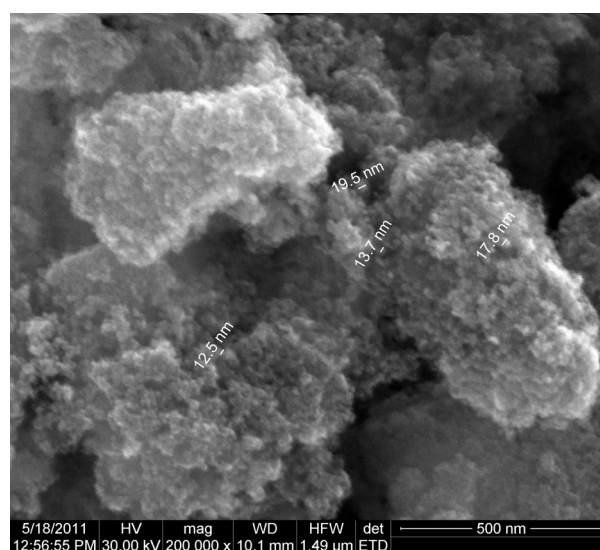
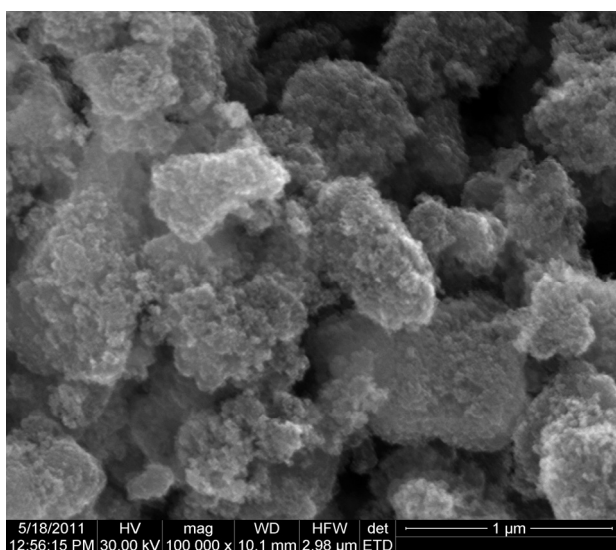


Fig. 3 - Imagini SEM ale nanoparticulelor de magnetită la mărirea de 10000x (a) și de 20000x (b)
SEM images of the magnetite nanoparticles at 10000x (a) and 20000x (b).

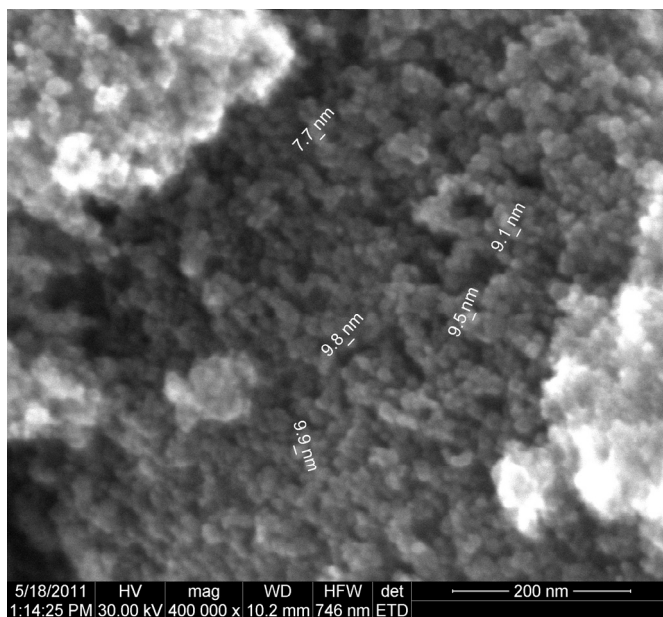


Fig. 4 - Imagini SEM ale compozitului acoperit și funcționalizat la mărire de 400000x
SEM images of the covered and functionalised composite at 400000x.

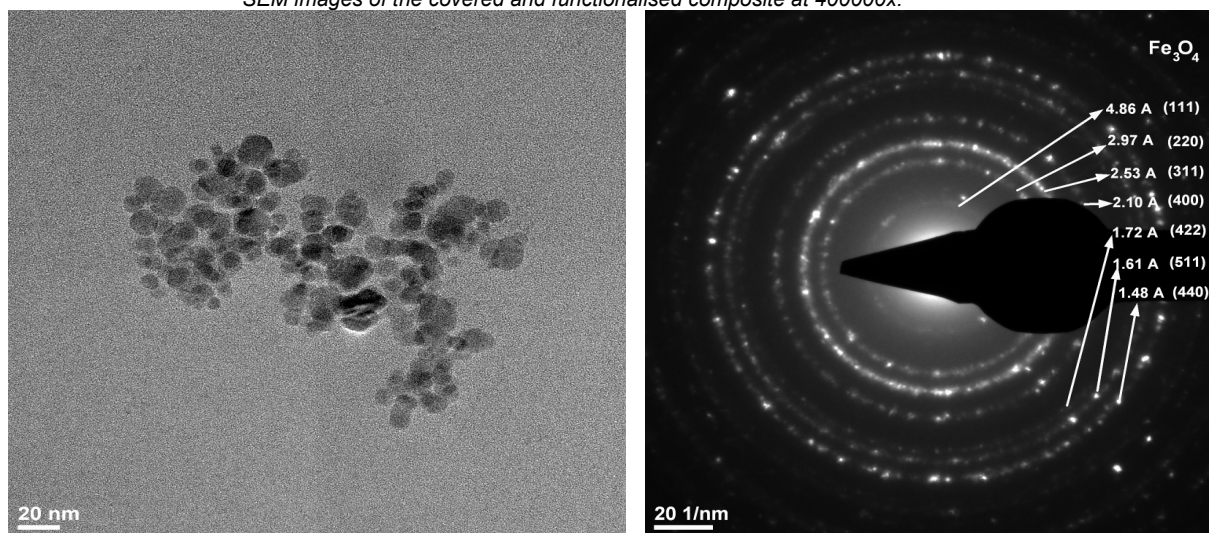


Fig. 5 - Imagine de microscopie electronică prin transmisie în câmp luminos (TEMBF) care prezintă un ansamblu de nanoparticule(a) și imagine de difracție de electroni (SAED) (b)/ Transmission electronic microscopy image in bright field (TEMBF) presenting an ensemble of nanoparticles (a) and electron diffraction (SAED) (b).

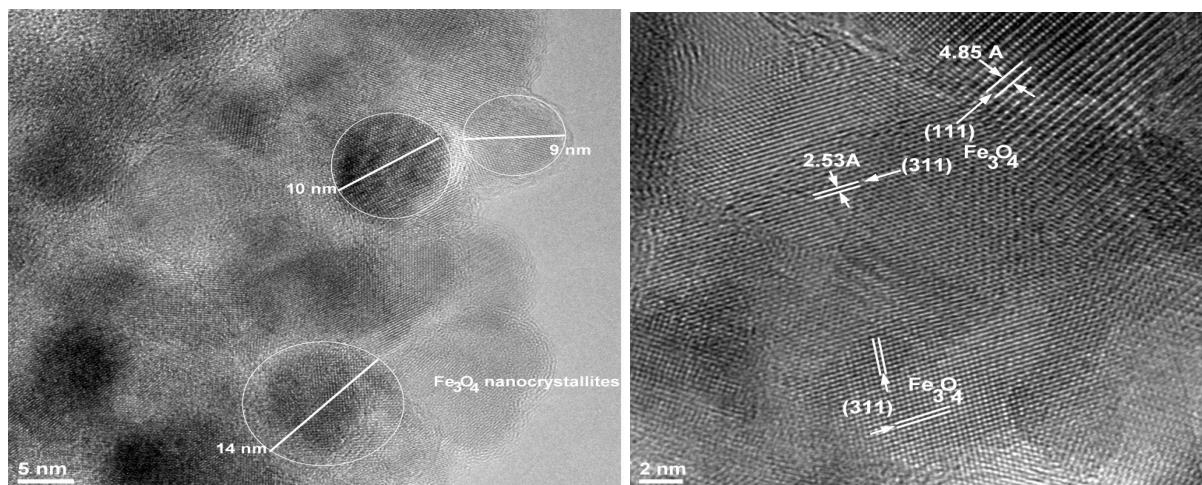


Fig. 6 - Imagine de microscopie electronică prin transmisie de înaltă rezoluție-HRTEM (a) și detaliu imagine de microscopie electronică prin transmisie de înaltă rezoluție- HRTEM (b)/ Transmission electronic microscopy image of high resolution, HRTEM (a) and picture detail of high resolution transmission electronic microscopy- HRTEM (b).

3.2 Analiza FTIR

Analiza FTIR a fost efectuată cu un instrument Bruker Tensor 27, prevăzut cu dispozitiv din diamant pentru atenuarea reflexiei totale (ATR). Nanoparticulele de magnetită (a), magnetită acoperită cu PEG (b) și funcționalizate cu clorură de cianuril (c) se pot observa în figura 8.

Spectrele indică apariția unei acoperiri a nanoparticulelor cu solvent de spălare (fig. 8a), amplificarea acoperirii după măcinarea coloidală cu polietilenglicol (fig. 8b) și dispariția unor importante

3.2 FTIR Analysis

FTIR analysis was performed by help of a Bruker Tensor 27 instrument, fitted with diamond device for reducing the total reflection (ATR). The magnetite nanoparticles (a), PEG coated magnetite (b) and functionalized with cyanuryl chloride (c) are shown in Figure 8.

The obtained spectra indicate the emergence of a nanoparticle coating with washing solvent (Fig. 8a), then an enhancement of coating after the colloidal grinding with polyethylene glycol (Fig. 8b)

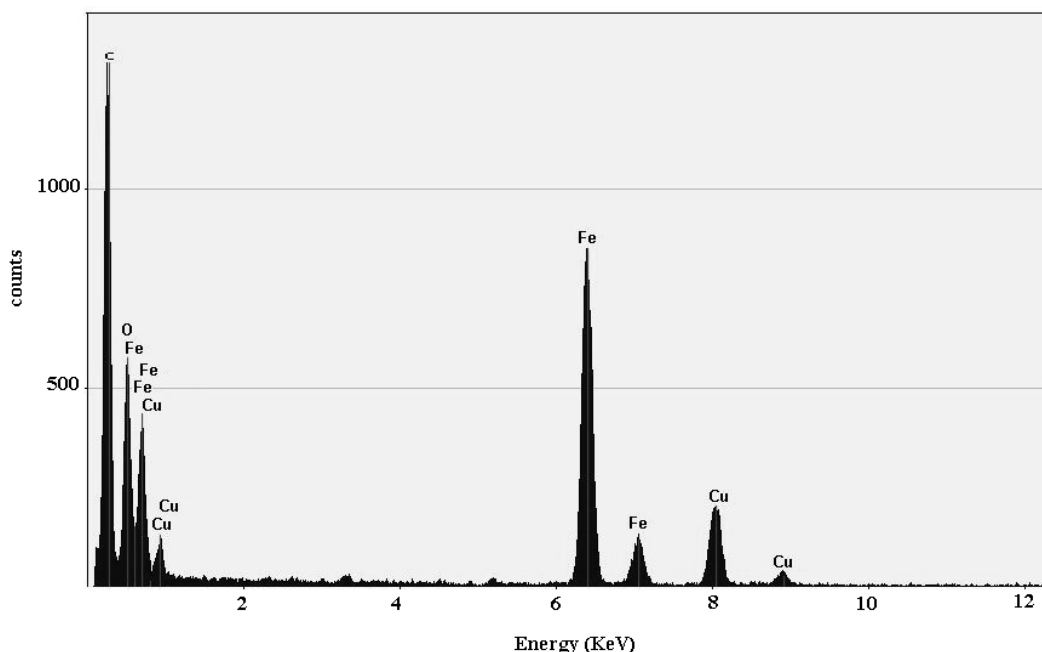


Fig. 7 - Compoziția elementară a nanoparticulelor compozite/EDAX elemental composition of composite nanoparticles.

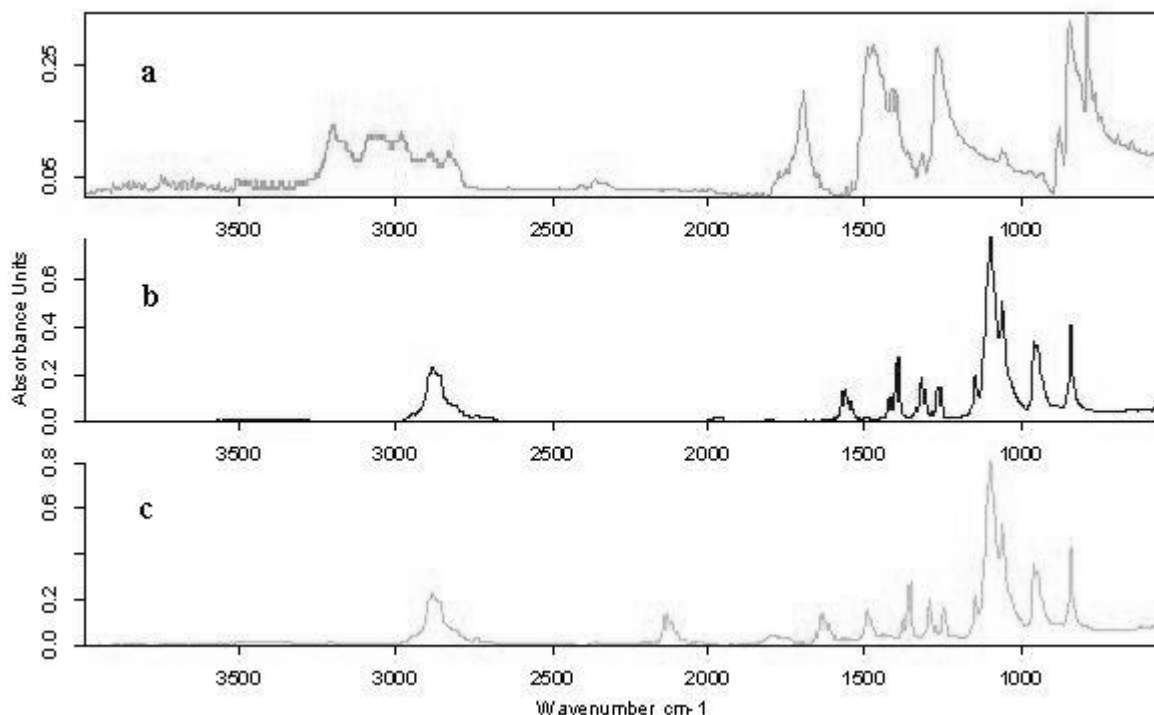


Fig. 8 - Spectrul FTIR al nanoparticulelor de magnetită (a), magnetită și PEG (b) și magnetită-PEG-clorură de cianuril (c).
FTIR spectrum of magnetite nanoparticles (a), magnetite and PEG (b) and magnetite-PEG-chloride cyanuril (c).

benzi, specifice grupărilor hidroxilice de la 3200-3600 cm^{-1} și reducerea intensității benzilor C-O, de la 1560 cm^{-1} (fig. 8c). În spectrul din figura 8c se remarcă și apariția benzilor specifice legăturii -C=N- în zona 2050-2200 cm^{-1} . Utilizând intensitatea benzii de la 2170 cm^{-1} s-a realizat o evaluare a gradului de acoperire cu polietilenglicoli de masă moleculară medie variabilă și a numărului relativ de grupări reactive, provenind de la clorura de cianuril, care sunt pe suprafața nanoparticulelor magnetice. Utilizând aproximațiile legii Lambert Beer ($A=KdL\eta_j$, unde: K este o pantă a curbei de etalonare, L include diferența de lungime de undă, iar η_j este numărul de grupări absorbante) s-a reușit evidențierea gradului de acoperire și a numărului de grupări reactive =CH-Cl, în funcție de masa moleculară a PEG (tabel 1). Acest număr al grupărilor reactive a fost determinat utilizând tehnica titrării ionilor clorură prin titrare cu azotat de argint și determinare cu electrodul ion-selectiv (tabel 1). Rezultatele comparative arată un grad de funcționalizare de circa 120-570 grupări reactive pe nanoparticula magnetică. Rezultatele arată că numărul de grupări reactive, provenind de la clorura de cianuril depinde de masa moleculară a polietilenglicolului utilizat la acoperire.

and the disappearance of some important bands specific to hydroxyl groups at 3200-3600 cm^{-1} , plus an intensity reducing of C-O bands from 1560 cm^{-1} (fig. 8c). The spectrum from Fig. 8c reveals the presence of the specific bands for -C=N- bond in the range 2050-2200 cm^{-1} . Using the band intensity at 2170 cm^{-1} it was made an evaluation of the coverage degree with average variable molecular mass polyethylene glycol and of the reactive groups relative number, coming from the cyanuryl chloride, which were found on the surface of the magnetic nanoparticles. Using the approximations of Lambert Beer law ($A=KdL\eta_j$) it was possible to highlight the coverage degree and the number of reactive groups =CH-Cl depending on the molecular weight of PEG (Table 1). The number of reactive groups was established by using the titration technique of chloride ions with silver nitrate and determination using ion-selective electrode (Table 1). The comparative results show a functionalization degree of approximately 120-570 reactive groups on the magnetic nanoparticle. The results show that the number of reactive groups, coming from the cyanuryl chloride, depends on the molecular mass of polyethylene glycol used for coating.

Tabelul 1

Numărul de grupări reactive per nanoparticula compozită / Number of reactive groups per composite nanoparticles

PEG		300	600	1000	2000	4000	10000
Numărul de grupări reactive N = C-Cl determinat prin The number of reactive groups- N = C-Cl determined by	FTIR	240	331	495	572	197	134
	ISE	223	292	446	532	174	126
	MET	216	305	434	551	178	117

Ar fi fost de așteptat ca numărul maxim de grupări reactive să se obțină pentru PEG de masă moleculară 300, pentru că ar avea numărul cel mai mare de grupări O-H/mg de produs de acoperire. Datele din tabelul 1 indică totuși că există o preferință a nanoparticulelor de a se acoperi cu PEG 1000 și 2000, și implicit, de a realiza în final substituția cu clorură de cianuril și generarea de grupări reactive. Gradul de acoperire și funcționalizare indicat sugerează că atât acoperirea cu polietilenglicoli de masă mică (300 și 600) cât și foarte mare (4000, 6000), nu este completă.

4. Concluzii

În această lucrare am prezentat obținerea unor noi particule magnetice reactive, magnetită-PEG-clorură de cianuril, care pot fi folosite în multiple aplicații care impun funcționalizarea ulterioară a acestora cu: complexanți, enzime sau proteine. Reactivitatea nanoparticulelor de magnetită acoperită cu polietilenglicoli este maximă la utilizarea PEG 1000 și 2000 și a fost

It would have been expected that the maximum number of reactive groups to be obtained for PEG with molecular mass 300, because it has the highest number of O-H groups /mg of coverage product. However, the data from Table 1 reveals that there is a preference for nanoparticles to cover themselves with PEG 1000 and 2000, and thus ultimately to achieve the cyanuryl chloride substitution and to generate reactive groups. The coverage and functionalization degree suggests that the coverage with polyethylene glycol of both low molecular mass (300 and 600) and very high molecular mass (4000 and 10000) is not complete.

4. Conclusions

In this paper, it was presented the obtaining of some new reactive magnetic particles, magnetite - PEG - cyanuryl chloride that could be used in many applications that require subsequent functionalization of these particles with: complexing agents, enzymes or proteins. The reactivity of magnetite nanoparticles coated with polyethylene glycol is maximum when using PEG 1000 and 2000

evaluată prin FTIR, determinare și titrare micropotențimetrică.

Mulțumiri

Rezultatele prezentate în acest articol au fost obținute cu sprijinul Ministerului Muncii, Familiei și Protecției Sociale prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013, POSDRU/88/1.5/S/76813 (proiect prin care s-a finanțat cercetarea doctoranzilor Octavian Dorca și Dănuț Lucian Ghindeanu) și Fondul Social European, prin proiectul POSDRU/89/1.5/S/63700, 2010-2013, 'Dezvoltarea Resurselor Umane prin Cercetare Postdoctorală în Domeniul Micro și Nanotehnologiilor' (proiect prin care s-a finanțat cercetarea realizată de Nechifor Aurelia Cristina).

REFERENCES

1. M. A. Willard, L. K. Kurihara, E. E. Carpenter, S. Calvin and V. G. Harris, Chemically prepared magnetic nanoparticles, *International Materials Reviews*, 2004, **49** (3), 125.
2. Yu. V. Kulvelisa, V. A. Trounova, V. T. Lebedeva, D. N. Orlova, and M. L. Gelfond, Synthesis and structural investigation of ferrofluids with porphyrins and prospects of their application in photodynamic therapy, *Journal of Surface Investigation. X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques*, 2009, **3** (3), 379.
3. Pedro Tartaj, Maria del Puerto Morales, Sabino Veintemillas-Verdaguer, Teresita Gonzalez-Carreno and Carlos J. Serna, The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine, *J. Phys. D:Appl. Phys.*, 2003, **36**, R182.
4. Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones and J. Dobson, Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, *J.Phys.D:Appl. Phys.*, 2003, **36**, R167.
5. K. Gupta and M. Gupta, Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomaterials*, 2005, **26** (18), 3995.
6. N. Nitin, L. E. W. LaConte, O. Zurkiya, X. Hu and G. Bao, Functionalization and peptide-based delivery of magnetic nanoparticles as an intracellular MRI contrast agent, *J. Bio. Inorg. Chem.*, 2004, **9** (6), 706.
7. R. Muller, R. Hergt, M. Zeisberger and W. Gawalek, Preparation of magnetic nanoparticles with large specific loss power for heating applications, *J. Magn. Magn. Mater.*, 2005, **289**, 13.
8. A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fahling and R. Felix, Magnetic fluid hyperthermia (MFH): cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles, *J.Magn. Magn. Mater.*, 1999, **201**, 413.
9. A.C. Nechifor, M.G. Stoian, S.I. Voicu, and G. Nechifor, Modified Fe₃O₄ colloidal dispersed magnetic particles as carrier in liquid membranes, *Optoelectronics and Advanced Materials – Rapid Communications*, 2010, **4** (8), 1118.
10. F.D. Balacianu, A.C. Nechifor, R. Bartos, S.I. Voicu, and G. Nechifor, Synthesis and characterization of Fe₃O₄ magnetic particles-multiwalled carbon nanotubes by covalent functionalization, *Optoelectronics and Advanced Materials – Rapid Communications*, 2009, **3** (3), 219.
11. V.I. Luntraru, O. Gales, L. Iarca, E. Vasile, S.I. Voicu, and A.C. Nechifor, Synthesis and characterization of magnetite - titanium dioxide-4-Benzene-azo-alpha-naphthylamine and methylene blue composites, *Optoelectronics and Advanced Materials – Rapid Communications*, 2011, **5** (11), 1229.
12. E. Andronescu, O. Nicola, C. Bărsan, and C. Ghițulică, Ferrimagnetic biomaterials with applications in medicine, *Romanian Journal of Materials*, 2007, **37**(2), 122.
13. A.M. Grumezescu, E. Andronescu, A. Ficăi, C. Saviuc, D. Mihăiescu, and M.C. Chifiriuc, DEAE-cellulose /Fe₃O₄/ cephalosporins hybrid materials for targeted drug delivery, *Romanian Journal of Materials*, 2011, **41**(4), 383.

and it was evaluated by FTIR, micro-potentiometric determination and titration.

Acknowledgment

The results presented in this article were obtained with the Ministry of Labour, Family and Social Protection Sectorial Operational Programme Human Resources Development 2007-2013, POSDRU/88/1.5/S/76813 (which funded the research project for PhD students Octavian Dorca and Danut Lucian Ghindeanu) and the European Social Fund through POSDRU/89/1.5/S/63700 project, 2010-2013, 'Human Resources Development through postdoctoral research in the field of micro and nanotechnologies' (project that funded the research of Nechifor Aurelia Cristina).

14. O. Pascu, S. Marre, C. Aymonier, and A. Roig, Ultrafast and continuous synthesis of crystalline ferrite nanoparticles in supercritical ethanol, *Nanoscale*, 2013, **5**(5), 2126.
15. M. Kaur, B. S. Randhawa, J. Singh, and D. Utreja, Thermolysis studies on magnesium zinc bis(citrato)ferrate pentahydrate precursor for synthesis of ferrite nanoparticles, *Ceramics International*, 2013, **39**(3), 3453.
16. Z.F. Wu, Y. J. Cao, and F. Zhang, Synthesis and magnetic properties of Cr doped ZnO films via radio frequency plasma deposition, *Vacuum*, 2013, **90**, 6.
17. T. Ahmad, S. Khatoon, K. Coolahan, and S.E. Lofland, Solvothermal synthesis, optical and magnetic properties of nanocrystalline Cd_{1-x}MnxO (0.04 < x = 0.10) solid solutions, *Journal of Alloys and Compounds*, 2013, **558**, 117.
18. A. Hasanpour, M. Niyafar, M. Asan, and J. Amighian, Synthesis and characterization of Fe₃O₄ and ZnO nanocomposites by the sol-gel method, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2013, **334**, 41.
19. L. Gui, H. Wang, B.Q. Shentu, and Z.X. Weng, Synthesis and characterization of low-molecular-weight poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) in water. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, **128**(5), 2919.
20. X.Q. Chen, M. Arruebo, K.L. Yeung, Flow-synthesis of mesoporous silicas and their use in the preparation of magnetic catalysts for Knoevenagel condensation reactions, *Catalysis Today*, 2013, **204**, 140.
21. A.L. Xia, C.H. Zuo, L. Chen, C.G. Jin, and Y.H. Lv, Hexagonal SrFe₁₂O₁₉ ferrites: Hydrothermal synthesis and their sintering properties, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2013, **332**, 186.
22. F. Zhang, L. Cui, K. Lin, F.M. Jin, B. Wang, S.X. Shi, D.A. Yang, H. Wang, F. He, X.P. Chen, S. Cui, Preparation of carbon-encapsulated iron nanoparticles in high yield by DC arc discharge and their characterization, *Journal of Alloys and Compounds*, 2013, **553**, 367.
23. X.D. Liu, Z.G. Zhong, Y.F. Tang, and B.Y. Liang, Review on the Synthesis and Applications of Fe₃O₄ Nanomaterials, *Journal of Nanomaterials*, 2013, 902538 DOI: 10.1155/2013/902538
24. H. Srikanth, R. Hajndl, C. Chirinos, and J. Sanders, A. Sampath and T. S. Sudarshan, Magnetic studies of polymer-coated Fe nanoparticles synthesized by microwave plasma polymerization, *Appl. Phys. Lett.*, 2001, **79**, 3503.
25. J.F. Luna-Martinez, E. Reyes-Melo, V. Gonzalez-Gonzalez, C. Guerrero-Salazar, A. Torres-Castro, and S. Sepulveda-Guzman, Synthesis and characterization of a magnetic hybrid material consisting of iron oxide in a carboxymethyl cellulose matrix, *Journal of Applied Polymer Science* 2013, **127**(3), 2325.
26. R.G. RuizMoreno, A.I. Martinez, R. Castro-Rodriguez, and P. Bartolo, Synthesis and Characterization of Citrate Coated Magnetite Nanoparticles, *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, 2013, **26**(3), 709.
27. G. Wang and A. Harrison, Preparation of Iron Particles Coated with Silica, *J. Colloid Interface Sci.*, 1999, **217**, 203.
28. R. Massart, Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media, *IEEE TRANSACTIONS ON MAGNETICS*, 1981, **17**(2), 1247.
