



POLITECHNIKA RZESZOWSKA  
im. Ignacego Łukasiewicza  
WYDZIAŁ CHEMICZNY



PRACA DOKTORSKA

Synergia konwersji zmiennego pola magnetycznego  
i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną wybranych  
nanocząstek spineli magnetycznych do zastosowań w terapii fotomagnetotermicznej

mgr inż. Magdalena Kulpa-Greszta

Promotor pracy:

dr hab. Robert Pązik, prof. UR

Rzeszów, 2023



*Rozprawa doktorska powstała dzięki finansowemu wsparciu  
Narodowego Centrum Nauki w ramach realizacji projektu  
OPUS 13 2017/25/B/ST5/00497*



*Składam serdeczne podziękowania:*

***dr hab. Robertowi Pązikowi, prof. UR***

*za opiekę naukową, wszelką pomoc i życzliwą atmosferę. Dziękuję za dyskusje kształtujące moje postrzeganie nauki oraz stworzenie warunków umożliwiających rozwój naukowy. Dziękuję również za wyrozumiałość, cierpliwość i wsparcie.*

***Agacie Tomaszewskiej***

*za wspaniałą atmosferę pracy, wsparcie i nieocenioną pomoc.*

***Mężowi Krzysztofowi***

*za wiarę we mnie oraz pomoc w zachowaniu równowagi między pracą i życiem prywatnym.*

***Rodzicom***

*za wychowanie, wsparcie oraz wiarę we mnie i moje życiowe decyzje.*



## Spis treści

---

1.	Streszczenie.....	11
2.	Abstract.....	12
3.	Cel pracy.....	13
4.	Życiorys naukowy.....	14
5.	Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej.....	17
6.	Pozostały dorobek naukowy.....	18
7.	Wstęp teoretyczny.....	21
7.1.	Wpływ stymulacji temperaturowej na układy biologiczne.....	21
7.2.	Nanomateriały w hipertermii.....	22
7.3.	Mechanizmy konwersji zmiennego pola magnetycznego na energię cieplną.....	26
7.4.	Konwersja promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną.....	34
7.5.	Ferryty.....	37
8.	Materiały i metody.....	42
8.1.	Preparatyka nanomateriałów i nanostruktur.....	42
8.1.1.	Główne techniki otrzymywania materiałów ferrytowych.....	42
8.1.2.	Wytwarzanie heterostruktur o właściwościach magnetyczno-plazmonowych....	47
8.1.3.	Preparatyka nieorganiczno-organicznych materiałów kompozytowych.....	47
8.1.4.	Funkcjonalizacja powierzchni nanomateriałów pochodnymi fosfonowymi.....	48
8.2.	Charakterystyka właściwości fizykochemicznych nanomateriałów.....	49
8.2.1.	Rentgenowska dyfrakcja proszkowa (XRD).....	49
8.2.2.	Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM).....	50
8.2.3.	Spektroskopia w podczerwieni (FTIR).....	52
8.2.4.	Konwersja zmiennego pola magnetycznego oraz światła z zakresu bliskiej podczerwieni na energię cieplną.....	53
9.	Dyskusja wyników.....	55
10.	Wnioski końcowe.....	67
11.	Kopie prac stanowiących rozprawę doktorską.....	69
12.	Kopie oświadczeń współautorów.....	151
13.	Spis rysunków.....	177
14.	Literatura.....	178





## Spis skrótów

---

AMF	zmienne pole magnetyczne
APTES	(3-aminopropylo)trietoksylian
CNT	nanorurki węglowe
CT	tomografia komputerowa
DMEM	komórkowe medium hodowlane
FBS	płatowa surowica bydłęca
FI	obrazowanie fluorescencyjne
FWHM	szerokość piksu w połowie jego wysokości
FTIR-ATR	spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera wykorzystująca zjawisko osłabionego całkowitego odbicia
HDD	heksadekanadiol
HRTEM	wysokorozdzielcza transmisyjna mikroskopia elektronowa
HSP	białka szoku cieplnego
ICDD	międzynarodowa baza danych krystalograficznych
LOD	gęstość optyczna światła lasera
LSPR	lokalizowany powierzchniowy rezonans plazmonowy
MMA	metakrylan metylu
MPS	system mononuklearnych fagocytów
MPTS	(3-merkaptopropylo)trimetoksylian
MRI	magnetyczny rezonans jądrowy
NIR	promieniowanie elektromagnetyczne z zakresu bliskiej podczerwieni
PAMAM	poli(amidoamina)
PDA	polidopamina
PEG	glikol polietylenowy
PEI	polietylenoimina
PET	pozytronowa tomografia emisyjna
PMMA	poli(metakrylan metylu)
PVA	poli(alkohol winylowy)
PVP	poliwinylopirolidon
SAED	dyfrakcja elektronowa z wybranego obszaru
SAR	współczynnik absorpcji właściwej
SERS	powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramana
SPR	rezonans plazmonów powierzchniowych
STEM	transmisyjna skaningowa mikroskopia elektronowa
STEM-EDS	transmisyjna skaningowa mikroskopia elektronowa z mikroanalizą dyspersji energii
TDD	tetradekanadiol
TEM	transmisyjna mikroskopia elektronowa
TEOS	tetraetoksylian
THF	tetrahydrofuran
VTES	trimetoksywinylosilan
XRD	rentgenowska dyfrakcja proszkowa



## 1. Streszczenie

---

Praca doktorska dotyczy projektowania nowoczesnych nanomateriałów funkcjonalnych wykorzystujących zdolność do generowania ciepła pod wpływem bezkontaktowej i jednoczesnej stymulacji czynnikami zewnętrznymi takimi jak zmienne pole magnetyczne oraz światło lasera z zakresu I i II optycznej bramki biologicznej. Efekt ten może być z powodzeniem użyty w selektywnej i lokalizowanej hipertermii w celu eliminacji komórek nowotworowych. Równoczesne zastosowanie obu czynników indukujących ciepło pozwala na rozwiązanie problemu spadku efektywności indukcji temperatury z zakresu terapeutycznego i umożliwia zmniejszenie stosowanego stężenia nanomateriałów w hipertermii. Materiały ferrytowe wykazują wysoką wydajność konwersji czynników stymulujących w trybie synergii, która często przekracza 1000 W/g, a dla najbardziej efektywnych struktur o kontrolowanej morfologii może być ona większa niż 3000 W/g. Efektywność ta silnie zależy od parametrów zmiennego pola magnetycznego, stosowanej gęstości optycznej źródła światła, stężenia nanoferrytów, rozmiaru, kształtu cząstek i ich postaci (homo-, heterostrukury, struktury wielowarstwowe, hybrydy). Bardzo istotną kwestią jest konieczność funkcjonalizacji powierzchni nanomateriałów, która jest wieloaspektowa. Bezpośrednio przekłada się ona na zwiększenie biokompatybilności, efektywności konwersji na ciepło i ma wpływ na inne istotne parametry takie jak stabilność koloidalna czy też ograniczenie oddziaływań międzycząsteczkowych. Zbadano interakcję nanomateriałów z różnymi liniami komórek nowotworowych raka piersi i wskazano na zróżnicowanie obserwowanych efektów biologicznych oraz modulacji odpowiedzi komórek na stres cieplny. Projektowanie wysokowydajnych materiałów generujących ciepło może znacząco ograniczyć zjawisko termotolerancji komórek i zwiększyć efektywność hipertermii. Ważnym aspektem pracy doktorskiej było opracowanie oraz optymalizacja technik wytwarzania nanomateriałów o kontrolowanych właściwościach i budowie takich jak gorący nastrzyk (*rapid hot-injection*), wzrost na rdzeniach (*seed-mediated growth*), otrzymywanie heterostruktur o mieszanych właściwościach magnetyczno-plazmonowych oraz hybryd na polimerach syntetycznych. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność dalszego uzupełnienia wiedzy oraz wprowadzenia nowych technik pomiarowych umożliwiających precyzyjny pomiar temperatury najlepiej na pojedynczych obiektach.

## 2. Abstract

---

Doctoral thesis was devoted to the development and engineering of modern functional nanomaterials using their ability to heat generation under the action of non-contact and simultaneous stimulation with alternating magnetic field and laser light from the I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> optical biological window, which can be successfully used in a selective and localized hyperthermia to eliminate cancer cells. The use of both heat-inducing stimulants in a so-called synergy mode allows to solve the problem of efficiency decrease upon contact with the biological system and can lead to the minimization of nanomaterials concentration in hyperthermia. It was shown that ferrite materials possess a high conversion efficiency of both stimulants in the synergy mode, which exceeds 1000 W/g, and for the most effective structures with controlled morphology can be higher than 3000 W/g depending on alternating magnetic field parameters, laser optical density, nanoferrites concentration, particle size, distribution, shape, and their form (homo-, heterostructures, multilayer structures, hybrids). It was underlined that particle surface functionalization is mandatory. It plays a complex role which directly translates into increase of the ferrite biocompatibility, efficiency of heat generation, affects other important parameters such as colloidal stability, and reduces the interparticle interactions between ferrite particles. One of the important achievements was study of the nanomaterials' interaction with various, model breast cancer cell lines. Diverse biological effects and heat-response modulation were found that are dependent on the cancer cell line type. Therefore, the development of materials with a high ability to heat generation can significantly reduce cell thermotolerance and increase the effectiveness of hyperthermia. For the presented doctoral thesis one of the main aspects were focused on the development and optimization of techniques of nanomaterials fabrication with controlled properties and structure such as rapid hot-injection, seed-mediated growth, synthesis of complex and multifunctional heterostructures, inorganic-organic hybrids, and composites based on synthetic polymers. The obtained results indicate the need for further studies that will allow knowledge broadening regarding heating mechanisms, and development of new measurement techniques that will enable precise temperature measurement on a single particle.

### **3. Cel pracy**

---

Celem pracy doktorskiej było zbadanie efektu synergii konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego z zakresu bliskiej podczerwieni na energię cieplną na wybranych nanomateriałach z rodziny ferrytów ( $MFe_2O_4$ ), ich heterostruktur oraz kompozytów jako potencjalnych kandydatów do zastosowań biomedycznych. W pracy doktorskiej skupiono się na opracowaniu oraz optymalizacji metod syntezy różnej klasy nanomateriałów o kontrolowanym rozmiarze, kształcie, składzie chemicznym oraz określeniu interakcji z wybranymi komórkami nowotworowymi w celu weryfikacji możliwości wykorzystania nanostruktur w magnetofototerapii.

## 4. Życiorys naukowy

### Dane osobowe

Imię i nazwisko	Magdalena Kulpa-Greszta
Miejsce zatrudnienia	Uniwersytet Rzeszowski, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Instytut Biotechnologii, stanowisko: specjalista naukowo-techniczny

### Wykształcenie

02.2018 - obecnie	Politechnika Rzeszowska, Wydział Chemiczny, studia trzeciego stopnia, kierunek Technologia chemiczna
02.2013 - 06.2014	Uniwersytet Rzeszowski, Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych (obecnie Instytut Biotechnologii, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Uniwersytetu Rzeszowskiego), studia drugiego stopnia, kierunek Biotechnologia, specjalność Biotechnologia molekularna, magister
10.2009 - 02.2013	Uniwersytet Rzeszowski, Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych (obecnie Instytut Biotechnologii, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Uniwersytetu Rzeszowskiego), studia pierwszego stopnia, kierunek Biotechnologia, specjalność Biotechnologia analityczna, inżynier

### Projekty

07.2018 – 01.2023	NCN OPUS 13 UMO-2017/25/B/ST5/00497 <i>Efekt synergii zmiennego pola magnetycznego i konwersji promieniowania elektromagnetycznego z zakresu I i II optycznej bramki biologicznej na ferrytowych materiałach nanostrukturalnych dla nowoczesnych termicznych terapii chorób neoplastycznych</i> , stanowisko: stypendysta-doktorant
04.2022 – 10.2022	PCI N3_032 <i>Wielofunkcyjne pianki do temperaturowo stymulowanych procesów regeneracyjnych tkanki kostnej</i> , stanowisko: wykonawca

### Patenty i zgłoszenia patentowe

Patent UPRP 237985 *Magnetyczny kompozyt bioaktywny oraz sposób wytwarzania magnetycznego kompozytu bioaktywnego*; Anna Belcarz, Grażyna Ginalska, Robert Pązik, Anna Tomaszewska, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Patrycja Kłoda

Zgłoszenie patentowe UPRP P.442689 *Trójskładnikowy kompozyt bioaktywny do bezkontaktowego generowania ciepła pod wpływem zmiennego pola magnetycznego i podczerwieni, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie*; Robert Pązik, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz

## Staż naukowy

07.11-07.12.2021                      Universite Clermont Auvergne (UCA), Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, Francja, staż naukowy w grupie Prof. Jean-Marie Nedelec'a

## Konferencje

1. *Multimodal Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>-Ag nanocomposites as a tool for contactless temperature stimulated processes*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Robert Pązik, International Sol-Gel Conference, 24-29.07.2022, Lyon, Francja
2. *Synergic temperature effect of star-like monodisperse iron oxide nanoparticles and their biological impact on MDA-MB-231 cells*, Robert Pązik, Anna Tomaszewska, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Andrzej Dziedzic, Bartosz Zarychta, Jagoda Adamczyk-Grochala, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Maciej Wnuk, International Sol-Gel Conference, 24-29.07.2022, Lyon, Francja
3. *Contactless energy conversion on multimodal Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>-Au nanoparticles*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, PANIC Summer School 2022, 30.05 - 3.06.2022, Wrocław, Polska
4. *Effect of surface functionalization of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on thermal energy conversion induced by alternating magnetic field and laser radiation*, Patrycja Kłoda, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Vadim Kessler, Gulaim Seisenbaeva, Anna Tomaszewska, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, International Sol-Gel Conference, 25-30.08.2019, St Petersburg, Rosja
5. *Synergia konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną wybranych nanocząstek spineli magnetycznych do zastosowań w terapii fotomagnetotermicznej*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, III Ogólnopolska Konferencja Naukowa Nanotechnologia wobec oczekiwań XXI w., 13.12.2018, Lublin, Polska
6. *Wpływ modyfikacji powierzchni nanostrukturalnych materiałów Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> na efektywność konwersji promieniowania elektromagnetycznego i zmiennego pola magnetycznego na energię cieplną*, Patrycja Kłoda, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, III Ogólnopolska Konferencja Naukowa Nanotechnologia wobec oczekiwań XXI w., 13.12.2018, Lublin, Polska
7. *Wybrane aspekty konwersji energii cieplnej indukowanej promieniowaniem elektromagnetycznym z zakresu bliskiej podczerwieni na materiałach typu core-shell SiO<sub>2</sub>@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> w postaci proszków i zawiesin koloidalnych*, Daniel Sikora, Vadim Kessler, Gulaim Seisenbaeva, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, III Ogólnopolska Konferencja Naukowa Nanotechnologia wobec oczekiwań XXI w., 13.12.2018, Lublin, Polska

## Szkolenia

- 12.2021                      Szkolenie aplikacyjne pt. *Dobre praktyki obrazowania TEM, STEM i analizy EDS-TEM* (LabSoft), Rzeszów
- 11.2015 - 12.2015              Szkolenie PoLASA, kurs dla osób planujących, wykonujących doświadczenia na zwierzętach, uśmiercających oraz dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami, Kraków



## 5. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej

---

1. *Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within  $F^I$  and  $I^{nd}$  optical biological window of seed-mediated multi-shell nanoferrites*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, Dalton Transactions, 2023, 52, 2580  
Cytowania: 0 IF<sub>4,569</sub> MEiN<sub>140</sub> pkt.
2. *Heat generation on  $Fe_3O_4@SiO_2@Au$  core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within  $F^I$  biological optical window*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Robert Pązik, Materials Today Communications, 2023, 35, 105513  
Cytowania: 0 IF<sub>3,662</sub> MEiN<sub>70</sub> pkt.
3. *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic  $Fe_3O_4@APTES-Ag$  heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik, RSC Advances, 2022, 12, 27396  
Cytowania: 2 IF<sub>4,036</sub> MEiN<sub>100</sub> pkt.
4. *Synergic temperature effect of star-like monodisperse iron oxide nanoparticles and their related responses in normal and cancer cells*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik, The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 8515  
Cytowania: 1 IF<sub>3,466</sub> MEiN<sub>140</sub> pkt.
5. *Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within  $1^{st}$  and  $2^{nd}$  optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Piotr Krzemiński, Robert Pązik, Journal of Alloys and Compounds, 2022, 898, 162840  
Cytowania: 3 IF<sub>6,371</sub> MEiN<sub>100</sub> pkt.
6. *Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik, RSC Advances, 2021, 11, 20708  
Cytowania: 7 IF<sub>4,036</sub> MEiN<sub>100</sub> pkt.

## 6. Pozostały dorobek naukowy

---

- Poly(levodopa)-functionalized polysaccharide hydrogel enriched in  $Fe_3O_4$  particles for multiple-purpose biomedical applications*, Anna Michalicha, Anna Tomaszewska, Vladyslav Vivcharenko, Barbara Budzyńska, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Dominika Fila, Robert Pązik, Anna Belcarz, *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24, 8002  
Cytowania: 0 IF<sub>6,208</sub> MEiN<sub>140 pkt.</sub>
- Impact of polyrhodanine manganese ferrite binary nanohybrids (PRHD@MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) on osteoblasts and osteoclasts activities - a key factor in osteoporosis treatment*, Krzysztof Marycz, Anna Kowalczyk, Eliza Turlej, Emilia Zachanowicz, Anna Tomaszewska, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Martyna Kępska, Zofia Steczkiewicz, Robert Pązik, *Materials*, 2022, 15, 3990  
Cytowania: 2 IF<sub>3,748</sub> MEiN<sub>140 pkt.</sub>
- Multimodal polymer encapsulated CdSe/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoplatfrom with improved biocompatibility for two-photon and temperature stimulated bioapplications*, Magda Antoniak, Robert Pązik, Urszula Bazylińska, Kamil Wiwatowski, Anna Tomaszewska, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Jagoda Adamczyk-Grochala, Maciej Wnuk, Sebastian Maćkowski, Anna Lewinska, Marcin Nyk, *Materials Science and Engineering C*, 2021, 127, 112224  
Cytowania: 13 IF<sub>7,328</sub> MEiN<sub>140 pkt.</sub>
- Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA nanoparticles promotes preosteoblast differentiation through activation of OPN-BGLAP2-DMP1 axis and modulates osteoclastogenesis under magnetic field conditions*, Krzysztof Marycz, Eliza Turlej, Katarzyna Kornicka-Garbowska, Emilia Zachanowicz, Anna Tomaszewska, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Robert Pązik, *Materials*, 2021, 14, 5010  
Cytowania: 3 IF<sub>3,748</sub> MEiN<sub>140 pkt.</sub>
- IGF-1 as selected growth factor multi-response to antidepressant-like substances activity in C57BL/6J mouse testis model*, Anna Tabęcka-Łonczyńska, Jennifer Mytych, Przemysław Solek, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Patrycja Jasiewicz, Magdalena Sowa-Kućma, Katarzyna Stachowicz, Marek Koziorowski, *Acta Histochemica*, 2021, 123, 151685  
Cytowania: 4 IF<sub>2,147</sub> MEiN<sub>70 pkt.</sub>
- Efficient non-contact heat generation on flexible, ternary hydroxyapatite /curdlan/nanomagnetite hybrids for temperature controlled processes*, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Robert Pązik, Patrycja Kłoda, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Krzysztof Pałka, Grażyna Ginalska, Anna Belcarz, *Materials Science and Engineering C*, 2021, 118, 111360  
Cytowania: 6 IF<sub>7,328</sub> MEiN<sub>140 pkt.</sub>
- Energy conversion and biocompatibility of surface functionalized magnetite nanoparticles with phosphonic moieties*, Robert Pązik, Anna Lewińska, Jagoda Adamczyk-Grochala, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Patrycja Kłoda, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Grzegorz Litwinienko, Maciej Noga, Daniel Sikora, Maciej Wnuk, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2020, 124, 4931  
Cytowania: 8 IF<sub>3,466</sub> MEiN<sub>140 pkt.</sub>

8. *Efficient NIR energy conversion of plasmonic silver nanostructures fabricated with the laser-assisted synthetic approach for endodontic applications*, Tetiana Bulavinets, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Małgorzata Kus-Liśkiewicz, Gabriela Bielatowicz, Iryna Yaremchuk, Adriana Barylyak, Yaroslav Bobitski, Robert Pązik, *RSC Advances*, 2020, 10, 38861  
Cytowania: 4 IF<sub>4,036</sub> MEiN<sub>100</sub> pkt.
9. *Multifunctional properties of binary polyrhodanine manganese ferrite nanohybrids - from the energy converters to biological activity*, Emilia Zachanowicz, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Anna Tomaszewska, Małgorzata Gazińska, Monika Marędziak, Krzysztof Marycz, Robert Pązik, *Polymers*, 2020, 12, 2934  
Cytowania: 6 IF<sub>4,967</sub> MEiN<sub>100</sub> pkt.
10. *Yttrium-doped iron oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia applications*, Przemysław Kowalik, Jakub Mikulski, Anna Borodziuk, Magdalena Duda, Izabela Kamińska, Karolina Zajdel, Jarosław Rybusiński, Jacek Szczytko, Tomasz Wojciechowski, Kamil Sobczak, Roman Minikayev, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Robert Pązik, Paulina Grzaczowska, Krzysztof Fronc, Mariusz Lapiński, Małgorzata Frontczak-Baniewicz, Bożena Sikora, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2020, 124, 6871  
Cytowania: 34 IF<sub>4,177</sub> MEiN<sub>140</sub> pkt.
11. *AMPK-mediated senolytic and senostatic activity of quercetin surface functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles during oxidant-induced senescence in human fibroblasts*, Anna Lewińska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Dominika Błoniarz, Jakub Olszówka, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Grzegorz Litwinienko, Anna Tomaszewska, Maciej Wnuk, Robert Pązik, *Redox Biology*, 2020, 28, 101337  
Cytowania: 53 IF<sub>10,787</sub> MEiN<sub>140</sub> pkt.
12. *Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) and fibroblast growth factor (FGF-2) as potential regulators of seasonal reproductive processes in male European bison (Bison bonasus, Linnaeus 1758)*, Anna Tabęcka-Lonczyńska, Jennifer Mytych, Przemysław Sołek, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Magdalena Sowa-Kucma, Marek Koziorowski, *General and Comparative Endocrinology*, 2018, 263, 72  
Cytowania: 12 IF<sub>2,445</sub> MEiN<sub>25</sub> pkt.
13. *Melatonin receptors subtypes (MT1 and MT2) in the uterus masculinus of mature male European bison. biological and seasonal reproductive role*, Anna Tabęcka-Lonczyńska, Jennifer Mytych, Przemysław Sołek, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Marek Koziorowski, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2018, 69, 67  
Cytowania: 5 IF<sub>2,544</sub> MEiN<sub>25</sub> pkt.
14. *New insight on the role of melatonin receptors in reproductive processes of seasonal breeders on the example of mature male European bison (Bison bonasus, Linnaeus 1758)*, Anna Tabęcka-Lonczyńska, Jennifer Mytych, Przemysław Sołek, **Magdalena Kulpa-Greszta**, Marek Koziorowski, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017, 173, 84  
Cytowania: 16 IF<sub>3,165</sub> MEiN<sub>30</sub> pkt.

15. *Retinal venous blood carbon monoxide response to bright light in male pigs: A preliminary study*, Dan A. Oren, Magdalena Duda, Katarzyna Koziół, Maria Romerowicz-Misielak, Anna Koziowska, Przemysław Sołek, Sławomir Nowak, **Magdalena Kulpa**, Marek Koziowski, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017, 168, 12

Cytowania: 6

IF<sub>6,814</sub>

MEiN<sub>30 pkt.</sub>

16. *Retrograde and destination transfer of sex steroid hormones in the spermatic cord vessels of the mature boar (*Sus scrofa*) in short-daylight and long-daylight periods, as well as vernal and autumnal equinox*, Anna Tabęcka-Łonczyńska, **Magdalena Kulpa**, Małgorzata Grzesiak, Marek Koziowski, *Animal Reproduction Science*, 2016, 164, 1

Cytowania: 1

IF<sub>2,22</sub>

MEiN<sub>30 pkt.</sub>

Indeks h: **7**, całkowita liczba cytowań: **186**, bez autocytowań:– **151** (wg bazy *Scopus* – 23-06-2023)

## 7. Wstęp teoretyczny

---

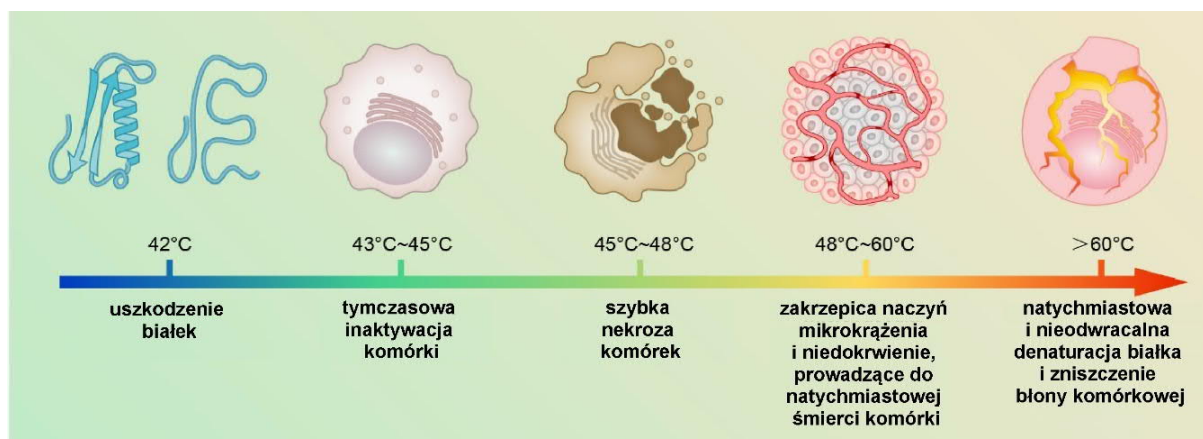
### 7.1. Wpływ stymulacji temperaturowej na układy biologiczne

Termoterapie albo bardziej ogólne określenie temperaturowo stymulowane procesy biologiczne to szeroko pojęta grupa technik medycznych opierających się na zdolności do podnoszenia temperatury ciała w celu wykorzystania jej wpływu na funkcjonowanie organizmu zarówno na poziomie komórkowym, jak i całych tkanek oraz organów<sup>1</sup>. Do indukowania ciepła wykorzystuje się różne czynniki takie jak mikrofałe, ultradźwięki, fale o częstotliwości radiowej, promieniowanie elektromagnetyczne z zakresu bliskiej podczerwieni (ang. *near-infrared*, NIR), zmienne pole magnetyczne, perfuzję cieplej krwi czy też ciepłe kąpiele<sup>1-5</sup>. Istotne biologicznie zakresy temperatury wpływające na homeostazę i funkcjonowanie organizmu to<sup>1,6</sup>:

- diatermia obejmująca zakres od 37 do 41°C, której towarzyszy przyśpieszenie krążenia krwi, metabolizmu, zwiększenie efektywności dyfuzji przez błony komórkowe<sup>1</sup> co sprzyja lepszemu dostarczeniu substancji aktywnych i tlenu do tkanek oraz zwiększa wrażliwość na farmaceutyki. Przekłada się to na większą efektywność chemioterapii i kierunkowego dostarczania leków<sup>1,2,7-10</sup>. Diatermia stosowana jest w fizjoterapii i przyczynia się do zmniejszenia bólu regenerowanych obszarów oraz poprawia elastyczność i wytrzymałość tkanek na rozciąganie<sup>11</sup>.
- Hipertermia obejmuje zakres od 42 do 48°C i ze względu na obszar działania można ją podzielić na: (I) hipertermię całego ciała, (II) hipertermię regionalną obejmującą dużą powierzchnię (całe tkanki, organy lub kończyny), a także (III) hipertermię lokalizowaną koncentrującą się na wyselekcjonowanym obszarze lub fragmencie tkanki bądź organu (np. zmiany nowotworowe). Jest ona niezmiernie istotna w przypadku leczenia wrażliwych organów lub mocno skomplikowanych operacyjnie zmian chorobowych, w których ryzyko uszkodzenia zdrowej tkanki musi zostać zminimalizowane<sup>1,2,9</sup>. W omawianym zakresie temperatury obserwuje się dezaktywację komórek, denaturację białek, blokowanie mechanizmów naprawczych DNA, syntezę białek szoku cieplnego (ang. *heat shock protein*, HSP) oraz śmierć komórek na drodze apoptozy (Rys. 1.)<sup>12</sup>. Różnice w budowie i funkcjonowaniu między tkanką zdrową, a mikrośrodowiskiem guza cechującym się m.in. chaotycznym układem naczyń krwionośnych, niskim pH i wrażliwością na stres oksydacyjny indukowany ciepłem<sup>7,13</sup> powodują, że hipertermia znalazła zastosowanie w leczeniu chorób nowotworowych zarówno jako samodzielna terapia oraz skojarzona z chemoterapią, radioterapią, immunoterapią czy też terapią fotodynamiczną<sup>1,5</sup>. Jedną z możliwości bardziej

precyzyjnego wykorzystania hipertermii jest zastosowanie nanomateriałów zdolnych do generowania ciepła z użyciem czynników zewnętrznych (zmienne pole magnetyczne, ultradźwięki, światło z zakresu NIR)<sup>4,14</sup>.

- Termoablacja obejmuje stosowanie wysokiej temperatury (>48°C), która dla krótkich, czasów ekspozycji powoduje gwałtowną denaturację białek, uszkodzenie DNA, destabilizację błon komórkowych, organelli. Konsekwencją zastosowania termoablacji jest natychmiastowe zniszczenie komórek i całych obszarów tkanek. Natomiast w przypadku skrajnie wysokiej temperatury (>100°C) prowadzi ona do zwęglenia (karbonizacji) bądź odparowania (waporyzacji) komórek. W wyniku ablacji następuje śmierć komórkowa na drodze nekrozy. Zjawisko to może powodować uwolnienie składników komórki i skutkować uszkodzeniem zdrowych komórek znajdujących się w bezpośrednim otoczeniu guza oraz wywoływać silną odpowiedź immunologiczną<sup>1,2,9,15,16</sup>.

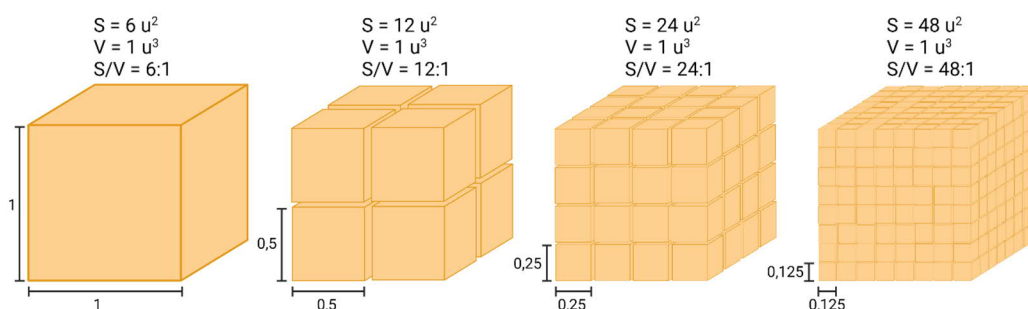


Rysunek 1. Efekty oddziaływania wysokiej temperatury na materiał biologiczny<sup>17</sup>.

## 7.2. Nanomateriały w hipertermii

Nanotechnologia daje naukowcom potężne narzędzie umożliwiające projektowanie zaawansowanych nanomateriałów o wyszukanych właściwościach fizykochemicznych, które mogą znajdować szerokie zastosowanie w biomedycynie umożliwiając jednoczesną realizację zadań związanych z terapią i diagnostyką (teranostyka). Nanomateriały są wykorzystywane w technikach bioobrazowania takich jak magnetyczny rezonans jądrowy (ang. *magnetic resonance imaging*, MRI), tomografia komputerowa (ang. *computed tomography*, CT), pozytronowa tomografia emisyjna (ang. *positron emission tomography*, PET), obrazowanie fluorescencyjne (ang. *fluorescence imaging*, FI). Intensywnie stosuje się je jako wielofunkcyjne nanoplatfomy w systemach dostarczania leków, terapiach przeciwnowotworowych, inżynierii tkankowej i innych<sup>8,9,18–20</sup>.

Materiały o rozmiarach nanometrycznych wykazują odmienne właściwości fizykochemiczne w porównaniu do swoich odpowiedników w większej skali. Fenomen ten polega na tym, że wraz ze zmniejszającym się rozmiarem cząstek drastycznie zwiększa się stosunek powierzchni nanomateriału do jego objętości (Rys. 2.). Jednym z efektów jest zatem zwiększenie frakcji atomów znajdujących się na powierzchni w stosunku do wnętrza cząstki, co prowadzi do pojawienia się zupełnie nowych, ekscytujących zjawisk<sup>1,2,5,21,22</sup>. Nanocząstki zyskują unikatowe właściwości optyczne, magnetyczne, mechaniczne, katalityczne oraz zmienia się ich reaktywność chemiczna. W kontekście właściwości biologicznych mały rozmiar w znaczący sposób ułatwia internalizację nanomateriałów w komórkach zarówno na drodze pasywnej endocytozy (fagocytoza, pinocytoza), jak i aktywnej (endocytoza receptorowa), a z kolei duża powierzchnia właściwa jest potencjalnym źródłem efektywnych interakcji z układami biologicznymi<sup>1,2,9,23</sup>.



Rysunek 2. Zmiana stosunku powierzchni do objętości jako potencjalne źródło odpowiedzialne za unikatowe właściwości nanoobjektów.

Na przestrzeni ostatnich lat szczególną uwagę przyciąga zjawisko hipertermii indukowanej z użyciem nanomateriałów zdolnych do bezkontaktowego generowania ciepła pod wpływem czynników zewnętrznych (Rys. 3.). Zastosowanie nanocząstek w postaci bezpośredniego wlewu dożylnego umożliwia ich akumulację w tkance zmienionej chorobowo. Zlokalizowane, a więc precyzyjne działanie może prowadzić do zwiększenia efektywności terapeutycznej przy jednoczesnym zminimalizowaniu efektów ubocznych. Wykorzystanie inteligentnych nanostruktur pozwala na opracowanie wielu strategii obejmujących m.in. stymulowanie procesów regeneracyjnych, termiczne niszczenie komórek nowotworowych, ale również umożliwia projektowanie wielofunkcyjnych platform do dostarczania i uwalniania farmaceutyków<sup>1,2,10,21,22,24-26</sup>. W obrębie zastosowań w temperaturowo stymulowanych procesach biologicznych na bazie nanomateriałów najczęściej stosuje się hipertermię magnetyczną, w której ciepło indukowane jest za pomocą zmiennego pola magnetycznego oraz fototermię, w której czynnikiem stymulującym jest promieniowanie elektromagnetyczne z zakresu NIR. Stąd też nanocząstki muszą cechować się bardzo dobrymi właściwościami

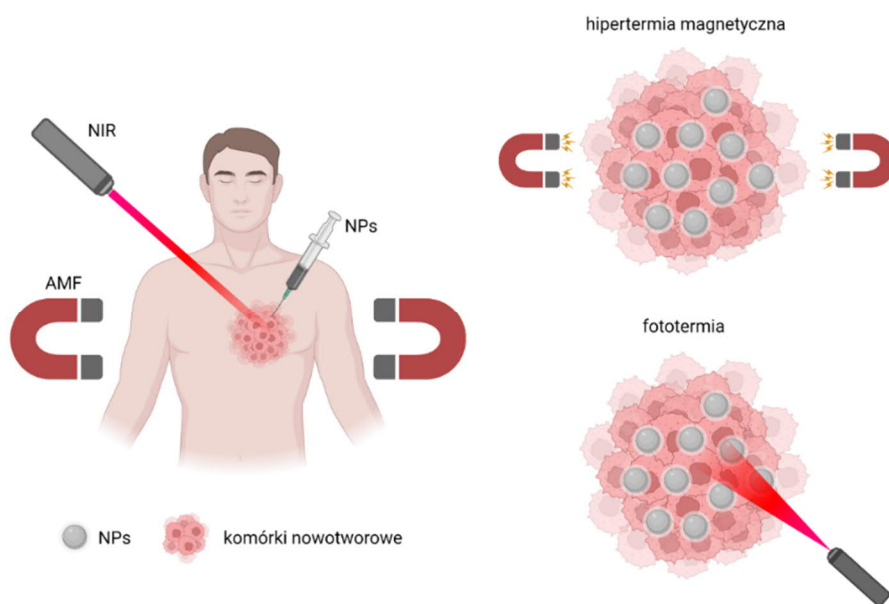
optycznymi i/bądź magnetycznymi. Spośród wielu różnego rodzaju związków i struktur w indukcji ciepła najczęściej stosuje się następujące klasy materiałów:

- nanocząstki metali, w szczególności srebra (Ag), złota (Au) oraz platyny (Pt). Ich właściwości optyczne silnie zależą od rozmiaru i morfologii, a efekt związany z powierzchniowym rezonansem plazmonowym (ang. *localized surface plasmon resonance*, LSPR) stanowi podstawę ich ogromnego potencjału aplikacyjnego. W skrócie, w wyniku oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego następuje kolektywna oscylacja plazmy elektronów na powierzchni nanostruktur (rezonans plazmonów powierzchniowych, ang. *surface plasmon resonance*, SPR). Zjawisko to prowadzi do wytworzenia na powierzchni nanocząstek silnego lokalnego pola elektrycznego, którego efektem ubocznym jest generowanie strat cieplnych. Nanocząstki metali cechują się szerokim zakresem spektralnym absorpcji, a położenie pasm absorpcyjnych można kontrolować za pomocą ich rozmiaru i kształtu<sup>1,2,19</sup>.
- Nanostruktury węglowe w tym dwuwymiarowy (2D) grafen oraz powstające w wyniku zwinięcia grafenu jednowymiarowe (1D) nanorurki węglowe (ang. *carbon nanotubes*, CNT). Właściwości fizykochemiczne struktur opartych o grafen wynikają z efektów generowanych przez efekt rozmiarowy (ważny jest stosunek średnicy do długości - ang. *aspect ratio*). Grafen i jego różne postacie wykazują bardzo dobre właściwości absorpcyjne i stanowią ciekawą alternatywę w stosunku do innych substancji stosowanych w fototerapii<sup>1,2,19,27,28</sup>.
- Kropki kwantowe, czyli substancje na bazie materiałów półprzewodnikowych o rozmiarze do 20 nm (np. CdSe)<sup>29-32</sup>. W kropkach kwantowych wykorzystywany jest szeroko opisywany w literaturze efekt ograniczenia kwantowego (ang. *quantum confinement effect*), który pozwala na kształtowanie wielkości przerwy wzbronionej za pomocą rozmiaru cząstki<sup>33-35</sup>. Podobnie jak w przypadku materiałów wykazujących luminescencję jednym z efektów ubocznych prowadzących do indukcji ciepła są procesy nieradiacyjne związane z powrotem cząstki ze stanu wzbudzonego do stanu podstawowego bez emisji kwantu światła i dyssypacji energii na drgania sieci krystalicznej (fonony sieci), które w konsekwencji generują ciepło<sup>1,19,36</sup>.
- Nanomateriały (nanokryształy) domieszkowane pierwiastkami ziem rzadkich. Najczęściej mowa tu o matrycach krystalicznych domieszkowanych trójwartymi jonami lantanowców ( $\text{Nd}^{3+}$ , pary  $\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$  i inne). Do jednych z najbardziej efektywnych należą nanocząstki domieszkowane wysokimi stężeniami  $\text{Nd}^{3+}$ . Obserwowany wzrost temperatury jest następstwem złożonych procesów o charakterze nieradiacyjnym obejmujących relaksację wielofonową, krzyżową, wygaszanie stężeniowe, których prawdopodobieństwo drastycznie



wzrasta wraz ze zwiększeniem ilości centrów aktywnych oraz zmniejszaniem się ich wzajemnej odległości. Zastosowanie kationów  $\text{Nd}^{3+}$  zapewnia wysoką selektywność indukcji ciepła, gdyż długość fali świetlnej 808 nm jest dopasowana do położenia pasma absorpcji  $\text{Nd}^{3+}$  i dodatkowo znajduje się w zakresie spektralnym obejmującym pierwszą optyczną bramkę biologiczną (minimum absorpcji układu biologicznego)<sup>1,2,37</sup>. Interesującym aspektem związanym z wykorzystaniem tego typu nanomateriałów w aplikacjach biomedycznych są możliwości ich zastosowania do dokładnego pomiaru temperatury w oparciu o termometrię emisyjną<sup>38,39</sup>.

- Nanocząstki magnetyczne, które ze względu na swoje bardzo dobre właściwości magnetyczne, optyczne, stabilność chemiczną, a także występowanie zjawiska superparamagnetyzmu znajdują szerokie zastosowanie w magnetotermii jak i fototermii. Największy potencjał aplikacyjny wykazują nanocząstki tlenków żelaza takie jak magnetyt ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  o mieszanej walencyjności żelaza) oraz magemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ). Właściwości obu tych materiałów różnią się dość znacząco. Dla przykładu  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  cechuje się słabą zdolnością do absorpcji światła NIR i gorszymi właściwościami magnetycznymi niż  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Za to jest bardziej stabilny chemicznie i nie ulega reakcji Fentona przez co nie generuje wolnych rodników tlenkowych i jest postrzegany jako bardziej biokompatybilny i bezpieczny<sup>40,41</sup>. Ze względu na bardzo dobre właściwości magnetyczne i optyczne w pracy doktorskiej wybrano magnetyt oraz pozostałe ferryty (domieszkowane metalami grupy przejściowej) jako potencjalne substancje, które będą charakteryzowały się wysoką efektywnością konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego z zakresu NIR na energię cieplną<sup>1,2,5,22,42</sup>.



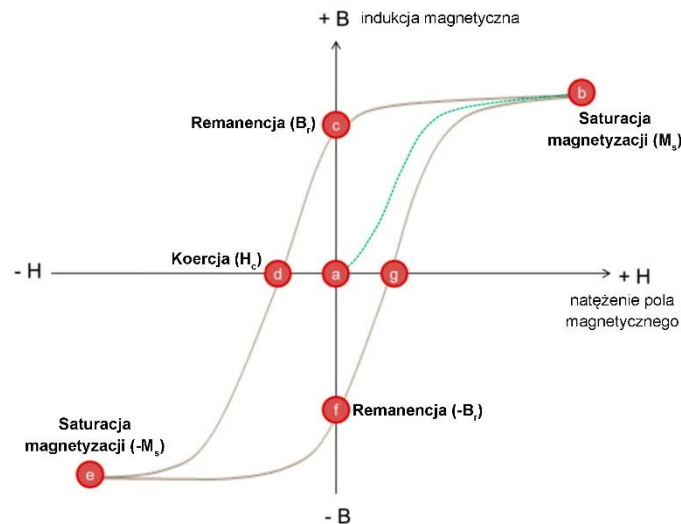
Rysunek 3. Koncepcja zastosowania nanomateriałów w nowoczesnych terapiach zwalczania chorób neoplastycznych w oparciu o zjawisko hipertermii lokalizowanej.

### 7.3. Mechanizmy konwersji zmiennego pola magnetycznego na energię ciepłą

Materiały magnetyczne cechują się zdolnością do konwersji zmiennego pola magnetycznego (ang. *alternating magnetic field*, AMF) na energię ciepłą. Indukcja ciepła odbywa się na drodze generowania strat cieplnych na drodze trzech głównych mechanizmów (I) strat związanych z pętlą histerezy (pole koercji,  $P_h$ ), (II) strat spowodowanych prądami wirowymi ( $P_w$ ) oraz (III) strat reszkowych ( $P_r$ ), na które składa się relaksacja Néela i Browna<sup>2,7,12,14,43,44</sup>. Ogólnie, całkowite straty można opisać za pomocą poniższego równania:

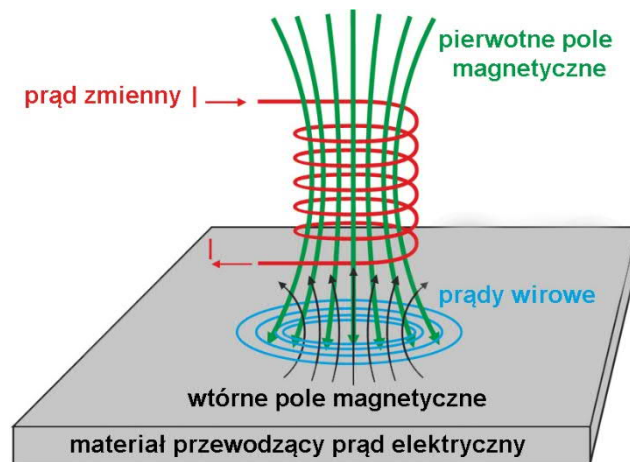
$$P_{\text{całkowite straty energetyczne}} = P_h + P_w + P_r. \quad (1)$$

Pierwszy mechanizm związany jest z dyssypacją energii w postaci ciepła podczas pełnego cyklu magnetyzacji. Wynika on ze zjawiska histerezy magnetycznej (Rys. 4.) i występuje w materiałach magnetycznych o strukturze domenowej. W trakcie przyłożenia zewnętrznego pola magnetycznego momenty magnetyczne poszczególnych domen orientują się równoległe z kierunkiem pola, aż do osiągnięcia nasycenia magnetyzacji (pierwotna krzywa namagnesowania, Rys. 4. odcinek od a do b). Usunięcie zmiennego pola powoduje zmniejszenie indukcji magnetycznej do wartości namagnesowania szczątkowego ( $B_r$ , remanencja). Następnie użycie zewnętrznego pola magnetycznego o kierunku przeciwnym skutkuje przemagnesowaniem domen magnetycznych i ich reorientację zgodnie z bieżącym kierunkiem pola magnetycznego. Uzyskane w pełnym cyklu przemagnesowania krzywe tworzą tzw. pętlę histerezy. Jej pole powierzchni odpowiada energii cieplnej (stratom energetycznym) wygenerowanej w cyklu magnetyzacji. Kształt pętli histerezy niesie ze sobą informacje o właściwościach magnetycznych materiału. Wartość energii zewnętrznego pola magnetycznego niezbędna do przejścia materiału z namagnesowania szczątkowego do namagnesowania zerowego (Rys. 4. od c do d) określana jest pojęciem koercji magnetycznej. Pozwala ona na podział materiałów na magnetyki twarde o dużym polu koercji oraz magnetyki miękkie o małym polu koercji. Te ostatnie charakteryzuje wysoka wartość nasycenia namagnesowania w porównaniu do twardych magnetyków<sup>5,45</sup>. Ciekawym technologicznym rozwiązaniem jest projektowanie nanocząstek o strukturze typu rdzeń-otoczka (ang. *core-shell*), które zbudowane mogą być z dwóch magnetyków różnego typu (twardy-miękki lub miękki-twardy). Ich właściwości magnetyczne będą wypadkową cech obu komponentów. Ten sposób manipulowania magnetyzmem pozwala na korzystne zwiększenie odpowiedzi materiału na zmienne pole magnetyczne i może skutkować większą wydajnością generowania ciepła<sup>46,47</sup>.



Rysunek 4. Schematyczne przedstawienie pętli histerezy wraz z podstawowymi wielkościami charakteryzującymi materiał magnetyczny<sup>44</sup>.

Kolejnym mechanizmem jest ten związany z indukowaniem prądów wirowych pod wpływem działania zmiennego pola magnetycznego. Przede wszystkim będzie on zależał od klasy materiału (przewodnik, półprzewodnik, dielektryk) oraz parametrów przyłożonego pola (Rys. 5.)<sup>12</sup>.



Rysunek 5. Schemat przedstawiający powstawanie prądów wirowych<sup>48</sup>.

Prądy wirowe, generowane w wyniku użycia zbyt wysokich wartości częstotliwości i natężenia zmiennego pola magnetycznego, mogą oddziaływać bezpośrednio na kationy żelaza znajdujące się w ugrupowaniu hemowym krwi. Co z kolei może wywołać niepożądane skutki uboczne i efekt niespecyficznego obszarowo generowania ciepła. Bezpieczeństwo terapii magnetotermicznej będzie zależne od dostosowania parametrów zmiennego pola magnetycznego. Przyjmuje się, że iloczyn częstotliwości i natężenia zaproponowany przez Atkinsona i Brezovicha powinien być mniejszy niż  $4,85 \times 10^8$  A/ms. Z kolei Hergt twierdzi że winien on być nie większy niż  $5 \times 10^9$  A/ms<sup>49-51</sup>. Mimo, że hipertermia indukowana

magnetycznie badana jest od wielu lat i wiadomo, że jej efektywność zależy od bardzo wielu czynników, to w fachowej literaturze znaleźć można niewiele prac dotyczących korelacji pomiędzy parametrami pola magnetycznego, czasem ekspozycji a wystąpieniem efektów ubocznych czy też rodzajem tkanki<sup>52</sup>.

Ostatnim mechanizmem generowania ciepła pod wpływem zmiennego pola magnetycznego są straty resztkowe wynikające z relaksacji Néela i Browna<sup>7,12,53</sup>. Mechanizm relaksacji Néela polega na reorientacji momentu magnetycznego wewnątrz nanocząstki zgodnie z kierunkiem przyłożonego pola magnetycznego (Rys. 6b.), a jej czas relaksacji wyrażony jest wzorem:

$$\tau_N = \tau_0 e^{\frac{KV}{kT}}, \quad (2)$$

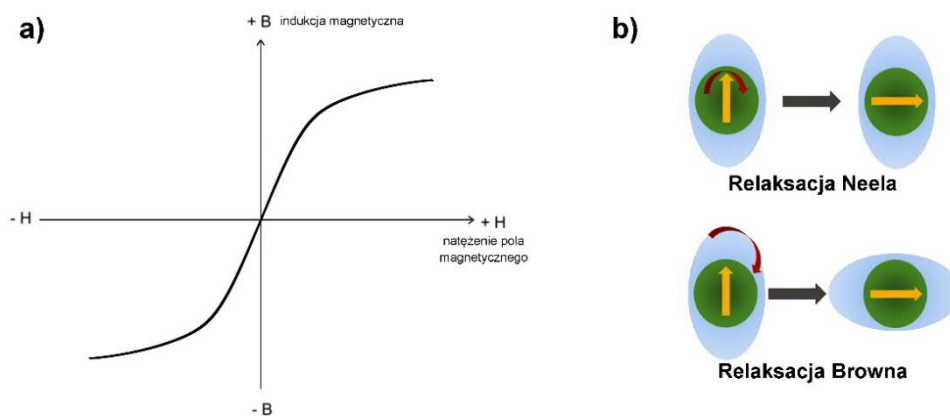
gdzie:  $K$  - oznacza stałą efektywnej anizotropii,  $V$  - objętość materiału magnetycznego,  $k$  - stała Boltzmana,  $T$  - temperatura bezwzględna. Natomiast relaksacja Browna polega na fizycznej reorientacji całej nanostruktury zgodnie z kierunkiem przyłożonego pola magnetycznego (Rys. 6b.). Czas relaksacji Browna można wyznaczyć zgodnie z poniższym równaniem:

$$\tau_B = \frac{3\eta V_H}{kT}, \quad (3)$$

gdzie:  $\eta$  - lepkość medium,  $V_H$  - objętość hydrodynamiczna,  $k$  - stała Boltzmana,  $T$  - temperatura bezwzględna. Relaksacje Browna i Néela mogą występować jednocześnie, a dominującym procesem jest ten, który ma krótszy czas relaksacji. Efektywny czas relaksacji ( $\tau$ ) wyraża się wzorem:

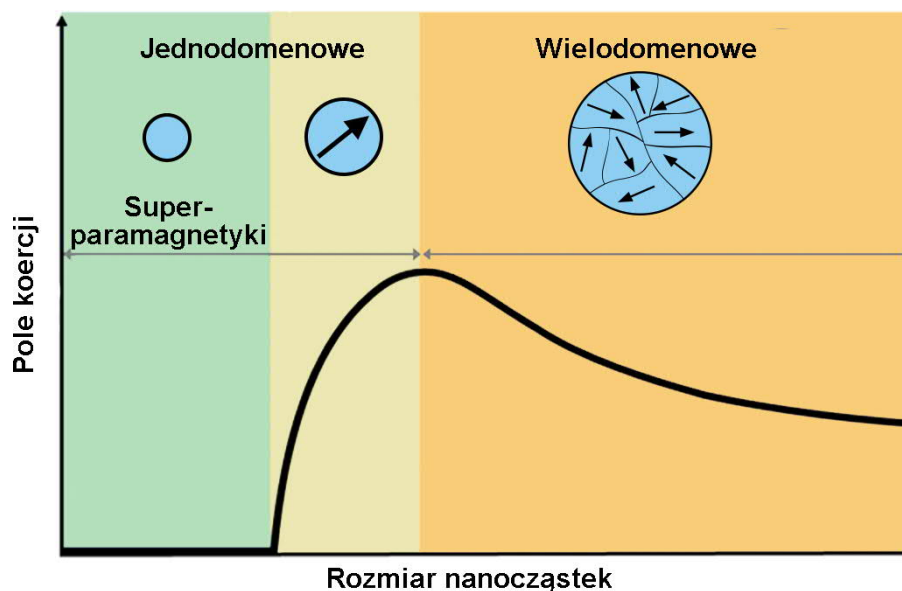
$$\tau = \frac{\tau_N \tau_B}{\tau_B + \tau_N}. \quad (4)$$

Zarówno relaksacja Néela i Browna zależą od rozmiaru nanocząstek. Wykazano, że ta pierwsza będzie miała dominujący charakter w przypadku małych obiektów, a druga odgrywa istotną rolę w kontekście dużych cząstek. Ponadto czynnikiem wpływającym na relaksację Browna jest lepkość medium. Lepkość (jej wzrost) ogranicza mobilność nanocząstek i ich rotację czego efektem jest spadek efektywności generowania ciepła<sup>43,54</sup>. W przypadku stosowania hipertermii magnetycznej *in vivo* preferowane są zatem nanomateriały o mniejszej średnicy hydrodynamicznej, w których dominuje relaksacja Néela. Mały rozmiar cząstek jest również korzystny w przypadku internalizacji w komórkach. Jak zatem widać, dobranie odpowiedniego rozmiaru cząstek ma krytyczne znaczenie w kontekście zwiększania wydajności generowania ciepła w oparciu o powyższe mechanizmy<sup>2,12</sup>.



Rysunek 6. Typowy przebieg zależności indukcji magnetycznej od natężenia pola magnetycznego dla materiałów superparamagnetycznych (a). Mechanizmy relaksacji Néela i Browna (b)<sup>14</sup>.

Rozmiar cząstek magnetycznych jest kluczowym parametrem decydującym o interakcji materiału ze zmiennym polem magnetycznym. Występowanie zjawiska efektu rozmiarowego determinuje właściwości magnetyczne danej substancji a zatem będzie wpływać na efektywność indukcji ciepła w oparciu o przedstawione mechanizmy strat cieplnych. Duże cząstki charakteryzują się strukturą wielodomenową, w których przemagnesowanie odbywa się w wyniku przesuwania ścian domenowych. Cechą charakterystyczną materiałów wielodomenowych jest wzrost wartości pola koercji wraz ze zmniejszającym się rozmiarem (Rys.7.). Wzrost ten obserwowany jest do pewnego krytycznego rozmiaru nanocząstek, przy którym pole koercji osiąga wartość maksymalną i później drastycznie spada.



Rysunek 7. Zależność pola koercji od rozmiaru nanocząstek i ich struktury magnetycznej<sup>55</sup>.

Dalsza redukcja rozmiaru warunkuje przejście struktury z wielodomenowej do jednodomenowej. W konsekwencji, gdy magnetyk osiąga graniczny rozmiar ziarna pojawia

się stan określany mianem superparamagnetycznego. Zjawisko superparamagnetyzmu polega na tym, iż nanocząstki zaczynają zachowywać się jak indywidualne momenty magnetyczne i ulegają spontanicznemu przemagnesowaniu. Superparamagnetyki cechują się tym, że w przebiegu pętli histerezy pole koercji i remanencja mają praktycznie wartość zerową (Rys. 6a.). Powoduje to, że generowanie ciepła w przypadku tych materiałów odbywa się głównie za pośrednictwem mechanizmów resztkowych związanych z relaksacją Néela oraz Browna<sup>5,55-57</sup>.

Z punktu widzenia efektywności generowania ciepła i konieczności osiągnięcia biologicznie ważnego zakresu temperatury istotnym aspektem jest optymalizacja stężenia nanocząstek magnetycznych w zawiesinach koloidalnych<sup>12,58</sup>. Zbyt wysokie stężenie materiału może przyczynić się do zmniejszenia odległości międzycząsteczkowych i zwiększenia interakcji kolektywnych, co bezpośrednio wpływa na takie wielkości jak koercja, remanencja, temperatura blokowania, podatność magnetyczna oraz czasy relaksacji. W takim przypadku najczęściej obserwowanym rezultatem jest wyraźny spadek wydajności indukcji ciepła. Jednym ze skuteczniejszych sposobów na ograniczenie tego zjawiska jest zastosowanie odpowiedniej strategii modyfikacji powierzchni nanocząstek<sup>2</sup>.

Funkcjonalizacja powierzchni nanomateriałów jest zagadnieniem wieloaspektowym i stosunkowo skomplikowanym. Opracowanie odpowiedniej strategii doboru ligandów wymaga znajomości właściwości fizykochemicznych nanomateriału (świadomość wpływu funkcjonalizacji na właściwości magnetyczne), wiedzy o sposobach stabilizacji dyspersji nanocząstek a także o potencjalnych konsekwencjach wynikających z wyboru właściwej molekuly na biokompatybilność układu. Stąd podczas projektowania zaawansowanych nanomateriałów funkcjonalizacja musi gwarantować osiągnięcie kilku istotnych celów: (I) zapobiegać aglomeracji, (II) zapewniać wysoką stabilność koloidalną, (III) ograniczać magnetyczne oddziaływania międzycząsteczkowe oraz (IV) zapewnić biokompatybilność<sup>8,14,59,60</sup>. W odniesieniu do pierwszego problemu związanego z aglomeracją cząstek funkcjonalizacja powierzchni powinna umożliwić przygotowanie zawiesiny koloidalnej złożonej z indywidualnych i odseparowanych od siebie nanocząstek. Jednocześnie wybór związku chemicznego do modyfikacji powierzchni winien zapewnić odpowiednią stabilność koloidu czy to na drodze stabilizacji sterycznej, elektrostatycznej bądź o charakterze mieszanym tak aby dystrybucja nanocząstek w całej objętości medium była jednorodna. Oba cele (I) i (II) pozwolą na zapobieganie sedymentacji nanocząstek, umożliwią równomierne przekazywanie indukowanego ciepła w całej objętości, a zminimalizowana aglomeracja cząstek zapewni wysoką powierzchnię kontaktu i bardziej efektywną wymianę ciepłą. W kontekście ograniczenia niepożądanych magnetycznych interakcji międzycząsteczkowych

cel ten można osiągnąć poprzez dobór ligandu o odpowiedniej wielkości, który skutecznie ograniczy oddziaływania wymienne. Istotnym elementem etapu projektowania tego rodzaju materiałów jest również wybór ligandu w taki sposób, aby cały układ był w pełni biokompatybilny i nie powodował niepożądanych efektów w wyniku jego oddziaływania z liniami komórkowymi czy też tkankami w zastosowaniu *in vivo*. Nie są to zagadnienia proste i często spełnienie wszystkich tych założeń mocno zawęża możliwości wyboru odpowiedniej cząsteczki, która zostanie wykorzystana jako ta właściwa. Należy również wspomnieć, iż często sam dobór strategii syntezy nanomateriałów wymusza przed ich właściwą funkcjonalizacją powierzchni wykonania procedury wymiany ligandu. Dotyczy to głównie syntez, które prowadzi się w warunkach silnie hydrofobowych<sup>61</sup>. Tego typu techniki otrzymywania wymagają zmiany charakteru nanocząstek z hydrofobowego na hydrofilowy, tak aby uzyskać zawiesiny wodne. Warunkiem skutecznej wymiany ligandu jest zastosowanie substancji o silnym powinowactwie do powierzchni nanocząstek, co umożliwi szybkie i efektywne zastąpienie ligandu o charakterze hydrofobowym<sup>62</sup>.

Efektywną metodą modyfikacji powierzchni nanomateriałów jest zastosowanie związków dwufunkcyjnych zawierających takie grupy funkcyjne jak -COOH, -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, które oprócz wcześniej wspomnianych celów, mogą pozwolić na dalszą biokoniugację bądź nadadzą sfunkcjonalizowanym nanomateriałom specyficzności względem konkretnych biomolekuł lub makromolekuł (peptydy, białka, przeciwciała itp.)<sup>2,60,63</sup>. Siły wiążące ligand z powierzchnią nanomateriału mają charakter oddziaływań elektrostatycznych przez co tworzone wiązania chemiczne mogą być kowalencyjne, koordynacyjne, jonowe, wodorowe oraz mieć charakter bardzo słabych interakcji van der Waalsa<sup>8,14,59</sup>. Do funkcjonalizacji nanomateriałów można wykorzystywać różnego rodzaju cząsteczki organiczne lub nieorganiczne. Poniżej krótko omówiono jedno z najbardziej popularnych. Natomiast dobór odpowiednich molekuł nie musi ograniczać się do przedstawionego zestawienia, zależy od konkretnej sytuacji i przeznaczenia nanomateriału:

- małe cząsteczki i surfaktanty<sup>8,64-66</sup>, wybór jest bardzo szeroki a jako szczególnie ciekawy przykład z punktu widzenia niniejszej pracy stanowi funkcjonalizacja pochodnymi organofosfonowymi (kwasy: etydrynowy, alendronowy, fenylofosfonowy, etylofosfonowy, dietylotriaminopentakis(metylo-fosfonowy), (3-aminopropylo)fosfonowy, oktano-1,8-difosfonowy, nitrylotri(metylofosfonowy))<sup>67</sup>. Związki te wykazują silne powinowactwo do powierzchni tlenków metali mieszanych w tym między innymi ferrytów wiążąc się z nimi silnymi wiązaniami kowalencyjnymi bądź koordynacyjnymi. Zapewniają dobrą biokompatybilność układu modyfikowanego, zabezpieczają powierzchnię nanomateriałów

przed utlenieniem (ważne w kontekście  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) i mogą być wykorzystane w koniugacji z innymi biomolekułami (warunek dwufunkcyjność). Ponadto związki organofosfonowe mają ogromny potencjał w zastosowaniach biomedycznych. Od lat stosuje się je w terapii chorób związanych z nieprawidłową przebudową w obszarze tkanki kostnej, takich jak choroba Pageta, osteoporoza, hiperkalcemia czy też chorobami nowotworowymi kości o różnej etiologii<sup>68-72</sup>.

- Polimery to złożone molekuly posiadające grupy funkcyjne o różnym charakterze, które umożliwiają skuteczną modyfikację powierzchni. Pozwalają one na uzyskanie przez nanostruktury określonej aktywności, zapewniają dobrą biokompatybilność. Do najbardziej popularnych polimerów wykorzystywanych w funkcjonalizacji nanocząstek należą glikol polietylonowy (PEG), poliwinylpirolidon (PVP), dekstran, chitosan, polietylenoimina (PEI), polidopamina (PDA), poli(alkohol winylowy) (PVA). W przypadku PEG i dekstranów ich popularność związana jest z tym, iż tworzą stabilne zawiesiny w roztworach wodnych, nadają nanomateriałom wysoką biokompatybilność oraz wydłużają okres półtrwania nanomateriałów we krwi. Sam proces pokrywania PEG-iem doczekał się w literaturze fachowej nazwy - pegylacja. Dodatkową wartością dodaną stosowania tego polimeru jest to, że poprawia internalizację nanomateriału w komórkach i co najważniejsze dezaktywuje system mononuklearnych fagocytów (MPS). Dzięki czemu materiały modyfikowane PEG-iem są niewidoczne dla struktur obronnych organizmu i stąd też mogą dłużej cyrkulować w krwiobiegu<sup>73</sup>. Istotną wadą powłok polimerowych w przypadku funkcjonalizacji PEG, PVP czy też dekstranów jest ich mała stabilność w czasie wynikająca ze słabego charakteru wiązania między powierzchnią nanomateriału a polimerem przez co jest on wymywany z powierzchni nanomateriału i układ traci swoje cenne właściwości<sup>8,23,60,74-76</sup>. Innym przykładem funkcjonalizacji wykorzystującym związki wielkocząsteczkowe jest zastosowanie polimerów pochodzenia naturalnego np. chitosanu. Polimer ten posiada dwa rodzaje grup funkcyjnych (aminowa i hydroksylowa), przez co wykazuje powinowactwo do powierzchni tlenków żelaza zapewniając wysoką stabilność, hydrofilowość oraz biokompatybilność. Ponadto chitosan może partycypować w procesie otwierania połączeń między komórkami nabłonkowymi ułatwiając transport nanocząstek przez bariery biologiczne<sup>73</sup>. Ciekawym sposobem ochrony układów biologicznych przed bezpośrednim kontaktem z nanomateriałami jest enkapsulacja nanocząstek wewnątrz miceli tworzonych przez amfifilowe kopolimery, których hydrofobowa strefa odpowiada za uwięzienie materiału o właściwościach hydrofobowych. Rolą hydrofilowej zewnętrznej powłoki polimerowej jest stabilizacja całej heterostruktury w zawiesinach wodnych lub mediach biologicznych<sup>60,77</sup>.



- Kwasy karboksylowe, wielokarboksylowe wraz z aminokwasami, to bardzo popularna grupa związków jedno lub wielofunkcyjnych o różnych długościach łańcucha alifatycznego bądź o charakterze aromatycznym. Kwasy karboksylowe o długich łańcuchach (kwas oleinowy, kwas dekanowy) stosowane są bezpośrednio w syntezach nanomateriałów, które pozwalają na kontrolę morfologii cząstek i sterowanie kierunkowym wzrostem krystalitów<sup>22,78-80</sup>. Wadą ich zastosowania jest to, iż długi łańcuch alifatyczny nadaje cząstkom charakter hydrofobowy wymuszając dodatkowy proces wymiany ligandu<sup>8,22,73,81,82</sup>. Natomiast użycie kwasów karboksylowych zawierających różne grupy funkcyjne pozwala na kontrolę charakteru powierzchni nanocząstek (hydrofilowy/hydrofobowy/amfifilowy), otwiera możliwość stabilizacji zawiesin koloidalnych nanocząstek oraz umożliwia skuteczną biokoniugację w celu nadania odpowiedniej specyficzności cząstkom (kwas cytrynowy, EDTA, kwas nitrylotrioctowy, kwas glutarowy)<sup>83-86</sup>.
- Dendrymery to grupa związków charakteryzująca się rozgałęzioną strukturą makrocząsteczek o zwykle bardzo regularnej budowie. Skomplikowana architektura, duża powierzchnia właściwa i wyeksponowane liczne grupy funkcyjne sprawiają, że nanomateriały funkcjonalizowane dendrymerami (np. PAMAM - poli(amidoamina)) stanowią platformy do systemów dostarczania leków o wysokiej specyficzności<sup>72,87-90</sup>.
- Związki metaloorganiczne na bazie krzemu, modyfikacja powierzchni materiałem krzemionkowym pozwala na uzyskanie wysokiej biokompatybilności, stabilności oraz hydrofilowości<sup>60,91-94</sup>. Sama technika pokrywania jest relatywnie prosta i nie wymaga stosowania wyszukanej metodologii. Do najpopularniejszych odczynników chemicznych zaliczyć trzeba tetraetoksylan (TEOS), (3-aminopropyl)trioksylan (APTES), trimetoksywinylosilan (VTES), (3-merkaptopropyl) trimetoksylan (MPTS). Ogromną zaletą wymienionych związków jest to, iż mogą one stanowić punkt wyjścia w tworzeniu heterostruktur o zróżnicowanym składzie materiałowym, które łączą ze sobą różne właściwości fizykochemiczne np. opto-magnetyczne<sup>95-97</sup>.

Szczególny wpływ na właściwości magnetyczne nanomateriału ma anizotropia, do której zaliczamy kilka rodzajów: magnetokrystaliczna, kształtu, powierzchni, indukowana. Anizotropia magnetokrystaliczna wynika bezpośrednio z interakcji pola krystalicznego oraz sprzężenia typu spin-orbita przez co w największym stopniu zależy od struktury krystalicznej nanomateriału i jej niedoskonałości (defekty sieci, modyfikacje strukturalne). Anizotropia magnetokrystaliczna w materiałach magnetycznych związana jest z obecnością tzw. łatwej osi namagnesowania, która jest równoległa do jednej z osi kryształu. Moment magnetyczny jednodomenowych nanocząstek magnetycznych ma zazwyczaj tylko dwie stabilne orientacje

antyrównoległe do siebie. Oddzielone są one od siebie barierą energetyczną (energia anizotropii ( $E_a$ )). Wielkość ta jest proporcjonalna do stałej anizotropii magnetokrystalicznej ( $K$ ) i objętości nanocząstek ( $V$ ) i wyraża się następującym wzorem:

$$E_a = KV. (5)$$

Istotą powyższego równania jest zmniejszanie się energii potrzebnej do reorientacji spinu magnetycznego<sup>5,56</sup>.

Kolejny parametr wpływający na właściwości magnetyczne jest związany z anizotropią kształtu nanomateriału. W badaniach prowadzonych przez różne grupy naukowców wykazano, że anizotropia kształtu zmienia się w szeregu morfologii cząstek w następujący sposób  $SAR_{\text{gwiazdy}} > SAR_{\text{sześciany}} > SAR_{\text{nanokwiaty}} > SAR_{\text{oktaedry}} > SAR_{\text{nanopręty}}$ . Tego typu anizotropia bezpośrednio wpływa na zwiększenie wydajności generowania ciepła (wyższe straty cieplne). Głównym powodem takiego zachowania jest pojawienie się więcej niż jednej łatwej osi namagnesowania<sup>5,98,99</sup>. W przypadku anizotropii powierzchni obserwowane są złamanie elementów symetrii, które mogą powstawać poprzez występowanie defektów na powierzchni (niewysyczone wiązania, obniżona liczba koordynacyjna atomów, zmiany odległości wiązań, odkształcenia powierzchni i inne)<sup>100</sup>. Parametr ten w pierwszym przybliżeniu zależy od rozmiaru cząstek definiującej powierzchnię właściwą, która rośnie wraz z redukcją wielkości cząstki<sup>2,99</sup>.

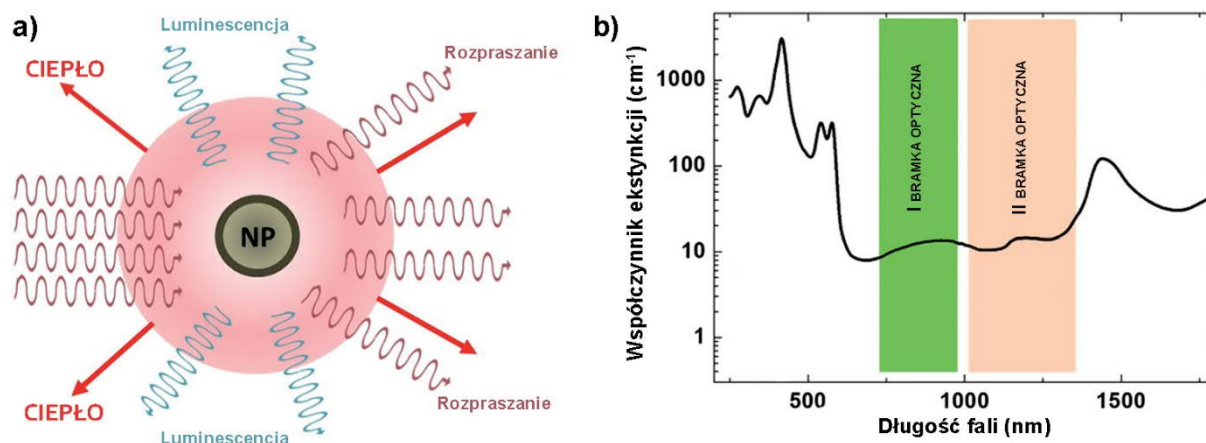
#### **7.4. Konwersja promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną**

Promieniowanie elektromagnetyczne oddziałując z materią może powodować szereg efektów takich jak pochłanianie, odbicie oraz rozproszenie. Konsekwencją wystąpienia zjawiska absorpcji jest przejście układu ze stanu podstawowego na stan wzbudzony i jego końcowa relaksacja. Może ona przebiegać w sposób promienisty, a więc z emisją kwantu światła (proces radiacyjny) lub też niepromienisty (proces nieradiacyjny), który skutkuje zwiększeniem drgań fononów sieci krystalicznej czego końcowym efektem jest generowanie ciepła (Rys. 8a.). Oba procesy zależnie od rodzaju materiału mogą zachodzić jednocześnie i być konkurencyjne względem siebie.

Dla wydajnego wykorzystania światła z zakresu VIS-NIR w fototerapii kluczowym jest odpowiedni dobór związków. Głównymi cechami, których poszukuje się wśród kandydatów do tego rodzaju aplikacji są przede wszystkim: zdolność do intensywnej absorpcji długości fali dopasowanych do tzw. optycznego okna (bramki) biologicznego, powinien dominować mechanizm depopulacji poziomów wzbudzonych na drodze relaksacji niepromienistej, matryca

winna posiadać wysoką energię fonów, stężenie jonów optycznie aktywnych musi być wysokie, a odległości od centrów aktywnych jak najmniejsze, co drastycznie zwiększa prawdopodobieństwo migracji energii i jej rozproszenia na sposób ciepła na drodze złożonych procesów nieradiacyjnych<sup>1,2</sup>.

W przypadku użycia tego rodzaju materiałów w fototerapii niezbędne jest dopasowanie ich właściwości optycznych do układu biologicznego. W literaturze od lat funkcjonuje pojęcie biologicznego okna optycznego, które bezpośrednio odnosi się do zakresu spektralnego w obszarze bliskiej podczerwieni, dla którego absorpcja światła jest minimalna (Rys. 8b.)<sup>1,101,102</sup>. Wyróżnić można dwie bramki biologiczne: (I) dla długości fali światła 700 - 980 nm, absorpcja światła osiąga swoje minimum, ale obserwuje się pewien wkład związany z rozpraszaniem oraz (II) determinowana zakresem 1000 - 1400 nm, dla którego występuje minimum związane z rozpraszaniem, ale kosztem podwyższonej absorpcji. Wspomniane zakresy pozwalają na selektywne dobranie długości fali gwarantując absorpcję tylko przez stosowany materiał. Umożliwia wyeliminowanie autofluorescencji układu biologicznego, zapewni względnie głęboką penetrację tkanek oraz zminimalizuje ryzyko wystąpienia wtórnych uszkodzeń ze względu na nisko energetyczny charakter promieniowania elektromagnetycznego z zakresu NIR<sup>1,17,24,103-109</sup>.



Rysunek 8. Schemat oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego na materię (a); zmiany współczynnika ekstynkcji dla układów biologicznych ze wskazaniem I i II biologicznej bramki optycznej (b)<sup>1</sup>.

Do jednych z najbardziej obiecujących nanomateriałów w fototerapii wykorzystujących światło NIR w zakresie I i II optycznej bramki biologicznej należą nanorurki węglowe<sup>110</sup>, nanowytrączenia metaliczne (cząstki plazmonowe)<sup>111</sup>, kropki kwantowe<sup>112</sup>, nanomateriały domieszkowane kationami ziem rzadkich (trójdodatnimi lantanowcami)<sup>113</sup> jak również magnetyczne tlenki żelaza (głównie Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)<sup>42,103,114-117</sup>. Podsumowując, zastosowanie w bezkontaktowej indukcji ciepła zmiennego pola magnetycznego oraz światła z zakresu NIR

jest niezmiernie ciekawe i stanowi przedmiot wielu badań, szczególnie w obszarze leczenia chorób nowotworowych z wykorzystaniem modeli *in vitro* oraz *in vivo*<sup>118-120</sup>. W przypadku nanocząstek magnetycznych hipertermia generowana zmiennym polem magnetycznym pozwoliła na opracowanie eksperymentalnych terapii leczenia glejaka wielopostaciowego<sup>121</sup> czy też raka prostaty<sup>122</sup>. Niestety magneto oraz fototermię cechuje także kilka bardzo istotnych wad. W fototermii stosuje się dość wysokie dawki światła. Gęstości optyczne (ang. *laser optical density*, LOD) nierzadko przekraczają bezpieczny limit 0,3-0,4 W/cm<sup>2</sup> dla układów biologicznych, co może powodować uszkodzenia zdrowych tkanek przylegających. W literaturze fachowej nie ma jednak konsensusu co do górnych zakresów LOD. Zgodnie z doniesieniami tolerancja organizmów żywych względem światła z omawianego zakresu zależy również od czasu ekspozycji i może być wyższa niż wspomniane gęstości optyczne<sup>2,42,123</sup>. Należy również zwrócić uwagę, iż pomimo niskiej absorpcji NIR przez układ biologiczny, to głębokość penetracji światła ogranicza się do kilku centymetrów i zależy od rodzaju tkanki<sup>124</sup>. Niedogodność ta nie musi stanowić przeszkody pod warunkiem zastosowania metod endoskopii<sup>125</sup>. Jednakże zabiegi te, w porównaniu do wykorzystania zmiennego pola magnetycznego, będą bardziej inwazyjne. Natomiast problem ten praktycznie nie występuje w przypadku tzw. terapii naskórnych (ang. *on-skin therapies*). Należy podkreślić, iż same nanomateriały mogą być potencjalnie cytotoksyczne (nanorurki węglowe analogia morfologii do azbestu, kropki kwantowe jako źródło potencjalnie toksycznych kationów metali ciężkich) i w trakcie ich projektowania trzeba temu zapobiegać. Jak już wspomniano wcześniej jednym z warunków uzyskania wydajnych materiałów z przeznaczeniem do fototermii jest taki dobór związku bądź domieszki, który będzie posiadał intensywne i szerokie pasma absorpcyjne (przejścia dozwolone) i jednocześnie powrót ze stanu wzbudzonego do stanu podstawowego będzie odbywał się na drodze relaksacji niepromienistej<sup>126-128</sup>. Zatem materiały, które w swoim składzie będą zawierać kationy metali przejściowych mogą być szczególnie interesujące. Jednymi z przykładów takich związków są ferryty należące do szerszej rodziny spineli.

Do wyznaczenia wydajności procesu konwersji światła na ciepło wykorzystywanych jest kilka różnych modeli między innymi Rope'a, Chen'a oraz Wang'a<sup>129-131</sup>. Wszystkie modele borykają się z pewnymi istotnymi problemami polegającymi na konieczności uwzględniania wielu różnych parametrów związanych z przepływami ciepła pomiędzy badaną próbką a materiałem kuwety, wpływem otoczenia, stratami mocy lasera podczas penetracji ścianek kuwety, rozpraszaniem światła na badanym materiale, problemami z właściwym pomiarem absorpcji dla próbek o względnie wysokich stężeniach (niespełnianie prawa Lamberta-Beera).

Wydaje się, że jednym z najbardziej adekwatnych modeli jest ten zaproponowany przez Wang'a, który stanowi rozszerzenie modelu Rope'a:

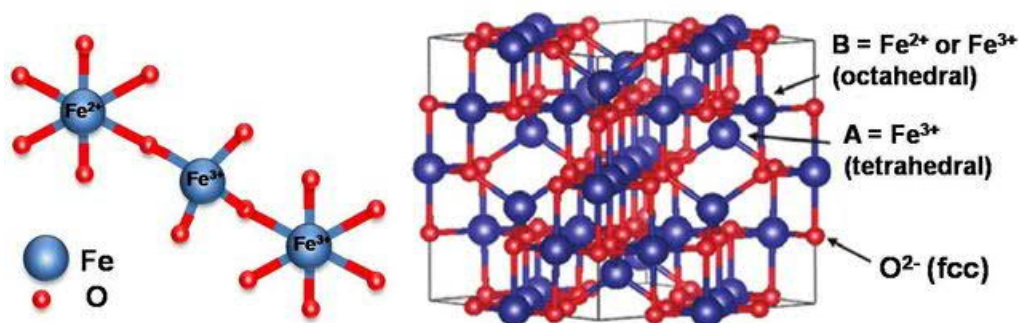
$$\eta = \frac{a \sum m_i c_{p,i}}{P(1-10^{-A\lambda})}, \quad (6)$$

gdzie  $\eta$  to wydajność konwersji,  $a$  to współczynnik absorpcji energii wyznaczany z przebiegu zależności zmian temperatury w czasie,  $m_i$  masa badanego materiału,  $C_{p,i}$  to pojemność cieplna,  $A\lambda$  określa absorbancję próbki dla wykorzystywanej w konwersji długości fali, natomiast  $P$  oznacza moc źródła światła. Jak można wnioskować właściwe określenie wydajności procesu konwersji światła na ciepło może stanowić pewne wyzwanie o ściśle technicznym charakterze. Ciekawym podejściem jest to, zaproponowane przez Paściak i inni, które nie dość, że pozwala na standaryzację pomiarów to również rozwiązuje kilka istotnych problemów związanych z konstrukcją urządzenia pomiarowego<sup>132</sup>. Poważną wadę stanowi jednak wprowadzenie nieintuicyjnej jednostki wydajności konwersji (L/gcm) zamiast zwyczajowej (%). Kolejnym ciekawym pomysłem jest sprzężenie foto- i magnetotermii. Zastosowanie obu czynników jednocześnie, gdzie ciepło generowane jest na drodze odmiennych fizycznie mechanizmów, może pozwolić na uzyskanie znacząco lepszych efektów i efektywności indukcji ciepła na nanomateriałach<sup>42</sup>.

## 7.5. Ferryty

Ferryty to stosunkowo szeroka rodzina tlenków metali mieszanych stanowiącą podgrupę spineli, do których zalicza się magnetyt ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) oraz pozostałe związki zawierające kationy metali przejściowych o sumarycznym wzorze  $\text{MFe}_2\text{O}_4$  ( $\text{M} = \text{Fe}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cu}^{2+}$ ). Ich struktura krystaliczna cechuje się ścisłym upakowaniem atomów opisywana układem regularnym (kubiczny) należącym do grupy przestrzennej  $Fd\bar{3}m$ . Komórkę elementarną tworzy 8 podjednostek zawierających 24 kationy metali ( $\text{M}_8\text{Fe}_{16}\text{O}_{32}$ ), które umiejscowione są w dwóch podsieciach oktaedrycznej i tetraedrycznej<sup>133-135</sup>. Spinele mogą różnić się rozmieszczeniem kationów dwu- oraz trójwartościowych pomiędzy podsieciami, co pozwala podzielić je na spinele normalne, inwersyjne (odwrócone) oraz mieszane. W spinelu normalnym dwuwartościowe kationy metali znajdują się w pozycjach tetraedrycznych, a trójwartościowe kationy żelaza obsadzają położenia oktaedryczne. Natomiast w inwersyjnym kationy trójwartościowe są równomiernie dystrybuowane pomiędzy obie podsieci, a jony dwuwartościowe uzupełniają luki w pozycjach oktaedrycznych (Rys. 9.)<sup>133-135</sup>. W przypadku spineli mieszanych cechuje je wysoki nieporządek kationowy, gdzie kationy metali rozmieszczone są nierównomiernie w obu położeniach krystalograficznych. Tego typu ferryty

opisuje się ogólnym wzorem  $(M_{1-i}Fe_i)^{TET}(M_iFe_{2-i})^{OCT}O_4$ , a stopień nieporządku (inwersyjności) oblicza się określając wartość  $i$ . Może on zawierać się w przedziale 0-1, gdzie 0 odpowiada ferrytom normalnym, a 1 inwersyjnym. Wartości pośrednie parametru  $i$  definiują ferryty mieszane<sup>133,135</sup>.



Rysunek 9. Komórka elementarna struktury krystalicznej spinelu odwróconego na przykładzie magnetytu<sup>136</sup>.

Ferryty są materiałami wykazującymi bardzo dobre właściwości magnetyczne. Cechują się one wewnątrzstrukturalnym oddziaływaniem momentów magnetycznych prowadzącym do spontanicznego, niezerowego namagnesowania. Zaliczane są do grupy ferromagnetyków. Najpowszechniej znanym, występującym naturalnie ferrytem jest magnetyt ( $Fe_3O_4$ ) będący tlenkiem mieszanym, w którym żelazo występuje jednocześnie na +2 i +3 stopniu utleniania. Ferryty wykazują dobrą stabilność chemiczną i mechaniczną. Można je otrzymywać na dużą skalę w wielu różnych rozmiarach od nano aż po duże monokryształy. Koszt wytworzenia uzależniony jest od specyfiki ich zastosowania i zdecydowanie rośnie w przypadku bardziej wyszukanych praktycznych aplikacji, gdzie kształtowanie rozmiaru oraz morfologii wraz z funkcjonalizacją powierzchni nabiera istotnego znaczenia. W przypadku ferrytów obserwuje się silną zależność właściwości magnetycznych od efektu rozmiarowego, która wiąże się ze zmianą struktury magnetycznej i pojawienia się zjawiska superparamagnetyzmu<sup>1,2,5,42,77</sup>. Stan superparamagnetyczny definiowany w literaturze jest jako specjalna forma magnetyzmu, który manifestuje się w przypadku małych nanocząstek magnetycznych. Zjawisko to polega na tym, że w obecności pola magnetycznego cząstki ulegają łatwemu namagnesowaniu jak w przypadku paramagnetyków. Natomiast w przeciwieństwie do nich, po usunięciu pola magnetycznego zachowują szczątkowe namagnesowanie, którego wartość jest stosunkowo wysoka<sup>2,5,14,42</sup>. Nanoferryty znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach obejmujących zarówno przemysł, ochronę środowiska, jak również aplikacje biomedyczne. Tlenki żelaza stosowane są m.in. jako magnesy trwałe, ekrany magnetyczne, czujniki, elementy w nośnikach danych, transformatorach, urządzeniach medycznych, urządzeniach komunikacyjnych, katalizie,

separacji magnetycznej i rozdziale biomolekuł, nośnikach leków, bioobrazowaniu, hipertermii magnetycznej, inżynierii tkankowej, biosensorach oraz wielu innych<sup>2,59,77,137-152</sup>.

Bardzo dobre właściwości magnetyczne, występowanie zjawiska superparamagnetyzmu oraz zdolność do absorpcji promieniowania z zakresu bliskiej podczerwieni powodują, że ferryty są dobrymi kandydatami do zastosowań w bezkontaktowym generowaniu ciepła. Jak już wcześniej omówiono, właściwości fizykochemiczne nanocząstek silnie zależą od ich postaci (rozmiaru, kształtu, powierzchni, itd.). Uzyskanie efektywnego konwertera czynników zewnętrznych takich jak zmienne pole magnetyczne, ultradźwięki czy światło z zakresu bliskiej podczerwieni wymaga optymalizacji technik syntezy nanomateriałów bądź opracowywania zupełnie nowych metod prowadzących do wytworzenia bardziej zaawansowanych struktur<sup>2,22,78-80,99,153-156</sup>. Tlenki żelaza otrzymywane są na drodze wielu technik, spośród których wymienić należy te najbardziej istotne: reakcje w fazie stałej, współstrącanie, mikroemulsyjną, hydrotermalną, zol-żel, dekompozycji termicznej w fazie ciekłej i inne<sup>14,22,56,57,157-159</sup>. W zakresie kształtowania rozmiaru cząstek oraz kontroli morfologii bardzo intensywnie rozwijane są syntezy w oparciu o technikę dekompozycji termicznej z wykorzystaniem wysokowrzących rozpuszczalników organicznych (180 - 350°C)<sup>22,78,80</sup>. Jako rozpuszczalniki organiczne najczęściej stosuje się eter dibenzylowy (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), eter difenylowy ((C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O), oktadeken (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>), toluen (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), acetofenon (CH<sub>3</sub>COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) oraz alkohol benzylowy (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OH), a źródłem żelaza są acetyloacetonian żelaza(III) (Fe(acac)<sub>3</sub>) - Fe(C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, oleinian żelaza - (C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>COO)<sub>3</sub>Fe czy też karbonylek żelaza(III) - Fe(CO)<sub>5</sub><sup>22,78,80,160</sup>. Wymuszenie kierunkowego i kontrolowanego wzrostu nanocząstek wymaga stosowania dodatku substancji pomocniczych. Molekuły te można zaliczyć do różnych grup związków takich jak kwasy karboksylowe (kwas oleinowy, kwas dekanowy), aminy (oleamina, dodecyloamina), polimery (PVP, dekstran). Spełniają one bardzo istotną rolę. Odpowiadają za tworzenie przejściowych związków kompleksowych z kationami metali, których wysokotemperaturowy rozkład prowadzi do powstawania zarodków krystalitów. Pozwalają kontrolować wzrost nanocząstek poprzez ograniczenie spontanicznej agregacji i dynamicznego, niekontrolowanego wtedy procesu zwiększania rozmiaru, co dodatkowo przejawia się powstawaniem materiałów o słabo zdefiniowanej morfologii<sup>5,22,161</sup>. W przypadku wymuszenia kierunkowego wzrostu krystalitów wykorzystywane jest zjawisko adsorpcji ligandów bezpośrednio na powierzchni tworzonej cząstki, która w zależności od molekuly może być niespecyficzna bądź specyficzna względem konkretnych płaszczyzn krystalograficznych. W konsekwencji można w dość precyzyjny sposób poprzez blokowanie danego kierunku wzrostu kształtować pożądaną morfologię nanomateriału<sup>5,22</sup>. W szczególności

dużą pomocą jest wykorzystanie ogromnie użytecznego narzędzia pod postacią znajomości potencjału chemicznego ( $\mu$ ), który w termodynamice chemicznej definiowany jest za pomocą poniższego wyrażenia:

$$\mu_{m,i} = \mu_{m,i}^0 + RT \ln \gamma_{m,i} \chi_{m,i}, \quad (7)$$

gdzie:  $\mu_{m,i}$  to potencjał chemiczny monomeru  $i$  w roztworze,  $\mu_{m,i}^0$  określa standardowy potencjał chemiczny monomeru  $i$ ,  $R$  to stała gazowa,  $T$  temperatura w skali Kelvina,  $\gamma_{m,i}$  określa aktywność monomeru, a  $\chi_{m,i}$  jest stężeniem molowym monomeru<sup>78</sup>. Pojęcie monomeru w tym ujęciu związane jest bezpośrednio ze związkiem chemicznym, który ulegać będzie reakcji chemicznej w stanie rozpuszczonym w roztworze. Sytuacja może być skomplikowana, gdy pierwotny substrat ulega dodatkowej reakcji kompleksowania przez np. substancję pomocniczą. Dokładne obliczenia wymagałyby wtedy znajomości stężenia oraz aktywności monomeru *in-situ*. W przypadku ferrytów wzrost odbywa się poprzez rozbudowę cząstki wzdłuż konkretnych kierunków krystalograficznych (100), (110) oraz (111). Różnią się one między sobą stopniem upakowania atomów, gęstością elektronową, co wpływa na wartość ich potencjału chemicznego<sup>22,78</sup>. Qiao i inni<sup>78</sup> wyznaczyli potencjał chemiczny dla płaszczyzn krystalograficznych w  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , który zmienia się w następującym szeregu  $\mu_{(100)} > \mu_{(110)} > \mu_{(111)}$ . Zatem wzrost krystalitów zakończony przez płaszczyznę (111) skutkuje uzyskaniem morfologii oktaedrycznej, (110) formowany będzie rombododekaedr, a terminacja na płaszczyźnie (100) powoduje powstanie sześciątów. Toteż, jak można zauważyć modulacja wzrostu poszczególnych płaszczyzn umożliwia uzyskanie nanocząstek magnetycznych o zróżnicowanych rozmiarach i kształtach<sup>22,78</sup>. Oczywiście na reaktywność monomeru (substratu) i kształtowanie końcowego produktu można wpływać przez optymalizację parametrów syntezy (temperatura, szybkość jej wzrostu, czas syntezy), zmiany stężenia substratu, dodatków czy też wykorzystanie rozpuszczalnika pomocniczego (kosolwentu)<sup>5,22,78,162</sup>. Zmiana stężenia substratu silnie wpływa na rozmiar otrzymywanych cząstek i jest istotna w kontekście kształtowanie morfologii. Wzrost stężenia powoduje zwiększenie wielkości cząstek oraz w pewnych przypadkach może spowodować dalszy wzrost materiału wzdłuż kierunku (111) czego efektem będzie wytworzenie zamiast sześciątów nanomateriału o morfologii zbliżonej do gwiazd (ang. *star-like*)<sup>5,78</sup>. Dalej, kolejną możliwością wpływu na kształt nanocząstek jest kontrola charakteru rozpuszczalnika polarny-niepolarny, która będzie skutkować zmianą aktywności substratu. Zmniejszenie polarności mieszaniny reakcyjnej będzie wpływać na zmniejszenie aktywności monomeru czego efektem jest formowanie mniejszych cząstek. Jak zatem widać, kontrola rozmiaru i kształtu produktów jest



dość skomplikowana i wymaga wzięcia pod uwagę wielu różnych czynników jednocześnie. Warto również wspomnieć, że substancje pomocnicze spełniają inne dodatkowe funkcje. Jedną z istotniejszych jest nie tylko stabilizacja układu w zawiesinach, ale również zabezpieczenie powierzchni nanomateriału przed jego utlenieniem, co jest szczególnie ważne w przypadku wytwarzania  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ <sup>78,79</sup>. Równie ważnymi parametrami są temperatura i czas syntezy. W przypadku temperatury wymagane jest nie tylko określenie jej właściwej wysokości, ale również szybkości jej narostu. Z kolei czas w jakim prowadzona jest reakcja chemiczna musi być dostosowany do jej kluczowych etapów, co gwarantuje uzyskanie właściwego rozmiaru cząstek oraz umożliwienia odpowiedniego tempa wzrostu krystalitów w trakcie wymuszania jego kierunku w stronę pożądaną morfologii produktu<sup>5,22,78,156,160,162-164</sup>. Dekompozycja termiczna należy do niewątpliwie jednych z najatrakcyjniejszych technik wytwarzania nanostruktur. Oprócz wyraźnych zalet i przewag w stosunku do innych metodologii jest jednak obarczona pewnymi ograniczeniami. Do najważniejszych wad można zaliczyć jej skomplikowanie (dostęp do linii gazowej, konieczność budowania złożonych zestawów, zachowania procedur BHP ze względu na palne rozpuszczalniki i wysoką temperaturę) oraz ograniczoną wydajność w porównaniu do metod konwencjonalnych (np. współstrącania). Kolejny problem to skalowalność oraz zdecydowanie wyższy koszt wytwarzania nanomateriałów (cena substratów, środków pomocniczych, rozpuszczalników, koszty energii). Przeciwwagą dla wad, a jednocześnie jedną z najistotniejszych zalet tej techniki jest możliwość uzyskania materiałów o bardzo dobrze zdefiniowanej morfologii, kontrolowanym rozmiarze i dystrybucji, składzie chemicznym, krystaliczności. Zatem technika ta gwarantuje otrzymanie produktów o powtarzalnych właściwościach fizykochemicznych, co w przypadku zaawansowanych aplikacji biomedycznych jest bardzo pożądane<sup>5,22,165</sup>.

## 8. Materiały i metody

---

### 8.1. Preparatyka nanomateriałów i nanostruktur

Do syntezy różnych materiałów ferrytowych, heterostruktur i kompozytów wykorzystano następujące odczynniki chemiczne: acetyloacetonian żelaza(III) ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ; 99,7%), acetyloacetonian kobaltu(II) ( $\text{Co}(\text{acac})_2$ , 99%), acetyloacetonian manganu(II) ( $\text{Mn}(\text{acac})_2$ , 97%), acetyloacetonian cynku hydrat ( $\text{Zn}(\text{acac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 99%), alkohol benzytowy (99%), tetraetoksysilan (TEOS, 99,9%), borowodurek sodu ( $\text{NaBH}_4$  (99%) zakupione w Thermo Fischer Scientific, Polska; eter dibenzytowy (98%), kwas oleinowy (90%), heksadekan (99%), acetofenon (99%), kwas etydrynowy (60% roztwór), metakrylan metylu (MMA) monomer (99%), nadsiarczan potasu ( $\geq 99\%$ , KPS),  $\text{NaOH}$  ( $\geq 98\%$ ),  $\text{MgSO}_4$  ( $\geq 97\%$ ), tetrahydrofuran (THF, 99,9%), IGEPAL CO-520, (3-aminopropylo)trietoksysilan, (APTES, 99%), kwas chlorozłotowy ( $\text{HAuCl}_4$ , 99,99%) zakupione w Sigma Aldrich, Polska; aceton (99,5%, StanLab, Polska), amoniak (25% roztwór, 99% Honeywell, Polska),  $\text{AgNO}_3$  (99%, POCH, Polska), alkohol etylowy (96%, Chempur, Polska) oraz gaz inertny, w tym przypadku azot ( $\text{N}_2$ , 99,999%, Linde, Polska).

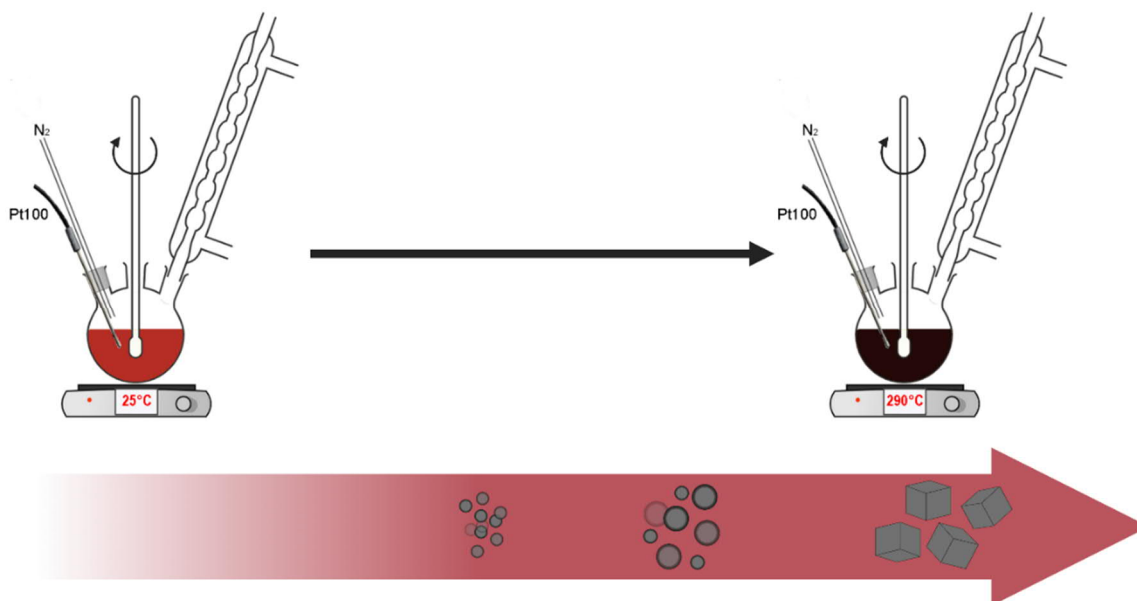
#### 8.1.1. Główne techniki otrzymywania materiałów ferrytowych

Wytworzenie nanostruktur i materiałów hybrydowych bazujących na ferrytach o kontrolowanym rozmiarze, morfologii, składzie chemicznym wymagało zastosowania różnych technik syntetycznych oraz optymalizacji procedur ich uzyskiwania obejmujących wszystkie niezbędne elementy takie jak: stężenie substratów, substancji pomocniczych, zastosowania dodatkowych rozpuszczalników pomocniczych, czasu prowadzenia procesu, temperatury itp.

##### *Technika dekompozycji termicznej metodą wzrostu temperatury (heat-up)*

Procedura syntezy nanomateriałów w oparciu o proces dekompozycji termicznej z zastosowaniem ciągłego wzrostu temperatury (ang. *heat-up*) polega na przygotowaniu mieszaniny reakcyjnej zawierającej odpowiedni substrat lub substraty, substancje pomocnicze oraz rozpuszczalnik bezpośrednio w tym samym naczyniu reakcyjnym. Następnie mieszaninę ogrzewa się w sposób ciągły stosując stały wzrost temperatury, aż do momentu osiągnięcia optymalnej temperatury dla przebiegu właściwej reakcji chemicznej. Często synteza prowadzona jest kilku etapowo. Poszczególne etapy związane są z koniecznością odgazowania mieszaniny, zainicjowania reakcji transformacji substratu w związek pośredni, czy też ostatecznej reakcji dekompozycji termicznej prowadzącej do wytworzenia produktu

końcowego. Należy podkreślić, że całość procesu prowadzona jest w atmosferze gazu inertnego ( $N_2$ ). W tego rodzaju podejściu syntetycznym kontrola temperatury i szybkości jej wzrostu umożliwia zapanowanie nad procesami zarodkowania (nukleacji) oraz wzrostu krystalitów. Dzięki czemu uzyskiwane materiały cechuje powtarzalność właściwości fizykochemicznych<sup>56,78,79,161,165–168</sup>. Schematycznie technikę tą przedstawiono na rysunku 10.



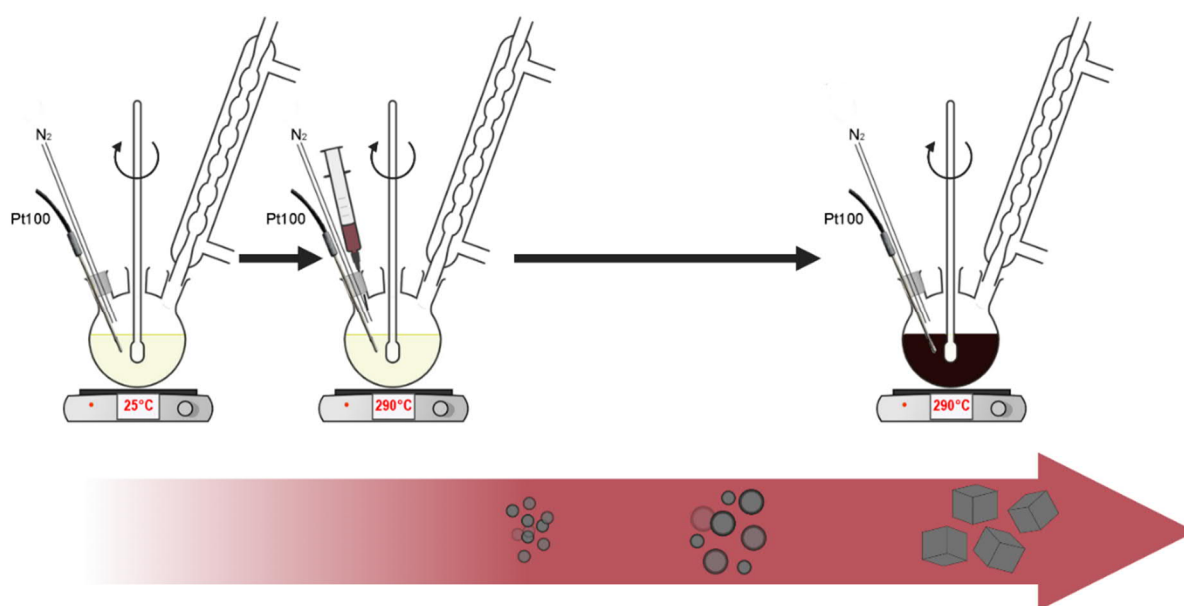
Rysunek 10. Uproszczony schemat syntezy metodą dekompozycji termicznej w oparciu o ciągły wzrost temperatury.

Zestaw do preparatyki wyposażony jest w linię gazową bądź próżniową (Schlenka). Jej podstawowymi elementami są kolba z odpowiednią ilością króćców doprowadzających, mieszadło mechaniczne, czujnik temperatury z automatycznym sterowaniem i kontrolą, kolumna zwrotna (refluksowa) efektywnie skraplająca i zawracająca rozpuszczalnik oraz laboratoryjna czasza grzewcza. Ze względu na wysoką temperaturę i łatwopalność substancji należy zachować odpowiednie środki bezpieczeństwa. Dokładny opis sposobu postępowania wraz ze wszelkimi danymi znaleźć można w publikacjach naukowych związanych z dysertacją doktorską (**P1**, **P3**, **P4**). Ważnym elementem towarzyszącym otrzymywaniu zakładanego materiału był etap oczyszczania produktu oraz konieczności wymiany ligandu ze względu na zastosowanie jako substancji pomocniczej kwasu oleinowego, który nadawał nanocząstkom charakter hydrofobowy.

#### *Technika dekompozycji termicznej metodą gorącego nastrzyku (hot-injection)*

W przypadku techniki dekompozycji termicznej, w której wykorzystuje się nastrzyk wcześniej przygotowanego substratu lub substratów do gorącej mieszaniny zawierającej substancje pomocnicze oraz rozpuszczalnik (czasem wraz z rozpuszczalnikiem pomocniczym)

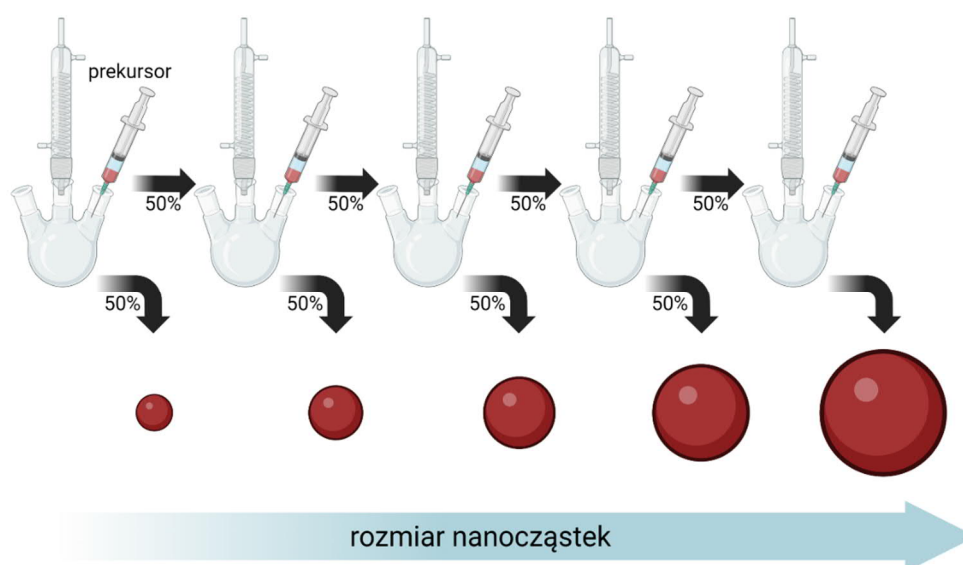
istotne jest kontrolowanie stężenia głównych odczynników, szybkości nastrzyku, czasu syntezy oraz temperatury mieszaniny reakcyjnej. Technika ta jest bardzo popularna w przypadku otrzymywania materiałów półprzewodnikowych (kropki kwantowe). Właściwie w literaturze fachowej nie ma doniesień o jej wykorzystaniu do kontrolowania morfologii cząstek magnetycznych. W niniejszej pracy pokazano, że kluczowym jest zastosowanie odpowiedniego rozpuszczalnika pomocniczego, który poprzez zmianę aktywności substratu wpływa bezpośrednio na możliwość kształtowania morfologii. Oczywiście przy założeniu, że ilość substancji pomocniczej jest również optymalna. Ta strategia uzyskiwania materiałów ferrytowych pozwala na otrzymanie całej gamy nanomateriałów z tej rodziny. Schematycznie syntezę techniką gorącego nastrzyku przedstawiono na rysunku 11. Należy zaznaczyć, że podobnie jak w przypadku poprzedniej metody całość procesu prowadzona jest w warunkach inertnych. Wykorzystywany zestaw jest bardzo podobny do poprzednio opisywanego z tą zmianą, iż poprzez jeden z króćców doprowadza się dozownik z rozpuszczonym wcześniej substratem (strzykawką). Zasadniczą różnicą w stosunku do techniki dekompozycji z wykorzystaniem ciągłego wzrostu temperatury jest to, że w momencie dozowania substratu proces nukleacji jest bardzo szybki i gwałtowny co w optymalnych warunkach pozwala na uzyskanie produktu o pożądanym właściwościach. Ta metoda otrzymywania nie wymaga tak precyzyjnej kontroli wzrostu temperatury mieszaniny natomiast wiąże się z ewentualnością pojawienia gradientów temperatury ze względu na dozowanie zimniejszego roztworu do najczęściej wrzącego już rozpuszczalnika<sup>56,161,168-171</sup>. Pełny opis procedury można znaleźć w publikacjach stanowiących zbiór osiągnięcia w przedstawionej dysertacji doktorskiej, w szczególności w pracach **P1 i P2**.



Rysunek 11. Schemat syntezy metodą gorącego nastrzyku.

### Technika dekompozycji termicznej metodą wzrostu na rdzeniach (*seed-mediated growth*)

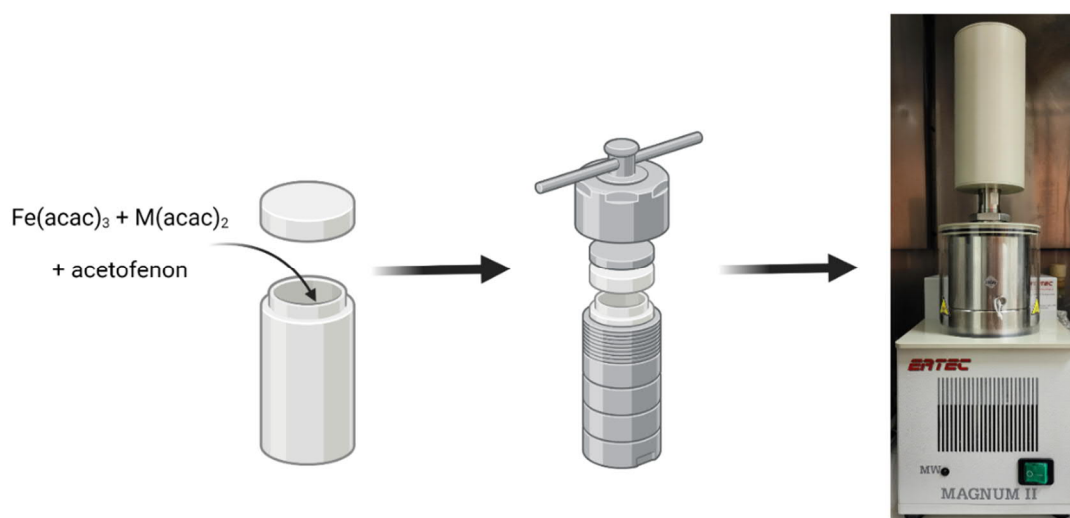
Metoda wzrostu na rdzeniach jest ciekawym sposobem otrzymywania nanomateriałów, gdzie kontrola rozmiaru odgrywa najważniejszą rolę. Zakłada ona w swojej początkowej fazie wytworzenie rdzeni zbudowanych na przykład z materiałów ferrytowych, które wykorzystuje się do budowy powłoki wokół wyjściowego ferrytu. Syntezę prowadzi się powtarzając kolejne etapy wzrostu, aż do momentu uzyskania produktu o pożądanym rozmiarze końcowym. Właściwie, proces prowadzi się zachowując bardzo podobne warunki jak w przypadku otrzymywania samych rdzeni (temperatura). Natomiast zmianie może ulec czas reakcji oraz ilość dozowanych porcji substratu w kolejnych etapach wzrostu. Efektem tej strategii otrzymywania nanocząstek jest uzyskanie materiałów typu rdzeń-otoczek (ang. *core-shell*). Schemat syntezy przedstawiono na rysunku 12. W przypadku ferrytów otwiera ona drogę do wytwarzania struktur zbudowanych z magnetyków miękkich i twardych, układów wielowarstwowych, a więc substancji w których w dowolny sposób można kształtować właściwości fizykochemiczne, szczególnie magnetyczne<sup>172–174</sup>. W pracy **P5**, pokazano jak w relatywnie prosty i efektywny sposób można przygotować materiały  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{MnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{MnFe}_2\text{O}_4, @\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  oraz określono najistotniejsze parametry wpływające na proces otrzymywania tego rodzaju struktur. W przypadku możliwości sterowania morfologią technika ta poprzez kontrolę dodawanej ilości substratu pozwala do pewnego stopnia wymuszać kierunkowy wzrost krystalitów. Ważnym jest również fakt, że w metodzie tej nie stosowano dodatkowych substancji pomocniczych oraz to, iż temperatura reakcji jest zdecydowanie niższa ze względu na użycie innego rozpuszczalnika (alkohol benzyłowy).



Rysunek 12. Schemat syntezy metodą wzrostu na rdzeniach.

### Technika dekompozycji termicznej z wykorzystaniem pobudzenia mikrofalowego

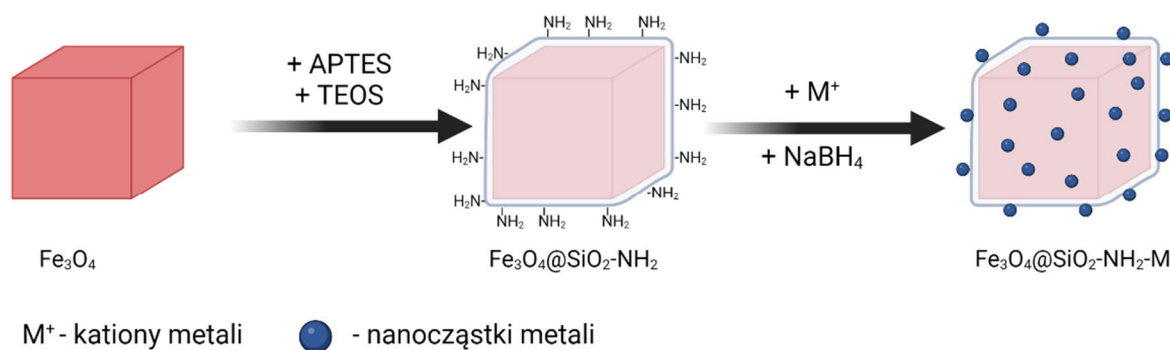
Metoda oparta o dekompozycję termiczną substratu w wysokowrzącym rozpuszczalniku organicznym wykorzystująca mikrofałe jako źródło energii stanowi ciekawą alternatywę w stosunku do innych technik wytwarzania nanomateriałów ferrytowych. Głównymi zaletami wykorzystania mikrofal do napędzania reakcji chemicznych są: krótszy czas syntezy (poniżej 60 minut), ograniczenie występowania reakcji ubocznych, zwiększenie wydajności reakcji, powtarzalność, a także brak stosowania surfaktantów<sup>175,176</sup>. Możliwość uzyskiwania nanomateriałów bez pokrytej wcześniej powierzchni otwiera bardziej elastyczne podejście do późniejszej funkcjonalizacji ferrytów. Co ciekawe, materiały otrzymane z wykorzystaniem acetofenonu jako głównego rozpuszczalnika mają charakter hydrofilowy i tworzą bardzo stabilne układy koloidalne, a dalsza post-modyfikacja nie następuje większych problemów syntetycznych<sup>177</sup>. Należy podkreślić, że cechą charakterystyczną materiałów wytworzonych techniką mikrofalową są zdecydowanie mniejsze rozmiary nanocząstek ferrytowych, które zawierają się w zakresie od 5 do 10 nm o wąskiej dystrybucji rozmiarów. Wadą jest brak możliwości kontroli morfologii, ale prawdopodobnie wynika to z faktu niewykorzystywania żadnych substancji pomocniczych. Technika ta pozwala na otrzymywanie materiałów ferrytowych o zmiennym składzie chemicznym. Może być użyta do przygotowania cząstek, które z powodzeniem można zastosować jako materiał wyjściowy w preparatyce wzrostu na rdzeniach<sup>178-180</sup>. Szczegóły związane ze sposobem otrzymywania ferrytów o zmiennym składzie chemicznym omówiono w publikacji **P6**. Natomiast schemat metody przedstawiono na rysunku 13.



Rysunek 13. Idea syntezy z wykorzystaniem pobudzenia mikrofalowego.

### 8.1.2. Wytwarzanie heterostruktur o właściwościach magnetyczno-plazmonowych

Materiały wielofunkcyjne łączące różne właściwości fizykochemiczne cieszą się sporym zainteresowaniem naukowców ze względu na swoją uniwersalność i możliwości zastosowania w zaawansowanych aplikacjach biomedycznych, które wpisujących się w obszar teranostyki. W niniejszej pracy, na podstawie wcześniej wypracowanego *know-how* wykonano szereg syntez nanocząstek hybrydowych łącząc ze sobą zalety materiałów magnetycznych oraz optycznych wykazujących efekt plazmonowy wynikający z obecności wytrąceń metalicznych Ag i Au. W przypadku metodologii otrzymywania heterostruktur plazmonowo-magnetycznych wykorzystano procedurę składającą się z trzech etapów: (I) synteza materiału rdzenia magnetycznego – tu można wykorzystać każdą z poprzednio omówionych technik; (II) wytworzenie cienkiej warstwy krzemionki wokół cząstek rdzenia stanowiącej swoisty łącznik pomiędzy cząstką magnetyczną, a wytrąceniem metalicznym oraz (III) proces redukcji kationów  $\text{Ag}^+$  bądź  $\text{Au}^+$  za pomocą silnego reduktora ( $\text{NaBH}_4$ ). Szczegółowo procedura otrzymywania heterostruktur magnetyczno-plazmonowych przedstawiona została w pracach **P3** i **P4**, a schemat zaprezentowano na rysunku 14. Wykorzystana metodologia jest stosunkowo skomplikowana poprzez swoją wieloetapowość i wymaga dokładnego oczyszczania produktów na każdym z jej etapów. Natomiast pozwala na skuteczne przygotowanie materiałów, których wypadkowe właściwości pozwalają na ich wieloaspektowe wykorzystanie.

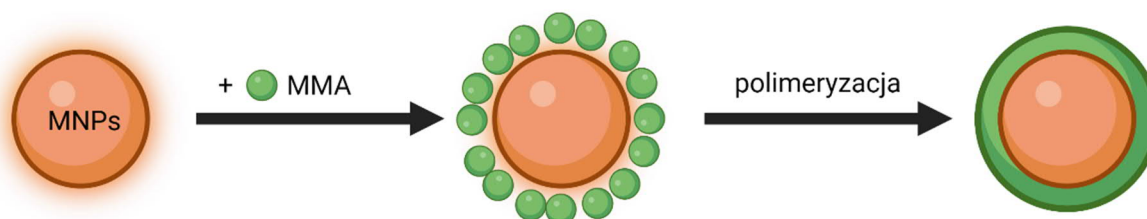


Rysunek 14. Schemat syntezy heterostruktur magnetyczno-plazmonowych.

### 8.1.3. Preparatyka nieorganiczno-organicznych materiałów kompozytowych

W przypadku wytwarzania materiałów hybrydowych zawierających magnetyczny ferrytowy rdzeń i powłokę wykonaną z polimetakrylanu metylu (PMMA) synteza była dwuetapowa (Rys. 15). Pierwszy etap zakładał przygotowanie ferrytu kobaltowo-manganowego za pomocą techniki z wykorzystaniem mikrofal, a w drugim wykorzystano klasyczną polimeryzację *in-situ* w układzie emulsyjnym. Po odpowiednim oczyszczeniu produktu uzyskiwano z dużą wydajnością kompozyt o strukturze *core-shell*

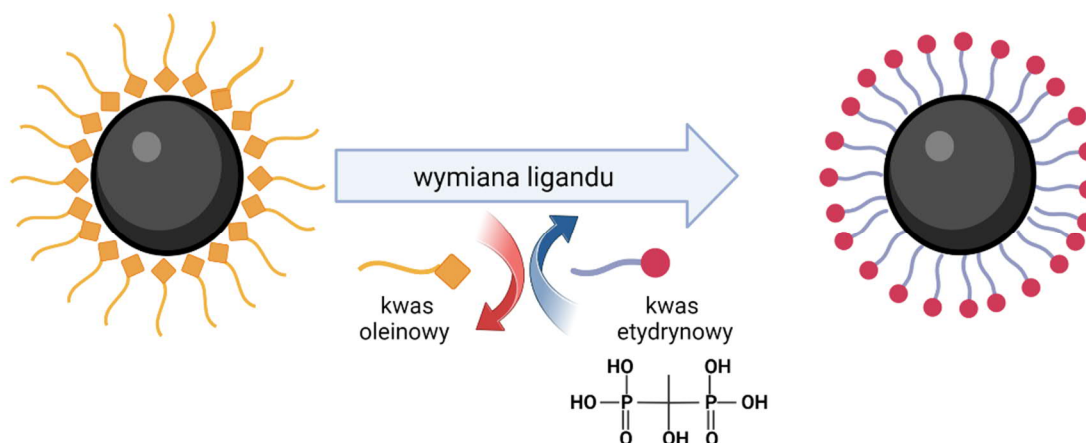
$\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4@PMMA$ , który łączył właściwości fizykochemiczne obu substancji. Oprócz proponowanego sposobu zastosowania kompozytu jako efektywnego konwertera może być on użyty również do konstrukcji elementów filtrujących zewnętrzne pole magnetyczne w aplikacjach elektronicznych (ang. *electromagnetic interference shielding materials*)<sup>181,182</sup>. Hybrydy ferrytowe wykonane zostały w ramach owocnej współpracy z Katedrą Inżynierii i Technologii Polimerów Politechniki Wrocławskiej (Prof. dr hab. Jacek Pięłowski oraz dr Emilia Zachanowicz).



Rysunek 15. Wytwarzanie hybryd nieorganiczno-organicznych o strukturze rdzeń-otoczka.

#### 8.1.4. Funkcjonalizacja powierzchni nanomateriałów pochodnymi fosfonowymi

Na podstawie własnych doświadczeń w funkcjonalizacji powierzchni pochodnymi fosfonowymi wybrano kwas etydrynowy, który został wykorzystany do modyfikacji nanoferrytów<sup>183</sup>. W sytuacji gdy substancją pomocniczą do kształtowania morfologii cząstek był kwas oleinowy przed właściwą modyfikacją pochodną fosfonową zastosowano procedurę wymiany ligandu opracowaną przez Bogdan<sup>61</sup>. Dzięki takiemu podejściu zmieniano charakter nanocząstek z hydrofobowego na hydrofilowy, co zapewniało możliwość sporządzania stabilnych zawiesin koloidalnych ferrytów w rozpuszczalnikach wodnych.



Rysunek 16. Funkcjonalizacja powierzchni nanocząstek magnetycznych pochodnymi fosfonowymi.

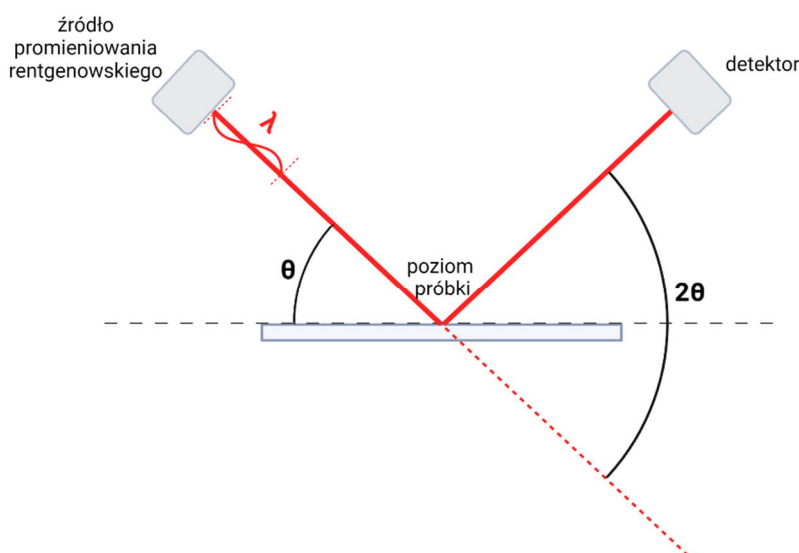


Wybór kwasu fosfonowego i generalnie pochodnych fosfonowych wynikał przede wszystkim z faktu wysokiego powinowactwa tych związków do powierzchni nanocząstek. Skutkuje to powstawaniem silnych wiązań koordynacyjnych jak również możliwością otwarcia dalszej drogi do biokoniugacji z innymi molekułami biologicznie aktywnymi<sup>67</sup>. Szczegółowy opis sposobu funkcjonalizacji powierzchni nanomateriałów kwasem etydrynowym można znaleźć w publikacji **P2** oraz w dorobku dodatkowym<sup>183</sup>.

## 8.2. Charakterystyka właściwości fizykochemicznych nanomateriałów

### 8.2.1. Rentgenowska dyfrakcja proszkowa (XRD)

Rentgenowska dyfrakcja proszkowa (ang. *X-ray powder diffraction*, XRD) to technika wykorzystywana do badania właściwości strukturalnych uzyskanych materiałów i służy do określenia obecności faz krystalicznych, rozmiaru kryształitów, stopnia krystalizacji, naprężeń wewnętrznych oraz wyznaczania parametrów sieciowych komórki elementarnej. Metoda ta oparta jest na zjawisku elastycznego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego na badanym materiale. Promieniowanie rentgenowskie o znanej długości fali padając pod kątem  $\theta$  na próbkę charakteryzującą się uporządkowaniem atomowym ulega dyfrakcji z czego natężenie w części kierunków jest wyższe niż w innych kierunkach. Następnie, powstałe refleksy dyfrakcyjne rejestrowane są przez detektor w funkcji kąta  $2\theta$  tworząc dyfraktogram (Rys. 17.). Otrzymane wzory dyfrakcyjne różnią się ze względu na rodzaj i sposób rozmieszczenia atomów w sieci krystalicznej<sup>184</sup>.



Rysunek 17. Schemat ideowy zasady działania rentgenowskiego dyfraktometru proszkowego.

W pracy doktorskiej do określenia podstawowych właściwości strukturalnych otrzymanych nanomateriałów, nanostruktur i kompozytów użyto dyfraktometru Bruker D8

Advance z lampą Cu do generowania promieniowania rentgenowskiego ( $K_{\alpha 1}$ : 1,54060 Å) z filtrem niklowym w celu odfiltrowania wiązki  $K_{\alpha 2}$ . Przed pomiarem, odpowiednią ilość próbki wysuszono w suszarce laboratoryjnej w celu uzyskania materiału proszkowego. W razie konieczności próbka była dodatkowo rozdrabniania w młynku agatowym. Dyfraktogramy rejestrowane były w zakresie kątowym  $15-70^\circ 2\theta$  z czasem integracji 0,8 s i stałym interwałem kątowym wynoszącym  $0,02^\circ$ . Otrzymane wyniki były analizowane z użyciem oprogramowania Diffrac.Eva software (V.2). Obróbkę wyników wykonano w programie Origin Pro 9.0. W przypadku obliczeń parametrów sieciowych wykorzystano współpracę z dr hab. Bartoszem Zarychtą z Wydziału Chemii, Uniwersytetu Opolskiego. Do identyfikacji faz krystalicznych wykorzystano licencjonowaną międzynarodową bazę danych krystalograficznych ICDD (ang. *International Centre for Diffraction Data*). Średni rozmiar krystalitów wyznaczono korzystając z metody zaproponowanej przez Scherrer'a stosując poniższy wzór:

$$D = \frac{k\lambda}{\cos\theta\sqrt{\beta^2 - \beta_0^2}}, \quad (8)$$

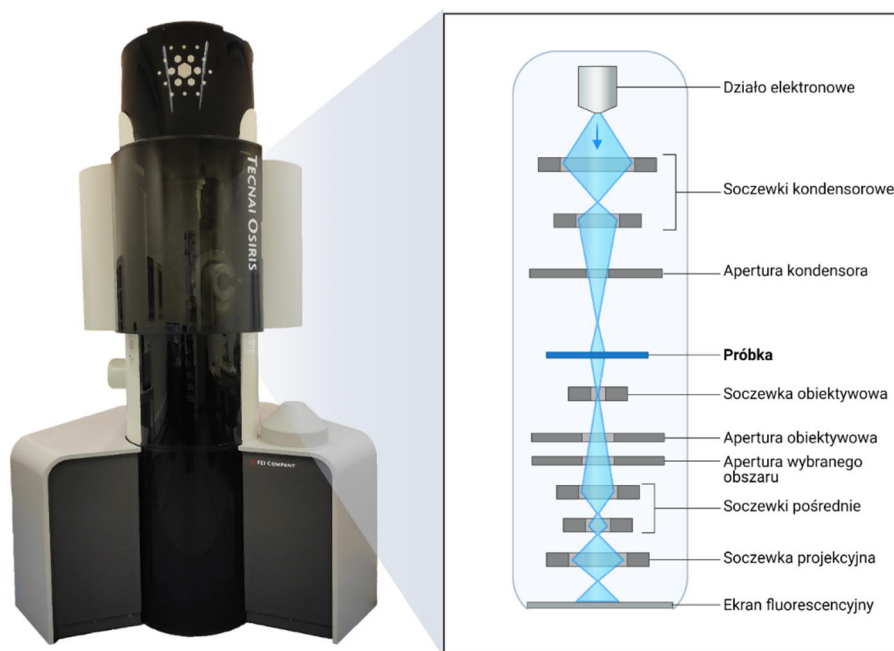
gdzie:  $k$  - to wartość stała wynosząca 0,9 (aproxymacja sferycznego kształtu krystalitów),  $\lambda$  to długość fali źródła promieniowania (1,54060 Å),  $\beta_0$  określa wielkość poszerzenia aparaturowego charakterystyczną dla danego urządzenia ( $0,05^\circ 2\theta$ ),  $\beta$  określa szerokość kątową refleksu w połowie jego wysokości (ang. *full width at half maximum*, FWHM), z kolei  $\theta$  odpowiada maksimum położenia analizowanego piku dyfrakcyjnego.

### 8.2.2. Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM)

Transmisyjna mikroskopia elektronowa to jedna z podstawowych technik używanych w charakterystyce nanomateriałów w szczególności morfologii, rozmiaru i jego dystrybucji, stopnia agregacji, składu chemicznego, jak również umożliwia badania struktury krystalicznej i defektów<sup>185</sup>. Istotą obrazowania w transmisyjnym mikroskopie elektronowym (ang. *transmission electron microscopy*, TEM) jest wykorzystanie oddziaływania prześwietlanego preparatu z padającą wiązką elektronów w celu utworzenia jego powiększonego obrazu. Współczesne mikroskopy umożliwiają różne sposoby obrazowania m.in.: w polu jasnym i ciemnym, w trybie transmisyjnej skaningowej mikroskopii elektronowej STEM (ang. *scanning transmission electron microscopy*), wysokorozdzielczej transmisyjnej mikroskopii elektronowej HRTEM (ang. *high-resolution transmission electron microscopy*)<sup>185</sup>. Mikroskopia TEM umożliwia badanie struktury krystalicznej materiału poprzez wykorzystanie techniki dyfrakcji elektronowej SAED (ang. *selected area electron diffraction*). Obraz dyfrakcyjny powstaje przy zastosowaniu odpowiedniego powiększenia dyfrakcyjnego,

przysłony pola (zamiast przysłony obiektywu) i oświetlania preparatu wiązką równoległą w wyniku czego uzyskuje się zogniskowane refleksy dyfrakcyjne w postaci punktów- wiązek ugiętych zgodnie z prawem Bragga<sup>184,185</sup>.

Mikroanaliza rentgenowska z wykorzystaniem spektrometru mierzącego energię promieniowania rentgenowskiego umożliwia analizę składu pierwiastkowego próbki (ang. *scanning transmission electron microscopy with energy dispersive spectroscopy*, STEM-EDS). Metoda ta opiera się na oddziaływaniu elektronów z atomami materiału, czego efektem jest emisja promieniowania rentgenowskiego, którego energia poziomów energetycznych jest charakterystyczna dla danego pierwiastka. W wyniku pomiaru otrzymuje się widmo z charakterystycznymi liniami spektralnymi oraz mapę rozkładu pierwiastków w próbce stając się tym samym potężnym narzędziem w przypadku badania heterostruktur oraz nanocząstek typu rdzeń-otoczka<sup>185</sup>.



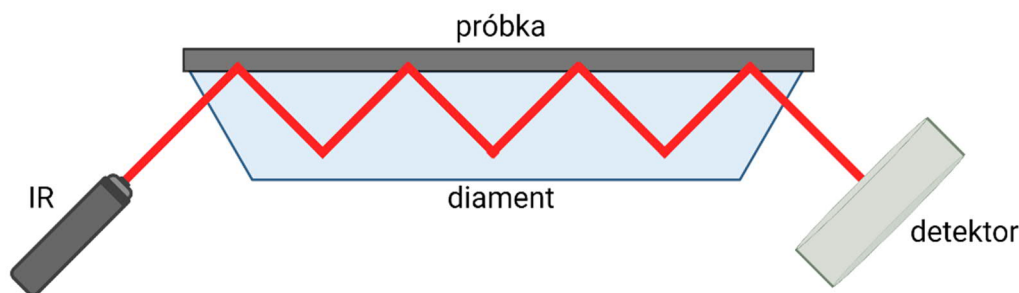
Rysunek 18. Uproszczony schemat budowy transmisyjnego mikroskopu elektronowego.

Do obrazowania nanomateriałów użyto transmisyjnego mikroskopu elektronowego Tecnai Osiris X-FEG HRTEM o maksymalnym napięciu przyspieszającym 200 kV. Standardowa procedura przygotowania materiałów do badań polega na uzyskaniu zawiesin koloidalnych o optymalnym stężeniu (0,25 mg/ml), naniesieniu kropli próbki na siatkę miedzianą pokrytą filmem węglowym (EM Resolutions Wielka Brytania) i ostrożnym odparowaniu rozpuszczalnika. Obraz w różnych trybach pracy mikroskopu rejestrowano i analizowano z wykorzystaniem dedykowanego oprogramowania DigitalMicrograph (v. 1.85.1535). Natomiast analizę wyników STEM-EDS wykonano przy użyciu

oprogramowania Esprit. Rozmiar nanocząstek i ich dystrybucję wyznaczano w programie ImageJ (v. 1.8.0\_172).

### 8.2.3. Spektroskopia w podczerwieni (FTIR)

Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (ang. *Fourier transform infrared spectroscopy*, FTIR) jest techniką nieniszcząca i mało inwazyjną, która pozwala na analizę struktury związków chemicznych. Zastosowanie absorpcji promieniowania z zakresu podczerwieni powoduje zmiany w energii oscylacyjnej cząsteczek, a przez to absorpcję przy określonych charakterystycznych długościach fali. Analiza otrzymanego widma absorpcji pozwala na określenie obecności poszczególnych grup funkcyjnych elementów strukturalnych<sup>186</sup>. Ciekawym rozszerzeniem możliwości typowych aparatów FTIR jest zastosowanie przystawki odbiciowej ATR (ang. *attenuated total reflectance accessory*). Kombinacja FTIR-ATR, a więc techniki wykorzystując zjawisko osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia pozwala na uproszczenie przygotowania próbki do badań. Właściwie, materiał badawczy (najczęściej w postaci sproszkowanej) dociska się do kryształu (diament, krzem, german lub inne), a światło podczerwone przechodzi przez kryształ oddziałując z badaną substancją czego końcowym efektem jest powstawanie widma IR.



Rysunek 19. Uproszczony schemat układu pomiarowego w technice FTIR-ATR.

Badanie nanomateriałów oraz substancji wzorcowych wykonano za pomocą spektrometru Thermo Scientific Nicolet iZ10 FTIR z przystawką ATR (kryształ diamentu) w zakresie spektralnym  $4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$  w temperaturze pokojowej. Przed pomiarem urządzenie było kalibrowane w oparciu o procedury dostarczone przez producenta urządzenia. Analizę wyników pomiarowych wykonano w programie Origin Pro 9.0 poprzez przypisanie odpowiednim pasmom występującym na widmach drgań związanych z poszczególnymi elementami strukturalnymi związków chemicznych. W tym celu posiłkowano się również danymi literaturowymi oraz pomiarami obejmującymi rejestrację widm dla wzorców.

#### **8.2.4. Konwersja zmiennego pola magnetycznego oraz światła z zakresu bliskiej podczerwieni na energię cieplną**

Bezkontaktową konwersję różnych czynników pobudzających na otrzymanych nanomateriałach mierzono w trzech głównych trybach: (I) konwersji zmiennego pola magnetycznego, (II) konwersji promieniowania elektromagnetycznego z zakresu bliskiej podczerwieni (długości fali 808 oraz 1122 nm) oraz (III) synergii oddziaływania obu czynników zewnętrznych jednocześnie.

Do pomiarów indukcji ciepła wykorzystano generator zmiennego pola magnetycznego G2 D5 Series Multimode 1500 W driver (NanoScale Biomagnetics, Hiszpania) wyposażony w cewkę kalorymetryczną CAL1 zapewniającą pseudoadiabatyczne warunki pomiarowe (ograniczenie wymiany ciepła pomiędzy układem a otoczeniem) oraz cewkę S32, która była przystosowana do pomiarów na liniach komórkowych. Zmiany temperatury rejestrowano za pomocą szybkiej kamery termowizyjnej FLIR T660 (FLIR, USA) sterowanej przez oprogramowanie ResearchIR. W przypadku źródeł światła wykorzystywano dwa moduły laserów półprzewodnikowych o pracy ciągłej z możliwością regulacji mocy o długości fali 808 oraz 1122 nm (CNI, Chiny). Wiązkę wzbudzającą doprowadzono do próbki za pomocą światłowodu wielomodowego o średnicy 400  $\mu\text{m}$  (CNI, Chiny). Moduły laserujące kalibrowano wykorzystując miernik mocy Ophir StarLite (Ophir, Izrael), który wyposażony był w sensor termiczny 10 A-PPS. Pomiar w zmiennym polu magnetycznym, zależnie od badanego materiału, wykonywano dla częstotliwości 145-756 kHz oraz natężenia pola magnetycznego 14,4-33 kA/m. Biorąc pod uwagę różne rodzaje nanomateriałów, rozmiary cząstek i ich morfologię konieczna była optymalizacja powyższych parametrów ze względu na różnice właściwości magnetycznych. Natomiast w przypadku trybu pomiarowego indukcji ciepła za pomocą źródeł NIR pomiary wykonywano w zależności od mocy źródła dla modułów laserujących o długości fali 808 nm (300 – 2100 mW) oraz 1122 nm (300 – 900 mW). W trybie synergii obu czynników pomiar prowadzono dla optymalnych nastaw parametrów, które zależały od efektywności generowania ciepła na konkretnych próbkach nanomateriałów. Ze względu na brak modeli teoretycznych pozwalających na wyznaczenie wartości wydajności generowania ciepła w trybie jednoczesnego działania obu czynników indukujących efekt cieplny, za najbardziej adekwatny do oceny efektywności tego zjawiska przyjęto sposób wyznaczania oparty o współczynnik absorpcji właściwej (ang. *specific absorption rate*, SAR)<sup>187</sup>. W przypadku wyznaczania wartości SAR w zależności od postaci nanocząstek

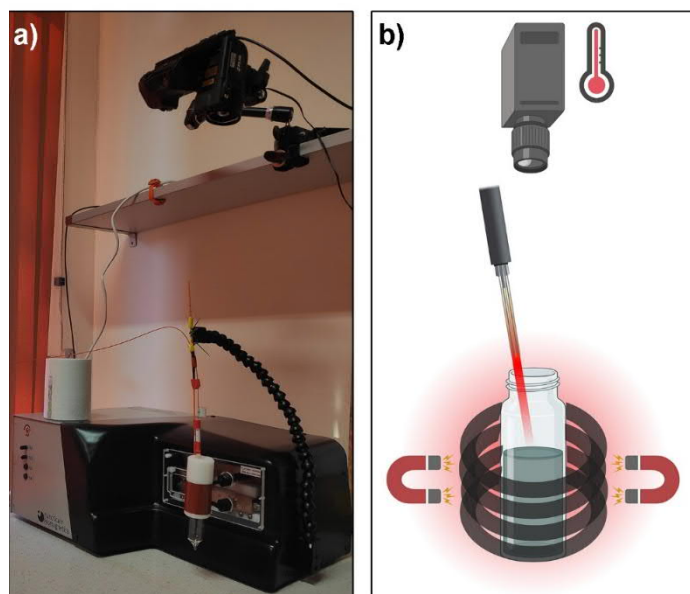
(proszek, kompozyt, zawiesina koloidalna) wykorzystuje się dwa równania. Dla materiałów proszkowych lub próbek litych SAR oblicza się korzystając z wyrażenia:

$$SAR = C \frac{dT}{dt}, \quad (9)$$

gdzie:  $C$  to ciepło właściwe materiału ( $J/g^{\circ}C$ ),  $dT/dt$  określa szybkość przyrostu temperatury na jednostkę czasu ( $^{\circ}C/s$ ), który wyznacza się dopasowując funkcję linową do początkowego przebiegu zależności temperatury od czasu. Najczęściej jest to pierwsze kilkanaście bądź kilkadziesiąt sekund trwania pomiaru. Takie podejście ma na celu minimalizację wymiany ciepła pomiędzy układem a otoczeniem. W przypadku zawiesin cząstek stosuje się równanie, w którym uwzględniana jest masa nanocząstek w koloidzie:

$$SAR = \frac{C m_{próbki}}{m_{NPs}} \frac{dT}{dt}, \quad (10)$$

gdzie  $C$  to ciepło właściwe próbki ( $J/g^{\circ}C$ ),  $m_{próbki}$  - masa roztworu koloidalnego (g),  $m_{NPs}$  - masa nanocząstek w próbce (g),  $dT/dt$  jest definiowane i wyznaczane w taki sam sposób jak opisano poprzednio. Najczęściej jako wartość ciepła właściwego przyjmuje się ciepło właściwe medium, czyli wody ( $4,185 J/g^{\circ}C$ ). Można wyznaczać średnią ważoną, ale złotym standardem w pomiarach jest użycie stężenia nanocząstek wynoszącym  $1 \text{ mg/ml}$  toteż wpływ na ciepło właściwe całej próbki mierzonego nanomateriału jest zanedbywalnie małe. Co ciekawe, w przypadku próbek kompozytowych ciepło właściwe we wzorze (8) należy wyznaczyć w pomiarze kalorymetrycznym (ang. *differential scanning calorimetry*, DSC) albo obliczyć jego średnią wartość<sup>188,189</sup>.



Rysunek 20. Stanowisko pomiarowe do badania konwersji zmiennego pola magnetycznego, światła z zakresu NIR oraz trybu synergii obu czynników zewnętrznych (a) oraz schemat celki pomiarowej układu (b).

## 9. Dyskusja wyników

---

Główne cele rozprawy doktorskiej ujęte w tematycznie powiązonym zbiorze publikacji skupiały się przede wszystkim na opracowaniu, optymalizowaniu metod syntezy nanoferrytów, ich heterostruktur o właściwościach magnetyczno-plazmonowych, magnetycznych materiałów wielowarstwowych typu rdzeń-otoczka (*core-shell*) oraz hybryd nieorganiczno-organicznych na bazie ferrytów pokrywanych warstwą polimeru syntetycznego (PMMA). Wykorzystane spektrum technik otrzymywania nanomateriałów różnej klasy miało na celu próbę swobodnego kształtowania ich właściwości fizykochemicznych poprzez kontrolę rozmiaru, morfologii, struktury oraz składu chemicznego produktów i w konsekwencji zbadania bezkontaktowej konwersji zmiennego pola magnetycznego oraz światła z zakresu bliskiej podczerwieni na energię cieplną w trybie synergii wraz z określeniem parametrów mających kluczowy wpływ na obserwowane zjawisko. Przeprowadzone badania były wieloaspektowe i obejmowały zarówno syntezy materiałów, funkcjonalizację powierzchni (stabilność koloidalna, biokompatybilność), badanie właściwości strukturalnych (XRD, FTIR-ATR, SAED), obrazowanie nanocząstek technikami mikroskopowymi (TEM, HRTEM, STEM-EDS) w celu określenia morfologii, rozmiarów i składu pierwiastkowego. Transmisyjna mikroskopia elektronowa odgrywała szczególną rolę w żmudnym procesie optymalizacji metod otrzymywania materiałów o kontrolowanej morfologii i umożliwiała konieczną modyfikację istotnych parametrów syntetycznych (zmiany stężenia substratów oraz substancji pomocniczych, rodzaju i ilości rozpuszczalnika, szybkości dozowania, czasu syntezy, temperatury). Wykonano szereg pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego oraz światła na ciepło dla wielu różnych trybów (osobno, synergia) w zależności od częstotliwości oraz natężenia pola magnetycznego czy też mocy źródła wiązek laserów. Różnice postaci badanych materiałów wymuszały każdorazowo potrzebę doboru optymalnych nastaw związanych z wykorzystywanym rodzajem stymulacji próbek. Mimo, że główny cel pracy skupiał się na badaniach materiałowych wykonano także szereg doświadczeń na układach biologicznych w celu zbadania interakcji nanomateriałów z wybranymi liniami komórkowymi (komórki normalne, patologiczne raka piersi o różnym fenotypie), które miały na celu określenie rzeczywistego potencjału aplikacyjnego proponowanych nanocząstek w lokalizowanej magnetofototerapii indukowanej bezkontaktowo.

**P1: Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology, *RSC Advances*, 2021, 11, 20708-20719 (IF<sub>4,036</sub>; MEiN<sub>100 pkt</sub>)**

W części teoretycznej autoreferatu bardzo wyraźnie podkreślono istotność wpływu rozmiaru cząstek, ich dystrybucji oraz morfologii na kształtowanie właściwości fizykochemicznych nanomateriałów, a w szczególności jak te parametry determinują właściwości magnetyczne ferrytów. Mają one bezpośredni wpływ na efektywność generowania ciepła w zmiennym polu magnetycznym. Główną motywacją pracy była próba rozwiązania problemu słabej stabilności termicznej eteru dibenzylowego (medium reakcyjne) stosowanego w metodzie *heat-up*. Niestety rozkład tego rozpuszczalnika na produkty uboczne podczas długiej ekspozycji na wysoką temperaturę ogranicza powtarzalność tej techniki w zakresie kształtowania morfologii ferrytów i zmienia warunki syntezy poprzez obniżenie temperatury co bezpośrednio wpływa na proces nukleacji i wzrostu cząstek<sup>78</sup>.

Badania we wspomnianej pracy dotyczą opracowania i optymalizacji metody dekompozycji termicznej z wykorzystaniem techniki gorącego nastrzyku (*hot-injection*), która pozwala na dość elastyczną kontrolę wspomnianych parametrów charakteryzujących nanocząstki. Otrzymywanie ferrytów z wymuszonym procesem kierunkowego wzrostu krystalitów jest oryginalnym opracowaniem własnym. Należy podkreślić, iż zaproponowana strategia syntezy nanoferrytów stanowi interesującą alternatywę dla standardowej techniki dekompozycji termicznej prowadzonej w wysokowrzących rozpuszczalnikach organicznych (tzw. *heat-up*)<sup>167</sup>

Wykazano, że dla procesu kształtowania morfologii nanocząstek magnetytu w syntezie *hot-injection* kluczowym jest, oprócz stężenia substratu (substratów), ilości kwasu oleinowego, dobranie odpowiedniego rozpuszczalnika pomocniczego (kosolwent - heksadekan) zmniejszającego aktywność substratu, co wpływa na rozmiar oraz wymuszenie odpowiedniego wzrostu nanocząstek, aż do uzyskania pożądanej morfologii (sześciiany, gwiazdy inne wielościany foremne). Pokazano, że ta strategia otrzymywania Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> może być z powodzeniem rozszerzona na inne związki z rodziny ferrytów. W porównaniu do techniki *heat-up* metoda gorącego nastrzyku składa się z mniejszej ilości etapów i nie wymaga tak dokładnej kontroli wzrostu temperatury w poszczególnych krokach. Wykazano, że proces wymuszenia kierunkowego wzrostu cząstek jest skomplikowany i bardzo silnie zależy od wielu parametrów (temperatura, stężenie substratu, dodatków, rozpuszczalnika pomocniczego). W przypadku użycia heksadekanu jako kosolwenta zamiast popularnie stosowanych dioli o długich łańcuchach alifatycznych (tetradekanadiol - TDD,



heksadekanadiol - HDD) i w obecności kwasu oleinowego charakter oddziaływań molekularnych pomiędzy rozpuszczalnikiem a substratem ulega zmianie ze względu na zwiększoną niepolarność mieszaniny reakcyjnej, która ogranicza konsumpcję monomeru. Obecność tego węglowodoru nasyconego istotnie zmienia aktywność monomeru zmniejszając jego potencjał chemiczny. Możliwość zmiany potencjału chemicznego monomeru wpływa bezpośrednio na wymuszenie kierunkowego wzrostu wzdłuż odpowiednich płaszczyzn krystalograficznych zgodnie z następującą zależnością  $\mu_{(100)} > \mu_{(110)} > \mu_{(111)}$ . Wykazano, również, że dodatek tego rozpuszczalnika pozwala na uzyskanie znacząco mniejszych rozmiarów cząstek (około 40-50 nm) niż bez jego obecności (70-80 nm) oraz w porównaniu do innych technik czas syntezy może być skrócony aż do 30 minut. Wyniki tej publikacji naukowej są jednym z najistotniejszych w kontekście pozyskania własnego *know-how* w zakresie możliwości kształtowania morfologii ferrytów i uitorowały drogę do badań związanych z określeniem jej wpływu (anizotropia kształtu) na efektywność generowania ciepła (**P2**). Publikacja stała się również bazą do otrzymywania heterostruktur o właściwościach wielofunkcyjnych (**P3 i P4**).

**P2. Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2022, 126, 8515 (IF<sub>3,466</sub>; MEiN<sub>140</sub> pkt)**

Celem omawianych badań było określenie wpływu anizotropii kształtu nanocząstek magnetytu (gwiazdy, sześciiany, wielościany foremne) na efektywność generowania ciepła pod wpływem bezkontaktowej stymulacji ferrytów zmiennym polem magnetycznym oraz promieniowaniem podczerwonym o długości fali 808 nm. Dodatkowo wykonano badania związane z określeniem charakteru oddziaływania nanomateriałów na wybranych liniach komórkowych *in vitro* (komórki nabłonkowe sutka HMEC, ludzkie komórki białaczki szpikowej THP-1, raka piersi MDA-MB-231) oraz potencjału aplikacyjnego ferrytów o morfologii zbliżonej do gwiazd w magnetofototerapii. Nanocząstki Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> o różnej morfologii otrzymano na podbudowie *know-how* pozyskanego w trakcie realizacji badań przedstawionych w pracy (**P1**) z wykorzystaniem techniki *hot-injection*. Ze względu na konieczność stabilizacji materiałów, ochrony układu biologicznego przed kontaktem z powierzchnią ferrytów (ryzyko zajścia reakcji Fentona), agregacją cząstek i ograniczeniem międzycząsteczkowych oddziaływań magnetycznych próbki zostały powierzchniowo sfunkcjonalizowane ligandem etydrynowym (kwas etydrynowy z grupy bisfosfonianów). Wybór kwasu etydrynowego do modyfikacji powierzchni magnetytu nie był przypadkowy.

Wynikał on ze szczegółowych badań, których wyniki zostały opublikowane w pracy naukowej stanowiącej element pozostałego dorobku<sup>183</sup>. We wspomnianej pozycji literaturowej zbadano efekt różnych ligandów z rodziny pochodnych kwasów organofosfonowych wykorzystanych do modyfikacji powierzchni na efektywność konwersji zmiennego pola magnetycznego i światła z zakresu NIR oraz kształtowanie innych istotnych właściwości. Wykonano szczegółowe badania biologicznych interakcji układów ferrytów z ligandami fosfonowymi na liniach komórkowych w ramach oceny ich biokompatybilności wraz z innymi ważnymi parametrami (aktywność metaboliczna, uszkodzenia DNA, indukcja stresu oksydacyjnego, apoptoza). Ze względu na brak cytotoksyczności ferrytów modyfikowanych kwasem etydrynowym i zdecydowaną poprawę efektywności generowania ciepła, do badań związanych z prezentowaną w tym punkcie pracą wybrano właśnie ten ligand.

Badania konwersji zmiennego pola magnetycznego i światła z zakresu NIR na ciepło wykazały, że w przypadku ferrytów o morfologii zbliżonej do gwiazd, a więc o największej anizotropii kształtu, jest ona najbardziej efektywna. Efekt ten jest najbardziej widoczny w przypadku stymulacji samym zmiennym polem magnetycznym, ponieważ anizotropia kształtu jest jednym z czynników decydujących o właściwościach magnetycznych, a więc wpływa na mechanizmy strat cieplnych w magnetykach. W przypadku natomiast światła z zakresu NIR ze względu na zbliżony rozmiar cząstek nie zauważono istotnych różnic, a osiągnięte temperatury maksymalne były w bardzo podobnym zakresie. Dla stymulacji promieniowaniem NIR uzyskano bardzo wysokie wartości SAR przekraczające 3000 Wg.

Pokazano, że synergia tych dwóch czynników zewnętrznych pozwala na osiągnięcie temperatury w zakresie ważnym biologicznie dla stężenia nanogwiazd wynoszącego 0,5 mg/ml. W dalszej części przeprowadzono testy zdolności do generowania ciepła w różnych mediach wykorzystywanych w trakcie hodowli komórek. Miało to na celu sprawdzenie czy dodatek mediów hodowlanych zawierających przeciw mikroelementy oraz molekuly bioaktywne nie spowoduje zmian w zachowaniu się ferrytów (szczególnie stabilności koloidalnej) w trakcie indukcji ciepła. Wybrano trzy media hodowlane: DMEM, DMEM wzbogacany 10% surowicą FBS oraz DMEM wzbogacany 10% surowicą FBS i 100 µmolami kwasu askorbinowego. Pomiary dla zmiennego pola magnetycznego i synergii zmiennego pola magnetycznego ze światłem NIR wykonano w funkcji stężenia koloidu. Zauważono, że w przypadku wszystkich mediów osiągnięta temperatura maksymalna jest niższa i za ten fakt odpowiedzialna jest zmiana cewki z CAL1 (izolowana do pomiarów *stricte* kalorymetrycznych) na cewkę S32 (dedykowana do badań na liniach komórkowych).

Parametry tej ostatniej cewki są odrobinę inne w zakresie osiągniętych częstotliwości i natężenia pola oraz nie jest ona tak dobrze izolowana termicznie. Nie zmienia to jednak faktu, iż biologicznie ważny zakres temperatury w tym układzie był generowany na wybranym nanomateriale już dla najniższego stężenia magnetytu, a temperatura maksymalna dostępna była po około 100 s od momentu rozpoczęcia stymulacji.

Ocenę skuteczności działania nanomateriałów w trybie synergii czynników zewnętrznych wykonano na dwóch liniach komórkowych HMEC (komórki normalne) oraz raka piersi MDA-MB-231. Zauważono, iż ze względu na znaczące różnice lepkości w komórkach w porównaniu do roztworów wodnych czy mediów hodowlanych oraz na możliwą immobilizację nanomateriałów w komórkach jeden z mechanizmów strat ciepłych wynikający z relaksacji zewnętrznej Browna angażującej rotację całych cząstek jest nieefektywny. Fakt ten spowodował konieczność zwiększenia stężenia nanomateriału do 2 mg/ml w celu kompensacji braku możliwości generowania ciepła na drodze relaksacji Browna.

Wykazano, że nanocząstki  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  w stężeniu 2 mg/ml o morfologii gwiazd efektywnie niszczą komórki nowotworowe. Zwrócono również uwagę na ważne zagadnienie, które związane jest z faktem, iż grupy badawcze zajmujące się problematyką hipertermii nie badają efektów biologicznych generowanych przez tak wysokie stężenia nanomateriałów. Nawet jeśli są one w pełni biokompatybilne to dla tak dużej ilości wprowadzanych cząstek mogą one powodować postępującą śmierć komórkową poprzez blokowanie transportu istotnych substancji dla podtrzymania ich życia. Niewątpliwie poddanie komórek działaniu obu czynników generujących efekt hipertermii lokalizowanej na nanocząstkach w sposób dramatyczny przyspiesza ten proces pozwalając na natychmiastowe niszczenie komórek neoplastycznych. W pracy podniesiono również kwestię związaną z tym, że szybkość wzrostu temperatury jest bardzo istotna dla zjawiska termoodporności komórek. W przypadku mało efektywnych nanocząstek termotolerancja komórek może znacząco obniżyć skuteczność tego rodzaju terapii. Wykazano, że efekt ten będzie zależał także od fenotypu linii komórkowych ze względu na znaczące różnice cech komórkowych. W zasadzie wykluczono możliwość podawania materiałów ferrytowych w postaci wlewów dożylnych ze względu na małe prawdopodobieństwo kumulacji tak wysokich stężeń w celowanych komórkach. Najprawdopodobniej najlepszym sposobem dostarczania nanomateriałów będzie bezpośrednia iniekcja w zmianę nowotworową lub w jej najbliższe otoczenie.

**P3: Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity, *RSC Advances*, 2022, 12, 27396 (IF<sub>4,036</sub>; MEiN<sub>100</sub> pkt)**

Pozyskaną wiedzę w zakresie syntez ferrytów o kontrolowanej morfologii postanowiono wykorzystać i poszerzyć o otrzymywanie heterostruktur Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Ag zbudowanych z magnetycznego rdzenia o regularnej budowie, cienkiej warstwy krzemionkowej oraz wytrąceń metalicznych pod postacią nanocząstek srebra. Takie podejście syntetyczne pozwala na uzyskiwanie materiałów, które mogą łączyć w sobie właściwości fizykochemiczne poszczególnych składników (podobnie jak w kompozytach). W tym konkretnym przypadku uzyskano nanomateriały wielofunkcyjne, które jednocześnie można wykorzystać do bezkontaktowej indukcji ciepła, jako kontrast w obrazowaniu MRI, dzięki efektowi wzmocnienia sygnału ramanowskiego jako sondę SERS (ang. *surface enhanced Raman spectroscopy*), działaniu przeciwbakteryjnemu, czy też po funkcjonalizacji powierzchni np. lekami przeciwwzapalnymi jako wielofunkcyjną platformę dostarczającą leki (ang. *drug delivery platform*). W przypadku tego ostatniego zastosowania można by wykorzystać efekt indukcji ciepła jako czynnik powodujący uwolnienie transportowanego środka terapeutycznego. W ramach preparatyki materiałów wykorzystano syntezę heterostruktur opartą o trzy główne etapy (I) otrzymanie magnetycznego rdzenia o morfologii sześciątów za pomocą techniki dekompozycji termicznej, (II) pokrycie magnetytu cienką warstwą amorficznej krzemionki zawierającej aminowe grupy funkcyjne (mieszanina TEOS/APTES) oraz (III) redukcji kationów srebra za pomocą silnego reduktora. Sama metodyka wytwarzania została zoptymalizowana, cechowała się bardzo dobrą powtarzalnością, może być rozszerzona na inne wytrącenia metaliczne (**P4**) oraz jest punktem wyjścia do przygotowywania bardziej skomplikowanych materiałów. W zakresie realizacji celu pracy doktorskiej szczegółowo zbadano efektywność bezkontaktowej konwersji zmiennego pola magnetycznego oraz światła (808 nm) uzyskując bardzo wysokie wartości SAR > 1000 Wg i wskazując na dominujący charakter mechanizmu związanego z generowaniem ciepła pod wpływem wiązki lasera. Wykazano, że badane heterostruktury mogą być z powodzeniem wykorzystane jako sondy SERS do analizy ilościowej analitów oraz posiadają aktywność antybakteryjną szczególnie w przypadku pałeczki ropy błękitnej, która jest jedną z groźniejszych bakterii (szczególnie w szpitalach) wywołujących groźne dla zdrowia zakażenia. Wszystkie wyżej wymienione cechy powodują, że Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag stanowią interesującą propozycję jako wielofunkcyjne platformy do aplikacji biomedycznych.

**P4. Heat generation on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within I<sup>st</sup> biological optical window, *Materials Today Communications*, 2023, 01, 105513 (IF<sub>3,662</sub>; MEiN<sub>70</sub> pkt)**

Praca **P4** była naturalnym poszerzeniem tematyki dotyczącej otrzymywania wielofunkcyjnych heterostruktur gdzie pokazano możliwość zastosowania innych cząstek plazmonowych (Au). Zastosowano dokładnie tą samą metodologię wytwarzania materiałów jak w pracy **P3** zastępując wytrącenia Ag nanocząstkami złota. Zbadane zostały zdolności materiału do generowania energii cieplnej pod wpływem bezkontaktowej stymulacji czynnikami zewnętrznymi. Heterostruktury wykazywały bardzo dobrą odpowiedź na czynniki stymulujące zarówno w trybie synergii, jak również osobno. Wskazano na podobieństwa w zachowaniu materiałów w przypadku stymulacji promieniowaniem w zakresie NIR oraz zaobserwowano, że wzrost stężenia materiałów w przypadku zmiennego pola magnetycznego pozwala na osiągnięcie wyższych temperatur. Natomiast tego samego efektu nie obserwuje się dla NIR ze względu na fakt, iż stężenie nanocząstek jest już na tyle wysokie, że właściwie całość światła absorbowana jest na powierzchni koloidów i nie ma możliwości jego głębszej penetracji. W pracy tej zbadano również interakcję heterostruktur z modelowymi liniami komórkowymi wskazując na stężeniowo zależny efekt cytotoksyczny. Należy zwrócić uwagę, że materiały te nie były wcześniej modyfikowane powierzchniowo próbując uzyskać informację czy można je bezpiecznie stosować pomijając ten etap.

**P5: Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> optical biological window of seed-mediated multi-shell nanoferrites, *Dalton Transactions*, 2023, 52, 2580 (IF<sub>4,569</sub>; MEiN<sub>140</sub> pkt)**

Wypracowane doświadczenie w zakresie syntez materiałów ferrytowych o kontrolowanej morfologii (**P1**) oraz heterostruktur magnetyczno-plazmonowych (**P3** i **P4**) stanowiło pewną zachętę do podjęcia badań dotyczących możliwości wytwarzania wielowarstwowych nanocząstek ferrytowych o strukturze typu rdzeń-otoczek z wykorzystaniem bardzo ciekawej metodyki polegającej na wzroście kolejnych warstw, tego samego magnetyku (homostruktury warstwowe), bądź innego (heterostruktury warstwowe) na wcześniej przygotowanych rdzeniach (*seed-mediated growth*). Tego rodzaju sposób uzyskiwania nanomateriałów umożliwia doskonałą kontrolę nad rozmiarem cząstek, który można kształtować w bardzo szerokim zakresie bez konieczności radykalnej ingerencji w warunki prowadzenia syntezy. Właściwie, podstawowe parametry otrzymywania nie odbiegają znacznie od procesu wytwarzania rdzeni, na których prowadzi się dalszy wzrost cząstek. Przedmiotem badań

w publikacji **P5** były materiały ferrytowe typu rdzeń-otoczka takie jak  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{MnFe}_2\text{O}_4$ , oraz  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{MnFe}_2\text{O}_4@\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ . Sam proces wzrostu na rdzeniach, w zależności od składu nanocząstek, prowadzono kilkakrotnie wyraźnie wskazując na możliwość elastycznej kontroli rozmiaru i podkreślając fakt, że można je powtarzać aż do otrzymania pożądanej wielkości cząstek. Podobnie jest w przypadku wytwarzania heterostruktur wielowarstwowych zbudowanych z różnych ferrytów, co otwiera szeroki wachlarz możliwości wpływu na końcowe właściwości produktów, na przykład poprzez kombinację twardy@miękki@twardy magnetyk. Istotnym wnioskiem związanym z kontrolowaniem wzrostu kolejnych warstw ferrytów jest konieczność optymalizacji stężenia substratów ze względu na zmniejszającą się powierzchnię w wyniku zwiększania rozmiaru cząstek. Wynika to z dość oczywistego faktu związanego z tym, że w trakcie prowadzenia reakcji chemicznej kolejna porcja substratu musi zostać zaabsorbowana na powierzchni wcześniej uformowanych cząstek (i przereagować). Jeśli stężenie substratu będzie zbyt wysokie to jego nadmiar nie będzie miał możliwości chemisorpcji i przereagowania na powierzchni materiału. Konsekwencją będzie powstawanie nowych cząstek o rozmiarze tożsamym z rdzeniem. Stąd też wspomniana konieczność zmniejszania stężenia w kolejnych powtórzeniach. W pracy poruszono również problematykę konwersji światła na ciepło z zakresu NIR dla dwóch długości fali 808 nm oraz 1122 nm na otrzymanych strukturach *core-shell*. Wykazano, że materiały otrzymane tą techniką cechują się wysoką efektywnością konwersji obu źródeł światła i po ich odpowiednim przygotowaniu mogłyby być wykorzystane w fototermii. Inną możliwością jest zastosowanie tych struktur jako nowoczesnych materiałów do aplikacji związanych z transformowaniem energii i jej magazynowaniem (ang. *energy harvesting materials*) lub też ich dalszej obróbce prowadzącej do wytwarzania np. kompozytów nieorganiczno-organicznych podobnych do tych, które omówiono w pracy **P6**.

**P6. Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles, *Journal of Alloys and Compounds*, 2022, 898, 162840 (IF<sub>6,371</sub>; MEiN<sub>100</sub> pkt)**

Ostatnią pracą zamykającą cykl badań przedstawionych w publikacjach będących bezpośrednim efektem realizacji pracy doktorskiej, jest artykuł dotyczący aspektów związanych z syntezą materiałów hybrydowych nieorganiczno-organicznych zawierających rdzeń wykonany z ferrytu kobaltowo-manganowego (rozmiar cząstek 8 - 9 nm), który następnie wykorzystując reakcję polimeryzacji emulsyjnej *in-situ* został pokryty warstwą polimeru PMMA. Celem pracy było zbadanie efektywności generowania ciepła pod wpływem

bezkontaktowej stymulacji hybrydy za pomocą zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego z zakresu NIR, dwie długości fali 808 i 1122 nm. Należy wspomnieć, że wszystkie pomiary wykonano na materiale w postaci proszkowej, a nie zawiesiny koloidalnej ze względu na stosunkowo duży rozmiar cząstek hybryd dwuskładnikowych (400-500 nm). W przypadku motywacji podjęcia się wyzwania uzyskania kolejnej klasy materiałów kompozytowych, kierowano się przede wszystkim pobudkami zarówno czysto naukowymi związanymi z określeniem właściwości materiałowych otrzymanych hybryd, jak również aspektami praktycznymi możliwości zastosowań (składnik cementów kostnych - medycyna, ochrona układów elektronicznych przed zakłóceniami indukowanymi przez pole magnetyczne - elektronika w szczególności materiały EMI filtrujące pole magnetyczne). Sam wybór spinelu o składzie  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  wynikał z kilku istotnych faktów. (I) opanowano stymulowaną mikrofalami technikę wytwarzania ferrytów, która pozwala na otrzymanie bardzo małych cząstek (5-10 nm) i przygotowano całą ich serię o bardzo zróżnicowanym składzie pierwiastkowym<sup>177</sup>. (II) z przeprowadzonych wcześniej badań dotyczących spineli  $\text{Co}_{1-x}\text{Mn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ , a w szczególności tych związanych z charakterystyką właściwości magnetycznych i biologicznych wynikało, iż  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  jest związkiem, który dla tego składu pierwiastkowego jest najbardziej biokompatybilny przy zachowaniu wysokiego nasycenia magnetyzacji i jednocześnie cząstek będących w stanie superparamagnetycznym<sup>180,182</sup>. Otrzymane hybrydy dwuskładnikowe scharakteryzowano pod kątem efektywności generowania ciepła z wykorzystaniem wcześniej wspomnianych czynników zewnętrznych porównując je z materiałem rdzenia. Zaobserwowano, że materiał rdzenia w postaci czystego proszku cechuje bardzo szybka odpowiedź na działanie obu stymulantów, a uzyskiwane maksymalne temperatury przy względnie niskich ich parametrach znacząco przekraczają temperaturę 100°C (dla samego zmiennego pola magnetycznego  $T_{max}$  108°C, dla drugiego czynnika 165°C i około 180°C zależnie od długości fali). W przypadku hybryd  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4@PMMA$ , dla których rdzeń magnetyczny stanowił 21% całkowitej masy maksymalna rejestrowana temperatura w ramach dostępnych nastaw urządzeń wynosiła dla zmiennego pola magnetycznego około 63°C, przy ekspozycji na światło z zakresu NIR niezależnie od długości fali była podobna i wynosiła około 85°C. W przypadku trybu synergii dla hybryd zaobserwowano znaczący wzrost temperatury maksymalnej (około 102°C). Dla materiałów hybrydowych wyznaczono wartość SAR, która w trybie oddziaływania dwóch czynników wynosiła 30 W/g. W przypadku suchych proszków oznacza to, że konwersja jest bardzo efektywna dla tej klasy materiałów. Należy również zwrócić uwagę, że do obliczenia SAR dla materiałów, które nie są zawiesinami koloidalnymi wykorzystuje się

prostszy wzór uwzględniający ciepło właściwe próbki (znane, bądź zmierzone techniką DSC) i szybkość wzrostu temperatury z dopasowania przebiegu krzywej zmiany temperatury w zależności od czasu. Stąd też, dla próbek koloidów SAR często jest bardzo dużą liczbą, ponieważ w swoim wzorze uwzględnia ilość materiału, a ciepło właściwe wody jest najczęściej kilkukrotnie wyższe od badanego materiału.

## **PODSUMOWANIE**

Otrzymano szereg materiałów ferrytowych o kontrolowanym rozmiarze cząstek, dystrybucji, morfologii (sfery, sześciiany, wielościiany foremne, gwiazdy), o zmiennym składzie chemicznym oraz pod postacią homo- i heterostruktur wielowarstwowych implementujących zarówno różne nanoferryty, wytrącenia metaliczne pozwalające na uzyskanie nanoplatform o właściwościach wielofunkcyjnych (efekt SERS, aktywność przeciwbakteryjna) oraz hybryd nieorganiczno-organicznych (ferryty@PMMA). Istotnym wynikiem realizacji pracy doktorskiej jest opracowanie wraz z optymalizacją technik wytwarzania nanomateriałów ferrytowych takich jak:

(I) metoda gorącego nastrzyku z kosolwentem w celu wymuszenia kierunkowego wzrostu cząstek. Technika ta otworzyła możliwość kontroli morfologii cząstek (sfery, sześciiany, wielościiany foremne, gwiazdy).

(II) Metodologia wytwarzania nanomateriałów wykorzystująca dalszy ich wzrost na wcześniej przygotowanych rdzeniach umożliwiającą otrzymanie homo- i heterostruktur wielowarstwowych. W przypadku tej ostatniej wykazano konieczność optymalizacji ilości substratu, która w momencie przekroczenia krytycznego rozmiaru cząstek wspomaga wymuszenie kierunkowego wzrostu krystalitów. Umożliwia precyzyjną kontrolę rozmiaru cząstek, przy zachowaniu ich wąskiej dystrybucji bez potrzeby zmiany kluczowych parametrów prowadzenia procesu w fazie ciekłej.

(III) Kilkuetapowa metodologia syntezy heterostruktur złożonych z ferrytów oraz wytrąceń metalicznych o właściwościach plazmonowych (dodatkowo opanowano metodę preparatyki cząstek plazmonowych), która okazała się bardzo wydajna i stosunkowo prosta do przeprowadzenia.

W toku badań koniecznym było blokowanie powierzchni nanocząstek w zawiesinach koloidalnych ze względu na możliwość wystąpienia reakcji Fentona. W układach biologicznych prowadzi ona do indukcji śmierci komórkowej wskutek generowania aktywnych form tlenu, należało również uważać na zatrucie żelazem (ferroptoza). Funkcjonalizacja powierzchni jest wielowymiarowa i oprócz zwiększenia kompatybilności jej celem było



uzyskanie stabilnych zawiesin koloidalnych nanocząstek oraz ograniczenie magnetycznych oddziaływań międzycząsteczkowych, które mogłyby przyczyniać się do znaczącego obniżenia zdolności konwersji AMF i światła lasera na ciepło. Do modyfikacji powierzchni wybrano kwas etydrynowy (bisfosfonian). Wykazano, że ta pochodna idealnie nadaje się do zwiększenia biokompatybilności ferrytów i podnoszenia efektywności generowania ciepła.

W przypadku badań poświęconych bezpośrednio efektywności generowania ciepła pod wpływem bezkontaktowej stymulacji AMF i światła lasera, a więc czynnikiem, które powodują powstawanie strat cieplnych w ferrytach (indukcja ciepła) na drodze zupełnie odmiennych mechanizmów fizycznych, pokazano, iż proces ten w trybie synergii jest bardzo wydajny, a wartości SAR mogą przekraczać 3000 W/g dla układów koloidalnych. Wykazano, że kontrola morfologii, która związana jest z anizotropią kształtu jest bardzo ważna szczególnie w kontekście stymulacji AMF. Cząstki o największej anizotropii (gwiazdy) charakteryzują się najbardziej efektywną odpowiedzią na ten czynnik stymulujący. W przypadku indukcji ciepła z wykorzystaniem różnych morfologii cząstek o porównywalnych rozmiarach efekt ten nie jest aż tak silny ze względu na niewielkie różnice w rozpraszaniu światła. W przypadku homo i heterostruktur wielowarstwowych, heterostruktur z wytrąceniami plazmonowymi czy też ferrytów o zmiennym składzie chemicznym pokrywanych PMMA efektywność konwersji zarówno AMF jak i światła jest zdecydowanie wyższa niż w przypadku działania tych czynników osobno.

W ramach otrzymanych materiałów wybrano w konsekwencji te o najwyższej wydajności SAR (materiały o kontrolowanej morfologii – gwiazdy oraz heterostruktury  $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$ ) i wykonano na nich testy związane z badaniem efektów interakcji w układach biologicznych (komórki normalne, linie komórek raka piersi) i skuteczności ich zwalczania. W toku prac badawczych wysunięto ważny wniosek o absolutnej konieczności przeprowadzenia badań interakcji materiałów na liniach komórkowych z wykorzystaniem ich docelowych stężeń, które w warunkach zbliżonych do aplikacji w hipertermii lokalizowanej na nanocząstkach magnetycznych i innych znacząco przekraczają 2 mg/ml. Należy podkreślić, że zwyczajowo testy określające biokompatybilność potencjalnie ciekawych układów do tych zastosowań ograniczają się do stężenia cząstek rzędu 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , a ich wyniki nie są tożsame z efektami indukowanymi przez wyższe stężenia. Z badań interakcji z materiałem biologicznym zarówno prowadzonych na komórkach zdrowych, jak i różnych liniach neoplastycznych komórek raka piersi wynika, że do stężeń około 2 mg/ml nie wykrywa się znaczących negatywnych skutków, natomiast powyżej tego stężenia może występować zjawisko nekrozy komórek zarówno zdrowych jak i tych patogennych. Wniosek ten w zasadzie ogranicza możliwość wykorzystania

materiałów na bazie ferrytów podawanych w postaci wlewów dożylnych i narzuca konieczność bezpośredniej iniekcji tego materiału bezpośrednio w obszar zmiany nowotworowej. Ciekawą obserwacją była również ta, iż hipertermia indukowana za pomocą AMF i jednoczesnego działania światła z zakresu I i II optycznej bramki biologicznej prowadzi do modulacji odpowiedzi na stres cieplny komórek, który jest zależny od ich geno- i fenotypu. Oznacza to, że w kontekście efektu cieplnego generowanego na nanocząstkach różnego rodzaju, również i ferrytach, wydajność czy też zdolność do generowania temperatury istotnej z punktu widzenia biologii komórki będzie uzależniona od rodzaju komórek. Dodatkowo należy mocno podkreślić fakt, że istnieje duże ryzyko immobilizacji nanomateriałów magnetycznych wewnątrz komórek, co może powodować drastyczne ograniczenie efektu cieplnego poprzez minimalizację relaksacji Browna, która jest jednym z istotnych mechanizmów generujących straty ciepła w magnetykach. Oprócz tego niepożądanego zjawiska, wzrost lepkości wewnątrz komórki w stosunku do otoczenia zewnętrznego może wpływać negatywnie na końcowy efekt temperaturowy. Zatem w hipertermii indukowanej tylko za pomocą zmiennego pola magnetycznego konieczna jest kompensacja tych efektów, której konsekwencją jest drastyczne zwiększenie stężenia nanomateriału. Stąd też, wykorzystanie dodatkowego czynnika zewnętrznego wymuszającego selektywne nagrzewanie się nanomateriału może wyjść naprzeciw oczekiwaniom i ograniczyć stosowane wysokie stężenia nanocząstek w hipertermii lokalizowanej.

## 10. Wnioski końcowe

---

Do najważniejszych osiągnięć naukowych uzyskanych w trakcie realizacji pracy doktorskiej należą:

- (1) opracowanie oraz optymalizacja metody syntezy ferrytów techniką szybkiego nastrzyku (*rapid hot-injection*) z wykorzystaniem rozpuszczalnika pomocniczego (kosolwent) obniżającego aktywność chemiczną substratu/ów oraz substancji pomocniczych wymuszających kierunkowy wzrost cząstek (sześciiany, wielościany foremne oraz gwiazdy).
- (2) Opracowanie oraz optymalizacja syntezy nanomateriałów ferrytowych o strukturze rdzeń-otoczka (*core-shell*) z wykorzystaniem techniki wzrostu na rdzeniach (*seed-mediated growth*), dzięki której otrzymano homo- i heterostrukтуры wielowarstwowe.
- (3) Opracowanie wydajnej metody syntezy heterostruktur w oparciu o materiały z rodziny ferrytów i wytrąceń metalicznych (Ag, Au), która umożliwiła uzyskanie nanoplatform o właściwościach wielofunkcyjnych (bezkontaktowa indukcja ciepła, właściwości antybakteryjne, efekt SERS).
- (4) Otrzymanie hybryd na bazie ferrytów wykorzystujących polimer syntetyczny PMMA jako potencjalnych składników cementów kostnych oraz materiałów filtrujących pole magnetyczne (*EMI materials*).
- (5) Wykazanie wysokiej wydajności równoczesnej, bezkontaktowej konwersji zmiennego pola magnetycznego oraz światła za zakresu I i II optycznej bramki biologicznej różnych materiałów ferrytowych, ich heterostruktur oraz hybryd na ciepło.
- (6) Zaobserwowano, że anizotropia kształtu nanocząstek silnie wpływa na indukcję ciepła szczególnie gdy czynnikiem bezkontaktowym jest zmienne pole magnetyczne. Najbardziej efektywne były cząstki o morfologii gwiazd (największa anizotropia). Generowanie ciepła z użyciem światła lasera, dla obiektów o zbliżonym rozmiarze (porównywalne rozproszenie), nie jest zależne w tak dużym stopniu od kształtu cząstek jak w przypadku AMF.
- (7) Materiały ferrytowe wykazują bardzo wysoką wydajność konwersji AMF i światła w obu zakresach spektralnych (w trybie synergii). Parametr SAR powyżej 1000 W/g. Dla najlepszych materiałów SAR przekraczał 3000 W/g i zależał od gęstości optycznej źródła światła.
- (8) Wykazanie silnych interakcji materiałów ferrytowych z wybranymi liniami komórkowymi raka piersi ze wskazaniem konieczności funkcjonalizacji powierzchni, która jest wielowymiarowa i obejmuje zarówno zwiększenie biokompatybilności jak również wpływa na efektywność konwersji w szczególności AMF na ciepło.

(9) Funkcjonalizacja powierzchni kwasem etydrynowym wpływa na biokompatybilność ferrytów oraz na bezkontaktowe generowanie ciepła poprzez minimalizację aglomeracji cząstek i oddziaływań międzycząsteczkowych.

(10) Absolutną koniecznością jest badanie interakcji materiałów z modelami biologicznym z wykorzystaniem ich docelowych stężeń. Nanomateriały ferrytowe pomimo blokowania powierzchni ligandami organicznymi zwiększającymi ich biokompatybilność mogą powodować indukcję nekrozy dla stężeń powyżej 2 mg/ml w komórkach normalnych. Najczęściej badania interakcji komórek z nanomateriałami przeznaczonymi do hipertermii lokalizowanej kończą się na stężeniach rzędu 100 µg/ml dla których nie widać działań niepożądanych.

(11) Hipertermia indukowana za pomocą zmiennego pola magnetycznego oraz jednoczesnego działania światła z zakresu I i II optycznej bramki biologicznej prowadzi do modulacji odpowiedzi na stres cieplny komórek, który zależy od ich geno- i fenotypu.

(12) Hipertermia indukowana w trybie synergii dwóch znacząco różnych czynników generujących ciepło na nanomateriałach ferrytowych jest znacząco bardziej wydajna niż w trybie AMF i może pozwolić na ograniczenie stężeń stosowanych nanomateriałów. Należy zwrócić uwagę, że końcowy efekt będzie zależny od rodzaju komórek.

## **11. Kopie prac stanowiących rozprawę doktorską**

---




 Cite this: *RSC Adv.*, 2021, **11**, 20708

# Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology

 Magdalena Kulpa-Greszta,<sup>ID</sup>\*<sup>ab</sup> Anna Tomaszewska,<sup>ID</sup><sup>b</sup> Andrzej Dziezic<sup>ID</sup><sup>c</sup> and Robert Pązik<sup>ID</sup><sup>b</sup>

The rapid hot-injection (HI) technique was employed to synthesize magnetic nanoparticles with well-defined morphology (octahedrons, cubes, and star-like). It was shown that the proposed synthetic approach could be an alternative for the heat-up and flow hot-injection routes. Instant injection of the precursor to the hot reaction mixture (solvent(s) and additives) at high temperatures promotes fast nucleation and particle directional growth towards specific morphologies. We state that the use of saturated hydrocarbon namely hexadecane (sHD) as a new co-solvent affects the activity coefficient of monomers, forces shape-controllable growth, and allows downsizing of particles. We have shown that the rapid hot-injection route can be extended for other ferrites as well (ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, and MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) which has not been done previously through the HI process before.

 Received 16th April 2021  
 Accepted 20th May 2021

DOI: 10.1039/d1ra02977k

[rsc.li/rsc-advances](http://rsc.li/rsc-advances)

## 1. Introduction

The huge interest of many research groups in the development of magnetic iron oxide nanoparticles (MNPs) is a direct consequence of their exceptional, strongly size and morphology dependent magnetic properties as well as acceptable biocompatibility and sufficient biodistribution.<sup>1–3</sup> Hence MNPs can be exploited in a variety of biomedical applications both at diagnostic and therapy levels such as in magnetic resonance imaging (MRI),<sup>4,5</sup> localized drug delivery,<sup>6–8</sup> tissue regeneration<sup>9</sup> or hyperthermia.<sup>10,11</sup> Several interesting studies devoted to the synthetic issues of MNPs were already published. The authors emphasize that it is of absolute necessity to control the MNP shape (uniformity and preferably cubic particles), size (optimal range for magnetism and biological applications), distribution (predictable properties), particle state in a colloidal suspension (agglomeration/aggregation as a limiting factor for the magnetic interparticle interactions, biodistribution), and chemical composition (magnetic properties and biocompatibility). Moreover, a conscious decision regarding the choice of protecting/stabilizing/targeting/conjugating organic molecules has to be taken.<sup>1,12–14</sup> Therefore, it is still a real challenge to develop MNPs precisely tailored for biological systems since multiple parameters can critically affect both the physical and biological properties of MNPs. One can easily find a plethora of scientific articles dedicated to synthetic approaches toward

MNPs starting from simple and easy techniques like coprecipitation,<sup>15</sup> sol-gel,<sup>16</sup> microemulsion,<sup>17</sup> hydrothermal.<sup>18</sup> Special attention should be paid to the thermal decomposition method carried out in the high boiling point organic media.<sup>19</sup> Mainly, route based on thermal decomposition of metalorganic precursors in the organic phase can be subdivided into two main groups: so-called heat-up<sup>20–26</sup> and hot-injection<sup>27–29</sup> synthesis. The heat-up technique involves continuous heating of the reaction mixture (one-pot, precursors, solvents and additives) until the desired temperature is reached. Afterward, decomposition of the precursor occurs leading to the nucleation and growth of particles (continuous processes).<sup>19</sup> Whereas the hot-injection relies on the immediate injection of the precursor solution (cold) directly to the heated solvent with additives (hot). Rapid precursor decomposition results in the burst nucleation and further particle growth. The latter technique was developed for the preparation of quantum dots (QDs).<sup>30</sup>

A lot of effort has been made to improve the heat-up approach toward shape and size controlled MNPs by using as a precursor iron acetylacetonate and organic solvents. Due to the use of liquids with high boiling temperatures it was mandatory to find optimal reaction parameters and an appropriate solvent as the reaction medium. It was shown that the solvent type, *i.e.* benzyl ether,<sup>23,31</sup> phenyl ether,<sup>20</sup> dioctyl ether, 1-octadecene,<sup>32</sup> eicosene, hexadecanol and docosene<sup>33</sup> can greatly affect the particle morphology and size.<sup>34</sup> However, another important issue was found in the thermal stability of organic liquids at high temperature or directly at the boiling point. The most commonly used are ethers especially benzyl ether (BE) which is prone to degradation into benzaldehyde (BA) and benzyl benzoate (BB). Unfortunately, even the stock solution of

\*Faculty of Chemistry, Rzeszow University of Technology, Aleja Powstańców Warszawy 12, 35-959 Rzeszow, Poland. E-mail: mkulpa@ur.edu.pl

<sup>b</sup>Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

<sup>c</sup>Department of Spectroscopy and Materials, Institute of Physics, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland



BE can contain both compounds. That leads to temperature instability resulting in a lack of control over process parameters and difficulties with product reproducibility.<sup>9,35</sup> One of the possible ways to avoid that is to prepare a solvent mixture with the addition of highly non-polar co-solvents like octadecene, tetradecene. On the other hand, complete exchange of the BE is not possible since iron acetylacetonate has strictly limited solubility in non-polar liquids.<sup>35</sup>

Following the Wulff construction, first proposed by Gibbs and re-explored by Wulff, during the growth process nanoparticle will tend to assume an equilibrium final shape with minimized surface free energy.<sup>36</sup> Thus, for isotropic materials polyhedral or spherical morphologies are generally favoured whereas for anisotropic compounds the Wulff approach has to be applied to determine the preferred particle shape. For the engineering of nanoparticles with defined properties, it is absolutely of high importance to consciously control the particle growth towards desired shapes. Additives/capping agents are a group of chemicals that have different binding ability to nanomaterials surface. The ligand can be specific or non-specific towards certain crystallographic facets/directions. Capping agent efficiently reduces surface energy and blocks the transport of monomers to the particle surface (restricted diffusion). If adsorption occurs at a specific facet, growth in this direction is inhibited and shape can be controlled. In the case of ferrites, three main morphologies are distinguished: cubic enclosed by {100}, octahedrons through {111}, and rhombic dodecahedrons by {110},<sup>37</sup> respectively. As a matter of fact, to tailor MNPs morphology oleic acid (OA) and oleylamine (OAm) are broadly used.<sup>1</sup> The role of an OA is extremely crucial since it takes part in the reaction of intermediate iron oleate complex formation and helps in partial reduction of the  $\text{Fe}^{3+}$  into  $\text{Fe}^{2+}$ .<sup>22</sup> Moreover, the OA adsorbs in a specific way on a {100} crystallographic facets favoring growth towards cubic particles. OA is also regarded as a protective ligand against aggregation through the formation of the hydrophobic layer around MNPs.<sup>34,35</sup> Change in the additives chemical character and their ratio will affect nanoparticle shape greatly. Co-addition of the OAm, less polar in contrast to the OA, allows downsizing and facilitates the reduction of the iron in a greater manner than OA.<sup>34</sup> However, one has to take into account that due to the non-specific binding of OAm control over a particle morphology might be difficult. It means that the concentration of both additives has to be always optimized.<sup>34,38</sup> Usually, a typical heat-up procedure involves at least two main steps with different heating rates. The first one up to 200 °C to induce the formation of the iron oleate monomers (source of nuclei) from iron acetylacetonate precursor. The second step at/or near the boiling point of the solvent to force decomposition and tune the particle growth process.<sup>35</sup> Through a change of the heating rate, it is possible to control the rapidity of monomer formation (exponential increase with temperature) and growth of nanoparticles to some extent.<sup>1,25,39</sup>

Surprisingly, in the context of the MNPs synthesis and morphology control *via* hot-injection route not much has been done and scarce information can be found in the specialised literature.<sup>29,40–44</sup> The mechanism of the hot-injection was

described in detail by Kwon and Hyeon.<sup>44</sup> They reported that the role of the injection step is to deliver a very high level of supersaturation at the beginning of the reaction. After that formation of nanostructures occurs instantly leading to uniform particle growth. The way how the precursor is added to the reaction mixture and how nucleation occurs makes a huge difference between the heat-up method where nucleation and growth is a continuous process. However, the main drawback of the hot-injection emphasized by Wu *et al.* relies on mass-scaling and difficulties with control of temperature gradients due to the introduction of cold precursor to hot mixture.<sup>19</sup>

What is of great meaning for our paper is that Ho *et al.*<sup>29</sup> have shown that by using flow hot-injection it is possible to control the shape of particles. In their approach, iron acetylacetonate precursor was added through the constant flow-injection (2.5–20 ml h<sup>-1</sup>). Moreover, the essence of the hot-injection technique in achieving a rapid supersaturation state has been somewhat lost – still rapid nucleation occurs but in a quasi-continuous way since even portions of a precursor are delivered over time. Thus, the mechanism of the particle formation, in this case, reminds greatly a seed-mediated process since the nuclei are formed continuously and growth occurs directly on the particle seeds.<sup>21</sup> Standard chemicals were used *i.e.* BE as a solvent, OA, and OAm as additives. While 1,2-tetradecanediol was added to increase monomer activity through change the polar character of the reaction mixture. What is also important to note, is that the cubic shape of MNPs was obtained after more than 1 hour of synthesis duration. Thus, the mechanism of the particle shape formation must differ significantly. Taking into account that the BE can undergo detrimental changes over time at boiling point temperature it is highly likely that some reproducibility issues might occur upon protocol repetition.<sup>35</sup> Nevertheless, the presented results were promising and provided additional possibility in an attempt to control the MNPs particle morphology by the slow, flow-injection route.

The ultimate goal of our work was to redefine the rapid hot-injection approach towards shape-defined MNPs *i.e.*  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . We state a hypothesis that the particle size and shape can be controlled by the addition of a strongly non-polar, monomer limiting activity saturated hydrocarbon (hexadecane sHD) as a co-solvent. The effect of the reaction temperature as well as the dependence of the concentration of precursor (iron acetylacetonate), additives (OA), and sHD was studied in detail. Our synthetic strategy has been further broadened for other ferrite examples ( $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ ).

## 2. Experimental section

### 2.1 Synthesis of iron oxide nanoparticles

The synthetic part has been divided into three main strategies: (I) standard heat-up approach inspired by Kim *et al.*<sup>23</sup> in which product was used as a reference sample and to test the effect of reaction temperature, (II) rapid hot-injection process and its optimization as well as (III) flow hot-injection technique to contradict some drawbacks and show further possibilities.

(I) **Heat-up approach towards MNPs.** Kim *et al.*<sup>23</sup> procedure was adopted by us to prepare reference materials and to study





the temperature effect on particle morphology. The main reason for choosing this protocol was its simplicity: one heating step with a fast temperature ramp ( $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) and high reproducibility of the products. As a precursor 2 mmol of iron(III) acetylacetonate ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ; 99.7%, Thermo Fischer Scientific, Germany) were used, 1.5 ml of oleic acid (4.3 mmol, 90%, Sigma Aldrich, Poland) as a key and highly specific additive as well as 10 ml of dibenzyl ether (98%, Sigma Aldrich, Poland) as a solvent. All necessary manipulations with chemicals were performed in an acrylic glove box (GS Glove Box Systemtechnik GMBH P10R250T2) equipped with an automatic gas pressure control using a nitrogen gas inert atmosphere ( $\text{N}_2$ , 99.999%, Linde, Poland) for protection. The iron precursor together with oleic acid were dissolved in BE using a three-neck glass flask equipped with a reflux column, gas line (a constant flow of  $\text{N}_2$ ), mechanical stirrer, and Pt-100 sensor connected to the temperature controller (LTR 2500, Juchheim, Germany). The reaction mixture was degassed for one hour at room temperature under a constant flow of inert gas. Afterward, the solution was heated to the desired temperature ( $270\text{--}290\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) and kept for 30 minutes. The resulting black-dark brown product was purified by centrifugation–washing cycles (eight times) using ethanol solution (96%, Chempur, Poland) and redispersed as a stock MNPs suspension for further characterization.

**(II) Rapid hot-injection procedure in the synthesis of MNPs.** In this case, two alternatives were performed. First the rapid injection of the iron precursor into a hot mixture of BE containing OA (1.3–1.7 ml, 3.7–4.85 mmol) and the second where hexadecane (sHD, 99%, Sigma Aldrich, Poland) was used

as an additional co-solvent with different proportions to the BE on already optimized OA content.

Typically, 7.6 ml of BE were mixed in a three-neck glass flask with 1.5 ml of OA and degassed under inert gas flow for 1 h at room temperature. After that solution was heated to  $290\text{ }^{\circ}\text{C}$  (below BE boiling point) under mechanical stirring and 2.4 ml of earlier prepared iron precursor (2 mmol of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ) in BE were rapidly injected through the syringe. The reaction mixture was kept for 30 minutes at  $290\text{ }^{\circ}\text{C}$  under gas flow. The obtained product was purified in the same manner as described in the previous part.

In the alternative protocol with sHD as a co-solvent 7.6 ml of BE, 1.5 ml of OA (4.3 mmol), and 3 ml of sHD (10 mmol) were mixed in a three-neck flask, degassed, and heated to  $290\text{ }^{\circ}\text{C}$  under stirring and inert gas flow. Again 2 mmol of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  were dissolved in 2.4 ml of BE and rapidly injected into the hot reaction mixture. After 30 minutes at  $290\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the reaction was stopped and the product was separated and purified as described above. Different quantities of sHD (5–12 mmol) and OA (1.5–1.7 ml) as well as an iron precursor (1.5–2.5 mmol) were used to track the effect of co-solvent, additive, and precursor concentration.

In the case of fabrication of the mixed ferrites *i.e.*  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ , and  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  we employed essentially the same procedure. For example, 7.6 ml of BE, 1.5 ml of OA, and 3 ml of sHD were added into the three-neck flask and degassed at room temperature for 1 h. After that, the temperature of the mixture was raised to  $290\text{ }^{\circ}\text{C}$ . In parallel, 2 mmol of the precursor containing 1.33 mmol of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  and 0.67 mmol of  $\text{M}(\text{acac})_2$  ( $\text{M} = \text{Zn, Co, Ni, or Mn}$ ) were dissolved in 2.4 ml of BE and instantly added to the hot reaction mixture. The synthesis

Table 1 List of samples prepared *via* three distinct strategies heat-up, rapid hot-injection as well as flow hot-injection<sup>a</sup>

Synthesis	Product	Injection	Precursor (mmol)	OA (ml)	sHD (mmol)	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Particle size (nm)	SD (nm)
HU	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	—	2	1.5	—	270	48.0	5.3
HU	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	—	2	1.5	—	280	81.3	8.1
HU	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	—	2	1.5	—	290	64.1	6.5
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2	1.3	—	290	72.8	4.7
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	—	290	78.7	5.5
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2	1.7	—	290	47.7	4.0
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	5	290	47.6	7.5
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	10	290	46.6	5.3
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	12	290	60.7	7.4
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	1.5	1.5	10	290	33.6	5.6
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	1.75	1.5	10	290	33.5	3.0
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2.25	1.5	10	290	58	12
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	2.5	1.5	10	290	63.6	6.4
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	1.75	1.6	10	290	33.3	3.4
HI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Rapid	1.75	1.7	10	290	29.9	3.6
FHI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Flow	2	1.5	—	290	44.9	5.3
FHI	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Flow	2	1.5	10	290	49.8	3.3
HI	$\text{ZnFe}_2\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	10	290	40.3	5.0
HI	$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	10	290	56.1	7.4
HI	$\text{NiFe}_2\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	10	290	57.2	4.6
HI	$\text{MnFe}_2\text{O}_4$	Rapid	2	1.5	10	290	51.0	4.7

<sup>a</sup> HU – heat-up/HI – hot-injection/FHI – flow hot-injection, OA 1.3 ml – 3.7 mmol; 1.5 ml – 4.3 mmol; 1.6 ml – 4.6 mmol; 1.7 ml – 4.9 mmol.



was carried out for 30 minutes at 290 °C. The obtained product was purified by centrifugation using an ethanol solution.

**(III) Flow hot-injection protocol of MNPs preparation.** The flow hot-injection procedure was implemented in the synthesis of MNPs with two distinct differences in the strategy. In the first attempt, we tested whether using Kim's ratios of chemicals it is possible to get a reasonably well-defined product in terms of morphology. The second one, if (II) proposed fabrication technique allows direct implementation of the above protocol with SHD as a co-solvent. To test it 7.6 ml of BE, 1.5 ml of OA (4.3 mmol) were mixed in a three-neck glass and degassed for 1 hour at room temperature with mechanical stirring. In the case of (II) SHD was added before degassing. Afterward, the solvent or solvent mixture together with OA as an additive was heated to 290 °C under gas flow and stirring. The earlier prepared mixture containing 2 mmol of Fe(acac)<sub>3</sub> in 2.4 ml of BE was added to the hot solvent(s) under gas flow and injection with a constant speed of 15 ml h<sup>-1</sup> using a syringe pump. The synthesis was carried out for 45 min from the start of injection and the final product was purified by the same steps as described previously. A list of all prepared samples can be found in Table 1.

## 2.2 Characterization of materials

Particle size, morphology, and structural properties were evaluated employing transmission electron microscopy using a Tecnai Osiris X-FEG HRTEM microscope operating at 200 kV. MNPs for TEM imaging were prepared by droplet deposition of ethanol-based nanoparticle suspensions (250 μg ml<sup>-1</sup>) on a 200 mesh, carbon-coated copper grid (EM Resolutions United Kingdom). Samples were left for 24 h for complete evaporation of solvent at room temperature and under dust protection. Analysis of the results was performed using ImageJ freeware software (v. 1.8.0\_172). Quality of cubic morphology was estimated using so-called cubicity parameter describe as follows:

$$c_{\text{param}} = \frac{\text{diag}}{\sqrt{2} \text{edge}} \times 100\%, \quad (1)$$

where  $c_{\text{param}}$  is cubicity (value as close to 100% matches with perfect cube shape), diag is simply the diagonal and edge means the edge length of particle.

X-ray powder diffraction technique (XRD) was used to determine the crystal structure of final products with a Bruker D8 Advance diffractometer with the Cu lamp ( $K_{\alpha 1}$ : 1.54060 Å) and Ni filter for removal of  $K_{\alpha 2}$  induced reflections. Obtained diffraction patterns were compared with the ferrite standards from the crystal structure database ICDD. Fourier transform infrared spectroscopy technique with a Thermo Scientific Nicolet iZ10 FT-IR-ATR spectrometer was used to study the state of particle surface within the spectral range covering 4000–500 cm<sup>-1</sup> at room temperature.

## 3. Results and discussion

### 3.1 Effect of the reaction temperature on MNPs

Reference Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs were fabricated through repetition of the simple and efficient one-pot synthesis based on the heat-up

approach proposed by Kim *et al.*<sup>23</sup> at 290 °C with the heating rate of 20 °C min<sup>-1</sup>. As it was expected fixing such reaction conditions and the ratio of all chemicals leads to the formation of the 64 nm nanoparticles with predominant cubic morphology. They proved that it is possible to control the particle size down to 20 nm by a change of the concentration of the iron precursor in the reaction mixture. However, the effect of the reaction temperature was rarely studied.<sup>45</sup> Thus we decided to perform experiments to check if this important parameter has any effect on particle shape as well. Because of possible BE instability at high temperatures, this seemed to be a very important idea. The dependence of the reaction temperature (270–290 °C, 30 min) has been shown in Fig. 1a–c.

As one can observe the MNPs obtained at 270 °C tend to form tetradecahedrons with an average particle size of 48 nm. Temperature increase to 280 °C leads to the shape transformation into truncated cubes (81 nm, cubicity 93%) whereas synthesis performed at 290 °C resulted in the final product constituted of very well-defined cubes (64 nm) (cubicity 96%). Surprisingly, in comparison with the work of Ding *et al.*,<sup>45</sup> we observed completely contradictory results upon the use of basically the same experimental procedure (reverse sequence of shape tailoring). Moreover, we tested even lower reaction temperature 260 °C while keeping the same reaction time and a fixed ratio of all substances. No defined shapes were present throughout the sample, not even to mention that the amount of the MNPs fabricated under such conditions was immensely low. The explanation for that can be that the OA concentration-effect increases the decomposition and nucleation temperature.<sup>22,38</sup> Nonetheless, we have shown that it is possible to use a lower temperature to achieve some additional Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> morphologies. Following a very important works of Qiao *et al.*<sup>34</sup> and Muro-Cruces *et al.*<sup>35</sup> the particle growth can be directed through the control of the chemical potential of monomers ( $\mu_m$ ) defined as:

$$\mu_m = \mu_m^0 + RT \ln[C_m \gamma_m], \quad (2)$$

where  $\mu_m^0$  describes the standard chemical potential of the monomers at reference state (constant),  $R$  stands for the ideal gas constant,  $T$  is the absolute temperature at which reaction is conducted,  $C_m$  is monomer concentration and finally,  $\gamma_m$  is the activity coefficient of the monomer in the given solution. This thermodynamic equation takes into account the most important parameters affecting the chemical potential of the monomers and can help with the understanding of how the nucleation process and particle growth can be influenced. This is a very strong tool in the engineering of the particle shape. Qiao *et al.*<sup>34</sup> proposed dependence where the balance between chemical potential of the monomers and chemical potential of crystallographic facets determines the direction of growth with following ranking  $\mu_{\{100\}} > \mu_{\{110\}} > \mu_{\{111\}}$ . To control particle shape change of the chemical potential of monomers is mandatory to favour a specific growth direction. Therefore, when  $\mu_m$  is higher than the chemical potential of  $\mu_{\{111\}}$  but lower than  $\mu_{\{100\}}$ ,  $\mu_{\{110\}}$  the growth of the  $\{111\}$  facets and formation of cubes will be preferred.<sup>34</sup> Of course, the role of the additives like OA or solvents cannot be omitted since they



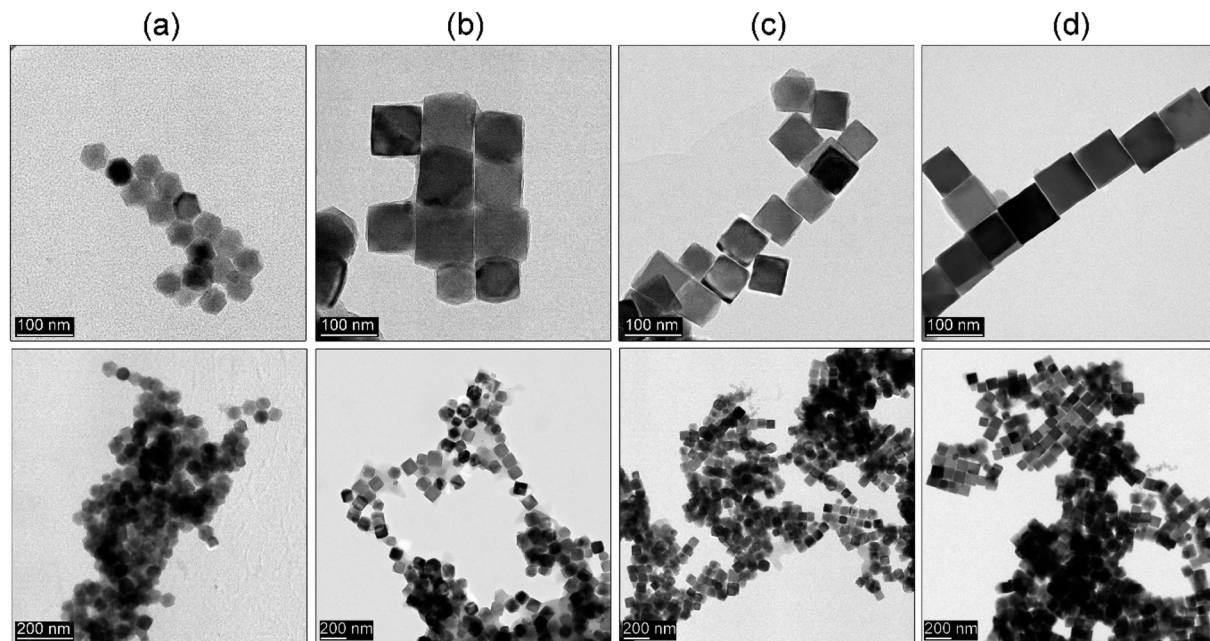


Fig. 1 TEM characterization of the heat-up synthesis (a–c) as a function of reaction temperature (a) 270 °C, (b) 280 °C, (c) 290 °C, and (d) rapid hot-injection at 290 °C. The duration of the synthesis was 30 min in each case.

effectively affect the behaviour of the monomer in terms of its thermal stability, concentration as well as activity. It is then reasonable that the MNPs prepared as a function of the temperature grow into the tetradecahedrons at 270 °C as a result of the continuous growth along  $\{110\}$  and  $\{111\}$  while growth of the  $\{100\}$  facets under such conditions is inhibited (the  $\mu_m$  is lower than  $\mu_{\{100\}}$ ). An increase of the temperature up to 280 °C favours growth along  $\{111\}$  direction leading to the change of shape into truncated cubes. Further increase of reaction mixture temperature to 290 °C results in the formation of very well-defined cubes due to the growth of the same facets. We believe that the reaction temperature (fixed parameters and OA as the critical ligand) will mostly enhance the diffusion coefficient of monomers on heavily packed and dense  $\{111\}$  facets facilitating ligand expel and final deposition of the monomer. This cannot be done effectively at lower reaction temperature (higher energy barrier to overcome),<sup>34</sup> thus different morphologies are formed under a given reaction temperature.

### 3.2 Hot-injection technique as an alternative to heat-up protocol

Based on the results from the previous section we decided to check whether it would be possible to get similar results. We adapted a hot-injection approach which we consider as an alternative limiting the necessity of the BE expose for prolonged action of high temperature. The iron precursor was rapidly injected directly into the hot BE (290 °C) containing the same amount of OA as previously. The reaction mixture was left for the next 30 minutes at 290 °C under a blanket of  $N_2$  and constant mechanical stirring. As one can see (Fig. 1d) instant injection of the precursor leads to the formation of very well-

defined cubic  $Fe_3O_4$  nanoparticles (cubicity 98%) assembled into long chains due to the magnetic interactions. Upon comparison with the heat-up technique, hot-injection fabricated particles seem to have more regular cubic morphology but were slightly larger (78 nm). Monodispersity of the MNPs has been also retained in the rapid hot-injection ( $\pm 6.5$  nm for the heat-up and  $\pm 5.5$  nm in hot-injection). This is a very interesting result since literature lacks any other reports on shape control with exception of Ho *et al.*<sup>29</sup> work. They reported that slow, flow-injection of the precursor led to the slightly truncated cubes (around 20 nm). However, in their strategy, different quantities of OA were used with the addition of OAM as a particle size reducing and non-specific ligand (no preference to crystallographic facets attachment). Besides tetradecanediol (TDD) as a co-solvent enhancing polarity of the reaction mixture was taken to increase the activity of monomers. As we mentioned earlier the mechanism of the nucleation and particle growth will be quite different and reminds rather a continuous nucleation and seed-mediated growth. Fabrication of fully developed cubic  $Fe_3O_4$  involved prolonged time up to 2 h which could be a serious drawback in terms of well-known BE instability at high temperatures affecting reproducibility. We have shown that through the rapid hot-injection process it is enough to leave the reaction mixture at 290 °C for 30 min after precursor injection to obtain cubes while keeping restricted ratios of all substances and process parameters. The structural properties of MNPs prepared using heat-up and hot-injection techniques were checked using the XRD (Fig. 2). The obtained diffraction patterns showed typical for the ferrite family reflections perfectly matched with the reference standard card no. ICDD 19-0629 ascribed to the cubic crystal structure belonging to the  $Fd\bar{3}m$  (no. 227) space group. We did not observe any other



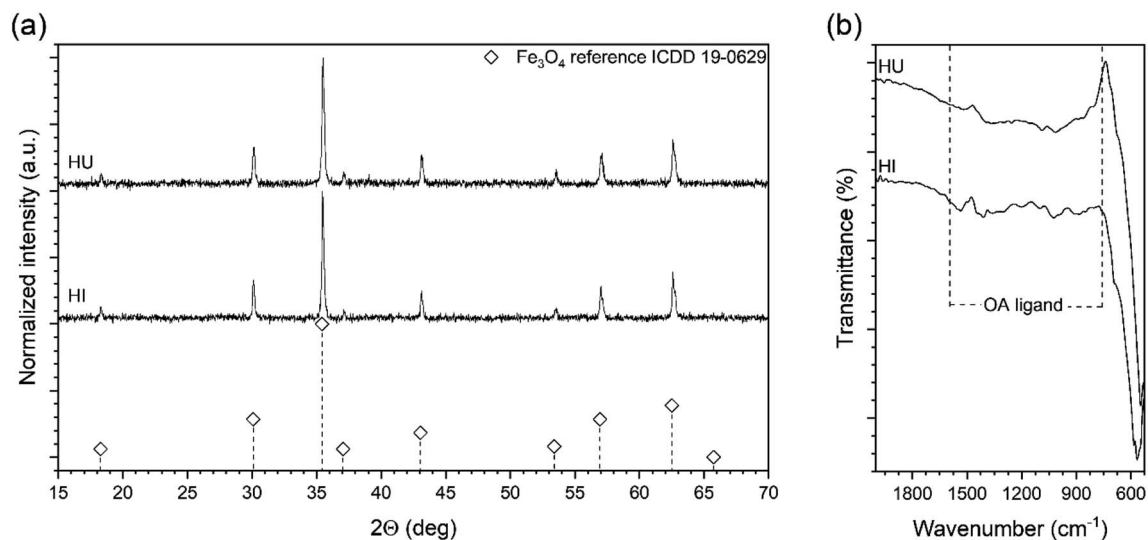


Fig. 2 X-ray powder diffraction pattern and FTIR spectrum of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs fabricated through heat-up (HU) and hot-injection (HI) techniques.

reflections confirming that both studied samples are single phase. The FTIR spectrum revealed presence of the residual organics on the surface of the nanoparticles synthesized *via* all protocols. Peaks located at characteristic positions namely 937, 1285, 1409, 1462  $\text{cm}^{-1}$  were attributed to the oleic ligand. Typical band at 591  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to the strong vibrations of the Fe–O bonds.

### 3.3 Effect of the OA ligand on the directional growth of MNPs

Since the idea of the rapid hot-injection worked very well in a synthesis of morphologically controlled MNPs we have been particularly interested if the OA content (1.3–1.7 ml; 3.7–4.9 mmol) is within optimal range for the particle shape tuning (see Fig. 3). The amount of the iron precursor was fixed at 2 mmol in the

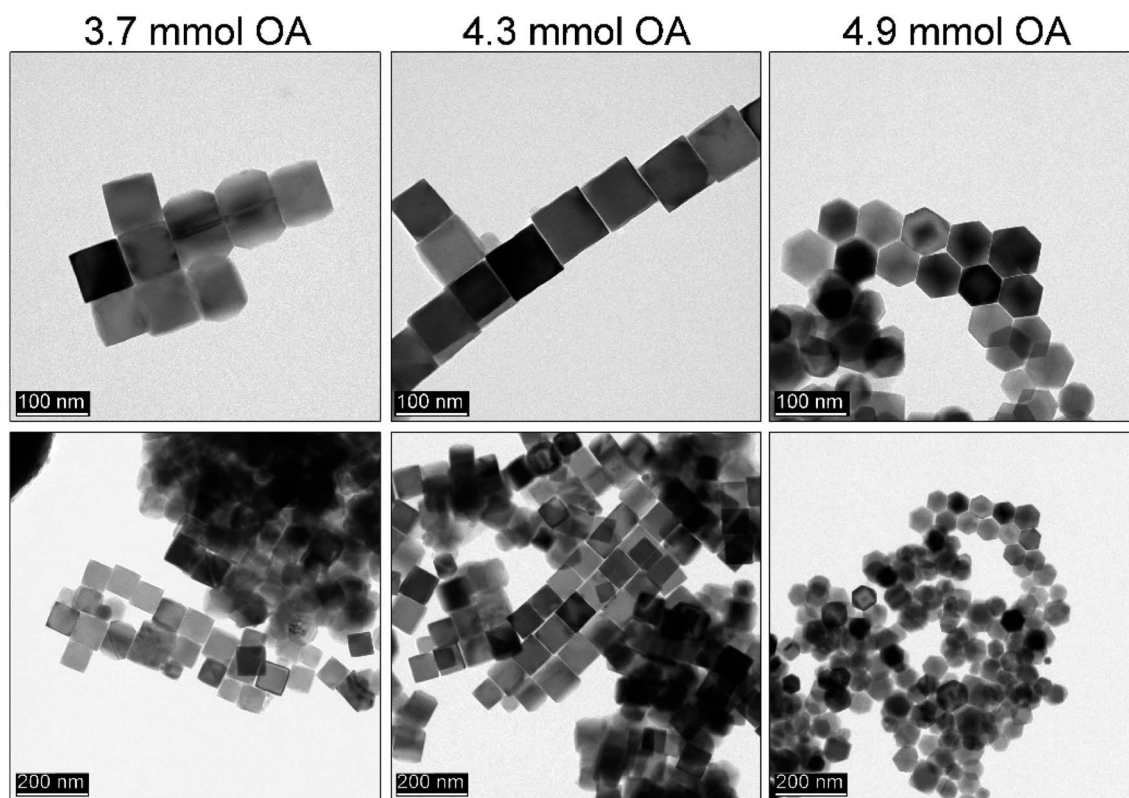


Fig. 3 Effect of the different OA content on the morphology of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs fabricated *via* rapid hot injection technique performed at 290 °C for 30 min (from left to right 1.3 ml, 1.5 ml and 1.7 ml of OA).



injection syringe (total volume 2.4 ml). Interestingly, we have found that when the volume of the OA is below 1.5 ml truncated cubes are predominantly present (cubicity 92%) with a fraction of other morphologies. The use of the OA up to 1.5 ml seems to be optimal for the growth of cubic particles. Whereas the addition of 1.7 ml of OA results in the formation of well-defined tetradecahedrons. We are convinced that such behaviour is caused by an increase in the polar character of the reaction mixture. This is due to a higher activity of the monomer and consequently, a change of the chemical potential of monomers that leads to the preferred growth along  $\{100\}$  and  $\{110\}$  directions.<sup>34</sup> We also found that the OA amount within used range of 1.3 to 1.5 ml did not cause a significant difference in particle size (around 70–80 nm). While at 1.7 ml of the OA MNPs size decreased down to 48 nm. This can be an indication of a change of monomer diffusion and inhibition of particle growth. Therefore, we concluded that if cubic particles are of strategic aim the optimal content of the OA in the reaction mixture should be fixed at 1.5 ml (4.3 mmol) at given concentration of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ .

### 3.4 Effect of the saturated hydrocarbon co-solvent on the MNPs size and morphology

Another challenge was to carry out trials on particle size control while maintaining product morphology. This is a key issue since for several applications the dimension of particles might be too large. We decided that the best solution would be a drastic change of the activity coefficient of monomers while keeping other synthetic parameters constant *i.e.* reaction temperature set to 290 °C, time 30 min, and 1.5 ml of OA. The best way to limit the monomer activity is to choose a co-solvent with a distinctly different chemical character inducing a change in interactions between monomer and solvent molecules. Since

the iron acetylacetonate has a polar character this can be done by the addition of strongly non-polar solvents as reported for the heat-up approach.<sup>34,35</sup> Therefore, hexadecane (saturated hydrocarbon with a high boiling point) was proposed by us as a co-solvent to inhibit the monomer activity coefficient. The results of the MNPs fabrication as a function of the sHD content is shown in Fig. 4. Indeed, the addition of the sHD affects the particle size. Whereas a high amount of sHD suppresses the activity coefficient of monomers that much, that it is not possible to tailor a particle shape. Based on the TEM analysis we found that downsizing of the MNPs with sHD can be achieved to 46 nm while keeping cubic morphology (cubicity 99%) for a maximum of 10 mmol of sHD in the reaction mixture (Fig. 4c). Further increase of the sHD led to the uncontrolled growth of particles.

### 3.5 Effect of the monomer concentration on MNPs and further size tuning with OA

It is very well known that the precursor concentration has a tremendous effect on the nucleation and particle growth stage. A balance has to be found to control the particle size and shape. Therefore, it was of great importance to optimize this parameter since the nucleation process is instantaneous and the mechanism of the particle formation is different from that of a heat-up approach. Since the iron precursor concentration was quite high, we wanted to demonstrate whether after optimization of the reaction temperature, OA, and sHD it is possible to limit precursor content. This could assure some additional flexibility in further size tuning without a change in morphology (Fig. 5). The amount of the iron acetylacetonate checked varied from 1.5 mmol to 2.5 mmol keeping constant volumes in both injection syringe and reaction mixture.

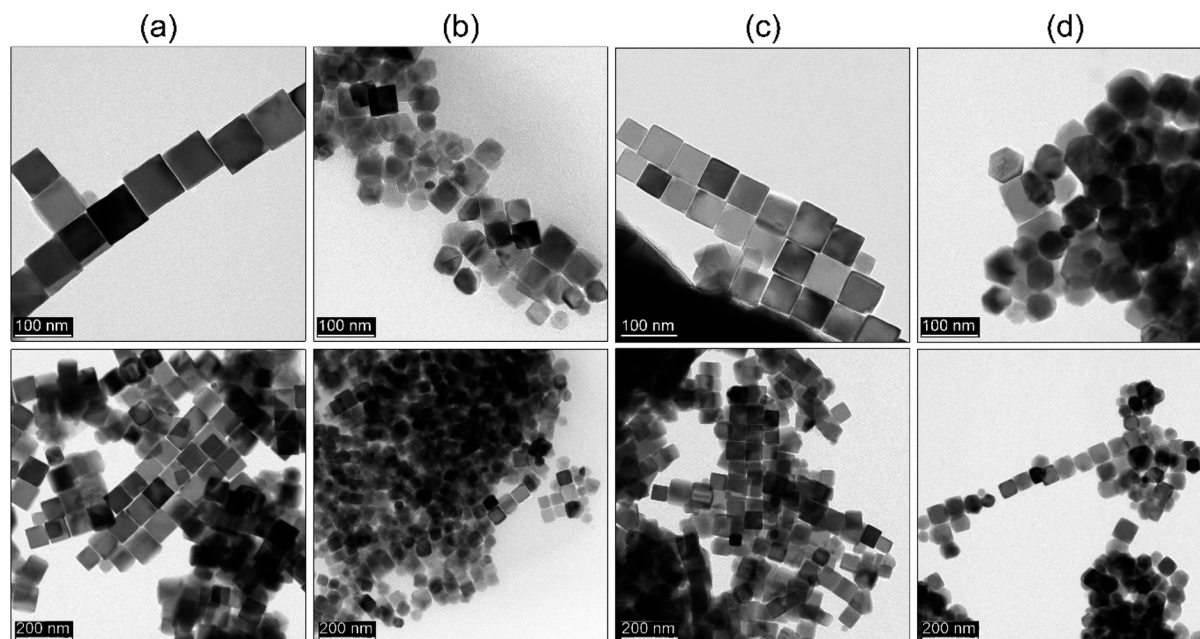


Fig. 4 Effect of the addition of the strongly non-polar co-solvent on  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles morphology synthesised by the rapid hot-injection technique, (a) without sHD, (b) 5 mmol of sHD, (c) 10 mmol of sHD, and (d) 12 mmol of sHD.



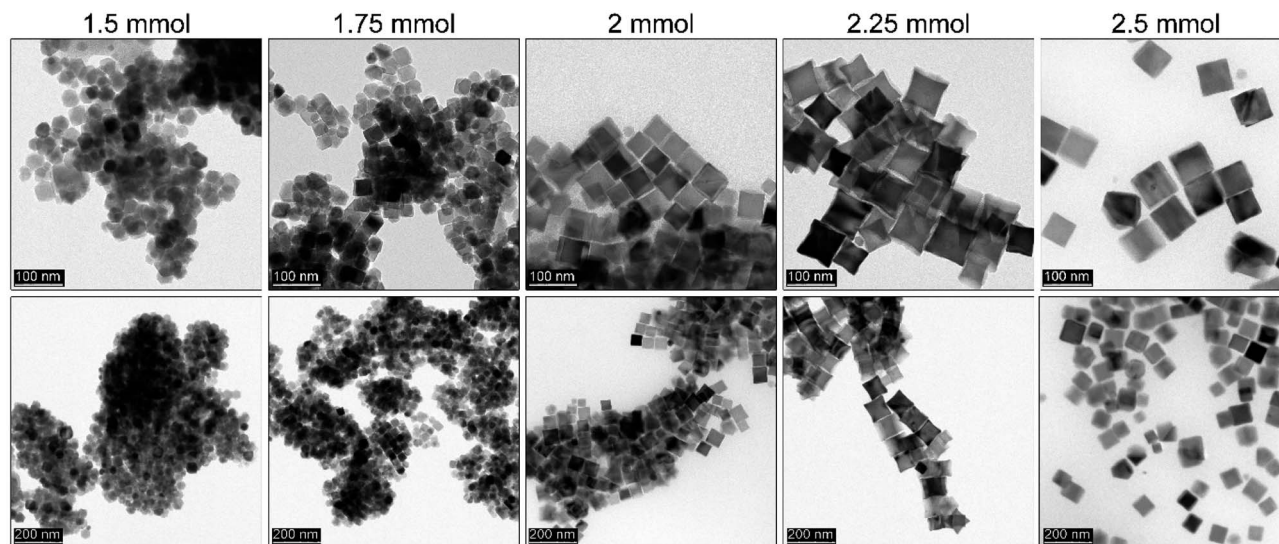


Fig. 5 Dependence of the iron precursor content on the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs obtained by thermal decomposition *via* a rapid hot-injection approach.

We observed that the lowest concentration of the iron precursor leads to the formation of the smallest particles (30 nm) with a polyhedral morphology. Low precursor concentration causes difficulties with shape control due to an insufficient number of monomers needed to terminate directional growth. A slight increase of precursor up to 1.75 mmol forces the formation of the truncated cubes with an average particle size of

33 nm, whereas 2 mmol of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  seems to be enough to tune cubes. We found that in the latter case particles tend to grow to bigger sizes (46 nm). Further increase of the iron source results in  $\{111\}$  vertices growth leading to the star-like particle morphology (46 nm). According to the literature data growth towards star-like structures can be obtained for relatively high monomer concentration. The particle size distribution up to the

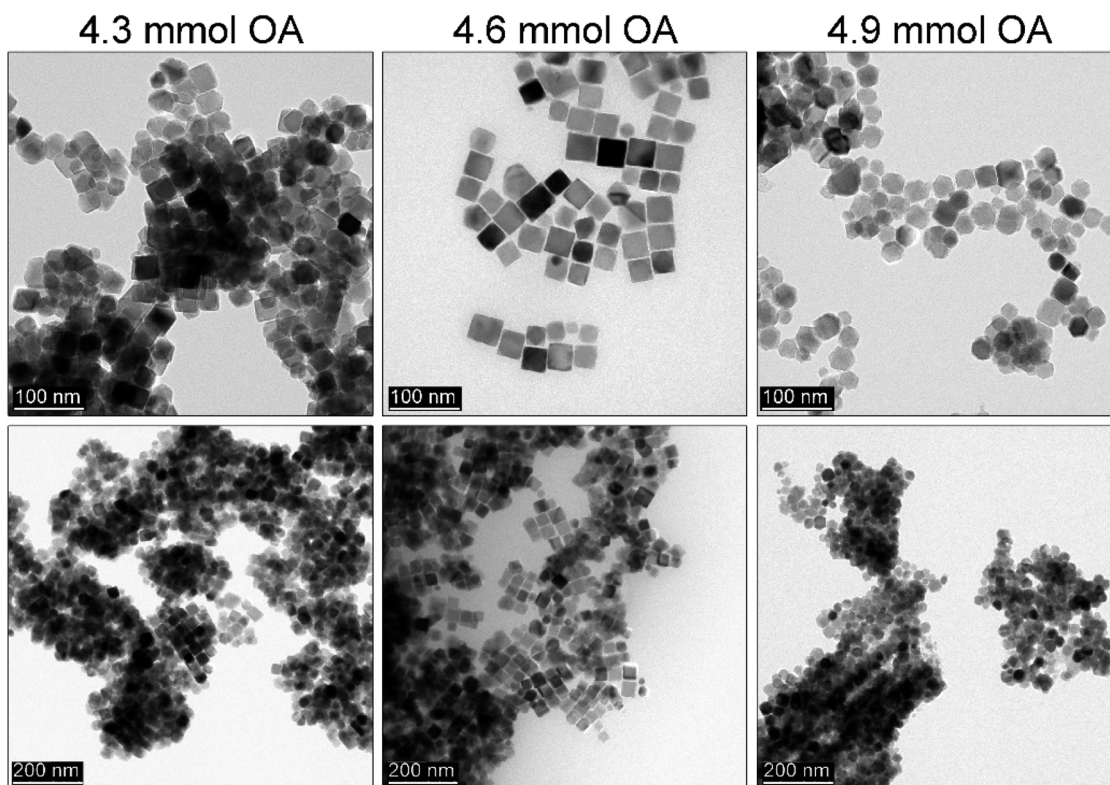


Fig. 6 Additional OA effect on the morphology of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs synthesized by the rapid hot-injection with optimal content of the SHD (10 mmol) co-solvent and 1.75 mmol of the iron precursor (from left to right 1.5 ml, 1.6 ml and 1.7 ml of OA).



2.25 mmol of the precursor remains narrow leading to the monodisperse particles. However, at 2.5 mmol 63 nm cubes (cubicity 99%) can be individuated with the presence of much smaller objects. It suggests that the extent of monomers which cannot be consumed during growth leads to formation of new particles.

All of these observations are in agreement with expected behavior. The lower concentration of monomers will result in unfinished directional growth of particles that form polyhedras. Particles remain relatively small and cannot grow further due to the quenched reaction (short synthesis time). Higher precursor content leads to better control over morphology and at maximum amount used here causes secondary particle growth. Following Kwon and Hyeon,<sup>44</sup> the mechanism of particle formation in the hot-injection relies on a fast nucleation reaction which stops at a supersaturation level. Particle growth is diffusion-controlled that allows for so-called size focusing resulting in a monodisperse product. To tune further the particle size 1.75 mmol of the iron precursor was used with slight OA (1.5–1.7 ml, 4.3–4.9 mmol) adjustments. We found that (see Fig. 6) in comparison to the 1.5 ml OA the addition of extra 0.1 ml (1.6 ml) resulted in mastered cubes (cubicity 93%). However, such a small rise in ligand content did not cause a size change but facilitated directional growth. Further increase of the OA led to the size reduction (29 nm) and progressing issue with particle morphology (polyhedral shapes) as a consequence of the change of monomers chemical potential. An important

conclusion can be drawn that control of the particle size and shape depends on many parameters as in the case of the heat-up. However, utilization of the rapid hot-injection protocol proposed by us allows for the control of the MNPs particle size (to some extent) and morphology through modification of synthetic parameters.

### 3.6 Effect of the flow-injection process on MNPs

Ho *et al.*<sup>29</sup> showed that it is possible to prepare shape-controlled Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> through constant flow hot-injection. Therefore, we tried to implement our strategy directly and see if Ho modification can be used for tuning MNPs morphology using our protocol. The main difference is that both strategies are based on different chemicals, their ratio, and Ho did not use a co-solvent as well. The reaction temperature kept the same (290 °C), the flow rate was set at 15 ml h<sup>-1</sup> and the process was carried out for 45 min measured from the start of the flow-injection of monomer. We did a comparison with the procedure without use of the sHD (details can be found in the Experimental section) to see if it still plays an anticipated role (see Fig. 7). Interestingly, the flow-injection without and with sHD shared common features. The first sign of product formation was observed after 15 min, whereas particle morphology tends to be defined within 30 min. In both approaches, the particle size was around 45–49 nm. We found noticeable differences as well. Both product morphologies are distinctly different due to the action of the

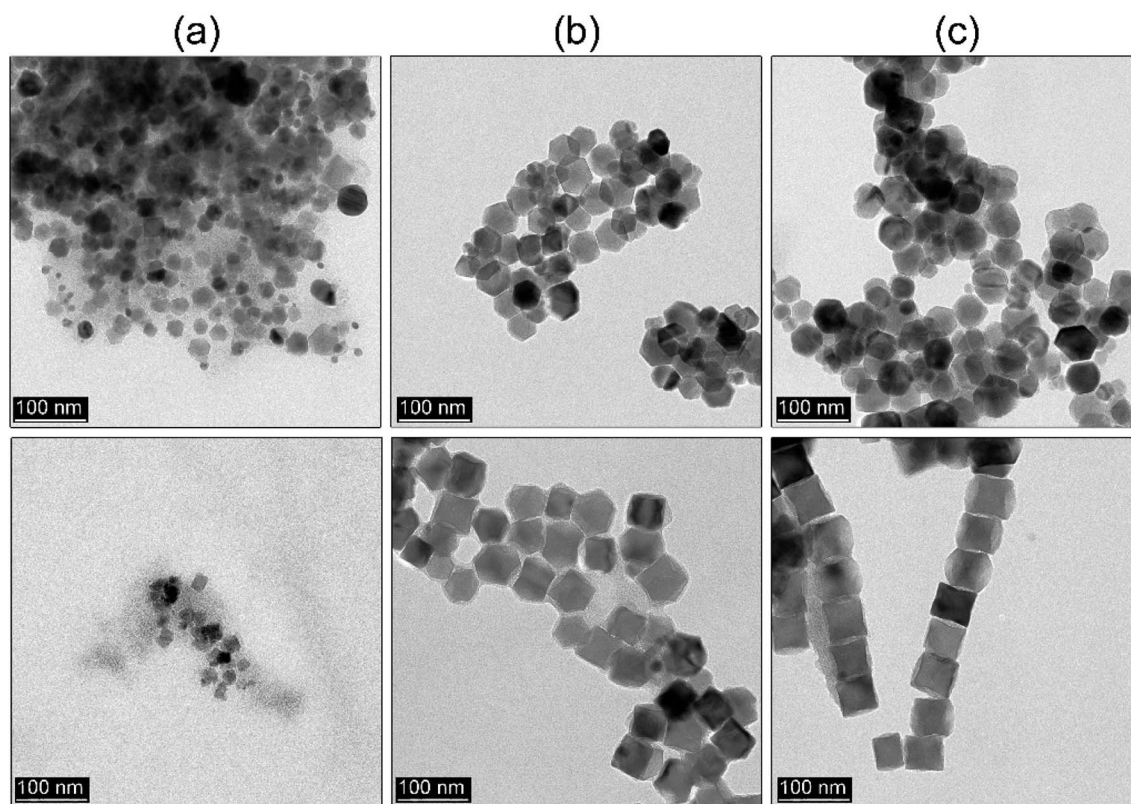


Fig. 7 Flow-injection technique as an alternative to rapid injection. Upper panel MNPs fabricated without sHD, a bottom panel with sHD, the injection speed was 15 ml h<sup>-1</sup>. Time evolution of particle shapes measured after finished flow-injection (a) 15 min, (b) 30 min, (c) 45 min.



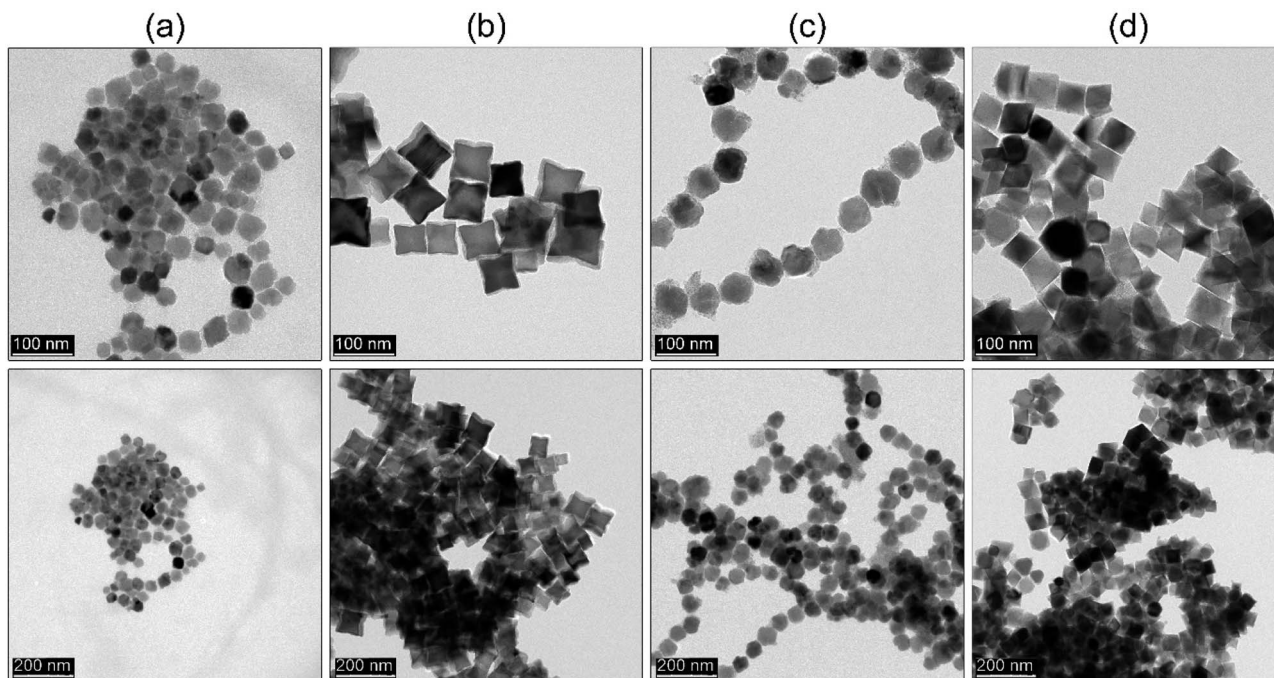


Fig. 8 TEM images of (a)  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ , (b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , (c)  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ , and (d)  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  nanoparticles synthesized by thermal decomposition via hot-injection method.

SHD. In the case of the flow-injection where sHD was not added MNPs tend to grow into polyhedral shapes after 30 min. The growth of particles is already finished since there is no significant particle size increase after 45 min. The presence of non-polar co-solvent (sHD) led to the formation of mixed morphology after 30 min. After additional 15 min particles transformed into cubes with a size of 49 nm. Definitely, the sHD strongly limits the activity of monomers forcing directional particle growth. A comparison with the rapid hot-injection is striking since the growth of the cubic MNPs is already finished after 30 min. The same process of particle shape molding in the flow-injection takes a longer time. This points out a significant difference in the mechanism of particle formation. The directional growth of the particles is a function of the additive/co-solvent and iron precursor ratio, speed of the flow-injection, synthesis time, and process temperature affecting chemical potential. All discussed approaches *i.e.* heat-up, rapid hot-injection, as well as flow-injection, can be used as tools for the control of the particle size and morphology leading to highly monodisperse MNPs. We have shown that the rapid hot-injection technique due to its simplicity can be successfully applied in the synthesis of the well shape-defined MNPs. The rapid hot-injection technique leaves space for particle size and shape control. Moreover, synthesis duration can be significantly reduced to 30 minutes, thus the risk of thermal instability of the BE can be limited to the absolute minimum.

### 3.7 Hot-injection approach towards other $\text{MFe}_2\text{O}_4$ ferrites

Lastly, we checked whether the proposed approach can be further extended to other ferrite representatives ( $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,

$\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  and  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ ) using the same rapid hot-injection procedure without any other modifications (see Fig. 8). In the case of the  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  and  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  nanoparticles, we found that optimization is mandatory since  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  and  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  particle shape tends to be a mixture of polyhedral morphologies with the size around 40 and 57 nm. In the case of the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  and  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  compounds, both products formed star-like and octahedral particles, respectively with comparable size (around 56 nm). Such behaviour might be caused by different temperature stability of the metal complexes. Cobalt and iron acetylacetonates have comparable stability. Therefore, their intermediate complexes should behave similarly. This led to the directional growth of the  $\{111\}$  facets towards cubes and stars. The manganese precursor has the highest temperature of decomposition (250 °C). Thus, most likely the rate of nuclei formation will be slower and octahedral particles are predominantly present due to that growth occurs faster along  $\{100\}$  and  $\{110\}$  directions so particle morphology will resemble the shape of primary nuclei.<sup>1</sup> The  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  ferrite, since nickel precursor has its decomposition temperature between cobalt and manganese complexes so for that reason intermediate morphology was found. Whereas in the case of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  we found that it contains mixed morphologies. One of the main reasons for that could be seen in the presence of water in the precursor (a hydrated form of zinc acetylacetonate was used due to the unavailability of a non-hydrated form in the market). So the result has been attributed to the detrimental effect of water molecules on particle shape that led to the formation of irregular particles.<sup>35</sup>





## 4. Conclusions

We have shown that the rapid hot-injection technique can be alternatively used for morphology (octahedrons, cubes, and stars) and particle size controlled MNPs at a relatively short synthesis time (30 min) minimizing the risk of main BE solvent decomposition. In contrast to the heat-up technique, the rapid hot-injection method is a single step and does not need careful control over the heating rate of the reaction mixture. The process of shaping particle morphology is complex and strongly depends on the synthesis parameters (temperature, concentration of precursor, additives, co-solvent, *etc.*). The use of strongly saturated hydrocarbons as co-solvent *i.e.* hexadecane (sHD) instead of long-chain diols (tetradecanediol – TDD; or hexadecanediol HDD) in the presence of OA additive changes the molecular interactions between solvent and monomer and allows for particle shape control. We postulated that the addition of the sHD co-solvent to the complex reaction mixture changes the monomer activity coefficient, reduces the chemical potential of monomers, and thus directional growth along specific facets can be achieved. We have shown, that it is also possible to produce shape-controlled particles *via* the flow-injection process by using the protocol proposed by us but with the necessity of further optimization to master morphology and particle size. The main advantage of the HI approach with sHD co-solvent as monomer activity limiting agent lays in the possibility of synthesis time reduction (down to 30 min), minimizing the risk of dibenzyl ether degradation upon prolonged exposure to high temperature, use of less complex apparatus without the necessity of temperature ramp control. Elimination of long-chain diols in favor of sHD can protect from possible water release upon side reactions leading to uncontrolled growth of particles during the HU approach. We emphasized that there is a high demand for finding a better solvent than BE since its instability at high temperatures is a serious source of issues with product reproducibility upon longer synthesis time.<sup>35</sup>

## Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

## Acknowledgements

Financial support of the National Science Centre, Poland in the course of realization of project no. UMO-2017/25/B/ST5/00497 is gratefully acknowledged. All authors contributed equally to the manuscript.

## References

- 1 A. G. Roca, L. Gutiérrez, H. Gavilán, M. E. Fortes Brollo, S. Veintemillas-Verdaguer and M. del P. Morales, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2019, **138**, 68–104.
- 2 W. Xie, Z. Guo, F. Gao, Q. Gao, D. Wang, B. S. Liaw, Q. Cai, X. Sun, X. Wang and L. Zhao, *Theranostics*, 2018, **8**, 3284–3307.
- 3 A. K. Gupta and M. Gupta, *Biomaterials*, 2005, **26**, 3995–4021.
- 4 E. Peng, F. Wang and J. M. Xue, *J. Mater. Chem. B*, 2015, **3**, 2241–2276.
- 5 D. Bonvin, D. T. L. Alexander, A. Millán, R. Piñol, B. Sanz, G. F. Goya, A. Martínez, J. A. M. Bastiaansen, M. Stuber, K. J. Schenk, H. Hofmann and M. M. Ebersold, *Nanomaterials*, 2017, **7**, 225.
- 6 Z. Gao, Y. Li, C. You, K. Sun, P. An, C. Sun, M. Wang, X. Zhu and B. Sun, *ACS Appl. Bio Mater.*, 2018, **1**, 270–280.
- 7 M. Moros, J. Idiago-López, L. Asín, E. Moreno-Antolín, L. Beola, V. Grazú, R. M. Fratila, L. Gutiérrez and J. M. de la Fuente, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2019, **138**, 326–343.
- 8 E. Cazares-Cortes, M. Nerantzaki, J. Fresnais, C. Wilhelm, N. Griffete and C. Ménager, *Nanomaterials*, 2018, **8**, 850.
- 9 A. Ito and M. Kamihira, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2011, **104**, 355–395.
- 10 A. Espinosa, J. Kolosnjaj-Tabi, A. Abou-Hassan, A. Plan Sangnier, A. Curcio, A. K. A. Silva, R. Di Corato, S. Neveu, T. Pellegrino, L. M. Liz-Marzán and C. Wilhelm, *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**, 1–16.
- 11 A. Espinosa, R. Di Corato, J. Kolosnjaj-Tabi, P. Flaud, T. Pellegrino and C. Wilhelm, *ACS Nano*, 2016, **10**, 2436–2446.
- 12 W. Xie, Z. Guo, F. Gao, Q. Gao, D. Wang, B. S. Liaw, Q. Cai, X. Sun, X. Wang and L. Zhao, *Theranostics*, 2018, **8**, 3284–3307.
- 13 S. N. Sun, C. Wei, Z. Z. Zhu, Y. L. Hou, S. S. Venkatraman and Z. C. Xu, *Chin. Phys. B*, 2014, **23**, 037503.
- 14 E. Tombácz, R. Turcu, V. Socoliuc and L. Vékás, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, **468**, 442–453.
- 15 A. R. O. Rodrigues, I. T. Gomes, B. G. Almeida, J. P. Araújo, E. M. S. Castanheira and P. J. G. Coutinho, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 18011–18021.
- 16 N. H. Sulaiman, M. J. Ghazali, B. Y. Majlis, J. Yunas and M. Razali, *Bio-Med. Mater. Eng.*, 2015, **26**, S103–S110.
- 17 T. Lu, J. Wang, J. Yin, A. Wang, X. Wang and T. Zhang, *Colloids Surf., A*, 2013, **436**, 675–683.
- 18 Z. L. Liu, Y. J. Liu, K. L. Yao, Z. H. Ding, J. Tao and X. Wang, *J. Mater. Synth. Process.*, 2002, **10**, 83–87.
- 19 L. Wu, A. Mendoza-Garcia, Q. Li and S. Sun, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 10473–10512.
- 20 S. Sun and H. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 8204–8205.
- 21 S. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang and G. Li, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 273–279.
- 22 C. Moya, X. Batlle and A. Labarta, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 27373–27379.
- 23 D. Kim, N. Lee, M. Park, B. H. Kim, K. An and T. Hyeon, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 454–455.
- 24 P. Guardia, A. Labarta and X. Batlle, *J. Phys. Chem. C*, 2011, **115**, 390–396.
- 25 P. Guardia, J. Pérez-Juste, A. Labarta, X. Batlle and L. M. Liz-Marzán, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 6108–6110.
- 26 P. Guardia, R. Di Corato, L. Lartigue, C. Wilhelm, A. Espinosa, M. Garcia-Hernandez, F. Gazeau, L. Manna and T. Pellegrino, *ACS Nano*, 2012, **6**, 3080–3091.



- 27 L. C. Varanda, C. G. S. Souza, D. A. Moraes, H. R. Neves, J. B. Souza Junior, M. F. Silva, R. A. Bini, R. F. Albers, T. L. Silva and W. Beck, *An. Acad. Bras. Cienc.*, 2019, **91**, 1–32.
- 28 A. Pariti, P. Desai, S. K. Y. Maddirala, N. Ercal, K. V. Katti, X. Liang and M. Nath, *Mater. Res. Express*, 2014, **1**, 035023.
- 29 C. H. Ho, C. P. Tsai, C. C. Chung, C. Y. Tsai, F. R. Chen, H. J. Lin and C. H. Lai, *Chem. Mater.*, 2011, **23**, 1753–1760.
- 30 C. B. Murray, D. J. Norris and M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 8706–8715.
- 31 P. Guardia, N. Pérez, A. Labarta and X. Batlle, *Langmuir*, 2010, **26**, 5843–5847.
- 32 K. Lee, S. Lee and B. Ahn, *Chem. Mater.*, 2019, **31**, 728–736.
- 33 W. Baaziz, B. P. Pichon, S. Fleutot, Y. Liu, C. Lefevre, J. M. Greneche, M. Toumi, T. Mhiri and S. Bégin-Colin, *J. Phys. Chem. C*, 2014, **118**, 3795–3810.
- 34 L. Qiao, Z. Fu, J. Li, J. Ghosen, M. Zeng, J. Stebbins, P. N. Prasad and M. T. Swihart, *ACS Nano*, 2017, **11**, 6370–6381.
- 35 J. Muro-Cruces, A. G. Roca, A. López-Ortega, E. Fantechi, D. Del-Pozo-Bueno, S. Estradé, F. Peiró, B. Sepúlveda, F. Pineider, C. Sangregorio and J. Nogues, *ACS Nano*, 2019, **13**, 7716–7728.
- 36 G. Guisbiers and M. José-Yacaman, Functionalization and Grafting of Surfaces; Use of Chemical Functionalities to Control Stability of Nanoparticles, *Encyclopedia of Interfacial Chemistry*, ed. K. Wandelt, Elsevier, 1st edn, 2018, vol. 4.3, pp. 875–885, DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.13129-4.
- 37 F. Zasada, J. Grybos, W. Piskorz, J. Kaczmarczyk and Z. Sojka, *J. Phys. Chem. C*, 2014, **118**, 19085–19097.
- 38 H. Khurshid, W. Li, S. Chandra, M. H. Phan, G. C. Hadjipanayis, P. Mukherjee and H. Srikanth, *Nanoscale*, 2013, **5**, 7942–7952.
- 39 G. Cotin, F. Perton, C. Blanco-Andujar, B. Pichon, D. Mertz and S. Bégin-Colin, *Nanomater. Magn. Opt. Hyperthermia Appl.*, 2018, 41–60.
- 40 S. Belaïd, D. Stanicki, L. Vander Elst, R. N. Muller and S. Laurent, *Nanotechnology*, 2018, **29**, 165603.
- 41 Z. L. Wang, H. Ma, F. Wang, M. Li, L. G. Zhang and X. H. Xu, *Chin. Phys. Lett.*, 2016, **33**, 107501.
- 42 S. Verma and D. Pravarthana, *Langmuir*, 2011, **27**, 13189–13197.
- 43 L. T. Lu, N. T. Dung, L. D. Tung, C. T. Thanh, O. K. Quy, N. V. Chuc, S. Maenosono and N. T. K. Thanh, *Nanoscale*, 2015, **7**, 19596–19610.
- 44 S. G. Kwon and T. Hyeon, *Small*, 2011, **7**, 2685–2702.
- 45 C. Ding, Y. Zeng, R. Li, Y. Zhang and L. Zhao, *J. Alloys Compd.*, 2016, **676**, 347–355.



# Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells

Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dzedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarz, Anna Lewińska,\* and Robert Pązik\*



Cite This: *J. Phys. Chem. B* 2022, 126, 8515–8531



Read Online

ACCESS |



Metrics & More

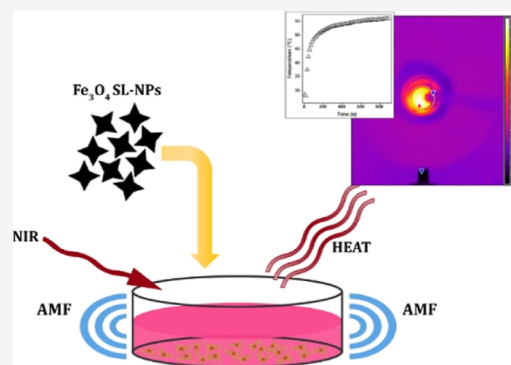


Article Recommendations



Supporting Information

**ABSTRACT:** Magnetic nanoparticle (MNP) anisotropy has been tailored by the preparation of MNPs having different shapes (star-like, cubic, and polyhedral) using a self-modified rapid hot-injection process. The surface modification of MNPs was performed through etidronic ligand grafting with a strong binding affinity to mixed metal oxides, ensuring sufficient colloidal stability, surface protection, and minimized aggregation and interparticle interactions. The heating effect was induced by contactless external stimulation through the action of an alternating magnetic field and NIR laser radiation (808 nm). The efficacy of the energy conversion was evaluated as a function of the particle shape, concentration, and external stimuli parameters. In turn, the most efficient star-like particles have been selected to study their response in contact with normal and cancer cells. It was found that the star-like MNPs ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs) at 2 mg/mL concentration induce necrosis and significantly alter cell cycle progression, while 0.5 mg/mL can stimulate the antioxidative and anti-inflammatory response in normal cells. A biologically relevant heating effect leading to heat-mediated cell death was achieved at a 2 mg/mL concentration of star-like particles and was enhanced by the addition of ascorbic acid (AA). AA-mediated photomagnetic hyperthermia can lead to the modulation of the heat-shock response in cancer cells that depends on the genotypic and phenotypic variations of cell lines.



## INTRODUCTION

Localized temperature increase within specific body regions induced by the contactless action of the external stimulants such as alternating magnetic field (AMF) and near-infrared laser radiation (NIR) on nanoparticles that are responsive to both physical factors is of great interest for the biological applications that benefit from that phenomenon, that is, hyperthermia,<sup>1</sup> temperature-stimulated regenerative processes of tissues,<sup>2</sup> photothermal<sup>3</sup> and photomagnetic therapies,<sup>4,5</sup> drug delivery,<sup>6</sup> and so forth.

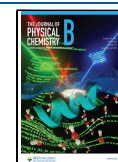
The most promising materials that can interact and convert AMF and NIR into heat energy are magnetic nanoparticles (MNPs) belonging to the ferrite family, with  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  magnetite being an exceptional example of this class of inorganic compounds.<sup>7</sup> The mechanisms of heat generation under the action of AMF and NIR are well described in the literature.<sup>3,4</sup> In the case of NIR, the relevant spectral range lies within the first and second biological windows (minimized biological system absorption; deeper light penetration). Nevertheless, it is worth recalling that the heat generation on MNPs under AMF involves three main processes: heat losses that are directly correlated with the hysteresis loop (namely, coercive

field), losses due to the eddy currents induced by AMF (strongly depending on the type of material—metal, semiconductor, dielectric, and field intensity and frequency), as well as the residual mechanism that includes Brownian and Néel relaxations. Both are affiliated with magnetic moment reorientation, which in the first case causes physical motion/rotation of the whole particle and the second within the magnetic particle itself. The conversion of NIR radiation into heat is a direct consequence of photon absorption and further energy dissipation involving nonradiative processes (net phonons). Therefore, materials should possess outstanding magnetic properties and have strong absorption bands located at a spectral range of interest. Both principal criteria are fulfilled by MNPs of the ferrite family; that is, they are highly magnetic as well as possess optical properties close to the black

**Received:** August 24, 2022

**Revised:** October 3, 2022

**Published:** October 13, 2022



body (absorption covers a very broad range from UV up to NIR regions).<sup>5,8,9</sup>

In laboratory reality, there are many more properties of MNPs to be considered, controlled, and optimized for the given biological application. For example, the size and shape of particles have to be tuned to master the magnetic properties. It is important to provide sufficient colloidal stability, monodispersity, and hydrodynamic size that affect the performance of MNPs very strongly. This means that the surface of MNPs must be protected to avoid agglomeration and contact with the biological system because of the risk of a Fenton reaction. The ligand has to be carefully chosen as its role is very important and helps improve biocompatibility, increases specificity toward biomolecules, and provides support in the control of the above-mentioned parameters.<sup>1,4,10–13</sup>

Synthetic approaches toward morphologically different MNPs are mainly based on the thermal decomposition process (heat-up, hot-injection, and flow-injection) that involves the use of high boiling solvents in a protective atmosphere of inert gas or vacuum.<sup>6,14–23</sup> Shape control over MNPs seems to be crucial for ensuring highly efficient materials in terms of AMF conversion into heat because of the phenomenon called effective crystal anisotropy. It is directly related to magneto-crystalline anisotropy, that is, crystallographic direction dependence on magnetization, which is affected by the particle morphology, surface quality, exchange interactions, and so forth,<sup>7</sup> and can be controlled through fabrication techniques. To date, most MNPs with increased performance for hyperthermia or temperature-stimulated processes are predominantly cubic-shaped. Reports concerning other morphologies with enhanced anisotropy, such as star-shaped particles (nano-octopods or deformed cubes) and their heating performance, are not that frequent and deal mainly with synthetic issues.<sup>16,24–28</sup>

The main objective of the presented article is to study the influence of the anisotropy of the MNP shape (star-like, cubic, and polyhedral) on the efficacy of the heating ability under contactless action of AMF and NIR radiation (808 nm) and their biological impact on human mammary epithelial cells (HMECs), human monocytic leukemia cells (THP-1), as well as human breast adenocarcinoma cells (MDA-MB-231) *in vitro*. The MNPs have been synthesized using a rapid hot-injection process,<sup>15</sup> and surfaces protected with the etidronic (ETI) ligand (bisphosphonate moiety) ensured sufficient colloidal stability, biocompatibility,<sup>29</sup> minimized particle aggregation, and magnetic interparticle interactions. The most temperature-responsive star-like particles were chosen to study their biological responses in normal and cancer cells. The role of the ascorbic acid (AA) addition in modulating magnetic hyperthermia and its biological impact in combination with star-like MNPs were discussed.

## MATERIALS AND METHODS

**Materials.** Iron(III) 2,4-pentanedionate ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ —99.7%) was provided by Thermo Fisher Scientific; oleic acid (OA—90%), dibenzyl ether (BE—98%), hexadecane (sHD—99%), ETI (60% aqueous solution), tetrahydrofuran (THF—99.9%), and sodium hydroxide (97%, pellets) were purchased from Sigma-Aldrich, Poland; acetone (99.5%) and ethanol (96%) were supplied by StanLab, Poland, while  $\text{N}_2$  gas (99.999%) was bought from Linde, Poland. AA (99% Ph. Eur.) was purchased from Avantor, Poland.

**Synthesis of Magnetic Nanoparticles with Controlled Morphologies.** The preparation procedure of MNPs with different morphologies (star-like, cubic, and tetradecahedron) was divided into two distinct parts since their protocols differ from each other. The entire fabrication of MNPs was based on the procedure previously described by us that utilizes a rapid hot-injection process.<sup>15</sup>

**Star-like and Cubic MNPs via Cosolvent Rapid Hot Injection.** In the shaping of both morphologies, the starting quantities of chemicals were as follows: 7.6 mL of BE, 1.5 mL of OA (4.3 mmol), and 3 mL of sHD (10 mmol). All manipulations with chemicals were performed in an acrylic glovebox (GS Glove Box Systemtechnik GMBH, P10R250T2, Germany) under a protective  $\text{N}_2$  atmosphere (automated pressure control). BE, OA, and sHD were transferred to a three-neck flask protected with stoppers and mounted on a synthetic rack. The flask ports were equipped with a  $\text{N}_2$  gas flow inlet, a laboratory mechanical stirrer with a digital controller (CAT R50D), a glass reflux column, a Pt-100 temperature sensor coupled with a temperature controller (LTR 2500, Juchheim, Germany) with a heating mantle, as well as a substrate syringe injection port. The mixture of the solvent and OA was first degassed (1 h at room temperature) and fast-heated to 290 °C (around 20 °C/min) under constant stirring and inert gas flow. To shape the morphology, different amounts of the iron complex were used, namely, 2.25 mmol  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  for star-like and 2 mmol  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  for cubic MNPs. In each case, the iron precursor was dissolved in 2.4 mL of BE, transferred to the syringe, and rapidly injected into the hot reaction mixture. The mixture was kept for an additional 30 min at 290 °C and was further cooled to room temperature. The black product was separated and purified from the mother liquor via high-speed centrifugation and washing cycles using acetone and ethanol solvents. Finally, the MNPs were suspended in an ethanol solution. The concentration of purified nanoparticles was estimated using the microbalance technique (star-like 6.9 mg/mL; cubic 4.6 mg/mL).

**Tetradecahedron MNPs via Rapid Hot Injection.** The preparation of the third morphology, tetradecahedron particles, involved the elimination of the sHD cosolvent from the reaction mixture and different quantities of chemicals were used. In brief, 7.6 mL of BE was mixed in a three-neck glass flask with 1.7 mL of OA (4.85 mmol), degassed under the same conditions, and heated to 290 °C. Subsequently, the iron precursor (2 mmol) dissolved in BE (2.4 mL) was injected with constant stirring. The reaction mixture was kept for 30 min at 290 °C under inert gas flow. The obtained product was purified in the same way as in the case of star-like and cubic MNPs. The concentration of the MNPs in the stock was 5.5 mg/mL.

**Surface Phosphonation of Morphologically Different MNPs.** The ligand exchange procedure was in principle based on the acid–base reaction protocol proposed by Bogdan *et al.*<sup>30</sup> with a small modification that relied on the use of ETI instead of HCl which also served as a hydrophilic ligand. In order to anchor the ETI ligand to the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  surface, 5 mL of ETI acid (pH 4.0) was mixed with 50 mg of MNPs and sonicated in an ultrasound bath for 1 h. After that, MNPs were washed three times with 10 mL portions of THF, acetone, and ethanol (one after another). The whole ligand grafting was repeated three times to maximize oleic ligand exchange, increasing the density of ETI moieties and changing the character of MNPs from hydrophobic to hydrophilic.

**Nanoparticle Characterization.** Structural properties of the MNPs were evaluated by employing the X-ray powder diffraction (XRD) technique with a Bruker D8 ADVANCE diffractometer using an X-ray source Cu lamp (1.54060 Å). The  $K_{\alpha 2}$  line was filtered using a Ni filter, and the resulting patterns were background-corrected in Diffrac.Eva software (V.2). The diffraction patterns were measured covering the  $2\theta$  range between 15 and 65° with a step of 0.02° and an integration time of 0.8 s. The average crystallite size was evaluated using Scherrer's formula<sup>31</sup>

$$D = \frac{k\lambda}{\cos \theta \sqrt{\beta^2 - \beta_0^2}} \quad (1)$$

where  $k$  is constant usually equal to 0.89,  $\lambda$  is an X-ray wavelength of 1.54060 Å,  $\beta_0$  depicts the apparatus broadening (0.05 for D8 ADVANCE),  $\beta$  is the full width at half-maximum, and  $\theta$  represents the angle of the position of the peak maximum taken for the analysis. Rietveld refinement was performed using the fundamental parameter approach implemented in MAUD software<sup>32</sup> utilizing the reference standard card no. 2300616 from the Crystallography Open Database.<sup>33</sup> For the calculations, data without any corrections was taken. A five-polynomial coefficient background, sample displacement, unit-cell parameters, scale factor, microstructure Popa rules,<sup>34</sup> and thermal displacement factors were sequentially refined.

The concentration of MNPs in the stock suspension or modified particles was determined using a Radwag MYA 5.4Y microbalance by evaporation of the solvent and scaling crucibles (three individual repetitions).

The particle size, morphology, and element mapping were analyzed using a Tecnai Osiris X-FEG transmission electron microscope (FEI, NL) operating at 200 kV using various options such as high-resolution TEM (HRTEM), high-angle annular dark-field scanning TEM (HAADF-STEM), energy-dispersive X-ray (EDX) analysis for element mapping (mainly the presence and location of phosphorus), as well as Fourier transform to identify the specific crystallographic planes exposed by MNPs using DigitalMicrograph (v. 1.85.1535) software.

Fourier-transform infrared spectroscopy utilizing an attenuated total reflection accessory (FTIR-ATR) was used to check the effect of the MNPs' surface functionalization with a Thermo Scientific Nicolet iZ10 FTIR spectrometer equipped with Smart Orbit Diamond ATR. Sample preparation involved evaporation of a part of the surface-grafted MNPs at an elevated temperature (50 °C) and direct placement of dry and ground powder on the diamond surface covering a hot spot area. Spectra were collected at room temperature and in the spectral range of 4000–500  $\text{cm}^{-1}$ . As reference samples, sodium etidronate powder and nonmodified  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles (cubic) were taken.

Measurements of the heating ability of MNPs under the action of external, noncontact stimulations, that is, AMF and NIR (808 nm) were performed using a magnetic field generator G2 D5 Series Multimode 1500 W driver (NanoScale Biomagnetics, Spain) equipped with CAL1 accessory for the calorimetric measurement and S32 coil protected with on-site designed thermal isolation allowing the use of optical fiber (400  $\mu\text{m}$ , multimode, CNI China) to deliver NIR laser light, as well as an FLIR T660 thermovision camera (FLIR, USA) for a fast, reliable, and direct measure of sample temperature. The

energy conversion experiments were conducted using magnetic field frequencies that covered the range of 302–756 kHz and field intensities between 14.4 and 28.1 kA/m. The 808 nm laser powers were in the range of 300–900 mW. The 808 nm continuous laser module (CNI, China) was calibrated with an Ophir StarLite laser power meter using beam track thermal sensor 10 A-PPS (measurable laser powers from 20 mW up to 10 W, Ophir, Israel). Data were recorded and processed using ResearchIR and Origin Pro 2019 software. The measurements of the temperature effect on biological samples were done on the same setup without any further modification.

**Cell Lines and Culture Conditions.** The following cell lines were used, namely, HMEC (A10565, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), MDA-MB-231 human breast cancer cells (ATCC HTB-26, ATCC, Manassas, VA, USA), and THP-1 human monocytic leukemia cells (88081201, ECACC, Public Health England, Porton Down, Salisbury, UK). HMECs were cultured in a HuMEC-ready medium (12752010, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) that is a mixture of HuMEC basal serum-free medium (12753018) with a HuMEC supplement kit (12755013, epidermal growth factor, hydrocortisone, isoproterenol, transferrin, insulin, and bovine pituitary extract). MDA-MB-231 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 10% FBS and an antimycotic/antibacterial mix (100 U/mL penicillin, 0.1 mg/mL streptomycin, and 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  amphotericin B, Corning, Tewksbury, MA, USA). THP-1 cells were cultured in a RPMI-1640 medium supplemented with 10% FBS and antimycotic/antibacterial mix (100 U/mL penicillin, 0.1 mg/mL streptomycin, and 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  amphotericin B, Corning, Tewksbury, MA, USA). All cell lines were maintained at 37 °C in the presence of 5%  $\text{CO}_2$ . Adherent cells were routinely passaged using a trypsin/EDTA solution. Adherent ( $1 \times 10^4/\text{cm}^2$ ) and suspension ( $1 \times 10^6/\text{mL}$ ) cells were treated with or without 100  $\mu\text{M}$  AA for 1 h and then cultured in the presence of 0.5 or 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  star-like nanoparticles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs) for 1 h or 24 h.

**Metabolic Activity.** HMEC and MDA-MB-231 cells were treated with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h, and then metabolic activity was assayed using the MTT test as previously reported.<sup>35</sup> Metabolic activity under control conditions (CTR) is considered as 100%.

**Apoptotic and Necrotic Parameters.** THP-1 cells were treated with 0.5 or 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h and HMEC, and MDA-MB-231 cells were treated with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h; then, a marker of apoptotic cell death (phosphatidylserine externalization, Annexin V staining) and a marker of necrotic cell death (cell membrane permeabilization, 7-AAD staining) were analyzed. Flow cytometry (Muse Cell Analyzer, Luminex Corporation, Austin, TX, USA) and Muse annexin V and Dead cell assay kits were used. Four cell subpopulations were revealed, namely, (1) live cells: annexin V (–) and 7-AAD (–), (2) early apoptotic cells: annexin V (+) and 7-AAD (–), (3) late apoptotic/dead (necrotic) cells: annexin V (+) and 7-AAD (+), and (4) necrotic cells: annexin V (–) and 7-AAD (+) (%). Representative dot plots are presented.

**Cell Cycle.** THP-1 cells were treated with 0.5 or 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h, and HMEC and MDA-MB-231 cells were treated with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h; then, DNA-based analysis of the cell cycle was performed using a flow cytometry Muse Cell Analyzer and Muse Cell Cycle Assay

Kit according to the manufacturer's instructions (Luminex Corporation, Austin, TX, USA).<sup>36</sup>

**Uptake of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs.** THP-1 cells were treated with 0.5 or 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h, and HMEC and MDA-MB-231 cells were treated with 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h; then, the uptake of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs was assessed as a change in cellular granularity using imaging flow cytometry (Amnis FlowSight imaging flow cytometer and IDEAS software version 6.2.187.0, Luminex Corporation, Austin, TX, USA). In brief, prior to the granularity analysis, cells were fixed using treatment with 70% ethanol overnight. Two parameters were applied, namely, contrast (channel 1, bright field) versus aspect ratio intensity (channel 1, bright field). Representative dot plots and microphotographs are presented.

**Intracellular pH.** Cells were treated with 0.5 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h, and then intracellular pH was assayed using pHrodo Green AM Intracellular pH Indicator (P35373, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) as comprehensively described elsewhere.<sup>37</sup> Intracellular alkalization is denoted as a decrease in fluorescent signals (relative fluorescence unit, RFU).

**Glutathione Redox Potential.** Cells were treated with 0.5 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h, and then glutathione redox potential (GSH/GSSG) was examined using a Premo Cellular Redox Sensor (roGFP-Grx1) (P36242, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) as comprehensively described elsewhere.<sup>36</sup> Glutathione redox potential is presented as a ratio of 400ex to 488ex.

**Lipid Peroxidation.** Cells were treated with 0.5 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h, and then lipid peroxidation was evaluated using a Click-iT lipid peroxidation imaging kit—Alexa Fluor 488 (C10446, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) as previously reported.<sup>36</sup> Lipid peroxidation is presented as RFU.

**Immunofluorescence.** Cells were treated with 0.5 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h, fixed, and immunostained as previously reported.<sup>38</sup> Cells were incubated with primary antibodies at 4 °C (anti-p21, 1:800, MA5-14949; anti-FOXO3A, 1:200, MA5-14932; anti-SOD1, 1:100, PAS-23245; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) overnight and then with a secondary antibody conjugated to Texas Red (1:1000, T2767, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) at room temperature for 1 h. Digital cell images were acquired using laser-based confocal imaging and an HCA system IN Cell Analyzer 6500 HS (Cytiva, Marlborough, MA, USA). Total protein levels of SOD1 and nuclear signals of p21 and FOXO3A were analyzed using IN Carta software (Cytiva, Marlborough, MA, USA) and are presented as RFUs.

**Interleukin Levels.** Immuno-biocompatibility of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs was assessed using ELISA-based determination of IL-6 (BMS213-2, IL-6 Human ELISA Kit, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and IL-8 levels (KHC0081, IL-8 Human ELISA Kit, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) according to the manufacturer's instructions. In brief, cells were treated with 0.5 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h and interleukin levels were then evaluated in cell culture supernatants. Interleukin levels are presented in pg/mL.

**Heat-Mediated Cell Viability.** Synergic temperature effects of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs on normal and cancer cell viability were analyzed using a Muse Cell Analyzer and Muse Count and Viability Kit according to the manufacturer's instructions (Luminex Corporation, Austin, TX, USA). Cells were treated

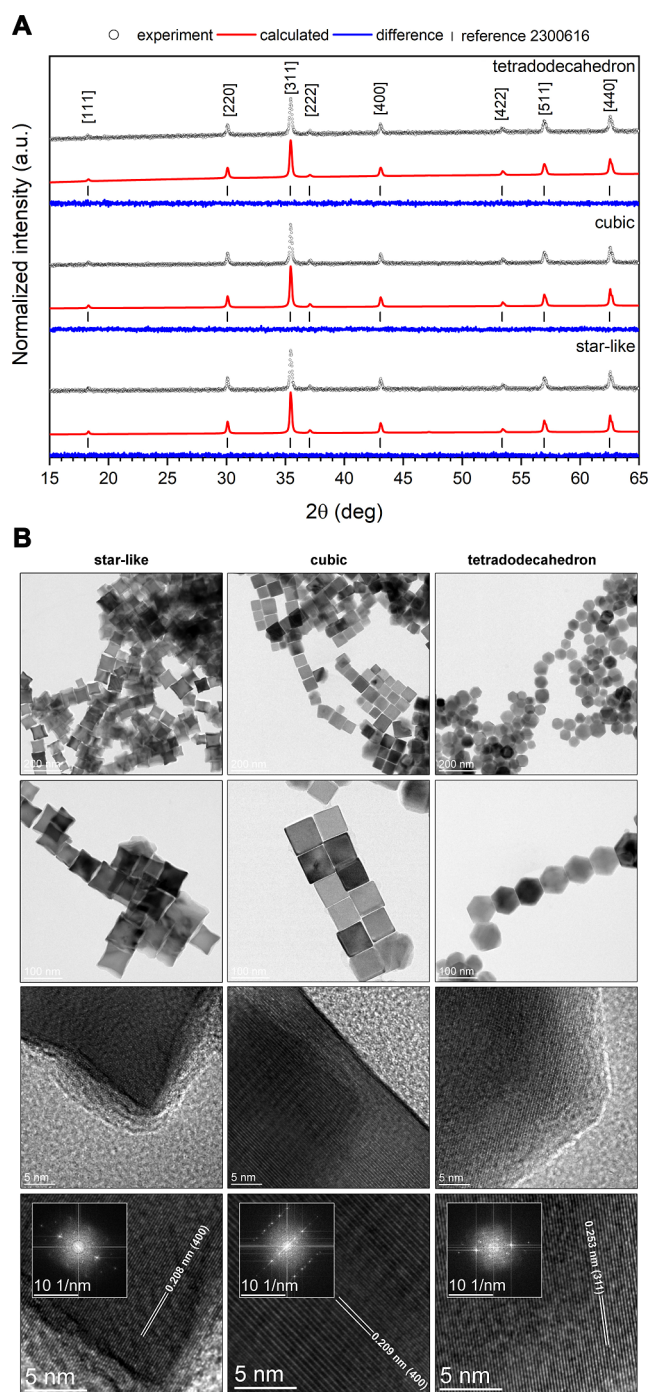
with 0.5 or 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 1 h and then subjected to AMF and NIR (808 nm) as described above, and cell viability was immediately assayed or examined after 3 h of postheating. Viability profiles (two subpopulations of live and membrane-damaged dead cells) were analyzed using dedicated software. Representative dot plots are shown.

**Statistical Analysis.** Data were calculated as the mean ± SD from at least three biological replicates. If applicable, box and whisker plots were also considered. Differences between control conditions (CTR) and treated samples (AA, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs, and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs + AA) were evaluated using one-way ANOVA and Dunnett's multiple-comparison test. Statistical significance was revealed using GraphPad Prism 5. *P*-values of less than 0.05 were considered significant.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Physicochemical Characterization of Materials. Structure and Morphology.** The structural properties of the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles of different shapes were evaluated using the XRD technique. Patterns were collected in the range of 15–65 2θ (see Figure 1A, black dots), whereas the phase identification was based on comparison with the reference standard from the Crystallography Open Database<sup>33</sup> card no. 2300616 representing cubic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (Figure 1A, black vertical lines). As one can see, all experimental patterns with indexed reflections fit very well with the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> standard for all MNP morphologies. Cell parameters were calculated by using Rietveld refinement and are gathered in Table 1. No significant differences were found between star-like, cubic, and tetradodecahedron particles, which show comparable unit-cell dimensions. A rough estimation of the average crystallite size was performed using the well-known Scherrer formula,<sup>31</sup> giving the values of 45, 49, and 57 nm for tetradodecahedral, cubic, and star-like nanoparticles, respectively. The results were further confronted with electron microscopy imaging.

TEM and HRTEM imaging were performed to study the morphology of MNPs and particle size and confirm the structural properties of the fabricated materials (Figure 1B). Imaging was performed on purified MNPs before surface functionalization with the ETI ligand (1-hydroxyethylidene-1,1-diphosphonate ligand). It was found that the applied synthetic protocols can be used for the preparation of star-like (Figure 1B, left panel), cubic (Figure 1B, middle panel), and tetradodecahedral (Figure 1B, right panel) morphologies. The mean particle size and its distribution were calculated using image analysis software. In the case of star-like particles, the size was evaluated in two ways: by measuring the diagonal between two vertices (58 nm ± 2 nm) as well as by joining the points at the half-edge opposite distance (50.8 nm ± 9.1 nm). The size of cubic MNPs was 46.6 nm ± 5.3 nm, while for the tetradodecahedron, it was 47.7 nm ± 4 nm. It is worth noting that cubic and polyhedron MNPs are almost within the same size range (45–50 nm), while the star-like particles are elongated (unless measured by the second approach). The resulting values are comparable to those from the diffraction peak broadening, meaning that the particles are composed of individual crystallites. Values of the size standard deviation for all prepared morphologies point to a relatively narrow size distribution (particle monodispersity) that is treated as an asset that guarantees predictability and repeatability of the physicochemical properties. The analysis of the HRTEM images of shape-tailored MNPs shows regular pattern-covered particles, which means that they tend to expose well-defined



**Figure 1.** Rietveld refinement results of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  star-like, cubic, and tetradodecahedron-shaped nanoparticles along with calculated patterns and differences between both patterns (A). TEM and HRTEM imaging of the star-like, cubic, and tetradodecahedron MNPs (from top to bottom). The bottom panel shows the results of the FFT transformation performed on HRTEM to identify crystallographic planes and evaluate the  $d$ -spacing distance (B).

crystallographic planes although the level of crystallinity is relatively high. The fast Fourier transform (FFT) analysis of the HRTEM images allowed for the identification of crystallographic planes and the measurement of interplanar distances of MNPs. Planes (400) for star-like, (400) for cubic, and (311) for tetradodecahedron MNPs were identified. The measured interplanar distances are consistent with the

**Table 1.** Crystal Data Containing Unit-Cell Parameters, Cell Volume, and Refinement Factors for the Differently Shaped  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Nanoparticles. Reference Standard for the Refinement Taken from Crystallography Open Database No. 2300616

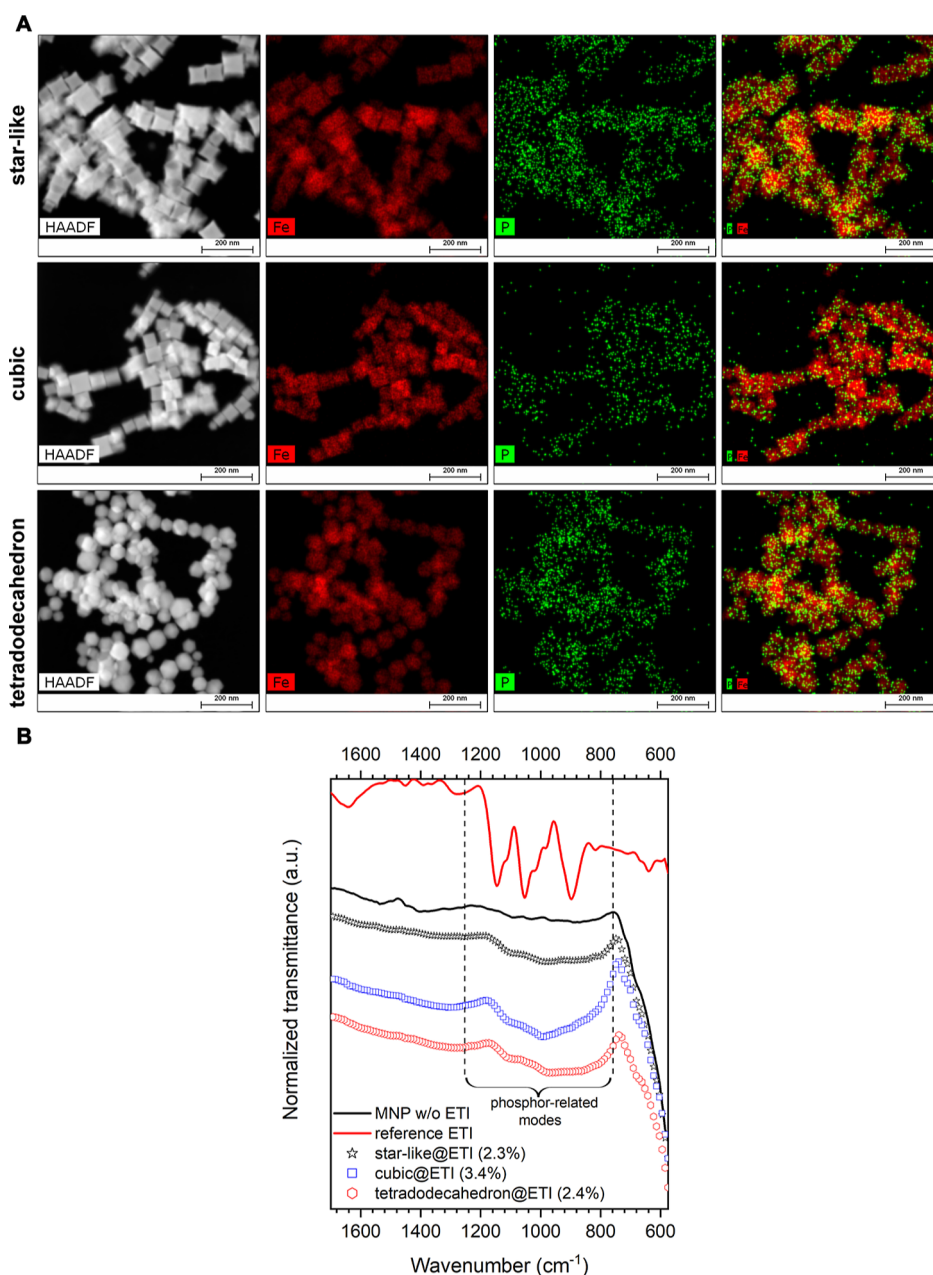
		Crystal Data		
chemical formula		$\text{Fe}_3\text{O}_4$		
morphology	star-like	cubic	tetradodecahedron	
$M_r$		241.068		
crystal system, space group		cubic, $Fd\bar{3}m$		
$a_r$ (Å)	8.394(2)	8.3936(2)	8.395(2)	
$V$ (Å <sup>3</sup> )	591.4(4)	591.35(4)	591.7(4)	
$Z$		8		
radiation type		Cu $K\alpha$		
		Refinement		
$R$	0.0203	0.0179	0.0192	
w $R$	0.0254	0.0223	0.0241	

reference  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ - $d$ -spacings and can be treated as an additional confirmation of the structure of MNPs at the nanoscale level.

All MNPs were surface-modified using the ETI ligand to protect the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  surface from contact with biological media and to limit magnetic interparticle interactions between particles and other important features discussed earlier through direct grafting of strongly chelating molecules.<sup>39–41</sup>

In that case, HAADF and EDX techniques were utilized to check the effect of ETI anchoring on the surface of MNPs by tracking the presence of phosphorus by element mapping (Figure 2A). The amount of the ETI ligand grafted to the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  surface was calculated to be 2.3, 3.4, and 2.4% for star-like, cubic, and tetradodecahedron particles, respectively. In addition to EDX analysis, the presence of ETI was confirmed by FTIR-ATR spectroscopy, as shown in Figure 2B. As a reference, sodium etidronate salt was used to reveal all characteristic vibration modes and their positions. Non-modified purified  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sample after the hot-injection process (cubic) served as a standard for the identification of vibrations that are attributed to only that compound. The FTIR-ATR spectra of the ETI reference show typical bands in the most interesting spectral range of 1300–800  $\text{cm}^{-1}$  that is predominantly occupied by vibration modes of different phosphor-containing structural units (O–P–O, P–OH, P–O, P=O, etc.).<sup>29,42</sup> However, the spectra of the bare  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs present a characteristic shoulder band with a maximum of around 591  $\text{cm}^{-1}$  that is attributed to the vibrations of the iron cation located at the tetrahedral site.<sup>29</sup> Other very low-intensity peaks are related to the presence of residual organics. In the case of star-like, cubic, and tetradodecahedral MNPs, the IR spectra show mutual features. The bands that are associated with phosphonic functional groups have much lower intensities and are not separated anymore. This behavior suggests that they are strongly coordinated to the surface of MNPs.<sup>43</sup>

The ability of different-shaped MNP colloidal suspensions to generate heat by contactless stimulation with an AMF and NIR laser (808 nm) was measured as a function of field frequency, field intensity (302–756 kHz, 14.4–28.1 kA/m), and laser output power (300–900 mW). Heating curves that show the temperature time evolution for star-like, cubic, and tetradodecahedron particles as presented in Figure 3A. There is clear evidence of the effect of the applied frequency field on sample heating within the tested range. All MNPs have shown that



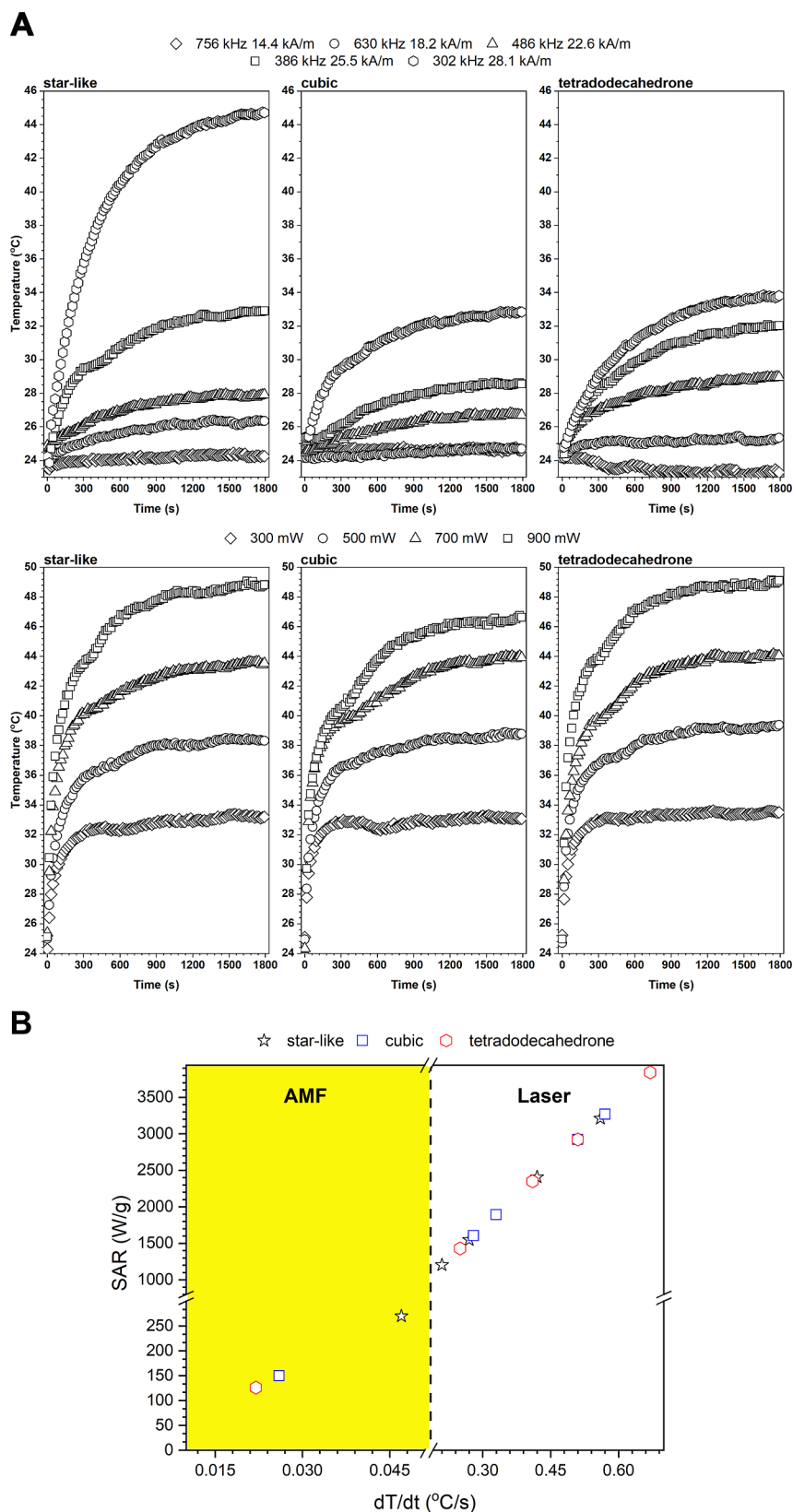
**Figure 2.** HAADF imaging and EDX mapping of the ETI surface-functionalized MNPs with different morphologies (A). FTIR-ATR spectra of ETI surface-modified  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles of different shapes. The black curve refers to the typical  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  free of the ligand surface before modification. The red line corresponds to the spectra of sodium etidronate treated as a reference. The percentages represent the amount of ETI adsorbed on the surface after the EDX analysis (B). Noncontact AMF and NIR energy conversion on MNPs.

increasing the field frequency drastically reduces the conversion ability of MNPs. In fact, this is expected since, at certain frequencies, reorientation of the MNP's magnetic moments will no longer follow with too fast changes in the magnetic field. The most optimal frequency for magnetic colloids was 302 kHz at 28.1 kA/m (352 Oe). The highest recorded temperature ( $T_{\text{max}}$ ) for the star-like morphology was 45 °C ( $\Delta T=21$  °C), whereas cubic and tetradodecahedron nanoparticles were able to heat up to 33 and 34 °C ( $\Delta T=9$  and 10 °C) at the same concentration of particles (1 mg/mL of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). Interestingly, the values of the  $dT/dt$  being a product of linear fit for the very first seconds of temperature rise are as follows: 0.047, 0.026, and 0.022 °C/s for star-like, cubic, and tetradodecahedral MNPs. The difference in  $dT/dt$  implies that

the magnetic performance of the nanoparticles depends on shape anisotropy.

Upon the action of the NIR radiation (Figure 3A, bottom panels), it was observed that the increase in laser power results in a progressive increase in  $T_{\text{max}}$  49 °C ( $\Delta T=25$  °C), 47 °C ( $\Delta T=23$  °C), and 49 °C ( $\Delta T=25$  °C) for star-like, cubic, and tetradodecahedral particles at 900 mW accompanied by much faster  $dT/dt$  being 0.56, 0.57, and 0.67 °C/s, respectively. Moreover, compared to AMF, the  $T_{\text{max}}$  is achieved within a significantly shorter period of time. Therefore, it can be concluded that the heating of MNPs through NIR conversion is far more effective than AMF.

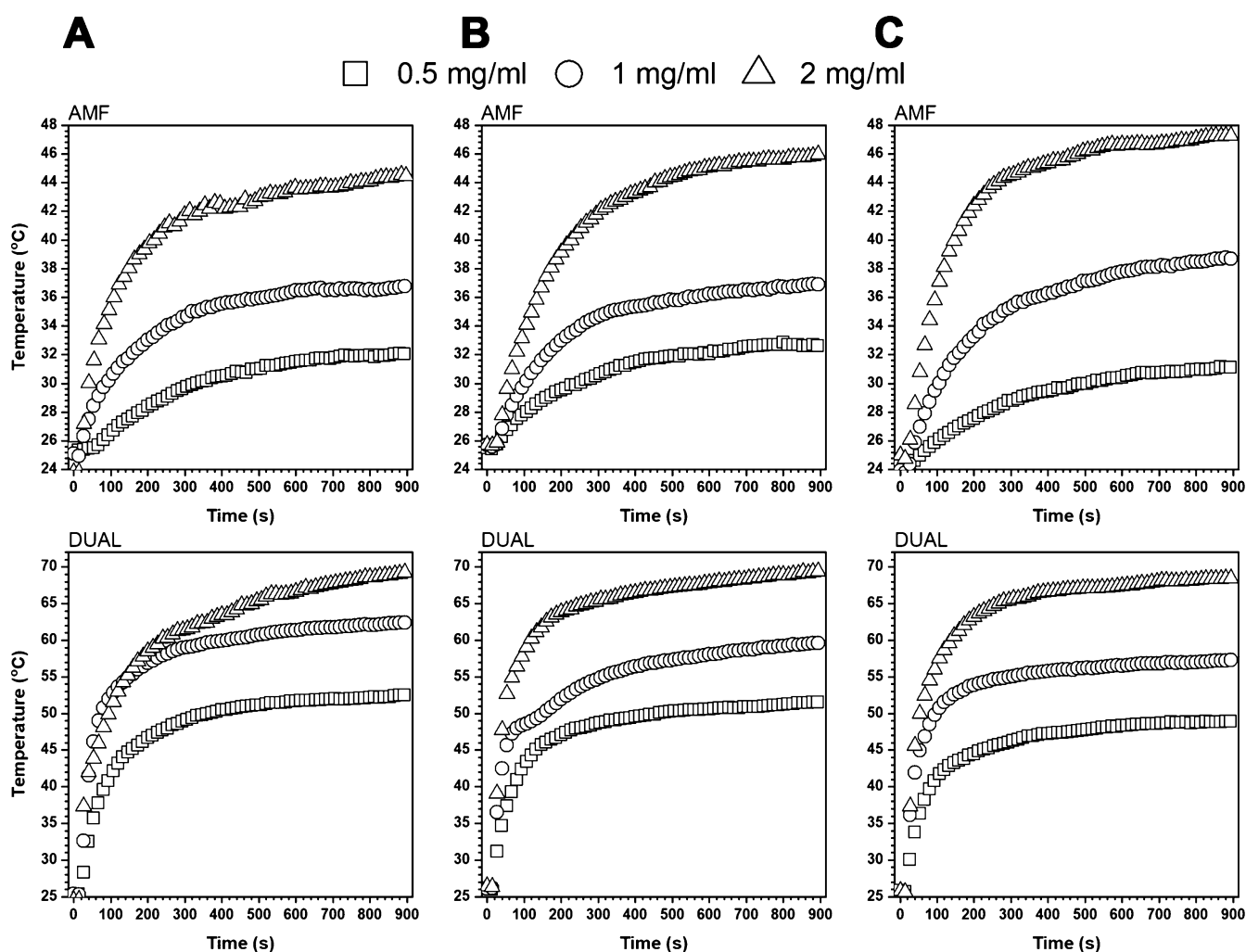




**Figure 3.** Comparison of the heating curves of MNP thermoseeds with different morphologies under the action of AMF and NIR radiation (808 nm) as a function of the parameters of external stimuli (A). Dependence of SAR values vs  $dT/dt$  for the AMF and laser stimulation of star-like, cubic, and tetradodecahedral nanoparticles. The laser part includes laser power dependence of SAR and  $dT/dt$  (B).

The MNPs' specific absorption rate (SAR) being the measure of heat generation effectiveness<sup>44</sup> was evaluated for AMF and NIR stimulations using the following expression

$$\text{SAR} = \frac{C}{m} \frac{dT}{dt} \quad (2)$$



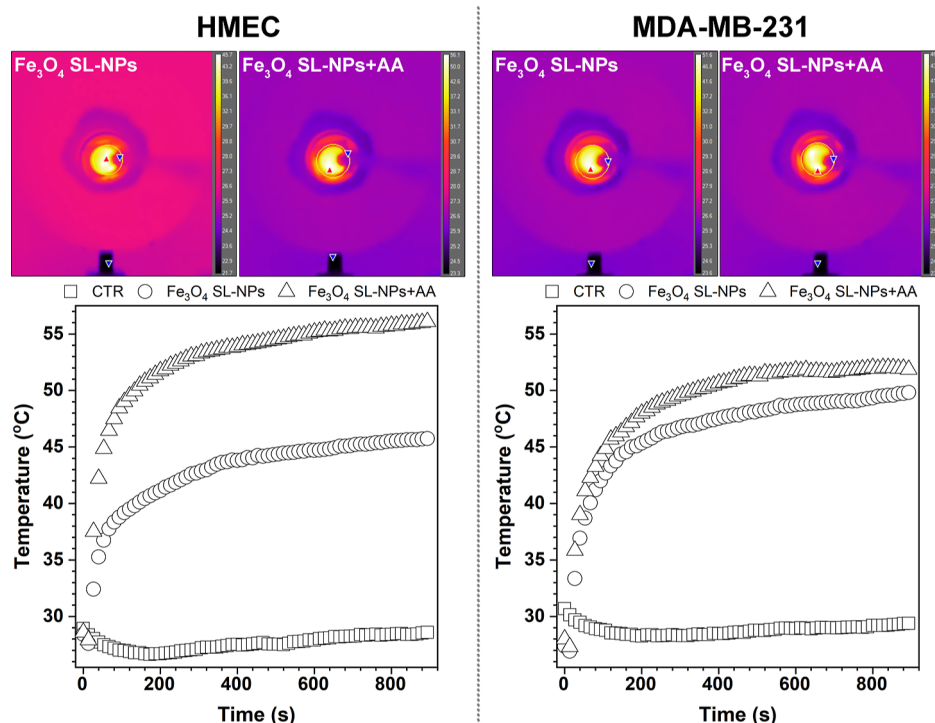
**Figure 4.** Heating effects induced by the AMF and synergistic action of AMF and NIR (dual-mode) of the star-like MNPs in different biologically relevant solutions (A) DMEM, (B) DMEM/serum, and (C) DMEM/serum/AA as a function of the concentration of MNPs (0.5, 1, and 2 mg/mL), respectively.

where  $C$  means the specific heat capacity of the medium ( $C_{\text{H}_2\text{O}} = 4.185 \text{ J/g } ^\circ\text{C}$ ),  $m$  relates to the total iron content in a given dispersion (g), and  $dT/dt$  is the slope of the curve with time temperature dependency fitted to the linear model for the first tens of seconds of measurement (to limit the effect of heat exchange).

The result of SAR calculations for both simulations is shown in Figure 3B as a dependence of  $dT/dt$ , output laser power, and different stimulations. It was noticed that the SAR for the AMF action changes with morphology. For star-like particles, the SAR is 270 W/g, while for cubic and tetradodecahedron MNPs, the SAR is rather comparable and equals 149 and 126 W/g. The lowest SAR value for tetradodecahedron particles followed the shape trend described by Gavilán<sup>4</sup> ( $\text{SAR}_{\text{nanocubes}} > \text{SAR}_{\text{nanoflowers}} > \text{SAR}_{\text{nanooctahedra}} > \text{SAR}_{\text{truncated}} > \text{SAR}_{\text{nanorods}}$ ). Nemati and co-workers<sup>24</sup> studied the effect of the increased particle shape anisotropy of nano-octopod magnetic particles in detail. In particular, the most interesting question was how SAR depends on star-like particle size in connection with field intensity and suspending medium viscosity. The effective concentration of star-shaped MNPs, in their work, was 1.5 mg/mL of [Fe], while the particle size was in the range of 17–47 nm. The applied field parameters were 310 kHz and the field

intensity was between 200 and 800 Oe (15.91 and 63.66 kA/m). For the best working AMF settings (310 kHz and 63.66 kA/m), the maximum SAR was below 500 W/g for the largest star-like particles (47 nm). In comparison to our experiment, we used a similar field frequency (302 kHz) with a maximum field intensity achievable for the CAL1 coil in our setup being 28.15 kA/m (352 Oe). The iron concentration was 0.73 mg/mL, and the particle size was within a comparable range. The SAR value for the closest AMF parameters (310 kHz, 400 Oe) was below 200 W/g, while in our case, the SAR is 270 W/g. By taking into account that the SAR depends on the field intensity, we can anticipate that star-like particles prepared by our approach will achieve higher SAR values upon further increase of field intensity.

NIR stimulation (808 nm) of MNPs was performed using laser output powers in the range of 300–900 mW. The calculated SAR values for all fabricated materials show a linear dependence on the laser power. The SAR increased from 1200 to 3800 W/g with power as anticipated.<sup>45</sup> More importantly, the speed of particle heating was an order of magnitude higher than that of AMF (0.21–0.67  $^\circ\text{C/s}$ ). This means that heat induction using NIR radiation on these types of MNPs is extremely effective. It is worth noting that the overall performance of morphologically different MNPs is comparable



**Figure 5.** Heating curves obtained under synergy of the AMF and 808 nm NIR laser on HMECs and the MDA-MB-231 cell line with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs. The effect of AA is also presented.

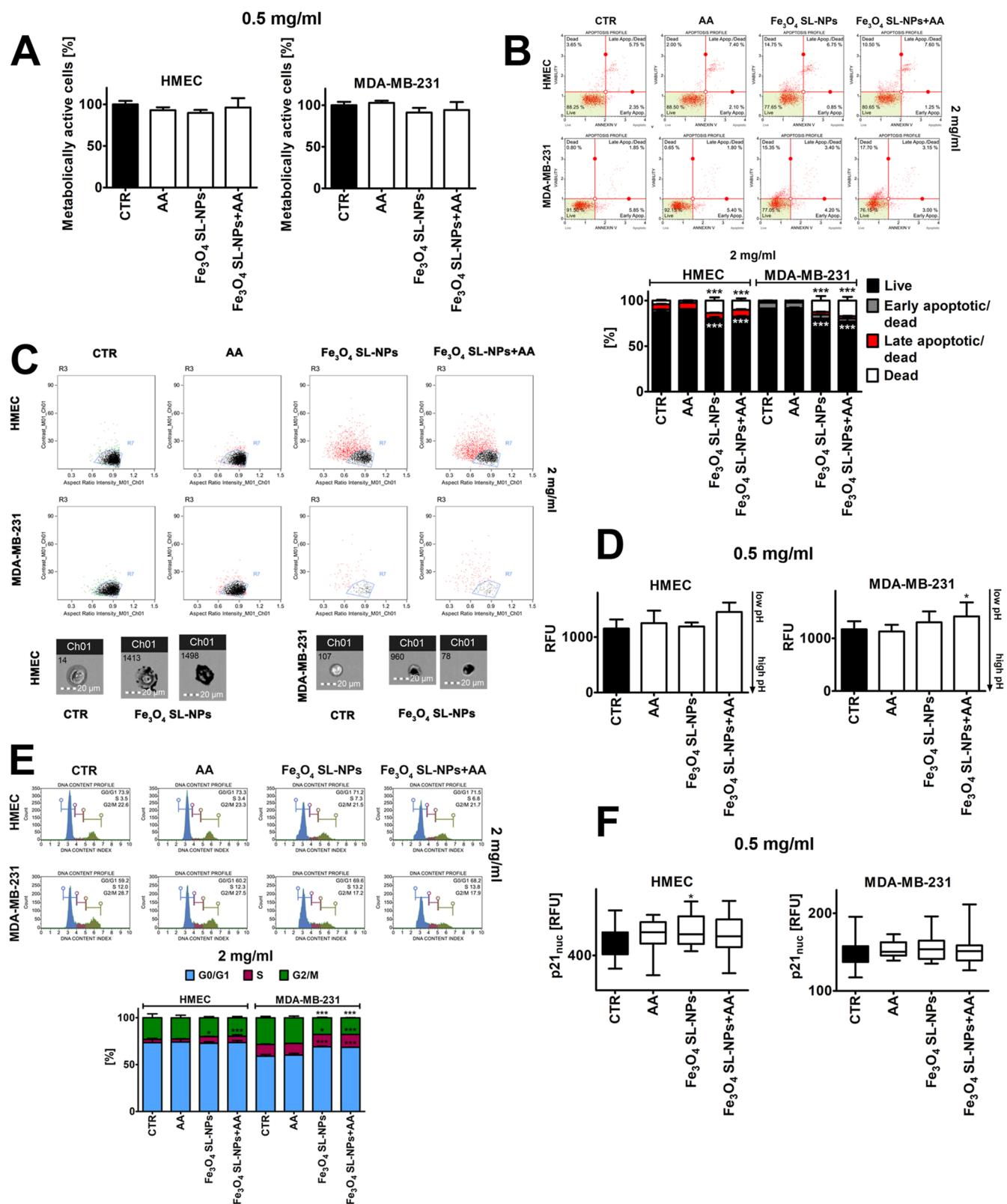
since the particle size is very close (40–60 nm). We did not see a strong shape dependence, but the behavior of star-like particles might reflect the higher ability to light scattering that can be responsible for a slightly lower absorption rate. Therefore, for further studies, we have chosen the star-like particles since their heating ability was the best under the action of AMF together with the highest achieved  $T_{\text{max}}$  value, while upon laser stimulation, SAR and  $T_{\text{max}}$  are close to each morphology.

**Dual-Mode Action of AMF and NIR on Star-like MNPs in Different Media.** Afterward, the ability of star-like nanoparticles to heat induction upon the so-called dual-mode or synergic action of AMF and NIR was experimentally tested as a function of the concentration of MNPs and using different media, that is, DMEM, DMEM with serum, as well as DMEM with serum and AA in the S32 coil (without insulation, 308 kHz, 27.37 kA/m) with comparable field parameters to the CAL1 coil (Figure 4), allowing for placement of the biological sample. As can be seen, indeed, the medium itself has some effect on the temperature characteristic of the star-like MNPs. We believe that this might stem from a viscosity change of the suspension medium and/or other complex instabilities that affect the performance of MNPs.<sup>7,24,46</sup>

Thus, an increase in the particle concentration will be necessary. Also, since the S32 coil is not insulated, like the calorimetric coil, the heat exchange with the environment cannot be overestimated, and hence, the increase in MNP concentration is important to compensate for that as well. The addition of cell serum and other ingredients such as AA to DMEM with MNPs did not change their behavior. In the case of dual-mode action of AMF and NIR, it is evident that even at low MNP doses, relevant  $T_{\text{max}}$  can be achieved for biological applications. For the studies of the biological response, the star-like particles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs) were chosen with a

concentration of 2 mg/mL (approximately 1.5 mg/mL of iron content) due to their best performance. This has been done on purpose since it is a well-known fact that the internalization of MNPs in cells can result in a decrease in the heating performance of MNPs due to changes in relaxation dynamics caused mainly by intracellular agglomeration.<sup>47</sup>

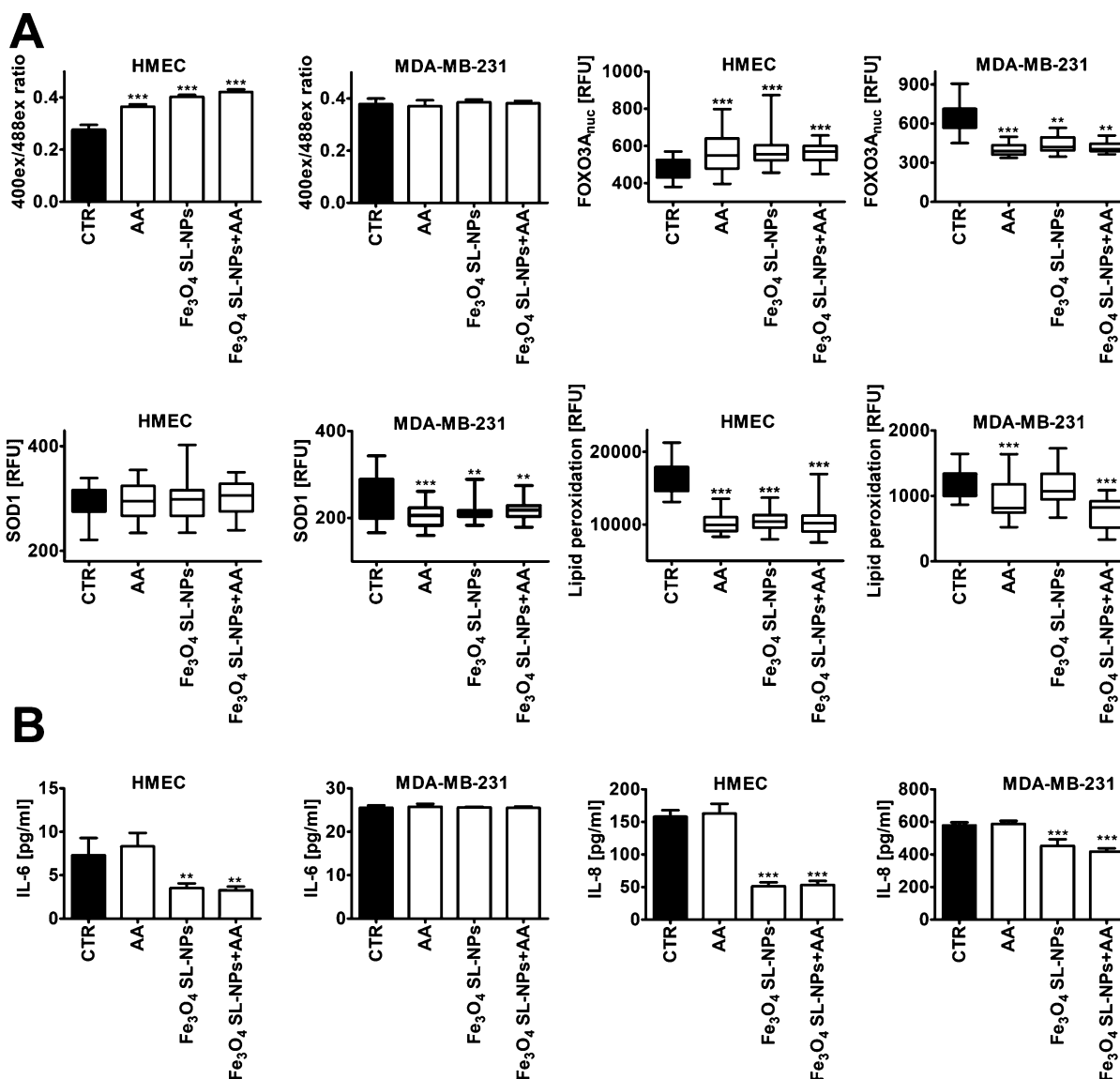
**$\text{Fe}_3\text{O}_4$  Star-like NP-Mediated Responses in Normal and Cancer Cells. Necrosis and Cell Cycle Progression in Normal and Cancer Cells.** It is widely accepted that the heat-mediated anticancer action of iron oxide NPs requires the use of relatively high concentrations of nanoparticles, such as 1 or 2 mg/mL.<sup>48,49</sup> On the other hand, iron oxide NP biocompatibility is commonly assessed when iron oxide NPs are used at no heat-promoting concentrations (up to 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).<sup>50,51</sup> Thus, to document the effects of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  star-like nanoparticles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs) on normal (HMECs) and cancer cells (MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells and THP-1 human monocytic leukemia cells), two relatively high concentrations of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs were used, namely, 0.5 and 2 mg/mL. Moreover, as AA may accelerate synergic temperature effects of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs in cellular systems in vitro (Figures 5 and S1), the action of 100  $\mu\text{M}$  AA pretreatment for 1 h was also considered. The concentration of AA was selected on the basis of literature data.<sup>52</sup> As we did not want to induce AA-mediated cell death in control conditions without magnetic hyperthermia-based cancer cell killing, a high physiological concentration of AA was used, namely, 100  $\mu\text{M}$ .<sup>52</sup> Stimulation with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h did not significantly affect the metabolic activity of normal HMECs and MDA-MB-231 breast cancer cells as judged by MTT-based results (Figure 6A). The 100  $\mu\text{M}$  AA did not modulate the response to 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure 6A).



**Figure 6.** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NP-mediated changes in metabolic activity (A), apoptotic and necrotic parameters (B), uptake (C), intracellular pH (D), cell cycle progression (E), and the levels of cell cycle inhibitor p21 in HMECs and MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. Cells were treated with 0.5 or 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h. The effect of 100 μM AA pretreatment for 1 h was also considered. (A) Metabolic activity was assessed using the MTT test. Metabolic activity under control conditions (CTR) is considered as 100%. (B) Dual staining for apoptosis (annexin V staining) and necrosis (7-AAD staining) evaluation. Flow cytometry and a dedicated kit were used. Representative dot plots are shown. (C) Uptake analysis using imaging flow cytometry and granularity test. Representative dot plots and microphotographs are presented. In a single cell population (R3), cells that did not take up Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs are denoted as black dots (R7), whereas cells that did take up Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs are indicated as red dots. The basal level of granularity in control conditions (CTR) is depicted as green dots. (D) Intracellular pH was analyzed using a dedicated kit

Figure 6. continued

and fluorescence microplate reader. Data are presented as RFUs. (E) DNA-based cell cycle analysis using the dedicated kit and flow cytometry. Representative histograms are shown. (F) The analysis of nuclear levels of p21 was conducted using immunostaining and imaging cytometry. Data are presented as RFUs. Bars indicate SD or box and whisker plots are shown,  $n = 3$ ,  $***p < 0.001$ ,  $*p < 0.05$  compared to control (CTR) (ANOVA and Dunnett's a posteriori test). CTR, untreated control; AA, 1 h treatment with  $100 \mu\text{M}$  AA;  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs, 24 h treatment with 0.5 or 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (as indicated);  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs + AA, 1 h pretreatment with  $100 \mu\text{M}$  AA and then 24 h treatment with 0.5 or 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (as indicated).



**Figure 7.**  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NP-mediated antioxidative (A) and anti-inflammatory (B) responses in HMECs and MDA-MB-231 breast cancer cells. Cells were treated with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs for 24 h. The effect of  $100 \mu\text{M}$  AA pretreatment for 1 h was also considered. (A) From left to right: GSH/GSSG redox potential, FOXO3A activation, SOD1 levels, and lipid peroxidation. Intracellular redox state as the glutathione redox potential was analyzed using a roGFP-Grx1 redox sensor and fluorescence microplate reader. Data are presented as a ratio of 400ex to 488 ex. FOXO3A activation (immunostaining of nuclear levels), and SOD1 pools (dedicated immunostaining) were revealed using imaging cytometry. Data are presented as RFUs. Lipid peroxidation was studied using a dedicated kit and imaging cytometry. Data are presented as RFUs. (B) ELISA-based analysis of the levels of IL-6 and IL-8 in cell supernatants. Dedicated ELISA kits were used. Interleukin levels are presented in pg/mL. Bars indicate SD, or box and whisker plots are shown,  $n = 3$ ,  $***p < 0.001$ ,  $**p < 0.01$  compared to control (CTR) (ANOVA and Dunnett's a posteriori test). CTR, untreated control; AA, 1 h treatment with  $100 \mu\text{M}$  AA;  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs, 24 h treatment with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs;  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs + AA, 1 h pretreatment with  $100 \mu\text{M}$  AA and then 24 h treatment with 0.5  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs.

Treatment with  $100 \mu\text{M}$  AA alone did not affect the metabolic activity of normal and cancer cells (Figure 6A). Treatment with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs also did not promote apoptosis or necrosis in THP-1 monocytic cells as

judged by flow cytometry and dual staining of annexin V (apoptotic cell death marker) and 7-AAD (necrotic cell death marker) (Figure S2A).  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NP-mediated cytotoxicity was observed when  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs were used at a

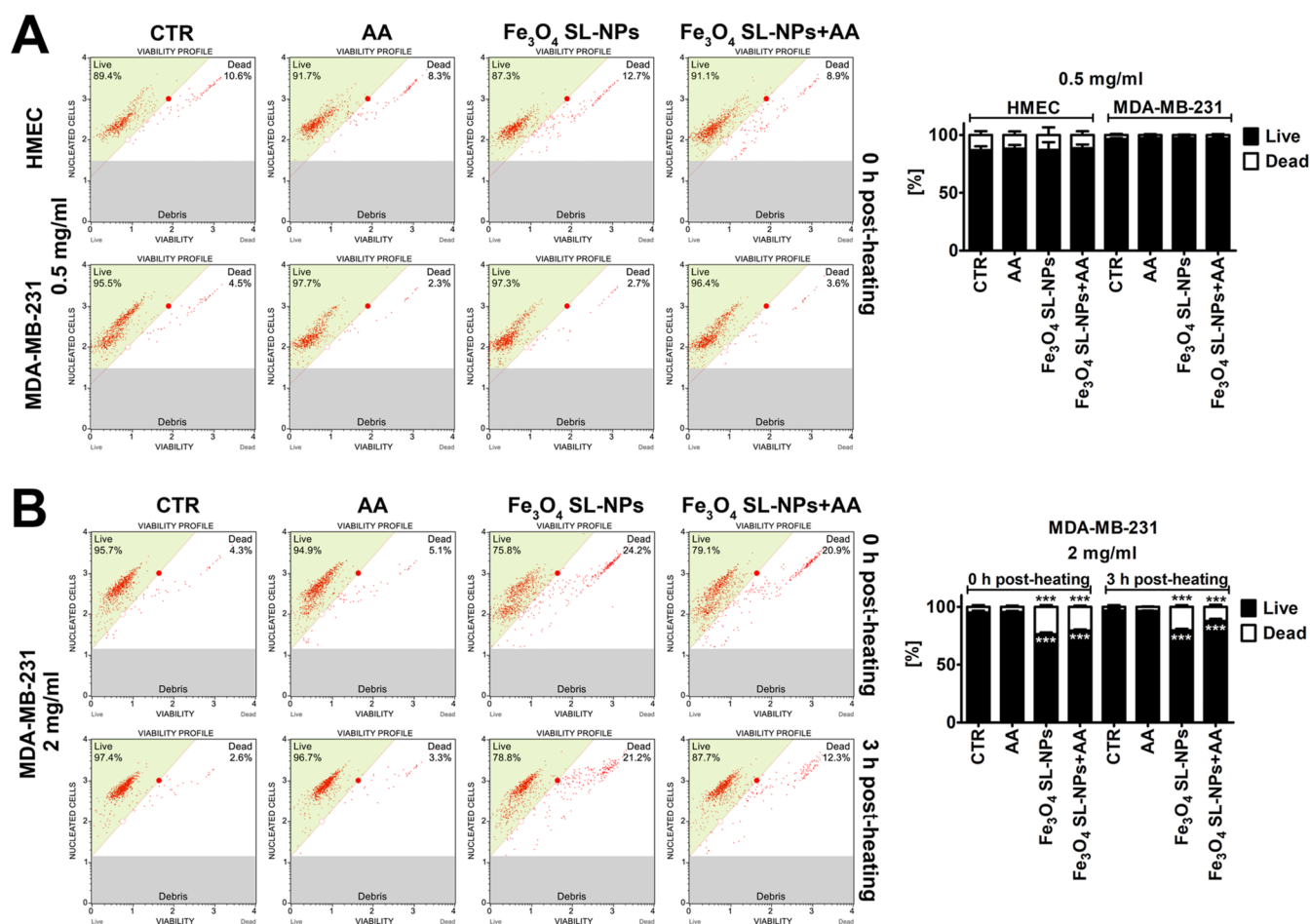
concentration of 2 mg/mL (Figures 6B and S2A). The 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs did not induce apoptosis in three cell lines (Figures 6B and S2A). In contrast, necrotic cell death was documented (Figures 6B and S2A). Treatment with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs resulted in a significant increase of 7-AAD-positive cells of 11, 14, and 9% in HMECs and MDA-MB-231 and THP-1 cell populations, respectively (Figures 6B and S2A). More recently, we have shown that 1 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocapsules (NCs) induced iron-dependent oxidative stress and lipid peroxidation-mediated cell death (ferroptosis) in triple-negative breast cancer cells (MDA-MB-231 cells).<sup>36</sup> Furthermore, 1 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NCs promoted massive apoptotic cell death in MDA-MB-231 cells compared to estrogen receptor-positive MCF-7 breast cancer cells.<sup>36</sup>

We postulated that MDA-MB-231 cells may be more susceptible to  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NC-induced ferroptotic cell death than MCF-7 cells because of higher expression of acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4) and lower expression of glutathione-dependent and selenium-containing glutathione peroxidase 4 (GPX4, phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, PHGPx), key players of ferroptosis, in MDA-MB-231 cells compared to MCF-7 cells.<sup>36</sup> Thus, the same type of cancer cells, for example, breast cancer cells, may respond differently to iron oxide NP-based therapy that may reflect distinct genotypic and phenotypic traits of breast cancer cells with different receptor statuses. No heat-promoting concentration of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NC (0.1 mg/mL) promoted cytotoxic effects in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells in control conditions.<sup>36</sup>

The AA pretreatment did not protect cancer cells against  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NP-mediated necrosis (Figures 6B and S2A). A slight increase in the levels of necrotic cells was noticed when cancer cells were pretreated with AA before stimulation with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figures 6B and S2A). In contrast, a mild decrease in 7-AAD-positive cells was observed when normal HMECs were preincubated with AA before treatment with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure 6B). This may suggest that normal and cancer cells may respond differently to AA pretreatment (Figures 6B and S2A). It is widely accepted that AA (vitamin C) is the most important water-soluble antioxidant in human plasma and cells.<sup>53</sup> However, AA may also behave as a pro-oxidant in the presence of metal ions, such as iron and copper, or when high millimolar concentrations of AA are applied.<sup>53</sup> Pro-oxidant action of high doses of AA may have beneficial effects, for example, during anticancer therapy.<sup>52,54–56</sup> Indeed, AA can selectively kill a number of cancer cells that is achieved by increased production of reactive oxygen species (ROS).<sup>52,55</sup> The uptake of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs was then studied. The granularity test was considered to track the uptake of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs by normal and cancer cells (Figures 6C and S2B).  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs were efficiently taken up by three cell lines (Figures 6C and S2B). Surprisingly, fewer cell-based signals were observed in the case of cancer cells compared to normal cells (Figure 6C). This may suggest that cancer cells are more susceptible to treatment with  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs. However, massive necrosis in the MDA-MB-231 cell population was not documented compared to the HMEC population (Figure 6B). Cell-based signals were also affected when THP-1 monocytic cells were treated with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs compared to treatment with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure S2B). The noncytotoxic concentration of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (0.5 mg/mL) did not affect intracellular pH in HMEC and MDA-MB-231 cells (Figure 6D). However, AA

pretreatment promoted a slight decrease in intracellular pH in MDA-MB-231 cells (Figure 6D). Perhaps one can conclude that cancer cells died before dual apoptosis/necrosis analysis after 24 h of incubation with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs was performed or nanoparticles may have also a more profound cytostatic effect in cancer cells. Thus, DNA-based analysis of the phases of the cell cycle was then considered (Figures 6E and S2C). Indeed, the cell cycle of MDA-MB-231 cells was more affected than the cell cycle of HMECs upon stimulation with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure 6E). G0/G1 cell cycle arrest was observed when MDA-MB-231 cells were treated with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure 6E). The 10% more treated MDA-MB-231 cells stayed at the G0/G1 phase of the cell cycle than untreated cells (Figure 6E). In treated HMECs, slightly more cells stayed in the S-phase of the cell cycle (Figure 6E). The cell cycle of THP-1 cells was similarly affected as the cell cycle of MDA-MB-231 cells upon stimulation with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figures 6E and S2C). A mild increase in the G0/G1 cell subpopulation was documented in THP-1 cells treated with 2 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure S2C). Lower concentrations of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs also promoted S-phase cell cycle arrest in THP-1 cells (Figure S2C). Surprisingly, lower concentrations of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs also promoted the levels of cell cycle inhibitor p21 in normal HMECs (Figure 6F). Thus, noncytotoxic concentrations of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs may also modulate cyto-physiological parameters of normal and cancer cells.

*Stimulation of Antioxidative and Anti-Inflammatory Responses in Normal and Cancer Cells.* As the noncytotoxic concentration of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs may affect both normal and cancer cells (Figures 6 and S2), we decided then to analyze the effects of 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs more comprehensively in terms of oxidative stress response and immune response (Figure 7). First, intracellular redox equilibrium was analyzed upon stimulation with 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure 7A). Changes in glutathione redox potential were monitored using a redox biosensor roGFP-Grx1 (Figure 7A). The 0.5 mg/mL  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs affected the oxidoreductive state toward more oxidative conditions in normal HMECs (Figure 7A). AA also promoted the formation of disulfide between the cysteines in the biosensor, thus increasing the excitation peak at 400 nm (Figure 7A). Similar effects were not observed in MDA-MB-231 breast cancer cells (Figure 7A). We then analyzed if the cells could adapt to changes in the intracellular redox state (Figure 7A). Indeed, the activation of fork-head box protein O3 (FOXO3A), a transcription factor regulating the oxidative stress response,<sup>57,58</sup> was documented in HMECs with affected redox state upon stimulation with  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  SL-NPs (Figure 7A). This is in agreement with our previous study.<sup>29</sup> The ROS-mediated FOXO3A activation was reported in human normal fibroblasts treated with 0.1 mg/mL surface-functionalized magnetite nanoparticles with phosphonic moieties.<sup>29</sup> FOXO3A may confer resistance to oxidative stress by promoting the expression of selected antioxidant enzymes such as manganese superoxide dismutase (MnSOD, SOD2) and catalase.<sup>57,58</sup> FOXO3A may also take part in cell cycle arrest-based adaptive response that is mediated by p21 upregulation.<sup>57</sup> Indeed, in treated HMECs with redox imbalance-associated FOXO3A activation, the levels of cell cycle inhibitor p21 were elevated (Figure 6F). AA also promoted the levels of nuclear FOXO3A in treated HMECs (Figure 7A). No activation of FOXO3A was noticed in treated MDA-MB-231 breast cancer cells (Figure 7A). As the levels of



**Figure 8.** The 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs induce heat-mediated necrotic cell death in MDA-MB-231 breast cancer cells. Cells were treated with 0.5 mg/mL (A) or 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs (B) for 1 h and then subjected to AMF and NIR (808 nm), and cell viability was analyzed using the dedicated kit and flow cytometry. Dual staining involving a membrane-permeant DNA staining dye and a DNA-binding dye staining cells that have lost their membrane integrity was considered. Representative dot plots are presented. The effects of AA pretreatment for 1 h and cell incubation for 3 h after heating are also shown. Bars indicate SD,  $n = 3$ , \*\*\* $p < 0.001$  compared to control (CTR) (ANOVA and Dunnett's a posteriori test). CTR, untreated control; AA, 1 h treatment with 100  $\mu$ M AA; Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs, 1 h treatment with 0.5 or 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs (as indicated); Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs + AA, 1 h pretreatment with 100  $\mu$ M AA and then 1 h treatment with 0.5 or 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs (as indicated).

superoxide dismutase, 1 (SOD1), were not affected in treated HMECs (Figure 7A), one can conclude that perhaps SOD1 is not important during adaptive stress response in HMECs upon stimulation with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs (Figure 7A). In our experimental settings, FOXO3A activation indeed resulted in oxidative stress resistance in treated HMECs, as judged by decreased lipid peroxidation (Figure 7A). As a similar effect was not observed in treated MDA-MB-231 cells, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs coated with the ETI with potential antioxidative properties<sup>59–61</sup> cannot be directly responsible for lipid peroxidation lowering effects. Perhaps this is achieved by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NP-mediated activation of the regulator of oxidative stress response FOXO3A (Figure 7A). As nanoparticles used in biomedical applications should be characterized by immunobiocompatibility,<sup>62,63</sup> the effects of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs on interleukin 6 (IL-6) and interleukin 8 (IL-8) secretion were then studied (Figure 7B).

Treatment with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs did not stimulate proinflammatory response in normal and cancer cells (Figure 7B). In contrast, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs promoted a statistically significant decrease in the levels of secreted IL-6 in HMECs and IL-8 in HMECs and MDA-MB-231 cells (Figure 7B). The anti-inflammatory properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs were more

pronounced in normal HMECs than in MDA-MB-231 cancer cells (Figure 7B). Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs did not affect the levels of IL-6 (Figure S2D), whereas the levels of IL-8 were nondetectable in THP-1 monocytic cells (data not shown). The anti-inflammatory activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs may be due, at least in part, to the presence of the ETI. Etidronate, a non-nitrogen-containing bisphosphonate (non-NBP), downregulated TLR2 ligand-induced production of IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1, and MIP-1 $\alpha$  in J774.1 cells (mouse BALB/c monocyte-macrophage cell line).<sup>64</sup> Etidronate also attenuated Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>-induced MCP-1 and TNF- $\alpha$  production by human monocytic THP-1 cells.<sup>64</sup> Furthermore, etidronate limited IL-8 and MCP-1 production and NF- $\kappa$ B p65 activation induced by Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> in human monocytic U937 cells.<sup>65</sup> A master regulator of immune response NF- $\kappa$ B was also activated upon stimulation with 1 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NC in MDA-MB-231 breast cancer cells.<sup>36</sup> However, as this observation was not accompanied by elevated levels of IL-6 and IL-8, one can conclude that Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NC-mediated NF- $\kappa$ B activation may be implicated in cell death signaling rather than the proinflammatory response in MDA-MB-231 cells.<sup>36</sup>

*Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NP Concentration's Effect on Heat-Mediated Cell Death.* Synergic temperature effects of 0.5 and 2 mg/mL

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs were then evaluated in normal and cancer cells pretreated with AA (Figure 8). The 0.5 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs did not induce heat-mediated necrosis in normal and cancer cells (Figure 8A). Thus, this concentration cannot be considered in biomedical applications involving heat-associated elimination of cancer cells, namely, hyperthermia-mediated anticancer therapies. In contrast, 2 mg/mL Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs promoted heat-mediated necrotic cell death in MDA-MB-231 breast cancer cells (Figure 8B). The effect was observed immediately after heating and was not potentiated when heated cells were incubated for 3 h postheating (Figure 8B). An increase of 20% in the necrotic cell population was observed as a consequence of heat-mediated cell death in MDA-MB-231 cells (Figure 8B). The AA pretreatment did not potentiate heat-mediated necrosis in cancer cells (Figure 8B).

In contrast, AA pretreatment slightly protected against heat-associated elimination of cancer cells that was more pronounced when MDA-MB-231 cells were incubated for 3 h of postheating (Figure 8B). There are no data on AA-mediated modulation of magnetic hyperthermia-based cancer cell killing. However, the effects of combined treatment of AA and a capacitive-resistive electric transfer (CRet)-mediated hyperthermia were analyzed against Ehrlich ascites tumor (EAT) cells.<sup>66</sup> The authors concluded that combined treatment of AA and CRet synergistically limited EAT cell growth through G2/M arrest and promoted apoptotic cell death via hydrogen peroxide production when AA was used at noncytotoxic concentrations ( $\leq 2$  mM).<sup>66</sup> An increase in temperature from 37 °C (optimum) to 42 °C (mild heat shock) in the cell culture incubator resulted in increased ROS production in prostate cancer cells, but not in normal cells.<sup>67</sup> The 1 mM AA was able to prevent heat shock-induced oxidative stress as well as to protect against 10  $\mu$ M Resovist (Ferucarbotran, carboxydextran-coated iron oxide nanoparticles)-mediated redox imbalance in prostate cancer cells.<sup>67</sup> Similar antioxidative effects of 1 mM AA were also observed during anticancer drug-induced oxidative stress in prostate cancer cells.<sup>67</sup> These results suggest that AA-mediated modulation of the heat-shock response in cancer cells may depend on genotypic and phenotypic variations between cell lines and clinical samples.

## CONCLUSIONS

We have shown that the hot-injection technique can provide magnetic particles characterized with different morphologies, thus shape anisotropy that affects the heating ability of MNPs with the highest efficacy of the heat energy conversion under the action of AMF for the star-like magnetite nanoparticles. Although the AMF provides relatively high SAR values, NIR stimulation plays a superior role, leading to extremely high SAR values exceeding 3000 W/g depending on the laser power (optical density). We did not notice a significant difference in the particle morphology upon NIR action since the size of the crystallites was comparable. Thus, we expected quite similar behavior since the scattering contribution should be comparable as well. The synergistic action of both external and contactless physical stimulation allows for exceeding the  $T_{\max}$  limits achievable by only the action of AMF or NIR alone that rely on completely different heating mechanisms. We have shown that the light-induced mechanism in heat generation is superior to that of AMF. The application of the NIR light within the first optical biological window allows for deepened light penetration due to the minimized light absorption of the

biological systems. NIR combined with AMF can be advantageous and could possibly limit patient exposure time or particle concentration to safer limits. We have shown that Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs, at a concentration of 2 mg/mL, are capable of inducing biologically relevant temperature increase to kill breast cancer cells, promoting necrotic cell death and cell cycle perturbations in normal and cancer cells in control conditions. Thus, these observations may limit the biomedical applications of magnetic hyperthermia-based cancer cell killing. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NP-induced heat-mediated cancer cell death can be accompanied by a number of side effects in surrounding cells and tissues and these adverse effects may depend on specific patterns of molecular DNA and protein markers that are distinctive for each type of cancer cell and even for each cell line within one type of cancer. On the contrary, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs at the concentration of 0.5 mg/mL, with no heat-promoting effects and noncytotoxic effects in control conditions, stimulated adaptive antioxidative and anti-inflammatory responses in normal cells that are based on FOXO3A activation-mediated decrease in lipid peroxidation and attenuated secretion of proinflammatory cytokines, such as IL-6 and IL-8. Our findings may be helpful in the design of more efficient and safe iron oxide nanoparticle-based anticancer strategies in the future.

## ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcb.2c06061>.

Results of the energy conversion (synergy mode) performed on both cell lines with 0.5 mg/mL concentration of the star-like particles and results of the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NP-mediated apoptosis and necrosis, uptake, cell cycle, and the levels of IL-6 in THP-1 monocytic cells (0.5 and 2 mg/mL magnetic material) (PDF)

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Authors

**Anna Lewińska** – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland; Email: [alewinska@ur.edu.pl](mailto:alewinska@ur.edu.pl)

**Robert Pązik** – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland; [orcid.org/0000-0002-4662-6688](https://orcid.org/0000-0002-4662-6688); Email: [rpazik@ur.edu.pl](mailto:rpazik@ur.edu.pl)

### Authors

**Magdalena Kulpa-Greszta** – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland; Faculty of Chemistry, Rzeszow University of Technology, 35-959 Rzeszow, Poland; [orcid.org/0000-0002-0874-4704](https://orcid.org/0000-0002-0874-4704)

**Maciej Wnuk** – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland

**Anna Tomaszewska** – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland; [orcid.org/0000-0003-2548-0568](https://orcid.org/0000-0003-2548-0568)



Jagoda Adamczyk-Grochala – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland

Andrzej Dzedzic – Department of Spectroscopy and Materials, Institute of Physics, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland;

orcid.org/0000-0002-4116-3100

Iwona Rzeszutek – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland

Bartosz Zarychta – Faculty of Chemistry, University of Opole, 45-052 Opole, Poland

Dominika Błoniarz – Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszow, Poland

Complete contact information is available at:

<https://pubs.acs.org/10.1021/acs.jpcb.2c06061>

### Author Contributions

R.P.: conceptualization of work with an emphasis on the material science part and overall idea that was shared and extended with M.W. and A.L.; R.P., M.W., and A.L.: manuscript writing, editing, and corrections (R.P. wrote the Synthesis and Material Characterization including Abstract, Introduction, and Conclusion sections, M.W. and A.L. shared equal responsibility for the part associated with nanomaterial biological responses as well as Abstract, Introduction, and Conclusions), M.K.-G. and A.T.: synthesis of nanomaterials, surface modification with ETI ligand; M.K.-G. performed all energy conversion experiments, analyzed data, and prepared Figures <sup>1</sup>B, <sup>2</sup>A, <sup>3</sup>A, <sup>4</sup>, and <sup>5</sup>, as well as Figure S1 together with IR images. A.T. performed XRD and FTIR–ATR measurements and prepared Figures <sup>1</sup>A, <sup>2</sup>B, and <sup>3</sup>B. M.K.-G. and A.T. took part in manuscript editing regarding synthesis and nanomaterials characterization as well as final corrections. A.D. performed TEM and SEM-EDX measurements and participated in manuscript editing regarding TEM and SEM-EDX results; B.Z. performed Rietveld refinement discussed results, and contributed to the writing and corrections regarding structural properties of materials as well as proposed the idea of structural data presentation Figure <sup>1</sup>A. M.W. prepared and analyzed data presented in Figures <sup>6</sup>C, <sup>7</sup>A, and S2B; A.L. prepared and analyzed the data shown in Figures <sup>6</sup>B, <sup>6</sup>E, <sup>8</sup>A, <sup>8</sup>B, and S2A,C. J.A.-G.: cell culture, preparation, and analysis of data shown in Figure <sup>6</sup>A; I.R. performed experiments and prepared Figures <sup>7</sup>B and S2D together with data analysis. D.B. performed and analyzed the results of the experiment presented in Figure <sup>6</sup>D,F. All authors accept the final version of the manuscript.

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

### ACKNOWLEDGMENTS

Financial support from the National Science Centre, Poland, in the course of the realization of project no. UMO-2017/25/B/ST5/00497 is gratefully acknowledged. The authors express their gratitude to M.Sc. Eng. Patrycja Kłoda-Biskup for technical assistance.

### REFERENCES

- (1) Piñeiro, Y.; Vargas, Z.; Rivas, J.; López-Quintela, M. A. Iron Oxide Based Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Strategies in Biological Applications. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 4495–4509.
- (2) Ota, T.; Nishida, Y.; Ikuta, K.; Kato, R.; Kozawa, E.; Hamada, S.; Sakai, T.; Ishiguro, N. Heat-Stimuli-Enhanced Osteogenesis Using Clinically Available Biomaterials. *PLoS One* **2017**, *12*, No. e0181404.
- (3) Jaque, D.; Martínez Maestro, L.; del Rosal, B.; Haro-Gonzalez, P.; Benayas, A.; Plaza, J. L.; Martín Rodríguez, E.; García Solé, J. Nanoparticles for Photothermal Therapies. *Nanoscale* **2014**, *6*, 9494–9530.
- (4) Gavilán, H.; Avugadda, S. K.; Fernández-Cabada, T.; Soni, N.; Cassani, M.; Mai, B. T.; Chantrell, R.; Pellegrino, T. Magnetic Nanoparticles and Clusters for Magnetic Hyperthermia: Optimizing Their Heat Performance and Developing Combinatorial Therapies to Tackle Cancer. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 11614–11667.
- (5) Espinosa, A.; Di Corato, R.; Kolosnjaj-Tabi, J.; Flaud, P.; Pellegrino, T.; Wilhelm, C. Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy: Amplification of Heating Efficiency by Magnetic Hyperthermia and Photothermal Bimodal Treatment. *ACS Nano* **2016**, *10*, 2436–2446.
- (6) Roca, A. G.; Gutiérrez, L.; Gavilán, H.; Fortes Brollo, M. E.; Veintemillas-Verdaguer, S.; Morales, M. Design Strategies for Shape-Controlled Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2019**, *138*, 68–104.
- (7) Blanco-Andujar, C.; Walter, A.; Cotin, G.; Bordeianu, C.; Mertz, D.; Felder-Flesch, D.; Begin-Colin, S. Design of Iron Oxide-Based Nanoparticles for MRI and Magnetic Hyperthermia. *Nanomedicine* **2016**, *11*, 1889–1910.
- (8) Rodríguez-Rodríguez, H.; Salas, G.; Arias-Gonzalez, J. R. Heat Generation in Single Magnetic Nanoparticles under Near-Infrared Irradiation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *11*, 2182–2187.
- (9) Estelrich, J.; Busquets, M. A. Iron Oxide Nanoparticles in Photothermal Therapy. *Molecules* **2018**, *23*, 1567.
- (10) Xie, W.; Guo, Z.; Gao, F.; Gao, Q.; Wang, D.; Liaw, B. S.; Cai, Q.; Sun, X.; Wang, X.; Zhao, L. Shape-, size- and structure-controlled synthesis and biocompatibility of iron oxide nanoparticles for magnetic theranostics. *Theranostics* **2018**, *8*, 3284–3307.
- (11) AbuTalib, N. H.; LaGrow, A. P.; Besenhard, M. O.; Bondarchuk, O.; Sergides, A.; Famiani, S.; Ferreira, L. P.; Cruz, M. M.; Gavrilidis, A.; Thanh, N. T. K. Shape Controlled Iron Oxide Nanoparticles: Inducing Branching and Controlling Particle Crystallinity. *CrystEngComm* **2021**, *23*, 550–561.
- (12) Nguyen, M. D.; Tran, H. V.; Xu, S.; Lee, T. R. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles: Structures, Synthesis, Magnetic Properties, Surface Functionalization, and Emerging Applications. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 11301.
- (13) Reyes-Ortega, F.; Delgado, Á. V.; Iglesias, G. R. Modulation of the Magnetic Hyperthermia Response Using Different Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticle Morphologies. *Nanomaterials* **2021**, *11*, 627.
- (14) Muro-Cruces, J.; Roca, A. G.; López-Ortega, A.; Fantechi, E.; del-Pozo-Bueno, D.; Estradé, S.; Peiró, F.; Sepúlveda, B.; Pineider, F.; Sangregorio, C.; et al. Precise Size Control of the Growth of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocubes over a Wide Size Range Using a Rationally Designed One-Pot Synthesis. *ACS Nano* **2019**, *13*, 7716–7728.
- (15) Kulpa-Greszta, M.; Tomaszewska, A.; Dzedzic, A.; Pązik, R. Rapid Hot-Injection as a Tool for Control of Magnetic Nanoparticle Size and Morphology. *RSC Adv.* **2021**, *11*, 20708–20719.
- (16) Guardia, P.; Pérez, N.; Labarta, A.; Batlle, X. Controlled Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles over a Wide Size Range. *Langmuir* **2010**, *26*, 5843–5847.
- (17) Guardia, P.; Di Corato, R.; Lartigue, L.; Wilhelm, C.; Espinosa, A.; Garcia-Hernandez, M.; Gazeau, F.; Manna, L.; Pellegrino, T. Water-Soluble Iron Oxide Nanocubes with High Values of Specific Absorption Rate for Cancer Cell Hyperthermia Treatment. *ACS Nano* **2012**, *6*, 3080–3091.

- (18) Guardia, P.; Labarta, A.; Batlle, X. Tuning the Size, the Shape, and the Magnetic Properties of Iron Oxide Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 390–396.
- (19) Sun, S.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G. Monodisperse  $MFe_2O_4$  ( $M = Fe, Co, Mn$ ) Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273–279.
- (20) Qiao, L.; Fu, Z.; Li, J.; Ghosen, J.; Zeng, M.; Stebbins, J.; Prasad, P. N.; Swihart, M. T. Standardizing Size- and Shape-Controlled Synthesis of Monodisperse Magnetite ( $Fe_3O_4$ ) Nanocrystals by Identifying and Exploiting Effects of Organic Impurities. *ACS Nano* **2017**, *11*, 6370–6381.
- (21) Kim, D.; Lee, N.; Park, M.; Kim, B. H.; An, K.; Hyeon, T. Synthesis of Uniform Ferrimagnetic Magnetite Nanocubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 454–455.
- (22) de Montferrand, C.; Hu, L.; Milosevic, I.; Russier, V.; Bonnin, D.; Motte, L.; Brioude, A.; Lalatonne, Y. Iron Oxide Nanoparticles with Sizes, Shapes and Compositions Resulting in Different Magnetization Signatures as Potential Labels for Multiparametric Detection. *Acta Biomater.* **2013**, *9*, 6150–6157.
- (23) Kwon, S. G.; Hyeon, T. Formation Mechanisms of Uniform Nanocrystals via Hot-Injection and Heat-up Methods. *Small* **2011**, *7*, 2685–2702.
- (24) Nemati, Z.; Alonso, J.; Martinez, L. M.; Khurshid, H.; Garaio, E.; Garcia, J. A.; Phan, M. H.; Srikanth, H. Enhanced Magnetic Hyperthermia in Iron Oxide Nano-Octopods: Size and Anisotropy Effects. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 8370–8379.
- (25) Zhao, Z.; Zhou, Z.; Bao, J.; Wang, Z.; Hu, J.; Chi, X.; Ni, K.; Wang, R.; Chen, X.; Chen, Z.; et al. Octapod iron oxide nanoparticles as high-performance T2 contrast agents for magnetic resonance imaging. *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 2266.
- (26) Khurshid, H.; Chandra, S.; Li, W.; Phan, M. H.; Hadjipanayis, G. C.; Mukherjee, P.; Srikanth, H. Synthesis and magnetic properties of core/shell  $FeO/Fe_3O_4$  nano-octopods. *J. Appl. Phys.* **2013**, *113*, 17B508.
- (27) Ni, J.; Jia, Y.; Jiang, Y. P.; Zhang, R. J.; Fang, F.; Zhang, Y. X. Alkali-free synthesis of hexagonal star-like Fe-ethylene glycol (Fe-EG) complex and subsequently decomposition to  $\alpha-Fe_2O_3$  and  $Fe_3O_4/\alpha-Fe/C$  composites. *Chem. Phys.* **2022**, *555*, 111429.
- (28) Narnaware, P. K.; Ravikumar, C. Mechanistic Insights into the Formation and Growth of Anisotropic-Shaped Wüstite-Spinel Core-Shell Iron Oxide Nanoparticles in a Coordinating Solvent. *J. Phys. Chem. C* **2020**, *124*, 25010–25027.
- (29) Pązik, R.; Lewińska, A.; Adamczyk-Grochala, J.; Kulpa-Greszta, M.; Kłoda, P.; Tomaszewska, A.; Dziejczak, A.; Litwinienko, G.; Noga, M.; Sikora, D.; et al. Energy Conversion and Biocompatibility of Surface Functionalized Magnetite Nanoparticles with Phosphonic Moieties. *J. Phys. Chem. B* **2020**, *124*, 4931–4948.
- (30) Bogdan, N.; Vetrone, F.; Ozin, G. A.; Capobianco, J. Synthesis of Ligand-Free Colloidally Stable Water Dispersible Brightly Luminescent Lanthanide-Doped Upconverting Nanoparticles. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 835–840.
- (31) Klug, H. P.; Alexander, L. *EX-ray Diffraction Procedures: For Polycrystalline and Amorphous Materials*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1974.
- (32) Lutterotti, L. Total Pattern Fitting for the Combined Size-Strain-Stress-Texture Determination in Thin Film Diffraction. *Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* **2010**, *268*, 334–340.
- (33) Vaitkus, A.; Merkys, A.; Gražulis, S. Validation of the Crystallography Open Database Using the Crystallographic Information Framework. *J. Appl. Crystallogr.* **2021**, *54*, 661–672.
- (34) Popa, N. C. The (hkl) Dependence of Diffraction-Line Broadening Caused by Strain and Size for All Laue Groups in Rietveld Refinement. *J. Appl. Crystallogr.* **1998**, *31*, 176–180.
- (35) Lewinska, A.; Adamczyk-Grochala, J.; Bloniarz, D.; Olszowska, J.; Kulpa-Greszta, M.; Litwinienko, G.; Tomaszewska, A.; Wnuk, M.; Pazik, R. AMPK-Mediated Senolytic and Senostatic Activity of Quercetin Surface Functionalized  $Fe_3O_4$  Nanoparticles during Oxidant-Induced Senescence in Human Fibroblasts. *Redox Biol.* **2020**, *28*, 101337.
- (36) Antoniuk, M. A.; Pązik, R.; Bazylińska, U.; Wiwatowski, K.; Tomaszewska, A.; Kulpa-Greszta, M.; Adamczyk-Grochala, J.; Wnuk, M.; Maćkowiński, S.; Lewińska, A.; et al. Multimodal Polymer Encapsulated  $CdSe/Fe_3O_4$  Nanoplatfrom with Improved Biocompatibility for Two-Photon and Temperature Stimulated Bioapplications. *Mater. Sci. Eng., C* **2021**, *127*, 112224.
- (37) Lewińska, A.; Przybylski, P.; Adamczyk-Grochala, J.; Bloniarz, D.; Litwinienko, G.; Wnuk, M. Senolysis-Based Elimination of Chemotherapy-Induced Senescent Breast Cancer Cells by Quercetin Derivative with Blocked Hydroxy Groups. *Cancers* **2022**, *14*, 605.
- (38) Lewinska, A.; Bednarz, D.; Adamczyk-Grochala, J.; Wnuk, M. Phytochemical-Induced Nucleolar Stress Results in the Inhibition of Breast Cancer Cell Proliferation. *Redox Biol.* **2017**, *12*, 469–482.
- (39) Nowack, B. Environmental Chemistry of Phosphonates. *Water Res.* **2003**, *37*, 2533–2546.
- (40) Gupta, A. K.; Gupta, M. Synthesis and Surface Engineering of Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995–4021.
- (41) Heuer-Jungemann, A.; Feliu, N.; Bakaimi, I.; Hamaly, M.; Alkilany, A.; Chakraborty, I.; Masood, A.; Casula, M. F.; Kostopoulou, A.; Oh, E.; et al. The Role of Ligands in the Chemical Synthesis and Applications of Inorganic Nanoparticles. *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 4819–4880.
- (42) Zenobi, M. C.; Luengo, C. V.; Avena, M. J.; Rueda, E. H. An ATR-FTIR Study of Different Phosphonic Acids in Aqueous Solution. *Spectrochim. Acta, Part A* **2008**, *70*, 270–276.
- (43) Yee, C.; Kataby, G.; Ulman, A.; Prozorov, T.; White, H.; King, A.; Rafailovich, M.; Sokolov, J.; Gedanken, A. Self-Assembled Monolayers of Alkanesulfonic and -Phosphonic Acids on Amorphous Iron Oxide Nanoparticles. *Langmuir* **1999**, *15*, 7111–7115.
- (44) Cotin, G.; Perton, F.; Blanco-Andujar, C.; Pichon, B.; Mertz, D.; Bégin-Colin, S. Design of Anisotropic Iron-Oxide-Based Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia. In *Nanomaterials for Magnetic and Optical Hyperthermia Applications*; Fratila, R. M.; de La Fuente J. M., Eds.; Elsevier B.V, 2019; pp.41–60.
- (45) Kulpa-Greszta, M.; Tomaszewska, A.; Zachanowicz, E.; Krzemiński, P.; Pązik, R. Contactless and Synergic Heat Generation Using AMF and Laser Radiation within 1st and 2nd Optical Biological Window on PMMA Covered Cobalt-Manganese Ferrite Hybrid Particles. *J. Alloys Compd.* **2022**, *898*, 162840.
- (46) Wu, K.; Wang, J. P. Magnetic Hyperthermia Performance of Magnetite Nanoparticle Assemblies under Different Driving Fields. *AIP Adv.* **2017**, *7*, 056327.
- (47) Sanz, B.; Calatayud, M. P.; De Biasi, E.; Lima, E.; Mansilla, M. V.; Zysler, R. D.; Ibarra, M. R.; Goya, G. F. In Silico before In Vivo: how to Predict the Heating Efficiency of Magnetic Nanoparticles within the Intracellular Space. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 38733.
- (48) Chang, D.; Lim, M.; Goos, J. A. C. M.; Qiao, R.; Ng, Y. Y.; Mansfeld, F. M.; Jackson, M.; Davis, T. P.; Kavallaris, M. Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 831.
- (49) Mortezaee, K.; Narmani, A.; Salehi, M.; Bagheri, H.; Farhood, B.; Haghi-Aminjan, H.; Najafi, M. Synergic Effects of Nanoparticles-Mediated Hyperthermia in Radiotherapy/Chemotherapy of Cancer. *Life Sci.* **2021**, *269*, 119020.
- (50) Mortezaee, K.; Najafi, M.; Samadian, H.; Barabadi, H.; Azarnezhad, A.; Ahmadi, A. Redox Interactions and Genotoxicity of Metal-Based Nanoparticles: A Comprehensive Review. *Chem.-Biol. Interact.* **2019**, *312*, 108814.
- (51) Alarifi, S.; Ali, D.; Alkahtani, S.; Alhader, M. S. Iron Oxide Nanoparticles Induce Oxidative Stress, DNA Damage, and Caspase Activation in the Human Breast Cancer Cell Line. *Biol. Trace Elem. Res.* **2014**, *159*, 416–424.
- (52) Chen, Q.; Espey, M. G.; Krishna, M. C.; Mitchell, J. B.; Corpe, C. P.; Buettner, G. R.; Shacter, E.; Levine, M. Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: Action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 13604–13609.

(53) Kaźmierczak-Barańska, J.; Boguszewska, K.; Adamus-Grabicka, A.; Karwowski, B. T. Two Faces of Vitamin c—Antioxidative and pro-Oxidative Agent. *Nutrients* **2020**, *12*, 1501.

(54) Chen, Q.; Espey, M. G.; Sun, A. Y.; Lee, J. H.; Krishna, M. C.; Shacter, E.; Choyke, P. L.; Pooput, C.; Kirk, K. L.; Buettner, G. R.; et al. Ascorbate in Pharmacologic Concentrations Selectively Generates Ascorbate Radical and Hydrogen Peroxide in Extracellular Fluid in Vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 8749–8754.

(55) Du, J.; Martin, S. M.; Levine, M.; Wagner, B. A.; Buettner, G. R.; Wang, S. H.; Taghiyev, A. F.; Du, C.; Knudson, C. M.; Cullen, J. J. Mechanisms of Ascorbate-Induced Cytotoxicity in Pancreatic Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2010**, *16*, 509–520.

(56) Ghanem, A.; Melzer, A. M.; Zaal, E.; Neises, L.; Baltissen, D.; Matar, O.; Glennemeier-Marke, H.; Almouhanna, F.; Theobald, J.; Abu el Maaty, M. A.; et al. Ascorbate Kills Breast Cancer Cells by Rewiring Metabolism via Redox Imbalance and Energy Crisis. *Free Radical Biol. Med.* **2021**, *163*, 196–209.

(57) Storz, P. Forkhead Homeobox Type O Transcription Factors in the Responses to Oxidative Stress. *Antioxid. Redox Signaling* **2011**, *14*, 593–605.

(58) Link, W. Introduction to FOXO Biology. In *Methods in Molecular Biology*; Link, W., Ed.; Springer Science Business Media, 2019; Vol. 1890, pp 1–9.

(59) Li, W.; Cheong, Y. K.; Wang, H.; Ren, G.; Yang, Z. Neuroprotective Effects of Etidronate and 2,3,3-Trisphosphonate Against Glutamate-Induced Toxicity in PC12 Cells. *Neurochem. Res.* **2016**, *41*, 844–854.

(60) Li, W.; Yuan, H.; Yu, Y.; Cheong, Y. K.; Ren, G.; Yang, Z. Etidronate Rescues Cognitive Deficits through Improving Synaptic Transmission and Suppressing Apoptosis in 2-Vessel Occlusion Model Rats. *J. Neurochem.* **2017**, *140*, 476–484.

(61) Su, J.; Huang, M. Etidronate Protects Chronic Ocular Hypertension Induced Retinal Oxidative Stress and Promotes Retinal Ganglion Cells Growth through IGF-1 Signaling Pathway. *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, *841*, 75–81.

(62) Aillon, K. L.; Xie, Y.; El-Gendy, N.; Berkland, C. J.; Laord Forrest, M. Effects of Nanomaterial Physicochemical Properties on in Vivo Toxicity. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, *61*, 457–466.

(63) Kyriakides, T. R.; Raj, A.; Tseng, T. H.; Xiao, H.; Nguyen, R.; Mohammed, F. S.; Halder, S.; Xu, M.; Wu, M. J.; Bao, S.; et al. Biocompatibility of Nanomaterials and Their Immunological Properties. *Biomed. Mater.* **2021**, *16*, 042005.

(64) Hojo, K.; Tamai, R.; Kobayashi-Sakamoto, M.; Kiyoura, Y. Etidronate down-regulates Toll-like receptor (TLR) 2 ligand-induced proinflammatory cytokine production by inhibiting NF- $\kappa$ B activation. *Pharmacol. Rep.* **2017**, *69*, 773–778.

(65) Yambe, N.; Tamai, R.; Mashima, I.; Kiyoura, Y. Etidronate down-regulates Toll-like receptor 2 ligand-induced chemokine production by inhibiting MyD88 expression and NF- $\kappa$ B activation. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **2021**, *43*, 51–57.

(66) Saitoh, Y.; Yoshimoto, T.; Kato, S.; Miwa, N. Synergic Carcinostatic Effects of Ascorbic Acid and Hyperthermia on Ehrlich Ascites Tumor Cell. *Exp. Oncol.* **2015**, *37*, 94–99.

(67) Fukumura, H.; Sato, M.; Kezuka, K.; Sato, I.; Feng, X.; Okumura, S.; Fujita, T.; Yokoyama, U.; Eguchi, H.; Ishikawa, Y.; et al. Effect of Ascorbic Acid on Reactive Oxygen Species Production in Chemotherapy and Hyperthermia in Prostate Cancer Cells. *J. Physiol. Sci.* **2012**, *62*, 251–257.

## Recommended by ACS

### Toward the Separation of Different Heating Mechanisms in Magnetic Particle Hyperthermia

Eirini Myrovali, Ulf Wiedwald, *et al.*

MARCH 30, 2023  
ACS OMEGA

READ 

### Scaling Up Magnetic Nanobead Synthesis with Improved Stability for Biomedical Applications

Nadja C. Bigall, Teresa Pellegrino, *et al.*

DECEMBER 16, 2022  
THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY A

READ 

### Influence of Magnetic Nanoparticle Degradation in the Frame of Magnetic Hyperthermia and Photothermal Treatments

Yilian Fernández-Afonso, Lucía Gutiérrez, *et al.*

OCTOBER 25, 2022  
ACS APPLIED NANO MATERIALS

READ 

### Intracellular Magnetic Control over the Reversible Assembly of Silica-Based Magnetic Composite Particles for Photothermal Therapy

Ryota Kameda, Daisuke Nagao, *et al.*

FEBRUARY 23, 2023  
ACS APPLIED NANO MATERIALS

READ 

Get More Suggestions >

## Supplementary material

### Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells

Magdalena Kulpa-Greszta<sup>1,2</sup>, Maciej Wnuk<sup>1</sup>, Anna Tomaszewska<sup>1</sup>, Jagoda Adamczyk-Grochala<sup>1</sup>, Andrzej Dziedzic<sup>3</sup>, Iwona Rzeszutek<sup>1</sup>, Bartosz Zarychta<sup>4</sup>, Dominika Błoniarz<sup>1</sup>, Anna Lewińska<sup>1\*</sup> and Robert Pązik<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland*

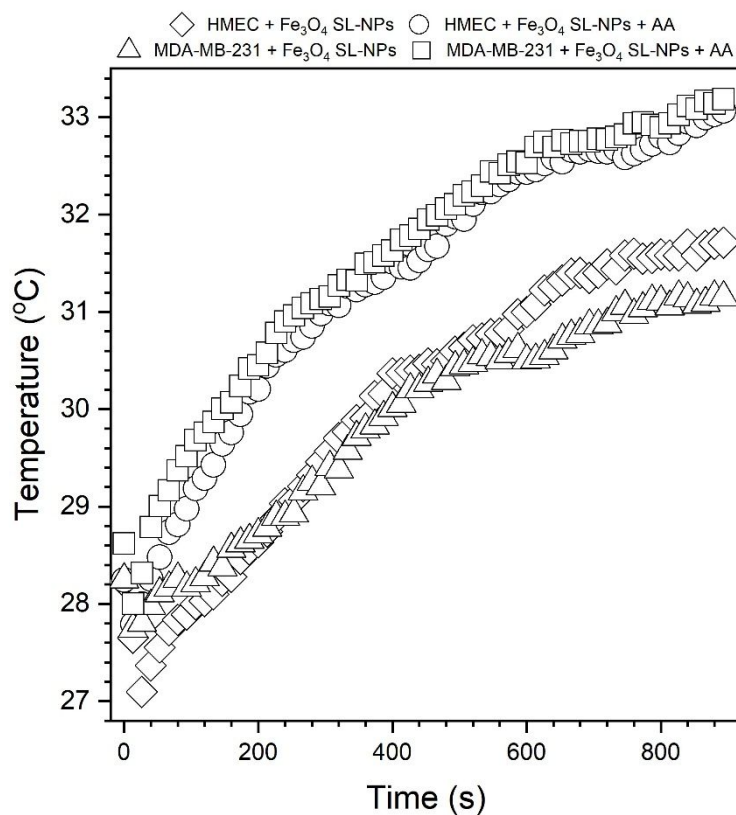
<sup>2</sup>*Faculty of Chemistry, Rzeszow University of Technology, Aleja Powstańców Warszawy 12, 35-959 Rzeszow, Poland*

<sup>3</sup>*Department of Spectroscopy and Materials, Institute of Physics, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland*

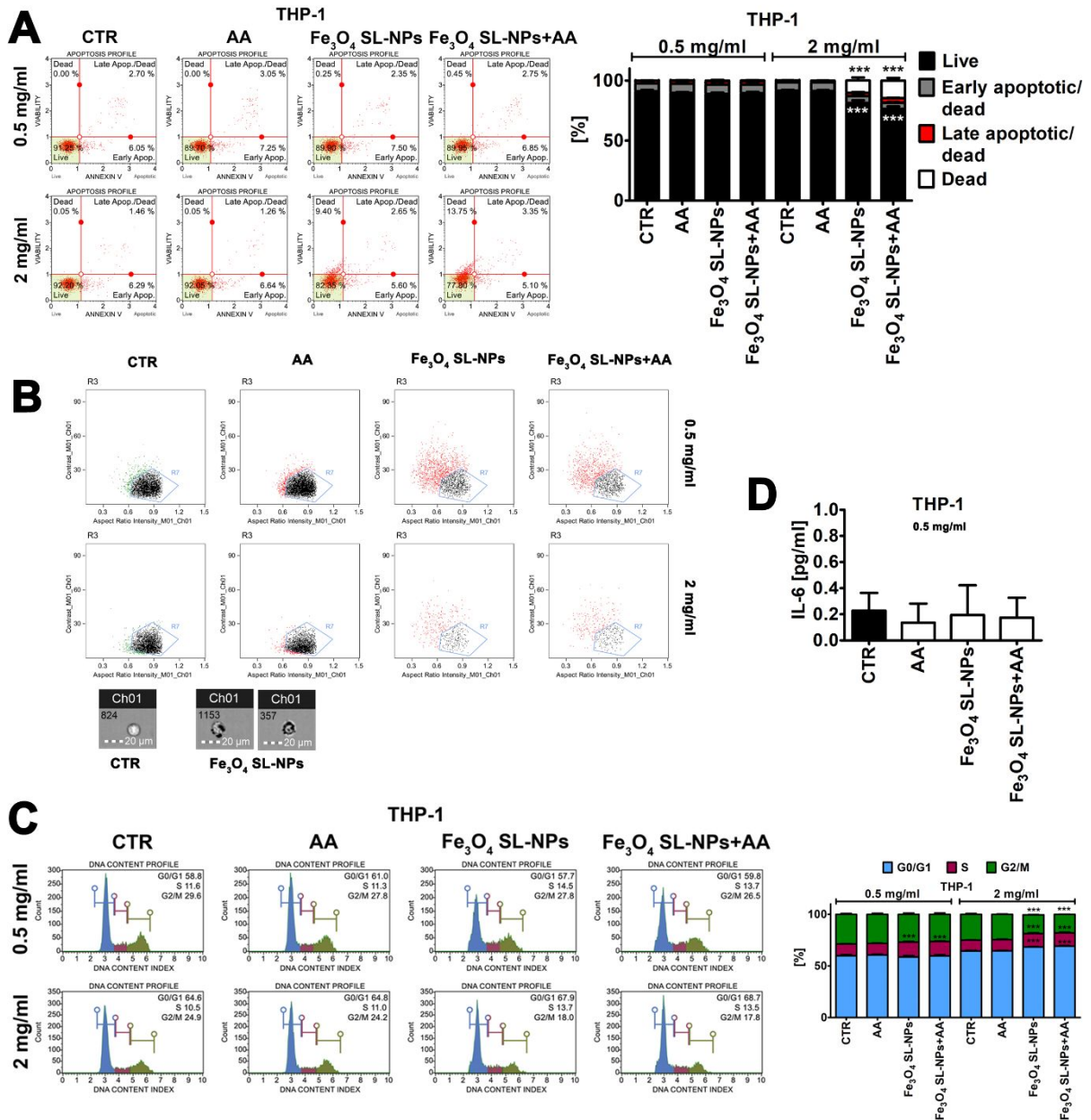
<sup>4</sup>*Faculty of Chemistry, University of Opole, Oleska 48, 45-052 Opole, Poland*

\*Corresponding authors:

Anna Lewińska (UR), alewinska@ur.edu.pl and Robert Pązik (UR) rpazik@ur.edu.pl



**Figure S1.** Heating curves obtained under synergy of the AMF and 808 nm NIR laser on HMEC and MDA-MB-231 cell lines with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs at the concentration of 0.5 mg/ml. No biologically relevant temperature range for effective hyperthermia was achieved. The effect of ascorbic acid (AA) is also presented.



**Figure S2.** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NP-mediated apoptosis and necrosis (A), uptake (B), cell cycle (C) and the levels of IL-6 in THP-1 monocytic cells. Cells were treated with 0.5 or 2 mg/ml Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs for 24 h. The effect of 100 μM AA pre-treatment for 1 h was also considered. (A) Dual staining for apoptosis (Annexin V staining) and necrosis (7-AAD staining) assessment. Flow cytometry and dedicated kit were used. Representative dot plots are shown. (B) Uptake analysis using imaging flow cytometry and granularity test. Representative dot plots and microphotographs are presented. In single cell population (R3), cells that did not take up Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs are denoted as black dots (R7), whereas cells that did take up Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs are indicated as red dots. The basal level of granularity in control conditions (CTR) is depicted as green dots. (C) DNA-based cell cycle analysis using dedicated kit and flow cytometry. Representative histograms are shown. (D) ELISA-based analysis of the levels of IL-6 in cell supernatants. Dedicated ELISA kit was used. IL-6 levels are presented in pg/ml. Bars indicate SD, n = 3, \*\*\* p < 0.001 compared to control (CTR) (ANOVA and Dunnett's a posteriori test). CTR, untreated control; AA, 1 h

treatment with 100  $\mu$ M ascorbic acid; Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs, 24 h treatment with 0.5 or 2 mg/ml Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs (as indicated); Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs+AA, 1 h pre-treatment with 100  $\mu$ M ascorbic acid and then 24 h treatment with 0.5 or 2 mg/ml Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> SL-NPs (as indicated).


 Cite this: *RSC Adv.*, 2022, 12, 27396

# Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity

 Magdalena Kulpa-Greszta,<sup>a</sup> Anna Tomaszewska,<sup>a</sup> Anna Michalicha,<sup>b</sup> Daniel Sikora,<sup>a</sup> Andrzej Dziezic,<sup>c</sup> Renata Wojnarowska-Nowak,<sup>d</sup> Anna Belcarz<sup>b</sup> and Robert Pązik<sup>\*a</sup>

Multipurpose Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag heterostructures for mutual heat generation, SERS probing, and antimicrobial activity were fabricated using a three-step process. Silver metallic particles were precipitated on a thin silica shell that served as an interlayer with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes. The structural properties were studied by means of the powder X-ray diffraction technique, and selected area electron diffraction. Particle size, distribution, and morphology were evaluated using transmission electron microscopy, while element mapping was performed using the STEM-EDS technique. The presence of the silica shell and the effectiveness of the Ag reduction were checked by FTIR-ATR spectroscopy. The heat generation ability was studied by using AMF and NIR contactless external stimulations working separately and simultaneously. We demonstrated that the dual mode stimulation leads to a SAR (specific absorption rate) of 1000 W g<sup>-1</sup> with the predominant role of the mechanism associated with the light interaction. The SERS effect was recorded with the use of the R6G standard molecule showing high capability of the heterostructures for Raman signal augmentation. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes decorated with Ag particles have shown antibacterial activity against *P. aeruginosa*. The Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag presents promising potential as a multipurpose platform for biological applications ranging from photomagnetic therapies, to analytical probes exploiting the SERS effect and antibacterial activity.

Received 19th August 2022

Accepted 19th September 2022

DOI: 10.1039/d2ra05207e

[rsc.li/rsc-advances](http://rsc.li/rsc-advances)

## 1. Introduction

The ability of magnetite nanoparticles (MNPs, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) to induce heat under the action of external stimulants is a basis for the biological application of hyperthermia that can support modern therapeutic approaches to cancer treatment.<sup>1</sup> This particular material attribute is directly related to the magnetic properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and is driven by the general mechanism of power loss that incorporates three main contributions being a consequence to the alternating magnetic field (AMF) exposure.<sup>2</sup> The first one is associated with hysteresis losses that depend on the coercive field and are characteristic of the particles with domain/multidomain structure, the second with generation of

eddy currents whose strength is affected by the magnetic field frequency and intensity and their induction changes in the following material classification manner: metals > semi-conductors > insulators. The last is connected with the residual losses that can be subdivided into Néel (internal) and Brownian (external) relaxations. Internal relaxation represents fluctuations in MNP magnetic moments, while the external mechanism is due to fluctuations in magnetic moments that cause rotation of the entire particle.<sup>3–7</sup> The presence or absence of one of the power loss mechanisms is strongly dependent on many parameters like particle size, composition, shape, anisotropy, stability, presence of ligands, *etc.*<sup>8</sup>

Laser exposure with wavelengths within the therapeutic optical biological window maximized tissue light penetration (650–1300 nm) is used to heat nanoparticles of different kinds to induce temperature effects.<sup>9</sup> The rule of thumb is to find a highly absorbing material that will dissipate the collected energy non-radiatively (net phonons) to heat a given system to achieve a biologically relevant temperature effect.<sup>10–13</sup> Among many materials exploited, magnetite is a very promising candidate to achieve this goal,<sup>14–18</sup> as its optical properties show reasonable absorption in the near-infrared range (NIR).<sup>19</sup>

<sup>a</sup>Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland. E-mail: mkulpa@ur.edu.pl; rpazik@ur.edu.pl

<sup>b</sup>Chair and Department of Biochemistry and Biotechnology, Medical University of Lublin, Chodzki 1, 20-093 Lublin, Poland

<sup>c</sup>Department of Spectroscopy and Materials, Institute of Physics, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

<sup>d</sup>Institute of Material Engineering, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, Rzeszow, Poland



Recently, considerable interest has been faced towards exploitation of multimodal heat induction by the use of the simultaneous action of AMF and NIR.<sup>20–25</sup> The trick is to take the advantage out of the two totally independent mechanisms of energy conversion into heat that allow to achieve much faster sample heating and reduce the development of thermotolerance by cells that is characteristic of slow heating rates.<sup>26</sup> It is also possible to go beyond the maximum temperature that can be achieved by using separate mode, to limit the concentration of MNPs if needed, or to reduce the overall exposure time. Therefore, the search for new materials with optimized properties and/or offering additional functions is of great importance.

The noble metal decorated magnetite particles, especially with silver and gold, are of special interest since combination of magnetic properties with plasmonic effect have interesting implications. For instance  $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au$  heterostructures have been proposed for use as an opto-magnetic platforms,<sup>26</sup> whereas Das *et al.* proposed reversed  $\text{Ag}@Fe_3O_4$  composite structures. However, both materials did not show significant enhancement in SAR (specific absorption rate) compared to the commercially available Resovist®. In the case of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@Ag$  decorated hybrid material, not much was done in terms of temperature effects. The main direction was pushed towards surface-enhanced Raman scattering (SERS) for detection of analytes,<sup>27,28</sup> modern and effective catalysts<sup>29–31</sup> or disinfectant with antibacterial activity.<sup>32</sup> The role of the magnetic core in the latter examples was limited to separation agent facilitating collection of the heterostructures from the medium after use with a static magnetic field and particles recycle.

The purpose of the presented studies was to assess the efficiency of energy conversion using combined AMF and NIR (808 nm laser light) external contactless stimulation in the multipurpose heterostructure of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES-Ag$ . Except for the significant temperature response of the hybrid material, its multifunctional properties were tested towards the SERS probe for detection of analytes as well as antimicrobial activity was estimated against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27953 with pronounced effect against the last bacterial strain. Morphology-controlled  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs (nanocubes) were used as a core material, while (3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES) served as an interconnector layer between  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and Ag, a surface protection agent (prevention of MNP from oxidation and contact with outer media) and as a chelation enhancer due to increased affinity of amine APTES groups for silver cations.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Three-step synthesis of MNPs core-shell structures decorated with Ag nanoparticles

The synthetic protocol for the fabrication of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES-Ag$  core-shell structures included three distinct steps, namely (I) preparation of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes stock particles, (II) surface coverage of the stock MNPs with the APTES shell, and (III)

reduction of silver cations to induce precipitation of metallic Ag nanoparticles.

**2.1.1 Synthesis of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes.** The stock  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes were prepared by adopting the well-known thermal decomposition technique described by Kim *et al.*<sup>33</sup> with slight amendments. Briefly, 2 mmol of iron(III) acetylacetonate precursor ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ; 99.7%, Thermo Fischer Scientific, Germany), 4 mmol (1.4 ml) of oleic acid (OA, 90%, Sigma Aldrich, Poland) and 10 ml of diyl ether (BE, 98%, Sigma Aldrich, Poland) were taken. The iron source was transferred to the three-neck glass flask and dissolved in BE solvent with the subsequent addition of the OA ligand under an inert  $\text{N}_2$  protective atmosphere ( $\text{N}_2$  99.999%, Linde, Poland) using an acrylic glove box (GS Glove Box Systemtechnik GMBH P10R250T2) with pressure gas control. The flask with mixed chemicals was attached to the setup combined with a mechanical stirrer, automatic temperature controller with Pt-100 sensor (LTR 2500, Juchheim, Germany), reflux column, laboratory heater, and  $\text{N}_2$  line. Afterward, the reaction mixture was degassed for one hour at room temperature with a constant flow of  $\text{N}_2$ . Finally, the solution was heated up to 285 °C and kept for 30 minutes. The resulting black product was separated from the mother liquor by centrifugation and washing cycles using portions of the solvent mixture hexane/acetone/ethanol (1 : 1 : 1 ratio, all pure for analysis from Chempur, Poland). The purified stock nanoparticle suspension is stored in an ethanol solution in a laboratory refrigerator. The concentration of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  cubes was measured using the microbalance.

**2.1.2 APTES silica shell formation.** This step involved the following actions. First, 50 mg of well-dispersed  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes are transferred to hexane and washed three times with this solvent to completely remove ethanol. If fresh particles are prepared from step (I), the MNPs can be kept directly in hexane after purification. A laboratory magnet can be used to facilitate cube separation if necessary. Finally,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  particles are resuspended in 5 ml of hexane and sonicated for 2 hours at room temperature. The suspension is transferred to the flask and filled with an additional portion of hexane to 45 ml. After that, 2 ml of IGEPAL CO-520 (polyoxyethylene (5) nonylphenylether, Sigma Aldrich, Poland) was sonicated for an additional 15 minutes. Then, 0.4 ml of ammonia (25% solution, 99%, Honeywell, Poland) was kept in an ultrasound bath for an additional 15 minutes at room temperature. Subsequently, the mixture was placed in a glass flask in the set-up equipped with a mechanical stirrer and 100  $\mu\text{l}$  of tetraethoxysilane (TEOS, 99.9%, Thermo Scientific, Poland) was added in constant mixing for one hour. Lastly, a mixture of 100  $\mu\text{l}$  of TEOS and 100  $\mu\text{l}$  of APTES ((3-aminopropyl)triethoxysilane, 99%, Sigma Aldrich, Poland) was added and left for 16 hours with stirring. The  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES$  core-shell structures were separated using a laboratory magnet followed by washing cycles with an acetone and ethanol mixture. The concentration of particles was measured using the same technique as in the first step.

**2.1.3 Fabrication of metallic Ag nanoparticles on  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES$  surface.** To induce Ag nanoparticle formation, 2 mg  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES$  were dispersed in 20 ml of deionized water and sonicated for 15 minutes. Subsequently, four portions of 0.1 ml





of AgNO<sub>3</sub> solution (99%, POCH, Poland) (1 mg ml<sup>-1</sup>) were added every 15 minutes. The sample was still placed in an ultrasonic bath during this stage. The entire suspension was then transferred to the glass flask and 0.76 ml of NaBH<sub>4</sub> solution (1 mg ml<sup>-1</sup>, 99% Thermo Scientific, Poland) was added to induce a fast reduction of Ag<sup>+</sup> and the formation of Ag metallic particles under mechanical stirring. The final Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag product was purified separately with H<sub>2</sub>O and ethanol (3 times each solution) and separated with a laboratory magnet. The core-shell material was resuspended in ethanol for storage and further use.

## 2.2. Characterization of nanoparticle physicochemical properties

Stock Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle structure was evaluated by means of the X-ray powder diffraction technique (XRD) using a Bruker D8 Advance diffractometer equipped with a Cu lamp as the X-ray source (1.54 Å) and K<sub>α2</sub> nickel filter. The range of measured 2θ was between 15 and 70° with a step of 0.02° applying 0.8 s integration time. The recorded diffraction pattern was background corrected using Diffrac.Eva software (V.2) and compared with the ICDD diffraction database for structure identification and crystallographic plane assignment. Further data curation (including normalization and reference comparison) for the final presentation was performed using Origin Pro 2019 9.60 software (OriginLab, USA).

The particle size, morphology, additional structural data, and element mapping were performed using Tecnai Osiris X-FEG transmission electron microscope (TEM) operating at 200 kV using different techniques high-resolution TEM (HRTEM), high-angle annular dark-field (HAADF) imaging in scanning transmission electron microscopy (STEM) as well as energy dispersive analysis for confirmation of the presence of silica shell as well as the location of silver particles. Fourier transformation was applied to the HRTEM picture to measure the interplanar distance and identification of exposed crystallographic planes by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> particles using DigitalMicrograph (v. 1.85.1535) software. The nanocube, silver particle size, and distribution together with silica shell thickness were evaluated in ImageJ software (v. 1.8.0\_1720). The sample for TEM characterization was prepared by sonication cycles and further deposition of a droplet of MNPs ethanol suspension on a 200 mesh copper grid coated with a transparent layer of carbon (EM Resolutions, United Kingdom) and slow solvent overnight evaporation under dust protection.

The nanoparticle concentration was determined using the microbalance technique using a precise Radwag MYA 5.4Y scale. The measurement was made through three independent repetitions.

Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was used to carry out the measurements of the vibrational spectra of prepared materials utilizing a Thermo Scientific Nicolet iZ10 FTIR spectrometer equipped with Smart Orbit Diamond ATR (attenuated total reflection accessory). All materials were slowly dried and placed on a diamond surface. Spectra were recorded at room temperature within the 4000–500 cm<sup>-1</sup> wavenumber range.

## 2.3. AMF and NIR energy conversion on heterostructures

The behavior of the stock nanocubes and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag core-shell structures upon the action of the alternating magnetic field (AMF), near-infrared 808 nm laser radiation (NIR), and synergy of both external stimulants was measured with help of magnetic field generator G2 D5 Series Multimode 1500 W driver supplied by Nanoscale Biomagnetics (Spain) using calorimetric CAL1 coilset. The NIR radiation was delivered through 400 μm multimode optical fiber (CNI China). FLIR T660 Thermovision camera was used for a direct measure of sample temperature. The applied field frequency and intensity were within a range of 145–486 kHz and 23–33 kA m<sup>-1</sup> while laser power was between 0.3–1.7 W. The distance of the optical fiber from the suspension surface was 4 cm assured full top sample coverage (around 1 cm<sup>2</sup>). During the synergy of both contactless stimulants, optimized parameters were used (302 kHz, 28 kA m<sup>-1</sup>, 900 mW). Before experiments, CAL1 was calibrated using manufacturer procedure whereas laser output power was checked using Ophir StarLite power meter with beam track thermal sensor 10A-PPS (Ophir, Israel). All data were recorded using ResearchIR software (FLIR, USA) and analyzed using Origin Pro software. The concentration of the prepared stock suspensions of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag core-shell structures used for energy conversion studies varied between 1–6 mg ml<sup>-1</sup>.

## 2.4. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) on heterostructures

The ability to generate the SERS effect was analyzed using an inVia Micro Raman Renishaw spectrometer combined with a Leica DM 2500M microscope (Renishaw, UK) equipped with a 488 nm laser as an excitation source. The measurements were taken with an exposure time of 10 s with triple scan accumulation and for the laser output power that ranged from 25 μW to 0.5 mW. As a reference material for testing, rhodamine 6G (R6G, Sigma-Aldrich, Poland) was chosen. Various ethanol dilutions of rhodamine were prepared (0.05–2.5 μM) and mixed with 0.75 mg ml<sup>-1</sup> of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag heterostructures, respectively. After a short incubation, samples were placed on quartz discs and slowly dried. The final SERS measurement was carried out with a 50× lens magnification and choosing three random positions for each material. Baseline correction was performed during data processing.

## 2.5. Antimicrobial activity tests with bacteria strains

Antibacterial activity of nanoparticles was evaluated by determination of minimum inhibitory concentration (MIC), on basis of the serial dilution method. As model bacteria, 4 reference strains were used: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27953. Before the experiments, they were first cultured in Mueller–Hinton (M–H) broth (Biomaxima, Poland) at 37 °C to obtain inoculates of initial density equal to 0.1 McFarland (an equivalent of 3.0 × 10<sup>7</sup> CFU



ml<sup>-1</sup>). Suspension of each nanoparticle in ethanol was diluted in Mueller–Hinton (M–H) broth to obtain a series of concentrations: 50–500 μg ml<sup>-1</sup> for Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and 1.56–50 μg ml<sup>-1</sup> for Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag core–shell nanoparticles. As reference samples, ethanol was diluted in M–H broth to obtain analogous concentrations as in NPs dilutions. As a positive control of bacterial growth, pure M–H broth was used (separately for each bacterial strain). 200 μl of each NPs suspension, in quadruplicate, was pipetted into wells of a 96-well plate and supplemented with 4 μl of bacterial inoculate (to initial titer 0.6 × 10<sup>6</sup> CFU ml<sup>-1</sup>). Pure M–H broth without inoculation was used to control the initial medium sterility. Immediately after the inoculation (*T* 0 h), the absorbance of the wells was measured at 660 nm in Biotec Synergy H4 Hybrid multiplate reader (Fisher Scientific, USA). Then, the plates were incubated in Innova 42 incubator shaker (New Brunswick Scientific, USA) at 37 °C, 150 rpm, and 24 h. Finally, the turbidity in the wells was examined. MIC (minimum inhibitory concentration) was defined as the lowest concentration of NPs which prevented bacterial growth in the culture medium which was visualized by lack of turbidity in the wells.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Physicochemical characterization of materials

The structural properties of the core material, namely Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes, were evaluated using the XRD technique. The recorded diffraction pattern after background correction and normalization is presented in Fig. 1, and compared with the reference ICDD card (International Centre for Diffraction Data – PDF database) no. 019-0629 that is ascribed to the cubic *Fd*3̄*m* magnetite structure. All the appearing reflections, within the measured 2θ range, were assigned to the respective crystallographic planes showing a perfect match with the chosen standard card. In addition, selective area electron diffraction (SAED)

was performed on a single particle together with identification of the exposed crystallographic fringes using Fourier transformation applied to the HRTEM image (Fig. 1 right panel). Both measurements confirmed that the stock material crystallized in a cubic symmetry that is characteristic of the ferrite family. The measured interplanar distance of the 0.149 nm (4 4 0) plane agrees with the reference data.

The size, distribution, and morphology of the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag, and Ag particles in the core–shell structures were defined using TEM imaging (Fig. 2). Non-modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> particles have a predominant cubic morphology that is maintained during the APTES coverage and the Ag<sup>+</sup> reduction step. The particle size and distribution for the stock cubes was 72 ± 13.9 nm, while Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag was 94.7 ± 15.5 nm, and the Ag nanoparticles were 8.5 ± 3.7 nm. The shape of the Ag precipitate on the surface of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES is not well defined, and the particles tend to have a rather irregular morphology. In the case of silica modification using APTES, the thickness of the shell was measured giving the mean value of 12.8 ± 3.4 nm. As can be seen, the shell formed by the silica interlayer containing amine functional groups is rather thin. The choice of APTES as a shell-forming material was dictated by the fact that –NH<sub>2</sub> functional groups bond Ag<sup>+</sup> cations through chelation, not through sorption as –OH functionality, and ensures a higher affinity towards silver cations.<sup>34</sup> All results have been collected and plotted in Fig. 3 for quick comparison. Interestingly, the particles tend to organize in chain-like structures.

According to Qiao *et al.*,<sup>35</sup> this behavior is characteristic of magnetic particles, where magnetic dipolar interactions between particles dominate (long-range) over van der Waals forces (short range). Usually, this kind of assemblies are observed for magnetite with a size greater than 40 nm. What can be potentially worth mentioning is that this type of self-organization is less pronounced for the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag

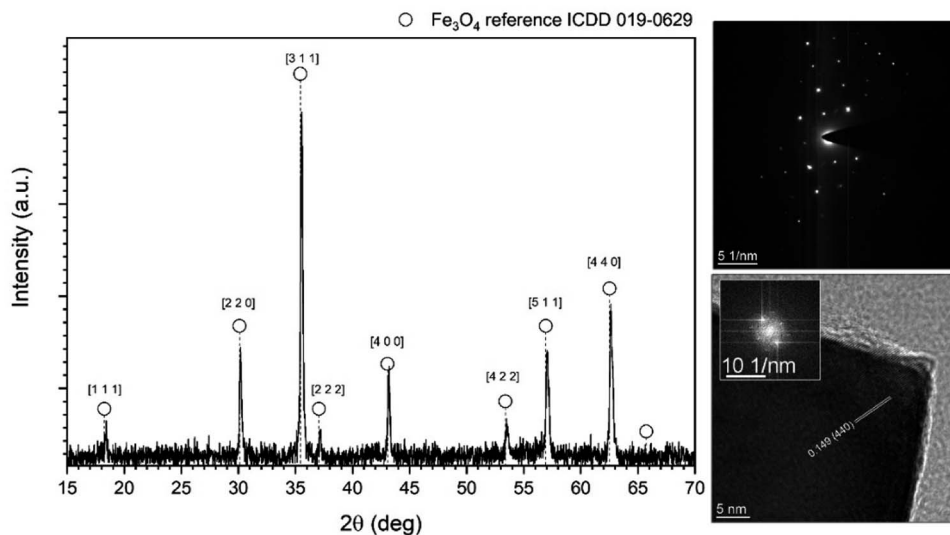


Fig. 1 Indexed X-ray diffraction pattern as well as SAED image with FFT transformation of HRTEM for identification of exposed crystallographic plane of the stock Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes.



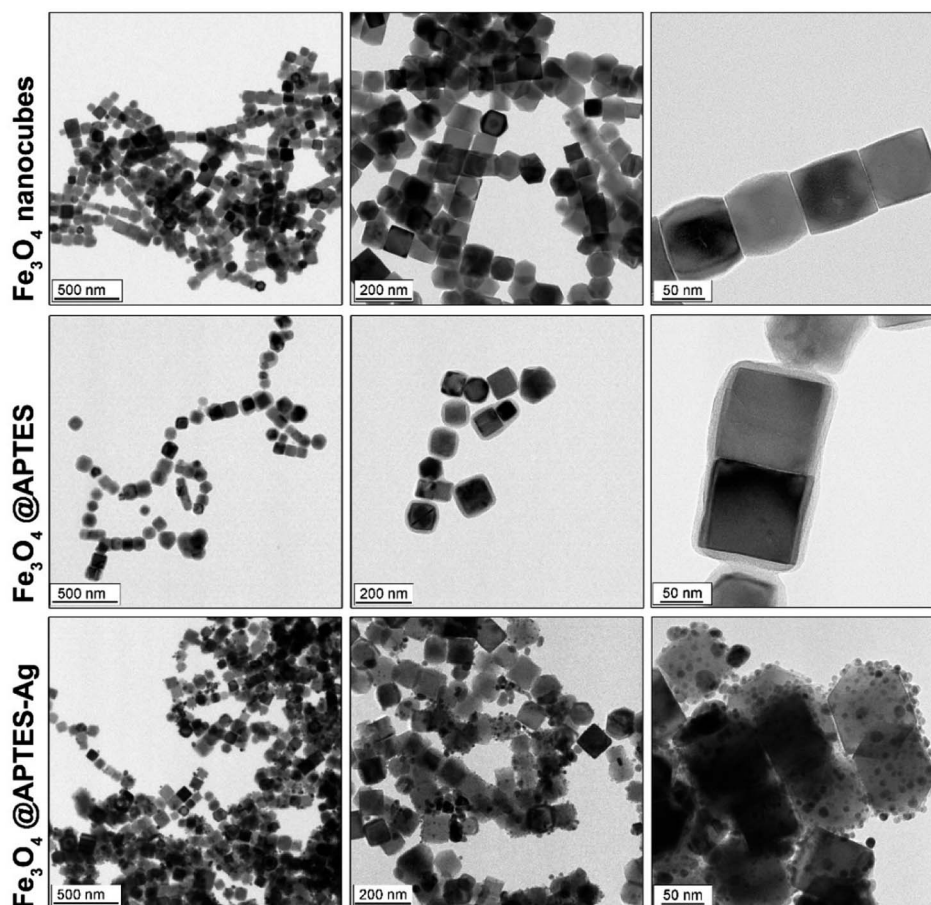


Fig. 2 TEM images of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  stock nanocubes, nanocubes covered with a thin shell of APTES as well as  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  decorated Ag metallic nanoparticles on APTES shell.

core-shell since the thickness of the silica shell and Ag size probably reduce the possibility of effective magnetic interactions due that their diameters account for the separation of the magnetic cores between each other.

Element mapping was performed (Fig. 4) using the STEM-HAADF-EDS technique to check the effect of the surface coverage of APTES and silver reduction in terms of the presence of silicon and silver elements in the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES$  and

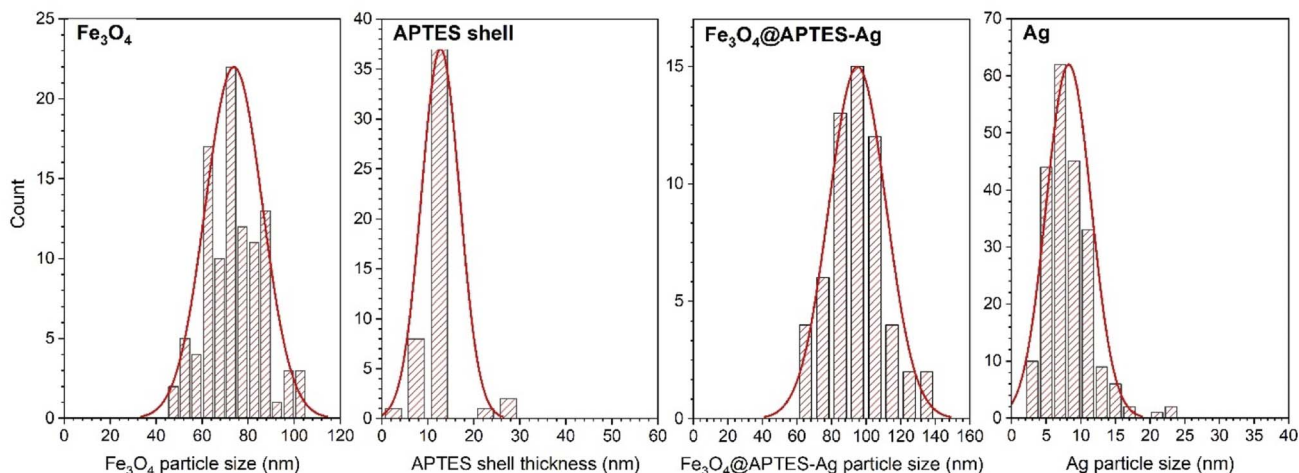


Fig. 3 Particle size distribution curves for  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  stock cubes, APTES shell thickness,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@APTES$ -Ag core-shell structures, and Ag particles.



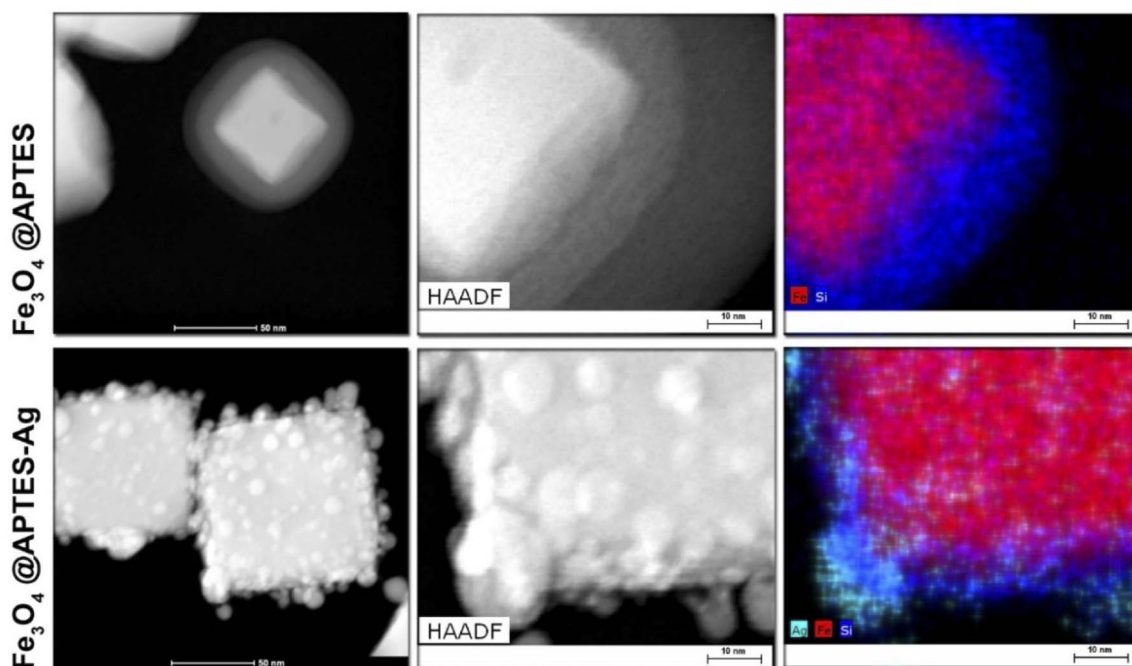


Fig. 4 STEM-HAADF-EDS element mapping of the effect of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes surface modification with APTES and result of the reduction process leading to the formation of the Ag metallic islands.

$\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag structures. It can be seen that the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes were covered with a rather uniform and thin APTES shell. The reduction of adsorbed  $\text{Ag}^+$  cations leads to the formation of separated islands of metallic silver, as confirmed by the overlap areas between the Ag element map and the

HAADF image that are characteristic of the presence of individual Ag particles bounded to the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  cubes through the APTES interlayer.

The FTIR-ATR spectroscopy was used to record vibrational spectra of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES core-shell and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag heterostructures (see Fig. 5) and to assess the effect of silica surface coverage and silver attachment after the reduction process. The appearance of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes IR spectra is characteristic of magnetite and consists of the band with a maximum intensity of around  $550\text{ cm}^{-1}$  that is generally ascribed to the Fe–O bond vibrations.<sup>36</sup> The  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES shows characteristic bands that are associated with the Si–O–Si modes at  $1037, 763\text{ cm}^{-1}$ , Si–OH at  $948\text{ cm}^{-1}$ , band at  $1635\text{ cm}^{-1}$  associated with  $\text{NH}_2$  groups and  $1542\text{ cm}^{-1}$  mode of N–H, vibrations of C–H at  $2979$  and  $2892\text{ cm}^{-1}$ , structural units  $-\text{CH}_2$  and  $-\text{CH}_3$  at  $1488$  and  $1384\text{ cm}^{-1}$  that give evidence of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  surface coverage with APTES.<sup>37</sup> In the case of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag the attachment of the metallic particles after reduction is clear since most notable peaks are shifted toward lower energies, especially the ones associated with silica vibration modes.

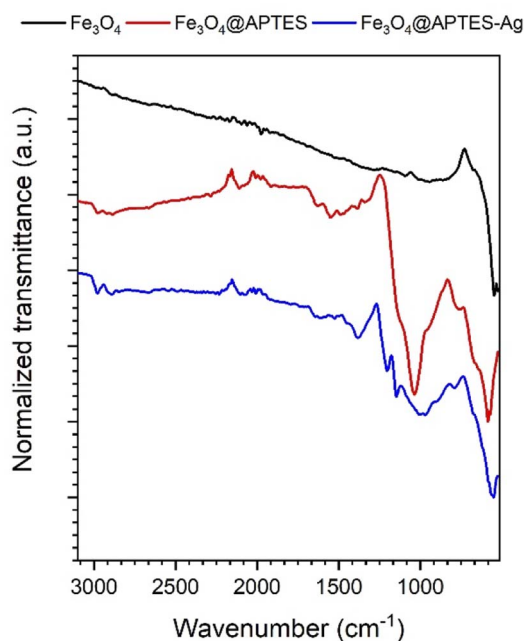


Fig. 5 FTIR-ATR spectra of the stock  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES core-shell and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag heterostructures.

### 3.2. AMF and NIR external contactless energy conversion on $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag structures

Temperature generation was studied using three different modes of stimulation (1) alternating magnetic field followed by optimization of magnetic field frequency and intensity ( $145\text{--}486\text{ kHz}$ ,  $22\text{--}28\text{ kA m}^{-1}$ ); (2)  $808\text{ nm}$  NIR laser by applying a different output laser power; and (3) under the simultaneous action of both AMF and NIR (dual-mode) performed as a function of



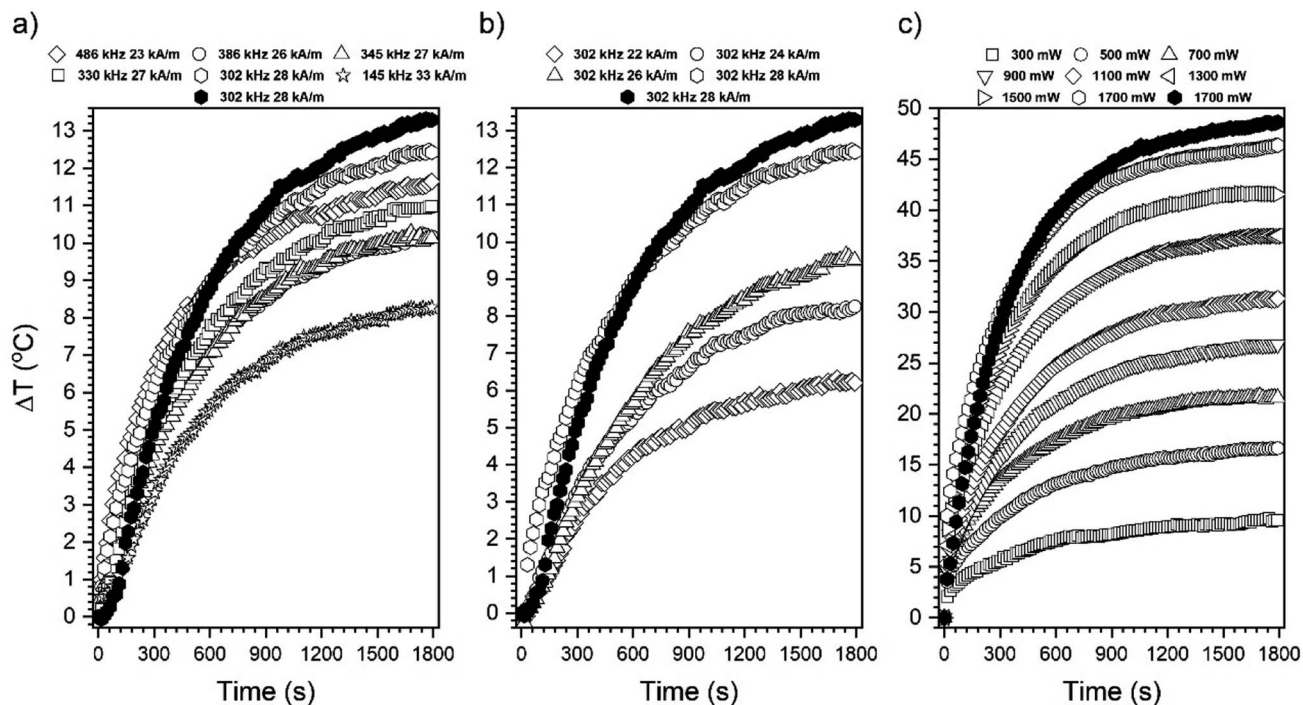


Fig. 6 Heating curves of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$  under stimulation with (a) alternating magnetic field, (b) different field intensities for 302 kHz, and (c) 808 nm infrared laser radiation as a function of laser power. The solid black line represents reference  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes behavior. The working particle concentration in each case was  $1 \text{ mg ml}^{-1}$ .

nanoparticle concentration ( $1\text{--}6 \text{ mg ml}^{-1}$ ) for altering heating effects. The choice of the 808 nm wavelength was motivated by the well-known spectral characteristic of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  particles and its

minimized absorption by water molecules and biological systems.<sup>9,15</sup> Approaches (1) and (2) were used mainly to optimize both stimulant parameters and were carried out on colloids

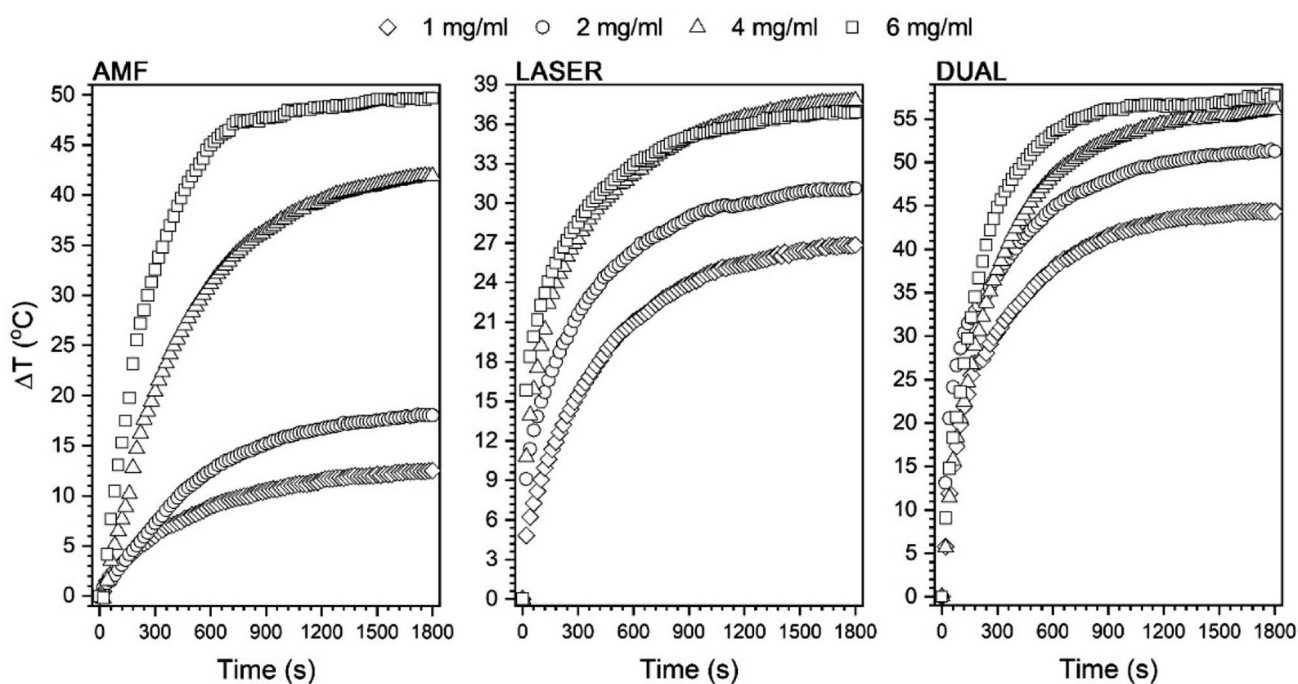


Fig. 7 Concentration dependence of the induced heating effects on  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$  core-shell structures using different modes of external contactless stimulation. DUAL mode represents the simultaneous action of AMF and laser for optimized magnetic field and laser parameters.



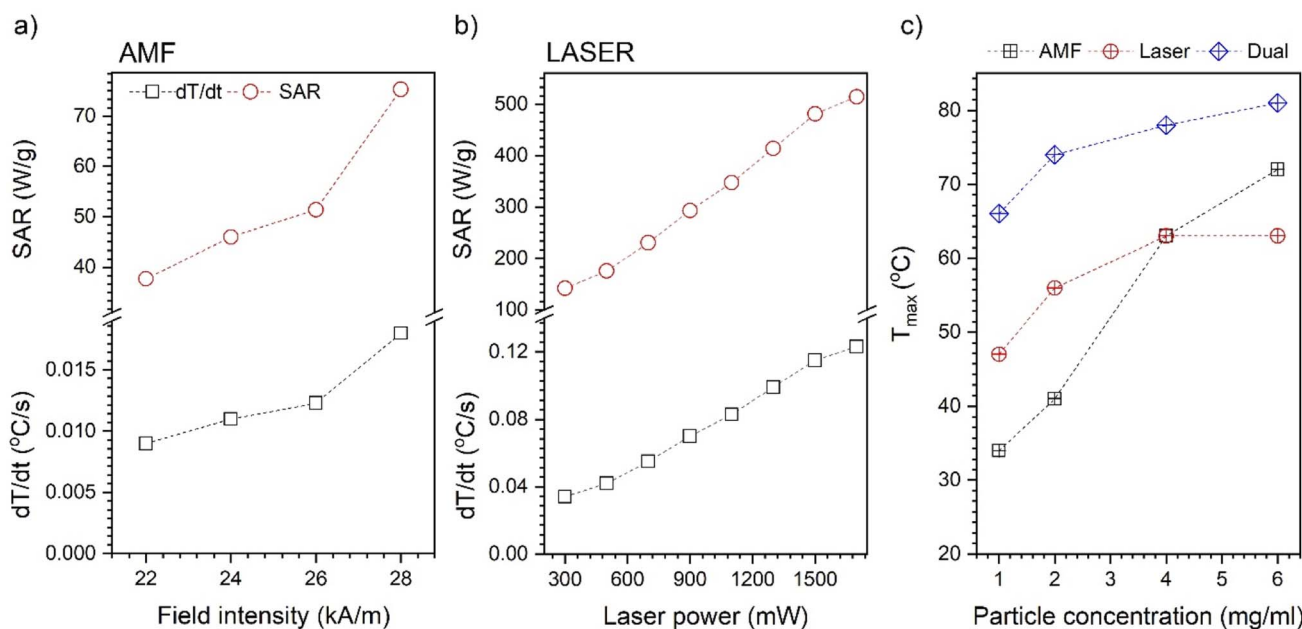


Fig. 8 Dependence of the magnetic field intensity (a) and laser power (b) on SAR and dT/dt values. Plot (c) shows nanoparticle concentration dependence on the  $T_{\max}$  under different stimulation modes.

with a concentration of  $1 \text{ mg ml}^{-1}$  exclusively. As reference material for comparison of the heating efficacy of  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-@-APTES-Ag}$  structures, bare cubic MNPs colloid was taken. The heating curves for the optimization steps are presented in Fig. 6. As one can note, the best working set between all available field frequencies and intensities for AMF action was  $302 \text{ kHz}$  and  $28 \text{ kA m}^{-1}$  (compare Fig. 6a and b). Upon action of the  $808 \text{ nm}$  NIR light constant increase of the laser output power up to  $1700 \text{ mW}$  leads to a consecutive increase in the  $\Delta T$ . Interestingly, during the comparison of  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-@-APTES-Ag}$  structures with bare  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes, we observed that there is only a slight  $\Delta T$  difference for the best working AMF and NIR parameters applied. The effective concentration of magnetic material in the complex structure will be lower because of the presence of silica shell and silver particles. Another feature that could take place is that the silica shell and decorated silver particles can help reduce dipole-dipole magnetic interactions since their size accounts for the increase in distance between magnetic cores.<sup>38</sup> This type of interaction between particles has already been shown to have a detrimental effect on heat generation.<sup>6</sup> The heating mechanism induced by NIR radiation is not related to the heat losses generated by AMF. The temperature effect will depend on the absorption properties of the given material and the further dissipation of energy through non-radiative pathways.<sup>9</sup> As one can see, the response of the core-shell sample to the  $808 \text{ nm}$  irradiation is strikingly greater than that of AMF and extreme  $\Delta T$  values can be achieved depending on the applied laser power (almost  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ ). No saturation effect was observed within the laser power range studied, meaning that a further increase of this parameter will result in even higher  $\Delta T$ .

Based on the behavior of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-@-APTES-Ag}$  sample upon exposure to both stimulants, it was decided that the so-called

dual-mode will be carried out to check if there will be any beneficial outcome that improves the heating efficiency. For dual-mode measurement, most optimal magnetic field parameters were applied, namely  $302 \text{ kHz}$  and  $28 \text{ kA m}^{-1}$ , while for NIR laser it was decided that we will limit the laser power to  $900 \text{ mW}$  to not overcome the AMF heat induction mechanism, and to significantly reduce the laser optical density (around  $1 \text{ W cm}^{-2}$ ).

All recorded heating curves were presented in Fig. 7 in a way that allows the comparison of the AMF, laser, and dual modes separately. Furthermore, the effect of particle concentration was studied as well. The values of dT/dt that define the speed of the temperature increase,  $\Delta T$ , and  $T_{\max}$  were extracted and presented in Fig. 8. In general, dual-mode heat induction results in improvement of  $\Delta T$  (Fig. 7) and the highest achievable  $T_{\max}$  values (Fig. 8c). Separate AMF and NIR action gives in all cases a lower  $T_{\max}$  than during dual exposure. The progressive increase of  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-@-APTES-Ag}$  concentration increases  $T_{\max}$  in an almost linear manner for AMF stimulation, which can be an indication of the absence of changes in particle state in suspensions.<sup>39</sup> What is worth noting, is that the above concentration of  $4 \text{ mg ml}^{-1}$  AMF heat induction starts to dominate over laser exposure leading to the higher  $T_{\max}$  while at this concentration the saturation is already achieved for NIR action though the further increase of the nanoheaters does not change the  $T_{\max}$  at all. The reason for that can be sought in the blocking of light penetration through the colloid due to the high number of NIR absorbers (critical concentration achieved) that are located at the proximal portion of dispersion. This fact can be supported by the data presented in Fig. 6c that showed a progressive temperature increase with laser power without achieving a saturation for the  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-@-APTES-Ag}$  particles concentration of

**Table 1** Specific absorption rate (SAR),  $dT/dt$ ,  $\Delta T$ , and  $T_{\max}$  parameters of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  reference nanocubes and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag core–shell structures under contactless stimulation with AMF, laser, and synergic action. The corresponding magnetic field frequency was 302 kHz (optimal setting)

AMF				
Field intensity (kA m <sup>-1</sup> )	$dT/dt$ (°C s <sup>-1</sup> )	$\Delta T$	$T_{\max}$ (°C)	SAR (W g <sup>-1</sup> )
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub></b>				
28	0.023	13.3	37.1	96.2
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag</b>				
22	0.009	6.3	28.4	37.7
24	0.011	8.2	30.5	46.0
26	0.012	9.5	31.6	51.4
28	0.018	12.4	33.9	75.3
LASER				
Laser power (mW)	$dT/dt$ (°C s <sup>-1</sup> )	$\Delta T$	$T_{\max}$ (°C)	SAR (W g <sup>-1</sup> )
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub></b>				
1700	0.138	48.6	74.5	579.6
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag</b>				
300	0.034	9.6	34.2	142.3
500	0.042	16.6	41.9	175.8
700	0.055	21.6	46.7	230.2
900	0.070	26.8	50.4	292.9
1100	0.083	31.3	56.8	347.3
1300	0.099	37.5	62.6	414.3
1500	0.115	41.5	67.3	481.3
1700	0.123	46.4	71.9	514.7
DUAL				
AMF & laser parameters	$dT/dt$ (°C s <sup>-1</sup> )	$\Delta T$	$T_{\max}$ (°C)	SAR (W g <sup>-1</sup> )
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag</b> 302 kHz, 28 kA m <sup>-1</sup> , 900 mW	0.180	26.8	66.4	1031.9

1 mg ml<sup>-1</sup>. The saturation forced by the core–shell concentration was also noticeable for dual-mode energy conversion. Utilization of the laser light leads to the observed saturation regime that depends on the particle number due to the same reason mentioned. However, one can note that the heating efficiency during simultaneous action of AMF and NIR can be strongly enhanced and this augmentation has an almost cumulative character.

The specific absorption rate (SAR), being a measure of the heating performance, was calculated using the following formula:

$$\text{SAR} = \frac{C}{m} \frac{dT}{dt}, \quad (1)$$

where  $C$  is the specific heat capacity of the medium ( $C_{\text{H}_2\text{O}} = 4.185 \text{ J g}^{-1} \text{ °C}^{-1}$ ),  $m$  is the particle mass in dispersion (g), and  $dT/dt$  is the slope of the linear fit of the heating curve for the

**Table 2**  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag particle concentration dependence of  $dT/dt$ ,  $\Delta T$ , and  $T_{\max}$  values extracted for different external stimulations

Concentration (mg ml <sup>-1</sup> )	$dT/dt$ (°C/s <sup>-1</sup> )	$\Delta T$	$T_{\max}$ (°C)
<b>AMF 302 kHz 28 kA m<sup>-1</sup></b>			
1	0.018	12.4	33.9
2	0.021	18.0	40.8
4	0.079	41.8	63.5
6	0.159	49.8	71.4
<b>LASER 900 mW</b>			
1	0.070	26.8	50.4
2	0.090	31.0	56.2
4	0.120	36.9	62.6
6	0.122	37.8	62.3
<b>DUAL 302 kHz 28 kA m<sup>-1</sup> 900 mW</b>			
1	0.181	26.8	66.4
2	0.242	51.3	74.6
4	0.20	55.9	78.6
6	0.21	57.5	81.7

first tens of seconds. The results of the fitting ( $dT/dt$ ) and calculations (SAR) with additional parameters ( $\Delta T$  and  $T_{\max}$ ) were collected in Tables 1 and 2, while the chosen dependencies were presented in Fig. 8.

The SAR of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag core–shell structures for the action of AMF was calculated for an optimized magnetic field frequency of 302 kHz as a function of field intensity and compared to bare  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes. In general, the obtained values are below  $100 \text{ W g}^{-1}$  meaning that the heating efficiency of both samples is not impressively high. However, due to their size (above 60 nm), and the presence of strong interparticle interactions, SAR for bare  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes ( $96 \text{ W g}^{-1}$  calculated for the total  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  mass) is comparable with reports in the literature about similar objects.<sup>6</sup> It is worth mentioning that fabrication of the core–shell  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag does not cause the loss of SAR. In our experiments, the values are very close to the uncovered cubes and we need to take into mind that within the same particle concentration the content of the iron will be lower than in a reference sample, though a drop in SAR was observed ( $75.3$  instead of  $96 \text{ W g}^{-1}$ ). Another reason can be sought in the presence of a silica insulating layer that can hinder heat dissipation, despite the thickness of about 10 nm. However, both samples at a particle concentration equal to  $1 \text{ mg ml}^{-1}$  cannot be heated above  $40 \text{ °C}$  and an increase of concentration (above  $2 \text{ mg ml}^{-1}$ ) is necessary to achieve the biologically relevant temperature range when heated with AMF (see Table 2 and Fig. 7, 8c).

Significant heating with AMF can be achieved above  $4 \text{ mg ml}^{-1}$  of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @APTES–Ag up to  $71 \text{ °C}$ . Upon analysis of the field intensity dependence of SAR and  $dT/dt$  (Fig. 8a), we found that both parameters change in a polynomial way (square). This trend should be expected by taking into account the Rosensweig work on the dissipation of power losses under AMF.<sup>5</sup> The heating effectiveness with NIR laser exposure is generally one order of magnitude greater in terms of SAR and  $dT/dt$  values,



pointing to a higher efficacy of the heating mechanism through photostimulation. For comparison, SAR for the AMF is  $75.3 \text{ W g}^{-1}$  and above  $500 \text{ W g}^{-1}$  for laser, while  $dT/dt$  changes from  $0.018 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$  to  $0.123 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$  when exposed to 808 nm wavelength at 1700 mW. As we can see, the SAR and  $dT/dt$  change linearly with laser output power as previously elucidated by others.<sup>19</sup> The maximum temperature that was achieved was  $72 \text{ }^\circ\text{C}$  at 1700 mW. The concentration dependence for laser radiation was measured for the 900 mW (to limit LOD) and saturation was observed above  $2 \text{ mg ml}^{-1}$  meaning that in terms of NIR further increase of the nanoheaters number has no sense since no  $T_{\text{max}}$  is enhanced.

Interesting result has been achieved with dual-mode stimulation performed by using AMF with a field frequency of 302 kHz,  $28 \text{ kA m}^{-1}$  intensity, as well as 900 mW of laser output power. The greater augmentation of  $dT/dt$  was observed up to  $0.2 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$  while SAR was above  $1000 \text{ W g}^{-1}$  for the  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$  concentration of  $1 \text{ mg ml}^{-1}$ . A further increase in the number of core-shell particles resulted in saturation similarly as for the laser mode alone. Comparison of the SAR values calculated for our heterostructures with the literature date is hard since one can find only one article authored by Das *et al.*<sup>40</sup> They reported SAR values for simultaneous action of AMF and laser light (442 nm instead of 808 nm and different LODs) of the order of  $300 \text{ W g}^{-1}$  (here  $1000 \text{ W g}^{-1}$ ), but the field intensity was above 800 Oe ( $63 \text{ kA m}^{-1}$ ) instead of maximum of  $28 \text{ kA m}^{-1}$  in our case. We need to stress that they also used reverse heterostructures  $\text{Ag@Fe}_3\text{O}_4$ , so direct comparison is impossible.

### 3.3. Surface-enhanced Raman scattering on $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$ multipurpose platform

Verification of SERS augmentation on the prepared nano-materials was performed with the rhodamine 6G standard (R6G). As one can observe, only with presence of the

$\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$  characteristic Raman bands of the R6G dye were revealed at characteristic positions 611, 773, 1188, 1311, 1362, 1421, 1506, 1573,  $1655 \text{ cm}^{-1}$ , respectively (see Fig. 9a and inset).<sup>41,42</sup> All other materials, including the R6G dye alone, did not generate any signal for  $2.5 \text{ } \mu\text{M}$  at  $0.25 \text{ } \mu\text{W}$ . Clearly, the presence of Ag metallic islands in  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$  promotes the SERS electromagnetic mechanism that results in a strong enhancement of the Raman signal that allows detection of the R6G analyte. The SERS sensitivity was tested using R6G standard solutions with the following concentrations 0.01, 0.05, 0.5, 1 and  $2.5 \text{ } \mu\text{M}$  (Fig. 9a). It should be noted that the R6G Raman bands can be detected down to  $0.05 \text{ } \mu\text{M}$  ( $50 \text{ nM}$ ) of the dye. Below that concentration no Raman modes were visible at  $25 \text{ } \mu\text{W}$  of laser power. The dependence of the 488 nm laser output power ( $25 \text{ } \mu\text{W}$ – $0.5 \text{ mW}$ ) on signal detectability was checked for the  $0.5 \text{ } \mu\text{M}$  R6G sample and shown in Fig. 9b. Approximately three-fold SERS signal improvement was observed meaning that the change in excitation power can be used for detection of lower R6G dye concentration, thus it can surpass the mention limit below  $0.05 \text{ } \mu\text{M}$ . Recently, it was shown that the excellent SERS probe was constructed based on purely Au snowflake NPs that is capable of detecting R6G at the level of  $3 \text{ nM}$ .<sup>43,44</sup> However, it is hard to estimate what laser power was used in the experiments, since no data was provided. At the same time, one has to remember that SERS probe sensitivity depends strongly on the source laser output power and can be also detrimental on the stability of measured analyte (generated heat can damage molecules).<sup>45</sup> Therefore, in the case of our  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Ag}$  heterostructures, we were able to detect the R6G at  $50 \text{ nM}$  and with the use of a low laser power that does not exceed  $25 \text{ } \mu\text{W}$ . As it was also shown by us, increase of the source power can enhance the signal intensity and as a consequence, increase the sensitivity of the probe significantly, as was presented by us in Fig. 9b. Another practical aspect can be found in the fact that the SERS

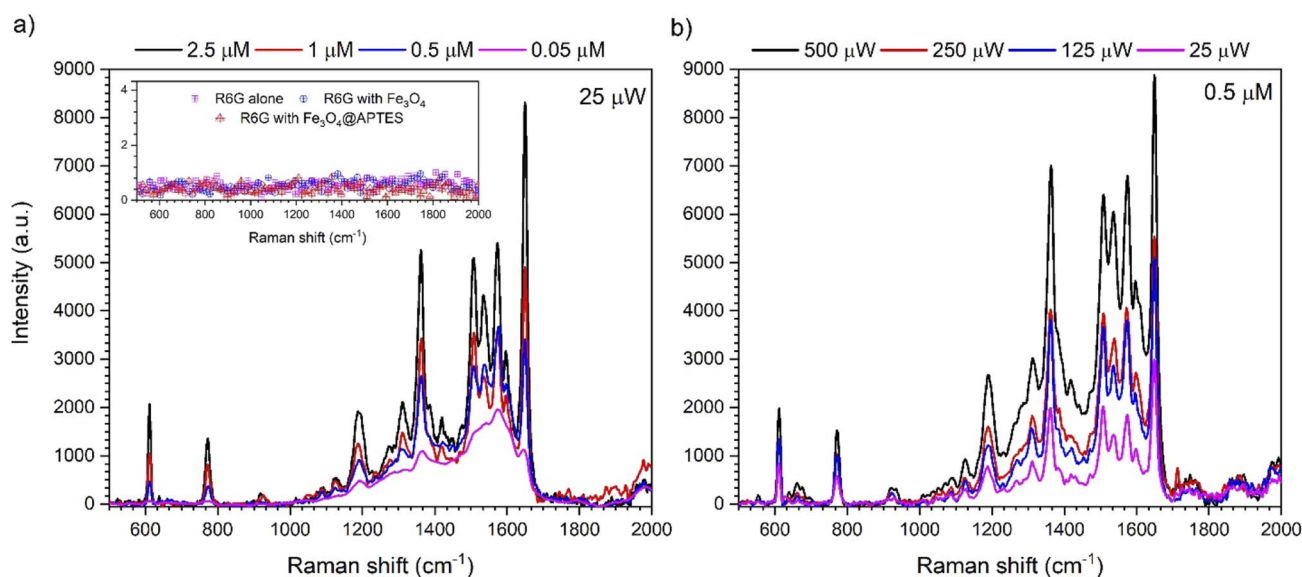


Fig. 9 SERS effect on  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES-Ag}$  heterostructures (a) as a function of R6G standard solution concentration recorded with  $25 \text{ } \mu\text{W}$  laser power (inset shows no signal recorded neither for R6G alone, R6G on  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nor  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@APTES}$ ) as well as (b) as a function of the 488 nm laser power measured for  $0.5 \text{ } \mu\text{M}$  of R6G.



probe based on magnetic core heterostructures can be quite easily recovered and reused. Thus, we conclude that the proposed platform possesses sufficient sensitivity to be applied as a SERS probe.

### 3.4. Antibacterial activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag heterostructures

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> particles are recognized in general as inert for bacteria. However, after silver-nanostructures decoration, they are likely to exhibit antibacterial activity. For this purpose, the minimum inhibitory concentration of the nanocubes was determined against four bacterial strains prevalent in nosocomial and medical devices-related infections. The results revealed, as expected, that bare Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes did not show any antibacterial activity in concentrations up to 500 µg ml<sup>-1</sup>. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag nanocubes were not effective against both tested Gram-positive strains as well as against *E. coli* (up to 50 µg ml<sup>-1</sup>). However, they inhibited the growth of the *P. aeruginosa* strain at a concentration of 50 µg ml<sup>-1</sup> (Table 3). This observation is particularly interesting because *P. aeruginosa* is a critically dangerous bacterial strain associated with nosocomial infections, causing morbidity and mortality in many patients and remarkably resistant to antibacterial agents, thus difficult to eradicate.<sup>46</sup> Its mechanism of resistance to antibacterial factors is based on outer membrane permeability, efflux systems, antibiotic-inactivating enzymes, resistance by mutations and acquisition of resistance genes, biofilm-mediated resistance, and formation of persister cells.<sup>46</sup> It was reported to cause approximately 10% of hospital infections.<sup>47–49</sup> For this reason, the World Health Organization (WHO) has recently listed carbapenem-resistant *P. aeruginosa* as one of three bacterial species in which there is a critical need for the development of new antibiotics to treat infections.<sup>50</sup> Therefore, the sensitivity of *P. aeruginosa* to Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag nanocubes deserves particular interest and further studies, although the MIC value is relatively high (50 µg ml<sup>-1</sup>). However, this is understandable in view of the low percentage of silver in the overall structure of the nanocubes.

Interestingly, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES (without silver) also showed notable activity against *S. aureus* and *S. epidermidis* strains (50 µg ml<sup>-1</sup> and 25 µg ml<sup>-1</sup>, respectively; Table 3). *S. aureus* is usually reported as the most common nosocomial infection-

causing bacteria.<sup>51,52</sup> Whereas *S. epidermidis*, although being a natural skin colonizer, is nowadays regarded as the most frequent cause of nosocomial infections and indwelling medical device-associated infections, mainly due to its high ability to form biofilm on the surfaces of such devices.<sup>52,53</sup> The reason of the antibacterial activity of APTES-capped Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocubes is intriguing. APTES contains amino groups which can bring benefits in increasing of antibacterial activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> particles. It was earlier reported<sup>54</sup> that recombinant peptides with numerous amino acid residues showed antibacterial activity. Moreover, it was demonstrated that APTES-modified ZnO particles induced an antimicrobial effect, in particular against Gram-negative bacteria,<sup>55</sup> APTES modification of TiO<sub>2</sub> NPs enhanced the antibacterial efficiency against *Escherichia coli* under artificial solar light<sup>56</sup> and APTES-functionalized zeolite shows evidence of antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative strains.<sup>57</sup> Thus, it seems that this phenomenon also deserves more attention in further studies because APTES-coating of nanostructures may form a platform for their further modifications, increasing their antimicrobial potential.

## 4. Conclusions

The Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag heterostructures were synthesized using a three-step process involving the synthesis of the magnetite nanocube core material, surface coverage with a thin silica shell, and chemisorption of Ag<sup>+</sup> cations and their subsequent reduction resulting in the formation of silver metallic islands. The estimated size of the multipurpose composite was around 94.5 nm, while Ag silver particles were of 8.5 nm interconnected with the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> surface through a silica shell with an average thickness of 12.8 nm. The effectiveness of heterostructure fabrication was evidenced by the TEM imaging and FTIR-ATR spectroscopy. The silica shell and silver particles are clearly distinguishable, as well as FTIR gave an indication of the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> surface coverage and Ag attachment that manifested in the shift of the characteristic vibration bands and the appearance of new features.

The multifunctionality of Ag-decorated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles was manifested in the ability to generate significant temperature effects under the action of AMF and NIR radiation, to use it as a SERS probe and antimicrobial activity. In the case of heat induction, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> heterostructures showed exceptional responsiveness to synergic action of AMF and NIR (808 nm laser light) that resulted in a high SAR value of 1000 W g<sup>-1</sup>. The laser-induced energy conversion was more effective than AMF stimulation, with one order of magnitude higher dT/dt in the first case. It was shown that even the AMF-based mechanism is not that efficient; the temperature effect can be enhanced by increasing the concentration of nanoheaters, leading to a T<sub>max</sub> of 71 °C. Increase of the same particle concentration during laser exposure leads to saturation above 2 mg ml<sup>-1</sup>, and the same behavior was observed for dual mode stimulation.

The verification of the ability of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag to enhance the Raman signal of the R6G molecule was confirmed. The detection limit of R6G can be augmented by modulating the

**Table 3** Minimum inhibitory concentrations (MICs) of tested nanocubes against 4 reference bacterial strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S.a.*), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (*S.e.*), *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E.c.*) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27953 (*P.a.*)

NPs	Concentration range (µg ml <sup>-1</sup> )	MIC (µg ml <sup>-1</sup> )			
		<i>S.a.</i>	<i>S.e.</i>	<i>E.c.</i>	<i>P.a.</i>
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	50–500	>500	>500	>500	>500
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @APTES	1.562–50	50	25	>50	>50
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @APTES–Ag	1.562–50	>50	>50	>50	50



incident laser power and can be increased below 0.01  $\mu\text{M}$  of the dye.

The antimicrobial activity of the heterostructures was tested against four bacterial strains, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27953. The  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ APTES-Ag showed the highest activity for inhibition of *P. aeruginosa* at 50  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . This is a very interesting effect from the application point of view, since *P. aeruginosa* is an extremely dangerous bacteria that causes high mortality in patients and is very resistant to antibacterial agents.

## Author contributions

M. K.-G., D.S. and A.T. synthesis of particles, heterostructures, and their characterization, M. K.-G., D. S. energy conversion measurements, R. P. and M. K.-G. data analysis and figures preparation, A. D. particle imaging, and element mapping, A. M. and A. B. antimicrobial activity tests, data analysis, R. W.-N. SERS experiments and data analysis, R. P., A. T., M. K.-G., A. T, D. S., A. D., A. M., A. B., R. W.-N., writing manuscript, editing and corrections. R. P., M. K.-G., A. B. idea, methodology, conceptualization. All authors read the manuscript and agreed with its content.

## Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

## Acknowledgements

Financial support of the National Science Centre, Poland in course of realization of Project no. UMO-2017/25/B/ST5/00497 is gratefully acknowledged. Antibacterial activity studies were supported by the Ministry of Education and Science in Poland within the statutory activity of the Medical University of Lublin (DS6/2022). The authors would like to thank M.Sc. Eng. Patrycja Kłoda-Biskup for technical assistance.

## References

- R. Hergt, S. Dutz, R. Müller and M. Zeisberger, Magnetic Particle Hyperthermia: Nanoparticle Magnetism and Materials Development for Cancer Therapy, *J. Phys.: Condens. Matter*, 2006, **18**, S2919–S2934, DOI: [10.1088/0953-8984/18/38/S26](https://doi.org/10.1088/0953-8984/18/38/S26).
- S. Dutz and R. Hergt, Magnetic Nanoparticle Heating and Heat Transfer on a Microscale: Basic Principles, Realities and Physical Limitations of Hyperthermia for Tumour Therapy, *Int. J. Hyperthermia*, 2013, **29**, 790–800, DOI: [10.3109/02656736.2013.822993](https://doi.org/10.3109/02656736.2013.822993).
- L. Wu, A. Mendoza-Garcia, Q. Li and S. Sun, Organic Phase Syntheses of Magnetic Nanoparticles and Their Applications, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 10473–10512, DOI: [10.1021/acs.chemrev.5b00687](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00687).
- M. Banobre-Lopez, Y. Pineiro-Redondo, M. Sandri, A. Tampieri, R. De Santis, V. A. Dediu and J. Rivas, Hyperthermia Induced in Magnetic Scaffolds for Bone Tissue Engineering, *IEEE Trans. Magn.*, 2014, **50**, 5400507, DOI: [10.1109/TMAG.2014.2327245](https://doi.org/10.1109/TMAG.2014.2327245).
- R. E. Rosensweig, Heating Magnetic Fluid with Alternating Magnetic Field, *J. Magn. Magn. Mater.*, 2002, **252**, 370–374, DOI: [10.1016/S0022-5347\(17\)32321-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)32321-2).
- H. Gavilán, S. K. Avugadda, T. Fernández-Cabada, N. Soni, M. Cassani, B. T. Mai, R. Chantrell and T. Pellegrino, Magnetic Nanoparticles and Clusters for Magnetic Hyperthermia: Optimizing Their Heat Performance and Developing Combinatorial Therapies to Tackle Cancer, *Chem. Soc. Rev.*, 2021, **50**(20), 11614–11667, DOI: [10.1039/d1cs00427a](https://doi.org/10.1039/d1cs00427a).
- A. K. A. Silva, A. Espinosa, J. Kolosnjaj-Tabi, C. Wilhelm and F. Gazeau, Medical Applications of Iron Oxide Nanoparticles, in *Iron Oxides: From Nature to Applications*, ed. D. Faivre, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2016, pp. 425–471, DOI: [10.1002/9783527691395.ch18](https://doi.org/10.1002/9783527691395.ch18).
- A. G. Roca, L. Gutiérrez, H. Gavilán, M. E. Fortes Brollo, S. Veintemillas-Verdaguer and M. P. Morales, Design Strategies for Shape-Controlled Magnetic Iron Oxide Nanoparticles, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2019, **138**, 68–104, DOI: [10.1016/j.addr.2018.12.008](https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.12.008).
- D. Jaque, L. Martínez Maestro, B. del Rosal, P. Haro-Gonzalez, A. Benayas, J. L. Plaza, E. Martín Rodríguez and J. García Solé, Nanoparticles for Photothermal Therapies, *Nanoscale*, 2014, **6**, 9494–9530, DOI: [10.1039/c4nr00708e](https://doi.org/10.1039/c4nr00708e).
- L. M. Maestro, P. Haro-González, B. del Rosal, J. Ramiro, a J. Caamaño, E. Carrasco, A. Juarranz, F. Sanz-Rodríguez, J. G. Solé and D. Jaque, Heating Efficiency of Multi-Walled Carbon Nanotubes in the First and Second Biological Windows, *Nanoscale*, 2013, **5**(17), 7882–7889, DOI: [10.1039/c3nr01398g](https://doi.org/10.1039/c3nr01398g).
- S. Link and M. A. El-Sayed, Shape and Size Dependence of Radiative, Non-Radiative and Photothermal Properties of Gold Nanocrystals, *Int. Rev. Phys. Chem.*, 2000, **19**, 409–453, DOI: [10.1080/01442350050034180](https://doi.org/10.1080/01442350050034180).
- T. N. Lambert, N. L. Andrews, H. Gerung, T. J. Boyle, J. M. Oliver, B. S. Wilson and S. M. Han, Water-Soluble Germanium(0) Nanocrystals: Cell Recognition and near-Infrared Photothermal Conversion Properties, *Small*, 2007, **3**(4), 691–699, DOI: [10.1002/sml.200600529](https://doi.org/10.1002/sml.200600529).
- X. H. Huang, I. H. El-Sayed, W. Qian and M. a. El-Sayed, Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Near-Infrared Region by Using Gold Nanorods, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**(6), 2115–2120, DOI: [10.1021/ja057254a](https://doi.org/10.1021/ja057254a).
- S. Shen, F. Kong, X. Guo, L. Wu, H. Shen, M. Xie, X. Wang, Y. Jin and Y. Ge, CMCTS Stabilized  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Particles with Extremely Low Toxicity as Highly Efficient Near-Infrared Photothermal Agents for in Vivo Tumor Ablation, *Nanoscale*, 2013, **5**(17), 8056–8066, DOI: [10.1039/c3nr01447a](https://doi.org/10.1039/c3nr01447a).
- S. Shen, S. Wang, R. Zheng, X. Zhu, X. Jiang, D. Fu and W. Yang, Magnetic Nanoparticle Clusters for Photothermal Therapy with Near-Infrared Irradiation, *Biomaterials*, 2015, **39**, 67–74, DOI: [10.1016/j.biomaterials.2014.10.064](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.10.064).



- 16 M. Chu, Y. Shao, J. Peng, X. Dai, H. Li, Q. Wu and D. Shi, Near-Infrared Laser Light Mediated Cancer Therapy by Photothermal Effect of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Nanoparticles, *Biomaterials*, 2013, **34**, 4078–4088, DOI: [10.1016/j.biomaterials.2013.01.086](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.086).
- 17 J. Estelrich and M. Antònia Busquets, Iron Oxide Nanoparticles in Photothermal Therapy, *Molecules*, 2018, **23**, 1567, DOI: [10.3390/molecules23071567](https://doi.org/10.3390/molecules23071567).
- 18 H. Chen, J. Burnett, F. Zhang, J. Zhang, H. Paholak and D. Sun, Highly Crystallized Iron Oxide Nanoparticles as Effective and Biodegradable Mediators for Photothermal Cancer Therapy, *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**(7), 757–765, DOI: [10.1039/c3tb21338b](https://doi.org/10.1039/c3tb21338b).
- 19 H. Rodríguez-Rodríguez, G. Salas and J. R. Arias-Gonzalez, Heat Generation in Single Magnetic Nanoparticles under Near-Infrared Irradiation, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2020, **12**, 2182–2187, DOI: [10.1021/acs.jpcclett.0c00143](https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.0c00143).
- 20 A. Espinosa, R. Di Corato, J. Kolosnjaj-Tabi, P. Flaud, T. Pellegrino and C. Wilhelm, Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy: Amplification of Heating Efficiency by Magnetic Hyperthermia and Photothermal Bimodal Treatment, *ACS Nano*, 2016, **10**, 2436–2446, DOI: [10.1021/acsnano.5b07249](https://doi.org/10.1021/acsnano.5b07249).
- 21 A. Espinosa, J. Kolosnjaj-Tabi, A. Abou-Hassan, A. Plan Sangnier, A. Curcio, A. K. A. Silva, R. Di Corato, S. Neveu, T. Pellegrino, L. M. Liz-Marzán and C. Wilhelm, Magnetic (Hyper)Thermia or Photothermia? Progressive Comparison of Iron Oxide and Gold Nanoparticles Heating in Water, in Cells, and In Vivo, *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**(37), 1–16, DOI: [10.1002/adfm.201803660](https://doi.org/10.1002/adfm.201803660).
- 22 D. H. Ortgies, F. J. Teran, U. Rocha, L. de la Cueva, G. Salas, D. Cabrera, A. S. Vanetsev, M. Rähn, V. Sammelseig, Y. V. Orlovskii and D. Jaque, Optomagnetic Nanoplatforams for In Situ Controlled Hyperthermia, *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**, 1–11, DOI: [10.1002/adfm.201704434](https://doi.org/10.1002/adfm.201704434).
- 23 M. Kulpa-Greszta, R. Pązik, P. Kłoda, A. Tomaszewska, E. Zachanowicz, K. Pałka, G. Ginalska and A. Belcarz, Efficient Non-Contact Heat Generation on Flexible, Ternary Hydroxyapatite/Curdlan/Nanomagnetite Hybrids for Temperature Controlled Processes, *Mater. Sci. Eng., C*, 2021, **118**, 111360, DOI: [10.1016/j.msec.2020.111360](https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111360).
- 24 M. A. Antoniuk, R. Pązik, U. Bazylewska, K. Wiwatowski, A. Tomaszewska, M. Kulpa-Greszta, J. Adamczyk-Grochala, M. Wnuk, S. Maćkowski, A. Lewińska and M. Nyk, Multimodal Polymer Encapsulated CdSe/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoplatforam with Improved Biocompatibility for Two-Photon and Temperature Stimulated Bioapplications, *Mater. Sci. Eng., C*, 2021, **127**, 112224, DOI: [10.1016/j.msec.2021.112224](https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112224).
- 25 R. Pązik, A. Lewińska, J. Adamczyk-Grochala, M. Kulpa-Greszta, P. Kłoda, A. Tomaszewska, A. Dziedzic, G. Litwienienko, M. Noga, D. Sikora and M. Wnuk, Energy Conversion and Biocompatibility of Surface Functionalized Magnetite Nanoparticles with Phosphonic Moieties, *J. Phys. Chem. B*, 2020, **124**, 4931–4948, DOI: [10.1021/acs.jpcc.0c02808](https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c02808).
- 26 S. A. Sapareto and W. C. Dewey, Thermal Dose Determination in Cancer Therapy, *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.*, 1984, **10**, 787–800, DOI: [10.1016/0360-3016\(84\)90379-1](https://doi.org/10.1016/0360-3016(84)90379-1).
- 27 C. Wang, Z. Rong, J. Wang, N. Jiang, Y. Pang, R. Xiao and S. Wang, Seed-Mediated Synthesis of High-Performance Silver-Coated Magnetic Nanoparticles and Their Use as Effective SERS Substrates, *Colloids Surf., A*, 2016, **506**, 393–401, DOI: [10.1016/j.colsurfa.2016.05.103](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.05.103).
- 28 D. Song, R. Yang, C. Wang, R. Xiao and F. Long, Reusable Nanosilver-Coated Magnetic Particles for Ultrasensitive SERS-Based Detection of Malachite Green in Water Samples, *Sci. Rep.*, 2016, **6**, 1–9, DOI: [10.1038/srep22870](https://doi.org/10.1038/srep22870).
- 29 K. S. Shin, Y. K. Cho, J. Y. Choi and K. Kim, Facile Synthesis of Silver-Deposited Silanized Magnetite Nanoparticles and Their Application for Catalytic Reduction of Nitrophenols, *Appl. Catal., A*, 2012, **413–414**, 170–175, DOI: [10.1016/j.apcata.2011.11.006](https://doi.org/10.1016/j.apcata.2011.11.006).
- 30 H. M. A. Sharif, A. Mahmood, H. Y. Cheng, R. Djellabi, J. Ali, W. L. Jiang, S. S. Wang, M. R. Haider, N. Mahmood and A. J. Wang, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Coated with EDTA and Ag Nanoparticles for the Catalytic Reduction of Organic Dyes from Wastewater, *ACS Appl. Nano Mater.*, 2019, **2**, 5310–5319, DOI: [10.1021/acsanm.9b01250](https://doi.org/10.1021/acsanm.9b01250).
- 31 M. Abbas, S. R. Torati and C. G. Kim, A Novel Approach for the Synthesis of Ultrathin Silica-Coated Iron Oxide Nanocubes Decorated with Silver Nanodots (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/Ag) and Their Superior Catalytic Reduction of 4-Nitroaniline, *Nanoscale*, 2015, **7**(28), 12192–12204, DOI: [10.1039/c5nr02680f](https://doi.org/10.1039/c5nr02680f).
- 32 X. Zhang, H. Niu, J. Yan and Y. Cai, Immobilizing Silver Nanoparticles onto the Surface of Magnetic Silica Composite to Prepare Magnetic Disinfectant with Enhanced Stability and Antibacterial Activity, *Colloids Surf., A*, 2011, **375**(1–3), 186–192, DOI: [10.1016/j.colsurfa.2010.12.009](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.12.009).
- 33 D. Kim, N. Lee, M. Park, B. H. Kim, K. An and T. Hyeon, Synthesis of Uniform Ferrimagnetic Magnetite Nanocubes - Journal of the American Chemical Society (ACS Publications), *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 454–455, DOI: [10.1021/ja8086906](https://doi.org/10.1021/ja8086906).
- 34 P. S. Goh, T. W. Wong, J. W. Lim, A. F. Ismail and N. Hilal, Innovative and Sustainable Membrane Technology for Wastewater Treatment and Desalination Application, in *Innovation Strategies in Environmental Science*, ed. C. M. Galanakis, Elsevier Inc., 2019, pp. 291–319, DOI: [10.1016/B978-0-12-817382-4.00009-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817382-4.00009-5).
- 35 L. Qiao, Z. Fu, J. Li, J. Ghosen, M. Zeng, J. Stebbins, P. N. Prasad and M. T. Swihart, Standardizing Size- and Shape-Controlled Synthesis of Monodisperse Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) Nanocrystals by Identifying and Exploiting Effects of Organic Impurities, *ACS Nano*, 2017, **11**, 6370–6381, DOI: [10.1021/acsnano.7b02752](https://doi.org/10.1021/acsnano.7b02752).
- 36 D. W. Wang, X. M. Zhu, S. F. Lee, H. M. Chan, H. W. Li, S. K. Kong, J. C. Yu, C. H. K. Cheng, Y. X. J. Wang and K. C. F. Leung, Folate-Conjugated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@gold Nanorods@mesoporous SiO<sub>2</sub> Hybrid Nanomaterial: A



- Theranostic Agent for Magnetic Resonance Imaging and Photothermal Therapy, *J. Mater. Chem. B*, 2013, **1**(23), 2934–2942, DOI: [10.1039/c3tb20090f](https://doi.org/10.1039/c3tb20090f).
- 37 J. Xu, C. Ju, J. Sheng, F. Wang, Q. Zhang, G. Sun and M. Sun, Synthesis and Characterization of Magnetic Nanoparticles and Its Application in Lipase Immobilization, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2013, **34**, 2408–2412, DOI: [10.5012/bkcs.2013.34.8.2408](https://doi.org/10.5012/bkcs.2013.34.8.2408).
- 38 A. Morel, S. I. Nikitenko, K. Gionnet, A. Wattiaux, J. Lai-keehim, C. Labrugere, B. Chevalier, G. Deleris, C. Petibois, A. Brisson, M. Simonoff, I. Bordeaux, L. H. Vigneau and A. Faculte, Sonochemical Approach to the Synthesis, *ACS Nano*, 2008, **2**, 847–856.
- 39 M. Zeinoun, J. Domingo-Diez, M. Rodriguez-Garcia, O. Garcia, M. Vasic, M. Ramos and J. J. S. Olmedo, Enhancing Magnetic Hyperthermia Nanoparticle Heating Efficiency with Non-Sinusoidal Alternating Magnetic Field Waveforms, *Nanomaterials*, 2021, **11**, 3240, DOI: [10.3390/nano1123240](https://doi.org/10.3390/nano1123240).
- 40 R. Das, N. Rinaldi-Montes, J. Alonso, Z. Amghouz, E. Garaio, J. A. García, P. Gorria, J. A. Blanco, M. H. Phan and H. Srikanth, Boosted Hyperthermia Therapy by Combined AC Magnetic and Photothermal Exposures in Ag/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoflowers, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, **8**, 25162–25169, DOI: [10.1021/acsami.6b09942](https://doi.org/10.1021/acsami.6b09942).
- 41 P. Hildebrandt and M. Stockhurger, Surface-Enhanced Resonance Raman Spectroscopy of Rhodamine 6G Adsorbed on Colloidal Silver, *J. Phys. Chem.*, 1984, **88**, 5935–5944, DOI: [10.1021/j150668a038](https://doi.org/10.1021/j150668a038).
- 42 C. Wu, E. Chen and J. Wei, Surface Enhanced Raman Spectroscopy of Rhodamine 6G on Agglomerates of Different-Sized Silver Truncated Nanotriangles, *Colloids Surf., A*, 2016, **506**, 450–456, DOI: [10.1016/j.colsurfa.2016.07.020](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.07.020).
- 43 H. Zhou, X. Li, L. Wang, Y. Liang, A. Jialading, Z. Wang and J. Zhang, Application of SERS Quantitative Analysis Method in Food Safety Detection, *Rev. Anal. Chem.*, 2021, **40**, 173–186, DOI: [10.1515/revac-2021-0132](https://doi.org/10.1515/revac-2021-0132).
- 44 D. Huang, J. Zhao, M. Wang and S. Zhu, Snowflake-like Gold Nanoparticles as SERS Substrates for the Sensitive Detection of Organophosphorus Pesticide Residues, *Food Control*, 2020, **108**, 106835, DOI: [10.1016/j.foodcont.2019.106835](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106835).
- 45 Z. D. Schultz, Not Too Hot: The Importance of Optimizing Laser Power for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) Measurements, *Spectroscopy*, 2021, **36**, 18–20.
- 46 Z. Pang, R. Raudonis, B. R. Glick, T. J. Lin and Z. Cheng, Antibiotic Resistance in *Pseudomonas Aeruginosa*: Mechanisms and Alternative Therapeutic Strategies, *Biotechnol. Adv.*, 2019, **37**, 177–192, DOI: [10.1016/j.biotechadv.2018.11.013](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013).
- 47 D. Cardo, T. Horan, M. Andrus, M. Dembinski, J. Edwards, G. Peavy, J. Tolson and D. Wagner, *National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992 through June 2004, Issued October 2004*, 2004, vol. 32, DOI: [10.1016/j.ajic.2004.10.001](https://doi.org/10.1016/j.ajic.2004.10.001).
- 48 R. Recio, M. Mancheno, E. Viedma, J. Villa, M. A. Orellana, J. Lora-Tamayo and F. Chaves, Predictors of Mortality in Bloodstream Infections Caused by *Pseudomonas Aeruginosa* and Impact of Antimicrobial, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2020, **64**, e01759-19, DOI: [10.1128/aac.01759-19](https://doi.org/10.1128/aac.01759-19).
- 49 H. S. Sader, M. Castanheira, L. R. Duncan and R. K. Flamm, Antimicrobial Susceptibility of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas Aeruginosa* Isolates from United States Medical Centers Stratified by Infection Type: Results from the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) Surveillance Program, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2018, **92**, 69–74, DOI: [10.1016/j.diagmicrobio.2018.04.012](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.04.012).
- 50 E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, S. Harbarth, M. Mendelson, D. L. Monnet, C. Pulcini, G. Kahlmeter, J. Kluytmans, Y. Carmeli, M. Ouellette, K. Outtersson, J. Patel, M. Cavalieri, E. M. Cox, C. R. Houchens, M. L. Grayson, P. Hansen, N. Singh, U. Theuretzbacher, N. Magrini, A. O. Aboderin, S. S. Al-Abri, N. Awang Jalil, N. Benzonana, S. Bhattacharya, A. J. Brink, F. R. Burkert, O. Cars, G. Cornaglia, O. J. Dyar, A. W. Friedrich, A. C. Gales, S. Gandra, C. G. Giske, D. A. Goff, H. Goossens, T. Gottlieb, M. Guzman Blanco, W. Hryniewicz, D. Kattula, T. Jinks, S. S. Kanj, L. Kerr, M. P. Kieny, Y. S. Kim, R. S. Kozlov, J. Labarca, R. Laxminarayan, K. Leder, L. Leibovici, G. Levy-Hara, J. Littman, S. Malhotra-Kumar, V. Manchanda, L. Moja, B. Ndoye, A. Pan, D. L. Paterson, M. Paul, H. Qiu, P. Ramon-Pardo, J. Rodríguez-Baño, M. Sanguinetti, S. Sengupta, M. Sharland, M. Si-Mehand, L. L. Silver, W. Song, M. Steinbakk, J. Thomsen, G. E. Thwaites, J. W. van der Meer, N. Van Kinh, S. Vega, M. V. Villegas, A. Wechsler-Fördös, H. F. L. Wertheim, E. Wesangula, N. Woodford, F. O. Yilmaz and A. Zorzet, Discovery, Research, and Development of New Antibiotics: The WHO Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria and Tuberculosis, *Lancet Infect. Dis.*, 2018, **18**, 318–327, DOI: [10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3).
- 51 T. Ananda, A. Modi, I. Chakraborty, V. Managuli, C. Mukhopadhyay and N. Mazumder, Nosocomial Infections and Role of Nanotechnology, *Bioengineering*, 2022, **9**, 51, DOI: [10.3390/bioengineering9020051](https://doi.org/10.3390/bioengineering9020051).
- 52 N. A. Nimer, Nosocomial Infection and Antibiotic-Resistant Threat in the Middle East, *Infect. Drug Resist.*, 2022, **15**, 631–639, DOI: [10.2147/IDR.S351755](https://doi.org/10.2147/IDR.S351755).
- 53 K. L. Rogers, P. D. Fey and M. E. Rupp, Coagulase-Negative Staphylococcal Infections, *Infect. Dis. Clin.*, 2009, **23**, 73–98, DOI: [10.1016/j.idc.2008.10.001](https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.10.001).
- 54 M. Stetsenko, T. Margitych, S. Kryvyi, L. Maksimenko, A. Hassan, S. Filonenko, B. Li, J. Qu, E. Scheer and S. Snegir, Gold Nanoparticle Self-Aggregation on Surface with 1,6-Hexanedithiol Functionalization, *Nanomaterials*, 2020, **10**, 512, DOI: [10.3390/nano10030512](https://doi.org/10.3390/nano10030512).
- 55 S. C. Esparza-González, S. Sánchez-Valdés, S. N. Ramírez-Barrón, M. J. Loera-Arias, J. Bernal, H. I. Meléndez-Ortiz and R. Betancourt-Galindo, Effects of Different Surface Modifying Agents on the Cytotoxic and Antimicrobial Properties of ZnO Nanoparticles, *Toxicol. In Vitro*, 2016, **37**, 134–141, DOI: [10.1016/j.tiv.2016.09.020](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.09.020).



- 56 P. Rokicka-Konieczna, A. Wanag, A. Sienkiewicz, E. Kusiak-Nejman and A. W. Morawski, Antibacterial Effect of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Modified with APTES, *Catal. Commun.*, 2020, **134**, 105862, DOI: [10.1016/j.catcom.2019.105862](https://doi.org/10.1016/j.catcom.2019.105862).
- 57 S. A. Mohd Hanim, N. A. N. N. Malek, Z. Ibrahim, M. Mad Salim, N. I. Ramli, N. S. Sarah and M. A. Azam,

Antibacterial Activity of Amine-Functionalized Zeolite NaY against *Staphylococcus Aureus* ATCC6538 and *Escherichia Coli* ATCC11229, *Appl. Mech. Mater.*, 2015, **761**, 402–406, DOI: [10.4028/www.scientific.net/amm.761.402](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.761.402).







# Heat generation on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within 1st biological optical window

Magdalena Kulpa-Greszta<sup>a,\*</sup>, Anna Tomaszewska<sup>a</sup>, Andrzej Dziezic<sup>b</sup>, Iwona Rzeszutek<sup>a</sup>, Robert Pązik<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigonia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

<sup>b</sup> Department of Spectroscopy and Materials, Institute of Physics, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigonia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Heterostructures  
Magnetite  
Gold nanoparticles  
Energy conversion  
Heating effects

## ABSTRACT

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au heterostructures were prepared using a three-step process that included (I) non-hydrolytic thermal decomposition synthesis of magnetic nanoparticles with cubic morphology, (II) deposition of the amorphous silica shell using wet-chemistry technique and (III) reduction of the chemisorbed gold cations using NaBH<sub>4</sub> agent. The energy conversion was performed using the action of the alternating magnetic field (AMF) and NIR laser light (808 nm) under separate and mutual contactless stimulation. It was found that the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au heterostructures are highly responsive to both stimuli with the predominance of the NIR heat-induced mechanism. The dual action of AMF and NIR for optimized parameters is advantageous since heating occurs faster and more efficiently (SAR 1300 W/g). The final desirable temperature can be tuned by the adjustment of the AMF, NIR parameters, and particle concentration. The heterostructures show a cytostatic effect in contact with the breast cancer lines SK-BR-3, MCF-7, and MDA-MB-231.

## 1. Introduction

Energy conversion materials attract significant attention due to their importance for modern applications, starting from water splitting for hydrogen generation [1], new photocatalytic systems that can utilize the electromagnetic spectrum of visible range more efficiently, batteries, and energy storage materials [2,3] that will allow a more sustainable approach to the exploitation of natural resources. The trend also extends toward less bulky solutions, for instance in the bio-related field. This is especially visible in the development of materials that utilize the contactless transformation of external stimuli into heat energy that can be advantageously used in hyperthermia or more generally associated with temperature-stimulated processes in medicine [4–6]. The main interest is focused on the use of different magnetic nanoparticle or their heterostructures with plasmonic metallic particles that can convert alternating magnetic field (AMF) and laser light (preferably NIR radiation) to induce biologically relevant temperature regimes [7,8]. Of course, heat generation for medical applications is not restricted to only these two types of nanoparticles or external stimulations, but they seem to be the

most exploited in the literature [9]. Both AMF and NIR heat inductions rely on a completely different physical mechanism. The sample heating with the former one can be achieved if the system shows magnetic properties. Therefore, heat losses are caused by three distinct contributions (1) coercive field defined by the hysteresis behavior, (2) induction of eddy currents that are dependent on the AMF field intensity, frequency as well as conductivity of magnetic material, and (3) so-called residual losses associated with reorientation of magnetic moments. In the last case, one can distinguish between Néel (internal reorientation) and Brown relaxations (external – reorientation of the magnetic moment that causes movement of the whole particle) [10]. The light-induced heating depends on how the energy dissipation occurs after the absorption process of a specific system. If nonradiative processes dominate then the energy will be directed toward net vibrations (phonons) causing a temperature rise [9]. Thus, the optical materials that are dark in color should, in principle, show high efficacy toward heat generation by light interaction within VIS-NIR spectral range.

One of the interesting ideas is to combine the action of AMF and NIR to induce heating (synergy, dual mode) and go beyond the physical

\* Corresponding authors at: Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigonia 1, 35-310 Rzeszow, Poland.

E-mail addresses: [mkulpa@ur.edu.pl](mailto:mkulpa@ur.edu.pl) (M. Kulpa-Greszta), [rpazik@ur.edu.pl](mailto:rpazik@ur.edu.pl) (R. Pązik).

<https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.105513>

Received 4 October 2022; Received in revised form 24 December 2022; Accepted 28 January 2023

Available online 31 January 2023

2352-4928/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

limitations of separate stimulation. For the first time, this approach was proposed and performed by Espinosa et al. [11]. The achieved maximum efficiency of the dual-heat generation expressed with a specific absorption rate (SAR) exceeded 4000 W/g, while with AMF the SAR was below 1000 W/g. It was a striking result, as the colloid containing highly responsive particles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) was instantaneously heated above 43 °C. This is crucial since fast heating is mandatory and helps to avoid the development of thermal tolerance by the cells [12]. The works devoted to the use of synergic action of AMF and NIR are continued on ferrite-type materials [13] and extend to hybrid materials combining quantum dots ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CdSe}$ ) [14], polymer composites ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{polyrhodanine}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PMMA}$ ) [15,16], as well as heterostructures with plasmonic particles ( $\text{Ag}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$ ) [17–19]. Studies on opto-magnetic stimulation of  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$  hybrid materials are very limited. The paper authored by Espinosa et al. [18] deals with a comparable approach to our proposal but differs from a synthetic approach. It results in a significantly different appearance of heterostructures while heat induction was done with different AMF parameters and NIR wavelength (680 nm). Al-Mamun et al. [19] proposed the other type of hybrid material constituted of a continuous gold layer around  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  magnetic core fabricated with another type of technique. The recorded temperature effects were measured for completely different AMF and light parameters and heat efficiency parameters were not calculated nor discussed.

In this study, we present the synthetic approach toward  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  gold decorated heterostructures showing high efficiency of energy conversion ( $\text{SAR} > 1300$  W/g). The heat generation was performed upon dual-mode action (synergy) of the AMF and 808 nm NIR laser light on colloidal suspension of nanoparticles as a function of their concentration and stimulants parameters. In addition, the cytostatic effect of the heterostructures was tested using three breast cancer cell lines *i.e.*, SK-BR-3, MCF-7 as well as MDA-MB-231 of different phenotypes. The heterostructures were synthesized with the use of a three-step process starting from the fabrication of morphologically controlled  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes, the surface coverage of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  with silica layer and subsequent quick reduction of gold cations source onto  $\text{SiO}_2$  to form small Au plasmonic nanoparticles. The combination of both materials into a dispersible colloidal suspension allows the fabrication of the multifunctional platform for advanced bio-related applications. The range of possible usage directions covers hyperthermia, regenerative medicine, and bio-imaging due to the presence of magnetite core while the beneficial role of gold nanoparticles can be sought in opening possibilities for extensive surface modification due to the gold high affinity toward biomolecules [20].

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

All used chemicals were of analytical grade (except otherwise stated) *i.e.* iron acetylacetonate ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ; 99 %, Thermo Fisher Scientific, Germany), dibenzyl ether (BE, 98 %, Sigma Aldrich, Poland), oleic acid (OA; 90 %, Sigma Aldrich, Poland), tetraethoxysilane (TEOS; 99.9 %, Thermo Scientific, Poland), (3-aminopropyl)triethoxysilane, (APTES; 99 %, Sigma Aldrich, Poland), ammonia (25 % solution, 99 %, Honeywell, IGEAL CO-520 (Polyoxyethylene (5) nonylphenylether; Sigma Aldrich, Poland), Chloroauric acid ( $\text{HAuCl}_4$ ; 99.99 %, Sigma Aldrich, Poland), sodium borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ; 99 % Thermo Scientific, Poland), hexane, acetone, and ethanol were delivered by Chempur, Poland (all pure for analysis) as well as  $\text{N}_2$  (99,999 %, Linde, Poland). The water used in this study was of Milli-Q purity standard.

### 2.2. Preparation of the $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ core-shell structures

Fabrication of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$  heterostructures involved three stages (1) synthesis of well-defined cubic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles through thermal decomposition technique using high-temperature boiling

solvent (BE) [21], (2) nanocubes surface coverage with a mixture of the TEOS/APTES to deliver amorphous silica shell with amino functions, and finally (3) gold cations reduction on the  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  surface to decorate core-shell material with small Au metallic particles. Each stage was followed by the appropriate separation/purification cycles as described in the synthetic protocol.

Briefly, the synthesis of nanocubes was performed by using 2 mmol of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ , 4 mmol of OA, and 10 ml of BE. It is necessary to use a  $\text{N}_2$  protective atmosphere to avoid possible deterioration of chemicals and avoid secondary reactions that can drastically affect the morphology control over  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  particles. Therefore, for the manipulation with chemicals acrylic glovebox was used (GS Glove Box Systemtechnik GMBH P10R250T2) together with a  $\text{N}_2$  gas line during the process of particle formation. The iron source was dissolved in the mixture containing OA ligand and BE solvent in a three-neck glass flask protected with stop cocks. Afterward, the flask was assembled with the set-up that included a mechanical stirrer, Pt-100 sensor attached to the temperature controller (LTR 2500, Juchheim, Germany), heating mantle, reflux column, and  $\text{N}_2$  inlet. The top of the reflux column served as a gas outlet ( $\text{N}_2$  evacuated through the glass ending with a standard laboratory tube). Before the reaction was started, the mixture was degassed for one hour at room temperature under a constant flow of inert gas. After that, the temperature was raised to 285 °C and kept for 30 min. Finally, the particle growth was stopped and the resulting black mixture containing  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  was cooled to room temperature without fast quenching. The product was separated and purified through several washing and centrifugation steps using a solvent mixture containing hexane/acetone/ethanol in 1:1:1 vol proportion. Magnetic particles were resuspended in a fresh portion of ethanol and placed in a laboratory fridge.

A silica shell containing  $\text{NH}_2$  functional groups was fabricated by the following procedure. The 50 mg of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes were taken from the stock dispersion, transferred to the hexane, and sonicated for 2 h at room temperature in a two-neck glass flask. After that, 45 ml of an extra portion of hexane and 2 ml of IGEAL CO-520 were added, and the sonication step was repeated for 15 min. In the following step, 0.4 ml of ammonia was added and sonicated for additional 15 min. The glass flask was removed from the ultrasonic bath and attached to the mechanical stirrer. In order to deposit a silica shell, 100  $\mu\text{l}$  of TEOS was added under constant stirring for 1 h. Afterward, 100  $\mu\text{l}$  portions of TEOS and APTES were added, and the mixture was left for 24 h under constant stirring. The resulting  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  hybrid containing an amorphous silica shell was separated using a standard laboratory magnet and washed several times with an acetone and ethanol mixture to purify the sample.

The last step toward  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$  involved the chemisorption of gold cations and their subsequent precipitation with a strong reducing agent. Therefore, in a glass flask, 2 mg of earlier prepared  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$  nanoparticles were dispersed in 20 ml of  $\text{H}_2\text{O}$  using an ultrasonic bath (10 min). The glass flask was further placed in the ice bath and a mechanical stirrer was attached. The temperature of the mixture was set between 8 and 10 °C and 314  $\mu\text{l}$  of 0.012 M  $\text{HAuCl}_4$  was added (divided into equal portions). After that, the temperature was raised to 23–25 °C and the reduction process took place followed by the addition of 200  $\mu\text{l}$  of 0.012 M  $\text{NaBH}_4$  under stirring. The final product was purified by washing, and separation cycles using water and ethanol.

### 2.3. The experimental characterizations of the samples

The structural identity of nanoparticles and heterostructures was evaluated through the X-ray powder diffraction technique using a Bruker D8 Advance apparatus (Bruker, Germany) equipped with Cu lamp ( $\lambda = 1.54$  Å) and Ni filter. The diffraction patterns were recorded within the 15–70° 2 $\theta$  range with a 0.02° step and integration time of 0.8 s. Data were background corrected using Diffrac.Eva software (V.2) and compared with the iron oxides and gold standards from the ICDD diffraction database.



The particle concentration was measured and calculated using a simple weighting technique with Radwag MYA 5.4Y (Radwag, Poland) microbalance in triplicates and final averaging.

Particles imaging for size, distribution, and morphology determination of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$ , and  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  was performed through transmission electron microscopy (TEM) using Tecnai Osiris X-FEG (FEI Company, USA) operating at 200 kV. High-angle annular dark-field scanning TEM (HAADF-STEM) and energy dispersive analysis EDS was performed for elements content determination and mapping. A standard procedure for sample preparation for TEM was applied through the deposition of a small droplet of ethanol dispersion containing respective particles on a 200 mesh Cu carbon-covered grid (EM Resolutions, United Kingdom), and overnight drying under dust protection.

Fourier transformed infrared (FTIR) spectra were measured using Nicolet iZ10 FTIR spectrometer (Thermo Fischer Scientific, USA) equipped with Smart Orbit Diamond attenuated total reflection accessory (ATR). The spectra were recorded at room temperature using automated correction for  $\text{CO}_2$  and humidity within the  $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$  spectral range.

Absorption spectra were measured using a Cary 300 Bio UV-VIS spectrometer on colloidal samples with a particle concentration of  $62.5\text{ }\mu\text{g/ml}$  covering the range of  $300\text{--}900\text{ nm}$  using a quartz cuvette with a  $1\text{ cm}$  optical path.

Contactless energy conversion using AMF and NIR light was measured using a combined platform that included magnetic field generator G2 D5 Series Multimode 1500 W driver equipped with calorimetric CAL1 coilset (Nanoscale Biomagnetics, Spain), NIR 808 nm semiconducting laser module with  $400\text{ }\mu\text{m}$  multimode optical fiber (CNI, China) and FLIR T660 thermovision camera. Ophir StarLite power meter with beam track thermal sensor 10A-PPS (Ophir, Israel) was used for the calibration of the 808 nm laser. The CAL 1 coilset was calibrated using an automated procedure delivered by the manufacturer. A broad range of parameters were tested *i.e.* for the AMF the applied field frequency was within the range of  $145\text{--}486\text{ kHz}$  while field intensity was set between  $23\text{ and }33\text{ kA/m}$ . In the case of NIR light, the laser power was within  $0.3\text{ up to }1.8\text{ W}$ . Synergic stimulation of the samples under dual mode (AMF and NIR) was done by using optimized parameters of magnetic field and NIR settings ( $330\text{ kHz}$ ,  $27\text{ kA/m}$ , and  $900\text{ mW}$ ). All data were recorded using ResearchIR software (FLIR, USA).

## 2.4. Cell culture

Experiments were carried out using breast cancer cells, namely SK-BR-3, MCF-7 and MDA-MB-231 obtained from ATCC (Manassas, VA, USA). Cells were grown at  $37\text{ }^\circ\text{C}$  in DMEM medium supplemented with  $10\%$  (v/v) FBS and  $100\text{ U/ml}$  penicillin,  $0.1\text{ mg/ml}$  streptomycin, and  $0.25\text{ }\mu\text{g/ml}$  amphotericin B (Corning, Tewksbury, MA, USA) in a controlled humidified atmosphere containing  $5\%$   $\text{CO}_2$ .

## 2.5. MTT assay

Changes in the metabolic activity of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$ -treated cells were revealed using the MTT assay [22]. Briefly, MCF-7, SK-BR-3, and MDA-MB-231 cells were seeded onto a 96-well plate at a cell density of  $1 \times 10^4$  cells per well and incubated for 24 h at  $37\text{ }^\circ\text{C}$ . Next, 1, 10, 100, and  $1000\text{ }\mu\text{g/ml}$  of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  was added for 24 h and 48 h (expect of concentration of  $1000\text{ }\mu\text{g/ml}$  where the time of treatment was 18 h and 42 h), and then metabolic activity was evaluated as previously described [22]. Non-treated cells served as a negative control.

## 2.6. Statistical analysis

The results represent the mean  $\pm$  SD of at least two independent experiments. The treated and untreated groups were compared using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's multiple comparison test. Probability values ( $p$ ) of less than 0.05 were considered

statistically significant. Statistical analysis was performed using the GraphPad Prism 8 software.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Physicochemical characterization of materials

#### 3.1.1. Structure and morphology of $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$ heterostructures

The magnetite core nanoparticles and  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  hybrid diffraction patterns are presented in Fig. 1. The reflections of both materials were compared with the standards from the ICDD database using the magnetite card no. 019-0629 and 04-0784 for gold particles. All peaks were assigned to the specific crystallographic planes following the standards used for phase identification. One can clearly observe that except for the characteristic reflections being attributed to the magnetite structural phase three distinct peaks appeared at  $38.4^\circ$ ,  $44.5^\circ$ , and  $64.9^\circ$  that belong to the cubic phase of gold metal particles. Reflections match well with referenced compounds which confirms the formation of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and Au structural phases. It was noted that the deposition of the silica shell led to the increase of the signal noise but also the lower  $2\theta$  range raised due to the contribution of the amorphous material ( $\text{SiO}_2$ ). It was also found that there is a difference in FWHM (full width at half maximum) of the reflections for  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and Au phases  $0.16^\circ$  and  $0.90^\circ$   $2\theta$  (after correction for apparatus broadening) meaning that both materials vary significantly in particle size. The XRD measurement did not provide evidence of the formation of heterostructures; therefore, the presence of hybrid material was verified using TEM imaging and element mapping techniques.

The particle size and morphology of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  heterostructures were evaluated by TEM, while the presence of key elements was confirmed by high-angle annular dark-field imaging (HAADF) in scanning transmission electron microscopy (STEM) combined with EDS element mapping (Fig. 2). The hybrids consisted of predominantly cubic shape  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  core particles with the presence of the gold metallic islands interconnected with the magnetite core through the layer of amorphous silica shell (see element distribution maps presented in Fig. 2).

The image analysis was used to calculate the mean size of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and Au, which was  $79 \pm 12\text{ nm}$ , and  $8 \pm 3\text{ nm}$ , respectively. The result of materials imaging showed that the chosen synthetic approach leads to the formation of heterostructures in which the metallic Au (as supported by the phase analysis) exists as particle islands attached to the magnetic core through the  $\text{SiO}_2$  linking layer. The ratio of the molar Au/Fe element content was calculated from the EDS data to be 0.5 meaning that for each mole of gold there is two times more Fe. The weight

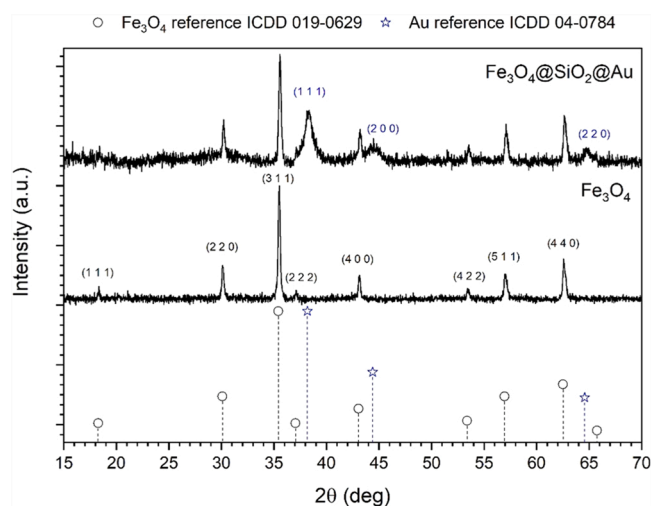


Fig. 1. X-ray diffraction patterns of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  core particles and  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  heterostructures.

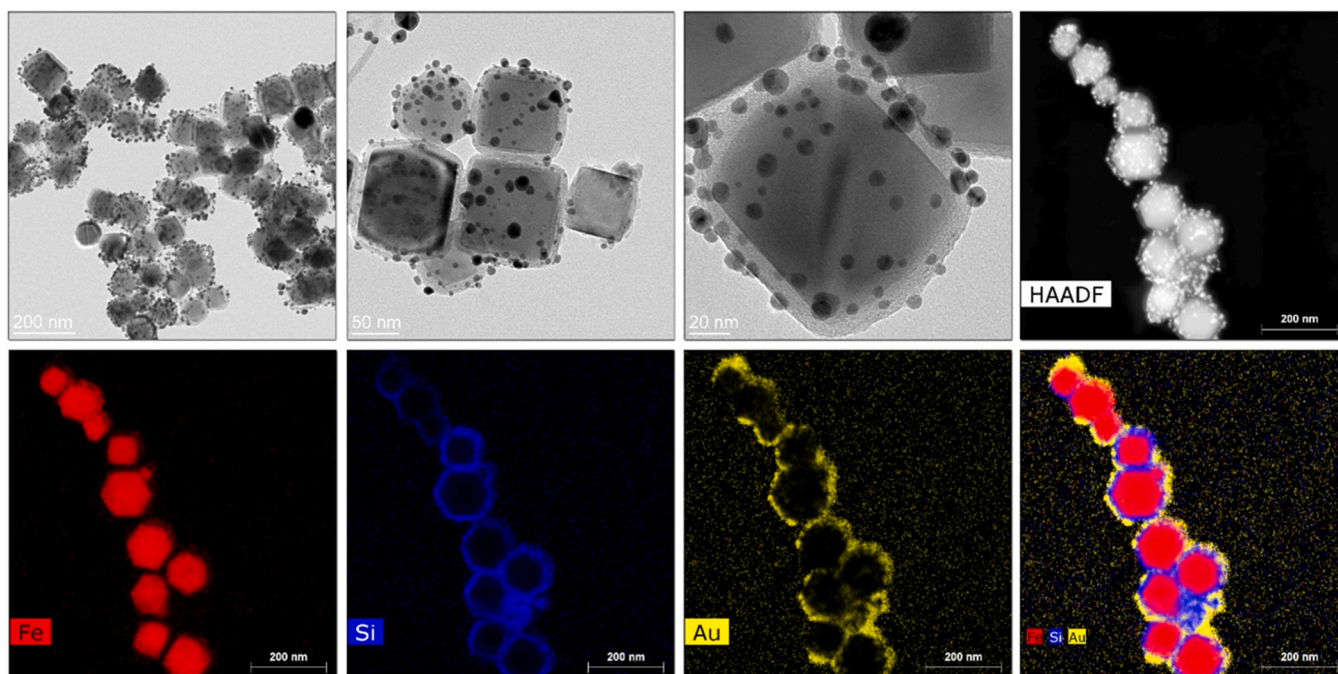


Fig. 2. TEM of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  heterostructures with HAADF imaging and element distribution maps.

percentage of the iron, silica, and gold were 33.47, 10.25, and 56.28 wt %, respectively.

### 3.1.2. Optical properties and surface properties

Absorption spectra of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  hybrids were recorded for their colloidal suspensions containing  $62.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  of particles (Fig. 3). The spectra for both materials were measured within the

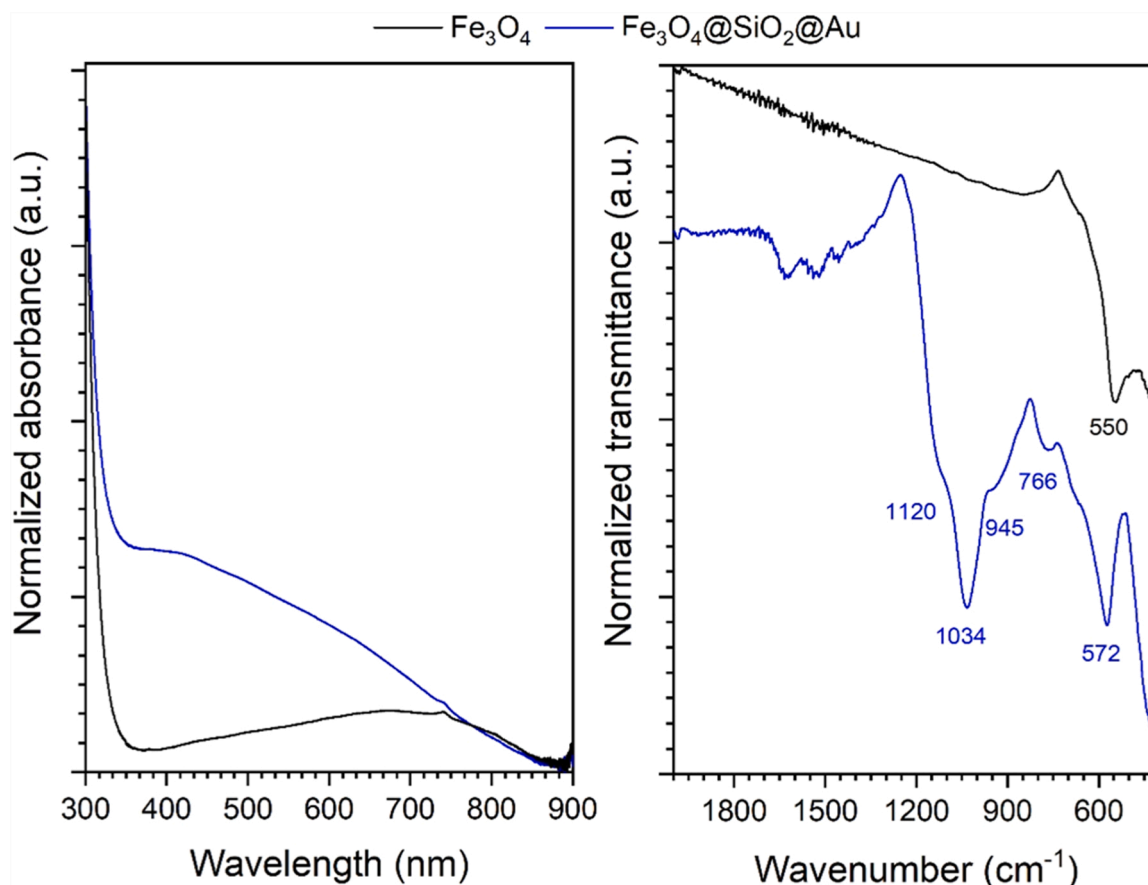


Fig. 3. Absorption (left) and FTIR-ATR (right) spectra of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  nanomaterials.

300–900 nm spectral range and further normalized for comparison purposes. In fact, the appearance of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and their heterostructures with Au metallic particles reminds a characteristic behavior observed for similar objects with a pronounced absorption within the NIR range (above 750 nm). This range is the most interesting for optical-based bio-applications and covers the so-called optical biological window characterized by minimized absorption of a biological system [18,23]. It means that the particles with absorption bands located within this range will be locally and exclusively excited by the interacting light as well as due to the weak absorption of the biological object the NIR light can penetrate it deeper. The strong rise of the absorbance at the visible region for the heterostructures is directly related to the presence of the gold plasmonic particles with a size of around 8 nm [24,25].

FTIR-ATR spectra were collected for the stock  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes and  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  heterostructures to study the surface properties of the materials, to identify the presence of silica and the effect of the formation of the hybrid material (right part of Fig. 3). Although the measured spectral range was up to  $4000\text{ cm}^{-1}$  the most informative region was between  $2000$  and  $500\text{ cm}^{-1}$ . The FTIR-ATR spectra of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocubes constitute only one strong peak with a maximum of around  $550\text{ cm}^{-1}$  associated with characteristic vibrations of the Fe-O bonds [26]. In the case of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  heterostructures, the abundance of vibration modes can be found as the result of hybrid material formation. For instance, peaks at 1120, 1034, and 945 as well as  $766\text{ cm}^{-1}$ , respectively, are characteristic of the Si-O-Si, Si-O, and Si-OH structural elements [27,28]. The most pronounced effect of the silica shell deposition around the magnetic core is the observation of a strong red shift of the  $550\text{ cm}^{-1}$  modes (Fe-O vibrations) toward  $572\text{ cm}^{-1}$ . We believe that this behavior is related to the formation of a bond between the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  surface and silica. Thus it represents the mode vibrations correlated with the Si-O-Fe-O structural units [29].

### 3.1.3. Contactless energy conversion of the AMF and NIR laser radiation on $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$ heterostructures

Heat induction on the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  hybrid material was studied using the contactless action of AMF as a function of the AMF field frequency (145–486 kHz), field intensity (23–33 kA/m), and different

808 nm NIR laser output power (300–1800 mW) in a calorimetric coil, and under pseudo-adiabatic conditions. Subsequently, combined AMF and laser stimulation for the following parameters 330 kHz, 27 kA/m, and 900 mW were applied to study the synergic action under the so-called dual mode. The measurements were carried out as a function of the heterostructures concentration (1–4 mg/ml) as well. The starting temperature was between 19 and  $21^\circ\text{C}$ . Afterward, the experimental results were collected and plotted in Figs. 4–5. As one can see (Fig. 4a and b) response of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  heterostructures to the action of the different parameters of AMF is field frequency and intensity dependent. Experiments were performed for the hybrid material concentration of 1 mg/ml. The observed  $\Delta T$  values spread over the range of  $12$ – $19.5^\circ\text{C}$ , which means that it is possible to heat heterostructures to a biologically relevant temperature range ( $37$ – $43^\circ\text{C}$ ). The sample showed a strong field intensity dependence,  $\Delta T$  was between  $7$  and  $19.5^\circ\text{C}$ . Together with the modulation of magnetic field frequency, both AMF parameters can be used for the optimization of sample heating while the concentration of particles can be left constant. Separate stimulation with 808 nm laser results in a very good response of the heterostructures to the NIR action. The observed temperature change as a function of the laser output power (300–1800 mW) represented by  $\Delta T$  is higher than in the case of AMF and was between  $10$  and  $54^\circ\text{C}$ . Afterward, it was decided to measure a heterostructures concentration dependence vs. AMF, NIR, and under synergy mode (Fig. 5) with the use of optimized parameters.

Obviously, the concentration effect is evident and results in achieving higher temperatures. An increase in the number of thermo-seeds and therefore, contact area leads to more efficient heat exchange between heterostructures and medium. In the case of AMF and NIR action, the  $\Delta T$  was the highest for the 4 mg/ml concentration with a comparable value of around  $36^\circ\text{C}$  ( $T_{max}$  around  $55^\circ\text{C}$  depending on the starting ambient temperature). Interestingly, the synergy of AMF (330 kHz, 27 kA/m) and NIR for more balanced laser power (900 mW) led to an almost cumulative  $\Delta T$  increase and was in the range of  $41$ – $56^\circ\text{C}$  ( $T_{max}$   $62$ – $77^\circ\text{C}$ ). Clearly, the so-called dual mode can be treated as more advantageous if a higher temperature is desirable to induce, for instance, cell ablation [9,30] or if there is a need to minimize

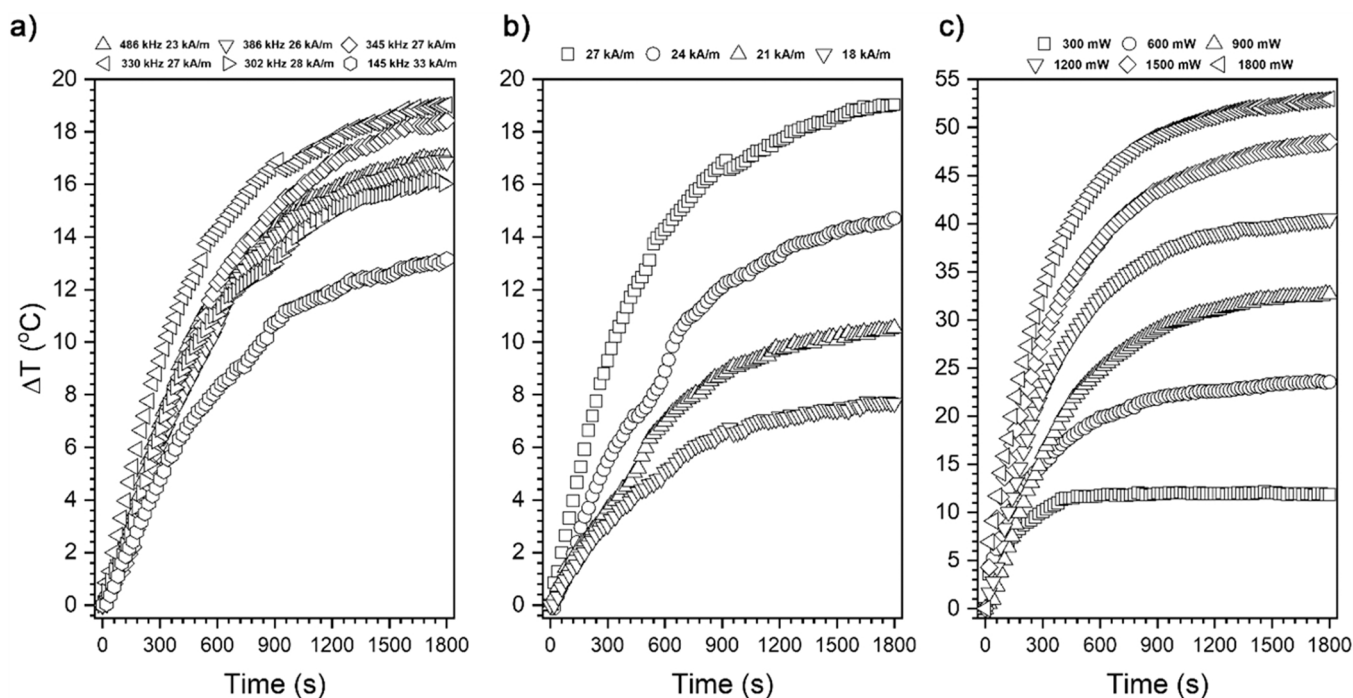


Fig. 4. Temperature evolution curves of the colloidal suspension of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@Au$  (1 mg/ml) measured using (a) AMF frequencies with maximum achievable field intensity, (b) AMF field intensity dependence for 330 kHz, and (c) 808 nm NIR laser for different laser output power.

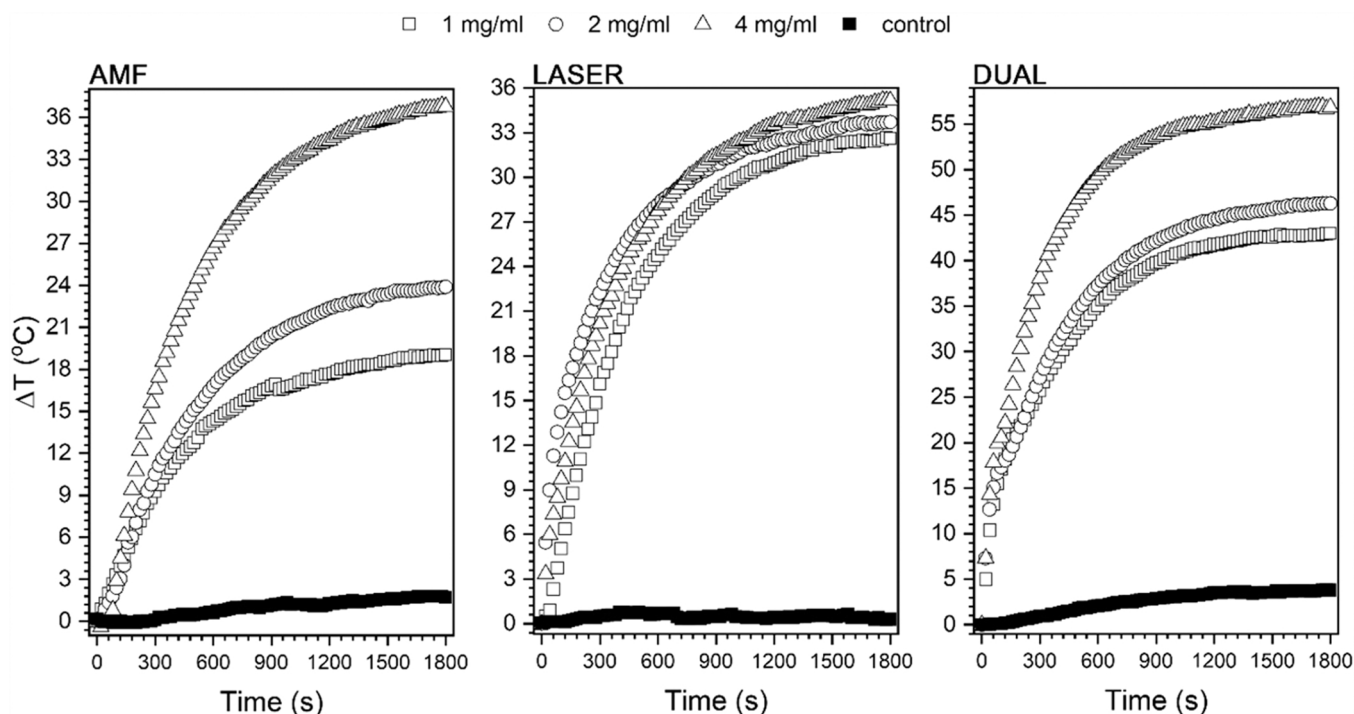


Fig. 5. Heating curves under separate AMF, NIR, and synergy action (dual mode) recorded for the optimized parameters of both external stimuli (330 kHz, 27 kA/m, 900 mW) as a function of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  heterostructures concentration (1–4 mg/ml). Control refers to only pure water.

particle concentration. Of course, it is possible to achieve to get higher  $T_{max}$  through the increase of the laser power or AMF parameters. However, one has to take into account the safety limits of AMF and NIR that can be used in biological systems without inducing adverse effects [9,31].

Some important parameters defining the efficacy of the material for heat induction through AMF and NIR conversion were extracted directly from the heating curves while the specific absorption rate (SAR) was calculated using the following formula:

$$SAR = \frac{C m_{sample}}{m_{NPs}} \frac{dT}{dt} \quad (1)$$

where  $C$  is the specific heat capacity of medium (here water, 4.185 J/g°C),  $m_{sample}$  is the mass of colloid (g),  $m_{NPs}$  is the mass of nanoparticles (heterostructures) in a dispersion (g),  $dT/dt$  is the slope of the heating curve fitted with a linear model for the first tens of seconds (to avoid the effect of heat exchange between system and surrounding) [32,33]. The SAR value is treated as a direct estimate of the efficiency of sample heating, whereas the value of  $dT/dt$  gives an impression of how quickly the temperature increases over unit time. The taken value of the specific heat does not contain a contribution to the specific heat capacity of the heterostructures since the mass ratio of the particles to the solvent is negligible. All calculations were performed for the heterostructures concentration of 1 mg/ml and gathered in Table 1.

The SAR value calculated for the separate AMF stimulation for the best responsive field frequency of 330 kHz was 130.8 W/g for the 27 kA/m (340 Oe/34 mT) of magnetic field intensity. It was observed that the SAR together with  $dT/dt$  strongly depends on the field intensity (Fig. 6) and follows the trend proposed by Rosensweig [34]. Upon comparison with similar structures, namely multicore shape magnetic particles covered with nanogold [18], SAR for the AMF was above 600 W/g at 900 kHz and 25 mT (20 kA/m, 250 Oe) and thus cannot be directly compared. However, during *in vitro* tests, AMF field parameters were drastically changed to 100 kHz, while the field intensity was kept at 20 kA/m. This resulted in the necessity of a concentration increase up to 60 mM (it roughly corresponds to 5 mg/ml of iron) to compensate for

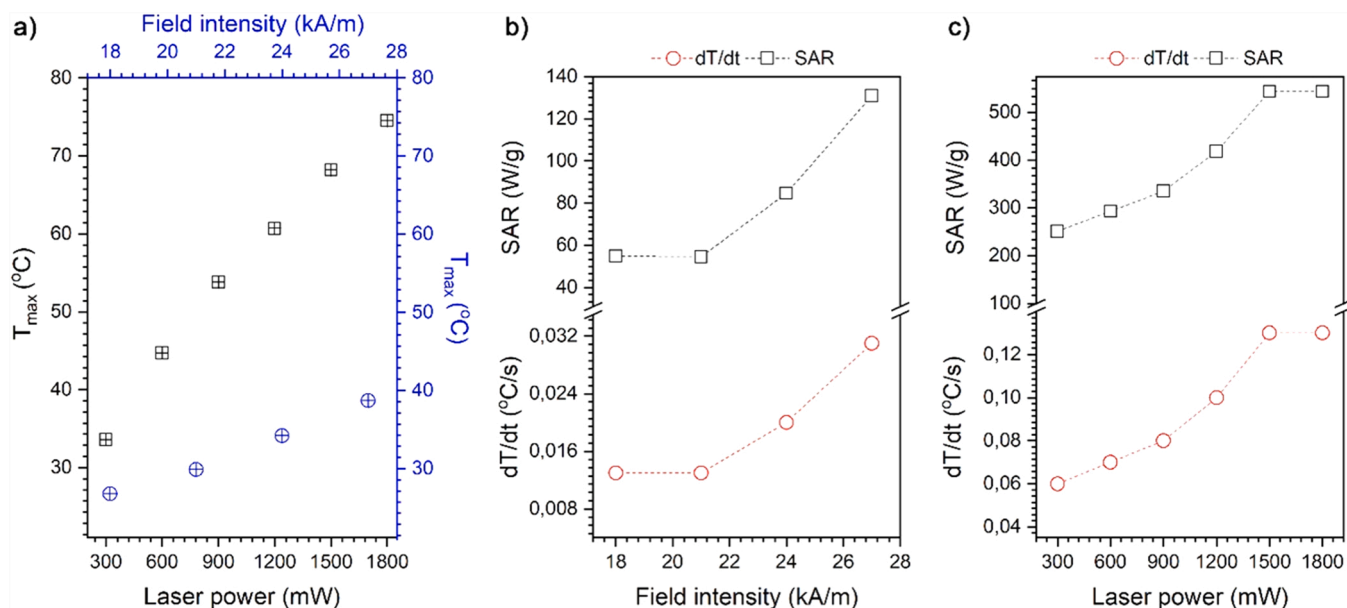
Table 1

Specific absorption rate (SAR),  $dT/dt$ ,  $\Delta T$ , and  $T_{max}$  of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  structures under contactless stimulation with AMF, laser, and synergic action. The corresponding magnetic field frequency was 330 kHz (optimal setting).

AMF			
Field intensity (kA/m)	$dT/dt$ (°C/s)	$T_{max}$ (°C)	SAR (W/g)
18	0.013	26.8	54.8
21	0.013	29.9	54.6
24	0.02	34.2	84.7
27	0.03	38.7	130.8
LASER			
Laser power (mW)	$dT/dt$ (°C/s)	$T_{max}$ (°C)	SAR (W/g)
300	0.06	33.6	251.1
600	0.07	44.7	292.95
900	0.08	53.8	334.8
1200	0.10	60.7	418.5
1500	0.13	68.2	544.0
1800	0.13	74.5	544.0
DUAL			
AMF & laser parameters	$dT/dt$ (°C/s)	$T_{max}$ (°C)	SAR (W/g)
330 kHz, 27 kA/m, 900 mW	0.23	62.5	1318.6

the frequency change and get a reasonable increase of  $\Delta T$  (slightly below 10 °C) with AMF. Although our samples are not comparable, the decrease of the field frequency to 145 kHz (limitation of our instrument) with higher field intensity 33 kA/m (41 mT) leads to  $\Delta T$  of around 12 °C. Upon comparison with results of Abdulla-Al-Mamun et al. [19], it is even more complicated to show some similarities or differences since no data on the AMF conversion efficacy was shown. They focused only on the final temperature achieved.

In the case of 808 nm NIR stimulation, the SAR was in the range of 250–540 W/g. The  $dT/dt$  values were found to be four times higher in contrast to the action of AMF, namely 0.03 °C/s at 330 kHz and 27 kA/m and 0.13 °C/s for 1500 mW. The laser power dependence of SAR and  $dT/dt$  follows the polynomial trend with the maximum achieved for 1500 mW. Further increase of the laser power does not lead to the enhancement of SAR showing remarkable saturation (no more energy can be stored and converted). The concentration effect for the AMF is



**Fig. 6.** Chosen dependencies of the most crucial parameters associated with the efficacy of the energy conversion (a)  $T_{max}$  as a function of the AMF field intensity (blue) and laser output power (black). (b) specific absorption rate (SAR) and temperature rise  $dT/dt$  as a function of the AMF field intensity as well as (c) SAR and  $dT/dt$  dependencies on 808 nm laser power.

remarkable (see Table 2) and allows for modulation of the  $T_{max}$  from 38.7 to 56.1 °C. For NIR action this is not the case. An increase in the particle amount does not provide any further effect on  $T_{max}$ . It might imply, that the optimal concentration of heterostructures was already achieved. Thus a further increase in concentration gives nothing since there is no effective light penetration. It is blocked or limited by strongly absorbing particles located at the forefront of the colloid suspension. The NIR stimulation with the 808 nm light was studied earlier by Espinosa et al. [11] on bare magnetite particles. It was shown that the  $Fe_3O_4$  can rather efficiently convert NIR energy into heat. They also studied the Au plasmonic multicore magnetic heterostructures [18] and showed that 808 nm conversion leads to a lesser  $\Delta T$  increase (compared to this study) probably due to the significant differences in the type of hybrids prepared. Therefore, they obtained better results upon 680 nm laser stimulation due to the elevated absorbance of Au itself within this spectral region.

Dual mode contactless stimulation using the synergy of the AMF and NIR was performed on  $Fe_3O_4@SiO_2@Au$  heterostructures with optimized parameters by considering two main facts – the best performance of hybrids under the action of AMF (330 kHz, 27 kA/m) as well as balanced 808 nm laser power to not mask AMF effect and reduce the predominant mechanism of optical heating (below saturation limit and

**Table 2**

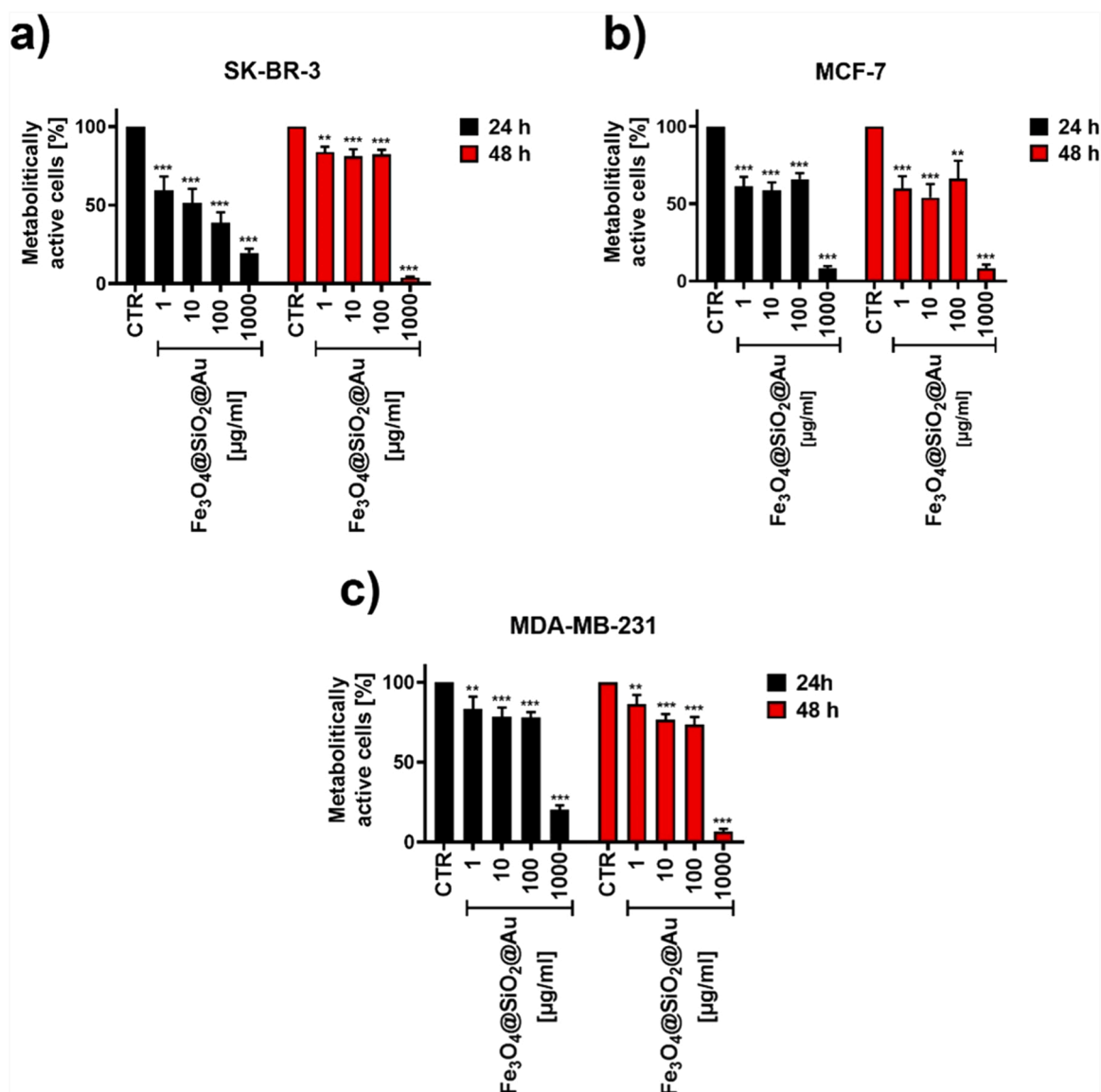
$Fe_3O_4@SiO_2@Au$  particle concentration dependence of  $dT/dt$ ,  $\Delta T$ , and  $T_{max}$  values extracted for different external stimulations.

AMF 330 kHz 27 kA/m		
Concentration (mg/ml)	$dT/dt$ (°C/s)	$T_{max}$ (°C)
1	0.031	38.7
2	0.029	42.3
4	0.089	56.1
LASER 900 mW		
Concentration (mg/ml)	$dT/dt$ (°C/s)	$T_{max}$ (°C)
1	0.08	53.8
2	0.13	53.3
4	0.10	54.6
DUAL 330 kHz 27 kA/m 900 mW		
Concentration (mg/ml)	$dT/dt$ (°C/s)	$T_{max}$ (°C)
1	0.23	62.5
2	0.27	67.5
4	0.35	76.9

with comparable  $dT/dt$  heating speed). The results of the experiments are shown in Fig. 5 (DUAL description) presented as heterostructures concentration dependence. The synergic action of the AMF and 808 nm NIR laser is remarkable. Energy conversion using dual-mode leads to the highest  $\Delta T$  of 54 °C with  $T_{max}$  being 62 °C, with high heating speed  $dT/dt$  of 0.23 °C/s, and the most enhanced SAR above 1300 W/g. The overall heating effect is almost cumulative and allows for fast sample heating. This is especially important for bio-related applications in view of the minimization of cell thermotolerance evolution. The  $T_{max}$  can be adjusted either by the change of field parameters or by the laser power. It is also possible to optimize it through particle concentration (Fig. 6) to fit the specific temperature regimes that will be biologically relevant (diathermia, hyperthermia, or ablation). To the best of our knowledge, only two reports with similar hybrid materials can be found in the literature and they are solely focused on synergy or photo-magnetic stimulation [18,19]. However, due to differences in materials preparation, the final form of heterostructures (multi-shape core magnetic particles covered with Au and core-shell  $Fe_3O_4@Au$  with closed gold layer), the use of unlike light excitations and AMF parameters it is difficult to compare them. The most valuable conclusion is that the performance of such materials strongly depends on the properties of each constituent of heterostructures. Utilization of the two external stimulants is beneficial and can be sought as an interesting alternative for biomedical applications that open additional possibilities in the engineering of multifunctional platforms.

### 3.2. Effect of $Fe_3O_4@SiO_2@Au$ on breast cancer cells

Since magnetite nanoparticles have potential applications in photo-thermal anticancer therapy [35] we decided to test the cytotoxic effect of  $Fe_3O_4@SiO_2@Au$  on the breast cancer cell lines possessing different receptor statuses, namely SK-BR-3 (ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, HER<sup>+</sup>), MCF-7 (ER<sup>+</sup>, PR<sup>+/-</sup>, HER<sup>-</sup>) and MDA-MB-231 (ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, HER<sup>-</sup>) (Fig. 7). To test this, we used different concentration of  $Fe_3O_4@SiO_2@Au$  (1, 10, 100 and 1000  $\mu$ g/ml), and two-time points, 24 h, and 48 h (except for the concentration of 1000  $\mu$ g/ml where we used 18 h and 42 h time points). Our analysis could show that the number of metabolically active cells significantly decreases with the concentration of  $Fe_3O_4@SiO_2@Au$  used for 24 h of treatment (Fig. 7a–c,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). Interestingly, the



**Fig. 7.** The effect of treatment with  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  on metabolic activity of SK-BR-3 (a), MCF-7 (b) and MDA-MB-231(c) cells. The cells were treated with 1, 10, 100, and 1000  $\mu\text{g/ml}$  of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  for 24 h and 48 h, and analyzed using MTT assay. Metabolic activity under standard growth conditions is considered as 100 %. Bars indicate SD,  $n = 8$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$  compared to untreated control (ANOVA and Dunnett's a posteriori test). CTR - untreated cells. The experiment was done in 2 replicates'.

most pronounced effect was observed in SK-BR-3(HEK<sup>+</sup>)>MCF-7 (HEK<sup>-</sup>)>MDA-MB-231(HEK<sup>-</sup>) cells (Fig. 7a–c,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). Moreover, we could observe that after 48 h of treatment, cells adapt to 1, 10, and 100  $\mu\text{g/ml}$  of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  as their viability increases or stays at a constant level (Fig. 7a–c,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). Therefore, we can conclude that 1, 10, and 100  $\mu\text{g/ml}$  of  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  after 48 h of treatment possess cytostatic effects on analyzed breast cancer cells.

#### 4. Conclusions

The  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  heterostructures build-up of 79 nm magnetic cubes and 8 nm gold nanoparticles linked through the silica amorphous layer were fabricated using a three-step process. The structural properties were confirmed by using XRD and FTIR-ATR techniques. The cytostatic effect of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Au}$  hybrid materials was noticed on SK-BR-3, MCF-7, and MDA-MB-231 cells and was concentration-dependent. It can be treated as beneficial in certain scenarios however, further surface modification might be necessary to reduce the possible side effects in contact with non-pathological cells.

We have shown that the magneto-plasmonic hybrid material is strongly responsive towards contactless external stimulation with the alternating magnetic field and NIR laser light (808 nm). Heating ability can be modulated by a change of AMF and NIR parameters (field frequency, field intensity, laser output power), and nanoparticle concentration. We found that the energy conversion is more efficient upon using NIR light than AMF. We have shown that the so-called dual mode can be treated as beneficial since heating occurs faster and in a more efficient way (SAR above 1300 W/g) as well as temperatures exceeding 65 °C can be achieved as well. We point out that the heterostructures concentration effect is more pronounced under AMF stimulation while the number of thermoseeds during NIR action is already high and its further increase did not provide a significant  $T_{max}$  increase. We state that the use of two different physical mechanisms of heat generation can be an interesting alternative that opens possibilities for engineering advanced multifunctional platforms for biomedical applications.

## Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Data Availability

Data will be made available on request.

## Acknowledgements

Financial support of the National Science Centre, Poland in course of realization of Project no. UMO-2017/25/B/ST5/00497 is gratefully acknowledged. The authors would like to thank M.Sc. Eng. Patrycja Kloda for technical assistance.

## Author contribution statement

R.P. and M.K.-G. work conceptualization, R.P. data analysis, writing and editing of manuscript regarding all parts except biological effects on cancer cells, preparation of Fig. 6. M. K.-G. and A.T. synthesis of nano-materials, A.T. XRD and FTIR-ATR measurements, preparation of Figs. 1 and 3, M. K.-G. absorption spectra, performed all energy conversion experiments, analyzed data and prepared Figs. 2, 4, and 5. M.K.-G. and A.T. took part in manuscript editing regarding synthesis and nano-materials characterization as well as final corrections. A.D. performed TEM and STEM-EDS measurements and participated in manuscript editing. I.R. MTT experiments and data analysis, preparation of Fig. 7 writing biological part, corrections. All authors accepted the final version of the manuscript.

## References

- J. Qi, W. Zhang, R. Cao, Solar-to-hydrogen energy conversion based on water splitting, *Adv. Energy Mater.* 8 (2018) 1–16, <https://doi.org/10.1002/aem.201701620>.
- N. Nitta, F. Wu, J.T. Lee, G. Yushin, Li-ion battery materials: present and future, *Mater. Today* 18 (2015) 252–264, <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.10.040>.
- J.M. Gonçalves, M.N.T. Silva, K.K. Naik, P.R. Martins, D.P. Rocha, E. Nossol, R.A. A. Munoz, L. Angnes, C.S. Rout, Multifunctional spinel MnCo<sub>2</sub>O<sub>4</sub> based materials for energy storage and conversion: a review on emerging trends, recent developments and future perspectives, *J. Mater. Chem. A* 9 (2021) 3095–3124, <https://doi.org/10.1039/d0ta11129e>.
- H. Gavilán, S.K. Avugadda, T. Fernández-Cabada, N. Soni, M. Cassani, B.T. Mai, R. Chantrell, T. Pellegrino, Magnetic nanoparticles and clusters for magnetic hyperthermia: optimizing their heat performance and developing combinatorial therapies to tackle cancer, *Chem. Soc. Rev.* 50 (2021) 11614–11667, <https://doi.org/10.1039/d1cs00427a>.
- M. Fathi-Achachelouei, H. Knopf-Marques, C.E. Ribeiro da Silva, J. Barthès, E. Bat, A. Tezcaner, N.E. Vrana, Use of nanoparticles in tissue engineering and regenerative medicine, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7 (2019) 1–22, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00113>.
- J.C. Bischof, K.R. Diller, From nanoparticle heating to thermoregulation: a multiscale bioheat transfer review, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 20 (2018) 301–327, <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071516-044532>.
- X. Liu, Y. Zhang, Y. Wang, W. Zhu, G. Li, X. Ma, Y. Zhang, S. Chen, S. Tiwari, K. Shi, S. Zhang, H.M. Fan, Y.X. Zhao, X.J. Liang, Comprehensive understanding of magnetic hyperthermia for improving antitumor therapeutic efficacy, *Theranostics* 10 (2020) 3793–3815, <https://doi.org/10.7150/thno.40805>.
- M. Kim, J.H. Lee, J.M. Nam, Plasmonic photothermal nanoparticles for biomedical applications, *Adv. Sci.* 6 (2019) 1900471, <https://doi.org/10.1002/adv.201900471>.
- D. Jaque, L. Martínez Maestro, B. del Rosal, P. Haro-Gonzalez, A. Benayas, J. L. Plaza, E. Martín Rodríguez, J. García Solé, Nanoparticles for photothermal therapies, *Nanoscale* 6 (2014) 9494–9530, <https://doi.org/10.1039/c4nr00708e>.
- E.Y.K.N. Suriyanto, S.D. Kumar, Physical mechanism and modeling of heat generation and transfer in magnetic fluid hyperthermia through Néel and Brownian relaxation: a review, *Biomed. Eng. Online* 16 (2017) 36, <https://doi.org/10.1186/s12938-017-0327-x>.
- A. Espinosa, R. Di Corato, J. Kolosnjaj-Tabi, P. Flaud, T. Pellegrino, C. Wilhelm, Duality of iron oxide nanoparticles in cancer therapy: amplification of heating efficiency by magnetic hyperthermia and photothermal bimodal treatment, *ACS Nano* 10 (2016) 2436–2446, <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b07249>.
- S.A. Sapareto, W.C. Dewey, Thermal dose determination in cancer therapy, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 10 (1984) 787–800, [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(84\)90379-1](https://doi.org/10.1016/0360-3016(84)90379-1).
- R. Pązik, A. Lewińska, J. Adamczyk-Grochala, M. Kulpa-Greszta, P. Kloda, A. Tomaszewska, A. Dziedzic, G. Litwienko, M. Noga, D. Sikora, M. Wnuk, Energy conversion and biocompatibility of surface functionalized magnetite nanoparticles with phosphonic moieties, *J. Phys. Chem. B* 124 (2020) 4931–4948, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c02808>.
- M.A. Antoniuk, R. Pązik, U. Bazylińska, K. Wiwatowski, A. Tomaszewska, M. Kulpa-Greszta, J. Adamczyk-Grochala, M. Wnuk, S. Maćkowski, A. Lewińska, M. Nyk, Multimodal polymer encapsulated CdSe/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoplatform with improved biocompatibility for two-photon and temperature stimulated bioapplications, *Mater. Sci. Eng. C* 127 (2021), 112224, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112224>.
- M. Kulpa-Greszta, A. Tomaszewska, E. Zachanowicz, P. Krzemiński, R. Pązik, Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1st and 2nd optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles, *J. Alloy. Compd.* 898 (2022), 162840, <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2021.162840>.
- M. Kulpa-Greszta, R. Pązik, P. Kloda, A. Tomaszewska, E. Zachanowicz, K. Pałka, G. Ginalska, A. Belcarz, Efficient non-contact heat generation on flexible, ternary hydroxyapatite/curdlan/nanomagnetite hybrids for temperature controlled processes, *Mater. Sci. Eng. C* 118 (2021), 111360, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111360>.
- R. Das, N. Rinaldi-Montes, J. Alonso, Z. Amghouz, E. Garaio, J.A. García, P. Gorria, J.A. Blanco, M.H. Phan, H. Srikanth, Boosted hyperthermia therapy by combined AC magnetic and photothermal exposures in Ag/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoflowers, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8 (2016) 25162–25169, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b09942>.
- A. Espinosa, M. Bugnet, G. Radtke, S. Neveu, G.A. Botton, C. Wilhelm, A. Abou-Hassan, Can magneto-plasmonic nanohybrids efficiently combine photothermia with magnetic hyperthermia? *Nanoscale* 7 (2015) 18872–18877, <https://doi.org/10.1039/c5nr06168g>.
- M. Abdulla-Al-Mamun, Y. Kusumoto, T. Zannat, Y. Horie, H. Manaka, Au-ultrathin functionalized core-shell (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Au) monodispersed nanocubes for a combination of magnetic/plasmonic photothermal cancer cell killing, *RSC Adv.* 3 (2013) 7816–7827, <https://doi.org/10.1039/c3ra21479f>.
- A. Heuer-Jungemann, N. Feliu, I. Bakaimi, M. Hamaly, A. Alkilany, I. Chakraborty, A. Masood, M.F. Casula, A. Kostopoulou, E. Oh, K. Susumu, M.H. Stewart, I. L. Medintz, E. Stratakis, W.J. Parak, A.G. Kanaras, The role of ligands in the chemical synthesis and applications of inorganic nanoparticles, *Chem. Rev.* 119 (2019) 4819–4880, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00733>.
- D. Kim, N. Lee, M. Park, B.H. Kim, K. An, T. Hyeon, Synthesis of uniform ferrimagnetic magnetite nanocubes, *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 454–455, <https://doi.org/10.1021/ja8086906>.
- A. Lewinska, J. Siwak, I. Rzeszutek, M. Wnuk, Diosmin induces genotoxicity and apoptosis in DU145 prostate cancer cell line, *Toxicol. Vitro* 29 (2015) 417–425, <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.12.005>.
- X. Hou, X. Wang, R. Liu, H. Zhang, X. Liu, Y. Zhang, Facile synthesis of multifunctional Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au magneto-plasmonic nanoparticles for MR/CT dual imaging and photothermal therapy, *RSC Adv.* 7 (2017) 18844–18850, <https://doi.org/10.1039/c7ra00925a>.
- S. Jain, D.G. Hirst, J.M. O'Sullivan, Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy, *Br. J. Radiol.* 85 (2012) 101–113, <https://doi.org/10.1259/bjr/59448833>.
- X. Huang, M.A. El-Sayed, Gold nanoparticles: optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy, *J. Adv. Res.* 1 (2010) 13–28, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.02.002>.
- B. Lesiak, N. Rangam, P. Jiricek, I. Gordeev, J. Tóth, L. Kóvér, M. Mohai, P. Borowicz, Surface study of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles functionalized with biocompatible adsorbed molecules, *Front. Chem.* 7 (2019) 642, <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00642>.
- V.C. Karade, A. Sharma, R.P. Dhavale, R.P. Dhavale, S.R. Shingte, P.S. Patil, J. H. Kim, D.R.T. Zahn, A.D. Chougale, G. Salvan, P.B. Patil, APTES monolayer coverage on self-assembled magnetic nanospheres for controlled release of anticancer drug Nintedanib, *Sci. Rep.* 11 (2021) 5674, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84770-0>.
- E.F. Bôa Morte, D.S. Marum, E.B. Saitovitch, M. Alzamora, S.N. Monteiro, R.J. Sanchez Rodriguez, Modified magnetite nanoparticle as biocatalytic support for magnetically stabilized fluidized bed reactors, *J. Mater. Res. Technol.* 14 (2021) 1112–1125, <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.06.105>.
- F. Ahangaran, A. Hassanzadeh, S. Nouri, Surface modification of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub> microsphere by silane coupling agent, *Int. Nano Lett.* 3 (2013) 23, <https://doi.org/10.1186/2228-5326-3-23>.
- A.J. Welch, M. Motamedi, S. Rastegar, G.L. LeCarpentier, D. Jansen, Laser thermal ablation, *Photochem. Photobiol.* 53 (1991) 815–823, <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1991.tb09896.x>.
- R. Hergt, S. Dutz, Magnetic particle hyperthermia-biophysical limitations of a visionary tumour therapy, *J. Magn. Magn. Mater.* 311 (2007) 187–192, <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2006.10.1156>.
- E. Mazarío, J. Sánchez-Marcos, N. Menéndez, M. Cañete, A. Mayoral, S. Rivera-Fernández, J.M. De La Fuente, P. Herrasti, High specific absorption rate and transverse relaxivity effects in manganese ferrite nanoparticles obtained by an electrochemical route, *J. Phys. Chem. C* 119 (2015) 6828–6834, <https://doi.org/10.1021/jp510937r>.

- [33] K. Wu, J.P. Wang, Magnetic hyperthermia performance of magnetite nanoparticle assemblies under different driving fields, *AIP Adv.* 7 (2017), 056327, <https://doi.org/10.1063/1.4978458>.
- [34] R.E. Rosensweig, Heating magnetic fluid with alternating magnetic field, *J. Magn. Mater.* 252 (2002) 370–374, [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)32321-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)32321-2).
- [35] A. Włodarczyk, S. Gorgoń, A. Radoń, K. Bajdak-Rusinek, Magnetite nanoparticles in magnetic hyperthermia and cancer therapies: challenges and perspectives, *Nanomaterials* 12 (2022) 1807, <https://doi.org/10.3390/nano12111807>.



Cite this: *Dalton Trans.*, 2023, **52**, 2580

# Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> optical biological windows of seed-mediated multi-shell nanoferrites†

Magdalena Kulpa-Greszta,<sup>a</sup> Anna Tomaszewska,<sup>a</sup> Andrzej Dziezic<sup>b</sup> and Robert Pązik<sup>a\*</sup>

Different types of ferrite core-shell structures, namely CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, and CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, were prepared by the seed-mediated approach. We show that this synthetic methodology offers great and important flexibility in the engineering of multi-shell ferrite nanoparticles which can be further used in various advanced applications. This impressive tool can be used for particle size tuning of homo- and heterostructures through convenient control of the concentration of metal acetylacetonates without the necessity of changing synthetic parameters, *i.e.*, temperature, time, and solvent. The contactless conversion of laser light within I<sup>st</sup> (808 nm) and II<sup>nd</sup> (1122 nm) biological optical windows was studied on the fabricated ferrite core-shell materials which showed promising heating effects that can be a basis of their practical exploitation in the biomedical field.

Received 31st December 2022,

Accepted 1st February 2023

DOI: 10.1039/d2dt04178b

rsc.li/dalton

## 1. Introduction

The ferrite family described with the general chemical formula MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M – Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) is attracting a lot of attention due to its unique magnetic properties that are size and shape dependent.<sup>1</sup> Therefore, their nanoscale particles are widely studied for many applications including permanent magnets,<sup>2</sup> ferrofluids,<sup>3</sup> magnetic memory,<sup>4</sup> magnetic separation,<sup>5</sup> catalysis,<sup>6</sup> water splitting (hydrogen generation),<sup>7</sup> electromagnetic interference shielding materials,<sup>8</sup> contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI),<sup>9</sup> hyperthermia induced by external stimuli (alternating magnetic field, laser light, combined opto-magnetic stimulus, and microwaves),<sup>10–15</sup> photodynamic therapy (PDT),<sup>16</sup> magnetic drug delivery platforms,<sup>17,18</sup> regenerative medicine,<sup>19</sup> *etc* Their magnetic performance can be further tuned by combining the properties of hard and soft magnets by engineering core-shell heterostructures consisting of different ferrite compounds.<sup>20–23</sup> Generally, this type of hybrid/composite material (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>,

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Zn<sub>1–x</sub>Co<sub>x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, and CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) can be fabricated by the seed-mediated growth technique, where the core ferrite particles are prepared and then the growth of the same or another type of ferrite as a shell is performed.<sup>24–31</sup> The seeding process is generally performed using the thermal decomposition technique in high-temperature boiling organic solvents and can be repeated multiple times to achieve a desired core-shell particle size<sup>28</sup> or for the growth of additional shell structures.<sup>21</sup> This is a very beneficial approach, since to force particle growth, there is no need to use a high temperature post heat-treatment that dramatically changes the particle properties in terms of size distribution, loss of the ability to form highly stable colloidal suspensions, induction of particle sintering, and reduction of the active surface area, all of which are necessary for certain applications where colloidal suspensions are of interest. The last property is, in particular, mandatory in hyperthermia, since a significant number of thermoseeds are necessary to effectively heat the macroscopic volume to biologically relevant temperatures (>37 °C).<sup>32</sup> Thus, well-dispersible materials with a high surface area characterized by narrow size distribution are important. The fine tuning of the particle size, morphology, and composition of materials has a significant effect on the efficacy of particle heating since it affects directly the magnetic behavior of the materials and thus changes the way how ferrites dissipate heat under an alternating magnetic field.<sup>2,33</sup> Nowadays, this area is intensively exploited.

<sup>a</sup>Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland.  
E-mail: rpazik@ur.edu.pl

<sup>b</sup>Department of Spectroscopy and Materials, Institute of Physics, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigońia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: <https://doi.org/10.1039/d2dt04178b>

Less attention was focused on the possibility of photo-stimulation of ferrites with laser light to induce light conversion into heat by taking advantage of non-radiative processes (activation of net phonons).<sup>34,35</sup> In this work, we exploited several aspects of the seed-mediated growth technique for the fabrication of well-developed core-shell structures with the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core as a basis for precise size control of shell growth in the formation of  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{CoFe}_2\text{O}_4$  homostructures,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{Fe}_3\text{O}_4$  binary heterostructures, and ternary ferrite core-shell materials composed of  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{MnFe}_2\text{O}_4@ \text{ZnFe}_2\text{O}_4$  hybrids. The particle size was fine-tuned between 8 and 40 nm by seed-mediated growth and can be further adjusted by optimizing the amount of substrate (s). We have shown that the proposed core-shell heterostructures can efficiently convert monochromatic laser light within I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> biological optical windows into heat that might be of possible interest for application in temperature-stimulated biological processes or other energy harvesting applications.

## 2. Materials and methods

### 2.1 Materials

Metal acetylacetonates, namely iron(III) acetylacetonate ( $\text{Fe}(\text{acac})_3$ , 99%), cobalt(II) acetylacetonate ( $\text{Co}(\text{acac})_2$ , 99%), manganese(II) acetylacetonate ( $\text{Mn}(\text{acac})_2$ , 97%) and zinc(II) acetylacetonate hydrate ( $\text{Zn}(\text{acac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 99%), were bought from Thermo Fisher Scientific, Poland. The main solvent, *i.e.*, benzyl alcohol (99%), was purchased from Thermo Fisher Scientific, Poland, while ethanol (96%) was delivered by Chempur, Poland. The nitrogen gas ( $\text{N}_2$ , 99.999%) for gas line supply and glovebox was bought from Linde, Poland. All chemicals, except zinc(II) acetylacetonate hydrate, were used without additional purification while the zinc source was dehydrated using a procedure described in the preparation section.

### 2.2. Fabrication of multi-shell nanoferrites

For the synthesis of ferrite materials ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{MnFe}_2\text{O}_4$ , and  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{MnFe}_2\text{O}_4@ \text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ), the seed-mediated growth technique was used based on the protocol established by Bilecka *et al.*,<sup>36</sup> who utilized the general non-hydrolytic approach proposed by Niederberger *et al.*<sup>37</sup> with necessary amendments. The important changes relied on the use of the Bilecka preparation technique to obtain core nanoparticles without using a microwave reactor. In our case, we used a standard glassware based set-up. Further deposition of the ferrite shells required adjustment of the substrate amount as a result of the decrease of the surface contact area upon increase of the particle size, as described further. The protocol changes forced the application of different synthesis time durations as well.

**2.2.1. Synthesis of  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core nanoparticles.** The seed material, namely the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core, was prepared as a stock material for the construction of all core-shell structures in the

following way: 0.5480 g of  $\text{Co}(\text{acac})_2$  and 1.4128 g of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  were taken directly in a three-neck glass flask protected with stopcocks and 70 mL of benzyl alcohol were added. The entire handling of metal complexes was carried out using an acrylic glovebox with  $\text{N}_2$  inert gas purge which was steered using an automated gas pressure controller (GS Glove Box Systemtechnik GMBH P10R250T2, Germany). The flask with the mixture was placed in an ultrasonic bath for 10 min to completely dissolve the substrates and attached to a set-up consisting of a mechanical stirrer, a heating mantle controlled by a temperature controller (LTR 2500, Juchheim, Germany) equipped with a Pt-100 sensor, a reflux column, and a  $\text{N}_2$  gas inlet through the shared neck (outlet – the end of the reflux column connected to a lab hose). The mixture was quickly heated to the boiling temperature of benzyl alcohol (205 °C) and kept for 4 hours. The mother solution containing the product was then left to cool down to ambient temperature. The resulting material was separated from the reaction mixture using a standard laboratory magnet and washed several times with benzyl alcohol. The core  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  particles were resuspended in 70 mL of fresh benzyl alcohol, sonicated for 30 min, and divided into two portions. One was used as the starting material for the seed-mediated process, and the second, after solvent exchange to ethanol, served as the material for physicochemical characterization.

**2.2.2. Synthesis of  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{CoFe}_2\text{O}_4$  core-shell structures.** The  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core stock nanoparticles in benzyl alcohol (35 mL) were mixed with a freshly prepared benzyl alcohol solution (35 mL) containing 0.7064 g of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  and 0.274 g of  $\text{Co}(\text{acac})_2$ . After sonication for 10 minutes, a three-neck glass flask was mounted to the set-up and heated to 205 °C and kept for 4 hours under  $\text{N}_2$  flow and constant stirring. After cooling, the product was separated, resuspended in benzyl alcohol, sonicated for 30 min, and divided in the same way as previously described. The seeding step was performed three times to allow the particles to grow while maintaining the same conditions.

**2.2.3. Synthesis of  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{Fe}_3\text{O}_4$  core-shell structures.** In the case of the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{Fe}_3\text{O}_4$  ( $\text{Co}@ \text{Fe}$ ) heterostructures, 35 mL of benzyl alcohol suspension containing core  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  nanoparticles in benzyl alcohol were taken and mixed with 1.060 g of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  dissolved in the same solvent (35 mL). The glass flask with the mixture was sonicated for 10 minutes, mounted to the set-up, and heated to 205 °C and kept for 4 h. After the reaction was stopped, the product was cooled down, separated, resuspended in benzyl alcohol, and sonicated for 30 minutes before it was divided into two even portions. The seeding process was continued (eight times) to obtain significant growth of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  shell. During the fourth repetition of seeding, the amount of the new substrate was reduced by 50% to 0.530 g  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ . A further reduction in the amount of the substrate was carried out after the sixth seeding step to 0.265 g of the iron source while the volume remained constant each time (70 mL). The final products were separated and purified as previously described. In total, eight seeding processes were carried out.

**2.2.4. Synthesis of multi-ferrite  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@MnFe_2\text{O}_4@ZnFe_2\text{O}_4$  core-shell structures.** The fabrication process of the multi-ferrite core-shell structures containing three different ferrites, namely  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ , and  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  ( $\text{Co}@Mn$  and  $\text{Co}@Mn@Zn$ ), in one heterostructure was executed by using a similar approach. First, all core  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  particles were obtained in the same way as described earlier. 35 mL of benzyl alcohol suspension of  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core particles were mixed with 0.1372 g of  $\text{Mn}(\text{acac})_2$  and 0.3532 g of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  dissolved in the same solvent. The same steps were repeated as in the case of the previous examples. Seeding was performed two times to obtain  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@MnFe_2\text{O}_4$  binary heterostructures. In order to prepare a ternary heterostructure containing a  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  shell, 0.1408 g of  $\text{Zn}(\text{acac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  and 0.3532 g of  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  were dissolved in 35 mL of benzyl alcohol. Since the zinc source contains crystalline water, the obtained mixture was first dehydrated by increasing the temperature to 120 °C and keeping for 1 hour to remove it under nitrogen purge. After that, 35 mL of benzyl alcohol suspension containing the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@MnFe_2\text{O}_4$  core-shell was added. The reaction mixture was again heated to 205 °C and kept for 4 hours. The remaining steps were the same as mentioned before. The seeding was performed only once to get the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@MnFe_2\text{O}_4@ZnFe_2\text{O}_4$  multi-shell compound.

### 2.3. Characterization of nanoparticles

The X-ray powder diffraction (XRD) technique was used to evaluate the structural properties of the prepared core-shell ferrites. The measurements were conducted with a Bruker D8 Advance (Bruker, Germany) instrument equipped with a Cu lamp (1.54060 Å) as the source of X-ray radiation. The source Cu lamp (1.54060 Å) and a Ni filter were used to get rid of the  $K_{\alpha 2}$  line. Diffraction patterns were background corrected using Diffrac.Eva software (V.2). Each sample was measured within the  $2\theta$  range of 15–65° with a 0.02° step and an integration time of 0.8 s.

The nanoparticle concentration was determined by using a Radwag MYA 5.4Y microbalance (Radwag, Poland) through evaporation of the solvent from a known suspension volume and crucible weighing (average of three repetitions).

The data regarding sample morphology, particle size, and element distribution were collected through transmission electron microscopy (TEM), high-angle annular dark-field scanning TEM (HAADF-STEM), and energy dispersive EDS using a Tecnai Osiris X-FEG microscope (FEI, USA). Core-shell materials in the form of colloidal suspensions were deposited on a 200 mesh Cu carbon-covered grid supplied by EM Resolutions (United Kingdom) and dried overnight under dust protection.

Measurements of the heating ability of core-shell ferrites under the irradiation of 808 and 122 nm monochromatic light were carried out by using a self-constructed set-up consisting of an isolated vessel, an FLIR T660 thermovision camera (FLIR, USA), continuous NIR laser modules emitting 808 nm line (maximum output power: 2.74 W) and 1122 nm (1 W) (CNI, China), and 400 μm optical fibers (CNI, China) for light

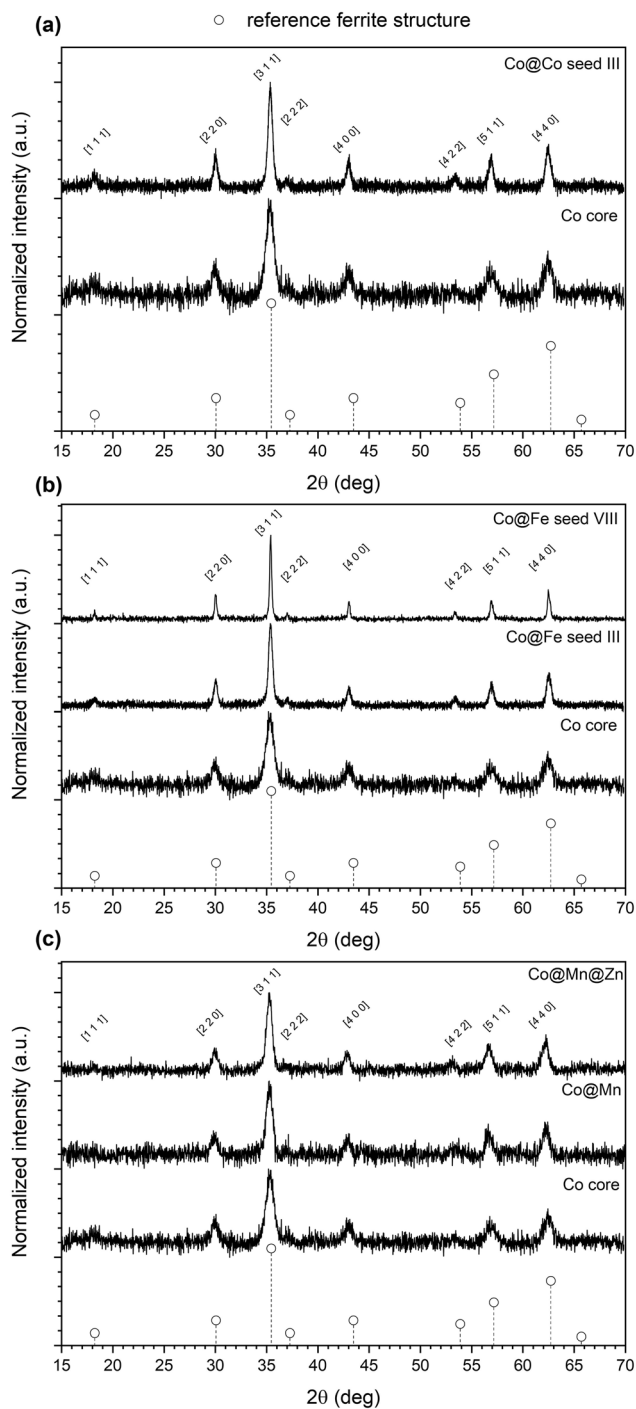
delivery. Both the laser modules were calibrated with an Ophir StarLite laser power meter using a beam track thermal sensor 10 A-PPS with measurable laser powers from 20 mW up to 10 W (Ophir, Israel). All data were recorded and processed with ResearchIR and Origin Pro 2019 software.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Physicochemical characterization of core-shell ferrite structures

The  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@CoFe_2\text{O}_4$  ( $\text{Co}@Co$ ) based core-shell structures were fabricated by using a seed-mediated process starting from the core material with a size of 9.4 nm. The seeding process was repeated three times without changes in the amount of fresh portion of the iron and cobalt substrates until 15 nm particle size was achieved. The structural properties of the starting core material and the final product were evaluated utilizing the XRD technique (Fig. 1a) using reference card no. 22-1086 for  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  taken from the ICDD database. As one can see, peak positions of both samples showed a good match with the position of the peaks associated with the ferrite cubic structure confirming the formation of the core material and  $\text{Co}@Co$  multishell particles. The growth of the isostructural shell manifests through significant narrowing of reflections which is an indication of the particle size increase. The seed-mediated process can be further continued and will result in a progressive increase in the shell thickness which is shown in another example. The  $\text{Co}@Co$  particle size, distribution, and morphology were evaluated by the TEM imaging technique (see Fig. 2 and 5a). The core  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  can be characterized by a sphere-like shape with a mean particle size of 9.4 nm and a relatively narrow size distribution. After II<sup>nd</sup> and III<sup>rd</sup> seeding stages, the growth of particles progressed to the size of 13 and 15 nm, respectively. We also observed a noticeable morphology change toward less regular shapes.

In the case of fabrication of the other two heterostructures, namely  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@Fe_3O_4$  ( $\text{Co}@Fe$ ) and  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@MnFe_2\text{O}_4@ZnFe_2\text{O}_4(\text{Co}@Mn@Zn)$  with an intermediate  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@MnFe_2\text{O}_4$  ( $\text{Co}@Mn$ ) phase, the same  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core stock particle dispersion was used as previously described. We have shown that for the  $\text{Co}@Fe$  core-shell material, it is possible to prepare particles with a precise size control between 10 and 40 nm for eight repetitions of seeding. However, the particle growth can likely be continued with some restrictions which have to be considered at some point. These additional issues will be discussed later. As we have shown in Fig. 1b, the ferrite structure was retained during the fabrication steps with pronounced narrowing of reflections. Since our aim was focused toward seed growth of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  layer, we were interested to know if there will be a need to change the synthesis time in contrast to the fabrication process of the  $\text{Co}@Co$  structures. Therefore, we performed the synthesis for 1, 2, and 4 h and carried out TEM analysis afterward (Fig. 3). We observed that for a shorter time (less than 2 h) the final product may contain



**Fig. 1** XRD patterns of the seed-mediated (a) Co@Co homostructures, (b) Co@Fe binary heterostructures and (c) Co@Mn and Co@Mn@Zn core-shell materials.

a fraction of the individual small particles that will finally coalesce into bigger counterparts.

The same feature was found in the formation of flower-like magnetite particles prepared by the thermal decomposition technique with acetophenone.<sup>12</sup> Hence, we decided to perform the rest of the synthesis for 4 h in all cases. Again, the TEM

technique was used to estimate the particle size and morphology of the Co@Fe core-shell materials (Fig. 4 and 5b). For this purpose, we chose, besides the CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> core (9.4 nm), Co@Fe samples after III<sup>rd</sup>, V<sup>th</sup>, and VIII<sup>th</sup> seeding. The particle size changed (Fig. 5b) from the starting size of 9.4 up to 25, 32, and 37 nm for the core ferrite in the III<sup>rd</sup>, V<sup>th</sup>, and VIII<sup>th</sup> seeding, respectively. Indeed, one may conclude that progressive particle growth occurred with an increase in the number of seeding stages. After the IV<sup>th</sup> seeding process, we decided to perform a TEM analysis of this sample to check whether still the concentration of the fresh iron source is not too high (Fig. 6) since the surface contact area decreases in each further step. As particle growth causes a reduction of the available surface for the chemisorption of new monomers, saturation might occur. Then the excess monomers not having access to the seed surface will immediately react and transform into individual Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> particles without the formation of a shell. Therefore, we checked it by using two approaches: (1) after IV<sup>th</sup> seeding, we maintained the monomer concentration without any change and (2) we reduced the monomer concentration significantly (by 50%) to compensate for surface area unavailability.

TEM analysis was carried out after obtaining the products of approaches (1) and (2). The effect of not applying any changes (approach 1) is visible in Fig. 6. One can observe the formation of small particles (indicated by blue arrows) whose size corresponds to the particle size of 10–11 nm. This implies that due to too high iron monomer concentration separate particles of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> are formed instead of increase in the shell thickness. This is a significant conclusion since it suggests that it is necessary to lower the monomer concentration due to the decrease in the surface area of seeded particles to avoid the growth of new individual particles. The result of the second approach is shown in Fig. 4 and is denoted as Co@Fe seed V. What we found interesting was the change of the particle morphology into a more regular one upon size increase after IV<sup>th</sup> seeding with reduced concentration of the iron complex. It is worth noting that the reaction mixture does not contain any other specific additives that are commonly used to force directional growth such as oleic acid, higher alcohols, *etc.*<sup>38,39</sup> The only parameter that was changed by us was the concentration of the iron source during the IV<sup>th</sup> seeding. As it was previously shown,<sup>39</sup> an effective monomer concentration can play an important role in particle nucleation and growth.

For instance, too low a precursor concentration can lead to issues with morphology control due to the insufficient availability of the substrate that is necessary for the termination of directional growth, while a more precisely chosen amount results in control of particle shape.<sup>38</sup> In our case, a decrease in monomer concentration coincidentally forced the directional growth of the particles toward a more regular morphology through the delivery of a sufficient number of monomers for growth termination without the addition of other chemicals. Therefore, to maintain the core-shell structures after further seeding steps we decided to decrease the concentration of substrate(s).

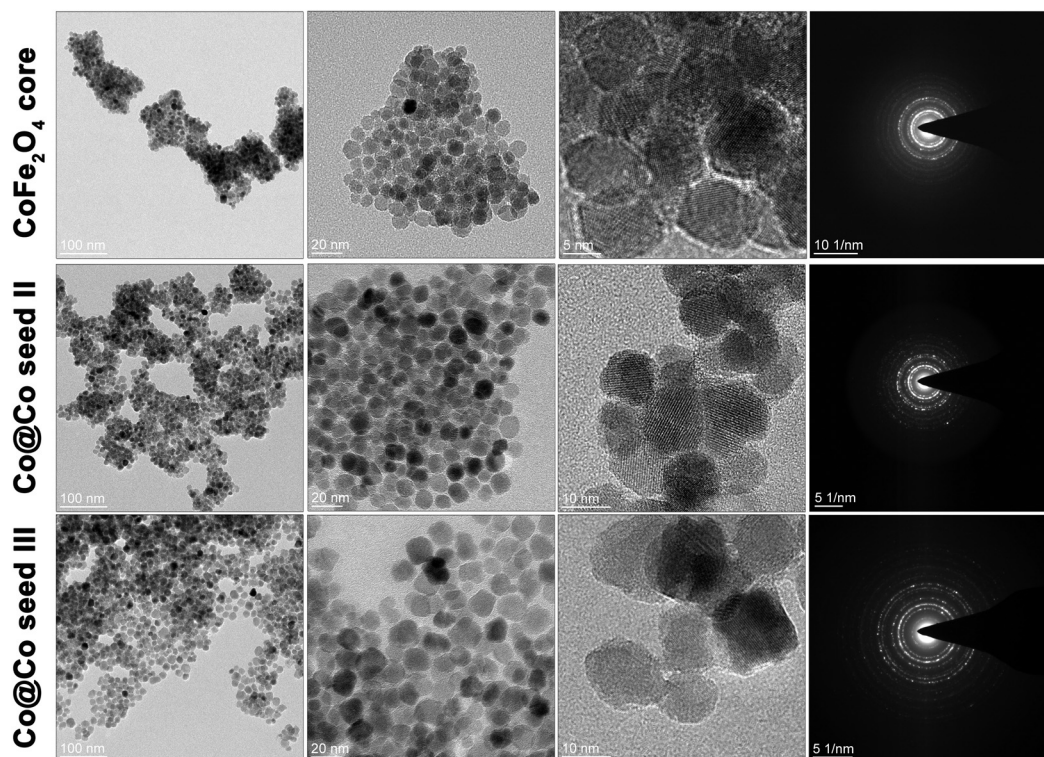


Fig. 2 TEM images of the Co@Co core-shell ferrites after several repetitions of the seed-mediated process. The  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core is treated as a reference for size tuning.

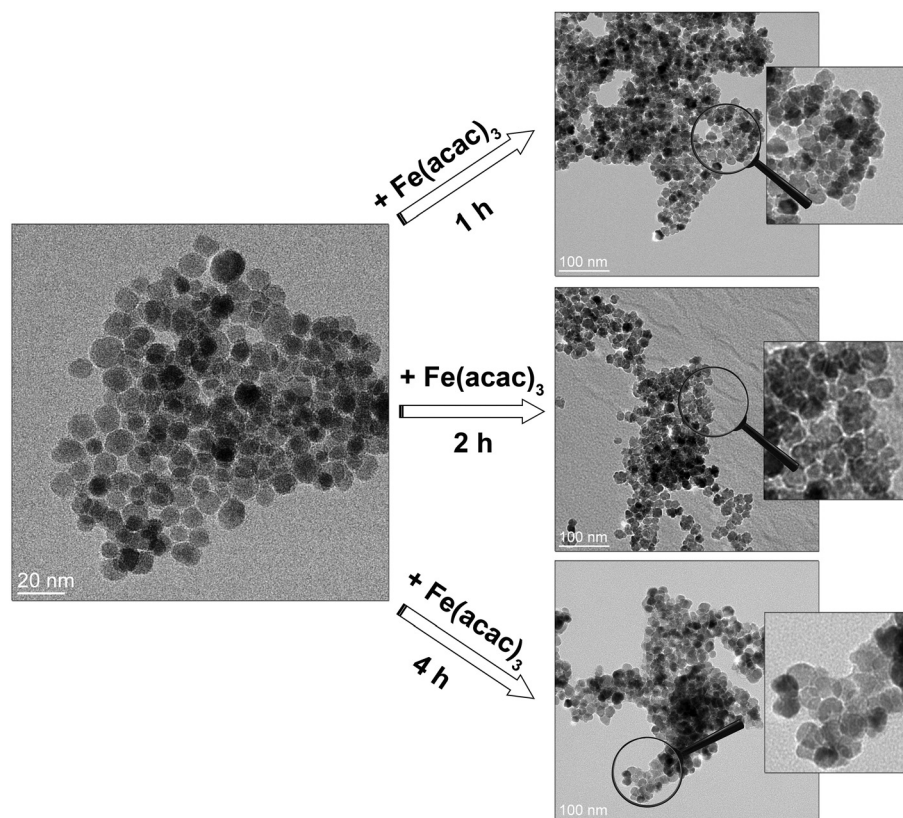


Fig. 3 Effect of synthesis time on the formation of the Co@Fe seed III core-shell material after addition of the fresh  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  portion.

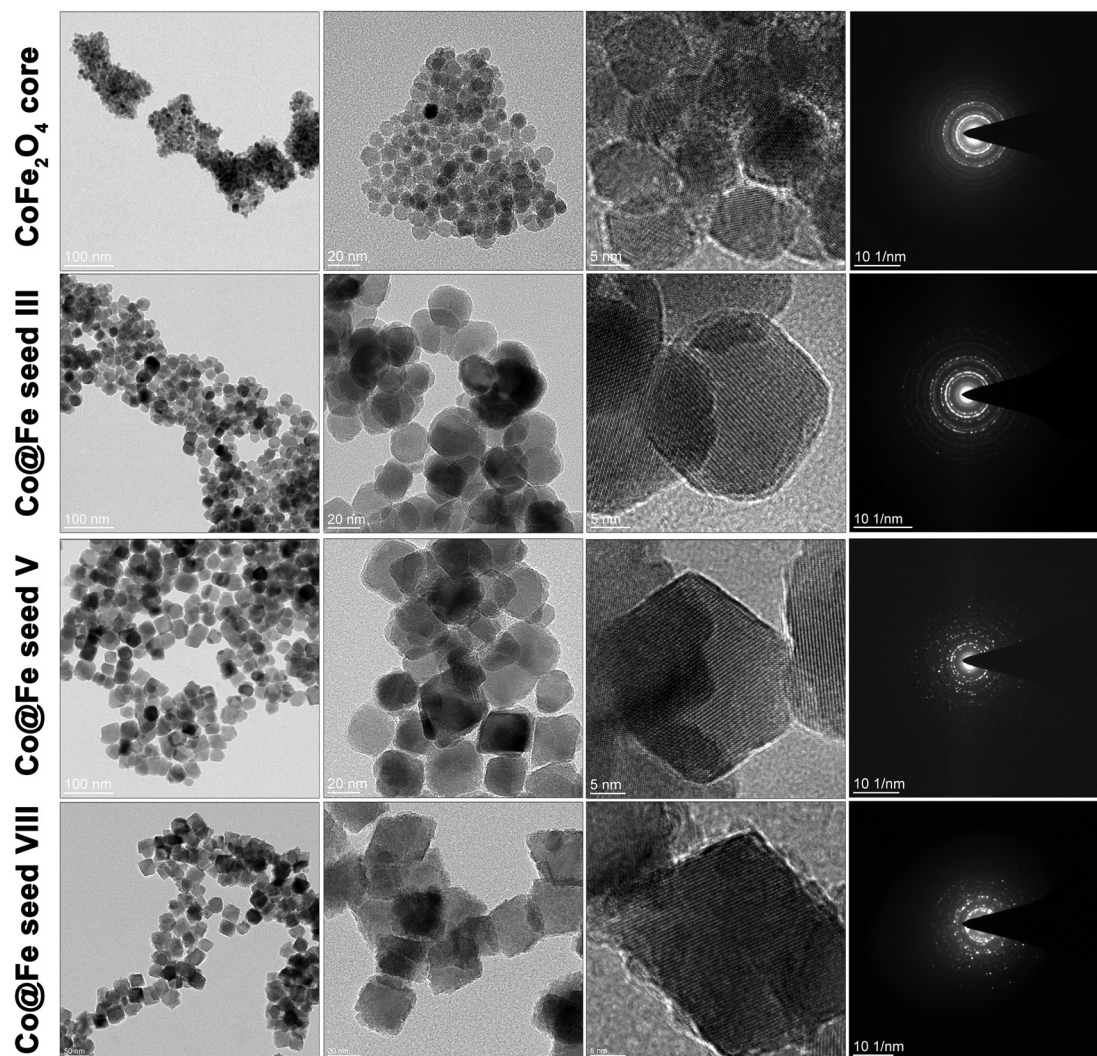


Fig. 4 TEM images of the Co@Fe heterostructures after several repetitions of the seed-mediated process. The  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core is treated as a reference for size tuning.

Since the XRD technique is crystal structure indicative and we deal with the same cubic structure among the ferrite family, it is necessary to check the presence of respective elements by using a different methodology. Fig. 7 shows the results of the HAADF-STEM-EDS technique that can identify elements in the sample and provide information regarding their content and reproduce elemental distribution maps. It is then possible to confirm that the core particles and Co@Fe heterostructures contain appropriate elements. Moreover, the distribution maps show that the intensities of the pixels corresponding to the iron content increase with the shell thickness.

We exploited this technique further to check whether it is also possible to synthesize a core-shell material that will contain several shells of different ferrite materials, namely  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  as the core,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  as the intermediate layer, and  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  as the outer layer. We wanted to keep the particle size below 30 nm which is particularly an important trait for bio-related applications. Fig. 1c shows the diffraction patterns of

the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core, the intermediate Co@Mn hybrid, and finally, the ternary heterostructure of Co@Mn@Zn ferrites. As in the previous cases, the recorded results allow for the conclusion that all prepared materials have a typical cubic ferrite structure. The peak narrowing is not that pronounced since we limited seeding repetitions, and hence limited particle growth. The particle size and distribution were estimated using TEM (Fig. 8). For the intermediate Co@Mn hybrid, the mean particle size was around 14.5 nm, while for the ternary Co@Mn@Zn heterostructure it was 16 nm. We have to underline that the seeding of the  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  shell was repeated twice, while for  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ , we did it only once. The process can be continued depending on the final desired particle size or the outer layer can be covered with another type of ferrite compound. This synthesis technique opens up a possibility not only for particle size control but also for optimization of composition in a more sophisticated way to tune or tailor specific physicochemical properties.

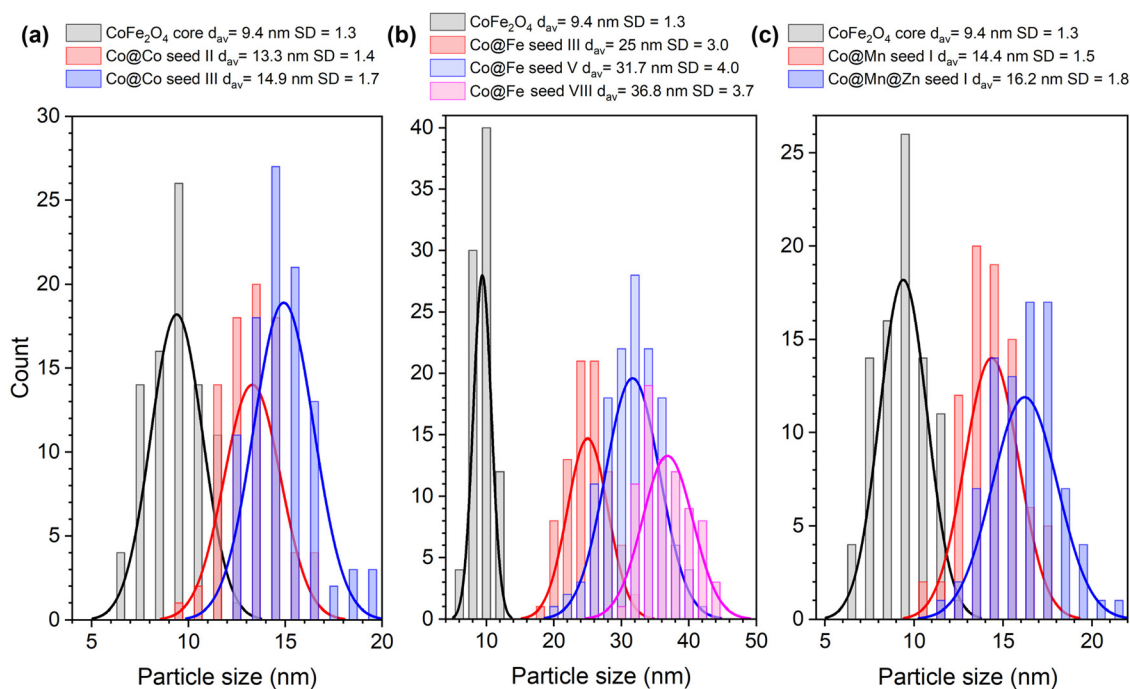


Fig. 5 Average particle size and its distribution curves for (a) Co@Co, (b) Co@Fe and (c) Co@Mn@Zn core-shell structures obtained by the seed-mediated technique.

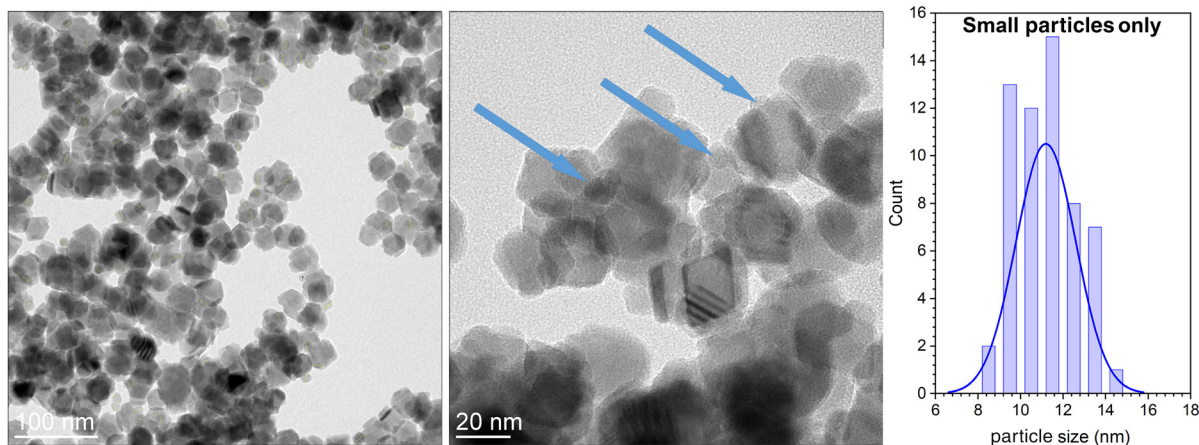


Fig. 6 TEM images of the Co@Fe sample after the IV<sup>th</sup> seeding process without reduction of monomer concentration to compensate for the decreased surface area. The plot shows the distribution of the particle size for small Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> particles formed due to too high a concentration of monomers.

We have provided elemental maps (Fig. 8) to prove that the shell composition changes upon the ferrite compound switch. For the characterization of the energy conversion, we have chosen representative samples that were seeded a maximum of three times (Co@Co seed III, Co@Fe seed III, and Co@Mn@Zn) and had a particle size below 30 nm that would allow their use as platforms for biological applications where small particle size plays an important role and facilitates their internalization in cells.

### 3.2. Heat generation through contactless NIR laser light irradiation on ferrite core-shell structures

Laser light conversion into heat was performed on different ferrite core-shell structures by using 808 and 1122 nm wavelengths located within the I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> optical biological windows. All measurements were carried out on nanoparticle colloidal dispersions in water with the standard 1 mg mL<sup>-1</sup> concentration (Fig. 9). The laser light was delivered continu-

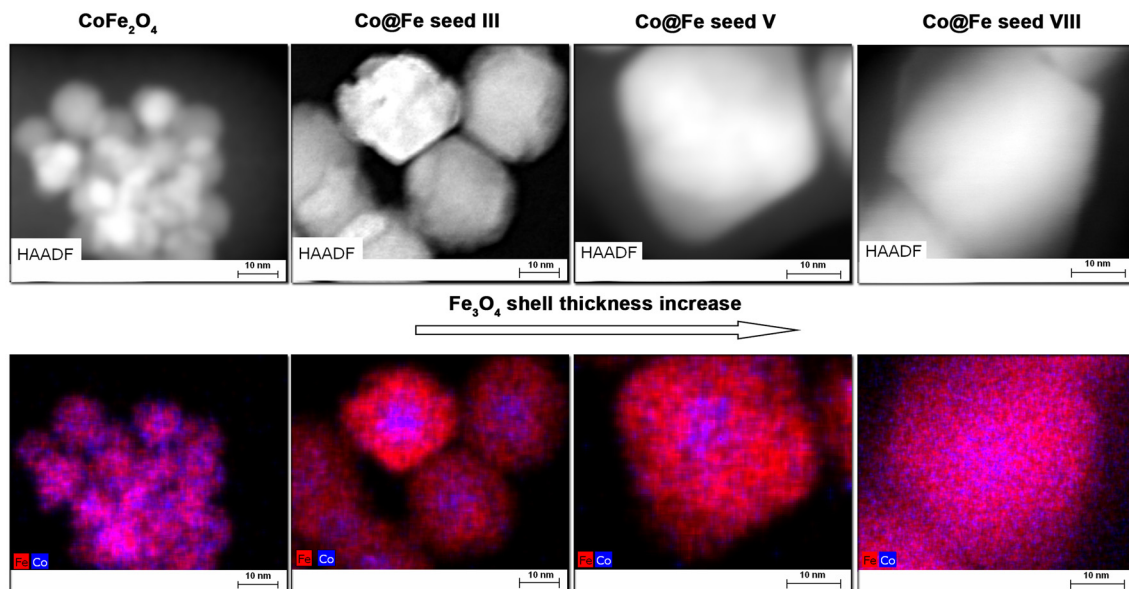


Fig. 7 HAADF-STEM and EDS images of the seed-mediated core-shell structures synthesized *via* thermal decomposition: CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, Co@Fe seed III, Co@Fe seed V, and Co@Fe seed VIII.

ously through an optical fiber at a height that allows for complete coverage of the forefront area of colloids (approximately 1 cm<sup>2</sup> for 808 nm). In the case of the 808 nm light, we performed a series of measurements as a function of the laser output power in the range of 500 to 2100 mW (1 W cm<sup>-2</sup> up to 4.2 W cm<sup>-2</sup>). The overall laser exposure time was set at 1800 s which was long enough to achieve a temperature plateau. The starting temperature was between 21 and 23 °C.

On the other hand, for the 1122 nm laser light, 900 mW power (spot area approx. 0.5 cm<sup>2</sup>, 3.6 W cm<sup>-2</sup>) was chosen to check the ability and performance of materials in heat generation in the II<sup>nd</sup> transparency window for biological objects. The results of the contactless heat generation with 808 nm are presented in Fig. 9, while  $dT/dt$ , SAR, and  $T_{\max}$  are plotted in Fig. 10 to show the reliability of the prepared core-shell products. The abovementioned parameters particularly  $dT/dt$  and SAR provide valuable information regarding the efficiency of heat conversion under a given stimulus. The value of  $dT/dt$  is extracted directly from the so-called heating curves by using linear fit for the first tens of seconds of temperature evolution. This is a standard procedure that allows for the minimization of the contribution of the heat exchange between the system (dispersion) and surroundings. The sample was placed in an isolated container assuring pseudo-adiabatic conditions to minimize heat flow. Afterward, the specific absorption rate (SAR), a measure of heating efficiency,<sup>40</sup> can be calculated using the following formula:

$$\text{SAR} = \frac{C m_{\text{sample}} dT}{m_{\text{NPs}} dt}, \quad (1)$$

where  $C$  is the specific heat capacity of the medium ( $C_{\text{H}_2\text{O}}$ : 4.185 J g<sup>-1</sup> °C),  $m_{\text{sample}}$  is the mass of the colloid (g),  $m$  is the particle mass in dispersion (g), and  $dT/dt$  is the slope of the

linear fit of the heating curve. We used only the specific heat capacity of water since the contribution of the specific heat capacity related to the nanoparticles is negligible at such a concentration (1 mg mL<sup>-1</sup>). The  $T_{\max}$  value gives an impression of how high temperature can be achieved during laser light exposure.

First, we focus on  $T_{\max}$  dependence. As one can see the overall  $T_{\max}$  values for all studied nanoparticles did not differ significantly. However, some variations can be found. The highest temperature of 81 °C was achieved on CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> core particles (9.4 nm), then 79 °C for Co@Mn@Zn ternary heterostructures (16 nm), 72° for Co@Fe (25 nm), and lastly 69 °C for Co@Co (15 nm). We think that the differences might originate from several phenomena. (1) Size reduction leads to an increase in surface area and thus should result in better heat exchange which is the most probable explanation for the highest  $T_{\max}$  in the case of core particles. (2) The agglomerated state of particles can be favorable in terms of increased absorption capability of such objects due to the particle multiple scattering,<sup>41,42</sup> which also explains the core particle behavior as well and can be good reasoning for the  $T_{\max}$  similarity with that of Co@Mn@Zn heterostructures. (3) Thermal conductivity of a material affects its ability to transfer heat to the medium, and thus, since Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> has a lower thermal conductivity than CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>43</sup>, it might be an explanation for the lower  $T_{\max}$  with the same laser parameters applied. The lowest  $T_{\max}$  69 °C was achieved for Co@Co (15 nm), but the value is comparable with that of the Co@Fe heterostructure. We think that this might relate to the decrease in the surface area in comparison with that of the CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> core sample. The theoretical change in the surface area for 9.4 nm and 15 nm particles is almost two-fold (203 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> and 127 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>); thus it may be a possible explanation for  $T_{\max}$ . However,



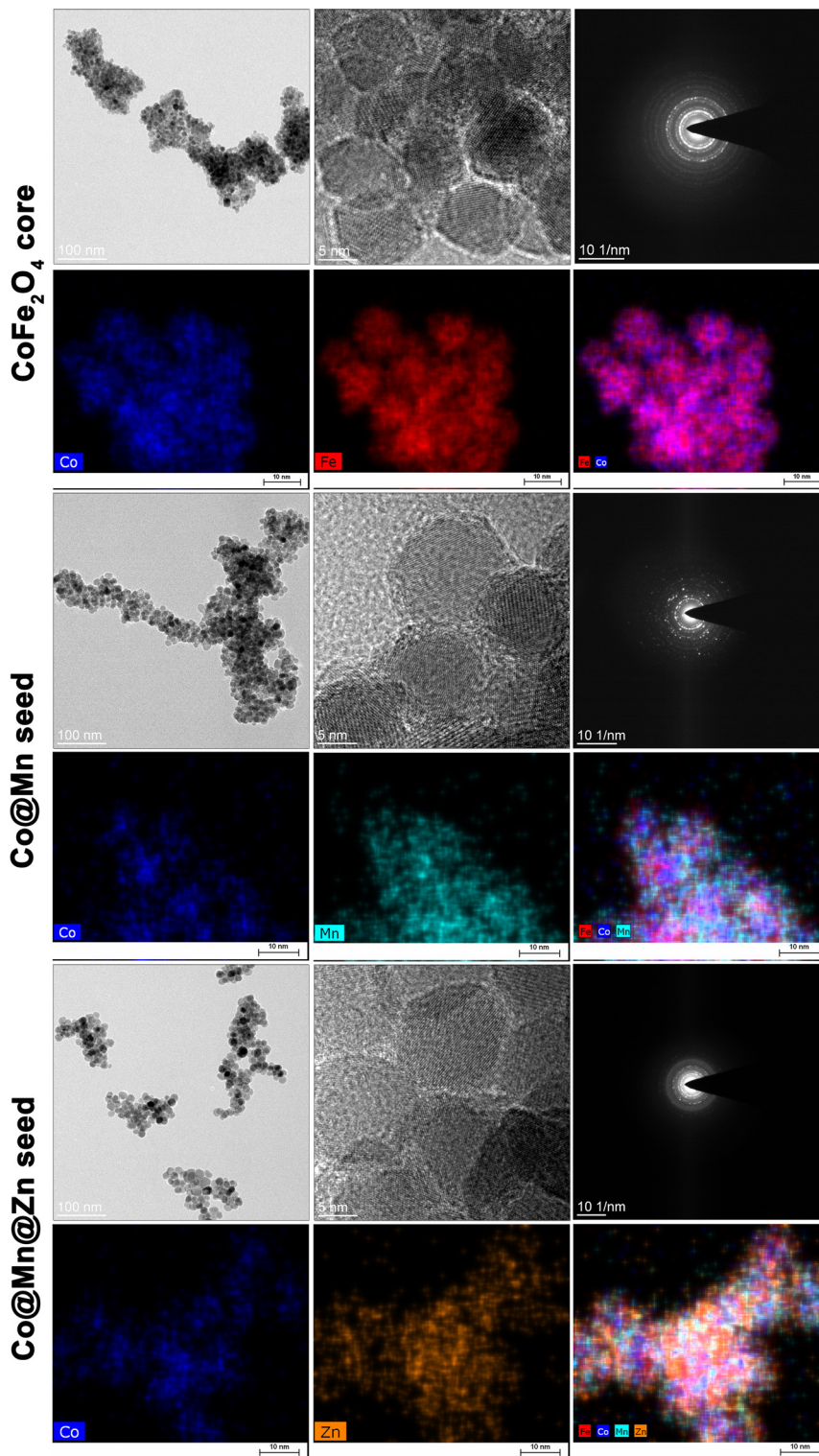
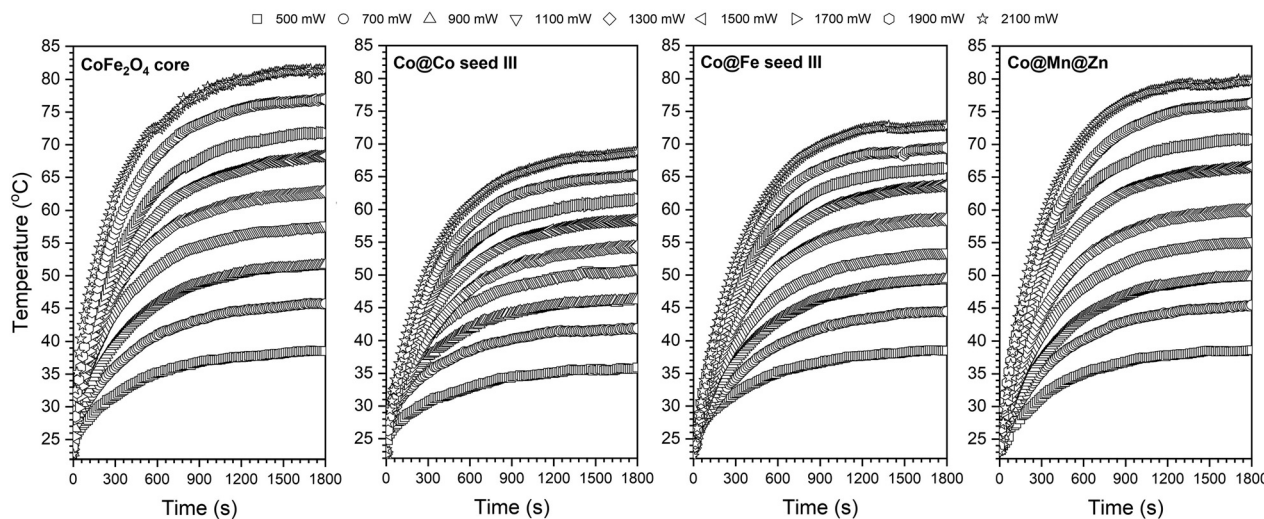


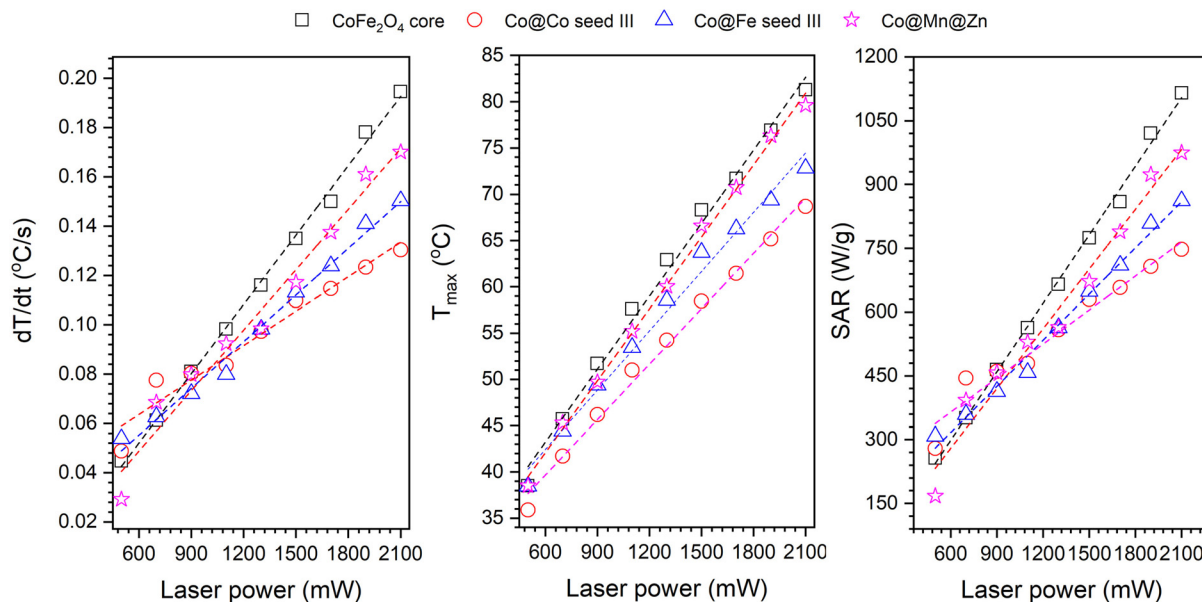
Fig. 8 TEM images of the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core,  $\text{Co@Mn}$  intermediate, and  $\text{Co@Mn@Zn}$  ternary ferrite heterostructures with elemental maps.

as we stated, the observed differences are not that striking and can be caused by laser instabilities (3%) and temperature measurement errors ( $\pm 1$  °C). Upon literature comparison with similar in-size ferrite particles, the obtained  $T_{\text{max}}$  values are comparable.<sup>11,12</sup>

The laser power dependence on temperature is linear for every sample and saturation is not achieved within the studied power range. It means that if necessary, it is possible to go beyond the recorded  $T_{\text{max}}$  in this study. We would like to underline that in comparison with the most common alternat-



**Fig. 9** Heating curves of the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core particles and  $\text{Co@Co}$ ,  $\text{Co@Fe}$ , and  $\text{Co@Mn@Zn}$  core-shell structures under 808 nm laser light stimulation and as a function of the laser output power. The concentration of all particles was constant ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ).



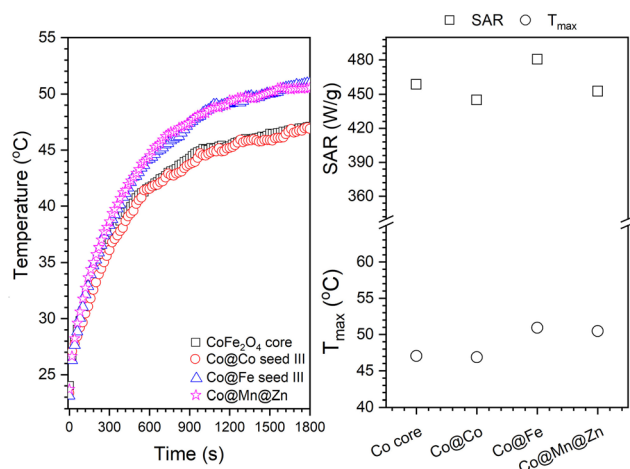
**Fig. 10** Plots showing the changes of  $dT/dt$ ,  $T_{\text{max}}$ , and SAR parameters of the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core and  $\text{Co@Co}$ ,  $\text{Co@Fe}$ , and  $\text{Co@Mn@Zn}$  core-shell structures as a function of 808 nm laser power.

ing magnetic field stimulation (AMF) for inducing temperature effects, the photo-stimulation mechanism does not depend on particles' physical rotations (one of the mechanisms of heating with AMF – Brown relaxation) that might be switched-off due to particle immobilization within cells or viscosity changes. Thus, it is expected that in a biological system it will not take place due to the difference in the heating mechanism. Regarding SAR values, the heating efficiency is quite high being close to  $600 \text{ W g}^{-1}$  for the lower power range (below  $1000 \text{ mW}$ – $2 \text{ W cm}^{-2}$ ) and exceeding  $1000 \text{ W g}^{-1}$  for the highest laser power in this study. It means that the mechanism

of light conversion is very effective, particularly considering that the NIR absorption of the ferrite family is rather moderate.<sup>44,45</sup> On a side note, measurement of the heating ability of the  $\text{Co@Fe}$  samples that contain  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and observation of the pronounced temperature effect might also be treated as evidence for the stability of the magnetite phase since  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  shows no absorption within the NIR range.<sup>45</sup> So, by this indirect experiment, formation of the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  phase can be also proved and its degradation over time can be studied as well. The concentration dependence of the materials was measured (Fig. S1 and S2†) under the action of laser stimu-

lation as well. We have shown that  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  concentration seems to be optimal since the increase in the number of thermoseeds up to  $2 \text{ mg mL}^{-1}$  does not improve  $T_{\text{max}}$  while the decrease in the particle concentration by half leads to a decrease in the  $T_{\text{max}}$  as expected.

Our goal apart from the fabrication of multi-shell ferrite heterostructures was also to examine the generation of heat by utilizing the light wavelength from the II<sup>nd</sup> optical biological window. As is well known, the I<sup>st</sup> window covers a spectral range between 700 nm and 980 nm, whereas the II<sup>nd</sup> is in the range of 1000–1400 nm. What is worth mentioning is that in the I<sup>st</sup> window the light absorption is minimized by biological objects but there is a significant light scattering. However, in the II<sup>nd</sup> one, scattering is minimized while some absorption might occur as well. However, the II<sup>nd</sup> optical window seems to be also very intriguing since the wavelengths of interest deliver less energy (the longer the wavelength, the smaller the energy) and, in principle, should be far less harmful in contrast to the I<sup>st</sup> window range. For instance, 808 nm delivers 1.53 eV, while 1122 nm corresponds to 1.1 eV. The minimized light absorption within the mentioned optical biological windows assures a deeper penetration depth, localized and specific light interaction with nanoparticles, and elimination of autofluorescence. Therefore, we performed the measurement of the ability to convert 1122 nm light for a laser output power of 900 mW ( $3.6 \text{ W cm}^{-2}$ ) for all prepared materials (see Fig. 11) and extracted SAR and  $T_{\text{max}}$ . As one can see the SAR and  $T_{\text{max}}$  are comparable between the samples. This is also a spectral range at which the absorption ability of the ferrites reduces; hence  $T_{\text{max}}$  is significantly lower than that under 808 nm stimulation. We can further conclude that all fabricated materials are interesting candidates as energy converters that can effectively generate heat with the use of NIR laser radiation covering the range of I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> biological optical windows.



**Fig. 11** Heating curves of the  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  core particles and  $\text{Co@Co}$ ,  $\text{Co@Fe}$ , and  $\text{Co@Mn@Zn}$  core-shell structures under 1122 nm and 900 mW ( $3.6 \text{ W cm}^{-2}$ ) laser light stimulation, and the  $T_{\text{max}}$  and SAR values for all materials studied.

## 4. Conclusions

In this work, we have shown that the seed-mediated technique can be treated as a flexible and important tool for the synthesis of core-shell ferrite structures, namely  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{MnFe}_2\text{O}_4$ , and  $\text{CoFe}_2\text{O}_4@\text{MnFe}_2\text{O}_4@\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ . The fabrication methodology allows particle size fine-tuning through substrate concentration control without the necessity for a significant change in synthetic parameters. We found that above certain particle size of the core material in later seeding steps it is necessary to decrease the concentration of monomer(s) due to the decrease in the surface contact area. We considered this also as a beneficial side effect that led to the directional growth of particles toward a better-defined particle morphology. This approach can be extended beyond particle size in the prepared materials. It is possible to combine different ferrite compounds within multi-shell heterostructures which can help in the engineering of interesting new composites with exceptional physical-chemical properties. We have shown that the prepared core-shell materials have a high ability to convert laser light within the I<sup>st</sup> (808 nm) and II<sup>nd</sup> (1122 nm) optical biological windows in a contactless manner achieving a biologically relevant temperature range.

## Author contributions

R. P.: conceptualization of work, data analysis, preparation of Fig. 3, 6, 10 and 11, and writing and editing of the manuscript; M. K.-G. and A. T.: synthesis of nanomaterials; A. T.: XRD measurements, preparation of Fig. 1, and writing and final corrections; M. K.-G.: all energy conversion experiments, preparation of Fig. 2, 4, 5 and 7–11, and writing and final corrections; A. D.: all TEM and HAADF-STEM-EDS measurements, manuscript editing, and corrections. All authors have accepted the final version of the manuscript.

## Conflicts of interest

There are no conflicts of interest to declare.

## Acknowledgements

Financial support of the National Science Centre, Poland, in the course of the realization of Project no. UMO-2017/25/B/ST5/00497 is gratefully acknowledged. The authors would like to express their gratitude to M. Sc. Eng. Patrycja Kłoda and M. Sc. Eng. Róża Bielak for technical assistance.

## References

- 1 A. López-Ortega, E. Lottini, C. D. J. Fernández and C. Sangregorio, *Chem. Mater.*, 2015, 27, 4048–4056.

- 2 Y. A. Koksharov, *Magnetic Nanoparticles*, ed. S. P. Gubin, Wiley, 2009, pp. 197–254.
- 3 R. Arulmurugan, G. Vaidyanathan, S. Sendhilnathan and B. Jeyadevan, *J. Magn. Magn. Mater.*, 2006, **298**, 83–94.
- 4 V. Kumari, K. Dey, S. Giri and A. Bhaumik, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 45701–45707.
- 5 D. D. Stueber, J. Villanova, I. Aponte, Z. Xiao and V. L. Colvin, *Pharmaceutics*, 2021, **13**, 943.
- 6 B. I. Kharisov, H. V. R. Dias and O. V. Kharissova, *Arabian J. Chem.*, 2019, **12**, 1234–1246.
- 7 S. B. Han, T. B. Kang, O. S. Joo and K. D. Jung, *Sol. Energy*, 2007, **81**, 623–628.
- 8 A. Radoń, Ł. Hawełek, D. Łukowiec, J. Kubacki and P. Włodarczyk, *Sci. Rep.*, 2019, **9**, 20078.
- 9 C. Bárcena, A. K. Sra, G. S. Chaubey, C. Khemtong, J. P. Liu and J. Gao, *Chem. Commun.*, 2008, 2224–2226.
- 10 M. E. Materia, P. Guardia, A. Sathya, M. Pernia Leal, R. Marotta, R. Di Corato and T. Pellegrino, *Langmuir*, 2015, **31**, 808–816.
- 11 A. Espinosa, R. Di Corato, J. Kolosnjaj-Tabi, P. Flaud, T. Pellegrino and C. Wilhelm, *ACS Nano*, 2016, **10**, 2436–2446.
- 12 R. Pązik, A. Lewińska, J. Adamczyk-Grochala, M. Kulpa-Greszta, P. Kłoda, A. Tomaszewska, A. Dziedzic, G. Litwienienko, M. Noga, D. Sikora and M. Wnuk, *J. Phys. Chem. B*, 2020, **124**, 4931–4948.
- 13 P. Kowalik, J. Mikulski, A. Borodziuk, M. Duda, I. Kamińska, K. Zajdel, J. Rybusinski, J. Szczytko, T. Wojciechowski, K. Sobczak, R. Minikayev, M. Kulpa-Greszta, R. Pązik, P. Grzaczowska, K. Fronc, M. Lapinski, M. Frontczak-Baniewicz and B. Sikora, *J. Phys. Chem. C*, 2020, **124**, 6871–6883.
- 14 M. Kulpa-Greszta, A. Tomaszewska, E. Zachanowicz, P. Krzemiński and R. Pązik, *J. Alloys Compd.*, 2022, **898**, 162840.
- 15 M. Dalal, J. M. Greneche, B. Satpati, T. B. Ghzaiel, F. Mazaleyrat, R. S. Ningthoujam and P. K. Chakrabarti, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, **9**, 40831–40845.
- 16 S. Yu, H. Zhang, S. Zhang, M. Zhong and H. Fan, *Front. Chem.*, 2021, **9**, 651053.
- 17 C. Sun, J. S. H. Lee and M. Zhang, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2008, **60**, 1252–1265.
- 18 A. Lewinska, J. Adamczyk-grochala, D. Bloniarz, J. Olszowka, M. Kulpa-greszta, G. Litwinienko, A. Tomaszewska, M. Wnuk and R. Pązik, *Redox Biol.*, 2019, **28**, 101337.
- 19 R. P. Friedrich, I. Cicha and C. Alexiou, *Nanomaterials*, 2021, **11**, 2337.
- 20 N. Daffé, M. Sikora, M. Rovezzi, N. Bouldi, V. Gavrilov, S. Neveu, F. Choueikani, P. Ohresser, V. Dupuis, D. Taverna, A. Gloter, M. A. Arrio, P. Sainctavit and A. Juhin, *Adv. Mater. Interfaces*, 2017, **4**, 1–9.
- 21 V. Gavrilov-Isaac, S. Neveu, V. Dupuis, D. Talbot and V. Cabuil, *Small*, 2015, **11**, 2614–2618.
- 22 R. Das, J. Robles, M. Glassell, V. Kalappattil, M. H. Phan and H. Srikanth, *J. Electron. Mater.*, 2019, **48**, 1461–1466.
- 23 G. C. Lavorato, R. Das, Y. Xing, J. Robles, F. J. Litterst, E. Baggio-Saitovitch, M. H. Phan and H. Srikanth, *ACS Appl. Nano Mater.*, 2020, **3**, 1755–1765.
- 24 V. Gavrilov-Isaac, S. Neveu, V. Dupuis, D. Taverna, A. Gloter and V. Cabuil, *Small*, 2015, **11**, 2614–2618.
- 25 M. Sanna Angotzi, A. Musinu, V. Mameli, A. Ardu, C. Cara, D. Niznansky, H. L. Xin and C. Cannas, *ACS Nano*, 2017, **11**, 7889–7900.
- 26 O. V. Yelenich, S. O. Solopan, J. M. Greneche and A. G. Belous, *Solid State Sci.*, 2015, **46**, 19–26.
- 27 A. Lopez-Ortega, M. Estrader, A. G. Roca and J. Nogués, *Phys. Rep.*, 2015, **553**, 1–32.
- 28 K. Sartori, D. Gailly, C. Bouillet, J. M. Grenèche, P. Dueñas-Ramirez, S. Begin-Colin, F. Choueikani and B. P. Pichon, *Cryst. Growth Des.*, 2020, **20**, 1572–1582.
- 29 F. Fabris, J. Lohr, E. Lima Jr., A. A. de Almeida, H. E. Troiani, L. M. Rodriguez, M. V. Mansilla, M. H. Aguirre, G. F. Goya, D. Rinaldi, A. Ghirri, D. Peddis, D. Fiorani, R. D. Zysler, E. De Biasi and E. L. Winkler, *Nanotechnology*, 2021, **32**, 065703.
- 30 K. Lee, S. Lee and B. Ahn, *Chem. Mater.*, 2019, **31**, 728–736.
- 31 J. Park, H. Choi, S. J. Kim and C. S. Kim, *AIP Adv.*, 2018, **8**, 056113.
- 32 D. Jaque, L. Martínez Maestro, B. del Rosal, P. Haro-Gonzalez, A. Benayas, J. L. Plaza, E. Martín Rodríguez and J. García Solé, *Nanoscale*, 2014, **6**, 9494–9530.
- 33 H. Gavilán, S. K. Avugadda, T. Fernández-Cabada, N. Soni, M. Cassani, B. T. Mai, R. Chantrell and T. Pellegrino, *Chem. Soc. Rev.*, 2021, **50**, 11614–11667.
- 34 R. Pązik, E. Zachanowicz, B. Poźniak, M. Małecka, A. Zięcina and Ł. Marciniak, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 18162–18171.
- 35 Z. Yang, J. Yao, J. Wang, C. Zhang, Y. Cao, L. Hao, C. Yang, C. Wu, J. Zhang, Z. Wang, H. Ran and Y. Tian, *Biomater. Sci.*, 2021, **9**, 5652–5664.
- 36 I. Bilecka, I. Djerdj and M. Niederberger, *Chem. Commun.*, 2008, 886–888.
- 37 M. Niederberger, M. H. Bartl and G. D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 13642–13643.
- 38 M. Kulpa-Greszta, A. Tomaszewska, A. Dziedzic and R. Pązik, *RSC Adv.*, 2021, **11**, 20708–20719.
- 39 L. Qiao, Z. Fu, J. Li, J. Ghosen, M. Zeng, J. Stebbins, P. N. Prasad and M. T. Swihart, *ACS Nano*, 2017, **11**, 6370–6381.
- 40 G. Cotin, F. Pertion, C. Blanco-Andujar, B. Pichon, D. Mertz and S. Bégin-Colin, *Nanomaterials for Magnetic and Optical Hyperthermia Applications*, ed. R. M. Fratila and J. M. de La Fuente, Elsevier B.V, 2019, pp. 41–60.
- 41 Y. Ma, V. K. Varadan and V. V. Varadan, *J. Heat Transfer*, 1990, **112**, 402–407.
- 42 B. Xie, L. Ma, J. Zhao and L. Liu, *Opt. Express*, 2019, **27**, A280.
- 43 D. Dadarlat, C. Neamtu, M. Streza, R. Turcu, I. Craciunescu, D. Bica and L. Vekas, *J. Nanopart. Res.*, 2008, **10**, 1329–1336.
- 44 C. Singh, A. Goyal and S. Singhal, *Nanoscale*, 2014, **6**, 7959–7970.
- 45 J. Tang, M. Myers, K. A. Bosnick and L. E. Brus, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 7501–7506.



# Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles



Magdalena Kulpa-Greszta<sup>a,b,\*</sup>, Anna Tomaszewska<sup>a</sup>, Emilia Zachanowicz<sup>c</sup>, Piotr Krzemiński<sup>d</sup>, Robert Pażik<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigoia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

<sup>b</sup> Faculty of Chemistry, Rzeszow University of Technology, Aleja Powstańców Warszawy 12, 35-959 Rzeszow, Poland

<sup>c</sup> Polymer Engineering and Technology Division, Wrocław University of Technology, 50-370 Wrocław, Poland

<sup>d</sup> Center for Microelectronics and Nanotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigoia 1, 35-310 Rzeszow, Poland

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 15 September 2021

Received in revised form 25 October 2021

Accepted 16 November 2021

Available online 20 November 2021

### Keywords:

Inorganic-organic hybrid

Mixed ferrites

Energy conversion

Biological window

Heat generation.

## ABSTRACT

Hybrid materials composed of inorganic magnetic cobalt-manganese mixed nanoferrites and PMMA polymeric shell have been fabricated by applying an *in-situ* polymerization process using pre-prepared inorganic core particles (8–9 nm). The ability of the hybrid heating under action of alternating magnetic field and laser radiation (in a separate and synergy mode) was evaluated and compared with stock nanoparticles. It was found that hybrid materials show a high response to both stimulants and the highest temperature was achieved by using both AMF and laser exposure under synergic mode (twice the value for the AMF alone). The specific absorption rate of composite material was around 30 W/g for the optimized field parameters and both laser wavelengths (808 and 1122 nm). The great response of the hybrid material for contactless action of AMF and NIR radiation makes the proposed material very interesting for future biomedical and EMI shielding applications.

© 2021 The Author(s). Published by Elsevier B.V.  
CC BY-NC-ND 4.0

## 1. Introduction

Composite materials/hybrids that consist of organic-inorganic counterparts are important for material science and other disciplines due to their final physicochemical features strongly depend on the properties of all components [1]. Since we live in an era dominated by polymers it is hard to imagine further development without this group of materials with all of their advantages and drawbacks. Merge of the physicochemical properties of both compounds opens a variety of possibilities in the engineering of new composites with modified or sometimes unexpected properties [2]. Directions of practical use of hybrids range from construction materials [3], modern electronic devices [4] toward more sophisticated and demanding biological applications [5,6]. Combinations of the poly-methacrylate (PMMA) with magnetic nanoparticles (MNPs), predominantly with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, are already known [7–9]. Most studies

are targeted at bone replacement materials *i.e.* bone cement [10], scaffolds additive [11], hyperthermia [12] with the open possibility of the tracking healing process by MRI (magnetic particles as a contrast agent) [13]. The PMMA has a status of a highly biocompatible polymer, though MMA monomer is not [14]. It has reasonable mechanical properties that depend on its final form [11] whereas the ferrite surface needs blocking due to the risk of the redox process, namely Fenton's reaction resulting in the creation of toxic radical species [15]. Thus this kind of composite material allows for the preservation of ferrite heating ability and reduction of toxicity. Application of contactless heat induction is especially important in the biomedical field in the treatment of cancer *via* hyperthermia and stimulation of regenerative process [16,17]. However, it is not limited to this field exclusively. Heat generation mechanism through AMF in magnetically active materials is described in detail and can be divided into three main components that contribute to overall temperature increase: (1) hysteresis losses, (2) eddy currents, and (3) residual losses (*i.e.* Brown (external) and Neel (internal) relaxations [18]). Whereas the exposure of materials to the specific light irradiation, except emission, can result in energy dissipation due to the non-radiative processes (net vibrations - phonons) that cause self-

\* Corresponding author at: Department of Biotechnology, Institute of Biology and Biotechnology, College of Natural Sciences, University of Rzeszow, Pigoia 1, 35-310 Rzeszow, Poland.

E-mail address: [mkulpa@ur.edu.pl](mailto:mkulpa@ur.edu.pl) (M. Kulpa-Greszta).

heating [19]. From the biological point of view compounds that can absorb within the I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> biological window (minimized absorption of a biological system) are important for specific and localized heating [20] or imaging purposes [21]. This effect can be also used in protection against electromagnetic radiation within the UV–VIS–NIR region if needed (light filtering) [22,23].

Another emerging application is electromagnetic interference shielding composites (EMI) protecting against the action of the alternating and static magnetic field [24]. The growth of the electronic industry demands new and more effective solutions. Either way, the biomedical field and EMI shielding benefit from the same phenomena *i.e.* the ability of AMF conversion into heat energy. In the case of biomedicine applications, it is crucial to generate biologically relevant temperature to affect healing processes. Whereas for the unperturbed function of electronic sensors and other device components AMF blocking is mandatory to avoid interference. The shielding effect is also important in the protection of workspaces and other areas to comply with the electromagnetic safety regulations [24,25].

Inorganic-organic hybrids utilizing PMMA as an organic counterpart and magnetic inorganic particles are most commonly prepared by *in situ* polymerization in a mass or in an emulsion that results in a different type of composites - bulks, foams, thin films, or powders. The MNPs can be generally fabricated by a variety of techniques like coprecipitation [26], sol-gel [27], thermal decomposition [28,29] allowing for control over particle size and distribution, specific morphology, elemental composition, surface properties, etc. The main goal of this study was focused on contactless heating effects of the inorganic-organic hybrid Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (mixed hard/soft magnetic compound) covered with the PMMA shell. The heat was generated by AMF, laser action (808 nm 1122 nm), and synergy of both external stimulants directed towards possible biomedical application where the hybrid material can be used as an additive to the more complex composite materials for bone tissue regeneration[30–34] and/or modern shielding composites.

## 2. Experimental section

### 2.1. Synthesis of Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA hybrids

The main motivation for choosing this particular composition of the Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles came from our previously published studies devoted, in part, to the magnetic characterization of the Co<sub>x</sub>Mn<sub>1-x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> series [35]. It was shown that this elemental composition is the best balance between magnetic properties and the biological impact. Therefore, for the synthesis of Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, we have chosen a well-described in the literature microwave-driven solvothermal technique that assures repeatability regarding particle size, its distribution, and particle suspension stability in a hydrophilic media [36]. Another advantage is that the product can be prepared reliably, relatively fast (60 min), and does not need any additional specific treatments except separation from the reaction mixture. Briefly, as main substrates, organic metal complexes have been taken namely 257 mg of Co(acac)<sub>2</sub> (99.9%, Alfa Aesar), 253 mg of Mn(acac)<sub>2</sub> (99.9%, Alfa Aesar), and 1413 mg of Fe(acac)<sub>3</sub> (99.9%, Alfa Aesar, acac abbreviation corresponds to acetylacetonate group) and directly dissolved in 70 ml of acetophenone (99%, Sigma Aldrich) in a special Teflon vessel. Special care has to be done with the acetylacetonate complexes since their sensitivity to the humid atmosphere can result in their deterioration. Thus all operations have been done in an acrylic glovebox (GS Glove Box Systemtechnik GmbH P10R250T2) fed by N<sub>2</sub> (99.99%, Linde). Afterward, the reaction mixture was placed in the Ertec® Magnum V2 microwave reactor (closed system, Ertec, Poland) and the process

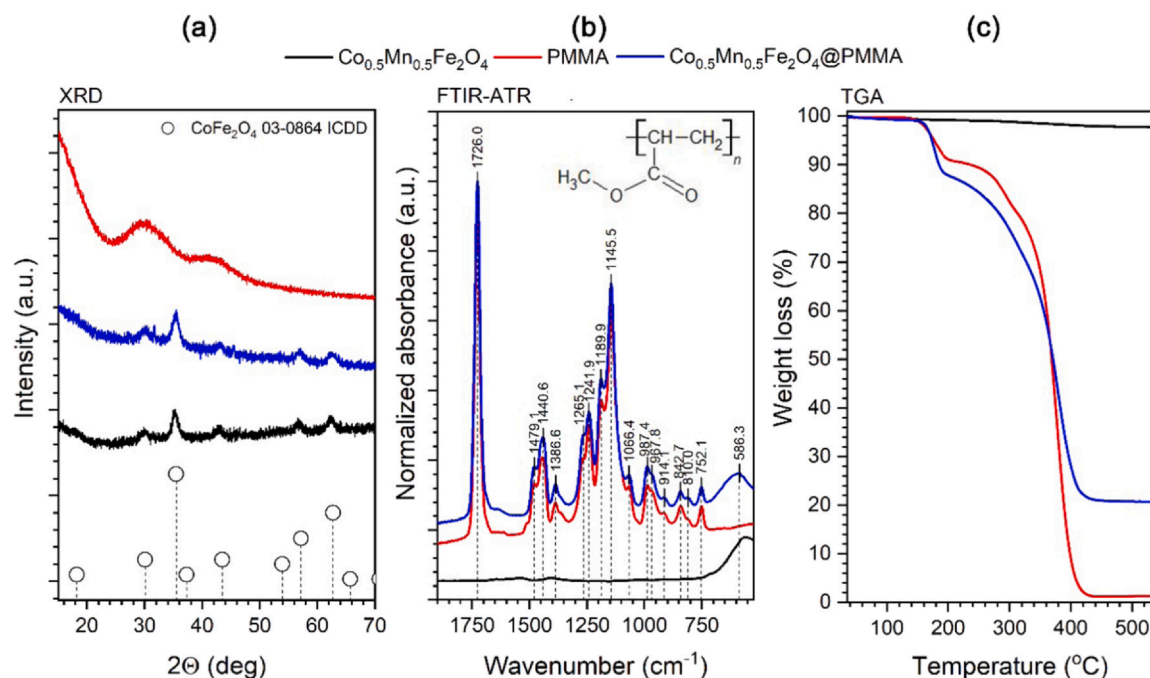
was initiated with the following parameters 200 °C, with pressure limit set to 15 atm, duration 60 min. Finally, the black product was separated from the solution by the laboratory magnet, purified with washing-centrifuging cycles (five times, 20 ml ethanol portions each time) and resuspended in 30 ml of de-ionized water. The particle concentration in a Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> suspension was estimated using microbalance (Radwag MYA 5.4Y, Poland). The stock suspension was stored in a laboratory fridge.

Nanoparticle surface coverage with PMMA shell was performed through a standard *in-situ* polymerization process[37]. In order to do that, methyl methacrylate (MMA) monomer (99%, Sigma Aldrich), potassium peroxydisulfate as a polymerization initiator (≥99.0%, KPS, Sigma Aldrich), have been used for the preparation of reference PMMA and Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA samples. The MMA monomer was cleared of the hydroquinone (inhibitor) through washing cycles with 10% NaOH (p.a., Sigma Aldrich) and dried over MgSO<sub>4</sub> (p.a., Sigma Aldrich) right before the polymerization process. For the preparation, 6 ml of a concentrated stock suspension of Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles (100 mg of particles) were taken and an additional portion of water was added (14 ml). The mixture was sonicated for 20 min and directly transferred to a glass flask with inlets for a mechanical stirrer, gas inlet (a blanket of protective N<sub>2</sub>), inlet for chemicals, and Pt-100 sensor for precise temperature control. Through the one of dropping funnels, 2.12 ml of MMA was injected and a polymerization initiator was added (40 mg). The process was carried out for 3 h keeping constant temperature (80 °C), mechanical stirring, and flow of N<sub>2</sub>. It is not recommended to use a magnetic stirrer since magnetic nanoparticles will be collected by this element. The final product consisting of composite material was separated with a laboratory magnet, further washed with water, and vacuum-dried.

### 2.2. Apparatus

Structural features were studied through the X-ray powder diffraction (XRD) using a Bruker D8 Advanced diffractometer with copper lamp (1.54060 Å) as a source of X-ray radiation and Ni filter for removal of K<sub>α2</sub> line covering the 2θ range of 15–70°. The experimental data were compared with the standard reference cards from the ICSD database. The effect of the PMMA coverage was checked by Fourier transformed infrared spectroscopy attenuated total reflection FTIR-ATR technique with a Thermo Scientific Nicolet iZ10 spectrometer equipped with a Smart Orbit Diamond ATR accessory. Spectra were recorded at room temperature within the range of 4000–500 cm<sup>-1</sup>, corrected to the baseline, and normalized for better cross-comparison. As reference materials, PMMA and non-covered Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> particles were taken. The temperature stability of the compounds has been measured using a thermogravimetric technique (TGA) with a Mettler TA-300 analyzer with a temperature rate of 10 °C/min, from 25° to 650°C, and under nitrogen atmosphere. Particle size, morphology, and elements distribution of stock Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles were estimated using transmission electron microscopy (TEM) with a Tecnai Osiris X-FEG HRTEM microscope operating at 200 kV. Before imaging, a droplet of particle suspension was deposited on a 200 mesh carbon-covered copper grid (EM Resolutions United Kingdom) and dried overnight under dust protection. Due to the high voltage (high energy) and risk of polymer melting imaging of hybrid materials has been done using scanning electron microscopy (SEM) with a Tescan Vega 3 microscope working under a low voltage regime. The reference PMMA and hybrid materials were placed on carbon tape and mounted to the alumina SEM table. Particle size and distribution were evaluated using freeware ImageJ ver. 1.46r software.

The contactless energy conversion on cobalt-manganese mixed ferrite nanoparticles and Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA hybrid was studied by using different external stimulations namely alternating



**Fig. 1.** X-ray diffraction patterns (a), FTIR-ATR spectra (b), and TGA curves (c) of the Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA hybrid, and PMMA reference sample.

magnetic field AMF and near-infrared laser radiations covering I<sup>st</sup> (808 nm) and II<sup>nd</sup> (1122 nm) optical biological window either in a separate or dual mode. The measurements of temperature effect were conducted using a specially designed set-up provided by NanoScale Biomagnetics, Spain consisting of magnetic field generator G2 D5 Series Multimode 1500 W driver equipped with S32 coil. The coil was thermally isolated by a thick-walled polystyrene box filled with additional polymer-based foam insulating material to limit heat exchange with the external environment. The G2 driver in this particular configuration generates AMF with frequencies between 100 and 771 kHz and field intensity is within the range of 3.8 – 34.5 kA/m depending on the presets (controlled by Maniac software provided by the manufacturer). For the NIR stimulation 808 (maximum output power 2.74 W), and 1122 nm (1 W) nm continuous wave laser modules equipped with 400 μm optical fibers (CNI, China) were used. The laser power of all modules can be controlled over a broad range. Heat generation was directly measured by FLIR T660 thermovision camera and analyzed with ResearchIR dedicated software. The lasers calibration was performed by using an Ophir StarLite power meter equipped with a beam track thermal sensor 10 A-PPS (Ophir, Israel).

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Characterization of basic physicochemical properties

Structural properties of the prepared materials were evaluated through comparison of the X-ray diffraction patterns with the reference standard card no. 03-0864 ascribed to the CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> phase from the ICDD database (Fig. 1a). The PMMA polymer shows a typical diffraction pattern for amorphous materials. In the case of the stock Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and hybrid materials clearly distinguishable reflections can be observed at peak position corresponding with the reference standard of the ferrite family. The low quality of both patterns is caused by the strong absorption of the X-ray radiation by cobalt-manganese ferrite as well as the hybrid pattern shows higher noise due to the content of PMMA lowering the signal intensity of crystalline material.

The FTIR-ATR measurements were carried out for the stock Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA hybrid and compared with the reference PMMA prepared using the same technique without the addition of nanoparticles (Fig. 1b). As one can see all free spectra share common vibrational features.

For instance, the PMMA and Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA consist of mutually repeating characteristic peaks that can be ascribed to the following vibrational modes C=O stretching at 1726 cm<sup>-1</sup> (strong), group of CH<sub>3</sub> and CH<sub>2</sub> deformations between 1479 and 1386 cm<sup>-1</sup> (medium), series of C – O stretching at 1265 and 1241 cm<sup>-1</sup> (medium), CH<sub>3</sub> wagging and twisting at 1189 and 1145 cm<sup>-1</sup> (strong). Another wagging of CH<sub>3</sub> at 1066 cm<sup>-1</sup> (weak), two modes responsible for C – C stretching at 987 and 967 cm<sup>-1</sup> (weak) as well as CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> rocking at 914, 842–810 cm<sup>-1</sup> (weak) and finally C=O out of plane bending at 752 cm<sup>-1</sup> (weak). All of the observed bands positions are in an agreement with the previously reported peak positions of PMMA structural units [23,38]. The difference between the reference sample and hybrid spectra can be found in the presence of the extra vibrational mode at 586 cm<sup>-1</sup>, in the latter one, that is shared with the FTIR-ATR of the stock Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. The appearance of this mode is a consequence of vibrations of M-O units (M represents metal cation) at the ferrite tetrahedral site. The band is relatively broad suggesting that mixed metal cations site occupancy is present. This is a common phenomenon that can be found in ferrites (spinel) [39]. Thermogravimetric analysis was performed on all studied samples (Fig. 1c) revealing typical decomposition behavior of PMMA that is consistent with previous reports [40]. The content of the magnetic nanoparticles in hybrids was estimated to be around 21% of the total mass.

Particle size, distribution, morphology, and elements mapping of the Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles were evaluated by means of TEM imaging and HAADF-EDS mapping (Fig. 2). In the case of reference PMMA and fabricated Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PMMA hybrid (Fig. 3) SEM technique had to be employed instead of TEM due to the sample melting and decomposition risk (high beam energy). In all cases, particle size and distribution were calculated using ImageJ software by taking at least 100 objects into consideration. Stock Co<sub>0.5</sub>Mn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles size was 8.2 nm (SD 0.84) being very typical for ferrites obtained with this particular technique [35,36,41].

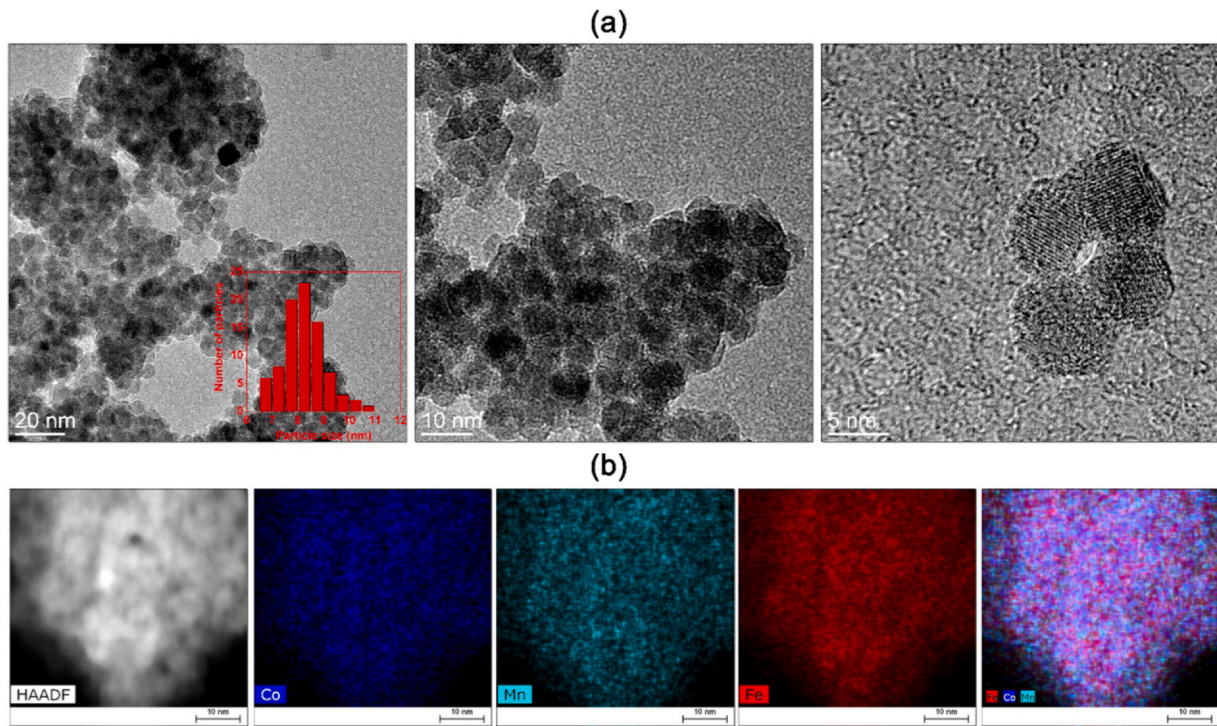


Fig. 2. TEM images (a) and HAADF-EDS elements mapping (b) of the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  stock nanoparticles prepared by microwave-driven solvothermal technique.

In addition to that the average crystallite size was also calculated by using the well-known Scherrer formula:

$$D = \frac{k\lambda}{\cos \theta \sqrt{\beta^2 - \beta_0^2}}, \quad (1)$$

where  $D$  is the average crystallite size;  $\beta_0$  – apparatus broadening;  $\beta$  – full width at half maximum;  $\theta$  – the angle of the peak;  $k$  constant (usually equal to 0.9), and  $\lambda$  is an X-ray wavelength. The value obtained using Eq. (1) was equal to 7 nm is similar to that obtained

from TEM analysis meaning that the particles are mainly constructed out of the individual crystallites.

Nanoparticles form islands of aggregates that could be broken down to some extent with an ultrasound bath (sonication process). The results of the elemental analysis show a proper ratio of cations whereas mapping provided evidence of homogenous distribution of metal cations within the investigated area (14.21% of Mn, 15.05% of Co and 70.74% of Fe), as previously reported [35].

The reference PMMA and binary hybrid were imaged by SEM under a low voltage regime (5 kV) even though the beam energy was

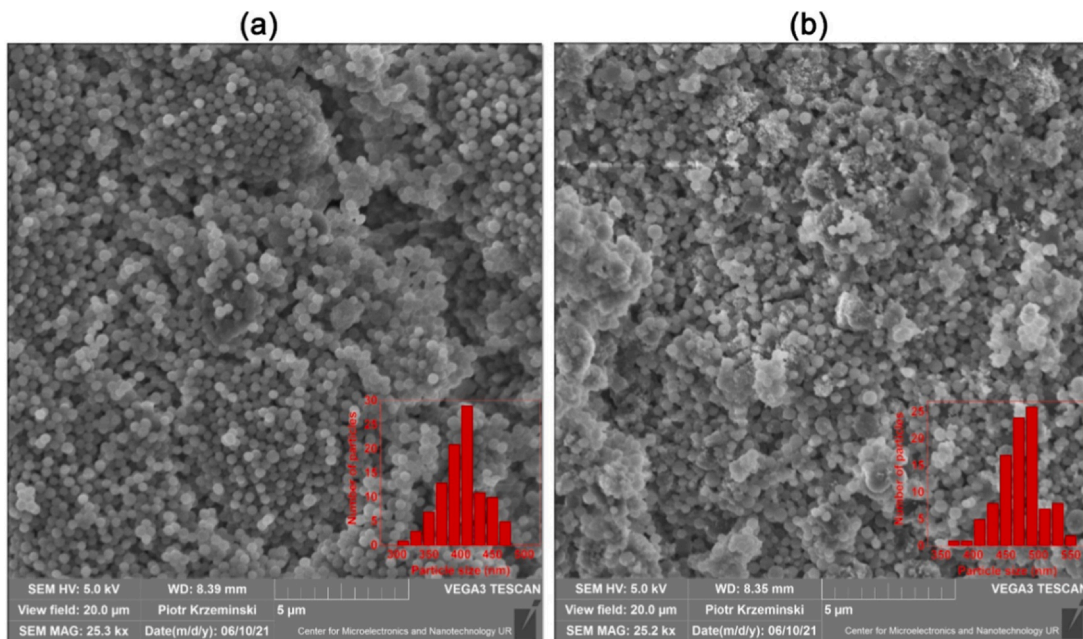


Fig. 3. SEM images of the PMMA reference (a) and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  @PMMA hybrid particles (b) prepared by *in-situ* polymerization.



not that high as in comparison to 200 kV in TEM it was not fully avoidable to induce a partial hybrid melting. According to the TGA data, the thermal stability of the hybrid is a bit lower than PMMA (compare curves in Fig. 1c) which could be a cause of this observation. What is worth noting, the PMMA reference sample fabricated by the same approach form rather uniform, spherical objects with the mean size of 403 nm (SD 31). The hybrid  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA morphology is less perfect but still, a predominance of spherical particles can be found. The average diameter of 473 nm (SD 34) was estimated that could reflect the nanoparticle state in the reaction mixture (aggregates) or can be sought as a deviation of technique repeatability. However, still, the difference is not that significant, the PMMA and hybrid particles are between 400 and 500 nm range.

### 3.2. Contactless energy conversion

#### 3.2.1. Alternating magnetic field stimulation

Temperature effects induced through non-contact stimulation of the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA hybrids in a powder form with AMF (frequency and field intensity dependence), laser exposure (808 and 1122 nm, as a function of different laser power) as well as under synergy of both external stimuli (dual-mode, with optimized parameters in terms of field frequency, intensity and laser power) were studied. In the case of the alternating magnetic field, both materials were measured (see Fig. 4) by using the following frequency range 145 – 486 kHz (constant field intensity of 22.5 kA/m) and field intensity between 18 and 22.5 kA/m (fixed frequency at 486 kHz). The effect of the magnetic field represented through the dependence of field frequency and field intensity on maximum temperature achieved was presented in Figs. 4c and 4f. Specific absorption rate (SAR) was calculated as a measure of the heat induction effectiveness using the well-known formula:

$$\text{SAR} = C \frac{dT}{dt}, \quad (2)$$

where  $C$  stands for specific heat capacity ( $\text{J/g}^\circ\text{C}$ ) and  $dT/dt$  defines temperature increase over time ( $^\circ\text{C/s}$ ) and is a product of linear fitting of the heating curve for the first 5–10 s of exposure to given stimulation[42].

This procedure allows for the minimization of the heat losses due to the exchange with the environment. For the pure  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles value of  $0.6 \text{ J/g}^\circ\text{C}$  was taken directly from the DSC measurement of specific heat capacity due to the unavailability of that value in the specialized literature. Since the PMMA specific heat capacity is  $1.46 \text{ J/g}^\circ\text{C}$  thus average specific heat capacity [43] for the hybrid material ( $1.29 \text{ J/g}^\circ\text{C}$ ) was calculated by:

$$C_{av} = \frac{C_{NPs}m_{NPs} + C_{PMMA}m_{PMMA}}{m_{NPs} + m_{PMMA}}, \quad (3)$$

where  $C_{NPs}$  is the specific heat capacity of  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ ,  $C_{PMMA}$  – specific heat capacity of PMMA,  $m_{NPs}$  – a mass of nanoparticles,  $m_{PMMA}$  – a mass of polymer. Most important parameters *i.e.*  $dT/dt$  as well as specific absorption rate (SAR) for pure  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  and hybrid particles under the action of AMF were gathered in Table 1. Such a short time chosen for the calculation of the  $dT/dt$  was due to the rapid temperature increase in all samples regardless of external stimulation. Usually, the maximum value of temperature was achieved after 300 s of the AMF exposure in both materials. In the case of the AMF action on non-covered nanoparticles, the highest temperature generated was  $107^\circ\text{C}$  for 486 kHz and 22.5 kA/m (maximum field intensity achievable at this frequency). One can observe that there is a linear dependency of the magnetic field frequency and intensity on the sample temperature and this is the optimal regime for magnetic field frequency. Above 486 kHz temperature drops dramatically since the magnetic moments cannot

keep up with field changes whereas frequencies below 100 kHz are causing too slow movement to generate a reasonable amount of heat. The same behavior stands for the hybrid particles, but since the magneto-responsive material is diluted by the presence of polymeric shell thus the maximum temperature achieved was  $61^\circ\text{C}$ . The values of  $dT/dt$  for the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  are high between 11.5 and  $25^\circ\text{C/s}$  that results also in SAR that ranges from 6.9 to  $15 \text{ W/g}$ . In the case of hybrid particles the temperature increase in time is almost four times less due to the smaller amount of MNPs thus SAR is within a range of 2.7 –  $9.3 \text{ W/g}$ . The rapidity of changes for both materials suggests effective conversion of the AMF field causing significant and quick temperature rise. As a control sample PMMA without nanoparticles was used showing that there is no interaction between AMF and PMMA polymer since, obviously, it is a non-magnetic responsive substance. Therefore, conversion occurs exclusively on  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ .

#### 3.2.2. Laser photo-stimulation and dual-mode

Results of the laser photo-stimulation of the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA with 808 and 1122 nm wavelengths as a function of laser output power are shown in Fig. 5 and Table 2. The laser wavelengths have been chosen due to the well-known and meaningful absorption of the ferrite family[44] that covers I<sup>st</sup> and II<sup>nd</sup> biological optical windows assuring localized and specific stimulation of chosen inorganic core minimizing possible interference with biological systems. The I<sup>st</sup> window covers a wavelength range from 700 nm to 980 nm whereas II<sup>nd</sup> is in the range of 1000 nm up to 1400 nm. What is worth mentioning is that biological systems within the I<sup>st</sup> window show almost no light absorption, but optical extinction exists due to the residual scattering whereas for the II<sup>nd</sup> scattering is minimized but absorption does not vanish completely [19]. Though, it is of great interest to study the effect of both stimulations on the heat generation capability of the cobalt-manganese ferrite hybrid materials. As one can see the temperature increase in all cases is rapid and shows that there is effective light absorption leading to the heat induction for both types of materials. In general, the dependence of the  $dT/dt$  shows the same trend as during AMF stimulation. The fitted values are almost two times higher under exposure to both laser lines and are within the range of  $46 - 82^\circ\text{C/s}$  (808 nm) and  $26 - 73^\circ\text{C/s}$  (1122 nm) for the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ . While for the composite sample the calculated  $dT/dt$  is  $6.8 - 22^\circ\text{C/s}$  (808 nm) and  $5.2 - 19.3^\circ\text{C/s}$  (1122 nm), respectively.

Specific absorption rates for these two materials follow the same dependence. However, upon the comparison of both the SAR is almost three times higher for NIR light exposure than AMF meaning that the laser photo-stimulation is more effective. The lower values of  $dT/dt$  and SAR in composite materials are due to the less number of nanoheaters in hybrid. As in the previous section as a control sample reference PMMA was used to check whether there will be some heating effect on pure polymer powder as well. One can note that there is no interaction of the chosen laser lights with the PMMA itself (the polymer is transparent for 808 and 1122 nm).

The laser power dependence on the maximum sample temperature of the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA upon irradiation with 808 and 1122 nm lines is shown in Fig. 5. The effect of both laser lights is linearly scalable with output powers and follows the same linearity trends as in the case of the magnetic field parameters within tested ranges. What can be of particular interest is the comparison of the slopes of the field frequency and laser power dependencies on maximum temperature (Figs. 4 and 5) achieved during separate stimulations. For instance, for the nanoparticles and hybrid particles, the values are 0.1 and  $0.06^\circ\text{C/kHz}$  whereas stimulation with 808 nm laser leads to the 0.24 and  $0.12^\circ\text{C/mW}$  and finally for 1122 nm it gives 0.25 and  $0.13^\circ\text{C/mW}$  showing high responsiveness of materials to both external physical

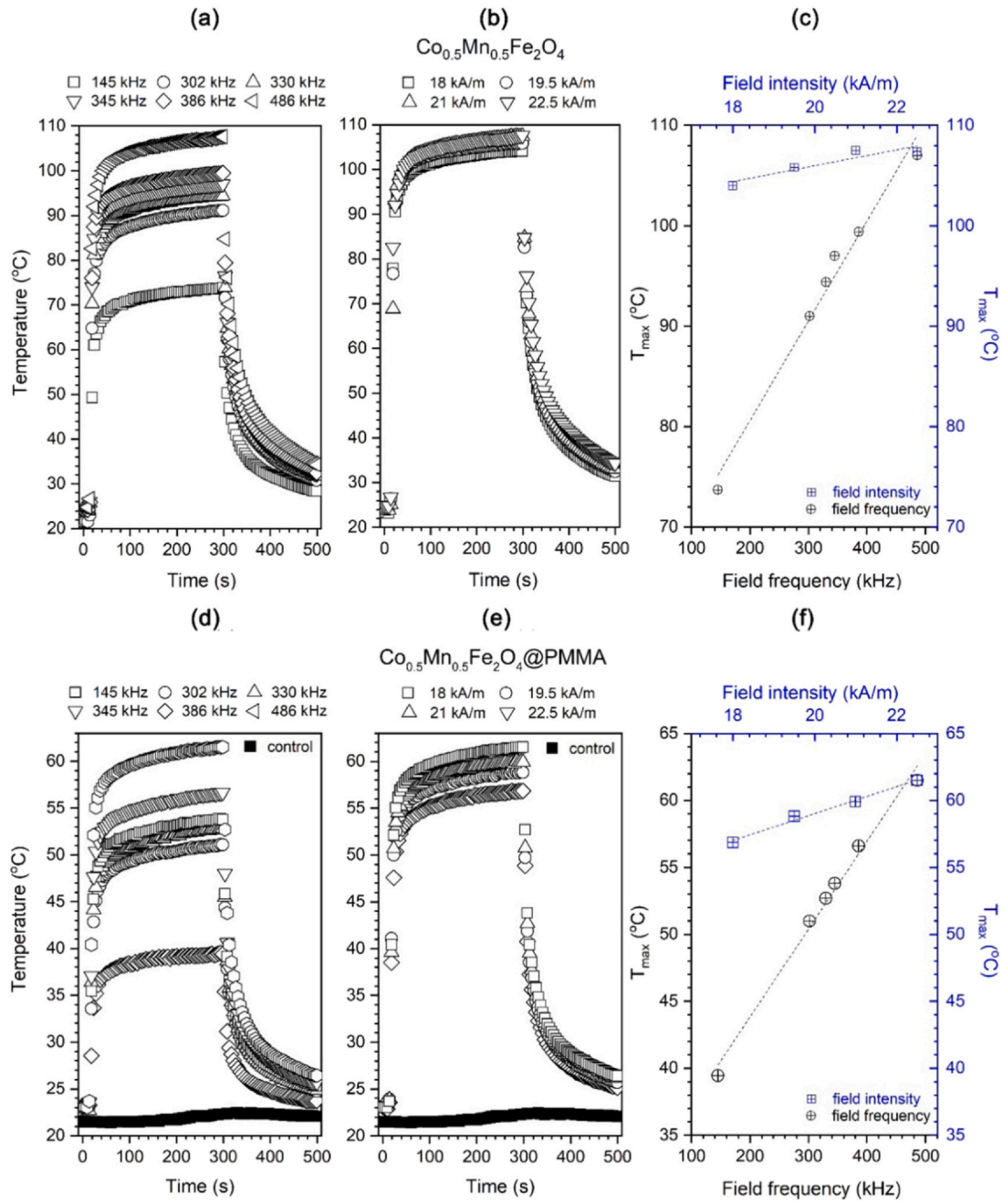
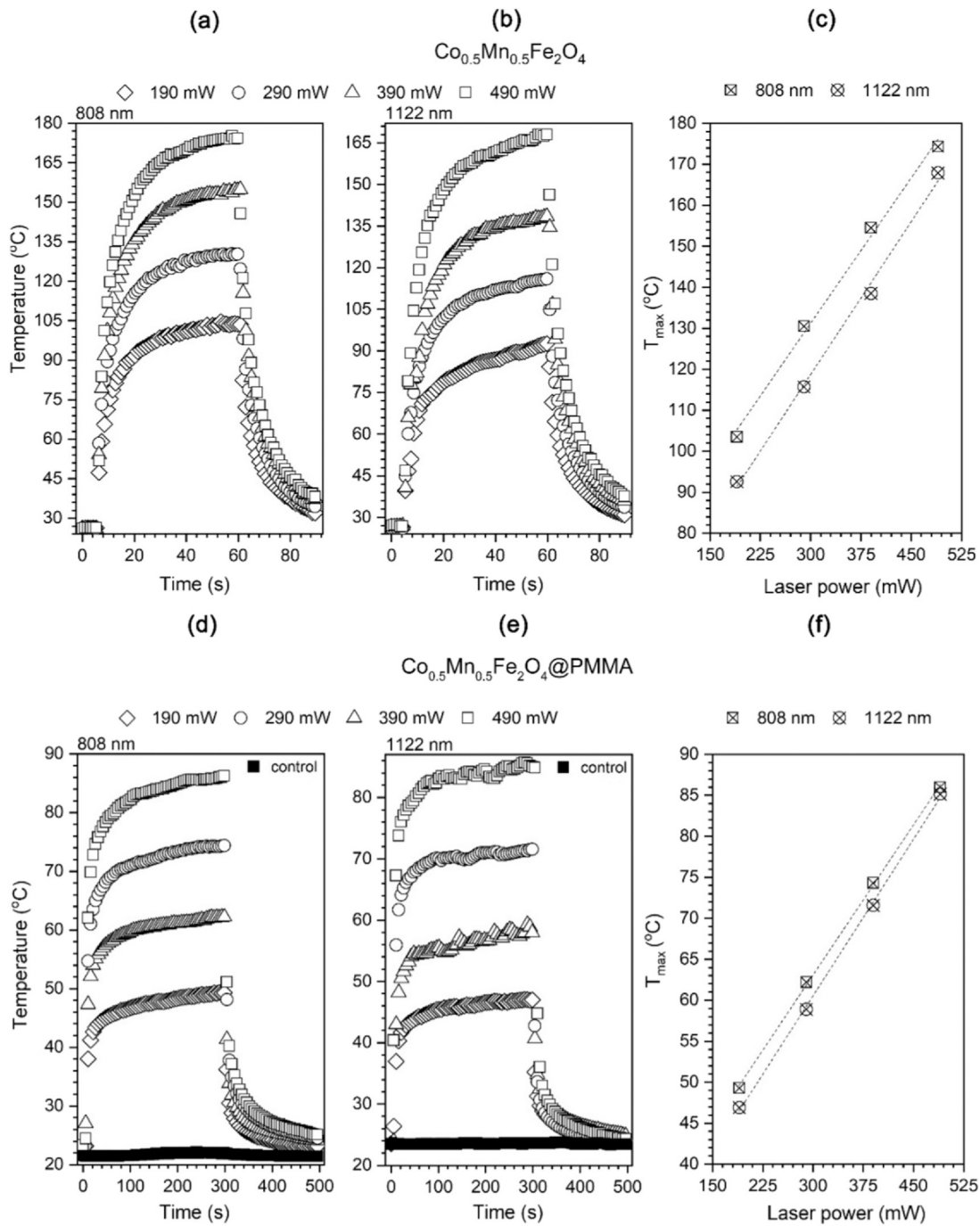


Fig. 4. Heating curves of the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles (a, b, c) and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA hybrids (d, e, f) as a function of the AMF frequency and field intensity.

Table 1

Specific absorption rate (SAR) and  $dT/dt$  values of the stock  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  MNPs and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA hybrids under AMF.

AMF parameters		$\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$		$\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA	
Frequency (kHz)	Intensity (kA/m)	$dT/dt$ ( $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ )	SAR (W/g)	$dT/dt$ ( $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ )	SAR (W/g)
145	22.5	11.5	6.9	2.1	2.7
302	22.5	17.8	10.7	4.6	5.9
330	22.5	19.9	11.9	5.1	6.6
345	22.5	21.3	12.9	5.3	6.8
386	22.5	23.4	14.0	5.9	7.6
486	22.5	25.0	15.0	7.2	9.3
486	21	24.3	14.6	6.9	8.9
486	19.5	23.3	14.0	6.3	8.1
486	18	22.8	13.7	5.7	7.3



**Fig. 5.** Conversion of the laser irradiation (808, 1122 nm) on  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles (a, b, c) and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA hybrids (d, e, f) as a function of the laser power. The control sample refers to PMMA without nanoparticles filler.

factors. The effect of the laser radiation on nanoparticles is dominant in comparison to AMF alone thus synergy with laser radiations has not been checked (it heats so fast that the AMF contribution is simply overtaken by lasers). However, synergy was done in the case of composite materials where the number of nanoheaters is significantly reduced and the  $dT/dt$  were not that drastically high. The results of these measurements are presented in Fig. 6, and have been compared for clarity with separate excitations. We have chosen optimized parameters from previous sections that have been as

follows: for single action: AMF 486 kHz, 22.5 kA/m, laser radiation output power 490 mW (both 808 and 1122 nm) and during dual-mode stimulation: AMF 486 kHz, 22.5 kA/m and LASER power 490 mW (both 808 and 1122 nm).

What we observed is that the dual action of both physical stimulants can enhance the hybrid heat conversion, and in the case of synergy with 808 nm laser line the SAR increased up to 30.4 W/g whereas synergy with 1122 nm led to a value of 29.3 W/g. The maximum temperature achieved with a single action for the hybrid

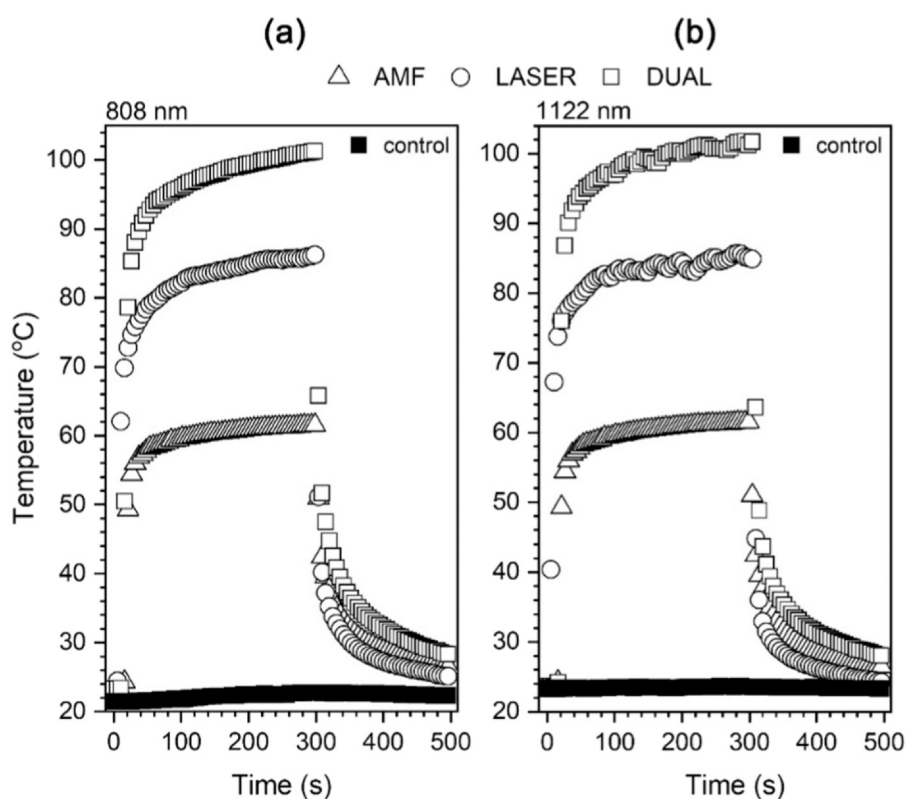
**Table 2**

Specific absorption rate (SAR) and  $dT/dt$  values of the stock  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles and  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA hybrids under 808 and 1122 laser exposure.

Laser power (mW)	$\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$		$\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA	
	$dT/dt$ ( $^{\circ}\text{C/s}$ )	SAR (W/g)	$dT/dt$ ( $^{\circ}\text{C/s}$ )	SAR (W/g)
808 nm laser				
190	46.9	28.1	6.8	8.8
290	52.9	31.7	10.8	13.9
390	71.1	42.6	14.4	18.6
490	82.3	49.4	22.0	28.4
1122 nm laser				
190	26.2	15.7	5.2	6.7
290	28.1	16.9	7.2	9.3
390	47.8	28.7	13.1	16.9
490	73.9	44.3	19.3	24.9

stimulated with AMF was around  $61^{\circ}\text{C}$ , with 808 nm laser  $86^{\circ}\text{C}$ , with 1122 nm  $84^{\circ}\text{C}$  and under dual-mode it was  $101^{\circ}\text{C}$ . Thus we believe that this type of contactless heat induction can be used for efficient energy conversion to induce temperature effects on composite materials with flexibility in parameters optimizing that can control the final temperature response under the action of different physical stimulations. This can be an interesting basis for exploiting the potential of this type of hybrid in biological applications. However, one has to consider the biological safety

limitations of both external stimulants. For instance, it is generally said that the AMF parameters namely field frequency ( $f$ ) and field intensity ( $H$ ) the value of their product ( $f \cdot H$ ) should not exceed  $4.85 \cdot 10^8$  A/ms (Atkinson-Brezovich limit) or  $5 \cdot 10^9$  A/ms (Hergt limit)[45]. The tested AMF parameters on a chosen group of patients started to cause some discomfort after 60 min and depend on the body part exposed[46]. In our experiments, the values of the field frequency and intensity vary from  $2.6 \cdot 10^8$  to  $10.9 \cdot 10^9$  A/ms depending on exact parameters applied with a maximum exposure time of 5 min in the case of hybrids and tens of seconds in the case of pure particles. The accepted limit of laser irradiation is  $0.33 \text{ W/cm}^2$ , but higher laser optical densities with shorter exposition times can be also tolerated by the biological systems[19]. For both excitation units (808 nm and 1122 nm – spot area, no focusing lens used, was around  $1 \text{ cm}^2$  controlled by the optical fiber distance from the sample) the laser optical densities were between 0.2 and  $1 \text{ W/cm}^2$  though slightly below and above the limit. The main issue with the estimation of whether both stimulants could cause any significant adverse effect relies on scarce literature data and mixed opinions especially when one considers short exposure times. Additionally, such a rapid response of the magnetic nanoparticles and especially composites lead to the conclusion that absorption of both external stimulants is very effective that can be useful in the engineering of modern EMI, light-shielding materials, or possibly in the biomedical field as well.



**Fig. 6.** Comparison of the energy conversion on  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA hybrid under separate AMF, laser, and dual-mode stimulation with 808 nm (a) and 1122 nm (b).

#### 4. Conclusions

The hybrid materials consisting of inorganic magnetic material namely  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles as a core and PMMA organic shell were prepared by using an *in-situ* polymerization process. The particle size of the composite was estimated to be between 400 and 500 nm whereas nanoparticles content was around 21%. The heating ability of the produced hybrids was measured by using AMF, 808, 1122 nm laser exposure and under synergic action of both external stimulants in a contactless manner. The results were compared with the pure  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  nanoparticles and PMMA polymer used as a reference sample. It was found that the heating ability of the pure nanoparticles is a very rapid process and strongly depends on the magnetic field parameters as well as the laser power. Moreover, laser heating with both 808 and 1122 nm wavelengths is almost two times faster for the core particles and overcomes the AMF heat induction. In the case of the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ @PMMA composite materials where the number of nanoheaters is smaller, in comparison to the stock particles, the effect of synergic action of both stimulations is more pronounced and allows for more effective heat generation than under separate exposure. The SAR values for the composite material under dual-mode were close to 30 W/g under dual-mode whereas pure particles showed 49 and 44 W/g for the 808 and 1122 nm, respectively. The AMF exposure alone led to the SAR close to 15 and 9.3 W/g for the  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$  and hybrid materials.

#### Author statement

M.K.-G. synthesis of magnetic particles, TEM and thermal imaging, energy conversion measurements, A.T. XRD, FTIR-ATR measurements, E.Z. synthesis of hybrids, TGA, DSC measurements, P.K. SEM imaging, R.P. M.K.-G. conceptualization, methodology, data analysis manuscript writing, M.K.-G., A.T., E.Z., P.K., and R.P. discussion as well as manuscript editing and corrections.

#### Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

Financial support of the National Science Centre, Poland in the course of realization of Project no. UMO-2017/25/B/ST5/00497 is gratefully acknowledged. M.K.-G. synthesis of magnetic particles, TEM and thermal imaging, energy conversion measurements, A.T. XRD, FTIR-ATR measurements, E.Z. synthesis of hybrids, TGA, DSC measurements, P.K. SEM imaging, R.P. M.K.-G. conceptualization, methodology, data analysis manuscript writing, M.K.-G., A.T., E.Z., P.K., and R.P. discussion as well as manuscript editing and corrections.

#### References

- [1] S.H. Mir, L.A. Nagahara, T. Thundat, P. Mokarian-Tabari, H. Furukawa, A. Khosla, Review—organic-inorganic hybrid functional materials: an integrated platform for applied technologies, *J. Electrochem. Soc.* 165 (2018) B3137–B3156, <https://doi.org/10.1149/2.0191808jes>
- [2] R. Hsissou, R. Seghiri, Z. Benzekri, M. Hilali, M. Rafik, A. Elharfi, Polymer composite materials: a comprehensive review, *Compos. Struct.* 262 (2021) 0–3, <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113640>
- [3] C.E. Bakis, L.C. Bank, V.L. Brown, E. Cosenza, J.F. Davalos, J.J. Lesko, A. Machida, S.H. Rizkalla, T.C. Triantafillou, Fiber-reinforced polymer composites for construction - state-of-the-art review, *Perspect. Civ. Eng. Commem. 150th Anniv. Am. Soc. Civ. Eng.* 6 (2003) 369–383, [https://doi.org/10.1061/\(asce\)1090-0268\(2002\)6:2\(73\)](https://doi.org/10.1061/(asce)1090-0268(2002)6:2(73))
- [4] P. Jastrzebska-Perfect, G.D. Spyropoulos, C. Cea, Z. Zhao, O.J. Rauhala, A. Viswanathan, S.A. Sheth, J.N. Gelinas, D. Khodagholy, Mixed-conducting particulate composites for soft electronics, *Sci. Adv.* 6 (2020) 1–10, <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz6767>
- [5] H. Qu, H. Fu, Z. Han, Y. Sun, Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: a review, *RSC Adv.* 9 (2019) 26252–26262, <https://doi.org/10.1039/c9ra05214c>
- [6] M.S. Ali, A.A. Al-Shukri, M.R. Maghami, C. Gomes, Nano and bio-composites and their applications: a review, *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 1067 (2021) 012093, <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1067/1/012093>
- [7] K. Yu, B. Liang, Y. Zheng, A. Exner, M. Kolios, T. Xu, D. Guo, X. Cai, Z. Wang, H. Ran, L. Chu, Z. Deng, PMMA-Fe3O4 for internal mechanical support and magnetic thermal ablation of bone tumors, *Theranostics* 9 (2019) 4192–4207, <https://doi.org/10.7150/thno.34157>
- [8] F. Lan, H. Hu, W. Jiang, K. Liu, X. Zeng, Y. Wu, Z. Gu, Synthesis of superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/PMMA/SiO<sub>2</sub> nanorattles with periodic mesoporous shell for lysozyme adsorption, *Nanoscale* 4 (2012) 2264–2267, <https://doi.org/10.1039/c2nr12125e>
- [9] H. Zhang, G. Zhang, J. Li, X. Fan, Z. Jing, J. Li, X. Shi, Lightweight, multifunctional microcellular PMMA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MWCNTs nanocomposite foams with efficient electromagnetic interference shielding, *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* 100 (2017) 128–138, <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2017.05.009>
- [10] M. Kubota, T. Yokoi, T. Ogawa, S. Saito, M. Furuya, K. Yokota, H. Kanetaka, B. Jayadevan, M. Kawashita, Setting behaviour, mechanical properties and heat generation under alternate current magnetic fields of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>/PMMA composite bone cement, *Med. Devices Sens.* 3 (2020) 2–6, <https://doi.org/10.1002/mds3.10114>
- [11] A. Matbouei, A. Fathi, S.M. Rabiee, M. Shirzad, Layered manufacturing of a three-dimensional polymethyl methacrylate (PMMA) scaffold used for bone regeneration, *Mater. Technol.* 34 (2019) 167–177, <https://doi.org/10.1080/10667857.2018.1541212>
- [12] Y. Ling, X. Tang, F. Wang, X. Zhou, R. Wang, L. Deng, T. Shang, B. Liang, P. Li, H. Ran, Z. Wang, B. Hu, C. Li, G. Zuo, Y. Zheng, Highly efficient magnetic hyperthermia ablation of tumors using injectable polymethylmethacrylate-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, *RSC Adv.* 7 (2017) 2913–2918, <https://doi.org/10.1039/c6ra20860f>
- [13] L. Xie, W. Jin, X. Zuo, S. Ji, W. Nan, H. Chen, S. Gao, Q. Zhang, Construction of small-sized superparamagnetic Janus nanoparticles and their application in cancer combined chemotherapy and magnetic hyperthermia, *Biomater. Sci.* 8 (2020) 1431–1441, <https://doi.org/10.1039/c9bm01880h>
- [14] T.H. Mourey, T.C. Schunk, *Synthetic Polymers*, Elsevier Inc, 1992, [https://doi.org/10.1016/S0301-4770\(08\)61515-8](https://doi.org/10.1016/S0301-4770(08)61515-8)
- [15] H. Wu, K. Cheng, Y. He, Z. Li, H. Su, X. Zhang, Y. Sun, W. Shi, D. Ge, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-based multifunctional nanospheres for amplified magnetic targeting photothermal therapy and Fenton reaction, *ACS Biomater. Sci. Eng.* 5 (2019) 1045–1056, <https://doi.org/10.1021/acsbmaterials.8b00468>
- [16] A. Espinosa, R. Di Corato, J. Kolosnjaj-Tabi, P. Flaud, T. Pellegrino, C. Wilhelm, Duality of iron oxide nanoparticles in cancer therapy: amplification of, *ACS Nano* 10 (2016) 2436–2446, <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b07249>
- [17] A. Espinosa, J. Kolosnjaj-Tabi, A. Abou-Hassan, A. Plan Sangnier, A. Curcio, A.K.A. Silva, R. Di Corato, S. Neveu, T. Pellegrino, L.M. Liz-Marzán, C. Wilhelm, magnetic (hyper)thermia or photothermia? progressive comparison of iron oxide and gold nanoparticles heating in water, in cells, and In vivo, *Adv. Funct. Mater.* 28 (2018) 1–16, <https://doi.org/10.1002/adfm.201803660>
- [18] G. Cotin, F. Pertont, C. Blanco-Andujar, B. Pichon, D. Mertz, S. Bégin-Colin, Design of anisotropic iron-oxide-based nanoparticles for magnetic hyperthermia, *Nanomater. Magn. Opt. Hyperth. Appl.* (2018) 41–60, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813928-8.00002-8>
- [19] D. Jaque, L. Martínez Maestro, B. del Rosal, P. Haro-Gonzalez, A. Benayas, J.L. Plaza, E. Martín Rodríguez, J. García Solé, Nanoparticles for photothermal therapies, *Nanoscale* 6 (2014) 9494–9530, <https://doi.org/10.1039/c4nr00708e>
- [20] M. Chu, Y. Shao, J. Peng, X. Dai, H. Li, Q. Wu, D. Shi, Near-infrared laser light mediated cancer therapy by photothermal effect of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles, *Biomaterials* 34 (2013) 4078–4088, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.086>
- [21] H.F. Wang, T.B. Huff, D.A. Zweifel, W. He, P.S. Low, A. Wei, J.X. Cheng, In vitro and in vivo two-photon luminescence imaging of single gold nanorods, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005) 15752–15756, <https://doi.org/10.1073/pnas.0504892102>
- [22] C.W. Dunnill, UV blocking glass: low cost filters for visible light photocatalytic assessment, *Int. J. Photoenergy* 2014 (2014) 407027, <https://doi.org/10.1155/2014/407027>
- [23] A. Singhal, K.A. Dubey, Y.K. Bhardwaj, D. Jain, S. Choudhury, A.K. Tyagi, UV-shielding transparent PMMA/In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocomposite films based on In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles, *RSC Adv.* 3 (2013) 20913–20921, <https://doi.org/10.1039/c3ra42244e>
- [24] H. Wang, S. Li, M. Liu, J. Li, X. Zhou, Review on shielding mechanism and structural design of electromagnetic interference shielding composites, *Macromol. Mater. Eng.* 306 (2021) 1–13, <https://doi.org/10.1002/mame.202100032>
- [25] M.C. Ribadeneyra, EMI Shielding Composites Based on Magnetic Nanoparticles and Nanocarbons, 2014, 223.

- [26] S. Neveu, A. Bee, M. Robineau, D. Talbot, Size-selective chemical synthesis of tartrate stabilized cobalt ferrite ionic magnetic fluid, *J. Colloid Interface Sci.* 255 (2002) 293–298, <https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8679>
- [27] O.M. Lemine, K. Omri, B. Zhang, L. El Mir, M. Sajieddine, A. Alyamani, M. Bououdina, Sol-gel synthesis of 8 nm magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles and their magnetic properties, *Superlattices Microstruct.* 52 (2012) 793–799, <https://doi.org/10.1016/j.spmi.2012.07.009>
- [28] M. Kulpa-Greszta, A. Tomaszewska, A. Dziedzic, R. Pażik, Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology, *RSC Adv.* 11 (2021) 20708–20719, <https://doi.org/10.1039/d1ra02977k>
- [29] C. Blanco-Andujar, A. Walter, G. Cotin, C. Bordeianu, D. Mertz, D. Felder-Flesch, S. Begin-Colin, Design of iron oxide-based nanoparticles for MRI and magnetic hyperthermia, *Nanomedicine* 11 (2016) 1889–1910, <https://doi.org/10.2217/nmm-2016-5001>
- [30] F. Heidari, M. Razavi, M.E. Bahrololoom, M. Yazdimamaghani, M. Tahriri, H. Kotturi, L. Tayebi, Evaluation of the mechanical properties, in vitro biodegradability and cytocompatibility of natural chitosan/hydroxyapatite/nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> composite, *Ceram. Int.* 44 (2018) 275–281, <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.09.170>
- [31] S. Sprio, S. Panseri, A. Adamiano, M. Sandri, M. Uhlarz, T. Herrmannsdorfer, E. Landi, Y. Pineiro-Remondo, A. Tampieri, Porous hydroxyapatite-magnetite composites as carriers for guided bone regeneration, *Front. Nanosci. Nanotechnol.* 3 (2017) 1–9, <https://doi.org/10.15761/fnn.1000145>
- [32] A. Pistone, D. Iannazzo, C. Celesti, E. Piperopoulos, D. Ashok, A. Cembran, A. Tricoli, D. Nisbet, Engineering of chitosan-hydroxyapatite-magnetite hierarchical scaffolds for guided bone growth, *Materials* 12 Basel, 2019, <https://doi.org/10.3390/ma12142321>
- [33] J.J. Kim, R.K. Singh, S.J. Seo, T.H. Kim, J.H. Kim, E.J. Lee, H.W. Kim, Magnetic scaffolds of polycaprolactone with functionalized magnetite nanoparticles: physicochemical, mechanical, and biological properties effective for bone regeneration, *RSC Adv.* 4 (2014) 17325–17336, <https://doi.org/10.1039/c4ra00040d>
- [34] M. Kulpa-Greszta, R. Pażik, P. Kłoda, A. Tomaszewska, E. Zachanowicz, K. Pałka, G. Ginalska, A. Belcarz, Efficient non-contact heat generation on flexible, ternary hydroxyapatite/curdlan/nanomagnetite hybrids for temperature controlled processes, *Mater. Sci. Eng. C* 118 (2021), <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111360>
- [35] E. Zachanowicz, A. Zięcina, P.A. Mikołajczyk, K. Rogacki, M. Małecka, K. Marycz, M. Marędziak, B. Poźniak, M. Nowakowska, M. Tikhomirov, J. Miller, R.J. Wiglus, R. Pażik, Cytotoxic effects of Co<sub>1-x</sub>Mn<sub>x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ferrite nanoparticles synthesized under non-hydrolytic conditions (Bradley's reaction) - in vitro, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2016) 5315–5323, <https://doi.org/10.1002/ejic.201600720>
- [36] R. Pażik, E. Piasecka, M. Małecka, V.G. Kessler, B. Idzikowski, Z. Śniadecki, R.J. Wiglus, Facile non-hydrolytic synthesis of highly water dispersible, surfactant free nanoparticles of synthetic MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M=Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>) ferrite spinel by a modified Bradley reaction, *RSC Adv.* 3 (2013) 12230, <https://doi.org/10.1039/c3ra40763b>
- [37] E. Zachanowicz, J. Pięłowski, M. Grzymajło, B. Poźniak, M. Tikhomirov, N. Pierunek, Z. Śniadecki, B. Idzikowski, K. Marycz, M. Marędziak, J. Kisała, K. Hęclik, R. Pażik, Efficient synthesis of PMMA@Co<sub>0.5</sub>Ni<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> organic-inorganic hybrids containing hyamine 1622 – physicochemical properties, cytotoxic assessment and antimicrobial activity, *Mater. Sci. Eng. C* 90 (2018) 248–256, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.038>
- [38] E. Ghorbel, I. Hadriche, G. Casalino, N. Masmoudi, Characterization of thermo-mechanical and fracture behaviors of thermoplastic polymers, *Materials* 7 Basel, 2014, pp. 375–398, <https://doi.org/10.3390/ma7010375>
- [39] Y. Xu, J. Sherwood, Y. Qin, R.A. Holler, Y. Bao, A general approach to the synthesis and detailed characterization of magnetic ferrite nanocubes, *Nanoscale* 7 (2015) 12641–12649, <https://doi.org/10.1039/c5nr03096j>
- [40] X.T. Cao, L.G. Bach, M.R. Islam, K.T. Lim, A simple synthesis, characterization, and properties of poly(methyl methacrylate) grafted CdTe nanocrystals, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 618 (2015) 111–119, <https://doi.org/10.1080/15421406.2015.1076305>
- [41] R. Pażik, A. Lewińska, J. Adamczyk-Grochala, M. Kulpa-Greszta, P. Kłoda, A. Tomaszewska, A. Dziedzic, G. Litwienienko, M. Noga, D. Sikora, M. Wnuk, Energy conversion and biocompatibility of surface functionalized magnetite nanoparticles with phosphonic moieties, *J. Phys. Chem. B* 124 (2020) 4931–4948, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c02808>
- [42] C.K. Chou, Use of heating rate and specific absorption rate in the hyperthermia clinic, *Int. J. Hypertherm.* 6 (1990) 367–370, <https://doi.org/10.3109/02656739009141144>
- [43] I. Baker, Q. Zeng, W. Li, C.R. Sullivan, Heat deposition in iron oxide and iron nanoparticles for localized hyperthermia, *J. Appl. Phys.* 99 (2006) 97–100, <https://doi.org/10.1063/1.2171960>
- [44] J. Tang, M. Myers, K.A. Bosnick, L.E. Brus, Magnetite Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocrystals: spectroscopic observation of aqueous oxidation kinetics, *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 7501–7506, <https://doi.org/10.1021/jp027048e>
- [45] R. Hergt, S. Dutz, Magnetic particle hyperthermia-biophysical limitations of a visionary tumour therapy, *J. Magn. Magn. Mater.* 311 (2007) 187–192, <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2006.10.1156>
- [46] I.M. Obaidat, V. Narayanaswamy, S. Alaabed, S. Sambasivam, C.V.V. Muralee Gopi, Principles of magnetic hyperthermia: A focus on using multifunctional hybrid magnetic nanoparticles, *Magnetochemistry* 5 (2019) 67, <https://doi.org/10.3390/magnetochemistry5040067>

## **12. Kopie oświadczeń współautorów**

---







Rzeszów, 08.02.2023

**dr inż. Jagoda Adamczyk-Grochala**

Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: jgrochala@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

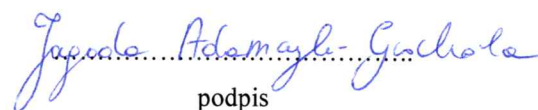
**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu pomiarów i analizie wyników przedstawionych na Fig. 6A.

Mój wkład procentowy: 10%

  
podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**dr hab. n. farm. Anna Belcarz, prof. UML**

Katedra i Zakład Biochemii i Biotechnologii

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

e-mail: anna.belcarz@umlub.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic  $Fe_3O_4@APTES-Ag$  heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- opracowaniu pomysłu, metodologii i konceptualizacji badanego zagadnienia,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i nanoszeniu poprawek,
- wykonaniu testów aktywności antybakteryjnej oraz analizie i omówieniu otrzymanych wyników.

Mój wkład procentowy: 10%

.....  
podpis





Rzeszów, 08.02.2023

**mgr inż. Dominika Błoniarz**  
Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigoń 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: dbloniarz@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarz, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu pomiarów i analizie wyników przedstawionych na Fig. 6D, 6F.

Mój wkład procentowy: 5%

podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**Dr hab. Andrzej Dziejic, prof. UR**

Instytut Fizyki  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigoń 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: adziejic@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następujących publikacjach:

**Tytuł:** *Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziejic, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2021, 11, 20708-20719, DOI: 10.1039/D1RA02977K

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu obrazowania TEM oraz uczestnictwie w redagowaniu manuskryptu w zakresie wyników TEM.

Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziejic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu obrazowania TEM i SEM-EDX oraz uczestnictwie w redagowaniu manuskryptu w zakresie wyników TEM i SEM-EDX.

Mój wkład procentowy: 5%

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziejic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022, 12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E



Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i nanoszeniu poprawek,
- wykonaniu obrazowania TEM i mapowania SEM-EDX.

Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Heat generation on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within I<sub>st</sub> biological optical window.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Robert Pązik

**Czasopismo:** Materials Today Communications, 2023, June 105513,

DOI: 10.1016/j.mtcomm.2023.105513

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- redakcji manuskryptu i odniesieniu się do uwag recenzentów,
- wykonaniu obrazowania TEM i mapowania SEM-EDX.

Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within I<sub>st</sub> and I<sub>Ind</sub> optical biological window of seed-mediated multi-shell nanoferrites.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik

**Czasopismo:** Dalton Transactions, 2023, DOI: 10.1039/D2DT04178B

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- wykonaniu obrazowania TEM i mapowania SEM-EDX,
- redakcji manuskryptu i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 10%

.....  
podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**mgr inż. Piotr Krzemiński**  
Centrum Dydaktyczno-Naukowe  
Mikroelektroniki i Nanotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: pkrzeminski@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1st and 2nd optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Piotr Krzemiński, Robert Pązik

**Czasopismo:** Journal of Alloys and Compounds, 2022, 898, 162840

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- obrazowaniu SEM
- dyskusji wyników, edycji manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 10%

podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**mgr inż. Magdalena Kulpa-Greszta**

Wydział Chemiczny

Politechnika Rzeszowska

al. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów

e-mail: d436@stud.prz.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następujących publikacjach:

**Tytuł:** *Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2021, 11, 20708-20719, DOI: 10.1039/D1RA02977K

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu i wyborze metodologii badań,
- syntezie nanocząstek,
- analizie i wizualnym opracowaniu wyników,
- pisaniu manuskryptu
- zredagowaniu i edycji treści manuskryptu,
- odniesieniu się do uwag recenzentów i zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

Mój wkład procentowy: 50%

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531,

DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- syntezie nanomateriałów, modyfikacji powierzchni nanocząstek ligandem ETI,



- zaplanowaniu oraz wykonaniu wszystkich pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną, analizie oraz przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników,
- redagowaniu oraz wprowadzaniu poprawek do manuskryptu w zakresie syntez oraz charakterystyki nanomateriałów
- przygotowaniu przedstawienia wyników z obrazowania TEM i STEM-EDX.

Mój wkład procentowy: 20%

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic  $Fe_3O_4$ @APTES-Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- syntezie nanocząstek, heterostruktur i ich charakterystyce
- wykonaniu pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników,
- pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

Mój wkład procentowy: 30%

**Tytuł:** *Heat generation on  $Fe_3O_4$ @ $SiO_2$ @Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within 1st biological optical window.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Robert Pązik

**Czasopismo:** Materials Today Communications, 2023, June 105513,

DOI: 10.1016/j.mtcomm.2023.105513

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- redakcji manuskryptu i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy





publikacji,

- syntezie nanocząstek, heterostruktur i ich charakterystyce
- wykonaniu pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną,
- wykonaniu pomiarów absorpcji,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników Rys. 2, 4 i 5,
- pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

Mój wkład procentowy: 40%

**Tytuł:** *Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within 1st and 11nd optical biological window of seed-mediated multi-shell nanoferrites.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik

**Czasopismo:** Dalton Transactions, 2023, DOI: 10.1039/D2DT04178B

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- syntezie nanocząstek
- wykonaniu pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników Rys. 2, 4, 5 i 7-11.

Mój wkład procentowy: 50%

**Tytuł:** *Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1st and 2nd optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Piotr Krzemiński, Robert Pązik

**Czasopismo:** Journal of Alloys and Compounds, 2022, 898, 162840

Mój wkład w powstanie pracy polegał na

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- syntezie nanocząstek magnetycznych
- obrazowaniu TEM i mapowaniu STEM-EDS
- wykonaniu pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania



elektromagnetycznego na energię ciepłą.

Mój wkład procentowy: 40%

*Magdalena Kulska-Groble*

podpis





Rzeszów, 08.02.2023

**dr hab. Anna Lewińska, prof. UR**

Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigoń 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: alewinska@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpbc.2c06061

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na:

- pisaniu, redagowaniu i korekcie manuskryptu (sekcja: wpływ nanomateriałów na układy biologiczne)
- wykonaniu pomiarów i analizie wyników przedstawionych na Fig. 6B, 6E, 8A, 8B, S2A, S2C.

Mój wkład procentowy: 20%

.....  
podpis



Rzeszów, 05.12.2022

**mgr Anna Michalicha**

Katedra i Zakład Biochemii i Biotechnologii

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

e-mail: anna.michalicha@gmail.com

### OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic  $Fe_3O_4@APTES-Ag$  heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i nanoszeniu poprawek,
- wykonaniu testów aktywności antybakteryjnej oraz analizie i omówieniu otrzymanych wyników.

Mój wkład procentowy: 10%

*Anna Michalicha*

.....  
podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**dr hab. Robert Pązik, prof. UR**

Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: rpazik@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następujących publikacjach:

**Tytuł:** *Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2021, 11, 20708-20719, DOI: 10.1039/D1RA02977K

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu i wyborze metodologii badań,
- syntezie nanocząstek,
- analizie i wizualnym opracowaniu wyników,
- pisaniu manuskryptu
- zredagowaniu i edycji treści manuskryptu,
- odniesieniu się do uwag recenzentów i zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 30%

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- konceptualizacji pracy z naciskiem na materiałoznawstwo i ogólną ideę



- pisaniu, redagowaniu i korekcie manuskryptu (synteza oraz charakterystyka nanomateriałów).  
Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES–Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników,
- pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

Mój wkład procentowy: 20%

**Tytuł:** *Heat generation on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within 1st biological optical window.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Robert Pązik

**Czasopismo:** Materials Today Communications, 2023, June 105513,

DOI: 10.1016/j.mtcomm.2023.105513

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- pisaniu oraz redakcji manuskryptu i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników Rys. 6,
- pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

Mój wkład procentowy: 30%

**Tytuł:** *Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within 1st and 2nd optical biological window of seed-mediated multi-shell nanoferrites.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik



---

**Czasopismo:** Dalton Transactions, 2023, DOI: 10.1039/D2DT04178B

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników Rys. 3, 6, 10 i 11.

Mój wkład procentowy: 30%

**Tytuł:** *Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1st and 2nd optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Piotr Krzemiński, Robert Pązik

**Czasopismo:** Journal of Alloys and Compounds, 2022, 898, 162840

Mój wkład w powstanie pracy polegał na

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu pomysłu i metodologii badań,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 30%

.....  
podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**dr Iwona Rzeszutek**

Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigońia 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: irzeszutek@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następujących publikacjach:

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarz, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu pomiarów i analizie wyników przedstawionych na Fig. 7B, S2D.

Mój wkład procentowy: 5%

**Tytuł:** *Heat generation on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within 1st biological optical window.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Robert Pązik

**Czasopismo:** Materials Today Communications, 2023, June 105513,  
DOI: 10.1016/j.mtcomm.2023.105513

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu części biologicznej manuskryptu i odniesieniu się do uwag recenzentów,
- wykonaniu testu MTT, analizie wyników i opracowaniu graficznym Rys. 7.

Mój wkład procentowy: 10%

podpis





Rzeszów, 08.02.2023

**mgr inż. Daniel Sikora**

Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigoń 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: sikoradaniel98@gmail.com

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic  $Fe_3O_4@APTES-Ag$  heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i nanoszeniu poprawek,
- syntezie nanocząstek, heterostruktur i ich charakterystyce
- wykonaniu pomiarów konwersji zmiennego pola magnetycznego i promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną

Mój wkład procentowy: 5%

*Daniel Sikora*

.....  
podpis

Rzeszów, 08.02.2023

**mgr Anna Tomaszewska**

Instytut Biologii i Biotechnologii

Kolegium Nauk Przyrodniczych

Uniwersytet Rzeszowski

ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów

e-mail: atomaszewska@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następujących publikacjach:

**Tytuł:** *Rapid hot-injection as a tool for control of magnetic nanoparticle size and morphology.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2021, 11, 20708-20719, DOI: 10.1039/D1RA02977K

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- współtworzeniu koncepcji publikacji,
- opracowaniu i wyborze metodologii badań,
- syntezie nanocząstek,
- analizie i wizualnym opracowaniu wyników,
- zredagowaniu i edycji treści manuskryptu,
- odniesieniu się do uwag recenzentów i zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- syntezie nanomateriałów, modyfikacji powierzchni nanocząstek ligandem ETI,
- wykonaniu pomiarów proszkowej dyfrakcji rentgenowskiej oraz spektroskopii w podczerwieniu z



transformatą Fouriera niezbędnych do charakterystyki nanomateriałów, analizie oraz przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników,

- redagowaniu oraz wprowadzaniu poprawek manuskryptu w zakresie syntez oraz charakterystyki nanomateriałów.

Mój wkład procentowy: 5%

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dziedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i nanoszeniu poprawek,  
- syntezie nanocząstek, heterostruktur i ich charakterystyce.

Mój wkład procentowy: 5%

**Tytuł:** *Heat generation on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@Au core-shell structures using the synergy of an alternating magnetic field and NIR laser light within 1st biological optical window.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Robert Pązik

**Czasopismo:** Materials Today Communications, 2023, June 105513,

DOI: 10.1016/j.mtcomm.2023.105513

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- redakcji manuskryptu i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,  
- syntezie nanocząstek, heterostruktur i ich charakterystyce  
- wykonaniu pomiarów XRD i FTIR-ATR,  
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników Rys 1 i 3.

Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Temperature effects induced by NIR photo-stimulation within 1st and 2nd optical biological window of seed-mediated multi-shell nanoferrites.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Andrzej Dziedzic, Robert Pązik

**Czasopismo:** Dalton Transactions, 2023, DOI: 10.1039/D2DT04178B

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:



- syntezie nanocząstek,
- wykonaniu pomiarów dyfrakcji proszkowej XRD,
- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji,
- analizie danych i przygotowaniu graficznego przedstawienia wyników Rys. 1.,  
Mój wkład procentowy: 10%

**Tytuł:** *Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1st and 2nd optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Piotr Krzemiński, Robert Pązik

**Czasopismo:** Journal of Alloys and Compounds, 2022, 898, 162840

Mój wkład w powstanie pracy polegał na

- wykonaniu pomiarów do charakterystyki nanomateriału za pomocą technik FTIR i XRD
- dyskusji wyników, edycji manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 10%

podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**dr hab. Maciej Wnuk, prof. UR**

Instytut Biologii i Biotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: mwnuk@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarczyk, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisanie, redagowaniu i korekcie manuskryptu (sekcja: wpływ nanomateriałów na układy biologiczne).
- wykonaniu pomiarów i analizie wyników przedstawionych na Fig. 6C, 7A i S2B.

Mój wkład procentowy: 15%

.....  
podpis





Rzeszów, 08.02.2023

**dr Renata Wojnarowska-Nowak**  
Centrum Dydaktyczno-Naukowe  
Mikroelektroniki i Nanotechnologii  
Kolegium Nauk Przyrodniczych  
Uniwersytet Rzeszowski  
ul. Pigoń 1, 35-310 Rzeszów  
e-mail: rwojnar@ur.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następujących publikacjach:

**Tytuł:** *Alternating magnetic field and NIR energy conversion on magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@APTES-Ag heterostructures with SERS detection capability and antimicrobial activity.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Anna Michalicha, Daniel Sikora, Andrzej Dzedzic, Renata Wojnarowska-Nowak, Anna Belcarz, Robert Pązik

**Czasopismo:** RSC Advances, 2022,12, 27396-27410, DOI: 10.1039/D2RA05207E

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- pisaniu manuskryptu, jego redakcji i nanoszeniu poprawek,
- wykonaniu pomiarów powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana (SERS) oraz analizie wyników.

Mój wkład procentowy: 10%

podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**dr inż. Emilia Zachanowicz**

Katedra Inżynierii i Technologii Polimerów

Wydział Chemiczny

Politechnika Wrocławska

Ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

e-mail: emilia.zachanowicz@pwr.edu.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

**Tytuł:** *Contactless and synergic heat generation using AMF and laser radiation within 1st and 2nd optical biological window on PMMA covered cobalt-manganese ferrite hybrid particles.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Anna Tomaszewska, Emilia Zachanowicz, Piotr Krzemiński, Robert Pązik

**Czasopismo:** Journal of Alloys and Compounds, 2022, 898, 162840

Mój wkład w powstanie pracy polegał na:

- Syntezie hybryd  $\text{Co}_{0.5}\text{Mn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4@PMMA$
- wykonaniu pomiarów TGA i DSC
- dyskusji wyników, edycji manuskryptu, jego redakcji i odniesieniu się do uwag recenzentów oraz zredagowaniu końcowej formy publikacji.

Mój wkład procentowy: 10%

.....  
podpis



Rzeszów, 08.02.2023

**dr hab. Bartosz Zarychta, prof. UO**

Katedra Chemii Nieorganicznej i Strukturalnej

Wydział Chemii

Uniwersytet Opolski

ul. Oleska 48, 45-052 Opole

e-mail: bartosz.zarychta@uni.opole.pl

### OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Potwierdzam mój udział w następującej publikacji:

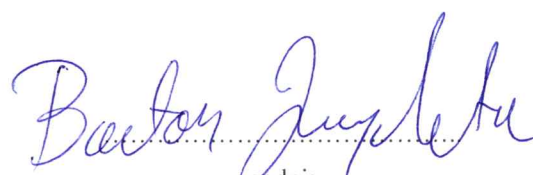
**Tytuł:** *Synergic Temperature Effect of Star-like Monodisperse Iron Oxide Nanoparticles and Their Related Responses in Normal and Cancer Cells.*

**Autorzy:** Magdalena Kulpa-Greszta, Maciej Wnuk, Anna Tomaszewska, Jagoda Adamczyk-Grochala, Andrzej Dziedzic, Iwona Rzeszutek, Bartosz Zarychta, Dominika Błoniarz, Anna Lewińska, Robert Pązik

**Czasopismo:** The Journal of Physical Chemistry B, 2022, 126, 42, 8515–8531, DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06061

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu obliczeń metodą Rietvelde.

Mój wkład procentowy: 5%

  
podpis



### 13. Spis rysunków

---

Rys. 1.	Skutki oddziaływania wysokiej temperatury na materiał biologiczny. Licencja CC BY 4.0.	23
Rys. 2	Zmiana stosunku powierzchni do objętości towarzysząca rozdrobnieniu materiału obrazującą drastyczny wzrost powierzchni właściwej jako potencjalne źródło odpowiedzialne za unikatowe właściwości nanoobjektów. Przygotowano w BioRender.	24
Rys. 3.	Koncepcja zastosowania nanomateriałów w nowoczesnych terapiach zwalczania chorób neoplastycznych w oparciu o zjawisko hipertermii lokalizowanej. Przygotowano w BioRender.	27
Rys. 4.	Schematyczne przedstawienie pętli histerezy wraz z podstawowymi wielkościami charakteryzującymi materiał magnetyczny. Licencja CC BY 4.0.	28
Rys. 5.	Schemat przedstawiający powstawanie prądów wirowych. Licencja CC BY 3.0.	29
Rys. 6.	Typowy przebieg zależności indukcji magnetycznej od natężenia pola magnetycznego dla materiałów superparamagnetycznych (a). Mechanizmy relaksacji Néela i Browna (b). Licencja CC BY 4.0.	30
Rys. 7.	Zależność pola koercji od rozmiaru nanocząstek i ich struktury magnetycznej. Licencja CC BY 4.0.	31
Rys. 8.	Schemat oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego na materię (a); zmiany współczynnika ekstynkcji dla układów biologicznego ze wskazaniem I i II biologicznej bramki optycznej (b). Przedruk za zgodą.	37
Rys. 9.	Komórka elementarna struktury krystalicznej spinelu odwróconego (struktura magnetytu ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )). Licencja CC BY 3.0.	39
Rys. 10.	Uproszczony schemat syntezy metodą dekompozycji termicznej w oparciu o ciągły wzrost temperatury. Przygotowano w BioRender.com.	45
Rys. 11.	Schemat syntezy metodą gorącego nastrzyku. Przygotowano w BioRender.com.	46
Rys. 12.	Schemat syntezy metodą wzrostu na rdzeniach. Przygotowano w BioRender.com.	47
Rys. 13.	Schemat syntezy z wykorzystaniem pobudzenia mikrofalowego. Przygotowano w BioRender.com.	48
Rys. 14.	Schemat syntezy heterostruktur magnetyczno-plazmonowych. Przygotowano w BioRender.com.	49
Rys. 15.	Wytwarzanie hybryd nieorganiczno-organicznych o strukturze rdzeń-otoczka. Przygotowano w BioRender.com.	50
Rys. 16.	Funkcjonalizacja powierzchni nanocząstek magnetycznych pochodnymi fosfonowymi. Przygotowano w BioRender.com.	51
Rys. 17.	Ideowy schemat zasady działania rentgenowskiego dyfraktometru proszkowego. Przygotowano w BioRender.com.	51
Rys. 18.	Uproszczony schemat budowy transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Przygotowano w BioRender.com.	53
Rys. 19.	Uproszczony schemat układu pomiarowego w technice FTIR-ATR. Przygotowano w BioRender.com.	54
Rys. 20.	Stanowisko pomiarowe do badania konwersji zmiennego pola magnetycznego, światła z zakresu NIR oraz trybu synergii obu czynników zewnętrznych (a) oraz schemat celki pomiarowej układu (b). Przygotowano w BioRender.com.	56

## 14. Literatura

---

1. Jaque D, Maestro LM, Rosal B del, et al. Nanoparticles for photothermal therapies. *Nanoscale*. 2014;6:9494-9530.
2. Sharma SK, Shrivastava N, Rossi F, Duc L, Thi N, Thanh K. Nano Today Nanoparticles-based magnetic and photo induced hyperthermia for cancer treatment. *Nano Today*. 2019;29:100795.
3. Kok HP, Cressman ENK, Ceelen W, et al. Heating technology for malignant tumors: a review. *Int J Hyperth*. 2020;37:711-741.
4. Gao S, Zheng M, Ren X, Tang Y, Liang X. Local hyperthermia in head and neck cancer: mechanism, application and advance. *Oncotarget*. 2016;7:57367-57378.
5. Gavila H, Avugadda SK, Fernandez-Cabada T, et al. Magnetic nanoparticles and clusters for magnetic hyperthermia: optimizing their heat performance and developing combinatorial therapies to tackle cancer. *Chem Soc Rev*. 2021;50:11614-11667.
6. Chang D, Lim M, Goos JACM, Qiao R, Ng YY. Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations. *Front Pharmacol*. 2018;9.
7. Hervault A, Thanh NTK. for thermo-chemotherapy treatment of cancer. *Nanoscale*. 2015;6:11553-11573.
8. Heuer-Jungemann A, Feliu N, Bakaimi I, et al. The Role of Ligands in the Chemical Synthesis and Applications of Inorganic Nanoparticles. *Chem Rev*. 2019;119:4819-4880.
9. Ribeiro TP, Moreira JA, Monteiro FJ, Laranjeira MS. Nanomaterials in cancer: Reviewing the combination of hyperthermia and triggered chemotherapy. *J Control Release*. 2022;347:89-103.
10. Liebl CM, Kutschan S, Dörfler J, Käsmann L, Hübner J. Systematic review about complementary medical hyperthermia in oncology. *Clin Exp Med*. 2022;22:519-565.
11. Longo UG, Ronga M, Maffulli N, Orth F. Achilles Tendinopathy. *Sports Med Arthrosc*. 2009;17:112-126.
12. Suriyanto, Ng EYK, Kumar SD. Physical mechanism and modeling of heat generation and transfer in magnetic fluid hyperthermia through Néelian and Brownian relaxation : a review. *Biomed Eng Online*. 2017:1-22.
13. Song CW, Park HJ, Lee CK, et al. Implications of increased tumor blood flow and oxygenation caused by mild temperature hyperthermia in tumor treatment. *Int J Hyperth*. 2009;6736:761-767.
14. Flores-Rojas GG, Lopez-Saucedo F, Vera-Graziano R, Mendizabal E, Bucio E. Magnetic Nanoparticles for Medical Applications : Updated Review. *Macromol*. 2022;2:374-390.
15. Payne M, Bossmann SH, Basel MT. Direct treatment versus indirect: Thermo-ablative and mild hyperthermia effects. *WIREs Nanomedicine Nanotechnol*. 2020;12:1-20.
16. Hergt R, Andra W. Magnetic Hyperthermia and Thermoablation. In: *Magnetism in Medicine: A Handbook, Second Edition.*; 2007:550-570.
17. Li J, Wang S, Fontana F, Tapeinos C, Shahbazi M, Han H. Bioactive Materials Nanoparticles-based phototherapy systems for cancer treatment: Current status and clinical potential. *Bioact Mater*. 2023;23:471-507.
18. Lim E, Kim T, Paik S, Haam S, Huh Y, Lee K. Nanomaterials for Theranostics: Recent Advances and Future Challenges. *Chem Rev*. 2015;115:327-394.
19. Farzin L, Saber R, Sadjadi S, Mohagheghpour E. Nanomaterials-based hyperthermia : A literature review from concept to applications in chemistry and biomedicine. *J Therm Biol*. 2022;104:103201.
20. Varanda LC, Souza CGS, Moraes DA, Neves HR. Size and shape-controlled nanomaterials based on modified polyol and thermal decomposition approaches. A brief review. *An Acad Bras Cienc*. 2019;91:1-32.
21. Chandrakala V, Valmiki A, Angajala G. Review on metal nanoparticles as nanocarriers: current challenges and perspectives in drug delivery systems. *Emergent Mater*. 2022;5:1593-1615.
22. Roca AG, Gutiérrez L, Gavilán H, et al. Design strategies for shape-controlled magnetic iron oxide nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;138:68-104.
23. Sanità G, Carrese B, Lamberti A. Nanoparticle Surface Functionalization: How to Improve Biocompatibility and Cellular Internalization. *Front Mol Biosci*. 2020;7.
24. Zhao L, Zhang X, Wang X, Guan X, Zhang W, Ma J. Recent advances in selective photothermal therapy of tumor. *J Nanobiotechnology*. 2021;19:1-15.
25. Gao D, Guo X, Zhang X, et al. Multifunctional phototheranostic nanomedicine for cancer imaging and treatment. *Mater Today Bio*. 2020;5:100035.
26. Vaishnav A, Kumar P, Dubey SK, et al. Recent advances in nanoparticles mediated photothermal therapy induced tumor regression. *Int J Pharm*. 2021;606:120848.
27. Singh R, Torti S V. Carbon nanotubes in hyperthermia therapy. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65:2045-2060.
28. Liu J, Wang C, Wang X, Wang X, Cheng L, Li Y. Mesoporous Silica Coated Single-Walled Carbon Nanotubes as a Multifunctional Light-Responsive Platform for Cancer Combination Therapy. *Adv Funct Mater*. 2015;25:384-392.

29. Christine A, Silva A, Paula A, et al. Biological analysis and imaging applications of CdSe/CdS<sub>x</sub>Se<sub>1-x</sub>/CdS core-shell magic-sized quantum dot. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2016;12:1421-1430.
30. Chu VH, Ha T, Nghiem L, Le TH, Vu DL. Synthesis and optical properties of water soluble CdSe/CdS quantum dots for biological applications. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol.* 2012;3:025017.
31. Filali S, Pirot F, Miossec P. Biological Applications and Toxicity Minimization of Semiconductor Quantum Dots. *Trends Biotechnol.* 2020;38:163-177.
32. Tosat-bitrián C, Palomo V. CdSe quantum dots evaluation in primary cellular models or tissues derived from patients. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2020;30:102299.
33. Kumar DS, Kumar BJ, Mahesh HM. Quantum Nanostructures (QDs): An Overview. In: *Synthesis of Inorganic Nanomaterials.* Elsevier Ltd.; 2018:59-88.
34. Takagahara T, Takeda K. Theory of the quantum confinement effect on excitons in quantum dots of indirect-gap materials. *Phys Rev B.* 1992;46:578-581.
35. Gaponenko S V., Demir HV. Chapter 3 -Quantum confinement effects in semiconductors. In: *Applied Nanophotonics.* Cambridge University Press; 2018:52-91.
36. Chu M, Pan X, Zhang D, Wu Q, Peng J, Hai W. The therapeutic efficacy of CdTe and CdSe quantum dots for photothermal cancer therapy. *Biomaterials.* 2012;33:7071-7083.
37. Rosal B, Pérez-delgado A, Carrasco E, Jovanovic DJ, Sanz-rodriguez F, Jaque D. Neodymium-Based Stoichiometric Ultrasmall Nanoparticles for Multifunctional Deep-Tissue Photothermal Therapy. *Adv Opt Mater.* 2016;4:782-789.
38. Ximendes E, Marin R, Carlos LD, Jaque D. Less is more: dimensionality reduction as a general strategy for more precise luminescence thermometry. *Light Sci Appl.* 2022;11:237.
39. Perisa J, Ristic Z, Piotrowski W, Antic Z, Marciniak L, Dramicanin MD. All near-infrared multiparametric luminescence thermometry using Er<sup>3+</sup>, Yb<sup>3+</sup>-doped YAG nanoparticles. *RSC Adv.* 2021;11:15933-15942.
40. Barbusinski K. Fenton reaction - Controversy concerning the chemistry. *Ecol Chem Eng S.* 2009;16:347-358.
41. Uhl L, Gerstel A, Chabaliier M, Dukan S. Hydrogen peroxide induced cell death : One or two modes of action? *Heliyon.* 2015;1:e00049.
42. Espinosa A, Corato R Di, Kolosnjaj-tabji J, Flaud P, Pellegrino T, Wilhelm C. Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy : Amplification of Heating Efficiency by Magnetic Hyperthermia and Photothermal Bimodal Treatment. *ACS Nano.* 2016;10:2436-2446.
43. Shaterabadi Z, Nabiyouni G, Soleymani M. Physics responsible for heating efficiency and self-controlled temperature rise of magnetic nanoparticles in magnetic hyperthermia therapy. *Prog Biophys Mol Biol.* 2018;133:9-19.
44. Wallyn J, Anton N, Vandamme TF. Synthesis, Principles, and Properties of Magnetite Nanoparticles for In Vivo Imaging Applications - A Review. *Pharmaceutics.* 2019;11:601.
45. Rodriguez-Sotelo D, Rodriguez-Licea MA, Araujo-Vargas I, Prado-Olivarez J, Perez-Pinal FJ. Power Losses Models for Magnetic Cores : A Review. *Micromachines.* 2022;13:1-27.
46. Khan U, Adeela N, Wan CH, et al. Response of iron oxide on hetero-nanostructures of soft and hard ferrites. *Superlattices Microstruct.* 2016;92:374-379.
47. López-Ortega A, Estrader M, Salazar-Alvarez G. Applications of exchange coupled bi-magnetic hard / soft and soft / hard magnetic core / shell nanoparticles. *Phys Rep.* 2015;553:1-32.
48. García-Martín J, Gómez-Gil J, Vázquez-Sánchez E. Non-Destructive Techniques Based on Eddy Current Testing. *Sensors.* 2011;11:2525-2565.
49. Atkinson WJ, Brezovich IA, Chakraborty DEVP. Usable Frequencies in Hyperthermia with Thermal Seeds T1r-. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1984;BME-31:70-75.
50. Hergt R, Dutz S. Magnetic particle hyperthermia - biophysical limitations of a visionary tumour therapy. *J Magn Magn Mater.* 2007;311:187-192.
51. Dutz S, Hergt R. Magnetic nanoparticle heating and heat transfer on a microscale: Basic principles, realities and physical limitations of hyperthermia for tumour therapy for tumour therapy. *Int J Hyperth.* 2013;6736:790-800.
52. Huang HS, Hainfeld JF. Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:2521-2532.
53. Rosensweig RE. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *J Magn Magn Mater.* 2002;252:370-374.
54. Zeinoun M, Serrano D, Medina PT, Gracia O, Vasic M, Serrano-Olmedo JJ. Configurable High-Frequency Alternating Magnetic Field Generator for Nanomedical Magnetic Hyperthermia Applications. *Digit Object Identifier.* 2021;9:105805-105816.
55. Lee JS, Cha JM, Yoon HY, Lee J, Kim YK. Magnetic multi-granule nanoclusters: A model system that exhibits universal size effect of magnetic coercivity. *Sci Rep.* 2015;5:1-7.

56. Wu L, Mendoza-Garcia A, Li Q, Sun S. Organic Phase Syntheses of Magnetic Nanoparticles and Their Applications. *Chem Rev.* 2016;116:10473–10512.
57. Akbarzadeh A, Samiei M, Davaran S. Magnetic nanoparticles: preparation , physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Res Lett.* 2012;7:1-13.
58. Cervadoro A, Giverso C, Pande R, et al. Design Maps for the Hyperthermic Treatment of Tumors with Superparamagnetic Nanoparticles. *PLoS One.* 2013;8:1-14.
59. Nabavinia M, Beltran-Huarac J. Recent Progress in Iron Oxide Nanoparticles as Therapeutic Magnetic Agents for Cancer Treatment and Tissue Engineering. *Appl Bio Mater.* 2020;3:8172-8187.
60. Sperling RA, Parak WJ. Surface modification , functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. *Philosophical Trans R Soc A.* 2010;368:1333-1383.
61. Bogdan N, Vetrone F, Capobianco JA. Synthesis of Ligand-Free Colloidally Stable Water Dispersible Brightly Luminescent Lanthanide-Doped Upconverting Nanoparticles. *Nano Lett.* 2011;11:835-840.
62. Jurga N, Przybylska D, Kamiński P, Grzyb T. Improvement of ligand - free modification strategy to obtain water-stable up-converting nanoparticles with bright emission and high reaction yield. *Sci Rep.* 2021;11:1-10.
63. Köçkar H, Karaagac O, Özel F. Effects of biocompatible surfactants on structural and corresponding magnetic properties of iron oxide nanoparticles coated by hydrothermal process. *J Magn Magn Mater.* 2019;474:332-336.
64. Wu W, He Q, Jiang C. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. *Nanoscale Res Lett.* 2008;3:397-415.
65. Wu W, Wu Z, Yu T, et al. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles : synthesis , surface functional strategies and biomedical applications. *Sci Technol Adv Mater.* 2015;16:23501.
66. Zhu N, Ji H, Yu P, et al. Surface Modification of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials.* 2018;8:1-27.
67. Pażik R, Andersson R, Kępiński L, Nedelec J-M, Kessler VG, Seisenbaeva GA. Surface Functionalization of the Metal Oxide Nanoparticles with Biologically Active Molecules Containing Phosphonate Moieties . Case Study of BaTiO<sub>3</sub> *J Phys Chem C.* 2011;115:9850-9860.
68. Laurent S, Forge D, Port M, et al. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem Rev.* 2008;108:2064-2110.
69. Cattani-Scholz A. Functional Organophosphonate Interfaces for Nanotechnology: A Review. *Appl Mater interfaces.* 2017;9:25643–25655.
70. Benbenishty-Shamir H, Gilert R, Gotman I, Gutmanas EY, Sukenik CN. Phosphonate-Anchored Monolayers for Antibody Binding to Magnetic Nanoparticles. *Langmuir.* 2011;27:12082-12089.
71. Nowack B. Environmental chemistry of phosphonates. *Water Res.* 2003;37:2533-2546.
72. Walter A, Garofalo A, Parat A, Martinez H, Felder-Flesch D. Functionalization strategies and dendronization of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnol Rev.* 2015;4:581-593.
73. Muthiah M, Park I, Cho C. Surface modification of iron oxide nanoparticles by biocompatible polymers for tissue imaging and targeting. *Biotechnol Adv.* 2013;31:1224-1236.
74. Ma Y, Zhang X, Zeng T, et al. Polydopamine-Coated Magnetic Nanoparticles for Enrichment and Direct Detection of Small Molecule Pollutants Coupled with MALDI- TOF-MS. *Appl Mater Interfaces.* 2013;5:1024-1030.
75. Anbarasu M, Anandan M, Chinnasamy E, Gopinath V, Balamurugan K. Synthesis and characterization of polyethylene glycol (PEG) coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles by chemical co-precipitation method for biomedical applications. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;135:536-539.
76. Shete PB, Patil RM, Thorat ND, et al. Magnetic chitosan nanocomposite for hyperthermia therapy application : Preparation , characterization and in vitro experiments. *Appl Surf Sci.* 2014;288:149-157.
77. Dadfar SM, Roemhild K, Drude NI, et al. Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;138:302-325.
78. Qiao L, Fu Z, Li J, et al. Standardizing Size- and Shape-Controlled Synthesis of Monodisperse Magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) Nanocrystals by Identifying and Exploiting Effects of Organic Impurities. *ACS Nano.* 2017;11:6370–6381.
79. Muro-Cruces J, Roca AG, López-Ortega A, et al. Precise Size Control of the Growth of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanocubes over a Wide Size Range Using a Rationally Designed One-Pot Synthesis . *ACS Nano.* 2019;13:7716–7728.
80. Guardia P, Pérez-Juste J, Labarta A, Batlle X, Liz-Marzán LM. Heating Rate Influence on the Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles: The Case of Decanoic Acid. *Chem Commun.* 2010;46:6108-6110.
81. Wesemann C, Klimke S, Lu F, et al. Water Transfer of Magnetic Nanoparticles with Different Morphologies by Means of a Ligand Exchange Reaction with a Short-Chained Catechol Derivate. *J Phys Chem C.* 2022;126:21050–21060.
82. Yachi T, Matsubara M, Shen C, et al. Water-Dispersible Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Modified with Controlled

- Numbers of Carboxyl Moieties for Magnetic Induction Heating. *Appl Nano Mater.* 2021;4:7395–7403.
83. Wang M, Wang N, Tang H, Cao M, She Y, Zhu L. Surface modification of nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> with EDTA and its use in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> activation for removing organic pollutants. *Catal Sci Technol.* 2012;2:187-194.
  84. Magdalena AG, Silva IMB, Marques RFC, Pipi ARF, Lisboa-Filho PN, Jafelicci Jr M. EDTA-functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *J Phys Chem Solids.* 2018;113:5-10.
  85. Olariu CI, Yiu HHP, Bouffier L, et al. Multifunctional Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for targeted bi-modal imaging of pancreatic cancer. *J Mater Chem.* 2011;21:12650-12659.
  86. Gawali SL, Shelar SB, Gupta J, Barick KC, Hassan PA. Immobilization of protein on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for magnetic hyperthermia application. *Int J Biol Macromol.* 2021;166:851-860.
  87. Tekade RK, Kumar PV, Jain NK. Dendrimers in Oncology: An Expanding Horizon. *Chem Rev.* 2009;109:49-87.
  88. Strable E, Bulte JWM, Moskowitz B, Vivekanandan K, Allen M, Douglas T. Synthesis and Characterization of Soluble Iron Oxide - Dendrimer Composites. *Chem Mater.* 2001; 13:2201-2209.
  89. Tawfik M, Chen F, Goldberg JL, Sabel BA. Nanomedicine and drug delivery to the retina: current status and implications for gene therapy. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2022;395:1477-1507.
  90. Saedi S, Rhim J. Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@PAMAM dendrimer@AgNP hybrid nanoparticles for the preparation of carrageenan-based functional nanocomposite film. *Food Packag Shelf Life.* 2020;24:100473.
  91. Sun H, Zeng X, Liu M, et al. Synthesis of Size-Controlled Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub> Magnetic Nanoparticles for Nucleic Acid Analysis to : *J Nanosci Nanotechnol.* 2012;12:267-273.
  92. Li C, Ma C, Wang F, et al. Preparation and Biomedical Applications of Core-Shell Silica/Magnetic Nanoparticle Composites. *J Nanosci Nanotechnol.* 2012;12:2964-2972.
  93. Xin C, Jing Y, Yang-Long H. Surface modification of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Chinese Phys B.* 2015;24:014704.
  94. Abbas M, Rao BP, Islam N, Naga SM. Highly stable- silica encapsulating magnetite nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>) synthesized using single surfactantless- polyol process. *Ceram Int.* 2014;40:1379-1385.
  95. Wang F, Pauletti GM, Wang J, et al. Dual Surface-Functionalized Janus Nanocomposites of Polystyrene/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub> for Simultaneous Tumor Cell Targeting and Stimulus-Induced Drug Release. *Adv Mater.* 2013:3485-3489.
  96. Wang J, Zheng S, Shao Y, Liu J, Xu Z, Zhu D. Amino-functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub> core – shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal. *J Colloid Interface Sci.* 2010;349:293-299.
  97. Yang H, Zhuang Y, Sun Y, et al. Targeted dual-contrast T1 - and T2 -weighted magnetic resonance imaging of tumors using multifunctional gadolinium-labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Biomaterials.* 2011;32:4584-4593.
  98. Abenojara EC, Wickramasinghea S, Bas-Concepciona J, Samia ACS. Structural effects on the magnetic hyperthermia properties of iron oxide nanoparticles. *Prog Nat Sci Mater Int.* 2016;26:440-448.
  99. Nemati Z, Alonso J, Martinez LM, et al. Enhanced Magnetic Hyperthermia in Iron Oxide Nano-Octopods : Size and Anisotropy Effects. *J Phys Chem C.* 2016;120:8370–8379.
  100. Salazar-Alvarez G, Qin J, Sepelak V, et al. Cubic versus Spherical Magnetic Nanoparticles: The Role of Surface Anisotropy. *JACS.* 2008;130:13234-13239.
  101. Jaque D, Vetrone F. Luminescence nanothermometry. *Nanoscale.* 2012;4:4301-4326.
  102. Quek C, Leong KW. Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in Vivo Optical Imaging. *Nanomaterials.* 2012;2:92-112.
  103. Chu M, Shao Y, Peng J, Dai X, Li H, Wu Q. Near-infrared laser light mediated cancer therapy by photothermal effect of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles. *Biomaterials.* 2013;34:4078-4088.
  104. Cabana S, Curcio A, Michel A, Wilhelm C, Abou-Hassan A. Iron Oxide Mediated Photothermal Therapy in the Second Biological Window : A Comparative Study between Magnetite / Maghemite Nanospheres and Nanoflowers. *Nanomaterials.* 2020;10:1548.
  105. Dai X, Li X, Liu Y, Yan F. Recent advances in nanoparticles-based photothermal therapy synergizing with immune checkpoint blockade therapy. *Mater Des.* 2022;217:110656.
  106. Salimi M, Mosca S, Gardner B, Palombo F, Matousek P, Stone N. Nanoparticle-Mediated Photothermal Therapy Limitation in Clinical Applications Regarding Pain Management. *Nanomaterials.* 2022;12:1-29.
  107. Yang Z, Sun Z, Ren YI, et al. Advances in nanomaterials for use in photothermal and photodynamic therapeutics. *Mol Med Rep.* 2019;20:5-15.
  108. Niu Q, Sun Q, Bai R, Zhang Y, Zhuang Z, Zhang X. Progress of Nanomaterials-Based Photothermal Therapy for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci.* 2022;23:10428.
  109. Yong K, Roy I, Swihart T, Prasad PN. Multifunctional nanoparticles as biocompatible targeted probes for human cancer diagnosis and therapy. *J Mater Chem.* 2009;19:4655-4672.
  110. Maestro LM, Haro-Gonzalez P, Rosal B del, et al. Heating efficiency of multi-walled carbon nanotubes in

- the first and second biological windows. *Nanoscale*. 2013;5:7882-7889.
111. Link S, El-Sayed MA. Shape and size dependence of radiative , non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals. *Int Rev Phys Chem*. 2000;19:409-453.
  112. Lambert TN, Andrews NL, Gerung H, et al. Water-Soluble Germanium (0) Nanocrystals : Cell Recognition and Near-Infrared Photothermal Conversion Properties. *Small*. 2007;3:691-699.
  113. Bednarkiewicz A, Wawrzynczyk D, Nyk M, Strek W. Optically stimulated heating using Nd3+ doped NaYF4 colloidal near infrared nanophosphors. *Appl Phys B*. 2011;103:847-852.
  114. Chen H, Burnett J, Zhang F, Zhang J, Paholak H, Sun D. Highly crystallized iron oxide nanoparticles as effective and biodegradable mediators for photothermal cancer therapy. *J Mater Chem B*. 2014;2:757.
  115. Shen S, Wang S, Zheng R, et al. Magnetic nanoparticle clusters for photothermal therapy with near-infrared irradiation. *Biomaterials*. 2015;39:67-74.
  116. Shen S, Kong F, Guo X, et al. CMCTS stabilized Fe3O4 particles with extremely low toxicity as highly efficient near-infrared photothermal agents for in vivo tumor ablation. *Nanoscale*. 2013;5:8056-8066.
  117. Zhou Z, Sun Y, Shen J, et al. Iron/iron oxide core/shell nanoparticles for magnetic targeting MRI and near-infrared photothermal therapy. *Biomaterials*. 2014;35:7470-7478.
  118. Liu Z, Cai W, He L, et al. In vivo biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice. *Nat Nanotechnol*. 2007;2:47-52.
  119. Yang K, Zhang S, Zhang G, Sun X, Lee S, Liu Z. Graphene in Mice : Ultrahigh In Vivo Tumor Uptake and Efficient Photothermal Therapy. *Nano Lett*. 2010;10:3318-3323.
  120. Huang X, El-sayed IH, Qian W, El-sayed MA. Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Near-Infrared Region by Using Gold Nanorods. *JACS*. 2006;128:2115-2120.
  121. Frank KM, Dirk U. Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*. 2011;103:317-324.
  122. Johannsen M, Thiesen B, Wust P, Jordan A. Magnetic nanoparticle hyperthermia for prostate cancer. *Int J Hyperth*. 2010;26:790-795.
  123. Ximendes EC, Rocha U, Kumar KU, Jacinto C, Jaque D. LaF3 core/shell nanoparticles for subcutaneous heating and thermal sensing in the second biological-window. *Appl Phys Lett*. 2016;108:25103.
  124. Helmchen F, Denk W. Deep tissue two-photon microscopy. *Nat Methods*. 2005;2:932-940.
  125. Olivo M alini, Fu CY, Raghavan V, Lau WKO. New Frontier in Hypericin-Mediated Diagnosis of Cancer with Current Optical Technologies. *Ann Biomed Eng*. 2012;40:460-473.
  126. Tanabe Y, Sugano S. On the Absorption Spectra of Complex Ions. III The Calculation of the Crystalline Field Strength. *J Phys Soc Japan*. 1956;11:864-877.
  127. Tanabe Y, Sugano S. On the Absorption Spectra of Complex Ions. II. *J Phys Soc Japan*. 1954;9:766-779.
  128. Tanabe Y, Sugano S. On the Absorption Spectra of Complex Ions. I. *J Phys Soc Japan*. 1954;9:753-766.
  129. Roper DK, Ahn W, Hoepfner M. Microscale Heat Transfer Transduced by Surface Plasmon Resonant Gold Nanoparticles. *J Phys Chem C*. 2007;111:3636-3641.
  130. Chen H, Shao L, Ming T, et al. Understanding the Photothermal Conversion Efficiency of Gold Nanocrystals. *Small*. 2010;6:2272-2280.
  131. Wang X, Li G, Sun S. Understanding the photothermal effect of gold nanostars and nanorods for biomedical applications. *RSC Adv*. 2014;4:30375-30383.
  132. Paściak A, Pilch-Wróbel A, Marciniak Ł, Schuck PJ, Bednarkiewicz A. Standardization of Methodology of Light-to-Heat Conversion Efficiency Determination for Colloidal Nanoheaters. *Appl Mater Interfaces*. 2021;13:44556-44567.
  133. Diodati S, Walton RI, Mascotto S, Gross S. Low-temperature wet chemistry synthetic approaches towards ferrites Ferrites : a useful and multifaceted. *Inorg Chem Front*. 2020;7:3282-3314.
  134. Xie X, Wang B, Wang Y, Ni C, Sun X, Du W. Spinel structured MFe2O4 (M = Fe, Co, Ni, Mn, Zn) and their composites for microwave absorption : A review. *Chem Eng J*. 2022;428:131160.
  135. Qin H, He Y, Xu P, Huang D, Wang Z, Wang H. Spinel ferrites (MFe2O4): Synthesis , improvement and catalytic application in environment and energy field. *Adv Colloid Interface Sci*. 2021;294:102486.
  136. Rivani DA, Retnosari I, Kusumandari, Saraswati TE. Influence of TiO2 addition on the magnetic properties of carbon-based iron oxide nanocomposites synthesized using submerged In: *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*; 2019;509 :012034.
  137. Lee N, Hyeon T. Designed synthesis of uniformly sized iron oxide nanoparticles for efficient magnetic resonance imaging contrast agents. *Chem Soc Rev*. 2012;41:2575-2589.
  138. Khandhar AP, Ferguson RM, Arami H, Krishnan KM. Monodisperse magnetite nanoparticle tracers for in vivo magnetic particle imaging. *Biomaterials*. 2013;34:3837-3845.
  139. Ferguson RM, Khandhar AP, Kemp SJ, et al. Magnetic Particle Imaging With Tailored Iron Oxide Nanoparticle Tracers. *IEEE Trans Med Imaging*. 2015;34:1077-1084.
  140. Siddiqi KS, Rahman A, Tajuddin, Husen A. Biogenic Fabrication of Iron/Iron Oxide Nanoparticles and

- Their Application. *Nanoscale Res Lett.* 2016;11:498.
141. Mai BT, Fernandes S, Balakrishnan PB, Pellegrino T. Nanosystems Based on Magnetic Nanoparticles and Thermo- or pH- Responsive Polymers: An Update and Future Perspectives. *Acc Chem Res.* 2018;51:999-1013.
  142. Walle A Van de, Perez JE, Abou-Hassan A, M.Hemadi, Luciani N, Wilhelm C. Magnetic nanoparticles in regenerative medicine : what of their fate and impact in stem cells? *Mater Today Nano.* 2020;11:100084.
  143. Blanco-Andujar C, Walter A, Cotin G, et al. Design of iron oxide-based nanoparticles for MRI and magnetic hyperthermia. *Nanomedicine.* 2016;11:5001.
  144. Ulbrich K, Vladimir S, Bakandritsos A. Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles : Covalent and Noncovalent Approaches , Release Control , and Clinical Studies. *Chem Rev.* 2016;116:5338-5431.
  145. Vedrtnam A, Kalauni K, Dubey S, Kumar A. A comprehensive study on structure , properties , synthesis and characterization of ferrites. *AIMS Mater Sci.* 2020;7:800-835.
  146. Hu Y, Meng L, Niu L, Lu Q. Highly Cross-Linked and Biocompatible Polyphosphazene-Coated Superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles for Magnetic Resonance Imaging. *Langmuir.* 2013;29:9156-9163.
  147. Kallumadil M, Tada M, Nakagawa T, Abe M, Southern P, Pankhurst QA. Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia. *J Magn Magn Mater.* 2009;321:1509-1513.
  148. Banerjee SS, Chen D. Magnetic Nanoparticles Grafted with Cyclodextrin for Hydrophobic Drug Delivery. *Chem Mater.* 2007;19:6345-6349.
  149. Veiseh O, Gunn JW, Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62:284-304.
  150. Jin R, Lin B, Li D, Ai H. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for MR imaging and therapy : design considerations and clinical applications. *Curr Opin Pharmacol.* 2014;18:18-27.
  151. Xu H, Cheng L, Wang C, Ma X, Li Y, Liu Z. Polymer encapsulated upconversion nanoparticle / iron oxide nanocomposites for multimodal imaging and magnetic targeted drug delivery. *Biomaterials.* 2011;32:9364-9373.
  152. Mccarthy JR, Weissleder R. Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted imaging and therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008;60:1241-1251.
  153. Sandler SE, Fellows B, Meffor OT. Best Practices for Characterization of Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Anal Chem.* 2019;91:14159-14169.
  154. Sun S, Zeng H. Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles. *JACS.* 2002;124:8204-8205.
  155. Guardia P, Corato R Di, Lartigue L, et al. Water-Soluble Iron Oxide Nanocubes with High Values of Specific Absorption Rate for Cancer Cell Hyperthermia Treatment. *ACS Nano.* 2012;6:3080-3091.
  156. Guardia P, Riedinger A, Nitti S, et al. One pot synthesis of monodisperse water soluble iron oxide nanocrystals with high values of specific absorption rate. *J Mater Chem B.* 2014;2:4426-4434.
  157. Mohammadali S, Roemhild K, Drude NI, et al. Iron oxide nanoparticles : Diagnostic , therapeutic and theranostic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews .* 2019;138:302-325.
  158. Xie W, Guo Z, Gao F, et al. Shape- , size- and structure-controlled synthesis and biocompatibility of iron oxide nanoparticles for magnetic theranostics. *Theranostics.* 2018;8:3284-3307.
  159. Ali A, Shah T, Ullah R, Zhou P, Guo M. Review on Recent Progress in Magnetic Nanoparticles : Synthesis , Characterization , and Diverse Applications. *Front Chem.* 2021;9:1-25.
  160. Belaïd S, Stanicki D, Elst L Vander, Muller RN. Influence of experimental parameters on iron oxide nanoparticle properties synthesized by thermal decomposition : size and nuclear magnetic resonance studies. *Nanotechnology.* 2018;29:165603.
  161. Kwon SG, Hyeon T. Formation Mechanisms of Uniform Nanocrystals via Hot-Injection and Heat-Up Methods. *Small.* 2011;7:2685-2702.
  162. Guardia P, Labarta A, Batlle X. Tuning the Size, the Shape, and the Magnetic Properties of Iron Oxide Nanoparticles. *J Phys Chem C.* 2011;115:390-396.
  163. Chang H, Kim BH, Lim SG, Baek H, Park J, Hyeon T. Role of the Precursor Composition in the Synthesis of Metal Ferrite Nanoparticles. *Inorg Chem.* 2021;60:4261-4268.
  164. Guardia P, Riedinger A, Kakwere H, Gazeau F, Pellegrino T. Magnetic Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia and Controlled Drug Delivery. In: *Bio- and Bioinspired Nanomaterials .*;2014.
  165. Kim D, Shin K, Kwon SG, Hyeon T. Synthesis and Biomedical Applications of Multifunctional Nanoparticles. *Advanced Materials.* 2018;1802309:1-26.
  166. Shin K, Chae SI, Lee J, et al. Molecular-Level Understanding of Continuous Growth from Iron- Oxo Clusters to Iron Oxide Nanoparticles. *JACS.* 2019;141:7037-7045.
  167. Kim D, Lee N, Park M, Kim BH, An K, Hyeon T. Synthesis of Uniform Ferrimagnetic Magnetite Nanocubes. *JACS.* 2009;131:454-455.
  168. Kwon SG, Hyeon T. Colloidal Chemical Synthesis and Formation Kinetics of Uniformly Sized

- Nanocrystals of Metals, Oxides, and Chalcogenides. *Acc Chem Res.* 2008;41:1696-1709.
169. Kwon SG, Piao Y, Park J, et al. Kinetics of Monodisperse Iron Oxide Nanocrystal Formation by “ Heating-Up ” Process. *JACS.* 2007;129:12571-12584.
  170. Cotin G, Perton F, Blanco-Andujar C, Pichon B, Mertz D, Bégin-Colin S. Design of Anisotropic Iron-Oxide-Based Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia. In: *Micro and Nano Technologies.* 2019:41-60.
  171. Ling D, Lee N, Hyeon T. Chemical Synthesis and Assembly of Uniformly Sized Iron Oxide Nanoparticles for Medical Applications. *Acc Chem Res.* 2015;48:1276–1285.
  172. Sartori K, Gailly D, Bouillet C, et al. Increasing the size of FeO nanoparticles by performing a multistep seed-mediated growth approach. *Cryst Growth Des.* 2020;20:1572–1582.
  173. Lee K, Lee S, Ahn B. Understanding High Anisotropic Magnetism by Ultrathin Shell Layer Formation for Magnetically Hard – Soft Core – Shell Nanostructures. *Chem Mater.* 2019;31:728-736.
  174. Song Q, Zhang ZJ. Shape Control and Associated Magnetic Properties of Spinel Cobalt Ferrite Nanocrystals. *JACS.* 2004;126:6164-6168.
  175. Al-qubaisi MS, Rasedee A, Flaifel MH, et al. Cytotoxicity of nickel zinc ferrite nanoparticles on cancer cells of epithelial origin. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:2497-2508.
  176. Riman RE, Suchanek WL, Lencka MM. Hydrothermal crystallization of ceramics. *Ann Chim Sci des Matériaux.* 2002;27:15-36.
  177. Pązik R, Piasecka E, Małecka M, et al. Facile non-hydrolytic synthesis of highly water dispersible, surfactant free nanoparticles of synthetic MFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M–Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>) ferrite spinel by a modified Bradley reaction. *RSC Adv.* 2013;3:12230-12243.
  178. Pązik R, Zachanowicz E, Poźniak B, Małecka M, Zięcina A, Marciniak Ł. Non-contact Mn<sub>1-x</sub>Ni<sub>x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ferrite nano-heaters for biological applications – heat energy generated by NIR irradiation. *RSC Adv.* 2017;7:18162-18171.
  179. Pązik R, Zięcina A, Zachanowicz E, et al. Synthesis, Structural Features, Cytotoxicity, and Magnetic Properties of Colloidal Ferrite Spinel Co<sub>1-x</sub>Ni<sub>x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (0.1 ≤ x ≤ 0.9) Nanoparticles. *Eur J Inorg Chem.* 2015:4750-4760.
  180. Zachanowicz E, Zięcina A, Mikołajczyk PA, et al. Cytotoxic Effects of Co<sub>1-x</sub>Mn<sub>x</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Ferrite Nanoparticles Synthesized under Non-Hydrolytic Conditions (Bradley’s Reaction) – In Vitro. *Eur J Inorg Chem.* 2016:5315-5323.
  181. Zachanowicz E, Pięłowski J, Zięcina A, et al. Polyrhodanine cobalt ferrite (PRHD@CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) hybrid nanomaterials - Synthesis , structural , magnetic , cytotoxic and antibacterial properties. *Mater Chem Phys.* 2018;217:553-561.
  182. Zachanowicz E, Pięłowski J, Grzymajło M, et al. Efficient synthesis of PMMA@Co<sub>0.5</sub>Ni<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> organic-inorganic hybrids containing hyamine 1622 – Physicochemical properties, cytotoxic assessment and antimicrobial activity. *Mater Sci Eng C.* 2018;90:248-256.
  183. Pązik R, Lewińska A, Adamczyk-Grochala J, et al. Energy Conversion and Biocompatibility of Surface Functionalized Magnetite Nanoparticles with Phosphonic Moieties. *J Phys Chem B.* 2020;124:4931–4948.
  184. Łągiewka E. *Podstawy Dyfrakcji Rentgenowskich, Elektronów i Neutronów.* Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego; 2015.
  185. Barbacki A. *Mikroskopia Elektronowa.* Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej; 2007.
  186. Kęcki Z. *Podstawy Spektroskopii Molekularnej.* Wydawnictwo Naukowe PWN; 2013.
  187. Chou C. Use of heating rate and specific absorption rate in the hyperthermia clinic. *Int J Hyperth.* 2009;6:367-370.
  188. Zachanowicz E, Kulpa-Greszta M, Tomaszewska A, et al. Multifunctional Properties of Binary Polyrhodanine Manganese Ferrite Nanohybrids — From the Energy Converters to Biological Activity. *Polymers.* 2020;12:2934.
  189. Kulpa-Greszta M, Pązik R, Kłoda P, et al. Efficient non-contact heat generation on flexible , ternary hydroxyapatite/curdlan/nanomagnetite hybrids for temperature controlled processes. *Mater Sci Eng C.* 2021;118:111360.