

Дослідження структури і біологічної активності водних розчинів наночастинок металів

В.В. Олішевський^{1*}, К.Г. Лопатько², Ю.О. Дашковський¹,
Є.Г. Афтанділянц², А.І. Маринін¹, С.М. Захарченко³, Н.М. Білера²,
С.В. Ткаченко¹, О.М. Гончар², І.В. Житнецький¹

¹ Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

² Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 12, Київ, 03041, Україна

³ Інститут електродинаміки НАН України
проспект Перемоги, 56, Київ, 03057, Україна

Резюме. Описано спосіб електроерозійного диспергування струмопровідних матеріалів для отримання відповідної препаративної форми наноматеріалів і можливості тривалого зберігання їх хіміко-біологічної активності. Представлено результати дослідження структури і властивостей наночастинок у водному розчині (колоїдному стані). Вивчено токсичність міді в розчині наносполук у порівнянні з розчинами солі на зерна пшениці. Досліджено фунгіцидну та бактерицидну активність нанорозчину срібла на мікроорганізми роду *Trichoderma virens*. Встановлено, що досліджувані наноматеріали за своєю препаративною формою, морфологічними ознаками, структурно-фазовим складом потенційно є біологічно доступним матеріалом для застосування в біотехнологіях.

Ключові слова: водні розчини наночастинок металів, іскрові розряди, ζ -потенціал, ультразвукові коливання, фунгіцидна активність.

Вступ. Сорбційні властивості та реакційна здатність матеріалу в нанорозмірному стані викликають закономірний інтерес дослідників, оскільки можуть використовуватися в різноманітних технологічних процесах, зокрема в хімічній, переробній і харчовій промисловості.

Нанорозмірний стан речовини характеризується суттєвою зміною та появою нових властивостей, які не притаманні матеріалу в компактному стані. Специфіка наноструктурного стану речовини, зокрема, відображена в термодинамічних характеристиках, коли зі змен-

шенням розміру значно збільшується різниця між моделлю твердої фази, що прийнята в класичній термодинаміці, та реальною наночастиною, а розподіл на об'ємну і поверхневу складову стає умовним. Дослідники відзначають, що в умовах постійної температури та тиску збільшення вільної енергії Гіббса наночастинок відбувається за рахунок значного росту площі поверхні або поверхні розподілу фаз у наноструктурованому матеріалі [1-2]. Завдяки великій площі поверхні всі наноматеріали володіють значною поверхневою енергією, збільшеною принаймні на три порядки по відношенню до компактного матеріалу, тим самим перебуваючи в нестабільному або метастабільному стані та схильні до утворення агломератів.

Незважаючи на те, що жоден із відомих ме-

* Corresponding author.
Tel.: +38044-2879272
E-mail address: nufnano@ukr.net

© В.В. Олішевський, К.Г. Лопатько, Ю.О. Дашковський,
Є.Г. Афтанділянц, А.І. Маринін, С.М. Захарченко, Н.М. Білера,
С.В. Ткаченко, О.М. Гончар, І.В. Житнецький, 2011

тодів і способів отримання наноматеріалів не є універсальним, а тільки дає змогу вирішувати ті чи інші технічні завдання, актуальним залишається розробка нових і вдосконалення вже існуючих методів отримання наноматеріалів, особливо коли йдеться про їх застосування в біотехнологіях. Питання біологічного впливу наноматеріалів, їхньої токсичності або здатності позитивно впливати на метаболічні процеси та фізіологічний стан організму в цілому залишається ключовим у фундаментальних дослідженнях взаємодії наночастинок з біологічним середовищем.

Розміри наночастинок суттєво впливають на очікуваний результат їх застосування, але це далеко не єдиний важливий параметр їхнього стану. Проводиться кореляційний зв'язок між розмірами частинок та їхньою токсичністю [3, 4], однак наявність інших факторів, таких як структурно-фазовий склад, форма частинок, поверхневий заряд, не дають змоги зробити цю залежність абсолютною. Крім того, препаративна форма наноматеріалу, кислотність середовища, процеси, що характеризують функціональність конкретної системи, ускладнюють задачу кількісної оцінки впливу й ефективності використання наноматеріалів.

Очевидно, що для прогнозування ймовірних хіміко-біологічних ефектів взаємодії наночастинок з біологічними структурами (органела, клітина) на відповідному атомарно-молекулярному рівні необхідне більш детальне вивчення фізичних властивостей і структурно-фазового складу наноматеріалів та фізико-хімічних властивостей систем, які є носіями таких частинок.

Матеріали і методи. Фізичні методи отримання, що базуються на інтенсивному тепловому та силовому впливі на вихідний матеріал, мають певні переваги та перспективи, оскільки забезпечують отримання наночастинок із підвищеним рівнем вільної енергії та, як наслідок, підвищеною здатністю взаємодії з оточуючим середовищем. Для отримання відповідної препаративної форми наноматеріалів і можливості тривалого зберігання хіміко-біологічної активності препаратів ми застосовували спосіб електроерозійного диспергування струмопровідних матеріалів. Цей спосіб при

незначному підвищенні (на 1-5 °С) середньої температури розчину забезпечує високі її значення в локальних зонах утворення плазмового каналу (близько 8000 °С), що достатньо для плавлення і випаровування металу в незначних об'ємах.

Для забезпечення продуктивності іскроерозійного диспергування замість одного контактного проміжку було використано шар струмопровідних гранул металу з максимальними лінійними розмірами поперечного перерізу (5-10 мм), які розташовували в діелектричній розрядній камері з деіонізованою водою. За допомогою тиристорного генератора з ємнісним накопичувачем енергії формували розрядні імпульси, амплітуда напруги яких регулювалася в межах 40-220 В, а струму — від 30 до 100 А, що в 3-10 разів більше, ніж середні значення струму електромережі типової хімічної лабораторії.

Система занурених у діелектричну рідину металевих гранул і плазмових каналів та омичних контактів між ними є складним електротехнічним навантаженням, що має істотний нелінійний характер та суттєві параметричні залежності від ряду технологічних чинників: частоти розрядних імпульсів, швидкості потоку і температури робочої рідини тощо [5-7]. Крім того, фізична природа виникнення іскрових розрядів у шарі струмопровідних гранул зумовлює стохастичну міграцію плазмових каналів по їх поверхні та переключення шляхів протікання струму на сусідні пари гранул. Ось чому миттєві значення еквівалентного електричного опору такого середовища змінюються в широких межах: від 0,05 до 100 Ом [8, 9].

Іскрові розряди в рідині між металевими гранулами спричиняють електричні вибухи, унаслідок чого в певні моменти часу утворюється значний гідродинамічний тиск (10^4 - 10^6 МПа), під дією якого відбувається евакуація рідкого і газоподібного металу з міжелектродного проміжку та з поверхні електродів. Унаслідок цих процесів утворюються полідисперсні колоїдні системи відповідних металів.

У наших дослідах ємність C накопичувача енергії тиристорного генератора регулювалася в межах 25-200 мкФ, значення напруги його заряду U_3 — від 50 до 250 В. При цьому

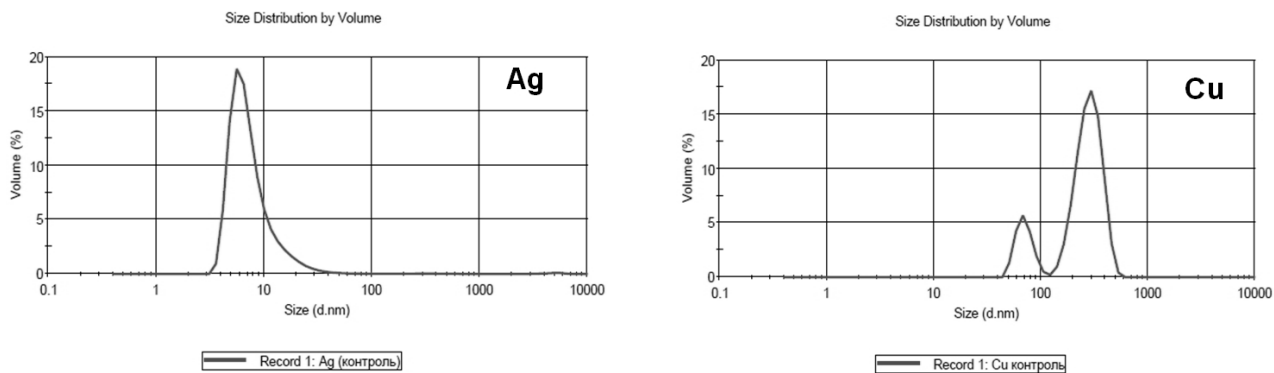


Рис. 1. Об'ємний розподіл розмірів частинок ПНМ Ag і ПНМ Cu.

індуктивність розрядного контуру L не перевищувала 1 мкГн. Частота розрядних імпульсів регулювалася в діапазоні 100–200 Гц.

Отримані водні колоїдні розчини металів і частинки (Zn, Fe, Cu, Ag) досліджувалися методами спектрофотометрії, рентгеноструктурного аналізу, растровою електронною мікроскопією.

Розподіл розмірів частинок і ζ -потенціалу

ПНМ визначали за допомогою аналізатора розмірів частинок і ζ -потенціалу «Zetasizer Nano ZS» методом зворотного розсіювання (Malvern Instruments Ltd, United Kingdom, сертифікований у 2011 р.).

Результати й обговорення. Результати статистичного аналізу розподілу частинок за розмірами (рис. 1) та дослідження їх морфологічних ознак (рис. 2) указують на те, що кожен

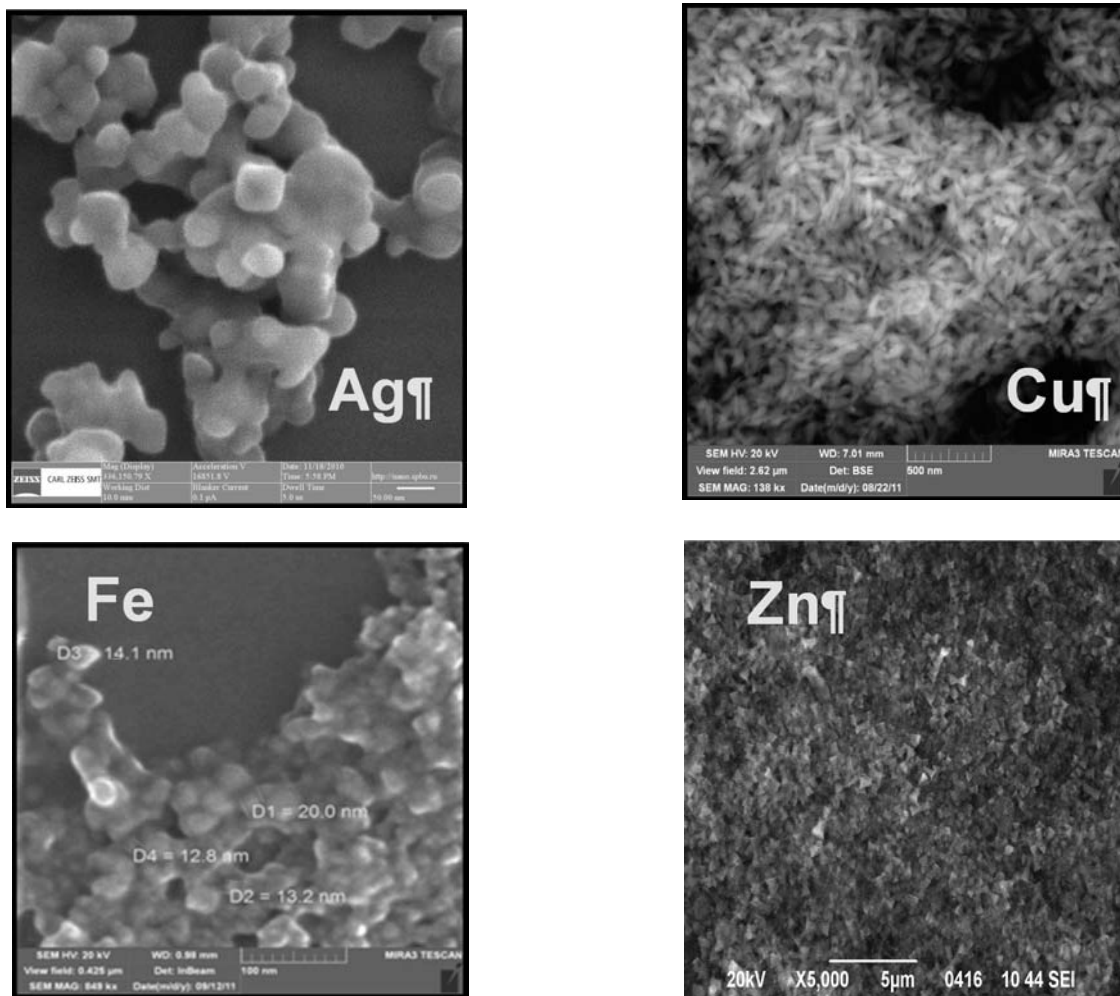


Рис. 2. Електронна мікроскопія (SEM) наночастинок Ag, Fe, Cu, Zn.

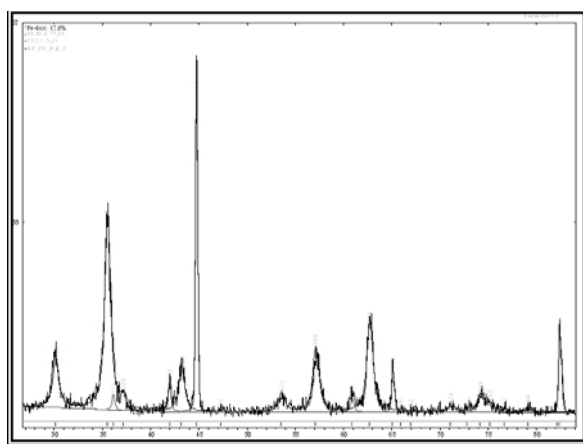
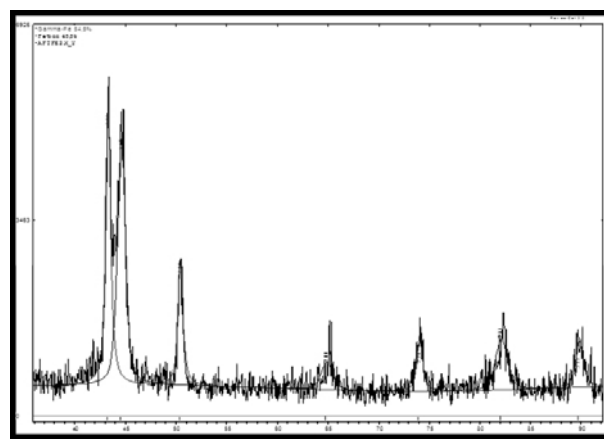
а) $Fe_a=18\%$, $FeO=5\%$, $Fe_3O_4=77\%$ б) $Fe_a=45,5\%$, $Fe_\gamma=54,5\%$

Рис. 3. Фазовий склад частинок заліза (залежно від енергії розряду): а) до 1 Дж; б) до 10 Дж.

метал має специфічні особливості утворення дисперсної фази, з урахуванням теплофізичних властивостей, таких як теплоємність, температура плавлення та випаровування.

Так, наприклад, для міді характерні продовгуваті частинки з коефіцієнтом форми $K\alpha \sim 4,5$. Імовірно, з цим пов'язано утворення двох піків (рис. 1б) на кривій статистичного розподілу частинок міді за розміром.

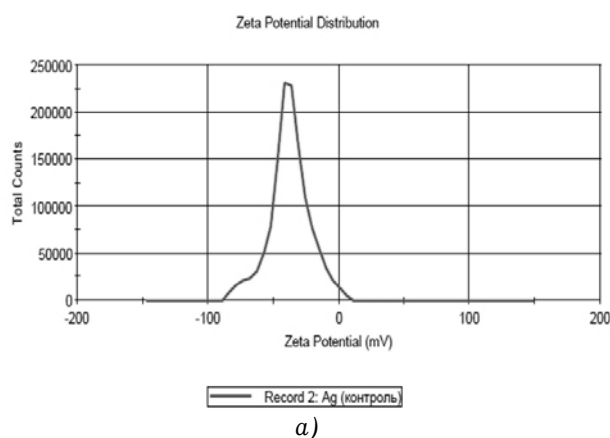
Фазовий склад частинок металів (рис. 3) відповідає умовам і параметрам отримання та змінюється в широкому діапазоні. Зі збільшенням енергії розряду збільшується співвідношення між оксидною та металевією фазами в бік останньої на металевій поверхні, та, як видно з аналізу дифрактограм залізних частинок, відбувається утворення метастабільної фази γ -заліза, що свідчить про нерівноважний термодинамічний стан частинок заліза.

За рахунок утворення щільної пасивуючої

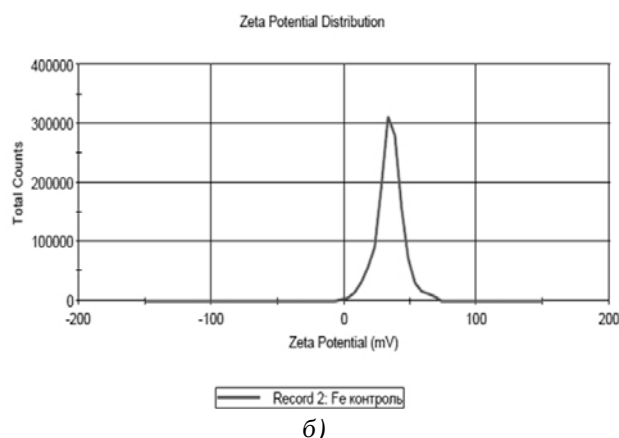
оксидної плівки на поверхні металевієї фази частинки та відповідного значення електрокінетичного потенціалу (ζ -потенціалу, рис. 4) забезпечується відносна агрегативна стабільність досліджуваних колоїдів металів.

Питання можливого використання препаратів на основі наночастинок у біотехнологіях, носієм яких є водні дисперсії металів, певним чином пов'язано з фізико-хімічними властивостями колоїдних розчинів, впливом зовнішніх факторів на їхні характеристики та біологічну функціональність таких матеріалів. Ефективність застосування наночастинок обумовлена не тільки розмірним фактором, а й більш інтенсивною взаємодією частинок з оточуючим середовищем і генерацією катіонів відповідних металів.

Відомо, що і величина, і знак електрокінетичного потенціалу є чутливими характеристиками колоїдних систем [10, 11]. Зміна рН се-



а)



б)

Рис. 4. Значення ζ -потенціалу на поверхні колоїдних частинок Ag і Fe.

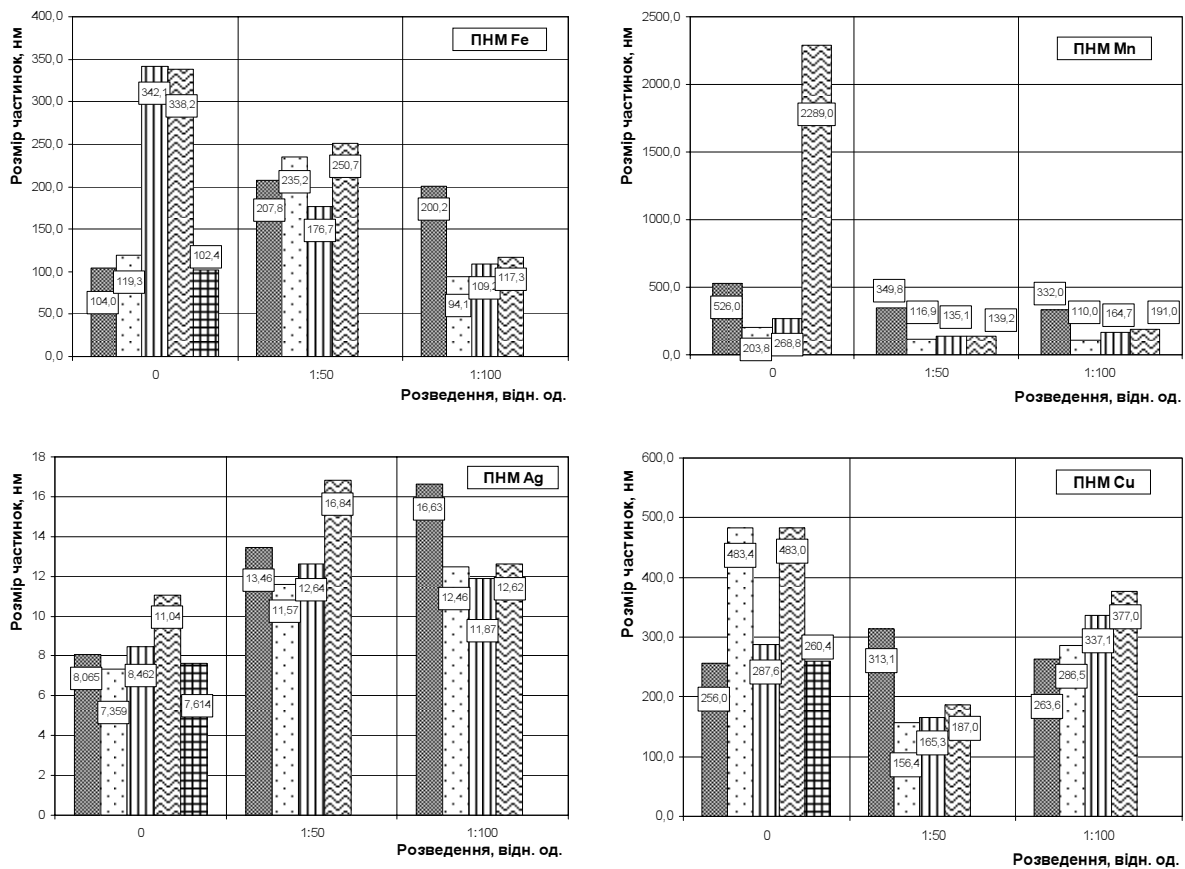


Рис. 5. Розподіл розмірів частинок препаратів наночастинок металів (ПНМ) після обробки ультразвуком в залежності від розведення і витримки:

■ - ПНМ (контроль); ▣ - ПНМ + УЗ; ▤ - ПНМ + УЗ (24 год експозиції);
▥ - ПНМ + УЗ (7 днів експозиції); ▧ - ПНМ контроль (14 днів експозиції)

редовища суттєво впливає на розподіл іонів у подвійному електричному шарі, особливо в дифузійній частині міцели. Крім того, ζ -потенціал змінюється залежно від концентрації колоїдного розчину. За високих концентрацій відбувається його зменшення внаслідок стиснення дифузійного шару за рахунок збільшення концентрації протиіонів у розчині. При незначних розведеннях спостерігається збільшення товщини дифузійного шару внаслідок зменшення концентрації протиіонів у системі. Та при великих розведеннях колоїдів спостерігається десорбція потенціалвизначальних іонів з твердої поверхні частинок унаслідок зменшення іонної сили розчину, що викликає падіння ζ -потенціалу [12].

Аналіз відомих робіт з агрегативної та кінетичної стійкості колоїдних систем і наші дослідження фізико-біологічних властивостей водних дисперсій наночастинок металів [8], указують на їх специфічні властивості, в за-

лежності від способу отримання. Наявність щільної пасивуючої плівки на поверхні твердої фази й утворення гідратної оболонки, що оточує міцелу, не завжди дає змогу реалізувати очікувану високу активність наночастинок. Одним із можливих способів інтенсифікації взаємодії дисперсної фази з іншими об'єктами є ультразвукова обробка, яка не тільки сприяє гомогенізації отриманих суспензій, подрібнюючи агломерати, а й впливатиме на міцелу й гідратну оболонку, що її оточує.

З метою виявлення закономірностей впливу фізичного чинника на структуру та властивості водних дисперсій металів проводили обробку колоїдних розчинів ультразвуковими коливаннями на установці УЗДН-А з частотою 22 кГц. Час обробки становив 60 с.

Здобуті результати свідчать про неоднозначний характер впливу ультразвукової обробки на кінетику коагуляційної стійкості колоїдів металів. Так, безпосередній вплив на

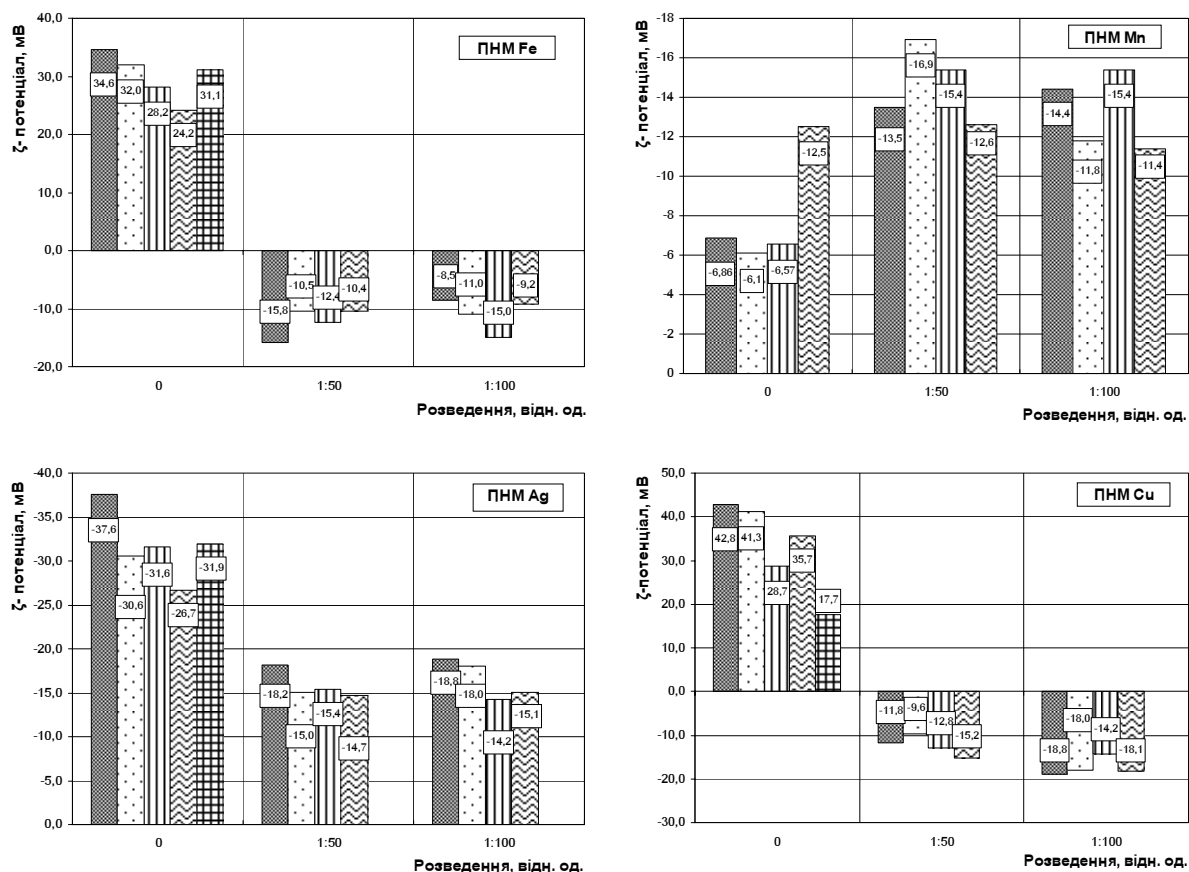


Рис. 6. Розподіл ζ-потенціалу препаратів наночастинок металів (ПНМ) після обробки ультразвуком в залежності від розведення і витримки:

■ - ПНМ (контроль); ▨ - ПНМ + УЗ; ▩ - ПНМ + УЗ (24 год експозиції); ▪ - ПНМ + УЗ (7 днів експозиції); ▧ - ПНМ контроль (14 днів експозиції)

руйнування агрегатів спостерігається тільки на розчині марганцю (рис. 5), у той час як обробка концентрованого колоїду міді, навпаки, викликає утворення агрегатів. Залізо й особливо срібло виявляють меншу чутливість до впливу ультразвуку безпосередньо в процесі обробки. Однак у розчині заліза при експозиції 24 год відбувається помітна коагуляція, яку не можна пояснити тільки зменшенням ζ-потенціалу (рис. 6), величина якого майже не змінилася. Розведення нативного розчину додає до кінетики коагуляції свій вплив і в якійсь мірі нівелює обробку ультразвуком, особливо це спостерігається на залізі та марганці. Чутливими до розведення виявились розчини міді та заліза, у яких відбувається перезарядка поверхні твердої фази і зменшення величини ζ-потенціалу в усьому діапазоні вимірювання.

Збільшення вдвічі ζ-потенціалу спостерігається на частинках марганцю після тривалої експозиції (рис. 6), суттєво впливає на збіль-

шення ζ-потенціалу розведення вихідного розчину. Срібло реагує на обробку ультразвуком невеликим зменшенням ζ-потенціалу, однак при розведеннях цей потенціал зменшується майже вдвічі, у цілому зберігаючи агрегативну і кінетичну стійкість.

Здобуті результати частково дають пояснення попередніх дослідів біологічного випробування нанопрепаратів, зокрема спостереження індивідуальності до біологічних об'єктів або неочікуваної їхньої токсичності. Незважаючи на привабливість самої ідеї застосування наноматеріалів у різноманітних галузях, що повинно різко підвищити ефективність використання ресурсів та, відповідно, їх економію, ці матеріали потребують усебічного вивчення для мінімізації ризиків і негативних наслідків використання.

Нами було проведено лабораторний дослід з вивчення токсичності міді в розчині наносполуку у порівнянні з розчинами солі. Як джерела міді було використано сіль міді CuSO_4 (ГОСТ

Таблиця 1

Фітотоксичність різних сполук міді на сорти пшениці

Сорти пшениці	Вода (контроль)	CuSO ₄ (60 мг/л)	Колоїд міді (60 мг/л)	НІР ₀₅
	Середні значення схожості (5 діб, 10 мл рідини)			
Елегія миронівська	85	99	96	5,24
Струна миронівська	76	75	84	—
Багіра	89	91	91	—

Таблиця 2

Вплив сполук міді на деякі морфологічні показники проростків сорту Елегія миронівська

Довжина частини рослини, см	Вода (контроль)	CuSO ₄ (60 мг/л)	Колоїд міді (60 мг/л)	НІР ₀₅
Корінець	9,5	1,2	1,8	1,01
Паросток	5,7	3,4	3,9	1,35

4165–78) з концентрацією 60 мг/л і наносполуки міді з концентраціями 60 мг/л (Патент України № 38459 «Маточний колоїдний розчин металів», Патент України № 38461 «Пристрій для отримання колоїдних розчинів ультрадисперсних металів»).

У досліді було використано 3 сорти пшениці: Елегія миронівська, Струна миронівська та Багіра (оригінація — Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України).

Метод визначення фітотоксичності міді базується на здатності проростків пшениці реагувати на наявність важких металів у різних середовищах. Для досліді в чашки Петрі поміщали по 25 зерен і змочували їх відповідно дистильованою водою, розчином солі міді або наноміддю в об'ємі 10 мл. Насіння пророщували протягом 5 діб. Повторність досліді трьохкратна. Статистичну обробку даних проводили за Доспеховим з використанням програми «Agrostat».

На досліджуваних сортах пшениці (табл. 1) не спостерігалось очевидної фітотоксичності при застосуванні солі міді чи наносполук у концентрації 60 мг/л, що свідчить про високу потребу цієї культури в цьому елементі. У подальших дослідженнях ми плануємо дещо підвищити концентрації та провести польовий дослід для моделювання реальних умов вирощування пшениці.

Було проведено оцінку впливу різних сполук міді на морфологічні особливості проростків пшениці сорту Елегія миронівська (табл. 2) і виявлено чіткий прояв фітотоксичності солі міді та наносполук на ріст і розвиток паростків та корінців.

Середнє значення довжини корінців у зразках із сіллю міді становило 1,2 см, а з наносполуками міді — 1,8 см, тоді як у досліді з водою воно було на рівні 9,5 см. Отже, достовірної різниці між різними сполуками міді не спостерігалось статистично, проте було виявлено значне пригнічення кореневого росту при їхньому застосуванні.

Отже, нами був встановлений вияв фітотоксичності на корінці та проростки пшениці сорту Елегія миронівська, причому за застосування солі міді довжина корінців була в 7,9 раза нижча, а наносполук — 5,3, а проростків у 1,7 та 1,5 раза відповідно. Це свідчить про деяку нижчу токсичність наносполук порівняно із солями міді.

Були також досліджені фунгіцидна і бактерицидна активність нанорозчину Ag. Фунгіцидні концентрації колоїдного срібла визначали суспензійним методом. Для цього готували водні розчини наносрібла у відповідних молярних концентраціях (10⁻⁴, 10⁻⁶, 10⁻⁸, 10⁻¹⁰, 10⁻¹² М) і змиви суспензій спор із семи добових культур грибів роду *Trichoderma virens*, які містили 120 діаспор у 0,2 см³ (робоче розведення). Контролем слугували культури грибів із робочим розведенням.

Підготовлені розчини наносрібла в кількості 1,5 мл змішували з робочим розведенням культур грибів у кількості 1,5 мл, витримували протягом 30 хв і висівали глибинно на суслоагар. Посіви культивували в термостаті при температурі 27 °С упродовж 14 діб. Спостереження проводили через 3, 7, 5, 10 та 14 діб. Облік результатів здійснювали за наявності чи відсутності росту грибів.

Вплив нанорозчину срібла на ріст грибів (суспензійний метод), $n=3$

Повторення	Контроль КУО/мл	Розведення розчину, моль				
		10	10	10	10	10
1	752	-	92	185	264	63
2	520	-	56	32	82	58
3	452	-	-	180	74	98
середнє	575	-	74	132	140	73

Примітка. Вихідна концентрація нанорозчину Ag – $7,4 \times 10^{-4} M$.

Аналіз результатів мікробіологічних досліджень дає підстави констатувати, що при експозиції 30 хв рекомендовані концентрації затримують ріст культур грибів, а в усіх розведеннях препарату відбувається значне зменшення кількості колоній (табл. 3).

На рис. 7 наведено результати дослідження

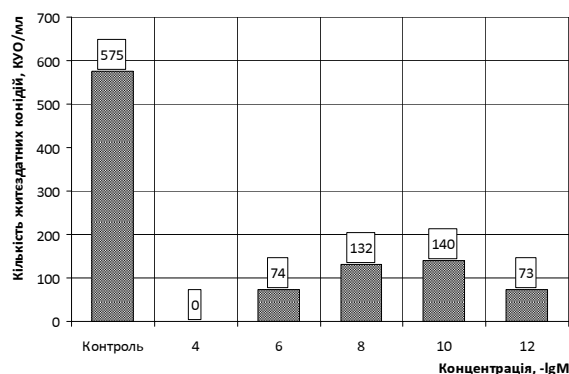


Рис. 7. Фунгіцидна активність наносрібла по відношенню до *Trichoderma virens*.

фунгіцидної дії нанорозчину срібла на чисті культури мікроміцетів (*Trichoderma virens*) в залежності від концентрації. Привертає увагу той факт, що зі зменшенням концентрації срібла спостерігається нелінійна залежність його фунгіцидної дії, що не знаходить чіткого пояснення та повинна стати предметом подальших досліджень.

Висновки. Препарати наночастинок металів, отримані методом електроерозійного диспергування у воді за своєю препаративною формою, морфологічними ознаками, структурно-фазовим складом потенційно є біологічно доступним матеріалом для використання в біотехнологіях. Досягнути максимальної ефективності застосування наноматеріалів можна за допомогою різних фізичних і хімічних методів впливу на субстанції, що містять наночастинки.

Надійшла в редакцію 02.12.2012 р.

Investigation of structure and biological activity of aqueous solutions of metal nanoparticles

V.V. Olishevsky¹, K.G. Lopatko², Yu.O. Dashkovsky¹, Y.G. Aftandilyants², A.I. Marinin¹, S.N. Zakharchenko³, N.N. Bilera², S.V. Tkachenko¹, O.M. Gonchar², I.V. Zhitnitsky¹

¹ National University of Food Technologies
68, Volodymirs'ka Str., Kyiv, 01601, Ukraine

² National University of bioresources and nature management of Ukraine
12, Geroiv Oborony Str., Kyiv, 03041, Ukraine

³ Institute of Electrodynamics National Academy of Sciences of Ukraine
56, Peremohy Ave., Kyiv, 03057, Ukraine

Summary. The described method of dispersing electro conductive materials for specific formulations of nanomaterials and possible long-term storage of chemical and biological activity. The results of the study of structure and properties of nanoparticles in aqueous solution (colloidal). A study on the toxicity of copper in solution nanocomposites compared with solutions of salts on wheat. Investigated fungicidal and bactericidal activity of silver on microorganisms nanosolutions genus *Trichoderma virens*. Established that the investigated nanomaterials in their formulations, morphological characteristics, structural-phase composition, potentially biologically available material for use in biotechnology.

Keywords: aqueous solutions of metal nanoparticles, spark discharges, ζ -potential, ultrasonic vibrations, fungicidal activity.

Перелік літератури

1. Шпак А.П., Куницкий Ю.А., Карбовский В.Л. Кластерные и наноструктурные материалы. — К: Академперіодика, 2001. — 588 с. — Т. 1.
2. Физикохимия ультрадисперсных систем: [сб. трудов IV Всерос. конф. / под ред. В.Ф. Петрунина]. — М.: МИФИ, 1999. — 334 с.
3. Глуценко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов // Химическая физика. — 2002. — Т. 21, № 4. — С. 79-85.
4. Zhu M.-T., Feng W.Y., Wang B., et. al. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats // Toxicology. — 2008. — Vol. 247, Iss. 2-3. — PP. 102-111.
5. Shcherba A.A., Zakharchenko S.N., Suprunovskaya N.I., Shevchenko N.I. The influence of repetition rate of discharge pulses on electrical resistance of current-conducting granular layer during its electric-spark treatment // Технічна електродинаміка. — 2006. — № 2. — С. 10-14.
6. Щерба А.А., Захарченко С.М., Супруновська Н.І. та ін. Стабілізація режимів електротехнологічних систем для отримання іскроерозійних мікро- та нанопорошків // Технічна електродинаміка. Тематичний випуск «Силовая електроніка та енергоефективність». — 2006. — Ч. 1. — С. 120-123.
7. Захарченко С.Н., Шевченко Н.И., Яцук С.А., Шевченко С.Н. Влияние параметров генератора и технологических условий получения искроэрозийных порошков на их характеристики и стабильность процесса // Пр. Ін-ту електродинаміки НАН України: Зб. наук. пр. — Київ: ІЕД НАНУ, 2008. — № 20. — С. 54-55.
8. Щерба А.А., Захарченко С.М., Varany S. и др. Кинетика агрегации и седиментации искроэрозийных наноструктурных частиц металлов в гидрозолях // Технічна електродинаміка. Тематичний випуск Силовая електроніка та енергоефективність. — 2009. — Ч. 3. — С. 20-26.
9. Щерба А.А., Захарченко С.Н., Лопатко К.Г. и др. Разрядно-импульсные системы производства нанокolloидных растворов биологически активных металлов методом ОЭИД // Праці Інституту електродинаміки НАН України. — 2010. — № 26. — С. 152-160.
10. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы: [Учебник для вузов], 2-е изд. — М.: Химия, 1988. — 464 с.
11. Фізична та колоїдна хімія : [навчальний посібник] / А.І. Костржицький, О.Ю. Калінков, В.М. Тіщенко, О.М. Берегова. — К: Центр учбової літератури, 2008. — 496 с.
12. Фізична хімія / [В.В. Манк, Л.С. Ковалевська, О.М. Мірошников та ін.]. — К.: НУХТ, 2003. — 90 с.