

УДК 535.212

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КОГЕРЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ НАНОЧАСТИЦ В КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРАХ

© 2019 г. Т. Ю. Могильная^{1,2, *}, А. М. Васильев^{1,2}, Д. Ю. Кукушкин^{1,2}, А. Г. Ботиков³

¹Закрытое акционерное общество “СЭРВЭТ”, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

“Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)”, Москва, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение “Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи” Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

*E-mail: mogilnay@mail.ru

Поступила в редакцию 01.10.2018 г.

После доработки 20.11.2018 г.

Принята к публикации 20.01.2019 г.

Рассмотрено применение нелинейных методов когерентной спектроскопии для контроля состояния коллоидных растворов наночастиц (Ti, Ni, Ag) используемых для улучшения характеристик суперконденсаторов, а также для определения влияния наносеребра на вирус гепатита С. Приведены примеры спектров коллоидного раствора серебра, в двух фазовых состояниях: наносеребра и серебра в мелкодисперсной фазе.

DOI: 10.1134/S0367676519050466

ВВЕДЕНИЕ

Проведено исследование, направленное на возможность применения метода модуляционной спектроскопии для контроля состава и переходных процессов, происходящих при получении коллоидных растворов наночастиц (Ti, Ni), которые осаждаются потом на нитях ткани из углеродного материала, используемого в качестве электродов в суперконденсаторах, для уменьшения его удельного сопротивления. Помимо этого, метод применяли для исследования вирулицидного действия коллоидного серебра на вирус гепатита С с целью определения предельной концентрации раствора.

Ранее была разработана установка для создания коллоидных растворов металлов импульсно-дуговым методом. Проблема состояла в том, что не при всех режимах работы установки частицы в растворе переходили в наносостояние, а представляли собой раствор пониженной дисперсности. Обычные методы исследования, такие как исследование спектров пропускания или исследование под микроскопом плохо применимы на практике.

Метод модуляционной оптической спектроскопии широко применяют в настоящее время для контроля квантоворазмерных полупроводни-

ковых структур. Сущность модуляционной спектроскопии состоит в том, что анализируется не сам спектр, а его модуляционная составляющая или производная по данному параметру. Одна из разновидностей этого метода представляет собой анализ спектров вынужденного рассеяния Мандельштамма Бриллюэна (ВРМБ). ВРМБ – процесс неупругого рассеяния света на акустических фонах, генерируемых за счет взаимодействия падающей волны и волны вынужденной люминесценции. При этом рассеянное излучение лавинообразно нарастает. Рассеяние излучения в результате брэгговской дифракции происходит с доплеровским сдвигом в длинноволновую область, т.е. мы имеем стоксовую или антистоксовую составляющую, интенсивность которой является функцией концентрации исследуемого компонента. Модуляция показателя преломления оптической среды осуществляется по закону бегущей волны.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ СПЕКТРОВ ВРМБ

Схема экспериментальной установки приведена в работе [1]. В качестве возбуждающего излучения было взято излучение от трех полупроводниковых одномодовых лазеров с длинами

Таблица 1. Результаты эксперимента по отработке режимов работы установки для синтеза наночастиц серебра в жидкой среде

Режим	1	2	3	4	5
Длительность импульса, мкс	0.25	0.6	0.8	0.9	1
Частота резонансного контура, МГц	14	11.4	8.2	6.7	3.8
Седиментационная устойчивость, нед.	0.5	1	2...3	4...6	> 10
Цветовые характеристики	Светло-серый	Насыщ. серый	Насыщ. серый с легким желтым оттенком	Коричнево-желтый	Насыщ. желтый, прозрачный

волн 0.67, 0.83 и 1.015 мкм. На спектроанализаторе фирмы AGILENT были исследованы спектры пропускания растворов вплоть до концентраций серебра 10^{-8} кг · л⁻¹. Для получения количественных значений концентрации растворенного вещества (серебра), результаты были обработаны с помощью специализированной программы обработки данных ORIGIN.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЖИМОВ ПОЛУЧЕНИЯ КЛАСТЕРОВ ТОКОПРОВОДЯЩИХ МАТЕРИАЛОВ В ЖИДКИХ СРЕДАХ С ЗАДАННЫМИ ПАРАМЕТРАМИ

Импульсный электрический разряд в жидкости – процесс с большой концентрацией энергии. По существу, это электрический взрыв с очень быстрым выделением большого количества энергии в малом объеме канала разряда, появившимся под действием высокого электрического потенциала между электродами. Чтобы получить электрогидравлический эффект (ЭГЭ), необходимо на выходе блока питания установки сформировать электрический импульс напряжения, который имеет достаточно короткий передний фронт (несколько нс), для того чтобы обеспечить сравнительно малый период следования импульсов. Также, после инициирования пробоя, задний фронт импульса напряжения должен быть длительностью порядка нескольких мкс, так как он будет соответствовать по времени переднему фронту зарождающегося в этот момент тока разряда, который и определяет силу ударной волны.

Установка для генерации коллоидных растворов состоит из реактора, блока управления, высоковольтного блока питания электродов и воздушного разрядника. Конструктивно реактор состоит из станины, на которой размещены узлы подвижного и неподвижного электрода, система, обеспечивающая вращения и осевое перемещение подвижного электрода с высокой точностью, а также стакана с дистиллированной водой, куда погружены подвижный и неподвижный электроды.

В виду того, что количество материалов для получения наночастиц металлов, как и жидких

сред, в которых они будут синтезированы, слишком обширное, отработку режимов работы установки решено было проводить на серебряных, никелевых и титановых электродах в дистиллированной воде. В исследовании при сохранении всех технологических параметров было решено выявить влияние следующих факторов на технологический процесс и качество получаемого продукта: длительность разрядного импульса; величина разрядного промежутка; амплитуда напряжения разрядного импульса. Основной задачей оптимизации режимов работы были: монодисперсность, седиментационная устойчивость растворов (более 6 мес.), высокая степень дисперсности (1–30 нм).

В табл. 1 представлены основные результаты эксперимента по отработке режимов работы установки для синтеза наночастиц серебра в жидкой среде при напряжениях на электродах 6–7 кВ, амплитуде разрядного тока 500 А, величине разрядного промежутка 100 мкм и скорости прокачки жидкости между электродами, 25 л · ч⁻¹.

Для выявления характера развития процесса снимали диаграммы напряжений и тока там, где это было необходимо. После проведения процесса, рабочий раствор дополнительно контролировали на цветность и концентрацию наночастиц серебра, а также седиментационную устойчивость во времени. Установлено, что по мере увеличения длительности импульса и уменьшении частоты резонансного контура цвет получаемого раствора серебра менялся от светло серого к насыщенному желтому цвету, что может служить индикатором размеров и распределения наночастиц в гидрозоле. Однако оценка цветовых характеристик растворов дает приблизительную оценку параметров растворов [2]. Насыщенный желтый цвет говорит о том, что большая часть наночастиц имеет размер в диапазоне 1–10 нм с высокой монодисперсностью.

Контроль фазового перехода определяли разработанным нами методом. Для контроля возникновения эффекта перехода частиц из мелкодисперсной фазы и выбора оптимальных режимов работы были исследованы спектры пропускания серебра в

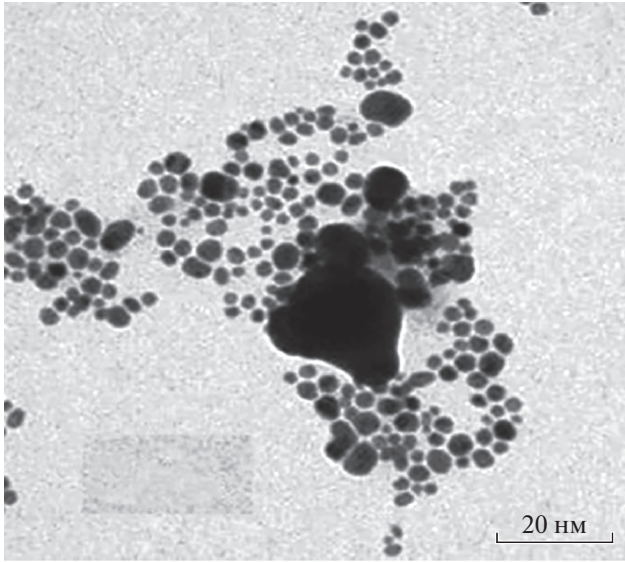


Рис. 1. Фотография наночастиц серебра (режим 5).

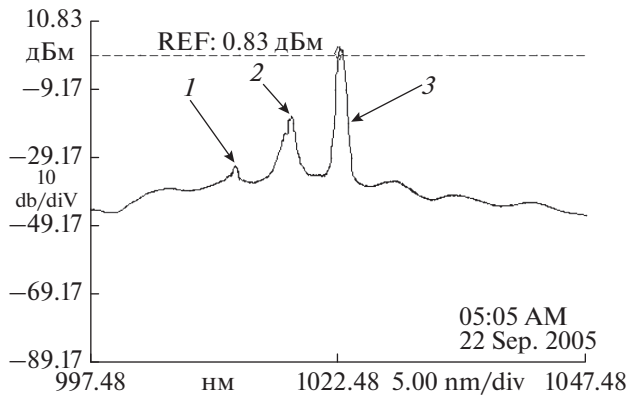


Рис. 2. Спектры распределения коллоидного серебра спектрах: 1 – кювета, 2 – лазер (1017 нм), 3 – серебро (1022 нм) (режим 5).

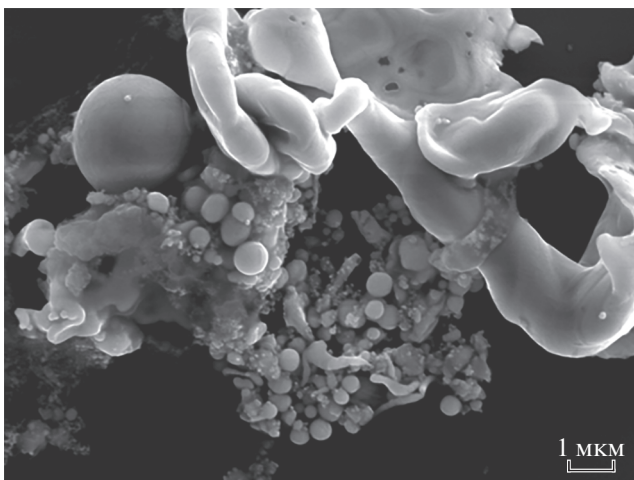


Рис. 3. Фотография раствора коллоидного серебра пониженной дисперсности (режим 1).

растворе, разбавленном до определенной концентрации для уменьшения шумов. При таких разведениях все растворы становились прозрачными. Измерения проводили при следующих концентрациях серебра: от 10 до 10^{-6} мг · л⁻¹ на трех длинах волн. Примеры полученных спектров и их сравнение с фотографиями, полученными на электронном микроскопе, приведены на рисунках 1–4.

Рисунок 1 представляет фотографию наночастиц серебра (режим 5). Рисунок 2 – спектры коллоидного серебра снятые для того же коллоидного раствора через 20 мин после приготовления для режима 5 при разведении 0.1 мг · л⁻¹. Рисунок 3 представляет фотографию раствора пониженной дисперсности того же раствора Рис. 4. Спектры коллоидного серебра длина волны возбуждения $\lambda_{ex} = 1017$ нм для режима 1 при разведении 0.1 мг · л⁻¹.

Все ВРМБ спектры коллоидных растворов наночастиц имеют узкий пик стоксовой составляющей, логарифм интенсивности которого в максимуме, является линейной функцией концентрации и интенсивность его выше интенсивности пика соответствующего лазерному излучению. Очевидно здесь проявляется эффект поверхностного плазмонного резонанса или резонанса Ми [2].

Спектры частиц серебра пониженной дисперсности имеют несколько пиков интенсивности, которые слабо зависят от концентрации растворенного серебра. При этом диагностика одного и того же раствора от времени показывает, что седиментационная устойчивость связана с концентрацией и переход в неустойчивое или немонодисперсное состояние осуществляется скачком и далеко не всегда связан изменением цвета или прозрачности раствора, однако всегда связан с резким изменением спектра. Таким образом, данный метод позволяет проводить экспресс-ди-

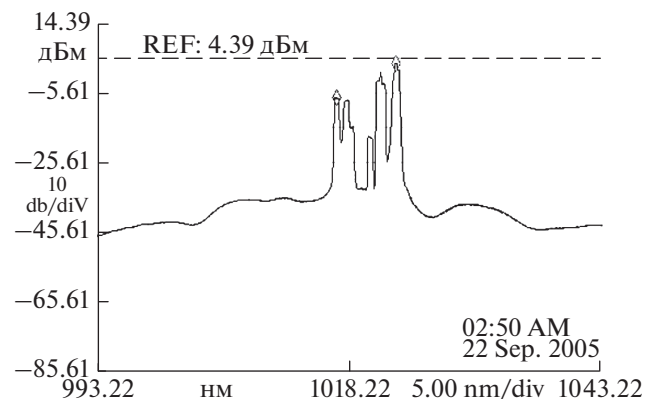


Рис. 4. Спектры коллоидного серебра длина волны возбуждения $\lambda_{ex} = 1017$ нм для режима 1 при разведении 0.1 мг · л⁻¹.

агностику полученных растворов на монодисперсность и седиментационная устойчивость.

ИССЛЕДОВАНИЯ ВИРУЛИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА НА ВИРУС ГЕПАТИТА С

К числу инфекционных заболеваний, имеющих высокую социальную значимость и биологическую опасность, относятся гепатит С. В исследованиях использовали цитопатогенный вариант ВГС штамм С-13 [3, 4] Вирус гепатита С разводился в физиологическом растворе и последовательно добавлялся к коллоидному раствору серебра.

Измерения проводили на установке, описанной в предыдущих разделах. Источником возбуждающего излучения, служат полупроводниковые лазеры с длинами волны 1017, 670, 810 нм. Излучение от этих лазеров последовательно, через оптически изолированную кювету поступала на спектроанализатор, со спектральным разрешением 0.5 нм и в память компьютера. Однако для стабильности результатов выбиралась высокая степень усреднения [5]. Запись каждого результата производится два раза через промежуток времени не менее пяти минут. Для выбора наиболее информативной длины волны, и уменьшения возможности ошибки второго рода при обработке результатов, снимались спектры вторых гармоник лазеров на 810, 670 нм, а именно 1620 и 1340 нм. В начале каждой серии экспериментов, помимо спектров несущих информацию, производили запись спектра излучения лазера, и спектра излучения, прошедшего через чистую кювету. Результаты фиксировали в памяти компьютера и распечатывали. Последующая обработка спектров проводится с помощью специализированного программного пакета статистической обработки экспериментальных данных. Для контроля возникновения эффекта и выбора оптимальных концентраций серебра, были исследованы спектры пропускания серебра и вируса в растворе воды при следующих концентрациях: серебро от 10^0 до 10^{-6} мг · л⁻¹ при концентрации вируса 10^{10} , 10^5 , 10^1 ООЕ · мл⁻¹, на всех длинах волн. В спектрах наблюдались следующие пики излучения, кюветы (1012 нм), лазера (1017 нм), гепатита С (1015 нм), серебра, (1022 нм).

В результате проведенного нами исследования поведения гепатита С в различных растворах обнаружено.

1) При возбуждении спектров вируса гепатита С лазером с длиной волны 1017 нм, в спектрах прошедшего через среду с вирусом излучения наблюдается резкое возрастание интенсивности линии с частотой 1015 нм по сравнению с интенсивностью этой линии в спектре чистой кюветы с водой. Интенсивность линии 1015 нм зависит от

содержания вируса в растворе и не зависит от свойств раствора. По-видимому, возрастание интенсивности прошедшего через среду света с длиной волны 1015 нм объясняется резонансом между этой длиной волны и ДНК вируса гепатита С.

2) При возбуждении коллоидного раствора гепатита С длиной волны 810 нм возрастание интенсивности линии с частотой 810 нм в спектрах прошедшего через среду с вирусом излучения по сравнению с интенсивностью этой линии в спектре чистой кюветы наблюдается только при содержании гепатита С в среде в концентрации *mid*. Для выяснения причин этого явления необходимо дополнительное исследование.

3) Все эффекты, наблюдаемые в спектрах вируса гепатита С при возбуждении волны 670 нм, связаны с особенностями генерации лазера в этом режиме.

Анализ погрешностей показывает, что результаты исследований не могут быть объяснены случайной ошибкой исследований. Наиболее важным результатом этих исследований является то, что при наличии вируса гепатита С в растворе, в спектре пропускания появляется пик излучения, содержащий составляющую на длине волны 1015–1017 нм, в более коротковолновой области, чем основное излучение, основная мода лазерного излучения при любой концентрации и при любом типе растворителя. При этом, при его концентрации равной 0.0001 г · л⁻¹, пик, соответствующий гепатиту С, исчезает, а при концентрации 1.0 г · л⁻¹ спектр серебра без вируса принимает вид, приведенный на рис 4, т.е. частицы серебра переходят из наносостояния в мелкодисперсную фазу.

Для проверки наших результатов были проведены исследования противовирусной активности препарата водного раствора коллоидного серебра в отношении вирулицидных свойств гепатита С (ВГС) проводили в культурах клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), выращенных в виде однодневного монослоя в 96-луночных панелях. Культуры клеток СПЭВ культивировали на среде 199 с добавлением 10% сыворотки эмбриона телят, 100 ед · мл⁻¹ пенициллина и стрептомицина. После заражения клеток вирусами культуры инкубировали при 37°C в термостате с подачей углекислого газа, используя среду-поддержки (состав прежний, и с добавлением 2% сыворотки эмбриона телят – для выращивания ВГС).

Цитотоксические свойства препарата РГКС изучали после воздействия различных концентраций препарата на незараженные культуры клеток СПЭВ. Результаты учитывали через 72 ч после внесения препаратов – время, когда необработанные культуры клеток СПЭВ не теряли своих морфологических свойств [3, 4].

Вирулицидную активность образцов препарата водный раствор коллоидного серебра определяли путем экспозиции нетоксических доз препарата с вирусосодержащим материалом. Для изучения вирулицидной активности препарата в отношении ВГС разные концентрации препарата водный раствор коллоидного серебра и вирусосодержащего материал в соотношении 1 : 10 инкубировали в течение 10 мин, после чего титровали остаточную инфекционную активность в культурах клеток СПЭВ, выращенных в 96-луночных панелях. Результаты учитывали после учета титров вируса, обработанного не обработанного препаратом водный раствор коллоидного серебра.

Полученные данные исследования цитотоксических свойств препарата водный раствор коллоидного серебра свидетельствуют о том, что препарат водный раствор коллоидного серебра в используемых разведениях не обладает цитотоксическими свойствами для диплоидных клеточных культур фибропластов эмбрионов кур (ФЭК) и СПЭВ.

Изучение вирулицидных свойств препарата водный раствор коллоидного серебра в отношении вируса гепатита С показало, что различные концентрации препарата обладают определенной вирулицидной активностью, т.е. способностью снижать инфекционные свойства ВГС в культурах клеток. При этом стоит отметить, что максимально разведенный препарат водный раствор коллоидного серебра (разведение 10^{-4} , соответствующее его концентрации равной $0.0001 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) в течение 10 мин экспозиции с вирусным материалом снижал инфекционную активность ВГС более чем в 1000 раз, в то время как неразведенный препарат (концентрация $1.0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) и препарат в разведении 1 : 10 снижал инфекционную активность вируса всего в 100 и в 10 раз соответственно, вследствие того, что коллоидное серебро перешло в. Обнаружено отсутствие корреляции вирулицидной активности препарата водный раствор коллоидного серебра и его используемой концентрации.

При этом было обнаружено, что эффективность проявления вирулицидных свойств препарата не находилась в прямой зависимости от концентрации препарата коллоидный раствор серебра, используемой для изучения. Часто максимально разведенный препарат ($0.0001 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) обладал большей вирулицидной активностью, чем неразведенный препарат ($1.0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$). Эти результаты совпадают с результатами, полученными оптическим методом. Препар

ат сохранял вирулицидную активность при нанесении на поверхность и высушивании в различных концентрациях ($1-0.0001 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) при длительности воздействия 1 и 6 ч. Снижение инфекционного титра – 2.5–3.5 lg.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показывают, что разработанный нами метод, основанный на ВРМБ эффекте можно успешно применять для контроля состояния наночастиц в коллоидных растворах и проводить экспресс-диагностику растворов на монодисперсность и седиментационная устойчивость.

Этот метод можно также использовать для взаимодействия нано частиц с вирусами различной природы для понижения их вируцидальной активности. Анализ спектральных характеристик показал, что наиболее подходящим информативным параметром при не инвазивной экспресс – диагностики вируса гепатита С человека является спектр, полученный при возбуждении полупроводниковым лазером с длиной волны 1017 нм. Например при (1012 нм), лазера (1017 нм), гепатита С (1015 нм), серебра (1022 нм).

Вирус гепатита С имеет пик излучения в более коротковолновой области, чем мода лазерного излучения при любой концентрации и при любом типе растворителя, что свидетельствует о том, что мы имеем дело с ВРМБ. Логарифм интенсивности пика является линейной функцией концентрации. При этом при концентрации равной $0.0001 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ пик, соответствующий гепатиту С исчезает, а при концентрации $1.0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, спектр серебра без вируса принимает вид, приведенный на рис. 4, т.е частицы серебра переходят из наносостояния в мелкодисперсную фазу и вирулицидное действие препарата снижается.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Moguilnaya T., Suminov I., Ignatov S.* // Las. Phys. Lett. 2017. V. 14. № 5. Art. № 055601.
2. *Крутиков Ю.Л., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.* // Усп. химии. 2008. Т. 77. № 3. С. 243; *Krutyakov Yu.A., Kudrinskiy A.A., Olenin A.Yu., Lisichkin G.V.* // Russ. Chem. Rev. 2008. V. 77. № 3. P. 233–257.
3. *Vacon B.R.* // J. Viral Hepatit. 2006. V. 13. P. 1.
4. *Дерябин П.Г., Львов Д.К.* // ДАН. 1998. Т. 358. № 5. С. 688.