

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ ГИДРОГЕЛЯ ПОЛИ-*n*-ВИНИЛПИРРОЛИДОН– $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

© 2021 г. А. С. Орехов<sup>1</sup>, Н. А. Архарова<sup>1</sup>, В. В. Клечковская<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

\*E-mail: klechvv@crys.ras.ru

Поступила в редакцию 09.06.2020 г.

После доработки 03.08.2020 г.

Принята к публикации 05.08.2020 г.

Методами растровой и просвечивающей электронной микроскопии исследованы особенности структуры композиционного гидрогеля поли-*n*-винилпирролидон– $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Показано, что в порошке  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , используемом для создания композита, содержатся также кристаллы в виде шестигранных призм с размером ребра  $\sim 1.8$  мкм и игольчатые кристаллы шириной до 1 мкм и длиной до 50 мкм. При формировании композита в объеме гидрогеля порошок  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  гидратируется, и лантан равномерно распределяется в матрице, но на поверхности композита формируются включения в виде “розеток” диаметром до 20 мкм, построенные из наностержней, обогащенных лантаном и кислородом. Исследования высушенных гидрогелей методом просвечивающей электронной микроскопии указывают на то, что композиционный гель и включения – “розетки” – имеют аморфную структуру.

DOI: 10.31857/S0023476121040172

### ВВЕДЕНИЕ

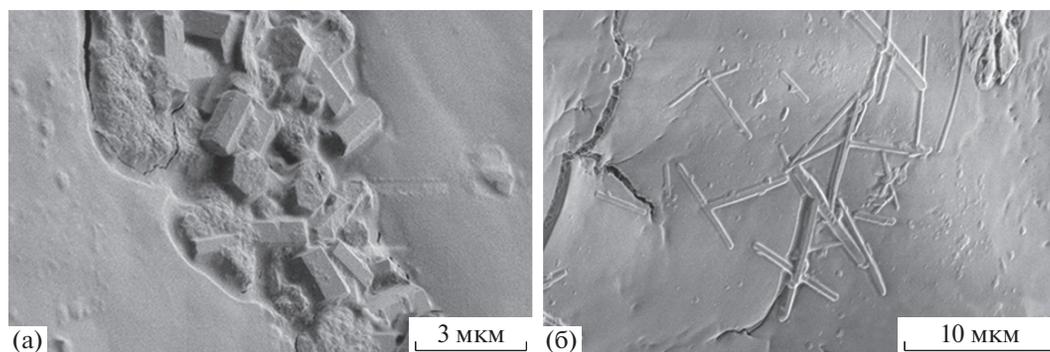
Анализ литературных данных показывает, что гидрогели являются перспективными материалами для использования в различных областях биотехнологии и биомедицины. Их производство малозатратно, они могут быть легко разработаны и удобны в обработке [1–4]. Гидрогели в качестве перевязочных материалов имеют большие преимущества перед другими покрытиями благодаря ряду свойств: они не прилипают, ускоряют заживление, легко удаляются из раны, уменьшают боли и воспаления.

Известно также, что ионы редкоземельных элементов и комплексы на их основе обладают противомикробной активностью [5–8]. Так, наночастицы на основе La проявляют антимикробные свойства относительно различных патогенных бактерий и грибов человека, особенно они активны против *Staphylococcus aureus* [9]. Высокая концентрация ионов  $\text{La}^{3+}$  может привести к повреждению внешней оболочки клеточной мембраны *Escherichia coli* и увеличить ее проницаемость. Это приводит к снижению скорости или прекращению синтеза аденозинтрифосфата и, как следствие, блокированию роста клеток *E. coli* [10]. Редкоземельные элементы от  $\text{La}^{3+}$  до  $\text{Lu}^{3+}$  имеют ионные радиусы от 1.03 до 0.99 Å. Эти величины близки к радиусу иона  $\text{Ca}^{2+}$  (1.00 Å), входящего в состав клеток бактерий. Включение этих

элементов в композит может способствовать замещению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетках бактерий ионами редкоземельных элементов, вызывая гибель бактерий [11, 12].

В [13] для повышения антимикробной активности композитного перевязочного материала было предложено включить в матрицу гидрогеля ионы редкоземельных элементов (RE). Впервые были созданы композиционные гидрогели на основе нетоксичного, биосовместимого полимера поли-*n*-винилпирролидона (ПВП)  $(\text{C}_6\text{H}_9\text{NO})_n$  с гидрофильной группой  $\text{N}=\text{C}=\text{O}$  и гидрофобной полимерной цепочкой  $\text{C}-\text{C}$  с функциональными частицами  $\text{RE}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (ПВП–RE). Были выбраны редкоземельные элементы La, Gd, Yb и показано, что новые материалы ПВП–RE действительно обладают антимикробной активностью. Отличительной особенностью композита ПВП– $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (ПВП–La) от композитов ПВП–Gd и ПВП–Yb было присутствие на его поверхности включений с размерами до 15–20 мкм в форме “розеток” (подобных цветам). Методом рентгенофазового анализа не удалось получить подробных сведений об особенностях структуры таких образований.

Цель настоящего исследования – детальная характеристика структурных особенностей композиционного гидрогеля ПВП– $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  методами электронной микроскопии.



**Рис. 1.** РЭМ-изображение исходного порошка  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : а – кристаллы в виде призм, б – игольчатые кристаллы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Композиционный гидрогель получали методом золь-гель из ПВП, сшивающего агента тетраэтоксисилана и порошка  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . При получении композиционного гидрогеля ПВП–La к 11%-ному водному раствору ПВП добавляли молочную кислоту концентрацией 0.01 мас. % (катализатор), порошок  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в количестве 5.59 мас. % и тетраэтоксисилан – 5.04 мас. % [13].

В настоящей работе морфологию порошка  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  изучали с помощью растрового электронного микроскопа (РЭМ) Scios (FEI, США). Для минимизации радиационных повреждений образца при взаимодействии с электронным пучком использовали метод низковольтной растровой электронной микроскопии (ускоряющее напряжение до 1 кВ). Для детального исследования особенностей микро- и наноструктуры “розеток” исходные композиты высушивали в электронном микроскопе. При проведении исследования этих включений в композиционном геле ПВП–La с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) методом фокусировки ионного пучка были приготовлены срезы толщиной до 100 нм. Локальный анализ высушенного до постоянной массы и перетертого в порошок до потери кристаллического блеска ПВП–La, а также поперечного среза проводили в просвечивающем электронном микроскопе Tescan Osiris FEI в режиме высокоразрешающей просвечивающей растровой электронной микроскопии с использованием высокоуглового кольцевого темнопольного детектора (ВР ПРЭМ). Карты распределения элементов в композите регистрировали с помощью энергодисперсионного рентгеновского анализатора (Super-X SDD).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследована структура исходных компонентов, используемых для получения образцов, и

сформированного композитного гидрогеля ПВП–La в нативном и высушенном состояниях. На РЭМ-изображениях порошка  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (добавляемого затем в гидрогель ПВП) обнаружены включения шестигранных призм с размером ребра  $\sim 1.8$  мкм, а также игольчатых кристаллов шириной до 1 мкм и длиной до 50 мкм (рис. 1). Анализ рентгенограмм порошка  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (PDF № 00-022-1126) показал, что эти кристаллы могут быть фазами  $\text{La}_2\text{O}_3$  (PDF № 01-074-2430) и  $\text{La}(\text{OH})_3$  (PDF № 01-083-2034) (рис. 2а).

Гидрогель представляет собой смесь твердого вещества (полимера) и жидкости (воды). По данным [14] в гидрогелях могут присутствовать четыре типа структурированной воды: *свободная вода* (1) (заполняет пространство между цепями полимера и пор и может быть легко удалена из гидрогелей в мягких условиях); *связанная вода* (2) (напрямую присоединяется к полимерной цепи посредством гидратации функциональных групп или ионов и является неотъемлемой частью структуры гидрогелей, она может быть удалена только при высоких температурах); *промежуточная вода* (3) (не присоединенная к сети гидрогелей, но физически захваченная между гидратированными полимерными цепями); *полусвязанная вода* (4) (обладает промежуточными свойствами связанной и свободной воды: слои воды могут быть включены в структуру гидрогелей, но гораздо слабее взаимодействуют с функциональными группами и ионами).

На присутствие структурированной воды указывают два диффузных пика на рентгеновской дифрактограмме нативного гидрогеля ПВП–La (рис. 2б): асимметричный пик при  $2\theta \sim 20^\circ$ , обусловленный *водой* (1) и *водой* (2), и сдвинутый в сторону больших углов диффузный пик при  $2\theta \sim 42^\circ$ , соответствующий кластерам *воды* (3). Отметим, что дифракционные пики  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  на дифрактограммах нативного ПВП–La отсутствуют. Этот факт свидетельствует о гидролизе

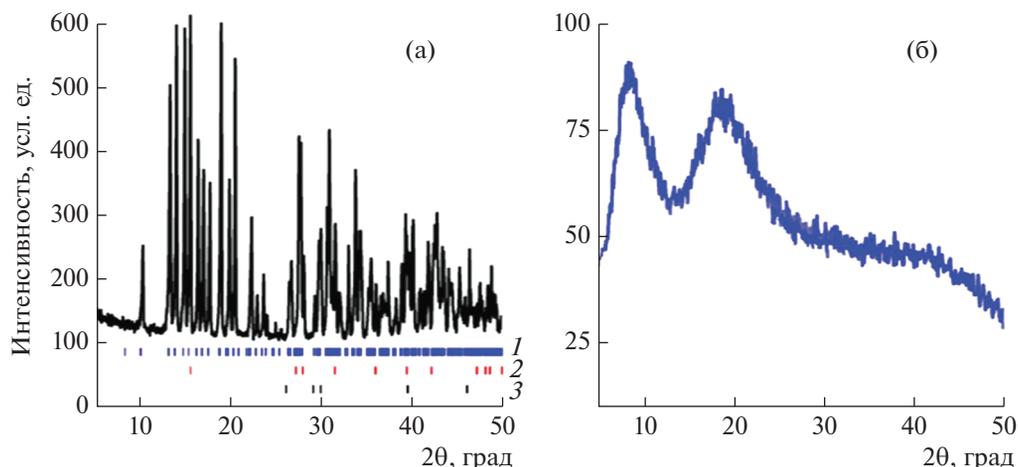


Рис. 2. Рентгеновские дифрактограммы порошка  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (а) (показаны положения рефлексов Брэгга для  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (1),  $\text{La}(\text{OH})_3$  (2),  $\text{La}_2\text{O}_3$  (3)) и нативного гидрогеля ПВП–La (б).

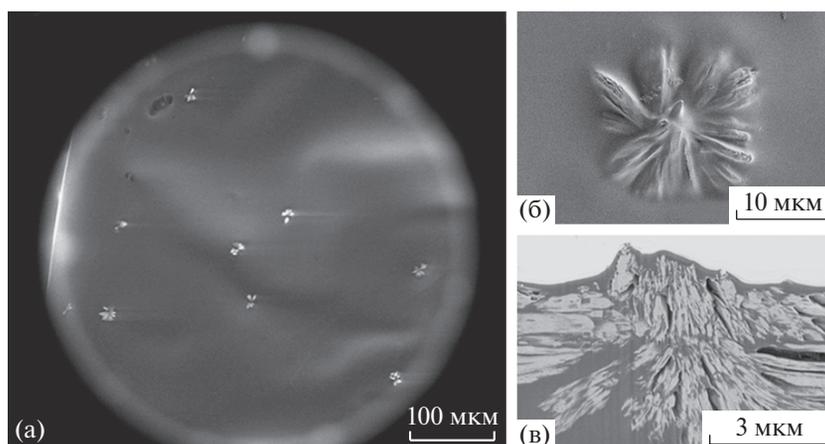


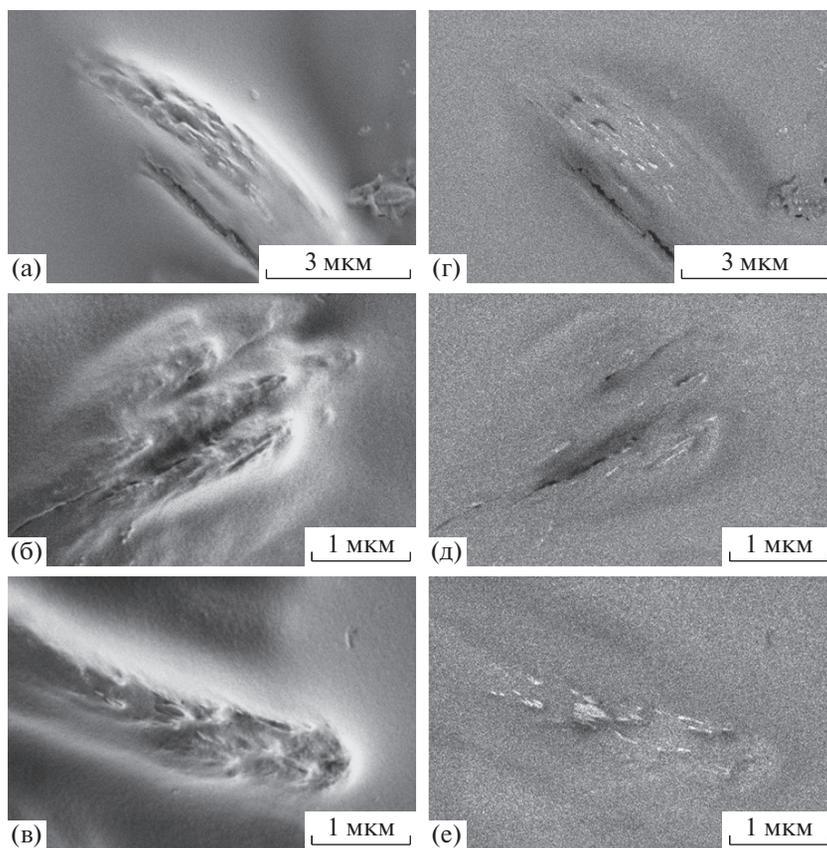
Рис. 3. РЭМ-изображение поверхности нативного композитного гидрогеля ПВП–La (а), отдельной “розетки” на поверхности высушенного ПВП–La (б) и ее поперечного среза (в) (режим обратно рассеянных электронов).

$\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  при образовании композитного гидрогеля ПВП–La.

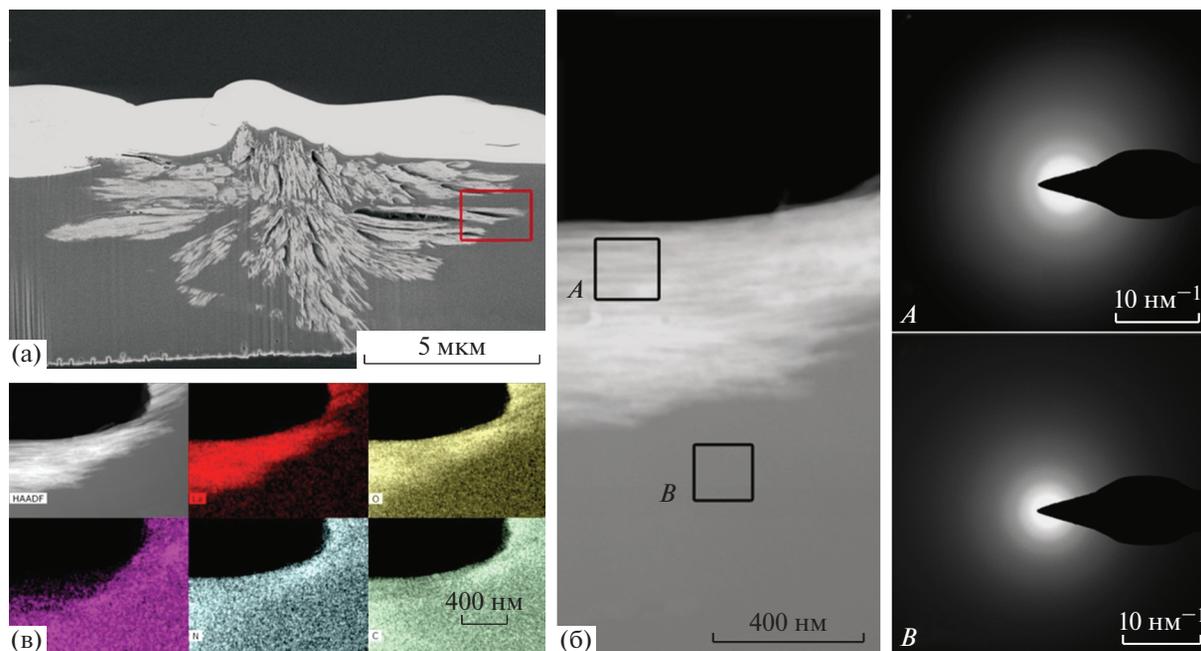
На РЭМ-изображении гладкой поверхности нативного, а также высушенного гидрогеля ПВП–La наблюдаются включения в виде “розеток” размерами до 15–20 мкм (рис. 3). РЭМ-изображения отдельной розетки размером ~10 мкм и ее поперечного среза (режим детектирования обратно рассеянных электронов) представлены на рис. 3б, 3в. Из полученных изображений следует, что такое включение – “розетка” – представляет собой объемное образование, погруженное в массу композита ПВП–La на глубину до ~5 мкм. Более светлый контраст от включения при регистрации в режиме обратно рассеянных электронов свидетельствует о том, что оно обогащено лантаном. На рис. 4 представлены РЭМ-изображения с большим увеличением отдельных “лепестков розетки”, полученные в режимах детектирования

вторичных и обратно рассеянных электронов. Видно, что каждый отдельный “лепесток” представляет собой агломерат наностержней, в каждом фрагменте которого выделяется преимущественное направление. Наностержни определяют форму агломератов в гидрогеле в целом. Области включений содержат микропоры, в то время как вне “розетки” в композиционном геле пор обнаружено не было. Можно предположить, что в процессе формирования композиционного гидрогеля происходит “локальное” перераспределение концентрации ионов лантана, приводящее к образованию “розеток”.

Для более детального анализа включений готовили утоненные образцы композита ПВП–La, которые исследовали с помощью ПЭМ (рис. 5). Анализ электронограмм области А выделенного участка лепестка наностержней и области В массива гидрогеля ПВП–La, содержащих по три



**Рис. 4.** РЭМ-изображения отдельных лепестков розетки, полученные в режиме детектирования вторичных (а) и обратно рассеянных (б) электронов.



**Рис. 5.** РЭМ-изображение поперечного среза “розетки” (а), где квадратом выделена область ПЭМ-исследования. Изображение участка *A* “розетки” и участка *B* вне ее, полученное в режиме ВР ПРЭМ, и соответствующие им дифракционные картины справа (б). Карты распределения элементов в выделенной области включения (в).

диффузных отражения с межплоскостными расстояниями  $d \sim 2.7, 1.8-1.9$  и  $1.0-1.1 \text{ \AA}$ , свидетельствует об аморфном состоянии всего образца с элементами ближнего порядка (рис. 5б).

На рис. 5в представлено картирование по элементам La, O, Si, C, N выделенной области поперечного среза “розетки” высушенного гидрогеля ПВП–La, откуда следует, что наностержни, формирующие лепестки “розетки”, обогащены не только лантаном, но и кислородом. Кроме того, анализ данных энергодисперсионного рентгеновского анализа участков A и B, выделенных из массива композита и включения, показал, что область “розетки” содержит элементы C (54 ат. %), O (29 ат. %), N (4 ат. %), Si (0.5 ат. %) и La (10 ат. %), а область гидрогеля вне “розетки” – C (53 ат. %), O (14 ат. %), N (6 ат. %), Si (3.7 ат. %) и La (2 ат. %).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Электронно-микроскопическое исследование композиционного гидрогеля ПВП–La показало, что при формировании материала в объеме гидрогеля кристаллический порошок  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  гидролизует, и лантан равномерно распределяется в матрице ПВП. Однако на поверхности композита формируются включения в виде “розеток” размерами до 20 мкм, построенные из наностержней, обогащенных лантаном и кислородом. Таким образом, согласно данным энергодисперсионного рентгеновского анализа ионы лантана распределяются неравномерно по поверхности гидрогеля ПВП–La. Можно говорить о нижней и верхней границах концентрации La на поверхности – вне “розеток” (как и в объеме нативного гидрогеля ПВП–La) присутствует  $\sim 2$  ат. % ионов  $\text{La}^{3+}$ , и дополнительно во включениях их концентрация достигает  $\sim 10$  ат. %. Согласно литературным данным при увеличении концентрации редкоземельных элементов усиливается ингибирование роста бактерий. Вероятно, именно факт высокой концентрации лантана во включениях – “розетках” – на поверхности композита способствует более высокой антимикробной активности гидрогеля ПВП–La, что было отмечено в [13] при сравнении с полученными в аналогичных условиях гидрогелями ПВП–Gd, ПВП–Yb, на поверхности которых подобные включения отсутствовали.

Авторы выражают благодарность профессору Г.М. Кузьмичевой за предоставление образцов для исследования и плодотворное обсуждение результатов.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в части электронно-микроскопических исследований на оборудовании ЦКП “Диагностика материалов” ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” и Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 18-03-00330).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kamoun E.A., Kenawy E.S., Chen X.* // J. Adv. Res. 2017. V. 8. № 3. P. 217.  
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>
2. *Xiang J., Shen L., Hong Y.* // Eur. Polym. J. 2020. V. 130. P. 109609.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109609>
3. *Koehler J., Brandl F.P., Goepferich A.M.* // Eur. Polym. J. 2018. V. 100. P. 1.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.12.046>
4. *Marieta M.-P., Magyari K., Vulpoi A.* // Adv. Mater. Res. 2019. V. 1151. P. 9.  
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1151.9>
5. *Wakabayashi T., Yamamoto A., Kazaana A. et al.* // Biol. Trace Elem. Res. 2016. V. 174. P. 464.  
<https://doi.org/10.1007/s12011-016-0727-y>
6. *Lekha L., Kanmani Raja K., Hariharan R. et al.* // Appl. Organomet. Chem. 2015. V. 29. P. 90.  
<https://doi.org/10.1002/aoc.3250>
7. *Cota I., Marturano V., Tylkowski B.* // Coord. Chem. Rev. 2019. V. 396. P. 49.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.05.019>
8. *Hui Yu, Qizhuang He, Jing Yang et al.* // J. Rare Earths. 2006. V. 24. № 1. P. 4.  
[https://doi.org/10.1016/S1002-0721\(07\)60309-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0721(07)60309-3)
9. *Gayathri S., Ranjithkumar R., Balaganesh A.S. et al.* // Kong. Res. J. 2016. V. 3. № 1. P. 1.  
<https://doi.org/10.26524/krj115>
10. *Liu G., Ran Z., Wang H. et al.* // Front. Chem. China. 2008. V. 3. P. 70.  
<https://doi.org/10.1007/s11458-008-0010-7>
11. *Hirano S., Suzuki K.T.* // Environ Health Perspect. 1996. V. 104. P. 85.  
<https://doi.org/10.1289/ehp.96104s185>
12. *Pidcock E., Moore G.R.* // J. Biol. Inorg. Chem. 2001. V. 6. P. 479.  
<https://doi.org/10.1007/s007750100214>
13. *Timaeva O.I., Arkharova N.A., Orekhov A.S. et al.* // Polymer. 2020. V. 186. P. 122079.  
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.122079>
14. *Pasqui D., De Cagna M., Barbucci R.* // Polymers. 2012. V. 4. P. 1517.  
<https://doi.org/10.3390/polym4031517>