

УДК 553.924

ПЛАЗМОХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ НАНОРАЗМЕРНЫХ БАКТЕРИЦИДНЫХ ЧАСТИЦ ПОД ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИИ

© 2021 г. Н. А. Бульчев^{1,2,*}, Ю. В. Иони^{2,3}, С. Е. Димитриева^{1,4}, С. Н. Чеботарев⁴, Л. Н. Рабинский²

¹Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва, Россия

²Московский авиационный институт (Национальный исследовательский университет), Москва, Россия

³Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Россия

⁴Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского, Москва, Россия

*E-mail: nbulychev@mail.ru

Поступила в редакцию 31.05.2021 г.

После доработки 06.08.2021 г.

Принята к публикации 13.09.2021 г.

Показано, что комбинированное воздействие на жидкую среду ультразвуковыми колебаниями высокой интенсивности (выше порога кавитации) и импульсными или стационарными электрическими полями приводит к возникновению в кавитирующей жидкой среде особой формы плазменного разряда. Этот тип разряда является новым, малоизученным до сих пор физическим явлением, обладающим оригинальными электрофизическими и оптическими характеристиками. В таком разряде были синтезированы наноразмерные частицы оксидов цинка, алюминия, меди, титана и железа с размерами 20–50 нм в зависимости от материала с узким распределением по размерам. Показано, что синтезированные наноразмерные частицы обладают антибактериальной активностью в отношении патогенных микроорганизмов, при этом антибактериальная активность усиливается под действием интенсивного ультразвука.

DOI: 10.31857/S0040364421050021

ВВЕДЕНИЕ

В связи с широким использованием и исследованиями наноразмерных материалов с самым разным составом и свойствами актуальным является развитие методов их направленного синтеза, обеспечивающих требуемые характеристики наночастиц. Среди физических методов получения наночастиц с высокой локальной концентрацией энергии важное место занимают методы, основанные на использовании интенсивных ультразвуковых колебаний в жидких средах для синтеза и диспергирования наноматериалов [1–3]. Не менее распространенным является применение для синтеза наночастиц электрических разрядов в различных средах: дуга в газовой фазе, в электролитах и т.д. [4–7].

Однако в последние годы появился ряд экспериментальных работ отечественных и зарубежных авторов, в которых для синтеза наночастиц различного химического состава (металлов и их оксидов, углеродных наночастиц и т.д.) используются одновременно два вида физического воздействия на вещество: электрический разряд в жидкой фазе и ультразвуковые колебания высокой интенсивности [8, 9]. Это представляет значительный интерес и преимущества для создания наноразмерных частиц с особыми свойствами, так как позволяет направленно варьировать электрофизические и

акустические характеристики процесса и осуществлять новые плазмохимические реакции. Практическим следствием рассмотрения данного процесса является создание метода направленного синтеза значимых веществ.

Целью данной работы является исследование антибактериальной эффективности синтезированных с помощью такого метода наночастиц в продолжение исследований, опубликованных ранее [10–14].

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ В ПЛАЗМЕННОМ РАЗЯДЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИИ

Отличительным признаком и существенным преимуществом данного подхода является то, что одновременное воздействие на зону реакции термически неравновесной плазмой и ультразвуковой кавитацией приводит к созданию условий, недостижимых в других случаях, и обуславливает протекание реакций при локальной концентрации большого количества энергии и активных частиц. В таком разряде впервые можно осуществить большое количество плазмохимических реакций, характеристики которых, очевидно, будут зависеть от параметров плазменного разряда и ультразвукового поля [10–14].

Использование ультразвуковой кавитации позволяет также решить задачу предотвращения агломерации синтезированных в разряде частиц и активирует их поверхность, создавая на ней дополнительные активные центры. Последнее способствует, например, последующему эффективно-му взаимодействию таких частиц с органическими соединениями и дает возможность создавать гибридные органо-неорганические наноматериалы. Особенно важно, что высокоэнергетические воздействия позволяют синтезировать наночастицы с большим количеством нескомпенсированных связей, зарядов, дефектов и активных центров, способных к быстрому и эффективному взаимодействию с неорганическими и (био)органическими агентами [14].

Повышение активности поверхности наночастиц в результате ультразвуковой обработки имеет большое значение для исследования их антибактериальной активности: очевидно, что, являясь более активными при взаимодействии с органическими полимерами [13, 14], наночастицы после ультразвуковой активации будут более активны и во взаимодействии с клеточными мембранами [15]. Наночастицы и их агрегаты могут прикрепляться к клеточной мембране и взаимодействовать с поверхностными рецепторами, что приводит к внедрению наночастиц в клетки. Механический стресс из-за взаимодействия клеток с наночастицами может нарушить целостность клеточной мембраны и повлиять на гомеостаз ионов и активность связанных с мембраной рецепторов и ферментов [15–17]. Внутриклеточное накопление наночастиц приводит также к повреждению ДНК, изменению конформации ДНК из-за связывания наночастиц и в итоге к гибели клеток.

Получение наноразмерных частиц в настоящей работе осуществлялось при помощи плазмохимических процессов принципиально нового типа, которые определяются сочетанием воздействия на жидкие среды термически неравновесной низкотемпературной плазмы и ультразвуковых колебаний в режиме развитой кавитации.

Метод реализации плазмохимических превращений в акустоплазменном разряде — перспективный путь получения различных соединений. Новым экспериментальным подходом в данном направлении является совместное влияние импульсных и стационарных электрических разрядов и ультразвуковой кавитации на жидкофазные среды. Для этого в реакционную камеру экспериментальной установки введены по меньшей мере два стержневых или пластинчатых электрода и хотя бы один ультразвуковой излучатель таким образом, чтобы зона кавитации приходилась на межэлектродное пространство [10].

Кроме того, ультразвуковые колебания высокой интенсивности способствуют возникновению в жидкофазных средах интенсивных акустических течений, что приводит к ускорению диф-

фузионных процессов в зоне реакции и повышает ее скорость. Это энергетически выгодный способ осуществления плазмохимических реакций, стимулированный термически неравновесной плазмой, производящей активные частицы — возбужденные молекулы и радикалы. Активные частицы позволяют инициировать цепные реакции, в том числе и энергетически разветвленные, и за счет этого существенно ускорить процесс синтеза наночастиц и понизить температуру, при которой такая конверсия может происходить.

Синтез наночастиц оксидов меди, титана, железа, цинка и алюминия проводился акустоплазменным методом в водной среде [13]. В качестве исходных материалов использовались металлические стержни, изготовленные из соответствующего металла. Синтез наночастиц серебра и углеродных наноструктур проводился в среде жидких углеводородов — гексане и толуоле. Для возбуждения и поддержания акустоплазменных разрядов с заданными характеристиками в жидкофазных средах была разработана схема, согласно которой поджиг плазменного разряда осуществлялся в экспериментальной установке путем перемещения введенных в камеру разрядных электродов до касания электродов (электрического контакта) и затем разведения их на необходимое для поддержания устойчивого разряда расстояние 1–3 мм. Оптимальными параметрами разряда являются: напряжение 20–80 В, ток 4–8 А, удельная мощность ультразвука 1–2 Вт/см³.

Малый размер и высокая агрегативная устойчивость наночастиц позволяли получать относительно устойчивую водную дисперсную систему без применения каких-либо стабилизаторов. В ходе данной работы были найдены устойчивые к агрегации и седиментации дисперсные системы наночастиц, неизменные в течение достаточно длительного времени (до двух месяцев) и со средним размером частиц менее 50 нм.

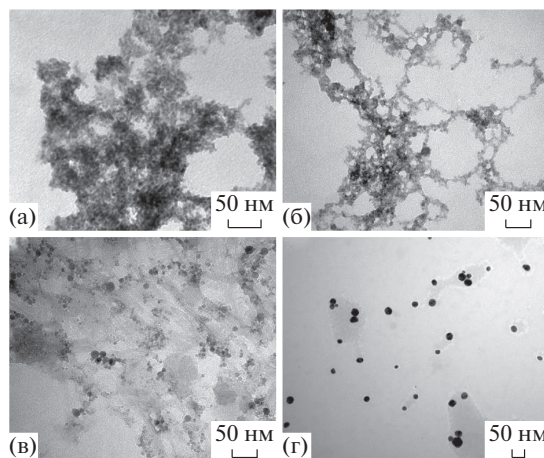
Полученные наночастицы были исследованы на просвечивающем электронном микроскопе Carl Zeiss LEO 912 AB OMEGA (рисунок).

Изучение исходных частиц методом электронной микроскопии показало, что, во-первых, при синтезе получаются частицы в основном сферической формы. Сферическая форма является типичной для наночастиц исследуемых материалов, кроме того, образование частиц сферической формы может быть объяснено минимальной поверхностью сферы по сравнению с другими формами и, следовательно, минимальной энергией поверхности. Это согласуется с данными других работ по получению наноразмерных частиц оксидов металлов сферической формы [18–25]. Во-вторых, методом электронной микроскопии показано, что при агрегации частицы не укрупняются в размерах, а образуют составные агрегаты, что делает возможным дальнейшую работу с ними после обработки суспензии ультразвуком.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОЧАСТИЦ

В результате проведенных исследований получены наноразмерные частицы оксидов титана, цинка, алюминия, меди и железа, а также серебра и оксида графена. Антибактериальная эффективность синтезированных наночастиц в виде суспензии исследовалась при температуре 22–27°C и влажности 30–70% в течение двух недель после синтеза. Суспензии хранились в плотно закрытых флаконах из темного стекла. Эффективность бактерицидного действия проверялась в отношении тест-культуры *Salmonella enteridis* 667.

Микробная суспензия готовилась путем добавления стерильного физиологического раствора в количестве 10 см³ в пробирку со скошенным агаром с культивируемым штаммом. Для проведения опыта в каждую пробирку с 10 см³ суспензии исследуемых наночастиц вносилось 0.1 см³ микробной суспензии. Пробирки с наночастицами и микробной суспензией выдерживались 5, 20, 60 мин при постоянном перемешивании. По истечении указанной продолжительности воздействия 0.5 см³ смеси суспензии наночастиц и культуры высевалось в питательную среду. Культивирование проводилось 24 ч при 37°C. При отсутствии роста при комнатной температуре через 48 ч окончательный результат оценивался через пять суток.



Фотографии наночастиц оксида меди (а), оксида железа (б), оксида алюминия (в), серебра (г).

При этом наблюдался рост микроорганизмов при контакте с суспензиями Al₂O₃, CuO, Fe₂O₃, отсутствие роста при контакте с суспензиями TiO₂ и ZnO при времени экспозиции 60 мин и отсутствие роста при контакте с суспензиями Ag и оксида графена (табл. 1).

Для исследования влияния ультразвукового воздействия на антибактериальную активность наночастиц, а также для предотвращения коагуляции наночастиц перед экспериментом суспензии нано-

Таблица 1. Антибактериальная активность наночастиц при 7×10^4 КОЕ/см³ микробной суспензии *Salmonella enteridis*

Наименование суспензии	Количество микробных клеток, КОЕ/см ³		
	эксперимент 1, экспозиция – 5 мин	эксперимент 2, экспозиция – 20 мин	эксперимент 3, экспозиция – 60 мин
TiO ₂	Рост	Рост	Нет роста
ZnO	Рост	Рост	Нет роста
Al ₂ O ₃	Рост	Рост	Рост
CuO	Рост	Рост	Рост
Fe ₂ O ₃	Рост	Рост	Рост
Ag	Нет роста	Нет роста	Нет роста
Оксид графена	Нет роста	Нет роста	Нет роста

Таблица 2. Антибактериальная активность наночастиц после ультразвуковой обработки при 7×10^4 КОЕ/см³ микробной суспензии *Salmonella enteridis*

Наименование суспензии	Количество микробных клеток, КОЕ/см ³		
	эксперимент 1, экспозиция – 5 мин	эксперимент 2, экспозиция – 20 мин	эксперимент 3, экспозиция – 60 мин
TiO ₂	Рост	Нет роста	Нет роста
ZnO	Рост	Нет роста	
Al ₂ O ₃	Рост	Рост	
CuO	Рост	Рост	
Fe ₂ O ₃	Рост	Рост	
Ag	Нет роста	Нет роста	
Оксид графена	Нет роста	Нет роста	

частиц были подвергнуты ультразвуковой обработке (2 мин, 1 Вт/см³, 20 кГц) перед контактом с микроорганизмами. В остальном процедура эксперимента не менялась. Результаты представлены в табл. 2.

Из полученных данных видно, что наблюдался рост микроорганизмов при контакте с суспензиями Al₂O₃, CuO, Fe₂O₃ при экспозиции 5 и 20 мин и отсутствие роста при экспозиции 60 мин, а для TiO₂ и ZnO наблюдалось отсутствие роста при времени экспозиции 20 и 60 мин и отсутствие роста при контакте с суспензиями Ag и оксида графена. Таким образом, исследования антибактериальной активности наночастиц при контакте с микроорганизмами позволили подтвердить бактерицидные свойства наночастиц. Выявлено, что ультразвуковое воздействие активизирует поверхность наночастиц и усиливает их бактерицидные свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе показано, что методы физического воздействия с высокой энергией на процессы получения наночастиц: ультразвуковая кавитация, плазма и, в особенности, их сочетание – являются перспективными путями получения функциональных наночастиц. Наибольшую антибактериальную активность продемонстрировали наночастицы Ag и оксида графена. Показано, что использованное ультразвуковое воздействие активизирует поверхность наночастиц и усиливает их бактерицидные свойства.

Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП НИЦ “Курчатовский институт” – ИРЕА.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 2020-1902-01-288 (соглашение № 075-15-2020-775).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bang J.H., Suslick K.S.* Applications of Ultrasound to the Synthesis of Nanostructured Materials // *Adv. Mater.* 2010. V. 22. Iss. 10. P. 1039.
2. *Costa J.M., Neto A.F.D.* Ultrasound-assisted Electrodeposition and Synthesis of Alloys and Composite Materials: A Review // *Ultrason. Sonochem.* 2020. V. 68. P. 105193.
3. *Hinman J.J., Suslick K.S.* Nanostructured Materials Synthesis Using Ultrasound // *Top. Curr. Chem.* 2017. V. 375. Iss. 1. P. 12.
4. *Ishigami M., Cumings J., Zettl A., Chen S.* Plasma in Liquids // *Chem. Phys. Lett.* 2000. V. 319. P. 457.
5. *Hsin Y.L., Hwang K.C., Chen F.R., Kai J.J.* Nanoparticles Obtained by Plasma Discharge // *Adv. Mater.* 2001. V. 13. P. 830.
6. *Balek R., Pekarek S., Bartakova Z.* Power Ultrasound Interaction with DC Atmospheric Pressure Electrical Discharge // *Ultrason. Sonochem.* 2006. V. 44. P. 549.
7. *Sano N., Wang H., Alexandrou I., Chhowalla M., Teo K.B.K., Amaratunga G.A.J.* Properties of Carbon Onions Produced by an Arc Discharge in Water // *J. Appl. Phys.* 2002. V. 92. Iss. 5. P. 2783.
8. *Ghomi H., Yousefi M., Shahabi N., Khoramabadi M.* Ultrasonic-assisted Spark Plasma Discharge for Gold Nanoparticles Synthesis // *Radiat. Eff. Defects Solids.* 2013. V. 168. Iss. 11. P. 881.
9. *Askarinejad A., Alavi M.A., Morsali A.* Sonochemically Assisted Synthesis of ZnO Nanoparticles: A Novel Direct Method // *Iran J. Chem. Chem. Eng.* 2011. V. 30. Iss. 3. P. 75.
10. *Булычев Н.А., Казарян М.А., Гриднева Е.С., Муравьев Э.Н., Солинов В.Ф., Кошелев К.К., Кошелева О.К., Сачков В.И., Чен С.Г.* Плазменный разряд с объемным свечением в жидкой фазе под действием ультразвука // *Краткие сообщения по физике.* 2012. Т. 39. № 7. С. 39.
11. *Булычев Н.А., Казарян М.А., Чайков Л.Л., Ивашкин П.И., Захарян Р.А., Аверюшкин А.С., Чернов А.А.* Влияние ультразвуковой кавитации на динамику и характеристики электрического разряда в жидкости // *Краткие сообщения по физике.* 2017. Т. 44. № 2. С. 33.
12. *Klassen N., Krivko O., Kedrov V., Shmurak S., Kiselev A., Shmyt'ko I., Kudrenko E., Shekhtman A., Bazhenov A., Fursova T., Abramov V., Bulychev N., Kisterev E.* Laser and Electric Arc Synthesis of Nanocrystalline Scintillators // *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 2010. V. 57. P. 1377.
13. *Булычев Н.А., Казарян М.А., Чайков Л.Л., Бурханов И.С., Красовский В.И.* Наноразмерные частицы оксидов металлов, полученные в плазменном разряде в жидкой фазе под действием ультразвуковой кавитации. 1. Метод получения частиц // *Краткие сообщения по физике.* 2014. Т. 41. № 9. С. 18.
14. *Булычев Н.А., Казарян М.А., Никифоров В.Н., Шевченко С.Н., Якунин В.Г., Тимошенко В.Ю., Быченко А.Б., Средин В.Г.* Особенности наночастиц оксидов металлов, полученных в акустоплазменном разряде // *Письма в ЖТФ.* 2016. Т. 42. № 9. С. 105.
15. *Mahmoodi A., Ghoranneviss M., Asgary S.* Preparation and Antibacterial Activity Studies of TiO₂ Nanostructured Materials // *High Temp.* 2019. V. 57. № 2. P. 289.
16. *Luo Z., Li Z., Xie Z., Sokolova I.M., Song L., Peijnenburg W.J.G.M., Hu M., Wang Y.* Rethinking Nano-TiO₂ Safety: Overview of Toxic Effects in Humans and Aquatic Animals // *Small.* 2020. V. 16. 2002019.
17. *Vakurov A., Drummondbrayson R., Ugwumsinachi O., Nelson A.* Significance of Particle Size and Charge Capacity in TiO₂ Nanoparticle-lipid Interactions // *J. Colloid Interface Sci.* 2016. V. 473. P. 75.
18. *Панасюк Г.П., Белан В.Н., Ворошилов И.Л., Козерожец И.В.* Превращение гидраргиллит → бемит // *Неорг. материалы.* 2010. Т. 46. № 7. С. 831.
19. *Панасюк Г.П., Лучков И.В., Козерожец И.В., Шабалин Д.Г., Белан В.Н.* Влияние предварительной термической обработки и легирования кобальтом гидраргиллита на кинетику перехода гидраргиллит–корунд в сверхкритическом водном флюиде // *Неорг. материалы.* 2013. Т. 49. № 9. С. 966.
20. *Козерожец И.В., Панасюк Г.П., Семенов Е.А., Васильев М.Г., Ивакин Ю.Д., Данчевская М.Н.* Влияние кислой среды на гидротермальный синтез бемита // *Журн. неорг. химии.* 2020. Т. 65. № 10. С. 1325.
21. *Панасюк Г.П., Козерожец И.В., Ворошилов И.Л., Белан В.Н., Семенов Е.А., Лучков И.В.* Термодинамические свойства и роль воды в дисперсионных оксидах в процессе превращения прекурсор–бемит на примере гидроксида и оксида алюминия в гидротермальных условиях в различных средах // *ЖФХ.* 2015. Т. 89. № 4. С. 605.
22. *Панасюк Г.П., Семенов Е.А., Козерожец И.В., Белан В.Н., Данчевская М.Н., Никифорова Г.Е., Ворошилов И.Л., Першиков С.А., Азарова Л.А.* Новый метод синтеза наноразмерных порошков бемита (AlOОН) с низким содержанием примесей // *Докл. РАН.* 2018. Т. 483. № 1. С. 55.
23. *Kozerozhets I.V., Panasyuk G.P., Semenov E.A., Avdeeva V.V., Ivakin Yu.D., Danchevskaya M.N.* New Approach to Prepare the Highly Pure Ceramic Precursor for the Sapphire Synthesis // *Ceram. Int.* 2020. V. 46. Iss. 18. P. 28961.
24. *Panasyuk G.P., Azarova L.A., Belan V.N., Semenov E.A., Danchevskaya M.N., Voroshilov I.L., Kozerozhets I.V., Pershikov S.A., Kharatyan S.Yu.* Methods for High-purity Aluminum Oxide Production for Growth of Leucosapphire Crystals (Review) // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2019. V. 53. Iss. 4. P. 596.
25. *Панасюк Г.П., Козерожец И.В., Семенов Е.А., Азарова Л.А., Белан В.Н., Данчевская М.Н.* Новый метод получения наноразмерного порошка γ-Al₂O₃ // *Журн. неорг. химии.* 2018. Т. 63. № 10. С. 1286.