

**ЗАПАДНОЕ ОКРУЖНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
ДЕПАРТАМЕНТА ОБРАЗОВАНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ**

**Государственное Образовательное Учреждение
Средняя Общеобразовательная Школа № 37**



Саитов Дамир Артурович, Завацкий Денис Владимирович

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОАЛМАЗОВ
В ХРОМАТОГРАФИИ И МЕДИЦИНЕ**

Исследовательская работа учеников 8Г класса
в направлении

«Наноалмаз, синтез, модифицирование, практическое использование»

Научный руководитель:
учитель химии ГОУ СОШ № 37
А.В. Карпухин

**Москва
2011**

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Глава 1. Литературный обзор	5
1. Общие сведения об алмазе	5
2. Химический состав поверхности алмаза	5
3. Химическое модифицирование поверхности алмаза	8
3.1. Гидрирование поверхности алмаза	8
3.2. Окисление поверхности алмаза	9
Глава 2. Методическая часть	11
1. Объект исследования	11
2. Методы исследования поверхности УДА-СФ	12
2.1. Просвечивающая электронная микроскопия	12
2.2. Конфокальная микроскопия	12
3. Экспериментальные методики	12
3.1. Жидкофазное окисление поверхности наноалмаза	12
3.2. Седиментационное разделение наноалмазных спёков	13
3.3. Подготовка изолированных клеток человека	13
Глава 3. Результаты и их обсуждение	13
1. Седиментационное разделение наноалмазных спёков	13
2. Визуализация внутриклеточных процессов	14
Выводы	16
Список литературы	17

ВВЕДЕНИЕ

За последние два десятилетия потребности науки и техники поставили новые качественные задачи, решение которых стало возможным только при переходе от микрометровых к нанометровым размерам частиц вещества. Интерес к наноразмерным объектам обусловлен тем, что их свойства существенно отличаются от свойств материала в массивном состоянии, для них могут проявляться принципиально новые эффекты и явления. Необходимость перехода к новым материалам стала причиной интенсивного научного на правления по получению, изучению свойств и применению разнообразных ультрадисперсных материалов (наноматериалов). В технологиях получения и применения наноматериалов все более заметную роль играют кластеры углерода, самыми многообещающими из которых являются ультрадисперсные алмазы.

Применение наноалмазов существенно улучшает качество металл-алмазных гальванических покрытий, полимер-алмазных пленок, мембран и резин, смазочных материалов; в перспективе предполагается использование наноалмазов в качестве хроматографических сорбентов, катализаторов, лекарственных препаратов пролонгированного действия (показано, что наноалмазы обладают уникальной биологической активностью) и др.

В связи с этим важную роль приобретают химические и физико-химические методы направленного модифицирования поверхности алмазных материалов. Целью такого модифицирования является получение на их поверхности преимущественно монофункционального химически закрепленного слоя вещества как органической, так и неорганической природы. Таким образом, химическое модифицирование алмазных порошков приводит к созданию нового класса перспективных материалов, поскольку в них сочетаются уникальные свойства алмаза и специфические свойства привитого химического соединения [1].

Для осуществления направленного химического модифицирования поверхности алмазных материалов, на ней должны быть однородные по химической природе функциональные группы. Такое унифицирование

поверхности может быть достигнуто путём восстановительной обработки при повышенных температурах.

Однако, получающаяся при этом поверхность имеет низкую реакционную активность. Для ее активации используют галогенирование.

В настоящее время в литературе появляется все больше и больше работ по модифицированию поверхности наноалмаза; многие из них связаны с перспективой его дальнейшего применения в медицине. Работ, описывающих сорбционные свойства наноалмазов и их спёков в литературе мало. **Целью** нашей работы стала оценка возможности применения наноалмаза детонационного синтеза в качестве сорбента для ВЖЭХ, а также в качестве носителя медицинских препаратов для направленного транспорта лекарств.

Для достижения поставленной цели нами решались следующие **задачи**:

1. Проведение анализа имеющейся литературы по химическому модифицированию наноалмаза детонационного синтеза в российских и зарубежных источниках;
2. Проведение эксперимента по изучению размеров частиц наноалмазных спёков; фракционирование частиц по размерам;
3. Проведение эксперимента по изучению взаимодействия наноалмазных частиц с живыми клетками (нейтрофилами человека).

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1. Общие сведения об алмазе

Алмаз, как природного, так и искусственного происхождения, обладает комплексом уникальных физико-химических свойств, таких как: высокая твердость, рекордно низкий коэффициент сжимаемости, большая ширина запрещенной зоны, высокая теплопроводность, высокая термическая и радиационная стойкость, а также химическая инертность. Вся совокупность этих свойств обуславливает высокий интерес к нему как к промышленно важному материалу [2].

Изначально совокупность исключительных свойств алмаза обусловлена, с одной стороны, наличием в его структуре коротких, прочных и радиально жёстких ковалентных химических связей С-С, которые, кроме того, имеют и значительную угловую жёсткость. Как раз с этим связаны экстремальные механические свойства и химическая устойчивость алмаза. С другой стороны, относительно малый заряд ядра атома углерода обуславливает высокую радиационную стойкость алмаза, на 2-3 порядка превышающую радиационную стойкость кремния.

2. Химический состав поверхности алмаза

Алмаз представляет собой чистую форму полиуглеродного вещества, образованную атомами углерода в состоянии sp^3 -гибридизации, с молекулярной структурой в виде трехмерной сетки [3]. Размеры макромолекул алмаза определяются размерами его монокристалльных частиц и могут варьироваться от нескольких ангстрем до нескольких миллиметров или сантиметров при переходе от наноалмазов (ультрадисперсных детонационных алмазов - УДА) к монокристаллам [4].

Независимо от размеров монокристалльных алмазных частиц имеется одна и та же картина: в объеме частиц все атомы углерода связаны между собой ковалентными σ связями; атомы углерода на поверхности имеют незанятые орбитали ("свободные" валентности, "оборванные" связи).

Расположение и направление последних зависит от ориентации граней относительно кристаллической решетки алмаза (рис. 1) [5].

У каждого поверхностного атома углерода на гранях октаэдра и ромбододекаэдра имеется по одной свободной валентности, а на грани куба - по две. При этом они на грани $\{111\}$ перпендикулярны поверхности, а на гранях $\{110\}$ и $\{100\}$ расположены под углом $54,5^\circ$ и $35,5^\circ$, соответственно.

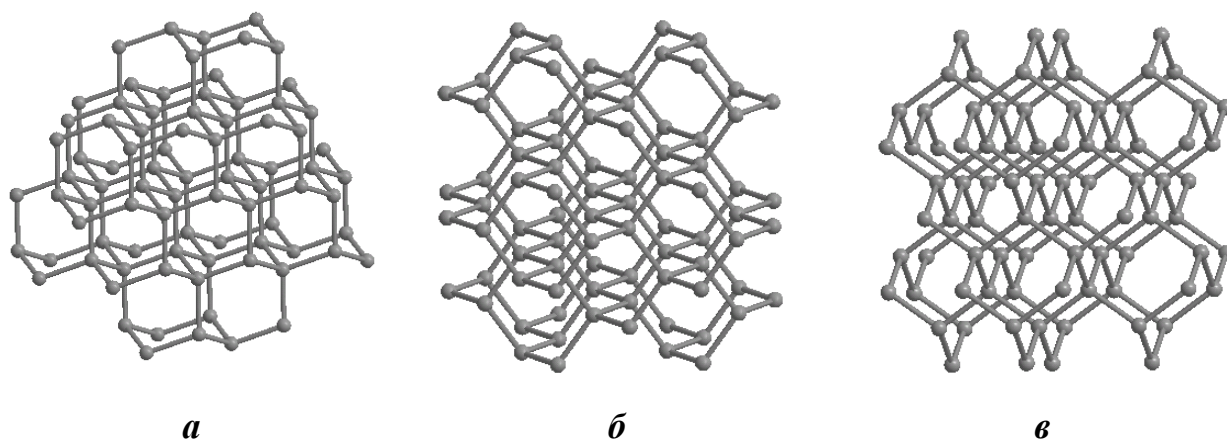


Рис. 1. Кристаллическая решетка алмаза.

Выведены грани ромбододекаэдра (а), октаэдра (б), куба (в).

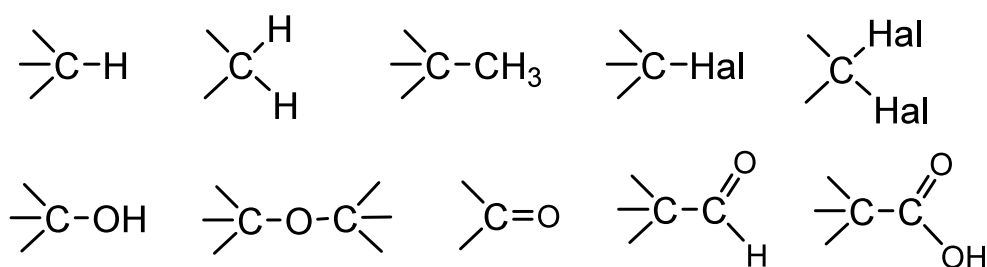
Судьба этих незанятых орбиталей может быть различной. Во-первых, то, что они останутся незанятыми, маловероятно, так как даже при раскалывании кристалла алмаза в высоком вакууме не более 1% атомов углерода на сколах имеют неспаренный электрон. Во-вторых, возможно замыкание этих "свободных" валентностей у соседних атомов углерода с образованием двойных $C=C$ связей и изменением валентного состояния этих атомов до sp^2 -состояния, так называемая реконструкция поверхности [6]. В-третьих, как это чаще всего и наблюдается, возможно насыщение этих валентностей различными атомами и функциональными группами с образованием различного функционального покрова.

Идеализируя форму частиц алмаза, можно оценить долю его поверхностных углеродных атомов. Так, например, исходя из среднего диаметра частицы УДА, равного 4,2 нм, и полагая плотность атомов углерода в алмазе $1,763 \cdot 10^{23} \text{ см}^{-3}$, легко оценить, что в сфере указанного диаметра

будут находиться ~6840 атомов углерода . Из них на поверхности сферы указанного диаметра при средней посадочной площадке одного атома в 6 (\AA)^2 будут находиться $\sim 10^3$ атомов. Таким образом, доля поверхностных атомов в идеализированной сферической частице УДА диаметром 4.2 нм составляет $\sim 15\%$. При сделанных модельных допущениях удельная поверхность УДА составляет $415 \text{ м}^2/\text{г}$, что близко к максимальным экспериментально определенным величинам удельной поверхности УДА.

Природа и плотность функционального покрова алмаза определяют многие его свойства. При этом доля поверхностных атомов ($C_{нов}$) в общем числе атомов углерода, определяющая их вклад в свойства алмаза, зависит от размеров его макромолекул. Она особенно велика у алмазных частиц наноразмеров. Например, у УДА , как показывает расчет, масса функциональных групп соизмерима с массой полиуглеродного ядра.

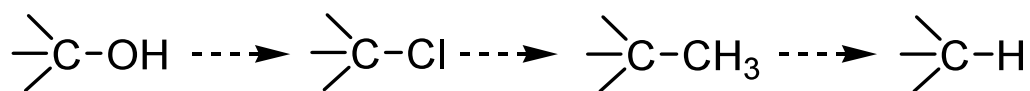
Методами ИК-спектроскопии, микрогравиметрии, дифракции электронов, рентгенофотоэлектронной спектроскопии и другими на поверхности алмаза были идентифицированы различные функциональные группы [6]:



Помимо приведённых углеводородных, галоидных и кислородсодержащих групп, синтезированные алмазы, в зависимости от условий их обработки, на своей поверхности могут содержать азотсодержащие (аминные, амидные, циано- и нитрогруппы), сульфоновые и др. группы [7].

Е.П. Смирнов и С.К. Гордеев [8] исследовали влияние состава и строения функциональных групп поверхности алмаза на адсорбцию паров

воды. Показано, что активность функциональных групп к адсорбции уменьшается в ряду:



Это связано с полярностью поверхностных группировок и склонностью их вступать во взаимодействие по типу водородных связей.

Таким образом, управляя функциональным покровом поверхности, можно влиять на физико-химические свойства алмаза.

3. Химическое модифицирование поверхности алмаза

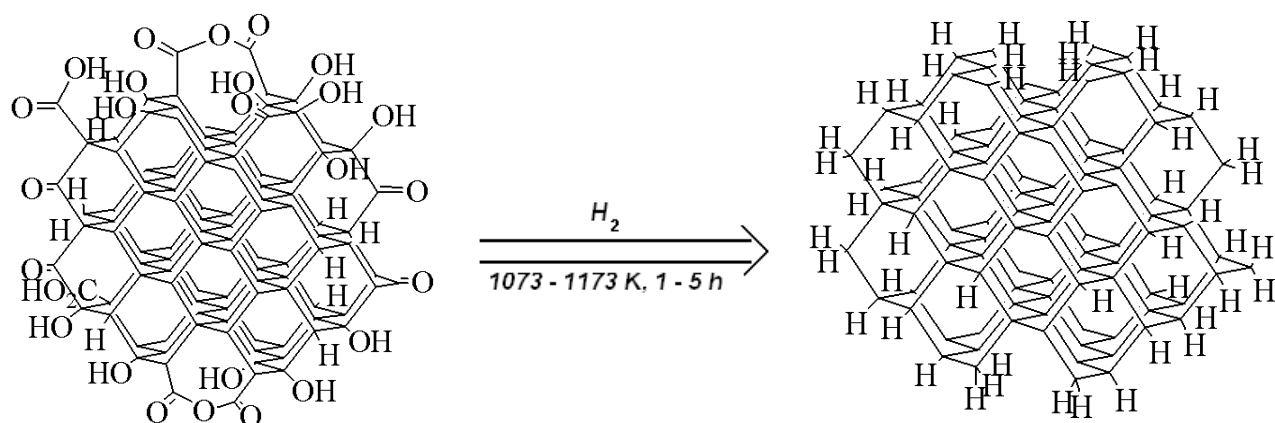
Как было показано выше, поверхность алмаза является полифункциональной, что затрудняет ее дальнейшее химическое модифицирование. Таким образом, полифункциональность поверхности вызывает необходимость унификации ее функционального покрова. Наиболее удобными способами создания унифицированной функциональной поверхности являются её гидрирование и окисление. Поскольку доля поверхностных атомов повышается с увеличением дисперсности материала, то все исследования по модифицированию алмаза выполнены преимущественно на алмазных микро- и ультрадисперсных порошках.

3.1. Гидрирование поверхности алмаза

Существует несколько способов гидрирования поверхности алмаза.

Высокотемпературная обработка водородом представляет собой один из удобных и распространенных способов унифицирования исходной поверхности как УДА, так и других алмазных материалов [9]. Гидрирование алмаза проводят посредством обработки его поверхности газообразным водородом при 1073 – 1173 К в течение 1–5 ч. В ходе восстановительной обработки происходит образование новых C –H групп на поверхности,

преимущественно за счет деструкции и восстановления кислородсодержащих групп, что показано методами ИК-спектроскопии диффузного отражения.



Помимо этого, описаны способы обработки природных кристаллов алмаза микроволновой водородной плазмой [26-28]. Этот способ является более трудоёмким и сложным в техническом исполнении. Однако, при значительно меньшем времени проведения процесса (~20-30 мин) он имеет ту же эффективность, что и обычная высокотемпературная водородная обработка.

Таким образом, и высокотемпературная водородная обработка алмаза, и его восстановление с помощью водородной плазмы, позволяют получить унифицированную поверхность, подготовленную к дальнейшим реакциям.

3.2. Окисление поверхности алмаза

Окисленная поверхность алмаза также может служить хорошей матрицей для проведения на ней различных реакций.

Жидкофазное окисление поверхности алмаза. Оксифункциональные группы на поверхности алмаза могут быть синтезированы обработкой его целым рядом жидкофазных окислителей, такими как: концентрированные кислоты H_2SO_4 , HNO_3 , $HClO_4$; смеси кислот-окислителей $HNO_3+H_2SO_4$, $HNO_3+H_2SO_4$ +олеум; расплавы солей $NaOCl$, $(NH_4)_2S_2O_8$ и другими [10].

Применение к окисленным алмазным порошкам методов щелочной нейтрализации показало, что окисленная поверхность алмаза имеет кислые свойства. Соответствие между количеством кислотных центров на поверхности алмаза, определённое методом нейтрализации раствором

гидрокарбоната натрия, и количеством г групп, вступивших в реакцию с ацилхлоридом и тионилхлоридом, указывает на присутствие на поверхности сильноокислых групп, вероятнее всего карбоксильных [8, 10].

Химико-аналитические исследования показали, что окисленный алмаз содержит карбоксильные и гидроксильные группы. Помимо этих групп, на своей поверхности алмаз содержит кислород в виде карбонильных и эфирных групп, что подтверждается характерными полосами в ИК-спектрах (полоса в области 1760 см^{-1} свидетельствует о присутствии на поверхности карбонильных, а в области 1270 и 1120 см^{-1} – эфирных групп).

Газофазное окисление. При определенных условиях в атмосфере кислорода происходит связывание последнего поверхностью алмаза по реакциям полиприсоединения с образованием оксифункциональных групп. Последующие исследования поверхностных окислов на алмазе были предприняты Бозмом и другими [11]. Используя природный алмазный порошок, они показали, что в чистом кислороде образование поверхностных окислов начинается при $260\text{ }^\circ\text{C}$. Реакции термоокислительной деструкции становились заметными выше $360\text{ }^\circ\text{C}$. Следует отметить, что максимальная концентрация присоединенного кислорода, близка к концентрации атомов углерода, выходящих на поверхность алмаза, что свидетельствует о полном насыщении углеродной поверхности оксифункциональными группами.

В настоящее время в литературе появляется все больше и больше работ по модифицированию поверхности наноалмаза; многие из них связаны с перспективой его дальнейшего применения в медицине. Целью нашей работы стала прививка к подготовленной поверхности наноалмаза детонационного синтеза биомолекулы (глицина).

ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Объект исследования

В работе использовали наноалмаз детонационного синтеза марки УДА-СФ (“мягкий”) производства ЗАО «Алмазный центр» (г. Санкт-Петербург), полученный в соответствии с ТУ 05121441-275-95. Содержание в нем алмазного (трудно окисляемого) углерода $C_{алм}$ – 98,75%, неалмазного (легко окисляемого) $C_{неалм}$ - 0,8%, зольный остаток (несгораемые примеси) составлял 0,45%; функциональный покров алмазных частиц был сформирован в процессе очистки его разбавленной азотной кислотой. Наноалмаз представлял собой серый порошок с размером агрегированных частиц <100 мкм. Микрофотография частиц наноалмаза, сделанная на сканирующем электронном микроскопе Hitachi представлена на рис. 2.

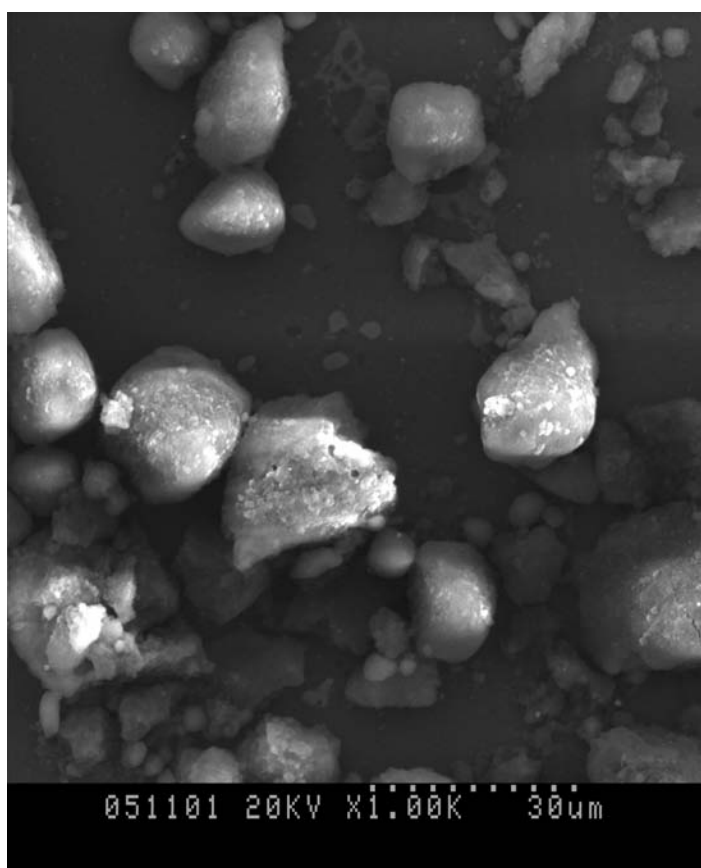


Рис. 2. *Общий вид частиц УДА-СФ.*

Также использовали пористый дисперсный алмаз (PDD) производства «АЛИТ» (г. Киев, Украина), полученный путем спекания наноалмазов

детонационного синтеза в условиях термодинамической стабильности алмаза. Образец PDD представлял собой серый порошок с размером частиц 2-7 мкм. Фракционный состав: 7-6 мкм - 13%, 6-4 мкм - 75%, 4-2 мкм - 12% (данные производителя). Величина удельной поверхности определена нами по низкотемпературной адсорбции азота $S_{уд}=217\pm 5$ м²/г.

2. Методы исследования УДА-СФ и PDD

2.1. Просвечивающая электронная микроскопия

Электронные фотографии снимали на просвечивающем (LEO912 AB OMEGA) при 120 кВ электронном микроскопе.

2.2. Конфокальная микроскопия

Для наблюдения за взаимодействием наноалмазной частицы с живой клеткой использовался оптический микроскоп Leica TCS SP5. На 20 мкл изолированных нейтрофилов человека с концентрацией 10^7 клеток/мл помещали 2 мкл люминесцирующего окисленного НА. Препарат культивировали в течение 30 мин., после чего помещали в микроскоп. Люминесценцию НА частиц регистрировали под воздействием лазера микроскопа.

3. Экспериментальные методики

3.1. Жидкофазное окисление поверхности наноалмаза

Для визуализации внутриклеточных процессов был получен люминесцирующий образец наноалмаза. К навеске УДА-ТАН массой 200 мг добавляли 10 мл смеси концентрированных серной и азотной кислот (4:1) и кипятили в течение 10 ч с обратным холодильником, добавляя по необходимости (при снижении количества выделяющегося диоксида азота) азотную кислоту. Полученную смесь промывали 0,1 М раствором NaOH, затем 0,1 М раствором HCl, и, наконец, несколько раз водой до нейтральной pH промывной жидкости (по универсальной индикаторной бумаге). Выделение алмаза проводили высушивание в чашечке Петри на воздухе.

3.2. Седиментационное разделение наноалмазных спеков

Коммерческие образцы наноалмазных спеков (PDD) состоят преимущественно из микронных частиц (1-2 мкм, 2-4 мкм и 4-6 мкм в зависимости от марки), однако помимо крупных вторичных агрегатов, в них много наноалмазной «пыли» - первичных агрегатов с размерами 100-600 нм. Для разделения PDD по размерам использовалось седиментационное фракционирование в дистиллированной воде.

3.2. Подготовка изолированных клеток человека

Визуализацию поведения наноалмазных частиц в нейтрофилах проводили на изолированных клетках, выделенных из периферической крови здоровых добровольцев стандартным методом [12]. Все доноры дали письменное согласие на участие в экспериментах.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Седиментационное разделение спеков наноалмаза

Коммерческие образцы PDD состоят преимущественно из микронных частиц (1-2 мкм, 2-4 мкм и 4-6 мкм в зависимости от марки), однако помимо крупных вторичных агрегатов, в них много наноалмазной «пыли» - первичных агрегатов с размерами 100-600 нм. Для разделения PDD по размерам использовалось седиментационное фракционирование в дистиллированной воде. В результате многократной отмывки крупных частиц от мелких, было достигнуто получение чистой фракции микронных PDD. Контроль за разделением вели с помощью просвечивающей электронной микроскопии, причем PDD на полимерную сеточку для микроскопа наносили как из водной суспензии образца, так и сухим способом (рис. 3).

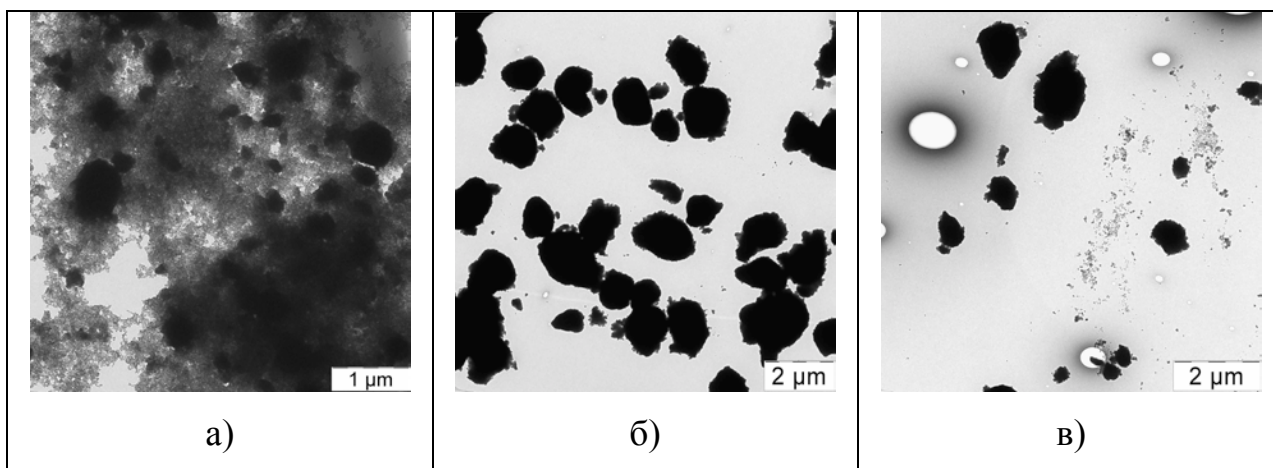


Рис. 3. Микрофотографии образцов PDD, сделанные на просвечивающем микроскопе: а) - до фракционирования, б) - после фракционирования без растирания, в) - после фракционирования с предварительным растиранием.

Как видно из рис. 3. при нанесении PDD в виде порошка помимо крупных агрегатов в обзоре видимости микроскопа наблюдается присутствие мелких частиц. Это связано с тем, что при приготовлении образца сухим способом для того, чтобы PDD лежал в одной плоскости, проводится его механическое растирание между фильтровальными бумажками. Видимо, именно это приводит к появлению мелких частиц.

2. Визуализация внутриклеточных процессов

Мы использовали модифицированный НА с окисленной поверхностью, обладающий собственной люминесценцией, для визуализации взаимодействия между клетками и НА частицами. НА частицы как прикреплялись к поверхности, так и проникали внутрь клеток (рис. 4).

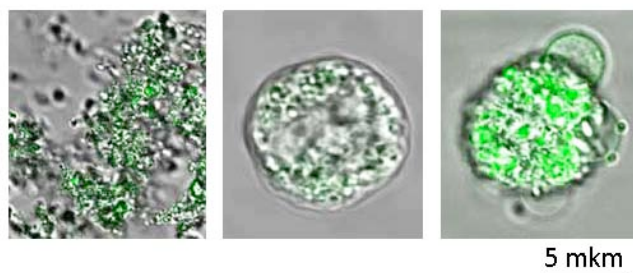


Рис. 4. Взаимодействие окисленного НА с клеткой:
а) НА, б) клетка, в) НА+клетка.

Конфокальные изображения демонстрируют локализацию люминесцирующего НА в нейтрофиле: яркое зеленое окрашивание на последовательных поперечных оптических сечениях с шагом 20% соответствует частицам НА в клетке (рис. 5).

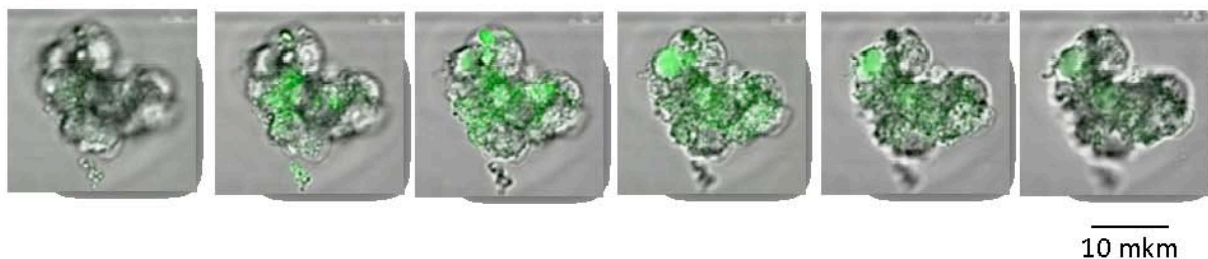


Рис. 5. Конфокальные фотографии, иллюстрирующие проникновение НА внутрь клетки.

ВЫВОДЫ

1. Проведен анализ имеющихся литературных данных по свойствам и методам получения наноалмазов.
2. Установлено, что коммерческие спёки наноалмазных частиц имеют широкое распределение по размерам.
3. Показано, что фракционирование частиц седиментацией в воде позволяет сделать распределение по размерам более узким, что повышает интерес к PDD в качестве сорбента для ВЖЭХ.
4. Показано, что наноалмаз способен проникать внутрь живой клетки (нейтрофила человека), при этом клетка не гибнет, по крайней мере, один час.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лисичкин Г.В., Фадеев А.Ю., Сердан А.А. и др.* Химия привитых поверхностных соединений. М.: Физматлит, 2003. 592 с.
2. *Спицын Б.В.* Физико-химия поверхности алмаза. //Сборник статей седьмой сессии международной школы повышения квалификации «Инженерно-химическая наука для передовых технологий». Проблемы и достижения физико-химической и инженерной науки в области наноматериалов. М.: ГНЦ РФ НИФХИ им. Л.Я. Карпова, 2002. С. 104-105.
3. *Kulakova I.I., Rudenko A.P.* Chemical diamond synthesis and methastability (статья в сборнике на русском: Кулакова И.И., Руденко А.П. Химический синтез алмаза и метастабильность) // Proceeding of 4th Intern. Symp. on Diamond films and Related Materials (ISDF-4). Kharkov: 1999. P. 61-76.
4. *А.П.Руденко, И.И.Кулакова, В.Л.Скворцова.* Химический синтез алмаза. Аспекты общей теории // Успехи химии, 1993, 62, с. 99-117.
5. *Кулакова И.И., Руденко А.П.* Гетерогенный катализ в превращениях алмаза // Катализ: фундаментальные и прикладные исследования. М.: Изд-во МГУ, 1987. С. 199-222.
6. *Алёшин В.Т., Смехнов А.А., Богатырёва Г.П., Крук В.Б.* Химия поверхности алмаза. Киев: Наукова думка, 1990. 200с.
7. *Кулакова И.И.* Химия поверхности наноалмазов. // Физика твердого тела. Т. 46. Вып. 4. 2004. С.621-628.
8. *Гордеев С.К., Смирнов Е.П.* Исследование влияния химической природы поверхности алмаза на адсорбционные свойства. // Коллоидн. журнал. 1982. Т. 44. Вып. 3. С. 554-556.
9. *Tsubota T., Hirabayashi O., Shunsuke T., Ida S., Nagaoka S., Nagata M., Matsumoto Y.* Chemical modification of hydrogenated dimond surface using benzoyl peroxides. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2002. 4. P. 806-811.
10. *Гордеев С.К., Смирнов Е.П., Кольцов М.М., Никитин Ю.И.* Влияние жидкофазного окисления на поверхностные свойства синтетических алмазов. // Сверхтвёрдые материалы. 1979. №3. С. 27-29.
11. *Гордеев С.К., Смирнов Е.П.* Исследование влияния химической природы поверхности алмаза на адсорбционные свойства. // Коллоидн. журнал. 1982. Т. 44. Вып. 3. С. 554-556.
12. *V.G. Safronova, T.I. Polyashova, I.I. Kulakova, V.N. Maltseva, A.V. Karpukhin, V.A. Yashin, N.V. Avkhacheva, V.V. Lunkin, G.V. Lisichkin,* Reaction of immune cells on nanodiamonds particles, Materials of 3rd International Symposium “Detonation Nanodiamonds: Technology, Properties and Applications”, Saint-Petersburg, Russia, (2008) 121-126.