

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ФИЗИКИ ПРОЧНОСТИ И МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ  
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(ИФПМ СО РАН)

ЛАБОРАТОРИЯ ФИЗИКОХИМИИ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Допустить к представлению  
научного доклада об основных  
результатах подготовленной  
научно-квалификационной  
работы (диссертации) в ГЭК  
Зав. лабораторией ЛФВМ  
М.И. Лернер  
« 13 » июня 2018



Влияние физико-химических характеристик  
низкоразмерных наноструктур оксигидроксида алюминия  
на их биологическую активность


Научный доклад об основных результатах подготовленной  
научно-квалификационной работы (диссертации)  
по направлению подготовки 03.06.01 Физика и астрономия

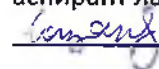
Научный доклад об основных  
результатах подготовленной научно-  
квалификационной работы (диссертации)  
представлен  
« 13 » июня 2018

Научный руководитель  
д. ф.-м. н., чл.-к. РАН, директор ИФПМ  
СО РАН,  
С.Г. Псахье

Председатель ГЭК  
д. ф.-м. н., профессор,  
заместитель проректора по научной  
работе Томского государственного  
университета

Ученая степень, звание, должность председателя ГЭК

  
подпись Кистенёв Ю.В.  
ФИО

Автор работы  
аспирант лаборатории ЛФВМ  
 С.О. Казанцев

ТОМСК 2018

## Актуальность работы

Оксиды алюминия благодаря своей высокой механической прочности, большой удельной поверхности, химической и термической стабильности являются перспективными элементами не только для функциональных и инженерных приложений, но и с точки зрения расширения существующих представлений о наноразмерных и мезопористых структурах. Структура и свойства оксидов алюминия многообразны, они в значительной степени определяются типом и условиями их синтеза, а также режимами постобработки. Они находят широкое применение в качестве катализаторов и носителей катализаторов, в функциональных покрытиях, мембранных и керамических материалах, технологиях очистки воды от органических и неорганических загрязнений – мышьяка, марганца, цинка, нефтепродуктов, красителей. Особенности атомной структуры поверхности оксидов и гидроксидов алюминия позволяют генерировать наноструктуры на их основе, которые можно отнести к перспективным материалам для направленного воздействия на биологические объекты. Это обусловлено, не только особенностями свойств поверхности, но и возможностью управлять этими свойствами в процессе формирования структуры при синтезе и постобработке.

Современная тенденция развития нанотехнологий в области получения низкоразмерных наноструктур с заданными физико-химическими свойствами, и медико-биологическими свойствами характеризуется все более широким использованием методов основанных на контролируемой самоорганизации структуры непосредственно в процессе синтеза.

Оксиды алюминия получают различными методами: осаждением из солей, золь-гель методом, гидролизом алколюатов алюминия, гидротермальным окислением алюмогелей, лазерной абляцией, механохимическими методами, а также окислением металлического алюминия.

Одним из перспективных методов получения низкоразмерных наноструктур оксида алюминия является окисление водой нанопорошка алюминия. Реакция идет в мягких условиях, окисление начинается при нагревании водной суспензии алюминия до 40–60 °С. При этом происходит полное окисление алюминия с образованием нанолистов псевдобемита. Несмотря на большой интерес к данному объекту и способу его получения, нет четкого понимания закономерностей формирования оксигидроксида алюминия нанолистовой структуры.

**Цель работы** – проведение исследований формирования низкоразмерных наноструктур при окислении наночастиц Al и AlN/Al в различных условиях и выявление факторов, обуславливающих их активность по отношению к биологическим объектам.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Изучение зависимости морфологии и фазового состава продуктов реакции Al и Al/AlN с водой от условий проведения реакции (температура, давление, pH, агрегатное состояние воды).
2. Исследование влияния условий окисления Al и Al/AlN водой на физико-химические свойства (текстуру, дзета-потенциал, pH-точки нулевого заряда, кислотно-основные свойства поверхности) оксигидроксида алюминия.
3. Исследование влияния свойств поверхности оксигидроксида алюминия на его биологическую активность по отношению к нормальным и раковым клеткам.

В качестве прекурсора в работе использовались наночастицы алюминия и алюмонитридной композиции с соотношением Al/AlN ~ 30/70 масс. %, полученные электрическим взрывом алюминиевой проволоки в атмосфере аргона и азота, соответственно. По данным электронной микроскопии наночастицы Al имеют сферическую форму (рис 1 а), а форма наночастиц Al/AlN – ограниченная (рис 1 в). Пассивация порошков на воздухе

приводит к образованию оксидной пленки на поверхности наночастиц. Согласно ПЭМ толщина оксидной пленки на наночастицах Al составляет приблизительно 4 нм (рис 1 б), толщина оксидной пленки Al/AlN составляет приблизительно 1 нм (рис 1 г).

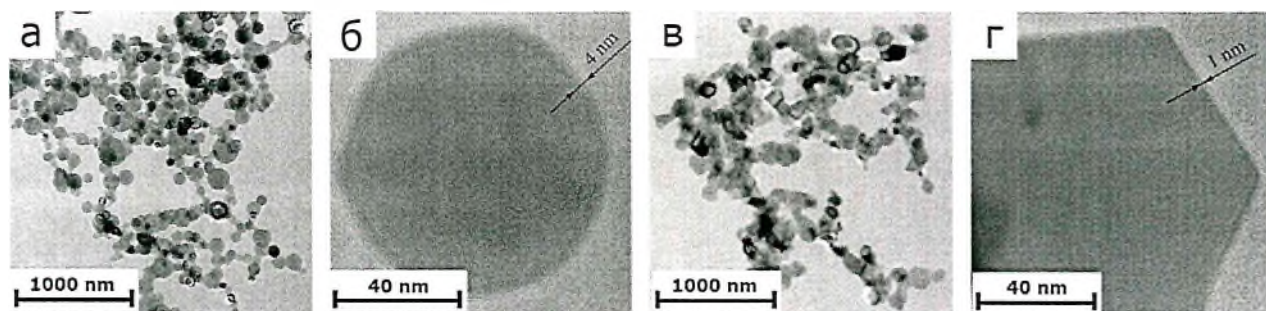


Рисунок 1. ПЭМ Изображения наночастиц Al (а, б) и Al/AlN (в, г)

Распределение частиц по размеру имеет нормально-логорифмический характер. Средний размер наночастиц Al составляет 98 нм (рис 2 а), а средний размер наночастиц Al/AlN – 78 нм (рис 2 б).

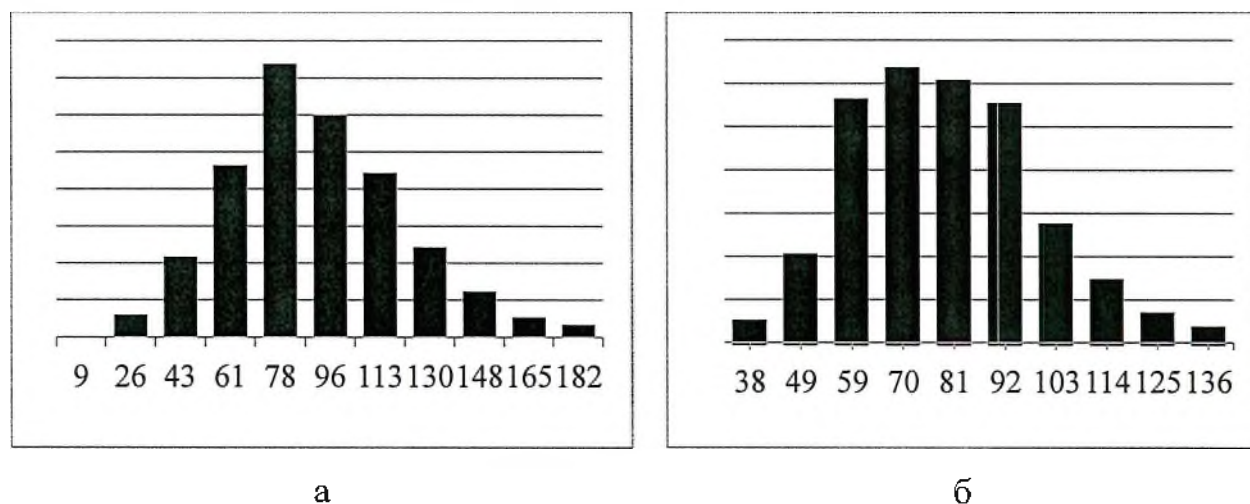


Рисунок 2. Распределение частиц по размерам: а - Al; б - Al/AlN

При окислении нанопорошков Al или Al/AlN водой при 60 °C образуются нанолиты оксигидроксида алюминия толщиной 2 – 5 нм и размером 150 – 500 нм, агломерированные в структуры сферической формы (рис 3 а, б.). При гидротермальной обработке (ГТО) Al или Al/AlN при 200 °C в течение 6 часов образуются нанопластинки бемита размером 20 – 100 нм и толщиной около 5 – 10 нм (рис 3 в, г). Продукты окисления Al и Al/AlN парами воды при влажность воздуха 80 об. % и температуре 60 °C

представляют собой стержни длиной 50-400 нм и диаметром 50 -150 нм, имеющие в сечении гексагональную форму (рис 3 д, е).

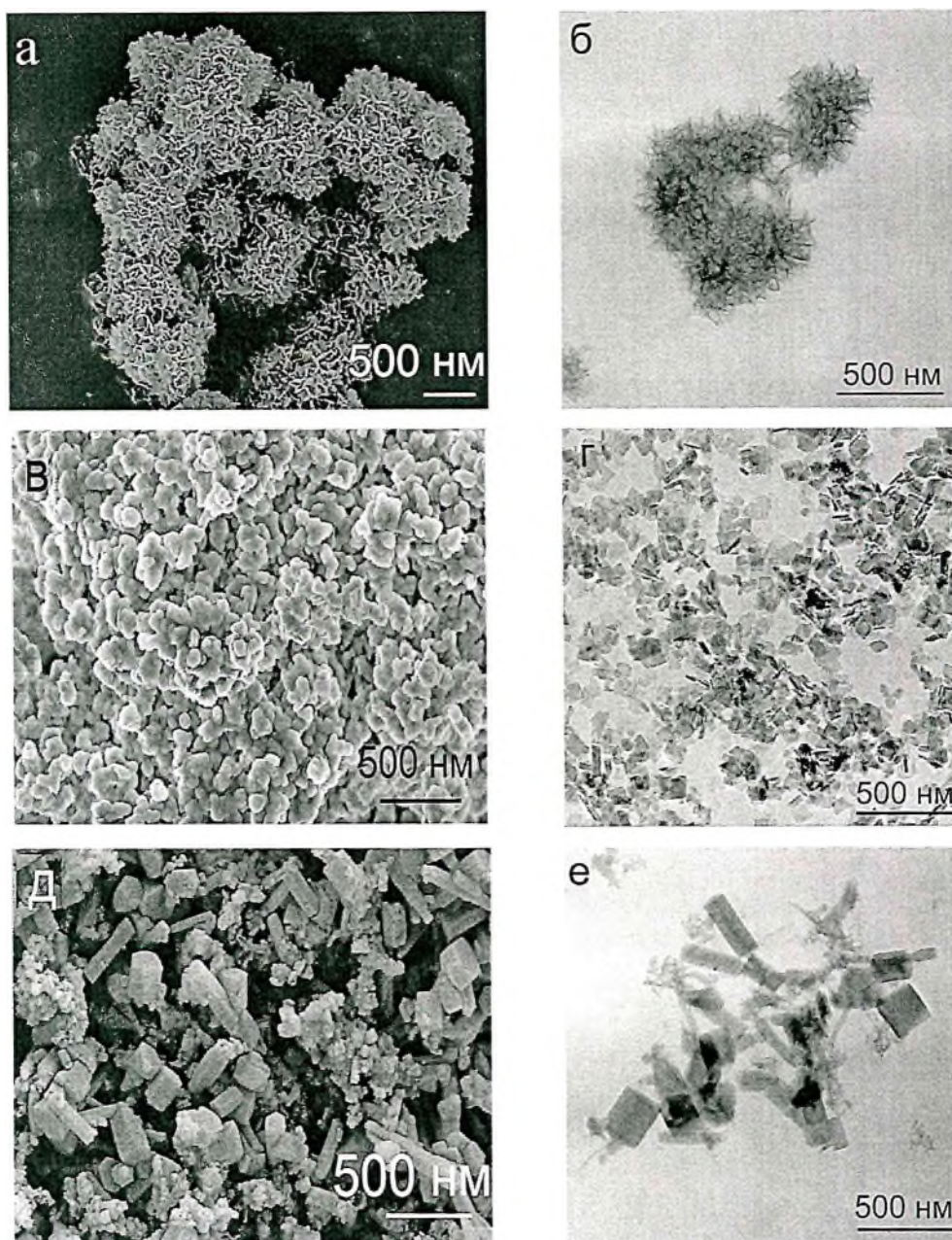


Рисунок 3. СЭМ (а, в, д) и ПЭМ (б, г, е) изображения агломератов нанолистов псевдобемита (а, б); нанопластинок бемита (в, г); гексагональных стержней байерита (д, е)

Для выявления закономерностей превращения Al и Al/AlN в воде исследовали промежуточные продукты реакции нанопорошков с водой. На рис. 4 представлены кинетические кривые изменения pH и температуры реакции окисления нанопорошков Al/AlN и Al, на которых можно выделить

4 стадии процесса: I – индукционный период, в котором не происходит изменения pH; II – монотонный рост pH реакционной среды; III – саморазогрев реакционной среды, сопровождающийся кратковременным снижением pH; IV – достижение максимального уровня pH.

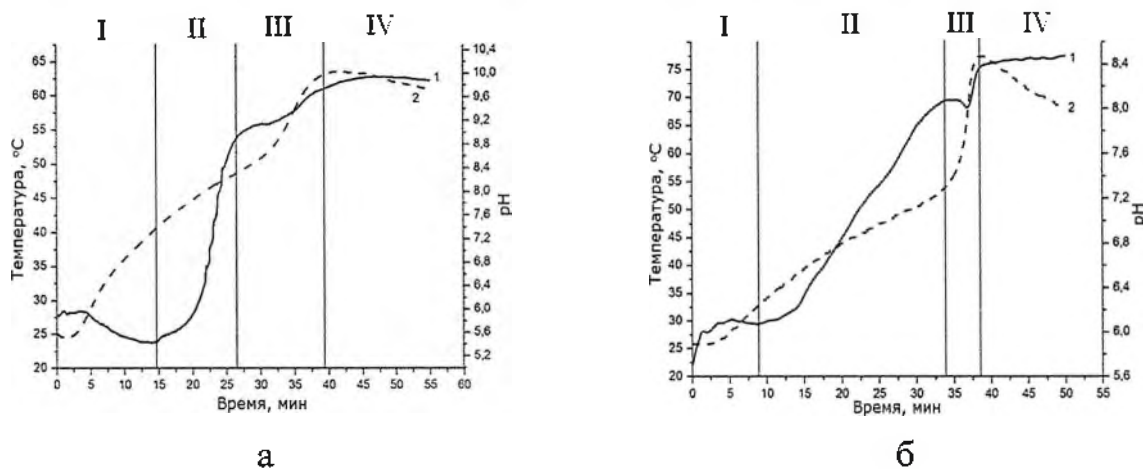


Рисунок 4. Кинетические кривые изменения pH (1) и температуры (2) реакции окисления нанопорошков Al/AlN (а) и Al (б)

Во время индукционного периода (стадия I) не наблюдается изменений pH, реагирующие наночастицы не отличаются от исходных наночастиц. На стадии II происходит формирование островков аморфного оксида алюминия на поверхности наночастиц (рис. 5 а, д). По данным ПЭМ размер островков составляет 5-30 нм. В начале III стадии окисления, на поверхности частиц образуются тонкие пластинчатые структуры бемита (рис. 5 б, е). В ходе III стадии достигается максимальная скорость тепловыделения и максимальная температура реакции, в центре алюминиевой частицы наблюдается частично прореагировавшее алюминиевое ядро (рис. 5 в). Образование полостей при реакции наночастиц Al/AlN с водой не наблюдается (рис. 5 ж). На ПЭМ-изображениях видно, что размер наноллистов бемита на поверхности реагирующих частиц увеличивается и достигает 100-250 нм.

В результате полного окисления водой наночастиц алюминия образуются полые сферы размером 400-800 нм. Оболочку полых сфер составляют наноллисты псевдобемита с планарным размером 100-300 нм и толщиной 2-8 нм. Размер полостей внутри сфер приблизительно равен 80-

150 нм, то есть размеру наночастиц алюминия, которые использовались в качестве прекурсора (рис. 5 г). При окислении водой наночастиц Al/AlN полых сфер не образуется.

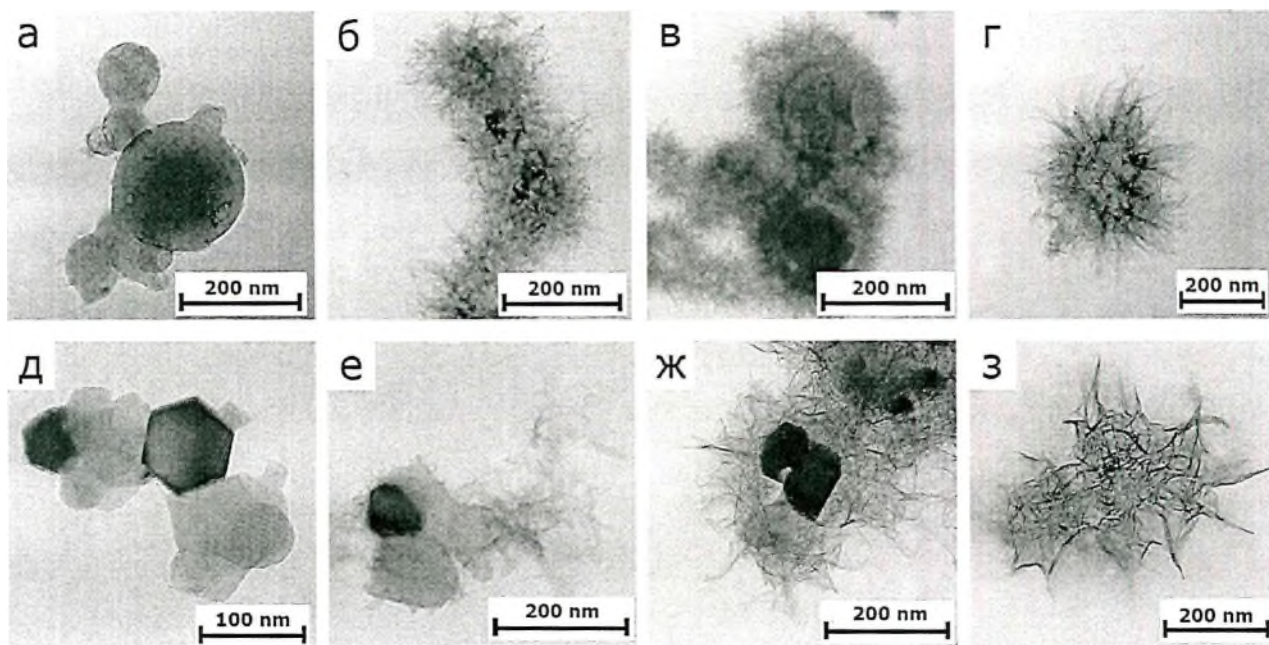


Рисунок 5. ПЭМ-изображения промежуточных продуктов реакции Al (а-г) и Al/AlN (д-з) с водой: через 25 (а, д), 35 (б, е), 38 (в, ж), 40 мин (г, з)

На рисунке 6 представлены результаты ПЭМ-ЭДС и РФА синтезированных образцов. Как видно из рисунка 6 б, в центре реагирующей

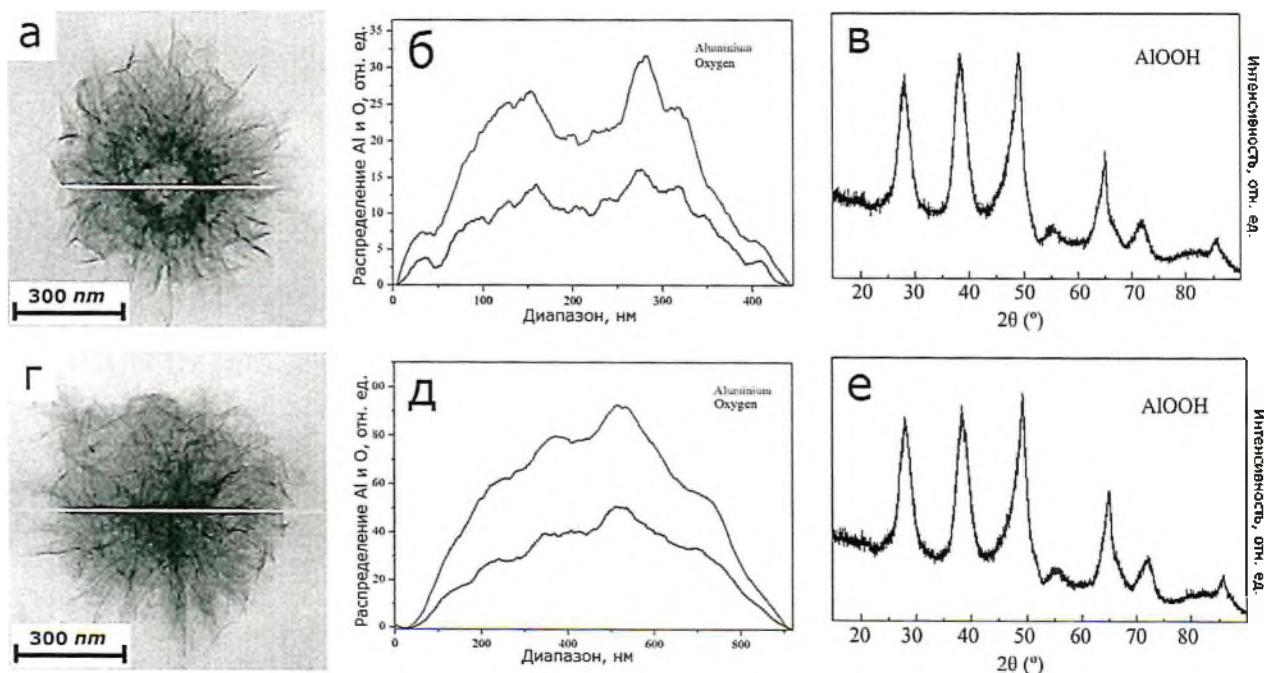


Рисунок 6. Изображение, полученное методом ПЭМ (а, г), ЭДС (б, д)

и РФА (в, е) продукта окисления Al (а – в) и Al/AlN (г – е) частицы интенсивность спектра Al и O по центру частицы снижается. Это подтверждает наличие полости в центре частицы. В случае окисления Al/AlN, частица не имеет полости. Образовавшаяся структура представляет собой совокупность наноллистов AlOOH, соединенных в центре агломерата (рис. 6 г - е). По данным РФА при окислении обоих нанопорошков образуется псевдобемит (рис. 6 в, е). Удельная поверхность продуктов окисления Al и Al/AlN составляет примерно 285 м<sup>2</sup>/г.

При ГТО порошков Al и Al/AlN при 200 °С в течение 2 часов (рис 7 а) не наблюдается значительных изменений морфологии продуктов реакции. При выдержке в течение 3 часов начинается образование мелких ограниченных пластинок различной формы (рис 7 б), при этом сохраняются нанол листовые структуры.

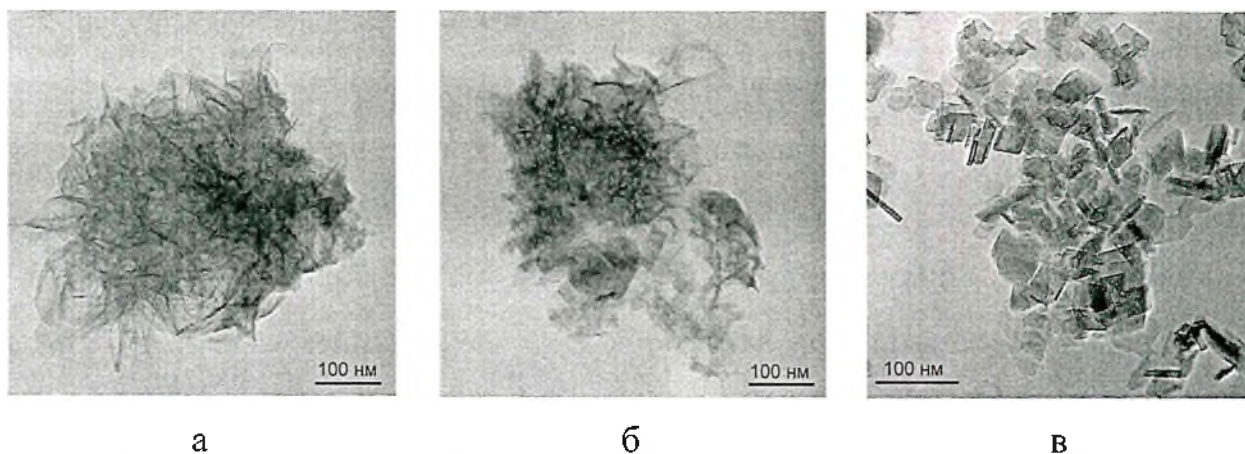
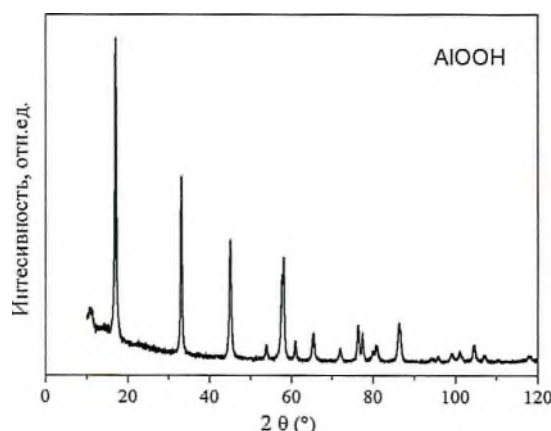


Рисунок 7. ПЭМ изображения продуктов ГТО Al/AlN при 200 °С в течение 1 ч (а); 2 ч (б); 3 ч (в); 6 ч (д)





### Рисунок 8. Рентгенограмма продуктов ГТО Al/AlN

Формирование ограниченных частиц происходит при температуре 200 °С в течение 6 часов (рис 7 в). По данным рентгенофазового анализа продуктом окисления является хорошо окристаллизованный бемит (рис 8). Удельная поверхность составляет 72 м<sup>2</sup>/г.

При исследовании промежуточных продуктов окисления Al/AlN во влажном воздухе 80 об. % и температуре 60 °С установлено, что окисление наночастиц начинается после 12 часов контакта порошка с парами воды (рис 9 а). Полное окисление Al/AlN фиксируется через 48 часов контакта.

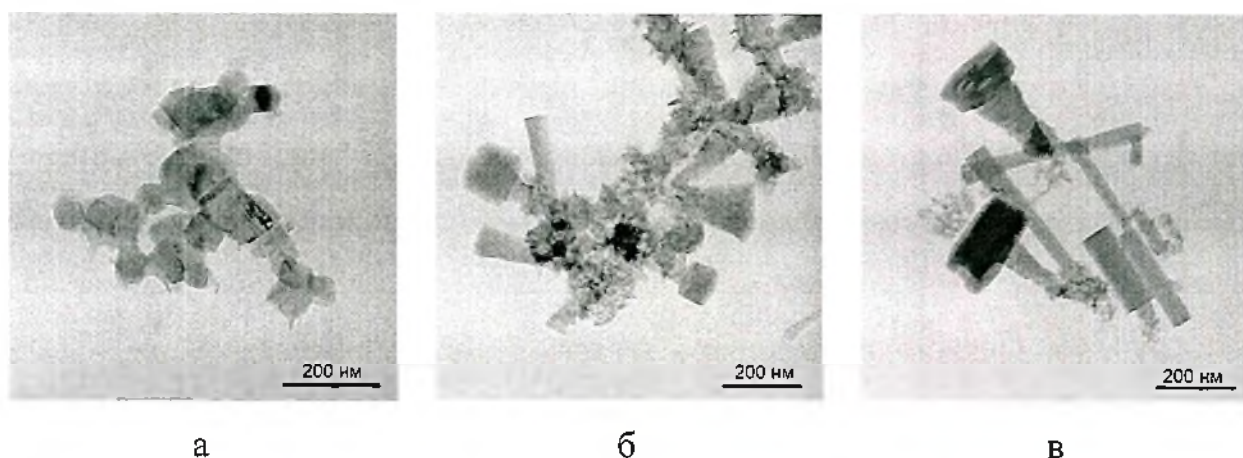
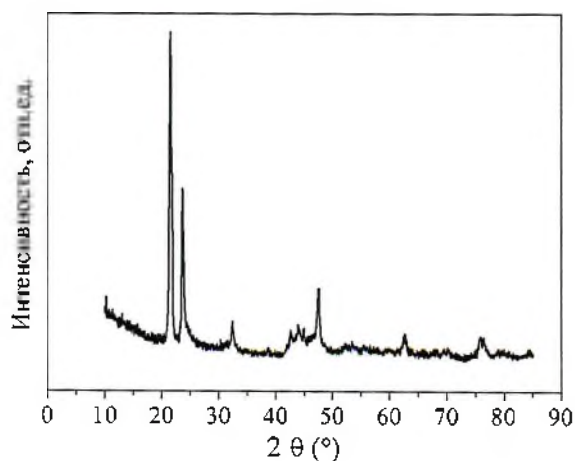


Рисунок 9. ПЭМ-изображения продуктов превращения Al/AlN во влажном воздухе в течение 12 ч (а); 24 ч (б); 48 ч (в)

Фазовый состав гексагональных стержней (рис. 10) соответствует тригидроксиду алюминия в фазе байерита. Удельная поверхность составляет 22 м<sup>2</sup>/г.



## Рисунок 10. РФА продуктов окисления Al/AlN во влажном воздухе

Исследование изменения фазового состава продуктов терморазложения образцов проводили в интервале температур 200–1280 °С. На дифрактограммах образцов агломератов наноллистов псевдобемита, прокаленных при 200 и 300 °С присутствуют рефлексы, аналогичные исходному псевдобемиту (рис. 11 а). В интервале температур 500–800 °С наблюдается набор рефлексов, характерных для  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. При повышении температуры прокаливания до 1000 °С отмечается формирование смеси  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и  $\theta$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, наличие которых подтверждается характерными рефлексами на дифрактограмме (рис. 11 а). Термодинамически стабильная фаза  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> формируется при 1280 °С.

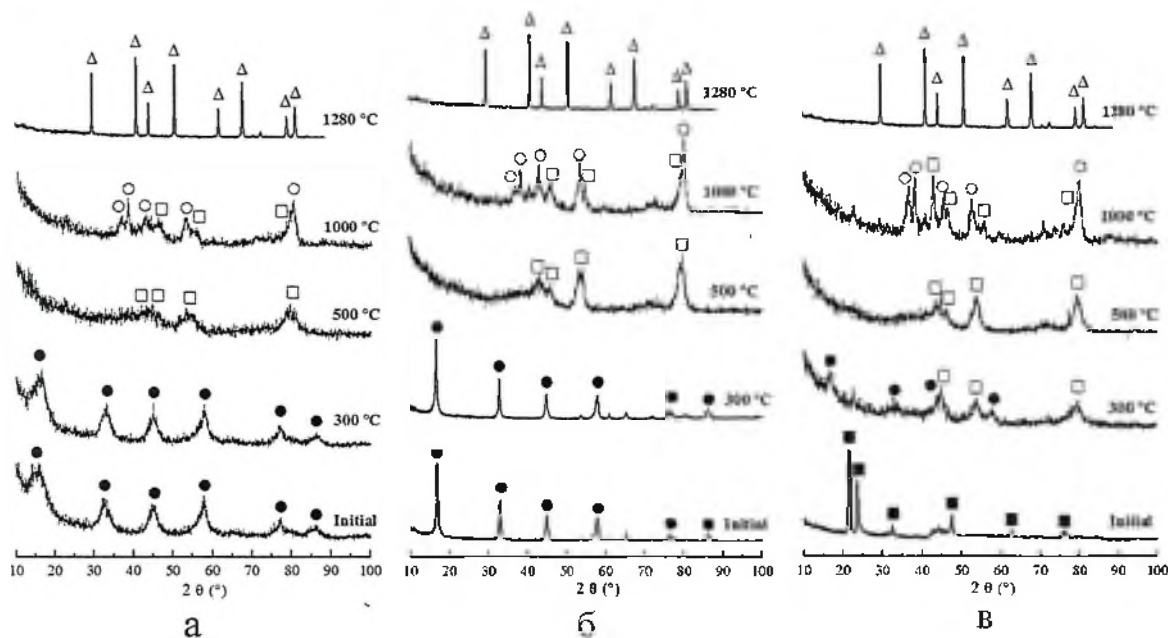


Рисунок 11. Дифрактограммы псевдобемита (а), бемита (б) и байерита (в) после термообработки при различных температурах

При термообработке пластинок бемита, полученных методом ГТО (рис. 11 б) до 300 °С на дифрактограмме сохраняются рефлексы исходного образца. В интервале 500-800 °С наблюдается образование  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. При 1000 °С формируется смеси  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и  $\theta$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, а при 1280 °С – фаза  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

При термообработке байерита общая схема превращения аналогична превращениям бемита и псевдобемита, однако имеются свои особенности.

При температуре прокаливания 300 °С (рис. 11 в) наблюдается образование смеси бемита и  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Таким образом, образование  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  происходит при более низкой температуре по сравнению с температурой фазовых переходов бемита и псевдобемита. При повышении температуры прокаливания до 500-800 °С присутствует фаза  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Увеличение температуры прокаливания до 1000 °С приводит к формированию смеси  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  и  $\theta$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ , а при 1280 °С образуется  $\alpha$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Исследование образцов методом просвечивающей электронной микроскопии (рис. 12) показало, что при прокаливании все образцы

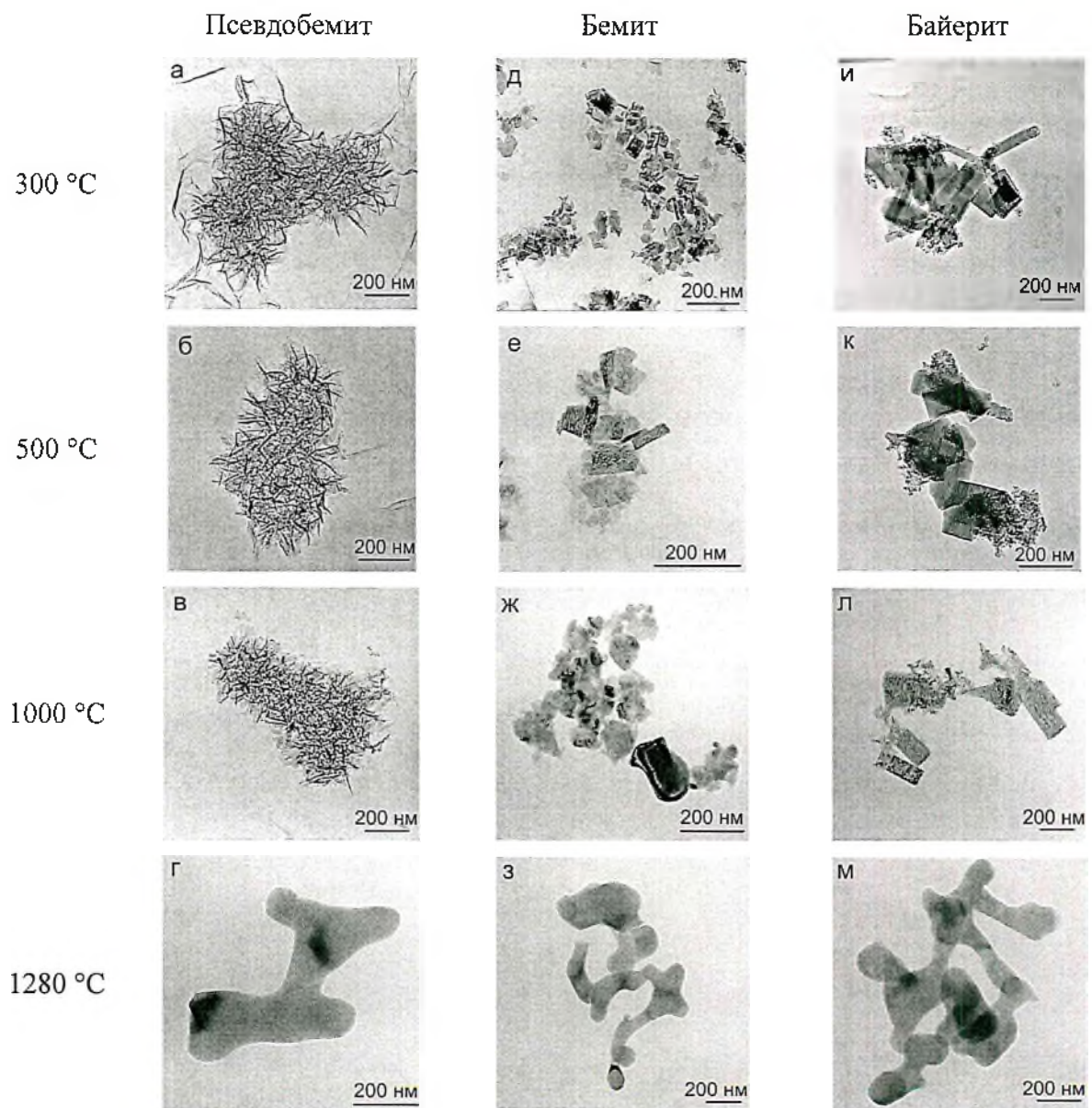


Рисунок 12. ПЭМ-изображения агломератов нанопластинок псевдобемита (а – г), нанопластинок бемита (д – з), гексагональных стержней

## байерита (и – м) в интервале температур 300 – 1280 °С

сохраняют исходную морфологию вплоть до температуры 500 °С. При дальнейшем увеличении температуры до 1000 °С наблюдается постепенное спекание образцов, однако их исходная морфология практически не изменяется. При достижении температуры прокаливания 1280 °С наблюдается полное спекание всех образцов.

При термической обработке псевдобемита (рис. 13, кривая 1) происходит незначительное увеличение удельной поверхности (до 310 м<sup>2</sup>/г при 300 °С). Величина удельной поверхности нанопластин бемита увеличивалась при нагревании до 500 °С и составила 106 м<sup>2</sup>/г. Максимальная удельная поверхность байерита достигается при прокаливании в интервале температур 300–500 °С и составляет 250 м<sup>2</sup>/г. Несмотря на то, что термическая обработка образцов не изменяет морфологию первичных частиц вплоть до 1000 °С, удаление адсорбированной и структурной воды при прокаливании бемита и байерита приводит к заметному изменению их текстурных характеристик. При температурах прокаливания выше 700 °С величина удельной поверхности снижается в результате спекания образцов.

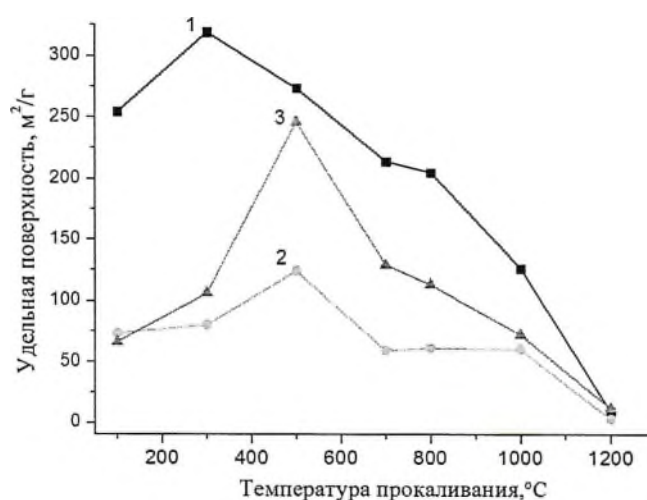


Рисунок 13. Зависимость удельной поверхности от температуры прокаливания агломератов нанопластин (1); нанопластин бемита (2); гексагональных стержней (3)

Исследование зависимости дзета-потенциала от pH среды методом потенциометрического титрования (рис 14) показало, что образцы оксигидроксида алюминия имеют положительный дзета-потенциал в области от pH= 3 до pH≈9, и близкие точки нулевого заряда (pH<sub>ТНЗ</sub>): для агломератов наночастиц pH<sub>ТНЗ</sub> = 9,53; наночастиц pH<sub>ТНЗ</sub>=9,32; гексагональных стержней pH<sub>ТНЗ</sub>= 9,43.

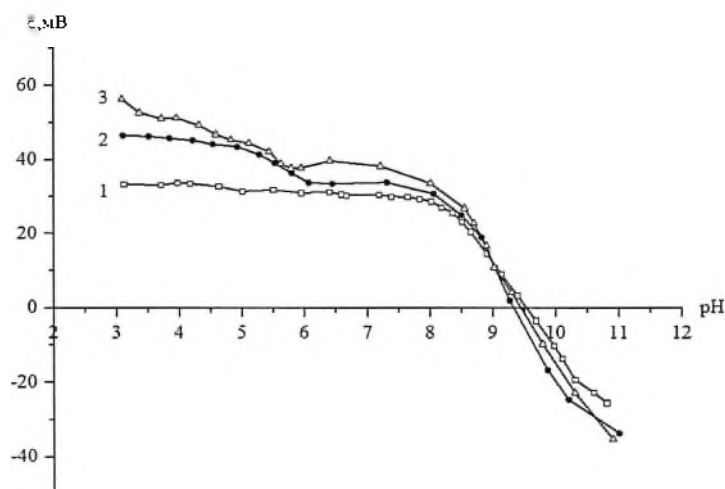


Рисунок 14. Зависимость дзета-потенциала образцов от pH среды: агломераты наночастиц (1); наночастицы (2); гексагональные стержни (3)

На рисунке 15 представлены изотермы адсорбции эозина на образцах оксигидроксида алюминия. Все изотермы хорошо аппроксимируются уравнением Лэнгмюра. Максимальная адсорбция эозина наблюдается у агломератов наночастиц и составляет около 22 мг/г.

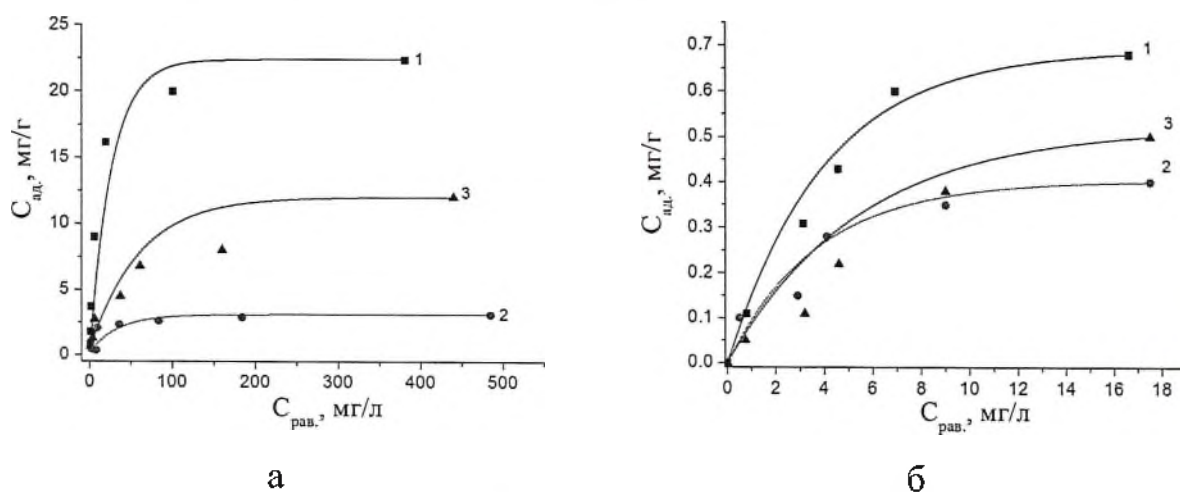


Рисунок 15. Изотермы адсорбции эозина (а) и метиленового голубого (б)

агломератами наноллистов (1); нанопластинами (2);  
гексагональными стержнями (3)

На рисунке 16 представлены результаты исследования кислотно-основных свойств поверхности образцов оксигидроксидов алюминия. На поверхности агломератов наноллистов псевдобемита (рис 16 кривая 1) присутствуют бренстедовские основные центры различной силы с  $pK_a=7.0$ ;  $pK_a=7.4$ ;  $pK_a=10.5$ ;  $pK_a=12.8$ , а также имеется незначительное количество бренстедовских кислотных центров с  $pK_a=1.3$ ;  $pK_a=3.46$ ,  $pK_a=5.2$ .

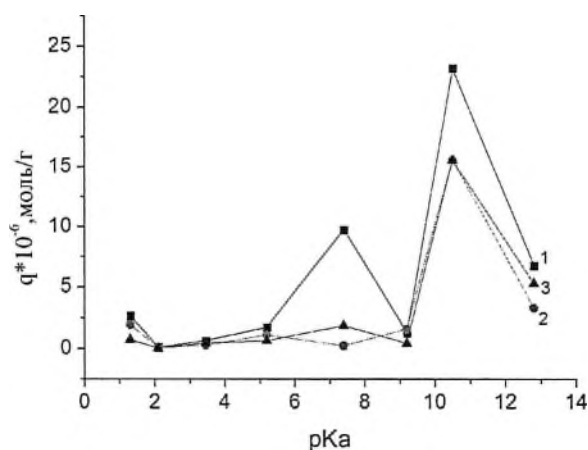


Рисунок 16. Изменение концентрации активных центров на поверхности агломератов наноллистов псевдобемита (1); нанопластин бемита (2); гексагональных стержней байерита (3)

Значительное количество основных центров разной силы зависит от типа и окружения  $OH^-$  групп на поверхности адсорбента. Слабые кислотные центры бренстедовского типа могут быть образованы молекулами воды, которые адсорбируются на катионах металла или же на кислородных вакансиях на поверхности оксида. На поверхности нанопластин бемита (рис 16, кривая 2) и стержней байерита (рис 16, кривая 3) также присутствуют основные центры и незначительное количество кислотных центров бренстедовского типа. Однако их концентрация меньше, чем на поверхности псевдобемита.

Токсическое действие образцов оксигидроксида алюминия исследовали на фибробластах подкожной соединительной ткани мыши (L929) и клетках нейробластомы мыши (Neuro-2a).

При исследовании влияния наноструктур на пролиферацию клеток установлено, что после воздействия исследуемых образцов оксигидроксида алюминия различной морфологии на линию клеток L 929 в течение всего времени исследования не происходит значительного уменьшения количества жизнеспособных клеток (рис. 17). Снижение пролиферации составляет от 2 до 8 % для всех образцов в независимости от морфологии, что свидетельствует об их низкой токсичности.

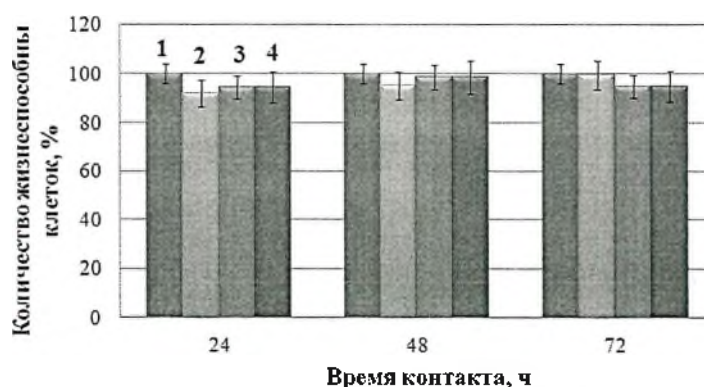


Рисунок 17. Влияние наноструктур оксигидроксида алюминия на линию клеток L 929 : контроль (1); агломераты наноллистов псевдобемита (2); нанопластины бемита (3) ; гексагональные стержни байерита (4)

При контакте агломератов наноллистов с клетками линии Neuro-2a в течение 24 часов количество жизнеспособных клеток уменьшается до 80 % (рис. 18). При увеличении времени контакта до 48 часов происходит уменьшение количества жизнеспособных клеток до 60 %. После 72 ч контакта количество жизнеспособных клеток снижается до 50 %.

Воздействие нанопластин не приводит к устойчивому снижению пролиферации клеток линии Neuro-2a, после контакта в течение 24 и 48 часов количество жизнеспособных клеток снижается до  $\approx 80$  % (рис. 18), а после 72 часов – до 90%.

Исследование влияния гексагональных стержней байерита показало устойчивое снижение количества жизнеспособных клеток до 70 % после контакта в течение 48 и 72 часа (рис. 18).

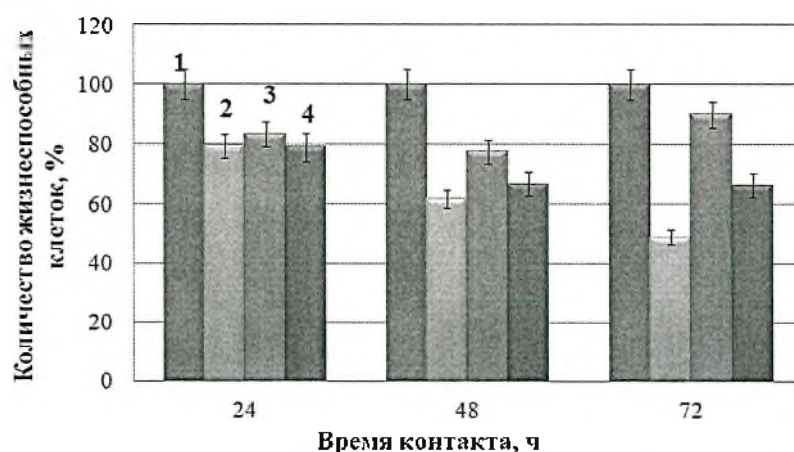


Рисунок 18. Влияние наноструктур оксида алюминия на линию клеток Neuro-2a : контроль (1); агломераты нанопластинок псевдобемита (2); нанопластины бемита (3) ; гексагональные стержни байерита (4)

Исследование влияния фазового состава образцов оксида алюминия, прокаленных в интервале температур 100 – 1280 °С, на пролиферацию клеток линии L929 показано (рис 19), что количество жизнеспособных клеток при различном времени контакта с образцами остается приблизительно одинаковым и составляет около 90 %.

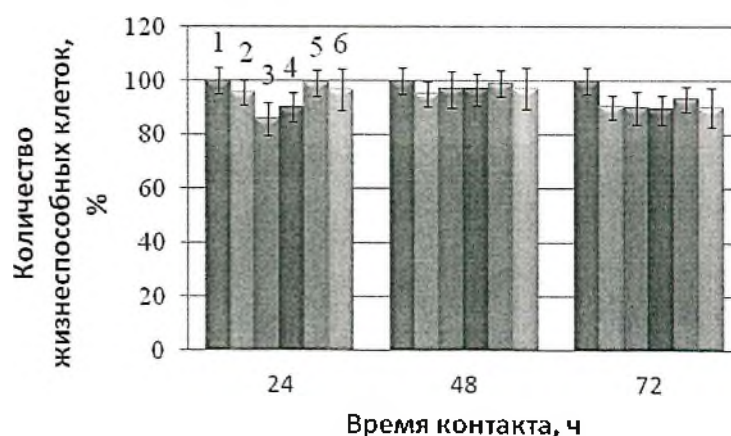


Рисунок 19. Влияние наночастиц оксида алюминия на жизнеспособность клеток линии L929: контроль (1); агломераты нанопластинок прокаленные при 1280 (2); 300 (3); 500 (4); 100 (5), 1000 °С (6)



Воздействие агломератов наноллистов, прокаленных в интервале температур 100 – 1280 °С на клетки линии Neuro-2a оказалось более выраженным (рис 20), количество жизнеспособных клеток сократилось значительно и после контакта с образцами в течение 24 – 72 часов составило 50% и ниже.



Рисунок 20. Влияние наночастиц оксида алюминия на жизнеспособность клеток линии Neuro-2a : контроль (1); агломераты наноллистов прокаленные при 1280 (2); 300 (3); 500 (4); 100 (5), 1000 °С (6)

Исследование воздействия наноструктур оксигидроксида алюминия на клетки линии HeLa (рис 21 а, кривая 1) показало, что агломераты наноллистов псевдобемита в концентрации до 1 мг/мл не оказывают значительного

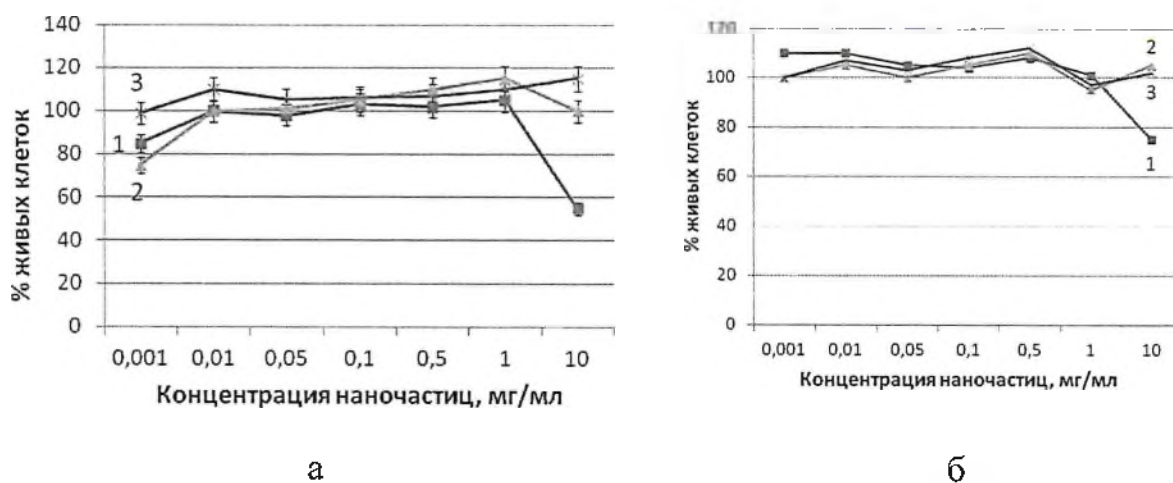


Рисунок 21. Оценка жизнеспособности клеточных линий HeLa (а) и а549 (б) при помощи МТТ-теста в присутствии агломератов наноллистов псевдобемита

(1), нанопластин бемита (2), гексагональных стержней байерита (3)

токсического действия на клетки. При увеличении концентрации агломераты нанопластин до 10 мг/мл наблюдается подавление роста клеток, при этом количество живых клеток снижается до 55 %. Нанопластинки бемита и гексагональные стержни байерита (рис 21 а, кривые 2 и 3) не оказывают подавляющего действия на клетки линии HeLa в заданном диапазоне концентраций образцов.

Агломераты нанопластин псевдобемита оказывают незначительное подавляющее действие на клетки линии а549 при концентрации наночастиц 10 мг/мл. При этом количество живых клеток снижается до 75 % (рис 21 б, кривая 1). Нанопластинки бемита и гексагональные стержни байерита не вызывают подавление роста клеток линии а549 (рис 21 б, кривые 2 и 3).

Выводы:

1. Впервые установлены факторы, позволяющие получать низкоразмерные наноструктуры оксидов и гидроксидов алюминия с различными свойствами поверхности, используя наночастицы Al или Al/AlN. При окислении наночастиц водой образуются агломераты нанопластин псевдобемита, гидротермальная обработка наночастиц позволяет получить нанопластины бемита, а окисление во влажном воздухе приводит к формированию гексагональных стержней байерита.
2. Впервые описаны закономерности формирования полых сфер с оболочкой из нанопластин псевдобемита при окислении водой наночастиц Al, что связано с наличием толстой оксидной пленки на поверхности наночастиц Al, которая выступает подложкой для роста нанопластин псевдобемита.
3. Установлено, что физико-химические свойства образцов оксигидроксида алюминия зависят от условий их получения. Удельная

поверхность агломератов нанолистов псевдобемита составляет 285 м<sup>2</sup>/г, нанопластин бемита – 72 м<sup>2</sup>/г, гексагональных стержней байерита – 22 м<sup>2</sup>/г. Дзета-потенциал полученных образцов составляет 30-35 мВ. На поверхности образцов преобладают нейтральные и основные центры бренстедовского типа с рK<sub>a</sub>=7.0; рK<sub>a</sub>=7.4; рK<sub>a</sub>=10.5; рK<sub>a</sub>=12.8, а также имеется незначительное количество бренстедовских кислотных центров с рK<sub>a</sub>=1.3; рK<sub>a</sub>=3.46, рK<sub>a</sub>=5,2. Величина адсорбции анионного красителя эозина агломератами нанолистов псевдобемита составляет 22 мг/г, а катионного красителя метиленового голубого – 1 мг/г.

4. Впервые показано, что агломераты нанолистов псевдобемита оказывают значительный подавляющий эффект рост опухолевых клеток линий HeLa, а549 и Neuro-2a в концентрации 10 мг/мл, в то же время не оказывают влияния на жизнеспособность нормальных клеток линии L 929, что связано с их способностью, за счет свойств поверхности, изменять состав микроокружения клеток. При воздействии агломератов нанолистов псевдобемита количество жизнеспособных клеток линии а549 сокращается до 75%, клеток HeLa – до 55%, Neuro-2a – до 50%.
5. Показано, что нанопластины бемита и гексагональные стержни байерита не оказывают значительного подавляющего действия на опухолевые клетки линий HeLa, а549 и Neuro-2a и нормальные клетки линии L 929.