

28. *Свойства* элементов: В 2 ч. Ч. 1. Физические свойств : Справочник / Под ред. Г.В. Самонова. – М.: Металлургия, 1976. – 600 с.
29. Константинова Т. Е. Мезоструктура деформированных сплавов / Т. Е. Константинова: – Донецк: ДонФТИ НАН Украины, 1997. – 168 с.

Надійшла 15.05.15

УДК 577.1;60-022.513.2

**А. Н. Панова**, канд. техн. наук<sup>1</sup>, **В. Ю. Долматов**, д-р. техн. наук<sup>2</sup>, **Н. И. Канюк**, канд. биол. наук<sup>3</sup>,  
**Г. Г. Цапюк**, канд. хим. наук<sup>4</sup>, **М. А. Серга**, канд. техн. наук<sup>1</sup>,  
**А. А. Беда**<sup>4</sup>, **Д. В. Туркевич**<sup>1</sup>, кандидаты химических наук

<sup>1</sup>Институт сверхтвёрдых материалов им. В. Н. Бакуля НАН Украины, г. Киев

<sup>2</sup>ФГУП «Специальное конструкторско-технологическое бюро «Технолог», г. Санкт-Петербург,  
Российская Федерация

<sup>3</sup>Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, г. Киев

<sup>4</sup>Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина

## ПРИМЕНЕНИЕ НАНОАЛМАЗОВ ДЕТОНАЦИОННОГО СИНТЕЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

*Исследовано влияние добавок алюминия в исходные смеси взрывчатых веществ на физические, физико-химические и биофизические свойства порошков детонационного наноалмаза (ДНА). Установлено, что ДНА, предположительно, легированные алюминием, имеют более дефектную структуру, развитую поверхность и характеризуются большей интенсивностью флуоресценции при возбуждении лазерным излучением с различными длинами волн, чем ДНА, полученные из чистой смеси взрывчатых веществ. Показана возможность создания композитов ДНА и активных веществ (доксорибуцин) для визуализации в оптической микроскопии, а также получения основы, взаимодействующей с мембранами клеток или проникающей внутрь клеток.*

**Ключевые слова:** наноалмаз, флуоресценция, структура, легирование, оптическая микроскопия, доксорибуцин, *Saccharomyces cerevisia*.

В настоящее время существует широкий спектр органических красителей и меток, применяемых при исследовании биологических объектов методом конфокальной микроскопии [1].

Синтетические алмазы статического и динамического методов синтеза при возбуждении УФ-светом не люминесцируют, тогда как при возбуждении рентгеновскими лучами и электронами наблюдается свечение, центрами которого являются дефектные центры в кристаллической решетке алмаза [2].

Для наноалмазов детонационного синтеза (ДНА) характерна интенсивная флуоресценция в видимом диапазоне [3], возникающая вследствие образования точечных дефектов, в том числе, отрицательно заряженных центров вакансия–азот (N–V)<sup>-</sup>. Данные центры образуются, как правило, при синтезе ДНА [4]. Интенсивное поглощение света наноалмазами наблюдается на длине волны ~560 нм, а максимум флуоресценции при ~700 нм [3]. Время жизни флуоресценции наноалмазов детонационного синтеза составляет ~11 нс [5], что значительно превышает собственную флуоресценцию клеток.

Получение ДНА с различной дефектностью возможно за счет введения различного типа легирующих добавок непосредственно в смесь взрывчатых веществ (ВВ), применяемых при их синтезе.

Целью данной работы было изучение влияния добавок металлического алюминия к исходной смеси ВВ при детонационном синтезе порошков ДНА на их физические, физико-химические и биофизические свойства.

### Методика исследования

Объектом исследования являлись порошки детонационного наноалмаза, полученные в ФГУП «СКТБ «Технолог». Подрыв зарядов взрывчатых веществ (смесь тротила (Т) и гексогена (Г) заводского производства в массовой пропорции 50/50) осуществляли в водной оболочке, содержащей комплексон Трилон Б [6].

При синтезе образцов сравнения (№ 1–3 после цикла химической очистки) использовали чистые заряды ТГ. При получении образца № 4 прессованием в заряды ТГ вводили порошок алюминия для предполагаемого внедрения в кристаллическую решетку алмаза атомов алюминия в процессе их детонационного синтеза [7].

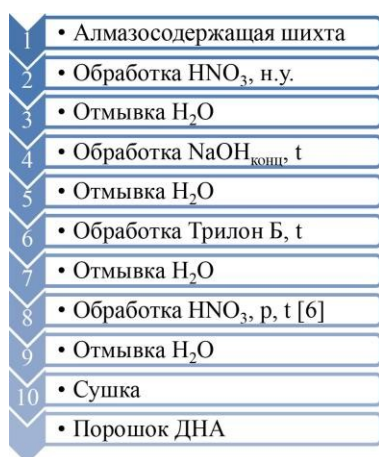


Рис. 1. Технологическая схема процесса очистки алмазосодержащей шихты

Подрыв зарядов осуществляли во взрывной камере «Альфа-2м» емкостью 2,14 м<sup>3</sup> в газовой атмосфере продуктов предыдущих подрывов.

Технологическая схема процесса очистки алмазосодержащей шихты приведена на рис. 1.

Элементы, находящиеся в несгораемых примесях, определяли методом микрозондового анализа на аналитическом комплексе SUPRA 55VP WDS с системой микроанализа INCA ENERGY фирмы Oxford (Великобритания).

Исследование стойкости к окислению образцов проводили на дериватографе Q-1500.

Термодесорбционные спектры порошков ДНА снимали на масс-спектрометре МИ 1201 со скоростью нагрева 30 град/мин в вакууме 1 10<sup>-6</sup> Па в интервале температур 293–1073 К.

В качестве модельного микроорганизма использовали дрожжи – *Saccharomyces cerevisia*. Дрожжевые клетки выращивали в питательной среде Ридер (г/л): (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> – 3,0; MgSO<sub>4</sub> – 0,7; NaCl – 0,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,1; источник углеводов – глюкоза 10,0; дрожжевой автолизат-0,5 (рН 6,0-6,5, температура 24-30 °С). Выращенные в жидкой среде в течение 1–2 дней дрожжи центрифугировали (15 мин, 5000 об/мин), после чего осадок ресуспендировали и центрифугировали суспензию в дистиллированной воде дважды с целью удаления остатков солей и глюкозы.

10 мг дрожжей из полученной суспензии клеток добавляли к 2 мл дистиллированной воды и вносили 20 мкг порошка ДНА. Полученную смесь выдерживали 1 час. Осадок 5–10 мкл наносили на предметное стекло до высыхания и фиксировали на поверхности путем нагревания при 50 °С.

Исследования люминесценции образцов проводили с использованием конфокального микроскопа LSM 510 META.

### Результаты исследования и их обсуждение

Образец № 4, полученный при детонации ВВ с добавкой металлического алюминия, имеет большее количество примесей (в основном, алюминия), чем образцы №№ 1 – 3, синтезированные из чистой смеси ВВ (табл. 1).

Таблица 1. Результаты количественного анализа несгораемых примесей образцов

Элемент	№ образца			
	1	2	3	4
	Содержание, %			
Na	0,0131	0,0183	–	0,1566
Mg	0,0141	–	–	–
Al	0,0122	–	0,0104	4,2700
Si	0,0552	0,0559	–	0,0573
K	0,0144	0,0197	–	0,0764
Ca	0,0191	0,0100	–	0,0100
Ti	0,0805	0,0501	0,1161	0,1897
Fe	0,0727	0,0291	0,0192	0,0210
Cu	–	–	–	0,0394
Zn	–	–	–	0,1473
W	0,0169	0,0172	0,0100	–
S	–	–	–	0,0725
Общее кол-во несгораем. примесей	0,49	0,34	0,28	9,3

Результаты исследований оптических свойств методом конфокальной микроскопии показали, что образец № 4 (рис. 3) характеризуется большей интенсивностью флуоресценции при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 633 нм, 514 нм и 488 нм, чем образцы, полученные без добавления легирующих компонентов (рис. 2). Для данного образца также характерна флуоресценция при возбуждении на длине волны 543 нм, тогда как у образцов № 1 – 3 она отсутствует.

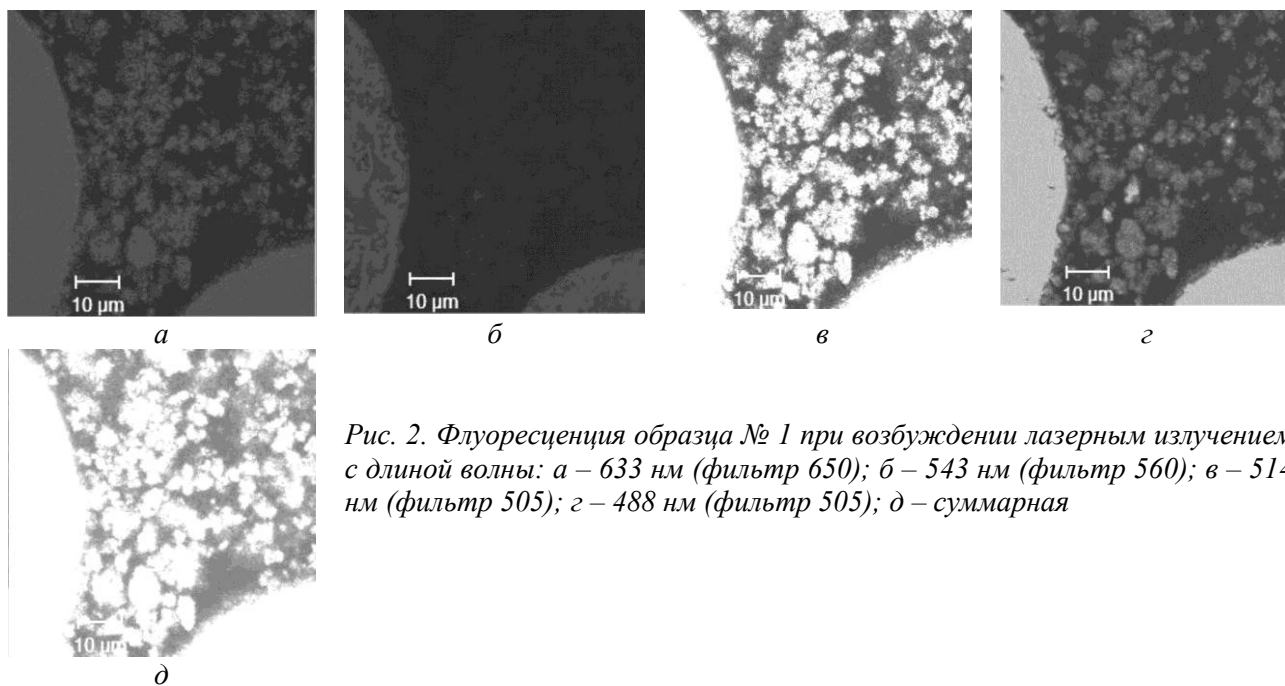


Рис. 2. Флуоресценция образца № 1 при возбуждении лазерным излучением с длиной волны: а – 633 нм (фильтр 650); б – 543 нм (фильтр 560); в – 514 нм (фильтр 505); г – 488 нм (фильтр 505); д – суммарная

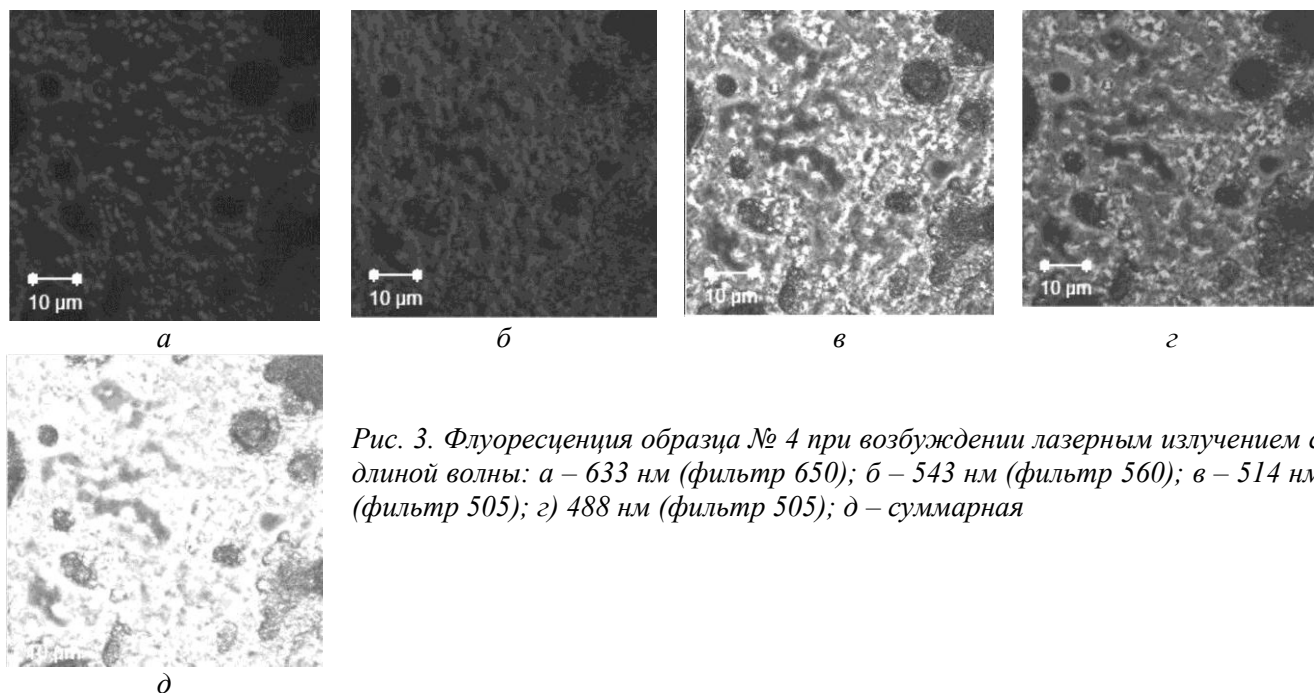


Рис. 3. Флуоресценция образца № 4 при возбуждении лазерным излучением с длиной волны: а – 633 нм (фильтр 650); б – 543 нм (фильтр 560); в – 514 нм (фильтр 505); г) 488 нм (фильтр 505); д – суммарная

Оценка функционального покрова образцов ДНА осуществлялась методом программированной термодесорбции. Термодесорбционные спектры поверхности образцов № 1–3 имеют одинаковый характер (рис. 4).

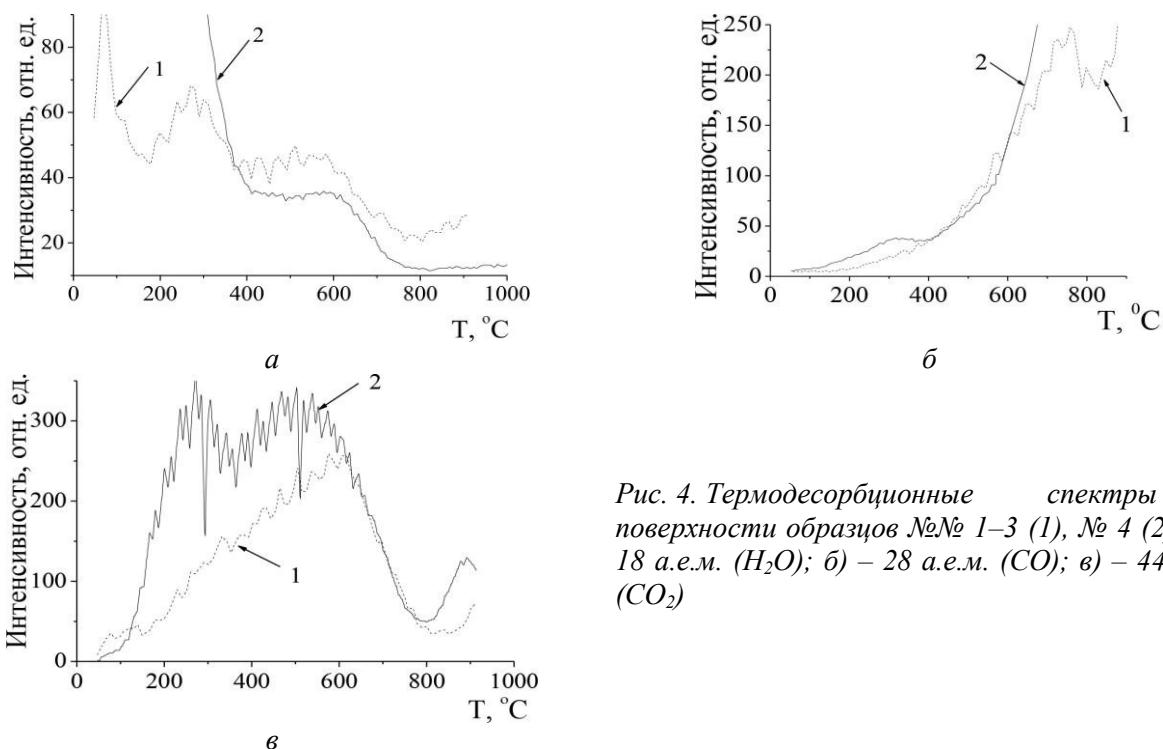


Рис. 4. Термодесорбционные спектры с поверхности образцов №№ 1–3 (1), № 4 (2): а) – 18 а.е.м. ( $H_2O$ ); б) – 28 а.е.м. ( $CO$ ); в) – 44 а.е.м. ( $CO_2$ )

На термодесорбционных кривых веществ 18 а.е.м. ( $H_2O$ ) и 44 а.е.м. ( $CO_2$ ) наблюдаются один низкотемпературный пик при  $100^\circ C$  и две области десорбции в интервале температур  $200\text{--}350^\circ C$  и  $500\text{--}700^\circ C$ . На десорбционных спектрах  $CO_2$  с поверхности образцов № 1–3 наблюдаются три области

выделения соединений: физически сорбированных – в интервале температур 80–150 °С, химически связанных – 200–300 °С (максимум при 250 °С) и 400–550 °С (максимум при 500 °С). Неплавный характер десорбционных кривых может быть обусловлен большой дефектностью поверхности.

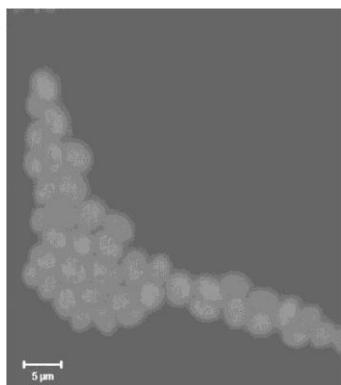


Рис. 5. Флуоресценция в *Saccharomyces cerevisia* с красителем тиофлавин Т при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 405 нм (фильтр 420)

В образце № 4 присутствует большое количество физически сорбированной воды, что подтверждается термодесорбционными спектрами. На спектрах 28 а.е.м. (СО) и 44 а.е.м. (СО<sub>2</sub>) наблюдается пик десорбции при 300 °С, тогда как на спектрах этого же вещества с поверхности других образцов присутствуют пики только в области 650–750 °С. Это может быть обусловлено как образованием большого количества слабосвязанных функциональных поверхностных групп, так и наличием каталитических примесей, т.е. косвенно подтверждать присутствие  $Al^{3+}$ .

Большая химическая активность образца № 4, в сравнении с образцами №1–3, подтверждается при исследовании их термостойкости в воздушной среде.

Дериватограммы образцов сравнения №№ 1–3 идентичны. На термогравиметрических кривых наблюдается потеря массы при 100 °С (десорбция воды), при 340–350 °С – увеличение массы (адсорбция компонентов воздуха). Температура начала окисления образцов № 1–3 составляет 570°С. Температура начала окисления образца № 4 – 530 °С,

что значительно ниже, чем образцов №№ 1 – 3.

Из приведенных данных следует, что образец № 4, синтезированный с добавлением металлического алюминия, в качестве легирующего компонента, имеет более дефектную структуру и развитую поверхность, чем № 1 – 3. Таким образом, более целесообразно применение ДНА,

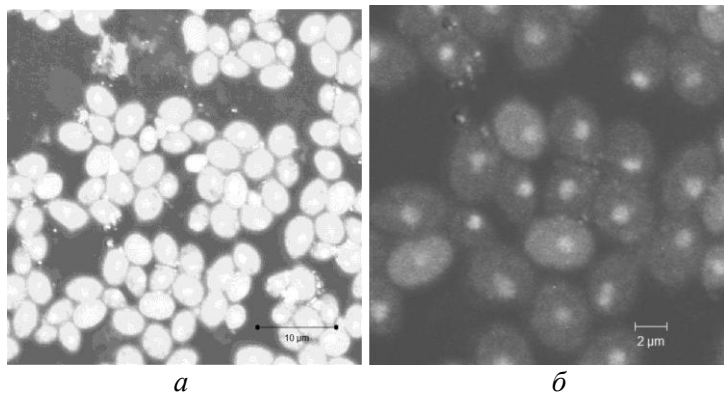


Рис. 6. Суммарная флуоресценция в *Saccharomyces cerevisia* после добавления образца № 4 с нанесенным доксирубицином при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 633 нм (фильтр 650), 543 нм (фильтр 560), 488 нм (фильтр 505), 514 нм (фильтр 505): а – общий вид; б – увеличенное изображение

модифицированного алюминием в процессе синтеза, в качестве носителей различных типов веществ и меток при исследовании биологических объектов методом конфокальной микроскопии.

Рассмотрено применение образца ДНА, предположительно легированного алюминием (образец № 4), с нанесенным доксирубицином, для исследования *Saccharomyces cerevisia*. Данные дрожжи не обладают собственной флуоресценцией. Поэтому при исследовании их структуры применяют различного типа красители, например тиофлавин Т (рис. 5).

Как видно из рис. 6 а, ансамбль ДНА (образец № 4) и доксирубицина хорошо проявляет себя в качестве флуоресцентного красителя и может быть применен в качестве меток. Источники флуоресценции концентрируются в ядрах клеток *Saccharomyces cerevisia* (рис. 6 б).

#### Выводы

ДНА, синтезированные с добавлением легирующей добавки алюминия, имеют более дефектную структуру, развитую поверхность и характеризуются большей интенсивностью

флуоресценции при возбуждении лазерным излучением с различными длинами волн, чем ДНА, полученные из чистой смеси ВВ. Такие ДНА могут быть применены для исследования биологических объектов методом конфокальной микроскопии и в качестве носителей лекарственных препаратов.

*Досліджено вплив добавок алюмінію до вихідних сумішей вибухових речовин на фізичні, фізико-хімічні та біофізичні властивості порошків детонаційного наноалмазу (ДНА). Встановлено, що ДНА, ймовірно, леговані алюмінієм, мають більш дефектну структуру, розвинену поверхню і характеризуються більшою інтенсивністю флуоресценції при збудженні лазерним випромінюванням з різними довжинами хвиль, ніж ДНА, отримані з чистої суміші вибухових речовин. Показана можливість створення композитів ДНА і активних речовин (доксорубіцин) для візуалізації в оптичній микроскопії, а також отримання основи, що взаємодіє з мембранами клітин або проникає до клітин.*

**Ключові слова:** наноалмаз, флуоресценція, структура, легування, оптична микроскопія, доксорубіцин, *Saccharomyces cerevisia*.

*The effect of the additives of aluminum in the initial mixture of explosives on the physical, physico-chemical and biophysical properties of powders of detonation nanodiamond (DND) was researched. It has been established that DND, doped with aluminum, have more defect structure and developed surface, characterized by larger intensity of fluorescence when excited with laser radiation of different wavelengths, than DND, obtained from a pure mixture of explosives. The possibility of developing a composite DND and active substances for visualization of optical microscopy and receiving substrate interacts with cellules membranes or penetrating into cellules.*

**Key words:** powders of detonation nanodiamond, structure, fluorescence, doping, *Saccharomyces cerevisia*.

### Литература

1. Открытая база данных флуорисцентных красителей [Электронный ресурс] – Режим доступа: [www.fluorophores.tugraz.at](http://www.fluorophores.tugraz.at).
2. Физические свойства алмаза. Справочник. Под ред. Н.В.Новикова: Киев. Наукова думка. – 1987. – 192с.
3. В. І. Назаренко, О. П. Демченко Нанодіаманти для флуоресцентних клітинних і сенсорних нанотехнологій // BIOTECHNOLOGIA ACTA, V. 6, No 5, 2013, с.9-18
4. G. Davies, S. C. Lawson, A. T. Collins et al. Vacancy – related centers in diamond // Phys. Rev. B. – 1992. – V. 46, N 20. – P. 13157–13170.
5. A. Beveratos, R. Brouri, T. Gacoin et al. Nonclassical radiation from diamond nano -crystals // Phys. Rev. A. – 2001. – V. 64, N 6. – P. 061802.
6. Патент РФ № 2109683, кл. C01B 31/06. Способ выделения синтетических ультрадисперсных алмазов / В. Ю. Долматов, В. Г. Суцев, В. А. Марчуков. – Оpubл. 27.04.1998.
7. В. Ю. Долматов, И. И. Кулакова и др. Инфракрасные спектры детонационных наноалмазов, модифицированных во время синтеза // Сврттвердые материалы. – 2014. – № 5. – С. 61 – 69.

Поступила 25.05.15