

ХАРАКТЕРИСТИКА ДИСПЕРСИЙ ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ МЕТОДОМ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Гендриксон О.Д., Придворова С.М., Сафенкова И.В., Федюнина Н.С., Платонова Т.А., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.

Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук, Москва, Россия (119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33), e-mail: odhendrick@gmail.com

Проведена структурная и размерная характеристика дисперсий фуллерена C₆₀ в диметилформамиде методом просвечивающей электронной микроскопии. Показано присутствие в исследуемых образцах фракций мелких и крупных агрегатов фуллерена C₆₀, находящихся в размерном диапазоне ~3 нм – 1,5 мкм. Продемонстрирована зависимость размеров агрегатов наночастиц от концентрации полученных дисперсий. Показано, что в диапазоне концентраций фуллерена 20-50 мкг/мл происходит рост количества крупных агрегатов и увеличение их размеров от ~0,5 до 1,5 мкм. При этом размеры мелких агрегатов наночастиц фуллерена одинаковы для всех изученных дисперсий. Среднее значение диаметра мелких агрегатов наночастиц составляет около 10 нм. Данные, полученные в результате характеристики дисперсий фуллерена, представляют интерес при планировании исследований, предполагающих введение фуллерена в биологические системы.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀, агрегаты, просвечивающая электронная микроскопия.

CHARACTERIZATION OF FULLERENE C₆₀ DISPERSIONS BY TRANSPARENT ELECTRON MICROSCOPY

Hendrickson O.D., Pridvorova S.M., Safenkova I.V., Fedyunina N.S., Platonova T.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B.

A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia (119071, Moscow, Leninsky prospect, 33), e-mail: odhendrick@gmail.com

Structural and dimensional characteristics of fullerene C₆₀ dispersions in dimethylformamide were realized by transmission electron microscopy. All samples demonstrated the presence of fractions of fine and large C₆₀ aggregates with sizes in the range of ~3 nm – 1.5 μm. The dependency between the aggregates' sizes and concentration of the dispersions was demonstrated. The increase of amount of large aggregates and growth of their sizes (from ~0.5 to 1.5 μm) was revealed for fullerene in concentration range of 20-50 μg/ml. The size of fine aggregates of nanoparticles was similar in all dispersions. The average diameter of fine aggregates was about 10 nm. The data obtained from the characteristics of fullerene dispersions is of interest for the planning of studies involving the introduction of fullerene in biological systems.

Key words: fullerene C₆₀, aggregates, transparent electron microscopy.

1. Введение

Фуллерены – углеродные наночастицы, представляющие собой замкнутые сферические молекулы, – в настоящее время имеют широкое практическое применение. Одним из важнейших свойств, определяющих биологическую активность фуллерена, является его состояние в различных растворителях. Известно, что фуллерены характеризуются высокой растворимостью только в неполярных растворителях (например, бензоле и его производных), а в средах, наиболее приемлемых для биологических исследований, – полярных растворителях и воде – эти наночастицы практически нерастворимы [1]. Так, растворимость фуллерена в этиловом спирте составляет 1 мкг/мл, а в воде – $1,3 \times 10^{-11}$ нг/мл [1; 2]. Известно, что в полярных растворителях фуллерены имеют тенденцию к образованию

агрегатов различных размеров [1; 3-5]. Агрегация наночастиц фуллеренов может вызвать значительное изменение их свойств и, следовательно, повлиять на результаты биологических тестов с участием фуллерена, проводимых в полярных средах [6]. В настоящее время в литературе имеются лишь разрозненные данные по изучению агрегации фуллерена в различных растворителях. Таким образом, характеристика свойств диспергированных препаратов фуллерена является актуальной задачей при планировании исследований, предполагающих введение фуллерена в биологические системы. Эффективным инструментом для решения этой задачи служит просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) как распространенный метод определения размерных характеристик и агрегации наночастиц в растворах [7]. ПЭМ позволяет не только визуализировать наночастицы фуллерена, но и охарактеризовать их форму, размер, агрегированность и др.

Целью данной работы явилось охарактеризовать методом просвечивающей электронной микроскопии и сопоставить размерные характеристики дисперсий фуллеренов разной концентрации в диметилформамиде.

2. Материалы и методы

2.1. Реагенты

В работе были использованы реактивы следующих производителей:

фуллерен C_{60} – SES Research (США); *N,N*-диметилформамид (ДМФА), – ICN Biomedicals (США).

Все соли были аналитической или химической чистоты. Воду для приготовления растворов очищали на установке MilliQ (Millipore, США).

Для просвечивающей электронной микроскопии использовали медные сетки Ted Pella Inc. (США).

2.2. Приготовление дисперсии фуллерена C_{60} в *N,N*-диметилформамиде

К навескам фуллерена C_{60} добавляли *N,N*-диметилформамид с получением растворов фуллерена с концентрациями 20, 40 и 50 мкг/мл. Полученные смеси озвучивали в ультразвуковой ванне («Сапфир», Россия, рабочая частота – 35 кГц) в течение 16 ч при 25 °С до получения прозрачных растворов коричневого цвета. Хранили в темноте при +4 °С.

2.3. Характеристика препаратов методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ)

Дисперсии фуллерена C_{60} в ДМФА наносили на медные сеточки, стабилизированные углеродом. Высушивали образец в течение 5 минут. Снимки получали на электронном микроскопе CX-100 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Фотографии в

цифровой форме анализировали с использованием программы UTHSCSA Image Tool (UTHSCSA, США).

3. Результаты и обсуждение

Согласно литературным данным, в полярных растворах фуллерены образуют агрегаты, размеры которых варьируют от нескольких нанометров до десятков микрометров [1; 3]. В данной работе методом ПЭМ была проведена характеристика размеров и степени агрегированности наночастиц фуллерена C_{60} в диметилформамиде с концентрацией фуллерена в дисперсиях – 20, 40 и 50 мкг/мл. Использование ДМФА для солюбилизации фуллерена объясняется тем, что это соединение является одним из немногих полярных растворителей, позволяющих получать растворы фуллерена высоких концентраций (до 50 мкг/мл). Кроме того, хорошая смешиваемость ДМФА с водой обеспечивает возможность применения полученных препаратов в биологических тестах.

На рисунке 1 представлены электронно-микроскопические фотографии препаратов фуллерена с концентрацией 50 мкг/мл.

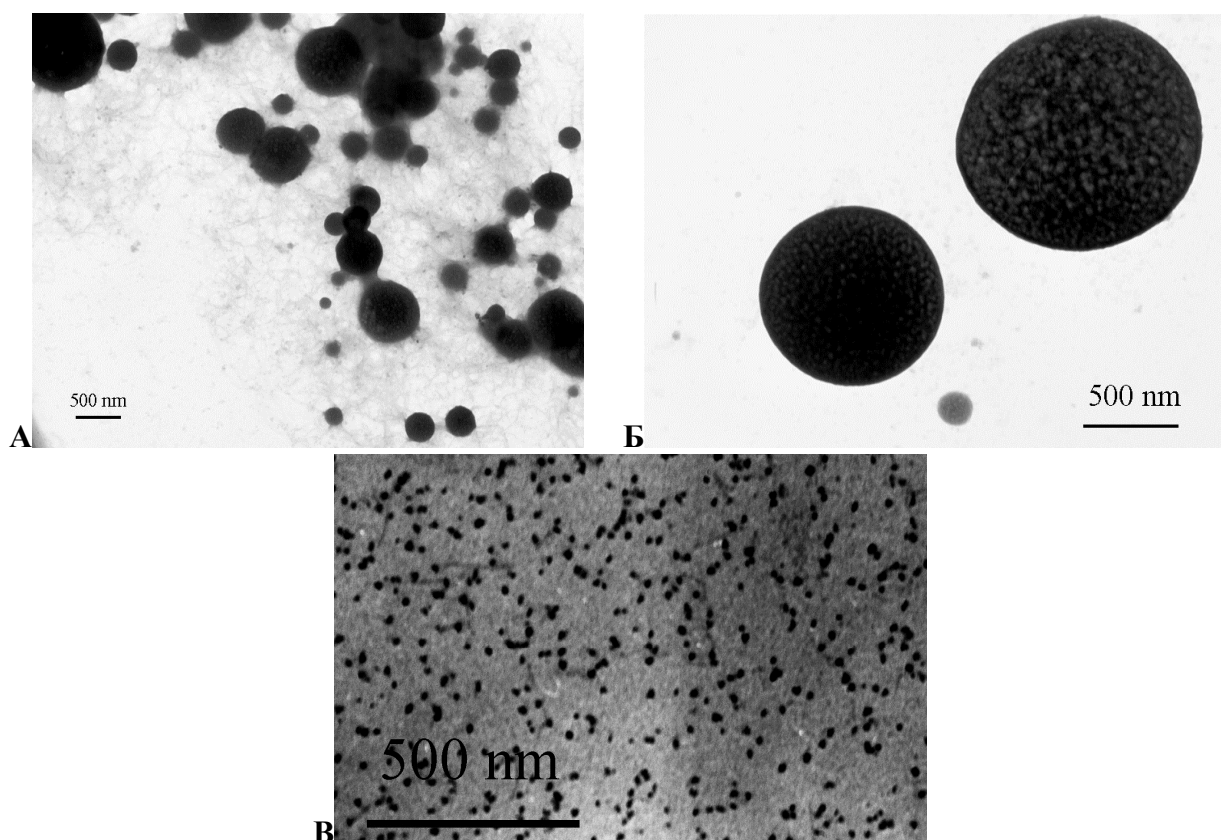


Рис. 1. Электронно-микроскопические фотографии препарата фуллерена C_{60} в ДМФА с концентрацией 50 мкг/мл. А, Б – крупные агрегаты наночастиц фуллерена; В – высокодисперсная фракция агрегированных наночастиц фуллерена.

Как видно из представленных фотографий, в дисперсии фуллерена с этой концентрацией наблюдаются агрегаты разного размера. В препарате детектировались как огромные агрегаты фуллерена размером до 1,5 мкм (рис. 1А, Б), так и небольшие агрегаты размером до 20 нм (рис. 1В). На рис. 1Б наглядно видно, что крупный агломерат сферической формы имеет мелкозернистую структуру и инкапсулирует большое количество частиц и мелких агрегатов.

Из распределения по размеру высокодисперсной фракции агрегированных наночастиц C_{60} (рис. 2) следует, что среднее значение диаметра мелких агрегатов составляет $10,9 \pm 3,8$ нм. Агрегаты наночастиц C_{60} характеризуются минимальным и максимальным диаметром 3,1 и 22,3 нм соответственно.

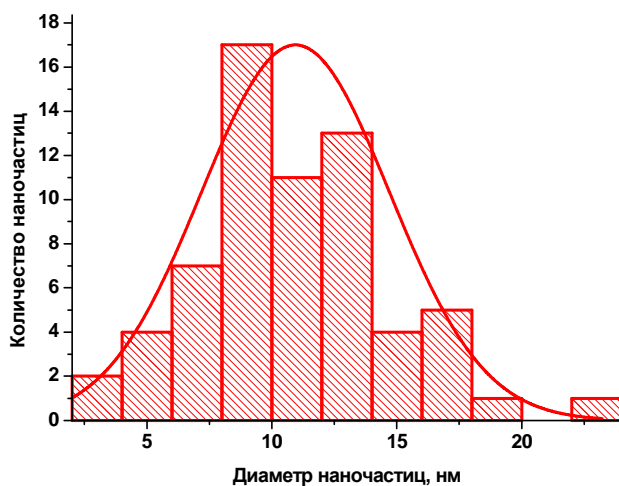


Рис. 2. Распределение по размеру высокодисперсной фракции агрегированных наночастиц фуллерена в дисперсии с концентрацией 50 мкг/мл.

Исходя из данных, полученных методом электронной микроскопии, для дисперсий фуллерена с концентрацией 40 мкг/мл также характерна агрегированность наночастиц. Поскольку концентрации фуллерена в этом и предыдущем препаратах отличаются не столь существенно, а размерный диапазон детектируемых агрегатов примерно совпадает (~5 нм – 1 мкм), данные не представлены.

Несколько другая картина наблюдается при микроскопическом анализе дисперсии с концентрацией 20 мкг/мл (рис. 3).

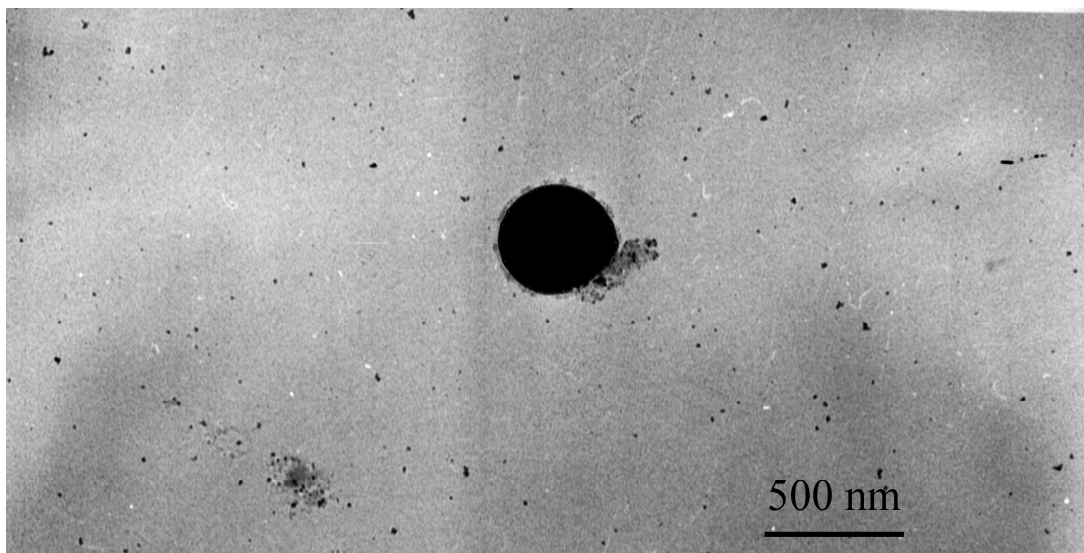


Рис. 3. Электронно-микроскопическая фотографии препарата фуллерена C_{60} в ДМФА с концентрацией 20 мкг/мл.

В этом образце фуллерен также агрегирован, однако большинство составляют небольшие скопления частиц C_{60} . Диаграмма распределения таких скоплений по размеру представлена на рис. 4. Среднее значение диаметра агрегатов наночастиц составляет $10,3 \pm 3,8$ нм при минимальном и максимальном диаметрах 3,7 и 18,2 нм соответственно. Очевидно размерное сходство мелких агрегатов в дисперсиях с концентрациями 20 и 50 мкг/мл. Размеры единичных крупных агрегатов не превышают 0,5 мкм. Отметим, что проведенные ранее размерные и структурные характеристики наночастиц фуллерена в полярных средах показали, что размеры агрегатов фуллерена, детектируемых в сходных системах, сопоставимы с размерами агрегатов C_{60} , установленными в ходе данной работы [8; 9]. Так, авторы [8] в образцах водной дисперсии фуллерена детектировали сферические агрегаты размером 0,5–1,2 мкм, а в работе [9] при микроскопическом исследовании водных дисперсий фуллерена были обнаружены агрегаты размером 7–72 нм. Надо отметить, что агрегация обуславливает существенное уменьшение количества наночастиц в препарате, снижая, таким образом, риски биологического действия фуллерена [9].

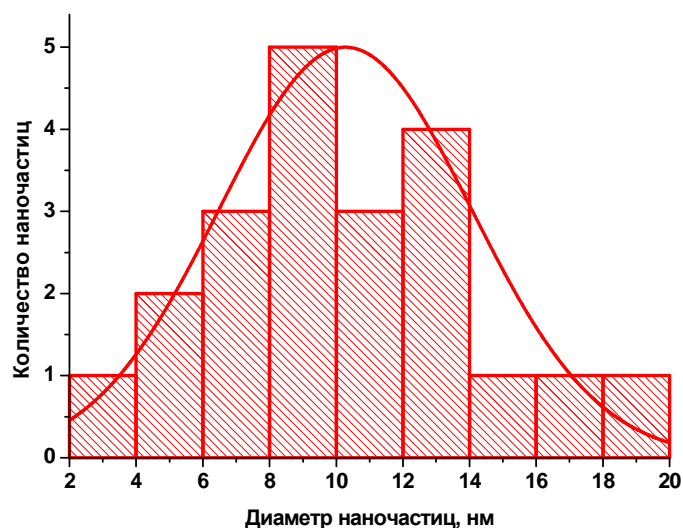


Рис. 4. Распределение по размеру высокодисперсной фракции агрегированных наночастиц фуллерена в дисперсии с концентрацией 20 мкг/мл.

Таким образом, ПЭМ-характеристика препаратов C_{60} показала, что в диметилформамиде наночастицы фуллерена агрегируют с образованием сферических структур формы с размером в диапазоне от нескольких нанометров до примерно полутора микрометров. В узком диапазоне концентраций C_{60} в ДМФА 20-50 мкг/мл наблюдается увеличение размеров крупных агрегатов (от 0,5 до 1–1,2 мкм) и их количества, тогда как размеры мелких агрегатов наночастиц практически совпадают для дисперсий с разной концентрацией фуллерена.

4. Выводы

В результате проведенных исследований методом ПЭМ охарактеризованы по размерам и агрегации дисперсии наночастиц фуллерена C_{60} . Показано, что в диметилформамиде фуллерен образует агрегаты, диапазон размеров которых варьирует от нанометров до нескольких микрометров. Для охарактеризованных дисперсий продемонстрирована концентрационная зависимость размеров агрегатов наночастиц. При увеличении концентрации фуллерена в дисперсии в диапазоне 20–50 мкг/мл растет количество крупных агрегатов и увеличивается их размер; при этом размер мелких агрегатов примерно одинаков для дисперсий с минимальной и максимальной концентрацией C_{60} .

5. Благодарности

Работа проводилась при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Федеральная целевая программа «Научные и научно-педагогические

кадры инновационной России», на 2009–2013 годы, Соглашение от 07 октября 2012 г. № 8743).

Список литературы

1. Безмельницын В.Н., Елецкий А.В., Окунь М.В. Фуллерены в растворах // Успехи физических наук. – 1998. - Т. 168. – № 11. – С. 1195-1220.
2. Semenov K.N., Arapov O.V., Charykov N.A. The solubility of fullerenes in *n*-alkanols-1 // Russ. J. Phys. Chem. – 2008. - V. 82. – P. 1318-1326.
3. Nath S., Pal H., Sapre A.V. Effect of solvent polarity on the aggregation of fullerenes: a comparison between C₆₀ and C₇₀ // Chem. Phys. Lett. – 2002. - V. 360. – P. 422-428.
4. Mchedlov-Petrosyan N.O. Fullerenes in molecular liquids. Solutions in “good” solvents: Another view // J. Mol. Liquids. – 2011. - V. 161. – P. 1-12.
5. Mchedlov-Petrosyan N.O. Fullerenes in Liquid Media: An Unsettling Intrusion into the Solution Chemistry // Chem. Rev. – 2013. - V. 113. – P. 5149–5193.
6. Chae S.R., Badireddy A.R., Budarz J.F., Lin S., Xiao Y., Therezien M., Wiesner M.R. Heterogeneities in Fullerene nanoparticle aggregates affecting reactivity, bioactivity, and transport // ASC Nano. – 2010. - V. 4. – P. 5011-5018.
7. Anish G., Jack B.H., John B., Vander S. Size analysis of single fullerene molecules by electron microscopy // Carbon. – 2004. - V. 42. – P. 1907-1915.
8. Andrievsky G.V., Klochkov V.K., Karyakina E.L., Mchedlov-Petrosyan N.O. Studies of aqueous colloidal solutions of fullerene C₆₀ by electron microscopy // Chem. Phys. Lett. – 1999. - V. 300. – P. 392–396.
9. Georgakilas V., Pellarini F., Prato M., Guldi D.M., Melle-Franco M., Zerbetto F. Supramolecular self-assembled fullerene nanostructures // PNAS. – 2002. - V. 99. – P. 5075–5080.

Рецензенты:

Левицкий Дмитрий Иванович, д.б.н., проф., заведующий лабораторией молекулярной организации биологических структур Института биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва.

Ерёмин Сергей Александрович, д.х.н., проф. кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва.