

УДК 541.64: 662.728

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА НАНОБИОКОМПОЗИТА СЕЛЕНА И АЛЬГИНАТА НАТРИЯ

Панов Д. А.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: panovda@crimea.edu*

Синтезированы водорастворимые комплексы наночастиц селена с альгинатом натрия. Нанобиокомпозиты образуются в результате восстановления селена в окислительно-восстановительной системе: селенит-L-цистеин в водном растворе альгината натрия. Агрегативная устойчивость наноконплексов определяется условиями их получения и зависит от концентрационного соотношения селен/альгинат. Методами сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии определен размер наночастиц селена в матрице альгината натрия.

Ключевые слова: наноселен, альгинат натрия, L-цистеин, атомно-силовая и сканирующая микроскопии.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время наблюдается повышенное внимание к микроэлементу селену, который является незаменимым для жизнедеятельности человека, так как он участвует в различных биохимических процессах и является сильным антиоксидантом, повышает иммунитет, снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, входит в состав ряда ферментов [1, 2]. Продукты большинства регионов бедны селеном из-за низкого содержания его в почве и, как следствие, в продуктах растительного происхождения. Поэтому необходимо вводить в продукты питания биологически активные добавки, содержащие селен. В данное время существует несколько форм препаратов неорганического и органического селена – это селенит и селенат натрия, селенометионин, селеноцистеин. Следует отметить, что все соединения селена токсичны, поэтому вполне понятен интерес российских и зарубежных ученых к поиску новых менее токсичных форм селена. Высокодисперсный наноселен с размером частиц менее 40 нм обладает низкой токсичностью, что позволяет применять его в дозах, превышающих суточную потребность, без вреда для здоровья. В литературе приводятся данные по использованию наноселена в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве [3, 4].

Наночастицы селена редко получают диспергированием, в основном используют химические методы восстановления соединений селена. В качестве восстановителей обычно используют аскорбиновую кислоту, реже цистеин. В результате окислительно-восстановительных реакций образуется аморфный селен

красного цвета с диаметром частиц 100–170 нм [5, 6]. Полученные частицы неустойчивы и постепенно агрегируют, выпадая в осадок. Одним из перспективных методов получения агрегативно устойчивых наночастиц является восстановление селена из ионных форм в растворах полимеров. Согласно литературным данным, для стабилизации наночастиц используют высокомолекулярные соединения различной природы – поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, оксиэтилцеллюлоза и другие [5, 7, 8]. Одним из последних способов получения наночастиц селена можно считать «зеленый» синтез с использованием глюкозы. Для получения сферических наночастиц размером 20–80 нм использовали селеносульфат натрия и свежеприготовленный раствор глюкозы [9]. В настоящее время для стабилизации наночастиц успешно используют природные биополимеры – полисахариды морских водорослей, обладающие широким спектром биологической активности. Перспективы использования альгинатов связаны с их свойствами: природное происхождение, низкая токсичность, биосовместимость, сорбционная способность, гелеобразование [10–12]. Для дальнейшего использования альгината натрия необходимо установить ряд параметров, характеризующих процесс взаимодействия полисахарида с наночастицами селена, полученными путем восстановления селенита натрия L-цистеином.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение физико-химических свойств альгината натрия различных производств (Германия, Норвегия и США) и влияния его на процесс формирования и устойчивость наночастиц селена, а также определение размеров наночастиц селена в матрице альгината методами сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован альгинат натрия различного производства: Германия (Fluca), Норвегия (BioPolymer) и США (Algogel 3001, Algogel 6021). Физико-химическими методами были изучены некоторые физико-химические величины альгинатов. Вискозиметрическим методом (вискозиметр Оствальда, $d=0,56$ мм) были определены относительная вязкость и критическая концентрация ассоциатообразования растворов альгината натрия (1,00 г/дл). Потенциометрическим методом были измерены рН растворов альгината, а также содержание свободных карбоксильных групп. Измерение проводили на иономере АНИОН 4100 со стеклянным комбинированным электродом.

Наночастицы селена получали путем восстановления раствора селенита натрия (х.ч.) аминокислотой L-цистеином (х.ч., «Synex Pharma», Китай) согласно методикам, описанным в литературе [6, 13]. Следует отметить, что водные растворы селенита натрия и цистеина малоустойчивы, поэтому они пригодны для работы в день приготовления. Нанобиокомпозит селена и альгината готовили следующим образом: к раствору альгината натрия (0,05–0,25 г/дл) добавляли раствор цистеина постоянной концентрации при перемешивании в течение 20–30 мин. Затем в эту смесь вводили окислитель – селенит натрия, при перемешивании. Концентрация селена оставалась постоянной – 0,005 г/дл. Соотношение наноселена и альгината

натрия ($\nu = C_{\text{Sel}}/C_{\text{Alg}}$) лежит в пределах 0,10–0,02. В результате реакции образуется красновато-оранжевый коллоидный раствор нанобиокомпозиата.

Измерение оптической плотности индивидуальных веществ и нанобиокомпозиата с альгинатом проводили на спектрофотометре (СФ-2000, Россия) в кварцевых кюветах ($l=1$ см, $t=20$ °С), в интервале длин волн $\lambda=200$ – 700 нм. Контроль агрегативной устойчивости полученных наночастиц селена осуществляли фотометрическим методом по изменению оптической плотности при длине волны 315 нм (КФК-2, Россия).

Определение размера образующихся наночастиц селена и изучение поверхности тонких пленок, полученных из водных растворов полимера и наноселена, проводили на сканирующем мультимикроскопе (СММ-2000, Россия). В используемом мультимикроскопе имеется атомно-силовой микроскоп (АСМ) и сканирующий туннельный микроскоп (СТМ). Выбор АСМ-режима определил методику подготовки образцов. Несколько капель раствора нанобиокомпозиата наносили на предметное стекло и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Фрагмент пленки 5x5 мм был прикреплен на пьедестал держателя образца. Сканирование проводилось «мягкими» кантилеверами со скоростью 4 мкм/сек и количество усреднений в точке – 16, что дало приемлемые результаты при достаточно высокой скорости сканирования. Обработка полученной информации включала выравнивание изображений, применение фильтров, использование программ для статического анализа. В результате был определен размер наночастиц селена и получены изображения рельефа сканируемой поверхности с разрешением до нескольких ангстрем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время альгинат натрия производят в США, Англии, Норвегии, Германии, России и других странах. В таблице представлены значения физико-химических параметров альгината натрия, произведенного в США, Норвегии и Германии.

Согласно полученным данным, используемые альгинаты отличаются относительной вязкостью и содержанием свободных карбоксильных групп. Наибольшая относительная вязкость (156,25) и наибольшее содержание свободных карбоксильных групп (12,78 %) наблюдаются у альгината американского производства (Algogel 6021). Альгинат производства Норвегии имел наименьшее значение относительной вязкости (15,00) и содержания свободных карбоксильных групп (10,30%).

Таблица

Физико-химические характеристики используемых альгинатов натрия

Измеряемая величина	Algogel 3001	Algogel 6021	Fluka	BioPolymer
Относительная вязкость раствора (1,0 г/дл)	32,90 ± 0,54	156,25 ± 0,95	57,50 ± 0,88	15,00 ± 0,25
pH раствора (1,0 г/дл)	6,8 ± 0,08	6,7 ± 0,08	6,30 ± 0,08	6,20±0,06
Область ККА, г/дл	0,007–0,01	0,01–0,02	0,009–0,010	0,010–0,11
Содержание свободных карбоксильных групп, %	9,29 ± 0,15	12,78 ± 0,33	10,62 ± 0,18	10,30 ± 0,15

Водные растворы индивидуальных веществ: альгината натрия, селенита натрия, цистеина в области длин волн $\lambda=200-700$ нм практически прозрачны. Малоинтенсивный максимум поглощения наноселена в матрице альгината натрия наблюдается при длине волны 250 нм, что совпадает с литературными данными [6, 9]. При изучении влияния альгината натрия на агрегативную устойчивость наноселена был приготовлен ряд растворов с различными массовыми соотношениями селен/альгинат. Концентрация селена была постоянной во всех случаях, а концентрация альгината менялась. Затем были измерены оптическая плотность, pH и относительная вязкость полученных растворов через определенные промежутки времени в течение месяца. На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что небольшие изменения относительной вязкости, оптической плотности и pH наблюдаются для растворов альгината – BioPolymer (Норвегия). Кроме того, данные значения сохранялись в течение 20–25 дней, а затем постепенно выпадал осадок аморфного селена. Наименьшее влияние на стабилизацию наночастиц оказывал альгинат производства США (Algogel 6021), осадок выпадал через 2 недели. Поэтому в дальнейших исследованиях использовали альгинат натрия производства Норвегия (BioPolymer).

На рисунке представлены результаты морфологического анализа распределения диаметров наночастиц, полученные на мультимикроскопе (СММ-2000). Основной размер нанозерен лежит в пределах от 10 до 50 нм (91 %), а средний размер их составляет 34 нм (52 %). При изучении структуры поверхности тонкой пленки нанобиокомпозита видно, что поверхность представляет собой скопление нанокластеров. Все они соединены между собой и сохраняют сплошность за счет стабилизатора – альгината натрия.

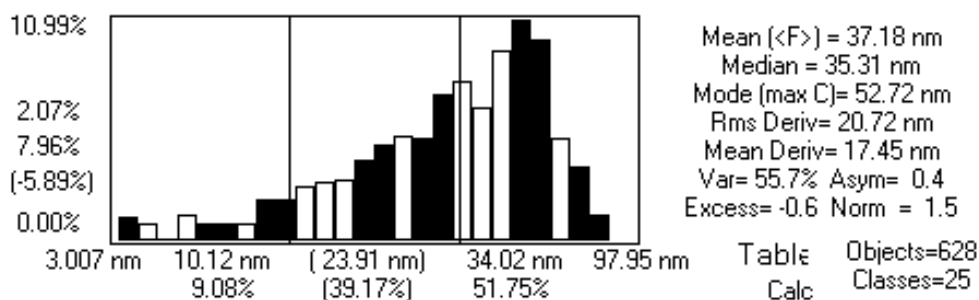


Рис. Морфологический анализ кадра-графики распределения нанозерен селена по диаметрам.

В настоящее время наряду с синтезом наноконпозитов селена и альгината существует острая необходимость оценки их токсических свойств. С этой целью был использован биотест на светящихся бактериях (*Photobacterium leiognathi* Sh1), выделенных из вод Азовского моря. Наночастицы селена не оказывают ингибирующего действия на бактериальную биолюминесценцию как в тесте на острую токсичность (60 мин тест), так и в тесте на хроническую токсичность (24 часа). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии токсических свойств полученных наночастиц селена в матрице альгината натрия.

Синтезированный водорастворимый нанобиоконпозит был использован для предпосевной обработки семян пшеницы. Установлено, что данный препарат способствовал стимуляции накопления биомассы корней и надземной части растений по сравнению с контрольными образцами [14, 15].

Разработанный способ получения наноконпозитов селена и альгината может быть положен в основу создания новых безопасных и эффективных препаратов для медицины, ветеринарии и сельского хозяйства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основании измерений оптической плотности, рН и относительной вязкости коллоидных растворов наноселена найдено, что лучшим стабилизатором среди альгинатов различных производителей является альгинат производства BioPolymer (Норвегия). Полученные нанобиоконпозиты устойчивы в течение 20–25 дней.
2. Методами сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии установлено, что полученные наночастицы селена в матрице альгината натрия имеют средний диаметр 34 нм (52 %).

Список литературы

1. Голубкина Н. А. Селен в медицине и экологии / Н. А. Голубкина, А. В. Скальный, Я. А. Соколов [и др.] // М.: КМК, 2006. – 136 с.
2. Громова О. А. Впечатляющие итоги и перспективы применения / О. А. Громова, И. В. Гоголева // Медицина неотложных состояний. – 2010. – Т. 6, № 31 – С. 124–128.
3. Хромцов А. Г. Новый биологически активный препарат на основе наночастиц селена / А. Г. Хромцов, А. В. Серов, В. П. Тимченко [и др.] // Вестник Северо-Кавказского государственного технического университета. – 2010. – № 4 – С. 122–125.
4. Мирошниченко М. В. Изучение закономерностей синтеза и разработка технологии концентрации наночастиц нульвалентного селена для новых профилактических продуктов: автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. техн. наук: спец. 05.18.04 «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» / М. В. Мирошниченко – Ставрополь, 2013 – 25 с.
5. Копейкин В. В. Синтез наночастиц селена в водных растворах поливинилпирролидона и морфологические характеристики образующихся наноконструктов / В. В. Копейкин, С. В. Валуева, А. И. Киппер [и др.] // Высокомолекулярные соединения. – 2003. – Т. 45, № 4 – С. 615–622.
6. Facile and controllable one-step fabrication of selenium nanoparticles assisted by L-cysteine / Q. Li, T. Chen, F. Yang [et al.] // Materials letters. – 2010. – Vol. 64, № 5. – P. 614–617.
7. Валуева С. В. Влияние соотношения компонентов комплекса селен: поливинилпирролидон на формирование и морфологические характеристики наноструктур / С. В. Валуева, Л. Н. Боровикова, А. И. Киппер // Журнал физической химии. – 2008. – Т. 82, № 6. – С. 1131–1136.
8. Валуева С. В. Самоорганизация и структура селеносодержащих биологически активных наночастиц / С. В. Валуева, Т. Е. Суханова, Л. Н. Боровикова [и др.] // Электр. журн. «Структура и динамика молекулярных систем». – 2011. – № 10 (А). – С. 3–11.
9. Ingole Atul. R. Green synthesis of selenium nanoparticles under ambient condition / Atul. R. Ingole, Sanjay R. Thakare, N. T. Khati [et al.] // Chalconide Letters – 2010 – Vol.7, No7 – P.485-489.
10. Хотимченко Ю. С. Физико-химические свойства, физиологическая активность и применение альгинатов – полисахаридов бурых водорослей / Ю. С. Хотимченко, В. В. Ковалев // Биология моря. – 2001. – Т. 27, № 3. – С. 151–162.
11. Юркова И. Н. Исследование оптических свойств нанобиоконструктов на основе серебра и полисахаридов морских водорослей / И. Н. Юркова, Д. А. Панов, В. И. Рябушко // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия: Биология, Химия. – 2009. – Т. 22 (61), № 1. – С. 203–207.
12. Юркова И. Н. Наноконструкция серебра в матрице альгината натрия / И. Н. Юркова, Д. А. Панов // Тенденции и инновации фундаментальных и прикладных наук (Под редакцией И.Б. Красиной). – Ставрополь: Центр научного знания «Логос», 2016. – Т. 3. – С. 98–117.
13. Панов Д. А. Химотрипсин – стабилизатор наночастиц селена / Д. А. Панов, Е. В. Пысларь // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2014. – Т. 27 (66), № 4. – С. 117–123.
14. Панов Д. А. Синтез и биологическая активность водорастворимых наночастиц селена в матрице альгината / Д. А. Панов, И. Н. Юркова, А. М. Кацев, А. В. Омельченко // Пятая Международная конференция «От наноструктур, наноматериалов и нанотехнологий к наноиндустрии. – Ижевск (Россия), 2015. – С. 149–150.
15. Юркова И. Н. Влияние наночастиц селена и селенита натрия на рост и развитие растений пшеницы / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 99–106.