

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ СЦИНТИЛЛЯЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ

На правах рукописи

ГРИГОРОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА

УДК [544.77.032.12:546.88'21 – 022.532]:667.28

СВОЙСТВА ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ
ОРТОВАНАДАТОВ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С КРАСИТЕЛЯМИ

02.00.04 — физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
Малюкин Юрий Викторович
член-корреспондент
НАН Украины,
доктор физ.-мат. наук, проф.

Харьков – 2015

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК ОСНОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
РАЗДЕЛ 1 АГРЕГАТИВНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ДИСПЕРСНЫХ СИСТЕМ. НАНОДИСПЕРСНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ОРТОВАНАДАТОВ РЗЭ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	14
1.1 Общие сведения о гидрофобных дисперсных системах	14
1.2 Основные аспекты теории агрегативной устойчивости дисперсных систем (ДЛФО)	18
1.3 Стабилизация дисперсных систем.....	23
1.3.1 Методы стабилизации наночастиц ортованадатов РЗЭ.....	26
1.4 Методы синтеза нанокристаллов ортованадатов РЗЭ	28
1.5 Фундаментальные свойства нанокристаллов ортованадатов РЗЭ.....	31
1.5.1 Структурные свойства нанокристаллов ортованадатов РЗЭ	32
1.5.2 Оптические свойства нанокристаллов ортованадатов РЗЭ	35
1.6 Перспективные области использования наночастиц ортованадатов РЗЭ	39
Выводы к разделу 1	44
РАЗДЕЛ 2 МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДИКИ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	46
2.1 Реактивы, материалы и оборудование	46
2.1.1. Реактивы	46
2.1.2 Материалы и оборудование.....	47
2.2 Методики приготовления растворов	48
2.3 Методики синтеза исследуемых гидрозолей на основе нанокристаллов ортованадатов $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).....	49
2.3.1 Синтез гидрозолей $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ с наночастицами сферической формы	50

2.3.2 Синтез гидрозолей $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ с наночастицами веретенообразной формы	50
2.3.3 Синтез гидрозолей $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ с наночастицами стержнеподобной формы.....	51
2.4 Методика определения плотности твердой фазы гидрозолей	52
2.5 Методика определения удельной поверхности дисперсной фазы	53
2.6 Методика определения порогов быстрой коагуляции гидрозолей.....	54
2.7. Методы физико-химического исследования гидрозолей.....	56
Выводы к разделу 2.....	58
РАЗДЕЛ 3 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ	
$Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd)	59
3.1 Физико-химические характеристики гидрозолей $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd)	59
3.2 Спектральные характеристики гидрозолей $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd)	66
Выводы к разделу 3	74
РАЗДЕЛ 4 КОЛЛОИДНО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd)	
4.1 Взаимодействие гидрозолей $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd) с неорганическими электролитами.	75
4.2 Взаимодействие гидрозолей $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd) с органическими электролитами.....	87
4.3 Агрегативная стабильность наночастиц $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd) в физиологических средах.....	89
Выводы к разделу 4.....	91
РАЗДЕЛ 5 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТИОННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С НАНОЧАСТИЦАМИ $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ (Re = Y, La, Gd) С РАЗНЫМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ	
93	

5.1 Агрегация цианиновых красителей в присутствии наночастиц	
$\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).....	95
5.1.1 Особенности агрегации красителя пинацианола в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)	95
5.1.2 Особенности агрегации красителя Цуан- βTh в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).....	100
5.2 Агрегация красителя метиленового голубого в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).....	107
5.3 Агрегация красителя нильского голубого в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).....	111
Выводы к разделу 5.....	115
РАЗДЕЛ 6 НЕКОТОРЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ	117
6.1 Наночастицы $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) как флуоресцентные метки для биологических объектов	117
6.2 Наночастицы $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ как СОД-миметик в процессе автоокисления адреналина	121
Выводы к разделу 6.....	126
ВЫВОДЫ	128
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	130

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

- $S_{\text{уд}}$ – площадь удельной поверхности, $\text{м}^2/\text{г}$;
 ρ – плотность частиц, $\text{г}/\text{см}^3$;
 A – оптическая плотность;
 l – длина оптического пути, см ;
 ε – коэффициент экстинкции, $\text{л}/\text{моль}\cdot\text{см}$;
 λ – длина волны, нм ;
 λ_{max} – значение длины волны в максимуме, нм ;
 $\lambda_{\text{возб}}$ – значение длины волны возбуждения люминесценции, нм ;
 $\lambda_{\text{рег}}$ – значение длины волны регистрации люминесценции, нм ;
 z – заряд иона;
 Cat^+ – катион;
 M – моль/л;
 $\text{мол}\%$ – мольный процент;
 $\text{об}\%$ – объемный процент;
 pH – водородный показатель;
 ПБК (Y) – порог быстрой коагуляции;
 T/Ж – твердое/жидкое состояние;
 НЧ – наночастицы;
 Re, PЗ – редкоземельный ион;
 PЗЭ – редкоземельный элемент;
 ККМ – критическая концентрация мицеллообразования;
 МГ – метиленовый голубой;
 НГ – нильский голубой;
 ПНЦ – пинацианол;
 $\text{Суан-}\beta\text{Th}$ – 3,3'-диметил-9-тиенил-тиакарбоцианин йодид;
 ПАВ – поверхностно-активное вещество;
 ВМС – высокомолекулярное соединение;
 ЭБС – эмбриональная бычья сыворотка;

СОД – супероксиддисмутаза;

ДЛФО – теория Дерягина – Ландау – Фервея – Овербека;

ДРС – динамическое рассеяние света;

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия;

РФА – рентгенографический фазовый анализ;

УФ – ультрафиолетовый;

Вид – видимый;

ИК – инфракрасный.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В последние годы наноразмерные люминесцентные частицы различной структуры и химического состава, привлекают много внимания как перспективные материалы для создания люминесцентных меток и наноконтейнеров, которые могут быть использованы в биологических исследованиях. Среди наиболее перспективных объектов для получения неорганических люминесцентных зондов рассматриваются материалы на основе полупроводниковых нанокристаллов (квантовые точки) [1, 2], а также широкозонных полупроводников и диэлектриков, активированных редкоземельными элементами [3-5]. Последние обладают уникальными люминесцентными свойствами, такими как узкие спектральные линии с большим стоксовым смещением, высокий квантовый выход, отсутствие эффекта мерцания, высокая фотостабильность, что позволяет использовать их в качестве люминесцентных зондов в биологических исследованиях для мечения, а высокая степень биосовместимости наноматериалов позволяет использовать их для длительного мониторинга состояния биологических объектов в условиях *in vivo*. Кроме того, наблюдается перспективность применения наноматериалов как наноразмерной платформы при создании нового типа нанолекарств, например, противораковых агентов, в том числе и в фотодинамической терапии. Поэтому изучение особенностей взаимодействия НЧ с возможными транспортировочными веществами (преимущественно органическими) является своевременной задачей. Сделать это можно с использованием методов оптической спектроскопии, применяя органические молекулы красителей как модельные системы органического активного вещества, которые также привлекательны и с точки зрения использования их в качестве фотоактивного вещества в составе гибридного комплекса для фотодинамической терапии.

При использовании наноматериалов в биологии и медицине необходимо учитывать их влияние на биологические процессы. Токсичность неорганических наночастиц, а также их способность влиять на внутриклеточные метаболические процессы в значительной степени зависит от физико-химических характеристик, включая размер, форму и окружение поверхности наночастиц [6, 7]. Нередко, при исследовании биологических эффектов наночастиц, имеющих близкие физико-химические характеристики, разные авторы получают несовпадающие, а порой и противоположные по значению результаты. Одной из причин подобных противоречий могут быть условия проведения эксперимента. Биологическая активность наночастиц зависит не только от природы, геометрии или окружения индивидуальных частиц, но и от присутствия в исследуемой системе ионов электролитов, способствующих снижению ζ -потенциала и агрегации наночастиц. Как правило, в биологическом эксперименте с использованием наночастиц, недостаточное внимание уделяется влиянию солевого состава среды на агрегацию и коагуляцию частиц. Поэтому исследования коллоидных свойств растворов наночастиц, и в частности, влияния состава электролитов и органических молекул на их агрегативную устойчивость, необходимо для правильного планирования биологического эксперимента.

Связь работы с научными программами, планами, темами

Работа выполнялась в соответствии с тематических планов научно-исследовательских работ Института сцинтилляционных материалов НАН Украины в рамках госбюджетных тем «Разработка новых люминесцентных материалов для применения в нанобиотехнологии» (2011-2012 гг. № госрегистрации 0111U008840) Государственной целевой научно-технической и социальной программы «Наука в университетах»; «Разработка методов получения и исследования механизмов модификации поверхности наноструктурированных гибридных материалов «неорганический нанокристалл-органическая молекула» (2012-2013 гг. № госрегистрации:

0113U001841); «Разработка технологий получения гибридных органико-неорганических наноструктурированных люминесцентных материалов» (2012-2016 гг. № государственной регистрации: 0112U001897).

Цель и задачи исследования

Целью исследования является определение влияния различных факторов на агрегативную устойчивость гидрозолей $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и установления характера взаимодействия их дисперсной фазы с органическими красителями различной структуры.

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

1) Синтезировать объекты исследования - гидрозоли на основе нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ с различными геометрическими параметрами твердой фазы.

2) Определить общие физико-химические и спектральные характеристики гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) (размер и морфологию частиц твердой фазы, плотность, удельную площадь поверхности, ζ - потенциал, коэффициенты экстинкции).

3) Определить закономерности и пороги коагуляции гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) в присутствии неорганических солей и органических соединений, в том числе поверхностно-активных веществ и красителей.

4) Исследовать агрегацию наночастиц исследуемых гидрозолей в физиологических средах.

5) Исследовать характер взаимодействия органических красителей различной структуры с наночастицами гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) с различным форм-фактором.

6) Продемонстрировать возможность биологического применения исследуемых объектов.

Объект исследования - гидрозоли на основе нанокристаллов $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$, $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ и $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ с различными геометрическими параметрами твердой фазы.

Предмет исследования - физико-химические и спектральные характеристики, агрегативная устойчивость и характер взаимодействия наночастиц гидрозолей $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$, $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ и $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ с красителями различной структуры.

Методы исследования - просвечивающая электронная микроскопия, метод динамического рассеяния света, рентгенфазовый анализ, ИК и УФ-Вид спектроскопия, люминесцентная спектроскопия и микроскопия.

Научная новизна полученных результатов

- На основе комплексного использования физико-химических методов анализа охарактеризованы гидрозоли $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$, $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ и $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$, твердая фаза которых представлена наночастицами с разными геометрическими параметрами. Определены коэффициенты экстинкции полученных гидрозолей.

- Определены интервалы pH агрегативной устойчивости и пороги коагуляции гидрозолей ортованадатов $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ ($Re = Y, La, Gd$) неорганическими солями и органическими соединениями, в том числе поверхностно-активными веществами и красителями.

- Установлено, что в физиологических средах, содержащих сыворотку крови, коагуляция исследуемых неорганических частиц не происходит за счет образования стабилизирующего слоя из компонентов сыворотки (кроме альбумина) на поверхности частиц. Результаты таких исследований предполагают возможность применения гидрозолей для инъекций без побочных эффектов агрегации и коагуляции частиц в биологических жидкостях.

- Показано, что в водных растворах наночастиц $Re_{1-x}Eu_xVO_4$ ($Re = Y, La, Gd$) при добавлении катионных красителей благодаря электростатическому

взаимодействию происходит адсорбция молекул красителей на поверхности наночастиц, а в некоторых случаях, их упорядоченная агрегация. Степенью упорядоченности можно управлять с помощью форм-фактора наночастиц.

- В эксперименте *in vitro* продемонстрирована возможность применения нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ как биологических зондов. Обнаружена способность нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ размером ~ 2 нм проникать в клетки печени и аккумулироваться в области ядер.

Практическое значение полученных результатов

Использованная методика коллоидного синтеза позволяет получать агрегативно устойчивые гидрозоли на основе нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ с контролируемыми геометрическими параметрами твердой фазы. Отсутствие в полученных гидрозолях примесей, поверхностно-активных веществ и полимеров, которые способны взаимодействовать с биологическими объектами, делает их пригодными для биологического тестирования. Полученные данные исследования влияния электролитного состава и органических молекул на агрегативную устойчивость гидрозолей позволяют правильно спланировать биологический эксперимент, а именно могут применяться для выбора компонентов инкубационных сред в экспериментах *in vitro*. Результаты исследований поведения наночастиц гидрозолей в сыворотке крови предполагают возможность их введения в виде инъекций в экспериментах *in vivo* без эффектов их агрегации. Продemonстрирована возможность применения нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ как биологических зондов. Данные исследования взаимодействия в системе «неорганическая наночастицы-органическая молекула» допускают возможность применения таких нанокристаллов как наноразмерных носителей для транспортировки органических молекул в живую клетку.

Личный вклад соискателя

Личный вклад соискателя в получении научных результатов заключается в следующем: автор диссертации непосредственно участвовал в постановке цели и задач исследования совместно с научным руководителем д.физ.-мат.н. Ю.В. Малюкин с участием к.х.н. В.К. Клочкова, систематизации и проведении анализа имеющихся литературных данных по теме работы, проведении экспериментальных исследований, обработке и истолковании полученных результатов, и написании научных статей.

Автор выражает благодарность к.физ.-мат.н. А.П. Крышталю (ХНУ им. В.Н. Каразина) за проведение исследований методом электронной микроскопии и к.х.н. Д.С. Сафронову (ГНУ НТК «Институт Монокристаллов» НАН Украины) за измерение ИК-спектров.

Апробация результатов диссертации

Материалы диссертационной работы докладывались и обсуждались на следующих международных и отечественных конференциях: 2-я Научно-техническая конференция молодых ученых “LUMCOS 2011” (Харьков, 2011); The International Summer School “NANOTECHNOLOGY: from fundamental research to innovations” (Bukovel, 2012); 2nd International conference “Nanomaterials: Application & Properties” (Alushta, Crimea, 2012); Всеукраинская конференция с международным участием “Химия, физика и технология поверхности” (Киев, 2013); 4th International Workshop on Advanced Spectroscopy and Optical Materials (Gdansk, Poland, 2013); 15th International Conference-School “Advanced Materials and Technologies” Palanga, Lithuania, 2013).

Публикации

Основные результаты диссертации опубликованы в 13 научных профессиональных изданиях, из них 7 статей в следующих журналах: Журнал прикладной спектроскопии (1 статья), Colloids and Surfaces A:

Physicochemical and Engineering Aspects (2 статьи), Materials Science and Engineering C (1 статья), Химия, физика и технология поверхности (1 статья), Вопросы химии и химической технологии (1 статья), Chemical Physics Letters (1 статья) и 6 тезисов докладов на научных конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, шести разделов, выводов, списка использованных литературных источников (217 наименований). Диссертация изложена на 151 странице печатного текста, содержит 46 рисунков и 7 таблиц.

В литературном обзоре (раздел 1) обсуждены основные методы синтеза, физико-химические свойства нанокристаллов на основе ортованадатов редкоземельных элементов и возможности их применения в биологии и медицине. Рассмотрены основные аспекты устойчивости лиофобных золей в рамках теории Овербека–Фервея–Ландау–Дерягина (ДЛФО). Во втором разделе приведена общая характеристика методов, методик и материалов, которые применяются для проведения экспериментальных исследований. В третьем разделе приведены данные экспериментальных исследований, результаты которых определяют общую характеристику и оптические свойства полученных гидрозолей на основе нанокристаллов $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$). Четвертый раздел посвящен коллоидно-химическим исследованиям гидрозолей. В пятом разделе приведены данные экспериментальных исследований взаимодействия катионных красителей различной структуры с наночастицами $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) с разными геометрическими параметрами. В шестом разделе приведены результаты исследований, которые указывают на возможность применения полученных гидрозолей в биологии и медицине.

РАЗДЕЛ 1
АГРЕГАТИВНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ДИСПЕРСНЫХ СИСТЕМ.
НАНОДИСПЕРСНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ОРТОВАНАДАТОВ
РЗЭ: СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ
(ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

1.1 Общие сведения о гидрофобных дисперсных системах

Представление о коллоидах как об особой группе веществ вошло в науку в середине XIX века. Растворы этих веществ отличались от обычных рядом признаков, в частности, тем, что растворенное вещество не проходило через мембраны с очень тонкими порами и не обнаруживало заметной диффузии. В начале XX века было установлено, что любое вещество может быть получено в виде коллоида и, следовательно, нужно говорить не о коллоидных веществах, а о коллоидном состоянии как о всеобщем особом состоянии материи (это было сформулировано впервые П. П. Веймарном) [8-10]. При переводе вещества в коллоидное состояние речь идет об образовании гетерогенных систем, состоящих из сильно раздробленной дисперсной фазы и макроскопически непрерывной дисперсионной среды и, в частности, о предельно раздробленных ультрамикро- и микрогетерогенных коллоидных системах.

В качестве характеристики качественной определенности коллоидного состояния выделяются следующие свойства термодинамически неравновесных коллоидных систем:

- ультрамикрогетерогенность;
- участие частиц в броуновском движении;
- зависимость реакционной способности дисперсной фазы от степени дисперсности.

С перечисленными свойствами неразрывно связан диапазон дисперсности, количественно ограничивающий коллоидное состояние

вещества. Так, осуществляемый тем или иным путем переход от истинного - молекулярного или ионного раствора к коллоидной дисперсии представляет собой, согласно общепринятой точке зрения, резко выраженный качественный скачок, при этом, гомогенная однофазная система преобразуется в ультрамикрорегетерогенную, состоящую, по крайней мере, из двух фаз и обладающую сильно развитой суммарной поверхностью раздела между ними [8].

Необходимым признаком гетерогенности служит наличие в высокодисперсных частицах молекул двух типов: тех, которые находятся на межфазной поверхности раздела, и "внутренних", не соприкасающихся непосредственно с нею [8]. Характерным свойством высокодисперсных коллоидных систем является хаотическое броуновское движение коллоидных частиц. Верхним пределом коллоидной дисперсности (или нижним пределом коллоидной области) является размер частиц, при котором ещё сохраняется понятие о фазе и система остается гетерогенной. Этому условию соответствует размер частиц $r \sim 10^{-9}$ м. Нижним пределом коллоидной дисперсности принято считать дисперсность, которой соответствует наибольший размер частиц порядка 10^{-6} м. В самом деле, уже при размере частиц $r \approx 5 \cdot 10^{-6}$ м они могут только колебаться относительно фиксированной точки, а при $r > 5 \cdot 10^{-6}$ м броуновское движение частиц не обнаруживается вообще. В большинстве случаев реальные системы полидисперсны, то есть содержат широкий спектр частиц по размеру. Участие коллоидных частиц в тепловом движении усиливает роль энтропийного фактора в устойчивости дисперсных систем и приводит к совмещению в их свойствах особенностей, характерных и для двухфазных, и для однофазных систем. Это позволяет рассматривать коллоидную дисперсию либо как переходную двухфазную систему, свойства которой зависят от дисперсности, либо как условно однофазную с крупными "молекулами - частицами" [9].

Характерными признаками золей, представляющими собой дисперсии типа Т/Ж, являются:

- наличие конуса Тиндаля, наблюдаемое при боковом освещении растворов;
- низкие значения коэффициентов диффузии;
- способность к диализу, т.е. золи могут быть с помощью полупроницаемой перегородки очищены от содержащихся в них растворенных примесей кристаллических веществ;
- оптическая прозрачность для оптического микроскопа и возможность наблюдения дифракционного рассеяния света от отдельных коллоидных частиц в ультрамикроскопе;
- устойчивость во времени;
- способность к коагуляции при добавлении к растворам золей небольших количеств электролитов (обычно с выполнением правила Шульце–Гарди);
- наличие заряда на поверхности частиц, проявляющееся в движении частиц в электрическом поле.

В отличие от гомогенных истинных растворов, для гетерогенных систем характерно наличие избыточной поверхностной энергии, которая пропорциональна площади ее межфазной поверхности:

$$G_s = \sigma S, \quad (1.1)$$

где σ - поверхностное натяжение, S - площадь поверхности коллоидных частиц.

Следовательно, любая коллоидная система термодинамически неустойчива, в ней возможны самопроизвольные процессы, приводящие к уменьшению поверхностного натяжения и суммарной поверхности раздела.

Под устойчивостью коллоидных систем подразумевают их способность сохранять постоянными во времени основные параметры: 1) дисперсность; 2) распределение частиц по объему среды.

Все коллоидные системы по устойчивости условно делятся на два принципиально отличающегося друг от друга класса. Первый из них - термодинамически неустойчивые, неравновесные и не образующиеся самопроизвольно лиофобные коллоиды (например, гидрозолы As_2S_3 , ZnS , Au , S). Второй класс – термодинамически устойчивые, равновесные, самопроизвольно образующиеся лиофильные коллоиды (мицелярные растворы ПАВ, растворы ВМС, белков, ДНК). Однако существуют и дисперсные системы промежуточного типа (гидрозолы $\text{Fe}(\text{OH})_3$, SiO_2 , Al_2O_3 , бентонитовые глины). Понятия лиофильность и лиофобность отражают степень молекулярного взаимодействия вещества дисперсной фазы с дисперсионной средой [11-13].

Устойчивость свободно-дисперсных систем подразделяют на два вида (Н.П.Песков, 1920).

1) Кинетическая (седиментационная) – устойчивость к осаждению дисперсной фазы в поле сил гравитации (или центробежных сил при центрифугировании). Кинетическая устойчивость – это устойчивость к разделению фаз. Она характеризует способность системы сохранять равномерное распределение частиц по объему дисперсионной среды (жидкой или газовой). Коллоидно-дисперсные системы (золи) в отличие от грубо дисперсных систем (суспензий, эмульсий), обладают очень высокой седиментационной устойчивостью.

Уменьшение размеров и плотности частиц, а также повышение температуры увеличивают кинетическую устойчивость дисперсных систем. Однако со временем происходит укрупнение размеров частиц и выделение дисперсной фазы.

2) Агрегативная – устойчивость к агрегации – слипанию частиц под действием сил притяжения при их столкновениях, т.е. способность системы сохранять во времени свою дисперсность. Потеря агрегативной устойчивости золей происходит главным образом за счет коагуляции.

С ростом температуры увеличивается энергия теплового движения частиц, что способствует более частым и эффективным столкновениям, преодолению сил отталкивания и, как следствие, слипанию и укрупнению частиц. С ростом температуры уменьшается агрегативная устойчивость системы. С потерей агрегативной устойчивости уменьшается и кинетическая устойчивость дисперсных систем.

1.2 Основные аспекты теории агрегативной устойчивости дисперсных систем (ДЛФО)

Исходным пунктом построения современной физической теории устойчивости лиофобных коллоидов (теория ДЛФО), разработанной Б.В. Дерягиным и Л.Д. Ландау [11] и несколько позднее, независимо, Е. Фервеем и Дж. Овербеком [14], явилось открытие и исследование дальнodelствующих поверхностных сил отталкивания и притяжения и рассмотрение проблемы взаимодействия двух частиц.

В основу теории ДЛФО входит рассмотрение сил взаимодействия между частицами дисперсной фазы, которые определяются суммой электростатической, дисперсионной, структурной и адсорбционной слагаемых так называемого расклинивающего давления [11, 14, 15]. Б.В. Дерягиным введено понятие расклинивающего давления, которое возникает в тонкой прослойке в результате перекрывания поверхностных слоев. Давление может не только расклинивать, но и сближать притягивающие поверхности в зависимости от знака поверхностных сил.

Для сближающихся коллоидных частиц преобладание молекулярных сил взаимодействия осуществляется на относительно больших (силы дальнего действия) и очень малых расстояниях, в промежутке между которыми силы отталкивания электростатической природы обуславливают существование энергетического барьера, обеспечивающего агрегативную устойчивость частиц. На величину энергетического барьера существенное

влияние оказывает природа и концентрация электролита, вводимого в систему.

Силы отталкивания между частицами уменьшаются с увеличением расстояния быстрее, чем силы притяжения, что и обуславливает релаксационный характер фиксации этих частиц при наличии между ними жидких прослоек значительной толщины.

Одним из наиболее сложных вопросов является взаимосвязь между интенсивностью взаимодействия дисперсных частиц как между собой, так и со средой и их агрегативной устойчивостью [11, 13, 16]. Известно, что между частицами действуют как силы притяжения, обуславливающие их сближение и коагуляцию, так и силы отталкивания, приводящие к стабилизации дисперсной системы. К числу первых относятся силы Лондона-Ван-дер-Ваальса, силы притяжения постоянных диполей, а также диполей, возникающих при поляризации двойных ионных слоев. В растворах электролитов проявляются силы ионно-электростатического происхождения, возникающие при перекрытии двойных слоев и вызывающие отталкивание частиц одинаковой природы.

В развитие физической теории устойчивости коллоидных систем (теория ДЛФО) введено [17] представление о структурной составляющей расклинивающего давления, связанной с перекрытием граничных слоёв жидкости, окружающей взаимодействующие частицы. Считается, что структура слоёв жидкости вблизи поверхности раздела отлична от структуры объёмной жидкости, и в случае лиофильных поверхностей такие структурные изменения распространяются на значительные (до десятков нанометров) расстояния от твёрдой поверхности. Указанные граничные слои оказывают сопротивление, как сближению, так и разделению частиц (структурный фактор).

На основе исследований водных дисперсных систем кристаллического и аморфного SiO_2 показано [17, 18], что структурная составляющая энергии взаимодействия частиц определяется природой вещества и в значительной

степени зависит от pH, температуры, концентрации и типа электролита. Кроме того, для ряда дисперсных систем устойчивость может обеспечиваться за счёт адсорбции на межфазной границе полимеров и поверхностно-активных веществ [16, 19-22].

Для ионно-стабилизированных дисперсных систем, типичная зависимость энергии взаимодействия частиц от расстояния между их поверхностями соответствует кривым, показанным на рисунке 1.1. В основе механизма коагуляции и устойчивости дисперсных систем по теории ДЛФО лежит рассмотрение суммарного действия сил различной природы. Величину этих сил как функцию расстояния между частицами h выражают графически, где силы притяжения A имеют отрицательное значение, а силы отталкивания P - положительное. Результирующая величина этих сил представлена кривой $R = P - A$. С характером силовой кривой связана энергетическая функция взаимодействия частиц (рис. 1.1, I), которая в самом общем случае имеет два потенциальных минимума (ямы) b и c и энергетический барьер a . При коагуляции и агрегации происходит фиксация частиц на расстояниях, соответствующих первой c или второй потенциальной яме b . Расстояние между частицами при фиксации в первой потенциальной яме $h_1 \approx 10^{-9}$ м, а во второй - $h_2 \approx 10^{-7}$ м. По данным теоретических расчётов и экспериментальных исследований сила взаимодействия частиц дисперсной фазы в коагуляционных структурах составляет в среднем 10^{-10} Н на контакт [23, 24]. В соответствии с данными [23], процессы, связанные с взаимодействием частиц во втором потенциальном минимуме, принято называть агрегацией (или дальней коагуляцией), а с их фиксацией в первом минимуме - коагуляцией. Возможность фиксации частиц в первом потенциальном минимуме ограничивается наличием энергетического барьера, существование которого является важнейшим стабилизирующим фактором дисперсных систем. Величина последнего зависит от размера и формы частиц, их поверхностного потенциала, состава дисперсионной среды [23, 25].

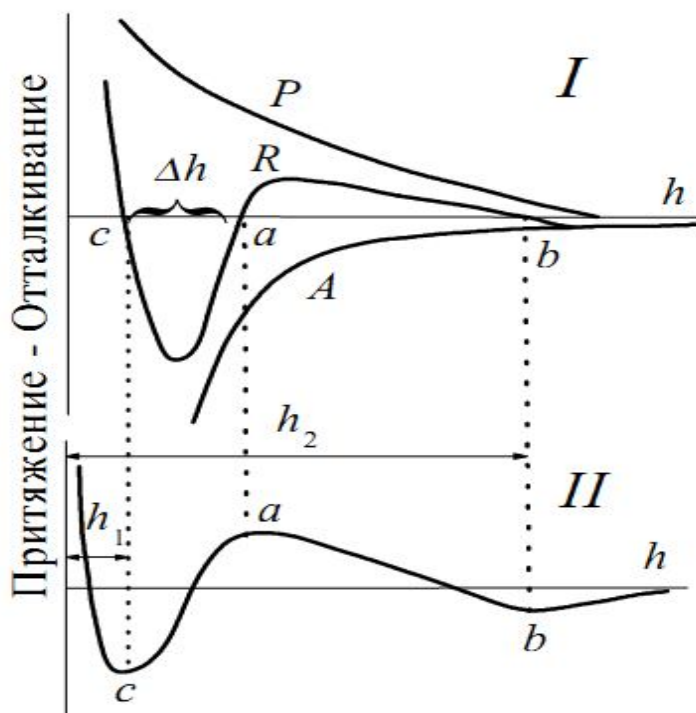


Рис. 1.1 Суммарная силовая (I) и потенциальная (II) кривые взаимодействия между тонкодисперсными частицами в воде: А - кривая сил притяжения; Р - кривая сил отталкивания; R - результирующая кривая сил притяжения и отталкивания; с - первый потенциальный минимум; b - второй потенциальный минимум: а - энергетический барьер сил отталкивания; h - расстояние между частицами

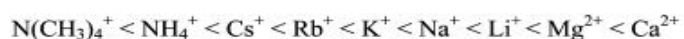
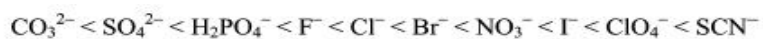
При образовании коагуляционных структур в результате теплового движения и суммарного действия молекулярных сил происходят статические соударения, приводящие в благоприятных условиях (при встречах контактов) к сцеплению частичек друг с другом и возникновению пространственной коагуляционной сетки. Однако детальные исследования процессов структурообразования разбавленных и концентрированных водных дисперсий глинистых материалов показывают [23], что в действительности происходит избирательное сцепление частичек по наиболее эффективным для данных условий контактам, и вследствие этого образуется структура со значительным количеством (или даже преобладанием) контактов одного вида.

Однородность последних возрастает по мере уменьшения концентрации системы.

Современная теория устойчивости и коагуляции дисперсных систем, базирующаяся на представлениях о молекулярных и ионно-электростатических силах взаимодействия микрообъектов, объяснила основные закономерности слипания коллоидных частиц в растворах электролитов. Так, правило Шульце – Гарди [24, 25], характеризующее связь между критической концентрацией Y и зарядом противоионов z , получило подтверждение в виде зависимости $Yz^6 = \text{const}$, при ближней коагуляции и зависимости $Yz^{2.5} = \text{const}$ для процессов дальней коагуляции или с учетом электромагнитного запаздывания для молекулярных сил $Yz^{3.5} = \text{const}$.

Tezak, и соавторы проверили обоснованность этого правила с большим количеством катионов и анионов на наночастицах галогенида серебра [26-28]. Тогда, однако, эти исследователи смогли определить только ПБК, но они не могли измерить абсолютные коэффициенты скорости агрегации. В то же время, эти вопросы были пересмотрены в широком диапазоне систем, в том числе галогенидов серебра [29], латексов, [30-34] глинистых минералов [35], оксидов [36, 37], фуллеренов [38, 39], углеродных нанотрубок [40].

Правило Шульце–Гарди гласит, что ПБК сильно уменьшается с увеличением валентности противоионов. Тем не менее, даже ионы одинаковой валентности могут привести к различным значениям ПБК [41-48]. Соответствующие изменения могут классифицироваться в соответствии с рядами Гофмейстера:



Отрицательно заряженные частицы обычно следуют прямому ряду Гофмейстера, а положительно заряженные частицы следуют непрямому ряду Гофмейстера.

Однако, классическая теория ДЛФО не может непосредственно рационализировать какие-либо тенденции в показателях агрегации частиц в

рядах Гофмейстера, так как он не учитывает никакие другие свойства, кроме ионной валентности. Ионная специфичность может быть представлена в теории ДЛФО, но предполагая, что ионы уже не индифферентны. Эта картина предполагает, что ионы специфично адсорбируются на поверхности частиц, тем самым изменяя поверхностный заряд и таким образом двойной электрический слой [49-52]. Этот простой подход качественно рационализирует наблюдаемые зависимости значений ПБК [25, 53, 54].

Следует отметить, что при исследовании дисперсных систем можно также наблюдать отклонение от правила Шульце – Гарди, которое связывают с дополнительным влиянием адсорбционных и структурных сил [55].

1.3 Стабилизация дисперсных систем

Известно, что стабилизации дисперсных систем способствуют различные факторы:

- электростатический;
- адсорбционно-сольватный;
- структурно-механический;
- энтропийный;
- гидродинамический.

Электростатический фактор устойчивости обусловлен наличием двойного электрического слоя и ζ -потенциала на поверхности частиц дисперсной фазы.

Адсорбционно-сольватный фактор устойчивости обусловлен снижением поверхностного натяжения границы раздела фаз в результате взаимодействия дисперсионной среды с частицами дисперсной фазы. Этот фактор реализуется при применении в качестве стабилизаторов коллоидных ПАВ.

Структурно-механический фактор устойчивости обусловлен образованием упругой и прочной пленки на поверхности частиц дисперсной

фазы. Этот фактор реализуется при использовании в качестве стабилизаторов ВМС.

Энтропийный фактор устойчивости. Уменьшение числа частиц в системе приводит к уменьшению энтропии, что вызывает увеличение свободной энергии системы. Система стремится самопроизвольно перейти в состояние с минимальным запасом свободной энергии, т.е. препятствует уменьшению энтропии. Поэтому частицы дисперсной фазы стремятся оттолкнуться друг от друга и равномерно (хаотично) распределиться по объему системы. Этим обусловлен энтропийный фактор устойчивости. Особенно велика роль этого фактора при стабилизации дисперсных систем растворами ВМС.

Гидродинамический фактор устойчивости реализуется при увеличении плотности и динамической вязкости дисперсионной среды.

Смешанные факторы устойчивости заключаются в возникновении синергетического эффекта, т.е. одновременного влияния нескольких вышеуказанных факторов и их усилении. Устойчивость и коагуляция лиофобных дисперсных систем непосредственно связаны со строением и физико-химическими свойствами поверхностных слоев, формирующихся на поверхности раздела фаз в процессе получения дисперсной системы.

Как правило, для повышения устойчивости коллоидных растворов наночастиц используют различные добавки и покрытия.

При введении в дисперсные системы в качестве стабилизатора ПАВ, фактором стабилизации может быть «термодинамическая упругость» пленок среды, разделяющих частицы [56, 57]. Стабилизация обеспечивается тем, что при сближении частиц, происходит растяжение и утончение разделяющей их прослойки, содержащей ПАВ, и, как следствие, нарушение адсорбционного равновесия. Восстановление этого равновесия и приводит к повышению устойчивости прослойки среды, разделяющей частицы. Гидродинамическое сопротивление вытеснению жидкой дисперсионной среды из прослойки между сближающимися частицами – один из кинетических факторов

стабилизации дисперсных систем. Структурно-механический фактор стабилизации, по П.А. Ребиндеру, возникает при образовании на межфазной границе полимолекулярных защитных слоев из мицеллообразующих ПАВ, он способен обеспечить высокую агрегативную устойчивость любых дисперсных систем с жидкой дисперсионной средой, в том числе высококонцентрированных, наиболее важных в практическом отношении. Адсорбционный характер взаимодействия частиц дисперсной фазы с некоторыми красителями и ПАВ объясняет сравнительно низкие пороговые значения концентраций этих коагулянтов [58].

Адсорбция коллоидными частицами высокомолекулярных веществ может привести как к значительному увеличению, так и к уменьшению устойчивости дисперсных систем. Первый эффект (стабилизация) обычно наблюдается при высоких, второй (флокуляция) - при низких степенях покрытия поверхности полимером. Адсорбция молекул покрывающего агента на поверхности частиц зависит от молекулярной массы, ионизации и плотности заряда молекул стабилизатора, плотности заряда и полярности поверхности частиц [59, 60]. Масса и конфигурация адсорбированного слоя играет важную роль в контроле стабильности частиц и зависит от сродства молекул покрытия к поверхности частиц, отталкивания от молекул, потери энтропии при адсорбции, а также неспецифических дипольных взаимодействий между макромолекулой, растворителем, и поверхностью [59, 60].

Теоретическая интерпретация стабилизации коллоидных растворов высокомолекулярными веществами весьма сложна, поскольку при наличии полимерного покрытия необходимо учитывать не только Ван-дер-Ваальсово притяжение и электростатическое отталкивание между частицами, но и появление дополнительных сил отталкивания, связанных с ростом свободной энергии системы при взаимном проникновении адсорбированных цепей [61-65].

1.3.1 Методы стабилизации наночастиц ортованадатов РЗЭ

Изучение влияния pH среды, наличия различных ионов и молекул в растворе направлено на решение более общей проблемы – эффективной стабилизации наночастиц, которая обеспечила бы присутствие индивидуальных наночастиц, а не агломератов в растворах, при этом, существенно не повлияв на свойства материала и сохранив поверхность частиц пригодной, например, для дальнейшей функционализации. Важным вопросом для последующего использования коллоидных систем, является их устойчивость, которая приобретает особую значимость при биомедицинском применении коллоидов.

Принимая во внимание, что синтез в водной среде направлен в первую очередь на приготовление нанодисперсных систем на основе ReVO_4 (Редкоземельный ион) для использования в биологии, одним из наиболее эффективных и перспективных методов стабилизации оказалось использование как на стадии синтеза, так и при добавлении к свежеприготовленным наночастицам, различных органических дезагрегирующих добавок: ЭДТА [66, 67], цитрата натрия [68, 69], полиакриловой кислоты [70, 71], фосфинополиакриловой кислоты [3], полиаспартамовой кислоты [72], олеиновой кислоты [73], полиэтиленгликоля [74], гексаметафосфата натрия [75], поливинилпирролидона [76], а также растворов ПАВ различной природы [77, 78].

В целом, механизм дезагрегирующего действия добавок различен: хелатирование редкоземельных ионов, способствующее медленному формированию гетерогенной системы и снижению степени агрегации; образование поверхностных органико-неорганических комплексов с наночастицами ReVO_4 , предотвращающих агрегацию или увеличение силы отталкивания между частицами.

Отметим, что при биомедицинском применении модификация поверхности наночастиц позволяет не только обеспечить их стабильность в

биологических средах с высокой ионной силой, но и управлять характером их взаимодействия с объектами, который определяет биосовместимость наночастиц. Для модификации поверхности наночастиц используют материалы, как органической природы, так и неорганической, такие как диоксид кремния [79, 80] или золото [81]. Подобные покрытия решают двойную задачу: во-первых, препятствуют агрегации наночастиц (проблема является принципиальной при транспорте наноматериалов через кровотоки); во-вторых, позволяют модифицировать поверхность различными специфическими лигандами для биомедицинских применений. Как правило, инертное покрытие на основе диоксида кремния на поверхности ортованадатных наночастиц предотвращает их агрегацию (наночастицы диоксида кремния отрицательно заряжены, что усиливает электростатическое отталкивание наночастиц ReVO_4), улучшает их химическую стабильность, а также обеспечивает снижение токсичности.

Различные биологические молекулы, такие как антитела, белки, специфичные лиганды, и т.д., также могут быть связаны с полимером на поверхности наночастиц с помощью химического связывания через амидные или сложноэфирные связи, чтобы придать специфичность частицам для целевой доставки. Для молекулярной визуализации, биовекторы, способные распознавать биологическую мишень, должны быть привиты на поверхность наночастицы. Кроме того, векторизованные наночастицы должны быть очень стабильны в водных растворах при физиологическом значении pH, нетоксичными и способными циркулировать в кровотоке в течение времени, достаточного для достижения своей цели.

Существует несколько стратегий ковалентного конъюгирования с использованием amino-, карбокси-, альдегид- групп на поверхности наночастиц [82-85]. В работе [86] была проведена биконъюгация наночастиц ReVO_4 , покрытых полиакриловой кислотой, с бычим сывороточным альбумином.

1.4 Методы синтеза нанокристаллов ортованадатов РЗЭ

Множество химических методов может быть использовано для получения нанокристаллов ортованадатов редкоземельных элементов – синтез в микроэмульсии [77], золь-гель синтез [87, 88], химическое соосаждение [75, 89], гидротермальный синтез [90-94], микроволновый синтез [71, 95, 96], комплексонатная гомогенизация [66-69].

Химический метод соосаждения, вероятно, является наиболее простым и эффективным способом получения ортованадатных наночастиц. Хотя процесс соосаждения из раствора достаточно прост в исполнении, на результат влияет значительное число факторов, поэтому важно добиться воспроизводимости состава, распределения по размерам получаемых наночастиц. Основопологающим принципом химического синтеза наночастиц является инициация химической реакции и последующий контроль над процессами нуклеации и роста образующегося продукта. Как правило, при синтезе наночастиц используют растворимые соли редкоземельных элементов в виде нитратов или хлоридов, которые при взаимодействии с ортованадатом натрия образуют нерастворимые соли ортованадатов РЗЭ:



Huignard с соавторами [75], на примере синтеза ортованатата иттрия, показали, что реакция сильно зависит от pH и, что диапазон pH достаточно узок и находится в пределах $12.5 \div 13$. На первом этапе идет процесс образования малорастворимого гидрооксида:



На следующем этапе образуется термодинамически стабильный нарастворимый ортованадат:



При значении $\text{pH} > 13$, гидрооксиды выпадают в осадок и не реагируют с ионами ортованадатов. При значении $\text{pH} < 12.5$ образуются иные молекулы ванадатов, например поливанадаты.

Основным недостатком процесса соосаждения является то, что контроль распределения частиц по размеру ограничен. Процесс соосаждения происходит в два этапа: процесс быстрого зародышеобразования имеет место, когда концентрация вещества достигает критического пересыщения, а затем идет медленный рост зародышей путем диффузии растворенных веществ к поверхности кристалла. Для получения монодисперсных наночастиц ортованадата РЗЭ, эти две стадии должны быть разделены, т.е. зарождения следует избегать в период роста. В перенасыщенном растворе, когда зародыши формируются одновременно, последующий их рост приводит к образованию частиц с очень узким размером распределением по размерам.

Контроль над размером и полидисперсностью, как правило, может быть осуществлен в течение очень короткого периода нуклеации, так как конечное число частиц определяется окончанием процесса зародышеобразования и оно не меняется в процессе роста частиц [89].

При использовании метода гидротермального синтеза, смешивают растворы реагентов в эквивалентных соотношениях и помещают смесь в тефлоновые реакторы. Температура и количество добавляемого раствора в автоклав в значительной степени определяют создаваемое внутреннее давление. Реакцию проводят, как правило, при температурах 120 – 220 °С в течение нескольких часов до образования кристаллической фазы. Полученные осадки отмывают от примесей и высушивают или перерастворяют в растворителях с использованием стабилизирующих агентов [90-94].

В настоящее время получает распространение еще один способ получения нанокристаллов ортованадатов РЗЭ, который базируется на микроволновой обработке. Суть метода заключается в следующем: исходные

реагенты растворяют в деионизированной воде, затем помещают в микроволновую печь, где происходит разложение соли и термическая обработка. Преимущества микроволнового метода в отличие от традиционного термического – это объемные и временные градиенты, быстрота и равномерность нагрева реакционной смеси, превышение температуры кипения, соответствующей давлению в системе, локальные эффекты. Т.е. использование высоких температур в ограниченном объеме, является важным условием образования кристаллической фазы [95, 96].

Одним из перспективных методов получения нанокристаллов ортованадатов РЗЭ является золь-гель метод, который основан на смешении реагентов с добавлением этиленгликоля. Полученный золь высушивают и отжигают при высоких температурах. В результате образуются порошки с нанокристаллической фазой. Этот метод удобен тем, что благодаря варьированию разных параметров синтеза в довольно мягких условиях: водная среда, небольшой температурный диапазон (0-100 °С), pH среды, можно получать нанокристаллы с различной структурой, размером и морфологией [87, 88]. Отметим, что частицы могут быть диспергированы в водном носителе или неполярных жидкостях. Однако коллоидные растворы наночастиц, полученные описанным методом не нашли биологического применения.

Коллоидно-химический синтез, включающий в себя метод комплексоной гомогенизации проводится в условиях невысоких температур, не превышающих 100°C. Как правило, на начальном этапе смешиваются водорастворимые соли РЗЭ с комплексоном, образующим достаточно устойчивый комплекс с катионом РЗЭ. В качестве комплексообразователя используют цитрат натрия или натриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты ЭДТА·2Na (Трилон Б). Затем, водный раствор ортованадата натрия добавляется к раствору РЗЭ и смесь нагревают при перемешивании. При нагреве комплекс с РЗЭ переходит в метастабильное состояние, постепенно высвобождая ионы РЗЭ для реакции с

ортованадатом. В результате происходит медленный и контролируемый рост нанокристаллов, стабилизированных комплексоном [67, 68]. Авторы работ [66, 69] продемонстрировали влияние величины pH, добавок стабилизирующего агента и их соотношения на выход реакции, размер и полидисперсность нанокристаллов.

1.5 Фундаментальные свойства нанокристаллов ортованадатов РЗЭ

В последнее время все большее внимание уделяется нанолюминофорам на основе диэлектриков и широкозонных полупроводников, активированных редкоземельными элементами благодаря их высокой фотостабильности, большому стоксовому сдвигу люминесценции, отсутствию эффекта мерцания, малой ширине полос люминесценции [97-100] доступные методы синтеза и модификации РЗ-наночастиц, а также отсутствие значительной токсичности делают их перспективными для биологического и медицинского использования [72, 101-103].

В качестве люминесцентных зондов широко используют люминофоры на основе оксидных и фосфатных материалов, допированных редкоземельными элементами. Фториды также были широко изучены, как Re^{3+} активированные люминесцентные зонды [104, 105]. Однако нанокристаллы фторидов не обладают эффективной люминесценцией при УФ/Вид возбуждении, так как их полоса поглощения расположена в диапазоне вакуумного ультрафиолета. [106]. Они также имеют ряд недостатков, такие как плохая растворимость в воде и химическая нестабильность, которые ограничивают их биологическое применение [107, 108].

Обычные флуоресцентные зонды, в том числе флуоресцентные красители и полупроводниковые квантовые точки (КТ), имеют также ряд недостатков. Так авторы обзора [5] сравнивают характеристики различных материалов, применяемых в биомедицинских исследованиях. В таблице 1.1

ниже представлены некоторые свойства Alexa 488 (одного из самых эффективных органических флуорофоров), квантовых точек и РЗ-наночастиц.

Таблица 1.1

Оптические свойства различных биозондов

Излучатель	Квантовый выход	Ширина линии (нм)	Время до фотообесцвечивания	Время жизни
Alexa 488	0.92	~40	неск. секунд	~4 нс
Квантовые точки	0.3-0.5	~30	>1000 с	~10 нс
30 нм $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4$	0.16	~10	>1000 с	~300 мкс

Время жизни возбужденных состояний для РЗ-ионов гораздо больше, чем для органических флуорофоров, поэтому и число испускаемых фотонов в единицу времени для одного излучательного центра намного меньше. РЗ-наночастицы отличаются высокой фотостабильностью (быстрое фотообесцвечивание – один из основных недостатков органических красителей), отсутствием мерцания (недостаток квантовых точек), длительной люминесценцией.

Таким образом, особый интерес представляют нанокристаллы на основе ортованадатов РЗЭ, как важный класс редкоземельных соединений с превосходными химическими и оптическими свойствами [73, 75, 77, 109-111].

1.5.1 Структурные свойства нанокристаллов ортованадатов РЗЭ

Ортованадаты редкоземельных элементов формируют два структурных типа. Большинство ортованадатов d и f –металлов III группы кристаллизуются в структуру циркона ($ZrSiO_4$) с пространственной группой $I41/amd$, (t-) тетрагональная сингония и в структуре монацита ($CePO_4$) с пространственной группой $P21/n$, (m-) моноклинная сингония.

Ортованадаты иттрия и гадолиния имеют структуру циркона. Структура объемных кристаллов ортованадата иттрия приведена на рис. 1.2. Эта структура сохраняется и для наноразмерных кристаллов YVO_4 . Одна элементарная ячейка включает четыре единицы YVO_4 , параметры элементарной ячейки составляют $a = 7,118\text{\AA}$, $c = 6,289\text{\AA}$ [112, 113].

Вдоль кристаллографической оси, тетраэдры $[VO_4]$ содержащие атом ванадия в их центре, чередуются с многогранниками $[YO_8]$, состоящими из центрального атома иттрия и кислородных атомов в углах многогранников. Многогранники $[YO_8]$ представляют собой искаженные додекаэдры, в которых ион иттрия занимает нецентросимметричное кристаллографическое положение с симметрией D_{2d} . Это искажение происходит из-за присутствия двух различных значений длин связи $Y-O$, а именно имеют место четыре связи по 2.3\AA и четыре по 2.43\AA . Эта особенность имеет большое значение для встраивания примесного иона в кристаллическую структуру ортованадатной матрицы.

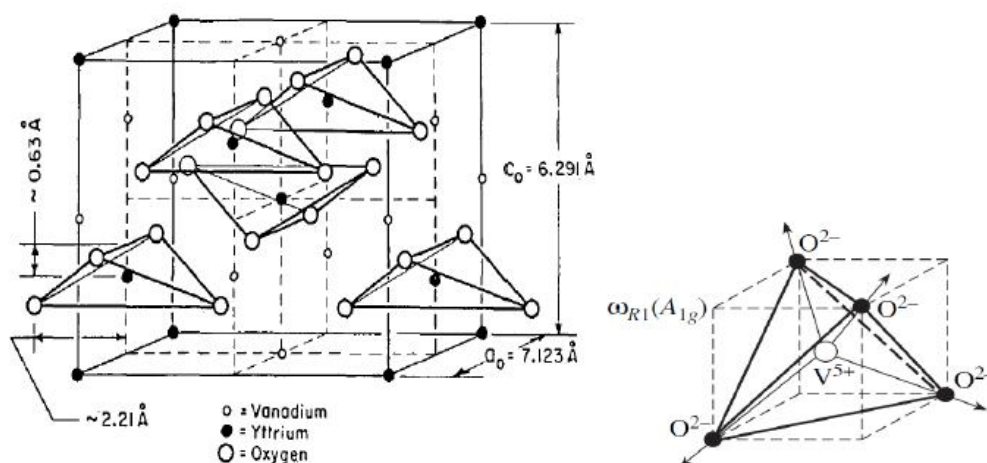


Рис. 1.2 Кристаллическая структура YVO_4 [112]

Как правило, с увеличением ионного радиуса, ионы Re^{3+} показывают сильную тенденцию к формированию кристаллической структуры типа монацита $ReVO_4$ из-за его более высокого координационного числа по кислороду, которое составляет 9, по сравнению с координационным числом 8

характерного для циркона. В этой структуре, Re^{3+} ион занимает только одно положение низкой симметрии - C_1 . По сравнению с другими ионами Re^{3+} , La^{3+} имеет больший ионный радиус, радиус иона лантана на 13% больше, чем у иона иттрия, тогда как радиус других ионов отличается не более, чем на 8 – 9%, поэтому, m-LaVO_4 является термодинамически стабильной структурой, в то время как t-LaVO_4 является метастабильной. m-LaVO_4 не подходит в качестве матрицы для легирования люминесцентными активаторами благодаря своей моноклинной структуре типа монацита, в то время как t-LaVO_4 является хорошим кандидатом в качестве матрицы для люминесцентных активаторов [100, 114, 115]. Исследования [116, 117] показали, что интенсивность излучения Eu^{3+} в t-LaVO_4 гораздо выше, чем у Eu^{3+} в структуре монацита.

В случае, когда в матрице содержатся два разных иона – структура кристаллической решетки может обладать свойствами, зависящими от природы и концентрации ионов в кристалле. В работе [118] показано, что при любом соотношении Y и Gd кристаллическая структура остается тетрагональной, а в присутствии в решетке Y и La кристаллическая структура зависит от преимущественного содержания того или иного иона (табл. 1.2).

Таблица 1.2

**Кристаллическая структура и параметры решетки ортованадатов
($\text{Y}_{1-x}\text{Re}_x\text{VO}_4\text{:Eu}$ ($0 \leq x \leq 1$)) [118]**

	YVO_4	$\text{Y}_{0.8}\text{Gd}_{0.2}\text{VO}_4$	$\text{Y}_{0.6}\text{Gd}_{0.4}\text{VO}_4$	$\text{Y}_{0.4}\text{Gd}_{0.6}\text{VO}_4$	$\text{Y}_{0.2}\text{Gd}_{0.8}\text{VO}_4$	GdVO_4
Кристаллическая структура	Тетрагональная	Тетрагональная	Тетрагональная	Тетрагональная	Тетрагональная	Тетрагональная
a=b=	7.112	7.116	7.147	7.178	7.195	7.206
c	6.290	6.294	6.308	6.329	6.343	6.347
	YVO_4	$\text{Y}_{0.8}\text{La}_{0.2}\text{VO}_4$	$\text{Y}_{0.6}\text{La}_{0.4}\text{VO}_4$	$\text{Y}_{0.4}\text{La}_{0.6}\text{VO}_4$	$\text{Y}_{0.2}\text{La}_{0.8}\text{VO}_4$	GdVO_4
Кристаллическая структура	Тетрагональная	Тетрагональная	Тетрагональная	Моноклинная	Моноклинная	Моноклинная
a	7.112	7.170	7.227	7.022	7.022	7.008
b	7.112	7.170	7.227	7.022	7.263	7.249
c	6.290	6.335	6.378	6.709	6.708	6.700

1.5.2 Оптические свойства нанокристаллов ортованадатов РЗЭ

Спектральные характеристики активированных нанокристаллов ортованадатов РЗЭ исследовались в большом количестве работ [73, 75, 99, 106, 109, 118-120]. Наиболее широко используемым в биологических исследованиях активатором являются ионы Eu^{3+} , как хорошо известные центры свечения в красной области, где автолюминесценция биологических объектов минимальна.

В спектрах оптического поглощения (рис. 1.3) ортованадатов РЗЭ наблюдается интенсивная полоса с максимумом в области 270-300 нм, которая характеризует перенос заряда от кислородных лигандов к центральному атому ванадия в VO_4^{3-} ионе. Причем, положение λ_{max} зависит от размеров частиц и увеличивается при их увеличении. Авторы работ [116, 121] утверждают, что эта зависимость обусловлена проявлениями квантово-размерного эффекта, т.е. при уменьшении размера частиц ширина запрещенной зоны увеличивается, что вызывает смещение полосы поглощения в область более высокой энергии.

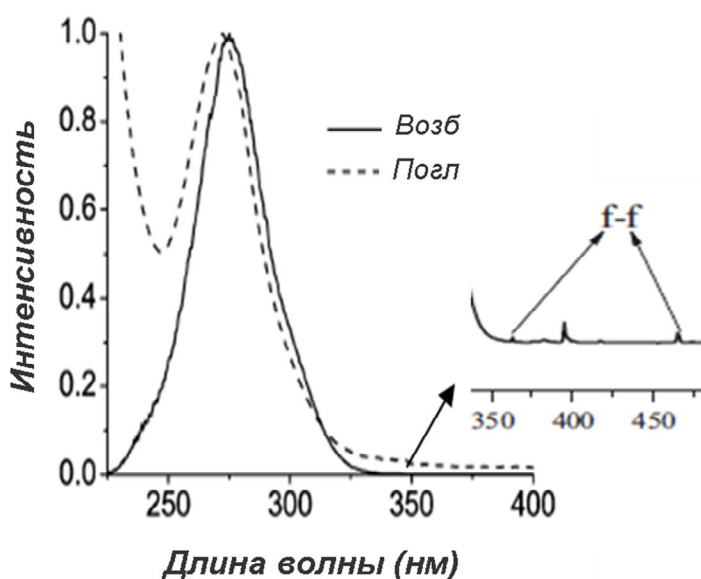


Рис. 1.3 Спектры поглощения ($\lambda_{\text{max}} = 280$ нм) и возбуждения ($\lambda_{\text{рег}} = 617$ нм) наночастиц $\text{LaVO}_4:\text{Eu}$ [100].

Спектры возбуждения нанокристаллов $\text{ReVO}_4\text{:Eu}$ представлены интенсивной и широкой полосой в диапазоне от 220 до 350 нм и некоторыми более слабыми линиями в более длинноволновой области. Интенсивная и широкая полоса обусловлена переносом заряда от кислородных лигандов к центральным ионам ванадия внутри VO_4^{3-} групп [122]. Слабые линии относятся к $f \rightarrow f$ переходам ионов Eu^{3+} в конфигурации $4f^6$ [122]. Интенсивность полос в длинноволновой области очень слабая, указывая, что возбуждение ионов Eu^{3+} в основном происходит через VO_4^{3-} группы.

Вкладом переноса заряда $\text{Eu}^{3+} - \text{O}^{2-}$ в широкую полосу в диапазоне ниже 350 нм можно пренебречь. Большинство авторов приписывают эту полосу VO_4^{3-} , а не полосе с переносом заряда $\text{Eu}^{3+} - \text{O}^{2-}$ [88, 92, 109]. Это может быть связано с тем, что в $\text{ReVO}_4\text{:Eu}$ перенос заряда $\text{V}^{5+} - \text{O}^{2-}$ в VO_4^{3-} происходит гораздо легче, чем $\text{Eu}^{3+} - \text{O}^{2-}$ ввиду больших различий зарядов и ионного радиуса между V^{5+} (+5, $r = 0.0355$ нм) и Eu^{3+} (+3, $r = 0.107$ нм).

Люминесцентные свойства наноматериалов, активированных РЗЭ в большинстве случаев обусловлены переходами между глубоколежащими энергетическими уровнями 4f-электронов редкоземельных ионов. При введении этих ионов в матрицу заметной перестройки энергетического спектра не происходит, поскольку незаполненные внутренние электронные оболочки РЗЭ хорошо экранированы валентными электронами от внешнего окружения. Воздействие кристаллического поля приводит к незначительному расщеплению энергетических уровней. Вследствие этого энергия перехода мало зависит от типа матрицы и от размера наночастицы. Как упоминалось ранее, линии люминесценции достаточно узкие (как правило, до 10 нм) по сравнению с полосами органических красителей или квантовых точек.

Как упоминалось ранее, люминесценция ионов РЗЭ может происходить в результате поглощения излучения матрицей и последующей передачи энергии РЗ-иону или непосредственно путём возбуждения иона РЗЭ (рис. 1.3). Прямое возбуждение Eu^{3+} в видимой или ближнем УФ неэффективно, потому что количество поглощенных фотонов низкое, однако механизм возбуждения

при участии ванадатной матрицы с последующим переносом энергии между VO_4^{3-} группой и Eu^{3+} ионами делает это соединение эффективным красным люминофором.

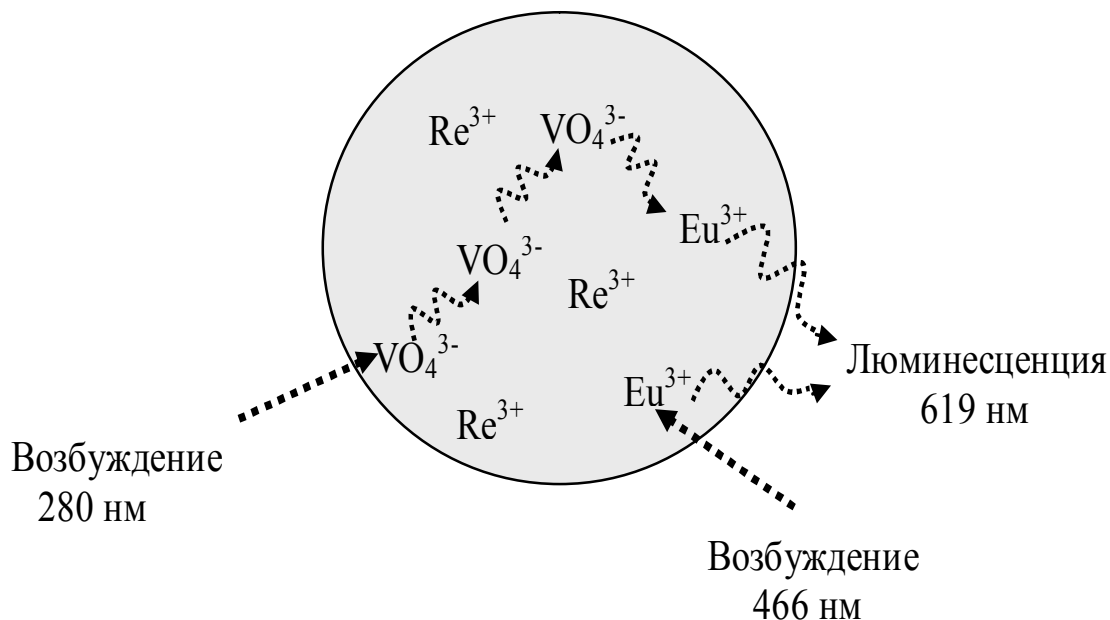


Рис. 1.4 Механизм люминесценции Eu^{3+} в ортованадатной матрице.

Спектр люминесценции, представленный на рис. 1.5, при УФ возбуждении (280 нм) состоит из нескольких узких линий, соответствующих $4f - 4f$ переходам иона Eu^{3+} , наиболее интенсивными из которых являются линии, соответствующие переходам с уровня $^5\text{D}_0$ [123]. Возбуждения с уровней $^5\text{D}_1$ и $^5\text{D}_2$, в основном, претерпевают безызлучательную мультифононную релаксацию на уровень $^5\text{D}_0$.

Окружение иона Eu^{3+} в матрице ReVO_4 характеризуется отсутствием центра инверсии, поэтому электродипольные переходы не являются строго запрещенными, и сверхчувствительный $^5\text{D}_0 - ^7\text{F}_2$ переход, состоящий из двух основных компонент - $^5\text{D}_0 (\text{A}_1) - ^7\text{F}_2 (\text{B}_2)$ на 615 нм и $^5\text{D}_0 (\text{A}_1) - ^7\text{F}_2 (\text{E})$ на 619 нм, является доминирующим. Интересно, что переход $^5\text{D}_0 - ^7\text{F}_0$ имеет очень низкую интенсивность и практически не наблюдается в спектрах, являясь абсолютно запрещенным (как 0-0 переход) в соответствии с правилами отбора. Однако, при изменении симметрии окружения, правила отбора также

модифицируются и этот переход перестает быть запрещенным. Этот переход представляет большой интерес для спектроскопии с использованием иона европия в качестве зонда кристаллической структуры.

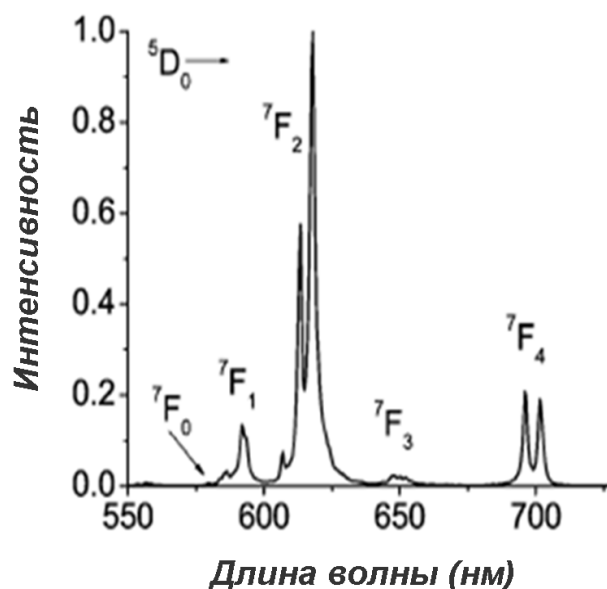


Рис. 1.5 Спектр люминесценции ($\lambda_{\text{возб}} = 280$ нм) наночастиц $\text{LaVO}_4:\text{Eu}$ [100].

Mialon и др. исследовали свойства коллоидных $\text{YVO}_4:\text{Eu}$ наночастиц по сравнению с теми же отожженными наночастицами [124] и объемными материалами и показали, что на перенос энергии влияют дефекты структуры, изменяющие время жизни и, таким образом квантовый выход [125]. Это означает, что структурные свойства, такие как кристалличность и пористость, являются определяющими для люминесцентных и сенсорных свойств этих частиц, в частности наночастиц, синтезированных при комнатной температуре, в которых несовершенства решетки более явные.

Авторы работы [69] показали, что квантовый выход водных растворов нанокристаллов ортованадатов значительно ниже, чем у объемных кристаллов и не превышает 18 %, что связано с присутствием ОН-групп на поверхности нанокристаллов и тушением люминесценции РЗЭ посредством мультифононной релаксации. Квантовый выход нанокристаллов $\text{YVO}_4:\text{Eu}$

достигает максимального значения при процентном соотношении европия к иттрию как 20 к 80, при этом время жизни люминесценции европия падает (рис. 1.6).

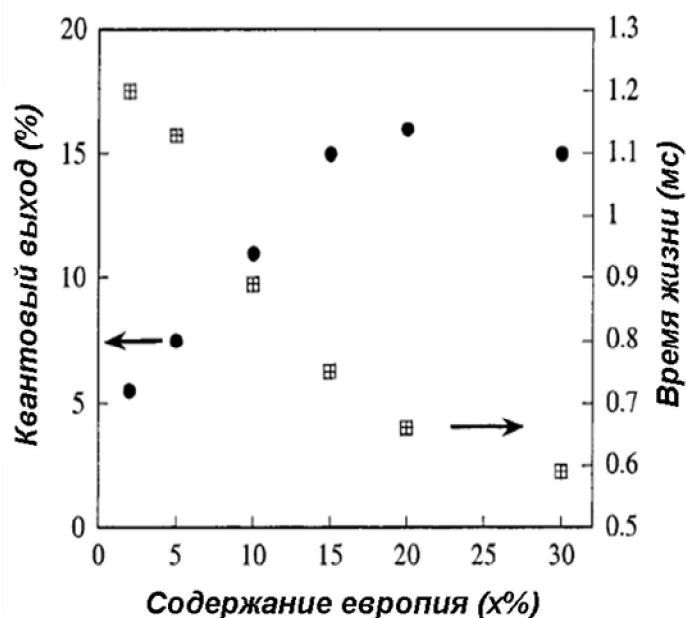


Рис. 1.6 Квантовый выход и время жизни возбужденного 5D_0 состояния европия в коллоидных растворах нанокристаллов $Y_{1-x}Eu_xVO_4$ ($0 < x < 0.5$) [69].

1.6 Перспективные области использования наночастиц ортованадатов РЗЭ

Материалы, активированные ионами редкоземельных металлов, уже довольно давно применяются в оптоэлектронике и светотехнике. Ортованадаты редкоземельных элементов широко используются в различных областях техники, например, в качестве катализаторов [126, 127], поляризаторов [128], как матрицы для лазеров [129-131], как люминофоры и светодиоды [88, 132-135].

Физико-химические свойства активированных РЗ-наночастиц позволяют говорить о перспективности их использования в биологии, биохимии и

медицине. Поэтому в последние годы стало появляться большое количество исследовательских работ в этом направлении. Важный вопрос в данном контексте - биологическое действие активированных РЗ-наночастиц.

При оценке потенциальной токсичности самих РЗ-наночастиц необходимо учитывать, что этот фактор в значительной степени зависит не только от состава частиц, но и от их размеров, площади поверхности, формы, покрытия и модификации поверхности [6, 136]. Из простых геометрических расчетов следует, что при уменьшении размеров частиц возрастает соотношение поверхности к объему. Следовательно, в расчете на единицу массы частиц возрастает поверхность, где могут происходить различные химические процессы. Частицы, в состав которых входят металлы переменной валентности, например, РЗЭ, могут активировать процессы перекисного окисления, что может служить причиной их токсичности при попадании в кровь, дыхательные пути и легкие.

Редкоземельные элементы не имеют какого-либо физиологического значения и обладают некоторой токсичностью [137]. Полулетальная доза ЛД₅₀ при внутримышечном введении EuCl_3 составляет 550 мг/кг веса мыши [138]. Гадолиний более токсичен, внутримышечное введение GdCl_3 в концентрации 100 - 200 мг/кг веса мыши, приводит к гибели половины особей [139]. В водорастворимом виде РЗ находятся в виде нитратов и хлоридов. При попадании в организм они быстро переходят в нерастворимые формы в виде карбонатов, фосфатов и гидрооксидов [140]. Нерастворимые коллоиды распределяются неравномерно по организму и задерживаются в основном в печени, селезенке и костях [141].

Высокие концентрации ванадатов могут быть токсичными, однако биологическая активность их зависит от многих факторов. Токсичность ванадия повышается с увеличением степени окисления ванадия в соединении [142]. Большое значение имеет способ введения в организм ортованадатов. Sanchez с соавторами [143] продемонстрировали токсический эффект

ортованадата натрия на мышах в дозе 15 мг/кг. При введении в дозе 30 мг/кг наблюдается существенное повышение смертности животных.

Bracken с соавторами [144] наблюдали токсический эффект на клетках бычьей почки. Было обнаружена 15% цитотоксичность ортованадата натрия при введении его в концентрации 20 мкМ. При концентрации 500 мкМ наблюдалась 60% цитотоксичность. А при дозе 1000мкМ в течении 24 часов наблюдалась гибель 75% клеток. Stohs и Bagchi [145] объясняют токсический эффект ортованадатов оксидативным стрессом за счет образования реактивных форм кислорода в организме. На основании вышеупомянутых данных можно допустить, что максимальная допустимая доза ортованадата натрия, при которой наблюдается минимальный токсический эффект – 20 мкМ. Одной из причин токсичности ортованадатов является их способность ингибировать АТФ [146]. Причем фосфатная группа в АТФ может быть заменена на ванадатную.

Все литературные данные о токсичности относятся к ионным формам солей РЗЭ и ортованадатов, однако, ортованадаты РЗЭ представляют собой нерастворимую форму и наночастицы на их основе могут рассматриваться не как источники ионов ванадия или РЗЭ, а как отдельная субстанция, обладающая собственными свойствами, хотя нельзя списывать со счетов и теоретическую возможность незначительной растворимости ортованадатных частиц с образованием ионов в концентрациях, значительно меньших их токсического действия.

В медицинских и биологических исследованиях - как прикладных, так и фундаментальных - существует необходимость визуализации каких-либо событий внутри клетки на молекулярном уровне. Развитие молекулярной и клеточной биологии требует совершенствования аналитических методов. Серьезной проблемой остается пространственное и временное разрешение при изучении откликов клетки. В последние годы для детектирования биомолекул и получения биоизображений исследователи стали активно использовать наночастицы, легированные ионами редкоземельных металлов.

Эти материалы обладают уникальными оптическими свойствами (см. раздел 1.4.2) и биосовместимостью. Всё это вместе с возможностью функционализации позволяет использовать такие наночастицы для детектирования ДНК [147]; обнаружения белков [85] и изучения их взаимодействий [148, 103]; формирования биоизображений *in vivo*; количественного определения концентрации H_2O_2 [149, 150].

В клеточной и молекулярной биологии, в иммуноцитохимии для изучения белков широко применяются флуоресцентные метки. Фотостабильные РЗ-наночастицы можно функционализировать антителами или лигандами, специфичными к определенным белкам, и тем самым заменить органические красители, быстро теряющие яркость. Так, наночастицы $YVO_4:Eu$ с присоединенными гуанидиновыми группами способны связываться с потенциал-управляемыми Na-каналами (транспортными белками) клеточных мембран около входа в канал и позволяют получать изображение каналов *in vivo*. (Гуанидиновые группы используют, поскольку они имеют сильное сходство с Na-каналами нервных волокон. Нейропаралитический яд тетродотоксин блокирует Na-каналы мембран нервных и мышечных клеток именно из-за того, что в его состав входят эти группы) [83].

Использование немерцающих РЗ-наночастиц дает возможность реконструировать траекторию единичных белков, особенно это важно для белков клеточных мембран. Траекторию такого белка с помощью наночастиц $YVO_4:Eu$ удалось проследить в течение нескольких минут с разрешением 20-50 мкс локализацией до 20 нм [151]. Для этого была проведена функционализация наночастиц $YVO_4:Eu$ аминными группами. Последующее присоединение к ним токсина привело к связыванию наночастицы с мембранным белком – рецептором этого токсина.

Для клеточной биологии чрезвычайно важно детектировать внутриклеточные сигнальные молекулы. Эти промежуточные химические соединения образуются в клетке в результате активации мембранных

рецепторов, принимающих сигналы из окружающей среды, и передают информацию дальше на эффекторы (исполнительные молекулы). Одно из таких соединений, перекись водорода H_2O_2 , подает сигналы при миграции, делении, дифференцировке клеток и их гибели (апоптозе). Детектирование H_2O_2 необходимо для поиска причин возникновения и методов лечения атеросклероза, нейродегенеративных и злокачественных заболеваний. Однако для изучения и измерения сигналов H_2O_2 не хватает точных и динамических методов. Значительный прогресс недавно был достигнут благодаря РЗ-наночастицам. Авторы [149] использовали наночастицы $\text{YVO}_4:\text{Eu}$, люминесценция которых обусловлена ионами Eu^{3+} . С помощью лазерного облучения наночастиц можно вызвать фотоиндуцированный переход Eu^{3+} в Eu^{2+} . При этом, естественно, интенсивность люминесценции уменьшается, однако, добавление окислителя H_2O_2 вызывает обратный переход Eu^{2+} в Eu^{3+} и восстановление люминесценции. Скорость и степень восстановления люминесценции зависят от концентрации H_2O_2 . Исследователи провели много циклов фотовосстановления – химического окисления *in vitro*; старения наночастиц не наблюдалось, отклики были идентичны. Таким образом, разработан динамический количественный метод, который дает возможность не только определить концентрацию H_2O_2 , но и изучить ее зависимость от времени. Другие методы не дают этой информации, необходимой для распознавания разных сигналов. Ученые провели исследования и в живых клетках. Наночастицы были внедрены в сосудистые гладкие мышечные клетки мыши. Образование H_2O_2 происходило в результате добавления специального стимулятора. Важно, что никакой цитотоксичности не наблюдали. Через 18 ч количество живых клеток было таким же, как и для контрольного образца без наночастиц. Возможно, наночастицы $\text{YVO}_4:\text{Eu}$ годятся для определения концентрации и других физиологических окислителей, например ClO^- или NO .

Еще одним направлением является адресная доставка лекарственных средств. Онкологические заболевания могут проявлять устойчивость к

стандартной химиотерапии. Эта резистентность часто вызвана тем, что транспортные белки быстро удаляют лекарства из клетки. Применение комплексов химиотерапевтических препаратов с РЗ-наночастицами обеспечивает доставку лекарств в обход клеточного насоса, и подавляют рост злокачественных опухолей. Например, комплексы РЗ-наночастицы с доксорубицином обладают более длительным и выраженным терапевтическим эффектом, нежели свободный доксорубицин [152, 153]. При этом комплексы присоединяются только к раковым клеткам, и не оказывают токсического воздействия на белые кровяные тельца.

Выводы к разделу 1

Как следует из литературного обзора, существует значительное число методов синтеза нанокристаллов ортованадатов РЗЭ, как в виде порошков, так и в виде коллоидных растворов. Однако наиболее простыми в реализации являются методы химического соосаждения и комплексонатной гомогенизации. Отметим, что коллоидные растворы наночастиц полученные методом комплексонатной гомогенизации находят широкое применение в биологических исследованиях. Также, несмотря на большое число содержательных исследований свойств нанокристаллов ортованадатов РЗЭ, в них не освещены вопросы изучения коллоидных свойств гидрозолей на их основе. Как следствие, важными являются вопросы агрегативной устойчивости наночастиц, так как она определяется многими факторами. Кроме того, исследователями редко учитывается агрегативная устойчивость используемых гидрозолей в присутствии буферных электролитов и биологических молекул. Применение классической теории ДЛФО позволяет теоретически оценить возможность протекания коагуляции наночастиц гидрозолей.

Поэтому, в первую очередь, для изучения биологических свойств наноматериалов необходимо синтезировать коллоидные растворы

наночастиц, в которых отсутствуют примеси, которые могут приводить к неоднозначным экспериментальным результатам. Также представляется важным провести исследование гидрозолей на основе нанокристаллов ортованадатов при помощи совместного использования разных по предоставляемой информации методов, позволяющих определить (или оценить) физико-химические характеристики исследуемого объекта для разработки рекомендаций по использованию предлагаемых наноматериалов в биологическом эксперименте.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДИКИ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Реактивы, материалы и оборудование

2.1.1 Реактивы

В работе использовали следующие реагенты:

Хлориды редкоземельных элементов (99.9 %) фирмы «Sigma Aldrich»: хлорид лантана $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, хлорид европия $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, хлорид гадолиния $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, хлорид иттрия $\text{YCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Трилон Б (ЭДТА) (99.8 %) и натрий лимоннокислый 5,5 водный (99.8 %) фирмы «Acros organics». Гидроксид натрия (99%) фирмы «Макрохим». Безводный метаванадат аммония (96%). Соляная кислота квалификации «хч».

В качестве электролитов-коагулянтов использовали неорганические соли квалификации «хч» и «осч». Катионные и анионные ПАВ (99%) фирмы «Acros organics»: гексилтриметиламмоний бромид, додецилтриметиламмоний бромид, цетилтриметиламмоний бромид, цетилпиридиний бромид, додецилсульфат натрия и тетрабутиламмоний гидроксид; красители: метиленовый голубой (82%), нильский голубой (99%), пинацианол (99%), все фирмы «Sigma Aldrich» и использовались без дополнительной очистки. Краситель Суан- β Th (L-21) был синтезирован и предоставлен группой проф. С.М. Ярмолюка (Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев). Использовался альбумин бычий сывороточный, фракция V > 99% (производство Австрия). Эмбриональная сертифицированная бычья сыворотка (FBS) фирмы «Sigma Aldrich». Поливинилпирролидон (M=25000) фирмы Theodor Schuchardt. Глюкоза раствор для инфузий, 10%. Адреналин (эпинефрина гидротартрат), раствор для инъекций 0.18%.

2.1.2 Материалы и оборудование

Таблица 2.1

Спецификация основных материалов и оборудования

Наименование материалов и оборудования, тип, марка	Основные технические характеристики
1	2
Колба круглодонная (Simax)	Объем 250 мл со шлифом 29/32
Обратный холодильник с водяным охлаждением (Simax)	Шлиф 29/32
Мерная колба (Simax)	Объем 10мл; 25 мл; 50 мл; 1000 мл
Стакан (Simax)	Объем 2000 мл
Стаканы Н-200; Н-50; Н-25	Объем 200 мл; 50 мл; 25 мл с град
1- канальный пипет-дозатор	Диапазон дозирования от 100 мкл до 1000 мкл. Дискретность измерений – 1.00 мкл
Мерная пипетка на неполный слив	Объем 10 мл с град. Цена деления 0.1 мл. Погрешность ± 0.1 мл
1- канальные наконечники	Объем от 100 мкл до 1000 мкл
Фильтры (Sartorius)	Диаметр 25 мм, размер пор 0.2 мкм
Диализные мешочки (Cellu Sep T2)	Диаметр 100 мм, 12 KDa
Тефлоновый якорь для магнитной мешалки	Размер якоря d=4x15мм
Колбонагреватель (ES-4120)	С плавным регулированием температуры. Рабочий диапазон температур от 50 до 450 °С
Мешалка магнитна AREX	От 50 об/мин до 1300 об/мин С плавным регулированием, $T_{\text{макс}} - 370$ °С, емкость – до 20 л, мощность – 800 Вт
рН-метр 410	Диапазон измерений рН от 0.0 до 14. Дискретность измерений рН-0.01. Диапазон измерений температуры от 10 до 100 ⁰ С
Стеклянный комбинированный электрод (ЕСК 10301/7)	Диапазон измерений рН от 0.0 до 14. Рабочий диапазон температур 20-100°С
Весы аналитические 2-го класса модели ВЛР-200 г	Диапазон измерений – от 0.1мг до 100г Погрешность взвешивания по шкале, мг ± 0.15 . Среднеквадратичное отклонение показателей, мг, не больше чем 0.05
Роторный испаритель Rotavapor R-3, Buchi	Скорость вращения от 20 об/мин до 280 об/мин. Объем колб от 50 мл до 4000 мл

Центрифуга ОПН-8 лабораторна	Частота вращения, об/мин – от 500 до 8000
Сушильный шкаф СНОЛ-3,5.3,5.3,5/3,5-И2М	С плавным регулированием температуры. Номинальная температура в рабочем пространстве – 350 °С. Стабильность температуры в установившемся тепловом режиме $\pm 2^{\circ}\text{C}$
Ультразвуковой диспергатор УЗД-22/44	Номинальные рабочие частоты генератора и излучателей, 22 и 44 кГц

2.2 Методики приготовления растворов

Исходные растворы неорганических солей готовили по навескам с последующим разбавлением.

Раствор ортованадата натрия был получен путем растворения 0.585 г метаванадата аммония в растворе гидроксида натрия (30 мл, 0.6 моль/л) и последующим добавлением 20 мл бидистиллированной воды к смеси. Показатель pH полученного раствора должен составлять 12.5-13.

Исходные растворы ПАВ готовили по навескам с последующим разбавлением. Рабочие растворы готовили объемным методом путем отбора аликвот исходных растворов. Все растворы ПАВ в интервале концентраций 5×10^{-5} -0.01 моль/л были прозрачными.

Исходные растворы красителей метиленового голубого, нильского голубого, пинацианола и бенгальского розового готовили растворением точно взвешенной навески в бидистиллированной воде. Краситель Суан-βTh (L-21) обладает малой растворимостью в воде, поэтому растворы готовили путем замены растворителя. Для этого сначала готовили исходный раствор красителя в хлороформе ($C = 2 \times 10^{-3}$ моль/л), затем испаряли растворитель и добавляли необходимое количество бидистиллированной воды. После этого полученный раствор нагревался для полного растворения красителя ($t \sim 70^{\circ}\text{C}$), а затем медленно остывал до комнатной температуры.

Раствор комплексов наночастица/краситель готовился следующим образом: раствор красителя с заданной концентрацией разбавляли половинным объемом коллоидных растворов наночастиц с заданной концентрацией (0.02 – 1 г/л). Таким образом, получали серию растворов, в которых концентрация красителя была постоянна, а концентрация наночастиц варьировалась. Перед измерением смешанные растворы системы наночастица/краситель выдерживали в течение 1-2 мин для установления равновесия. Термостатировались в приборе при 25 °С.

Стандартные буферные растворы с pH 1.68, 4.01, 6.86 и 9.18 для калибровки pH-метра были приготовлены из стандарт-титров в соответствии с ГОСТ 8.135-74 [154].

2.3 Методики синтеза гидрозолей на основе нанокристаллов ортованадатов $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd)

Образцы гидрозолей на основе нанокристаллов ортованадатов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ были получены методом коллоидного синтеза [155, 156]. Технологический процесс синтеза является управляемым и контролируемым.

Экспериментальным путем установлено, что из всего спектра полученных коллоидно-химическим методом водных растворов нанокристаллов на основе ортованадатов редкоземельных элементов активированных европием, люминесценция наблюдается только для Y, La, Gd и при их совместном присутствии.

Примененная методика коллоидного синтеза позволяет получать агрегативно устойчивые гидрозоли нанокристаллов с контролируемыми геометрическими параметрами твердой фазы. Отсутствие в полученных гидрозолях токсичных примесей, поверхностно-активных веществ и полимеров, которые способны взаимодействовать с биологическими объектами, делает их пригодными к биологическому тестированию.

2.3.1 Синтез гидрозолей $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ с наночастицами сферической формы

Получение гидрозолей наночастиц $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ проводили следующим образом. На начальном этапе синтеза в колбе на 50 мл смешивали водные растворы хлорида иттрия (0.3 мл, 1 моль/л), хлорида гадолиния (0.3 мл, 1 моль/л) и хлорида европия (0.05 мл, 1 моль/л), затем раствор доводили бидистиллированной водой до метки. После этого полученный раствор смешивали с раствором цитрата натрия (37.5 мл, 0.01 моль/л). Далее к полученной смеси, перемешивая на магнитной мешалке, добавляют по каплям водный раствор ортованадата натрия (37.5 мл, 0.01 моль/л). Показатель pH полученного раствора должен составлять 9.0-9.5. Затем реакционную смесь медленно нагревают в термостате с 60 до 90°C и выдерживают в нем при данной температуре на протяжении 40 мин.

После окончания температурной обработки и охлаждения раствор подвергают диализу при помощи мембраны 12 KDa (размер пор порядка 2.5 нм). Процесс диализа продолжался на протяжении суток. Контроль процесса очистки диализуемого раствора от примесей электролитов осуществлялся путем определения электропроводности диализата. Контроль pH осуществляли с помощью pH-метра.

2.3.2 Синтез гидрозолей $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ с наночастицами веретенообразной формы

Получение гидрозолей наночастиц $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ проводили следующим образом. На начальном этапе синтеза в колбе на 50 мл смешивали водные растворы хлорида гадолиния (0.4 мл, 1 моль/л) и хлорида европия (0.05 мл, 1 моль/л), затем раствор доводили бидистиллированной водой до метки. После этого полученный раствор смешивали с раствором трилона Б (37.5 мл, 0.01 моль/л). Далее к полученной смеси, перемешивая на магнитной мешалке,

добавляют по каплям водный раствор ортованадата натрия (37.5 мл, 0.01 моль/л). Показатель pH полученного раствора должен составлять 10.5. Затем реакционную смесь кипятят с обратным холодильником на протяжении 24 часов.

После окончания температурной обработки и охлаждения раствор подвергают диализу при помощи мембраны 12 KDa (размер пор порядка 2.5 нм). Процесс диализа продолжался на протяжении 3 суток, однако через каждые 6 ч в стакане заменяют дистиллированную воду. Контроль процесса очистки диализируемого раствора от примесей электролитов осуществлялся путем определения электропроводности диализата. Контроль pH осуществляли с помощью pH-метра.

2.3.3 Синтез гидрозолей $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ с наночастицами стержнеподобной формы

Получение гидрозолей наночастиц $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ проводили следующим образом. На начальном этапе синтеза в колбе на 50 мл смешивали водные растворы хлорида гадолиния (0.8 мл, 0.5 моль/л) и хлорида европия (0.05 мл, 1 моль/л), затем раствор доводили бидистиллированной водой до метки. После этого полученный раствор смешивали с раствором трилона Б (37.5 мл, 0.01 моль/л). Далее к полученной смеси, перемешивая на магнитной мешалке, добавляют по каплям водный раствор ортованадата натрия (37.5 мл, 0.01 моль/л). Показатель pH полученного раствора должен составлять 10.5. Затем реакционную смесь кипятят с обратным холодильником на протяжении 24 часов.

После окончания температурной обработки и охлаждения раствор подвергают диализу при помощи мембраны 12 KDa (размер пор порядка 2.5 нм). Процесс диализа продолжался на протяжении 3 суток, однако через каждые 6 ч в стакане заменяют дистиллированную воду. Контроль процесса очистки диализируемого раствора от примесей электролитов осуществлялся

путем определения электропроводности диализата. Контроль pH осуществляли с помощью pH-метра.

2.4 Методика определения плотности твердой фазы гидрозолей

Измерение плотности твердой фазы проводили после ее выпаривания из растворов и высушивания при 100 °С до постоянной массы.

Определение относительной плотности исследуемого вещества начинали с определения относительной плотности выбранной для сравнения жидкости, например, гексана, по известному пикнометрическому способу [157]. В тот же пикнометр предварительно тщательно промытый, высушенный и взвешенный на аналитических весах, насыпают 100 мг исследуемого порошкообразного вещества, взвешивают и по разности масс пикнометра точно определяют навеску взятого вещества.

Затем наливают в пикнометр небольшими порциями применяемую жидкость (в данном случае — гексан), каждый раз, тщательно перемешивая содержимое встряхиванием. Когда прибор будет заполнен на 2/3, его помещают на 1 ч на водяную баню, нагретую до 50°С, для удаления из порошкообразного вещества пузырьков воздуха. Время от времени содержимое пикнометра слегка взбалтывают. После того как выделение пузырьков воздуха закончится, прибор охлаждают, доливают до метки жидкостью и взвешивают. Таким образом, определяют массу пикнометра с порошкообразным веществом и жидкостью.

Относительная плотность порошкообразного твердого тела (d_v) определяется по формуле:

$$d_v = \frac{Pd_{ж}}{P + G - F}, \quad (2.1)$$

где $d_{ж}$ — относительная плотность жидкости;

P — масса порошкообразного вещества, г;

G — масса пикнометра, наполненного жидкостью, г;

F — масса пикнометра с порошкообразным веществом и жидкостью, г.

2.5 Методика определения удельной поверхности дисперсной фазы

Удельную поверхность дисперсной системы нетрудно вычислить, если известны размер и форма частиц, учитывая, что удельная поверхность численно равна отношению поверхности частицы к ее объему.

Величина объема и удельной поверхности наночастиц, рассчитана на основании средних размеров, определенных по данным электронной микроскопии. Для расчета объема и площади поверхности частиц использовали формулы простых геометрических фигур (рис. 2.1): сферы – для сферических частиц, сплюснутого сфероида – для веретенообразных частиц и удлиненного цилиндра – для стержнеподобных частиц.

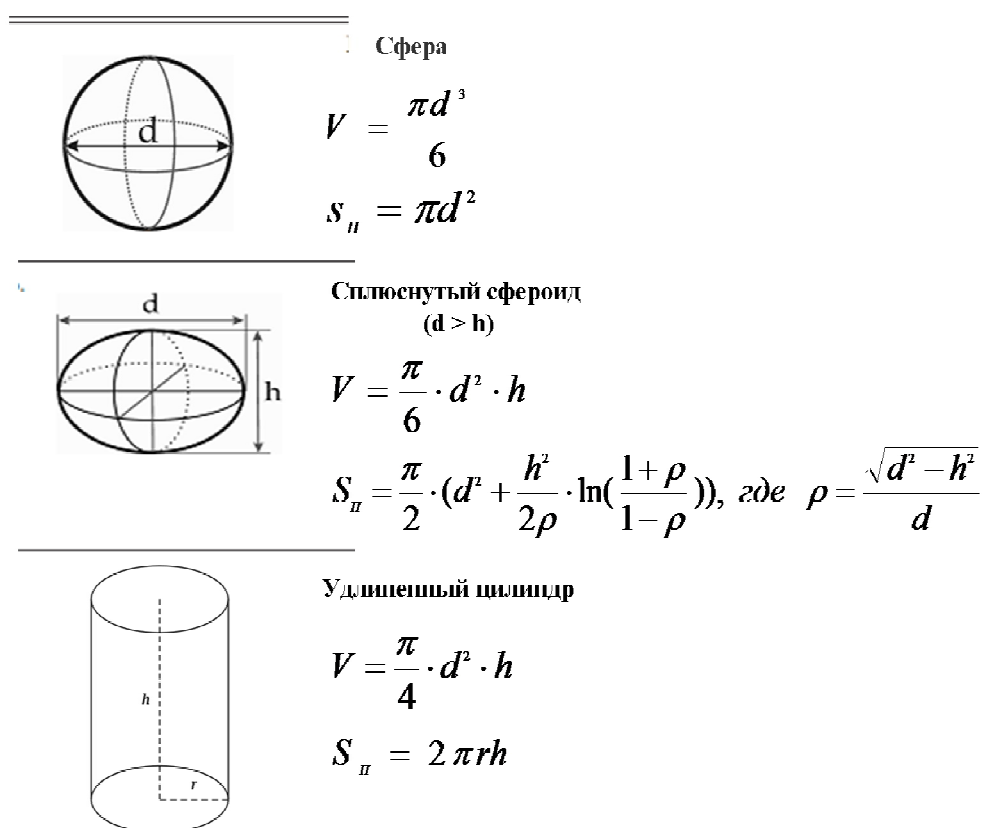


Рис. 2.1 Формулы расчетов параметров геометрических фигур

Удельную площадь поверхности частиц рассчитывали по формуле:

$$S_{sp} = \frac{S_s}{\rho V} = \frac{S_s}{m}, \quad (2.2)$$

где V - объем частицы, S_s – площадь поверхности, m – масса частицы, ρ – плотность частиц.

2.6 Методика определения порогов быстрой коагуляции гидрозолей

Для получения характеристик агрегативной устойчивости дисперсной системы был использован метод определения порогов быстрой коагуляции с различными неорганическими и органическими электролитами. Определение значений порогов быстрой коагуляции (Y) проводилось по методу, описанному ранее [158].

Пороги коагуляции Y определялись визуально (в проходящем свете) в планшетах для микробиологических исследований. Для определения (Y) готовился ряд водных растворов электролитов, ПАВ и красителей с концентрациями близкими к ожидаемым значениям порогов коагуляции. Коллоидный раствор с концентрацией 1 г/л разбавлялся половинным объемом растворов коагулянтов. Таким образом, концентрация исследуемого гидрозоля составляла 0.5 г/л. В качестве критерия коагуляции принималось помутнение растворов при минимальной концентрации коагулянта, хотя для укрупнения и полного осаждения хлопьев коагулянта на дно кюветы необходимо ещё определенное время. Испытанию подвергали системы, начиная с самых малых концентраций коагулянта.

Значение Y рассчитывали по стандартной формуле [11]:

$$Y = 0.5 (C_x + C_{x-1}) \quad (2.3)$$

где C_x – минимальная концентрация коагулянта, при которой наблюдается помутнение. C_{x-1} – максимальная концентрация коагулянта, при которой не наблюдается помутнение.

Проводились не менее трёх параллельных измерений. Погрешность определения Y не превышала 15%.

Затем в дополнительном эксперименте процесс коагуляции во времени контролировали по спектрам поглощения в видимой области $\lambda=500$ нм. (рис. 2.2). Значения порогов быстрой коагуляции Y находили как среднее арифметическое между минимальной концентрацией электролита, вызывавшей быстрое помутнение (рис. 2.2б) и максимальной концентрацией электролита, при которой не наблюдается помутнения (рис. 2.2а). При концентрации выше пограничной, вызывающей помутнение, наблюдается быстрое образование крупных хлопьев коагулята и выпадение в осадок, сопровождающееся снижением светопоглощения в объеме раствора (рис. 2.2в).

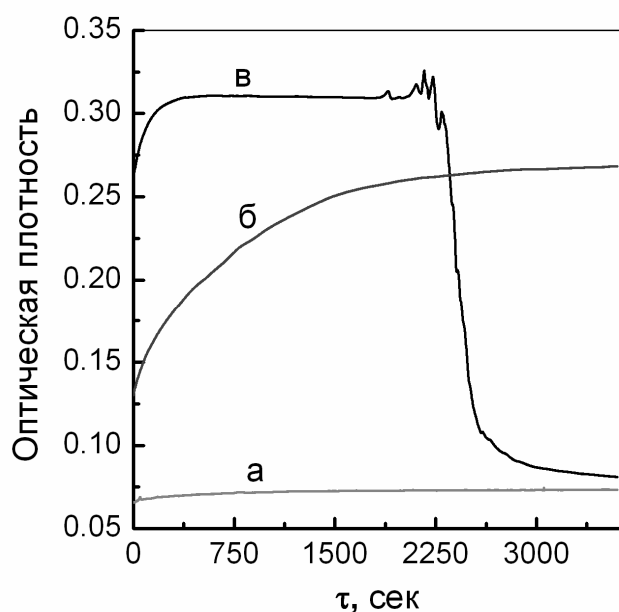


Рис. 2.2 Динамика коагуляции гидрозоля $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ при регистрации поглощения ($\lambda=500$ нм). В присутствии максимальной концентрации коагулянта, при которой не наблюдается помутнение (а), в присутствии минимальной концентрации коагулянта, при которой наблюдается помутнение (б), при концентрации коагулянта выше пороговой (в).

2.7 Методы физико-химического исследования гидрозолей

Визуализацию эффекта Тиндаля проводили путем пропускания пучка света от галогеновой лампы через кювету с раствором. В этих условиях в коллоидном растворе, наблюдаемом сбоку, виден конус рассеивания (конуса Тиндаля). Интенсивная опалесценция является доказательством гетерогенности системы и подтверждает, что полученный раствор является коллоидным.

Размеры и морфологию наночастиц твердой фазы гидрозолей оценивали с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на электронном микроскопе ПЭМ 125К (Selmi, Украина) при ускоряющем напряжении 100 кВ (увеличение до $\times 100000$). Для исследований в просвечивающем режиме образцы готовили по стандартной методике нанесением коллоидного раствора на медные сетки, покрытые тонким слоем углерода с последующим их высушиванием при комнатной температуре. Для анализа распределения частиц по размерам использовали несколько микрофотографий одного и того же образца, снятых при одном увеличении, но характеризующих различные участки образца. Зная масштаб изображения на фотографии, измерение размеров и числа частиц производили вручную. На основании полученных значений строили гистограмму (зависимость количества частиц от их размера), иллюстрирующую распределение частиц по размерам.

Оценку среднего гидродинамического диаметра частиц методом динамического светорассеяния (ДСР) проводили на анализаторе ZetaPALS (Brookhaven Instruments Corp., США) при угле рассеивания 90° . В качестве источника света использовали гелий-неоновый лазер (длина волны излучения 659 нм). Измерения проводили в специальных полистирольных кюветах (BI-SCP). Перед съемкой золи разбавляли дистиллированной водой в 2–10 раз.

Измерение ζ -потенциала и исследование стабильности частиц полученных образцов в коллоидных растворах проводили с помощью

анализатора ZetaPALS при угле рассеивания 15° . При вычислении ζ -потенциала измерялось доплеровское смещение луча света, рассеянного частицами, с последующим пересчетом по уравнениям Смолуховского.

Определение состава и чистоты твердой фазы гидрозолей проводили с помощью ИК-Фурье спектрофотометра SPECTRUM ONE (Perkin–Elmer, США) в диапазоне $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$. Образцы готовили распылением гидрозоля на поверхность кремниевой подложки и последующим ее высушиванием.

Рентгенофазовый анализ твердой фазы гидрозолей выполнен по полнопрофильной рентгенограмме, снятой на порошковом дифрактометре Siemens D500 в монохроматизированном излучении меди (CuK_α , Ni-фильтр, $5 \leq 2\theta \leq 90^\circ$ сканирование, $\Delta 2\theta = 0,02^\circ$). Идентификацию фаз, входящих в состав исследуемых объектов, проводили в соответствии с данными картотеки JCPDC.

Для исследования спектрально-люминесцентных свойств гидрозолей и их комплексов с катионными красителями применяли спектрофлуориметр Lumina (Thermo Scientific, США). Спектры оптического поглощения золей регистрировали при помощи спектрометра SPECORD 200 (Analytik Jena, Германия) с использованием двулучевой схемы. Измерения производили в кюветах из стекла и оптического кварца толщиной 0.2 - 5.0 см, в зависимости от интенсивности окраски раствора таким образом, чтобы измеряемое значение оптической плотности не выходило за пределы области от 0.1 до 1.3 единиц. Температура внутри кюветного отделения спектрофотометра составляла $25 \pm 0.25^\circ\text{C}$. Измерения спектров поглощения красителей при варьировании концентрации наночастиц в растворах, проводились против холостых растворов, содержащих соответствующие концентрации гидрозоля без красителя.

Визуализация клеток проводилась на люминесцентном микроскопе Olympus IX 71 с источником возбуждения - ксеноновая лампа 75 W. Для возбуждения люминесценции в микроскопе был использован фильтр, пропускающий 460-490 нм и пропускающий излучение фильтр с длиной

волны 510 нм. Наблюдения проводились при увеличении X1000 в условиях масляной иммерсии. Для получения спектров люминесценции использована опто-электронная система на базе спектрофотометра USB4000 (Ocean Optics, USA) подключенного к оптическим выходам люминесцентного микроскопа Olympus IX 71, позволяющая снимать спектры люминесценции с локальных участков наблюдаемого изображения, в том числе с локальных участков одиночных клеток.

Выводы к разделу 2

В разделе указаны использованные в работе реактивы, оборудование, условия и методики проведения эксперимента. Используемая в работе методика коллоидного синтеза позволяет получать агрегативно устойчивые гидрозолы нанокристаллов с контролируемыми геометрическими параметрами твердой фазы.

РАЗДЕЛ 3

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ



3.1 Физико-химические характеристики гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd)

Объектом исследований являлись гидрозоли на основе нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ с различными геометрическими параметрами твердой фазы. Исследуемые гидрозоли прозрачны в проходящем свете и опалесцируют при боковом освещении (конус Тиндаля) (рис. 3.1).

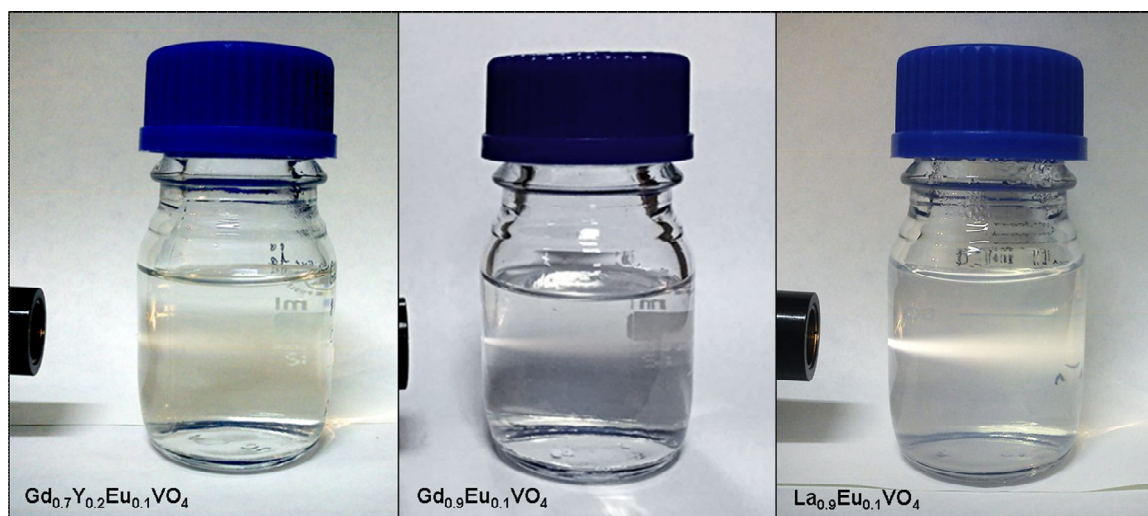


Рис. 3.1 Эффект Тиндаля, наблюдаемый при прохождении пучка света через кювету с гидрозолем ($c = 1$ г/л)

В условиях УФ облучения гидрозоли обладают яркой красной люминесценцией (рис. 3.2). Значение pH гидрозолей находится в диапазоне 7.4-7.8. Коллоидные частицы гидрозолей легко проходят через нитроцеллюлозные ультрафильтры с диаметром пор 100 нм. Концентрация твердой фазы синтезированных гидрозолей составляет 1 г/л. При испарении

гидрозолей на роторном испарителе в мягких условиях, концентрация твердой фазы может достигать 20 г/л. Гидрозоли ($c = 1$ г/л) хранятся более 2 месяцев в нормальных условиях без изменения свойств. Максимум оптической плотности гидрозолей, оставался неизменным по прошествии указанного выше временного промежутка от момента синтеза, что также говорит о минимальной агрегации частиц при хранении. Выдерживание гидрозолей при 100 °С в течение 1-2 часов в герметичных ампулах не вызывает седиментацию и сколько-нибудь заметную коагуляцию коллоидов. При замораживании гидрозолей в процессе образования кристалликов льда наночастицы вытесняются из водной фазы и образуют агрегаты. При таянии льда агрегаты ортаванадатов выпадают в осадок и повторный перевод их в коллоидное состояние проблематичен и возможен только при ультразвуковой обработке.

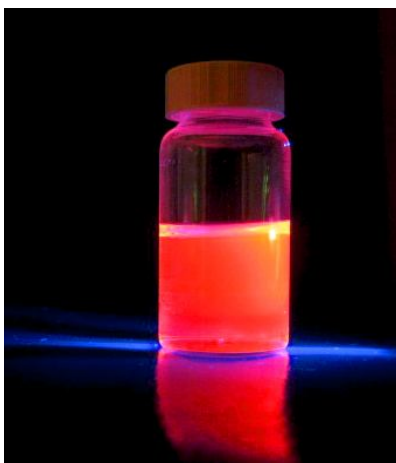


Рис. 3.2 Типичная красная окраска гидрозоля под ультрафиолетовым освещением в 265 нм

Средний гидродинамический диаметр частиц гидрозоля, определенный методом ДРС (рис 3.3), составил 21.5 нм для сферических, 56.4 для веретенообразных, 72 для стержнеподобных наночастиц. Однако следует уточнить, что средний гидродинамический диаметр включает в себя толщины поверхностных слоев, в частности, гидратного и стабилизационного слоя, и кроме того, в водной дисперсии наблюдается

укрупнение частиц за счет частичной агрегации. Поэтому, для уточнения формы и размеров частиц, а также расчета распределения частиц по размерам, полученные гидрозоли были исследованы методом просвечивающей электронной микроскопии.

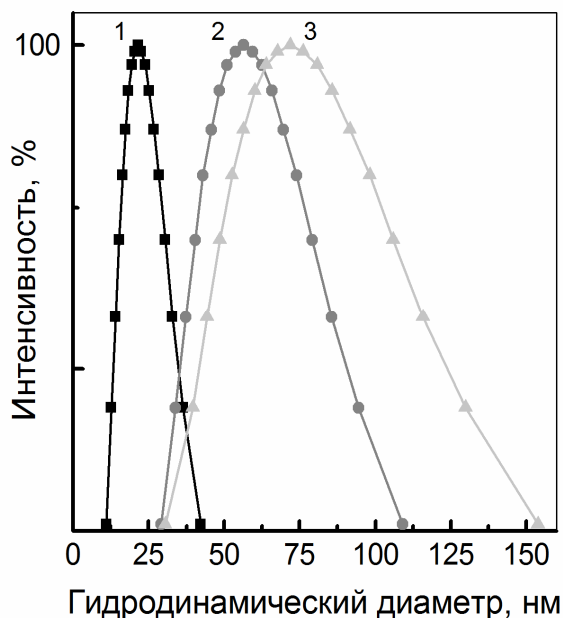


Рис. 3.3 Распределения интенсивностей рассеяния частиц по размерам в гидрозолях, измеренных методом ДРС: 1 - $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$; 2 - $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$; 3 - $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$.

Метод просвечивающей электронной микроскопии показал, что твердая фаза гидрозолей $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, представлена наночастицами сферической формы со средним размером 2 нм, веретенообразной формы 10×50 нм и стержнеподобной формы 8×80 нм, соответственно (рис. 3.4). На рис. 3.4 приведены гистограммы распределения по размерам наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$), которые показывают высокую однородность размеров частиц; дисперсия по размерам в среднем не превышает 15%. Спустя месяц распределение частиц по размерам принципиально не изменяется. Структурные исследования, выполненные методом электронной микродифракции, свидетельствуют о том, что частицы

являются кристаллическими, об этом можно судить по наличию рефлексов на электронограммах (см. вставку на рисунке 3.4).

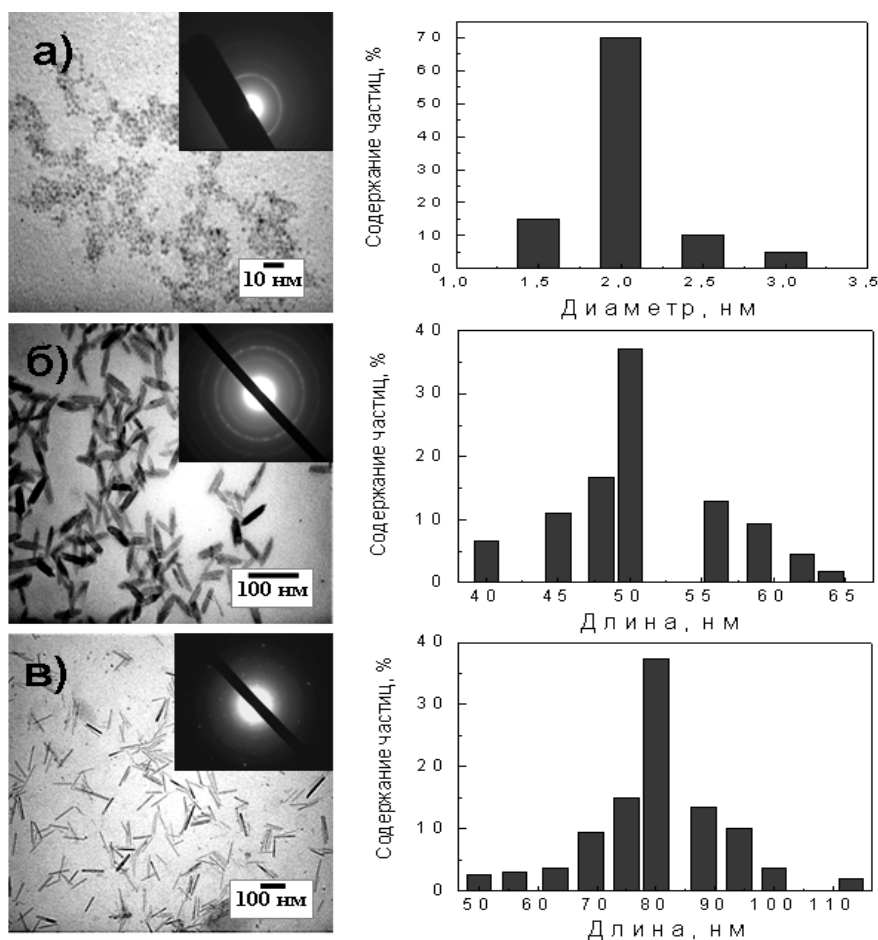


Рис. 3.4 ПЭМ изображения и гистограммы распределения по размерам частиц: *а* - сферической формы 2 нм ($\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$); веретенообразной формы: *б* - 10×50 нм ($\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$); стержнеподобной формы: *в* - 8×80 нм ($\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$).

Как было отмечено в разделе 1.4, ортованадаты кристаллизуются в двух фазах, а именно, в тетрагональной фазе типа (ZrSiO_4) циркона и моноклинной фазе типа моноцита (CePO_4). Рентгенофазовый анализ твердой фазы гидрозолей показал наличие нанокристаллов требуемого фазового состава (со структурой, аналогичной структуре соответствующих объемных кристаллов). Присутствие (200), (112) и (312) рефлексов на рентгенограмме (рис. 3.5) указывает на то, что образцы характеризуются наличием

тетрагональной фазы типа циркона. Следует также отметить, что $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ наночастицы обладают спектральным сдвигом в сторону более высоких углов дифракции, в отличие от литературных данных, что может быть связано с различными постоянными решетки [73].

Известно, что ширина дифракционных пиков зависит от наличия в образце дефектов, механических напряжений и от размера областей когерентного рассеяния (размера нанокристаллов). В данном случае, уширение пиков на рентгенограмме для твердой фазы гидрозолей $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ по сравнению с объемными образцами связано с малым размером частиц.

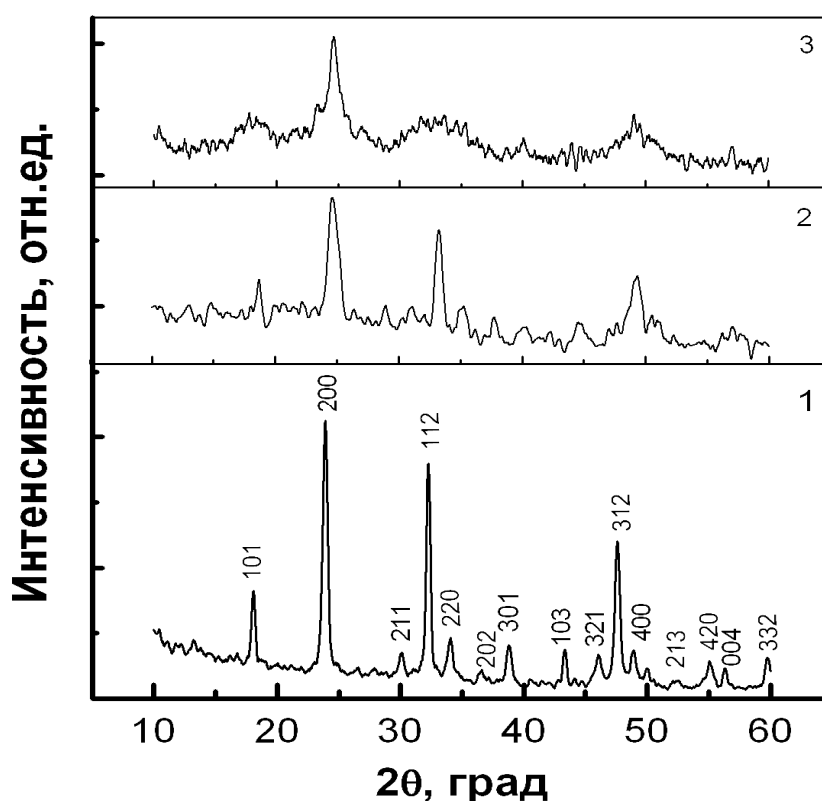


Рис. 3.5 Рентгенограммы порошков, полученных сушкой гидрозолей при 80°C: 1 - $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$; 2 - $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$; 3 - $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$.

Величина удельной поверхности наночастиц, рассчитана на основании средних размеров, определенных по данным электронной микроскопии.

Расчет удельной поверхности проводили, как описано в разделе 2. Исходя из предположения о том, что объем гидрозоля, является аддитивным по отношению к объему частиц и дисперсионной среды, косвенным путем была оценена плотность полученных частиц пикнометрическим методом (см. раздел 2). Значения удельной поверхности и плотностей наночастиц приведены в табл. 3.1.

Таблица 3.1

Основные параметры дисперсной фазы гидрозолей

$\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd)

	Средний размер наночастиц, нм	Форм-фактор	$S_{\text{уд}}, \text{ м}^2/\text{г}$	$\rho, \text{ г}/\text{см}^3$
$\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$	2	1	1304	2.3
$\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$	10×50	5	149	2.2
$\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$	8×80	10	227	2.2

Согласно литературным данным, значение плотности для объемных кристаллов YVO_4 равно $4.22 \text{ г}/\text{см}^3$ [68]. Значения плотности для нанокристаллов, полученные в наших измерениях, соответствует $2.2\text{-}2.3 \text{ г}/\text{см}^3$. Подобные отличия значений плотности объемных материалов от нанокристаллических наблюдались и ранее [159, 160]. Причины такого различия в величинах плотностей объясняются наличием нанокпилляров в частицах, присутствием гидратированных слоёв и остатками органической фазы стабилизирующего слоя.

На рис. 3.6 приведены ИК-спектры порошков, полученных сушкой гидрозолей при 80°C . Основную информацию о колебаниях решетки для исследуемых наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd) дает сильное поглощение на $(788, 792, 798) \text{ см}^{-1}$ и слабое на $(445 \text{ и } 450) \text{ см}^{-1}$, которое

соответствует V-O и Re(Eu)-O валентным колебаниям кристаллической решетки, соответственно [161, 162]. Наличие двух пиков указывает, что наночастицы $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd) сформировалась, а это хорошо согласуется с результатом РФА. Полученные ИК спектры похожи на ИК спектры некоторых других металлов ванадатов (MVO_4) [163, 164].

Широкая полоса для всех трех образцов в диапазоне $2900 - 3700 \text{ см}^{-1}$ характерна для валентных колебаний O-H связей воды, а слабые полосы при $(2918 - 2930)$ и $(2844 - 2865) \text{ см}^{-1}$ обусловлены колебаниями СН- групп, принадлежащих органической фазе стабилизационного слоя, присутствующего на поверхности наночастиц. В ИК-спектре для наночастиц $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (рис. 3.5 а) отсутствуют признаки свободных карбонильных групп, и наблюдается две полосы 1391 и 1570 см^{-1} , обусловленные симметричными и асимметричными валентными колебаниями карбоксилатных групп, соответственно. А также наблюдается два небольших пика при 1072 и 1259 см^{-1} , которые соответствуют валентным колебаниям C-O связей цитрата [165, 166]. Это свидетельствует о наличии цитрат-лигандов на поверхности наночастиц.

В случае же наночастиц $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, в ИК-спектре наблюдаются полосы в области 1415 см^{-1} и $(1307-1313) \text{ см}^{-1}$, соответственно, относящиеся к симметричным и асимметричным валентным C=O колебаниям карбоксилатной группы (координированной и свободной, соответственно) [166]. Отметим, что моды колебаний COO^- групп смещены в низкочастотную область, что позволяет предположить об образовании химической связи между карбокси-ионами ЭДТА и редкоземельным ионом в составе наночастиц. Полосы в области 1580 см^{-1} также относятся к асимметричным валентным колебаниям карбоксилатной группы, но связанной с атомом азота, свободной от бетаинового протона. Таким образом, характеристические полосы в ИК-спектрах свидетельствуют о наличии групп ЭДТА на поверхности частиц.

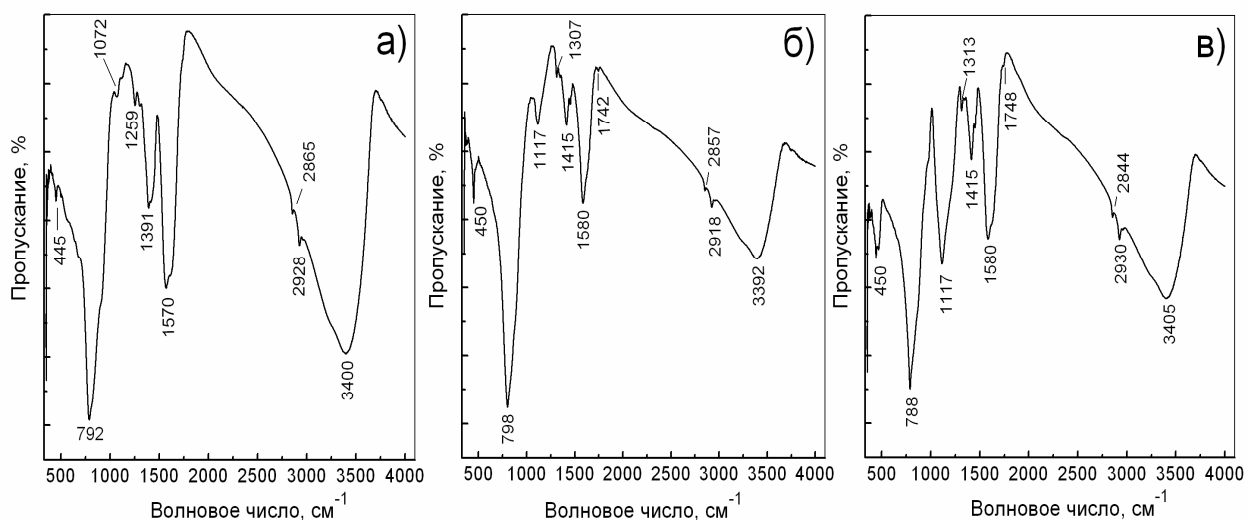


Рис. 3.6 ИК-спектры порошков, полученных при высушивании гидрозолей: 1 - $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$; 2 - $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$; 3 - $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$.

Отметим, что наличие стабилизирующего агента (цитрата и Трилона Б) обеспечивает агрегативную стабильность наночастиц в гидрозолях. В процессе синтеза роль стабилизаторов двоякая. Во-первых, они являются комплексообразователями для редкоземельных ионов, способствующими медленному формированию гетерогенной системы, а с другой стороны, органические молекулы образуют стабилизирующий слой вокруг наночастиц, препятствующий их агрегации и обеспечивающий стабильность гидрозолей за счет образования двойного электрического слоя и электростатического (через COO^- группы) отталкивания отрицательно заряженных наночастиц.

3.2 Спектральные характеристики гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)

В спектрах поглощения гидрозолей представленных на рис. 3.7 наблюдается широкая полоса с максимумом в диапазоне 271 - 287 нм, соответствующая оптическим переходам с переносом заряда от кислородных лигандов к центральному иону ванадия в VO_4^{3-} [75, 99], причем положение максимума полосы поглощения для каждого типа нанокристаллов зависит от

типа регулярного катиона основания. Отметим, что для ионных растворов солей, содержащих ионы VO_4^{3-} , максимум поглощения находится в области $\lambda_{\text{макс}} = 266$ нм, смещение этой полосы в длинноволновую область свидетельствует о том, что VO_4^{3-} находится в кристаллическом поле.

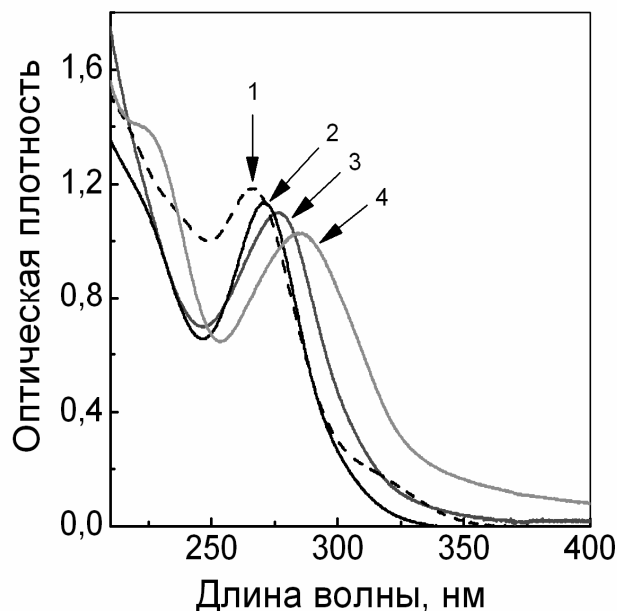


Рис. 3.7 Спектры поглощения: раствора Na_3VO_4 (1) и золь с наночастицами $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (2), $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (3) и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (4).

Известно, что основной закон светопоглощения (Бугера–Ламберта–Бера) связывает уменьшение интенсивности света при прохождении через слой светопоглощающего вещества с концентрацией вещества и толщиной слоя. Как правило, степень светопоглощения линейно зависит от концентрации вещества. Однако, в дисперсных системах, наряду с поглощением, может наблюдаться значительный эффект рассеяния и отражения света. При этом оптическая плотность может нелинейно зависеть от концентрации. Закон Бугера–Ламберта–Бера, как правило, соблюдается в ультрамикрорегетерогенных системах, также как и для молекулярных систем [167].

Нами были исследованы зависимости оптической плотности от концентрации гидрозоль с наночастицами всех типов (рис. 3.8) [168]. Было

обнаружено, что данные зависимости носят линейный характер в указанном диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (0.01 – 0.12 г/л) для всех типов частиц, что свидетельствует о соблюдении закона Бугера-Ламберта-Бера для данных систем [168].

Известно, что практическое применение закона Бугера–Ламберта–Бера связано со следующими ограничениями:

- 1) закон справедлив для монохроматического света;
- 2) параллельность пучка света;
- 3) температура раствора должна быть постоянной в пределах нескольких градусов;
- 4) молярный коэффициент поглощения ϵ зависит от показателя преломления среды;
- 5) уравнение $A = \epsilon c l$ выполняется для систем, в которых светопоглощающими центрами являются частицы одного сорта.

Выполнение ограничений 1–3 обусловлено принципом работы спектрофотометра и условиями проведения эксперимента. Данные ограничения не влияют на возникновение нелинейности. Ограничение 4 может быть причиной отклонения от закона и приводит к возникновению нелинейности в связи с изменением показателя преломления в концентрированном растворе. В наших экспериментах пороговое значение концентрации наночастиц составляет 0.12 г/л. Очевидно, что и ограничение 5 является причиной отклонения от закона. При уменьшении расстояния между наночастицами (увеличении концентрации) некоторая их часть слипается (агломерируется), возрастает вклад рассеяния и наблюдается резкое изменение оптической плотности. Таким образом, основными причинами отклонения от закона Бугера–Ламберта–Бера следует считать действие ограничений 4 и 5. Рассеяние света при увеличении концентрации частиц является основной причиной отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера.

При использовании кювет с различной толщиной оптического слоя (от 2 до 50 мм) и эквивалентной концентрации частиц в растворе, при которой соблюдалось постоянное значение произведения cl , величина оптической плотности оставалось неизменным, что также свидетельствует о линейной зависимости светопоглощения от концентрации исследуемых растворов.

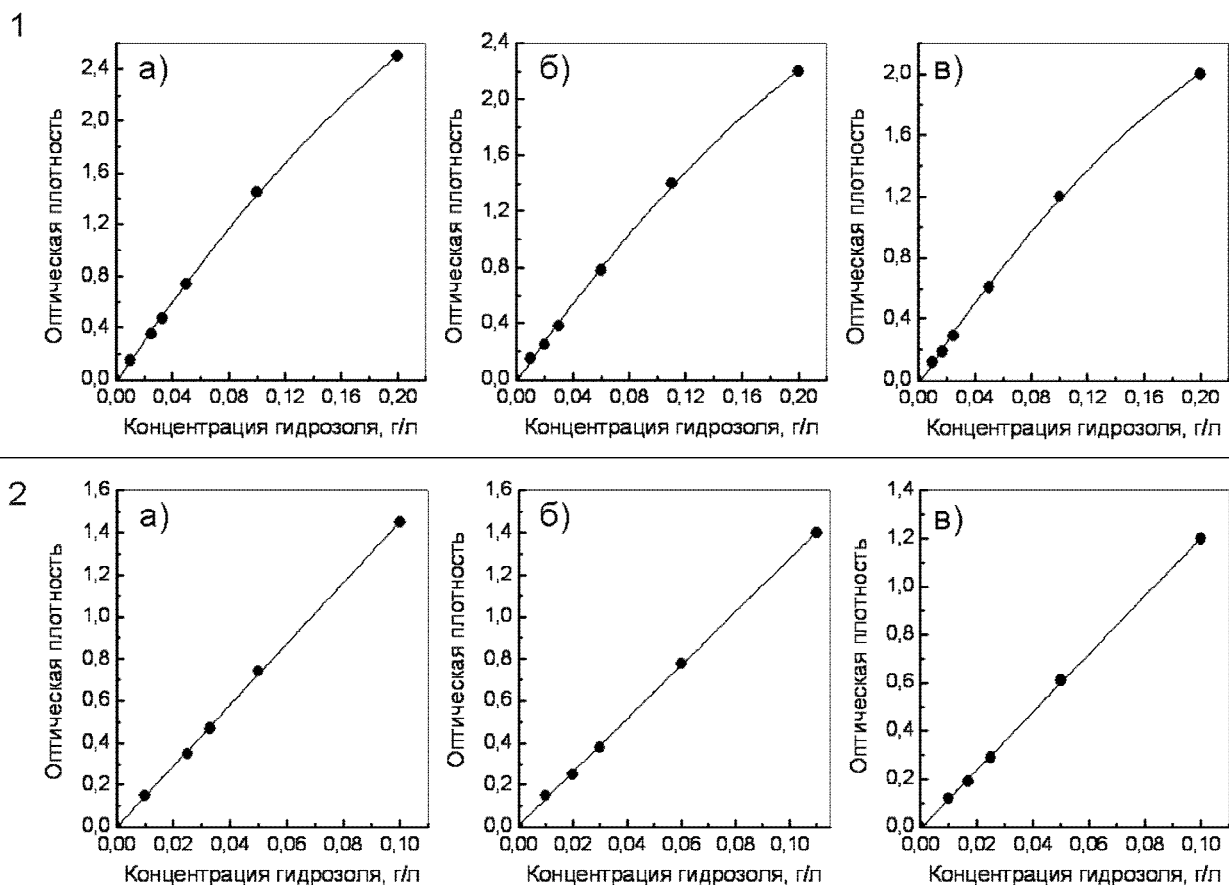


Рис. 3.8 Зависимости оптической плотности от концентрации гидрозолей: а - $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$; б - $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$; в - $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$. 1 - полного диапазона; 2 - линейного участка

Найденные значения коэффициентов экстинкции гидрозолей зависят от размера наночастиц и составляют 3870, 3130 и 3090 л/(моль·см) для сферических, веретенообразных и стержнеподобных наночастиц, соответственно. Значение коэффициента экстинкции для сферических частиц $GdYVO_4:Eu \approx 4000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ хорошо согласуется с литературными данными [68]. Полученные коэффициенты экстинкции могут быть

использованы для построения калибровочных зависимостей, позволяющих определять концентрации водных растворов наночастиц ортованадатов с заданными геометрическими параметрами.

Известно, что интенсивность люминесценции нанолюминофоров всегда зависит от концентрации допирующего иона. Экспериментально было установлено, что максимальная интенсивность люминесценции для гидрозолей нанокристаллов $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) наблюдалась при мольном соотношении Re/Eu как 9/1. На рис. 3.9 приведена зависимость интенсивности люминесценции $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ от концентрации активатора-европия. Можно заметить, что интенсивность люминесценции Eu^{3+} изначально увеличивается с увеличением концентрации иона-активатора, а затем уменьшается по мере увеличения концентрации Eu^{3+} из-за эффекта концентрационного тушения. Оптимальная концентрация Eu^{3+} в матрице GdVO_4 составляет 10 мол%. Такого содержания европия придерживались во всех исследуемых образцах $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).

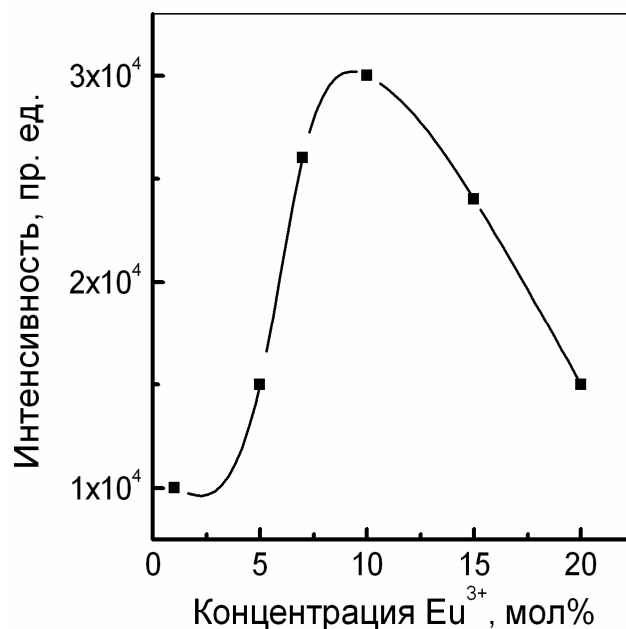


Рис. 3.9 Зависимость интенсивности люминесценции $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ от концентрации иона активатора-европия ($\lambda_{\text{возб}} = 280 \text{ нм}$).

В спектрах возбуждения люминесценции гидрозолей (рис. 3.10) ($\lambda_{\text{рег}}=619$ нм) наблюдается интенсивная полоса ортованадатной матрицы, максимум которой находится в близком соответствии с полосой поглощения, а также несколько малоинтенсивных узких линий в более длинноволновой области (395, 465, 536 нм), соответствующие оптическим f-f переходам европия в ортованадатной матрице (спектры для $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ аналогичные). Таким образом, возбуждение люминесценции возможно как в максимуме полосы ортованадатной матрицы (~ 280 нм), так и в полосах f-f переходов европия.

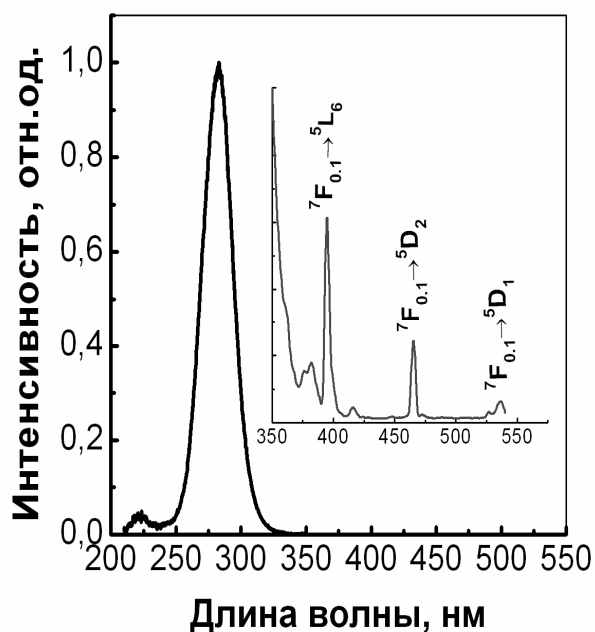


Рис. 3.10 Спектр возбуждения люминесценции ($\lambda_{\text{рег}} = 619$ нм) гидрозоля $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$. На вставке: увеличенное изображение полос в видимой области спектра.

Спектр люминесценции (рис. 3.11) исследуемых гидрозолей представлен узкими полосами переходов $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_J$ ($J = 0, 1, 2, 3, 4$), характерными для иона европия в составе ортованадатной матрицы. Наиболее интенсивные пики наблюдаются для электродипольного перехода $^5\text{D}_0 - ^7\text{F}_2$ на длинах волн 615 и 618 нм. Полоса, соответствующая

электродипольному переходу ${}^5D_0-{}^7F_4$, состоит из узких линий с максимумами 698 и 704 нм. В областях 591 и 650 нм наблюдаются полосы, соответствующие магнитодипольным переходам ${}^5D_0-{}^7F_1$ и ${}^5D_0-{}^7F_3$. Положение спектральных линий совпадает с известными литературными данными [119,120]. Тонкая структура спектральных линий подтверждает кристаллическую природу наночастиц и характерное окружение ионов европия в полученных наночастицах.

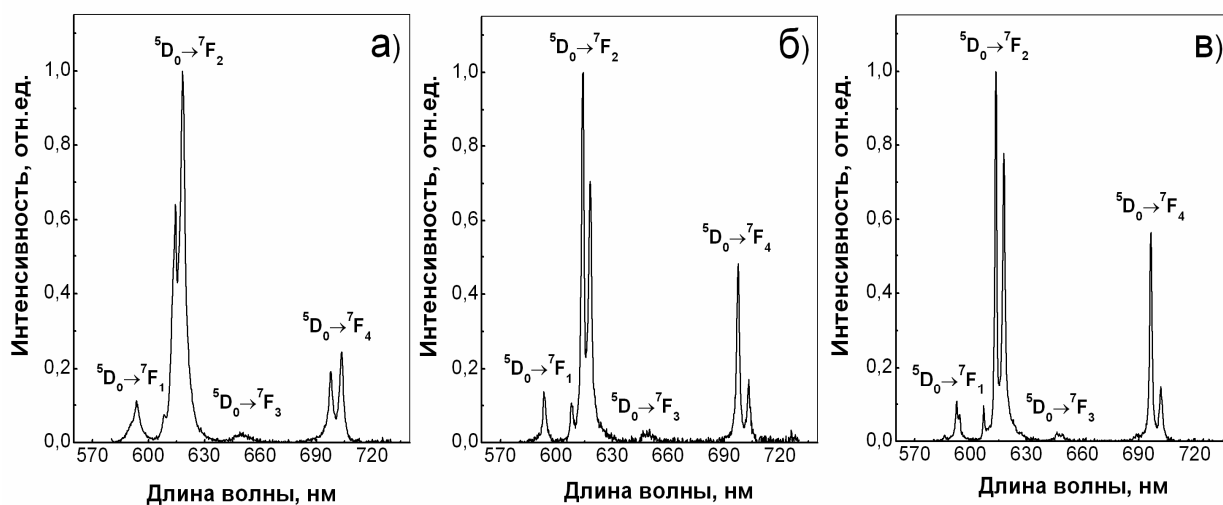


Рис. 3.11 Спектры люминесценции ($\lambda_{\text{возб}} = 280$ нм) гидрозолей $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (а), $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (б) и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (в).

Процесс, ведущий к подобной люминесценции был широко изучен ранее [122, 123]. В данном процессе УФ-излучение поглощается ванадатной группой VO_4^{3-} с переносом заряда от кислорода к ванадию. Существует несколько возможностей дальнейшей релаксации энергии возбуждения: либо непосредственный перенос энергии от ванадатной группы на ионы Eu^{3+} [169], либо дальнейшая миграция энергии по решетке ванадата вплоть до ее захвата на активаторе. Во время передачи возбуждения, возбужденные состояния также могут релаксировать безызлучательно путем захвата энергии ловушками разных типов. Среди них можно упомянуть поверхностные гидроксильные группы и ловушки в объеме кристалла, такие как примесные

ионы и кристаллические дефекты. Схема, описывающая эти механизмы, приведена на рисунке 3.12.

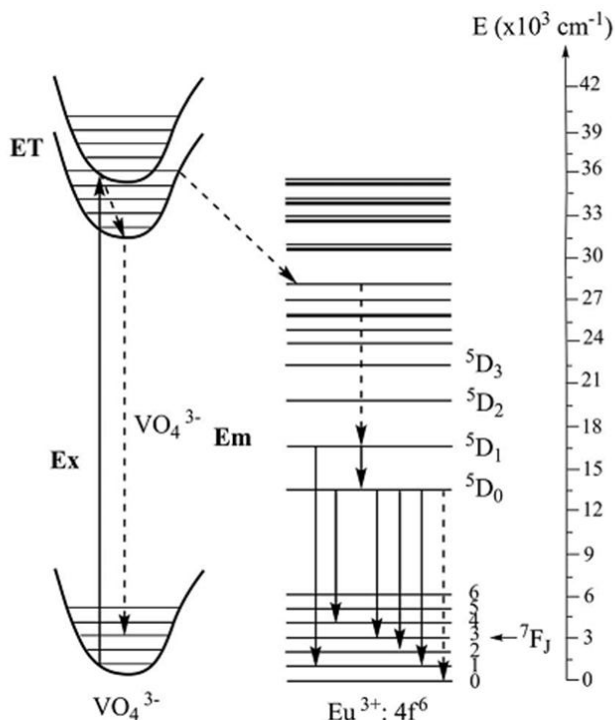


Рис. 3.12 Схема механизмов люминесценции YVO₄:Eu. Излучение длиной волны 280 нм поглощается ванадатной группой VO₄³⁻ и передается иону Eu³⁺, который демонстрирует люминесценцию на длине волны 619 нм.

При возбуждении люминесценции в полосе поглощения матрицы происходит перенос энергии от ванадат-ионов к иону активатору – европию, при этом стоксов сдвиг превышает 300 нм, что позволяет отстраиваться от люминесценции органических (биологических) матриц и регистрировать наночастицы в условиях люминесцентной спектроскопии при изучении биологических объектов.

Возможность возбуждения люминесценции f-f переходов европия в ортованадатной матрице в видимом диапазоне позволяет регистрировать наночастицы гидрозолей в экспериментах *in vitro* методом люминесцентной микроскопии [170].

Выводы к разделу 3

1. Методом коллоидного синтеза получены и охарактеризованы гидрозоли $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, твердая фаза которых представлена наночастицами сферической, веретенообразной и стержнеподобной формы.

2. Методом электронной микродифракции и рентгенфазового анализа подтверждена кристаллическая природа твердой фазы гидрозолей, что подтверждается также характерным свечением иона европия в ортованадатной матрице.

3. В спектрах поглощения гидрозолей наблюдается широкая полоса с максимумом в диапазоне 271 – 287 нм, обусловленная переносом заряда с кислородных лигандов к центральному атому ванадия в VO_4^{3-} ионе.

4. Установлено, что в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (0.01 – 0.12 г/л) для всех типов наночастиц зависимость оптической плотности от концентрации имеет линейный характер, что свидетельствует о соблюдении закона Бугера-Ламберта -Бера для данных систем.

5. Найденные значения коэффициентов экстинкции гидрозолей составляют 3870, 3130 и 3090 л/моль·см для сферических, веретенообразных и стержнеподобных наночастиц, соответственно. Значения коэффициентов экстинкции были использованы для построения калибровочных графиков и определения концентрации наночастиц в растворах.

Основные научные результаты, приведенные в разделе 3, опубликованы в [168, 170].

РАЗДЕЛ 4

КОЛЛОИДНО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)

4.1. Взаимодействие гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) с неорганическими электролитами

Наряду с перечисленными в предыдущем разделе 3 свойствами гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$), для практического применения весьма важной характеристикой представляется устойчивость данных систем по отношению к добавкам электролитов. Для выяснения агрегативной устойчивости дисперсной системы в качестве контролируемых параметров были выбраны интервал pH дисперсионной среды, в которых золи сохраняют свою агрегативную устойчивость, электрокинетический потенциал частиц и порог быстрой коагуляции.

Данные измерений электрофоретической подвижности показали, что в исследуемых гидрозолях $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ наночастицы заряжены отрицательно и ζ -потенциал равен (-18 мВ, -20 мВ, -23 мВ, соответственно). Невысокое значение ζ -потенциала с одной стороны, и достаточно большой гидродинамический радиус частиц (см. раздел 3) с другой стороны, свидетельствуют о том, что агрегативная устойчивость таких золь не определяется только электростатическим фактором, обусловленным действием электростатического отталкивания и Ван-дер-Вальсового притяжения. Вероятно, высокая агрегативная устойчивость гидрозолей обеспечивается за счет действия также структурного фактора, обусловленного наличием скоординированных молекул стабилизатора и гидратной оболочки вокруг частиц.

Для установления границ интервала величины pH, соответствующей агрегативной устойчивости гидрозоля, была получена зависимость среднего

гидродинамического диаметра частиц от величины рН дисперсионной среды (рис. 4.1).

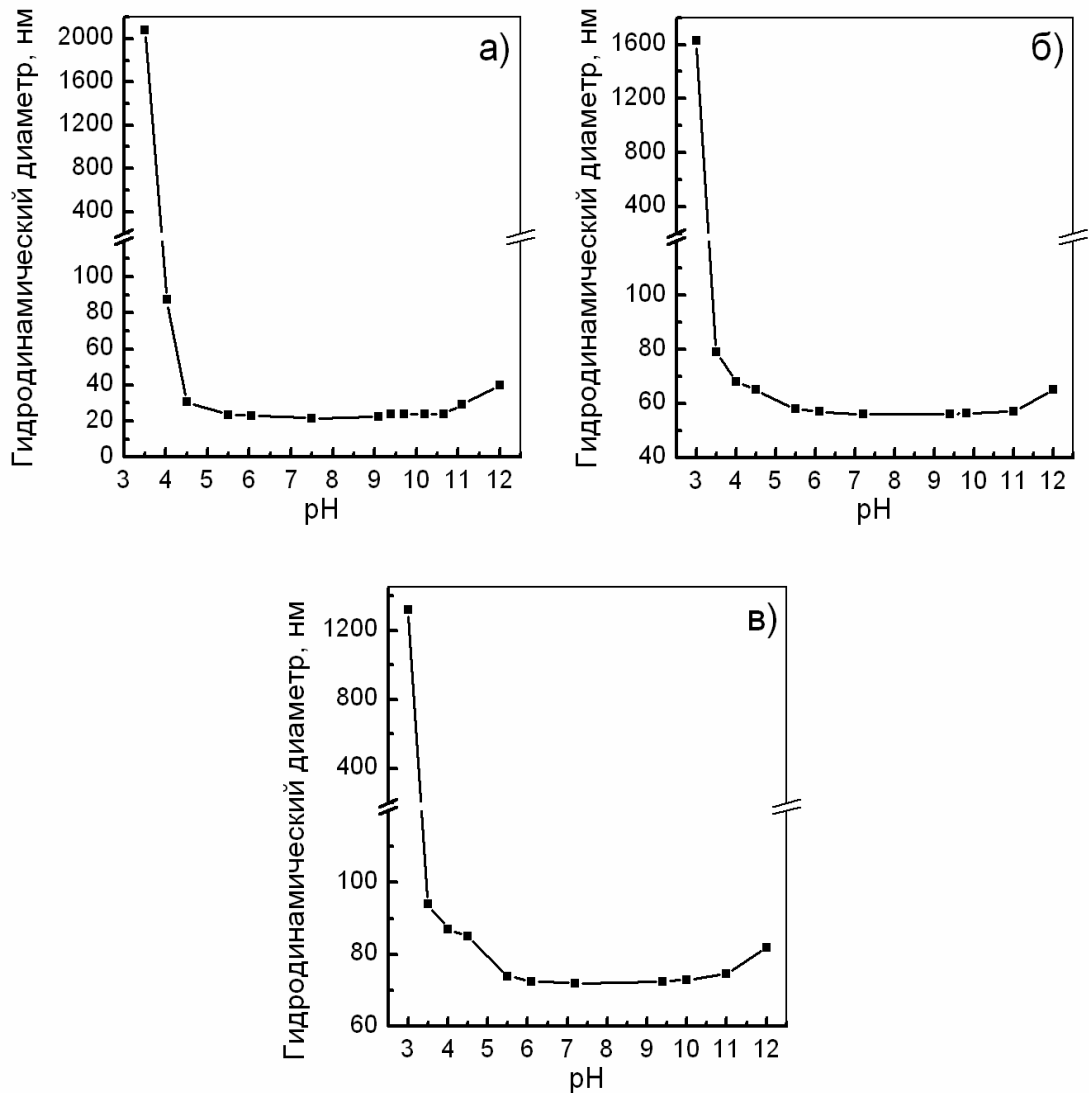


Рис. 4.1 Зависимость гидродинамического диаметра частиц гидрозолей
а) - $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$; б) - $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$; в) - $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ от рН дисперсионной среды

Как видно из рисунка 4.1, в интервале величин рН от 5.0 и до 11.0 средний гидродинамический диаметр частиц остается постоянным, а при выходе за границы этого интервала - возрастает. Отметим, что при $pH < 4.5$ начинается значительный рост гидродинамического диаметра, система становится агрегативно неустойчивой, происходит коагуляция частиц (наблюдается помутнение раствора). Вероятно, коагуляция связана с

увеличением ионной силы дисперсионной среды при добавлении соляной кислоты. Увеличение ионной силы вызывает сжатие двойного электрического слоя. За счет протонирования молекул стабилизирующего слоя, что сопровождается снижением значения потенциала и агрегацией. Таким образом, можно утверждать, что интервал агрегативной устойчивости гидрозолей, достаточно широк и составляет 5.0 – 11.0 единиц pH.

Для получения дополнительной информации, а также с целью выяснения влияния электролитов на агрегативную устойчивость исследуемых золей были проведены измерения величины порога быстрой коагуляции. Определение значений порогов быстрой коагуляции (Y) проводилось по методике, описанной в разделе 2. Найденные при комнатной температуре значения порогов быстрой коагуляции (Y) приведены в таблице 4.1 [171]. Как видно из табл. 4.1, значения обратных порогов коагуляции (Y^{-1}), пропорциональны коагулирующему действию, для неорганических ионов относятся как 1: 43: 436 для 2 нм, 1: 51: 1263 для 10×50 нм и 1: 99: 1939 для 8×80 нм наночастиц гидрозолей. Такие соотношения значений Y для неорганических солей соответствуют эмпирическому правилу Шульце-Гарди и ориентировочно согласуются с выводами теории ДЛФО для лиофобных «негативных» золей, согласно которой пороги коагуляции (в ближнем потенциальном минимуме) связаны с зарядом иона коагулянта законом шестой степени - z^6 - Дерягина [8, 11, 13, 15]:

$$Yz^6 = \text{const} \quad (4.1)$$

Согласно этой формуле, расчетные соотношения должны были составить ряд 1:64:729, однако экспериментальные данные обычно несколько отличаются от рассчитанных, причем разными авторами для одинаковых систем найдены разные соотношения Y для ряда $\text{Cat}^+:\text{Cat}^{2+}:\text{Cat}^{3+}$ [12, 15].

Пороги быстрой коагуляции гидрозолей (C=0.5 г/л) некоторыми неорганическим и органическими электролитами

Коагулянт	$\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ Y, ммоль/л (± 5-15%)	$\frac{\text{Y}(\text{NaCl})}{\text{Y}(\text{электролит})}$	$\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ Y, ммоль/л (± 5-15%)	$\frac{\text{Y}(\text{NaCl})}{\text{Y}(\text{электролит})}$	$\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ Y, ммоль/л (± 5-15%)	$\frac{\text{Y}(\text{NaCl})}{\text{Y}(\text{электролит})}$
NaCl	60	1	120	1	320	1
KCl	90	0.67	169	0.71	515	0.62
NH ₄ Cl	110	0.55	135	0.89	460	0.70
CsCl	140	0.43	145	0.83	640	0.50
KI	150	0.4	203	0.59	530	0.60
KBr	180	0.33	250	0.48	550	0.58
MgCl ₂	4.25	14.12	6.60	18.18	7.65	41.83
CaCl ₂	2.7	22.22	4.10	29.27	5.0	64.0
SrCl ₂	1.75	34.29	2.45	48.98	3.0	106.67
BaCl ₂	0.6	100.0	1.125	106.67	1.75	182.86
Ca(NO ₃) ₂	1.375	43.64	2.85	42.11	3.0	106.67
LaCl ₃	0.138	436.36	0.095	1263.16	0.17	1939.39
C ₆ H ₁₃ N(CH ₃) ₃ Br	0.50	120	0.39	309.68	2.15	148.84
C ₁₂ H ₂₄ N(CH ₃) ₃ Br	0.293	205.13	0.23	533.33	1.4	228.57
C ₁₆ H ₃₃ N(CH ₃) ₃ Br	0.013	4800	0.007	17455	0.02	16000
C ₂₁ H ₃₈ BrN	0.02	3000	0.008	16000	0.006	51200
{[CH ₃ (CH ₂) ₃] ₄ N}OH	-	-	-	-	-	-
C ₁₂ H ₂₅ SO ₄ Na	-	-	-	-	-	-
Метиленовый голубой	0.125	480	0.045	2666.67	0.083	3878.79
Нильский голубой	0.093	648.65	0.025	4800	0.078	4129
Пинацианол	0.14	428.57	0.073	1655.17	0.083	3878.79
Суан-βTh	0.10	600	0.05	2400	0.072	4444.44
Бенгальский розовый	-	-	-	-	-	-

“-“коагуляция не обнаружена

В то же время относительно небольшие изменения Y для Cat^+ и Cat^{2+} могут свидетельствовать о коагуляции в дальнем потенциальном минимуме, где справедливо соотношение [12, 172]:

$$YZ^{2.5-3.5} = \text{const} \quad (4.2)$$

В таком случае коагуляты представляют собой рыхлые образования, состоящие из скоагулированных частиц с водной прослойкой и прослойкой стабилизирующего слоя между ними.

Значительное отклонение от закона шестой степени для Cat^{3+} (пропорционально $z^{6.5-6.8}$) в сторону снижения Y связано, очевидно, с существенной ролью нейтрализационного механизма коагуляции за счет специфической адсорбции многозарядных ионов на поверхности частиц.

Для доказательства тезиса, что трехзарядные катионы, адсорбируясь на поверхности частиц, могут встраиваться в структуру кристаллической решетки нанокристаллов, был приготовлен раствор $LaVO_4$ не активированный европием. В условиях возбуждения ортованадатной матрицы (280 нм), добавление раствора $EuCl_3$ к золю $LaVO_4$ приводит к появлению характерных полос люминесценции иона-активатора в кристалле $La_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ (рис. 4.2). Причем, максимальная интенсивность люминесценции достигается при пороговом значении концентрации коагулянта $EuCl_3$. Хотя и при концентрации Eu^{3+} на порядок меньше Y т.е. 1.65×10^{-5} моль/л спектры люминесценции уверенно регистрируются. Отметим, что в данных условиях, возбуждения (280 нм) люминесценция растворов солей европия не наблюдается. Таким образом, обнаружение характерной люминесценции свидетельствует не только об адсорбции трехзарядных катионов на поверхность нанокристалла, но и о возможности встраивания ионов в кристаллическую решетку [173]. При этом соблюдается условие переноса энергии от кристаллической матрицы ортованадата к иону активатору [109].

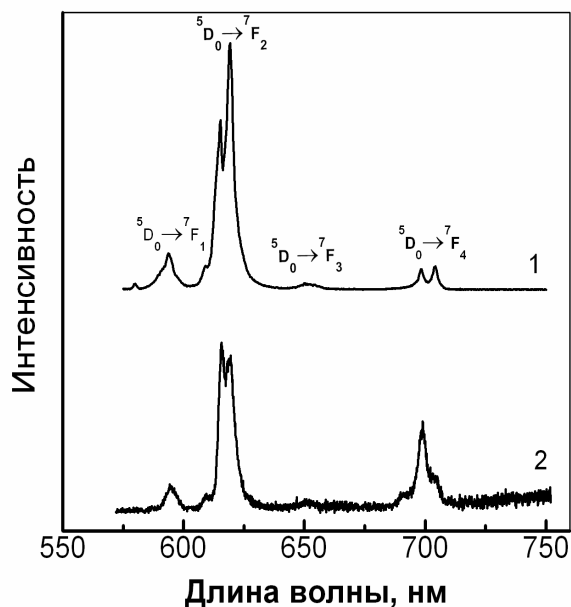


Рис. 4.2 Спектры люминесценции активированных нанокристаллов $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ в гидрозоле (1), после адсорбции ионов Eu^{3+} на поверхности неактивированных нанокристаллов LaVO_4 (2).

Значения порогов коагуляции для двухзарядных катионов уменьшаются в ряду Mg , Ca , Sr , Ba , что связано с возрастающей способностью ионов к адсорбции на поверхности наночастиц (см. табл. 4.1). Такая закономерность соответствует общим представлениям о лиотропных рядах для необратимых систем [11]. Для однозарядных катионов значения порогов коагуляции увеличиваются в ряду Na , K , NH_4 , Cs . Такая последовательность имеет обратную закономерность, описанную для лиотропных рядов. Вероятно, что при взаимодействии коллоидных частиц, стабилизированных цитратом или ЭДТА·2Na с однозарядными катионами, роль адсорбции катионов на поверхности частиц не играет значительной роли, а снижение ζ -потенциала и коагуляция происходит за счет снижения ионизации стабилизационного слоя. В таком случае, коагуляция проходит во вторичном энергетическом минимуме, при этом первичные частицы во флоккулах не имеют непосредственного контакта и разделены прослойками среды [12, 15].

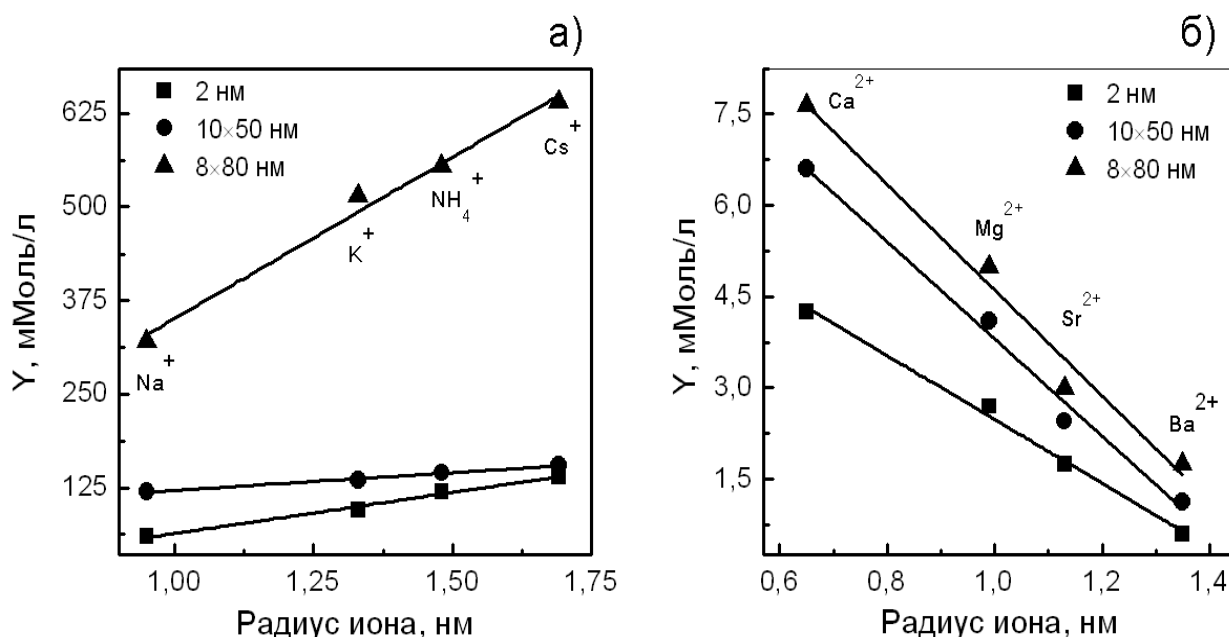


Рис. 4.3 Зависимость порога быстрой коагуляции от радиуса одно (а) и двух валентных катионов коагулянта (б)

Очевидно, что такое состояние отвечает обратимости коагуляции и предполагает возможность пептизации. Действительно, наночастицы из осадка, полученного при коагуляции одновалентными катионами и отделенные центрифугированием, снова переходит в раствор при добавлении к нему воды. Причем, свойства, в частности значения Y , для перерастворенного золя остаются неизменными. Подобная обратимость наблюдается и для двухзарядных ионов, однако самопроизвольное растворение осадка в воде идет значительно медленнее и для ускорения процесса используется ультразвуковая обработка золя.

В случае коагуляции исследуемого гидрозоля с LaCl_3 , образуются плотные коагуляционные структуры, как показано на примере гидрозолей $\text{La}_{0,9}\text{Eu}_{0,1}\text{VO}_4$ (рис. 4.4б), коагулят не перерастворяется в воде - система необратима [173].

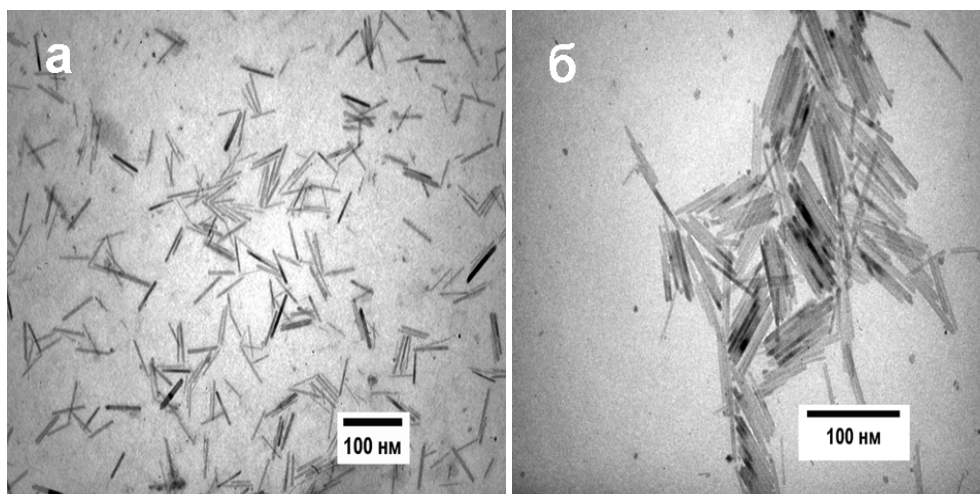


Рис. 4.4 Электронно-микроскопические фотографии твердой фазы из гидрозолей $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (а), после коагуляции с LaCl_3 (б).

При определении порогов коагуляции гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) с неорганическими электролитами было отмечено, что для разных партий растворов (в зависимости от времени прошедшего с момента получения золей), абсолютные значения порогов могут отличаться в пределах 15%.

Особый интерес, по нашему мнению, представляет зависимость Y от концентрации наночастиц (рис. 4.5).

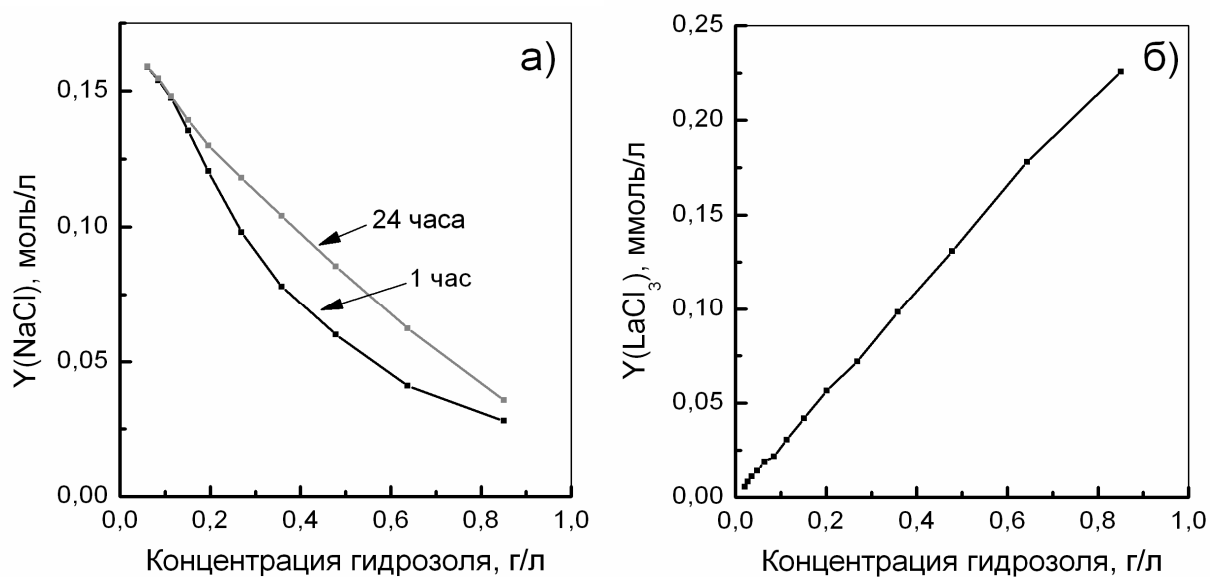


Рис. 4.5 Зависимость значений Y от концентрации гидрозоля $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$

Известно, что с понижением концентрации коллоидов может происходить как повышение, так и понижение значений ПБК [11]. Как видно на рис. 4.4а, при коагуляции с NaCl, значение ПБК для $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ в диапазоне концентраций от 0.02 до 0.85 г/л повышается с понижением концентрации, а при коагуляции с $LaCl_3$ понижается (рис. 5б). Характер кривых такого типа соответствует правилу Бартона и Бишопа [11, 174].

Согласно теории В.М. Муллера [13] повышение порога коагуляции с понижением концентрации свидетельствует о наличии в системе агломератов (вторичных ассоциатов), в которых первичные частицы связаны слабыми Ван-дер-Ваальсовыми силами. Как правило, когда агломерированные образцы наночастиц добавляют в жидкость, они могут быть разделены путем преодоления слабых сил притяжения. Агломераты могут образовываться путем слияния двойного электрического слоя первичных частиц во вторичном минимуме и находятся в состоянии динамического равновесия коагуляция - пептизация. Разбавление золь в дистиллированной воде приводит к снижению ионной силы, повышению дзета-потенциала первичных частиц и разрушению агломератов.

Измерения значений Υ при коагуляции с NaCl проводили через 1 и 24 часа после разбавления концентрированного золя $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ ($C = 1.7$ г/л). Как видно на рис. 4.5а значения Υ при малых концентрациях $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ выше для золя разбавленного за 24 часа до измерений, чем для того же золя разбавленного за 1 час до определения Υ . Очевидно, что такое различие связано с пептизацией агломератов, изначально присутствующих в концентрированных гидрозолях. Причем агломераты разрушаются в течение продолжительного времени [174].

В случае коагуляции гидрозоля с $LaCl_3$ (рис. 4.5б) наблюдается снижение порога коагуляции со снижением концентрации $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$. Очевидно, что данном случае значительна роль адсорбции катиона ($z = 3$), коагуляция проходит преимущественно по нейтрализационному механизму.

Однако приведенные выше данные относятся лишь к начальному этапу коагуляции (первые несколько минут), не затрагивают всего процесса в целом и оставляют открытым вопрос о закономерностях его дальнейшего развития. Между тем их исследование представляет интерес для углубления представлений о природе факторов агрегативной устойчивости и механизме коагуляции гидрозолей наночастиц. В связи с этим поставлены эксперименты по кинетике коагуляции в широком интервале времени. В дальнейших экспериментах использовали метод ДРС, который дает возможность определять в широких пределах эффективный гидродинамический диаметр частиц и регистрировать его изменение в процессе коагуляции.

На рис. 4.6 представлена типичная кривая зависимости эффективного гидродинамического диаметра частиц от времени при коагуляции гидрозоля под действием электролита CaCl_2 . С рис. 4.6 видно, что кривые показывают монотонное возрастание гидродинамического диаметра, постепенно затухающее во времени по мере снижения численной концентрации гидрозоля в ходе коагуляции. Для всех трех тестируемых размеров наночастиц, степень агрегации возрастает с увеличением концентрации CaCl_2 . Агрегативное поведение можно разделить на три режима: при низких концентрациях соли (0.5-1.0 ммоль/л CaCl_2) для 2 частиц нм, (0.5-2.0 ммоль/л CaCl_2) для 10×50 нм частиц, и (0.5-3.0 ммоль/л CaCl_2) для 8×80 нм частиц, измеряемое значение гидродинамического диаметра не меняется, т.е. в системе преобладают силы отталкивания, и агрегация не происходит. При более высоких концентрациях соли, скорость агрегации частиц увеличивается, так как барьер отталкивания уменьшается. В экспериментах мы наблюдали, что концентрация 1.75 ммоль/л CaCl_2 начинает вызывать агрегацию для 2 нм частиц. Для 10×50 нм частиц, концентрация 2.5 ммоль/л CaCl_2 инициирует агрегацию частиц. Для 8×80 нм частиц, концентрация 3.75 ммоль/л CaCl_2 начинает вызывать медленную агрегацию. При высоких концентрациях CaCl_2 , силы Ван-дер-Ваальсового притяжения доминируют над силами отталкивания. Для 2, 10×50 и 8×80 нм частиц, быстрая агрегация

происходит выше 2.5, 3.5 и 6.5 ммоль/л CaCl_2 , соответственно. Кривые на рис. 4.6 указывают на наличие больших агрегатов на самых ранних стадиях измерения из-за быстрой агрегации, которая происходит через несколько секунд после добавления соли к гидрозоллю.

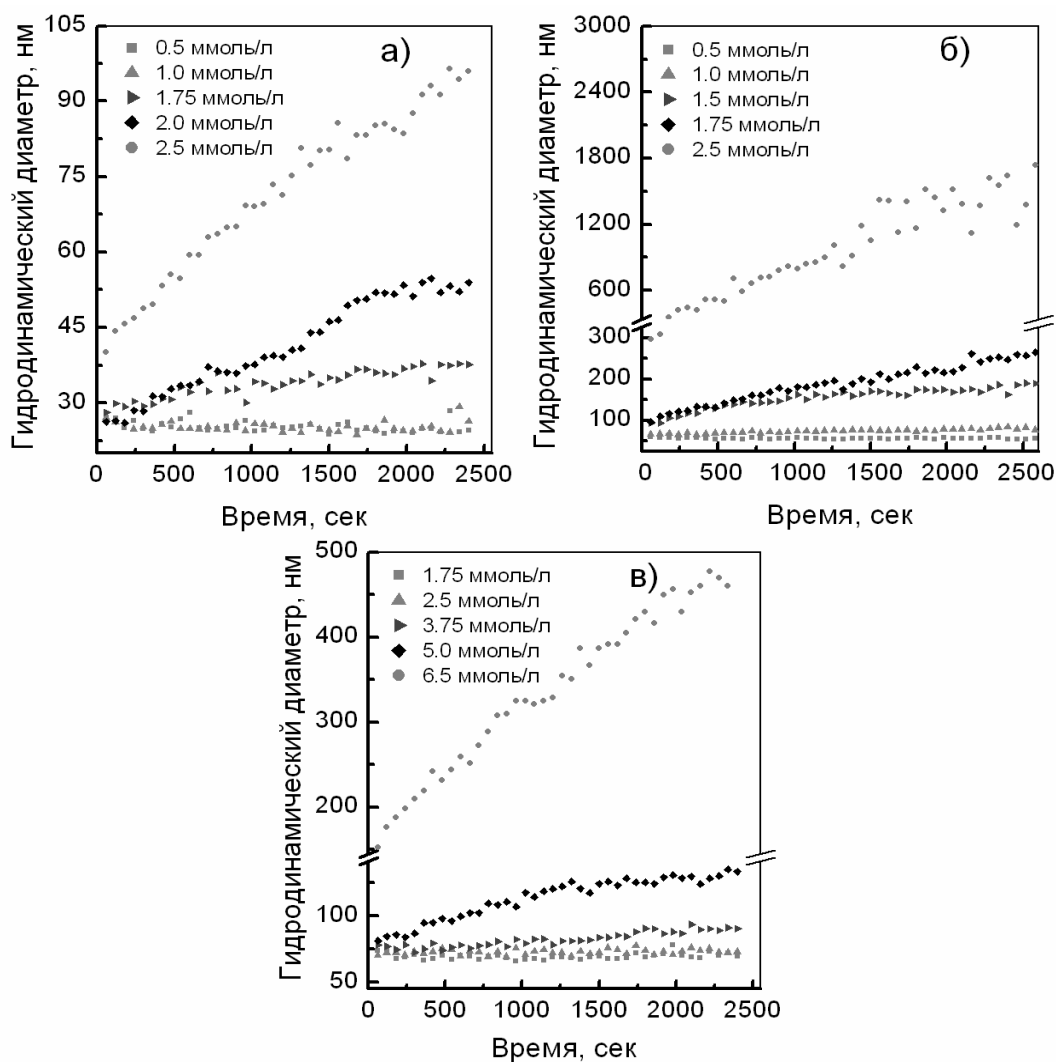


Рис. 4.6 Зависимость среднего гидродинамического диаметра частиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ от времени при коагуляции электролитом CaCl_2 : сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в).

Начальные данные после добавления соли не могут быть зарегистрированы, и поэтому они не показаны. В любом случае, в начале смешивания, данные должны соответствовать номинальным размерам наночастиц, а затем испытывать внезапное, резкое приращение.

Анализируя ход кривых, мы можем предположить, что начальный этап коагуляции гидрозолей контролируется электростатическими силами отталкивания, а дальнейшая агрегация протекает, по-видимому, по механизму взаимодействия частиц «через прослойки среды», т.е. через остаточные гидратные слои, частично разрушенные за счет дегидратирующего действия введенного электролита-коагулянта [171].

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о совокупном действии ионно-электростатического и адсорбционно-сольватного факторов, обеспечивающих агрегативную устойчивость гидрозолей.

Согласно теории ДЛФО полная потенциальная энергия взаимодействия является суммой вкладов от электростатического отталкивания и Ван-дер-Ваальсового притяжения двойного слоя. Теория ДЛФО предсказывает снижение потенциального взаимодействия при уменьшении размера частиц и, что более мелкие частицы являются более восприимчивыми к агрегации при тех же условиях. На основании экспериментальных результатов, влияние концентрации CaCl_2 на агрегацию наночастиц возрастает с уменьшением размера частиц (см. рис. 4.6). Этот эффект проявляется и в уменьшении значения ПБК с размерами частиц. Таким образом, номинальное значение ПБК показывает тенденцию к снижению с уменьшением размеров частиц от 8×80 нм до 2 нм.

Различия в значениях ПБК могут происходить от размера частиц и свойств, связанных с размерами наночастиц, например, реакционной способности поверхности.

С точки зрения свободной энергии, агрегация этих частиц обусловлена уменьшением поверхностной энергии. Барьер энергии активации - это разница энергии, которую необходимо преодолеть, чтобы дестабилизировать систему. Энергетический барьер понижен, если поверхностные заряды низкие и наночастицы в этом случае должны медленно агрегировать из-за низкого энергетического барьера. Выше определенной концентрации электролита, энергетический барьер, становятся пренебрежимо малыми и

наночастицы быстро агрегируют в этом режиме [175]. Уменьшение размера приведет к большей относительной поверхностной энергии, которая дестабилизировала бы систему [176]. Чем меньше частицы, тем больше поверхностная энергия, таким образом, более мелкие частицы будут агрегировать легче, чем более крупные частицы, так как агрегация снижает свободную энергию системы.

Таким образом, можно в целом считать установленным, что гидрозоли $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) являются "отрицательными" гидрозолями, поведение которых по отношению к неорганическим электролитам подобно таким, хорошо изученным гидрозолям, как As_2S_3 , AgJ , Au и др. [11, 12].

Однако следует принимать во внимание, что теория ДЛФО применима лишь в тех случаях, когда радиус коллоидных частиц значительно превышает расстояние между ними. Поэтому для одной из рассматриваемой нами системы $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, для которой размер частиц ~ 2 нм (см. разд. 3), соотношения теории ДЛФО применимы лишь условно.

4.2 Взаимодействие гидрозолей $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) с органическими электролитами

При взаимодействии с органическими катионами, наряду с дисперсионной и электростатической составляющими расклинивающего давления, значительный вклад вносит адсорбционная составляющая. Органические катионы обладают высокой адсорбционной способностью и большой поляризуемостью. Как правило, органические катионы проявляют более высокую коагулирующую способность, чем соответствующие им по величине заряда ионы неорганических электролитов.

Растворы ПАВ использовали в концентрациях ниже критической концентрации мицеллообразования [177]. Катионы $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$, вводимые в золь в виде бромидов, оказывают еще большее коагулирующее действие, чем трехзарядные ионы металлов (см. табл. 4.1), очевидно, вследствие сильно

выраженной поверхностной активности и склонности к адсорбции. Вероятно, в результате электростатического притяжения алкиламмониевой группы к отрицательно заряженной поверхности, длинные углеводородные радикалы ориентированы в сторону водной фазы, в результате чего происходит гидрофобизация коллоидных частиц, что облегчает коагуляцию. Такая трактовка коагулирующего действия катионных ПАВ является традиционной для случая "отрицательных" золей (например, $\text{As}_2\text{S}_3, \text{AgJ}$) [57, 178].

Значения Y для катионов ПАВ $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Br}$, $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ и $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ (см. табл. 4.1) снижаются с увеличением жирнокислотного радикала, что соответствует классическому правилу Дюкло-Траубе [12, 179]. Что касается растворов катионов $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ и симметричных $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}^+$ и $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{N}^+$, то даже при концентрациях $C = Y(\text{Na}^+)$ они все же не вызывают коагуляции гидрозоля. Анионный додецилсульфат натрия, как и ожидалось, не оказывает коагулирующего действия на "отрицательный" золь.

Известно, что катионные красители также являются эффективными коагулянтами "отрицательных" золей [12, 58]. Мы исследовали взаимодействие гидрозолей с рядом катионных красителей (см. табл. 4.1) [171]. Как видно из таблицы, значения Y при коагуляции с красителями, также как и в случае с катионными ПАВ, на три - четыре порядка выше, чем у одноименно заряженных неорганических катионов. В то же время, явления "неправильных рядов" и перезарядки поверхности коллоидных частиц при взаимодействии гидрозоля $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) с красителями не обнаружено. Уже первые опыты показали, что красители являются весьма "удобными" объектами в плане исследования их взаимодействия с частицами $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$). Кроме того, даже при концентрациях $< Y$ изменяются спектры поглощения и флуоресценции красителей, что указывает на факт их адсорбции на наночастицах [180, 181]. Поэтому следующий раздел 5, целиком посвящен исследованию взаимодействия катионных красителей различной структуры с наночастицами $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$).

Для повышения агрегативной устойчивости лиофобных коллоидов нередко используют высокомолекулярные соединения (ВМС) и белки лиофилизующие поверхность. Молекулы ВМС, адсорбируясь на поверхности частиц, способствуют уменьшению поверхностного натяжения и образованию сольватного слоя. При этом можно наблюдать эффект защитного действия проявляющийся в увеличении значений Υ [12].

В данной работе мы исследовали защитное действие поливинилпирролидона (10% раствор) и альбумина (10% раствор) по отношению к золю. Обнаружено, значения Υ для неорганических электролитов в присутствии этих соединений остаются неизменными, что свидетельствует об отсутствии защитного действия. При выдерживании раствора наночастиц в присутствии 10% альбумина при температуре 80⁰С (температура денатурации белка 60⁰С) изменения значений порогов коагуляции также не происходит, что может быть свидетельством того, что альбумин не взаимодействует с коллоидными частицами.

Вероятно, это связано с тем, что оболочка стабилизатора, окружающая наночастицы, не позволяет незаряженным высокомолекулярным соединениям адсорбироваться на их поверхности. Однако биологические молекулы с положительным зарядом, такие как гистоны и полиамины, могут взаимодействовать с наночастицами. Это предположение может быть учтено при объяснении механизмов селективного накопления подобных наночастиц в ядрах клеток [182].

4.3 Агрегативная стабильность наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd) в физиологических средах

Различные исследования [183-186] показали, что стабильность наночастиц в различных питательных средах может быть сильно снижена в зависимости от ионного и белкового состава в условиях *in vitro* и *in vivo* эксперимента. Так как различные параметры, такие как размер, заряд и

химические свойства определяют качество и применимость данных наночастиц, характеристика и анализ свойств НЧ в разных физиологических условиях является решающими. Дальнейшие эксперименты проводились, чтобы оценить влияние присутствия одновалентных ионов в физиологических средах на стабильность наночастиц, с соответствующими последствиями для использования наночастиц в биомедицинских и биотехнологических исследованиях.

Для оценки стабильности наночастиц гидрозоля в физиологических средах применяли 5% раствор глюкозы (питательная среда для культур), 0.9% раствор NaCl и эмбриональную бычью сыворотку (ЭБС, обычно добавляется в буфер для инкубации клеток). Распределение частиц по размеру оценивали по гидродинамическому диаметру, измеренному методом ДРС сразу после смешивания гидрозоля $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ с физиологической средой (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Распределение наночастиц $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ по размерам в физиологических средах

Гидрозоль (0.5 г/л $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$)	Средний гидродинамический диаметр, нм
$Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ в дистиллированной воде	56
$Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ в 5% глюкозе	56
$Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ в 0.9% NaCl	1954
$Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ в 5% глюкозе и 0.9% NaCl	1620
$Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ в ЭБС (50 об%)	105
$Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ и ЭБС (50 об%) в 0.9% NaCl	116

Как видно с табл. 4.2, гидрозоль $Gd_{0.9}Eu_{0.1}VO_4$ остается стабильным в изотоническом 5% растворе глюкозы, а в 0.9% растворе NaCl теряет агрегативную стабильность, о чем свидетельствует значительное увеличение гидродинамического диаметра частиц (коагуляция системы). Добавление

эмбриональной бычьей сыворотки к золю приводит к некоторому увеличению гидродинамического диаметра наночастиц, но при дальнейшем добавлении 0.9% NaCl диаметр частиц остается почти неизменным, что указывает на образование стабилизирующего слоя на поверхности частицы, вызванного адсорбцией компонентов сыворотки. Таким образом, индивидуальные протеины сыворотки (за исключением альбумина) могут играть роль стабилизаторов. Мы допускаем возможность исследования коллоидных наночастиц в среде, содержащей сыворотку и способность парентеральной инъекции без опасности агрегации наночастиц [171].

Выводы к разделу 4

1. Установлено, что растворы проявляют свойства гидрозолей с отрицательно заряженной поверхностью частиц. Характер коагуляции под действием неорганических солей соответствует классическому правилу Шульце-Гарди и основным выводам теории ДЛФО. Отклонения от закона бй степени связаны с возможностью коагуляции по дальнему минимуму для одно- и двухзарядных катионов и значительной ролью специфической адсорбции для трехзарядных катионов.

2. При взаимодействии наночастиц с органическими катионами, рядом с дисперсионной и электростатической составляющими расклинивающего давления, значительный вклад вносит адсорбционная составляющая.

3. Интервал pH дисперсионной среды, в котором гидрозоли обладают агрегативной устойчивостью, составляет 5.0 – 11.0 единиц.

4. Установлено, что поливинилпирролидон и альбумин не оказывают по отношению к гидрозолю $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) защитное действие. Вероятно, это связано с тем, что оболочка стабилизатора, окружающая наночастицы, не позволяет незаряженным высокомолекулярным соединениям адсорбироваться на их поверхности.

5. Выявлено, что в средах, содержащих сыворотку крови, коагуляция неорганических частиц не происходит. Вероятной причиной является взаимодействие компонентов сыворотки с наночастицами с образованием стабилизирующего слоя на поверхности частиц. Результаты таких исследований предполагают возможность введения растворов наночастиц в виде инъекций в живой организм без побочных эффектов агрегации и коагуляции частиц в биологических жидкостях.

Основные научные результаты, приведенные в разделе 4, опубликованы в [171, 173, 174, 180, 181].

РАЗДЕЛ 5

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТИОННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С НАНОЧАСТИЦАМИ $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) С РАЗНЫМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ

В последние годы наблюдается перспективность применения наноразмерных материалов в биомедицинских исследованиях, в том числе использование НЧ как наноразмерной платформы при создании нового типа нанолечарств, например, противораковых агентов, в том числе и в фотодинамической терапии. Поэтому изучение особенностей взаимодействия НЧ с возможными транспортировочными веществами (преимущественно органическими) является своевременной задачей. Сделать это можно с использованием методов оптической спектроскопии, применяя органические молекулы красителей как модельные системы органического активного вещества, которые также привлекательны и с точки зрения использования их в качестве фотоактивного вещества в составе гибридного комплекса (ГК) для фотодинамической терапии.

Поэтому практической задачей исследований, изложенных в данной главе, было исследование особенностей процессов агрегации и образования гибридных наносистем органических красителей с неорганическими наночастицами.

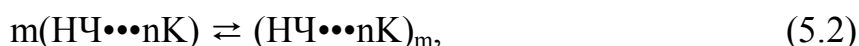
Исследования коллоидных свойств гидрозолей на основе нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, изложенные в разделе 4, показали, что данные растворы обладают свойствами "отрицательных" зольей. Органические катионы оказывают на золь сильное коагулирующее действие, возрастающее с ростом их поверхностной активности. Обнаружено, что катионные красители также являются эффективными коагулянтами указанных гидрозолей. Низкие значения ПБК для красителей (см. табл.4.3) свидетельствуют о значительной роли адсорбции красителей на поверхности частиц, что в конечном итоге ведет к

коагуляции золя. Кроме того, катионные красители являются "удобными" объектами для изучения их методами спектрофотометрии в видимой области и люминесцентной спектроскопии [187-189]. Наряду с этим также известно, что электронные спектры поглощения красителей чрезвычайно чувствительны к изменению окружения хромофорной системы. Поэтому они служат ценным источником информации о взаимодействиях, протекающих с участием красителей.

Электростатическое взаимодействие катионных красителей с отрицательно заряженными наночастицами (НЧ) сопровождается адсорбцией молекул красителя (К) на поверхности частиц:



В большинстве случаев, при адсорбции красителей наблюдается сравнительно небольшое смещение главного максимума полосы поглощения с некоторым изменением величины коэффициента поглощения, вызванное действием сильного электростатического поля на поверхности кристаллической решетки [189]. Вид и положение полос поглощения красителя претерпевают значительные изменения только в том случае, если при адсорбции происходит изменение структуры красителя за счет приема или отдачи протона (кисотно-основной тип взаимодействия), электрона (окислительно-восстановительный тип взаимодействий) или за счет изменения состояния дисперсности красителя, в частности, образование упорядоченной агрегированной формы красителя [189]:



Последний случай наиболее интересен, так как позволяет проследить тонкие эффекты взаимодействия красителя с наночастицами.

Способность органических соединений к образованию межмолекулярных ансамблей с наночастицами во многом зависит от природы взаимодействующих молекул, их склонности к агрегации и растворимости в воде. Эти характеристики нами были учтены при выборе

органических соединений для исследований. На рис. 5.1 приведены структурные формулы выбранных для исследования красителей.

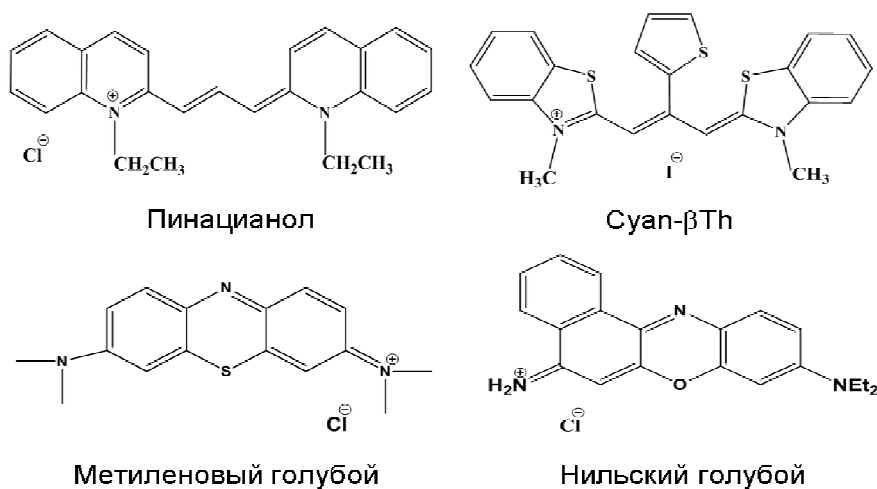


Рис. 5.1 Структурные формулы красителей

5.1 Агрегация цианиновых красителей в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)

5.1.1 Особенности агрегации красителя пинацианола в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)

Пинацианол (ПНЦ) принадлежит к классу сопряженных цианиновых красителей и имеет развитую колебательную структуру. Светопоглощение ПНЦ в воде зависит от собственной концентрации, поскольку краситель подвержен явно выраженной гомоассоциации. Агрегативные превращения можно представить схемой: «мономер \rightarrow димер \rightarrow агрегат». Этим процессам способствует не только высокое значение диэлектрической постоянной воды, но и весьма выраженные гидрофобные взаимодействия, в наибольшей мере проявляющиеся для планарных структур [190], в том числе цианинов [187, 191].

На рис. 5.2 показаны спектральные изменения, свойственные гомоассоциации красителя.

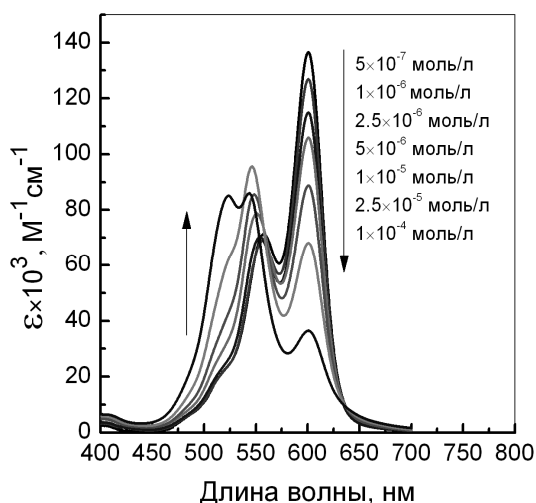


Рис. 5.2. Спектры поглощения водного раствора пинацианола при различных концентрациях

При низких концентрациях $(5-8) \times 10^{-7}$ моль/л спектра поглощения ПНЦ состоит из двух полос (рис. 5.2). Наиболее интенсивная полоса с $\lambda_{\max} = 600$ нм (16647 см^{-1}) принадлежит к $0 \rightarrow 0$ переходу из нулевого колебательного уровня основного состояния в 0 колебательный уровень первого возбужденного состояния молекулы ПНЦ, в то время как вторая полоса ($\lambda_{\max} = 550$ нм (18148 см^{-1}),) и плечо 520 нм относятся к $0 \rightarrow 1$ и $0 \rightarrow 2$ переходу из нулевого колебательного уровня основного состояния в 1 и 2 колебательные уровни первого возбужденного состояния молекулы, соответственно [192, 193]. Это коррелирует с почти постоянной энергией сдвигов 1500 и 1422 см^{-1} между полосами [192, 194-196]. Таким образом, при низкой концентрации используемого красителя нет никаких признаков агрегированных форм, присутствующих в растворе.

При увеличении концентрации красителя в растворе до 1×10^{-4} моль/л наблюдается постепенное уменьшение интенсивности главного максимума и увеличении интенсивности коротковолновой полосы с $\lambda_{\max} = 550$ нм (18148 см^{-1}), что говорит об образовании в растворе димеров. При концентрациях 1×10^{-4} моль/л и более в спектре поглощения проявляется полоса с $\lambda_{\max} = 520$ нм, свойственная агрегатам высокого порядка [188, 197].

Поскольку, как показано на рис. 5.2, оптические свойства данного красителя в воде сильно зависят от его концентрации, для экспериментов использовали раствор красителя с концентрацией, при которой краситель находится в мономерной форме.

Как показано на рис. 5.3, добавление наночастиц к водному раствору пинацианола приводит к значительным изменениям в спектрах поглощения красителя. Интенсивность максимумов мономера при 600 и 551 нм постепенно уменьшается с увеличением концентрации наночастиц и появляется новая коротковолновая полоса с $\lambda_{\max} = 492$ нм (20325 см^{-1}), что может быть связано с агрегацией красителя. Интенсивность этой полосы возрастает с увеличением концентрации наночастиц всех трех типов (рис. 5.3 а, б, в).

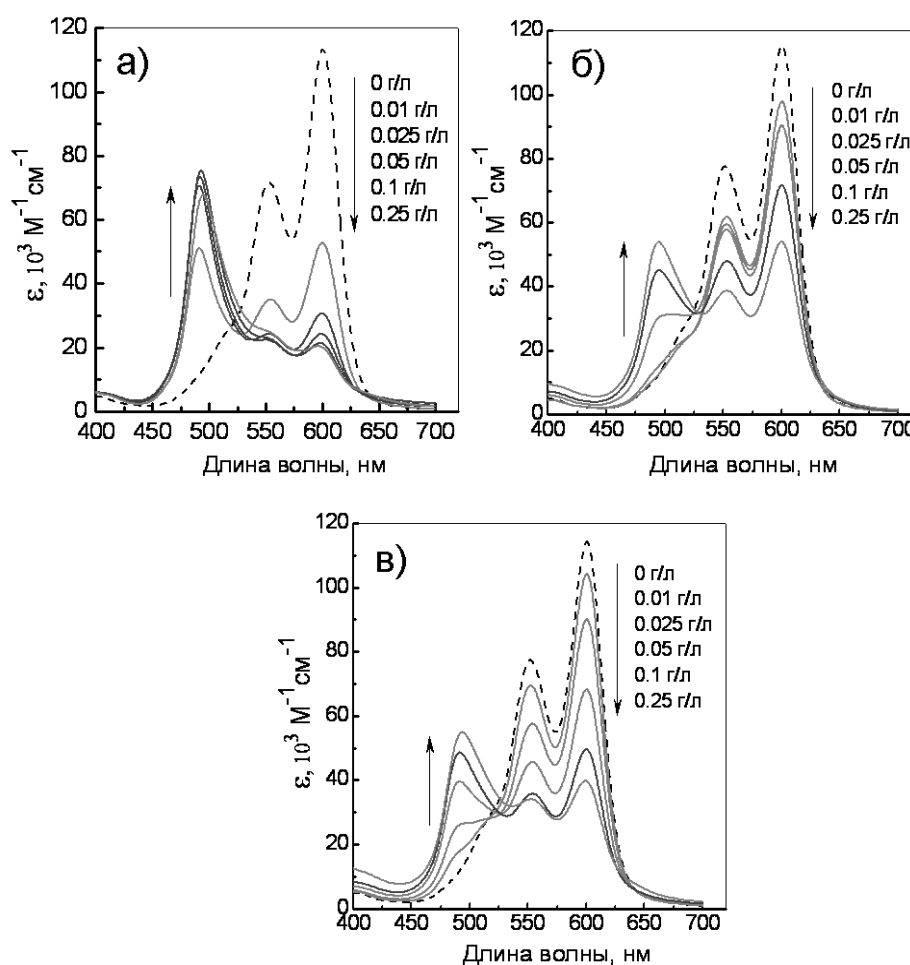


Рис. 5.3. Спектры поглощения водного раствора пинацианола в присутствии: сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в) наночастиц. $[\text{ПНЦ}] = 2.5 \times 10^{-6}$ моль/л

Особенности агрегации цианиновых красителей были широко исследованы ранее [192-194]. В общем случае, появление в спектре поглощения дополнительной коротковолновой (так называемой Н-полосы), длинноволновой (так называемой J-полосы) или двух полос одновременно, зависит от взаимной ориентации дипольных моментов переходов молекул мономеров красителя в агрегате. Спектральное проявление взаимодействия молекул в агрегатах, приводящее к появлению Н- или J-полос, объясняется в рамках модели молекулярных экситонов МакРея–Каша на примере простейшего случая агрегата – димера [198-200]. Согласно теории, Н-полоса связана с формированием димеров «сэндвич» типа с дипольными моментами, ориентированными параллельно друг другу («plane-to-plane» stacking, «head-to-head» transition moment arrangement), в этом случае, мы будем иметь диаграмму электронных уровней, приведенную на рис. 5.4а.

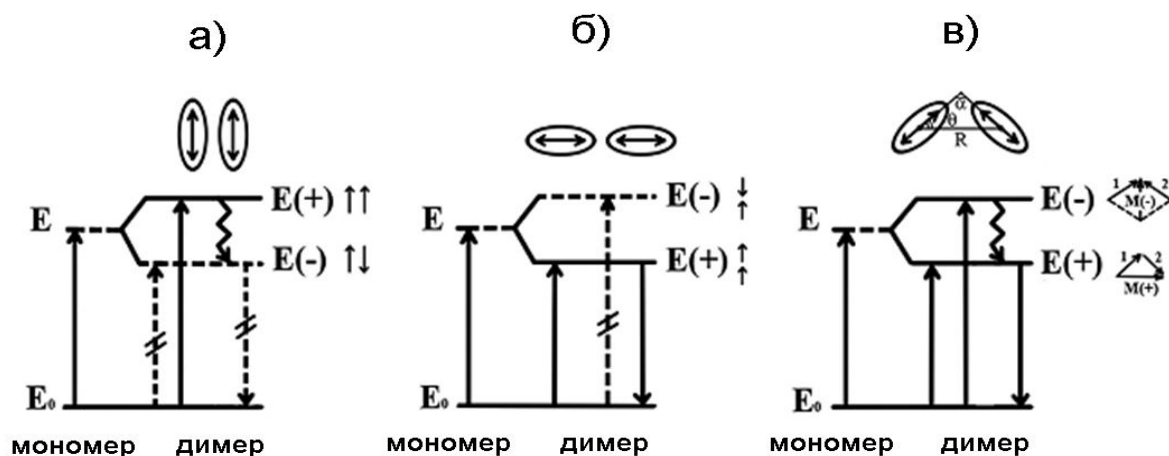


Рис.5.4 Диаграмма энергетических уровней мономера и димера при различной относительной ориентации дипольных моментов оптических переходов в молекулах: а) параллельная ориентация, б) линейная ориентация («голова к хвосту»), в) дипольные моменты оптических переходов мономеров расположены под углом α друг к другу.

Формирование длинноволновой J-полосы, связанная с упаковкой молекул в димере "голова к хвосту" при которой молекулярные диполи электронных переходов ориентированы по типу «голова к хвосту» («head-to-

tail» transition dipole arrangement) (рис. 5.4б). [198-200]. Появление в спектре поглощения Н- и J-полос одновременно (так называемое Давыдовское расщепление) указывает на образование димера наклонной геометрии, где дипольные моменты расположены под углом друг к другу. При образовании сложных агрегатов с упаковкой мономеров типа «рыбья кость» («herringbone» structure), основным структурным элементом будет многократно транслируемый димер. Соотношение интенсивности Н- и J-полос определяется углом α (рис. 5.4в) [199, 200]. При угле $\alpha = 90^\circ$ полосы будут равноинтенсивны. При $\alpha > 90^\circ$ большей интенсивностью будет обладать длинноволновая полоса, а при $\alpha < 90^\circ$ – коротковолновая [197, 199, 200].

Таким образом, мы приходим к выводу, что в водных растворах ПНЦ, содержащих наночастицы всех типов, образуются агрегаты Н-типа (рис. 5.3). Спектральный сдвиг 3678 см^{-1} также подтверждает, что эта полоса принадлежит к Н-агрегатам, а не димерам [192, 193]. В спектрах флуоресценции ПНЦ при добавлении НЧ не зарегистрировано появление новых полос, что является еще одним доказательством образованием Н-агрегатов [198].

Таким образом, при добавлении в раствор ПНЦ наночастиц, молекулы красителя притягиваются к поверхности наночастиц за счет электростатического взаимодействия между молекулами катионных красителей и отрицательно заряженными поверхностями частиц. Этот эффект приводит к более плотной упаковке молекул красителя вблизи заряженной поверхности и увеличению локальной концентрации красителя. Кроме того, нейтрализация поверхностного заряда наночастиц и ван-дер-ваальсовы взаимодействия между молекулами красителя приводят к агломерации агрегатов краситель/наночастица с образованием более крупных комплексов.

Следует отметить, что, несмотря на общую для всех типов наночастиц способность индуцировать агрегацию ПНЦ, доля агрегатов красителя

отличается для растворов, содержащих сферические, веретенообразные и стержнеподобные наночастицы (рис. 5.3 а, б, в). В работе мы оценили долю агрегированных форм в растворах, содержащих наибольшую концентрацию наночастиц (0.25 г/л), анализируя соотношение площадей под кривыми соответствующих полос поглощения (Н-агрегатов и мономеров). Спектр поглощения Н-агрегатов был получен путем вычитания полосы мономера из общего спектра. Рассчитанные доли агрегированных форм ПНЦ составляют 73%, 51% и 35% для сферических, веретенообразных и стержнеподобных наночастиц, соответственно [181]. Это коррелирует с данными ПБК, указывающими на наибольшее значение ПБК для сферических наночастиц (табл. 4.1). Поскольку массовая концентрация НЧ в растворах одна и та же (0.25 г/л), но известно, что чем меньше частицы, тем больше их количество в растворе и, соответственно, тем больше их общая площадь поверхности. Таким образом, чем меньше размер наночастиц в интегральных гибридных комплексах (см. ур-е 5.2), тем более плотная упаковка молекул красителя может быть достигнута и, следовательно, агрегация молекул будет более эффективна. Можно констатировать, что добавление в раствор катионного красителя пинацианола неорганических наночастиц, обуславливает адсорбцию красителя на поверхности наночастиц за счет электростатических сил с последующей упорядоченной агрегацией молекул красителя вследствие повышения его локальной концентрации в приповерхностном слое НЧ и образования сложных гибридных структур «наночастица-краситель»

5.1.2 Особенности агрегации красителя Суан-βTh в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd)

Суан-βTh представляет собой молекулу симметричного триметинового красителя с мезо-заместителем в полиметиновой цепи (рис. 5.1). Особенности агрегации красителя Суан-βTh в растворах и влияния различных добавок на этот процесс были изучены ранее [194, 195, 201]. Было

показано, что особенности молекулярной структуры красителя (заместитель в полиметиновой цепи) способствует агрегации красителя с упаковкой молекул структуры «рыбья кость» (J-агрегаты с двумя неэквивалентными молекулами в элементарной ячейке, рис. 5.4в), Добавление электролитов, поверхностно-активных веществ, ДНК или РНК облегчают процесс агрегации красителя [194, 201].

Рис. 5.5 показывает, что в водном растворе без наночастиц полоса поглощения Суан-βTh состоит из одного главного максимума с центром в 568 нм (17597 см^{-1}) и плеча при 530 нм (18928 см^{-1}), которые могут быть отнесены к $0 \rightarrow 0$ и $0 \rightarrow 1$ колебательным переходам, соответственно, с типичным для полиметиновых красителей сдвигом около 1330 см^{-1} . Рис. 5.5 также показывает, что добавление наночастиц всех типов приводит к значительной трансформации спектра поглощения Суан-βTh. При низких концентрациях наночастиц, в спектре поглощения наблюдаются две дополнительные полосы, а именно, коротковолновая полоса с $\lambda_{\text{max}} = 538\text{ нм}$ (18587 см^{-1}) и малоинтенсивная полоса с $\lambda_{\text{max}} = 680\text{ нм}$ (14706 см^{-1}), смещенная в длинноволновую область по отношению к полосе мономеров (Рис. 5.5).

На основе теории экситонов МакРея–Каша, трансформацию спектра поглощения красителя в растворе, содержащем наночастицы можно приписать к образованию агрегатов Суан-βTh структуры «рыбья кость» [199, 200, 202]. Аналогично ПНЦ, агрегация Суан-βTh обусловлена электростатическими силами притяжения между молекулами катионного красителя и отрицательно заряженной поверхностью частиц с последующим увеличением локальной концентрации красителя и формированием гибридных комплексов краситель/наночастица.

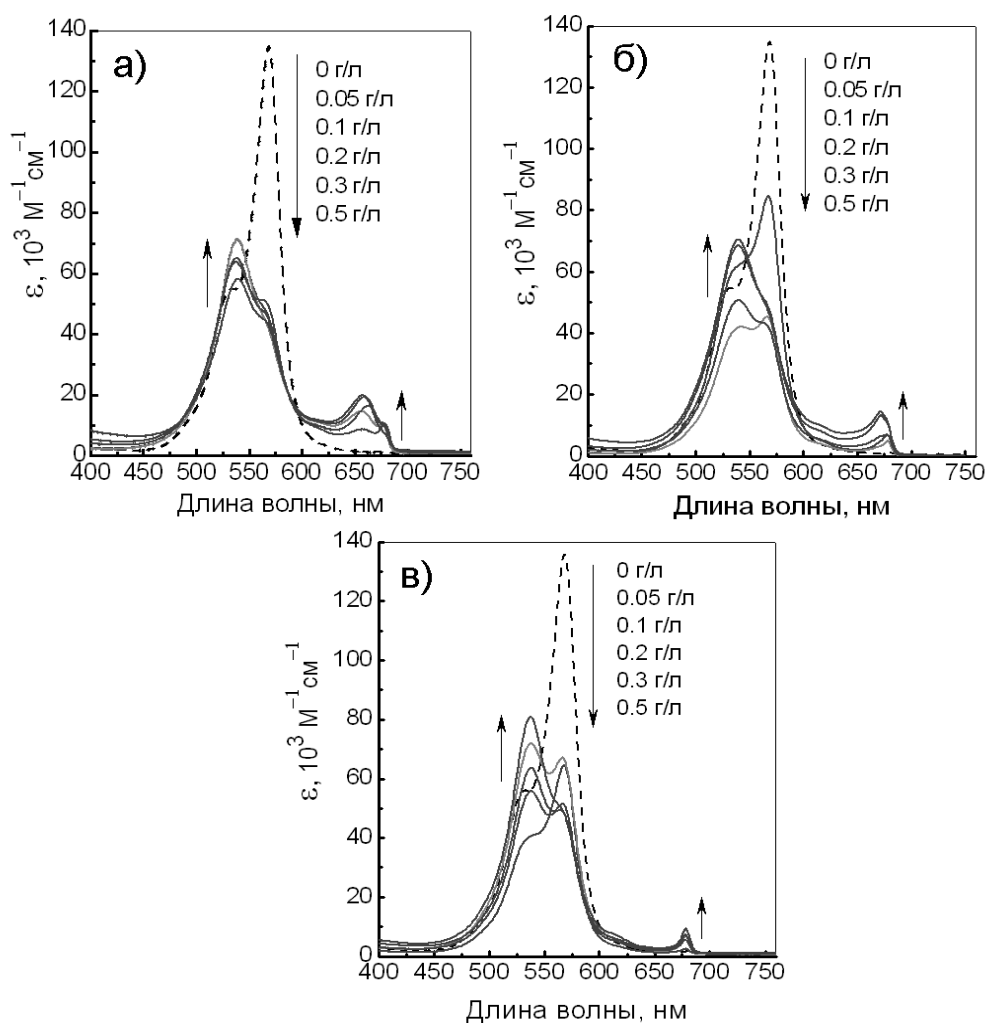


Рис. 5.5 Спектры поглощения водного раствора Суан-βTh в присутствии: сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в) наночастиц. [Суан-βTh] = 5×10^{-6} моль/л.

Формирование J-агрегатов Суан-βTh также подтверждается появлением в спектрах флуоресценции узкой интенсивной длинноволновой полосы почти резонансной J-полосе поглощения, рис. 5.6 [199, 200, 202].

Увеличение концентраций наночастиц приводит к дальнейшей трансформации спектров поглощения. Наблюдаемые спектральные изменения зависят от типа наночастиц, однако общим является изменение относительных интенсивностей H- и J-полос, что указывает на реорганизацию структуры J-агрегата. (рис. 5.5).

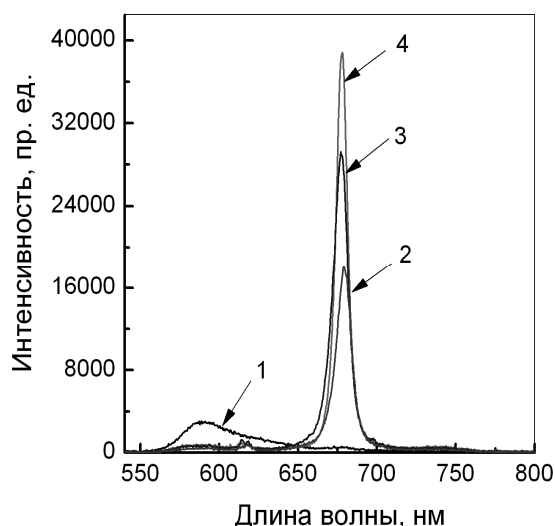


Рис. 5.6 Спектры люминесценции ($\lambda_{\text{возб}} = 530$ нм) водного раствора Суан- β Th в присутствии: без НЧ - 1; сферических - 2; веретенообразных - 3; стержнеподобных - 4 наночастиц. $[\text{НЧ}] = 0,5$ г/л. $[\text{Суан-}\beta\text{Th}] = 5 \times 10^{-6}$ моль/л

Доля агрегированных форм красителя Суан- β Th в растворах, содержащих сферические, веретенообразные и стержнеподобные наночастицы с наибольшей концентрацией (0.5 г/л), была оценена, используя подход, описанный выше для агрегатов ПНЦ. Рассчитанная доля агрегированных форм составляет около 65% для НЧ всех типов. Это указывает на высокую способность агрегации красителя Суан- β Th.

Используя модель МакРея–Каша, были оценены некоторые геометрические параметры J-агрегатов Суан- β Th, образованных в присутствии всех трех типов наночастиц (0.5 г/л): угол, образованный осью молекулы (совпадает с направлением дипольного момента перехода) и осью, связывающей центры молекул мономеров (θ), угол между дипольными моментами оптических переходов мономеров (α) и расстояние между центрами молекул (R), (рис. 5.4в) [199, 202].

Для анализа использовали спектры поглощения агрегатов Суан- β Th (жирные сплошные кривые), которые получали вычитанием спектра мономера (пунктирные кривые из общей кривой (кривые из точек). Рис. 5.7 показывает, что в присутствии наночастиц, полоса поглощения агрегатов

является сложной и может быть описана пятью Гауссовыми контурами (два коротковолновых и три длинноволновых, что указывает на существование двух типов агрегатов сложной структуры с разной длиной делокализации экситонов (димеров и более протяженного агрегатов). Образование дополнительной полосы в спектре поглощения красителя Суан-βTh в растворах, содержащих ДНК и РНК, расположенной между J-полосой и полосой мономера, было описано в работе [201]. Был сделан вывод, что она принадлежит J-димерам, из которых и «построены» более протяженные агрегаты, что подтверждает сделанный нами вывод.

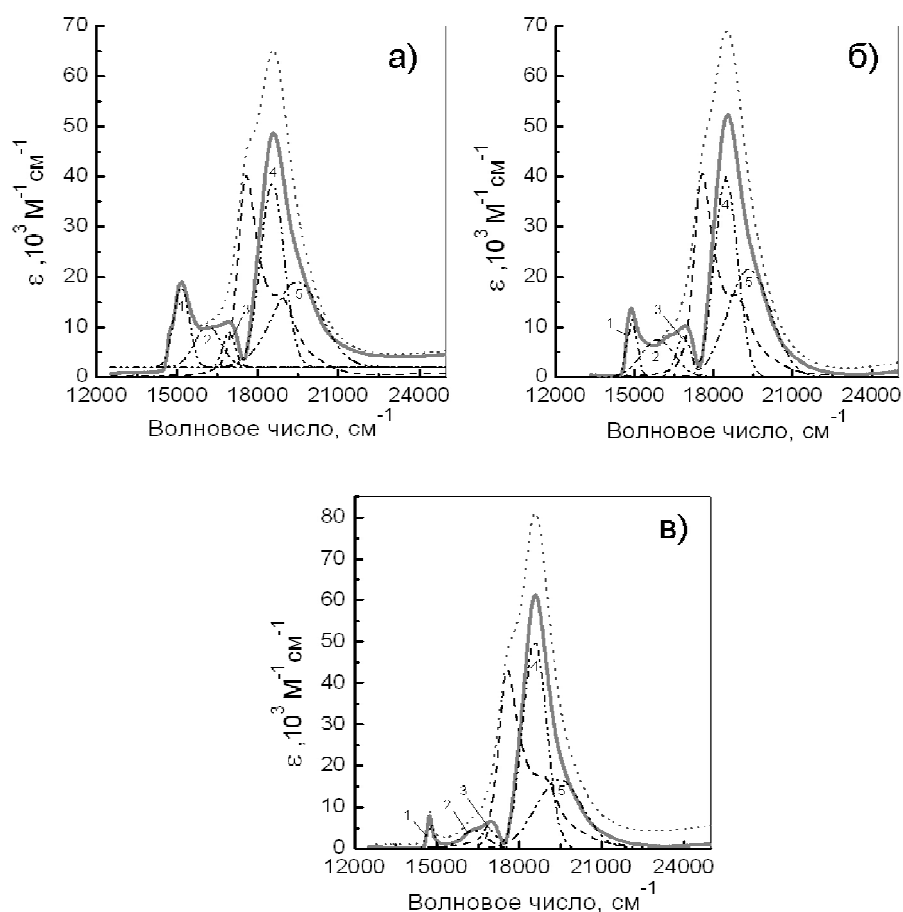


Рис. 5.7 Спектры поглощения (кривые из точек) красителя Суан-βTh в присутствии наночастиц: сферических (а), веретенообразных (б) и стержнеподобных (в). $[НЧ] = 0.5$ г/л, $[Суан-βTh] = 1 \times 10^{-5}$ М. Пунктирные кривые - полоса поглощения мономера, сплошные жирные кривые - спектры поглощения агрегатов и штрих-точка-точка-штриховые кривые представляют вписанные Гауссовы контуры.

Для анализа использовали только полосы, соответствующие протяженным агрегатам: контур 1 – J-полоса и контура 4 и 5 – H-полоса (брали сумму площадей). Как было упомянуто выше, расщепление главной полосы поглощения указывает на образование агрегатов наклонной конфигурации с двумя неэквивалентными молекулами в элементарной ячейке («рыбья кость»).

Угол α может быть рассчитан из соотношения [203, 204]:

$$\operatorname{tg}^2\left(\frac{\alpha}{2}\right) \approx \frac{f_J}{f_H}, \quad (5.3)$$

где f_J и f_H - сила осциллятора перехода J- и H-полосы, соответственно, которую можно выразить как:

$$f = 4,32 \times 10^{-9} \int \varepsilon(\nu) d\nu, \quad (5.4)$$

где $\int \varepsilon(\nu) d\nu$ площадь под соответствующей полосой поглощения.

Угол, образованный осью молекулы, и осью, связывающей центры молекул мономеров (θ) может быть рассчитан как:

$$\theta = \frac{180^\circ - \alpha}{2} \quad (5.5)$$

Для структуры агрегатов типа «рыбья кость» энергия расщепления энергетических уровней ΔE (см⁻¹) может быть получена как разность энергий между максимумами поглощения H- и J-полосы. Величина ΔE связана с расстоянием между молекулами в димере, являющимся структурным блоком агрегата (R), соотношением [199, 200, 205]:

$$\Delta E = \frac{2|M|^2}{R^3} (\cos \alpha + 3 \cos^2 \theta), \quad (5.6)$$

где M – дипольный момент перехода мономеров (см. рис. 5.4).

Дипольный момент перехода мономеров (M) может быть вычислен из площади полосы поглощения мономера:

$$|M|^2 = \frac{f}{\nu_{\max}} \cdot 2.12 \times 10^{-30} \quad (5.7)$$

V_{\max} - волновое число максимума полосы мономера, f - сила осциллятора полосы поглощения мономера, рассчитанная по формуле (5.4).

Используя уравнения (5.6) и (5.7), R (в см) может быть рассчитано как:

$$R = \left(\frac{2|M|^2 (\cos \alpha + 3 \cos^2 \theta)}{\Delta E \hbar c} \right)^{1/3}, \quad (5.8)$$

где \hbar - постоянная Планка, c - скорость света.

Расчетные геометрические параметры структуры J-агрегатов Суан-βTh приведены в табл. 5.1 и показывают, что структура J-агрегатов, образованных в растворах при добавлении НЧ, чувствительна к их размеру и форм-фактору.

Таблица. 5.1

Параметры геометрии агрегатов Суан-βTh в растворах содержащих наночастицы разных типов [НЧ] = 0.5 г/л.

	$\Delta E, \text{см}^{-1}$	α	φ	$R, \text{\AA}$
Gd _{0.7} Y _{0.2} Eu _{0.1} VO ₄ , сферические	3434	42	69	5.5
Gd _{0.9} Eu _{0.1} VO ₄ , веретенообразные	3660	28	76	5.3
La _{0.9} Eu _{0.1} VO ₄ , стержнеподобные	3885	15	83	5.14

В случае сферических наночастиц угол α (иначе называется углом разориентации) является самым большим (табл. 5.1), что говорит о неплотной упаковке молекул в агрегатах, сформированных в комплексах с НЧ данной формы и размера.

Рис. 5.5с показывает, что увеличение концентрации стержнеподобных наночастиц приводит к заметному увеличению интенсивности Н-полосы и сужения J-полосы, что указывает на образование протяженных J-агрегатов с наиболее плотной упаковкой молекул (угол α в 3 раза меньше, чем в случае

сферических наночастиц, табл. 5.2). Это предположение подтверждается также спектром флуоресценции с самой интенсивной флуоресценцией J-агрегатов для стержнеподобных НЧ (рис. 5.6, кривая 4).

В растворах, содержащих веретенообразные НЧ (рис. 5.5б), J-полоса более широкая, увеличение концентрации НЧ приводит к его постепенному переходу к области более коротких длин волн, что указывает на образование менее протяженных J-агрегатов с меньшей степенью упорядоченности (угол α больше, чем в случае стержнеподобных НЧ). Таким образом, мы приходим к выводу, что характер агрегации красителя Суан- β Th в гибридных комплексах краситель/наночастица определяется как размером НЧ, так и форм-фактором [181].

5.2 Агрегация красителя метиленового голубого в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ (Re = Y, La, Gd)

Метиленовый голубой (МГ), относящийся к фенотиазиновым производным, представляет собой заряженную ароматическую молекулу, хромофор которой состоит из трёх плоских ароматических колец, при этом в положениях 3 и 7 хромофора МГ находятся две гидрофобные диметиламиновые группы, а также гетероатомы серы и азота в положениях 5 и 10, соответственно (рис. 5.1).

В зависимости от условий эксперимента и присутствия в растворах дополнительных соединений и коллоидных частиц, метиленовый голубой образует димеры и стопочные агрегаты H-типа, о чем свидетельствует появление дополнительных полос поглощения в коротковолновой области спектра [205-209].

На рис. 5.8 представлены спектры поглощения метиленового голубого в водном растворе с различной концентрацией красителя при постоянной температуре 293К.

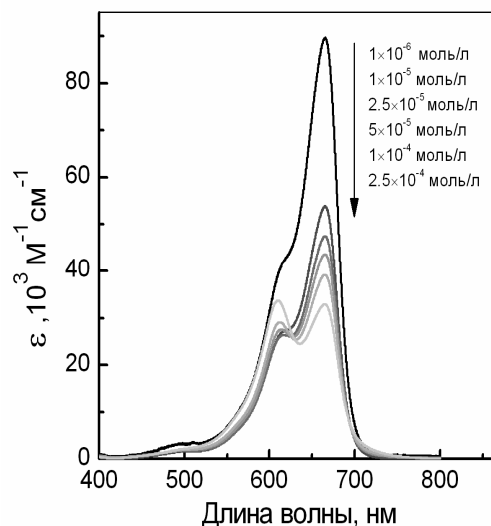


Рис. 5.8 Спектры поглощения водных растворов красителя метиленового голубого при различных концентрациях

Как видно на рис. 5.8, при увеличении концентрации наблюдается уменьшение интенсивности полосы поглощения мономера $\lambda_{\max} = 665$ нм (15038 см^{-1}) с одновременным увеличением интенсивности полосы поглощения в коротковолновой области спектра при $\lambda_{\max} = 610$ нм (16393 см^{-1}), что свидетельствует об образовании в растворе ассоциатов молекул красителя, предположительно димеров. Причем, дополнительных полос в коротковолновой области, которые бы свидетельствовали о наличии ассоциатов более высокого порядка, не наблюдается.

Иная картина прослеживается при добавлении в раствор МГ наночастиц на основе ортованадатов редкоземельных элементов. Как видно на рис. 5.9а,б, при добавлении сферических и веретенообразных наночастиц к раствору МГ, наряду со снижением интенсивности полосы с $\lambda_{\max} = 665$ нм, наблюдается появление новой полосы $\lambda_{\max} = 568$ нм, которую приписывают Н-агрегатам красителя более высокого порядка. Очевидно, что с ростом концентрации частиц и образовании гибридных комплексов растет и доля красителя в агрегированной форме.

Как видно на рис. 5.9в, добавление в раствор стержнеподобных наночастиц не приводило к существенному изменению формы спектра

поглощения красителя, или появления в спектрах новых полос, то есть к агрегации красителя. Наблюдалось только уменьшение оптической плотности раствора, что можно приписать адсорбции мономеров красителя на поверхности НЧ [192, 209].

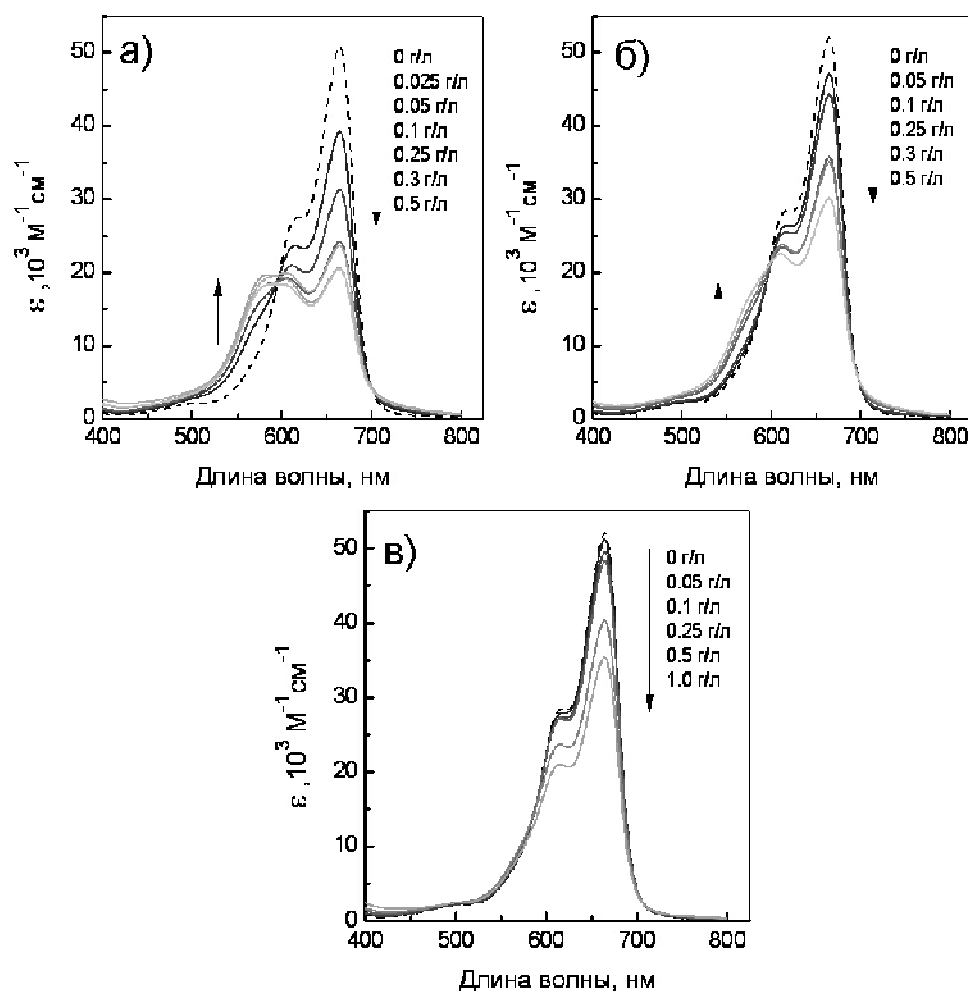


Рис. 5.9 Спектры поглощения водных растворов метиленового голубого ($[MG] = 2 \times 10^{-5} \text{ M} = \text{const}$) при различных концентрациях НЧ: сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в)

Учитывая, что концентрация каждой формы красителя пропорциональна соответствующему поглощению A_i , относительное содержание форм МГ рассчитывали как отношение $A_i / \sum A_{ij} = A_i / (A_{665} + A_{610} + A_{568})$, где поглощение при 665 нм, 610 нм и 568 нм отвечает мономерам, димерам и Н-агрегатам, соответственно. На рис. 5.10 приведены

рассчитанные зависимости относительного содержания форм МГ от концентрации гидрозоля. На рисунке наблюдается снижение доли мономера, увеличение доли Н-агрегатов красителя, причем доля димера остается практически неизменной для всех трех случаев добавляемых наночастиц.

В целом, характер агрегации МГ на наночастицах ортованадатов сходен с агрегацией МГ на дисперсиях синтетических глин – лапонитов [210].

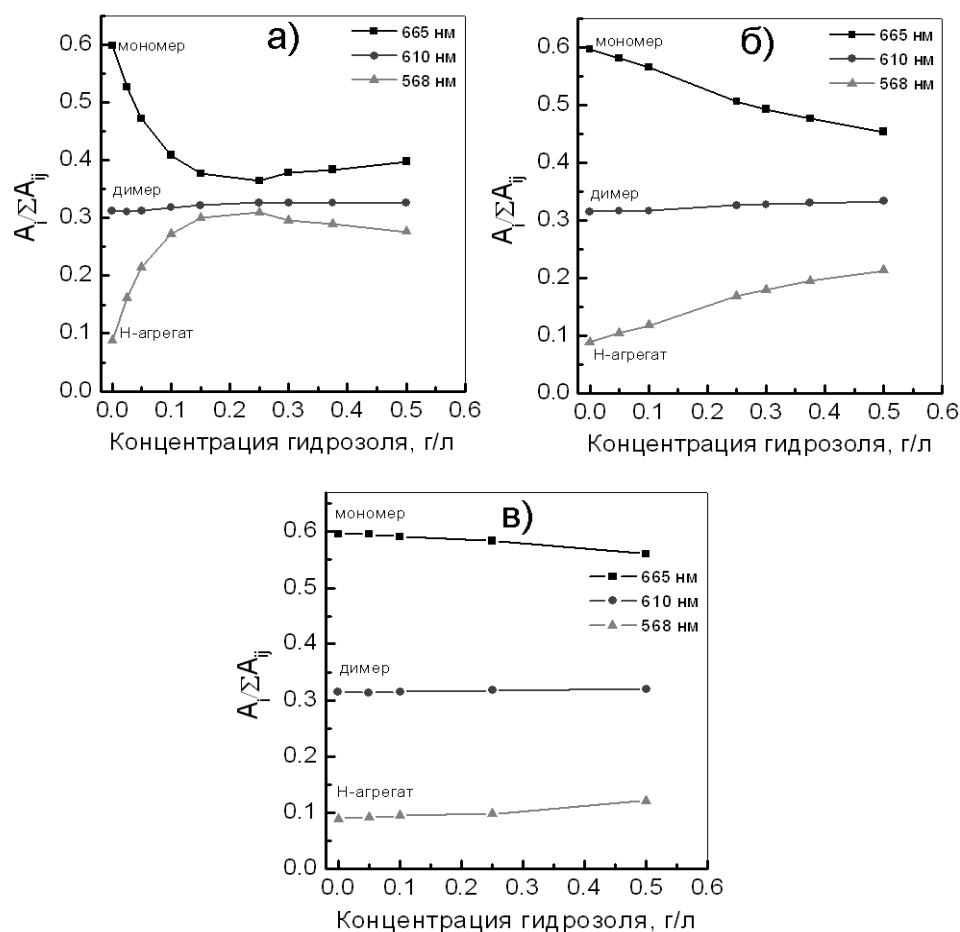


Рис. 5.10 Рассчитанные зависимости относительного содержания форм МГ от концентрации гидрозоля с наночастицами: а - сферической, б - веретенообразной, в - стержнеподобной формы.

Образование стопочных Н-агрегатов сопровождается снижением интенсивности полос люминесценции МГ (рис. 5.11). Т.к. краситель в агрегированной форме Н-типа не люминесцирует, а доля агрегатов в растворе растет за счет снижения доли мономеров, наблюдается пропорциональное снижение интенсивности люминесценции красителя.

Причем, общий характер тушения люминесценции красителя для наночастиц с разной геометрией соответствует изменениям в спектрах поглощения.

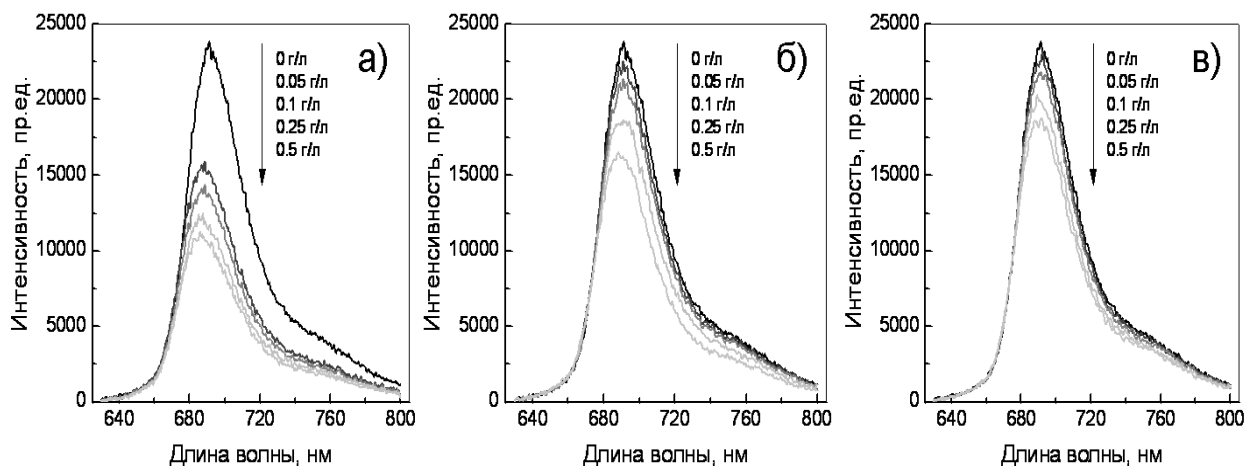


Рис. 5.11 Спектры люминесценции водных растворов метиленового голубого ($[МГ] = 2 \times 10^{-5} \text{ М} = \text{const}$) при различных концентрациях НЧ: сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в)

Таким образом, в исследуемой системе, агрегация красителя на поверхности частиц определяется их линейным размером. Очевидно, что как и в случае с пинацианолом, чем меньше размер наночастиц в интегральных гибридных структурах (см. ур-е 5.2), тем больше вероятность образования упорядоченных стопочных структур молекул красителя посредством вертикального стэкинга ароматических хромофоров молекул красителя в агрегатах.

5.3 Агрегация красителя нильского голубого в присутствии наночастиц $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)

Нильский голубой (НГ) относится к оксазиновым производным, представляет собой заряженную ароматическую молекулу, хромофор которой состоит из четырех плоских ароматических колец, при этом в положениях 5 и 9 хромофора НГ находятся две гидрофобные группы: аминная и диэтиламинная, а также гетероатомы кислорода и азота в

положениях 7 и 12, соответственно (рис. 5.1). Из рис. 5.12 видно, что при увеличении концентрации НГ в растворе, подобно другим описанным выше красителям, происходит постепенное снижение интенсивности поглощения главного максимума (635 нм) и образование с последующим увеличением интенсивности новой коротковолновой полосы (594 нм), что свидетельствует об агрегации красителя в растворе, а именно образовании димеров красителя.

Для последующих экспериментов использовали раствор красителя с концентрацией, при которой краситель находится в мономерной форме.

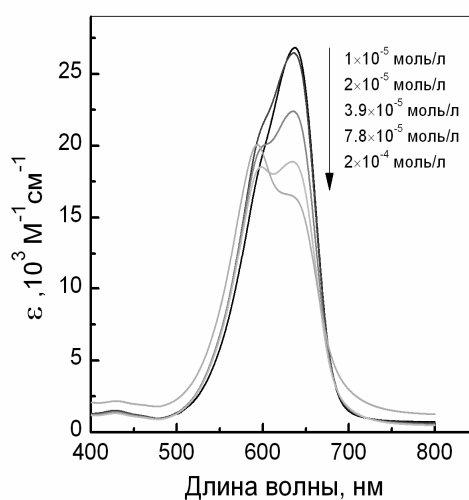


Рис. 5.12 Спектры поглощения водных растворов красителя – нильского голубого при различных концентрациях

Нильский голубой также как и МГ является катионным красителем способным к агрегации в растворах в присутствии агрегирующих агентов [206, 211, 212]. Например, в присутствии отрицательно заряженных наночастиц SiO_2 и SnO_2 , НГ образует агрегаты Н-типа, о чем свидетельствует появление коротковолновых полос в спектрах поглощения и тушение люминесценции красителя в системе [212]. Причем, характер спектральных изменений зависит от концентрации наночастиц в растворе.

Взаимодействие НГ с наночастицами на основе ортованадатов редкоземельных элементов имеет сходный характер. На рис. 5.13 представлены спектры поглощения красителя НГ в присутствии наночастиц

$\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ с различным форм-фактором и концентрацией. Как видно из рисунка, при увеличении концентрации наночастиц в растворе с НГ наблюдается снижение интенсивности полосы мономеров ($\lambda_{\text{max}} = 635$ нм) с одновременным увеличением интенсивности полосы поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 570$ нм (17544 см^{-1}) соответствующей агрегированной форме красителя Н-типа.

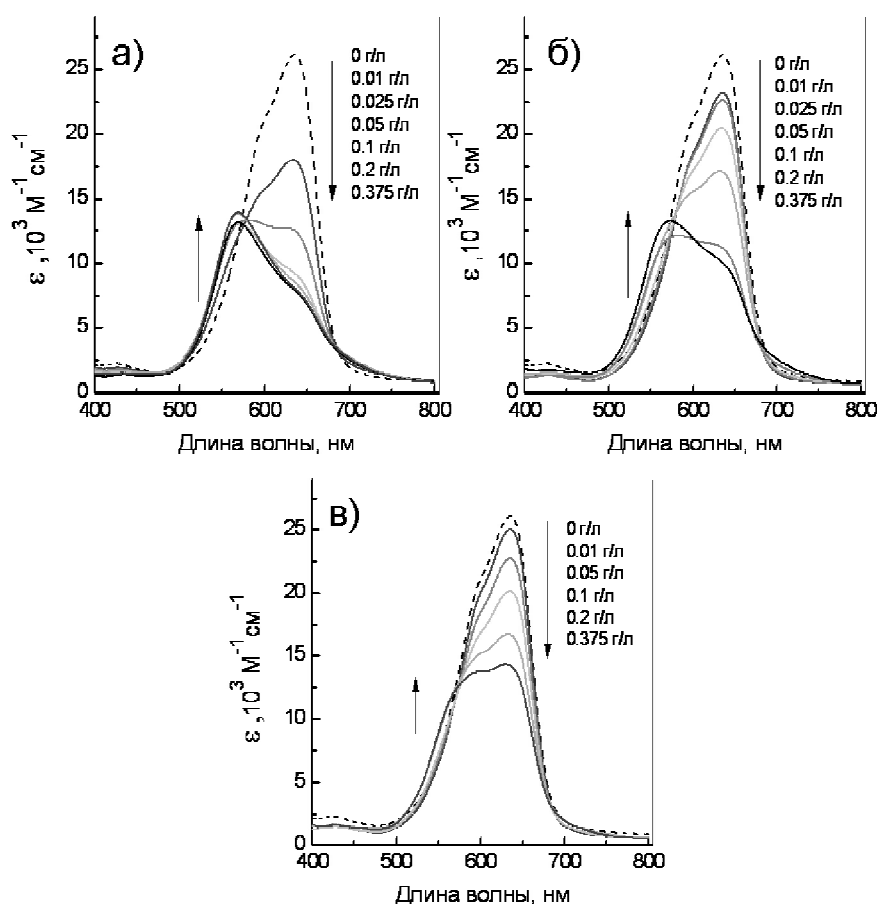


Рис. 5.13 Спектры поглощения водных растворов нильского голубого ($[\text{НГ}] = 1.8 \times 10^{-5} \text{ М} = \text{const}$) при различных концентрациях НЧ: сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в)

Как и в случае с МГ, относительное содержание форм НГ рассчитывали как отношение $A_i / \sum A_{ij} = A_i / (A_{635} + A_{594} + A_{570})$, где поглощение при 635 нм, 594 нм и 570 нм отвечает мономерам, димерам и Н-агрегатам, соответственно. На рис. 5.14 приведены рассчитанные зависимости относительного содержания НГ от концентрации гидрозоля. На рисунке наблюдается снижение доли мономера, увеличение доли Н-агрегатов

красителя, причем доля димера остается практически неизменной для всех трех случаев добавляемых наночастиц.

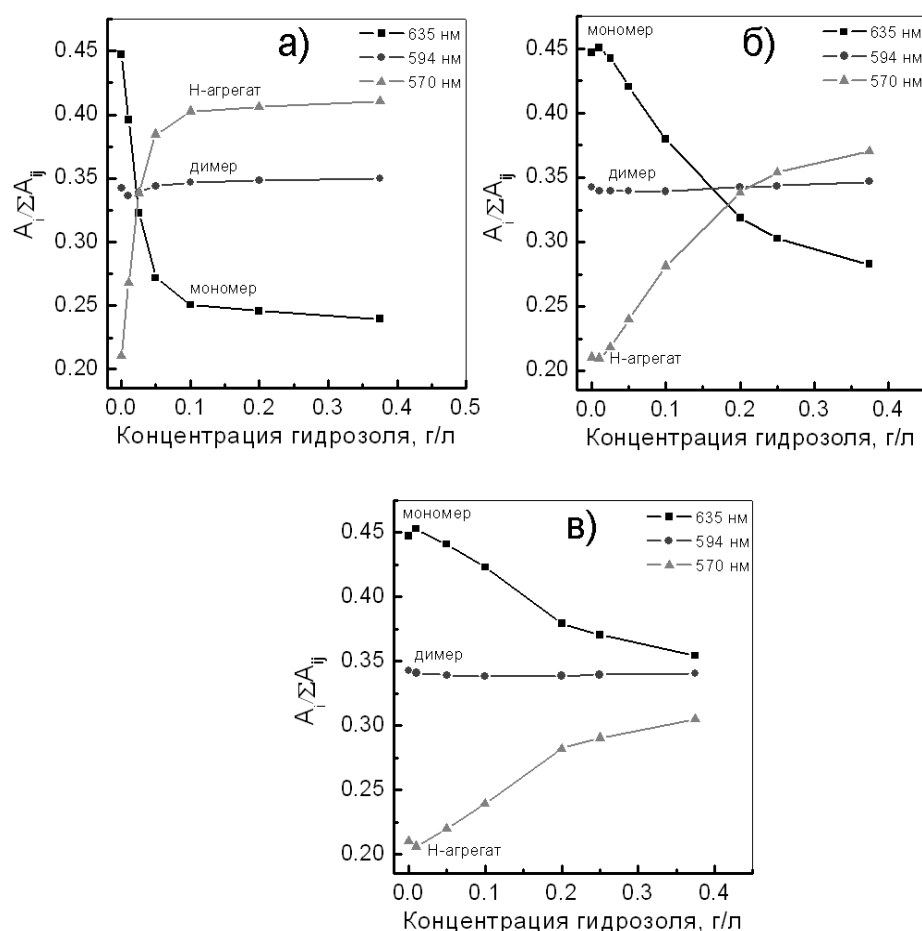


Рис. 5.14 Рассчитанные зависимости относительного содержания форм МГ от концентрации гидрозоля с наночастицами: а - сферической, б - веретенообразной, в - стержнеподобной формы

При возбуждении люминесценции НГ ($\lambda_{\text{возб}} = 635 \text{ нм}$) регистрируется широкая полоса люминесценции с максимумом 575 нм. В присутствии наночастиц интенсивность полосы люминесценции снижается, причем характер тушения люминесценции зависит как от концентрации наночастиц, так и от их геометрических параметров (рис. 5.15), что еще раз подтверждает образование в растворе именно Н-агрегатов.

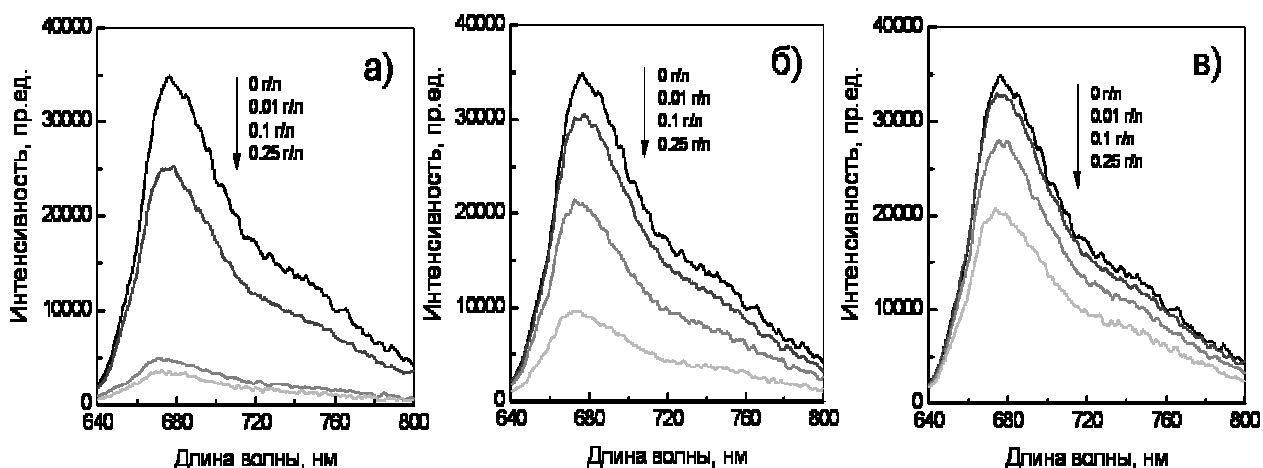


Рис. 5.15 Спектры люминесценции водных растворов нильского голубого ($[НГ] = 1.8 \times 10^{-5} \text{ M} = \text{const}$) при различных концентрациях НЧ: сферических - а); веретенообразных - б); стержнеподобных - в)

Как показал эксперимент, эффект агрегации НГ, также как и в случае с МГ, зависит от линейных размеров наночастиц и снижается в ряду сферические – веретенообразные – стержнеподобные. Таким образом, неорганические наночастицы выступают в роли своеобразных темплатов для образования агрегатов красителя, а степень упорядоченности можно управлять с помощью форм-фактора наночастиц [180].

Выводы к разделу 5

1. Методами оптической спектроскопии исследована агрегация ряда катионных красителей в присутствии наночастиц ванадатов РЗЭ различной формы и размера. Показано, что в водных растворах имеет место образование агрегатов за счет кулоновского взаимодействия между положительно заряженными молекулами красителей и отрицательно заряженными наночастицами. Как следствие такого взаимодействия, локальная концентрация красителя вблизи поверхности наночастицы выше, чем в гомогенной фазе, поэтому и вероятна агрегация, которая происходит даже при низких концентрациях красителя ($< 2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$).

2. Показано, что краситель Cyan-Th β в присутствии наночастиц образует J-агрегаты структуры с различной степенью упорядоченности и/или числом молекул в агрегате. Степень агрегации красителя вблизи поверхности частиц определяется их линейным размером и геометрией.

3. Показано, что молекулы красителей нильского голубого и метиленового голубого, и пинацианола в интегральных гибридных агрегатах краситель/НЧ образуют упорядоченные стопочные структуры H-типа с помощью вертикального стэкинг ароматических хромофоров молекул красителя в агрегатах. Степень перекрывания ароматических хромофоров зависит от формы наночастиц и снижается с увеличением их линейных размеров в ряду сферические – веретенообразные – стержнеподобные.

Основные научные результаты, приведенные в разделе 5, опубликованы в [180, 181].

РАЗДЕЛ 6
НЕКОТОРЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОЗОЛЕЙ НА ОСНОВЕ
НАНОКРИСТАЛЛОВ $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$)
В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

6.1 Наночастицы $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$) как флуоресцентные метки для биологических объектов

В последнее десятилетие наблюдается широкое использование наноразмерных материалов в биомедицинских исследованиях. В связи с этим, становится актуальным вопрос о токсичности и биологической активности наночастиц. Для изучения влияния наноматериалов на отдельные клетки и организм в целом необходим мониторинг наноматериалов с использованием доступных методов исследования. Для решения этой задачи особый интерес представляют люминесцентные наночастицы. Для регистрации люминесцентных наночастиц в биологических объектах могут быть использованы широко применяемые в биомедицинской практике методы люминесцентной микроскопии и спектрометрии. В качестве объектов исследования могут быть использованы нанокристаллы диэлектриков и широкозонных проводников, активированные редкоземельными элементами, обладающие люминесцентными свойствами. В отличие от органических флуорофоров, неорганические наночастицы не подвергаются деструкции в биологических средах, люминесцентные свойства не претерпевают изменений в течение длительного времени, что позволяет использовать их для длительного мониторинга динамики распределения наночастиц в организме в различных органах и тканях. Особо актуальным является вопрос о взаимодействии наноматериалов с изолированными клетками. Исследование влияния природы, окружения и геометрии наночастиц на способность их взаимодействовать с цитоплазматической мембраной, транспорт в цитоплазматическую часть и ядра клеток позволяет ответить на

вопросы о влиянии на клеточный метаболизм и токсичность наночастиц в живом организме.

Таким образом, люминесцентные наночастицы позволяют исследовать механизмы внутриклеточного транспорта наночастиц, их взаимодействие с мембранами и внутриклеточными органеллами. Исследования последних лет показали, что взаимодействие неорганических наноматериалов с биологическими объектами в значительной степени зависит от размера, формы и окружения наночастицы и их состава [6, 213, 214]. Однако вопрос о взаимосвязи параметров частиц с их способностью проникать в клетки остается открытым. Во многом это зависит от методологических подходов идентификации и регистрации воздействия в условиях *in vitro* and *in vivo* экспериментов.

В работе [182] сотрудниками ИСМА НАН Украины исследована возможность регистрации наночастиц в клетках методами люминесцентной микроскопии и микроспектроскопии.

В диссертационной работе проведены исследования возможности использования нанокристаллических систем на основе ортованадатов редкоземельных элементов в качестве люминесцентных зондов в условиях *in vitro* и определение влияния формы наночастиц на их способность проникать внутрь клетки.

Исследования проводили на изолированных гепатоцитах крыс популяции Вистар массой 150-200 г. Клетки выделяли неферментативным методом. При выделении жизнеспособность клеток, которую оценивали по исключению трипанового синего, составляла 95%. После инкубации, изолированные клетки и ядра были отмыты трижды физиологическим раствором.

Как было показано в разделе 4, в присутствии неорганических электролитов может происходить коагуляция твердой фазы гидрозолей и выпадение в осадок. Поэтому, для инкубации наночастиц с клетками был использован бессолевой буфер - 5% раствор глюкозы. Для наблюдения

аккумуляции наночастиц в клетках и изолированных ядрах гепатоцитов было достаточно 1.5 часов инкубации.

Способность клеток аккумулировать частицы подтверждалась результатами спектроскопических исследований. Люминесцентный микроскоп был усовершенствован путем добавления в оптическую схему микроскопа канала регистрации спектров люминесценции наблюдаемых объектов, что позволило регистрировать спектр люминесценции на локальном участке наблюдаемого объекта.

Для визуального исследования проникновения наночастиц в гепатоциты были взяты гидрозолы $\text{Re}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ ($\text{Re} = \text{Y}, \text{La}, \text{Gd}$), содержащие твердую фазу в виде наночастиц с различными размерами и формой (см. рис. 3.4). При наблюдении клеток гепатоцитов в условиях люминесцентной микроскопии наблюдается ярко-зелёная автофлуоресценция цитоплазматической области клетки в контроле, причем ядро клетки не люминесцирует (рис. 6.1а). При наблюдении клеток, инкубированных в буферном растворе, содержащем наночастицы, обнаруживается красная люминесценция нанокристаллов характерная для трёхвалентного европия в кристаллическом поле ортованадатной матрицы (рис. 6.1б). Особо отмечается интенсивная люминесценция наночастиц в области ядер гепатоцитов. Следует отметить, что наблюдаемые эффекты характерны только для свежевыделенных клеток.

При позиционировании участков изолированной клетки в зоне регистрации спектра, обнаружено, что на фоне широкой спадающей полосы автофлуоресценции клетки, наблюдается узкая полоса с максимумом 619 нм, соответствующая наиболее интенсивному переходу $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ нанолуминофора $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (рис. 6.1в). Максимум интенсивности этой полосы находится в области ядра гепатоцита. Таким образом, визуальное наблюдение и спектры локальных участков клеток гепатоцитов подтверждают факт концентрирования наночастиц в зоне ядра клетки [170].

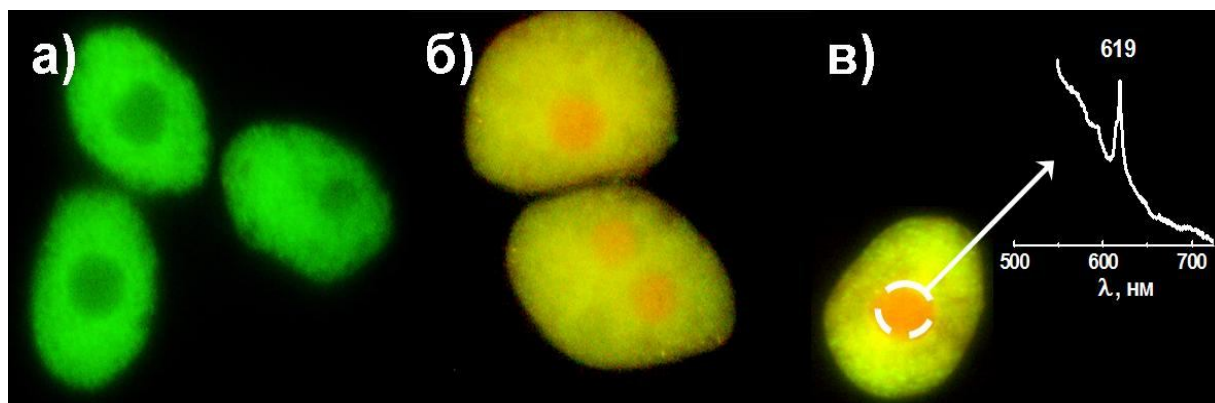


Рис. 6.1 Флуоресцентные изображения. Автофлуоресценция гепатоцитов крыс (а); флуоресценция гепатоцитов инкубированных наночастицами $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ (б) ($\times 1000$); спектр люминесценции, записанный с выбранной области клетки $\lambda_{возб}=465$ нм (в).

Анализ влияния размеров и формы наночастиц на способность их проходить через эндоплазматическую мембрану клетки показал, что наиболее эффективно проникновение частиц с размерами ~ 2 нм. Клетки, инкубированные в растворе, содержащем наночастицы веретенообразной и стержнеподобной формы, визуально сходны с клетками в контроле. Т.е. наблюдается автофлуоресценция цитоплазматической части и отсутствует красная люминесценция нанолюминофоров. В спектрах люминесценции также отсутствуют характерные переходы европия в ортованадатной матрице, что подтверждает отсутствие наночастиц веретенообразной формы в исследуемых клетках [170].

В настоящем исследовании показано, что наночастицы с размерами 2 нм способны проникать через цитоплазматическую мембрану клетки и накапливаться в ядерных структурах без дополнительной функционализации частиц. Подобный характер аккумуляции обеспечивается сочетанием ряда факторов - структурными особенностями, поверхностными свойствами и малыми размерами частиц. По-видимому, транспорт малых частиц (2 нм) происходит с участием механизма неспецифического

трансмембранного транспорта, что способствует их проникновению в цитозоль и через ядерные мембраны без участия эндоцитозных механизмов.

Лишь единичные работы свидетельствуют о связи формы наночастиц с их биологической активностью [102]. Обнаруженная нами способность проникновения наночастиц внутрь клеток в значительной мере зависит от их размеров. Важной особенностью таких частиц является их способность накапливаться в ядерных структурах. Очевидно, что и биологическая активность наночастиц будет зависеть от их размерных параметров и способностью аккумулироваться внутри клетки, тем самым влияя на внутриклеточные биохимические процессы.

Таким образом, изучаемые наночастицы могут быть использованы в качестве биологических люминесцентных зондов, позволяющих проводить мониторинг наночастиц в условиях *in vitro* с применением методов люминесцентной микроскопии и люминесцентной спектрометрии.

6.2 Наночастицы $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ как СОД-миметик в процессе автоокисления адреналина

Способность наночастиц проявлять антиоксидантные/прооксидантные свойства являются предметом активного изучения. Интерес к данному объекту особенно возрос после того, как у наночастиц CeO_2 была обнаружена способность подобно супероксиддисмутазе (СОД) инактивировать высокореакционные супероксид-радикалы. Логичным предположением является и то, что не только наночастицы церия могут проявлять антиоксидантные/прооксидантные свойства. В работе проведены сравнительные исследования антиоксидантной активности наночастиц разной природы на модели инактивации супероксид радикала $\text{O}_2^{\cdot-}$ наночастицами по механизму сходному с действием супероксиддисмутазы. Обнаружено, что СОД подобная активность наночастиц зависит от их природы и незначительно зависит от размеров и формы частиц.

Влияние наночастиц на инактивацию супероксид-радикалов оценивали по реакции аутоокисления адреналина. В щелочной среде в результате внутримолекулярных перестроек инициируется превращение адреналина в аденохром с образованием $O_2^{\cdot-}$. $O_2^{\cdot-}$, имея один неспаренный электрон, может быть и окислителем и восстановителем: в реакции аутоокисления адреналина, образующийся $O_2^{\cdot-}$ как окислитель участвует в последующем окислении адреналина - развивается цепная реакция. Супероксиддисмутаза (СОД), перехватывая $O_2^{\cdot-}$, тормозит накопление аденохрома. Накопление аденохрома сопровождается увеличением оптической плотности при длине волны 480 нм. Общий вид реакции окисления адреналина до аденохрома можно представить следующим образом (рис. 6.2):

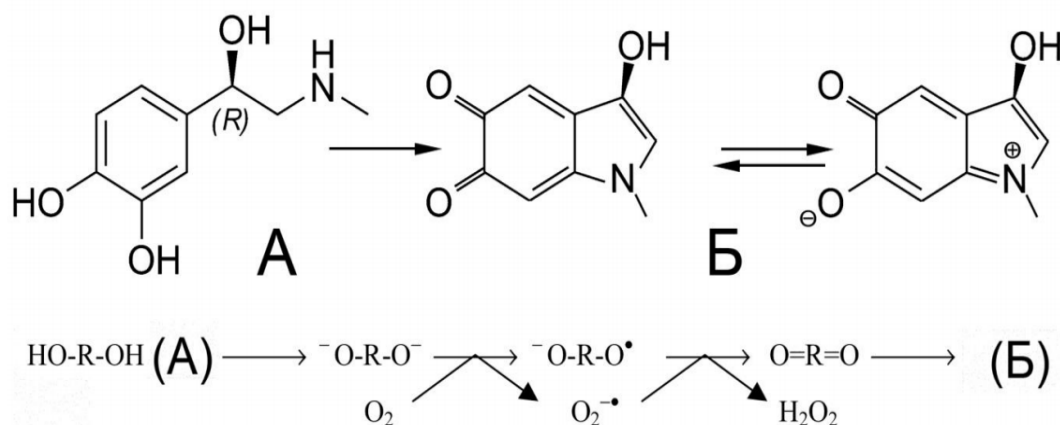


Рис. 6.2. Вверху: реакция окисления адреналина (А) в аденохром (Б). Внизу: общая реакция аутоокисления адреналина.

Окисление низких концентраций адреналина (эпинефрина гидротартрата, раствор для инъекций 0.18%) (270 мкМ) до аденохрома происходило в щелочной среде (боратный буфер, pH = 10,7). Исследуемые золи вводили в буферный раствор так, что конечная концентрация наночастиц составляла от 0.02 до 100 мг/л. Для изучения влияния агрегации наночастиц на антиоксидантные свойства проводили измерения через 1 и 24 часа после разбавления золь из концентрированных (2 г/л) растворов. При измерении спектров поглощения в качестве раствора сравнения использовали

боратный буфер со всеми компонентами, но без адреналина. Сразу при переводе адреналина в щелочную среду начинается процесс его автоокисления; при этом наблюдается изменения спектра поглощения. На фоне незначительного изменения основной катехиновой полосы при 290 нм, появляется полоса при 347 нм, интенсивность которой напрямую зависит от содержания аденохрома в системе (рис. 6.3).

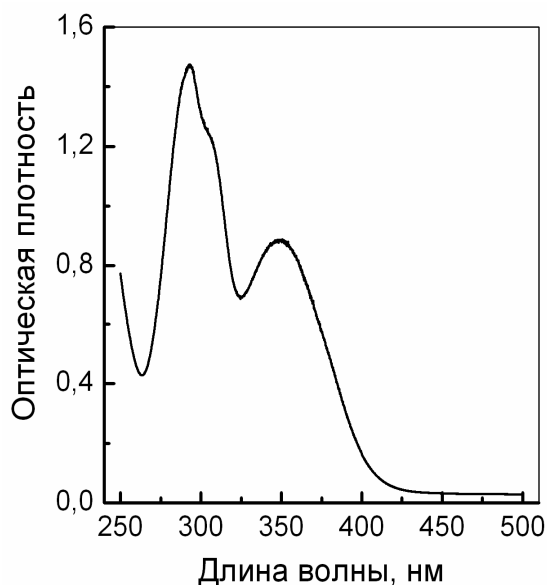


Рис. 6.3 Спектр поглощения 270 мкМ раствора адреналина в боратном буферном растворе при pH=10.7.

Образование аденохрома регистрировали по изменению интенсивности полосы поглощения $\lambda_{\text{max}} = 347$ нм через 40 минут от начала реакции. Изменения относительных значений содержания аденохрома соответствуют относительному изменению содержания $\text{O}_2^{\bullet -}$ в исследуемом образце.

Для сравнительного анализа были использованы гидрозоли, содержащие наночастицы размером ~ 2 нм разной природы, синтезированные в отделе нанокристаллических материалов ИСМА НАНУ (рис. 6.4).

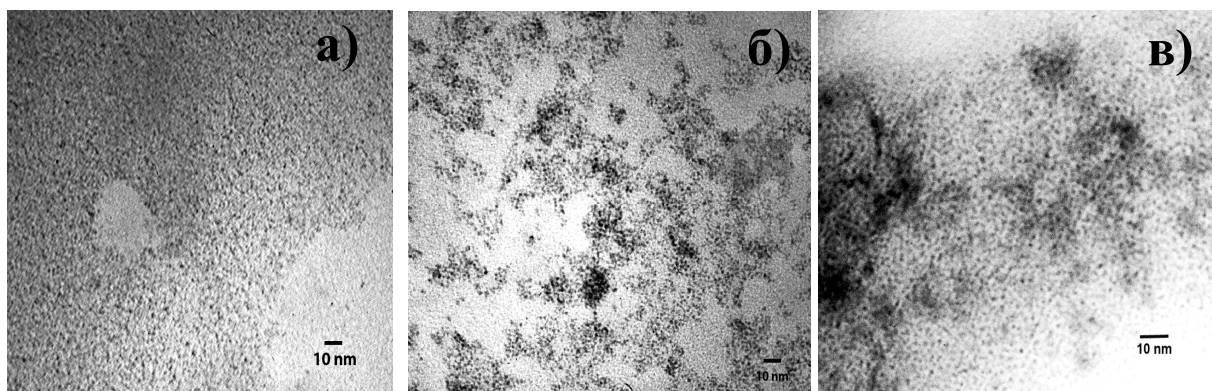


Рис. 6.4 ПЭМ изображения наночастиц: $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ (а), CeO_{2-x} (б), CeTbPO_4 (в)

На рис. 6.5 показаны изменения относительных значений оптической плотности при $\lambda_{\text{max}} = 347$ нм в зависимости от концентрации золей. Было обнаружено значительное отличие способности к инаktivации $\text{O}_2^{\bullet-}$ наночастицами различной природы.

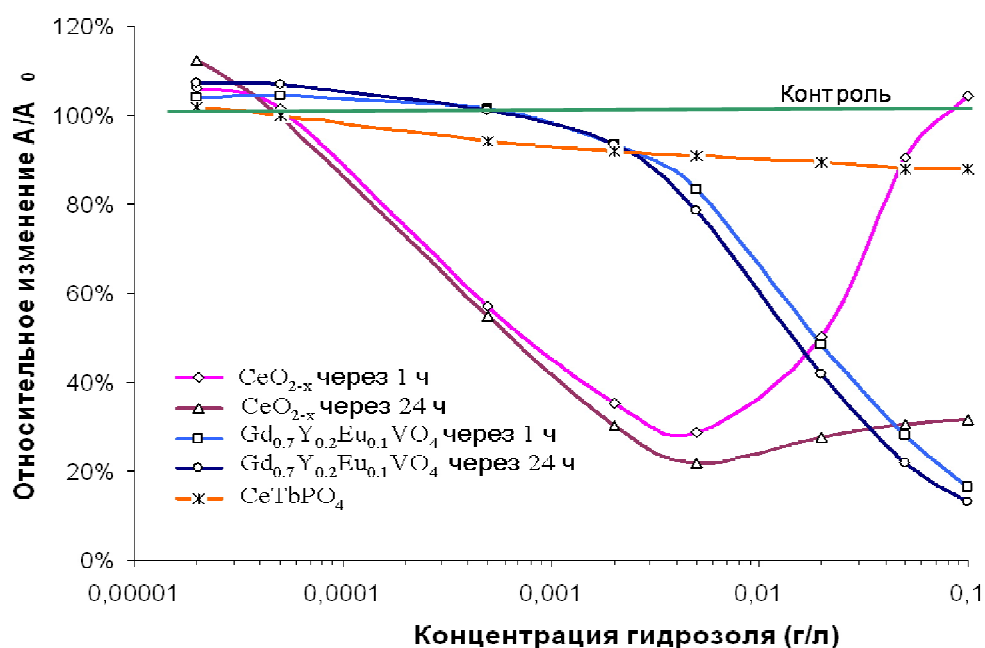


Рис. 6.5 Ингибирование $\text{O}_2^{\bullet-}$ в присутствии наночастиц при автоокислении адреналина

Так наночастицы ортофосфатов церия, активированных тербием практически не проявляют антиоксидантных свойств – концентрация $O_2^{\bullet-}$ в системе незначительно отличается от контроля (рис. 6.5).

Антиоксидантные свойства диоксида церия хорошо известны [215-217] ранее описана способность наночастиц диоксида церия к инаktivации $O_2^{\bullet-}$, т.е. проявлять свойства подобные супероксиддисмутазе (СОД – миметик). В диссертационной работе, на модели реакции автоокисления адреналина подтверждена антиоксидантная активность диоксида церия. Кроме того, было показано, что антиоксидантная активность наночастиц зависит от времени прошедшего после разбавления концентрированного раствора, что связано с агрегацией наночастиц диоксида церия в концентрированных растворах. Как видно на (рис. 6.5), способность к инаktivации $O_2^{\bullet-}$ наночастицами CeO_2 значительно зависит от времени прошедшего после разбавления золь из концентрированных растворов.

При проведении измерений через 1 час после разбавления концентрированного золя антиоксидантная активность при понижении концентрации сначала растет, затем падает и имеет максимальное значение инаktivация $O_2^{\bullet-}$ 0.005 г/л. При проведении измерений через 24 час после разбавления концентрированного золя наблюдается повышение активности в диапазоне высоких концентраций. Причем, в диапазоне 0.1 – 0.005 г/л различия незначительны. При концентрациях наночастиц менее 0.005 г/л наблюдается постепенное снижение активности растворов, причем инаktivация $O_2^{\bullet-}$ практически не зависит от времени выдерживания растворов после их разбавления из концентрированных растворов.

Очевидно, что наночастицы в концентрированных золях находятся в агрегированном состоянии. При разбавлении ассоциаты разрушаются до отдельных частиц, общая площадь поверхности частиц увеличивается и, следовательно, растет их активность в диапазоне 0.1 – 0.005 г/л. При более низких концентрациях золь антиоксидантная активность пропорционально

снижается. Вероятно, скорость распада ассоциатов зависит от концентрации наночастиц в растворе.

В работе [174] впервые было обнаружена антиоксидантная активность наночастиц ортованадатов. Золи ортованадатов гадолиния-иттрия активированных европием, также как диоксида церия, обладают ярко выраженной способностью инактивировать супероксид радикалы при высоких концентрациях наночастиц. При снижении концентрации золя антиоксидантная активность наночастиц снижается. Причем, характер кривой остаётся практически неизменным для зольей $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ измеренных как через 1 час так и через 24 часа после разбавления концентрированного раствора, что может свидетельствовать о незначительной агрегации наночастиц ортованадатов в концентрированных растворах.

Таким образом, антиоксидантная активность малых наночастиц с одинаковыми размерами и окружением зависит как от природы частиц, так и от равновесного состояния дисперсий - наночастиц и их вторичных ассоциатов. В данной работе впервые была обнаружена антиоксидантная активность наночастиц на основе ортованадатов редкоземельных элементов.

Выводы к разделу 6

1. Впервые было показана возможность использования наночастиц на основе ортованадатов РЗЭ активированных европием, в качестве люминесцентных зондов.

2. Методом люминесцентной микроскопии и люминесцентной спектроскопии изолированных клеток впервые обнаружен транспорт наночастиц на основе ортованадатов РЗЭ в клетки печени и аккумуляция их в области ядра.

3. На модельной системе аутоокисления адреналина, была обнаружена антиоксидантная активность наночастиц на основе ортованадатов РЗЭ при концентрациях наночастиц выше 0.5 мг/л.

Основные научные результаты, приведенные в разделе 6, опубликованы в [170, 174].

ВЫВОДЫ

На основе комплексного использования физико-химических методов анализа исследованы свойства гидрозолей нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и характер взаимодействия их дисперсной фазы с некоторыми катионными красителями. Получены следующие результаты:

1. Определены основные физико-химические и оптические характеристики синтезированных гидрозолей на основе нанокристаллов $\text{Gd}_{0.7}\text{Y}_{0.2}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$, $\text{Gd}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$ и $\text{La}_{0.9}\text{Eu}_{0.1}\text{VO}_4$. Найденные значения коэффициентов экстинкции гидрозолей зависят от размера наночастиц и составляют 3870, 3130 и 3090 л/(моль·см) для сферических, веретенообразных и стержнеподобных наночастиц, соответственно.

2. Коллоидные растворы проявляют свойства гидрозолей с отрицательно заряженной поверхностью частиц. Характер коагуляции под действием неорганических солей соответствует классическому правилу Шульце-Гарди и основным выводам теории ДЛФО. При взаимодействии наночастиц с органическими катионами значительный вклад вносит адсорбционная составляющая расклинивающего давления.

3. В средах, содержащих сыворотку крови, коагуляция неорганических частиц не происходит. Вероятной причиной является взаимодействие компонентов сыворотки с наночастицами с образованием стабилизирующего слоя на поверхности частиц. Результаты таких исследований предполагают возможность введения растворов наночастиц в виде инъекций в живой организм без побочных эффектов агрегации и коагуляции частиц в биологических жидкостях.

4. Краситель Суан-βTh в присутствии наночастиц образует J-агрегаты с различной степенью упорядоченности и/или числом молекул в агрегате. Степенью упорядоченности молекул в агрегате можно управлять с помощью форм-фактора наночастиц, которые выступают в роли своеобразных «темплатов» для образования агрегатов красителя.

5. Молекулы красителей нильского голубого и метиленового голубого, и пинацианола в интегральных гибридных системах краситель-наночастица образуют упорядоченные стопочные структуры Н-типа с помощью вертикального стэкинга ароматических хромофоров молекул красителя в агрегатах. Взаимное влияние и ориентация ароматических хромофоров зависит от формы наночастиц и снижается с увеличением их линейных размеров.

6. Продемонстрирована возможность применения нанокристаллов $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ как биологических зондов. Обнаружена способность нанокристаллов $Gd_{0.7}Y_{0.2}Eu_{0.1}VO_4$ размером ~ 2 нм проникать в клетки печени и аккумулироваться в области ядер.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels / M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin [et al.] // Science. – 1998. – Vol. 281, № 5383. – P. 2013–2016.
2. Alivisatos A.P. Quantum dots as cellular probes / A.P. Alivisatos, W. Gu, C. Larabell // Annu. Rev. Biomed. Eng. – 2005. – Vol. 7. – P. 1–22.
3. Biocompatible bright YVO₄:Eu nanoparticles as versatile optical bioprobes / J. Shen, L.D. Sun, J.D. Zhu [et al.] // Adv. Funct. Mater. – 2010. – Vol. 20, №.21 – P. 3708–3714.
4. Upconverting luminescent nanoparticles for use in bioconjugation and bioimaging / H.S. Mader, P. Kele, S.M. Saleh [et al.] // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2010. – Vol. 14, №.5 – P.582–596.
5. Bouzigues C. Biological applications of rare-earth based nanoparticles / C. Bouzigues, Th. Gacoin, A. Alexandrou // ACS Nano. – 2011. – Vol. 5, №.11 – P. 8488–8505.
6. Cytotoxicity evaluation of ceramic particles of different sizes and shapes / A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2004. – Vol. 68, №.2 – P. 244–256.
7. Jiang J. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies / J. Jiang, G. Oberdorster, Pr. Biswas // J. Nanopart. Res. – 2009. – Vol. 11, №.1 – P. 77–89.
8. Нейман Р.Э. Диалектика науки о коллоидах / Р.Э. Нейман – Воронеж: ВГУ, 1989. – 150 с.
9. Щукин Е.Д. Коллоидная химия / Е.Д. Щукин, А.В. Перцов, Е.А. Амелина. – М.: Химия, 1982. – 352 с.
10. Буланкин И.Н. Физическая и коллоидная химия / И.Н. Буланкин. – Харьков.: ХГУ, 1959. – 356 с.
11. Кройт Г.Р. Наука о коллоидах / Г.Р. Кройт [пер. с англ Н.А. Плетенева и Н.Н. Трахтман]. – М.: Изд-во. иностр. Лит, 1955. – Т. 1. – 538 с.

12. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы / Ю.Г. Фролов. – М: Химия, 1989. – 464 с.
13. Дерягин Б.В. Поверхностные силы / Б.В. Дерягин, Н.В. Чураев, В.М. Муллер. – М.: Наука, 1985. – 399 с.
14. Verwey E.J.W. Theory of the stability of lyophobic colloids / E.J.W. Verwey, J.Th.G. Overbeek. – Amsterdam, 1948. – 178 p.
15. Дерягин Б.В. Устойчивость коллоидных систем / Б.В. Дерягин // Усп. химии. –1979. – Т.48, Вып. 4. – С. 679–710.
16. Davies J. The role of ammonium polyacrylate in dispersing concentrated alumina suspensions / J. Davies, J.G.P. Binner // J. Eur. Ceram. Soc. –2000. – Vol. 20, № 10. – P. 1539-1553.
17. Вода в дисперсных системах / [под ред. Б.В. Дерягина, Ф.Д. Овчаренко, Н.В. Чураева]. – М.: Химия, 1986. 286 с.
18. Metin C.O. Stability of aqueous silica nanoparticle dispersions / C.O. Metin, L.W. Lake, C.R. Miranda [et al.] // J. Nanopart. Res. – 2009. – Vol. 13, №.2. – P. 839–850.
19. Huynh K.A. Aggregation kinetics of citrate and polyvinylpyrrolidone coated silver nanoparticles in monovalent and divalent electrolyte solutions / K.A. Huynh, K.L. Chen // Environ. Sci. Technol. – 2011. – Vol. 45, № 13. – P. 5564–5571.
20. Li X. Aggregation kinetics and dissolution of coated silver nanoparticles / X. Li, J.J. Lenhart, H.W. Walker // Langmuir. – 2012. – Vol. 28, № 2. – P. 1095–1104.
21. Chen K.L. Aggregation kinetics of alginate-coated hematite nanoparticles in monovalent and divalent electrolytes / K.L. Chen, S.E. Mylon, M. Elimelech // Environ. Sci. Technol. – 2006. – Vol. 40, № 5. –P. 1516–1523.
22. Giordano-Palmino F. Interfacial aggregation of a ninionic surfactant: effect on the stability of silica suspensions / F. Giordano-Palmino, R. Denoyel, J. Rouquerol // J. Colloid Interface Sci. – 1994. – Vol. 165, № 1. – P. 82–90.

23. Круглицкий Н.Н. Основы физико-химической механики: Ч.2. / Н.Н. Круглицкий. – Киев: Вища школа, 1976. – 208 с.
24. Hardy W.B. A preliminary investigation of the conditions which determine the stability of irreversible hydrosols / W.B. Hardy // Proc. R. Soc. London. – 1899. – Vol. 66. – P. 110–125.
25. Vincent B. Early (pre-DLVO) studies of particle aggregation / B. Vincent // Adv. Colloid Interface Sci. – 2012. – Vol. 170. – P. 56–67.
26. The mechanism of coagulation of lyophobic sols as revealed through investigations of silver halide sols in statu nascendi / E. Matijevic, K. Schulz; M. Mirnik [et al.] // J. Phys. Chem. – 1953. – Vol. 57. – P. 301–307.
27. Tezak, B. Coagulation of hydrophobic sols in statu nascendi 3. The influence of the ionic size and valency of the counterion / B. Tezak, E. Matijevic, K.F. Schulz // J. Phys. Chem. – 1955. – Vol. 59. – P. 769–773.
28. Matijevic E. On coagulation effects of highly charged counterions / E. Matijevic, D. Broadhurst, M. Kerker // J. Phys. Chem. – 1959. – Vol. 63. – P. 1552–1557.
29. Frens G. The double layer potential as a rate determining factor in the coagulation of electrocratic colloids / G. Frens, J.J.F.G. Heuts // Colloids Surf. – 1988. – Vol. 30. – P. 295–305.
30. Kotera A. Colloid chemical studies of polystyrene latices polymerized without any surface-active agents 0.2. Coagulation into secondary minimum / A. Kotera; K. Furusawa, K. Kudo // Kolloid Z. – 1970. – Vol. 240. – P. 837–842.
31. Ottewill R.H. Studies on polytetrafluoroethylene lattices Part 1. Coagulation by non-hydrolyzed electrolytes / R.H. Ottewill, D. Rance // Croat. Chem. Acta. – 1977. – Vol. 50. – P. 65–75.
32. Hansen F.K. Heterocoagulation. Part.5. – Adsorption of a carboxylated polymer latex on monodispersed hydrated metal oxides / F.K. Hansen, E. Matijevic // J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1. – 1980. – Vol. 76. – P. 1240–1262.

33. Zimehl R. Coagulation of latex dispersions by inorganic salts: structural effects / R. Zimehl, G. Lagaly // *Prog. Colloid Polym. Sci.* – 1986. – Vol. 72. – P. 28–36.
34. Experimental study of electrostatically stabilized colloidal particles: colloidal stability and charge reversal / C. Schneider, M. Hanisch, B. Wedel [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* – 2011. – Vol. 358. – P. 62–67.
35. Lagaly G. Colloid chemistry of clay minerals: the coagulation of montmorillonite dispersions / G. Lagaly, S. Ziesmer // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2003. – Vol. 100. – P. 105–128.
36. Verrall K.E. Application of the Schulze-Hardy rule to haematite and haematite/humate colloid stability / K.E. Verrall, P. Warwick, A. Fairhurst // *Colloids Surf., A.* – 1999. – Vol. 150. – P. 261–273.
37. Stability of tungsten (VI) oxide dispersions in electrolyte solutions / Y.Y. Petrov, S.Y. Avvakumova, M.P. Sidorova [et al.] // *Colloid J.* – 2011. – Vol. 73. – P. 834–840.
38. McHedlov-Petrossyan N.O. Colloidal dispersions of fullerene C-60 in water: some properties and regularities of coagulation by electrolytes / N.O. McHedlov-Petrossyan, V.K. Klochkov, G.V. Andrievsky // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1997. – Vol. 93. – P. 4343–4346.
39. Chen K.L. Aggregation and deposition kinetics of fullerene (C₆₀) nanoparticles / K.L. Chen, M. Elimelech // *Langmuir.* – 2006. – Vol. 22. – P. 10994–11001.
40. Sano M. Colloidal nature of singlewalled carbon nanotubes in electrolyte solution: the Schulze-Hardy rule / M. Sano, J. Okamura, S. Shinkai // *Langmuir.* – 2001. – Vol. 17. – P. 7172–7173.
41. Lopez-Leon T. Ionspecific aggregation of hydrophobic particles / T. Lopez-Leon, J.L. Ortega-Vinuesa, D. Bastos-Gonzalez // *ChemPhysChem.* – 2012. – Vol. 13. – P. 2382–2391.

42. Hofmeister effects in colloidal systems: Influence of the surface nature / T. Lopez-Leon, M.J. Santander-Ortega, J.L. Ortega-Vinuesa [et al.] // J. Phys. Chem. C. – 2008. – Vol. 112, № 41. – P. 16060–16069.
43. Hofmeister effects on the colloidal stability of an IgG-coated polystyrene latex / T. Lopez-Leon, A.B. Jodar-Reyes, J.L. Ortega-Vinuesa [et al.] // J. Colloid Interface Sci. – 2005. – Vol. 284. – P. 139–148.
44. Lopez-Leon T. Hofmeister effects in the stability and electrophoretic mobility of polystyrene latex particles / T. Lopez-Leon, A.B. Jodar-Reyes, D. Bastos-Gonzalez [et al.] // J. Phys. Chem. B. – 2003. – Vol. 107. – P. 5696–5708.
45. Dumont F. Influence of the point of zero charge of titanium-dioxide hydrosols on the ionic adsorption sequences / F. Dumont, J. Warlus, A. Watillon // J. Colloid Interface Sci. – 1990. – Vol. 138. – P. 543–554.
46. Peula-Garcia J.M. Inversion of Hofmeister series by changing the surface of colloidal particles from hydrophobic to hydrophilic / J.M. Peula-Garcia, J.L. Ortega-Vinuesa, D. Bastos-Gonzalez // J. Phys. Chem. C. – 2010. – Vol. 114, № 25. – P. 11133–11139.
47. Dumont F. Stability of ferric oxide hydrosols / F. Dumont, A. Watillon // Discuss. Faraday Soc. – 1971. – Vol. 52. – P. 352–380.
48. Activation energies of colloidal particle aggregation: Towards a quantitative characterization of specific ion effects / R. Tian, G. Yang, H. Li [et al.] // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2014. – Vol. 16. – P. 8828–8836.
49. Tadros T.F. Adsorption of potential determining ions at silica-aqueous electrolyte interface and role of some cations / T.F. Tadros, J. Lyklema // J. Electroanal. Chem. – 1968. – Vol. 17. – P. 267–275.
50. Abendroth R.P. Behavior of a pyrogenic silica in simple electrolytes / R.P. Abendroth // J. Colloid Interface Sci. – 1970. – Vol. 34. – P. 591–596.
51. Dishon M. From repulsion to attraction and back to repulsion: The effect of NaCl, KCl, and CsCl on the force between silica surfaces in aqueous

- solution / M. Dishon, O. Zohar, U. Sivan // *Langmuir*. – 2009. – Vol. 25. – P. 2831–2836.
52. Morag J. The governing role of surface hydration in ion specific adsorption to silica: An AFM-based account of the Hofmeister universality and its reversal / J. Morag, M. Dishon, U. Sivan // *Langmuir*. – 2013. – Vol. 29. – P. 6317–6322.
 53. Schwierz N. Reversed anionic Hofmeister series: The interplay of surface charge and surface polarity / N. Schwierz, D. Horinek, R.R. Netz // *Langmuir*. – 2010. – Vol. 26. – P. 7370–7379.
 54. Schwierz N. Anionic and cationic Hofmeister effects on hydrophobic and hydrophilic surfaces / N. Schwierz, D. Horinek, R.R. Netz // *Langmuir*. – 2013. – Vol. 29. – P. 2602–2614.
 55. Усъяров О.Г. Влияние адсорбции ионов на коагуляцию дисперсных систем / О.Г. Усъяров // *Коллоид. журн.* – 1975. – Т.37, № 1. – С. 79–85.
 56. Ребиндер П.А. Поверхностно - активные вещества / П.А. Ребиндер. – М.: Знание, 1961. – 46 с.
 57. Коллоидные поверхностно-активные вещества / К. Шинода, Т. Накагава [и др.] // [пер. с англ. Н.В. Коновалова]. – М.: Мир, 1966. – 320 с.
 58. Шелудко А. Коллоидная химия / А. Шелудко. – М.:Мир. – 1984. – 196с.
 59. Holmberg K. Surfactants and polymers in aqueous solution / K. Holmberg. – Wiley: Chichester, – 2003. – 562 p.
 60. Structure and stability of silver nanoparticles in aqueous solution produced by laser ablation / F. Mafune, J. Kohno, Y. Takeda [et al.] // *J. Phys. Chem. B*. – 2000. – Vol. 104, № 35. – P. 8333–8337.
 61. Липатов Ю.С. Адсорбция полимеров / Ю.С. Липатов, Л.М. Сергеева // Киев: Наукова думка, 1972. – 232 с.
 62. Стабилизация гидрофобных зольей добавками водорастворимых полимеров / А.А. Баран, И.И. Кочерга, И.М. Соломенцева [и др.] // *Коллоид. журн.* – 1976. – Т. 38, № 1. – С.16–24.

63. Conley R.F. Practical dispersion / R.F. Conley. – Wiley-VCH: New York. – 1996. – 464 p.
64. Изучение флокуляции гидрофобных зольей водорастворимыми полимерами методом поточной ультрамикроскопии / А.А. Баран, Я.Я. Васько, Б.В. Дерягин [и др.] // Коллоид. журн. – 1976. – Т.38, № 1. – С.8–14.
65. Dickinson E. Particle flocculation by adsorbing polymers / E. Dickinson, L. Eriksson // Adv. Colloid Interface Sci. – 1991. – Vol. 34, № 1. – P. 1–29.
66. General synthesis and self-assembly of lanthanide orthovanadate nanorod arrays / X. Weng, Q. Yang, L. Wang [et al.] // CrystEngComm. – 2013. – Vol. 15. – P. 10230–10237.
67. Morphology-controllable synthesis of tetragonal LaVO_4 nanostructures / J. Zhang, J. Shi, J. Tan [et al.] // CrystEngComm. – 2010. – Vol. 12. – P. 1079–1085.
68. Riwotzki K. Wet-chemical synthesis of doped colloidal nanoparticles $\text{YVO}_4\text{:Ln}$ ($\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Sm}, \text{Dy}$) / K. Riwotzki, M. Haase // J. Phys. Chem. B. – 1998. – Vol. 102. – P. 10129–10135.
69. Synthesis and characterizations of $\text{YVO}_4\text{:Eu}$ colloids / A. Huignard, V. Buissette, G. Laurent [et al.] // Chem. Mater. – 2002. – Vol. 14. – P. 2264–2269.
70. Poly(acrylic acid) modified lanthanide-doped GdVO_4 hollow spheres for up-conversion cell imaging, MRI and pH-dependent drug release / X. Kang, D. Yang, Y. Dai [et al.] // Nanoscale. – 2013. – Vol. 5. – P. 253–261.
71. Water-soluble, monodisperse, lanthanide-doped $\text{Y}(\text{Gd})\text{VO}_4$ nanocrystals as promising multimodal bioprobe / C. Chen, Ch. Li, T. Li [et al.] // Eur. J. Inorg. Chem. – 2015. – Vol. 2015, № 19. – P. 3108–3115.
72. Wang H. One-pot syntheses and cell imaging applications of poly(amino acid) coated $\text{LaVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ luminescent nanocrystals / H. Wang, L. Wang // Inorg. Chem. – 2013. – Vol. 52, № 5. – P. 2439–2445.

73. Liu J.F. Synthesis and self-assembly of luminescent Ln^{3+} -doped LaVO_4 uniform nanocrystals / J.F. Liu, Y.D. Li // *Adv. Mater.* – 2007. – Vol. 19, № 8. – P. 1118–1122.
74. Choin S. Luminescent properties of PEG-added nanocrystalline $\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ phosphor prepared by a hydrothermal method / S. Choin, Y.M. Moon, H.K. Jung // *J. Lumin.* – 2010. – Vol. 130. – P. 549–553.
75. Huignard A. Synthesis and luminescence properties of colloidal $\text{YVO}_4:\text{Eu}$ phosphors / A. Huignard, T. Gacoin, J.P. Boilot // *Chem. Mater.* – 2000. – Vol. 12, № 4. – P. 1090–1094.
76. Lanthanide-doped GdVO_4 upconversion nanophosphors with tunable emissions and their applications for biomedical imaging / W. Yin, L. Zhou, Z. Gu [et al.] // *J. Mater. Chem.* – 2012. – Vol. 22. – P. 6974–6981.
77. Multifunctional Eu^{3+} and $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ -doped GdVO_4 nanoparticles synthesized by reverse micelle method T.V. Gavrilovic', D.J. Jovanovic', V. Lojpur [et al.] // *Sci. Rep.* – 2014. – Vol. 4, № 4209.
78. Huang P. Host-sensitized multicolor tunable luminescence of lanthanide ion doped one-dimensional YVO_4 nano-crystals / P. Huang, D. Chen, Y. Wang // *J. Alloys Compd.* – 2011. – Vol. 509, № 7. – P. 3375–3381.
79. Yu M. Silica spheres coated with $\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ layers via sol–gel process: a simple method to obtain / M. Yu, J. Lin, J. Fang // *Phys. Lett.* – 2005. – Vol. 17. – P. 1783–1791.
80. Luminescent properties of $\text{YVO}_4:\text{Eu}/\text{SiO}_2$ core–shell composite particles / A. Bao, H. Lai, Y. Yang [et al.] // *J. Nanopart. Res.* – 2010. – Vol. 12. – P. 635–643.
81. Influence of concentration effect and Au coating on photoluminescence properties of $\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ nanoparticle colloids / L. Xie, H. Song, Y. Wang [et al.] // *J. Phys. Chem. C.* – 2010. – Vol. 114, № 21. – P. 9975–9980.
82. Development of nanoparticle libraries for biosensing / E.Y. Sun, L. Josephson, K.A. Kelly [et al.] // *Bioconjugate Chem.* – 2006. – Vol. 17, № 1. – P. 109–113.

83. Functionalized fluorescent oxide nanoparticles: artificial toxins for sodium channel targeting and imaging at the single-molecule level / E. Beaurepaire; V. Buissette, M.-P. Sauviat [et al.] // *Nano Lett.* – 2004. – Vol. 4. – P. 2079–2083.
84. Integrin $\alpha 2\beta 1$ targeted $\text{GdVO}_4\text{:Eu}$ ultrathin nanosheet for multimodal PET/MR imaging / H. Hu, D. Li, S. Liu [et al.] // *Biomaterials.* – 2014. – Vol. 35, № 30. – P. 8649–8658.
85. Counting the number of proteins coupled to single nanoparticles / D. Casanova, D. Giaume, M. Moreau [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2007. – Vol. 129. – P. 12592–12593.
86. Bioconjugation of functionalized fluorescent $\text{YVO}_4\text{:Eu}$ nanocrystals with BSA for immunoassay / J. Kang, X.-Y. Zhang, L.-D. Sun, X.-X. Zhang // *Talanta.* – 2007. – Vol. 71. – P. 1186–1191.
87. Synthesis and photoluminescent properties of $\text{YVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ nano-crystal phosphor prepared by Pechini process / Y.-S. Chang, F.-M. Huang, Y.-Y. Tsai, L.-G. Teoh // *J. Lumin.* – 2009. – Vol. 129. – P. 1181–1185.
88. Fabrication, patterning, and optical properties of nanocrystalline $\text{YVO}_4\text{:A}$ ($\text{A} = \text{Eu}^{3+}, \text{Dy}^{3+}, \text{Sm}^{3+}, \text{Er}^{3+}$) phosphor films via sol–gel soft lithography / M. Yu, J. Lin, Z. Wang [et al.] // *Chem. Mater.* – 2002. – Vol. 14. – P. 2224–2231.
89. Li Y. Synthesis and luminescence properties of nanocrystalline $\text{YVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ // Y. Li, G. Hong // *J. Solid State Chem.* – 2005. – Vol. 178. – P. 645–649.
90. Synthesis and properties of colloidal lanthanide-doped nanocrystals / M. Haase, K. Riwotzki, H. Meyssamy, A. Kornowski // *J. Alloys Compd.* – 2000. – Vol. 303–304. – P. 191–197.
91. A simple method to synthesize single-crystalline lanthanide orthovanadate nanorods / W. Fan, W. Zhao, L. You [et al.] // *J. Solid State Chem.* – 2004. – Vol. 177. – P. 4399–4403.
92. Ray S. Shape controlled synthesis, characterization and photoluminescence properties of $\text{YVO}_4\text{:Dy}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ phosphors / S. Ray, A. Banerjee, P. Pramanik // *Mater. Sci. Eng. B.* – 2009. – Vol. 156. – P. 10–17.

93. Ln^{3+} (Ln = Eu, Dy, Sm, and Er) ion-doped YVO_4 nano/microcrystals with multiform morphologies: hydrothermal synthesis, growing mechanism, and luminescent properties / Z.H. Xu, X.J. Kang, C.X. Li [et al.] / *Inorg. Chem.* – 2010. – Vol. 49. – P. 6706–6715.
94. Size and shape tailored hydrothermal synthesis of YVO_4 crystals in ultra wide pH range conditions / H. Wu, H. Xu, Q. Su [et al.] // *J. Mater. Chem.* – 2003. – Vol. 13. – P. 1223–1228.
95. Characterization of $\text{YVO}_4\text{:Eu}^{3+}$, Sm^{3+} red phosphor quick synthesized by microwave rapid heating method / W.J. Park, M.K. Jung, T. Masaki [et al.] // *Mater. Sci. Eng. B.* – 2008. – Vol. 146. – P. 95–98.
96. Rapid synthesis of size-controllable YVO_4 nanoparticles by microwave irradiation / H. Xu, H. Wang, Y. Meng, H. Yan [et al.] // *Solid State Commun.* – 2004. – Vol. 130. – P. 465–468.
97. Simultaneous phase and size control of upconversion nanocrystals through lanthanide doping / F. Wang, Y. Han, C. S. Lim [et al.] // *Nature.* – 2010. – Vol. 463. – P. 1061–1065.
98. Wang F. Multicolor tuning of lanthanide-doped nanoparticles by single wavelength excitation / F. Wang, X. Liu // *Acc. Chem. Res.* – 2014. – Vol. 47. – P. 1378–1385.
99. Riwotzki K. Colloidal $\text{YVO}_4\text{:Eu}$ and $\text{YP}_{0.95}\text{V}_{0.05}\text{O}_4\text{:Eu}$ nanoparticles: Luminescence and energy transfer processes / K. Riwotzki, M. Haase // *J. Phys. Chem. B.* – 2001. – Vol. 105. – P. 12709–12713.
100. Stouwdam J.W. Colloidal nanoparticles of Ln^{3+} -doped LaVO_4 : Energy transfer to visible- and near-infrared-emitting lanthanide ions / J.W. Stouwdam, M. Raudsepp, F.C.J.M. van Veggel // *Langmuir.* – 2005. – Vol. 21. – P. 7003–7008.
101. Luminescent nanomaterials for biological labelling / F. Wang, W.B. Tan, Y. Zhang [et al.] // *Nanotechnology.* – 2006. – Vol. 17. – P. 1–13.

102. Lanthanide phosphate nanorods as inorganic fluorescent labels in cell biology research / C.R. Patra, R. Bhattacharya, S. Patra [et al.] // *Clinical Chem.* – 2007. – Vol. 53, № 11. – P. 2029 – 2031.
103. Shen J. Luminescent rare earth nanomaterials for bioprobe applications / J. Shen, L. Sun, C. Yan // *Dalton Trans.* – 2008. – Vol. 42. – P. 5687–5697.
104. Lanthanide-doped luminescent nanoprobe: controlled synthesis, optical spectroscopy, and bioapplications / Y. Liu, D. Tu, H. Zhu, X. Chen // *Chem. Soc. Rev.* – 2013. – Vol. 42. – P. 6924–6958.
105. Rare earth nanoprobe for functional biomolecular imaging and theranostics / D.J. Naczynski, M.C. Tan, R.E. Riman, P.V. Moghe // *J. Mater. Chem. B.* – 2014. – Vol. 2. – P. 2958–2973.
106. Yu M. Silica spheres coated with $\text{YVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ layers via sol-gel process: A simple method to obtain spherical core-shell phosphors / M. Yu, J. Lin, J. Fang // *Chem. Mater.* – 2005. – Vol. 17. – P. 1783–1791.
107. $\text{NaGdF}_4\text{:Eu}^{3+}$ nanoparticles for enhanced X-ray excited optical imaging / L. Sudheendra, G.K. Das, C. Li [et al.] // *Chem. Mater.* – 2014. – Vol. 26, № 5. – P. 1881–1888.
108. Sun L.D. Paradigms and challenges for bioapplication of rare earth upconversion luminescent nanoparticles: small size and tunable emission/excitation spectra / L.D. Sun, Y.F. Wang, C.H. Yan // *Acc. Chem. Res.* – 2014. – Vol. 47. – P. 1001–1009.
109. Spindle-like lanthanide orthovanadate nanoparticles: facile synthesis by ultrasonic irradiation, characterization, and luminescent properties / C. Yu, M. Yu, C. Li [et al.] // *Cryst Growth Des.* – 2009. – Vol. 9. – P. 783–91.
110. NIR-excited NIR and visible luminescent properties of amphipathic $\text{YVO}_4\text{:Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ nanoparticles / T. Taniguchi, K. Soga, K. Tokuzen [et al.] // *J. Mater. Sci.* – 2012. – Vol. 47. – P. 2241–2247.
111. Comparable structural and luminescent characterization of the $\text{La}_{1-x}\text{Eu}_x\text{VO}_4$ solid solutions synthesized by solid state and co-precipitation methods / O.

- Chukova, S. G. Nedilko, S. A. Nedilko [et al.] // Solid State Phenomena. – 2013. – Vol. 200. – P. 186–192.
112. Chakoumakos B.C. Crystal structure refinements of zircon-type Mi/VO_4 ($Mi = Sc, Y, Ce, Pr, Nd, Tb, Ho, Er, Tm, Yb, Lu$) / B.C. Chakoumakos, M.M. Abraham, L.A. Boatner. // J. Solid State Chem. – 1994. – Vol. 109, № 1. – P. 197–202.
 113. Baglio J.A. A refinement of the structure of yttrium vanadate / J.A. Baglio, G. Gashurov // Acta Cryst. B. – 1968. – Vol. 24. – P. 292–293.
 114. Monazite and zircon type $LaVO_4:Eu$ nanocrystals-synthesis, luminescent properties, and spectroscopic identification of the Eu^{3+} sites / C.J. Jia, L.D. Sun, Z.G. Yan [et al.] // Eur. J. Inorg. Chem. – 2010. – Vol. 2010, №18. – P. 2626–2635.
 115. Yang W.Q. Research on raman spectra and energy transfer in Tm^{3+} , Ho^{3+} single and co-doped YVO_4 crystals / W.Q. Yang, L.H. Guo, S.Y. Feng / Spectroscopy and spectral analysis. – 2007, № 3. – P. 581–584.
 116. Selective synthesis of monazite- and zircon-type $LaVO_4$ nanocrystals / C.J. Jia, L.D. Sun, L.P. You [et al.] // J. Phys. Chem. B. – 2005. – Vol. 109. – P. 3284–3290.
 117. Selected-control hydrothermal synthesis and formation mechanism of monazite- and zircon-type $LaVO_4$ nanocrystals / W.L. Fan, X.Y. Song, Y.X. Bu // J. Phys. Chem. B. – 2006. – Vol. 110. – P. 23247–23254.
 118. Correlation of photoluminescence of $(Y, Ln)VO_4: Eu^{3+}$ ($Ln=Gd$ and La) phosphors with their crystal structures / J.H. Kang, W.B. Im, D.C. Lee [et al.] // Solid State Commun. – 2005. – Vol. 133. – P. 651–656.
 119. Emission processes in $YVO_4:Eu$ nanoparticles / A. Huignard, V. Buissette, A.C. Franville [et al.] // J. Phys. Chem. B. – 2003. – Vol. 107. – P. 6754–6759.
 120. Effects of particle size on the luminescence of $YVO_4:Eu$ nanocrystals / S. Georgescu, E. Cotoi, A.M. Voiculescu, O. Toma // Romanian Reports in Physics. – 2008. – Vol. 60, № 4. – P. 947–955.

121. Hydrothermal synthesis, characterization and optical properties of novel fishbone-like $\text{LaVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ nanocrystals / G. Liua, X. Duana, H. Li, H. Dong // *Mater. Chem. Phys.* – 2009. – Vol. 115. – P. 165–171.
122. Hsu C. Energy transfer in europium doped yttrium vanadate crystals / C. Hsu, R.C. Powell // *J. Lumin.* – 1975. – Vol. 10. – P. 273–293.
123. Polarized Spectra and Crystal-Field Parameters of Eu^{3+} in YVO_4 / C. Brecher, H. Samelson, A. Lempicki [et al.] // *Phys. Rev.* – 1967. – Vol. 155, № 2. – P. 178–187.
124. High temperature strategy for oxide nanoparticle synthesis / G. Mialon, M. Gohin, T. Gacoin, J.-P. Boilot // *ACS Nano.* – 2008. – Vol. 2, № 12. – P. 2505–2512.
125. New insights into size effects in luminescent oxide nanocrystals / G. Mialon, S. Türkcan, A. Alexandrou [et al.] // *J. Phys. Chem. C.* – 2009. – Vol. 113, № 43. – P. 18699–18706.
126. Oxidative dehydrogenation of propane over a series of low-temperature rare earth orthovanadate catalysts prepared by the nitrate method / Z. Fang, Q. Hong, Z.H. Zhou [et al.] // *Catal. Lett.* – 1999. – Vol. 61. – P. 39–44.
127. Nature of the vanadia–ceria interface in $\text{V}^{5+}/\text{CeO}_2$ catalysts and its relevance for the solid-state reaction toward CeVO_4 and catalytic properties / M.V. Martinez-Huerta, J. M. Coronado, M. Fernandez-Garcia [et al.] // *J. Catal.* – 2004. – Vol. 225. – P. 240–248.
128. Growth and optical properties of ErVO_4 and LuVO_4 single crystals / Y. Terada, K. Shimamura, V.V. Kochurikhin [et al.] // *J. Cryst. Growth.* – 1996. – Vol. 167. – P. 369–372.
129. Fields R.A. Highly efficient Nd: YVO_4 diode-laser end-pumped laser / R.A. Fields, M. Birnbaum, C.L. Fincher // *Appl. Phys. Lett.* – 1987. – Vol. 51. – P. 1885–1886.

130. Oconnor J.R. Unusual crystal-field energy levels and efficient laser properties of $\text{YVO}_4\text{:Nd}$ / J.R. Oconnor // *Appl. Phys. Lett.* – 1966. – Vol. 9. – P. 407–409.
131. Observation of stimulated Raman scattering in the tetragonal crystal YbVO_4 / A.A. Kaminskii, S.N. Bagayev, K. Oka [et al.] // *Laser Phys. Lett.* – 2006. – Vol. 3. – P. 263–267.
132. Gambino J.R. Yttrium and rare earth vanadates / J.R. Gambino, C.J. Guare // *Nature*. – 1963. – Vol. 198. – P. 1084.
133. Palilla F.C. $\text{YVO}_4\text{:Eu}$: a highly efficient phosphor for high pressure mercury lamps / F.C. Palilla, A.K. Levine // *Appl. Opt.* – 1966. – Vol. 5. – P. 1467–1468.
134. Alkoxy sol-gel derived $\text{Y}_{3-x}\text{Al}_x\text{O}_{12}\text{:Tb}_x$ thin films as efficient cathodoluminescent phosphors / J.Y. Choe, D. Ravichandran, S. Blomquist [et al.] // *Appl. Phys. Lett.* – 2001. – Vol. 78, № 24. – P. 3800–3802.
135. Neeraj S. Novel red phosphors for solid state lighting; the system $\text{Bi}_x\text{Ln}_{1-x}\text{VO}_4$; $\text{Eu}^{3+}/\text{Sm}^{3+}$ (Ln= Y, Gd) / S. Neeraj, N. Kijima, A.K. Cheetham // *Solid State Commun.* – 2004. – Vol. 131, № 1. – P. 65–69.
136. Characterization of the size, shape, and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies / K. Powers, M. Palazuelos, B. Moudgil, St. Roberts // *Nanotoxicology*. – 2007. – Vol. 1. – P. 42–51.
137. Thunus L. Overview of transition metal and lanthanide complexes as diagnostic tools / L. Thunus, R. Lejeune // *Coord. Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 184, № 1. – P. 125–155.
138. Pharmacology and toxicology of europium chloride / T. Haley, N. Komesu, G. Colvin [et al.] // *J. Pharm. Sci.* – 1965. – Vol. 54, № 4. – P. 643–645.
139. Caille J. Gadolinium as a contrast agent for NMR // J. Caille, B. Lemanceau, B. Bonnemain // *Am. J. Neuroradiol.* – 1983. – Vol. 4, № 5. – P. 1041–1042.
140. Hirano S. Exposure, metabolism, and toxicity of rare earths and related compounds / S. Hirano, K. Suzuki // *Environ Health Perspect.* – 1996. – Vol. 104, № 1. – P. 85–95.

141. Oksendal A. Biodistribution and toxicity of MR imaging contrast media / A. Oksendal, P.-A. Hals // J. Magn. Res. Imaging. – 1993. – Vol. 3, № 1. – P. 157–165.
142. Llobet J. Acute toxicity of vanadium compounds in rats and mice / J. Llobet, J. Domingo // Toxicol. Lett. – 1984. – Vol. 23, № 2. – P. 227–231.
143. Developmental toxicity evaluation of orthovanadate in the mouse / D. Sanchez, A. Ortega, J. Domingo, J. Corbella // Biol. Trace Elem. Res. – 1991. – Vol. 30, № 3. – P. 219–226.
144. Bracken W. Cytotoxicity-related alterations of selected cellular functions after *in vitro* vanadate exposure / W. Bracken, R. Sharma // Biochem. Pharmacol. – 1985. – Vol. 34, № 14. – P. 2465–2470.
145. Stohs S. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions / S. Stohs, D. Bagchi // Free Radic. Biol. Med. – 1995. – Vol. 18, № 2. – P. 321–336.
146. Vanadate is a potent (Na, K)-ATPase inhibitor found in ATP derived from muscle / L. Cantley, L. Josephson, R. Warner [et al.] // J. Biol. Chem. – 1977. – Vol. 252, № 21. – P. 7421–7423.
147. Sensitized luminescent terbium nanoparticles: preparation and time-resolved fluorescence assay for DNA / Y. Chen, Y. Chi, H. Wen, Z. Lu // Anal. Chem. – 2007. – Vol. 79, № 3. – P. 960–965.
148. Microarray immunoassay for phenoxybenzoic acid using polymer encapsulated Eu:Gd₂O₃ nanoparticles as fluorescent labels / M. Nickkova, D. Dosev, S.J. Gee [et al.] // Anal. Chem. – 2005. – Vol. 77, № 21. – P. 6864–6873.
149. Single europium-doped nanoparticles measure temporal pattern of reactive oxygen species production inside cells / D.Casanova, C. Bouzigues, T.-L. Nguyen [et al.] // Nature Nanotech. – 2009. – Vol. 4. – P. 581–585.
150. New Synthesis strategies for luminescent YVO₄:Eu and EuVO₄ nanoparticles with H₂O₂ selective sensing properties / N. Duee, C. Ambard, F. Pereira // Chem. Mater. – 2015. – Vol. 27, № 15. – P. 5198–5205.

151. Inferring maps of forces inside cell membrane microdomains / J.-B.Masson, D. Casanova, S. Turkam [et al.] // *Phys. Rev. Lett.* – 2009. – Vol. 102. – P. 048103.
152. $\text{YVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ functionalized porous silica submicrospheres as delivery carriers of doxorubicin / Z. Cheng, P. Ma, Z. Hou [et al.] // *Dalton Trans.* – 2012. – Vol. 41, № 5. – P. 1481–1489.
153. Fabrication of hollow and porous structured $\text{GdVO}_4\text{:Dy}^{3+}$ nanospheres as anticancer drug carrier and MRI contrast agent // X. Kang, D. Yang, P. Ma [et al.] // *Langmuir*. – 2013. – Vol. 29, № 4. – P. 1286–1294.
154. ГОСТ 8.135–74. Государственная система обеспечения единства измерений. pH-метрия. Стандарт-титры для приготовления образцовых буферных растворов 2-го разряда. Технические условия. – Взамен ГОСТ 10171-62; введ. 1.07.1976. – М.:Гос. комитет стандартов совета министров СССР, 1974. – 8 с.
155. Клочков В.К. Водные коллоидные растворы нанолюминофоров $\text{nReVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ (Re = Y, Gd, La) / В.К. Клочков // *Наноструктурное материаловедение*. – 2009. – № 2. – С. 3–8.
156. Wet-chemical synthesis and characterization of luminescent colloidal nanoparticles: $\text{ReVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ (Re=La, Gd, Y) with rod-like and spindle-like shape / V.K. Klochkov, A.I. Malysenko, O.O. Sedyh, Yu.V. Malyukin // *Functional materials*. – 2011. – №1. – P.111–115.
157. Воскресенский П.И. Техника лабораторных работ / П.И. Воскресенский. – М.: Химия, 1973. – 717 с.
158. Mchedlov–Petrosyan N.O. Colloidal dispersions of fullerene C_{60} in water: some properties and regularities of coagulation by electrolytes / N.O. Mchedlov–Petrosyan, V.K. Klochkov, G.V. Andrievsky // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1997. – Vol. 93. – P. 4343–4346.
159. Шевченко В. Я. Об истинной и кажущейся плотности наночастиц / В. Я. Шевченко, М. И. Самойлович, А. Е. Мадисон // *Физика и химия стекла*. – 2005. – Vol. 31, №2. – С. 356–359.

160. Bogush G.H. Preparation of monodisperse silica particles: control of size and mass fraction / G.H. Bogush, M.A. Tracy. // J. Non-Cryst. Solids. – 1988. – Vol. 104. – P. 95–106.
161. Morphological control and luminescence properties of lanthanide orthovanadate LnVO_4 (Ln= La to Lu) nano-/microcrystals via hydrothermal process / Z.H. Xu, C.X. Li, Z.Y. Hou [et al.] // Cryst.Eng-Comm. – 2011. – Vol. 13. – P. 474–482.
162. Luminescence functionalization of SBA-15 by $\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ as a novel drug delivery system / P. Yang, S. Huang, D. Kong [et al.] // Inorg. Chem. – 2007. – Vol. 46. – P. 3203–3211.
163. Synthesis and characterisation of bismuth(III) vanadate / M. Gotić, S. Musić, M. Ivanda [et al.] // J. Mol. Struct. – 2005. – Vol. 744. – P. 535–540.
164. Structural properties of lead vanadate glasses containing La^{3+} or Fe^{3+} ions / S. Musić, M. Gotić, S. Popović [et al.] // J. Mater. Sci. – 1994. – Vol. 29. – P. 1227
165. Tunable physical properties of CaWO_4 nanocrystals via particle size control Y. Su, G. Li, Y. Xue, L. Li // J. Phys. Chem. C. – 2007. – Vol. 111. – P. 6684–6689.
166. Накамото К. ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений / Накамото К. – М.:Мир. – 1991. – 536 с.
167. Борен К. Поглощение и рассеяние света малыми частицами / К. Борен, Д. Хафмен– М.: Мир, 1986. –664 с.
168. Характеристики зольей $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (Re = La, Gd, Y, Sm) с наночастицами разной формы и размеров / В.К. Клочков, А.В. Григорова, О.О. Седых, Ю.В. Малюкин // Журн. приклад. спектроскопии. – 2012. – Т. 79, №5. – С. 738–742.
169. Inokuti M. Influence of energy transfer by the exchange mechanism on donor luminescence / M. Inokuti, F. Hirayama // J. Chem. Phys. – 1965. – Vol. 43, № 6. – P. 1978–1989.

170. Size and shape influence of luminescent orthovanadate nanoparticles on their accumulation in nuclear compartments of rat hepatocytes / V. Klochkov, N. Kavok, G. Grygorova, O. Sedyh, Yu. Malyukin // Mater. Sci. Eng. C. – 2013. – V. 33. – P. 2708–2012.
171. Aggregative stability of colloidal $\text{ReVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ (Re = La, Gd, Y) nanoparticles with different particle sizes / G. Grygorova, V. Klochkov, O. Sedyh, Yu. Malyukin // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. – 2014. – Vol. 457. – P. 495–501.
172. Ефремов И.Ф. Периодические коллоидные структуры / Ефремов И.Ф. – Л.: Химия, 1971. – 192 с.
173. Коагуляция коллоидных растворов люминесцентных стержнеподобных наночастиц $\text{nLaVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ / А.В. Григорова, В.К. Клочков, О.О. Седых, Ю.В. Малюкин // Химия, физика и технология поверхности. – 2013. – Т. 4, № 2. – С. 202–210.
174. The influence of agglomeration of nanoparticles on their superoxide dismutase-mimetic activity / V.K. Klochkov, A.V. Grigorova, O.O. Sedyh, Y.V. Malyukin, // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. – 2012. – Vol. 409. – P. 176–182.
175. Waychunas G.A. Structure, aggregation and characterization of nanoparticles / G.A. Waychunas // Rev. Mineral. Geochem. – 2001. – Vol. 44. – P. 105–166.
176. Waychunas G.A. Nanoparticulate iron oxide minerals in soils and sediments: unique properties and contaminant scavenging mechanisms / G.A. Waychunas, C.S. Kim, J.F. Banfield // J. Nanopart. Res. 2005. – Vol. 7. – P. 409–433.
177. Абрамзон А.А. Поверхностно-активные вещества / А.А. Абрамзон, В.В. Бочаров, Г.И. Гаевой. – Л.: Химия, 1979. – 376 с.
178. Капиллярная химия / А. Китахара, С. Косеки, Р. Мамамуси [и др.] // под ред. К. Тамару. Пер. с яп. – М.: Мир, 1983. – 272 с.

179. Адамсон А. Физическая химия поверхности / А. Адамсон – М.: Мир, 1979. – 568 с.
180. Агрегация метиленового голубого и нильского голубого в присутствии наночастиц ReEuVO_4 (Re = Gd, Y, La) с различным форм-фактором / В.К. Клочков, А.В. Григорова, О.О. Седых, С.Л. Ефимова // Вопросы химии и химической технологии. – 2014. – № 1. – С. 102–109.
181. Effects of orthovanadate-based nanoparticles of various sizes on the aggregation behavior of polymethine dyes in aqueous solutions / G. Grygorova, V. Klochkov, S. Yefimova, Yu. Malyukin // Chemical Physics Letters. – 2015. – Vol. 621. – P. 46–51.
182. Эффект специфического взаимодействия нанокристаллов $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ с ядрами клеток / В.К. Клочков, Н.С. Кавок, Ю.В. Малюкин, В.П. Семиноженко // Доп. НАН України. – 2010. – № 10. – С. 81–86.
183. Effects of cell culture media on the dynamic formation of protein–nanoparticle complexes and influence on the cellular response / G. Maiorano, S. Sabella, B. Sorce // ACS Nano. – 2010. – Vol. 4, № 12. – P. 7481–7491.
184. Physicochemical characterization of engineered nanoparticles under physiological conditions: effect of culture media components and particle surface coating / J. Fattison, I.R. Quevedo, K.J. Wilkinson, N. Tufenkji // Colloids Surf. B. – 2012. – Vol. 91. – P. 198–204.
185. Agglomeration and sedimentation of TiO_2 nanoparticles in cell culture medium / Z.E. Allouni, M.R. Cimpan, P.J. Hol [et al.] // Colloids Surf. B. – 2009. – Vol. 68. – P. 83–87.
186. The effects of aggregation and protein corona on the cellular internalization of iron oxide nanoparticles / M. Safi, J. Courtois, M. Seigneuret [et al.] // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32. – P. 9353–9363.
187. Ищенко А.А. Строение и спектрально-люминисцентные свойства полиметиновых красителей / А.А. Ищенко. – К.: Наукова думка, 1991. – 232 с.

188. Sheppard S.E. The effects of environment and aggregation on the absorption spectra of dyes / S.E. Sheppard // *Rev. Modern Phys.* – 1942. – Vol. 14. – P. 303–340.
189. Теренин А.Н. Фотоника молекул красителя / А.Н. Теренин. – Л.:Наука, 1967. – 616 с.
190. Кесслер Ю.М. Сольвофобные эффекты. Теория, эксперимент, практика / Ю.М. Кесслер, А.Л. Зайцев. – Л.:Химия, 1989. – 312 с.
191. Южаков В.И. Агрегация молекул красителей и ее влияние на спектрально-люминесцентные свойства растворов / В.И. Южаков // *Успехи химии.* – 1992. – Т. 61. – С. 1114–1141.
192. Khouri S.J. UV/Vis spectral study of the self-aggregation of pinacyanol chloride in ethanol–water solutions / S.J. Khouri, V. Buss // *J. Solut. Chem.* – 2010. – Vol. 39, № 1. – P. 121–130.
193. Khouri S. Circular dichroism and derivative spectra study of the excitonic aggregation of pinacyanol by aerosol-OT / S.J. Khouri, V. Buss // *Open J. Phys. Chem.* – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 34–40.
194. Sorokin A.V. Control of optical properties of polymethine dye J-aggregates using different additives / A.V. Sorokin // *J Appl. Spectrosc.* – 2009. – Vol. 76, № 2. – P. 234–239.
195. Tatikolov A.S. Polymethine dyes as spectral-fluorescent probes for biomacromolecules / A.S. Tatikolov // *J. Photochem. Photobiol. C.* – 2012. – Vol. 13, № 1. – P. 55–90.
196. West W. The dimeric state of cyanine dyes / W. West, S. Pearce // *J. Phys. Chem.* – 1965. – Vol. 69, № 6. – P. 1894–1903.
197. Ионная ассоциация катиона пинацианола в водных растворах в присутствии анионных поверхностно-активных веществ / С.А. Шаповалов, М.А. Добриян, Т.В. Сахно, Я.С. Киселева // *Укр. Хим. Журн.* – 2008. – Т. 74, № 4. – С. 71–76.

198. Kasha M. The exciton model in molecular spectroscopy / M. Kasha, H.R. Rawls, M. Ashraf El-Bayoumi // *Pure Appl. Chem.* – 1965. – Vol. 11, № 3–4. – P. 371–392.
199. Kasha M. Spectroscopy of the excited state / M. Kasha, [Ed. by B. Di Bartolo]. – *PremiumPress*: New York, 1976. – 337 p.
200. McRae E.G. Enhancement of phosphorescence ability upon aggregation of dye molecules / E.G. McRae // *J. Chem. Phys.* – 1958. – Vol. 28. – P. 721–722.
201. Specificity of cyanine dye L-21 aggregation in solutions with nucleic acids / G.Y. Guralchuk, A.V. Sorokin, I.K. Katrunov [et al.] // *J. Fluoresc.* – 2007. Vol. 17. – P. 370–376.
202. Davydov A.S. Theory of molecular excitons / A.S. Davydov. – *McGraw-Hill*: New York, 1962. – 174 p.
203. Ferrer M.L. Rhodamine 19 Fluorescent dimers resulting from dye aggregation on the porous surface of sol–gel silica glasses / M.L. Ferrer, F. del Monte, D. Levy // *Langmuir*. – 2003. Vol. 19. – P. 2782–2786.
204. Effects of surfactants on the molecular aggregation of rodamine dyes in aqueous solution / H. Tajalli, A.Ghanadzadeh Gilani, M.S. Zakerhamidi [et al.] // *Spectrochem. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectroscopy*. – 2009. – Vol. 72, № 4. – P. 697–702.
205. J-Aggregates / [Ed. by T. Kobayashi]. – Singapore, New Jersey, London, Hong Kong: *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd*, 1996. – 596 p.
206. Shrivastava R., Jain B., Das K. Spectroscopic investigations on the binding of methylene blue and nile blue to negatively charged gold nanorods // *J. Mol. Struc.* – 2012. – Vol. 1020. – P. 56–62.
207. Czýmerova A. The aggregation of thionine and methylene blue dye in smectite dispersion / A. Czýmerova, J. Bujdak, A. Gaplovsky // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. – 2004. – Vol. 243. – P. 89–96.

208. Jockusch S. Aggregation of methylene blue adsorbed on starburst dendrimers / S. Jockusch, N.J. Turro // *Macromolecules*. – 1995. – Vol. 28. – P. 7416–7418.
209. Fetterolf M.L. Adsorption of methylene blue and acid blue 40 on titania from aqueous solution / M.L. Fetterolf, H.V. Patel, J.M. Jennings // *J. Chem. Eng. Data*. – 2003. – Vol. 48. – P. 831–835.
210. Cenens J. Visible spectroscopy of methylene blue on hectorite, laponite B, and barasym in aqueous suspension / J. Cenens, R. A. Schoonheydt // *Clays and Clay Minerals*. – 1988. – Vol. 36. – P. 214–224.
211. Betscheider D. Nile blue A for staining Escherichia coli in flow cytometer experiments / D. Betscheider, J. Jose // *Anal. Biochem.* – 2009. – Vol. 384. – P. 194–196.
212. Nasr C. Excited-state behavior of nile blue H-aggregates bound to SiO₂ and SnO₂ colloids / C. Nasr, S. Hotchandani // *Chem. Mater.* – 2000. – Vol. 12. – P. 1529–1535.
213. Characterization of the size, shape, and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies / K.W. Powers, M. Palazuelos, B.M. Moudgil [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2007. – Vol. 1, № 1. – P. 42–51.
214. Optimized dispersion of nanoparticles for biological in vitro and in vivo studies / P. Bihari, M. Vippola, S. Schultes [et al.] // *Part. Fibre. Toxicol.* – 2008. – Vol. 6. – P. 5–14.
215. Ivanov V.K. Structure-sensitive properties and biomedical applications of nanodispersed cerium dioxide / V.K. Ivanov, A.B. Shcherbakov, A.V. Usatenko // *Russ. Chem. Rev.* – 2009. – Vol. 78, № 9. – P. 855–871.
216. Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective / D. Schubert, R. Dargusch, J. Raitano [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 342. – P. 86–91.
217. Vacancy Engineered ceria nanostructures for protection from radiation-induced cellular damage / R.W. Tarnuzzer, J. Colon, S. Patil [et al.] // *Nano Lett.* – 2005. – Vol. 5. – P. 2573–2577.