

Сорбционные и биоцидные свойства композита на основе глауконита Саратовской области и наномеди

© Солдатенко Елена Михайловна, Доронин⁺ Сергей Юрьевич,
Чернова Римма Кузьминична, Вениг* Сергей Борисович,
Сержантов Виктор Геннадьевич, Шаповал Ольга Георгиевна
и Захаревич Андрей Михайлович

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского. Ул. Астраханская, 18/3.
г. Саратов, 410012. Россия. Тел.: (8452) 26-45-53. E-mail: Doroninsu@mail.ru

*Ведущий направление; ⁺Поддерживающий переписку

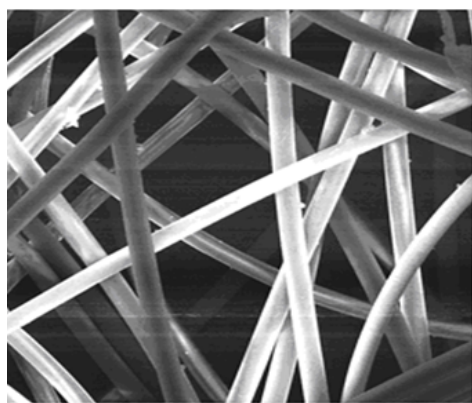
Ключевые слова: неорганические сорбенты, глауконит, наномедь, сорбция, композиты.

Аннотация

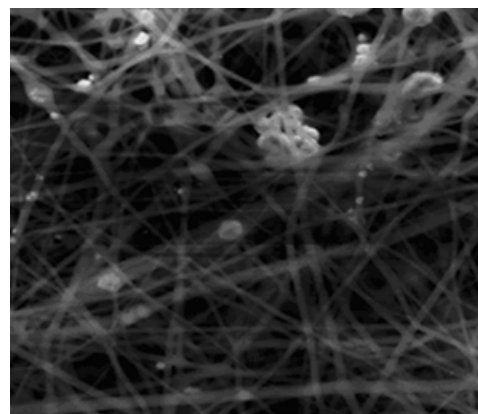
Синтезирован глауконитовый композит с наночастицами меди восстановлением *in situ* медно-аммиачного комплексного иона и охарактеризован различными аналитическими методами. Наночастицы меди интеркалированы в глауконит и адсорбированы на её поверхности. Изучены сорбционные свойства глауконита и композита на его основе по отношению к ионам железа(III), построены изотермы сорбции. Наблюдалась высокая антимикробная активность композита по отношению к штаммам *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Композит на основе глауконита и наночастиц меди перспективен для приложений в медицинской практике.

Введение

В настоящее время актуален поиск новых препаратов, обладающих бактерицидными свойствами и альтернативных антибиотикам. Так, например, давно известны антимикробные свойства серебра, которые широко используются для борьбы с микроорганизмами. Менее выраженными бактерицидными свойствами, по сравнению с серебром, обладают соединения меди [1]. В работе [2] было показано, что уменьшение размеров частиц меди в интервале 5-100 нм усиливают ее биологическую активность. Наноразмерные частицы металлов (меди) могут быть получены как физическими, так и химическими методами [3]. Выявлено, что частицы меди указанного размера могут быть получены с разными восстановителями (боргидрид, гидразин, гипохлорит и так далее) независимо от природы исходной соли (нитрат, сульфат, хлорид, ацетат) в водных, органических средах, системах вода-масло-полимер, вода-масло ПАВ и другие.



а)



б)

Рис. 1. Микрофотографии нетканого материала из поливинилового спирта (а) и с наночастицами меди (б). Электронный микроскоп MIRA 2 LMU (Tescan s.r.o., Чехия)

Синтез стабильных монодисперсных форм наночастиц меди затруднен из-за склонности меди окисляться и агрегировать. Решение этих проблем осуществляют применением пространственно-ограниченных систем. В качестве нанореакторов используют обращенные мицеллы, жидкие кристаллы, алюмосиликаты, пленки Лэнгмюра-Блоджетт, микроэмульсии и другие [3]. Так, ранее [2] нами были получены стабильные наночастицы меди (50-200 нм) в матрице их нетканого материала на основе поливинилового спирта с массовой долей наномеди 4.5-13%. (рис. 1).

Представляет интерес изучение возможности получения стабильных наночастиц меди, синтезированных «*in situ*» на основе природных алюмосиликатов. Так в работе [4, 5] рассматривается возможность интеркаляции наночастиц меди в монтмориллонит. Известно, что природные минералы подобного типа (глины) используются для лечения хронических заболеваний опорно-двигательного аппарата (моно- и полиартриты, болезни позвоночника и так далее), периферической и центральной нервной системы (полиневриты, плекситы и так далее), периферических кровеносных сосудов (эндартерииты склеротической, спастической и смешанной формы, варикозное расширение вен нижних конечностей и так далее), пищеварительных органов (язва, холецистит, холангит, ангиохолит и так далее), заболевания и нарушения обмена веществ (подагра, мочекишный диатез, ожирение и так далее), кожных покровов (псориаз, экземы, дерматозы и так далее) и другие [6]. Усиление бактерицидных свойств таких минералов с помощью интеркалирования наночастиц представляет определенный интерес. В связи с этим нами была исследована возможность получения и стабилизации наночастиц меди в матрице природного минерала – глауконита Белоозерского месторождения Саратовской области. Глауконит относится к слоистым гидрослюдам, имеет непостоянный и сложный состав $(K, H_2O)(Fe^{3+}, Al, Fe^{2+}, Mg)_2 [Si_3AlO_{10}](OH)_2 \times nH_2O$.

Ранее [7] нами исследован элементный, гранулометрический, морфологический состав указанного глауконита. Объектами исследования являлись: глауконит-руда, обогащенный глауконит, а также его модификации – мелкодисперсные фракции (5 мкм и 60 мкм), гранулят.

Были изучены их сорбционные, физико-химические свойства, выявлена также их экологическая безопасность. Проведенные исследования показали целесообразность применения глауконита и его модификаций для очистки вод, ремедиации почв, компонентов премиксов для животных, а также в медицинских целях.

При получении нанокомпозита из глауконита в качестве восстановителя применяли гидразин. Он, в отличие от других восстановителей, например боргидрида, в ходе реакции в качестве побочных продуктов, образует только газообразный азот, в результате чего, при получении наномеди образуется меньше примесей. Гидразин обладает большей восстановительной способностью в щелочных средах, однако, медь при этом образует трудно растворимые гидроксиды, что снижает ее реакционную способность [3]. Эта проблема решается введением в реакционную систему соответствующих лигандов-комплексобразователей, например аммиака, который и применяли в настоящей работе.

Экспериментальная часть

Синтез и свойства композита на основе глауконита-руды и наночастиц меди

Приготовление аммиаката меди(II). Для приготовления 0.1 М раствора аммиаката меди навеску $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (ч.д.а., ГОСТ 4167-74) массой 4.275 г растворяли в 200 мл бидистиллированной воды и добавляли сначала 9 мл, а затем по каплям концентрированного (25%) раствора аммиака до растворения первоначального выпадавшего осадка гидроксида меди и перехода окраски раствора из голубой в ярко синюю. Затем общий объем доводили до 250 мл бидистиллированной водой. Потенциометрически измеряли pH раствора ($pH \approx 10.3$).

Приготовление комплекса $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ -глауконит. В коническую колбу вместимостью 100 мл помещали навеску глауконита массой 10 г и 50 мл 0.1 М раствора $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ и проводили сорбцию аммиаката меди в течение 6 часов в статическом режиме при постоянном перемешивании на шейкере. Затем раствор фильтровали через складчатый фильтр, отделяли глауконитовый композит от маточного раствора и промывали осадок три раза этанолом (порциями по 10 мл) для удаления избытка аммиаката меди. Последующее высушивание проводили в течение 1 часа (сушильный шкаф,

СОРБЦИОННЫЕ И БИОЦИДНЫЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИТА НА ОСНОВЕ ГЛАУКОНИТА... 1-6
 $T = 105\text{ }^{\circ}\text{C}$). Для расчета массы сорбированной на глауконите меди йодометрически определяли ее концентрацию в фильтрате.

Приготовление глауконитового композита, содержащего наночастицы меди (Г-Сu). Высушенный глауконит с сорбированным аммиакатом меди(II) предварительно взвешивали, затем суспендировали в 50 мл аммиачной воды и проводили восстановление в течение 2 часов 10-кратным избытком гидразингидрата с учетом массы сорбированной меди, рассчитанной по результатам йодометрического титрования. Осадок отфильтровывали, промывали (три раза по 10 мл) этанолом и высушивали в эксикаторе над безводным хлоридом кальция в течение суток. Синтез порошка Г-Сu может быть представлен схемой, приведенной на рис. 2.

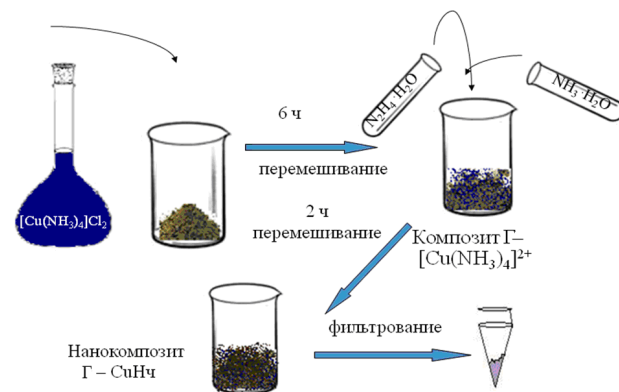


Рис. 2. Схема синтеза порошка Сu – глауконит

Результаты и их обсуждение

Формирование наночастиц меди в системе $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2 - \text{N}_2\text{H}_4$ было доказано полученной зависимостью времени от оптической плотности поглощения – светорассеяния при $\lambda_{\text{макс}} = 590\text{ нм}$, характерной для наночастиц меди [3], (рис. 3).

Электронная микрофотография глауконита, полученная на сканирующем электронном микроскопе *MIRA 2 LMU*, оснащенного системой энергодисперсионного микроанализа *INCA Energy 350* (рис. 4а), показывает типичную слоистую структуру с многочисленными наноразмерными чешуйками частиц с листовидной морфологией. Средняя толщина чешуйки составила 10-50 нм.

В композите слоистая структура сохраняется. Полученные данные согласуются с результатами работ [4, 5], в которых описано образование не только, как в данном случае, частиц меди на поверхности глауконита, но и методом просвечивающей электронной микроскопии установлено наличие во внутренней структуре глауконита еще более мелких наночастиц меди.

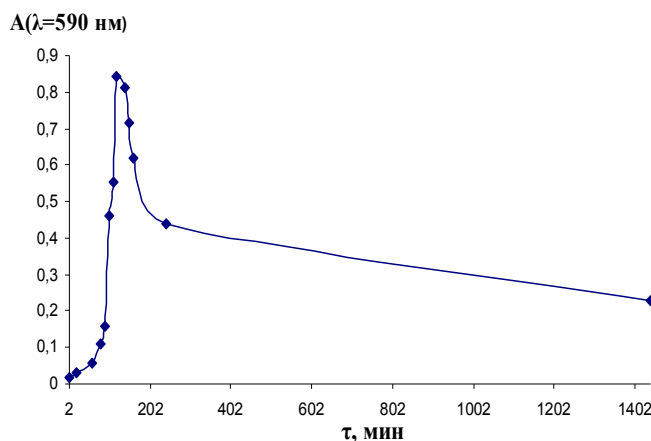


Рис. 3. Зависимость оптической плотности (при 590 нм) от времени после добавления в систему $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

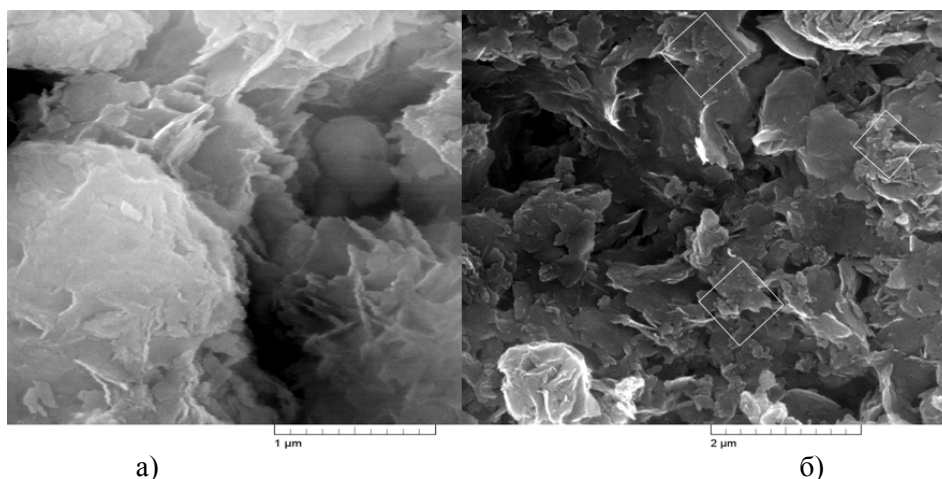


Рис. 4. Электронная микрофотография глауконита-руды (а), и композита Г-Сu (б)

Табл. 1. Элементный состав (%) глауконита и его композита с наномедью

Образец	C, % % масс.	O, % % масс.	Mg, % % масс.	Al, % % масс.	Si, % % масс.	K, % % масс.	Ca, % % масс.	Fe, % % масс.	Cu, % % масс.
Глауконит	16.8	46.9	0.63	2.47	21.7	1.31	4.93	5.32	-
Г-Сu	11.6	43.0	0.93	2.45	20.3	2.75	6.24	11.0	1.35

Элементный состав глауконита и его композита с медью (Г-Сu) был определен также методом сканирующей электронной микроскопии. Кроме макроэлементов, свойственных глаукониту (Al, Si, O, Fe и K), в композите найдена медь, среднее содержание которой составило 1.35% (табл. 1).

1. Оценка антибактериальной активности

Для изучения влияния образцов композита Г-Сu на динамику развития популяции стандартного штамма *Staphylococcus aureus* 209P применяли метод культивирования в мясопептонном бульоне с оценкой изменения количества клеток через 3 и 8 часов после посева (рис. 5). С этой целью к навеске каждого образца (1.2 и 0.6 г), помещенного в широкодонную колбу, добавляли 20 мл мясопептонного бульона (МПБ), затем осуществляли посев 1 мл (5×10^3 КОЕ) суспензии испытуемого штамма в физиологическом растворе, приготовленной по стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича и разведенной до указанной концентрации. Таким образом, микробная нагрузка составила 250 КОЕ/мл.

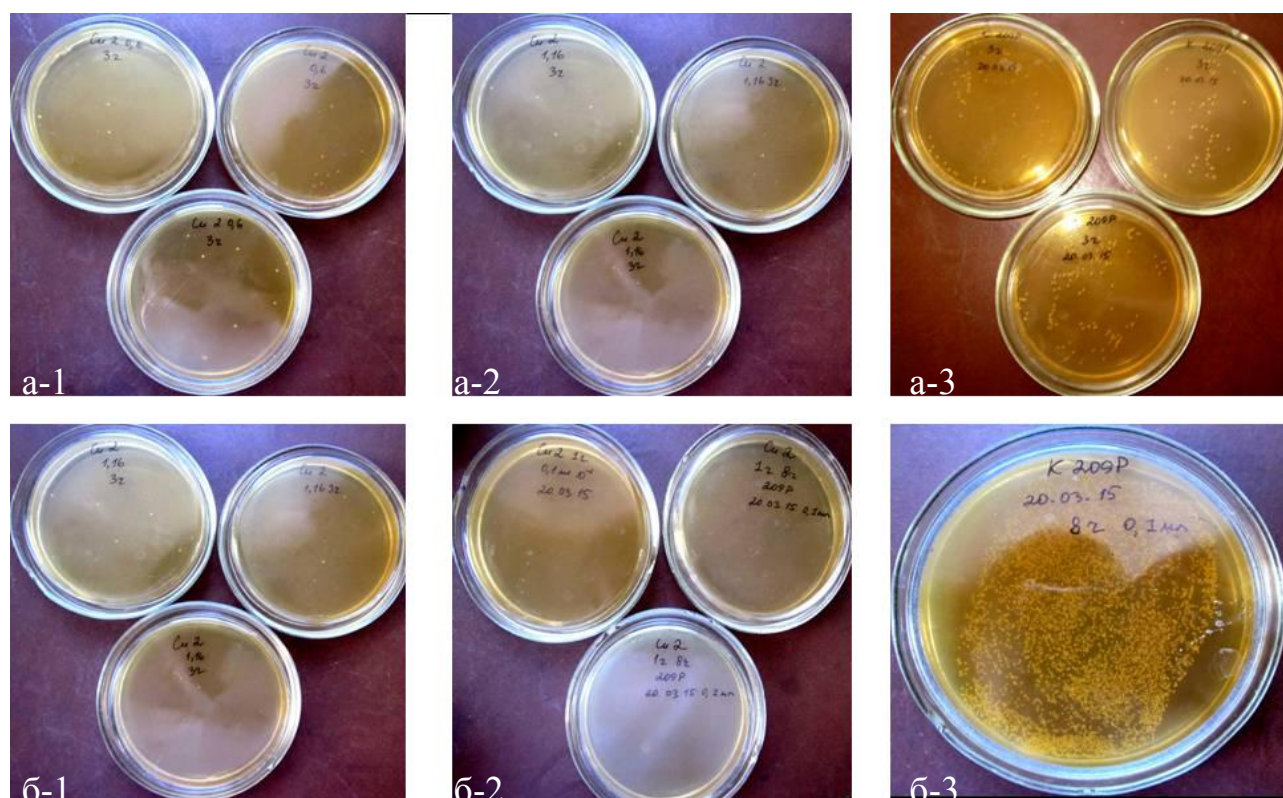


Рис. 5. Характер изменений в колониях *S. aureus* 209P при оценке биоцидных свойств Г-Сu: а) через 3 часа культивирования; б) через 8 часов культивирования (1 – МПБ, содержащий Г-Сu массой 0.6 г; 2 – МПБ, содержащий Г-Сu массой 1.2 г; 3 – контрольный вариант).

В качестве контроля применяли посеы в МПБ без композита. Посевы инкубировали при $T = 37^\circ\text{C}$ в течение 8 часов, охватывающих фазу покоя (первые 2-3 часа после посева) и первую треть логарифмической фазы роста микроорганизмов (наступающую на 5-6 часу культивирования). Через 3 часа после посева осуществляли мерный высев (0.1 мл) на мясопептонный агар содержимого колб без титрования, через 8 часов – с предварительной подтитровкой (разведением в 10 раз) и без нее.

По количеству выросших колоний и с учетом разведения рассчитывали количество клеток в 1 мл питательной среды. Дополнительно сразу после посева перед началом инкубации из каждой колбы осуществляли контрольный высев (0.1 мл) для проверки микробной нагрузки. При статистической обработке результатов рассчитывали среднее арифметическое значение и среднее квадратичное отклонение ($X \pm \delta$), а также достоверность различий между найденными в опыте средними.

Установлено, что в фазе покоя (3 часа культивирования) количество клеток в контроле (МПБ без образцов) составило 760 ± 260 КОЕ/мл. При содержании 1.2 г образца Г-Су 46 ± 9 КОЕ/мл, при 0.6 г – 66 ± 8 КОЕ/мл.

В логарифмическую фазу (8 часов культивирования) количество клеток в контроле составило 35000 ± 2450 КОЕ/мл, в то время как в опытных образцах, содержащих композит Г-Су видимый рост колоний на МПБ отсутствовал вовсе. Таким образом, полученный композит Г-Су в указанных концентрациях оказывает выраженное ингибирующее влияние на динамику развития штамма *Staphylococcus aureus* 209Р, как в конце фазы покоя, так и в логарифмическую фазу.

2. Исследование сорбции ионов железа(III) на глауконите-руде и композите с наночастицами меди

Для получения сведений о сорбционных свойствах глауконита и композита на его основе, модифицированного наночастицами меди, построены изотермы сорбции ионов железа с применением метода переменных концентраций. Разбавлением из раствора хлорида железа (III) были приготовлены модельные растворы с различной концентрацией катионов Fe^{3+} в интервале от 20 до 200 мг/л. Сорбцию проводили в статических условиях при соотношении Т/Ж = 0.25/50 г/мл в течение 1 часа, были получены зависимости равновесного содержания ионов железа в сорбенте, то есть величины сорбции, от равновесной концентрации их в растворе. Концентрацию железа(III) устанавливали фотометрически на спектрофотометре Shimadzu UV-1800. Данные по сорбционным показателям образцов глауконита в отношении железа(III) представлены в табл. 2 и на рис. 5.

В диапазоне выбранных концентраций с учетом pH в растворах будут преобладать процессы, приводящие к формированию частиц $Fe_2(OH)_2^{4+}$; $Fe_2(OH)_3^{3+}$; $Fe(OH)_2^+$ и $Fe(OH)_3$.

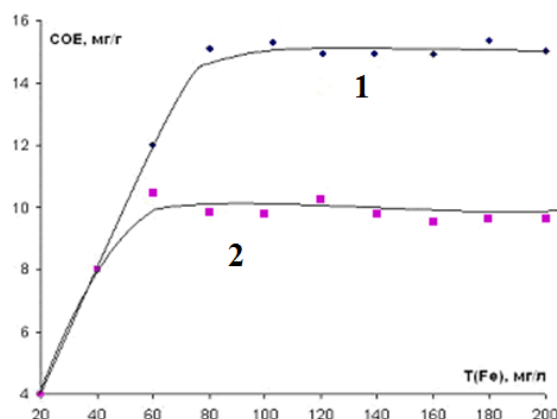


Рис. 6. Зависимости сорбции железа (III) (мг/г) от его концентрации (мг/л) на: 1 – глауконит-руде; 2 – композите Г-Су

Табл. 2. Сорбция солей железа(III) на 0.25 г глауконите-руде и композите глауконита с наномедью

Т _{исх} (Fe ³⁺), мг/л	m _{исх} (Fe ³⁺), мг/50мл	pH _{исх}	Т _{ост} (Fe ³⁺), мг/л		m _{ост} (Fe ³⁺), мг/50 мл		pH _{ост}		COE, мг/г	
			Глауконит	Г-Су	Глауконит	Г-Су	Глауконит	Г-Су	Глауконит	Г-Су
20.0	1.00	2.30	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01	7.45	7.30	4.00	4.00
40.0	2.00	2.20	<0.10	<0.10	<0.01	<0.01	7.20	6.65	8.00	8.00
60.0	3.00	2.10	<0.10	7.59	<0.01	0.38	6.75	4.75	12.0	10.5
80.0	4.00	1.90	4.60	31.0	0.23	1.55	4.20	2.90	15.1	9.80
100	5.00	1.80	20.7	55.4	1.04	2.77	3.00	2.65	15.8	8.90
120	6.00	1.75	50.6	68.6	2.53	3.43	2.35	2.50	13.9	10.3
140	7.00	1.70	66.6	93.3	3.33	4.66	2.25	2.50	14.7	9.40
160	8.00	1.65	85.4	114	4.27	5.71	2.00	2.05	14.9	9.18
180	9.00	1.65	103	134	5.16	6.71	1.80	1.85	15.4	9.17
200	10.0	1.55	125	152	6.24	7.59	1.85	2.00	15.0	9.65

Причем, в интервале от 20 до 80 мг/л гидролиз будет протекать в направлении образования преимущественно мономерных гидроксокомплексов, а при концентрации выше 80 мг/л, в растворах будут протекать процессы полимеризации гидроксокомплексов [8].

Из данных рис. 6 видно, что зависимость имеет вид изотермы Лэнгмюра и на начальных участках величина сорбируемости практически пропорциональна концентрации ионов в растворе ($T(Fe^{3+}) = 20-60$ мг/л). При более высоких концентрациях ионов железа(III) в растворе изотермы сорбции постепенно выходят на насыщение.

Полученные изотермы характерны для сорбента со смешанной структурой. Глауконит можно отнести к сорбентам с мезопористой поверхностью [9]. Для глауконита-руды значения СОЕ находятся в пределах (14 ± 1.5) мг/г, а для композита Г-Сu – (9 ± 1.5) мг/г, что свидетельствует о некотором понижении сорбционной способности композита с наномедью по отношению к ионам трехвалентного железа.

Выводы

1. Проведен синтез наночастиц меди в смеси с глауконитовой матрицей восстановлением *in situ* медно-аммиачного комплексного иона гидразин гидратом.
2. Методом сканирующей электронной микроскопии исследована поверхность глауконита и его композита с наночастицами меди, установлено наличие чешуйчатой структуры на поверхности минерала в обоих случаях и присутствие наночастиц меди в чешуйках композита.
3. Исследована сорбционная способность глауконита и его композита с наномедью; показано небольшое понижение сорбционной способности композита по отношению к ионам железа(III).
4. Показана высокая биоцидная активность композита с наномедью по отношению к бактериям вида *Staphylococcus aureus*.

Литература

- [1] Егорова Е.М., Ревина А.А., Ростовщикова Т.Н., Киселева О.И. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах. *Вестник МГУ. Серия 2. Химия*. **2001**. Т.42. №5. С.332-338.
- [2] Солдатенко Е.М., Доронин С.Ю., Чернова Р.К., Сальковский Ю.Е., Бокова Д.А. Получение медьсодержащих биоцидных нетканых материалов на основе поливинилового спирта. Химия биологически активных веществ: Межвуз. сборник научных трудов. *Саратов: Изд-во «КУБиК»*. **2012**. С.365-366.
- [3] Солдатенко Е. М., Доронин С.Ю., Чернова Р.К. Химические способы получения наночастиц меди. *Бутлеровские сообщения*. **2014**. Т.37. №2. С.103-113.
- [4] B. Biswajoy, K. Subrata, K.D. Sumit et al. In situ synthesis and antibacterial activity of copper nanoparticle loaded natural montmorillonite clay based on contact inhibition and ion release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **2013**. Т.108. С.358-365.
- [5] B. Bagchi, S. Kar, S.K. Dey, S. Bhandary, D. Roy, T.K. Mukhopadhyay, S. Das, P. Nandy. In situ synthesis and antibacterial activity of copper nanoparticle loaded natural montmorillonite clay based on contact inhibition and ion release. *Colloids Surf B Biointerfaces*. **2013**. Vol.108. P.358-365.
- [6] Буханов В.Д., Везенцев А.И., Пономарева Н.Ф. Антибактериальные свойства монтмориллонит содержащих сорбентов. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки*. **2011**. Т.17. №21. С.57-63.
- [7] Вениг С.Б., Сержантов В.Г., Чернова Р.К., Доронин С.Ю., Селифонова Е.И., Захаревич А.М., Солдатенко Е.М. Глауконит Саратовской области, свойства, композиты на его основе, области применения. *Бутлеровские сообщения*. **2014**. Т.39. №8. С.17-26.
- [8] Перевощикова Н.Б. Корнев В.И. К вопросу о гидролизе железа(III) в водных растворах. *Вестник Удмуртского университета*. **2006**. №8. С.189-198.
- [9] Сиракян М.А., Вардересян Г.Ц., Котикян С.Ю. Использование глауконита в процессе обезжелезивания подземных вод. *Вестник ГИГА. Серия "Химические и природоохранные технологии"*. **2013**. Вып.16. №1. С.82-89.