

04;12

## Импульсные электрические разряды в воде как средство получения магнитных наночастиц для транспорта микроорганизмов

© Ф.Г. Рутберг,<sup>1</sup> В.А. Коликов,<sup>1</sup> В.Н. Снетов,<sup>1</sup> А.Ю. Стогов,<sup>1</sup>  
Е.Г. Абрамов,<sup>2</sup> Е.В. Богомолова,<sup>2</sup> Л.К. Панина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт электрофизики и электроэнергетики РАН,  
191186 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет,  
199034 Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: kolikov@yandex.ru

(Поступило в Редакцию 28 февраля 2011 г.)

Отличительным свойством магнитных наночастиц, объясняющим возрастающий к ним интерес, является их подвижность под действием магнитного поля, которая может быть использована для их направленного транспорта, осаждения и концентрирования в заданной области. Показано, что наночастицы, состоящие из оксидов железа, могут быть использованы в качестве магнитоактивных агентов для превращения клеток микроорганизмов в микроагрегаты с целью их направленного транспорта или концентрирования в жидких средах под действием магнитного поля.

### Введение

Новые направления в медицине и биотехнологии могут быть реализованы благодаря последним достижениям в области нанотехнологий и биоинжиниринга, в частности за счет сорбции живыми клетками наночастиц [1–3]. Особое место в этом ряду занимают наночастицы, чувствительные как к магнитным, так и электромагнитным полям. В медицинских и биологических исследованиях помимо квантовых точек, используемых для визуализации клеточных и субклеточных объектов, наиболее перспективными с точки зрения многофункциональности и простоты реализации являются магнитные наночастицы. В настоящее время наночастицы из магнетита и магнетита, инкапсулированные в химически инвертную, например, силикатную матрицу, применяются для лечения опухолей гипертермией, т.е. их нагревом вихревыми токами [1,4]. Магнитные наночастицы применяются также в полимерных оболочках с пришитыми или сорбированными химическими агентами. Так, если в качестве агентов использовать специфические антитела, то несущие их магнитные наночастицы играют роль меток и могут быть визуализированы, например, световой или электронной микроскопией [5]. С другой стороны, если в качестве химического агента использовать лекарственный препарат, то гипертермией можно индуцировать его высвобождение из полимера-матрицы в результате фазового перехода. Свойство магнитных наночастиц перемещаться под действием магнитного поля может быть использовано для их направленного транспорта, осаждения и концентрирования в заданной области [6–8].

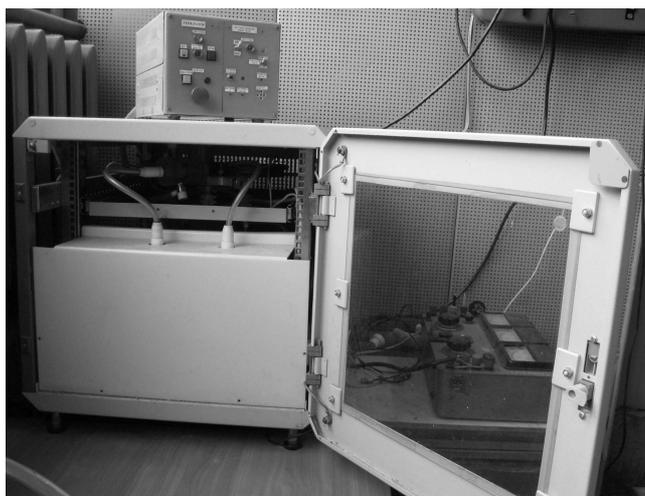
В ИЭЭ РАН на протяжении последних двадцати лет проводятся экспериментальные и теоретические исследования импульсно-периодических электрических разрядов (ИПЭР) в воде и иных жидкостях. Установлено,

что вода, обработанная с помощью ИПЭР, представляет собой дисперсию наноструктур и ионов металла электродов, между которыми существует концентрационное равновесие [9]. Данные дисперсии обладают пролонгированной бактерицидностью, т.е. способностью в течение длительного времени (до года и более) поражать ряд патогенных бактерий, в том числе термотолерантных, а также споры микроскопических оппортунистических грибов (т.е. грибов, которые обычно не вызывают инфекций у здоровых людей, но способны вызывать инфекцию при определенных обстоятельствах, таких как иммунодефицит, рак, трансплантации органов, у пациентов с нейтропенией, сахарным диабетом, и т.д.), которые наиболее устойчивы к негативным воздействиям [10,11]. При этом степень бактерицидности водных дисперсий пропорциональна массовой концентрации наноструктур [12].

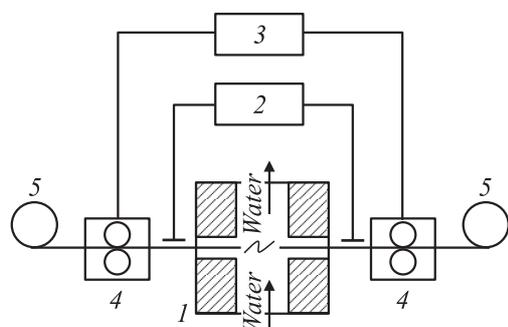
### 1. Средства и методы исследования

В ИЭЭ РАН создан ряд установок для электроразрядной обработки воды, в том числе полупромышленная (рис. 1, 2), работающая от сети переменного тока напряжением 220 V. Потребляемая от сети мощность  $\sim 250$  W, напряжение холостого хода 50 kV, разрядный ток 20 A, длительность импульса 20  $\mu$ s, скорость нарастания тока  $3 \cdot 10^6$  A/s, частота следования импульсов 50 Hz, величина межэлектродного промежутка порядка или менее 10 mm, диаметр электрода  $\sim 1$  mm, производительность 1–10 l/min, габариты 60  $\times$  60  $\times$  80 cm. Установка снабжена автоматической системой подачи электродов, что позволяет осуществлять длительную и непрерывную эксплуатацию в автономном режиме [13].

Для исследования физико-химических свойств наночастиц и их водных дисперсий использовались методы диализа, мембранной фильтрации, эксклюзионной жидкост-



**Рис. 1.** Полупромышленная установка для электроразрядной обработки воды.



**Рис. 2.** Блок-схема установки электроразрядной обработки воды. 1 — разрядная камера, 2 — генератор электрических импульсов, 3 — система контроля и управления, 4 — устройство подачи электродов, 5 — электродный материал.

ной хроматографии, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой цепной полимеразной реакции, электронного микроскопирования, электронного парамагнитного резонанса, спектроскопии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, высокоэффективного капиллярного электрофореза и квазиупругого светорассеяния.

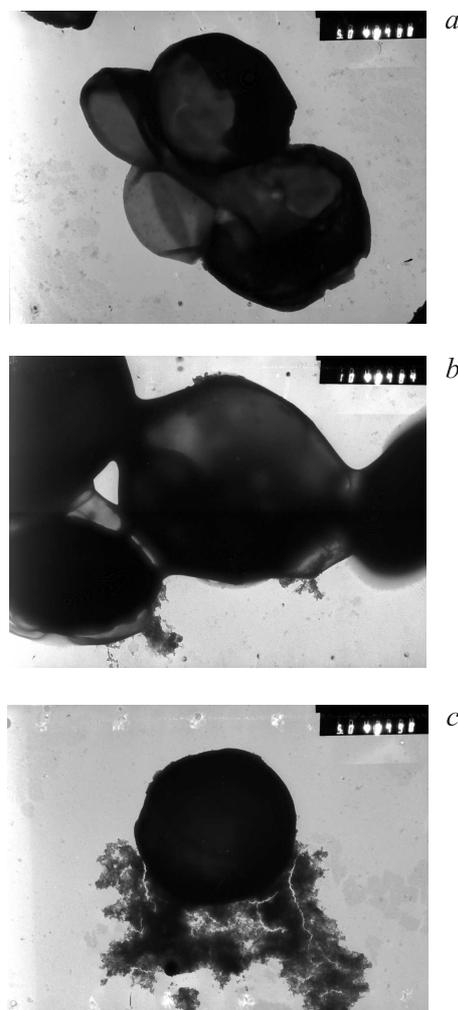
## 2. Результаты и обсуждение

Методами диализа, мембранной фильтрации и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (MS-ICP) было подтверждено, что в результате эрозии электродов в воду поступают свободные ионы и наночастицы металла электродов.

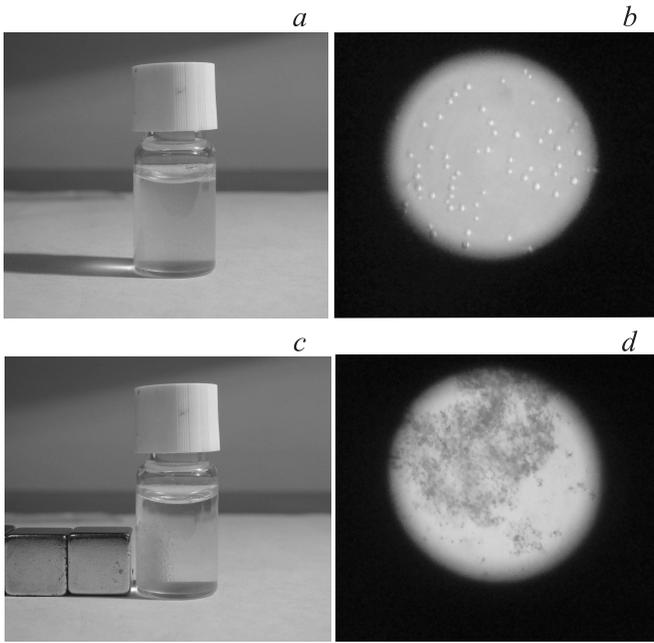
С помощью лазерного корреляционного спектрометра квазиупругого светорассеяния ЛКС-03 были определены размеры и функции распределения наночастиц по размерам. Установлено, что характер распределения наночастиц — полидисперсный, с модой распределения, соответствующей 10 nm. При формировании наночастиц

на их поверхности образуется отрицательный электрический заряд величиной  $\sim 0.012 \text{ C/m}^2$ , который является эффективно действующим фактором как при поражении патогенных микроорганизмов, который нарушает их ионную защиту, так и способствует более эффективному их взаимодействию с биологическими объектами (бактерии, споры, белки и т.д.).

Независимо от способа получения наночастиц необходимо предохранять их от слипания между собой и от воздействия окружающей среды. С этой целью на магнитные наночастицы наносят покрытия из различных материалов, например благородных металлов или кремнезема [8,14]. Однако предпочтительнее использовать полимеры, такие как полиэтиленгликоль, поливинилэтанол, поливинилпирролидон, жирные кислоты и другие, поскольку таким образом можно, во-первых, модифицируя поверхностные химические группы, присоединять различные агенты, а во-вторых, обеспечить им биосовме-



**Рис. 3.** Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с позитивным контрастированием. Увеличение  $\times 50\,000$ . *a* — исходные клетки. *b* — клетки с адсорбированными наночастицами. Начальная стадия агрегации. *c* — клетки с адсорбированными агрегатами из наночастиц. Крупные агрегаты.



**Рис. 4.** Концентрирование клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, модифицированных магнитными наночастицами, под действием магнитного поля с индукцией 1.4Т. *a, b* — макрораспределение и микрофотография клеток дрожжей в момент времени  $T = 0$ ; *c, d* — то же в момент времени  $T = 10$  min, индукция магнитного поля 1.4Т.

стимость [5,15]. Показано, что связывание таких частиц с белками или нуклеотидами стабилизирует последние, предохраняя их от действия протеаз и нуклеаз [16,17].

Нами при проведении исследований неселективного захвата и концентрирования микроорганизмов использовались безоболочечные парамагнитные наночастицы, состоящие из  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  и  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Магнитоактивные наночастицы адсорбировались на поверхности клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, образуя макроагрегаты (рис. 3), и транспортировались вдоль линий магнитного поля в требуемую область (рис. 4).

### 3. Математическое моделирование

При модификации магнитными наночастицами клеток и субклеточных структур, а также при изучении их направленного транспорта в магнитном поле встает ряд вопросов: каким минимальным магнитным моментом должна обладать одна наночастица; какая концентрация магнитных наночастиц на единичную биоструктуру или какой суммарный магнитный момент всей биоструктуры необходим для их перемещения в данном магнитном поле; какова глубина слоя „захвата“ магнитоактивных наночастиц и т. д.

В существующих моделях используется лишь магнитогидродинамическая теория, описывающая поведение проводящих жидкостей и газов [18–20]. В нашем случае необходимо построение модели, описывающей

движение как одиночных магнитных наночастиц, так и молекулярно-клеточных объектов с присоединенными к ним магнитными наночастицами, а также исследование наиболее общих вариантов модели, позволяющих описывать происходящие одновременно процессы седиментации и магнитного улавливания.

Основным предположением при построении модели является сплошность среды, определяемая числом Кнудсена, много меньшим единицы. Для описания поведения водной дисперсии наночастиц под действием магнитного поля требуются следующие уравнения:

- по одному уравнению неразрывности для жидкости и частиц,
- уравнение неразрывности для всей дисперсии,
- уравнение Навье–Стокса для жидкости,
- уравнение движения частиц,
- уравнение диффузионного потока,
- уравнение теплопроводности.

В случае наложения магнитного поля в уравнении Навье–Стокса необходимо учесть объемные массовые силы, действующие на жидкость со стороны частиц и со стороны магнитного поля. При этом необходимо добавить уравнения, описывающие токи проводимости в жидкости и вызываемое ими изменение магнитного поля. В уравнение движения частиц должны входить объемные силы: инерции, присоединенной массы, Бассе–Буссинеска, вязкого трения, выталкивания, тяготения, магнитная [21–26].

Наночастицы меньше 10–20 nm и состоящие из ферромагнитного материала сильно взаимодействуют с магнитным полем подобно парамагнитному иону с необычайно большим спином, не обладая при этом гистерезисом. Изменение температуры вызывает флуктуации направления магнитного момента частицы, что описывается функцией Ланжевена. Намагниченность наночастицы размером больше одного домена, но несущей в себе однодоменные магнитные наночастицы также описывается функцией Ланжевена при условии ее сферической формы и равномерного заполнения ими объема [20,27]. Такие частицы из оксидов железа используются для модификации поверхности клеток и для связи с биомолекулами как специфические магнитные метки и носители для целевой доставки лекарств.

Распределения концентрации частиц соответствуют обычному для систем диффузия–конвекция квазипериодическому решению. Магнитный момент ансамбля таких частиц

$$\mathbf{M} = \frac{4}{3} N_n \pi r_n^3 M_s L \left( \frac{4\pi r_n^3 M_s B}{3kT} \right) \frac{\mathbf{B}}{B}, \quad (1)$$

где  $N_n$  — число наночастиц в ансамбле,  $r_n$  — радиус наночастицы,  $M_s$  — скалярная величина магнитного насыщения материала однодоменной частицы,  $k$  — постоянная Больцмана,  $T$  — абсолютная температура,  $\mathbf{B}$  — магнитное поле,  $B$  — магнитуда напряженности магнитного поля,  $L(\xi) = \text{cth}(\xi) - 1/\xi$  — функция Ланжевена.

В случае, когда вода пресная, магнитное поле можно считать безвихревым. При этом допущении магнитное поле не действует на жидкость, а выражение для его взаимодействия с магнитными частицами принимает вид

$$\mathbf{F}_M = \nabla_B(\mathbf{M} \cdot \mathbf{B}). \quad (2)$$

Диффузионный поток выражаем, опираясь на первый закон Фика и соотношение Эйнштейна–Стокса [12,13]:

$$\mathbf{j} = \frac{kT}{6\pi r \eta} \text{grad } n, \quad (3)$$

где  $n$  — концентрация микрочастиц,  $r$  — радиус частицы,  $\eta$  — коэффициент динамической вязкости чистой жидкости.

Практический интерес представляет модель, описывающая стационарное движение наночастиц в стационарном, безвихревом магнитном поле в неподвижной жидкости при отсутствии градиента температуры. Такую физическую модель можно свести к математическому описанию потока одной лишь фазы частиц, для чего понадобятся два уравнения: неразрывности, включающее диффузионный поток и поток под действием направленных сил; движения частиц под действием сил вязкого трения, выталкивания, тяготения и магнитной.

Уравнением неразрывности в этом случае

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \frac{kT}{6\pi r \eta} \nabla^2 n - n \cdot \text{div } \mathbf{v} - \mathbf{v} \cdot \text{grad } n. \quad (4)$$

Выражение для корректного пересчета плотности „кластера“

$$\rho = \rho_m \left[ 1 + N_n \left( \frac{r_n}{r_m} \right)^3 \left( \frac{\rho_n}{\rho_m} - 1 \right) \right], \quad (5)$$

где  $\rho$  — пересчитанная плотность кластера,  $\rho_m$  — плотность материала кластера,  $r_m$  — радиус кластера,  $\rho_n$  — плотность материала наночастицы,  $r_n$  — радиус наночастицы,  $N_n$  — число наночастиц в одном кластере. В случае, когда рассчитывается поток свободных однодоменных наночастиц, принимаем  $\rho_m = \rho_n$ .

Тогда уравнением движения

$$\mathbf{v} = \frac{2r_m^2}{9\eta} \left( \frac{r_n^3 N_n M_s L(\xi) \text{grad } B}{r_m^3} + \mathbf{g}(\rho - \rho_0) \right) + \mathbf{v}_0, \quad (6)$$

где  $\mathbf{g}$  — ускорение свободного падения,  $\rho_0$  — плотность чистой жидкости,  $\mathbf{v}_0$  — поле скоростей стационарного потока жидкости.

Из уравнений (1)–(6) получаем систему уравнений, описывающую движение наночастиц в водной дисперсии в стационарном, безвихревом магнитном поле в неподвижной жидкости при отсутствии градиента темпе-

ратуры.

$$\begin{cases} \frac{\partial n}{\partial t} = \frac{kT}{6\pi r_m \eta} \nabla^2 n - n \cdot \text{div } \mathbf{v} - \mathbf{v} \cdot \text{grad } n, \\ \mathbf{v} = \frac{2r_m^2}{9\eta} \left( \frac{r_n^3 N_n M_s L(\xi) \text{grad } B}{r_m^3} + \mathbf{g}(\rho - \rho_0) \right) + \mathbf{v}_0, \\ \xi = \frac{4\pi r_n^3 M_s B}{3kT}, \\ \rho = \rho_m \left[ 1 + N_n \left( \frac{r_n}{r_m} \right)^3 \left( \frac{\rho_n}{\rho_m} - 1 \right) \right]. \end{cases} \quad (7)$$

Для решения системы уравнений (7) необходимо дополнить ее уравнением, задающим поле  $B$ , если это поле на задано явно:  $B = 3119 \cdot 0.0729^d$ , где  $d$  — расстояние от точечного магнита в сантиметрах.

Для решения системы уравнений (7) с единственным уравнением в частных производных поставлена краевая задача с граничными условиями второго рода, когда поток частиц через границу равен нулю. Прилипанием частиц к границе области пренебрегаем. Расчетная область представляет собой полый вертикальный цилиндр с торцевыми и боковыми стенками толщиной 0.2 см, высотой 10 см и диаметром 4 см. Краевая задача задана границами расчетной области. Магнит представлен как точечный источник в центре боковой стенки цилиндра. Его условное изображение в плоскости  $X = 0$  в виде поверхности значений индукции, а также профиль изменения индукции на избранном отрезке представлены на рис. 5.

Моделировалось движение магнитных однодоменных наночастиц диаметром 30 nm с начальной равномерной по объему концентрацией  $10^9 \text{ m}^{-3}$  в неподвижной чистой воде с температурой  $20^\circ\text{C}$ , с учетом влияния силы тяжести.

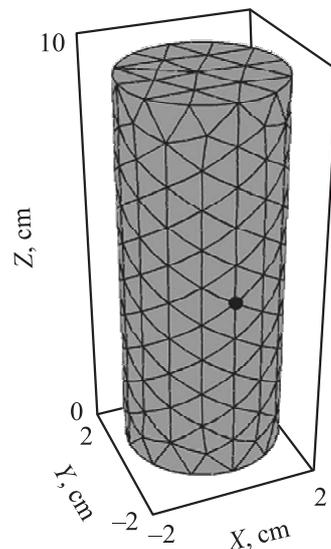
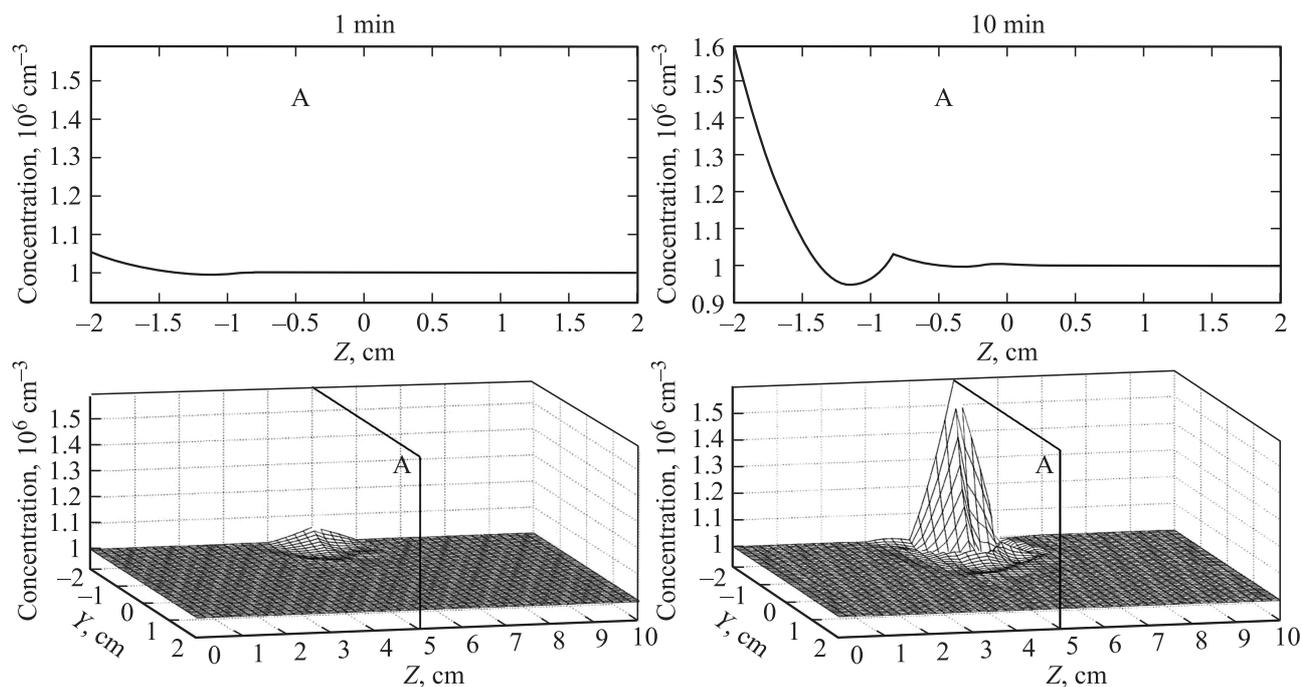
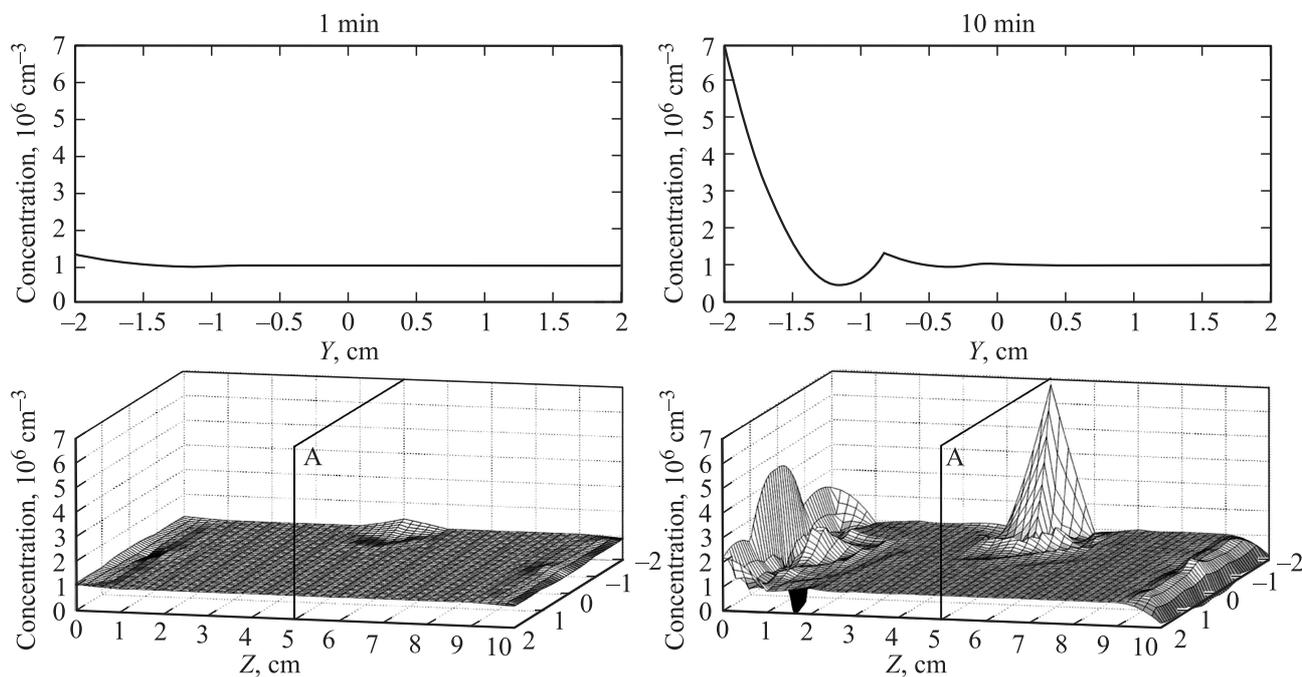


Рис. 5. Расчетная область. Точка на боковой поверхности — место расположения магнита.



**Рис. 6.** Распределение концентраций однодоменных частиц в моменты времени 1 и 10 min в виде поверхности значений в плоскости  $X = 0$  и профиля А.



**Рис. 7.** Распределение концентраций клеток микроорганизмов, модифицированных магнитными наночастицами, в моменты времени 1 и 10 min в виде поверхности значений в плоскости  $X = 0$  и профиля А.

На рис. 6, 7 представлены расчетные распределения концентраций однодоменных наночастиц и клеток микроорганизмов, модифицированных магнитными наночастицами, в моменты времени 1 и 10 min в виде поверхности значений плоскости  $X = 0$  и профиля А.

Из рис. 6, 7 следует, что некоторая часть наночастиц и клеток микроорганизмов, модифицированных наночастицами, собирается в месте расположения магнита, но часть клеток, согласно модели, должна оседать на дно, чего на самом деле не наблюдается (рис. 4), т.е. магнит улавливает все наночастицы и клетки, модифицирован-

ные наночастицами, и они концентрируются в области расположения магнита, что говорит о преобладании магнитных сил над силами тяжести. Таким образом, модель требует уточнения и дополнения в соответствии с реальными результатами.

## Заключение

В ИЭЭ РАН создан ряд установок для получения водных дисперсий наночастиц металлов и их оксидов.

При формировании наночастиц на их поверхности образуется электрический заряд, средняя величина которого составляет  $0.012 \text{ C/m}^2$ .

Магнитоактивные наночастицы адсорбируются на поверхности клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, образуя микроагрегаты, и транспортируются вдоль силовых линий магнитного поля в требуемую область.

Разработана математическая модель, описывающая движение наночастиц под действием магнитного поля, которая позволяет оценить область, в пределах которой наночастицы эффективно концентрируются.

Получены трехмерные распределения концентраций однодоменных наночастиц и клеток микроорганизмов, модифицированных магнитными наночастицами, в различные моменты времени на выбранном участке поверхности.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проекты № 10-08-00477 и 11-08-00674.

Авторы благодарят О.В. Рыбальченко за помощь в проведении электронно-микроскопических исследований.

## Список литературы

- [1] Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J. // J. Phys. D.: Appl. Phys. 2003. Vol. 36. P. 167–181.
- [2] Salata O.V. // J. Nanobiotechnology. 2004. Vol. 2. P. 3–9.
- [3] Gu H., Xu K., Xu C. et al. // J. American Chemical Society Chem. Commun. 2006. Vol. 1. P. 941–949.
- [4] Weller D., Moser A. // IEEE Trans. Magn. 1999. Vol. 35. P. 4423–4439.
- [5] Berry C., Curtis A. // J. Phys. D.: Appl. Phys. 2003. Vol. 36. I. 13. P. 198–206.
- [6] Lu A.-H., Salabas E.L., Schuth F. // Angew. Chem. Int. Ed. 2007. Vol. 46. P. 1222–1244.
- [7] Lang C., Schüler D. // J. Phys.: Condens. Matter. 2006. Vol. 18. P. 2815–2828.
- [8] Hong J., Gong P., Xu D. et al. // J. of Biotechnology. 2007. Vol. 128. P. 597–605.
- [9] Коликов В.А., Курочкин В.Е., Панина Л.К., Рутберг А.Ф., Рутберг Ф.Г., Снетов В.Н., Стогов А.Ю. // ЖТФ. 2007. Т. 77. Вып. 2. С. 118–125.
- [10] Богомолова Е.В., Горячев В.Л., Коликов В.А., Кулишевич А.И., Курочкин В.Е., Панина Л.К., Рутберг Ф.Г., Юлаев Ф.Г. // Успехи медицинской микологии. Материалы первого Всероссийского конгресса по медицинской микологии. М.: Национальная академия микологии. 2003. Т. 1. С. 90.
- [11] Богомолова Е.В., Горячев В.Л., Коликов В.А., Кулишевич А.И., Курочкин В.Е., Панина Л.К., Рутберг Ф.Г., Юлаев Ф.Г. // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37. Вып. 5. С. 19–25.
- [12] Rutberg Ph.G., Kolikov V.A., Kurochkin V.E., Panina L.K., Rutberg A.Ph. // IEEE Transaction on Plasma Science. 2007. Vol. 35. I. 4. P. 1111–1118.
- [13] Rutberg Ph.G., Gorjachev V.L., Kolikov V.A., Snetov V.N., Stogov A.Yu. // J. High Temperature Material Processes. 2010. Vol. 14. N 1. P. 167–174.
- [14] Tan W., Wang K., He X. et al. // Medicinal Research Reviews. 2004. Vol. 24. N 5. P. 621–638.
- [15] Veronica I., Shubayev, Thomas R. // Advanced Drug Delivery Reviews. 2009. Vol. 61. I. 6. P. 467–477.
- [16] He X.X., Wang K., Tan W. et al. // J. Am. Chem. Soc. 2003. Vol. 125. P. 7168–7169.
- [17] Liao M.-H., Chen D.-H. // Biotechnology Lett. 2001. Vol. 23. P. 1723–1727.
- [18] Курко И.М., Курко Г.Е. Магнитная гидродинамика. Современное видение проблем. М.–Ижевск: НИЦ „Регулярная и хаотическая динамика“. Ижевский институт компьютерных исследований, 2009. 623 с.
- [19] Сыроватский С.И. // УФН. 1957. Т. LXII. Вып. 3. С. 247–303.
- [20] Шлиомис М.И. // УФН. 1974. Т. 112. Вып. 3. С. 427–458.
- [21] Бэтчелор Дж.К. Введение в динамику жидкости. НИЦ „Регулярная и хаотическая динамика“. 2004. 757 с.
- [22] Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Т. VI. Гидродинамика. 5 изд. М.: Физматлит, 2001. 736 с.
- [23] Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Т. VIII. Электродинамика сплошных сред. 4 изд. М.: Физматлит, 2005. 656 с.
- [24] Нееский Ю.А., Осипцов А.Н. // Письма в ЖТФ. 2009. Т. 35. Вып. 7. С. 98–105.
- [25] Нигматулин Р.И. Динамика многофазных сред. М.: Наука, 1987. Т. 1. 464 с.
- [26] Седов Л.И. Механика сплошной среды. М.: Наука, 1976. 536 с.
- [27] Гудошников С.А., Любимов Б.Я., Скомаровский В.С., Усов Н.А., Яновский Ю.Г., Данилин А.Н. // М.: Институт прикладной механики РАН. ([http://rusnanotech08.rusanoforum.ru/sadm\\_files/disk/Docs/2/10/10%20\(44\).pdf](http://rusnanotech08.rusanoforum.ru/sadm_files/disk/Docs/2/10/10%20(44).pdf))