

Поляков А. Ю.

ИССЛЕДОВАНИЕ НАКОПЛЕНИЯ
НАНОПОРОШКА КАРБИДА ВОЛЬФРАМА В ОРГАНАХ ЖИВОТНЫХ
МЕТОДОМ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ
С ИНДУКТИВНО-СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

Руководитель: Волченкова Валентина Анатольевна,
кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник
Института металлургии и материаловедения
им. А. А. Байкова Российской Академии Наук.

Институт металлургии и материаловедения им. А. А. Байкова
Российской Академии Наук
Москва
2007

1. Введение

Интенсивное развитие нанонауки последние 10-15 лет идёт во всём мире, в том числе и в нашей стране. Это связано с развитием средств быстрой обработки и хранения больших объёмов информации, а также с производством новых материалов. Использование наноматериалов приобретает грандиозные перспективы не только в силу уникальной, невиданной ранее возможности миниатюризации устройств, но и из-за их фундаментального отличия от обычных материалов и приобретения новых свойств. [1]

Изучение ведётся по трём основным направлениям:

1. Нанопорошки и компактные нанокристаллические материалы;
2. Нанокластеры и нанокластерные структуры;
3. Фуллерены, нанотрубки и их производные.

От единичных опытов и лабораторных образцов человечество переходит к промышленному использованию нанотехнологий и наноматериалов. Частицы наноразмеров впервые в истории стали использоваться в производственно-технологических циклах. Наибольшее применение в промышленности получают нанопорошки.

Нанопорошки – порошки с размером частиц менее 100 нм. Они обладают принципиально новыми фундаментальными свойствами (по сравнению с ранее известными дисперсными порошками). Их отличает высочайшая дисперсность и удельная площадь поверхности, повышенная химическая активность, пониженная температура плавления и теплота испарения. Нанопорошки находят всё более широкое применение в качестве исходного сырья при производстве сверхпроводников, солнечных батарей, фильтров, присадок к смазочным материалам, магнитных пигментов и др. По мере выполнения новых фундаментальных исследований, проводимых в самых разнообразных отраслях, этот перечень быстро расширяется. [2]

Ввиду такого быстрого распространения наноматериалов встаёт очень важная проблема – их влияние на живые организмы.

Из прежних исследований известно, что у рабочих производства твёрдых сплавов, подвергавшихся воздействию повышенных концентраций смешанной пыли титана, карбидов вольфрама и кобальта (с микроразмерами частиц), наблюдались раздражения слизистых, риниты, ринофарингиты. У некоторых возникал обструктивный бронхит, а также развивался невросклероз. [3] Характер воздействия наноматериалов и нанопорошков на человека и другие живые организмы практически не изучен. Поэтому исследования в этой области составляют одно из приоритетных направлений нанонауки.

В связи с этим в рамках проекта Международного научно-технического центра «Токсическое воздействие нанопорошков компонентов твёрдых сплавов, получаемых плазмохимическим синтезом» на базе Института металлургии и материаловедения имени А.А. Байкова Российской Академии Наук (ИМЕТ РАН) совместно с Российской Медицинской Академией исследуется влияние наноматериалов на живые организмы, в частности, на организмы крыс.

Цель нашей работы – изучение степени накопления нанопорошка карбида вольфрама в органах крыс.

Работа состояла из следующих этапов:

1. Получение нанопорошков карбида вольфрама;
2. Интрахеальное введение наночастиц карбида вольфрама в организмы крыс;
3. Препарация крыс;
4. Разработка методики растворения образцов органов;
5. Разработка методики растворения карбида вольфрама, находящегося в органах;
6. Разработка методики и определение вольфрама в органах крыс методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой.

2. Литературный обзор

2.1. Вольфрам и его соединения

Вольфрам – химический элемент VI группы периодической системы элементов Д.И. Менделеева, порядковый номер 74, атомная масса 183,85 а.е.м. В виде простого вещества – тугоплавкий тяжёлый металл светло-серого цвета. Вольфрам был открыт и выделен в виде оксида WO_3 в 1871 году шведским химиком К. Шееле из минерала тунгстена, позднее названного шеелитом. А в 1873 году испанские химики братья Элуяр впервые получили металлический вольфрам.

Природный вольфрам состоит из пяти стабильных изотопов с массовыми числами 180 (0,135 %), 182 (26,41 %), 183 (14,4 %), 184 (30,64 %) и 186 (28,41 %). Кроме того, известен ряд радиоактивных изотопов вольфрама (например, ^{185}W , ^{187}W). Все они сравнительно недолговечны (периоды полураспада – от нескольких часов до нескольких месяцев).

В силу строения электронной оболочки ($[Xe]...4f^{14}5d^46s^2$), вольфрам принимает в своих соединениях степени окисления от -4 до +6, исключая лишь -3 и +1.

Вольфрам вступает в реакции со многими веществами, образуя множество соединений.

Вольфрам долго не находил промышленного применения. Лишь во второй половине XIX века началось изучение влияния добавок вольфрама на свойства стали. Очень скоро этот металл получил практическое применение в качестве легирующей добавки. Главная особенность вольфрамовых сталей – способность сохранять твёрдость и прочность при высоких температурах. [4]

В начале XX века вольфрамовую нить стали использовать в электрических лампочках, поскольку она позволяет доводить накал до 2200 °С и обладает большой светоотдачей.

Сплавы вольфрама используют в авиационной и ракетной технике, а также для радиационной защиты. Соединения вольфрама применяются при изготовлении красок, лазеров, огнестойких и водонепроницаемых тканей (Na_2WO_4) и т.д.

Карбиды вольфрама W_2C , WC – твёрдые тугоплавкие вещества. Карбид W_2C существует лишь при высоких температурах. Карбид WC – серые кристаллы, получающиеся при взаимодействии вольфрама с углеродом в среде водорода при 1400-1600 °С. На воздухе при 800-1200 °С карбид окисляется до WO_3 , а при 2720 °С самопроизвольно разлагается. Он служит основой металлокерамических твёрдых сплавов, его используют для легирования сталей при производстве быстрорежущих и других инструментов, для нанесения износостойких покрытий на металлические поверхности и др. Карбид вольфрама часто применяется в порошковой металлургии. [5]

2.2. Теория атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой

Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (АЭС с ИСП), разработанная в начале 1960-ых годов, в настоящее время является одним из основных методов элементного анализа. [6]

АЭС с ИСП основана на способности атомов и ионов анализируемых элементов, возбуждённых в плазме, испускать фотоны определённой энергии.

Индуктивно-связанная аргонная плазма - самый эффективный источник атомной эмиссии, который, в принципе, может быть использован для определения всех элементов, исключая аргон. При этом возможно одновременное определение большого числа элементов.

В спектре присутствует много линий различной интенсивности для каждого элемента, поэтому индуктивно-связанная плазма пригодна для определения разных концентраций от ультра-малых до макро-содержаний.

Атомно-эмиссионная спектрометрия - разрушающий метод анализа. Исследуемый материал должен быть переведён в раствор, хотя, теоретически, вещество может быть введено и в виде аэрозоля, состоящего из твёрдых частиц, или в газовой фазе. Далее он проходит по центральному каналу в зону плазмы и разогревается до температуры около 8000 К. При такой температуре достигаются практически полная атомизация, высокая степень возбуждения атомов и частичная ионизация. Для получения спектра используется зона над ярко светящейся плазмой. Здесь атомное излучение может быть измерено на низком уровне фона.

Плазма образуется следующим образом: электрический ток высокой частоты, текущий через индуктор, возбуждает высокочастотное магнитное поле, которое в свою очередь индуцирует высокочастотный электрический разряд в потоке аргона внутри горелки в области индуктора. В результате аргон нагревается до очень высокой температуры, образуя газовый плазменный факел.

Оптическое излучение пробы разлагается в спектр на голографической дифракционной решётке и регистрируется фотоэлектрическим способом.

При проведении исследований методом АЭС с ИСП возможны взаимные наложения или перекрывания спектральных линий элементов. Наиболее простой и эффективный способ устранения таких помех - использование другой "свободной" спектральной линии, поэтому требуется тщательный выбор аналитических линий для определения конкретных элементов.

3. Методика исследования

Для исследования были взяты нанопорошки карбида вольфрама с размером частиц 15 нм, 60 нм и 1,2 мкм, синтезированные плазмохимическим методом в лаборатории плазмохимии ИМЕТ РАН. Эти порошки вводили интрахеально в организмы крыс. Через определённое время после введения порошков, животных выводили из эксперимента и препарировали (по органам). Эта часть работы проводилась в Российской медицинской академии постдипломного образования (РМАПО), затем органы поступали в ИМЕТ РАН для анализа.

Для переведения органов крыс в раствор (в целях последующего исследования методом АЭС с ИСП) были опробованы следующие методы:

1. Сухое озоление при температуре 600 °С;
2. Мокрое озоление различными смесями кислот;
3. Автоклавное растворение.

Сухое озоление оказалось ненадёжным способом, так как приводило к значительным потерям озоляемого материала. Автоклавное растворение оказалось наиболее эффективным, но от него пришлось отказаться, так как у нас имелись автоклавы для растворения небольших образцов (до 1 г), а исследуемые органы имели большую массу. Поэтому в качестве метода растворения в данной работе мы выбрали эффективную классическую схему мокрого озоления, подобранных определённую смесь кислот.

Растворение органов проводилось смесью концентрированных серной и азотной кислот. Полноты растворения добивались нагреванием органов в высоких термостойких стаканах с 10 мл серной кислоты до появления густых белых паров SO_3 с последующим внесением HNO_3 . При этом образуется нитрозилсерная кислота, являющаяся сильным окислителем и позволяющая перевести в раствор любые ткани и органы живых организмов. Внесение азотной кислоты продолжали до получения прозрачных растворов.

Затем полученные растворы количественно переносили в стеклоуглеродные чашки и обрабатывали 10 мл HF для удаления H_2SiO_3 , силикатов и растворения карбида вольфрама.

Для предотвращения выпадения в осадок солей вольфрама добавляли 2 мл H_3PO_4 . После этого растворы упаривали до полного удаления из раствора HF и H_2SO_4 (до полного прекращения выделения из растворов густых паров серной кислоты). К полученным сиропообразным растворам добавляли 1 мл концентрированной HNO_3 и 3 мл концентрированной HCl , растворы подогревали, переводили в мерные колбы и дистиллированной водой доводили объём растворов до 25 мл.

В растворах определяли содержание вольфрама, а также минеральный состав методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Исследования проводились на последовательном спектрометре фирмы «JOBIN YVON» («ЖОБЕН ИВОН», Франция), модель «ULTIMA 2».

Спектрометр включает в себя монохроматор, высокочастотный генератор с частотой 40,68 МГц, микро-ЭВМ, под контролем которой программируются и осуществляются условия анализа.

Монохроматор – голографическая решетка 2400 штрихов/мм, фокусное расстояние 1 м, диапазон длин волн 160-800 нм. Низкое количество побочного света голографической решетки обеспечивается особой техникой ее приготовления – техникой ионного травления. Побочный свет увеличивает фон и, следовательно, концентрацию, эквивалентную фону, от которой напрямую зависят пределы определения. Перемещение решетки осуществляется шаговым мотором с размером шага 0,001 нм и механической воспроизводимостью 0,0004 нм.

Программное обеспечение спектрометра «ULTIMA 2» дает возможность использовать 125000 эмиссионных спектральных линий. Все эти линии достаточно чувствительны 0,1 - 20 ppb, что, теоретически, позволяет определять элементы на уровне - 10^{-4} %. Однако при переходе к реальным пробам мы столкнулись с проблемами ухудшения метрологических характеристик.

Общий минеральный анализ проб проводился по программе, разработанной для природных минеральных объектов на 25 элементов. В таблице 1 представлены полученные результаты по содержанию элементов в органах крыс.

Таблица 1

Содержание элементов в различных органах экспериментальных животных

Элемент	Содержание элементов, мг							
	Сердце	Лёгкие	Мозг	Почки	Печень	Селезёнка	Гонады	Кровь
Sn	0,005	0,014	0,003	0,007	0,008	0,004	0,003	0,017
Mo	0,005	0,005	0,015	0,007	0,013	0,004	0,006	0,008
Sb	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Zn	0,032	0,060	0,074	0,103	0,387	0,051	0,183	0,108
Pb	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Ni	0,003	0,002	0,020	0,002	0,003	0,003	0,004	0,005
Bi	0,006	0,007	0,005	0,004	0,006	0,004	0,006	0,007
Co	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,001
Cd	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
B	1,656	1,287	2,236	2,570	1,261	1,397	2,315	1,308
Si	0,045	0,051	0,061	0,190	0,057	0,042	0,157	0,056
Mn	0,004	0,003	0,004	0,007	0,028	0,003	0,007	0,005
Fe	0,492	0,716	0,315	0,808	3,626	1,138	0,526	5,150
Cr	0,006	0,005	0,008	0,008	0,006	0,008	0,012	0,010
Mg	0,351	0,475	0,507	0,723	2,578	0,504	0,776	0,477
V	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Be	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Ca	0,311	0,710	1,010	0,657	0,815	0,247	0,356	0,567
Cu	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	0,044	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Ti	0,024	0,032	0,031	0,027	0,036	0,015	0,037	0,034
Al	2,264	2,620	2,994	2,813	2,945	1,412	2,569	2,680
Sr	0,002	0,004	0,005	0,004	0,004	0,003	0,003	0,005
Na	1,808	3,201	2,833	3,262	4,828	1,338	3,320	6,645
K	0,558	1,123	1,203	1,017	5,004	1,097	1,872	2,320

В анализируемых растворах были обнаружены значительные количества калия, натрия и железа. Литературные данные о влиянии этих элементов на определение вольфрама методом АЭС с ИСП немногочисленны. В связи с этим был проведён тщательный выбор аналитической длины волны для определения вольфрама. В таблице 2 представлены характеристики различных аналитических линий вольфрама.

Характеристики аналитических линий вольфрама

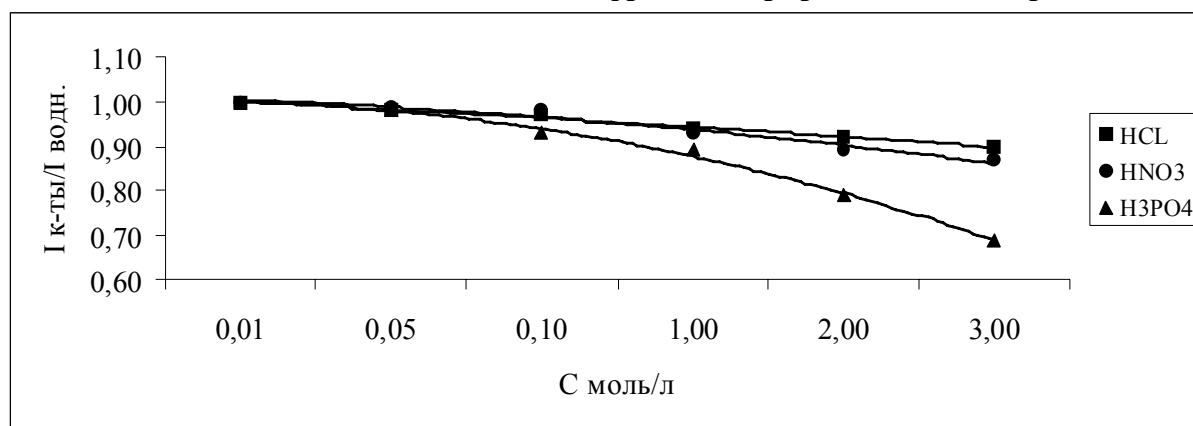
λ , нм	Пределы обнаружения, ppb (10^{-9} г/мл)	Интенсивность	Мешающие элементы
207,911	30,0	1300	Al, Cu, Ni, Ti
224,875	44,0	930	Cr, Fe
218,935	46,0	950	Cr, Fe, Ti
209,475	46,0	850	Al, Fe, Ni, Ti, V

Мы выбрали наиболее чувствительную аналитическую длину волны $\lambda=207,911$ нм с пределом обнаружения 30 ppb ($3 \cdot 10^{-8}$ г/мл). Кроме того, было установлено, что элементы, мешающие определению вольфрама на этой длине волны (Al, Cu, Ni, Ti), в анализируемых образцах практически отсутствуют.

Было изучено влияние кислот на АЭС с ИСП определение вольфрама. На графике 1 представлены зависимости аналитических сигналов вольфрама от природы и концентрации кислот, находящихся в анализируемом растворе. Из графика следует, что повышение концентрации кислоты в анализируемом растворе приводит к понижению интенсивности аналитических сигналов, причём степень изменения зависит и от природы кислоты. Фосфорная кислота ($C = 2,5$ М) понижает аналитический сигнал на 30%, а соляная и азотная кислоты той же концентрации – на 10%.

График 1

Зависимость интенсивности сигнала вольфрама от природы и концентрации кислот



Депрессирующее действие кислот связано с понижением температуры плазмы, вследствие повышения затрат энергии на атомизацию молекул кислот.

В практической работе необходимо учитывать, что неконтролируемые колебания концентрации кислот могут привести к погрешностям, существенно превышающим инструментальные. Кислотность стандартных растворов и проб необходимо поддерживать строго одинаковыми. [7]

4. Результаты работы

По разработанной методике растворения органов и определения вольфрама методом АЭС с ИСП нами были проанализированы многочисленные серии органов животных (лёгкие, печень, почки, сердце, мозг, селезёнка, гонады).

В результате проведённой работы были получены данные по распределению нанопорошка карбида вольфрама в органах крыс. Эти данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

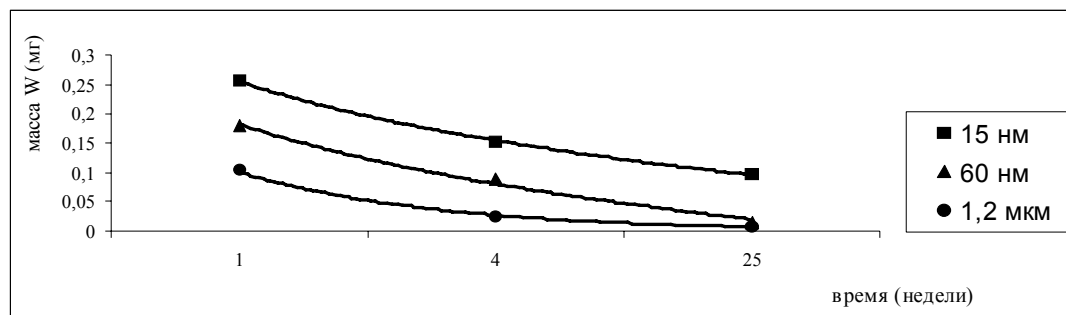
Распределение порошков карбида вольфрама по органам экспериментальных животных

Размер порошка WC, нм	Сроки выведения животного из эксперимента после заправки, недели	Количество карбида вольфрама в органе, мг						
		Лёгкие	Печень	Почки	Сердце	Мозг	Селезёнка	Гонады
15	1	0,256	0,019	0,008	0,002	0,006	0,008	0,012
	4	0,153	0,012	0,002	0,001	0,002	0,004	0,005
	25	0,097	0,012	0,002	0,001	0,002	0,003	0,004
60	1	0,18	0,015	0,001	0,002	0,002	0,002	0,004
	4	0,088	0,018	0,002	0,001	0,001	0,002	0,002
	25	0,016	0,014	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001
1200	1	0,105	0,004	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
	4	0,025	0,004	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002
	25	0,008	0,004	0,002	0,001	0,001	0,002	0,002
Контроль 1		0,0015	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Контроль 2		0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Из полученных результатов следует, что наибольшее количество карбида вольфрама накапливается в лёгких и печени. Степень накопления и сроки выведения порошка зависят от размера его частиц. Чем меньше размер частиц, тем больше они накапливаются в органах и тем хуже выводятся из организма. Частицы размером 1,2 мкм полностью выводятся за 25 недель, а частицы размером 15 нм сохраняются в органах даже через большой промежуток времени (график 2).

График 2

Выведение карбида вольфрама из лёгких



В отличие от частиц микро размеров, частицы наноразмеров способны преодолевать гематоэнцефалический барьер. Об этом свидетельствует повышенное содержание карбида вольфрама в мозге крыс, которым вводились порошки карбида вольфрама с размером частиц 15 нм и 60 нм, по отношению к контрольным животным. У крыс, которым вводился порошок с размером частиц 1,2 мкм, этого не наблюдается.

Нанопорошок проникает и в гонады, то есть вполне возможно его влияние на наследственный материал животных.

Наименьшая степень накопления нанопорошка была установлена в сердце.

5. Выводы

1. В результате работы разработана методика полного растворения органов крыс с использованием концентрированных H_2SO_4 и HNO_3 ;
2. Найдена смесь кислот ($HF + HNO_3 + H_3PO_4 + HCl$) для перевода карбида вольфрама, находящегося в органах, в раствор и предотвращения гидролиза вольфрама;
3. Получены данные по минеральному составу органов крыс;
4. Разработана методика определения вольфрама методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой в различных органах крыс:
 - выбрана оптимальная аналитическая длина волны;
 - изучено влияние природы и концентрации кислот на аналитические сигналы;
5. Получены данные по распределению нанопорошков карбида вольфрама в органах крыс:
 - наибольшее его количество обнаружено в лёгких и печени, а наименьшее - в сердце;
 - установлено, что наночастицы накапливаются и в других органах крыс, включая мозг и гонады;
 - чем меньше размер частиц, тем больше они накапливаются в органах и тем медленнее выводятся.

6. Список литературы

1. «Микроструктуры новых функциональных материалов», выпуск 1 «Наноструктурированные материалы» под редакцией академика РАН Ю.Д.Третьякова. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, Факультет наук о материалах, 2006.
2. Алферов Ж.И., Асеев А.Л., Гапонов С.В. и др. «Наноматериалы и нанотехнологии» // Микросистемная техника. - 2003. - N 8. - С.3-13.
3. Филова В.А. «Вредные химические вещества. Неорганические соединения V – VIII групп». Л., Изд. «Химия», 1989.
4. Бусев А.И., Иванов В.М., Соколова Т.А. «Аналитическая химия вольфрама». М., Изд. «Наука», 1976.
5. «Химическая энциклопедия», гл. редактор И.Л. Кнунянц, М.: «Советская энциклопедия», 1988.
6. М. Томпсон, Д.Н. Уолш. «Руководство по спектрометрическому анализу с индуктивно-связанной плазмой». М., Изд. «Недра», 1988.
7. О.Н.Гребнева, Н.М.Кузмин «Атомно-эмиссионное (с индуктивно-связанной плазмой) определение элементов в потоке». «ЖАХ» 1998г. 53. №5.
8. А.И.Бусев, В.Г.Типцова, В.М.Иванов. «Руководство по аналитической химии редких элементов». М., Изд. «Химия», 1978.
9. Герцен П.А., Васина Т.А. Влияние нанопорошков на патогенную микрофлору. «Болезни цивилизации в аспекте учения В.И. Вернадского». Материалы третьей международной конференции. М.: Изд-во Российского университета дружбы народов. 2005. 378 с.
10. Мелихов И.В. Тенденции развития нанохимии // Российский химический журнал, 2002. Т.46, N 5. - С.7-14.
11. Петрунин В.Ф. Тенденции развития научно-технического направления «ультрадисперсные (нано-) материалы и нанотехнологии». Физикохимия ультрадисперсных (нано-) систем. Сборник научных трудов VI Всероссийской (международной) конференции. М.: МИФИ, 2003. 564 с.
12. «Ультрадисперсные порошки, материалы и наноструктуры: получение, свойства, применение». Материалы межрегиональной конференции с международным участием, 17-19 дек. 1996 г. - Красноярск: КГТУ, 1996. - 287 с.