УДК 677.12: 54.057

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ СИНТЕЗА УЛЬТРАДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ЭКСТРАКТЕ ЛУБЯНЫХ КУЛЬТУР И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ* **

OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR SYNTHESIS OF ULTRAFINE SILVER PARTICLES IN BAST CULTURE EXTRACT AND DETERMINATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY

Н.С. ДЫМНИКОВА, Е.В. ЕРОХИНА, А.П. МОРЫГАНОВ, С.В. ГРИГОРЬЕВ

N.S. DYMNIKOVA, E.V. EROKHINA, A.P. MORYGANOV, S.V. GRIGOREV

(Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук, г. Иваново, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова)

(G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of Russian Academy of Science, Ivanovo, Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR))

E-mail: nsd@isc-ras.ru

Изучен процесс формирования наночастиц серебра в экстрактах из лубяных волокон. Установлена взаимосвязь эффективности процесса восстановления ионов серебра от количественного содержания примесей в экстракте. Методом фотонной корреляционной спектроскопии определены размеры образующихся частиц. Доказано, что антимикробная активность синтезированных золей в отношении основных возбудителей хирургической инфекции (Staphylococcus aureus и Escherichia coli) зависит от условий проведения синтеза.

The process of formation of silver nanoparticles in extracts from bast fibers was studied. The relationship between the efficiency of the process of reducing silver ions from the quantitative content of impurities in the extract was established. The sizes of the formed particles were determined by photon correlation spectroscopy. It is proved that the antimicrobial activity of synthesized sols against the main pathogens of surgical infection (Staphylococcus aureus and Escherichia coli) depends on the conditions of synthesis.

* Спектральные исследования выполнены на оборудовании центра коллективного пользования "Верхне-Волжский региональный центр физико-химических исследований".

** Работа выполнена в рамках госконтракта с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации №01201260484 и гранта РФФИ № 13-03-12065 офи_м.

Ключевые слова: синтез, ультрадисперсные частицы серебра, экстракты из лубяных культур, биологическая активность.

Keywords: synthesis, ultra-dispersed silver particles, extracts of bast crop fibers, biological activity.

Интерес к композитам, включающим наноразмерное серебро, связан с перспективами их широкого применения в качестве новых антибактериальных и антивирусных агентов [1], [2].

В настоящее время стабильные наноразмерные частицы получают различными способами, одним из которых является метод химического восстановления с использованием различных материалов для стабилизации наночастиц: твердых матриц [1], водно-органических эмульсий [3] и растворов макромолекул [4...5]. Возможность использования растворов макромолекул полисахаридов, извлекаемых из природных растений, в качестве восстановительной и стабилизирующей компоненты наночастиц привлекает постоянное внимание исследователей.

Целью данной работы является определение и оптимизация условий получения стабильных гидрозолей металлического серебра в присутствии экстрактов конопляного волокна и определение их антимикробной активности по отношению к тест-культурам.

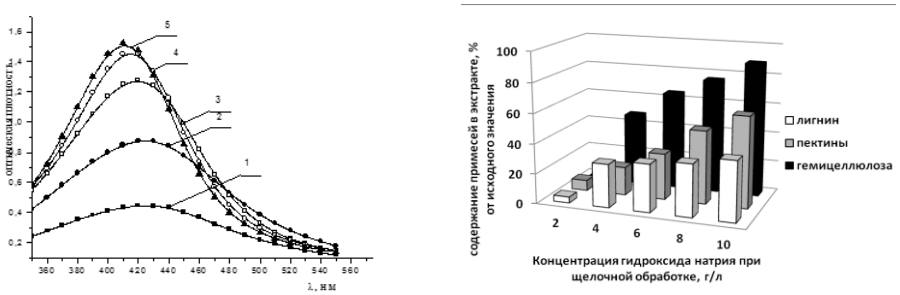
Ранее проведенными исследованиями нами изучено влияние концентрации гидроксида натрия, температуры экстракции на количество извлекаемых из лубяных волокон природных примесей, выявлены оптимальные условия для максимального извлечения примесей, определен ОВП образующегося в растворе комплекса редуцирующих веществ. В качестве лубяных волокон были исследованы короткое льноволокно номер 3, полученное на льноперерабатывающем заводе ЗАО "Знаменский лен" (пос. Знаменское Омской обл.) и 2 сорта конопляного волокна (растение рода Cannabis) из селекции Института лубяных культур, произведенные в фермерском хозяйстве Симанщино (Пензенской обл.): среднерусский сорт Диана и южносозревающий – ЮСО-31.

В настоящей работе изучен процесс формирования наночастиц (НЧ) серебра в экстрактах из лубяных волокон после обработки волокнистой массы щелочными растворами концентрацией 2...10 г/л при температуре 100°С. Синтез НЧ в предварительно подготовленных экстрактах проводили при 90°С, концентрация $AgNO_3$ составляла $0{,}6 \cdot 10^{-2}$ М. Чтобы избежать влияние щелочности на процесс восстановления нитрата серебра, экстракты перед реакцией синтеза нейтрализовали до pH 7,5...8,0.

Процесс формирования высокодисперсных частиц контролировали визуально по изменению окраски растворов, их агрегативной устойчивости и спектрофотометрически. Известно, что восстановление ионов серебра качественно проявляется в окрашивании изначально бесцветного раствора до насыщенного желто-коричневого цвета и возникновении специфической полосы поглощения раствора в фиолетовой части видимого спектра [6], [7].

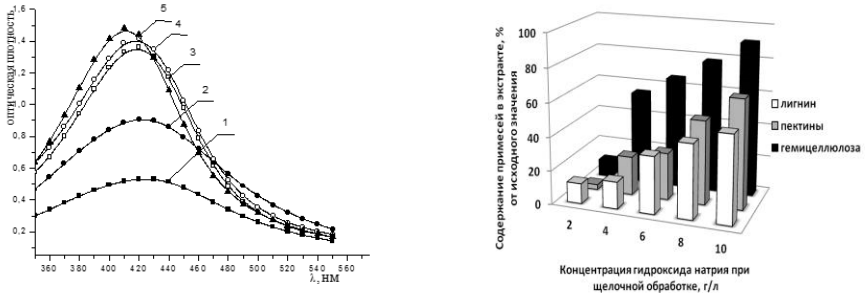
В настоящее время исследователями детально описаны полосы в спектрах поглощения водных растворов серебра, свойственные переходу от семейства кластеров (290...325 нм) к квазиметаллическим частицам (350...370 нм) и фазе металла (390...420 нм) [2], [8]. Положение максимума и параметры спектральной кривой в области поверхностного плазмонного резонанса (ППР) серебра используют для определения эффективности синтеза дисперсных частиц, их размеров, однородности. При этом смещение максимума в коротковолновую область связывают с уменьшением размеров наночастиц, а увеличение интенсивности поглощения – с ростом их числа [9].

На рис. 1...3 представлены зависимости динамики формирования наночастиц серебра от выхода примесей в экстракт из конопляных волокон Диана и ЮСО-31 и льноволокна после обработки волокнистой массы щелочными растворами.



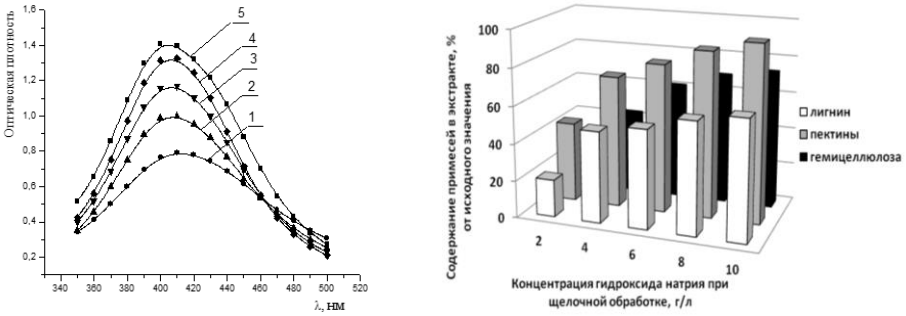
а) б)

Рис. 1



а) б)

Рис. 2



а) б)

Рис. 3

Рис. 1 – спектры поглощения НЧ серебра, синтезированные в присутствии экстракта, выделенного из конопляного волокна Диана (а) при 100 °С и концентрации гидроксида натрия, г/л: 1-2; 2-4; 3-6; 4-8; 5-10. Зависимость содержания примесей в экстракте волокна Диана (б) от концентрации гидроксида натрия в растворе; рис. 2 – спектры поглощения НЧ серебра, синтезированные в присутствии экстракта, выделенного из конопляного волокна ЮСО-31 (а) при 100°С и концентрации гидроксида натрия, г/л: 1-2; 2-4; 3-6; 4-8; 5-10. Зависимость содержания примесей в экстракте волокна ЮСО-31 (б) от концентрации гидроксида натрия в растворе; рис. 3 – спектры поглощения НЧ серебра, синтезированные в присутствии экстракта, выделенного из льняного волокна (а) при 100 °С и концентрации гидроксида натрия, г/л: 1- 2; 2-4; 3-6; 4-8; 5-10. Зависимость содержания примесей в экстракте льняного волокна (б) от концентрации гидроксида натрия в растворе.

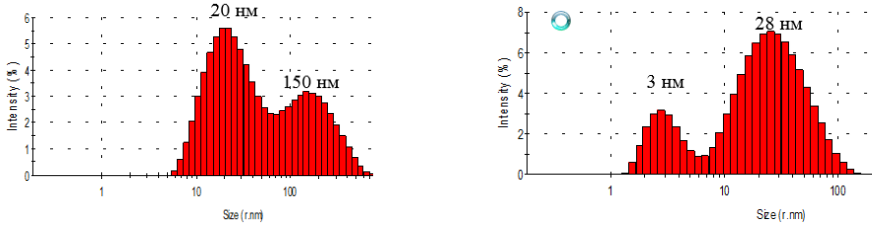
Для всех трех видов лубяных волокон очевидна взаимосвязь эффективности процесса восстановления наночастиц серебра от количественного содержания примесей в экстракте. При увеличении концентрации гидроксида натрия в варочном растворе от 2 до 10 г/л интенсивность максимума полосы поглощения повышается, а сама полоса сужается (кривые 1...5). Это связано как с получением более концентрированных экстрактов примесей волокна, так и с тем, что щелочь разрушает выделенные из волокна примеси, вызывает глубокие трансформации в их структуре, сопровождающиеся значительным увеличением функциональных групп, за счет ко-

торых происходит восстановление ионов серебра.

Для конопляных волокон среднерусского сорта Диана (рис. 1) и южносозревающего ЮСО-31 (рис. 2) данная зависимость примерно одинаковая. Введение соли серебра в экстракт, полученный при концентрации щелочи 2 и 4 г/л, приводит к появлению в электронных спектрах симметричной полосы поглощения с широким максимумом в области 420...440 нм слабой интенсивности (кривые 1 и 2, рис. 1 и 2). Появление низкоинтенсивных полос поглощения вызвано образованием первичных центров металлического серебра [10]. В данных условиях уже начинается стадия восстановления Ag^+, но оно не получает существенного развития и число образующихся восстановительных центров Ag(0) незначительно. По мере увеличения концентрации щелочного агента от 6 до 10 г/л в экстракт из конопли извлекается практически полностью гемицеллюлоза, больше 60% пектинов и ~ 50% лигнина (рис. 1-б, 2-б), что приводит к резкому увеличению восстановительной способности системы. В результате на электронных спектрах формируется интенсивная симметричная полоса выраженной колоколообразной формы с λ_{max} 400...420 нм (кривая 5, рис. 1 и 2), обусловленная плазмонным резонансом наночастиц серебра [2], [6].

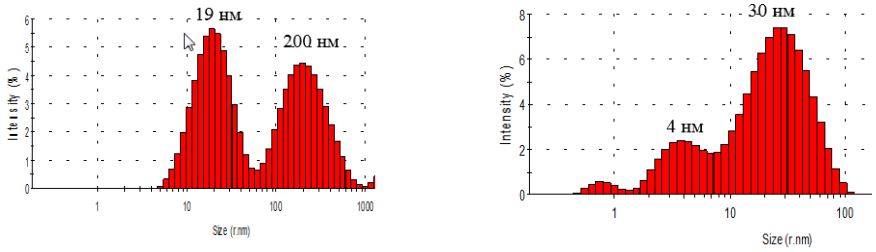
Напротив, при химической модификации льноволокна образующийся в растворе комплекс редуцирующих веществ за счет извлечения примерно равных количеств гемицеллюлозы, пектинов и лигнина (рис. 3-б), при низкой концентрации щелочного агента 2 г/л, может выступать в качестве восстановителя (кривая 1, рис. 3). Увеличение концентрации гидроксида натрия в варочном растворе от 4 (кривая 2) до 10 г/л (кривая 5) приводит к значительному увеличению функциональных групп, способных восстанавливать серебро. Наибольший вклад в восстановительную способность системы, выделенной из льноволокна, преимущественно вносят пектиновые соединения и гемицеллюлоза. На электронных спектрах по мере нарастания в системе функциональных групп наблюдается рост интенсивности полос поглощения с λ_{max} 400 нм, что свидетельствует о высокой скорости восстановительных процессов и получении большого числа наночастиц серебра малого размера.

Данный вывод подтверждается диаграммами распределения наночастиц по размерам, полученными методом динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Nano ZS фирмы Malvern с учетом рекомендаций [11] для проведения анализа фракционного состава дисперсной фазы в бикомпонентном гидрозоле (рис. 4...6).



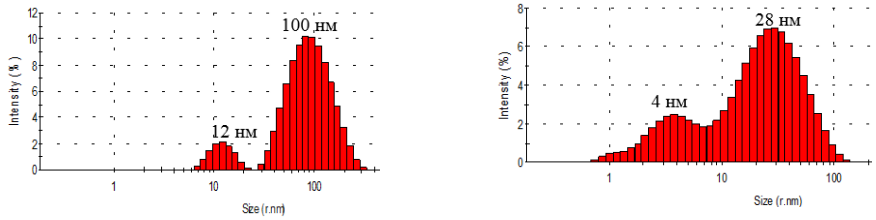
а) б)

Рис. 4



а) б)

Рис. 5



а) б)

Рис. 6

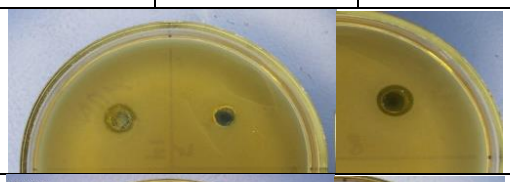
Рис. 4 – диаграмма распределения НЧ$_{Ag}$ по размерам в системе Ag – экстракт конопляного волокна Диана, полученный при 100°С, концентрация гидроксида натрия, г/л : а – 2; б -10; рис. 5 – диаграмма распределения НЧ$_{Ag}$ по размерам в системе Ag – экстракт конопляного волокна ЮСО-31, полученный при 100°С, концентрация гидроксида натрия, г/л : а – 2; б -10; рис. 6 – диаграмма распределения НЧ$_{Ag}$ по размерам в системе Ag – экстракт льноволокна, полученный при 100°С, концентрация гидроксида натрия, г/л : а – 2; б -10.

Анализ спектральных кривых фракционного распределения показывает, что они являются бимодальными. В препарате серебра, полученном в малощелочном экстракте из конопляных волокон (рис. 4-5-а), примерно равное количество частиц с радиусом (включая оболочку стабилизатора) до 20 нм и более 100 нм. В низкощелочном экстракте из льноволокна частицы серебра преимущественно размером 100 нм (рис. 6-а).

Синтез в сильнощелочных экстрактах исследуемых лубяных волокон позволяет получать частицы малого размера, не более 30 нм (рис. 4...6-б).

Количественную оценку антимикробной активности золей, синтезированных в присутствии экстрактов, выделенных из лубяных волокон при 100°С и концентрации гидроксида натрия 4 и 10 г/л, в отношении основных возбудителей хирургической инфекции (*Staphylococcus aureus и Escherichia coli*) определяли по зоне ингибирования роста тест-культур вокруг образцов. Данные, наглядно подтверждающие зависимость антимикробной активности от условий получения экстракта и соответственно от количества группировок, способных восстанавливать ионы серебра, отражены в табл. 1.

Таблица 1

Условия экстракции Т, °С/ конц. NaOH, г/л	Тест-культура	Лубяное волокно		
		Диана	ЮСО-31	льноволокно
100/4	*Staphylococcus aureus*			
	Escherichia coli			
100/10	*Staphylococcus aureus*			
	Escherichia coli			

Представленные фото в табл. 1 свидетельствуют, что золи серебра, синтезированные в экстракте, полученном при высокой концентрации щелочи, обладают высокой активностью по отношению к данным видам микрофлоры. В случае Staphilococcus зоны ингибирования вблизи НЧ, полученных в экстрактах при концентрации щелочного агента 10 г/л, составляют 5,0...12,0 мм, в случае Escherichia coli – 2,4...4 мм. Золи, полученные в менее концентрированном экстракте, проявляют значительно меньшую активность по отношению к Staphilococcus и лишь бактериостатическую – к Escherichia coli.

Таким образом, выявленные особенности формирования наночастиц серебра на основе выбора оптимальных условий экстракции природных примесей лубяных волокон, позволяют осуществлять эффективное восстановление и стабилизацию наночастиц серебра и могут представлять интерес при разработке новых антимикробных систем.

ВЫВОДЫ

1. Спектрофотометрическим методом исследован процесс синтеза ультрадисперсных частиц серебра в присутствии сопутствующих природных примесей лубяных волокон, выделенных из них в процессе щелочной высокотемпературной обработки. Определено влияние состава экстракта на динамику формирования стабильных НЧ металла.

2. Методом фотонной корреляционной спектроскопии построены диаграммы распределения наночастиц по размерам. Показано, что синтез в экстрактах исследуемых лубяных волокон, полученных при высоком содержании щелочного агента, позволяет получать частицы малого размера, не более 30 нм.

3. Получена зависимость антимикробной активности золей в отношении тест-культур Staphylococcus aureus и Escherichia coli от условий получения экстракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Петрова Л.С., Липина А.А., Зайцева А.О., Одинцова О.И.* Использование наночастиц серебра для придания текстильным материалам бактерицидных свойств // Изв. вузов. Технология текстильной промышленности. – 2018, № 6. С. 99...104.

2. *Дымникова Н.С., Ерохина Е.В., Кузнецов О.Ю., Морыганов А.П.* Исследование влияния субстантивности серебросодержащих препаратов к целлюлозному материалу на его биологическую активность // Российский химический журнал. – 2017. Т. LXI. № 2. С. 3...12.

3. *Егорова Е.М., Ревина А.А., Ростовщикова Т.Н., Киселева О.И.* Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах // Вестник МГУ. Сер.2. Химия. – 2001. Т.42, №5. С.332.

4. *Помогайло А.Д., Розенберг А.С., Уфлянд И.Е.* Наночастицы металлов в полимерах. – М.: Химия, 2000.

5. *Дымникова Н.С., Ерохина Е.В., Морыганов А.П.* // Перспективные материалы. – 2017, № 6. С. 29...38.

6. *Грищенко Л.А., Медведева С.А., Александрова Г.П., Феоктистова Л.П., Сапожников А.Н., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А.* Окислительно-восстановительные реакции арабиногалактана с ионами серебра и формирование нанокомпозитов // Журнал общей химии. – 2006. Т.76. №7. С.1159...1165.

7. *Кузьменко В.А., Одинцова О.И., Дмитриева А.Д., Одинцова Л.С.* Синтез и использование наночастиц серебра для придания текстильным материалам бактерицидных свойств// Изв. вузов. Химия и химическая технология. – 2015. Т. 58, №. 8 С. 67...70.

8. *Ершов Б.Г.* Наночастицы металлов в водных растворах: электронные, оптические и каталитические свойства // Российский химический журнал. – 2001. Т. XLV, № 3. С. 20...30.

9. *Низамов Т.Р., Евстафьев И.В., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.* Формирование моно- и биметаллических зародышевых частиц, содержащих серебро // Коллоидный журнал. – 2014. Т. 76, № 4. С. 513...518.

10. *Kotelnikova N.E., Paakkari T., Serimaa R.* //Macromil. Symp. – №114, 1997. P.165.

11. *Кокшаров С.А.* О применении метода динамического светового рассеяния для оценки размера наночастиц в бикомпонентном гидрозоле // Изв. вузов. Химия и химическая технология. – 2015, № 1. С.33...36.

REFERENCES

1. Petrova L.S., Lipina A.A., Zaytseva A.O., Odintsova O.I. Ispol'zovanie nanochastits serebra dlya pridaniya tekstil'nym materialam bakteritsidnykh svoystv // Izv. vuzov. Tekhnologiya tekstil'noy promyshlennosti. – 2018, № 6. S. 99...104.

2. Dymnikova N.S., Erokhina E.V., Kuznetsov O.Yu., Moryganov A.P. Issledovanie vliyaniya substantivnosti serebrosoderzhashchikh preparatov k tsellyuloznomu materialu na ego biologicheskuyu aktivnost' // Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal. – 2017. T. LXI. № 2. S.3...12.

3. Egorova E.M., Revina A.A., Rostovshchikova T.N., Kiseleva O.I. Bakteritsidnye i kataliticheskie svoystva stabil'nykh metallicheskikh nanochastits v obratnykh mitsellakh // Vestnik MGU. Ser.2. Khimiya. – 2001. T.42, №5. S.332.

4. Pomogaylo A.D., Rozenberg A.S., Uflyand I.E. Nanochastitsy metallov v polimerakh. – M.: Khimiya, 2000.

5. Dymnikova N.S., Erokhina E.V., Moryganov A.P. // Perspektivnye materialy. – 2017, № 6. S. 29...38.

6. Grishchenko L.A., Medvedeva S.A., Aleksandrova G.P., Feoktistova L.P., Sapozhnikov A.N., Sukhov B.G., Trofimov B.A. Okislitel'no-vosstanovitel'nye reaktsii arabinogalaktana s ionami serebra i formirovanie nanokompozitov // Zhurnal obshchey khimii. – 2006. T.76. №7. S.1159...1165.

7. Kuz'menko V.A., Odintsova O.I., Dmitrieva A.D., Odintsova L.S. Sintez i ispol'zovanie nanochastits serebra dlya pridaniya tekstil'nym materialam bakteritsidnykh svoystv// Izv. vuzov. Khimiya i khimicheskaya technologiya. – 2015. T. 58, №. 8 S. 67...70.

8. Ershov B.G. Nanochastitsy metallov v vodnykh rastvorakh: elektronnye, opticheskie i kataliticheskie svoystva // Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal. – 2001. T.XLV, № 3. S. 20...30.

9. Nizamov T.R., Evstaf'ev I.V., Olenin A.Yu., Lisichkin G.V. Formirovanie mono- i bimetallicheskikh zarodyshevykh chastits, soderzhashchikh serebro // Kolloidnyy zhurnal. – 2014. T. 76, № 4. S. 513...518.

10. Kotelnikova N.E., Paakkari T., Serimaa R. //Macromil. Symp. – №114, 1997. P.165.

11. Koksharov S.A. O primenenii metoda dinamicheskogo svetovogo rasseyaniya dlya otsenki razmera nanochastits v bikomponentnom gidrozole // Izv. vuzov. Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya. – 2015, № 1. S.33...36.

Рекомендована техническим семинаром отдела "Химия текстильных материалов" ИХР РАН. Поступила 11.03.19.