

УДК 542.924:546.151:546.561

## ФОРМИРОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ИХ ТРУДНОРАСТВОРИМЫХ ПРЕКУРСОРОВ

**Н. С. Дымникова, Е. В. Ерохина, А. П. Морыганов, О. Ю. Кузнецов**

*НАТАЛЬЯ СЕРГЕЕВНА ДЫМНИКОВА – кандидат технических наук, научный сотрудник лаборатории «Химия и технология модифицированных волокнистых материалов» ИХР РАН. E-mail: nsd@isc-ras.ru*

*ЕКАТЕРИНА ВЯЧЕСЛАВОВНА ЕРОХИНА – кандидат химических наук, младший научный сотрудник лаборатории «Химия и технология модифицированных волокнистых материалов» ИХР РАН. E-mail: erochina2007@yandex.ru*

*АНДРЕЙ ПАВЛОВИЧ МОРЫГАНОВ – доктор технических наук, профессор, заведующий лабораторией «Химия и технология модифицированных волокнистых материалов» ИХР РАН. E-mail: apt@isc-ras.ru*

*ОЛЕГ ЮВЕНАЛЬЕВИЧ КУЗНЕЦОВ – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ГБОУ ВПО Ивановской государственной медицинской академии Минздрава России (ИвГМА). E-mail: olegkuz58@ya.ru*

*153045, г. Иваново, ул. Академическая, д. 1. ФГБУН Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, тел./факс (4932) 33-62-61*

*Методами спектрофотометрии, динамического светорассеяния и визуальным наблюдением исследован процесс синтеза ультрадисперсных частиц серебра путем восстановления его солей, различающихся растворимостью на 5–40 порядков. Выявлено, что на скорость восстановления серебра оказывает существенное влияние растворимость соли-прекурсора. Методом фотонной корреляционной спектроскопии подтверждено получение наночастиц серебра при завершении реакции восстановления с гидродинамическим радиусом порядка 20 нм, включая оболочку стабилизатора.*

*Изучена биологическая активность синтезированных солей в отношении тест-культур (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*) и выявлена ее зависимость от размера образующихся частиц.*

*Исследована зависимость устойчивости текстильных материалов, допированных синтезированными солями, к действию естественного комплекса микрофлоры и почвенной микрофлоры от растворимости солей-прекурсоров и размеров образующихся частиц.*

**Ключевые слова:** труднорастворимые соли серебра, синтез, наночастицы серебра, антимикробная активность.

## FORMING OF SILVER NANOPARTICLES DURING REDUCTION OF THEIR SPARINGLY SOLUBLE PRECURSORS

**N. S. Dymnikova, E. V. Erohina, A. P. Moryganov, O. Ju. Kuznecov**

*The process of synthesis of ultradisperse particles of silver by the reduction of its salts, differing in solubility by 5-40 orders of magnitude, was studied with the methods of spectrophotometry, dynamik light scattering and visual observation. It was revealed that the solubility of salt precursor has significant effect on the speed of silver*

*reduction. The method of photon correlative spectroscopy has confirmed the obtaining of silver nanoparticles after the completion of reduction reaction with the approximate hydrodynamic radius of 20 nanometers, including stabilizer's shell.*

*The biological activity of synthesized sols towards the test cultures (Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albicans) was studied revealing its dependance on the size of particles being formed.*

*The dependence of stability of textile materials, doped with the synthesized sols, to the effect of natural complex of microflora and soil microflora on the solubility of salts-precursors and the sizes of the formed particles was researched.*

**Keywords:** sparingly soluble salts of silver, synthesis, antimicrobial activity, nanoparticles of silver

## Введение

Эффективным приемом борьбы с возрастающим количеством штаммов резистентных микроорганизмов является расширение ассортимента инновационных текстильных материалов, модифицированных биологически активными наноразмерными частицами (НЧ) металлов. Необходимо отметить, что биоцидное действие зависит от размеров НЧ. Такая зависимость представляется логичной, т.к. диспергирование увеличивает площадь контакта металлов с поверхностью микробных клеток и увеличивает эффективность воздействия на них. Благодаря размерам НЧ менее 100 нм, сопоставимым с размерами клеток (10–100 мкм), вирусов (20–450 нм), белков (5–50 нм), ДНК (2–100 нм), они могут приближаться к биообъекту, взаимодействовать и связываться с ним [1].

Применение НЧ серебра обусловлено их антибактериальным и лечебным действием, низкой адаптацией к серебру микроорганизмов (МО) и более низкой токсичностью НЧ в сравнении с токсичностью их солей [2–5]. В свете указанной проблемы наиболее важной задачей является совершенствование приемов формирования ультрадисперсных частиц металлов и стабильных золей для модификации полимерных матриц.

Новыми, интересными, но малоизученными являются процессы синтеза наночастиц серебра химическим восстановлением в водных растворах их труднорастворимых соединений в качестве прекурсоров, когда параллельно протекают процессы твердофазного восстановления ионов металлов в решетке микрокристалла и процессы с участием ионов металла, перешедших из твердого вещества в раствор [6–8]. Перспективность данного направления обусловлена возможностью регулировать в широком диапазоне состав, структуру и свойства синтезируемых металлических наночастиц. При этом важно, что переводом металла, например, серебра, в высокодисперсное состояние обеспечивают несвойственную его малорастворимым солям антимикробную активность [9].

В данной работе представлены в сравнительном плане экспериментальные исследования процессов формирования наночастиц серебра при восстановлении их труднорастворимых соединений, существенно различающихся по растворимости, и дана оценка целесообразности их применения для обеспечения целлюлозосодержащим материалам антимикробной активности или биозащищенности.

## Экспериментальная часть

Труднорастворимые соли получали путем медленного добавления к водному раствору нитрата серебра ( $2,94 \cdot 10^{-3}$  М) при температуре 25 °С водных растворов солей с соответствующими анионами (А<sup>-</sup>). Мольное соотношение  $Ag^+/A^-$  равнялось 1:1. Стабилизатор, в качестве которого применяли желатин марки П-11 фирмы «Химмед» в концентрации 0,05 %, вводился в раствор прекурсора.

В качестве прекурсоров использовали растворимые соли: нитрат серебра и соли серебра, различающиеся растворимостью на 5–40 порядков (произведение растворимости (ПР) от  $1,6 \cdot 10^{-5}$  до  $8,5 \cdot 10^{-45}$ ).

Золи серебра синтезировали в термостатируемой ячейке при использовании в качестве восстановителя тетрагидробората натрия марки Б фирмы Вектон ( $C_{NaBH_4} = 1,3 \cdot 10^{-2}$  М), который добавляли при интенсивном перемешивании к коллоидным растворам труднорастворимой соли.

Синтезированные золи хранили в закрытых колбах.

Процесс формирования высокодисперсных частиц контролировали по изменению окраски растворов, их агрегативной устойчивости, спектрофотометрически. Оптические спектры поглощения растворов с синтезированными наночастицами регистрировали в области 300–800 нм на спектрофотометре Agilent 8453.

Размер синтезированных частиц определяли на приборе «Zetasizer Nano ZS» методом динамического светового рассеяния DLS (Dynamik Light Scattering), в основе которого лежит изме-

рение флуктуаций интенсивности рассеянного света при прохождении лазерного луча в результате локальных неоднородностей преломления жидкости [10].

Иммобилизацию синтезированных препаратов осуществляли методом пропитки. Образцы тканей размером 6x30 см выдерживали в зольях  $Ag^0$  в течение 20–25 минут при температуре  $30 \pm 1$  °С и жидкостном модуле 10, затем отжимали до 100 %-ной влажности и высушивали на воздухе.

Оценку антибактериальной активности синтезированных зольей серебра проводили методом диффузии в агар на твёрдой среде. На подготовленный бактериальный газон, засеянный соответствующими тест-культурами, помещали кусочки целлюлозной ткани, обработанные препаратами, содержащими НЧ серебра. Чашки Петри в течение суток выдерживали в термостате при температуре 37 °С. Для количественной оценки степени воздействия биоцидов, содержащихся в текстильных материалах, измеряли зону ингибирования роста тест-культур вокруг образцов в мм.

Биодеструкцию текстильных материалов после выдерживания их в почвенной микрофлоре в течение 10 суток оценивали визуально – по изменению их внешнего вида, и количественно – по снижению прочностных показателей и изменению коэффициента устойчивости к микробиологическому разрушению (К). Последний вычисляли по формуле:

$$K (\%) = P_T \cdot 100 / P_0,$$

где  $P_T$  – разрывная нагрузка материала, промытого после контакта с почвой, высушенного на воздухе и кондиционированного, Н;

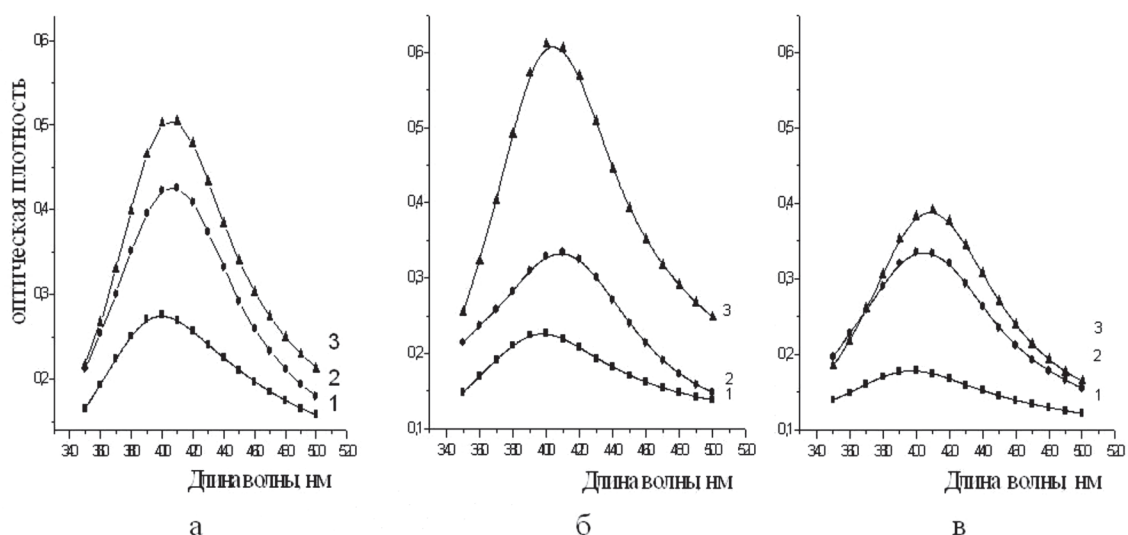
$P_0$  – разрывная нагрузка исходного материала, промытого, высушенного на воздухе и кондиционированного, Н.

Согласно ГОСТ 9,060 ткань считается устойчивой к микробиологическому разрушению, если  $K \geq 80 \pm 5$  %.

В качестве объектов для защиты от биодеструкторов использовали ткань Брезент арт. 7 поверхностной плотностью 500 г/м<sup>2</sup>, содержащий нативные (не подвергавшиеся действию химических реагентов) волокна льна и хлопка.

### Результаты и обсуждение

Выбор условий приготовления реакционных систем перед введением в них тетрагидробората натрия осуществляли на примере получения хлорида серебра. Стабилизированные дисперсные системы готовили путем введения желатина в водный раствор хлорида натрия (а), либо в водный раствор нитрата серебра (б), либо в систему после образования хлорида серебра (в). Катионы включаются в комплекс с желатином посредством донорно-акцепторного взаимодействия с атомами азота в его цепи [11]. Поэтому использование стабилиза-



**Рис. 1. Кинетика изменения оптических спектров поглощения коллоидных растворов  $AgCl$  после восстановления тетрагидроборатом натрия стабилизированных реакционных систем, полученных введением желатина:**

(а) – в раствор  $NaCl$ ; (б) – в раствор  $AgNO_3$ ; (в) – в дисперсию  $AgCl$ .  
 Время формирования зольей, час: 1 – 1; 2 – 24; 3 – 144

тора на стадии, предшествующей образованию малорастворимой соли, должно определенным образом влиять на её структуру.

Спектры поглощения на рис. 1 характеризуют динамику формирования золей AgCl после введения восстановителя в стабилизированные реакционные системы. Они показывают, что предварительное связывание растворимых солей NaCl (а) или AgNO<sub>3</sub> (б) в комплекс с желатином обеспечивает лучшие результаты при синтезе НЧ серебра. В этих случаях при добавлении восстановителя к коллоидному раствору практически сразу происходит его окрашивание в бледно-желтый цвет, обусловленный образованием высокодисперсного серебра. Следует отметить, что полное восстановление протекает достаточно медленно, что подтверждается приведенными на рис. 1 спектральными кривыми.

Размытые полосы поглощения в области 360–450 нм (кривая 1), постепенно в течение 24–144 часов трансформируются в спектры с четко выражён-

ным максимумом высокой интенсивности при 400 нм (кривая 3). Такие изменения рассматривают как доказательство образования наночастиц серебра с узким распределением по размерам [12-14]. При введении желатина в образовавшуюся дисперсию AgCl (рис. 1в) в аналогичных условиях не происходит полного восстановления ультрадисперсных частиц серебра. Очевидно, скорость реакции в данном случае гораздо меньше и для достижения результата первых двух реакций (рис. 1а, б) необходимо либо увеличение времени реакции, либо увеличение концентраций восстановителя и стабилизатора.

Приведенные на рис. 2 размеры гидродинамических радиусов синтезированных частиц (включая стабилизирующую оболочку) показывают, что при восстановлении AgCl в первый момент частицы серебра имеют размер 79–104 нм. При завершении реакции преимущественно размеры частиц становятся порядка 20 нм. Следует отметить, что доля мелких частиц в реакции, в которой же-

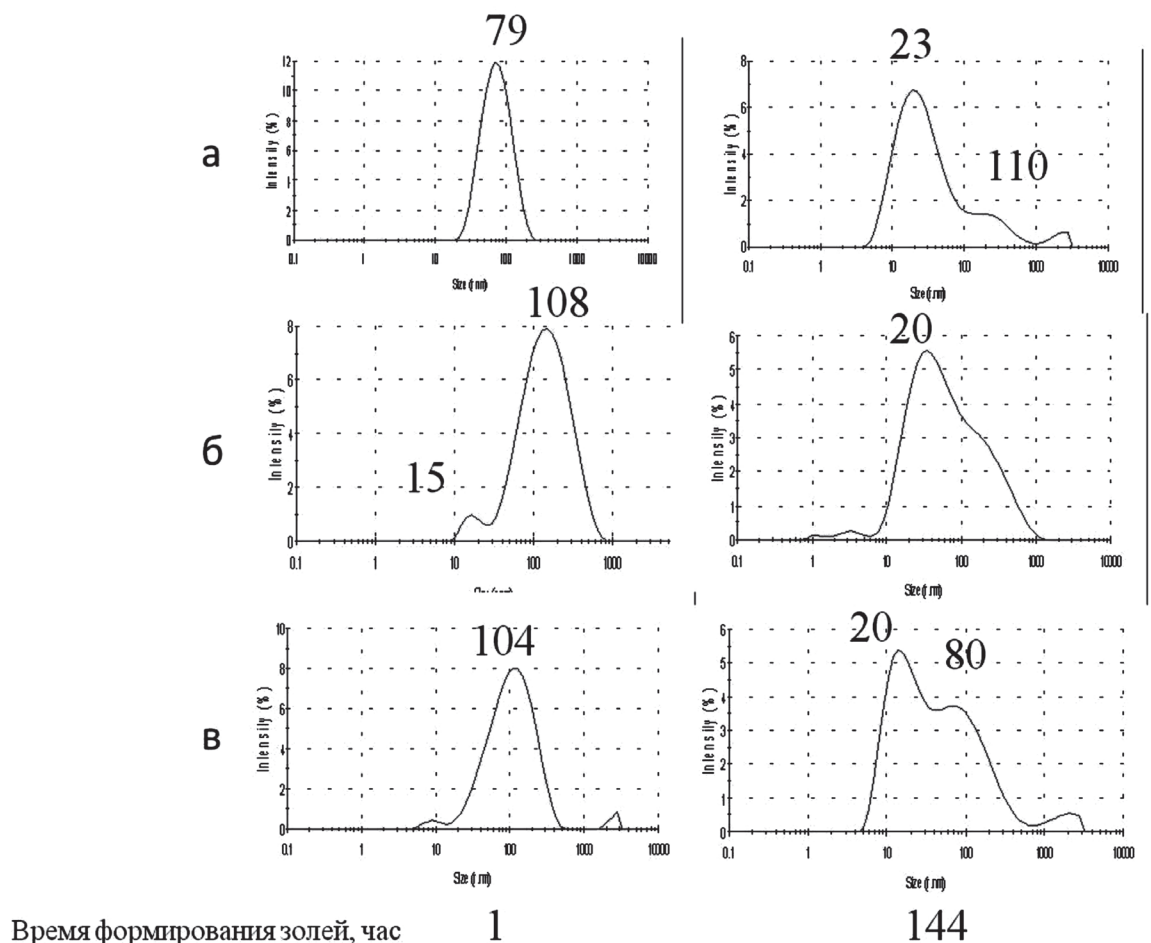
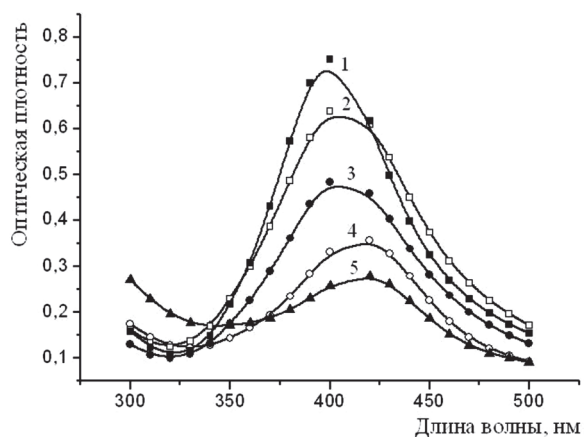


Рис. 2. Диаграмма распределения по размерам наночастиц серебра после восстановления тетрагидроборатом натрия стабилизированных реакционных систем, полученных введением желатина

(а) – в растворе NaCl; (б) – в растворе AgNO<sub>3</sub>; (в) – в дисперсию AgCl



**Рис. 3. Спектры поглощения золей серебра, полученных восстановлением тетрагидроборатом**  
 1 - сульфата серебра; 2 - хлорида серебра;  
 3 - йодида серебра; 4 - гексацианоферрата (III) серебра, 5 - гексацианоферрата (IV) серебра

латин добавлялся к исходным растворимым солям, гораздо выше (рис. 2 а, б).

На рис. 3 представлены спектры, показывающие зависимость образования наночастиц от растворимости соли-прекурсора (таблица 1).

Спектральные кривые, полученные через 144 ч после начала восстановления, наглядно иллюстрируют, что процесс восстановления коллоидных дисперсий твердых прекурсоров зависит от их растворимости.

Таблица 1

Растворимость солей серебра [15]

№	Формула соли	ПР
1.	$\text{Ag}_2\text{SO}_4$	$1,6 \cdot 10^{-5}$
2.	$\text{AgCl}$	$1,78 \cdot 10^{-10}$
3.	$\text{AgI}$	$8,3 \cdot 10^{-17}$
4.	$\text{Ag}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	$1,0 \cdot 10^{-22}$
5.	$\text{Ag}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	$8,5 \cdot 10^{-45}$

Так, гексацианоферраты (III) и (IV) серебра, с наиболее низкой растворимостью в воде (ПР =  $1,0 \cdot 10^{-22}$  и  $8,5 \cdot 10^{-45}$ , соответственно), восстанавливаются очень медленно. Даже по истечении 144 ч спектральные кривые 4 и 5 имеют размытый максимум.

Напротив, при восстановлении  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  растворимость которого на несколько порядков выше, спектр имеет четко выраженный максимум высокой интенсивности при 400 нм, что свидетельствует об эффективном процессе восстановления серебра и образовании монодисперсных наночастиц (крив. 1).

Согласно литературным данным [16], механизм восстановления  $\text{Ag}^+$  зависит от растворимости соли-прекурсора. Для солей с крайне низкой растворимостью (в нашем случае, это йодид серебра и гексацианоферраты (III) и (IV) серебра) восстановление протекает по твердофазному механизму через формирование промежуточных структур типа  $\text{AgCl}$  (ядро) –  $\text{Ag}$  (оболочка). При восстановлении из сульфата или хлорида серебра двухслойные частицы типа «ядро-оболочка» не формируются, а реакция протекает через раствор.

Зависимость антимикробной активности синтезированных золей от показателя растворимости соли-прекурсора и размера образующихся частиц проводили на основании микробиологических исследований по зонам задержки роста тест-культур (см. таблицу 2). В качестве последних использовали предварительно выращенные на скошенном агаризованном мясопептонном агаре суточные тест-культуры микроорганизмов – кишечной палочки *Escherichia coli* M-17 (грамотрицательная культура), золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* 6538-P ATCC=209-P FDA (грамположительная культура) и штамма дрожжеподобных микроскопических грибов – кандиды альбиканс *Candida albicans* CCM 8261 (ATCC 90028).

Фотографии образцов, характеризующие количество микроорганизмов, сохраняющих свою жизнедеятельность вблизи лунки, заполненной препаратом, являются наглядным подтверждением воздействия реагентов на микробиологические культуры. Ореолы вокруг образцов, различные по диаметру и интенсивности окраски, - зоны ингибирования, определяющие пространство вокруг испытуемого образца, в котором микроорганизмы уничтожаются или замедляют рост.

Увеличение диаметра зоны вокруг образцов с размером частиц не более 30 нм является доказательством более высокой эффективности препарата.

Изучена эффективность синтезированных золей серебра в обеспечении защиты целлюлозосодержащим текстильным материалам от действия биодеструкторов. Материалы допировали соответствующими зольями в течение 10 мин при температуре  $30 \pm 1$  °С, отжимали на лабораторной установке до остаточного содержания раствора 100 % и высушивали.

Культивирование естественного комплекса микрофлоры обеспечивали выдерживанием исследуемых объектов в термостате ТС-80 при  $29 \pm 0,2$  °С и влажности 98–100 % в течение 14 суток.

Количественные данные, позволяющие охарактеризовать биозащищенность суровой ткани Брезент, приведены в таблице 3.

Таблица 2

## Зависимость антимикробной активности синтезированных золей от соли - прекурсора

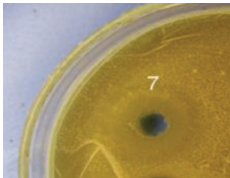
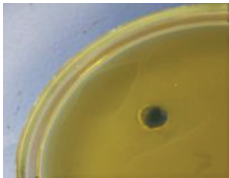
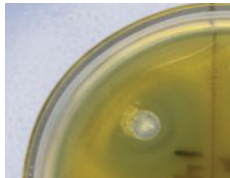
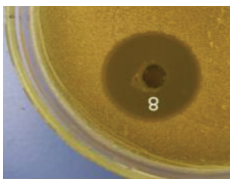
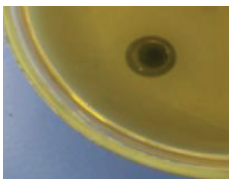
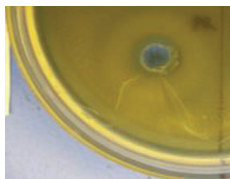
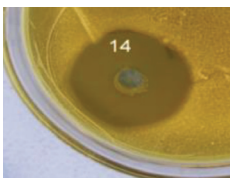
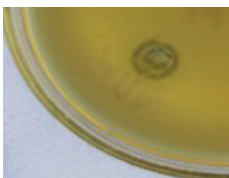
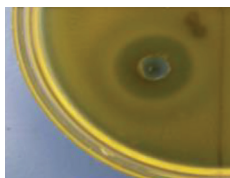
Соль-прекурсор	Размер наночастиц, нм	Зоны задержки роста тест-культур, мм		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
$\text{Ag}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	140			
$\text{AgCl}$	20			
$\text{Ag}_2\text{SO}_4$	30			

Таблица 3

## Влияние наночастиц серебра на устойчивость целлюлозных материалов к микробиологическому разрушению

№	Соль-прекурсор	Время синтеза, ч	Показатели, характеризующие биоразрушение материала при культивировании			
			естественного комплекса микрофлоры			почвенной микрофлоры
			обрастание плесневыми грибами, балл*	наличие специфического запаха	К, %	
1	$\text{Ag}_2\text{SO}_4$	144	0	–	88	84
2	$\text{AgCl}$	1	2	+	60	50
3	$\text{AgCl}$	144	0	–	89	85
4	$\text{Ag}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	144	2	+	55	54
5	Без обработки	–	5	+	40	0

\* 0 – под микроскопом не обнаружено видимых изменений на поверхности материала;

2 – под микроскопом виден развитый мицелий;

5 – невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих более 25 % испытуемой поверхности.

После культивирования естественного комплекса микрофлоры незащищенная ткань, помимо высокой степени обрастания плесневыми грибами (5 баллов), приобретает специфический (гнилостный) запах и теряет до 40 % показатель прочности на разрыв (строка 5). Обработка ткани золями с размерами наночастиц более 100 нм, полученными

из хлорида серебра в течение первого часа восстановления и гескацианоферрата серебра (строки 2 и 4), не позволяет защищать должным образом целлюлозный материал. В этом случае ткань обрастает плесневыми грибами (2 балла), приобретает гнилостный запах и показатель устойчивости всего лишь 55–60 % (строка 4).

У ткани, обработанной золями серебра, полученными из сульфата серебра или хлорида серебра после полного восстановления (строки 1 и 3), отсутствует специфический запах и видимая колонизация их поверхности (обрастание 0 баллов). Кроме того, высокие показатели коэффициента устойчивости к микробиологическому разрушению 88–89 % указывают на высокую степень сохранности текстильного материала.

Более значительные различия внешнего вида и показателей биоустойчивости необработанных и защищенных материалов проявляются после их контакта с почвенной микрофлорой. В почве, как известно, формируются наиболее агрессивные биологические сообщества, при этом для всех типов почв характерно наличие грибов рода *Penicillium*, *Aspergillus* и бактерий *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium* [17].

При контакте в течение 14 суток с почвенной микрофлорой исходный необработанный материал теряет до 100 % прочности. Нарушение целостности структуры ткани Брезент свидетельствует о полной потере её эксплуатационных и эстетических свойств. В аналогичных условиях, наночастицы серебра, синтезированные из гексацианоферрата (IV), не защищают в достаточной степени целлюлозную ткань от биодеструкции. Коэффициенты устойчивости составляют всего лишь 55 %. Высокую степень биозащиты (K=84–85 %) текстильному материалу обеспечивают золи, полученные из сульфата серебра и хлорида серебра, но только после полного завершения реакции восстановления.

### Заключение

Методами спектрофотометрии, динамического светорассеяния и визуальным наблюдением исследован процесс синтеза ультрадисперсных частиц серебра путем восстановления его солей, различающихся растворимостью на 5–40 порядков (ПР от  $1,6 \cdot 10^{-5}$  до  $8,5 \cdot 10^{-45}$ ). Выявлено, что на скорость восстановления серебра существенное влияние оказывает растворимость соли-прекурсора.

Показана зависимость биологической активности синтезированных зелей в отношении тест-культур *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* от размера образующихся частиц.

Установлена зависимость устойчивости текстильных материалов, допированных синтезированными золями, к действию естественного ком-

плекса микрофлоры и почвенной микрофлоры от растворимости солей-предшественников и размеров образующихся частиц.

*Спектральные исследования выполнены на оборудовании центра коллективного пользования «Верхневолжский региональный центр физико-химических исследований».*

### Литература

1. Ржеусский С.Э., Авчинникова Е.А., Воробьева С.А. Вестник фармации 2014. №3 (65). с. 62–68.
2. Ласкин С.А. Целебные силы меди. Медетерапия. М.: Приор, 2001. 112 с.
3. Рахметова А.А., Алексеева Т.П., Богословская О.А. и др. Российские нанотехнологии. 2010. т. 5. №3–4. с. 102–107.
4. Щербаков А.Б., Корчак Г.И., Сурмашева Е.В. и др. Фармацевтический журнал. 2006. №5. с. 45–57.
5. Пат. РФ №2446810 (опубл. 10.04.2012). Антимикробные агенты. Глущенко Н.Н., Богословская О.А., Рахметова А.А. и др.
6. Шевченко Г.П., Свиридов В.В. Вестник БГУ. 2003. сер. 2. с. 56–73.
7. Еришов Б.Г., Абхалимов Е.В. Коллоидный журнал. 2009. т. 71. №4. с. 486–491.
8. Галашина В.Н., Ерохина Е.В., Дымникова Н.С., Морыганов А.П. Известия ВУЗов. Химия и хим. технология. 2016. т. 59. №6. с. 112–117.
9. Блажитко Е.М., Бурмистров В.А., Колесников А.П. и др. Серебро в медицине. Новосибирск.: Наука-Центр. 2004. 254 с.
10. Кокиаров С.А. Изв. ВУЗов. Химия и хим. технология. 2015. т. 58. №1. с. 33–36.
11. Вегера А.В. Влияние условий синтеза на коллоидно-химические свойства наночастиц серебра: дисс. ... канд. хим. наук. М. 2006. 164 с.
12. Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Луничкин Г.В. Успехи химии. 2008. т. 77. с. 242–269.
13. Galashina V.N., Erohina E.V., Dymnikova N.S., Moruganov A.P. Russian Journal of General Chemistry. 2017. v. 87. №6. p. 1403–1411.
14. Erohina E.V., Galashina V.N., Dymnikova N.S., Moruganov A.P. Russian Journal of Applied Chemistry. 2015. v. 88. №5. p. 738–745.
15. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1979. 480с.
16. Бокшиц Ю.В., Шевченко Г.П., Понявина А.Н. и др. Коллоидный журнал. 2004. т. 66. №5. с. 581–587.
17. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы М.: Изд-во АН СССР, 1952. 792 с.