

СТАТЬЯ

УДК 54.05:546.57

СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДИАЛЬДЕГИДА ПЕКТОВОЙ КИСЛОТЫ

Серикова Л.В., Прохоренко В.А., Ли С.П., Худайбергенова Э.М.

*Институт химии и фитотехнологий Национальной академии наук
Кыргызской Республики, Бишкек, e-mail: luda-0720@mail.ru*

В работе представлен *in situ* метод синтеза наночастиц серебра с использованием производного пектина – диальдегида пектовой кислоты. Диальдегид – производное пектина использовали одновременно для восстановления ионов серебра до нульвалентного состояния и для стабилизации получающихся наночастиц, что привело к образованию наногелей, состоящих из наночастиц серебра, окруженных оболочкой из окисленного пектина. Изучено влияние параметров реакции на свойства синтезированных наночастиц. Полученные наногели, содержащие наночастицы серебра, были исследованы методами УФ-, ИК-спектроскопии. При увеличении времени реакции содержание альдегидов снижается. При этом в реакцию вступает большее количество ионов серебра, что приводит к уменьшению количества непрореагировавших альдегидных групп. Также при увеличении времени реакции снижается оптическая плотность растворов, что подтверждает, что альдегидные группы восстанавливают нитрат серебра до наносеребра. Структурные и морфологические характеристики анализировались методами рентгеновской дифрактометрии и сканирующей электронной микроскопии соответственно. Определен размер кристаллов синтезированного наносеребра. Средний размер структурной единицы полученных наногелей варьировался в широких значениях, а размер самих серебряных наночастиц в геле изменялся в зависимости от времени реакции. Определено, что в начале реакции размер частиц увеличивается быстро и стабилизируется после некоторого промежутка времени.

Ключевые слова: наноразмерное серебро, окисленный пектин, наносеребряный гель

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING DIALDEHYDE OF PECTIC ACID

Serikova L.V., Prokhorenko V.A., Li S.P., Khudaibergenova E.M.

*Institute of Chemistry and Phytotechnologies of the National Academy of Sciences
of the Kyrgyz Republic, Bishkek, e-mail: luda-0720@mail.ru*

The paper presents an *in-situ* method for the synthesis of silver nanoparticles using a pectin derivative – pectic acid dialdehyde. A dialdehyde derivative of pectin was used simultaneously to reduce silver ions to the zero-valent state and to stabilize the resulting nanoparticles, resulting in the formation of nanogels consisting of silver nanoparticles surrounded by a shell of oxidized pectin. The influence of reaction parameters on the properties of synthesized nanoparticles was studied. The obtained nanogels containing silver nanoparticles were studied by UV and IR spectroscopy. As the reaction time increases, the aldehyde content decreases. In this case, a larger number of silver ions enter into the reaction, which leads to a decrease in the number of unreacted aldehyde groups. Also, with an increase in the reaction time, the optical density of the solutions decreases, which confirms that aldehyde groups reduce silver nitrate to nanosilver. The structural and morphological characteristics were analyzed by X-ray diffractometry and scanning electron microscopy, respectively. The crystal size of the synthesized nanosilver was determined. The average size of the structural unit of the obtained nanogels varied widely, and the size of the silver nanoparticles in the gel changed depending on the reaction time. It was determined that at the beginning of the reaction the particle size increased rapidly and stabilized after a certain period of time.

Keywords: nano silver, oxidized pectin, nano silver gel

Введение

Несмотря на большое количество работ, наночастицы серебра остаются весьма интересным объектом для исследования, так как они обладают антимикробными, антигрибковыми и противовирусными свойствами, характеризуются низкой токсичностью по отношению к живым организмам и успешно применяются в различных областях медицины. Для синтеза серебряных наночастиц используются различные восстанавливающие сахара, такие как глюкоза, фруктоза и сахароза [1]. Проводятся иссле-

дования по контролируемому синтезу серебряных наноструктур из AgNO_3 с использованием различных природных полимеров [2; 3], как с применением, так и в отсутствие стабилизирующих агентов [4; 5]. Огромное внимание уделяется антибактериальной активности наночастиц серебра [6; 7]. Разработаны гидрогели из хитозана, желатина и наносеребра [8-10]. Такие гели потенциально применимы как повязки для ран [11-13]. При этом природные полимеры служат как восстановителем, так и стабилизатором. Такое восстановление серебряной

соли до металлического серебра проводится *ex situ*. Однако для использования наносеребряных материалов на практике огромную значимость представляет разработка методом *in situ*, при котором серебряные наночастицы формируются непосредственно в системе, что снижает цитотоксичность. Пектин, природный полисахарид, обладающий такими свойствами, как биосовместимость, нетоксичность, также широко используется в фармакологии и медицине. При периодатном окислении пектин обогащается альдегидными группами, что делает его еще более реакционноспособным.

Целью настоящего исследования является синтез и характеристика стабильных наночастиц серебра *in situ*, полученных восстановлением нитрата серебра под воздействием альдегидпроизводного пектина – диальдегида пектовой кислоты.

Материалы и методы исследования

Для эксперимента использовались коммерческие препараты свекловичного пектина, изопропилового спирта, нитрата серебра и йодной кислоты (Индия). Все остальные химические вещества имели аналитическую степень чистоты. Для всех экспериментов использовалась бидистиллированная вода.

Окисление пектина йодной кислотой. 3 мл 0,5 М раствора йодной кислоты добавляли к 2%-ному раствору пектина в дистиллированной воде. pH среды регулировался до значения 3,5 с использованием разбавленной соляной кислоты и раствора гидрокарбоната натрия. Реакцию проводили при температуре 40 °С при постоянном перемешивании в течение 16 часов. Для предотвращения автоокисления под действием света колбу с реакционной смесью оборачивали алюминиевой фольгой и проводили реакцию в темноте. В конце реакции диальдегид пектовой кислоты осаждали изопропиловым спиртом в избыточном количестве, фильтровали и высушивали в вакууме при 60 °С. Содержание альдегидных групп в полученном окисленном пектине составило 10,18 ммоль/г.

Восстановление нитрата серебра диальдегид производным пектина. 1 мас.% нитрата серебра (AgNO_3) добавляли к 2,8%-ному раствору диальдегида пектовой кислоты (начальное содержание альдегидов – 10,18 ммоль/г). Реакцию проводили при постоянном перемешивании в течение заранее заданных промежутков времени. Температура реакции поддерживалась на уровне 60 °С. Чтобы предотвратить автоокисление нитрата серебра под действием света, колбу с реакционной смесью оборачивали алю-

миниевой фольгой. В конце реакции полученный наноконкомплекс диальдегид пектовой кислоты – наносеребро (ДАПК-НС) осаждали избытком изопропилового спирта, отделяли фильтрацией и высушивали в вакууме при 60 °С.

Расчет количества альдегидных групп, вступивших в реакцию. Количество израсходованных альдегидных групп при восстановлении нитрата серебра рассчитывалось с использованием метода на основе 2,4-динитрофенилгидразина. 100 мл 0,3% раствора ДАПК-НС добавляли к 10 мл свежеприготовленного раствора динитрофенилгидразина, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 1 час, затем центрифугировали при 7000 об./мин. в течение 10 минут и измеряли оптическую плотность не вступившего в реакцию динитрофенилгидразина в надосадочной жидкости при длине волны $\lambda = 326,4$ нм на УФ-спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35. Количество израсходованных альдегидных групп рассчитывали по формуле:

$$\begin{aligned} \text{содержание альдегидных групп (ммоль/г)} &= \\ &= (2 \times \text{прореагировавший} \\ &\text{динитрофенилгидразин (ммоль/г)}) \times \\ &\times 646 / (3 \times 10^{-4} \times 198,14 \times 5). \end{aligned}$$

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (FTIR). FTIR-спектры образцов окисленного пектина с иммобилизованным наносеребром, полученных при различном времени восстановления, записывали в виде таблеток с KBr в диапазоне 4000–400 см^{-1} и разрешением 2 см^{-1} на спектрометре Perkin Elmer Spectrum-BX FTIR.

УФ-спектрофотометрия. Образцы полученных растворов наногелей ДАПК-НС с различным временем восстановления анализировались при длине волны 300–600 нм на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35.

Энергодисперсионный рентгеновский анализ. Для определения элементного состава в матрицах ДАПК-НС проводился энергодисперсионный рентгеновский анализ. Образцы размещались на алюминиевом держателе и покрывались углеродом с помощью установки Auto-Fine Coater JFC-1600 (Joel, USA Inc., США). Изображения и содержание серебра в образцах определялись с использованием энергодисперсионной рентгеновской системы Bruker-AXS (модель QuanTax 200) на базе технологии SDD, США.

Рентгеновская дифракция. Широкоугольные рентгеновские дифракционные спектры были получены с использованием прибора PANalytical X'Pert PRO при 40 кВ и 40 мА с использованием герметичной

трубки и излучения $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$). Размер кристаллитов (L) синтезированных частиц наносеребра рассчитывался по уравнению Шеррера:

$$L = (0,94 \times \lambda) / (\beta \times \cos\theta),$$

где β – ширина линии дифракции на половине максимальной интенсивности (в радианах), λ – длина волны рентгеновского излучения ($1,54 \text{ \AA}$), а θ – угол Брэгга (в градусах).

Распределение наночастиц по размерам изучалось методом сканирующей электронной микроскопии на микроскопе JSM 6490 LV.

Результаты исследования и их обсуждение

Пектин – это анионный полисахарид с соседними диольными группами в основной цепи, которые могут подвергаться окислению с использованием йодной кислоты. Подобно другим восстанавливающим сахарам, таким как фруктоза и глюкоза, альдегидные группы, введенные в пектин, способны восстанавливать нитрат серебра до металлического серебра. Схематическое изображение этого процесса представлено ниже.

Схема 1.

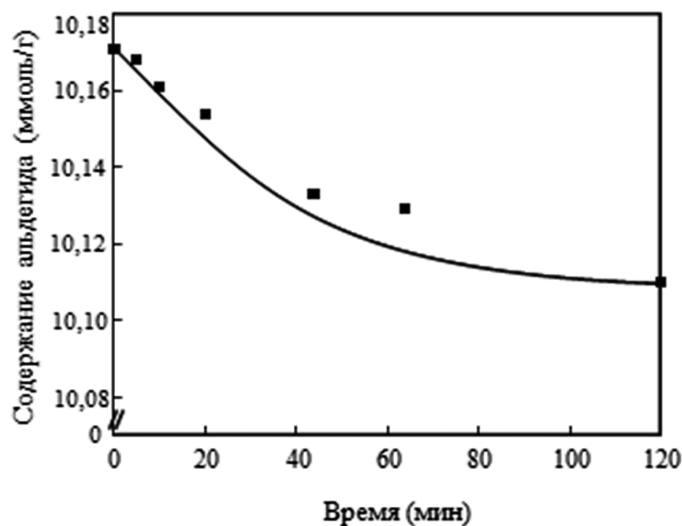
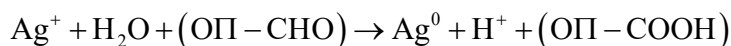
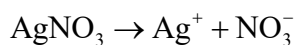


Рис. 1. Изменение содержания альдегидных групп в зависимости от времени реакции, начальное содержание альдегида 10,18 ммоль/г, температура реакции 60°C, pH 4
Примечание: составлено авторами

Кроме того, окисленный пектин действует как стабилизатор для частиц наносеребра благодаря своей длинноцепочечной структуре. Внедрение наносеребра в матрицу путём *in situ* восстановления предполагает улучшение характеристик этих систем по доставке лекарств и уходу за ранами [14]. Превращение нитрата серебра в наносеребро происходит практически мгновенно, о чём свидетельствует изменение цвета.

С увеличением времени реакции цвет постепенно меняется, что обусловлено различной морфологией образующихся наночастиц. Определялось количество потреблён-

ного альдегида в зависимости от времени реакции (рис. 1). Начальное содержание альдегидов в пектине составляло 10,18 ммоль/г.

Реакция начинается практически сразу, что видно по снижению содержания альдегидов уже через 5 минут. При увеличении времени реакции с 5 до 120 минут содержание альдегидов снижается с 10,18 до 10,08 ммоль/г. При этом в реакцию вступает большее количество ионов серебра, что приводит к уменьшению количества непрореагировавших альдегидных групп. Более стабильное состояние достигается примерно через 60 минут.

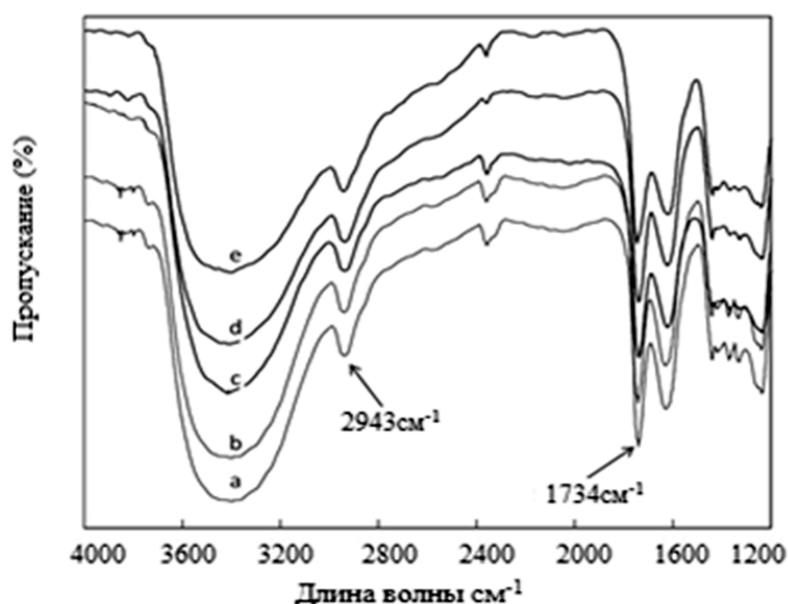


Рис. 2. FTIR-спектры образцов окисленного пектина с иммобилизованным наносеребром в зависимости от времени реакции: (a) диальдегид пектовой кислоты, (b) 10 мин., (c) 40 мин., (d) 60 мин., (e) 120 мин. Исходное содержание альдегидных групп 10,18 ммоль/г, температура реакции 60°C, pH 4
Примечание: составлено авторами

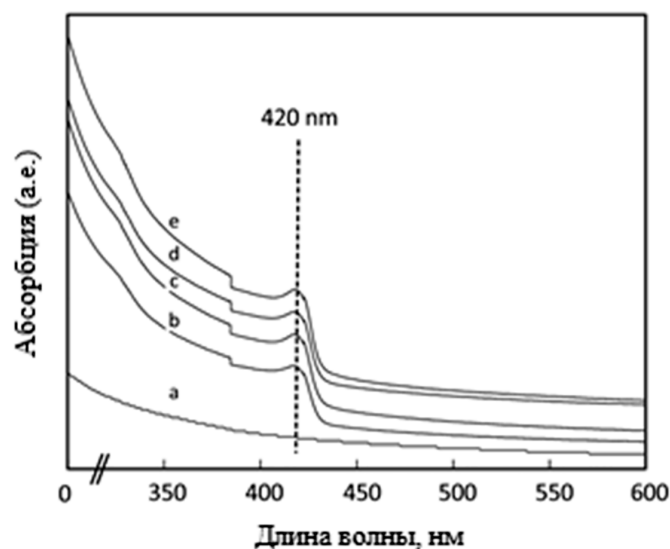


Рис. 3. УФ-спектры ДАПК-НС растворов при различном времени реакции: (a) чистый диальдегид пектовой кислоты, (b) 5 мин., (c) 20 мин., (d) 60 мин., (e) 120 мин. Начальное содержание альдегидных групп 10,18 ммоль/г, температура реакции 60°C, pH 4
Примечание: составлено авторами

На рисунке 2 представлены инфракрасные спектры Фурье (FTIR) преобразования ДАПК-НС наногидрогелей при различном времени восстановления. Пик на 1734 см^{-1} соответствует колебаниям карбонильной группы альдегида в окисленном пектине. После восстановления нитрата се-

ребра до нульвалентного состояния интенсивность пика снижается.

Оптическая плотность пика альдегидных колебаний рассчитывалась относительно поглощения CH_2 при 2943 см^{-1} . При увеличении времени реакции с 10 до 120 минут оптическая плотность снижается

с 1,596 до 1,231, что подтверждает, что альдегидные группы восстанавливают нитрат серебра до наносеребра.

На рисунке 3 представлены спектры УФ-видимого излучения для систем ДАПК-НС при различном времени реакции. Четко наблюдается ярко выраженный резонансный пик около 420 нм, относящийся к наносеребру. Интенсивность резонансного пика возрастает с увеличением времени реакции, что указывает на рост концентрации наносеребра в системе.

В спектрах энергодисперсионного рентгеновского анализа для ДАПК-НС наногидрогеля (время реакции – 120 минут) присутствует пик на 3 кэВ, что соответствует серебру. Поскольку непрореагировавший AgNO_3 растворяется в воде и изопропиловом спирте во время осаждения, можно предположить, что серебро, обнаруженное

методом энергодисперсионного рентгеновского анализа, находится исключительно в металлической форме.

Кристаллическая структура синтезированных ДАПК-НС наногидрогелей была исследована с использованием рентгеновской дифрактометрии (рис. 4).

Пики при $2\theta = 39,23^\circ$, $43,77^\circ$ и $76,87^\circ$ соответствуют кристаллическим плоскостям (111), (200) и (311) серебра соответственно, что указывает на гранецентрированную кубическую кристаллическую структуру. Размер кристаллитов (L), рассчитанный по уравнению Шеррера, составил 26 нм. Широкий пик при $2\theta = 22,31^\circ$ обусловлен кристаллической структурой пектина [15; 16].

На рисунке 5 представлены снимки просвечивающей электронной микроскопии синтезированных ДАПК-НС наногидрогелей.

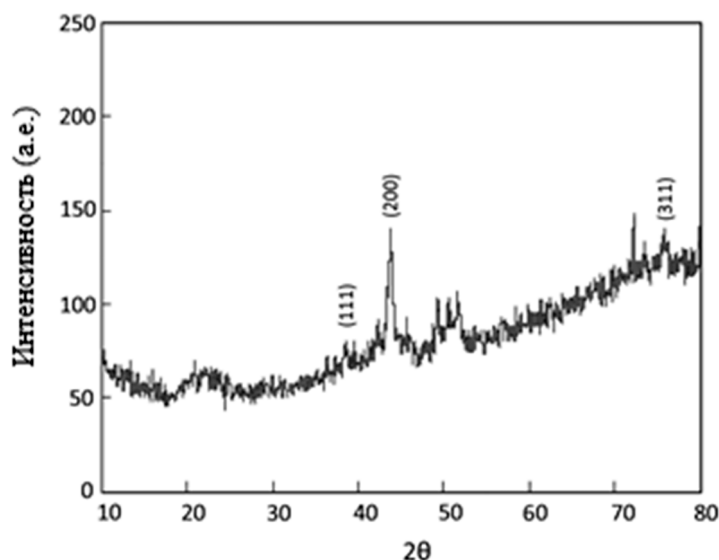


Рис. 4. X-лучевая дифрактограмма частиц ДАПК-НС. Начальное содержание альдегидных групп 10,18 ммоль/г, время реакции 40 мин., температура реакции 60°C , pH 4
Примечание: составлено авторами

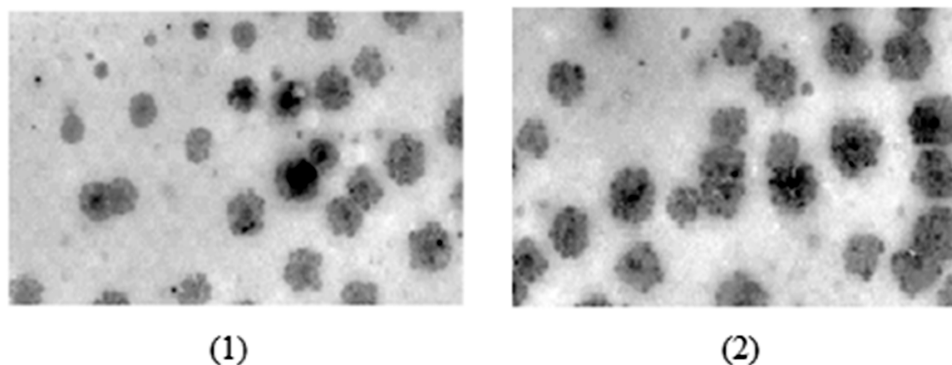


Рис. 5. Просвечивающая электронная микроскопия для частиц ДАПК-НС: (1) 5 мин., (2) 120 мин. Начальное содержание альдегидных групп 10,18 ммоль/г, температура реакции 60°C , pH 4
Примечание: составлено авторами

Предполагается, что тёмное ядро соответствует наносеребру, а облако вокруг – это полимерные «лепестки» диальдегида пектовой кислоты. Известно, что структура типа «ядро – оболочка» способствует лучшей антимикробной активности наночастиц металлов. Средний размер ядра и ядра с оболочкой у наногидрогеля ДАПК-НС при времени реакции 5 минут составляет 102 нм и 352 нм соответственно. При увеличении времени реакции полимерная оболочка диальдегида пектовой кислоты подвергается фрагментации.

Заключение

В настоящей работе представлен *in situ* метод синтеза наносеребра в среде диальдегида пектовой кислоты, предварительно полученной окислением пектина йодной кислотой. Нитрат серебра был восстановлен до металлического серебра альдегидными группами, присутствующими в окисленном пектине. Благодаря своей длинноцепочечной структуре диальдегид пектовой кислоты одновременно выполняет функцию стабилизатора наночастиц серебра. Это приводит к образованию наногидрогелей типа «ядро – оболочка» ДАПК-НС. Согласно данным рентгеновской дифрактометрии, синтезированное наносеребро обладает графическим кубической кристаллической структурой со средним размером кристаллитов 26 нм. Увеличение продолжительности реакции вызывает возрастание среднего размера частиц полученного наногидрогеля. Средний размер структурной единицы гидрогеля варьировался от 140 до 320 нм, а размер самих наночастиц серебра изменялся от 100 до 180 нм в зависимости от времени реакции. В начальной стадии реакции размер частиц увеличивается быстро до 40 минут, после чего стабилизируется. При увеличении времени реакции полимерная оболочка диальдегида пектовой кислоты подвергается фрагментации.

Список литературы

1. Baksi A., Gandhi M., Chaudhari S., Bag S., Gupta S.S., Pradeep T. Extraction of silver by glucose // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016. Vol. 55. P. 7777–7781. DOI: 10.1002/anie.201510122.
2. Amooaghaie R., Saeri M.R., Azizi M. Synthesis, characterization and biocompatibility of silver nanoparticles synthesized from *nigella sativa* leaf extract in comparison with chemical silver nanoparticles // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2015. Vol. 120. P. 400–408. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.06.025.
3. Bagherzade G., Tavakoli M.M., Namaei M.H. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of saffron (*Crocus sativus* L.) wastages and its antibacterial activity against six bacteria. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2017. Vol. 7. P. 227–233. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.12.014.
4. Al-Muhanna M.K.A., Hileuskaya K.S., Kulikouskaya V.I., Kraskouski A.N., Agabekov V.E. Preparation of stable sols of silver nanoparticles in aqueous pectin solutions and properties of the sols // *Colloid Journal.* 2015. Vol. 1. 77. № 6. P. 677–684. DOI: 10.1134/S1061933X15060022.
5. Mythili Tummalapalli, Deopura B.L., Alam M.S., Bhuvanesh Gupta. Facile and green synthesis of silver nanoparticles using oxidized pectin // *Materials Science and Engineering.* 2015. Vol. P. 31–36. DOI: 10.1016/j.msec.2015.01.055.
6. Нечаева О.В., Шульгина Т.А., Зубова К.В., Глинская Е.В., Беспалова Н.В., Дарьин Н.И., Тихомирова Е.И., Афиногенова А.Г. Антимикробная активность водных дисперсий наночастиц серебра в отношении возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний // *Инфекция и иммунитет.* 2022. Т. 12. № 4. С. 755–764. DOI: 10.15789/2220-7619-AAO-1937.
7. Gabrielyan L.S., Trchounian A.A. Antibacterial properties of silver nanoparticles and their membranotropic action // *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2020. Vol. 3. P. 64–71. Russian. DOI: 10.33581/2521-1722-2020-3-64-71.
8. Kalaivani R., Maruthupandy M., Muneeswaran T., Hameedha Beevi A., Anand M., Ramakritinan C.M., Kumaraguru A.K. Synthesis of chitosan mediated silver nanoparticles (Ag NPs) for potential antimicrobial applications // *Front. Lab. Med.* 2018. Vol. 2. P. 30–35. DOI: 10.1016/j.flm.2018.04.002.
9. Александрова В.А., Футорянская А.М., Садыкова В.С. Синтез и антибактериальная активность наночастиц серебра, стабилизированных сукцинимидом хитозана // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2020. Т. 56. № 5. С. 497–502. DOI: 10.31857/S0555109920050025.
10. Kumar S., Shukla A., Baul P.P., Mitra A., Halder D. Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications // *Food Packag. Shelf.* 2018. Vol. 16. P. 178–184. DOI: 10.1016/j.fpsl.2018.03.008.
11. Shao Y., Wu C., Wu T., Yuan C., Chen S., Ding T., Ye X., Hu Y. Green synthesis of sodium alginate-silver nanoparticles and their antibacterial activity // *Int. J. Biol. Macromol.* 2018. Vol. 111. P. 1281–1292. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.012.
12. Kejlová K., Kašpárková V., Krsek D., Jírová D., Kolářová H., Dvořáková M., Tománková K., Mikulcová V. Characteristics of silver nanoparticles in vehicles for biological applications // *Int. J. Pharm.* 2015. Vol. 496. P. 878–885. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.024.
13. Мамедов Э.И., Дергунова Е.С., Калмыкова Е.Н. Возможности биомедицинского применения модифицированных пектинов // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2021. Т. 21. С. 77–85. DOI: 10.17308/sorpchrom.2021.21/3222.
14. Pallavicini P., Arciola, C.R., Bertoglio F., Curtosi S., Dacarro G., D'Agostino A., Ferrari F., Merli D., Milanese C., Rossi S., et al. Silver Nanoparticles Synthesized and Coated With Pectin: An Ideal Compromise for Anti-Bacterial and Anti-Biofilm Action Combined With Wound-Healing Properties // *J. Colloid Interface Sci.* 2017. Vol. 498. P. 271–281. DOI: 10.1016/j.jcis.2017.03.062.
15. Bhuvanesh Gupta, Mythili Tummalapalli, Deopura B.L., Alam M.S. Preparation and characterization of in-situ cross-linked pectin–gelatin hydrogels // *Carbohydrate Polymers.* 2014. Vol. 106. P. 312–318. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.02.019.
16. Qu R., Gao J., Tang B., Ma Q., Qu B., Sun C. Preparation and property of polyurethane/nanosilver complex fibers // *Appl. Surf. Sci.* 2014. Vol. 294. P. 81–88. DOI: 10.1016/j.apusc.2013.11.116.