

ФОРМИРОВАНИЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ НАНОСТРУКТУР СЕРЕБРА НА ПОВЕРХНОСТИ ДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА

¹Ю. Муха, ¹А.М. Еременко, ¹Н.П. Смирнова,
²Г.И. Корчак, ²А. Михиенкова, ³И.С. Чекман

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев-164, annaerem@ukr.net

²Институт гигиены и медицинской экологии им. А.Н. Марзеева АМН Украины
ул. Попудренко 50, 02660 Киев-94

³Национальный Медицинский Университет им. О.О.Богомольца
ул. Богомольца 4, 01024 Киев-24

*Стабильные наночастицы серебра на поверхности высокодисперсного кремнезема получены путем адсорбции кластеров серебра из их коллоидных растворов, синтезированных в присутствии поливинилпирролидона и/или додецилсульфата натрия. Восстановление ионов серебра производилось с помощью NaBH_4 в растворе, содержащем стабилизаторы. На протяжении 4-х месяцев интенсивность и положение максимума полосы поверхностного плазмонного резонанса в спектрах системы Ag/SiO_2 , типичного для НЧ серебра, практически не меняются. Средний диаметр НЧ серебра составляет 8 – 12 нм. По данным ДТА-ДТГ органические компоненты из полученного материала начинают удаляться около 220 – 270 °С. Полученные коллоиды наночастиц серебра и композиты Ag/SiO_2 обладают высокой антимикробной активностью по отношению к ряду микроорганизмов - *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.*

Введение

Наноразмерные частицы серебра в кремнеземных матрицах привлекают большое внимание благодаря перспективам применения таких материалов в оптике, оптоэлектронике, в производстве химических и биологических сенсоров, в медицине в качестве бактерицидных сред. Получение таких композитов производится различными методами, среди которых наиболее популярны фото- или радиационно-химический в присутствии сенсибилизаторов, и химический, с применением восстановителей борогидрида натрия, гидразина, глюкозы, цитрата натрия и др. [1 – 3]. Существенной проблемой при синтезе НЧ является предотвращение или замедление их агрегации, а также окисления на стадии формирования нанокластеров серебра. Для этого синтез НЧ производится в ограниченных пространствах: обратных мицеллах, пористых матрицах, полимерах, оксидных пленках и др. Скорость формирования наночастиц в растворах, их размер и образование агрегатов зависят от природы применяемых стабилизаторов и соответственно от модифицирования поверхности наночастиц [4, 5].

Нами ранее были синтезированы стабильные наночастицы серебра путем термического восстановления ионов Ag^+ в пленках кремнезема, полученных золь-гель методом [6, 7]. Наночастицы серебра, внедренные в пленку кремнезема, сохраняют свою ярко-желтую окраску и характерную полосу ППП в спектре поглощения на протяжении многих месяцев. По-видимому, они защищены слоем SiO_2 , что препятствует контакту с окружающей средой.

Фотохимически генерированные в коллоидном растворе НЧ серебра [8] вызревают в течение 4 – 5-ти недель. Характер изменения полосы ППР свидетельствует об агрегации НЧ серебра и выпадения агрегатов в осадок. При незначительном нагреве коллоидного раствора агрегаты распадаются на исходные нанокластеры с практически полным восстановлением интенсивности полосы ППР. Вместе с тем, при длительном хранении коллоидного раствора при контакте с воздухом происходят также процессы окисления, с образованием тонкого оксидного слоя вокруг НЧ, что приводит к падению интенсивности и незначительному смещению полосы ППР [9]. Слой стабилизатора вокруг НЧ предохраняет их от полного окисления в растворе.

Напротив, на поверхности дисперсного кремнезема при непосредственном контакте с воздухом происходит быстрое окисление наночастиц серебра с образованием оксида $4\text{Ag}^0 + \text{O}_2 \leftrightarrow 2\text{Ag}_2\text{O}$. Это проявляется в обесцвечивании образца и исчезновении полосы ППР в спектрах поглощения при 400 нм в течение короткого времени (10 – 15 мин). Образующийся при этом оксид серебра разлагается при повторном нагреве до 250 – 300 °С с восстановлением характерной желтой окраски, вновь исчезающей при охлаждении порошка Ag/SiO₂ до комнатной температуры.

Таким образом, в отличие от их состояния в коллоидных растворах и кремнеземных пленках, на поверхности дисперсного кремнезема НЧ серебра нестабильны. Поэтому, с учетом многообразия потенциального применения дисперсного кремнезема, содержащего НЧ Ag на поверхности, в частности, в катализе и в качестве бактерицидных средств, стабилизация НЧ серебра и их защита от окисления и воздействия окружения представляет актуальную с теоретической и прикладной точек зрения задачу.

Как упомянуто выше, стабилизация НЧ Ag в растворах осуществляется с применением поверхностно-активных веществ (ПАВ) или полимеров - ПЭО, ПВП и др [10, 11]. Так, ПАВ олеат натрия адсорбируется на поверхности НЧ серебра с формированием защитного слоя [12]. Полученные при высокотемпературном сольволизе этанольного раствора AgNO₃ в присутствии додекантиола НЧ Ag остаются стабильными также и после высушивания [13]. Принцип стабилизации наночастиц Ag полимерами или ПАВ может быть с успехом применен для защиты адсорбированных на поверхности кремнезема кластеров серебра при контакте с воздухом.

Представляет интерес использование указанного подхода для получения устойчивых к окислению НЧ серебра, прочно закрепленных на поверхности кремнезема с развитой поверхностью. Целью данной работы является разработка условий синтеза композиционных систем на основе ВДК, содержащих стабильные НЧ серебра, с использованием поливинилпирролидона (ПВП) и/или додецилсульфата натрия (ДСН) в качестве стабилизаторов, и исследование их оптических, структурных и антимикробных характеристик.

Реактивы

Для синтеза стабильных наночастиц серебра использовали следующие вещества: нитрат серебра (Мегск), додецилсульфат натрия (Sigma-Aldrich), поливинилпирролидон марки ВФС 42-1491-85 с молекулярной массой 11940, тетрагидроборат натрия NaBH₄ (Fluka). Как носитель наночастиц использовали высокодисперсный пирогенный кремнезем марки А-300 с величиной удельной поверхности 260 м²/г (Калушский опытно-экспериментальный завод Института химии поверхности им. А.А.Чуйко НАН Украины).

Методика эксперимента

1. Получение образцов

Ag/SiO₂ образцы синтезировали путем адсорбции предварительно приготовленных коллоидных растворов наноразмерного серебра на поверхности дисперсного кремнезема.

Наноразмерное серебро в коллоидном растворе получали путем химического восстановления из нитрата серебра в присутствии тетрагидробората натрия. Ранее мы и другие [10, 11] применяли для стабилизации коллоидных растворов серебра одно из соединений – ПАВ, полимер, или коллоидный кремнезем Людокс. В данной работе для сравнения использованы а) ДСН в соотношении 15 : 1 относительно металла, б) ПВП в мольном соотношении 1 : 1, а также, в отличие от общепринятого метода стабилизации, в) оба стабилизатора – ДСН и ПВП, для чего порошки ДСН и ПВП одновременно растворяли в воде, добавляя в образованный коллоид раствор нитрата серебра, общая концентрация которого составляла $1,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. NaBH_4 добавляли в количестве 0,00227 г, и смесь интенсивно перемешивали на протяжении 30 мин. Общий объем реакционной смеси составлял 40 мл. Полученные коллоиды серебра адсорбировали на поверхности ВДК. Связывание кластеров серебра поверхностью ВДК происходит активно вследствие взаимодействия молекул стабилизаторов, содержащих солюбилизованные наночастицы Ag, с функциональными ОН-группами кремнезема. В работе рассматриваются свойства системы Ag/SiO_2 , содержащей 0,05 % вес НЧ серебра, необратимо связанных с поверхностью. Сушку образцов и удаление растворителя производили на воздухе при нагревании до 85 °С. Порошки Ag/SiO_2 сохраняют интенсивную яркую окраску в течение длительного времени.

Исследовались оптические свойства, морфология наночастиц, ДТА-ДТГ характеристики и их антимикробная активность. Полученные материалы характеризовали методами УФ- и видимой спектроскопии, ДТА-ДТГ, ПЕМ.

2. Оптические спектры

Спектры поглощения растворов регистрировали в УФ- и видимой области с помощью спектрофотометра Perkin-Elmer Lambda 35 в кварцевых кюветах длиной 1 см. Спектры диффузного отражения порошков, модифицированных наночастицами серебра, регистрировали с помощью спектрофотометра Perkin-Elmer Lambda 35 с интегрирующей сферой Labsphere RSA-PR-20 в диапазоне длин волн 200 – 1000 нм. В качестве стандартного образца сравнения использовали "Spectralon". Спектры поглощения порошков были получены из соответствующих спектров отражения по формуле Кубелки-Мунка.

3. Термогравиметрические исследования

Термогравиметрический анализ порошков проводили на дериватографе Р-1500 фирмы МОМ (Венгрия) с компьютерной регистрацией данных в области температур 20 – 1000 °С со скоростью нагревания 10°/мин. Одновременно регистрировали кривые ДТА, ТГ, ДТГ.

4. Электронно-микроскопические исследования

Электронно-микроскопические изображения коллоидов серебра и порошков кремнезема, модифицированных наночастицами серебра, фиксировали с помощью пропускающего электронного микроскопа JOEL JEM-100С с ускоряющим напряжением 100 кВ. Для расчета распределения частиц по размерам использовали программу ImageJ.

5. Изучение антимикробных свойств полученных материалов.

Изучение антимикробных свойств коллоидных растворов НЧ Ag и суспензий НЧ Ag/SiO_2 проводили суспензионным методом согласно европейским нормативам EN 13727:2003 [14] и EN 13624:2003 [15], которые используются для определения антимикробной активности дезинфектантов.

Принцип суспензионного метода состоит в том, что образец определенной концентрации в количестве 8,0 см³ добавляли к 1,0 см³ того или иного тест-микроорганизма (количество клеток в тест-суспензии, как указано выше, было 8lg – для бактерий и 7lg – для дрожжеподобных грибов), который находился в 1,0 см³ разбавителя. В конце экспозиции отбирали пробу 1,0 см³, обрабатывали 8,0 см³ 0,1 % Na_2S раствора и 1,0 см³ воды для прекращения антимикробного действия. После окончания нейтрализации (5 мин)

отбирали пробу $1,0 \text{ см}^3$ дважды и высевали, используя поверхностный метод. Для определения количества выживших микроорганизмов и подсчета редукции дополнительно разбавляли раствором нейтрализатора и также высевали на твердые питательные среды. Для получения тест-суспензии с заданным количеством микроорганизмов (бактерии – до $1,5 \cdot 10^8 - 5,0 \cdot 10^8$ колониеобразующих единиц КОЕ/см³, грибы – до $1,5 \cdot 10^7 - 5,0 \cdot 10^7$ КОЕ/см³) использовали фотоэлектроколориметр (КФК-3) (длина волны около 620 нм, кювета длиной 10 мм). После добавления к ней экспериментального образца количество микроорганизмов в исходной суспензии уменьшалось в 10 раз: для бактерий до 7 lg, для грибов до 6 lg КУО/см³ (см. контроли в табл.1 и 2). Время контакта опытного образца с тест-микроорганизмом составляло 1; 2; 4; 24 ч при температуре $(20,0 \pm 1,0)^\circ\text{C}$. Посевы тест-штаммов бактерий инкубировали при температуре $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ на протяжении 24 – 48 ч, дрожжеподобных грибов – при температуре $30,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ на протяжении 48 ч. Полученные результаты оценивали по коэффициенту редукции, выраженному в шкале десятичных логарифмов – уменьшение количества тест-микроорганизмов после влияния испытуемого образца по сравнению с их первоначальным количеством N_0 ($\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$). Достаточную эффективность антимикробной активности образца определяли как уменьшение количества бактерий на 5lg, и грибов на 4lg, что соответствует величине необходимой редукции согласно европейских стандартов. Рабочие разведения образцов готовили на стерильной дистиллированной воде. Исследования проводили с использованием тест-микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATC C 6538, *Escherichia coli* K12 NCTC 10538 для определения бактерицидной активности и *Candida albicans* ATCC 10231 для определения дрожжецидной активности исследованных образцов.

Результаты и обсуждение

Коллоидные растворы НЧ серебра.

Спектры поглощения коллоидов Ag, представленные на рис. 1, содержат полосу ППР наноразмерного серебра. В зависимости от типа стабилизатора, положение ее находится при 395 нм при применении ДСН, а так же 413 нм для ПВП и в присутствии их смеси в соотношении 15:1. При хранении коллоидов на воздухе в течение нескольких недель максимумы полос ППР незначительно смещаются в длинноволновую область, что связано с агрегацией и укрупнением наночастиц.

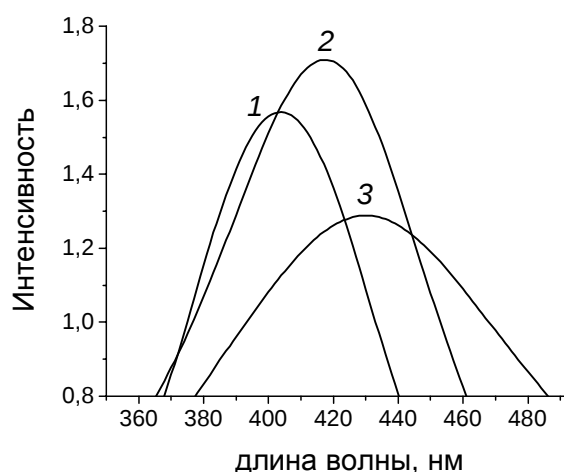
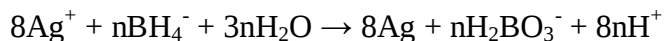
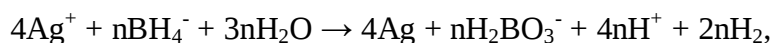


Рис.1. Спектры поглощения коллоидов наночастиц серебра, стабилизированных ДСН (1), ДСН/ПВП (2) и ПВП (3) при хранении в течение нескольких недель.

Интенсивность полос при хранении коллоидов в течение двух недель падает на 11,1 % и 12,0 % для НЧ серебра, стабилизированных ДСН и ПВП, но возрастает на 10,9 % в присутствии их смеси. Это может быть обусловлено сложным механизмом взаимодействия НЧ серебра с компонентами смеси. В растворе нитрата серебра в присутствии восстановителя – борогидрида натрия, последовательность процессов

образования и стабилизации НЧ зависит от типа стабилизатора. Так, в присутствии анионного ПАВ ДСН ионы серебра ассоциируют около функциональных групп ДСН по электростатическому механизму, затем происходит процесс восстановления ионов серебра борогидридом натрия:



и солюбилизация мицеллами ДСН [16,17]. При этом ДСН, имеющий слабо основную реакцию и являющийся донором водорода, промотирует процесс восстановления ионов [18].

В случае ПВП ионы серебра связываются с каркасом макромолекулы, а после их восстановления происходит их нуклеация и рост. Этот полимер широко применяется для контроля размера и стабилизации НЧ серебра [19, 20]. Важным аспектом контроля их размера и скорости образования является концентрация ПВП, макромолекулы которого адсорбируются на поверхности наночастиц [21, 22].

Нейтральный полимер ПВП защищает наночастицы серебра благодаря стерической стабилизации и препятствует их агрегации [19, 23 – 25]. В присутствии ПВП уменьшается размер НЧ серебра в волокнистом кремнеземе [20]. Этот полимер за счет атомов азота и кислорода кольца пирролидона образует комплексы с ионами металла, что также способствует их восстановлению и препятствует агрегации [26, 27]. В целом, в присутствие ПВП скорость роста частиц замедляется [19].

Оба применяемые нами стабилизаторы, анионный ПАВ ДСН и полимер ПВП капсулируют или адсорбируют ионы и металлические НЧ [21]. При этом, ПВП хорошо сорбируется на поверхности кремнезема, а в количестве 100мг на 1 г кремнезема он удерживается необратимо [28]. Взаимодействие происходит за счет образования водородной связи между кислородом карбонильной группы и атомом водорода свободной силанольной группы кремнезема [29]. Между анионным ПАВ ДСН и ОН-группами поверхности кремнезема, напротив, взаимодействие намного слабее, действуют силы отталкивания. Однако в присутствии ПВП поглощение ДСН поверхностью кремнезема резко повышается вследствие образования связанных мицелл [30]. Полимеры формируют в водных растворах самоорганизующиеся кластеры (связанные мицеллы) с ПАВ, взаимодействующие с ионами металлов, которые затем могут быть использованы как темплатные агенты для приготовления НЧ металлов [31, 32]. Известна работа, посвященная получению НЧ никеля в растворе в присутствии таких кластеров [33].

При использовании бинарного стабилизатора, возможно, ожидать повышения защитной функции по отношению к НЧ серебра. Взаимодействие ДСН и ПВП состоит из комбинации двух процессов: образование комплекса вследствие гидрофобного взаимодействия между углеводородным звеном ДСН и метиленовыми группами ПВП, и электростатическое взаимодействие между головными группами ПАВ и частичными зарядами азота и кислорода пирролидольного кольца [31, 32, 34 – 36]. Участок полимера частично проникает и окутывает мицеллу ПАВ вокруг области полярных головных групп. Одна молекула полимера может ассоциироваться с одной или более мицеллами [37]. Ионы серебра в растворе с двумя стабилизаторами ассоциируются с полярными группами ДСН и частично заряженными фрагментами ПВП. После восстановления тетрагидроборатом образующиеся НЧ проникают в центр гидрофобной части мицеллы, а также располагаются вдоль цепи полимера. Именно двойная оболочка из мицеллы ДСН и покрывающего ее полимера усиливает стабильность наночастиц. Схема взаимодействия компонентов реакционной смеси приведена на рис. 2.

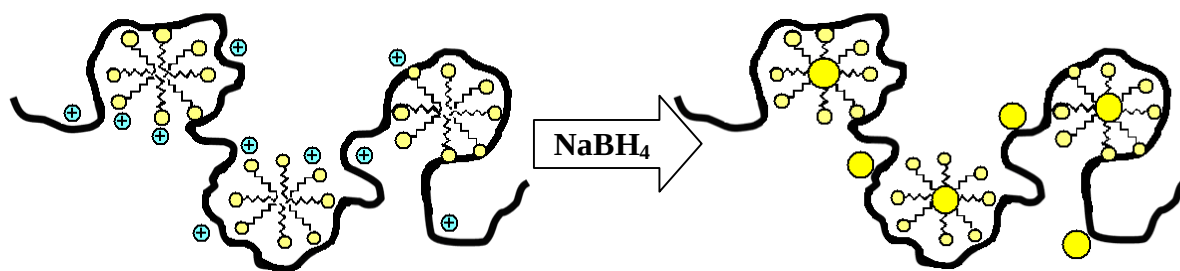


Рис. 2. Схематическое изображение взаимодействия комплекса ПВП и ДСН с ионами серебра и их НЧ после восстановления тетрагидроборатом.

При одновременном использовании обоих соединений для стабилизации НЧ Ag и защиты их от окисления, спектр поглощения НЧ не изменяется. Это свидетельствует в пользу предположения [21, 22] об адсорбции ПВП на частицах серебра и предохранении их от агрегации. На основании данных ПЭМ полученных коллоидов видно, что в присутствии ПВП размер НЧ серебра меньше по сравнению со случаем применения ДСН (рис. 3).

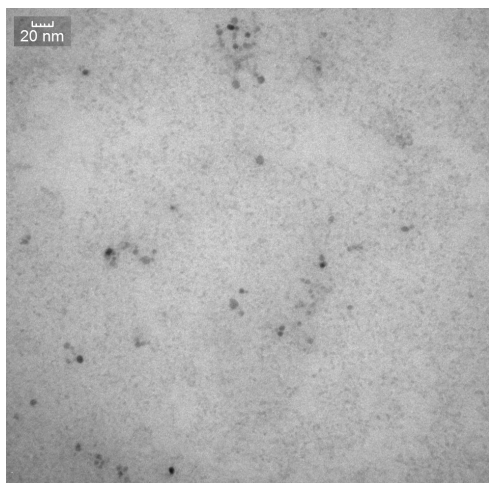


Рис. 3. ПЭМ НЧ Ag в коллоидном растворе в присутствии ПВП и ДСН. Масштаб 20нм.

НЧ серебра на поверхности ВДК.

Нанесение НЧ серебра на поверхность ВДК производилась путем адсорбции из их коллоидных растворов. Следует отметить высокую адсорбционную способность ВДК по отношению к НЧ, покрытым стабилизаторами. Полученные после адсорбции и сушки порошки обладают яркой окраской, не исчезающей в течении 4-х и более месяцев. До содержания НЧ серебра в количестве 0,05 % масс. они не смываются и не экстрагируются с поверхности ВДК.

На рис. 4 показаны спектры диффузного отражения порошков ВДК, содержащих 0,05 % НЧ серебра, пересчитанные по уравнению Кубелки-Мунка, с различными стабилизаторами наночастиц. Положение полосы ППР близко для всех композитов. Во времени интенсивность полос изменяется весьма незначительно. Интересно отметить, что в присутствии ПВП интенсивность полосы ППР заметно выше по сравнению с ДСН или смеси ДСН с ПВП. Это может объясняться как более высокой дисперсностью НЧ в присутствии ПВП [19], так и коагуляцией ВДК в водном растворе в присутствии ДСН. Согласно [38] взаимодействие коллоидных частиц кремнезема в воде в присутствии ДСН при образовании им достаточного количества мицелл, изменяется от отталкивания к их взаимному сильному притяжению. В работе [39] показано, что такие кремнеземные композиты после сушки при комнатной температуре формируют трехмерные пористые структуры. Частицы кремнезема сольбилизируются внутри мицелл, содержащих НЧ

серебра. Можно предположить, что в процессе сушки НЧ серебра, находящиеся в мицеллах ДСН, капсулируются кремнеземом и вклад их в полосу ППР вследствие этого уменьшается.

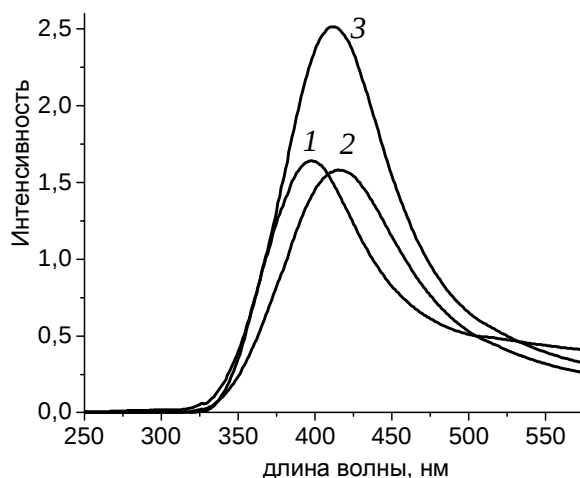


Рис. 4. Спектры диффузного отражения порошков кремнезема с наночастицами серебра, стабилизированными ДСН(1), ДСН/ПВП (2) и ПВП (3).

Сравнение спектров поглощения (рис. 1 и 4) и данных микроскопии в исходном коллоидном растворе (рис. 3) и на поверхности ВДК после их адсорбции (рис. 5) свидетельствует о сохранении наноразмерности серебра при адсорбции. Положение максимумов полос ППР в растворе и в адсорбированном состоянии практически совпадают.

Данные *термического анализа и термогравиметрии* образцов кремнезема, модифицированного наночастицами серебра, приведены на рис. 6. Пики на кривых ДТГ при 120 °С (для НЧ, стабилизированных ДСН) и 115 °С (для НЧ, стабилизированных ПВП/ДСН и ПВП) относятся к удалению физически сорбированной воды. Органическая компонента начинает разлагаться при температуре 220 °С (ДСН) и 270 °С (ПВП/ДСН и ПВП), а завершается процесс при 750 °С. Потеря массы в температурном интервале 50 – 750 °С составляет 6,6; 9,9 и 8,5 % соответственно. Терморазложение ПВП происходит в две стадии. Для всех образцов деструкция органической части сопровождается экзотермическими эффектами. Образцы Ag/SiO₂ после получения обычно прогревались при 85 – 90 °С в течение 4 ч, что позволяло сохранить оболочку стабилизатора вокруг НЧ Ag.

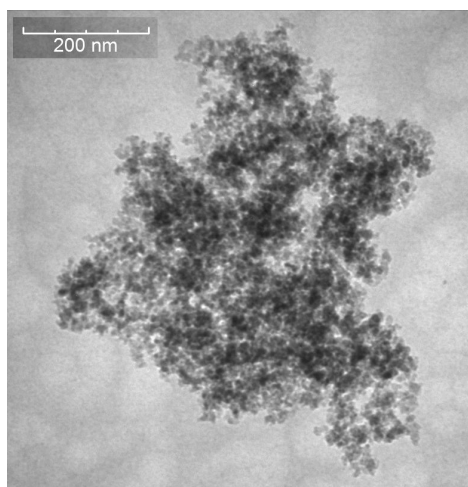


Рис. 5. ПЭМ Ag/SiO₂, масштаб 200 нм.

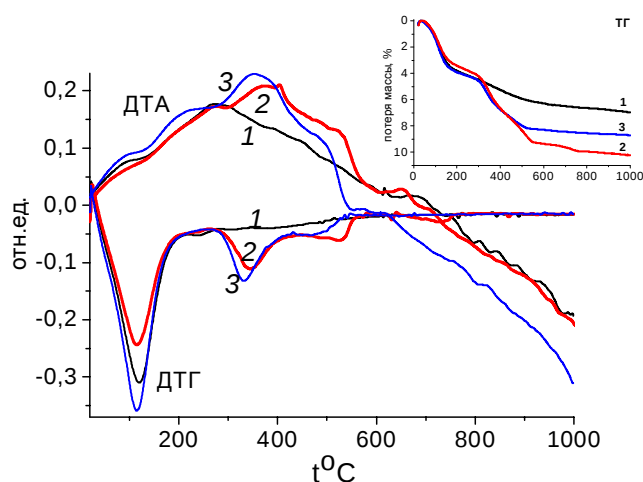


Рис. 6. Термограммы образцов: 1 – кремнезем с НЧ, стабилизированными ДСН, 2 – ПВП/ДСН, 3 – ПВП.

Антимикробные свойства наноразмерных коллоидного серебра и Ag/SiO₂ материалов.

Множество публикаций посвящено исследованию антимикробного потенциала наноразмерного серебра [40, 41]. В литературе обсуждаются также бактерицидные свойства композиционных материалов на основе пленок и гранул силикагеля с наночастицами серебра. Так, в [42] были получены бактерицидные материалы, содержащие серебро, на основе силикагеля. Но отсутствие характерной окраски и лабильность ионов серебра (вымывались в воду при 37 °С) могут свидетельствовать о том, что в данном случае НЧ серебра в оксидной матрице не образуются. В работе [43] были изучены бактерицидные свойства микросферического силикагеля, полученного путем щелочного гидролиза тетраэтоксисилана, покрытого островками серебра, по отношению к *E. coli* и *S. aureus*. Образцы показывают высокую бактерицидную активность по отношению к исследованным бактериям, возрастающую с увеличением количества Ag/SiO₂ препарата. В течение инкубационного периода (6 ч) и при максимальном содержании Ag/SiO₂ препарата (1 мг/мл) популяция обоих микробов снижается на 72 %. К сожалению, в работе не указан метод получения наноразмерного серебра и не приведены оптические спектры образцов.

В данной работе были исследованы:

1. Полученные коллоидные растворы наноразмерного серебра – КРНС – (0,0016; 0,0008; 0,0004 % Ag), где в качестве стабилизаторов использовали комплекс ДСН и ПВП;

2. Суспензия ВДК, содержащая НЧ серебра (НЧ Ag/SiO₂), с использованием комплекса ДСН и ПВП в качестве стабилизаторов. Концентрация серебра в данной суспензии составляла 0,0016 %, ВДК – 3,13 % масс.; а также раствор нитрата серебра (AgNO₃) в качестве контроля в таких же концентрациях, как и наносеребро. Бинарный стабилизатор ДСН/ПВП и NaBH₄ были также изучены в контрольном эксперименте в тех же концентрациях, что и в КРНС; исходный ВДК был изучен в качестве контроля в концентрации 3,13 % масс. в присутствии указанных стабилизаторов и восстановителя.

Результаты определения антимикробного действия коллоидных растворов наночастиц серебра на *E.coli*, *S.aureus* и *C.albicans* представлены в табл. 1.

Таблица 1. Антимикробные свойства коллоидных растворов наночастиц серебра, lg R

Название образца и концентрация	Экспозиция (ч)	Тест-штаммы		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
НЧ Ag (0,0016 %)	1	> 5,22	< 1,57	> 4,27
	2	> 5,22	2,07	> 4,27
	4	> 5,22	4,35	> 4,27
	24	> 5,22	> 5,24	> 4,27
НЧ Ag (0,0008 %)	1	4,07	< 1,57	> 4,27
	2	5,11	< 1,57	> 4,27
	4	> 5,22	2,72	> 4,27
	24	> 5,22	> 5,24	> 4,27
НЧ Ag (0,0004 %)	1	3,97	< 1,57	> 4,27
	2	5,07	< 1,57	> 4,27
	4	> 5,22	< 1,57	> 4,27
	24	> 5,22	5,09	> 4,27
Исходное количество микроорганизмов, lg*		7,37	7,39	6,42

В отличие от *S. aureus*, необходимая редукция в случае бактерий (5 lg) и грибов (4 lg) наступала уже через 1 ч контакта наносеребра с микробными клетками. Устойчивость стафилококков к наносеребру была выше, в частности редукция достигала 4,35 lg только через 4 ч экспозиции.

Более высокая устойчивость стафилококков к наносеребру особенно четко проявилась при снижении концентрации КРНС, что позволило также дифференцировать эффекты взаимодействия серебра с *E. coli* и *C. albicans*: *C. albicans* оказались наиболее чувствительным из изученных объектов (КРНС 0,0008 % и 0,0004 % через 1 ч снижали количество клеток более, чем на 4,27 lg).

Коллоидный раствор AgNO_3 с такой же концентрацией серебра, как и в КНРЧ серебра, не оказывал какого-либо микробиоцидного действия.

Параллельно исследовали также возможное антимикробное действие использованных стабилизаторов (ДСН и ПВП) в присутствии тетрагидробората натрия. Было установлено, что использованные компоненты не обладали бактерицидной активностью.

Таким образом, представленные результаты указывают на высокую антимикробную активность полученного КРНС в указанных концентрациях (0,0016; 0,0008; 0,0004 %) ко всем тест-микроорганизмам.

Полученные результаты по изучению антимикробного действия суспензии ВДК, содержащей НЧ серебра (НЧ Ag/SiO_2), представлены в табл. 2. Введение НЧ Ag в суспензию SiO_2 несколько снизило активность серебра, что проявилось в увеличении экспозиции и изменении характера взаимодействия НЧ Ag с бактериальной клеткой.

Таблица 2. Антимикробные свойства суспензии ВДК, содержащей НЧ Ag , lg R

Название образца и концентрация	Экспозиция (ч)	Тест-штаммы		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
НЧ Ag (0,0016 %)/ SiO_2 (3,13 %)	1	< 1,39	3,89	> 4,54
	2	1,48	5,14	> 4,54
	4	3,58	> 5,17	> 4,54
	24	> 5,06	> 5,17	> 4,54
SiO_2 (3,13 %) (контроль)	1	< 1,39	< 1,5	< 0,87
	2	< 1,39	< 1,5	< 0,87
	4	< 1,39	< 1,5	< 0,87
	24	< 1,39	< 1,5	< 0,87
Исходное количество микроорганизмов, lg*		7,21	7,32	6,69

Время контакта суспензии с НЧ для *C. albicans* для достижения редукции 4 lg не изменилось, осталось таким же, как и при действии НЧ Ag в коллоидном растворе (1 ч). В то же время резко повысилась устойчивость *E. coli* к действию НЧ Ag , находящихся в комплексе с SiO_2 . Даже через 4 ч экспозиции редукция составляла всего 3,58 lg. В противоположность этому *S. aureus* проявили более высокую чувствительность к Ag/SiO_2 , чем в КРНС. Однако, в общем антимикробная активность комплекса НЧ Ag/SiO_2 оставалась высокой: через 2 ч контакта необходимая редукция наблюдалась у *S. aureus* и еще раньше у *C. albicans*, а после четырехчасовой экспозиции необходимый эффект наступал также и по отношению к *E. coli*.

Приведенные в табл. 2 данные указывают на практически полное подавление роста всех исследуемых бактерий, при применении чрезвычайно малых концентраций наноразмерного серебра. Следует отметить, что удовлетворительные показатели бактерицидной активности на 1-2 порядка ниже, чем в сообщаемых в литературе данных.

Выводы

Стабильные наночастицы серебра на поверхности высокодисперсного кремнезема получены путем адсорбции кластеров серебра из их коллоидных растворов, синтезированных в присутствии поливинилпирролидона и/или додецилсульфата натрия. Полученные композиционные системы, содержащие прочно связанные с поверхностью ВДК и равномерно распределенные наночастицы серебра, являются перспективным антибактериальным материалом широкого спектра действия для биомедицинского и фармацевтического применения.

Литература

1. Bois L., Bessueille F., Chassagneux E. et al. Silver nanoparticles growth in a mesoporous silica film templated with the F127 triblock copolymer // *Coll. Surf.A:Physicochem. Eng. Aspects.* – 2008. – V. 325, № 1-2. – P. 86 – 92.
2. Pileni M.P., Lisiecki I., Motte L. et al. Nanoparticles synthesized in reverse micelles // *Prog. Colloid Polym. Sci.* – 1993. – V. 93. – P. 1 – 9.
3. Toshima N., Yonezawa T., Kushihashi K., Polymer-protected palladium–platinum bimetallic clusters: preparation, catalytic properties and structural considerations // *J.Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1993. – V. 89. – P. 2537 – 2543.
4. Goddard E.D., Gruber J.V. Principle of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care // Eds.; Marcel Dekker: New York. – 1999.
5. Patakfalvi R., Viranyi Z., Dekany I. Kinetics of silver nanoparticle growth in aqueous polymer solutions // *Coll. Polym. Sci.* – 2004. – V.283. – P. 299 – 305.
6. Using silica films and powders modified with benzophenone to photoreduce silver nanoparticles / S. Eustis, G. Krylova, A. Eremenko, N. Smirnova, C. Tabor, W. Huang, M. El-Sayed // *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* – 2006. – V. 181. – P. 385 – 393.
7. Structure and spectra of photochemically obtained nanosized silver particles in presence of modified porous silica / G. Krylova, A. Eremenko, N. Smirnova, S Eustis // *J. Photoenergy.* – 2005. – V. 7, № 41. – P. 193 – 198.
8. Фотохимическое получение наночастиц Ag в водно-спиртовых растворах и на поверхности мезопористого кремнезема / Г.В. Крылова, А.М. Еременко, Н.П. Смирнова, С. Юстис // *Теорет. и эксперим. химия.* – 2005. – Т. 41, № 2. – С. 100 – 104.
9. Гречко Л.Г., Єременко А.М., Крилова Г.В. и др. Оптичні властивості малих частинок срібла в колоїдних розчинах // *Вісн. Київського ун-ту, Серія: фіз.-мат. науки* – 2004, Вип. 4. – С. 450 – 460.
10. Wilcoxon J.P., Williamson R.L., Baughman R. Optical properties of gold colloids formed in inverse micelles // *J. Chem.Phys.* – 1993. – V. 98. – P. 9933 – 9950.
11. Cheomg Chan Y.N., Schrock R.R., Cohen R.E. *Chem.Mater.* – 1992. – V. 4. – P. 24 – 27.
12. Wang W., Efrima S., Regev O. Directing oleate stabilized nanosized silver colloids into organic phases // *Langmuir.* – 1998. – V. 14. – P. 602 – 610.
13. One-step, size-controllable synthesis of stable Ag nanoparticles / Ch. Tian, B. Mao, E. Wang, Z. Kang, Y. Song, C. Wang, S. Li, L. Xu // *Nanotechnology.* – 2007. – V. 18. – P. 285607 – 285614.
14. EN 13727 : 2003 Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants for instruments used in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1). - Brussels: European Committee for Standardization, 2003. – 36 p.
15. EN 13624 : 2003 Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity for instruments used in medical area. Test method and requirements (phase 2, step 1). – Brussels: European Committee for Standardization, 2003. – 36p.

16. **HA3BA** / N.N. Mal'tseva, Z.K. Sterlyadkina, J.O. Erusalimchik, V.I. Mikhewa // Russ. J. Inorg. Chem. – 1977. – V. 24. – P. 459.
17. Henglein A., Mulvaney P., Linnert T. Chemistry of Ag aggregates in aqueous solution // Faraday Discuss. – 1991. – V. 92. – P. 31 – 44.
18. Transient and Stable Silver Clusters Induced by Radiolysis in Methanol / M. Mostafavi, G.R. Dey, L. Francois, J. Belloni // J. Phys. Chem. A. – 2002. – V. 106. – P. 10184 – 10194.
19. **HA3BA** Papp S., Patakfalvi R., Dekany I. Formation and stabilization of noble metal nanoparticles // Croatica Chemica Acta. – 2007. – V. 80, № 3-4. – P. 493 – 502.
20. **HA3BA** K.D. Min, W.H.Park, J.H. Youk, Y.J.Kwark, // Macromolecular research. – 2008. – V. 16, № 7. – P. 626 – 630.
21. Chemical preparation of special-shaped metal nanomaterials through encapsulation or inducement in soft solution / Ch. Chen, L. Wang, G. Jiang, H. Yu // Research Adv. Mater. – 2006. – V. 11. – P. 1 – 18.
22. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles under protection of poly(N-vinylpyrrolidone) / B. Yin, H.Ma, S.Wang, S. Chen // J.Phys.Chem. B. – 2003. – V. 107. – P. 8898 – 8904.
23. Kapoor S. Preparation, characterization, and surface modification of silver particles // Langmuir. – 1998. – V. 14. – P. 1021 – 1025.
24. Huang H.H., Ni X.P., Loy G.L. et al. Photo-chemical formation of silver nanoparticles in Poly(N-vinylpyrrolidone) // Langmuir. – 1996. – V. 12. – P. 909 – 912.
25. Yiamsawas D., Lauruengtana V., Ruktanonchai U. et al. Synthesis of Poly(vinyl pyrrolidone)-Stabilized Silver Nanoparticles in: Nano/Micro Engineered and Molecular Systems. – 2007. – P. 1089 – 1092,
26. Patakfalvi R., Viranyi Z., Dekany I. Kinetics of silver nanoparticle growth in aqueous polymer solutions // Colloid Polym. Sci. – 2004. – V. 283, № 3. – P. 299 – 305.
27. Hoogsteen W., Lambertus G.J. Fokkink, Polymer-Stabilized Pd Sols: Kinetics of Sol Formation and Stabilization Mechanism // J.Coll. Interface Sci. – 1995. – V. 175. – P. 12 – 26.
28. Липатов Ю.С., Сергеева Л.М. Адсорбция полимеров.– К.: Наук. думка, 1992. – 248 с.
29. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел /Под ред. Г.Парфита, К.Рочестера. – М.: Мир, 1986. – 488 с.
30. **Lehn J-M. Supramolecular Chemistry – Concept and Perspectives, Weinheim, NewYork, 1995.**
31. Prasad M., Palepu R., Moulik S.P. Interaction between sodium dodecyl sulfate (SDS) and polyvinylpyrrolidone (PVP) investigated with forward and reverse component addition protocols employing tensiometric, conductometric, microcalorimetric, electrokinetic, and DLS techniques // Coll. Polym. Sci. – 2006. – V. 284, № 8. – P. 871 – 878.
32. Molecular interaction among probucol/pvp/sds multicomponent system investigated by solid-state nmr / A. Pongpeerapat, K. Hidashi, Y. Tozuka, K.Moribe, K. Yamamoto // Pharmaceutical Research. – 2006. – V. 23, № 11. – P. 2566 – 2574.
33. **Preparation of nickel nanoparticles in the presence of sodium dodecyl sulfate - polyvinylpyrrolidone clusters / J. Xu, Y. Fang, Y. Xia, Ch. Wang, M. He // The 2005 Annual Meeting :Nanoparticle Synthesis and Stabilization, Cincinatti, OH..**
34. Olofsson G., Wang G. Interactions between surfactants and uncharged polymers in aqueous solution studied by microcalorimetry // Pure and Appl. Chem. – 1994. – V. 66. – № 3. – P. 527 – 532.

35. Excited state proton transfer as a probe for polymer-surfactant interaction / Dipankar Sukul, Samir Kumar Pal, Debabrata Mandal, Sobhan Sen, Kankan Bhattacharyya // J. Phys. Chem. B. – 2000. – V. 104, № 26. – P. 6128 – 6132.
36. Roscigno P., Asaro F., Pellizer G. et al. Complex formation between poly(vinylpyrrolidone) and sodium decyl sulfate studied through NMR // Langmuir. – 2003. – V. 19. – P. 9638 – 9644.
37. Nagarajan. Рю Polymer-Surfactant Interactions. In “New Horizons: Detergents for the New Millennium Conference Invited Papers”, published by American Oil Chemists Society and Consumer Specialty Products Association, Fort Myers, Florida (2001).
38. Kline S.R., Kaler E.W. Aggregation of Colloidal Silica by *n*-Alkyl Sulfates // Langmuir. – 1996. – V. 12, № 10. – P. 2402 – 2407.
39. Guo Y., Guadalupe A. Functional silica aerogel from metastable lamellar composite // Chem. Commun. – 1999. – P. 315 – 316
40. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы / Ю.А. Крутяков, А.А. Кудринский, А.Ю. Оленин, Г.В. Лисичкин // Успехи химии. – 2008. – Т. 77, № 3. – P. 242 – 270.
41. Tiwari D.K., Behari J., Sen P. Time and dose-dependent antimicrobial potential of Ag nanoparticles synthesized by top-down approach // Current Sci. – 2008. – V. 95, № 5. – P. 647 – 655.
42. Kawashita et al.// J.Biomedical Materials research, A. – 2003. –V. 66, № 2. – P.266 – 274.
43. Bactericidal properties of silica particles with silver islands located on the surface / G. Bugla-Płoskońska, A. Leszkiewicz, B. Borak, M. Jasiorski, Z. Drulis-Kawa, A. Baszczuk, K. Maruszewski, W. Doroszkiewicz // J. Antimicrobial Agents. – 2007. – V. 29, № 6. – P. 746 – 748.

FORMATION, PHYSICAL-CHEMICAL AND BACTERICIDE PROPERTIES OF STABILIZED SILVER NANOSTRUCTURES ON THE SURFACE OF DISPERSE SILICA

¹I. Mukha, ¹A. Eremenko, ¹N. Smirnova, ²G. Korchak,
²A. Mikhiyenkova, ³I. Chekman

¹*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
General Naumov Str. 17, 03164 Kyiv-164, annaerem@ukr.net*

²*A.N. Marzeyev Institute for Hygiene and Medical Ecology AMS of Ukraine,
Popudrenko St. 50, Kyiv-94*

³*O.O. Bogomolets National Medical University, Bogomoletz Str. 4, 01024 Kyiv-24, Ukraine*

Stable Ag nanoparticles (NPs) on the surface of high-dispersed silica have been produced by the adsorption of silver clusters from the colloid solutions which were synthesized in presence of polyvinylpyrrolidone and/or sodium dodecyl sulfate as stabilizers. Silver ions reduction was performed with NaBH₄ in solution contained with PVP and/or SDS. The band of SPR position inherent to Ag NPs and intensity of optical spectra are stable. The average diameter of Ag NPs is 8- 12 nm. In accordance with DTA-DTG measurements, organic components are removed from the obtained systems at 220⁰-270⁰C. Obtained Ag NPs in colloids and Ag/SiO₂ composites have high antimicrobial activity against the series of the microorganisms - Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Candida albicans.

ФОРМУВАННЯ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ СТАБІЛІЗОВАНИХ НАНОСТРУКТУР СРІБЛА НА ПОВЕРХНІ ДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ.

¹Ю.Муха, ¹Г.М.Єременко, ¹Н.П.Смірнова,

²Г.І.Корчак, ²А.Міхєнкова

³І.С.Чекман.

¹Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАНУ,

вул. Генерала Наумова 17, 03164, Київ-164, annaerem@ukr.net

²Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзєєва АМНУ,

вул. Попудренко, 50, 02660, Київ-94.

³Національний Медичний Університет ім. О.О.Богомольця,

вул. Богомольця 4, 01024, Київ-24.

Отримано стійкі наночастинки срібла на поверхні вискодисперсного кремнезема шляхом адсорбції кластерів срібла з їх колоїдних розчинів, синтезованих в присутності полівінілпіролідона та/чи додецилсульфата натрія. Відновлення йонів проводилося за допомогою NaBH_4 в розчині, що містив стабілізатори. Протягом 4-х місяців інтенсивність та положення максимуму смуги поверхневого плазмонного резонансу в спектрах системи Ag/SiO_2 , типового для НЧ срібла, практично не змінюється. Середній діаметр НЧ срібла становить 8-12 нм. За даними ДТА-ДТГ органічні компоненти з отриманого матеріалу починають видалятися близько $220^\circ\text{--}270^\circ\text{C}$. Отримані колоїди наночастинок срібла та композити Ag/SiO_2 мають високу антимікробну активність по відношенню до ряду мікроорганізмів- *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.