

УДК 541.18

СИНТЕЗ МОНОДИСПЕРСНЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В РАСТВОРАХ ХИТОЗАНА

© 2019 г. О. Я. Урюпина¹, Е. К. Уродкова^{1,2}, Е. С. Жаворонок²,
В. В. Высоцкий¹, И. Н. Сенчихин¹. *

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН
Россия 119071 Москва, Ленинский проспект, д. 31, корп. 4

²РТУ МИРЭА (ИТХТ им. М.В. Ломоносова),
кафедра биотехнологии и промышленной фармации
Россия 119571 Москва, проспект Вернадского, д. 86

*e-mail: isenchikhin@gmail.com

Поступила в редакцию 20.09.2018 г.

После доработки 02.11.2018 г.

Принята к публикации 06.11.2018 г.

Показана возможность получения монодисперсных наночастиц серебра в растворе хитозана. Подобранный температурный режим, время реакции и pH среды, при которых формируются монодисперсные НЧ серебра со средним диаметром 65 нм, имеющие в перспективе медицинское применение. Проведены спектральные исследования, и выявлен характер взаимодействия хитозана с солью серебра. Установлено, что в восстановлении ионов серебра и стабилизации образующихся наночастиц участвуют не только гидроксильные группы хитозана, но и его свободные первичные аминогруппы.

DOI: 10.1134/S0023291219020174

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к полимерным композитам на основе хитозана (ХТЗ) сохраняется на протяжении нескольких десятилетий. Этот природный полисахарид обладает уникальным комплексом физических и химических свойств, хорошими фармакологическими характеристиками, нетоксичен, биосовместим и способен к биodeградации. Его используют для получения пленок, волокон и других материалов, широко применяемых в биологии и медицине. К настоящему времени значительное число исследований посвящено созданию композитов из наночастиц (НЧ) золота и серебра в матрице ХТЗ и карбоксиметилхитина [1–10]. В подавляющем большинстве этих работ синтез НЧ металла проводился в обращенных мицеллах [7, 8] с введением дополнительных восстановителей и стабилизаторов [9] или с применением радиационного и УФ-облучения [10, 11]. Как правило, размер синтезируемых таким образом НЧ составляет от 2–5 до 15–30 нм, в то время как для некоторых медицинских применений, например для импульсной лазерной гипертермии [12–16], требуются НЧ серебра больших размеров. Поэтому цель настоящей работы – анализ возможности получения таких НЧ серебра в растворах ХТЗ без введения каких-либо дополнительных восстано-

вителей. При этом мы руководствовались тем фактом, что звено ХТЗ, представляющее собой β-D-глюкозу, может выполнять функцию не только стабилизатора НЧ, но и их восстановителя [4].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе был использован хитозан производства “ООО Биопрогресс” (Россия) со среднемолекулярной массой $M_w = 311 \pm 54$ кДа, оцененной нами с использованием в режиме статического рассеяния света прибора Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания), в программном обеспечении которого уже заложена стандартная процедура определения M_w по уравнению Дебая.

Степень деацетилирования ХТЗ, рассчитанная из спектральных данных по методу [17], составила 0.80. В качестве прекурсора был использован $AgNO_3$ (≥99.9%, Aldrich). pH раствора регулировали за счет введения 0.5 мас. % раствора Na_2CO_3 (“ч. д. а.”). Растворы готовили в день синтеза в свежеперегнанной деионизованной воде с удельным сопротивлением 18.4 МОм/см (установка Milli-Q).

Основная проблема получения НЧ металлов в водных растворах ХТЗ заключается в том, что сам

Таблица 1. Зависимость среднего размера НЧ серебра от соотношения компонентов в реакционной системе

Номер образца	Объем раствора AgNO ₃ , мл	Объем раствора ХТЗ, мл	Объем H ₂ O, мл	Объем раствора Na ₂ CO ₃ , мл	pH	Размер частиц	
						диаметр <i>d</i> , нм	коэффициент вариации, %
1	4.0	5.0	34.7	0.3	6.5	63	4.5
2	4.0	5.0	34.5	0.5	6.8		Осадок
3	4.0	10.0	29.7	0.3	6.9	58	
4	4.0	10.0	29.5	0.5	7.3	65	6.3
5	4.0	10.0	29.1	0.9	7.9	61	4.2
6	8.0	10.0	25.7	0.3	6.5	69	3.0
7	8.0	10.0	25.5	0.5	7.1	56	5.3
8	8.0	10.0	25.1	0.9	7.7	43	10.1
9	—	10.0	34.0	—	5.3	276	10.3

полимер хорошо растворим в кислых средах, тогда как восстановление ионов металлов большинством реагентов происходит в щелочных и иногда в нейтральных водных растворах.

Нами была проведена серия экспериментов по определению узкого диапазона значений pH растворов и температурного режима реакции, при которых ионы серебра в растворе ХТЗ уже начинают восстанавливаться и в то же время сам полимер не осаждается. В результате синтез осуществлялся следующим образом: в бидистиллят при комнатной температуре вводили при постоянном перемешивании раствор ХТЗ, реакционную смесь при интенсивном перемешивании нагревали до 75°C в течение 20–30 мин и вводили последовательно растворы AgNO₃ и Na₂CO₃. Время, за которое первоначально прозрачный раствор становился сначала желтым, а потом постепенно красновато-коричневым, изменялось от 1 ч для реакционной смеси с самым низким содержанием карбоната натрия (то есть с низким значением pH) до 20 мин для системы, содержащей 0.9 мл раствора Na₂CO₃.

Распределение числа НЧ по размеру определяли методом динамического рассеяния света (длина волны излучения лазера 633 нм) на приборе Zetasizer Nano ZS при 25°C.

ИК-спектры измеряли в режиме пропускания на спектрометре Nicolet 6700 с разрешением 2 см⁻¹ и усреднением 128 сканирований в диапазоне волновых чисел 400–4000 см⁻¹ при комнатной температуре на воздухе. Для этого из образцов формировали пленки на окнах из смешанного бромида/йодида таллия (KRS-5) по стандартной методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наилучшие результаты с точки зрения степени полидисперсности частиц по размерам и стабильности нанодисперсий наблюдаются при соотно-

шениях концентраций реагентов, приведенных в табл. 1. Кроме того, из представленных в ней данных следует, что даже в растворе ХТЗ достаточно низкой концентрации (образец № 1) можно получить НЧ серебра без использования каких-либо дополнительных восстановителей. Образец № 2 с такой же концентрацией ХТЗ оказался неустойчивым, вероятно, в силу кинетических факторов — при увеличении pH реакционной смеси увеличивается скорость реакции. В образцах № 3–5 концентрация ХТЗ увеличена в два раза по сравнению с предыдущими, и при повышении pH системы от 6.9 до 7.3 и, далее, до 7.9 уже образуются устойчивые дисперсии серебра со среднечисловыми размерами НЧ 58, 65 и 61 нм соответственно. Однако явной связи размеров частиц с pH реакционной системы в этом концентрационном интервале реагентов не наблюдается.

При увеличении концентрации прекурсора (образцы № 6–8) при подобном варьировании pH реакционной смеси наблюдается выраженная тенденция к уменьшению среднего размера частиц от 69 до 43 нм (рис. 1). Отметим, что подобную зависимость наблюдали авторы работы [8] при получении НЧ серебра радиационно-химическим способом с использованием карбоксиметилхитина.

Известно [18], что в разбавленных растворах конформация макромолекул ХТЗ адекватно описывается моделью сильно вытянутого эллипсоида вращения. Поэтому мы предприняли попытку измерить размеры частиц исследуемого ХТЗ в растворах с концентрацией, соответствующей его содержанию в большинстве опытов, — в табл. 1 этот раствор ХТЗ обозначен как образец № 9. Оказалось, что “клубки” ХТЗ имеют очень узкое распределение по размерам с максимумом при 276 нм. С другой стороны, средний размер частиц в реакционной системе после синтеза составляет примерно 40–70 нм (рис. 2). Это означает, что в

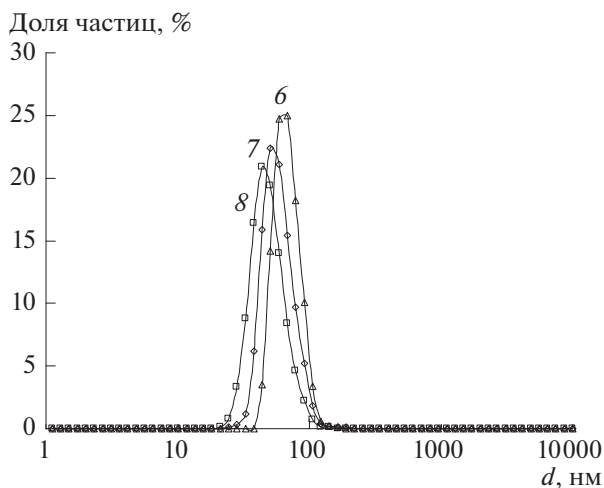


Рис. 1. Распределение числа НЧ серебра, синтезированных в водных растворах ХТЗ при различных значениях рН, по размеру. Номера у кривых соответствуют номерам образцов в табл. 1.

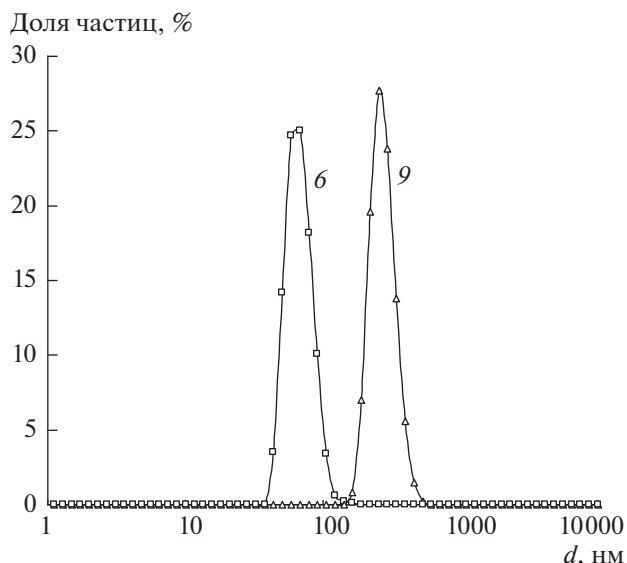


Рис. 2. Распределение числа рассеивающих лазерное излучение частиц по размеру в растворе ХТЗ (9) и в дисперсии НЧ серебра (6). Номера у кривых соответствуют номерам образцов в табл. 1.

процессе синтеза НЧ конформация макромолекул ХТЗ изменяется. Вероятным объяснением наблюдаемого эффекта является множественное взаимодействие молекулы ХТЗ с поверхностью НЧ серебра.

Характер взаимодействия ХТЗ с азотнокислым серебром и образующимися НЧ металла исследовали методом ИК-спектроскопии. На рис. 3 приведены ИК-спектры пленок, сформированных из раствора ХТЗ (образец № 9, кривая 1) и из дисперсии НЧ серебра (образец № 3, кривая 3), в диапазоне волновых чисел 400–4000 см⁻¹. Изменения рН среды и температуры могут привести к изменениям конформации макромолекул ХТЗ, что по-разному будет влиять на устойчивость формирующихся нанодисперсий серебра [8]. Поэтому дополнительно был измерен ИК-спектр пленки ХТЗ, полученной из его раствора, который содержал то же количество карбоната натрия (рН 6.9) и был подвергнут той же термообработке, что и образец № 3. Этот спектр изображает кривая 2.

Отнесение полос в ИК-спектрах ХТЗ было сделано на основании имеющихся в литературе данных [19]. Очевидно, что большинство полос поглощения не могут быть отнесены к колебаниям конкретных функциональных групп в молекуле ХТЗ, что характерно для природных полимеров. В частности, в высокочастотной области спектра наблюдается широкая полоса поглощения с максимумом при 3408 см⁻¹, отвечающая гидроксильным группам, участвующим в водородной связи, с едва заметным плечом 3257 см⁻¹, которое характеризует колебания групп NH и NH₂, также связанных водородными связями.

В области колебаний Амид I и Амид II проявляются полосы со сложным контуром с максимумами при 1630 и 1524 см⁻¹, интенсивность второй полосы заметно выше. В интервале 1200–1000 см⁻¹ наблюдается широкая область поглощения, причем можно выделить полосы с максимумами при 1157 (колебание мостиковой связи С–О в пиранозном кольце молекулы), 1095 и 1047 см⁻¹. Последние две полосы соответствуют колебаниям ν(С–О) в первичных и вторичных гидроксильных группах молекулы. Спектр пленки ХТЗ, полученной из раствора с рН 6.9 и подвергнутой термообработке, представлен кривой 2. Видно, что все полосы поглощения ХТЗ сохраняются и в этом спектре. Из соотношения интенсивностей полос поглощения валентных колебаний С–Н и С–О и Амид I и Амид II следует, что ни конформационных изменений, ни деструкции макромолекул такая мягкая обработка не вызывает.

ИК-спектр пленки, сформированной из полученной нанодисперсии серебра, представлен кривой 3. Предполагается [20], что при восстановлении ионов серебра имеет место окисление вторичной гидроксильной группы моносахаридного звена ХТЗ до карбонильной. При этом не исключается возможность участия в редокс-процессе и первичной гидроксильной группы. Действительно, сравнивая спектр полученной дисперсии со спектром ХТЗ, можно заметить, что интенсивность полосы валентных колебаний ОН-групп уменьшилась (примерно в 3 раза) и ее максимум заметно сдвинулся в сторону низких частот, до 3383 см⁻¹. Это свидетельствует об обра-

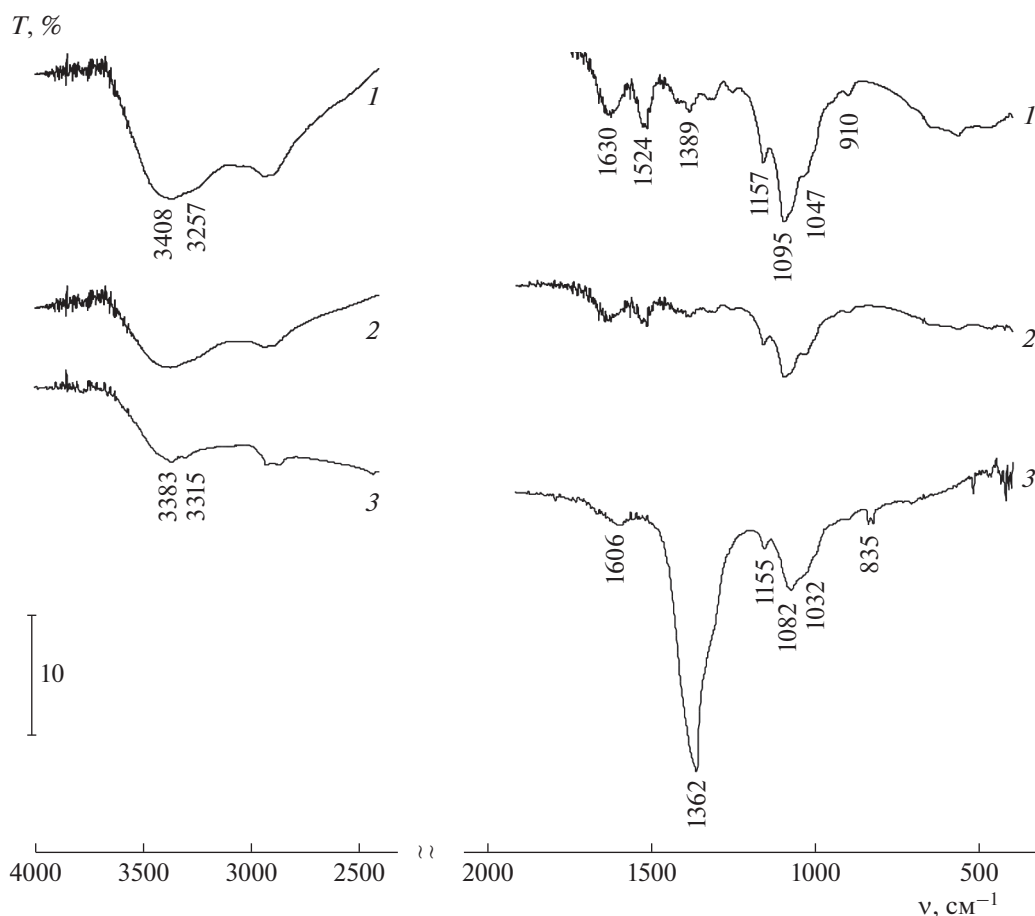


Рис. 3. ИК-спектры пленок, полученных из водного раствора ХТЗ (1), раствора ХТЗ в присутствии карбоната натрия (2) и дисперсии НЧ серебра, содержащей ХТЗ (3).

зовании более сильных водородных связей с участием гидроксильных групп. Синхронно уменьшаются интенсивности полос поглощения, соответствующих колебаниям $\nu(\text{C}-\text{O})$ первичных и вторичных гидроксильных групп биополимера. Эти изменения однозначно указывают на участие гидроксильных групп ХТЗ в восстановлении ионов серебра. В то же время уширение и “размывание” полос колебаний $\nu(\text{C}-\text{O})$ свидетельствует о конформационных изменениях макромолекул ХТЗ в этом образце. При этом в спектре не наблюдается поглощения, присущего свободным карбоксильным группам, до которых окисляются гидроксильные группы ХТЗ в процессе восстановления ионов металла, так как в щелочной среде они ионизированы и их поглощение маскируется интенсивной полосой при 1372 см^{-1} анионов NO_3^- .

Очень интересны изменения полос поглощения групп NH и NH_2 в спектре 3 по сравнению со спектром ХТЗ. Точно так же, как и в случае гидроксильных групп, интенсивность полосы валентных колебаний NH_2 -групп существенно

(в 3–4 раза) уменьшилась, что указывает на участие NH_2 -групп в восстановлении ионов серебра. Известно [8, 10], что первичные аминогруппы в ХТЗ обладают высокой комплексообразующей способностью по отношению к катионам переходных металлов. Не исключено, что именно такое взаимодействие между катионами серебра и аминогруппами ХТЗ является движущей силой образования и стабилизации НЧ серебра. С другой стороны, авторы [21] считают, что стабилизирующее действие ХТЗ связано с образованием ионных пар между его аминогруппами и анионами на поверхности металла, в нашем случае — анионами NO_3^- прекурсора. В любом случае, NH_2 -группы активно вовлечены в процессы формирования НЧ серебра и стабилизации образующихся дисперсий. Интересно отметить, что на спектре 3 полностью исчезла полоса Амид II, обусловленная составными частотами деформационных колебаний $\text{N}-\text{H}$ и колебаний $\text{C}-\text{N}$ в ацетамидной группе, но при этом полоса Амид I присутствует, хотя ее интенсивность и сильно уменьшилась. Отметим, что исчезновение поло-

сы Амид II дипептида при его использовании в качестве восстановителя для синтеза НЧ серебра наблюдали в работе [22]. Этот эффект объяснен авторами переходом *транс*-конфигурации амидной группы дипептида в *цис*-конфигурацию. В нашем случае подобные изменения в спектре также могут свидетельствовать о значительных изменениях конфигурации ацетамидных групп в молекуле ХТЗ, вызванных их взаимодействием с поверхностью НЧ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенная серия экспериментов показала возможность получения устойчивых дисперсий серебра со средним размером НЧ 40–70 нм и модальным распределением по размерам в водном растворе хитозана, используемого не только в качестве биополимерного стабилизатора, но и восстановителя ионов металла. Спектральными исследованиями показано, что в процессе восстановления ионов серебра и стабилизации образующихся НЧ участвуют как гидроксильные группы ХТЗ, так и его NH₂-группы.

Часть экспериментальной работы была выполнена с использованием оборудования “Центра коллективного пользования физическими методами исследования” Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yang K.H., Liu Y.C., Hsu T.C. // Mater. Res. Bull. 2010. V. 45. P. 63.
2. Esumi K., Takei N., Yoshimura T. // Colloids Surf. B. 2003. V. 32. P.11.
3. Jin S., Ye K. // Biotechnol. Prog. 2007. V. 23. P. 32.
4. Di Carlo G., Curulli A., Toro R.G. // Langmuir. 2012. V. 28. P. 5471.
5. D'Souza S.F., Bhainsa K.C. // Colloids Surf. B. 2006. V. 47. P. 160.
6. Lengke M.F., Fleet M.E., Southam C. // Langmuir. 2007. V. 23. P. 2694.
7. Александрова В.А., Широкова Л.Н., Бондаренко Г.Н., Петросян А.С. // Высокомолек. соед. А. 2013. Т. 55. С. 176.
8. Широкова Л.Н., Александрова В.А. // Докл. АН. 2015. Т. 464. С. 440.
9. Tiwari A.D., Mishra A.K., Arotiba O.A. // Int. J. Biol. Macromol. 2011. V. 48. P. 682.
10. Апрятина К.В., Мочалова А.Е., Грачева Т.А., Смирнова Л.А. // Высокомолек. соед. Б. 2015. Т. 57. С. 154.
11. Biswal J., Ramnami S.P., Shirolkar S., Sabharwal S. // J. Appl. Polym. Sci. 2009. V. 114. P. 2348.
12. Boca S.C., Potara M., Gabudean A.-M., Juhem A., Baldeck P.L., Astilean S. // Cancer Lett. 2011. V. 311. P. 131.
13. Nombona N., Maduray K., Antunes E., Karsten A., Nyokong T. // J. Photochem. Photobiol. B. 2012. V. 107. P. 35.
14. Дементьева О.В., Мальковский А.В., Филиппенко М.А., Рудой В.М. // Коллоид. журн. 2008. Т. 70. С. 607.
15. Дементьева О.В., Филиппенко М.А., Карцева М.Е., Рудой В.М. // Коллоид. журн. 2009. Т. 71. С. 569.
16. Карцева М.Е., Дементьева О.В., Филиппенко М.А., Рудой В.М. // Коллоид. журн. 2011. Т. 73. С. 334.
17. Duarte M.L., Ferreira M.C., Marvao M.R., Rocha J. // Int. J. Biol. Macromol. 2002. V. 31. P. 1.
18. Colfen H., Berth G., Dautzenberg H. // Carbohydr. Polym. 2001. V. 45. P. 373.
19. Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H., Saimoto H. // Int. J. Biol. Macromol. 1996. V. 18. P. 237.
20. Wei D., Qian W. // Colloid Surf. B. 2008. V. 62. P. 136.
21. Mayer A.B.R., Mark J.E. // Eur. Polym. J. 1998. V. 34. P. 103.
22. Loskutov A.I., Guskova O.A., Grigoriev S.N., Oshurko V.B., Tarasiuk A.V., Uryupina O.Ya. // J. Nanopart. Res. 2016. V. 18. P. 239.