

РАЗРАБОТКА ПОШАГОВОЙ МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ЦИТРАТНЫМ МЕТОДОМ

Н.В. Богачева, К.А. Тарбеева, Н.Ю. Огородова

Наталья Викторовна Богачева, Ксения Андреевна Тарбеева*, Наталья Юрьевна Огородова
Кафедра микробиологии, Кировский государственный медицинский университет, ул. Карла Маркса, 112, Киров, Российская Федерация, 610998
E-mail: kseniya220396@yandex.ru*, ognatashka@mail.ru

В статье представлен алгоритм разработки пошаговой методики получения наночастиц серебра размером 30-35 нм с учетом установления на каждом этапе необходимого соотношения концентраций и объемов реагентов. В работе были использованы нитрат серебра и цитрат натрия безводный фирмы «Sigma-Aldrich» (США). Все исследуемые растворы были приготовлены весовым методом. Для взвешивания реагентов использовали электронные аналитические весы Adventurer («OHAUS», США) (с дискретностью 0,0001 г). Оценка размеров и плотности наночастиц серебра проводилась с помощью электронного трансмиссионного микроскопа JEM-1011 («Jeol», Япония). В ходе исследования была установлена прямая зависимость размера наночастиц от концентраций растворов цитрата натрия и нитрата серебра. По результатам первого этапа для отработки синтеза наночастиц коллоидного серебра было выбрано соотношение концентраций $AgNO_3 : Na_3C_6H_5O_7 - 1 : 0,75$. На втором этапе проводилась оценка влияния соотношений объемов реагентов на кондиционность полученных серий: наилучший результат был получен в серии с соотношением объемов $AgNO_3 : Na_3C_6H_5O_7 - 5 : 1$, где наблюдались единичные конгломераты, а форма частиц была правильной и округлой. На следующем этапе экспериментальным путем было определено оптимальное время кипячения коллоидного раствора после появления светло-желтой окраски: при увеличении времени кипячения раствора происходит стабилизация частиц, тем самым наблюдается агрегативная устойчивость. Был подобран наиболее соответствующий режим перемешивания реагентов с использованием магнитной мешалки: после появления светло-желтой окраски изменялось количество оборотов с 375 до 500 об/мин и уменьшался температурный режим с 300 °С до 200 °С.

Ключевые слова: наночастицы серебра, коллоидное серебро, цитратный метод, цитрат натрия, пошаговая методика

DEVELOPMENT OF STEP-BY-STEP METHOD FOR PRODUCING SILVER NANOPARTICLES BY CITRATE METHOD

N.V. Bogacheva, K.A. Tarbeeva, N.Yu. Ogorodova

Natalya V. Bogacheva, Ksenia A. Tarbeeva*, Natalya Yu. Ogorodova
Department of Microbiology, Kirov State Medical University, Karl Marx st., 112, Kirov, 610027, Russia
E-mail: kseniya220396@yandex.ru*, ognatashka@mail.ru

The article presents an algorithm for developing a step-by-step method for producing silver nanoparticles 30-35 nm in size, taking into account the establishment at each stage of the necessary ratio of concentrations and volumes of reagents. In the work, silver nitrate and sodium citrate anhydrous were used by «Sigma-Aldrich» (USA). All test solutions were prepared by the gravimetric method. To weigh the reagents, we used Adventurer electronic analytical balances («OHAUS», USA) (with a resolution of 0.0001 g). The size and density of silver nanoparticles were estimated using a JEM-1011 electron transmission microscope («Jeol», Japan). In the course of the study, a direct dependence of the size of the nanoparticles on the concentration of

solutions of sodium citrate and silver nitrate was established. According to the results of the first stage, the concentration ratio of $\text{AgNO}_3 : \text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 - 1 : 0.75$ was chosen for testing the synthesis of colloidal silver nanoparticles. At the second stage, the influence of the ratios of the volumes of reagents on the conditionability of the obtained series was evaluated. The best result was obtained in the series with the volume ratio of $\text{AgNO}_3 : \text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 - 5 : 1$, where single conglomerates were observed, and the particle shape was regular and round. At the next stage, the optimal boiling time of the colloidal solution after the appearance of a light yellow color was experimentally determined. With an increase in the boiling time of the solution, stabilization of particles occurs, thereby aggregative stability is observed. The most appropriate reagent mixing mode using a magnetic stirrer was selected: after the appearance of a light yellow color, the number of revolutions was changed from 375 to 500 rpm and the temperature regime was decreased from 300 °C to 200 °C.

Key words: silver nanoparticles, colloidal silver, citrate method, sodium citrate, step-by-step technique

Для цитирования:

Богачева Н.В., Тарбеева К.А., Огородова Н.Ю. Разработка пошаговой методики получения наночастиц серебра цитратным методом. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2020. Т. 63. Вып. 5. С. 65–69

For citation:

Bogacheva N.V., Tarbeeva K.A., Ogorodova N.Yu. Development of step-by-step method for producing silver nanoparticles by citrate method. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* [Russ. J. Chem. & Chem. Tech.]. 2020. V. 63. N 5. P. 65–69

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время все большее внимание уделяется проблеме получения наночастиц коллоидного серебра (НчКС) заданного диаметра и формы. Получение стабильных водных дисперсий с установленными физико-химическими свойствами на базе наносеребра является необходимым условием при создании наноструктурных материалов, применяемых в электрохимии и медицине [1, 2].

Наночастицы характеризуются большой величиной площади поверхностей раздела. Поэтому при синтезе необходимо обеспечить устойчивость системы с гигантской поверхностной энергией. В связи с бактерицидной [3] и фунгицидной [4] активностью наносеребра важно применять частицы размером 15-30 нм, так как чем меньше размер наночастиц, тем более эффективно их проникновение в клеточную мембрану микроорганизма [5]. НчКС могут служить основой для создания новых классов бактерицидных и химиотерапевтических препаратов, для разработки новых биоматериалов [6], упаковочных материалов в хирургической практике [7]. Также широкое применение нашли наночастицы в легкой промышленности при производстве кож, предназначенных для верхней одежды и обуви [8].

Известны различные методики получения НчКС. Все эти методы можно разделить на две большие группы: конденсационный и дисперсионный синтез [9]. Наибольшее распространение из второй группы получил химический метод, позволяющий синтезировать наночастицы в ре-

зультате реакции химического восстановления в растворе ионов металлов [10].

Среди химических методов самым распространенным способом получения наночастиц серебра является цитратный метод Туркевича, который изначально был разработан для получения наночастиц коллоидного золота. Данная методика включала этапы восстановления хлористоводородной кислоты цитратом натрия [11]. В дальнейшем цитратный метод Туркевича был применен и для синтеза наночастиц серебра [1, 9, 12]. Самым главным преимуществом цитратного метода Туркевича является то, что цитрат-анион выступает одновременно в качестве восстановителя и стабилизирующего агента образующихся частиц [13].

По данным научной литературы существуют различные модификации цитратного метода, отличающиеся по соотношению концентраций и объемов реагентов, времени кипячения реакционной смеси. Например, в одних источниках хлористоводородную кислоту добавляют сразу, а цитрат натрия – при закипании, в других – и тот, и другой реагент вносят последовательно при закипании. Имеются расхождения по объему вносимого в раствор серебра цитрата натрия для получения частиц с заданным размером [14, 15], времени кипячения раствора и скорости смешения реагентов [16]. Отсутствие четкого алгоритма получения наночастиц серебра, обосновывает актуальность и цель работы – разработать простой пошаговый способ получения НчКС размером 30-35 нм, кото-

рые, благодаря наличию у них антимикробных, антиоксидантных, иммуностимулирующих свойств, имеют огромный спектр практического применения в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве, при разработке иммунобиологических препаратов и т.д.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе был использован нитрат серебра AgNO_3 («Sigma-Aldrich», США), цитрат натрия $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ безводный («Sigma-Aldrich», США), дистиллированная вода (ГОСТ 6709-72).

Все реагенты готовили на деионизированной воде (ГОСТ 11.029.003-80). Процесс синтеза проводили в стеклянной колбе, используя обратный холодильник и магнитную мешалку с подогревом («Meidolph», Германия). Всю лабораторную посуду предварительно обрабатывали смесью концентрированных соляной и азотной кислот («Рехим», Россия) в соотношении 3:1 – «царской водкой».

Используя ранее отработанный способ получения наночастиц коллоидного золота цитратным методом Туркевича [17], для синтеза наносеребра каждой серии применяли одинаковый температурный режим для закипания AgNO_3 (300 °С) и скорость перемешивания на магнитной мешалке (375 об/мин). Приготовленный раствор AgNO_3 доводили до кипения, после чего по каплям вносили $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ и наблюдали изменение окраски раствора на светло-желтую. После этого сразу же изменяли температурный режим с 300 °С до 200 °С и число оборотов мешалки с 375 об/мин до 500 об/мин.

Оценку всех полученных препаратов коллоидного серебра проводили с помощью электронного трансмиссионного микроскопа JEM-1011 («Jeol», Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы последовательно обрабатывали этапы синтеза НчКС.

На первом этапе были использованы разные концентрации $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, при этом объемы растворов $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ и AgNO_3 оставались постоянными (по 50 мл в соотношении 1:1). При приготовлении 100 мл 0,002 М раствора коллоидного серебра конечная концентрация нитрата серебра в растворе составляла 0,002 М, а концентрация цитрата натрия составляла: в препарате № 1 – 0,002 М, в препарате № 2 – 0,0015 М; в препарате № 3 – 0,001 М. Объемы цитрата натрия, нитрата серебра и время кипячения раствора не меняли.

По результатам эксперимента было установлено, что препарат № 1 содержал мало наночастиц, они были различной формы, присутствовала агрегация; в препарате № 3 наблюдались конгломераты несформированных частиц; препарат № 2 содержал большую концентрацию частиц размером 35 ± 5 нм, форма их была более однородная и правильная, агрегация наблюдалась значительно меньше. В результате мы подтвердили уже имеющиеся научные данные [18] о наличии прямой зависимости между соотношением концентраций AgNO_3 : $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ и размером частиц.

На втором этапе провели оценку влияния соотношения объемов реагентов при сохранении соотношения концентраций и прочих параметров на кондиционность полученных серий препаратов НчКС. Опираясь на ранее опубликованные статьи [19, 20], были выбраны соотношения объемов AgNO_3 : $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 1:1 – препарат № 4; 5:1 – препарат № 5; 1:5 – препарат № 6.

Наименее кондиционными оказались препараты № 4 и 6. В первом из указанных вариантов наблюдалось большое количество конгломератов, во втором частицы имели неправильную форму и большой размер – более 50 нм. Наилучшие результаты были получены в препарате № 5: форма НчКС была правильной, округлая, размер частиц – 32,3-33,5 нм, наблюдались единичные конгломераты. По результатам данного этапа препарат № 5 был оценен как наиболее кондиционный (рис. 1). Параметры, используемые для его получения, были выбраны для третьего этапа исследования.

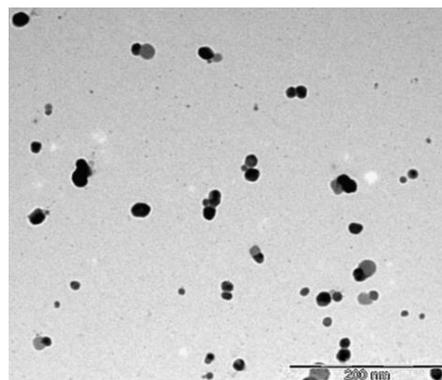


Рис. 1. Микрофотография наночастиц серебра. Препарат № 5
Fig. 1. TEM image of silver nanoparticles. Preparation № 5

На третьем этапе был проведен выбор оптимального времени кипячения раствора после начала появления светло-желтой окраски. Для этого после изменения температурного режима и количества оборотов на магнитной мешалке отбирали пробы с интервалом в 4 мин.

В результате третьего этапа было обнаружено, что в сериях препаратов НчКС № 7 и № 8, где время кипячения после появления светло-желтой окраски составило, соответственно, 12 и 16 мин, не наблюдалось агрегативной устойчивости. При кипячении же раствора в течение 20 мин частицы в поле зрения лежали разбросано, были правильной округлой формы, со средним размером 35 ± 5 нм (рис. 2).

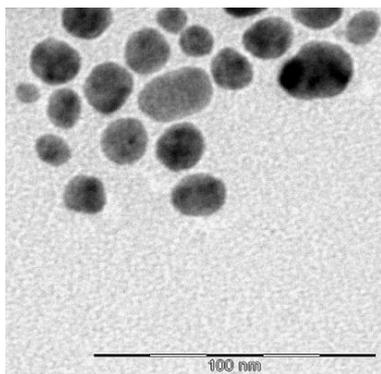


Рис. 2. Микрофотография НчКС. Препарат № 9
Fig. 2. TEM image of silver nanoparticles. Preparation № 9

В результате поэтапного проведения эксперимента удалось подобрать оптимальный режим и параметры приготовления наночастиц коллоидного серебра и добиться их стабилизации:

1. Соотношение концентраций растворов $\text{AgNO}_3:\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 - 1:0,75$.

2. Соотношение объемов растворов $\text{AgNO}_3:\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 - 5:1$.

3. Оптимальная температура и режим перемешивания магнитной мешалки: 300°C и 375 об/мин – с начала эксперимента; 200°C и 500 об/мин – с момента появления желтоватой окраски.

4. Время кипячения раствора для стабилизации частиц после появления светло-желтой окраски – 20 мин.

ВЫВОДЫ

В результате работы удалось разработать пошаговую методику получения цитратным методом кондиционных наночастиц серебра размером 30–35 нм, основанную на соблюдении соотношения концентраций и объемов растворов $\text{AgNO}_3:\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, температурного режима и режима перемешивания раствора, времени кипячения раствора, необходимого для стабилизации частиц.

Данная методика может быть использована для получения НчКС, которые, благодаря имеющимся у них антимикробным, иммуностимулирующим и многим другим свойствам, могут быть использованы при разработке иммунобиологических препаратов, для получения различных материалов с антисептическими свойствами в медицине, а также в различных областях науки и в пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Vegera A.V., Zimon A.D.** Synthesis and physicochemical properties of silver nanoparticles stabilized by acid gelatin. *Zhurn. Prikl. Khimii*. 2006. V. 79. N 9. P. 1419–1422. DOI: 10.1134/S1070427206090023.
2. **Singh M., Singh S., Prasad S., Gambhir I.S.** Nanotechnology in medicine and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles. *Digest J. Nanomater. Biostruct.* 2008. V. 3. N 3. P. 115–122.
3. **Chernousova S., Epple M.** Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2013. V. 52. N 6. P. 1636–1653. DOI: 10.1002/anie.201205923.
4. **Дмитриева М.Б., Чмутин И.А., Рыжкова Е.П.** Определение фунгицидной активности препаратов на основе наночастиц серебра. *Нанотехника*. 2009. № 20. С. 45–50.
5. **Станишевская И.Е., Стойнова А.М., Марахова А.И., Станишевский Я.М.** Наночастицы серебра: получение и применение в медицинских целях. *Разработка и регистр. лекарств. ср-в*. 2016. № 1. С. 66–69.
6. **Гладких П.Г.** Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов. *ВНМТ*. 2015. №1. С. 3–4. DOI: 10.12737/8117.
7. **Беляев А.Н., Мазин П.В., Беляева Е.В., Мазин В.П.** Перспективы использования водных серебросодержащих растворов в медицине. *Вят. мед. вестн.* 2015. Т. 48. №4. С. 10–12.

REFERENCES

1. **Vegera A.V., Zimon A.D.** Synthesis and physicochemical properties of silver nanoparticles stabilized by acid gelatin. *Zhurn. Prikl. Khimii*. 2006. V. 79. N 9. P. 1419–1422. DOI: 10.1134/S1070427206090023.
2. **Singh M., Singh S., Prasad S., Gambhir I.S.** Nanotechnology in medicine and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles. *Digest J. Nanomater. Biostruct.* 2008. V. 3. N 3. P. 115–122.
3. **Chernousova S., Epple M.** Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2013. V. 52. N 6. P. 1636–1653. DOI: 10.1002/anie.201205923.
4. **Dmitrieva M.B., Chmutin I.A., Ryzhkova E.P.** Determination of the fungicidal activity of preparations based on silver nanoparticles. *Nanotekhnika*. 2009. N 20. P. 45–50 (in Russian).
5. **Stanishevskaya I.E., Stoinova A.M., Marakhova A.I., Stanishevskiy Y.M.** Silver nanoparticles: preparation and use for medical purposes. *Razrabotka Registr. Lekarstv. sr-v*. 2016. N 1. P. 66–69 (in Russian).
6. **Gladkikh P.G.** Effect of silver nanoparticles on biofilms of microorganisms. *VNMT*. 2015. N 1. P. 3–4 (in Russian). DOI: 10.12737/8117.
7. **Belyaev A.N., Mazin P.V., Belyaeva E.V., Mazin V.P.** Prospects for the use of aqueous silver-containing solutions in medicine. *Vyat. Med. Vestn.* 2015. V. 48. N 4. P. 10–12 (in Russian).

8. **Яманова Р.Р., Николаенко Г.Р.** О применении наночастиц серебра в легкой промышленности. *Вестн. Казан. технол. ун-та*. 2013. Т. 16. В. 22. С. 39–41.
9. **Комаров С.М.** Камера – обскура для нанотехнолога. *Химия и жизнь*. 2007. № 3. С. 32–34.
10. **Коляда Л.Г., Медяник Н.Л., Ефимова Ю.Ю., Кремнева А.В.** Синтез и исследование наночастиц серебра и возможность их использования в пищевой упаковке. *Вестн. МГТУ им. Г.И. Носова*. 2015. № 2. С. 65–69.
11. **Wuithschick M., Birnbaum A., Witte S., Sztucki M., Vainio U., Pinna N., Rademann K., Emmerling F., Kraehnert R., Polte J.** Turkevich in new robes: key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis. *ACS Nano*. 2015. V. 9. N 7. P. 7052–7071.
12. **Tripatni G., Clements M.** Adsorption of 2- mercaptopyrimidine on silver nanoparticles in water. *J. Phys. Chem.* 2003. V. 107. N 40. P. 1125–1132. DOI: 10.1021/jp030546i.
13. **Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.** Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы. *Усп. химии*. 2008. Т. 77. № 3. С. 242–269.
14. **Евдокимов А.А.** Получение и исследование наноструктур: лабораторный практикум по нанотехнологиям. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2011. 146 с.
15. **Панфилова Е.В., Хлебцов Б.Н., Буров А.М., Хлебцов Н.Г.** Исследование параметров реакции полиольного синтеза, контролирующих высокий выход серебряных нанокубиков. *Коллоид. журн.* 2012. Т. 74. № 1. С. 104–114. DOI: 10.1134/S1061933X11060147.
16. **Михайлов М.Д.** Химические методы получения наночастиц и наноматериалов. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та. 2012. 257 с.
17. **Крупина К.А., Смирнова Д.Н., Богачева Н.В., Дармов И.В.** Разработка методики получения коллоидного золота с размером наночастиц 30 нм. Сб. ст.: Всеросс. ежегод. науч.-практ. конф. «Общество, наука, инновации». Киров: ВятГУ. 2016. С. 246–252.
18. **Семененко В.А.** Получение наночастиц серебра и исследование их свойств. Сб. мат. конф.: 70-я Международ. науч. конф. студ. и молод. уч. «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2016». Минск: БГМУ. 2016. С. 1122–1125.
19. **Сигов А.С.** Получение и исследования наноструктур: лабораторный практикум по нанотехнологиям. М.: МИРЭА. 2008. 116 с.
20. **Дементьева О.В., Мальковский А.В., Филиппенко М.А., Рудой В.М.** Сравнительное исследование свойств гидрозолей серебра, полученных цитратным и цитрат-сульфатным методами. *Коллоид. журн.* 2008. Т. 70. № 5. С. 607–619.
8. **Yamanova R.R., Nikolaenko G.R.** About silver nanoparticles' application in the light industry. *Vestn. Kazan. Tekhnol. Un-ta*. 2013. V. 16. N 22. P. 39–41 (in Russian).
9. **Komarov S.M.** The camera is a pinhole for a nanotechnologist. *Khim. Zhizn'*. 2007. N 3. P. 32–34 (in Russian).
10. **Kolyada L.G., Medyanik N.L., Efimova Yu.Yu., Kremneva A.V.** Synthesis and research on silver nanoparticles and their possible application in food packaging. *Vestn. MGTU im. G.I. Nosova*. 2015. N 2. P. 65–69 (in Russian).
11. **Wuithschick M., Birnbaum A., Witte S., Sztucki M., Vainio U., Pinna N., Rademann K., Emmerling F., Kraehnert R., Polte J.** Turkevich in new robes: key questions answered for the most common gold nanoparticle synthesis. *ACS Nano*. 2015. V. 9. N 7. P. 7052–7071.
12. **Tripatni G., Clements M.** Adsorption of 2-mercaptopyrimidine on silver nanoparticles in water. *J. Phys. Chem.* 2003. V. 107. N 40. P. 1125–1132. DOI: 10.1021/jp030546i.
13. **Krutyakov Yu.A., Kudrinskiy A.A., Olenin A.Yu., Lisichkin G.V.** Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects. *Russ. Chem. Rev.* 2008. V. 77. N 3. P. 233–257.
14. **Evdokimov A.A.** Obtaining and research of nanostructures: laboratory workshop on nanotechnology. М.: BINOM. Laboratoriya znaniy. 2011. 146 p. (in Russian).
15. **Panfilova E.V., Khlebtsov B.N., Burov A.M., Khlebtsov N.G.** Study of polyol synthesis reaction parameters controlling high yield of silver nanocubes. *Colloid J.* 2012. V. 74. N 1. P. 99–109. DOI: 10.1134/S1061933X11060147.
16. **Mikhailov M.D.** Chemical methods for producing nanoparticles and nanomaterials: textbook allowance. SPb.: Izd-vo politekhn. un-ta. 2012. 257 p. (in Russian).
17. **Krupina K.A., Smirnova D.N., Bogacheva N.V., Darmov I.V.** Development of methods for producing colloidal gold with a nanoparticle size of 30 nm. Paper coll.: Vseross. yezhegod. nauch.-prakt. konf. «Obshchestvo, nauka, innovatsii». Kirov: VyatG, 2016. P. 246–252 (in Russian).
18. **Semenenko V.A.** Preparation of silver nanoparticles and investigation of their properties. Paper coll.: 70-ya Mezhdunar. nauch. konf. stud. i molod. uch. «Aktual'nyye problemy sovremennoy meditsiny i farmatsii – 2016». Minsk: BGMU. 2016. P. 1122–1125 (in Russian).
19. **Sigov A.S.** Obtaining and research of nanostructures: laboratory workshop on nanotechnology. М.: MIREA. 2008. 116 p. (in Russian).
20. **Dementieva O.V., Malkovsky A.V., Filippenko M.A., Rudoy V.M.** Comparative study of the properties of silver hydrosols obtained by citrate and citrate-sulphate methods. *Kolloid. Zhurn.* 2008. V. 70. N 5. P. 607–619 (in Russian).

Поступила в редакцию 03.12.2019
 Принята к опубликованию 05.03.2020

Received 03.12.2019
 Accepted 05.03.2020