

Г. Д. Дудок<sup>1</sup>, Н. Б. Семенюк<sup>1</sup>, В. Й. Скорохода<sup>1</sup>, З. В. Губрій<sup>2</sup>

Національний університет “Львівська політехніка”,

<sup>1</sup> кафедра хімічної технології і переробки пластмас,<sup>2</sup> кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

halyna.d.dudok@lpnu.ua

## ВИКОРИСТАННЯ ПОЛІВІНІЛПІРОЛІДОНУ ЯК ВИСОКОЕФЕКТИВНОГО ВІДНОВНИКА ТА СТАБІЛІЗАТОРА В РЕАКЦІЯХ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

<https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.185>

Досліджено закономірності одержання наночастинок срібла із використанням полівінілпіролідону як відновника та стабілізатора одночасно. Утворення наночастинок срібла було підтверджено УФ, FT-IR спектроскопією і TEM-аналізом. Встановлено вплив температури та концентрації реагентів на кінетику відновлення срібла із солей аргентуму. Синтезовано срібловмісні композити у вигляді пористих блоків і плівок та виявлено їхні високі бактерицидні та фунгіцидні властивості. Рекомендовано використовувати розроблені пористі композити у медицині для заміщення пошкодженої кісткової тканини у процесах остеогенезу.

**Ключові слова:** полівінілпіролідон; наночастинка срібла; стабілізатор; фунгібактерицидні властивості; срібловмісні композити.

### Вступ

Срібло в різних хімічних формах давно відоме як ефективний антимікробний засіб із високою активністю проти бактерій, вірусів і грибів [1, 2]. Останніми роками наночастинок срібла активно вивчають через їхнє можливе використання як сильного бактерицидного матеріалу в біомедицинській галузі. Виразу антибактеріальну активність таких наночастинок можна пояснити добре розвинутою поверхнею та великим співвідношенням площі поверхні та об'єму, що забезпечує кращий контакт із мікроорганізмами [3], а також сильною цитотоксичністю для клітин бактерій внаслідок їх взаємодії з функціональними групами бактерій [4–6].

Найпоширенішим методом синтезу стабільних наночастинок срібла є хімічне відновлення іонів срібла в різних стабілізаторах, таких як полімери та поверхнево-активні речовини [7–11]. Серед них значну увагу привертає полівінілпіролідон (ПВП) через його чудові хімічні та фізичні властивості. ПВП не тільки діє як стабілізуючий агент, але й впливає на контроль швидкості відновлення іонів срібла та агрегацію атомів срібла [12, 13]. Окрім методу хімічного

відновлення, є й інші методи синтезу наночастинок срібла, стабілізованого ПВП, зокрема,  $\gamma$ -опромінення [14–16] та лазерна абляція [17].

**Метою** цього дослідження було дослідити закономірності одержання і синтезувати наночастинок срібла з використанням полівінілпіролідону як відновника та стабілізатора одночасно, а також підтвердити антимікробну активність срібловмісних композитів щодо різних груп бактерій і цвілі.

### Матеріали та методи досліджень

ПВП високого очищення торгової марки AppliChem GmbH з молекулярною масою  $28 \cdot 10^3$ , аргентуму нітрат та аргентуму ацетат марки ч.д.а. використовували в отриманому вигляді без подальшого очищення.

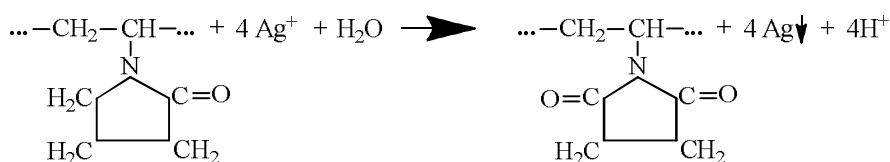
Для кількісного визначення  $\text{AgNO}_3$  застосовували потенціометричний метод аналізу. Модельні розчини іонів срібла в діапазоні  $1 \cdot 10^{-1}$ – $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л готували послідовним розбавленням розчину  $\text{AgNO}_3$  у день експерименту. Як фоновий електроліт для підтримання постійної іонної сили застосовували 0,1 н розчин  $\text{KNO}_3$ . Робочі й модельні розчини готували на дистильованій воді.

Потенціометричні криві реєстрували із використанням цифрового іоніметра AI-125 у режимі вимірювання електрорушійної сили, діапазон вимірювання від -2400 до 2400 мВ. Межа допустимої абсолютної похибки вимірювання  $\pm 0,5$  мВ.

Робочий розчин готували так: розчиняли відому наважку  $\text{AgNO}_3$  у дистильованій воді і змішували із водним розчином ПВП певної концентрації. Свіжоприготований робочий розчин поміщали в скляний стаканчик у темряві й під час перемішування розчину на магнітній мішалці за постійної температури в різні проміжки часу вимірювали значення рівноважного потенціалу. Визначали концентрацію  $\text{Ag}^+$  у розчині за допомогою срібного активного індикаторного електрода  $\text{AgNO}_3/\text{Ag}$  (електронообмінного) в парі із хлорид-срібним електродом порівняння з використанням додаткового сольового містка.

Колір розчину залежно від концентрації  $\text{Ag}^+$  змінювався від темно-жовтого до коричневого. Такі розчини за кімнатної температури не розшаровуються, а утворені наночастинки не агломерують, що свідчить про утворення стабільних колоїдів срібла. Розчини з більшою молекулярною масою ПВП дають інтенсивніше забарвлення, що є непрямим підтвердженням впливу молекулярної маси ПВП на утворення наночастинок срібла [18].

Зображення трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) записували на ТЕМ JEOL JEM 200 CX. Середній розмір частинок срібла і стандартне відхилення їхніх розмірів визначали, аналізуючи зображення мікрофотографій цих дисперсій із використанням для оброблення даних програми Atlas.



ПВП має полівініловий каркас із полярними групами. Пара електронів з атомів нітрогену та кисню в полярних групах ланки ПВП може бути передана на sp-гібридні орбіталі іонів  $\text{Ag}^+$  для побудови складних сполук; sp-гібрид зазвичай утворює лінійний координаційний зв'язок. Очевидно, що можуть виникнути два типи зв'язку (внутрішньо- та міжланцюгові

Спектри поглинання в діапазоні довжин хвиль 200–800 нм реєстрували за кімнатної температури за допомогою спектрофотометра 108 UV/ULAB і кварцової комірки 1,0 см, використовуючи дистильовану воду як холостий матеріал.

Спектри FTIR розчинів виміряно за допомогою FT-IR-спектрометра Spectrum Two Perkin Elmer, оснащеного детектором дейтерію тригліцинсульфату та приєднаним блоком UATR. Діапазон сканування становив від 400 до 4000  $\text{cm}^{-1}$  із роздільною здатністю 4  $\text{cm}^{-1}$ .

Фунгібактерицидні властивості пористих срібловмісних композитів досліджували на тест-культурах бактерій *Escherichia coli* НВ 101 (*E. coli*) (кишкова паличка), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) і цвільового гриба *Aspergillus niger* (*A. niger*) за стандартною методикою дифузії діючої речовини в агар на твердому поживному середовищі (м'ясо-пептонний агар – для бактерій, сусло-агар – для грибів).

#### Результати досліджень та їх обговорення

Наночастинки срібла, стабілізовані ПВП, були синтезовані взаємодією солей аргентуму (аргентуму ацетату та аргентуму нітрату) із ПВП у водному або водно-спиртовому середовищі. Додавання розчину ПВП до розчину солі аргентуму приводить до координації іонів аргентуму з атомами нітрогену або кисню ПВП. Синтез здійснювали за різних температур (288–343 К) протягом 120 хв. ПВП діє також як стабілізатор, який захищає наночастинки срібла від агломерації та впливає на швидкість відновлення [12, 13]. За таких умов відбувається утворення у макромолекулі ПВП вінілсукцинімідних ланок за такою схемою:

взаємодії молекули ПВП). У першому випадку іони  $\text{Ag}^+$  взаємодіють з молекулами ПВП. Два типи координаційних зв'язків можуть ефективно зменшити хімічний потенціал і додатково полегшити стабілізацію наночастинок.

Утворення наночастинок срібла, стабілізованих ПВП, підтверджено УФ-спектроскопією та ТЕМ-аналізом. Аналіз УФ чітко вказав на

утворення наночастинок срібла через появу сильних смуг поглинання за 420 нм (рис. 1). Спостереження смуг поглинання на цій довжині хвилі демонструє утворення сферичних наночастинок срібла [19].

Окрім того, поглинання наночастинок срібла стає сильнішим і різкішим зі збільшенням концентрації срібла, що є показовим для отримання наночастинок срібла із вузьким розподілом частинок за розміром.

Цей стан підтверджується ТЕМ-аналізом. Після термічного відновлення спостерігали сферичні наночастинки срібла із середнім розміром  $(25 \pm 1)$  нм, рівномірно розподілені в полімерній матриці (рис. 2, а), проте виявлено також окремі агрегати (рис. 2, б).

Отримані наночастинки срібла, стабілізовані ПВП, додатково охарактеризовано за допомогою FT-IR-спектроскопії. На рис. 3 подано

ІЧ-спектри чистого ПВП та продукту взаємодії ПВП з  $\text{AgNO}_3$  у водно-спиртовому і водному середовищах. Усі характерні піки для груп  $-\text{CH}_2$  і  $-\text{CN}$  ПВП за  $1460$  та  $1374 \text{ cm}^{-1}$  відповідно спостерігалися в трьох випадках. Також виявлено пік за  $1285\text{--}1295 \text{ cm}^{-1}$ , характерний для зв'язку  $\text{C-N}$  у ПВП. В усіх випадках спостерігався сильний пік поглинання, характерний для карбонільної групи ПВП за  $1640\text{--}1680 \text{ cm}^{-1}$  відповідно. У чистому ПВП цей пік проявлявся за  $1660 \text{ cm}^{-1}$ , а для розчину  $\text{Ag}^+$  з ПВП він був розширений з  $1640$  до  $1680 \text{ cm}^{-1}$ , що засвідчує збільшення кількості груп  $\text{C=O}$  у піролідоновому циклі. Те саме спостерігається і для групи  $\text{CN}$ , для якої пік трохи розширюється з  $1275$  до  $1295 \text{ cm}^{-1}$ . Ці розширення пов'язані з утворенням координаційних зв'язків між атомами аргентуму та кисню і нітрогену ПВП.

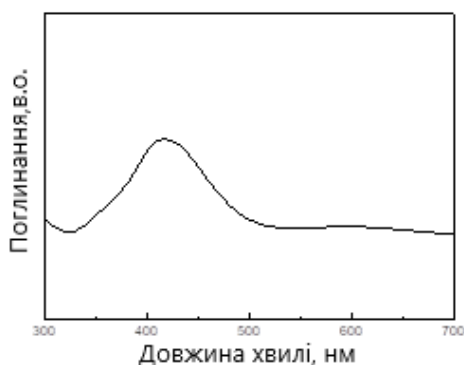
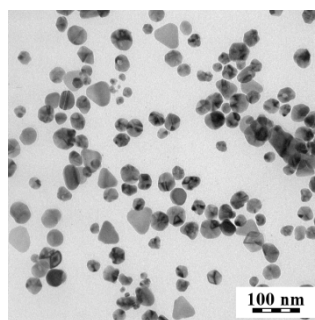
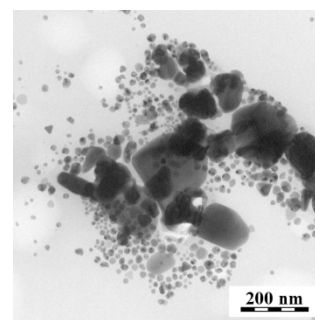


Рис. 1. УФ-спектри наночастинок срібла



а



б

Рис. 2. ТЕМ-зображення утворених дисперсій

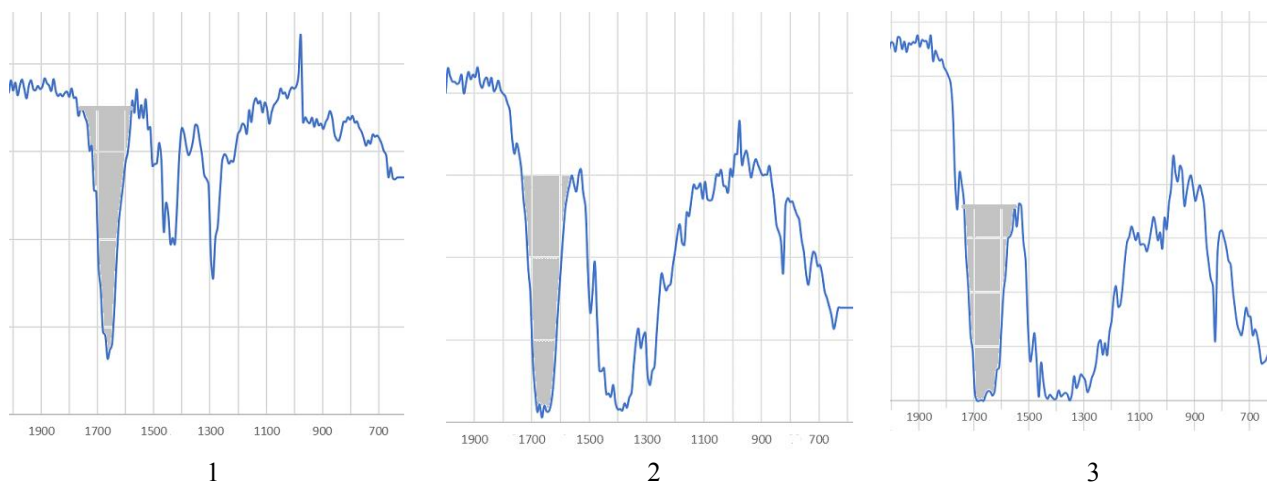


Рис. 3. ІЧ-спектри наночастинок срібла:

1 – ПВП; 2 – продукт взаємодії ПВП з  $\text{AgNO}_3$  (1:1 мас. ч.) у спиртовому середовищі;  
3 – продукт взаємодії ПВП з  $\text{AgNO}_3$  (1:1 мас. ч.) у водному середовищі

З відомих інфрачервоних спектрів FT-IR для аргентуму ацетату характерні смуги поглинання в області 642, 920, 1018, 1340, 1406  $\text{см}^{-1}$ , а для аргентуму нітрату – 810, 1350  $\text{см}^{-1}$ . В отриманих спектрах (рис. 3, криві 1–2) також наявні смуги поглинання у цих діапазонах. Зокрема, наявні смуги поглинання у діапазонах 659, 826, 1385  $\text{см}^{-1}$ , що відносять до металічного срібла, які зміщені у бік більших довжин хвиль, що вказує на збільшення енергії коливань цих зв'язків.

Площі над піками у водно-спиртовому і у водному середовищах збільшилися відповідно на 14 % і 13 %.

Кінетику відновлення срібла вивчали за зменшенням концентрації його іонів у розчині

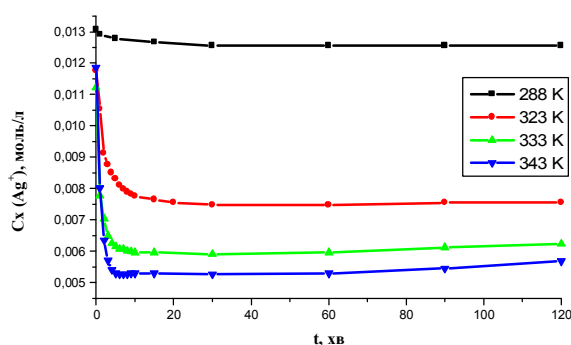


Рис. 4. Потенціометричні криві зміни концентрації  $\text{Ag}^+$  залежно від температури.  $\text{Ag}^+:\text{ПВП} = 50:50$  мас. ч.

Досліджуючи відновлення срібла залежно від співвідношення реагентів, ми встановили, що зниження концентрації іонів срібла в усіх випадках перевищує половину від початкової кількості солі.

Виявлені закономірності одержання наночастинок срібла використано для надання фунгібактерицидних властивостей пористим композитам на основі кополімерів ГЕМА-ПВП, наповненим гідроксіапатитом. Такі композити, за результатами попередніх досліджень, були рекомендовані для заміщення пошкоджених кісткових тканин [20]. Для визначення антибактеріальної активності розроблені пористі композити тестували за допомогою стандартної методики дифузії діючої речовини в агар на твердому поживному середовищі (м'ясо-пептонний агар – для бактерій, сусло-агар – для грибів). Для порівняння використано різні солі аргентуму (аргентуму аце-

потенціометричним методом. Здійснено низку досліджень впливу температури (рис. 4) та співвідношення реагентів (рис. 5) на закономірності реакції відновлення.

Наночастинок срібла утворюються на початкових стадіях. Встановлено, що реакція відновлення відбувається доволі швидко (в перші 10–15 хв) і фактично завершується приблизно через 30 хв. Зниження концентрації іонів аргентуму залежить від температури реакційного середовища: за кімнатної температури відбувається лише незначне зниження концентрації іонів срібла, що становить 1,7 % від початкової кількості солі, а за температури 343 К ця зміна досягає 53,7 %.

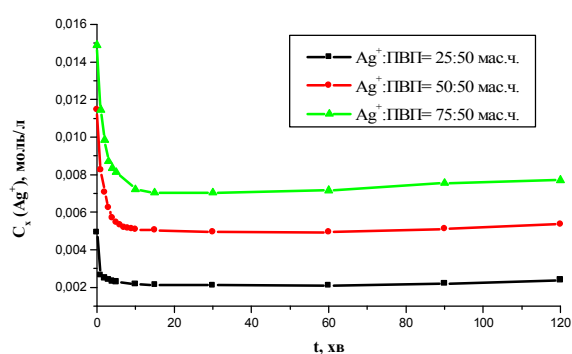


Рис. 5. Потенціометричні криві зміни концентрації  $\text{Ag}^+$  залежно від співвідношення реагентів.  $T = 343$  К

тат і аргентуму нітрат). Композити досліджували на тест-культурах на грампозитивні бактерії (*S. Aureus*), грамнегативні бактерії (*E coli*) і цвільовий гриб *Aspergillus niger* (*A. niger*). Встановлено, що композити ГЕМА:ПВП:ГА: $\text{AgNO}_3 = 7:3:7:0,6$  мас. ч. та ГЕМА:ПВП:ГА: $\text{AgAc} = 7:3:7:0,6$  мас. ч. проявляють бактерицидну активність, про що свідчить поява зони інгібування в межах 60–73 % для бактерій та 30–35 % для грибів. Композити з нітратом аргентуму у дослідженнях проявили вищу фунгібактерицидну активність. Композити, які не містили наночастинок срібла, не проявили фунгібактерицидних властивостей.

Розроблені срібловмісні пористі композити можна рекомендувати використовувати у медицині для заміщення пошкодженої кісткової тканини у процесах остеогенезу.

## Висновки

Досліджено закономірності одержання наночастинок срібла із використанням полівінілпіролідону як відновника та стабілізатора одночасно. Утворення сферичних наночастинок срібла діаметром 20–30 нм підтверджено УФ, FT-IR спектроскопією і TEM-аналізом. Отримані наночастинки характеризуються плазмонним резонансним поглинанням із максимумом 420–435 нм. З'ясовано вплив температури і концентрації  $\text{Ag}^+$  на кінетику відновлення йонів срібла. Підтверджено, що зміною температури, підбором природи реагентів і середовища можна спрямовано змінювати розміри наночастинок срібла. Синтезовано срібловмісні композити на основі кополімерів полівінілпіролідону та метакрилових естерів із наночастинами срібла у структурі у вигляді пористих блоків і плівок та виявлено їхні високі бактерицидні та фунгіцидні властивості щодо *Escherichia coli* HB 101 (*E. coli*) (кишкова паличка), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) і цвільового гриба *Aspergillus niger* (*A. niger*). Розроблені пористі композити рекомендовано для використання у медицині для заміщення пошкодженої кісткової тканини у процесах остеогенезу.

## References

1. Sharma, V. K., Yngard, R. A., Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 145, 83–96. DOI: 10.1016/j.cis.2008.09.002.
2. Sonodi, I., Salopek-Sonodi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.*, 275, 177–182. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.02.012.
3. Rai, M., Yadav, A., Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol. Adv.*, 27, 76–83. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002.
4. Ray, S., Mohan, R., Singh, J. K., Samantaray, M. K., Shaikh, M.M., Panda, D., Ghosh, P. (2007). Anticancer and antimicrobial metallopharmaceutical agents based on palladium, gold, and silver N-heterocyclic carbene complexes. *J. Am Chem. Soc.*, 129:15042–15053. DOI: 10.1021/ja075889z.
5. Lee, H. Y., Park, H. K., Lee, Y. M., Kim, K., Park, S. B. (2007). A practical procedure for producing silver nanocoated fabric and its antibacterial evaluation for biomedical applications. *Chem. Commun.*, 28, 2959–2961. DOI: 10.1039/b703034g.
6. Zhang Y., Peng H., Huang W., Zhou Y., Yan D. (2008). Facile preparation and characterization of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.*, 325, 371–376. DOI: 10.1016/j.jcis.2008.05.063.
7. Panacek, A., Kvitek, L., Prucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V.K., Nevecna, T., Zboril, R. (2006). Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. B.*, 110, 16248–16253. DOI: 10.1021/jp063826h.
8. Pal S., Song J.M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ Microbiol.*, 73, 1712–1720. DOI: 10.1128/AEM.02218-06.
9. Kvitek, L., Panacek, A., Soukupova, J., Kolar, M., Vecerova, R., Prusek, R., Holecova, M., Zboril, R. J. (2008). Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs). *Phys. Chem. C.*, 112, 5825. DOI: 10.1021/jp711616v.
10. Wang, H., Qiao, X., Chen, J., Ding, Sh. (2005). Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Colloid Surfaces Physicochem Eng Aspect.*, 256, 111–115. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2004.12.058.
11. Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazda, M., Hupka, J. (2009). Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chem.*, 1, 1560–1566. DOI: 10.1016/j.proche.2009.11.004.
12. Huang, H. H., Ni X. P., Loy G. L., Chew C. H., Tan K. L., Loh F. C., Deng J. F., Xu G. Q. (1996). Photochemical Formation of Silver Nanoparticles in Poly(N-vinylpyrrolidone). *Langmuir*, 12, 909–912. DOI: 10.1021/la950435d.
13. Carotenuto, G. (2001). Synthesis and characterization of poly(N-vinylpyrrolidone) filled by monodispersed silver clusters with controlled size. *Appl Organomet Chem.*, 15, 344. DOI: 10.1002/aoc.165.
14. Sheikh, N., Akhavan, A., Kassaei, M. Z. (2009). Synthesis of antibacterial silver nanoparticles by  $\gamma$ -irradiation. *Physica E.*, 42, 132–135. DOI: 10.1016/j.physe.2009.09.013.
15. Li, T., Park, H. G., Choi, S-H. (2007).  $\gamma$ -Irradiation-induced preparation of Ag and Au nanoparticles and their characterizations. *Mater Chem Phys.*, 105, 325–330. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2007.04.069.
16. Shin, H. S., Yang, H. J., Kim, S. B., Lee, M. S. (2004). Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polyvinyl pyrrolidone in  $\gamma$ -irradiated silver nitrate solution. *J. Colloid Interface Sci.*, 274, 89–94. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.02.084.
17. Tsuji, T., Thang, D-H., Okazaki, Y., Nakaniishi, M., Tsuboi, Y., Tsuji, M. (2008). Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in polyvinylpyrrolidone solutions. *Appl. Surf. Sci.*, 254, 5224–5230. DOI: 10.1016/j.apsusc.2008.02.048.
18. Dudok, G., Semenyuk, N., Skorokhoda, T., Melnyk, Yu., Shalata, V. (2021). Research of the regularities of obtaining silver nanoparticles with applying of polyvinylpyrrolidone and their effect on composite's fungibactericidal properties. *Visnyk NU "Lvivska politekhnika". Khimiia*,

*tehnolohiia rehovyn ta yikh zastosuvannia*, 1, 237–242. doi.org/10.23939/ctas2021.01.237.

19. Roe, D., Karandikar, B., Bonn-Savage, N., Gibbins, B., Roullet, J. B. (2008). Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. *J. Antimicrob. Chemother.*, 61, 869–876. DOI: 10.1093/jac/dkn034.

20. Skorokhoda, V., Semeniuk, N., Dziaman, I. (2018). Vplyv pryrody kaltsiievmisnoho napovniuvacha na zakonmirmosti oderzhannia ta vlastyvoli osteoplastychnykh porystykh kompozytiv. *Voprosy khymy y khymycheskoi tekhnolohyy*, 2(117), 101–108.

**G. D. Dudok<sup>1</sup>, N. B. Semenyuk<sup>1</sup>, V. Yo. Skorokhoda<sup>1</sup>, Z. V. Gubriy<sup>2</sup>**

Lviv Polytechnic National University,

<sup>1</sup> Department of Chemical Technology of Plastics Processing,

<sup>2</sup> Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

#### **APPLYING THE POLYVINYLPIRROLIDONE AS A HIGHLY EFFICIENT REDUCTANT AND STABILIZER IN REACTIONS OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIS**

The regularities of silver nanoparticles derivation using polyvinylpyrrolidone as a reducing agent and stabilizer simultaneously have been studied. The silver spherical nanoparticles was confirmed by UV, FT-IR spectroscopy and TEM analysis. The influence of temperature and reagent concentration on the kinetics of silver reduction from argentum salts was determined. Silver-containing composites based on copolymers of polyvinylpyrrolidone and methacrylic esters with silver nanoparticles in the form of porous blocks and films were synthesized. Also their high bactericidal and fungicidal properties were revealed. The developed porous composites are recommended for application in medicine to replace damaged bone tissue in the processes of osteogenesis.

**Key words:** polyvinylpyrrolidone; silver nanoparticle; stabilizer; fungibactericidal properties; silver-containing composites.