

СТАБІЛІЗАЦІЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА У ПРИСУТНОСТІ ТРИПТОФАНУ

Н.В. Вітюк, Ю.П. Муха, С.М. Махно, Г.М. Єременко, Н.П. Смірнова

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна*

Одержано стабільні колоїдні розчини нанорозмірного срібла, що мають величину рН близьку до фізіологічного значення. В роботі показано вплив рН водних розчинів вихідних реагентів на процес утворення наночастинок металу. Відновлення срібла амінокислотою триптофаном відбувається у лужному середовищі.

Вступ

Нанорозмірне срібло є одним із найбільш досліджуваних металів у зв'язку з його відомою антимікробною активністю [1] та перспективами застосування у діагностиці та лікуванні онкологічних захворювань [2]. Зокрема, комбінація золота та срібла в одній наночастиці (НЧ), а також використання незамінної для людини амінокислоти триптофану як відновника металу і стабілізатора частинок дозволяє підсилити ефективність і знизити токсичність нанометалів як хіміотерапевтичних агентів [3]. Оптимізація умов синтезу для одержання стабільних і ефективних наночастинок з визначеними морфологією, розміром та оптичними властивостями залишається актуальним напрямком досліджень. Вплив природи середовища і його рН вивчаються для визначення механізмів утворення кластерів і наночастинок срібла в присутності триптофану [4, 5]. У роботах [6, 7] проаналізовано методики синтезу водних суспензій НЧ срібла та обговорюється механізм захисної дії амінокислоти.

Метою даної роботи було визначення умов одержання наночастинок срібла, відновлених і стабілізованих триптофаном, в залежності від кислотності середовища та концентрації компонентів.

Експериментальна частина

Спектри поглинання розчинів реєстрували в УФ- та видимій області за допомогою спектрофотометра Perkin-Elmer Lambda 35 в кварцових кюветах довжиною 1 см в діапазоні довжин хвиль 200 – 1000 нм.

Визначення рН проводили за допомогою рН-метра И-160МИ. Як робочий, використовували скляний електрод, електродом порівняння слугував хлор-срібний електрод. Кислотність варіювали додаванням розчинів азотної кислоти та гідроксиду натрію для досягнення рН 2, 4, 6, 8, 10.

Функцію розподілу частинок по розмірах та ζ -потенціал вивчали за допомогою лазерного кореляційного спектрометра (ЛКС) Zeta Sizer Nano S (Malvern, UK) при 25°C методом, що ґрунтується на процесі розсіяння світла на будь-якому мікрооб'єкті (розсіяне світло реєстрували під кутом 173°). Інформаційний сигнал від випадкових поступових переміщень наночастинок аналізували за допомогою багатоканальних аналізаторів спектра та колориметрів. Лазерний кореляційний спектрометр, який використовують для досліджень, обладнаний корелятором (multi computing correlator type 7032 ce). Досліджувану суспензію в кількості 1 мл розташовували в циліндричній оптичній скляній кюветі діаметром 10 мм, яку вводили в термостатовану лунку лазерного кореляційного спектрометра. Реєстрацію та статистичну обробку розсіяного від суспензії лазерного випромінювання (використовувався гелій-неоновий лазер ЛГН-111, потужністю 25 мВт та довжиною хвилі 633 нм) проводили тричі протягом 120 с.

Одержану автокореляційну функцію обробляли за допомогою стандартних комп'ютерних програм PCS-Size mode v 1.61.

Як джерело катіонів при одержанні наночастинок срібла використовували нітрат аргентуму AgNO_3 , відновником металу слугував триптофан без додаткових стабілізаторів. Концентрації обох реагентів змінювали в діапазоні 10^{-4} – 10^{-3} моль/л при постійному молярному співвідношенні 1:1. Синтез проводили при нагріванні в інтервалі температур 60–80 °С.

Частотні залежності дійсної та уявної складової питомої електропровідності σ^* розчинів визначали шляхом розрахунків спектрів імпедансу $Z^*=Z'+iZ''$ в діапазоні частот 10^2 – 10^6 Гц, одержаних на імпедансному спектрометрі Solartron SI 1260 при амплітуді напруги 30 мВ.

Результати та обговорення

Амінокислота триптофан (Трп), відповідно до значень констант кислотно-основної дисоціації, при рН 2, 6 і 10 знаходиться в катіонній, нейтральній та аніонній формі відповідно, що впливає на механізм відновлення металу. Вихідними формами срібла для вказаних рН є іони Ag^+ (кисле), гідрати (нейтральне) та кілька рівноважних форм AgOH , Ag_2O і $\text{Ag}(\text{OH})_2^-$ (лужне). Оскільки гідроксид і оксид срібла малорозчинні, вони, імовірно, відіграють роль зародків при подальшому утворенні наночастинок срібла [8].

Відновлення металу та утворення стабільних наночастинок срібла відбувається в присутності аніонної форми триптофану, що існує при високому рН розчину та частково при нейтральному (за рахунок існування цвітер-іона). У цьому випадку стабілізація НЧ відбувається за рахунок перенесення електронної густини депротонованої карбоксильної групи $-\text{COO}^-$ та неподіленої електронної пари на атомі нітрогену аміногрупи на *d*-підрівні металу.

Формування НЧ супроводжується появою характерного жовтого забарвлення розчинів. Зміна форми і положення смуг амінокислоти в області 280–290 нм в спектрах поглинання системи $\text{Ag}/\text{Трп}$ одночасно з ростом смуги поверхневого плазмонного резонансу (ППР) свідчить про появу продукту окиснення триптофану. Відновний процес відбувається з розривом С–С зв'язку індольного кільця та, ймовірно, протікає через реакцію заміщення та утворення комплексу з катіоном срібла Ag^+ [6, 9, 10].

У стабільних розчинах нанорозмірного срібла, що містять виражену характерну смугу ППР, а саме одержаних у лужному середовищі для обох вихідних реагентів, формуються частинки з розміром 20 нм (відповідно до ЛКС-вимірювання). Оптичні спектри таких систем містять характерні смуги поглинання з максимумом при 437 нм (рис.1).

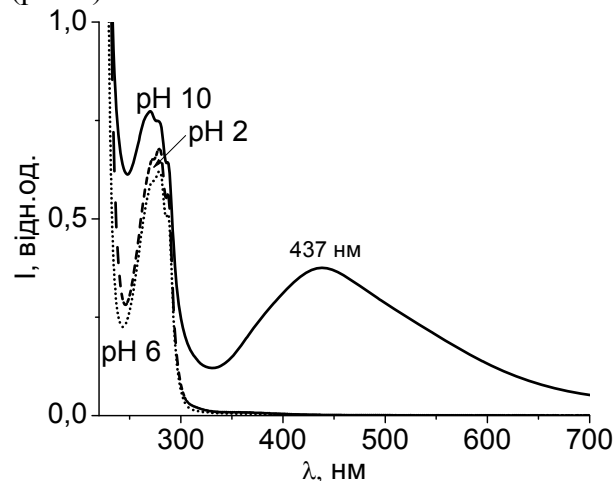


Рис. 1. Спектри поглинання розчинів системи $\text{Ag}/\text{Трп}$ при різних рН вихідних розчинів амінокислоти та основному середовищі AgNO_3 , концентрації реагентів $C = 10^{-4}$ М.

У кислому середовищі утворення НЧ не відбувається, проте випадає чорний осад оксиду срібла. У даному випадку триптофан знаходиться у вигляді катіону, і протонувана аміногрупа $-\text{NH}_3^+$ та група $-\text{COOH}$ не беруть участі у стабілізації наночастинок, що призводить до швидкого окиснення металу.

Відповідно до даних імпедансної спектроскопії, при збільшенні концентрації реагентів з 10^{-4} М до 10^{-3} М в колоїдних розчинах наночастинок срібла спостерігається зростання іонної провідності одночасно зі зменшенням електронної провідності (рис. 2.а), про що свідчать частотні залежності дійсної складової електропровідності розчинів. Це може бути пов'язане з захопленням електронів в об'ємі розчину або на поверхні електродів. Підвищення концентрації металу і, відповідно, поява в системі аніонів NO_3^- (при цьому Ag^+ , вважається, відновлюються до Ag^0) зумовлює збільшення співвідношення між іонами та електронами більше ніж в два рази.

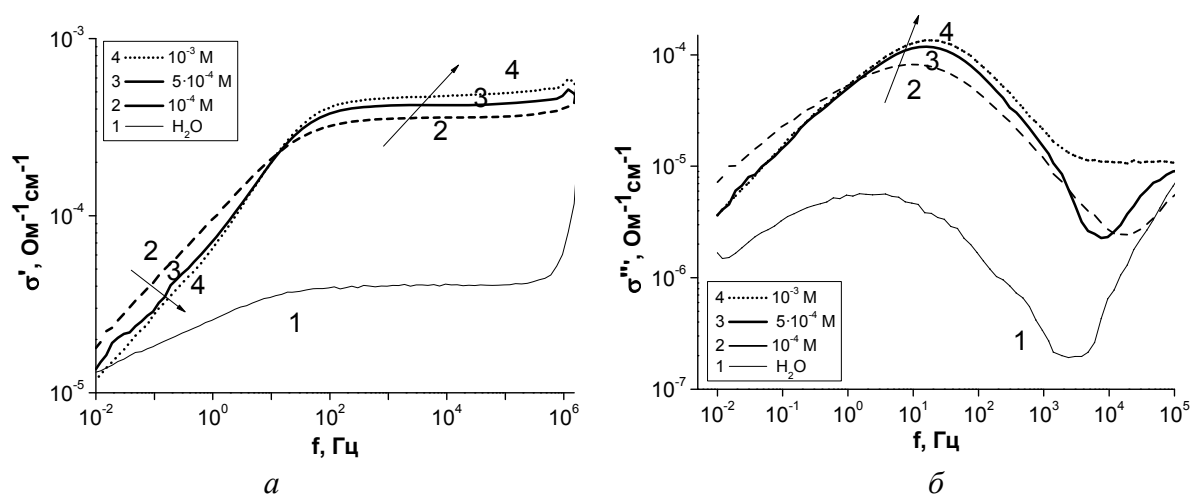


Рис. 2. Частотні залежності дійсної (а) та уявної (б) складової електропровідності розчинів наночастинок срібла, стабілізованих триптофаном, залежно від концентрації реагентів при постійному молярному співвідношенні 1:1 (ряд 10^{-4} , $5 \cdot 10^{-4}$, 10^{-3} М).

Аналіз результатів вказує на те, що на протікання струму у системі в першу чергу впливає наявність в розчині більш рухливих іонів ніж іони срібла, нітрат-аніони та триптофан. На тлі наявності зарядів H^+ та OH^- у воді, важкі іони, найімовірніше, є лише центрами переносу електронів у іонному середовищі. Зниження електронної складової провідності при зростанні концентрацій реагентів може бути пов'язане з блокуванням електродів продуктами реакції.

Зміщення максимумів кривих уявної складової електропровідності в високочастотну область при підвищенні концентрації реагентів (рис. 2.б) вказує на підвищення провідності розчину саме внаслідок збільшення кількості зарядів, а не з релаксацийними процесами іонів (металу) чи їх масами. Основний вклад дають продукти окиснення триптофану, утворені внаслідок окисно-відновної реакції зі сріблом. Нелінійна залежність пов'язана з нелінійним виходом речовини.

Наночастинок срібла, одержані при високому значенні рН вихідних розчинів, стабільні при зберіганні більше 8 місяців. Стабільність таких розчинів обумовлюється величиною дзета-потенціалу наночастинок, який складає -27 мВ. При цьому, імовірно, нітрат-аніони вбудовуються в подвійний електричний шар навколо НЧ Ag . Колоїдний розчин наночастинок срібла після закінчення окисно-відновного процесу набуває нейтрального рН. Це пов'язано з утворенням кислотних залишків трансформованої

амінокислоти. Нейтральне середовище колоїдних розчинів НЧ Ag дозволяє використовувати їх у фізіологічних середовищах.

Висновки

У процесі одержання наночастинок срібла у присутності триптофану вирішальну роль відіграє рН водного середовища вихідних реагентів. Утворення нанорозмірного металу відбувається у лужному середовищі за участю аміно- та карбоксильної групи амінокислоти. Колоїдні розчини нанорозмірного срібла мають фізіологічне рН та зберігають стабільність протягом 8 місяців.

Література

1. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment / C.Marambio-Jones, E.M.V. Hoek // *J Nanopart Res* – 2010. – V. 12. – P. 1531 – 1551.
2. Nanoparticle-Based Drug Delivery for Therapy of Lung Cancer: Progress and Challenges / A.Babu, A.K.Templeton, A.Munshi, R.Ramesh // *Journal of Nanomaterials* – 2013. – V. 2013. – 11 pp.
3. Tryptophan assisted synthesis reduces bimetallic gold/silver nanoparticle cytotoxicity and improves biological activity / Igor O. Shmarakov, Iuliia P. Mukha, Volodymyr V. Karavan, Olexander Yu. Chunikhin, Mykhailo M. Marchenko, Natalia P. Smirnova and Anna M. Eremenko // *Nanobiomedicine* – 2014. – V. 1. – P. 01 – 10.
4. Effect of medium on the formation kinetics and interaction of silver clusters / R. Chadha, N. Maiti, T. Mukherjee, S. Kapoor // *Chemical Physics Letters* – 2012. – V. 548. – P. 40–44.
5. Early stages in the growth of small silver clusters in aqueous solution / E. Janata // *Radiation Physics and Chemistry* – 2012. – V. 81. – P. 1404–1406.
6. Preparation, characterization, surface modification and redox reactions of silver nanoparticles in the presence of tryptophan / J.A. Jacob, S. Naumov, T. Mukherjee, S. Kapoor // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2011. – V. 87. – P. 498– 504.
7. Preparation of silver nanoparticles using tryptophan and its formation mechanism / Z. Zaheer, M.A. Malik, F.M. Al-Nowaiser, Z. Khan // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2010. – V. 81. – P. 587–592.
8. Влияние дисперсного состава зольей серебра и золота на их электрохимическую активность // А.В. Коршунов, Д.О. Перевезенцева, Т.В. Коновчук, Е.В. Миронец // *Известия Томского политехнического университета* – 2010. – Т. 317, № 3 – P. 6-13.
9. Doubly charged silver clusters stabilized by tryptophan: Ag_4^{2+} as an optical marker for monitoring particle growth / A. Kulesza, R. Mitrić, Vl. Bonac'ic'-Koutecky', B. Bellina, I. Compagnon, M. Broyer, R. Antoine and Ph. Dugourd // *Angew. Chem.* – 2011. – V. 123. – P. 908 – 911.
10. Photoabsorption and photofragmentation of isolated cationic silver cluster–tryptophan hybrid systems / R. Mitrić, J. Petersen, A. Kulesza, V. Bonačić-Koutecký, Th. Tabarin, I. Compagnon, R. Antoine, M. Broyer, Ph. Dugourd // *Journal of Chemical Physics* – 2007. – V. 127. – P. 134301.

СТАБИЛИЗАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ПРИСУТСТВИИ ТРИПТОФАНА

Н.В. Витюк, Ю.П. Муха, С.М. Махно, Г.М. Ерёменко, Н.П. Смирнова

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина*

Получены стабильные коллоидные растворы наноразмерного серебра, которые имеют величину рН близкую к физиологическому значению. В работе показано влияние рН водных растворов исходных компонентов на процесс образования наночастиц металла. Восстановление серебра аминокислотой триптофаном происходит в щелочной среде.

STABILIZATION OF SILVER NANOPARTICLES IN THE PRESENCE OF TRYPTOPHAN

N.V. Vityuk, Yu.P. Mukha, S.M. Makhno, A.M. Eremenko, N.P. Smirnova

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine,
17 General Naumov Str. Kyiv, 03164, Ukraine*

Stable colloidal solutions of nano-sized silver with physiological pH were obtained. In the paper the effect of pH of aqueous solutions of initial components on the formation of metal nanoparticles was shown. The reduction of silver in the presence of the amino acid tryptophan occurs in alkaline medium.