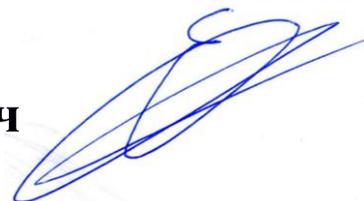


Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Российский химико-технологический университет
имени Д.И. Менделеева»

На правах рукописи

Ершов Вадим Алексеевич



**Гидрозоль серебра, стабилизированный
карбонат-ионами: оптические характеристики
наночастиц, окислительное растворение и
антибактериальные свойства**

1.5.15. Экология (отрасль науки – химические)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:
чл.-корр. РАН, д. х. н., проф.
Наталия Павловна Тарасова

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Общие характеристики	16
1.2. Синтез и свойства наночастиц серебра	17
1.2.1. Физические методы	18
1.2.2. Химические методы	20
1.2.3. Биосинтез наночастиц серебра	25
1.2.4. Оптическое поглощение гидрозолей серебра	26
1.2.5. Строение мицеллы серебра, стабилизированной по электростатическому механизму	29
1.3 Области применения наночастиц серебра	31
1.3.1. Использование в медицине	31
1.3.2. Использование в сельском хозяйстве	34
1.3.3. Использование в качестве сенсоров	36
1.3.4. Наночастицы серебра в катализе	37
1.3.5. Наночастицы серебра в фотонике	38
1.3.6. Наночастицы серебра в фотовольтаике	39
1.4. Биологическое действие серебра	39
1.4.1. Антибактериальное действие	40
1.4.2. Противовирусное действие	44
1.4.3. Воздействие на млекопитающих и рыб	44
1.4.4. Воздействие на организм человека	45
1.5. Формы существования наночастиц серебра в окружающей среде	47
1.5.1. Источники попадания в окружающую среду	47
1.5.2. Агрегация и растворение наночастиц серебра	49
1.5.3. Восстановление растворенных ионов в водной среде	54
ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	60
2.1. Реактивы и растворитель	60
2.2. Синтез и методы исследования гидрозоля серебра	60
2.2.1. Метод синтеза гидрозоля серебра	60
2.2.2. Источник УФ-излучения	62

2.2.3. Определение концентрации оксалат-ионов	63
2.2.4. Определение растворенных ионов серебра	64
2.2.5. Оптическая спектрофотометрия	64
2.2.6. Динамическое рассеяние света (ДРС).....	65
2.2.7. Просвечивающая электронная микроскопия	65
2.3. Типы и составы воды.....	66
2.4. Исследование антибактериальных свойств наночастиц серебра	73
2.4.1. Биологические объекты.....	73
2.4.2. Питательная среда.....	74
2.4.3. Ингибирование роста клеток бактерий	74
2.4.4. Исследование морфологии и состава цитоплазмы клеток <i>E. Coli</i>	75
2.5. Статистическая обработка.....	76
ГЛАВА 3. СИНТЕЗ ГИДРОЗОЛЯ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННОГО КАРБОНАТ-ИОНАМИ: ОПТИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОЧАСТИЦ	77
3.1. Фотохимическое образование карбоксильных анион-радикалов	78
3.2. Получение деаэрированного раствора карбонатного гидрозоля серебра	84
3.3. Получение аэрированного карбонатного гидрозоля серебра	96
3.4. Определение концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозолей	102
ГЛАВА 4. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ РАСТВОРЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ВОДЕ	106
4.1. Устойчивость деаэрированного гидрозоля.....	107
4.2. Окислительное растворение наночастиц серебра.....	108
4.3. Агрегация наночастиц серебра при окислительном растворении	114
4.4. Механизм окислительного растворения наночастиц.....	117
4.5. Устойчивость наночастиц серебра в природных водах	121
4.5.1. Наночастицы в водопроводной воде.....	124
4.5.2. Наночастицы в минеральной воде.....	129
4.5.3. Наночастицы в воде из скважины	133
4.6. Устойчивость гидрозолей в питательной среде.....	138

ГЛАВА 5. АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА	142
5.1. Антибактериальное действие серебра на клетки бактерии <i>Escherichia coli</i>	142
5.1.1. Ингибирование роста клеток <i>Escherichia coli</i>	143
5.1.2. Оценка морфологии клеток бактерий <i>Escherichia coli</i>. Эффект воздействия ионов и наночастиц	147
5.1.2.1. Морфология клеток <i>Escherichia coli</i> (контрольный образец)	147
5.1.2.2. Морфология клеток <i>Escherichia coli</i>, выращенных в присутствии Ag⁺	148
5.1.2.3. Морфология клеток <i>Escherichia coli</i>, выращенных в присутствии наночастиц серебра	149
5.1.3. Изменение состава цитоплазмы	151
5.2. Прямой (контактный) и непрямой (косвенный) механизм действия наночастиц серебра на бактерии <i>Escherichia coli</i>	154
5.3. Антибактериальное (токсическое) действие серебра на клетки бактерий <i>Pseudomonas putida</i> и <i>Paenibacillus jamilae</i>	157
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	161
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	165

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время синтез и применение наноразмерных частиц металлов представляют собой одну из наиболее быстро развивающихся областей нанотехнологий. Особое место занимают исследования наночастиц серебра (НЧ) различной формы и размера [1]. Наряду с другими металлами в наноразмерном состоянии, они имеют высокое соотношение площади поверхности к объему, что придает им уникальные свойства и обуславливает большую эффективность их действия. Широкое применение наночастиц серебра в медицине, сельском хозяйстве и в различных областях науки и техники связано с их особыми антибактериальными и оптическими характеристиками. В частности, они применяются в медицинских тканях, стоматологических имплантатах, терапии и доставке лекарств [2–7].

Широкое использование материалов с включением наночастиц серебра неизбежно приводит к попаданию последних в окружающую среду. При этом серебро может находиться как в ионной форме, так и в форме наночастиц. В дальнейшем серебро претерпевает различные физико-химические превращения в зависимости от конкретных характеристик среды. Например, при высоком содержании фульвокислот в водных средах ионы могут восстанавливаться с образованием наночастиц, а в присутствии некоторых солей серебро может образовывать нерастворимые соединения и переходить в донные отложения. В хорошо аэрируемых водах происходит окислительное растворение наночастиц с образованием токсичных ионов серебра [8]. Важно отметить, что процессы могут комбинироваться друг с другом, что обуславливает сложность их контролирования. Таким образом, актуальными являются исследования по изучению воздействия наночастиц серебра на компоненты окружающей среды, в том числе установление пределов толерантности и устойчивости микроорганизмов.

Среди многочисленных методов синтеза наночастиц серебра наиболее распространенным является контролируемое восстановление ионов серебра Ag^+ в водных растворах [9]. В качестве восстановителя могут быть использованы боргидрид натрия, гидразин, цитрат натрия и многие другие соединения [10]. Образующиеся наночастицы обладают гидрофобными свойствами и в результате агломерируют в более крупные флоккулы. Для предотвращения этого процесса применяются различные стабилизирующие добавки. Наиболее распространёнными являются полимерные соединения или полярные органические молекулы, «обволакивающие» металлическое ядро и, как результат, формирующие крупную мицеллу. Стабилизатор снижает притяжение наночастиц друг к другу и создает механический барьер, препятствующий их сближению. Преобразование поверхности наночастицы, с одной стороны, предотвращает агломерирование, а, с другой стороны, кардинально изменяет физико-химические характеристики поверхности. Стабилизирующие добавки и восстановители, а также продукты их разложения чаще всего являются токсичными. Таким образом, реальное действие гидрозоля серебра осложняется эффектом присутствующих добавок и продуктов их разложения, также наличием толстой сольватной «шубы», которая значительно снижает доступность наночастиц для микрофлоры. С учетом вышесказанного привлекает внимание стабилизация наночастиц с использованием электростатического механизма, заключающегося в применении в качестве стабилизатора небольших по размеру и практически безопасных для здоровья человека и окружающей среды ионов. На металлической поверхности наночастицы происходит образование двойного электрического слоя, что обеспечивает агрегативную устойчивость за счет отталкивания частиц друг от друга при перекрывании их ионных атмосфер. При применении данного механизма стабилизации ионная оболочка имеет значительно меньшие размеры по сравнению с полимерной оболочкой, что делает поверхность наночастиц более доступной.

Соответственно, привлекает внимание создание метода получения гидрозоля серебра, который включал бы содержащееся в природных водах соединение – карбонат-ионы. Такой гидрозоль можно использовать в качестве модельного для

исследования воздействия на окружающую среду непосредственно наночастиц серебра без учета других примесей. Преимуществом также являлась бы возможность самопроизвольного образования наночастиц серебра в условиях, сходных с естественными, например, за счет действия света. Оксалат является одним из анионов, способных принимать участие в фотохимических реакциях [11]. Под воздействием УФ-излучения оксалат-ионы разлагаются с образованием карбоксильных анион-радикалов $\text{CO}_2^{\cdot-}$, обладающих высоким окислительно-восстановительным потенциалом. Впоследствии из них возникает диоксид углерода, который в водном растворе трансформируется в угольную кислоту - источник карбонат-ионов. Известно, что карбонат-ионы могут выступать в качестве стабилизатора наночастиц [12]. Таким образом, оксалат-анион может выступать как источник радикалов-восстановителей ионов серебра и анионов, стабилизирующих образующиеся наночастицы серебра.

Актуальной задачей является оценка воздействия наночастиц серебра на микрофлору в окружающей среде, не осложненного влиянием посторонних примесей (продуктов разложения восстановителей, стабилизирующих добавок и др.). Поэтому важной задачей является разработка метода синтеза наночастиц серебра в водном растворе, при которой получаемый гидрозоль не содержал бы токсичных примесей. Желательно также, чтобы получаемый гидрозоль в своем составе по возможности содержал компоненты, характерные для природной пресной воды, в частности карбонат-анионы. Такой метод будет соответствовать принципам зелёной химии: при проведении синтеза не возникают токсичные соединения, и они не производятся в качестве отходов. Этим требованиям отвечает разработанный нами метод получения гидрозоля серебра путем фотохимического восстановления ионов металла оксалат-ионами.

Степень разработанности темы

Разработка методов синтеза наночастиц серебра, изучение их поведения в объектах окружающей среды, физико-химических и антибактериальных свойств являются предметом многих исследований. Предложены и разработаны десятки

методик синтеза наночастиц серебра, в том числе зелёными методами. Изучаются их физико-химические свойства, установлены ингибирующие концентрации для наночастиц серебра с различными стабилизаторами, различных форм и размеров. Опубликованы научные статьи по растворению наночастиц серебра в различных природных водах. Однако описанные в каждой конкретной работе свойства можно относить только к наночастицам, синтезированным конкретным методом, стабилизированным конкретным веществом: необходимо учитывать остаточные продукты разложения восстановителя и присутствие стабилизатора преимущественно полимерной природы. Наночастицы, получаемые зелёными методами, т. е. чаще всего и использованием растительных экстрактов в качестве восстановителя и стабилизатора, обладают значительными размерами (>50 нм).

Целью диссертации является разработка метода синтеза гидрозоля серебра в соответствии с принципами зелёной химии, а также изучение трансформации полученного гидрозоля в различных типах вод и его воздействия на микрофлору.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определение параметров и условий проведения реакции восстановления ионов серебра при комнатной температуре и давлении ($T = 295 \text{ K}$ и $P = 98\text{-}102 \text{ кПа}$) в присутствии оксалат-ионов под воздействием УФ-излучения как в присутствии кислорода воздуха, так и в его отсутствие, а также исследование механизма формирования гидрозоля.

2. Разработка метода спектрофотометрического определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля.

3. Выявление окислительного растворения и агрегативной устойчивости карбонат-стабилизированных наночастиц серебра в питьевой воде и природных водах различного состава и происхождения для оценки возможного воздействия наночастиц серебра на окружающую среду.

4. Установление воздействия карбонат-стабилизированных наночастиц серебра на представителей грамотрицательных бактерий (Γ^-) *Escherichia coli* и

Pseudomonas putida, а также грамположительной бактерии (Г+) *Paenibacillus jamilae*.

5. Сравнительный анализ биоцидного действия ионов серебра и карбонат-стабилизированных наночастиц серебра различного размера для установления пределов толерантности микроорганизмов.

Научная новизна:

1. Разработан метод синтеза наночастиц серебра путем восстановления ионов Ag^+ карбоксильными анион-радикалами $\text{CO}_2^{\bullet-}$, образующимися из оксалат-ионов $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ под воздействием УФ-излучения. При этом метод соответствует принципам зеленой химии, гидрозоль не содержит токсичных примесей. Использование данного гидрозоля позволяет снизить негативное воздействие на окружающую среду.

2. В отсутствие кислорода воздуха образуются наночастицы серебра со средним размером 10 нм. На основании сдвига максимума полосы ЛППР по теории Ми-Друде установлено, что в процессе формирования гидрозоля происходит увеличение электронной плотности на $\sim 10\%$ на поверхности наночастиц, что, вероятно, может увеличивать антибактериальное действие. В процессе формирования гидрозоля не происходит увеличения размеров наночастиц, что отличает данный метод от традиционного метода химического восстановления Ag^+ . В присутствии кислорода воздуха средний размер наночастиц составляет ~ 20 нм. В обоих случаях толщина стабилизирующего слоя составляет ~ 2 нм.

3. Оптическое поглощение гидрозолей серебра при $\lambda = 250$ нм относится к межзонным электронным переходам в металле. Поглощение в данной области, в отличие от ЛППР, не чувствительно к состоянию поверхности наночастиц. Молярный коэффициент экстинкции атомов серебра в сферических наночастицах, рассчитанный по закону Бугера–Ламберта–Бера, оказался $\varepsilon_{250} = 3500 \pm 100$ л моль $^{-1}$ см $^{-1}$. На этом основании предложен и обоснован простой метод определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля.

4. В отсутствие воздуха гидрозоль серебра сохраняет устойчивость в течение нескольких месяцев. Присутствие кислорода инициирует окисление металла с высвобождением ионов Ag^+ в раствор, и на завершающей стадии происходит агрегация наночастиц. Константа скорости окислительного растворения карбонат-стабилизированных наночастиц серебра и высвобождения ионов рассчитана равной $(1.6 \pm 0.2) \times 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$ в исследуемом диапазоне концентраций $(1-4) \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1} \text{ Ag}^0$. Механизм окислительного растворения наночастиц серебра имеет электрохимическую природу.

5. Гидрозоль карбонат-стабилизированных наночастиц неустойчив при контакте с природными водами. При этом наночастицы выражено проявляют склонность к агломерации и агрегации, завершающихся выделением металла в осадок. Причиной является присутствие в водах ионов, в первую очередь, таких как Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} и Na^+ . Такие воды обладают высокой ионной силой, которая является основной причиной сжатия ДЭС, в результате чего ослабляются стабилизирующие кулоновские силы отталкивания, действующие между частицами.

6. Карбонат-стабилизированные наночастицы серебра подавляют рост грамотрицательных клеток бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida* и грамположительных *Paenibacillus jamilae* при концентрациях $\sim 1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$. В гидрозолях серебра, полученных методом фотохимического восстановления, при их применении на клетки бактерии непосредственно воздействует только серебро, так как отсутствуют какие-либо токсичные восстановители, стабилизаторы или продукты их распада.

7. Подтвержден и обоснован комплексный механизм антибактериальной активности наночастиц серебра, включающий косвенное действие ионов серебра и контактное действие самих наночастиц, вызывающее в результате их окислительного растворения образование активных форм кислорода (АФК).

Теоретическая и практическая значимость

Практическая значимость работы заключается в разработке метода синтеза гидрозоля серебра, содержащего наночастицы серебра и входящие в состав природной воды ионы, в частности, карбонат-анионы. Такой гидрозоль может быть рекомендован в качестве модельного для исследования воздействия серебра в форме наночастиц на микроорганизмы, поскольку в его составе отсутствуют полимерные стабилизаторы, снижающие биологическую доступность частиц, а также восстановители и продукты их разложения, которые неизбежно присутствуют при применении традиционных методов получения наночастиц серебра. Данное обстоятельство позволяет исключить влияние токсичных восстановителей и стабилизаторов при оценке антибактериальных свойств серебра. Разработанный метод определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля при помощи спектрофотометрического анализа является простым и недорогим, при этом не требуется дополнительное дорогостоящее оборудование и мероприятия по пробоподготовке.

Теоретическая значимость заключается в установлении механизмов формирования гидрозоля, электрохимического окислительного растворения наночастиц серебра, поведения карбонат-стабилизированных наночастиц серебра в природных водах, их биоцидного эффекта с учетом косвенного токсичного действия ионов серебра и прямого действия частиц металла на бактерии.

Методология и методы исследования

Для установления формы и распределения по размерам наночастиц серебра использовался метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), для установления гидродинамического размера мицеллы применялся метод динамического рассеяния света (ДРС), для определения оптического поглощения наночастиц применялся метод оптической спектрофотометрии в УФ- и видимой областях. Морфология клеток бактерий исследовалась методом ПЭМ, количество клеток рассчитывалось при обработке фотографий, полученных методом

флуоресцентной микроскопии, химический состав клеток определялся методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Метод синтеза гидрозоля серебра в присутствии оксалат-ионов под воздействием УФ-излучения (в присутствии и в отсутствие кислорода воздуха).
2. Механизм формирования гидрозоля и изменение его электронных и оптических свойств в процессе фотохимического синтеза.
3. Метод спектрофотометрического определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля.
4. Кинетика окислительного растворения карбонат-стабилизированных наночастиц серебра в воде и образования ионов серебра.
5. Устойчивость карбонат-стабилизированных наночастиц серебра в природных водах.
6. Бицидное действие наночастиц серебра при подавлении жизнедеятельности клеток грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida* и клеток грамположительных бактерий *Paenibacillus jamilae*.
7. Косвенный (ионы серебра) и прямой (наноразмерные частицы серебра) механизм антибактериального действия наночастиц серебра.

Апробация результатов работы:

Основные результаты работы были представлены на 14 конференциях, симпозиумах и конгрессах различного уровня: ФИЗИКОХИМИЯ: Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН, Москва (XIII – 2018 г., XIV – 2019 г., XV – Москва, 2020 г., XVI – 2021 г., XVII – Москва, 2022 г.); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2018» и «Ломоносов-2022» (Москва, 2018 и 2022 гг., соответственно); VII Международная конференция с элементами научной школы для молодежи «Функциональные наноматериалы и высокоочищенные вещества» (Суздаль, 2018 г.); 8th Szeged International Workshop on Advances in Nanoscience (Сегед, Венгрия, 2018 г.); Международная научно-практическая

конференция «Образование и наука для устойчивого развития» (Москва, X – 2018 г., XIV – 2022 г.); Международная научно-исследовательская конференция по устойчивым материалам и технологиям SMIT 2021 (Кемерово, 2021 г.); II Национальный конгресс с международным участием по экологии человека, гигиене и медицине окружающей среды «Сысинские чтения» (Москва, 2021 г.); XVIII Международный форум-конкурс студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы недропользования» (Санкт-Петербург, 2022 г.).

По материалам диссертации опубликованы 6 статей в зарубежных и отечественных журналах, рекомендованных ВАК (включены в базы Scopus и Web of Science), тезисы 14 докладов на научных конференциях.

Степень достоверности результатов

Достоверность подтверждается проведением исследований с использованием современных методов анализа. Все данные получены, по меньшей мере, в 3 независимых экспериментах. Статистический анализ проводили в программе Origin Pro с использованием t-критерия Стьюдента.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в анализе научной литературы; планировании, подготовке и проведении экспериментов; обработке и интерпретации полученных результатов, написании статей, тезисов к конференциям и диссертации. Проведение ПЭМ наночастиц выполнено сотрудниками НОЦ «Нанотехнологии» Российского университета дружбы народов, ПЭМ и ЭДС бактериальных клеток сотрудниками ЦКП «Коллекция UNIQEM» Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой сотрудниками геологического факультета Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова. Химический анализ состава вод был проведен сотрудниками лаборатории ООО «МГУЛАБ». Автор участвовал в обсуждении и интерпретации полученных результатов.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 188 страницах и состоит из введения, обзора научной литературы, методической части, 3 глав, содержащих экспериментальные результаты и их обсуждение, выводов и списка литературы (211 наименований). Работа содержит 51 рисунок и 8 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Серебро – переходный металл, относящийся к так называемой группе благородных металлов. Серебро не относится к числу биогенных элементов, однако оно токсично для бактерий и вирусов, а при больших концентрациях – и для млекопитающих, включая человека. Основным источником серебра для человека является пища: в муке среднее содержание серебра составляет 0.3 мг кг^{-1} , в отрубях – 1 мг кг^{-1} , в рыбе – 10 мг кг^{-1} , в молоке – 50 мг кг^{-1} , в мясе – 40 мг кг^{-1} [13]. Как известно, содержание тяжелых металлов в продуктах питания во многом определяется содержанием этих металлов в компонентах окружающей среды в тех местах, где произрастали растения и выращивались животные, используемые для изготовления продуктов. В отличие от многих других тяжелых металлов, нет доказательств того, что серебро является кумулятивным ядом, но его соединения могут накапливаться в тканях организма после длительного воздействия, что приводит к нежелательным эффектам [14].

Наночастицы серебра (НЧ), наряду с другими наночастицами, обладают высоким соотношением площади поверхности к объему, за счет чего имеют значительную относительную площадь контакта по сравнению с массивным металлом. Они обладают уникальными физико-химическими, оптическими и антибактериальными свойствами, и они активно используются в оптике, фотонике, катализе в качестве сенсоров, включаются в состав различных медицинских аксессуаров, применяются как в качестве доставщика лекарств, так и сами выступают в роли последних. За счет широкого применения неизбежно происходит высвобождение наночастиц серебра в компоненты окружающей среды, прежде всего в гидросферу. Ввиду этого, необходимо изучать их поведение, трансформацию и миграцию в окружающей среде.

1.1. Общие характеристики

Серебро – благородный металл ($E^0 = +0.80$ В) и поэтому не подвергается воздействию воды или кислот. Однако металлическое серебро, благодаря присутствию растворённого в воде кислорода O_2 , выступающего в роли окислителя ($E^0 = +1.23$ В), постоянно выделяет небольшое количество ионов, которые оказывают антибактериальное действие. Окисление может быть усилено вследствие комплексообразования высвобожденных ионов серебра неорганическими ионами или органическими молекулами. Аналогичный процесс протекает при окислении металлического золота кислородом воздуха в присутствии цианида в качестве комплексообразователя. Макрообъекты серебра также могут генерировать наночастицы [15].

Малорастворимые соли, такие как галогениды серебра и сульфид серебра, характеризуются более медленным высвобождением Ag^+ . При этом растворимость уменьшается в ряду $AgCl > AgBr > AgI > Ag_2S$ в соответствии с произведением растворимости. Например, хлорид серебра применяется в антибактериальных спреях и в качестве антибактериальной добавки к чистящим средствам. Произведение растворимости составляет 1.7×10^{-10} моль² л⁻², то есть равновесная концентрация серебра составляет 1.4 мг/л в дистиллированной воде [16].

Нитрат серебра хорошо растворим в воде. В разбавленном водном растворе нитрат серебра полностью диссоциирует на Ag^+ и NO_3^- . При использовании раствора нитрата серебра в организм пациента попадает большое количество ионов серебра, что может приводить к нежелательным эффектам, таким как раздражение кожи и аргирия [17].

Произведение растворимости сульфида серебра Ag_2S составляет 5.5×10^{-51} моль³ л⁻³. По причине протолитиза до HS^- и H_2S , растворимость сульфида серебра в значительной степени зависит от значения pH, т. е. сульфид серебра гораздо лучше растворим в кислой среде. В соленой воде присутствие различных ионов приводит

к сложному равновесию различных видов и комплексов (особенно хлорных и сероводородных комплексов) [18]. Кроме того, гуминовые кислоты и белки могут связывать ионы серебра. Это осложняет прогнозирование растворимости и требует проведения экспериментов для измерения концентрации серебра. В биологических средах, таких как кровь, возникает та же проблема. Однако, ввиду малой растворимости в водных средах, хлорид серебра и сульфид серебра (AgCl и Ag_2S) используются в составе повязок, поскольку обеспечивают постепенное высвобождение ионов серебра, в отличие от быстрого и неконтролируемого растворения нитрата серебра [19]. Комплекс серебра и фосфата кальция, который также мало растворим в воде, аналогичным образом используется в повязках.

Следует обратить внимание на тот факт, что соли Ag_2CO_3 и Ag_2SO_4 также обладают очень низкой растворимостью (произведение растворимости для них равны 8.1×10^{-12} моль³ л⁻³ и 1.4×10^{-5} моль³ л⁻³, соответственно). Однако в области $\text{pH} < 7$ в водном растворе преобладают кислые анионы HCO_3^- и HSO_4^- , и соответствующие кислые соли серебра характеризуются большой растворимостью [20]. Поэтому растворимость серебра в водных растворах в присутствии этих анионов неопределенно высокая.

1.2. Синтез и свойства наночастиц серебра

Серебро в форме коллоидов известно уже около 120 лет [21]. В настоящее время существует множество способов получения наночастиц серебра. Принципиально методы получения можно разделить на две группы: восстановление ионов серебра Ag^+ и диспергирование макрообъектов до наноразмеров. К первой группе относятся химические методы, ко второй – физические. Серебро в наноразмерном состоянии может иметь различные

геометрические формы: сферические наночастицы, пирамиды, стержни, кубы и т.д. [10].

1.2.1. Физические методы

Физический синтез наночастиц серебра включает механические процессы и процессы на основе паров. Для уменьшения размера частиц используются различные типы внешней энергии, в том числе механическая энергия (метод шаровой мельницы) [22], электрическая энергия (метод дугового разряда) [23], световая энергия (метод лазерной абляции) [24] и тепловая энергия (осаждение из паровой фазы).

Метод шаровой мельницы

Метод механической шаровой мельницы заключается в помещении мелющих шаров и металлических материалов с определенным соотношением масс, а также газа (воздуха или инертного газа) во вращающуюся с высокой скоростью емкость. Время измельчения, скорость вращения и атмосферная среда в процессе шарового измельчения играют существенную роль в морфологии металлических материалов. Подходящее время измельчения тесно связано с получением частиц необходимого размера. Температура порошка влияет на диффузионную способность и фазу наночастиц. Более высокая температура порошка способствует синтезу интерметаллических соединений, а более низкая температура приводит к образованию аморфных и нанокристаллических фаз [25].

Метод лазерной абляции

Метод лазерной абляции заключается в следующем: металл-мишень помещается в водный или органический растворитель, затем на нее импульсно воздействует лазерный луч. Вещество быстро поглощает энергию излучения,

нагревается, и происходит взрывообразное диспергирование вещества с поверхности мишени. Возникает плазменный факел с последующим зарождением и ростом металлических частиц в процессе охлаждения шлейфа и, в конечном итоге, с образованием наноразмерных кластеров [26]. В процессе лазерной абляции наночастицы могут поглощать фотоны несколькими путями, включая плазмонные возбуждения, межзонные переходы и многофотонное поглощение, которые тесно связаны с длительностью импульса, длиной волны лазера и плотностью потока лазерного излучения. Различные условия синтеза, такие как плотность потока лазерного излучения, длина волны импульса, а также тип растворителя, могут влиять на размер наночастиц. Добавление органических стабилизаторов, таких как бромид цетилтриметиламмония (ЦТАБ) и поливинилпирролидон (ПВП), может повысить диспергируемость наночастиц. Однако при использовании метода лазерной абляции трудно контролировать распределение НЧ по размерам [24].

Метод дугового разряда

Для получения наночастиц серебра данным методом на два серебряных стержня, погруженных в диэлектрические жидкости, подается постоянный электрический ток. При подаче дугового разряда в диэлектрической среде происходит вытравливание электрода, и поверхность электрода испаряется из-за высокой температуры вблизи него. Затем пары серебра конденсируются в наночастицы и суспендируются в диэлектрической жидкости. Этот способ позволяет получать чистые наночастицы с помощью простого и недорогого устройства. В исследовании [23] данным методом были получены частицы со средним размером 18 нм. Гидрозоль оставался устойчивым в течение 12 дней.

Метод осаждения из паровой фазы

Наиболее часто используемые процессы физического осаждения из паровой фазы делятся на две основные группы: дуговое испарение и распыление. Первая относится к использованию источника катодной дуги в вакуумной камере или инертных газов для получения паров металла и их осаждения на покрываемом материале с образованием тонкого липкого покрытия из чистого металла или

сплава. Во время этого процесса высокоионизированный пар металла генерирует плазму. Вторая относится к использованию высокоэнергетического электрического заряда для бомбардировки мишени и осаждения металла на подложке. В этом процессе ионы и возбужденные атомы воздействуют на атомы мишени и механически выбрасывают их из нее. В исследовании [27] авторы синтезировали частицы серебра размером 2-3 нм. Данный метод позволяет получать чистые наночастицы серебра малого размера, однако требуются сложные устройства.

Несмотря на ряд достоинств, для большинства физических методов синтеза наночастиц серебра требуются большие затраты электроэнергии, а также ввиду использования высокого напряжения возможны технологические аварии, приводящие к пожарам. Соответственно, нарушаются 6 и 12 принципы зелёной химии [28].

1.2.2. Химические методы

Методы химического синтеза наночастиц серебра в настоящее время используются наиболее часто. Процесс заключается в восстановлении ионов серебра Ag^+ до элементного Ag^0 путем переноса электрона при определенных условиях. Химические методы характеризуются высокой воспроизводимостью результатов, возможностью получения наночастиц требуемых размеров и форм путём выбора условий проведения синтеза, таких как восстановитель, стабилизатор, варьирование их концентраций, температуры и т.д.

Возможно получение наночастиц различных форм, таких как наносфера, нанопризма, нанопластина, нанопроволока, нанокуб и наностержень. Метод химического восстановления включает три компонента: прекурсор (источник

ионов Ag^+), восстановитель и стабилизатор. Среди прекурсоров ионов серебра можно выделить нитрат серебра AgNO_3 , аммиакат серебра $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$ (реагент Толленса), перхлорат серебра AgClO_4 , сульфат серебра Ag_2SO_4 и другие [9]. Наиболее часто используемыми восстанавливающими агентами являются боргидрид натрия NaBH_4 , цитрат натрия $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, гидразин N_2H_4 , N,N-диметилформаимид $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$, аскорбиновая кислота $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, этиленгликоль $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$, полисахариды и формальдегид CH_2O . Типы и соотношение прекурсоров и восстановителей, а также температура и pH реакционной смеси влияют на характеристики наночастиц серебра [29]. Зарождение и последующий рост частиц в процессе химического восстановления можно контролировать путем чередования компонентов и регулирования параметров протекания реакции. Например, в работе [30] было изучено влияние температуры в синтезе наночастиц серебра на их размер и форму. Авторы наблюдали образование сферических и пластинчатых наночастиц. В диапазоне температур реакции от 273 до 328 К, низкая температура значительно замедляла образование зародышей и их дальнейший рост, поэтому для завершения восстановления Ag^+ требовалось больше времени. В диапазоне температур от 290 до 328 К скорость реакции увеличивалась с повышением температуры, при этом происходило увеличение размера частиц. При 305 К наблюдался резкий скачок размера наночастиц, происходило увеличение от 90 до 180 нм длины ребра пластинчатых наночастиц, и от 25 до 50 нм диаметра сферических наночастиц. Соотношение количества пластинчатых и сферических наночастиц может принципиально зависеть от количества монокристаллических и двойных структур, образующихся в процессе зародышеобразования. Было показано, что с повышением температуры количество сферических наночастиц уменьшалось, а пластинчатых увеличивалось. Соотношение пластинчатых и сферических наночастиц серебра составляло 1:1 при 290 К и 3:1 при 328 К.

В процессе синтеза и стабилизации металлических наночастиц создаются благоприятные возможности для образования неравновесных и неустойчивых структурных форм и электронных состояний. Формированию наночастиц металлов

– появлению новой фазы в гомогенной среде, –предшествует многостадийный последовательный процесс образования короткоживущих интермедиатов разной степени сложности. В качестве примера обратимся к восстановлению органическими свободными радикалами ($\text{CO}_2^{\cdot-}$, $\text{CH}_2\text{OH}^{\cdot}$ и др.) ионов серебра до металла в водных растворах. Показано [31–33], что возникающие на первом этапе атомы Ag^0 в течение короткого времени (миллисекунды) последовательно трансформируются в более сложные кластеры - Ag_2^+ , Ag_3^{2+} , Ag_4^{2+} и Ag_8^{2+} , характеризующиеся индивидуальными отдельными полосами поглощения «молекулярного» типа [34]. Время жизни таких кластеров измеряется микро- и миллисекундами и возрастает по мере увеличения их размера и сопровождается, в конечном итоге, появлением широкой полосы в области 360-370 нм, принадлежащей квазиметаллическим частицам. Приведенный частный пример отражает всю сложность эволюции гомогенной системы к гетерогенной. Промежуточные этапы образования малых и средних кластеров с резко выраженными индивидуальными электронными свойствами и имеющими структуру циклов и каркасов, сменяются появлением крупных кластеров. Последние уже включают, по-видимому, десятки атомов и имеют структуру полиэдров. Проявляемые ими квазиметаллические электронные свойства позволяют отнести их к зародышам металла. Стадии возникновения зародышей и роста новой фазы металлического серебра быстро следуют одна за другой, что в оптическом спектре проявляется как монотонный сдвиг максимума полосы поглощения от 360 нм до 390-400 нм [35,36]. Сформированные наночастицы обладают гидрофобными свойствами и в результате слипаются в более крупные агрегаты, которые в свою очередь имеют более низкую удельную поверхность. Крупные частицы менее агрегативно устойчивы и в результате выпадают в осадок. Для предотвращения процесса агломерации и седиментации в процессе синтеза в растворы вводят стабилизирующие добавки. Стабилизатор «обволакивает» металлическую частицу, и в результате формируется структурно организованная мицелла. Стабилизатор выступает в роли барьера, препятствующего притяжению частиц, и, как результат, их агломерации.

Несмотря на ряд преимуществ химических методов синтеза наночастиц серебра, таких как возможность контролировать размер и форму наночастиц, быстрое протекание реакций, высокая степень перехода прекурсора серебра в наночастицы, следует отметить, что используемые восстановители чаще всего являются токсичными и могут вызывать загрязнение окружающей среды. Использование стабилизаторов, приводящее к преобразованию поверхности наночастицы, с одной стороны, повышает её агрегативную и седиментационную устойчивость, а, с другой стороны, значительно изменяет физико-химические характеристики поверхности.

Фотохимический метод

Фотохимический метод заключается в восстановлении ионов серебра Ag^+ под воздействием света. Сам растворитель или прекурсоры могут образовывать при воздействии света свободные радикалы, которые восстанавливают Ag^+ до Ag^0 *in situ*. При фотохимическом синтезе используется излучение, соответствующее УФ-диапазону, либо природный солнечный свет. Процесс синтеза, и, в конечном итоге, форма и размер наночастиц, зависят от типа источника, интенсивности и длины волн излучения, времени облучения [37]. Фотохимический метод позволяет получать наночастицы серебра на поверхности различных материалов, таких как полимерные пленки, стекло, ткани, которые подвергаются облучению. Фотохимический метод, как правило, требует относительно простого оборудования и может реализовываться при комнатной температуре без использования вредных восстановителей, что соответствует принципам зеленой химии. Реакции могут быть прекращены или замедлены путем прекращения освещения. При этом стоит учитывать, что, ввиду вышесказанного, свет играет важную роль в поведении ионов и наночастиц серебра в компонентах окружающей среды: при определенных условиях ионы могут восстанавливаться с образованием наночастиц.

Электрохимический метод

Электрохимический метод заключается в восстановлении ионов Ag^+ в результате возникшего электрического потенциала [38]. Зарождение и рост наночастиц происходят практически мгновенно при воздействии внешнего электрического поля. Электрохимическим методом можно синтезировать наночастицы серебра различных размеров, регулируя плотность тока. Кроме того, типы электродов, электролиты и растворители также влияют на конечный размер наночастиц. В процессе синтеза повышенная концентрация прекурсора и повышенная сила тока, а также долгое время воздействия позволяют получить наночастицы меньшего размера. Электрохимический метод имеет преимущества легкого управления реакцией, мягких условий реакции и меньшего загрязнения окружающей среды по сравнению с методами, в которых используются токсичные восстановители и стабилизаторы.

Микроволновый метод

Микроволновый метод заключается в быстром нагреве прекурсора серебра с помощью микроволнового излучения, что способствует образованию ядер нуклеации. Концентрация прекурсора, тип стабилизатора, мощность излучения, время облучения, диэлектрическая проницаемость, показатель преломления среды, хиральность восстановителя влияют на процесс синтеза, и, как результат, форму и размер наночастиц. Вода и некоторые спирты (например, этиленгликоль или этанол) являются наиболее подходящими растворителями для проведения синтеза за счёт их высокой диэлектрической проницаемости [39]. Ввиду того, что полярные молекулы пытаются переориентироваться относительно переменного электрического поля, они теряют энергию в виде тепла, что способствует восстановлению ионов серебра Ag^+ . Микроволновой метод обладает такими преимуществами, как высокая эффективность преобразования энергии, быстрое протекание реакции, чистота, и, что наиболее важно, его можно использовать для крупномасштабного производства высокодисперсных наночастиц.

Химические методы синтеза позволяют получать наночастицы серебра различных форм и размеров в промышленных масштабах. Однако, синтез часто сопряжен с использованием токсичных восстановителей, что в дальнейшем требует очистки наночастиц и приводит к загрязнению окружающей среды. Также, часто требуется несколько стадий при проведении синтеза и очистки наночастиц. Использование полимерных стабилизаторов значительно повышает устойчивость наночастиц, что, с одной стороны позволяет длительное время использовать последние, а, с другой стороны, при попадании в окружающую среду такие наночастицы будут долгое время оказывать негативное воздействие на микрофлору. Очевидно, нарушаются 1, 3, 8 и 10 принципы зелёной химии [28].

1.2.3. Биосинтез наночастиц серебра

В последние десятилетия были разработаны методы синтеза наночастиц серебра с участием микроорганизмов и растений. У микроорганизмов в процессе адаптации могут развиваться гены толерантности по отношению к металлам и способность к биоконцентрированию металлов, что позволяет им выживать в среде с экстремально высоким содержанием серебра. В качестве восстановителя Ag^+ выступают редуктазы, а в качестве стабилизатора – различные белки. Наночастицы можно рассматривать как «побочный продукт» механизма устойчивости микроорганизмов к свободным ионам Ag^+ [40].

Синтез, опосредованный растениями, заключается в восстановлении Ag^+ такими функциональными группами, как О-Н и =С-Н, содержащимися в экстракте различных частей растений. Обычно экстракт добывается из коры, кожуры, каллюса, листьев, цветков, плодов, стебля, семян и корневища. В процессе биосинтеза в качестве восстановителей выступают различные биологические компоненты, такие как экзополисахарид, пептиды, нитратредуктаза,

восстанавливающие кофакторы, цитохромы С-типа, выделенные из микроорганизмов, а также крахмал, целлюлоза, хитин, декстран, альгинаты, выделенные из растений [41]. По сравнению с физическими или химическими методами биосинтез можно проводить при обычной температуре и давлении, а также без добавления токсичных восстановителей и стабилизаторов. Соответственно, растения и микроорганизмы играют важную роль в поведении наночастиц и ионов серебра в компонентах окружающей среды.

Несмотря на то, что с точки зрения зелёной химии биосинтез наночастиц серебра является предпочтительным, технологически трудно воспроизвести результаты ввиду присутствия различных примесей в экстрактах растений, различных условий протекания реакции в естественных условиях, длительности протекания реакции восстановления Ag^+ . При этом, как правило, образуются частицы крупного размера. Таким образом, актуальной задачей является разработка метода синтеза гидрозоля серебра, с одной стороны отвечающего принципам зелёной химии [28], а с другой стороны позволяющего получить наночастицы с заданными характеристиками (т.е. размером до 20 нм и преимущественно сферической формы).

1.2.4. Оптическое поглощение гидрозолей серебра

Коллоидные растворы серебра поглощают свет в ультрафиолетовой и видимой областях оптического спектра. Поэтому метод оптической спектрофотометрии является самым простым и наиболее распространенным методом анализа гидрозолей серебра. Уникальные оптические свойства наночастиц серебра обуславливают их применение в таких областях, как фотоника, фотовольтаика, а также в качестве сенсоров. Поглощение обусловлено возбуждением поверхностных плазмонов ультрамалых частиц металлов и

межзонными электронными переходами [42–45]. Плазмон – это квант колебаний плотности электронной плазмы в металле, который сопровождается продольными колебаниями электрического поля. Электромагнитное поле падающего света приводит к дипольному возбуждению вдоль сферы частицы металла. Разделение заряда на поверхности частицы, обусловленное действием света, вызывает осцилляцию электронной плотности. Толщина слоя составляет десятые доли нанометра и определяется электрическими свойствами металла и характеристиками окружающей среды. Электронная плотность в пределах тонкого поверхностного слоя частицы осциллирует и не затрагивает в значительной степени состояние её внутренней части. Такое поглощение обусловлено локализованным поверхностным плазмонным резонансом сформировавшейся металлической фазы, т.е. коллективным поглощением свободных электронов в металле. Появление свободных электронов вызвано их переходом с внешних оболочек атомов в зону проводимости. Спектры поглощения коллоидных растворов металлов с частицами размером 3-20 нм с высокой точностью рассчитываются [46] по теории Ми из спектральной зависимости оптических констант объемного металла (индекс рефракции n или диэлектрическая константа ϵ) в данном конкретном растворителе. Важно при этом, чтобы полоса поглощения поверхностных плазмонов и межзонное поглощение были отделены друг от друга. Такая ситуация реализуется в случае серебра, для которого полоса локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ЛППР) находится при 380-410 нм, а нижняя граница межзонного электронного перехода (МЗЭП) $4d \rightarrow 5sp$ начинается примерно при 320 нм и простирается в сторону меньших длин волн.

Поглощение поверхностных плазмонов очень чувствительно к состоянию поверхности наночастиц серебра. Частицы имеют очень большую удельную площадь, и ненасыщенные адатомы серебра способны адсорбировать, присоединять молекулы и ионы. Спектрофотометрический анализ может дать полезную информацию о состоянии частицы и её стабилизирующего слоя, сорбции молекул с донорными и акцепторными свойствами и о других факторах влияния,

вызывающих изменение электронного состояния поверхности частицы. В результате адсорбции изменяется плотность электронов проводимости в металле, что проявляется в сдвиге полосы. Адсорбция молекул с донорными свойствами вызывает смещение полосы ЛППР серебра в сторону коротких длин волн и, напротив, адсорбция молекул с акцепторными свойствами – в сторону длинных волн [46 – 49].

В отличие от ЛППР, обусловленного присутствием в металле свободных электронов проводимости, межзонные переходы вызваны возбуждением внутренних валентных электронов металла ($4d \rightarrow 5sp$) [44,45,51], которые прочно связаны с его атомами. Внешние «слабые» воздействия, связанные с хемосорбцией и другими процессами на поверхности, заметно не отражаются на характеристиках МЗЭП в отличие от поглощения ЛППР. Поглощение МЗЭП пропорционально концентрации атомов в наночастицах серебра малых размеров.

Визуально наночастицы серебра возможно обнаружить по желтой окраске гидрозоля, также они проявляют качества эффективных биосенсоров [6,21]. Спектр поглощения сферических наночастиц серебра, обусловленный коллективным поглощением свободных электронов в металле, имеет узкую симметричную полосу ЛППР в области ~ 400 нм. Полоса ЛППР перекрывается в УФ области (≤ 320 нм) с широкой полосой, вызванной МЗЭП связанных электронов в металле ($4d \rightarrow 5sp$) [45,46,52–55]. Эллипсоидальные наночастицы серебра имеют два плазмонных пика в спектре поглощения, обусловленных продольным и поперечным плазмонными резонансами. Плазмонное поглощение свободных электронов в наночастицах очень чувствительно не только к форме, но и к состоянию поверхности частицы. Предпринимались попытки использовать поглощение ЛППР для определения концентрации наночастиц [23-29]. В исследовании [30] предложен систематический метод определения коэффициента экстинкции монодисперсных наночастиц серебра размером от 8 до 100 нм. При анализе оптического спектра в области поглощения ЛППР данный метод может использоваться для определения концентрации и размера наночастиц. Важно отметить, что этот метод обеспечивает

простой способ расчета концентраций стабилизированных цитрат-ионами наночастиц серебра в широком диапазоне размеров на основе их коэффициента экстинкции. Однако поглощение ЛППР очень чувствительно к состоянию поверхности частицы и ее форме. При замене цитрата на другой стабилизатор возможно изменение формы и положения полосы ЛППР. Ввиду этого, метод имеет существенные ограничения в своем применении.

В отличие от поглощения ЛППР, широкая полоса межзонного перехода связанных электронов наночастиц серебра существенно не изменяется с размером частицы, и ее интенсивность пропорциональна числу атомов серебра, содержащихся в наночастице [46,55]. Другими словами, оптическая плотность раствора при длине волны межзонного перехода (например, 250 нм) пропорционально соответствует количеству атомов серебра в растворе в форме наночастиц.

1.2.5. Строение мицеллы серебра, стабилизированной по электростатическому механизму

При стабилизации наночастиц серебра по электростатическому механизму мицелла серебра включает в себя металлическую наночастицу, обладающую положительно заряженной поверхностью (рисунок 1) [56]. Затем следует слой потенциалопределяющих ионов, которому противостоит и компенсирует его заряд слой противоионов. Слой противоионов разделяется на плотную адсорбционную и диффузную части. Наночастица вместе с потенциалопределяющими ионами и адсорбционным слоем противоионов образует коллоидную частицу. Коллоидная частица окружена противоионами из диффузной части, что образует мицеллу. На границе между коллоидной частицей, способной перемещаться в электрическом поле, и окружающей жидкостью возникает ζ -потенциал, т.е. потенциал

поверхности скольжения частицы в коллоидном растворе. ζ -Потенциал — это разность потенциалов между дисперсионной средой (в нашем случае – наночастица серебра) и неподвижным слоем жидкости, прикрепленной к диспергированной частице. Наличие ζ -потенциала на границах скольжения всех дисперсных частиц формирует на них одноименные заряды и электростатические силы отталкивания, что обеспечивает устойчивость коллоидного раствора и препятствует агрегации. Чем выше абсолютное значение потенциала, тем больше силы отталкивания частиц, которые разделены диффузными слоями, друг от друга. Таким образом, ζ -потенциал является мерой устойчивости коллоидного раствора. При значениях ζ -потенциала $> |40|$ мВ коллоидные системы обладают высокой устойчивостью [57].

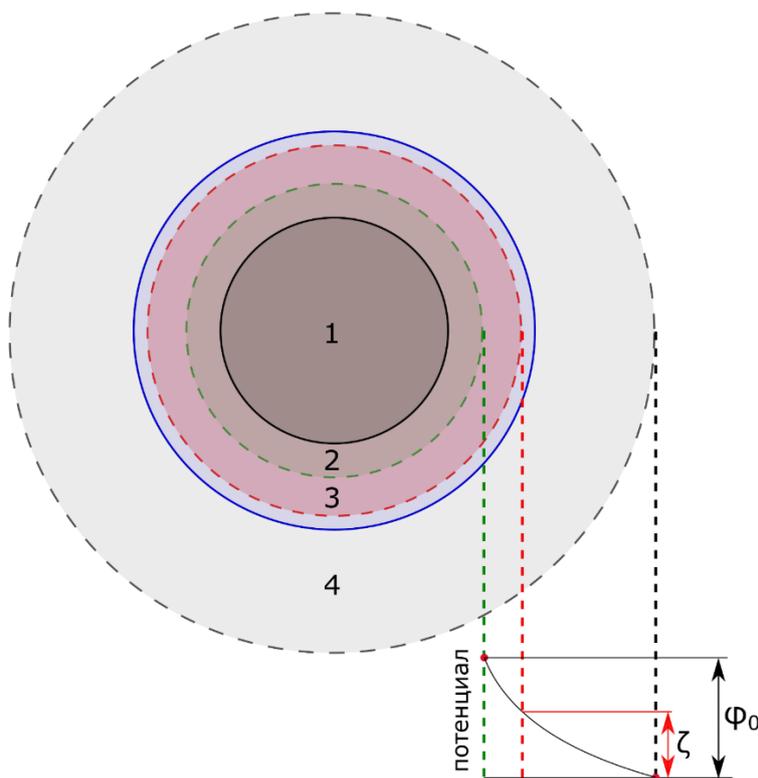


Рисунок 1 – Схема ион-стабилизированной мицеллы серебра: 1 – металлическая наночастица, 2 – потенциал-образующие ионы, 3 – адсорбционный слой противоионов, 4 – диффузный слой противоионов, Φ_0 – электрический потенциал двойного электрического слоя, ζ – дзета-потенциал. Схема построена на основании источника [56].

1.3 Области применения наночастиц серебра

Наночастицы серебра применяются во многих технологических процессах и включаются в различные материалы благодаря своим уникальным оптическим и антибактериальным свойствам.

1.3.1. Использование в медицине

В сфере медицины серебро используется как антисептическое средство ввиду его высокой антибактериальной активности. Они включаются во множество материалов, таких как противоожоговые повязки, антисептические мази, стоматологические имплантаты, медицинские инструменты и т.д. [58].

В работе [2] сообщается о создании нановолокнистого композита из ПВА-хитозана с включением наночастиц серебра и сульфаниламида для синергетического ранозаживляющего эффекта. Наночастицы соединены с полимерной матрицей ткани водородными связями, что способствует поглощению воды и, соответственно, набуханию нановолокон. Было показано, что созданная ткань с включением наночастиц и сульфаниламида значительно сильнее ингибирует рост бактерий *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* по сравнению с обычным нановолокном. На примере крыс было установлено, что при использовании пропитанной ткани происходит заживление в 2 раза больше по площади, чем при использовании непропитанной ткани.

Одной из перспективных областей применения наночастиц серебра в медицине является стоматология [3]. В исследовании [59] авторы установили, что включение наночастиц серебра (2% по массе) в гуттаперчевые штифты оказывает

снижение с 28 КОЕ мл⁻¹ в контрольном образце без серебра до 11 КОЕ мл⁻¹ для бактерии *Enterococcus faecalis*, основного патогена ротовой области. В работе [60] наночастицы серебра включались в акриловую смолу, используемую для изготовления протезов, с целью придания ей противомикотических свойств в отношении *Candida albicans*. Было показано, что концентрация наночастиц серебра 0.5% от массы смолы прерывает образование биопленок и значительно снижает количество КОЕ. Интересно, что при концентрации 5% происходило нарушение строения материала.

В последние годы исследуется возможность использования наночастиц серебра в лечении онкологических заболеваний. При этом наночастицы могут выступать как в качестве лекарственного препарата, так и в качестве доставщика до опухоли других лекарств. При доставке лекарств существует несколько биологических барьеров, такие как почечный, печеночный и иммунный клиренс [3]. Наночастицы некоторых металлов, в том числе и серебра, частично могут преодолевать эти барьеры, при этом доставляя большее количество лекарственных средств. Радионуклид I-131 имеет тераностическое применение, а наночастицы серебра, стабилизированные полиэтиленгликолем, действуют как средство доставки I-131 к ткани-мишени, не затрагивая нецелевые ткани [61]. Установлено, что противоопухолевый синергетический эффект при лечении рака яичников проявляется при использовании наночастиц серебра в сочетании с бортезомибом и доксорубицином. Наночастицы серебра проникают в клетки млекопитающих в виде агрегатов в основном путем эндоцитоза, а также они могут преодолевать гематоэнцефалический барьер благодаря своему небольшому размеру. Попадая в клетку в эндоцитарном пузырьке, они распределяются в цитоплазму и ядро посредством внутриклеточного транспорта. Из-за различий в их физико-химических свойствах они могут воздействовать на разные клетки через разные клеточные процессы. Было показано, что наночастицы серебра негативно влияют на различные типы раковых клеток – гепатомы человека, рака легкого, рака молочной железы и карциномы шейки матки. Угнетающее действие по отношению к клеткам происходит за счет снижения митохондриальной функции,

продуцирования активных форм кислорода, высвобождения лактатдегидрогеназы, дерегуляции клеточного цикла, индукции апоптотических генов, образования микроядер, хромосомных aberrаций и повреждения ДНК [7]. Подвижность наночастиц в капиллярах, а также эндоцитоз и метаболизм в опухолевых клетках зависят от размера и формы наночастиц. Было обнаружено, что наночастицы с меньшими размерами обладают более высокой эффективностью эндоцитоза и экзоцитоза, предположительно ввиду того, что они вызывают большую цитотоксичность, чем более крупные частицы [62]. Наиболее эффективными являются наночастицы сферической формы ввиду высокого соотношения площади поверхности к объёму. Сферические наночастицы сильнее подвержены эндоцитозу и показывают более активное противораковое действие, чем наночастицы других форм ввиду того, что они более эффективно проходят через эндотелий сосудов, а их высокая удельная поверхность более выгодна для проникновения в раковые клетки.

Наночастицы серебра, ввиду своих уникальных оптических свойств, активно используются в качестве детекторов для обнаружения различных заболеваний. Исследования показали, что иммунофлуоресцентный анализ, усиленный наночастицами серебра, может выявлять биомаркеры α -фетопротеина и С-реактивного белка, что помогает в клинической диагностике гепатокарциномы [63]. Наночастицы серебра также используются в качестве колориметрических сенсоров для обнаружения углеводного антигена 125 (CA125), обнаруженного во многих клетках рака яичников [64]. Благодаря своей высокой проводимости, наночастицы серебра находят применение в датчиках растяжения. Эти датчики изготавливаются путем диспергирования или покрытия наночастицами серебра поверхности углеродных наноматериалов. Датчики используются для съёмки электрокардиограмм, для демонстрации исключительных термочувствительных свойств и т. д. [65]. Электрод, модифицированный наночастицами серебра, используется для определения концентрации ионов хлора в поте, что является эффективным методом предварительного скрининга муковисцидоза [66]. Многоцветные серебряные нанопластины используются для мультиплексного

обнаружения вирусных заболеваний, таких как лихорадка денге, желтая лихорадка, вирус лихорадки Эбола, аргинин и герпесвирус [67]. Меченные стрептавидином флуоресцентные наночастицы серебра способны обнаруживать антиген р24 ВИЧ-1 в клинических образцах [68].

Наночастицы серебра обладают противодиабетическими и противовоспалительными свойствами [58]. Конечные продукты гликирования (КПГ), возникающие в результате неферментативного гликирования, являются одними из факторов, связанных с диабетом и его вторичными осложнениями и заболеваниями. Наночастицы серебра ингибируют образование КПГ и, как результат, снижается образование активных форм кислорода (АФК). Кроме того, наночастицы серебра показали заметное ингибирование ферментов, гидролизующих углеводы, в основном, α -амилазы и α -глюкозидазы, что может быть связано с действием полифенолов в качестве стабилизатора или за счет образования белковой короны, которая разворачивает белок, ингибируя активность фермента [69]. Известно, что больные диабетом имеют более медленную способность к заживлению ран. Было обнаружено, что нанокompозитные гидрогели, содержащие кристаллы бамбуковой целлюлозы и частицы серебра, ускоряют заживление ран у крыс, больных диабетом [70].

1.3.2. Использование в сельском хозяйстве

Благодаря своим антимикробным свойствам, наночастицы серебра находят свое применение и в области сельского хозяйства для предпосевной обработки семян. Семена *Pennisetum glaucum* (просо) обрабатывались 14 нм наночастицами серебра в течение 2 часов концентрациями 20 и 50 мг/л [71]. Время прорастания – 5 суток. Всхожесть семян составила 87% и 93%, соответственно, а в контроле 75%. Семена *Pisum sativum* (горох) были обработаны 50 нм ПВП-стабилизированными

наночастицами серебра в диапазоне концентраций 0.5-50 мг/л [72]. Время прорастания – 3 суток. При обработке 50 мг/мл наблюдалось снижение всхожести семян на 80% по сравнению с контролем, а при 5 мг/л всхожесть оставалась такой же. Длина корня увеличивалась при обработке всеми концентрациями наночастиц серебра. Таким образом, при небольших концентрациях наночастицы серебра оказывают положительный эффект, однако при увеличении концентрации серебро начинает действовать как ингибитор роста растений.

В сельскохозяйственном секторе наночастицы серебра в некоторых случаях используются также в качестве стимуляторов роста растений, фунгицидов для предотвращения грибковых заболеваний или средств для ускорения созревания плодов [73]. Однако неконтролируемое использование наночастиц серебра может привести к загрязнению компонентов окружающей среды. При использовании в сельском хозяйстве воды, загрязненной наночастицами серебра, в конечном итоге, возможно их попадание в ризосферу растений. Следовательно, они неизбежно поглощаются сельскохозяйственными культурами и легко попадают в пищевую цепь, создавая риск для здоровья человека.

Значительные изменения морфологии растений наблюдается при воздействии на них наночастиц серебра. Наночастицы серебра способны подавлять прорастание семян и рост корней, а также уменьшать биомассу и площадь листьев. В работе [74] наночастицы Ag и Ag₂S и Ag⁺ (0.3-1.3 мг кг⁻¹) были внесены в почву для установления их биодоступности для *Lactuca sativa* (салат) и влияния на этот процесс удобрений. Авторы предполагают, что наночастицы находятся в почве в форме Ag₂S (25 нм) в результате реакции серебра с биотвердыми веществами при очистке сточных вод. Установлено, что вид серебра и удобрения не влияют на переход серебра в надземную съедобную часть растений (перешло 0.02%). Однако, тиосульфат аммония (удобрение) повышает биодоступность серебра из наночастиц Ag и Ag₂S. Также установлено, что серебра в ионной форме переходит в корни растений больше, чем в виде наночастиц, соответственно, переход серебра из

наночастиц в растения будет определяться их растворимостью. Внесение фосфата и H_2O_2 в почву снижает концентрацию Ag в побегах.

В исследовании авторы [75] вносили наночастицы или ионы серебра в дистиллированную воду, на которой в течение недели выращивали взрослые побеги *Nicotiana tabacum* (табак). Серебро в основном находилось в корнях растений, при этом клетки корневой меристемы сильно вакуолизировались, что указывает на то, что вакуоли могут быть основным хранилищем накопленного серебра. При этом в корнях содержание АФК, малондиальдегида, белковых карбониллов, каталазы выросло как при воздействии наночастиц, так и ионов серебра.

1.3.3. Использование в качестве сенсоров

Оптические свойства наночастиц серебра позволяют применять их в различных отраслях. О применении сенсоров в области медицины было сказано выше. Метод поверхностного плазмонного резонанса (ППР) заключается в оптическом возбуждении поверхностной плазмонной волны на границе раздела между металлом и диэлектриком. В нескольких исследованиях сообщается о плазмонных биосенсорах, основанных на оптических измерениях плазмонных сдвигов. Благодаря колебаниям электронов проводимости в благородном металле, которые контролируются и локализируются на определенных резонансных длинах волн, наноструктуры этих металлов эффективно рассеивают и поглощают свет определенных длин волн. Это объясняется тем, что фотоны могут быть преобразованы в локализованные поверхностные плазмоны. Наноплазмонные биосенсоры способны регистрировать селективное и специфическое связывание биомолекул с рецепторами, иммобилизованными на наноструктурах благородных металлов и размещенными непосредственно на фотоактивном диоде [4].

Наносенсоры с включением наночастиц серебра способны предоставлять информацию о своей локальной среде посредством отклика. В работе [76] наночастицы серебра были использованы для обнаружения ДНК и бактериальной рибосомной РНК. Обнаружение ДНК основывается на изменении скорости растворения меток с наночастицами серебра, захваченных в комплекс в результате гибридизации ДНК, при этом сигналы визуализируются с помощью оптической микроскопии. Исследования показывают, что благодаря своим специфическим оптическим свойствам, наночастицы серебра могут быть использованы для обнаружения коронавирусов SARS-CoV-2 [77] и MERS-CoV [78].

1.3.4. Наночастицы серебра в катализе

Наночастицы серебра обладают каталитическими свойствами. Например, были созданы гибридные фотокатализаторы для получения H_2 [79]. Разработаны электрокатализаторы в форме наночастиц серебра, помещенных на поверхность MoS_2 , более эффективно восстанавливающие кислород [80]. Композит из серебра и углеродных нанотрубок обладает высокой активностью разложения токсичных красителей и инактивации бактерий [81]. Наночастицы серебра и золота, в отличие от этих металлов в макросостоянии, ускоряют обмен H_2/D_2 при температуре 77-200 К [5].

1.3.5. Наночастицы серебра в фотонике

Наночастицы серебра открывают новые возможности в фотонике благодаря своим линейным и нелинейным оптическим свойствам, а также способности преобразовывать свет в другие виды энергии, например, возбуждение поверхностного плазмона. Они имеют огромное количество легко поляризуемых электронов, что приводит к сильному взаимодействию вещества со светом и высоким нелинейным оптическим свойствам. Плазмонные волноводы применимы при создании оптических метаматериалов из-за их небольшого размера. Концентрированные поверхностные плазмоны способны к локальному усилению интенсивности света. Для практического применения плазмонные волноводы должны быть интегрированы с традиционными оптическими волноводами, которые легко подключаются к источникам света, направляют свет на большие расстояния с небольшими потерями и распределяют свет одновременно по нескольким наночастицам [6].

Фотовозбуждение плазмонов в металле значительно улучшает характеристики материалов с включенными наночастицами серебра. ЛППР наночастиц Ag@SiO_2 может в 5-6 раз увеличивать интенсивность люминесценции углеродных точек [82]. Фотоотклик гетероструктурного устройства $\text{Ag-WS}_2/\text{Si}$ усиливается за счет плазмонного улучшения [83]. Вопрос зависимости плазмонного резонанса в наночастицах от их размера исследуется и обсуждается несколько десятилетий [43–45].

1.3.6. Наночастицы серебра в фотовольтаике

В последние годы фотоэлектрическая промышленность вызывает большой интерес ввиду растущих цен на ископаемое топливо. Также привлекает возможность использования солнечной энергии для производства электрической в местах, в которых преобладают ясные солнечные дни и где затруднено производство электроэнергии другими методами. Материалы из полимеров с включением металлов можно определить как гибридные фотоэлектрические устройства. Металлы улучшают некоторые характеристики фотогальванических устройств, такие как поглощение света, подвижность носителей заряда, а также химическую и физическую стабильность. Было показано, что наночастицы серебра выступают в качестве акцептора электронов в гибридных фотоэлектрических устройствах, что обеспечивает электропроводность этих устройств. Формирование тонкого слоя серебра на катоде и толстого слоя на аноде в органических фотоэлектрических устройствах увеличивает пропускание света от полупрозрачного катода, а также препятствует образованию островков серебра, тем самым улучшая стабильность устройства [84].

1.4. Биологическое действие серебра

Механизмы, посредством которых серебро оказывает свое токсическое действие на бактерии, грибы, простейшие и раковые клетки, довольно сложны и стали проясняться сравнительно недавно. Они зависят как от формы существования серебра, так и от его клеточной мишени. Основную роль в антибактериальном действии играют ионы серебра Ag^+ . Металлическое серебро, наночастицы и малорастворимые соли высвобождают ионы серебра при контакте

с водой. Катион серебра представляет собой мягкую кислоту Льюиса, имеющую сродство к таким биогенным элементам как сера и азот. Таким образом, у серебра есть много возможностей нарушить биохимические процессы, реагируя с этими элементами.

1.4.1. Антибактериальное действие

Цитотоксические механизмы ионов серебра для бактерий основаны на ряде вызываемых ими повреждений и нарушений [14]:

1. Нарушение ионного обмена: ионы Ag^+ ингибируют поглощение и обмен фосфат - аниона бактериальными клетками, вызывая его накопление. Это способствует высвобождению катионов K^+ и блокированию движения протонов через цитоплазматическую мембрану, что в итоге приводит к гибели клеток.

2. Комплексообразование с ДНК и РНК: ионы Ag^+ способны нарушать репликацию клеток путем связывания нуклеиновых кислот (в отличие от фосфатной части).

3. Инактивация ферментов и денатурация белков: ионы Ag^+ взаимодействуют с пептидами и белками, образуя комплексы с их донорными группами, в основном с тиоловыми и фосфатными фрагментами, а также с карбоксилатными, гидроксильными, амино -, имидазольными и индольными. Такое связывание может изменить структуру белка или фермента, вызывая нарушение его функции, особенно при ферментативном окислении фумарата, глицерина, глюкозы и сукцината. Более того, серебро эффективно связывается с восстановленным глутатионом. Наконец, серебро может разрушать кластеры железа и серы.

4. Сокращение и разрушение клеточных и митохондриальных мембран: взаимодействие между серебром и клеточными стенками может привести к

структурным модификациям мембран. Ионы Ag^+ способны координировать тиоловые группы белков и ферментов, находящихся на клеточной поверхности, вызывая дестабилизацию клеточной мембраны и нарушение процессов синтеза АТФ. Электростатическое притяжение между положительно заряженными Ag^+ и отрицательно заряженными клеточными мембранами бактерий приводит к связыванию катиона с фосфолипидным бислоем и вызывает массивную утечку протонов. Ионы Ag^+ также могут нарушать целостность и проницаемость цитоплазматической мембраны, удаляя электрон из клеточных компонентов и ферментов. Кроме того, серебро способно разрушать митохондриальный гомеостаз путём деполяризации мембран.

5. Жизнеспособные, но не культивируемые клетки: воздействие ионов серебра приводит к тому, что микроорганизмы впадают в состояние очень низкой метаболической активности и остановке деления. Ввиду того, что клетки не способны дышать в обычном темпе, нарушения обмена питательных веществ, нарушения транспорта и синтеза макромолекул, они уменьшаются в размерах и не способны размножаться. Данное состояние может продолжаться несколько месяцев, не сразу приводя к гибели.

6. Эффект «зомби»: при контакте погибших от воздействия серебра бактерий с жизнеспособными может произойти гибель последних. Мертвые бактерии, интернализовав ионы Ag^+ , выступают в качестве резервуара. В дальнейшем они способны передавать ионы серебра живым бактериям.

Важно отметить, что ионы серебра будут реагировать с образованием малорастворимых солей, которые выпадают в осадок, а также будут вступать в комплексообразование с белками и другими биомолекулами, если их высвобождение происходит в естественных средах. Такими средами являются любые биологические среды, такие как кровь, среда для культивирования клеток или природная вода. Таким образом, кривые выделения ионов, которые обычно измеряются в дистиллированной воде, не могут быть перенесены в биологические среды с более сложным составом.

Наночастицы серебра проявляют высокую антибактериальную активность. В некоторых случаях, она более высокая по сравнению с солями и комплексами серебра ввиду разных причин [85]. Во-первых, наночастицы серебра имеют чрезвычайно большую удельную площадь поверхности, поэтому они лучше контактируют с поверхностью бактерий. При адгезии к стенке мембраны наночастицы вызывают ее деполяризацию с последующей потерей целостности, что, в свою очередь, приводит к нарушению транспорта, прерыванию передачи энергии, дисбалансу дыхания, утечке содержимого и, наконец, к лизису и гибели клеток. Более того, серебро может проникать через отверстия в мембране и взаимодействовать с серосодержащими внутриклеточными компонентами, такими как белки и ферменты. Во-вторых, наночастицы выступают в качестве резервуара ионов Ag^+ : при постепенном окислении атомов серебра непрерывно высвобождаются биологически активные частицы, что обеспечивает постоянный поток катионов серебра, которые могут более эффективно атаковать бактериальные цели в течение длительного периода времени.

Однако само по себе высвобождение ионов серебра не может объяснить высокую антибактериальную активность наночастиц по сравнению с другими формами существования серебра. Вполне логично, что при условии пролонгированного действия происходит долговременное высвобождение ионов, и, в зависимости от среды, стабилизатора наночастиц, на единицу времени приходится определенное количество активных ионов в среде, а не все сразу, как в случае использования раствора ионов серебра. В качестве объяснения было предложено образование АФК, в частности, как механизм, катализируемый окислением серебра наподобие реакции Фентона. АФК в форме радикалов, таких как синглетный кислород ($^1O_2^*$), могут образовываться в клеточной мембране, вызывая тем самым окислительный стресс и нарушения вследствие ряда процессов, таких как пероксидное окисление липидов и денатурация белков, ингибирование ферментов (особенно АТФ-азы), нарушения и мутации РНК и ДНК, приводящие к необратимому повреждению механизмов репликации ДНК, которые, как следствие, нарушают деление клеток и метаболические процессы.

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод о том, что противомикробное действие наночастиц серебра, помимо действия ионов Ag^+ , высвобождаемых из наночастиц в результате окислительного растворения последних, заключается в следующих механизмах [86]:

1. Адгезия наночастиц на поверхности клетки и разрыв мембраны.
2. Интернализация наночастиц и нарушение внутриклеточных органелл (митохондрий, вакуолей, рибосом) и биомолекул (белков, ферментов, липидов и ДНК).
3. Индукция окислительного стресса АФК и свободными радикалами.

Учитывая сложность и комплексность таких механизмов, можно заключить, что антимикробная активность ионов и наночастиц серебра вряд ли может привести к развитию резистентности у бактерий по отношению к серебру, что подтверждается исследованиями [87]. Это отличает серебро от классических антибиотиков, ко многим из которых бактерии обладают резистентностью.

Наночастицы серебра демонстрируют свою активность против внушительного числа бактерий как грамположительных, так и грамотрицательных видов. Было установлено, что наночастицы эффективны против полирезистентных штаммов и биопленок [41,88]. При этом важнейшими факторами, влияющими на антибактериальную активность наночастиц серебра, являются их размер, форма, тип стабилизатора, заряд поверхности и т.д. Как указывалось выше, в различных средах наночастицы будут вести себя по-разному, что необходимо учитывать при работе с ними.

1.4.2. Противовирусное действие

Наночастицы серебра обладают противовирусными свойствами. Например, они действуют против таких вирусов, как ВИЧ-1 (HIV-1), вируса простого герпеса типа 1, вируса гепатита В (HBV), вируса Такарибе (TCRV), вируса оспы обезьян, норовируса мышей (MNV)-1, рекомбинантного респираторно-синцитиального вируса (RSV) и вируса гриппа А/Н1N1 [89]. Предполагается, что наночастицы ингибируют связывание вируса и предотвращают их проникновение в клетки хозяина, что приводит к потере инфекционности [90]. В исследовании [91] была оценена возможность применения наночастиц серебра для борьбы с коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2. Было установлено, что частицы диаметром ~10 нм ингибировали внеклеточный SARS-CoV-2 при концентрациях в диапазоне 1-10 мг л⁻¹.

1.4.3. Воздействие на млекопитающих и рыб

Исследования токсичности наночастиц серебра *in vivo* проводились на многих видах, включая наземных беспозвоночных, позвоночных и водных организмов. Согласно опубликованным исследованиям, наночастицы серебра накапливаются в органах-мишенях животных, вызывая дисфункцию клеток, воспаление, повреждение ДНК и гибель животных [92].

Печень является одним из основных органов-мишеней для наночастиц серебра. Ввиду того, что удаление частиц из печени происходит за счёт фагоцитарных клеток Купфера, наночастицы серебра накапливаются в основном в них [93]. Накопление в печени может вызывать ряд негативных эффектов, таких

как образование АФК, патологические изменения морфологии печени и активности ферментов [94].

Наночастицы серебра могут вызывать дефекты спинного мозга, сердца и глаз у рыб. В исследовании [95] было показано, что наночастицы серебра были распределены в головном мозге, сердце, желтке и крови эмбрионов рыбок данио. Кроме того, окрашивание акридиновым оранжевым показало повышенный апоптоз в эмбрионах, обработанных наночастицами. В исследовании [96] было обнаружено, что скорость вылупления эмбрионов рыбок данио снижается в группах, подвергшихся воздействию наночастиц серебра. Кроме того, у личинок рыбок данио были обнаружены аномальная хорда, слабое сердцебиение, поврежденные глаза и изогнутый хвост. В работе [97] на примере эмбрионов рыбок данио было показано, что токсическое действие наночастиц серебра в водных системах тесно связано с характеристиками частиц. На токсичность могут влиять не только размер, но и другие факторы, такие как характеристики поверхности частицы и их форма. Наночастицы оказались более токсичными по сравнению с ионами Ag^+ , при этом из наночастиц более токсичными оказались нанопластины. Авторы предполагают, что нанопластинки серебра содержат больше реакционноспособных атомов на поверхности. Согласно эффекту Гиббса–Томсона угловые атомы в треугольных нанопризмах менее стабильны и, следовательно, более химически активны, чем атомы на гранях. В отличие от сферических наночастиц, анизотропные частицы обладают избыточной поверхностной энергией и обычно существуют в квазистабильном состоянии.

1.4.4. Воздействие на организм человека

Наночастицы серебра могут попасть в организм человека при вдыхании, кожном контакте и проглатывании. Из-за сильного сродства серебра к

окислительно-восстановительным и защитным тиоловым группам, биодоступность наносеребра из продуктов, содержащих наночастицы, может быть увеличена в физиологических условиях [98]. Дополнительными путями попадания в организм человека могут являться женский половой тракт (ввиду включения наночастиц серебра в женские гигиенические материалы), преднамеренное введение наночастиц серебра для терапевтических или визуализирующих целей, включение в медицинские имплантаты, катетеры и раневые повязки. Механизмы поступления наночастиц внутрь клетки различаются в зависимости от типа клетки. Наночастицы поглощаются клетками млекопитающих с помощью механизмов пиноцитоза, эндоцитоза и фагоцитоза.

Абсорбированные наночастицы серебра распределяются по внутренним органам человека, таким как дерма, органы дыхания, селезенка, пищеварительная, мочевыделительная, нервная, иммунная и репродуктивная системы, и в небольшом количестве в зубах и костях [99]. Наночастицы серебра небольшого размера легко проникают в организм и преодолевают биологические барьеры, такие как гематоэнцефалический барьер и гемато-тестикулярный барьер, и впоследствии вызывают потенциальную цитотоксичность. Помимо непосредственно экспонированных тканей, наночастицы серебра также могут транспортироваться в различные органы через кровообращение. Следовательно, неспецифическое распределение может вызывать цитотоксическое действие, например, на кожу, глаза, репродуктивную систему. В исследовании [100] было показано, что цитотоксичность обусловлена химической трансформацией наночастиц серебра, т.е. Ag^0 трансформировался в Ag^+ , $Ag-O-$ и $Ag-S-$, что могло вызвать клеточные биохимические изменения.

Многочисленные исследования *in vitro* показали, что наночастицы серебра воздействуют на клетки человека [101]. Однако стоит отметить, что концентрации, приводящие к негативным последствиям для здоровья человека, имеют значения на порядок выше, чем летальные дозы для вирусов и бактерий. Учитывая крайне низкое фоновое содержание серебра в природе, а также низкие дозы, требуемые

для достижения антисептического и других полезных эффектов, достигаемых при использовании наноразмерного серебра, можно заключить, что непостоянное и разумное использование материалов с включением наночастиц серебра не приведет к серьезному вреду для здоровья человека.

1.5. Формы существования наночастиц серебра в окружающей среде

1.5.1. Источники попадания в окружающую среду

Серебро может попадать в окружающую среду как в результате деятельности человека, так и в результате естественных причин. Наночастицы серебра были обнаружены в природных водах, располагающихся вблизи рудных месторождений и угольных шахт. Распространенным процессом является восстановление ионов серебра различными компонентами, также присутствующими в окружающей среде. Основные антропогенные источники поступления связаны со смывом наночастиц серебра из материалов, которые содержат их в своем составе.

В процессе производства и использования наночастиц серебра, некоторая часть из них неизбежно попадает в окружающую среду. В исследовании [102] было подсчитано, что около 2% ат. производимых наночастиц попадает в окружающую среду при производственном процессе. Процесс синтеза часто включает несколько стадий, включая смешивание реагентов, центрифугирование и фильтрацию для удаления примесей и т.д. Сточные воды с производства могут напрямую сбрасываться в природные системы.

Как было указано выше, наночастицы серебра широко применяются в повседневной жизни. Например, они добавляются в дезинфицирующие спреи, краски для наружных работ, противомикробные материалы и текстиль, медицинские аксессуары. Стирка, механическое истирание и старение материала

могут привести к их высвобождению в окружающую среду. Количество высвобождаемого серебра зависит от срока службы и интенсивности использования материалов, а также способа соединения с материалом. Как правило, наночастицы серебра включенные в жидкие материалы, такие как дезинфицирующие средства, легче попадают в окружающую среду, в то время как наночастицы серебра, включенные в твердую матрицу, такую как текстиль и медицинские аксессуары, высвобождаются значительно медленнее. В исследовании [103] было показано, что краски для наружных фасадов, содержащие наночастицы серебра, теряют около 30% серебра в течение первого года. Методом ПЭМ было обнаружено значительное количество наночастиц в пробах из стоков, находящихся в непосредственной близости. Особое внимание следует обращать на возможность попадания Ag-НЧ в окружающую среду при утилизации или использовании неочищенного осадка из очистных сооружений. Такие осадки могут использоваться в качестве удобрений, что неизбежно опять приведет к попаданию серебра в окружающую среду [104].

Утилизация товаров, содержащих наночастицы серебра, их сжигание или захоронение, оседание Ag-НЧ из воздуха, использование осадка сточных вод в качестве удобрения неизбежно приводит к попаданию наночастиц серебра в почву. Дальнейшее их поведение определяется размером наночастиц, типом стабилизатора, почвенной средой и другими переменными. Ag-НЧ также могут адсорбировать органические загрязнители и выступать в качестве переносчиков загрязняющих веществ. Поскольку поверхность наночастиц модифицируется стабилизаторами и обладает поверхностным зарядом, электростатическое взаимодействие с различными типами почвы изменяет их подвижность. Например, наночастицы серебра, стабилизированные цитрат-ионами, имеют отрицательно заряженную поверхность. При миграции Ag-НЧ в почве, в составе которой имеются катионы, силы притяжения могут препятствовать подвижности наночастиц серебра, и наоборот. Также установлено, что наночастицы эффективно адсорбируются на частицах почвы [105].

1.5.2. Агрегация и растворение наночастиц серебра

В компонентах окружающей среды с наночастицами серебра могут происходить следующие процессы: они могут сохранять свою агрегативную и седиментационную устойчивость, оставаясь во взвешенном состоянии; агрегировать или образовывать агломераты; растворяться или реагировать с другими соединениями, присутствующими в окружающей среде [8]. Состояние, которое наночастицы серебра принимают при попадании в окружающую среду, представляет интерес, поскольку их дальнейшие свойства обуславливаются этим состоянием.

Одной из основных причин экологической опасности наночастиц серебра является выделение ими токсичных ионов Ag^+ [106]. В водных аэрированных растворах Ag-НЧ окисляются с высвобождением ионов Ag^+ в водную среду [107]. На процесс растворения Ag-НЧ заметно влияют ионная сила, рН среды, концентрация растворенного кислорода, температура, комплексообразующие лиганды (органическое вещество, сульфат- и хлорид-ионы), состояние поверхности частицы и её покрытие, форма и размер.

Термодинамически серебро неустойчиво в водной среде, и в присутствии кислорода воздуха происходит его окислительное растворение [108]. В отсутствие воздуха растворения наночастиц серебра и высвобождения ионов в раствор не происходит [106,107,109,110]. Таким образом, при отсутствии кинетических ограничений можно ожидать, что Ag-НЧ, выпущенные в кислородсодержащую среду, будут полностью растворяться. Однако различные факторы, такие как химический состав воды или процессы пассивации поверхности, могут влиять на кинетику общего высвобождения Ag^+ . Следовательно, скорость растворения Ag-НЧ может быть медленной и приводить к сохранению Ag-НЧ в окружающей среде. Окислительное растворение наночастиц может продолжаться в течение длительного времени, но в конечном итоге концентрация ионов Ag^+

стабилизируется и остается постоянной. Эту устойчивость гидрозоля можно связывать с образованием на поверхности AgOH или Ag₂O. Однако относительно высокая растворимость этих соединений не свидетельствует в пользу этого. Эти оксиды возникают на сухой поверхности серебра, но быстро растворяются при помещении их в воду [111].

Окисление наночастиц серебра в воде осуществляется через стадию образования оксида [107]. На аноде атомы серебра наночастиц отдают электроны, а ионы формируют фазу оксида (здесь и далее значения стандартных электродных потенциалов даются по ссылке [112]):



На катоде избыточные электроны взаимодействуют с растворенным кислородом, восстанавливая его:



Неокисленная поверхность серебра не является источником высвобождения ионов Ag⁺ [107]. Они возникают при растворении образовавшегося оксида серебра



Согласно исследованию [111], ионы Ag⁺ высвобождаются в раствор при растворении одного или двух окисленных монослоев с поверхности наночастиц.

Эффективность растворения зависит от величины электродвижущей силы (ΔE^0). ΔE^0 реакции окисления серебра будет равна разности стандартных потенциалов реакций (2) и (1), т.е. $\Delta E^0 = (E^0_2 - E^0_1) = (0.401 \text{ В} - 0.342 \text{ В}) = 0.059 \text{ В}$. Положительное значение ΔE^0 указывает на то, что предпочтительным в окислительно-восстановительном процессе оказывается окисление металла, что реально и происходит. Чем больше ΔE^0 , тем с большей скоростью протекает реакция окисления серебра.

Растворение серебра усиливается с уменьшением величины pH [113]. Размер частиц также сильно влияет на высвобождение Ag⁺: частицы меньшего размера высвобождают больше Ag⁺ [109]. Авторы исследования объясняют это более

высоким поверхностным натяжением для малых частиц, что обуславливает повышенную концентрацию вещества в водной фазе. Однако такое объяснение требует наличия равновесной реакции, которая не была установлена.

Модифицирование наночастиц серебра в водных системах зависит от комплекса факторов: содержание органического вещества, концентрация лигандов, значение pH и ионная сила. Серебро может существовать в различных степенях окисления; Ag^0 (металлическое серебро), Ag^+ , Ag^{2+} и Ag^{3+} , при этом первые две формы из которых наиболее распространены, а последние две нестабильны в водной среде [114]. Хотя реакционная способность серебра в металлической форме Ag^0 низкая, ионы Ag^+ связываются с отрицательно заряженными лигандами или ионами (например, сульфидами и хлоридами), присутствующими в окружающей среде. Растворение наночастиц включает стадию окисления от Ag^0 до Ag^+ . В свою очередь, на протекание данного процесса влияют размеры частиц, их концентрация, температура, концентрация растворенного кислорода, значение pH, наличие лигандов и ионная сила. Установлено, что высокие температуры увеличивают степень растворения наночастиц серебра [115]. Установлено, что скорость их растворения снижается в щелочных водах. Присутствие лигандов может влиять на растворение. В исследовании [116] было обнаружено, что увеличение растворения наночастиц происходило в присутствии цистеина, в то время как на растворение не оказывало существенного влияния присутствие хлорид-ионов и фульвокислот.

Наночастицы серебра меньшего размера обладают более высокой растворимостью по сравнению с более крупными [109]. Было установлено, что агрегация частиц уменьшает площадь поверхности и, следовательно, замедляет скорость растворения, при этом растворение прекращается, когда размер частиц становится достаточно большим. При высоких концентрациях наночастиц происходит замедления их растворения. Предполагается, что это происходит по причине быстрой агрегации, что, как было указано выше, препятствует растворению. В работе [106] сообщается, что степени растворения наночастиц

серебра (C/C_0) спустя 80 суток инкубации в воде соответствовали следующему порядку в зависимости от размера: 6 нм > 9 нм > 13 нм > 70 нм (20.9%, 7.4%, 2.3% и практически 0%, соответственно). Аналогичная зависимость растворимости от размера наблюдалась в работе [109] для наночастиц: 5 нм > 8 нм > 25-38 нм. Однако, для массивного металла (тонкой пластины серебра) растворимость была равной 0.009 мг л^{-1} . Можно было ожидать, что аналогичный «размерный» эффект будет наблюдаться и при агрегации наночастиц, приводящей к их «укрупнению». Этот вывод подтверждается данными работы [117] в которой показано, что анодное окисление серебра на уровне отдельных наночастиц приводит к их агрегации на золотых микроэлектродах.

Модификация поверхности также влияет на растворение частиц. Было обнаружено, что покрытые цитратом частицы обладают более высокой скоростью растворения, чем частицы, покрытые поливинилпирролидоном (ПВП), как в пресной, так и в морской воде. В работе [76] показано, что стерический (в качестве стабилизатора использовался ПВП) и электростерический (в качестве стабилизатора использовался $C_{20}H_{22}N_4O$ – 3-метокси-7Н-8-метил-11-[(3'-амино)пропиламино]-бензо[е]пиридо[4,3-в]индол (БеПИ)) механизмы стабилизации обеспечивают более высокую агрегативную устойчивость по сравнению с электростатическим. В исследовании [118] это было подтверждено: стабилизация наночастиц серебра по стерическому механизму ($C_{32}H_{60}O_{10}$ – TWEEN-80) повышает устойчивость и уменьшает растворение по сравнению с отрицательно заряженными нестабилизированными частицами или частицами, модифицированными электростатическим стабилизирующим агентом (цитрат).

Важную роль в поведении наночастиц серебра играет состав среды, в которой находятся наночастицы [8]. Так, большие концентрации электролитов увеличивают ионную силу раствора, что приводит к увеличению агрегации. Особенно сильно на этот процесс влияют двухвалентные ионы кальция Ca^{2+} и магния Mg^{2+} . Соединения, с которыми ионы Ag^+ образуют малорастворимые соединения и/или прочные комплексы (ионы OH^- , Cl^- , Br^- , I^- , S^{2-} и другие),

ускоряют растворение. Присутствие инертных солей повышает ионную силу раствора и ускоряет растворение. Присутствие растворенного органического вещества, наоборот, ингибирует агрегацию наночастиц. Было показано, что при увеличении концентрации растворенного кислорода в воде увеличивается скорость агрегации. Кислотность среды увеличивает агрегацию и растворение наночастиц серебра, стабилизированных по электростатическому механизму, в то время как на стерически (ПВП) стабилизированные частицы этот показатель не влияет. Возможность осаждения частиц увеличивается с увеличением их размеров, в том числе при агломерации.

Растворенные ионы Ag^+ могут вступать в реакции с лигандами, присутствующими в окружающей среде. Основными образующимися видами серебра являются: AgCl , Ag_2S , Ag_2O и комплексы серебра (I) [115]. В донных отложениях на небольшой глубине (1–2 метра) пресных водоемов, где в основном присутствует растворенный кислород и отсутствуют сульфиды, серебро вступает в реакцию с органическим материалом, в то время как в отложениях на большей глубине серебро образует прочные комплексы с сульфидами ввиду отсутствия кислорода. Ионы серебра обладают сродством к тиоловым группам ($-\text{SH}$), ввиду чего реагируют с ними. Также установлено, что ионы серебра могут сорбироваться на взвешенных частицах, присутствующих в природных водах.

В водах с высоким содержанием солей, например, в морских, наночастицы с большей вероятностью агломерируют или агрегируют, что приводит к их опусканию на дно. Однако, неизвестно, происходит ли их накопление в термоклине. В эстуариях рек, в области с низкой соленостью, образуются нейтральные химические соединения, такие как AgCl и AgHS , при этом растворение наночастиц происходит медленно. С увеличением солености по направлению к океану или морю растворение наночастиц увеличивается, что приводит к большему высвобождению Ag^+ ; среди форм серебра преобладающими становятся хлориды серебра и тиол-серебряные комплексы [119].

1.5.3. Восстановление растворенных ионов в водной среде

В различных компонентах окружающей среды повсеместно присутствует природное органическое вещество (ПОВ), представляющее собой гетерогенную смесь макромолекул, полученных из остатков организмов. Известно, что ПОВ участвует в окислительно-восстановительных реакциях и играет важную роль в восстановлении, например, Fe^{3+} и Hg^{2+} . В последние годы было обнаружено, что ПОВ также может восстанавливать ионы Ag^+ до элементного серебра Ag^0 с образованием наночастиц [120]. Фульвокислоты могут восстанавливать Ag^+ при повышенных температурах. Гуминовые кислоты также эффективнее восстанавливают Ag^+ при повышении температуры. Содержание ПОВ также может опосредованно влиять на восстановление Ag^+ при протекании окислительно-восстановительных реакций с другими металлами. Например, при содержании ионов железа Fe^{2+} или Fe^{3+} , Ag^+ и ПОВ, может происходить восстановление Fe^{3+} до Fe^{2+} (реакция 4), и затем Fe^{2+} могут восстанавливать Ag^+ до Ag^0 (реакция 5) [120]:



В данном процессе ионы $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ выступают в качестве носителей электрона, катализируя перенос электрона от ПОВ к Ag^+ . Ввиду широкого распространения как $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, так и ПОВ, этот процесс может иметь большое влияние на формирование наночастиц серебра в окружающей среде.

Солнечный свет играет важную роль в образовании и дальнейшей трансформации наночастиц серебра. Так, в исследовании [113] было показано, что в присутствии гуминовых кислот и при воздействии естественного солнечного света в речной воде образуются наночастицы серебра, однако, при отсутствии любого из этих компонентов образования не происходит. При этом, наночастицы дольше сохраняли свою агрегативную устойчивость в отсутствие света, а при дальнейшем облучении происходила их агрегация. В этом же исследовании

показано, что формирование наночастиц происходит быстрее при высоких значениях pH, т.е. в щелочной среде. Также был проведен эксперимент с диализированной водой, в отсутствие неорганических ионов, таких как Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , и SO_4^{2-} . Установлено, что в диализированной воде образуются наночастицы значительно меньшего размера (~80 нм), по сравнению с недиализированной (~400 нм). Авторы предполагают, что в качестве восстанавливающего агента выступает фенольная группа гуминовых кислот. Процесс может протекать по двум основным механизмам: 1) прямой перенос заряда с фенольной группы на ион металла в комплексе фенол-ион металла; 2) растворенный кислород реагирует с фенольной группой с образованием свободного радикала - супероксидного аниона $\text{O}_2^{\bullet-}$, который восстанавливает ионы металлов. Было обнаружено, что растворенный кислород значительно увеличивает восстановительное образование наночастиц серебра, что, в свою очередь, указывает на основную роль $\text{O}_2^{\bullet-}$ в фотовосстановлении Ag^+ .

Образование наночастиц серебра может протекать в результате биологических процессов. Так, в растениях в качестве восстановителя Ag^+ может выступать хлоропласт, содержащийся в листьях [121]. Также роль восстановителя могут играть оксидоредуктазы, что подтверждается локализацией наночастиц серебра в периферической цитоплазме, где располагаются пути транспорта аденозинтрифосфата и связанных с его синтезом ферментов [122]. Снижение скорости формирования наночастиц в растениях с низким содержанием белков также подтверждает это предположение.

При абсорбции клеточными стенками ионов Ag^+ возможно их восстановление с образованием наночастиц серебра [121]. Например, в работе [123] было показано, что в результате инкубации клеток почвенной бактерии *Pseudomonas stutzeri* с ионами Ag^+ между клеточной стенкой и плазматической мембраной происходит формирование наночастиц различных форм.

Механизмами биологического восстановления ионов Ag^+ являются следующие:

- Цистеин в составе белка в качестве восстановителя [121]: белок, содержащий аминокислоту с S-H-связями, играет ключевую роль в процессе восстановления. В результате дегидрирования цистеина при реакции с мягким окислителем Ag^+ происходит образование наночастиц. β -углерод в цистеине теряет один водородный радикал и один электрон в согласованном или двух последовательных процессах и восстанавливает ионы Ag^+ . При этом фрагмент CH_2 , примыкающий к функциональной группе S-H, теряется, а затем α -углерод теряет один водород с образованием связи α - β C=C.

- Сахар как восстанавливающий агент [124]: Методом Фурье-спектроскопии было показано, что свободная альдегидная группа в восстанавливающих сахарах (глюкозе) может быть окислена до карбоксильной группы ионами Ag^+ . Предполагается, что аналогичная реакция окисления может также происходить в восстанавливающих сахарах из гидролизатов полисахаридов в биомассе при контакте с Ag^+ . При этом полисахариды клеточной стенки играют ведущую роль в качестве донора электронов для восстановления Ag^+ до Ag^0 . Этим механизмом можно объяснить зависимость скорости восстановления Ag^+ бактериями от значения pH. При увеличении значения pH будет происходить раскрытие моносакхаридного кольца, что приведет к образованию альдегида с открытой цепью, что, в свою очередь, облегчает восстановление Ag^+ .

- Восстановление, опосредованное ферментами [125]. Предполагается, что среди ферментов основную роль в синтезе наночастиц серебра играет нитратредуктаза, в основном за счет конъюгации переносчика электронов с ее участием.

- Восстановление свободными радикалами. Многие микроорганизмы способны продуцировать внеклеточный супероксид [126], который может инициировать окислительно-восстановительные реакции с участием различных металлов, в том числе и серебра. Таким образом, микроорганизмы, продуцирующие внеклеточный супероксид, также могут восстанавливать ионы

Ag^+ с образованием наночастиц, хотя на данный момент имеется небольшое количество исследований, подтверждающих это.

Заключение

Увеличивающееся с каждым годом производство и потребление товаров с включением наночастиц серебра неизбежно приводит к попаданию этого токсичного металла в различных химических формах в компоненты окружающей среды. При попадании серебра в виде ионов Ag^+ в водную среду, при определенных условиях возможно их восстановление с образованием наночастиц серебра. При попадании серебра в виде наночастиц возможна их агломерация и, в конечном итоге, выпадение в осадок в донные отложения. Однако наиболее вероятным оказывается окислительное растворение с образованием токсичных ионов Ag^+ [106,108,109,116,118]. Необходимо учитывать, что наночастицы представляют собой сложные структурные химические нанообъекты, включающие металлическое ядро и внешнюю сферу с молекулами стабилизатора и разнообразными ионами. Они имеют различные размеры и формы, морфологию и т.д. Таким образом, перенос и состояние наночастиц серебра в компонентах окружающей среды достаточно разнообразны и сложно предсказуемы.

Известно, что наночастицы серебра, с одной стороны, обладают антибактериальными свойствами, благодаря чему находят применение в качестве противомикробного агента [21,58,59], а, с другой стороны, при их неконтролируемом попадании в компоненты окружающей среды, обладание теми же свойствами оборачивается негативным воздействием на микрофлору, млекопитающих, рыб и растения [8,73]. Воздействие наночастиц и ионов серебра на микрофлору является предметом многих научных исследований. Однако чаще

всего исследования осложнены присутствием токсичных восстановителей, стабилизаторов и продуктами их разложения. Также ввиду различных свойств наночастиц, таких как форма, размер, наличие стабилизатора, модифицирующего поверхность частиц и снижающего их биологическую доступность, сложно обобщить эти данные и определить роль непосредственно самих наночастиц. Эти вопросы можно решить использованием гидрозоля серебра, который по своему составу отвечал бы составу природной пресной воды и не содержал бы примесей, сопутствующих их получению и стабилизации.

Важным фактором, влияющим на токсичность наночастиц серебра, является их растворение и, как следствие, образование ионов Ag^+ . В настоящее время опубликованы многочисленные данные о растворении наночастиц серебра в воде и высвобождении токсичных ионов Ag^+ в окружающую среду. Тем не менее, различные методы синтеза, присутствие в гидрозолях восстановителей, стабилизирующих агентов и продуктов их разложения, разные значения pH и ионной силы, а также различия в экспериментальных условиях изучения растворимости, концентрации кислорода, типа буфера и многое другое затрудняет установление основных закономерностей процесса и его связи с условиями среды. Неясно, какие свойства наночастиц и раствора контролируют растворение серебра. На вопрос о механизме влияния размера НЧ на растворение, один из наиболее интересных и важных в практическом отношении, нельзя с достаточной определенностью ответить из-за различия природы этих частиц и, к сожалению, достаточно узкого набора частиц разного размера. В экспериментах не всегда используются среды, отвечающие условиям реальной природной пресной воды, преимущественно содержащей карбонат-ионы. Поэтому, несмотря на заметный прогресс в изучении растворимости наночастиц серебра в воде, многие вопросы, к сожалению, все еще остаются без ответа и предполагают необходимость дальнейших исследований в этой области.

Таким образом, для комплексного анализа воздействия наночастиц серебра на микрофлору необходимо разработать метод получения гидрозоля серебра,

который по своему составу был бы близок составу природных вод, затем исследовать кинетику растворения наночастиц и поведение в различных природных водах, и, в конечном итоге, установить значения концентраций серебряного гидрозоля, при которых ингибируется рост грамположительных и грамотрицательных бактериальных клеток.

ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1. Реактивы и растворитель

Моногидрат перхлората серебра ($\text{AgClO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 99%, Sigma-Aldrich, США) и моногидрат оксалата калия ($\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 99.9%, ос.ч., Реахим, Россия) использовались для приготовления гидрозоля серебра.

Нитрат аммония (NH_4NO_3 , 99%, х.ч.), гидрокарбонат натрия (NaHCO_3 , 99%, х.ч.), нитрат натрия (NaNO_3 , 99%, х.ч.), глюкоза ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, 99%, х.ч.), произведенные фирмой ЛенРеактив, Россия, дрожжевой экстракт (99%, х.ч., Научно-исследовательский центр фармакотерапии, Россия) и пептон (99%, х.ч., Порт Петровск, Россия) были использованы для приготовления жидкой питательной среды.

Все растворы реагентов и питательные среды были приготовлены на бидистиллированной деионизированной воде. Деионизация воды была проведена на установке «Водолей» с контролем проводимости деионизированной воды. Очистка воды (деионизация) в приборе «Водолей» производилась путем пропускания ее через композицию деионизационных смол и сорбентов. Удельная электропроводность деионизированной воды не превышала $0.20 \text{ мкСм см}^{-1}$, $\text{pH} = 6.3-7.2$.

2.2. Синтез и методы исследования гидрозоля серебра

2.2.1. Метод синтеза гидрозоля серебра

Получение чистого гидрозоля серебра, содержащего только наночастицы и карбонат-ионы, достигалось путем облучения УФ-излучением смеси растворов

перхлората серебра AgClO_4 (источник ионов серебра) и оксалата калия $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (источник оксалат-ионов). Концентрации реагентов составляли: $\text{AgClO}_4 (1-3) \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 (2-5) \times 10^{-4}$ моль л^{-1} . Облучение проводили в специальной ячейке, снабженной кварцевой кюветой с длиной оптического пути 5 и 10 мм. Объем кюветы составляет 2 и 4 мл, соответственно. При использовании указанных соединений получаемый чистый гидрозоль серебра содержит помимо карбонат-ионов также малотоксичные ионы K^+ и ClO_4^- .

Приготовляли два типа гидрозоля: на воздухе и вакуумированный.

Вакуумированный. Для достижения вакуума в ячейке она присоединялась к насосу, при помощи которого в течение 2-3 минут откачивался воздух. Использовался вакуумный пластинчато-роторный насос НВР-4,5Д «Вакма» с остаточным давлением $P_{\text{ост}} = 2$ Па, оснащённый азотной ловушкой для охлаждения паров и газов, поступающих в насос, конденсации водяных паров воды для предотвращения их проникновения в насос. После этого раствор облучался УФ-излучением 10-13 раз по 9 секунд каждый (в сумме время облучения составило ~90-130 секунд) до полного восстановления ионов серебра. Интервал между облучением – 2 минуты. Во время промежутка между облучением проводили измерение спектра оптического поглощения для исследования кинетики формирования гидрозоля.

На воздухе. Для восстановления ионов серебра до наночастиц на воздухе было необходимо большее время. Это объясняется наличием в воздухе кислорода, который окислял наночастицы, вследствие чего процесс происходил намного дольше. Облучение проводили 7-10 раз по 60 секунд с интервалом 2 минуты, суммарное время облучения составило ~480-600 секунд.

2.2.2. Источник УФ-излучения

В качестве источника УФ-излучения была использована импульсная установка «Альфа-05» с ультрафиолетовой ксеноновой лампой сплошного спектра и большой мощности. Установка произведена на научно-производственном предприятии «Мелитта». Суммарная интенсивность потока $I_{УФ} = 6.0 \times 10^{20}$ квант $\text{с}^{-1} = 1.0 \times 10^{-3}$ эйнштейн с^{-1} . Световой поток ксеноновой лампы охватывает весь диапазон УФ и видимой части света, и он наиболее близок к спектру солнечного света на высоте до 1000 м над уровнем моря.

Установка и расположение сосуда с облучаемым раствором представлены на рисунке 2. Интенсивность светового потока, проходящего через раствор, зависит от расположения сосуда относительно источника света. Для точечного источника интенсивность освещения поверхности сферы, в центре которой находится источник, обратно пропорциональна квадрату расстоянию от него. Для протяженного реального источника света (линейной лампы), представляющего собой как бы множество линейно расположенных точечных источников, зависимость должна быть иной.



Рисунок 2 – Установка с УФ-лампой, на которой находится вентилятор для охлаждения, а также ячейка с кюветой, содержащей раствор.

2.2.3. Определение концентрации оксалат-ионов

Концентрация оксалат-ионов определялась методом оптической спектрофотометрии. Для этого раствор, содержащий оксалат-ионы, смешивали с 2 мл водного раствора сульфосалициловой кислоты (1.15 моль л^{-1}), 2 мл раствора хлорида железа (III) (5 ммоль л^{-1}) в 0.1 н HCl и доводили общий объем до 20 мл водой. Измерение оптического поглощения проводилось при $\lambda = 502 \text{ нм}$. При взаимодействии сульфосалициловой кислоты с железом (III) образуется комплекс, при $\text{pH} = 4-8$ имеющий буро-розовый цвет. Оксалат-ионы предотвращают

образование комплекса, и, соответственно, по изменению оптического поглощения возможно определить концентрацию оксалата.

2.2.4. Определение растворенных ионов серебра

Для отделения ионов от наночастиц раствор, содержащий серебро, центрифугировался при 14600 об/мин в течение 30 минут на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5424 (Eppendorf AG, Германия). После центрифугирования были сняты оптические спектры образцов, впоследствии отданные на анализ, для определения степени удаления наночастиц. Было установлено, что характерные для наночастиц серебра полосы оптического спектра отсутствовали, что указывает на полное удаление наночастиц и на возможность дальнейшего определения серебра исключительно в ионной форме. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) использовалась для определения концентрации растворенных Ag^+ в питательной среде, прибор Element 2 (Thermo-Finnigan, Германия).

2.2.5. Оптическая спектрофотометрия

Измерения оптических спектров проводились с помощью спектрофотометра Cary 100 Scan (Varian Inc., Нидерланды), снабженного термостатированной ячейкой Пельтье, при температуре 293 К. Метод основан на измерении поглощения в оптической области электромагнитного спектра. Пропускание пучка лучей сплошного спектра через гидрозоль приводит к поглощению последним только

волн определенных длин, на основании чего можно судить о природе вещества, находящегося в гидрозоле.

2.2.6. Динамическое рассеяние света (ДРС)

Гидродинамический размер и ζ -потенциал образующихся коллоидов определяли на приборе Delsa Nano C (Beckman Coulter Inc., США) при длине волны рассеиваемого излучения лазера $\lambda = 658$ нм. Частицы, находящиеся в гидрозоле, перемещаются благодаря Броуновскому движению и взаимодействуют с лазерным лучом. Рассеянный свет от частиц детектируется как сигнал с флуктуациями, соответствующими скоростям Броуновского движения частиц. Сигнал анализируется с помощью корреляционной спектроскопии, рассчитывается автокорреляционная функция и на этом основании строится распределение частиц по размерам.

2.2.7. Просвечивающая электронная микроскопия

Распределение наночастиц по размерам определяли с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM-2100 с ускоряющим напряжением 200 кВ (JEOL, Япония). Получение изображения осуществляется путем пропускания пучка электронов через образец. Использовалась медная подложка с углеродным покрытием (Carbon Type-B 400 mesh, Cu. Ted Pella Inc., США). Изображения ПЭМ обрабатывали с использованием бесплатного программного обеспечения ImageJ (<https://imagej.net>) и Gwyddion

(<http://gwyddion.net/>). Гистограммы распределения по размерам были построены по 100 случайно выбранным наночастицам.

2.3. Типы и составы воды

Для исследования поведения наночастиц серебра в различных типах вод были использованы воды со следующим составом:

Водопроводная вода, место отбора: Москва, Большая Пироговская улица, кран в квартире.

Таблица 1 – Состав водопроводной воды.

№ п/п	Показатель, единица измерения	Результат испытаний
<i>Обобщенные показатели</i>		
1	рН / Водородный показатель, ед. рН	7.2 ± 0.2
2	Жесткость (расчетный показатель), °Ж	4.17
3	Мутность (по формазину), ЕМФ	< 0.3
4	Перманганатная окисляемость / Перманганатный индекс, мг л ⁻¹	2.4 ± 0.2
5	Сухой остаток / Минерализация, мг л ⁻¹	270 ± 24
6	УЭП / Удельная электропроводность, мкСм см ⁻¹	505 ± 25
7	Цветность, градусы цветности (Cr-Co)	4.2 ± 1.3
8	Щелочность общая, ммоль л ⁻¹	3.25 ± 0.39

Продолжение таблицы 1

9	Щелочность свободная, ммоль л ⁻¹	< 0.1
<i>Органолептические показатели</i>		
10	Интенсивность запаха при 20 °С, балл	0
11	Характер запаха при 20 °С	-
<i>Неорганические соединения</i>		
12	Бромид-ионы, мг л ⁻¹	< 0.05
13	Гидрокарбонат-ионы, мг л ⁻¹	198
14	Ионы аммония, мг л ⁻¹	< 0.05
15	Карбонат-ионы, мг л ⁻¹	0
16	Нитрат-ионы, мг л ⁻¹	5.21 ± 0.68
17	Нитрит-ионы, мг л ⁻¹	0.510 ± 0.066
18	Сульфат-ионы, мг л ⁻¹	39.6 ± 5.1
19	Фосфат-ионы, мг л ⁻¹	< 0.1
20	Фторид-ионы, мг л ⁻¹	0.179 ± 0.023
21	Хлорид-ионы, мг л ⁻¹	28.3 ± 3.7
<i>Элементы (общее содержание)</i>		
22	Алюминий (общее содержание), мг л ⁻¹	0.042 ± 0.013
23	Барий (общее содержание), мг л ⁻¹	0.030 ± 0.009
24	Железо (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.05
25	Кадмий (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.0001
26	Калий (общее содержание), мг л ⁻¹	3.1 ± 0.5
27	Кальций (общее содержание), мг л ⁻¹	60 ± 9

Продолжение таблицы 1

28	Магний (общее содержание), мг л ⁻¹	14.3 ± 2.1
29	Марганец (общее содержание), мг л ⁻¹	0.0056 ± 0.0017
30	Мышьяк (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.005
31	Натрий (общее содержание), мг л ⁻¹	17.9 ± 2.7
32	Свинец (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.003
33	Стронций (общее содержание), мг л ⁻¹	0.199 ± 0.040

Минеральная вода, бутилированная, «Elbrus», ООО «КАББАЛКРЕСУРСЫ».

Место отбора: скважина 452, пос. Нейтрино, Кабардино-Балкарская Республика.

Таблица 2 – Состав минеральной воды.

№ п/п	Показатель, единица измерения	Результат испытаний
<i>Обобщенные показатели</i>		
1	рН / Водородный показатель, ед. рН	8.4 ± 0.2
2	Жесткость (расчетный показатель), °Ж	1.27
3	Мутность (по формазину), ЕМФ	< 0,3
4	Перманганатная окисляемость / Перманганатный индекс, мг л ⁻¹	< 0.25
5	Сухой остаток / Минерализация, мг л ⁻¹	257 ± 35
6	Цветность, градусы цветности (Cr-Co)	< 1
7	Щелочность общая, ммоль л ⁻¹	2.54 ± 0.41
<i>Органолептические показатели</i>		
8	Интенсивность запаха при 20 °С, балл	0

Продолжение таблицы 2

<i>Неорганические соединения</i>		
9	Бромид-ионы, мг л ⁻¹	< 0.05
10	Гидрокарбонат-ионы, мг л ⁻¹	158 ± 21
11	Ионы аммония, мг л ⁻¹	< 0.05
12	Нитрат-ионы, мг л ⁻¹	1.09 ± 0.22
13	Нитрит-ионы, мг л ⁻¹	< 0.02
14	Сульфат-ионы, мг л ⁻¹	2.5 ± 0.5
15	Фосфат-ионы, мг л ⁻¹	< 0.1
16	Фторид-ионы, мг л ⁻¹	0.090 ± 0.25
17	Хлорид-ионы, мг л ⁻¹	6.4 ± 1.9
<i>Элементы (общее содержание)</i>		
18	Алюминий (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.01
19	Барий (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.05
20	Железо (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.03
21	Кадмий (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.0001
22	Калий (общее содержание), мг л ⁻¹	0.43 ± 0.08
23	Кальций (общее содержание), мг л ⁻¹	33.4 ± 3.6
24	Магний (общее содержание), мг л ⁻¹	7.7 ± 0.7
25	Марганец (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.001
26	Мышьяк (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.005
27	Натрий (общее содержание), мг л ⁻¹	4.4 ± 0.9
28	Свинец (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.001
29	Стронций (общее содержание), мг л ⁻¹	0.5 ± 0.1

Вода из скважины, место отбора: Московская область, городской округ Ступино, деревня Пестриково, глубина 74 м.

Таблица 3 – Состав воды из скважины.

№ п/п	Показатель, единица измерения	Результат испытаний
<i>Обобщенные показатели</i>		
1	рН / Водородный показатель, ед. рН	7.1 ± 0.2
2	Жесткость (расчетный показатель), °Ж	6.92
3	Мутность (по формазину), ЕМФ	< 0.3
4	Перманганатная окисляемость / Перманганатный индекс, мг л ⁻¹	< 0.25
5	Сухой остаток / Минерализация, мг л ⁻¹	353 ± 32
6	УЭП / Удельная электропроводность, мкСм см ⁻¹	599 ± 30
7	Цветность, градусы цветности (Cr-Co)	< 1
8	Щелочность общая, ммоль л ⁻¹	6.38 ± 0.77
9	Щелочность свободная, ммоль л ⁻¹	< 0.1
<i>Органолептические показатели</i>		
10	Интенсивность запаха при 20 °С, балл	0
11	Характер запаха при 20 °С	-
<i>Неорганические соединения</i>		
12	Бромид-ионы, мг л ⁻¹	< 0.05
13	Гидрокарбонат-ионы, мг л ⁻¹	389
14	Ионы аммония, мг л ⁻¹	< 0.05

Продолжение таблицы 3

15	Карбонат-ионы, мг л ⁻¹	0
16	Нитрат-ионы, мг л ⁻¹	6.19 ± 0.80
17	Нитрит-ионы, мг л ⁻¹	< 0.1
18	Сульфат-ионы, мг л ⁻¹	11.4 ± 1.5
19	Фосфат-ионы, мг л ⁻¹	0.303 ± 0.039
20	Фторид-ионы, мг л ⁻¹	0.473 ± 0.061
21	Хлорид-ионы, мг л ⁻¹	6.39 ± 0.83
<i>Элементы (общее содержание)</i>		
22	Алюминий (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.01
23	Барий (общее содержание), мг л ⁻¹	0.046 ± 0.014
24	Железо (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.05
25	Кадмий (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.0001
26	Калий (общее содержание), мг л ⁻¹	1.34 ± 0.20
27	Кальций (общее содержание), мг л ⁻¹	86 ± 13
28	Магний (общее содержание), мг л ⁻¹	32 ± 5
29	Марганец (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.001
30	Мышьяк (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.005
31	Натрий (общее содержание), мг л ⁻¹	5.6 ± 0.8
32	Свинец (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0.003
33	Стронций (общее содержание), мг л ⁻¹	0.21 ± 0.04

Морская вода, бутилированная, «Магия Черного моря», ООО «Агро-Эксим».

Место отбора: в 5 км от берега в районе села Су-Псех, Краснодарский Край, глубина – 20 м.

Таблица 4 – Состав морской воды.

№ п/п	Показатель, единица измерения	Результат испытаний
<i>Обобщенные показатели</i>		
1	рН / Водородный показатель, ед. рН	8.1 ± 0.2
2	Сухой остаток / Минерализация, мг л ⁻¹	18120 ± 300
3	Содержание кислорода, моль л ⁻¹	6.7 ± 0,8
4	Щелочность общая, мг л ⁻¹	303 ± 1.24
<i>Неорганические соединения</i>		
5	Бромид-ионы, мг л ⁻¹	27,8 ± 0,18
6	Гидрокарбонат-ионы, мг л ⁻¹	176 ± 12
7	Ионы аммония, мг л ⁻¹	0.16 ± 0.01
8	Карбонат-ионы, мг л ⁻¹	-
9	Нитрат-ионы, мг л ⁻¹	< 0,1
10	Нитрит-ионы, мг л ⁻¹	< 0,1
11	Сульфат-ионы, мг л ⁻¹	895 ± 11
12	Фосфат-ионы, мг л ⁻¹	8.4 ± 0.2
13	Хлорид-ионы, мг л ⁻¹	9755 ± 500
<i>Элементы (общее содержание)</i>		
14	Железо (общее содержание), мг л ⁻¹	0.07 ± 0,05
15	Кадмий (общее содержание), мг л ⁻¹	0.0022 ± 0.0005
16	Кальций (общее содержание), мг л ⁻¹	221 ± 16
17	Магний (общее содержание), мг л ⁻¹	616 ± 27

Продолжение таблицы 4

18	Натрий + калий (общее содержание), мг л ⁻¹	5991 ± 25
19	Свинец (общее содержание), мг л ⁻¹	< 0,003
20	Стронций (общее содержание), мг л ⁻¹	2.1 ± 0.12

2.4. Исследование антибактериальных свойств наночастиц серебра

2.4.1. Биологические объекты

Escherichia coli – кишечная палочка. Штамм К-12 MG1655, получен из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Относится к грамотрицательным бактериям (Г⁻), обитает в желудочно-кишечном тракте теплокровных животных и человека. Большинство штаммов безвредны, однако некоторые могут вызывать тяжелые заболевания. Являются факультативным анаэробом, клетки имеют палочковидную форму. Имеют размеры 0.4 -0.8 × 1-3 мкм.

Pseudomonas putida. Штамм В-3515, получен из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Относится к грамотрицательным бактериям (Г⁻). Обитает в почве, не патогенна. Размер составляет 0.7-1.1 × 2-4 мкм. Относится к роду псевдомонады, имеет строение и свойства, схожие с патогенной *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка), в силу чего и используется в микробиологических исследованиях. Лечение синегнойной палочки затруднено ввиду высокой устойчивости к антибиотикам. Синегнойная палочка является возбудителем нозокомиальных заболеваний.

Paenibacillus jamilae. Штамм В-4101, получен из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Относится к грамположительным (Г⁺)

спорообразующим палочковидным бактериям. Размер составляет $0.5-1,2 \times 4.5-6.5$ мкм. Вырабатывают металл-связывающий экзополисахарид, в силу чего используются для очистки сточных вод при производстве оливкового масла [127].

2.4.2. Питательная среда

Клетки выращивались в слабоминерализованной жидкой питательной среде Адкинса [128] с измененным составом (Адкинс М: $\text{NH}_4\text{NO}_3 - 1 \text{ г л}^{-1}$; $\text{NaHCO}_3 - 0.4 \text{ г л}^{-1}$; $\text{NaNO}_3 - 1 \text{ г л}^{-1}$; глюкоза – 2 г л^{-1} ; дрожжевой экстракт – 1 г л^{-1} ; пептон – 1 г/л) при $T = 298 \text{ К}$ в течение 48 часов.

После этого клеточная суспензия использовалась в качестве инокулята для исследования антибактериального действия серебра в нижеописанных экспериментах.

2.4.3. Ингибирование роста клеток бактерий

Свежая культура клеток (выращенная способом, описанным выше) инокулировалась во флакон с такой же питательной средой (соотношение 1:10). Итоговый объем каждого образца составлял 10 мл. Всего готовилось 3 типа образцов: (1) клетки, выращенные без серебра (контроль), (2) клетки, выращенные с наночастицами серебра, (3) клетки, выращенные с ионами серебра. Во флаконы с питательной средой гидрозоль серебра вносился одновременно с инокулятом клеток. Концентрации серебра варьировались от

1×10^{-8} до 1×10^{-4} моль л⁻¹. Время экспозиции составляло 48 часов при $T = 298$ К. Каждый образец готовился в 3 повторностях. Затем, после тщательного перемешивания, при помощи шприца отбиралась капля (8 мкл), наносилась на предметное стекло и смешивалась с 2 мкл красителя (дигидрородамин 123, Bioitum, США) и проводился подсчет клеток на поле зрения. Использовался иммерсионный метод микроскопического наблюдения на флуоресцентном микроскопе MicroOptix MX300 (West Medica, Австрия). Для каждого образца было рассмотрено 30 полей. Количество клеток в контроле было принято за 100%. В образцах с серебром количество клеток было либо таким же (при малых концентрациях), либо меньше, их количество высчитывалось относительно контроля (относительное количество клеток = $\frac{\text{количество клеток в образце}}{\text{количество клеток в контроле}} \times 100 \%$).

Концентрация полумаксимального ингибирования (IC₅₀) – это концентрация, ингибирующая рост клеток на 50 % по сравнению с контролем. Расчёты проводились в программе OriginPro (нелинейная аппроксимация кривых «growth/sigmoidal»). Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – минимальная концентрация, полностью подавляющая рост клеток. Она была определена как концентрация, при которой количество клеток было такое же, как при инокуляции (т.е. роста не наблюдалось).

2.4.4. Исследование морфологии и состава цитоплазмы клеток *E. Coli*

Морфология и состав цитоплазмы клеток *E. coli*, выращенных при экспозиции с наночастицами и ионами серебра, а также без них, исследовались методами просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС). Для проведения ПЭМ был использован микроскоп JEM 1400 с ускоряющим напряжением 120 кВ (JEOL,

Япония). Использовалась медная подложка с углеродным покрытием (Carbon Type-B 400 mesh, Cu. Ted Pella Inc., США). Для проведения ЭДС использовалась система рентгеновского микроанализа INCA Energy TEM 350 (Oxford Instruments, Великобритания). Один и тот же подготовленный образец использовался для обоих методов, так как система микроанализа подключается к микроскопу. Клетки выращивались таким же способом, как и в других экспериментах. Концентрация серебра составляла 1×10^{-5} моль л⁻¹.

2.5. Статистическая обработка

Все данные получены, по меньшей мере, в 3 независимых экспериментах. Статистический анализ проводили в программе Origin Pro с использованием t-критерия Стьюдента [129].

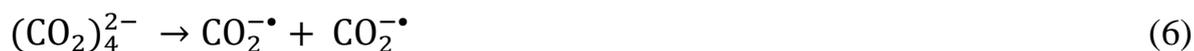
ГЛАВА 3. СИНТЕЗ ГИДРОЗОЛЯ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННОГО КАРБОНАТ-ИОНАМИ: ОПТИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОЧАСТИЦ

Процесс синтеза наночастиц серебра методами химического восстановления Ag^+ в растворах включает в себя применение восстановителя и стабилизатора для предотвращения агрегации наночастиц серебра в крупные флоккулы ввиду их гидрофобности. Однако, восстановители и стабилизаторы или продукты их разложения, как правило, являются токсичными. Поэтому использование таких гидрозолей отягощено необходимостью их очистки, приводящей к потере части наночастиц серебра, дополнительным манипуляциям (фильтрование, центрифугирование и т.д.), что может привести к изменению форм и размеров наночастиц серебра. Также при использовании стабилизаторов возникает толстая сольватная шуба, которая значительно снижает биодоступность. К тому же, гидрозоли, отягощённые примесями, не могут в полной мере отразить действие непосредственно наночастиц серебра на компоненты окружающей среды, включая микроорганизмы.

Исходя из вышесказанного, в настоящем исследовании поставлена цель разработать метод синтеза гидрозоля с составом, схожим с таковым природной воды, а также с тонким стабилизирующим слоем, не ограничивающим доступность наночастиц. В качестве стабилизатора могут выступать карбонат-ионы, стабилизирующие наночастицы по электростатическому механизму. Такие ионы содержатся в природных водах.

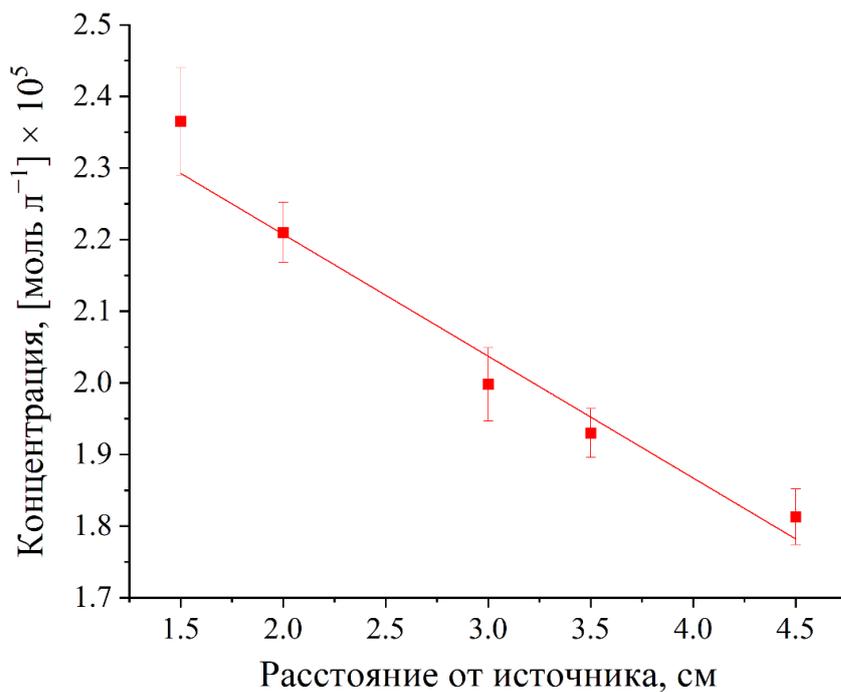
3.1. Фотохимическое образование карбоксильных анион-радикалов

Возможность протекания реакции восстановления ионов Ag^+ обуславливается, в первую очередь, окислительно-восстановительным потенциалом восстанавливающего агента: он должен превышать таковой для серебра $E^0\left(\frac{\text{Ag}^+}{\text{Ag}^0}\right) = -1.8 \text{ В}$ [130]. Одним из таких восстановителей является карбоксильный анион-радикал $\text{CO}_2^{\cdot-}$, который обладает высоким окислительно-восстановительным потенциалом $E^0\left(\frac{\text{CO}_2}{\text{CO}_2^{\cdot-}}\right) = -1.9 \text{ В}$ [131]. Источником $\text{CO}_2^{\cdot-}$ может служить оксалат-ион, распадающийся под воздействием УФ-излучения [132]:

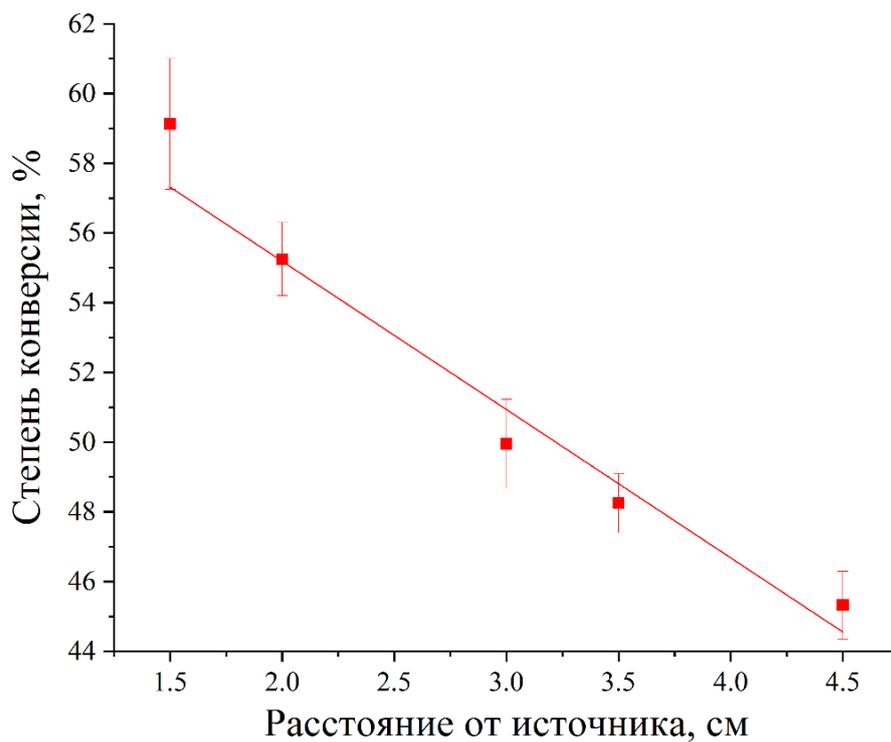


Для установления возможности использования этого соединения и его оптимальной концентрации необходимо исследовать кинетику распада оксалат-иона под действием УФ-излучения, а также определить оптимальное расстояние от источника УФ-излучения.

В процессе облучения для поддержания постоянной температуры 295 К сосуд с раствором постоянно обдувался охлажденным воздухом. Установлено, что при увеличении расстояния от источника излучения, количество разложившегося оксалат-иона линейно убывает при одинаковом времени облучения (рисунок 3).



(a)



(б)

Рисунок 3 – Зависимость разложения оксалат-ионов от расстояния от источника света: а – концентрация разложившегося оксалата после действия света в течение 10 минут, б – степень конверсии, %, разложившегося оксалата. Исходная концентрация оксалата калия 4×10^{-4} моль л⁻¹.

Согласно закону Вант-Гоффа [133], количество вещества, вступившего в фотохимическую реакцию, пропорционально поглощенной энергии, т.е. пропорционально оптической плотности раствора $D = \varepsilon lC$ и, соответственно, величине концентрации C . При постоянном квантовом выходе разложения степень конверсии оксалат-иона не зависит от исходной концентрации оксалата калия. Поэтому зависимости, представленные на рисунке 3 для исходной концентрации оксалата 4×10^{-4} моль л⁻¹, справедливы и для других концентраций для оценки ожидаемой степени разложения оксалата. В опытах обычно были использованы концентрации оксалата в диапазоне $10^{-4} - 10^{-3}$ моль л⁻¹.

Согласно закону Гротгуса-Дрепера [133], фотохимические превращения происходят только при условии поглощения света системой. Из этого следует, что спектр поглощения облучаемого соединения должен перекрываться со спектром эмиссии света источника. Такое перекрывание имеет место для оксалата в широкой УФ области эмиссии источника (рисунок 4). Поглощение одного кванта света вызывает фотохимическое возбуждение одной частицы (закон Эйнштейна-Штарка) [133]. Частица, в данном случае оксалат-ион в возбужденном электронном состоянии, может претерпеть далее разнообразные превращения – флуоресценцию или фосфоресценцию, дезактивацию при столкновениях с молекулами среды, вступать в реакцию с другими молекулами или диссоциировать.

Эффективность фотохимической реакции оценивается величиной квантового выхода Φ , т.е. числом распавшихся молекул при поглощении одного кванта света. Максимальный теоретический выход, при отсутствии развития цепного процесса, равен 1. Однако на практике Φ всегда заметно меньше ($\leq 10^{-3}$), как это имеет место и в случае оксалата. Причинами для этого являются другие перечисленные выше превращения возбужденных молекул. Важным, по-видимому, является обратное «схлопывание» образовавшихся радикалов $\text{CO}_2^{\bullet-}$ из-за известного «эффекта клетки» (эффект Рабиновича) [134]. В цепном процессе Φ может достигать больших значений ($\sim 10^3 - 10^6$).

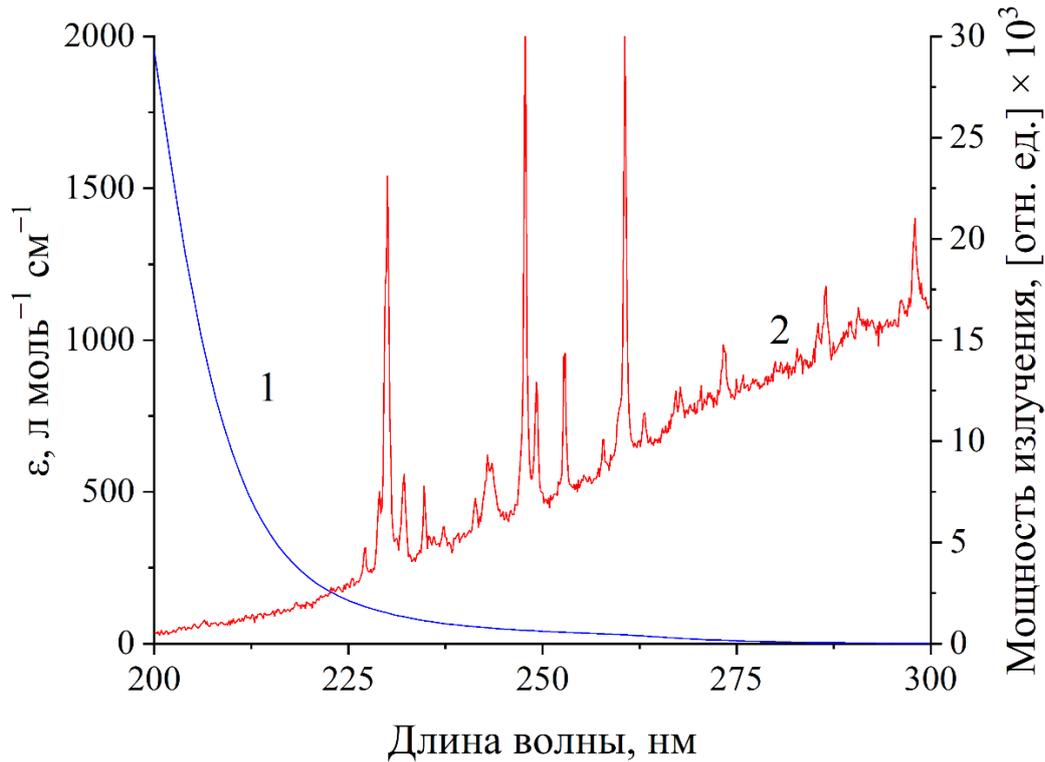


Рисунок 4 – Зависимость молярного коэффициента поглощения ε (л моль⁻¹ см⁻¹) оксалат-ионов (1) и интенсивности ультрафиолетового света, излучаемого ксеноновой лампой (2), от длины волны λ (нм).

На основе законов Вант-Гоффа и Ламберта-Бера скорость протекания фотохимической реакции можно записать в следующем виде [133]:

$$\frac{dC}{dt} = \theta \times I_0 \times (1 - e^{-\varepsilon l C}) \quad (7),$$

где θ – коэффициент пропорциональности, I_0 – интенсивность исходного светового потока, ε – молярный коэффициент экстинкции, l – длина оптического пути, C – концентрация вещества.

При малой толщине поглощающего слоя, т.е. при $\varepsilon l C \ll 1$, уравнение преобразуется к следующему виду:

$$\frac{dC}{dt} = \theta \times I_0 \times \varepsilon l C = k \times C \quad (8),$$

т.е. фотохимическая реакция имеет первый порядок по концентрации реагента, изменение которой во времени описывается уравнением:

$$C_t = C_0 e^{-kt} \quad (9),$$

где k – константа скорости реакции.

Кинетика разложения оксалата калия, инициированного действием УФ света, представлена на рисунке 5.

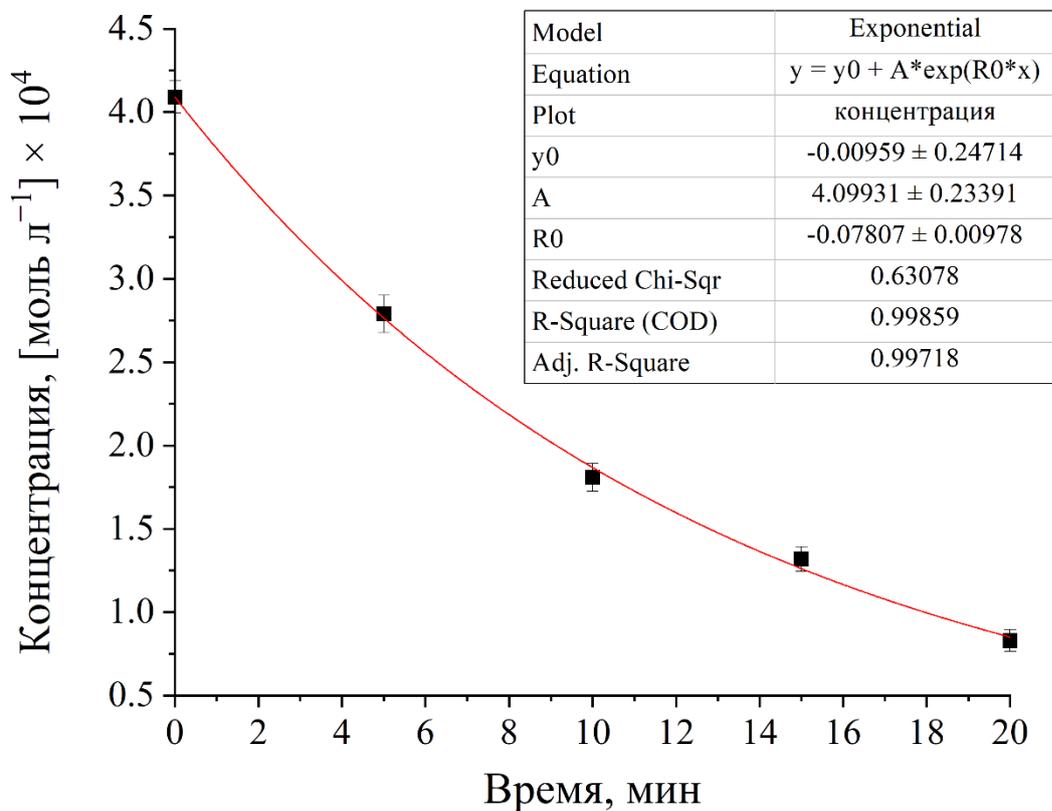


Рисунок 5 – Кинетика фотохимического разложения оксалат-ионов при $T = 295$ К. Суммарная интенсивность потока $I_{y\phi} = 6.0 \times 10^{20}$ квант/с = 1.0×10^{-3} эйнштейн $\text{с}^{-1} \text{м}^{-2}$. Точки – эксперимент, линия – расчёт по уравнению для реакции первого порядка.

В полулогарифмических координатах (рисунок б) зависимость линеаризуется, показывая, что разложение оксалата калия, инициированное действием УФ излучения, протекает по реакции первого порядка.

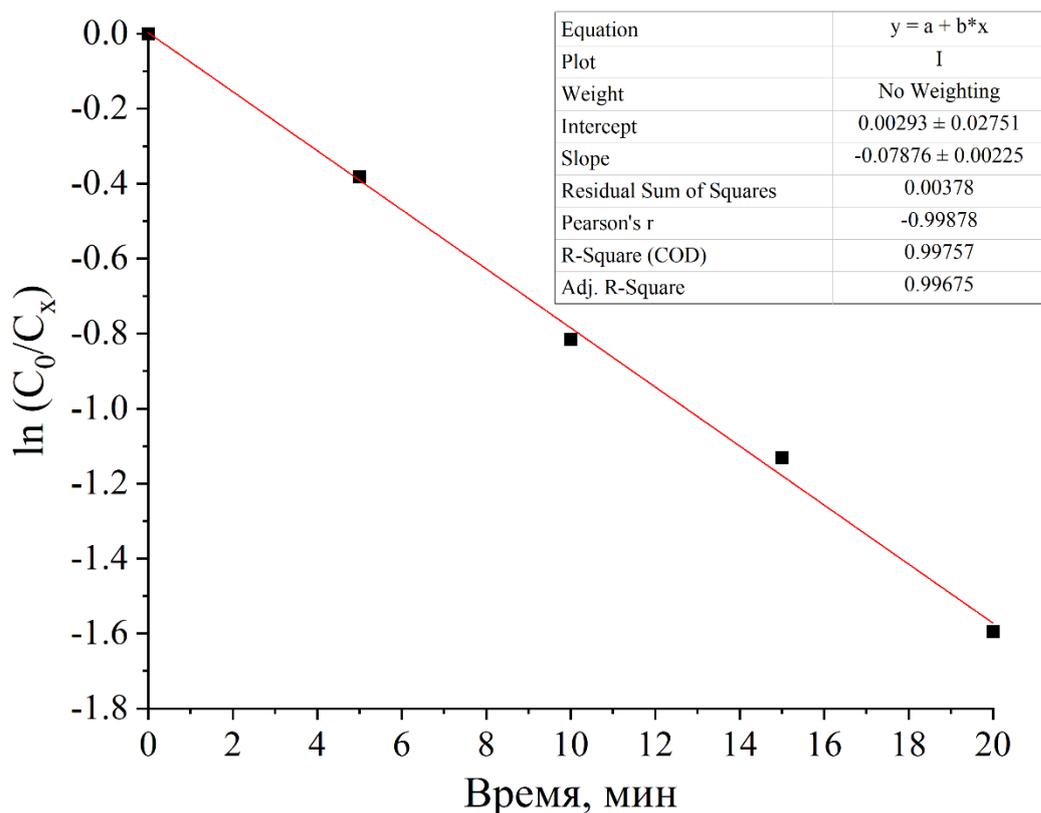


Рисунок 6 – Кинетика разложения оксалат-ионов в координатах реакции первого порядка. $T = 295$ К, суммарная интенсивность потока $I_{y\phi} = 6.0 \times 10^{20}$ квант $\text{с}^{-1} \text{м}^{-2} = 1.0 \times 10^{-3}$ эйнштейн $\text{с}^{-1} \text{м}^{-2}$. Расстояние от источника света 3 см.

Поскольку нам не известны абсолютные величины квантового выхода разложения оксалата и значения интенсивности света, измеренная константа скорости реакции первого порядка является брутто-константой. Для конкретных условий проведения экспериментов она оказалась равной $k_{\text{отн}} = 7.8 \times 10^{-2} \text{ мин}^{-1}$.

Исследования показали [12], что для стабилизации образующихся наночастиц серебра $[\text{Ag}^+ = (1-5) \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}]$ карбонат-ионами требуется концентрации Na_2CO_3 $5 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3} \text{ моль л}^{-1}$. Поскольку при разложении оксалат-иона образуется 2 карбоксильных анион-радикала (реакция б) и затем, соответственно, 2 гидрокарбонат-иона, то концентрация прекурсора $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ может быть взята в 2 раза меньше, нежели при использовании Na_2CO_3 .

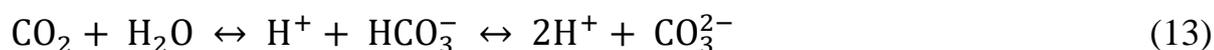
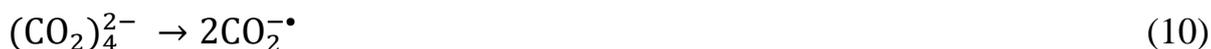
Согласно полученным данным (рисунок 3), оптимальное расстояние кюветы, в которой находится смесь реактивов, до УФ-источника составляет 1.5 см, а

концентрация $(\text{CO}_2)_4^{2-}$ для восстановления $[\text{Ag}^+ = 1-3 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}]$ должна составлять $2-5 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$.

3.2 Получение деаэрированного раствора карбонатного гидрозоля серебра

При УФ-облучении деаэрированного раствора ионов Ag^+ ($1-3 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$), содержащего оксалат-ионы ($2-5 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$), образуется устойчивый гидрозоль серебра, содержащий наноразмерные частицы металла. Процесс протекает под действием УФ-излучения, в результате чего оксалат-ионы $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ распадаются с образованием карбоксильных ион-радикалов CO_2^- [132,135] (реакция 6), которые в свою очередь эффективно восстанавливают ионы Ag^+ до атомарного состояния (реакция 7). Этому благоприятствует соотношение потенциалов: $E^0(\frac{\text{CO}_2}{\text{CO}_2^-}) = -1.9 \text{ В}$ [130]) и $E^0(\frac{\text{Ag}^+}{\text{Ag}^0}) = -1.8 \text{ В}$ [31]. В дальнейшем возникают короткоживущие кластеры серебра (Ag_2^+ , Ag_3^{2+} , Ag_4^{2+} , Ag_8^{2+} и др.) (реакция 11), агломерация которых завершается образованием наночастиц. Диоксид углерода, образующийся в результате протекания реакции (11), в воде трансформируется в угольную кислоту, которая является источником бикарбонат- и карбонат-ионов, выступающих в качестве стабилизаторов образующихся коллоидных частиц серебра (реакция 13).

Процесс может быть описан следующими реакциями:



Реакция (10) была ранее изучена методом импульсного радиолиза [136] и было показано, что она протекает с очень высокой скоростью ($k = 4 \times 10^9 \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$). Молекулы CO_2 гидролизуются, устанавливается равновесие (13), и появляются ионы HCO_3^- и CO_3^{2-} . В изучаемом диапазоне $\text{pH} = 5-7$ преобладают бикарбонат-ионы HCO_3^- (рисунок 7). Значение pH для полученного гидрозоля составляет 7.1 ± 0.1 .

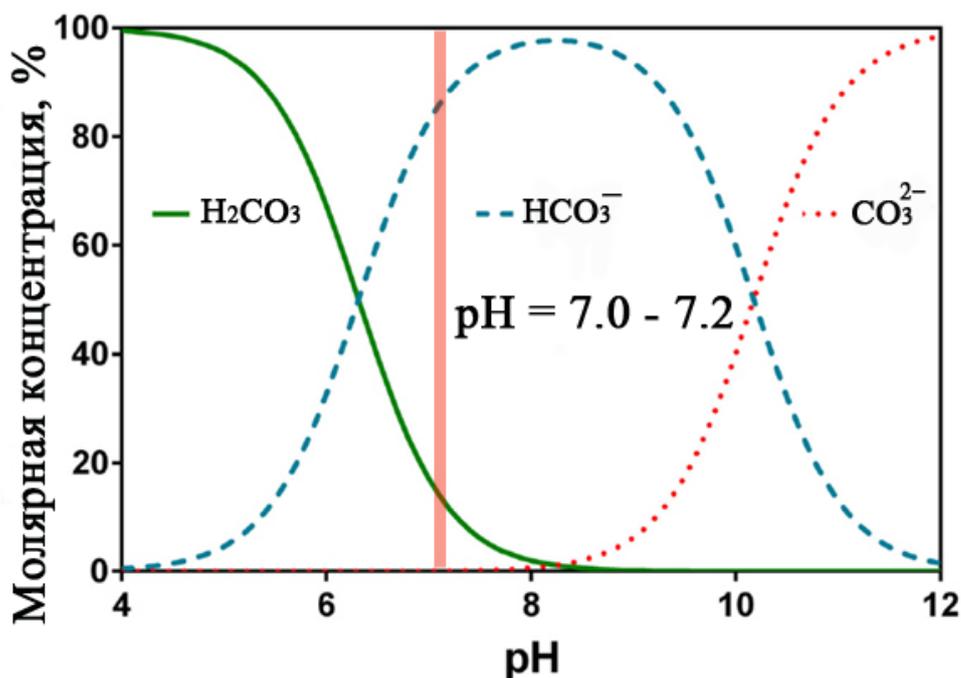


Рисунок 7 – Зависимость содержания различных форм угольной кислоты от pH [137].

Однако образующийся гидрозоль серебра обозначается нами условно как «карбонатный». Ионы HCO_3^- и CO_3^{2-} адсорбируются на поверхности наночастиц серебра, и образовавшийся двойной электрический слой (ДЭС) обеспечивает электростатическую стабилизацию гидрозоля металла [131]. Последующая агрегация кластеров протекает независимо от существующей металлической фазы и заканчивается образованием наночастиц [138]. Импульсное воздействие УФ-излучения преимущественно увеличивает число наночастиц в объеме раствора, но заметно не влияет на их размеры. Это отличает используемый нами фотохимический метод генерации частиц серебра от других методов, в которых применяются реагенты с меньшим восстановительным потенциалом, чем у анион-

радикала $\text{CO}_2^{\bullet-}$. Поэтому при их применении реализуется автокаталитический механизм восстановления ионов Ag^+ на поверхности возникающих наночастиц, приводящий к увеличению их размера [139].

Изменение оптического поглощения раствора, содержащего ионы Ag^+ и $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, при действии импульсного УФ-излучения, проиллюстрировано на рисунке 8. Полоса поглощения локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ЛППР) при ~ 400 нм, присущая наночастицам серебра [140], появляется и возрастает по интенсивности с увеличением времени фотохимического воздействия. Полоса постепенно смещается в синюю область и уменьшается по ширине. Спустя ~ 130 сек действия УФ-излучения завершается формирование гидрозоля серебра в условиях проведения эксперимента. Это фиксируется по достижению постоянного и устойчивого плазмонного поглощения наночастиц серебра, характеризуемого предельной оптической плотностью гидрозоля и постоянной формой полосы ЛППР.

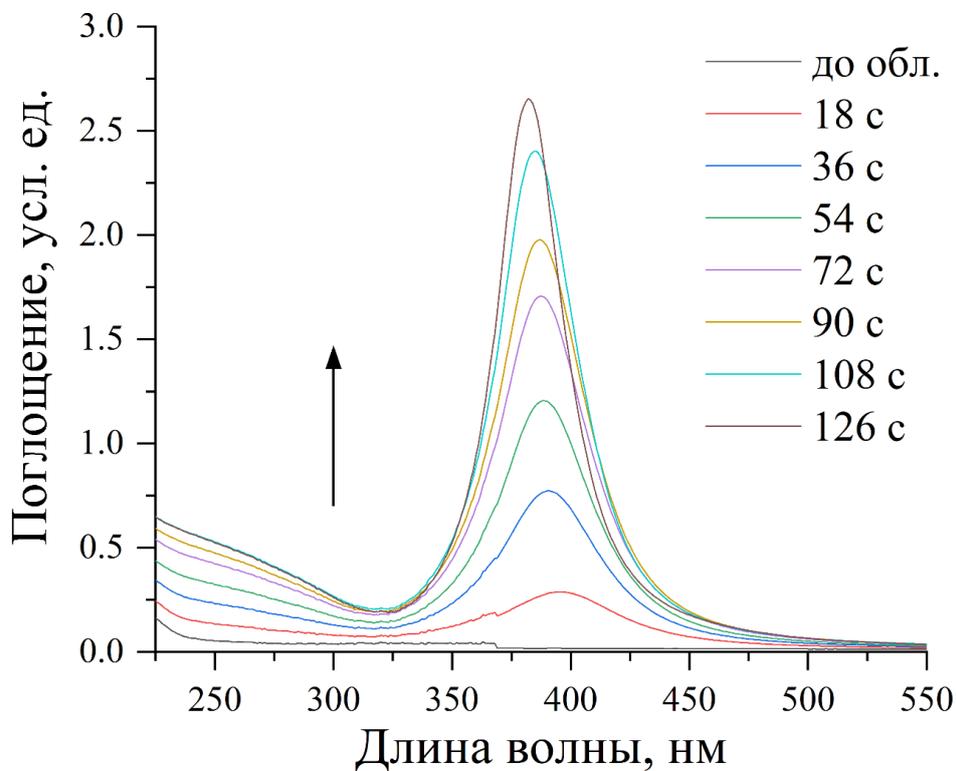
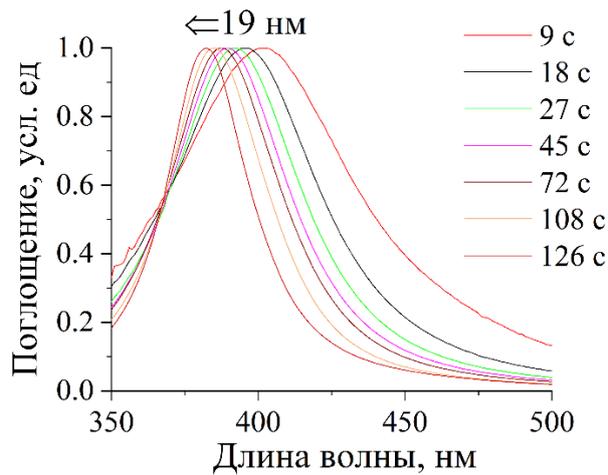
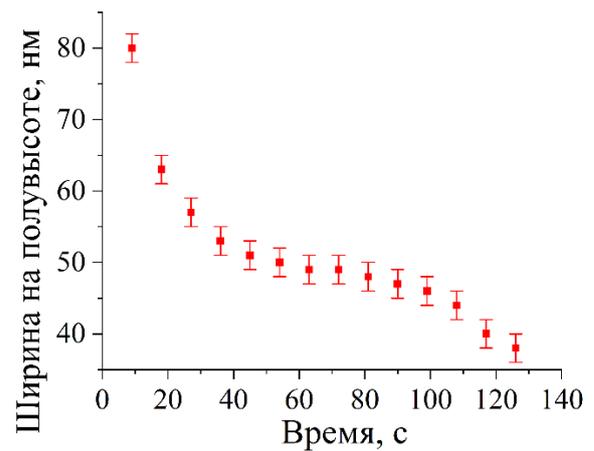


Рисунок 8 – Изменение оптического поглощения гидрозоля в зависимости от времени облучения в отсутствие кислорода воздуха. Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} . Длина оптического пути 5 мм.

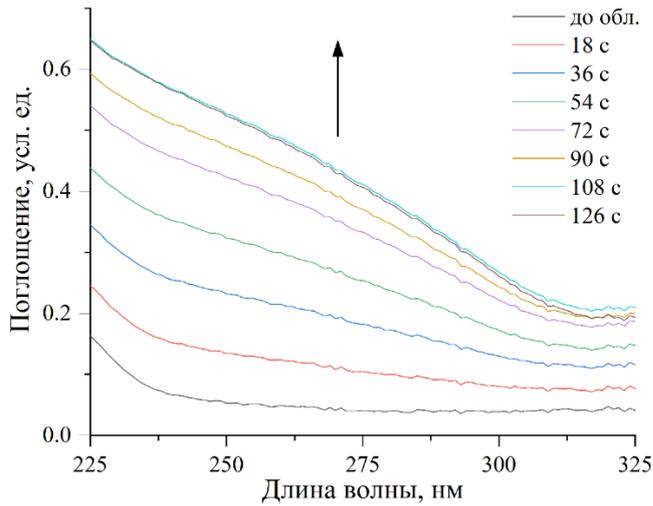
Положение максимума полосы ЛППР по сравнению с исходным положением сдвигается при этом примерно на 19 нм (от 401 до 382 нм) (рисунок 9а), а её ширина уменьшается почти вдвое (от ~80 нм до ~40 нм) (рисунок 9б). Поглощение, обусловленное межзонными электронными переходами (МЗЭП), фиксируется как широкая область поглощения в диапазоне длин волн 200-325 нм, с максимумом приблизительно при $\lambda = (250 \pm 5)$ нм. Интенсивность поглощения МЗЭП увеличивается с ростом времени действия УФ-излучения без изменения положения и формы полосы в отличие от ЛППР (рисунок 9в). Состояние поверхности, адсорбция ионов на ней и другие внешние факторы не влияют на энергию оптических переходов внутренних валентных электронов металла. Увеличение оптической плотности поглощения МЗЭП по мере действия УФ-излучения отражает рост числа восстановленных атомов серебра в наночастицах.



(a)



(б)



(в)

Рисунок 9 – Изменение поглощения гидрозоля серебра в процессе формирования под воздействием УФ-облучения: а – изменение нормализованных полос ЛППР; б – изменение ширины полос ЛППР на полувысоте; в – изменение полосы поглощения МЗЭП. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 5 мм.

Формирование гидрозоля заканчивается спустя примерно 80 секунд воздействия УФ-излучением. Это проявляется по установлению постоянного и стабильного поглощения МЗЭП, указывающего на то, что все ионы Ag^+ , присутствовавшие в растворе, восстановлены (рисунок 10, кривая 1). В то же время, полоса ЛППР продолжает увеличиваться по интенсивности (рисунок 10, кривая 2), сдвигается в сторону коротких длин волн и сужается при последующем УФ-облучении. При суммарном облучении примерно 120 секунд, как было указано, достигается стационарное положение полосы ЛППР.

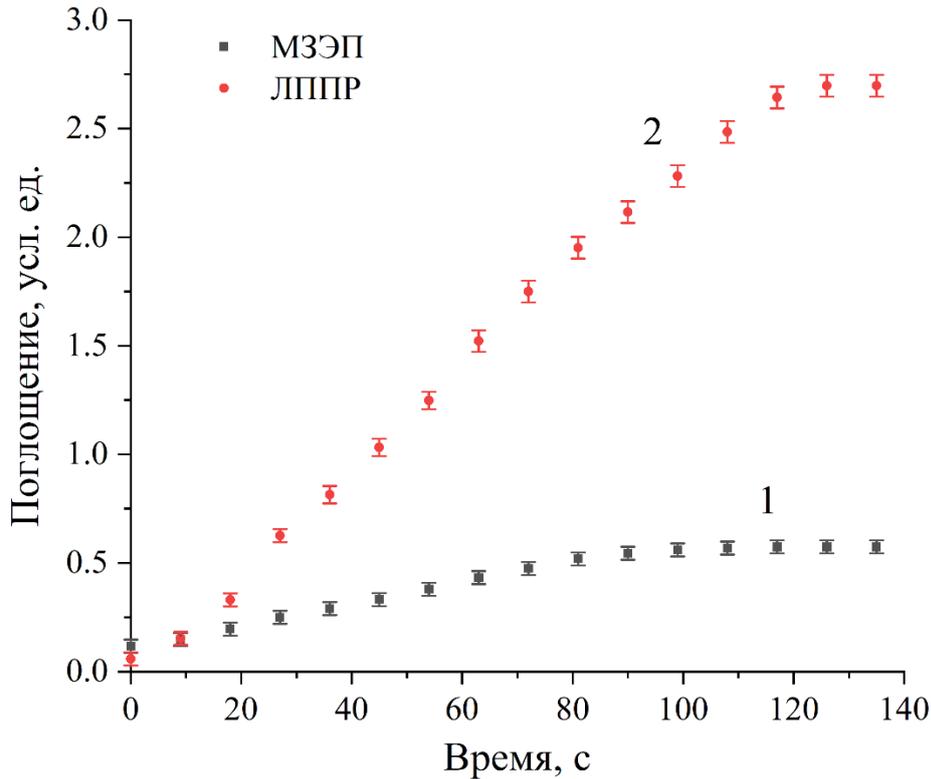


Рисунок 10 – Изменение поглощения МЗЭП при $\lambda = 250$ нм (кривая 1) и поглощения ЛППР при λ_{max} (380-420 нм) (кривая 2) в зависимости от времени УФ облучения. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

Синий сдвиг пика полосы ЛППР указывает на то, что в процессе восстановления электронная плотность в наночастицах возрастает. Уменьшение концентрации ионов Ag^+ в растворе в результате их восстановления приводит и к уменьшению количества ионов на поверхности наночастиц, что увеличивает сдвиг полосы ЛППР. Состояние поверхности и адсорбция на поверхности не влияет на энергию оптических переходов внутренних валентных электронов металла. Увеличение поглощения МЗЭП при возрастающем времени воздействия УФ-излучения отражает возрастающее количество атомов серебра. Сравнение графиков полос поглощения МЗЭП и ЛППР в зависимости от времени облучения указывает на то, что сдвиг полосы ЛППР зависит не только от восстановления ионов Ag^+ .

Согласно теории Ми–Друде [43–45,51], исходные и конечные положения полос λ_{max}^i и λ_{max}^f оптического поглощения связаны с относительными концентрациями электронов в металлическом ядре (n_e^i и n_e^f) соотношением:

$$\frac{n_e^f}{n_e^i} = \left(\frac{\lambda_{max}^i}{\lambda_{max}^f}\right)^2 \quad (14)$$

Это уравнение позволяет судить по сдвигу полосы ЛППР об изменении относительной концентрации электронов в металле. Для выявления характера аналитической зависимости преобразуем уравнение (14). Учитывая, что $n_e^f = n_e^i + \Delta n_e$ и $\lambda_{max}^i = \lambda_{max}^f + \Delta\lambda$, получаем

$$\frac{n_e^i \pm \Delta n_e}{n_e^i} = \frac{2(\lambda_{max}^f \pm \Delta\lambda)}{(\lambda_{max}^f)^2} \quad (15)$$

Далее пренебрегаем малостью величины $\frac{\Delta\lambda^2}{\lambda_{max}^i}$ ($\leq 2\%$). В результате получаем следующее простое уравнение

$$\Delta n_e \approx \frac{2n_e^i}{\lambda_{max}^f} \Delta\lambda \quad (16),$$

устанавливающее прямопропорциональную зависимость изменения относительной концентрации электронов в наночастице металла Δn_e от величины смещения полосы ЛППР $\Delta\lambda$. Чем больше смещение полосы, тем выше плотность свободных электронов.

При анализе экспериментальных данных (рисунок 9а), было установлено, что полоса сдвигается в процессе восстановления Ag^+ примерно от 402 до 383 нм. Результаты расчетов методом, описанным выше, указывают на увеличение электронной плотности в наночастицах на 9.4% (рисунок 11). Также важно отметить, что согласно теории Ми–Друде [43–45,51], увеличение концентрации электронов в металле вызывает не только голубой сдвиг полосы ЛППР, но и уменьшение ширины этой полосы. Как было выше показано, это подтверждается экспериментально (рисунок 9б).

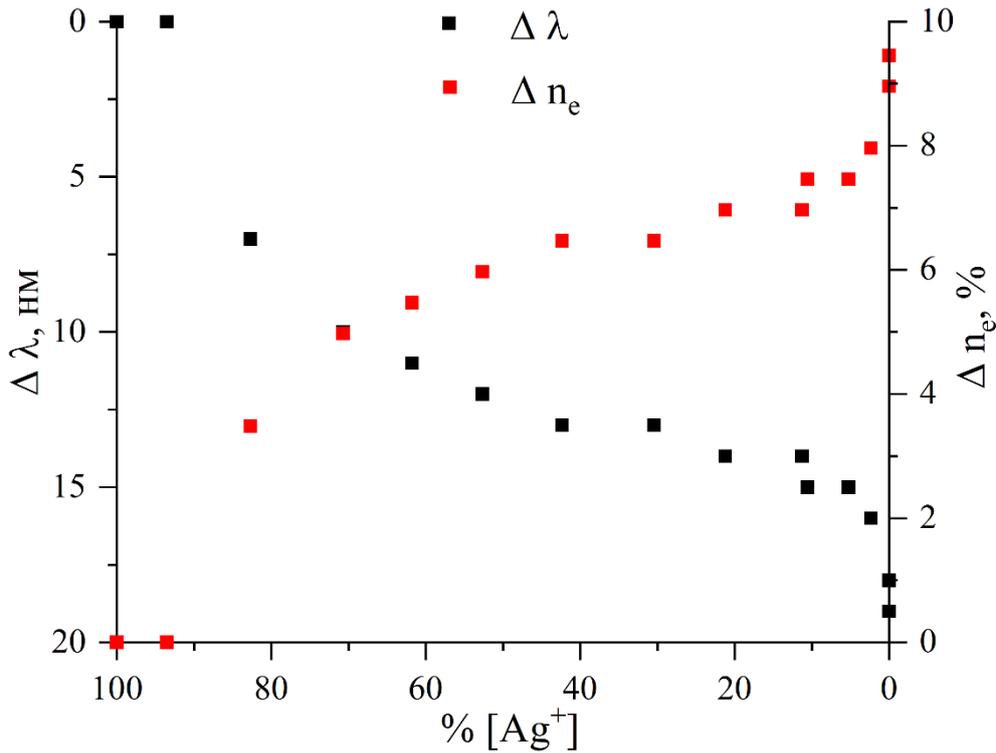


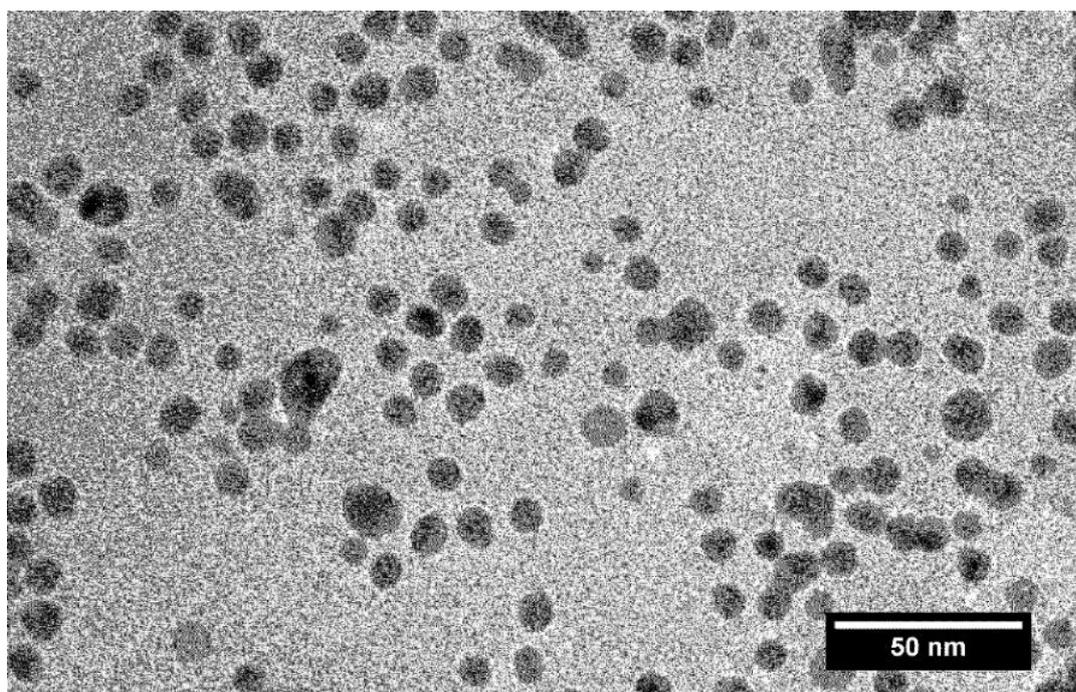
Рисунок 11 – Изменение $\Delta\lambda$ и Δn_e в наночастицах серебра в зависимости от относительной концентрации Ag^+ . Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} .

Увеличение концентрации свободных электронов в металле вызвано разными причинами – снижением концентрации потенциалобразующих ионов Ag^+ , адсорбированных на поверхности частиц, вследствие их восстановления, а на конечной стадии – «накачкой» частиц электронами разряжающихся на них радикалов-восстановителей $\text{CO}_2^{\cdot-}$. В процессе формирования наночастиц серебра структура двойного электрического слоя меняется по причине изменения состава раствора: исчезновения ионов Ag^+ с поверхности наночастиц и замещения оксалат-ионов формирующимися карбонат-ионами. В результате реализуется электростатический механизм стабилизации наночастиц.

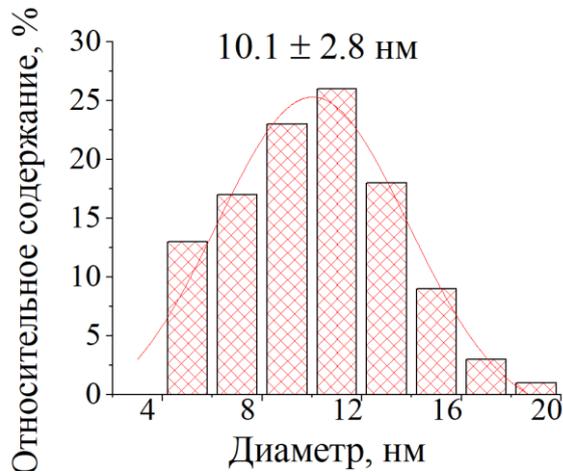
Данные ПЭМ (рисунок 12а) указывают на формирование сферических наночастиц серебра в результате фотохимического восстановления ионов Ag^+ . Средний размер частиц в гидрозоле ($[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}) составил 10 ± 3 нм (рисунок 12б). Важно отметить, что в растворе с более низким содержанием Ag^+ (1×10^{-4} моль л^{-1}) полученные наночастицы имели

примерно такой же размер (10 ± 4 нм). Анализ дифракции электронов указывает на наличие металлической фазы, а также на поликристаллическую структуру наночастиц (рисунок 12в).

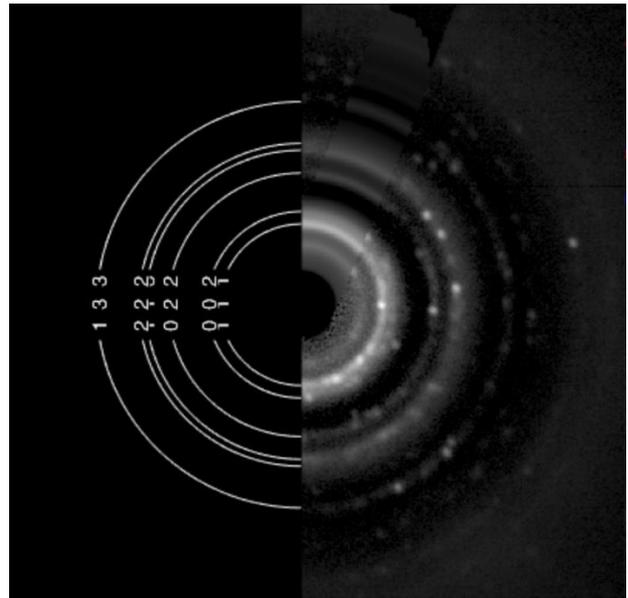
Размер мицеллы, которая, помимо металлического ядра, включает также и лигандное окружение, был измерен методом ДРС на промежуточных и конечной стадиях формирования гидрозоля. Так, при начальной концентрации Ag^+ 3×10^{-4} моль л^{-1} , при восстановлении $\sim 38\%$ (~ 36 с облучения) и $\sim 78\%$ (72 с облучения) Ag^+ , размеры мицелл составили 12.6 ± 2.4 нм и 12.1 ± 1.8 нм, соответственно. При полном восстановлении Ag^+ размер мицеллы составил 12.5 ± 1.8 нм (рисунок 13). Различие в ~ 2 нм между размером наночастицы и мицеллы указывает на небольшой размер стабилизирующего двойного электрического слоя.



(a)

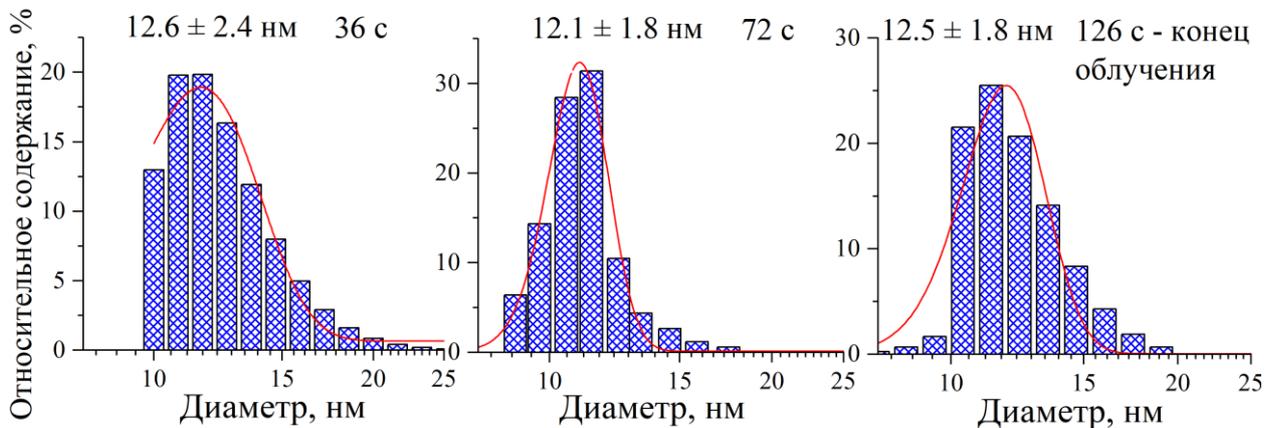


(б)



(в)

Рисунок 12 – а – Микрофотография наночастиц серебра, полученная методом ПЭМ; б – гистограмма распределения по размерам; в – дифракционная картина наночастиц серебра. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.



(а)

(б)

(в)

Рисунок 13 – Диаграммы распределения по размерам наночастиц серебра, полученные методом ДРС, в процессе фотохимического восстановления Ag^+ . Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹: а – 36 с; б – 72 с; в – 126 с.

Этот факт указывает на то, что на каждом отдельном этапе фотовосстановления ионов Ag^+ образующиеся атомы серебра агрегируют в

частицы примерно одного размера. То есть, заметного увеличения размера ранее образовавшихся частиц серебра при последующем фотохимическом восстановлении ионов Ag^+ не происходит. По-видимому, это является следствием того, что ион-радикалы $\text{CO}_2^{\cdot-}$ восстанавливают ионы Ag^+ до атомов Ag^0 в объеме раствора, чему благоприятствует соотношение потенциалов: $E^0(\frac{\text{CO}_2}{\text{CO}_2^{\cdot-}}) = -1.9 \text{ В}$ [130]) и $E^0(\frac{\text{Ag}^+}{\text{Ag}^0}) = -1.8 \text{ В}$ [31]. В дальнейшем возникают короткоживущие кластеры серебра (Ag_2^+ , Ag_3^{2+} , Ag_4^{2+} , Ag_8^{2+} и др.), агломерация которых независимо от уже имеющейся фазы металла завершается образованием наночастиц [32,141–144].

Наблюдается четкая тенденция к увеличению потенциала по абсолютной величине во время образования гидрозоля, соответственно, происходит уменьшение концентрации свободных ионов Ag^+ в растворе в результате их восстановления и образования наночастиц металла (рисунок 14). На этом же рисунке показано изменение значений ζ -потенциала $\Delta\zeta = \zeta_n - \zeta_1$, где ζ_1 – потенциал на начальной стадии формирования гидрозоля, а ζ_n – потенциал на последующих стадиях.

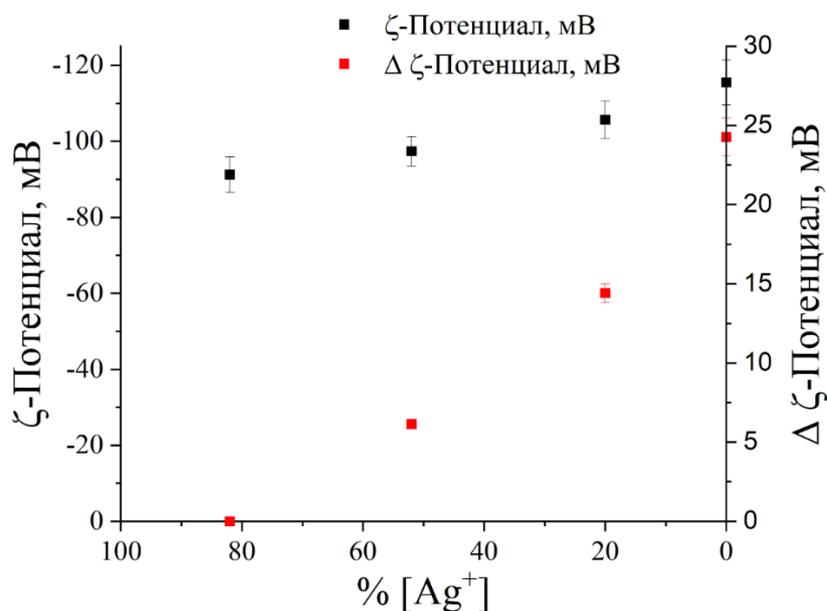


Рисунок 14 – Изменение значений ζ -потенциала в зависимости от количества восстановленных ионов Ag^+ . Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$, $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$.

Как показано выше, в деаэрированном водном растворе после полного восстановления ионов Ag^+ , то есть на конечной стадии формирования гидрозоля, ζ -потенциал составляет $-110 (\pm 5)$ мВ. Отрицательный знак указывает на то, что потенциалопределяющий слой коллоида образован отрицательно заряженными анионами, при $\text{pH} = 7.1$ это преимущественно HCO_3^- (рисунок 15). Ионы K^+ , H^+ и Ag^+ выступают в роли противоионов. На конечной стадии все ионы Ag^+ восстановлены, и поэтому отсутствуют в ДЭС. Большое абсолютное значение потенциала указывает на высокую устойчивость гидрозоля [57]. В этом случае размер коллоида серебра, измеренный методом ДРС (12.2 ± 1.8 нм), близок по величине к размеру металлического ядра, измеряемого методом ПЭМ (10.3 ± 3.2 нм). Разница между ними примерно равна размеру ионов, составляющих ДЭС частицы.

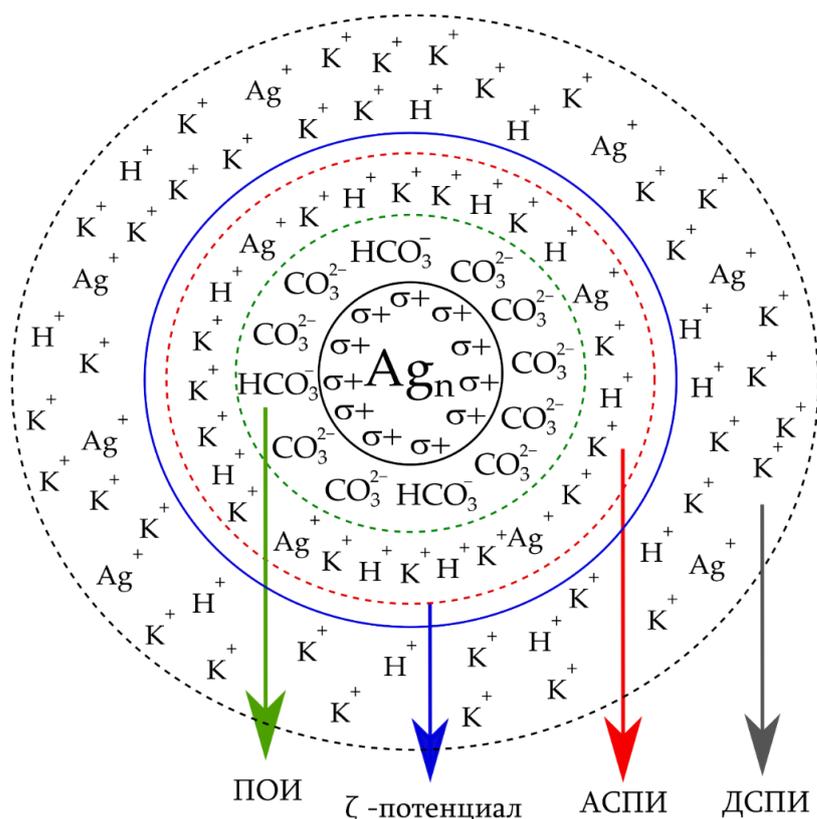


Рисунок 15 – Структура карбонат-стабилизированной мицеллы серебра. ПОИ – потенциалопределяющие ионы, АСПИ – адсорбционный слой противоионов, ДСПИ – диффузный слой противоионов. Схема построена на основании описания структуры двойного электрического слоя [56].

Таким образом, установлено, что в отсутствие кислорода воздуха при восстановлении ионов Ag^+ в присутствии оксалат-ионов под воздействием УФ-излучения образуются наночастицы серебра со средним размером 10 нм. Показано, что в процессе формирования гидрозоля происходит увеличение электронной плотности на поверхности наночастиц, что может увеличивать антибактериальное действие. Также установлено, что в процессе формирования гидрозоля под воздействием УФ-излучения не происходит увеличения размеров наночастиц, что отличает данный метод от традиционного метода химического восстановления Ag^+ .

3.3. Получение аэрированного карбонатного гидрозоля серебра

С технологической точки зрения синтез наночастиц серебра предпочтительнее проводить при комнатных условиях, что, помимо вышеобозначенных температуры и давления, означает и присутствие кислорода воздуха. Важно отметить, что кислород может влиять на характеристики получаемых наночастиц, включая размер, форму, устойчивость гидрозоля и т.д.

При УФ-облучении аэрированного раствора ионов Ag^+ ($1-3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}), содержащего оксалат-ионы ($2-5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}), также образуется устойчивый гидрозоль серебра. При облучении раствора в присутствии кислорода воздуха полосы оптического поглощения ЛППР заметно более широкие и, напротив, менее интенсивные в сравнении с наблюдаемыми в деаэрированных растворах (рисунок 16).

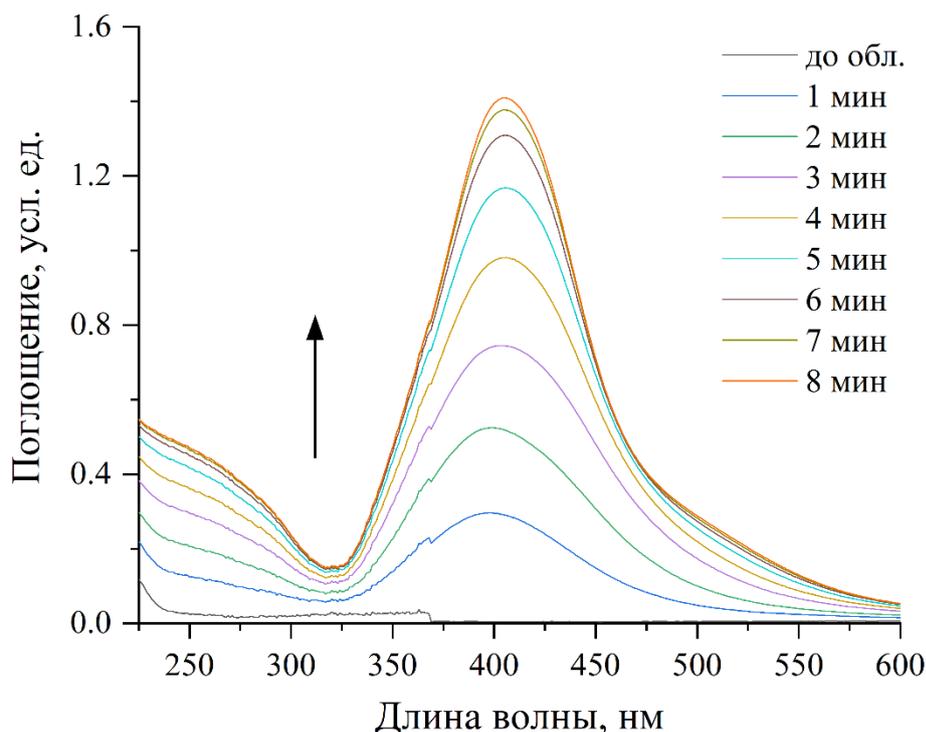
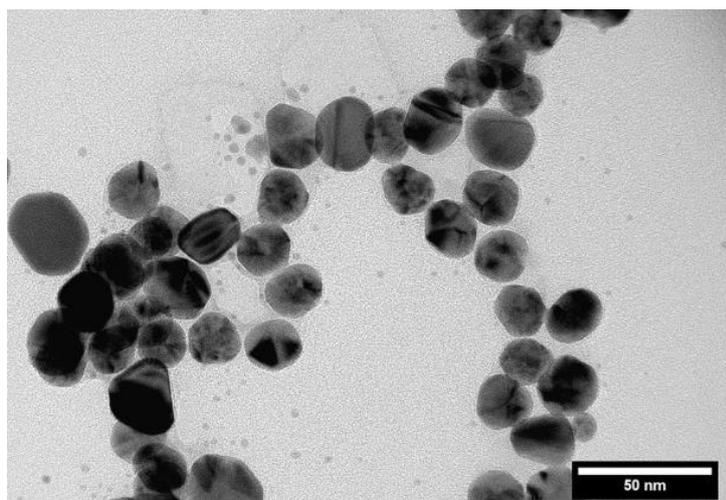


Рисунок 16 – Изменение оптического поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени облучения в присутствии кислорода воздуха. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 5 мм.

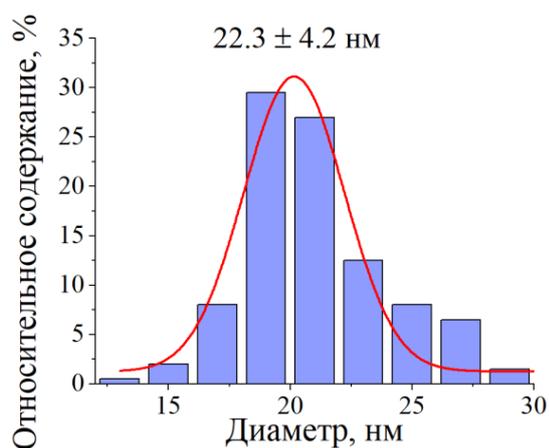
При облучении в присутствии кислорода воздуха происходит смещение пика оптического поглощения из коротковолновой области в длинноволновую (примерно от 400 до 410 нм). Процесс завершается полным восстановлением присутствующих в растворе ионов Ag^+ , что проявляется в достижении стационарного уровня оптического поглощения частиц металла. Процесс восстановления Ag^+ в присутствии кислорода воздуха протекает медленнее, чем в отсутствие. Для его завершения требуется 450-500 с (рисунок 16). Смещение полосы поглощения в длинноволновую область и большая её ширина по сравнению с полосой в вакуумированном растворе является следствием присутствия более крупных частиц, а также присутствия на их поверхности оксида серебра.

Действительно, средний размер наночастиц, полученных в присутствии кислорода воздуха, составляет 22.3 ± 4.2 нм (рисунок 17а, б). При этом частицы

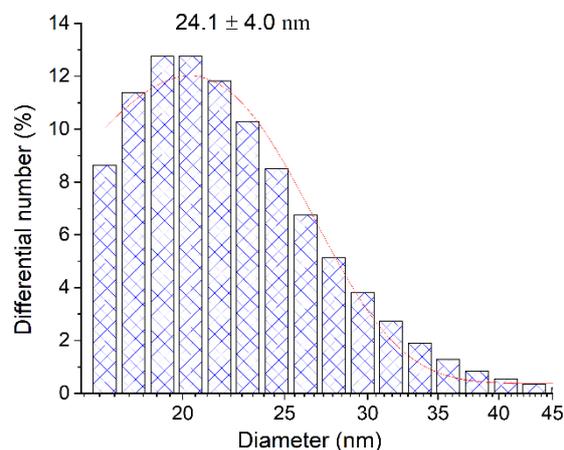
имеют преимущественно сферическую форму. Обозначим их как Ag-Ag₂O-НЧ. Размер коллоида серебра, включающий в себя стабилизирующий двойной электрический слой, измеренный методом ДРС, составил 24.1 ± 4.0 нм (рисунок 17в). Как и в случае проведения синтеза в отсутствие кислорода воздуха, небольшая разница в размерах, измеренных методами ПЭМ и ДРС, указывает на небольшую толщину стабилизирующего слоя (~ 2 нм). Значение рН для полученного гидрозоля составляет 7.1 ± 0.1 .



(а)



(б)



(в)

Рисунок 17 – а – Микрофотография наночастиц серебра, полученная методом ПЭМ; гистограмма распределения частиц по размерам, полученным методом: б – ПЭМ, в – ДРС. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

В аэрированном растворе, в отличие от деаэрированного, анион-радикалы $\text{CO}_2^{\bullet-}$ также реагируют с кислородом с образованием высоко активного анион-радикала $\text{O}_2^{\bullet-}$ [145]:



Активный кислород в форме $\text{O}_2^{\bullet-}$ окисляет атомы серебра. Таким образом, в аэрированных растворах, агломерация атомов серебра конкурирует с их окислением O_2 и $\text{O}_2^{\bullet-}$. Продукты окисления (Ag_2O) включаются в кристаллическую решетку и прикрепляются к поверхности образующихся частиц. Электронная дифракционная картина наночастиц, полученных на воздухе, показала кольца, указывающие на присутствие оксида серебра (Ag_2O), помимо колец, которые относятся к металлическому серебру (рисунок 18).

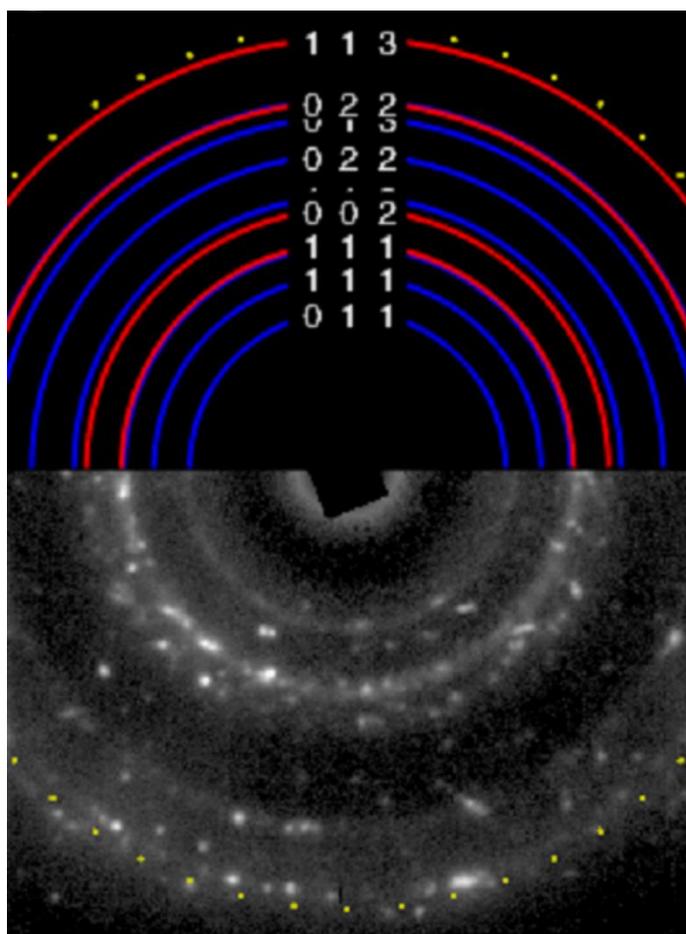


Рисунок 18 – Дифракционная картина наночастиц серебра Ag-Ag₂O-НЧ. Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$, $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$.

Присутствие оксида в структуре наночастицы серебра изменяет её электронное состояние. Это наглядно проявляется при сопоставлении спектров полос поглощений локализованного поверхностного плазмонного резонанса частиц, полученных в деаэрированных (Ag-НЧ) и аэрированных (Ag-Ag₂O-НЧ) условиях (рисунок 19). Полоса ЛППР частицы Ag-Ag₂O-НЧ намного более широкая и сдвинута на ~24 нм в сторону длинных волн по сравнению с поглощением частицы Ag-НЧ. Согласно теории Ми-Друде [44,45], смещение полосы ЛППР указывает на то, что электронная плотность (концентрация электронов проводимости) в частице Ag-Ag₂O-НЧ меньше, чем в Ag-НЧ, примерно на 10-12%. Аналогичное влияние Ag₂O на поглощение плазмонов было продемонстрировано при окислении монослоя наночастиц серебра [146]. При наличии оксида на поверхности полоса ЛППР также смещалась в сторону длинных волн (вплоть до 440 нм). Важно отметить, что толщина оксида на поверхности серебра может достигать 2 нм и не зависит от размера наночастицы [146,147].

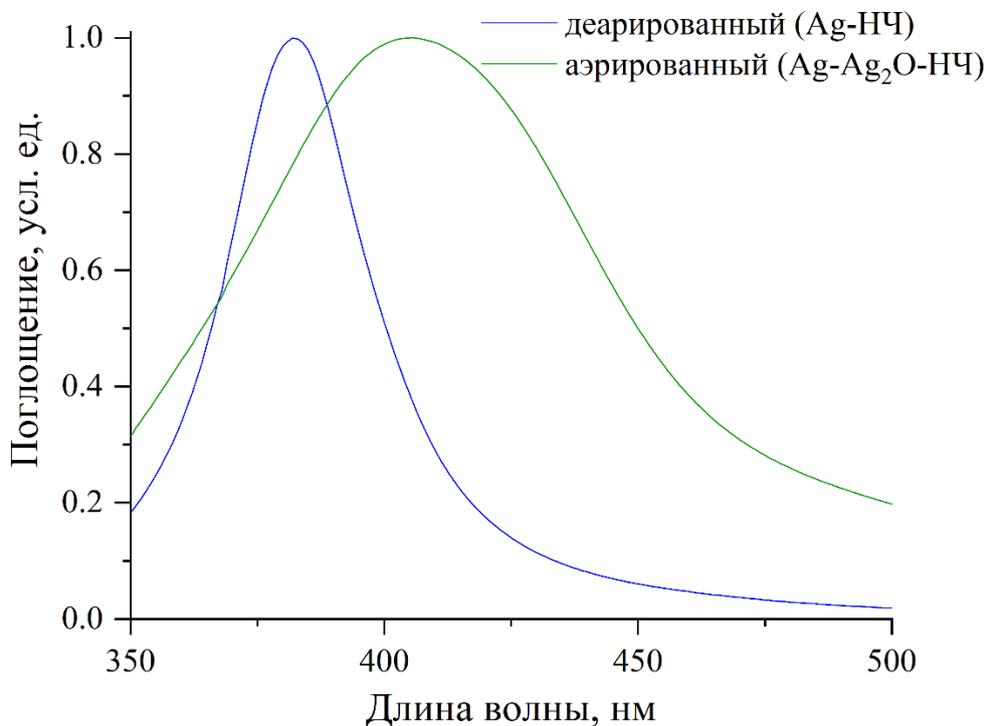


Рисунок 19 – Нормализованные оптические спектры поглощения наночастиц серебра, полученных в отсутствие (Ag-НЧ) и в присутствии (Ag-Ag₂O-НЧ) кислорода воздуха.

ζ -Потенциалы, измеренные методом ДРС сразу после получения наночастиц серебра, составили -114 и -67 мВ для Ag-НЧ и Ag-Ag₂O-НЧ, соответственно. С течением времени потенциал наночастиц, полученных в деаэрированном растворе, уменьшался и достигал постоянного значения ~ -68 мВ, т.е. практически становился таким же, как и получаемый в аэрированном растворе. В обоих случаях эти величины потенциалов отвечали состоянию (структуре ДЭС) коллоидов серебра в аэрированных водных средах. Отрицательный знак потенциала указывает на то, что потенциалобразующими ионами ДЭС коллоидов являются анионы (при pH 4-8 это преимущественно бикарбонат-ионы HCO₃⁻). Большое абсолютное значение потенциалов показывает высокую устойчивость коллоидов к агрегации. Действительно, гидрозоль сохраняет устойчивость в течение нескольких месяцев. Устойчивость гидрозоля возрастает при уменьшении содержания коллоидного металла в растворе. При этом Ag-Ag₂O-НЧ заметно более устойчив по сравнению с Ag-НЧ. Характеристики наночастиц серебра, синтезированных и использованных в настоящей работе, представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Характеристики наночастиц серебра Ag-НЧ и Ag-Ag₂O-НЧ.

Наночастица	λ_{\max} , нм	$W_{1/2}$, нм	$d_{\text{ПЭМ}}$, нм	$d_{\text{ДРС}}$, нм	ζ , мВ	Устойчивость гидрозоля, мес	$\tau_{1/2}$
Ag-НЧ	386	35	10.1 ± 2.8	12.3 ± 2.5	-68.3	1-2	
Ag-Ag ₂ O-НЧ	408	86	22.3 ± 4.2	24.1 ± 4.0	-67.4	3	

λ_{\max} – длина волны, соответствующая максимальному оптическому поглощению; $W_{1/2}$ – ширина полосы спектра оптического поглощения гидрозоля на полувысоте; $d_{\text{ПЭМ}}$ – диаметр наночастиц, измеренный методом ПЭМ; $d_{\text{ДРС}}$ – диаметр мицеллы серебра, измеренный методом ДРС; $\tau_{1/2}$ – время полурасстворения наночастиц.

Таким образом, разработан метод получения карбонат-стабилизированных наночастиц серебра путем восстановления ионов Ag⁺ карбоксильными анион-радикалами, образующимися из оксалат-ионов под действием УФ-излучения как в

отсутствие, так и в присутствии кислорода воздуха. Средний размер наночастиц составляет ~10 нм и ~20 нм, соответственно. В обоих случаях толщина стабилизирующего слоя составляет ~2 нм.

3.4. Определение концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозолей

Актуальной задачей является аналитическое определение концентрации атомов серебра в коллоидных дисперсиях (чаще всего, в гидрозолях) на фоне присутствия этого металла также в ионной форме. Существующие аналитические методы определяют суммарное количество серебра, а разделение атомарного и ионного серебра друг от друга представляет собой сложную процедуру, требующую дорогостоящих материалов. При этом мероприятия по пробоподготовке будут приводить к дополнительным искажениям результатов. Перспективным и наиболее простым способом анализа, не требующим сложных процедур подготовки образцов, является определение оптических характеристик наночастиц серебра методом спектрофотометрии в видимой и УФ областях светового потока.

Анализ эволюции электронного состояния наночастиц серебра в процессе их образования и влияния на поглощение ЛППР и МЗЭП показал перспективность метода оценки концентрации атомов серебра по интенсивности межзонного перехода (раздел 3.2.). Таким образом, по интенсивности поглощения МЗЭП можно судить об «относительном содержании» наночастиц в гидрозоле серебра.

В данной части работы поставлена задача разработать метод определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозолей по оптической плотности межзонного перехода связанных электронов в УФ-области и рассчитать коэффициент молярного поглощения (экстинкции).

При полном восстановлении ионов Ag^+ поглощение МЗЭП отражает содержание атомов серебра в наночастицах. Таким образом, можно предположить, что интенсивность поглощения МЗЭП линейно пропорциональна концентрации Ag^0 . Действительно, линейная зависимость интенсивности поглощения МЗЭП при $\lambda = 250$ нм от концентрации Ag^0 наблюдается в диапазоне от 5×10^{-5} до 3.5×10^{-4} моль л^{-1} (рисунок 20). Молярный коэффициент экстинкции атомов серебра в наночастицах, рассчитанный по закону Бугера–Ламберта–Бера, оказался равным $\epsilon_{250} = 3493 \pm 83$ л моль $^{-1}$ см $^{-1}$.

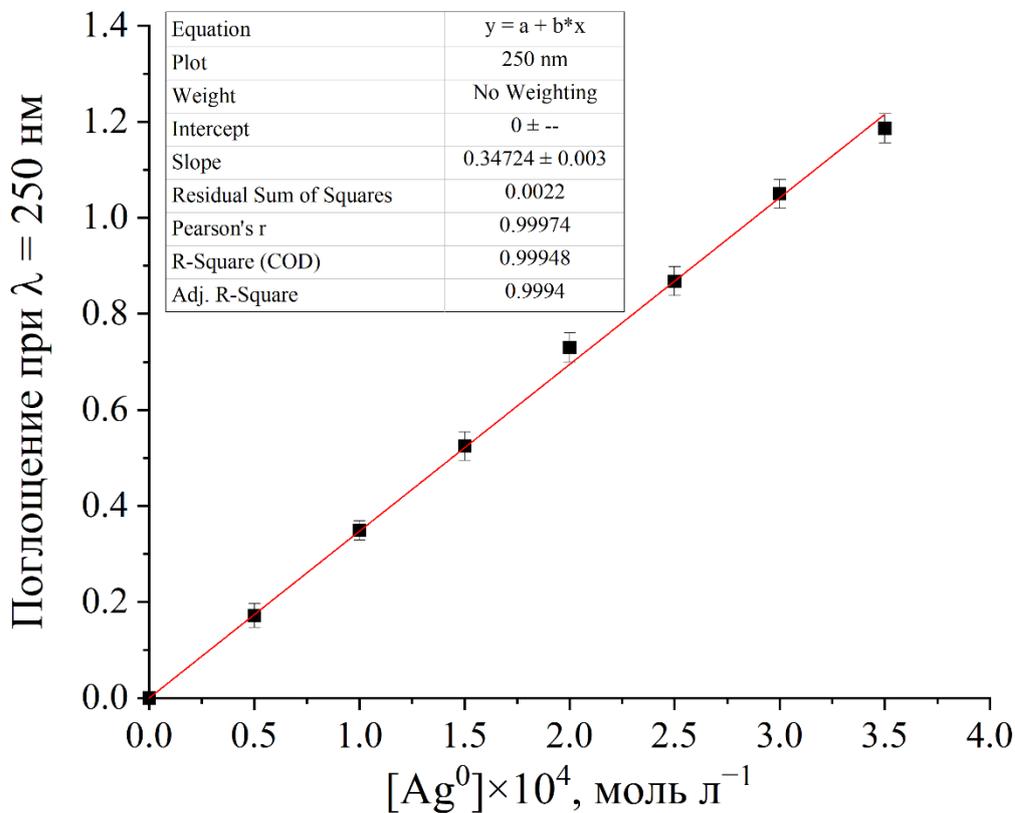


Рисунок 20 – Поглощение при $\lambda = 250$ нм как функция концентрации Ag^0 . Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = (0.5-3.5) \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} . Длина оптического пути 5 мм.

Сравнение спектров компонентов раствора (Ag^+ , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ и HCO_3^-) со спектром наночастиц серебра указывает на то, что эти ионы не оказывают заметного влияния на поглощение коллоидного металла (рисунок 21). Поглощение МЗЭП атомов Ag^0 заметно не осложняется поглощением других компонентов, что позволяет с

высокой точностью измерять их концентрацию в «карбонатном» гидрозоле серебра на длине волны ≥ 215 нм в диапазоне концентраций от 5×10^{-5} до 3.5×10^{-4} моль л $^{-1}$.

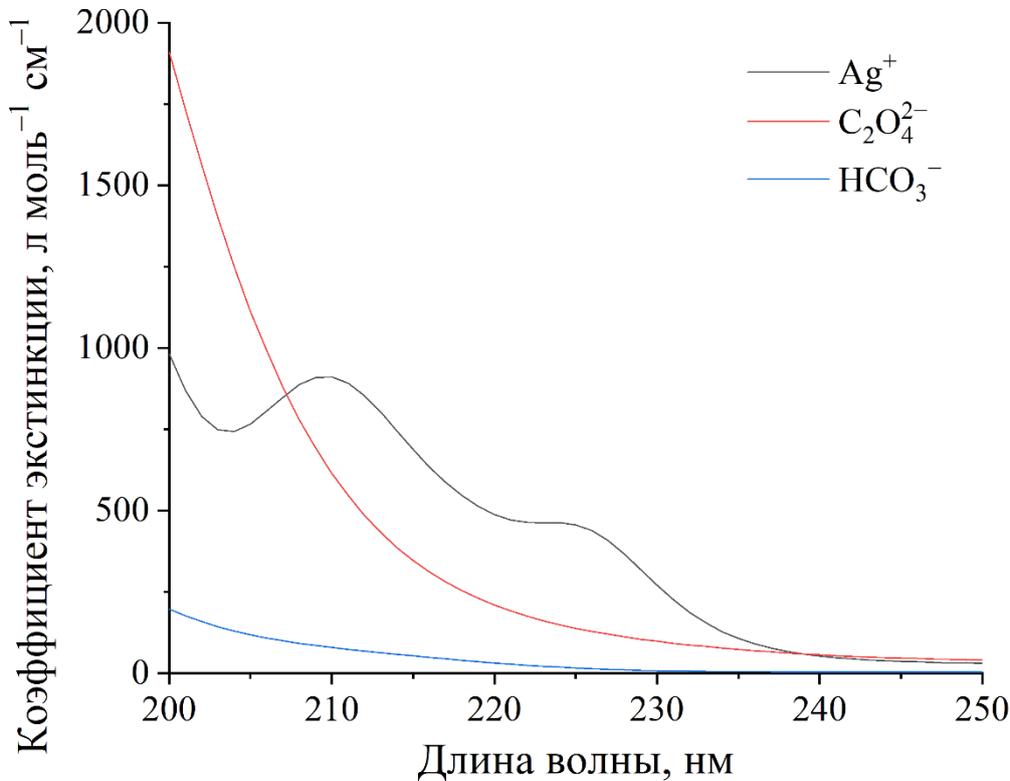


Рисунок 21 – Спектры поглощения ионов Ag^+ и $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ и HCO_3^- .

Взаимосвязь между оптической плотностью МЗЭП (атомов Ag^0) при $\lambda = 250$ нм и оптической плотностью ионов Ag^+ в исходном растворе ($\lambda_{\text{max}} = 210$ нм), которые при восстановлении превращаются в атомы серебра, представлена на рисунок 22. Как видно, между этими коэффициентами поглощения наблюдается линейная зависимость. Наклон кривой равен отношению $\epsilon_{250}(\text{Ag}^0)/\epsilon_{210}(\text{Ag}^+)$. Из известного значения $\epsilon_{210}(\text{Ag}^+) = 901 \pm 16$ л моль $^{-1}$ см $^{-1}$ (рисунок 22) находим $\epsilon_{250}(\text{Ag}^0) = 3586 \pm 64$ л моль $^{-1}$ см $^{-1}$. Таким образом, установлено, что ϵ_{250} для гидрозоля, содержащего карбонат-стабилизированные наночастицы сферической формы диаметром ~ 10 нм, составляет 3500 ± 100 л моль $^{-1}$ см $^{-1}$.

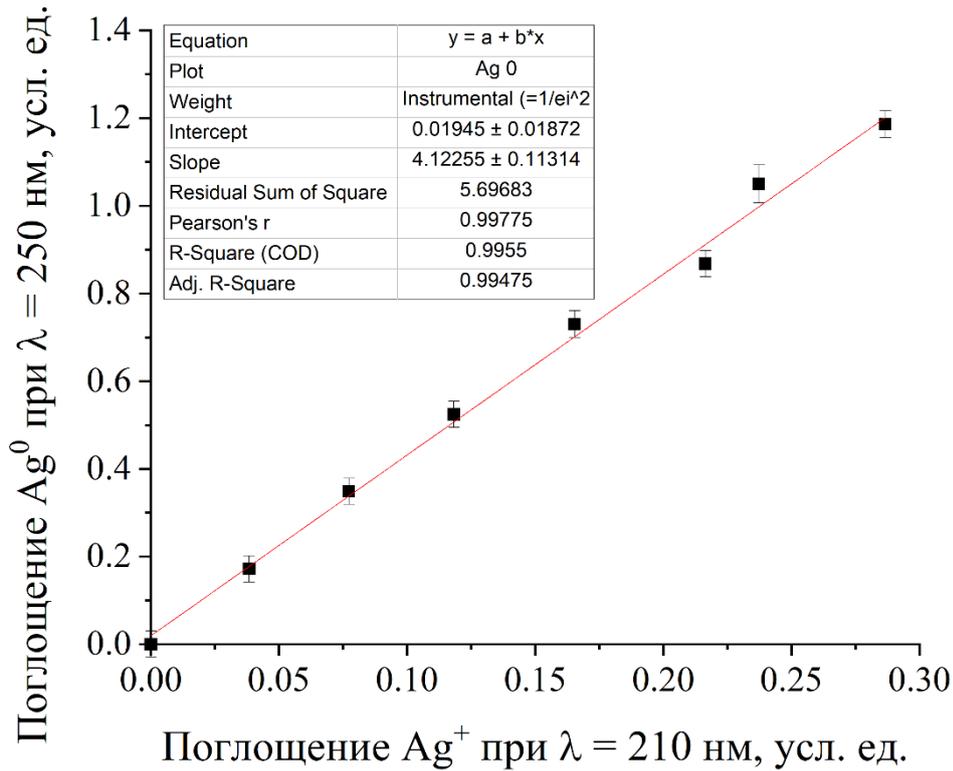


Рисунок 22 – Связь между поглощением МЗЭП ($\lambda_{\max} = 250$ нм) и поглощением ионов Ag^+ ($\lambda_{\max} = 210$ нм).

Таким образом, предложен и обоснован простой метод определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля по оптическому поглощению межзонных электронных переходов в УФ-области. Данный метод позволяет, не прибегая к дополнительным инструментам и методам анализа, рассчитывать содержание металлического серебра, анализируя оптические спектры поглощения гидрозоля. В дальнейшем метод будет использован нами для оценки кинетики растворения наночастиц серебра.

ГЛАВА 4. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ РАСТВОРЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ВОДЕ

В настоящее время имеется множество данных о путях поступления наночастиц серебра в водную среду, дальнейшем растворении в воде и высвобождении токсичных ионов Ag^+ . Тем не менее, различия в экспериментальных условиях затрудняют установление основных закономерностей процесса и его связи с условиями среды. Неясно, какие именно свойства и характеристики наночастиц и раствора контролируют растворение серебра. Поэтому, несмотря на заметный прогресс в изучении растворимости наночастиц серебра в воде, многие вопросы все еще остаются открытыми и предполагают необходимость дальнейших исследований в этой области.

Основная цель данной части работы состоит в разработке системного подхода к изучению окислительного растворения наночастиц серебра в гидрозоле, который по своему составу отвечал бы составу природной пресной воды и не содержал бы не характерных для природной воды соединений, используемых в процессе синтеза и стабилизации. Важным является также непрерывность и последовательность изучения всех стадий окислительного растворения наночастиц серебра, начиная с их получения в деаэрированном растворе, затем их окисления при введении воздуха, и до завершения процессов агрегации и осаждения. Для достижения этого будут использованы Ag -НЧ, полученные при фотохимическом восстановлении ионов серебра оксалат-ионами в деаэрированном нейтральном ($\text{pH} = 7.0 \pm 0.1$) водном растворе. Возникающий при этом «чистый» гидрозоль серебра содержит практически только наночастицы размером 10–20 нм, стабилизированные гидрокарбонат-ионами. Значение pH гидрозоля 6.9–7.1 и содержание гидрокарбонат-ионов ($0.5\text{--}1 \times 10^{-3}$ моль л^{-1}) соответствуют значениям этих показателей для некоторых незагрязненных пресных природных вод [148].

Отдельные стадии окислительного растворения Ag-НЧ будут последовательно изучены, начиная с получения гидрозоля серебра в деаэрированном растворе, его взаимодействия с кислородом и анализом промежуточных форм окисленных коллоидных частиц, последующей их агломерации и седиментации. Исследование состояния Ag-НЧ будет осуществляться *in situ* в растворе методом оптической спектроскопии путем наблюдения полос поглощения ЛППР и МЗЭП, а также методом ДРС.

Концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозолей определялась на основе разработанного и описанного в предыдущей главе спектрофотометрического метода по интенсивности поглощения МЗЭП в УФ области оптического поглощения металла. Для частиц размером 5-25 нм молярный коэффициент экстинкции атомов Ag^0 в диапазоне концентраций $(0.2-5.0) \times 10^{-4}$ моль л^{-1} определен равным 3500 ± 100 л моль $^{-1}$ см $^{-1}$ при длине волны 250 нм.

4.1. Устойчивость деаэрированного гидрозоля

При выдерживании деаэрированного гидрозоля в течение длительного времени его оптическое поглощение меняется незначительно (рисунок 23). Поглощение ЛППР снижается ввиду потери поверхностями наночастиц избыточного заряда. Интенсивность и форма полосы поглощения при $\lambda = 250$ нм, отражающие концентрацию атомов Ag^0 в наночастицах, сохраняются в течение 21 дня выдерживания. То есть, в течение указанного времени в гидрозоле установилось равновесие, и концентрация атомов серебра была постоянной. Этот факт находится в согласии с ранее сделанным наблюдением о том, что растворение НЧ-Ag в воде с высвобождением ионов Ag^+ происходит только в присутствии воздуха, т.е. в результате окисления металла кислородом [106,107].

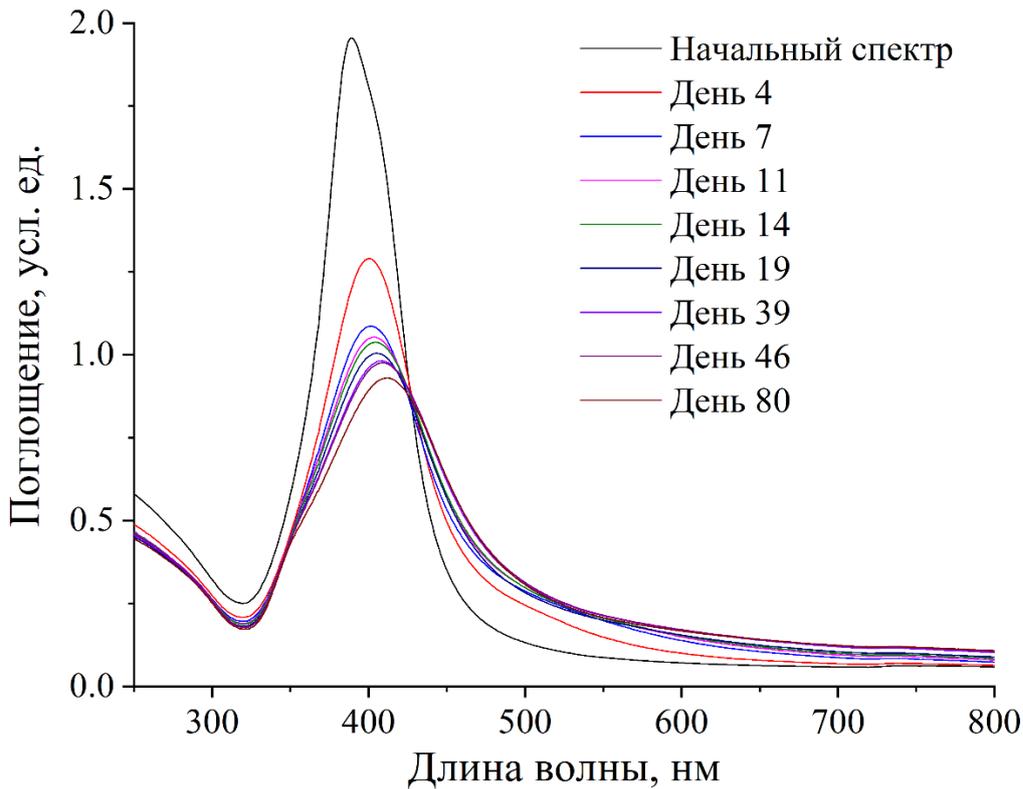


Рисунок 23 – Влияние времени выдерживания на поглощение деаэрированного гидрозоля. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 5 мм.

4.2. Окислительное растворение наночастиц серебра

В отсутствие воздуха гидрозоль серебра сохраняет устойчивость в течение многих месяцев. Присутствие кислорода инициирует окисление металла с высвобождением ионов Ag^+ в раствор, и на завершающей стадии происходит агрегация наночастиц. При концентрации наночастиц $\geq 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹ (рисунок 24) обнаруживается тенденция частичного выделения серебра в осадок (седиментация). Процесс окислительного растворения Ag-НЧ достаточно сложный и зависит от многих факторов – размера частиц и их концентрации, природы стабилизирующего слоя, величины рН и присутствия разнообразных соединений в

растворе. Рисунки 24-26 показывают изменение спектров поглощения гидрозолей серебра, содержащих 3×10^{-4} (рисунок 24), 1.7×10^{-4} (рисунок 25), 1.0×10^{-4} (рисунок 26) моль л^{-1} атомов Ag^0 , после контакта с воздухом.

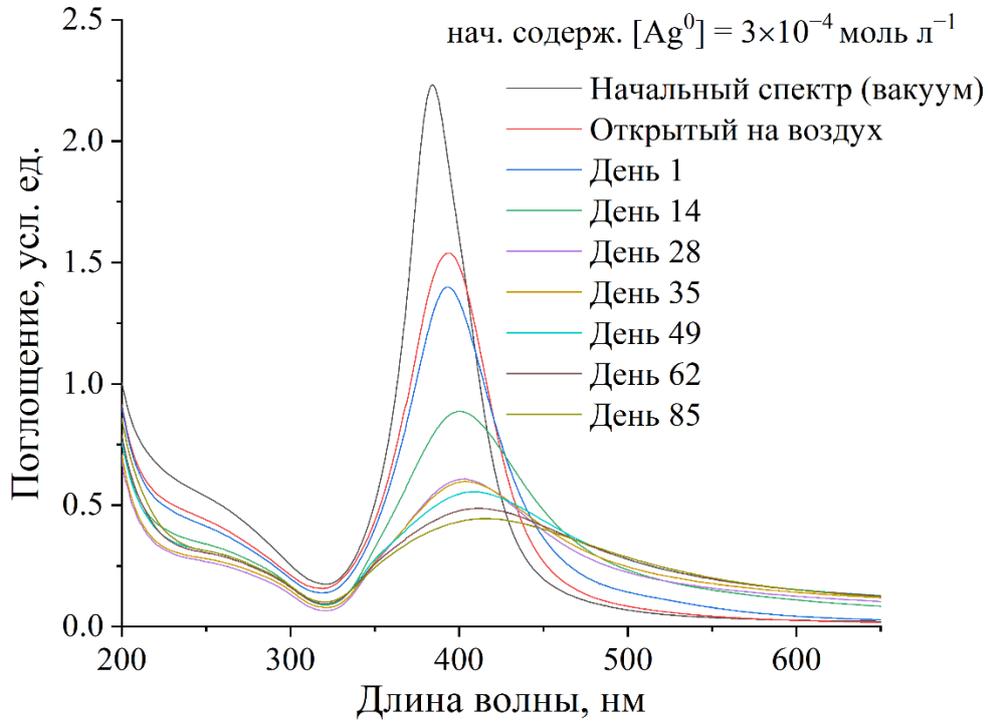


Рисунок 24 – Спектры поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени выдерживания при открытии на воздух. Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} . Длина оптического пути 5 мм.

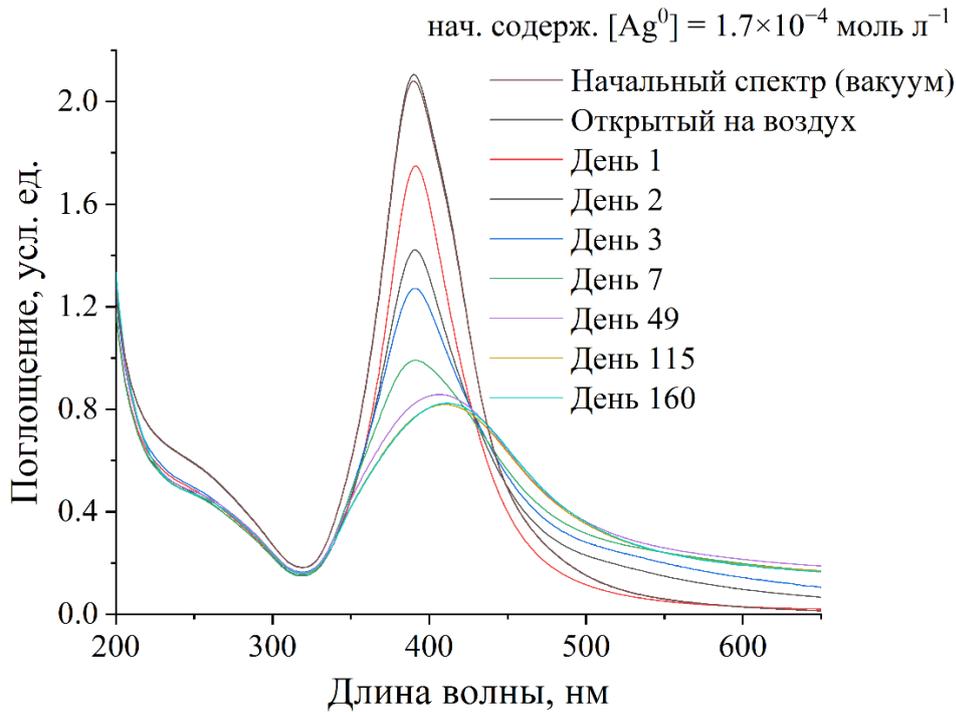


Рисунок 25 – Спектры поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени выдерживания при открытии на воздух. Исходный раствор: $[Ag^+] = 1.7 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 10 мм.

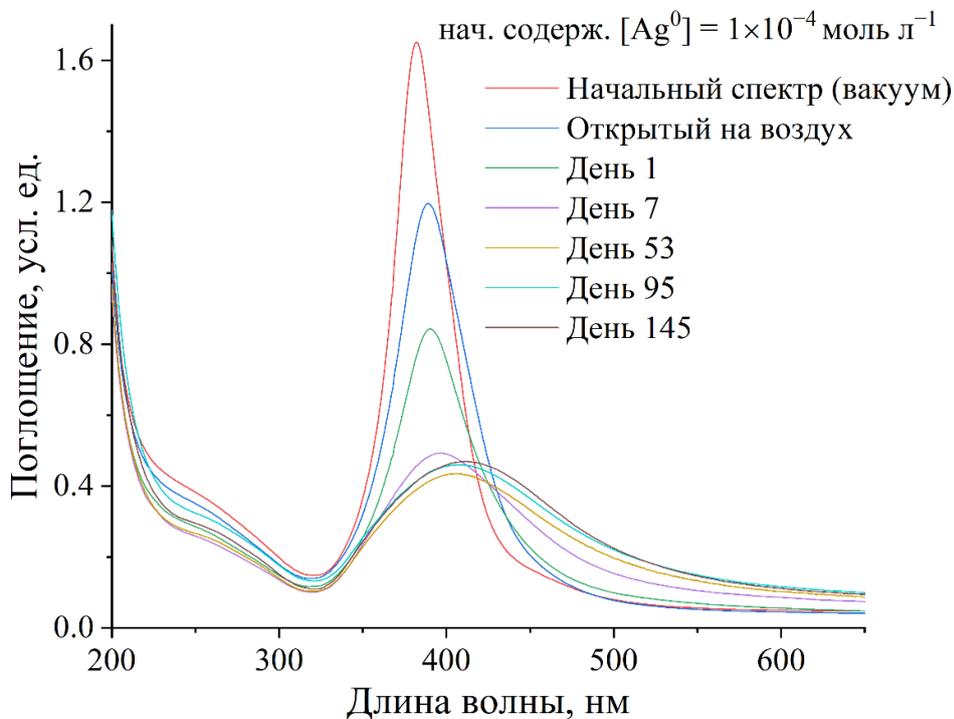


Рисунок 26 – Спектры поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени выдерживания при открытии на воздух. Исходный раствор: $[Ag^+] = 1 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 2 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 10 мм.

Сопоставление с рисунком 23, соответствующим деаэрированному гидрозоллю, показывает, что добавление воздуха приводит к заметным изменениям в спектрах. Это, в первую очередь, относится к поглощению плазмонов в металле – происходит существенное уменьшение интенсивности полосы ЛППР (в 3–5 раз), её уширение и смещение максимума в сторону длинных волн вплоть до 420–440 нм с плавным спадающим поглощением в длинноволновую область спектра вплоть до 800 нм. Влияние кислорода на полосу МЗЭП менее выражено. При напуске воздуха форма полосы не изменилась, а её интенсивность в течение 1-3 дней уменьшилась примерно на 40, 25 и 17 % от исходной по мере увеличения концентраций атомов Ag^0 в ряду растворов - 1.0×10^{-4} , 1.7×10^{-4} и 3.0×10^{-4} моль л^{-1} .

Кинетика окислительного растворения наночастиц серебра от времени выдерживания на воздухе (кривые 1) и высвобождения ионов Ag^+ в раствор (кривые 2) представлена на рисунках 27-29. Концентрации Ag^0 рассчитывались по интенсивности полосы МЗЭП ($\lambda = 250$ нм, $\varepsilon = 3500$ л моль $^{-1}$ см $^{-1}$). Окисление атомов серебра приводит к образованию ионов Ag^+ . Накопление ионов Ag^+ в процессе окисления наночастиц серебра рассчитывалось из концентрации Ag^0 с учетом соотношений $\Delta[\text{Ag}^0]_t = [\text{Ag}^0]_0 - [\text{Ag}^0]_t$ и $\Delta[\text{Ag}^+]_t = \Delta[\text{Ag}^0]_t$ (рисунки 7–9). Также приведены концентрации ионов Ag^+ , измеренные в растворе методом ИСП-МС. Видно, что имеется хорошее согласие данных по высвобождению ионов Ag^+ в раствор при окислительном растворении наночастиц металла, рассчитанных по убыли атомов (спаду поглощения полосы МЗЭП), и прямому измерению их концентрации методом ИСП-МС. Как указывалось ранее, для гидрозолей после их контакта с воздухом наблюдается быстрое окисление атомов Ag^0 (начальный участок кинетической прямой на рисунках 27–29) и высвобождение Ag^+ в раствор. При последующем выдерживании в течение 3–5 месяцев концентрация атомов серебра оставалась практически постоянной для растворов 1.7×10^{-4} (рисунок 28) и 1.0×10^{-4} моль л^{-1} Ag^0 (рисунок 29). Для более концентрированного раствора (3.0×10^{-4} моль л^{-1} Ag^0) наблюдался участок медленного окисления серебра (рисунок 29).

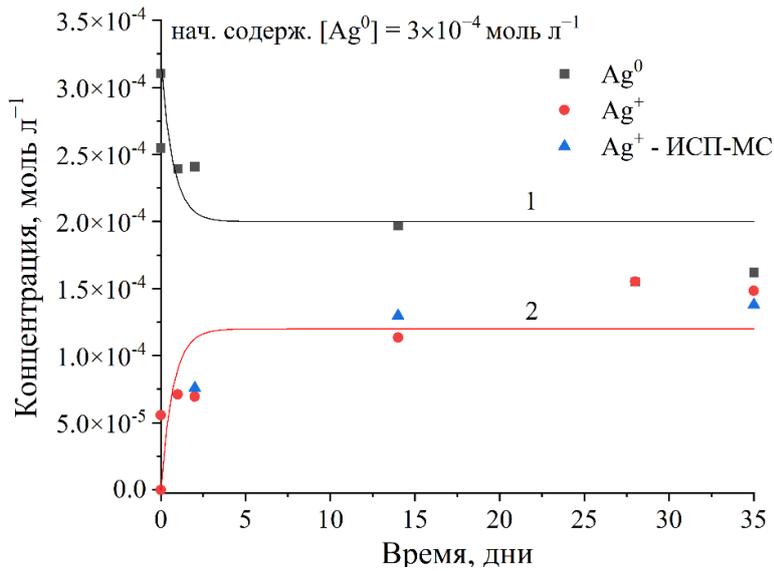


Рисунок 27 – Окислительное растворение наночастиц серебра и высвобождение ионов Ag^+ как функция времени выдерживания гидрозоля на воздухе: 1 – концентрация атомов Ag^0 ; 2 – концентрация ионов Ag^+ . Точки – эксперимент, кривая – расчет. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

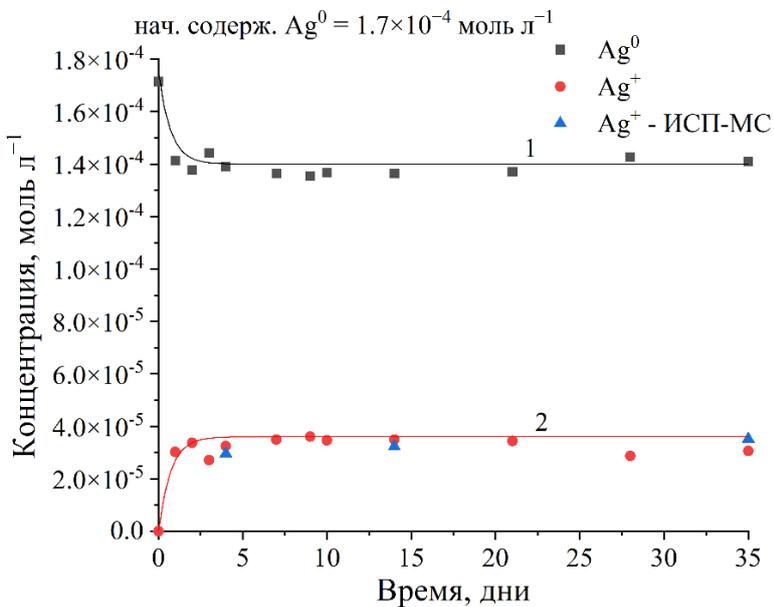


Рисунок 28 – Окислительное растворение наночастиц серебра и высвобождение ионов Ag^+ как функция времени выдерживания гидрозоля на воздухе: 1 – концентрация атомов Ag^0 ; 2 – концентрация ионов Ag^+ . Точки – эксперимент, кривая – расчет. Исходный раствор: $[Ag^+] = 1.7 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

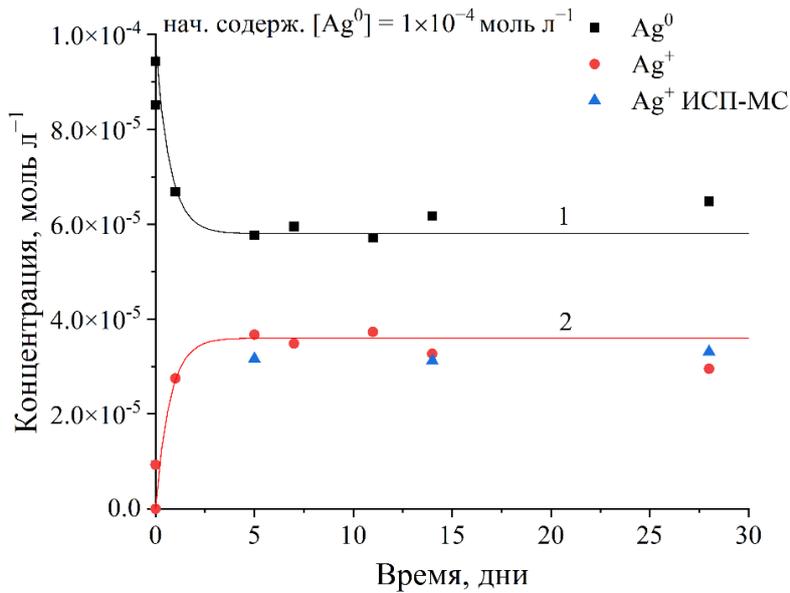


Рисунок 29 – Окислительное растворение наночастиц серебра и высвобождение ионов Ag^+ как функция времени выдерживания гидрозоля на воздухе: 1 – концентрация атомов Ag^0 ; 2 – концентрация ионов Ag^+ . Точки – эксперимент, кривая – расчет. Исходный раствор: $[Ag^+] = 1 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 2 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

Кинетика растворения наночастиц серебра и высвобождения ионов Ag^+ в раствор, охарактеризованная по уменьшению поглощения атомов серебра, хорошо описывается уравнением реакции первого порядка. Для растворения наночастиц:

$$[Ag^0]_t = [Ag^0]_0 \times e^{-kt} \quad (17),$$

где $[Ag^0]_0$ и $[Ag^0]_t$ – начальная и текущие концентрации атомов, а k - константа скорости реакции;

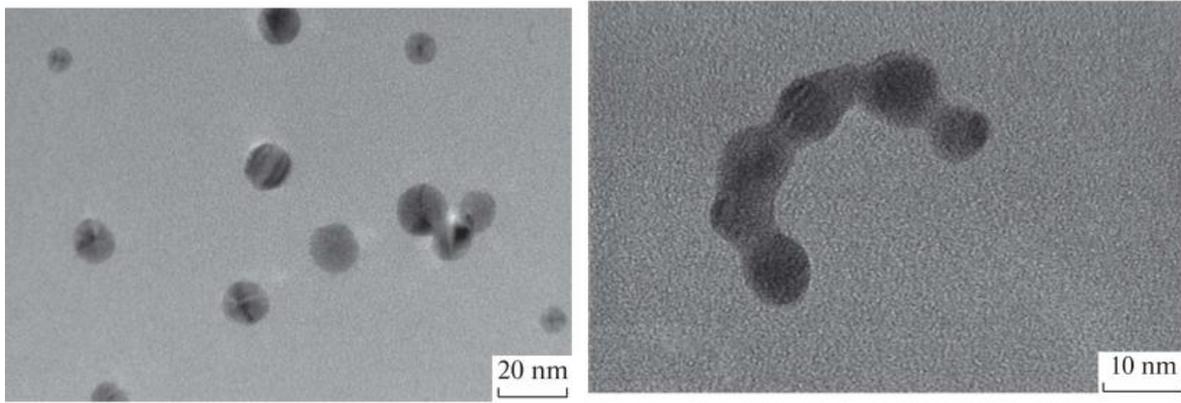
для высвобождения ионов Ag^+ в раствор, соответственно:

$$[Ag^+]_t = [Ag^0]_0 \times (1 - e^{-kt}) \quad (18)$$

В исследуемом диапазоне концентраций $(1-4) \times 10^{-4}$ моль л⁻¹ Ag^0 константа скорости окислительного растворения наночастиц серебра и высвобождения ионов рассчитана равной $(1.6 \pm 0.2) \times 10^{-3}$ мин⁻¹.

4.3. Агрегация наночастиц серебра при окислительном растворении

При окислительном растворении Ag-НЧ происходит высвобождение ионов Ag^+ в раствор и образование ионов OH^- . В результате изменяется состав среды и, соответственно, нарушается структура двойного электрического слоя (ДЭС) и, как следствие, изменяется устойчивость гидрозоля [106,108,142,149]. ζ -Потенциал коллоидных частиц деаэрированного гидрозоля изменяется от -114 до -67 мВ при насыщении последнего воздухом. Окисление атомов серебра увеличивает положительный заряд металлического агрегата. В результате происходит увеличение плотности слоя потенциалобразующих ионов и сжатие диффузного слоя, что благоприятствует сближению коллоидов и их агломерации и агрегации. Этот вывод подтверждается наблюдаемым изменением плазмонного поглощения гидрозоля. При контакте с воздухом полоса ЛППР смещается в сторону длинных волн и появляется размытое спадающее поглощение в этой области, вызванное рассеянием света агломератами наночастиц (рисунки 24–26). Данные ПЭМ также показывают, что наночастицы в процессе окислительного растворения агломерируют и образуют ассоциаты и цепочки связанных частиц. Метод ПЭМ, как ранее указывалось (раздел 3.2.), подтверждает присутствие в свежесформованном гидрозоле серебра отдельных сферических наночастиц, равномерно распределенных по поверхности подложки (рисунок 30а). После контакта гидрозоля с воздухом наблюдается образование агломератов и цепочек сферических наночастиц (рисунок 30б).



(a)

(б)

Рисунок 30 – Микрофотографии наночастиц серебра после их получения в деаэрированном растворе (а) и после выдерживания на воздухе в течение 4 дней (б). Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

Данные, полученные методом ДРС, также подтверждают агрегацию коллоидов серебра при их окислении (рисунок 31). После получения гидрозоля в нем обнаруживаются коллоиды с гидродинамическими размерами частиц 12-15 нм, коррелирующими с данными ПЭМ – сферические частицы размером ~10 нм. Окислительное растворение наночастиц существенно изменяет характер гистограммы. Обнаруживается псевдоувеличение размеров наночастиц от ~10-15 нм до ~120 нм. Известно, что программа обработки данных, получаемых методом ДРС, применима для металлических наночастиц сферической формы. Скопления наночастиц дают большой вклад в рассеяние, и это рассеяние рассчитывается программой как вызванное сферическими частицами очень большого размера, что, конечно, не соответствует действительности. Поэтому результаты, полученные методом ДРС, для окисленных гидрозолей можно и следует рассматривать как веское указание на уменьшение устойчивости гидрозолей со временем выдерживания в кислородсодержащей атмосфере, приводящее к агрегации наночастиц, не связывая данные с размерами реальных крупных сферических наночастиц. Можно однозначно констатировать, что в результате окислительного растворения происходит резкое увеличение гидродинамического размера частиц гидрозоля, указывающее на их агрегацию и агрегацию.

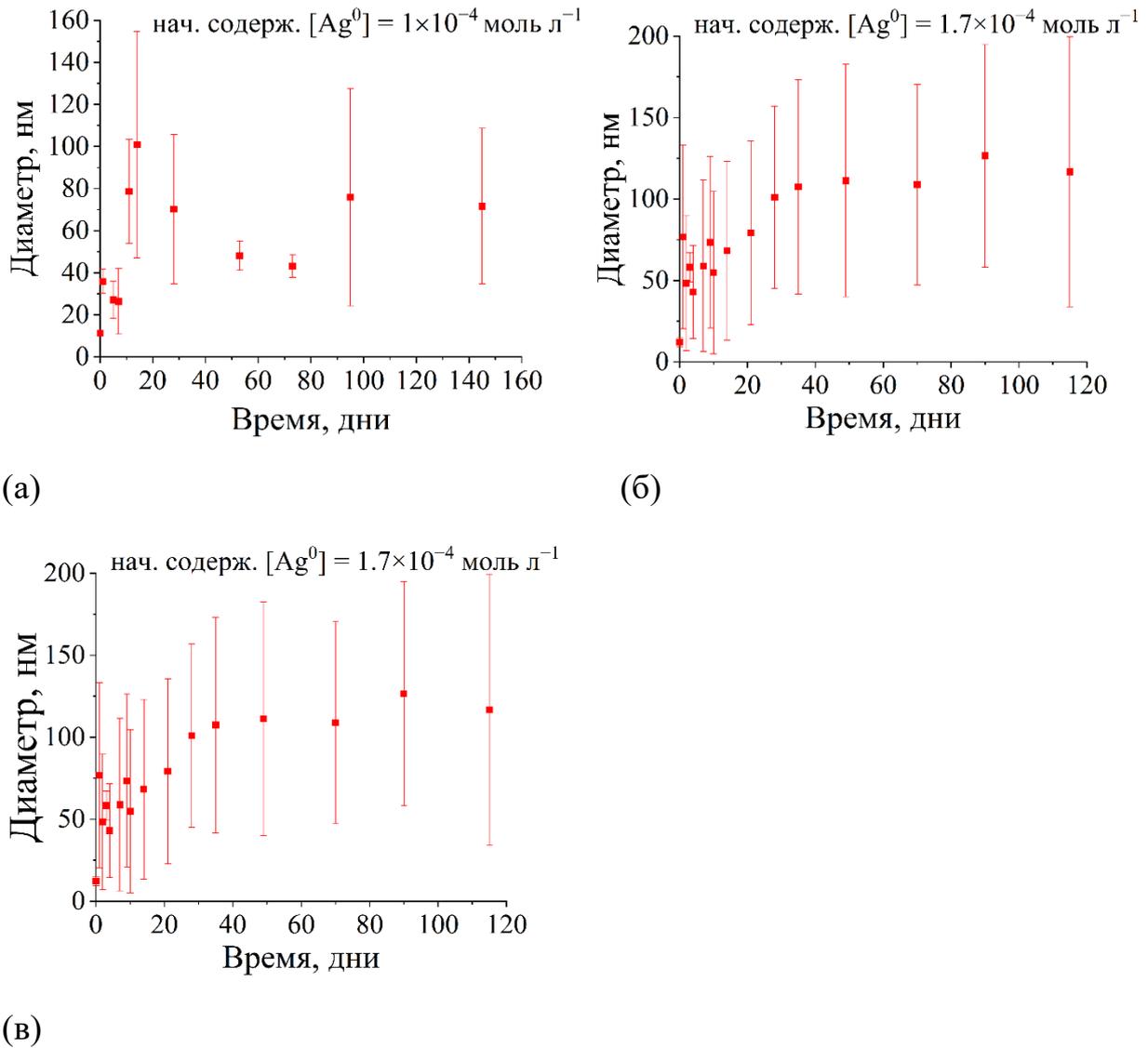


Рисунок 31 – Размеры наночастиц серебра, измеренные методом ДРС, как функция времени выдерживания гидрозоля на воздухе: а – исходный раствор: $[Ag^+] = 1 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$, $[C_2O_4^{2-}] = 2 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$; б – исходный раствор: $[Ag^+] = 1.7 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$, $[C_2O_4^{2-}] = 3 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$; в – исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$.

В присутствии кислорода окисление наночастиц приводит к высвобождению ионов Ag^+ в раствор в тем большей степени, чем длительнее во времени этот процесс. Это обстоятельство существенно сказывается на состоянии гидрозоля серебра и его устойчивости. Появление свободных ионов Ag^+ приводит к их адсорбции на поверхности наночастицы, что увеличивает её положительный заряд. В свою очередь это последовательно изменяет структуру коллоида и ДЭС –

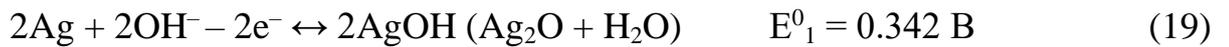
возрастает плотность адсорбционного слоя потенциалобразующих анионов и его отрицательный заряд, следствием чего является сближение с плотным слоем положительных противоионов и сжатием диффузного слоя коллоидной частицы серебра. Величина ζ -потенциала, как уже упоминалось, определяется толщиной диффузного слоя коллоида. Чем меньше ζ -потенциал, тем меньше толщина диффузного слоя. Таким образом, высвобождение ионов Ag^+ последовательно приводит к уменьшению величины ζ -потенциала и, соответственно, к сжатию диффузного слоя. Чем тоньше диффузный слой, тем ближе частицы подходят друг к другу и тем меньше силы отталкивания их друг от друга. Устойчивость гидрозоля уменьшается, что сопровождается агрегацией частиц и, в итоге, даже их седиментацией.

4.4. Механизм окислительного растворения наночастиц

Результаты данного исследования показывают, что окислительное растворение НЧ-Ag характеризуется наличием быстрого участка, наступающего сразу при контакте гидрозоля, полученного в деаэрированном состоянии (раздел 4.2.), с воздухом. Затем относительно скоро (в течение примерно 7–15 дней) растворение завершается выходом на стационарное состояние. На этом этапе, по-видимому, окисление сопровождается агломерированием наночастиц и формированием оксидной пленки на их поверхности. Изменение состояния поверхности, а также вызванное этим нарушение структуры ДЭС находит отражение в изменении интенсивности и формы полосы поглощения поверхностных плазмонов металла. Это наблюдение согласуется с выводом, сделанным в работе [111], в которой продемонстрировано заметное влияние присутствия оксида на поверхности наночастиц серебра на плазмонный резонанс наночастиц серебра: образование оксида на поверхности частицы вызывает

смещение пика полосы оптического поглощения в сторону длинных волн (~440 нм).

Механизм окислительного растворения наночастиц серебра, по-видимому, имеет электрохимическую природу. Его можно представить двумя одновременно протекающими электродными полуреакциями. На аноде происходит ионизация атомов серебра, и ионы Ag^+ переходят в раствор или формируют фазу оксида (растворение) [112]



На катоде избыточные электроны взаимодействуют с растворенным кислородом, восстанавливая его [112]:



Чистая неокисленная поверхность металла не является источником высвобождения ионов Ag^+ [107]. Реакция ионизации атомов серебра



не благоприятна термодинамически для реализации процесса растворения. Выигрыш в энергии за счет образования малорастворимого оксида открывает возможность для процесса растворения. Согласно работе [111], высвобождение ионов Ag^+ в раствор осуществляется в результате растворения одного или двух окисленных монослоёв с поверхности частицы. Аналогичный вывод можно сделать при изучении растворения Ag-НЧ (раздел 4.2.), когда было установлено, что этому процессу предшествует формирование пленки оксида Ag_2O . Согласно исследованию [107], высвобождение ионов Ag^+ - это совместный процесс окисления, требующий как протонов, так и растворенного O_2 . Оксид серебра Ag_2O далее растворяется в результате реакции с протонами



На границе раздела электропроводящих фаз (в нашем случае НЧ-Ag/водная среда) формируется двойной электрический слой, как было указано ранее, и возникает разность потенциала. Величина электродных потенциалов определяет

глубину (доля растворенного металла) и скорость коррозионного процесса. Для реакции окисления серебра электродвижущая сила (ΔE^0) будет равна разности стандартных потенциалов реакций (20) и (19), т.е. $\Delta E^0 = (E^0_2 - E^0_1) = (0.401 \text{ В} - 0.342 \text{ В}) = 0.059 \text{ В}$ [112]. Положительное значение ΔE^0 указывает на то, что предпочтительным в окислительно-восстановительном процессе оказывается окисление металла. Растворение серебра на начальном этапе происходит, наиболее вероятно, с образованием малорастворимого оксида ($\text{AgOH}/\text{Ag}_2\text{O}$), который далее медленно растворяется в реакции с протонами. Небольшая величина электродвижущей силы и формирование защитной оксидной пленки делает процесс окисления массивного серебра малоэффективным. Однако, согласно ряду исследований [150–154], стандартный окислительно-восстановительный потенциал металлических наночастиц заметно отличается от значений, свойственных массивному состоянию. Показано, что он уменьшается с уменьшением размера частиц [155]. Для наночастиц серебра размером 10 нм потенциал уменьшается примерно на -0.100 В . Так как в настоящей работе исследуются наночастицы размером $\sim 10 \text{ нм}$, возможно использование данного значения потенциала. Таким образом, потенциал реакции (17) должен быть равен примерно 0.242 В . Тогда электродвижущая сила электрохимического окисления серебра ΔE^0 оказывается равным 0.159 В . Сопоставление с величиной 0.059 В , отвечающей массивному металлу, показывает, что наноразмерное состояние серебра должно существенно ускорять процесс окислительного растворения металла в воде и в тем большей степени, чем меньше размер частицы. Это наблюдается в большом числе экспериментальных наблюдений [106,107,109,149].

Совокупность результатов, полученных в исследованиях [106,107,156,109,149–155], позволяет сделать вывод о том, что окислительное растворение наночастиц серебра в водных растворах осуществляется, наиболее вероятно, по электрохимическому механизму. При этом доля растворенного металла и скорость высвобождения ионов Ag^+ в раствор возрастают с уменьшением размера Ag-НЧ [106]. В процессе окисления, как было показано ранее, происходит агрегация последних. По-видимому, укрупнение частиц серебра сопровождается

постепенным ростом E^0_1 до величины, свойственного массивному металлу. Этот важный вывод следует из данных, полученных в исследованиях [106,109] при изучении зависимости растворимости наночастиц от их размера: увеличение размера наночастиц приводит к уменьшению их растворимости и при достижении некоего критического размера к практически полной остановке процесса.

При этом на потенциал существенно влияли размер и степень агрегации частиц [155]. Агломерация наночастиц малого размера приобретает потенциал, свойственный массивному металлу, т.е. ΔE_1 в процессе агрегации стремится к нулю. Это, как следовало ожидать, сопровождается снижением скорости растворения и достижению состояния псевдоравновесия. Последнему обстоятельству, по-видимому, также способствует формирование на поверхности металла оксида и других защитных соединений. В данной работе показано (см. раздел 4.2.), что быстрое окислительное растворение на начальном этапе при контакте деаэрированного гидрозоля с воздухом постепенно замедлялось и затем практически прекращалось (рисунки 24–26). Процесс окисления коррелировал с ускоряющимся процессом агрегации наночастиц серебра, что, как следует из вышесказанного, увеличивает стандартный электродный потенциал и уменьшает электродвижущую силу электрохимического окисления серебра. Результатом является остановка окислительного растворения наночастиц.

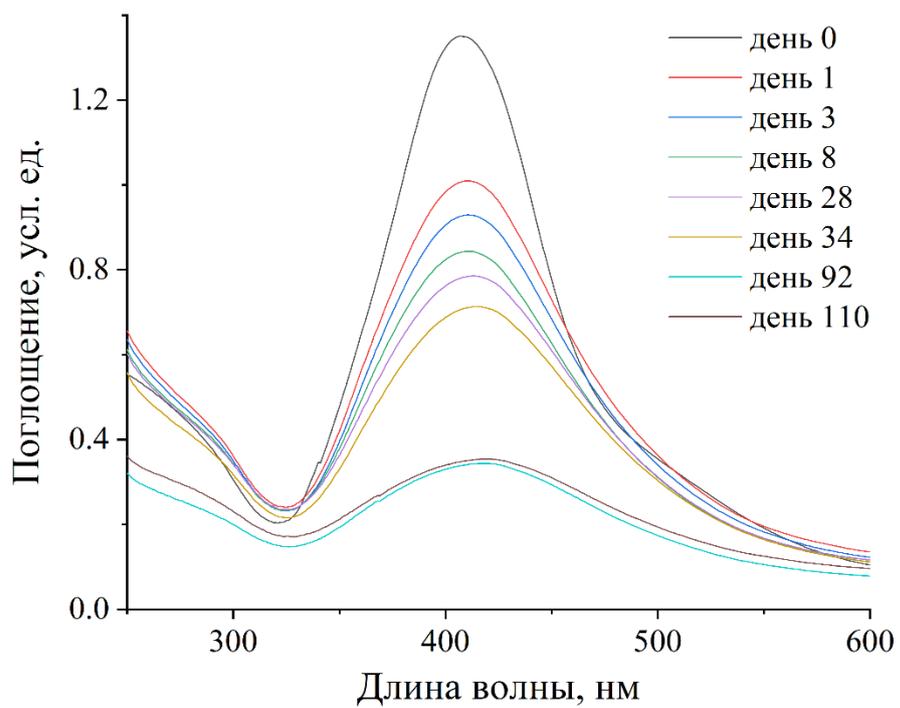
Электрохимическая модель окислительного растворения наночастиц серебра в воде и водных растворах устанавливает взаимосвязь размера частицы с её фундаментальной характеристикой - стандартным электродным потенциалом и её определяющего влияния на кинетику растворения наночастиц серебра. Чем меньше размер частицы, тем меньше ее потенциал и тем больше скорость окислительного растворения в водной среде. Результаты выполненных исследований показывают, что в ходе окислительного растворения по электрохимическому механизму радикально изменяются характеристики гидрозоля серебра – размер и состояние коллоидов, состав среды и структура ДЭС, и наконец, наблюдается снижение устойчивости, сопровождающееся агломерацией и агрегацией наночастиц и даже

выделением их в осадок. Агломераты и агрегаты наночастиц имеют потенциал массивного серебра и свойственную ему низкую скорость растворения. Отдельные наночастицы малого размера, в отличие от агрегированных структур, определяют кинетику высвобождения Ag^+ . Дальнейшее развитие электрохимического механизма окислительного растворения наночастиц серебра и кинетики высвобождения ионов может способствовать разработке численных моделей развития окисления и миграции этого металла в водных средах.

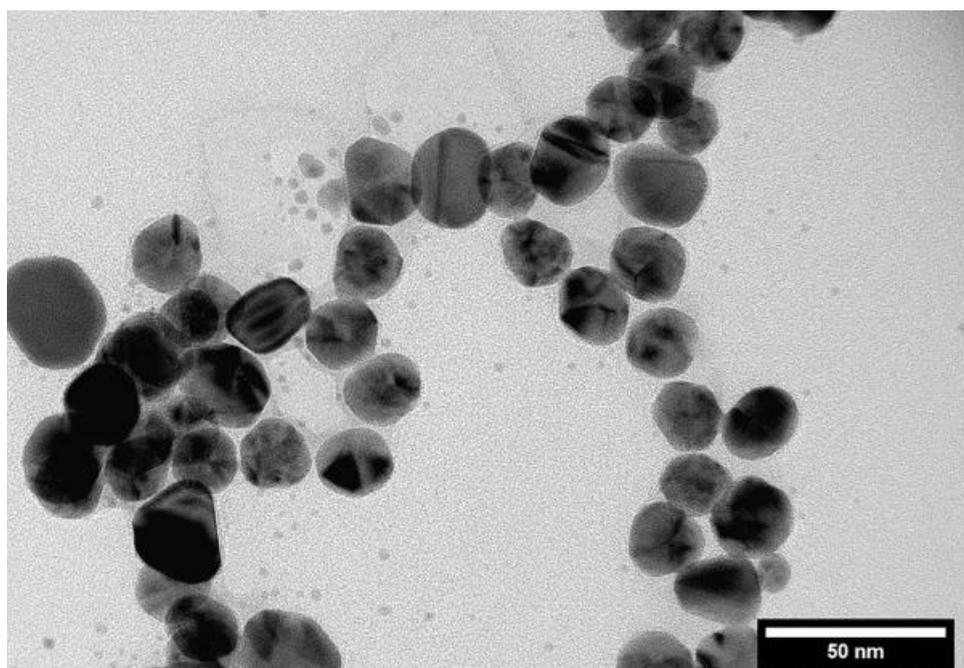
4.5. Устойчивость наночастиц серебра в природных водах

Представляет значительный практический интерес установить влияние факторов окружающей среды на устойчивость и растворимость наночастиц карбонатного гидрозоля при его попадании в эту среду, т.е. в разные по своим составам и свойствам водные источники. С этой целью были выполнены эксперименты по наблюдению за показателями состояния карбонат-стабилизированных наночастиц (структура оптического поглощения, распределение частиц по размерам, полученные методами ПЭМ и ДРС, а также значения ζ -потенциалов) при смешении гидрозоля с равным объемом природной воды разного происхождения.

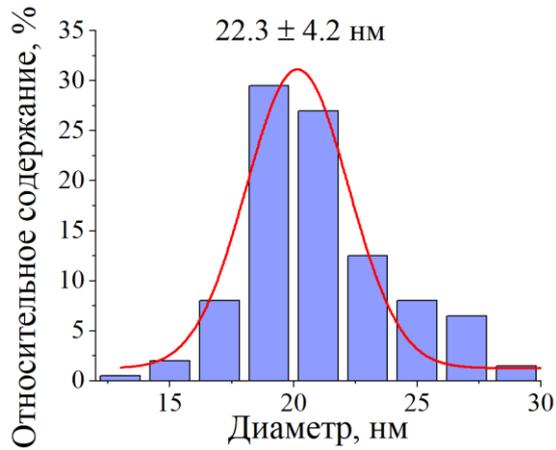
В оптическом спектре гидрозоля наблюдаются поглощения МЗЭП и ЛППР (рисунок 32а). Данные, полученные методами ПЭМ и ДРС, указывают на преимущественно сферическую форму наночастиц со средним размером ~ 22 нм (рисунки 32б-г), ζ -потенциал гидрозоля составляет -67 мВ. Гидрозоль является устойчивым, на что указывает снижение интенсивности поглощения МЗЭП вдвое примерно за 3 месяца в результате окислительного растворения (рисунок 32а).



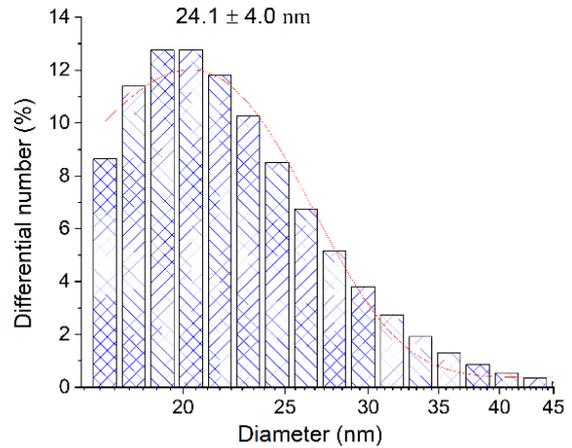
(a)



(б)



(B)



(Г)

Рисунок 32 – Характеристики наночастиц серебра. а – Спектры оптического поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени. Длина оптического пути 5 мм. б – Микрофотография наночастиц серебра, полученная методом ПЭМ; в – распределение частиц по размерам, полученное методом ПЭМ и г – методом ДРС. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

В таблице 6 представлены концентрации основных индифферентных и специфических ионов, присутствующих в используемых природных водах, а также указана ионная сила.

Таблица 6 – Содержание основных ионов, обнаруженных в используемых природных водах, и рассчитанная ионная сила.

Природная вода	Индифферентные ионы, 10^{-4} моль л ⁻¹		Специфические ионы, 10^{-4} моль л ⁻¹		Ионная сила, моль л ⁻¹
	Ион	Концентрация	Ион	Концентрация	
Водопроводная	HCO ₃ ⁻	29.6	Cl ⁻	8.0	7.5×10^{-3}
	Ca ²⁺	15.0			
	Mg ²⁺	5.9	SO ₄ ²⁻	4.1	
	Na ⁺	7.8			

Продолжение таблицы 6

Минеральная	HCO_3^-	25.9	Cl^-	1.8	3.8×10^{-3}
	Ca^{2+}	8.3			
	Mg^{2+}	3.2	SO_4^{2-}	0.26	
	Na^+	1.9			
Из скважины	HCO_3^-	63.8	Cl^-	1.8	1.0×10^{-2}
	NO_3^-	1.0			
	Ca^{2+}	21.5	SO_4^{2-}	1.1	
	Mg^{2+}	13.2			
	Na^+	2.4			
Морская	HCO_3^-	26.2	Cl^-	2814.6	3.2×10^{-1}
	PO_4^{3-}	0.9			
	Ca^{2+}	55.1	SO_4^{2-}	93.2	
	Mg^{2+}	253.5			
	Na^+	1931.3	Br^-	3.5	

4.5.1. Наночастицы в водопроводной воде

Сразу при смешивании гидрозоля, содержащего карбонат-стабилизированные наночастицы, полученные в присутствии кислорода воздуха, с водой из московского водопровода, наблюдается заметное искажение структуры и формы спектра оптического поглощения. Существенно уменьшаются интенсивности оптических полос в области 250 нм, связанной с поглощением

МЗЭП, а также в области 400–450 нм, вызванной поглощением плазмонов в металле. Кроме того, в области ≥ 450 нм и вплоть до 800 нм появляется и во времени увеличивается по интенсивности бесструктурное поглощение, вызванное рассеянием и отражением света крупными частицами металла [157] (рисунок 33). Величина оптического поглощения смеси гидрозоля и водопроводной воды (соотношение 1:1) снижается во времени. Спустя 7 дней полоса оптического поглощения в области 250–800 нм не обладает выраженными пиками, что можно рассматривать как указание на ее обусловленность отражением света крупными частицами серебра.

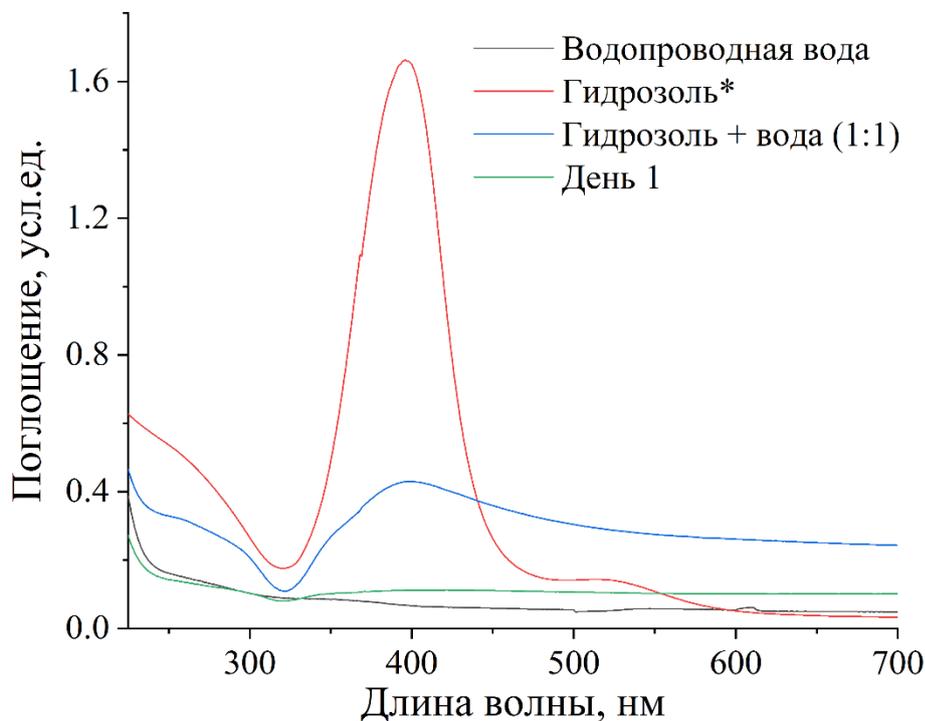
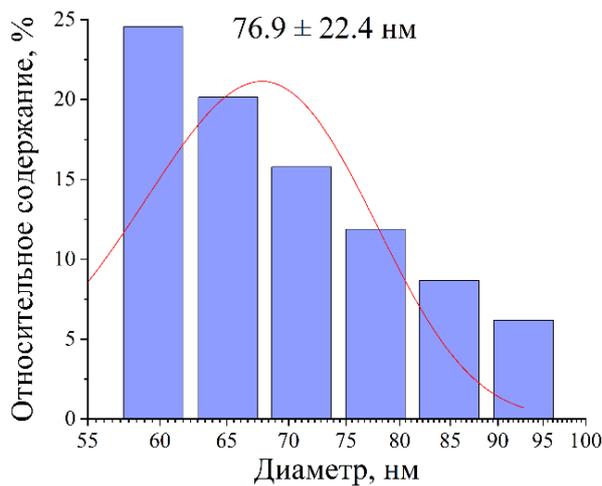


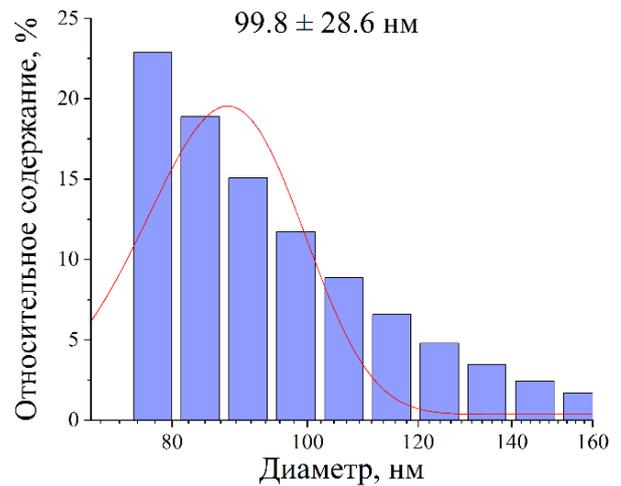
Рисунок 33 – Спектры оптического поглощения гидрозоля серебра в водопроводной воде в зависимости от времени. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 10 мм. *Учтено дальнейшее разбавление.

Данные ДРС и ПЭМ подтверждают то, что при смешивании с водопроводной водой происходит укрупнение наночастиц (рисунки 34, 35). Средний размер исходных частиц серебра, измеренный методом ДРС, составляет ~ 24 нм, а после смешивания с водой размер, согласно данным ДРС, увеличивается до 76.9 ± 22.4 нм и спустя сутки до 99.8 ± 28.6 нм, и спустя 7 суток, когда значительная часть

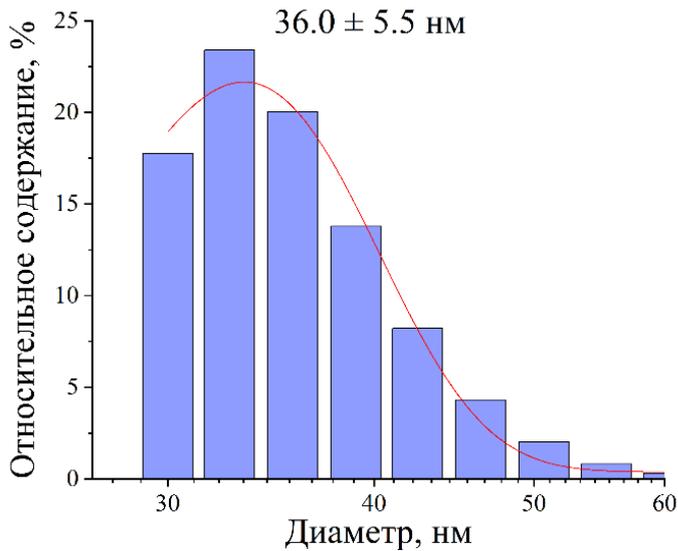
частиц выделилась в осадок, в растворе обнаруживаются мелкие частицы серебра – 36.0 ± 5.5 нм. Как указывалось выше (раздел 4.3.), программа расчета размеров методом ДРС не учитывает агломерацию наночастиц, о точных размерах можно говорить только для сферических высокодиспергированных частиц. Так, агломерат нескольких наночастиц расценивается программой как одна частица. Увеличение размеров указывает либо на агрегацию, либо на агломерацию. Также стоит отметить, что при значительном увеличении размеров, а также при агломерации, со временем происходит осаждение металла, что исключает определение этих частиц. Спустя 7 суток наблюдается выделение частиц в осадок, при этом фиксируется кажущееся уменьшение размеров.



(a)



(б)



(в)

Рисунок 34 – Диаграммы распределения по размерам наночастиц серебра в водопроводной воде, полученные методом ДРС. Время выдерживания: а – сразу после смешивания; б – 1 сутки; в – 7 суток. Соотношение вода-гидрозоль 1:1. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

Микрофотография выдержанных 1 сутки в водопроводной воде наночастиц серебра подтверждает предположение об агломерации и агрегации частиц (рисунок 35). Видно, что имеются как отдельные сферические наночастицы, так и более крупные несферические частицы, а также агломераты. Последние представляют собой скопление частиц, приблизившихся друг к другу, но еще отделенных прослойкой среды. Агрегаты представляют собой уже связанные друг с другом частицы.

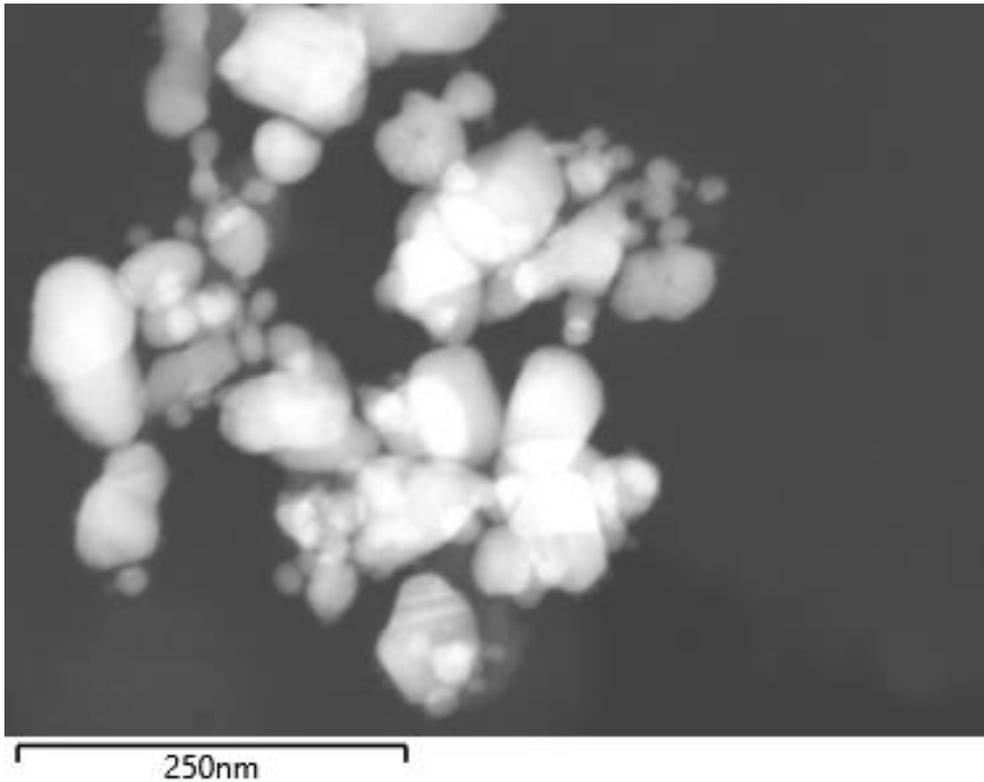


Рисунок 35 – Микрофотография наночастиц серебра в воде московского водопровода спустя 1 сутки после смешения. Соотношение вода-гидрозоль 1:1. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

Таким образом, при смешении гидрозоля с водопроводной водой происходит катастрофическая потеря им устойчивости, что вызывает агломерацию и агрегацию наночастиц. ζ -Потенциал исходных НЧ по окончании синтеза составил -65 мВ, при смешивании с водой значение изменилось до -25 мВ и осталось таким и при последующих измерениях. Снижение значения ζ -потенциала указывает на нарушение структуры двойного электрического слоя и уменьшение толщины диффузного слоя противоионов. Как следствие, ослабевают взаимное отталкивание коллоидных частиц, и гидрозоль теряет свою агрегативную устойчивость. Причиной нарушения двойного электрического слоя является изменение состава и концентрации присутствующих в растворе ионов – происходит разбавление исходного раствора и включение в ДЭС дополнительных ионов, присутствующих в водопроводной воде. Наличие примесей в воде, в том числе ионов, повышает ионную силу раствора, что ослабляет стабилизирующие кулоновские силы отталкивания, действующие между частицами. Это приводит к их сближению,

агломерации и, в конечном итоге, агрегации, т.е. слипанию мелких частиц и образованию крупных [158]. Рассчитанная на основе химического состава ионная сила водопроводной воды составляет 7.5×10^{-3} моль л^{-1} . Основными ионами, присутствующими в воде, являются ионы Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ а также сульфат- и хлорид-ионы. Хлорид- и сульфат-ионы для серебряных коллоидов являются специфически сорбирующимися. Хлорид-ионы, вносимые при проведении мероприятий по водоподготовке, содержатся в воде в большом количестве (8.0×10^{-4} моль л^{-1}) и образуют с ионами Ag^+ малорастворимую соль AgCl . Схожий эффект вызывают и сульфат-ионы, содержащиеся в воде (4.1×10^{-4} моль л^{-1}) и образующие малорастворимую соль Ag_2SO_4 . Произведения растворимости солей AgCl и Ag_2SO_4 составляют 1.8×10^{-10} и 1.4×10^{-5} , соответственно [107,159]. Осаждение этих солей на поверхности частицы нейтрализует её заряд, что вызывает потерю электростатической устойчивости.

4.5.2. Наночастицы в минеральной воде

При смешивании гидрозоля с минеральной водой интенсивность оптического поглощения гидрозоля значительно снижается. При этом пик ЛППР поглощения значительно «размывается» (рисунок 36). Данные факты указывают на агломерацию и последующую агрегацию наночастиц. Спустя 4 дня полоса спектра оптического поглощения продолжает снижаться, и на 12 день пик практически исчезает, что говорит о значительном укрупнении частиц, частичном выпадении в осадок и растворении.

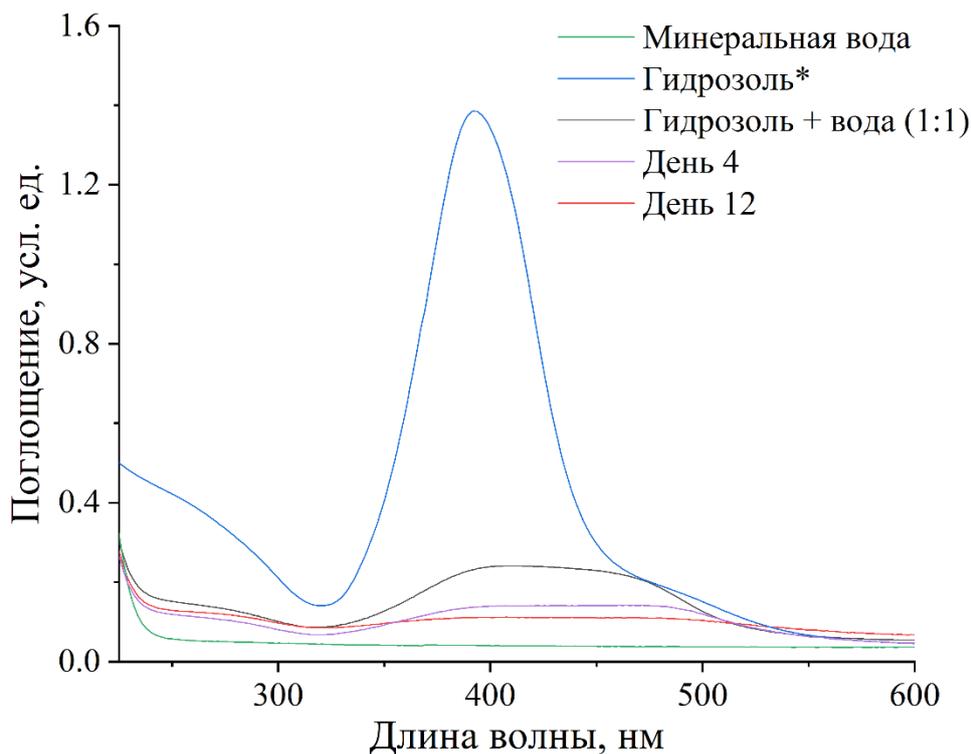
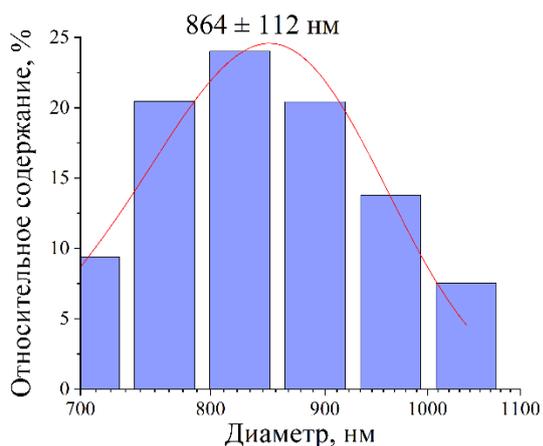
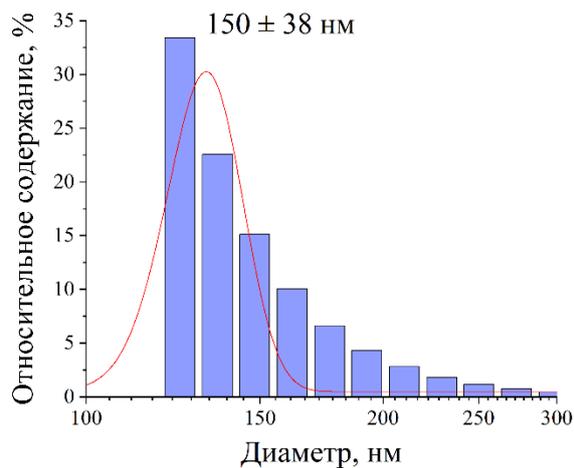


Рисунок 36 – Спектры оптического поглощения гидрозоля серебра в минеральной воде в зависимости от времени. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 10 мм.

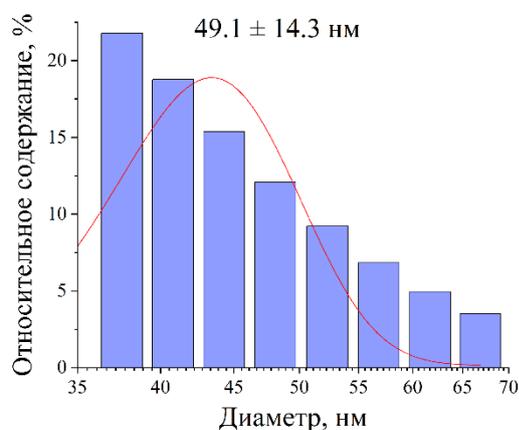
При смешивании с минеральной водой также наблюдается укрупнение наночастиц (рисунок 37). Средний размер наночастиц, измеренный методом ДРС, составляет ~24 нм, при смешивании с водой размер увеличивается до 864 ± 112 нм, затем наблюдается «снижение» размеров наночастиц, вызванное частичным осаждением крупных частиц серебра, а на 12 сутки методом ДРС частицы не обнаруживались. В совокупности с данными оптической спектрофотометрии это указывает на выпадение в осадок наиболее крупных частиц, поэтому в гидрозоле остаются частицы меньших размеров, а затем последние также агломерируют и агрегируют, что приводит к их осаждению и частичному растворению.



а)



б)



в)

Рисунок 37 – Диаграммы распределения по размерам наночастиц серебра в минеральной воде, полученные методом ДРС: а – сразу после смешивания; б – спустя 1 сутки; в – спустя 4 суток. Соотношение вода-гидрозоль 1:1. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

Микрофотография карбонат-стабилизированных наночастиц серебра, выдержанных 1 сутки в воде из горного источника, указывает на агломерацию и агрегацию частиц (рисунок 38). При этом картина схожа с выдерживанием наночастиц в водопроводной воде: в небольшом количестве присутствуют отдельные сферические наночастицы, однако в большом количестве наблюдаются крупные несферические частицы, а также агломераты.

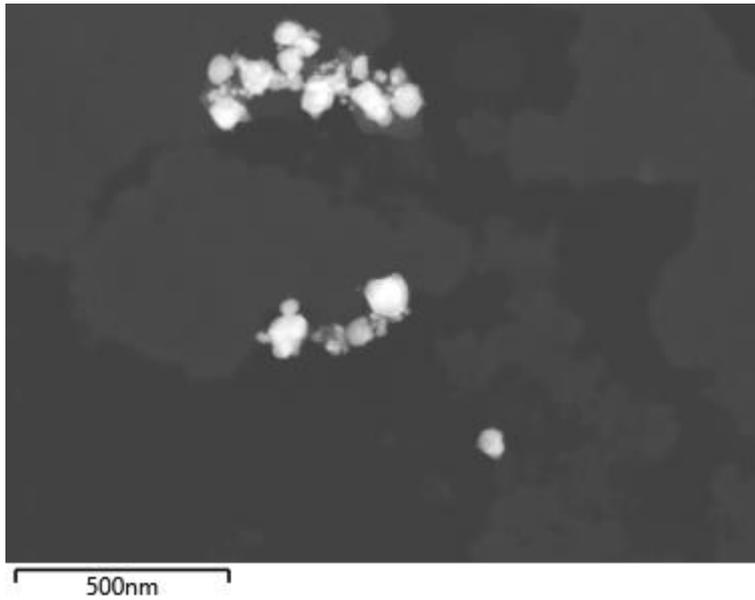


Рисунок 38 – Микрофотография наночастиц серебра, выдержанных 1 сутки в минеральной воде. Соотношение вода-гидрозоль 1:1. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

ζ -Потенциал по окончании синтеза составил -65 мВ, при смешивании с водой значение упало до -22 мВ и осталось таким и при последующих измерениях. Причины снижения значений заключаются в сужении диффузионного слоя противоионов. Высокая минерализация повышает ионную силу раствора, что приводит к нарушению структуры двойного электрического слоя. Рассчитанная на основе химического состава водопроводной воды ионная сила составляет 3.8×10^{-3} моль л⁻¹. Специфически сорбирующиеся хлорид- и сульфат-ионы содержатся в воде из горного источника в концентрациях 1.8×10^{-4} и 2.6×10^{-5} моль л⁻¹, соответственно.

4.5.3. Наночастицы в воде из скважины

Смешивание гидрозоля с водой из скважины приводит, как и в случае других типов вод, к снижению оптического поглощения (рисунок 39). При этом возникает второй пик в области 600 нм, что указывает на укрупнение и изменение формы частиц и образование агломератов. Спустя 1 сутки оптическое поглощение гидрозоля практически отсутствует, что указывает на осаждение агломератов и агрегатов.

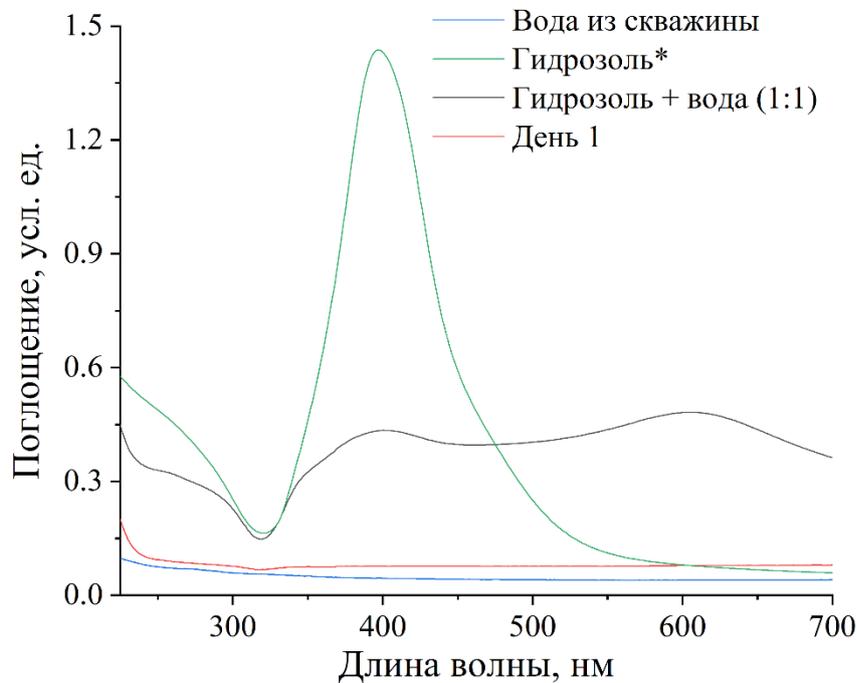


Рисунок 39 – Спектры оптического поглощения гидрозоля серебра в воде из скважины в зависимости от времени. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 10 мм.

Данные ДРС подтверждают данное предположение (рисунок 40). Сразу после смешивания $d = 231 \pm 60$ нм, а уже спустя 1 сутки $d = 3540 \pm 950$ нм.

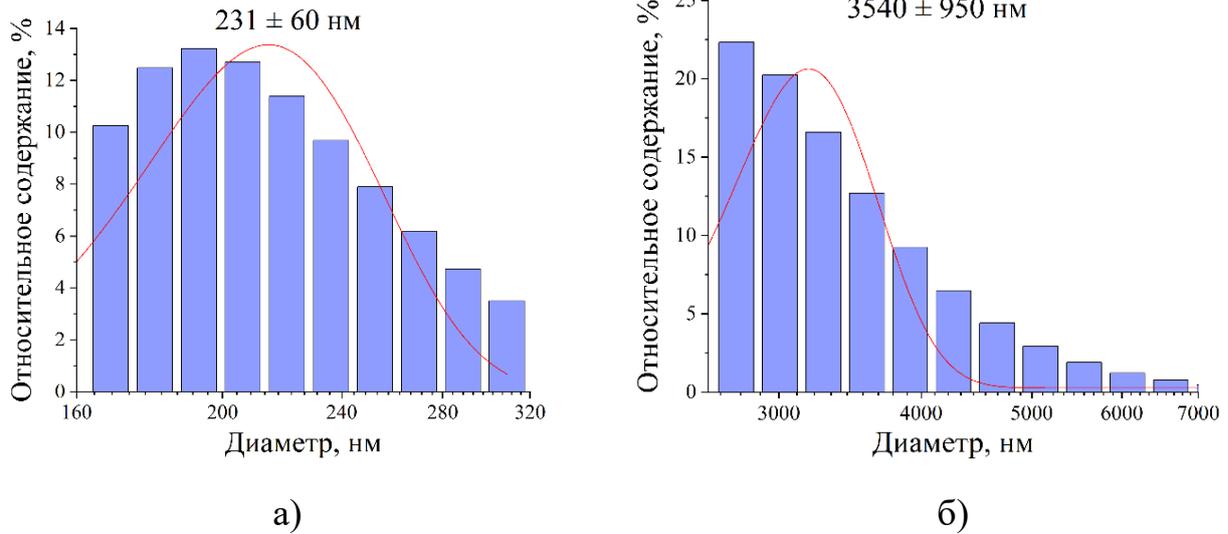


Рисунок 40 – Диаграммы распределения по размерам наночастиц серебра в воде из скважины, полученные методом ДРС: а – сразу после смешивания; б – спустя 1 сутки. Соотношение вода-гидрозоля 1:1. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹.

После смешивания гидрозоля с водой значение ζ -потенциала изменилось с –65 мВ до –24 мВ, а спустя 1 сутки до –17 мВ. Данные изменения указывают на изменение ДЭС и коррелируют со снижением величины оптического поглощения гидрозоля, а также с агломерацией и агрегацией наночастиц. Несмотря на высокое содержание гидрокарбонат-ионов в воде (389 мг л⁻¹), которые присутствуют также в гидрозоле и выступают в роли стабилизатора, наночастицы не обладают устойчивостью в этом типе воды. Высокое содержание Ca^{2+} , Mg^{2+} и хлорид-ионов увеличивает ионную силу, рассчитанное значение которой составляет 10.6×10^{-3} моль л⁻¹. Специфически сорбирующиеся хлорид- и сульфат-ионы содержатся в воде из скважины в концентрациях 1.8×10^{-4} и 1.1×10^{-4} моль л⁻¹, соответственно.

В исследовании [160] были получены схожие результаты. При инокуляции в воду из реки Рейн цитрат-стабилизированных наночастиц серебра, последние в течение нескольких минут агрегировали, при этом также наблюдалось изменение ζ -потенциала с –60 мВ до –15 мВ.

4.5.4. Наночастицы в морской воде

При смешивании гидрозоля с морской водой также наблюдается резкое снижение интенсивности оптического поглощения в области 250–450 нм, сопровождающееся увеличением интенсивности поглощения в области 450–800 нм, что говорит о значительном укрупнении наночастиц (рисунок 41). Данные ДРС подтверждают это: при смешивании гидрозоля с морской водой частицы укрупняются до 700 нм, спустя 15 минут до 1 мкм. При этом значение ζ -потенциала снижается практически до 0. Процесс агрегации продолжается и в дальнейшем, спустя сутки оптическое поглощение частиц отсутствует, что говорит об их полном выпадении в осадок.

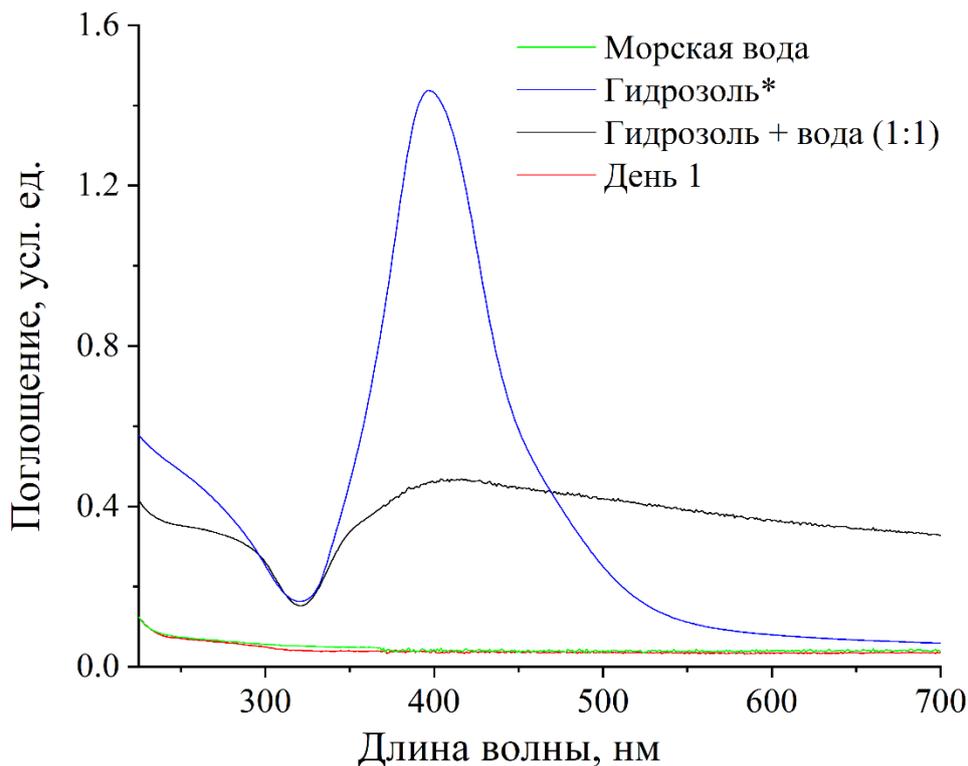


Рисунок 42 – Спектры оптического поглощения гидрозоля серебра в морской воде в зависимости от времени. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 10 мм.

Высокая соленость морской воды (18.1 г л^{-1}) является причиной высокой ионной силы ($3.20 \times 10^{-1} \text{ моль л}^{-1}$), которая, в свою очередь, нарушает структуру стабилизирующего двойного электрического слоя наночастиц серебра, на что указывает резкое падение значения ζ -потенциала. Очень высокое содержание специфически сорбирующихся бромид- ($3.5 \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1}$), хлорид- ($2.81 \times 10^{-1} \text{ моль л}^{-1}$) и сульфат-ионов ($9.32 \times 10^{-3} \text{ моль л}^{-1}$) приводит к нейтрализации поверхностного заряда и разрушению ДЭС в результате их сорбции на поверхности металлического ядра и образования нерастворимых солей. Нарушение ДЭС приводит к агломерации и агрегации частиц и их выпадению в осадок. Крупные частицы растворяются значительно медленнее частиц меньшего размера [109], поэтому высвобождение ионов Ag^+ происходит незначительно. В исследованиях показано, что повышение ионной силы увеличивает, с одной стороны, агрегацию наночастиц [161], а, с другой, ускоряет высвобождение Ag^+ [162]. При этом даже незначительное количество Ag^+ практически не будет в дальнейшем присутствовать в воде ввиду образования мало- (AgCl) и нерастворимых (Ag_2S) солей при взаимодействии с ионами, входящими в состав морской воды. Например, это ионы Cl^- , Br^- , I^- , S^{2-} и некоторые другие. Их присутствие в растворе делает предпочтительными, по сравнению с реакцией (17) образования Ag_2O , следующие реакции:



В результате электродвижущая сила реакции окисления серебра с учетом указанных выше реакций ΔE^0 оказывается равной 0.179, 0.33, 0.553 и 1.092 В, соответственно. То есть, ΔE^0 оказывается существенно большей по сравнению с 0.059 В для реакции (17) с образованием Ag_2O . В соответствии с рядом увеличивающихся значений ΔE^0 будет увеличиваться скорость окисления наночастиц серебра, т.е. уменьшаться устойчивость коллоидного серебра.

Высвобождение ионов серебра в раствор определяется взаимодействием малорастворимых фаз солей с H^+ , ионами галогенидов и другими с образованием Ag^+ и растворимых комплексов типа $AgCl_2^-$, $AgBr_2^-$ и других.

В работе [162] показано, что агрегативная и седиментационная устойчивость цитрат-стабилизированных частиц значительно снижается при увеличении солености воды. Значение ζ -потенциала изменяется от -35 мВ до -20 мВ при смешивании гидрозоля с водой, и затем наблюдается постепенное изменение до -10 мВ на 7 день. Также показано, что наночастицы агломерируют и агрегируют в соленой воде, при этом происходит их растворение и высвобождение Ag^+ тем больше, чем выше солёность. Авторы указывают, что ионы Cl^- , SO_4^{2-} и S^{2-} , содержащиеся в большом количестве (общая соленость $4.5-16.7$ г л $^{-1}$) в эстуарии Синьяньского водохранилища, повышают ионную силу раствора, что приводит к быстрому осаждению и растворению частиц.

Таким образом, устойчивость гидрозоля карбонат-стабилизированных наночастиц серебра резко уменьшается при контакте с изученными природными водами, включая водопроводную, из горного источника, из скважины и морскую. Это проявляется в том, что исходный гидрозоль, устойчивость которого сохраняется в течение нескольких месяцев, при смешении с равным объемом воды природного источника теряет устойчивость в течение одного или нескольких дней. При этом наночастицы выражено проявляют склонность к агломерации и агрегированию, завершающимся выделением металла в осадок. Причиной является присутствие в водах в больших количествах ионов, в первую очередь, таких как Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} и Na^+ . Такие воды обладают высокой ионной силой, которая является основной причиной сжатия ДЭС, в результате чего ослабляются стабилизирующие кулоновские силы отталкивания, действующие между частицами. Это приводит к сближению частиц, агломерации и, в конечном итоге, агрегации. Четко прослеживается снижение устойчивости гидрозоля при повышении ионной силы природной воды.

На основании вышеизложенного можно заключить, что экологическая опасность гидрозоля карбонат-стабилизированных наночастиц (по-видимому, и других с электростатическим типом стабилизации) будет заметно изменяться и/или снижаться при попадании в природные воды из-за быстрого оседания, а основная часть высвобожденных Ag^+ будет образовывать мало- и нерастворимые соли с ионами, присутствующими в воде. Тем не менее, незначительное количество Ag^+ и образующиеся комплексы AgCl_2^- , AgBr_2^- могут присутствовать в воде.

4.6. Устойчивость гидрозолей в питательной среде.

Важным фактором при изучении действия серебра на клетки бактерий является устойчивость гидрозоля в используемой питательной среде. Устойчивость гидрозолей в питательных средах обычно значительно снижается по сравнению с таковой исходного гидрозоля. Действительно, в модифицированной жидкой питательной среде Адкинса «Адкинс М» для гидрозоля Ag-НЧ (~10 нм), как показывают данные оптической спектроскопии (рисунок 43а), время $\tau_{1/2}$ составляет примерно 3 дня по сравнению с 2-3 месяцами, характерными для чистой воды. Ag-Ag₂O-НЧ (~20 нм) обладают существенно более высокой устойчивостью, и $\tau_{1/2}$ для них достигает 6–7 дней. В течение примерно 10–15 дней четко проявляется структура оптической полосы ЛППР, что указывает на наноструктурированное состояние и на сохранение агрегативной устойчивости (рисунок 43б). Однако устойчивость гидрозоля в питательной среде значительно ниже, чем для исходного гидрозоля, для которого $\tau_{1/2}$ составляет несколько месяцев (разделы 4.1, 4.2). Отметим, что оба типа гидрозолей удовлетворяют по времени сохранения устойчивости условиям проведения экспериментов по изучению антибактериального действия серебра на клетки *Escherichia coli* (48 часов). Результаты оптического детектирования растворения наночастиц серебра в

питательной среде Адкинса по уменьшению интенсивности полосы межзонного электронного перехода при 255 нм, фиксирующей концентрацию атомов Ag^0 в наночастице (раздел 3.4.), находится в хорошем согласии с данными анализа ионов Ag^+ , высвободившихся в раствор. Так, спустя 24 и 48 часов концентрация растворенного металла от исходной концентрации 3×10^{-4} моль л^{-1} Ag^0 составила примерно 14 и 25% по данным оптического измерения, и 13% и 24.3% по концентрации ионов Ag^+ , измеренных методом ИСП-МС. Данные ДРС показывают, что питательная среда Адкинса изменяет состояние гидрозоля. Обнаруживается существенное (почти вдвое) увеличение размеров серебряных агрегатов (рисунок 44), указывающее на агломерацию коллоидов серебра.

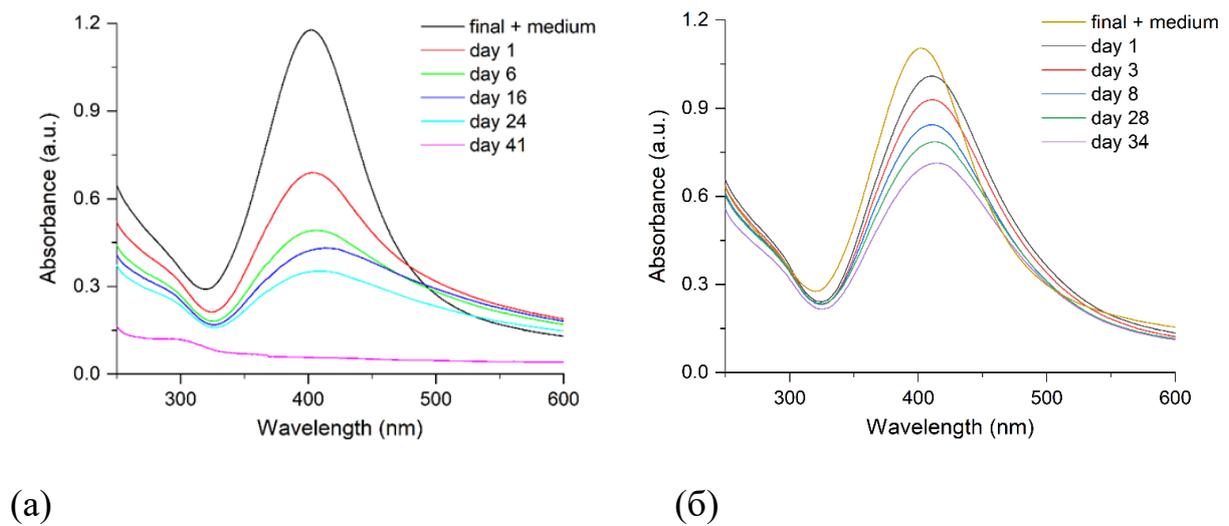


Рисунок 43 – Спектры поглощения гидрозоля серебра Ag -НЧ (а) и $\text{Ag-Ag}_2\text{O}$ -НЧ (б) в модифицированной питательной среде «Адкинс М».

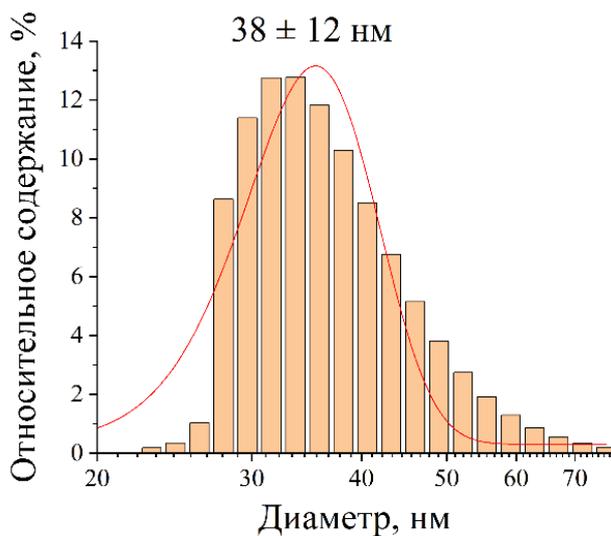


Рисунок 44 – Гистограмма распределения Ag-Ag₂O-НЧ по размерам в модифицированной питательной среде «Аджинс М» спустя 48 часов, полученная методом ДРС.

Снижение устойчивости гидрозолей при добавлении в питательные среды, вызвано тем, что в состав последних, как правило, входят в значительных количествах соли и органические соединения, нарушающие состав и структуру ДЭС и, соответственно, устойчивость коллоидного раствора. Также происходит образование мало- и нерастворимых солей ввиду присутствия Cl^- , S^{2-} и т.д. Таким образом, сложный состав питательных сред и увеличение ионной силы раствора в присутствии солей является причиной резкого снижения устойчивости гидрозолей и способствует агрегации коллоидов. Более высокая устойчивость наночастиц Ag-Ag₂O-НЧ в сравнении с Ag-НЧ вызвана, по-видимому, тем, что они содержат защищающий слой оксида Ag₂O.

Таким образом, обоснована электрохимическая модель окислительного растворения наночастиц серебра в воде, устанавливающая взаимосвязь между размером частицы и стандартным электродным потенциалом. Последняя характеристика является ключевой в растворении наночастиц, а именно: чем меньше размер частицы, тем меньше ее потенциал и тем больше скорость окислительного растворения в водной среде.

Установлено, что карбонат-стабилизированные наночастицы серебра неустойчивы в природных водах из-за высокой ионной силы последних.

Установлено, что гидрозоль серебра в течение нескольких дней устойчив в жидкой питательной среде «Адкинс М». Устойчивость объясняется отсутствием солей, нарушающих структуру двойного электрического слоя. Таким образом, гидрозоль может применяться для оценки антибактериального действия в этой питательной среде.

ГЛАВА 5. АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

5.1. Антибактериальное действие серебра на клетки бактерии *Escherichia coli*

Широкое применение серебра вызвано его высокой биоцидной активностью, его способностью угнетать опасную микрофлору. В то же время, миграция и трансформация наночастиц серебра в окружающей среде может отрицательно повлиять на природные микробные сообщества. Попадание в водную среду при диффузном рассеянии опасно для живых организмов и создает реальную экологическую угрозу [16,163,164]. Установление закономерностей протекания вышеупомянутых процессов важно для оценки риска и для предсказания возможных экологических опасностей [165,166]. Ионы Ag^+ [167,168] и наночастицы серебра [169–171] являются основной причиной токсичности наночастиц серебра в природной среде. Целью данной части работы является исследование влияния карбонат-стабилизированных наночастиц серебра на представителей Г– бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida*, и Г+ бактерии *Paenibacillus jamilae* для установления пределов толерантности и устойчивости микроорганизмов, а также проведение сравнительного анализа биоцидного действия ионов серебра. *Escherichia coli* является одним из распространенных модельных микроорганизмов для исследования антибактериальной активности различных веществ. *Pseudomonas putida* имеет схожее строение и свойства с патогенной *Pseudomonas aeruginosa*, ввиду чего также является модельным микроорганизмом во многих исследованиях. Микроорганизм *Paenibacillus jamilae* ранее не использовался в подобных исследованиях, однако представляет интерес исследовать его устойчивость по отношению к тяжелым металлам ввиду применения данной бактерии для очистки сточных вод при производстве оливкового масла.

5.1.1. Ингибирование роста клеток *Escherichia coli*

Карбонат-стабилизированные наночастицы серебра показывают высокую ингибирующую активность в отношении роста клеток бактерии *Escherichia coli* (рисунок 45). Для сравнения были проведены аналогичные эксперименты с ионами Ag^+ . Определены концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) и минимальная ингибирующая концентрация (МИК), характеризующие ингибирующую бактериальный рост активность гидрозоля.

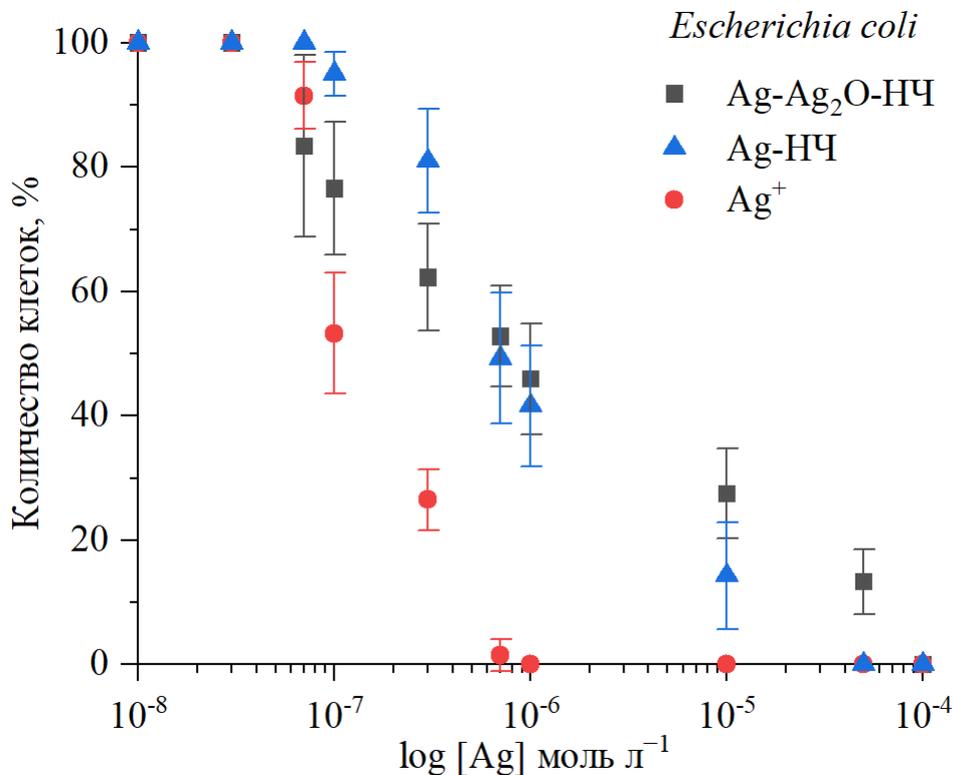


Рисунок 45 – Корреляция между количеством клеток *Escherichia coli* относительно контрольного образца и концентрацией серебра как результат ингибирования бактериального роста. Время экспозиции – 48 часов.

Установлено, что IC_{50} составляет 1×10^{-6} моль л^{-1} для $\text{Ag-Ag}_2\text{O-НЧ}$, 7×10^{-7} моль л^{-1} для Ag-НЧ и 3×10^{-7} моль л^{-1} для ионов Ag^+ . МИК равна 1×10^{-4} моль л^{-1} для $\text{Ag-Ag}_2\text{O-НЧ}$, для Ag-НЧ 5×10^{-5} моль л^{-1} и для ионов 3×10^{-6} моль л^{-1} . Ионы серебра показывают наиболее выраженный антибактериальный эффект, затем следуют Ag-НЧ

НЧ размером ~10 нм, и далее Ag-Ag₂O-НЧ размером ~20 нм. Однако 10 и 20 нм наночастицы показывают достаточно близкий эффект. Антибактериальный эффект ионов серебра проявляется при более низких концентрациях, чем у наночастиц. В случае наночастиц серебра концентрация выражает суммарный вклад как непосредственно наночастиц, так и высвобождаемых в результате частичного окисления с их поверхности ионов серебра. В таблице 7 сопоставляются данные исследований антибактериального действия карбонатных наночастиц серебра на клетки бактерии *Escherichia coli* с результатами других авторов для наночастиц серебра различного размера, полученных другими методами.

Таблица 7 – Характеристики антибактериального воздействия Ag⁺ и наночастиц серебра на культуру клеток *Escherichia coli*.

Тип	Размер, нм	Функционализация поверхности	Эффект	Питательная среда	Ссылка
Ag ⁺	-	-	МИК = 0.3 мг л ⁻¹ , IC ₅₀ = 0.03 мг л ⁻¹	Адкинс М	Данная работа
Ag-Ag ₂ O наночастицы	22 ± 3	Карбонат	МИК = 11 мг л ⁻¹ , IC ₅₀ = 0.11 мг л ⁻¹	Адкинс М	Данная работа
Ag наночастицы	10 ± 2	Карбонат	МИК = 5.4 мг л ⁻¹ , IC ₅₀ = 0.07 мг л ⁻¹	Адкинс М	Данная работа
AgCl наночастицы	250	Отсутствует	0.5 мг л ⁻¹ ингибирует бактериальный рост на 66 ± 6%	BBL™, с добавл. 5 г л ⁻¹ Gelysate™ пептон и 3 г л ⁻¹ мясного пептона	[172]
Ag наночастицы	14-16	ПВА	0.5 мг л ⁻¹ ингибирует бактериальный рост на 55 ± 8%	BBL™ с добавл. 5 г л ⁻¹ Gelysate™ пептон и 3 г л ⁻¹ мясного пептона	[172]
Ag ⁺	-	-	0.5 мг л ⁻¹ ингибирует бактериальный рост на 100%	BBL™ с добавл. 5 г л ⁻¹ Gelysate™ пептон и 3 г л ⁻¹ мясного пептона	[172]
Ag наночастицы (октаэдрические)	194 ± 50	ПВП	МИК = 50 мг л ⁻¹	LB	[173]
Ag наночастицы (сферические)	195 ± 50	Цитрат	МИК не достигнута, IC ₅₀ = 1000 мг л ⁻¹	LB	[173]
Ag наночастицы	7	Галловая кислота	МИК = 6.25 мг л ⁻¹	Бульон Мюллера - Хинтона	[174]

Продолжение таблицы 7

Ag наночастицы	29	Галловая кислота	МИК = 13.02 мг л ⁻¹	Бульон Мюллера - Хинтона	[174]
Ag наночастицы	89	Галловая кислота	МИК = 11.79 мг л ⁻¹	Бульон Мюллера - Хинтона	[174]
Ag наночастицы	12.2	Цитрат	МИК = 13.8 мг л ⁻¹	Бульон Мюллера – Хинтона, сбалансированный по катионному составу	[175]
Ag наночастицы	10.2 ± 2.3	Цитрат	IC ₅₀ = 5 мг л ⁻¹ МИК = 15 мг л ⁻¹	2 mM NaHCO ₃	[176]
Ag наночастицы	10.2 ± 2.3	Цитрат	IC ₅₀ = 5 мг л ⁻¹ МИК = 15 мг л ⁻¹	2 mM NaHCO ₃	[176]
Ag наночастицы	9.9 ± 2.0	Меркаптопропионовая сульфоновая кислота	МИК = 15 мг л ⁻¹	2 mM NaHCO ₃	[176]
Ag наночастицы	16.6 (6.5-43.8)	Не указано	IC ₅₀ = 1.56 мг л ⁻¹ IC ₉₀ = 6.25 мг л ⁻¹ МИК = 12.5 мг л ⁻¹	Модифицированная DMEM	[177]
Ag наночастицы	10	Цитрат	30 мг л ⁻¹ ингибирует бактериальный рост; EC ₅₀ (КОЕ-анализ) = 3.2-4.2 мг л ⁻¹ ;	LB	[178]
Ag ₂ S наночастицы	9 ± 3.5	Отсутствует	Не токсично при 150 мг л ⁻¹	Модифицированная RPMI	[179]
Ag ⁺	-	-	МИК = 3.5 мг л ⁻¹ ; МБК = 3.5-5 мг л ⁻¹	LB	[180]
Ag ⁺	-	-	МИК = 0.5-1 мг л ⁻¹ , МБК = 0.5-1.25 мг л ⁻¹	RPMI/FCS	[180]
Ag наночастицы	75 ± 20	ПВП	МБК = 12.5-20 мг л ⁻¹ ;	RPMI/FCS	[180]
Ag наночастицы	11.3 (3-40)	Лазерная абляция	МИК = 110 ± 16 мг/л (метод микроразведения); МИК = 73 ± 11 мг/л (метод оптической плотности);	Обедненная LB	[181]

Продолжение таблицы 7

AgCl наночастицы	3	Отсутствует	МИК= 2 мг л ⁻¹	LB	[182]
Ag наночастицы	10.8 ± 4.2	Бис-(2-этилгексил)сульфосукцината натрия (АОТ)	МБК = 0.3 мг л ⁻¹	LB (твердая, с добавл. агара)	[183]
Ag наночастицы	10.8 ± 4.3	Бромид цетримония (ЦТАБ)	МБК = 0.2 мг л ⁻¹	LB (твердая, с добавл. агара)	[183]
Ag наночастицы	13.5 ± 7.1	Поли-L-лизин	МБК = 0.2 мг л ⁻¹	LB (твердая, с добавл. агара)	[183]
Ag наночастицы	15.2 ± 6.9	Полисорбат 80 (Tween 80)	МБК = 0.5 мг л ⁻¹	LB (твердая, с добавл. агара)	[183]
Ag ⁺	-	-	IC ₅₀ = 7 мг л ⁻¹ (12 ч) МИК= 10 мг л ⁻¹ (12 ч)	LB, содерж. ампициллин (100 мкг мл ⁻¹)	[184]
Ag наночастицы	39.5 ± 10.7	ПВП	IC ₅₀ = 4 мг л ⁻¹ (12 ч) МИК= 30.2 мг л ⁻¹ (12 ч)	LB, с добавл. ампициллина (100 мкг мл ⁻¹)	[185]
Ag наночастицы	4.65 ± 0.5	Цитрат	МИК= 5.59 мг л ⁻¹	LB	[185]
Ag наночастицы	38.5	ПВП	МИК= 700 мг л ⁻¹	DMEM с добавл. 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 1% пенициллин G-стрептомицина	[186]

Анализ данных по влиянию серебра на жизнедеятельность *Escherichia coli*, представленных в таблице 7, показывает, что ингибирующие концентрации преимущественно составляют около 0.5-10 мг л⁻¹ для ионов серебра и до 5-100 мг л⁻¹ для наночастиц серебра. Однако в ряде работ [173,186] указываются существенно более высокие концентрации, что, возможно, вызвано бóльшим размером наночастиц и/или типом питательных сред и условиями проведения эксперимента. Величины МИК, полученные для карбонат-стабилизированных наночастиц, в целом согласуются с данными (5-100 мг л⁻¹), полученными другими авторами. Так, МИК для ионов серебра составил ~0.3 мг л⁻¹, для Ag-НЧ значение равно ~5.4 мг л⁻¹ и для Ag-Ag₂O-НЧ оно увеличилось до ~11 мг л⁻¹.

Совокупность полученных данных показывает, что синтезированные гидрозоли серебра обладают высокой антибактериальной активностью, совмещая эту положительную характеристику с другими достоинствами, связанными с отсутствием в них примесей, обусловленных применением токсичных восстановителей и стабилизаторов.

5.1.2. Оценка морфологии клеток бактерий *Escherichia coli*. Эффект воздействия ионов и наночастиц

5.1.2.1. Морфология клеток *Escherichia coli* (контрольный образец)

Клетки *Escherichia coli*, выращенные без серебра, то есть в благоприятных условиях, имеют ненарушенную овальную форму, присутствуют жгутики и много пилей, которые ответственны за передачу генетического материала и адгезию (рисунок 46).

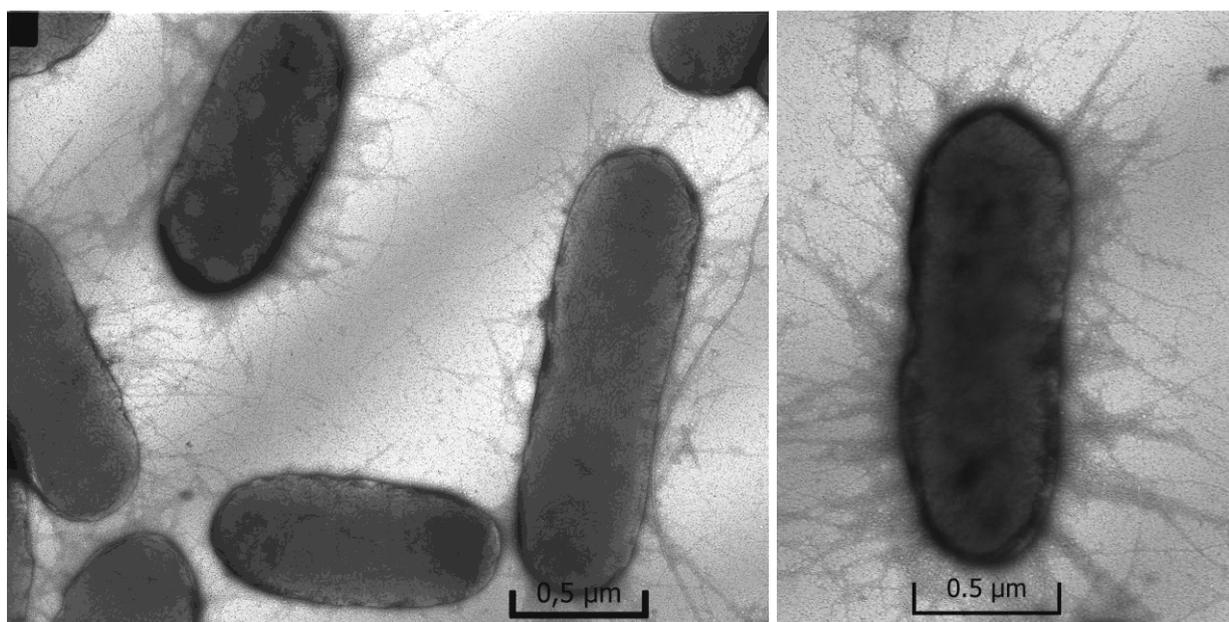


Рисунок 46 – Микрофотографии *Escherichia coli*, контроль.

5.1.2.2. Морфология клеток *Escherichia coli*, выращенных в присутствии Ag^+

В присутствии серебра в ионной форме основным морфологическим признаком влияния на клетки является практически полное исчезновение пилей и жгутиков (рисунок 47). Клетки бактерии *Escherichia coli* при этом в целом сохраняют гладкую форму, в большинстве они не отделены друг от друга. В целом, клетки не имеют значительных изменений формы и сохраняют целостность оболочки.

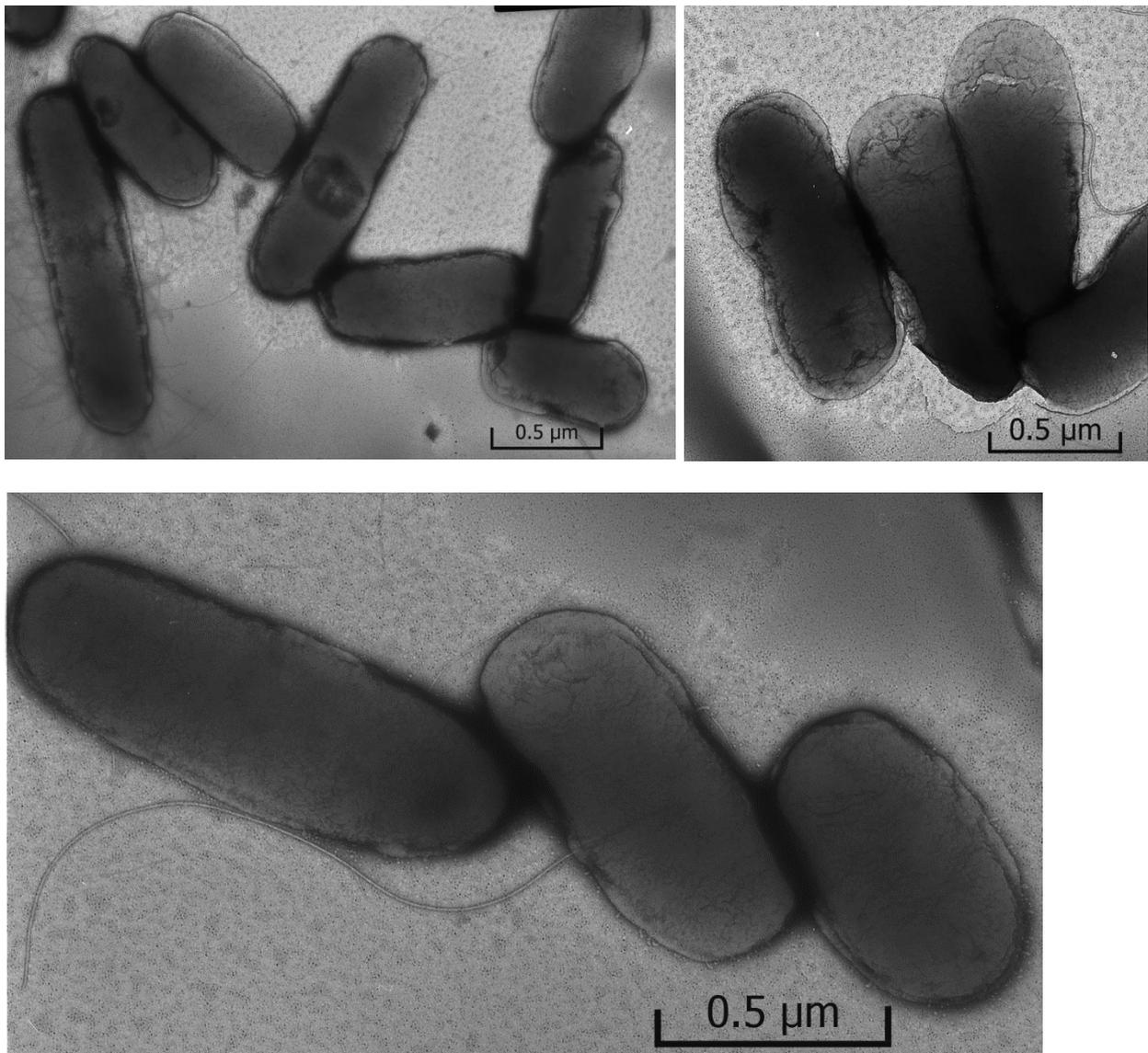


Рисунок 47 – Микрофотографии *Escherichia coli*, выращенных в присутствии ионов серебра (10^{-5} моль л⁻¹).

5.1.2.3. Морфология клеток *Escherichia coli*, выращенных в присутствии наночастиц серебра

Внесение в питательный раствор наночастиц серебра изменяют морфологию клеток (рисунок 48). При выращивании кишечной палочки в присутствии наночастиц Ag-НЧ (~10 нм) или Ag-Ag₂O-НЧ (~20 нм) на полученных микрофотографиях заметно изменение формы клеток в результате их деформации, по сравнению с контролем, частичная потеря пилей и выраженное разрушение оболочек клеток. Повреждения (разрушение) клеток является наиболее выраженным признаком влияния наночастиц обоих типов. Многие клетки не отделены друг от друга, что, возможно, является причиной ингибирования роста их числа. Отметим, что при проведении опытов в течение 48 часов в результате окислительного растворения наночастиц в раствор выделилось в форме ионов Ag⁺ примерно 25% (2.5×10^{-6} моль л⁻¹) общего количества металла. Значительное разрушение клеток вызвано, прежде всего, сорбированными на них наночастицами серебра, поскольку большее количество ионов Ag⁺ (10^{-5} моль л⁻¹) не вызвало столь разрушительного действия (рисунок 47).

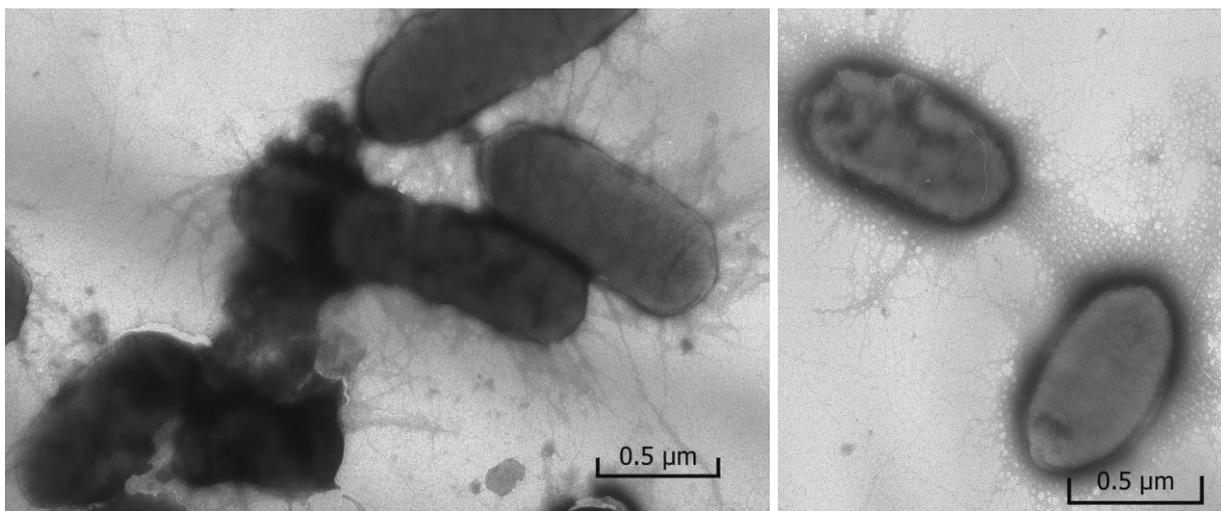


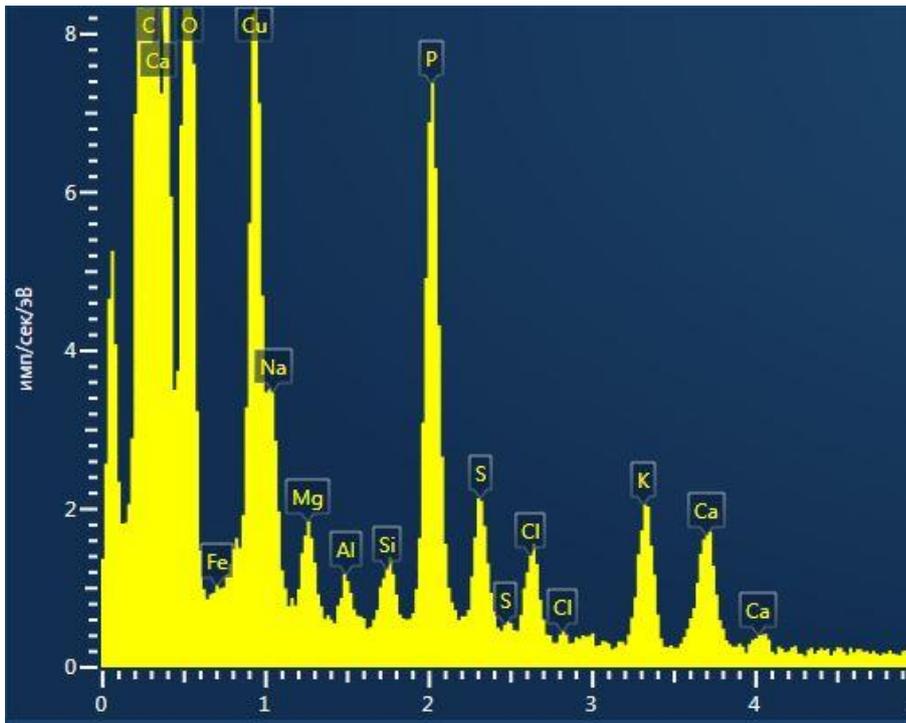
Рисунок 48 – Микрофотографии *Escherichia coli*, выращенных выращенных в присутствии наночастиц Ag-Ag₂O-НЧ (~20 нм) (1×10^{-5} моль л⁻¹).

Таким образом, можно говорить о том, что ионы и наночастицы серебра воздействуют на клетки по-разному. Несомненно, что эффект свободных ионов Ag^+ сказывается в угнетении клеток и морфологически выражается в подавлении развития пилей и жгутиков. Признаки разрушения клеток наблюдаются в незначительной степени, при этом преимущественно сохраняется целостность самой клетки. Присутствие наночастиц с той же концентрацией серебра в существенно меньшей степени, чем ионы Ag^+ , подавляет развитие пилей и жгутиков. Это можно объяснить существенно меньшей концентрацией свободных ионов Ag^+ , вышедших в раствор в результате окислительного растворения наночастиц (примерно 25% от 1×10^{-5} моль л^{-1}). Однако наночастицы в заметно большей степени повреждают и, скорее, разрушают целостность клеток. Полученные результаты указывают на наличие специфического механизма токсичности наночастиц серебра по сравнению с токсичностью ионов Ag^+ . Помимо ингибирования, свойственного ионам Ag^+ и проявляющегося в угнетении развития клеток бактерии *Escherichia coli*, им присущ специфический контактный механизм поражения клеток, приводящего к разрушению последних.

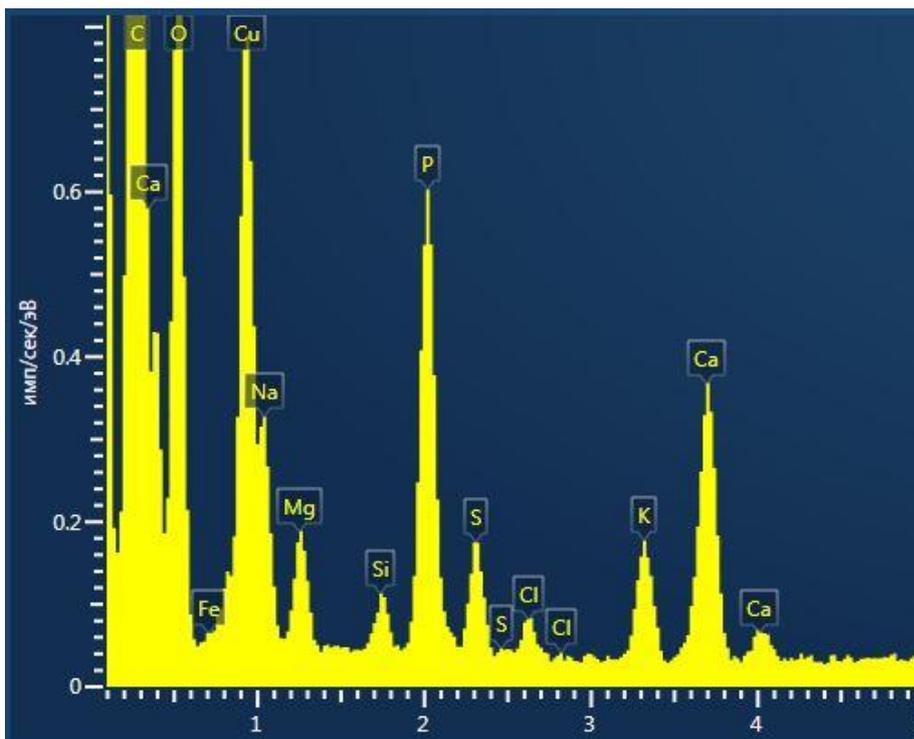
Возможно, в локальной области контакта в результате окислительного растворения серебра и образования активных форм кислорода (радикалов $\text{O}_2^- \cdot / \text{HO}_2 \cdot$ и $\text{OH} \cdot$, а также H_2O_2) происходит химическая деструкция защитной оболочки клеток бактерии *Escherichia coli*, приводящая к её разрушению. Результаты исследований СЭМ и ПЭМ показали, что обработанные наночастицами клетки *E. coli* были повреждены и образовались «ямки» в клеточной стенке бактерий [187]. При этом наночастицы серебра накапливаются в бактериальной мембране. Мембрана с такой морфологией демонстрирует значительное увеличение проницаемости, что приводит к гибели клетки.

5.1.3. Изменение состава цитоплазмы

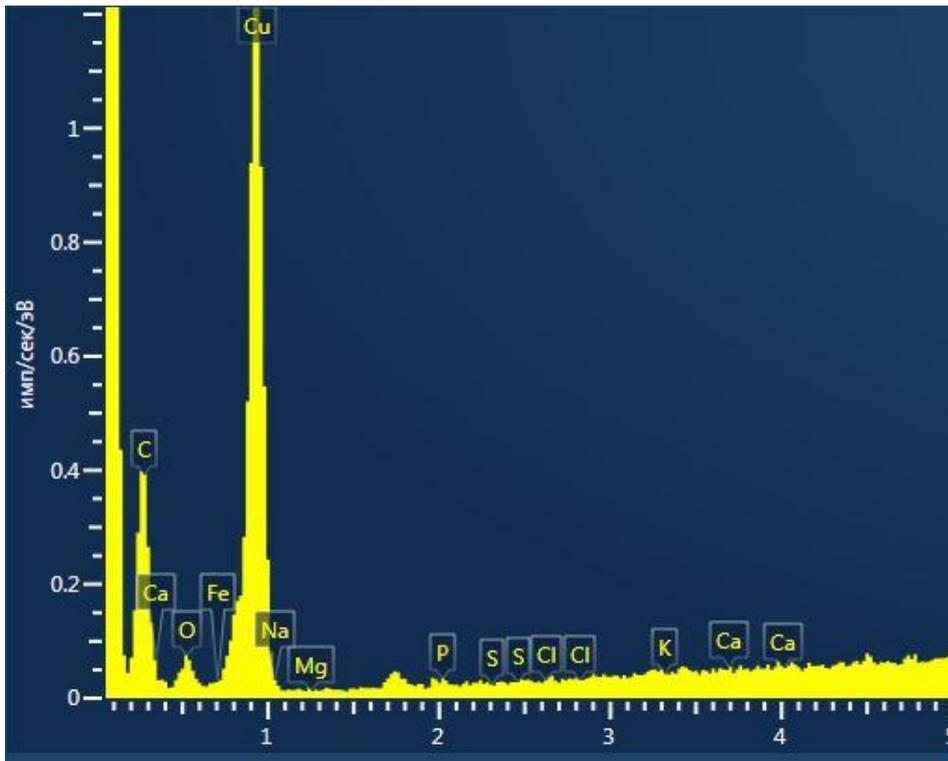
Важным показателем жизнедеятельности микроорганизмов является их химический состав, а именно количество биогенных элементов в клетках. В результате выращивания клеток *Escherichia coli* как в присутствии ионов, так и в присутствии наночастиц серебра, этот состав значительно нарушается. Результаты, представленные на рисунке 49, наглядно показывают уменьшение содержания биогенных элементов в клетках при их выдерживании в питательной среде Адкинса в присутствии ионов Ag^+ и наночастиц (1×10^{-5} моль л^{-1}). Потери клетками элементов при экспозиции с наночастицами серебра составили: фосфора 99%, серы 98%, калия 98% и кальция 98%. При экспозиции с ионами серебра потери биогенных элементов оказались также значительными, но несколько меньшими. Потери фосфора составили 91%, серы 92%, калия 86% и кальция 80%. Более высокие значения потери элементов при выдерживании в присутствии наночастиц связано, по-видимому, с механическим нарушением структуры клеток бактерий и высокими внутриклеточными концентрациями активных форм кислорода (АФК). Полученные результаты устанавливают факт сильного ингибирующего влияния серебра на развитие микрофлоры. Это, с одной стороны, свидетельствует о высокой антибактериальной активности различных форм серебра, которая, с другой стороны, является следствием его токсичности.



(a)



(b)



(в)

Рисунок 49 – Спектры ЭДС клеток *Escherichia coli*: контроль (а); экспозиция с ионами Ag^+ (1×10^{-5} моль л^{-1}) (б); экспозиция с $\text{Ag-Ag}_2\text{O-НЧ}$ (1×10^{-5} моль л^{-1}) (в).

Механизм взаимодействия наночастиц с внешней мембраной *E. coli* окончательно не выяснен. «Налипание» наночастиц на клетки, по-видимому, сопровождается нарушением структуры бактериальной мембраны, вызывая структурные изменения и её деградацию, а затем и включение наночастиц серебра в структуру мембраны и, наконец, гибелью клеток. Анализ микрофотографий ПЭМ (рисунок 48) и сопоставление с работой [187], в которой говорится о наличии элементного серебра в мембранах обработанных бактерий, подтверждает включение наночастиц серебра в структуру мембраны.

Таким образом, биоцидные свойства наночастиц серебра объясняются высокой реактивностью с белками, нарушением структуры клеточной стенки и мембраны, что приводит к ингибированию роста и гибели клеток [169,171,188–190]. Антибактериальная активность наночастиц является результатом прямого контакта последних с клеточной мембраной, что нарушает ее основные функции, а

также высвобождением ионов серебра, которые дают дополнительный вклад в бактерицидный эффект [191–194].

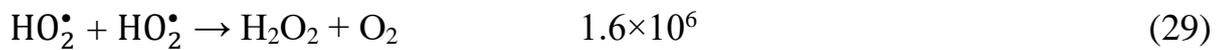
5.2. Прямой (контактный) и непрямой (косвенный) механизм действия наночастиц серебра на бактерии *Escherichia coli*

Обширные исследования биоцидной активности наночастиц серебра, включая и данные настоящей работы, позволяют условно выделить два основных фактора воздействия наночастиц на живую клетку. Непрямое, косвенное действие серебра, связано со свойством иона Ag^+ , проявляющего себя как мягкая кислота Льюиса. Ион характеризуется выраженным сродством к элементам, содержащим неподелённую пару электронов. Прежде всего, это азот, сера и другие, составляющие основу биомолекул. Присоединяясь к молекулам, содержащим указанные элементы, ионы Ag^+ нарушают биохимические процессы, угнетая жизнедеятельность клеточных структур. Общеизвестным является мнение о том, что отрицательное воздействие ионов серебра связано с взаимодействием с тиолами и аминокетильными группами белков, с нуклеиновыми кислотами и с клеточными мембранами [172,195–197].

Отличительным признаком токсичного действия наночастиц серебра на микроорганизмы является также их способность вызывать окислительный стресс. Эффект отчетливо проявляется при изучении морфологии клеток как процесс, приводящий к их разрушению, что отмечено нами выше (раздел 5.1.2.3.). Такой механизм антибактериального (токсичного) действия серебра преимущественно реализуется при прямом контакте наночастицы с бактерией. Это состояние вызывается высокими внутриклеточными концентрациями активных форм кислорода, которые включают супероксидные анион-радикалы, гидроксильные радикалы и пероксид водорода. АФК могут напрямую реагировать с мембранными

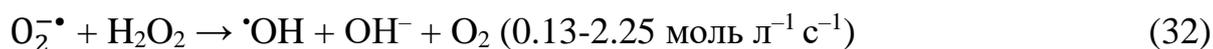
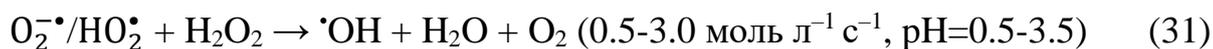
липидами, белками и ДНК. Повышенная концентрация АФК в бактериальных клетках может привести к окислительному стрессу. Способность наночастиц серебра вызывать окислительный стресс у *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* была продемонстрирована в работе [169].

Активные формы кислорода, по-видимому, образуются при окислительном растворении наночастиц по электрохимическому механизму. Восстановление кислорода (реакция 21) как результат переноса 4 электронов на молекулу O₂ и образования 4 ионов OH⁻ в реальности суммирует совокупность нескольких промежуточных реакций, брутто-результатом которых и является упомянутая реакция (21). В действительности восстановление O₂ протекает по сложному многостадийному механизму в результате последовательного переноса отдельных электронов. На начальном этапе происходит образование ионно-радикальных частиц O₂^{-•}/HO₂[•] и молекул H₂O₂ [198]:

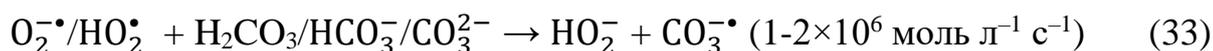


Радикалы O₂^{-•}/HO₂[•] химически очень активные частицы, и время их существования в воде составляет микросекунды, а образующееся в результате их рекомбинации молекулярное соединение – пероксид водорода H₂O₂, достаточно устойчиво и играет важную роль в окислительных биохимических процессах. В работе [107] установлено образование H₂O₂ при окислительном растворении наночастиц серебра. Было обнаружено 4.2 × 10⁻⁷ моль л⁻¹ H₂O₂ в фильтрате спустя 3 часа инкубирования с nAg (размер 4.8±1.6 нм, количество 2 мг л⁻¹) в насыщенной воздухом воде (9.1 мг л⁻¹ растворенного O₂, начальное значение рН = 5.68).

Процесс образования АФК не исчерпывается указанными продуктами, но может сопровождаться также образованием гидроксильных радикалов [•]OH в результате протекания следующих реакций [199–202]:



Наконец, важной является реакция $\text{O}_2^{\cdot-}/\text{HO}_2^{\cdot}$ с продуктами гидролиза CO_2 в воде, приводящая к образованию пероксида и анион-радикала $\text{CO}_3^{\cdot-}$ с окислительными характеристиками, близкими радикалу $\cdot\text{OH}$ [131,203].



На образование АФК при окислительном растворении наночастиц серебра указывается в ряде работ [204–206]. В исследовании [207] описано образование в присутствии серебра свободных радикалов, обнаруженных методом ЭПР при изучении наночастиц серебра. Методом ЭПР также были зафиксированы радикалы, подтверждающие образование $\cdot\text{OH}$ при восстановлении H_2O_2 наночастицами серебра в кислой среде [208].



Радикалы $\text{O}_2^{\cdot-}/\text{HO}_2^{\cdot}$ и $\cdot\text{OH}$ активно взаимодействуют с разнообразными органическими молекулами, в том числе и с биомолекулами, образуя органические радикалы R^{\cdot} [199–202]. Последние в реакции с кислородом дают пероксидные радикалы ROO^{\cdot} . Важной особенностью ROO^{\cdot} является их способность инициировать цепные процессы превращений.

Таким образом, наночастицы серебра могут индуцировать образование АФК, радикалов $\text{O}_2^{\cdot-}/\text{HO}_2^{\cdot}$, $\cdot\text{OH}$ и H_2O_2 в присутствии кислорода в процессе окислительного растворения металла. В локальной области контакта наночастицы и клетки высокие концентрации активных радикалов индуцируют острое поражение мембраны, проникновение ионов частиц внутрь клетки и её разрушение. Важнейший итог изучения наноразмерного серебра в водных аэрированных растворах и в природной пресной воде заключается в том, что антибактериальные (токсичные) свойства не исчерпываются высвобождением токсичных ионов Ag^+ , но также проявляются в образовании активных форм кислорода в результате окислительного растворения наночастицы. Это важное

обстоятельство необходимо учитывать при оценке как токсичных, так и антибактериальных эффектов, обусловленных наночастицами серебра. Пероксид H_2O_2 , вырабатываемый в клетках в результате разнообразных биохимических процессов, в присутствии наночастиц может быть дополнительным источником АФК в биологических объектах.

5.3. Антибактериальное (токсическое) действие серебра на клетки бактерий *Pseudomonas putida* и *Paenibacillus jamilae*

Исследования по установлению бактериальной активности наночастиц серебра были также проведены на Γ^- бактерии *Pseudomonas putida*, обитающей в почве, и Γ^+ *Paenibacillus jamilae*, также обитающей в почве и жмыхе. Обнаружено, что по отношению к этим бактериям серебро также оказывает ярко выраженное антибактериальное действие (рисунки 50, 51).

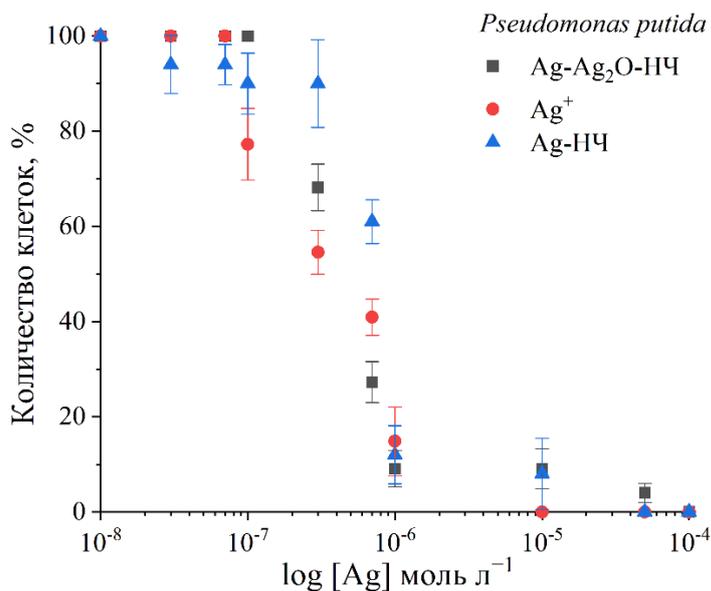


Рисунок 50 – Корреляция между количеством клеток *Pseudomonas putida* относительно контрольного образца и концентрацией серебра как результат ингибирования бактериального роста. Время экспозиции – 48 часов.

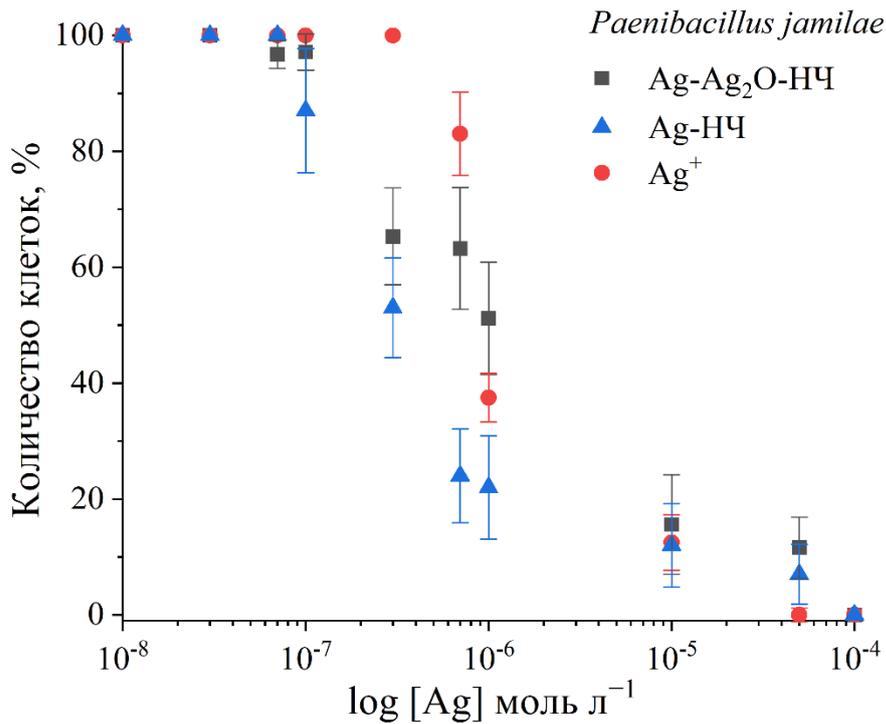


Рисунок 51 – Корреляция между количеством клеток *Paenibacillus jamilae* относительно контрольного образца и концентрацией серебра как результат ингибирования бактериального роста. Время экспозиции – 48 часов.

Значения IC₅₀ и МИК ионов Ag⁺, Ag-Ag₂O-НЧ и Ag-НЧ для бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* и *Paenibacillus jamilae* представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) и минимальные ингибирующие концентрации (МИК) ионов Ag⁺, Ag-Ag₂O-НЧ и Ag-НЧ для бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* и *Paenibacillus jamilae*.

Тип	<i>Escherichia coli</i> (Г ⁻)	<i>Pseudomonas putida</i> (Г ⁻)	<i>Paenibacillus jamilae</i> (Г ⁺)
Ag ⁺	IC ₅₀ = 0.03 ± 0.005 мг л ⁻¹ МИК = 0.3 ± 0.005 мг л ⁻¹	IC ₅₀ = 0.041 ± 0.005 мг л ⁻¹ МИК = 1.1 мг л ⁻¹	IC ₅₀ = 0.1 ± 0.01 мг л ⁻¹ МИК = 3.3 ± 0.01 мг л ⁻¹

Продолжение таблицы 8

Ag-Ag ₂ O- НЧ	IC ₅₀ = 0.11 мг л ⁻¹ ± 0.01 мг л ⁻¹ МИК = 11 ± 0.05 мг л ⁻¹	IC ₅₀ = 0.047 ± 0.008 мг л ⁻¹ МИК = 11 ± 0.05 мг л ⁻¹	IC ₅₀ = 0.12 ± 0.05 мг л ⁻¹ МИК = 11 ± 0.05 мг л ⁻¹
Ag-НЧ	IC ₅₀ = 0.07 ± 0.006 мг л ⁻¹ МИК = 5.4 ± 0.05 мг л ⁻¹	IC ₅₀ = 0.083 ± 0.005 мг л ⁻¹ МИК = 5.4 ± 0.05 мг л ⁻¹	IC ₅₀ = 0.036 ± 0.007 мг л ⁻¹ МИК = 11 ± 0.05 мг л ⁻¹

Микроорганизмы, представленные в данном подразделе, изучены научным сообществом в значительно меньшей степени, нежели *Escherichia coli*, которые являются одним из модельных микроорганизмов в исследованиях установления антибактериального действия различных материалов. Ввиду этого, невозможно сравнение полученных результатов с большим массивом данных, полученных другими авторами. Тем не менее, можно использовать некоторые данные, полученные при изучении микроорганизмов, относящихся к родам, к которым относятся изученные нами *P. putida* и *P. jamaicae*.

Так, в исследовании [209] были получены наночастицы серебра со средним размером 39 ± 15 нм методом восстановления Ag⁺ мальтозой, без добавления стабилизатора. МИК для Г⁺ бактерии *Paenibacillus larvae* составила 36 мг л⁻¹, для Г⁻ *E. coli* значение такое же. При этом наночастицы показали почти одинаковую зону ингибирования (диско-диффузионный метод) для этих бактерий. В работе [210] авторы показали, что для Г⁻ бактерии *Pseudomonas aeruginosa* МИК коммерчески доступных наночастиц серебра (Sigma Aldrich) составляет 5 мг л⁻¹. Установлено [211], что коммерчески доступные наночастицы со средним размером 45 нм (Sigma Aldrich) полностью ингибируют рост Г⁻ бактерии *Pseudomonas putida* при концентрации 0.1 мг л⁻¹.

Таким образом, серебро в форме сферических наночастиц, стабилизированных карбонат-ионами, оказывает угнетающее действие на Г⁻ клетки бактерии *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* и Г⁺ *Paenibacillus jamilae*. Важно отметить, что в гидрозолях серебра, полученных методом фотохимического восстановления, при их применении на клетки бактерии непосредственно воздействует только серебро, так как отсутствуют какие-либо токсичные восстановители, стабилизаторы или продукты их распада. Ионы и наночастицы серебра подавляют рост клеток бактерий при концентрациях $\sim 1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Наночастицы, полученные в деаэрированном – Ag-НЧ (~10 нм) и в аэрированном - Ag-Ag₂O-НЧ (~20 нм) растворах, сохраняют свою устойчивость на воздухе в течение нескольких месяцев. Более того, они устойчивы в течение 1-3 недель в модифицированной жидкой питательной среде Адкинса, что важно для проведения исследований их биоцидных свойств.

Таким образом, предложенный и обоснованный механизм антибактериального (токсичного) воздействия наночастиц серебра на микрофлору включает не прямое (косвенное) угнетающее действие ионов Ag⁺, освобождаемых при окислительном растворении металла, и прямое (контактное) действие наночастицы на клетку бактерии, приводящее к изменению её формы и разрушению.

В способности наночастиц медленно окисляться в аэрированных водных растворах и сохранять свою бактерицидную способность проявляется полезный эффект диспергированной формы серебра при его применении как эффективного и контролируемого биоцидного материала. С другой стороны, это же свойство наноразмерного серебра является источником опасного токсического действия при его попадании в окружающую среду. С течением времени продолжается пролонгированное окисление и образование ионов Ag⁺, которые также вносят дополнительный бактерицидный эффект. Таким образом, наносеребро – это бактерицидный материал длительного действия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан метод синтеза гидрозоля серебра, стабилизированного карбонат-ионами, путем фотовосстановления ионов серебра оксалат-ионами в присутствии и отсутствие воздуха. Метод соответствует принципам зеленой химии, при получении гидрозоля не были использованы и не возникли токсичные соединения. Использование данного гидрозоля в разных областях применения наноматериалов на основе серебра позволяет снизить негативное воздействие на окружающую среду.

2. Механизм образования карбонат-стабилизированных наночастиц серебра включает восстановление в объеме раствора ионов Ag^+ анион-радикалами $\text{CO}_2^{\bullet-}$, образующимися при распаде оксалат-ионов $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, и последующую агрегацию образовавшихся атомов металла. При этом в деаэрированном и аэрированном растворах образуются сферические частицы размером примерно 10 нм и 20 нм, соответственно. Показано, что в деаэрированных растворах по завершении формирования наночастиц дополнительная разрядка анион-радикалов $\text{CO}_2^{\bullet-}$ увеличивает электронную плотность на ~10%.

3. Разработан простой и эффективный метод определения концентрации атомов серебра в наночастицах по оптическому поглощению межзонного электронного перехода при $\lambda=250$ нм. Коэффициент молярного поглощения для наночастиц сферической формы и размером от 4 до 30 нм составляет 3500 ± 100 л моль⁻¹ см⁻¹. Данный метод позволяет, не прибегая к дополнительным инструментам и методам анализа, рассчитывать содержание атомов серебра на основании данных оптической спектрофотометрии.

4. Установлено, что в водных растворах наночастицы серебра в присутствии кислорода подвергаются окислительному растворению. Кинетика растворения наночастиц и образования ионов Ag^+ описывается уравнением реакции первого

порядка, величина константы скорости составила $(1.6 \pm 0.2) \times 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$ в диапазоне концентраций $(1-4) \times 10^{-4} \text{ моль л}^{-1} \text{ Ag}^0$.

5. Установлено, что карбонатный гидрозоль теряет свою устойчивость при смешении с водами разного происхождения. При этом наночастицы проявляют склонность к агломерации и агрегированию, завершающимся выделением металла в осадок. Это явление связано с разрушением двойного электрического слоя коллоидов, что вызвано увеличением ионной силы раствора и/или нейтрализацией заряда металлического ядра. Высказано предположение о том, что характер экологической опасности гидрозоля серебра с электростатическим типом стабилизации будет заметно изменяться и/или снижаться при попадании в природные воды из-за быстрого оседания и образования малорастворимых солей.

6. Серебро в форме сферических наночастиц, стабилизированных гидрокарбонат-ионами, оказывает угнетающее действие на Γ^- клетки бактерии *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida* и Γ^+ *Paenibacillus jamilae*. Установлены пределы толерантности и устойчивости грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов к карбонат-стабилизированным наночастицам серебра. Концентрации полумаксимального ингибирования находятся в диапазоне $\sim 0.03-0.12 \text{ мг л}^{-1}$, а минимальные ингибирующие концентрации в диапазоне $5.5-11.0 \text{ мг л}^{-1}$.

7. Предложена и обоснована схема механизма антибактериального (токсичного) воздействия наночастиц серебра на микрофлору. Он включает не прямое (косвенное) угнетающее действие ионов Ag^+ , высвобождаемых при окислительном растворении металла, и прямое (контактное) действие на наночастицы на клетку бактерии, приводящее к изменению её морфологии и разрушению.

8. Важнейший итог изучения поведения наноразмерного серебра в водных аэрированных растворах и в природных водах заключается в том, что его антибактериальные (токсичные) свойства не исчерпываются высвобождением токсичных ионов Ag^+ , но также проявляются в образовании активных форм

кислорода в результате окислительного растворения наночастицы. Это важное обстоятельство необходимо учитывать при оценке как токсичных, так и антибактериальных эффектов, обусловленных наночастицами серебра.

Разработанный метод синтеза наночастиц серебра позволяет исследовать воздействие последних на различные компоненты окружающей среды без учета влияния таких наиболее часто используемых компонентов, как токсичные восстановители и продукты их разложения, полимерные стабилизаторы, снижающие биодоступность наночастиц. В дальнейшем планируется продолжение исследования по воздействию карбонат-стабилизированных наночастиц серебра на других представителей окружающей среды. Показано, что карбонат-стабилизированные наночастицы серебра практически не устойчивы в различных типах вод, включая питьевую и природные различной солёности, что указывает на снижение экологической опасности использования данного гидрозоля.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК	Активные формы кислорода
Г–	Грамотрицательные бактерии
Г+	Грамположительные бактерии
ДРС	Динамическое рассеяние света
ДЭС	Двойной электрический слой
ИСП-МС	Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
КПГ	Конечные продукты гликирования
ЛППР	Локализованный поверхностный плазмонный резонанс
МЗЭП	Межзонный электронный переход
МИК	Минимальная ингибирующая концентрация
НЧ	Наночастицы
ПВП	Поливинилпирролидон
ПОВ	Природное органическое вещество
ПЭМ	Просвечивающая электронная микроскопия
ЦТАБ	Бромид цетилтриметиламмония
ЭДС	Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия
Ag-Ag ₂ O-НЧ	Наночастицы серебра, полученные в присутствии кислорода воздуха
Ag-НЧ	Наночастицы серебра, полученные в отсутствие кислорода воздуха
IC ₅₀	Концентрация полумаксимального ингибирования
LB	Lysogeny broth – богатая среда

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оленин, А.Ю. Получение и применение химически модифицированных наночастиц благородных металлов (обзор) / А.Ю. Оленин, Г.В. Лисичкин // Журнал прикладной химии – 2018. – Т. 91. – № 9. – С. 1219-1240.
2. Ganesh, M. Sulfanilamide and silver nanoparticles-loaded polyvinyl alcohol-chitosan composite electrospun nanofibers: Synthesis and evaluation on synergism in wound healing / M. Ganesh, A.S. Aziz, U. Ubaidulla, P. Hemalatha, A. Saravanakumar, R. Ravikumar, M.M. Peng, E.Y. Choi, H.T. Jang // J. Ind. Eng. Chem. – 2016. – V. 39. – PP. 127-135.
3. Реджепов, Д.Т. Биомедицинское применение наночастиц серебра (обзор) / Д. Т. Реджепов, А. А. Водяшкин, А. В. Сергородцева, Я. М. Станишевский // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10. – № 3. – С. 176-187.
4. Shenashen, M.A. Synthesis, Morphological Control, and Properties of Silver Nanoparticles in Potential Applications / M.A. Shenashen, S.A. El-Safty, E.A. Elshehy // Part. amp; Part. Syst. Charact. – 2013. – V. 31. – № 3. – PP. 293-316.
5. Boeva, O. Influence of the nature of IB group metals on catalytic activity in reactions of homomolecular hydrogen exchange on Cu, Ag, Au nanoparticles / O. Boeva, A. Antonov, K. Zhavoronkova // Catal. Commun. – 2021. – V. 148. – P. 106173.
6. Hamza, M.E. Plasmonic Biosensors: Review / M.E. Hamza, M.A. Othman, M.A. Swillam // Biology – 2022. – V. 11. – № 5. – P. 621.
7. Chugh, H. Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine / H. Chugh, D. Sood, I. Chandra, V. Tomar, G. Dhawan, R. Chandra // Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. – 2018. – V. 46. – № sup1. – PP. 1210-1220.
8. McGillicuddy, E. Silver nanoparticles in the environment: Sources, detection and ecotoxicology / E. McGillicuddy, I. Murray, S. Kavanagh, L. Morrison, A. Fogarty, M.

Cormican, P. Dockery, M. Prendergast, N. Rowan, D. Morris // *Sci. Total Environ.* – 2017. – V. 575. – PP. 231-246.

9. Xu, L. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety / L. Xu, Y.Y. Wang, J. Huang, C.Y. Chen, Z.X. Wang, H. Xie // *Theranostics* – 2020. – V. 10. – № 20. – PP. 8996-9031.

10. Khodashenas, B. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes / B. Khodashenas, H.R. Ghorbani // *Arab. J. Chem.* – 2019. – V. 12. – № 8. – PP. 1823-1838.

11. Qiu, H. Aquatic photooxidation of phosphite in the presence of ferric and oxalate ions / H. Qiu, J. Geng, C. Shen, H. Ren, Z. Xu // *Chem. Eng. J.* – 2015. – V. 269. – PP. 408-415.

12. Абхалимов, Е. В. Получение наночастиц серебра в водных растворах в присутствии стабилизирующих карбонат-ионов / Е.В. Абхалимов, А.А. Парсаев, Б.Г. Ершов // *Коллоидный журнал.* – 2011. – Т. 73. – № 1. – С. 3-8.

13. Emsley, J. *Nature's building blocks: an AZ guide to the elements* / J. Emsley // New York: Oxford University Press, 2011. – 678 p. ISBN: 978-0-19-960563-7.

14. Medici, S. Medical uses of silver: history, myths, and scientific evidence / S. Medici, M. Peana, V.M. Nurchi, M.A. Zoroddu // *J. Med. Chem.* – 2019. – V. 62. – № 13. – PP. 5923-5943.

15. Glover, R.D. Generation of metal nanoparticles from silver and copper objects: nanoparticle dynamics on surfaces and potential sources of nanoparticles in the environment / R.D. Glover, J.M. Miller, J.E. Hutchison // *ACS Nano* – 2011. – V. 5. – № 11. – PP. 8950-8957.

16. Chernousova, S. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal / S. Chernousova, M. Epple // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2012. – V. 52. – № 6. – PP. 1636-1653.

17. Lansdown, A.B.G. *Silver in healthcare: its antimicrobial efficacy and safety in use* / A.B.G. Lansdown. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2010. – p. 274. ISBN: 978-1-849-73-006-8

18. Barriada, J.L. Automation of a flow injection system for the determination of dissolved silver at picomolar concentrations in seawater with inductively coupled plasma mass spectrometry / J.L. Barriada, J.B. Truscott, E.P. Achterberg // *J. Autom. Methods Manag. Chem.* – 2003. – V. 25. – № 4. – PP. 93-100.
19. Du, T. NIR-activated multi-hit therapeutic Ag₂S quantum dot-based hydrogel for healing of bacteria-infected wounds / T. Du, Z. Xiao, J. Cao, L. Wei, C. Li, J. Jiao, Z. Song, J. Liu, X. Du, S. Wang // *Acta Biomater.* – 2022. – V. 145. – PP. 88-105.
20. Haynes, W.M. *CRC Handbook of Chemistry and Physics* / W.M. Haynes, D.R. Lide, T.J. Bruno. CRC Press, 2016. – p. 2712. ISBN: 0-8493-0485-7
21. Duncan, T.V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors / T.V. Duncan // *J. Colloid Interface Sci.* – 2011. – V. 363. – № 1. – PP. 1-24.
22. Reverberi, A.P. A sustainable, top-down mechanosynthesis of carbohydrate-functionalized silver nanoparticles / A.P. Reverberi, M. Vocciante, M. Salerno, O. Soda, B. Fabiano // *React. Chem. amp; Eng.* – 2022. – V. 7. – № 4. – PP. 888-897.
23. El-Khatib, A.M. Synthesize of silver nanoparticles by arc discharge method using two different rotational electrode shapes / A.M. El-Khatib, M.S. Badawi, Z.F. Ghatass, M.M. Mohamed, M. Elkhatib // *J. Clust. Sci.* – 2018. – V. 29. – № 6. – P. 1169-1175.
24. Díaz-Núñez, P. Effect of organic stabilizers on silver nanoparticles fabricated by femtosecond pulsed laser ablation / P. Díaz-Núñez, J. González-Izquierdo, G. González-Rubio, A. Guerrero-Martínez, A. Rivera, J. Perlado, L. Bañares, O. Peña-Rodríguez // *Appl. Sci.* – 2017. – V. 7. – № 8. – P. 793.
25. Khayati, G.R. The nanostructure evolution of Ag powder synthesized by high energy ball milling / G.R. Khayati, K. Janghorban // *Adv. Powder Technol.* – 2012. – V. 23. – № 3. – PP. 393-397.
26. Хартаева, Э.Ч. Получение, характеристика и применения магнитных наночастиц созданных лазерной абляцией / Э. Ч. Хартаева, А.В. Номоев, С.П. Бардаханов, Е.С. Шолохов, А.С. Батороев, В.В. Сызранцев, Б.Г. Жалсанов, В.Ц.

Лагденов // Вестник Бурятского государственного университета. Химия. Физика. – 2018. – № 2-3. – С. 3-14.

27. Wang, Z.X. Ångstrom-scale silver particles as a promising agent for low-toxicity broad-spectrum potent anticancer therapy / Z.X. Wang, C.Y. Chen, Y. Wang, F.X.Z. Li, J. Huang, Z.W. Luo, S.S. Rao, Y.J. Tan, Y.W. Liu, H. Yin, Y.Y. Wang, Z.H. He, K. Xia, B. Wu, X.K. Hu, M.J. Luo, H.M. Liu, T.H. Chen, C.G. Hong, J. Cao, Z.Z. Liu, Z. Long, P.P. Gan, W.Y. Situ, R. Fan, L.Q. Yuan, H. Xie // *Adv. Funct. Mater.* – 2019. – V. 29. – № 23. – P. 1808556.

28. Anastas, P.T. Principles of green chemistry / P.T. Anastas, J.C. Warner // *Green Chem. Theory Pract.* – 1998. – I. 29. – PP. 14821-42.

29. Кузуб, Л.И. Влияние концентрации прекурсора на формирование наночастиц серебра с олигостирилмонокарбоксилатными лигандами в эпоксидном олигомере ЭД-20 / Л.И. Кузуб, Л.Л. Гурьева, И.И. Ходос, Э.Р. Бадамшина // *Высокомолекулярные соединения Б* – 2020. – Т. 62. – № 3. – С. 222-229.

30. Jiang, X.C. Role of temperature in the growth of silver nanoparticles through a synergetic reduction approach / X.C. Jiang, W.M. Chen, C.Y. Chen, S.X. Xiong, A.B. Yu // *Nanoscale Res. Lett.* – 2010. – V. 6. – № 1. – P. 32.

31. Ershov, B.G. Growth of silver particles in aqueous solution: long-lived "magic" clusters and ionic strength effects / B.G. Ershov, E. Janata, A. Henglein // *J. Phys. Chem.* – 1993. – V. 97. – № 2. – PP. 339-343.

32. Ershov, B.G. Silver atoms and clusters in aqueous solution: absorption spectra and the particle growth in the absence of stabilizing Ag⁺ ions / B.G. Ershov, E. Janata, A. Henglein, A. Fojtik // *J. Phys. Chem.* – 1993. – V. 97. – № 18. – PP. 4589-4594.

33. Janata, E. First clusters of Ag⁺ ion reduction in aqueous solution / E. Janata, A. Henglein, B.G. Ershov // *J. Phys. Chem.* – 1994. – V. 98. – № 42. – PP. 10888-10890.

34. Ершов, Б.Г. Кластеры серебра: расчеты оптических переходов, образование и свойства / Б.Г. Ершов, Г.В. Ионова, А.А. Киселева // *Журн. физической химии.* 1995. – Т. 69. – № 2. – С. 260-270.

35. Троицкий, Д.А. Коагуляция зольей серебра в водных растворах: ускоряющий эффект ионной силы и сульфат-ионов, перезарядка зольей / Д.А. Троицкий, Н.Л. Сухов, Б.Г. Ершов, А.В. Гордеев // *Химия высоких энергий*. 1994. – Т. 28. – № 3. – С. 218-220.
36. Ершов, Б.Г. Влияние анионов на нуклеацию серебра в водных растворах. Исследование методом импульсного радиолиза / Б.Г. Ершов, Д.А. Троицкий, Н.Л. Сухов // *Химия высоких энергий*. 1992. – Т. 26. – № 2. – С. 114-117.
37. Zaarour, M. Photochemical preparation of silver nanoparticles supported on zeolite crystals / M. Zaarour, M. El Roz, B. Dong, R. Retoux, R. Aad, J. Cardin, C. Dufour, F. Gourbilleau, J.P. Gilson, S. Mintova // *Langmuir* – 2014. – V. 30. – № 21. – PP. 6250-6256.
38. Yanilkin, V.V. Mediated electrochemical synthesis of metal nanoparticles / V.V. Yanilkin, G.R. Nasretdinova, V.A. Kokorekin // *Russ. Chem. Rev.* – 2018. – V. 87. – № 11. – PP. 1080-1110.
39. Александрова, В.А. Макромолекулярные системы и нанокомпозиты на основе N-сукцинилхитозана и наночастиц серебра / В.А. Александрова, А.А. Ревина, С.А. Бусев, В.С. Садыкова // *Известия Академии наук. Серия химическая* – 2018. – № 4. – С. 757-761.
40. Воейкова, Т.А. Микробный синтез наночастиц: механизмы, характеристики, применение / Т.А. Воейкова, О.А. Журавлева, В.С. Кулигин, Е.И. Кожухова, Е.В. Иванов, В.Г. Дебабов // *Биофизика* – 2020. – Т. 65. – № 5. – PP. 878-885.
41. Das, C.G.A. Antibacterial activity of silver nanoparticles (biosynthesis): A short review on recent advances / C.G.A. Das, V.G. Kumar, T.S. Dhas, V. Karthick, K. Govindaraju, J.M. Joselin, J. Baalamurugan // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* – 2020. – V. 27. – P. 101593.
42. Mie, G. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen / G. Mie // *Ann. Phys.* – 1908. – V. 330. – № 3. – PP. 377-445.
43. van de Hulst, H.C. Light scattering by small particles / H.C. van de Hulst. New

York: John Wiley and Sons, 1957. – 470 p.

44. Kerker, M. The scattering of light and other electromagnetic radiation / M. Kerker. New York: Academic Press, 1969. – 688 p. ISBN: 1-4832-2524-0

45. Kreibig, U. Optical properties of metal clusters / U. Kreibig, M. Vollmer. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1995. – 535 p. ISBN: 978-3-642-08191-0

46. Creighton, J.A. Ultraviolet–visible absorption spectra of the colloidal metallic elements / J.A. Creighton, D.G. Eadon // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1991. – V. 87. – № 24. – PP. 3881-3891.

47. Herne, T.M. Surface-enhanced Raman spectroscopy of peptides: preferential N-terminal adsorption on colloidal silver / T.M. Herne, A. Ahern, R.L. Garrell // *J. Am. Chem. Soc.* – 1991. – V. 113. – № 3. – PP. 846-854.

48. Henglein, A. Colloidal silver nanoparticles: photochemical preparation and interaction with O₂, CCl₄, and some metal ions / A. Henglein // *Chem. Mater.* – 1998. – V. 10. – № 1. – PP. 444-450.

49. Ershov, B.G. Adsorption of ozone and plasmonic properties of gold hydrosol: the effect of the nanoparticle size / B.G. Ershov, E.V. Abkhalimov, V.I. Roldughin, V.M. Rudoy, O.V. Dement'eva, R.D. Solovov // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2015. – V. 17. – № 28. – PP. 18431-18436.

50. Muhammed, M.A.H. Switching plasmons: Gold nanorod–copper chalcogenide core–shell nanoparticle clusters with selectable metal/semiconductor NIR plasmon resonances / M.A.H. Muhammed, M. Döblinger, J. Rodríguez-Fernández // *J. Am. Chem. Soc.* – 2015. – V. 137. – № 36. – PP. 11666-11677.

51. Qu, Y. Plasmonic enhancements of photocatalytic activity of Pt/n-Si/Ag photodiodes using Au/Ag Core/Shell nanorods / Y. Qu, R. Cheng, Q. Su, X. Duan // *J. Am. Chem. Soc.* – 2011. – V. 133. – № 42. – PP. 16730-16733.

52. Bohren, C.F. Absorption and scattering of light by small particles / C.F. Bohren, D.R. Huffman. New York: John Wiley and Sons, 1998. – 544. ISBN: 978-0-471-29340-

53. Charlé, K.P. The optical properties of silver microcrystallites in dependence on size and the influence of the matrix environment / K.P. Charlé, F. Frank, W. Schulze // *Ber. Bunsenges. phys. Chem.* – 1984. – V. 88. – № 4. – PP. 350-354.
54. Link, S. Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods / S. Link, M.A. El-Sayed // *J. Phys. Chem. B* – 1999. – V. 103. – № 40. – PP. 8410-8426.
55. Petit, C. In situ synthesis of silver nanocluster in AOT reverse micelles / C. Petit, P. Lixon, M.P. Pileni // *J. Phys. Chem.* – 1993. – V. 97. – № 49. – PP. 12974-12983.
56. Фролов, Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы / Ю.Г. Фролов. Москва: Химия, 1989. 464 с.
57. Kumar, A. Methods for characterization of nanoparticles / A. Kumar, C.K. Dixit // *Adv. Nanomed. Deliv. Ther. Nucleic Acids* – 2017. – PP. 43-58.
58. Dawadi, S. Current research on silver nanoparticles: synthesis, characterization, and applications / S. Dawadi, S. Katuwal, A. Gupta, U. Lamichhane, R. Thapa, S. Jaisi, G. Lamichhane, D.P. Bhattarai, N. Parajuli // *J. Nanomater.* – 2021. – V. 2021. – PP. 1-23.
59. Mohan, A. Oxidative stress induced antimicrobial efficacy of chitosan and silver nanoparticles coated Gutta-percha for endodontic applications / A. Mohan, S. Dipallini, S. Lata, S. Mohanty, P.K. Pradhan, P. Patel, H. Makkar, S.K. Verma // *Mater. Today Chem.* – 2020. – V. 17. – PP. 100299.
60. Takamiya, A.S. Biocompatible silver nanoparticles incorporated in acrylic resin for dental application inhibit *Candida albicans* biofilm / A.S. Takamiya, D.R. Monteiro, L.F. Gorup, E.A. Silva, E.R. de Camargo, J.E. Gomes-Filho, S.H.P. de Oliveira, D.B. Barbosa // *Mater. Sci. Eng.: C* – 2021. – V. 118. – PP. 111341.
61. Sakr, T.M. I-131 doping of silver nanoparticles platform for tumor theranosis guided drug delivery / T.M. Sakr, O.M. Khowessah, M.A. Motaleb, A. Abd El-Bary, M.T. El-Kolaly, M.M. Swidan // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2018. – V. 122. – PP. 239-245.
62. Wu, M. Size-dependent cellular uptake and localization profiles of silver

nanoparticles / M. Wu, H. Guo, L. Liu, Y. Liu, L. Xie // *Int. J. Nanomed.* – 2019. – V. Volume 14. – PP. 4247-4259.

63. Zhao, L.J. Sensitive detection of protein biomarkers using silver nanoparticles enhanced immunofluorescence assay / L.J. Zhao, R.J. Yu, W. Ma, H.X. Han, H. Tian, R.C. Qian, Y.T. Long // *Theranostics* – 2017. – V. 7. – № 4. – PP. 876-883.

64. Gao, J. Prereduction-promoted enhanced growth of silver nanoparticles for ultrasensitive colorimetric detection of alkaline phosphatase and carbohydrate antigen 125 / J. Gao, M. Jia, Y. Xu, J. Zheng, N. Shao, M. Zhao // *Talanta* – 2018. – V. 189. – PP. 129-136.

65. Neella, N. Scalable fabrication of highly sensitive flexible temperature sensors based on silver nanoparticles coated reduced graphene oxide nanocomposite thin films / N. Neella, V. Gaddam, N. M.M., D. N.S., R. K. // *Sens. Actuators A: Phys.* – 2017. – V. 268. – PP. 173-182.

66. Toh, H.S. Electrochemical detection of chloride levels in sweat using silver nanoparticles: a basis for the preliminary screening for cystic fibrosis / H.S. Toh, C. Batchelor-McAuley, K. Tschulik, R.G. Compton // *Analyst* – 2013. – V. 138. – № 15. – Reg. 4292.

67. Yen, C.W. Multicolored silver nanoparticles for multiplexed disease diagnostics: distinguishing dengue, yellow fever, and Ebola viruses / C.W. Yen, H. de Puig, J.O. Tam, J. Gómez-Márquez, I. Bosch, K. Hamad-Schifferli, L. Gehrke // *Lab Chip* – 2015. – V. 15. – № 7. – PP. 1638-1641.

68. Kurdekar, A.D. Fluorescent silver nanoparticle based highly sensitive immunoassay for early detection of HIV infection / A.D. Kurdekar, L.A.A. Chunduri, S.M. Chelli, M.K. Haleyurgirisetty, E.P. Bulagonda, J. Zheng, I.K. Hewlett, V. Kamiseti // *RSC Adv.* – 2017. – V. 7. – № 32. – PP. 19863-19877.

69. Saratale, G.D. Exploiting fruit waste grape pomace for silver nanoparticles synthesis, assessing their antioxidant, antidiabetic potential and antibacterial activity against human pathogens: A novel approach / G.D. Saratale, R.G. Saratale, D.S. Kim,

D.Y. Kim, H.S. Shin // *Nanomaterials* – 2020. – V. 10. – № 8. – P. 1457.

70. Singla, R. Cytocompatible anti-microbial dressings of *Syzygium cumini* cellulose nanocrystals decorated with silver nanoparticles accelerate acute and diabetic wound healing / R. Singla, S. Soni, V. Patial, P.M. Kulurkar, A. Kumari, M. S., Y.S. Padwad, S.K. Yadav // *Sci. Rep.* – 2017. – V. 7. – № 1. – P. 10457.

71. Parveen, A. Effect of nanosilver on seed germination and seedling growth in *Pennisetum glaucum* / A. Parveen, S. Rao // *J. Clust. Sci.* – 2014. – V. 26. – № 3. – PP. 693-701.

72. Barabanov, P.V. Influence of nanosilver on the efficiency of *Pisum sativum* crops germination / P.V. Barabanov, A.V. Gerasimov, A.V. Blinov, A.A. Kravtsov, V.A. Kravtsov // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2018. – V. 147. – PP. 715-719.

73. Yan, A. Impacts of silver nanoparticles on plants: A focus on the phytotoxicity and underlying mechanism / A. Yan, Z. Chen // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – V. 20. – № 5. – P. 1003.

74. Doolette, C.L. Bioavailability of silver and silver sulfide nanoparticles to lettuce (*Lactuca sativa*): Effect of agricultural amendments on plant uptake / C.L. Doolette, M.J. McLaughlin, J.K. Kirby, D.A. Navarro // *J. Hazard. Mater.* – 2015. – V. 300. – PP. 788-795.

75. Cvjetko, P. Phytotoxic effects of silver nanoparticles in tobacco plants / P. Cvjetko, M. Zovko, P.P. Štefanić, R. Biba, M. Tkalec, A.M. Domijan, I.V. Vrček, I. Letofsky-Papst, S. Šikić, B. Balen // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2017. – V. 25. – № 6. – PP. 5590-5602.

76. Zhu, Z. A Competitive strategy coupled with endonuclease-assisted target recycling for DNA detection using silver-nanoparticle-tagged carbon nanospheres as labels / Z. Zhu, F. Gao, J. Lei, H. Dong, H. Ju // *Chem. - Eur. J.* – 2012. – V. 18. – № 43. – PP. 13871-13876.

77. Jadhav, S.A. Development of integrated microfluidic platform coupled with Surface-enhanced Raman Spectroscopy for diagnosis of COVID-19 / S.A. Jadhav, P. Biji,

M.K. Panthalingal, C. Murali Krishna, S. Rajkumar, D.S. Joshi, N. Sundaram // *Med. Hypotheses* – 2021. – V. 146. – P. 110356.

78. Teengam, P. Multiplex paper-based colorimetric DNA sensor using pyrrolidiny peptide nucleic acid-induced AgNPs aggregation for detecting MERS-CoV, MTB, and HPV oligonucleotides / P. Teengam, W. Siangproh, A. Tuantranont, T. Vilaivan, O. Chailapakul, C.S. Henry // *Anal. Chem.* – 2017. – V. 89. – № 10. – PP. 5428-5435.

79. Murali, G. Near-infrared-activated Z-scheme NaYF₄:Yb/Tm@Ag₃PO₄/Ag@g-C₃N₄ photocatalyst for enhanced H₂ evolution under simulated solar light irradiation / G. Murali, S.V. Prabhakar Vattikuti, Y.K. Kshetri, H. Lee, J.K.R. Modigunta, C. Seshendra Reddy, S. Park, S. Lee, B. Poornaprakash, H. Lee, Y.H. Park, J. Lee, S.Y. Park, I. In // *Chem. Eng. J.* – 2021. – V. 421. – P. 129687.

80. Prabhakar Vattikuti, S.V. Hybrid Ag/MoS₂ nanosheets for efficient electrocatalytic oxygen reduction / S.V. Prabhakar Vattikuti, P.C. Nagajyothi, K.C. Devarayapalli, K. Yoo, N. Dang Nam, J. Shim // *Appl. Surf. Sci.* – 2020. – V. 526. – P. 146751.

81. Nagajyothi, P.C. Environmentally Friendly synthesis: photocatalytic dye degradation and bacteria inactivation using Ag/f-MWCNTs composite / P.C. Nagajyothi, L. Veeranjanya Reddy, K.C. Devarayapalli, S.V. Prabhakar Vattikuti, Y.J. Wee, J. Shim // *J. Clust. Sci.* – 2020. – V. 32. – № 3. – P. 711-718.

82. Yuan, K. Effects of localized surface plasmon resonance of Ag nanoparticles on luminescence of carbon dots with blue, green and yellow emission / K. Yuan, R. Qin, J. Yu, X. Li, L. Li, X. Yang, X. Yu, Z. Lu, X. Zhang, H. Liu // *Appl. Surf. Sci.* – 2020. – V. 502. – P. 144277.

83. Patel, M. Plasmon-enhanced photoresponse in Ag-WS₂/Si heterojunction / M. Patel, P.M. Pataniya, D.J. Late, C.K. Sumesh // *Appl. Surf. Sci.* – 2021. – V. 538. – P. 148121.

84. Gao, H.L. Plasmon enhanced polymer solar cells by spin-coating Au nanoparticles on indium-tin-oxide substrate / H.L. Gao, X.W. Zhang, Z.G. Yin, H.R. Tan, S.G. Zhang,

J.H. Meng, X. Liu // *Appl. Phys. Lett.* – 2012. – V. 101. – № 13. – P. 4754839.

85. Bruna, T. Silver nanoparticles and their antibacterial applications / T. Bruna, F. Maldonado-Bravo, P. Jara, N. Caro // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – V. 22. – № 13. – P. 7202.

86. Dakal, T.C. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles / T.C. Dakal, A. Kumar, R.S. Majumdar, V. Yadav // *Front. Microbiol.* – 2016. – V. 7. – P. 1831.

87. Silver, S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds / S. Silver // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2003. – V. 27. – № 2-3. – PP. 341-353.

88. de Lacerda Coriolano, D. Antibacterial and antibiofilm potential of silver nanoparticles against antibiotic-sensitive and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains / D. de Lacerda Coriolano, J.B. de Souza, E.V. Bueno, S.M.F.R. Medeiros, I.D.L. Cavalcanti, I.M.F. Cavalcanti // *Braz. J. Microbiol.* – 2020. – V. 52. – № 1. – PP. 267-278.

89. Jeevanandam, J. Synthesis approach-dependent antiviral properties of silver nanoparticles and nanocomposites / J. Jeevanandam, S. Krishnan, Y.S. Hii, S. Pan, Y.S. Chan, C. Acquah, M.K. Danquah, J. Rodrigues // *J. Nanostructure Chem.* – 2022. – V. 12. – № 5. – PP. 809-831.

90. Sinclair, T.R. Surface chemistry-dependent antiviral activity of silver nanoparticles / T.R. Sinclair, S.K. van den Hengel, B.G. Raza, S.A. Rutjes, A.M. de Roda Husman, W.J.G.M. Peijnenburg, H.E.D.W. Roesink, W.M. de Vos // *Nanotechnology* – 2021. – V. 32. – № 36. – P. 365101.

91. Jeremiah, S.S. Potent antiviral effect of silver nanoparticles on SARS-CoV-2 / S.S. Jeremiah, K. Miyakawa, T. Morita, Y. Yamaoka, A. Ryo // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2020. – V. 533. – № 1. – PP. 195-200.

92. Liao, C. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles / C. Liao, Y. Li, S. Tjong // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – V. 20. – № 2. – P. 449.

93. Hussein, R. Effects of intraperitoneally injected silver nanoparticles on histological

structures and blood parameters in the albino rat / R. Hussein, O. Sarhan // Int. J. Nanomed. – 2014. – P. 1505.

94. Dziendzikowska, K. Time-dependent biodistribution and excretion of silver nanoparticles in male Wistar rats / K. Dziendzikowska, J. Gromadzka-Ostrowska, A. Lankoff, M. Oczkowski, A. Krawczyńska, J. Chwastowska, M. Sadowska-Bratek, E. Chajduk, M. Wojewódzka, M. Dušinská, M. Kruszewski // J. Appl. Toxicol. – 2012. – V. 32. – № 11. – PP. 920-928.

95. Asharani, P.V. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models / P.V. Asharani, Y. Lian Wu, Z. Gong, S. Valiyaveetil // Nanotechnology – 2008. – V. 19. – № 25. – P. 255102.

96. Yeo, M.-K. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during Zebrafish embryogenesis / M.-K. Yeo, M.-S. Kang // Bull. Korean Chem. Soc. – 2008. – V. 29. – № 6. – PP. 1179–1184.

97. Abramenko, N.B. Ecotoxicity of different-shaped silver nanoparticles: Case of zebrafish embryos / N.B. Abramenko, T.B. Demidova, E.V. Abkhalimov, B.G. Ershov, E.Y. Krysanov, L.M. Kustov // J. Hazard. Mater. – 2018. – V. 347. – PP. 89-94.

98. Vrček, I.V. Comparison of *in vitro* toxicity of silver ions and silver nanoparticles on human hepatoma cells / I.V. Vrček, I. Žuntar, R. Petlevski, I. Pavičić, M. Dutour Sikirić, M. Čurlin, W. Goessler // Environ. Toxicol. – 2014. – V. 31. – № 6. – PP. 679-692.

99. Singh, S.P. Silver nanoparticles: Biomedical applications, toxicity, and safety issues / S.P. Singh, C.S. Bhargava, V. Dubey, A. Mishra, Y. Singh // Int. J. Res. Pharm. Pharm. Sci. – 2017. – Vol. 4. – № 2. – PP. 1–10.

100. Wang, L. Use of synchrotron radiation-analytical techniques to reveal chemical origin of silver-nanoparticle cytotoxicity / L. Wang, T. Zhang, P. Li, W. Huang, J. Tang, P. Wang, J. Liu, Q. Yuan, R. Bai, B. Li, K. Zhang, Y. Zhao, C. Chen // ACS Nano – 2015. – V. 9. – № 6. – PP. 6532-6547.

101. Du, J. A review on silver nanoparticles-induced ecotoxicity and the underlying

toxicity mechanisms / J. Du, J. Tang, S. Xu, J. Ge, Y. Dong, H. Li, M. Jin // Regul. Toxicol. Pharmacol. – 2018. – V. 98. – PP. 231-239.

102. Gottschalk, F. The release of engineered nanomaterials to the environment / F. Gottschalk, B. Nowack // J. Environ. Monit. – 2011. – V. 13. – № 5. – P. 1145.

103. Kaegi, R. Release of silver nanoparticles from outdoor facades / R. Kaegi, B. Sinnet, S. Zuleeg, H. Hagendorfer, E. Mueller, R. Vonbank, M. Boller, M. Burkhardt // Environ. Pollut. – 2010. – V. 158. – № 9. – PP. 2900-2905.

104. Courtois, P. Ecotoxicology of silver nanoparticles and their derivatives introduced in soil with or without sewage sludge: A review of effects on microorganisms, plants and animals / P. Courtois, A. Rorat, S. Lemiere, R. Guyoneaud, E. Attard, C. Levard, F. Vandebulcke // Environ. Pollut. – 2019. – V. 253. – PP. 578-598.

105. Tortella, G.R. Silver nanoparticles: Toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment / G.R. Tortella, O. Rubilar, N. Durán, M.C. Diez, M. Martínez, J. Parada, A.B. Seabra // J. Hazard. Mater. – 2020. – V. 390. – P. 121974.

106. Peretyazhko, T.S. Size-controlled dissolution of silver nanoparticles at neutral and acidic pH conditions: kinetics and size changes / T.S. Peretyazhko, Q. Zhang, V.L. Colvin // Environ. Sci. amp; Technol. – 2014. – V. 48. – № 20. – PP. 11954-11961.

107. Liu, J. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids / J. Liu, R.H. Hurt // Environ. Sci. amp; Technol. – 2010. – V. 44. – № 6. – PP. 2169-2175.

108. Hedberg, J. In the search for nanospecific effects of dissolution of metallic nanoparticles at freshwater-like conditions: a critical review / J. Hedberg, E. Blomberg, I. Odnevall Wallinder // Environ. Sci. amp; Technol. – 2019. – V. 53. – № 8. – PP. 4030-4044.

109. Ma, R. Size-controlled dissolution of organic-coated silver nanoparticles / R. Ma, C. Levard, S.M. Marinakos, Y. Cheng, J. Liu, F.M. Michel, G.E. Brown, G.V. Lowry // Environ. Sci. amp; Technol. – 2011. – V. 46. – № 2. – PP. 752-759.

110. Mitrano, D.M. Tracking dissolution of silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations in laboratory, natural, and processed waters using single particle ICP-MS (spICP-MS) / D.M. Mitrano, J.F. Ranville, A. Bednar, K. Kazor, A.S. Hering, C.P. Higgins // *Environ. Sci.: Nano* – 2014. – V. 1. – № 3. – PP. 248-259.
111. Sotiriou, G.A. Quantifying the origin of released Ag⁺ ions from nanosilver / G.A. Sotiriou, A. Meyer, J.T.N. Knijnenburg, S. Panke, S.E. Pratsinis // *Langmuir* – 2012. – V. 28. – № 45. – P. 15929-15936.
112. Vanysek, P. Electrochemical series. Handbook of Chemistry and Physics / P. Vanysek, W.M. Hayen, T.J. Bruno, D.R. Lide. Boca Raton: CRC-Press, 2014. PP. 5-80-5-90.
113. Yin, Y. Sunlight-induced reduction of ionic Ag and Au to metallic nanoparticles by dissolved organic matter / Y. Yin, J. Liu, G. Jiang // *ACS Nano* – 2012. – V. 6. – № 9. – PP. 7910-7919.
114. Reidy, B. Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: A critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications / B. Reidy, A. Haase, A. Luch, K. Dawson, I. Lynch // *Materials* – 2013. – V. 6. – № 6. – PP. 2295-2350.
115. Zhang, C. Silver nanoparticles in aquatic environments: Physicochemical behavior and antimicrobial mechanisms / C. Zhang, Z. Hu, B. Deng // *Water Res.* – 2016. – V. 88. – PP. 403-427.
116. Sigg, L. Silver nanoparticle dissolution in the presence of ligands and of hydrogen peroxide / L. Sigg, U. Lindauer // *Environ. Pollut.* – 2015. – V. 206. – PP. 582-587.
117. Chen, W. Unique voltammetry of silver nanoparticles: from single particle to aggregates / W. Chen, H. Wang, H. Tang, C. Yang, Y. Li // *Anal. Chem.* – 2019. – V. 91. – № 22. – PP. 14188-14191.
118. Li, X. Aggregation kinetics and dissolution of coated silver nanoparticles / X. Li, J.J. Lenhart, H.W. Walker // *Langmuir* – 2011. – V. 28. – № 2. – PP. 1095-1104.
119. Magesky, A. Cytotoxicity and physiological effects of silver nanoparticles on

marine invertebrates / A. Magesky, É. Pelletier // Adv. Exp. Med. Biol. – 2018. – PP. 285-309.

120. Huang, D. Uptake, translocation, and transformation of silver nanoparticles in plants / D. Huang, F. Dang, Y. Huang, N. Chen, D. Zhou // Environ. Sci.: Nano – 2022. – V. 9. – № 1. – PP. 12-39.

121. Yin, Y. Source and pathway of silver nanoparticles to the environment / Y. Yin, S. Yu, X. Yang, J. Liu, G. Jiang // Silver Nanoparticles Environ. – 2015. – P. 43-72. Berlin: Springer. ISBN: 978-3-662-46069-6

122. Barwal, I. Cellular oxido-reductive proteins of *Chlamydomonas reinhardtii* control the biosynthesis of silver nanoparticles / I. Barwal, P. Ranjan, S. Kateriya, S.C. Yadav // J. Nanobiotechnology – 2011. – V. 9. – № 1. – P. 56.

123. Klaus, T. Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated / T. Klaus, R. Joerger, E. Olsson, C.G. Granqvist // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1999. – V. 96. – № 24. – PP. 13611-13614.

124. Durmazel, S. Silver nanoparticle formation-based colorimetric determination of reducing sugars in food extracts via tollens' reagent / S. Durmazel, A. Üzer, B. Erbil, B. Sayın, R. Apak // ACS Omega – 2019. – V. 4. – № 4. – PP. 7596-7604.

125. Peiris, M.M.K. Comparison of antimicrobial properties of silver nanoparticles synthesized from selected bacteria / M.M.K. Peiris, S.S.N. Fernando, P.M. Jayaweera, N.D.H. Arachchi, T.D.C.P. Guansekara // Indian J. Microbiol. – 2018. – V. 58. – № 3. – PP. 301-311.

126. Zhang, Z. Extracellular superoxide produced by *Enterococcus faecalis* reduces endometrial receptivity via inflammatory injury / Z. Zhang, T. Li, L. Xu, Q. Wang, H. Li, X. Wang // Am. J. Reprod. Immunol. – 2021. – V. 86. – № 4. – P. 13453.

127. Morillo, J.A. Production and characterization of the exopolysaccharide produced by *Paenibacillus jamilae* grown on olive mill-waste waters / J.A. Morillo, V. Guerra del Águila, M. Aguilera, A. Ramos-Cormenzana, M. Monteoliva-Sánchez // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – V. 23. – № 12. – PP. 1705-1710.

128. Leonov, K. Gas chromatographic investigation of oil biodegradation degree / K. Leonov, A. Astashkina, A. Vakibayev // *Procedia Chem.* – 2014. – V. 10. – PP. 504-507.
129. Елисеева, И.И. Общая теория статистики / И.И. Елисеева, М.М. Юзбашев. Москва: Финансы и статистика, 2004. – 656 с. ISBN: 5-279-02414-7
130. Henglein, A. Remarks on the electrochemical potential of small silver clusters in aqueous solution / A. Henglein // *Ber. Bunsenges. phys. Chem.* – 1990. – V. 94. – № 5. – PP. 600-603.
131. Wardman, P. Reduction potentials of one-electron couples involving free radicals in aqueous solution / P. Wardman // *J. Phys. Chem. Ref. Data* – 1989. – V. 18. – № 4. – P. 1637-1755.
132. Kai, T. Direct observation of $C_2O_4^{\bullet -}$ and $CO_2^{\bullet -}$ by oxidation of oxalate within nanogap of scanning electrochemical microscope / T. Kai, M. Zhou, S. Johnson, H.S. Ahn, A.J. Bard // *J. Am. Chem. Soc.* – 2018. – V. 140. – № 47. – P. 16178-16183.
133. Калверт, Д. Фотохимия / Д. Калверт, Д. Питтс. Москва: Мир, 1968. 672 с.
134. Rabinowitch, E. The collision mechanism and the primary photochemical process in solutions / E. Rabinowitch, W.C. Wood // *Trans. Faraday Soc.* – 1936. – V. 32. – P. 1381.
135. Anderson, G.K. Photochemical reactions of diphosphineplatinum(II) oxalate complexes / G.K. Anderson, G.J. Lumetta, J.W. Siria // *J. Organomet. Chem.* – 1992. – V. 434. – № 2. – PP. 253-259.
136. Ershov, B.G. Short-lived metal clusters in aqueous solutions: formation, identification, and properties / B.G. Ershov // *Russ. Chem. Bull.* – 1999. – V. 48. – № 1. – PP. 1-15.
137. Возная, Н.Ф. Химия воды и микробиология / Н.Ф. Возная. Москва: Высшая школа, 1979. – 341 с.
138. Belloni, J. Mechanisms of metal nanoparticles nucleation and growth studied by radiolysis / J. Belloni, J.L. Marignier, M. Mostafavi // *Radiat. Phys. Chem.* – 2020. – V. 169. – P. 107952.

139. Naik, A.N. Evaluating the mechanism of nucleation and growth of silver nanoparticles in a polymer membrane under continuous precursor supply: tuning of multiple to single nucleation pathway / A.N. Naik, S. Patra, D. Sen, A. Goswami // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2019. – V. 21. – № 8. – PP. 4193-4199.
140. Creighton, J.A. Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength / J.A. Creighton, C.G. Blatchford, M.G. Albrecht // *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* – 1979. – V. 75. – P. 790.
141. Liu, L. Metal catalysts for heterogeneous catalysis: from single atoms to nanoclusters and nanoparticles / L. Liu, A. Corma // *Chem. Rev.* – 2018. – V. 118. – № 10. – PP. 4981-5079.
142. Zhang, W. Modeling the primary size effects of citrate-coated silver nanoparticles on their ion release kinetics / W. Zhang, Y. Yao, N. Sullivan, Y. Chen // *Environ. Sci. amp; Technol.* – 2011. – V. 45. – № 10. – PP. 4422-4428.
143. Jin, R. Atomically precise colloidal metal nanoclusters and nanoparticles: fundamentals and opportunities / R. Jin, C. Zeng, M. Zhou, Y. Chen // *Chem. Rev.* – 2016. – V. 116. – № 18. – PP. 10346-10413.
144. Gupta, S. Photochemically assisted formation of silver nanoparticles by dithizone, and its application in amperometric sensing of cefotaxime / S. Gupta, R. Prakash // *J. Mater. Chem. C* – 2014. – V. 2. – № 33. – PP. 6859-6866.
145. Ilan, Y. On some fundamental reactions in radiation chemistry: Nanosecond pulse radiolysis / Y. Ilan, J. Rabani // *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* – 1976. – V. 8. – № 5. – PP. 609-611.
146. Kuzma, A. Influence of surface oxidation on plasmon resonance in monolayer of gold and silver nanoparticles / A. Kuzma, M. Weis, S. Flickyngerova, J. Jakabovic, A. Satka, E. Dobrocka, J. Chlpik, J. Cirak, M. Donoval, P. Telek, F. Uherek, D. Donoval // *J. Appl. Phys.* – 2012. – V. 112. – № 10. – P. 4767688.
147. Over, H. Oxidation of metal surfaces / H. Over, A.P. Seitsonen // *Science* – 2002.

– V. 297. – № 5589. – PP. 2003-2005.

148. Никаноров, А.М. Справочник по гидрохимии / А.М. Никаноров. Ленинград: Ленинград гидрометеоздат, 1989. 392 с.

149. Liu, J. Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces / J. Liu, D.A. Sonshine, S. Shervani, R.H. Hurt // ACS Nano – 2010. – V. 4. – № 11. – PP. 6903-6913.

150. Plieth, W.J. Electrochemical properties of small clusters of metal atoms and their role in the surface enhanced Raman scattering / W.J. Plieth // J. Phys. Chem. – 1982. – V. 86. – № 16. – PP. 3166-3170.

151. Grafov, B.M. Connection of the generalized Shuttleworth equation for the elastic spherical electrode with the Laplace formula and the Gibbs adsorption equation / B.M. Grafov, G. Paasch, W. Plieth, A. Bund // Electrochim. Acta – 2003. – V. 48. – № 5. – PP. 581-587.

152. Jones, S.E.W. The stripping voltammetry of hemispherical deposits under electrochemically irreversible conditions: a comparison of the stripping voltammetry of bismuth on boron-doped diamond and Au(111) electrodes / S.E.W. Jones, K.E. Toghill, S.H. Zheng, S. Morin, R.G. Compton // J. Phys. Chem. C – 2009. – V. 113. – № 7. – PP. 2846-2854.

153. Masitas, R.A. Size-dependent electrophoretic deposition of catalytic gold nanoparticles / R.A. Masitas, S.L. Allen, F.P. Zamborini // J. Am. Chem. Soc. – 2016. – V. 138. – № 47. – PP. 15295-15298.

154. Kolb, D.M. On the unusual electrochemical stability of nanofabricated copper clusters / D.M. Kolb, G.E. Engelmann, J.C. Ziegler // Angew. Chem. Int. Ed. – 2000. – V. 39. – № 6. – PP. 1123-1125.

155. Ivanova, O.S. Size-dependent electrochemical oxidation of silver nanoparticles / O.S. Ivanova, F.P. Zamborini // J. Am. Chem. Soc. – 2009. – V. 132. – № 1. – PP. 70-72.

156. Gunawan, C. Widespread and indiscriminate nanosilver use: genuine potential for microbial resistance / C. Gunawan, C.P. Marquis, R. Amal, G.A. Sotiriou, S.A. Rice, E.J.

Harry // ACS Nano – 2017. – V. 11. – № 4. – PP. 3438-3445.

157. Карпов, С.В. Оптические и фотофизические свойства фрактально-структурированных золей металлов / С.В. Карпов, В.В. Слабко. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2003. – 265 с. ISBN: 5-7692-0549-0

158. Petosa, A.R. Aggregation and deposition of engineered nanomaterials in aquatic environments: role of physicochemical interactions / A.R. Petosa, D.P. Jaisi, I.R. Quevedo, M. Elimelech, N. Tufenkji // Environ. Sci. amp; Technol. – 2010. – V. 44. – № 17. – PP. 6532-6549.

159. Mittelman, A.M. Influence of dissolved oxygen on silver nanoparticle mobility and dissolution in water-saturated quartz sand / A.M. Mittelman, A. Taghavy, Y. Wang, L.M. Abriola, K.D. Pennell // J. Nanoparticle Res. – 2013. – V. 15. – № 7. – P. 1765.

160. Metreveli, G. Disaggregation of silver nanoparticle homoaggregates in a river water matrix / G. Metreveli, A. Philippe, G.E. Schaumann // Sci. Total Environ. – 2015. – V. 535. – PP. 35-44.

161. Chambers, B.A. Effects of chloride and ionic strength on physical morphology, dissolution, and bacterial toxicity of silver nanoparticles / B.A. Chambers, A.R.M.N. Afrooz, S. Bae, N. Aich, L. Katz, N.B. Saleh, M.J. Kirisits // Environ. Sci. amp; Technol. – 2013. – V. 48. – № 1. – PP. 761-769.

162. Li, P. Environmental fate and behavior of silver nanoparticles in natural estuarine systems / P. Li, M. Su, X. Wang, X. Zou, X. Sun, J. Shi, H. Zhang // J. Environ. Sci. – 2020. – V. 88. – PP. 248-259.

163. Garner, K.L. Assessing the risk of engineered nanomaterials in the environment: development and application of the nanofate model / K.L. Garner, S. Suh, A.A. Keller // Environ. Sci. amp; Technol. – 2017. – V. 51. – № 10. – PP. 5541-5551.

164. Hansen, S.F. Revising REACH guidance on information requirements and chemical safety assessment for engineered nanomaterials for aquatic ecotoxicity endpoints: recommendations from the EnvNano project / S.F. Hansen, S.N. Sørensen, L.M. Skjolding, N.B. Hartmann, A. Baun // Environ. Sci. Eur. – 2017. – V. 29. – № 1. –

P. 14.

165. Klaessig, F.C. Dissolution as a paradigm in regulating nanomaterials / F.C. Klaessig // *Environ. Sci.: Nano* – 2018. – V. 5. – № 5. – PP. 1070-1077.

166. Dale, A.L. Modeling nanomaterial environmental fate in aquatic systems / A.L. Dale, E.A. Casman, G.V. Lowry, J.R. Lead, E. Viparelli, M. Baalousha // *Environ. Sci. Technol.* – 2015. – V. 49. – № 5. – PP. 2587-2593.

167. Yang, X. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans* / X. Yang, A.P. Gondikas, S.M. Marinakos, M. Auffan, J. Liu, H. Hsu-Kim, J.N. Meyer // *Environ. Sci. amp; Technol.* – 2011. – V. 46. – № 2. – PP. 1119-1127.

168. Xiu, Z. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles / Z. Xiu, Q. Zhang, H.L. Puppala, V.L. Colvin, P.J.J. Alvarez // *Nano Lett.* – 2012. – V. 12. – № 8. – PP. 4271-4275.

169. Quinteros, M.A. Oxidative stress generation of silver nanoparticles in three bacterial genera and its relationship with the antimicrobial activity / M.A. Quinteros, V. Cano Aristizábal, P.R. Dalmaso, M.G. Paraje, P.L. Páez // *Toxicol. Vitro* – 2016. – V. 36. – P. 216-223.

170. Galdiero, S. Silver nanoparticles as potential antiviral agents / S. Galdiero, A. Falanga, M. Vitiello, M. Cantisani, V. Marra, M. Galdiero // *Molecules* – 2011. – V. 16. – № 10. – PP. 8894-8918.

171. Durán, N. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity / N. Durán, M. Durán, M.B. de Jesus, A.B. Seabra, W.J. Fávaro, G. Nakazato // *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.* – 2016. – V. 12. – № 3. – PP. 789-799.

172. Choi, O. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth / O. Choi, K.K. Deng, N.J. Kim, L. Ross, R.Y. Surampalli, Z. Hu // *Water Res.* – 2008. – V. 42. – № 12. – PP. 3066-3074.

173. Alshareef, A. Shape-dependent antibacterial activity of silver nanoparticles on *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* bacterium / A. Alshareef, K. Laird, R.B.M.

Cross // Appl. Surf. Sci. – 2017. – V. 424. – PP. 310-315.

174. Martínez-Castañón, G.A. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes / G.A. Martínez-Castañón, N. Niño-Martínez, F. Martínez-Gutierrez, J.R. Martínez-Mendoza, F. Ruiz // J. Nanoparticle Res. – 2008. – V. 10. – № 8. – PP. 1343-1348.

175. Gouyau, J. Investigation of nanoparticle metallic core antibacterial activity: gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* / J. Gouyau, R.E. Duval, A. Boudier, E. Lamouroux // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – V. 22. – № 4. – PP. 1905.

176. Long, Y.M. Surface ligand controls silver ion release of nanosilver and its antibacterial activity against *Escherichia coli* / Y.M. Long, L.G. Hu, X.T. Yan, X.C. Zhao, Q.F. Zhou, Y. Cai, G.B. Jiang // Int. J. Nanomed. – 2017. – V. 12. – PP. 3193-3206.

177. Jain, J. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use / J. Jain, S. Arora, J.M. Rajwade, P. Orray, S. Khandelwal, K.M. Paknikar // Mol. Pharm. – 2009. – V. 6. – № 5. – PP. 1388-1401.

178. Kim, S.W. Assay-dependent effect of silver nanoparticles to *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* / S.W. Kim, Y.W. Baek, Y.J. An // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – V. 92. – № 5. – PP. 1045-1052.

179. Suresh, A.K. Monodispersed biocompatible silver sulfide nanoparticles: Facile extracellular biosynthesis using the γ -proteobacterium, *Shewanella oneidensis* / A.K. Suresh, M.J. Doktycz, W. Wang, J.W. Moon, B. Gu, H.M. Meyer, D.K. Hensley, D.P. Allison, T.J. Phelps, D.A. Pelletier // Acta Biomater. – 2011. – V. 7. – № 12. – PP. 4253-4258.

180. Greulich, C. The toxic effect of silver ions and silver nanoparticles towards bacteria and human cells occurs in the same concentration range / C. Greulich, D. Braun, A. Peetsch, J. Diendorf, B. Siebers, M. Epple, M. Köller // RSC Adv. – 2012. – V. 2. – № 17. – P. 6981

181. Krce, L. Bacteria exposed to silver nanoparticles synthesized by laser ablation in

- water: Modelling *E. coli* growth and inactivation / L. Krce, M. Šprung, A. Maravić, P. Umek, K. Salamon, N. Krstulović, I. Aviani // *Materials* – 2020. – V. 13. – № 3. – P. 653.
182. Lee, W. A novel mechanism for the antibacterial effect of silver nanoparticles on *Escherichia coli* / W. Lee, K.J. Kim, D.G. Lee // *BioMetals* – 2014. – V. 27. – № 6. – PP. 1191-1201.
183. Kubo, A.L. Antimicrobial potency of differently coated 10 and 50 nm silver nanoparticles against clinically relevant bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* / A.L. Kubo, I. Capjak, I.V. Vrčak, O.M. Bondarenko, I. Kurvet, H. Vija, A. Ivask, K. Kasemets, A. Kahru // *Colloids Surf. B: Biointerfaces* – 2018. – V. 170. – PP. 401-410.
184. Haque, M.A. An experiment-based model quantifying antimicrobial activity of silver nanoparticles on *Escherichia coli* / M.A. Haque, R. Imamura, G.A. Brown, V.R. Krishnamurthi, I.I. Niyonshuti, T. Marcelle, L.E. Mathurin, J. Chen, Y. Wang // *RSC Adv.* – 2017. – V. 7. – № 89. – PP. 56173-56182.
185. Méndez-Pfeiffer, P.A. Damage on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using white light photoactivation of Au and Ag nanoparticles / P.A. Méndez-Pfeiffer, L. Soto Urzúa, E. Sánchez-Mora, A.L. González, J.M. Romo-Herrera, J.J. Gervacio Arciniega, L.J. Martínez Morales // *J. Appl. Phys.* – 2019. – V. 125. – № 21. – P. 5090273.
186. Cheon, J.Y. Shape-dependent antimicrobial activities of silver nanoparticles // *J.Y. Cheon, S.J. Kim, Y.H. Rhee, O.H. Kwon, W.H. Park // Int. J. Nanomed.* – 2019. – V. 14. – PP. 2773-2780.
187. Sondi, I. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria / I. Sondi, B. Salopek-Sondi // *J. Colloid Interface Sci.* – 2004. – V. 275. – № 1. – PP. 177-182.
188. Quinteros, M.A. Silver nanoparticles: biosynthesis using an ATCC reference strain of *Pseudomonas aeruginosa* and activity as broad spectrum clinical antibacterial agents / M.A. Quinteros, I.M. Aiassa Martínez, P.R. Dalmaso, P.L. Páez // *Int. J. Biomater.* – 2016. – V. 2016. – PP. 1-7.

189. Gambino, M. Mini-review: Biofilm responses to oxidative stress / M. Gambino, F. Cappitelli // *Biofouling* – 2016. – V. 32. – № 2. – PP. 167-178.
190. Quinteros, M.A. Biosynthesized silver nanoparticles: Decoding their mechanism of action in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* / M.A. Quinteros, C.A. Viviana, R. Onnainty, V.S. Mary, M.G. Theumer, G.E. Granero, M.G. Paraje, P.L. Páez // *Int. J. Biochem. amp; Cell Biol.* – 2018. – V. 104. – PP. 87-93.
191. Lok, C.N. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities / C.N. Lok, C.M. Ho, R. Chen, Q.Y. He, W.Y. Yu, H. Sun, P.K.H. Tam, J.F. Chiu, C.M. Che // *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* – 2007. – V. 12. – № 4. – PP. 527-534.
192. Morones, J.R. The bactericidal effect of silver nanoparticles / J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramírez, M.J. Yacaman // *Nanotechnology* – 2005. – V. 16. – № 10. – PP. 2346-2353.
193. Le Ouay, B. Antibacterial activity of silver nanoparticles: A surface science insight / B. Le Ouay, F. Stellacci // *Nano Today* – 2015. – V. 10. – № 3. – PP. 339-354.
194. Shrivastava, S. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles / S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, D. Dash // *Nanotechnology* – 2007. – V. 18. – № 22. – P. 225103.
195. Lansdown, A.B.G. *Silver in Healthcare: Its Antimicrobial Efficacy and Safety in Use* / A.B.G. Lansdown. London: Royal Society of Chemistry, 2010. – 274 p. ISBN: 1-8497-3179-9
196. Nowack, B. 120 years of nanosilver history: implications for policy makers / B. Nowack, H.F. Krug, M. Height // *Environ. Sci. amp; Technol.* – 2011. – V. 45. – № 4. – PP. 1177-1183.
197. Powers, C.M. Silver nanoparticles compromise neurodevelopment in PC12 cells: critical contributions of silver ion, particle size, coating, and composition / C.M. Powers, A.R. Badireddy, I.T. Ryde, F.J. Seidler, T.A. Slotkin // *Environ. Health Perspect.* – 2011. – V. 119. – № 1. – PP. 37-44.
198. Buxton, G.V. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons,

hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\text{O}^-$ in aqueous solution / G.V. Buxton, C.L. Greenstock, W.P. Helman, A.B. Ross // *J. Phys. Chem. Ref. Data* – 1988. – V. 17. – № 2. – PP. 513-886.

199. Weinstein, J. Kinetics of the interaction of perhydroxyl and superoxide radicals with hydrogen peroxide. The Haber-Weiss reaction / J. Weinstein, B.H.J. Bielski // *J. Am. Chem. Soc.* – 1979. – V. 101. – № 1. – PP. 58-62.

200. Bielski, B.H.J. Reevaluation of the spectral and kinetic properties of HO_2 AND O_2^- free radicals / B.H.J. Bielski // *Photochem. Photobiol.* – 1978. – V. 28. – № 4-5. – PP. 645-649.

201. Koppenol, W.H. The Haber-Weiss cycle / W.H. Koppenol, J. Butler, J.W. Leeuwen // *Photochem. Photobiol.* – 1978. – V. 28. – № 4-5. – P. 655-658.

202. Ferradini, C. The reaction between superoxide anion and hydrogen peroxide / C. Ferradini, J. Foos, C. Houee, J. Pucheault // *Photochem. Photobiol.* – 1978. – V. 28. – № 4-5. – P. 697-700.

203. Schmidt, K.H. Electrical conductivity techniques for studying the kinetics of radiation-induced chemical reactions in aqueous solutions / K.H. Schmidt // *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* – 1972. – V. 4. – № 4. – PP. 439-468.

204. Tiwari, D.K. Dose-dependent in-vivo toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats / D.K. Tiwari, T. Jin, J. Behari // *Toxicol. Mech. Methods* – 2010. – V. 21. – № 1. – PP. 13-24.

205. Piao, M.J. Silver nanoparticles induce oxidative cell damage in human liver cells through inhibition of reduced glutathione and induction of mitochondria-involved apoptosis / M.J. Piao, K.A. Kang, I.K. Lee, H.S. Kim, S. Kim, J.Y. Choi, J. Choi, J.W. Hyun // *Toxicol. Lett.* – 2011. – V. 201. – № 1. – PP. 92-100.

206. Valodkar, M. In vitro toxicity study of plant latex capped silver nanoparticles in human lung carcinoma cells / M. Valodkar, R.N. Jadeja, M.C. Thounaojam, R.V. Devkar, S. Thakore // *Mater. Sci. Eng.: C* – 2011. – V. 31. – № 8. – PP. 1723-1728.

207. Danilczuk, M. Conduction electron spin resonance of small silver particles / M.

Danilczuk, A. Lund, J. Sadlo, H. Yamada, J. Michalik // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2006. – V. 63. – № 1. – P. 189-191.

208. He, W. Mechanisms of the pH dependent generation of hydroxyl radicals and oxygen induced by Ag nanoparticles / W. He, Y.T. Zhou, W.G. Wamer, M.D. Boudreau, J.J. Yin // *Biomaterials* – 2012. – V. 33. – № 30. – P. 7547-7555.

209. Çulha, M. Biocidal properties of maltose reduced silver nanoparticles against American foulbrood diseases pathogens / M. Çulha, Ş. Kalay, E. Sevim, M. Pinarbaş, Y. Baş, R. Akpınar, Ş.A. Karaoğlu // *BioMetals* – 2017. – V. 30. – № 6. – PP. 893-902.

210. Al Yousef, S.A. In vitro bactericidal and imipenem synergistic effect of nano-silver against multiple drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* / S.A. Al Yousef // *J. King Saud Univ. - Sci.* – 2022. – V. 34. – № 1. – P. 101706.

211. Sudheer Khan, S. Toxic effect of environmentally relevant concentration of silver nanoparticles on environmentally beneficial bacterium *Pseudomonas putida* / S. Sudheer Khan, S.S. Ghouse, P. Chandran // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2015. – V. 38. – № 7. – PP. 1243-1249.