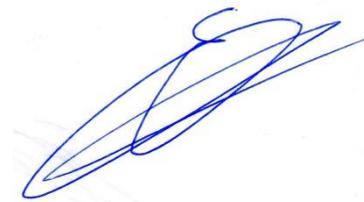


Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования

«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)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук

Москва – 2023

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

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, что связано с их особыми антибактериальными и оптическими характеристиками. Широкое использование материалов с включением наночастиц серебра неизбежно приводит к попаданию последних в окружающую среду.

Один из распространенных способов получения наночастиц серебра – восстановление ионов серебра Ag^+ в водных растворах борогидридом, гидразином и другими восстановителями, являющимися токсичными. Для предотвращения коагуляции наночастиц вводятся различные стабилизирующие добавки. Однако, данные добавки формируют вокруг наночастицы плотную (соразмерную с самими наночастицами) «шубу», что приводит к снижению биологической доступности наночастиц. 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.

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, при котором гидрозоль не содержал бы токсичных примесей. Желательно также, чтобы гидрозоль в своем составе по возможности содержал компоненты, характерные для природной пресной воды, в частности, карбонат-анионы. Такой метод будет обеспечивать минимизацию антропогенного воздействия на живую природу и соответствовать принципам зелёной химии: при проведении синтеза не использовать токсичных соединений и не производить их в качестве отходов. Этим требованиям отвечает

разработанный метод получения гидрозоля серебра путем фотохимического восстановления ионов металла в присутствии оксалат-ионов.

Степень разработанности темы

Несмотря на большое количество разработанных методов синтеза наночастиц серебра, в том числе зелёными методами, а также данных о физико-химических характеристиках последних, описанные в 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 с 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 закономерностей 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 (Γ^+) *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 ~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 $(1.6 \pm 0.2) \times 10^{-3}$ мин⁻¹ в исследуемом диапазоне концентраций $(1-4) \times 10^{-4}$ моль л⁻¹ Ag^0 .

Механизм окислительного растворения наночастиц серебра имеет электрохимическую природу.

5. Гидрозоля 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 двойного электрического слоя, 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 $\sim 1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$ 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 карбонат-анионы. Данное обстоятельство позволяет исключить влияние токсичных восстановителей и стабилизаторов при оценке антибактериальных свойств серебра. Такой гидрозоль может быть рекомендован в качестве модельного для исследования воздействия серебра в форме наночастиц на микроорганизмы. 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. Биоцидное действие карбонат-стабилизированных 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

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.

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 высокочистые 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.).

Публикации. 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.

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» РУДН, ПЭМ и ЭДС бактериальных клеток сотрудниками ЦКП «Коллекция UNIQEM» ИНМИ им. С.Н. Виноградского РАН, масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой сотрудниками геологического факультета МГУ 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 189 страницах и состоит из введения, обзора научной литературы, методической части, 3 глав, содержащих экспериментальные результаты и их обсуждение, заключения, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы (211 наименований). Работа содержит 51 рисунок и 8 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении приведены общие сведения о диссертационной работе, обоснована актуальность темы исследования, обозначена цель и задачи, необходимые для её достижения, обоснована научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов.

В первой главе приведен анализ научной литературы по методам синтеза, физико-химическим свойствам, областям применения, биологическому действию, а также о формах существования в окружающей среде наночастиц серебра.

Во второй главе описываются методики проведения экспериментов, в частности, синтеза гидрозоля, содержащего карбонат-стабилизированные наночастицы серебра, определение концентрации оксалат-ионов, исследования ингибирования роста клеток бактерий наночастицами серебра, исследования морфологии и состава цитоплазмы клеток, методы анализа гидрозоля, типы и составы природных вод, биологические объекты, источник УФ-излучения.

В третьей главе приведены результаты и обсуждение синтеза гидрозоля серебра, стабилизированного карбонат-ионами, а именно: фотохимическое образование карбоксильных анион-радикалов, получение деаэрированного и аэрированного карбонатного гидрозоля серебра, определение концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозолей.

Получение деаэрированного раствора карбонатного гидрозоля серебра. При УФ-облучении раствора ионов Ag^+ ($1-3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}), содержащего оксалат-ионы ($2-5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}), образуется устойчивый гидрозоль серебра, содержащий частицы металла со средним размером $d = 10$ нм. Оксалат-ионы $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ распадаются с образованием карбоксильных ион-радикалов $\text{CO}_2^{\bullet-}$ (реакция 1), которые в свою очередь эффективно восстанавливают ионы Ag^+ до атомарного состояния (реакция 2):



Этому благоприятствует соотношение потенциалов: $E^0\left(\frac{\text{CO}_2}{\text{CO}_2^-}\right) = -1.9 \text{ В}$ и $E^0\left(\frac{\text{Ag}^+}{\text{Ag}^0}\right) = -1.8 \text{ В}$. В дальнейшем возникают короткоживущие кластеры серебра (Ag_2^+ , Ag_3^{2+} , Ag_4^{2+} , Ag_8^{2+} и др.) (реакция 3), агломерация которых завершается образованием наночастиц:



Диоксид углерода, образующийся в результате протекания реакции 2, в воде трансформируется в угольную кислоту, которая является источником бикарбонат- и карбонат-ионов, выступающих в качестве стабилизаторов образующихся коллоидных частиц серебра (реакция 4):



Полоса поглощения локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ЛППР) при $\sim 400 \text{ нм}$, присущая наночастицам серебра, появляется и возрастает по интенсивности с увеличением времени фотохимического воздействия (рисунок 1).

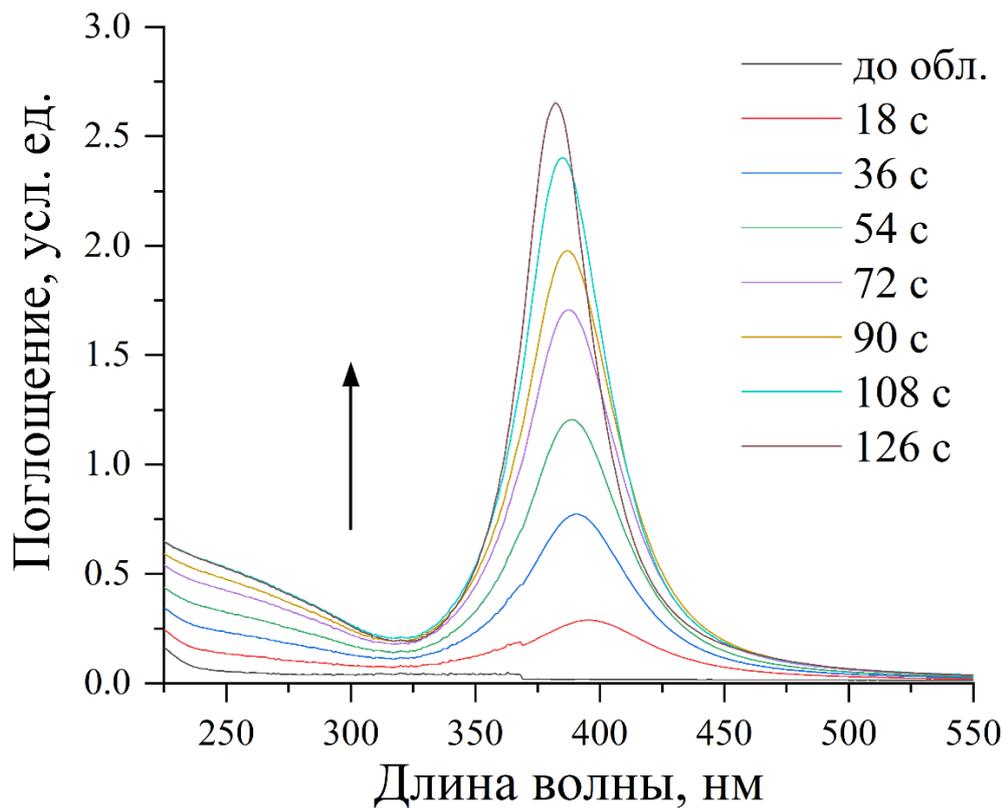


Рисунок 1 – Изменение оптического поглощения гидрозоля в зависимости от времени облучения в отсутствие кислорода воздуха. Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹, $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л⁻¹. Длина оптического пути 5 мм.

Полоса постепенно смещается в синюю область и уменьшается по ширине. Спустя ~ 130 сек действия УФ-излучения завершается формирование гидрозоля серебра. Это

фиксируется по достижению постоянного и устойчивого плазмонного поглощения наночастиц серебра, характеризуемого предельной оптической плотностью гидрозоля и постоянной формой полосы ЛППР.

Показано, что в процессе формирования гидрозоля происходит увеличение электронной плотности на поверхности наночастиц, что может увеличивать антибактериальное действие. 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^+ .

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^+ ($1\text{--}3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}), содержащего оксалат-ионы ($2\text{--}5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1}), также образуется устойчивый гидрозоль серебра, содержащий наночастицы со средним размером $d = 20$ нм (рисунок 2).

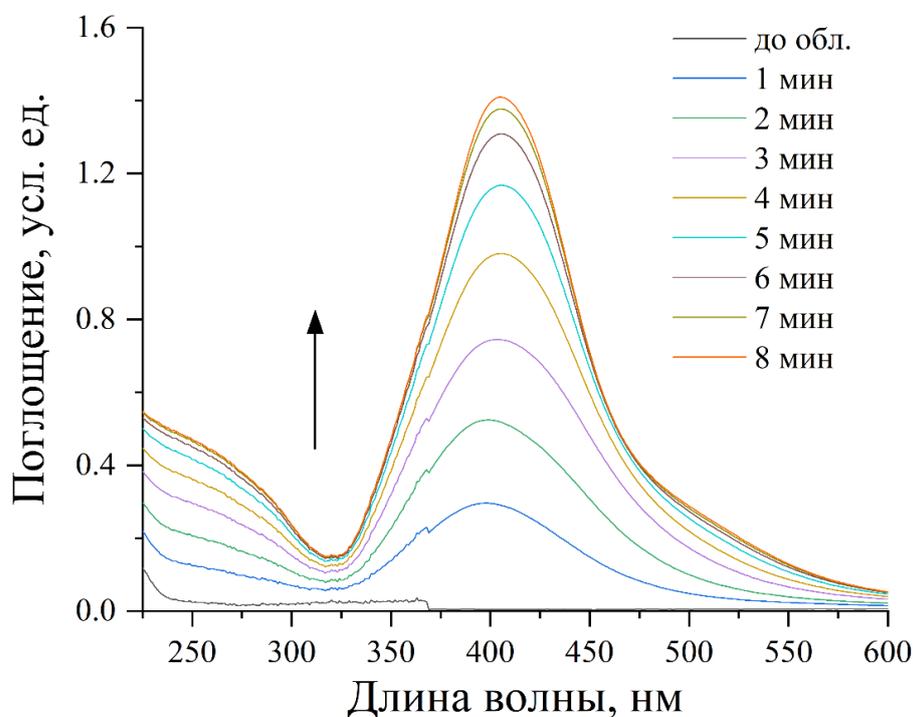


Рисунок 2 – Изменение оптического поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени облучения в присутствии кислорода воздуха. Исходный раствор: $[\text{Ag}^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} , $[\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л^{-1} . Длина оптического пути 5 мм.

Процесс восстановления Ag^+ в присутствии кислорода воздуха протекает медленнее, чем в отсутствие. Для его завершения требуется 450-500 с (рисунок 2). 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.

Предложен и обоснован простой метод определения концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля по оптическому поглощению межзонных электронных переходов в УФ-области. Установлено, что ϵ_{250} для гидрозоля, содержащего карбонат-стабилизированные наночастицы сферической формы диаметром ~ 10 нм, составляет 3500 ± 100 л моль⁻¹ см⁻¹. Данный метод позволяет, не прибегая к дополнительным инструментам и методам анализа, рассчитывать содержание металлического серебра, анализируя оптические спектры поглощения гидрозоля.

В четвёртой главе приведены результаты и обсуждение окислительного растворения наночастиц серебра в воде, также обоснована электрохимическая модель данного процесса, устойчивости наночастиц серебра в природных водах.

Показано, что в отсутствие кислорода воздуха растворения наночастиц не происходит. 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 3) обнаруживается тенденция частичного выделения серебра в осадок (седиментация).

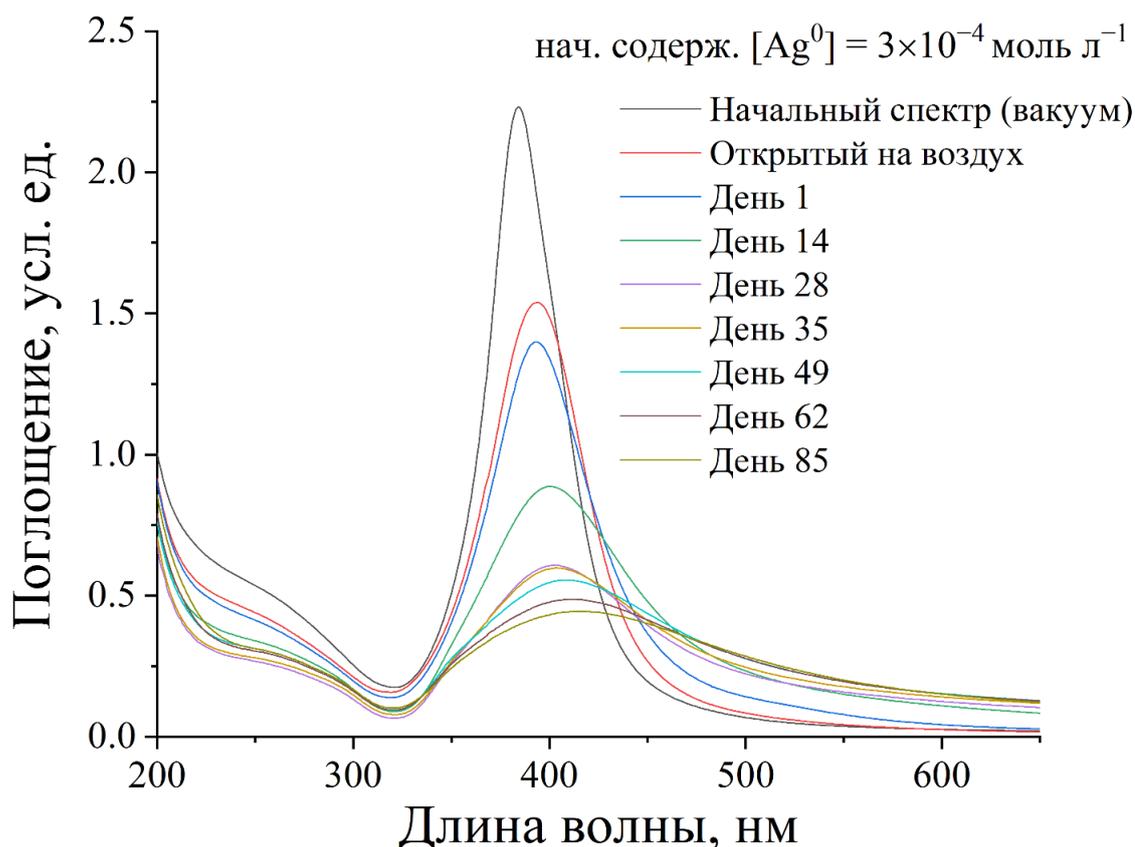


Рисунок 3 – Спектры поглощения гидрозоля серебра в зависимости от времени выдерживания при открытии на воздух. Исходный раствор: $[Ag^+] = 3 \times 10^{-4}$ моль л $^{-1}$, $[C_2O_4^{2-}] = 5 \times 10^{-4}$ моль л $^{-1}$. Длина оптического пути 5 мм.

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:

$$[Ag^0]_t = [Ag^0]_0 \times e^{-kt} \quad (5)$$

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:

$$[Ag^+]_t = [Ag^0]_0 \times (1 - e^{-kt}) \quad (6)$$

В исследованном 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 $^{-1}$.

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.

Устойчивость гидрозоля карбонат-стабилизированных наночастиц серебра резко уменьшается при контакте с питьевыми водами (водопроводной и минеральной), а также природными водами (из артезианской скважины и морской). Это проявляется в том, что исходный гидрозоль, устойчивость которого сохраняется в течение нескольких месяцев, при смешении с равным объемом вышеуказанных вод 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 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 двойного электрического слоя, 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 воды.

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 серебра в этой питательной среде.

В пятой главе представлены результаты и обсуждение антибактериального (токсического) действия серебра на клетки представителей грамотрицательных бактерий (Γ^-) *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida*, а также грамположительной бактерии (Γ^+) *Paenibacillus jamilae*. Предложена и обоснована схема механизма антибактериального (токсичного) воздействия наночастиц серебра на микрофлору.

Карбонат-стабилизированные наночастицы серебра оказывает угнетающее действие на Γ^- клетки бактерии *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* и Γ^+ *Paenibacillus jamilae* (рисунок 4).

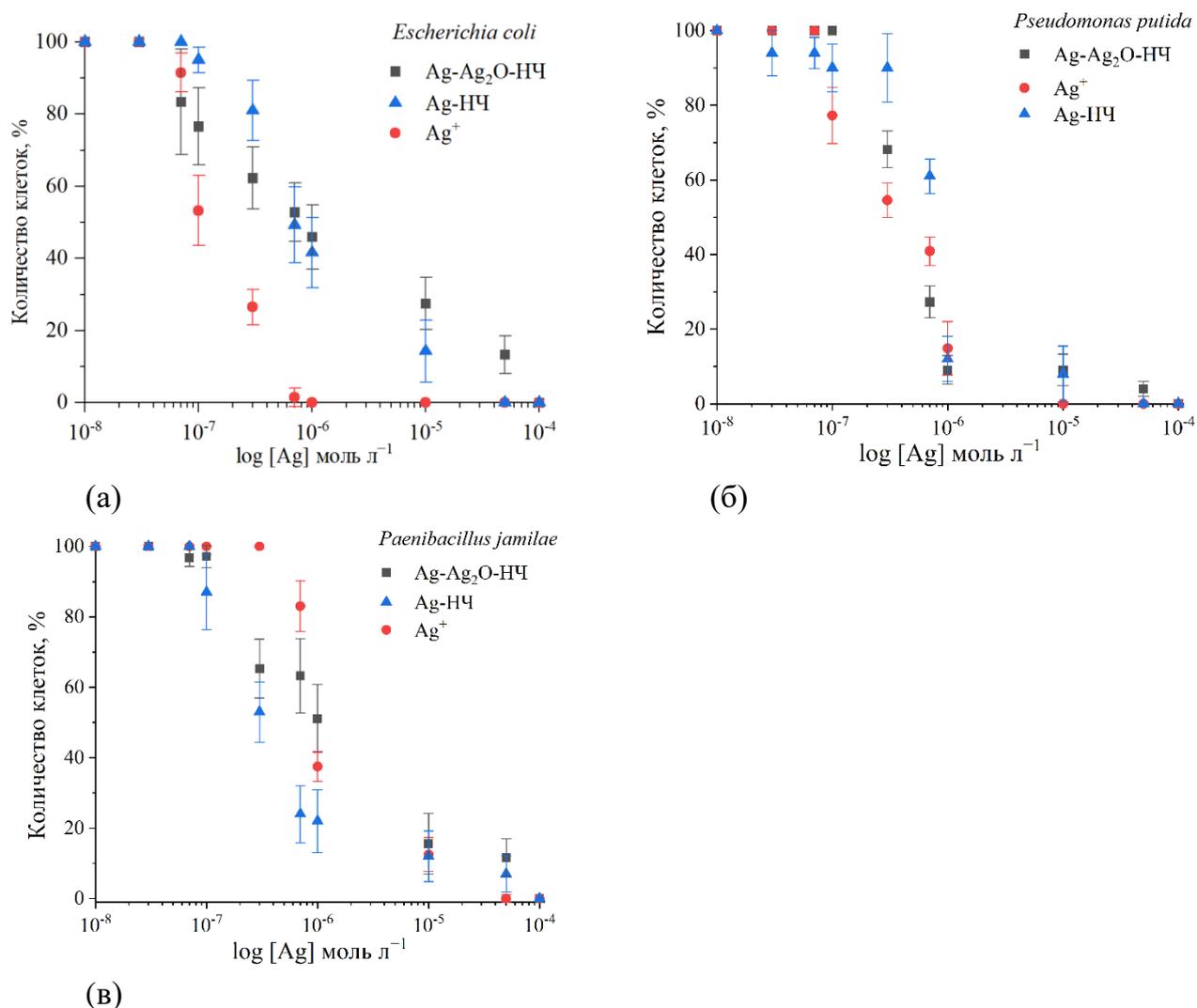


Рисунок 4 – Корреляция между количеством клеток: а – *Escherichia coli*; б – *Pseudomonas putida*; в – *Paenibacillus jamilae* относительно контрольного образца и концентрацией серебра как результат ингибирования бактериального роста. Время экспозиции – 48 часов.

Важно отметить, что в гидрозольях 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.

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 5а). В присутствии серебра в ионной форме основным морфологическим признаком влияния на клетки является практически полное исчезновение пилей и жгутиков (рисунок 5б).

Клетки бактерии *Escherichia coli* при этом сохраняют гладкую форму, в большинстве они не отделены друг от друга. В целом, клетки не имеют значительных изменений формы и сохраняют целостность оболочки. Внесение в питательный раствор наночастиц серебра изменяют морфологию клеток (рисунок 5в).

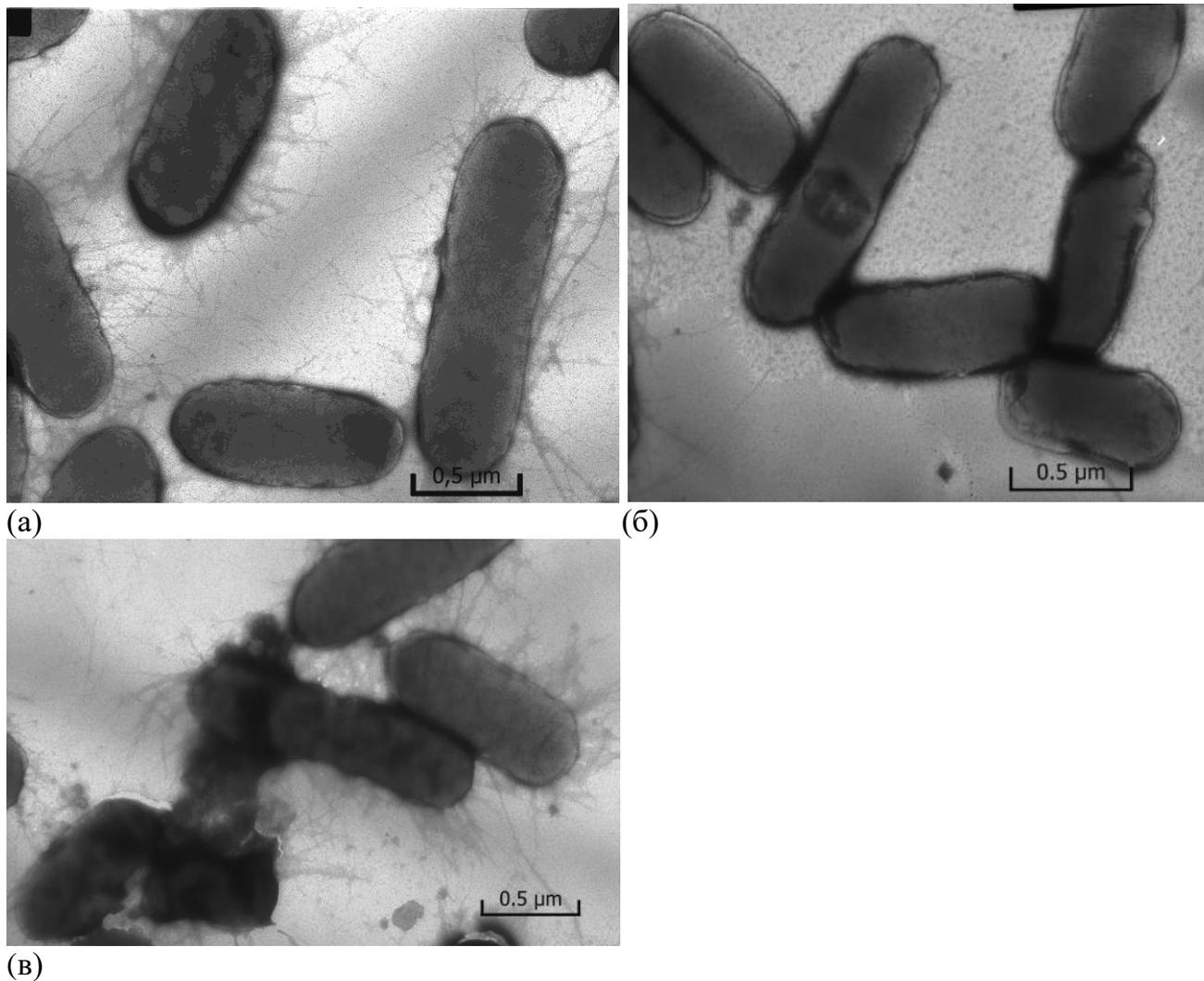


Рисунок 5 – Микрофотографии *Escherichia coli*: а – контроль; б – выращенных в присутствии ионов серебра (10^{-5} моль $л^{-1}$); в – выращенных в присутствии Ag-Ag₂O-НЧ.

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 (рисунок 5в). 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.

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. 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.

Предложенный и обоснованный механизм антибактериального (токсичного) воздействия наночастиц серебра на микрофлору 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 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

На основании проведенных исследований были сформулированы следующие выводы:

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 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 агломерацию 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 $(1.6 \pm 0.2) \times 10^{-3}$ мин⁻¹ в диапазоне концентраций $(1-4) \times 10^{-4}$ моль л⁻¹ 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 Г⁻ клетки бактерии *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida* и Г⁺ *Paenibacillus jamilae*. Установлены пределы толерантности и устойчивости грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов к карбонат-стабилизированным наночастицам серебра. Концентрации полумаксимального ингибирования находятся в диапазоне ~0.03-0.12 мг л⁻¹, а минимальные ингибирующие концентрации в диапазоне 5.5-11.0 мг л⁻¹.

7. Предложена и обоснована схема механизма антибактериального (токсичного) воздействия наночастиц серебра на микрофлору. Она 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, а также в питьевых и природных водах различного состава и происхождения 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ:

1. Abkhalimov E. Determination of the concentration of silver atoms in hydrosol nanoparticles / E. Abkhalimov, V. Ershov, B. Ershov // *Nanomaterials*. – 2022. – Vol. 12. – № 18. – P. 3091. DOI: 10.3390/nano12183091. (Scopus, Web of Science)
2. Ershov V. Photochemical synthesis of silver hydrosol stabilized by carbonate ions and study of its bactericidal impact on *Escherichia coli*: direct and indirect effects / V. Ershov, N. Tarasova, E. Abkhalimov, A. Safonov, V. Sorokin, B. Ershov // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – V. 23. – № 2. – P. 949. DOI: 10.3390/ijms23020949. (Scopus, Web of Science)
3. Ershov V. Evolution of electronic state and properties of silver nanoparticles during their formation in aqueous solution / V. Ershov, N. Tarasova, B. Ershov // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – V. 22. – № 19. – P. 10673. DOI: 10.3390/ijms221910673. (Scopus, Web of Science)
4. Ershov V.A. Electronic state of silver nanoparticles during their photochemical formation in a deaerated aqueous solution / V.A. Ershov, N.P. Tarasova, B.G. Ershov // *Dokl. Chem.* – 2020. – V. 495. – № 1. – P. 171–174. DOI: 10.1134/S0012500820110026. (Scopus, Web of Science)
5. Abkhalimov E. V. “Pure” silver hydrosol: nanoparticles and stabilizing carbonate ions / E.V. Abkhalimov, V.A. Ershov, B.G. Ershov // *J. Nanoparticle Res.* – 2019. – V. 21. – № 5. – P. 93. DOI: 10.1007/s11051-019-4538-x. (Scopus, Web of Science)
6. Abkhalimov E. V. An aqueous colloidal silver solution stabilized with carbonate ions / E.V. Abkhalimov, V.A. Ershov, B.G. Ershov // *Colloid J.* – 2017. – Vol. 79. – № 6. DOI: 10.1134/S1061933X17060023. (Scopus, Web of Science)
7. Ершов В.А. Определение концентрации атомов серебра в наночастицах гидрозоля / В.А. Ершов // *ФИЗИКОХИМИЯ-2022: XVII Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН. 5-9 декабря, 2022. Сборник тезисов докладов.* – 2022. – С. 164.
8. Ершов В. А. Поведение карбонат-стабилизированных наночастиц серебра в водных компонентах окружающей среды / В.А. Ершов, К.М. Родионов // *Актуальные проблемы недропользования: Тезисы докладов. Санкт-Петербургский горный университет. (XVIII Международный форум-конкурс студентов и молодых ученых, 15-*

21 мая 2022 г.). – Т. 2. – РИЦ Санкт-Петербургского горного университета Санкт-Петербург, 2022. – С. 137-139.

9. Родионов К. М. Исследование свойств наночастиц серебра в водных компонентах окружающей среды / К.М. Родионов, В.А. Ершов, Н.П. Тарасова // XIV Международная научно-практическая конференция: материалы конференции: в 2 ч. Ч. 1: Пленарный доклад. Мемориальный симпозиум профессора Г. А. Ягодина. Секция Окружающая среда и устойчивое развитие. – Т. 1. – РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2022. – С. 155-158.

10. Вяткина А. С. Карбонат-стабилизированные наночастицы серебра как ингибитор роста бактерий / А.С. Вяткина, В.А. Ершов, Н.П. Тарасова // XIV Международная научно-практическая конференция: материалы конференции: в 2 ч. Ч. 1: Пленарный доклад. Мемориальный симпозиум профессора Г. А. Ягодина. Секция Окружающая среда и устойчивое развитие. — РХТУ им. Д. И. Менделеева Москва, 2022. – С. 34-37.

11. Голованова В. Д. Разработка материала на основе целлюлозы и наночастиц серебра / В.Д. Голованова, В.А. Ершов, Н.П. Тарасова // Материалы Международного молодежного научного форума Ломоносов-2022 – Москва, 2022. – С. 835.

12. Ершов В. А. Наночастицы серебра, стабилизированные карбонат-ионами, как антибактериальный агент / В.А. Ершов, Н.П. Тарасова // Сборник тезисов. Материалы II Национального конгресса с международным участием по экологии человека, гигиене и медицине окружающей среды СЫСИНСКИЕ ЧТЕНИЯ – 2021. – 2021. – С. 154-157.

13. Ершов В. А., Эволюция электронного состояния и свойств наночастиц серебра в процессе образования в водном растворе / В.А. Ершов, Н.П. Тарасова // Сборник тезисов докладов XVI конференции молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН ФИЗИКОХИМИЯ – 2021. – ИФХЭ РАН Москва, 2021. – С. 137-138.

14. Ершов В. А. Морфологические изменения клеток *Escherichia coli* при воздействии наночастиц серебра / В.А. Ершов // ФИЗИКОХИМИЯ – 2020: XV Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН. 4-11 декабря, 2020. Сборник тезисов докладов. – 2020. – С. 111-112.

15. Ершов В. А. Электронное состояние и свойства наночастиц серебра в процессе образования в деаэрированном водном растворе / В.А. Ершов // ФИЗИКОХИМИЯ – 2019: XIV Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН. 2-6 декабря, 2019. Сборник тезисов докладов. – 2019. – С. 156-157.

16. Ershov V. Silver nanoparticles stabilized by carbonate ions: oxygen effect / V. Ershov, E. Abkhalimov, B. Ershov // 8th Szeged International Workshop on Advances in Nanoscience. – Vol. 2018 of *SIWAN*. – Akadémiai Kiadó Budapest, 2018. – PP. 49-50.

17. Ершов В.А. Наночастицы серебра, стабилизированные карбонат-ионами, как антимикробный материал / В.А. Ершов // Материалы Международного молодежного научного форума Ломоносов-2018 – Москва, 2018.

18. Ershov V. A. Silver nanoparticles stabilized by carbonate ions: pure hydrosol / V.A. Ershov, E.V. Abkhalimov // Сборник материалов VII международной конференции с элементами научной школы для молодежи Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества (г. Суздаль, 1-5 октября 2018 г). – ИМЕТ РАН Москва, 2018. – PP. 311–313.

19. Ершов В. А. Синтез чистого гидрозоля серебра: кислородный эффект / В.А. Ершов, Е.В. Абхалимов // Материалы конференции Образование и наука для устойчивого развития. – Т. 1 из Образование и наука для устойчивого развития. – Москва, 2018.

20. Ершов В. А., Абхалимов Е. В., Ершов Б. Г. Влияние кислорода на электронное состояние и физико-химические свойства наночастиц серебра в водном растворе // ФИЗИКОХИМИЯ – 2018: XIII Конференция молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН. 4-6 декабря, 2018. Сборник тезисов докладов. – 2018. – С. 189-191.