

УДК 66.063.62

Л.Д. Кістерська<sup>1</sup>, В.В. Зозуля<sup>2</sup>, В.М. Перевертайло<sup>1</sup>, В.В. Садохін<sup>1</sup>,  
В.П. Садохін<sup>1</sup>, О.Б. Логінова<sup>1</sup>, В.А. Прокопенко<sup>2</sup>, Н.Г. Багно<sup>1</sup>, В.О.  
Приходько<sup>3</sup>, О.А. Мокрицька<sup>4</sup>, Н.М. Волинець<sup>3</sup>, Н.П. Рибальченко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Інститут надтвердих матеріалів НАН України  
м. Київ, вул. Автозаводська, 2, Україна, 04074

<sup>2</sup>Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України  
м. Київ, бульвар Академіка Вернадського, 42, Україна, 03142

<sup>3</sup>Інститут мікробіології й вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України  
м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154, Україна, 03143

<sup>4</sup>Національний авіаційний університет  
м. Київ, просп. Космонавта Комарова, 1, Україна, 03058

## ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ НАНОСУСПЕНЗІЙ СРІБЛА

**Ключові слова:** срібло, гліцерин, наносуспензія, стабільність, розподіл за розміром, антимікробна активність, бактерицидна та фунгіцидна дія

*Проведено комплексне дослідження стабільності, параметрів агрегації та антимікробної активності наносуспензій срібла на базі харчового гліцерину, утворених методом іонно-плазмового диспергування металу. Показано, що їхню стабільність забезпечує адсорбційно-сольватний фактор стійкості. Встановлено концентрації срібла, за яких суспензії виявляють бактеріостатичну та бактерицидну дію. Запропоновано рекомендації щодо широкого використання отриманих суспензій як протимікробних компонентів побутових хімічних продуктів.*

### Вступ

Потреба в нових високоефективних активних діючих речовинах для дезінфекції побутових, медичних та громадських приміщень, транспортних засобів, інструментів медичного призначення та засобів персональної гігієни, інвентарю й тари для різних галузей харчової промисловості швидко зростає в усьому світі. До дезінфекційних засобів висувають вимоги стосовно екологічної безпечності, низької агресивності щодо оброблюваних матеріалів, стабільності та безпечності при транспортуванні, легкого видалення слідів їх після застосування, широкого спектра антимікробної активності та відсутності формування резистентних штамів мікроорганізмів. Усім цим вимогам відповідають наносуспензії металів (Ag, Cu, Au, Fe) на базі водорозчинних рідин [1], здатні замінити небезпечні та високоалергенні дезінфікувальні агенти на основі хлору, дихлорізоціанурової кислоти, триклозану, легких альдегідів тощо.

Дія таких систем може замінити хлорування при обробці питної води, їх можна використовувати як антибактеріальні добавки до товарів санітарії й гігієни, медичних препаратів та пакувальних матеріалів, косметики й антимікробних фарб для громадських приміщень та лікувальних закладів [2–4]. Вони також можуть застосовуватися

© Л.Д. КІСТЕРСЬКА, В.В. ЗОЗУЛЯ,  
В.М. ПЕРЕВЕРТАЙЛО,  
В.В. САДОХІН, В.П. САДОХІН,  
О.Б. ЛОГІНОВА, В.А. ПРОКОПЕНКО,  
Н.Г. БАГНО, В.О. ПРИХОДЬКО,  
О.А. МОКРИЦЬКА, Н.М. ВОЛИНЕЦЬ,  
Н.П. РИБАЛЬЧЕНКО, 2009

для військових потреб — при виготовлення антисептичної білизни, взуття та форми, а також для боротьби з біологічним тероризмом і збудниками масових епідемій.

Створення висококонцентрованих суспензій наноструктурних матеріалів в органічних та неорганічних рідинах-носіях — так званих мастер-батчів (master-butch), що додаються для розчинення до сотень фармакологічних, косметичних і побутових хімічних продуктів, та вдосконалення їхніх споживчих якостей стає важливим самостійним напрямом розвитку нанотехнологій. Натомість одержання концентрованих олігодинамічних наносуспензій металів у водорозчинних рідинах і додавання їх до традиційних інгредієнтів сучасної побутової хімії та продуктів персональної гігієни дасть змогу регулювати й удосконалювати їхні споживчі якості, не змінюючи усталених процесів виробництва їх.

Величезне практичне значення мають нові фізичні процеси нанодиспергування електропровідних матеріалів, передусім засновані на імпульсних процесах із високою швидкістю зміни термодинамічних параметрів та значною густиною концентрації енергії. У цьому сенсі іонно-плазмові технології стоять на передньому краї виробництва наноматеріалів із новими прогнозованими властивостями. У цій роботі для отримання висококонцентрованих суспензій срібла було застосовано метод приготування суспензій нанорозмірних частинок електропровідних матеріалів, які організуються у процесі плазмового диспергування металів, сплавів та інших електропровідних матеріалів локалізованим плазмовим струменем та в одностадійному технологічному циклі вносяться (імплантуються) цим самим струменем у гліцерин, поміщений до вакуумної камери [5].

**Мета роботи** полягала в дослідженні стану та параметрів агрегації у водно-гліцериновому дисперсійному середовищі частинок срібла, утворених способом іонно-плазмового диспергування, та вивченні їхньої протимікробної активності стосовно референтних штамів.

### Матеріали та методи дослідження

Агрегацію частинок срібла вивчали методами просвічувальної електронної мікроскопії та

оптичної мікроскопії [6, 7]. Препарати для електронної мікроскопії готували на основі стандартних мідних сіток. У вакуумному пості ВУП на предметне скло, попередньо ретельно відмите та висушене, методом вакуумного напилення наносили плівку вуглецю завтовшки 10 нм. Вуглецеву плівку відокремлювали на поверхні води, під неї підводили мідні сітки, на яких плівка утворювала відповідне напівпрозоре для електронного пучка вуглецеве покриття. Зразки суспензії відбирали піпеткою та наносили на висушені сітки з вуглецевим покриттям. Сітки витримували при температурі 423 К протягом 4 год до цілковитого випаровування гліцерину. Дослідження здійснювали на мікроскопі JSM-35 фірми «Jeol».

Від моменту приготування суспензії до початку її вивчення минало 120 діб. За цей час відбулася часткова агрегація частинок — на поверхні суспензії утворилася незначна кількість агрегатів. Тому досліджували проби неагрегованої суспензії з об'єму та зразки утворених за час витримки агрегатів. Останні було піддано обробці на диспергаторі УЗДН-М з частотою 22 кГц струмом 0,2 А протягом 5 хв, після чого також досліджено на електронному мікроскопі.

Дослідження бактеріостатичної (зупинення росту бактеріальних культур), бактерицидної (знищення патогенних бактерій) та фунгіцидної (знищення грибків) дії експериментальних зразків наносуспензій срібла в гліцерині щодо референтних штамів *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli*, *Candida Albicans* здійснювалося в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Загалом було надано чотири серії зразків під умовними номерами, а також зразки гліцерину, що використовувався як базова рідина для виробництва суспензій із різною концентрацією. Концентрацію зразків суспензії срібла визначали окремо атомно-адсорбційним методом і не повідомляли дослідникам до отримання експертної оцінки.

Протимікробну активність вивчали методом дворазових послідовних розчинень зразків наносуспензії у рідких поживних середовищах (м'ясо-пептонному бульйоні для бактерій та суслі для грибків) [8]. Тест-мікроорганізми вносили у поживне середовище з розрахунку  $2 \cdot 10^5$  клітин бак-

терій та  $4 \cdot 10^4$  клітин грибів у 1 мл середовища. Кількісні показники протимікробної активності визначали у ступенях розчинення суспензії або гліцерину. При дослідженні антимікробної активності у динаміці визначали відсоток бактеріальної тест-культури, яка загинула, залежно від часу та ступеня розчинення наносуспензії срібла.

### Результати та їх обговорення

На рис. 1 наведено електронно-мікроскопічні знімки зразків суспензії з об'єму, на рис. 2 та 3 — знімки зразків суспензії з поверхні з агрегатами до та після обробки їх на ультразвуковому диспергаторі.

Як бачимо, агрегати є коагуляційними структурами з прошарком дисперсійного середовища.

Видно, що обробка ультразвуком за зазначених досить м'яких умов ефективно руйнує агрегати. На рис. 4 наведено сумарну діаграму розподілу частинок суспензії за розміром. Аналіз цієї діаграми свідчить, що 75% частинок мають розмір у діапазоні від 30 до 60 нм.

Із наведених на рис. 1 і 3 електронно-мікроскопічних зображень можна зробити висновок про наявність у процесі диспергування стадії, коли метал існує у вигляді мікрокрапель рідки-

ни, що призводить до формування сфероїдальних частинок — рушійною силою процесу є поверхневий натяг. Аналогічні за формою та внутрішньою структурою частинки утворюються також при лазерному опроміненні металевих (зокрема срібних) зразків у рідких середовищах [9–11].

З огляду на специфіку застосування суспензій срібла як концентрованої домішки першочерговим завданням є оцінювання стабільності первинної суспензії срібла в гліцерині з масовим вмістом 100 ppm та суспензії, розведеної водою до вмісту срібла 10 ppm при її додаванні до рідких мийних засобів. Для оцінки загальної стабільності первинної суспензії треба визначити її складові — кінетичну й агрегативну. Для розрахунку кінетичної стабільності визначимо співвідношення швидкостей седиментації частинок та хаотичного переміщення їх завдяки броунівському руху. Як показано вище, форма частинок досліджуваної суспензії близька до сферичної, 75% частинок мають розмір від 30 до 60 нм і лише приблизно 5% частинок виходять за межу 80 нм. З огляду на досить вузький інтервал розмірів використання для розрахунків усередненого значення діаметра сферичних частинок (46 нм) є виправданим.

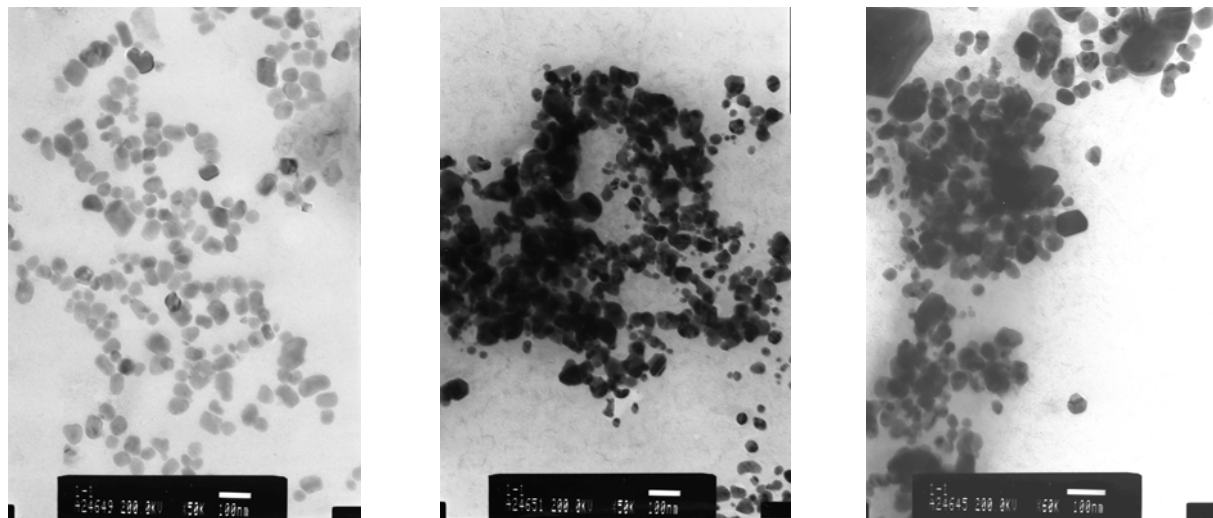


Рис. 1. Електронно-мікроскопічні знімки зразків вихідної суспензії з об'єму

Згідно з законом Стокса швидкість седиментації частинок:

$$v = \frac{2r^2(\rho - \rho_1)g}{9\eta},$$

де  $r$  — радіус частинки,  $g$  — прискорення сили тяжіння,  $\rho$  та  $\rho_1$  — густина дисперсійного середовища та матеріалу частинок,  $\eta$  — в'язкість дисперсійного середовища.

Швидкість броунівського руху визначається за співвідношенням Ейнштейна як середнє значення квадрата переміщення частинки за час вимірювання:

$$\frac{x^2}{t} = \frac{RT}{3\pi N\eta r},$$

де  $R$  — універсальна газова стала,  $T$  — температура,  $N$  — число Авогадро,  $r$  — радіус частинки,  $\eta$  — в'язкість дисперсійного середовища.

Для суспензії наночастинок срібла, де дисперсійним середовищем є гліцерин, швидкість броунівського руху частинок діаметром 46 нм ( $1,1 \cdot 10^{-7}$  м/с) майже на п'ять порядків величини перевищує швидкість седиментації ( $7,3 \cdot 10^{-12}$  м/с). Навіть для частинок діаметром 100 нм це співвідношення перевищує три порядки величини. Отже, первинна суспензія срібла в гліцерині є кінетично стійкою. При розведенні такої суспензії водою до концентрації срібла 10 ppm змінюється відповідно й в'язкість дисперсійного середови-



Рис. 2. Зразок агрегату (оптична мікроскопія)

ща [12]. Аналогічний розрахунок доводить, що для частинок діаметром  $<100$  нм швидкість броунівського руху суттєво перевищує швидкість седиментації. Таким чином, як первинна суспензія срібла в гліцерині, так і суспензії робочих концентрацій (розведених водою до концентрації срібла 10 ppm) є необмежено кінетично стійкими.

Оцінити фактори агрегативної стабільності суспензії можна, якщо розглянути її будову. Як відомо, при взаємодії різних фаз на міжфазовій поверхні утворюється подвійний електричний шар (далі ПЕШ). Якщо він утворюється на поверхні частинок, то його структура визначає специфіку взаємодії частинок між собою, а отже стабільність суспензії або схильність до коагуляції. Особливості процесу отримання суспензії срібла в середовищі гліцерину такі, що постійний заряд поверхні частинки срібла має дорівнювати нулю або ж наближатися до нуля. За цих умов основний механізм формування ПЕШ базується на орієнтуванні полярних молекул на міжфазовій межі [13]. Слід зазначити, що молекули гліцерину містять гідрофобні групи  $-\text{CH}_2$  та  $-\text{CH}$  і гідрофільні  $-\text{OH}$ . Цим вони подібні до типових дифільних молекул поверхнево-активних речовин. Очевидно, в досліджуваній суспензії

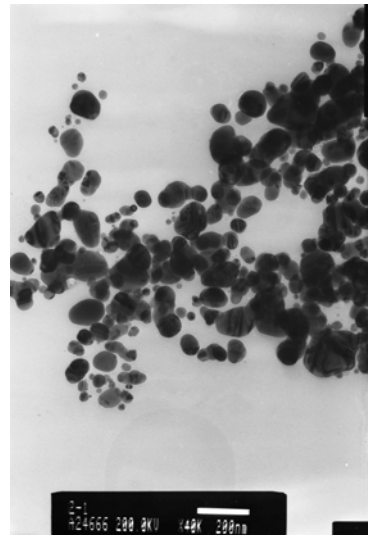


Рис. 3. Зразок суспензії з агрегатами після обробки на УЗДН

молекули гліцерину, орієнтовані вуглеводневими групами до гідрофобної новоутвореної поверхні частинок срібла, формують адсорбційний ПЕШ. Товщина дифузної частини ПЕШ у цьому разі може становити  $10^{-6}$  м [14, 15].

Усереднену відстань між частинками в суспензії можна оцінити як:

$$l \approx \left( \frac{V}{n} \right)^{\frac{1}{3}},$$

де  $V$  — об'єм золю,  $n$  — кількість частинок в об'ємі.

Кількість частинок в одиниці об'єму суспензії, розрахована з використанням усередненого значення діаметра 46 нм та масової концентрації 100 ppm, становила  $2,36 \cdot 10^{17} \text{ м}^{-3}$ . Отже, середня величина відстані між частинками — 16 мкм.

Атоми кисню в складі –ОН-груп мають дві неподілені пари електронів, що дає їм змогу ут-

ворювати водневі зв'язки. Через них гліцерин має в'язкість на три порядки величини більшу за воду. Також завдяки утворенню Н-зв'язків в'язкість системи гліцерин–вода має аномальну залежність від співвідношення компонентів [12, 16]. Оскільки ефективна дія вандерваальсових сил взаємодії між частинками поширюється на відстань до 5 нм від поверхні частинки [17], існування сильно структурованого адсорбційного сольватувального шару унеможливує зближення частинок на відстань ефективної взаємодії.

При розведенні водою первинної суспензії в гліцерині до концентрації срібла 10 ppm будова ПЕШ суттєво не змінюється внаслідок вираженої переваги взаємодії гідрофобної поверхні частинки срібла з гідрофобними групами молекул гліцерину над взаємодією з водою. Тому очевидно, що адсорбований шар молекул гліцерину залишиться на гідрофобній поверхні частинок срібла, гідрофілізуючи її та тим самим стабілізуючи золь.

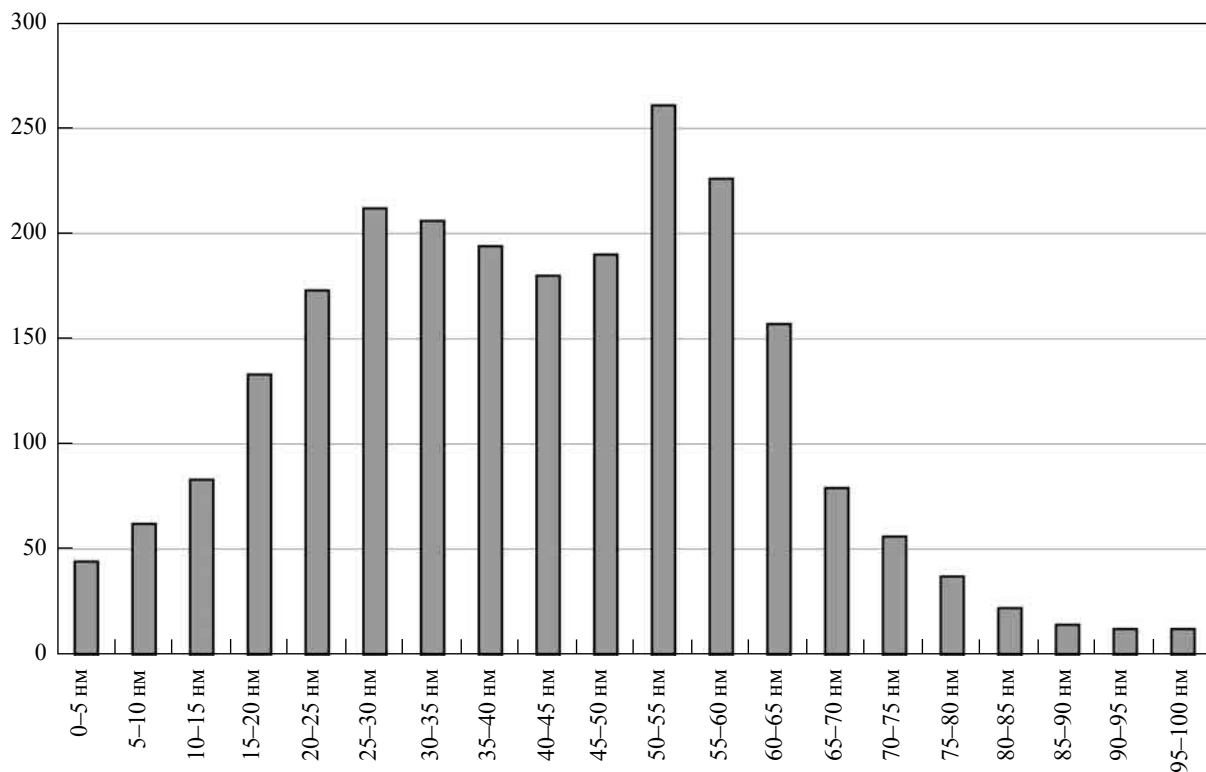


Рис. 4. Діаграма розподілу частинок суспензії за розміром

Середня ж відстань між частинками при такому розведенні збільшиться до 35 мкм, а отже й імовірність зіткнення частинок та подальшого злипання їх значно знижується, що також сприяє агрегативній стабільності суспензії. Слід зауважити, що ефективна в'язкість дисперсійного середовища, яка фігурує у наведеному вище виразі Ейнштейна для швидкості броунівського руху частинки, дещо знизиться, оскільки гліцерин та вода утворюють істинні розчини за будь-яких співвідношень компонентів, але залишиться вищою порівняно з гідрозолями й компенсується зазначеним збільшенням відстані між частинками.

Таким чином, як вихідні суспензії нанорозмірних частинок срібла у гліцерині, так і розведені водою до зазначеного ступеня залишаються кінетично й агрегативно стабільними та практично не утворюють агрегатів протягом значного часу.

Завдяки дослідженням протимікробної активності встановлено, що бактеріостатичну (фунгістатичну) здатність виявляли всі надані зразки наносуспензій срібла, а також і власне харчовий гліцерин, який використовували як базову рідину, але в різних розведеннях. Скажімо, більш концентровані зразки наносуспензій срібла (51 мг/л та 79 мг/л) виявляли виражену бактеріостатичну дію у розведеннях 1:32, 1:16, 1:8. Тобто вони зупиняли ріст бактеріальних культур уже за мінімальної концентрації наносрібла в суспензіях 1,59 мг/л (для порівняння: харчовий гліцерин основи також виявляв бактеріостатичну дію у розведенні 1:4). Зазначено, що найчутливішими до бактеріостатичної дії наносуспензій срібла виявилися шлунково-кишкові патогени (*Escherichia coli*).

Встановлено, що бактерицидну або фунгіцидну здатність також виявляли всі надані зразки наносуспензій срібла (так само як і харчовий гліцерин), але в інших розведеннях. Концентровані зразки наносуспензій срібла (51 мг/л та 79 мг/л) виявляли виражену бактерицидну дію у розведенні 1:8. Тобто вони знищували бактеріальні культури при мінімальній концентрації наносрібла в суспензіях 9,86 мг/л (для порівняння: харчовий гліцерин основи також виявляв бактерицидну дію, проте в розведенні 1:2 та впродовж часу, що на порядок перевищував час дії наносуспензій срібла).

Дослідження динаміки бактеріостатичної та бактерицидної дії наносуспензії срібла із вмістом 79 мг/л здійснювали на прикладі шлунково-кишкового патогену (*Escherichia coli*). Виявилося, що нерозведений зразок досліджуваної наносуспензії в контакт з референтним штамом *Escherichia coli* виявляє високу швидкість бактерицидної дії: уже через 5 хв контакту 90% клітин культури гине. А цілковите знищення бактерій (100%) настає за 15 хв. Швидкість бактерицидної дії при розведенні 1:2 знижується: протягом 30 хв гине 60% бактерій, 60 хв — 80% бактерій, 120 хв — 98% бактерій. Швидкість бактерицидної дії при розведенні 1:4 ще вповільнюється: протягом 60 хв гине 75% бактерій, 600 хв — 80% бактерій, 3600 хв (6 годин) — 90% бактерій.

## Висновки

1. Суспензії срібла в гліцерині з масовим умістом 100 ppm та розведені водою до вмісту срібла 10 ppm (і менше) у водно-гліцериновому середовищі виявляють кінетичну й агрегативну стабільність, яка забезпечується нанорозмірами частинок твердої фази — срібла, високими значеннями ефективної в'язкості дисперсійного середовища та наявністю вираженого адсорбційно-сольватного фактора стійкості.

2. Усі досліджені зразки суспензій срібла виявляють протимікробну активність щодо референтних штамів. За концентрації срібла 1,59 мг/л вони виявляють бактеріостатичну активність (зупиняють ріст бактеріальних культур), за концентрації 9,86 мг/л — чинять бактерицидну та фунгіцидну дію (знищують бактеріальні патогенні культури й грибки). Найчутливішими до бактерицидної дії наносуспензій срібла виявилися шлунково-кишкові патогени (*Escherichia coli*).

3. Суспензії срібла в гліцерині та водно-гліцеринових розчинах, утворені методом іонно-плазмового диспергування, можна рекомендувати до практичного застосування для:

- обробки питної води, введення антибактеріальних добавок до товарів санітарії та гігієни, медичних препаратів, пакувальних матеріалів, косметики;

- антисептичної обробки технічних тканин, нетканних фільтрових матеріалів, білизни, взуття тощо;
- антибактеріальної обробки та істотного підвищення терміну зберігання харчових продуктів при кулінарній обробці, розфасуванні, пакуванні;
- заміни небезпечних консервантів у вареннях, джемах, кремах і соусах, м'ясних консервах та молочних продуктах;
- боротьби із зараженням картопляною паличкою борошна й тіста для хліба, неохильного до цвілі, та підвищення терміну його зберігання;
- створення антимікробних фарб для приміщень громадського призначення й лікувальних закладів.

Проведено комплексное исследование стабильности, параметров агрегации и антимикробной активности наносuspензий серебра на базе пищевого глицерина, образованных методом ионно-плазменного диспергирования металла. Показано, что их стабильность обеспечивается адсорбционно-сольватным фактором устойчивости. Установлены концентрации серебра, при которых суспензии проявляют бактериостатическое и бактерицидное действие. Предложены рекомендации по широкому использованию полученных суспензий как противомикробных компонентов бытовых химических продуктов.

**Ключевые слова:** серебро, глицерин, наносuspензия, стабильность, распределение по размеру, антимикробная активность, бактерицидное и фунгицидное действие

Stability, aggregation parameters, antimicrobial activity of glycerin-based silver nano-suspensions produced by the ion-plasmas dispersion method has been studied. It was shown, that suspensions are stable due to the adsorption-solvate stability factor. Silver concentrations, at which suspensions exhibit bacteristatic and bactericidal properties, were determined. Recommends for the suspensions obtained using as an antimicrobial components of household chemical goods has been proposed.

**Key words:** silver, glycerin, nano-suspension, stability, size distribution, antimicrobial activity, bactericidal and fungicidal properties

1. Родимин Е.М. Приготовление целебных медно-серебряных растворов и металлоионотерапия. — М.: Наука, 2003. — 270 с.
2. Серебро в медицине, биологии и технике. Сб. научн. трудов под ред. П.П. Родионова. — Новосибирск: Ин-т клинической иммунологии СО РАМН, 1996. — 224 с.
3. Применение препаратов серебра в медицине. Сб. научн. трудов по материалам научно-практической конференции «Новые химические системы и процессы в медицине» / Под ред. Е.М. Блажитко. — Новосибирск, 2004. — 115 с.
4. Растворимость и антимикробная активность наночастиц серебра на поверхности цеолита / О.А. Полунина, Л.И. Скворцова, А.И. Маслий, Ю.И. Михайлов // Труды междунар. конф. «Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины». — Новосибирск, 2008. — С. 127–129.
5. Пат. 80513, Україна. Одностадійний спосіб приготування висококонцентрованих суспензій нанорозмірних часток електропровідних матеріалів на основі водорозчинних та водонерозчинних рідин та пристрій для його здійснення / Кістерська Л.Д., Садохін В.П., Дудко Д.А. Опубл. 25.09.07.
6. Мени Л., Тиксьє Р. Микроанализ и растровая электронная микроскопия. Под ред. Ф. Мориса. — М.: Металлургия, 1985. — 270 с.
7. Техника электронной микроскопии / Под ред. Д. Кея. — М.: Мир, 1965. — 230 с.
8. Навашин С.М., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. — М.: Медицина, 1982. — С. 38–41.
9. Nedersen J., Chumanov G., Cotton T.M. Laser Ablation of Metals: A New Method for Preparing SERS Active Colloids // Appl. Spectrosc., 1993. — Vol. 47. — P. 1959–1964.
10. Sibbald M.S., Chumanov G., Cotton T.M. Reduction of Cytochrome c by Halide-Modified, Laser-Ablated Silver Colloids // J. Phys. Chem., 1996. — Vol. 100. — P. 4672–4678.
11. Симакин А.В., Воронов В.В., Шафеев Г.А. Образование наночастиц при лазерной абляции твердых тел в жидкостях // Труды ин-та общей физики им. А.М. Прохорова. — 2004. — Т. 60. — С. 83–107.
12. Черногоренко В.Б., Великодний П.Л. Физико-химический анализ системы глицерин–вода // Журн. органич. химии. — 1965. — Т. 33, № 2. — С. 205–208.
13. Духин С.С. Электроповерхностные явления и граничный слой // Поверхностные силы в тонких пленках и устойчивость коллоидов. — М.: Наука, 1974. — С. 14–24.
14. Дерягин Б.В. Теория устойчивости коллоидов и тонких пленок. Поверхностные силы. — М.: Наука, 1986. — 459 с.
15. Overbeck J.T., Kruyt H.R. Colloid science. V. 1. Irreversible systems, 1952. Amsterdam, Elsevier. — 530 p.
16. Рабичев Э.О., Дуров В.А., Шахпаронов М.И. О структуре и физико-химических свойствах растворов глицерина // Вестник МГУ. Химия. — 1980. — Т. 21, № 1. — С. 37–42.
17. Помогайло А.Д., Розенберг А.С., Уфлянд И.Е. Наночастицы металлов в полимерах. — М.: Химия, 2000. — 672 с.