



Конкурс для школьников «Гениальные мысли» Автореферат проекта призера II степени

Название работы – Синтез нано-Ag и получение на его основе полиакрилатных противоожоговых гидрогелей.

Автор – Степанова Дарья Константиновна, 10 класс, ГБОУ Школа № 2065, г. Москва.

Руководитель – Оболенская Любовь Николаевна, к.х.н., учитель химии, ГБОУ Школа № 2065, г. Москва.

Основная идея работы, цели, задачи

Основная идея – получить новые противоожоговые гидрогели, превосходящие известные аналоги по эффективности и органолептическим свойствам, впервые совместив в одном реагенте (декстранине) функции стабилизатора наночастиц Ag и средства, ускоряющего регенерацию тканей. При этом, вспомогательно, заменить полимеризацию акрилата в ходе получения лекарственного средства на разведение готового "лесного" антипирена полиакрилата натрия, и добиться благодаря этому возможности направленно (и независимо от остальных компонентов) получать гель с заданной консистенцией, оптимальной для применения.

Цель работы: разработка и оптимизация управляемого одностадийного синтеза нано-Ag с заданными свойствами для применения в новом классе противоожоговых гидрогелей.

Объект: противоожоговые гидрогели.

Предмет: формирование стабильных при с.у. наночастиц серебра, придающих бактериостатические свойства полиакрилатным противоожоговым гидрогелям.

В соответствии с целью и объектом поставлены следующие задачи:

- Найти подходящую «базовую» методику синтеза.
- Провести по ней синтезы, охарактеризовать продукты; в случае обнаружения непригодности этой методики для нашей цели найти другую.
- Повторять итерации, пока не найдём оптимальную «базовую методику».
- Варьируя параметры синтеза, получить серии образцов; охарактеризовать их оптические свойства и микроморфологию; установить корреляции «синтез-структура-свойства».
- Найти условия направленного синтеза нано-Ag (стабилизированного декстраном) с заданными свойствами.

Работа начата в мае 2020 г. Сейчас подведён промежуточный итог; работа продолжается. Места выполнения: в период дистанционного обучения – дома, с ограниченным (безопасным) набором реагентов и оборудования; далее – в основном в школе, в лаборатории медкласса.

Оборудование: спектрофотометр ПЭ-5400УФ, центрифуга-вортекс ELME LV-1006, весы CAS XE-300, мешалка магнитная Edustrong, атомно-силовой микроскоп Phywe, датчики t и pH RLab; *реактивы:* нитрат серебра, гидрат аммиака, гидроксид натрия, нитрат аммония (все квалификации не ниже ЧДА), мальтодекстрин с ДЭ 5, декстран (высоленный этанолом из препарата «Реополиглюкин»), капсулы для буферных растворов (для калибровки pH-метра).

Метод синтеза – сонохимический полиглюкановый; *методы характеристики* – сканирующая зондовая микроскопия, электронная (сканирующая и просвечивающая) микроскопия, электронная спектроскопия поглощения.

Актуальность и новизна работы

Ожоги II степени тяжести сопровождаются отслоением эпидермиса, разрушением тканей, нарушением осмотического давления и, как следствие, выделением транссудата. Они всегда инфицированы, что приводит к выделению экссудата. Недостаток наиболее популярного противоожогового средства – гидрогеля «Апполо» – то, что в качестве антисептика в нём используется иодовидон. Это вещество обладает плохо переносимыми органолептическими свойствами (имеет резкий запах) и достаточно часто вызывает аллергические реакции.

Мы решили попробовать заменить этот компонент наночастицами серебра. Мы обнаружили т.н. «полисахаридный» метод синтеза nano-Ag. В нём мальтодекстрин выступает в роли одновременно восстановителя и стабилизатора наночастиц. Мы выбрали «резервный» полисахарид декстран, применяемый в медицине т.ч. для регенерации тканей.

Новизна состоит в том, что:

- впервые проведён и оптимизирован синтез nano-Ag, стабилизированного декстраном, несколькими путями, в т.ч. с использованием промежуточной стадии осаждения плёнки Ag, её тщательного промывания и последующего захвата из неё nano-Ag декстраном;
- впервые установлено, как влияет отношение $n(\text{декстран}) : n(\text{Ag}^+)$;
- на основе гидрозолей Ag впервые изготовлены противоожоговые полиакрилатные гели.

Теоретическая значимость: обнаружено, что декстран хорошо восстанавливает Ag^+ при условии высокой степени чистоты и проведения реакции в аммиачном буфере (и, соответственно, координации Ag^+ с NH_3); он превосходит мальтодекстрин как «capping agent» и способен, предположительно, даже уменьшать размер уже сформированных частиц Ag.

Практическая значимость: обнаружена новая стратегия синтеза nano-Ag (основанная на восстановлении Ag^+ и стабилизации nano-Ag декстраном), которая позволяет сочетать в одном золе бактериостатический агент и средство для улучшения регенерации тканей (для терапии ожоговых ран). На основе данных золь получены полиакрилатные гидрогели, при нанесении которых скорость как грануляции, так и эпителизации ожоговых ран II степени площадью 20–40 см² оказывается на 10–30% больше, чем для прототипа – геля «Апполо».

Принятые сокращения

ЭСП – электронный спектр поглощения, СЗМ – сканирующая зондовая микроскопия, СЭМ – сканирующая электронная микроскопия, ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия, УЗ – ультразвук(овая)

Основные результаты

Для nano-Ag было показано, что электромагнитные, оптические и каталитические свойства, а также биосенсорная или биологическая активность сильно зависят от формы и / или размера наночастиц. Это привело к развитию множества синтетических методов для лучшего

контроля морфологии и размера. Наиболее широко используемым методом синтеза является химическое восстановление Ag^+ в растворе с использованием восстановителей, способных одновременно выступать в роли стабилизаторов (таких как цитрат натрия, глюкоза, формамид и другие). Первоначально восстановление различных комплексов Ag^+ приводит к образованию атомов Ag, за которым следует агрегация в олигомерные кластеры. Эти кластеры в конечном счёте приводят к образованию наночастиц Ag. Когда частицы Ag меньше длины волны видимого света, растворы имеют жёлтый цвет с интенсивной полосой в диапазоне 380–400 нм. Эта полоса приписывается коллективному возбуждению электронного газа в частицах, с периодическим изменением электронной плотности на поверхности (поверхностное поглощение плазмонов) [9]. Электроны в наночастицах благородных металлов могут свободно перемещаться, создавая полосы плазмонного резонанса, положение и интенсивность которых зависят от формы и размера наночастиц. Такие наноструктуры проявляют множество полезных свойств, из которых для нас важны бактериостатические.

Этапы работы

1. Научились получать, по методике из «Практикума по нанотехнологиям» МГУ [13], сонохимическим полиглюкановым способом наночастицы Ag сферической формы с узким распределением по размерам. Констатировали, что декстран в данном случае не проявляет достаточной восстановительной способности, значит надо пробовать другие методики.
2. Проводя синтез по методике из [1], обнаружили возможность качественной очистки золя путём осаждения плёнки Ag, её промывания и последующего перевода наночастиц из неё в золь совместным действием декстрана и УЗ. Однако воспроизводимость была недостаточна.
3. Провели серию хорошо воспроизводимых синтезов нано-Ag по методике, близкой к описанной в [28], и установили взаимосвязь между условиями синтеза и свойствами нано-Ag.

Получение образцов

Таблица 1. Обозначения образцов

Восстановитель	Стабилизатор	«Регулятор» pH	Длительность УЗ обработки	Маркировка
мальтодекстрин		NaOH	10 мин	M+UZ[13]
мальтодекстрин (30:1) ¹ и декстран (2 г) в составе реополиглюкина		NaOH	10 мин	M+R+UZ[13]
декстран в составе реополиглюкина		NaOH	10 мин	D+UZ[13]
глюкоза (по [1])	декстран (3:1)	-	10 мин	+ «плёнка» ² G+0.1D+F+UZ[1]
	декстран (16:1)	NH ₄ Cl + NaOH	10 мин	0.5D+UZ[28]
	декстран (32:1)	NH ₄ Cl + NaOH	10 мин	D+UZ[28]
	декстран (64:1)	NH ₄ Cl + NaOH	10 мин	2D+UZ[28]

¹По отношению к количеству AgNO₃ (оно принято за «1»).

²«Пленка» – это маркировка для тех синтезов, в которых серебро промежуточно осаждается на сосуд или стакан в виде пленки.

Фрагмент схемы ОВР, лежащей в основе синтеза, приведён на рис. 1.



Рис. 1. Схема основной реакции

Отдельные иллюстрации синтеза гидрозоля Ag по методике из [13] приведены на рис. 2.



Рис. 2. Синтез нано-Ag по первой методике

После чего из золь были сделаны полиакрилатные гели (рис. 3) и записаны спектры.



Рис. 3. Порция полиакрилата натрия для записи фонового спектра (а), перенос в кювету пробы золя серебра (б)

По данным электронной спектроскопии поглощения (рис. 4) добавление декстрана и полиакрилата натрия не влияет на морфологию наночастиц, т.к. пик плазмонного резонанса не смещается. Также видно, что при добавлении декстрана увеличивается интенсивность полосы поглощения, следовательно, наночастиц становится больше. Обнаруженная стабилизация нано-Ag самим полиакрилатом натрия хорошо согласуется с данными работы [30].

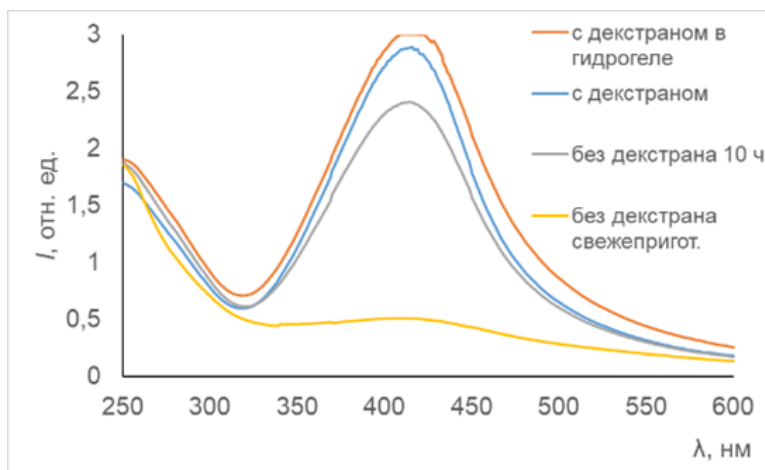


Рис. 4. Электронные спектры поглощения гидрозоля и гидрогелей Ag

По данным ПЭМ (рис. 5) наночастицы сферичны и имеют узкое распределение по размерам (от 14 до 24 нм). Основная фракция – от 18 до 21 нм. Данные сканирующей зондовой микроскопии находятся в приемлемом соответствии с данными ПЭМ.

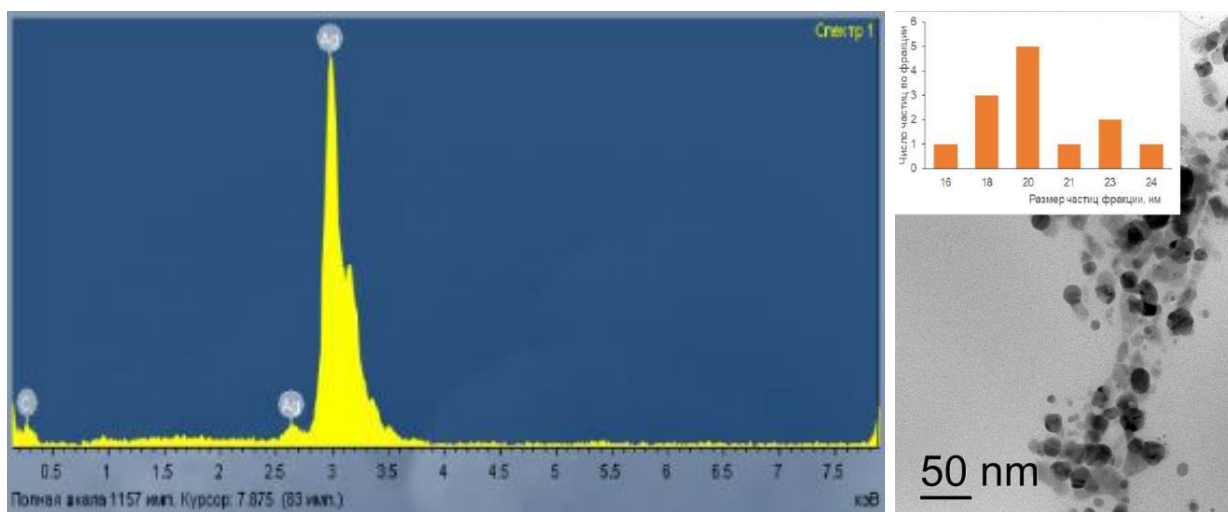
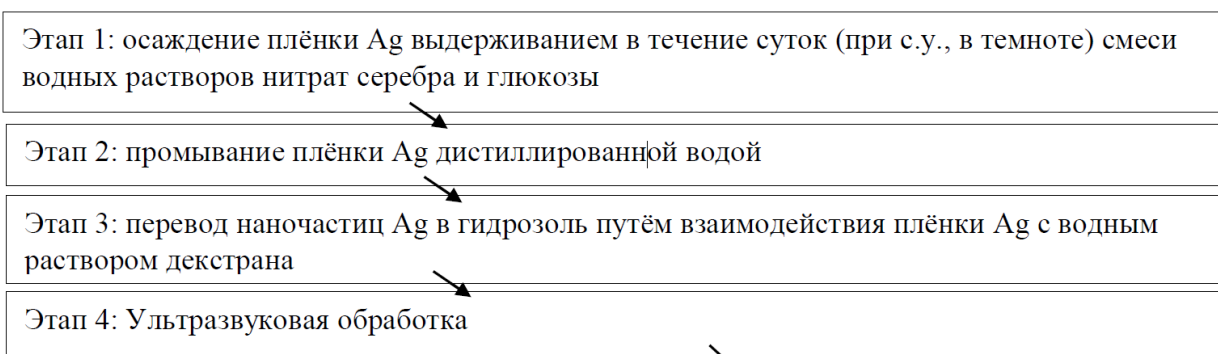


Рис. 5. Пример данных ПЭМ (M+UZ[13])

Синтез по методике «через осаждение плёнки серебра», применённой нами впервые, мы делали по схеме, приведённой ниже:



Желтый устойчивый золь

Синтез по этой методике был недостаточно воспроизводим. Но этот этап важен тем, что в ходе его отработки, было обнаружено, что мы можем сколько угодно смывать водой примеси, а потом «извлечь» раствором декстрана наночастицы качественно отмытого серебра (рис. 6).



Рис. 6. Золь nano-серебра, восстановленного глюкозой и стабилизированного декстраном

Образцы охарактеризованы методом электронной спектроскопии поглощения (рис. 7). Размытый максимум полосы поглощения плазмонного резонанса nano-Ag в золе, полученном «через этап плёнки», находится около 430 нм (рис. 7), что подтверждает присутствие

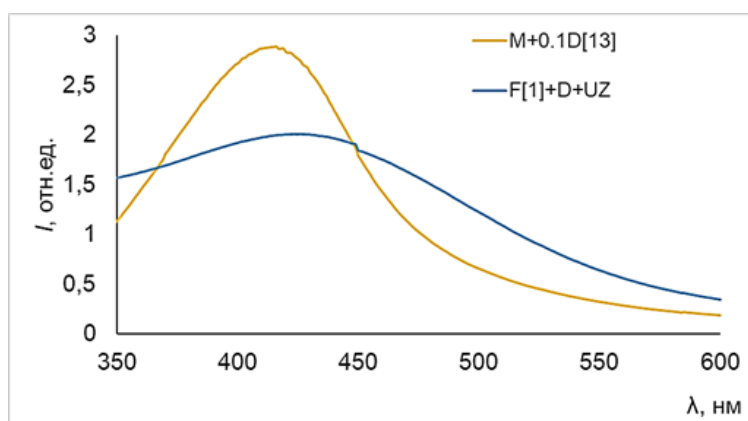


Рис. 7. ЭСП золя Ag M+UZ[13] (жёлтая линия) и G+0.1D[1]+F+UZ (голубая линия)

По данным сканирующей зондовой микроскопии (рис. 8), размеры частиц Ag в золе, полученном «через стадию плёнки», оказались истинно нанометровыми (от 92 до 107 нм).

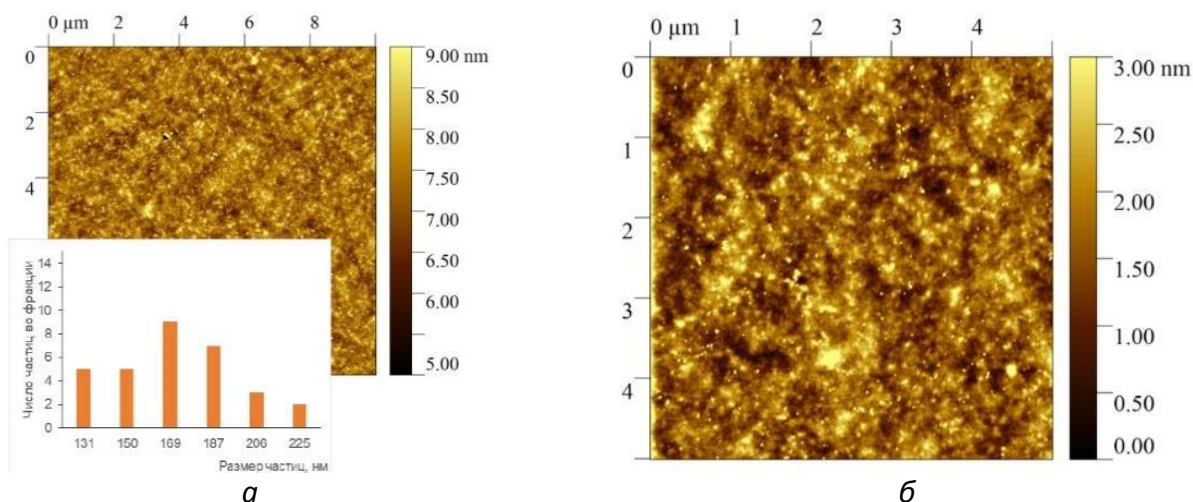


Рис. 8. Изображения характерных участков поверхности плёнки, полученной из образца G+0.1D+F+UZ[1] и гистограмма распределения частиц по размерам (врезка)

Синтез образца D+UZ[28] (рис. 9) был проведён по методике [28]. Отличие было в том, что реакционную смесь обрабатывали ультразвуком, а вместо глюкозы добавляли декстран (в мольном отношении к AgNO_3 , равном 32 : 1). Через 10 мин появилась жёлтая окраска.



Рис. 9. Добавление р-ра NH_4NO_3 в реакционную смесь (а,б) и вид реакционной смеси через 30 мин УЗ обработки и продавливание продукта через шприцевой фильтр (в)

В ходе синтеза образовались агрегаты сахаридов, от которого очистили фильтрованием. Исследование этой фазы доступно по ссылке <https://disk.yandex.ru/i/MiadhongdFVWRA>

Отметим, что в этом случае наконец в полной мере проявилась эффективность декстрана и как восстановителя, и как стабилизатора. Иллюстрации его «работоспособности» – объединены в видео по ссылке <https://disk.yandex.ru/i/kWpVAN5CeTqInw>.

Полученный золь D+UZ[28] хранится при с.у. ~3 сут. Далее, судя по спектрам (рис. 10), частицы укрупнились и приблизились к стержнеобразным [29, 30]. А в присутствии полиакрилатного гидрогеля изменений морфологии частиц не произошло.

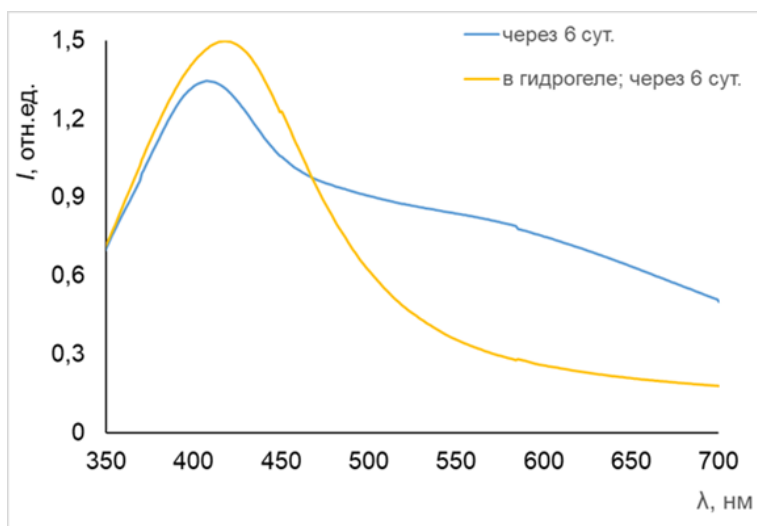


Рис. 10. ЭСП золя Ag D+UZ[28] , стабилизированного смешением с полиакрилатом натрия, в сравнении с аналогом без полиакрилат-ионов

Мы прошли, хотя и пунктирно, весь диапазон соотношений: начиная с 16:1 (минимально необходимого для хоть какого-то протекания ОВР), и заканчивая 64:1 (достаточным для исчерпывающего восстановления всех катионов серебра – по хлоридной пробе). Было обнаружено, что по мере увеличения количества декстрана, улучшаются его стабилизирующие и восстановительные свойства (рис. 11).

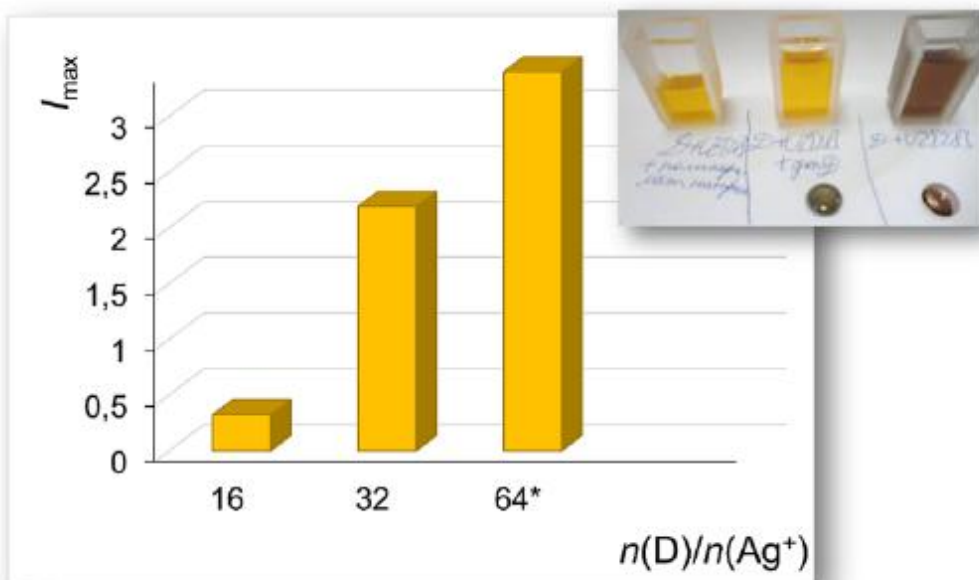


Рис. 11. Зависимость интенсивности полосы плазмонного резонанса от исходного количества декстрана

По данным СЗМ, при увеличении количества декстрана сначала появляются нанонити из его молекул, а далее они укрупняются (пример рельефа приведён на рис. 12). Интересно, что нанонити чистого декстрана оказались расположены параллельно друг другу, а наночастицы Ag располагают их вокруг себя.

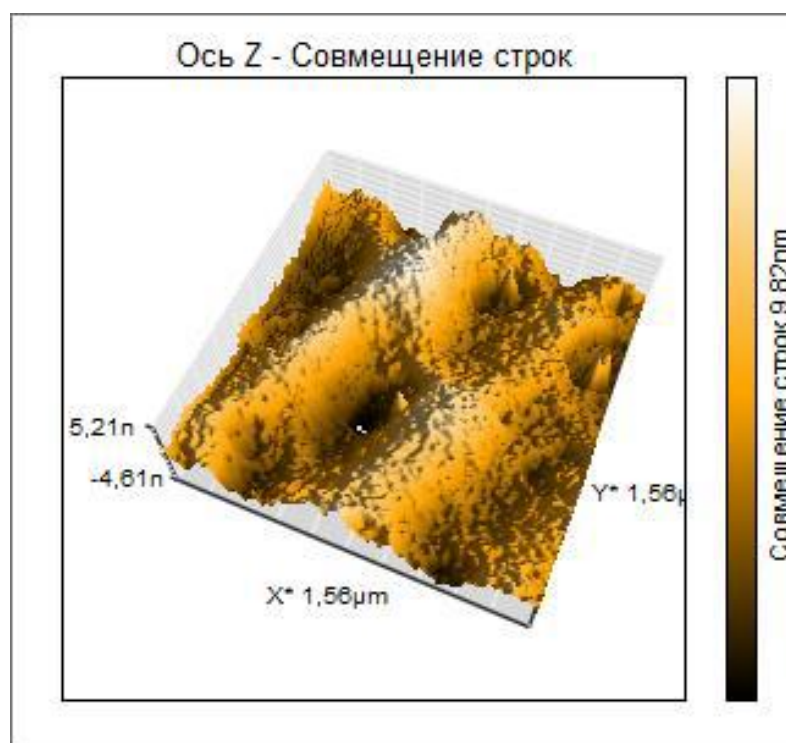


Рис. 12. Рельеф типичного участка плёнки из золя D+UZ[28]

В аналитическом виде зависимость рельефа от количества декстрана показана на рис. 13.

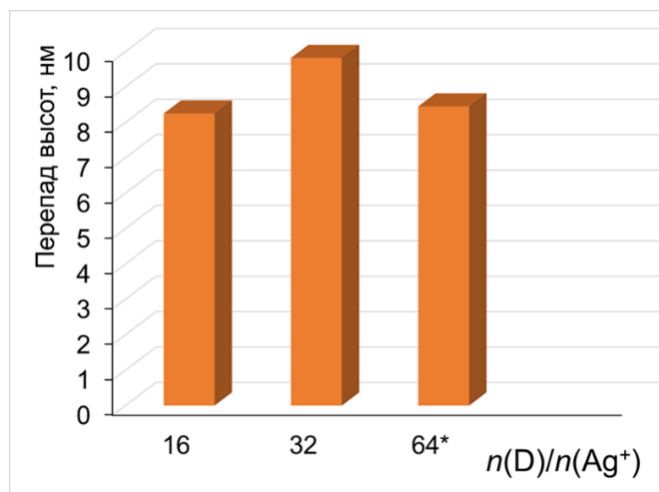


Рис. 13. Зависимость средней шероховатости плёнок из образцов от исходного количества декстрана

Сформулировав оптимальную стратегию синтеза nano-Ag для последующего использования в качестве функциональной основы противоожогового гидрогеля, мы перешли к испытаниям работоспособность полученных гелей (рис. 14). Скорость и грануляции, и эпителизации (после ожога II степени) оказались на ~20% больше, чем для прототипа – гидрогелевых салфеток «Апполо» (при отсутствии их неприятного запаха).

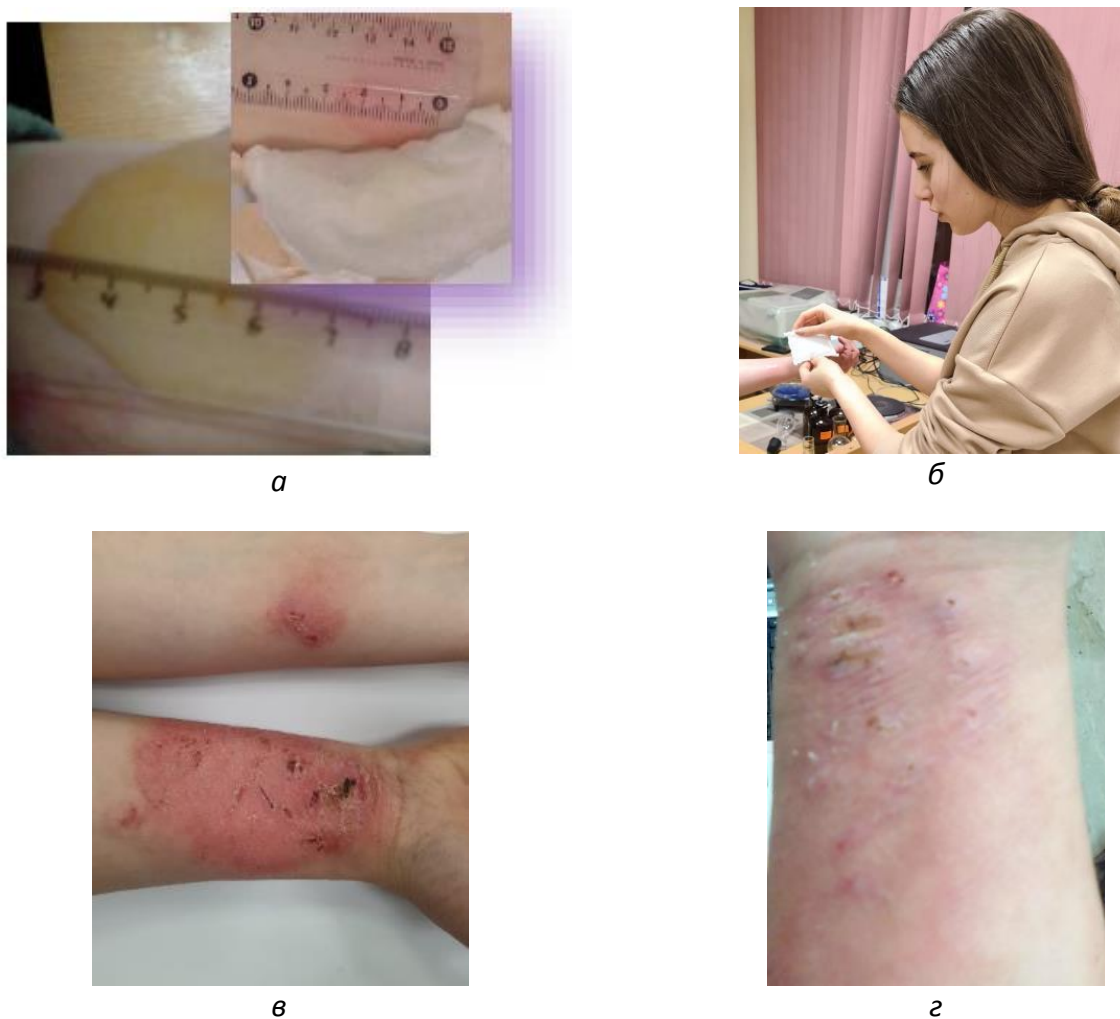


Рис. 14. Исходный вид ран (а); наложение салфетки с Ag-содержащим гидрогелем (б), вид через неделю (в; сверху – после наложения салфетки с nano-Ag, снизу – с «Апполо») и через две недели (г)

Выводы, заключение, перспективы

Каждая поставленная задача в той или иной степени выполнена:

1. Из опробованных методик для синтеза с декстраном наиболее подходит [28], но с УЗ.
2. Основной инструмент, позволяющий регулировать структуру продукта – количество декстрана (и степень его очистки).
3. По данным электронной спектроскопии поглощения, по мере увеличения отношения $n(\text{восст. сахаров в составе декстрана}) : n(\text{Ag}^+)$ от 16 : 1 до 64 : 1 интенсивность максимума поглощения полосы плазмонного резонанса увеличивается с 0.4 до ~4.5 отн.ед.
4. По данным СЗМ, диаметр нанонитей декстрана составляет ~ 9–14 нм; толщина нанонитей увеличивается симбатно увеличению концентрации декстрана; наличие наночастиц Ag меняет взаимное расположение этих нитей.
5. Метод ПЭМ подтвердил основные результаты, полученные методом СЗМ, а метод СЭМ оказался непригоден для данного типа образцов.
6. Скорость заживления ожоговых ран II степени в присутствии созданных нами гидрогелевых салфеток на 18–20% больше, чем для прототипа «Апполо»

Перспективы

Поиск новых инструментов управления морфологией наночастиц Ag, изучение бактериостатической активности методом дисков.

Список цитированных источников

1. Pettegrew, Colin & Dong, Zheng & Muhi, M. & Pease, Scott & Mottaleb, M Abdul & Islam, Rafiq "Silver Nanoparticle Synthesis Using Monosaccharides and Their Growth Inhibitory Activity against Gram-Negative and Positive Bacteria"// ISRN Nanotechnology. 2014. 1-8. 10.1155/2014/480284
2. P. Ghosh, G. Han, M. De, C. K. Kim, and V. M. Rotello, "Gold nanoparticles in delivery applications,"// Advanced Drug Delivery Reviews. 2008. V. 60. No. 11. PP. 1307–1315
3. K. Y. Lee, J. Hwang, Y. W. Lee, J. Kim, and S. W. Han, "Onestep synthesis of gold nanoparticles using azacryptand and their applications in SERS and catalysis,"// Journal of Colloid and Interface Science. V. 316. No. 2, PP. 476–481
4. P. K. Jain, X. Huang, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, "Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine,"//Accounts of Chemical Research. V. 41. No. 12. PP. 1578–1586
5. C. J. Murphy, A. M. Gole, S. E. Hunyadi et al., "Chemical sensing and imaging with metallic nanorods,"// Chemical Communications. V. 8. No. 5. PP. 544–557
6. Z. Wang, A. Bonoiu, M. Samoc, Y. Cui, and P. N. Prasad, "Biological pH sensing based on surface enhanced Raman scattering through a 2-aminothiophenol-silver probe,"// Biosensors and Bioelectronics. V. 23. No. 6. PP. 886–891
7. Z. Shu-hong, F. Yong-shan, F. Shuo, and Z. Yun-feng, "Microdetermination of proteins by resonance light scattering technique based on aggregation of ferric nanoparticles,"// Spectrochimica Acta A, V. 72. No. 4, PP. 748–752
8. Q. Zhang, C. Z. Huang, J. Ling, and Y. F. Li, "Silver nanocubes formed on ATP-mediated nafion film and a visual method for formaldehyde,"//Journal of Physical Chemistry B. 2008.V. 112. No. 51. PP. 16990–16994
9. Богатырев В.А. и др. «Методы синтеза наночастиц с плазмонным резонансом» // Саратов, СГУ им. Н. Г. Чернышевского. 2009. 35 с.
10. Sharma, Virender & Yngard, Ria & Lin, Yekaterina. (2008). Sharma, V. K., Yngard, R. A. & Lin, Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Adv. Colloid

- Interface Sci. 145, 83-96. Advances in colloid and interface science. 145. 83-96. 10.1016/j.cis.2008.09.002
11. Bell, Nelson & Dunphy, Darren & Lambert, Timothy & lu, Ping & Boyle, Timothy. (2015). In situ characterization of silver nanoparticle synthesis in maltodextrin supramolecular structures. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces. 134. 98-104. 10.1016/j.colsurfb.2015.06.030
 12. <http://www.alhimik.ru/read/grosse22.html>
 13. Щербakov А. Б., Иванов В. К. Практикум по наноматериалам и нанотехнологиям. — Издательство Московского университета Москва, 2019. — 368 с.
 14. K.P. Bankura, D. Maity, M.M.R. Mollick, D. Mondal, B. Bhowmick, M.K. Bain, A. Chakraborty, J. Sarkar, K. Acharya, D. Chattopadhyay “Synthesis, characterization and antimicrobial activity of dextran stabilized silver nanoparticles in aqueous medium” // Carbohydrate Polymers. 2012. V. 89. No. 4. PP. 1159–1165
 15. Kalyani Prusty, Sarat K. Swain “Nano silver decorated polyacrylamide/dextran nanohydrogels hybrid composites for drug delivery applications”// Materials Science and Engineering: 2018. V. 85. PP 130-141
 16. Шкурупий В.А., Карпов М.А., Лузгина Н.Г. «Влияние окисленного декстрана на репаративную регенерацию кожи после ожоговой травмы» // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. № 5. С. 600–603
 17. P. Ghosh, G. Han, M. De, C. K. Kim, and V. M. Rotello, “Gold nanoparticles in delivery applications,”// Advanced Drug Delivery Reviews. 2008. V. 60. No. 11, PP. 1307–1315
 18. K. Y. Lee, J. Hwang, Y. W. Lee, J. Kim, and S. W. Han, “Onestep synthesis of gold nanoparticles using azacryptand and their applications in SERS and catalysis,”// Journal of Colloid and Interface Science. V. 316. No. 2, PP. 476–481
 19. C. J. Murphy, A. M. Gole, S. E. Hunyadi et al., “Chemical sensing and imaging with metallic nanorods,”// Chemical Communications. V. 8. No. 5, PP. 544–557
 20. Z. Shu-hong, F. Yong-shan, F. Shuo, and Z. Yun-feng, “Microdetermination of proteins by resonance light scattering technique based on aggregation of ferric nanoparticles,” //Spectrochimica Acta A. 2009. V. 72. No. 4. PP. 748–752
 21. S. T. Dubas and V. Pimpan, “Green synthesis of silver nanoparticles for ammonia sensing,” // Talanta. 2008. V. 76. No. 1. PP. 29–33
 22. J. L. Elechiguerra, J. L. Burt, J. R. Morones et al., “Interaction of silver nanoparticles with HIV-1,” //Journal of Nanobiotechnology, 2005. V. 3. PP. 1–10
 23. S. Pal, Y. K. Tak, and J. M. Song, “Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli” // Applied and Environmental Microbiology. 2007. V. 73. No. 6. PP. 1712–1720
 24. C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, and M. A. El-Sayed, “Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes,” // Chemical Reviews. 2005. V. 105. No. 4. PP. 1025–1102
 25. Шкурупий В.А., Карпов М.А., Лузгина Н.Г. «Влияние окисленного декстрана на репаративную регенерацию кожи после ожоговой травмы» // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. № 5. С. 600–603
 26. Горюнов С.В., Ромашов Д.В., Михальский В.В. Гидрогели «АППОЛО» в лечении острых и хронических ран, термических и лучевых кожных поражений, заболеваний слизистых оболочек: Руководство / Под ред. д. м. н., проф. В.А. Ступина. - М.-Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005
 27. <https://uchebnik.mos.ru/composer3/document/26235065/view>
 28. Яминский И.В., Ахметова А.И., Мешков Г.Б., Оленин А.В. Сканирующая зондовая микроскопия 2D наноразмерных структур для энергонакопителей и катализаторов // Наноиндустрия. 2019. Т. 12. № 2. С. 148–151

29. Получение пленок серебра на высокопористой ячеистой керамике / Закаилова Е.И., Уянга Т., Меркушкин А.О., Обручиков А. В. // Успехи в химии и химической технологии. 2014. Т. 28. №6. С. 95–97
30. Определение условий образования наночастиц серебра при восстановлении глюкозой в водных растворах / Вишнякова Е.А., Сайкова С.В., Жарков С.М., Лихацкий М.Н., Михлин Ю.Л. – // Journal of Siberian Federal University. 2009. С. 48 – 55
31. Сергеев Б.М., Кирюхин М.В., Прусов А.Н., Сергеев В.Г. Получение наночастиц серебра в водных растворах полиакриловой кислоты / // Вестник МГУ. Серия 2. Химия. 1999. Т. 40. №2. С. 129–133