

УДК 541(49+64):539.2

# Особливості структурної організації та антимікробна активність наноконкомпозитів пектин – Ag – поліетиленімін, отриманих хімічним і термохімічним відновленням іонів срібла

*В.Л. Демченко, В.І. Штомпель, Л.А. Гончаренко*

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України  
48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна

*Досліджено особливості структурної організації та антимікробні властивості наноконкомпозитів на основі пектину, поліетиленіміну і наночастинок срібла, які були сформовані методами хімічного та термохімічного відновлення іонів срібла у поліелектроліт-металічних комплексах пектин–Ag<sup>+</sup>–поліетиленімін. Встановлено, що в результаті хімічного відновлення іонів Ag<sup>+</sup> у поліелектроліт-металічних комплексах за допомогою NaBH<sub>4</sub> утворюються наноконкомпозити на основі поліелектролітного комплексу пектин–поліетиленімін і наночастинок Ag, а за мольного співвідношення BH<sub>4</sub><sup>-</sup>/Ag<sup>+</sup> = 2,0 повною мірою реалізується структурний прояв металічної фази Ag. Показано, що термохімічне відновлення іонів Ag<sup>+</sup> у поліелектроліт-металічних комплексах (плівки нагрівають до температури 100 °С і вище) також приводить до утворення срібловмісних наноконкомпозитів. Дослідження антимікробних властивостей отриманих наноконкомпозитів показали, що вони володіють високою антимікробною активністю щодо штамів S. aureus та E. coli.*

**Ключові слова:** поліелектролітні комплекси, поліелектроліт-металічні комплекси, срібловмісний наноконкомпозит, структура, антимікробна активність.

## Вступ.

Протягом останніх десятиліть зростає інтерес до вивчення нанорозмірних частинок металів та їх оксидів [1–4]. Гібридні матеріали, що містять наночастинок срібла, можуть використовуватися для проектування каталітичних систем, а також в оптоелектроніці й нанофотоніці [5–10]. Наноконкомпозитні матеріали з наночастинками срібла знайшли широке застосування і як ефективні антибактеріальні та противірусні препарати [10–12]. Розробка таких матеріалів неможлива без фундаментального дослідження й вивчення їх структури, фізико-хімічних і механічних властивостей.

Метою цієї роботи було вивчення особливостей структурної організації та антимікробної активності (щодо штамів *S. aureus* та *E. coli*) полімерних плівок на основі поліелектролітних комплексів і наночастинок срібла, отриманих методами хімічного та термохімічного відновлення іонів срібла у поліелектроліт-металічних комплексах.

## Експериментальна частина.

Для отримання поліелектролітних комплексів (ПЕК) використовували слабкі поліелектроліти (ПЕ): аніонний поліелектроліт – пектин цитрусовий виробництва “Cargill Deutschland GmbH” (Німеччина),  $M = 3 \cdot 10^4$ ;

катионний поліелектроліт – поліетиленімін (ПЕІ) розгалуженої будови (безводний) виробництва фірми “Aldrich”,  $M_n = 1 \cdot 10^4$ ,  $M_w = 2,5 \cdot 10^4$ .

Поліелектролітні комплекси формували шляхом змішування 5 %-вих водних розчинів пектину й ПЕІ, взятих за мольного співвідношення 1:1, за  $T = 20 \pm 2$  °С. Отримані таким чином ПЕК виливали на політетрафторетиленові пластини й сушили за тієї ж температури до сталої маси. Сухі плівки ПЕК промивали в дистильованій воді до досягнення нейтрального рН і знову сушили за такої самої температури до сталої маси. Товщина плівок ПЕК становила 100 мкм.

Зразки поліелектроліт-металічних комплексів (ПМК) отримували, занурюючи плівки ПЕК у водний розчин солі AgNO<sub>3</sub> за концентрації 0,1 моль/л. При цьому прозорі безбарвні плівки ПЕК набували темно-червоного кольору. Сорбційну ємність ( $A$ , ммоль/г) плівок обчислювали за формулою:

$$A = (C_{II} - C_p)V/m,$$

де:  $m$  – наважка сорбенту, г;  $V$  – об'єм розчину, л;  $C_{II}$  і  $C_p$  – початкова й рівноважна концентрації іонів срібла, ммоль/л. Сорбційна ємність досліджуваних плівок становила 5 ммоль/г.

Хімічне відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  в об'ємі ПМК виконували за допомогою  $\text{NaBH}_4$  (мольне співвідношення  $[\text{BH}_4^-]:[\text{Ag}^+] = 1,0\text{--}3,0$ ) у лужному середовищі за рН 10,8 у суміші розчинників вода-ізопропанол (4:1 % об.) протягом 3 год за  $T = 20 \pm 2$  °С до припинення виділення бульбашок газу. Концентрація  $\text{NaBH}_4$  у водно-спиртовому розчині – 0,1 моль/л. У результаті відновлення плівки ПЕК, які містили  $\text{AgNO}_3$ , змінювали колір з червоного на сріблястий.

Термохімічне відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  в об'ємі ПМК здійснювали шляхом 30-хвилинної експозиції за певної температури плівок поліелектроліт-металічних комплексів у діапазоні 100–160 °С. Зразки нагрівали в пічці за допомогою високоточного терморегулятора VRT-3. Точність вимірювання температури  $\pm 0,5$  °С.

Особливості структурної організації ПЕК (пектин-ПЕІ), ПМК (пектин- $\text{Ag}^+$ -поліетиленімін) і нанокompatитів ПЕК- $\text{Ag}$  вивчали методом ширококутової рентгенівської дифракції на дифрактометрі ДРОН-4-07, рентгенооптична схема якого виконана "на проходження" первинного пучка випромінювання крізь досліджуванний зразок. Рентгеноструктурні дослідження проводили в  $\text{CuK}_\alpha$ -випромінюванні, монохроматизованому Ni-фільтром, за  $T = 20 \pm 2$  °С.

Антимікробну активність нанокompatитів ПЕК- $\text{Ag}$ , отриманих методом хімічного та термохімічного відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  у ПМК, вивчали щодо референтних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Escherichia coli* ATCC 35218 як модельних грампозитивних і грамнегативних бактерій. Дослідження виконували методом дифузії в агар на твердому поживному середовищі LB (Luria-Bertani). Чашки Петрі з поживним середовищем LB засівали 10  $\mu\text{L}$  інкуляту тест-мікроорганізмів *S. aureus* та *E. coli* з розрахунку  $2 \cdot 10^5$  КУО/мл. Плівки

нанокompatитів розміром 10×10 мм поміщали на поверхню поживного середовища, засіяного тест-мікроорганізмами. Чашки інкубували 24 год за температури 37 °С. Показником антимікробної активності була наявність чіткої зони, вільної від мікроорганізмів, навколо плівки срібловмісного нанокompatиту. Контролем слугувала плівка ПЕК.

### Результати дослідження та їх обговорення.

При порівнянні ширококутових рентгенівських дифрактограм слабких катіонного та аніонного поліелектролітів, на основі яких формували ПЕК (рис. 1), виявили, що ПЕІ характеризується лише близьким упорядкуванням при трансляції в просторі фрагментів його макромолекулярних ланцюгів, тоді як пектин має аморфно-кристалічну структуру. Про це свідчить прояв на дифрактограмі ПЕІ (крива 1) одного дифракційного максимуму дифузного, судячи з кутової півширини, типу (аморфного гало), кутове положення ( $2\theta_m$ ) якого становить близько 19,2°. Середня величина періоду ( $d$ ) близького упорядкування фрагментів макроланцюгів ПЕІ при розміщенні їх у просторі (в об'ємі ПЕК), згідно з рівнянням Брегга:

$$d = \lambda(2\sin\theta_m)^{-1},$$

де:  $\lambda$  – довжина хвилі характеристичного рентгенівського випромінювання ( $\lambda = 0,154$  нм для  $\text{CuK}_\alpha$ -випромінювання), становить 0,46 нм.

На рентгенівській дифрактограмі пектину, зразок якого має порошкоподібний вигляд (крива 2), наявна велика кількість синглетних і мультиплетних дифракційних максимумів на фоні уявного аморфного гало з вершиною за  $2\theta_m \approx 16,8^\circ$ , які вказують на аморфно-кристалічну структуру цього полісахариду. Проведена оцінка відносного рівня кристалічності ( $X_{kr}$ ) пектину показала, він становить близько 65 %. У свою чергу, оцінка ефективного розміру кристалітів ( $L$ ) пектину, проведе-

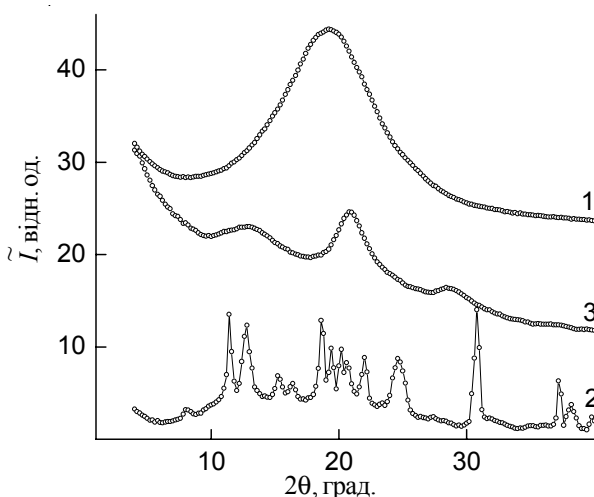


Рис. 1. Ширококутові рентгенівські дифрактограми вихідних поліелектролітів поліетиленіміну (1), порошкоподібного зразка пектину (2) та плівки пектину (3)

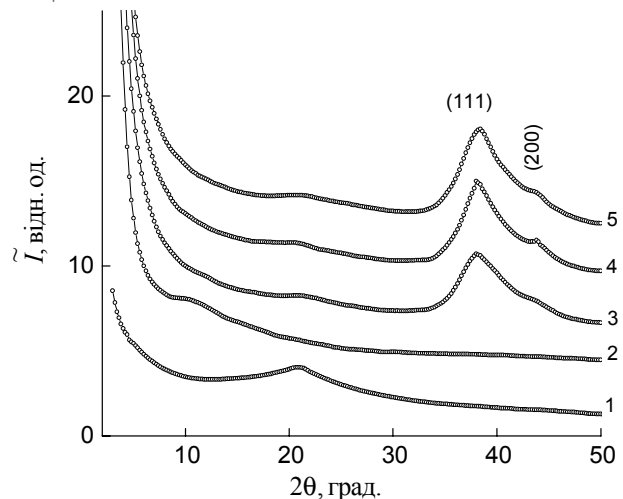


Рис. 2. Ширококутові рентгенівські дифрактограми ПЕК (1), ПМК (2) та срібловмісних нанокompatитів, отриманих методом хімічного відновлення іонів срібла за мольного співвідношення  $\text{BH}_4^-:\text{Ag}^+=1$  (3),  $\text{BH}_4^-:\text{Ag}^+=2$  (4) і  $\text{BH}_4^-:\text{Ag}^+=3$  (5)

на за методом Шеррера [2]:

$$L = K / (\beta \cos \theta_m)^{-1},$$

де:  $K$  – стала, пов'язана з формою кристалітів (при невідомій їх формі  $K=0,9$ ), а  $\beta$  – кутова півширина (ширина на половині висоти) синглетного дифракційного максимуму дискретного типу, показала, що середнє значення  $L \approx 17,5$  нм (для розрахунків використовували синглетні дифракційні максимуми за  $2\theta_m = 18,7$  і  $30,8^\circ$ ). Однак рентгенівська дифрактограма зразка пектину у вигляді плівки, отриманої з 5 %-го водного розчину, як і при формуванні ПЕК, має лише контури основних за інтенсивністю груп дифракційних максимумів, які наявні на дифрактограмі порошкоподібного зразка пектину (криві 3 і 2). Це свідчить про низьку швидкість кристалізації пектину, а також про релаксаційний характер процесів структуроутворення в полімерах.

Стехіометричний ПЕК, утворений еквімолярно кількістю аніонного та катіонного ПЕ, характеризується близьким упорядкуванням при трансляції у просторі фрагментів протилежно заряджених макромолекулярних ланцюгів поліелектролітів, що входять до його складу. На це вказує прояв на рентгенівській дифрактограмі зразка ПЕК одного дифракційного максимуму дифузного типу за  $2\theta_m \approx 20,8^\circ$  (рис. 2, крива 1). Середня величина періоду близького упорядкування фрагментів комплементарних макромолекулярних ланцюгів протилежно заряджених ПЕ в об'ємі ПЕК (брегівська відстань між шарами макромолекул аніонного і катіонного ПЕ в об'ємі ПЕК) становить 0,43 нм, тобто є дещо меншою, ніж в об'ємі катіонного ПЕ.

Проте сорбція  $\text{AgNO}_3$  зразком ПЕК і формування поліелектроліт-металічних комплексів пектин– $\text{Ag}^+$ –ПЕІ супроводжується зміною дифракційної картини. Цей результат підтверджується появою інтенсивного дифузного дифракційного максимуму за  $2\theta_m \sim 11,2^\circ$ , що характеризує структуру поліелектроліт-металічного комплексу пектин– $\text{Ag}^+$ –ПЕІ (крива 2) [4]. У свою чергу, зникає аморфне гало за  $2\theta_m \sim 20,8^\circ$ , що характеризує структуру ПЕК пектин–ПЕІ. Це вказує на повне перетворення поліелектролітних комплексів на поліелектроліт-металічні комплекси.

Після хімічного відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  у поліелектроліт-металічних комплексах з використанням боргідриду натрію (мольне співвідношення  $[\text{BH}_4^-]:[\text{Ag}^+] = 1,0$ ) з утворенням нанокompatиту на основі ПЕК та наночастинок Ag на дифрактограмі (крива 3) відсутній дифракційний максимум за  $2\theta_m \sim 11,2^\circ$ , який характеризує поліелектроліт-металічні комплекси і з'являються два інтенсивні максимуми за  $2\theta_m = 38,2$  та  $43,8^\circ$ , які підтверджують наявність металічного срібла в полімерній системі.

Зі збільшенням кількості відновника (мольне співвідношення  $[\text{BH}_4^-]:[\text{Ag}^+] = 2,0$ ) на рентгенівській дифрактограмі нанокompatиту на основі ПЕК та Ag (крива 4) збільшується інтенсивність дифракційних піків за  $2\theta_m = 38,2$  та  $43,8^\circ$ , що характеризує структуру

наночастинок Ag. Збільшення кількості відновника (мольне співвідношення  $[\text{BH}_4^-]:[\text{Ag}^+] = 3,0$ ) не змінює структуру нанокompatитів на основі ПЕК і наночастинок Ag (криві 4, 5).

Отже, згідно з даними ширококутового розсіювання рентгенівських променів, можна зробити висновок, що для формування нанокompatитів ПЕК–Ag оптимальним є мольне співвідношення  $[\text{BH}_4^-]:[\text{Ag}^+] = 2,0$ .

Аналіз дифрактограм срібловмісних нанокompatитів, отриманих шляхом термохімічного відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  у поліелектроліт-металічних комплексах у широкому діапазоні температур ( $100$ – $160^\circ\text{C}$ ) показав, що при поступовому підвищенні температури до  $150^\circ\text{C}$  зростає вміст наночастинок срібла в полімерній матриці. На це вказує збільшення інтенсивності двох дифракційних максимумів за  $2\theta_m = 38,2$  та  $43,8^\circ$ , які характеризують структуру металічного срібла в системі (рис. 3, криві 3–8). Подальше підвищення температури до  $160^\circ\text{C}$  не змінило інтенсивність дифракційних максимумів, що характеризують структуру срібла (рис. 3, криві 8–9).

Тому, згідно з даними ширококутової рентгенографії, можна зробити висновок, що оптимальною температурою для відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  у поліелектроліт-металічних комплексах (з утворенням нанокompatиту) є  $150^\circ\text{C}$ . У свою чергу, попередніми дослідженнями [2] виявлено, що термохімічне відновлення іонів срібла відбувається за рахунок перенесення електронів від атомів азоту поліетиленіміну до іонів  $\text{Ag}^+$ .

Нанокompatити ПЕК–Ag, сформовані шляхом термохімічного відновлення іонів  $\text{Ag}^+$  у поліелектроліт-металічних комплексах за  $T = 150^\circ\text{C}$  протягом 30 хв, демонструють вищу антимікробну активність проти штамів *S. aureus* та *E. coli* порівняно з нанокompatита-

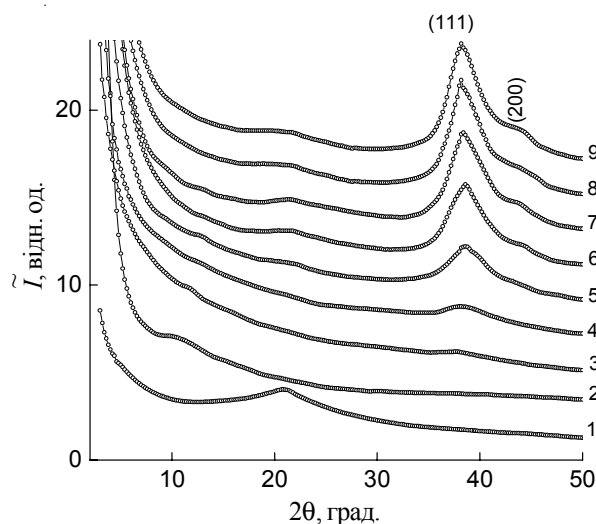


Рис. 3. Ширококутові рентгенівські дифрактограми ПЕК (1), ПМК (2) та срібловмісних нанокompatитів, отриманих методом термохімічного відновлення іонів срібла протягом 30 хв. за температури  $100$  (3),  $110$  (4),  $120$  (5),  $130$  (6),  $140$  (7),  $150$  (8) і  $160^\circ\text{C}$  (9)

Таблиця. Антимікробна активність нанокompatитів ПЕК–Ag, отриманих методом термохімічного та хімічного відновлення іонів срібла

Метод отримання нанокompatитних плівок	Діаметр інгібуючої зони, мм	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
термохімічне відновлення	ПЕК–Ag 27,6±1,2	ПЕК–Ag 26,6±1,2
хімічне відновлення	ПЕК–Ag 18,2±0,8	ПЕК–Ag 17,6±0,6
контрольний зразок	ПЕК 0	ПЕК 0

ми ПЕК–Ag, синтезованими хімічним відновленням. Після інкубації протягом 24 год за 37 °С можна спостерігати чітку зону навколо контурів плівок, що підтверджує пригнічення росту бактерій.

Діапазон зони інгібуючого зростання бактерій *S. aureus* становив 27,6 мм для зразків, сформованих термохімічним відновленням, і 18,2 мм для тих, що отримані шляхом хімічного відновлення. Для *E. coli* ці значення 26,6 мм і 17,6 мм відповідно (таблиця).

У контрольних зразках (полімерна плівка без нано-

частинок) спостерігався активний ріст досліджуваних бактерій.

Отже, були проведені дослідження особливостей структурної організації та антимікробних властивостей нанокompatитів на основі пектину, поліетиленіміну та наночастинок Ag. Встановлено, що при хімічному відновленні іонів срібла за мольного співвідношення  $[BH_4^-]:[Ag^+] = 2,0$  повною мірою реалізується структурний прояв наночастинок срібла. Вперше розроблено новий метод отримання срібловмісних нанокompatитів термохімічним відновленням іонів срібла в поліелектроліт-металічних комплексах. Виявлено, що при термохімічному відновленні іонів  $Ag^+$  оптимальною температурою процесу є 150 °С. Дослідження антимікробних властивостей отриманих нанокompatитів показали, що вони володіють високою антимікробною активністю щодо штамів *S. aureus* та *E. coli*.

Встановлено, що антимікробна активність щодо досліджуваних тест-мікроорганізмів вища у нанокompatитів, отриманих способом термохімічного відновлення.

## Література

- Demchenko V., Shtompel' V., Riabov S. Nanocomposites based on interpolyelectrolyte complex and Cu/Cu<sub>2</sub>O core-shell nanoparticles: Structure, thermomechanical and electric properties, *Eur. Polym. J.*, 2016, **75**: 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.01.004>
- Demchenko V., Riabov S., Rybalchenko N., Goncharenko L., Kobylinskyi S., Shtompel' V. X-ray study of structural formation, thermomechanical and antimicrobial properties of copper-containing polymer nanocomposites obtained by the thermal reduction method, *Eur. Polym. J.*, 2017, **96**: 326–336. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.08.057>
- Demchenko V.L., Shtompel' V.I., Riabov S.V. DC Field Effect on the Structuring and Thermomechanical and Electric Properties of Nanocomposites Formed from Pectin–Cu<sup>2+</sup>–Polyethyleneimine Ternary Polyelectrolyte–Metal Complexes, *Polym. Sci.*, 2015, **A57**: 635–643.
- Demchenko V., Riabov S., Shtompel' V. X-ray study of structural formation and thermomechanical properties of silver-containing polymer nanocomposites, *Nanoscale Research Letters*, 2017, **12**: 235–240. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1967-2>
- Pomogailo A.D., Kestelman V.N. *Metallopolymer nanocomposites*, Springer, New York, 2005.
- Rosi N.L., Mirkin C.A. Nanostructures in Biodiagnostics, *Chem. Rev.*, 2005, **105**: 1547–1562. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1967-2>
- Ballauff M., Lu Y. “Smart” nanoparticles: preparation, characterization and applications, *Polymer*, 2007, **48**: 1815–1823. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.02.004>
- Ruiz P., Macanas J., Munoz M., Muraviev D.N. Intermatrix synthesis: easy technique permitting preparation of polymer-stabilized nanoparticles with desired composition and structure, *Nanoscale Res. Lett.*, 2011, **6**: 343–6. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-6-343>
- Bruening M.L., Dotzauer D.M., Jain P., Ouyang L., Baker G.L. Creation of Functional Membranes Using Polyelectrolyte Multilayers and Polymer Brushes, *Langmuir*, 2008, **24**: 7663–7673. <https://doi.org/10.1021/la800179z>
- Deng Z., Zhu H., Peng B., Chen H., Sun Y.F., Gang X.D., Jin P.J., and Wang J.L. Synthesis of PS/Ag Nanocomposite Spheres with Catalytic and Antibacterial Activities, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2012, **4**: 5625–5632. <https://doi.org/10.1021/am3015313>
- Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S., Kuznetsova N.P., Korzhova S.A., Emel'yanov A.I., Ermakova T.G., Fadeeva T.V., Sosedova L.M. Green synthesis of water-soluble nontoxic polymeric nanocomposites containing silver nanoparticles, *Int. J. Nanomed.*, 2014, **9**: 1883–9. <https://doi.org/10.2147/IJN.S57865>
- Barud H.S., Regiani T., Marques R.F.C., Lustris W.R., Messaddeq Y., Ribeiro S.J.L. Antimicrobial Bacterial Cellulose-Silver Nanoparticles Composite Membranes, *J. Nanomater.*, 2011: 1–8. <https://doi.org/10.1155/2011/721631>

Надійшла до редакції xx березня 2018 р.

## Особенности структурной организации и антимикробная активность нанокompatитов пектин–Ag–полиэтиленімін, полученных химическим и термохимическим восстановлением ионов серебра

В.Л. Демченко, В.И. Штомпель, Л.А. Гончаренко

Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины  
48, Харьковское шоссе, Киев, 02160, Украина

*Исследованы особенности структурной организации и антимикробные свойства нанокompatитов на основе пектина, полиэтиленимина и наночастиц серебра, которые были сформированы методами химического и термохимического восстановления ионов серебра в полиэлектролит-металлических комплексах пектин–Ag<sup>+</sup>–полиэтиленимін. Установлено, что в результате химического восстановления ионов Ag<sup>+</sup> в полиэлектролит-металлических комплексах с помощью NaBH<sub>4</sub> образуются нанокompatиты на основе полиэлектролитного комплекса пектин–полиэтиленимін и наночастиц Ag, а при мольном соотношении BH<sub>4</sub><sup>-</sup>/Ag<sup>+</sup> = 2,0 полной мерой реализуется структурное проявление металлической фазы Ag. Показано, что термохимическое восстановление ионов Ag<sup>+</sup> в полиэлектролит-металлических комплексах (пленки нагревают до температуры 100 °C и выше) также приводит к образованию серебросодержащих нанокompatитов. Исследование антимикробных свойств полученных нанокompatитов показало, что они обладают высокой антимикробной активностью в отношении штаммов S. aureus и E. coli.*

**Ключевые слова:** полиэлектролитные комплексы, полиэлектролит-металлические комплексы, серебросодержащий нанокompatит, структура, антимикробная активность

## Peculiarities of structural organization and antimicrobial activity of nanocomposites of pectin–Ag–polyethyleneimine, obtained by chemical and thermochemical reduction of silver ions

V.L. Demchenko, V.I. Shtompel', L.A. Goncharenko

Institute of Macromolecular Chemistry, NAS of Ukraine  
48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

*Structural organization and antimicrobial properties of nanocomposites based on pectin, polyethyleneimine and Ag nanoparticles, which formed by the chemical and thermochemical reduction methods from polyelectrolyte–metal complexes pectin–Ag<sup>+</sup>–polyethyleneimine have been investigated. Such type of nanocomposites with Ag nanoparticles incorporated into polymer matrix is obtained due to the chemical reduction of Ag<sup>+</sup> ions by NaBH<sub>4</sub> in the polyelectrolyte complex. The appearance of the silver metallic phase is observed in full extent while BH<sub>4</sub><sup>-</sup>: Ag<sup>+</sup> molar ratio is equal to 2.0. It is defined that thermochemical reduction of Ag<sup>+</sup> ions in polyelectrolyte–metal complexes bulk (while films are heated to the temperature around 100 °C and more) also results in formation of silver-containing nanocomposites. The antimicrobial investigation of the elaborated nanocomposites has been revealed. They possess a high antimicrobial activity against S. aureus and E. coli strains.*

**Key words:** polyelectrolyte complexes; polyelectrolyte–metal complexes; silver-containing nanocomposite; structure; antimicrobial activity.