

СИНТЕЗ ХИТОЗАН-СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ И СВОЙСТВА ИХ КОМПОЗИТОВ

Рожнова К.Р., Апрытина К.В.*, Смирнова Л.А.

*Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского*

*apryatina_kv@mail.ru

Представлен одностадийный метод синтеза наночастиц меди в растворе путем микроволнового излучения с использованием аскорбиновой кислоты в качестве восстановителя и хитозана с различными конформациями макромолекул как стабилизатора. Полученные дисперсии являются агрегативно устойчивыми. Показано, что размеры формирующихся наночастиц составляют 22 нм в растворах хитозана с конформацией макромолекул жесткий стержень и 25 нм – в конформации клубок. Показано влияние наночастиц на теплофизические характеристики полисахарида – смещение температур стеклования и деградации составило ~ 20 и 47 °С соответственно.

Ключевые слова: наночастицы меди, хитозан, композит, конформация, микроволновое излучение.

SYNTHESIS OF CHITOSAN-STABILIZED COPPER NANOPARTICLES AND PROPERTIES OF THEIR COMPOSITES

Rozhnova K.R., Apryatina K.V., Smirnova L.A.

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod

A one-stage method for the synthesis of copper nanoparticles in solution by microwave radiation using ascorbic acid as a reducing agent and chitosan with different conformations of macromolecules as a stabilizer is presented. The resulting dispersions are aggregatively stable. It has been shown that the sizes of the formed nanoparticles are 22 nm in chitosan solutions with the rigid rod conformation of macromolecules and 25 nm in the coil conformation. The effect of nanoparticles on the thermophysical characteristics of the polysaccharide was shown: the shift in the glass transition and degradation temperatures was ~20 and 47 °C respectively.

Keywords: copper nanoparticles, chitosan, composite, microwave radiation.

Введение

В прошлом веке в странах Западной Европы зародилась концепция «organic». Выросло стремление людей употреблять в качестве пищи только «экологически чистые продукты» и в настоящее время это стало своего рода трендом. Однако на птицефабриках и многих других животноводческих предприятиях обнаруживается чрезмерное применение антибиотиков, которые используют не только для лечения болезней животных, но также в целях профилактики и для стимулирования их роста. Неконтролируемое потребление антибиотиков животными имеет серьезные последствия для общественного здравоохранения, так как способствует появлению устойчивых к лекарствам бактерий и генов резистентности, которые могут быть переданы людям. Наиболее ожидаемой заменой антибиотикам могут послужить эссенциальные бактерицидные элементы. В качестве одного из таких элементов может выступать медь. Этот металл является одним из жизненно необходимых микроэлементов организма, поскольку принимает участие в процессах кроветворения, формирования и роста клеток, а также оказывает активную помощь работе иммунной системы и обладает бактерицидными свойствами [1]. Медь имеет относительно доступную себестоимость, что позволяет использовать её в многотоннажных производствах. В наноразмерном виде медь обладает высокой физиологической активностью [2], поскольку свободно проникает во все органы и ткани. Таким образом, использование меди в виде наночастиц (НЧ) позволит

ей активно стимулировать рост животных и оказывать иммуномодулирующее действие на организм, не уступая по эффективности антибиотикам.

Актуальна проблема стабилизации высокоактивных НЧ меди и их транспортировки из полости кишечника в кровь при пероральном приеме. Перспективным стабилизатором НЧ является хитозан (ХТЗ) – биоразлагаемый биосовместимый полисахарид. Макромолекулы ХТЗ имеют в растворе конформацию жесткого стержня или полугибкого клубка, в зависимости от разных факторов. В растворе с рН среды менее 3,5 макромолекулы полимера являются сильно протонированными, более гибкими и могут принимать конформацию клубка [3]. В области рН среды 4,5-5,5 макромолекулы ХТЗ являются жесткими стержнями, поскольку непротонированные аминогруппы образуют внутри- и межмолекулярные связи с атомами кислорода в цепях [4]. Различная конформация макромолекул ХТЗ может оказывать влияние на размер формирующихся НЧ и свойства образующихся нанокомпозитов [5, 6].

Доказана возможность использования ХТЗ в качестве матрицы-стабилизатора лекарственных средств при доставке непосредственно в кровь. Мукоадгезивные свойства полисахарида способствуют удержанию биокомпонентов на поверхности слизистых мембран, что увеличивает их терапевтический эффект и позволяет проникать лекарствам в ткани и клетки [7]. Производство некоторых препаратов, в основу которых входит ХТЗ, уже успешно налажено. Во ВНИТИБП на базе ЗАО «Биопрогресс» освоен выпуск хитозансодержащих биологически активных добавок к пище «Хитан», «Полихит», «Фитохитодез-02». Имея водорастворимую форму благодаря ХТЗ, такие препараты вызывают пролонгирующее действие лекарственных компонентов растений и усиливают их воздействие на организм [8].

Известны различные способы получения НЧ меди, в том числе в растворах ХТЗ [9–11]. Наиболее распространенным методом получения НЧ является химическое восстановление [12, 13]. Однако с точки зрения биомедицинских приложений системы ХТЗ-НЧ меди более предпочтительными являются «зеленые» методы синтеза, так как не требуют введения токсичных восстановителей. Интересно получение НЧ меди микроволновым способом, поскольку методика весьма эффективна при наименьших временных и энергетических затратах [14].

Целью данного исследования стало синтезирование НЧ меди стабилизированных ХТЗ, путем микроволнового воздействия, установление влияния конформационного состояния макромолекул полисахарида на размерные характеристики НЧ, исследование свойств полученных композиций.

Экспериментальная часть

В исследовании были использованы следующие вещества:

ХТЗ – поли((1,4)-2-амино-2-дезоксид)-β-D-глюкоза, без дополнительной очистки, полученный из панцирей краба (ОАО «Биопрогресс», г. Москва, Россия) с молекулярной массой 4×10^5 , степенью деацетилирования 0,96.

Для приготовления растворов ХТЗ использовали уксусную кислоту марки «ХЧ» ГОСТ 61-75 (99,5 %, плотность 1,049 г/см³).

В качестве восстановителя НЧ меди использовали аскорбиновую кислоту (АК) марки «ЧДА». СТП ТУ КОМП 2-723-15 – белый кристаллический порошок, без запаха, светочувствительный.

Прекурсором – источником ионов меди послужил дигидрат хлорида меди марки «ЧДА». ГОСТ 4167-74 (99,5 %). $T_{пл} = 110$ °С, $\rho = 2,38$ г/см³.

Высаживание полученных композиций проводили изопропиловым спиртом ГОСТ 9805-84 (ЗАО «Химреактив»).

НЧ меди получали в водно-уксусных растворах 3 мас. % ХТЗ с использованием восстановителя – аскорбиновой кислоты (0,038 М). Концентрация уксусной кислоты в растворах составляла 1,2 % (рН среды – 3,3) и 6 % (рН среды – 4,8). Источником НЧ был водный раствор 2 мас. % дигидрат хлорида меди. Далее полученные растворы подвергали микроволновому воздействию мощностью микроволн 900 Вт на короткие промежутки времени. О восстановлении ионов меди и формировании НЧ судили по регистрации через определенные интервалы времени спектров поглощения разбавленных в 20 раз растворов на спектрофотометре УФ – и видимого диапазонов UV-1650 (Shimadzu). Наблюдали появление и нарастание полос поглощения, соответствующих плазмонному резонансу НЧ меди ($\lambda \sim 585$ –600 нм) до тех пор, пока величина максимума поглощения не переставала изменяться [15]. Во всех опытах процесс формирования НЧ меди в растворах ХТЗ проводили по одному алгоритму.

Композиции исследовали методом ИК-спектроскопии на приборе ИК-Фурье-спектрометр Infracum «ФТ-801». Образцы получали из соответствующих растворов путем высаживания изопропиловым спиртом и высушивали вакуумированием при 50 °С до постоянной массы. Сухие образцы нанокомпозитов и ХТЗ измельчали до мелкодисперсного состояния с KBr в соотношении образец/KBr 1:20 и

формировали таблетки с помощью воздушно-гидравлического пресса при давлении 400 кг/см². ИК-спектры образцов снимали в режиме пропускания в диапазоне частот 400–4000 см⁻¹.

Устойчивость дисперсий НЧ меди в растворах ХТЗ оценивали по величине электрокинетического потенциала. Электрофорез разбавленных дисперсий НЧ меди проводили на приборе Кёна при разности напряжений между электродами 220 В и силе тока 6,3 мА. ξ -потенциал рассчитывали по формуле (1)

$$\xi = \frac{\eta \cdot t \cdot U}{\epsilon \cdot \epsilon_0 \cdot S \cdot l} \quad (1)$$

где U – напряжение, В; t – время от начала перемещения частиц дисперсной фазы к одному из электродов, с; l – расстояние между электродами, м; S – путь, пройденный НЧ, м; ϵ_0 – электрическая константа, $8,85 \times 10^{-12}$ Ф/м; ϵ – диэлектрическая проницаемость воды; η – вязкость, Па·с.

Структура порошкообразных ХТЗ и его наноконпозиций была исследована с помощью РФА-анализа образцов на рентгеновском дифрактометре «Bruker D8 Discover» с использованием CuK α излучения и детектора LynxEye с шагом сканирования 0,02°, в интервале 2θ 10–60°. Точность определения дифракционных углов (2θ) составляла $\pm 0,02^\circ$. Оценку интенсивности дифракционных максимумов проводили по их высоте (100 – бальная шкала).

Теплофизические свойства наноконпозиций, содержащих НЧ меди, изучали методом ДСК на приборе DSC 500 (Россия). Измерения температуры стеклования (T_g) и деструкции (T_d) образцов осуществляли после предварительного цикла нагревания и охлаждения до 105 °С для удаления воды из исследуемых образцов. За T_g и T_d принимали температуру, соответствующую середине отрезка ДСК-кривой композитов в интервале их стеклования и деструкции.

Результаты и их обсуждение

Наиболее известным способом получения НЧ меди является химическое восстановление, а перспективным подходом к данной ситуации заключается в подборе такого восстановителя, который отвечал бы всем стандартам экологичности и биосовместимости. Важно не просто получить данные НЧ, но и предотвратить их переход в другую форму, поскольку медь окисляется до оксидов при контакте с кислородом воздуха. Решением проблемы может выступать синтез НЧ меди в полимерной матрице – ХТЗ, который обладает эффективными стабилизирующими свойствами.

Синтез НЧ меди провели в условиях микроволнового излучения в растворах полимера-стабилизатора. Использовали растворы ХТЗ с различными конформациями: клубка и жесткого стержня. Кинетику образования НЧ, стабилизированных ХТЗ, контролировали спектрофотометрически по появлению и нарастанию интенсивности полос поглощения, соответствующих плазмонному резонансу НЧ меди: $\lambda \sim 585$ –600 нм [15]. Следует отметить, что для всех систем с различными конформациями полисахарида кривые полос плазмонного поглощения носили однотипный характер и отличались лишь положением максимумов (табл. 1). На рис. 1 представлены типичные спектры растворов.

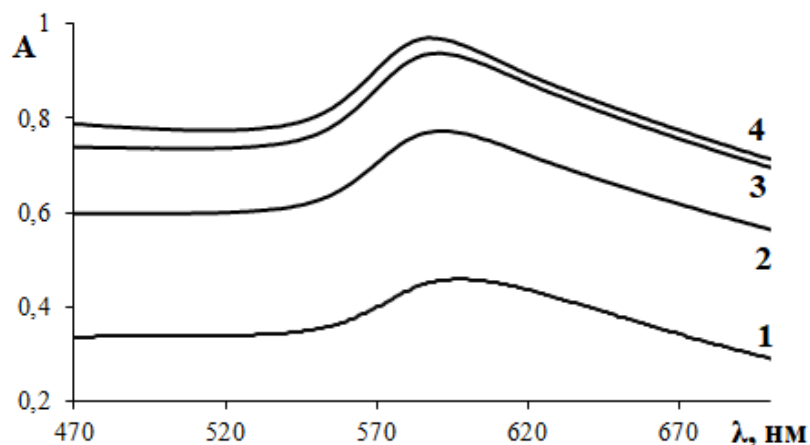


Рис. 1. Полосы плазмонного поглощения НЧ меди, полученных в растворах ХТЗ с конформацией макромолекул – клубок (рН ~ 3,3): 1 – 30 с, 2 – 60 с, 3 – 90 с, 4 – 120 с; $\lambda_{\max} = 591$ нм

В табл. 1 приведены значения длин волн максимумов полос поглощения НЧ меди при различных конформациях макромолекул ХТЗ в растворах.

Значение длин волн максимумов полос поглощения НЧ меди при различных конформациях макромолекул ХТЗ в растворах

№	Время микроволнового излучения, с	λ , нм (конформация – клубок)	λ , нм (конформация – жесткий стержень)
1	30	593	592
2	60	591	590
3	90	591	590
4	120	591	590

Из данных *табл. 1* видно, что для конформации макромолекул ХТЗ – жесткий стержень наблюдается смещение положения максимума полос поглощения НЧ меди в более коротковолновую область, по сравнению с НЧ, полученными в растворах с конформацией макромолекул – клубок. Известно [16], что чем больше значение длины волны максимума полосы плазмонного поглощения НЧ, тем больше их размер. Несмотря на то, что разница в величине максимумов растворов незначительна, стабильные результаты при неоднократных повторениях синтеза НЧ исключают погрешность измерения.

Существует много мнений о причине смещения полос плазмонного резонанса металлических НЧ с уменьшением их размера [17]. Вероятнее всего, при взаимодействии прекурсора НЧ с полимером-стабилизатором, ионы меди посредством электростатических взаимодействий соединяются с макромолекулами ХТЗ. Атомы кислорода, имеющие свободные электроны полярных гидроксильных и эфирных групп ХТЗ, возможно, вступают во взаимодействие с положительно-заряженными катионами меди [18]. То есть ХТЗ выступает не только стабилизатором, но и регулирует процесс флуктуации [19].

Был выполнен анализ ИК-спектров для оценки молекулярных взаимодействий между макромолекулами ХТЗ и НЧ меди. Полученные результаты позволяют доказать, какие функциональные группы ХТЗ участвуют в стабилизации НЧ меди. Характерные полосы валентных колебаний групп полисахарида наблюдались в ИК-спектре при 3350 см^{-1} (из-за перекрытия растяжения О-Н и N-H); 1560 см^{-1} (растяжение C=O); 1410 см^{-1} (изгиб C-H); 1154 см^{-1} (растяжение C-O-C); 657 см^{-1} (растяжение C-H) (*рис. 2*). Четкое смещение полос в области валентных колебаний представлены выше групп ХТЗ, содержащих свободные электронные пары, которые способствуют адсорбции НЧ на полимере. Пик при 657 см^{-1} указывает на наличие взаимодействий между ХТЗ и НЧ меди, это говорит о том, что НЧ покрыты полисахаридом [20, 21].

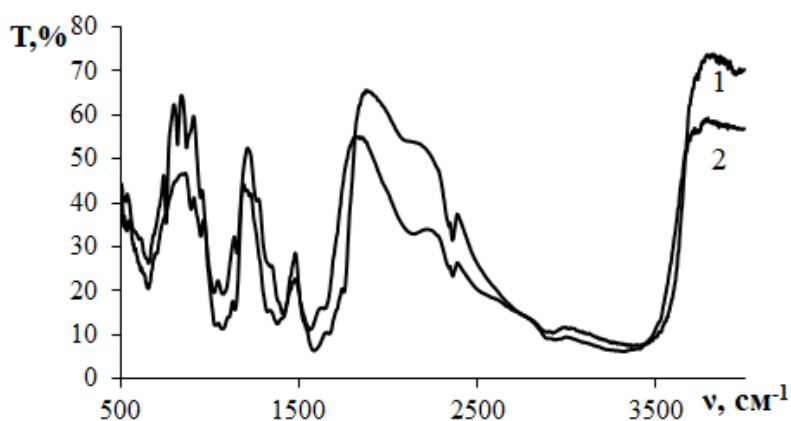


Рис. 2. ИК-спектры композитов: 1 – ХТЗ-НЧ меди; 2 – ХТЗ

Была исследована агрегативная устойчивость дисперсий НЧ меди. Поскольку ХТЗ является поликатионом, об агрегативной устойчивости дисперсий можно судить по величине электрокинетического потенциала (ξ) систем. Известно, что критическое значение ξ -потенциала коллоидных частиц, определяющее начало их агрегации, составляет 25–30 мВ [22]. Электрокинетический потенциал дисперсий НЧ меди составил 38 мВ (для раствора с конформацией макромолекул ХТЗ – клубок) и 53 мВ (для раствора с конформацией макромолекул ХТЗ – жесткий стержень), что говорит об их агрегативной устойчивости.

Методом РФА исследована структура порошков композиции ХТЗ-НЧ меди и определены размерные характеристики НЧ (*рис. 3*). Показано, что в порошках наблюдаются кристаллические структуры.

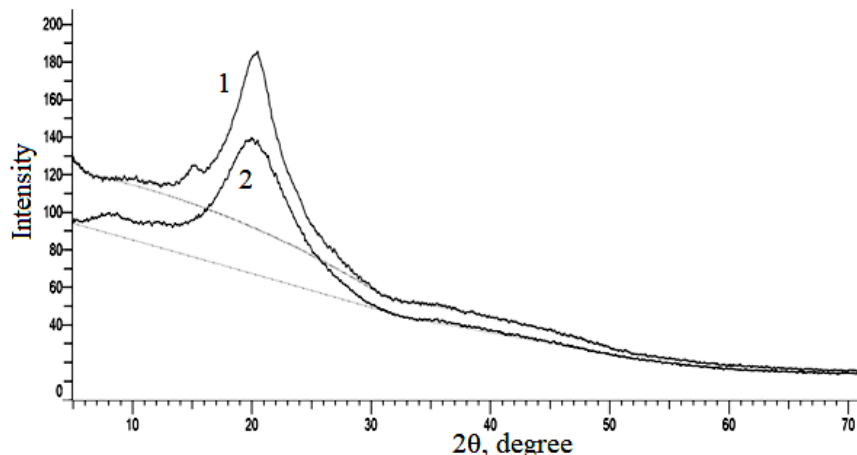


Рис. 3. Рентгеновские дифрактограммы нанокompозитов, полученных из растворов с конформацией макромолекул хитозана: 1 – клубок, 2 – жесткий стержень

По результатам РФА определены размеры НЧ меди: для конформационного состояния макромолекул ХТЗ – клубок ~ 25 нм. Размер НЧ для ХТЗ с конформационным состоянием макромолекул – жесткий стержень составил ~ 22 нм. По-видимому, НЧ меди в растворах со спиральной конформацией макромолекул ХТЗ формируются меньших размеров из-за нехватки свободного пространства для роста числа атомов в НЧ, поскольку межмолекулярный объем в таком полимере меньше, чем в клубке, из-за большего количества водородных связей между цепями полисахарида. В конформации клубка аминогруппы полисахарида сильнее протонируются, следовательно, количество водородных связей уменьшается, и в такой конформации макромолекул ХТЗ увеличивается их межмолекулярный объем, способствующий большему росту НЧ меди.

Были исследованы теплофизические свойства композиций (рис. 4).

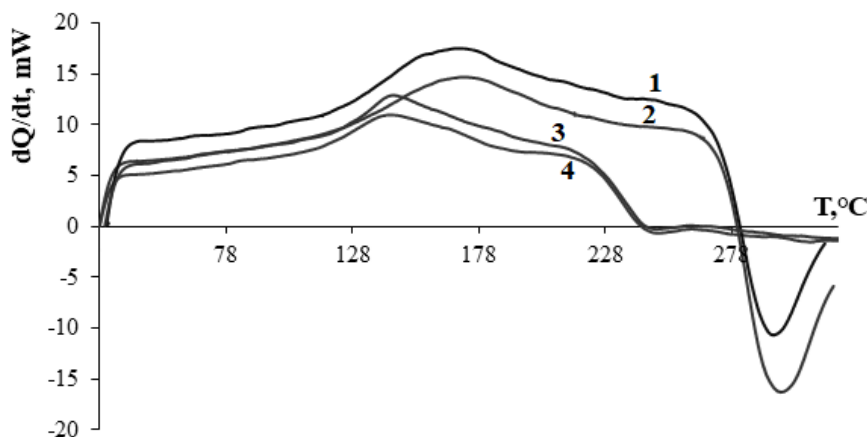


Рис. 4. ДСК-кривые хитозана с конформацией макромолекул: 1 – клубок, 2 – жесткий стержень; и его композитов с НЧ меди: 3 – клубок; 4 – жесткий стержень.

ХТЗ во всех образцах находился в ацетатной форме. Соответствующие температуры стеклования (T_g) и начала термической деструкции (T_d) приведены в табл. 2.

Таблица 2

Теплофизические характеристики исследуемых кривых

№	$T_g, ^\circ\text{C}$	$T_d, ^\circ\text{C}$
1	141,1	280,4
2	140,1	280,6
3	123,7	233,3
4	121,6	232,5

* Погрешность в определении T_g и T_d составляет $\pm 1 ^\circ\text{C}$

Показано, что введение НЧ меди в состав композита существенно смещает температуры стеклования и деструкции полимера в низкотемпературную область – на ~ 20 и 47 °С, соответственно. Возможно, уменьшение температуры стеклования нанокompозита по сравнению с полимерной матрицей объясняется формированием рыхлой упаковки переходного слоя между полимерной матрицей и НЧ – так называемым эффектом пластификации [23]. Кроме того, в объеме нанокompозита возникает массив нагревательных элементов из токопроводящих частиц. В результате диффузионные процессы переноса тепла в непроводящей матрице протекают на более малых расстояниях, происходит более быстрое «размораживание» сегментов макромолекул матрицы, и, соответственно, понижение температуры стеклования относительно полимера-носителя.

Заключение

Композиции ХТЗ-НЧ меди со средними размерами от 22 до 25 нм успешно получены в условиях микроволновой активации. Стоит отметить, что данная методика отвечает всем стандартам экологичности и биосовместимости, поскольку стабилизатором является биополимер – ХТЗ, а восстановителем аскорбиновая кислота – витамин С. Результаты исследований указывают на потенциал НЧ меди, стабилизированных ХТЗ, в качестве возможной замены ими антибактериальных препаратов в кормах животных.

Работа выполнена при поддержке Научно-образовательного центра Нижегородской области «Техноплатформа 2035» в рамках соглашения № 16-11-2021/48 и осуществлена в Научно-исследовательской лаборатории химии природных соединений и их синтетических аналогов, созданной в рамках Государственного задания при НОЦ «Техноплатформа 2035».

Библиография

1. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А.В. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных. СПб.: Наука, 2008. 544 с.
2. Глушенко Н.Н. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов. Дисс. ... докт. биол. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1988. 464 с.
3. Dimonie D., Dima S.O., Petrache M. Influence Of centrifugation on the molecular parameters of chitosan solubilized in weakly acidic aqueous solutions // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 2013. V. 8, N 4. P. 1799–1809.
4. Kasaai M.R. Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data // Carbohydrate Polymers. 2007. N 68. P. 477–488.
5. Apryatina K.V., Tkachuk E.K., Smirnova L.A. Influence of macromolecules conformation of chitosan on its graft polymerization with vinyl monomers and the copolymer properties // Carbohydrate Polymers. 2020. N 235. P. 115954.
6. Apryatina K.V., Griбанова M.V., Markin A.V., Sologubov S.S., Smirnova L.A. Silver nanoparticle–chitosan complexes and properties of their composites // Nanotechnologies in Russia. 2016. N 11. P. 766–775.
7. Quiñones, Peniche, & Peniche. 2018; Wang et al. 2017; Cánepa et al. 2017; Huang, Liu & Chen. 2017.
8. Албулов А.И., Фролова М.А., Буханцев О.В., Быкова В.М., Немцев С.В., Комаров Б.А. Хитозансодержащие биологически активные добавки к пище в рационализации питания населения // Рыбпром: технологии и оборудование для переработки водных биоресурсов. 2010. С. 25–28.
9. Vaseem M., Lee K.M., Kim D.Y., Hahn Y.B. Parametric study of cost-effective synthesis of crystalline copper nanoparticles and their crystallographic characterization // Materials Chemistry and Physics. 2011. V. 125, N 3. P. 334–341.
10. Khanna P.K., Gaikwad S., Adhyapak P.V., Singh N., Marimuthu R. Synthesis and characterization of copper nanoparticles // Materials Letters. 2007. V. 61, N 25. P. 4711–4714.
11. Sarkar A., Mukherjee T., Kapoor S. PVP-stabilized copper nanoparticles: a reusable catalyst for «Click» reaction between terminal alkynes and azides in nonaqueous solvents // The Journal of Physical Chemistry C. 2008. V. 112, N 9. P. 3334–3340.
12. Лилявина А.А., Гашевская А.С., Получение и исследование наночастиц меди, стабилизированных хитозаном // Теоретические и прикладные аспекты физической и аналитической химии: XVIII Международная научно-практическая конференция имени профессора Л.П. Кулёва, г. Томск, 2017 г. Томск: ТПУ, 2017. С. 213–215.
13. Солдатенко, Е.М., Доронин С.Ю., Чернова Р.К. Химические способы получения наночастиц // Бултеровские сообщения. 2014. Т. 37, № 1. С. 103–113.
14. Tanghatari M., Sarband Z.N., Rezaee S., Larijani K. Bulgarian Chemical Communications, Special Issue J. Sofia, 2017. 347 p.

15. Воробьев С.А. Образование наночастиц меди в водных растворах при восстановлении меди (II) гидразином, борогидридом натрия и аскорбиновой кислотой: дисс. ... канд. хим. наук. М.: ИХИХТ СО РАН. Красноярск, 2013. 129 с.

16. Литманович О.Е. Закономерности взаимодействий макромолекул с наночастицами металлов и псевдоматричный синтез золь полимерметаллических нанокомпозитов // Высокомолекулярные соединения С. 2008. Т. 50, № 7. С. 1370–1396.

17. Huang H., Yuan Q., Yang X. Preparation and characterization of metal-chitosan nanocomposites // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2004. V. 39. P. 31–37.

18. Zain N.M., Stapley A.G., Shama G. Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications // Carbohydr. Polym. 2014. V. 112. P. 195–202.

19. Muzzarelli R.A. Potential of chitin/chitosan-bearing materials for uranium recovery: An interdisciplinary review // Carbohydr. Polym. 2011. V. 84. P. 54–63.

20. Usman M.S., Ezzat el M., Shameli Z.K., Salama N.Z., Ibrahim N.A., et al. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles // Int. J. Nanomed. 2013. V. 17. P. 4467–4479.

21. Dang T.M., Le T.T., Fribourg-Blanc E., Dang M.C. The influence of solvents and surfactants on the preparation of copper nanoparticles by a chemical reduction method // Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol. 2011. V. 2. P. 29.

22. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М.: Химия. 1975. С. 169–219.

23. Pandis C., Logakis E., Kyritsis A., Pissis P., Vodnik V.V., Džunuzović E., Nedeljkovic J.M., Djokovic V., Rodríguez Hernández J.C., Gómez Ribelles J.L. Glass transition and polymer dynamics in silver/poly(methyl methacrylate) nanocomposites // European Polymer Journal. 2011. V. 47, N 8. P. 1514–1525.