

Zielone technologie w pozyskiwaniu nanomateriałów – zastosowanie białego winogrona (*Vitis vinifera*) w procesach otrzymywania srebra nanocząstkowego

Kamila DZIWOŃ, Jolanta PULIT-PROCIAK*, Marcin BANACH – Politechnika Krakowska, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2015, 69, 1, 33–38

Wstęp

Badania naukowe dowiodły, że właściwości cząstek o rozmiarach na poziomie nanometrycznym całkowicie różnią się od cząstek w skali makro. Przede wszystkim cząstki nanometryczne posiadają inne właściwości mechaniczne, optyczne, termiczne i elektryczne. Rozmiar cząstek odgrywa kluczową rolę w odkrywaniu nowych właściwości fizykochemicznych nanomateriałów [1,2].

Największe zainteresowanie, duży potencjał komercyjny a także najwyższy stopień innowacyjności wśród nanomateriałów posiadających właściwości biobójcze charakteryzuje srebro nanostrukturalne. Nanocząstki srebra, ze względu na swoją aktywność biobójczą, znajdują szerokie zastosowanie w takich dziedzinach, jak: kosmetologia, medycyna, farmacja. Dzięki swoim właściwościom służą jako doskonały środek bakterio- i grzybobójczy [3].

Metoda prowadzenia reakcji jest ważnym aspektem mającym wpływ na właściwości nanocząstek. Istnieje wiele metod otrzymywania nanostruktur (m.in. ablacja laserowa, napromieniowanie mikrofalowe), jednak metoda redukcji chemicznej jest najczęściej stosowanym sposobem otrzymywania nanocząstek. Metoda ta wymaga stosowania substancji redukujących jony Ag^+ oraz substancji stabilizujących otrzymane zawiesiny nanocząstek. Najczęściej używanymi reduktorami są formaldehyd, hydrazyna, kwas askorbinowy, a stabilizatorami – dodecylosulfonian sodu, kopolimery silikonowe, N,N-dimetyloformamid DMF, bromek cetylotrimetyloamoniowy, PVP. Użycie dwóch reagentów, czyli substancji redukującej i stabilizującej, wpływa na zwiększenie ilości wprowadzanych związków do układów nanometrycznych. Finalny produkt nie spełnia oczekiwań ekologicznych z powodu użycia syntetycznych związków (np. monomery PVP), które mogą okazać się szkodliwe dla organizmów żywych.

Dobór odpowiednich parametrów otrzymywania nanocząstek, takich jak: temperatura, pH, stężenie stabilizatora i reduktora, oraz sposób mieszania, pozwalają na uzyskanie pożądanych właściwości nanomateriałów (rozmiaru, kształtu, morfologii, stabilności) [2, 4÷6].

Poszukuje się proekologicznego rozwiązania otrzymywania nanocząstek. Takim rozwiązaniem może być wykorzystanie układów reakcyjnych opartych na połączeniach naturalnych. Ekstrakty roślinne są bezpieczne dla środowiska i zdrowia ludzi. Zawarte w nich związki pełnią rolę zarówno czynnika redukującego jak i stabilizującego [7]. Używanie ekstraktów roślinnych związane jest także z zastosowaniem zasad zielonej chemii, które mówią o wykorzystaniu do syntezy nietoksycznych substancji chemicznych, odnawialnych materiałów i rozpuszczalników przyjaznych środowisku. Istotną kwestią otrzymania srebra nanostrukturalnego z udziałem ekstraktów roślinnych jest ograniczenie zużycia surowców, niskie koszty procesu, użycie nieskomplikowanej aparatury, bezodpadowość. Można w tym przypadku mówić o procesie proekologicznym, gdyż produkt jest otrzymany z udziałem naturalnych składników, które nie zagrażają naturalnemu środowisku, a tym

samym są bezpieczne dla ludzi [8, 9]. Ważnym aspektem otrzymywania nanosrebra z użyciem ekstraktów roślinnych jest całkowita eliminacja organicznych rozpuszczalników, dzięki czemu uzyskane nanosrebro można zastosować w farmacji i biomedycynie.

Do otrzymania nanocząstek srebra Autorzy użyli wodnego ekstraktu z wysuszonych owoców winogrona [8, 10]. Ekstrakt z owoców winogron zawiera antyoksydanty, m.in. antyoksydanty hydrofilowe: glutation i witaminę C oraz antyoksydanty hydrofobowe: polifenole, witaminę E, ksantofile, karotenoidy, zredukowany koenzym Q10, antocyjaniny, fitoestrogeny i flawonoidy. Polifenole są naturalnymi przeciwutleniaczami i tworzą największą grupę związków pochodzenia roślinnego. Przykładem polifenoli są kwas galusowy i kwas elagowy, które mogą pełnić funkcję czynnika redukującego. Związki te mogą łatwo ulegać utlenieniu [11, 12].

Celem pracy było otrzymanie suspensji nanosrebra z udziałem wodnego ekstraktu z owoców białego winogrona oraz ocena wpływu parametrów procesu na właściwości fizykochemiczne nanocząstek srebra.

Wykorzystanie środowiska wodnego i materiałów odnawialnych, jakimi są ekstrakty roślinne, pozwala zakwalifikować metodę jako zgodną z zasadami zielonej chemii.

Część eksperymentalna

Surowce

Jako źródło jonów srebra do otrzymania nanocząstek srebra użyto azotanu(V) srebra (cz.d.a. 99,90–99,99%, Sigma Aldrich). Źródłem związków redukujących i stabilizujących był wodny ekstrakt otrzymany z wysuszonych owoców białego winogrona (Herbapol SA). Do regulacji pH użyto 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu (Sigma Aldrich.).

Metodyka otrzymywania ekstraktu z wysuszonych owoców winogrona

W wodnych ekstraktach zawarte są związki organiczne, które mają właściwości stabilizujące i redukujące. W celu ich pozyskania sporządzono wodne ekstrakty z suszonych owoców białego winogrona.

Dla przeprowadzenia procesu ekstrakcji w aparacie Soxhleta, odważono 10 g wysuszonych owoców białego winogrona i 300 g wody dejonizowanej. Czas ekstrakcji wynosił 7 godzin. Po zakończeniu procesu otrzymany ekstrakt przefiltrowano w celu oddzielenia substancji stałych od cieczy i przeprowadzono analizę spektrofotometryczną UV-Vis. Pomiar wykonano na Spektrofotometrze Rayleigh UVI800 w zakresie długości fali 330–1100 nm. W otrzymanych ekstraktach oznaczono całkowitą zawartość polifenoli, zawartość antocyjanów oraz zawartość kwasu askorbinowego. Wykonano również pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej. Związki, takie jak: polifenole, kwas askorbinowy czy antocyjany, odpowiedzialne są za redukcję jonów Ag^+ w procesie otrzymywania nanocząstek srebra.

Oznaczenie zawartości kwasu askorbinowego przeprowadzono metodą oksymetryczną, która polega na przeprowadzeniu reakcji

Autor do korespondencji:

Dr inż. Jolanta PULIT-PROCIAK, e-mail: jolantapulit@indy.chemia.pk.edu.pl

redoks z 2,6-dichlorodenołindofenolem. Oznaczenie całkowitej zawartości związków polifenolowych przeprowadza się metodami kolometrycznymi, jednak najczęściej stosowana jest metoda Follina-Ciocalteu (F-C). Podstawą tej metody jest odwracalna reakcja redukcji molibdenu(VI) do molibdenu(V) zawartego w odczynniku Follina-Ciocalteu, zachodząca w środowisku zasadowym przy udziale polifenoli [13, 14]. W oznaczeniu całkowitej zdolności antyoksydacyjnej metodą redukcji rodnika DPPH, przeciwutleniacze obecne w badanej próbce redukują stabilny rodnik azotowy 2,2-difenyl-1-pikrylohydrazyl (DPPH), powodując spadek absorpcji mierzonej przy długości fali 517 nm [11]. Oznaczenie zawartości antocyjanów w uzyskanych ekstraktach prowadzi się metodą kolometryczną, opisaną przez Fuleki'ego i Francisa [15].

Metodyka otrzymywania suspensji nanosrebra

Zawiesinę nanosrebra otrzymano przez zmieszanie 96 cm³ AgNO₃ z 4 cm³ ekstraktu, po czym ustalono zadane pH. Proces otrzymywania zawiesiny srebra nanokrystalicznego prowadzono przy ciągłym mieszaniu roztworu w temperaturze pokojowej i ciśnieniu atmosferycznym. Następnie próbki inkubowano w zadanej temperaturze (Tab. 1). Zmiennymi niezależnymi w procesie redukcji jonów srebra było stężenie azotanu(V) srebra, pH i temperatura, których wartości przedstawiono w Tabelcy 1. Otrzymane suspensje poddano badaniu spektrofotometrycznemu UV-Vis na Spektrofotometrze Rayleigh UVI800 oraz analizie dynamicznego rozpraszania światła (DLS) – w celu określenia wielkości cząstek oraz potencjału elektrokinetycznego. Badanie wykonano za pomocą aparatu Malvern Zetasizer Nano-ZS. Otrzymany na drodze wirowania suspensji proszek srebra nanokrystalicznego poddano obrazowaniu z wykorzystaniem techniki SEM za pomocą aparatu I430 VP firmy LEO Electron Microscopy Ltd.

Wyniki analizy dla ekstraktu z wysuszonych owoców białego winogrona

Zestawienie zawartości związków chemicznych zawartych w ekstrakcie roślinnym

W Tabelcy 2 przedstawiono wyniki analizy związków chemicznych w ekstrakcie z owoców winogrona.

Tabelca 1

Zestawienie wyników analizy dynamicznego rozpraszania światła

	Wielkości wejściowe			Wyniki							
	CAgNO ₃ mol/dm ³	pH	Temp °C	d _{sr} nm	ζ mV	d ₁ nm	I ₁ %	d ₂ nm	I ₂ %	t h	
1	0,000483	6	20	79,51	-24,8	112,8	96	18,36	4	166	
2	0,000483	9	60	48	-21,9	90,56	89,8	7,822	10,2	164	
3	0,000483	12	40	53,91	-18,1	87,64	93,5	12,58	6,5	43	
4	0,002656	12	20	20,07	-14,6	53,38	85,2	3,053	14,8	46	
5	0,004828	12	60	43,72	-13,6	93,7	82,5	12,35	17,5	47	

Tabelca 2

Wyniki analizy związków chemicznych w ekstrakcie z owoców winogrona

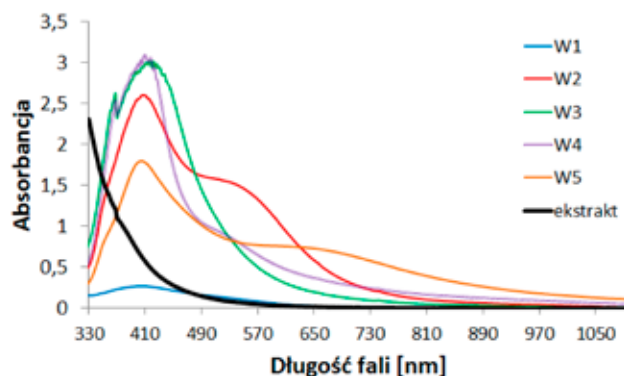
Nazwa związków	Jednostka	Zawartość związków w ekstrakcie
Polifenole	mg/cm ³	4,9913
Kwas askorbinowy	mg/cm ³	0,0083
Antocyjany	mg/l g.s.m.	0,0738
DPPH	%	0,5965

Otrzymane zawartości związków w ekstrakcie porównano z danymi literaturowymi. Wyznaczona zawartość polifenoli była większa o 30% w stosunku do danych literaturowych. W przypadku antocyjanów otrzymano 3-krotnie mniejszą zawartość niż podają dane literaturowe [16, 17].

Właściwości fizykochemiczne nanosrebra otrzymanego z udziałem ekstraktu roślinnego

Wyniki analizy spektrofotometrycznej UV-Vis

Na Rysunku 1 przedstawiono widma absorpcyjne otrzymanych suspensji. Analizowane układy zróżnicowane są przez parametry wejściowe procesu (temperatura, pH, stężenie AgNO₃). Na Rysunku 1 przedstawiono też widmo dla ekstraktu z winogrona.



Rys. 1. Widma spektrofotometryczne dla układów nanosrebra otrzymanego z udziałem ekstraktu z białego winogrona

Na widmach absorpcyjnych widoczny jest charakterystyczny pik dla nanocząstek Ag, znajdujący się przy długości fali ok. 400 nm, odpowiadający rezonansowi plazmonów powierzchniowych. Potwierdzono również, że widmo uzyskane dla ekstraktu nie przysłania piku pochodzącego od suspensji nanosrebra.

Wyniki analizy dynamicznego rozpraszania światła DLS

W Tabelcy 1 zestawiono wyniki analizy DLS otrzymanych suspensji nanosrebra, która wskazuje rozkład cząstek charakteryzowany przez modalność. Modalność określana jest przez średnią wielkość cząstek (d_{sr}, nm) oraz intensywność (I, %). Potencjał ζ charakteryzuje stabilność cząstek.

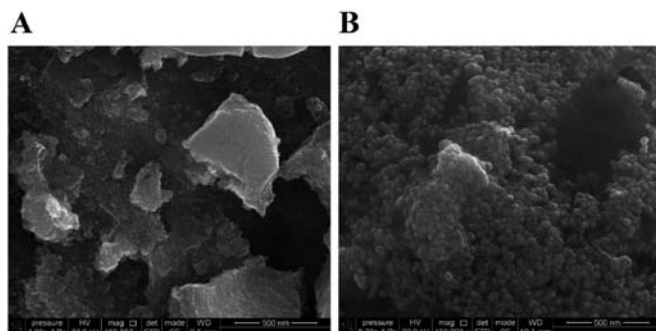
Wysoka wartość potencjału ζ wskazuje na występowanie stabilnej dyspersji. Ważne jest, aby parametry były tak dobrane, by dążyć do układu monomodalnego, tzn. aby intensywność (I₁, %) była jak największa, a rozkład wielkości nanocząstek (d₁, nm) był jak najmniejszy. Czas t, to czas reakcji, po którym nie następowały żadne zmiany w wyglądzie widm UV-Vis, co może sugerować zakończenie procesu redukcji jonów Ag⁺.

Na podstawie wyników określono wpływ parametrów procesu na parametry wyjściowe (potencjał elektrokinetyczny i rozmiar cząstek). Wzrost stężenia AgNO₃ prowadzi do wytworzenia dużej ilości zarodków. Wzrost temperatury intensyfikuje proces redukcji jonów srebra, natomiast wzrost pH wpływa na potencjał elektrokinetyczny, i tym samym na stabilizację. Ostatecznie wzrost wartości parametrów procesu implikuje otrzymanie cząstek o mniejszych rozmiarach.

Skaningowa mikroskopia elektronowa

Dzięki analizie mikroskopowej przeprowadzonej z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) można określić kształt cząstek nanostrukturalnego srebra (Rys. 2).

Otrzymane nanosrebro charakteryzuje się nieregularnym kształtem i rozmiarem od 20 do 120 nm.



Rys. 2. Zdjęcia SEM srebra nanostrukturalnego otrzymanego z udziałem ekstraktu z białego winogrona: A – układ 3; B- układ 9

Podsumowanie

Opracowano sposób otrzymywania nanosrebra z udziałem ekstraktu z winogrona, który jest naturalnym źródłem substancji pełniących funkcję reduktora i stabilizatora.

Proces ten można zakwalifikować jako proekologiczny. Uzyskanie nanosrebra przy użyciu substancji pochodzenia naturalnego daje nowe możliwości w zastosowaniu go w farmacji lub medycynie. Dzięki wynikom analizy potencjału elektrokinetycznego badanego srebra nanostrukturalnego, można stwierdzić, że suspensje charakteryzują się wysoką stabilnością.

Literatura

1. <http://umassk12.net/nano/2008summer/Gibson/Risks.pdf>, 15.10.2014
2. Subramani K., Ahmed W.: *Emerging nanotechnologies in dentistry, Processes Materials and Applications*. Elsevier 2012.
3. Pulit J., Banach M., Kowalski Z.: *Chemical reduction as the main method for obtaining nanosilver*. Journal of Computational Theoretical Nanoscience 2013, **10**, 2, 276–284.
4. Khan Z., Al-Thabaiti SA, Obaid A.Y., Al-Youbi A.O.: *Preparation and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2011, **82**, 2, 513–517.
5. Pulit J., Banach M., Tymczyna L., Chmielowiec-Korzeniowska A.: *Stan badań i kierunki zmian w otrzymywaniu nanostrukturalnego srebra*. Przemysł Chemiczny 2012, **91**, 5, 929–936.
6. Ghorbani H.R., Safekordi A.A., Attar H., Sorkhabadi S.M.R.: *Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis*. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 2011, **25**, 3, 317–326.
7. Kumar A., Chisti M.Y., Banerjee U.C.: *Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts*. Biotechnology Advances 2013, **31**, 2, 346–356.
8. Shukla V.K., Yadav R.S., Yadav P., Pandey A.C.: *Green synthesis of nanosilver as a sensor for detection of hydrogen peroxide in water*. Journal of Hazardous Materials 2012, **213–214**, 161–166.

9. Ahluwalia V.K., Kidwai M.: *Basic principles of green chemistry*. New Trends in Green Chemistry Springer 2004, 5–14.
10. Tiwari B.K., Patras A., Brunton N., Cullen P.J., O'Donnell C.P.: *Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice*. Ultrasonics Sonochemistry 2010, **17**, 3, 598–604.
11. Baydar N.G., Özkan G., Yaşar S.: *Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts*. Food Control Volume 2007, **18**, 9 1131–1136.
12. Meyer A.S., Heinonen M., Frankel E.N.: *Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation*. Food Chemistry 1998, **61**, 1–2, 71–75.
13. Turkmen N., Sari F., Velioglu Y.: *Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods*. Food Chemistry 2006, **99**, 4, 835–841.
14. Klimczak I., Malecka M., Szlachta M., Gliszczyńska-Świągło A.: *Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices*. Journal of Food Composition and Analysis 2007, **20**, 3–4, 313–322.
15. Fuleki T., Francis F.J.: *Quantitative methods for anthocyanins*. Journal of Food Science 1968, **33**, 1, 72–77.
16. Soyer Y., Koca N., Karadeniz F.: *Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices*. Journal of Food Composition and Analysis 2003, **16**, 629–636.
17. Burin V.M., Falcão L.D., Gonzaga L.V., Fett R., Rosier J.P., Bordignon-Luiz M.T.: *Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice*. Food Science and Technology (Campinas) 2010, **30**, 4, 1027–1032.

Inż. Kamila DZIWOŃ ukończyła studia pierwszego stopnia na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej (2013), specjalność – Proekologiczne technologie nieorganiczne. Obecnie jest studentką pierwszego roku studiów drugiego stopnia na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej, specjalność: Analityka Przemysłowa i Środowiskowa. Zainteresowania naukowe: nanotechnologia.

*Dr inż. Jolanta PULIT-PROCIĄK ukończyła studia na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej (2010), specjalność: Lekka Technologia Organiczna. Obecnie jest adiunktem na tej uczelni – specjalność: technologia chemiczna nieorganiczna.
e-mail: jolantapulit@indy.chemia.pk.edu.pl

Dr hab. inż. Marcin BANACH ukończył studia na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej (2006). Jest adiunktem na tej uczelni. Specjalność – technologia chemiczna nieorganiczna.

Aktualności z firm

News from the Companies

Dokończenie ze strony 32

330 mln PLN na innowacje w rolnictwie i leśnictwie oraz w medycynie

Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBR) rozstrzygnęło konkursy w dwóch programach strategicznych – StrategMed i BioStrateg. Na B+R w obszarze profilaktyki i leczenia chorób cywilizacyjnych oraz środowiska naturalnego, rolnictwa i leśnictwa, NCBR przeznaczy ponad 330 mln PLN. W I konkursie programu BioStrateg dofinansowanie w wysokości ponad 130 mln PLN otrzyma 9 najlepszych spośród 66 ocenianych przez ekspertów projektów. Realizowane projekty dotyczyć będą m.in. badań nad poprawą efektywności energetycznej oraz zwiększeniem udziału odnawialnych źródeł energii w rolnictwie,

opracowania innowacyjnych nawozów na bazie alternatywnego źródła surowca, stworzenia nowoczesnego systemu optymalizacji zagospodarowania dolin rzecznych i ich rewitalizacji oraz technologii poprawy jakości powietrza dzięki wykorzystaniu retencyjnej wody opadowej. W II konkursie programu StrategMed dofinansowanie w wysokości ponad 200 mln PLN otrzyma 12 najlepszych spośród 97 ocenianych przez ekspertów projektów. Wsparciem objęte zostaną m.in. opracowanie innowacyjnej technologii wytwarzania mikrosond laserowych służących do diagnostyki nowotworowej oraz badania nad nową terapią zaburzeń psychiatrycznych oraz w chorobie Huntingtona. (kk)

(<http://www.ncbir.pl>, 30.12.2014)

Dokończenie na stronie 38