

Ispitivanje uvjeta sinteze nanočestica srebra uz glukozu

Čačko, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:256485>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Sara Čačko

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Sara Čačko

ISPITIVANJE UVJETA SINTEZE NANOČESTICA SREBRA
UZ GLUKOZU

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof.dr.sc. Ana Vrsalović Presečki

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Ana Vrsalović Presečki
2. prof. dr. sc. Ana Lončarić Božić
3. izv. prof. dr. sc. Vanja Kosar

Zagreb, rujan 2019.

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Ani Vrsalović Presečki na stručnom vodstvu i pomoći prilikom izrade i pisanja završnog rada.

Veliko hvala mag. ing. oecoing. Leli Martinaga na velikoj pomoći, brojnim savjetima i uputama kako u eksperimentalnom radu tako i u pisanju ovoga rada.

Zahvaljujem se svim prijateljima i kolegama koji su mi uljepšali boravak na fakultetu, a posebno hvala Mislavu što je vjerovao u mene i bio mi velika podrška i motivacija.

I na kraju zahvaljujem se svojim roditeljima i obitelji na razumijevanju, podršci i poticanju tijekom studiranja.

SAŽETAK

Nanotehnologija je područje koje naglo raste pronalazeći primjenu u znanosti i tehnologiji. Nanočestice srebra zbog svojih antimikrobnih svojstava su trenutačno najzastupljenije u proizvodnji dezodoransa, odjeće, zavoja, otopina za čišćenje, sprejeva i medicinskih proizvoda.

U okviru ovoga rada provedena je ekološki prihvatljiva sinteza nanočestica srebra uz upotrebu glukoze kao reducensa. Pri tome su ispitani uvjeti reakcije tj. različite početne koncentracije srebrova nitrata, AgNO_3 i glukoze u svrhu nastanka nanočestica što manjih veličina i što veće koncentracije.

Provedeno ispitivanje pokazalo je da početna koncentracija glukoze ima blagi utjecaj na reakciju sinteze nanočestica srebra, dok je utjecaj koncentracije AgNO_3 veći. Veličina sintetiziranih nanočestica srebra najmanja je pri najnižoj koncentraciji glukoze od 5 mM i najvišoj koncentraciji AgNO_3 , dok je brzina sinteze nanočestica najveća pri koncentraciji glukoze od 7 mM. Porast koncentracija sintetiziranih nanočestica srebra prisutan je s porastom koncentracije AgNO_3 .

Ključne riječi: nanočestice, srebro, glukoza, ekološki prihvatljiva sinteza

ABSTRACT

Nanotechnology is a rapidly growing field with its application in science and technology. Due to their antimicrobial properties, silver nanoparticles are currently most prevalent in the production of deodorants, clothing, bandages, cleaning solutions, sprays and medical products.

This study demonstrates an environmentally friendly synthesis of silver nanoparticles using glucose as a reducing agent. The reaction conditions ie different initial concentrations of silver nitrate, AgNO_3 and glucose, in order to synthesis of nanoparticles of smaller size and high concentration were examined.

Performed investigation has shown that initial glucose concentration had a slight influence on the synthesis reaction of silver nanoparticles, while the influence of AgNO_3 concentration was greater. The size of synthesized silver nanoparticles is the smallest at the lowest glucose concentration of 5 mM and the highest concentration of AgNO_3 , while the nanoparticle synthesis rate is higher at the glucose concentration of 7 mM. An increase concentration of synthesized silver nanoparticles is present with an increase of AgNO_3 concentration.

Key words: nanoparticles, silver, glucose, green synthesis

SADRŽAJ:

1.	UVOD	1
2.	OPĆI DIO.....	2
2.1.	Nanotehnologija.....	2
2.2.	Nanočestice.....	2
2.3.	Nanočestice srebra	3
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	7
3.1.	APARATURA.....	7
3.1.1.	Kotlasti reaktor	7
3.1.2.	Spektrofotometar	7
3.1.3.	pH metar	8
3.1.4.	Analitička vaga.....	9
3.1.5.	Malvern Nanosight LM10.....	9
3.2.	ANALITIČKE METODE	10
3.2.1.	Određivanje koncentracije glukoze.....	10
3.2.2.	Određivanje koncentracije škroba.....	11
3.2.3.	Određivanje apsorpcijskog spektra nanočestica srebra.....	12
3.2.4.	NTA metoda.....	12
3.3.	SINTEZA NANOČESTICA SREBRA U REAKTORU	12
4.	REZULTATI I RASPRAVA	15
4.1.	ISPITIVANJE UVJETA SINTEZE NANOČESTICA SREBRA.....	15
4.1.1.	Praćenje sinteze nanočestica srebra.....	15
4.1.2.	Utjecaj glukoze na sintezu nanočestica srebra	19
4.1.3.	Praćenje koncentracije škroba tijekom sinteze nanočestica srebra	21
4.1.4.	Praćenje pH vrijednosti tijekom reakcije	23
4.2.	KARAKTERIZACIJA SINTETIZIRANIH NANOČESTICA SREBRA	24
5.	ZAKLJUČAK	26
6.	POPIS SIMBOLA I KRATICA	27
7.	LITERATURA.....	28
8.	PRILOZI.....	30
9.	ŽIVOTOPIS	32

1. UVOD

Nanotehnologija je novo područje koje naglo raste pronalazeći primjenu u znanosti i tehnologiji stvaranjem funkcionalnih materijala, naprava i sustava, kontrolom materijala na nanometarskoj skali (1–100 nm) te iskorištavanjem novih fenomena i svojstava koji se javljaju pri ovim dimenzijama.¹ Napredak u ovom području otvorio je mogućnosti brojnih primjena u svakodnevnom životu te se nanomaterijali danas sve više primjenjuju u različitim potrošačkim proizvodima i uređajima. Iako nanotehnologija ima brojne prednosti, njeni učinci na okoliš i ljudsko zdravlje još uvijek se istražuju.²

Nanočestice se trenutno naširoko upotrebljavaju u optoelektroničkim uređajima, biokemijskim senzorima, pročišćavanju voda i katalizatorima, a očekuje se da će sve veću ulogu imati i u kemoterapijama, liječenju te prehrambenoj industriji.³ Sve veću pozornost u posljednje vrijeme primaju metalne nanočestice zbog mogućnosti njihove primjene u mikroelektronici, katalizi i optici budući da za razliku od većih čestica imaju jedinstvena svojstva zahvaljujući svojoj strukturi i velikoj površini s visokim postotkom atoma na površini.⁴

Zbog sve veće potražnje i primjene nanočestica razvijaju se ekološki prihvatljive metode njihove sinteze manje opasne za okoliš i čovjeka, a u kojima se koriste netoksične kemikalije, ekološki prihvatljiva otapala i obnovljivi materijali.

U ovome radu provedena je ekološka sinteza nanočestica srebra uz upotrebu glukoze kao reducensa, s ciljem određivanja reakcijskih uvjeta pogodnih za sintezu nanočestica što manjih veličina i što većih koncentracija.

2. OPĆI DIO

2.1. Nanotehnologija

Nanotehnologija je interdisciplinarna znanost koja se oslanja na temeljna svojstva čestica nano veličine odnosno čestica dimenzija u rasponu od 1-100 nm. Temelji se na spoznaji da čestice materijala veličine manje od 100 nm imaju drugačija svojstva od makročestica istog materijala te daju nanomaterijalima, napravama i sustavima koje izgrađuju nova svojstva i mijenjaju način na koji se ponašaju. Nanotehnologija se ponekad definira kao inženjerstvo materijala s atomskom preciznošću ili kao skupina tehnologija u kojima se struktura tvari kontrolira na nanometarskoj skali da bi se proizveli novi materijali i naprave s korisnim i jedinstvenim svojstvima. Cilj nanotehnologije je razviti nove proizvode i tehnologije koji će unaprijediti život ljudi u različitim područjima, poput zdravstva, energetike, elektronike, tehnologije materijala, zaštite okoliša i slično.¹

2.2. Nanočestice

Nanočestice su čvrste čestice koje mogu biti monokristalne ili polikristalne strukture. Značajan motiv da se proizvode čestice nano veličine je taj da se svojstva materijala na nanoskali mijenjaju. Sa smanjivanjem veličine čestica u nanopodručje dolazi do promjene u apsorpcijskom spektru, talištu, strukturi, kemijskoj reaktivnosti i drugim svojstvima.¹ Razna fizikalno - kemijska svojstva kao što su veća specifična površina, optička aktivnost, mehanička čvrstoća, magnetska svojstva i kemijska reaktivnost čine ih jedinstvenim i prikladnim za različite primjene. Kao takve se primjenjuju u proizvodnji lijekova i materijala, uklanjanju onečišćenja u otpadnim vodama, elektroničkoj i mehaničkoj industriji, za generiranje energije fotoelektrokemijskim i elektrokemijskim cijepanjem vode i u mnogim drugim područjima.⁵

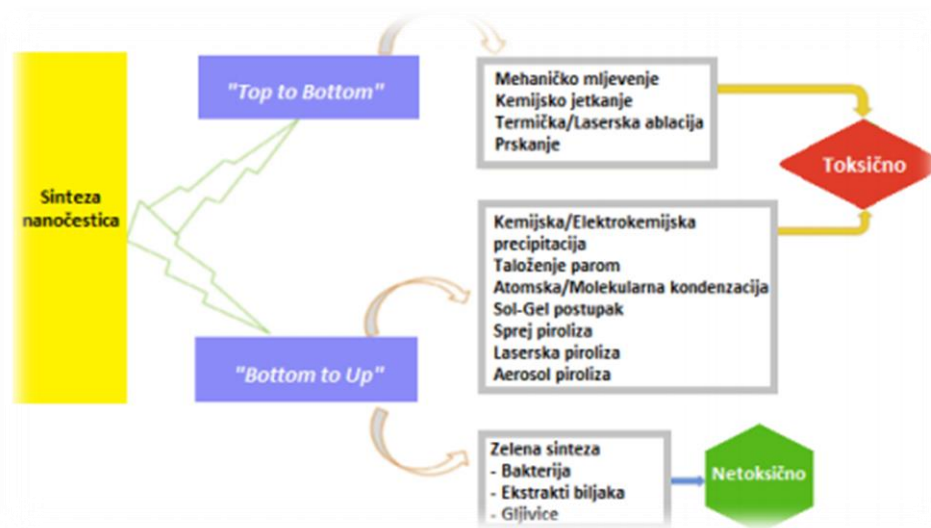
Najveće količine nanočestica koriste se u proizvodnji kompozitnih materijala kao punilo i ojačavalo. Svojstva kompozita su bolja kada je bolja interakcija između njegovih konstituenata, a bolje interakcije osigurava velika površina nanoobjekata. Nanočestice osim mehaničkih svojstava poboljšavaju i kemijsku postojanost, toplinsku stabilnost i negorivost, smanjuju emisije štetnih plinova pri gorenju, povećavaju UV stabilnost, poboljšavaju površinska svojstva, električnu vodljivost, optičku transparentnost te smanjuju propusnost. Iz navedenog je vidljiva velika korisnost i široka primjena nanočestica u raznim područjima industrije.¹

Tri su glavne metode sinteze nanočestica: fizikalna, kemijska i biološka metoda. Korištenje fizikalnih metoda u sintezi nanočestica je povoljno u smislu nastajanja jednoličnih monodisperznih nanočestica pri čemu ne dolazi do onečišćenja otapalom, no stvaraju se velike količine otpada zbog čega takve metode nisu ekonomične. U fizikalnim metodama primjenjuje se visoka energija zračenja, mehanički pritisak, električna ili toplinska energija kako bi se uzrokovalo taljenje, abrazija materijala, isparavanje ili kondenzacija za dobivanje nanočestica. Neke od najčešćih fizikalnih metoda koje se koriste za sintezu nanočestica su kuglasto mljevenje visoke energije (engl. *high energy ball milling*), laserska ablacija (engl. *laser ablation*), elektroprskanje (engl. *electrospraying*), kondenzacija inertnog plina (engl. *inert gas condensation*), fizikalno taloženje para (engl. *physical vapour deposition*), laserska piroliza (engl. *laser pyrolysis*), piroliza raspršivača plamena (engl. *flame spray pyrolysis*) te miješanje taline (engl. *melt mixing*). Kod kemijskih metoda sinteze nanočestica primjenjuju se jednostavne tehnike. Sinteze se vrše pri nižim temperaturama te je moguća raznolikost veličine i oblika sintetiziranih nanočestica. Sol-gel metoda, tehnika mikroemulzije, hidrotermalna sinteza, sinteza poliola, kondenzacija kemijske pare i tehnika kemijskog taloženja isparenih para u plazmi (engl. *plasma enhanced chemical vapour deposition technique*) su neke od najčešće korištenih kemijskih metoda za sintezu nanočestica. Biološki potpomognute metode (biosinteza ili zelena sinteza) pružaju ekološki prihvatljiv, nisko-toksičan, isplativ i učinkovit protokol za sintezu i proizvodnju nanočestica. Biološke metode koriste biološke sustave, kao što su bakterije, gljivice, virusi, biljni ekstrakti, enzimi itd. za sintezu nanočestica metala i oksida metala.⁶

2.3. Nanočestice srebra

Nanočestice srebra su najšire korištene metalne nanočestice. Srebro se zbog svojih jedinstvenih baktericidnih, optičkih, katalitičkih i drugih svojstava koristi za brojne namjene, poput vodljivih pasta, katalizatora, senzora, fotonaponskih naprava, ali prije svega kao baktericidno sredstvo. Nanočestice srebra kataliziraju stvaranje radikala kisika koji oksidira molekulske strukture bakterija pa nanošenje srebra na površine različitih proizvoda čini te površine otpornim na rast bakterija. Baktericidna svojstva srebra eksploatiraju se u različitim industrijama, pa osim medicinskih postoje raznovrsni proizvodi s nanosrebrom poput uređaja, odjeće i obuće, raznih predmeta u kućanstvu, predmeta za osobnu upotrebu pa i dječjih igračaka. Proizvodi koji sadrže nanočestice srebra koriste se i u poljoprivredi, građevinarstvu te brojnim drugim djelatnostima.¹

Sinteza nanočestica srebra, zbog svoje široke primjene, je od velikog interesa za znanstvenu zajednicu. Navedene nanočestice najčešće se pripremaju procesom fizikalnog prevlačenja u parnoj fazi (engl. *Physical Vapour Deposition*, PVD) ili redukcijom soli srebra prikladnim reducensom u prisutnosti stabilizatora.¹ Nanočestice srebra mogu se dobiti pomoću dvije glavne metode (Slika 2.1). Metoda „*Top to Bottom*“ uključuje mehaničko mljevenje materijala i stabilizaciju dobivenih nanočestica dodatkom stabilizirajućeg agensa, dok metoda „*Bottom to Up*“ uključuje kemijsku redukciju metala i njena najveća prednost je da se u kratkom vremenu može sintetizirati velika količina nanočestica. Reducensi koji se najčešće koriste tijekom kemijskih metoda su borohidrid, citrat, askorbat i elementarni vodik. Redukcija različitih kompleksa sa srebrovim ionima vodi do stvaranja atoma srebra, koju slijedi aglomeracija u oligomerne skupine iz kojih će se u konačnici formirati koloidne čestice srebra.⁷



Slika 2.1 Različiti pristupi sinteze nanočestica⁶

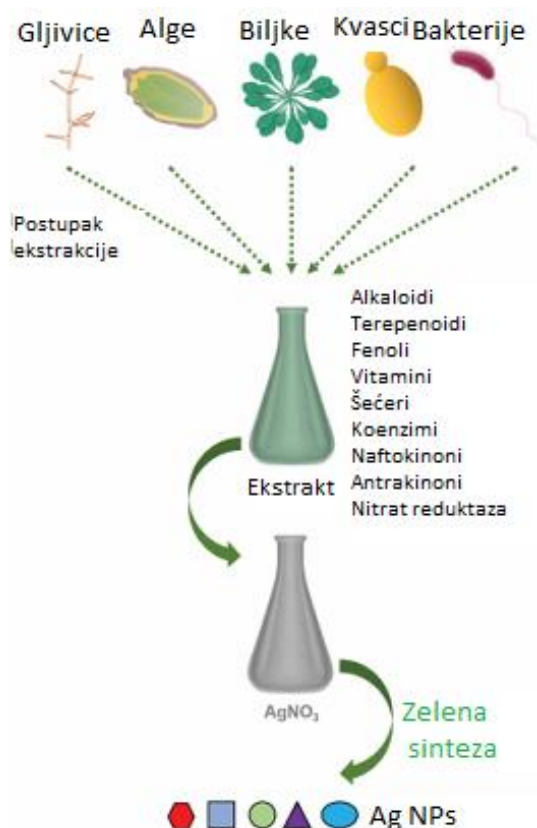
Kemijske i fizikalne metode sinteze rezultiraju čistim i dobro oblikovanim nanočesticama, no sami procesi mogu biti energetski zahtjevni, a kemikalije koje se pritom koriste su skupe i toksične što dobivene nanočestice čini neprikladnim za biološku primjenu.⁸ Opasnost za okoliš dolazi, osim od kemikalija koje se koriste kao prekursori, i od toksičnih otapala i nusproizvoda koji nastaju tijekom sinteze. Kao posljedica navedenog razvija se novo područje istraživanja koje upotrebljava biološke sustave za sintezu nanočestica.⁹

U novije vrijeme biosinteza nanočestica je sve poželjnija u razvoju nanotehnologije, gdje se mikroorganizmi, biljna biomasa ili ekstrakti nameću kao alternativa kemijskim i fizikalnim metodama. Ovi postupci se provode pri sobnim temperaturama i atmosferskom tlaku čime se

uvelike smanjuje potrošnja energije, te bez upotrebe toksičnih kemikalija. Kao prednost u ovim alternativnim metodama, osim ekološke prihvatljivosti, navodi se i velika financijska ušteda.⁷

Zelena sinteza obuhvaća tri glavna koraka koja su u skladu s načelima zelene kemije. Koraci podrazumijevaju odabir prihvatljivog otapala, ekološki prihvatljivog reducirajućeg agensa i netoksičnih supstanci za stabilizaciju čestica. Ekstrakti organizama mogu se koristiti i kao reducensi i kao stabilizatori u sintezi nanočestica. Reducensi srebranih iona koji se nalaze u ekstraktima koji se sastoje od aminokiselina, polisaharida, proteina i vitamina su bezopasni za okoliš.¹⁰ Pojava žute do smečkaste boje u do tada bezbojnoj otopini indikator je sintetiziranih nanočestica. Kod metalnih nanočestica kao što je srebro ova boja je rezultat fenomena površinske plazmonske rezonancije (SPR, engl. *surface plasmon resonance*). SPR je kolektivna oscilacija slobodnih elektrona metalnih nanočestica u rezonanciji s frekvencijom svjetlosnog vala zbog čega se pojavljuje obojeni pojas.⁹

Biolška sinteza nanočestica može biti posredovana gljivicama, biljkama, algama, kvascima i bakterijama (Slika 2.2).¹¹



Slika 2.2 Prikaz procedure zelene sinteze nanočestica srebra¹¹

Upotreba bakterija za sintezu dobiva na važnosti zbog uspješnosti metode, lakog rukovanja i mogućnosti genetičke modifikacije. Biosintetske metode pomoću bakterija mogu se podijeliti na intercelularnu i ekstracelularnu sintezu, ovisno o mjestu gdje se formiraju nanočestice. Bakterije je moguće koristiti kao biotvornice za sintezu nanočestica srebra. Prvi takav poznati slučaj sinteze bio je posredovan bakterijom *Pseudomonas stutzeri* AG259, izoliranom iz rudnika srebra, koja je akumulirala nanočestice unutar periplazmatskog prostora. Također, moguća je i redukcija nanočestica otpuštanjem bakterijskih biomolekula u vanjski medij u kojem će se one oformiti.^{12,13}

Stanična masa ili ekstracelularne komponente iz gljivica kao što su *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus clavatus* i *Penicillium brevicompactum* koriste se za redukciju nanočestica srebra. Gljivice posjeduju neke karakteristične prednosti nad ostalim organizmima, lako ih je uzgojiti i rukovati s njima.¹²

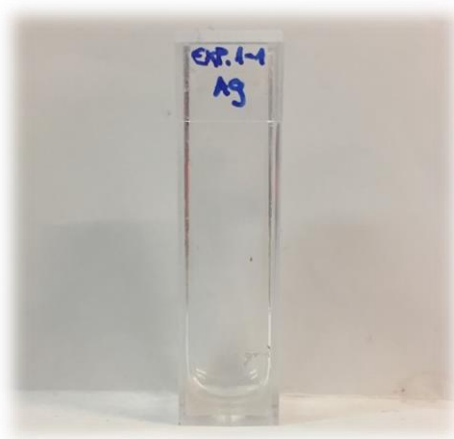
Sinteza posredovana mikroorganizmima nije najbolje rješenje za industrijsku proizvodnju jer zahtjeva skup medij i visoko aseptične uvjete.¹² Postupak sinteze korištenjem biljnog ekstrakta vrlo je jednostavan i zahtjeva manje uloženog vremena, ali disperzija nanočestica nije uvijek jednolika.¹³ Za ekstrakciju reducirajućih agensa iz biljaka preferira se voda, ali moguće je koristiti i organska otapala kao što su metanol, etanol i etilni acetat. Biljne materijale moguće je tretirati u slanim ili acetatnim atmosferama prije ekstrakcije. U većini slučajeva komponente ekstrakta (metaboliti, proteini i klorofil) prisutne u stanici služe kao stabilizatori, stoga ih nije potrebno naknadno dodavati.¹⁴

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. APARATURA

3.1.1. Kotlasti reaktor

Kotlasti reaktor radi u nestacionarnom stanju i zatvoren je za izmjenu reakcijske mase s okolinom. Karakterizira ga približno idealno miješanje što omogućuje da je reaktorski prostor homogen odnosno da svaka točka u reaktorskom prostoru ima približno istu vrijednost svih parametara. U ovom radu za sintezu nanočestica srebra korišten je plastični kotlasti reaktor volumena 2 mL (*Slika 3.1*).



Slika 3.1 Kotlasti reaktor

3.1.2. Spektrofotometar

Spektrofotometar je instrument za analizu spektra elektromagnetskog zračenja. Apsorpcija svjetlosti kroz otopinu matematički se može opisati Beer-Lambertovim zakonom (*jedn.3.1*) gdje je ABS apsorbancija na danoj valnoj duljini svjetlosti, ε je molarni apsorpcijski koeficijent [$L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$], svojstven svakoj molekulskoj vrsti i ovisan o valnoj duljini svjetlosti, b je duljina puta svjetlosti kroz uzorak [cm], a c je koncentracija tvari u otopini [mol L^{-1}].

$$ABS = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (3.1)$$

U ovom radu korišten je UV/VIS spektrofotometar, *Shimadzu UV-1800*, za praćenje sinteze nanočestica srebra i određivanje koncentracije glukoze i škroba (*Slika 3.2*).



Slika 3.2 Spektrofotometar *Shimadzu UV-1800*

3.1.3. pH metar

U ovom radu korišten je pH metar *Schott* za praćenje pH vrijednosti otopine tokom reakcija sinteze nanočestica srebra (*Slika 3.3*).



Slika 3.3 pH metar *Schott*

3.1.4. Analitička vaga

Sve mase tvari u čvrstom agregatnom stanju potrebne za provođenje eksperimenata vagane su na analitičkoj vagi *Shimadzu* (Slika 3.4).



Slika 3.4 Analitička vaga *Shimadzu*

3.1.5. Malvern Nanosight LM10

Malvern Nanosight LM10 (Slika 3.5) je uređaj kojim se određuje veličina i koncentracija nanočestica primjenom analize praćenja, odnosno NTA metodom (engl. *Nanoparticle Tracking Analysis*, NTA). Ova metoda omogućuje brzu i točnu analizu raspodjelu veličina i koncentracije svih vrsta nanočestica promjera 10-2000 nm ovisno o konfiguraciji instrumenta i tipu uzorka. Metoda se temelji na praćenju pojedinačnih čestica u otopini koje se kreću pod utjecajem Brownovog gibanja, tako da se na njih usmjeri laserska zraka, a pri tome nastaje svjetlost na površini otopine koja se raspršuje ovisno o veličini nanočestica i indeksu refleksije. Raspršena svjetlost i kretanje nanočestica detektira se pomoću mikroskopa i kamere u dvije dimenzije u stvarnom vremenu. Hidrodinamički radijus nanočestica određuje se primjenom Stoke-Einsteinove jednadžbe, praćenjem putanje pojedine nanočestice u dvije dimenzije te na temelju kvadratne udaljenosti koju nanočestica prijeđe, dok se koncentracija mjeri kao broj čestica u mililitru otopine.¹⁵

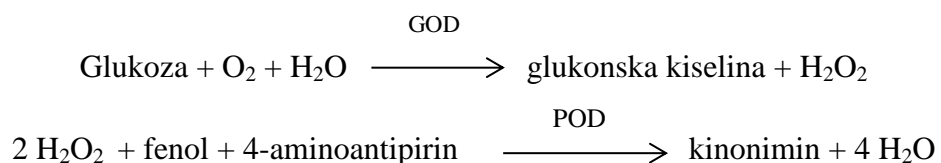


Slika 3.5 Malvern Nanosight LM10¹⁵

3.2. ANALITIČKE METODE

3.2.1. Određivanje koncentracije glukoze

Koncentracija glukoze određivana je pomoću glukoza PAP testa, koji se temelji na reakciji razgradnje glukoze u prisustvu glukoza oksidaze na glukonsku kiselinu i vodikov peroksid, koji u reakciji s 4-aminoantipirinom i fenolom te uz prisustvo peroksidaze iz reagensa uzrokuje obojenje otopine. Jačina obojenja otopina proporcionalna je koncentraciji nastalog peroksida odnosno koncentracije glukoze.



Navedena metoda koristi reagens koji je otopina 4-aminoantipirina, glukoza oksidaze (GOD) i peroksidaze (POD) u fosfatnom puferu s fenolom, pH 7,4 +/- 0,05 (u daljnjem tekstu: reagens).¹⁶

Za izradu baždarnog dijagrama (*Prilog 1, Slika 9.1.*) korištene su standardne otopine glukoze točno određenih koncentracija (*Prilog 1, Tablica 9.1*) pripremljene iz temeljne otopine glukoze koncentracije 100 mM. Volumenu od 10 μL pojedine standardne otopine glukoze dodano je po 1000 μL reagensa i inkubirano 30 minuta nakon čega je izmjerena apsorbancija tako pripremljene otopine u plastičnim kivetama na valnoj duljini od 500 nm (*Slika 3.6*). Rezultat mjerenja je baždarni dijagram, odnosno ovisnost apsorbancije uzorka o koncentraciji glukoze, tj. jednadžba pravca korištena za određivanje koncentracije glukoze u uzorcima prilikom provođenja reakcija.



Slika 3.6 Prikaz plastičnih kiveta sa standardnim otopinama glukoze različitih koncentracija (0 - 30 mM) nakon 30 minuta inkubiranja

3.2.2. Određivanje koncentracije škroba

Koncentracija škroba određuje se pomoću jodnog reagensa na spektrofotometru pri valnoj duljini $\lambda = 580 \text{ nm}$ u kvarcnim kivetama. Jodni reagens je smjesa otopine joda, koncentracije 5 mmol dm^{-3} i kalijevog jodida, koncentracije 5 mmol dm^{-3} , koja u prisustvu škroba poprima tamno plavo obojenje. Intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji škroba u otopini. Jodni reagens je nakon pripreme miješan na magnetnoj miješalici te je ujedno i termostatiran prije svake upotrebe oko 60 minuta.

Temeljna otopina škroba, koncentracije 20 g dm^{-3} , pripremljena je otapanjem 0,5 g škroba u 25 mL pročišćene vode, a s obzirom na slabu topljivost škroba u vodi, temeljna otopina je konstantno miješana prilikom izrade baždarnog dijagrama.

Baždarni dijagram za određivanje koncentracije škroba dobiven je mjerenjem apsorbancija otopina točno određenih koncentracija škroba pripremljenih prema *tablici 9.2* (*Prilog 2*) iz temeljne otopine škroba koncentracije 20 g dm^{-3} . U kvarcne kivete dodani su

određeni volumeni vode i otopine škroba točno određene koncentracije te 0,9 mL jednog reagensa. Otopina je homogenizirana te je izmjerena apsorbanacija na 580 nm. Prema dobivenom baždarnom dijagramu (*Prilog 2, Slika 9.2.*), tj. korištenjem dobivene jednadžbe pravca izračunate su i koncentracije škroba u uzorcima tijekom reakcija koje su provedene.

3.2.3. Određivanje apsorpcijskog spektra nanočestica srebra

U svrhu praćenja sinteze nanočestica srebra, tijekom reakcije su mjereni apsorpcijski spektri uzoraka izuzetih iz reaktora u rasponu od 300 do 700 nm korištenjem UV/VIS spektrofotometra. Karakteristični pikovi u području između 400 do 450 nm ukazuju na nastanak nanočestica srebra. Mjerenja su provedena u kvarcnim kivetama.

3.2.4. NTA metoda

Za određivanje veličine i koncentracije sintetiziranih nanočestica korištena je NTA metoda odnosno uređaj *Malvern Nanosight LM10*.

Uzorci su razrijeđeni 100 puta i plastičnom injekcijom injektirani u komoru uređaja. Na uzorak se usmjerava laserska zraka pri čemu nastaje svjetlost na površini otopine koja se raspršuje ovisno o veličini nanočestica i indeksu refleksije.

3.3. SINTEZA NANOČESTICA SREBRA U REAKTORU

Nanočestice srebra sintetizirane su u plastičnim kotlastim reaktorima volumena 2 mL, reakcijom soli srebra, odnosno srebrovog nitrata, AgNO_3 , glukoze i škroba u 0,1 M citratnom puferu pH 5,5. Provedeno je dvanaest eksperimenata u kojima je ispitan utjecaj različitih koncentracija glukoze odnosno AgNO_3 na sintezu nanočestica srebra. Popis provedenih eksperimenata dan je u *tablici 3.1*

Tablica 3.1 Plan provedbe eksperimenata

EXP	c (AgNO ₃) [mM]	c (glukoza) [mM]	škrob
1-1	0,1	10	1%
1-2	0,25	10	1%
1-3	0,43	10	1%
1-4	1	10	1%
2-1	0,1	7	1%
2-2	0,25	7	1%
2-3	0,43	7	1%
2-4	1	7	1%
3-1	0,1	5	1%
3-2	0,25	5	1%
3-3	0,43	5	1%
3-4	1	5	1%

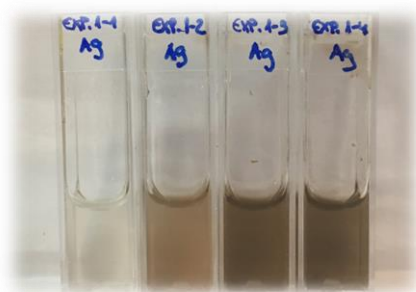
Postupak provedbe eksperimenata analogan je u sva 3 seta. Prvo su pripremljene temeljne otopine. Temeljna otopina srebra koncentracije 10 mM, pripremljena je tako da je 0,0055 g soli AgNO₃ otopljeno u 3,24 mL citratnog pufera. Temeljna otopina glukoze koncentracije 50 mM, je pripremljena otapanjem 0,018 g glukoze u 2 mL citratnog pufera, a temeljna otopina škroba koncentracije 20 g dm⁻³ je pripremljena otapanjem 0,5 g škroba u 25 mL redestilirane vode.

U reaktore je prvotno stavljen određen volumen citratnog pufera, zatim temeljne otopine škroba i glukoze te na kraju određen volumen temeljne otopine AgNO₃ čime je započeta reakcija. U *tablici 3.2* prikazan je sastav reaktora u eksperimentima.

Tablica 3.2. Sastav reaktora za pokretanje reakcije

EXP	c (AgNO ₃) [mM]	V (AgNO ₃ , t.o.) [μL]	c (glukoza) [mM]	V (glukoza, t.o.) [μL]	γ (škrob) [mg/mL]	V (škrob, t.o.) [μL]	V (pufer) [μL]
1-1	0,1	20	10	400	1%	1000	580
1-2	0,25	50	10	400	1%	1000	550
1-3	0,43	86	10	400	1%	1000	514
1-4	1	200	10	400	1%	1000	400
2-1	0,1	20	7	280	1%	1000	700
2-2	0,25	50	7	280	1%	1000	670
2-3	0,43	86	7	280	1%	1000	634
2-4	1	200	7	280	1%	1000	520
3-1	0,1	20	5	200	1%	1000	780
3-2	0,25	50	5	200	1%	1000	750
3-3	0,43	86	5	200	1%	1000	714
3-4	1	200	5	200	1%	1000	600

U određenim vremenskim intervalima reakcija je praćena mjerenjem pH vrijednosti otopine, snimanjem apsorpcijskog spektra otopine te određivanjem koncentracija glukoze i škroba (Slika 3.8). pH vrijednost izmjerena je tako što je u reaktor uronjen pH metar i očitana pH vrijednost. Spektar je izmjeren u području 300-700 nm analizom otopine na UV/VIS spektrofotometru tako što je iz reaktora uzeto 1000 μL uzorka i stavljeno u kvarcnu kivetu koja je zatim postavljena u spektrofotometar. Koncentracija glukoze u otopini reaktora određena je *Glukoza PAP* testom, postupkom opisanim u poglavlju 3.2.1., dok je koncentracija škroba u otopini određena pomoću jednog reagensa postupkom opisanim u poglavlju 3.2.2. Koncentracije glukoze i škroba iz reaktora proračunate su korištenjem prethodno dobivenih jednadžbi pravaca za glukožu, odnosno škrob.



Slika 3.8 Reakcijske otopine 1. seta reakcija 144 sata nakon pokretanja reakcije

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu provedena je sinteza nanočestica srebra uz glukozu. Cilj je bio odrediti prikladne uvjete za sintezu nanočestica srebra što manjih veličina i što veće koncentracije odnosno ispitati utjecaj koncentracije glukoze i AgNO_3 na brzinu nastajanja nanočestica srebra.

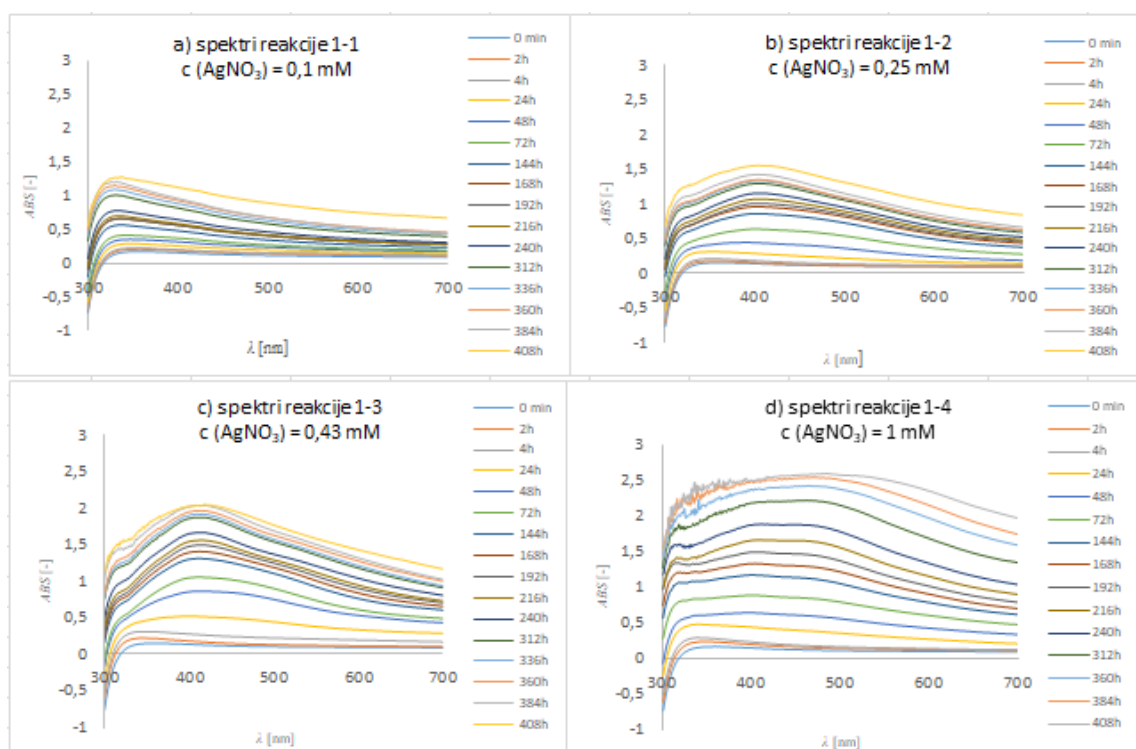
4.1. ISPITIVANJE UVJETA SINTEZE NANOČESTICA SREBRA

U svrhu ispitivanja uvjeta sinteze nanočestica srebra provedeno je 12 eksperimenata (*Tablica 3.2*) na temelju kojih su procijenjeni uvjeti koji pogoduju sintezi nanočestica srebra što veće koncentracije i što manjih veličina. Reakcije su praćene spektrofotometrijski, a sintetizirane nanočestice karakterizirane su NTA metodom.

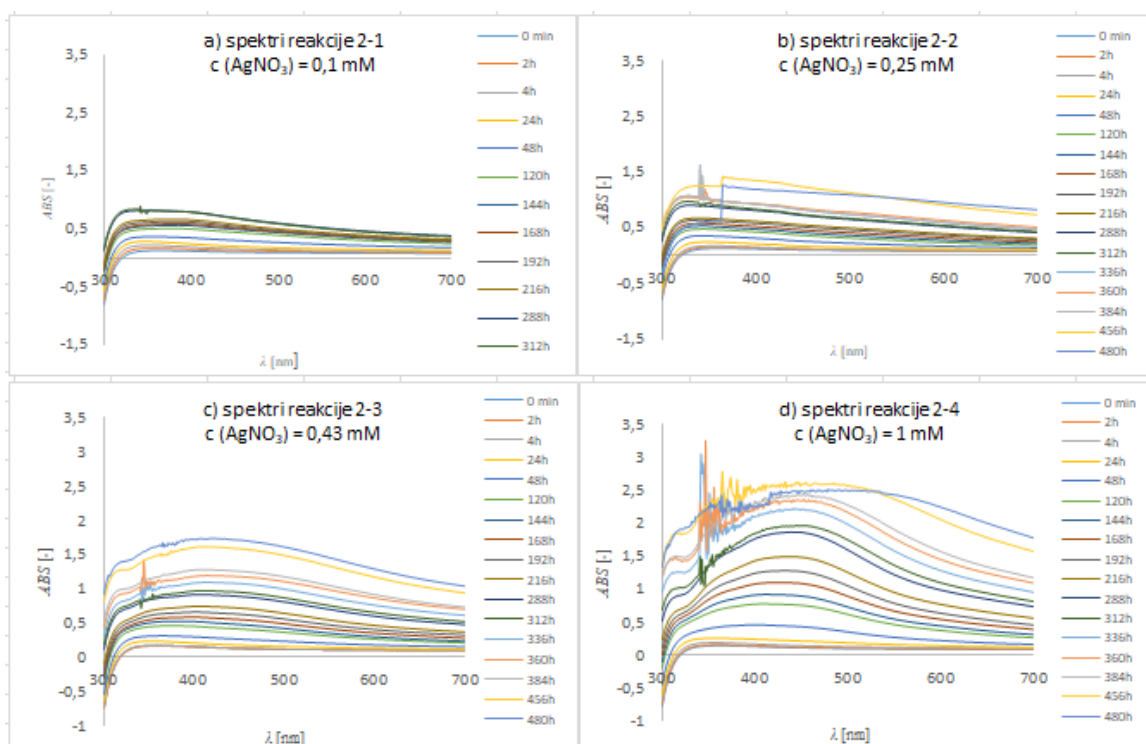
4.1.1. Praćenje sinteze nanočestica srebra

Nastajanje nanočestica srebra praćeno je snimanjem spektara u području 300-700 nm te je u pojedinim eksperimentima uočeno, osim porasta apsorbancije i nastajanje pika koji odgovara formiranju nanočestica srebra (*Slike 4.1 - 4.3 a-d*). U pojedinim eksperimentima kao što su eksperimenti u 1.setu reakcija 1 - 1 i 1 - 4, u 2.setu reakcija 2 - 1 i 2 - 2 te u 3.setu reakcija 3 - 1 nije došlo do nastanka nanočestica srebra. U provedenim eksperimentima nanočestice srebra nisu nastale pri niskim koncentracijama AgNO_3 neovisno o početnoj koncentraciji glukoze.

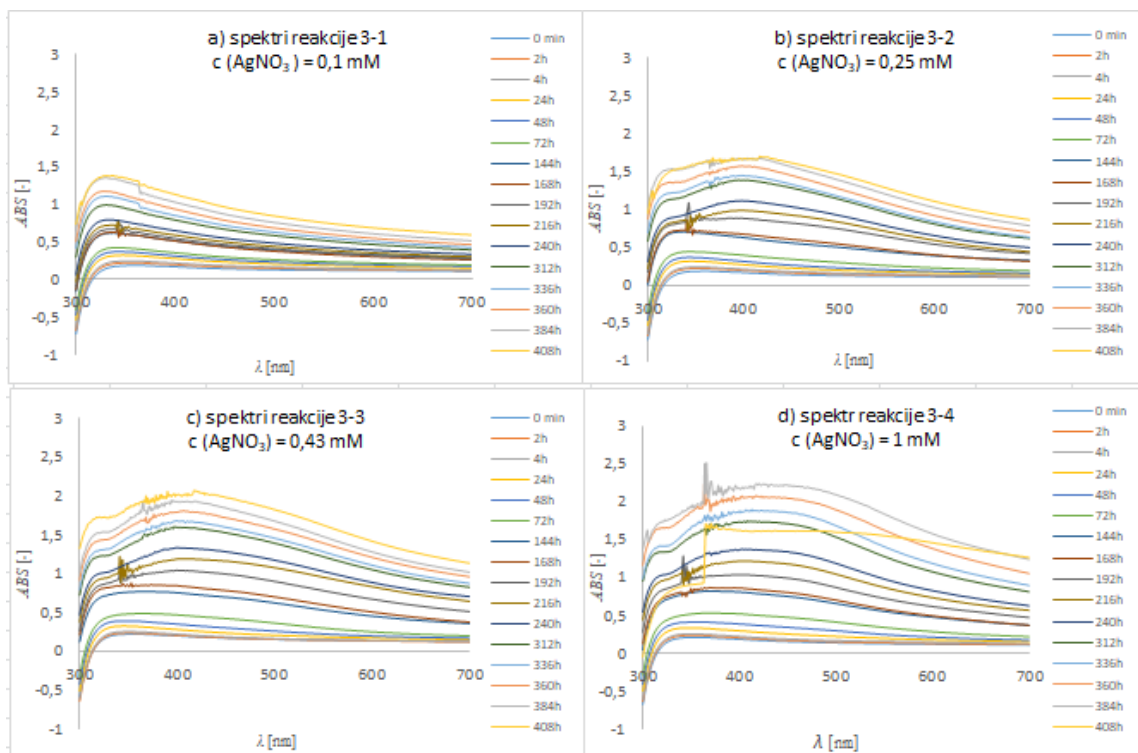
Iz prikazanih apsorpcijskih spektara (*Slike 4.1 - 4.3 a-d*), određeni su i apsorpcijski maksimumi u određenom vremenu za svaku reakciju, u kojoj su nastale nanočestice srebra te su prikazani u ovisnosti o vremenu trajanja reakcije (*Slika 4.4 - 4.6*). Vidljivo je kako je prisutan gotovo linearni porast maksimalne apsorbancije sintetiziranih nanočestica srebra s vremenom trajanja reakcije sinteze. U 1. i 2. setu reakcija tj. u reakcijama gdje je početna koncentracija glukoze 10, odnosno 7 mM vidljivo je da porast maksimalne apsorbancije ovisi o početnoj koncentraciji AgNO_3 dok u 3.setu reakcija pri početnoj koncentraciji glukoze 5 mM porast maksimalne apsorbancije ne ovisi značajno o početnoj koncentraciji AgNO_3 . Na *slici 4.7* prikazana je ovisnost konačne maksimalne apsorbancije postignute u pojedinom eksperimentu u ovisnosti o početnoj koncentraciji AgNO_3 u reaktoru te se može zaključiti kako porastom koncentracije AgNO_3 rastu i maksimalne apsorbancije snimljenih spektara što upućuje na sintezu više nanočestica zlata uz višu početnu koncentraciju AgNO_3 .



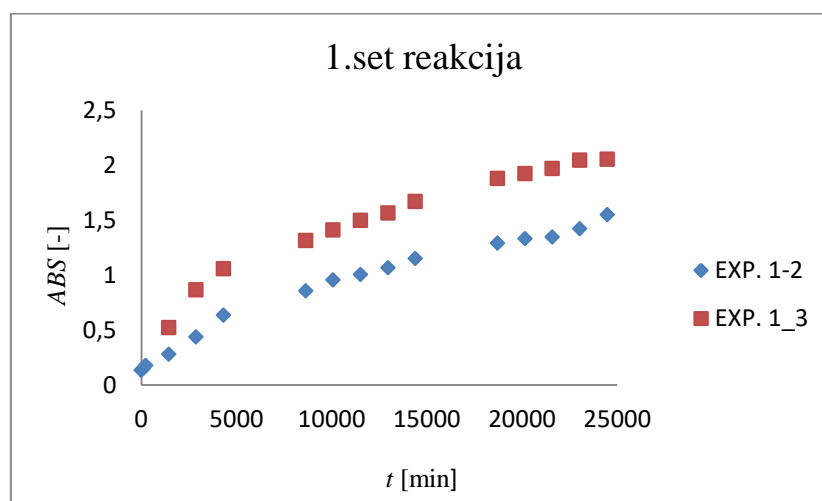
Slika 4.1 a-d Prikaz porasta apsorbancijskih spektara tijekom sinteze nanočestica srebra u pojedinoj reakciji seta 1 pri koncentraciji glukoze 10 mM



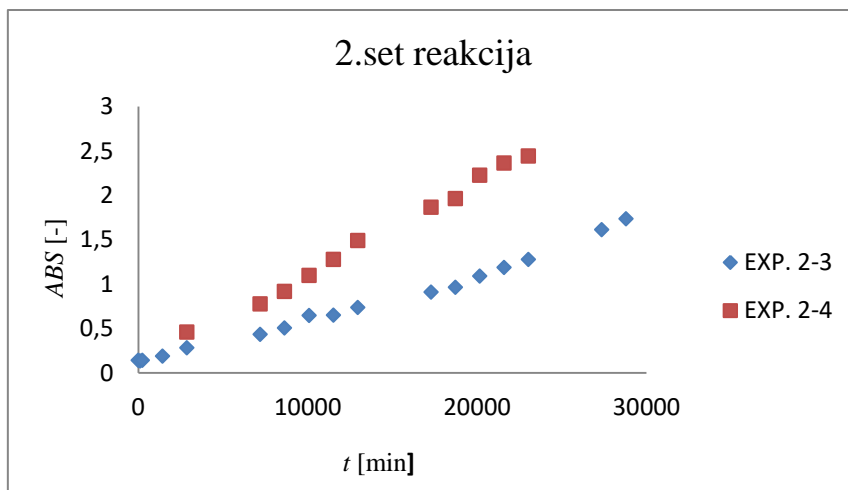
Slika 4.2 a-d Prikaz porasta apsorbancijskih spektara tijekom sinteze nanočestica srebra u pojedinoj reakciji seta 2 pri koncentraciji glukoze 7 mM



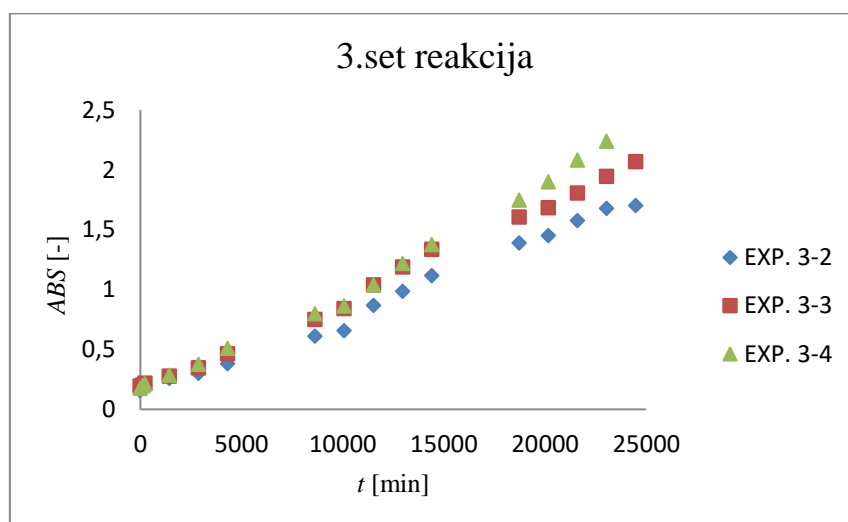
Slika 4.3 a-d Prikaz porasta apsorbancijskih spektara tijekom sinteze nanočestica srebra u pojedinoj reakciji seta 3 pri koncentraciji glukoze 5 mM



Slika 4.4 Porast maksimalnih apsorbanacija u ovisnosti o vremenu trajanja reakcije u 1. setu eksperimenata pri koncentraciji glukoze 10 mM

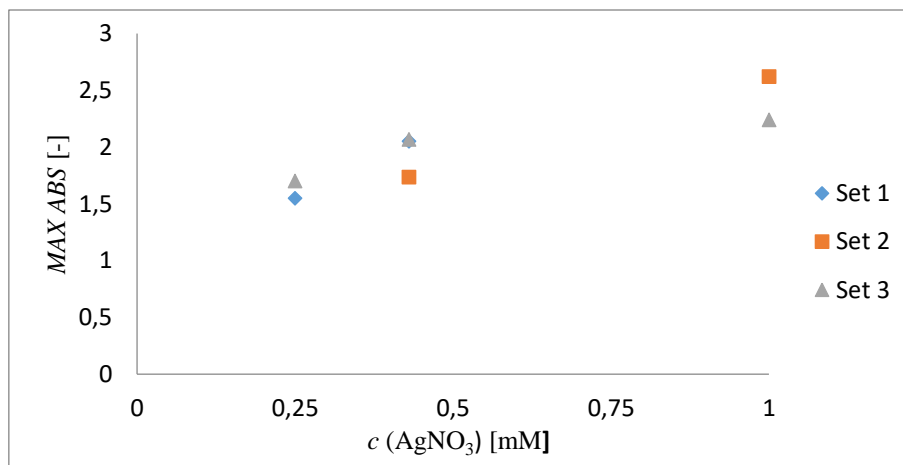


Slika 4.5 Porast maksimalnih apsorbancija u ovisnosti o vremenu trajanja reakcije u 2. setu eksperimenata pri koncentraciji glukoze 7 mM

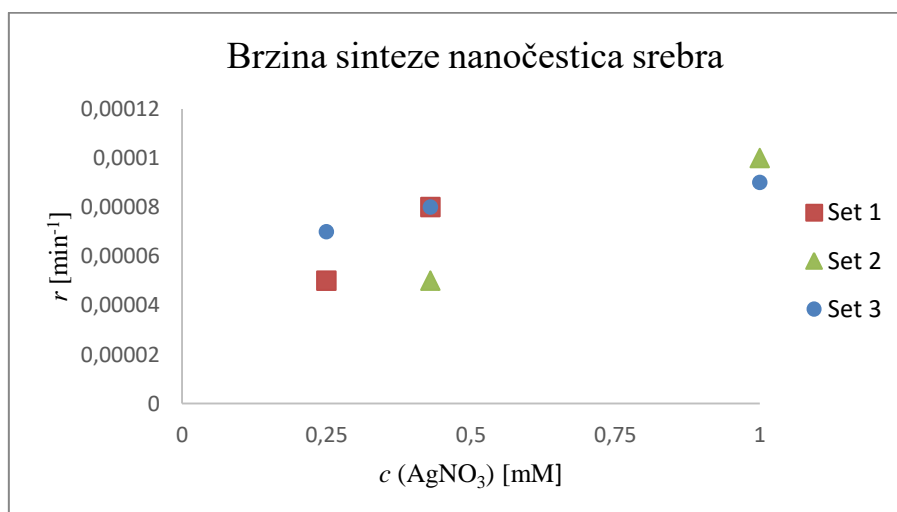


Slika 4.6 Porast maksimalnih apsorbancija u ovisnosti o vremenu trajanja reakcije u 3. setu eksperimenata pri koncentraciji glukoze 5 mM

Na temelju promjene apsorbancije s vremenom trajanja pojedine reakcije (Slika 4.4-4.6), procijenjene su brzine reakcije sinteze nanočestica srebra. Rezultati su prikazani na slici 4.8 te je vidljivo kako je brzina nastajanja nanočestica veća što je veća koncentracija AgNO_3 . Također, brzina promatranih reakcija najveća je pri početnoj koncentraciji glukoze od 7 mM, te pri koncentraciji AgNO_3 od 1 mM.



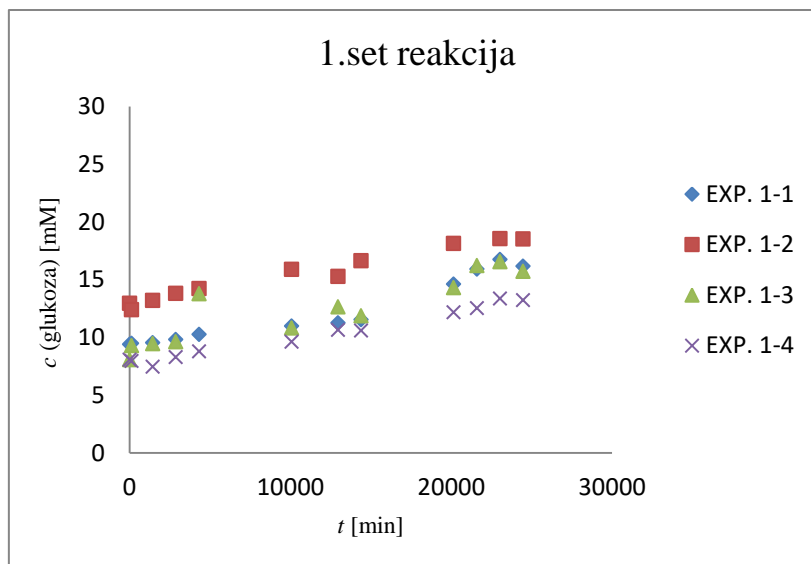
Slika 4.7 Ovisnost maksimalno postignutih apsorbancija sintetiziranih nanočestica srebra o koncentraciji AgNO_3



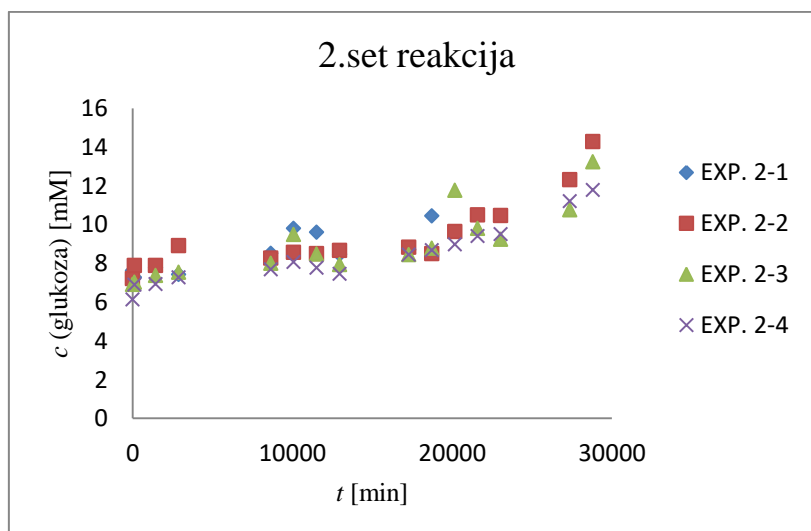
Slika 4.8 Procijenjene brzine nastajanja nanočestica srebra u ovisnosti o koncentraciji AgNO_3 pri različitim koncentracijama glukoze

4.1.2. Utjecaj glukoze na sintezu nanočestica srebra

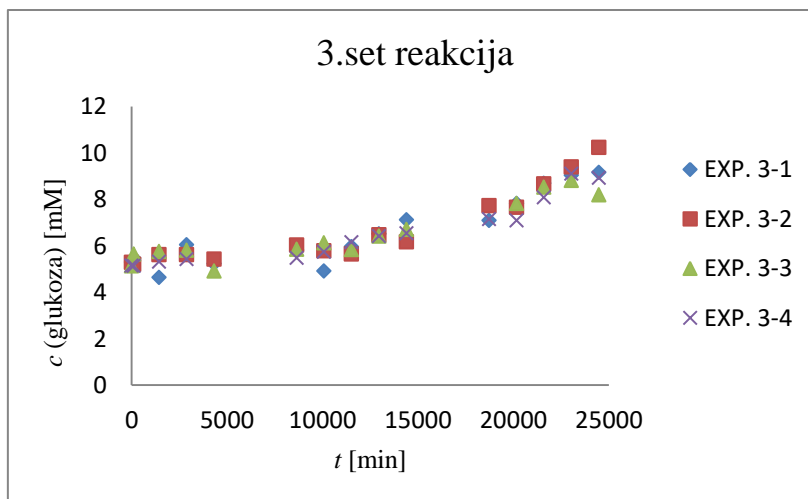
Utjecaj glukoze u reakcijama sinteze nanočestica srebra određen je praćenjem promjene koncentracije glukoze tijekom reakcija (Slike 4.9 - 4.11). Vidljivo je kako je uglavnom u svim reakcijama došlo do porasta koncentracije glukoze tijekom reakcije sinteze nanočestica srebra što se može objasniti isparavanjem reakcijske otopine, odnosno njenim koncentriranjem tijekom trajanja reakcije. Na slici 4.12 prikazana je ovisnost maksimalno dobivenih apsorbancija pojedine reakcije o početnoj koncentraciji glukoze u reakcijskoj otopini na temelju koje je zaključeno kako početna koncentracija glukoze ima blagi utjecaj na reakciju sinteze nanočestica srebra, odnosno kako se nešto veće maksimalne apsorbancije nanočestica srebra postižu pri početnoj koncentraciji glukoze od 7 mM.



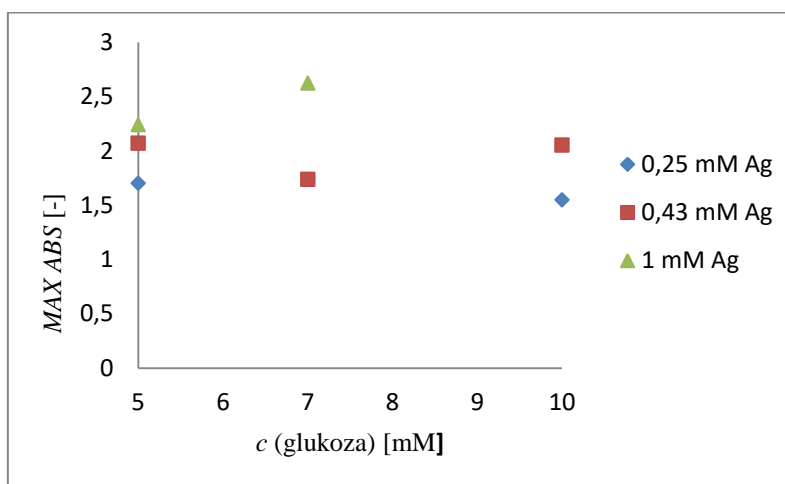
Slika 4.9 Promjena koncentracije glukoze s vremenom u 1.setu reakcija pri početnoj koncentraciji glukoze 10 mM



Slika 4.10 Promjena koncentracije glukoze s vremenom u 2.setu reakcija pri početnoj koncentraciji glukoze 7 mM



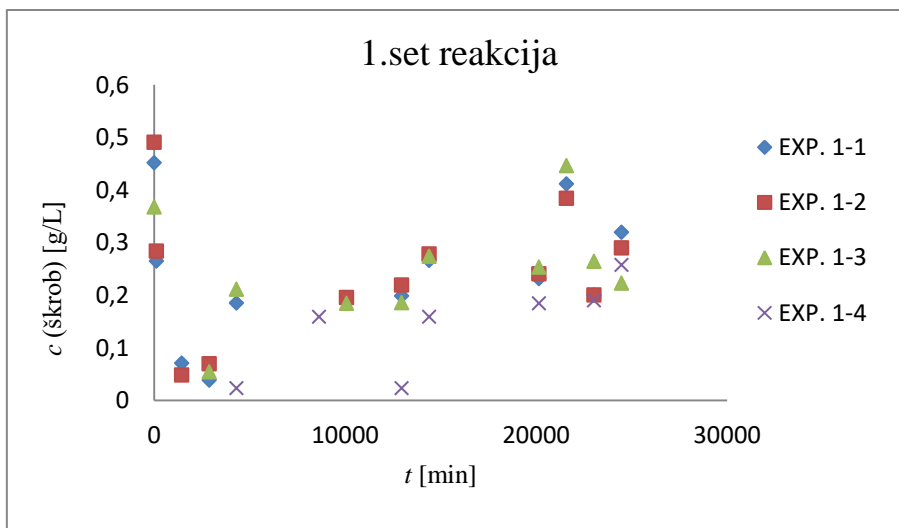
Slika 4.11 Promjena koncentracije glukoze s vremenom u 3.setu reakcija pri početnoj koncentraciji glukoze 5 mM



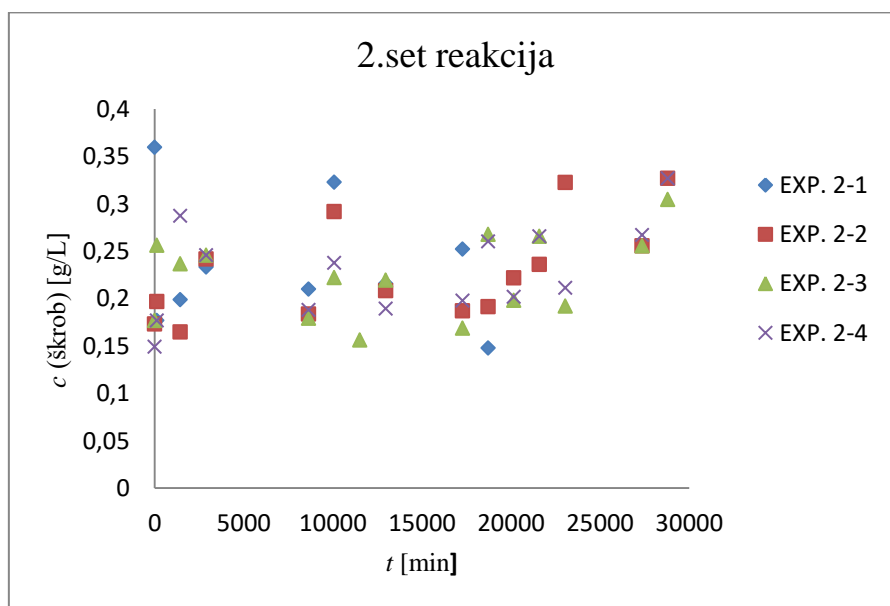
Slika 4.12 Ovisnost maksimalne apsorbancije nanočestica srebra o početnoj koncentraciji glukoze

4.1.3. Praćenje koncentracije škroba tijekom sinteze nanočestica srebra

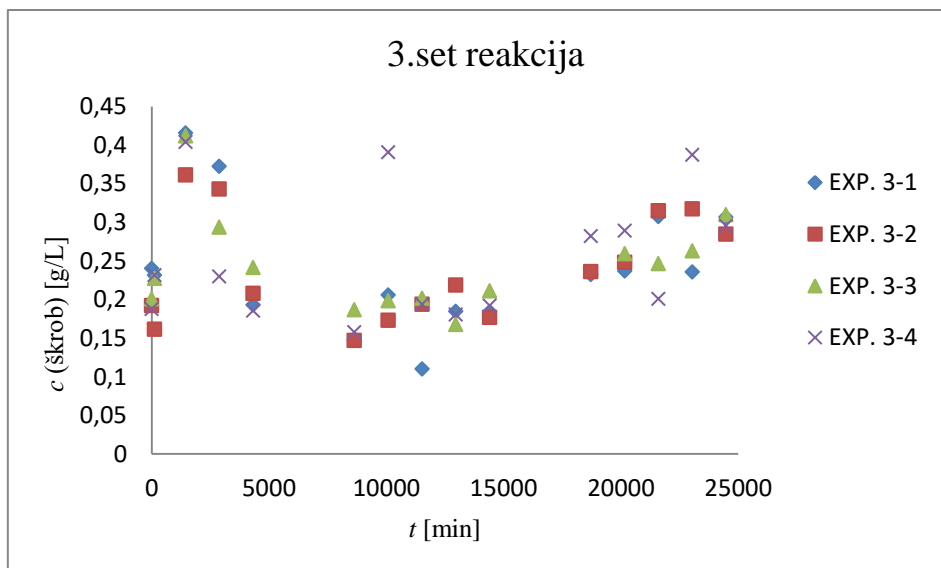
Tijekom sinteze nanočestica srebra praćena je i koncentracija škroba u reakcijskom sustavu. Prema *tablici 3.1* vidljivo je da je u svakom setu reakcija početna koncentracija škroba koja je unošena u sustav jednaka. Promjena koncentracije škroba s vremenom trajanja reakcija prikazana je na *slikama 4.13-4.15* te je iz njih vidljivo kako ne dolazi do značajne promjene koncentracije škroba tijekom reakcija.



Slika 4.13 Promjena koncentracije škroba s vremenom u 1.setu reakcija pri koncentraciji glukoze 10 mM



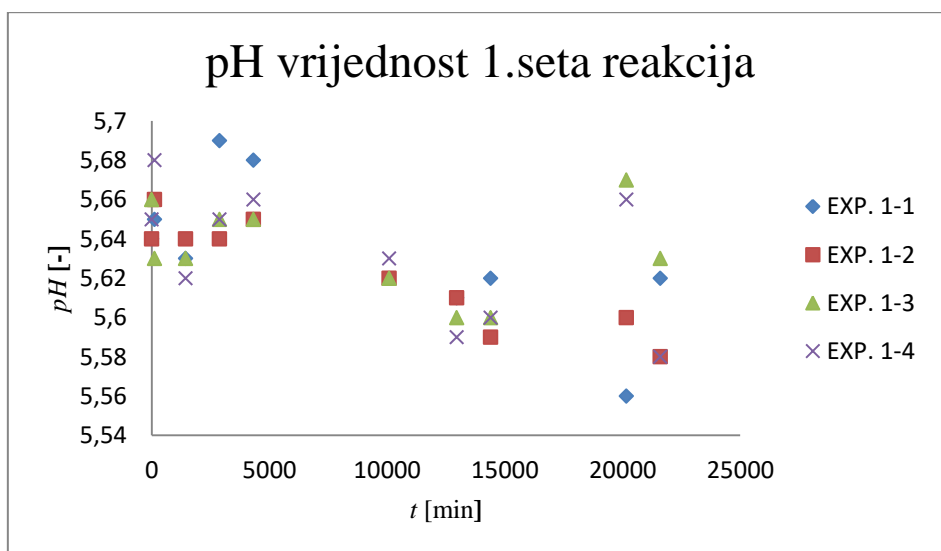
Slika 4.14 Promjena koncentracije škroba s vremenom u 2.setu reakcija pri koncentraciji glukoze 7 mM



Slika 4.15 Promjena koncentracije škroba s vremenom u 3.setu reakcija pri koncentraciji glukoze 5 mM

4.1.4. Praćenje pH vrijednosti tijekom reakcije

Tijekom sinteze nanočestica srebra, praćena je pH vrijednost, a rezultati jednog od seta eksperimenata prikazani su na slici 4.16. Vidljiv je blagi pad pH vrijednosti kod nižih koncentracija AgNO_3 , dok kod viših nema značajne promjene pH vrijednosti. Isti rezultati dobiveni su i kod ostalih setova reakcija.



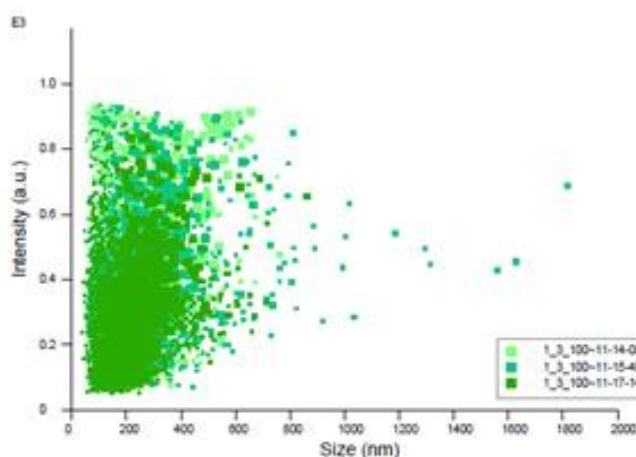
Slika 4.16 Promjena pH vrijednosti s vremenom trajanja reakcije u 1. setu pri početnoj koncentraciji glukoze od 10 mM

4.2. KARAKTERIZACIJA SINTETIZIRANIH NANOČESTICA SREBRA

Nanočestice srebra sintetizirane u ovom radu karakterizirane su NTA analizom. Kao rezultat analize, dobivene su veličine čestica srebra prikazane u *tablici 4.1*. Na *slici 4.17* prikazan je primjer raspodjele veličine sintetiziranih nanočestica srebra u eksperimentu 1-3 s obzirom na intenzitet raspršene svjetlosti i koncentraciju čestica, kao primjer rezultata dobivenog NTA analizom.

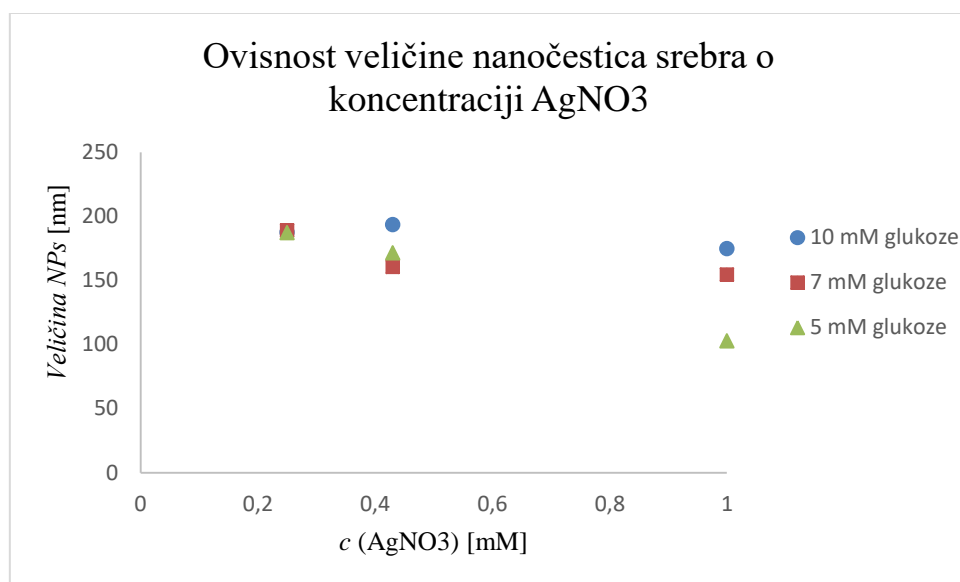
Tablica 4.1 Prikaz raspodjele veličina i koncentracije sintetiziranih nanočestica srebra

EXP	veličina (mod)[nm]
1-1	165,85
1-2	187,4
1-3	193,45
1-4	174,8
2-1	225,15
2-2	189,05
2-3	160,5
2-4	154,4
3-1	196,95
3-2	187,2
3-3	171,5
3-4	102,7

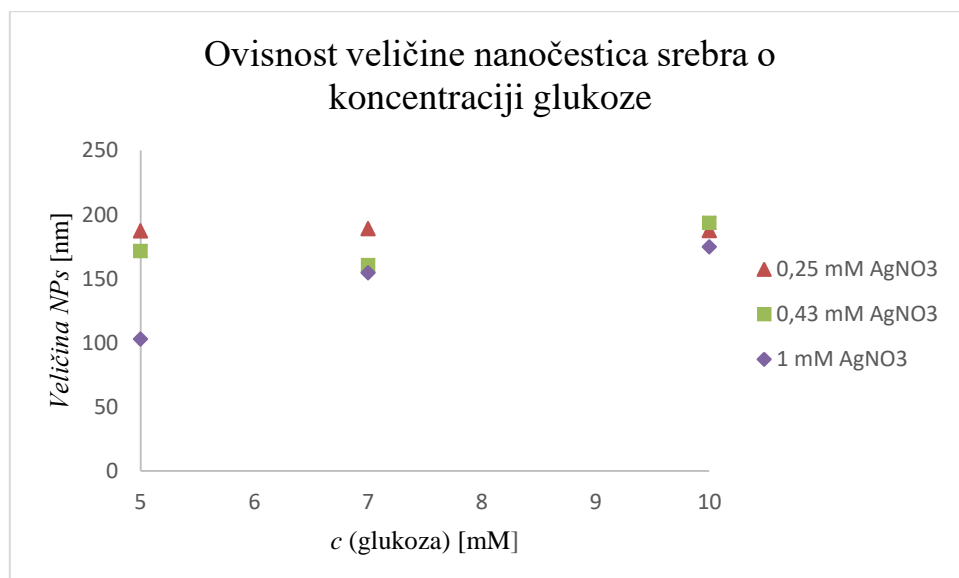


Slika 4.17 Prikaz raspodjele veličine sintetiziranih nanočestica srebra u eksperimentu 1-3 s obzirom na intenzitet raspršene svjetlosti

Prema prikazu ovisnosti veličine sintetiziranih nanočestica o koncentraciji AgNO_3 (Slika 4.18) i koncentraciji glukoze (Slika 4.19), može se zaključiti kako veličina nanočestica gotovo i ne ovisi o koncentraciji glukoze. Iako ne postoji pravilna ovisnost, ipak su nešto manje nanočestice nastale pri manjim koncentracijama glukoze uz više koncentracije AgNO_3 . Najmanje nanočestice sintetizirane su pri najvišoj koncentraciji AgNO_3 i najnižoj koncentraciji glukoze tj. pri koncentraciji od 1 mM AgNO_3 i 5 mM glukoze.



Slika 4.18 Prikaz ovisnosti veličine nanočestice srebra o koncentraciji AgNO_3



Slika 4.19 Ovisnost veličine nanočestica srebra o koncentraciji glukoze

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu provedeno je ispitivanje uvjeta sinteze nanočestica srebra uz glukozu, u prisustvu svjetlosti i kisika, pri sobnoj temperaturi. Provedeno je 12 eksperimenata u svrhu sinteze nanočestica srebra što veće koncentracije i što manjih veličina. Ispitan je utjecaj glukoze i koncentracije AgNO_3 na sintezu nanočestica srebra.

Na temelju provedenih eksperimenata ustanovljeno je da porastom koncentracije AgNO_3 rastu maksimalne apsorbancije snimljenih spektara što upućuje da se uz višu početnu koncentraciju AgNO_3 sintetizira više nanočestica srebra. Također, početna koncentracija glukoze ima blagi utjecaj na reakciju sinteze nanočestica srebra odnosno pri početnoj koncentraciji glukoze od 7 mM maksimalne apsorbancije nanočestica srebra nešto su veće. Brzina nastajanja nanočestica srebra veća je pri višim koncentracijama AgNO_3 , odnosno brzina reakcija najveća je pri koncentraciji glukoze od 7 mM.

Veličina sintetiziranih nanočestica ne ovisi značajno o koncentraciji glukoze, dok pri višim koncentracijama AgNO_3 nastaju manje nanočestice srebra. Najmanje čestice nastaju pri najvišoj koncentraciji AgNO_3 i najnižoj koncentraciji glukoze, odnosno pri koncentraciji od 1 mM AgNO_3 i 5 mM glukoze.

6. POPIS SIMBOLA I KRATICA

Simboli

b – duljina puta svjetlosti [cm]

c – množinska koncentracija [mol dm^{-3}]

ε - molarni apsorpcijski koeficijent [$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$]

λ – valna duljina [nm]

γ - masena koncentracija [g dm^{-3}]

r – brzina reakcije [min^{-1}]

t – vrijeme [min]

V – volumen [dm^3]

Kratice

ABS - apsorbancija

GOD – glukoza oksidaza

NTA- metoda praćenja nanočestica (engl. *Nanoparticle Tracking Analysis*)

POD - peroksidaza

PVD – proces fizikalnog prevlačenja u parnoj fazi (engl. *Physical Vapour Deposition*)

SPR - površinska plazmonska rezonanca (engl. *surface plasmon resonance*)

7. LITERATURA

- 1) Kurajica, S., Lučić Blagojević, S., Uvod u nanotehnologiju, Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, Zagreb (2017) 2-10, 242-245.
- 2) Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S.P., Hochella Jr, M. F., Rejeski, D., Hull, M. S., Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6 (2015) 1769-1780.
- 3) Dwivedi, A. D., Ma, L. Q., Biocatalytic synthesis pathways, transformation, and toxicity of nanoparticles in the environment, *Critical Reviews in Environmental Science and Tehnology*, 44 (2014) 1679-1739.
- 4) Lee, K. J., Jun, B. H., Choi, J., Il Lee, Y., Joung, J., Soo Oh, Y., Environmentally friendly synthesis of organic – soluble silver nanoparticles for printed electronics *Nanotechnology*, 18 (2007) 1-6.
- 5) Khan, I., Saeed, K., Khan, I., Nanoparticles: properties, application and toxicities, *Arabian Journal of Chemistry*, 10 (2017) 439-582.
- 6) Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X. J., Ying, A.N.J., Verma, N. K., Beuerman, R. W., Lakshminarayanan, R., Ramakrishna,S., Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview, *RSC. Advances*, 5 (2015) 105003–105037.
- 7) Ahmed, S., Ahmed, M., Lalswami, B., Ikram, S., A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications : A green expertise, *Journal of Advanced Research*, 7 (2016) 17-28.
- 8) Sunkar, S., Nachiyar, C., Biogenesis of antibacterial silver nanoparticles using the endophytic bacterium *Bacillus cereus* isolated from *Garcinia xanthochymus*, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (2012) 953-959.
- 9) Firdhouse, M. J., Lalitha, P., Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Its Application, *Journal of Nanotechnology* (2015).
- 10) Sharma, K. V., Yngard, R. A., Lin Y., Green synthesis and their antimicrobial activities, *Advances in Colloid and Interface Science*, 145 (2009) 83-96.
- 11) Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A.K., Yilmaz, M. D., Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule – nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity, *RSC. Advances* (2019) 2673-2702.
- 12) Velusamy, P. Kumar, G. V., Jeyanthi, V., Das, J., Pachaiappan R., Bio-Inspired Green Nanoparticles: Synthesis, Mechanism, and Antibacterial Application. *Official Journal od Korean Society of Toxicology*, 32 (2016) 95-102.
- 13) Singh, R., Shedbalkar, U. U., Wadhvani, S. A., Chopade, B. A. Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99 4579-4593.

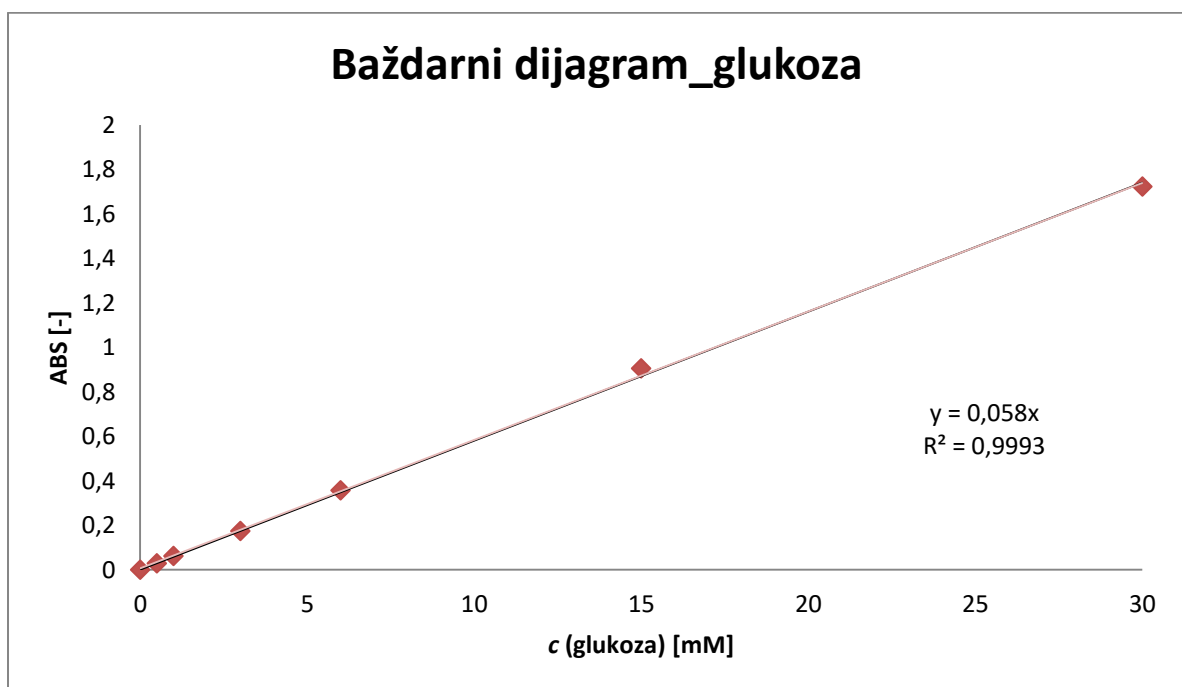
- 14) Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., Upadhyay, S. N. 2016. Green Synthesis of Silver nanoparticles: A Review. *Green and Sustainable Chemistry*, 6 (2016) 34-56.
- 15) <https://nicks.ksu.edu/core-facilities/nicks-core/nanosight-microscope.html>
(pristup 30.8.2019. u 11:07)
- 16) Trinder, P., Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor, *Annals of Clinical Biochemistry*, 6 (1969) 24-27.

8. PRILOZI

Prilog 1

Tablica 9.1 Sastav otopina za određivanje baždarnog dijagrama – glukoza

	c (glukoza) [mM]	V (uzorak) [μ L]	V (glukoza, t.o.) [μ L]	V (pufer) [μ L]	ABS [-]
<i>SP</i>	0	1000	0	1000	0
2	0,5	1000	5	995	0,044
3	1	1000	10	990	0,067
4	3	1000	30	970	0,220
5	6	1000	60	940	0,409
6	15	1000	150	850	0,960
7	30	1000	300	700	1,961



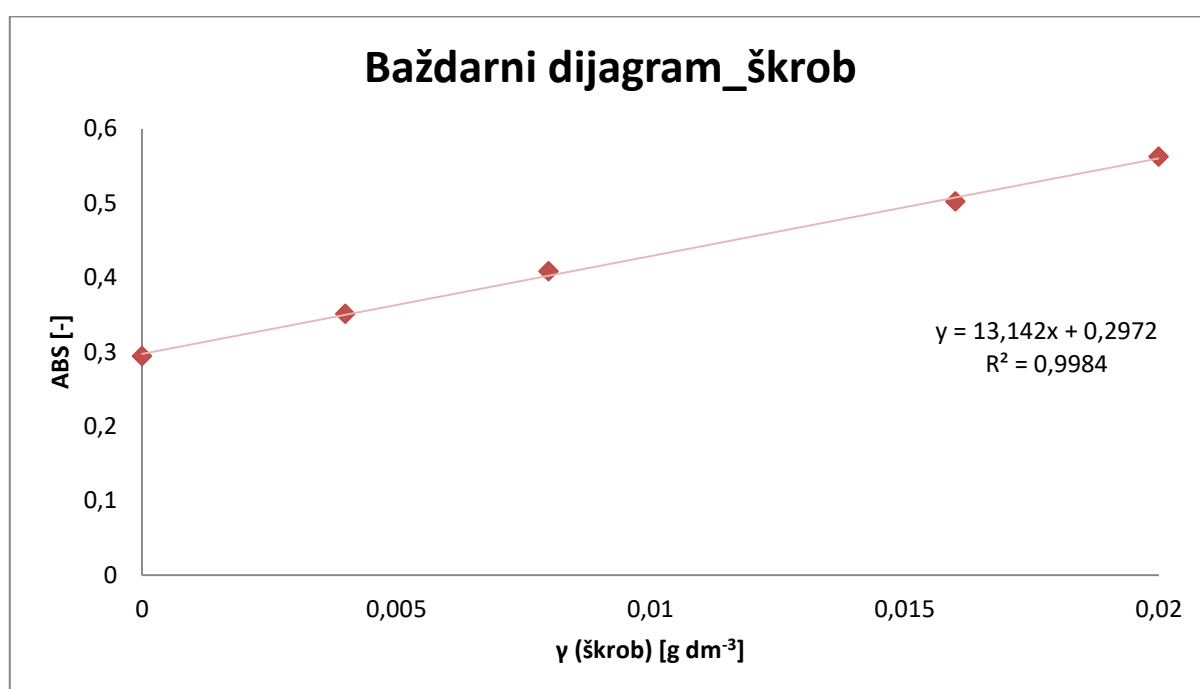
Slika 9.1 Baždarni dijagram za određivanje koncentracije glukoze

(c (glukoza) = 0-30 mM)

Prilog 2

Tablica 9.2 Sastav otopina za određivanje baždarnog dijagrama - škrob

V (škrob) [mL]	V (voda) [mL]	V (reagens) [mL]	γ (škrob) [g dm ⁻³]
0	0,1	0,9	0
0,02	0,08	0,9	0,4
0,04	0,06	0,9	0,8
0,08	0,02	0,9	1,6
0,1	0	0,9	2



Slika 9.2 Baždarni dijagram za određivanje koncentracije škroba

(γ (škrob) = 0-0,02 g dm⁻³)

