

# Zelena sinteza koloidnog srebra kemijskom redukcijom pomoću zelenog čaja

---

Lukaček, Anamaria

Master's thesis / Diplomski rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:230109>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-22**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ZELENA SINTEZA KOLOIDNOG SREBRA KEMIJSKOM REDUKCIJOM  
POMOĆU ZELENOG ČAJA**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANAMARIA LUKAČEK**

**Matični broj: 349**

**Split, listopad 2023.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKA TEHNOLOGIJA**  
**SMJER: MATERIJALI**

**ZELENA SINTEZA KOLOIDNOG SREBRA KEMIJSKOM**  
**REDUKCIJOM POMOĆU ZELENOG ČAJA**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANAMARIA LUKAČEK**

**Matični broj: 349**

**Split, listopad 2023.**

**UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY  
GRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY  
STUDY ORIENTATION: MATERIALS**

**GREEN SYNTHESIS OF COLLOIDAL SILVER BY CHEMICAL  
REDUCTION USING GREEN TEA**

**DIPLOMA THESIS**

**ANAMARIA LUKAČEK**

**Parent number: 349**

**Split, October 2023.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet  
Diplomski studij kemijske tehnologije  
Smjer: Materijali

**Znanstveno područje:** Tehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Kemijsko inženjerstvo

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Damir Barbir

### ZELENA SINTEZA KOLOIDNOG SREBRA KEMIJSKOM REDUKCIJOM POMOĆU ZELENOG ČAJA Anamaria Lukaček, 349

**Sažetak:** Zelena sinteza nanočestica je relativno nova grana nanotehnologije koja ima mnoge prednosti u odnosu na kemijske i fizičke metode sinteze nanočestica. Proces je siguran, jednostavan, isplativ, ekološki prihvatljiv, smanjuje količinu potrebne energije i često rezultira stabilnijim materijalima te nema potrebe za visokim temperaturama niti tlakovima. Zbog bogate bioraznolikosti biljaka i njihovih potencijalnih sekundarnih metabolita, biljke i dijelovi biljaka u novije su vrijeme dobro iskorišteni za sintezu raznih nanočestica. U ovom radu sintetizirano je koloidno srebro na ekološki način bez korištenja organskih ili toksičnih otapala. Sinteza je provedena korištenjem zelenog čaja kao redukcijskog i stabilizacijskog sredstva pri pH vrijednostima 6, 7, 8 i 9 uz korištenje otopine srebrovog nitrata koncentracije  $0,001 \text{ mol dm}^{-3}$  i otopine natrijevog karbonata koncentracije  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  za podešavanje pH vrijednosti i destiliranu vodu kao otapalo. Zeleni čaj bogat je katehinima koji pripadaju grupi flavanola, a sudjeluju u reakciji redukcije srebrovih iona. Karakterizacija koloidnog srebra provedena je UV-Vis spektrofotometrom, FT-IR analizom uzoraka, DLS (Dynamic Light Scattering) analizom te pomoću određivanja Tyndallovog efekta propuštanjem laserske zrake kroz otopinu. Analiza dinamičkog raspršenja svjetlosti je korištena za procjenu veličine nastalih nanočestica srebra i uniformnosti uzorka nastalih nanočestica, dok se UV-Vis spektrofotometrom dokazala prisutnost nanočestica srebra pojavom površinskog plazmona rezonancije. Raspon veličina dobivenih nanočestica kemijskom redukcijom pomoću otopine zelenog čaja je od 32 nm do 143 nm.

**Ključne riječi:** zelena sinteza, koloidno srebro, zeleni čaj, katehini, kemijska redukcija

**Rad sadrži:** 48 stranica, 39 slika, 3 tablice, 54 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada:**

- |                                   |               |
|-----------------------------------|---------------|
| 1. prof. dr. sc. Pero Dabić       | predsjednik   |
| 2. doc. dr. sc. Jelena Jakić      | član/komentor |
| 3. izv. prof. dr.sc. Damir Barbir | mentor        |

**Datum obrane:**

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split  
Faculty of Chemistry and Technology Split  
Graduate study of Chemical Technology  
Study orientation: Materials

Scientific area: Technical Sciences  
Scientific field: Chemical Engineering

Mentor: Damir Barbir, Ph. D., Associate prof.

### GREEN SYNTHESIS OF COLLOIDAL SILVER BY CHEMICAL REDUCTION USING GREEN TEA Anamaria Lukaček, 349

**Abstract:** Green synthesis of nanoparticles is a relatively new branch of nanotechnology that has many advantages over chemical and physical methods of nanoparticle synthesis. The process is safe, simple, cost-effective, environmentally friendly, reduces the amount of energy required and often results in more stable materials, and there is no need for high temperatures or pressures. Due to the rich biodiversity of plants and their potential secondary metabolites, plants and plant parts have been well utilized in recent times in the synthesis of various nanoparticles. In this work, colloidal silver was synthesized in an ecological way without the use of organic or toxic solvents. The synthesis was carried out using green tea as a reducing and stabilizing agent at pH values of 6, 7, 8 and 9 with the use of silver nitrate solution with a concentration of 0.001 mol dm<sup>-3</sup>. Sodium carbonate solution with a concentration of 0.1 mol dm<sup>-3</sup> was used to adjust the pH value and distilled water was used as a solvent. Green tea is rich in catechins that belong to the group of flavanols and participate in the reduction reaction of silver ions. The characterization of colloidal silver was carried out with a UV-Vis spectrophotometer, FTIR analysis, DLS (Dynamic Light Scattering) analysis and determination of the Tyndall effect by passing a laser beam through the solution. Dynamic light scattering analysis was used to assess the size of the silver nanoparticles and the uniformity of the sample, while the UV-Vis spectrophotometer was used to prove the presence of silver nanoparticles by the appearance of surface plasmon resonance. The size range of nanoparticles obtained by chemical reduction using green tea solution is from 32 nm to 143 nm.

**Keywords:** green synthesis, colloidal silver, green tea, catechins, chemical reduction

**Thesis contains:** 48 pages, 39 figures, 3 tables, 54 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee for evaluation and defense of diploma thesis:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Ph.D. Full Prof. Pero Dabić         | chair person |
| 2. Ph.D. Assistant. Prof. Jelena Jakić | member       |
| 3. Ph.D. Associate Prof. Damir Barbir  | supervisor   |

#### Defence date:

**Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library.

*Diplomski rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Damira Barbira, u razdoblju od svibnja do listopada 2023. godine.*



*Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Damiru Barbiru na pruženoj prilici za istraživanje područja zelene kemije koja me posebno intrigira te za svu pomoć i razumijevanje prilikom pisanja diplomskog rada. Zahvaljujem se svojoj obitelji na potpori kroz školovanje, kao i prijateljima na fakultetu. Posebnu zahvalu posvećujem kolegi F. Burniću.*

## **ZADATAK DIPLOMSKOG RADA**

1. Istražiti temu zelene sinteze koloidnog srebra
2. Priprava otopine srebrova nitrata, otopine zelenog čaja kao redukcijskog sredstva i otopine natrijevog karbonata za podešavanje pH vrijednosti
3. Sinteza koloidnog srebra iz otopine soli  $\text{AgNO}_3$  kemijskom redukcijom pomoću zelenog čaja
4. Odabir odgovarajućih metoda karakterizacije koloidnog srebra (UV-Vis, FTIR, DLS, procjena Tyndallova efekta)
5. Interpretacija podataka dobivenih metodama karakterizacije koloidnog srebra
6. Zaključak o uspješnosti zelene sinteze koloidnog srebra

## SAŽETAK

Zelena sinteza nanočestica je relativno nova grana nanotehnologije koja ima mnoge prednosti u odnosu na kemijske i fizičke metode sinteze nanočestica. Proces je siguran, jednostavan, isplativ, ekološki prihvatljiv, smanjuje količinu potrebne energije i često rezultira stabilnijim materijalima te nema potrebe za visokim temperaturama niti tlakovima. Zbog bogate bioraznolikosti biljaka i njihovih potencijalnih sekundarnih metabolita, biljke i dijelovi biljaka u novije su vrijeme dobro iskorišteni za sintezu raznih nanočestica. U ovom radu sintetizirano je koloidno srebro na ekološki način bez korištenja organskih ili toksičnih otapala. Sinteza je provedena korištenjem zelenog čaja kao redukcijskog i stabilizacijskog sredstva pri pH vrijednostima 6, 7, 8 i 9 uz korištenje otopine srebrovog nitrata koncentracije  $0,001 \text{ mol dm}^{-3}$  i otopine natrijevog karbonata koncentracije  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  za podešavanje pH vrijednosti i destiliranu vodu kao otapalo. Zeleni čaj bogat je katehinima koji pripadaju grupi flavanola, a sudjeluju u reakciji redukcije srebrovih iona. Karakterizacija koloidnog srebra provedena je UV-Vis spektrofotometrom, FT-IR analizom uzoraka, DLS (Dynamic Light Scattering) analizom te pomoću određivanja Tyndallovog efekta propuštanjem laserske zrake kroz otopinu. Analiza dinamičkog raspršenja svjetlosti je korištena za procjenu veličine nastalih nanočestica srebra i uniformnosti uzorka nastalih nanočestica, dok se UV-Vis spektrofotometrom dokazala prisutnost nanočestica srebra pojavom površinskog plazmona rezonancije. Raspon veličina dobivenih nanočestica kemijskom redukcijom pomoću otopine zelenog čaja je od 32 nm do 143 nm.

**Ključne riječi:** zelena sinteza, koloidno srebro, zeleni čaj, katehini, kemijska redukcija

## **ABSTRACT**

Green synthesis of nanoparticles is a relatively new branch of nanotechnology that has many advantages over chemical and physical methods of nanoparticle synthesis. The process is safe, simple, cost-effective, environmentally friendly, reduces the amount of energy required and often results in more stable materials, and there is no need for high temperatures or pressures. Due to the rich biodiversity of plants and their potential secondary metabolites, plants and plant parts have been well utilized in recent times in the synthesis of various nanoparticles. In this work, colloidal silver was synthesized in an ecological way without the use of organic or toxic solvents. The synthesis was carried out using green tea as a reducing and stabilizing agent at pH values of 6, 7, 8 and 9 with the use of silver nitrate solution with a concentration of 0.001 mol dm<sup>-3</sup>. Sodium carbonate solution with a concentration of 0.1 mol dm<sup>-3</sup> was used to adjust the pH value and distilled water was used as a solvent. Green tea is rich in catechins that belong to the group of flavanols and participate in the reduction reaction of silver ions. The characterization of colloidal silver was carried out with a UV-Vis spectrophotometer, FTIR analysis, DLS (Dynamic Light Scattering) analysis and determination of the Tyndall effect by passing a laser beam through the solution. Dynamic light scattering analysis was used to assess the size of the silver nanoparticles and the uniformity of the sample, while the UV-Vis spectrophotometer was used to prove the presence of silver nanoparticles by the appearance of surface plasmon resonance. The size range of nanoparticles obtained by chemical reduction using green tea solution is from 32 nm to 143 nm.

**Keywords:** green synthesis, colloidal silver, green tea, catechins, chemical reduction

# SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO .....	2
1.1. Disperzni sustavi – koloidni sustavi.....	2
1.1.1. Svojstva koloidnih otopina.....	3
1.1.2. Molekularno kinetička svojstva.....	4
1.1.3. Elektrokinetičke pojave .....	5
1.1.4. Elektrostatska stabilizacija i sterička stabilizacija.....	5
1.2. Nanomaterijali.....	6
1.3. Nanočestice srebra.....	7
1.3.1. Mehanizam antimikrobnog djelovanja nanočestica srebra .....	8
1.4. Metode dobivanja koloidnog srebra.....	9
1.4.1. Fizikalne metode .....	9
1.4.2. Kemijske metode.....	10
1.4.3. Elektrokemijske metode.....	11
1.5. Zelena sinteza koloidnog srebra i nanočestica srebra .....	12
1.5.1. Sinteza pomoću bakterija i kvasaca.....	13
1.5.2. Sinteza pomoću biljaka i biljnih ekstrakata .....	14
1.6. Flavonoidna sposobnost redukcije nanočestica srebra .....	17
1.7. Utjecaj temperature, pH i koncentracije na zelenu sintezu .....	18
1.8. Karakterizacija koloidnog srebra .....	18
2. EKSPERIMENTALNI DIO .....	21
2.1. Popis upotrebljenih kemikalija i korištene aparature.....	22
2.2. Priprava otopina potrebnih za provedbu eksperimenta.....	23

2.2.1. Proračun koncentracija otopina za sintezu.....	24
2.3. Instrumenti za analizu nastalog koloidnog srebra .....	25
2.3.1. Ispitivanje koncentracije uz pomoć Tyndallovog efekta .....	25
2.3.2. UV-Vis spektrofotometar.....	25
2.3.3. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR).....	26
2.3.4. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS) .....	27
2.4. Sinteza koloidnog srebra kemijskom redukcijom .....	28
3. REZULTATI I RASPRAVA.....	31
4. ZAKLJUČAK .....	45
5. LITERATURA.....	46

## UVOD

Antimikrobna svojstva srebra poznata su stoljećima, stare civilizacije poput Rimljana, Egipćana i Grka koristila su srebrni pribor i posuđe.<sup>1</sup> Na koloidnom srebru provedena su brojna istraživanja koja su dokazala njegova antibakterijska, antimikrobna i antimikotična svojstva. Izloženost srebru samo nekoliko minuta uništava preko 650 patogena. Koloidno srebro pospješuje proces regeneracije na koži i drugim mekim tkivima ljudskog organizma.<sup>2</sup>

Karakteristična svojstva nanočestica srebra pripisuju se velikoj specifičnoj površinskoj energiji nastaloj uslijed visokog omjera površine i volumena. Iako je ovaj omjer jedinstven i prikladan, on također komplicira sintezu nanočestica. Velika vrijednost specifične površinske energije ima tendenciju pada s rastom čestica, zbog aglomeracije velikog broja manjih čestica, što dovodi do gubitka specifičnih svojstava. Stoga je rast čestica inhibiran i/ili kontroliran na različite načine. Općenito, sinteza metalnih nanočestica provodi se u organskim otapalima ili vodi, često u prisutnosti stabilizatora. To osigurava elektrostatsko i električno odbijanje između pojedinačnih nanočestica, sprječavajući njihovu agregaciju i kontrolirajući rast.<sup>3-5</sup>

U nekim slučajevima stabilizator može djelovati kao redukcijsko sredstvo u isto vrijeme. U ovom radu koristit će se vodeni ekstrakt *Camellia sinensis* (zeleni čaj) kao redukcijsko sredstvo i stabilizator. Ova metoda je ekološki prihvatljiva kao zelena sinteza nanočestica srebra jer se ne koriste organska ni toksična otapala. Flavonoidi, odnosno katehin sudjeluje u redukciji nanočestica srebra. Katehini su skupina prirodnih tvari fenolne strukture, raširena u biljnim vrstama. Listovi biljke *Camellie sinensis* (zelenog čaja) bogati su katehinima, a dobivaju se ekstrakcijom. Katehini su odgovorni za mnoge blagotvorne učinke zelenog čaja na ljudsko zdravlje zbog svoje antioksidativne aktivnosti.<sup>6</sup>

Antioksidativni kapacitet flavonoida je vrlo visok. Snižavaju razinu LDL kolesterola, triglicerida i fibrinogena (bjelančevine koja sudjeluje u stvaranju krvnih ugrušaka), dok povećavaju razinu LDL (lošeg) i HDL (dobrog) kolesterola, čime se učinkovito smanjuje rizik od ateroskleroze. Flavonoidi povećavaju otpornost organizma na viruse, djeluju antivirusno protiv virusa uzročnika gripe, herpes simplex, dječje paralize pa čak i HIV-a, štite rad štitnjače i pomažu u liječenju bolesti jetre.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. Disperzni sustavi – koloidni sustavi

**Disperzni sustavi** ili disperzije su heterogeni sustavi koji imaju jednu fazu (homogenu ili heterogenu) raspoređenu u nekom mediju (čvrstom, tekućem ili plinovitom), tako da su raspršene čestice odvojene jedne od drugih. Disperzni sustav je načinjen od najmanje dvije faze – od disperzne faze (dispergirane čestice) i disperznog sredstva (medija u kome su čestice dispergirane). Disperzne sustave karakterizira veličina čestica, velika specifična površina, entropija miješanja i broj čestica.

Podjela po veličini čestica je prema promjeru čestica i prema broju atoma u čestici. Podjela prema promjeru dispergiranih čestica je:

- a) grubo disperzni sustav
- b) koloidni disperzni sustav
- c) visokodisperzni sustav.

Grubi disperzni sustavi nazivaju se suspenzijama ili emulzijama. Najveći stupanj disperzije karakterističan je za prave otopine u kojima su tvari otopljene u molekularnoj ili ionskoj disperziji. Molekule ili ioni u disperziji su istog reda veličine kao molekule otapala. Koloidne otopine su određene stupnjem disperzije koji je manji od stupnja disperzije pravih otopina i veći od suspenzija odnosno emulzija. Koloidni sustavi koji se sastoje od koloidnih čestica ili makromolekula jednake veličine, zovu se to monodisperzni sustavi. Kada su u koloidnom sustavu prisutne čestice ili makromolekule različitih veličina, sustav je polidisperzan.

Promjer čestica pravih otopina je 1 nm, što je gornja granica za veličinu disperznih čestica. Veličine čestica između 1 nm i 100 nm karakteriziraju koloidne otopine (kao što su npr. proteini, polisaharidi, različiti polimeri itd.). Ime koloidi uveo je škotski kemičar Thomas Graham koji je definirao prvu podjelu koloidnih otopina. Granična površina disperzne faze koja dolazi u kontakt s okolinom jedna je od značajnijih čimbenika o kojemu ovise svojstva koloidnih sustava. Tekućine s koloidno razdijeljenom krutom fazom su solovi. Kada je jedna tekućina dispergirana u drugu tekućinu, stvaraju se emulzije, a kada je plin dispergiran u tekućini, nastaje pjena. Koloidne otopine mogu biti anorganski solovi (hidroksidi, halogenidi), makromolekularne otopine (polisaharidi, polipeptidi, proteini).<sup>8</sup>



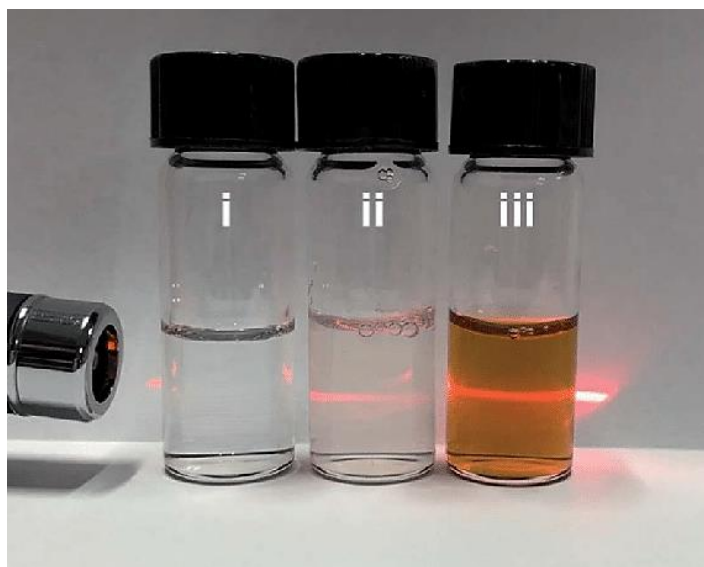
Koloidni se sustavi mogu podijeliti prema veličini čestica na:

- monodisperzne i
- polidisperzne koloidne sustave.

Druga podjela odnosi se na afinitet čestica u odnosu na disperzno sredstvo, tako koloidne otopine mogu biti liofobne ili liofilne. Koloidno srebro pripada liofobnim koloidnim otopinama.<sup>9-10</sup>

### 1.1.1. Svojstva koloidnih otopina

Kod mikroheterogenih koloidnih otopina dolaze do izražaja optička svojstva. Preko debljeg sloja otopine koloida prolazna svjetlost daje zamućenje, a u nekim slučajevima i fluorescenciju. Uzrok zamućenja je rasipanje svjetlosti na obodu pojedinih čestica. To rasipanje svjetlosti koje se pojavljuje u nekom mikroheterogenom sustavu u obliku osvijetljenog stošca naziva se Tyndallov fenomen. Tyndallov fenomen je posebno izražen u trećoj koloidnoj otopini (Slika 1.).<sup>11</sup>



*Slika 1. Prikaz Tyndallovog efekta<sup>11</sup>*

Rezonanca površinskog plazmona je karakteristično optičko svojstvo nanočestica. Do ove pojave dolazi zbog oscilacija (pobuđivanja) elektrona na površini čestice uslijed upadnog

elektromagnetskog zračenja vidljivog i blisko infracrvenog dijela spektra. Ova pojava opisuje prijelaz boje kolodine otopine iz svijetlije u tamno smeđu.<sup>12</sup>

Neke od primjena metalnih nanočestica ovise o njihovim optičkim svojstvima. Čestice apsorbiraju i/ili reflektiraju zračenje određene frekvencije. Od svih metala, plemeniti metali poput srebra i zlata imaju svojstvo najintezivnije rezonancije površinskog plazmona koji se nalazi u vidljivom dijelu spektra kao apsorpcijski maksimum između 380 i 780 nm, dok većina prijelaznih metala pokazuje široke ili vrlo slabe apsorpcijske maksimume.<sup>13</sup>

Ova pojava oštrog pika pri približno 400 nm UV-Vis analizom ukazuje nam na prisutnost nanočestica srebra. Povećanjem veličine nanočestica dolazi do pomicanja apsorpcijskog maksimuma prema većim valnim duljinama.<sup>12</sup> Nanočestice se danas koriste u proizvodnji naočala otpornih na ogrebotine, boja otpornih na pucanje, premaza protiv grafita za zidove, za detekciju analita u hrani, kao katalizatori i nosači biomolekula.<sup>14</sup>

### 1.1.2. Molekularno kinetička svojstva

Koloidne čestice u disperznom sredstvu nikad ne miruju, što se može vidjeti ako ih se promatra mikroskopom ili ultramikroskopom. Brown je prvi opazio u disperznom sustavu da se čestice vrlo brzo gibaju i pri gibanju mijenjaju smjer, a Perrin je objasnio ta gibanja.<sup>8</sup>

**Brownovo gibanje** nastaje uslijed slučajnog kretanja čestica uzrokovanim sudarom molekula otpala koje okružuju čestice. Neki od parametara koji utječu na brzinu gibanja su viskoznost, temperatura i veličina same čestice. Kako se temperatura povećava tako i Brownovo gibanje raste. Brownovo gibanje je obrnuto proporcijonalno veličini čestice.

Prema Stokes-Einstein relaciji označenoj kao (1) brzina Brownovog gibanja je definirana translacijskim difuzijskim koeficijentom, te se pomoću relacije ove može izračunati hidrodinamički promjer čestice:

$$dH = kT / 3\pi\eta D \quad (1)$$

gdje je  $dH$ -hidrodinamički promjer,  $k$ -Boltzmannova konstanta,  $T$ -apsolutna temperatura,  $\eta$ -koeficijent viskoznosti  $D$ -difuzijski koeficijent.<sup>15</sup>

Na brzinu gibanja utječu svojstva fluida, veličina i svojstva čestica, viskoznost fluida, ionska jakost fluida, oblik čestice i svojstva površine čestice.<sup>16</sup>

Stabilnost koloida uvjetovana je interakcijom između čestica tijekom sudara jer se koloidne čestice sudaraju jedna s drugom. U Brownovom gibanju postoje dvije interakcije: odbijanje i privlačenje. Kod nedispergiranih oblika dominira privlačenje i dolazi do srastanja, aglomeriranja. Kada dominira odbijanje, sustav ostaje u dispergiranom obliku te dolazi do stabilizacije.<sup>17</sup>

### **1.1.3. Elektrokinetičke pojave**

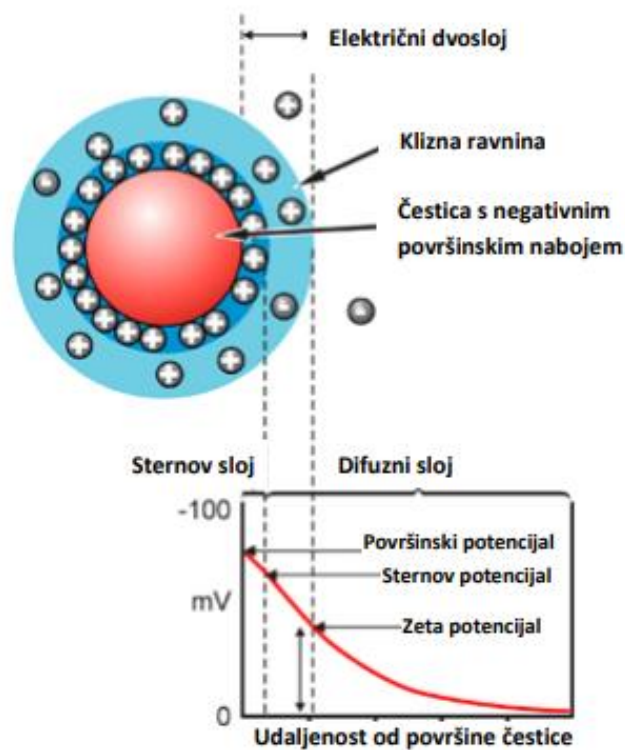
Elektrokinetičke pojave su posljedica djelovanja električnog polja ili ubravanja koloidnih čestica. Ove pojave nazivaju se elektroforeza i elektroosmoza. Elektroforeza se opisuje gibanjem nabijenih čestica u odnosu na tekućinu u električnom polju, dok elektroosmoza gibanjem otapala u odnosu na stacionarnu nabijenu površinu. Elektroforetsko raspršenje svjetlosti karakterizira zeta potencijal koji se određuje pomoću raspršenja svjetlosti prilikom elektroforeze.<sup>17</sup>

### **1.1.4. Elektrostatska stabilizacija i sterička stabilizacija**

Dispergirane čestice u vodenim koloidima obično imaju određeni naboj, a njihov naboj je na neki način zaklonjen visokom koncentracijom iona suprotnog naboja blizu površine. Svaka čestica je okružena električnim dvoslojem (Slika 2.) čime dolazi do elektrostatske stabilizacije. Kako bi se neutralizirao naboj na površini nanostrukture formira se dvostruki sloj unutar koloidne disperzije.

Ovaj dvosloj također uzrokuje elektrokinetički potencijal na površini nanočestica. Zeta potencijal (ili elektrokinetički potencijal) je mjera efektivnog električnog naboja na površini čestice. Zeta potencijal smatra se važnijim od površinskog potencijala te je mjera elektrostatske stabilnosti.

Kemisorpcijom i/ili derivatizacijom makromolekula ili polimera na površinu koloida postiže se stabilnost koja djeluje kao zaštitni omotač te sprječava aglomeriranje.<sup>17</sup>



Slika 2. Shematski prikaz električnog dvosloja na površini nanočestice<sup>17</sup>

## 1.2. Nanomaterijali

Nanomaterijali se klasificiraju u dvije podgrupe: nanostrukturni i nanofazni/nanočestični materijali. Nanostrukturne površine su jednodimenzionalne površine kod kojih je debljina površine strukture između 0,1 i 100 nm. Nanomaterijali koji su nano razmjera u jednoj dimenziji su slojevi npr. tanki filmovi ili površinski premazi. Materijali koji su na nano skali u dvije dimenzije uključuju nano žice i cjevčice čiji je promjer na nano skali, dok im dužina može biti veća.

Kuglaste nanočestice su trodimenzionalne na nano skali s prostornim dimenzijama između 0,1 i 100 nm, npr. čestice taloga i koloida. U odnosu na konvencionalne materijale, nanomaterijali imaju veći udio graničnih površina što rezultira boljim mehaničkim i funkcionalnim svojstvima.<sup>18</sup> Primjena nanomaterijala je široka, a neki od primjera prikazani su u Tablici 1.<sup>19</sup>

Tablica 1. Primjena nanomaterijala

Vrsta nanomaterijala	Primjena i prednosti kod uporabe
Nanokristali koji se koriste u fotovoltičnim uređajima.	Obnovljiva, zelena energija, novi samoosvjetljujući zasloni za elektroničke uređaje.
Nanosrebro u antimikrobnim zavojima za rane.	Medicinska primjena, zacjeljivanje rana i smanjen rizik od infekcija.
Nanosilikati koji se koriste u rekonstrukciji kosti.	Strukturni popravci zubi i kosti koristeći prirodne materijale koji nisu citotoksični.
Nanomaterijali u pakiranjima za hranu.	Antibakterijsko pakiranje za duži rok trajanja koji povećava sigurnost hrane.
Nanomaterijali koji se koriste kao katalizatori.	Poboljšana ekonomičnost industrijskih procesa, stvaranje manjih količina otpada.
Nanomaterijali koji se koriste obradi otpadnih voda.	Smanjeno izlaganje štetnim mikroorganizmima poput E.Coli, virusima i različitim toksinima.

### 1.3. Nanočestice srebra

Područje nanotehnologije jedno je od najaktivnijih područja istraživanja u suvremenoj znanosti o materijalima. Nanočestice pokazuju nova svojstva ovisno o njihovoj veličini, obliku i morfologiji, što im omogućuje učinkovitu interakciju s biljkama, životinjama i mikrobima. Njihova jedinstvena fizikalna i optička svojstva kao što su površinska plazmonska rezonancija (SPR), visok omjer površine i volumena i površinsko pojačano ramansko raspršenje (SERS) rezultirala su nedavnim razvojem nanočestica metala. Ove jedinstvene značajke dovele su do povećane primjene metalnih nanočestica u području kozmetike, medicine, poljoprivrede, senzora, pročišćavanja i obrade vode, obrade tekstilnog otpada.<sup>20</sup> Nanočestice se koriste kod novih tehnologija izrade solarnih ćelija, kemijskih senzora kao i u medicini gdje se koriste se kao sredstvo protiv gljivica i virusa.<sup>21,22</sup>

Nanočestice metala (Au, Se, Cu) kao i nanočestice srebra posjedujuju antimikrobni potencijal za suzbijanje rasta patogenih mikroorganizama koji su uzročnici različitih infekcija.<sup>23,24</sup>

Antimikrobna svojstva srebra djeluju prema širokom spektru patogena, uključujući viruse, Gram-pozitivne, Gram-negativne bakterije i gljivice.<sup>25</sup>

Srebrov nitat se prvi koristio kao dezinfekcijsko sredstvo, a porast znanstvenih radova istraživanja o antimikrobnim svojstvima započeo je 1920. godine.<sup>26</sup> Upotreba srebra u obliku nanočestica pada 1940-ih, nakon izuma prvih antibiotika.<sup>27</sup> U novije vrijeme sve je više istraživanja na temu srebrovih nanočestica koji djeluje antimikrobno na sve češće pojave multirezistentnih sojeva mikroorganizama. Godišnja proizvodnja srebrovih nanočestica iznosi blizu 320 tona na svjetskoj razini.<sup>28</sup>

### **1.3.1. Mehanizam antimikrobnog djelovanja nanočestica srebra**

Brojna su istraživanja pokazala kako nanočestice srebra imaju veću antimikrobnu aktivnost od slobodnih iona srebra.<sup>29,30</sup> Zbog male dimenzije i velike površine moguć je bolji kontakt nanočestica s mikroorganizmima. Pretpostavka je da nanočestice srebra služe kao “rezervoar” iz kojeg se oslobađaju ioni, tako da antimikrobni učinak nije posljedica samo fizičkih svojstava samih nanočestica, već i oslobađanja iona srebra.<sup>31</sup> Snažna antimikrobna aktivnost širokog spektra proizlazi iz kombiniranog djelovanja nanočestica i slobodnih iona.<sup>32</sup> Burne reakcije organizma na elementarno srebro veoma su rijetke.<sup>33</sup> Predloženi mehanizmi obuhvaćaju interakciju srebrovih nanočestica i Ag<sup>+</sup> iona na različitim strukturama stanice kao što su peptidoglikani, lipopolisaharidi, nukleinske kiseline i enzimi, stanična membrana, ribosomi itd. Nakon interakcije dolazi do promjene staničnog metabolizma i stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta. Sve to dovodi do narušavanja strukturnog integriteta stanice čime nastupa smrt stanice.<sup>27,31,32,34</sup> Oksidativni stres je izazvan nekontroliranim stvaranjem reaktivnih vrsta kisika te dolazi do oštećenja proteina, lipida, mitohondija, DNK, i stanične membrane.<sup>35,36,37</sup>

Tiolne, fosfatene, hidroksilne, imidazolne i indolne funkcionalne skupine su elektron-donorske funkcionalne skupine prema kojima ioni srebra pokazuju veliki afinitet. Ove funkcionalne grupe prisutne su u enzimima, proteinima i nukleinskim kiselinama te su mjesta u stanici na koja djeluju ioni srebra.<sup>32</sup>

## 1.4. Metode dobivanja koloidnog srebra

Sinteza nanočestica srebra opisuje se kroz dva različita pristupa:

- “top down” pristup, odnosno postupak odozgo prema dolje i
- “bottom’s up” postupak, odnosno odozdo prema gore.<sup>38</sup>

U prvoj metodi nanomaterijal se dobiva postupcima smanjenja veličine početnog uzorka. Prema literaturi u ovu grupu se ubrajaju metode: mehaničko mljevenje/legiranje, intenzivna plastična deformacija masivnih uzoraka, kristalizacija iz amorfne faze, litografija i posebne kemijske metode.

Postupak odozdo prema gore uključuje otapanje metala srebra u otapalu uz reducens i formiranje nanočestica srebra.

Neki od “bottom’s up” postupaka su sol gel postupci, piroliza, sinteza superkritičnim fluidima, kemijska depozicija para (CVD), depozicija pomoću pare (PVD), termičko isparavanje, neparavanje pomoću elektrona, ablacija laserom, epitaksijalni rast (MBE) te postupci zelene sinteze (biljke, alge, bakterije, kvasci, aktinomiceti).<sup>39</sup>

### 1.4.1. Fizikalne metode

Fizikalne metode sinteze srebrovih nanočestica uključuju metode kojima se dobivaju čestice od 1 do 100 nm, tipično u čvrstom stanju. Fizikalne metode pripadaju “top-down” pristupu.

Fizikalne metode najčešće ne uključuju korištenje redukcijskog sredstva ili stabilizator te se mogu primjenjivati uz još neku dodatnu metodu. Neke od fizikalnih metoda su metoda kondenzacije pare, metoda pražnjenja električnog luka, metoda laserske ablacije, mehaničko mljevenje – kuglično mljevenje, isparavanje-kondenzacija te pirolizu raspršivanjem (eng. Spray pyrolysis process).

Proces kondenzacije pare sastoji se od dva koraka, isparavanja i kondenzacije, koji se vodi pomoću cijevne peći pri atmosferskom tlaku. Nanočestice različitih materijala, kao što su Ag, Au, PbS, mogu se pripremiti ovom metodom. Kako bi se sintetizirale Ag nanočestice, često se koristi metoda isparavanja, u kojoj ciljni materijali isparavaju pomoću izvora topline, a zatim se brzo kondenziraju što rezultira sintetiziranim nanočesticama.

Metoda lučnog pražnjenja za sintezu nanočestica je učinkovita metoda u kojoj se napon istosmjerne struje primjenjuje preko dvije grafitne elektrode uronjene u inertni plin kao što je He, Ar ili Ne. Tijekom lučnog pražnjenja, površinski sloj srebrove žice prvo isparava te nakon isparavanja, kondenzira u sloju vode. Nakon toga prozirna otopina prelazi u karakterističnu blijedožutu boju koja postaje sve tamnija, svijeto smeđa do smeđa koloidna suspenzija nanočestica srebra. Nanočestice srebra mogu se sintetizirati laserskom ablacijom iz metalne soli srebra u otopini. Prednost metode laserske ablacije u odnosu na druge konvencionalne metode za pripremu metalnih koloida je odsutnost kemijskih reagensa u otopinama.<sup>40</sup>

Proces kugličnog mljevenja jedan je od konvencionalnih procesa koji se koristi kao mehanokemijsko kuglično mljevenje za proizvodnju srebrovih nanočestica u čvrstom stanju. Ova metoda ima dobru kontrolu nad veličinom čestica, ali nije primjenjiva za veliku proizvodnju, sam proces mljevenja može rezultirati agregacijom čestica te je potrošnja energije u odnosu na alternativne metode velika.

Proces pirolize raspršivanjem zahtjeva korištenje atomizatora, cijevne peći, reakcijske cijevi, filtera i vakum pumpe. Ova metoda se često koristi za proizvodnju metalnih prahova te odlikuje manjom agregacijom čestica, čestice su veće čistoće i većeg stupnja kristalnosti u usporedbi s onima proizvedenim kemijskim metodama. Metoda je jednostavna i ponovljiva, međutim proces zahtjeva visoke temperature.<sup>40</sup>

#### **1.4.2. Kemijske metode**

Sinteza nanočestica srebra kemijskom redukcijom najčešće je primjenjivana metoda za pripremu stabilnih, koloidnih disperzija u vodi ili drugim prikladnim organskim otapalima. Općenito, proces kemijske redukcije Ag nanočestica u otopini uključuje sljedeće tri glavne komponente: prekursore metala, redukcijska sredstva i sredstva za stabilizaciju. Cjelokupni proces uključuje suprecipitaciju u kojoj se uočava istovremenost različitih podfaza kao što su redukcija, nukleacija, rast i aglomeracija.<sup>41</sup>

Kemijska redukcija ili konvencionalna kemijska sinteza je najčešći pristup za sintezu Ag nanočestica. Ovaj proces izvodi se pomoću metalnog prekursora kao što je  $\text{AgNO}_3$ , redukcijskog agensa kao što je hidrazin, natrijev borohidrid, etilen glikol ili dimetilformamid



(DMF) uz prisutnost stabilizatora kao što je polivinilpirolidon (PVP) ili polivinilalkohol (PVA). Kemijska sinteza nanočestica jedna je od tehnika “odozdo prema gore”.<sup>40</sup>

Stabilizator se uvodi u matičnu otopinu prije reakcije taloženja kako bi se izbjegla aglomeracija nastalih čestica. Pripremljene nanočestice se odvajaju centrifugiranjem, isperu i suše u vakuumu. Postoji nekoliko tipičnih redukcijskih sredstava uključujući  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{H}_4$ , polioli, natrijev citrat i N,N-dimetilformamid (DMF). Kako bi se spriječila agregacija između Ag nanočestica, natrijev dodecil sulfat (SDS) i neki polimerni sustavi poput polimetakrilne kiseline i polimetilmetakrilata korisna su sredstva za stabilizaciju. Neke od kemijskih redukcijskih reakcija mogu se izvesti pri sobnoj temperaturi, dok većina njih treba povišene temperature za povećanje brzine reakcije.<sup>41</sup>

Međutim, tijekom sinteze na morfologiju nanočestica snažno utječe temperatura. Nanočestice Ag pokazuju mnogo varijacija u obliku, nastaju sferne, trigonalne/heksagonalne strukture. Askorbinska kiselina kao redukcijsko sredstvo pogoduje stvaranju nanočestica na sobnoj temperaturi s prosječnom veličinom čestica od 20 nm. Za pripremu monodisperznih čestica jednake veličine, potrebno je istovremeno formiranje jezgri za kasniji rast. Početna nukleacija i naknadni rast jezgri mogu se kontrolirati podešavanjem parametara reakcije kao što su temperatura, pH, tipovi prekursora, otapala, redukcijska sredstva i sredstva za stabilizaciju.<sup>41</sup>

### **1.4.3. Elektrokemijske metode**

Koloidno srebro može se dobiti na dva osnovna načina elektrokemijskim putem, metodama LVDC (eng. low voltage direct current – niski napon istosmjerne struje) i HVAC (eng. high voltage alternate current - visoki napon izmjenične struje). LVDC je metoda koja se koristi u pripravi koloidnog srebra na manjoj skali, dok se HVAC metoda koristi za masovnu, komercijalnu proizvodnju.

Potreban je istosmjerni napon od 20-30 V, dvije srebrne elektrode, čaša (staklena/plastična) i destilirana voda za dobivanje srebra zadovoljavajuće kakvoće. U procesu je potrebno vršiti provjeru koncentracije, važno je automatsko održavanje gustoće struje koje se kontrolira mjerenjem jakosti struje. Koncentracija srebra tada iznosi od 3-5 ppm te su veličine dobivenih čestica od 1-40 nm. Što su čestice srebra manje, pogodnije su za apsorpciju u organizam i lakše stupaju u kontakt s patogenim organizmima. Laserom se provjerava jakost

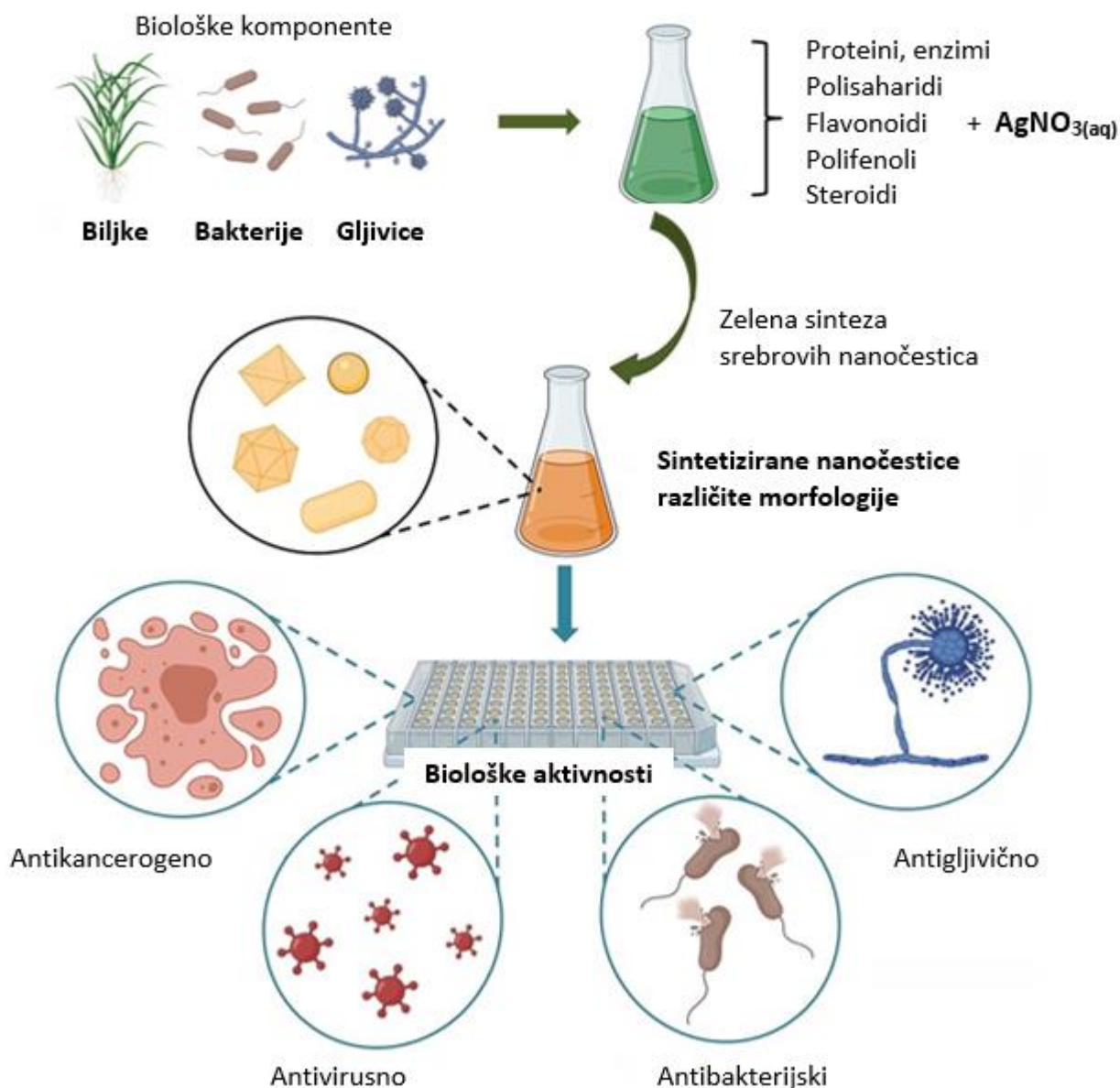
Tyndallovog efekta radi kontrole nastajanja koloidnog srebra. Treba imati u vidu kako niža gustoća struje reakcije daje kontrolirane uvjete.<sup>42</sup>

### **1.5. Zelena sinteza koloidnog srebra i nanočestica srebra**

Zelena sinteza nanočestica nova je grana nanotehnologije koja ima mnoge prednosti u odnosu na kemijske i fizičke metode sinteze nanočestica. Proces je siguran, jednostavan, isplativ, relativno ponovljiv, ekološki prihvatljiv, smanjuje količinu potrebne energije i često rezultira stabilnijim materijalima te nema potrebe za visokim temperaturama niti tlakovima.

Integracija načela zelene kemije s nanotehnologijom postala je ključno područje u nanoznanosti i posljednjih je godina dobila veliku pozornost. U sintezi metala i nanočestica metalnih oksida koriste se biološke metode budući da su dobivene čestice željene veličine i morfologije, a svojstva čestica su poboljšana na ekološki prihvatljiviji način.

Zbog bogate bioraznolikosti biljaka i njihovih potencijalnih sekundarnih metabolita, biljke i dijelovi biljaka u novije su vrijeme dobro iskorišteni u sintezi raznih nanočestica.<sup>20</sup> Osim biljaka i biljnih ekstrakata, koriste se i razni sojevi bakterija, kvasaca, ostaci iz prehrambene industrije, virusi, alge itd.(Slika 3.)



Slika 3. Zelena sinteza srebrovih nanočestica pomoću različitih bioloških komponenti<sup>43</sup>

### 1.5.1. Sinteza pomoću bakterija i kvasaca

Kod bakteriogene sinteze koriste se bakterijski sojevi rezistentni na srebro koji imaju sposobnost akumuliranja srebra na staničnoj stijenci, a bakteriogena sinteza može biti izvanstanična i unutarstanična. Nanočestice mogu biti sintetizirane iz biomase ili iz suspenzije stanične kulture. Srebrove nanočestice sintetizirane ovim putem sferičnog su oblika i veličine od 5-200 nm. Mehanizam kojim bakterije sintetiziraju nanočestice nije potpuno razjašnjen.<sup>40</sup> Brzina sinteze ovisi o bakterijskom soju, literatura navodi kako sinteza

iz stanične kulture sojevima poput E. Coli i K. Pneumonie daje brže rezultate sinteze. Međutim, glavni nedostatak bakteriogene sinteze je spora brzina sinteze i velika raspodjela veličina nanočestica u usporedbi s drugim zelenim metodama. Korištenje bakterijski sintetiziranih Ag nanočestica koriste se u razvoju antimikrobnih sredstava, biosenzora, optike, solarne energije i isporuke lijekova kroz organizam. Sojevi E. Coli, Enterobacter cloacae, Bacillus brevis, Bacillus safensis, Pseudomonas stutzeri, Bacillus methylotrophicus sposobni su reducirati srebro, najčešće iz njegovih soli, uz korištenje nekog od otapala, kao npr. deionizane vode.<sup>40</sup>

Kvasci imaju značajan potencijal za sintezu nanočestica srebra zbog visoke sposobnosti vezanja i bioakumulacije. Istraživanja su pokazala da proces sinteze pomoću kvasaca prati enzimski proces koji utječe na stvaranje stabilnih nanočestica u rasponu od 5-15 nm, ovisno o reakcijskim uvjetima. Manje patogeno ponašanje kvasaca i mogućnost brže sinteze upućuju na prednost upotrebe nad bakterijama. Sinteza uz pomoć kvasaca pokazala se obećavajućim pristupom proizvodnje Ag nanočestica; međutim patogeno ponašanje kvasaca i duga razdoblja sinteze u usporedbi s drugim zelenim metodama čini ga inferiornim među zelenim procesima sinteze.<sup>40</sup>

### **1.5.2. Sinteza pomoću biljaka i biljnih ekstrakata**

Zbog bogate bioraznolikosti biljaka i njihovih potencijalnih sekundarnih metabolita, biljke i dijelovi biljaka u novije su vrijeme dobro iskorišteni u sintezi raznih nanočestica. Biljni ekstrakti mogu djelovati i kao redukcijski i kao stabilizirajući agensi za stvaranje nanočestica, stoga se može izbjeći upotreba kemijskih reducensa i stabilizatora. Biljni ekstrakti mogu poslužiti za sintezu metalnih nanočestica koje su mnogo stabilnije u usporedbi s metodama koje uključuju žive organizme te mogu reducirati metalne ione brže od bakterija i gljivica. Sinteza pomoću biljaka i biljnih ekstrakata smanjuje također troškove izolacije i uzgoja bakterija i gljivica što je jedna od prednosti biljne zelene sinteze.<sup>20</sup>

Biljni ekstrakti sadrže spojeve poput flavonoida i alkaloida koji su topivi u vodi. Ovi spojevi djeluju kao redukcijsko i stabilizacijsko sredstvo. Polifenolna funkcionalna grupa odgovorna je za redukciju srebrovih iona i stabilizaciju srebrovih nanočestica. Sinteza je vrlo jednostavna, potreban je prekursor kao što je AgNO<sub>3</sub> i biljni ekstrakt u obliku praha topivog u vodi. Veličina dobivenih nanočestica ovisi o omjeru prekursora i redukcijskog sredstva,

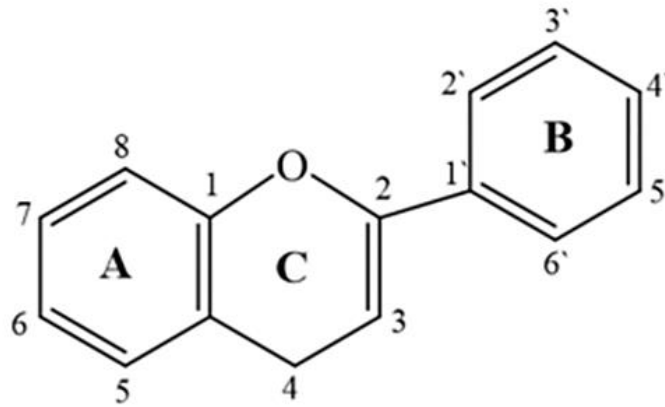
odnosno o koncentraciji, vremenu sinteze, brzini miješanja, temperaturi i pH vrijednosti pri kojoj se provodi sinteza.<sup>40</sup> Literaturni primjeri sinteze pomoću biljaka i biljnih ekstrakata prikazanih na Slici 4. uključuju vrste poput *Skimmia laureole*, *Aloe vere*, *Eclipta albe*, *Rosmarinus officinalis*, s promjerom dobivenih nanočestica od 38 nm, 70 nm, 310 nm i 29 nm.<sup>44</sup>



Slika 4. Primjeri biljaka iz literature korištenih za zelenu sintezu a) *Skimmia laureola*, b) *Aloe vera*, c) *Eclipta alba*, d) *Rosmarinus officinalis*

## 1.6. Flavonoidi

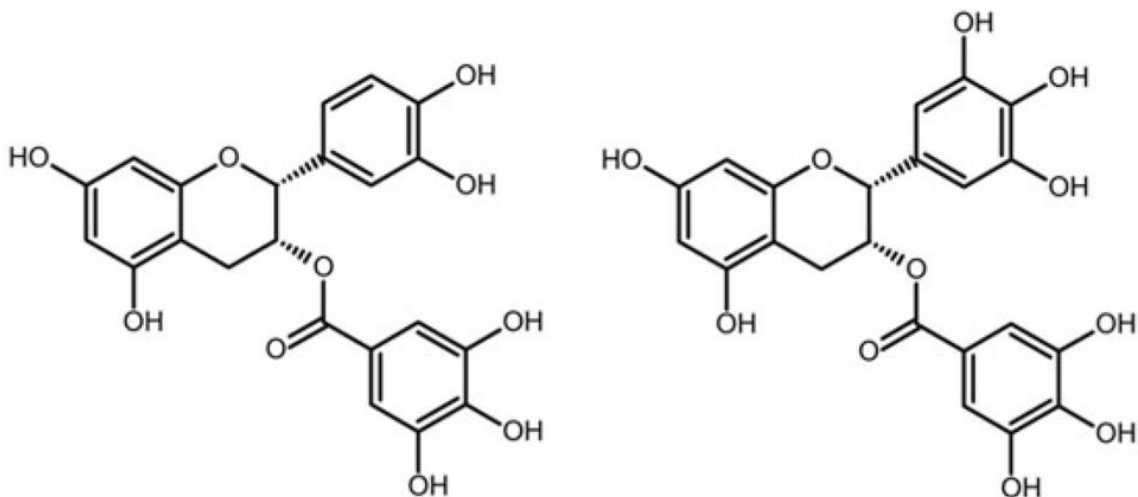
Općenito, osnovna strukturna jedinica flavonoida sastoji se od dva aromatska prstena koja su označena slovima A i B te su povezana s tri ugljikova atoma u obliku heterocikličkog prstena označenim slovom C (Slika 5.).<sup>45</sup>



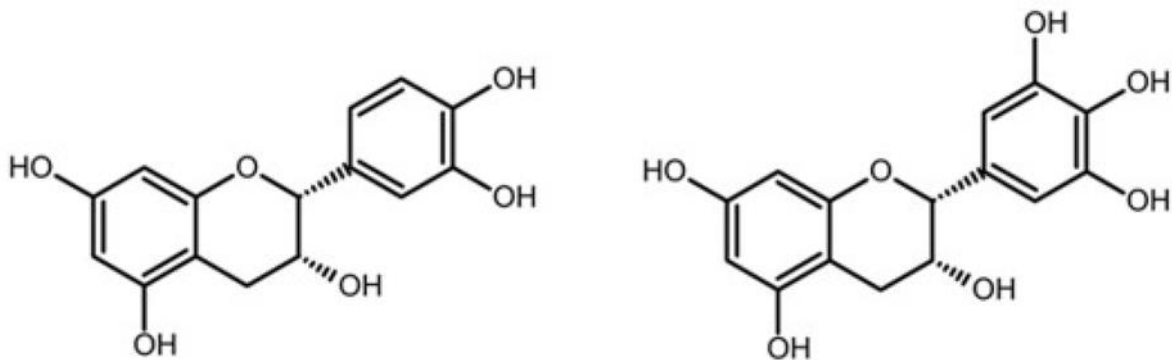
Slika 5. Osnovna strukturna jedinica flavonoida<sup>45</sup>

Prema strukturnim razlikama u prstenu C flavonoidi se dijele na flavanone, flavone, flavonole, flavanole, flavane, izoflavone, flavanonole, halkone, dihidrohalkone, flavan-2,4-diole te antocijanidine.<sup>45</sup> Iz ove podjele najzanimljiviji su flavanoli (npr. (-)-epikatehin (EC) i (-)-epikatehin galat (ECG) koji pripadaju podskupini katehina.<sup>6</sup>

Flavonoidi, odnosno katehini sudjeluju u redukciji nanočestica srebra. Katehini su skupina prirodnih tvari fenolne strukture, raširena u biljnim vrstama. Listovi biljke *Camellie sinensis* (zelenog čaja) bogati su katehinima, a dobivaju pomoću ekstrakcije. Katehini su odgovorni za mnoge blagotvorne učinke zelenog čaja na ljudsko zdravlje zbog svoje antioksidativne aktivnosti.<sup>6</sup>



Slika 6. Strukture (-)-Epigalokatekina-3-galata (EGCG) lijevo i (-)-Epikatekina-3-galata (ECG) desno<sup>46</sup>



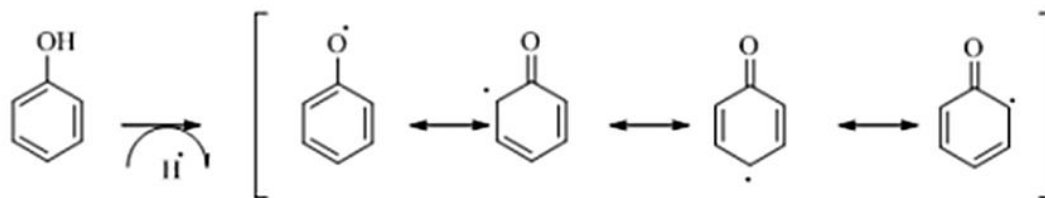
Slika 7. Strukture (-)- Epikatekina (EC) lijevo i (-)-Epigalokatekina desno (EGC)

Strukture najzastupljenijih katehina u zelenom čaju odgovornih za redukciju srebrovih iona prikazani su na slikama 6. i 7.

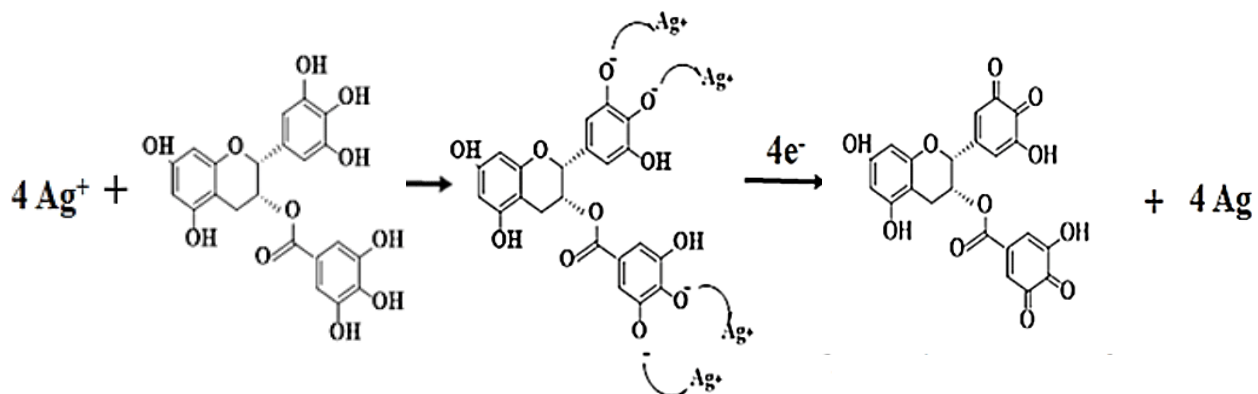
Postoji nekoliko vrsta katehina prisutnih u zelenom čaju, a najzastupljeniji je (-)-epigalokatehin galat (EGCG). Zeleni čaj sadrži sljedeće spojeve: (-)-epigalokatehin (EGC), (-)-epikatehin (EC) i (-)-epikatehin galat (ECG). Prisutni su i epimeri: (-)-katehin galat (CG), (+)-katehin (C) i (-)-galokatehin (GC).<sup>6</sup>

### 1.6. Flavonoidna sposobnost redukcije nanočestica srebra

Flavonoidi, koji pripadaju velikoj obitelji polifenola, imaju sposobnost reducirati srebro otpuštanjem reaktivnog vodikovog atoma procesom tautomerizacije (Slika 8.) u kojem flavonoidi prelaze u keto-taumer stanje u kojemu se reducira  $\text{Ag}^+$  u  $\text{Ag}^0$  pretpostavljenim mehanizmom prikazanim na slici 9.<sup>40</sup>



Slika 8. Prikaz stabilizacije fenoksidnog radikala rezonantnom delokalizacijom<sup>45</sup>



Slika 9. Predloženi mehanizam reakcije između srebrovih iona i (-)-epigalokatekina-3-galata (ECGC)<sup>47</sup>

### 1.7. Utjecaj temperature, pH i koncentracije na zelenu sintezu

Temperatura i pH jedni su od najvažnijih faktora u kontroli svojstava dobivenih nanočestica srebra, također se navodi da pH kontrolira zeta potencijal. Alkalni pH ima potencijal povećanja brzine reakcije zbog pojačane deprotonacije fenolnih spojeva u bazičnom mediju. Osim toga, alkalni pH omogućuje veću koncentraciju hidroksilnih skupina koje sudjeluju u reakciji redukcije. Povećanje temperature jednako je povećanju brzine reakcije što je povoljno za brzu sintezu.

Međutim, visoke temperature (više od 60 °C) mogu dovesti do denaturacije spojeva ekstrakta, dolazi do promijene redukcijskog potencijala koji rezultira značajnim povećanjem veličine dobivenih čestica i aglomeracijom. Madivoli et al. sintetizirali su nanočestice srebra koristeći ekstrakt *Lantana trifolia* pri temperaturi 20 °C i 35 °C. Smanjenje temperature rezultiralo je širim pikom površinskih plazmona te većom raspodjelom veličina nanočestica. U slučaju sinteze pri uvjetima 20 °C dobivene su nanočestice veličine 48 nm, a pri 35 °C veličina je iznosila 60 nm.<sup>46</sup> Koncentracija  $\text{AgNO}_3$  otopine i omjer redukcijskog sredstva u odnosu na prekursor je od velike važnosti, navodi se da snižavanjem koncentracije  $\text{AgNO}_3$  dolazi do smanjenja veličine dobivenih nanočestica.<sup>40</sup>

### 1.8. Karakterizacija koloidnog srebra

Najjednostavniji kvalitativan test za dokazivanje koloidnih sustava je pomoću lasera, odnosno procjena Tyndallovog efekta. Tyndallov efekt označava raspršenje svjetlosti na česticama u koloidnom sustavu. Kod koloidnih sustava dolazi do apsorpcije svjetlosti, a kod



suspenzija najčešće dolazi do pojave Tyndallovog efekta.<sup>48</sup> Ovaj efekt nastaje kao posljedica prisutnosti koloidnih čestica, a raspršenje je proporcionalno koncentraciji koloidnih čestica.

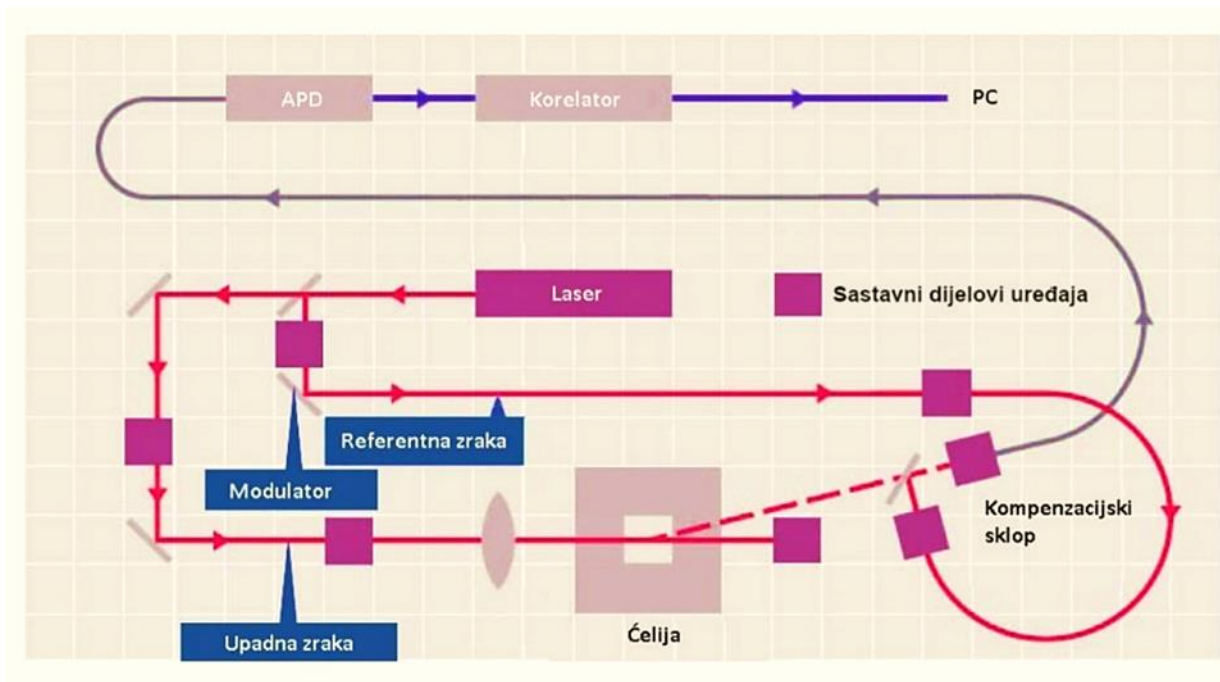
Koncentracija srebra u otopini je suma koncentracija koloidnih čestica srebra i iona srebra, a najčešće se izražava kao ppm odnosno part per milliom ( $\text{mg}/\text{dm}^3$ ). Čestice srebra su one koje određuju koloid te su one poželjne zbog apsorpcije u organizmu. Ioni srebra tijekom konzumacije reagiraju s klorom iz želučane kiseline te dolazi do stvaranja  $\text{AgCl}$ , dok čestice srebra napuštaju probavni trakt i apsorbiraju se u krv nepromijenjene.<sup>49</sup>

Pomoću Faradayevog zakona može se odrediti koncentracija nastalog kolodnog srebra, no ovaj pristup nije dovoljno točan i pouzdan te se koristi za određivanje koncentracije koloidnog srebra dobivenog elektrokemijskim putem. Za kvalitativnu procjenu koncentracije koloidnog srebra koristi se PWT (eng. Pure Water Tester; tester čiste vode) i TDS (eng. total dissolved solids; ukupno otopljene krutine).<sup>42</sup>

Obje metode imaju svoje nedostatke, a za sveobuhvatnu analizu primjenjuju se kvantitativne analize mjerenja. Mjerenje dinamičkog raspršenja svjetlosti koristi se za mjerenje zeta potencijala kao mjere stabilnosti koloidne otopine. DLS analiza procjenjuje veličine nastalih čestica i određuje uniformnost uzorka. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) daje informacije o kemijskom sastavu, strukturi i konformacijama molekula te se stoga koristi kao identifikacijska metoda.

Kod karakterizacije koloidnog srebra bitno je odrediti veličinu nastalih čestica jer je veličina disproporcionalna antimikrobnom djelovanju, odnosno nanočestice manjih dimenzija su povoljnije u interakciji s različitim patogenim organizmima. Za određivanje točne veličine čestica kao i karakterizaciju koriste se transmisijski elektronski mikroskop (TEM) i pretražni elektronski mikroskop (SEM).<sup>50</sup>

Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS) također je poznata kao fotonska korelacijska spektroskopija (PCS) ili fotonska korelacijska spektroskopija (kvazielastično raspršenje svjetlosti, QELS)<sup>17</sup>. Eksperimentalna metoda temelji se na mjerenju vremenske autokorelacijske funkcije intenziteta svjetlosti raspršene na razrijeđenoj otopini makromolekula ili razrijeđenoj disperziji čestica. Komponente uređaja prikazane su na slici 10.



Slika 10. Princip rada DLS uređaja

Obično se koristi za određivanje veličine čestica u disperziji, mjerenje hidrodinamičke pokretljivosti čestica u određenom mediju i određivanje stabilnosti otopina.<sup>17</sup> Koloid se smatra stabilnim ako je apsolutna vrijednost zeta potencijala koloidnih čestica veća od  $\pm 30$  mV.

Ako je apsolutna vrijednost zeta potencijala veća od 30 mV, koloid postaje nestabilan i postoji mogućnost agregacije (koagulacije) koloidnih čestica.

Stabilnost koloida ovisi o pH, ionskoj jakosti, koncentraciji aditiva, koagulanata, površinski aktivnih tvari itd.<sup>51</sup>

FTIR analiza mjeri raspon valnih duljina u infracrvenom području koje apsorbira materijal. To se postiže primjenom infracrvenog zračenja (IR) na uzorke materijala. Mjeri se sposobnost uzorka da apsorbira energiju infracrvenog svjetla na različitim valnim duljinama kako bi se odredio molekularni sastav i struktura materijala.

Nepoznati materijali se identificiraju pretraživanjem IR spektra u bazi podataka koja ima širok raspon referentnih spektara. FT-IR analiza može se koristiti za identifikaciju nepoznatih materijala, aditiva unutar polimera, površinske kontaminacije materijala i više. Rezultati testova mogu točno odrediti molekularni sastav i strukturu uzorka.

U ovoj se metodi koristi infracrveno svjetlo koje se apsorbira ili prolazi kroz uzorak. Rezultirajući spektar predstavlja molekularnu apsorpciju i transmisiju, stvarajući molekularni otisak uzorka. Poput otisaka prstiju, dvije molekularne strukture neće proizvesti isti infracrveni spektar, pa se infracrvena spektroskopija može koristiti za mnoge vrste analiza.<sup>51</sup>

UV-Vis spektroskopija koristi se u analizi uzoraka nanočestica srebra na način da UV-Vis zračenje ima dovoljnu energiju da uzrokuje pobuđivanje valentnih elektrona u molekuli. Osim za identifikaciju brojnih organskih i anorganskih vrsta tvari, primjenjuje se i za kvantitativnu analizu koja se temelji na Beer-Lambertovom zakonu.<sup>52</sup>

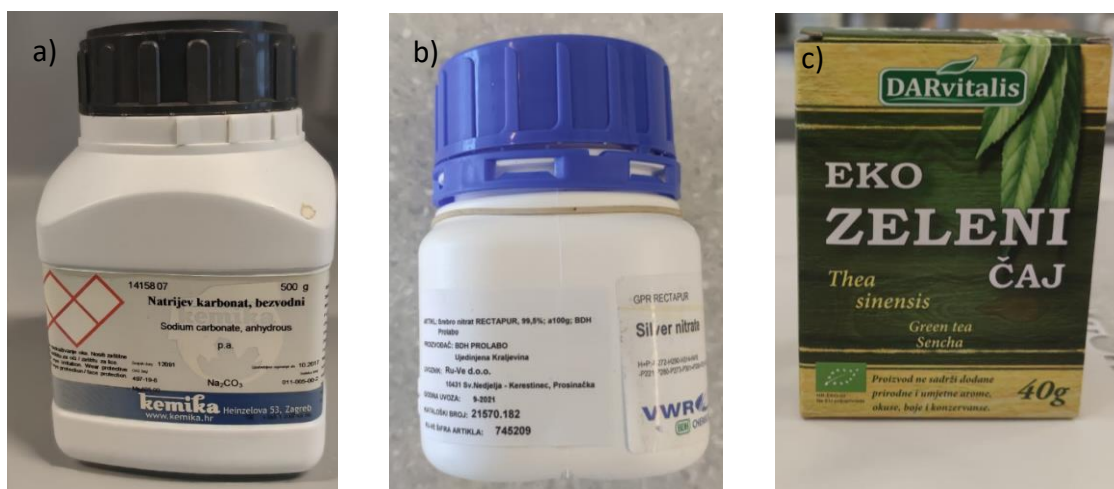
Pojava oštrog pika pri približno 400 nm UV-Vis analizom ukazuje nam na prisutnost nanočestica srebra. Povećanjem veličine nanočestica dolazi do pomicanja apsorpcijskog maksimuma prema većim valnim duljinama.<sup>12</sup>

## 2. EKSPERIMENTALNI DIO

### 2.1. Popis upotrebljenih kemikalija i korištene aparature

U ovom radu korištene su sljedeće kemikalije i aparatura:

- srebrov nitrat 99,5% proizvođača BDH PROLABO (UK)
- destilirana voda s vodljivosti  $4 \mu\text{Scm}^{-1}$
- natrijev karbonat bezvodni,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , za podešavanje pH vrijednosti proizvođača Kemika. d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- eko zeleni čaj proizvođača Darvitalis d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- reaktor (staklena čaša od 500 ml)
- kapaljka za dokapavanje određene količine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  i titracijska kolona za dokapavanje otopine  $\text{AgNO}_3$
- magnetna miješalica, Rotamix 550 MMH, proizvođača Tehtnica
- digitalni pH metar za mjerenje pH vrijednosti, Handylab, proizvođača Schott, Njemačka
- centrifugalni taložnik
- mikrofiltarska pumpa, Rocker 300 (Tajvan)
- stakleno filtarsko platno veličine pora  $1 \mu\text{m}$  (Meksiko)
- izvor laserske zrake za provjeru prisunosti koloida u otopini

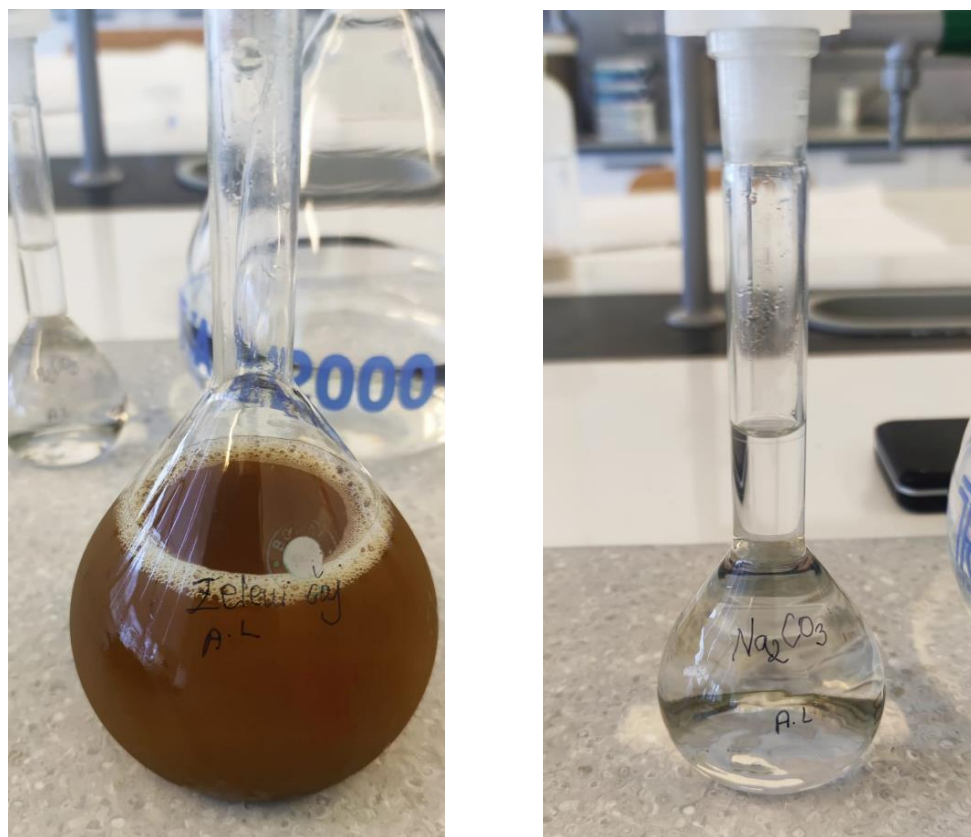


Slika 11. Prikaz korištenih kemikalija za sintezu koloidnog srebra: a) natrijev karbonat b) srebrov nitrat c) eko zeleni čaj

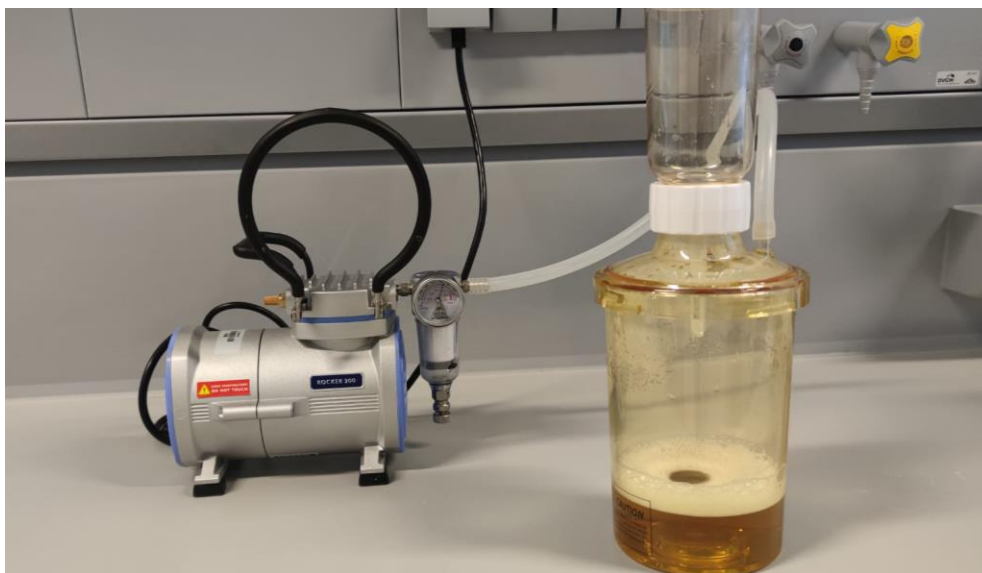
## 2.2. Priprava otopina potrebnih za provedbu eksperimenta

Prije zelene sinteze koloidnog srebra prethodno je bilo potrebno pripremiti otopinu zelenog čaja (Slika 12.), otopinu natrijevog karbonata koncentracije 0,1 M za nadknadno podešavanje pH vrijednosti otopina (6, 7, 8, 9) i otopinu srebrovog nitrata koncentracije 0,0001 M koji se koristio za dokapavanje u rashlađenu i profiltriranu otopinu čaja. Otopina zelenog čaja je pripravljena miješanjem 10 g suhog eko zelenog čaja s 500 mL proključale destilirane vode. Zeleni čaj je kuhan u periodu od 20 minuta na temperaturi od 90 °C – 95 °C uz korištenje magnetske mješalice. Vruća otopina profiltrirana je kroz filter papir, a nakon hlađenja na sobnoj temperaturi filtracija je provedena pomoću vakuum filter pumpe, sa staklenim vlaknima veličina pora 1 μm, prikazane na slici 13.

Za pripravu otopina natrijevog karbonata i srebrovog nitrata određenih koncentracija izračunata je masa kristala natrijevog karbonata i srebrova nitrata.



Slika 12. Prikaz pripremljenih otopina zelenog čaja lijevo i otopine natrijeva karbonata desno



*Slika 13. Vakuum filter pumpa s mikrofilterom za filtraciju otopine zelenog čaja nakon hlađenja otopine pri sobnoj temperaturi*

### 2.2.1. Proračun koncentracija otopina za sintezu

Budući da su vrijednosti molarne mase, koncentracije i volumena srebrvog nitrata zadane, moguće je izračunati množinu i masu potrebnog srebrvog nitrata i natrijevog karbonata za pripremu otopine zadane koncentracije pomoću formula (2) i (3). Potrebna masa natrijevog karbonata:

$$c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,1 \text{ dm}^3$$

$$M(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 105,00 \text{ g mol}^{-1}$$

$$c = \frac{n}{V} \quad \rightarrow \quad n = c \cdot V \tag{2}$$

$$n = \frac{m}{M} \quad \rightarrow \quad m = n \cdot M \tag{3}$$

$$n(\text{Na}_2\text{CO}_3) = c(\text{Na}_2\text{CO}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{CO}_3)$$

$$n(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,1 \text{ dm}^3$$

$$n(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,01 \text{ mol}$$

$$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = n(\text{Na}_2\text{CO}_3) \cdot M(\text{Na}_2\text{CO}_3)$$

$$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,01 \text{ mol} \cdot 150,00 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 1,0599 \text{ g} \approx 1,06 \text{ g}$$

Potrebna masa natrijevog karbonata je 1,06 grama.

Potrebna masa srebrovog nitrata:

$$c(\text{AgNO}_3) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{AgNO}_3) = 0,3 \text{ dm}^3$$

$$M(\text{AgNO}_3) = 169,87 \text{ g mol}^{-1}$$

$$n(\text{AgNO}_3) = c(\text{AgNO}_3) \cdot V(\text{AgNO}_3)$$

$$n(\text{AgNO}_3) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,3 \text{ dm}^3$$

$$n(\text{AgNO}_3) = 0,0003 \text{ mol}$$

$$m(\text{AgNO}_3) = n(\text{AgNO}_3) \cdot M(\text{AgNO}_3)$$

$$m(\text{AgNO}_3) = 0,0003 \text{ mol} \cdot 169,87 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{AgNO}_3) = 0,50961 \text{ g}$$

Potrebna masa srebrovog nitrata je 0,50961 g.

## **2.3. Instrumenti za analizu nastalog koloidnog srebra**

### **2.3.1. Ispitivanje koncentracije uz pomoć Tyndallovog efekta**

Jedan od načina kako se može procijeniti koncentracija koloidnog srebra je uz pomoć lasera. Tyndallov efekt nastaje kao posljedica prisutnosti koloida u otopini. Na ovaj način može se procijeniti približna koncentracija i kvaliteta otopine. Također, Tyndallov efekt može ukazivati i na količinu većih čestica. Tyndallov efekt odnosno raspršenje svjetlosti pojavljuje se na vrlo sitnim lebdećim česticama disperznih sustava. Uzak snop svjetlosti koji u nekom određenom smjeru ulazi u disperzijski sustav vidjet će se zbog raspršenja svjetlosti ako se sustav promatra bočno, sa strane. Što je veća koncentracija koloidnog srebra u uzorku, to je intenzitet Tyndallovog efekta veći.

### **2.3.2. UV-Vis spektrofotometar**

Apsorbancija nastalih koloida određena je pomoću UV-Vis spektrofotometra Agilent Cary 5000. UV-Vis Spectrophotometer koji je prikazan na slici 14. Ovom analizom se potvrđuje nastanak nanočestica srebra, a za koloidno srebro se očekuje apsorbancija između 380 i 440 nm. Agilent Cary 5000 UV – Vis spektrofotometar je namijenjen za spektrofotometrijska mjerenja u rasponu valnih duljina od 190 do 1100 nm. Analiza je provedena u području

mjerenja u rasponu od 300 do 600 nm. UV-Vis spektrofotometar sadrži Agilent ksenonsku izvornu lampu. Spektrofotometar koristi optička vlakna za mjerenja, a rezultati mjerenja su gotovi u vrlo kratkom vremenskom periodu, za manje od minute. Rezultati su visoke rezolucije i garantiraju precizno mjerenje malih volumena i važnih uzoraka u tekućem i krutom agregatnom stanju.



*Slika 14. UV-Vis spektrofotometar - Agilent Cary 5000 UV-Vis Spectrophotometer*

### **2.3.3. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FT-IR)**

Infracrvena spektroskopija provedena je pomoću Spectrum One Perkin-Elmer spektrofotometra (slika 15.). Ovaj spektrometar ima mogućnost analize krutih, kapljevih i plinovitih uzoraka primjenom odgovarajućih dodataka osnovnoj postavci uređaja. Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR je infracrveni spektrometar visoke kvalitete, dizajniran da zadovolji zahtjeve čak i najzahtjevnijih okruženja. Za spektroskopiranje kapljevih uzoraka najprikladnije je koristiti tehniku vodoravne prigušene totalne refleksije (HATR). Uzorci su snimljeni HATR tehnikom na kristalu od ZnS (kut upadne zrake  $60^\circ$ ) u području valnih brojeva od  $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ . Snimanje IR spektra izvršeno je pomoću Perkin Elmerovog Spectrum One uređaja. Ovaj spektrofotometar proizvodi brze, pouzdane informacije o molekularnom sastavu, generira visokokvalitetne spektralne informacije te daje brze rezultate u stvarnom vremenu.





*Slika 15. Spectrum One Perkin-Elmer spektrofotometar*

#### **2.3.4. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS)**

Analiza uzoraka koloidnog srebra provedena je na instrumentu DLS Litesizer 500 Anton Paar (Graz, Austija) čije je mjerno područje od 3,8 nm do 100  $\mu\text{m}$ . Instrument je prikazan na slici 16. Analiza je provedena na uzorcima pri pH vrijednosti 6, 7, 8, 9. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS) najčešća je mjerna tehnika za analizu veličine čestica u nanometarskom području. Dinamičko raspršenje svjetlosti (DLS) temelji se na Brownovom gibanju raspršenih čestica. Kada su čestice raspršene u koloidnom srebru one se kreću nasumično u svim smjerovima. Princip Brownovog gibanja je da se čestice neprestano sudaraju s molekulama otapala. Ti sudari uzrokuju prijenos određene količine energije, što potiče kretanje čestica. Prijenos energije je više-manje konstantan i stoga ima veći učinak na manje čestice. Zbog toga se manje čestice kreću većim brzinama od većih. Ovom metodom procjenjuje se hidrodinamički promjer nastalih nanočestica srebra, kao i njihov intenzitet, volumen i broj. Indeks polidisperznosti (PDI) dan je kako bi se opisala širina raspodjele

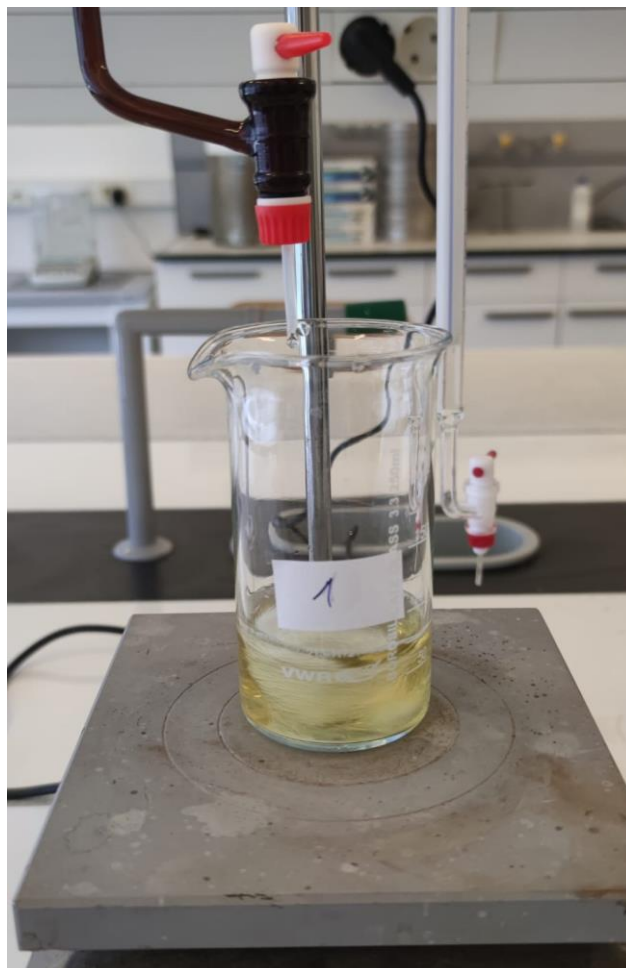
veličine čestica. Ako je vrijednost PDI-a ispod 10 %, sustav je monodisperzan što znači da su sve izmjerene čestice gotovo iste veličine.



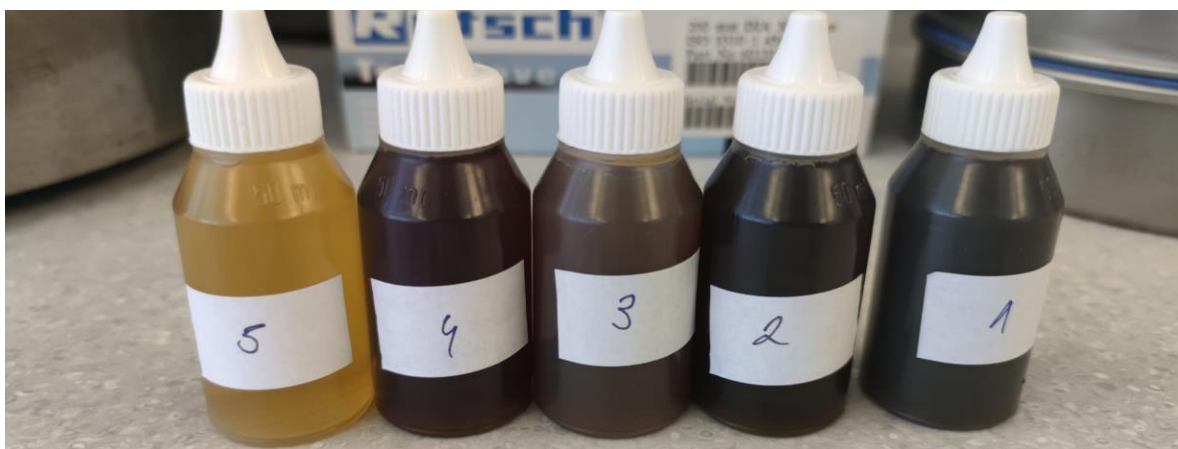
*Slika 16. Instrument DLS Litesizer 500 Anton Paar*

#### **2.4. Sinteza koloidnog srebra kemijskom redukcijom**

Nakon što su pripravljene otopine srebrovog nitrata koncentracije  $0,001 \text{ mol dm}^{-3}$ , natrijevog karbonata koncentracije  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  i zelenog čaja koji je dvostruko filtriran, sinteza se provodi na način da se u otopinu zelenog čaja dokapava otopina srebrova nitrata brzinom 1 kap/s uz mješanje na magnetskoj mješalici brzinom 700 o/min što se može vidjeti na slici 17. Naknadno podešavanje pH vrijednosti otopinom provodilo se otopinom natrijeva karbonata. Potrebno je 45 mL otopine  $\text{AgNO}_3$  i 15 mL otopine čaja za jedan uzorak odnosno sinteza se provodila u omjeru 3:1 u korist otopine  $\text{AgNO}_3$ . Sintetizirano je 4 uzorka koloidnog srebra (pH vrijednosti 6, 7, 8 i 9). Nakon sinteze uzoraka koloidnog srebra (slika 18.) i naknadnog podešavanja pH vrijednosti otopinom natrijeva karbonata koncentracije  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  izvršeno je centrifugiranje svakog sintetiziranog uzorka pomoću centrifuge prikazane na slici 19.



*Slika 17. Dokapavanje otopine  $\text{AgNO}_3$  u ohlađenu otopinu zelenog čaja*



*Slika 18. Slike otopina nakon provedene sinteze redom s lijeva na desno: zeleni čaj, koloidno srebro pH vrijednosti 9, 8, 7 i 6.*

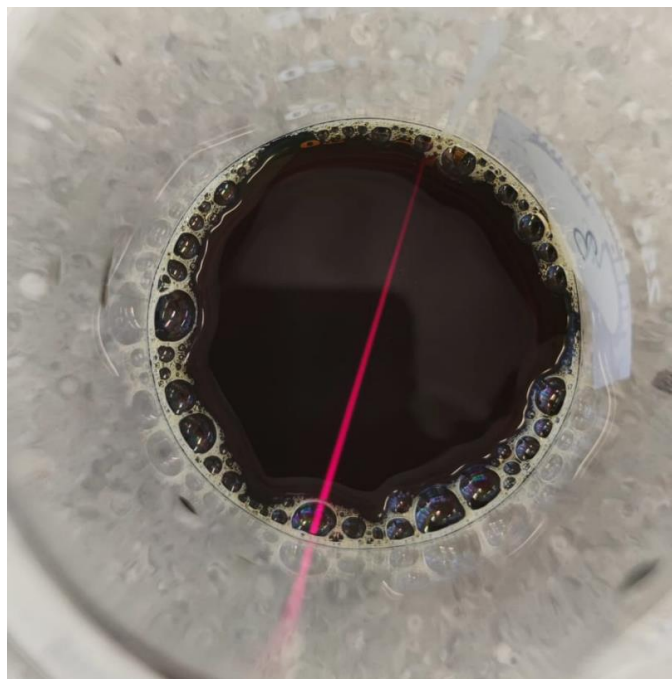


*Slika 19. Centrifuga*

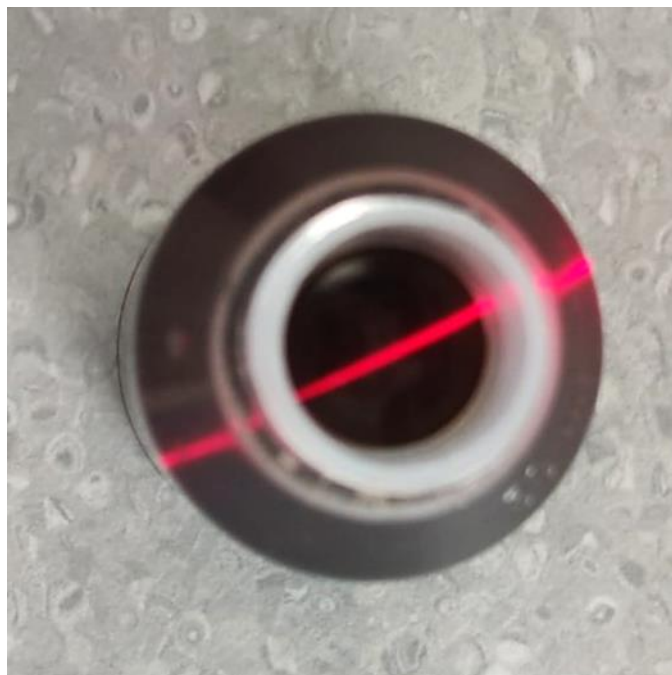
Centrifugiranje svakog od uzoraka provodilo se u vremenu od 10 min brzinom od 3000 o/s. Ovaj postupak omogućio je smanjenje mutnosti dobivenih suspenzija kao i olakšanu karakterizaciju koloidnog srebra odabranim metodama analize. Iz slike 18. može se vidjeti kako su sve otopine tamno smeđe boje što ukazuje na brzu i jaku redukciju srebrovih iona, osim uzorka pri pH vrijednosti 7 koji je svijetlije smeđe boje. Zeleni čaj je pripremljen s prevelikim omjerom suhog čaja u odnosu na destiliranu vodu te su svi uzorci u vrlo kratkom roku postali tamno smeđe boje. Uzorak pri pH vrijednosti 6 je poprimio sivo-smeđu boju.

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

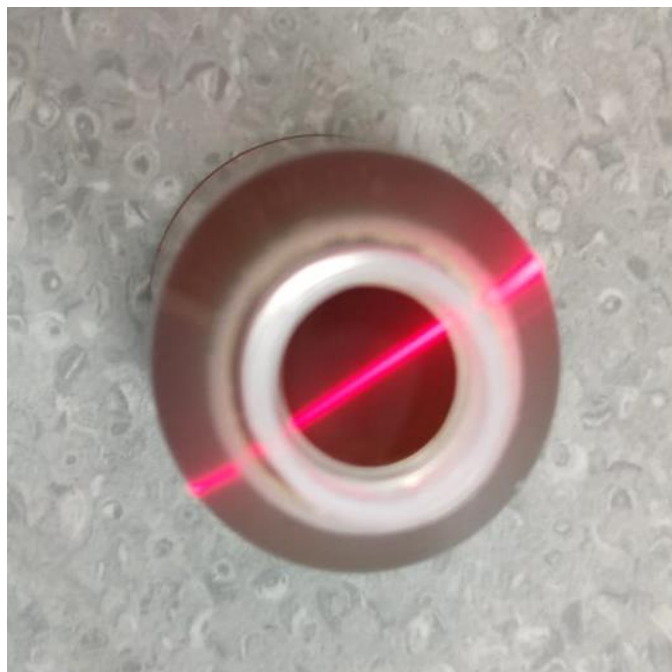
Jedan od načina kako se može procijeniti koncentracija koloidnog srebra je uz pomoć lasera. Intezitet Tyndallovog efekta prikazan je na slikama 20., 21., 22 I 23. pri pH vrijednosti redom 6, 7, 8 i 9.



*Slika 20. Tyndallov efekt pri pH=6*



*Slika 21. Tyndallov efekt pri pH=7*



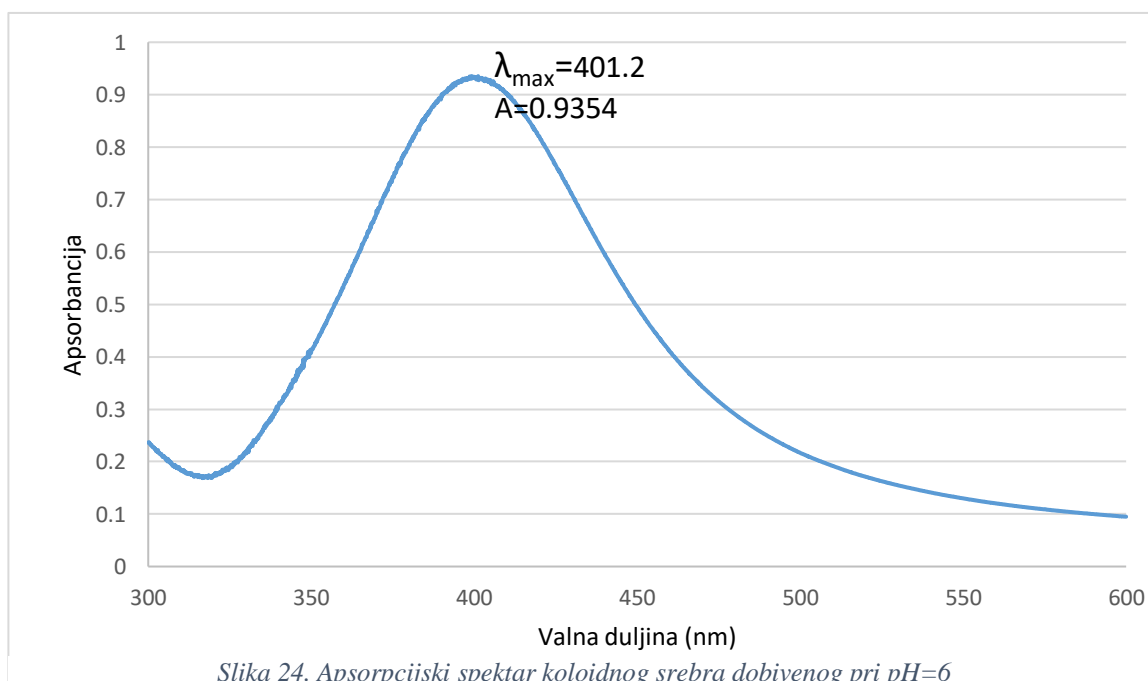
*Slika 22. Tyndallov efekt pri pH=8*



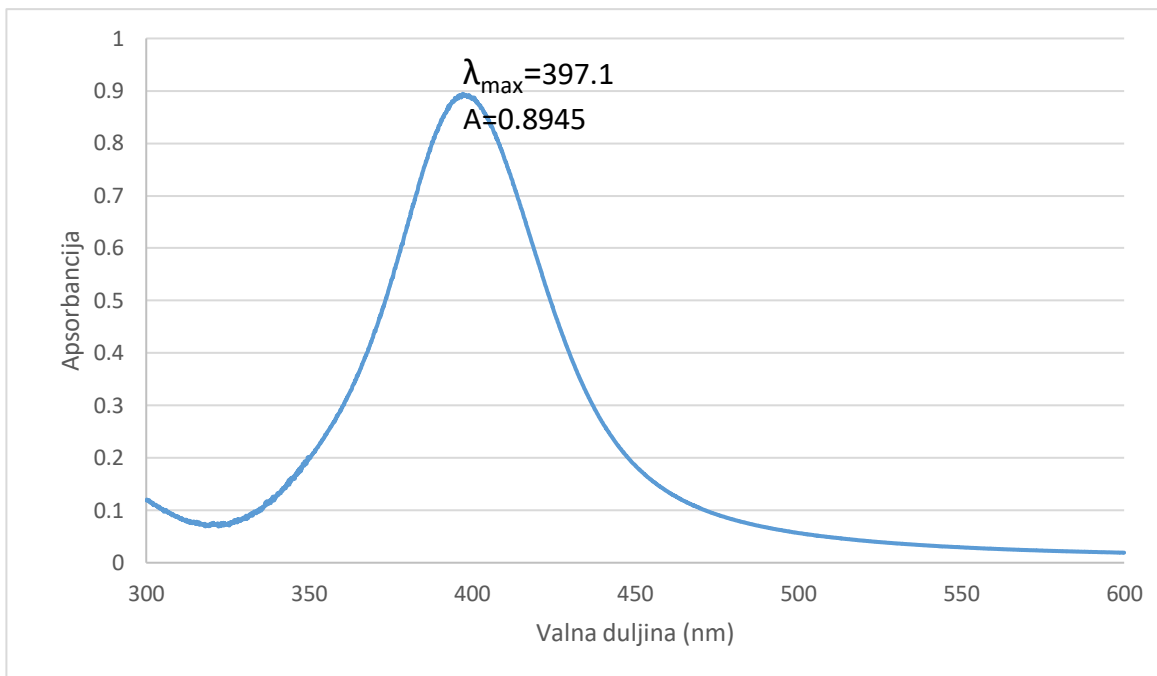
*Slika 23 .Tyndallov efekt pri pH=9*

Tyndallov efekt najizraženiji je pri pH vrijednostima 7 i 8. Suspenzija pri pH =8 je najsvjetlija stoga je i laserska zraka najuočljivija dok su koncentracije podjednake.

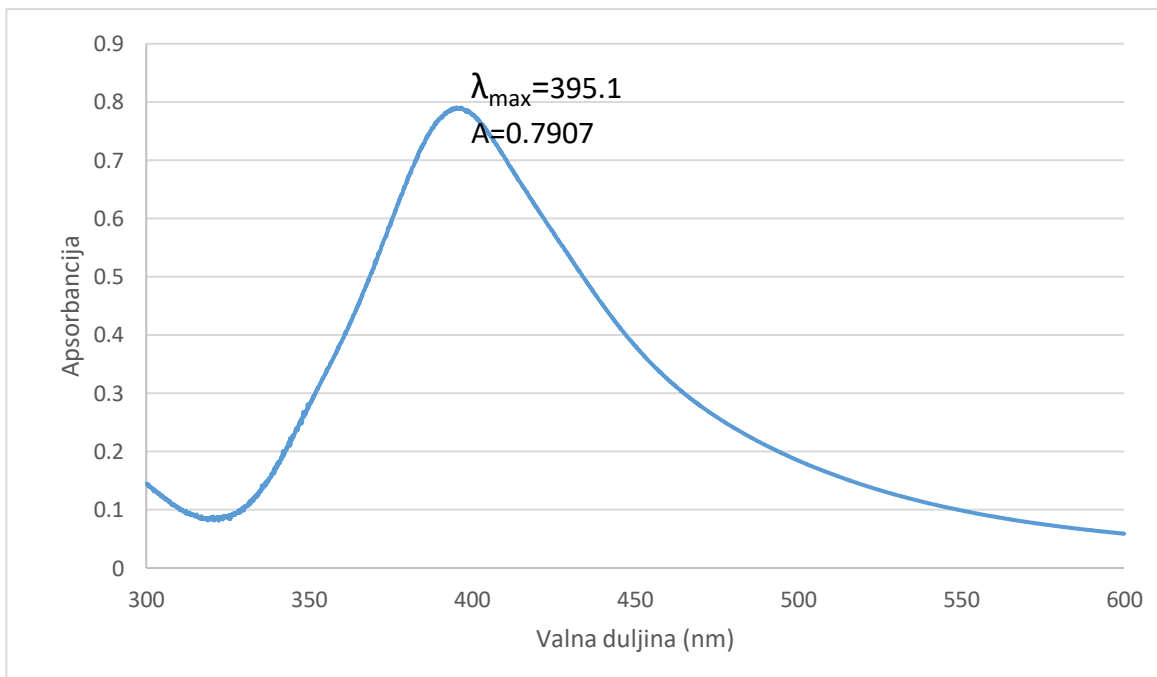
UV-Vis analiza daje podatke o veličini čestica u suspenziji. Osnovno načelo UV-Vis spektroskopije je da analit apsorbira dio elektromagnetnog zračenja prilikom prolaska zračenja kroz otopinu uzorka. Određene valne duljine svjetlosti mogu potaknuti vodljive elektrone u metalu na kolektivno osciliranje, što se naziva pojavom površinske plazmonske rezonancije. Srebrove nanočestice manjih dimenzija (10-20 nm) obično imaju mali vrh apsorbancije blizu  $\lambda_{\max}$  od 390-400 nm, dok veće nanočestice (100–220 nm) daju širi vrh s  $\lambda_{\max}$  koji se pomiče prema dužim valnim duljinama blizu 470-500 nm. Spektri većih čestica srebra imaju sekundarni vrh na kraćoj valnoj duljini, što je rezultat kvadropolne rezonancije, uz primarnu dipolnu rezonanciju. Osim veličine i oblika čestica, koncentracija čestica ima utjecaj na promatranu boju i apsorbanciju na  $\lambda_{\max}$ . Na slikama 24.-27. prikazani su UV-Vis spektri uzoraka koloidnog srebra sintetiziranih pri različitim pH vrijednostima. Boja uzoraka se kreće od smeđe pri pH=6 do tamno smeđe pri pH=9. Na slici 28. prikazan je zajednički dijagram apsorpcijskih spektara svih sintetiziranih suspenzija i otopine zelenog čaja na kojem se može uočiti da se povećanjem pH vrijednosti valna duljina apsorpcije smanjuje.



Slika 24. Apsorpcijski spektar koloidnog srebra dobivenog pri pH=6

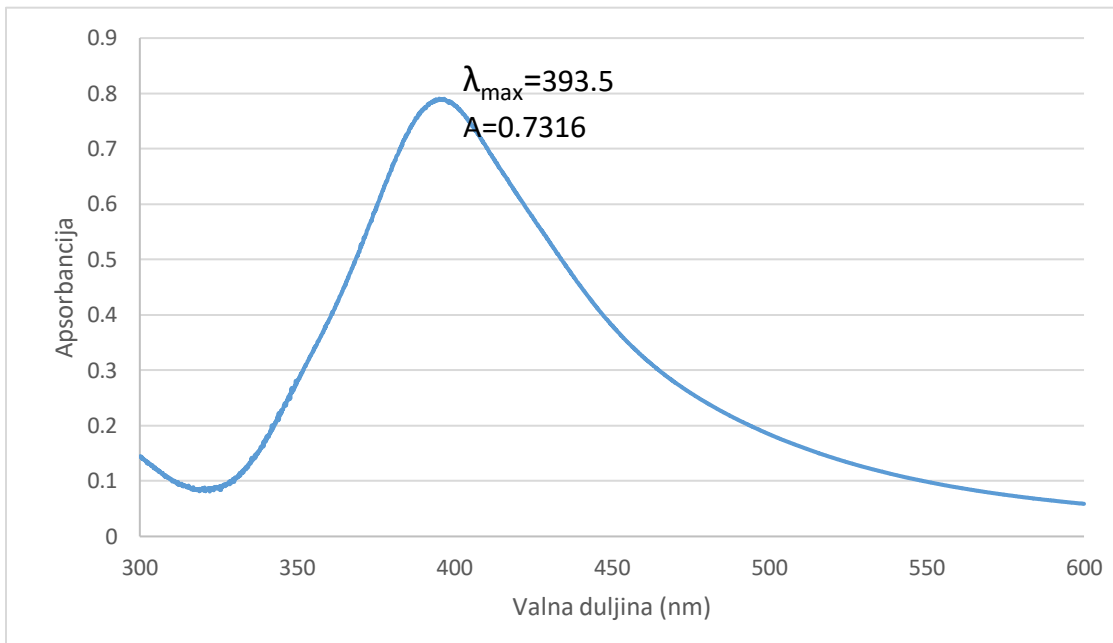


Slika 25. Apsorpcijski spektar koloidnog srebra dobivenog pri pH=7

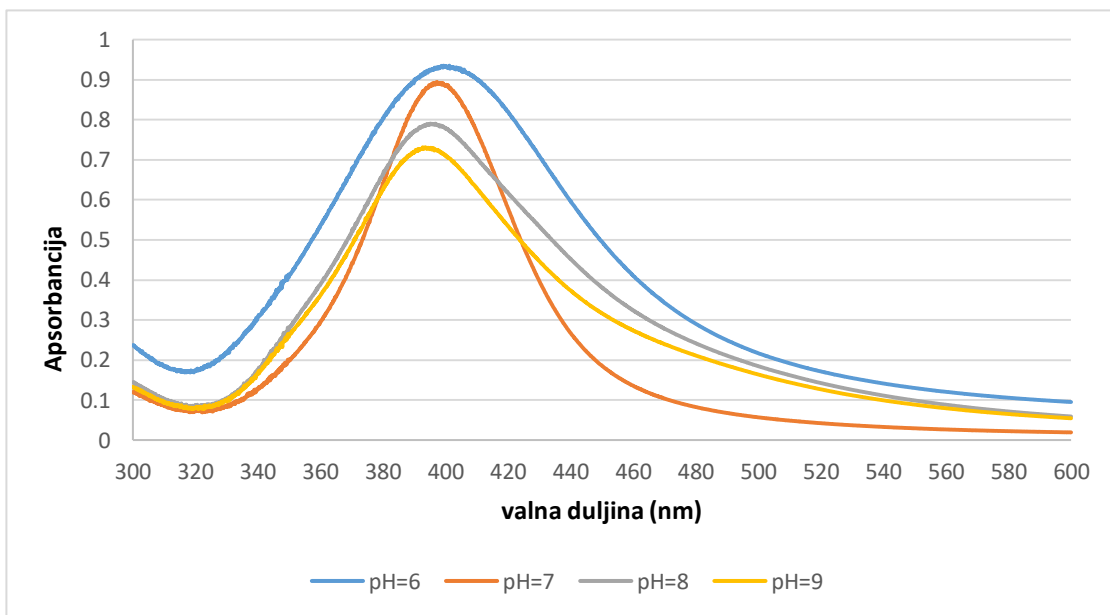


Slika 26. Apsorpcijski spektar koloidnog srebra dobivenog pri pH=8





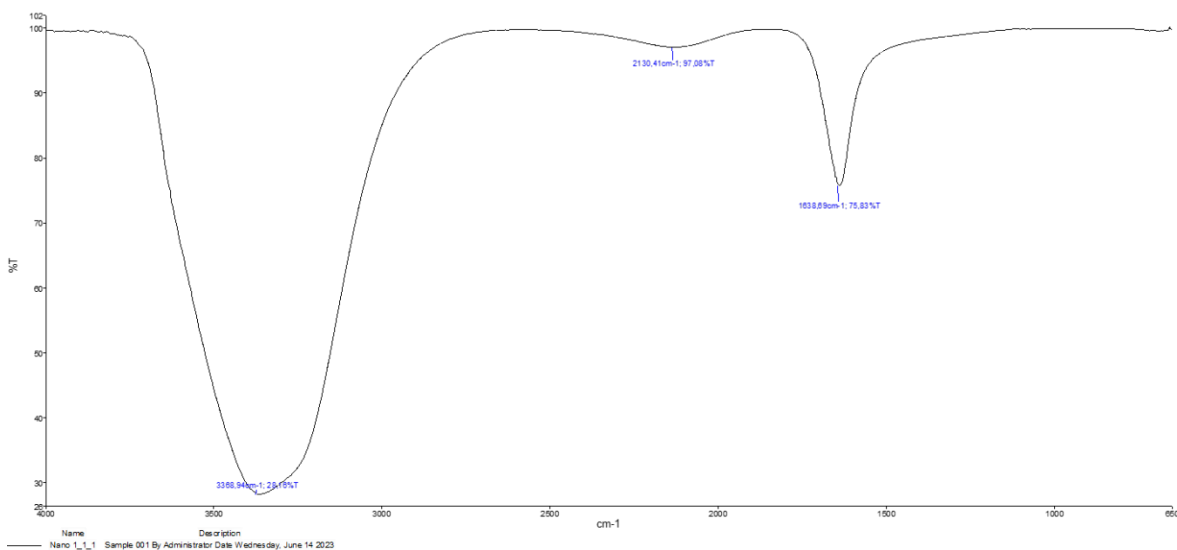
Slika 27. Apsorpcijski spektar koloidnog srebra dobivenog pri pH=9



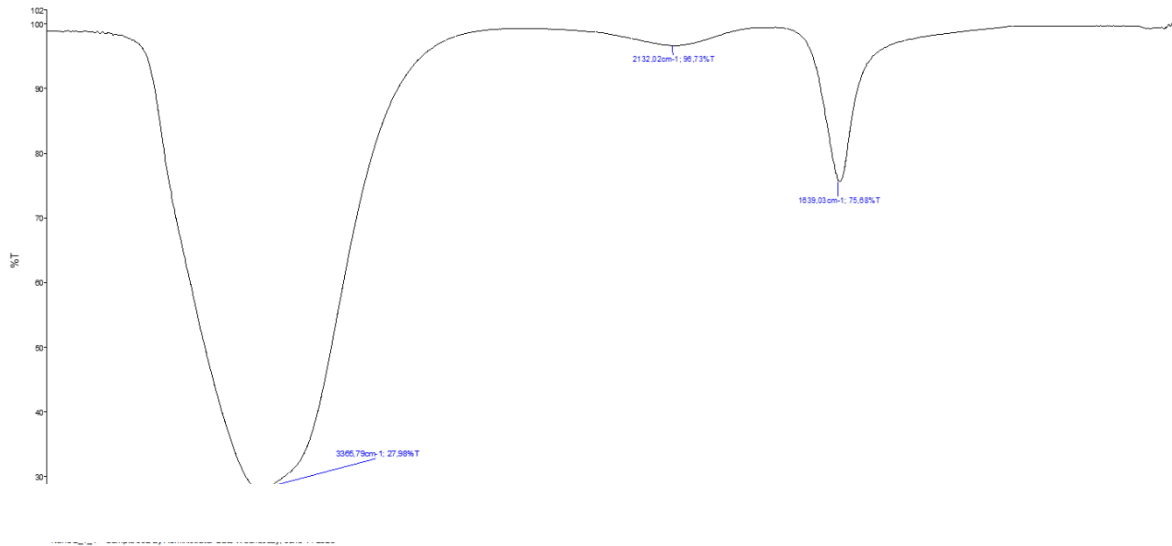
Slika 28. Apsorpcijski spektri koloidnog srebra dobivenih pri pH=6, 7, 8 i 9

Iz apsorpcijskih spektara dobivenog koloidnog srebra može se uočiti kako je apsorbancija na svakom od uzoraka poprilično visoka, od 0,73 do 0,93. Apsorbancija je najveća kod koloidnog srebra pripremljenog pri pH=6, a najmanja pri pH=9. Apsorbancija i maksimumi pikova se povećanjem pH vrijednosti smanjuju. Kod vrlo obojenih i tamnih suspenzija, apsorbancija je visoka jer čestice privlače veći intenzitet svjetlosti od slabo obojenih suspenzija. Širina pika pri vrijednosti apsorbancije od 0,5 (intenzitet apsorbancije 50%) usko je povezana s veličinom čestica, stoga koloidno srebro sintetizirano pri pH vrijednosti 7 ima najmanje veličine nanočestica, što se može zaključiti iz slike 28. FTIR analiza korištena je za praćenje funkcionalnih grupa u strukturi zelenog čaja prije i nakon sinteze koloidnog srebra kemijskom redukcijom.

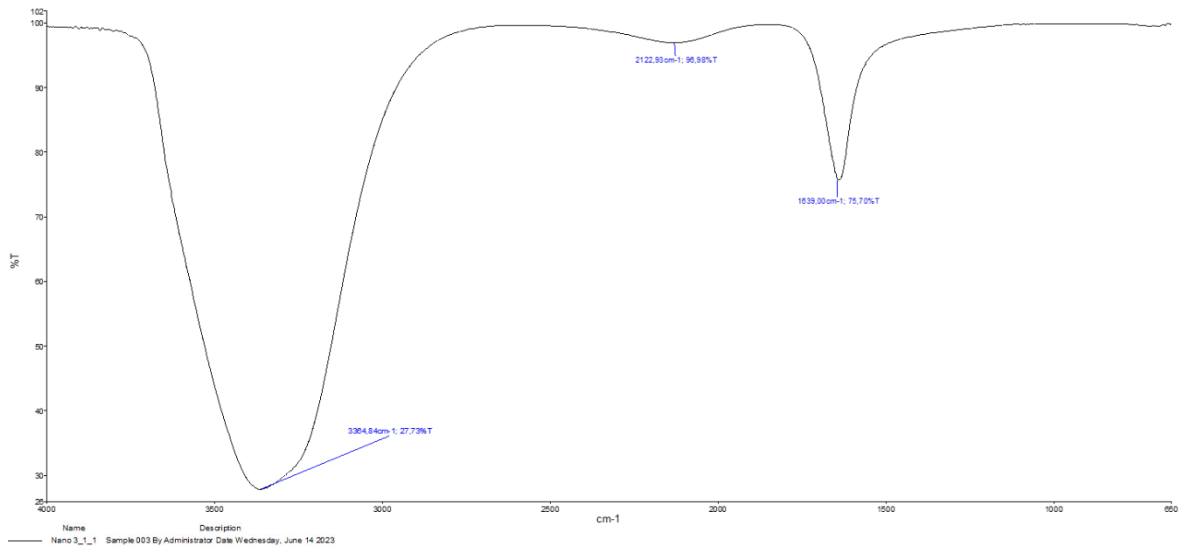
Mehanizam reakcije sinteze iz FT-IR analize može se pretpostaviti, kao i prisutnost određenih spojeva koji su sudjelovali u reakciji redukcije srebrovih iona. Slike 29.-32. prikazuju FT-IR apsorpcijski spektre dobivenih suspenzija pri pH 6, 7, 8, 9, dok slika 33. prikazuje apsorpcijski spektar otopine zelenog čaja. Na slici 34. prikazani su zajednički apsorpcijski spektri koloidnog srebra sintetiziranog pri pH vrijednostima 6, 7, 8, 9 i otopine zelenog čaja. U tablici 2. prikazane su vrijednosti karakterističnih pikova apsorpcijskih spektara svih pripremljenih uzoraka.



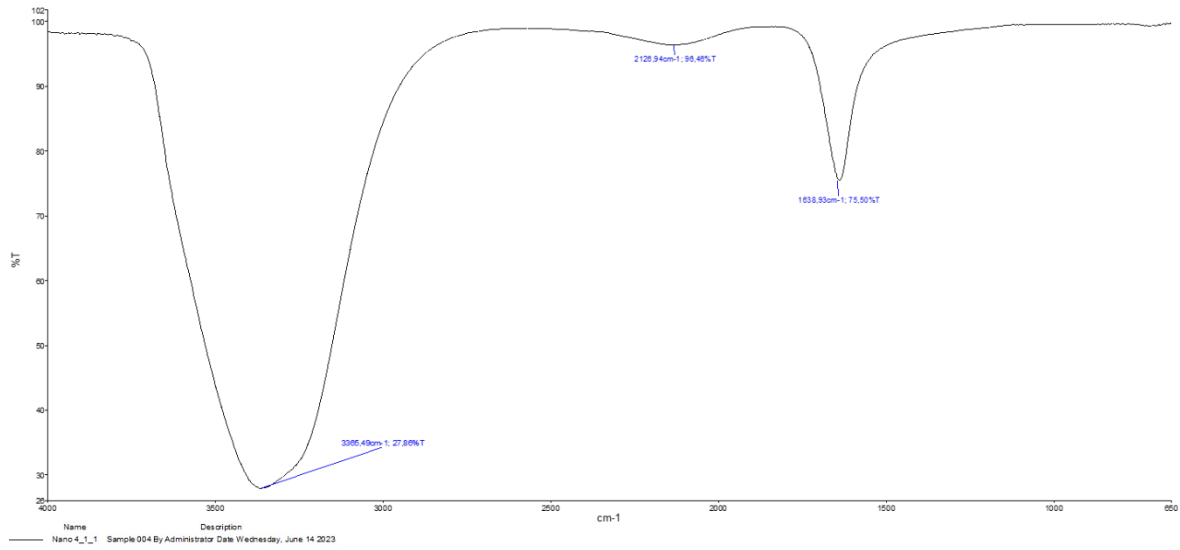
Slika 29. FT-IR apsorpcijski spektar koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=6



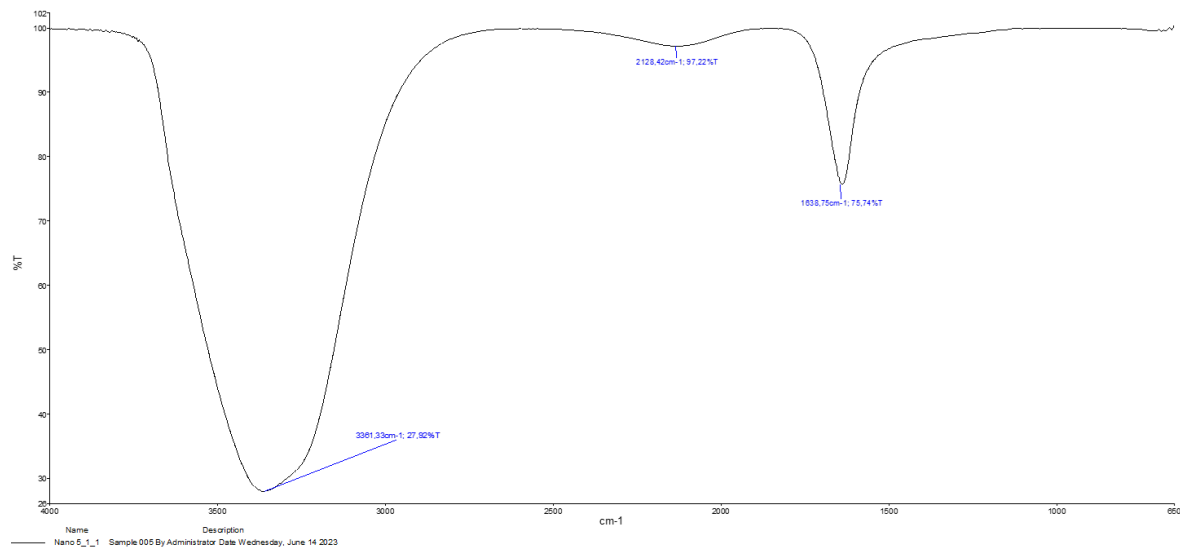
Slika 30. FT-IR apsorpcijski spektar koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=7



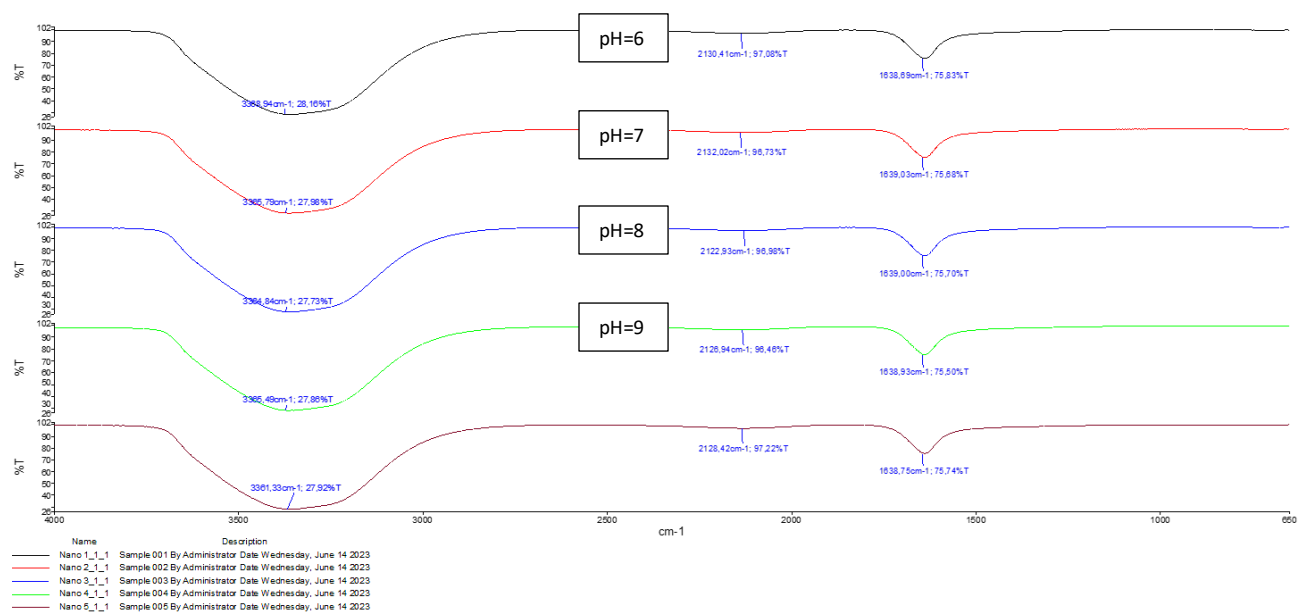
Slika 31. FT-IR apsorpcijski spektar koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=8



Slika 32. FT-IR apsorpcijski spektar koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=9



Slika 33. FT-IR apsorpcijski spektar otopine zelenog čaja



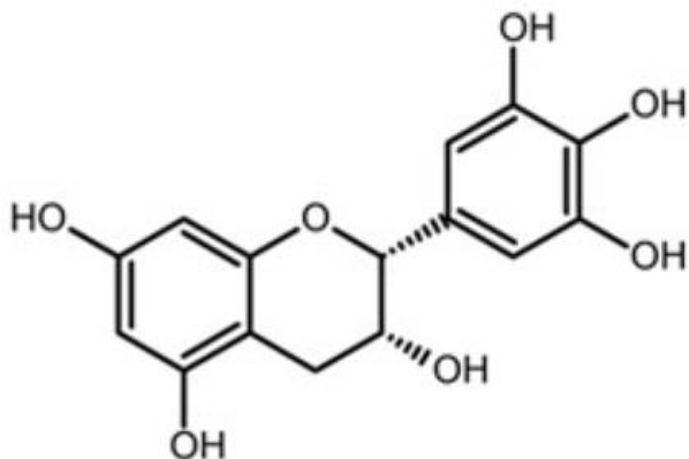
Slika 34. Zajednički FT-IR apsorpcijski spektri koloidnog srebra sintetiziranog pri pH vrijednostima 6, 7, 8, 9 i otopine zelenog čaja

Tablica 2. Karakteristički pikovi apsorpcijskih spektara dobivenih suspenzija koloidnog srebra i otopine zelenog čaja

Karakteristični pikovi (cm <sup>-1</sup> )	Zeleni čaj	pH=6	pH=7	pH=8	pH=9
Istezanje OH-skupine	3361,33	3385,94	3385,79	3384,84	3385,49
C-O istezanje	2128,42	2130,41	2132,02	2122,93	2126,42
C=O istezanje	1638,75	1638,69	1639,03	1639,00	1638,75

Iz FT-IR spektara kao i tablice 2. može se uočiti kako otopina zelenog čaja ima karakteristične pikove na valnim duljinama od 3361,33 cm<sup>-1</sup>, 2128,42 cm<sup>-1</sup> i 1638,75 cm<sup>-1</sup>. Pik pri 3361,33 cm<sup>-1</sup> povezan je s istezanjem OH- skupina povezanih na aromatski prsten što je karakteristično za polifenole, pik na 2128,42 cm<sup>-1</sup> s istezanjem veze C-O karboksilne skupine i 1638,75 cm<sup>-1</sup> označava C=O istezanje karbonilne skupine što teorijski odgovara grupi spojeva katehina koji su odgovorni za redukcijska svojstva zelenog čaja (slika 35.).<sup>46</sup>

Nakon provedene sinteze, pik koji je karakterističan za OH-skupinu pri svim pH vrijednostima pomiče se prema većim valnim duljinama, pomak pika s manje na veću valnu duljinu znači da je masa te molekule smanjena, jer je frekvencija vibracije obrnuto proporcionalna masi vibrirajuće molekule. Dakle, što je lakša molekula, veća je frekvencija vibracije i veći su valni brojevi.<sup>53</sup>



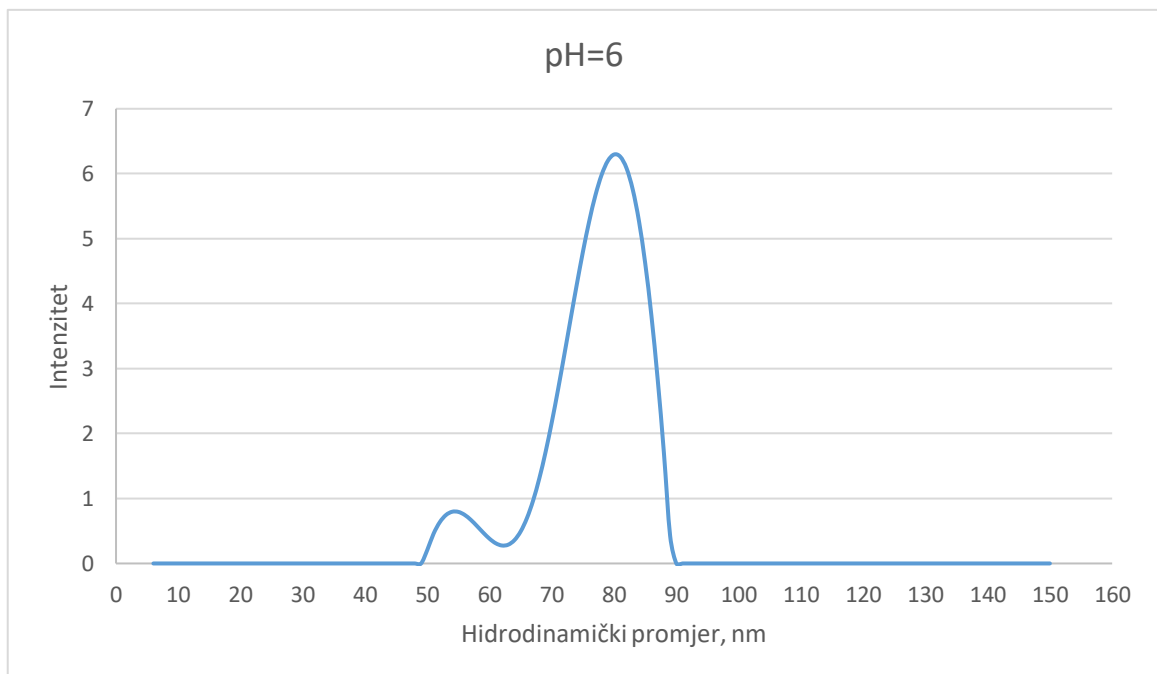
Slika 35. (-)- Epigalokatekin iz zelenog čaja s prikazanim karakterističnim funkcionalnim skupinama<sup>46</sup>

Valne duljine karakterističnog pika zelenog čaja za C-O istezanje pomaknuo se prema većoj valnoj duljini samo pri pH=6 i pH=7 što se može pripisati smanjenoj stabilnosti katehina u lužnatoj sredini. Katehini su vrlo stabilni u kiselim otopinama (pH < 4), ali njihova stabilnost progresivno opada kako se pH povećava od 4 do 8, a katehini postaju izuzetno nestabilni u alkalnim otopinama iznad pH=8.<sup>54</sup> Karakterističan pik od 1638,75 cm<sup>-1</sup> pomaknuo se prema većim valnim duljinama samo pri pH=7 i pH=8. Valne duljine C=O istezanja karbonilne skupine pri pH=7 i pH=8 iznose 1639,03 i 1639,00 cm<sup>-1</sup> i prate trend povećanja valne duljine u odnosu na čistu otopinu zelenog čaja, iznimka je pH=6 gdje je pik pomaknut prema nižoj valnoj duljini od 1638,69 cm<sup>-1</sup>. Pri pH=9 koloidnog srebra valna duljina istezanja C=O karbonilne skupine ostaje nepromijenjena. Za točan mehanizam reakcije potrebno je provesti detaljniju kvalitativnu i kvantitativnu analizu redukcijskog sredstva.

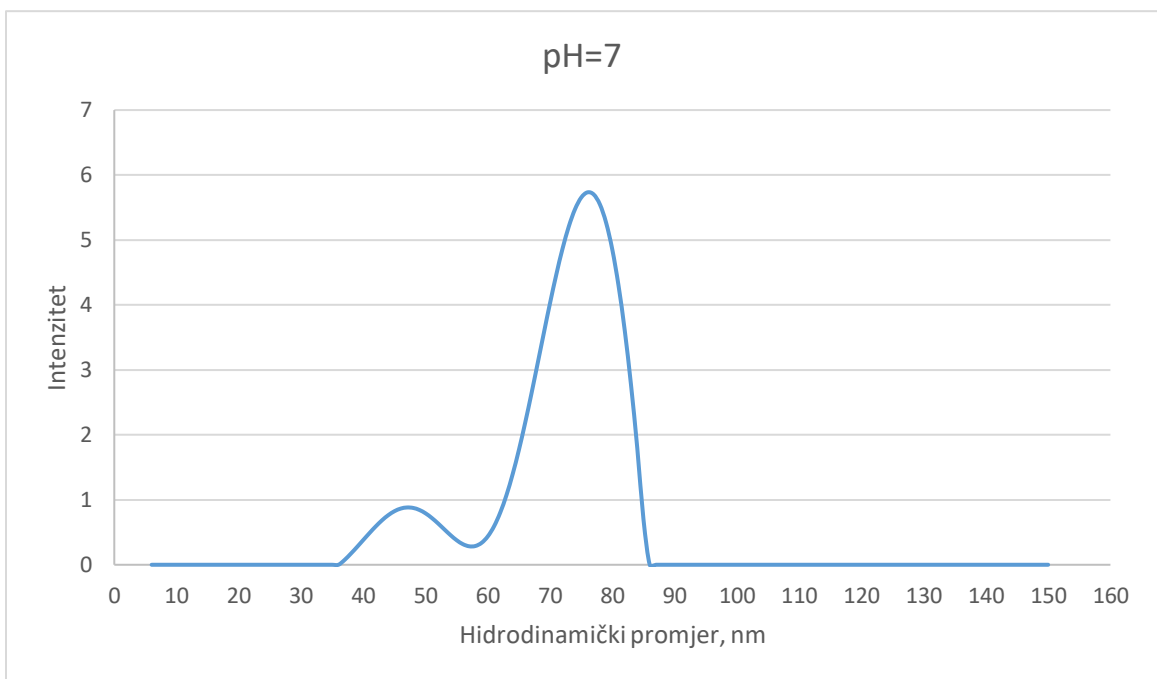
DLS metoda se koristi za određivanje raspodjele veličina nanočestica u uzorku temeljem promjene intenziteta raspršene svjetlosti te daje podatak o hidrodinamičkom promjeru čestice i monodisperznosti ili polidisperznosti uzorka (Slike 36.-39.).

U ovom su radu određeni indeks polidisperznosti (PDI) i hidrodinamički promjer te su prikazani u Tablici 3. PDI vrijednost se kreće u rasponu od 0 do 1. Koristi se za opisivanje širine raspodjele veličine čestica i daje informacije o polidisperznosti uzorka. PDI vrijednost veća od 0,400 ukazuje na polidisperzni sustav. Uzorci koji nisu sferičnog oblika možda neće biti prikladni za DLS mjerenje, a pruženi podaci mogu biti nepouzdana.

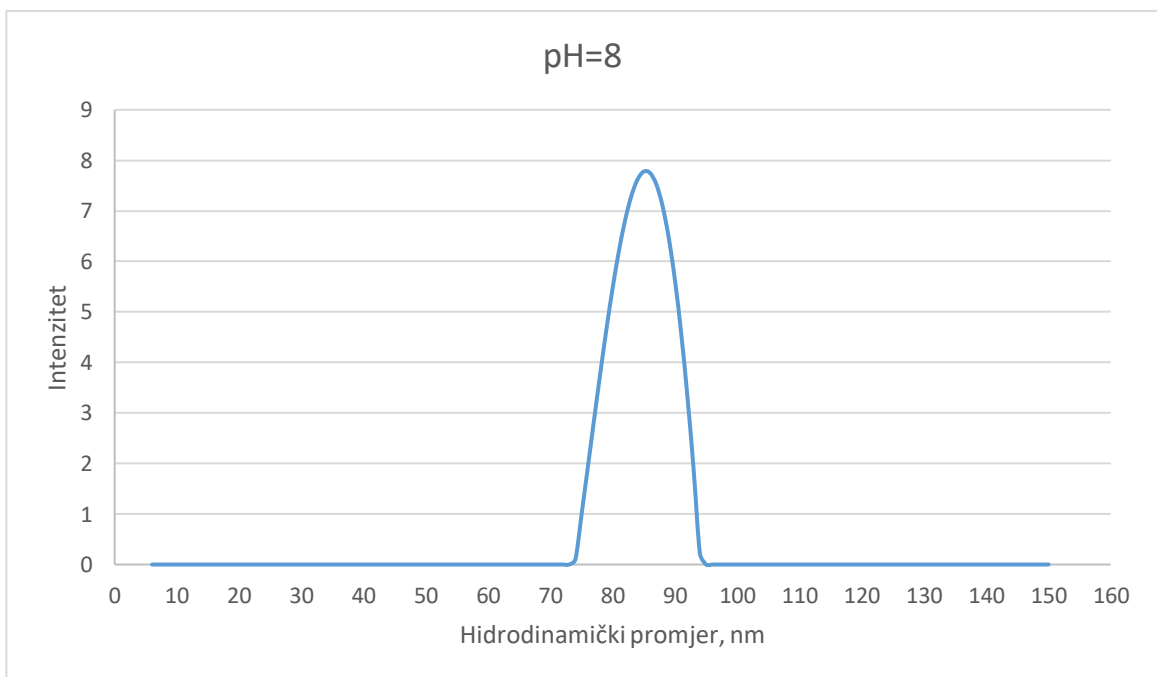
Promjer koji je mjereno u DLS-u je vrijednost koja se odnosi na to kako čestica difundira unutar tekućine pa se naziva i hidrodinamičkim promjerom. Važno je spomenuti da hidrodinamički promjer uključuje promjer čestice plus sloj molekule pričvršćene ili adsorbirane na površini, što može dovesti do precjenjivanja stvarnog promjera čestice.



Slika 36. DLS analiza koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=6

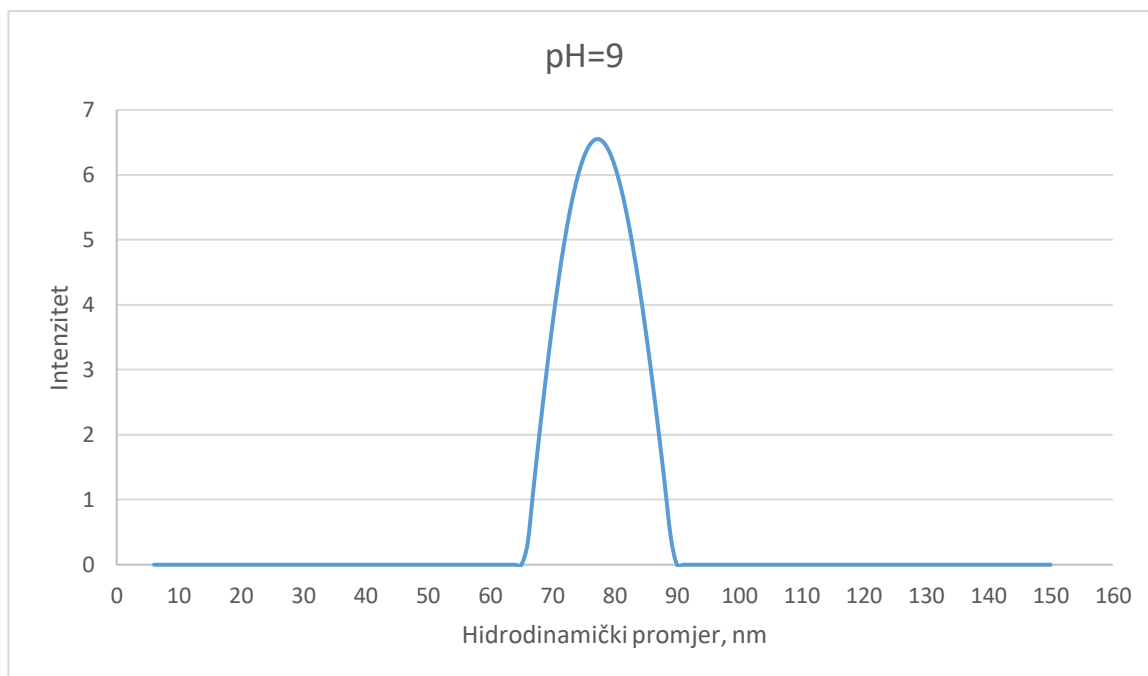


Slika 37. DLS analiza koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=7



Slika 38. DLS analiza koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=8





Slika 39. DLS analiza koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=9

Tablica 3. Indeks polidisperznosti (PDI) i hidrodinamički promjer uzorka koloidnog srebra sintetiziranih pri različitim pH vrijednostima.

Uzorak	PDI	Hidrodinamički promjer (nm)
pH=6	0,243	50
pH=7	0,277	32
pH=8	0,177	95
pH=9	0,108	52

Iz tablice 3. može se uočiti kako je PDI vrijednost uzorka koloidnog srebra sintetiziranog pri pH=9 najmanja, odnosno uzorak pri pH=9 je najmonodisperiziraniji što ukazuje na usku raspodjelu veličina nanočestica u uzorku. PDI je najveći kod pH=7 što ukazuje na pojavu nanočestica manjih i većih promjera, ali se i dalje smatra monodisperznim sustavom jer je vrijednost PDI indeksa manja od 0,4. PDI vrijednost opada s porastom pH vrijednosti, iznimka je uzorak pri pH=7 čija je monodisperznost najmanja, odnosno sustav se lagano približava polidisperznosti. Uzorak pri pH=7 pokazuje pojavu najmanjih promjera nanočestica, uniformnije i veće čestice pojavljuju se pri pH=9 što se može pripisati

nestabilnosti katehina u lužnatom mediju. Redukcijsko sredstvo je reagiralo s ionima srebra u postupku sinteze gotovo odmah s jakim smeđim obojenjem. Iz ovoga može se zaključiti da je pri pH=9 redukcijsko sredstvo reagiralo s manje iona srebra nego pri pH=7 što je dovelo do pojave veće uniformnosti uzorka. Cilj sinteze je dobiti što manje veličine nanočestica, stoga se neutralan pH pokazao izvrstan, no ako je potrebno staviti naglasak na uniformnosti uzorka lužnata sredina je povoljnija. Intenzitet raspršenja svjetlosti najveći je pri pH=8 gdje su dobivene čestice najveće, a PDI indeks iznosi 0,177.

#### 4. ZAKLJUČAK

- Zelena sinteza nanočestica srebra može se uspješno provesti uz zeleni čaj koji je prirodno redukcijsko i stabilizacijsko sredstvo.
- Kod svih uzoraka je uočena pojava apsorpcijskih spektara pri valnim duljinama oko 400 nm što je dokaz sinteze nanočestica srebra. Intenziteti apsorpcije pri svim vrijednostima pH su vrlo visoki. Najmanji intenzitet apsorpcije pokazuje uzorak pri pH=9. Pri pH=7 apsorpcijski pik je najoštriji što ukazuje na najmanji promjer nanočestica što potvrđuje DLS analiza uzorka.
- Analiza dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS) pokazala je raspodjelu čestica u koloidnom srebru s veličinama nanočestica u rasponu od 32 nm do 95 nm. Visoka uniformnost uzorka karakteristična je za uzorke u lužnatoj sredini dok su najmanje dobivene čestice pri pH 7 s širom raspodjelom veličina nanočestica u uzorku. Svi dobiveni uzorci koloidnog srebra su monodisperzni.
- Tyndallov efekt najizraženiji je kod suspenzije koloidnog srebra pri pH=7 i pH=8.
- Zeleni čaj kao redukcijsko sredstvo djeluje vrlo jako i brzo na srebrove ione, stoga je omjer otopine soli  $\text{AgNO}_3$  i zelenog čaja kao reducensa (3:1) u ovoj sintezi previsok, jako obojenje otopina izbjeglo bi se u omjeru 3:0.5 ili 3:0.1 u korist otopine  $\text{AgNO}_3$ . Koncentracija soli  $\text{AgNO}_3$  kao prekursora od velike je važnosti kao i temperature sinteze.
- FT-IR analiza potvrdila je teorijski mehanizam redukcije srebrovih iona, a neutralan pH se pokazao najboljim za sintezu najmanjih nanočestica, promjera 32 nm.

## 5. LITERATURA

1. *K. Vasilev, V.R. Sah, R.V. Goreham, C. Ndi, R.D. Short, H.J. Griesser*, *Nanotechnology*, **21** (2010) str. 413.
2. URL: <https://prirodaidrustvo.hr/savjeti/zdravlje/ionsko-koloidno-srebro> (15.05.2023.)
3. *E.M. Hotze, T. Phenrat, G.V. Lowry, J. Environ. Qual.* 39 (2010) str.1909.
4. *T. Phenrat, N. Saleh, K. Sirk, H. Kim, R.D. Tilton, G.V. Lowry*, *Nanopart. Res.* **10** (2008) *Journal of Nanoparticle Research*, **10**(5), str. 795–814.
5. *K. Šišková, O. Bečička, V. Mašek, K. Šafářová, R. Zbořil, J. Raman. Spectrosc.* **43** (2012) str. 689.
6. URL: <https://www.bib.irb.hr/389812> (18.05.2023.)
7. *Bazinet, B., Labbe, D., Tremblay*, Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure, *Sep. Purif. Technol.*, 2007, **56**, (1), str. 53–56.
8. *Lj. M.Lalić, M. Blažić*, *Fizikalna kemija*, Veleučilište u Karlovcu, 2013, str. 30-78.
9. *S. Birdi*, *Surface and colloid chemistry; Principles and applications*, Boca Raton, (2010) str. 1-30.
10. *D. J. Shaw*, *Introducion to colloid and surface chemistry*, 4. izd., Butterworth Heinemann, Oxford, 1992, str. 24-28.
11. URL:<https://www.researchgate.net/publication/331680124/figure/fig2/AS:74366789982189@1554315652692/Photo-showing-the-Tyndall-effect-in-solutions-with-different-compositions-i-PS-b-PEO.png> (26.06.2023.)
12. *N. Ivanova, V. Andonova, I. Jelev, G. Dimova*, Synthesis of silver nanoparticles with green tea-extracted reductants: a preliminary study for optimization of the preparation technique, *Scripta Scientifica Pharmaceutica*, **Vol 8**, No 2 (2021), str.1-4.
13. *L. M. Liz-Marzan*, *Langmuir*, **22** (2006) 32-41.
14. *M. Bjelić*, Optimalizacija sinteze superparamagnetnih nanočestica CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> s ultra tankim slojem zlata, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2019, str. 6-10.
15. *T. Šafarik*, Sinteza i kemijska modifikacija silikatnih i biorazgradivih nanočestica, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2019, str. 1-7.
16. *A. Modrić-Šahbazović*, Structural and optical properties of plasmonic silver nanoparticles formed by ion bombardment of monocrystalline silicon Doctoral Dissertation Belgrade, (2020) str. 6-7.
17. URL: [https://www.fkit.unizg.hr/download/repository/Vjezbaliste\\_2.pdf](https://www.fkit.unizg.hr/download/repository/Vjezbaliste_2.pdf) (28.06.2023.)
18. *L.Mikać*, Površinski pojačano Ramanovo raspršenje: od koloidne otopine do stabilnog supstrata, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, 2016, str.11-12
19. *E. Galić*, Utjecaj nanočestica srebra na vijabilnost i oksidativni stres ljudskih keratinocita, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb, 2019, str.1-15.

20. URL:  
[http://www.researchgate.net/publication/343049648 Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Waste Tea Leaves](http://www.researchgate.net/publication/343049648_Green_Synthesis_of_Silver_Nanoparticles_Using_Waste_Tea_Leaves) (1.7.2023.)
21. K.M.M. Abou El-Nour, A. Eftaiha, A. Al-Warthan, R.A.A. Ammar, Synthesis and applications of silver nanoparticles, *Arab. J. Chem.* **3** (2010) str. 135–140.
22. M. Rai, A. Yadav, A. Gade, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnol. Adv.* **27** (2009) str. 76–83.
23. M. Valodkar, P.S. Rathore, R.N. Jadeja, M. Thounaojam, R. V. Devkar, S. Thakore, Cytotoxicity evaluation and antimicrobial studies of starch capped water soluble copper nanoparticles, *J. Hazard. Mater.* (2012) str. 201-202, 244-249.
24. Y. Zhang, T.P. Shareena Dasari, H. Deng, H. Yu, Antimicrobial Activity of Gold Nanoparticles and Ionic Gold, *J. Environ. Sci. Heal. - Part C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* **33** (2015) str. 286–327.
25. S. Prabhu, E.K. Poulouse, Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects, *Int. Nano Lett.* **2** (2012).
26. C. Wang, X. Gao, Z. Chen, Y. Chen, H. Chen, Preparation, characterization and application of polysaccharide-based metallic nanoparticles: A review, *Polymers*, **9**, 689 (2017) str. 1-3.
27. M. Rai, A. Yadav, A. Gade, Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnol. Adv.* **27** (2009) str. 76–83.
28. URL: <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-018-0334-5> (10.07.2023.)
29. O. Choi, Z. Hu, Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria, *Environ. Sci. Technol.* **42** (2008) str. 4583–4588.
30. S. Agnihotri, S. Mukherji, S. Mukherji, Immobilized silver nanoparticles enhance contact killing and show highest efficacy: Elucidation of the mechanism of bactericidal action of silver, *Nanoscale.* **5** (2013) str. 7328–7340.
31. B. Le Ouay, F. Stellacci, Antibacterial activity of silver nanoparticles: A surface science insight, *Nano Today.* **10** (2015) str. 339–354.
32. G. Franci, A. Falanga, S. Galdiero, L. Palomba, M. Rai, G. Morelli, M. Galdiero, Silver nanoparticles as potential antibacterial agents, *Molecules.* **20** (2015) str. 8856–8874.
33. S. Silver, Bacterial silver resistance: Molecular biology and uses and misuses of silver compounds, *FEMS Microbiol. Rev.* **27** (2003) str. 341–353.
34. Y. Matsumura, K. Yoshikata, S. ichi Kunisaki, T. Tsuchido, Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate, *Appl. Environ. Microbiol.* **69** (2003) str. 4278–4281.
35. J.S.J.H.J.S.J.H. Kim, E. Kuk, K.N. Yu, J.S.J.H.J.S.J.H. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, S.H. Kim, Y.H.Y.K. Park, Y.H.Y.K. Park, C.Y. Hwang, Y.K. Kim, Y.S. Lee, D.H. Jeong, M.H. Cho, Antimicrobial effects of silver nanoparticles, *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **3** (2007) str. 95–101.
36. S.F. Musa, T.S. Yeat, L.Z.M. Kamal, Y.M. Tabana, M.A. Ahmed, A. El Ouweini, V.

- Lim, L.C. Keong, D. Sandai*, Pleurotus sajor-caju can be used to synthesize silver nanoparticles with antifungal activity against *Candida albicans*, *J. Sci. Food Agric.* **98** (2018) str. 1197–120.
37. URL: [https://www.researchgate.net/publication/279534418\\_Silver\\_nanoparticles\\_embedded\\_mesoporous\\_SiO2\\_nanosphere\\_An\\_effective\\_anticandidal\\_agent\\_against\\_Candida\\_albicans\\_077](https://www.researchgate.net/publication/279534418_Silver_nanoparticles_embedded_mesoporous_SiO2_nanosphere_An_effective_anticandidal_agent_against_Candida_albicans_077) (15.08.2023.)
38. *T. Gupta, B. Dangi, N. Jain, G. Sharma, K. Khan*, Green synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial activity, *International Journal of Creative Research Thoughts* **6** (2018), str. 825-834.
39. URL: [https://www.researchgate.net/profile/MirsadaOruc/publication/327154892\\_NANOMATERIJALI-svojtva\\_i\\_primjene/links/5fe1a868a6fdccdc8efa9a9/NANOMATERIJALI-svojtva-i-primjene.pdf](https://www.researchgate.net/profile/MirsadaOruc/publication/327154892_NANOMATERIJALI-svojtva_i_primjene/links/5fe1a868a6fdccdc8efa9a9/NANOMATERIJALI-svojtva-i-primjene.pdf) (17.08.2023.)
40. A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures, *Beilstein J. of Nanotechnology*, 2021, **12**, str. 102-136.
41. *L. Myriam Torres Martínez, O. Vasilievna Kharissova, B. Ildusovich Kharisov*, Silver Nanoparticles: Synthesis and Applications, Handbook of Ecomaterials, 2018, str. 2343–2356.
42. *P. Dabić, D. Barbir*, laboratorijske vježbe novi anorganski materijali, str.20-25, KTF, Split, 2013.
43. URL: [https://pub.mdpires.com/molecules/molecules00844/article\\_deploy/html/images/molecules-26-00844-ag.png?1612943101](https://pub.mdpires.com/molecules/molecules00844/article_deploy/html/images/molecules-26-00844-ag.png?1612943101) (20.08.2023.)
44. URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/ra/d0ra09941d> (21.08.2023.)
45. URL: <https://repositorij.kemija.unios.hr/islandora/object/kemos%3A197/datastream/PDF/view> (21.08.2023.)
46. URL: <https://www.mdpi.com/2076-3921/3/3/559> (22.08.2023.)
47. URL: <https://www.researchgate.net/publication/349001711/figure/fig6/AS:987832671821830@1612529070795/Proposed-mechanism-of-reduction-of-metal-ions-by-epigallocatechin-a-commonly-found.png> (02.09.2023.)
48. URL: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/fd4e4aca-de35-49a7-9436-638df9b1c154/od-koloidnih-sustava-donanocestica.html> (02.09.2023.)
49. URL: <https://www.silver-colloids.com/Papers/CSPProperties.PDF> (06.09.2023.)
50. *S. Bucak, D. Rende*, Colloid and Surface Chemistry, *CRC Press*, Boca Raton, 2014, str. 54-81,112-123.

51. *S. Mađerić*, FT-IR analiza polimernih materijala, Završni rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2016, str. 11-12.
52. URL: [https://www.phy.uniri.hr/files/znanstveno\\_istrazivacki\\_rad/hrzz\\_projekt\\_watpur/35\\_65\\_001.pdf](https://www.phy.uniri.hr/files/znanstveno_istrazivacki_rad/hrzz_projekt_watpur/35_65_001.pdf) (20.09.2023.)
53. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8676376/> (24.09.2023.)
54. URL: [https://www.researchgate.net/publication/232873408\\_Isolation\\_of\\_Green\\_Tea\\_Catechins\\_and\\_Their\\_Utilization\\_in\\_the\\_Food\\_Industry](https://www.researchgate.net/publication/232873408_Isolation_of_Green_Tea_Catechins_and_Their_Utilization_in_the_Food_Industry) (25.09.2023.)