CONTROLLED GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING LOCALLY AVAILABLE PLANTS FOR IN-SITU PREPARATION OF DURABLE MULTI-FUNCTIONAL COTTON FABRICS

ASHU JAIN

CENTRE FOR RURAL DEVELOPMENT AND TECHNOLOGY
INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY DELHI
OCTOBER 2020

Controlled green synthesis of silver nanoparticles using locally available plants for in-situ preparation of durable multi-functional cotton fabrics

by

ASHU JAIN

Centre for Rural Development and Technology

Submitted

***in fulfillment of the requirements of the degree of* Doctor of Philosophy**

to the

Indian Institute of Technology Delhi

OCTOBER 2020

Dedicated to

My Parents Late Mr. R.K. Sharma and Mrs. Pawan Sharma

Certificate

This is to certify that the thesis entitled "**Controlled Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Locally Available Plants for In-situ Preparation of Durable Multi-functional Cotton Fabrics"** being submitted by Ms. Ashu Jain to the Indian Institute of Technology Delhi for the award of "**Doctor of Philosophy**" is a record of bonafide research work carried out by her. She has worked under our guidance and supervision and has fulfilled the requirements for the submission of this thesis. To the best of our knowledge the results contained in this thesis have not been submitted in part or full to any other university or institute for award of any degree or diploma.

Prof. Anushree Malik
Centre for Rural Development and Technology
Indian Institute of Technology Delhi
New Delhi – 110 016, India

Prof. Hitendra Kumar Malik
Department of Physics
Indian Institute of Technology Delhi
New Delhi – 110 016, India

Acknowledgements

My PhD supervisors Prof. Anushree Malik and Prof. Hitendra Kumar Malik have been always there for me, helped me overcome the numerous obstacles that came my way during the course of my PhD, for being patient with me and for expecting nothing less than excellence from me. Thank you, because I owe it all to you!

I am grateful to my children, Deepanshi, Kriteesha, Yash and Bicky for encouraging me out of frustrating moments during PhD. I will never forget your screams of joy whenever I reached a milestone. I am extremely grateful to my husband, Mr. Sannat Jain who supported me emotionally and took pride in my slightest of achievements. My mother, Mrs. Pawan Sharma who lived her dreams through me always keen to know how I was proceeding; although I am sure she never really was able to grasp what it was all about. My sister, Anuja Bhardwaj who is my anchor, my lifecoach, my sounding board and my cheerleader for life!

A very special gratitude goes out to Prof. Bhupendra Singh Butola, Department of Textile Technology, IIT Delhi for his immense help in my research work.

I would like to thank my fellow labmates from the Applied Microbilogy Lab and from Plasma Science and Technology Lab; Dr. Megha Mathur, Dr. Arghya Bhattacharya, Dr. Raashi Vishwakarma, Ms. Farhat, Ms. Farha Naaz, Mr. Saurabh Samoochiwal, Mr. Rahul Jain, Ms. Harshita Nigam, Ms. Shweta Kalia, Mr. Rahul Kumar, Mr. Saptarishi Dey, Mr. Vivek Dalvi, Dr. Dimple Sharma, Mr. Rajat Dhawan, Mr. Manish Dwivedi, Mr. Sonu Kumar, Mr. Dhanajay Verma, Mr. Sandeep Singh, Mr. Munish, Ms. Sheetal Punia, Ms. Tammanna Punia, Dr. Aparna Sharma, Mr. Yetendra Prasad Jha , Mr. Mohit Kumar, Mr. Subhajit Bhaskar for their encouragement, motivation, cooperation and of course friendship. It was a fantastic experience of working in midst of you all. It was really great sharing laboratory with you all during my PhD years.

I would specially like to mention Ms. Mayuri Srivastava who helped me with experimentation at Textile Chemistry Lab and for her last minute favors.

I would also like to thank Dr. Nitin Chauhan and Dr. Deepak Gola, my senior from AML for sharing their dissertation woes, and assuring me of post-dissertation normalcy.

A special mention to DST for supporting my work and for funding my research through Women Scientist Scheme A.

Thank you all for your encouragement!

Ashu Jain

Abstract

Nanotechnology is the dominant technology in today's world because of the scope of tailoring of the functionalities by altering the size, shape or constitution of nanomaterials. Silver nanoparticles (SNPs) are amongst the most widely researched nanoparticles because of their wide applicability and because of their ease of synthesis. Green nanotechnology is getting a lot of attention owing to environmental concerns but the green synthesis method for SNPs is yet to be adopted commercially because of lack of control over synthesis. The present study describes the screening process for shortlisting of leaf extract to be used for controlled SNPs synthesis. The leaf extracts of *Murraya koenigii, Carica papaya, Eucalyptus hybrida, Azadirachta indica, Ocimum sanctum* and *Chenopodium album* were chosen for the screening on the basis of their reported efficiency in synthesizing stable, spherical and monodisperse SNPs on review of literature. Leaf extracts of selected plants were reacted with $AgNO_3$ under identical conditions and the synthesized SNPs were analyzed for uniformity in size and shape and for stability on the basis of UV-absorption spectra and TEM images. The SNPs synthesized using leaf extract of *Azadirachta indica* remained stable within the observation duration of 24 hours. Optimization of synthesis parameters for the selected leaf extract of *Azadirachta indica* was carried out and stable SNPs having a narrow size range and an average size of 6 nm and 24 nm and of spherical shape were synthesized having a zeta potential of -16.8 mV and -16.2 mV, respectively.

The SNPs synthesized using leaf extract of *Carica papaya* were spherical but not of uniform size. In the present study, *Carica papaya* leaf extract was used for the synthesis of silver nanoparticles (Pa-SNPs). The SNPs yield was increased by optimization of parameters such as temperature and pH. The spherical shape of synthesized Pa-SNPs was clearly seen in the TEM micrographs with size ranging from 10 - 70 nm. The presence of silver in the sample was highlighted by the EDS analysis. Zeta potential and DLS were performed in order to analyze the stability and average size of Pa-SNPs. The high stability of the synthesized SNPs was indicated by the zeta potential which showed the value of -12 mV. The average size of the Pa-SNPs as indicated by DLS was 68 nm. Further, the antimicrobial activity of the Pa-AgNPs along with few antibiotics (penicillin, kanamycin and chloramphenicol) was evaluated against *E. coli and S. aureus*. A synergistic effect was observed with AgNPs combined with antibiotics in Zone of inhibition assay. In the dye degradation assay, ability of Pa-AgNps was studied for Blue CP and Yellow 3RS. The results showed effective degradation ability of Pa-AgNPs with 90% and 83 % removal for Blue CP and Yellow 3RS, respectively, at 50 mg/l of dye concentration.

Precision in synthesis requires a very precise understanding of the kinetics involved in the nucleation and the growth kinetics involved in the formation of the nanoparticles. Even though the green synthesis of SNPs has been extensively reported in literature, however, in terms of understanding of crystallization kinetics it is a dark zone primarily because of the lack of understanding of the reduction and the stabilization mechanism involved in the formation of silver nanoparticles. In this study, a hypothesis regarding the kinetics involved in nucleation and growth of SNP was developed on the basis of data reported in literature and on the basis of experimental results recorded by us. The hypothesis was to be used as a basis for design of engineered synthesis to enable size specific synthesis of SNP. According to the developed hypothesis, the synthesis conditions during nucleation for synthesis of uniform size nuclei and the conditions to ensure their growth into SNP of uniform size and shape were different. A mathematical model was developed for seed mediated multistep green synthesis using *Azadirachta indica* leaf extract, using which SNPs of required size could be synthesized. The size of the SNPs synthesized was close to the size predicted by the model.

In the last part of the thesis, cotton fabrics were coated with silver nanoparticles by an environment friendly method using in-situ reduction of silver nitrate with leaf extract of *Azadirachta indica*. For improving the wash durability of silver nanoparticle coating, mercerization of cotton fabrics was used as a pre-treatment followed by in-situ synthesis of nanoparticles under hydrothermal conditions of 120 ºC temperature of and 15 psi pressure. The coated fabrics were characterized by Scanning Electron Microscopy, Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy and Colorimetric analysis. Antibacterial activity of the silver nanoparticle treated fabrics was determined both against Gram-positive and Gram-negative bacteria by colony counting method. The UV protection factor of the fabric samples was measured on a UV spectrophotometer via transmittance data in the range of 290 – 400 nm. The impact of density of silver nanoparticle deposition on the mechanical strength of the fabric was also evaluated. The microscopic images of the fabrics showed dense and uniform coating of silver nanoparticles. All the samples showed excellent antimicrobial activity and UV-protection that varied from very good to excellent (UPF 33.4 - 89.9). There was no degeneration of mechanical strength of the fabrics after treatment with silver nanoparticles. The silver nanoparticle treatment to fabric also showed excellent durability against repeated laundering. The cost analysis of the SNPs treatment at a cottage industry scale showed its commercial viability also.

सार

नैनो तकनीक आज की दुनिया में एक प्रमुख तकनीक है क्योंकि नैनोमेट्रिक्स के आकार, आकृति या संरचना में परिवर्तन के कारण नैनो संरचना की कार्यात्मकता में परिवर्तन की जा सकती है । चाँदी के नैनोकणों (एसएनपी) सबसे व्यापक रूप से शोध किए गए नैनोकणों में से हैं, क्योंकि इनकी व्यापक प्रयोज्यता और संश्लेषण सरल है। ग्रीन नैनोटेक्नोलॉजी में पर्यावरण संबंधी चिंताओं के कारण बहुत अधिक ध्यान दिया जा रहा है, लेकिन एसएनपी के लिए हरी संश्लेषण विधि को अभी तक व्यावसायिक रूप से अपनाया जाना है क्योंकि संश्लेषण पर नियंत्रण नहीं है। वर्तमान अध्ययन में नियंत्रित एसएनपी संश्लेषण के लिए उपयोग किए जाने वाले पत्ती के अर्क का चयन करने के लिए स्क्रीनिंग प्रक्रिया का वर्णन है। साहित्य की समीक्षा पर स्थिर, गोलाकार और एकरूप एसएनपी को संश्लेषित करने में उनकी वर्णित दक्षता के आधार पर करी पत्ता (*Murraya koenigii*), पपीता (*Carica papaya*), यूकेलिप्टस हाइब्रिडा (*Eucalyptus hybrida*), नीम (*Azadirachta indica)*, तुलसी (*Ocimum sanctum*) और बथुआ (*chenopodium album*) के पत्ते के अर्क को चुना गया। चयनित पौधों के पत्तों के अर्क को समान परिस्थितियों में $AgNO_3$ के साथ प्रतिक्रिया दी गई और संश्लेषित एसएनपी का आकार और आकृति में एकरूपता के लिए और यूवी-अवशोषण स्पेक्ट्रा और टीईएम छवियों के आधार पर स्थिरता के लिए विश्लेषण किया गया। नीम के पत्ती के अर्क के उपयोग से संश्लेषित एसएनपी 24 घंटे के अवलोकन की अवधि के भीतर स्थिर रहा। नीम के चयनित पत्ती निकालने के लिए संश्लेषण के मापदंडों का अनुकूलन किया गया था और एक संकीर्ण आकार सीमा एवं 6 nm और 24 nm के औसत आकार और गोलाकार आकार वाले स्थिर सिल्वर नैनोकणों संश्लेषित किए गए थे। ज़ीटा पोटेंशियल क्रमशः -16.8 mV और -16.2 mV था ।

पपीता के पत्ती के अर्क से संश्लेषित एसएनपी गोलाकार थे लेकिन समान आकार के नहीं थे। वर्तमान अध्ययन में पपीता के पत्ती के अर्क निकालने का उपयोग चाँदी के नैनोकणों (पा-एसएनपी) के संश्लेषण के लिए किया गया था। तापमान और पीएच जैसे मापदंडों के अनुकूलन से एसएनपी की उपज में वृद्धि हुई थी। संश्लेषित पा-एसएनपी के गोलाकार आकार को TEM माइक्रोग्राफ में 10 - 70 nm की सीमा में आकार के साथ स्पष्ट रूप से देखा गया था। नमूने में चाँदी की उपस्थिति को ईडीएस विश्लेषण द्वारा उजागर किया गया था। पा-एसएनपी की स्थिरता और औसत आकार का विश्लेषण करने के लिए ज़ीटा पोटेंशियल और डीएलएस का प्रदर्शन किया गया। संश्लेषित एसएनपी की उच्च स्थिरता को ज़ीटा पोटेंशियल द्वारा इंगित किया गया था, जो -12 mV के मूल्य को दर्शाता है। डीएलएस द्वारा दर्शाए गए पा-एसएनपी का औसत आकार 68 nm था। इसके अलावा, *Escheichia coli* और *Staphylococcus aureus* के खिलाफ कुछ एंटीबायोटिक दवाओं (पेनिसिलिन, केनामाइसिन और क्लोरैम्फेनिकॉल) के साथ पा-एएनजीएनपी की रोगाणुरोधी गतिविधि का मूल्यांकन किया गया था। निषेध परख के क्षेत्र में एंटीबायोटिक दवाओं के साथ संयुक्त AgNPs के साथ एक सहक्रियात्मक प्रभाव देखा गया। डाई क्षरण परख में, ब्लू सीपी और येलो 3 आरएस के लिए पा एसएनपी की क्षमता का अध्ययन किया गया था। परिणामों में 90% और ब्लू सीपी और येलो 3RS के लिए क्रमशः 83% हटाने, डाई एकाग्रता के 50% और 83% के साथ Pa-AgNPs की प्रभावी गिरावट देखी गई।

संश्लेषण में परिशुद्धता को न्यूक्लिएशन में शामिल बलगति विज्ञान और नैनोकणों के निर्माण में शामिल विकास बलगति विज्ञान की बहुत सटीक समझ की आवश्यकता होती है। भले ही एसएनपी के पर्यावरण के अनुकूल संश्लेषण को साहित्य में बड़े पैमाने पर बताया गया है, परन्तु क्रिस्टलीकरण बलगति विज्ञान की समझ के संदर्भ में यह मुख्य रूप से कमी और चाँदी नैनोकणों के गठन में शामिल स्थिरीकरण तंत्र की समझ की कमी के कारण एक रहस्य है। इस अध्ययन में, एसएनपी के न्यूक्लियेशन और विकास में शामिल बलगति विज्ञान के बारे में एक परिकल्पना को साहित्य में रिपोर्ट किए गए आँकणों के आधार पर और हमारे द्वारा दर्ज किए गए प्रयोगात्मक परिणामों के आधार पर विकसित किया गया था। एसएनपी के विशिष्ट आकार का व्यवस्थित संश्लेषण को सक्षम करने के लिए आधार के रूप में परिकल्पना का उपयोग किया गया था। विकसित परिकल्पना के अनुसार समान आकार के एसएनपी के संश्लेषण के लिए न्यूक्लियेशन के दौरान संश्लेषण की स्थिति और समान आकार और आकार के एसएनपी में उनके विकास को सुनिश्चित करने के लिए स्थितियां अलग थीं। एसएनपी के विशिष्ट आकार का व्यवस्थित संश्लेषण के लिए एक गणितीय मॉडल विकसित किया गया था जिसका उपयोग नीम के पत्ती के अर्क का उपयोग करके किया गया है, जिसके उपयोग से आवश्यक आकार के एसएनपी का संश्लेषण किया जा सकता है। संश्लेषित एसएनपी का आकार मॉडल द्वारा अनुमानित आकार के करीब था।

शोध ग्रन्थ के अंतिम भाग में, सूती कपड़े को चाँदी के नैनोकणों के साथ एक पर्यावरण के अनुकूल विधि द्वारा लेपित किया गया था, जिसमें नीम के पत्ती के अर्क के साथ $AgNO_3$ की स्वस्थानी प्रतिक्रिया द्वारा कपडे पर निक्षेप के लिए उपयोग किया गया था। चांदी के नैनोकणों के निक्षेप के टिकाऊपन में सुधार के लिए, सूती कपड़ों के mercerization का उपयोग एक पूर्वोपचार के रूप में किया गया, जिसके बाद 120 C तापमान और 15 psi दबाव के हाइड्रोथर्मल स्थितियों के तहत नैनोकणों का स्वस्थानी संश्लेषण किया जाता है। लेपित कपड़े को स्कैनिंग इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोपी, इंडिकली कपल्ड प्लाज़्मा मास स्पेक्ट्रोस्कोपी और Colorimetric विश्लेषण के द्वारा परखा गया । सिल्वर नैनोकणों से उपचारित कपड़ों की जीवाणुरोधी गतिविधि को कॉलोनी की गिनती विधि द्वारा ग्राम- सकारात्मक और ग्राम-नकारात्मक बैक्टीरिया दोनों के विरुद्ध निर्धारित किया गया था। कपड़े के नमूनों का यूवी संरक्षण कारक एक यूवी स्पेक्ट्रोफोटोमीटर पर 290 - 400 nm की सीमा में transmittance डेटा के माध्यम से मापा गया था। कपड़े की तन्य शक्ति पर चांदी के नैनोकणों के जमाव के घनत्व के प्रभाव का भी मूल्यांकन किया गया था। कपड़ों की सूक्ष्म छवियों ने चांदी के नैनोकणों की घनी और समान कोटिंग दिखाई। सभी नमूनों ने उत्कृष्ट रोगाणुरोधी गतिविधि और यूवी-संरक्षण दिखाया जो कि बहुत अच्छे से उत्कृष्ट (UPF 33.4 - 89.9) परिधि में था। चाँदी नैनोकणों के साथ उपचार के बाद कपड़े की तन्य शक्ति का कोई अध: पतन नहीं था। कपड़े के लिए सिल्वर नैनोपार्टिकल उपचार ने नित्य धुलाई के विरुद्ध उत्कृष्ट स्थायित्व दिखाया। कुटीर उद्योग के पैमाने पर कपड़े के एसएनपी उपचार के लागत विश्लेषण ने इसकी व्यावसायिक व्यवहार्यता को भी उजागर किया।

Table of Contents

List of Figures

List of Tables

Nomenclature

ADL	Atomic Layer Deposition
CVD	Chemical Vapor Deposition
DLS	Dynamic Light Scattering
EDS	Energy-dispersive X-ray spectroscopy
LFA	Lateral Flow Assays
ML ratio	Material to Liquor ratio
LSPR	Local Surface Plasmon Resonance
SEM	Scanning Electron Microscope
SNP	Silver Nanoparticles
SPR	Surface Plasmon Resonance
TEM	Transmission Electron Microscope
w/v	Weight by volume
ZOI	Zone of Inhibition
n_s	Number of atoms in a silver nanoparticle seed
R_s	Radius of silver nanoparticle seed
R_{Ag}	Radius of silver atom
N_S	Number of silver nanoparticle seeds
N_A	Avogadro’s number
M_{AgNO3}	Molar concentration of $AgNO_3$
V_{AgNO3}	Volume of $AgNO_3$ solution
N_s'	Number of seeds introduced in growth medium
V_{LB}	Volume of Leaf broth
V_g	Volume of $AgNO_3$ added for growth
M_g	Molar concentration of $AgNO_3$ added for growth
R_n	Radius of silver nanoparticle after ‘n’ growth steps
UPF	Ultraviolet Protection Factor