

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Т. Г. Волова  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

## БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

Оценка антимикробных свойств наночастиц серебра в комбинации с  
пероксидом водорода и дигидрокверцетином

Руководитель	_____	д.б.н., профессор	С. В. Прудникова
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия
Выпускник	_____		Е. В. Василенко
	подпись, дата		инициалы, фамилия

Красноярск 2021

## РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа на тему «Оценка антимикробных свойств наночастиц серебра в комбинации с пероксидом водорода и дигидрокверцетином» содержит 44 страницы текстового документа, 75 использованных источников, 11 рисунков и 3 таблицы.

Ключевые слова: наночастицы серебра, пероксид водорода, дигидрокверцетин, антибактериальная активность, минимальная ингибирующая концентрация.

Проблема антибиотикорезистентности приобретает в настоящее время особенно важное значение в связи с распространением новых механизмов резистентности среди штаммов-возбудителей инфекционных заболеваний. Это заставляет нас искать другие способы борьбы с микроорганизмами и возвращаться к уже хорошо зарекомендовавшим себя способам дезинфекции и их комбинациям. Наночастицы серебра находят широкое применение в качестве антимикробных агентов, а для повышения эффективности их используют совместно с другими биологически активными компонентами или антисептиками. Раствор пероксида водорода обладает мощным бактерицидным действием и широко применяется в медицинской практике. Дигидрокверцетин – биофлавоноид с широким спектром действия и высокой антиоксидантной активностью, обладает антимикробным действием.

Цель работы: исследовать антибактериальные свойства растворов наночастиц серебра в комбинации с пероксидом водорода и дигидрокверцетином. В задачи исследования входило определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) данных растворов в отношении тестовых культур бактерий.

Установлены значения МИК для исследуемых растворов в отношении бактерий *Escherihia coli*, *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*. Показано, что растворы, содержащие наночастицы серебра, показали более выраженный антимикробный эффект, чем стандартный раствор пероксида водорода. Комбинация раствора наносеребра с дигидрокверцитином не привела к усилению антимикробных свойств. Антибактериальные свойства наночастиц серебра, полученных боргидридным методом, усиливались с уменьшением размера частиц. В большинстве случаев действие испытуемых растворов на бактериальные клетки проявлялось как бактериостатическое.

## Оглавление

Введение	4
Глава 1. Обзор литературы	6
1.1. Характеристика наночастиц серебра	6
1.2. Методы получения наночастиц серебра	6
1.2.1. Химические методы получения наносеребра	7
1.2.2. Физические методы получения наносеребра	7
1.2.3. Биологические методы получения наносеребра	8
1.3. Антисептические свойства наночастиц серебра	10
1.3.1. Антибактериальная активность наночастиц серебра	10
1.3.2. Противовирусная активность наночастиц серебра	13
1.3.3. Противогрибковая активность наночастиц серебра	15
1.4. Применение наночастиц серебра	16
1.5. Характеристика пероксида водорода	18
1.5.1. Химические и биологические свойства пероксида водорода	18
1.5.2. Применение перекиси водорода	19
1.6. Характеристика дигидрохверцетина	20
Глава 2. Объекты и методы исследования	22
2.1. Объекты исследования	22
2.2. Методы получения и характеристика наночастиц серебра	22
2.2. Методы исследования антимикробной активности растворов	26
Глава 3. Результаты	29
3.1. Оценка антибактериального действия коллоидных растворов наносеребра, полученных электрохимическим методом	29
3.2. Оценка антибактериального действия коллоидных растворов наносеребра, полученных боргидридным методом	33
Выводы	36
Список использованных источников	37

## Введение

Проблема устойчивости к антибиотикам приобретает в настоящее время особенно важное значение в связи с распространением новых механизмов резистентности среди штаммов-возбудителей инфекционных заболеваний. Проблема антибиотикорезистентности заставляет искать другие способы борьбы с микроорганизмами и возвращаться к уже хорошо зарекомендовавшим себя способам дезинфекции и их комбинациям.

Металлические частицы, в частности наночастицы серебра (AgNPs), находятся в фокусе внимания из-за их антимикробной активности в форме ионов металлов, в то время как антибиотики теряют свою эффективность из-за развития устойчивых штаммов микроорганизмов. Это ценное свойство стало особенно актуальным, ведь в настоящее время появляется все больше штаммов болезнетворных бактерий, устойчивых к антибиотикам узкого спектра действия [1]. Бактерицидные свойства серебра основаны на его медленном окислении, в результате чего высвобождаются ионы  $Ag^+$  в окружающую среду. Поэтому использование препаратов наносеребра в качестве биоцидных агентов является перспективной задачей. Кроме того, наночастицы серебра достаточно малы и способны проникать сквозь клеточные мембраны, влиять на внутриклеточные процессы изнутри [2].

Для повышения эффективности наночастиц серебра их применяют совместно с другими биологически активными компонентами: хитозан, коллаген, альгинат натрия и др. Раствор пероксида водорода обладает мощным бактерицидным действием и широко применяется в медицинской практике [3]. Дигидрокверцетин – биофлавоноид с широким спектром действия и высокой антиоксидантной активностью, обладающий антимикробным действием. Он также используется в медицине и пищевой промышленности [4].

Поскольку наночастицы серебра являются перспективным средством борьбы с патогенными микроорганизмами, изучение их свойств и спектра действия – одно из актуальных направлений исследования.

Целью данной работы являлось исследование антибактериальных свойств растворов наночастиц серебра в комбинации с пероксидом водорода и дигидрохверцетином.

В задачи исследований входило:

1. Определение минимальной ингибирующей концентрации растворов наночастиц серебра с пероксидом водорода разной концентрации (3 и 6 %) в отношении тестовых культур бактерий (*Escherihia coli*, *Bacillus mycooides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*).

2. Определение минимальной ингибирующей концентрации растворов наночастиц серебра с дигидрохверцетином в отношении тестовых культур бактерий (*E. coli*, *B. mycooides*, *P. aeruginosa*, *M. luteus*).

3. Определение минимальной ингибирующей концентрации коллоидных растворов наночастиц серебра с разной концентрацией стабилизаторов в отношении тестовых культур бактерий (*E. coli*, *B. mycooides*, *P. aeruginosa*, *M. luteus*).

Работа выполнялась в рамках международного Договора о научно-исследовательском сотрудничестве от 09.01.2019 между ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» и Институтом ядерной физики Академии наук Узбекистана (г. Ташкент)

## Глава 1. Обзор литературы

### 1.1. Характеристика наночастиц серебра

Наночастицы серебра, как и другие наночастицы, характеризуются уникальными свойствами, связанными с высоким отношением их поверхности к объему, что определяет большую эффективность их действия. Наиболее эффективны для уничтожения болезнетворных микроорганизмов частицы серебра размером 9-15 нм [5]. Они имеют чрезвычайно большую удельную площадь поверхности, что улучшает бактерицидные свойства, поскольку увеличивается площадь контакта серебра с бактериями или вирусами.

Для обозначения частиц серебра используются различные термины, такие как коллоидное серебро, наносеребро, наночастицы серебра (AgNPs). В небольших концентрациях серебро безопасно для клеток человека, но губительно для большинства бактерий и вирусов. Действие ионов серебра распространяется более чем на 650 видов бактерий (для сравнения – спектр действия любого антибиотика 5–10 видов бактерий). Наночастицы серебра атакуют большое количество разнообразных белковых объектов в клетке, поэтому является маловероятным, что микроорганизмы способны выработать резистентность к серебру во время мутаций [6].

### 1.2. Методы получения наночастиц серебра

Уникальность антисептических свойств наносеребра привела к поиску наиболее совершенных методов синтеза этих наночастиц. За последние двадцать лет значительно увеличилось число работ, посвященных получению и изучению свойств наночастиц серебра [7]. Они могут быть синтезированы различными методами (рис. 1), включая химический синтез [8], физические методы [9], зеленый синтез (биологические методы) [10].

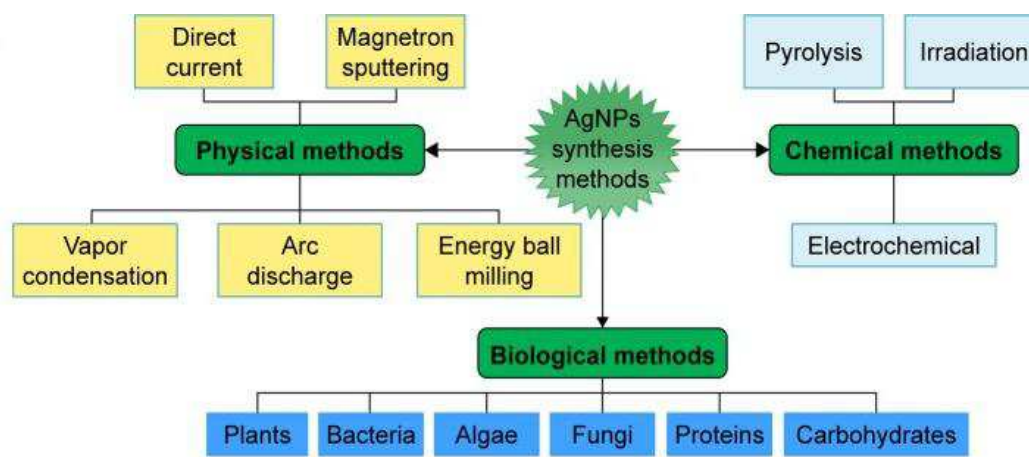


Рисунок 1 – Методы синтеза наносеребра [11]

### ***1.2.1. Химические методы получения наносеребра***

Химические методы синтеза наночастиц серебра можно подразделить на химическое восстановление [12], электрохимические методы [13], и пиролиз [14]. Например, используя подход электрохимического метода, можно получить малогабаритные (10-20 нм) наночастицы серебра сферической формы [15]. Кроме того, с использованием кристаллов цеолита путем электрохимического восстановления были образованы монодисперсные наносфероиды серебра размером 1-18 нм [16].

В химическом методе основным недостатком является использование крайне вредных органических растворителей. Эти растворители обладают более низкой биосовместимостью, что ограничивает их естественное применение.

### ***1.2.2. Физические методы получения наносеребра***

Физические методы не используют токсичных химикатов и обычно требуют быстрой обработки. К таким методам относятся конденсация пара [17], дуговая разрядка [18], метод энергетической шаровой мельницы [19] и магнетронное распыление постоянного тока [20]. Еще одно преимущество физических методов состоит в том, что образующиеся AgNPs имеют узкое распределение по размерам. Как правило, эти методы быстры, и получаются

узконаправленные наноструктурные композиции [21]. Однако физические методы имеют некоторые недостатки, такие как расход большого количества энергии [22] и требование большего времени для термостабильности [23].

### ***1.2.3. Биологические методы получения наносеребра***

В биологическом синтезе AgNPs токсичные восстановители и стабилизаторы заменяются нетоксичными молекулами (белками, углеводами, антиоксидантами и т.д.), продуцируемыми живыми организмами, включая бактерии [24], грибы [25], и растения [26]. Доступные и распространенные системы растений, такие как лемонграсс, алоэ вера, водоросли, люцерна, чай, горчица, были также исследованы для синтеза наночастиц серебра. Возможные механизмы биологического синтеза включают ферментативное (например, НАДФН-редуктазу) и неферментативное восстановление. В целом синтез AgNPs с использованием растительных экстрактов является наиболее распространенным экологически чистым методом производства.

Растительное производство – одно из наиболее экономически выгодных и ценных альтернативных методов синтеза AgNPs. Исследователи сосредоточились на синтезе AgNPs различного размера и формы с использованием растительных экстрактов с широким спектром антимикробной, противоопухолевой, противовирусной активности. Сильную активность в отношении штаммов бактерий *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus* проявляют наночастицы серебра, синтезированные из листьев *Euphorbia hirta*, размером 40-50 нм [27]. Krishnaraj et al. и Veerasamy et al. смогли синтезировать AgNPs размером 20-30 и 35 нм соответственно, используя экстракты листьев лекарственных растений *Acalypha indica* и *Garcinia mangostana* [28, 29].

Chandran et al. [30] и Li et al. [31] синтезировали наночастицы серебра из экстрактов листьев растений алоэ вера и стручкового перца. Так же наночастицы серебра были синтезированы из фруктового экстракта папайи *Carica*, и было установлено, что синтезированные AgNPs являются



высокотоксичными в отношении различных патогенов человека с множественной лекарственной устойчивостью [32].

Наночастицы серебра были синтезированы и с использованием как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, включая устойчивые к серебру бактерии для образования AgNPs [33]. Некоторые бактерии способны производить внеклеточные AgNPs, в то время как другие могут синтезировать внутриклеточные AgNPs, а *Calothrix pulvinata*, *Anabaena flos-aquae* [34], *Vibrio alginolyticus* [35], *Aeromonas* spp. SH10 [36], *Plectonema boryanum* UTEX 485 [37], и *Lactobacillus* spp. [38] обладают способностью продуцировать как внеклеточные, так и внутриклеточные AgNPs.

Грибы также способны продуцировать биосовместимые наноструктуры, имеющие терапевтические свойства. Синтез наночастиц серебра на основе грибов также является экологически чистым и недорогим. В недавнем исследовании сообщалось о штаммах грибов *Penicillium expansum* HA2N и *Aspergillus terreus* HA1N, для синтеза AgNPs. С помощью просвечивающей электронной микроскопии установили, что из *P. expansum* были получены AgNPs длиной 14-25 нм, и 10-18 нм AgNPs были получены из *A. terreus*. Эффективность этих AgNPs была изучена против различных видов грибов, которые продемонстрировали их сильный противогрибковый потенциал [39].

Наночастицы серебра сферической формы могут быть синтезированы с использованием *Coriolus versicolor*, но восстановление AgNPs длится долго (72 ч); однако продолжительность может быть уменьшена до 1 ч путем использования щелочных сред при pH 10. Щелочные среды играют жизненно важную роль в биологическом восстановлении ионов серебра, гидролизе воды и взаимодействии с белковыми функциями. Кроме того, группа S–H из белка играет важную роль в биовосстановлении, тогда как молекула глюкозы играет значительную роль в снижении AgNPs [40].

Преимущество биологических методов перед физико-химическими заключается в том, что они не требуют вредных растворителей, в то время

как биополимеры играют важную роль в качестве стабилизирующих и восстановительных агентов [41]. Зеленый синтез также имеет другие преимущества, такие, как более высокая стабильность в течение длительного времени, и является легким, биосовместимым и экономически эффективным, а биогенно синтезированные наноструктуры широко применяются в биомедицинской области. Однако основным недостатком этого метода является очистка. Во время процедуры очистки существует вероятность бактериального заражения и трансфекции, что может рассматриваться как основное ограничение в их биомедицинском применении[41].

Коллоиды с частицами наносеребра обладают специальными оптическими свойствами – при разных размерах частиц цвет у них различается. По мере увеличения размера частицы (с 20 нм до 200 нм), цвет меняется следующим образом: желтый – зеленый – бурый – серый.

### **1.3. Антисептические свойства наночастиц серебра**

Наночастицы серебра обладают бактерицидным, противогрибковым и противовирусным действием, служат эффективным обеззараживающим средством в отношении патогенных микроорганизмов. Среди металлов серебро обладает наиболее сильным бактерицидным действием. При этом взаимодействие не самого металла, а его ионов с клетками микроорганизмов вызывает их гибель. Исследования показали, что чувствительность разных патогенных и непатогенных организмов к серебру неодинакова. Патогенная микрофлора намного чувствительнее к ионам серебра, чем непатогенная. Поэтому серебро действует избирательно, в большей степени уничтожая вредные микроорганизмы [42].

#### ***1.3.1. Антибактериальная активность наночастиц серебра***

S. Rajeshkumar et al. установили, что наночастицы серебра в сочетании с антибиотиками, демонстрируют ингибирование устойчивых к пенициллину, ампициллину и новобиоцину бактериальных штаммов –

*B. subtilis*, *Bacillus sp.*, *S. nematodiphila* и *Streptococcus sp.* [43]. Эти частицы были получены методом биосинтеза из супернатанта бактерий *Enterococcus sp.*, выделенных из морской воды. Большинство частиц имели сферическую форму и размер от 10 до 80 нм.

В другом исследовании сообщается об изготовлении нановолоконных каркасов поли-ε-капролактона (PCL) с частицами наносеребра, имеющих антибактериальную активность в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий [44]. Такие гибридные нановолоконные каркасы PCL-AgNPs были подготовлены с целью придания нановолокнам PCL антибактериальной активности для улучшения терапевтических свойств при использовании в медицине. Дisko-диффузионным методом на питательном агаре было показано, что диски из нановолокон, содержащие разные концентрации AgNPs, проявляли антибактериальную активность, в отличие от чистого нановолокна без серебра. Для *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, ингибирование было прямо пропорционально концентрации AgNPs. Грамотрицательные бактерии (*E. coli*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*) были более чувствительными к нановолокнам PCL-AgNPs по сравнению с грамположительными (*S. aureus*, *S. mutans* и *B. subtilis*) [44].

Наночастицы серебра размером 5 нм в комплексе с антибиотиками были протестированы против патогенных бактерий. Результаты показали, что эффективность антибиотиков в отношении тест-штаммов увеличивалась в присутствии AgNPs. Активность наносеребра с ампициллином была более выражена в отношении грамотрицательных бактерий *Shigella flexneri* и *P. aeruginosa*, а комплекс наносеребра и ванкомицина – в отношении грамположительных бактерий *Streptococcus pneumoniae* и *S. aureus*. Эти антибиотики демонстрировали более высокую антимикробную эффективность в сочетании с AgNPs. Такие результаты позволили предположить, что AgNPs может быть использован в качестве адъюванта для лечения различных инфекционных заболеваний, вызванных бактериями [45].

В исследованиях, проведенных Elangovan et al., показано, что наибольшая эффективность наночастиц серебра была обнаружена в отношении *S. aureus* и *E. coli*. Умеренная активность была получена в отношении *Salmonella typhi*, *M. luteus* и *P. aeruginosa* [46].

Существует множество теорий (ферментативные, адсорбционные, электростатические, мутагенные), объясняющих механизм воздействия ионов серебра на клетку бактерий. Однако наиболее распространенной в настоящее время является адсорбционная теория [47]. Основной смысл теории в том, что бактериальная клетка теряет жизнеспособность в результате взаимодействия электростатических сил, возникающих между обладающей отрицательным зарядом клеточной мембраной и положительно заряженными ионами  $Ag^+$  при адсорбции последних бактериальной клеткой. Ионы серебра способны адсорбироваться бактериальной мембраной, реагируя с клеточной мембраной бактерий, состоящей из бактериальных белков – пептидогликанов – гетерополимеров N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, обеспечивающих механическую прочность и структурно-функциональные свойства мембран бактерий и простейших [1]. В этом процессе ионы  $Ag^+$  взаимодействуя с карбоксильными и аминогруппами пептидогликанов, формируют металлопротеиновые комплексы, что является следствием изменения структуры и устойчивости пептидогликанов. Это лишает их способности транспортировать кислород внутрь бактериальной клетки, что приводит к кислородному голоданию и последующей гибели микроорганизма. Аналогичное ингибирующее воздействие оказывает серебро и на дыхательные ферменты микроорганизмов, встраиваясь в реакционный центр ферментов и изменяя его.

Со структурной точки зрения наночастицы серебра имеют размер в диапазоне от 1 до 100 нм и, что более важно, по мере уменьшения размера частиц значительно увеличивается отношение площади поверхности к объему. Как следствие, физические, химические и биологические свойства заметно отличаются от свойств исходного сыпучего материала.

Способность наночастиц серебра физически взаимодействовать с поверхностью клеток особенно важна в случае грамотрицательных бактерий. Во многих исследованиях наблюдалась адгезия и накопление наночастиц на бактериальной поверхности. Структурные повреждения клеточных мембран приводят к повышению проницаемости бактерий, что в свою очередь так же зависит от размеров наночастиц [48, 49]. Исследования с использованием *Escherichia coli* подтвердили, что накопление наночастиц серебра на мембране клетки создает разрывы с целостности бислоя, что предрасполагает ее к повышению проницаемости и гибели бактериальных клеток [50].

В другом исследовании [51], было показано разрушение клетки у *Pseudomonas aeruginosa* в случае добавления наночастиц серебра (рис.2). Таким образом, добавление наночастиц серебра оказывало пагубное влияние на морфологические свойства клеток *P. aeruginosa*, приводя к ингибированию роста клеток в обработанных наночастицами культурах.

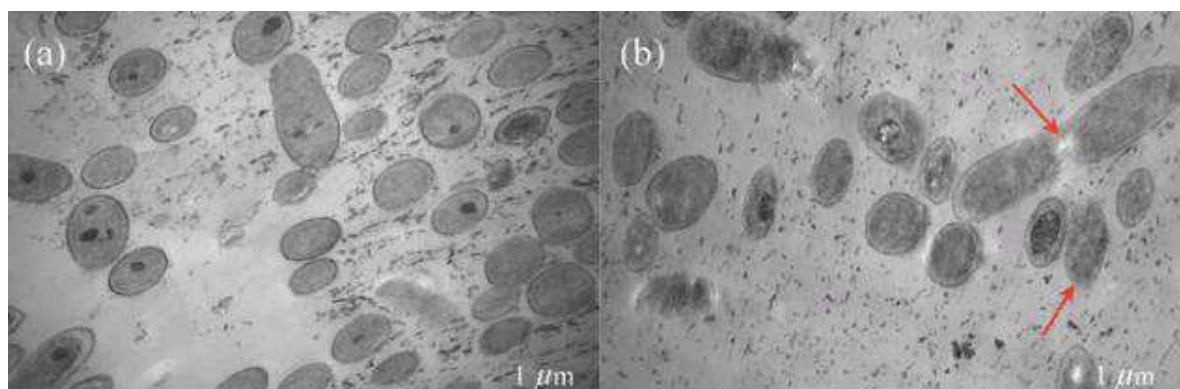


Рисунок 2 – Изображения *P. aeruginosa*, полученные с помощью просвечивающей электронной микроскопии при экспозиции 6 ч в отсутствие (а) и присутствии (б) наночастиц серебра ( $2,5 \text{ мг л}^{-1}$ ). Стрелки указывают на клетки с поврежденной мембраной или лизированные [51].

### ***1.3.2. Противовирусная активность наночастиц серебра***

Потенциал AgNPs был изучен как в прокариотических, так и в эукариотических организмах, и сообщалось, что AgNPs размером около 25

нм или менее обладают выдающимся потенциалом ингибирования вирусной инфекции [52]. Зеленым методом были получены наночастицы серебра меньшего размера (5-20 нм). Результаты показали, что малоразмерные AgNPs обладают способностью ингибировать вирус простого герпеса 1/2 типа (ВПГ) и вирус парагриппа человека 3 типа [53].

Во время нынешней пандемии COVID-19, вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2, меры сдерживания замедлили распространение инфекции, но не полностью предотвратили распространение болезни. В недавнем исследовании было продемонстрировано, что нанокластерно-кремнеземное композитное покрытие серебра, нанесенное на лицевые маски, обладает вирулицидным действием [54] (рис. 3). Это покрытие способно полностью снизить титр SARS-CoV-2 до нуля в условиях, описанных в работе.

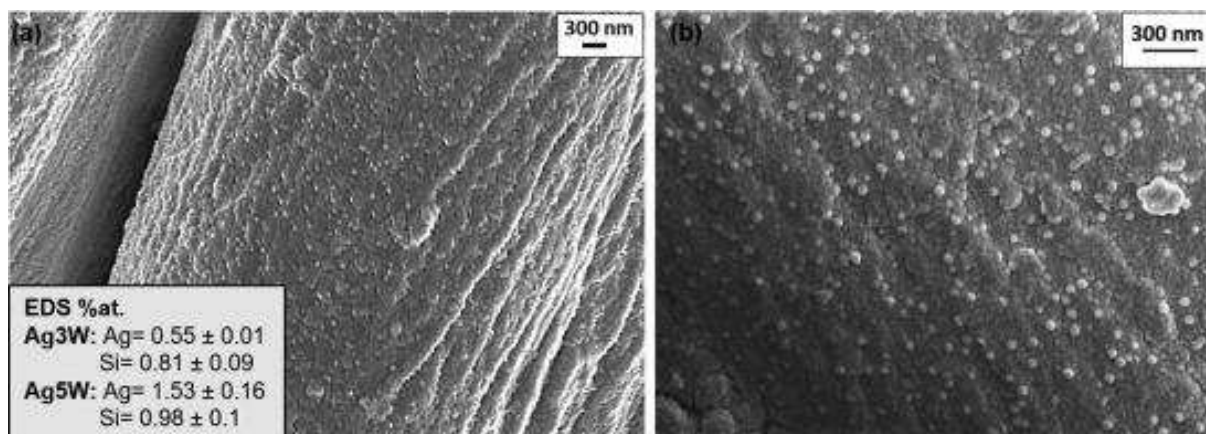


Рисунок 3— Морфология (изображение FESEM) покрытой маски при меньшем (а) и большем (б) увеличении: яркие пятна – это нанокластеры серебра, встроенные в кремнеземную матрицу [54].

Исследование показывает (Нуу Т.О., 2017), что электрохимически синтезированные частицы наносеребра могут ингибировать все частицы полиовируса в концентрации 3,13 ppm, соответствующей вирусной концентрации 1TCID50 через 30 мин и 10TCID50 через 60 мин. Размер

подготовленных наночастиц (7,1 нм) был значительно меньше, чем размер частиц полиовируса (25-30 нм) [54].

Механизм воздействия наночастиц серебра на вирусные частицы описан в ряде работ. Предполагается, что AgNPs вмешиваются в механизм проникновения вирусов в клетки, взаимодействуя с вирусными поверхностными гликопротеинами в восприимчивых клетках. Кроме того, сообщалось также, что AgNPs ингибируют постинвазивные стадии жизненного цикла ВИЧ-1, поскольку AgNPs сохраняют свою противовирусную активность даже после того, как они были добавлены к клеткам, уже инфицированным ВИЧ. Механизм, лежащий в основе этого события, заключается в том, что AgNPs, возможно, блокировали другие функциональные белки ВИЧ-1 и уменьшали скорость обратной транскрипции за счет прямого связывания с серными и фосфористыми группами ядерного материала. AgNPs эффективно ингибируют респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), возможно, связываясь с равномерно распределенными поверхностными гликопротеинами на оболочке вириона РСВ [55].

### ***1.3.3. Противогрибковая активность наночастиц серебра***

В 2008 году Kim et al. продемонстрировали потенциал наночастиц серебра против 44 штаммов, а именно *Candida tropicalis*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* и *Trichophyton mentagrophytes*. Штаммы *T. mentagrophytes* и *Candida* spp. проявляли чувствительность по отношению к наночастицам серебра [56]. Аналогичным образом Velluti et al. обнаружили, что комплексы наносеребра [Ag<sub>2</sub>(SMX)<sub>2</sub>] проявляют хорошую активность в отношении 10 штаммов грибов, а именно *C. tropicalis* (C 131), *C. albicans* (ATCC 10231), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 32264), *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763), *A. fumigatus* (ATCC 26934), *A. flavus* (ATCC 9170), *Aspergillus niger* (ATCC 9029), дерматофиты, включая *Trichophyton rubrum* (C 113), *T. mentagrophytes* (ATCC 9972) и *Microsporium gypseum* (C 115) [57].

Gajbhiye et al. сообщили об эффективности биогенных AgNPs против *Pleospora herbarum*, *Phoma glomerata*, *Fusarium semitectum*, *Trichoderma* spp., и *C. albicans*. Кроме того, они также сообщили о синергических эффектах AgNPs в сочетании с флуконазолом [58]. В 2009 году Jo et al. продемонстрировали противогрибковый потенциал ионов серебра и наночастиц против двух фитопатогенных грибов – *Magnaporthe grisea* и *Bipolaris sorokiniana* [59]. Фунгицидный потенциал AgNPs в сочетании с различными гетероциклическими соединениями и производными пиридазина был изучен в отношении *C. albicans* и *A. flavus*, и было обнаружено, что AgNPs в сочетании с новыми гетероциклическими соединениями обладают значительной фунгицидной активностью против исследуемых организмов.

В 2015 году для изучения противогрибковой активности AgNPs были отобраны шесть видов грибов, а именно *Penicillium brevicompactum*, *A. fumigatus*, *Mortierella alpina*, *C. cladosporoides*, *Chaetomium globosum* и *Stachybotrys chartarum*. Темпы роста всех испытанных видов грибов, кроме *Mortierella* spp., замедлялись добавлением AgNPs. Каждый гриб проявлял отчетливую реакцию на применяемые AgNPs в зависимости от концентрации и скорости высвобождения ионов Ag в окружающую среду [60].

Наночастицы серебра могут нарушать целостность мембраны и подавлять нормальный процесс почкования у дрожжей. Наночастицы серебра приводят к образованию активных форм кислорода (АФК), к которым паразиты лейшмании, простейшие, проявляют чувствительность [61]. Исследования AgNPs, связанные с противогрибковой и антипротозойной активностью, проводятся очень редко, поэтому необходимы дальнейшие исследования для описания подробных противогрибковых и антипротозойных механизмов.

#### **1.4. Применение наночастиц серебра**

Применение наночастиц серебра как биоцидной добавки широко распространено для создания и производства новых материалов, покрытий с



биоцидными свойствами. Преимущество наносеребра перед всеми существующими антимикробными средствами обуславливается широким спектром антимикробной активности. Так же, микроорганизмы не способны вырабатывать резистентность к наночастицам серебра, поэтому не передают устойчивость потомству в ходе мутаций.

Производство текстильной и полимерной продукции медицинского, бытового назначения, модифицированной наночастицами серебра, является одним из перспективных направлений, так как такие материалы могут быть использованы в качестве профилактических антимикробных средств защиты в местах, где возрастает опасность распространения инфекции. AgNPs широко используются в медицинских приборах и потребительских товарах, таких как хирургические инструменты, стерилизаторы, медицинские катетеры, кремы, лосьоны, спреи, бытовая техника, игрушки, моющие средства, зубные пасты, мыла, контейнеры для хранения продуктов и консервации, а также антисептические краски [11].

С целью изучения антибактериальных эффектов наносеребра проводились исследования, которые показывают его эффективность не только в растворах, но и при нанесении на хлопчатобумажные изделия [62].

Для культур *P. phoeniceum* и *S. aureus* антибактериальный эффект проявлялся уже при концентрации наносеребра  $1 \text{ мкг/см}^2$  на поверхности хлопчатобумажной ткани и  $0,8 \text{ мкг/см}^2$  в водорастворимой краске. Повышение концентрации наносеребра в водорастворимой краске/хлопчатобумажной ткани до  $7 \text{ мкг/см}^2$  обеспечивало также подавление роста культур *B. subtilis* и *E. coli*. Было показано, что при 60-дневном систематическом использовании волокнистого сорбента, покрытого наночастицами наносеребра, в качестве бытового фильтра для очистки воды на нем не наблюдалось роста биопленок. Таким образом, наночастицы серебра в качестве добавки к водорастворимым краскам, текстильным тканям и волокнистым сорбентам обладают выраженным антибактериальным/противогрибковым эффектом [62].

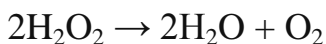
Кроме того, несколько исследователей показали, что AgNPs и композиты серебра обладают способностью катализировать химические реакции, например, окисление CO [63], окисление бензола до фенола [64].

### **1.5. Характеристика пероксида водорода**

Пероксид водорода представляет собой химическое соединение, содержащее в своем составе два связанных атома кислорода –O–O–, которые имеют степень окисления -1. Это сильный окислитель во многих химических реакциях, мощное дезинфицирующее и отбеливающее средство, легко воспламеняется и горит. Легко образуются в ходе фотохимическом образовании атомарного водорода в газообразных смесях кислорода и водорода при освещении. Пероксид водорода может образовываться из взаимодействия щелочных и щелочноземельных металлов с водой [65].

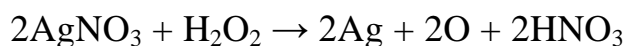
#### ***1.5.1. Химические и биологические свойства пероксида водорода***

Пероксид обладает сильными окислительными свойствами, возникающими в результате образования атомарного кислорода:



Подобное разложение катализируется многими веществами, например, серебром и платиной, оксидом марганца, соединениями йода и др. Оба атома кислорода находятся в промежуточной степени окисления -1, что и обуславливает способность пероксидов выступать как в роли окислителей, так и восстановителей.

При взаимодействии с сильными окислителями пероксид водорода выступает в роли восстановителя, окисляясь до атомарного кислорода [65]:



Перекись водорода относится к реактивным формам кислорода и при повышенном образовании в клетке вызывает оксидативный стресс. Фермент глюкозидаза в клетка может образовывать перекись водорода в ходе окислительно-восстановительной реакции, который играет защитную роль в

качестве бактерицидного агента. В клетках млекопитающих нет ферментов, которые бы восстанавливали кислород до перекиси водорода. Но существует несколько ферментных систем, таких как ксантиноксидаза, НАДФ•Н-оксидаза, циклооксигеназа и др., которые продуцируют супероксид, который спонтанно или под действием супероксиддисмутазы превращается в пероксид водорода [66].

Пероксид водорода нетоксичен, однако его концентрированные растворы при попадании на кожу, слизистые оболочки и в дыхательные пути вызывают ожоги. Опасен при приёме внутрь концентрированных растворов. Вызывает выраженные деструктивные изменения, сходные с действиями щелочей. Летальная доза 30%-го раствора пероксида водорода (пергидроля) — 50-100 мл [67,68].

### ***1.5.2. Применение перекиси водорода***

Преимущество применения перекиси водорода перед другими средствами для дезинфекции заключается в том, что она сравнительно слабо угнетает активность некоторых клеток крови и других клеток в отношении уничтожения бактерий. А также применение перекиси водорода не несет вредных последствий для экологии. Поэтому на сегодняшний день актуально использование пероксида водорода в качестве бактерицидного реагента.

С целью изучения бактерицидной активности пероксида водорода в отношении санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов были проведены две серии опытов. В первом случае, брали предварительно простерилизованную воду, в которую затем вносили санитарно-показательные микроорганизмы *E. coli*. В пробы инфицированной воды вводили пероксид водорода в малых концентрациях. Полученные результаты показали, что чем больше концентрация пероксида водорода, тем меньше требуется времени экспозиции для полной инактивации санитарно-показательных микроорганизмов, т.е. при концентрации

пероксида водорода 0,7 г/л полная инактивация достигается при времени экспозиции 120 мин, а при 1,0 г/л - через 60 мин [69].

Поскольку микробиологическими показателями санитарного состояния сточных вод являются общие колиформные (ОКБ) и термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ), то второй серией опытов являлось изучение бактерицидной активности пероксида водорода в различных концентрациях в отношении вышеуказанных микроорганизмов. Во втором случае в сточную воду, отобранную после биологических прудов, вносили раствор пероксида водорода в больших концентрациях по сравнению с первой серией опытов. Результаты исследований показали, что полная инактивация микроорганизмов во всех пробах достигается через 2 часа, достигнутый эффект во всех пробах сточных вод сохраняется в течение 2 суток, снижение дозы реагента может быть достигнуто за счет увеличения времени экспозиции [69].

### **1.6. Характеристика дигидрокверцетина**

Дигидрокверцетин – антиоксидант растительного происхождения, биофлавоноид. Он содержится в составе фенольных соединений травянистых, кустарниковых и древесных растений, многие из которых рассматриваются как лекарственные. В хвойных растениях дигидрокверцетин содержится и в коре, и в древесине, и даже в хвое. По своим химическим свойствам дигидрокверцетин (таксифолин) является активным антиоксидантом, то есть веществом, способным тормозить окислительные реакции. При этом уровень антиоксидантной активности позволяет поставить его на первые позиции среди веществ, схожего спектра действия. Благодаря широкому спектру фармакологических свойств, дигидрокверцетин успешно применяют в косметической промышленности [70]. Являясь мощнейшим природным антиоксидантом, дигидрокверцетин защищает клетки от вредных последствий, вызванных переизбытком свободных радикалов. Дигидрокверцетин способствует торможению

окислительного повреждения фибробластов кожи, вызванного истощением глутатиона. Дигидрохверцетин, вводимый в косметические средства, способствует предотвращению окисления самого продукта, что является немаловажным, если в косметике содержатся ненасыщенные жирные кислоты, легко подверженные окислению. Благодаря своим антибактериальным и противовоспалительным свойствам, дигидрохверцетин используется при производстве косметических средств и биологических добавок [70].

В качестве противомикробного средства дигидрохверцетин подавляет рост *Streptococcus sobrinus* в концентрации от 9,3 до 42,7 мкг/мл, *Staphilococcus aureus* в концентрации 0,22 мМ и может, таким образом, применяться для профилактики кариеса зубов или кожных болезней (эмпиема, фурункул, ячмень и др.) [71,72].

## Глава 2. Объекты и методы исследования

### 2.1. Объекты исследования

В работе были исследованы антимикробные свойства коллоидных растворов наночастиц серебра в отношении тестовых культур бактерий: грамотрицательных – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и грамположительных – *Bacillus mycoides*, *Micrococcus luteus*.

На объектах исследования сравнивалось антисептическое действие растворов наночастиц серебра следующего состава:

а) наночастицы серебра, полученные электрохимическим методом

- наносеребро 20 мг/л (раствор № 1);
- наносеребро 20 мг/л, дигидрокверцетин 150 мг/л (раствор № 2);
- наносеребро 1 мг/л, пероксид водорода 6% (раствор №3);
- наносеребро 1 мг/л, пероксид водорода 3%, ацетилсалициловая

кислота 0,1 мг/л (раствор №4);

б) наночастицы серебра, полученные методом восстановления боргидридом натрия, и содержащих полиаминные стабилизаторы в разных концентрациях

- наносеребро 40 мг/л, боргидрид натрия 5 мг/л, стабилизатор ПЭИ  $\geq$  10 мг/л (раствор № 5);

- наносеребро 40 мг/л, боргидрид натрия 10 мг/л, стабилизатор ПГМГ 1,5 мг/л (раствор № 6);

- наносеребро 40 мг/л, боргидрид натрия 10 мг/л, стабилизатор ПЭИ  $\leq$  10 мг/л (раствор № 7);

### 2.2. Методы получения и характеристика наночастиц серебра

Наночастицы серебра, а также растворы, их содержащие, были получены в Институте ядерной физики АН Узбекистана (г. Ташкент) и переданы в СФУ для исследования.

Растворы №№ 1-4 представляли собой коллоидные растворы серебра на водной основе, полученные электрохимический методом [73]. Основа метода – двухэлектродная установка, в которой анод и катод, изготовленные из объемного металлического серебра, превращаются в коллоидные частицы серебра. В качестве анода и катода использовали две полированные серебряные пластины (85 мм 20 мм 4 мм), расположенные вертикально на расстоянии 10 мм друг от друга. Electrodes погружали в электрохимическую ячейку, заполненную 500 мл дистиллированной воды. Электролиз проводили в течение 1 часа в интервале температур 20-95 °С при постоянном напряжении 20 В. Периодически каждые 30–300 с полярность постоянного тока между электродами изменяли и интенсивно перемешивали, чтобы в процессе электролиза предотвратить агломерацию частиц. Синтезированные растворы наночастиц серебра хранили в условиях окружающей среды в стеклянных сосудах. Исследование морфологии полученных наночастиц серебра (рис. 4) проводилось с использованием трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) на микроскопе LEO-912-OMEGA (Карл Цейсс, Германия). Частицы наносеребра имели сферическую форму со средним диаметром  $7 \pm 3$  нм (рис. 4). Концентрация наночастиц и ионов серебра в растворах была определена нейтронно-активационным анализом.

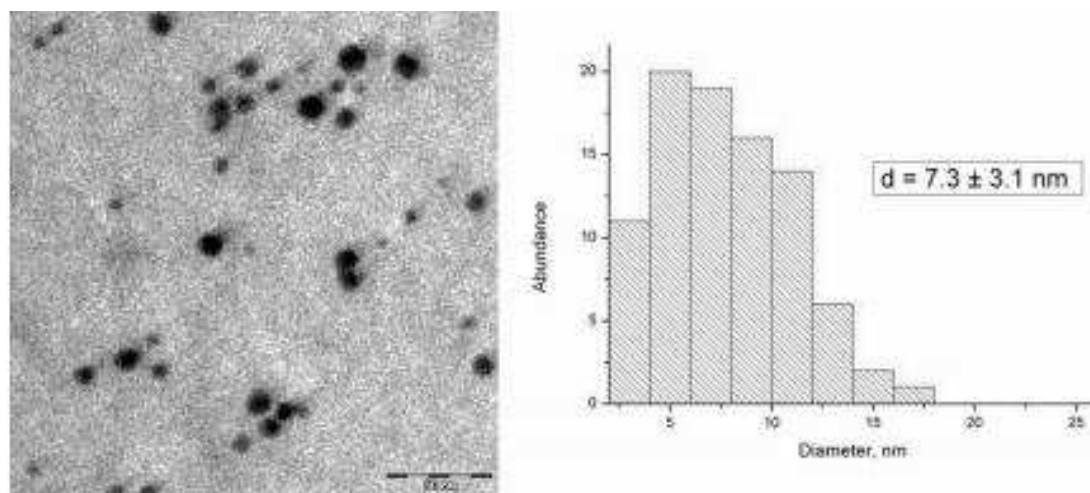


Рисунок 4 – Морфология наночастиц, полученных электрохимическим методом [73]

Растворы №№5-7 были получены методом восстановления боргидридом натрия.

Изъято 2 страницы

Исследование морфологии наночастиц серебра, полученных боргидридным методом (рис. 5), проводили в Лаборатории электронно-структурных исследований ЦКП СФУ на электронном микроскопе JEOL JEM-2100 (Япония).

## **2.2. Методы исследования антимикробной активности растворов**

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) растворов определяли на суспензиях суточных культур тестовых микроорганизмов [74].

Для приготовления суспензии микроорганизмов в стерильную пробирку вносили 5 мл физраствора, в который помещали 1-2 петли суточной культуры бактерий, выращенных на скошенном питательном агаре, с таким расчетом, чтобы титр суспензии составил  $1 \times 10^8$  клеток в 1 мл. Микроорганизмы взяты из коллекции культур базовой кафедры биотехнологии.

Титр суспензии микроорганизмов рассчитывали на фиксированных окрашенных мазках по методу Виноградского-Брида [75] методом прямой микроскопии на микроскопе AxioStar (CarlZeiss, Германия). Оптическую плотность суспензий определяли с помощью денситометра DEN-1 (Biosan, Латвия), и доводили по стандарту мутности МакФарланда до 0,5 единиц, что соответствовало  $1 \times 10^8$  клеток/мл.

*Метод Виноградского-Брида.* Хорошо обезжиренное предметное стекло помещают на миллиметровую бумагу, на которой отмечают квадрат площадью  $1 \text{ см}^2$ . Готовят суспензию микроорганизмов, затем на предметное стекло наносят микропипеткой строго определенный объем исследуемой суспензии микроорганизмов (0,01 мл). Тщательно распределяют суспензию бактериологической петлей по всей площади квадрата, отмеченного на



стекле. Препарат подсушивают на воздухе, фиксируют в пламени спиртовки, окрашивают в течение 2 мин метиленовым синим, промывают водой и осушают фильтровальной бумагой. На препарат наносят каплю масла и рассматривают с иммерсионным объективом. Чтобы результат был достоверным, подсчет числа клеток рекомендуется проводить не менее чем в 20 полях зрения. В мазке микроорганизмы распределяются неравномерно: в центре их содержится больше, чем по краям. Поэтому для получения среднего значения следует вести подсчет по диаметру мазка, смещая поле зрения от одного конца диаметра к другому.

Определение МИК проводили методом культивирования микроорганизмов в жидкой питательной среде, Nutrient broth (HiMedia, Индия). В пробирки вносили питательный бульон и стерилизовали в автоклаве при 121 °С в течение 15 мин. В стерильный бульон вносили 100 мкл суспензии микроорганизмов с титром  $10^8$  клеток в 1 мл и определенный объем исследуемых растворов для достижения соответствующих концентраций. Общий объем в пробирке доводили стерильным физиологическим раствором до достижения 10 мл.

Анализируемые концентрации растворов составляли 5, 10, 15, 20, 50, 100, 200 и 400 мл/л

Далее пробирки инкубировали в термостате при 30°C. Анализировали рост в пробирках ежедневно в течение 3-х суток. Через 1-2 дня в пробирках был виден результат – помутнение бульона (рис.6), что свидетельствовало о продолжении жизнедеятельности микроорганизмов. Визуальное отсутствие роста микроорганизмов свидетельствовало об ингибировании жизнедеятельности микроорганизмов и наличии антимикробного действия. Исследование проводили в 3-х повторностях.



Рисунок 6 – Помутнение бульона с образованием белого хлопьевидного осадка при отсутствии антимикробного действия анализируемого раствора

Если рост в пробирках отсутствовал, проводили высеv на агаризованную питательную среду Nutrient agar (HiMedia, Индия), чтобы установить характер действия растворов на бактерии. В случае возобновления роста микроорганизмов на питательном агаре в отсутствие анализируемого раствора, характер действия оценивали как бактериостатический (рис.7а), если рост не возобновлялся – характер действия бактерицидный (рис.7б).

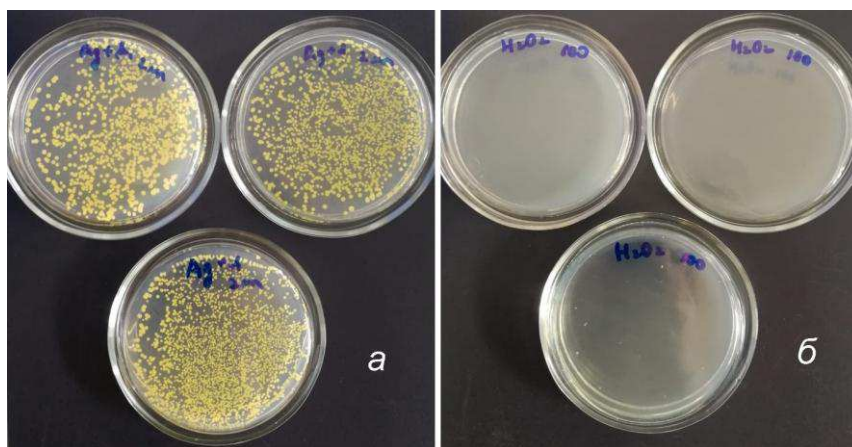


Рисунок 7 – Пример бактериостатического (а) и бактерицидного (б) действия испытуемых растворов

Контрольная проба для растворов, содержащих пероксид водорода, (№1 и №2) – рост микроорганизмов при добавлении 3% раствора пероксида водорода (5, 10, 20 мл/л) без наночастиц серебра (положительный контроль).

## **Глава 3. Результаты**

Изъято 7 страниц

## Выводы

1. Минимальная подавляющая концентрация (МИК) раствора наносеребра с 3% пероксидом водорода и ацетилсалициловой кислотой составляла 15 мл/л для всех видов тестируемых бактерий – *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. mycooides* и *M. luteus*. Увеличение концентрации пероксида водорода до 6% привело к повышению активности раствора и снижению МИК для *P. aeruginosa* и *M. luteus* до 10 мл/л.

2. МИК раствора наносеребра, полученного электрохимическим методом, составила 200 мл/л для *M. luteus*, *B. mycooides* и *P. aeruginosa*, и 400 мл/л – для *E. coli*. Комбинация раствора наносеребра с дигидрохверцитином не привела к усилению антимикробных свойств.

3. Антибактериальные свойства наночастиц серебра, полученных боргидридным методом, проявлялись сильнее с уменьшением размера наночастиц. Растворы №6 и №7, с повышенным содержанием восстановителя и средним размером наночастиц серебра около 20 нм, оказывали наиболее эффективное антибактериальное действие, особенно в отношении видов *M. luteus* и *E. coli*, для которых МИК составила 100 мл/л. Раствор №5, содержащий минимальную в опыте концентрацию, восстановителя и наночастицы размером около 100 нм, подавлял рост только *B. mycooides*, МИК составляла 200 мл/л.

4. В большинстве случаев действие испытуемых растворов на бактериальные клетки проявлялось как бактериостатическое.

## Список использованных источников

1. Крутяков Ю. А. и др. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы //Успехи химии. – 2008. – Т. 77. – №. 3. – С. 242-269.
2. Яманова Р. Р., Николаенко Г. Р. О применении наночастиц серебра в легкой промышленности //Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16. – №. 22.
3. Матренинская Е. С. Новое поколение дезинфицирующих средств на основе пероксида водорода //Медицинский алфавит. – 2011. – Т. 1. – №. 5. – С. 40-40.
4. Нифантьев Э. Е. и др. Химическая модификация и биологическая активность флавоноида дигидрокверцетина//Наука и школа. – 2012. – №. 6.
5. Букина Ю. А., Сергеева Е. А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра //Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15. – №. 14.
6. Игнатов И. Н. И., Мосин О. В. Методы получения мелкодисперстных наночастиц коллоидного серебра //Вестник евразийской науки. – 2014. – №. 3 (22).
7. Щербаков А. Б. и др. Препараты серебра: вчера, сегодня и завтра //Фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 5. – С. 45-57.
8. Ge L. et al. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity //International journal of nanomedicine. – 2014. – Т. 9. – С. 2399.
9. Asanithi P., Chaiyakun S., Limsuwan P. Growth of silver nanoparticles by DC magnetron sputtering //Journal of Nanomaterials. – 2012. – Т. 2012.
10. Haggag E. G. et al. Antiviral potential of green synthesized silver nanoparticles of *Lampranthus coccineus* and *Malephora lutea* //International journal of nanomedicine. – 2019. – Т. 14. – С. 6217.

11. Khan S. U. et al. Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold //International journal of nanomedicine. – 2018. – T. 13. – C. 733.
12. Zhang Q. et al. A systematic study of the synthesis of silver nanoplates: is citrate a “magic” reagent? //Journal of the American Chemical Society. – 2011. – T. 133. – №. 46. – C. 18931-18939.
13. Roldán M., Pellegrini N., de Sanctis O. Electrochemical method for Ag-PEG nanoparticles synthesis //Journal of Nanoparticles. – 2013. – T. 2013.
14. Sotiriou G. A. et al. Nanosilver on nanostructured silica: Antibacterial activity and Ag surface area //Chemical Engineering Journal. – 2011. – T. 170. – №. 2-3. – C. 547-554.
15. Ma H. et al. Synthesis of silver and gold nanoparticles by a novel electrochemical method //ChemPhysChem. – 2004. – T. 5. – №. 1. – C. 68-75.
16. Zhang Y. et al. Synthesis of silver nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes //Chemical Communications. – 2002. – №. 23. – C. 2814-2815.
17. Cao X., Ye Y., Liu S. Gold nanoparticle-based signal amplification for biosensing //Analytical biochemistry. – 2011. – T. 417. – №. 1. – C. 1-16.
18. Ahmad Z. et al. Alginate nanoparticles as antituberculosis drug carriers: formulation development, pharmacokinetics and therapeutic potential //Indian journal of chest diseases and allied sciences. – 2006. – T. 48. – №. 3. – C. 171.
19. Sre P. R. R. et al. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of Erythrina indica lam //Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2015. – T. 135. – C. 1137-1144.
20. Manikandan R. et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using ethanolic petals extract of Rosa indica and characterization of its antibacterial, anticancer and anti-inflammatory activities //Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2015. – T. 138. – C. 120-129.

21. Iravani S. et al. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods //Research in pharmaceutical sciences. – 2014. – T. 9. – №. 6. – C. 385.
22. Ge L. et al. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity //International journal of nanomedicine. – 2014. – T. 9. – C. 2399.
23. Kruis F. E., Fissan H., Rellinghaus B. Sintering and evaporation characteristics of gas-phase synthesis of size-selected PbS nanoparticles //Materials Science and Engineering: B. – 2000. – T. 69. – C. 329-334.
24. Mishra S. et al. Potential of biosynthesized silver nanoparticles using *Stenotrophomonas* sp. BHU-S7 (MTCC 5978) for management of soil-borne and foliar phytopathogens //Scientific reports. – 2017. – T. 7. – C. 45154.
25. Xue B. et al. Biosynthesis of silver nanoparticles by the fungus *Arthroderma fulvum* and its antifungal activity against genera of *Candida*, *Aspergillus* and *Fusarium* //International journal of nanomedicine. – 2016. – T. 11. – C. 1899.
26. Wei L. et al. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications //Drug discovery today. – 2015. – T. 20. – №. 5. – C. 595-601.
27. Elumalai E. K. et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Euphorbia hirta* and their antibacterial activities //J Pharm Sci Res. – 2010. – T. 2. – №. 9. – C. 549-554.
28. Krishnaraj C. et al. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2010. – T. 76. – №. 1. – C. 50-56.
29. Veerasamy R. et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities //Journal of Saudi Chemical Society. – 2011. – T. 15. – №. 2. – C. 113-120.
30. Chandran S. P. et al. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloevera* plant extract //Biotechnology progress. – 2006. – T. 22. – №. 2. – C. 577-583.

31. Li S. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annum* L. extract //Green Chemistry. – 2007. – T. 9. – №. 8. – C. 852-858.
32. Jain D. et al. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti microbial activities //Digest journal of nanomaterials and biostructures. – 2009. – T. 4. – №. 3. – C. 557-563.
33. Parikh R. Y. et al. Genus-wide physicochemical evidence of extracellular crystalline silver nanoparticles biosynthesis by *Morganella* spp //PLoS One. – 2011. – T. 6. – №. 6. – C. e21401.
34. Brayner R. et al. Cyanobacteria as bioreactors for the synthesis of Au, Ag, Pd, and Pt nanoparticles via an enzyme-mediated route //Journal of nanoscience and nanotechnology. – 2007. – T. 7. – №. 8. – C. 2696-2708.
35. Rajeshkumar S. et al. Intracellular and extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by using marine bacteria *Vibrio alginolyticus* //Nanosci Nanotechnol. – 2013. – T. 3. – №. 1. – C. 21-25.
36. Mouxing F. U. et al. Rapid preparation process of silver nanoparticles by bioreduction and their characterizations //Chinese Journal of Chemical Engineering. – 2006. – T. 14. – №. 1. – C. 114-117.
37. Lengke M. F., Fleet M. E., Southam G. Biosynthesis of silver nanoparticles by filamentous cyanobacteria from a silver (I) nitrate complex //Langmuir. – 2007. – T. 23. – №. 5. – C. 2694-2699.
38. Nair B., Pradeep T. Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus* strains //Crystal growth & design. – 2002. – T. 2. – №. 4. – C. 293-298.
39. Ammar H. A. M., El- Desouky T. A. Green synthesis of nanosilver particles by *Aspergillus terreus* HA 1N and *Penicillium expansum* HA 2N and its antifungal activity against mycotoxigenic fungi //Journal of Applied Microbiology. – 2016. – T. 121. – №. 1. – C. 89-100.
40. Sanghi R., Verma P. Biomimetic synthesis and characterisation of protein capped silver nanoparticles //Bioresource technology. – 2009. – T. 100. – №. 1. – C. 501-504.



41. Sintubin L., Verstraete W., Boon N. Biologically produced nanosilver: current state and future perspectives //Biotechnology and Bioengineering. – 2012. – Т. 109. – №. 10. – С. 2422-2436.

42. Букина Ю. А., Сергеева Е. А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра //Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15. – №. 14.

43.Rajeshkumar S. et al. Anticancer and enhanced antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles against clinical pathogens //Journal of molecular structure. – 2016. – Т. 1116. – С. 165-173.

44. Pazos-Ortiz E. et al. Dose-dependent antimicrobial activity of silver nanoparticles on polycaprolactone fibers against gram-positive and gram-negative bacteria //Journal of Nanomaterials. – 2017. – Т. 2017.

45. Gurunathan S. et al. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria //Nanoscale research letters. – 2014. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-17.

46. Elangovan K. et al. Phyto mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Andrographis echinoides* and its bio-efficacy on anticancer and antibacterial activities //Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2015. – Т. 151. – С. 118-124.

47. Станишевская И. Е. и др. Наночастицы серебра: получение и применение в медицинских целях //Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – №. 1. – С. 66-69.

48.Rai M. K. et al. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria //Journal of applied microbiology. – 2012. – Т. 112. – №. 5. – С. 841-852.

49.Уотерс У.Химия свободных радикалов//Москва : Государственное издательство иностранной литературы. – 1948.

50.Ма С., Чжэн К., Чэнь И. Свойства, применения и методы получения наносеребра //Международный студенческий научный вестник. – 2018. – №. 6. – С. 180-180.

51. Chen Z. et al. Aerobic condition enhances bacteriostatic effects of silver nanoparticles in aquatic environment: an antimicrobial study on *Pseudomonas aeruginosa* // *Scientific Reports*. – 2017. – T. 7. – №. 1. – C. 1-8.

Speshock J. L. et al. Interaction of silver nanoparticles with Tacaribe virus // *Journal of nanobiotechnology*. – 2010. – T. 8. – №. 1. – C. 1-9.

52. Gaikwad S. et al. Antiviral activity of mycosynthesized silver nanoparticles against herpes simplex virus and human parainfluenza virus type 3 // *International journal of nanomedicine*. – 2013. – T. 8. – C. 4303.

53. Balagna C. et al. Virucidal effect against Coronavirus SARS-CoV-2 of a silver nanocluster/silica composite sputtered coating // *Open Ceramics*. – 2020. – C. 100006.

54. Huy T. Q. et al. Cytotoxicity and antiviral activity of electrochemical-synthesized silver nanoparticles against poliovirus // *Journal of virological methods*. – 2017. – T. 241. – C. 52-57.

55. Sun L. et al. Silver nanoparticles inhibit replication of respiratory syncytial virus // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2008. – T. 4. – №. 2. – C. 149-158.

56. Kim K. J. et al. Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes // *J Microbiol Biotechnol*. – 2008. – T. 18. – №. 8. – C. 1482-1484.

57. Velluti F. et al. Synthesis, characterization, microbiological evaluation, genotoxicity and synergism tests of new nano silver complexes with sulfamoxole: X-ray diffraction of  $[Ag_2 (SMX)_2] \cdot DMSO$  // *Journal of inorganic biochemistry*. – 2014. – T. 141. – C. 58-69.

58. Gajbhiye M. et al. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2009. – T. 5. – №. 4. – C. 382-386.

59. Jo Y. K., Kim B. H., Jung G. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi // *Plant disease*. – 2009. – T. 93. – №. 10. – C. 1037-1043.

60. Ogar A., Tytko G., Turnau K. Antifungal properties of silver nanoparticles against indoor mould growth //Science of the Total Environment. – 2015. – Т. 521. – С. 305-314.

61. Murray H. W. Susceptibility of Leishmania to oxygen intermediates and killing by normal macrophages //The Journal of experimental medicine. – 1981. – Т. 153. – №. 5. – С. 1302-1315.

62. Khaydarov R. R. et al. Using silver nanoparticles as an antimicrobial agent //Biodefence. – Springer, Dordrecht, 2011. – С. 169-177.

63. Liu J. H. et al. Synergistic effect in an Au– Ag alloy nanocatalyst: CO oxidation //The Journal of Physical Chemistry B. – 2005. – Т. 109. – №. 1. – С. 40-43.

64. Ameen K. B., Rajasekar K., Rajasekharan T. Silver nanoparticles in mesoporous aerogel exhibiting selective catalytic oxidation of benzene in CO<sub>2</sub> free air //Catalysis letters. – 2007. – Т. 119. – №. 3-4. – С. 289-295.

65. Потапченко Н.Г., В.В. Илляшенко, В.Н. Косинова и др. Химия и технология воды. – 1994. – Т. 16. – № 2. – С. 203 – 209.

66. Электронная библиотека [Электронный ресурс]: Пероксид водорода. – Режим доступа [https://ru.wikipedia.org/wiki/Пероксид\\_водорода](https://ru.wikipedia.org/wiki/Пероксид_водорода)

67. Угай Я.А., Общая и неорганическая химия : Учеб. Для вузов. 2-е изд., - Высш. шк., 2000 – 527 с.

68. Самойленко И. И. и др. Механизмы бактерицидного действия перекиси водорода //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1983. – №. 2. – С. 30-33.

69. Дровозова Т.И., Паненко Н.Н., Кулакова Е.С. Исследование бактерицидной активности пероксида водорода в сточных водах // МНИЖ. 2016. №7-4 (49).

70. Фомичев Ю. П., Никанова Л. А., Лашин С. А. Дигидрокверцетин и арабиногалактан-природные биорегуляторы, применение в сельском хозяйстве и пищевой промышленности //Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2018. – №. 3. – С. 21-32.

71. Kuspradini H., Mitsunaga T., Ohashi H. Antimicrobial activity against *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase inhibitory activity of taxifolin and some flavanone rhamnosides from kempas extracts //Journal of wood science. – 2009. – Т. 55. – №. 4. – С. 308-313.

72. Шевелев А. Б. и др. Исследование антимикробной активности полифенолов из древесного сырья //Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2018. – №. 4. – С. 53-56.


73. Khaydarov R. Silver nanoparticles environmental and human health impacts// Nanomaterials.– 2008. – С. 287-297.

74. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга 1. /Под ред. Лабинской А.С., Воиной Е. Г. – М.: Бином, 2008. – 1080 с.

75. Концевая И.И., Микробиология. Пособие для студентов специальности «Биология», 2011 г., с 113-114.

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой  
 Т. Г. Волова

«29» июня 2021 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 Биология

Оценка антимикробных свойств наночастиц серебра в комбинации с  
пероксидом водорода и дигидрохверцетином

Руководитель

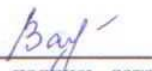


подпись, дата

д.б.н., профессор  
должность, ученая степень

С. В. Прудникова  
инициалы, фамилия

Выпускник



подпись, дата

Е. В. Василенко  
инициалы, фамилия

Красноярск 2021