

ОБРАЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА БАКТЕРИЯМИ *ACINETOBACTER RADIORESISTENS*

Н. В. Нахаева

Белорусский государственный университет, г. Минск;
natalianahaeva@gmail.com;
науч. рук. – М. И. Чернявская, канд. биол. наук, доц.

Было установлено, что бактерии *Acinetobacter radioresistens* наиболее эффективно синтезируют наночастицы серебра в среде Мейнелла с концентрацией мелассы 20 г/л и рН 8. Синтезированные растворы характеризуются выраженным максимумом в области 415 нм ($OP_{415}=7,1$). Показано, что в восстановлении ионов серебра у данных бактерий принимают участие термостабильные редуцирующие агенты. Способность к формированию наночастиц имеет защитный эффект для продуцента. Наночастицы серебра подавляют рост и развитие других бактерий; оказывают фунгицидное действие в концентрациях 20 ppm и более; но не подавляют прорастания семян (на примере редиса красного) в концентрации 25 ppm.

Ключевые слова: наночастицы серебра; *Acinetobacter radioresistens*; антимикробная активность; всхожесть семян.

Наночастицы серебра привлекают все большее внимание благодаря своим антимикробным свойствам. В связи с ростом резистентности микроорганизмов ко многим антибиотикам возникает необходимость в создании новых антимикробных соединений. Применение наночастиц серебра в медицине известно еще с давних времен. К их преимуществам относится отсутствие резистентности у большинства микроорганизмов из-за наличия множественных мишеней действия в микробной клетке [1].

Получение наночастиц возможно с помощью физических, химических и биологических методов. Однако именно последние являются наиболее предпочтительными, поскольку они экологичны, экономически выгодны, просты и безопасны. Биосинтез может осуществляться с помощью растений и микроорганизмов (бактерии, водоросли, дрожжи и мицелиальные грибы) [2].

Формирование наночастиц может происходить как внутри клеток бактерий, так и в супернатантах. У ряда бактерий в синтезе участвуют клеточные ферменты (нитратредуктазы), пептиды, цитохром *c*, а также гены, определяющие устойчивость к ионам серебра [3]. Но какие детерминанты ответственны за образование наночастиц у исследуемых бактерий *A. radioresistens*, пока не установлено.

Определяющее значение на формирование наночастиц оказывает среда культивирования бактерий. Компоненты, входящие в состав могут оказывать как ингибирующее действие на формирование наночастиц,

так и стимулировать их образование. Среда должна обеспечивать клеточный рост и образование метаболитов, ответственных за формирование наночастиц серебра.

Целью работы являлось изучение влияния условий культивирования на синтез наночастиц серебра в супернатанте бактерий *A. radioresistens* и изучение влияния образуемых ими наночастиц серебра на живые организмы.

Объектом исследования являлись бактерии *A. radioresistens* L5A-16 (БИМ В-877 Г). Культивирование бактерий осуществляли в пептонно-дрожжевом бульоне и жидкой среде Мейнелла [4] с концентрацией мелассы 10, 20 или 30 г/л и значениями pH 6,0; 7,0 или 8,0. Для синтеза наночастиц серебра применяли супернатанты культуры, в которые добавляли AgNO_3 до конечной концентрации 1 ммоль/л и инкубировали с перемешиванием при освещении и температуре 28 С в течение 24 ч. Эффективность формирования наночастиц серебра оценивали, измеряя оптическую плотность (ОП) полученных растворов спектрофотометрическим методом в диапазоне длин волн 200–700 нм. Об образовании наночастиц серебра свидетельствуют выраженные пики с максимумом поглощения в области 390–450 нм.

Образуемые в супернатантах *A. radioresistens* L5A-16 наночастицы серебра характеризуются размером от 1 до 200 нм, с преобладанием наночастиц размером 40–80 нм. С помощью метода просвечивающей электронной дифракции было установлено, что формируемые наночастицы обладают кубической кристаллической решеткой [5].

Было показано, что способность к формированию наночастиц исследуемыми бактериями в значительной степени зависит как от состава среды культивирования бактерий, так и от значения pH среды. Формирование наночастиц серебра эффективнее происходило при культивировании бактерий в среде Мейнелла с концентрацией мелассы в среде 20 г/л и значением pH равном 8,0. Полученные при этом растворы наночастиц характеризовались максимумом $\text{ОП}_{415}=7,1$ (рис. 1), тогда как при выращивании бактерий в пептонно-дрожжевом бульоне ОП растворов наночастиц серебра не превышала 4,6.

С меньшей эффективностью ($\text{ОП}_{430}=5,8$) наночастицы образовывались при pH 7,0, тогда как при pH 6,0 формирования наночастиц не наблюдалось (рис. 1). Стоит отметить, что более интенсивный рост бактерий *A. radioresistens* L5A-16 отмечался при условиях отличных от оптимальных для формирования наночастиц: при более высокой концентрации мелассы в среде (30 г/л), значении pH равном 5,0.

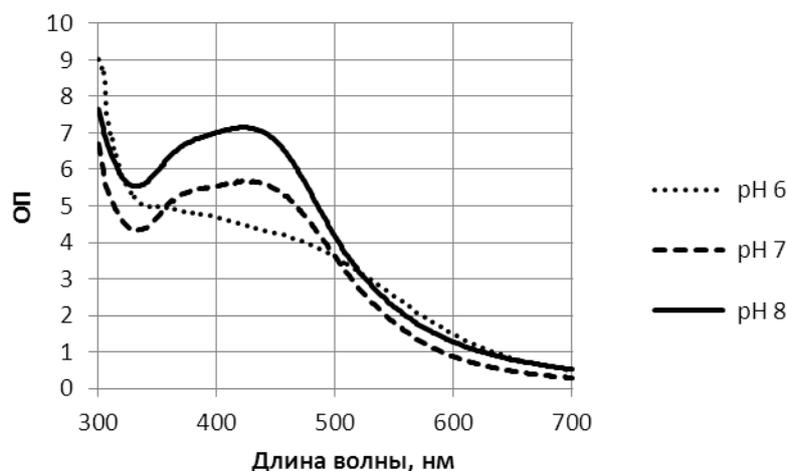


Рис. 1. Оптические характеристики растворов наночастиц, синтезированных в супернатанте *A. radioresistens* L5A-16 в среде Мейнелла с различными значениями pH и концентрацией мелассы 2 %

Чтобы проверить возможность участия в восстановлении ионов серебра факторов, разрушаемых высокой температурой (белковой природы), осуществляли кипячение супернатанта в течение 30 мин. Оптические характеристики растворов, полученных с супернатантом до и после термической обработки имеют незначительные различия, что говорит о термостабильности редуцирующих агентов у данных бактерий.

Исследование антимикробной активности наночастиц серебра позволило выявить, что продуцент более устойчив к собственным наночастицам, чем к ионам серебра. Из чего следует, что способность к формированию наночастиц имеет защитный эффект для продуцента, снижая токсический эффект ионов. Наночастицы оказывают влияние и на ряд других бактерий. Было показано их ингибирующее действие на такие бактерии, как *S. saprophyticus*, *S. lutea*, *S. typhimurium*, *P. putida*. Более чувствительными к действию наночастиц оказались грамотрицательные бактерии [5].

Было изучено также влияние НЧ на прорастание семян. При проращивании необработанных семян можно столкнуться с проблемой заражения плесневыми грибами. Соответственно, при подборе средств обработки необходимо подобрать такую их концентрацию, которая не подавляла бы прорастание семян, но оказывала ингибирующее воздействие на грибы.

Модельным объектом служила лапчатка скальная. Исследовали влияние растворов наночастиц в диапазоне концентраций от 1 до 100 ppm. Контролем служили фильтры обработанные водой. Было показано, что при концентрации наночастиц 20 ppm и выше развития грибов не на-

блюдалось. Однако и всхожесть семян, начиная с 10 ppm, падала и при 100 ppm оказалась равной 0. Поскольку общий показатель всхожести данных семян при всех концентрациях, в том числе в контроле, был достаточно низок (менее 20 %), то для определения влияния наночастиц на прорастание семян был исследован другой объект - редис красный. Было показано, что наночастицы в концентрации 25 ppm не подавляют прорастание семян редиса красного.

Таким образом, было установлено, что наночастицы серебра, образуемые бактериями *A. radioresistens* L5A-16 характеризуются полидисперсностью с преобладанием размеров 40-80 нм. Наблюдается зависимость между составом среды и эффективностью формирования наночастиц. Наиболее эффективно наночастицы образуются при культивировании бактерий в среде Мейнелла с концентрацией мелассы 20 г/л и рН равном 8,0 (ОП₄₁₅=7,1). Установлено, что для штамма *A. radioresistens* L5A-16 характерны термостабильные факторы, участвующие в восстановлении ионов серебра. Способность к формированию наночастиц имеет защитный эффект для продуцента; наночастицы серебра подавляют рост и развитие других бактерий; оказывают фунгицидное действие в концентрации 20 ppm и более; но не влияют на прорастание семян (на примере редиса красного) в концентрации 25 ppm.

Библиографические ссылки

1. Мосин, С.В. Коллоидное серебро в бионанотехнологии / О.В. Мосин, И. Игнатов // Биотехносфера. – 2012. – №:5,6. – С. 49–55.
2. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics / R Singh [et al.] // International journal of Nanomedicine. – 2013 – № 8. – P. 4277–4290.
3. Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications / R. Singh [et al.] // Appl Microbiol Biotechnol. – 2015. – № 99. – P. 4579–4593.
4. Мейнелл, Дж. Экспериментальная микробиология (Теория и практика) / Дж. Мейнелл, Э. Мейнелл / Под ред. А.С. Кривиского, В.Ю. Урбаха // М.: Мир. 1967. – 347 с.
5. Марукевич В.В. Антимикробная активность наночастиц серебра, полученных биологическим способом / В.В. Марукевич, М.И. Чернявская // Сборник материалов III Конференции молодых ученых биохимиков и молекулярных биологов с международным участием «Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии», Гродно, 11–12 мая 2017 г. – Гродно: «ЮрСаПринт», 2017. – С. 87–89.