

ЗЕЛЕНИЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА І ОКСИДУ ЦИНКА ТА ОЦІНКА ЇХ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ

Федорченко В.С.^{1,2,3}, Рєзніченко Л.С.², Лютко О.Б.³, Вітрак К.В.³, Грузіна
Т.Г.², Дибкова С.М.²

¹Національний технічний університет України «КПІ ім. Сікорського»,
vladimirsfedorchenko@gmail.com

²Інститут біологічної хімії імені Ф.Д. Овчаренка НАН України

³ДУ «Інститут травматології та ортопедії» НАМН України

Abstract: *In this study, we report the green synthesis of silver nanoparticles (AgNP) and zinc oxide nanoparticles (ZnONP) using aqueous extracts of Matricaria chamomilla and Calendula officinalis flowers. High antimicrobial activity of the synthesized nanoparticles against Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Enterococcus faecalis ATCC 29213 test microorganisms was shown.*

Keywords: *Green synthesis, silver nanoparticles, zinc oxide nanoparticles, antimicrobial activity*

Вступ. Наночастинки срібла (AgNP) та оксиду цинку (ZnONP) мають широке застосування в медицині, фармацевтиці, косметичці та інших галузях завдяки своїм унікальним антимікробним, противірусним та протигрибковим властивостям [1, 2]. Традиційні методи синтезу AgNP та ZnONP часто ґрунтуються на використанні хімічних реагентів, які можуть бути шкідливими для довкілля та здоров'я людини [3, 4]. Зелений синтез з використанням екстрактів рослин для відновлення металевих іонів до наночастинок є екологічно чистою альтернативою [5, 6]. В Україні та світі зростає попит на екологічно чисті та біосумісні наночастинки [7]. *Matricaria chamomilla* L. (ромашка лікарська) та *Calendula officinalis* (календула) - лікарські рослини, які мають широкий спектр антимікробних та протизапальних властивостей [8, 9]. Екстракти цих рослин можуть використовуватися як відновники та стабілізатори для синтезу AgNP та ZnONP [10].

Метою даної роботи був зелений синтез AgNP та ZnONP з використанням екстрактів *Matricaria chamomilla* L. і *Calendula officinalis* та оцінка їх антимікробних властивостей.

Матеріали та методи. Наночастинки срібла синтезували згідно [11] у власній модифікації. Для цього розчин нітрату срібла відновлювали водним екстрактом з сушених квітів ромашки (*Matricaria chamomilla* L.) (ПрАТ "Ліктрави", Україна) (температура реакції 80 °С, час – 30 хв.). Для отримання водного екстракту ромашки у дистильовану воду додавали 10 г сухої рослинної сировини та нагрівали до температури 80°С протягом 30 хв, після охолодження екстракт відділяли від рослинного матеріалу фільтруванням (фільтрувальний папір Whatman №1).

Для отримання наночастинок оксиду цинку використовували спиртову витяжку сушених квітів календули (*Calendula officinalis*) (ПрАТ «Ключі Здоров'я Тов», Україна): у 96% етиловий спирт (C₂H₅OH) додавали висушені квіти календули та залишали у холодильній камері при 4±1 °С на одну добу, після чого

фільтрували, а отриманий екстракт використовували як відновник розчину нітрату цинку ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) (температура реакції 80 °С, час – 30 хв.). рН реакції регулювали 4М розчином гідроксиду натрію (NaOH). Отриману дисперсію ZnONP двічі відмивали центрифугуванням (8000 об/хв., 15 хв) та ресуспендували у 96% етиловому спирті.

Фізико-хімічні властивості наночастинок оцінювали за допомогою UV-Vis спектроскопії (СФ 46, Ломо), сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ) (MIRA 3, TESCAN, Чехія) та енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії (ЕДС) (детектор X-Max 80, Oxford Instruments Analytical, Великобританія).

Оцінку чутливості мікроорганізмів до синтезованих наночастинок проводили в Лабораторії мікробіології та хіміотерапії ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» із залученням 4 штамів з колекції Лабораторії мікробіології та хіміотерапії ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 диско-дифузійним методом [12, 13]. На чашки з агаром Мюллера-Хінтона наносили 100 мкл суспензії тестових мікроорганізмів (0,5 за стандартом Мак Фарланда) і розподіляли її шпателем, після чого розміщували диски, просочені 40 мкл досліджуваної субстанції наночастинок, інкубували протягом 24 годин при температурі 37 °С та вимірювали діаметр зон затримки росту.

Результати та обговорення. На рис. 1 продемонстрована зміна кольору суспензій в процесі синтезу AgNP (рис. 1a) та ZnONP (рис. 1b).

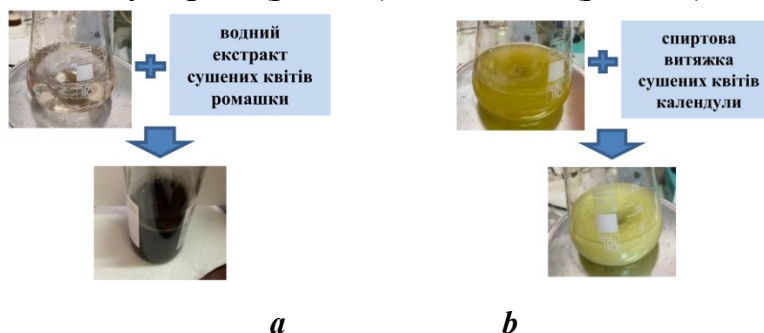


Рис. 1. Зміна кольору реакційних сумішей в процесі синтезу наночастинок срібла (a) та наночастинок оксиду цинку (b).

Зміна кольору реакційної суміші від прозорого до темно-коричневого для срібла та від жовто-коричневого до блідо-жовтого для оксиду цинку може бути свідченням утворення відповідних наночастинок.

UV-Vis спектри синтезованих наночастинок наведені на рис. 2.

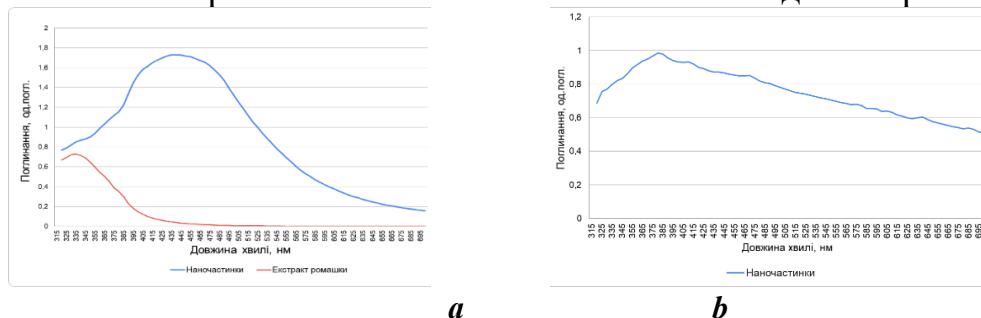


Рис. 2. UV-Vis спектри синтезованих наночастинок срібла (a) та наночастинок оксиду цинку (b).

Для наночастинок срібла (рис. 2а) аналіз результатів показав чітко виражений пік поглинання при довжині хвилі 438 нм, характерний для наночастинок сферичної форми [14].

Зростання інтенсивності поглинання при довжині хвилі 380 нм свідчить про утворення наночастинок оксиду цинку (рис. 2b). При цьому характер кривої поглинання відображає значний розмірний діапазон частинок [15].

Сферична форма та природа синтезованих AgNP та ZnONP підтверджена методами СЕМ та ЕДС (рис. 3).

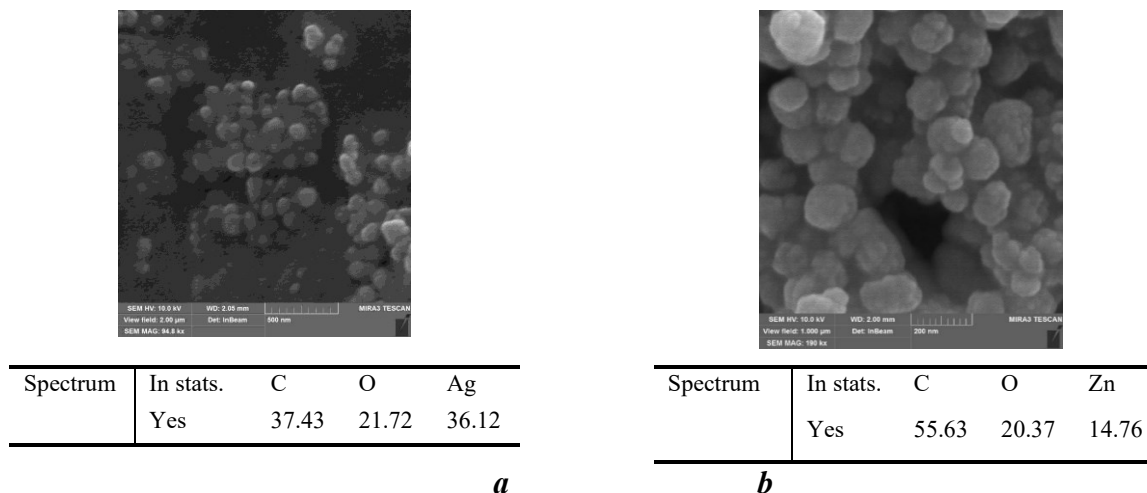


Рис. 3. SEM-зображення та ЕДС-аналіз наночастинок срібла (а) та наночастинок оксиду цинку (b).

Результати аналізу антимікробної активності синтезованих AgNP та ZnONP представлені в таблиці 1.

Таблиця 1. Зони затримки росту мікроорганізмів під впливом синтезованих наночастинок срібла та наночастинок оксиду цинку.

тестовий штам\зразок	AgNP	ZnONP	Екстракт ромашки	Екстракт календули
	зони затримки росту, мм			
<i>E. faecalis ATCC 29213</i>	17±2	0	0	0
<i>E. coli ATCC 25922</i>	27±1	24±3	0	0
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	23±3	26±1	0	0
<i>P. aeruginosa ATCC 27853</i>	24±2	22±4	0	0

Як свідчать отримані дані, синтезовані AgNP виявили високу антимікробну активність відносно усіх досліджених тестових штамів. Ефективність синтезованих ZnONP була порівнянна з ефективністю AgNP відносно тест штамів *E. coli ATCC 25922*, *S. aureus ATCC 25923* та *P. aeruginosa ATCC 27853*, тоді як антимікробна дія щодо *E. faecalis ATCC 29213* була відсутня.

Висновок. В результаті виконаних досліджень з використанням екстрактів ромашки аптечної (*Matricaria chamomilla* L.) та календули (*Calendula officinalis*) синтезовані сферичні наночастинки срібла та оксиду цинку в розмірному діапазоні 20-100 нм. Синтезовані наночастинки AgNP та ZnONP виявили високу антимікробну активність стосовно тестових штамів мікроорганізмів *E. coli ATCC*

25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, тоді як антимікробну дію проти *E. faecalis* ATCC 29213 проявили лише AgNP. Виражена антимікробна дія синтезованих AgNP та ZnONP характеризує їх перспективними агентами для розробки нових антимікробних препаратів та дезінфікуючих засобів.

Список використаної літератури:

1. Adelere I. A., Lateef A. A novel approach to the green synthesis of metallic nanoparticles: the use of agro-wastes, enzymes, and pigments. *Nanotechnology Reviews*. 2016. 5(6). P. 567-587. DOI: 10.1515/ntrev-2016-0024.
2. Ahmed S., Ahmad M., Swami B. L., Ikram S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*. 2016. 7(1). P. 17-28. DOI: 10.1016/j.jare.2015.02.007.
3. Chung I. M., Park I., Seung-Hyun K., Thiruvengadam M., Rajakumar G. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: their characteristic properties and therapeutic applications. *Nanoscale Research Letters*. 2016. 11(1):40. DOI: 10.1186/s11671-016-1257-4.
4. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*. 2016. 13(10). P. 2638-2650. DOI: 10.1039/C1GC15386B.
5. Makarov V. V., Love A. J., Sinitsyna O. V., Makarova S. S., Yaminsky I. V., Taliansky M. E., Kalinina N. O. "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*. 2014. 6(1). P. 35-44.
6. Mittal A. K., Chisti Y., Banerjee U. C. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*. 2013. 31(2). P. 346-356. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.01.003.
7. Vijayaram S., Razafindralambo H., Sun Y. Z., Vasantharaj S., Ghafarifarsani H., Hoseinifar S. H., Raeeszadeh M. Applications of green synthesized metal nanoparticles - A review. *Biological Trace Element Research*. 2024. Vol. 202(1). P. 360-386. DOI: 10.1007/s12011-023-03645-9.
8. Rafique M., Sadaf I., Rafique M. S., Tahir M. B. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2017. 45(7). P. 1272-1291. DOI: 10.1080/21691401.2016.1241792.
9. Shamaila S., Zafar N., Riaz S., Sharif R., Nazir J., Naseem S. Gold nanoparticles: an efficient antimicrobial agent against enteric bacterial human pathogen. *Nanomaterials*. 2016. 6(4), 71. DOI: 10.3390/nano6040071.
10. Zhang X. F., Liu Z. G., Shen W., Gurunathan S. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. 17(9), 1534. DOI: 10.3390/ijms17091534.
11. Parlinska-Wojtan M., Kus-Liskiewicz M., Depciuch J., Sadik O. Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using camomile terpenoids as a combined reducing and capping agent. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2016. 39(8). P. 1213-1223. DOI: 10.1007/s00449-016-1599-4.
12. Методичні вказівки «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007).
13. Singh T., Jyoti K., Patnaik A., Singh A., Chauhan R., Chandel S. S. Biosynthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles using an endophytic fungal supernatant of *Raphanus sativus*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2017. Vol. 15, No 1. P. 31-39. DOI: 10.1016/j.jgeb.2017.04.005.
14. Amirjani A., Koochak N. N., Haghshenas D. F. Investigating the shape and size-dependent optical properties of silver nanostructures using UV-vis spectroscopy. *J. Chem. Educ.* 2019. Vol. 96, No 11. P. 2584-2589. DOI: 10.1021/acs.jchemed.9b00559.
15. Pudukudy M., Yaakob Z. Facile synthesis of quasi spherical ZnO nanoparticles with excellent photo catalytic activity. *Journal of Cluster Science*. 2015. Vol. 26. P. 1187-1201. DOI: 10.1007/s10876-014-0806-1.