

Региональная открытая конференция по научно-техническому творчеству
школьников «Лабиринты науки»

Секция «Химия»

Изучение дезинфицирующих свойств наночастиц серебра

Автор: Лобанов Виктор Романович,
9н класс, ГОУ ЯО «Лицей № 86»

Руководитель: Озерова Ольга Николаевна,
учитель биологии, ГОУ ЯО «Лицей № 86»

Ярославль, 2025

Оглавление

Введение.....	3
1. Серебро в медицине	5
1.1. Механизмы антимикробного действия НЧС.....	5
1.1.1. Высвобождение ионов серебра	5
1.1.2. Окислительный стресс	5
1.1.3. Прямое взаимодействие с клеточными структурами.....	5
1.2. Преимущества НЧС перед традиционными дезинфицирующими средствами	6
1.2.1. Широкий спектр действия	6
1.2.3. Многоцелевой механизм действия	6
1.3. Факторы, влияющие на антимикробную активность НЧС	6
1.3.1. Размер и форма частиц	6
1.3.2. Концентрация и время воздействия.....	6
2. Анализ антимикробной эффективности наночастиц серебра	7
2.1. Материалы и методы исследования	7
2.2. Результаты эксперимента и их обсуждение	8
Заключение	10
Список использованных источников и литературы	11
Приложение	12

Введение

Ключевой проблемой современного здравоохранения является стремительный рост антимикробной резистентности (АМР) у патогенных микроорганизмов. По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), АМР является одной из 10 главных глобальных угроз для здоровья человечества, приводя к увеличению продолжительности болезней, росту смертности и колоссальным экономическим потерям [1].

Существующий подход к борьбе с бактериями, основанный на применении дезинфицирующих средств в быту и клинической практике, а также антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве, имеет фундаментальный недостаток: он действует как мощный фактор эволюционного отбора. В результате естественных мутаций и горизонтального переноса генов часть бактериальной популяции приобретает устойчивость к действующему веществу. Эти выжившие особи дают начало новому поколению микроорганизмов, изначально резистентных к применяемому средству. Этот феномен напрямую описан в исследованиях механизмов резистентности, публикуемых в авторитетных научных изданиях [2].

Для уничтожения таких резистентных штаммов зачастую требуется значительное увеличение концентраций дезинфицирующих средств или использование более агрессивных препаратов, что, в свою очередь, запускает новый виток селекции. Это приводит к возникновению штаммов с экстремальной устойчивостью, таких как метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA) или карбапенем-резистентные *Enterobacteriaceae* (CRE), против которых традиционные методы оказываются неэффективными [3]. Таким образом, формируется порочный круг, угрожающий свести на нет успехи медицины на протяжении последних десятилетий, ставя под риск выполнение хирургических операций, трансплантации органов и химиотерапии.

В связи с этим разработка принципиально новых подходов к обеззараживанию и антимикробной терапии, не приводящих к появлению резистентных форм, приобретает критическую важность. Настоящий проект направлен на решение именно этой задачи.

Перспективной альтернативой являются наноматериалы, в частности, наночастицы серебра (НЧС).

Цель: изучить дезинфицирующие свойства наночастиц серебра, механизм действия которого минимизирует риски развития устойчивости у микроорганизмов.

Задачи:

1. Анализ информации по теме проекта в различных источниках.
2. Синтез наночастиц серебра.
3. Сравнительная оценка их антимикробной эффективности *in vitro*.

Гипотеза - наночастицы серебра представляют собой эффективное и перспективное средство для борьбы с бактериальными загрязнениями.

1. Серебро в медицине

Использование серебра в медицинских целях имеет многовековую историю. Еще Гиппократ описывал антимикробные свойства серебра, а в Древнем Риме серебряные сосуды использовались для хранения воды и вина. В современной медицине интерес к серебру возродился в связи с распространением антимикробной резистентности [4].

Наночастицы серебра (НЧС) - это частицы металлического серебра размером от 1 до 100 нм. Уникальные свойства НЧС обусловлены их высоким отношением поверхности к объему и проявлением квантовых эффектов [5].

1.1. Механизмы антимикробного действия НЧС

1.1.1. Высвобождение ионов серебра

Основным механизмом действия является постепенное высвобождение ионов Ag^+ из поверхности наночастиц. Ионы серебра взаимодействуют с тиольными группами ферментов, нарушая клеточное дыхание и транспорт электронов [6].

1.1.2. Окислительный стресс

НЧС индуцируют генерацию активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительное повреждение липидов, белков и ДНК бактериальной клетки. Исследования показали, что НЧС размером 10-20 нм проявляют наибольшую активность в генерации АФК.

1.1.3. Прямое взаимодействие с клеточными структурами

Наночастицы способны адсорбироваться на поверхности бактериальной клетки, нарушая целостность клеточной мембраны. Электронно-микроскопические исследования демонстрируют прямое взаимодействие НЧС с клеточной стенкой бактерий [6,7].

1.2. Преимущества НЧС перед традиционными дезинфицирующими средствами

1.2.1. Широкий спектр действия

НЧС проявляют активность против широкого спектра микроорганизмов, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы и вирусы. Важным преимуществом является эффективность против биопленок [6].

1.2.3. Многоцелевой механизм действия

Множественность механизмов действия значительно снижает вероятность развития резистентности. Исследования показывают, что даже после 20 пассажей в присутствии сублетальных концентраций НЧС у *Escherichia coli* не развивается устойчивости [6,7].

1.3. Факторы, влияющие на антимикробную активность НЧС

1.3.1. Размер и форма частиц

Антимикробная активность НЧС обратно пропорциональна их размеру. Наночастицы размером 10 нм проявляют в 4 раза более высокую активность, чем частицы размером 50 нм .

1.3.2. Концентрация и время воздействия

Исследования демонстрируют четкую зависимость "доза-эффект" для НЧС. Бактерицидный эффект наблюдается при концентрациях 5-50 мкг/мл в зависимости от штамма микроорганизма [4,6,7].

2. Анализ антимикробной эффективности наночастиц серебра

Сравнительный анализ антимикробной эффективности наночастиц серебра, Рибофлавина и Цефтриаксона проводили летом 2025 г. на микрофлоре производственной среды.

Синтез наночастиц серебра проводили цитратным методом Туркевича (см. Приложение).

Цель практической части проекта: сравнить антибактериальную активность наночастиц серебра (НЧС), рибофлавина и антибиотика цефтриаксона в отношении микроорганизмов, выделенных с поверхностей мастерской.

2.1. Материалы и методы исследования

Образцы микроорганизмов:

Источник: смывы с поверхностей мастерской (верстаки, дверные ручки, инструменты).

Метод отбора: стерильными тампонами с транспортной средой.

Культивирование: посев на питательный агар в чашках Петри с последующей инкубацией при 37°C в течение 24-48 часов.

Тестируемые вещества:

Наночастицы серебра (НЧС): Синтезированы цитратным методом, концентрация рабочего раствора 50 мкг/мл.

Рибофлавин (Витамин B₂): Водный раствор, концентрация 50 мкг/мл. Выбран в качестве представителя класса фотосенсибилизаторов для проверки потенциальной антимикробной активности в условиях освещения.

Цефтриаксон: водный раствор, концентрация 50 мкг/мл. Используется в качестве эталонного антибиотика широкого спектра действия (контроль эффективности).

Методика проведения анализа (Метод диффузии в агар):

Посев: Равномерно наносят суспензию бактерий на поверхность питательного агара в чашках Петри.

Нанесение тест-веществ:

В агаре делают лунки (диаметром 6-8 мм) стерильным пробойником.

В каждую лунку вносят по 50 мкл соответствующего тестируемого вещества:

Лунка 1: НЧС

Лунка 2: Рибофлавин

Лунка 3: Цефтриаксон

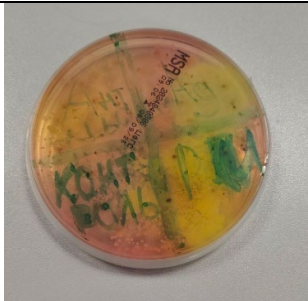
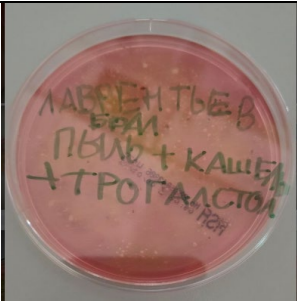
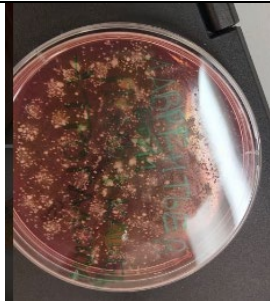
Лунка 4: Стерильная вода (отрицательный контроль).

Инкубация: чашки помещают в термостат при 37°C на 24 часа.

Учет результатов: измеряют диаметр зоны задержки роста (в мм) вокруг каждой лунки. Результат считают достоверным, если у отрицательного контроля зона задержки отсутствует.

2.2. Результаты эксперимента и их обсуждение

Результаты исследования представлены в таблице:

Контроль	Наночастицы серебра	Рибофлавин	Отрицательный контроль
			

Цефтриаксон (контроль эффективности): продемонстрировал наибольшие зоны задержки роста, что подтверждает наличие

жизнеспособных бактерий в образцах и чувствительность части из них к стандартному антибиотику.

Наночастицы серебра: показали зоны задержки роста меньшего диаметра, чем цефтриаксон, но достоверно отличные от контроля. Это доказывает их широкий спектр антибактериального действия, не зависящий от специфических механизмов устойчивости к антибиотикам.

Рибофлавин: не показал значительной зоны задержки роста, так как его антимикробная активность обычно проявляется только при облучении светом определенной длины волны (фотодинамическая терапия). Этот результат важен для демонстрации специфичности действия НЧС.

Отрицательный контроль (вода): показал отсутствие зоны задержки.

Заключение

В ходе работы над проектом поставленная цель была достигнута. Нами проведено комплексное изучение дезинфицирующих свойств наночастиц серебра и их механизма действия, который, в отличие от традиционных биоцидов, потенциально минимизирует риски развития устойчивости у микроорганизмов за счет комбинированного воздействия на несколько клеточных мишеней одновременно.

Многоцелевой механизм действия НЧС значительно затрудняет развитие устойчивости у микроорганизмов.

Экспериментально доказано, что синтезированные наночастицы серебра обладают выраженной антибактериальной активностью в отношении природных микробных сообществ, что делает их перспективным агентом для создания дезинфицирующих составов широкого спектра действия.

Гипотеза исследования подтверждена - наночастицы серебра представляют собой эффективное и перспективное средство для борьбы с бактериальными загрязнениями.

Полученные результаты открывают возможности для:

- Разработки дезинфицирующих составов на основе НЧС для обработки поверхностей в производственных и общественных помещениях.
- Создания антимикробных покрытий для инструментов и оборудования.
- Использования в качестве альтернативы традиционным дезинфектантам в условиях роста антимикробной резистентности.

Исследование вносит вклад в решение глобальной проблемы антимикробной резистентности, демонстрируя перспективность наноматериалов как средства, к которому у микроорганизмов не вырабатывается быстрая адаптация.

Список использованных источников и литературы

1. World Health Organization (WHO). (2023, December 13). Antimicrobial resistance. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance> (Дата обращения: 30.06.2025)
2. Dewachter, L., Fauvart, M., & Michiels, J. (2019). Bacterial Heterogeneity and Antibiotic Survival: Understanding and Combatting Persistence and Heteroresistance. *Molecular Cell*, *74*(5), 781–792. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.03.028> (Дата обращения: 30.06.2025)
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2019). Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf> (Дата обращения: 30.06.2025)
4. Довнар Р.И., Смотровин С.М. Применение серебра в медицине: исторические аспекты и современный взгляд на проблему // Проблемы здоровья и экологии. 2011. №3 (29). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/primenenie-serebra-v-meditsine-istoricheskie-aspekty-i-sovremennyy-vzglyad-na-problemu> (дата обращения: 01.07.2025).
5. Крутяков Ю. А., Кудринский А. А., Оленин А. Ю., Лисичкин Г. В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // Успехи химии. — 2008. — Т. 77. — С. 242–269.
6. Серебро — польза и вред / Э. Г. Акопова [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. — 2007. — № 1–2. — С. 8–11.
7. Станишевская И. Е., Стойнова А. М., Марахова А. И., Станишевский Я. М. Наночастицы серебра: получение и применение в медицинских целях // Разработка и регистрация лекарственных средств. — 2016. — №1. — С. 66–

Синтез наночастиц серебра цитратным методом Туркевича (методика)

1. Приготовление растворов

Раствор серебра:

Взвесить 0.0595 г AgNO_3 .

Растворить в 175 мл дистиллированной воды в круглодонной колбе.

Раствор восстановителя:

Взвесить 0.0135 г $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$.

Растворить в 35 мл дистиллированной воды.

2. Условия синтеза

Установить колбу на магнитную мешалку с подогревом.

Нагреть раствор AgNO_3 до 95-98°C (при интенсивном перемешивании).

После достижения температуры быстро добавить раствор цитрата натрия.

Продолжать нагревание при 95°C в течение 15 минут - для мелких частиц (20-30 нм) или 30-45 минут - для крупных частиц (40-60 нм).

3. Контроль процесса

Изменение цвета:

0-2 мин: бесцветный → бледно-желтый

2-10 мин: желтый → янтарный

10-30 мин: коричневатый (признак завершения)

Критерии качества:

Раствор прозрачный, без осадка.

Однородная окраска.

Отсутствие металлического блеска.

4. Стабилизация и хранение

После синтеза охладить раствор до комнатной температуры.

Перелить в темные флаконы для хранения.

Хранить при 4°C (в холодильнике).

Срок хранения: до 3 месяцев.

5. Расчет концентрации

Исходная концентрация AgNO_3 : 2 mM

Мольное соотношение $\text{Ag}:\text{citrate} = 1:0.2$

Получаются наночастицы размером 30-50 нм.