

¹Національний університет харчових технологій,
вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ГСП, Д03680, Україна

ДІЯ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ НА ДЕЯКІ МІКРООРГАНІЗМИ І МІКРОФЛОРУ НЕПАСТЕРИЗОВАНОГО ПИВА

Досліджено дію наночастинок золота, срібла, діоксиду церію і цирконію у низьких концентраціях (0,5–7,5 мг/л) на чисті культури *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Candida scottii* КБ-2, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3, *Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7 і *Penicillium chrysogenum* Ф-7. Наінефективнішим антимікробним препаратом виявились наночастинки срібла, які на 90 % знижували кількість клітин *S. cerevisiae* ОБ-3 вже через годину експозиції та спричиняли практично повну загибель вегетативних і спорових клітин *B. subtilis* БТ-2 через 1 і 24 год експозиції відповідно. Встановлено зниження на один-два порядки кількості клітин *B. subtilis* БТ-2 і *S. cerevisiae* ОБ-3 при дії на них препаратів наночастинок срібла за присутності золота. За внесення препаратів срібла у непастеризоване пиво спостерігали зниження на 10–20 % чисельності бактеріальної і близько 40 % грибної контамінуючої мікрофлори на 20 добу зберігання.

Ключові слова: наночастинки металів, антимікробні властивості, фізіологічний стан тест-культур, непастеризоване пиво.

Багато експертів вважають, що ХХІ століття буде століттям нанотехнологій, які в свою чергу дадуть початок Третій Науково-технічній революції [4]. Наноматеріалам приділяється така значна увага завдяки їхнім унікальним властивостям. Вони є складними мікрооб'єктами, наноструктурованими на поверхні або в об'ємі, і можуть розглядатися як особливий стан речовини, оскільки властивості матеріалів, утворених за участю нанорозмірних структурних елементів, не ідентичні властивостям об'ємної речовини. За маленького розміру наночастинок більшість атомів, електрони в яких ущільнені, перебувають на поверхні і, таким чином, поведінка цих поверхневих атомів змінює їхні властивості [10].

Останнім часом все більше досліджень присвячено антимікробній дії наночастинок металів [6, 7, 14, 15]. Вважається, що вони впливають на цитоплазматичну мембрану клітин [14, 15], і на відміну від іонів металів, які ще й діють на білки та ДНК [11], є малотоксичними для ссавців [1, 3, 15].

Незважаючи на те, що дотепер залишається багато недосліджених аспектів щодо дії наночастинок металів, вивчення їхніх властивостей залишається актуальним. З кожним роком збільшується фінансування проектів в цій галузі, приймаються нові програми розвитку, відзначається швидкий ріст кількості публікацій та патентів. Вважають, що до 2015 року світовий ринок продукцій нанотехнологій становитиме трильйон доларів США за потреби у спеціалістах понад два мільйони людей [4]. Одним із перспективних залишається напрямок вивчення антимікробної дії наночастинок металів із метою подальшого їх використання у харчовій та інших галузях промисловості.

Мета даної роботи – дослідження антимікробної дії наночастинок металів на чисті культури мікроорганізмів, які є типовими контамінантами при виробництві і зберіганні харчових продуктів, патогенами людини, а також на найбільш використовувані штами у харчовій промисловості та на природну мікрофлору непастеризованого пива для забезпечення холодної стерилізації.

Матеріали і методи. Як об'єкти досліджень використовували штами *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Candida scottii* КБ-2, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3, *Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7, *Penicillium chrysogenum* Ф-7. Чисті культури бактерій, грибів і дріжджів зберігаються у музеї живих культур мікроорганізмів кафедри біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій (НУХТ).

У роботі використовували десять водних золів наночастинок металів розміром до 5 нм, стабілізованих різними сполуками (табл. 1), а також змішані препарати наносуспензій срібла і

© Т.П. Пирог, А.Д. Конон, С.І. Антонюк, В.В. Олішевський, А.І. Маринін, 2011

золота (табл. 2). Препарати наночастинок металів люб'язно надані співробітниками Науково-дослідницького інституту нанотехнологічної індустрії Міжнародного університету розвитку людини «Україна».

Також використовували непастеризоване пиво, виготовлене на кафедрі біотехнології продуктів бродіння, екстрактів і напоїв НУХТ.

Антимікробну дію препаратів наночастинок металів визначали методом дифузії в агар і у суспензійній культурі.

Для визначення антимікробних властивостей препаратів методом дифузії глюкозо-картопляний агар (ГКА) або м'ясо-пептонний агар (МПА) розливали у чашки Петрі товстим шаром (по 30 мл на чашку) і витримували у термостаті (30 °С) упродовж доби, після чого засівали суцільним газоном суспензією (0,1 мл) добогих тест-культур, вирощених на агаризованих середовищах (бактерії на МПА, гриби і дріжджі – на ГКА). Після посіву мікроорганізмів у середовищі стерильним свердлом робили чотири лунки діаметром 10 мм, в які вносили наносуспензії металів (препарати 1–7) до концентрації 0,5–7,5 мг/л. По закінченню інкубації (3–4 доби) вимірювали зони затримки росту тест-культур і фіксували найменшу концентрацію препаратів, яка спричиняла антимікробну дію. Аналогічно визначали антимікробну дію стабілізаторів, які є складовими препаратів наночастинок металів (див. табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика препаратів наночастинок металів

| № препарату | Метал, оксид | Розмір наночастинок, нм | Характеристика наносуспензій | Концентрація металу (оксиду), мг/мл |
|-------------|------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | Діоксид церію | до 1нм | Стабілізатор HEDP (16,7 мг/мл) | 1,67 |
| 2 | Діоксид церію | до 1нм | Стабілізатор ПАА (7,0 мг/мл) | 3,5 |
| 3 | Діоксид церію | – | – | 2,0 |
| 4 | Діоксид цирконію | 1–5 нм | Стабілізатор HEDP (100,0 мг/мл) | 20,0 |
| 5 | Срібло | 1–5 нм | Стабілізатор ПВП | 12,5 |
| 6 | Срібло | – | Стабілізатор ПВП (5,0 мг/мл) | 1,5 |
| 7 | Золото | – | – | 0,2 |

Примітка. «–» – дані відсутні; HEDP – гідроксипіридиндифосфорна кислота, ПАА – поліаліламід, ПВП – полівінілпіролідон.

Таблиця 2

Характеристика змішаних препаратів наночастинок срібла (препарат 6) і золота (препарат 7)

| № препарату | Співвідношення срібла і золота (масова частка) | Концентрація срібла і золота у вихідному препараті, мг/мл | Досліджувані концентрації срібла і золота, мг/л |
|-------------|--|---|---|
| 8 | 1:1 | 0,18/0,18 | 2,5/2,5 |
| 9 | 1,5:1 | 0,27/0,18 | 3/2 |
| 10 | 4:1 | 0,72/0,18 | 4/1 |

Примітка. Розчини 8–10 готували змішуванням певних об'ємів препаратів наночастинок срібла (препарат 6, концентрація 1,5 мг/мл) і золота (препарат 7, концентрація 0,2 мг/мл).

Визначення антимікробних властивостей наночастинок металів у суспензійній культурі здійснювали так. У вихідній суспензії досліджуваних тест-культур бактерій, грибів і дріжджів, вирощених на агаризованих середовищах (бактерії – на МПА, гриби і дріжджі – ГКА) упродовж 15, 24 і 72 год, визначали кількість живих клітин за методом Коха (колоній-утворювальні одиниці, КУО/мл). Потім суспензію тест-культур вносили у пробірки (3 мл), додавали суспензії наночастинок металів (препарати 3, 6–10) до концентрації 5,0 мг/л і витримували упродовж 0; 0,5; 1 і 24 год при температурі, оптимальній для росту тест-культур. Після експозиції визначали за методом Коха кількість живих клітин.

Вживання клітин визначали як відношення кількості живих клітин у оброблених препаратах наночастинок металів зразка до кількості клітин у вихідній суспензії і виражали у відсотках. Статистичну обробку експериментальних даних проводили за Лакінім [5]. Достовірність результатів досліджень оцінювали згідно з *t*-критерієм Стьюдента при 5 %-му рівні значимості.

Для встановлення антимікробної дії наночастинок металів на мікрофлору непастеризованого пива препарати 3, 6–10 вносили у 3 мл досліджуваного зразка пива до концентрації 5 мг/л. Як контроль використовували пиво без додавання наночастинок металів, яке витримували в термостаті. Тривалість експозиції становила 0; 0,5; 1; 24; 168 та 504 год. Висів здійснювали на МПА та сусло-агар (СА) для визначення зміни кількості бактеріальної та грибною мікрофлори.

Результати та їх обговорення. Літературні дані свідчать про те, що наночастинок металів є ефективними антибактеріальними та антифунгальними агентами [3, 6, 7, 13], а найбільш дослідженими та ефективними є наночастинок срібла [2, 7, 11, 12, 14].

На першому етапі досліджень визначали «мікробіологічну чистоту» наносуспензій металів. У деяких препаратах було виявлено контамінуючу мікрофлору, тому їх стерилізували упродовж 30 хв при 112 °С. Такий режим стерилізації не впливав на властивості суспензій наночастинок металів.

З використанням методу дифузії в агар було встановлено, що із збільшенням концентрацій металів (оксидів) їхня антимікробна дія посилювалася. Такі закономірності спостерігали при дії наночастинок діоксиду церію (препарат 1, див. табл. 1) на клітини *E. coli* IEM-1 і срібла (препарат 6) – на *B. subtilis* БТ-2 (із збільшенням концентрацій наночастинок металів від 0,5 до 7,5 мг/л зони затримки росту тест-культур збільшувались від 0 до 12 мм). Найефективнішим виявився препарат 5 (наночастинок срібла), який характеризувався найширшим спектром антимікробної дії. Дана наносуспензія діяла як на бактеріальні, так і дріжджові клітини (рис. 1).

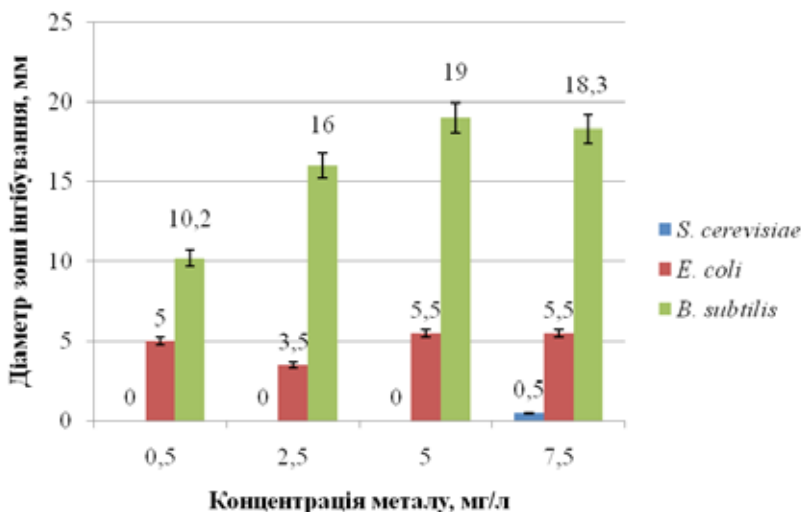


Рис. 1. Порівняльна дія препарату 5 (наночастинок срібла) на добові культури різних мікроорганізмів

Діоксид цирконію (препарат 4) був ефективним у максимальній досліджуваній концентрації (7,5 мг/л) лише проти *E. coli* IEM-1 (зона інгібування 3,25 мм). Інші препарати діоксиду церію (2, 3), а також наночастинок золота (препарат 7) не проявляли антимікробної дії на тест-культури в усьому діапазоні досліджуваних концентрацій.

Оскільки суспензії наночастинок металів стабілізувалися різними речовинами (див. табл. 1), ймовірно, що виявлена антимікробна дія препаратів може бути зумовлена також і негативним впливом на мікроорганізми самих стабілізуючих сполук. Наступні дослідження

показали, що стабілізаторам (ПАА, HEDP, ПВП, див. табл. 1) не притаманна антимікробна дія: зони затримки росту досліджуваних мікроорганізмів були відсутні.

Встановлено, що препарати наночастинок металів не спричиняли антимікробної дії щодо мікроміцетів (*A. niger* P-3, *F. culmorum* T-7 і *P. chrysogenum* Ф-7) і дріжджів *C. scottii* КБ-2. Ймовірно, що для пригнічення росту цих мікроорганізмів необхідна вища концентрація препаратів.

Отже, як і передбачалося після аналізу даних літератури [2, 6, 7], найефективнішими антимікробними агентами виявилися наночастинок срібла, вони діяли як на про-, так і еукаріоти. Разом із тим, наночастинок золота не пригнічували дріжджі сахароміцети та кишкову паличку, що узгоджується з відомими літературними даними [6]. Із трьох досліджуваних препаратів діоксиду церію лише один (препарат 1) проявив антимікробну дію проти *E. coli* IEM-1, що збігалось із даними літератури [13], проте він також діяв і на клітини *S. cerevisiae* ОБ-3.

Наступні експерименти здійснювали за внесення препаратів наночастинок металів у суспензії культур *S. cerevisiae* ОБ-3 та *B. subtilis* БТ-2. Такі тест-культури були обрані для подальшої роботи, оскільки сахароміцети є найрозповсюдненішими дріжджами, використовуваними у харчовій промисловості (наприклад, при виробництві хліба, пива тощо), а картопляна паличка є контамінантом продуктів і може утворювати термостійкі спори. Досліджували антимікробну дію препаратів 3, 6–10 з концентрацією металів 5 мг/л.

Встановлено, що наносуспензія діоксиду церію (препарат 3) не спричиняла негативної дії на клітини *B. subtilis* БТ-2, проте пригнічувала *S. cerevisiae* ОБ-3 на 50 % вже після години експозиції, а через 24 год – на 92–93 % (табл. 3).

Таблиця 3

Залежність виживання клітин *B. subtilis* БТ-2 та *S. cerevisiae* ОБ-3 за присутності препаратів наночастинок металів від тривалості експозиції

| Тест-культура | Препарат | Вживання клітин (%) за експозиції (год) | | | |
|------------------------------|-------------------------------|---|-----------|-----------|-----------|
| | | 0 | 0,5 | 1 | 24 |
| <i>S. cerevisiae</i> ОБ-3 | Діоксид церію (препарат 3) | 95,0±5,00 | 95,0±5,00 | 51,4±2,60 | 8,6±0,45 |
| | Срібло (препарат 6) | 82,9±4,16 | 68,6±3,43 | 11,4±0,57 | 11,4±0,57 |
| | Золото (препарат 7) | 40,0±2,00 | 22,9±1,15 | 60,0±3,00 | 95,0±5,00 |
| <i>B. subtilis</i> БТ-2 | Діоксид церію (препарат 3) | 95,0±5,00 | 92,0±4,60 | 95,0±5,00 | 95,0±5,00 |
| | Срібло (препарат 6) | 50,7±2,54 | 2,2±0,11 | 0 | 0 |
| | Золото (препарат 7) | 2,6±0,13 | 20,0±1,00 | 40,0±2,00 | 94,5±4,73 |

Примітка. Кількість клітин (КУО/мл) до внесення препаратів наночастинок металів становила: *B. subtilis* БТ-2 – $4,6 \cdot 10^6$; *S. cerevisiae* ОБ-3 – $3,5 \cdot 10^7$. Тривалість вирощування *B. subtilis* БТ-2 і *S. cerevisiae* ОБ-3 24 год. Тут і у табл. 4–6: концентрація нанометалів 5 мг/л; кількість клітин у контрольному (не обробленому наносуспензіями металів) варіантах не змінювалася упродовж 1 год експозиції і знижувалася на 3–5 % через 24 год; стабілізатори антимікробної дії не проявляли.

Наночастинок золота (препарат 7) одразу після внесення у суспензії тест-культур проявляли антимікробну дію, а з часом кількість живих клітин обох культур збільшувалася майже до початкового рівня, що може свідчити про бактеріостатичний вплив даного препарату (табл. 3). Препарати наночастинок срібла виявилися ефективнішими і спричиняли сильнішу дію на *B. subtilis* БТ-2 – вже через годину експозиції спостерігалася 100 % загибель клітин (табл. 3). Подальші дослідження проводили з препаратами наночастинок золота та срібла у різних співвідношеннях. Припускалося, що наночастинок будуть діяти синергічно, посилюючи антимікробну дію один одного. Оскільки активнішими антимікробними агентами виявилися наночастинок срібла, то вони були використані як контроль. За використання препаратів

8 і 10 вдавалося знизити виживання добових клітин *S. cerevisiae* ОБ-3 з 10 % до 0 і вегетативних клітин *B. subtilis* БТ-2 від 1,4 % до 0,2 % після 24 год експозиції (табл. 4).

У деяких випадках (до 0,5 год експозиції) при сумісному використанні наночастинок срібла і золота (препарати 8, 10) кількість бактеріальних і дріжджових клітин знижувалася на два порядки порівняно з контролем (суспензія наночастинок срібла) (табл. 4).

Відомо, що ефективність дії різних антимікробних агентів залежить від фізіологічного стану тест-культур. Тому на наступному етапі досліджували залежність прояву антимікробної дії препаратів наночастинок металів від фізіологічного стану мікроорганізмів (15, 24 і 72 год росту). Більшість наночастинок металів ефективніше впливали на 15-годинні культури. Так, наприклад, за присутності суспензії наночастинок золота (препарат 7) виживання 15-годинних клітин *S. cerevisiae* ОБ-3 становило 32 %, а 72-годинних – 66 % (рис. 2).

Як і в попередніх дослідженнях, найефективнішим серед монопрепаратів виявився препарат 6 на основі наночастинок срібла. Він навіть діяв на резистентну спорову культуру *B. subtilis* БТ-2 (72 год) (табл. 5). Як видно із даних, наведених у табл. 5, наночастинки діоксиду церію та золота (препарати 3, 7) проявляли бактериостатичну дію, через 0,5 год експозиції вони знижували кількість клітин на 13–17 %, яка з часом збільшувалася до початкової. На відміну від цих наносуспензій, препарат срібла через 24 год експозиції знижував виживання клітин *B. subtilis* БТ-2 до 3,4 %.

Таблиця 4

Виживання *S. cerevisiae* ОБ-3 та вегетативних клітин *B. subtilis* БТ-2 при дії наносуспензії срібла і суміші наночастинок срібла та золота

| Тест-культура | Препарат | Виживання клітин (%) за експозиції (год) | | | |
|---------------------------|-----------------------------|--|------------|-----------|-----------|
| | | 0 | 0,5 | 1 | 24 |
| <i>S. cerevisiae</i> ОБ-3 | Срібло (препарат 6) | 79,5±3,98 | 65,5±3,28 | 11,3±0,57 | 10,2±0,51 |
| | срібло/золото (препарат 8) | 1,2±0,06 | 0,08±0,004 | 0,4±0,02 | 0 |
| | срібло/золото (препарат 10) | 2,9±0,15 | 1,1±0,06 | 0,3±0,02 | 0 |
| <i>B. subtilis</i> БТ-2 | Срібло (препарат 6) | 95,0±5,00 | 78,3±3,92 | 1,0±0,05 | 1,4±0,07 |
| | срібло/золото (препарат 8) | 0,5±0,03 | 0,3±0,02 | 0,3±0,01 | 0,2±0,01 |
| | срібло/золото (препарат 10) | 34,9±1,75 | 0,4±0,02 | 0,3±0,02 | 0,2±0,01 |

Примітка. Кількість клітин (КУО/мл) до внесення препаратів наночастинок металів становила: *B. subtilis* БТ-2 (15 год росту) – $9,2 \cdot 10^7$; *S. cerevisiae* ОБ-3 (24 год вирощування) – $4,0 \cdot 10^7$. Характеристику препаратів 8, 10 наведено у табл. 2.

Таблиця 5

Дія різних препаратів наночастинок металів на спорову культуру *B. subtilis* БТ-2 (72 год)

| Препарат | Виживання клітин (%) за експозиції (год) | | |
|----------------------------|--|------------|----------|
| | 0,5 | 1 | 24 |
| Діоксид церію (препарат 3) | 86,7±4,33 | н.в. | 95±5,00 |
| Срібло (препарат 6) | 73,7±3,69 | 38,95±1,95 | 3,4±0,17 |
| Золото (препарат 7) | 83,4±4,17 | 86,4±4,32 | 95±5,00 |

Примітка. Кількість спорових клітин *B. subtilis* БТ-2 (72 год росту) до внесення препаратів наночастинок металів становила $1,2 \cdot 10^5$ КУО/мл. «н.в.» - не визначали.

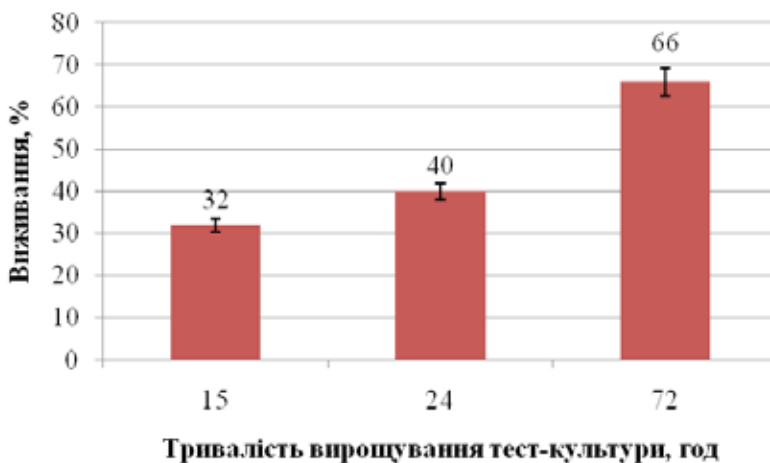


Рис. 2. Залежність антимікробної активності наночастинок золота (препарат 7) від тривалості вирощування тест-культури *S. cerevisiae* ОБ-3

Кількість клітин *S. cerevisiae* ОБ-3 (КУО/мл) до внесення препарату наночастинок металу становила $9,0 \cdot 10^7$. Експозиція 10 хв.

Одержані результати можуть свідчити про те, що найширший спектр антимікробної дії притаманний наночастинкам срібла (препарат 6), які діяли на *E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2 і *S. cerevisiae* ОБ-3. З літературних даних відомо, що наночастинки срібла можуть бути використані як компоненти фільтрів [8], що використовуються для знезараження води і відділення дріжджової біомаси, як компоненти емалей і фарб [9] та для пригнічення контамінуючої мікрофлори різних продуктів, в тому числі і резистентної. Також антимікробна дія наночастинок срібла може бути використана і в медицині, наприклад, при боротьбі із ешеріхіозами.

Препарати наночастинок діоксиду церію та золота можуть бути застосовані у суміші із сріблом (як препарати 8, 10) для посилення антимікробної дії або самостійно (препарат 3), як препарати короткочасної дії.

Так як препарати 6, 8, 10 наночастинок металів виявилися досить ефективними за їхньої дії на чисті культури мікроорганізмів, то у подальших експериментах ми вирішили дослідити їх стерилізуючий ефект вже за внесення безпосередньо у продукти. У роботі використовували непастеризоване пиво, в яке вносили наночастинки металів до концентрації 5 мг/л, а також суміш препаратів наночастинок золота і срібла в різних співвідношеннях. Експерименти показали, що різні препарати активніше діють в різний період часу:

препарати короткочасної дії (до 24 год) – наносуспензія золота (препарат 7), суміші срібла і золота (препарат 9, 10);

препарат ранньої (до 1 год) і пізньої (після 168 год) дії – наночастинок діоксиду церію (препарат 3);

препарат пролонгованої дії (0–504 год) – наносуспензія срібла (препарат 6).

Таке явище можна пояснити зміною видової мікрофлори пива у процесі зберігання. На кінець експозиції найефективнішим виявився препарат наночастинок срібла. Він, на відміну від суміші золота і срібла (препарат 10), проявляв слабшу антимікробну активність на початку експерименту, але на кінець експозиції впливав на всі мікроорганізми непастеризованого пива, знижуючи на 16 % чисельність бактеріальної та на 51 % – дріжджової мікрофлори (табл. 6), а при порівнянні із дією діоксиду церію та золота – зберігав активність упродовж усього терміну дії.

Отже, у результаті проведених досліджень встановлено антимікробну дію препаратів наночастинок металів на бактерії (*E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2) і дріжджі (*S. cerevisiae* ОБ-3). Одержано попередні позитивні результати щодо пригнічення мікрофлори непастеризованого пива за присутності наночастинок металів.

**Дія різних препаратів наночастинок металів на грибку та дріжджову
мікрофлору непастеризованого пива**

| Препарат | Вживання клітин (%) | |
|--------------------------------|---------------------|-------------------|
| | бактерій | грибів і дріжджів |
| срібло/золото (препарат 9) | 95,0±5,00 | 95,0±5,00 |
| срібло/золото (препарат 10) | 90±4,50 | 95,0±5,00 |
| Золото (препарат 7) | 95,0±5,00 | 93±4,65 |
| Діоксид церію (препарат 3) | 76±3,80 | 91±4,55 |
| Срібло (препарат 6) | 84±3,65 | 59±2,95 |

Примітка. Експозиція 20 діб. За 100 % приймали кількість клітин ($1,2 \cdot 10^5$ КУО/мл) у контролі (без наночастинок металів) після 20 діб експозиції. Характеристику препаратів 9, 10 наведено у табл. 2.

Т.П. Пирог^{1,2}, А.Д. Конон¹, С.И. Антонюк¹, В.В. Олишевский¹, А.И. Маринин¹

¹Национальный университет пищевых технологий, Киев

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

**ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ
МИКРООРГАНИЗМЫ И МИКРОФЛОРУ НЕПАСТЕРИЗОВАННОГО ПИВА**

Резюме

Исследовано действие наночастиц золота, серебра, диоксида церия и циркония в низких концентрациях (0,5–7,5 мг/л) на чистые культуры *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Candida scottii* КБ-2, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3, *Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7 и *Penicillium chrysogenum* Ф-7. Наиболее эффективным антимикробным препаратом оказались наночастицы серебра, которые на 90 % снижали количество клеток *S. cerevisiae* ОБ-3 уже через час экспозиции и вызывали практически полную гибель вегетативных и спорных клеток *B. subtilis* БТ-2 через 1 и 24 ч соответственно. Установлено снижение на один–два порядка количества клеток *S. cerevisiae* ОБ-3 и *B. subtilis* БТ-2 при действии на них препаратов наночастиц серебра в присутствии золота. При внесении препаратов серебра в непастеризованное пиво наблюдали снижение на 10–20 % численности бактериальной и приблизительно 40 % грибной контаминирующей микрофлоры на 20 сутки хранения.

Ключевые слова: наночастицы металлов, антимикробные свойства, физиологическое состояние тест-культур, непастеризованное пиво.

Т.П. Pirog^{1,2}, А.Д. Konon¹, S.I. Antonyuk¹, V.V. Olisheskiy¹, А.I. Marynin¹

¹National University of Food Technologies, Kyiv

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

**INFLUENCE OF METAL NANOPARTICLES ON SOME MICROORGANISMS
AND MICROFLORA OF UNPASTEURIZED BEER**

Summary

The influence of nanoparticles of gold, silver, dioxide of cerium and zirconium in low concentration (0.5-7.5 mg/l) on pure cultures of *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2, *Candida scottii* KB-2, *Saccharomyces cerevisiae* OB-3, *Aspergillus niger* R-3, *Fusarium culmorum* T-7 and *Penicillium chrysogenum* F-7 has been investigated. Silver nanoparticles, which caused a decrease of the amount of *S. cerevisiae* OB-3 cells by 90% after one hour of exposition, and led to almost complete death of vegetative and spore cells of *B. subtilis* BT-2 after 1 and 24 h of exposition, respectively, proved to be the most effective antimicrobial

preparation. The decrease by one-two orders of the amount of *B. subtilis* BT-2 and of *S. cerevisiae* OB-3 cells under the influence of preparations of silver nanoparticles in the presence of gold has been established. After adding silver preparations to the unpasteurized beer one could observe a decrease by 10-20 % of bacterial and by about 40 % of fungi which contaminated microflora on the 20th day of shelf-life.

The paper is presented in Ukrainian.

К е у в о р д с: metal nanoparticles, antimicrobial properties, physiological state of test-culture, unpasteurized beer.

Т h e a u t h o r ' s a d d r e s s: Pirog T.P. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Борисович В.Б. Застосування наночасток Ag, Cu, Zn у лікуванні ран // Здоров'я тварин і ліки. – 2008. – № 3. – С. 14–15.
2. Егорова Е.М., Ревина А.А., Ростовщикова Т.Н., Киселева О.И. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2001. – 12, № 5. – С. 332–338.
3. Жолобак Н.М., Олевинская З.М., Стивак Н.Я., Щербаков А.Б., Иванов В.К., Усатенко А.В. Антивирусное действие наночастиц диоксида церия, стабилизированных низкомолекулярной полиакриловой кислотой // Микробиол. журн. – 2010. – 72, № 3. – С. 43–47.
4. Каплуненко В.Г., Скоцын В.Е., Косинов Н.В., Бовсуновский А.Н., Черный С.А. Нанотехнологии в сельском хозяйстве // Зерно. – 2008. – № 4(25). – С. 46–54.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
6. Поляченко Ю.В., Щербаков А.Б., Усатенко А.В., Повх Г.В. Препараты золота: вчера, сегодня и завтра. – Киев: МАУП, 2007. – 64 с.
7. Поляченко Ю.В., Щербаков А.Б., Усатенко А.В., Повх Г.В. Препараты серебра: вчера, сегодня и завтра. – Киев: МАУП, 2007. – 66 с.
8. Ревина А.А., Баранова Е.К., Мулюкин А.Л., Сорокин В.В. Некоторые особенности воздействия кластерного серебра на дрожжевые клетки *Candida utilis* // Исследовано в России. – 2005. – 139. – С. 1403–1409.
9. Ревина А.А., Егорова Е.М., Кудрявцев Б.Б. Возможности применения нанотехнологий в производстве лакокрасочных материалов и покрытий // Химическая промышленность. – 2001. – № 4. – С. 28–32.
10. Чекман І.С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування // Укр. біохім. журн. – 2009. – 81, № 1. – С. 122–129.
11. Batareah K.I. Anomaly and correlation of killing in the therapeutic properties of silver (I) chelation with glutamic and tartaric acids // J. Antimicrob. Chemother. – 2004. – 54, N 2. – P. 546–548.
12. Dibrov P., Dzioba J., Gosink K. K., Hase C.C. Chemiosmotic mechanism of the antimicrobial activity of Ag⁺ in *Vibrio cholerae* // Antimicrob. Agents Chemother. – 2002. – 46, N 8. – P. 2668–2670.
13. Karakoti A.S., Monteiro-Riviere N.A., Aggarwal R., Davis J.P., Narayan R.J., Self W.T., McGinnis J., Seal S. Nanoceria as antioxidant: synthesis and biomedical applications // J. Minerals, Metals and Materials Soc. – 2008. – 60, N 3. – P. 33–37.
14. Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities // Adv. Colloid. Interface Sci. – 2009. – 145, N 1–2. – P. 83–96.
15. Travan A., Pelillo C., Donati I., Marsich E. Non-cytotoxic silver nanoparticle-polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity // Biomacromolecules. – 2009. – 10, N 6. – P. 1429–1435.

Отримано 22.11.2010