

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, мікробіології та нанотехнологій, зокрема до способів одержання антимікробних дезінфікуючих засобів для обробки біологічних об'єктів, у тому числі інкубаційних яєць.

Для створення сучасних дезінфікуючих засобів перспективним напрямом є використання досягнень галузі нанотехнологій, зокрема розроблення нових матеріалів (металів), що будуть застосовуватися як альтернатива небезпечним хімічним дезінфектантам, які масово впроваджено у тваринництві та птахівництві. Враховуючи вищевикладене, розроблення дезінфектантів на основі нанотехнологій, у яких наночастинки металів володіють широким спектром дії (протибактеріальною, противірусною, протигрибковою діями), низькою токсичністю, є незаперечною альтернативою традиційним дезінфікуючим засобам. Завдяки своїй високій реактивності наночастинки срібла мають біоцидну дію проти широкого спектру бактерій, таких як *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella mobilis*, *Klebsiella pneumonia*, мікроміцетів: *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisia*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Penicillium citrinum*.

Відомий спосіб отримання колоїдного срібла як дезінфікуючого засобу, який передбачає відновлення іонів срібла у водних розчинах із застосуванням сильного відновника - алюмінію (Патент UA № 150037 МПК C25C 1/20 "Спосіб одержання стабілізованих наночастинок срібла").

Недоліком є токсичність реагентів, низька біосумісність та нестабільність отриманих колоїдів.

Відомий спосіб одержання стабільних монодисперсних наночастинок срібла, що включає їх хімічний синтез за використання як прекурсору водного розчину аргентуму (I) нітрату, як відновника - натрію тетраборогідриду і як стабілізатора суміші очищених рамноліпідних поверхнево-активних речовин [Synthesis of Biosurfactant-Based Silver Nanoparticles with Purified 35 Rhamnolipids Isolated from *Pseudomonas aeruginosa* BS-161R/C. Ganesh Kumar, S. Kumar Mamidyala, B. Das, B. Sridhar, G. Sarala Devi, M. SriLakshmi Karuna//Journal of Microbiology and Biotechnology. - 2010. - Vol. 20. - № 7. - P. 1061-1068]. Але даний спосіб здійснюють за використання органічних розчинників, великої витрати прекурсору (аргентуму (I) нітрату), тривалого перемішування реакційного середовища (упродовж 1 год) магнітною мішалкою. Для отримання стабілізованих монодисперсних наночастинок срібла у спосіб застосовують багатостадійну технологію, відповідно до якої наночастинки срібла екстрагують із зворотних міцел додаванням етанолу, відділяють центрифугуванням від розчину і повторно розподіляють у воді. Недоліком відомого способу є низька ефективність, оскільки він не дозволяє отримати дезінфікуючий засіб з широким спектром біоцидної дії і з пролонгованим ефектом біоцидної дії.

Найближчим аналогом є метод синтезу наночастинок металів з використанням як відновників та стабілізаторів рослинних екстрактів різного походження, а як джерела срібла - нітрату срібла (Пат. AU 2009246081 B2, "Green synthesis of nanometals using plant extracts and use thereof 15 МПК (2006) B22F 1/00, 9/24, B82B 1/00. Опубл. 19.11.2009). Тривалість основного етапу виробництва - від 2 до 24 годин. Це рішення може бути прототипом.

Недоліком найближчого аналога є досить складний та тривалий синтез колоїдних розчинів наночастинок срібла та трудомістке і недостатньо контрольоване за компонентним складом приготування рослинного екстракту.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити простий, безпечний і відтворюваний спосіб одержання дезінфікуючого засобу на основі наночастинок срібла, що забезпечує стабільність препарату, високу антимікробну активність і відсутність дії токсичних домішок на ембріон.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання дезінфікуючого засобу на основі наночастинок срібла, що включає отримання колоїдного розчину срібла, відновлення срібла з водного розчину солі аргентуму у присутності відновника та стабілізатора наночастинок срібла, згідно з корисною моделлю, використовують як відновник і стабілізатор цитрат натрію, при цьому відновлення проводять у водному середовищі за температури 100 °C до утворення колоїдного розчину наночастинок срібла розміром 10-12 нм.

Порівняльний аналіз із найближчим аналогом дозволяє зробити висновок, що спосіб заснований на хімічному синтезі наночастинок срібла, використанні як відновника і стабілізатора цитрату натрію ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), використанні наночастинок 10-12 нм. забезпечує антимікробну, фунгіцидну, бактерицидну дію препарату. Спосіб виконують наступним чином

Для приготування колоїдного розчину срібла беруть 0,17 г нітрату срібла (AgNO_3) та розчиняють у 80 мл дистильованої води. Колбу з нітратом срібла ставлять на магнітну мішалку з підігрівом і включають оберти. Нагрівають розчин нітрату срібла AgNO_3 до кипіння при інтенсивному помішуванні.

Окремо готують розчин стабілізатора - 0,20 г натрію цитрату ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) розчиняють у 20 мл дистильованої води. В розчин нітрату срібла (AgNO_3) по капелю за допомогою шприця на 20 мл вводять розчин натрію цитрату ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), помішують та нагрівають до температури 100 °C протягом 10-15 хвилин. Реакцію ведуть до утворення стійкого колоїдного розчину золотисто-солом'яного кольору з концентрацією близько 200 ppт і розміром наночастинок 10-12 нм.

Отриманий розчин охолоджують, фільтрують та розливають у стерильні контейнери. Швидке та рівномірне нагрівання всього обсягу реакційного розчину забезпечується за допомогою магнітної мішалки з підігрівом Magnetic Stirrer SH-2, що сприяє однорідності складу в умовах нуклеації та зростання зародків. Отриманий колоїдний розчин наночастинок срібла з суттєво зменшеним розміром 10-12 нм сприяє кращому проникненню наночастинок крізь пористість шкарлупи яйця.

Характерно, що з усіх використовуваних нами параметрах синтезу із застосуванням цитрату натрію було отримано наночастинок срібла сферичної форми. На фіг. 1 зображено реплік-фото, зроблене за допомогою електронного растрового мікроскопа VEGA 3 SBN Tesla. Розмір вирощених наночастинок срібла, оцінювався також за розташуванням спектрів поглинання, світла, отриманих на спектрофотометрі СФ 2.У спектрах поглинання, отриманих зразків з розмірами 10-12 нм спостерігалася інтенсивна смуга з максимумом, локалізованим в смузі 390-420 нм. Природа максимуму поглинання пов'язана з явищем, так званого, поверхневого плазмонного резонансу (ППР) в металевих наночастинок. Положення максимумів ППР визначаються розміром наночастинок і зі збільшенням розміру НЧ максимум зміщується в довгохвильову смугу спектра (криві 2 і 3 фіг. 2). Видно, що спектр смуги поглинання ППР наночастинок малих розмірів (приблизно 15 нм (крива 3) локалізована поблизу 390 нм. В подальших біомедичних застосуваннях, використовується розчин колоїдного наносрібла, отриманого в режимах синтезу, який виявляє спектр поглинання в смугах приблизно 390 нм.

Приклад. Визначення бактерицидної та бактеріостатичної дії 5-ти проб наночастинок Ag на тест-культурах грамнегативних (*Escherichia coli*) і грампозитивних (*Staphylococcus aureus*) № 12.

Експериментальні дослідження проводили в умовах Національного наукового центру "Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини" (м. Харків). А також на базі "Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту прав споживачів" (м. Одеси). Для досліджень використовували 5 зразків наночастинок Ag (№ 1, 6, 7, 8 і колоїдне срібло). Розчин № 1 (0,34 г. $\text{AgNO}_3 + 0,2$ г цитрату натрію), Розчин № 6 (0,017 г $\text{AgNO}_3 + 0,1$ г цитрату натрію), Розчин № 7 (0,3 г $\text{AgNO}_3 + 0,036$ г цитрату натрію), Розчин № 8 (0,005 г $\text{AgNO}_3 + 0,006$ г цитрату натрію). Розчини наночастинок срібла готували на стерильній дистильованій воді. При дослідженні бактерицидних властивостей наночастинок срібла як тест-культури використовували *E. Coli*, *St.aureus* № 12 з концентрацією мікробних тіл 0,5 ОД за МакФарландом. Тест-штам мікроорганізмів вирощували на поживному бульйоні та поживному агарі (виробництва ТОВ "Фармактив", Україна). У поживний бульйон з концентрацією мікробних тіл 0,5 ОД за МакФарландом додавали 0,5 і 1,0 % розчини наночастинок Ag, культивували за температури $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ з експозицією 15 і 30 хв. Висівали *E. Coli*, *St.aureus* на поживний агар з послідовною інкубацією у термостаті впродовж 24 годин. Підрахунок результатів проводили через 24 години за кількістю колоній *E. Coli*, *St.aureus* на чашках Петрі, що вирости на поживних середовищах. Бактерицидну активність суміші наночастинок вважали підтвердженою за відсутності росту тест-штамів бактерій на поживних середовищах за умови їх інтенсивного росту у відповідних контролях росту.

Результати досліджень наведені у таблиці

За результатами досліджень було виявлено, що дослідна тест-культура *E. Coli*, та *St.aureus* № 12 проявляла стійкість до концентрації 0,5 і 1,0 % наночастинок срібла з експозицією 15 хв., що підтверджувалось ростом більше 300 КУО/мл на поверхні поживних середовищ (таблиця 1), але при експозиції 30 хв, ріст бактерій не спостерігався. Розчин срібла (0,17 г $\text{AgNO}_3 + 0,2$ г цитрату натрію).

Таким чином, спосіб, який заявляється, забезпечує отримання дезінфікуючого засобу на основі наночастинок срібла без токсичних домішок з високою ефективністю проти бактерій, грибів і вірусів. Засіб може масово впроваджуватись у тваринництві та птахівництві.

Таблиця 1

Бактерицидна активність наночастинок срібла відносно *E. Coli St.aureus* № 12

Експозиція, хв	Концентрація розчинів, %									
	0,5					1,0				
	№ 1	№ 6	№ 7	№ 8	колоїд, срібло	№ 1	№ 6	№ 7	№ 8	колоїд, срібло
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
30	+++	+++	+++	+++	---	+++	+++	+++	+++	---
контроль	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Примітка: «-» - ріст колоній відсутній; «+» - до 100 КУО/мл на поверхні поживного середовища; «++» - від 100 до 300 КУО/мл на поверхні поживного середовища; «+++» - більше 300 КУО/мл на поверхні поживного середовища.



Fig. 1

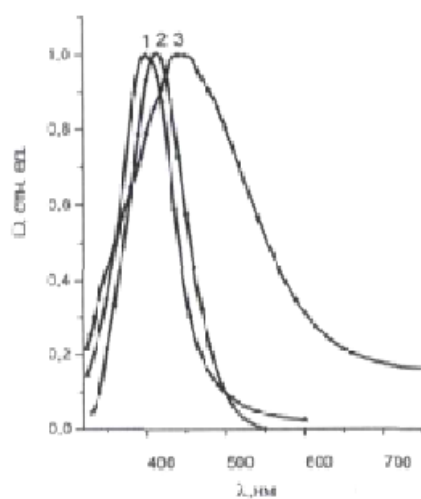


Fig. 2