

УДК 579.6:544.77

СИНТЕЗ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ЛИПОПЕПТИДАМИ И ГЛИКОЛИПИДАМИ, ПРОДУЦИРУЕМЫМИ *Bacillus amyloliquefaciens* И *Pseudomonas fluorescens*

© 2025 г. А. Г. Хина^{1,2,*}, А. С. Гордеев³, Л. Р. Бикташева³, Д. М. Горбунов¹,
П. А. Курынцева³, Г. В. Лисичкин¹, Ю. А. Крутяков^{1,4,**}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет,
Москва, 119991 Россия

²Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, Москва, 105005 Россия

³Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт экологии, биотехнологии и природопользования,
Казань, 420008 Россия

⁴Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, 123182 Россия

*e-mail: alex_khina@inbox.ru

**e-mail: nrcki@nrcki.ru

Поступила в редакцию 02.12.2024 г.

После доработки 25.12.2024 г.

Принята к публикации 10.01.2025 г.

В работе изучены коллоидно-химические и антибактериальные свойства водных дисперсий наночастиц серебра, стабилизированных сурфактином и рамнолипидами, выделенными из бактерий *B. amyloliquefaciens* и *P. fluorescens*. Выделенные биосурфактанты идентифицировали методами тонкослойной хроматографии и ИК-Фурье спектроскопии. С помощью методов УФ-видимой спектрофотометрии, просвечивающей электронной микроскопии и динамического рассеяния света исследованы коллоидно-химические характеристики полученных дисперсий. Найдены оптимальные соотношения реагентов, при которых используемые биосурфактанты являются эффективными стабилизаторами дисперсий наночастиц серебра и обеспечивают их агрегативную устойчивость на протяжении не менее двух месяцев. Обнаружено, что исследованные дисперсии обладали антибактериальной активностью в отношении грамположительных *B. subtilis* и грамотрицательных *P. aeruginosa* и *E. coli*. Произведена сравнительная оценка антибактериальной активности наночастиц серебра стабилизированных биосурфактантами и традиционных содержащих серебро препаратов таких, как раствор нитрата серебра и дисперсия наночастиц серебра, стабилизированных цитратом. Наибольшую активность, сопоставимую с действием раствора нитрата серебра, показали дисперсии, стабилизированные сурфактином, что связано с их высокой коллоидной устойчивостью. Кроме того, обнаружена высокая антибактериальная активность дисперсий наночастиц серебра, стабилизированных биосурфактантами, выделенными из бактерий *Bacillus* и *Pseudomonas*, в отношении штаммов другого рода. Дано объяснение наблюдаемого феномена и предложены перспективы его приложения в медицине.

Ключевые слова: наночастицы серебра, биосурфактанты, липопептиды, гликолипиды, сурфактин, рамнолипид, антибактериальное действие, минимальная ингибирующая концентрация

DOI: 10.31857/S0555109925030058 EDN: FNUWYD

Увеличение числа клинических случаев развития тяжелых заболеваний бактериальной этиологии, устойчивых к действию традиционных антибиотиков, представляет собой одну из наиболее серьезных угроз для здоровья людей в XXI веке [1, 2]. По этой причине поиск и исследование новых действующих веществ, способных подавлять рост

и развитие патогенной бактериальной флоры, имеет особую важность [3, 4]. Применение антимикробных препаратов на основе серебра, антибактериальные свойства которого известны еще с древних времен, может стать одним из возможных решений проблемы преодоления лекарственной устойчивости, по крайней мере в области

местного применения при терапии инфекционно осложненных ран и ожогов, а также воспалительных заболеваний слизистых оболочек [5–7]. В последние два десятилетия активно ведутся работы по исследованию и внедрению в медицинскую практику наночастиц (НЧ) серебра [8–10], основным преимуществом которых в сравнении с ионной формой металла является меньшая токсичность в отношении животных клеток. Последнее открывает определенные перспективы создания лекарственных препаратов на основе НЧ [11–13].

Механизм антибактериального действия НЧ серебра во многом связан с действием бактерицидных ионов Ag^+ , выделяющихся с поверхности НЧ в ходе окислительного растворения [14, 15]. При этом, в отличие от антибактериального действия традиционных антибиотиков, основанного, как правило, на нарушении работы лишь одной конкретной биологической мишени в бактериальной клетке, механизм бактерицидного действия препаратов на основе серебра носит комплексный характер. Так, ионы серебра способны связываться с азот- и сера-содержащими мембранными белками и ферментами электронно-транспортной цепи бактериальной клетки [16, 17], что приводит к губительным нарушениям в ее дыхательной и транспортной системах [18]. Кроме того, ионы серебра способны проникать в цитоплазматическое пространство клеток микроорганизмов [19] и связываться с компонентами ДНК и рибосом [20], а также вызывать окислительный стресс [21], что приводит к нарушениям в процессах экспрессии генов и избыточному перекисному окислению [22, 23]. В дополнение к широкому спектру механизмов антибактериального действия ионов серебра, НЧ серебра обладают комплементарными бактерицидными механизмами, связанными с возможностью ассоциации НЧ серебра с мембраной бактериальной клетки, что приводит к физическим нарушениям в ее структуре, а также повышению локальной и внутриклеточной концентрации бактерицидных ионов Ag^+ [14]. В результате одновременного воздействия на большое число молекулярных мишеней, находящихся как в цитоплазме, так и на мембране бактериальной клетки, развитие бактериями лекарственной устойчивости к действию НЧ серебра довольно сложно [24].

Находясь в коллоидном растворе, НЧ серебра для сохранения агрегативной устойчивости, необходимой для проявления биологической активности, нуждаются в поверхностном модифицировании молекулами поверхностно-активных веществ (ПАВ) или высокомолекулярных соединений (ВМС) [25, 26]. Механизм стабилизации серебра в высокодисперсном состоянии заключается в образовании адсорбированными на их поверхности молекулами ПАВ или ВМС электростатического и/или структурно-механического барьера, препятствующего агрегации НЧ. Одним из актуальных

направлений исследований в области НЧ серебра является поиск и применение в качестве поверхностных модификаторов НЧ серебра молекул, проявляющих собственную биологическую, в том числе антибактериальную, активность [27, 28].

Одними из кандидатов на эту роль являются биологически синтезируемые поверхностно-активные вещества (**био-ПАВ**), называемые также биосурфактантами. Биосурфактанты — это ПАВ, продуцируемые микроорганизмами, обладающие способностью снижать поверхностное натяжение воды и других жидкостей, а также обладающие антимикробной активностью [29, 30]. Поверхностная активность биосурфактантов, аналогично химически синтезируемым ПАВ, связана с наличием в их структуре как полярной гидрофильной части — “головы”, отличающейся по своей природе для различных видов биосурфактантов, так и неполярной гидрофобной части — “хвоста”, представляющей собой углеводородный остаток различных жирных кислот. Несмотря на то, что роль биосурфактантов в жизнедеятельности микроорганизмов изучена не полностью, достоверно известно, что они способствуют поглощению гидрофобных веществ из внешней среды, играют важную роль в возможности перемещения бактерий и образования ими биопленок, а также являются факторами видовой конкуренции между бактериями [31, 32]. Биосурфактанты классифицируют на низкомолекулярные и высокомолекулярные [30]. К низкомолекулярным биосурфактантам относят липопептиды (состоящие из ковалентно связанных гидрофобного липида и гидрофильного пептида), гликолипиды (состоящие из остатка жирной кислоты, связанной с одной или несколькими молекулами углеводов), а также жирные кислоты и фосфолипиды. К высокомолекулярным био-ПАВ относят биосурфактанты полимерного и везикулярного строения. При этом в настоящее время основной научный и прикладной интерес вызывают именно низкомолекулярные био-ПАВ, в виду их большей поверхностной и биологической активности, а также простоты выделения.

В последние полтора десятилетия интерес исследователей привлекают работы, направленные на получение и изучение свойств стабилизированных биосурфактантами НЧ серебра, в частности, рамнолипидами [33, 34] и липопептидами [35, 36]. Так, опубликован ряд работ, в которых показана *in vitro* антибактериальная [33, 37], фунгистатическая [38] и противовирусная [39] активность НЧ серебра, стабилизированных био-ПАВ. Однако к настоящему моменту опубликовано мало исследований, описывающих корреляции структурных характеристик выделяемых биосурфактантов с коллоидной устойчивостью и биологической активностью стабилизированных НЧ серебра. Также, мало внимания уделяется оценке биологической

активности полученных дисперсий в сравнении с уже известными серебросодержащими препаратами.

Цель настоящей работы — получение и определение коллоидно-химических и антибактериальных свойств НЧ серебра, стабилизированных биосурфактантами, выделенными из культивируемых продуцентов рамнолипидов *Bacillus amyloliquefaciens* и липопептидов *Pseudomonas fluorescens* [40–43], а также сравнение их антибактериальной активности с действием хорошо изученных модельных препаратов серебра — водного раствора AgNO_3 и дисперсии НЧ серебра, стабилизированных цитрат-анионом.

МЕТОДИКА

Оценка способности почвенных изолятов к продуцированию поверхностно-активных веществ. Биосурфактанты, используемые для дальнейшего синтеза наночастиц серебра выделяли из бактерии *P. fluorescens* и *B. amyloliquefaciens*, способных к продуцированию рамнолипидов и липопептидов соответственно [40–43]. Видовая принадлежность микроорганизмов была определена методом секвенирования по Сэнгеру с использованием анализатора ДНК ABI 3730 (“Life Technologies”, США). Скрининг выделенных из нефтезагрязненной почвы серого лесного типа (Ромашкинское месторождение, Республика Татарстан, Россия) микроорганизмов в отношении активности синтеза биосурфактантов производили с помощью определения доли эмульгированной нефти от исходного объема при добавлении бесклеточной культуральной жидкости тестируемых микроорганизмов. Микроорганизмы культивировали на питательной среде Бушнелла-Хааса, следующего состава (г/л): MgSO_4 — 0.2, CaCl_2 — 0.02, KH_2PO_4 — 1.0, K_2HPO_4 — 1.0, NH_4NO_3 — 1.0, FeCl_3 — 0.05, с 2% глюкозы в качестве источника углерода, pH 6.9–7.2, в течение 24 ч. Выросшую культуру центрифугировали при 23500 g в течение 15 мин. В стеклянную пробирку объемом 15 мл помещали 7 мл сырой нефти (Ромашкинское месторождение, Республика Татарстан) и 7 мл бесклеточной культуральной жидкости, смесь интенсивно встряхивали в лабораторном вортексе 2 мин и оставляли на 24 ч для стабилизации системы при 20°C. Через сутки определяли индекс эмульгирования E_{24} по отношению измеренной высоты эмульгированной фазы к общей высоте столба жидкости.

Также способность почвенных изолятов к продуцированию ПАВ оценивалась по изменению поверхностного натяжения бесклеточной культуральной жидкости. Оценка производилась с помощью тензиометра K20 (“Kruss”, Германия) методом кольца Де Нуи на 24 ч культивирования и сравнивалась с показателями питательной среды до начала культивирования. Для всех изолятов

были получены пары показателей E_{24} в процентах и значения поверхностного натяжения в мН/м.

Получение биосурфактантов. Для выделения биосурфактантов, в бесклеточный супернатант по каплям добавляли 2 М раствор HCl до выпадения хлопьевидного осадка и изменения pH до 2–3. Полученную смесь инкубировали в течение 12 ч при 4°C, центрифугировали при 23500 g в течение 15 мин и отделяли осадок декантацией. Экстракцию биосурфактантов из осадка производили добавлением смеси метанола и хлороформа в объемном соотношении 2 : 1. Полученную смесь интенсивно встряхивали, отделяли нижний слой хлороформа с растворенными липопептидами или рамнолипидами, после чего упаривали на роторном испарителе при 40°C и 300 мбар в течение 60 мин и лиофилизировали в течение 24 ч.

Определение структуры биосурфактантов. ТСХ. Для визуальной идентификации состава биосурфактантов и оценки возможной поликомпонентности продукта был использован метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Для этого, 10 мг очищенного биосурфактанта растворяли в 1.5 мл смеси хлороформа и метанола при объемном соотношении 2 : 1. Затем 20 мкл полученного раствора наносили на стеклянные пластинки с неподвижной фазой из силикагеля с добавкой флуоресцентного индикатора Silica gel 60 F₂₅₄ (“Merck Millipore”, Германия). Нанесение и элюирование осуществлялось в автосэмплер-аппликаторе CAMAG ATS 4 с камерой для элюирования ADC 2 (“CAMAG”, Швейцария). В качестве элюента использовалась смесь толуол : гексан : метанол в объемном отношении 80 : 10 : 10. В качестве образцов сравнения — “свидетелей”, использовали сурфактин (≥98%, “Merck KGaA”, Германия) и смесь рамнолипидов (≥98%, “AGAE Technologies LLC”, США).

ИК-Фурье. Идентификацию структуры биосурфактантов проводили методом ИК-спектроскопии с Фурье-преобразованием при нарушенном полном внутреннем отражении (ИК-Фурье спектроскопия с НПВО) на приборе Bruker Lumos (Bruker Optics, Фрайбург, ФРГ). Образец биосурфактанта наносился на кристалл НПВО при температуре 20°C. ИК-спектры накапливались путем усреднения 256 сканирований в диапазоне 600–4000 cm^{-1} при спектральном разрешении 4 cm^{-1} .

Получение дисперсий наночастиц серебра. Водные дисперсии НЧ серебра, стабилизированные сурфактином или рамнолипидом, получали по стандартной методике химического восстановления нитрата серебра боргидридом натрия [28]. Для получения 250 г дисперсии НЧ серебра, 50 г водного раствора нитрата серебра, содержащего 0.0787 г (0.4633 ммоль) AgNO_3 , добавляли через капельную воронку к 150 г раствора сурфактина (0.2000 г, 0.1931 ммоль) или рамнолипида (0.2000 г,

0.3073 ммоль) при интенсивном перемешивании. К полученному раствору через капельную воронку добавляли раствор 0.0352 г (0.9304 ммоль) боргидрида натрия в 50 г воды. После окончания добавления боргидрида натрия, реакционную массу перемешивали 2 ч до полного прекращения выделения водорода. Полученные дисперсии содержали 200 мг/л НЧ серебра. Для использования в качестве раствора сравнения, аналогичным образом была получена дисперсия НЧ серебра, содержащая 200 мг/л НЧ серебра и 1600 мг/л цитрата натрия. Полученные дисперсии НЧ серебра были охарактеризованы методами спектрофотометрии в УФ- и видимой областях, просвечивающей электронной микроскопии и динамического рассеяния света.

Коллоидно-химические характеристики дисперсий НЧ серебра. УФ-спектрометрия. Спектры поглощения дисперсий НЧ серебра в УФ-видимом диапазоне $\lambda = 330\text{--}700$ нм регистрировали на спектрофотометре UV-1800 ("Shimadzu", Япония) в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 10 мм при концентрации НЧ серебра 10 мг/л. Спектры поглощения регистрировали через 24 ч после завершения синтеза НЧ серебра, а также спустя 2 месяца для оценки их коллоидной стабильности.

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Электронные микрофотографии образцов дисперсий НЧ серебра получали на приборе JEOL JEM-2100 ("Jeol", Япония) с ускоряющим напряжением 200 кВ. Образцы для микроскопических исследований готовили путем нанесения 1–2 мкл водной дисперсии НЧ серебра с концентрацией 100 мг/л на углеродную сетку с последующей сушкой на воздухе.

Динамическое рассеяние света (ДРС). ζ -потенциал и гидродинамический диаметр НЧ в полученных дисперсиях определяли на приборе Zetasizer Nano ZS ("Malvern Instruments", Великобритания) методом динамического светорассеяния. Измерения проводили в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 10 мм при угле рассеяния 90° и концентрации НЧ серебра равной 50 мг/л. Расчет коэффициентов диффузии и гидродинамических диаметров НЧ проводили с использованием программного обеспечения DynaLS v.2.0 ("Alango", Израиль), допуская, что распределение частиц по размерам подчиняется мономодальному распределению Гаусса.

Антибактериальная активность дисперсий НЧ серебра. Антибактериальную активность полученных дисперсий НЧ серебра оценивали в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* (почвенные изоляты из коллекции микроорганизмов кафедры биотехнологии ИЭБП КФУ) и *Escherichia coli* (коллекция микроорганизмов кафедры биотехнологии ИЭБП КФУ, выделены из навоза крупного рогатого скота) оценивали с помощью определения минимальной ингибирующей концентрации редуктаз-

ной пробы с применением резазурина. Результаты испытаний оценивали визуально, данные были получены в трех повторностях. Тестируемые штаммы культивировали на питательной среде LB (г/л): NaCl — 1.0, пептон — 1.0, экстракт дрожжей — 0.5. Инокулят готовили добавлением 600 мкл ночной культуры (10^7 КОЕ/мл) бактерий к 6 мл чистой среды LB. Полученный инокулят вносили по 100 мкл в лунку в 96-луночного планшета (1×10^6 КОЕ/мл в каждой лунке). В первую лунку каждого ряда добавляли по 100 мкл тестируемого вещества. В качестве тестируемых веществ использовали нитрат серебра — 200 мг/л, НЧ серебра — 200 мг/л, стабилизированные биосурфактантами (800 мг/л), либо цитратом (1600 мг/л), а также не содержащие серебро стабилизаторы в аналогичных концентрациях. Далее делали серию двойных разведений с последовательным снижением концентрации тестируемого вещества в два раза за счет переноса 100 мкл смеси из предыдущей лунки. Таким образом, для тестируемых дисперсий НЧ серебра + рамнолипид и НЧ серебра + сурфактин максимальная рабочая концентрация составила 100 мг/л НЧ серебра и 400 мг/л стабилизатор (рамнолипид или сурфактин). Клеточные суспензии инкубировали при 37°C в течение суток, затем добавляли 10 мкл резазурина (0.1%-ный водный раствор) в каждую лунку. Результаты оценивали через 24 и 96 ч. Изменение цвета с фиолетового на розовый считали показателем развития в данной лунке микроорганизмов. За значение МИК принимали самую низкую концентрацию, при которой происходило изменение цвета [44].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка способности почвенных изолятов к продуцированию биосурфактантов. Способность микроорганизмов производить биосурфактанты оценивали с помощью определения доли эмульгированной нефти от исходного объема (индекс E_{24}) и изменения поверхностного натяжения бесклеточной культуральной жидкости. В качестве объектов исследования были выбраны бактерии *P. fluorescens* и *B. amyloliquefaciens*, известные как продуценты рамнолипидов и липопептидов соответственно [40–43]. При этом увеличение индекса эмульгирования и снижение значения поверхностного натяжения культуральной жидкости трактовали как индикатор высокой доли биосурфактанта в растворе. Поверхностное натяжение исходной питательной составляло равно 68 мН/м. Результаты экспериментальных данных приведены в табл. 1. Из представленных экспериментальных данных видно, что значения поверхностного натяжения бесклеточной культуральной жидкости штаммов *P. fluorescens* и *B. amyloliquefaciens* оказались ниже уровня 30 мН/м, а показатель E_{24} оказался выше 50%, что позволило отнести данные штаммы к эффективным производителям биосурфактантов [45, 46].

Таблица 1. Оценка способности почвенных изолятов к продуцированию биосурфактантов*

Микроорганизм-продуцент	σ_K , мН/м	E_{24} , %
<i>P. fluorescens</i>	29.45 ± 0.04	75.0 ± 1.0
<i>B. amiloliquefaciens</i>	29.29 ± 0.02	50.0 ± 2.0

* σ_K — поверхностное натяжение бесклеточной культуральной жидкости, E_{24} — индекс эмульгирования.

Получение биосурфактантов и определение их структуры. Продуцируемые штаммами *P. fluorescens* и *B. amiloliquefaciens* биосурфактанты выделяли из культуральной жидкости в соответствии со стандартным протоколом экстракции [47, 48]. Полученные образцы био-ПАВ изучали методами ТСХ и инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (FTIR).

Фактор удерживания R_f продуцируемого *B. amiloliquefaciens* ПАВ составил 0.34, что соответствует R_f стандартного образца сурфактина. После дериватизации пятна раствором нингидрина, его цвет перешел в темно-красный, что является качественной реакцией на пептиды, присутствующие в структуре сурфактина. При этом насыщенность пятна исследуемого образца оказалась несколько ниже, чем у вещества-свидетеля при аналогичной навеске сухого препарата, что можно объяснить наличием некоторого количества примесей, не визуализированных при хроматографии. При исследовании методом ТСХ биосурфактанта, продуцированного *P. fluorescens*, имеющего предположительно гликолипидную природу, наблюдалось два пятна с R_f равным 0.47 и 0.21, что соответствовало положению пятен веществ-свидетелей, ди- и моноамнолипидов соответственно. После дериватизации раствором *n*-анисальдегида, пятна приобретали зеленую окраску, что подтверждало гликолипидную природу продукта. Кроме того, для образца биосурфактанта продуцируемого *P. fluorescens* отмечено пятно с R_f 0.13, также окрашенное в темно-зеленый цвет при реакции с *n*-анисальдегидом, что могло указывать на присутствие некоторого количества метаболитов из культуральной жидкости.

FTIR-спектры поглощения выделенных ПАВ представлены на рис. 1. В обоих спектрах наблюдаются максимумы поглощения в диапазонах 2933–2881 см^{-1} и 1409–1330 см^{-1} , соответствующие валентным симметричным и асимметричным колебаниям CH_2 и CH_3 групп, присутствующих в липидных фрагментах биосурфактантов. В спектре ПАВ выделенного из *B. amiloliquefaciens* (рис. 1а) наблюдались также максимумы поглощения на 3289 см^{-1} (указывает на наличие гидроксильных и пептидных групп), 1663 см^{-1} (соответствует ко-

лебаниям $\text{C}=\text{O}$ амидной группы), 1741 см^{-1} (связан с колебаниями карбонильной группой). Максимум поглощения на 1545 см^{-1} может указывать на амидные связи, что дополнительно подтверждало наличие пептидных структур в исследуемом образце. Полученные данные свидетельствовали о том, что биосурфактант, полученный при культивировании *B. amiloliquefaciens*, содержал липопептиды, что согласовывалось с литературными данными FTIR-спектров сурфактина [49, 50]. Спектр поглощения продуцируемого *P. fluorescens* ПАВ демонстрировал наличие связей, специфичных для функциональных групп, входящих в состав молекул рамнолипидов (рис. 1б). В спектре выделялись области поглощения с максимумами 3292 см^{-1} (указывает на присутствие гидроксильных групп, связанных с остатками углеводов), 1659 см^{-1} и 1207 см^{-1} (характерны для связей между атомами углерода и кислорода в эфирных группах), 1033 см^{-1} и 988 см^{-1} (относятся к колебаниям групп $-\text{COC}-$ в циклических структурах углеводов), что подтверждало наличие связей между атомами углерода и гидроксильными группами в кольцах рамнозы. Такой спектр характерен для гликолипидных биосурфактантов, включая рамнолипиды, и соответствует литературным данным [51–53]. Таким образом, результаты, полученные методами ТСХ и FTIR, позволили идентифицировать продуцированные *P. fluorescens* и *B. amiloliquefaciens* биосурфактанты, как сурфактин и рамнолипид соответственно.

Получение и коллоидно-химические характеристики дисперсий наночастиц серебра. Полученные сурфактин и рамнолипид использовали в качестве поверхностных стабилизаторов дисперсий НЧ серебра. Количество стабилизатора подбирали таким образом, чтобы оно было оптимальным для образования устойчивого в течение нескольких месяцев коллоидного раствора наночастиц серебра. В качестве контрольного образца сравнения, в качестве поверхностного стабилизатора также использовали цитрат. Дисперсии НЧ серебра получали методом химического восстановления нитрата серебра боргидридом натрия. При введении в раствор нитрата серебра и стабилизатора раствора боргидрида натрия, наблюдали переход окраски реакционной массы с бесцветной в желтую или коричневую, что указывает на образование НЧ серебра. Для подтверждения кристаллической фазы серебра образцов НЧ использовали метод электронной микродифракции (рис. 2) выбранной области в режиме ПЭМ. Расстояния между атомными плоскостями кристаллической решетки (*d*-расстояния) определялись путем измерения диаметров первых четырех колец на дифракционной картине. Идентичность значений первых четырех *d*-расстояний на дифракционной картине, полученной с образца НЧAg-сурфактин (2.35, 2.02, 1.43, 1.22 Å) и эталона (металлическое серебро)

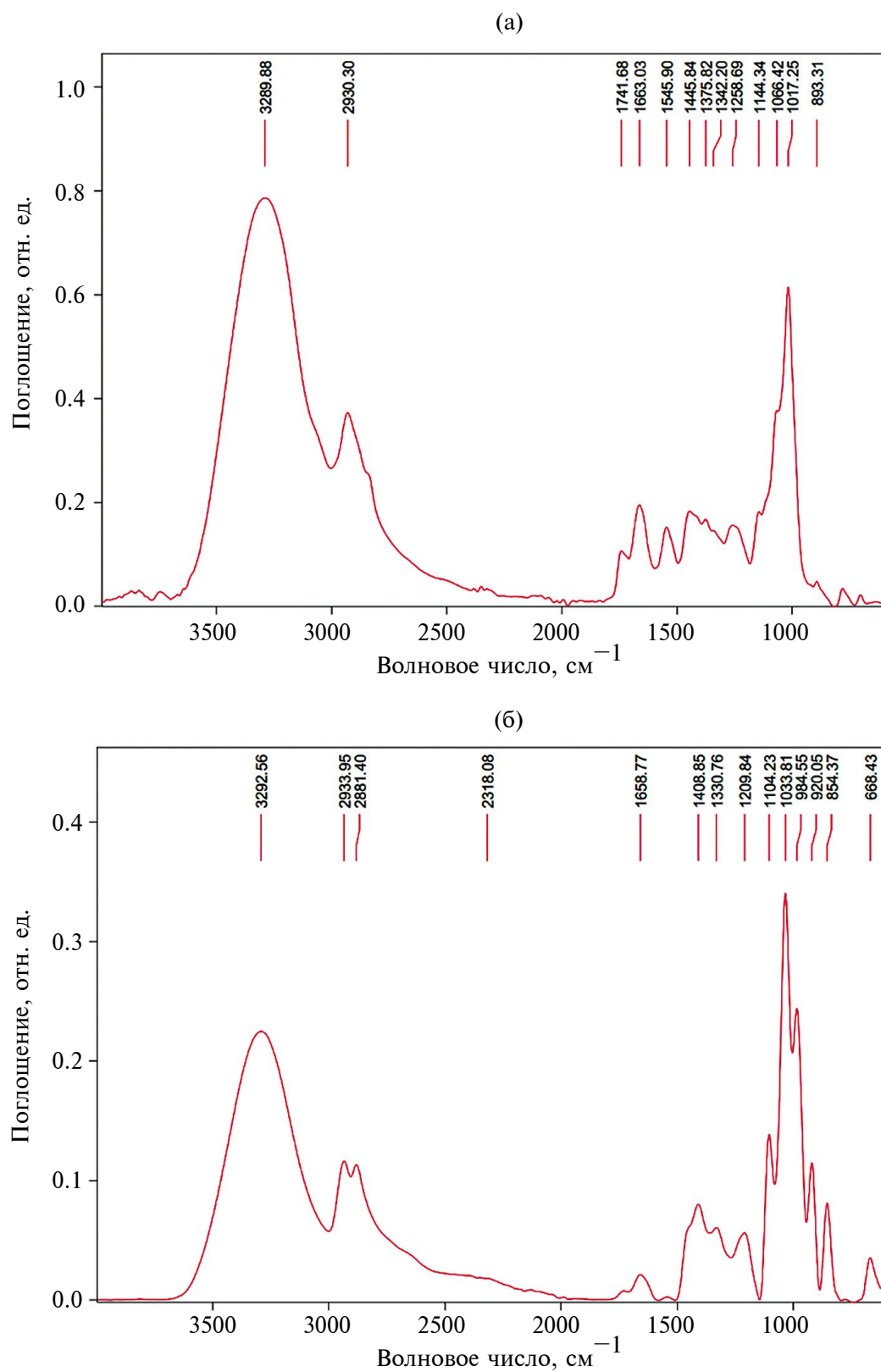


Рис. 1. ИК-спектр биосурфактантов, продуцируемых *B. amiloliquofaciens* (а) и *P. fluorescens* (б).

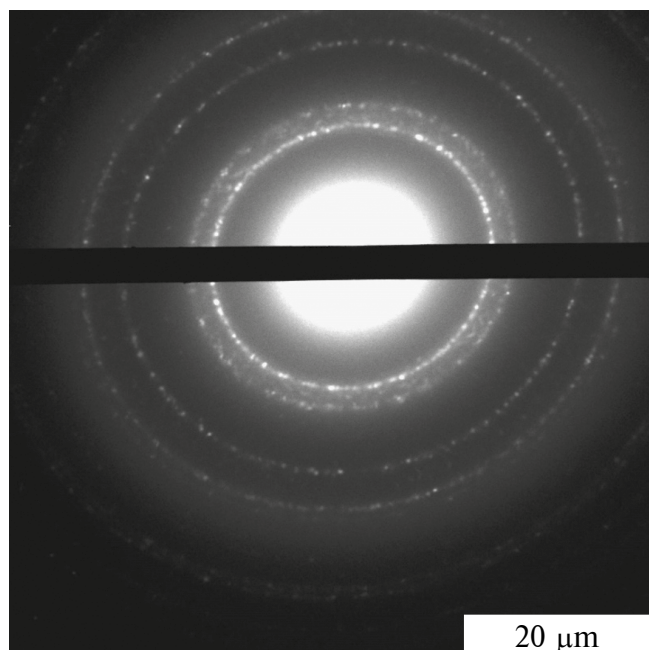


Рис. 2. Картина электронной микродифракции образца дисперсии НЧ серебра, стабилизированных сурфактином.

(2.36, 2.04, 1.44, 1.23 Å) подтверждала, что стабилизированные сурфактином НЧ имели кристаллическую структуру металлического серебра [54].

Было обнаружено, что продуцируемые бактериями амфифильные биосурфактанты являются достаточно эффективными ПАВ с точки зрения стабилизации дисперсий НЧ серебра. Так, полученные дисперсии характеризовались длительной (более двух месяцев) седиментационной устойчивостью и представляли собой прозрачный желтый и опалесцирующий серо-коричневый растворы, в случае использования сурфактина и рамнолипида соответственно. Спектры поглощения дисперсий НЧ серебра стабилизированных сурфактином, рамнолипидом и цитратом в УФ-видимом диапазоне через 24 ч и 2 месяца после синтеза представлены на рис. 3. Из представленных данных видно, что в спектре поглощения всех дисперсий присутствует полоса поглощения с максимумом в области 360–440 нм, соответствующая пику плазмонного резонанса (ППР) наноразмерных частиц серебра. При этом спектр поглощения НЧ серебра стабилизированных сурфактином (НЧА_г-сурфактин) практически не изменялся в течение двух месяцев, что указывает на высокую коллоидную устойчивость дисперсии (рис. 3а). Однако в спектре НЧ серебра стабилизированных рамнолипидом (НЧА_г-рамнолипид), через два месяца наблюдалось значительное расширение полосы поглощения ППР, а также высокая интенсивность поглощения света в видимой области спектра (>500 нм), что говорит о протекании нежелательных процессов коагуляции наночастиц с течением

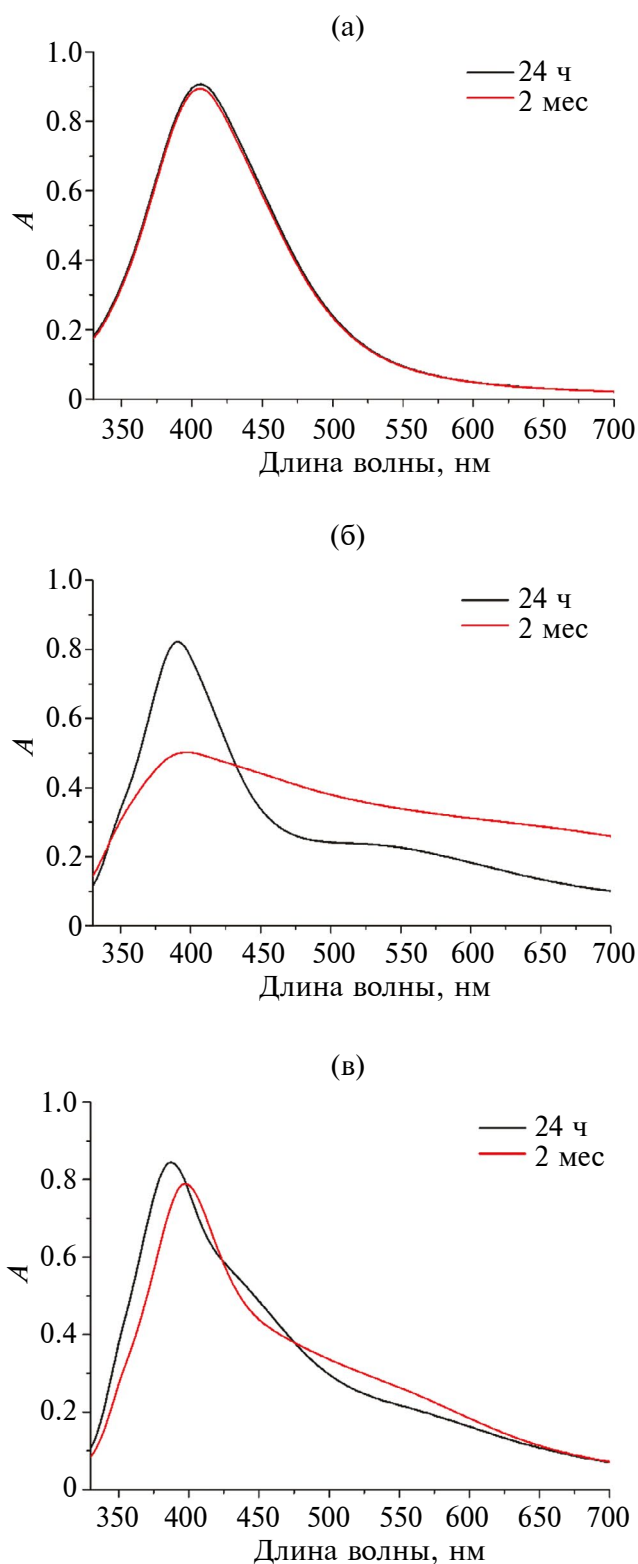


Рис. 3. Спектры поглощения дисперсий наночастиц серебра с различными стабилизаторами: НЧА_г-сурфактин (а), НЧА_г-рамнолипид (б), НЧА_г-цитрат (в).

времени (рис. 3б). В спектре поглощения НЧ серебра, стабилизированных цитратом (НЧАг-цитрат), наблюдалось небольшое расширение полосы ППР, что говорит о недостаточно высокой коллоидной стабильности дисперсии (рис. 3в).

Морфология и дисперсионный состав дисперсий НЧ серебра были изучены методом ПЭМ, полученные данные представлены на рисунках 4, 5 и в табл. 2. Из представленных результатов видно, что НЧ серебра стабилизированные сурфактином равномерно распределялись по объему дисперсии без образования агрегатов, имели сферическую форму и относительно небольшой диаметр 6.0 ± 2.7 нм (рис. 4а). Напротив, дисперсии НЧ серебра стабилизированные рамнолипидом обладали значительно большим размером частиц (22.8 ± 9.2 нм), которые имели сложную геометрию и имели тенденцию к образованию фазовых контактов между собой и формированию агрегатов достигающих размеров 500–800 нм (рис. 4б). Такое различие в коагуляционной устойчивости между дисперсиями НЧАг-сурфактин и НЧАг-рамнолипид вероятно связано с наличием в молекулах сурфактина большого количества свободных карбоксильных групп, создающих на поверхности НЧ серебра отрицательный заряд, который препятствует агрегации НЧ за счет действия сил электростатического отталкивания. Напротив, не обладающие высокой полярностью молекулы рамнолипида, после адгезии на поверхности НЧ серебра, способны препятствовать их коагуляции только за счет образования структурно-механического барьера. Для проверки данной гипотезы, дисперсии НЧ серебра были исследованы методом ДРС. Действительно, из представленных в табл. 2 результатов видно, что НЧ серебра стабилизированные сурфактином обладали значительно более высоким по модулю потенциалом поверхности скользящего слоя (ζ -потенциалом), чем НЧАг стабилизированные рамнолипидом (-47.2 и $+14.8$ мВ соответственно), что и обуславливало стабильность дисперсии НЧАг-сурфактин. Небольшой положительный ζ -потенциал дисперсии НЧАг-рамнолипид, вероятно, обусловлен адсорбцией на поверхности НЧ серебра выделяющихся в ходе окислительного растворения НЧ ионов Ag^+ . Ранее было установле-

но, что для обеспечения коллоидной стабильности НЧ серебра, необходимо сообщение им поверхностного заряда, соответствующего $|\zeta| > 30$ мВ [25]. Однако, несмотря на более низкие значения ζ -потенциала, НЧАг-рамнолипид не теряли свою коагуляционную устойчивость полностью за счет образования структурно-механического барьера, создаваемого пространственно объемными молекулами рамнолипида. Это подтверждалось полученными методом ДРС данными по измерению гидродинамических диаметров НЧ в дисперсиях НЧАг-сурфактин и НЧАг-рамнолипид, которые составили 62.0 ± 0.7 и 110.4 ± 1.2 нм соответственно (табл. 2).

НЧ серебра в дисперсии, в которой в качестве поверхностного стабилизатора использовался цитрат, имели в основном сферическую форму с размером 9.7 ± 5.7 нм, с небольшой долей палочкообразных и треугольных частиц больших размеров (рис. 4в, табл. 2). Гидродинамический радиус этих частиц составил 44.3 ± 0.5 нм, а ζ -потенциал -33.4 мВ, что говорит об электростатической природе коллоидной устойчивости дисперсии НЧАг-цитрат.

Антибактериальная активность дисперсий НЧ серебра. Оценку антибактериальной активности полученных биосурфактантов, а также НЧ серебра стабилизированных различными типами стабилизаторов проводили, определяя минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) резазуриновым тестом через 24 и 96 ч по отношению к грамположительным *B. subtilis* и условно патогенным для человека грамотрицательным штаммам *P. aeruginosa*, *E. coli* (рис. 6). Помимо дисперсии НЧАг-цитрат, в качестве образца сравнения также использовали раствор нитрата серебра. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Из представленных данных видно, что используемые в качестве стабилизаторов НЧ серебра сурфактин и рамнолипид не обладали антибактериальной активностью, достаточной для подавления роста исследованных штаммов бактерий, до концентрации 400 мг/л. Однако все испытанные дисперсии НЧ серебра, стабилизированные разными веществами, оказались проводили, подавлять рост грамположи-

Таблица 2. Характеристики дисперсий НЧ серебра с различными стабилизаторами*

НЧ + стабилизатор	$d_{\text{ПЭМ}}$, нм	$d_{\text{гд}}$, нм	ζ , мВ
НЧАг-сурфактин	6.0 ± 2.7	62.0 ± 0.7	-47.2
НЧАг-рамнолипид	22.8 ± 9.2	110.4 ± 1.2	-14.8
НЧАг-цитрат	9.7 ± 5.7	44.3 ± 0.5	-33.4

* $d_{\text{ПЭМ}}$ — средний диаметр наночастиц серебра, определенный методом ПЭМ, $d_{\text{гд}}$ — средний гидродинамический диаметр наночастиц, определенный методом ДРС, ζ — потенциал поверхности скользящего слоя наночастиц.

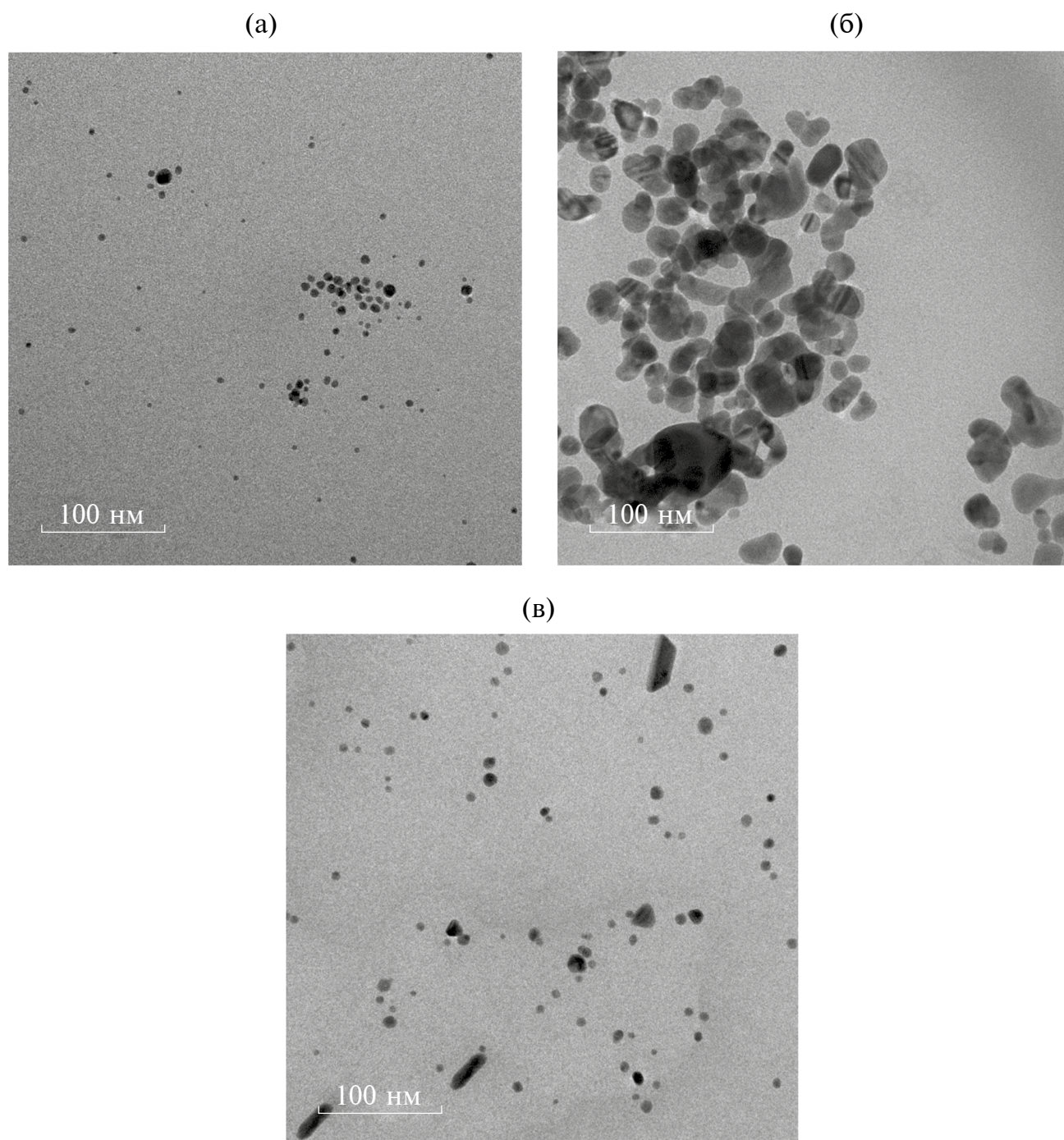


Рис. 4. Электронные микрофотографии в ПЭМ — дисперсии наночастиц серебра с различными стабилизаторами: НЧАг-сурфактин (а), НЧАг-рамнолипид (б), НЧАг-цитрат (в).

тельных *B. subtilis* и грамотрицательных *P. aeruginosa* и *E. coli*. При этом образец НЧАг-сурфактин проявил наибольшую эффективность в отношении грамотрицательных *P. aeruginosa* и *E. coli*, сопоставимую с действием нитрата серебра. Это могло быть связано с несколькими факторами. Во-первых, как было показано ранее в настоящей работе, НЧ серебра

в дисперсии НЧАг-сурфактин характеризовались наибольшей коллоидной устойчивостью и не образовывали агрегатов, что положительно сказывалось на их антибактериальной активности. Во-вторых, известно, что липопептиды, продуцируемые родом *Bacillus*, включая сурфактин, обладают собственной антибактериальной активностью, в том числе в от-

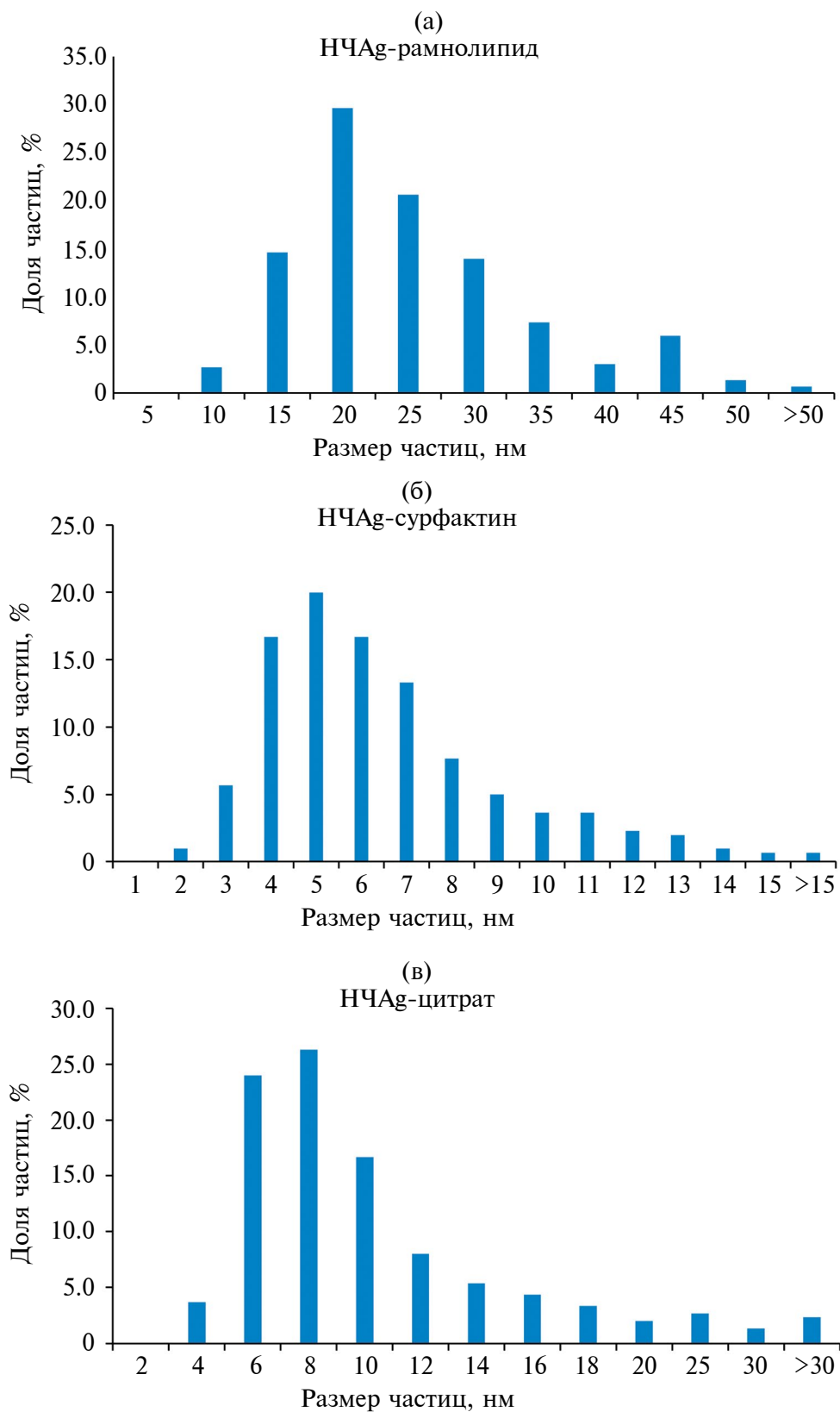


Рис. 5. Дисперсионный состав наночастиц серебра с различными стабилизаторами: НЧAg-сурфактин (а), НЧAg-рамнолипид (б), НЧAg-цитрат (в).

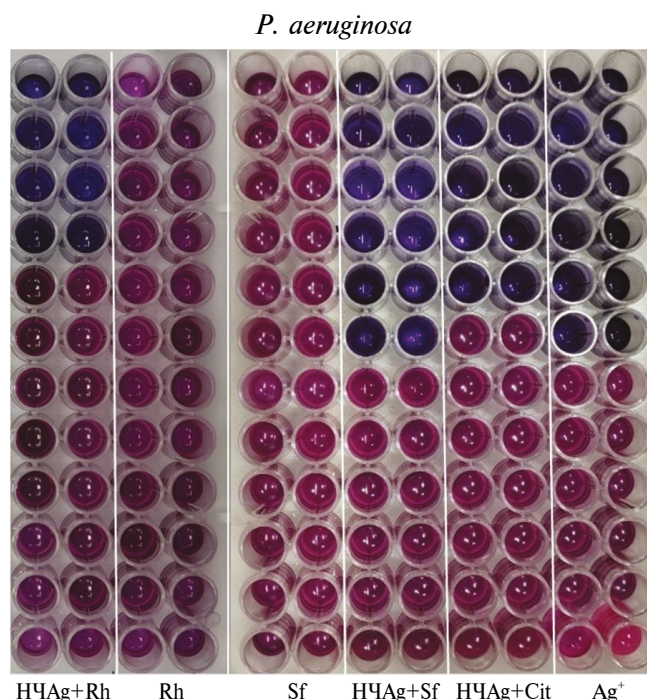


Рис. 6. Антибактериальная активность ионов и дисперсий НЧ серебра с различными стабилизаторами в отношении *P. aeruginosa* спустя 96 ч: Ag⁺ — раствор AgNO₃; НЧAg-Cit — НЧAg-цитрат; НЧAg-Sf — НЧAg-сурфактин; НЧAg-Rh — НЧAg-рамнолипид; Sf — сурфактин; Rh — рамнолипид.

ношении *P. aeruginosa* и *E. coli*, что, вероятно, также вносит существенный вклад в антибактериальную активность НЧAg-сурфактин при их воздействии на указанные виды бактерий. Однако в настоящей работе выделенный из *B. amiloliquefaciens* сурфактин не обладал собственной антибактериальной активностью в отношении исследованных штаммов бактерий в концентрациях достаточных для стабилизации НЧ серебра. При действии на *B. subtilis* НЧAg-сурфактин напротив проявили несколько меньшую эффективность по сравнению с дисперсиями стабилизированными рамнолипидом и цитратом. Наблюдаемая высокая эффективность дисперсий НЧ серебра стабилизированных липопептидами (продуцируемыми *B. amiloliquefaciens*) и рамнолипидами (продуцируемыми *P. fluorescens*) в отношении *P. aeruginosa* и *B. subtilis* соответственно, может быть объяснена естественной антагонистической связью между бактериями родов *Bacillus* и *Pseudomonas* [55].

* * *

В работе были получены водные дисперсии наночастиц серебра, стабилизированные биосурфактантами, продуцируемыми *B. amiloliquefaciens* и *P. fluorescens*, изучены их коллоидно-химические характеристики и антибактериальная активность в отношении грамположительных *B. subtilis* и грамотрицательных *P. aeruginosa*, *E. coli*. Показано, что дисперсии наночастиц серебра, стабилизированные сурфактином, выделенным

Таблица 3. Антибактериальная активность дисперсий НЧ серебра и AgNO₃

Вещество	МИК тест-штаммов, мг/л			
	Время, ч	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
Рамнолипид	24	>400	>400	>400
	96	>400	>400	>400
НЧAg-рамнолипид	24	6.25	50	6.25
	96	12.5	50	12.5
Сурфактин	24	>400	>400	>400
	96	>400	>400	>400
НЧAg-сурфактин	24	3.125	12.5	12.5
	96	6.25	12.5	12.5
НЧAg-цитрат	24	6.25	50	6.25
	96	12.5	50	12.5
AgNO ₃	24	3.125	6.25	12.5
	96	12.5	12.5	12.5

из *B. amyloliquefaciens*, обладали высокой антибактериальной активностью в отношении всех исследованных штаммов бактерий, превосходящей активность дисперсии НЧ серебра, стабилизированной биологически инертным цитратом и сопоставимой с действием раствора нитрата серебра. Так, минимальная ингибирующая концентрация дисперсии НЧА_g-сурфактин составила 3.125–12.5 мг/л для различных видов бактерий. Это объясняется высокой коллоидной стабильностью дисперсий НЧА_g-сурфактин, обеспечиваемой сообщением молекулами сурфактина высокого по модулю потенциала скользящего слоя вблизи поверхности НЧ $\zeta = -47.2$ мВ, а также, возможно, некоторой собственной антибактериальной активностью биосурфактанта. Кроме того, обнаружена выраженная антибактериальная активность дисперсий НЧ серебра, стабилизированных липопептидами, продуцируемыми *B. amyloliquefaciens*, в отношении *P. aeruginosa* и, напротив, более высокая эффективность в подавлении *B. subtilis* дисперсиями НЧ серебра, стабилизированными продуцируемыми *P. fluorescens* рамнолипидами. Данный эффект объясняется естественной антагонистической связью между бактериями родов *Bacillus* и *Pseudomonas* и потенциально может быть использован в будущем для подбора более эффективных схем лечения инфицированных ран, ожогов и воспалительных заболеваний слизистых оболочек при условии идентификации возбудителя заболевания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова, регистрационный номер 121031300092-6; программы государственной поддержки центров Национальной технологической инициативы на базе образовательных организаций высшего образования и научных организаций (Центр НТИ “Цифровое материаловедение: новые материалы и вещества” МГТУ им. Н.Э. Баумана); проекта государственного распределения, присужденного Национальному исследовательскому центру “Курчатовский институт”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Varela M.F., Stephen J., Lekshmi M., Ojha M., Wenzel N., Sanford L.M., Hernandez A.J. et al. // *Antibiotics*. 2021. V. 10. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050593>
2. Butler M.S., Gigante V., Sati H., Paulin S., Al-Sulaiman L., Rex J.H. et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2022. V. 66. <https://doi.org/10.1128/aac.01991-21>
3. Stachelek M., Zalewska M., Kawecka-Grochocka E., Sakowski T., Bagnicka E. // *Annals of Animal Science*. 2021. V. 21. P. 63–87. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0098>
4. Vila J., Moreno-Morales J., Ballesté-Delpierre C. // *Clin. Microb. Infect.* 2020. V. 26. P. 596–603. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.09.015>
5. Hamad A., Khashan K.S., Hadi A. // *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* 2020. V. 30. P. 4811–4828. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01744-x>
6. Waszczykowska A., Żyro D., Ochocki J., Jurewski P. // *Biomedicines*. 2021. V. 9. P. 210. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020210>
7. Sekito T., Sadahira T., Watanabe T., Maruyama Y., Watanabe T., Iwata T. et al. // *World Acad. Sci J.* 2022. V. 4. P. 1–6. <https://doi.org/10.3892/wasj.2022.141>
8. Özdal M., Gurkok S. // *ADMET DMPK*. 2022. V. 10. P. 115–129. <https://doi.org/10.5599/admet.1172>
9. Krutyakov Y., Klimov A., Violin B., Kuzmin V., Ryzhikh V., Gusev A. et al. // *Eur. J. Nanomed.* 2016. V. 8. P. 185–194. <https://doi.org/10.1515/ejnm-2016-0018>
10. Yin I.X., Zhang J., Zhao I.S., Mei M.L., Li Q., Chu C.H. // *Int. J. Nanomedicine*. 2020. V. 15. P. 2555–2562. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>
11. Dos Santos C.A., Seckler M.M., Ingle A.P., Gupta I., Galdiero S., Galdiero M. et al. // *J. Pharm. Sci.* 2014. V. 103. P. 1931–1944. <https://doi.org/10.1002/jps.24001>
12. Cambier S., Røgeberg M., Georgantzopoulou A., Serchi T., Karlsson C., Verhaegen S. et al. // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 610. P. 972–982. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.115>
13. Abramenko N., Semenova M., Khina A., Zhrebina P., Krutyakov Y., Krysanov E., Kustov L. // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. <https://doi.org/10.3390/nano12224003>
14. Khina A.G., Krutyakov Y.A. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2021. V. 57. P. 683–693. <https://doi.org/10.1134/S0003683821060053>
15. Salleh A., Naomi R., Utami N.D., Mohammad A.W., Mahmoudi E., Mustafa N., Fauzi M.B. // *Nanomaterials*. 2020. V. 10. <https://doi.org/10.3390/nano10081566>
16. Liao S.Y., Read D.C., Pugh W.J., Furr J.R., Russell A.D. // *Lett. Appl. Microbiol.* 1997. V. 25. P. 279–283. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1997.00219.x>

17. Gordon O., Vig Slenters T., Brunetto P.S., Villaruz A.E., Sturdevant D.E., Otto M. et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010. V. 54. P. 4208–4218.
<https://doi.org/10.1128/aac.01830-09>
18. Dibrov P., Dzioba J., Gosink K.K., Häse C.C. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002. V. 46. P. 2668–2670.
<https://doi.org/10.1128/aac.46.8.2668-2670.2002>
19. Yamanaka M., Hara K., Kudo J. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. V. 71. P. 7589–7593.
<https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7589-7593.2005>
20. Freeland J., Khadka P., Wang Y. // *Phys. Rev. E.* 2018. V. 98.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevE.98.062403>
21. Adeyemi O.S., Shittu E.O., Akpor O.B., Rotimi D., Batiha G.E. // *EXCLI J.* 2020. V. 19. P. 492.
<http://dx.doi.org/10.17179/excli2020-1244>
22. Cabiscol Catalā E., Tamarit Sumalla J., Ros Salvador J. // *Int. Microbiol.* 2000. V. 3. № 1. P. 3–8.
<https://doi.org/10.2436/IM.V3I1.9235>
23. McQuillan J.S., Shaw A.M. // *Nanotoxicology.* 2014. V. 8. P. 177–184.
<https://doi.org/10.3109/17435390.2013.870243>
24. Krutyakov Y.A., Khina A.G. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2022. V. 58. P. 493–506.
<https://doi.org/10.1134/S0003683822050106>
25. Krutyakov Y.A., Kudrinskiy A.A., Olenin A.Y., Lisichkin G.V. // *Russian Chemical Reviews.* 2008. V. 77. P. 233.
<https://doi.org/10.1070/RC2008v077n03ABEH003751>
26. Kvítek L., Panáček A., Soukupová J., Kolář M., Večeřová R., Prucek R. et al. // *J. Phys. Chem. C.* 2008. V. 112. P. 5825–5834.
<https://doi.org/10.1021/jp711616v>
27. Gibała A., Żeliszewska P., Gosiewski T., Krawczyk A., Duraczyńska D., Szaleniec J. et al. // *Biomolecules.* 2021. V. 11. P. 1481.
<https://doi.org/10.3390/biom11101481>
28. Vertelov G.K., Krutyakov Y.A., Efremenkova O. V., Olenin A.Y., Lisichkin G.V. // *Nanotechnology.* 2008. V. 19.
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/19/35/355707>
29. Markande A.R., Patel D., Varjani S.A. // *Bioresour. Technol.* 2021. V. 330.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124963>
30. Puyol McKenna P., Naughton P.J., Dooley J.S.G., Ternan N.G., Lemoine P., Banat I.M. // *Pharmaceuticals.* 2024. V. 17. P. 138.
<https://doi.org/10.3390/ph17010138>
31. Chrzanowski Ł., Ławniczak Ł., Czarczyk K. // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2012. V. 28. P. 401–419.
<https://doi.org/10.1007/s11274-011-0854-8>
32. Andrić S., Meyer T., Rigolet A., Prigent-Combarete C., Höfte M., Balleux G. et al. // *Microbiol. Spectr.* 2021. V. 9.
<https://doi.org/10.1128/spectrum.02038-21>
33. Kumar C.G., Mamidyala S.K., Das B., Sridhar B., Devi G.S., Karuna M.S. // *J. Microbiol. Biotechnol.* 2010. V. 20. P. 1061–1068.
<http://doi.org/10.4014/jmb.1001.01018>
34. Salazar-Bryam A.M., Yoshimura I., Santos L.P., Moura C.C., Santos C.C., Silva V.L., et al. // *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 2021. V. 205.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111883>
35. Reddy A.S., Chen C. Y., Baker S.C., Chen C. C., Jean J. S., Fan C. W. et al. // *Mater. Lett.* 2009. V. 63. P. 1227–1230.
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2009.02.028>
36. Rangarajan V., Dhanarajan G., Dey P., Chattopadhyaya D., Sen R. // *Appl. Nanosci.* 2018. V. 8. P. 1809–1821.
<https://doi.org/10.1007/s13204-018-0852-3>
37. Bezza F.A., Tichapondwa S.M., Chirwa E.M.N. // *J. Hazard Mater.* 2020. V. 393.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122319>
38. Joanna C., Marcin L., Ewa K., Grażyna P. A // *Ecotoxicology.* 2018. V. 27. P. 352–359.
<https://doi.org/10.1007/s10646-018-1899-3>
39. Elnosary M., Aboelmagd H., Sofy M.R., Sofy A. // *Egypt J. Chem.* 2023. V. 66. P. 209–223.
<http://doi.org/10.21608/ejchem.2022.159976.6894>
40. Vasileva-Tonkova E., Sotirova A., Galabova D. // *Curr. Microbiol.* 2011. V. 62. P. 427–433.
<http://doi.org/10.1007/s00284-010-9725-z>
41. EL-Amine Bendaha M., Mebrek S., Naimi M., Tifrit A., Belaouni H.A. // *Open Access Sci. Rep.* 2012. V. 2.
<http://doi.org/10.4172/scientificreports.544>
42. Schälchli H., Lamilla C., Rubilar O., Briceño G., Gallardo F., Durán N. et al. // *J. Environ. Chem. Eng.* 2023. V. 11.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111572>
43. Zhang F., Huo K., Song X., Quan Y., Wang S., Zhang Z. et al. // *Microb. Cell Fact.* 2020. V. 19. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1186/s12934-020-01485-z>
44. Sarker S.D., Nahar L., Kumarasamy Y. // *Methods.* 2007. V. 42. № 4. P. 321–324.
<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>
45. Volk H., Hendry P. Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals. / Ed. S. Y. Lee. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 2017. P. 1–16.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-31421-1_202-1
46. Gordadze G.N., Tikhomirov V.I. // *Pet. Chem.* 2007. V. 47. № 6. P. 389–398.
47. Seo J., Hoffmann W., Warnke S., Huang X., Gewinner S., Schöllkopf W. et al. // *Nat. Chem.* 2017. V. 9. P. 39–44.
<https://doi.org/10.1038/nchem.2615>
48. Janek T., Gudiña E.J., Połomska X., Biniarz P., Jama D., Rodrigues L.R. et al. // *Molecules.* 2021. V. 26.
<https://doi.org/10.3390/molecules26123488>

49. Deepika K.V., Raghuram M., Bramhachari P.V. // Afr. J. Microbiol. Res. 2017. V. 11. P. 218–231.
<http://doi.org/10.5897/AJMR2015.7881>
50. Nayariseri A., Singh P., Singh S.K. // Bioinformation. 2018. V. 14. № 6. P. 304–314.
<http://doi.org/10.6026/97320630014304>
51. Shah M.U.H., Sivapragasam M., Moniruzzamana M., Yusup S.B. // Procedia Engineering. 2016. V. 148. P. 494–500.
<http://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.06.538>
52. Dengle-Pulate V., Chandorkar P., Bhagwat S., Prabhune A.A. // J. Surfactants Deterg. 2014. V. 17. P. 543–552.
<https://doi.org/10.1007/s11743-013-1495-8>
53. Oluwaseun A.C., Kola O.J., Mishra P., Singh J.R., Singh A.K., Cameotra S.S., Micheal B.O. // Sustain. Chem. Pharm. 2017. V. 6. P. 26–36.
<https://doi.org/10.1016/j.scp.2017.07.001>
54. Huynh K.A., Chen K.L. // Environ. Sci. Technol. 2011. V. 45. P. 5564–5571.
<https://doi.org/10.1021/es200157h>
55. Lyng M., Kovács Á.T. // Trends Microbiol. 2023. V. 31. P. 845–857.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2023.02.003>

Synthesis and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Stabilized by Lipopeptides and Glycolipids Produced by *Bacillus amyloliquefaciens* and *Pseudomonas fluorescens*

A. G. Khina^{a, b, *}, A. S. Gordeev^c, L. R. Biktasheva^c, D. M. Gorbunov^a,
P. A. Kuryntseva^c, G. V. Lisichkin^a, and Yu. A. Krutyakov^{a, d, **}

^aLomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, Moscow, 119991 Russia

^bBauman Moscow State Technical University, Moscow, 105005 Russia

^cKazan Federal University, Institute of Ecology, Biotechnology and Nature Management, Kazan, 420008 Russia

^dNational Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, 123182 Russia

*e-mail: alex_khina@inbox.ru

**e-mail: nrcki@nrcki.ru

The colloidal chemical and antibacterial properties of aqueous dispersions of silver nanoparticles stabilized by surfactin and rhamnolipids isolated from *B. amyloliquefaciens* and *P. fluorescens* were studied. The isolated biosurfactants were identified by thin layer chromatography and Fourier transform infrared spectrometry. Using the methods of UV-visible spectrophotometry, transmission electron microscopy and dynamic light scattering, the colloidal chemical characteristics of the resulting dispersions were studied. Optimal ratios of the precursor substances were found in which the used biosurfactants perform as effective stabilizers of dispersions of silver nanoparticles and ensure their aggregative stability for at least two months. It was shown that the studied dispersions have antibacterial activity against gram-positive *B. subtilis* and gram-negative *P. aeruginosa* and *E. coli*. A comparative assessment of the antibacterial activity of silver nanoparticles stabilized by biosurfactants and traditional silver-containing preparations, such as a silver nitrate solution and a dispersion of silver nanoparticles stabilized by citrate, was carried out. Furthermore, dispersions stabilized with surfactin showed the highest antibacterial activity, comparable to the effect of a silver nitrate solution, which is associated with their good colloidal stability. In addition, high antibacterial activity of dispersions of silver nanoparticles stabilized with biosurfactants isolated from *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria against strains of the other genus was discovered. An explanation of the observed phenomenon is given and the prospects for its application in medicine are proposed.

Keywords: silver nanoparticles, biosurfactants, lipopeptides, glycolipids, surfactin, rhamnolipids, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration