

PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

ZELENÁ SYNTÉZA STRIEBORNÝCH NANOČASTÍC A ICH ANTIBAKTERIÁLNA AKTIVITA

ĽUDMILA BALÁŽOVÁ^a, ANNA ČIŽMÁROVÁ^a,
MATEJ BALÁŽ^b, NINA DANEU^c, ANETA
SALAYOVÁ^d, ZDENKA BEDLOVIČOVÁ^d
a ĽUDMILA TKÁČIKOVÁ^e

^a Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko, ^b Ústav geotechniky, Oddelenie mechanochémie, Slovenská akadémia vied, Watsonova 45, 040 01 Košice, Slovensko, ^c Advanced Materials Department, Jozef Štefan Institute, Jamova 39, 1000 Ljubljana, Slovinsko, ^d Katedra chémie, biochémie a biofyziky, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovensko, ^e Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovensko
ludmila.balazova@uvlf.sk

Došlo 9.6.21, prijaté 10.11.21.

Kľúčové slová: nanočastice, striebro, zelená syntéza, *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., *Sambucus nigra* L.

• <https://doi.org/10.54779/chl20220135>

Úvod

V posledných rokoch sa stále viac upriamuje pozornosť na využitie nanotechnológií a nanočastíc (NP) v rôznych oblastiach života. Syntéza NP môže prebiehať fyzikálnymi, chemickými a biologickými metódami^{1–3}. Avšak syntéza s využitím fyzikálnych a chemických metód predstavuje environmentálnu záťaž⁴. Ekologickejšia biologická syntéza NP je sprostredkovaná rôznymi biologickými činiteľmi (baktérie, mikromycéty, kvasinky, vírusy, riasy, rastliny a rastlinné extrakty^{5–7}). Využívajú sa rastliny a rastlinné extrakty, ktoré obsahujú zlúčeniny schopné redukcie, napríklad fenoly, flavonoidy, terpenoidy alebo sacharidy. Pri biosyntéze Ag NP dochádza k redukcii iónu Ag⁺ na elementárne striebro Ag⁰ obsahovými látkami rastlín⁸. Autori opísali viac ako sto rôznych zdrojov rastlinných extraktov na syntézu Ag NP^{8–10}. Nanočastice striebra patria medzi najznámejšie a najpoužívanejšie kovové nanočastice s antimikrobiálnymi účinkami⁵. Pôsobenie Ag NP je bez toxického vplyvu na ľudské bunky, pričom sú

schopné antimikrobiálneho účinku a inhibujú rast baktérií aj pri nízkych koncentráciách (v mg l⁻¹)^{11–13}.

V našej práci sme sa usilovali prispieť k oblasti zelenej syntézy nanočastíc prípravou strieborných nanočastíc biosyntetickou cestou použitím rastlinného extraktu *Thymus vulgare* L., *Thymus serpyllum* L., *Sambucus nigra* L. a AgNO₃. Syntéza bola monitorovaná použitím UV-Vis spektroskopie a pripravené Ag NP boli sledované transmisnou elektrónovou mikroskopiou. Praktické využitie pripravených Ag NP bolo zamerané na stanovenie ich antibakteriálnej aktivity.

Experimentálna časť

Chemikálie a rastlinný materiál

Pri syntéze bol použitý dusičnan strieborný (AgNO₃ (99,8 %), Mikrochem, Slovensko), listy čajoviny dúšky tymianovej (*Thymus vulgare* L.) (Juvamed, Slovensko), vňať čajoviny dúšky materinej (*Thymus serpyllum* L.) (Juvamed, Slovensko) a kvety čajoviny bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) (Juvamed, Slovensko).

Syntéza strieborných nanočastíc

Extrakty boli pripravené zmiešaním 600 mg sušenej drogy a 12 ml destilovanej vody, ktoré sa macerovali 2 hodiny pri laboratórnej teplote. Pri syntéze sme použili 2mM vodný roztok dusičnanu strieborného, ktorý sa zmiešal s extraktom rastlín v pomere 9:1. Syntéza prebiehala pri teplotách 50, 60, 70 a 90 °C využitím Peltierovho bloku. Vyhrievaný Peltierov blok je súčasťou UV-Vis spektrofotometra Cary 60 (Agilent Technologies, USA), takže bolo možné kontinuálne sledovať syntézu Ag NP.

Charakterizácia nanočastíc

UV-Vis spektroskopia

Proces syntézy Ag NP bol sledovaný *in situ* v minútových intervaloch využitím UV-Vis spektrofotometra Cary 60 (Agilent Technologies, USA) s Peltierovým blokom, pričom absorpčné spektrá boli zaznamenané v rozmedzí od 350 do 700 nm v kremennej kyvete (10 mm).

Transmisná elektrónová mikroskopia

Veľkosť, tvar a chemické zloženie Ag NP boli analyzované pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie (TEM) s použitím mikroskopu JEM 2100 (JEOL, Japonsko) pracujúcom pri napätí 200 kV. Súčasne bola použitá metóda SAED (selected area diffraction).

Antibakteriálna aktivita

Testovanie antibakteriálnych vlastností bolo uskutočnené platňovou agarovou difúznou metódou¹⁴. Aktivita bola testovaná na kmeňoch baktérií *Staphylococcus aureus* CCM 4223 (SA) a *Escherichia coli* CCM 3988 (EC). Destilovaná voda bola použitá ako negatívna kontrola a gentamicín-sulfát (Sigma-Aldrich, USA) s koncentráciou 10 mM ako pozitívna kontrola. Platne boli inkubované pri teplote 37 °C počas 24 hodín. Po inkubácii boli z fotografických záznamov vyhodnotené veľkosti inhibičných zón pomocou softvéru ImageJ.

Antibakteriálny účinok vzoriek bol prepočítaný podľa vzorca¹⁴:

$$\% \text{ RIZD} = \left[\frac{\text{IZDvzorka} - \text{IZDnegatívna kontrola}}{\text{IZDgentamicín}} \right] \times 100$$

kde RIZD vyjadruje % priemernej relatívnej inhibičnej zóny a IZD je priemer inhibičnej zóny v mm.

Výsledky a diskusia

V priebehu syntézy sme zaznamenali vizuálnu zmenu spôsobenú vznikajúcimi Ag NP. Nanočastice sfarbili roztok z počiatočnej hnedožltej farby až na tmavohnedú. V obr. 1 môžeme vidieť Vis spektrá pre syntézu Ag NP pre sledované teploty 50, 60, 70 resp. 90 °C. Nárast absorbcie prebieha pri všetkých vlnových dĺžkach, najmä však okolo 450 nm. Syntézu sme považovali za ukončenú, keď už nedochádzalo k nárastu absorbcie.

Biosyntézu s extraktom dúšky tymianovej sme monitorovali pri teplote 50 °C až 100 minút (obr. 1a). Reakčná rýchlosť bola najvyššia na začiatku v prvých minútach syntézy. Ani po 100 min nebola syntéza stále ukončená, aj keď jej priebeh sa spomaľoval približne od 60 min. Zvýšenie teploty na 60 °C rýchlosť syntézy výrazne urýchlilo (obr. 1b). Po 15 min už k výraznejšiemu nárastu absorbcie nedochádzalo, a preto je možné považovať syntézu Ag NP za ukončenú. V snahe ďalšieho urýchlania syntézy sme reakciu realizovali aj pri teplote 70 °C (obr. 1c). Reakcia mala veľmi rýchly priebeh a syntéza bola ukončená už po 7 min. Najvyhovujúcejšia teplota na syntézu Ag NP z extraktu dúšky tymianovej z hľadiska sledovania priebehu syntézy je 60 °C.

Syntéza Ag NP pri použití extraktu materej dúšky (*Thymus serpyllum* L.) prebiehala pri teplote 60 °C veľmi rýchlo (6 min) (obr. 1d). Syntézu Ag NP pri použití extraktu bazy čiernej pri 60 °C nebolo možné pozorovať, pretože v UV-Vis spektre ani po 30 min nedochádzalo k nárastu absorbcie v oblasti okolo 450 nm (obr. 1e). Zvýšením teploty na 90 °C sa absorbcia v želanej oblasti zvyšovala (obr. 1f). Syntéza bola ukončená v čase do 8 min, keď už viac nedochádzalo k nárastu absorbcie.

Rýchlosť syntézy Ag NP je rozdielna v závislosti od jednotlivých rastlinných extraktov a tiež je výrazne ovplyvnená teplotou.

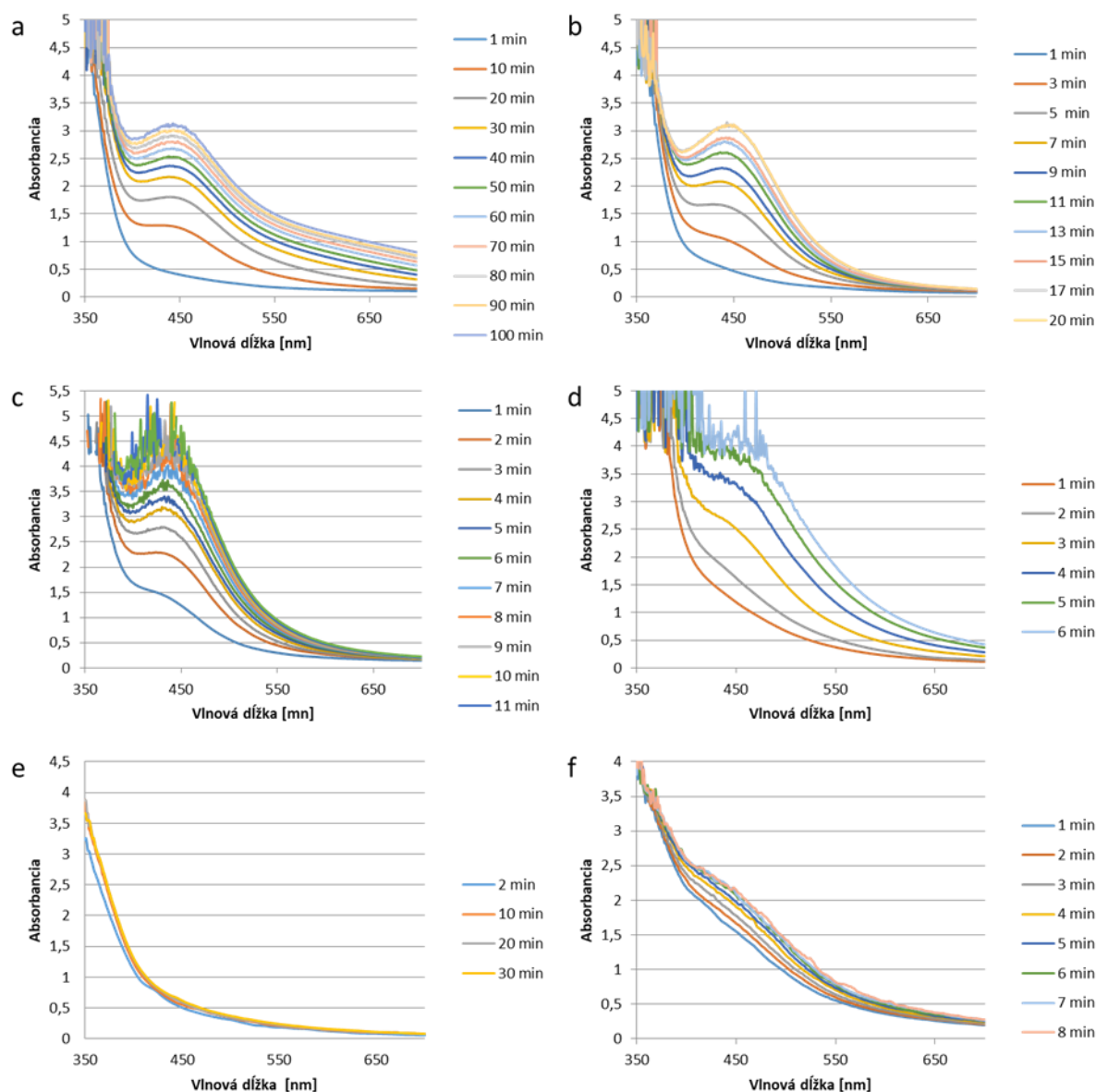
Počas biosyntézy Ag NP sme pozorovali farebné zmeny v závislosti od času, konkrétne sa farba menila z hnedožltej na tmavohnedú. Subjektívne vizuálne pozorovanie bolo podporené spektrofotometrickým meraním

absorbancie⁶. Spektrofotometrické meranie priebehu syntézy Ag NP pomocou *Thymus vulgaris* L. ukázalo, že teplota nemala vplyv na polohu absorbných maxím. Pri teplote 50 °C bolo maximum totožné ako pri teplote 70 °C, konkrétne 440 nm. Pri teplote 60 °C bol rozdiel len 2 nm, keďže maximum plazmového píku malo hodnotu 442 nm. Maximálna absorbcia u ďalších sledovaných vzoriek dosahovala hodnotu 469 nm pre *Thymus serpyllum* L. pri 60 °C a 466 nm pre *Sambucus nigra* L. Nanočastice striebra pripravené pomocou katódového naprašovania do glycerolu mali maximum absorbcie pri vlnovej dĺžke okolo 425 nm (cit.¹). Pri mechanochemickej syntéze s totožnou rastlinou ako v našej práci (*Thymus vulgaris* L.), boli identifikované dve maximá absorbcie: pri 452 nm, čo zodpovedá rastlinnej matici, a pri 454 nm pre Ag NP (cit.¹⁵). V prípade ďalších dvoch rastlín (*Thymus serpyllum* L. a *Sambucus nigra* L.) bolo identifikované iba jedno maximum prislúchajúce povrchovej plazmónovej rezonancii charakteristické pre Ag NP, s maximami absorbcie získanými pri 440 nm pre Ag: *Thymus serpyllum* L. a 436 nm pre Ag: *Sambucus nigra* L. (cit.¹⁵). V našej práci bol u všetkých sledovaných vzoriek identifikovaný len jeden vrchol absorbcie, ktorý zodpovedal Ag NP. Heidari a spol.¹⁶ uviedli absorbciu pri 440 nm pri použití rastliny *Thymus vulgaris* L. Erci a Torlak¹⁷ uvádzajú absorpčný vrchol pre Ag NP pripravené pomocou *Thymus serpyllum* L. pri 467 nm. Absorpčné maximum pre systém Ag: *Sambucus nigra* L. je v našom prípade o niečo vyššie na vlnovej dĺžke, ako uvádza Moldovan a spol.¹⁸ (407 nm).

Transmisná elektrónová mikroskopia predstavuje výborný nástroj na sledovanie morfológie a potvrdenie tvorby strieborných nanočastíc (obr. 2). Z TEM mikrográfov vzoriek pripravených pomocou dúšky tymianovej a bazy čiernej vyplýva, že v oboch prípadoch mali pripravené Ag NP veľkosť buď v rozmeroch desiatok nm (najčastejšie okolo 30 nm) alebo boli menšie ako 10 nm. V oboch prípadoch majú nanočastice najmä pyramidálny tvar, v prípade bazy sme však pozorovali aj trigonálne častice (napr. v ľavej dolnej časti obr. 2a). TEM analýza s vysokým rozlíšením (HRTEM) potvrdila prítomnosť aj veľmi malých častíc s rozmermi v jednotkách nm (viď obr. 2b a d).

Na potvrdenie prítomnosti nanočastíc striebra v elementárnej forme sme použili metódu difrakcie vybranej oblasti (SAED) (obr. 3). Koncentrické kružnice predstavujú jednotlivé kryštalografické roviny v kryštáloch elementárneho striebra. Pre najintenzívnejšiu kružnicu sme získali medzirovinnú vzdialenosť zhruba 0,24 nm, čo zodpovedá rovine 100 a je v súlade s kryštalografickou databázou. Vypočítaná medzirovinná vzdialenosť bola takmer úplne totožná u oboch pripravených Ag NP. Okrem signálov pre elementárne striebro sme iné kryštalografické fázy nepozorovali.

Distribúcia veľkosti získaných nanočastíc je v súlade s inými prácami, kde boli taktiež pozorované väčšie aj menšie častice (tzv. bimodálna distribúcia)^{6,9,19}. Obdobné výsledky boli aj v prípade mechanochemickej syntézy za využitia rovnakých rastlín¹⁵. V prípade SAED analýzy Ag nanočastíc pripravených pomocou tých istých rastlín



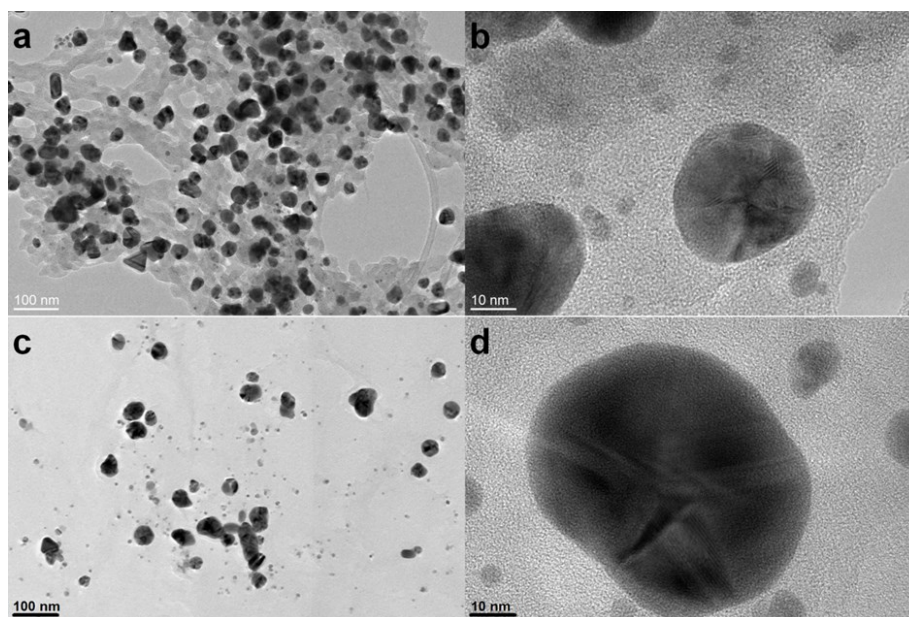
Obr. 1. Graf z Vis spektrofotometrie zobrazujúci priebeh zelenej syntézy Ag NP v závislosti od času/v jednotlivých časových intervaloch použitím extraktu *Thymus vulgaris* L. pri 50 °C (a), *Thymus vulgaris* L. pri 60 °C (b), *Thymus vulgaris* L. pri 70 °C (c), *Thymus serpyllum* L. pri 60 °C (d), *Sambucus nigra* L. pri 60 °C (e) a *Sambucus nigra* L. pri 90 °C (f). (Farebná verzia obrázku je dostupná na webových stránkach časopisu Chemické listy)

boli pri dúške tymianovej pozorované aj difrakcie pre chlorid strieborný (AgCl), avšak nie pri baze čiernej¹⁵. V našom prípade sa prítomnosť AgCl nepotvrdila ani v jednej vzorke.

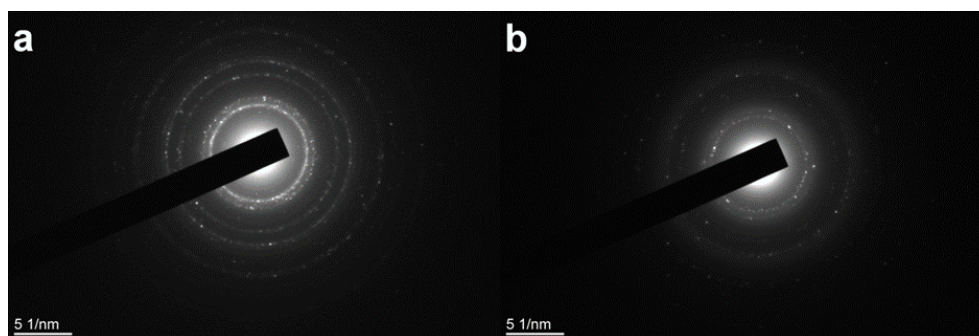
Na stanovenie antibakteriálnej aktivity Ag NP bola antibakteriálna aktivita testovaná voči *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* (tab. I). Pre odlišenie antimikrobiálneho účinku samotného extraktu a nanočastíc pripravených z extraktu bola sledovaná aj aktivita čistých extrak-

tov. Žiadny sledovaný vodný extrakt *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L. a *Sambucus nigra* L. nepôsobil antibakteriálne.

Cioch a spol.²² použili etanolové, metanolové a vodné extrakty z plodu bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) a ďalších rastlín. Výťažky vykazovali antimikrobiálnu aktivitu na analyzovaných bakteriálnych kultúrach²². Inhibičná aktivita bola pozorovaná v prípade extraktu z bazy čiernej voči *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*



Obr. 2. TEM mikrografy pre Ag NP pripravené pomocou vodných extraktov bazy čiernej (a, b) a dúšky tymianovej (c, d). Mikrografy pri menšom (a, c) a väčšom (b, d) priblížení



Obr. 3. Obrázky difrakcie z vybranej oblasti (SAED) pre Ag NP pripravené pomocou vodných extraktov bazy čiernej (a) a dúšky tymianovej (b)

a *Pseudomonas fluorescens*²³. Aj keď niektoré štúdie uvádzajú antimikrobiálny účinok *Sambucus nigra* L., *Thymus vulgaris* L. a *Thymus serpyllum* L., v našej práci sa nepotvrdil. Dôvodom môže byť nižšia koncentrácia, použité odlišné časti rastliny (plody bazy namiesto kvetov) a iné extrakčné činidlá.

Antibakteriálne účinky boli pozorované pre Ag NP pripravené rôznymi metódami. Najčastejší mechanizmus antibakteriálnej aktivity Ag nanomateriálov je založený na princípe povrchovej interakcie nanočastíc s bunkami baktérií alebo pôsobením Ag^+ iónov vznikajúcich počas rozpúšťania Ag^0 nanoštruktúr¹⁰. Zvyšovanie koncentrácie voľných radikálov v prostredí je ďalším potenciálnym mechanizmom narušovania mikrobiálnych bunkových membrán a vnútorných štruktúr²⁴. Mnohoraký mechanizmus antibakteriálneho účinku strieborných nanočastíc

eliminuje možnosť vzniku bakteriálnej rezistencie²⁵. Antibakteriálna aktivita môže byť závislá od koncentrácie striebra^{26,27}. Efekt Ag NP na pôdne mikrobiálne spoločenstvo bol dávkovo závislý²⁸. V prípade *Bacteroidetes* bol sledovaný stúpajúci dávkovo závislý efekt. Avšak pri rode *Firmicutes* bol antibakteriálny efekt opačný, t. j. so stúpajúcou koncentráciou klesal²⁸. Rozhodujúca je aj veľkosť danej nanočastice, pretože čím je nanočastica menšia, tým väčší je jej povrch, ktorý môže špecificky interagovať s cieľovými štruktúrami^{13,26}.

Naše výsledky antibakteriálnej aktivity ukazujú, že zo všetkých sledovaných vzoriek jedine nanočastice striebra pripravené pomocou extraktu bazy čiernej vykazovali antibakteriálnu aktivitu voči gram-pozitívnym a gram-negatívnym baktériám.

Tabuľka I
Výsledky antimikrobiálnej aktivity

	IZD ^a				RIZD ^a		RIZD [%] ^a		
	1	2	3	priemer	STDEV	priemer	STDEV	priemer	STDEV
<i>Staphylococcus aureus</i>									
<i>Thymus vulgaris</i> L.	n	n	n	n		n		n	
<i>Thymus serpyllum</i> L.	n	n	n	n		n		n	
<i>Sambucus nigra</i> L.	n	n	n	n		n		n	
Ag NP z <i>Thymus vulgaris</i> L.	n	n	n	n		n		n	
Ag NP z <i>Thymus serpyllum</i> L.	n	n	n	n		n		n	
Ag NP z <i>Sambucus nigra</i> L.	1	1,1	1	1	0,1	0,67	0,07	67	7
gentamicín	1,3	1,3	1,4	1,3	0,1				
<i>Escherichia coli</i>									
<i>Thymus vulgaris</i> L.	n	n	n	n		n		n	
<i>Thymus serpyllum</i> L.	n	n	n	n		n		n	
<i>Sambucus nigra</i> L.	n	n	n	n		n		n	
Ag NP z <i>Thymus vulgaris</i> L.	n	n	n	n		n		n	
Ag NP z <i>Thymus serpyllum</i> L.	n	n	n	n		n		n	
Ag NP z <i>Sambucus nigra</i> L.	1	1	0,9	0,9	0,1	0,62	0,09	62	9
gentamicín	1,2	1,2	1,0	1,2	0,1				

^a n – nezdetekovaná antibakteriálna aktivita, RIZD vyjadruje % priemernej relatívnej inhibičnej zóny, IZD je priemer inhibičnej zóny v mm, STDEV je standard deviation (smerodajná odchýlka)

Komerčne pripravený strieborný nanoprášok mal schopnosť redukovat' rast kolónií *E. coli* a *S. aureus*²⁹. Ag NP boli pripravené zelenou syntézou aj z extraktu listov *Thymus serpyllum* L. Proti baktériám *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* vykazovali silnejšiu antibakteriálnu aktivitu na gram pozitívne ako na gram negatívne baktérie³⁰. Aj v našom prípade bol pozorovaný silnejší účinok Ag NP pripravených pomocou bazy čiernej na gram-pozitívnu baktériu. Odlišný účinok môže byť na základe štruktúrálnej rozdielnosti v kompozícii bunkovej steny gram-negatívnych a gram-pozitívnych baktérií.

Záver

Biosyntetickou cestou sme pripravili Ag NP s použitím rastlinných extraktov. UV-Vis spektroskopia ukázala, že priebeh syntézy bol veľmi rýchly (do 8 min) pri extrakte bazy čiernej pri teplote 90 °C. Vznik Ag NP bol potvrdený pomocou TEM. Zistili sme, že v prípade dúšky tymianovej (*Thymus vulgare* L.) a bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.) mali pripravené Ag NP veľkosť v rozmeroch desiatok nm (najčastejšie okolo 30 nm) alebo boli menšie ako 10 nm. Antibakteriálnu aktivitu vykazovali Ag NP pripravené pomocou extraktu bazy čiernej voči gram pozitívnym a gram-negatívnym baktériám.

V našej práci sme sa pokúsili poukázať na možnosť syntézy NP použitím metódy, ktorá je časovo aj cenovo výhodná, ale hlavne nepredstavuje environmentálnu záťaž pre životné prostredie. Z našich výsledkov je zrejmé, že takto pripravené Ag NP majú široké uplatnenie a sú relevantným príspevkom k danej problematike biosyntézy nanočastíc.

Vypracované s finančnou podporou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky v rámci Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-18-0357) a Vedeckej grantovej agentúry VEGA (2/0044/18).

LITERATÚRA

1. Siegel J., Staszek M., Kaimlová M., Švorčík V.: Chem. Listy 114, 41 (2020).
2. Baláž M., Balážová L., Daneu N., Dutková E., Balážová M., Bujňáková Z., Shpotyuk Y.: Nanoscale Res. Lett. 12, 83 (2017).
3. Shalabayev Z. a 10 spoluautorov: ACS Sust. Chem. Eng. 7, 12897 (2019).
4. Baláž M., Daneu N., Balážová L., Dutková E., Tkáčiková E., Briančin J., Vargová M., Balážová M., Zorkovská A., Baláž P.: Adv. Powder Technol. 28, 3307 (2017).
5. Miškovská A., Čejková A.: Chem. Listy 115, 422 (2021).

6. Baláž M., Balážová E., Kováčová M., Daneu N., Salayová A., Bedlovičová Z., Tkáčiková E.: *Adv. Nano Res.* 7, 125 (2019).
 7. Kharissova O. V., Dias H. V. R., Kharisov B. I., Perez B. O., Perez V. M. J.: *Trends Biotechnol.* 31, 240 (2013).
 8. Salayová A., Bedlovičová Z., Daneu N., Bujňáková Z., Balážová E., Tkáčiková E., Baláž M.: *Nanomaterials* 11, 1005 (2021).
 9. Baláž M., Goga M., Hegedüs M., Daneu N., Kováčová M., Tkáčiková E., Balážová E., Bačkor M.: *ACS Sust. Chem. Eng.* 8, 13945 (2020).
 10. Rajeshkumar S., Bharath L. V.: *Chem. Biol. Interact.* 273, 219 (2017).
 11. Carlson C., Hussain S. M., Schrand A. M., Braydich-Stolle L. K., Hess K. L., Jones R. L., Schlager J. J.: *J. Phys. Chem. B* 112, 13608 (2008).
 12. AshaRani P. V., Mun G. L. K., Hande M. P., Valiyaveetil S.: *Acs Nano* 3, 279 (2009).
 13. Panáček A., Kvítek L., Pucek R., Kolář M., Večeřová R., Pizúrová N., Sharma V. K., Nevěčná T., Zbořil R.: *J. Phys. Chem. B* 110, 16248 (2006).
 14. Rojas J. J., Ochoa V. J., Ocampo S. A., Muñoz J. F.: *BMC Complementary Altern. Med.* 6, 2 (2006).
 15. Kováčová M., Daneu N., Tkáčiková E., Dutkova E., Lukáčová Bujňáková Z., Baláž M.: *Nanomaterials* 10, 2119 (2020).
 16. Heidari Z., Salehzadeh A., Shandiz S. A. S., Tajdoost S.: *3 Biotech* 8, art. ID 177 (2018).
 17. Erci F., Torlak E.: *Sakarya University Journal of Science* 23, 333 (2019).
 18. Moldovan B., David L., Achim M., Clichici S., Filip G. A.: *J. Mol. Liq.* 221, 271 (2016).
 19. Baláž M., Bedlovičová Z., Kováčová M., Salayová A., Balážová E., v knize: *Nanostructures for Antimicrobial and Antibiofilm Applications. Nanotechnology in the Life Sciences.* (Prasad R., Siddhardha B., Dyaivaiah M., ed.), kap. 7, str. 145. Springer, Cham 2020.
 20. Abu-Darwish M. S., Al-Ramamneh E. A. M., Kyslychenko V. S., Karpiuk U. V.: *Pak. J. Pharm. Sci.* 25, 239 (2012).
 21. Kerekes E. B., Vidacs A., Tako M., Petkovits T., Vagvolgyi C., Horvath G., Balazs V. L., Krisch J.: *Microorganisms* 7, 345 (2019).
 22. Cioch M., Satora P., Skotniczny M., Semik-Szczurak D., Tarko T.: *Pol. J. Microbiol.* 66, 463 (2017).
 23. Rodino S., Butu A., Butu M., Cornea P. C.: *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 10, 947 (2015).
 24. Michailidu J., Miškovská A.: *Chem. Listy* 114, 823 (2020).
 25. Kaimlová M., Švorčík V., Siegel J.: *Chem. Listy* 114, 395 (2020).
 26. Morones J. R., Elechiguerra J. L., Camacho A., Holt K., Kouri J. B., Ramírez J. T., Yacaman M. J.: *Nanotechnology* 16, 2346 (2005).
 27. Kim J. S. a 13 spoluautorov: *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* 3, 95 (2007).
 28. Macůrková A. a 11 spoluautorov: *Applied Soil Ecology* 168, 104165 (2021).
 29. Smetana A. B., Klabunde K. J., Marchin G. R., Sorensen C. M.: *Langmuir* 24, 7457 (2008).
 30. Jafari A., Pourakbar L., Farhadi K., Mohamadgolizad L., Goosta Y.: *Turk. J. Biol.* 39, 556 (2015).
- E. Balážová^a, A. Čižmárová^a, M. Baláž^b, N. Daneu^c, A. Salayová^d, Z. Bedlovičová^d, and E. Tkáčiková^e** (^a Department of Pharmaceutical Technology, Pharmacognosy and Botany, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia, ^b Department of Mechanochemistry, Institute of Geotechnics, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovakia, ^c Advanced Materials Department, Jozef Štefan Institute, Ljubljana, Slovinsko, ^d Department of Chemistry, Biochemistry and Biophysics, Institute of Pharmaceutical Chemistry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia, ^e Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia): **Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity**
- Silver nanoparticles (Ag NPs) could be prepared by effective and simple biosynthesis by using plant extracts. Water extracts from *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., and *Sambucus nigra* L. were used for a green synthesis of Ag NPs. Progress of the syntheses, the structure of Ag NPs and their antibacterial activity were followed by UV-Vis spectroscopy, TEM analysis and agar well diffusion method. UV-Vis analysis showed that the reactions performed with various plants extracts need different temperatures (60–90 °C) to synthesize Ag NPs. The NPs prepared were approx. 30 nm in size, but Ag NPs smaller than 10 nm were detected, too. Pure plant extracts without nanoparticles had no antibacterial activity. Of the Ag NPs-containing samples, only those prepared by using extract from *Sambucus nigra* L. showed antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Green synthesis is a promising way to prepare NPs with biological activities.
- Keywords: nanoparticles, silver, green synthesis, *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L., *Sambucus nigra* L.
- Balážová E., Čižmárová A., Baláž M., Daneu N., Salayová A., Bedlovičová Z., Tkáčiková E.: *Chem. Listy* 116, 135–140 (2022).
 - <https://doi.org/10.54779/chl20220135>
- Acknowledgement*
This work was supported by Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-18-0357 and Slovak Grant Agency VEGA (2/0044/18).