

THE USE OF MICROORGANISMS FOR BIOGENIC SYNTHESIS OF NANOPARTICLES

Y. Kharchenko, O. Skrotska

National University of Food Technologies

Key words:

Nanoparticles
Biogenic synthesis
Bacteria
Fungi
Yeast

Article history:

Received 15.03.2020
Received in revised form
30.03.2020
Accepted 12.04.2020

Corresponding author:

Y. Kharchenko
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

Nanoparticles of various metals are used in many industries — medicine, agriculture, food, chemical, petrochemical and electronics. There are different ways to obtain nanoparticles — chemical, physical and also biological methods which are popular today. It should be noted that obtaining nanoparticles of various elements and compounds using microorganisms is environmentally friendly and cost-effective. This method of synthesis eliminates the need of using toxic and expensive materials. Therefore, the aim of this review is to analyze modern scientific literature on the possibilities of using bacteria, fungi and yeast for the biogenic synthesis of nanoparticles. Special attention was paid to their properties and potential applications.

Microbial synthesis of nanoparticles connects nanotechnology and microbial biotechnology. The review provides data on the use of bacteria of the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Isosporicola*, *Acinetobacter*, *Halomonas*, *Streptomyces* etc. for the synthesis of gold, silver, palladium, copper, titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles. Intra- and extracellular synthesis of nanoparticles of filamentous fungi is discussed: ascomycetes *Neurospora crassa*, endophyte *Fusarium solani*, thermophiles *Thermoascus thermophilus*, saprotroph *Cladosporium cladosporioides* and others. Various methods for the synthesis of silver, selenium, iron, silicon dioxide, zinc oxide, cobalt ferrite nanoparticles using yeast of the genus *Saccharomyces*, *Magnusiomyces*, *Pichia* are described.

Various approaches of the authors to the parameters of the biogenic synthesis of nanoparticles using microorganisms are shown — different temperature parameters, pH change, process duration. The data on various ways of using the biological system for the synthesis of nanoparticles: culture fluid, acellular supernatant, or acellular extract are presented. Morphological characteristics and sizes of biogenic nanoparticles, possible mechanisms for their synthesis, as well as properties and applications are also indicated.

ВИКОРИСТАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ДЛЯ БІОГЕННОГО СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК

Є. В. Харченко, О. І. Скроцька

Національний університет харчових технологій

Наночастки різних металів використовують у багатьох галузях — медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості, хімічній та нафтохімічній промисловості, електроніці. Є різні способи отримання наночастинок — хімічні, фізичні, а також популярні на сьогодні біологічні методи. Слід наголосити, що отримання наночастинок різних елементів і сполук за допомогою мікроорганізмів є екологічно чистим та економічно вигідним, оскільки при такому способі синтезу відпадає необхідність у використанні токсичних і дорогих матеріалів. Тож метою цього огляду є аналіз сучасної наукової літератури щодо можливостей використання бактерій, грибів та дріжджів для біогенного синтезу наночастинок, їхніх властивостей і перспектив можливого застосування.

Мікробний синтез наночастинок пов'язує нанотехнології і мікробні біотехнології. В огляді наведені дані щодо застосування бактерій родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Isophtericola*, *Acinetobacter*, *Halomonas*, *Streptomyces* тощо для синтезу наночастинок золота, срібла, паладію, міді, діоксиду титану та оксиду цинку. Наведено інформацію про внутрішньо- та позаклітинний синтез наночастинок міцеліальними грибами: аскоміцетами *Neurospora crassa*, ендоефітами *Fusarium solani*, термофілами *Thermoascus thermophilus*, сапротрофами *Cladosporium cladosporioides* тощо. Описані різні способи синтезу наночастинок срібла, селену, заліза, діоксиду кремнію, оксиду цинку, фериту кобальту з використанням дріжджів роду *Saccharomyces*, *Magnusiomyces*, *Pichia*.

Показано різні підходи авторів до параметрів біогенного синтезу наночастинок з використанням мікроорганізмів (різні температурні параметри, зміна рН, тривалість процесу тощо). Наведено дані щодо різних способів використання біологічної системи для синтезу наночастинок — застосування культуральної рідини, безклітинного супернатанту або безклітинного екстракту. Визначено морфологічні характеристики та розміри біогенних наночастинок, можливі механізми їх синтезу, а також властивості та галузі застосування.

Ключові слова: наночастки, біогенний синтез, бактерії, гриби, дріжджі.

Постановка проблеми. Нині зростає інтерес дослідників до наночастинок різних елементів, оскільки вони виявляють властивості, які суттєво відрізняються від властивостей самої сполуки у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій. Це дає змогу використовувати їх у різних галузях — медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості, хімічній та нафтохімічній промисловості, електроніці. Наночастки використовують для створення електрохімічних сенсорів і біосенсорів, розробки ефективних сорбентів, антикорозійних покриттів, провідників, полімерних матеріалів, антимікробних засобів, дезінфікуючих розчинів тощо [1; 2].

Наночастки металів можна отримати фізичними і хімічними методами, проте вони мають ряд недоліків, зокрема використання агресивних, токсичних і

дороговартісних реагентів [3]. В останні роки активно розвивається нова галузь нанобіотехнологій, яка включає використання біологічних об'єктів в ряді біохімічних і біофізичних процесів. Що стосується біогенного синтезу наночастинок, то велика зацікавленість цим способом обумовлена його екологічністю й економічною ефективністю. Тому **метою цього огляду** є аналіз сучасної наукової літератури щодо можливостей використання бактерій, грибів і дріжджів для біосинтезу наночастинок, їхніх властивостей та перспектив можливого застосування.

Викладення основних результатів дослідження. *Наночастки та їх застосування.* Наночастки визначаються як тверді дисперсійні частинки з розмірами в діапазоні від 10 до 100 нм. У літературі зустрічаються дані щодо наночастинок різних металів — золота, срібла, міді, заліза, платини, паладію, цинку, титану тощо [4].

Наночастки золота (AuNPs) використовують в електроніці, де їх застосовують для отримання провідників з низьким опором. Такі провідники мають ряд переваг: більша гнучкість і більш низька температура плавлення. Також існує можливість використання наночастинок золота як протиракових агентів [5].

Досліджується можливість застосування наночастинок срібла (AgNPs) в антибактеріальній і протигрибковій терапії. Показано, що вони індукують синтез активних форм кисню, які викликають незворотні пошкодження бактерій, а також мають сильну спорідненість до зв'язування з ДНК або РНК, що перешкоджає процесу реплікації мікроорганізмів [6; 7].

Є повідомлення про можливість використання наночастинок міді (CuNPs) як антибактеріальних агентів. При одночасному використанні наночастинок міді і срібла спостерігається збільшення їхньої антибактеріальної активності, при цьому бактерицидний ефект залежить від розміру наночастинок [8].

Наночастки заліза (FeNPs) можуть бути використані для відновлення важких металів, таких як ртуть, нікель, кадмій, свинець і хром, органічних розчинників (трихлоретену), а також для деградації органічних барвників (бромфеноловий синій, метиленовий синій), які є одними з основних забруднювачів стічних вод текстильної промисловості. Також є дані про вплив наночастинок заліза на деградацію фосфор- та хлорорганічних інсектицидів [9].

Сучасна хімія широко використовує дорогі каталізатори на основі металів платинової групи. Наночастки платини (PtNPs) володіють високою каталітичною активністю, тому вони використовуються для каталізу та у технології паливних елементів. У паливних елементах платина використовується як катод і діє як кисневий редуктор. Платина може бути використана як анод, при цьому вона окислює різні види палива [10; 11].

Паладій є одним з універсальних каталізаторів, але хімічний синтез наночастинок паладію (PdNPs) здійснюють при високих температурах (160—200°C) і з використанням токсичних відновників, наприклад, боргідриду натрію. PdNPs використовують як каталізатор у реакції Судзукі-Міяури, яку застосовують в органічній хімії для отримання поліолефінів, стиролів, а також заміщених біфенілів. Крім того, паладій є каталізатором у реакції Мізорокі-Хека, яку використовують для промислового синтезу ряду важливих сполук (гербіцид просульфурон, протизапальний препарат напроксен, протиастматичний препарат сингуляр та ін.) [12].

Наночастки оксиду цинку (ZnONPs) проявляють досить сильну антимікробну активність, проте вона залежить від їхнього розміру і форми, що робить їх специфічними для практичного застосування. Бажаний розмір і форма ZnONPs можуть бути отримані за допомогою процесу оптимізації мікробного синтезу. Наночастки цинку використовують в електроніці, оптиці, біомедицині та сільському господарстві [13].

Нині досить широко застосовують наночастки діоксиду титану (TiO₂NPs) як добавки в сонцезахисні засоби, фарби, гуму, папір, цемент, зубну пасту, пластикову упаковку, біомедичну кераміку, біоматеріали для імплантатів. Також доведена їхня антимікробна активність [14].

Наночастки можна використовувати при створенні електрохімічних датчиків і біосенсорів. Так, розроблені наносенсори для виявлення токсинів водоростей, мікобактерій та ртуті у питній воді, наносенсори для гормональної регуляції, виявлення вірусів, визначення різних речовин у ґрунті і для зондування розподілу ауксинів та кисню [2].

Синтез наночастинок з використанням бактерій. Мікробний синтез наночастинок є підходом так званої «зеленої хімії», який пов'язує нанотехнології і мікробні біотехнології. Цей метод є екологічно чистим та альтернативним порівняно з хімічними і фізичними методами. Бактерії здатні відновлювати іони металів у металеві наночастки за участю ферментів та інших сполук, які ними продукуються. При використанні прокаріотів можливий як внутрішньо-, так і позаклітинний синтез наночастинок. При цьому внутрішньоклітинний синтез наночастинок вимагає додаткових етапів виділення, зокрема руйнування клітин фізичними чи хімічними методами для вивільнення синтезованих наночастинок [15].

Китайські вчені дослідили синтез наночастинок золота з використанням *Rhodospseudomonas capsulata*. Автори спостерігали позаклітинний синтез AuNPs і припустили, що саме білки безклітинного екстракту беруть участь у біоредукції і синтезі наночастинок золота. При цьому при більш низькій концентрації іонів золота формувались виключно сферичні AuNPs з розмірами від 10 до 20 нм, а при більш високій — нанопроволоки 50—60 нм із сітчастою структурою [16]. Johnston зі співавтор. показали можливість синтезу наночастинок золота бактеріями *Delftia acidovorans*, які були виділені з ґрунту. Ці мікроорганізми синтезують нерибосомний пептид делфтібактин, який відповідає за генерацію AuNPs [17].

У літературі наявна невелика кількість повідомлень про синтез бактеріями наночастинок паладію. Так, бактерії роду *Pseudomonas* sp., що були виділені із забрудненого солями важких металів ґрунту, здатні синтезувати каталітично активні PdNPs, які можуть здійснювати реакції дегалогенування та гідрування [18]. Також із забрудненого важкими металами ґрунту були виділені бактерії *Cupriavidus necator* ATCC 43291 і *Pseudomonas putida* ATCC 12633. Sobjerg із співавтор. показали можливість їх використання для біосинтезу наночастинок паладію. Автори підтвердили високу каталітичну активність біогенних PdNPs під час реакцій дегалогенування поліхлорованих діоксинів [12]. Wang із колегами із стічних вод гальванічного виробництва виділили грамнегативні бактерії *Citrobacter freundii* JH і показали їхню здатність до синтезу наночастинок паладію. Автори пояснюють цей механізм різними молекулярними реакціями у клітині, ключову роль у яких відіграють гідрогенази та NADH-дегідрогенази [19].

Показано можливість внутрішньоклітинного синтезу вискодисперсних наночасток срібла упродовж 24 год бактеріями *Bacillus licheniformis*, які були виділені із стічних вод [20]. Внутрішньоклітинний синтез AgNPs спостерігали у *Bacillus* sp., але тривалість синтезу становила 7 днів [21]. Shahverdi зі співавтор. для біосинтезу наночасток було запропоновано використовувати супернатант бактеріальної культури. При цьому тривалість синтезу AgNPs скоротилась до 5 хв [22]. Можливість позаклітинного синтезу наночасток срібла довели Das з колегами. Вони спостерігали синтез AgNPs розміром 42—92 нм у супернатанті *Bacillus* sp. при кімнатній температурі упродовж 24 год [23].

Також досліджено біогенний синтез наночасток срібла бактеріями, які є продуцентами поверхнево-активних речовин (ПАР). Так, Plaza зі співавторами дослідили синтез наночасток срібла *Bacillus subtilis* T-1, які продукують ліпопептиди. При цьому бактерії культивували на відходах пивоварного виробництва [24]. Нині є велика кількість публікацій про синтез ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* [25; 26]. Перше повідомлення про синтез AgNPs з використанням *A. calcoaceticus* LRVP54 вийшло у 2013 році. При цьому автори показали суттєвий синергізм дії біогенних наночасток срібла й антибіотиків стосовно антибіотикостійких штамів бактерій [27]. ПАР здатні синтезувати і бактерії роду *Rhodococcus* [28]. Otari з колегами дослідили синтез AgNPs клітинами *Rhodococcus* sp. NCIM 2891 і припустили, що саме клітинні ферментні системи відіграють головну роль у процесі біосинтезу наночасток [29].

Sintubin із співавтор. довели можливість синтезу наночасток срібла молочно-кислими бактеріями — *Lactobacillus* spp., *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium* та *Lactococcus garvieae*. Автори виявили двоетапний процес формування AgNPs. На першому етапі іони срібла накопичуються у клітинній стінці шляхом біосорбції, а потім відбувається їх подальше відновлення з утворенням металевих наночасток [30].

Позаклітинний синтез AgNPs ендofітними бактеріями *Isoptericola* sp. SYSU 333150 під дією сонячного світла дослідили Dong із колегами. При цьому тривалість синтезу склала 4 хв, а за відсутності сонячного світла тривалість реакції збільшилась у 45 разів. Синтезовані наночастки мали антибактеріальну активність щодо *Staphylococcus warneri* ATCC 27836. Автори встановили, що механізм антистафілококової дії полягав у здатності AgNPs руйнувати ДНК бактерій за рахунок взаємодії із сіркою та фосфором, які наявні у цій нуклеїновій кислоті [6].

Складним є синтез наночасток міді, оскільки мідь нестабільна у нанометровому діапазоні розмірів і досить швидко окислюється, утворюючи оксид міді. У 2013 р. запропоновано біологічний спосіб синтезу CuNPs з використанням *Morganella morganii* RP42. Автори пояснюють, що механізм такого синтезу полягає в тому, що *M. morganii* синтезують наночастки міді внутрішньоклітинно шляхом поглинання іонів міді і подальшого їх зв'язування з металічною редуктазою або іншим подібним білком. Це призводить до відновлення іону міді до металевого Cu(0), який виводиться з клітини і накопичується у культуральному середовищі [8]. Інші дослідники довели здатність *Morganella* sp. до позаклітинного синтезу наночасток срібла [31].

Taran зі співавтор. підтвердили можливість використання бактерій *Halomonas elongata* IBRC-M для позаклітинного синтезу наночасток оксиду цинку і діо-

ксиду титану. Слід наголосити, що автори не виявили антибактеріальної активності в отриманих TiO₂NPs, на відміну від ZnONPs, які показали сильну антимікробну активність щодо антибіотикостійких штамів *Escherichia coli* ATCC 25922 і *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Антибактеріальна активність наночасток цинку обумовлена пошкодженням клітинної стінки, що призводить до можливості проникнення ZnONPs у клітину, де вони активують продукцію активних форм кисню (гідроксидні і супероксидні аніони, перекис водню) [32].

Нещодавно вийшла публікація про синтез наночасток діоксиду титану *Streptomyces* sp. HC1. Досліджувані TiO₂NPs мали сферичну форму з розмірами 30—70 нм. Автори довели їхню антимікробну активність проти *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 35218, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 6275, а також здатність руйнувати біоплівку *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 [14].

У табл. 1. наведена узагальнена інформація щодо параметрів біосинтезу різних наночасток металів за допомогою бактерій.

Таблиця 1. Застосування бактерій для біосинтезу наночасток

Бактерії	Наночастки	Параметри біосинтезу	Характеристика наночасток	Джерело
1	2	3	4	5
<i>R. capsulata</i>	AuNPs	Безклітинний екстракт, 0,05 М тетрахлораурату водню 30°C, рН 6, 48 год	Мереживні наноструктури, 50—60 нм	[16]
<i>D. acidovorans</i>		Культуральна рідина, 100 мкМ хлориду золота, 30 хв	Октаедричні пластинки*	[17]
<i>Pseudomonas</i> sp.	PdNPs	Культуральна рідина, 0,25 мМ формиату натрію, 0,25—0,5 мМ тетрахлорпаладату натрію, 28°C, 12 год, анаеробні умови	Дисперсні, 4—20 нм	[18]
<i>C. freundii</i> JH		Культуральна рідина, 5 мМ формиату натрію, 10 мг/л тетрахлорпаладату натрію, 30°C, 120 об/хв, 10 год, анаеробні умови	Дисперсні нанокристали, 10 нм	[19]
<i>B. subtilis</i> T-1	AgNPs	Безклітинний супернатант, 1 мМ нітрату срібла, 21—25°C, 200 об/хв, 48 год	Сферичні, 13—19 нм	[24]
<i>Rhodococcus</i> sp. NCIM 2891		Культуральна рідина, 3 мМ нітрату срібла, 22°C, 130 об/хв, 18 год, без доступу світла	Сферичні, середній розмір 10 нм	[29]
<i>A. calcoaceticus</i> LRVP54		Безклітинний супернатант, 0,7 мМ нітрату срібла, 70°C, 24 год, статичні умови	Монодисперсні сферичні, 8—12 нм	[27]
<i>Isoptericola</i> sp.		Безклітинний супернатант, 0,002 М нітрату срібла, 22°C, дія сонячного світла 4 хв	Сферичні, 11—40 нм	[6]
<i>M. morgani</i> RP42	CuNPs	Культуральна рідина, 5 мМ сульфату міді, 37°C, 20 год	Квазісферичні, середній розмір 19 нм	[8]

1	2	3	4	5
<i>H. elongata</i> IBRC-M	TiO ₂ NPs	Безклітинний супернатант, 0,1 М метатитанової кислоти 37°C, 120 об/хв, 96 год	Сферичні, середній розмір 105 нм	[32]
	ZnONPs	Безклітинний супернатант, 0,01 М хлориду цинку 37°C, 120 об/хв, 96 год	Різної форми, середній розмір 18 нм	
<i>Streptomyces</i> sp. HC1	TiO ₂ NPs	Культуральна рідина, 0,025 М метатитанової кислоти, 60°C, 30 хв, pH 6,5	Сферичні, 30—70 нм	[14]

Примітка: * — дані щодо розміру не вказані.

Використання грибів для синтезу наночасток. На сьогодні досліджуються механізми синтезу наночасток з використанням різних видів грибів. Загальні ж принципи зводяться до того, що солі металів у розчині дисоціюють на відповідні іони, які навіть при відносно низьких концентраціях є токсичними для грибкових клітин. Тому клітини виділяють NADH-залежний фермент, який окислюється до NAD⁺ і нейтралізує іони шляхом відновлення. Потім відбувається формування наночасток і їх стабілізація [33].

Міцеліальні гриби здатні до внутрішньо- та позаклітинного синтезу широкого спектра металевих наночасток. Так, Bhainsa із співавтор. здійснили позаклітинний синтез наночастинок срібла з використанням *Aspergillus fumigatus*. При цьому час експозиції становив 10 хв, а розміри наночасток були в діапазоні 5—25 нм [34]. Крім того, підтверджено здатність *Trichoderma reesei* до позаклітинної продукції AgNPs упродовж 72 год, але наночастки були неоднорідні і мали розмір 5—50 нм [35]. Виявлено, що гриби *Coriolus versicolor* можуть здійснювати внутрішньо- і позаклітинний синтез наночасток срібла [36]. Lafta з колегами здійснили синтез AgNPs з використанням міцелію *Cladosporium cladosporioides*. Науковці виявили антимікробну дію біогенних наночасток срібла щодо грибів *Trichophyton rubrum* та *Trichophyton mentagrophytes*, які спричинюють оніхомікоз [7]. У 2013 р. з'явилось перше повідомлення про можливість використання термофільних грибів *Humicola* sp. для біосинтезу сферичних позаклітинних наночасток срібла [37].

Нещодавно вийшла публікація про можливість використання *Fusarium scirpi* для позаклітинного біосинтезу AgNPs. Отримані наночастки були квазісферичними з розмірами 2—20 нм. Автори встановили їхню антибактеріальну активність стосовно уропатогенних біоплівок *E. coli* [38].

Показано здатність термофільних грибів (*Rhizomucor pusillus* ATCC 42782, *Sporotrichum thermophile* ATCC 36347, *Thermoascus thermophilus* ATCC 26413, *Thermomyces lanuginosus* ATCC 46882) до синтезу наночасток золота. Авторами виявлено два етапи синтезу AuNPs цими грибами: перший — відновлення Au (III) до Au (0), другий — подальша стабілізація наночасток за допомогою стабілізуючих білків. При цьому автори не виявили специфічних стабілізуючих білків [39].

Є дані про позаклітинний синтез ендofітним штамом *Fusarium solani* ATLOY-8 наночасток золота розміром 40—45 нм. Такі AuNPs показали проти-

пухлинну активність щодо перещеплених клітин HeLa (рак шийки матки) та MCF-7 (рак молочної залози) [5]. Mukherjee зі співавтор. спостерігали синтез наночастинок золота з використанням *Verticillium* sp., при цьому AuNPs були локалізовані на поверхні міцелію [40].

Castro-Longoria з колегами виявили здатність аскоміцетних грибів *Neurospora crassa* до синтезу наночастинок платини. При внутрішньоклітинному синтезі спостерігали формування окремих PtNPs з розмірами 4—35 нм і сферичних наноагрегатів діаметром 20—110 нм; при позаклітинному результати аналогічні, але розміри наночастинок були у діапазоні 17-76 нм [10]. Позаклітинний синтез наночастинок платини виявили також і у *Fusarium oxysporum*. При цьому автори встановили, що зміна температури впливає на швидкість синтезу наночастинок, а незначна зміна рН може призводити до інгібування утворення PtNPs [11].

Позаклітинний синтез наночастинок міді ізольованими із ґрунту грибами *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium citrinum* і *Penicillium waksmanii* дослідили іранські дослідники. Синтез CuNPs здійснювали при температурі 28°C у діапазоні рН 5—9, використовуючи три концентрації сульфату міді: 1, 3 та 5 мМ. Всі вказані параметри впливали на розмір синтезованих наночастинок, але прямої кореляції до їх збільшення чи зменшення виявлено не було. Три вказані види пеніцилових грибів синтезували наночастки міді з розмірами від 80 до 295 нм залежно від досліджуваного параметра і виду *Penicillium* [41].

Виявлено здатність *Aspergillus niger* до позаклітинного синтезу наночастинок оксиду цинку, які показали антибактеріальну активність щодо *S. aureus* і *E. coli*. Автори довели можливість використання біогенних ZnONPs для очистки стічних вод [42]. В іншому повідомленні виявлено антиоксидантну, антимікробну (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*) і протиракову (HepG2, гепатокарцинома людини) активність ZnONPs, що були синтезовані з використанням *A. niger* [43].

Нижче наведена узагальнена інформація про біосинтез наночастинок з використанням грибів (табл. 2).

Таблиця 2. Біосинтез наночастинок міцеліальними грибами

Гриби	Наночастки	Параметри біосинтезу	Характеристика наночастинок	Джерело
1	2	3	4	5
<i>C. cladosporioides</i>	AgNPs	Вологий міцелій, 1 мМ нітрату срібла, 28°C, 200 об/хв, 72 год	Різна форма, 5—50 нм	[7]
<i>F. scirpi</i>		Безклітинний супернатант, 1 мМ нітрату срібла, 28°C, 180 об/хв, 168 год, без доступу світла	Квазісферичні, 2—20 нм	[38]
<i>F. solani</i> ATLOY-8	AuNPs	Безклітинний екстракт, рН 8,5; 1 мМ тетрахлораурату водню, 48 год, без доступу світла	Голкоподібні структури скупчені у конгломерати, 40—45 нм	[5]
<i>Verticillium</i> sp.		Промитий міцелій, 0,1 мМ тетрахлораурату водню, 28°C, 200 об/хв, 72 год	Розмір — близько 20 нм*	[40]

1	2	3	4	5
<i>N. crassa</i>	PtNPs	Промитий міцелій, 1 мМ гексахлорплатинової кислоти, 28°C, 200 об/хв, 24 год, без доступу світла	Сферичні, локалізовані у цитоплазмі, 20—110 нм	[10]
		Грибний екстракт (умови наведені вище)	Сферичні, 17—76 нм	
<i>F. oxysporum</i>		Промитий міцелій, 12 мМ гексахлорплатинової кислоти, 65°C, рН 5, 72 год, без доступу світла	Поліморфні, 10—100 нм	[11]
<i>P. aurantio-griseum</i>	CuNPs	Безклітинний супернатант, 3 мМ сульфату міді, рН 6 28°C, 120 об/хв, 24 год	Сферичні, 184 нм	[41]
<i>P. citrinum</i>			Сферичні, 160 нм	
<i>P. waksmanii</i>			Сферичні, 91 нм	
<i>A. niger</i>	ZnONPs	Безклітинний супернатант, 5 мМ нітрату цинку, 37°C, 200 об/хв, 48 год	Сферичні, 53—69 нм	[42]
		Безклітинний супернатант, 1 мМ ацетату цинку, постійне перемішування, 24 год	Паличкоподібні, скупчені у конгломерати, 80—130 нм	[43]

Примітка: * — дані щодо форми наночастинок не вказані.

Дріжджі як джерело отримання наночастинок. Крім таких мікроорганізмів, як бактерії і гриби, для біосинтезу наночастинок використовують і дріжджі. Вони містять мембранозв'язані оксидоредуктази і хінони, що відіграють ключову роль у синтезі наночастинок металів. При збільшенні рН всередині дріжджової клітини відбувається активація редуктаз, які відновлюють іони металів при одночасному синтезі наночастинок. Хінони дріжджової клітини характеризуються нуклеофільними та окисно-відновними властивостями і також беруть участь у відновленні іонів металів і перетворенні їх у наночастки [44].

Нещодавно було показано можливість використання дріжджового екстракту для біосинтезу наночастинок срібла. Автори не наводять дані щодо роду та виду використаних у дослідженнях дріжджів. Синтезовані AgNPs показали антимікробну дію щодо ампіцилін-стійких клітин *E. coli*. Науковці пояснюють антибактеріальний ефект взаємодією наночастинок срібла з пептидогліканом клітинної стінки *E. coli*, що призводить до зміни конфігурації пептидоглікану, збільшення проникності клітинної стінки й апоптозу клітини. При цьому синтезовані AgNPs показали низьку цитотоксичність на перещеплюваній культурі клітин Cos-7, що робить можливим їх подальше використання в медицині [45].

Mehrotra зі співавтор. отримали наночастки заліза, використовуючи для біосинтезу комерційний дріжджовий екстракт. Можливий механізм синтезу FeNPs автори пояснюють наявністю в екстракті ферментів та сірковмісних білків, які діють як відновники і перетворюють Fe^{3+} у Fe^0 . Після цього Fe^0 формує сферичні наночастки, які покривають сірковмісні білки, забезпечуючи таким чином їхню стабільність [9].

Вперше можливість використання біогенних наночастинок діоксиду кремнію (SiO_2 NPs) при видобутку нафти підтвердили Zamani зі співавтор. Їм вдалось синтезувати SiO_2 NPs з розмірами 6—25 нм, використовуючи дріжджі *Saccharomyces*

cervisiae PTCC 5269. Автори довели, що на відміну від хімічно синтезованих наночастинок діоксиду кремнію, біогенні SiO_2NPs здатні сильно знижувати міжфазовий натяг. При цьому ефективність видобутку нафти збільшується на 5—7% [46].

Внутрішньоклітинний синтез наночастинок селену (SeNPs) дріжджами *S. cerevisiae* виявили Faramarzi з колегами. Вони встановили, що найбільш стабільні і з мінімальними розмірами SeNPs (75 нм) формувались при додаванні у середовище культивування дріжджів мінімальної кількості (5 мкг) селеніту натрію. При збільшенні його кількості у 5 разів спостерігали синтез наночастинок, розмір яких був у 9 разів більшим, а їхня антиоксидантна активність зменшувалась на 43% [47].

Китайські вчені дослідили позаклітинний синтез SeNPs з використанням дріжджів *Magnusiomyces ingens* LH-F1. Для синтезу наночастинок використовували безклітинний дріжджовий екстракт. Автори припускають, що у синтезі наночастинок селену можуть брати участь гідроксильні, карбоксильні та амінні групи білків, що містяться у безклітинних дріжджових екстрактах. На поверхні SeNPs були виявлені два білки з молекулярною масою близько 16 і 21 кДа, які, можливо, відіграють роль природних стабілізаторів, в той час як незв'язані білки можуть діяти як відновники [48].

Можливість синтезу наночастинок фериту кобальту ($\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{NPs}$) з використанням дріжджів довели індійські вчені. На жаль, у дослідженні автори не вказали рід і вид дріжджів. Синтез $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{NPs}$ здійснювали з використанням нітрату заліза (III) та нітрату кобальту. Наночастки мали кубічну форму з розмірами кристалів 44 нм та проявляли феромагнітні властивості [49].

Chauhan зі співор. виявили здатність *Pichia fermentans* JA2 до позаклітинного синтезу наночастинок срібла й оксиду цинку. При цьому біосинтез AgNPs здійснювали за температури 28°C, а ZnONPs — 37°C. Біогенні наночастки срібла володіли антибактеріальною активністю щодо бактерій *E. coli*, *Salmonella* sp., *P. aeruginosa* та грибів *Fusarium* sp., *Scedosporium* sp. JAS1, *Aspergillus terreus* JAS1, в той час як наночастки оксиду срібла проявили антибактеріальну активність лише щодо *P. aeruginosa* та протигрибкову активність щодо *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp. JAS4, *A. terreus* JAS1 [50].

Узагальнена інформація щодо параметрів біосинтезу наночастинок вказаними вище дріжджами наведена у табл. 3.

Таблиця 3. Використання дріжджів для біосинтезу наночастинок

Дріжджі	Наночастки	Параметри біосинтезу	Характеристика наночастинок	Джерело
1	2	3	4	5
Дріжджі*	AgNPs	Безклітинний екстракт, нітрат срібла, рН 10, інтенсивне перемішування	Сферичні, 10—19 нм	[45]
Дріжджі*	FeNPs	Безклітинний екстракт, 1 мМ хлориду заліза, інтенсивне перемішування	Полікристалічні кільця, 2—10 нм	[9]
<i>S. cerevisiae</i> PTCC 5269	SiO_2NPs	Культуральна рідина, 0,1 М силікату натрію, 29°C, 96 год	Більшість сферичні, 40—70 нм	[46]

1	2	3	4	5
<i>S. cerevisiae</i>	SeNPs	Культуральна рідина, 5 мкг селеніту натрію, 96 год	Сферичні, 75 нм	[47]
<i>M. ingens</i> LH-F1		Безклітинний екстракт, 2 мМ оксиду селену, постійне перемішування, 30°C	Сферичні і квазісферичні, 70—90 нм	[48]
Дріжджі*	CoFe ₂ O ₄ NPs	Культуральна рідина, 0,2 М нітрату заліза (III), 0,15—0,25 М нітрату кобальту (II), постійне перемішування, 50°C, рН 6, 12 год	Кубічні, 44 нм	[49]
<i>P. fermentans</i> JA2	AgNPs	Безклітинний супернатант, 1 мМ нітрату срібла, 28°C, 200 об/хв, 96 год	Прямокутна форма, гладенькі	[50]
	ZnONPs	Безклітинний супернатант, 0,1 г оксиду цинку, 37°C, 200 об/хв, 24—48 год		

Примітка: * — рід і вид дріжджів не вказаний.

Висновки

В огляді описані різні варіанти використання бактерій, грибів і дріжджів для біосинтезу різних наночастинок. Їх отримання за допомогою мікроорганізмів є екологічно чистим та економічно вигідним, оскільки відпадає необхідність у використанні токсичних і дорогих матеріалів. Слід наголосити, що біогенний спосіб дає змогу отримувати наночастки з різною формою та розмірами, що досягається різними умовами, такими як зміна температури, рН, часу культивування, концентрації солей металів або інших елементів тощо. На відміну від наночастинок, отриманих хімічним чи фізичним методом, біогенні наночастки містять на поверхні біомолекули, що робить їх біосумісними і надає можливість використовувати у медицині та суміжних галузях.

Література

- Sharma D., Kanchi S., Bisetty K. Biogenic synthesis of nanoparticles: a review. *Arabian J. Chem.* 2019, 12 (8): 3576—3600. doi: 10.1016/j.arabjc.2015.11.002.
- Romero M. R., Picchio M. L. Biosensors based on nanomaterials: transducers and modified surfaces for diagnostics. In: Chandra P., Prakash R. (eds) *Nanobiomaterial Engineering*. 2020, Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-32-9840-82.
- Amini S. M. Preparation of antimicrobial metallic nanoparticles with bioactive compounds. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2019, 103: 109809. doi: 10.1016/j.msec.2019.109809.
- Thakkar K. N., Mhatre S. S., Parikh R. Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine*. 2010, 6 (2): 257—2562. doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002.
- Clarance P., Luvankar B., Sales J., Khusro A., Agastian P., Tack J. C., Al Khulaifi M. M., Al-Shwaiman H. A., Elgorban A. M., Syed A., Kim H. J. Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using endophytic fungi *Fusarium solani* and its in-vitro anticancer and biomedical applications. *Saudi J. Biol. Sci.* 2020, 27 (2): 706—712. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.12.026.
- Dong Z. Y., Narsing Rao M. P., Xiao M., Wang H. F., Hozzein W. N., Chen W., Li W. J. Antibacterial activity of silver nanoparticles against *Staphylococcus warneri* synthesized using endophytic bacteria by photo-irradiation. *Front. Microbiol.* 2017, 8: 1090. doi: 10.3389/fmicb.2017.01090.
- Lafta A. K., Ajah H. A., Dakhil O. A. A., Al-Wattar W. M. A. Biosynthesis of silver nanoparticles using biomass of *Cladosporium cladosporioides* and antifungal activity against pathogenic fungi causing onychomycosis. *Plant Archives*. 2019, 19 (2): 4391—4396.

8. Ramanathan R., Field M. R., O'Mullane A. P., Smooker P. M., Bhargava S. K., Bansal V. Aqueous phase synthesis of copper nanoparticles: a link between heavy metal resistance and nanoparticle synthesis ability in bacterial systems. *Nanoscale*. 2013, 5 (6): 2300—2306. doi: 10.1039/c2nr32887a.
9. Mehrotra N., Tripathi R. M., Zafar F., Singh M. P. Catalytic Degradation of dichlorvos using biosynthesized zero valent iron nanoparticles. *IEEE Trans. Nanobioscience*. 2017, 16 (4): 280—286. doi: 10.1109/tmb.2017.2700232.
10. Castro-Longoria E., Moreno-Velazquez S. D., Vilchis-Nestor A. R., Arenas-Berumen E., Avalos-Borja M. Production of platinum nanoparticles and nanoaggregates using *Neurospora crassa*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2012, 22 (7): 1000—1004. PubMed PMID: 22580320. doi: 10.4014/jmb.1110.10085.
11. Riddin T. L., Gericke M., Whiteley C. G. Analysis of the inter- and extracellular formation of platinum nanoparticles by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* using response surface methodology. *Nanotechnology*. 2006, 17 (14): 3482—3489. doi: 10.1088/0957-4484/17/14/021.
12. Sobjerg L. S., Gauthier D., Lindhardt A. T., Bunge M., Finster K., Meyer, R. L., Skrydstrup T. Bio-supported palladium nanoparticles as a catalyst for Suzuki-Miyaura and Mizoroki-Heck reactions. *Green Chem.* 2009, 11 (12): 2041—2046. doi:10.1039/b918351p.
13. Mohd Yusof H., Mohamad R., Zaidan U. H., Abdul Rahman N. A. Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2019, 10: 57. doi: 10.1186/s40104-019-0368-z.
14. Agceli G. K., Hammachi H., Kodal S. P., Cihangir N., Aksu Z. A novel approach to synthesize TiO₂ nanoparticles: biosynthesis by using *Streptomyces* sp. HC1. *J. Inorg. Organomet. Polym.* 2020. doi: 10.1007/s10904-020-01486-w.
15. Plaza G. A., Chojniak J., Banat I. M. Biosurfactant mediated biosynthesis of selected metallic nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15 (8): 13720—13737. doi: 10.3390/ijms150813720.
16. He S., Zhang Y., Guo Z., Gu N. Biological synthesis of gold nanowires using extract of *Rhodospseudomonas capsulata*. *Biotechnol. Prog.* 2008, 24 (2): 476—480. doi: 10.1021/bp0703174.
17. Johnston C. W., Wyatt M. A., Li X., Ibrahim A., Shuster J., Southam G., Magarvey N. A. Gold biomineralization by a metallophore from a gold-associated microbe. *Nat. Chem. Biol.* 2013, 9 (4): 241—243. doi: 10.1038/nchembio.1179.
18. Schluter M., Hentzel T., Suarez C., Koch M., Lorenz W. G., Bohm L., Doring R. A., Koinig K. A., Bunge M. Synthesis of novel palladium(0) nanocatalysts by microorganisms from heavy-metal-influenced high-alpine sites for dehalogenation of polychlorinated dioxins. *Chemosphere*. 2014, 117: 462—470. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.07.030.
19. Wang J., Bi S., Chen Y., Hu Y. Electron transfer involved in bio-Pd (0) synthesis by *Citrobacter freundii* at different growth phases. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020, 190: 110124. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.110124.
20. Kalimuthu K., Suresh Babu R., Venkataraman D., Bilal M., Gurunathan S. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids. Surf. B Biointerfaces*. 2008, 65 (1): 150—153. doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.02.018.
21. Pugazhenthiran N., Anandan S., Kathiravan G., Prakash N. K. U., Crawford S., Ashokkumar M. Microbial synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus* sp. *J. Nanopart. Res.* 2009, 11: 1811. doi: 10.1007/s11051-009-9621-2.
22. Shahverdi A. R., Minaeian S., Shahverdi H. R., Jamalifar H., Nohi A. A. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of *Enterobacteria*: a novel biological approach. *Proc. Biochem.* 2007, 42 (5): 919—923. doi: 10.1016/j.procbio.2007.02.005.
23. Das V. L., Thomas R., Varghese R. T., Soniya E. V., Mathew J., Radhakrishnan E. K. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area. *3 Biotech.* 2014, 4 (2): 121—126. doi: 10.1007/s13205-013-0130-8.
24. Plaza G. A., Chojniak J., Mendrek B., Trzebicka B., Kvitk L., Panacek A., Pucek R., Zboril R., Paraszkievicz K., Bernat P. Synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus subtilis* T-1 growing on agro-industrial wastes and producing biosurfactant. *IET Nanobiotechnol.* 2016, 10 (2): 62—68. doi: 10.1049/iet-nbt.2015.0016.

25. Пирог Т. П., Савенко И. В., Шевчук Т. А. Влияние Zn^{2+} на синтез поверхностноактивных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 с антимикробными и антиадгезивными свойствами. *Мікробіол. журн.* 2016, 78 (4): 48—58.
26. Pirog T. P., Lutsai D. A., Antonuk S. I., Elperin I. V. The properties of surfactants synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on refined and waste sunflower oil. *Biotechnologia Acta*. 2018, 11 (6): 82—91. doi: 10.15407/biotech11.06.082.
27. Singh R., Wagh P., Wadhvani S., Gaidhani S., Kumbhar A., Bellare J., Chopade B. A. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics. *Int. J. Nanomedicine*. 2013, 8: 4277—90. doi: 10.2147/IJN.S48913.
28. Pirog T. P., Geichenko B. S., Zvarych A. O. Post-harvest treatment of vegetables with exometabolites of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 to extend their shelf life. *Biotechnologia Acta*. 2019, 12 (6): 46—55. doi: 10.15407/biotech12.06.046.
29. Otari S. V., Patil R. M., Nadaf N. H., Ghosh S. J., Pawar S. H. Green biosynthesis of silver nanoparticles from an actinobacteria *Rhodococcus* sp. *Mater. Lett.* 2012, 72: 92—94. doi: 10.1016/j.matlet.2011.12.109.
30. Sintubin L., De Windt W., Dick J., Mast J., van der Ha D., Verstraete W., Boon N. Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009, 84 (4): 741—749. doi: 10.1007/s00253-009-2032-6.
31. Parikh R. Y., Singh S., Prasad B. L. V., Patole M. S., Sastry M., Shouche Y. S. Extracellular synthesis of crystalline silver nanoparticles and molecular evidence of silver resistance from *Morganellasp.*: towards understanding biochemical synthesis mechanism. *ChemBiochem*. 2008, 9 (9): 1415—1422. doi:10.1002/cbic.200700592.
32. Taran M., Rad M., Alavi M. Biosynthesis of TiO_2 and ZnO nanoparticles by *Halomonas elongata* IBRC-M 10214 in different conditions of medium. *Bioimpacts*. 2018, 8 (2): 81—89. doi: 10.15171/bi.2018.10.
33. Tripathi R. M., Chung S. J. Biogenic nanomaterials: synthesis, characterization, growth mechanism, and biomedical applications. *J. Microbiol. Methods*. 2019, 157: 65—80. doi: 10.1016/j.mimet.2018.12.008.
34. Bhainsa K. C., D'Souza S. F. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2006, 47 (2): 160—164. doi: 10.1016/j.colsurfb.2005.11.026.
35. Vahabi K., Mansoori G. A., Karimi S. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei* (a route for large-scale production of AgNPs). *Insciences J.* 2011, 1 (1): 65—79. doi:10.5640/insc.010165.
36. Sanghi R., Verma P. Biomimetic synthesis and characterisation of protein capped silver nanoparticles. *Bioresour. Technol.* 2009, 100 (1): 501—504. doi: 10.1016/j.biortech.2008.05.048.
37. Syed A., Saraswati S., Kundu G. C., Ahmad A. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Humicola* sp. and evaluation of their cytotoxicity using normal and cancer cell lines. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2013, 114: 144—147. doi: 10.1016/j.saa.2013.05.030.
38. Rodriguez-Serrano C., Guzman-Moreno J., Angeles-Chavez C., Rodriguez-Gonzalez V., Ortega-Sigala J. J., Ramirez-Santoyo R. M., Vidales-Rodriguez L. E. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Fusarium scirpi* and its potential as antimicrobial agent against uropathogenic *Escherichia coli* biofilms. *PLoS One*. 2020, 15 (3): e0230275. doi: 10.1371/journal.pone.0230275.
39. Molnar Z., Bodai V., Szakacs G., Erdelyi B., Fogarassy Z., Safran G., Varga T., Konya Z., Toth-Szeles E., Szucs R., Lagzi I. Green synthesis of gold nanoparticles by thermophilic filamentous fungi. *Sci. Rep.* 2018, 8 (1): 3943. doi: 10.1038/s41598-018-22112-3.
40. Mukherjee P., Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar S. R., Khan M. I., Ramani R., Parischa R., Ajayakumar P. V., Alam M., Sastry M., Kumar R. Bioreduction of $AuCl_4^-$ ions by the fungus, *Verticillium* sp. and surface trapping of the gold nanoparticles formed. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2001, 40 (19): 3585-3588.
41. Honary S., Barabadi H., Gharaeifathabad E., Naghibi F. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium citrinum* and *Penicillium waksmanii*. *Digest J. Nanomat. Biostruct.* 2012, 7 (3): 999—1005.

42. Kalpana V. N., Kataru B. A. S., Sravani N., Vigneshwari T., Panneerselvam A., Devi Rajeswari V. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using culture filtrates of *Aspergillus niger*: Antimicrobial textiles and dye degradation studies. *Open Nano*. 2018, 3: 48—55, doi: 10.1016/j.onano.2018.06.001.

43. Gao Y., Anand M. A. V., Ramachandran V., Karthikkumar V., Shalini V., Vijayalakshmi S., Ernest D. Biofabrication of zinc oxide nanoparticles from *Aspergillus niger*, their antioxidant, antimicrobial and anticancer activity. *J. Clust. Sci.* 2019, 30: 937—946, doi: 10.1007/s10876-019-01551-6.

44. Skalickova S., Baron M., Sochor J. Nanoparticles biosynthesized by yeast: a review of their application. *Kvasny Prum.* 2017, 63 (6): 290—292. doi: 10.18832/kp201727.

45. Shu M., He F., Li Z., Zhu X., Ma Y., Zhou Z., Yang Z., Gao F., Zeng M. Biosynthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using yeast extract as reducing and capping agents. *Nanoscale Res. Lett.* 2020, 15: 14, doi: 10.1186/s11671-019-3244-z.

46. Zamani H., Jafari A., Mousavi S. M., Darezereshki E. Biosynthesis of silica nanoparticle using *Saccharomyces cerevisiae* and its application on enhanced oil recovery. *J. Pet. Sci. Eng.* 2020. doi: 10.1016/j.petrol.2020.107002.

47. Faramarzi S., Anzabi Y., Jafarizadeh-Malmiri H. Nanobiotechnology approach in intracellular selenium nanoparticle synthesis using *Saccharomyces cerevisiae* — fabrication and characterization. *Arch. Microbiol.* 2020. doi: 10.1007/s00203-020-01831-0.

48. Lian S., Diko C. S., Yan Y., Li Z., Zhang H., Ma Q., Qu Y. Characterization of biogenic selenium nanoparticles derived from cell-free extracts of a novel yeast *Magnusiomyces ingens*. *3 Biotech.* 2019, 9 (6): 221. doi: 10.1007/s13205-019-1748-y.

49. Vignesh H., Vishnu V., Balakumar P., Raguram T., Rajni K. S. Structural and magnetic properties of cobalt ferrite (CoFe₂O₄) nanoparticles by sol-gel technique using yeast. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering.* 2019, 577. doi:10.1088/1757-899X/577/1/012092.

50. Chauhan R., Reddy A., Abraham J. Biosynthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using *Pichia fermentans* JA2 and their antimicrobial property. *Appl. Nanosci.* 2015, 5: 63—71. doi: 10.1007/s13204-014-0292-7.