

SILVER AND GOLD NANOPARTICLES: PRACTICAL APPLICATION, BIOSYNTHESIS USING YEAST, BIOACTIVITY

O. Skrotska, Y. Laziuka, Y. Kharchenko
National University of Food Technologies

Key words:

Silver nanoparticles
Gold nanoparticles
Biosynthesis
Yeast
Antimicrobial activity
Anticancer activity

Article history:

Received 25.01.2022
Received in revised form
07.02.2022
Accepted 17.02.2022

Corresponding author:

O. Skrotska
E-mail:
skrotska@ukr.net

ABSTRACT

There are different methods for the synthesis of silver and gold nanoparticles: chemical and physical methods, as well as biogenic synthesis. Due to a number of disadvantages which are inherent in the chemical and physical synthesis of nanoparticles — the use of toxic and expensive reagents, high synthesis temperature or pressure, negative impact on the environment, so the promising method is the biological synthesis of nanoparticles. When choosing a model for the biosynthesis of silver and gold nanoparticles, it is necessary to take into account its advantages and disadvantages. Among the advantages of using yeast is that, unlike most bacteria, they are easier to work with because they do not require specific biosecurity measures.

The article provides information on the use of biomass, cell-free aqueous extract, culture fluid or its supernatant for the biosynthesis of silver and gold nanoparticles. Yeasts of the genera *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Magnusiomyces*, *Phaffia*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Metschnikowia*, *Meyerozyma* were used. It is shown due to which compounds the bioreduction and stabilization of gold and silver ions can occur: amine, amide and hydroxyl groups of proteins, NADH, amino acids, carbohydrates and sugars, melanin, enzymes, vitamins.

Silver and gold nanoparticles exhibit antimicrobial activity, they are effective against antibiotic-resistant microorganisms. The presented material provides data on the antibacterial and antifungal effects of these nanoparticles against pathogens of intestinal infections, shigellosis, pneumonia, dermatitis, candidiasis, fungal diseases, and others. Scientific sources where the information about mechanisms of the antimicrobial action of silver and gold nanoparticles was given were also analyzed.

Nowadays, the antitumor effect of gold and silver nanoparticles was established. Thus, their anticancer effect was proven on models of carcinoma of the breast, stomach, lungs, placenta, human choriocarcinoma. The antitumor effect of nanoparticles is explained by the activation of the caspase enzyme, which triggers a cascade of apoptosis-related reactions. Another explanation for the anti-cancer effect is an increase in reactive oxygen species inside tumor cells. At the same time, nanoparticles do not have toxic effect on normal human cells.

DOI: 10.24263/2225-2924-2022-28-1-4

НАНОЧАСТКИ СРІБЛА ТА ЗОЛОТА: ПРАКТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ, БІОСИНТЕЗ З ВИКОРИСТАННЯМ ДРІЖДЖІВ, БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

О. І. Скроцька, Ю. В. Лазюка, Є. В. Харченко

Національний університет харчових технологій

Існують різні способи синтезу наночастинок срібла і золота: хімічні та фізичні методи, а також біогенний синтез. Через ряд недоліків, які притаманні хімічному та фізичному синтезу наночастинок — використання токсичних і дорогих вартісних реагентів, висока температура синтезу або тиск, негативний вплив на довкілля, перспективним є саме біологічний синтез вказаних наночастинок. При виборі об'єкта для біосинтезу наночастинок срібла і золота необхідно врахувати його переваги та недоліки. Серед переваг використання дріжджів те, що вони, на відміну від більшості бактерій, більш прості й безпечні в роботі, адже не потребують специфічних заходів біобезпеки.

У статті наведено інформацію щодо використання біомаси, безклітинного водного екстракту, культуральної рідини або її супернатанту для біосинтезу наночастинок срібла і золота. При цьому використовували дріжджі родів *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Magnusiomyces*, *Phaffia*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Metschnikowia*, *Meurozyma*. Показано, за рахунок яких сполук може відбуватись біовідновлення іонів золота та срібла та їх стабілізація: амінні, амідні та гідроксильні групи білків, НАДН, амінокислоти, вуглеводи і цукри, меланін, ферменти, вітаміни.

Наночастки срібла та золота проявляють антимікробну активність, вони є дієвими проти антибіотикорезистентних мікроорганізмів. У представленому матеріалі наведені дані щодо антибактеріальної та протигрибкової дії вказаних наночастинок щодо збудників кишкових інфекцій, шигельозу, пневмонії, дерматитів, кандидозів, грибкових захворювань тощо. Також проаналізовано наукові джерела, в яких автори досліджують механізми антимікробної дії наночастинок срібла та золота.

На сьогодні встановлено протипухлинну дію наночастинок золота та срібла. Так, доведено їх антиракову дію на моделях карциноми молочної залози, шлунку, легень, хоріокарциноми плаценти людини. Протипухлинну дію наночастинок пояснюють активацією ферменту каспази, який запускає каскад реакцій, пов'язаних з апоптозом. Іншим поясненням протиракової дії є збільшення активних форм кисню всередині пухлинних клітин. При цьому на нормальні клітини людини наночастки не чинять токсичної дії.

Ключові слова: наночастки срібла, наночастки золота, біосинтез, дріжджі, антимікробна дія, протиракова активність.

Постановка проблеми. У наш час нанотехнології знайшли своє застосування в таких галузях промисловості, як харчова, хімічна, косметична, енергетична, фармацевтична, медична тощо. Існує безліч методів синтезу наночастинок, які можна поділити на фізико-хімічні та біологічні. Досить поширений хімічний синтез, проте біосинтез є більш перспективним через ряд переваг. Так, хімічний

метод передбачає здійснення реакцій синтезу під вакуумом або в атмосфері інертного газу, що робить виробництво наночасток досить вартісним. Синтезовані хімічним способом наночастки схильні до агрегації, а отримані біологічними методами є стабільними впродовж декількох місяців. Також слід зазначити, що при біологічному синтезі наночасток використовують природні реагенти, що робить виробництво безпечним для навколишнього середовища і людини.

У 2020 р. ми опублікували огляд (Харченко & Скороцька, 2020), у якому узагальнили дані літератури щодо можливостей використання бактерій, грибів і дріжджів для біосинтезу різних наночасток (золота, срібла, міді, заліза, платини, паладію, оксиду цинку, діоксиду титану), їх властивостей і перспектив можливого застосування. Також ми показали різні підходи авторів до параметрів біогенного синтезу наночасток з використанням мікроорганізмів і різні способи використання біологічної системи для синтезу наночасток.

Вибір об'єкта для біосинтезу наночасток має свої переваги та недоліки. Недоліком використання рослин є великі площі для їх вирощування, тривалість росту, витрати на збір рослин та екстракцію біомолекул, що беруть участь у синтезі наночасток (Castillo-Henriquez та ін., 2020). При використанні міцеліальних грибів недоліком є тривалий час їх культивування (Bahrulolum та ін., 2021). Використання бактерій, порівняно з рослинами та грибами, має ряд переваг, проте слід зазначити, що бактерії — це прокаріоти, тому продукти їх метаболізму матимуть меншу біосумісність, оскільки в них, якщо порівняти з еукаріотичними моделями, відсутні системи кепування та поліаденілювання, що захищають біомолекули і наночастки від деградації й утворення токсичних сполук в організмі (Liu та ін., 2021). Серед переваг використання дріжджів, порівняно з бактеріями, є те, що дріжджі, на відміну від більшості бактерій, більш прості й безпечні в роботі, тому що не потребують специфічних заходів біобезпеки (Grasso, Zane & Dragone, 2020).

Тому метою пропонованого огляду є аналіз наукової літератури щодо можливостей використання дріжджів для біосинтезу наночасток срібла і золота, можливі механізми цього синтезу, а також біологічні властивості біогенних наночасток, що в перспективі дасть змогу використовувати їх в антимікробній і протираковій терапії.

Викладення основних результатів дослідження. Практичне застосування. Наночастки золота (AuNPs) і срібла (AgNPs) використовують у різних галузях — медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості, хімічній і нафтохімічній промисловості, електроніці. При цьому наночастки цих металів, отримані з використанням дріжджів, не містять токсичних речовин, які використовуються при їх хімічному синтезі. Саме тому біогенні наночастки мають дуже широкий спектр застосування.

AuNPs використовують у біомедицині як сполуки, що підвищують контрастність при проведенні оптичної когерентної, а також фотоакустичної томографії (Agnihotri, Joshi, Kumar, Zinjarde & Kulkarni, 2009). Їх застосовують як катализатори у процесі конверсії 4-нітрофенолу (токсична сполука, яка міститься у стічних промислових водах) у 4-амінофенол (важливий проміжний продукт для виробництва знеболювальних і жарознижувальних препаратів) (Chang & Chen, 2009). Золоті наночастки є ефективними фототермічними перетворювачами, які при дії на ракові клітини спричиняють їх гіпертермію, забезпечуючи таким чином терапевтичний ефект (Skrabalak, Chen, Sun, Lu & Au, 2008).

AgNPs мають досить широке застосування: як носії для адресної доставки ліків, наприклад, протипухлинних сполук; антигени та препарати генної терапії; у складі біосенсорів для виявлення білків, імуноглобулінів і нуклеїнових кислот; у складі стоматологічних матеріалів і косметичних засобів; як покриття медичних виробів із нержавіючої сталі. Також AgNPs застосовуються у молекулярній діагностиці, каталізі, електроніці, оптиці, очистці води та протипухлинній терапії (Jalal та ін., 2018; Salvadori, Monezi, Mehnert & Correa, 2019; Shu та ін., 2020). Відомо, що наночастки срібла використовують як протимікробні засоби, оскільки AgNPs показали суттєву антимікробну активність щодо грибів і вірусів, а також антибіотикорезистентних штамів бактерій. При цьому наночастки срібла мають низьку цитотоксичність щодо нормальних клітин тварин і людини (Shu та ін., 2020).

Біосинтез наночастинок золота і срібла з використанням дріжджів. Синтез AuNPs за допомогою дріжджів (табл. 1) можливий при використанні безклітинного водного дріжджового екстракту (Ronavari, Igaz & Gopisetty, 2018), супернатанту (Yang та ін., 2017) та безпосередньо самих клітин дріжджів (Zhang та ін., 2016). Як попередник біосинтезу використовують тетрахлорауронову кислоту (HAuCl₄) в концентраціях від 0,6 до 100 мМ (Mourato, Gadanho & Lino, 2011; Kumar, Karthik, Kumar & Roa, 2011; Nair, Sambre, Joshi & Bankar, 2013; Qu та ін., 2018; Ronavari, Igaz & Gopisetty, 2018). Процес біосинтезу наночастинок золота відбувається переважно при 30°C (Mishra, Tripathy & Yun, 2011; Yang та ін., 2017) упродовж різного часу витримки. Він може проходити як у статичних умовах, так і при перемішуванні (Zhang та ін., 2016; Qu та ін., 2018; Ronavari, Igaz & Gopisetty, 2018). У результаті біосинтезу формуються наночастки різноманітної форми та розмірів (Mourato, Gadanho & Lino, 2011; Nair, Sambre, Joshi & Bankar, 2013; Yang та ін., 2017). Цікавим є те, що в публікаціях 2009—2017 рр. для біосинтезу AuNPs використовували переважно морські дріжджі (Agnihotri, Joshi, Kumar, Zinjarde & Kulkarni, 2009; Nair, Sambre, Joshi & Bankar, 2013; Zhang та ін., 2016; Qu та ін., 2018).

Таблиця 1. Біосинтез наночастинок золота за допомогою дріжджів

Дріжджі	Умови біосинтезу	Розміри AuNPs, нм	Джерело
1	2	3	4
<i>Біомаса дріжджів</i>			
<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM 3589	1 мМ HAuCl ₄ , 30°C, 120 год, 130 об/хв	9—27	Pimprikar, Joshi, Kumar, Zinjarde & Kulkarni, 2009
<i>Magnusiomyces</i> <i>ingens</i> LH-F1	1 мМ HAuCl ₄ , 30°C, 24 год, перемішування	137	Zhang та ін., 2016
<i>Безклітинний водний екстракт</i>			
<i>Phaffia rhodozyma</i> ATCC 24203	100 мМ HAuCl ₄ , 22°C, 24 год, pH 6,7, перемішування	4—7	Ronavari, Igaz & Gopisetty, 2018
<i>Magnusiomyces</i> <i>ingens</i> LH-F1	2,5 мМ HAuCl ₄ , 30°C, 48 год, перемішування	20—30	Qu та ін., 2018
Екстермофільні дріжджі	0,6 мМ HAuCl ₄ , 24 год	30—100	Mourato, Gadanho & Lino, 2011

1	2	3	4
<i>Супернатант культуральної рідини</i>			
Сухі хлібопекарські дріжджі	2,5 мМ HАuCl ₄ , 30°С, 5 год	200— 1300×15— 18	Yang та ін., 2017
<i>Candida guilliermondii</i> КССМ 11960	1 мМ HАuCl ₄ , 30°С, 56 год, 200 об/хв	50—70	Mishra, Tripathy & Yun, 2011

Щодо механізмів біосинтезу наночастинок золота з використанням дріжджів, то на сьогодні є кілька гіпотез, які пояснюють можливі шляхи цього процесу. Так, показано можливість використання безклітинного водного екстракту морських дріжджів *Magnusiomyces ingens* LH-F1 для отримання AuNPs. При цьому формується наночастика сферичної форми. Механізм такого біосинтезу полягає в тому, що іони золота (Au³⁺) спочатку зв'язуються з поверхнею білків, які присутні у водному екстракті дріжджів, а потім відновлюються до Au⁰ та зв'язуються з карбоксильними та амінінними групами білків. Також деякі амініні та гідроксильні групи білків можуть взаємодіяти з AuNPs, що запобігає агрегації наночастинок (Qu та ін., 2018).

Було показано, що деякі білки, що містять амідні та гідроксильні групи, можуть адсорбуватися на поверхні AuNPs, спричиняючи зменшення концентрації Au³⁺ та стабілізації AuNPs (Zhang та ін., 2016). Встановлено, що саме НАДН бере участь у відновленні Au³⁺ до Au⁰, але він не бере участі у стабілізації вже утворених наночастинок. Зроблено припущення, що за стабілізацію наночастинок золота відповідають вуглеводи і цукри (Kumar, Karthik, Kumar & Roa, 2011). А в дослідженні Mourato було показано, що компоненти клітинної стінки дріжджів беруть участь у процесі формування AuNPs (Mourato, Gadanho & Lino, 2011).

Іншим механізмом біосинтезу наночастинок золота з використанням дріжджів може бути редукція іонів Au³⁺ та стабілізація AuNPs за допомогою амінокислот, особливо глутамінової кислоти, а також органічних кислот — бурштинової, яблучної та молочної (Yang та ін., 2017).

У праці (Nair, Sambre, Joshi & Bankar, 2013) була висунута гіпотеза, що ключову роль у біосинтезі наночастинок золота бере участь меланін, який міститься в клітинах дріжджів. Клітинно-асоційований меланін є одним з факторів, що опосередковують відновлення іонів золота до елементарних наноструктур золота, оскільки меланіни є сильними антиоксидантами.

Дослідження процесу біосинтезу наночастинок срібла з використанням дріжджів розпочались близько 20 років тому і до сьогодні не втрачають своєї актуальності. У 2003 р. Kowshik з колегами вдалось отримати AgNPs досить малих розмірів (2—5 нм) за допомогою толерантних до срібла дріжджів (Kowshik та ін., 2003). Отримання наночастинок срібла, як і наночастинок золота, з використанням дріжджів може відбуватись за рахунок біоредукції іонів срібла з використанням супернатанту дріжджів (Fernandez та ін., 2016; Badhusha & Mohideen, 2016; Jalal та ін., 2018), безклітинного водного екстракту (Salvadori, Monezi, Mehnert & Correa, 2019; Soliman, Elsayed & Dyaа, 2018; Sowbarnika, Anhuradha & Preetha 2018; Shu та ін., 2020), а також клітинної біомаси (Korbekandi, Mohseni, Mardani Jouneghani, Pourhossein & Iravani, 2016). Біосинтез AgNPs може відбуватись при різних температурних режимах і тривалості (табл. 2).

Таблиця 2. Отримання біогенних наночастинок срібла

Дріжджі, які були використані для біосинтезу	Умови біосинтезу	Розміри AgNPs, нм	Джерело
<i>Біомаса дріжджів</i>			
<i>Candida albicans</i>	1,5 мМ AgNO ₃ , 37°C, 48 год, 50 об/хв	20—80	Rahimi, Alizadeh & Khodavandi, 2016
<i>Yarrowia lipolytica</i> DSM 3286	2,5 мМ AgNO ₃ , 30°C, 48 год, pH 6, 250 об/хв	16	Bolbanabad, Ashengroph & Darvishi, 2020
<i>Безклітинний водний екстракт</i>			
<i>Rhodotorula</i> sp. ATL72	1 мМ AgNO ₃ , 24 год	9—21	Soliman, Elsayed & Dyaа, 2018
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	100 мг/л AgNO ₃ , 30 °C, 60 год, 150 об/хв	11	Salvadori, Monezi, Mehnert & Correa, 2019
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1 мМ AgNO ₃ , 25°C, 168 год	15,5	Cunha та ін., 2018
<i>Супернатант культуральної рідини</i>			
<i>Candida glabrata</i>	1 мМ AgNO ₃ , 25°C, 24 год	2—15	Jalal та ін., 2018
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 мМ AgNO ₃ , 30°C, pH 6, 24 год	10—40	Badhusha & Mohideen, 2016
<i>Cryptococcus laurentii</i> BNM 0525	1 мМ AgNO ₃ , 28°C, 48 год, 100 об/хв (відновлення іонів Ag у реакції з нітратредуктазою)	35—400	Fernandez та ін., 2016
<i>Metschnikowia</i> sp. HX-YS	10 мМ AgNO ₃ , pH 6, 26°C, 96 год	50—100	Liu та ін., 2021
<i>Культуральна рідина</i>			
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> KX008616	5 мМ AgNO ₃ , 30°C, 24 год, pH 7	2,5—30	Alamri та ін., 2018
<i>Candida lusitanae</i>	3,5 мМ AgNO ₃ , 30°C, 168 год, 150 об/хв	3—83	Eugenio та ін., 2016
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> PTCC 5052	2 мМ AgNO ₃ , 25°C, 24 год, 150 об/хв	5—20	Niknejad, Nabili, Daie Ghazvini & Moazeni, 2015

У 2011 р. при використанні супернатанту морських дріжджів *Candida* sp. VITDKGB були отримані AgNPs. Автори визначали активність нітратредуктази у супернатанті, яка становила 320 ммоль/год/мл і зробили припущення, що саме цей фермент бере участь у біосинтезі наночастинок срібла (Kumar, Karthik, Kumar & Roa, 2011). А у 2016 р. при використанні супернатанту *Cryptococcus laurentii* BNM 0525 уже було встановлено, що біоредукція срібла відбувається за участі саме дріжджової нітратредуктази (Fernandez та ін., 2016). Mourato зі співробітниками показали, що значну роль у біосинтезі наночастинок відіграють речовини, що містяться в клітинній стінці дріжджів. Іони срібла відновлюються присутніми у клітинній стінці ферментами, що призводить до утворення «ядер» з Ag⁰, які згодом збільшуються шляхом подальшого відновлення іонів Ag⁺. Також було зроблене припущення, що іони срібла можуть дифундувати через клітинну стінку і відновлюватись ферментами, присутніми на цитоплазматичній мембрані і всередині цитоплазми (Mourato, Gadanho & Lino, 2011).

Щодо механізмів біосинтезу AgNPs за допомогою дріжджів, то вважається, що такі речовини, як білки, амінокислоти, ферменти, вітаміни, полісахариди діють як відновники і стабілізатори наночастинок срібла. При використанні безклітинного водного дріжджового екстракту формування наночастинок срібла розпочинається з відновлення іонів Ag^+ до Ag^0 сполуками, що містяться в самому екстракті, включаючи амінокислоти, вітаміни та вуглеводи. А далі відбувається стабілізація утворених наночастинок срібла (Shu та ін., 2020). Однак найбільш широко прийнятий механізм біосинтезу AgNPs при використанні дріжджів, що обумовлений НАДН-залежною нітратредуктазою. Встановлено, що відновлення іонів срібла відбувається за допомогою перенесення електронів з НАДН. Після цього відбувається стабілізація наночастинок срібла за рахунок наявних у реакційній суміші біомолекул (Shabbir & Mohammad, 2018).

У 2018 р. було здійснено біосинтез AgNPs з використанням культуральної рідини *Meyerozyma guilliermondii* KX008616. Автори дослідження висунули кілька припущень щодо можливих механізмів відновлення іонів срібла дріжджами. Перший механізм — участь системи ферментів нітратредуктаз, які каталізують реакції відновлення іонів срібла в присутності АТФ і НАДН. Другий — активація специфічного поліпептиду, який може зв'язуватись з катіонами срібла, утворюючи при цьому специфічний комплекс, що транспортується у клітинні вакуолі, де й відбувається відновлення іонів срібла. Третій — утворення наночастинок срібла на поверхні клітин. Це може бути обумовлено електростатичною взаємодією між Ag^+ і наявними на поверхні дріжджових клітин негативно зарядженими карбоксилатними групами специфічних ферментів або білків (Alamgi та ін., 2018).

Антимікробна дія. З літературних джерел відомо, що наночастки золота та срібла використовують як антибактеріальні та антифунгальні засоби. Наночастки демонструють значну антимікробну активність щодо збудників таких захворювань, як пневмонія, шигельоз, дерматити, нозокоміальні інфекції, аспарагілоз, кандидоз тощо (табл. 3). Що стосується механізму їх антимікробної дії, то припускається, що AgNPs та AuNPs пригнічують реплікацію ДНК, блокують різницю електричного потенціалу, який утворюється в цитоплазматичних мембранах клітин, а також пригнічують дихальний ланцюг (Shu та ін., 2020).

Таблиця 3. Антимікробна дія наночастинок, синтезованих за допомогою дріжджів

Дріжджі	Тест-культура	Зона затримки росту (мм)	Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл)	Джерело
1	2	3	4	5
<i>Наночастки срібла</i>				
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Escherichia coli</i> BL-II-11 (MDR)	11	2	Salvadori, Monezi, Mehnert & Correa, 2019
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	16	0,2	
<i>Rhodotorula</i> sp. ATL72	<i>Bacillus</i> sp.	н.н.	0,25	Soliman, Elsayed & Dyaa, 2018
	<i>Escherichia coli</i>		1	
	<i>Candida</i> sp.		1	

1	2	3	4	5
<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC22019	н.н.	0,35	Cunha та ін., 2018
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC22019	н.н.	0,5	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Escherichia coli</i>	2,1	40	Sowbarnika, Anhuradha & Preetha 2018
	<i>Shigella flexneri</i>	1,5	220	
	<i>Cryptococcus gastricus</i>	1,8	120	
	<i>Trichophyton rubrum</i>	0,8	180	
	<i>Fusarium oxysporum</i>	1	140	
<i>Candida glabrata</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	н.н.	31	Jalal та ін., 2018
	<i>Escherichia coli</i>		31	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		62	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		62	
	<i>Salmonella typhimurium</i>		125	
	<i>Shigella flexneri</i>		62	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Escherichia coli</i>	н.н.	20	Shu та ін., 2020
<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM 3590	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	8	н.н.	Bolbanabad, Ashengroph & Darvishi, 2020
	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	10		
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212	7		
	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC49132	6		
	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC19615	5		
<i>Metschnikowia</i> sp. HX-YS	<i>Escherichia coli</i> ATCC8099	14	н.н.	Liu та ін., 2021
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21		
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6051	16		
	<i>Monilia albicans</i> ATCC10231	17		
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	15		
<i>Наночастки золота</i>				
<i>Phaffia rhodozyma</i> ATCC 24203	<i>Cryptococcus neoformans</i>	2	н.н.	Ronavari, Igaz & Gopisetty, 2018
<i>Candida guilliermondii</i> KCCM 11960	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	н.н.	Mishra, Tripathy & Yun, 2011
	<i>Escherichia coli</i>	13		
	<i>Salmonella typhimurium</i>	13		
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13		
	<i>Bacillus cereus</i>	11		

Примітка: н.н. — у використаному джерелі інформація не наведена.

Висунуто гіпотезу, що механізми антибактеріальної дії наночастинок срібла здебільшого пов'язані з порушенням цілісності клітинної мембрани і зменшенням внутрішньоклітинного АТФ. Синтез активних форм кисню та поглинання клітиною наночастинок, унаслідок різниці мембранного потенціалу, призводить до пригнічення активності дихальних ферментів і компонентів транспорту електронів, а також до порушення функцій ДНК (Rahimi, Alizadeh & Khodavandi, 2016).

Є повідомлення, що антимікробна дія наночастинок срібла базується на порушенні процесу поділу клітин, пошкодженні клітинної мембрани та індукції апоптозу шляхом збільшення кількості гідроксильних радикалів у клітині (Sunha та ін., 2018). Також було виявлено, що бактеріальні збудники захворювань показали більшу чутливість щодо наночастинок, ніж грибові. Передбачається, що таке явище зумовлено різницею в клітинній структурі й організації бактеріальних і грибних клітин. Будова бактеріальних клітин є простішою, тому вони не в змозі ефективно протидіяти токсичній дії AgNPs. Клітини грибів і дріжджів витримують вищі концентрації наночастинок срібла через складнішу організацію, а також завдяки ефективній системі детоксикації (Jalal та ін., 2018). Наночастки виявляють більшу антимікробну активність щодо грамнегативних бактерій, ніж щодо грампозитивних бактерій. Причиною цього явища може бути специфіка структури клітинної стінки: у грамнегативних бактерій у складі клітинної стінки є тонкий шар пептидоглікану, тоді як у клітинній стінці грампозитивних бактерій — товстий шар.

Shu зі співробітниками продемонстрували безпечність біогенних наночастинок срібла щодо лінії клітин африканської зеленої мавпи Cos-7 та антибактеріальну активність щодо антибіотикорезистентного штаму *Escherichia coli*. Так, інгібуюча концентрація AgNPs щодо патогенних бактерій є у 10 разів меншою, порівнюючи із показником цитотоксичності щодо нормальних клітин тварин (Shu та ін., 2020). Показано, що клітини слинної залози людини A-253 та гліоми людини KNS-42 є стійкішими до AgNPs, ніж патогенні мікроорганізми. Так, мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) наночастинок срібла для *Escherichia coli* BL-П-11 (MDR) становила 2 мкг/мл, а для *Cryptococcus neoformans* — 0,2 мкг/мл, у той час, як IC_{50} для лінії клітин A-253 становить 150 мкг/мл, а для лінії клітин KNS-42 — 70 мкг/мл (Salvadori, Monezi, Mehnert & Correa, 2019).

Інша група вчених порівняла токсичність хімічно синтезованих наночастинок та отриманих за допомогою *Rhodotorula glutinis* BNM 0525 та *Cryptococcus laurentii* BNM 0524 на насінні салату. Дослідження показали, що AgNPs, отримані хімічним способом, виявились більш токсичними, ніж наночастки, що були отримані з використанням мікроорганізмів (Fernandez та ін., 2016). Також у дослідженні, проведеному з кератиноцитами і фібробластами, було показано, що срібні наночастки виявили меншу цитотоксичність, ніж іони Ag^+ (Galandakova та ін., 2016). Так само антибактеріальна дія AgNPs перевищувала дію $AgNO_3$ вдвічі (Kumar, Karthik, Kumar & Roa, 2011).

Ronavari зі співробітниками показали, що збільшення концентрації наночастинок золота не впливає на життєздатність лінії клітин кератиноцитів людини HaCaT, що свідчить про біосумісність AuNPs з клітинами людини (Ronavari, Igaz & Gopisetty, 2018). Також було показано, що біогенні AuNPs проявляють антимікробну активність, на відміну від хімічно синтезованих (Mishra, Tripathy & Yun, 2011).

Встановлено, що антибіотикорезистентні штами патогенних бактерій *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, які є стійкими до таких препаратів, як ампіцилін, цефодоксим, хлорамфенікол, ципрофлоксацин, котримоксазол, гентаміцин, імipенем, налідиксинова кислота та рифампіцин, є сприятливими до дії біогенних наночастинок срібла. Мінімальна інгібуюча концентрація AgNPs стано-

вить 20 мкг/мл і 40 мкг/мл відповідно (Kumar, Karthik, Kumar & Roa, 2011). Резистентний до флуконазолу штам *Candida albicans* є чутливим до дії AgNPs у концентрації 2—4 мкг/мл (Niknejad, Nabili, Daie Ghazvini & Moazeni, 2015).

Антиракова активність. Наночастинки золота та срібла важливі для діагностики та лікування деяких типів раку людини завдяки своїм унікальним властивостям (табл. 4). Встановлено, що AgNPs знижують життєздатність двох клітинних ліній раку молочної залози (MCF-7 та T47D). Зменшення життєздатності пухлинних клітин спостерігалось при концентрації наночастинок срібла 2,5 мкг/мл і вище. При цьому життєздатність здорових клітин молочної залози за такої концентрації AgNPs не змінилась. Дослідження механізму апоптозу встановило, що загибель клітин пов'язують з активацією клітинного ферменту каспази. Велика частина біосинтезованих наночастинок поглинається клітинами шляхом ендоцитозу. В середині ендолізосом відбувається вивільнення іонів Ag^+ , які, у свою чергу, спричиняють збільшення кількості активних форм кисню, що й призводить до апоптозу (Ortega та ін., 2015).

Сигнальний шлях фосфоінозитид-3-кінази (PI3K/АКТ) є основним при різних типах пухлин. Він контролює такі ознаки раку, як виживання пухлинних клітин, метастазування та метаболізм. Шлях PI3K/АКТ також відіграє важливу роль в оточенні пухлини, беручи участь у процесах утворення нових кровоносних судин і мобілізації запальних факторів. Біогенні AuNPs здатні інгібувати сигнальний шлях PI3K/АКТ, зупиняючи таким чином ріст пухлинних клітин (Yao, Wang, Hu & Yang, 2021).

Також показано, що біогенні наночастки золота кон'югують із специфічними для клітин раку печінки антитілами, в результаті чого вони специфічно зв'язуються з поверхневими антигенами ракових клітин. У подальшому цю властивість AuNPs можна буде використати для розробки методик швидкого та специфічного виявлення різних видів пухлин (Chauhan та ін., 2011).

Таблиця 4. Протипухлинна дія біогенних наночастинок

Дріжджі, які були використані для біосинтезу	Модель пухлини	Показник протипухлинної активності (IC ₅₀ , мкг/мл)	Джерело
<i>Наночастки золота</i>			
<i>Pichia pastoris</i>	Клітини карциноми молочної залози T47D	433	Elahian, Reisi, Shahidi & Mirzaei, 2017
	Клітини карциноми шлунку EPG85-257	66	
<i>Наночастки срібла</i>			
<i>Cryptococcus laurentii</i> BNM 0525	Клітини карциноми молочної залози MCF-7	5	Ortega та ін., 2015
	Клітини карциноми молочної залози T47D		
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Клітини хоріокарциноми плаценти людини BeWo	150	Salvadori, Monezi, Mehnert & Correa, 2019
<i>Metschnikowia</i> sp. HX-YS	Клітини карциноми легень A549	0,25	Liu та ін., 2021
	Клітини карциноми легень H1975		

Інші властивості. Наночастки золота та срібла також володіють каталітичною дією. Цю властивість наночастинок можна використати для пришвидшення деградації в навколишньому середовищі таких токсичних речовин, як нітрофеноли та різноманітні барвники.

Наночастинки золота можуть бути застосовані як каталізатор у процесі конверсії 4-нітрофенолу у 4-амінофенол. Встановлено залежність між розмірами наночастинок та їх каталітичною активністю — зі зменшенням розміру наночастинок збільшується їх каталітична активність. При зменшенні діаметра AuNPs на 4% ефективність каталізу нітрофенолу збільшується у 4 рази (Qu та ін., 2018). Також є гіпотеза щодо покращення каталітичних властивостей наночастинок золота залежно від стабілізуючих агентів, які присутні на їх поверхні. Покращити каталітичні властивості AuNPs можуть такі речовини-стабілізатори, як полімери, дендримери, вуглецеві та кремнеземні нанотрубки (Zhang та ін., 2016).

Фотокаталітичну активність біосинтезованих AgNPs оцінили шляхом деградації метиленового синього під дією сонячного опромінення, адже встановлено, що сонячне світло є більш ефективним, ніж інші методи опромінення для деградації барвників. Під час перебування на сонці, коли фотони потрапляють на наночастки, що присутні в колоїдній суміші, електрони на поверхні часток збуджуються. Розчинені молекули кисню в реакційному середовищі приймають збуджені електрони з поверхні наночастинок і перетворюються в аніонні радикали кисню. Ці радикали руйнують органічний барвник на більш прості органічні молекули. Тому біосинтезовані наночастки срібла можуть діяти як стабільний та ефективний фотокаталізатор для деградації метиленового синього під час опромінення видимим світлом (Roy, Sarkar & Ghosh, 2014).

Висновки

Отже, на сьогодні є ряд публікацій, в яких показано можливість отримання наночастинок срібла та золота з використанням безклітинного водного екстракту, культуральної рідини або супернатанту, а також біомаси дріжджів. При цьому в процесі біосинтезу наночастинок задіяні різноманітні біологічні речовини, що локалізуються в клітині або виділяються в культуральну рідину. Біогенні наночастки срібла і золота володіють антимікробною та протипухлинною дією. Вони показали свою дієвість щодо збудників таких захворювань, як пневмонія, шигельоз, дерматити, кандидоз тощо. При цьому наночастки срібла та золота мають низьку цитотоксичність для нормальних клітин людини і тварин. Що стосується механізму їх біологічної дії, то припускається, що вони пригнічують реплікацію ДНК, активують синтез каспаз, збільшують кількість активних форм кисню, блокують різницю електричного потенціалу, який утворюється в цитоплазматичних мембранах, а також пригнічують дихальний ланцюг у мікробних клітинах.

Література

Харченко, Є. В., Скроцька, О. І. (2020). Використання мікроорганізмів для біогенного синтезу наночастинок. *Наукові праці НУХТ*, 26(2): 57—70. doi: 10.24263/2225-2924-2020-26-2-6.

Agnihotri, M., Joshi, S., Kumar, A. R., Zinjarde, S., Kulkarni, S. (2009). Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Materials Letters*, 63: 1231—1234. doi: 10.1016/j.matlet.2009.02.042.

Alamri, S. A., Hashem, M. A., Nafady, N. A., Sayed, M. A., Alshehri, A. A., El-Alshaboury, G. A. (2018). Controllable biogenic synthesis of intracellular silver/silver chloride nanoparticles by *Meyerozyma guilliermondii* KX008616. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 28(6): 917—930. doi: 10.4014/jmb.1802.02010.

Badhusha, M. S. M., Mohideen, M. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using saccharomyces cerevisiae with different pH and study of antimicrobial activity against bacterial pathogens. *Chemical Science Transactions*, 5(4): 906—911. doi: 10.7598/cst2016.1275.

Bahrulolum, H., Nooraee, S., Javanshir, N., Tarrahimofrad, H., Mirbagheri, V. S., Easton, A. J., Ahmadian, G. (2021). Green synthesis of metal nanoparticles using microorganisms and their application in the agrifood sector. *J. Nanobiotechnol.*, 19, 86. doi: 10.1186/s12951-021-00834-3.

Bolbanabad, E. M., Ashengroph, M., Darvishi, F. (2020). Development and evaluation of different strategies for the clean synthesis of silver nanoparticles using *Yarrowia lipolytica* and their antibacterial activity. *Process Biochemistry*, 94: 319—328. doi: 10.1016/j.procbio.2020.03.024.

Castillo-Henriquez, L., Alfaro-Aguilar, K., Ugalde-Alvarez, J., Vega-Fernandez, L., Oca-Vasquez, G. M., Vega-Baudrit, J. R. (2020). Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area. *Nanomaterials*, 10, 1763. doi: 10.3390/nano10091763.

Chang, Y. C., Chen, D. H. (2009). Catalytic reduction of 4-nitrophenol by magnetically recoverable Au nanocatalyst. *Journal of hazardous materials*, 165: 664—669. doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.10.034.

Chauhan, A., Zubair, S., Tufail, S., Sherwani, A., Sajid, M., Raman, S., Azam, A., Owais, M. (2011). Fungus-mediated biological synthesis of gold nanoparticles: potential in detection of liver cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 6: 2305—2319. doi: 10.2147/IJN.S23195.

Cunha, F. A., Cunha, M. da CSO., da Frota, S. M., Mallmann, E. J., Freire, T. M., Costa, L. S., Paula, A. J., Menezes, E. A., Fechine, P. B. (2018). Biogenic synthesis of multifunctional silver nanoparticles from *Rhodotorula glutinis* and *Rhodotorula mucilaginosa*: antifungal, catalytic and cytotoxicity activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34: 127. doi: 10.1007/s11274-018-2514-8.

Elahian, F., Reisi, S., Shahidi, A., Mirzaei, S. A. (2017). High-throughput bioaccumulation, biotransformation, and production of silver and selenium nanoparticles using genetically engineered *Pichia pastoris*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 13(3): 853—861. doi: 10.1016/j.nano.2016.10.009.

Eugenio, M., Müller, N., Frases, S., Almeida-Paes, R., Lima, L. M. T. R., Lemgruber, L., Farina, M., de Souza, W., Sant'Anna, C. (2016). Yeast-derived biosynthesis of silver/silver chloride nanoparticles and their antiproliferative activity against bacteria. *RSC Advances*, 6: 9893—9904. doi: 10.1039/C5RA22727E.

Fernandez, J. G., Fernandez-Baldo, M. A., Berni, E., Cami, G., Duran, N., Raba, J., Sanz, M. I. (2016). Production of silver nanoparticles using yeasts and evaluation of their antifungal activity against phytopathogenic fungi. *Process Biochemistry*, 51(9): 1306—1313. doi: 10.1016/j.procbio.2016.05.021.

Galandakova, A., Frankova, J., Ambrozova, N., Habartova, K., Pivodova, V., Zalesak, B., Safarova, K., Smekalova, M., Ulrichova, J. (2016). Effects of silver nanoparticles on human dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes. *Hum. Exp. Toxicol.*, 35(9): 946—957. doi: 10.1177/0960327115611969.

Grasso, G., Zane, D., Dragone, R. (2020). Microbial nanotechnology: challenges and prospects for green biocatalytic synthesis of nanoscale materials for sensoristic and biomedical applications. *Nanomaterials (Basel)*, 10, 11. doi: 10.3390/nano10010011.

Jalal, M., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., Almatroudi, A., Raees, K. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles from oropharyngeal candida glabrata isolates and their antimicrobial activity against clinical strains of bacteria and fungi. *Nanomaterials*, 8(8), 586. doi: 10.3390/nano8080586.

Korbekandi, H., Mohseni, S., Mardani Jouneghani, R., Pourhossein, M., Iravani, S. (2016). Bio-synthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*. *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.*, 44, 235—239. doi: 10.3109/21691401.2014.937870.

Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S. K., Paknikar, K. M. (2003). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*, 14(1): 95—100.

Kumar, D., Karthik, L., Kumar, G., Roa, K. B. (2011). Biosynthesis of silver anoparticles from marine yeast and their antimicrobial activity against multidrug resistant pathogens. *Pharmacologyonline*, 3: 1100—1111.

Liu, X., Chen, J.-L., Yang, W.-Y., Qian, Y.-C., Pan, J.-Y., Zhu, C.-N., Liu, L., Ou, W.-B., Zhao, H.-X., Zhang, D.-P. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles with antimicrobial and anticancer properties using two novel yeasts. *Sci Rep*, 11: 15795. doi: 10.1038/s41598-021-95262-6.

Mishra, A., Tripathy, S. K., Yun, S. I. (2011). Bio-synthesis of gold and silver nanoparticles from *candida guilliermondii* and their antimicrobial effect against pathogenic bacteria. *Journal of nanoscience and Nanotechnology*, 11(1): 243—248. doi: 10.1166/jnn.2011.3265.

Mourato, A., Gadanho, M., Lino, A. R. (2011). Biosynthesis of crystalline silver and gold nanoparticles by extremophilic yeasts. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2011: 546074. doi: 10.1155/2011/546074.

Nair, V., Sambre, D., Joshi, S., Bankar, A. (2013). Yeast-derived melanin mediated synthesis of gold nanoparticles. *Journal of Bionanoscience*, 7(2): 159—168. doi: 10.1166/jbns.2013.1108.

Niknejad, F., Nabili, M., Daie Ghazvini, R., Moazeni, M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles: advantages of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* model. *Curr Med Mycol*, 1(3): 17—24. doi: 10.18869/acadpub.cmm.1.3.17.

Ortega, F. G., Fernandez-Baldo, M. A., Fernandez, J. G., Serrano, M. J., Sanz, M. I., Diaz-Mochon, J. J., Lorente, J. A., Raba, J. (2015). Study of antitumor activity in breast cell lines using silver nanoparticles produced by yeast. *Int J Nanomedicine*, 10: 2021—2031. doi: 10.2147/IJN.S75835.

Pimprikar, P. S., Joshi, S. S., Kumar, A. R., Zinjarde, S. S., Kulkarni, S. K. (2009). Influence of biomass and gold salt concentration on nanoparticle synthesis by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1): 309—316. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.07.040.

Qu, Y., You, S., Zhang, X., Pei, X., Shen, W., Li, Z., Li, S. (2018). Biosynthesis of gold nanoparticles using cell-free extracts of *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for nitrophenols reduction. *Bio-process and Biosystems Engineering*, 41: 359—367. doi: 10.1007/s00449-017-1869-9.

Rahimi, G., Alizadeh, F., Khodavandi, A. (2016). Mycosynthesis of silver nanoparticles from *Candida albicans* and its antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Tropical Journal of Pharmaceutical*, 15(2): 371—375. doi: 10.4314/tjpr.v15i2.21.

Roy, K., Sarkar, C. K., Ghosh, C. K. (2015). Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract. *Applied Nanoscience*, 5: 953—959. doi: 10.1007/s13204-014-0392-4.

Ronavari, A., Igaz, N., Gopisetty, M. K. (2018). Biosynthesized silver and gold nanoparticles are potent antimycotics against opportunistic pathogenic yeasts and dermatophytes. *International journal of Nanomedicine*, 13: 695—703. doi: 10.2147/IJN.S152010.

Salvadori, M. R., Monezi, T. A., Mehnert, D. U., Correa, B. (2019). Antimicrobial activity of Ag/Ag₂O nanoparticles synthesized by dead biomass of yeast and their biocompatibility with mammalian cell lines. *Int. J. Res. Stud.*, 1(5): 7—15. doi: 10.20431/2454-9428.0501002.

Shabbir, M., Mohammad, F. (2018). Multifunctional AgNPs@Wool: colored, UV-protective and antioxidant functional textiles. *Appl Nanosci*, 8: 545—555. doi: 10.1007/s13204-018-0668-1.

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

Skrabalak, S. E., Chen, J., Sun, Y., Lu, X., Au, L. (2008) Gold nanocages: synthesis, properties, and applications. *Acc. Chem. Res*, 41(12): 1587—1595. doi: 10.1021/ar800018v.

Soliman, H., Elsayed, A., Dyaa, A. (2018). Antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesized by *Rhodotorula* sp. strain ATL72. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5: 228—233. doi: 10.1016/j.ejbas.2018.05.005.

Sowbarnika, R., Anhuradha, S., Preetha, B. (2018). Enhanced antimicrobial effect of yeast mediated silver nanoparticles synthesized from baker's yeast. *Int. J. Nanosci. Nanotechnol*, 1(14): 33—42.

Yang, Z., Li, Z., Lu, X., He, F., Zhu, X., Ma, Y., He, R., Gao, F. (2017). Controllable biosynthesis and properties of gold nanoplates using yeast extract. *Nano-micro letters*, 9(5). doi: 10.1007/s40820-016-0102-8.

Yao, Y., Wang, D., Hu, J., Yang, X. (2021). Tumor-targeting inorganic nanomaterials synthesized by living cells. *Nanoscale Adv*, 3: 2975—2994. doi: 10.1039/D1NA00155H.

Zhang, X., Qu, Y., Shen, W., Wang, J., Li, H., Zhang, Z. (2016). Biogenic synthesis of gold nanoparticles by yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for catalytic reduction of nitrophenols. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 497: 280—285. doi: 10.1016/j.colsurfa.2016.02.033.