

Получение наноразмерных частиц серебра, стабилизированных продуктами гидролиза дрожжевых биополимеров

Алексей Л. Бычков	^{1,2}	bychkov.a.l@gmail.com
Елена И. Рябчикова	³	lenryab@yandex.ru
Кирилл Г. Королёв	⁴	kirill.korolev@catalysis.ru
Владимир А. Бухтояров	¹	buh@solid.nsc.ru

¹ Институт химии твёрдого тела и механохимии СО РАН ул. Кутателадзе 18, г. Новосибирск, 630128, Россия

² Новосибирский государственный технический университет, пр-т К.Маркса, 20, г. Новосибирск, 630073, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН пр-т Лаврентьева, 8, г. Новосибирск, 630090, Россия

⁴ Институт катализа им. Борескова СО РАН пр-т Лаврентьева, 5, г. Новосибирск, 630090, Россия

Аннотация. В работе представлены данные о получении наночастиц серебра и их стабилизации продуктами механоферментативного гидролиза дрожжевой биомассы. Изучено образование наночастиц серебра восстановлением при помощи глюкозы без добавления стабилизаторов. Полученные частицы имеют сферическую форму и узкое распределение по размерам. Однако полученный коллоид неустойчив и спустя 3–5 часов выпадает в осадок из-за агрегации не стабилизированных частиц. В соответствии с механизмом зародышеобразования частиц серебра были выбраны полимеры, содержащиеся в дрожжевых гидролизатах. Белковые молекулы этих гидролизатов участвуют в образовании солей и стабилизации полученных дендритов, а низкомолекулярные углеводы играют роль восстанавливающего реагента. Пик на спектре поглощения в области 420 нм, приписываемый частицам с размерами около 50 нм, свидетельствует о том, что данные дендритные образования являются наноструктурированными. Показано, что механическая активация совместно с ферментативным гидролизом способствует увеличению концентрации карбонильных групп углеводов, приводящих к повышению восстанавливающей способности клеточной стенки. А варьируя условия обработки можно получать частицы серебра в диапазоне 15–80 нм. Обнаружены изменения в восстановлении серебра в жидкой фазе в присутствии продуктов гидролиза клеток. Часть углеводов в результате гидролиза становится водорастворимыми и экстрагируется в раствор. Это приводит к тому, что в межклеточном пространстве тоже проходят процессы восстановления. В целом, образцы механически обработанного и гидролизованного ферментом продукта обладают большей восстанавливающей способностью по сравнению с исходными клетками. Количество пространственно стабилизированных наночастиц больше, чем при обработке нативных клеток *S. cerevisiae*.

Ключевые слова: дрожжи, биомасса, нано частицы серебра, клеточная стенка, механоферментативный гидролиз

Synthesis of silver nanoparticles stabilized by the products of mechanically assisted hydrolysis of yeast biopolymers

Aleksey L. Bychkov	^{1,2}	bychkov.a.l@gmail.com
Elena I. Ryabchikova	³	lenryab@yandex.ru
Kirill G. Korolev	⁴	kirill.korolev@catalysis.ru
Vladimir A. Bukhtoyarov	¹	buh@solid.nsc.ru

¹ Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry SB RAS, Kutateladze 18, Novosibirsk, 630128, Russia

² Novosibirsk State Technical University, Prospekt K. Marksa 20, Novosibirsk, 630073, Russia

³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentiev Ave. 8, Novosibirsk, 630128, Russia

⁴ Borekov Institute of Catalysis SB RAS, Lavrentiev Ave. 5, Novosibirsk, 630128, Russia

Abstract. The paper presents data on the production of silver nanoparticles and their stabilization by products of the mechanoenzymatic hydrolysis of yeast biomass. The formation of silver nanoparticles by reduction using glucose without the addition of stabilizers was studied. The particles obtained have a spherical shape and a narrow size distribution. The resulting colloid is unstable and precipitates after 3–5 hours due to aggregation of unstabilized particles. Polymers contained in yeast hydrolyzates were selected taking into account silver particles nucleation mechanism. The protein molecules of these hydrolysates are involved in the formation of salts and the stabilization of the resulting dendrites. Low-molecular carbohydrates play the role of a reducing reagent. The peak on the Vis spectrum at 420 nm attributed to particles with dimensions of about 50 nm gives evidence that these dendritic formations are nanostructured. It was shown that mechanical activation together with enzymatic hydrolysis promotes an increase in the concentration of carbonyl groups of carbohydrates leading to an increase in the regenerating ability of the cell wall. The varying the processing conditions one can get silver particles in the range of 15–80 nm. Changes in silver reduction in the liquid phase in the presence of cell hydrolysis products were detected. Part of the carbohydrates as a result of hydrolysis becomes water soluble and is extracted into the solution. This leads to the fact that in the extracellular space also undergo reduction processes. In general, samples of the mechanically processed and hydrolyzed enzyme product have a greater reducing ability compared with the original cells. The quantity of spatially stabilized nanoparticles is larger than when processing native *S. cerevisiae* cells.

Keywords: silver nanoparticles, yeast cell wall, biopolymers, mechanoenzymatic hydrolysis.

Для цитирования

Бычков А.Л., Рябчикова Е.И., Королёв К.Г., Бухтояров В.А. Получение наноразмерных частиц серебра, стабилизированных продуктами гидролиза дрожжевых биополимеров // Вестник ВГУИТ. 2019. Т. 81. № 1. С. 238–246. doi:10.20914/2310-1202-2019-1-238-246

For citation

Bychkov A.L., Ryabchikova E.I., Korolev K.G., Bukhtoyarov V.A. Synthesis of silver nanoparticles stabilized by the products of mechanically assisted hydrolysis of yeast biopolymers. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2019. vol. 81. no. 1. pp. 238–246. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2019-1-238-246

Введение

Серебро в ионной форме и в виде наночастиц обладает широким спектром противомикробного действия. Повышенный интерес к использованию серебра в качестве биоцида обусловлен его высокой токсичностью по отношению ко многим микроорганизмам и отсутствием у большинства микроорганизмов устойчивости к этому элементу.

Во многих работах для препаратов, содержащих коллоидные и наноразмерные частицы металла, отмечается большая эффективность в отношении микроорганизмов нежели у ионного серебра [1–3]. Утверждается, что значительная доля ионного серебра при попадании в желудочно-кишечный тракт образует нерастворимые соли и теряет биоцидную активность. Наноразмерное серебро, в тех случаях когда оно стабилизировано, обладает большей устойчивостью и может сохранять активность длительное время. Но стоит отметить, что существуют работы, показывающие обратный биологический эффект [4], а наночастицы рассматриваются как стабилизированный (но менее активный) источник ионного серебра [5].

Системы, содержащие наночастицы серебра, эффективны в борьбе с различными бактериями (кишечной палочкой, сальмонеллой, стафилококком, энтерококком, синегнойной палочкой) [6–8]. Гели с наночастицами серебра, стабилизированные органическими высокомолекулярными веществами, используют для лечения воспалительных заболеваний, вызванных *Propionibacterium acne*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, при этом отмечается большая активность по сравнению с ионными формами серебра. К настоящему времени предложено множество способов получения систем, содержащих коллоидное и нанодисперсное серебро [2, 9, 10–12]. Большинство исследований посвящено композициям, в которые для предотвращения самопроизвольного слипания наночастиц серебра вводятся поверхностно-активные вещества. Устойчивые коллоидные растворы серебра могут быть получены путем восстановления его солей гидразином и боргидридами в растворах, содержащих поверхностно-активные вещества, например, додецилсульфат натрия, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат (Tween-20), бромид цетилтриметиламмония, поливиниловый спирт [13, 14].

Особый интерес представляют методы, в которых для восстановления серебра и стабилизации образующихся наночастиц используют

соединения природного происхождения. В частности, привлекает внимание возможность использования полисахаридных и белковых матриц в качестве стабилизирующего компонента. Удачные примеры использования растительных и дрожжевых экстрактов для синтеза сферических наночастиц серебра приведены в обзоре [9] и работах [15, 16].

Простой метод получения композитов, содержащих наночастицы серебра, основан на процессах, протекающих в водно-щелочных растворах аммиачных комплексов серебра в присутствии природного полисахарида – арабиногалактана [17, 18]. Образование зародышей металлического серебра происходит за счёт восстановления комплексных ионов концевыми альдегидными группами полисахарида. Добавление щёлочи приводит к частичному гидролизу полисахарида и накоплению в растворе восстановителя – олигосахаридов, чем и обеспечивается оптимальный рост зародышей серебра.

Предложены способы, в которых для восстановления серебра в водных растворах используют микроорганизмы [9]. Считается, что ионизованные карбоксильные группы аминокислот, а также амидные группы ответственны за начальный этап образования наночастиц – сорбцию ионных форм серебра. Восстанавливающие группы в составе альдегидов и кетонов вовлекаются в процесс взаимодействия с ионами серебра и обеспечивают рост зародышей [19]. Например, при использовании для биосинтеза живой культуры *Saccharomyces cerevisiae* отмечается образование наночастиц не только внутри клеток, в среде богатой восстановителями, но и внутри клеточной стенки, повреждаемой во время гибели микроорганизмов [20].

Показано, что введением некоторого количества щёлочи в растворы ионного серебра, содержащие погибшую культуру клеток бактерий *Aeromonas* sp. SH10, можно ускорить образование металлических наночастиц на поверхности клеток и вблизи неё [21]. Характеристики получаемых наночастиц зависят от концентрации аммиачных комплексов серебра и pH раствора. Следует отметить, что растущие зародыши зафиксированы матрицей полимеров клеточной стенки и не имеют возможности агрегировать.

Сорбировать серебро способны многие микроорганизмы. Максимальная сорбционная ёмкость составляет 15–25 мг серебра на 1 г сухой биомассы [22]. Способность клеточной стенки микроорганизмов поглощать ионы тяжёлых металлов с последующим образованием металлических гранул используется в химической технологии, в частности для извлечения металлов из промышленных растворов [23].

Цель работы – получение стабилизированных наночастиц серебра с использованием в качестве восстановителя и стабилизатора продуктов частичного гидролиза дрожжевой клеточной стенки.

Материалы и методы

В работе использованы следующие реактивы и материалы: аммиак марки х.ч., нитрат серебра марки х.ч. («Реахим»), D-(+) – глюкоза (99%, «Acros organics»), дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* ГОСТ 171-81 (Новосибирский дрожжевой завод), ферментативный препарат «Целлюлюкс 2000» 2000 ед./г (ПО «Сиббиофарм», г. Бердск, Новосибирской обл.).

Механоферментативный гидролиз дрожжей проводили согласно ранее опубликованной методике [24]. Для этого воздушно-сухую биомассу дрожжей с добавлением ферментного препарата «Целлюлюкс 2000» механически активировали в планетарной мельнице АГО-2. Для протекания реакции гидролиза образовавшийся композит разрушенных дрожжевых клеток и ферментов прессовали в таблетки и прогревали при температуре действия ферментов.

Восстановление аммиачных комплексов серебра

К 200 мг исходных дрожжей или дрожжей, подвергнутых механической и ферментативной обработке, добавляли 1 мл рабочего раствора, содержащего 10 мл воды, 1 мл 1 М раствора AgNO_3 , 300 мкл концентрированного раствора аммиака. Препараты выдерживали при комнатной температуре в течение суток, после чего готовили образцы для электронно-микроскопического исследования.

В случае восстановления ионного серебра глюкозой (эксперимент без стабилизатора) или в присутствии водорастворимых дрожжевых полимеров к 10 мл рабочего раствора на магнитной мешалке медленно добавляли по 1 мл раствора глюкозы (25 мг/мл) или дрожжевого экстракта.

Дрожжевой экстракт, содержащий растворимые полимеры, готовили, центрифугируя суспензию (200 г/л) механоферментативно гидролизованной дрожжевой биомассы (суспензия перемешивалась на магнитной мешалке при 120 об./мин при комнатной температуре в течение 15 мин).

Приготовление препаратов для просвечивающей электронной микроскопии

Каплю (20 мкл) образца помещали на плёнку «Парафильм», сверху накладывали

медную сеточку с формваровой пленкой. Через 60 с сеточку снимали, излишек жидкости оттягивали фильтровальной бумагой, высушивали на воздухе и помещали в чашку Петри. Высушенные образцы исследовали с помощью электронного просвечивающего микроскопа Н-600 (Хитаки, Япония).

Приготовление препаратов для просвечивающей электронной микроскопии ультратонких срезов

Образцы дрожжей фиксировали 4%-ным раствором параформальдегида на растворе Хенкса в течение 16 ч, затем отмывали в растворе Хенкса и проводили обезвоживание в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и ацетоне. После обезвоживания образцы пропитывали в течение 12 ч в смеси ацетона и эпона-аралдита (1:1), затем полимеризовали в течение 48 ч. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме Райхерт-Янг (Австрия) и изучали в электронном микроскопе Н-600 (Хитаки, Япония).

Результаты и обсуждение

Для корректного достижения поставленной цели был проведён ряд экспериментов по постепенному усложнению системы «наночастицы серебра – стабилизатор». В основу способа получения наночастиц была положена классическая реакция восстановления аммиачного комплекса нитрата серебра. Далее при усложнении восстановителя/стабилизатора от мономерной глюкозы до частично гидролизованных клеточных стенок при помощи UV-Vis-спектроскопии и просвечивающей электронной микроскопии установлено образование наночастиц серебра, изучены их размер, форма и стабильность.

Образование наночастиц, стабилизированных растворимыми биополимерами

В качестве самого простого случая изучено образование наночастиц серебра восстановлением при помощи глюкозы без добавления стабилизаторов. Из данных электронной микроскопии видно, что полученные частицы имеют сферическую форму и узкое распределение по размерам (рисунок 1). Однако полученный коллоид неустойчив и спустя 3–5 ч выпадает в осадок из-за агрегации ничем не стабилизированных частиц (рисунок 2).

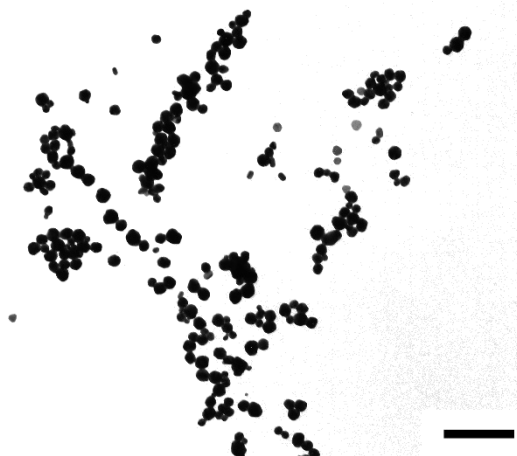


Рисунок 1. Электронная микрофотография наночастиц серебра, полученных восстановлением глюкозой без стабилизатора (масштаб – 0,3 мкм)

Figure 1. Electron microphotograph of the silver nanoparticles obtained through reduction with glucose in absence of stabilizing agent (scale bar – 0.3 μm)

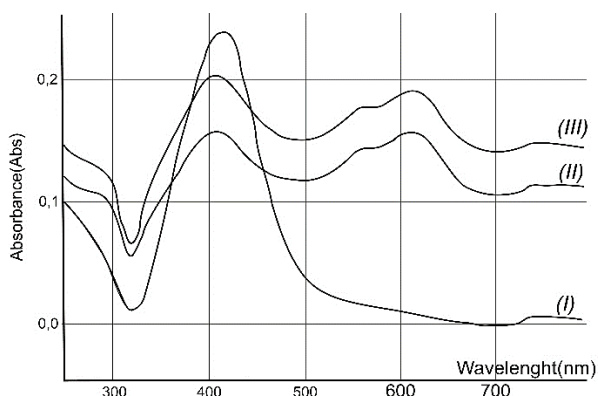


Рисунок 2. UV-Vis-спектр исходного коллоидного раствора (I), раствора через 3 ч (II) и через 5 ч (III)

Figure 2. UV spectrum of the initial colloid solution (I), solution after 3 hours (II) and after 5 hours (III)

Из литературы известно, что для наночастиц серебра в диапазоне их диаметров от 20 до 100 нм наблюдается линейная зависимость между их размером и положением пика на спектре. Например, увеличение размеров частиц с 25 (390 нм) до 50 нм приводит к смещению пика к длине волны 420 нм [17, 25–28]. Проведённые эксперименты подтверждают литературные данные (рисунок 2). Первоначально образование агрегатов проявляется на спектре в виде уширения исходного пика в длинноволновой области, а в последствии – в виде образования дополнительных широких пиков в области 500–600 нм.

Известно, что молекулы биополимеров влияют на рост наночастиц и способствуют образованию сложных дендритных структур, обладающих хорошей устойчивостью.

Так, в литературе отмечалось образование наноструктурированных дендритных структур при синтезе в присутствии синтетических полимеров [29, 30].

Согласно механизму образования зародышей элементарного серебра [19] в подобных системах необходимо, чтобы биополимеры имели в своём составе не только восстанавливающие функциональные группы, но и группы, отвечающие за первичное образование солей. Наиболее подходящими для данной цели веществами являются полимеры, содержащиеся в дрожжевых гидролизатах. Входящие в их состав белковые молекулы участвуют в образовании солей и стабилизации полученных дендритов, а низкомолекулярные углеводы играют роль восстанавливающего реагента.

На рисунке 3 продемонстрирована микрофотография дендритных структур, синтезированных в присутствии растворимых биополимеров, выделенных из клеточной стенки дрожжей механически активированным ферментативным гидролизом.

Пик на UV-Vis-спектре в области 420 нм, приписываемый частицам с размерами около 50 нм, свидетельствует о том, что данные дендритные образования являются наноструктурированными (рисунок 4). Отсутствие уширения и дополнительных пиков в длинноволновой области спектра свидетельствует об отсутствии агрегатов, а следовательно, о стабильности полученных частиц.

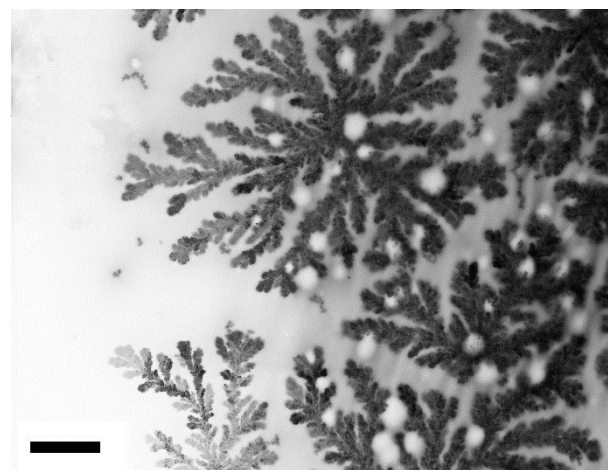


Рисунок 3. Наноструктурированные дендритные образования серебра, полученные в растворе биополимеров, электронная микрофотография образований (масштаб – 2 мкм)

Figure 3. Nano-structured dendritic formations of silver obtained in the solutions of biopolymers, electron microphotograph of the formations (scale bar – 2 μm)

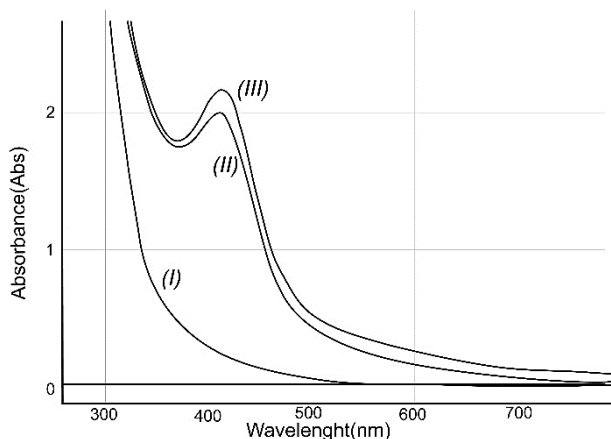


Рисунок 4. Наноструктурированные дендритные образования серебра, полученные в растворе биополимеров: UV-Vis-спектр исходного раствора наноструктурированных образований (I), раствора через 3 ч (II) и через 5 ч (III)

Figure 4. Nano-structured dendritic formations of silver obtained in the solutions of biopolymers: UV spectra of the initial solution of nanostructured formations (I), solution after 3 hours (II) and after 5 hours (III).

Использование полимеров, входящих в состав дрожжевой биомассы, позволяет получать стабилизированные наноструктурированные образования серебра. Это позволяет предполагать перспективность использования частично гидролизованных дрожжевых клеточных стенок в качестве стабилизирующей матрицы.

Образование наночастиц, стабилизированных полимерами клеточных стенок

Для оценки эффективности проведения механоферментативной обработки, как подготовки клеточных стенок к восстановлению и стабилизации наночастиц, были проведены эксперименты с нативной, механически активированной и механоферментативно гидролизованной дрожжевой биомассой.

В случае обработки исходных клеток *S. cerevisiae* аммиачным раствором нитрата серебра наблюдается лишь незначительное восстановление серебра. На микрофотографии (рисунок 5–6) отчетливо видны две различные по составу части исходной клетки: слабо контрастированная клеточная стенка и сильно контрастированная внутриклеточная часть. Также в околочелочном пространстве зафиксированы наноразмерные (15–25 нм) частицы серебра, полученные, по-видимому, восстановлением углеводов, которые присутствуют в исходном препарате дрожжей.

Отмеченная низкая способность исходных клеточных стенок восстанавливать серебро, по-видимому, связана с незначительным количеством доступных групп, способных служить

центрами зародышеобразования. В нативной стенке полисахариды формируют устойчивые структуры, в которых содержание свободных восстанавливающих концов невелико [31, 32]. В этом случае часть растворенного серебра способна только проникнуть по каналам клеточной стенки внутрь клетки и восстанавливаться внутриклеточными компонентами.

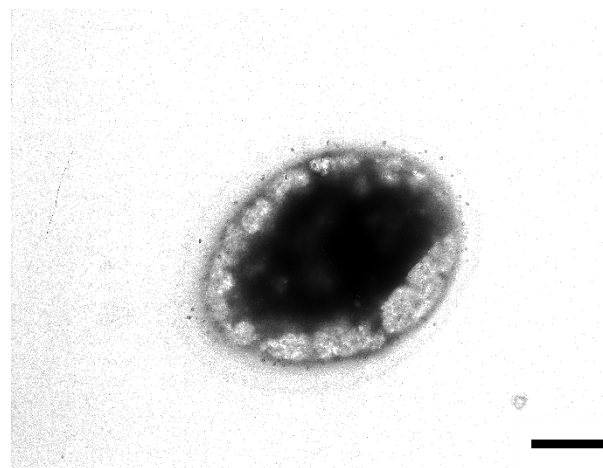


Рисунок 5. Микрофотография исходных дрожжей, обработанных аммиачным раствором нитрата серебра: снимок целой клетки на формваровой пленке (масштаб – 1 мкм)

Figure 5. Microphotograph of initial yeast treated with ammonia solution of silver nitrate: image of the intact cell adsorbed on the formvar film (scale bar – 1 μm)

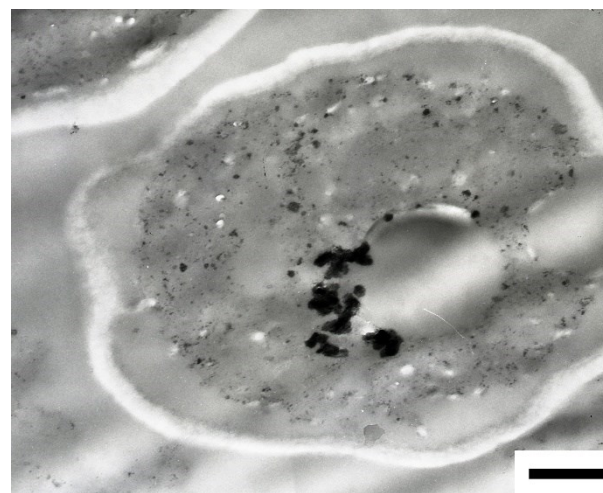


Рисунок 6. Микрофотография исходных дрожжей, обработанных аммиачным раствором нитрата серебра (ультратонкий срез клетки, масштаб – 1 мкм)

Figure 6. Microphotograph of initial yeast treated with ammonia solution of silver nitrate (ultrathin section of a cell, scale bar – 1 μm)

Как показано ранее [33], после механической обработки неразрушенные клетки имеют искажённую форму, целостность большинства клеток нарушается, супрамолекулярная структура разупорядочивается. Стенки разрушенных

клеток имеют вид лент, слабо контрастированных при обработке аммиачным раствором нитрата серебра (рисунок 7). Как и в случае исходных дрожжей, можно предположить, что низкая реакционная способность связана с недостаточным содержанием необходимых восстанавливающих функциональных групп.

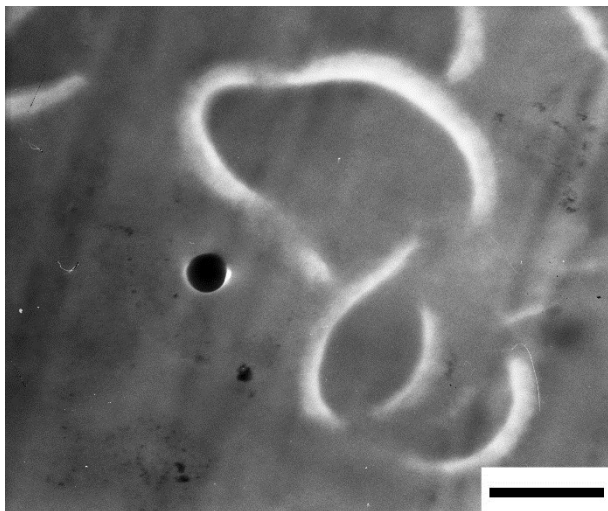


Рисунок 7. Дрожжевые клеточные стенки после механической активации и обработки аммиачным раствором нитрата серебра (ультратонкий срез, масштаб – 0,5 мкм)

Figure 7. Yeast cell walls after mechanical activation and treatment with the ammonia solution of silver nitrate (ultrathin section; scale bar – 0.5 μm)

В сравнительных экспериментах установлено, что в ходе механической обработки реакционная способность компонентов клеточной стенки по отношению к ферментативному гидролизу значительно увеличивается. По-видимому, имеет место нарушение взаимодействий между структурными элементами клеточной стенки (гликан, гликопротеины, хитин), но этого нарушения недостаточно для образования и роста зародышей серебра. Таким образом, наблюдаемые изменения морфологии клеток слабо затрагивают надмолекулярную организацию структурных полимеров клеточной стенки, но создают условия для взаимодействия структурных элементов с растворами ферментов.

В аналогичных условиях исследованы образцы, подвергнутые механической обработке и последующему ферментативному гидролизу. Данные электронной микроскопии (рисунок 8–9) показывают, что продукты механоферментативного гидролиза более активны в процессе получения наноразмерных частиц серебра, чем исходные дрожжевые клетки и клетки, подвергнутые механической активации.

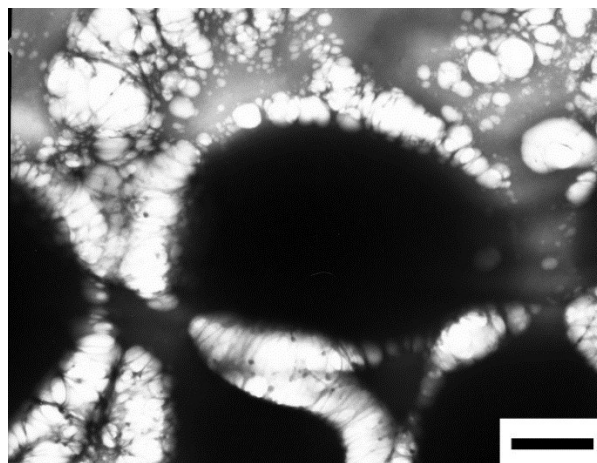


Рисунок 8. Препарат дрожжей, подвергнутых механоферментативному гидролизу и обработанный аммиачным раствором нитрата серебра: снимок целой клетки на формваровой пленке (масштаб – 1 мкм)

Figure 8. Yeast after mechanoenzymatic hydrolysis and treated with the silver nitrate: cells on formvar film (scale bar – 1 μm)

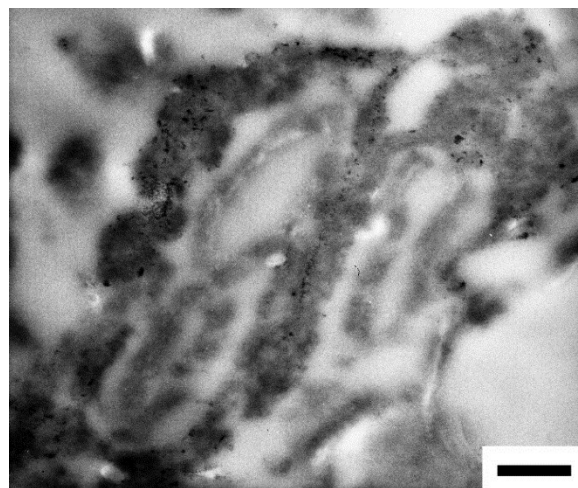


Рисунок 9. Препарат дрожжей, подвергнутых механоферментативному гидролизу и обработанный аммиачным раствором нитрата серебра: электроноплотные частицы на фрагментах разупорядоченных клеточных стенок (ультратонкий срез, масштаб – 0,4 мкм)

Figure 9. Yeast after mechanoenzymatic hydrolysis and treated with the silver nitrate small electron dense silver nanoparticles are seen on fragments of cell walls, ultrathin section (scale bar – 0.4 μm)

Фрагменты клеточных стенок в препаратах после механической и ферментативной обработки покрыты частицами серебра, что говорит о повышении восстанавливающей способности клеточной стенки, по-видимому, за счет увеличения концентрации концевых карбонильных групп углеводов (рисунок 9). Размеры образующихся частиц серебра не превышают 65–75 нм, варьируя условия обработки можно получать частицы в диапазоне 15–80 нм.

В ходе механической и ферментативной обработки полисахариды клеточной стенки гидролизуются (общее содержание полисахаридов в сухой клеточной стенке – около 70%), понижается степень их полимеризации, и клеточная стенка приобретает дополнительные карбонильные группы, необходимые для восстановления серебра.

Обнаружены изменения в восстановлении серебра в жидкой фазе в присутствии продуктов гидролиза клеток. Часть углеводов в результате гидролиза становится водорастворимой и экстрагируется в раствор. Это приводит к тому, что в межклеточном пространстве тоже проходят процессы восстановления. Присутствуют отдельные наночастицы (60–75 нм), полученные восстановлением из водного раствора углеводов с более низкой степенью полимеризации. Показано, что при механической обработке и ферментативном гидролизе образуется 7,8% (от массы клетки) растворимых сахаров,

способных принять участие в образовании частиц такого размера.

В целом образцы механически обработанного и гидролизованного ферментом продукта обладают большей восстанавливающей способностью по сравнению с исходными клетками. Количество пространственно стабилизированных наночастиц больше, чем при обработке нативных клеток *S. cerevisiae*.

Заключение

Полученные результаты показывают, что восстановление солей серебра продуктами механоферментативного гидролиза клеточной стенки дрожжей представляется перспективным способом получения стабилизированных препаратов наноразмерных частиц серебра. Образование зародышей частиц серебра начинается на нарушенных стенках клеток дрожжей, а рост осуществляется за счет восстановления солей серебра на зародышах растворенными углеводными продуктами гидролиза клеточной стенки.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Yang Y., Gajaraj S., Wall J.D., Hu Z. A comparison of nanosilver and silver ion effects on bioreactor landfill operations and methanogenic population dynamics // *Water Reseach*. 2013. V. 47. № 10. P. 3422–3430. doi: 10.1016/j.watres.2013.03.040
- 2 Lemire J.A., Harrison J.J., Turner R.J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications // *Nat. Rev. Microbiol.* 2013. V. 11. P. 371–384. doi: 10.1038/nrmicro3028
- 3 Ульберг З.Р., Подольская В.И., Войтенко Е.Ю. и др. Формирование и биологическая активность препаратов на основе микроорганизмов и коллоидного серебра // *Коллоидный журнал*. 2010. Т. 72. № 1. С. 70–77.
- 4 Kvitek L., Panacek A., Prucek R., Soukupova J. et al. Antibacterial activity and toxicity of silver – nanosilver versus ionic silver // *Journal of Physics: Conference Series*. 2011. V. 304. № 1.
- 5 Hadrup N., Lam H.R. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – A review // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2014. V. 68. № 1. P. 1–7. doi: 10.1016/j.yrtph.2013.11.002
- 6 Титова М.А., Шкиль Н.А., Коптев В.Ю. и др. Оценка антибактериальной и терапевтической эффективности препарата, включающего наночастицы серебра при мастите крупного рогатого скота // *Ветеринарная медицина*. 2011. № 3–4. С. 103–104.
- 7 Prabhu S., Poulse E.K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects // *International Nano Letters*. 2012. V. 2. № 1. doi: 10.1186/2228-5326-2-32
- 8 Zarei M., Jamnejad A., Khajehali E. Antibacterial effect of silver nanoparticles against four foodborne pathogens // *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2014. V. 7. № 1. e8720. doi: 10.5812/jjm.8720
- 9 Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // *Успехи химии*. 2008. Т. 77. № 3. С. 242–269.
- 10 Darroudi M., Zak A.K., Muhamad M.R., Huang N.M. et al. Green synthesis of colloidal silver nanoparticles by sonochemical method // *Materials Letters*. 2012. V. 66. № 1. P. 117–120. doi: 10.1016/j.matlet.2011.08.016

- 11 Sun Y. Controlled synthesis of colloidal silver nanoparticles in organic solutions: empirical rules for nucleation engineering // *Chemical Society Reviews*. 2013. V. 42. № 7. P. 2497–2511. doi: 10.1039/C2CS35289C
- 12 Shin Y., Bae I.-T., Arey B.W., Exarhos, G.J. Facile stabilization of gold-silver alloy nanoparticles on cellulose nanocrystal // *The Journal of Physical Chemistry*. C. 2008. V. 112. № 13. P. 4844–4848. doi: 10.1021/jp710767w
- 13 Высоцкий В.В., Урюпина О.Я. Ролдугин В.И., Плacheв Ю.А. Формирование наночастиц серебра в водных растворах карбоксимецилцеллюлозы и эволюция их размеров // *Коллоидный журнал*. 2009. Т. 71. № 2. P. 164–170.
- 14 Chakraborty M., Hsiao F.W., Naskar B., Chang C.H. et al. Surfactant-assisted synthesis and characterization of stable silver bromide nanoparticles in aqueous media // *Langmuir*. 2012. V. 28. № 18. P. 7282–7290. doi: 10.1021/la300615b
- 15 Kaler A., Jain S., Banerjee U.C. Green and Rapid Synthesis of Anticancerous Silver Nanoparticles by *Saccharomyces boulardii* and Insight into Mechanism of Nanoparticle Synthesis // *BioMed Research International*. 2013. V. 2013. doi: 10.1155/2013/872940
- 16 Roy K., Sarkar C.K., Ghosh C.K. Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract // *Applied Nanoscience*. 2015. V. 5. № 8. P. 953–959. doi: 10.1007/s13204-014-0392-4
- 17 Mouxing F.U., Qingbiao L.I., Daohua S.U.N., Yinghua L.U. et al. Rapid Preparation Process of Silver Nanoparticles by Bioreduction and Their Characterizations // *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2006. V. 14. № 1. P. 114–117. doi: 10.1016/S1004-9541(06)60046-3
- 18 Гагенко Т.В., Танцырев А.П., Сапожников А.Н., Худисвили С.С. и др. Нанокмпозиты серебра и сульфата арабиногалактана: синтез, строение и антимикробная активность // *Журнал общей химии*. 2015. Т. 85. № 2. С. 305–313.
- 19 Стрижко Л.С., Захарова В.И., Корневский А.А., Калмыков Ю.М. и др. Биосорбенты для извлечения благородных металлов из промышленных растворов // *Цветные металлы*. 2003. № 2. С. 40–44.
- 20 Korbekandi H., Mohseni S., Jouneghani M.R., et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* // *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2016. V. 44. P. 235–239. doi: 10.3109/21691401.2014.937870

21 Wang J., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review // *Biotechnology. Advances*. 2006. V. 24. № 5. P. 427–451. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.03.001

22 Kierans M., Staines A.M., Bennett H., Gadd G.M. Silver tolerance and accumulation in yeasts // *Biology of Metals*. 1991. V. 4. № 2. P. 100–106.

23 Won S.W., Kotte P., Wei W., Lim A. et al. Biosorbents for recovery of precious metals // *Bioresource Technology*. 2014. V. 160. P. 203–212.

24 Bychkov A.L., Korolev K.G., Lomovsky O.I. Obtaining Mannan oligosaccharide Preparations by Means of the Mechanoenzymatic Hydrolysis of Yeast Biomass // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2010. V. 162. № 7. P. 2008–2014.

25 Wiley B.J., Im S.H., Li Z.Y., McLellan J. et al. Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis // *The Journal of Physical Chemistry. B*. 2006. V. 110. № 32. P. 15666–15675. doi: 10.1021/jp0608628

26 Chandran S.P., Chaudhary M., Pasricha R., Ahmad A. et al. Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe vera plant Extract // *Biotechnology Progress*. 2006. V. 22. P. 577–583. doi: 10.1021/bp0501423

27 Ramanauskaite L., Snitka V. The synthesis of controlled shape nanoplasmonic silver-silica structures by combining sol-gel technique and direct silver reduction // *Nanoscale Research Letters*. 2015. V. 10. № 133. doi: 10.1186/s11671-015-0839-x

28 Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M. et al. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity // *The Journal of Physical Chemistry. B*. 2006. V. 110. P. 16248–16253. doi: 10.1021/jp063826h

29 He R., Qian X., Yin J., Zhu Z. Formation of silver dendrites under microwave irradiation // *Chemical Physics Letters*. 2003. V. 369. № 3–4. P. 454–458. doi: 10.1016/S0009-2614(02)0036-5

30 Agrawal V.V., Kulkarni G.U., Rao C.N. Surfactant-promoted formation of fractal and dendritic nanostructures of gold and silver at the organic-aqueous interface // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2008. V. 318. № 2. P. 501–506. doi: 10.1016/j.jcis.2007.10.013

31 Klis F.M., Mol P., Hellingwerf K. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. // *FEMS microbiology reviews*. 2002. V. 26. P. 239–256. doi: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x

32 Orlean P. Architecture and Biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall // *Genetics*. 2012. V. 192. № 3. P. 775–818. doi: 10.1534/genetics.112.144485

33 Бычков А.Л., Рябчикова Е.И., Королёв К.Г., Ломовский О.И. Изменение супрамолекулярной структуры клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* при механоферментативной обработке // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2009. Т. 17. № 5. С. 479–486.

REFERENCES

1 Yang Y., Gajaraj S., Wall J.D., Hu Z. A comparison of nanosilver and silver ion effects on bioreactor landfill operations and methanogenic population dynamics. *Water Reseach*. 2013. vol. 47. no. 10. pp. 3422–3430. doi: 10.1016/j.watres.2013.03.040

2 Lemire J.A., Harrison J.J., Turner R.J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013. vol. 11. pp. 371–384. doi: 10.1038/nrmicro3028

3 Ul'berg Z.R., Podol'skaya V.I., Vojtenko E.Yu. et al. Formation and biological activity of preparations based on microorganisms and colloidal silver. *Kolloidnyy zhurnal* [Colloid Journal]. 2010. vol. 72. no. 1. pp. 70–77. (in Russian).

4 Kvitek L., Panacek A., Prucek R., Soukupova J. et al. Antibacterial activity and toxicity of silver – nanosilver versus ionic silver. *Journal of Physics: Conference Series*. 2011. vol. 304. no. 1.

5 Hadrup N., Lam H.R. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2014. vol. 68. no. 1. pp. 1–7. doi: 10.1016/j.yrtph.2013.11.002

6 Titova M.A., Shkil' N.A., Koptev V.Yu. et al. Evaluation of the antibacterial and therapeutic efficacy of the drug, including silver nanoparticles with bovine mastitis. *Veterinarnaya meditsina* [Veterinary medicine]. 2011. no. 3–4. pp. 103–104. (in Russian).

7 Prabhu S., Poulouse E.K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*. 2012. vol. 2. no. 1. doi: 10.1186/2228-5326-2-32

8 Zarei M., Jamnejad A., Khajehali E. Antibacterial effect of silver nanoparticles against four foodborne pathogens. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2014. vol. 7. no. 1. e8720. doi: 10.5812/jjm.8720

9 Krutyakov Yu.A., Kudrinsky A.A., Olenin A.Yu., Lisichkin G.V. Synthesis and properties of silver nanoparticles: achievements and prospects. *Uspekhi khimii* [Successes of Chemistry]. 2008. vol. 77. no. 3. pp. 242–269. (in Russian).

10 Darroudi M., Zak A.K., Muhamad M.R., Huang N.M. et al. Green synthesis of colloidal silver nanoparticles by sonochemical method. *Materials Letters*. 2012. vol. 66. no. 1. pp. 117–120. doi: 10.1016/j.matlet.2011.08.016

11 Sun Y. Controlled synthesis of colloidal silver nanoparticles in organic solutions: empirical rules for nucleation engineering. *Chemical Society Reviews*. 2013. vol. 42. no. 7. pp. 2497–2511. doi: 10.1039/C2CS35289C

12 Shin Y., Bae I.-T., Arey B.W., Exarhos, G.J. Facile stabilization of gold-silver alloy nanoparticles on cellulose nanocrystal. *The Journal of Physical Chemistry. C*. 2008. vol. 112. no. 13. pp. 4844–4848. doi: 10.1021/jp710767w

13 Gagenko T.V., Tantsyrev A.P., Sapozhnikov A.N., Khutsishvili S.S. et al. Nanocomposites of silver and arabinogalactan sulfate: synthesis, structure and antimicrobial activity. *Zhurnal obshchey khimii* [Journal of General Chemistry]. 2015. vol. 85. no. 2. pp. 305–313. (in Russian).

14 Chakraborty M., Hsiao F.W., Naskar B., Chang C.H. et al. Surfactant-assisted synthesis and characterization of stable silver bromide nanoparticles in aqueous media. *Langmuir*. 2012. vol. 28. no. 18. pp. 7282–7290. doi: 10.1021/la300615b

15 Kaler A., Jain S., Banerjee U.C. Green and Rapid Synthesis of Anticancerous Silver Nanoparticles by *Saccharomyces boulardii* and Insight into Mechanism of Nanoparticle Synthesis. *BioMed Research International*. 2013. vol. 2013. doi: 10.1155/2013/872940

16 Roy K., Sarkar C.K., Ghosh C.K. Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract. *Applied Nanoscience*. 2015. vol. 5. no. 8. pp. 953–959. doi: 10.1007/s13204-014-0392-4

17 Mouxing F.U., Qingbiao L.I., Daohua S.U.N., Yinghua L.U. et al. Rapid Preparation Process of Silver Nanoparticles by Bioreduction and Their Characterizations. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2006. vol. 14. no. 1. pp. 114–117. doi: 10.1016/S1004-9541(06)60046-3

18 Gagenko T.V., Tantsyrev A.P., Sapozhnikov A.N., Khutsishvili S.S. et al. Nanocomposites of silver and arabinogalactan sulfate: synthesis, structure and antimicrobial activity. *Zhurnal obshchey khimii* [Journal of General Chemistry]. 2015. vol. 85. no. 2. pp. 305–313. (in Russian).

19 Strizhko L.S., Zakhara V.I., Korenevsky A.A., Kalmykov Yu.M. Biosorbents for the Extraction of Noble Metals from Industrial Solutions. *Tsvetnyye metally* [Non-Ferrous Metals]. 2003. no. 2. pp. 40–44. (in Russian).

20 Korbekandi H., Mohseni S., Jouneghani M.R., et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2016. vol. 44. pp. 235–239. doi: 10.3109/21691401.2014.937870

21 Wang J., Chen C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review. *Biotechnology. Advances*. 2006. vol. 24. no. 5. pp. 427–451. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.03.001

22 Kierans M., Staines A.M., Bennett H., Gadd G.M. Silver tolerance and accumulation in yeasts. *Biology of Metals*. 1991. vol. 4. no. 2. pp. 100–106.

23 Won S.W., Kotte P., Wei W., Lim A. et al. Biosorbents for recovery of precious metals. *Bioresource Technology*. 2014. vol. 160. pp. 203–212.

24 Bychkov A.L., Korolev K.G., Lomovsky O.I. Obtaining Mannanligosaccharide Preparations by Means of the Mechanoenzymatic Hydrolysis of Yeast Biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2010. vol. 162. no. 7. pp. 2008–2014.

25 Wiley B.J., Im S.H., Li Z.Y., McLellan J. et al. Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis. *The Journal of Physical Chemistry. B*. 2006. vol. 110. no. 32. pp. 15666–15675. doi: 10.1021/jp0608628

26 Chandran S.P., Chaudhary M., Pasricha R., Ahmad A. et al. Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe veraplant Extract. *Biotechnology Progress*. 2006. vol. 22. pp. 577–583. doi: 10.1021/bp0501423

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Алексей Л. Бычков к.х.н., лаборатория химии твердого тела, институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Кутателадзе, 18, г. Новосибирск, 630128, Россия, bychkov.a.l.@gmail.com

Елена И. Рябчикова д.б.н., профессор, группа микроскопических исследований, институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, пр-т ак. Лаврентьева, 8, г. Новосибирск, 630090, Россия, lenryab@yandex.ru

Кирилл Г. Королёв к.х.н., лаборатория каталитических методов преобразования солнечной энергии, институт катализа им. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук, пр-т ак. Лаврентьева, 5, г. Новосибирск, 630090, Россия, kirill.korolev@catalysis.ru

Владимир А. Бухтояров ведущий инженер, лаборатория химии твердого тела, Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Кутателадзе, 18, г. Новосибирск, 630128, Россия, buh@solid.nsc.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 12.12.2018

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 11.02.2019

27 Ramanauskaitė L., Snitka V. The synthesis of controlled shape nanoplasmonic silver-silica structures by combining sol-gel technique and direct silver reduction. *Nanoscale Research Letters*. 2015. vol. 10. no. 133. doi: 10.1186/s11671-015-0839-x

28 Panacek A., Kvitek L., Prucek R., Kolar M. et al. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *The Journal of Physical Chemistry. B*. 2006. vol. 110. pp. 16248–16253. doi: 10.1021/jp063826h

29 He R., Qian X., Yin J., Zhu Z. Formation of silver dendrites under microwave irradiation. *Chemical Physics Letters*. 2003. vol. 369. no. 3–4. pp. 454–458. doi: 10.1016/S0009-2614(02)02036-5

30 Agrawal V.V., Kulkarni G.U., Rao C.N. Surfactant-promoted formation of fractal and dendritic nanostructures of gold and silver at the organic-aqueous interface. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2008. vol. 318. no. 2. pp. 501–506. doi: 10.1016/j.jcis.2007.10.013

31 Klis F.M., Mol P., Hellingwerf K. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews*. 2002. vol. 26. pp. 239–256. doi: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x

32 Orlean P. Architecture and Biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall. *Genetics*. 2012. vol. 192. no. 3. pp. 775–818. doi: 10.1534/genetics.112.144485

33 Bychkov A.L., Ryabchikova E.I. Korolev K.G., Lomovsky O.I. Changes in the supramolecular structure of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall during enzyme processing. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya* [Chemistry for Sustainable Development]. 2009. vol. 17. no. 5. pp. 479–486. (in Russian).

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Aleksey L. Bychkov Cand. Sci. (Chem.), laboratory of solid state chemistry, institute of solid state chemistry and mechanochemistry SB RAS, Kutateladze str., 18, Novosibirsk, 630128, Russia, bychkov.a.l.@gmail.com

Elena I. Ryabchikova Dr. Sci. (Biol.), professor, microscopic research group, institute of chemical biology and fundamental medicine SB RAS, Lavrentiev Av. 8, Novosibirsk, 630128, Russia, lenryab@yandex.ru

Kirill G. Korolev Cand. Sci. (Chem.), laboratory of catalytic methods of solar energy conversion, boreskov institute of catalysis SB RAS, Lavrentiev Av., 5, Novosibirsk, 630128, Russia, kirill.korolev@catalysis.ru

Vladimir A. Bukhtoyarov lead engineer, laboratory of solid state chemistry, institute of solid state chemistry and mechanochemistry SB RAS, Kutateladze str., 18, Novosibirsk, 630128, Russia, buh@solid.nsc.ru

CONTRIBUTION

All authors equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 12.12.2018

ACCEPTED 2.11.2019