

ОСОБЕННОСТИ СОЗДАНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ШТАММАМИ ДРОЖЖЕВОГО ГРИБА SACCHAROMYCES

CHARACTERISTICS OF SACCHAROMYCES YEAST FUNGUS STAMMS TO PRODUCE SILVER NANOPARTICLES

M. Jafarov
S. Huseynova
S. Azadalieva

Summary. During the research it was investigated that *Saccharomyces* spp. BDU-A1, *Saccharomyces* spp. BDU-X3, *Saccharomyces* spp. BDU-Ü4, *Saccharomyces* spp. BDU-XR1, *Saccharomyces* spp. BDU-ŞR5 and *Saccharomyces* spp. BDU-TR6 stamms that can change the color of reaction mixture, are also able to produce (actively or passively) silver nanoparticles. Silver nanoparticles produced by *Saccharomyces* spp. BDU-A1, *Saccharomyces* spp. BDU-X3 and *Saccharomyces* spp. BDU-TR6 stamms, have showed under UV-VIS spectrophotometer the peak of absorption of 405 nm length. Others, produced by *Saccharomyces* spp. BDU-Ü4, have showed that of 410 nm length; produced by *Saccharomyces* spp. BDU-ŞR5 — of 425 nm length; by *Saccharomyces* spp. BDU-XR1—415 nm length. In comparison to other kinds of studied stamms, this particular kind has produced silver nanoparticles have circle form and size of 17,2 nm. The most active process of biosynthesis of silver nanoparticles took place in *Saccharomyces* spp. BDU-XR1 stamm.

Keywords: yeast fungus, UV-spectr, silver nanoparticles, scanning electronic microscope.

Джафаров Мирмуса Мириш

Д.б.н., профессор

Институт Микробиологии при Министерстве
Науки и Образования Азербайджанской Республики
safarov.67@mail.ru

Гусейнова Сенем Исмаил

Д.ф.н. по биологии, старший преподаватель
Бакинский Государственный Университет
aliyeva.senem@mail.ru

Азадалиева Саадет Фазахим

Преподаватель
Сумгаитский Государственный Университет
azadeliyevaseadet@gmail.com

Аннотация. В результате исследований было выявлено что, способные затемнять цвет реакционной жидкости, штаммы *Saccharomyces* spp. BDU-A1, *Saccharomyces* spp. BDU-X3, *Saccharomyces* spp. BDU-Ü4, *Saccharomyces* spp. BDU-XR1, *Saccharomyces* spp. BDU-ŞR5 и *Saccharomyces* spp. BDU-TR6, также имеют способность (слабую или сильную) образовывать наночастицы серебра. При рассмотрении под UV-VIS спектрофотометром наночастицы серебра, образованные штаммами *Saccharomyces* spp. BDU-A1, *Saccharomyces* spp. BDU-X3 и *Saccharomyces* spp. BDU-TR6, показали пик абсорбции длиной в 405 нм. При том же рассмотрении, наночастицы, образованные штаммом *Saccharomyces* spp. BDU-Ü4, показали пик абсорбции в 410 нм; образованные штаммом *Saccharomyces* spp. BDU-ŞR5 — длиной в 425 нм; образованные штаммом *Saccharomyces* spp. BDU-XR1 — длиной в 415 нм. В отличие от ранее исследуемых штаммов, наночастицы серебра, образованные именно этим штаммом, под микроскопом показали круглую форму и размер в 17,2 нм. Активный процесс биосинтеза наночастиц серебра наблюдался в штамме *Saccharomyces* spp. BDU-XR1.

Ключевые слова: дрожжевые грибы, UV-спектр, наночастицы серебра, сканирующий электронный микроскоп.

Введение

Одной из основных сфер исследований в нанотехнологии является синтез наночастиц. Различают 2 основных вида наночастиц — органические и неорганические наночастицы. В группу органических наночастиц входят, например, карбоновые наночастицы, а в группу неорганических наночастиц входят такие как железо, благородные металлы и наночастицы-полупроводники [2, 3, 8, 9].

На данный момент наночастицы получают физическими, химическими и биологическими способами. При имплементировании химических и физических спосо-

бов в процессе синтеза образуются ядовитые химические вещества. В отличие от вышеуказанных способов, биологический синтез более простой и более выгодный с точки зрения экономики. Он также выделяется среди других более лояльным отношением к экологии [7–10; 17, 18, 20].

В нынешние времена синтез наночастиц с использованием растений и микроорганизмов, в особенности дрожжевых и плесневых грибов, а также бактериальных культур, занимает важное место в этой области. Необходимо отметить три важных условия процесса синтеза наночастиц биологическим способом: использование в процессе синтеза растворителей среднего

размера; выбор самых безопасных с экологической точки зрения агентов; стабилизирование наночастиц с помощью материалов с нетоксичными характеристиками [1, 5, 10, 19].

По итогам проведенных опытов было выявлено, что дрожжевые грибы способны синтезировать такие неорганические наночастицы как AgS, ZnS, AuO, Ag O. Эта способность связана с их высокой биосинтетической активностью. Различные дрожжевые грибы синтезируют наночастицы таких металлов как золото, платина, цинк, селен и прочие [1–6; 11–16].

Принимая во внимание вышеуказанное, основной задачей данной научной работы было изучение особенностей образования наночастиц серебра штаммом дрожжевого гриба *Saccharomyces*.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований были использованы следующие 6 штамм дрожжевого гриба *Saccharomyces*, отобранные из естественных субстрат: *Saccharomyces spp.* BDU-A1, *Saccharomyces spp.* BDU-X3, *Saccharomyces spp.* BDU-Ü4, *Saccharomyces spp.* BDU-XR1, *Saccharomyces spp.* BDU-ŞR5 и *Saccharomyces spp.* BDU-TR6. Синтез наночастиц серебра в первую очередь был установлен в результате изменения цвета реакционной смеси нитратной соли и влажной биомассы с желтого на тёмно-коричневый.

Для этого была использована жидкая среда со следующим составом: 10 грамм экстракта дрожжевого гриба, 20 грамм сахарозы, 10 грамм пептона и 1 литр дистиллированной воды.

Было изучено образование наночастиц серебра реакционной смесью влажной биомассы используемых дрожжевых грибов и солью нитрата серебра. Биомасса дрожжевого гриба нужного количества была помещена в центрифугу и на скорости 15000 об/мин отделена от культурного вещества с помощью фильтрации. Далее, она была 3 раза промыта в центрифуге в 100 мл дистиллированной воды. После этого, отделенная влажная биомасса была взвешена на весах. 90 мл стерильной дистиллированной воды смешали с 10 граммами влажной биомассы и в полученную смесь добавили 1мл 10⁻³ молярного нитрата серебра (AgNO₃). Следующим шагом была инкубация полученного вещества при температуре 30 С вплоть до момента изменения цвета (3–4 дня).

В процессе проведения опыта с данной биомассой, для контроля также были проработаны варианты без добавления нитратной соли. В конце опыта био-

масса была отделена методом фильтрации, что дало возможность установить наличие наночастиц серебра в фильтрате. Первым признаком синтеза наночастиц серебра было изменение цвета реакционной смеси со светло-желтого на темно-коричневый. Следующим признаком было выявление пика абсорбции длиной в 370–450 нм на UV спектрофотометре («UV-VIS specord 250», Германия).

После приготовления препарата из коллоидного вещества, на высушенном полевоном эмиссионном сканирующем электронном микроскопе (JEOL SEM 7600F, Япония) были изучены размеры и форма наночастиц серебра. На спектроскопе с рентгеновскими лучами (X-ray diffraction) была выявлена карта элемента образцов, а также установлено, что наночастицы являются именно частицами серебра.

Результаты и их обсуждение

Была установлена способность 6 штаммов дрожжевого гриба (*Saccharomyces spp.* BDU-A1; *Saccharomyces spp.* BDU-X3; *Saccharomyces spp.* BDU-Ü4; *Saccharomyces spp.* BDU-XR1; *Saccharomyces spp.* BDU-ŞR5; *Saccharomyces spp.* BDU-TR6) образовывать наночастицы серебра.

В процессе исследования особенностей образования наночастиц серебра дрожжевым грибом *Saccharomyces spp.* BDU-A1 было установлено, что при инкубации реакционной смеси, полученной при смешении влажной биомассы и нитратной соли серебра в колбе, она меняет цвет от светло-желтого к темно-коричневому. Первичным показателем образования наночастиц серебра считается именно это потемнение цвета реакционной смеси. Однако, в контрольной колбе изменение цвета не наблюдалось. Изъятый из потемневшей реакционной смеси образец был изучен под UV-VIS спектрофотометром. При этом, наблюдался очень слабый пик абсорбции длиной в 405 нм.

При инкубации изучаемого штамма *Saccharomyces spp.* BDU-X3 цвет реакционной смеси не изменился. Этот признак является первичным признаком, указывающим на образование наночастиц серебра. Изменение цвета также не наблюдалось и в контрольной колбе.

При анализе реакционной смеси биомассы штамма дрожжевого гриба с нитратной солью серебра под UV-VIS спектрофотометром, наблюдался очень маленький пик абсорбции в 405 нм.

При изучении особенности штамма дрожжевого гриба *Saccharomyces spp.* BDU-Ü4 образовывать наночастицы серебра, по сравнению с контрольной колбой,

потемнение цвета реакционной смеси, помещенной в главную колбу, было слабым. При спектрофотометрическом анализе образцов инкубированной реакционной смеси наблюдался очень слабый пик абсорбции длиной в 410 нм.

При инкубации реакционной смеси нитратной соли серебра и влажной биомассы штамма дрожжевого гриба *Saccharomyces spp.* BDU-ŞR5 в термостате в темной среде, она изменила цвет со светлого на темный. Однако, при проведении анализа образца этой же реакционной смеси под UV-VIS спектрофотометром, выделился очень слабый пик абсорбции длиной в 425 нм.

При инкубации реакционной смеси нитратной соли серебра и влажной биомассы штамма дрожжевого гриба *Saccharomyces spp.* BDU-TR6 в термостате в темной среде, она изменила цвет со светлого на темный. При контроле изменение цвета не наблюдалось. Тем не менее, при проведении анализа этой же реакционной смеси под UV-VIS спектрофотометром, выделился очень слабый пик абсорбции длиной в 405 нм.

Цвет реакционной смеси биомассы культуры микроба *Saccharomyces spp.* BDU-XR1 с нитратной солью серебра, инкубированной в колбе, изменился со светло-желтого на темно-коричневый. В контрольной колбе изменения цвета не наблюдалось. Изменение цвета смеси в первую очередь говорит о наличии наночастиц серебра. По итогам анализа коллоидного вещества под UV-VIS спектрофотометром, в нем было обнаружено образование наночастиц серебра. При этом наблюдался пик абсорбции длиной в 415 нм. Таким образом, пик абсорбции данной длины подходит наночастицам серебра. В связи с тем, что в данном образце было достаточно большое количество наночастиц серебра, пик абсор-

бции был ясно виден под UV спектром. Из коллоидного вещества был приготовлен препарат, который затем изучили под сканирующим микроскопом. Были выявлены наночастицы серебра круглой формы. Диаметр данных наночастиц был равен 17,2 нм. На спектрокопе с рентгеновскими лучами была выявлена карта элемента этих наночастиц, а также установлен пик абсорбции AgLa1, характерный именно для наночастиц серебра.

Таким образом было выявлено что, способные затемнять цвет реакционной жидкости, штаммы *Saccharomyces spp.* BDU-A1, *Saccharomyces spp.* BDU-X3, *Saccharomyces spp.* BDU-Ü4, *Saccharomyces spp.* BDU-XR1, *Saccharomyces spp.* BDU-ŞR5 и *Saccharomyces spp.* BDU-TR6, также имеют способность (слабую или сильную) образовывать наночастицы серебра. При рассмотрении под UV-VIS спектрофотометром наночастицы серебра, образованные штаммами *Saccharomyces spp.* BDU-A1, *Saccharomyces spp.* BDU-X3 и *Saccharomyces spp.* BDU-TR6 показали пик абсорбции длиной в 405 нм. При том же рассмотрении, наночастицы, образованные штаммом *Saccharomyces spp.* BDU-Ü4, показали пик абсорбции длиной в 410 нм; образованные штаммом *Saccharomyces spp.* BDU-ŞR5 — длиной в 425 нм; образованные штаммом *Saccharomyces spp.* BDU-XR1 — длиной в 415 нм. В отличие от ранее исследуемых штаммов, наночастицы серебра, образованные именно этим штаммом под микроскопом показали круглую форму и размер в 17,2 нм. Активный процесс биосинтеза наночастиц серебра наблюдался в штамме *Saccharomyces spp.* BDU-XR1. Выделение наночастицами серебра пика абсорбции разной длины в зависимости от вида штамма, скорее всего является результатом образования этими частицами конгломератов разного размера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бозкурт, Х. Дж., Джафаров М.М., Сеидова, К.Г. Образование наночастиц серебра в культуральной жидкости штамма дрожжевого гриба *Candida guilliermondii* BDU-217 // Труды Института Микробиологии НАНА, — 2017. с.15, № 1, — с. 214–219.
2. Бозкурт, Х. Дж., Джафаров М.М., Ганбаров Х.Г. Образование металлических наночастиц дрожжевыми грибами и их изучение // Вестник Бакинского Университета, Серия Естественные Науки, — 2017. № 2, — с. 34–42.
3. Бабьева, И.В., Голубева, В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей — Москва: Пищевая промышленность, — 1979, — 120 с.
4. Джафаров, М.М., Сеидова, К.Г., Бозкурт, Х. Дж. и др. Выбор оптимальной питательной среды для получения биомассы штамма дрожжевого гриба *Candida guilliermondii* BDU-217 / Перспективы развития науки, образования и общества. По материалам Международной научно-практической конференции, — Тамбов: — 2016. Ч. 5, — с. 45–46.
5. Джафаров, М.М., Гусейнова, С.И., Эйвазова, Г.И. и др. Влияние температуры на образование серебряных наночастиц штаммом дрожжевого гриба *Candida guilliermondii* BDU-217 / Сборник научных трудов по материалам XI международной научной конференции «Научный диалог: Вопросы медицины», — Санкт-Петербург: — 15 сентября, — 2017, — с. 4.
6. Ревина, А.А. Некоторые особенности воздействия кластерного серебра на дрожжевые клетки *Candida utilis* / Электронный журнал «Исследовано в России», — 2005. Т. 139, — с. 1403–1409.
7. Ahmed, T. Silver nanoparticles synthesized by using *Bacillus cereus*-SZT 1 ameliorated the damage of bacterial leaf blight pathogen in rice / Pathogens, — 2020. Vol. 9, Iss. 3, — p.160.

8. Begun, N. Biogenic Synthesis of Au and Ag Nanoparticles Using Aqueous Solutions of Black Teas Leaf Extracts // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, — 2013. Vol. 71, Iss. 1, — p.113–118.
9. Chauhan, R., Reddy, A., Abraham, J. Biosynthesis and antimicrobial potential of silver and zinc oxide nanoparticles using *Candida diversa* strain JA1 // *Der Pahrma Chemica*, — 2014. Vol. 6, Iss. 3, — p.39–47.
10. Dos Santos, C. Silver nanoparticles: therapeutical uses, toxicity and safety issues / *Journal of Pharmaceutical Science*, — 2014. Vol. 103, Iss. 7, — p.1931–1944.
11. Ganbarov, K h.G. Microbial synthesis of silver nanoparticles by *Candida macedoniensis* BDU-MI44 / *Journal of Research Studies in Biosciences*, — 2016. Vol. 4, Iss. 5, — p.1–5.
12. Ganbarov, K h.G. Comparative study the production of silver nanoparticles with the cultural supernatant and biomass of yeast *Candida guilliermondii* BDU-217 / *International Eurasian conference on Biological and chemical sciences, Eurasian Bio Chem, Ankara / Turkey*, — 2018. — s.94–99.
13. Ganbarov, K h.G. The impact of temperature on synthesis of silver nanoparticles by *Candida macedoniensis* BDU-MI44 / *Наука и образование, общество. Вестник научных конференций, Тамбов*, — 2019. Iss. 9–2 (49), ч. 2, — с.7.
14. Hasanova, S. The study of morphological and cultural properties of Actinomycetes forming silver nanoparticles / *Advances in Biology and Earth Sciences*, — 2017. Vol. 2, Iss. 2, — p.168–174.
15. Hassan, A., Mansour, M., Mahmoud, H. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Candida albicans* and its antifungal activity on some fungal pathogens // *New York Science Journal*, — 2013. Vol. 6, Iss. 3, — p. 27–34.
16. He, F. Extracellular biosynthesis of Ag nanoparticles by commercial Baker's yeast / *Advanced Materials Research*, — 2013. Vol. 785786, — p.370–373.
17. Ishida, K. Silver nanoparticle production by the fungus *Fusarium oxysporum*: nanoparticle characterization and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts / *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, — 2014. Vol. 106, Iss. 2, — p.220–228.
18. Irvani, H., Mirmohammadi, S., Zolfagari, B. Synthesis of silver nanoparticles:
19. chemical, physical and biological methods // *Research in pharmacevtical Sciences*, — 2014. Vol. 9, Iss. 6, — p.385–406.
20. Ishida, K. Silver nanoparticle production by the fungus *Fusarium oxysporum*: nanoparticle characterisation and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts / *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, — 2013. Vol. 109, Iss. 2, — p.220–228.
21. Jeeva, K. *Caesalpinia coriaria* leaf extracts mediated biosynthesis of metallic silver nanoparticles and their antibacterial activity against clinically isolated pathogens / *Industrial Crops and Products*, — 2014. Vol. 52, Iss. 1, — p.714–720.

© Джафаров Мирмуса Мириш (safarov.67@mail.ru),

Гусейнова Сенем Исмаил (azadeliyevaseadet@gmail.com), Азадалиева Саадет Фазахим.

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Бакинский государственный университет