

Я.Б. Блюм<sup>1</sup>, Я.В. Пірко<sup>1</sup>, О.М. Бурлака<sup>1</sup>,  
М.М. Борова<sup>1</sup>, І.А. Даниленко<sup>1</sup>, П.С. Смертенко<sup>2</sup>, А.І. Ємець<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ

<sup>2</sup> Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України, Київ

## «ЗЕЛЕНИЙ» СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ ТА НАПІВПРОВІДНИКОВИХ НАНОКРИСТАЛІВ CdS ЗА ДОПОМОГОЮ БІОЛОГІЧНОЇ СИРОВИНИ



Розглянуто основоположні принципи синтезу наночастинок металів і напівпровідникових нанокристалів та перспективи його застосування. Проаналізовано актуальність використання живих систем і їх компонентів для розробки технологій «зеленого» синтезу нанооб'єктів із винятковими властивостями та широким спектром застосувань. Описано біотехнологічний синтез наночастинок срібла, золота та біметалічних срібно-золотих наночастинок з використанням екстрактів рослин *Magnolia denudata*, *M. stellata*, *Camellia sinensis* var. *sinensis*, *C. sinensis* var. *assamica*, *Orthosiphon stamineus* та *Hypericum perforatum*. Наведено результати отримання флуоресцентних напівпровідникових нанокристалів сульфїду кадмію за допомогою бактерії *Escherichia coli*, базидіального гриба *Pleurotus ostreatus* та рослини *Liparia taroccana*. Представлено морфологічні та оптичні характеристики синтезованих наночастинок.

Ключові слова: «зелений» синтез наночастинок, біологічний синтез наночастинок, фітохімічні ємкості, наночастинок благородних металів, біметалічні наночастинок, напівпровідникові квантові точкові наночастинок, флуоресцентні нанокристали сульфїду кадмію.

Завдяки унікальній можливості поєднувати властивості наночастинок благородних металів та напівпровідникові квантові точкові наночастинок («квантові точки») знаходять дедалі ширше застосування у сфері біологічних досліджень, а також в біотехнологічних та біомедичних розробках. Зокрема, наночастинок металів застосовуються для візуалізації клітин та субклітинних структур, індикації процесів у живому організмі, адресної доставки генів, ліків та інших цільових «вантажів», гіпертермії пухлин тощо [1–3]. Квантові точки мають високу фотостабільність та яскравість і відповідають більшості критеріїв, що висуваються до флуоресцентних матеріалів у біології. Тому

їх використовують в протипухлинній терапії, для прижиттєвої візуалізації внутрішньоклітинних структур, імунофлуоресцентного мічення білків, детектування токсинів тощо [4–6].

Традиційні технології отримання наночастинок першого покоління, в основу яких покладено фізичні та хімічні методи, енерговитратні та передбачають використання токсичних речовин. До того ж ефективність використання наноматеріалів у біології, біотехнології та біомедицині істотно залежить від таких характеристик наночастинок, як розмір, форма, склад і поверхневі властивості [7]. З огляду на це надзвичайно актуальним наразі є розвиток продуктивних екологічно-безпечних та економічно доцільних методів синтезу наночастинок за допомогою біологічних систем [8]. Окрім зменшення навантаження на навколиш-

не середовище та підвищення економічної ефективності завдяки «озелененню» процесу синтезу наночастинок використання біологічних систем та їх компонентів відкриває додаткові можливості створення наночастинок із заданим складом та властивостями. Біологічні методи синтезу наночастинок розглядаються як такі, що здатні успішно конкурувати з традиційними хімічними та фізичними методами за швидкістю, керованістю та конверсією. Використання різних підходів у межах біологічного синтезу створює широкий спектр можливостей для підбору оптимальних параметрів та отримання заданих продуктів синтезу для визначених сфер застосування.

#### **ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІСНУЮЧИХ МЕТОДІВ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ТА НАПІВПРОВІДНИКОВИХ КВАНТОВИХ ТОЧОК**

До традиційних методів синтезу наночастинок належать високотемпературна конденсація, лазерна абляція, вакуумне випаровування металів, електроконденсаційний метод Сведберга, радіолітичні методи, хімічне відновлення полімерними сурфактантами, відновлення на м'яких та твердих матрицях, використання поліоксометалатів тощо [9, 10]. Квантові точкові наночастинки синтезують за допомогою методів молекулярно-променевої епітаксії, металоорганічної парової фазової епітаксії, електронної променевої літографії, нарощуванням у неполярних середовищах тощо [11, 12]. Застосування згаданих методів пов'язане зі значними витратами енергії та ресурсів, використанням токсичних сполук, таких, як борогідрид натрію, хлорид тетракіс (гідроксиметил)фосфонію, полі-N-вінілпіролідон, гідроксиламін тощо, а також з утворенням значної кількості токсичних побічних продуктів [5, 8].

Альтернативою даним методам слугує сукупність біологічних методів, що передбачають використання біологічних метаболітів та біологічних систем або їх аналогів для синтезу наночастинок [13, 14]. Коли ж процес переноситься безпосередньо у функціонуючу біоло-

гічну систему і використовуються її власні метаболічні шляхи та ресурси, говорять про *біотехнологічний* синтез. При застосуванні біометричних методів імітується протікання певних процесів, що відбуваються при синтезі наночастинок у живому організмі за участю визначених біологічних сполук [1, 8, 14]. Очікується, що біологічні методи синтезу наночастинок матимуть більшу економічну ефективність, що дозволить істотно зменшити вартість використання нанотехнологічних продуктів [12–14]. Окрім того, передбачається, що наночастинки, отримані таким шляхом, матимуть кращу біологічну сумісність з огляду на відсутність адсорбованих токсичних речовин. Загалом, у розробці методів екосумісного біологічного синтезу наночастинок та напівпровідникових квантових точкових наночастинок використовуються віруси [15], бактерії [16–20], актиноміцети [21, 22], гриби [23–25] та рослини [26–31]. Окрім того, є роботи [32], в яких описано внутрішньоклітинний синтез золотих наночастинок *in vitro* людськими клітинами ліній SiHa, SKNSH, HeLa та HEK-293.

#### **МЕХАНІЗМИ БІОЛОГІЧНОГО СИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК**

Механізми біологічного синтезу наночастинок досі до кінця не з'ясовані. Оскільки при синтезі наночастинок зазвичай відбувається хімічне відновлення металу [33], то досліджуються сполуки живих клітин, які здатні виступати відновниками. Вважається, що у процесі біологічного синтезу наночастинок задіяні вільні амінокислоти, водорозчинні білки, ферменти, флавоноїди, терпеноїди, фенольні сполуки, таніни, проантоціанідини, вуглеводи, вітаміни [34, 35]. Так, встановлено, що за умов позаклітинного синтезу золотих наночастинок грибом *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen відновлення металу відбувається за рахунок НАДН-залежної редуктази [36], а при синтезі срібних частинок з використанням культуральної рідини *Enterobacteria* sp. задіяні нітратредуктази [37]. Ключова роль

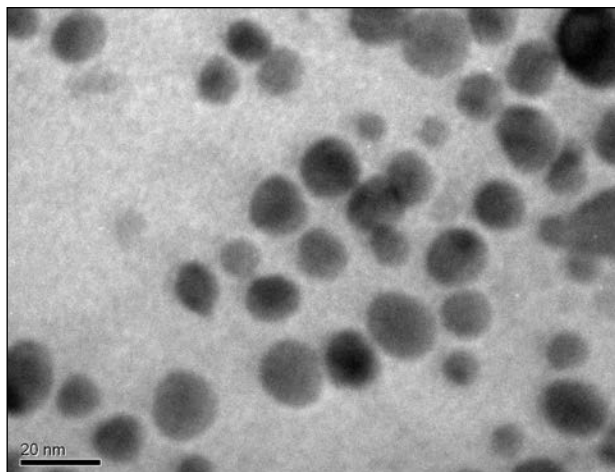
у формуванні срібних нанопластин при використанні екстракту одноклітинної зеленої водорості *Chlorella* sp. належить білкам [38], а відновлення іонів та стабілізацію наночастинок срібла при синтезі за допомогою екстракту перцю *Capsicum annuum* L. забезпечують, зокрема, аміногрупи білків [39]. Ключову роль у синтезі нанокристалів CdS бактеріями відводять ферментам [19, 20, 40]. В цілому, тип задіяних у синтезі сполук визначає властивості (морфологічні характеристики, стабільність, реактивність) та місце локалізації кінцевого продукту — наночастинок — в умовах їх синтезу живими організмами (внутрішньо- або зовнішньоклітинно). Це має велике значення для розробки широкомасштабних методів синтезу через принципову важливість таких факторів, як зручність екстрагування та подальший процесинг наночастинок. Швидкість синтезу, будову та морфологію наночастинок синтезованих живими організмами можна також контролювати шляхом зміни таких параметрів, як *pH*, температура, концентрація субстрату та час експозиції [33, 35, 38].

#### **«ЗЕЛЕНИЙ» СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК Au, Ag ТА БІМЕТАЛІЧНИХ НАНОЧАСТИНОК Au/Ag**

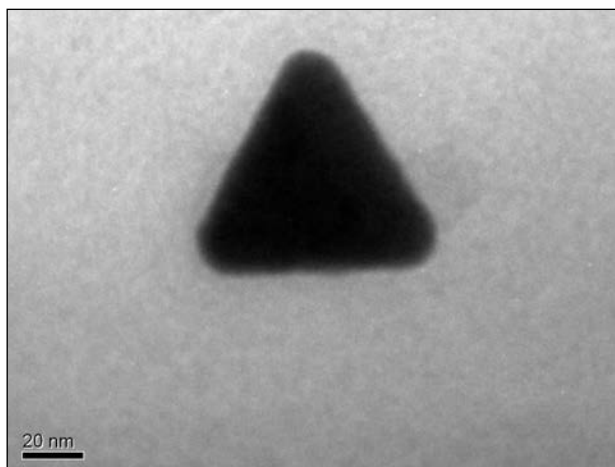
Як згадувалось вище, розробка методів отримання наночастинок за допомогою біологічної сировини базується на використанні ферментних систем біологічних об'єктів та спектру властивих їм органічних сполук. Для «зеленого» синтезу наночастинок срібла та золота як вихідну неорганічну сировину найчастіше використовують відповідно нітрат срібла  $\text{AgNO}_3$  та тетрахлороауратну кислоту  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$  або її натрієву сіль  $\text{NaAuCl}_4$  [13]. Слід зазначити, що у традиційному хімічному синтезі наночастинок найпоширенішими відновниками є цитрат та тетрагідродоборат-аніони ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$  та  $\text{BH}_4^-$  відповідно) [1, 8]. При цьому наночастинки, синтезовані з використанням цитрат-аніону, схильні до агрегації і потребують стабілізації за рахунок додавання допоміжних агентів. Вони є стабільними лише в початко-

вому (маточному) розчині, нестабільні в умовах *in vivo* та активно взаємодіють із сироватковими білками. А наночастинки, отримані за рахунок відновлення аніонами тетрагідродоборат, крім усього вищезазначеного виявляють ще й високу токсичність для живих організмів. Агрегація нестабільних хімічно активних наночастинок є лімітуючим фактором якості кінцевого продукту [41], оскільки вона зменшує площу специфічних поверхонь та рівень міжконтактної вільної енергії, що призводить до зниження реактивності частинок [42]. Більшість методів стабілізації наночастинок, синтезованих хімічним та фізичним методами, пов'язані з використанням диспергуючих молекул на зразок сурфактантів чи поліелектролітів. Ці речовини часто не лише змінюють хімічні та фізичні параметри поверхні наночастинок, але також створюють значну кількість відходів, оскільки складають велику за масою фракцію [1]. Окрім того, багато стабілізуючих агентів виявляють токсичність для біологічних систем, унеможливаючи застосування таких наночастинок у ряді сфер. Біологічний синтез наночастинок дозволяє уникнути подібних обмежень.

У рамках розробки методик біотехнологічного отримання наночастинок нами було розвинуто технології синтезу наночастинок таких благородних металів, як срібло (Ag) (рис. 1) та золото (Au) (рис. 2), а також біметалічних наночастинок Au/Ag з солей-попередників (нітрат срібла ( $\text{AgNO}_3$ ) та тетрахлораурат натрію ( $\text{NaAuCl}_4$ )) за допомогою фітохімічних ємностей [43–46]. Запропонована група методів загалом характеризується високою ефективністю, швидкістю, екологічністю, економічною доцільністю та дозволяє отримувати високостабільні наночастинки керованої морфології у макрокількостях для застосування у біологічних та біомедичних підходах. Окрім того, біотехнологічний синтез виключає виникнення токсичності кінцевого нанопродукту, обумовленого адсорбованими на поверхні наночастинок відновлювальними та стабілізуювальними



**Рис. 1.** Електронно-мікроскопічне зображення наночастинок срібла, синтезованих з використанням фітоекстрактів. Масштабна позначка — 20 нм



**Рис. 2.** Електронно-мікроскопічне зображення наночастинок золота, синтезованих з використанням фітоекстрактів та м'якої матриці. Масштабна позначка — 20 нм

хімічними реагентами, які застосовуються у традиційних методах синтезу. У розробленому підході стабілізація наночастинок зчеплена власне з процесом їх синтезу та відбувається внаслідок присутності у реакційній суміші набору рослинних метаболітів зі специфічною активністю. Таким чином, реалізується надзвичайно актуальний сьогодні так званий «*one pot*» підхід, спрямований на спрощення, здешевлення, раціоналізацію та екологізацію тех-

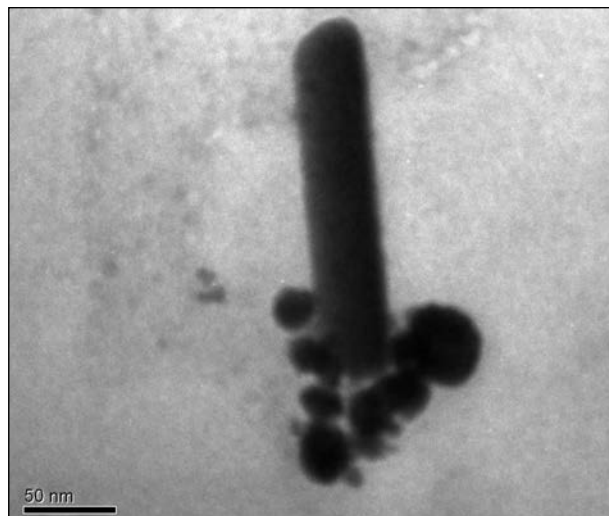
нологій широкомасштабного синтезу сполук, речовин та матеріалів.

Для отримання наночастинок Au, Ag та Au/Ag до водних екстрактів рослинної біомаси додавали розчини відповідних солей-посередників — нітрату срібла ( $\text{AgNO}_3$ ) та тетрахлораурату натрію ( $\text{NaAuCl}_4$ ). Як фітохімічні емоності використовували водні екстракти з листя магнолії голої *Magnolia denudata* Desr., магнолії зірчастої *M. stellata* (Siebold & Zucc.) Maxim., зеленого чаю підвидів *Camellia sinensis* var. *sinensis* (L.) Kuntze і *C. sinensis* var. *assamica* (J.W. Mast.) Kitam., трави ортосифона тичинкового *Orthosiphon stamineus* Benth. та звіробою продірявленого *Hypericum perforatum* L. Загалом, усі наведені рослини характеризуються здатністю накопичувати у значних кількостях цілий ряд метаболітів з відновлювальною активністю, серед яких амінокислоти, білки, флавоноїди, фенольні сполуки, таніни, вуглеводи тощо [30, 33, 34]. Це, у свою чергу, є ключовим фактором успішного синтезу та стабілізації наночастинок.

Окрім того, порівняння результатів проведених досліджень дозволило встановити відмінності у ефективності використання різних фітоекстрактів для синтезу наночастинок. Це, очевидно, залежить від композиційних відмінностей екстрактів різних рослин, а також від специфіки процесів відновлення іонів срібла та золота. Так, використання екстрактів листя магнолії було ефективним при отриманні срібних, золотих та біметалічних наночастинок Au/Ag. Екстракти ортосифона та звіробою дозволяли ефективно отримувати лише срібні наночастинок, тоді як екстракти зеленого чаю демонстрували ефективність у отриманні золотих наночастинок. При утворенні наночастинок металів реакційна суміш змінювала колір внаслідок виникнення явища поверхневого плазмонного резонансу в утворених нанорозмірних структурах. Так, колоїдні розчини наночастинок золота набували забарвлення червоного кольору, срібла — жовто-коричневого, біметалічних наночастинок — проміжних

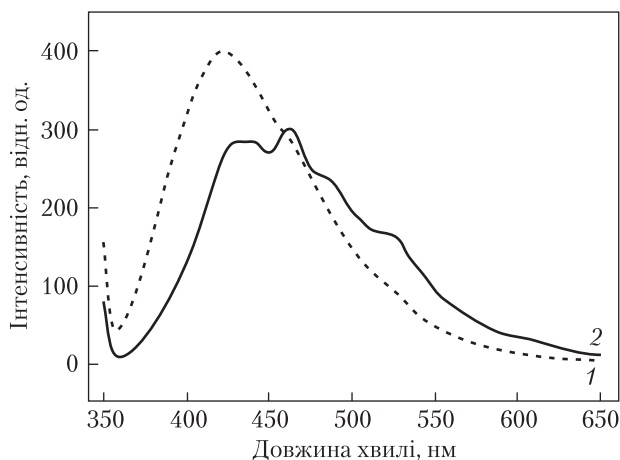
тонів. Також було встановлено, що пряме сонячне освітлення реакційної суміші прискорює формування наночастинок срібла і не впливає на швидкість формування наночастинок золота, а також виявлено пряму залежність швидкості утворення наночастинок та обернену залежність їх розміру від температури синтезу. Це, очевидно, зумовлено впливом температури на співвідношення інтенсивності процесів нуклеації та росту наночастинок. Максимум поглинання синтезованих срібних наночастинок знаходився у області довжин хвиль 450 нм, золотих — у області довжин хвиль 540 нм. Розмір наночастинок срібла та золота, отриманих при температурах синтезу 90–95 °С коливався у діапазоні 25–30 та 3–10 нм відповідно. Після встановлення цифрових параметрів синтезу, варіювання температури дозволяло отримувати наночастинки бажаного розміру. Отримані наночастинки срібла та золота були стабільними у колоїдному водному розчині протягом кількох місяців та виявляли високу антибактеріальну активність [45, 46].

Трансмісійна електронна мікроскопія (ТЕМ) зразків дозволила встановити, що синтезовані за допомогою фітоекстрактів наночастинки благородних металів мали здебільшого сферичну форму (рис. 1). Можливість отримання наночастинок різної морфології (рис. 2) була продемонстрована при додаванні в реакційну суміш катіонного сурфактанту цетилтриметиламонію броміду (ЦТАБ) як м'якої матриці. Для отримання поліметалічних (біметалічних) наночастинок використовували методику індукованого зародком росту в реакційному середовищі, що містить кластери цетилтриметиламонію броміду (ЦТАБ). Синтез біметалічних частинок проводили у два етапи з огляду на різну швидкість відновлення іонів срібла та золота і зумовлені цим агломерацію продуктів, формування нерівномірного покриття срібла та домішок квазісферичних наночастинок. Таким чином, на першому етапі золоті нанострижні синтезували шляхом індукованого зародком відновлення тетрахлораурату натрію у

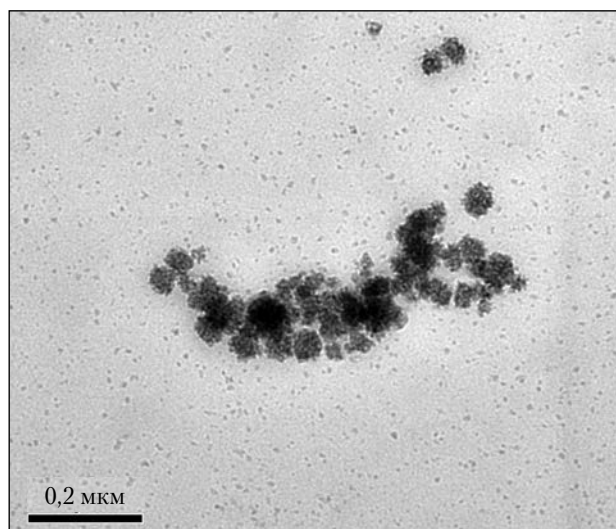


**Рис. 3.** Електронно-мікроскопічне зображення нанострижнів, що утворювалися при синтезі біметалічних Au/Ag наночастинок з використанням фітоекстрактів та м'якої матриці. Масштабна позначка — 50 нм

присутності ЦТАБ. У подальшому золоті нанострижні виділяли та використовували як серцевини для синтезу біметалічних нанострижнів шляхом опосередкованого компонентами фітоекстрактів відновлення срібла на поверхні золотих стрижнів. За допомогою ТЕМ дослідження продуктів синтезу було показано формування наночастинок сферичної та трикутної форми розміром близько 20 нм, а також нанострижнів довжиною близько 100 нм (рис. 3). Оскільки під час утворення наночастинок металів за допомогою фітоємностей відбувається хімічне відновлення металу, то є очевидним, що у даному процесі задіяні сполуки із відновлювальною активністю. У більш вузькому контексті ці сполуки можуть бути ототожені з рослинними антиоксидантами. Результати Фур'є-трансформуючої спектроскопії інфрачервоного діапазону та Раманівської спектроскопії вихідних розчинів і колоїдів синтезованих наночастинок металів дають підставу припустити важливу роль у синтезі зокрема таких рослинних метаболітів, як флавоноїди, амінокислоти, цукри, протеїни та фенольні сполуки.



**Рис. 4.** Спектр фотолумінесценції чистої культури гриба *P. ostreatus* — 1; спектр фотолумінесценції квантових точок, отриманих за допомогою культури гриба *P. ostreatus* — 2



**Рис. 5.** Електронно-мікроскопічне зображення конгломератів квантових точок CdS, отриманих за допомогою гриба *P. ostreatus*. Масштабна позначка — 0,2 мкм

Розроблені методики синтезу наночастинок благородних металів дозволяють отримувати високостабільний нанопродукт контрольованих розмірів та керованої морфології екологічно-сумісним та ресурсо-зберігаючим способом. Окрім того, запропонована технологія придатна для відносно простого масштабування і впровадження у різних сферах практичної діяльності.

### СИНТЕЗ НАПІВПРОВІДНИКОВИХ КВАНТОВИХ ТОЧКОВИХ НАНОЧАСТИНОК CdS

Флуоресцентні напівпровідникові нанокристали, відомі в літературі також як квантові точки, складаються із 10–50 атомів, а їх діаметр складає 2–10 нм [5]. Вони побудовані з напівпровідникового ядра, оточеного оболонкою та утвореного елементами II–VI або III–V груп періодичної системи. Як уже згадувалося вище, нанокристали характеризуються унікальними оптичними та оптоелектронними властивостями, придатними для широкого діапазону застосувань. Зокрема, завдяки широким спектрам поглинання квантові точки випромінюють у вузькому діапазоні довжин хвиль, а також мають високі рівні фотостабільності і яскравості. Колір флуоресценції нанокристалу є регульованим під час синтезу параметром, оскільки залежить від хімічного складу, особливостей поверхні та розміру. Загалом, колір флуоресценції змінюється від червоної до синьої частини спектра зі зменшенням розміру квантових точок. При цьому відбувається одночасне зростання інтенсивності випромінювання [4]. Описана залежність оптичних характеристик від розмірів нанокристалів визначається ефектом квантового просторового обмеження.

Нанокристали сульфід кадмію сьогодні викликають значний інтерес з огляду на можливість їхнього використання у біології та біомедицині як флуоресцентних міток для детектування субклітинних структур та окремих молекул речовин. Традиційні методи отримання їх (як і наночастинок благородних металів) є екологічно небезпечними, високовитратними та складними, що позначається на високій вартості і підвищеній токсичності кінцевого продукту. Нами було розроблено метод біотехнологічного синтезу наночастинок сульфід кадмію з використанням біосистем базидіального гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (рис. 4, 5) [47], бактерії *Escherichia coli* (Migula) Castellani et Chalmers (рис. 6, 7) [48] та рослини *Linaria maroccana* L. (рис. 8, 9) [49].

Ефективність використання грибних систем для синтезу нанокристалів CdS обґрунтована наявністю у грибів ферментів сульфатредуктаз, які здійснюють відновлення сульфатних груп солі металу безпосередньо у культуральному середовищі. У результаті відбувається позаклітинне формування наночастинок CdS. Окрім того, гриби мають високу продуктивність синтезу та секреції ферментів, білкових і вуглеводневих сполук. З огляду на це впровадження технологій промислового синтезу квантових точкових наночастинок з використанням грибів передбачає отримання високого виходу наночастинок [1, 3, 21, 22]. Нами вперше показано успішний біологічний синтез CdS позаклітинним шляхом з використанням базидіального гриба *Pleurotus ostreatus* [47]. Відомо, що спектроскопія оптичного поглинання є ефективним методом як встановлення самого факту наявності наночастинок у досліджуваних зразках, так і оцінки розміру цих частинок [50]. Зокрема, великі кристаліти (>10 нм) характеризуються поглинанням, близьким до монокристалів, водночас наночастинки розміром менше 10 нм характеризуються зсувом краю поглинання до блакитної смуги випромінювання («блакитний» зсув смуги), що відображає збільшення ширини забороненої зони [51]. Дослідження спектрів поглинання показало, що для синтезованих за допомогою гриба зразків спектр поглинання має вигляд широкої куполоподібної смуги з максимумом  $\lambda_{\max} \sim 453$  нм (для монокристалів ця величина становить  $\sim 515$  нм), що є характерним для нанокристалів CdS з урахуванням «блакитного» зсуву. На рис. 4 наведено спектр фотолюмінесценції, отриманий при збудженні випромінюванням з довжиною хвилі  $\lambda = 340$  нм для зразків, що містять квантові точки CdS (крива 2) у порівнянні зі спектром фотолюмінесценції розчину чистої культивувальної рідини *P. ostreatus* (крива 1). Власне світіння культивувальної рідини характеризується широкою куполоподібною смугою, тоді як люмінесценція синтезованого зразка має суттєво складні-

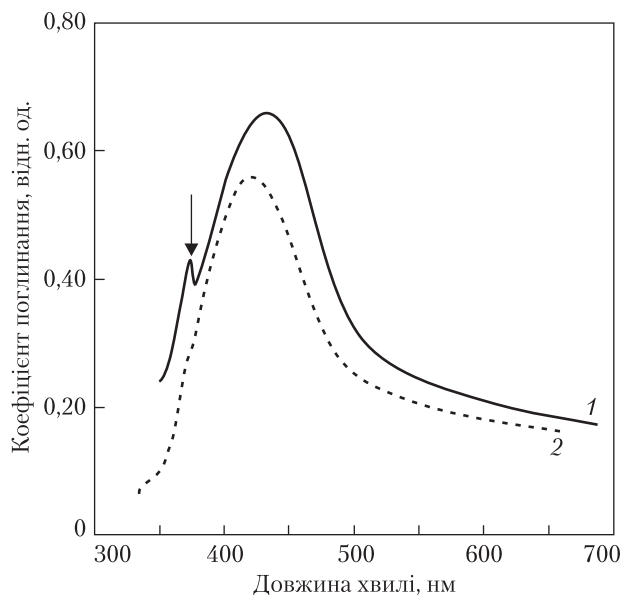


Рис. 6. Спектр поглинання квантових точок CdS, отриманих за допомогою бактерії *E. coli*: 1 — одразу після синтезу; 2 — через 10 діб

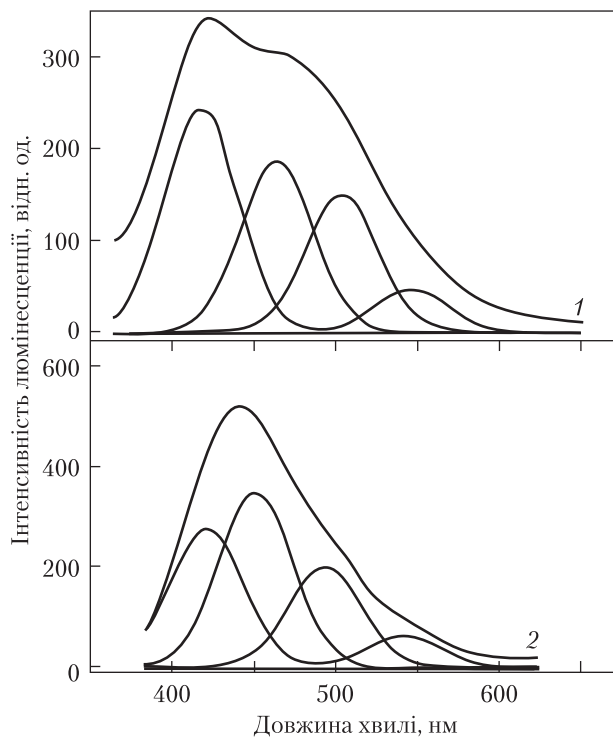
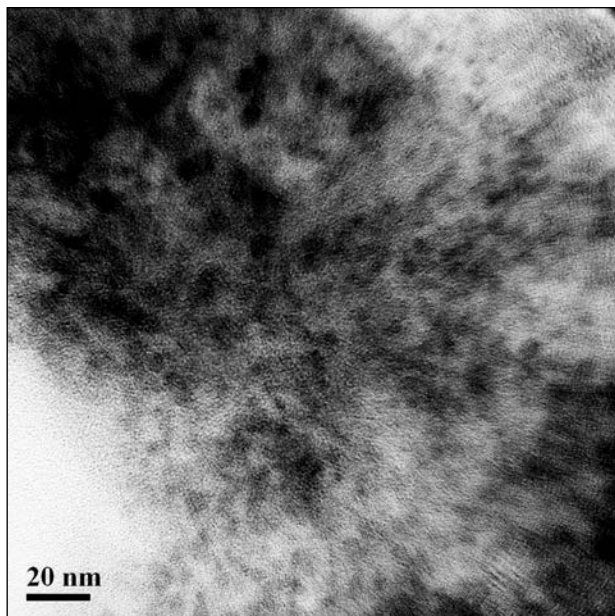
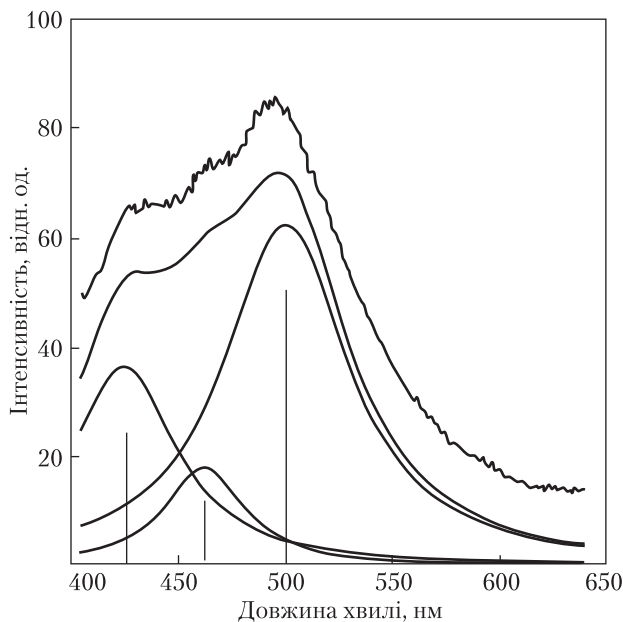


Рис. 7. Спектр фотолюмінесценції квантових точок CdS, отриманих за допомогою бактерії *E. coli*: 1 — одразу після синтезу; 2 — через 10 діб



**Рис. 8.** Електронно-мікроскопічне зображення конгломератів квантових точок CdS, отриманих за допомогою бактерії *E. coli*. Масштабна позначка – 20 нм



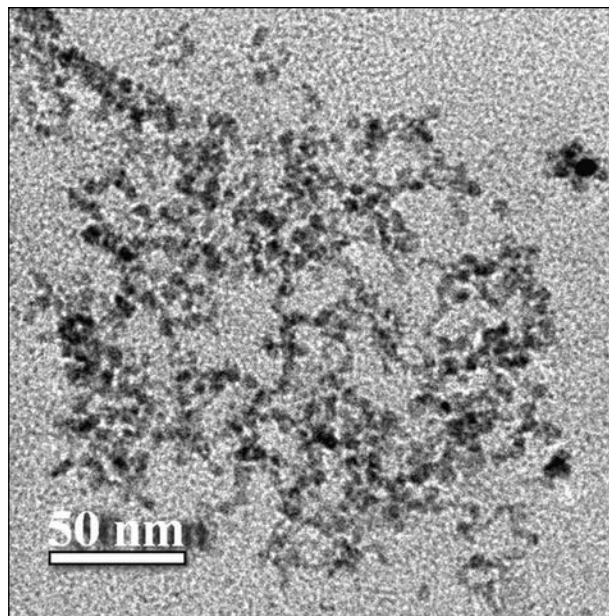
**Рис. 9.** Спектр фотолюмінесценції квантових точок CdS, отриманих за допомогою екстракту бородатих коренів *L. maroccana*

ший характер. Зокрема, спостерігаються декілька чітких максимумів на довжинах хвиль 431, 462, 486 і 524 нм. Дані піки відповідають екситонним смугам наночастинок різного розміру [47]. За допомогою просвічувальної електронної мікроскопії було встановлено, що синтезовані квантові точки сульфід кадмію утворюють кулясті конгломерати діаметром 40–70 нм (рис. 5). У межах вказаних скупчень квантові точки CdS мають сферичну форму, однорідну морфологію та діаметр у межах 5–8 нм.

Перевагою використання мікроорганізмів для розробки ефективних методик синтезу квантових точок, порівняно з іншими біологічними об'єктами, є їхня здатність функціонувати в навколишньому середовищі в стресових умовах, зокрема за наявності високих концентрацій металів, а також за умов різких змін температури, *pH* та тиску [48]. Серед мікроорганізмів бактерія *E. coli* потенційно є одним із найбільш ефективних об'єктів для біосинтезу напівпровідникових нанокристалів. Це зумовлено можливістю детального дослідження, відносною простотою, зручністю та швидкістю культивування у великих масштабах у поєднанні зі здатністю *E. coli* секретувати у культивацийне середовище цілий ряд метаболітів, задіяних у синтезі квантових точок. Нами було здійснено синтез квантових точок сульфід кадмію за допомогою надсадової рідини бактеріальної культури *E. coli* [48]. На основі вивчення спектрів поглинання та люмінесценції було показано високу стабільність у часі отриманого нанопродукту, а також встановлено, що щойно синтезовані напівпровідникові наночастинок CdS мають розміри у діапазоні 2,5–2,6 нм. Протягом 10-ти діб ці нанокристали об'єднуються у кластери розміром 4–8 нм і утворена фракція щільних наночастинок зберігається у зразку протягом 3 місяців. На короткохвильовому схилі спектру щойно синтезованих нанокристалів спостерігалася вузька смуга з максимумом на довжині хвилі 368 нм (рис. 6). У літературних джерелах зазначається, що для наночастинок розміром менше 3 нм



екситонне поглинання виявляється саме у вигляді інтенсивного гострого піку [52]. Водночас спектр поглинання наночастинок через 10 діб після синтезу мав вигляд широкої смуги з максимумом в області 420–430 нм, що відображала поглинання об'єктів розміром 4–8 нм. На рис. 7 наведено спектри фотолюмінесценції, отримані при збудженні випромінюванням лазера  $\lambda = 345$  нм, які відповідають свіжовиготовленим зразкам (суцільна крива 1) та зразкам, витриманим 10 діб (суцільна крива 2). Спектральний контур було розділено на компоненти, які описуються гаусіанами однакової ширини. Для коректного поділу спектрів достатніми виявилися 4 гаусіани, кожен з яких відповідав люмінесценції наночастинок певного діаметру. Як видно з рис. 7, спектр люмінесценції свіжовиготовлених зразків має форму широкої смуги з максимумами на довжинах хвиль 422 та 470 нм, причому з чотирьох спектральних компонентів найбільш інтенсивним є гаусіан з максимумом при 417 нм (фракція наночастинок найменших розмірів). Через 10 діб після синтезу спектр має вигляд більш вузької симетричної смуги з максимумом уже на довжині хвилі 443 нм. У цьому випадку спостерігається перерозподіл інтенсивності спектральних компонентів таким чином, що найбільш інтенсивним стає гаусіан з максимумом при 459 нм. Останнє вказує на протікання процесу поступового об'єднання наночастинок, внаслідок чого зростає фракція наночастинок більшого розміру – продуктів об'єднання. Проте утворені внаслідок часткової агрегації наноструктури залишалися стабільними протягом 3 місяців після синтезу, про що свідчить незмінний спектр їх фотолюмінесценції. За допомогою рентгеноспектрального аналізу нами були отримані електронограми зразків CdS, осаджених на мідь-вуглецевій сітці. Дифракційні максимуми відповідали міжплощинним відстаням 0,341; 0,209 та 0,1876 нм. Вказані міжплощинні відстані, у свою чергу, відповідають кристалам CdS (модифікація вюрцит). Окрім того, методом сканувальної



**Рис. 10.** Електронно-мікроскопічне зображення квантових точок CdS, отриманих за допомогою екстракту бородачків коренів *L. maroccana*. Масштабна позначка – 50 нм

просвічувальної електронної мікроскопії високого розділення було встановлено, що синтезовані квантові точки CdS мають форму, близьку до сферичної, діаметр у діапазоні 4–8 нм та не демонструють поверхневих дефектів (рис. 8). Як показано у роботі [53], бактерія *E. coli* має ендогенну здатність до синтезу наночастинок CdS за наявності відповідних неорганічних солей. Автори роботи зазначають, що здатність до формування нанокристалів CdS суттєво залежить від штаму бактерії та фази її розвитку в культурі. У нашому дослідженні було підтверджено, що культура клітин *E. coli* являє собою ефективну біологічну ємність для отримання квантових точок сульфід кадмію. При цьому оптимальним є використання бактеріальної культури в стаціонарній фазі її розвитку.

Можливість біосинтезу напівпровідникових наночастинок з використанням рослин на сьогодні є малодослідженою, проте використання рослинних екстрактів при створенні таких нанооб'єктів є економічно виправданим та

безпечним для оточуючого середовища [31]. Нами представлено метод «зеленого» синтезу нанокристалів CdS з використанням екстракту культури трансгенних «бородатих» коренів льонку *Linaria maroccana* L. [49]. Слід зазначити, що біомаса даної рослини здатна у значних кількостях накопичувати алкалоїд D, L-пеганін, флавоноїдні глікозиди, аскорбінову кислоту, пектинові сполуки тощо. Імовірно, саме ці сполуки можуть бути задіяні у формуванні стабільних напівпровідникових наночастинок CdS у клітинах. Розмір синтезованих за допомогою *L. maroccana* наночастинок коливався у діапазоні 2–8,5 нм. Спектр їх люмінесценції демонстрував три помітних максимуми, що відповідали довжинам хвиль 425; 462 та 500 нм (рис. 9). За допомогою методу ТЕМ було виявлено, що отримані наночастинки CdS мають еліптичну та наближену до сферичної форму і не містять значних дефектів структури поверхні (рис. 10).

### ВИСНОВКИ

Отже, синтезовані нанокристали CdS мали типові для квантових точок спектри поглинання та люмінесценції, еліпсоїдну або наближену до сферичної форму, характеризувалися розподілом розмірів у діапазоні від 1,5 до 9 нм, а також були стабільними протягом тривалих періодів часу. У подальшому привертає увагу можливість керування розмірами синтезованих наночастинок CdS шляхом варіювання умов синтезу, оскільки розмір наночастинок є однією з визначальних характеристик для їх практичного застосування. Отримані за допомогою описаного «зеленого» синтезу наночастинок CdS є перспективними для використання у біологічних дослідженнях, зокрема як новий клас флуорофорів.

Загалом, наночастинок, синтезованих з використанням біологічної сировини, мають ряд чітких переваг: контрольований розмір, вища стабільність *in vivo*, нетоксичність, безпечність, біологічна сумісність, відповідність методологій отримання та властивостей продукту принци-

пам «зеленої» хімії. Нами було розроблено ефективну, екологічну «зелену» технологію отримання наночастинок благородних металів та квантових точок з використанням біологічних систем. Показано також, що, окрім зменшення навантаження на довкілля й підвищення економічної ефективності, використання біологічних систем та їхніх компонентів відкриває можливість створення високоякісних наночастинок із заданими морфологічними параметрами на рівні широкомасштабного виробництва для галузей біології та біомедицини.

Дослідження було підтримано проектом Державної цільової науково-технічної програми «Нанотехнології та наноматеріали» на 2010–2014 рр. «Розроблення дослідно-промислової технології синтезу точкових наночастинок за допомогою фітоємкостей та культури клітин рослин та для візуалізації субклітинних структур» (№ ДР 0113U001871) та проектом 3/28 «Розробка нанобіотехнологічних підходів отримання квантових точок сульфідів кадмію та дослідження їх біологічної активності» Відділення цільової підготовки Київського національного університету імені Тараса Шевченка при Національній академії наук України на 2014 р.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Mohanpuria P., Rana N., Yadav S. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications // J. Nanopart. Res. — 2008. — V. 10. — P. 507–517.
2. Tam J.M., Tam J.O., Murthy A. et al. Controlled assembly of biodegradable plasmonic nanoclusters for near-infrared imaging and therapeutic applications // ACS Nano — 2010. — V. 4. — P. 2178–2184.
3. Бурлака О.М., Пірко Я.В., Ємець А.І., Блом Я.Б. «Зелений» синтез наночастинок металів: потенціал біологічних систем та перспективи розвитку // Наноструктурное материаловедение. — 2012. — № 4. — С. 89–103.
4. Sarwat B.R., Ghaderi S., Keshtgar M., Seifalian A.M. Semiconductor quantum dots as fluorescent probes for *in vitro* and *in vivo* bio-molecular and cellular imaging // Nano Rev. — 2010. — V. 1. — P. 1–15.
5. Singh S.H., Bozhilov K., Mulchandani A. et al. Biologically programmed synthesis of core-shell CdSe/ZnS nanocrystals // Chem. Commun. — 2010. — V. 46. — P. 1473–1475.

6. *Michalet X., Pinaud F.F., Bentolila L.A.* Quantum dots for live cells, *in vivo* imaging, and diagnostics // *Science*. — 2005. — V. 307, № 5709. — P. 538–544.
7. *Dahl J.A., Maddux B.L.S., Hutchison J.E.* Toward greener nanosynthesis // *Chem. Rev.* — 2007. — V. 107. — P. 2228–2269.
8. *Iravani S.* Green synthesis of metal nanoparticles using plants // *Green Chem.* — 2011. — V. 13. — P. 2638–2650.
9. *Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.* Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // *Успехи химии*. — 2008. — 77, № 3. — С. 242–269.
10. *Darroudi M., Ahmad M.B., Zamiri R. et al.* Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles // *Int. J. Nanomedicine*. — 2011. — V. 6. — P. 677–681.
11. *Nirmal M., Dabbousi B.O., Bawendi M.G. et al.* Brus L.E. Fluorescence intermittency in single cadmium selenide nanocrystals // *Nature*. — 1996. — V. 383. — P. 802–804.
12. *Gaponik N., Talapin D.V., Rogach A.L. et al.* Thiol-capping of CdTe nanocrystals: An alternative to organometallic synthetic routes // *J. Phys. Chem.* — 2002. — V. 106. — P. 7177–7185.
13. *Shankar S.S., Rai A., Ahmad A., Sastry M.* Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth // *J. Coll. Interface Sci.* — 2004. — V. 275. — P. 496–502.
14. *Song J.Y., Kim B.S.* Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts // *Bioproc. Biosyst. Eng.* — 2009. — V. 32. — P. 79–84.
15. *Lim J.-S., Kim S.-M., Lee S.-Y. et al.* Formation of Au/Pd alloy nanoparticles on TMV // *J. Nanomater.* — 2010. — V. 6. — P. 620505–620511.
16. *Nair B., Pradeep T.* Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus* strains // *Cryst. Growth. Des.* — 2002. — V. 2. — P. 293–298.
17. *Kannan N., Subbalaxmi S.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Bacillus subtilis* IA751 and its antimicrobial activity // *Res. J. Nanosci. Nanotechnol.* — 2011. — V. 1, № 2. — P. 94–97.
18. *Manonmani V., Vimala J.* Biosynthesis of Ag nanoparticles for the detection of pathogenic bacteria in food // 2011 Int. Conf. Innovat., Management Service IPEDR. IAC SIT Press, Singapore, 2011. — V. 14. — P. 311.
19. *Mousavi R.A., Akhavan S.A., Fazeli M.R.* Biosynthesis, purification and characterization of cadmium sulfide nanoparticles using *Enterobacteriaceae* and their application // *Nanomater. Appl. Proper.* — 2012. — V. 1, № 1. — P. 1–5.
20. *Dameron C.T., Reese R.N., Mehra R.K.* Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites // *Nature*. — 1989. — V. 338, № 13. — P. 596–597.
21. *Ahmad A., Senapati S., Khan M.I. et al.* Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* sp. // *Nanotechnol.* — 2003. — V. 14. — P. 824–828.
22. *Ahmad A., Senapati S., Khan M.I. et al.* Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp. // *Langmuir*. — 2003. — V. 19. — P. 3550–3553.
23. *Bansal V., Poddar P., Ahmad A., Sastry M.* Room-temperature biosynthesis of ferroelectric barium titanate nanoparticles // *J. Am. Chem. Soc.* — 2006. — V. 128. — P. 11958–11963.
24. *Vigneshwaran N., Ashtaputre N.M., Varadarajan P.V. et al.* Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus* // *Mat. Lett.* — 2007. — V. 61. — P. 1413–1418.
25. *Kumar S.A., Ayoobul A.A., Absar A., Khan M.I.* Extracellular biosynthesis of CdSe quantum dots by the fungus, *Fusarium oxysporum* // *J. Biomed. Nanotechnol.* — 2007. — V. 3. — P. 190–194.
26. *Arjunan K., Murugan K., Rejeeth C. et al.* Green synthesis of silver nanoparticles for the control of mosquito vectors of malaria, filariasis, and dengue // *Vector Borne Zoonotic Dis.* — 2012. — V. 12, № 3. — P. 262–269.
27. *Jayaseelan C., Rahuman A.A., Rajakumar G. et al.* Synthesis of pediculocidal and larvicidal silver nanoparticles by leaf extract from heartleaf moonseed plant, *Tinospora cordifolia* Miers // *Parasitol. Res.* — 2011. — V. 109. — P. 185–194.
28. *Guidelli E.J., Ramos A.P., Zaniquelli M.E.D., Baffa O.* Green synthesis of colloidal silver nanoparticles using natural rubber latex extracted from *Hevea brasiliensis* // *Spectrochimica Acta A.* — 2011. — V. 82. — P. 140–145.
29. *Kaviya S., Santhanalakshmi J., Viswanathan B.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Polyalthia longifolia* leaf extract along with D-sorbitol: study of antibacterial activity // *J. Nanotechnol.* — 2011. — V. 2011. Article ID 152970, 5 pages. doi:10.1155/2011/152970  
Режим доступу (<http://www.hindawi.com/journals/jnt/2011/152970>).
30. *Mallikarjuna K., Narasimha G., Dillip G.R. et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum* leaf extract and characterization // *Digest J. Nanomater. Biostruct.* — 2011. — V. 6, № 1. — P. 181–186.
31. *Marchiol L.* Synthesis of metal nanoparticles in living plants // *Italian J. Agron.* — 2012. — V. 7, № 3. — P. 274–282.
32. *Anshup A., Venkataraman J.S., Subramaniam C. et al.* Growth of gold nanoparticles in human cells // *Langmuir*. — 2005. — V. 21. — P. 11562–11567.
33. *Satyavani K., Ramanathan T., Gurudeeban S.* Plant mediated synthesis of biomedical silver nanoparticles by using leaf extract of *Citrullus colocynthis* // *Res. J. Nanosci. Nanotechnol.* — 2011. — V. 1, № 2. — P. 95–101.

34. Virkutyte J., Varma R.S. Green synthesis of metal nanoparticles: Biodegradable polymers and enzymes in stabilization and surface functionalization // Chem. Sci. — 2011. — V. 2. — P. 837–846.
35. Shukla R., Nune S.K., Chanda N. et al. Soybeans as a phytochemical reservoir for the production and stabilization of biocompatible gold nanoparticles // Small. — 2008. — V. 4, № 9. — P. 1425–1436.
36. Mukherjee P., Senapati S., Mandal D. et al. Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum* // Chem. Bio. Chem. — 2002. — V. 3. — P. 461–463.
37. Shahverdi A., Minaeian S., Shahverdi H.R. et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of *Enterobacteria*: a novel biological approach // Proc. Biochem. — 2007. — V. 42. — P. 919–923.
38. Xie J., Lee J.Y., Wang D.I.C., Ting Y.P. Silver nanoplates: from biological to biomimetic synthesis // ACS Nano. — 2007. — V. 1. — P. 429–439.
39. Li S., Shen Y., Xie A. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annuum* L. extract // Green Chem. — 2007. — V. 9. — P. 852–858.
40. Li X., Xu H., Chen Zh-Sh., Chen G. Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications // J. Nanomater. — 2011. — P. 1–16.
41. Pomogailo A.D., Kestelman V.N. (eds.) Metallopolymer Nanocomposites. Springer: Berlin, Heidelberg, New York, 2005. — 350 p.
42. He F., Zhao D., Liu J., Roberts C.B. Stabilization of Fe-Pd bimetallic nanoparticles with sodium carboxymethyl cellulose for enhanced degradation of TCE in water // Ind. Eng. Chem. Res. — 2007. — V. 46. — P. 29–34.
43. Блюм Я.Б., Пірко Я.В., Даниленко І.А. та ін. Спосіб одержання наночастинок срібла та золота // Патент України на корисну модель № 86778 від 10.01.2014.
44. Pirko Ya., Danylenko I., Kolomys O. et al. Phytochemical mediated synthesis of silver and gold nanoparticles // Curr. Pharm. Biotechnol. — 2012. — V. 13, № 15. — P. 85.
45. Pirko Ya., Danylenko I., Kolomys O. et al. Synthesis of silver nanoparticles using phytoextracts from higher plants // «Chemistry-2011»: 10th Int. Conf. Lithuanian Chemists, October 2011: abstracts. — Vilnius, 2011. — P. 135.
46. Даниленко І.А., Ботвинко А.В., Пірко Я.В. та ін. Синтез та антибактеріальні властивості наночастинок срібла, отриманих за допомогою фітоекстрактів // «Наноразмерные системы: строение, свойства, технологии» (НАНСИС-2013): IV Междунар. науч. конф., 19–22 ноября 2013 г.: тезисы докл. — Киев. — С. 472.
47. Борова М.М., Науменко А.П., Пірко Я.В., Крутьдорова Т.А., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Отримання квантових точок CdS з використанням гриба *Pleurotus ostreatus* // Доповіді НАН України. — 2014. — № 2. — С. 153–159.
48. Борова М.М., Науменко А.П., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Стабільність квантових точок CdS, синтезованих за допомогою бактерії *Escherichia coli* // Доповіді НАН України. — 2014. — № 7. — С. 145–151.
49. Borova M.N., Naumenko A.P., Matvieieva N.A. et al. Biosynthesis of luminescent CdS quantum dots using plant hairy root culture // Nanoscale Res. Lett. — 2014. — V. 9: 686. doi:10.1186/1556-276X-9-686
50. Martínez-Castañón G.A., Loyola-Rodríguez J.P., Reyes-Macias J.F. Synthesis and optical properties of functionalized CdS nanoparticles with different sizes // Superficies y vacío. — 2010. — V. 23, № 4. — P. 1–4.
51. Асаула В.Н., Мирная Т.А., Яремчук Г.Г. Наноструктурированные жидкокристаллические системы алканатов металлов с наночастицами CdS // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. — 2012. — V. 10, № 1. — С. 193–201.
52. Rossetti R., Ellison J.L., Gibson J.M., Brus L.E. Size effects in the excited electronic states of small colloidal CdS crystallites // J. Chem. Phys. — 1984. — V. 80, № 9. — P. 4464–4469.
53. Sweeney R.Y., Mao C., Gao X. Bacterial biosynthesis of cadmium sulfide nanocrystals // Chem. Biol. — 2004. — V. 11, № 11. — P. 1553–1559.

Я.Б. Блюм<sup>1</sup>, Я.В. Пирко<sup>1</sup>,  
О.Н. Бурлака<sup>1</sup>, М.Н. Боровая<sup>1</sup>, І.А. Даниленко<sup>1</sup>,  
П.С. Смертенко<sup>2</sup>, А.І. Ємець<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Інститут пищевой биотехнологии  
и геномики НАН Украины», Киев

<sup>2</sup> Інститут фізики напівпровідників  
ім. В.Е. Лашкарева НАН України, Киев

«ЗЕЛЕНЬКИЙ» СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ  
БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛЛОВ  
И ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ НАНОКРИСТАЛЛОВ  
CdS С ПОМОЩЬЮ БИОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ

Рассмотрены основополагающие принципы синтеза наночастиц металлов и полупроводниковых нанокристаллов, а также перспективы его применения. Проанализирована актуальность перспективы использования живых систем и их компонентов для разработки «зеленых» технологий синтеза нанобъектов с исключительными свойствами и широким спектром применений. Описан биотехнологический синтез наночастиц серебра, золота и биметаллических серебряно-золотых наночастиц с использованием экстрактов растений *Magnolia denudata*, *M. stellata*, *Camellia sinensis* var. *sinensis*, *C. sinensis* var. *assamica*, *Orthosiphon stamineus* и *Hypericum perforatum*. Приведены результаты получения флуоресцентных полупроводниковых нанокристаллов сульфида кадмия с помощью бактерии *Escherichia coli*, базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* и растения *Linaria maroccana*. Представлены морфологические и оптические характеристики синтезированных наночастиц.

**Ключевые слова:** «зеленый» синтез наночастиц, биологический синтез наночастиц, фитохимические емкости, наночастицы благородных металлов, биметаллические наночастицы, полупроводниковые квантовые точечные наночастицы, флуоресцентные нанокристаллы сульфида кадмия.

Ya.B. Blume<sup>1</sup>, Ya.V. Pirko<sup>1</sup>,  
O.M. Burlaka<sup>1</sup>, M.M. Borova<sup>1</sup>, I.A. Danylenko<sup>1</sup>,  
P.S. Smertenko<sup>2</sup>, A.I. Yemets<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SO «Institute of Food Biotechnology and Genomics»,  
NAS of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup> V.Ye. Lashkaryov Institute of Semiconductor  
Physics (ISP), NAS of Ukraine, Kyiv

«GREEN» SYNTHESIS OF NOBLE METAL  
NANOPARTICLES AND CdS SEMICONDUCTOR  
NANOCRYSTALS USING BIOLOGICAL MATERIAL

The basic principles of synthesis of metal nanoparticles and semiconductor nanocrystals and its application prospects are considered. The relevance of the exploiting living systems and their components for the development of «green» synthesis technology for nano-objects with the unique properties and a wide range of applications is analyzed. The biotechnological synthesis of nanoparticles of silver, gold and bimetallic silver-gold nanoparticles using plant extracts of *Magnolia denudata*, *M. stellata*, *Camellia sinensis* var. *sinensis*, *C. sinensis* var. *assamica*, *Orthosiphon stamineus* and *Hypericum perforatum* is described. The results of cadmium sulfide fluorescent semiconductor nanocrystal synthesis using bacteria *Escherichia coli*, basidiomycete *Pleurotus ostreatus* and plant *Linaria maroccana* are reported. Morphological and optical characteristics of the synthesized nanoparticles are presented.

**Key words:** «green» synthesis of nanoparticles, biological synthesis of nanoparticles, phytochemical tanks, noble metal nanoparticles, bimetallic nanoparticles, semiconductor quantum dot nanoparticles, fluorescent nanocrystals of cadmium sulfide.

Стаття надійшла до редакції 17.11.14