

УДК 579.66

МИКРОБНЫЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ: МЕХАНИЗМЫ, ХАРАКТЕРИСТИКИ, ПРИМЕНЕНИЕ

© 2020 г. Т.А. Воейкова*, О.А. Журавлева*, В.С. Кулигин*, Е.И. Кожухова**, Е.В. Иванов**, В.Г. Дебабов*

**НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика, 117545, Москва, 1-й Дорожный проезд, 1

***НИЦ «Курчатовский институт» – ИРЕА, 107076, Москва, ул. Богородский вал, 3

E-mail: voeikova.tatyana@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.11.2019 г.

После доработки 05.06.2020 г.

Принята к публикации 08.06.2020 г.

Биогенные наночастицы сульфидов кадмия и цинка NPsCdS и NPsZnS получены методом микробного синтеза при использовании бактерий различных таксономических групп – грамотрицательной *Shewanella oneidensis* MR-1 и грамположительной *Bacillus subtilis* 168 – в жидкой среде, в аэробных условиях, в присутствии солей соответствующих металлов и серы. Показано, что стабилизация наночастиц в водных суспензиях осуществляется за счет присутствия на поверхности наночастиц определенных белковых молекул наружной мембраны клеток – белков семейств различных рецепторов, поринов, флагеллина. Исследовано влияние белкового покрытия на стабильность, люминесценцию, ζ -потенциал, гидродинамический диаметр и другие физико-химические характеристики наночастиц. Фотокаталитические свойства NPsCdS продемонстрированы на модели деколоризации красителя метиленового синего при воздействии ультрафиолетового света, что открывает возможность применения биогенных наночастиц в фотокатализе при очистке промышленных отходов.

Ключевые слова: микробный синтез, биогенные наночастицы, флуоресценция, фотокатализ, метиленовый синий.

DOI: 10.31857/S0006302920050051

Халькогениды металлов, такие как CdS и ZnS, являются нанокристаллами полупроводников и квантовыми точками. Они обладают уникальными электронными и оптическими свойствами, находят применение в оптике, электронике, фотоэлектрохимии, преобразовании солнечной энергии, биомедицинских исследованиях, охране окружающей среды, как антимикробные агенты.

Биологический метод получения наночастиц металлов, сульфидов и оксидов с использованием биологических субстанций – бактерий, дрожжей, грибов, экстрактов растений – интенсивно разрабатывается в последние годы. Биосинтез наночастиц с помощью микроорганизмов экологически безопасен, осуществляется при оптимальной для биологического объекта температуре, атмосферном давлении, без образования токсичных отходов, масштабируем, позволяет получать дисперсные наночастицы различной формы с узким распределением по размеру, обеспечивает стабильность наночастиц в водных суспензиях и мо-

жет являться дополнением к физико-химическим методам синтеза наноматериалов.

Стабильность биогенных наночастиц достигается за счет адсорбции на поверхности наноструктур биополимеров, в большинстве случаев, белков, синтезируемых клетками. Удаление белков с поверхности наночастиц приводит к их агрегации и седиментации.

Белки, покрывающие наночастицы, – белковая «корона» – определяют многие свойства, такие как взаимодействие с тканями и клетками живых организмов, судьбу частиц в окружающей среде [1], токсичность [2], влияют на оптико-электронные свойства [3].

Фотокаталитическая деградация органических соединений вызывает большой интерес, поскольку имеет экологическое преимущество по сравнению с традиционными методами. В последние десятилетия наночастицы, включающие халькогениды металлов, стали разрабатываться как эффективные катализаторы для фотохимической деградации органических красителей. Форма и размер нанокристаллов, их поверхностное

Сокращения: УФ – ультрафиолетовый, МС – метиленовый синий.

покрытие играют существенную роль в эффективности процесса фотокатализа [4].

Механизмы бактериального синтеза наночастиц и их стабилизации полностью не выяснены. В научной литературе рассматриваются два основных механизма биогенного образования наночастиц металлов и их солей. В первом случае при получении наночастиц металлов из соответствующих солей происходит восстановление ионов металлов различными редуказами микроорганизмов и адсорбция на поверхности наночастиц гидрофильных молекул, в основном белков, поставляемых клетками бактерий и препятствующих агрегации и седиментации наноматериала. Второй механизм связан с образованием наночастиц сульфидов металлов в среде, содержащей источники ионов металлов и серы. В этом случае сульфидные соединения образуются в результате химической реакции, клетки не являются участниками процесса образования сульфид иона, но они участвуют в образовании наночастиц, предоставляя свои специфические белки и стабилизируя их в водной суспензии. Эти белки, находящиеся на поверхности клеток и в биополимерном матриксе, могут служить центрами адсорбции и последующего роста наночастиц. Нами было показано, что состав белкового слоя на поверхности наночастиц сульфидов металлов определяется штаммом, использованным при получении наноматериала, характеризуется избирательностью адсорбции на поверхность наночастиц определенных белков из общего пула белковых молекул, не строго зависит от химического состава наночастиц и состоит в основном из белковых молекул наружной мембраны клеток бактерий – белков семейств различных рецепторов, поринов, флагеллина [5].

Целью работы являлось исследование влияния белкового покрытия на стабильность, ζ -потенциал, люминесценцию, гидродинамический диаметр наночастиц NPsCdS и NPsZnS, имеющих на своей поверхности принципиально различные наборы белковых молекул, синтезированных в присутствии бактерий, принадлежащих к грамотрицательной (*S. oneidensis* MR-1) и грамположительной (*B. subtilis* 168) таксономическим группам. Также в задачи работы входили оценка фотокаталитических свойств NPsCdS на модели деколоризации метиленового синего при воздействии ультрафиолетового света и получение количественных характеристик процесса для возможного применения биогенных наночастиц сульфида кадмия в качестве фотокатализатора для очистки промышленных стоков от красителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Микробный синтез наночастиц NPsCdS, NPsZnS в присутствии штаммов *Shewanella oneidensis* MR-1 и *Bacillus subtilis* 168. Оптимизированная нами методика была использована для биосинтеза наночастиц сульфида кадмия и сульфида цинка в присутствии бактерий *S. oneidensis* MR-1 (№ В-9861) и *B. subtilis* 168 (№ В-7360) из Национального биоресурсного центра Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика. В дальнейшем будем использовать обозначения NPsCdS/*S. oneidensis*, NPsCdS/*B. subtilis*, NPsZnS/*S. oneidensis* и NPsZnS/*B. subtilis*.

Штаммы микроорганизмов выращивали в колбах, содержащих 100 мл жидкой питательной среды Luria-Bertani, на круговой качалке при 220 об/мин, в течение 24 ч при 30°C. Затем к культуральной жидкости, содержащей бактериальные клетки, приливали водные растворы солей источников ионов серы ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, квалификации «х.ч.», «Химмед», Россия) и металла ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ или ZnCl_2 , квалификации «ч.д.а.», «Химмед», Россия) до конечной концентрации 2 мМ для каждого. Реакционные смеси инкубировали аэробно при тех же условиях. Клетки удаляли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 30 мин (центрифуга High speed 18, MSE, Великобритания), надосадок (декантат) сливали и пропускали через мембранный фильтр Nucleopore с диаметром пор 200 нм (Whatman, Великобритания). Наночастицы NPsCdS, NPsZnS осаждали и отмывали от остатков фильтрата центрифугированием при 32000 об/мин в течение 1 ч (центрифуга L5-50, Beckman, США), после чего осадки наночастиц ресуспендировали в 1.0 мл стерильной деионизированной воды Milli Q (Millipore, США) и хранили в микроцентрифужных пробирках типа Эппендорф при 4°C.

Электрофоретические характеристики биогенных NPsCdS, NPsZnS. Гидродинамический диаметр биогенных наночастиц с учетом белкового покрытия и ζ -потенциал поверхности NPsCdS и NPsZnS измеряли на анализаторе размера частиц Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical, Великобритания) методом динамического и электрофоретического рассеяния света.

Оптические свойства биогенных наночастиц. Параметры флуоресценции водных суспензий биогенных NPsCdS, NPsZnS определяли с использованием ультрафиолетовой (УФ) лампы с длиной волны до 380 нм. Спектры флуоресценции для всех образцов и зависимость интенсивности флуоресценции NPsCdS/*S. oneidensis* от степени разведения водной суспензии наночастиц с концентрацией 1 мг/мл в 100, 400, 800 и 1000 раз регистрировали на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» (Люмекс, Россия) при

оптимальной длине волны возбуждения ($\lambda_{\text{в}} = 270$ нм).

Влияние органических растворителей на стабильность и флуоресценцию биогенных наночастиц NPsCdS/*B. subtilis*. Для решения вопроса дальнейшего применения биогенных наночастиц в композитных материалах требовалось оценить влияние универсальных промышленных растворителей N,N-диметилформамида, диметилсульфоксида, N-метилпирролидона и ацетона на стабильность коллоидной системы биогенных наночастиц и их оптические свойства. Для этого водную суспензию NPsCdS/*B. subtilis* вносили по 0.1 г в 5 г каждого растворителя. Поведение коллоидной системы NPsCdS/растворитель оценивали визуально и с помощью спектрофлуориметра (при $\lambda_{\text{в}} = 270$ нм).

Фотокаталитическая деградация метиленового синего NPsCdS/*B. subtilis*. В эксперименте использовали люминесцентный диагностический осветитель ОЛДД-01 (лампа Вуда) мощностью 9 Вт, основанный на длинноволновом УФ-излучении с рабочей длиной волны 356 нм и имеющий спектральный диапазон возбуждения флуоресценции 340–380 нм. Исходный раствор красителя метиленового синего (МС) (квалификация «ч.д.а.», «Реахим», Россия) готовили на деионизированной воде Milli Q в концентрации 50 ppm (0.05 мг/мл). В чашки Петри (диаметр 60 мм) были внесены растворы МС с различными концентрациями NPsCdS/*B. subtilis* в объеме 16 мл (концентрация 0.67 мг/мл – образец № 1; 0.33 мг/мл – № 2; 0.17 мг/мл – № 3). В качестве контрольных образцов использовали раствор МС без наночастиц, установленный в чашке Петри под УФ-лампу (№ 4) и раствор МС без наночастиц в чашке Петри, инкубированный в темноте (№ 5), поскольку известно, что длительное воздействие УФ-облучения приводит к обесцвечиванию и фотокаталитической деградации МС [6]. Все образцы облучали УФ-светом с длиной волны 365 нм в течение 3 ч, установив лампу Вуда на расстоянии 30 см над чашками Петри. Оптическую плотность исследуемых образцов измеряли каждый час на фотоколориметре КФК-2МП при длине волны 670 нм, близкой к пику поглощения раствора МС (~665 нм), в кюветах с длиной оптического пути 1 мм. По результатам трех экспериментов в программе Microsoft Excel строили графики зависимости оптической плотности образцов от времени воздействия УФ-облучения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика биогенных наночастиц NPsCdS, NPsZnS. Биогенные NPsCdS, NPsZnS были получены нами по оптимизированной методике [7], которая состоит в проведении реакции образова-

ния наночастиц сульфидов металлов непосредственно в жидкой питательной среде, содержащей клетки бактерий и обогащенной белковыми молекулами, синтезированными штаммами в процессе культивирования, а также соли – источники ионов металлов и серы. Используя оптимизированную методику получения биогенных наночастиц, мы увеличили количество белка в реакционном растворе в пять раз, что позволило повысить выход наночастиц на 15–20%. Разработанная нами оптимизированная схема получения биогенных наночастиц сульфида серебра оказалась наиболее эффективной по сравнению со стандартными процессами бактериального синтеза такого типа наноматериала [8, 9] и применяется в настоящее время для биосинтеза наночастиц различного химического состава. Концентрация биогенных NPsCdS, NPsZnS в водных суспензиях зависела от бактериального штамма и варьировала в диапазоне 1–3 мг/мл [10]. Нами было показано, что состав белкового покрытия наночастиц индивидуален и постоянен для каждого из применяемых для биосинтеза бактерий и не строго зависит от химического состава наночастиц сульфидов металлов [5]. На поверхности всех видов наночастиц, полученных при помощи штамма *S. oneidensis*, было выявлено более 15 видов белковых молекул различной молекулярной массы – от 170 до 20 кД, принадлежащих к внешней цитоплазматической мембране клетки. При этом состав белков был практически одинаков для различных по химическому составу наночастиц сульфидов металлов. При использовании для биосинтеза штамма *B. subtilis* на поверхности наночастиц выявлен только один белок – флагеллин с молекулярной массой ~36 кДа. Диаметр наночастиц, определенный с использованием просвечивающего электронного микроскопа, составляет для NPsCdS 5 ± 1 нм, для NPsZnS – 1–2 нм и не зависит от использованных для биосинтеза бактерий: *S. oneidensis* и *B. subtilis*. Форма наночастиц близка к сферической, они являются нанокристаллическими квантовыми точками [11, 12].

В настоящей работе исследовано влияние штаммов, определяющих состав белков на поверхности наночастиц, на электрофоретические характеристики биогенных NPsCdS и NPsZnS. В научной литературе представлены данные о том, что на спектр флуоресценции могут влиять органические молекулы, покрывающие наночастицы. Так, квантовые точки ZnS, полученные с использованием клеток *Clostridiaceae* sp., имели лучшее поглощение в видимой области и более высокую интенсивность флуоресценции по сравнению с их химическими аналогами [13]. Показано, что у биогенных наночастиц NPsZnS оптические спектры поглощения и ширина запрещенной зоны отличаются от аналогичных по-

Основные характеристики биогенных наночастиц NPsCdS и NPsZnS

Характеристика наночастицы	Штаммы, использованные для получения наночастиц			
	<i>S. oneidensis</i> MR-1		<i>B. subtilis</i> 168	
	NPsCdS	NPsZnS	NPsCdS	NPsZnS
Диаметр, нм	5 ± 1	1–2	5 ± 1	1–2
Гидродинамический диаметр, нм	160 ± 2	220 ± 10	250 ± 2	480 ± 20
ζ -потенциал, мВ	-22.4 ± 2.0	$-27,8 \pm 2.0$	-20.5 ± 2.0	-11.1 ± 1.0
Относительная интенсивность флуоресценции	0.1	0.055	0.008	0.0075
Длина волны максимума полосы флуоресценции при $\lambda_b=270$ нм	340	340	320	350

казателей для частиц, полученных химическими методами [14]. Продемонстрировано увеличение интенсивности флуоресценции NPsCdS, коррелирующее с продолжительностью культивирования бактерии *Desulforibrio caledoiensis* и, вероятно, с составом белков на поверхности наночастиц [15].

В таблице представлены основные характеристики наночастиц NPsCdS и NPsZnS, полученных с использованием *S. oneidensis* и *B. subtilis*. Как видно из таблицы, диаметр биогенных наночастиц сульфидов кадмия и цинка, определяемый с использованием просвечивающего электронного микроскопа, составляет 5 ± 1 нм для NPsCdS и 1–2 нм для NPsZnS, полученных в присутствии как *S. oneidensis*, так и *B. subtilis*, т.е. существует различие по размеру, не зависящее от применяемого штамма. Важно, что для всех NPsCdS и NPsZnS биогенного происхождения свойственно наличие белкового покрытия, определяемого как величина гидродинамического диаметра, при этом грамположительная бактерия *B. subtilis* склонна к образованию более значительного по размеру белкового слоя на поверхности наночастиц NPsCdS и NPsZnS: 250 и 480 нм соответственно. Наночастицы NPsCdS/*S. oneidensis* и NPsZnS/*S. oneidensis* характеризуются меньшей величиной гидродинамического диаметра (~ 160 и ~ 220 нм соответственно), что говорит о влиянии бактериального штамма на данный электрофоретический параметр.

Биогенные наночастицы имеют отрицательный ζ -потенциал поверхности, который варьирует в близких значениях для NPsCdS/*S. oneidensis*, NPsZnS/*S. oneidensis* и NPsCdS/*B. subtilis* (-22.4 ± 2.0 , -27.8 ± 2.0 и -20.5 ± 2.0 мВ соответственно). Поскольку величина ζ -потенциала, достигающая ± 30 мВ, характеризует коллоидный раствор как стабильный [16], можно заключить, что водные суспензии NPsCdS и NPsZnS, рассмотренные выше, относятся к метастабильным системам. Приведенные данные контрастируют с величинами электрофоретических характеристик

NPsZnS/*B. subtilis*: при низком значении ζ -потенциала (-11.1 ± 1.0 мВ) величина гидродинамического диаметра составляет 480 ± 20 нм, что почти в 2.2 раза превышает аналогичный параметр для NPsZnS/*S. oneidensis* (220 ± 10 нм при -27.8 ± 2.0 мВ). Такая разница величин свидетельствует о нестабильности коллоидной системы NPsZnS/*B. subtilis*, склонной к агрегации наночастиц и выпадению осадка. Возможно, что два параметра – гидродинамический диаметр и ζ -потенциал, – определяемые штаммом *B. subtilis* 168, связаны со структурой белка флагеллина, присутствующего на поверхности NPsZnS.

Анализ зависимости интенсивности флуоресценции биогенных наночастиц сульфидов металлов от применяемых для их получения штаммов показал, что при использовании бактерии *B. subtilis* наблюдается снижение интенсивности излучения как NPsCdS, так и для NPsZnS, содержащих на своей поверхности белок флагеллин. Возможными причинами этого феномена могут быть конформационные особенности флагеллина или наличие крупных агрегатов наночастиц в образцах водных суспензий NPsCdS/*B. subtilis*, NPsZnS/*B. subtilis*. Определение механизма данного явления требует дополнительных исследований. При этом вне зависимости от бактериального штамма, определяющего белковое покрытие наночастиц, для всех образцов при $\lambda_b = 270$ нм наблюдается максимум полосы флуоресценции в схожем диапазоне длин волн 300–400 нм. В качестве примера на рис. 1 представлены спектры флуоресценции наночастиц сульфидов цинка, полученных с использованием разных штаммов, где интенсивность флуоресценции для NPsZnS/*S. oneidensis* и NPsZnS/*B. subtilis* составляет 0.055 и 0.0075 единиц соответственно.

Оценка интенсивности флуоресценции NPsCdS/*S. oneidensis* MR-1 в зависимости от концентраций наночастиц. Использование биогенных наночастиц для создания полимерных нанокомпозитных материалов и исследование параметров фотокаталитических процессов с участием наноча-

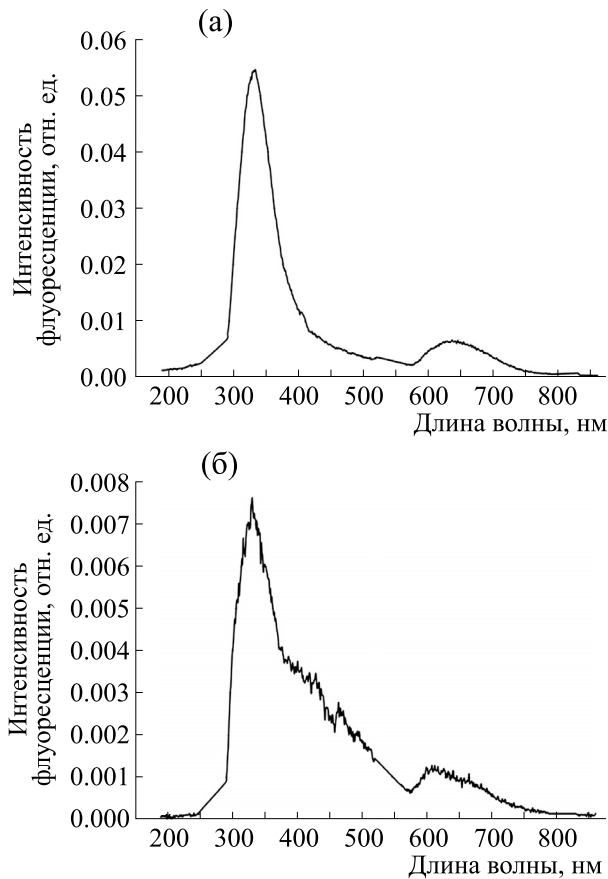


Рис. 1. Спектры флуоресценции NPsZnS, синтезированных с использованием штаммов *S. oneidensis* MR-1 (а) и *B. subtilis* 168 (б).

стиц предполагает оценку зависимости интенсивности флуоресценции NPsCdS от концентрации наночастиц в образцах. Установлено, что максимальное значение интенсивности испускаемого излучения биогенного флуорофора NPsCdS/*S. oneidensis* достигалось при длине волны возбуждения 270 нм [12]. Нами была определена интенсивность флуоресценции водной суспензии, содержащей NPsCdS в концентрации 1 мг/мл, при ее последовательных разведениях. Максимальные значения пика флуоресценции для NPsCdS наблюдались при длине волны излучения 340 нм. Для каждого разведения водной суспензии NPsCdS был построен график зависимости интенсивности флуоресценции от длины волны излучения. Показано, что при разведениях в 10, 100, 800 и 1000 раз интенсивность флуоресценции NPsCdS достоверно определяется. В качестве примера на рис. 2 приведены общий график зависимости интенсивности флуоресценции NPsCdS от степени разведения водной суспензии наночастиц (рис. 2а), а также спектры флуоресценции для исходной суспензии и разведенной в 1000 раз (рис. 2б,в). При дальнейших разведениях

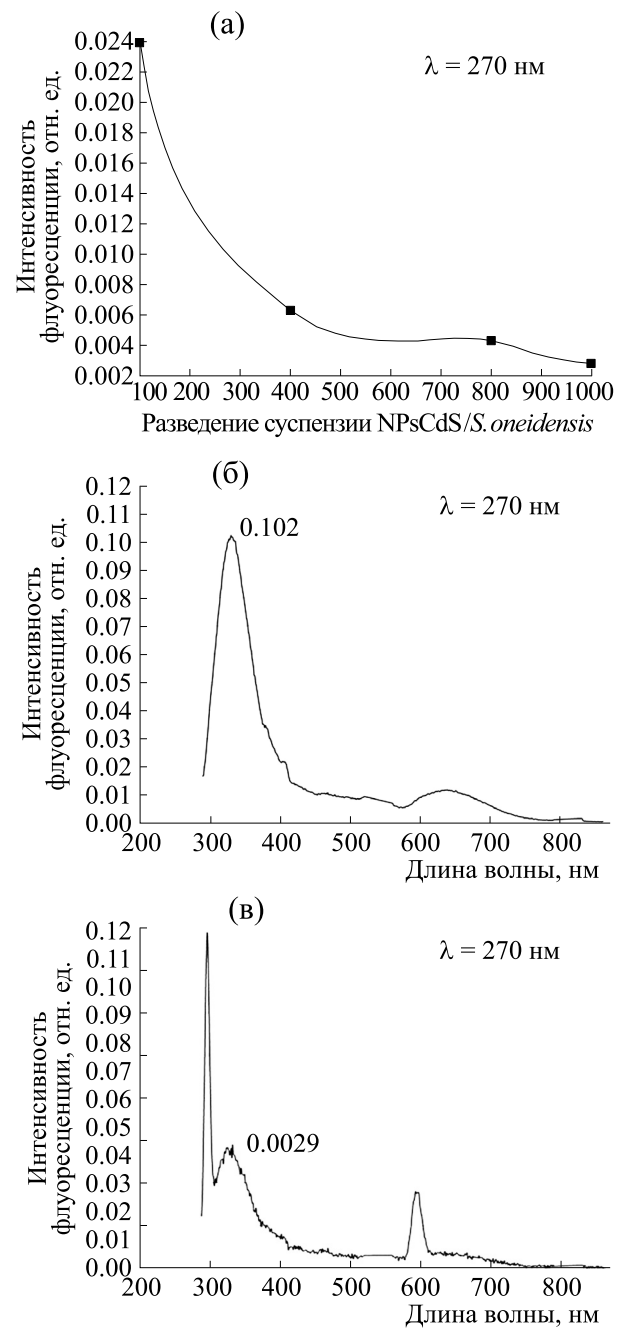


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции NPsCdS/*S. oneidensis* MR-1: (а) – общий график зависимости от степени разведения водной суспензии наночастиц; (б) – спектр флуоресценции исходной суспензии NPsCdS; (в) – спектр флуоресценции NPsCdS при разведении суспензии в 1000 раз.

свыше $1 \cdot 10^3$ раз значение интенсивности флуоресценции являлось фоновым и не имело постоянного значения или тенденции к уменьшению. Таким образом, установлен диапазон концентраций наночастиц в водной суспензии, который может быть определен с помощью спектрофлуориметра, он составляет от 1.25 до 1000 мкг/мл.

Люминесценция и стабильность NPsCdS/*B. subtilis* 168 при введении в органические растворители.

При создании полимерных композитов, в которых наночастицы играют роль наполнителей, обязательным требованием является высокая устойчивость биогенных наночастиц к различным физико-химическим воздействиям. Длительная стабильность наночастиц в водных суспензиях достигается за счет наличия поверхностного белкового слоя, формируемого штаммами микроорганизмов [9]. Изменение конформации и количества белка, потеря заряда поверхности наночастиц приводят к агрегации и седиментации нанонаполнителя, что негативно сказывается на качестве полимерного нанокомпозита. Анализ влияния органических растворителей на стабильность и интенсивность флуоресценции биогенных NPsCdS является необходимым этапом технологического процесса создания нанокомпозита. Было показано, что при введении наночастиц в органические растворители N,N-диметилформамид, диметилсульфоксид, ацетон и N-метилпирролидон не происходило образования агломератов и выпадения осадка, т.е. коллоидная система оставалась стабильной. Во всех случаях были зарегистрированы спектры флуоресценции NPsCdS/растворитель в диапазоне длин волн 300–400 нм, имеющие различную интенсивность сигнала. Максимальными значениями интенсивности сигнала обладали системы, содержащие водную суспензию NPsCdS и растворители N-метилпирролидон и N,N-диметилформамид. Эти органические растворители часто используют при работе с полимерными матрицами, поэтому полученные результаты представляют интерес для конструирования и эксплуатации полимерных материалов, наполненных биогенными наночастицами.

Фотокаталитические характеристики NPsCdS/*B. subtilis* на примере деколоризации метиленового синего. В последнее время для очистки промышленных стоков от красителей методом фотодegradации используют такие вещества, как полупроводниковые фотокатализаторы в форме наночастиц [17]. Так, наночастицы диоксида титана (TiO₂) используют в технологических процессах очистки воды и воздуха от органических примесей, а также для фотодegradации красителей [18]. Показано, что degradation 90% исходного количества красителей метиленового синего и бриллиантового зеленого с использованием TiO₂ достигается за 6 ч УФ-облучения [19]. Продемонстрирован эффект фотодegradации метилового оранжевого наночастицами TiO при облучении УФ-светом с предварительной обработкой наночастиц ультразвуком [20]. Оксид цинка (ZnO) в виде наночастиц катализировал фотодegradацию метиленового синего в концентрации 0,015 г/л в течение 2 ч до полного обесцвечивания красителя

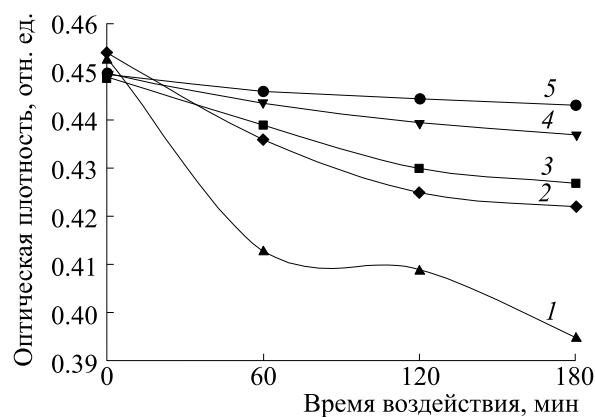


Рис. 3. Фотокаталитическая degradation водного раствора MC NPsCdS/*B. subtilis* 168 при УФ-облучении: 1 – образец № 1 (NPsCdS, 0,67 мг/мл); 2 – № 2 (NPsCdS, 0,33 мг/мл); 3 – № 3 (NPsCdS, 0,17 мг/мл); 4 – раствор MC без наночастиц, но с УФ-облучением; 5 – раствор MC без наночастиц и УФ-облучения.

[21]. Наночастицы CdS катализировали обесцвечивание на 60% красителя малахитового зеленого при облучении УФ-светом в течение 3 ч [22]. В связи с этим, исследование возможности биогенных наночастиц катализировать процессы фотокаталитической degradation красителей представляет несомненный интерес.

Нами была проведена оценка способности NPsCdS/*B. subtilis* к фотокаталитической degradation раствора MC при воздействии УФ-света. Эксперименты были проведены в трех повторностях. На рис. 3 представлены результаты УФ-облучения водных растворов MC в присутствии NPsCdS/*B. subtilis* в различных концентрациях и раствора MC без наночастиц. Показано, что при концентрации биогенных наночастиц, составляющей 0,67 мг/мл, в течение 3 ч УФ-обработки исследуемого раствора MC (образец № 1) происходит снижение показателя оптической плотности и степень фотокаталитической degradation красителя в экспериментах варьирует в пределах 12–15% (рис. 3, кривая 1). Наночастицы с концентрациями 0,33 мг/мл (образец № 2) и 0,17 мг/мл (образец № 3), введенные в раствор MC, также оказывают влияние на оптическую плотность, однако степень degradation MC снижается и составляет 6,0 – 7,5% и 5,0 – 5,5%, соответственно (рис. 3, кривые 2 и 3), что указывает на зависимость эффективности фотокатализа от концентрации биогенных наночастиц. УФ-облучение водного раствора MC в отсутствие наночастиц (образец № 4) приводит к снижению оптической плотности, деколоризация красителя составляет 2,5–3,0% (рис. 3, кривая 4). При отсутствии УФ-облучения и выдерживании водного раствора MC в темноте (образец № 5, рис. 3, кривая 5) показа-

тель деградации МС составляет 1,0–1,5%. Данные показатели фотокатализа были получены при использовании лампы Вуда мощностью 9 Вт и указанными рабочими длинами волн (350–380 нм), сходными с необходимым значением 365 нм. Использование другой УФ-лампы меньшей мощностью (4 Вт) и длиной волны излучения 365 нм (Cole-Parmer, США) не привело к фотокаталитической деградации МС – такой результат свидетельствует о существенной роли мощности УФ-оборудования, выбранного для экспериментов по фотокатализу.

ВЫВОДЫ

Установлено, что биогенные наночастицы сульфидов кадмия и цинка различаются по размеру (диаметру), определенному с использованием просвечивающего электронного микроскопа, однако этот параметр не зависит от применяемого при биосинтезе штамма – *S. oneidensis* MR-1 или *B. subtilis* 168. Штаммы оказывают влияние на величину гидродинамического диаметра, определяющего размер белкового слоя, адсорбированного на поверхности наночастиц. Показано, что биогенные наночастицы имеют отрицательный ζ -потенциал поверхности, при этом для NPsCdS/*S. oneidensis* MR-1, NPsZnS/*S. oneidensis* MR-1 и NPsCdS/*B. subtilis* 168 ζ -потенциал варьирует от –27 до –20 мВ, что характеризует данные водные суспензии наночастиц как метастабильные. Для NPsZnS/*B. subtilis* 168 выявлено нестабильное состояние суспензии, коррелирующее с низким значением ζ -потенциала, $-11,1 \pm 1$ мВ. Показано, что интенсивность флуоресценции зависит от белкового покрытия, определяемого штаммом. Установлен диапазон концентраций NPsCdS/*S. oneidensis* MR-1 в водной суспензии, который может быть определен с помощью спектрофлуориметра. Показано, что в присутствии растворителей N-метилпирролидона и N,N-диметилформамида наночастицы NPsCdS/*B. subtilis* 168 сохраняют стабильность и высокий уровень интенсивности сигнала флуоресценции. Определена способность NPsCdS/*B. subtilis* 168 к фотокаталитической деградации метиленового синего и зависимость данного процесса от концентрации биогенных наночастиц, мощности УФ-лампы и времени облучения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00088.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J. Labille, J. Brant, *Nanomedicine* **5** (6), 985 (2010).
2. M. Kominkova, V. Milosavljevic, P. Vitek, et al., *J. of Biotechnology* **241**, 193 (2017).
3. M. Masab, H. Muhammed, F. Shah, et al., *Materials Science in Semiconductor Processing* **81**, 113 (2018).
4. U. Shamraiz, R. A. Hussain, A. Badshah, et al., *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **159**, 33 (2016).
5. Т. А. Воейкова, О. А. Журавлева, Н. В. Булушова и др., *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология* **35** (4), 151 (2017).
6. R. J. Tayade, T. S. Natarajan, H. C. Bajaj, *Ind. Eng. Chem. Res.* **48** (23), 10262 (2009).
7. Т. А. Воейкова, О. А. Журавлева, Т. С. Грачева и др., *Биотехнология* **33** (3), 38 (2017).
8. M. R. Hosseini, M. N. Sarvi, *Materials Science in Semiconductor Processing* **40**, 293 (2015).
9. A. K. Suresh, M. J. Doktycz, W. Wang, et al., *Acta Biomaterialia* **7**, 4253 (2011).
10. О. А. Журавлева, Т. А. Воейкова, Н. В. Булушова и др., *Вопросы материаловедения* **1** (97), 110 (2019).
11. О. А. Журавлева, Т. А. Воейкова, М. Х. Хаддаж и др., *Молекулярная генетика, микробиология, вирусология* **36** (4), 191 (2018).
12. О. А. Журавлева, Т. А. Воейкова, С. А. Кедик и др., *Тонкие химические технологии* **14** (3), 50 (2019).
13. L. Yue, S. Qi, J. Wang, et al., *Materials Science in Semiconductor Processing* **56**, 115 (2016).
14. X. Xiao, X.-B. Ma, H. Yuan, et al., *J. of Hazardous Materials* **288**, 134 (2015).
15. P. Qi, D. Zhang, Y. Zeng, et al., *Talanta* **147**, 142 (2016).
16. С. И. Садовников, *Полупроводниковые наноструктуры сульфидов свинца, кадмия и серебра* (Физматлит, М., 2018).
17. X. Fang, Y. Wang, Z. Wang et al., *Energies* **12** (1), 190 (2019).
18. M. Rani, U. Shanker, *Handbook of Smart Photocatalytic Materials* (Elsevier Inc., UK, 2020).
19. С. О. Черкасова, В. В. Шаповалов, И. П. Дмитренко и др., *Инженерный вестник Дона* **2**, 1 (2017).
20. Р. Р. Мансуров, А. П. Сафронов, О. М. Саматов и др., *Журнал прикладной химии* **90** (2), 156 (2017).
21. Э. Т. Мурзабекова, *Молодой ученый* **20**, 13 (2016).
22. А. Н. Колодин, Дисс. ... канд. хим. наук (ИНХ им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, 2018).

Microbial Synthesis of Nanoparticles: Mechanisms, Characteristics, Application**T.A. Voeikova***, **O.A. Zhuravliova***, **V.S. Kuligin***, **E.I. Kozhukhova****,
E.V. Ivanov**, and **V.G. Debabov***

**State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, National Research Centre «Kurchatov Institute», 1-iy Dorozhniy proezd 1, Moscow, 117545 Russia*

** *Research Institute of Chemical Reagents and High-Purity Chemical Substances, National Research Centre «Kurchatov Institute», ul. Bogorodsky Val 3, Moscow, 107076 Russia*

Cadmium sulfide (CdS) and zinc sulfide (ZnS) biogenic nanoparticles (NPs) were produced by microbial synthesis using bacteria of various taxonomic groups – Gram-negative, *Shewanella oneidensis* MR-1, and Gram-positive, *Bacillus subtilis* 168, bacteria in a liquid medium under aerobic conditions in the presence of salts of the corresponding metals and sulfur. It was shown that the stabilization of nanoparticles in aqueous suspensions is due to the presence of certain protein molecules of the outer membrane of cells – proteins of families of various receptors, porins, flagellin on the nanoparticle (NP) surface. The effect of the protein coating on stability, luminescence, zeta-potential, hydrodynamic diameter and other physicochemical characteristics of nanoparticles was studied. Decolorization of methylene blue dye using UV irradiation was used as a model to demonstrate the photocatalytic properties of CdSNPs. This opens up the possibility of using biogenic nanoparticles in photocatalysis for industrial wastewater treatment.

Keywords: microbial synthesis, biogenic nanoparticles, fluorescence, photocatalysis, methylene blue