

УДК 544.774.4 : 541.182.4 / .65 : 546.57

## СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, СТАБІЛІЗОВАНИХ РАМНОЛІПІДОМ

Л. Базиляк<sup>1\*</sup>, А. Киця<sup>1</sup>, О. Кунтий<sup>2</sup>, Н. Корецька<sup>1</sup>, Т. Покинсьброда<sup>1</sup>,  
А. Прокопало<sup>1</sup>, О. Карпенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Відділення фізико-хімії горючих копалин  
Інституту фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України,  
вул. Наукова, 3<sup>а</sup>, 79053 Львів, Україна  
e-mail: bazylyak.L.I@nas.gov.ua;

<sup>2</sup> Національний університет “Львівська політехніка”,  
вул. Степана Бандери, 12, 79013 Львів, Україна

Синтезовано розчини наночастинок срібла (AgNPs), стабілізовані рамноліпідом (RL), який виділявся з супернатанту культуральної рідини бактерій штаму *Pseudomonas sp.* PS-17. Такий рамноліпід одночасно слугував відновником іонів аргентуму та стабілізатором утворених AgNPs. З використанням спектроскопії в УФ-видимому діапазоні досліджено кінетику формування AgNPs. З'ясовано, що кінетичні криві є S-подібними і задовільно описуються двостадійною схемою *Фінке-Ватзкі* (FW-2), що свідчить про автокаталітичний характер формування AgNPs та відсутність агрегації частинок на стадії їх росту. З використанням трансмісійної електронної мікроскопії досліджено характеристики отриманих AgNPs. Визначено, що в дослідженому діапазоні концентрацій реагентів значення середнього діаметру частинок не змінюється і становить 2,6 нм. Показано високу антимікробну активність отриманих AgNPs стосовно багатьох грам-негативних і грам-позитивних бактерій.

*Ключові слова:* наночастинок срібла, зелений синтез, антимікробна активність.

DOI: <https://doi.org/10.30970/vch.6301.363>

### 1. Вступ

Широке використання синтетичних антимікробних препаратів призводить до розвитку антибіотичної резистентності патогенних штамів мікроорганізмів. Тому сьогодні велику зацікавленість у дослідників викликають препарати на основі наночастинок металів, зокрема срібла, які володіють антибактеріальною, протигрибковою та противірусною активностями [1–5]. Для синтезу наночастинок срібла розроблено широкий спектр як фізичних, так і хімічних способів; водночас особливо перспективними з екологічної точки зору методами отримання золів металів є так звані “зелені” способи синтезу [5–9]. Суть таких методів полягає у використанні біологічноактивних речовин, які завдяки своїй поліфункціональній природі відіграють подвійну роль – відновників іонів срібла та стабілізаторів наночастинок металів. Використання унікальних властивостей таких речовин дає можливість виключити з технологічної ланки процесу один з компонентів, а саме відновлювальні агенти, які часто є токсичними (наприклад, гідразин [10]) і можуть забруднювати цільовий продукт (зокрема борогідриди металів [11]).

Одним з перспективних класів таких поліфункціональних речовин можна вважати біогенні поверхнево-активні речовини (біоПАР), а саме продукти мікробного синтезу, які сьогодні широко досліджують і вважають екологічно чистою альтернативою до синтетичних ПАР [12–13]. Такі біоПАР часто також володіють протимікробною і противірусною активністю [14], а тому їх комбінування з наночастинками срібла дасть змогу поєднати і підсилити властивості обох компонентів для створення сучасних екологічно безпечних препаратів з антимікробною дією.

Мета нашої статті – отримати колоїдні розчини наночастинок срібла AgNPs в присутності біогенної поверхнево-активної речовини – рамноліпиду (RL) (виділявся з супернатанту культуральної рідини бактерій роду *Pseudomonas sp.* PS-17), який одночасно забезпечує задовільну стабілізацію колоїдних розчинів AgNPs і є нетоксичним, вивчити вплив концентрації  $\text{AgNO}_3$  на характеристики отримуваних AgNPs, а також дослідити їхню антимікробну дію.

## 2. Матеріали та методика експерименту

Аргентуму нітрат  $\text{AgNO}_3$  (Aldrich, 99,9 %) використано як прекурсор для синтезу AgNPs.

Регулятором рН середовища під час синтезу AgNPs слугував натрій гідроксид (стандарт-титр, “Харківреахім”). Значення рН розчину контролювали з використанням іономіра Adwa AD1000 (Угорщина).

Рамноліпід (RL) (рис. 1), який є метаболітом бактерій роду *Pseudomonas sp.* PS-17, використано як відновник іонів аргентуму та стабілізатор AgNPs. Культивування штаму *Pseudomonas sp.* PS-17 та виділення супернатанту культуральної рідини і рамноліпідного біокомплексу проводили за методиками, описаними в [15, 16]. RL виділяли із рамноліпідного біокомплексу шляхом екстракції сумішшю Фолча (хлороформ : метанол – 2 : 1).

Форму та розмір отриманих AgNPs оцінювали з використанням трансмісійного електронного мікроскопа (ТЕМ) JEM-1230 (JEOL, Японія). Розмір наночастинок визначали за отриманими TEM-зображеннями з використанням програми AxioVision V 4.8.2.0 [17].

Оптичні характеристики розчинів AgNPs досліджували з використанням спектрофотометра УФ-видимого діапазону Shimadzu Uv-mini-1240 (Японія).

Антимікробну активність золів срібла оцінювали за значеннями мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). МІК – це найнижча концентрація антимікробних препаратів, яка пригнічує ріст досліджуваних мікроорганізмів після їхньої інкубації в мікропланшеті з круглим дном з 24 лунками за температури 37 °C впродовж 20 год. Для того, щоб визначити мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК), субкультури висівають на агарових пластинах на середовищі без інгібіторів з кожної пробірки з серії досліджень МІК після інкубації при 37 °C впродовж 20 год [12].

## 3. Результати досліджень та їх обговорення

AgNPs отримували у водних розчинах RL (рис. 1) при 70 °C за наступних вихідних концентрацій реагентів:  $C(\text{RL}) = 4 \text{ г/л}$ ,  $\text{pH} = 10$ ,  $[\text{AgNO}_3]_0 = 0,2\text{--}1 \text{ ммоль/л}$ .

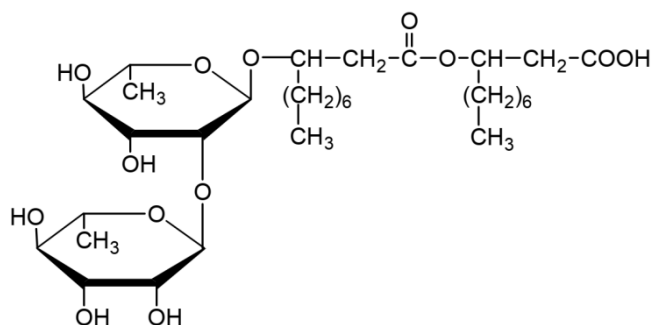
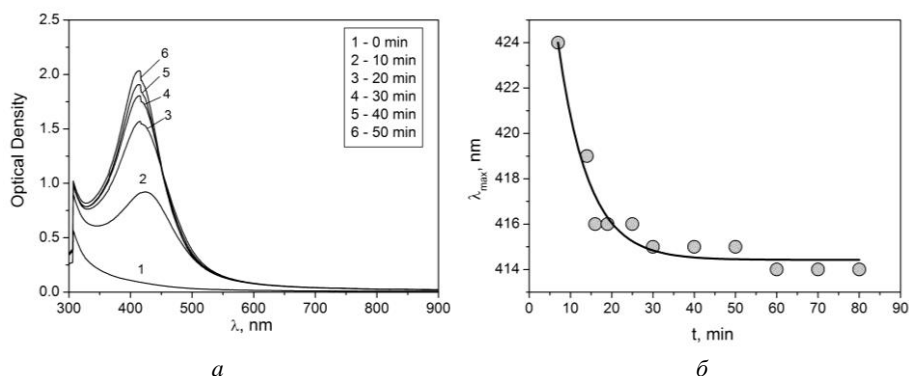


Рис. 1. Структурна формула RL

Fig. 1. Structural formula of RL

Як бачимо з рис. 1, RL містить як карбоксильну, так і цукрові функціональні групи, а також довгі вуглеводневі ланцюги, а тому одночасно може виконувати роль ліганду для іонів срібла, відновника іонів  $\text{Ag}^+$ , а також поверхнево-активної речовини, тобто стабілізатора AgNPs.

Кінетику формування AgNPs досліджували за зміною оптичних характеристик золів з часом (рис. 2, а). Виявлено, що спектри розчинів після завершення синтезу характеризуються чітким максимумом поглинання, що може свідчити про кулеподібну форму отриманих AgNPs. Водночас упродовж синтезу простежується зміщення максимуму поглинання в короткохвильову область (рис. 2, б). Таке явище можна пояснити так. На положення смуги поверхневого плазмонного резонансу (ППР) значно впливає значення діелектричної проникності середовища, а у випадку використання поверхнево-активних речовин (ПАР), які адсорбуються на поверхні частинки – взаємодія між молекулами ПАР та поверхневими атомами зростаючої частинки срібла [18, 19]. Зі зростанням розмірів частинки в процесі синтезу частка поверхневих атомів, які взаємодіють з молекулами ПАР, знижується, що, відповідно, й впливає на положення смуги ППР розчину AgNPs [20].

Рис. 2. Зміна спектрів поглинання розчинів (а) і положення максимуму поглинання смуги ППР (б) під час синтезу AgNPs.  $[\text{AgNO}_3]_0 = 0,2$  ммоль/лFig. 2. Change of the absorption spectra of solutions (a) and position of the maximum absorption of the SPR (b) during the synthesis of AgNPs.  $[\text{AgNO}_3]_0 = 0,2$  mmol/L

Зважаючи на те, що відношення значень біжучої та максимально досяжної оптичної густини пропорційне до конверсії реакції ( $a = O.D._t/O.D._{max}$ ), то за спектрами ППР (рис. 2, а) побудовано кінетичні криві формування AgNPs (рис. 3).

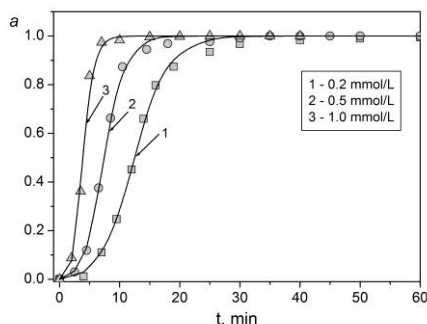


Рис. 3. Кінетичні криві формування AgNPs за різних вихідних концентрацій  $Ag^+$ .

Точки – експериментальні дані; лінії – розраховані за рівн. (2)

Fig. 3. Kinetic curves of AgNPs formation at different initial concentrations of  $Ag^+$ .

Points are the experimental data; lines are the calculated by eq. (2)

Виявлено (рис. 3), що кінетичні криві формування AgNPs характеризуються чітко вираженим індукційним періодом і є S-подібними, що свідчить про те, що реакція відновлення іонів  $Ag^+$  в розчинах RL є автокаталітичною. Тому з використанням програмного пакета COPASI [21] експериментальні дані оптимізовано з використанням двостадійної схеми Фінке–Ватзкі (FW-2):



$$\frac{dA}{dt} = -k_{1,obs}A - k_gAB \quad (2)$$

$$\frac{dB}{dt} = k_{1,obs}A + k_gAB$$

Тут  $A$  – іони срібла;  $B$  – відновлені атоми металу в складі AgNPs.

Як бачимо з рис. 3, схема FW-2 добре описує отримані експериментальні дані, що може свідчити про відсутність коагуляції AgNPs на стадії їх росту. Розраховані спостережувані константи швидкостей зародження ( $k_{1,obs}$ ) та росту ( $k_g$ ) AgNPs наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Кінетичні параметри формування AgNPs та розмір отриманих частинок

Table 1

Kinetic parameters of AgNPs formation and the size of obtained particles

$[Ag^+]_0$ , моль/л	$k_{1,obs} \times 10^3$ хв <sup>-1</sup>	$k_g$ , моль <sup>-1</sup> ·л·хв <sup>-1</sup>	$d \pm \Delta d$ , нм	$n$	$d_{calc}$ , нм
$2 \times 10^{-4}$	$3,2 \pm 1,3$	$1\ 890 \pm 70$	$2,6 \pm 1,4$	12–25	2,0–2,6
$5 \times 10^{-4}$	$5,7 \pm 1,8$	$1\ 260 \pm 30$	$2,6 \pm 1,3$	14–24	2,1–2,5
$10 \times 10^{-4}$	$8,4 \pm 2,3$	$1\ 300 \pm 30$	$2,6 \pm 1,2$	12–19	2,2–2,6

З використанням TEM досліджено форму та розмір отриманих наночастинок (рис. 4).

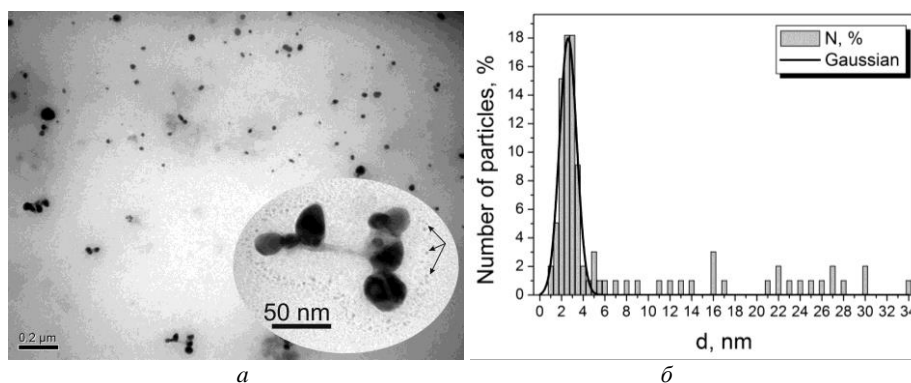


Рис. 4. TEM-зображення (а) та гістограма розподілу частинок за розміром (б) AgNPs, отриманих за вихідної концентрації  $\text{Ag}^+$   $2 \times 10^{-4}$  моль/л

Fig. 4. TEM-image (a) and histogram of particle size distribution (b) of AgNPs obtained at initial concentration of  $\text{Ag}^+$  equal to  $2 \times 10^{-4}$  mol/L

Виявлено (рис. 4), що отримані AgNPs є здебільшого неправильної форми. Водночас під час детального аналізу мікрофотографій, отриманих за високої кратності збільшення ( $\sim 100\,000$ ), з'ясовано, що великі частинки оточено “хмарою” невеликих (1–4 нм) частинок (рис. 4, а, вставка). Така закономірність простежується для всіх досліджених зразків і може бути спричинена власне методикою підготовки зразків для TEM, а саме: для проведення TEM-досліджень зразок (5 мкл отриманого золю) наносили на відповідну підкладку і висушували на повітрі. Отже, концентрація AgNPs повільно зростала, на неоднорідностях підкладки могли поступово утворюватися флуктуації концентрацій малих частинок, що призводило до їх нерівномірної коагуляції і, відповідно, до утворення великих ( $\sim 10$ – $40$  нм) частинок неправильної форми. На основі отриманих TEM-зображень побудовано гістограму розподілу частинок за розмірами (рис. 4, б). Як бачимо з наведеної гістограми, фракція частинок у межах 1–4 нм становить понад 70 %, водночас розподіл великих (від 10 нм) частинок є немонотонним і не може описуватися навіть з використанням полімодальних функцій розподілу. Це непрямо підтверджує наведену вище гіпотезу про коагуляцію частинок під час підготовки зразків до TEM-досліджень, оскільки у випадку коагуляції AgNPs на стадії їх росту з можливим подальшим автокаталітичним ростом утворених агломератів розподіл отриманих AgNPs повинен бути більш монотонним без спостережуваних у нашому випадку “провалів” між фракціями частинок різного розміру. Тому для аналізу розподілу AgNPs за розміром та визначення значень їх середнього діаметра ( $d$ ) та полідисперсності ( $\Delta d$ ) вибрано початкові ділянки гістограм, а саме від 0 до 5 нм. Розраховані з використанням функції Гауса значення  $d$  та  $\Delta d$  наведено в табл. 1.

У [22] на основі аналізу кінетики формування AgNPs в етиленгліколі запропоновано рівняння для розрахунку концентрації критичних зародків [CN] за значеннями спостережуваних констант швидкостей  $k_{1,obs}$  і  $k_g$  та кількості  $n$  атомів металу в критичному зародку:

$$[\text{CN}] = \frac{k_{1,obs}}{k_g} \times \ln \left( \frac{[\text{Ag}^+]_0 k_g}{k_{1,obs}} \right), \quad (3)$$

$$n = \frac{[\text{CN}]}{[N]}. \quad (4)$$

Тут  $[N]$  – концентрація отриманих AgNPs в одиницях моль/л.  
Зважаючи на повне відновлення іонів срібла до  $\text{Ag}^0$ ,  $[N]$  можна розрахувати за вихідною концентрацією  $\text{AgNO}_3$  та діаметром отриманих AgNPs:

$$[N] = \frac{6[\text{Ag}^+]_0 A(\text{Ag})}{\pi \cdot d^3 \cdot \rho_{\text{Ag}}} \cdot N_A. \quad (5)$$

Тут  $A(\text{Ag})$  – атомна маса срібла;  $\rho_{\text{Ag}}$  – густина срібла;  $N_A$  – число Авогадро.

Об'єднавши рівняння (3)–(5), розраховано значення кількості атомів срібла  $n$  у критичному зародкові. Як бачимо з даних табл. 1, значення  $n$  є у межах від 12 до 25 атомів, що добре узгоджується з розрахунками, наведеними в [22]. Тому, зважаючи на відомі літературні дані [23–25], можна припустити, що критичним зародком срібла є кластер  $\text{Ag}_{13}$  – тобто перший “магічний кластер” срібла [26]. Припустивши  $n = 13$  за значеннями  $k_{1,obs}$  і  $k_g$ , розраховано середній діаметр ( $d_{calc}$ ) AgNPs (рівн. 6, [22]), який добре узгоджується з визначеними за ТЕМ-зображеннями (табл. 1).

$$d_{calc} = \sqrt[3]{\frac{6 \cdot n \cdot [\text{Ag}^+]_0 A(\text{Ag})}{\pi \cdot \rho_{\text{Ag}} \cdot [\text{CN}] \cdot N_A}}. \quad (6)$$

Отже, можна вважати доцільним використання схеми FW–2 для опису процесів формування AgNPs.

Зважаючи на перспективність використання наночастинок срібла в бактерицидних препаратах широкого спектра дії, досліджено антимікробну активність синтезованих AgNPs. Як тестові мікроорганізми використано такі види патогенних бактерій:

- *Escherichia coli* – грам-негативні бактерії, збудник ешерихіозу у людей.
- *Staphylococcus aureus* – грам-позитивні бактерії, збудник великої кількості захворювань у людей, зокрема післяопераційних інфекцій.
- *Pseudomonas aeruginosa* – грам-негативні бактерії, збудник нозокоміальних інфекцій у людей.
- *Mycrococcus luteus* – умовно-патогенні грам-позитивні бактерії-сапрофіти.
- *Agrobacterium tumefaciens* – грам-негативні бактерії, фітопатогени, збудник хвороби корончастих галлів (рослинної пухлини) широкого спектра сільсько-господарських культур.
- *Xanthomonas campestris* – грам-негативні бактерії, фітопатогени, викликають різноманітні захворювання рослин, у тім числі “чорну гниль” у хрестоцвітних овочах.

Таблиця 2

Антимікробна активність AgNPs стабілізованих RL відносно окремих патогенних бактерій

Table 2

Antimicrobial activity of AgNPs stabilized by RL against some pathogenic bacteria

Патоген	Концентрація AgNPs, мкг/мл	
	МІК	МБК
<i>E. coli</i>	11	11
<i>S. aureus</i>	11	22
<i>P. aeruginosa</i>	11	11
<i>M. luteus</i>	1,4	1,4
<i>A. tumefaciens</i>	1,4	1,4
<i>X. campestris</i>	1,4	1,4

Як бачимо з наведених у табл. 2 даних, отримані колоїдні розчини срібла володіють високою антимікробною активністю відносно багатьох грам-негативних та грам-позитивних мікроорганізмів-патогенів, що свідчить про перспективність дослідження розчинів “AgNPs–RL” з точки зору їх використання під час виготовлення бактерицидних пов’язок та приготування розчинів для дезінфекції приміщень. Додатково варто відмітити низькі значення МІК та МБК для фітопатогенів (*A. tumefaciens* і *X. campestris*). Отже, зважаючи на невисоку собівартість отримуваних колоїдних розчинів “AgNPs–RL”, їх можна розглядати як перспективний компонент бактерицидних препаратів для боротьби зі шкідниками в сільському господарстві.

#### 4. Висновки

Наведено метод “зеленого” синтезу наночастинок срібла в розчинах рамноліпиду. Отримані AgNPs досліджено з використанням TEM і з’ясовано, що середній діаметр отриманих AgNPs становить 2,6 нм, а його значення не залежить від вихідної концентрації прекурсорів. З використанням спектроскопії в УФ-видимому діапазоні досліджена кінетика формування AgNPs. Визначено, що експериментальні кінетичні криві задовільно описують за двостадійною схемою FW-2, що свідчить про відсутність коагуляції частинок на стадії їх росту. На основі розрахованих спостережуваних констант швидкостей нуклеації та росту розраховано кількість атомів срібла в критичному зародкові і показано, що за досліджуваних умов центром зародження нової фази є кластер Ag<sub>13</sub>. Досліджено антимікробну активність розчинів AgNPs–RL стосовно деяких грам-негативних і грам-позитивних бактерій. Показано високу ефективність отриманих золів срібла стосовно фітопатогенів *A. tumefaciens* і *X. campestris*.

#### 5. Подяка

У статті наведено результати досліджень, отримані під час виконання бюджетної теми відомчого замовлення Відділення ФХГК ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України (код фінансування 6541230 – “Підтримка розвитку пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) досліджень; напрям 1”), а також за часткової фінансової підтримки Національного фонду досліджень України (грант № 2020.02/0309).

1. *Franci G., Falanga A., Galdiero S., Palomba L., Rai M., Morelli G., Galdiero M.* Silver nanoparticles as potential antibacterial agents // *Molecules*. 2015. Vol. 20. P. 8856–8874. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules20058856>
2. *Anjum S., Abbasi B. H., Shinwari Z. K.* Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles for biomedical applications: challenges and opportunities // *Pak. J. Bot.* 2016. Vol. 48. P. 1731–1760.
3. *Srikar S. K., Giri D. D., Pal D. B., Mishra P. K., Upadhyay S. N.* Green synthesis of silver nanoparticles: a review // *Green Sustain. Chem.* 2016. Vol. 6. P. 34–56. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>
4. *Skladanowski M., Golinska P., Rudnicka K., Dahm H., Rai M.* Evaluation of cytotoxicity, immune compatibility and antibacterial activity of biogenic silver nanoparticles // *Med. Microbiol. Immunol.* 2016. Vol. 205. P. 603–613. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00430-016-0477-7>
5. *Zain N. M., Stapley A. G., Shama G.* Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications // *Carbohydr. Polym.* 2014. Vol. 112. P. 195–202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.081>
6. *Mondal S., Roy N., Laskar R., Sk I., Basu S., Mandal D., Begum N. A.* Biogenic synthesis of Ag, Au and bimetallic Au / Ag alloy nanoparticles using aqueous extract of mahogany (*Swietenia mahogani* JACQ.) leaves // *Colloids Surf. B.* 2011. Vol. 82. P. 497–504. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.10.007>
7. *Murali Krishna I., Bhagavanth Reddy G., Veerabhadram G., Madhusudhan A.* Ecofriendly green synthesis of silver nanoparticles using *Salmalia malabarica*: synthesis, characterization, antimicrobial, and catalytic activity studies // *Appl. Nanosci.* 2016. Vol. 6. P. 681–689. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0479-6>
8. *Alam M. N., Roy N., Mandal D., Begum N. A.* Green chemistry for nanochemistry: exploring medicinal plants for the biogenic synthesis of metal NPs with fine-tuned properties // *RSC Advances*. 2013. Vol. 3. P. 11935–11956. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3RA23133J>
9. *Kumar N., Salar R. K., Kumar R., Prasad M., Brar B., Nain V.* Green synthesis of silver nanoparticles and its applications – A review // *Nano Trends: A Journal of Nanotechnology and Its Applications*. 2017. Vol. 19. P. 1–22.
10. *Kytsya A., Bazylyak L., Hrynda Y., Horechyy A., Medvedevdkikh Y.* The kinetic rate law for the autocatalytic growth of citrate-stabilized silver nanoparticles // *Int. J. Chem. Kinet.* 2015. Vol. 47. P. 351–360. DOI: <https://doi.org/10.1002/kin.20913>
11. *Ajitha B., Reddy Y. A. K., Reddy P. S.* Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles with controlled particle size by pH variation // *Powder Technol.* 2015. Vol. 269. P. 110–117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.08.049>
12. *Sotirova A., Avramova T., Stoitsova S., Lazarkevich I., Lubenets V., Karpenko E., Galabova D.* The importance of rhamnolipid-biosurfactant induced changes in bacterial membrane lipids of *Bacillus subtilis* for the antimicrobial activity of thiosulfonates // *Curr. Microbiol.* 2012. Vol. 65. P. 534–541. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0191-7>
13. *Yerokhin V., Karpenko O.* Optimization of parameters of biosynthesis of surface-active rhamnolipids by the strain *Pseudomonas* sp. PS-17 in the bioreactor with injection-vortex aeration system // *Microbiol. Res.* 2014. Vol. 4. P. 1–5.



14. *Remichkova M., Galabova D., Roeva I., Karpenko E., Shulga A., Galabov A. S.* Anti-herpesvirus activities of *Pseudomonas* sp. S-17 rhamnolipid and its complex with alginate // *Zeitschrift für Naturforschung*. 2008. Vol. 63. P. 75–81.  
DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2008-1-214>
15. *Yerokhin V., Pokynbroda T., Karpenko O., Novikov V.* Study of the growth and synthesis of the target product by the strain *Pseudomonas* species PS-17 – producer of extracellular biosurfactants // *Visn. Natsion. Univers. “Lvivska politehnika”*. 2006. Vol. 553. P. 124–127 (in Ukrainian).
16. *Karpenko E. V., Pokynbroda T. Ya., Makitra R. G., Palchykova E. Ya.* Optimal methods for isolating the biogenic surfactant rhamnolipids // *J. Gen. Chem.* 2009. No. 12. P. 2011 (in Russian).
17. AxioVision (Carl Zeiss Microscopy) <https://www.micro-shop.zeiss.com>
18. *Slistan-Grijalva A., Herrera-Urbina R., Rivas-Silva J. F., Ávalos-Borja M., Castellón-Barraza F. F., Posada-Amarillas A.* Classical theoretical characterization of the surface plasmon absorption band for silver spherical nanoparticles suspended in water and ethylene glycol // *Physica E*. 2005. Vol. 27. P. 104–112.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physe.2004.10.014>
19. *Kytsya A. R., Reshetnyak O. V., Bazylyak L. I., Hrynda Y. M.* UV/VIS-spectra of silver nanoparticles as characteristics of their sizes and sizes distribution // In: *Zaikov G. E., Bazylyak L. I., Hagi A. K. (Eds.) Functional polymer blends and nanocomposites: A practical engineering approach*, 1st edn. New York: Apple Academic Press, 2014. P. 231–239. DOI: <https://doi.org/10.1201/b16895>
20. *Bazylyak L., Kytsya A., Karpenko O., Prokopalo A., Pokynbroda T., Mazur A., Kuntiy O.* Synthesis of silver nanoparticles using the rhamnolipid biocomplex of microbial origin // *Visnyk Lviv Univ. Ser. Chem.* 2020. Iss. 61 (2). P. 404–414.  
DOI: <https://doi.org/10.30970/vch.6102.404>
21. *Hoops S., Sahle S., Gauges R., Lee C., Pahle J., Simus N., Singhal M., Xu L., Mendes P., Kummer U.* COPASI – a Complex Pathway Simulator. *Bioinformatics*. 2006. Vol. 22, Iss. 24. P. 3067–3074.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl485>
22. *Kytsya A., Bazylyak L., Simon P., Zelenina I., Antonyshyn I.* Kinetics of Ag<sub>300</sub> nanoclusters formation: The catalytically effective nucleus via a steady-state approach // *Int. J. Chem. Kinet.* 2019. Vol. 51, Iss. 4. P. 266–273.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/kin.21249>
23. *Takesue M., Tomura T., Yamada M., Hata K., Kuwamoto S., Yonezawa T.* Size of elementary clusters and process period in silver nanoparticle formation // *J. Am. Chem. Soc.* 2011. Vol. 133, Iss. (36). P. 14164–14167.  
DOI: <https://doi.org/10.1021/ja202815y>
24. *Jin B., Wang Y., Jin C., De Yoreo J. J., Tang R.* Revealing Au<sub>13</sub> as elementary clusters during the early formation of Au nanocrystals // *J. Phys. Chem. Lett.* 2021. Vol. 12. P. 5938–5943. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.1c01647>
25. *Kytsya A., Hrynda Yu., Bazylyak L., Medvddevskikh Yu.* Kinetics of diffusion-controlled nucleation of ultra disperse copper particles in aqueous medium // *Proc. Shevchenko Sci. Soc. Chem. Sci.* 2014. Vol. XL. P. 44–50 (in Ukrainian).
26. *Schmidt A. F., Smirnov V. V.* Concept of “magic” number clusters as a new approach to the interpretation of unusual kinetics of the Heck reaction with aryl bromides // *Top. Catal.* 2005. Vol. 32, Iss.1. P. 71–75. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11244-005-9261-4>

**SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY  
OF SILVER NANOPARTICLES STABILIZED BY RAMNOLIPID****L. Bazylyak<sup>1\*</sup>, A. Kytsya<sup>1</sup>, O. Kuntiy<sup>2</sup>, N. Koretska<sup>1</sup>, T. Pokynbroda<sup>1</sup>,  
A. Prokopalo<sup>1</sup>, O. Karpenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels  
Institute of Physical Organic Chemistry and Coal Chemistry  
named after L. M. Lytvynenko NAS of Ukraine  
Naukova Str., 3<sup>a</sup>, 79053 Lviv, Ukraine  
e-mail: bazylyak.L.I@nas.gov.ua;*

<sup>2</sup> *Lviv Polytechnic National University,  
Bandery Str., 12, 79013 Lviv, Ukraine*

Silver nanoparticles stabilized by rhamnolipid, which was separated from the supernatant of the supernatant the fluid of the genus *Pseudomonas sp.* PS-17, were synthesized. Using TEM it was found that the mean size of obtained AgNPs is 2.6 nm and does not depend on the initial concentration of Ag<sup>+</sup>. The kinetics of the formation of AgNPs was studied using UV-vis spectroscopy. It was observed that in the all of cases the kinetic curves are sigmoidal shape and are characterized by well-notable induction period that confirms the homogeneous nucleation of AgNPs as well as may indicate the absence of agglomeration of the particles at the stage of their growth. Experimental kinetic curves were fitted using Finke-Watzky 2-stage scheme of continuous nucleation and fast autocatalytic growth of particles and the observable rate constants of nucleation and growth were estimated. Based on the calculated kinetic parameters of the reaction compared with the results of TEM-investigations the effective concentration of nuclei and the number of silver atoms in the nucleus and it was assumed that in the studied conditions the cluster Ag<sub>13</sub> may be considered as the centre of AgNPs nucleation. The antimicrobial activity of the obtained “AgNPs-RL” solutions against a few test microorganisms, namely *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycrococcus luteus*, *Agrobacterium tumefaciens* and *Xanthomonas campestris* was studied and the high bactericidal effect was observed in the all of cases. Besides, the lowest values of the minimum bactericidal concentration (MBC ~ 1.5 mg/mL) were observed in the case of phytopathogens *A. tumefaciens* and *X. campestris* as well as for the genus *Mycrococcus*. Such low values of MBC compared with the low cost of obtained “AgNPs-RL” solutions make them attractive in the terms of development of antimicrobial drugs with a broad spectrum of action.

*Keywords:* silver nanoparticles, “green” synthesis, antimicrobial activity.

Стаття надійшла до редколегії 28.10.2021

Прийнята до друку 10.06.2022