

УДК 541.18.05/.052:544.77.023.5

<https://doi.org/10.37827/ntsh.chem.2022.70.159>

*Лілія БАЗИЛЯК<sup>1</sup>, Андрій КИЦЯ<sup>1,3</sup>, Павло ЛЮТИЙ<sup>2,3</sup>, Орест КУНТИЙ<sup>2</sup>,  
Алла ПРОКОПАЛО<sup>1</sup>, Олена КАРПЕНКО<sup>1</sup>*

## **СИНТЕЗ ТА АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ КОЛОЇДНИХ РОЗЧИНІВ БІКОМПОНЕНТНИХ НАНОЧАСТИНОК Ag/CuO СТАБІЛІЗОВАНИХ РАМНОЛІПІДОМ**

<sup>1</sup>Відділення фізико-хімії горючих копалин  
Інституту фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка  
Національної академії наук України,  
вул. Наукова, 3<sup>а</sup>, 79060 Львів, Україна  
e-mail: bazylyak.liliya@gmail.com

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

<sup>3</sup>Фізико-механічний інститут ім. Г.В. Карпенка  
Національної академії наук України,  
вул. Наукова, 5, 79060 Львів, Україна

За методом співосадження катіонів  $Ag^+$  та  $Cu^{2+}$  в розчині рамноліпиду (RL) отримано бікомпонентні наночастинки срібла й оксиду міді (Ag/CuO-NPs) різного складу. З'ясовано, що процес формування монокомпонентних наночастинок оксиду міді (CuO-NPs) завершується впродовж 2,5 годин, а відновлення йонів срібла у водних розчинах RL відбувається впродовж кількох хвилин. Отримані Ag/CuO-NPs досліджені з використанням методу спектроскопії в УФ-видимому діапазоні та методу порошкової дифракції X-променів. Виявлено, що спектри поглинання розчинів Ag/CuO-NPs характеризуються двома максимумами за 280 та 410 нм, які відповідають смугам поверхневого плазмонного резонансу наночастинок CuO-NPs і наночастинок срібла (Ag-NPs), відповідно. На підставі отриманих даних обґрунтовано припущення, що отримані Ag/CuO-NPs можуть формувати структури типу «core-shell», ядром у яких є срібло, оточене оболонкою оксиду міді. Досліджена антимікробна активність синтезованих Ag/CuO-NPs щодо бактерій-фітопатогенів *Agrobacterium tumefaciens* і *Xanthomonas campestris* і з'ясовано, що отримані препарати активніші стосовно *Xanthomonas campestris*.

**Ключові слова:** бікомпонентні наночастинки, антимікробна активність, рамноліпід, зелений синтез.

## Вступ

Сьогодні серед наноструктур металів із вираженими біоцидними властивостями найбільш вивчені наночастинки срібла та міді, які активно застосовують у розробленні нових лікарських засобів, а також у створенні виробів медичного призначення, синтетичних тканин і пакувальних матеріалів із протимікробною активністю, пристроїв для знезараження води тощо. Зацікавленість науковців наночастинками срібла (Ag-NPs), міді (Cu-NPs), оксиду міді (CuO-NPs) та біметалевими наночастинками Ag/CuO-NPs зумовлена тим, що у медицині надзвичайно гостро стоїть питання боротьби з явищем резистентності мікроорганізмів до протимікробних препаратів, оскільки стійкість мікроорганізмів розвивається у багато разів швидше, ніж створюються нові антимікробні засоби. Впродовж останніх років дослідженню наночастинок срібла та міді присвячено багато праць вітчизняних науковців (І.С. Чекман, З.Р. Ульберг, Л.Л. Давтян, Р.С. Стойка, В.Ф. Марієвський та інші), в яких автори аналізують механізми взаємодії клітин мікроорганізмів з нанорозмірними частинками, визначають можливості використання наноматеріалів як носіїв для доставки ліків до різних органів, обґрунтовують перспективи їхнього застосування для цільової терапії. Численні результати проведених досліджень у цій галузі засвідчують ефективність наночастинок срібла та міді проти широкого ряду аеробних, анаеробних, грам-позитивних і грам-негативних бактерій, грибів, вірусів [1–5]. Доведено, що нанорозмірне срібло вбиває переважну більшість відомих патогенних бактерій, грибків і вірусів, є більш активним, ніж більшість сучасних антибіотиків [6–10], а вірусна резистентність до наносрібла розвивається повільніше, ніж до інших противірусних лікарських засобів, що пояснюється, зокрема, різними типами взаємодій наноструктур з компонентами поверхні вірусів і рецепторами біомембрани [11]. Завдяки таким властивостям наночастинки срібла характеризуються доволі широким і різноманітним спектром застосування. Оскільки мідь і срібло – це метали-синергісти, їхня сумісна дія на мікроорганізми значно вища, аніж у срібла та міді окремо. Автори [12] розробили композиційну полімерну нитку з наночастинками срібла та міді, що має антимікробні, антиоксидантні, імуномодулюючі, протизапальні та інші важливі властивості наночастинок міді, які найбільш ефективно виявляють свою дію в присутності срібла. Срібло навіть за мінімальних концентрацій значно підсилює властивості міді, що свідчить про його каталітичні властивості щодо міді в біохімічних реакціях, в яких ці метали виступають як синергісти, а їхня сумісна дія на мікроорганізми, як вже зазначалося вище, значно вища, ніж у срібла та міді окремо. Мідно-срібні колоїдні розчини наночастинок володіють антимікробною, вірулітичною, антимікотичною дією при мінімальному прояві токсичних і алергічних властивостей. Сучасні наукові дослідження показали, що срібло з міддю в нанодисперсному стані менш токсичне порівняно зі сполуками, в яких ці метали перебувають в іонному стані.

Автори [13] дослідили зелений синтез біметалевих наночастинок срібло/мідь з використанням екстракту плодів кигелії африканської (*Kigelia africana fruit extract*) як відновника та стабілізатора синтезованих наночастинок металів, а також досліджена антимікробна активність синтезованих Ag/Cu-NPs розміром 10 нм. Протимікробна активність Ag/Cu-NPs оцінювалася стосовно грам-негативних та грам-позитивних штамів бактерій і грибів, внаслідок чого було встановлено, що отримані Ag/Cu-NPs в присутності водного екстракту плодів *K. africana* виявляють вищу антимікробну активність щодо *Klebsiella pneumoniae* (грам-негативна факультативна

тивно-анаеробна паличкоподібна бактерія, яку виділив у 1882 році німецький мікробіолог Карл Фрідлендер, і є одним із збудників пневмонії, а також асоційована з інфекціями сечостатевої системи та нозокоміальних інфекцій людини), ніж будь-який з антибіотиків, які досліджувалися в цьому напрямі, а також дуже добре конкурують з аугментином проти синьогнійної палички та з меропенемом проти *Candida albicans* із зонами інгібування 23 та 25 мм, відповідно. Слід зазначити, що біметалеві наночастинки Ag/Cu-NPs, синтезовані з *K. africana*, є кристалічними за своєю природою і, як було виявлено, дуже активно інгібують *S. aureus*. Порівняно зі стандартними антибіотиками, такими як офлоксацин, аугментин, ципрофлоксацин, меропенем або рацинеф, які використовували як контроль у цьому дослідженні. Ag-NPs, і Ag/Cu-NPs показали кращі результати (15 мм для Ag-NPs і 13 мм для Ag/Cu-NPs) проти *K. pneumoniae*.

Однак, незважаючи на надзвичайно високу активність дослідників у напрямі зеленого синтезу наночастинок срібла, міді, а також біметалевих наночастинок Ag/Cu-NPs, багато аспектів щодо синтезу наночастинок на основі срібла та міді залишаються не вивченими. Зокрема, актуальними є дослідження з вивчення впливу природи біоПАР на характеристики отримуваних наночастинок, особливо їхній розмір, форма тощо, а також вплив морфології та складу наночастинок на їхні антимікробні властивості. Тому мета нашої праці – синтезувати колоїдні розчини бікомпонентних наночастинок Ag/CuO-NPs різного складу, дослідити їхню антимікробну активність.

#### Вихідні речовини та методики проведення досліджень

Для синтезу Ag/CuO-NPs використовували нітрат срібла ( $\text{AgNO}_3$  х.ч., «Сфера Сім» (Україна), >99 %) та нітрат міді ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  х.ч., «Сфера Сім» (Україна), >99 %). Регулятором рН середовища під час синтезу CuO-NPs слугував натрій гідроксид (стандарт-титр, «Харківреахім»).

Як стабілізатори бікомпонентних наночастинок використовували рамноліпід RL-2 (RL) – поверхнево-активний метаболіт штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 [14], структурна формула якого зображена на рис. 1.

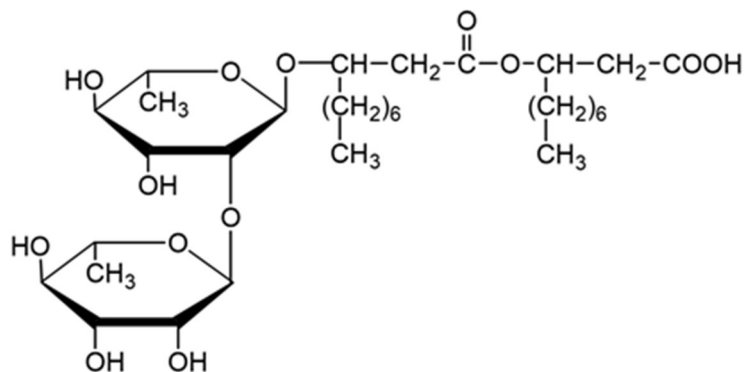


Рис. 1. Структурна формула RL.

Fig. 1. Structural formula of RL.

Ag/CuO-NPs отримували за 80 °C в скляному реакторі обладнаному магнітною мішалкою та зворотним холодильником. До 85 мл розчину RL додавали 15 мл розчину  $\text{AgNO}_3 + \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  і отриману реакційну суміш витримували при постійному перемішуванні впродовж 3 годин.

Спектри поглинання Ag/CuO-NPs досліджені з використанням однопроменевого спектрофотометра УФ-видимого діапазону Uv-mini-1240 (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan).

X-променевий аналіз синтезованих Ag/CuO-NPs проводили з використанням порошкового дифрактометра ДРОН-3.0 з  $\text{CuK}\alpha$  випромінюванням. Для отримання X-променевих дифрактограм Ag/CuO-NPs відділяли з реакційної суміші центрифугуванням при 10000 об./хв з використанням центрифуги K24D (MLW, Німеччина). Отримані дані аналізували повнопрофільним уточненням за методом Рітвельда з використанням програмного пакета WinCSD [15].

Підготовку зразків Ag/CuO-NPs для проведення X-променевих досліджень проводили за такою методикою. Отримані нанозолі Ag/CuO-NPs концентрували за 80 °C і пониженого тиску, після чого наночастинки Ag/CuO-NPs осаджували метанолом і виділяли з розчину центрифугуванням при 10000  $\text{хв}^{-1}$  впродовж 30 хв з використанням центрифуги K24D (MLW, Німеччина). Отриманий після центрифугування осад висушували в ексікаторі за пониженого тиску.

Антимікробну активність синтезованих Ag/CuO-NPs оцінювали за значеннями мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). МІК – це найнижча концентрація антимікробних препаратів, яка пригнічує ріст досліджуваних мікроорганізмів після їхньої інкубації в пластикових мікропланшетах (Sarstedt, США) з круглим дном з 24 лунками (об'єм лунок 0,25 мл) за температури  $30 \pm 0,5$  °C впродовж 48 годин. Для цього стерильне глюкозо-картопляне середовище (0,1 мл) вносили у відповідні лунки та додавали різні об'єми (0,01–0,1 мл) отриманих нанозолів Ag/CuO-NPs (загальна концентрація Ag+Cu становила 1 ммоль/л), після чого вносили інокулянт тестових мікроорганізмів ( $1 \times 10^9$  КУО/мл, 0,1 мл). Відсутність колоній мікроорганізмів в лунках після інкубації оцінювалася візуально.

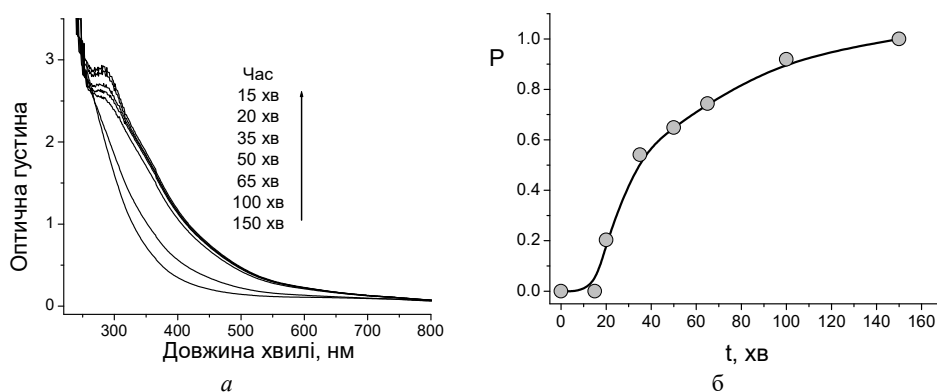
Для того, щоб визначити мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК), яка є також однією з важливих характеристик антимікробної активності синтезованих Ag/CuO-NPs, субкультури з лунок, в яких не було колоній мікроорганізмів, висівали на агарових пластинах на середовищі без інгібіторів. МБК визначали за відсутністю слідів росту мікроорганізмів після інкубації таких агарових пластинок за 37 °C впродовж 20 годин [16].

### Результати досліджень та обговорення

#### *Синтез та властивості наночастинок Ag/CuO-NPs*

Бікомпонентні наночастинки Ag/CuO-NPs з різним співвідношенням компонентів (0/100, 25/75, 50/50, 75/25 %ат., загальна концентрація йонів  $\text{Ag}^+$  та  $\text{Cu}^{2+}$  у вихідній суміші становила 1 ммоль/л) отримували у водних розчинах RL (4 г/л) за 80 °C в термостатованому реакторі, обладнаному магнітною мішалкою при pH=12. З використанням спектроскопії в УФ-видимому діапазоні виявлено, що процес формування монокомпонентних наночастинок CuO завершується впродовж 2,5 годин (рис. 2), а тому синтез бікомпонентних наносистем проводили 3 год. Зважаючи на особливості хімічної структури RL (рис. 1), а також на те, що гідроліз рамноліпідів можливий лише в жорстких умовах (1 моль/л  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 100 °C) [17], таутомерні перетворення рамнозного кільця не відбуваються. Таким чином,

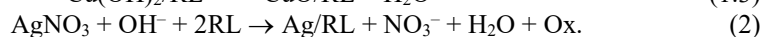
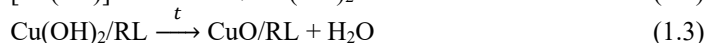
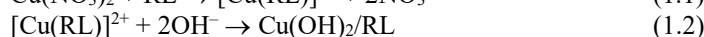
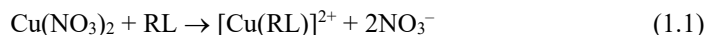
відновлення іонів  $\text{Cu}^{2+}$  до  $\text{Cu}^+$  ( $\text{Cu}^0$ ) в досліджуваних умовах є малоїмовірним. Відповідно, схему формування біметалевих наносистем  $\text{Ag}/\text{CuO}$ -NPs можна подати сукупністю хімічних перетворень (1) – (2).



**Рис. 2.** Зміна спектрів поглинання  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  в розчині RL (а) та конверсії реакції (1.1–1.3) (б) з часом.  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2]_0 = 1$  ммоль/л;  $C(\text{RL}) = 4$  г/л;  $t = 80$  °C;  $\text{pH}=12$ .

**Fig. 2.** Change of the absorption spectra of  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  in RL solution of (a) and the conversion of the reaction (1.1–1.3) (b) over time.  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2]_0 = 1$  mmol/l;  $C(\text{RL}) = 4$  g/l;  $t = 80$  °C;  $\text{pH}=12$ .

Додатково варто зазначити, що на відміну від процесу (1) формування  $\text{CuO}$ -NPs [18, 19], відновлення іонів срібла у водних розчинах RL за досліджуваних умов (2) відбувається впродовж кількох хвилин [20]. Відповідно, за аналогією з працями [21, 22], можна припустити, що за спільної присутності в системі іонів срібла та міді можуть формуватися бікомпонентні системи  $\text{Ag}/\text{CuO}$  типу «core-shell», в яких роль ядра буде відігравати швидкоформована наночастинка срібла, оточена оболонкою  $\text{CuO}$  [23]:



Тут  $\text{Cu}(\text{OH})_2/\text{RL}$  – нанозоль гідроксиду міді, стабілізований RL;  $\text{CuO}/\text{RL}$  – наночастинки оксиду міді, стабілізовані RL;  $\text{Ag}/\text{RL}$  – наночастинки срібла, стабілізовані RL; Ox – продукт окиснення RL іонами срібла.

Отримані  $\text{Ag}/\text{CuO}$  досліджені з використанням спектроскопії в УФ-видимому діапазоні та методу порошкової дифракції X-променів (рис. 3).

З'ясовано, що спектри поглинання колоїдних розчинів  $\text{Ag}/\text{CuO}$ -NPs (рис. 3, а) характеризуються двома максимумами за 280 та 410 нм, які відповідають смугам поверхневого плазмонного резонансу (ППР) наночастинок оксиду міді  $\text{CuO}$  [19, 24] і наночастинок срібла  $\text{Ag}$ -NPs [25], відповідно. Максимум поглинання за 280 нм зростає зі зниженням вмісту  $\text{CuO}$  у вихідній реакційній суміші. Такий факт

може бути зумовлений підсиленням ефекту ППП оксиду міді завдяки присутності Ag-NPs і може бути непрямим доказом формування наносистеми типу «core-shell».

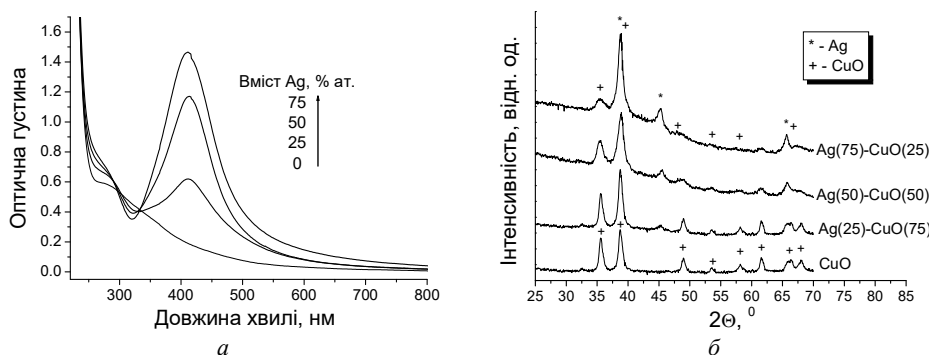


Рис. 3. Спектри поглинання (а) та дифрактограми (б) отриманих Ag/CuO-NPs.

Fig. 3. Absorption spectra (a) and diffraction patterns (b) of the obtained Ag/CuO-NPs.

На підставі аналізу X-променевої дифрактограм (рис. 3, б) виявлено, що дифракційні піки в дослідженому інтервалі  $2\theta$  відповідають моноклінній фазі CuO та кубічній гранецентрованої Ag, де значення періоду ґратки  $a$  для срібла та об'єму комірки  $V$  для фази CuO практично не змінюються зі зміною співвідношення реагентів у вихідній реакційній суміші (табл. 1), тобто отримувані Ag/CuO-NPs складаються з двох фаз, які не утворюють твердих розчинів заміщення. Водночас незначне ( $\sim 1\%$ ) зменшення параметра комірки для Ag може свідчити про деяку взаємодію приповерхневих атомів срібла з оксидом міді, що може бути ще одним непрямим доказом формування наносистеми типу «core-shell». Однак таке припущення потребує детальнішого дослідження.

Таблиця 1

Кристаллографічні параметри Ag/CuO-NPs

Table 1

Crystallographic parameters of Ag/CuO-NPs

Система	Фаза Ag	Фаза CuO			$V, \text{\AA}^3$
	$a, \text{\AA}$	$a, \text{\AA}$	$b, \text{\AA}$	$c, \text{\AA}$	
Ag(25)-CuO(75)	4,043(3)	4,698(2)	3,433(2)	5,153(3)	82,0(1)
Ag(50)-CuO(50)	4,050(4)	4,673(3)	3,430(2)	5,175(3)	81,9(2)
Ag(75)-CuO(25)	4,044(2)	4,658(3)	3,437(3)	5,178(3)	81,9(2)

Антимікробна активність Ag/CuO-NPs, стабілізованих RL.

Зважаючи на перспективність використання наночастинок на основі срібла і міді як антимікробних агентів для захисту рослин, досліджена антимікробна активність синтезованих Ag/CuO-NPs. Як тестові мікроорганізми використали такі грам-негативні бактерії-фітопатогени:

*Agrobacterium tumefaciens* – збудник хвороби корончастих галлів широкого спектра сільськогосподарських культур;

*Xanthomonas campestris* – збудник хвороби «чорна гниль» у хрестоцвітних овочах.

Як видно з наведених в табл. 2 даних, отримані колоїдні розчини Ag/CuO-NPs виявляють вищу антимікробну активність щодо мікроорганізмів-фітопатогенів порівняно з відомими з літератури даними для CuO, стабілізованих полівінілпіролідом (PVP) та рамноліпідним біокомплексом (РБК), а їхня ефективність стосовно *X. campestris* сумірна з ефективністю AgNPs. Цей факт, зважаючи на нижчу собівартість отриманих Ag/CuO-NPs порівняно з AgNPs, робить колоїдні розчини Ag/CuO-NPs привабливими з погляду їх використання в сільському господарстві як компонентів препаратів для боротьби зі шкідниками.

Таблиця 2

Антимікробна активність Ag/CuO-NPs, стабілізованих RL щодо бактерій-фітопатогенів

Table 2

Antimicrobial activity of Ag/CuO-NPs stabilized by RL against phytopathogenic bacteria

	<i>A. tumefaciens</i>		<i>X. campestris</i>	
	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
CuO	50	100	6	6
Ag(25)-CuO(75)	12	12	6	6
Ag(50)-CuO(50)	12	12	6	6
Ag(75)-CuO(25)	12	12	6	6
AgNPs [25]	2	2	2	2
CuO-РБК [18]	20	40	20	40
CuO-PVP [19]	МБК > 100 мкг/мл			

### Висновки

Синтезовані бікомпонентні наночастинки Ag/CuO різного елементного складу, стабілізовані біогеним ПАР. З використанням спектроскопії в УФ-видимому діапазоні виявлено, що отримані нанозолі характеризуються двома максимумами за 280 та 410 нм, які відповідають смугам ППП наночастинок CuO і Ag-NPs, відповідно, що свідчить про утворення цільових продуктів. Досліджена структура синтезованих наночастинок Ag/CuO з використанням методу порошкової дифракції X-променів. З'ясовано, що за досліджених умов синтезу ймовірним є утворення наноструктур типу «ядро-оболонка», в яких роль ядра буде відігравати наночастинка срібла, оточена оболонкою CuO. Досліджена антимікробна активність синтезованих колоїдних розчинів Ag/CuO. Виявлено, що отримані препарати ефективно пригнічують ріст бактерій-фітопатогенів *Agrobacterium tumefaciens* та *Xanthomonas campestris*.

### Подяка

У статті наведено результати досліджень, які 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).

## ЛІТЕРАТУРА

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. (<https://doi.org/10.3390/molecules20058856>)
2. *Anjum S., Abbasi B., Shinwari Z.* Plant-mediated green synthesis of silver nanoparticles for biomedical applications: challenges and opportunities. *Pak. J. Bot.* 2016. Vol. 48. P. 1731–1760.
3. *Srikanth S., Giri D., Pal D., Mishra P., Upadhyay S.* Green synthesis of silver nanoparticles: A Review. *Green Sustain. Chem.* 2016. Vol. 6. P. 34–56. (<https://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. (<https://doi.org/10.1007/s00430-016-0477-7>).
5. *Zain N., Stapley A., Shama G.* Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications. *Carbohydrate polymers*. 2014. Vol. 112. P. 195–202. (<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.081>).
6. *Krutyakov Yu.A., Kudrinskiy A.A., Olenin A.Yu., Lisichkin G.V.* Synthesis and properties of silver nanoparticles: achievements and prospects. *Successes in chemistry*. 2008. Vol. 77(3). P. 242–269. (in Russian). (<https://doi.org/10.1070/RC2008v077n03ABEH003751>).
7. *Lytvyn V.A.* Synthesis and properties of silver and gold nanoparticles stabilized with synthetic humic substances: PhD Thesis. Lviv. 2013. 156 p. (in Ukrainian).
8. *Tripathi R.M., Saxena A., Gupta N., Kapoor H., Singh R.P.* High antibacterial activity of silver nanoballs against *E. Coli* MTCC 1302, *S. Typhimurium* MTCC 1254, *B. Subtilis* MTCC 1133 and *P. Aeruginosa* MTCC 229. *Dig. J. Nanomater. Biostruct.* 2010. Vol. 5(2). P. 323–330.
9. *Szczepanowicz K., Stefanska J., Socha R., Warszynski P.* Preparation of silver nanoparticles via chemical reduction and their antimicrobial activity. *Physicochem. Probl. Miner. Process.* 2010. Vol. 45. P. 85–98.
10. *Panáček A., Smékalová M., Večeřová R., Bogdanová K., Röderová M., Kolář M., Kilianová M., Hradilová Š., Froning Jens P., Havrdová M., Prucek R., Zbořil R., Kvítek L.* Silver nanoparticles strongly enhance and restore bactericidal activity of inactive antibiotics against multiresistant Enterobacteriaceae. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016. Vol. 142. P. 392–399. (<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.03.007>).
11. *Galdiero S., Falanga A., Vitiello M., Cantisani M., Marra V., Galdiero M.* Silver nanoparticles as potential antiviral agents. *Molecules*. 2011. Vol. 16(10). P. 8894–8918. (<https://doi.org/10.3390/molecules16108894>).
12. *Косинов М.В., Каплуненко В.Г.* Гігієнічний текстильний виріб. Патент на корисну модель №26606 UA МПК D06M 11/00. – ДП «Український інститут промислової власності», 2006.
13. *Providence B.A., Chinyere A.A., Ayi A.A., Charles O.O., Elijah T.A., Ayomide H.L.* Ashishie Green synthesis of silver monometallic and copper-silver bimetallic nanoparticles using *Kigelia africana* fruit extract and evaluation of their antimicrobial. *Int. J. Phys. Scie.* 2018. Vol. 13(3). P. 24–32. (<https://doi.org/10.5897/IJPS2017.4689>).
14. *Karpenko E.V., Pokynbroda T.Ya., Makitra R.G., Palchykova E.Ya.* Optimal methods for isolating the biogenic surfactant rhamnolipids. *J. General Chem.* 2009. Vol. 12. P. 2011. (in Russian). (<https://doi.org/10.1134/S1070363209120135>).
15. *Akselrud L., Grin Y.* WinCSD: software package for crystallographic calculations (Version 4). *J. Appl. Cryst.* 2014. Vol. 47(2). P. 803–805. (<https://doi.org/10.1107/S1600576714001058>).



16. 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. (<https://doi.org/10.1007/s00284-012-0191-7>).
17. Linhardt R.J., Bakhit R., Daniels L., Mayerl F., Pickenhagen W. Microbially produced rhamnolipid as a source of rhamnose. *Biotechnol. Bioeng.* 1989. Vol. 33(3). P. 365–368. (<https://doi.org/10.1002/bit.260330316>).
18. Bazylyak L., Kytsya A., Lyutyi P., Dozhdzhanyk V., Prokopalo A., Shcheglova N., Karpenko O., Kuntiyi O. Synthesis and antimicrobial activity of CuO nanoparticles stabilized by rhamnolipid biocomplex of microbial origin. *Visnyk Lviv Univ. Ser. Chem.* 2021. Vol. 62. P. 311–321. (<https://doi.org/10.30970/vch.6201.311>).
19. Shahmiri M., Ibrahim N. A., Shayesteh F., Asim N., Motallebi N. Preparation of PVP-coated copper oxide nanosheets as antibacterial and antifungal agents. *J. Mater. Res.* 2013. Vol. 28(22). P. 3109–3118. (<https://doi.org/10.1557/jmr.2013.316>).
20. Bazylyak L., Kytsya A., Kuntiyi O., Koretska N., Pokynbroda T., Prokopalo A., Karpenko O. Synthesis and antimicrobial activity of silver nanoparticles stabilized by rhamnolipid. *Visnyk Lviv Univ Ser Chem.* 2022. Vol. 63. P. 363–372. (<https://doi.org/10.30970/vch.6301.363>).
21. Méndez-Medrano M.G., Kowalska E., Endo-Kimura M., Wang K., Ohtani B., Bahena Uribe D., Rodríguez-López J.L., Remita H. Inhibition of fungal growth using modified TiO<sub>2</sub> with core@shell structure of Ag@CuO clusters. *ACS Appl. Bio Mater.* 2019. Vol. 2(12). P. 5626–5633. (<https://doi.org/10.1021/acsabm.9b00707>).
22. Jadhav M.S., Kulkarni S., Raikar P., Barretto D.A., Vootla S.K., Raikar U.S. Green biosynthesis of CuO & Ag–CuO nanoparticles from *Malus domestica* leaf extract and evaluation of antibacterial, antioxidant and DNA cleavage activities. *New J. Chem.* 2018. Vol. 42(1). P. 204–213. (<https://doi.org/10.1039/C7NJ02977B>).
23. Dayakar T., Venkateswara Rao K., Park J., Krishna P., Swaroopa P., Ji Y. Biosynthesis of Ag@CuO core-shell nanostructures for non-enzymatic glucose sensing using screen-printed electrode. *J. Mater. Sci.: Mater. Electron.* 2019. Vol. 30(10). P. 9725–9734. (<https://doi.org/10.1007/s10854-019-01307-y>).
24. Sankar R., Manikandan P., Malarvizhi V., Fathima T., Shivashangari K.S., Ravikumar V. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochimica Acta. Part A.* 2014. Vol. 121. P. 746–750. (<https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.12.020>).
25. 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. *Functional polymer blends and nanocomposites: A practical engineering approach.* New York: Apple Academic Press, 2014. P. 231–239. (<https://doi.org/10.1201/b16895>).

## SUMMARY

Liliya BAZYLYAK<sup>1</sup>, Andriy KYTSYA<sup>1,3</sup>, Pavlo LYUTYI<sup>2,3</sup>, Orest KUNTYP,  
Alla PROKOPALO<sup>1</sup>, Olena KARPENKO<sup>1</sup>

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COLLOIDAL SOLUTIONS OF  
BICOMPONENT Ag/CuO NANOPARTICLES STABILIZED BY RAMNOLIPID

<sup>1</sup>Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels of the  
Institute of Physical Organic Chemistry and Coal Chemistry named after L.M. Lytvynenko  
of the National academy of Ukraine,  
Naukova Str., 3a, 79060 Lviv, Ukraine  
e-mail: bazylyak.L.I@nas.gov.ua

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

<sup>3</sup>Physico-Mechanical Institute named after G. V. Karpenko  
National Academy of Sciences of Ukraine  
Naukova Str., 5, Lviv 79060, Ukraine

Despite the extremely high activity of researchers in the direction of green synthesis of nanoparticles of silver, copper, as well as bimetallic nanoparticles Ag/Cu-NPs, the many aspects of the synthesis of nanoparticles based on silver and copper remain unexplored, in particular, the studies on the influence of the nature of biosurfactants on the characteristics are relevant obtained nanoparticles, in particular their size, shape, etc., as well as the influence of the morphology and composition of nanoparticles on their antimicrobial properties. Therefore, the purpose of this work was to synthesize colloidal solutions of bicomponent Ag/CuO-NPs nanoparticles of different composition and to investigate their antimicrobial activity.

Bicomponent Ag/CuO nanoparticles of different composition were obtained by the method of coprecipitation of  $\text{Ag}^+$  and  $\text{Cu}^{2+}$  cations in solution of rhamnolipid. It was found that the process of formation of monocomponent CuO nanoparticles is completed within 2.5 hours but the reduction of silver ions in aqueous solutions of RL occurs within a few minutes. The obtained Ag/CuO-NPs were studied using UV-visible spectroscopy and the method of powder diffraction of X-rays. It was found that the absorption spectra of Ag/CuO-NPs solutions are characterized by two maxima at 280 and 410 nm, which correspond to the surface plasmon resonance bands of CuO and Ag-NPs, respectively. Based on the obtained data, it is reasonable to assume that the obtained Ag/CuO-NPs can form core-shell structures in which the role of the core will be played by silver surrounded by a CuO shell.

Taking into account the prospects of using the nanoparticles based on silver and copper as antimicrobial agents for the plant protection, the antimicrobial activity of the synthesized Ag/CuO-NPs was investigated. The gram-negative bacteria-phytopathogens were used as test microorganisms, namely *Agrobacterium tumefaciens*, which is the causative agent of crown gall disease of a wide range of agricultural crops and *Xanthomonas campestris*, which is the causative agent of the "black rot" disease in cruciferous vegetables. The antimicrobial activity of the synthesized colloidal solutions of Ag/CuO was evaluated by the minimum inhibitory concentration values. The results of the studies of antimicrobial activity of the synthesized Ag/CuO colloidal solutions showed that the obtained preparations effectively inhibit the growth of phytopathogenic bacteria *Agrobacterium tumefaciens* and *Xanthomonas campestris* and it was found that the obtained drugs are more active against the *Xanthomonas campestris*.

*Keywords:* bicomponent nanoparticles, antimicrobial activity, rhamnolipids, green synthesis.

Стаття надійшла 12.05.2022.  
Після доопрацювання 19.07.2022.  
Прийнята до друку 30.09.2022.