

BIOLOGICKÉ METODY SYNTÉZY NANOČÁSTIC STŘÍBRA

JANA MICHAILIDU a ANNA MIŠKOVSKÁ

Ústav biotechnologie VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28
Praha 6
michailj@vscht.cz

Došlo 2.4.20, přijato 1.6.20.

Klíčová slova: nanočástice, biosyntéza, mikroorganismy,
rostliny, udržitelnost

Obsah

1. Úvod
2. Antimikrobiální vlastnosti stříbrných nanočástic
3. Produkce nanočástic
4. Mikrobiální syntéza stříbrných nanočástic
5. Syntéza nanočástic stříbra pomocí rostlinných extraktů
6. Výhody a nevýhody biologických přístupů k syntéze nanočástic
7. Závěry

1. Úvod

I přes relativně nedávné rozšíření zájmu vědy o nanosvět, bylo konkrétně kovových nanočástic využíváno nevědomky již od 13.–14. století př. n. l. – nanočástice kovů byly objeveny ve skleněných artefaktech ze starověkého Egypta a Mezopotámie¹. Je však velice pravděpodobné, že tyto rané případy použití nanočástic nebyly výsledkem faktické znalosti problematiky, nýbrž empirickým studiem chování materiálů v makroměřítku.

Historie institucionalizované nanotechnologie se začala psát teoreticky již v roce 1959, kdy se v přednášce laureáta Nobelovy ceny Richarda P. Feynmana s názvem „Vespod je plno místa“ objevil koncept nového využití extrémní miniaturizace. Přiblížení se Feynmanovým představám o nové studnici objevů a nástrojů, které na nás čekají v kontextu nanoměřítku, na sebe nenechalo dlouho čekat. Již od 80. let minulého století jsme tak mohli pozorovat obrovské posuny v této oblasti, které na přelomu tisíciletí představovaly jen ve Spojených státech amerických rozpočet bezmála půl miliardy dolarů².

Mezi nanotechnologie obecně řadíme veškeré technologie zabývající se charakterizací, výrobou či manipulací struktur s alespoň jedním rozměrem pohybujícím se mezi 1 a 100 nm. Díky své velikosti vykazují tyto částice a materiály fyzikálně-chemické vlastnosti, jimiž se výrazně odlišují od odpovídajících makromateriálů. Tyto výjimečné charakteristiky zajistily nanomateriálům velký zájem

jak vědeckého, tak komerčně-průmyslového světa³. Nanotechnologie zaštiťují nanovýrobu, nanomateriály, či aplikace fyzikálních, chemických a biologických systémů v dimenzích od individuálních atomů či molekul až po submikronové struktury. Jejich vliv je mezioborový; objev a využití nanomateriálů zasáhly do chemie, fyziky, materiálových věd, medicíny, potravinářství, inženýrství a mnoha dalších odvětví⁴. V roce 2008 bylo do výzkumu a rozvoje nanotechnologií investováno celosvětově více než 15 miliard dolarů, přičemž toto odvětví zaměstnávalo více než 400 000 vědců⁵.

2. Antimikrobiální vlastnosti stříbrných nanočástic

Než bude řeč o samotné biosyntéze nanočástic, bylo by vhodné začít obecným úvodem do problematiky jejich vlastností. Nanočástice jsou, jak již bylo zmíněno, díky svým vlastnostem zajímavé pro celou řadu odvětví, jako jsou biodetekce, katalýza či optika, medicína, informační technologie, sensorika apod. Zlaté a stříbrné nanočástice jsou jedněmi z nejvíce nadějných kandidátů pro širší využití v mezioborových aplikacích – u zlatých nanočástic lze využít například možnosti navázání oligonukleotidu k následnému použití pro detekci polynukleotidů či proteinů⁶. Využití stříbrných nanočástic bylo potvrzeno například v případech bioznačení, filtrů, či senzorů^{7,8}.

U stříbra jako takového byly dezinfekční účinky využívány po staletí, v kontextu moderní medicíny pak stojí za zmínku využívání koloidního stříbra pro léčbu poranění od 60. let minulého století⁹. Širší výzkum nanočástic stříbra (nanoAg) však začal až o několik dekád později, krátce po přelomu tisíciletí¹⁰. NanoAg prokazují značnou efektivitu proti virům, bakteriím i eukaryotickým mikroorganismům. Tato aktivita je navíc dostačující pro plnou inhibici již při aplikaci nízkých koncentrací (v případě bakterií se může jednat o jednotky mg l⁻¹), což značně zvyšuje potenciál využití pro medicínské účely – tyto nízké koncentrace mají totiž hypoteticky menší pravděpodobnost vyvolání systémové toxicity¹¹.

Pro lepší pochopení kontextu působení nanočástic stříbra je potřeba vzít v úvahu dvě základní hlediska – potenciální fyzikální či chemické změny v důsledku interakce částic s prostředím, mezi něž se řadí např. agregace, redoxní reakce či adsorpce a desorpce iontů, molekul nebo polymerů, a dále následná interakce těchto částic s mikrobiální buňkou. Toxicita stříbrných nanočástic je tedy, stejně jako je tomu u jiných nanostruktur, závislá nejen na vlastnostech zkoumaného mikroorganismu, ale z nezanedbatelné části také na tom, jaké částice v prostředí v důsledku přítomnosti stříbrných nanočástic vznikají¹². Svou důležitost v tomto směru mají hlavně parametry dané syn-

tézou – typ stabilizujících, či funkčních ligandů, separační kroky, tvar i velikost nanočástic apod.¹³. Přesný mechanismus antimikrobiálního působení stříbrných nanočástic není doposud znám, avšak existuje několik hypotetických možností, jakými mohou nanočástice stříbra způsobit poškození a následně i smrt mikrobiálních buněk.

Stříbrné nanočástice mají schopnost přichytit se k povrchu buňky, kde mohou svou reaktivitou způsobit např. porušení buněčných obalů¹⁰. Zvyšování koncentrace volných radikálů v prostředí je poté další možnou cestou způsobu narušování mikrobiálních membrán a dalších buněčných struktur¹⁴. Nanočástice přichycené na povrchu buňky také nezanedbatelnou měrou ovlivňují bakteriální signální transdukcii, pravděpodobně pomocí změny poměru fosforylovaných a defosforylovaných peptidů.

Jak již bylo zmíněno v předešlém odstavci, z nanočástic stříbra se do okolí uvolňují stříbrné ionty, které mohou interagovat s thiolovými skupinami mnoha enzymů nutných pro přežití mikrobiálních buněk^{15,16}. Ionty stříbra jsou schopny proniknout dovnitř buňky, díky čemuž mohou ovlivňovat vnitrobuněčné děje, a způsobit tak i buněčnou smrt. Specifickým faktorem této kaskády dějů je poté vznik reaktivních kyslíkových částic, které jsou produkovány pravděpodobně také kvůli inhibici enzymů dýchacího řetězce – zvyšující se oxidativní stres může být pro buňku následně smrtelný. Bylo též demonstrováno, že stříbrné ionty i nanočástice dokáží ve vnitrobuněčném prostředí interagovat s molekulami DNA, což může vést k problémům s transkripcí těchto molekul a následně i s jejich replikací¹¹.

3. Produkce nanočástic

Co se týče přístupů k syntéze těchto částic, je možné je rozdělit do dvou hlavních skupin: „top-down“ reduktivní metody, jež využívají jako vstupní surovinu větší objem daného makromateriálu, z něhož jsou za pomoci příslušného postupu odnímány částice, a „bottom-up“ konstruktivní metody, pomocí nichž jsou částice vybudovány „zespoda“ od atomární či molekulární úrovně, přes klastry až k samotným nanočásticím¹⁷. Do skupiny „top-down“ metod patří mimo jiné mechanické mletí, laserová ablace, naprašování, či tepelná dekompozice. „Bottom-up“ metody poté zahrnují například sol-gel, pyrolýzu a plazma sprej. Avšak mimo tyto fyzikálně-chemické metody, které jsou často ekonomicky či ekologicky náročné, splňují podmínky „bottom-up“ přístupu také biotechnologické metody produkce nanočástic přínosné z velké části svou nenáročností v kontextu ochrany životního prostředí a často také svou ekonomickou výhodností¹⁸.

Přechod k environmentálně šetrným metodám výroby je na místě hlavně s ohledem na obrovský potenciál možného využití nanočástic. V současnosti je známa již celá řada možných přístupů, co se týče biotechnologické produkce kovových nanočástic. Výzkumy potvrdily možnost využití celé řady bakterií, plísní, a dokonce i rostlinných pletiv, či extraktů právě pro produkci těchto, z vědeckého i praktického hlediska zajímavých, částic¹⁹. Tyto biologické

systemy mohou produkovat nanočástice jak extracelulárně, tak intracelulárně; co se týče zastoupení jednotlivých prvků, rostlinami byly již úspěšně produkovány například nanočástice zlata, stříbra, palladia, či titanu a niklu²⁰. V případě mikrobiální syntézy byla prokázána produkce mimo jiné v případě nanočástic zlata, stříbra, palladia, kadmia, či chromu²¹.

4. Mikrobiální syntéza stříbrných nanočástic

Schopnost syntézy nanočástic stříbra byla prokázána již u mnoha mikrobů. Mechanismy, které jsou při bakteriální biosyntéze nanočástic využívány, zahrnují změny rozpustnosti a toxicity skrze redukcii či oxidaci, neexistenci specifického metalo-transportního systému, biosorpci, extracelulární tvorbu komplexů či precipitátů daných kovů, bioakumulaci a také efluxní systémy²². Pokud se jedná o bakterie, například u kmene *Pseudomonas stutzeri* izolovaného ze stříbrného dolu, byla pozorována syntéza stříbrných struktur o velikosti 200 nm deponovaných v membránových vakuolovitých granulárních útvech^{23,24}. Některé další (grampozitivní i gramnegativní) bakteriální kmeny, jako např. *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* či *Staphylococcus aureus*, prokázaly schopnost jak extra- tak intracelulární syntézy nanoAg^{25–28}. Tyto nanočástice vykazovaly různou morfologii; byly mezi nimi nanočástice sférického tvaru, disky, krychle, či dokonce nanočástice s půdorysem hexagonu a trojúhelníku.

V další studii byly extracelulárně vytvořeny nanočástice stříbra (5–50 nm) pomocí supernatantu pocházejícího z kultivace *B. subtilis* a mikrovlákného záření²⁹. Velmi rychlá (5 min) syntéza nanoAg byla pozorována v jiné studii za využití supernatantů z kultivace *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* a *Enterobacter cloacae*³⁰. V jiné studii využívající vysušené buňky bakterií rodu *Corynebacterium* bylo zjištěno, že v přítomnosti diamín-stříbrného komplexu tvoří nanočástice v rozmezí rozměrů 10–15 nm (cit.³¹).

Další skupinou mikroorganismů již hojně využívanou ve výzkumu potenciální biosyntézy nanočástic stříbra jsou patogenní i nepatogenní houby. Mikroskopické houby mají v porovnání s bakteriemi vyšší produktivitu, jelikož do prostředí uvolňují větší množství proteinů. Mezi tyto zástupce hub řadíme např. *Aspergillus flavus* (9 nm, sférický tvar), *Fusarium oxysporum* (20–50 nm, sférický tvar), *Phaenerochaete chrysosporium* (5–200 nm, pyramidové) a *Trichoderma asperellum* (13–18 nm, nanokryšaly)^{32–35}. Dále byla prokázána také syntéza sférických krystalických nanoAg s kubickou strukturou o průměru 5–25 nm zástupci rodu *Humicola*.

V případě kultivace *Aspergillus niger* za přítomnosti dusičnanu stříbrného bylo pozorováno, že nanočástice po 72 h inkubaci pokryly povrch buněk – byly syntetizovány extracelulárně pomocí redukčních enzymů a stabilizačních proteinů vylučovaných buňkami plísně. V případě *Aspergillus fumigatus* byla pozorována syntéza nanoAg o rozměrech 5–25 nm během 10 minut (cit.^{36,37}). Tento příklad

biosyntézy nanoAg tedy poskytuje ještě rychlejší čas přeměny, než mnohé fyzikálně-chemické přístupy.

5. Syntéza nanočástic stříbra pomocí rostlinných extraktů

Fakt, že rostliny jsou schopny redukovat kovové ionty, je znám poměrně dlouho. V tomto směru byly rostliny historicky využívány např. pro tzv. fytotěžbu, což je extrakce v půdě se vyskytujících kovů, která by za použití tradičních metod těžby nebyla ekonomicky výhodná. Akumulované kovy jsou poté extrahovány za pomoci spékání a tavení. Právě studium tohoto typu bioakumulace kovů vedlo k přelomovému zjištění: kovy jsou rostlinami obvykle ukládány právě ve formě nanočástic. Bylo např. zjištěno, že *Brassica juncea* a *Medicago sativa* jsou schopny akumulovat nanočástice stříbra (až do 13,6 % své vlastní hmotnosti) za použití dusičnanu stříbrného jako substrátu³⁸. Podobně byly za pomoci *M. sativa* produkovány také nanočástice zlata a za pomoci *Iris pseudacorus* nanočástice mědi^{39,40}.

Je tedy zřejmé, že celé rostliny mohou být využity jako biologické systémy produkující nanočástice kovů. V případě využití tohoto typu biosyntézy však můžeme pozorovat nesporné nevýhody. Velikost a tvar nanočástic je závislý na lokalizaci jejich syntézy v rámci rostliny, jelikož je jejich tvorba silně závislá na konkrétní koncentraci kovových iontů i zúčastněných biomolekul³⁹. Vysoká heterogenita morfologie produkovaných částic znesnadňuje potenciální aplikace tohoto typu výroby. Izolace a purifikace takto vyrobených nanočástic z rostlinného materiálu je zdoluhavý a náročný proces s nízkou výtěžností⁴¹.

Velkým posunem v tomto směru bylo zjištění posledních let, že biosyntetizovat nanočástice kovů za pomoci rostlin lze i *in vitro*. A právě metody využívající rostlinné extrakty se v současnosti těší velkému zájmu vědecké obce. Tento přístup totiž dovoluje větší kontrolu nad velikostí a tvarem produkovaných nanočástic prostřednictvím změny reakčních podmínek (pH, teplota apod.) a také umožňuje snadnější konečnou purifikaci. Tato metoda produkce nanočástic kovů je mimo to i značně rychlejší, jelikož redukční reakce začínají v homogenizovaném kapalném prostředí prakticky okamžitě po smíchání reakčních činidel (rostlinný extrakt a roztok příslušné soli kovu)²⁰.

Co se týče mechanismu biosyntézy nanočástic pomocí rostlinných extraktů, není prozatím zcela znám. Existuje však řada experimentů, kde se studiem potenciálních mechanismů této přeměny zabývali. Na biosyntéze nanočástic se pravděpodobně podílejí různé skupiny rostlinných metabolitů, jako terpenoidy, polyfenoly, redukující cukry, alkaloidy, fenolické kyseliny a proteiny. Byla již prokázána účast terpenoidů na biosyntéze nanočástic stříbra za pomoci extraktů z listů pelargonie a také účast eugenolu, hlavního terpenoidu vyskytujícího se v *Cinnamomum zeylanicum*, na syntéze stříbrných a zlatých nanočástic^{42,43}.

Flavonoidy jsou širokou kategorií polyfenolových sloučenin (antokyany, isoflavonoidy, flavonoly, chalkony, flavony a flavonony), které jsou schopny redukce i chela-

tace kovových iontů za vzniku nanočástic. Flavonoidy obsahují několik různých funkčních skupin schopných zprostředkovat tuto syntézu – např. quercetin, flavonoid se silnou chelatační aktivitou, je schopen chelatace na třech různých pozicích (C3, C4 a C5). Quercetin je takto schopen chelatovat různé kovy (železo, měď, zinek, hliník, chrom, olovo apod.), a je tedy zřejmé, že se účastní jak samotné iniciace tvorby nanočástic (nukleace), tak následně agregace⁴¹.

Další důležitou skupinou, účastníci se biosyntézy nanočástic kovů, jsou cukry. Například glukosa nebo disacharidy jako maltosa a laktosa jsou schopny redukce díky přítomnosti aldehydické skupiny, která je oxidována na karboxylovou skrze nukleofilní adici OH- skupiny, což umožňuje redukci kovových iontů a následný vznik nanočástic⁴³. Co se týče aminokyselin, bylo dokázáno, že lysin, cystein, arginin a methionin jsou schopny vázat stříbrné ionty⁴⁴. Nejsilnějším redukčním činidlem byl v kontextu redukce zlatých iontů určen tryptofan, kdežto nejsilněji vázící aminokyselinou byl v tomto případě histidin⁴⁵. Vazba kovových iontů v případě aminokyselin probíhá nejen skrze hlavní karboxylové skupiny i aminoskupiny, ale také skrze funkční skupiny postranního řetězce (např. karboxylová skupina glutamové kyseliny, či dusíkový atom imidazolového kruhu histidinu). Aminoskupiny a thiolové či hydroxylové skupiny postranních řetězců jsou naopak schopny redukce kovových iontů⁴¹.

Redukce kovových iontů a formace nanočástic jsou nicméně ovlivněny více faktory než jen povahou daného rostlinného extraktu, jenž může obsahovat mnoho aktivních biomolekul v různých poměrech a koncentracích. Mezi tyto další faktory patří pH, inkubační teplota, reakční doba, koncentrace elektrochemický potenciál kovových iontů^{46–48}. Změnou pH je možno dosáhnout změny rozložení nábojů přítomných fytochemikálií, což značně ovlivňuje jejich schopnost vázat a redukovat kovové ionty – nevyhnutelně jsou tak následně ovlivněny nejen velikost či tvar nanočástic, ale také výtěžnost dané produkční metody. Zvýšením teploty bylo zase dosaženo nejen zvýšení reakční rychlosti, ale také zvýšení incidence vzniku krystalických částic; existuje tedy předpoklad, že zvýšením teploty se zvyšuje také míra nukleace. V jiné studii pak byly v závislosti na změnách inkubační teploty pozorovány změny tvaru produkovaných nanočástic^{49,50}.

Syntéza nanočástic stříbra o průměru 50–100 nm byla prokázána např. za využití vodného extraktu *Alternanthera dentata*; celkový čas reakce zde byl pouhých 10 minut a produkované nanočástice vykázaly antibakteriální aktivitu proti *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Enterococcus faecalis*⁵¹. Nanočástice syntetizované pomocí extraktu *Boerhaavia diffusa* prokázaly aktivitu proti *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila* a *Flavobacterium branchophilum*. XRD a TEM analýza potvrdila přítomnost nanočástic o průměru 25 nm sférického tvaru⁵².

Za využití extraktu listů *Camellia sinensis* byly získány sférické nanočástice stříbra s průměrem 5–20 nm (cit.⁵³). Úspěšná syntéza nanočástic stříbra byla pozorována také při použití extraktu ze sušených plodů *Tribulus*

terrestris. Tyto nanočástice s rozmezím průměrů 16–28 nm vykazaly antimikrobiální aktivitu proti rezistentním kmenům bakterií jako *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*⁵⁴. Stříbrné nanočástice o průměrné velikosti 22 nm byly syntetizovány také pomocí extraktu *Cocos nucifera* vytvořeného za použití směsi ethyl-acetátu a methanolu. Takto vzniklé nanočástice vykazaly antimikrobiální aktivitu proti několika lidským patogenům (*Salmonella paratyphi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*)⁵⁵.

Stříbrné nanočástice byly produkovány také za pomoci extraktu z listů zástupců rodu *Ziziphoratenuior*. Tyto sférické nanočástice byly analyzovány metodou TEM a byla zjištěna distribuce velikostí mezi 8 a 40 nm; FTIR analýzou bylo navíc zjištěno, že jsou tyto nanočástice funkcionalizovány především aminovými, karbonylovými a hydroxylovými skupinami⁵⁶. Extrakt z listů *Ficus carica* byl využit k syntéze nanočástic stříbra za současného ozáření. Nanočástice touto cestou vznikly při tříhodinové inkubaci za teploty 37 °C (cit.⁵⁷). Za použití extraktu listů *Acalypha indica* byla pozorována formace nanočástic stříbra do 30 min (cit.⁵⁸).

Při honbě za ekologičtějšími cestami syntézy nanočástic stříbra bylo samozřejmě zkoumáno také využití redukčních schopností odpadů z potravinářské výroby. V tomto kontextu byla s úspěchem využita například kůra pomeranče (*Citrus sinensis*). Nanočástice vzniklé tímto způsobem byly sférické a měly průměr 3–12 nm, přičemž největší zastoupení vykazovaly nanočástice s průměrem 6 nm (cit.⁵⁹). Dále byly nanočástice stříbra krystalické struktury syntetizovány pomocí vodného extraktu *Origanum vulgare*; bylo také prokázáno jejich antimikrobiální účinnost proti několika prokaryotním i eukaryotním mikroorganismům – *Shigella sonnei*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternate*, *Paecilomyces variotii*, *Phialophora alba* a dalším⁶⁰. Při využití extraktu *Pulicaria glutinosa* bylo zjištěno, že zvýšením teploty inkubace na 90 °C byla zvýšena velikost nanočástic stříbra a také rychlost jejich vzniku. Společně s tím stoupala také rozpustnost vznikajících nanočástic a jejich antimikrobiální aktivita^{61,62}.

Kromě extraktů z vyšších rostlin již byly pro produkci nanočástic stříbra využity také biomolekuly pocházející ze zástupců jiných průmyslově velmi perspektivních taxonomických skupin organismů, například červených, hnědých či zelených řas. Produkce nanočástic stříbra byla úspěšně provedena za pomoci extraktu z mikroskopické zelené řasy rodu *Scenedesmus*. Tyto nanočástice měly rozměry pohybující se mezi 5 až 10 nm a vykazovaly antimikrobiální účinky proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím⁶³. V kontextu zelených řas byl k syntéze stříbrných nanočástic použit také extrakt z *Pithophora oedogonia* a byly pomocí něj získány nanočástice o průměru 34 nm (cit.⁶⁴). Nanočástice stříbra byly dále získány také za použití polysacharidového extraktu z hnědé mořské řasy *Jania rubens*⁶⁵. V neposlední řadě byly pro produkci nanočástic stříbra využity také vodné extrakty z hnědých řas, a to konkrétně ze zástupců *Sargassum tenerrium* či *Padina*

tetrastomatica, přičemž v obou studiích byla sledována a potvrzena také antibakteriální aktivita syntetizovaných nanočástic proti *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, či např. *Pseudomonas aeruginosa*^{66,67}.

6. Výhody a nevýhody biologických přístupů k syntéze nanočástic

Biologické metody syntézy nanočástic nabývají v kontextu globálního výzkumu na významu hlavně díky výhodám těchto přístupů oproti dnes častěji užívaným fyzikálním a chemickým metodám, jež jsou často energeticky náročné či problematické v kontextu ekologického dopadu. Při využití biologických činitelů totiž není potřeba využívat velké množství energie, což výrobu podstatně zlevňuje, a také nejsou zde využívány toxické reagenty. Jednotlivé typy biologických syntéz však také mají svá specifika, z nichž plynou možná omezení při potenciálním průmyslovém využití^{68–70}.

Například syntéza nanočástic pomocí mikrobiálních buněk s sebou přináší potenciální riziko patogenity vznikajících nanočástic díky využití peptidických stabilizačních agens, což znesnadňuje jejich využití v medicínském kontextu⁷¹. Ačkoliv byla zkoumána jak intracelulární, tak extracelulární syntéza pomocí mikroorganismů, nutnost následné extrakce nanočástic od mikrobiálních buněk zvyšuje náročnost celého procesu výroby. Z tohoto hlediska jsou pak nejnadějnější studie, kde byly použity supernatanty z mikrobiální kultivace. Co se týče syntézy nanočástic pomocí rostlinných extraktů, je nespornou výhodou jejich využití jednodušší prekultivace redukčního a stabilizačního činitele a rychlost samotné syntézy. Další potenciální výhodou je bezpochyby také fakt, že pro výrobu nanočástic může být v tomto kontextu využit i suchý zemědělský odpad, který je snadno dostupný, levný a dobře skladovatelný. Takto je výroba nanočástic pro výrobce nejen zjednodušena, ale také jsou sníženy ekologické dopady procesu^{72,73}.

7. Závěry

Stále se rozšiřující seznam potenciálních využití kovových nanočástic s sebou nese také příslib obrovské poptávky, která se již dnes odhaduje na více než stovky tun nanočástic ročně. Produkce takového množství nanočástic je ale za použití v současnosti využívaných fyzikálních či chemických metod sotva udržitelná. Alternativní cesty využívající živé organismy či jejich části, které s sebou neunesou riziko využití toxických chemikálií či nevýhody ve formě ekonomické a energetické náročnosti, se tedy jeví jako vhodnější volba.

Tato oblast je nicméně stále poměrně málo prozkoumaná, je tedy vhodné v budoucnu studovat další možné využitelné materiály především z kategorie odpadů. Neméně důležité je také prozkoumání a zdokonalení metod izolace a purifikace produkováných nanočástic, jelikož jejich použití v kombinaci se stabilizujícími biomolekulami není pro některé aplikace vůbec vhodné.

LITERATURA

1. Schaming D., Remita H.: *Found. Chem.* 17, 187 (2015).
2. Bhushan B.: *Springer Handbook of Nanotechnology*. Springer, Heidelberg 2017.
3. Duncan T. V.: *J. Colloid Interface Sci.* 363, 1 (2011).
4. Bhushan B.: *Encyclopedia of nanotechnology. Second edition*. Springer Reference, Netherlands 2016.
5. Roco M. C., Mirkin C. A., Hersam M. C.: *Nanotechnology Research Directions for Societal Needs in 2020: Retrospective and Outlook*. Springer Netherlands 2011.
6. Sperling R. A., Rivera Gill P., Zhang F., Zanella M., Parak W. J.: *Chem. Soc. Rev.* 37, 1896 (2008).
7. Cao G.: *Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis*, London 2004.
8. Prabhu S., Poulouse E. K.: *Int. Nano Lett.* 2, 32 (2012).
9. Klasen H. J.: *Burns* 26, 131 (2000).
10. Sondi I., Salopek-Sondi B.: *J. Colloid Interface Sci.* 275, 177 (2004).
11. Chernousova S., Epple M.: *Angew. Chem., Int. Ed.* 52, 1636 (2013).
12. Le Ouay B., Stellacci F.: *Nano Today* 10, 339 (2015).
13. Misra S. K., Dybowska A., Berhanu D., Luoma S. N., Valsami-Jones E.: *Sci. Total Environ.* 438, 225 (2012).
14. Kim J. S. a 12 spoluautorů: *Nanomedicine (N. Y., NY, U. S.)* 3, 95 (2007).
15. Lara H. H., Garza-Treviño E. N., Ixtepan-Turrent L., Singh D. K.: *J. Nanobiotechnol.* 9, 30 (2011).
16. Rai M., Yadav A., Gade A.: *Biotechnol. Adv.* 27, 76 (2009).
17. Adlim A.: *Indo. J. Chem.* 6, 1 (2006).
18. Mittal A. K., Chisti Y., Banerjee U. C.: *Biotechnol. Adv.* 31, 346 (2013).
19. Kulkarni N., Muddapur U.: *J. Nanotechnol.* 2014, 1.
20. Iravani S.: *Green Chem.* 13, 2638 (2011).
21. Li H., Li M., Shih W. Y., Lelkes P. I., Shih W.-H.: *J. Nanosci. Nanotechnol.* 11, 3543 (2011).
22. Husseiny M. I., El-Aziz M. A., Badr Y., Mahmoud M. A.: *Spectrochim. Acta, Part A* 67, 1003 (2007).
23. Klaus T., Joerger R., Olsson E., Granqvist C.-G.: *PNAS* 96, 13611 (1999).
24. Siddiqi K. S., Husen A., Rao R. A. K.: *J. Nanobiotechnol.* 16, 1 (2018).
25. Nanda A., Saravanan M.: *Nanomedicine (N. Y., NY, U. S.)* 5, 452 (2009).
26. Reddy A. S., Chen C.-Y., Chen C.-C., Jean J.-S., Chen H.-R., Tseng M.-J., Fan C.-W., Wang J.-C.: *J. Nanosci. Nanotechnol.* 10, 6567 (2010).
27. Saravanan M., Vemu A. K., Barik S. K.: *Colloids Surf., B* 88, 325 (2011).
28. Singh R., Wagh P., Wadhvani S., Gaidhani S., Kumbhar A., Bellare J., Chopade B. A.: *Int. J. Nanomed.* 8, 4277 (2013).
29. Saifuddin N., Wong C. W., Nur Yasumira A. A.: *E-J. Chem.* 6, 734264 (2009).
30. Shahverdi A. R., Fakhimi A., Shahverdi H. R., Mi-
naian S.: *Nanomedicine (N. Y., NY, U. S.)* 3, 168 (2007).
31. Zhang H., Li Q., Lu Y., Sun D., Lin X., Deng X., He N., Zheng S.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80, 285 (2005).
32. Durán N., Marcato P. D., Alves O. L., De Souza G. I., Esposito E.: *J. Nanobiotechnol.* 3, 8 (2005).
33. Mukherjee P., Roy M., Mandal B. P., Dey G. K., Mukherjee P. K., Ghatak J., Tyagi A. K., Kale S. P.: *Nanotechnology* 2008, 19.
34. Vigneshwaran N., Kathe A. A., Varadarajan P. V., Nachane R. P., Balasubramanya R. H.: *Colloids Surf., B* 53, 55 (2006).
35. Vigneshwaran N., Ashtaputre N. M., Varadarajan P. V., Nachane R. P., Paralikar K. M., Balasubramanya R. H.: *Mater. Lett.* 61, 1413 (2007).
36. Bhainsa K. C., D'Souza S. F.: *Colloids Surf., B* 47, 160 (2006).
37. Gade A. K., Bonde P., Ingle A. P., Marcato P. D., Durán N., Rai M. K.: *J. Biobased Mater. Bioenergy* 2, 243 (2008).
38. Marchiol L., Mattiello A., Pošćić F., Giordano C., Musetti R.: *Nanoscale Res. Lett.* 9, 101 (2014).
39. Gardea-Torresdey J. L., Parsons J. G., Gomez E., Peralta-Videa J., Troiani H. E., Santiago P., Yacaman M. J.: *Nano Lett.* 2, 397 (2002).
40. Manceau A., Nagy K. L., Marcus M. A., Lanson M., Geoffroy N., Jacquet T., Kirpichtchikova T.: *Environ. Sci. Technol.* 42, 1766 (2008).
41. Makarov V., Love A., Sinitsyna O., Makarova S., Yaminsky I., Taliansky M., Kalinina N.: *Acta Naturae* 6, 35 (2014).
42. Shankar S. S., Ahmad A., Pasricha R., Sastry M.: *J. Mater. Chem.* 13, 1822 (2003).
43. Singh A. K., Talat M., Singh D. P., Srivastava O. N.: *J. Nanopart. Res.* 12, 1667 (2010).
44. Gruen L. C.: *Biochim. Biophys. Acta* 386, 270 (1975).
45. Tan Y. N., Lee J. Y., Wang D. I. C.: *J. Am. Chem. Soc.* 132, 5677 (2010).
46. Raveendran P., Fu J., Wallen S. L.: *J. Am. Chem. Soc.* 125, 13940 (2003).
47. Selvakannan P., Mandal S., Phadtare S., Gole A., Pasricha R., Adyanthaya S. D., Sastry M.: *J. Colloid Interface Sci.* 269, 97 (2004).
48. Willett R. L., Baldwin K. W., West K. W., Pfeiffer L. N.: *PNAS* 102, 7817 (2005).
49. Cruz D., Falé P. L., Mourato A., Vaz P. D., Serralheiro M. L., Lino A. R. L.: *Colloids Surf., B* 81, 67 (2010).
50. Lukman A. I., Gong B., Marjo C. E., Roessner U., Harris A. T.: *J. Colloid Interface Sci.* 353, 433 (2011).
51. Kumar D. A., Palanichamy V., Roopan S. M.: *Spectrochim. Acta, Part A* 127, 168 (2014).
52. Nakkala J. R., Mata R., Gupta A. K., Sadras S. R.: *Ind. Crops Prod.* 52, 562 (2014).
53. Sun Q., Cai X., Li J., Zheng M., Chen Z., Yu C.-P.: *Colloids Surf., A* 444, 226 (2014).
54. Gopinath V., Mubarak Ali D., Priyadarshini S.,

- Priyadharsshini N. M., Thajuddin N., Velusamy P.: *Colloids Surf., B* 96, 69 (2012).
55. Mariselvam R., Ranjitsingh A. J. A., Usha Raja Nanthini A., Kalirajan K., Padmalatha C., Mosae Selvakumar P.: *Spectrochim. Acta, Part A* 129, 537 (2014).
56. Sadeghi B., Gholamhoseinpoor F.: *Spectrochim. Acta, Part A* 134, 310 (2015).
57. Ulug B., Haluk Turkdemir M., Cicek A., Mete A.: *Spectrochim. Acta, Part A* 135, 153 (2015).
58. Krishnaraj C., Jagan E. G., Rajasekar S., Selvakumar P., Kalaichelvan P. T., Mohan N.: *Colloids Surf., B* 76, 50 (2010).
59. Veeraputhiran V.: *Int. J. ChemTech Res.* 5, 2555 (2013).
60. Shaik M. a 10 spoluautorů: *Sustainability* 10, 913 (2018).
61. Khan M., Khan S. T., Khan M., Adil S. F., Musarrat J., Al-Khedhairi A. A., Al-Warthan A., Siddiqui M. R. H., Alkhatlan H. Z.: *Int. J. Nanomed.* 9, 3551 (2014).
62. Khan M., Khan M., Adil S. F., Tahir M. N., Tremel W., Alkhatlan H. Z., Al-Warthan A., Siddiqui M. R. H.: *Int. J. Nanomed.* 8, 1507 (2013).
63. Jena J., Pradhan N., Nayak R. R., Dash B. P., Sukla L. B., Panda P. K., Mishra B. K.: *J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 522 (2014).
64. Sinha S. N., Paul D., Halder N., Sengupta D., Patra S. K.: *Appl. Nanosci.* 5, 703 (2015).
65. Kumar P., Selvi S. S., Prabha A. L., Kumar K. P., Ganeshkumar R. S., Govindaraju M.: *Nano Biomed. Eng.* 4, 12 (2012).
66. Shiny P. J., Dhas S. P., Mukherjee A., Chandrasekaran N.: *Adv. Sci. Eng. Med.* 5, 926 (2013).
67. Gericke M., Pinches A.: *Hydrometallurgy* 83, 132 (2006).
68. Singh P., Kim Y.-J., Zhang D., Yang D.-C.: *Trends Biotechnol.* 34, 588 (2016).
69. Thakkar K. N., Mhatre S. S., Parikh R. Y.: *Nanomedicine* 6, 257 (2010).
70. Ali J., Ali, N., Wang L., Waseem H., Pan G.: *J. Microbiol. Methods* 159, 18 (2019).
71. Pantidos N., Horsfall L. E.: *J. Nanomed. Nanotechnol.* 5, 233 (2014).
72. Jamkhande P. G., Ghule N. W., Bamer A. H., Kalaskar M. G.: *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 53, 101174 (2019).

J. Michailidu and A. Miškovská (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Silver Nanoparticle Synthesis Using Biological Agents**

In recent decades, nanotechnology has undoubtedly been one of the most prominently growing areas of human research. The mass production of nanoparticles, however, demands further consideration of economical and environmental plausibility of procedures used in this area. “Green” methods using biological agents have thus become a center of interest for scientists all over the world. Reducing and stabilizing abilities of substances which originate from plants or microbes can be used in this regard. This review focuses on the production of silver nanoparticles by biosynthesis using products of both plant and microbial metabolism.

Keywords: nanoparticles, biosynthesis, microorganisms, plants, sustainability