

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

Дипломна магістерська робота

на тему: «Спосіб отримання крему з наночастками,
синтезованими з використанням дріжджового лізату»

Виконав: студент 2 курсу, групи МгБТ-21
спеціальності 162 Біотехнології
та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія
високомолекулярних сполук
Марія МАЛІНОШЕВСЬКА
Керівник: к.б.н., Ольга ШИДЛОВСЬКА
Рецензент: к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА

Київ 2022

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри
біотехнології, шкіри та хутра

_____ Олена МОКРОУСОВА
« ____ » _____ 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Маліношевської Марії Олександрівни

1. Тема роботи: **Спосіб отримання крему з наночастками, синтезованими з використанням дріжджового лізату**

Науковий керівник роботи Шидловська Ольга Андріївна, к.б.н.
затверджені наказом закладу вищої освіти
від «28» вересня 2022 року № 180-уч.

2. Строк подання студентом роботи _____

3. Вихідні дані до роботи: завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо властивостей наночасток та способів їх отримання; технологічні схеми промислового отримання кремів та наночасток металів методом зеленого синтезу; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.

4. Зміст дипломної роботи (перелік питань, які потрібно розробити): вступ, огляд літератури, технологічна частина, контроль якості, висновки, список використаних джерел, додатки.

5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Ім'я, прізвище та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	Ольга ШИДЛОВСЬКА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Розділ 2	Ольга ШИДЛОВСЬКА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Розділ 3	Ольга ШИДЛОВСЬКА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		
Висновки	Ольга ШИДЛОВСЬКА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра		

6. Дата видачі завдання 12.09.2022 р.**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Огляд літератури		
3	Розділ 2 Технологічна частина		
4	Розділ 3 Контроль якості		
5	Висновки		
6	Оформлення дипломної магістерської роботи (чистовий варіант)		
7	Здача дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування (за 14 днів до захисту)		
8	Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		
9	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

Студент _____ Марія МАЛІНОШЕВСЬКА
 Науковий керівник роботи _____ Ольга ШИДЛОВСЬКА
 Директор НМЦУПФ _____ Олена ГРИГОРЕВСЬКА

ЗМІСТ

ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Загальна характеристика зеленого синтезу наночастинок металів	11
1.1.1 Синтез наночастинок металів з використанням рослинних екстрактів	13
1.1.2 Отримання наночастинок металів за допомогою бактерій	16
1.1.3 Біосинтез металічних наночастинок з використанням дріжджів	18
1.2 Біологічні властивості наночастинок срібла та церію	20
1.2.1 Антибактеріальна, протівірусна та антиоксидантна дія наночастинок срібла	21
1.2.2 Антивірусна, антибактеріальна, антиоксидантна та протипухлинна дія наночастинок церію	31
1.3 Методи синтезу наночастинок срібла та церію із використанням дріжджового екстракту та супернатанту дріжджів роду <i>Saccharomyces</i>	33
1.4 Механізм формування наночастинок срібла та церію та основні речовини, що приймають в цьому участь на основі дріжджів роду <i>Saccharomyces</i>	34
Висновки до розділу 1	39
РОЗДІЛ 2 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	40
2.1 Характеристика цільового продукту	40
2.2 Характеристика біологічного агента (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	43
2.3 Обґрунтування способу проведення біосинтезу	47
2.4 Обґрунтування способу видалення та очищення	63
2.5 Блок схема	67
2.6 Опис технологічної схеми	68
Висновки до розділу 2	78
РОЗДІЛ 3 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ	79
3.1 Методики контролю на стадії біосинтезу	79
3.2 Методики контролю готового продукту	96
Висновки до розділу 3	101

ВИСНОВКИ	103
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	105
ДОДАТКИ	124

АНОТАЦІЯ

Маліношевська Марія. Спосіб отримання крему з наночастками, синтезованими з використанням дріжджового лізату. – Рукопис.

Дипломна магістерська робота за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2022 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено розробці косметичного крем-гелю для лікування акне на основі біогенних наночастинок срібла та церію з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Обґрунтовано методику зеленого синтезу наночастинок срібла та церію із застосуванням дріжджів *S. cerevisiae*. В ході проведення дослідження доведено результативність використання культури *Saccharomyces cerevisiae*, оскільки наночастки отримані за допомогою такого методу володіють антибактеріальними властивостями та легко піддаються контрольованому синтезу визначеного розміру та форми.

Аргументовано склад і технологію отримання косметичного крем-гелю для лікування акне, в якому як активні компоненти використано розчин отриманих наночастинок срібла та церію. Вивчено фізико-хімічні, фармако-технологічні властивості, вплив допоміжних речовин та технологічних методів, а також фармакологічних та токсикологічних властивостей, що вирішує важливу науково-прикладну проблему виробництва косметичних засобів для лікування акне.

Ключові слова: *Saccharomyces cerevisiae*, наночастки срібла, наночастки церію, біосинтез, косметичний крем-гель.

ANOTATION

Mariia Malinoshevska. The method of obtaining a cream with nanoparticles synthesized using yeast lysate. - Manuscript.

Master's thesis on specialty 162 Biotechnology and bioengineering. - Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2022.

The qualification work is devoted to the development of a cosmetic cream-gel for the treatment of acne based on biogenic silver and cerium nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* yeast.

The method of green synthesis of silver and cerium nanoparticles using *S. cerevisiae* yeast is substantiated. In the course of the research, the effectiveness of the use of *Saccharomyces cerevisiae* culture was proven, because the nanoparticles obtained using this method have antibacterial properties and are easily amenable to controlled synthesis of a certain size and shape.

The composition and technology of obtaining a cosmetic cream-gel for the treatment of acne, in which a solution of obtained silver and cerium nanoparticles is used as active components, is argued. The physico-chemical, pharmaco-technological properties, influence of excipients and technological methods, as well as pharmacological and toxicological properties were studied, which solves an important scientific and applied problem of the production of cosmetic products for the treatment of acne.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, silver nanoparticles, cerium nanoparticles, biosynthesis, cosmetic cream-gel.

ВСТУП

Актуальність. Враховуючи унікальні фізико-хімічні властивості наночастинок срібла та церію, їхню високу біологічну активність та особливості косметичних маркетингових вимог порівняно з фармацевтичною продукцією, особливо немає обов'язкових вимог щодо якісного та кількісного аналізу наночастинок у косметиці, а лише для гігієни та гігієнічного досвіду, металеві наночастинок мають великі перспективи як біоактивні інгредієнти в косметиці.

Використання металевих наночастинок з прогнозним терапевтичним потенціалом у поєднанні з комплексною характеристикою за фізико-хімічними параметрами та маркерами безпеки потенційно надасть споживачам новий клас високоефективних косметичних продуктів.

Наночастинок металів мають унікальні властивості, які забезпечують значний антибактеріальний, протівірусний та антиоксидантний ефекти. Наприклад, вони мають високу адсорбційну активність, що призводить до збільшення їх питомої поверхні, що призводить до здатності поглинати у багато разів більше адсорбованих речовин на одиницю маси, ніж макроскопічні дисперсії. Надмалий розмір металевих наночастинок призводить до підвищення біодоступності, подолання біологічних бар'єрів, можливості зв'язування з нуклеїновими кислотами і білками, вбудовування в клітинні мембрани, проникнення в органи і зміни їх функцій.

Поширеними методами синтезу наночастинок є фізичні та хімічні. Однак вони дорогі, як, наприклад, наночастинок срібла. Проводити дослідження з ними недешево, оскільки воно проводиться в кілька етапів, і такі дослідження зазвичай займають до двох тижнів. Метод біосинтезу наночастинок полягає в синтезі сполук у водному середовищі в присутності мікроорганізму *Saccharomyces cerevisiae*. Крім того, хімічні методи біосинтезу наночастинок є енергоємними та токсичними.

Сьогодні можна стверджувати, що саме наночастинок роблять косметику по-справжньому лікувальною. Адже колись шкіра здавалася непереборним бар'єром

на шляху багатьох лікарських та косметологічних засобів, а сьогодні знайдено необхідні «переносники», здатні доставити продукт до місця його дії.

Наукова новизна полягає в розробці складу та технології косметичного крем-гелю з наночастинками срібла та церію, синтезованих з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, що вирішує проблему дефіциту на вітчизняному ринку нового економічно доступного ефективного косметичного засобу по догляду за шкірою схильною до акне.

Метою дипломної магістерської роботи є розробка косметичного крему для лікування акне, в якому як активні компоненти використано розчин наночастинок срібла та церію, синтезованих з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

1. Відповідно до сформованої мети були поставлені такі завдання:
2. Розглянути загальну характеристику зеленого синтезу наночасток металів з використанням рослинних екстрактів, бактерій та дріжджів. Проналізувати методи синтезу наночасток срібла та церію із використанням дріжджового екстракту та супернатанту дріжджів роду *Saccharomyces*.
3. Обґрунтувати особливості проведення біосинтезу, виділення та очищення.
4. Розробити блок-схему отримання косметичного крем-гелю з наночастками срібла та церію.
5. Надати детальний опис технологічної схеми отримання косметичного крем-гелю з наночастками срібла та церію.
6. Обґрунтувати методики контролю на стадії біосинтезу та методики контролю готового продукту.

Об'єкт дослідження – біосинтез наночастинок срібла та церію з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Предмет дослідження – отримання косметичного крему з наночастинками срібла та церію.

Апробація результатів дипломної магістерської роботи: взята участь у XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біологічні дослідження – 2022»

з роботою «Методи синтезу наночасток срібла та церію» та II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» з роботою «Деякі аспекти властивостей наночасток срібла, отриманих зеленим синтезом» (додатки Б та В).

Публікації: результати роботи були опубліковані в тезах:

Савчук О.М., Маліношевська М.О., Шидловська О.А. Деякі аспекти властивостей наночасток срібла, отриманих зеленим синтезом. Матеріали II міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології», 2022. С. 221-223 (Додаток Б)

М. О. Маліношевська, О. А. Шидловська. Методи синтезу наночасток срібла та церію. Біологічні дослідження – 2022 збірник наукових праць. За матеріалами XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції від 10–11 жовтня 2022 р. С. 213-216 (Додаток В).

та статті:

М. О. Маліношевська, О.А. Шидловська. Методи синтезу наночасток срібла та церію. Біологія та екологія, 2022. Том 8, №1 – друк (додаток Г).

Структура і обсяг роботи. Дипломна магістерська робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел (186 найменування). Загальний обсяг магістерської роботи 158 сторінок машинописного комп'ютерного тексту.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Загальна характеристика зеленого синтезу наночасток металів

Завдяки своїй унікальній здатності поєднувати різноманітні властивості, наночастки благородних металів все частіше використовуються в галузі біологічних досліджень, а також у біотехнологіях і біомедичних розробках. Зокрема, металеві наночастки використовуються для візуалізації клітинних і субклітинних структур, індикації біологічних процесів, адресно-точкової доставки генів, ліків та інших цільових «вантажів», гіпертермії пухлин тощо [1]. Переважна більшість маатеріалів у нанорозміру мають високу фотостабільність і яскравість, що відповідає більшості критеріїв, висунутих для флуоресцентних матеріалів у біології. Тому їх використовують у протипухлинній терапії, прижиттєвій візуалізації внутрішньоклітинних структур, імунофлуоресцентному міченні білків, виявленні токсинів тощо [2].

Традиційні методи отримання наночасток першого покоління базуються на фізико-хімічних методах, які є як енергоємними, так і передбачають використання токсичних речовин. Крім того, ефективність використання наноматеріалів у біології, біотехнології та біомедицині значною мірою залежить від таких властивостей наночастинок, як розмір, форма, склад і властивості поверхні [3]. Зважаючи на це, розробка продуктивних, екологічно безпечних та економічно вигідних методів синтезу наночастинок з використанням біологічних систем на сьогодні є надзвичайно актуальною [4].

Окрім зменшення навантаження на навколишнє середовище та підвищення економічної ефективності за рахунок «екологізації» процесу синтезу наночастинок, використання біологічних систем та їх компонентів відкриває додаткові можливості для виготовлення наночастинок із заданим складом і властивостями. Вважається, що біологічні методи синтезу наночастинок здатні успішно конкурувати з традиційними хімічними та фізичними методами за швидкістю, керованістю та швидкістю перетворення. Використання різних

методів у біосинтетичному контексті створює широкі можливості для вибору оптимальних параметрів і отримання конкретних синтетичних продуктів для конкретних сфер застосування.

При використанні біоміметичного підходу моделюється перебіг певних процесів, що відбуваються під час синтезу частинок в організмі за участю певних біологічних сполук. Очікується, що біологічні методи синтезу наночастинок будуть більш економічними, що значно здешевить використання продуктів нанотехнологій. Крім того, існує гіпотеза, що отримані таким чином наночастинок мають кращу біосумісність через відсутність адсорбції токсичних речовин [5-6].

Як правило, віруси, бактерії, актиноміцети, гриби і рослини використовуються для розробки екологічно сумісних методів біосинтезу наночастинок [7-11]. Крім того, в літературі [12] описано внутрішньоклітинний синтез *in vitro* наночастинок золота з клітин людини ліній *SiHa*, *SKNSH*, *HeLa* та *HEK-293* [12].

Механізм біосинтезу наночастинок до кінця не з'ясований. Оскільки синтез наночастинок зазвичай включає хімічне відновлення металів [13], досліджуються сполуки живої клітини, які можуть діяти як відновники. Вважається, що в біосинтезі наночастинок беруть участь вільні амінокислоти, водорозчинні білки, ферменти, флавоноїди, терпеноїди, фенольні сполуки, дубильні речовини, проантоціанідини, вуглеводи, вітаміни [14]. Тому було визначено умови позаклітинного синтезу наночастинок золота у гриба *Fusarium oxysporum Schlecht*. Відновлення металу відбувається за рахунок НАДН-залежної редуктази, а при синтезі частинок срібла за допомогою *Enterobacter sp.* задіяна нітратредуктаза [15-16]. Критична роль у формуванні нанопластин срібла при використанні екстракту одноклітинних зелених водоростей *Chlorella sp.* належить білкам і під час синтезу відновлюється іонами та стабілізується екстрактом стручкового перцю, особливо за рахунок аміногрупи білка [17-18]. Ключову роль у бактеріальному синтезі нанокристалів CdS відіграють ферменти [8].

Як правило, тип сполуки, яка бере участь у синтезі, визначає властивості

(морфологічні характеристики, стабільність, реакційну здатність) і локалізацію кінцевого продукту – наночастинки – в умовах, в яких вона синтезується живим організмом (внутрішньоклітинних або позаклітинних). Це важливо для розробки широкомасштабних методів синтезу через фундаментальну важливість таких факторів, як легкість вилучення та подальшої обробки наночастинок. Швидкість синтезу, структуру та морфологію наночастинок, синтезованих організмами, також можна контролювати шляхом зміни таких параметрів, як рН, температура, концентрація субстрату та час експозиції [17].

1.1.1 Синтез наночастинок металів з використанням рослинних екстрактів

Давно відомо, що рослини відновлюють іони металів на поверхнях і в різних органах і тканинах подалі від проникнення іонів. У зв'язку з цим рослини використовуються для отримання цінних металів з шахт або кар'єрів, де традиційні методи стали нерентабельними. Подібний процес зараз називається рослинним майнінгом. Накопичені метали можна витягти із зібраних рослин методами агрегації та плавлення. Цікаво, що дослідження процесів біоаккумуляції металів у рослинах показали, що метали часто осідають у формі наночастинок.

Наприклад, рослини гірчиці та люцерни (*Medicago sativa*) накопичували до 13,6% власної маси в наночастинках срібла при вирощуванні на нітраті срібла як субстраті. Золоті ікосаедри розміром 4 нм знайдено у *M. sativa*, а напівсферичні частинки міді розміром 2 нм – у *Iris pseudocorus* [19-21], вирощених на субстратах, що містять відповідні солі металів. Зрозуміло, що цілі рослини можна використовувати для виробництва наночастинок металу. Однак при промисловому застосуванні цієї технології необхідно враховувати певні обмеження.

По-перше, розмір і форма наночастинок залежать від їх розташування в рослині, що може залежати від відмінностей у вмісті іонів металу в різних тканинах і від здатності наночастинок проникати. Ці умови, у свою чергу, впливають на швидкість, з якою метал поступово осідає навколо вже існуючих

наночастинок, а також на поведінку нової нуклеації (початок утворення наночастинок) [20]. Неоднорідність розміру та морфології наночастинок, що виробляються в цілих рослинах, може ускладнити їх використання там, де для певної мети потрібні частинки заданого розміру та форми. По-друге, існує проблема ефективного вилучення наночастинок із рослинної сировини. Нарешті, ще однією проблемою є неможливість адаптувати форму наночастинок, синтезованих в рослині, відповідно до потреб ринку.

У зв'язку з цим в останні роки активно розвиваються методи *in vitro*, в яких рослинні екстракти використовуються для біовідновлення іонів металів і формування наночастинок. Такий підхід забезпечує більш гнучкий контроль розміру і форми наночастинок (наприклад, шляхом зміни рН середовища і температури реакції), а також полегшує подальше очищення. Примітно, що цей процес набагато швидший, ніж синтез наночастинок у всій рослині, оскільки реакція відбувається майже миттєво, без затримки, необхідної для поглинання іонів металу та дифундування рослиною. Здійсненість цього підходу була продемонстрована шляхом використання екстрактів з різних типів рослин у поєднанні з різними кислотами та солями металів, таких як мідь, золото, срібло, платина, залізо тощо [19].

Наприклад, екстракти герані (запашної герані) відновлюють і стабілізують іони золота в наночастинки десятикутної ікосаедричної форми розміром 20–40 нм, тоді як іони з *Symbopogon flexuosus* (лимонне дерево) наносфер і нанотрикутників у екстрактах у розмірах 0,05-18 мкм у розмір. Екстракт азадирахти індійської використовується для відновлення тетрахлорзолотистої кислоти (HAuCl_4) до золотистих плоских трикутників і шестикутників розміром 50-100 нм [22-24].

Ця робота також показала, що сік *A. indica* може відновлювати нітрат срібла до сферичних полідисперсних наночастинок розміром 5-25 нм. Екстракт листя алое вера (*Aloe vera*) використовувався для отримання кубічних частинок In_2O_3 розміром 5-50 нм. За допомогою інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є було показано, що рослинні метаболіти, такі як цукри, терпеноїди,

поліфеноли, алкалоїди, фенольні кислоти та білки, відіграють важливу роль у відновленні іонів металів до наночастинок і забезпеченні їх подальшої стабільності [25-26].

Було припущено, що контроль розміру та морфології наноструктур може бути пов'язаний із взаємодією цих біомолекул з іонами металів [23]. Концентрація та склад цих біологічно активних компонентів відрізняються від рослини до рослини. Мабуть, цим можна частково пояснити морфологічну різноманітність описаних наночастинок: трикутники, шестикутники, п'ятикутники, куби, сфери, еліпсоїди, нанодрти, нанострижні. Наночастинки різної морфології та розміру були синтезовані з різних іонів металів із різних рослинних екстрактів і детально описані в огляді [27]. На рис. 1.1 показано зображення наночастинок срібла, золота та заліза, утворених в екстракті *N. benthamiana*.

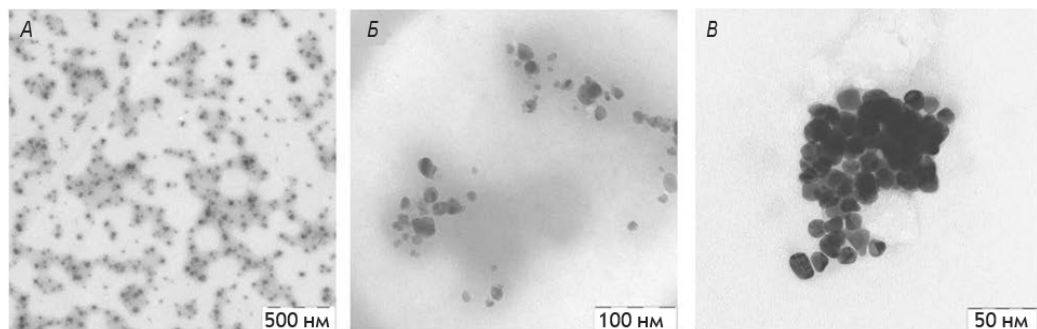


Рис. 1.1 Електронні мікрофотографії наночастинок заліза (А), срібла (Б) та золота (В), синтезованих в екстрактах *N. benthamiana* при кімнатній температурі [27].

Можна звернути увагу, що всі наночастки мають подібну до сферичної форми структуру. Саме така форма забезпечує найкращі біологічні властивості синтезованих наночастинок. Концентрація внесених солей до реакційної суміші, спосіб отримання рослинних екстрактів, час синтезу – це фактори, які можуть впливати на форму синтезованих наночастинок.

1.1.2 Отримання наночасток металів за допомогою бактерій

Відомо, що бактерії зв'язують і концентрують розчинені іони металів і металоїдів. Одна бактерія здатна перетворювати токсичні для їх життєдіяльності іони металів у нетоксичні наночастинки [28]. Зважаючи на це, деякі бактерії використовуються як нанофабрики, що забезпечує новий підхід до видалення іонів металів або металоїдів і синтезу матеріалів з унікальними властивостями [29]. Серед «зелених» синтетичних методів бактерії є особливо важливим інструментом для отримання наночастинок завдяки їх різноманітності та високій адаптивності до екстремальних умов. Бактеріальний синтез наночасток є надзвичайно перспективним завдяки низькій енергоємності та регульованості процесу [28]. Металеві наночастинки можуть утворюватися бактеріями як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно. Встановлено, що позаклітинний синтез є більш ефективним і легшим для вилучення наночасток за своєю природою. Водночас біосинтетичні наночастинки металів більш стійкі до окислення, що зумовлює можливість їх застосування в різних галузях [30].

До теперішнього часу накопичено багато повідомлень про синтез наночастинок металів різними бактеріями. Тому наночастинки ZnO були синтезовані за участю *Lactobacillus plantarum* [31] і *Aeromonas hydrophila*. Наночастинки оксиду заліза, отримані з використанням *Bacillus cereus*, виявляли дозозалежну протиракову дію на клітинні лінії MCF-7 і 3T3 [32]. Наночастинки Pd, синтезовані з *Pseudomonas alpine*, показали каталітичну активність у реакціях дехлорування [33].

Наночастинки срібла, синтезовані з ціанобактерій, мають потенціал зв'язувати аміак [34]. Біосинтез наносрібла AgNO₃ використовували як попередник для *Bacillus amyloliquefaciens* і *Bacillus subtilis* [35]. Антибактеріальну активність наночастинок спостерігали після 24 годин інкубації проти грамнегативних бактерій: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* та грампозитивних бактерій: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. Крім того, виявлено їх протигрибкову активність щодо *Candida albicans*. Наночастки аргентуму, отримані за участю *Bacillus pumilus*, *Parageobacillus* і *Sphingosine*

paucimobilis, мали сферичну та еліптичну форму, розміри частинок від 4 до 20 нм і площу поверхні 118 м²/г [36].

Наночастинки срібла, отримані з ізолятів *Streptacidiphilus durhamensis HGG16n*, мали розмір від 8 нм до 48 нм [37]. *Bacillus endophyticus* [38] і *Deinococcus radiodurans* [39] здатні продукувати наночастинки срібла різних форм і розмірів.

Різні бактерії здатні накопичувати наночастинки міді, особливо *Shewanella loihica* [40], *Bacillus. FU4* [41], *Shewanella oneidensis* [42]. Наночастинки платини отримано методом зеленого синтезу за участю *Streptomyces sp.* [43], *Magnesium-Lactobacillus sp.* [44], вісмут – *Delftia sp.* SFG [45]. Бактерії *Lysinibacillus sp.* і *Pseudomonas stutzeri* адаптовані до лужних умов для ефективного біосинтезу AuNPs, розкриваючи потенційні біомедичні застосування [46]. Наночастинки AuNP, отримані за допомогою *Lyngbya Majuscula*, можна використовувати для профілактики інфаркту міокарда [47]. Морська бактерія *Marinobacter algicola* у присутності нітратредуктази при рН 7,0, 30°C утворює різні типи наночастинок золота (сферичні, трикутні, п'ятикутні та гексагональні із середнім розміром 4–168 нм) [48]. Відновлення екзопаладію до наночастинок паладію проводили за допомогою *Geobactersu lfurreducens*, *Shewanella oneidensis MR-1*, *Shewanella sp. CNZ-1*, *S. loihica PV-4*, *Bacillus sp.* [49-53].

Показано, що для біосинтезу наночастинок можна використовувати не тільки живі бактерії, але й мертвих представників певних видів бактерій, але механізми цих процесів різні. Як правило, метаболічні процеси призводять до біовідновлення наночастинок у живих бактеріях [54].

Останнім часом все більше бактерій використовують для синтезу наноселену, який широко використовується в сільськогосподарському виробництві, особливо в порівнянні з неорганічною формою, він може краще підвищити продуктивність тварин і птиці. Для цього використовували *Rhodococcus aetherophilus BCP1*, *Acinetobacter spp. SW 30*, *Rahnella aquatilis HX2*, *Alcaligenes sp. CKCr-6A* [55-59].

1.1.3 Біосинтез металічних наночасток з використанням дріжджів

Окрім мікроорганізмів, таких як бактерії та гриби, у біосинтезі наночастинок також використовуються дріжджі. Вони містять мембранозв'язані оксидоредуктази та хінони, які відіграють ключову роль у синтезі металевих наночастинок. Коли рН в дріжджових клітинах підвищується, редуктази активуються для відновлення іонів металів під час одночасного синтезу наночастинок. Хінони дріжджових клітин характеризуються нуклеофільними та окисно-відновними властивостями, а також беруть участь у відновленні іонів металів та їх перетворенні в наночастинки [60]. Нещодавно була показана можливість біосинтезу наночастинок срібла за допомогою дріжджового екстракту. Автори не надали даних щодо родів і видів дріжджів, використаних у дослідженні. Синтезовані наночастки аргентуму виявили антибактеріальну активність проти ампіцилінрезистентних клітин *Escherichia coli*. Антибактеріальну дію вчені пояснили взаємодією наночастинок срібла з пептидогліканом клітинної стінки *E. coli*, що призвело до зміни конфігурації пептидоглікану, підвищення проникності клітинної стінки та апоптозу. Водночас синтетичні наночастки аргентуму показали меншу цитотоксичність до пересаджених культур клітин *Cos-7*, що зробило можливим їх подальше застосування в медицині [61].

Іншій групі вчених за допомогою біологічних методів вдалося отримати наночастки заліза, використовуючи для біосинтезу комерційний дріжджовий екстракт. Можливий механізм синтезу наночасток феруму автори пояснюють наявністю в екстракті ферментів та сірковмісних білків, які діють як відновники і перетворюють Fe^{3+} у Fe^0 . Після цього Fe^0 утворює сферичні наночастинки, що покривають білки, що містять сірку, забезпечуючи таким чином їх стабільність [62].

Також наступній групі вчених вдалося вперше продемонстрували можливість використання біонаночастинок кремнезему (SiO_2 NPs) у видобутку нафти. Їм вдалось синтезувати SiO_2 NPs з розмірами 6-25 нм, використовуючи дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* PTCC 5269. Автори довели, що на відміну від

хімічно синтезованих наночасток діоксиду кремнію, біогенні наночастки кремнезему здатні сильно знижувати міжфазовий натяг. При цьому ефективність видобутку нафти збільшується на 5-7% [63].

Окрім цього вдалося виявити, що дріжджі *S. segevisiae* синтезують наночастинки селену (SeNP) внутрішньоклітинно. Вони визначили, що найстабільніші та найменші SeNP (75 нм) утворювалися, коли до дріжджового середовища додавали найменшу кількість (5 мкг) селеніту натрію. Синтез наночастинок спостерігався при збільшенні їх кількості в 5 разів. Його в 6-9 разів більше, а його антиоксидантна активність знижена на 43% [64].

Китайські вчені досліджували позаклітинний синтез наночасток селену за допомогою дріжджів *Magnusiomyces ingens LH-F1*. Для синтезу наночастинок використовували безклітинний дріжджовий екстракт. Автори вважають, що гідроксильні, карбоксильні та амінні групи білків, що містяться в безклітинних дріжджових екстрактах, можуть брати участь у синтезі наночастинок селену. На поверхні наночасток селену було виявлено два білки з молекулярною масою 16 і 21 кДа, які можуть функціонувати як природні стабілізатори, тоді як незв'язані білки можуть функціонувати як відновники [65].

Індійські вчені продемонстрували можливість використання дріжджів для синтезу наночастинок фериту кобальту ($\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{NPs}$). На жаль, у цьому дослідженні автори не вказали рід і вид дріжджів. Синтез наночасток фериту кобальту з використанням нітрату заліза (III) та нітрату кобальту. Наночастинки мають кубічну форму з розміром кристала 44 нм і виявляють феромагнітні властивості [66].

Chauhan і його колеги виявили здатність *Pichia JA2* синтезувати наночастинки срібла та оксид цинку позаклітинно. Тим часом біосинтез наночасток срібла проводився при 28°C, а наночасток окиду срібла при 37°C. Наночастинки біосрібла мають антибактеріальну дію проти таких бактерій, як *Escherichia coli* та *Salmonella. Pseudomonas aeruginosa* та гриби *Fusarium sp.*, *Scedosporium sp. JAS1*, *Aspergillus terreus JAS1*, тоді як наночастинки оксиду срібла мають лише антибактеріальну дію проти *Pseudomonas aeruginosa* та

протигрибкову дію проти *Fusarium* та *Ganoderma spp.* JAS4, *A. terreus* JAS1 [67].

У цьому огляді описані різні варіанти біосинтезу різних наночастинок з використанням рослинних екстрактів, бактерій і дріжджів. Їх виробництво за допомогою мікроорганізмів є екологічно чистим і економічним, оскільки немає необхідності використовувати токсичні та дорогі матеріали.

Слід підкреслити, що біогенним методом можна отримати наночастинок різної форми та розміру, що досягається різними умовами, такими як температура, рН, час інкубації, концентрація солей металів чи інших елементів тощо. На відміну від наночастинок, отриманих хімічними або фізичними методами, біопохідні наночастинок містять біомолекули на своїй поверхні, що робить їх біосумісними та дозволяє використовувати їх у медицині та суміжних галузях.

1.2 Біологічні властивості наночастинок срібла та церію

Незважаючи на стрімкий прогрес у розробці ліків і фармацевтичних технологій, інфекційні захворювання, спричинені бактеріями, залишаються однією з найбільших глобальних проблем громадського здоров'я, яка щороку вражає мільйони людей [68]. Завдяки швидкій еволюції генетичних механізмів майже всі мікроорганізми виробили стійкість до фармакотерапевтичних втручань, що призвело до розвитку резистентності до ліків, що потребує модифікації стратегій і стратегій застосування антибіотиків [69].

На цьому етапі змінилися не тільки вимоги до антибіотиків, а й вимоги до антибактеріальних препаратів, тобто сильнодіючих, тривалої дії, активних проти резистентних штамів мікробів, при цьому не порушуючи мікробіоценоз шкіри, особливо стабільність мікробних популяцій [70]. У той же час Big Pharma втратила інтерес до розробки нових протимікробних засобів і перемістила свої капіталовкладення на більш прибуткові дослідження, тим самим зменшивши появу нових хімічних речовин і консервантів на ринку ліків [71].

Для подолання цих проблем потрібні нові нетрадиційні рішення. У зв'язку з цим інтерес становлять розробки на основі нанотехнологій [72]. Як відомо,

фізико-хімічні та біологічні властивості наночастинок відрізняються від своїх макроскопічних аналогів підвищеним хімічним потенціалом, великою питомою поверхнею, а отже, високою проникаючою здатністю та адсорбційною активністю. Ця зміна властивостей забезпечує потужний руйнівний вплив на ті речовини, які мають антимікробну активність у своєму нормальному стані, ефективність яких залежить від техніки синтезу частинок, їх розміру, хімічної природи покриття, стабільності отриманої системи, типів мікроорганізмів тощо [73].

1.2.1 Антибактеріальна, противірусна та антиоксидантна дія наночастинок срібла

Серед перспективних агентів на ринку нових антибактеріальних засобів, пов'язаних із нанотехнологіями, одне з перших місць посідають наночастинок срібла, які мають широкий спектр антибактеріальних, противірусних та протипаразитарних властивостей завдяки досить економічно вигідному процесу синтезу [74].

Наносрібло інтенсивно вивчається в усьому світі, однак багато важливих питань щодо цих наночастинок залишаються без відповіді. До них відносяться молекулярні механізми, які регулюють взаємодію з мікробними клітинами, фізико-хімічні параметри, які призводять до їх токсичності для прокаріотів, відсутність стандартизованих методів і матеріалів для промислового виробництва, а також невизначеність щодо загальної стратегії розробки та використання протимікробних засобів на основі наночастинок срібла.

У цьому огляді аналізуємо експериментальні дані, отримані щодо антимікробної та протигрибкової дії наночастинок срібла, з метою, принаймні частково, визначення їх місця в інших рецептурах срібла та перспектив розвитку цих частинок як майбутніх консервантів.

Слід відмітити, що застосування срібла має давню традицію й проаналізовано в багатьох працях [75]. Як лікарські препарати використовують солі, оксиди, хелатні та органічні сполуки срібла, а також його аквазолі.

Насправді гідрозоль срібла можна розглядати як нанофлюїд, що містить наночастинки цього металу у високому розведенні, але дисперсії наночастинок срібла з чітко визначеними розмірами, концентраціями та стабілізуючими видами надаються для світових дослідницьких робіт на ринку. Зокрема, всесвітньовідома компанія Sigma-Aldrich пропонує понад 20 таких дисперсій [76].

Розглядаючи протимікробні властивості наносрібла, необхідно насамперед встановити, яким чином вони залежать від способу одержання та фізико-хімічних характеристик наночастинок. Срібні наночастинки мають розміри менші за 100 нм і містять 20-15 000 атомів срібла. Їх отримують різними методами, але найкращий метод для подальшого медичного використання заснований на короткому розряді між двома срібними електродами в деіонізованій воді [77]. Досліджуючи дію електролітично підготовлених наночастинок срібла, було помічено, що вони мають більшу бактерицидну дію на грамнегативні бактерії, а дія цієї частинки на *Escherichia coli* є сильнішою, ніж отримана шляхом позаклітинного синтезу висушеного листа *Pongamia pinnata* [78].

Розглядаючи антимікробні властивості наносрібла, перш за все необхідно визначити, як вони залежать від способу отримання та фізико-хімічних властивостей наносрібла. Наночастинки срібла мають розмір менше 100 нм і містять 20-15 000 атомів срібла. Їх отримують різними методами, але найкращий метод для подальшого медичного використання заснований на короткому розряді між двома срібними електродами в деіонізованій воді [79].

Велика кількість методик отримання наночастинок срібла для подальшого визначення антибактеріальної активності базується на методах хімічного отримання [80]. Наприклад, досліджено антибактеріальні властивості наночастинок срібла в стабільних розчинах і високодисперсних композитних системах на основі кремнезему [81]. У цій роботі досліджено розчини наночастинок срібла, отримані хімічним відновленням нітрату срібла борогідридом натрію та стабілізовані додецилсульфатом натрію та полівінілпіролідом (PVP), із середнім розміром частинок 8-12 нм і концентрацією срібла 0,0016–0,0004%.

Автори визначили їх активність проти штамів *Staphylococcus*, *Escherichia coli* та *Candida albicans* у рідких середовищах, а також визначили високу антимікробну активність наночастинок срібла без покриття та композитних частинок проти всіх досліджуваних культур, але чутливість стафілококів виявилася найменшою, а чутливість *C. Albicans* – найбільшою. Причиною дещо меншої активності композитних наночастинок у цій роботі є те, що частина активних груп срібла використовується для взаємодії зі стабілізатором.

Враховуючи наночастки срібла, які були отримані в тій же хімічній реакції, що й борогідрид натрію, і стабілізовані PVP, спостерігалися бактерицидні ефекти проти *S. aureus* і *E. coli*. Автори пояснюють це виділенням іонів срібла в PVP через наявність аміногруп у структурі цього полімеру, що полегшує обмін катіонів срібла з катіонами водню. Однак у цьому випадку мінімальна інгібуєча концентрація (МІК) *S. aureus* була нижчою, ніж у *E. coli* [82].

Описано антибактеріальну активність срібних наночастинок малого розміру (6-10 нм), синтезованих шляхом хімічного відновлення в гідрофільному середовищі і стабілізованих монтморілонітом разом з хітозаном [83]. При цьому показано, що в диск-дифузійному методі з використанням агару Mueller Hinton такі композитні наночастки виявили високу активність проти грампозитивних (*S. aureus* та метицилін-резистентний *S. aureus*) і грамнегативних (*E. coli*, *E. coli* O157:H7 та *P. aeruginosa*) бактерій.

Наночастки срібла на поверхні кристалів гексаніобату калію мали бактерицидну дію проти *E. coli*, причому ця дія була пов'язана саме з наночастиками срібла, а не з іонами срібла, які знаходилися всередині кристалів, і зростала зі зменшенням розміру наночастинок. Це дозволило припустити, що частинки різного розміру по-різному взаємодіють з клітинною стінкою бактерій [84].

Здатність обмежувати утворення біоплівки була ідентифікована в наночастиках срібла проти кількох клінічно важливих патогенів, включаючи *Pseudomonas aeruginosa* [85]. Значне зменшення кількості колонієутворюючих одиниць спостерігалось при концентрації наносрібла 100 мг/мл і турбулентному

режимі культивування, а ріст бактерій і плівкоутворення матриць екзополісахаридів у мікроорганізмів, що колонізують біоплівки, на полікарбонатних поверхнях були пригнічені. Це дослідження з'ясує корисність наночастинок срібла як антимікробних засобів для запобігання інфекціям, опосередкованим біоплівкою.

Іншим методом отримання наночастинок срібла є електронно-променева технологія та осадження в неорганічні (наприклад, кристали NaCl) та органічні (наприклад, PVP) матриці [86]. Таким чином можна отримати велику кількість порошкоподібного конденсату наносрібла, що робить вищезазначені методи в поєднанні з відповідними стандартизованими методами виробництва наночастинок перспективними для промислового використання. Після сольобілізації та стабілізації ці наночастинок також виявляли значну антибактеріальну активність проти еталонного штаму мікроорганізмів [87].

Останнім часом набувають поширення екологічні методи синтезу наночастинок срібла з використанням мікроорганізмів та (або) екстрактів з біологічної сировини (green synthesis) [88]. Зокрема, описаний спосіб одержання наночастинок срібла за допомогою екстракту *Chrysanthemum indicum* зі значною протимікробною активністю щодо *K. pneumoniae*, *E. coli* та *P. aeruginosa* [89]. НЧ, одержані з нітрату срібла за допомогою водного екстракту з лишайника *Parmotrema praesorediosum* і досліджені проти 8 видів мікроорганізмів за допомогою дискдифузійного методу, також виявляли переважну активність проти грамнегативних бактерій. Використання в «зеленому синтезі» екстракту гриба «чага» (*Inonotus obliquus*) дало можливість одержати наночастки срібла (14-35 нм), які не тільки були активні проти грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, а й мали антиоксидантні властивості та антипроліферативну дію стосовно клітин раку. Шляхом біосинтезу також були одержані наночастки срібла, покриті поліфенолами (конденсованими танінами) з плодів *Piper longum*, які за протимікробною дією перевершували вихідний рослинний екстракт і додатково мали антиоксидантні властивості [90]. Наведені дані свідчать, що покриття срібних наночастинок природними агентами не тільки зберігає їхній

протимікробний потенціал, а й надає їм додаткові ефекти, які можуть стати в нагоді для подолання токсичності наносрібла, яка лімітує його клінічне застосування.

Пригнічення розвитку мікроорганізмів за допомогою наночасток срібла супроводжується ефектом післядії. Існує ґрунтовна робота з розробки рецептури антимікробного гелю, який містить наночастки срібла (7-20 нм), синтезовані з використанням біостабілізації [91]. У цьому дослідженні повідомляється, що МК і мінімальна бактерицидна концентрація (МБК) таких наночасток проти стандартних еталонних культур, а також проти мікроорганізмів з множинною резистентністю становили 0,78-6,25 мкг/мл і 12,5 мкг/мл відповідно, а грамнегативні бактерії ушкоджувалися сильніше, ніж грампозитивні. Ефект післядії, тобто час, протягом якого зростання бактерій залишається пригніченим після короткого впливу протимікробного агента, варіював залежно від типу мікроорганізму і становив від 10,5 год для *P. aeruginosa* до 1,3–1,6 год для *Staphylococcus sp.* та *C. albicans*.

Наночастки срібла виявились активними не тільки проти еталонних штамів мікроорганізмів, а й проти бактерій ротової порожнини [92]. Описано, що композитні наночастки на основі лактози, хітозану і наносрібла мали антибактеріальну активність у серійних розведеннях культур *S. mitis*, *S. mutans* та *S. oralis*, одержаних на різних фазах формування біоплівки та зі зразків слини. Стосовно вільно розташованих бактерій композитні наночастки срібла показали бактерицидний ефект для всіх штамів при 0,1 %, крім *S. mitis ATCC 6249*, який інгібувався на один ступінь менше. При сформованій біоплівці наночастки при значенні 0,2 % були здатні інгібувати ріст бактерій як у фазі супернатанта, так і зрілої біоплівки. Для *S. mitis ATCC 6249* концентрація інгібування біоплівки становила 0,1 %. У субінгібуючих концентраціях наночастки залежно до концентрації зменшували адгезію стрептококів на поверхні полістиролу, що вказує на перспективність наночасток срібла з певним покриттям для запобігання утворення бляшок на поверхні емалі зубів. Нині, коли третина населення світу інфікована туберкульозом, а множинно резистентні форми цього захворювання

дають високу летальність, наночастки срібла досліджуються як альтернатива існуючим засобам для лікування цієї інфекції. На клінічних ізолятах показано, що наночастки срібла, покриті бичачим сироватковим альбуміном, діють як потужний протитуберкульозний засіб [93]. Біогенні наночастки срібла впливали на внутрішньоклітинно розташовані мікобактерії, причому *M. smegmatis* були більш сприйнятливі до наносрібла порівняно з *M. marinum*, а ефект проти *M. smegmatis* підсилювався в поєднанні з відомим туберкулостатиком рифампіцином [94].

Як бачимо, незалежно від способу одержання, наночастки срібла мають високу батерицидну активність, хоча більшість дослідників єдині в тому, що чутливість грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів до наносрібла неоднакова і виразніша в представників грамнегативних видів.

Відома виключно висока активність срібла, особливо в нанокристалічній формі, щодо різноманітних патогенних та умовно патогенних грибів [95]. Наночастки срібла показали високу протигрибкову активність (50 % інгібування при 75 мкг/мл з протигрибковим індексом 55,5 % проти *Aspergillus niger* і МІК 25 мкг/мл проти *C. albicans*) [96]. Описано, що існує залежність чутливості дріжджоподібних грибків до наносрібла від фази зростання [97]. Зокрема, розвиток дріжджових клітин пригнічувався дією іонів срібла і наносріблом у фазі лінійного росту. Однак при збільшенні чисельності клітин на стадії логарифмічного зростання протигрибковий ефект іонів срібла був значно слабше і носив фунгістатичний характер, тоді як у присутності кластерів срібла – фунгіцидний. Уважають, що механізм фунгіцидної дії наночасток срібла подібний до взаємодії іонного срібла з клітинною стінкою грибів, зокрема *C. albicans*, та полягає в необоротному зв'язуванні з цистеїновим залишком, який містить тіолову групу в ізомеразі фосфоманози, перериває синтез стінок клітини і, у свою чергу, веде до втрати незамінних поживних речовин і загибелі.

Наносрібло не тільки справляє протимікробний ефект, а й виявляє синергізм з іншими антибіотиками та антисептиками. Описано, що активність наночасток срібла значно зростала в присутності коричневого альдегіду – рослинної речовини з

антисептичними властивостями [98]. При цьому спостерігали аддикцію проти всіх бактеріальних штамів, у тому числі проти спороутворюючих *B. cereus* та *S. perfringens*, відомих своєю стійкістю, бактерицидна дія була дуже швидкою.

Кон'югація наночастинок срібла з бацитрацином А та поліміксином Е створювала додаткові антибактеріальні можливості проти грампозитивних і грамнегативних мікрорганізмів: відбувалося 10-разове збільшення бактерицидної активності без виникнення резистентності бактерій [99]. Функціоналізовані мембранотропними антибіотиками наночастки викликали дезорганізацію бактеріальної мембрани та виток цитоплазматичного вмісту.

Синергетичний потенціал наночастинок срібла (8-12 нм), синтезованих за участю *Acinetobacter*, щодо 14 антибіотиків проти 7 патогенів визначали методами дискдифузії, мікророзведень і МБК [38]. Найвищий синергізм відмічався з ванкоміцином для *E. aerogenes*, коли спостерігалось збільшення зони інгібування в 3,8 разу після додавання наночастинок разом з цим препаратом. При експозиції наночастинок срібла з антибіотиками знижувалася МІК. Цікаво, що *A. baumannii* з множинною лікарською стійкістю під впливом наносрібла набувала чутливості до антибіотиків, крім цефалоспоринів. Аналогічним чином поведився й стійкий до ванкоміцину штам *S. mutans*, що свідчить про те, що біогенні наночастки срібла діють синергічно з β -лактамними антибіотиками.

Синергічність дії наносрібла з антибіотиками, особливо з інгібіторами синтезу клітинної стінки, підтверджено й в іншому дослідженні, де показано, що наночастки срібла, синтезовані з використанням екстракту *Trichoderma viride* (5-40 нм), не тільки активні проти грампозитивних та грамнегативних бактерій, а й підсилюють ефект ампіциліну, канаміцину, еритроміцину та хлорамфеніколу з максимальним підвищенням активності ампіциліну [100]. Водночас існують й протилежні факти: при комбінуванні біологічно стабілізованих наночастинок срібла з антибіотиками спостерігали не тільки синергічні (цефтазидим) та аддитивні ефекти (стрептоміцин, канаміцин, поліміксин), а й антагоністичні (хлор-амфенікол).

Виходячи із структури наночастинок срібла, виникає питання, що саме діє на

бактерії та гриби при їхній експозиції з дисперсіями наносрібла – іони цього металу, кластери атомів срібла чи системи срібло-кисень. Більшість авторів вважають, що відбувається вивільнення іонів срібла з наночастками, які й справляють протимікробну дію [101]. Разом з цим припускають, що системи срібло-кисень-вода можуть відігравати велику роль у реалізації бактерицидних властивостей розбавлених колоїдних розчинів та нанорідин срібла, оскільки в біологічно активних аквазолях срібла, де виявляються частинки розміром 20–30 нм та субструктурою з атомних кластерів (5-7 нм), присутні оксиди та (або) гідроксиди срібла [102].

Ці висновки узгоджуються з результатами аналізу наночасток срібла, осаджених у кристали натрію хлориду електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі [103]. Хоча в даному випадку наночастки срібла знаходяться не в колоїдному розчині, а являють собою конденсат. Вони містять поряд із сріблом системи срібло-кисень, можливо у вигляді плівки на поверхні кластерів zeroвалентного срібла. Однак, як і в попередньому випадку, рідкі дисперсні системи на основі зазначених наночасток є активними протимікробними агентами.

Відаючи належне ролі іонів срібла, вивільнених з наночастками, зазначають, що дія наносрібла не тотожна дії іонів з солі срібла, можливо за існуючої різниці їхньої доставки в клітини мішені. Зокрема, вплив іонів срібла на кишкову паличку характеризувався зміною експресії 188 генів (відповідальних за білки теплового шоку, які пов'язані з гомеостазом міді, заліза і сульфату та інших). Крім того, іони срібла індукували окисно-відновний стрес, пов'язаний з багаторазовим підвищенням активності гена-регулятора транскрипції *soxS*.

Тим часом срібло (або його іони), що вивільняється з наночастками, викликало зміни в регуляції 379 генів, а 309 генів однозначно регулювалися лише наночастками срібла. При вивченні шляху відповіді геному *E. coli* на різні наночастки срібла порівняно з нітратом срібла лише в одному випадку (для частинок розміром 10 нм, покритих цитратом натрію) було виявлено, що цей шлях був статистично подібним до отриманого з нього іони срібла виділяються із

солі.

Антибактеріальна дія наночасток срібла значною мірою залежить від їхнього розміру та поверхневих характеристик [104]. При застосуванні наночасток з однаковим цитратним покриттям менший розмір частинок асоціювався з більшою розчинністю іонів срібла та його токсичністю для *E. coli*. Водночас відгук мікроорганізму на наночастки срібла, що вкриті поліетиленіміном, більше нагадував такий при застосуванні інших катіонних наночасток, які не містять срібла. Висновок щодо важливості стану поверхні наночасток срібла для їхньої протимікробної дії підкріплюється дослідженням синергічного бактерицидного ефекту наносрібла та ультрафіолетового випромінення [105]. Цей ефект був подібний до результату обробки наночасток пероксидом водню і пов'язаний з тим, що наночастки з окисненою поверхнею вивільняють більше іонів срібла, які взаємодіють із сульфгідрильними групами молекул у клітинах бактерій.

Провідна роль поверхневих контактів у реалізації антибактеріальної активності наночасток срібла підтверджується й тим, що відокремлення бактеріальних клітин мембраною, непроникною для таких частинок, суттєво редукувало зазначену дію.

Антибактеріальна дія наносрібла є не тільки розмір-залежною, а й залежною від виду досліджуваного мікроорганізму. Це видно з наведених вище робіт [88-90], а також із дослідження, у якому наночастки срібла розміром 5, 15 та 55 нм піддавали бактеріологічному аналізу із визначенням зон та кривих інгібування росту, а також кількості колоній для *E. coli*, *S. aureus* та *B. subtilis* [106]. На відміну від більшості робіт у цьому дослідженні грампозитивні бактерії були більш чутливі до наносрібла, причому серед них *B. subtilis* виявила найвищу чутливість як в окремій, так і в змішаній культурі. Це корелювало з тим, що втрата цукрів через ушкоджену мембрану була найбільшою в *B. subtilis* поміж трьох досліджених видів мікроорганізмів. Зазначають також, що *P. Aeruginosa* має високу чутливість до наносрібла завдяки притаманній їй тенденції до посиленого контакту з наночастками срібла [107].

Розходження в ступені чутливості до наносрібла грамнегативної та

грампозитивної мікрофлори автори пояснюють особливостями будови клітинної оболонки. Грамнегативні бактерії мають більш тонку клітинну стінку, що включає бімолекулярний шар пептидоглікану і не містить тейхоївої кислоти. Наявність у зовнішній мембрані фосфоліпідного бішару, полісахаридів і ліпополісахариднопротеїнового комплексу, а в периплазмі – ферментів (рибонуклеази, фосфатази, пеніцилінази та інших) робить грамнегативні бактерії уразливими мішенями для срібла. Водночас грампозитивні бактерії, зокрема *S. aureus*, мають простіше організовану, але потужнішу клітинну стінку, що складається з множинних шарів пептидоглікану, які включають унікальні полімери тейхоївих кислот і слугують основним каркасом мікробної клітини. Ферменти, які містять тіолові групи, розташовані в цитоплазматичній мембрані, що знаходиться під потужним шаром пептидоглікану (муреїну). Тому інактивація сульфгідрильних груп іонами або кластерами срібла слабша та «розтягнута» у часі порівняно з їхньою дією на грамнегативні бактерії [108].

При аналізі антибактеріальної та протигрибкової активності наночастинок срібла не можна ігнорувати їх основні фармакологічні ефекти в мікробних клітинах. Оскільки це спричинено принаймні частково утворенням іонів срібла, очевидно, існують процеси, властиві іншим препаратам срібла, такі як взаємодія з тіоловими групами пептидоглікану стінок бактеріальних клітин і мембранних білків, які визначають мікробні клітини. Іони срібла також можуть взаємодіяти з бактеріальною ДНК і порушувати її реплікацію та синтез білка.

Крім відомих аспектів механізмів протимікробної дії наночасток срібла, зумовлених вивільненими іонами срібла, описано й нові механізми. Зокрема, це стосується протигрибкової дії. Вважають, що вона пов'язана не тільки з порушеннями проникності клітинної стінки внаслідок взаємодії наносрібла з тіоловими групами ферментів, а й виникає за рахунок індукції апоптозу підвищеною кількістю гідроксильних радикалів, продукція яких посилюється при обробці грибів (*C. albicans*) наночастками срібла [109].

Описуючи протимікробні ефекти наночасток срібла, зазвичай акцентують увагу на можливості їхнього застосування у випадках антибіотико-резистентної

інфекції [110], однак існують і механізми бактеріальної адаптації та захисту мікробів від дії самого наносрібла [111]. Продемонстровано, що позаклітинні полімерні речовини, які продукуються бактеріями, утворюють бар'єр, який запобігає проникненню іонів срібла всередину клітини й зменшує його ефект. Іони срібла знову відновлюються до наночасток, які іммобілізуються полімерним позаклітинним матриксом, що здійснюється за участю геміацетильних груп цукрів.

Таким чином, незалежно від методу отримання наночастинок срібла, вони мають протимікробну дію, головним чином антибактеріальну та протигрибкову, а їх вираженість залежить від розміру, властивостей покриття та стану поверхні. Цей ефект викликаний вивільненням іонів срібла, але з певною специфікою, яка визначається формуванням поверхні розділу наночастинок-клітина. Літературні дані переконливо свідчать, що наносрібло має більш виражену антибактеріальну дію на грамнегативну флору, поширюючись на біоплівкові та спороутворюючі штами, а також мікроорганізми, мультирезистентні до антибіотиків. Характерна синергія з антибіотиками, особливо інгібіторами синтезу клітинної стінки та препаратами, що порушують структуру клітинної мембрани, очевидно, зумовлена впливом наночастинок срібла на морфофункціональне формування бактерій в одному напрямку, але в різних точках дії.

Як бачимо, навіть короткий аналіз літературних джерел показує, що існує широка експериментальна база для створення нових протимікробних засобів на основі наночастинок срібла. Стандартизація методів дослідження з метою порівняння результатів і виділення лідерних наноконструкцій на основі срібла, а також подальше вивчення співвідношення користь/ризик таких наночастинок для макроорганізму може стимулювати прогрес у даній сфері.

1.2.2 Антивірусна, антибактеріальна, антиоксидантна та протипухлинна дія наночастинок церію

Наночастинок діоксиду церію є перспективним об'єктом для різних біомедичних додатків.

Численні дослідження показують, що ця сполука виявляє антиоксидантні, протипухлинні, антибактеріальні та противірусні властивості, що свідчить про перспективи її використання у фармацевтиці [112-113].

Значний інтерес до вивчення даного об'єкта обумовлений тим, що при переході в нанорозмірний стан виникає киснева нестехіометрія і на поверхні наночастки іони Ce^{4+} відновлюються до стану Ce^{3+} . Подібна киснева нестехіометрія корелює з каталітичною активністю наночастинки діоксиду церію і, як передбачається, відповідає за їхню унікальну біологічну активність [114].

Сучасні численні методики їх хімічного синтезу із розчинів передбачають визначений час інкубації, специфічні вимоги до температури, тиску та ін. Однак важливим є питання, чи не відбуваються в біологічних розчинах - за умови попадання до них іонів церію - процеси утворення частинок/агломератів, які і можуть «на місці» реалізовувати специфічні антивірусні властивості, показані для наночасток. Для цього, в проблемній лабораторії НУХТ (зав., к.т.н. А. І. Маринін) використовуючи аналізатор часток Malvern Zetasizer (Malvern Panalytical Ltd, Великобританія), на прикладі розчину Хенкса було перевірено, як взаємодіють іони церію в біологічно сумісних середовищах. При додаванні до розчину Хенкса різних концентрацій солі CeCl_3 прилад фіксував формування часток різного розміру. Так, у мінімальній дослідженій концентрації солі (1 мМ) виявлено формування часток розміром $\sim 6-7$ нм. Збільшення концентрації CeCl_3 у розчині Хенкса супроводжувалось збільшенням розміру часток: за концентрації 100 мМ виявлено частки розміром $\sim 7-12$ нм, тоді як за концентрації 10 М – ≥ 1 мкм.

Варто зазначити, що внесення солі CeCl_3 до розчину Хенкса супроводжувалось появою опалесценції, що є свідченням формування у розчині часток. У зв'язку з отриманими результатами, що свідчили про фізико-хімічні зміни в біологічно сумісних розчинах за умови внесення до них солі CeCl_3 , проведено вивчення її впливу на активність рекомбінантного інтерферону- $\alpha 2\beta$ (препарат «Назоферон», ПАТ «Фармак», Україна). В модельній системі *in vitro* вірус везикулярного стоматиту - клітини перещеплюваних тестикул поросят спільне застосування ІФН та солі CeCl_3 забезпечувало формування стану

антивірусної резистентності. Показано, що для підвищення ефективності антивірусного захисту ІФН доцільним є застосування солі церію, ефективна концентрація якої складає 10 мМ. Слід зазначити, що вплив солі церію на зростання ефективності антивірусного захисту ІФН є найбільш показовим за умови використання мінімальних (0,1 МО/мл) концентрацій ІФН. Це можна пояснити тим, що сіль церію (10 мМ) у досліджуваній системі щоразу формує однакову кількість наночасток, і за високих концентрацій ІФН їх дія замаскована, тоді як при зменшенні кількості ІФН стимулюючий вплив утворених в середовищі наночасток на реалізацію антивірусної активності ІФН відслідковується чітко.

1.3 Методи синтезу наночасток срібла та церію із використанням дріжджового екстракту та супернатанту дріжджів роду *Saccharomyces*

Найбільш привабливим джерелом для біогенного синтезу є мікроорганізми, які здатні продукувати наночастки як позаклітинно, так і внутрішньоклітинно. Однак, позаклітинний синтез більш простий і не потребує додаткової стадії очищення отриманих сполук.

В даний час існує проблема нестачі ефективних протимікробних засобів, оскільки патогени швидко адаптуються до дії антибіотиків. Так, були створені протимікробні засоби на основі наночастинок срібла (Ag), які є перспективними для профілактики та лікування бактеріальних та грибкових інфекцій. Наночастки негативно впливають на мікроорганізми шляхом руйнування клітинної мембрани, інактивації ферментів, втручанням у систему транспорту електронів тощо. Тому, токсична дія наночастинок Ag (10 і 80 нм), покритих цитратом для негативного поверхневого заряду або поліетиленіміну для позитивного поверхневого заряду було досліджено на *Saccharomyces cerevisiae* BY4741. Оцінка токсичності виявила, що дія наночастинок Ag залежить від розміру та поверхневого заряду. Наночастки розміром 10 нм більш сильнодіючі, ніж ті, що мають розмір 80 нм і в тій же категорії розмірів позитивно заряджені частинки мали більшу інгібуючу дію, ніж негативно заряджені [115].

Для мікробного синтезу наночастинок перспективним є використання дріжджів роду *Saccharomyces*, які менш чутливі до дії токсичних наночастинок та здатні до відновлення іонів срібла та стабілізації колоїдних частинок у середовище. Так, біосинтез наночастинок срібла (AgNP) здійснювали з допомогою безклітинного супернатанту *S. boulardii* з додаванням AgNO_3 у концентрації 10 мМ. Отримані наночастки володіли здатністю пригнічувати грампозитивні та грамнегативні бактерії. Найбільші зони затримки зростання з концентрацією 150 мкг/мл біогенних AgNP спостерігалися у *Pseudomonas auroginosa* – 29 мм та *Staphylococcus pyogenes* - 29 мм у порівнянні з комерційними наночастинками тієї ж концентрації (*P. Auroginosa* – 15 мм, *S. Aureus* – 16 мм) [116]. Також було досліджено антимикробну дію наночасток срібла, отриманих за допомогою *S. cerevisiae* PTCC 5052, на чутливі та резистентні до флуконазолу штами *Candida albicans*. Встановлено, що мінімальна інгібуюча концентрація AgNP проти чутливих до флуконазолу та стійких штамів *C. Albicans* лежить у діапазоні значень 2-4 мкг/мл [117].

Мікробний синтез наночастинок є перспективним по порівняно із традиційними методами. Однак, наночастинки можуть негативно впливати на біопроект, оскільки є полідисперсними та володіють різними поверхневими зарядами.

1.4 Механізм формування наночасток срібла та церію та основні речовини, що приймають в цьому участь на основі дріжджів роду *Saccharomyces*

Впровадження концепції зеленої хімії та нанотехнологій стало революційною подією в науковому середовищі, яка вплинула на розвиток досліджень екологічної безпеки та зменшення розмірів об'єктів. Злиття цих двох областей проклало шлях до нової екологічної та нанорозмірної науки, відомої як «зелені нанотехнології» або біонанотехнології. Дванадцять «Принципів зеленої хімії» активно пропонують пошук зелених варіантів отримання нанопродуктів [118]. Принципи екологічної хімії – це філософія, яка стосується всіх галузей

хімії, а не лише хімічної дисципліни, і спрямована на запобігання забрудненню на молекулярному рівні. Ці принципи передбачають застосування інноваційних наукових рішень, які допомагають зменшити утворення небезпечних речовин, оскільки запобігають утворенню забруднень, зменшують негативний вплив хімічних продуктів і процесів на здоров'я людини та навколишнє середовище, а також зменшують або усувають небезпечні існуючі продукти та ремесло [120].

Срібло та церій в іонній формі і у вигляді наночастинок має широкий спектр протимікробної дії. Підвищений інтерес до використання срібла та церію обумовлений їх високою токсичністю по відношенню до багатьох мікроорганізмів і відсутністю більшості мікроорганізмів стійкості до цього елемента.

Мікосинтез наночасток вважається більш простим і легким для стабільного виробництва наночасток порівняно з бактеріями. Гриби мають кілька переваг перед бактеріями, демонструючи вищу біомасу та простий спосіб культивування, вищу біоаккумуляцію метаболітів, вищу толерантність до металів і здатність поглинати їх, і високу здатність зв'язувати метали зі стінкою. Було виявлено, що деякі з ферментів відіграють значну роль у синтезі наночастинок, наприклад, редуктази *Penicillin sp.*, нітратредуктази і НАДФН-редуктази з *Fusarium oxysporum* поряд з електронно-човниковими хінонами.

Дріжджі відповідно до винаходу класифікуються в царстві Гриби, тип *Ascomycota*, у підтипі *Saccharomycotina*, у класі Сахароміцети, в порядку *Saccharomycetales*, в сім'ї Сахароміцетові, а в родсахароміцети, в даний час описано близько 1500 видів. *Saccharomyces cerevisiae*, відомі як «пекарські дріжджі», можуть перебувати в різноманітних екологічних нішах. *S. cerevisiae*, ймовірно, найкраще вивченим з усіх видів дріжджів з точки зору фізіології та генетики, і, безперечно, має величезне промислове значення.

Виробництво дріжджів легко контролювати в лабораторних умовах, швидкий ріст штамів дріжджів і використання простих поживних речовин мають ряд переваг у масовому виробництві металевих наночастинок. Швидкий ріст і легкий контроль масового виробництва дріжджів за допомогою простого поживного культурального середовища роблять дріжджі кращими

мікроорганізмами для синтезу наночасток порівняно з іншими мікробами. Дріжджові клітини можуть діють як матриця, яка індукує біомінералізацію, яка є основним механізмом утворення наночасток.

Одна з переваг використання дріжджових клітин як носіїв наночасток срібла та церію полягає в тому, що можливий простий механізм інкапсуляції з використанням лише дріжджових клітин, води та реагентів без потреби у стабілізаторах. Дріжджові клітини, з одного боку, є біомакромолекулярними мікрочастинками, що мають оболонку, що складається з хітину, глікопротеїнів і β -глюканів, а з іншого боку, вони є мікрокапсулами з плазматичною мембраною, яка допомагає в інкапсуляції, щоб клітини дріжджів могли інкапсулювати полімерні наночастки. Внутрішньоклітинне утворення наночасток срібла та церію відбувається шляхом відновлення солей металів, яке може відбуватися в три етапи, тобто пасивна дифузія солей металів, присутніх у водному розчині, в клітини, видалення позаклітинних солей з подальшим відновленням, опосередкованим транспортом відновлюючих реагентів у клітини.

Активація мембранозв'язаних оксидоредуктаз через підвищення рН внутрішньої клітини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* призводить до відновлення іонів металів, у результаті чого утворюються наночастки срібла та церію.

Через сильні нуклеофільні та окисно-відновні властивості хінони також можуть відновлювати іони металів, перетворюючи їх на наночастки. Основною метою біосинтезу наночасток є усунення токсичності наночасток за допомогою клітинних захисних механізмів за допомогою таких сполук, як фітохелатини (РС) і глутатіон, які можуть не тільки зв'язувати іони металів, але й проявляти унікальні окисно-відновні та нуклеофільні властивості, необхідні для біовідновлення іонів металів.

Синтез наночасток за допомогою дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* здійснюється або внутрішньоклітинно, або позаклітинно. Синтез може бути здійснений завдяки здатності дріжджів поглинати та накопичувати велику кількість токсичних металів з навколишнього середовища, а через процеси

детоксикації, біопреципітації, хелатування, позаклітинної секвестрації та біосорбції утворюються наночастки.

Незалежно від природи відновника, синтез MtNPs відбувається в послідовному ряді реакцій і взаємодій, в результаті чого встановлюється рівновага в полідисперсній системі. «Зелений» синтез MtNP в основному поділяється на наступні етапи: активація - відновлення іонів металу (Me^{n+}) і утворення атомів нульової валентності (Me^0); зародження нейтральних атомів срібла та церію з утворенням протонних наночастинок; більш дрібні частинки утворені поетапно збільшуються і об'єднуються в більші агломерати [119].

У позаклітинному процесі іони відновлюються за допомогою білків, ферментів і органічних молекул у середовищі або компонентами клітинної стінки. Багато організмів мають здатність використовувати механізми відновлення металів, які синхронно пов'язані з окисненням ферментів, насамперед редуктаз. Це призводить до отримання стабільних та інертних металевих наночастинок, які потім можна безпечно видалити із забрудненої проби. Позаклітинний синтез виявляється економічно доцільнішим, аніж внутрішньоклітинний, через його нижчу вартість, простішу технологію екстракції і вищу ефективність [120].

Наночастинки, отримані внутрішньоклітинно або позаклітинно, повинні бути очищені від штаму дріжджів. Позаклітинні наночастинки легко екстрагуються центрифугуванням або діалізом із середовища. Штами дріжджів, які виробляють наночастинки внутрішньоклітинно, повинні бути ретельно лізовані хімічно або фізично. Ризик деградації або агрегації наночастинок може виникнути в залежності від використовуваної техніки, і, нарешті, вихід наночастинок не є надто високим. Кілька авторів описали протоколи екстракції, які дозволяють отримувати чисті та високоефективні наночастинки щодо збереження властивостей наночастинок. Основною перевагою є наявність різних функціональних груп, кон'югованих з поверхнею біосинтезованих наночастинок, які відіграють важливу роль у різних застосуваннях.

Використання біосинтезованих наночастинок ґрунтується на їхніх властивостях, таких як антимікробна, противірусна та протипухлинна активність.

Механізм дії можна пояснити здатністю виробляти активні форми кисню, пошкоджувати клітинну стінку бактерій, блокувати метаболізм збудника, або вони здатні викликати запалення, або обидва. Таким чином, це менш токсичний варіант, який має порівнянний ефект з хімічно синтезованими наночастинками, можливості застосування якого добре узагальнено.

Схоже, що *S. boulardii* є одним із найкращих кандидатів для синтезу наночастинок, і цей екологічний підхід також може бути належним чином розширений для широкомасштабного синтезу наночастинок металів.

Висновки до розділу 1

Очевидно, що синтез металевих наночастинок в екстрактах рослин (рослинних біомасах), незважаючи на певні обмеження, має значний потенціал і ряд істотних переваг перед традиційними методами синтезу наночастинок. Однак, щоб економічно ефективно конкурувати з наночастинками, отриманими фізичними та хімічними методами, слід масштабувати методи виробництва наночастинок з використанням рослинного матеріалу та розробити схеми для зниження витрат під час їх синтезу. Безперервні методи синтезу наночастинок досі застосовувалися тільки при невеликих масштабах виробництва. При використанні хімічного синтезу собівартість наночастинок визначається в основному вартістю солей металів та відновників. У разі «зеленого» синтезу основні витрати будуть визначатися лише вартістю солей металів, оскільки відновниками можуть бути рослинні відходи харчової промисловості. Більше того, можна розраховувати, що компанії, зайняті у секторі промисловості та зацікавлені в утилізації відходів, можуть частково сплатити за виробництво наночастинок. Ця обставина додатково підкреслює екологічні переваги використання «зеленого» синтезу перед традиційними методами виробництва наночастинок.

Найбільший практичний інтерес для біосинтезу наночасток срібла та церію викликають дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* як один з найбільш досліджених і широко використовуваних у промисловості мікроорганізмів. Біотехнологічний синтез наночасток має великі перспективи до промислового впровадження, адже є економічною та екологічною альтернативою хімічним і фізичним підходам.

РОЗДІЛ 2

ОСОБЛИВОСТІ ПРОВЕДЕННЯ БІОСИНТЕЗУ

2.1 Характеристика цільового продукту

Стрімко зростаюче виробництво нанокосметики розширює можливості в області створення і розробки нових косметичних рецептур для професійної діяльності косметологів і ліній домашнього догляду. Нанотехнології використовуються в косметичній сфері для вирішення багатьох косметичних і дерматологічних проблем, включаючи лікування акне.

Розвиток біотехнологічного виробництва дозволив подрібнювати біологічно активні речовини в частинки розміром від 1 до 100 нанометрів. Таким чином, створена в лабораторних умовах косметика для обличчя, активними факторами якої є елементи в дуже малих масштабах, з високою ефективністю бере участь у клітинних процесах. Транспортна система такого крему у вигляді відкладень, «наповнених» молекулами біоактивних речовин, здатна проникати в глибокі шари епідермісу.

Нанотехнології дозволяють постачати епідерміс тими компонентами, які потрібні клітинам для підтримки рівня, необхідного для метаболічних процесів. Креми з наноконкомплексами включають високі дози активних речовин, які цілеспрямовано доставляються до певних шарів шкіри протягом бажаного періоду часу, залежно від типу та стану тканини. Однак такі вектори використовуються лише для перенесення молекул біологічно активних інгредієнтів з певними запрограмованими властивостями.

При взаємодії з клітинами подрібнений нанокосметичний активний інгредієнт розцінюється останніми як відповідний елемент. Завдяки цьому запускається природний процес регенерації в тканинах, відновлюється їх структура, покращується енергоємність і захисні властивості.

Наноструктурована косметика та засоби по догляду за шкірою набувають популярності в косметичній промисловості. Косметика з наноструктурованими

матеріалами, включаючи гелі, наночастинки твердих ліпідів, сонцезахисні нанопігменти та наноемульсії, комерціалізовані на світовому ринку [121].

Косметика, що містить наночастинки, забезпечує кінцевим споживачам світлорозсіювальний, тактильний і матовий ефект. Металеві наноматеріали використовуються для покращення властивостей різноманітних косметичних продуктів, у тому числі зволожувачів, антивікових кремів, гідрогелів, парфумерних основ тощо. Наноструктури оксиду цинку, діоксиду титану, діоксиду цирконію та оксиду церію широко використовуються в сонцезахисних кремах для захисту шкіри від УФ-випромінювання.

Наночастинки срібла та церію через свою бактерицидну дію мають потенціал для демонстрування покращеного антимікробного спектру проти різноманітних важливих для медицини патогенів, які викликають численні хвороби шкіри. Крім того, наночастинки срібла та церію ефективні як консерванти в косметиці та препаратах проти акне [121].

Проблеми з жирною шкірою та акне зараз дуже поширені у світі краси. Вони викликають багато побоювань щодо зовнішнього вигляду у людей різної статі та віку. Найкращою косметичною формою для жирної шкіри та вуграми, викликаними акне, є крем-гель, який забезпечує якісну очищувальну дію і нормалізує вироблення шкірного сала, не пересушуючи шкіру. Крем-гель не залишає жирного блиску і утворює на поверхні шкіри тонку захисну плівку, яка продовжує дію препарату. Крем-гелі є хорошими носіями різних біологічно активних речовин. Мають гарний естетичний вигляд, добре розподіляються і легко змиваються з шкіри. Через високу молекулярну масу гелеутворюючих речовин крем-гелі не можуть проникати в пори шкіри [122].

У літературі креми характеризуються як мазі (напівтверді препарати для місцевого застосування) зі зменшеною жирністю за рахунок додавання води до їх складу. В цей самий час вода дозволяє косметичному виробу діяти як емульсія. Виробництво кремів вимагає використання емульгаторів для диспергування водної фази в масляній і навпаки. Як було зазначено вище, креми в основному

розроблені для забезпечення захисної, пом'якшувальної дії або доставки лікуючих компонентів до поверхневих або внутрішніх шарів шкіри. [123]

Подібно до кремів, гелі також відносять до напівтвердих косметичних препаратів, які переважно являють собою двофазні системи з дрібними диспергованими неорганічними частинками у своєму складі або великими органічними молекулами. У якості дисперсійного середовища в гелях переважно виступає вода, іноді – гідроспиртові або олійні дисперсійні середовища. Гелі є дуже привабливими косметичними засобами для доставки активних компонентів, оскільки вони вирізняються досить легким процесом виготовлення та придатні для введення лікувальних складових через шкіру та безліч інших шляхів. Крем-гелі є збалансованим поєднанням характеристик обох описаних форм, що робить їх простими у виготовленні, пакуванні та використанні, не враховуючи їх ефективність при контакті зі шкірою.

Оскільки *P. acnes* і *Staphylococcus* відіграють особливу роль у розвитку акне, такі продукти повинні містити інгредієнти з антибактеріальними властивостями [124]. Масла, що містять ненасичені жирні кислоти, також добре працюють для жирної шкіри та шкіри, схильної до вугрів.

Для догляду за пошкодженою акне шкірою готується крем-гелевий склад. Як гелеутворювачі використовують природні та синтетичні гелеутворювачі, включаючи поллоксамери та гуарову камедь. Враховуючи антимікробну активність наночастинок срібла та церію, у складі гелю не використовувалися консерванти. Як діючу ревочину доречно використовувати араментову олію. Її важливість полягає в складі; арамантова олія містить лінолеву кислоту та сквален, що підвищують захисні властивості шкіри, а також мають протизапальні, регенеруючі та живильні властивості. Це робить арамантову олію чудовим додатковим компонентом, який підсилить ефект лікувальної дії крему [125]. Інгредієнти крем-гелю наведені в таблиці. 2.1.

Таблиця 2.1

Склади крем-гелів з наночастинками Ag та Се та олією амаранту

Компоненти гелю	Склад №1	Склад №2
Розчин наносрібла (C _{Ag} =0,2 мг/мл)	5 мл	5 мл
Розчин наноцерію (C _{Се} =0,32 мг/мл)	1 мл	1 мл
Олія амаранту	5,0	5,0
Полосамер	30,0	-
Камедь гуара	-	1,5
Полісорбат 20	0,1	0,1
Вода очищена	100,0	100,0

Використання біологічних об'єктів при синтезі наночастинок дозволяє збільшити розмір і біомасу одержуваних частинок. Великі перспективи для цього процесу відкриває участь *Saccharomyces cerevisiae*.

2.2 Характеристика біологічного агента (*Saccharomyces cerevisiae*)

Застосування дріжджів в косметичних цілях бере свій початок з глибокої давнини. Наші предки помітили, що пивні дріжджі здатні зменшувати роздратування від укусів комарів, зменшувати прищі, розгладжувати зморшки і звужувати пори.

Сьогодні дріжджі активно використовуються в красі у вигляді дріжджового екстракту або гідролізату. Вони є потужним джерелом енергії і забезпечують процес оновлення клітин шкіри, епідермісу. Дріжджі використовуються в косметиці у вигляді дріжджового екстракту і є потужним джерелом енергії, сприяючи оновленню клітин шкіри та покращуючи метаболізм дерми та епідермісу [126].

Деякі вчені вважають, що такі біоактивні добавки, як дріжджі, це пережиток минулого, а сьогодні це натуральний компонент, який допомагає впоратися з жирною шкірою і живить суху. Необхідно звернути увагу на основні дії дріжджів на шкіру, такі як:

- Антиоксидантний ефект.

- Активатор метаболічних процесів, що стимулює споживання кисню і синтез АТФ за рахунок активації мітохондрій в клітинах шкіри, тим самим активізуючи процеси оновлення і омолодження.

- Захищає шкіру від зовнішніх факторів (забруднення навколишнього середовища та зовнішніх вільних радикалів)

- Допомагає захистити шкіру від фотопшкоджень.

- Сприяє живленню і зволоженню шкіри, покращуючи її мікрорельєф.

Щоб посилити дію дріжджів, вони використовуються в поєднанні з УФ-фільтрами для створення рецептур сонцезахисних продуктів з додатковим ефектом проти старіння. Комбінуючи такі інгредієнти, як срібло та церій, косметологи підвищують захисні функції шкіри, зменшують почервоніння та запалення, прискорюють загоєння шкіри, борються із зайвим жиром і використовують його в комплексних процедурах лікування акне. Для більш драматичного ефекту омолодження використовують дрібні частинки дріжджових молекул – полісахариди, які допомагають збирати, утримувати та витягувати вологу з поверхні епідермісу. Результатом стає більш пружна шкіра, яка стає більш рівною та молодшою. Крім того, компонент дріжджового екстракту *Saccharomyces cerevisiae* здатний зменшити наявність темних кіл, покращуючи локальну мікроциркуляцію.

Saccharomyces cerevisiae – один з найвідоміших видів дріжджів. Клітини *Saccharomyces cerevisiae* розмножуються нестатевим і статевим шляхом шляхом мейозу диплоїдних ядер дріжджів.

При вегетативному розмноженні продукти спочатку з'являються на материнській клітині, потім відбувається мітоз ядра, утворення клітинної стінки і відділення клітин одна від одної. На материнській клітині залишається рубчик брунькування, що дозволяє визначити її вік. Як правило, материнські клітини можуть утворювати 20-30 бруньок [127].

При статевому розмноженні утворюються гаплоїдні спори - аскоспори (ендогенні) і споридії (екзогенні). Аскоспори утворюють дріжджі аскоміцети. У більшості випадків аск (сумка) містить від 1 до 4-8 спор.

Клітини *Saccharomyces cerevisiae* круглі, овальні або еліптичні, розміри варіюють в ширину від 2,5 до 10 мкм і в довжину від 4,5 до 21 мкм. Розмір і форма клітин одного штаму генетично детерміновані і можуть змінюватися в межах залежно від умов культивування та подальших маніпуляцій (ліофілізації) для отримання комерційних дріжджів [128].

Клітини складаються з мікроскопічних структур (видимих під звичайним мікроскопом при 600-900-кратному збільшенні) і субмікроскопічних структур, які видно лише в електронних мікроскопах (збільшення від 150 000 до 20 000 крат). Ці структури можна розділити на ті, що постійно присутні, і такі, що періодично виникають у клітині. До першої належать різноманітні органели – клітинні структури: ядро з ядерцем, мітохондрії, рибосоми, клітинна стінка, плазматична мембрана, ендоплазматичний ретикулум (ретикулум), апарат Гольджі, лізосоми, хітосоми, глікосоми та багато інших мембранних структур [129].

Усі органели оточені мембранами. До складу мембрани входить велика кількість фосфоліпідів, вміст яких кількісно і якісно визначається властивостями органели.

Мембрана органел має тришарову будову. Вони складаються з ліпідів, білків і невеликої кількості вуглеводів. Ліпіди в основному представлені моно-, ди- і тригліцеридами, гліцерофосфоліпіди і стеролами – ергостеролом і зімостеролом. Кожна молекула фосфоліпіду складається з гідрофобної та гідрофільної (водопоглинаючої) частин. Гідрофільна частина молекули знаходиться на зовнішній стороні мембрани, а гідрофобна – всередині. Молекули білка розміщені на поверхні мембрани або інфільтровані в неї. Непостійні структури – включення – на відміну від органел, то з'являються, то зникають протягом життя клітини. Як продукти клітинного метаболізму включення відображають різні сторони та етапи їх фізіологічної діяльності. Ці нестабільні структури є внутрішньоклітинними запасними сполуками: жирами, глікогеном і поліфосфатами. Описані включення мають форму частинок, кристалів або крапель. Їх можна досліджувати за допомогою світлового мікроскопа без попереднього контрастування з барвником, який також можна використовувати. Так, низькомолекулярні поліфосфати

присутні у вигляді гранул у вакуолях (волютин), жири присутні у вигляді крапель, а глікоген можна побачити при фарбуванні клітин розчином Люголя [129].

Клітинна мембрана відокремлює клітинні компоненти від зовнішнього середовища, тоді як ядерна мембрана захищає генетичний матеріал. Як і в інших еукаріотів, мітохондріальна мембрана бере участь у виробництві енергії, тоді як ендоплазматичний ретикулум (ЕР) і апарат Гольджі беруть участь у синтезі ліпідів і модифікації білка [129].

Вакуолі та пероксисоми містять ферменти та різні метаболіти, пов'язані з функціями травлення. Структура мікротрубочок виконує структурні функції клітини і забезпечує рух дріжджових клітин.

Життєвий цикл *Saccharomyces cerevisiae* подібний до циклу більшості соматичних клітин, вони можуть перебувати в одній з двох стадій – гаплоїдній (сфероїдна) або диплоїдній (еліпсоїдна), з яких переважає друга стадія. На кожній стадії хлібопекарські дріжджі розмножуються нестатевим шляхом брунькуванням. Вони містять хітин як частину клітинної стінки. Ця стінка запобігає осмотичному пошкодженню, оскільки забезпечує набухання – здатність клітини ставати пластичною та виживати в шкідливих умовах навколишнього середовища. Клітинна стінка і клітинна мембрана з'єднані периплазматичним простором [129].

Saccharomyces cerevisiae виробляє і накопичує етанол. Він токсичний для більшості видів мікробів, здатних конкурувати з дріжджами за цукрові сполуки, або має на них статичну дію. Тобто пригнічуючи життєдіяльність сусідніх мікроорганізмів, усуваючи тим самим конкуренцію. Після того, як територія була дезінфікована, тобто відмита етанолом від більшості своїх сусідніх конкурентів, *Saccharomyces cerevisiae* продовжує споживати вироблений спирт, тим самим сприяючи власному зростанню [130].

Дослідження показали антибактеріальні властивості дріжджів, що належать до видів *Saccharomyces cerevisiae*. Вони мають антагоністичну дію проти збудників захворювань людини, таких як, наприклад, *Escherichia coli* [131]. В основному антагоністична дія найефективніше проявляється у штаму

Saccharomyces cerevisiae var *bouladrii* в якості пробіотичного засобу по відношенню багатьох людських захворювань [132-133].

2.3 Обґрунтування способу проведення біосинтезу

Ферментація являє собою невід'ємну частину будь-якого технологічного процесу як в лабораторних, так і в промислових масштабах. Не залежності від типу, процеси ферментації використовують мікроорганізми для перетворення твердих або рідких субстратів у різні продукти. Залежно від схеми процесу розрізняють наступні процеси: аеробна й анаеробна; поверхнева та глибинна; періодична та безперервна ферментація.

Поверхнева ферментація на рідких субстратах проводиться в кюветах, заповнених культуральним середовищем, поміщених у вентилявану камеру. У той же час культивування мікроорганізмів утворює на поверхні рідкого середовища біомасу у вигляді тонкої плівки або суцільного шару. Кисень споживається безпосередньо з газової фази – повітря. Масообмін за таких умов малоінтенсивний. Навіть без змішування рідкі живильні середовища дозволяють уникнути недоліків, пов'язаних з домішками агару в промивних суспензіях, і підвищити вихід процесу за рахунок використання великих культуральних посудин (колб Ейлера, ферментерів). Використання рідких поживних середовищ для культивування клітин і примусове змішування культур для балансування умов росту в різних частинах робочого об'єму культурального посуду призводить до появи активної системи глибинної ферментації, що оснащується спеціальним обладнанням.

Глибинна ферментація відбувається у всьому об'ємі рідкого живильного середовища, що містить розчинені субстрати. Ферментер повинен забезпечувати ріст і розвиток мікробної популяції в об'ємі рідкої фази, забезпечувати мікробні клітини поживними речовинами, видаляти з мікробних клітин метаболіти, відводити тепло, що виділяється клітинами. Ріст мікробних культур залежить від температури, рН, окисно-відновного потенціалу тощо. Негативні фактори можуть

затримувати ріст і утворення цільових продуктів і навіть викликати загибель деяких клітин.

Як було згадано вище, промислова ферментація може проводитися в трьох різних режимах. Вони також відомі як періодична ферментація, ферментація з періодичним режимом та безперервна ферментація. Остання з них є найменш поширеною. Виходячи з назв, стає очевидно, що при періодичному культивуванні постачання поживного середовища та його засівання виконується партіями зі більш-менш встановленою періодичністю [134].

Промислове бродіння в основному циклічне, тобто ферментери у своїй більшості здійснюють біосинтез періодично. При періодичному біосинтезі порція поживного середовища ферментер засівається культурою мікроорганізмів, продукт збирається по закінченню часу ферментації. Чистий інокулят зберігається на стерильних чашках Петрі або у колбах Ейлера при строго контрольованих умовах, він застосовується для посіву рідких середовищ. Після достатнього росту культури мікроорганізмів ферментери інокують попередньою культурою. Для інокуляції часто використовують культури зі швидким експоненціальним ростом. Як правило, періодична ферментація займає приблизно 4-5 днів, проте загальна тривалість може варіювати в залежності від умов, висунутих для культивування того чи іншого продукту.

У випадку безперервної ферментації з підживленням до інокульованої ферментаційної партії періодично додають стерильне середовище. З кожним додаванням середовища об'єм ферментаційного бульйону збільшується, і кінцевий продукт збирають з ферментера в кінці часу біосинтезу для кожної партії.

Безперервна ферментація переважно починається як періодичне культивування, і лише після того, як популяція культури мікроорганізмів набуде необхідної концентрації – починається процес годування. Стерильне середовище додається до ферментера безперервно, об'єм бродіння при цьому залишається постійним, оскільки під час ферментації продукти бродіння виводяться з конструкції. Швидкість подачі середовища у добре перемішаному безперервному

ферментері має обиратися з урахуванням швидкості розведення, оскільки в при недотриманні співвідношення об'ємної швидкості подачі до постійного об'єму культури існує ризик вимивання культури клітин з біореактору. Іншим недоліком даного типу ферментації залишається високий ризик до контамінації культури та досить важких умов дл здійснення якісного моніторингу параметрів, необхідних для адекватного зростання мікробних клітин, тому безперервна ферментація не є широко використовуваною в індустріальному виробництві в наш час.

Проте, не зважаючи на вид ферментації, встановлений процес можна розділити на шість основних категорій, які враховуються при складанні технологічної схеми для кінцевого продукту [134-135]:

1. Вибір складу поживного середовища для культивування модельного мікроорганізму у вигляді інокуляту та у вигляді біомаси у виробничому ферментері.
2. Стерилізація компонентів ферментаційного процесу: ферментера, середовища, допоміжного обладнання.
3. Вирощування обраного для ферментації мікроорганізму в достатній кількості для введення до виробничої ємності в якості інокуляту.
4. Ріст мікроорганізму в виробничому ферментері за заданих оптимальних умов для біосинтезу кінцевого продукту.
5. Екстракція кінцевого продукту з подальшим очищенням.
6. Утилізація відходів та стічних вод, утворених під кінець ферментації.

Є дуже важливим відмітити, що на ферментацію впливають численні фактори, які включають в себе температуру, кислотність поживного середовища (рН), його природу та склад; кількість розчиненого кисню та розчиненого вуглекислого газу, тип технологічної схеми (переважно стосується вибору типу роботи біореактора, наприклад, періодичного, періодичного з підживленням або безперервного режиму), циклів подачі прекурсорів та змішування в ферментері. Варіації цих факторів можуть впливати на швидкість мікробного бродіння, що в свою чергу впливає на якість/ефективність та вихід кінцевого

продукту, а також його фізико-хімічні та органолептичні властивості, такі як зовнішній вигляд, смак, запах і текстура.

Основна функція ферментерів незалежно від їх типу полягає у створенні контрольованого поживного середовища для росту мікроорганізмів. Успішне проектування конструкції ферментера з нуля є результатом співпраці експертів з різних галузей, включаючи мікробіологів, біохіміків, хімічних та технічних інженерів, оскільки при підборі необхідних частин та параметрів необхідно керуватися безліччю критеріїв. Дані критерії та вимоги до ферментерів можуть бути ураховані і при просто виборі того чи іншого ферментера. Врахування цих моментів в тому чи іншому випадку повинні задовольняти первинну мету будь-якої ферментації – досягнення максимального виходу з біосинтезу [134-135].

Таким чином, ферментер, перш за все, повинен бути здатним безперервно працювати в асептичних умовах протягом декількох днів, відповідати усім вимогам герметизації, бути надійним в довгостроковій експлуатації та задовольняти метаболічні потреби культивованих мікроорганізмів за рахунок правильно підібраних та збалансованих режимів перемішування та аерації, якщо мікроорганізм аеробний. Проектування повинне враховувати й інші моменти, такі як зведення до мінімуму використання робочої сили під час власне експлуатації, очищення після кожного біосинтезу та планового обслуговування, що також впливає на зменшення загальних витрат на виробництво. Разом із цим, конструкція ферментера передбачати наявність систем контролю параметрів середовища всередині технологічної посудини, такі як температура, тиск та рН, а також забезпечувати можливість для легкого відбору проб. Для деяких виробництв, наприклад, з використанням культур клітин дріжджів, бажано конструювати ферментери аналогічної геометрії більшого та меншого розміру для комфортнішого масштабування виробництва та нарощування біомаси.

У професійній технологічній літературі описано безліч прикладів конструкцій ферментерів, така велика класифікація, очевидно, корелюється залежністю від виду ферментації – поверхневої або глибинної – та низкою додаткових параметрів, наприклад, необхідністю в забезпеченні культури клітин

аерацією [134-135]. Незалежно від конфігурації, промислові ферментери для роботи в асептичних умовах розроблені за подібним принципом: всі вони являють собою посудини з нержавіючої сталі, які при необхідності здатні витримувати повний вакуум та працювати від надлишковим тиском і температурою більше за 150 °С. Важливо, щоб було можливим очищувати та стерилізувати ферментер на місці з використанням насиченої пари при мінімальному надлишковому тиску.

Для класичного глибинного культивування ферментери в своїй переважній більшості засновані на вертикальній циліндричній геометрії, також відомі як «баштові» ферментери, з підключеною до них системою аерації, зазвичай барботерного типу. Даний тип ферментера також вважається чудовим вибором, якщо справа стосується культивування культури дріжджів. Головною рисою «баштового» ферментера є співвідношенням сторін та висоти до діаметру. Окрім цього, такий ферментер може експлуатуватися як безперервному, так і в періодичному режимах. Найтиповішими представниками «баштових» ферментерів є бульбашкова колона та ферментер із резервуаром для перемішування, наведені на рисунку 2.1.

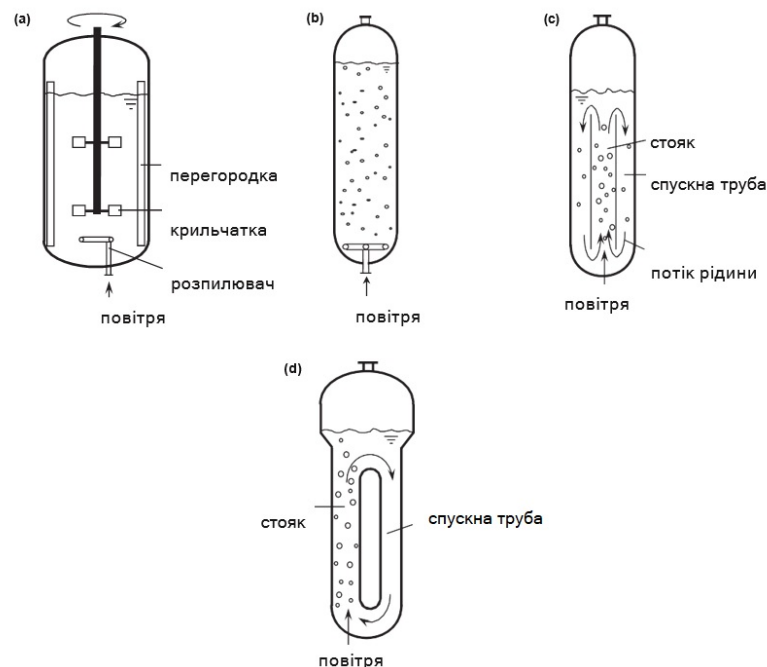


Рисунок 2.1 Типи заглиблених культуральних ферментерів. (а) Ферментер із мішалкою. (б) Бульбашкова колонка. (с) Ерліфтний ферментер з внутрішнім контуром. (д) Ерліфтний ферментер із зовнішнім контуром.

Бульбашкова колонка являє собою посудину циліндричної геометрії з робочим співвідношенням сторін, яке зазвичай складає 4:6. Колонка барботується знизу, в той час як стиснений газ забезпечує перемішування культуральної рідини, тим самим виконуючи дві різні та дуже важливі функції: аерацію та перемішування. Вона вважається найпростішим з «баштового» ферментера за своєю конструкцією, але не зважаючи на її простоту і легкість у використанні, головним недоліком залишається відносно низька продуктивність, через що бульбашкова колонка не набула досить великого поширення для використання в індустріальних масштабах. Окрім цього, застосування даного типу «баштового» ферментера не є доречним, якщо у ферментацію залучений дуже в'язке за консистенцією культуральне середовище або те, яке містить дуже велику кількість твердих, зважених частинок [136].

Ферментер із резервуаром для перемішування має подібну геометрію до ферментера вказаного вище, з робочим співвідношенням сторін зазвичай 3:4, але дане співвідношення може змінюватися відповідно до вимог конкретного виробництва. Вони є значно більшими за бульбашкові колонки та є більш популярним вибором для використання у масштабному виробництві. Для надійної підтримки рівномірного розподілу ферментаційного середовища конструкція ферментера зазвичай передбачає від трьох до чотирьох робочих мішалок, які розміщені на відстані приблизно одного діаметра однієї робочої мішалки. Робочі мішалки, окрім рівномірного розподілу, можуть виконувати й функцію спрямовування потоку за рахунок підбирання певного типу, який буде ідеально підходити для цього. Потік можливо спрямувати паралельно валу (аксіально) або назовні від валу (радіально) з використанням робочих мішалок відповідних типів.

Для глибинного культивування також використовуються ерліфтні ферментери. Найкраще їх можна описати як двоступеневі ферментери через поєднання у їх конструкції двох біореакторів, які забезпечують постійну циркуляцію культуральної рідини. Ерліфтні ферментери можуть бути виконані у різних конфігураціях залежно від потреб виробництва, проте принцип роботи більшості з них залишається тим самим: культуральна рідина циркулює

послідовно висхідним та низхідним потоками між біореакторами з аерацією та без неї відповідно. Перевагою таких ферментерів є те, що вони мають хорошу здатність суспендувати тверді частинки та переносити кисень з теплом, але вони не відходять для поживних середовищ з високою в'язкістю.

Тим не менш, конструкції більшості ферментерів не відрізняються суттєво через елементи, які наявні у кожному біореакторі. Типовий ферментер для зануреної культури має наступні характеристики [135-136].

Доступність огляду забезпечують бокові оглядові скельці та ті, що знаходяться у верхній частині контейнеру. Під час бродіння верхнє дзеркало можна очистити короткочасним бризком стерильної води від конденсованої пари. Зовнішнє освітлення для освітлення контейнерів забезпечується через оглядові скельця або окремі вікна. Контейнер має порти для датчиків рН, температури та розчиненого кисню. Для відбору проб розроблено клапан, котрий стерилізується парою.

Над рівнем рідини в контейнері біореактора містяться спеціальні отвори для введення піногасника, субстратів, інокуляторів, кислоти та лугу. У верхній частині контейнера розташовані допоміжні порти: датчики рівня тиску, електроди виявлення піни тощо. Відфільтрований стерилізаційний газ для аерації подається через занурювальний аератор. В деяких умовах до аераційного газу додається розчин аміаку або CO_2 .

У найнижчій точці даного ферментера розташований типовий клапан. Зверху або знизу ферментера входить механічна мішалка, вал якої здатний підтримувати декілька робочих коліс різної конструкції.

Як правило, у верхній частині контейнера встановлюється механічний піногасник, через який може виводитись вихлопний газ. Лінія відхідного газу має теплообмінник, що дає змогу конденсувати в газі воду та повертати її до ферментера. Верхня частина ферментера знімна або оснащена люком. Порт у цій частині ферментера підтримує розривний диск, який з'єднується зі зливом.

Розривний диск здатний захистити контейнер у випадку підвищення тиску. Ферментер має кожух для теплообміну, який може бути покритий ізоляцією зі

скловолокна та металевим захисним кожухом. Всередині посудини містяться додаткові поверхні для теплообміну.

Під час обрання того чи іншого ферментера важливо враховувати наявність системи для аерації культури, якщо вона є аеробною. Це пояснюється недостатньою розчинністю кисню в культуральній рідині, що в свою чергу призводить до швидкого виснаження запасів наявного кисню в середовищі при недостатній або відсутній аерації і, в результаті, незворотної шкоди використовуваним у біосинтезі клітинам мікроорганізмів та значного обмеження їх росту. Здатність ферментера щодо постачання киснем залежить від швидкості аерації, інтенсивності перемішування та властивостей культурального середовища, наприклад, особливо важким завданням є забезпечення у кисні культури клітин, які знаходяться у дуже в'язких ферментаційних бульйонах або бульйонах, що містять велику концентрацію тих самих клітин-споживачі розчиненого кисню.

Культури клітин при глибинному культивуванні зазвичай аерують барботуванням стерильного повітря через шар ферментаційної рідини. При цьому обов'язково враховується показник максимальної швидкості поверхневої аерації, яка виражається в об'ємній швидкості потоку повітря, поділеної на площу поперечного перерізу ферментера. В залежності від розміру самого ферментера, цей показник може відрізнятися, але переважно він не перевищує одного об'єму повітря на одиницю об'єму культурального бульйону. Як й усі дріжджі, *Saccharomyces cerevisiae* є факультативним анаеробом, тому необхідність у аерації поживного середовища відхиляється при проектуванні конструкції ферментера.

В масштабному виробництві однією з головних проблем, яка впливає на вихід кінцевого продукту, є неоднорідність культурального середовища. Даний вплив розповсюджується на призупинення зростання біомаси через нерівномірний розподіл компонентів та виникнення кисневого голодування. Окрім цього, погане перемішування впливає на температурний режим та рівень рН в ферментаційному бульйоні, тому забезпечення культуру клітин

перемішуванням для постійної гомогенізації середовища є вкрай важливим. Як вже було згадано, мішалки можуть спрямовувати потік рідини в ферментері аксіально (паралельно валу) або радіально (назовні від валу). Радіальні мішалки відрізняються високою потужністю, що в свою чергу сприяють якісному масообміну. Однак якісне та інтенсивне перемішування не здійснюється в напрямку зверху-вниз, тому для забезпечення великих ферментерів встановлюється комплекс з мішалок цього типу для збільшення масштабу змішування. Аксіальні мішалки, навпаки, не мають великої потужності, але в якості компенсації цього недоліку забезпечують якісному змішуванню зверху-вниз, що в свою чергу сприяє кращій гомогенізації культурального середовища. Досить широкий спектр мішалок може бути використаним для культивування *Saccharomyces cerevisiae*, проте встановлення 2-3 радіальних мішалок здається більш доречнішим. Таким чином, можна зупинитися на радіальній мішалці Раштона, вибір якої є задовільним для культивування більшості видів дріжджів та бактерій, а також деяких видів грибів [135, 137].

У випадку з культивуванням *Saccharomyces cerevisiae* є доречним становити датчики піни та власне піногасники з урахуванням того, що під час перемішування культуральної рідини у ферментері є висока вірогідність утворення піни. Виходячи з того, що у якості піногасників використовуються різноманітні піногасінні агенти, їх можна поділити на механічні та хімічні, які також ще можуть згадуватися у літературі як протипінні агенти. Серед широкого спектру піногасників, можливо, слід надати перевагу саме емульгованого типу, оскільки вони краще диспергуються, що робить їх більш ефективними у порівнянні з силікованим типом, який важче диспергувати без додавання диспергатора для покращення стабільності емульсії та ефективності піногасіння.

Процеси ферментації характеризуються виділенням великої кількості тепла через активну життєдіяльність культивованих мікроорганізмів та механічному перемішуванні поживного середовища, тому щоб запобігти шкоди культурі, контроль терморегуляції всередині ферментера є вкрай важливим. Крім того, вплив надмірних температур поширюється на поживне середовище: чим довше

воно залишається при високій температурі, тим більша термічна деградація або втрата поживних речовин у ньому, що також негативно впливає на характер росту мікробної маси. Терморегуляція досягається за рахунок датчиків тепла та систем охолодження самої конструкції ферментера, які в деякій літературі можуть зустрічатися під терміном «сорочка». Оптимальна температура для максимальної швидкості росту *Saccharomyces cerevisiae* переважно залежить від штаму, проте для більшості випадків, вона коливається в районі 25–35 °С. У той самий час, якщо розглядати за мету саме вихід клітин, а не швидкість їх росту, оптимальні температури можуть бути зниженими. Оскільки процес відведення тепла є комплексним процесом, при виборі оснащення для постійного охолодження є доречним враховувати геометрію ферментера, турбулентність рідин, що подаються через «сорочку», а також різницю температур між культуральним середовищем та охолоджувальною рідиною.

Біологічним агентом в даній роботі є дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, які є анаеробами по відношенню до кисню. Тому для культивування першого покоління в колбах необхідно створити анаеробні умови. Щоб здійснити основний процес біосинтезу *Saccharomyces cerevisiae*, необхідно вибрати біореактор, який зможе задовольнити всі потреби продуцента.

У даному дослідженні було запропоновано проводити біосинтез *Saccharomyces cerevisiae* в біореакторі з механічним перемішуванням. Оскільки дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є анаеробами, в обладнанні не потрібна система подачі повітря. Також спрощується система тепловідведення за рахунок меншої інтенсивності біохімічного процесу та зниження тепловиділення. Анаеробні біореактори мають вхідні отвори для посівного матеріалу, живильного середовища, пари, води, продуктів бродіння і вихідних газів.

Біореактор виготовлений з нержавіючої сталі та має спіральний нагрівальний елемент, призначений для ефективного та рівномірного нагріву. Співвідношення висоти та діаметра контейнера становить 3:1. Biostat D-DCU оснащений цифровою системою для вимірювання та контролю параметрів процесу,

датчиками температури, рН і чотирма вбудованими перистальтичними насосами [138].

BIOSTAT D-DCU (Німеччина) – це новітній біореактор, розроблений з урахуванням найсучасніших технологій і напрямків дизайну, призначений для використання в мікробних і клітинних культурах. Технічні характеристики цього ферментера:

- об'єм ферментера 200 л;
- робочий тиск в апараті 0,29 МПа;
- потужність двигуна до 6000 Вт;
- вбудований модуль газонаповнення;
- діапазон контролю температури становить -8°C , вище температури охолоджуючої води до 90°C ;
- температура стерилізації до 130°C ;
- кольоровий сенсорний дисплей;
- радіальна 6-ти лопатева мішалка.

Блок управління ферментаційною системою також виготовлений з нержавіючої сталі і містить усі необхідні компоненти: перетворювачі частоти, клапани та потужну цифрову систему вимірювання та контролю. Використання цієї системи дозволяє досягти більш високої надійності ферментера.



Рис. 2.2 Ферментер BIOSTAT D-DCU (Німеччина) для культивування дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* [138].

Функціональність програмного забезпечення ферментера дозволяє вимірювати параметри процесу, виконувати автоматичне калібрування та керувати замкнутими робочими циклами. Стандартне обладнання включає систему стерилізації реактора, яка включає вхідний і вихідний повітряні фільтри. Ергономічний інтерфейс у поєднанні з надійною функціонально-орієнтованою структурою меню гарантує мінімальне навчання та просту роботу.

Було визначено, що періодичне культивування *Saccharomyces cerevisiae* буде оптимальним у цьому типі ферментера, оскільки неможливо забезпечити суворі стерильні умови під час безперервного культивування, що складає потенціал для контамінації біомаси. При періодичному культивуванні відбувається безперервна зміна фізіологічного стану клітин внаслідок мінливих умов зовнішнього середовища.

Компоненти поживного середовища для ферментації впливають на вихід, швидкість та якість кінцевого продукту. Виходячи з цього, склад ферментаційного середовища повинен відповідати метаболічним вимогам мікроорганізмів, забезпечувати біодоступністю поживних речовин та бути вільним від будь-яких токсичних або інгібуючих компонентів. Для будь-якого типу ферментації поживне середовище повинно забезпечувати культуру клітин необхідною кількістю та запасами основних поживних речовин (вуглецю та азоту), водою, мінеральними елементами, іноді вітамінами, а також киснем, якщо мікроорганізми аеробні. Слід зауважити, що в залежності від мікроорганізму, який задіяний в процесі біосинтезу, співвідношення певних компонентів може варіювати для досягнення найкращого результату ферментації. Таким чином, для приготування поживного середовища можуть бути підібрані тільки певні типи джерел вуглецю та азоту з подальшим контролем їх співвідношення у суміші. Саме такі нюанси є одним із факторів, які вплинули на досить велику різноманітність поживних середовищ у наші дні [139].

Очевидно, що розуміння мікробіології та біохімії ферментації відіграє ключову роль для розробки або підбору поживного середовища з відповідним складом. Наприклад, навіть незначні коливання в сторону збільшення кількості

заліза, яке є важливим для зростання клітинних культур, можуть знизити кількість отриманої лимонної кислоти за рахунок під час біосинтезу *Aspergillus niger* [140]. Окрім цього, визначення кількості окремих поживних речовин у ферментаційному середовищі залежить від того, чи є бажаним продуктом клітинна біомаса чи первинні або вторинні метаболіти. Інші додаткові фактори, такі як вартість (сировина зазвичай становить значну частку загальних витрат на виробництво), доступність та мінливість виходу кінцевого продукту від партії до партії, також впливають на вибір того чи іншого поживного середовища.

У малому масштабі поживне середовище розробити відносно просто, оскільки воно може містити чисті сполуки вищезгаданих елементів, але отримане в лабораторних умовах середовище, хоча й підтримує задовільний ріст клітин, має тенденцію бути непридатним для використання у великомасштабному процесі. Тому, виходячи з перерахованих вище умов для успішної ферментації та особливостей технологічних ліній, можна скласти список критеріїв, за яким може бути обране або спроектовано те чи інше поживне середовище:

1. Тип культивування (поверхневе або глибинне).
2. Тип кінцевого продукту (біомаса або первинні метаболіти).
3. Тип поживного середовища (складне, з визначеним складом, напівсинтетичне, збалансоване, незбалансоване).
4. Склад інгредієнтів (співвідношення вуглецю до азоту, біодоступність факторів росту та іонів необхідних хімічних елементів, домішки).
5. Властивості поживного середовища (здатність до піноутворення, наявність термолабільних компонентів, колір, в'язкість, буферна ємність, наявність токсичних компонентів, мікробіологічна стабільність при зберіганні, вплив стерилізації на мінерали та осадження солей).
6. Вид стерилізації та необхідність у попередній обробці.
7. Вартість виробничого носія та витрати на витрати на обробку поживного середовища (контроль рН, антиспінувачі).

8. Витрати на відновлення продукту та очищення стоків від використаної води після ферментації.

Окрім цього, у будь-якому випадку для великомасштабного виробництва велику роль відіграє можливість отримання максимального виходу біомаси або кінцевого продукту на грам використаного субстрату та досягнення його максимальної концентрації.

У більшості випадків використовуються складні, недорогі та легкодоступні середовища сільськогосподарського виробництва, такі як очеретяна меляса, бурякова патока, зерна злаків, крохмаль, глюкоза, сахароза та лактоза в якості основних джерел вуглецю і, наприклад, сечовини та залишків бродіння в якості джерел азоту. Такі ферментаційні середовища переважно відповідають більшості умовам, які враховуються при проектуванні поживного складу, та є найдешевшими. Однак вони, як відомо, мають тенденцію відрізнятися від партії до партії з точки зору якості поживного вмісту, яка під дією різноманітних факторів (неправильне зберігання, транспорт) може знижуватись.

Flynn та ін. стверджують, що *Saccharomyces cerevisiae* можна вирощувати на поживних середовищах, в основі яких є патока. Патока виступає як основний компонент середовища і забезпечує культуру дріжджів достатньою кількістю вуглеводів у формі, яка легко засвоюється їх клітинами. Ці ж автори повідомляють, що використання крохмалистої сировини (солодове зерно, картопля) в якості основного джерела вуглеводів у ферментаційному середовищі також є цілком можливим, проте при обиранні такого виду сільськогосподарської сировини слід враховувати той факт, що на виробництво будуть задіяні додаткові витрати через необхідність у додатковій обробці крохмалю, який спочатку має бути розщеплений до стану ферментованого цукру [141].

Вода – основний компонент усіх поживних середовищ. Вона необхідна для здійснення багатьох допоміжних робіт у технологічній лінії, таких як нагрівання, охолодження, очищення та промивання ферментерів. Задля повного задоволення усіх потреб виробництва, вода повинна максимально чистою, мати постійний склад та постачатися у великих кількостях з надійних постійних джерел. Вплив

активності води на ріст та виживання культури дріжджів є відомим [142]. Так при зниженні значення активності води у водному середовищі *Saccharomyces cerevisiae* можуть активно синтезувати гліцерин, що призводить до зниження різниці осмотичного тиску у клітинах та гіршої адаптації до стресу.

Під час підготовки води оцінюють її придатність до власне ферментації. Для цього враховують рН, концентрацію розчинених солей (мінеральний вміст) та забрудненість. *Saccharomyces cerevisiae*, як і всі дріжджі, в більшості випадків віддають перевагу слабосилому середовищу з оптимальним рН між 4,5 та 6,5. На сьогоднішній день задля обробки води для ферментаційних та інших потреб, окрім стерилізації, переважно використовують методи деіонізації, додавання певних солей або регулювання рН.

Виробник LIOFILCHEM (Італія) пропонує готові середовища для виділення, культивування та підрахунку дріжджів, наведені в таблиці в додатку А [143].

Дріжджі не зброджують полісахариди (крохмаль, клітковина), тому для культури необхідно використовувати моносахариди або рослинну сировину, яку необхідно попередньо обробити амілолітичними ферментами та іншими ферментами для оцукрювання полісахаридів у середовищі до простих моносахаридів – глюкози. Середовища Сабуро та Чапека-Докса є найкращими середовищами для культивування дріжджів.

В роботі було використано напівсинтетичне поживне середовище Чапека-Докса, тому що воно більш просте в приготуванні для виділення дріжджів.

Косметичні технологічні лінії в своєму класичному варіанті включають такі послідовні стадії періодичного виробництва: попередня обробка, змішування компонентів, формування структури, гомогенізація, дообробка готового продукту та пакування. Усі стадії попередньої підготовки виконуються у спеціальних танкових резервуарах, які забезпечують перемішуванням, підтриманням температурного режиму та зберіганням компонентів.

Поєднання усіх водної та неводної основи майбутнього крем-гелю на стадії змішування та гомогенізації проводиться в стерильних реакторах-емульгаторах при високих температурах.

Для виробництва крем-гелю установка IKA ULTRA-TURRAX UTL 2000 (Німеччина), зображена на рис. 2.3, також є одним з чудових варіантів для здійснення процесів змішування та гомогенізації в асептичних умовах [145].

Технічні характеристики установки:

- об'єм установки – 200 л;
- пропускна здатність – 50-150 л/год;
- швидкість двигуна – 3000 об/хв;
- автоматизована насосна подача компонентів;
- тип змішування – аксіальний;
- підтримує системи самозливу та СІР-систему.

Основною перевагою даного змішувача-гомогенізатора – можливість забезпечити високоякісне змішування як в періодичних, так і безперервних режимах. Усі компоненти косметичного засобу подаються через окремі вхідні з'єднання, гомогенізуються, а після – подаються через вихідні з'єднання.



Рис. 2.3 Змішувач-гомогенізатор IKA ULTRA-TURRAX UTL 2000 (Німеччина) [145].

Дедалі широкого розповсюдження в косметичній промисловості набувають змішувачі-гомогенізатори, які працюють під високим тиском. Їх перевагами є здійснення якісної гомогенізації компонентів високої в'язкості, зменшення розміру часток, забезпечення рівномірного розподілу та можливості створення м'якіших структур, а також можливість контролювати стабільність косметичного продукту. Змішувач-гомогенізатор НОММАК F-НМ20 (*Турція*) забезпечує усіма перелікованими вище функціями, здійснюючи високоякісну гомогенізацію кремових, гелевих і багатьох інших тестур [146].

Після процесів змішування та гомогенізації косметична основа передається на спеціальні установки для дозування готового продукту. Технологічні лінії для дозування продукту в упаковки є різними в залежності від виду кінцевого продукту та показників продуктивності. Досить ефективною є установки серії Romaco Masofar LF 200 (*Німеччина*), яка використовується в індустріальних косметичних та фармацевтичних виробництвах. Усі моделі прості у використанні, вирізняються швидкісною роботою та високою продуктивністю – до 12000 одиниць продукції на годину [147].

2.4 Обґрунтування способу виділення та очищення

По закінченню процесу ферментації культуральне середовище містить у собі кінцевий продукт, інтактні мікроорганізми, розчинні та нерозчинні компоненти середовища, а також продукти метаболізму. Стадія вивільнення продукту значною мірою залежить від того, чи продукт накопичується в клітинах, чи виділяється в культуральне середовище, чи продукт є самою клітинною масою. Окрім цього, не всі кінцеві продукти вирізняються своєю термостабільністю або можуть легко розщеплюватися мікроорганізмами, тому якісне виділення таких продуктів досягається не тільки підбором відповідного методу, але й швидкістю виконання процедури [148].

Техніка кондиціонування бульйону дозволяє відокремити клітини від культуральної рідини. Біомаса переважно відділяється від середовища механічно

(седиментація, фільтрація, флотація, сепарація тощо) або механічно (випарювання та сушіння). Результатом такої сепарації є отримання осаду після обробки біомаси або утворення флокулів з клітин мікроорганізмів.

Переважно виділення та очищення продукту відбувається за більш-менш схожою схемою. Спочатку проводиться сепарування великих твердих частинок та клітин мікроорганізмів, як правило, за допомогою центрифугування або фільтрації. Даний етап перетікає в наступний, протягом якого культуральне середовище розділяють на основні фракції за допомогою методів ультрафільтрації, зворотного осмосу, осадження, афінної хроматографії або адсорбційної/іонообмінної/гель-фільтрації. Фракцію з кінцевим продуктом в ній підлягають подальшому очищенню за допомогою фракційного осадження або більш точних хроматографічних методів та методів кристалізації. Вибір методу є індивідуальним в залежності від типу кінцевого продукту та рівня чистоти, якої необхідно досягти [148].

Фільтрація відноситься до одного з найширше використовуваних процесів в багатьох типах індустріального виробництва для відділення часток від рідини чи газу за допомогою пористих фільтрів, які затримують частинки різних розмірів. Даний метод вважається одним з найпростіших через можливість здійснювати цей процес за різних умов, проте слід брати до уваги певні фактори, які можуть перешкоджати досягненню високої якості фільтрації. Переважно слід звертати увагу на властивості фільтрату (наприклад, в'язкість), природу та розмір клітин або твердих частинок, масштаби процесу, необхідність в асептичних умовах або тиску/вакуумного всмоктування для пришвидшення процесу. В індустріальних масштабах існує багато типів фільтрів, такі як пластинчасті фільтри, фільтр-преси, ротаційні вакуумні фільтри тощо. Фільтрацію найчастіше проводять для відокремлення міцелію грибів від культуральної рідини, виробництві пекарських дріжджів або очищення стічних вод.

Як і у лабораторному, так і промисловому масштабі можна застосовувати мембранні фільтри: в переважній більшості така фільтрація навіть у великих масштабах проводиться під тиском. Ідеально, якщо при цьому фільтр працює

автоматизовано з безперервним або періодичним завантаженням та відвантаженням рідини. В біотехнологічній промисловості широко використовуваною є фільтрація тангенціального типу, особливістю якої є пропускання рідини паралельно мембрані фільтру, а не перпендикулярно, що дозволяє не закупорювати її пори. Установки з таким видом фільтрації можуть виконувати як класичну фільтрацію, так і мікро- та ультрафільтрацію, в залежності від фільтруючих мембран, які встановлені всередині конструкції. Для включення до технологічної схеми було запропоновано промислову фільтраційну установку Sartoflow Beta Plus DCU-4 (*Німеччина*). Це повністю автоматизована установка, виконана з нержавіючої сталі з системою СІР; характеризується великою живлячою ємністю (200 л) та великою площею фільтрації [138].

Для виділення дріжджових клітин також використовують флотацію. Процес флотації клітин здійснюється шляхом барботування культурального середовища. Разом з піною з бульйону видаляється велика частина дріжджів.

Якщо фільтрація є незадовільним методом для розділення клітин, застосовують метод центрифугування. Його застосовують коли процес фільтрації протікає повільно та важко. Центрифугування допомагає дрібнішим частинкам або клітинам відокремитися від культурального середовища, ефективність даного методу також залежить від характеристик середовища та клітин. Окрім відділення клітин від ферментаційної рідини, застосування центрифуг може також бути корисним для розділення фаз двох рідин або розщеплення емульсій.

Лабораторні та промислові центрифуги відрізняються одне від інших за їх власне масштабністю. Промислові центрифуги задовільняють виділення та очищення кінцевого продукту; за своїм типом вони зазвичай поділяються на фільтраційні та седиментаційні. Фільтраційні центрифуги відокремлюють тверді частинки та деякі хімічні сполуки від супернатанту, відокремлена рідина збирається в спеціальний відсік установки та стікає назовні. Седиментаційні центрифуги відрізняються від фільтраційних своєю конструкцією: в той час, як фільтраційна центрифуга утримує у собі тверді речовини та вивільняє рідину,

седиментаційна центрифуга використовує диференційне відстоювання для відділення рідини від твердих частинок, відштовхуючі останні з установки.

Для культивування дріжджів можуть бути використані центрифуги-сепаратори місткістю 100 л компанії Flottweg (*Німеччина*), яка може бути під'єднана до ферментера за допомогою санітарних фланців. Компані представляє Flottweg 2-phase/3-phase моделі відповідно до ступеня очищення культуральної рідини. Її аналогом є центрифуга Alfa Laval ВТРХ 205 (*Швейцарія*), яка гарно зарекомендувала себе в біотехнологічній та фармацевтичній промисловості для виділення та очищення клітин в діапазоні від 0.5 до 500 мкм. Обидві центрифуги є задовільними для виділення наночасток [149-150]. Ще одним чудовим варіантом промислової центрифуги з аналогічним об'ємом у 100 л є сепаратор-бактофуга моделі Jacketed Stainless Steel Centrifuge ХТС-100 (*США*) з нержавіючої сталі 304, яка забезпечує високоякісною роботою в асептичних та анаеробічних умовах при максимальній швидкості 12000 об/хв [151].

У випадку, коли кінцевий продукт утворюється внутрішньоклітинно, необхідним етапом є утворення лізату клітин шляхом порушення клітинної мембрани для вивільнення продукту. Доступні на даний час методи для руйнації клітинної мембрани поділяються на фізико-механічні (ультразвукова обробка, перемішування абразивами, заморожування-відтавання) та хімічні методи (обробка детергентами, лугами або ферментами, осмотичний шок, тепловий шок, застосування лізоциму).

Найбільш зручним і дешевим способом промислового синтезу є метод із застосуванням супернатанту, оскільки виключається додаткова стадія розпаду клітин і відмивання наночастинок від клітинних залишків. Однак необхідно підкреслити, що коли клітинний супернатант використовується для біосинтезу наночастинок, наночастинки можуть утворювати грудки під час зберігання, що призводить до втрати їх стабільності та зниження антимікробної активності [145]. Проте, саме лізати забезпечують найбільше накопичення наночасток. Тому, в даній роботі будуть використані саме лізати дріжджових клітин для отримання наночасток церію та срібла.

2.5 Блок схема

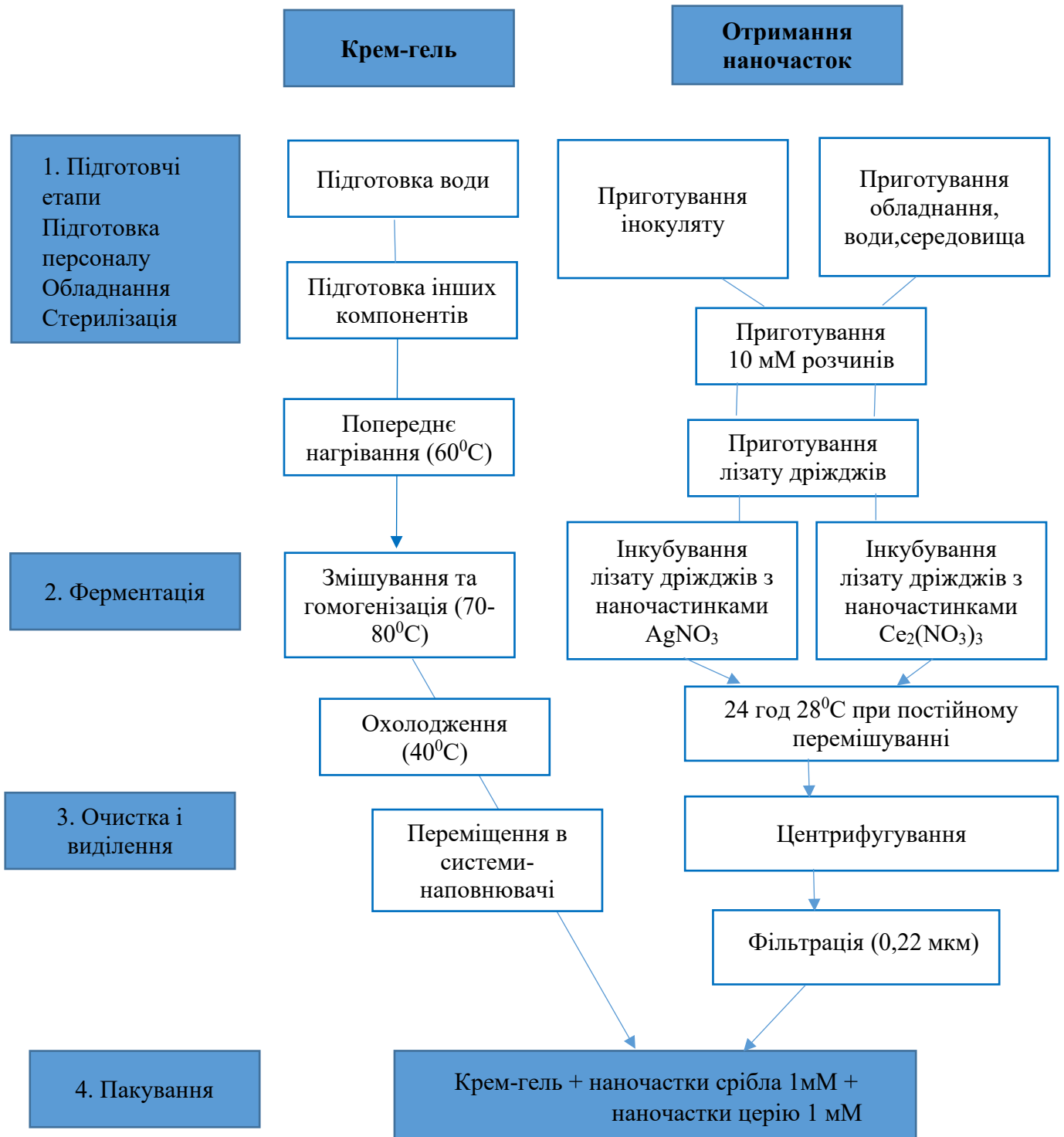


Рис.2.2 Блок-схема отримання косметичного крем-гелю з наночастками срібла та церію

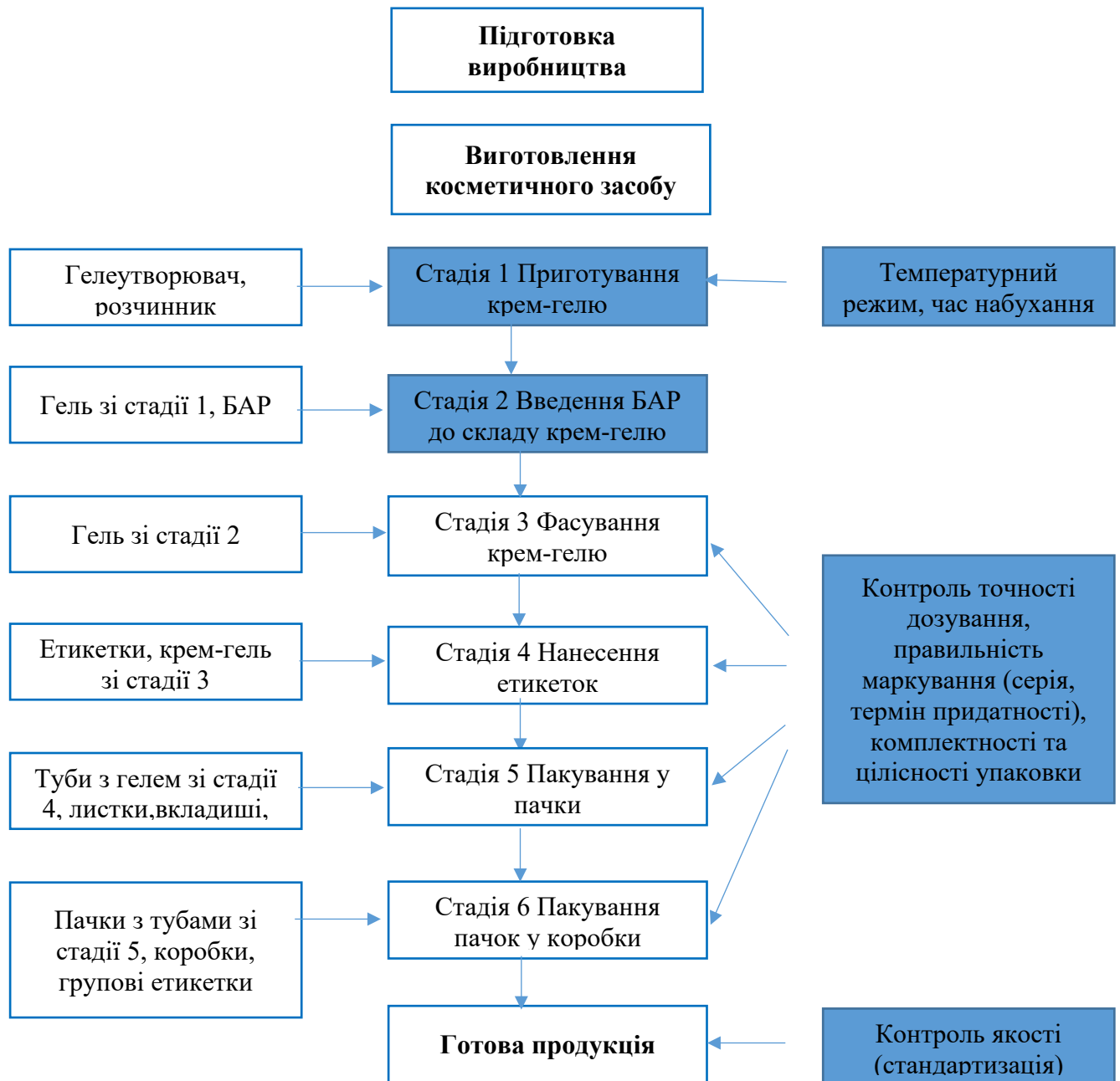


Рис.2.3 Технологічна схема виробництва косметичного крем-гелю

2.6 Опис технологічної схеми

В якості профілактичного засобу для догляду за шкірою схильної до акне був обраний крем-гель, який можна вважати найкращою формою цього косметичного засобу. Крем-гель з наночастинками срібла та церію – це м'яка лікарсько-косметична форма для місцевого застосування, яка являє собою дисперсійну систему з рідким дисперсійним середовищем, реологічні властивості якого зумовлені наявністю порівняно низьких концентрацій гелеутворювачів.

Крем-гель має багато переваг перед іншими косметичними формами:

- легко наноситься на шкіру обличчя;
- швидко вбирається поверхнею шкіри, не поширюючись;
- має легку консистенцію;
- завдяки швидкому вбиранню та проникненню у верхні шари епідермісу не забруднює одяг і не залишає жирних слідів завдяки своїй гідрофільності;
- має легкий охолоджуючий ефект.

Виробництво крем-гелю з наночастками срібла та церію протікає у двох паралельних технологічних схемах: виготовлені крем-гелевої основи та ферментаційному процесі, під час якого відбувається синтез наночасток. Незалежно від розгалуження у виробничому процесі, обидві технологічні лінії мають більш менш аналогічні стадії.

Таким чином, для технологічної лінії виготовлення наночасток ми маємо такі етапи:

1. Підготовчі роботи.
2. Приготування інокуляту з дріжджових клітин.
3. Приготування лізату для інокуляції.
4. Ферментаційний процес.
5. Процес виділення та очищення.
6. Перевірка на токсичність, передача на косметичну технологічну лінію.

В цей час технологічна лінія для виготовлення крем-гелю буде мати наступні етапи:

1. Підготовчі роботи.
2. Виготовлення дослідного зразка.
3. Підготовка компонентів та попереднє нагрівання.
4. Змішування та гомогенізація.
5. Охолодження та введення додаткових компонентів.
6. Фасування та пакування.
7. Контроль якості та стандартизація.

Підготовчі роботи.

Підготовка до виробничого процесу являє собою сукупність взаємопов'язаних процесів наукового, технічного та організаційного характеру, спрямованих на удосконалення технології. Важливість проведення підготовчих робіт полягає в передчасному уникненні багатьох ризиків, які пов'язаних з порушенням відповідних встановлених норм для виробництва. Ці норми підпорядковуються належній виробничій практиці (GMP) та належній лабораторній практиці (GLP), які встановлюють відповідні вимоги до чистоти приміщень та персоналу.

Допоміжні підготовчі роботи є майже аналогічними як для мікробіологічно-ферментаційної, так і для косметичної технологічної ліній. Вони стосуються підготовки обладнання, приміщень та персоналу, очистки води та повітря, стерилізації поживних середовищ та конструкцій, залучених до виробничого процесу.

Для кожного нового технологічного процесу перед його впровадженням у виробництво повинна проводитися оцінка монтажу, роботи усіх датчиків та працездатності обладнання, його валідація, атестація, перевірка на цілісність та герметичність. Записи отриманих результатів перевірки заносяться в спеціальні лабораторні журнали.

Персонал, як невід'ємна частина виробничого процесу, повинен мати бути дипломованим та мати відповідну кваліфікацію, вони чітко повинні розуміти свої ролі та обов'язки. Усі оператори повинні відповідально ставитися до підтримання умов чистоти у приміщенні за рахунок носіння правильних елементів захисту, такі як рукавички, чистий робочий одяг, чисте взуття, шапочок для волосся та захисних масок, а також тримати усі особисті речі поза виробничими приміщеннями. Хворий персонал виключається з операцій для запобігання ризику контамінації.

Ризик контамінації культурального середовища та всього виробництва в цілому, що в результаті веде до зіпсування кінцевого продукту, є найбільш критичним у виробництві будь-якого типу. Для уникнення цього важливо

проводити санітарні роботи, використовувати чистий інокулят, підтримувати асептичні умови протягом ферментаційного процесу, а також проводити своєчасну стерилізацію усіх складових, що будуть залучені до виробництва.

Санітарні роботи проводяться з метою очищення приміщень та обладнання. Прибирання проводиться зі застосуванням води та мийного засобу, після – повторним промиванням очищеною водою. Важливою умовою є використання хімічних миючих засобів, які не виявляють токсичної дії. Окрім цього, вибір засобу повинен визначатися здатністю мікроорганізмів до резистентності, тому підприємство має закупати щонайменше два види спеціальних миючих засобів, які потрібно змінювати кожні один-два тижні. Класичною дезобробкою вважається використання у прибиранні розчинів рецептури «С4» та «Стериліум», а також розчинів водню пероксиду 5%-ної концентрації.

Стерилізація стосується усіх компонентів технологічного процесу. Стерилізується поживне середовище, матеріали, які подаються протягом процесу, ферментери, труби та санітарні фланці, допоміжне обладнання. Ферментер зазвичай стерилізується окремо перед подачею поживного середовища до нього. Стерилізація відбувається за рахунок термічної обробки парою – нагріванням конструкції ферментера через його «сорочку» або змішовики за допомогою подачі пари. Після цього конструкція ферментера барботується гострою парою, яка проходить через усі вхідні отвори, окрім повітряного, звідки пара виводиться з апарату. Стерилізація ферментера проводиться протягом 50-60 хв при температурі 125-140°C та тиску 1 атм. Також за допомогою пари стерилізують усі комунікації між ферментерами та іншими апаратами, а також клапани та датчики.

Поживне середовище Чапека-Докса, обране для ферментації, стерилізується в періодичному режимі в промисловому автоклаві (можливий безперервний варіант в утримуючих стерилізаційних колонках) при температурних режимах 120-140°C та тиску 1 атм. Протягом 10-15 хв. При стерилізації середовища враховують рівень рН для запобігання суттєвих змін поживного складу.

Весь скляний посуд, що використовується для приготування інокуляту (колби) має проходити подвійний етап стерилізації: обробка сухим жаром при

180°C 30 хвилин та автоклавування при 121°C тиску в 1,5 атм. протягом 20 хвилин.

Процес стерилізації підтримується суворим контролем асептичних умов у приміщенні. Це досягається завдяки встановленню високоякісних фільтрів типів HEPA та ULPA, які підтримують кількість часток у чистому приміщенні на потрібному рівні.

Паралельно зі стерилізуючими процесами проводять підготовку води. Первинна підготовка води полягає у грубій фільтрації за допомогою піщаних або вугільних фільтрів для уникнення подальшої колоїдної закупорки або хлоруванням для уникнення зростання небажаних мікроорганізмів.

Очищення води проводиться за допомогою методу зворотного осмосу: вода в установці проходить через напівпроникну ацетатцелюлозну мембрану під дією різниці тисків. Стандартна установка зворотного осмосу складається з наступних частин: насосу високого тиску, одного або кількох перміаторів та блоку регулювання робочого режиму.

На косметичній технологічній лінії очищену воду додатково піддають ультрафільтрації для очищення від органічних речовин з високою молекулярною масою та бактеріальних едотоксинів. Отримання високоочищеної води потребує належного догляду за системою очищення, включаючи періодичне технічне обслуговування.

Приготування інокуляту.

Відбувається в лабораторних умовах. Процес починається з відбору музейної культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-1995 з пробірок. Відбір проводиться для пересівання на щільне поживне середовище Чапека-Докса в асептичних умовах для створення нової культури. Чашки культивуються протягом доби в термостаті при 28°C. По завершенню інкубації по необхідності проводять повторне пересівання.

Результатом інкубації є утворення щільних колоній клітин *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-1995. Змив клітин з чашок проводять 200 мкл фізіологічного

розчину в асептичних умовах. Клітинну суспензію обережно гомогенізують піпетуванням, після чого переносять у колби Ейлера, яке містить свіже рідке середовище Чапека-Докса. Колби розміщують в інкубаторі-шейкері та культивують при 28°C протягом 4 діб.

Культивування *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-1995 масштабують шляхом перенесення в двох лабораторних ферментерах об'ємом 10 л кожний (компанія BIOSTAT також представляє широкий вибір біореакторів малого масштабу, наприклад, Biostat B-DCU). Процес триває протягом 3 діб при 28°C.

Приготування лізату для інокуляції.

Готуються 10мМ розчини солей металів AgNO_3 та $\text{Ce}_2(\text{NO}_3)_3$, які будуть джерелом для утворення наночасток відповідних металів. В даному виробництві проведення лізису дріжджових клітин є важливим етапом. Запропоновано використовувати хімічний метод лізису за допомогою додавання дистильованої води до ємності з попередньо отриманим інокулятом.

Лізат дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-1995 обробляється 10 мМ розчинами AgNO_3 та $\text{Ce}_2(\text{NO}_3)_3$. Розчини нітратів срібла та церію виступають джерелом для утворення наночасток церію та срібла в розчинах солей. Після цього суміш використовується в якості інокуляту для великомасштабних ферментерів.

Ферментаційний процес.

Ферментація проводиться паралельно в двох біореакторах BIOSTAT D-DCU (Німеччина). Біореактори інокуються лізатами дріжджів з AgNO_3 та $\text{Ce}_2(\text{NO}_3)_3$ відповідно. Параметри для культивування в промислових масштабах наступні:

- температура – 26°C;
- рівень рН – 5.0;
- поживне середовище – Чапека-Докса (склад: глюкоза 30 г/л, агар мікроорганізмів 14 г/л, нітрат калію 2 г/л, дигідрофосфат калію 1 г/л, натрію хлорид 0,5 г/л, магнію сульфату 0,5 г/л, заліза сульфату 0,01 г/л);

- тип перемішування – радіальний;
- аерація – відсутня.

Ферментація триває при 26°C протягом 4 діб при постійному перемішуванні при 130 об/хв. Протягом ферментації проводиться періодичний відбір проб для контролю утворення наночастинок та мікробіологічного контролю за допомогою мікроскопічних та спектроскопічних методів аналізу в діапазонах довжин хвилі 400-430 нм для срібла та 380-390 нм для церію.

Процес виділення та очищення.

Використовується метод сепарування в сепараторі-центрифузі Jacketed Stainless Steel Centrifuge ХТС-100 (США) на 100 л при 3000 об/хв 15 хв. Після цього відбирають утворений супернатант, який додатково очищують за допомогою методу фільтрації через промисловий мембранний фільтр Sartoflow Beta Plus DCU-4 (Німеччина).

Перевірка на токсичність, передача на косметичну технологічну лінію.

Перевірка на токсичність наночастинок перевіряється в лабораторних умовах методами *in vitro*. При задовільних показниках розчини з наночастинами срібла та церію передається на косметичну лінію в спеціальні ємності для змішування.

Підготовчі роботи косметичного виробництва.

Виготовлення крем-гелевої основи для майбутнього косметичного засобу проти акне здійснюється на окремій технологічній лінії. Логіка виробництва крему залишається аналогічною: до його запуску спочатку здійснюються усі допоміжні роботи, що включають в себе підготовку води, обладнання та персоналу, а також усіх матеріалів, які будуть залучені в синтез.

Виготовлення дослідного зразка.

При виготовленні досліджуваного крем-гелю застосовуються загальні правила виробництва МЛЗ. Для введення наночастинок срібла та церію в МЛЗ

колоїдний розчин наночастинок спочатку змішують з гліцерином, а потім при перемішуванні вносять в крем-гелеву матрицю.

У ході процесу зазвичай виготовляють дослідний зразок крем-гелю на змішувачі-гомогенізаторі зі швидкістю перемішування 2000 об/хв в лабораторних умовах; час гомогенізації – 15 хв. За результатами досліджень розроблюють технологічну схему виробництва крем-гелю.

Вплив швидкості і часу емульгування на стабільність і однорідність крем-гелю визначають візуально. Експериментальний зразок крем-гелю оцінюють за сенсорними (зовнішній вигляд, колір) та споживчими властивостями (зручність використання, клейкість, швидкість вбирання, відчуття на шкірі та стан після нанесення).

Підготовка компонентів та попереднє нагрівання.

Сировину, яка використовується для приготування крем-гелю, після контролю зважують для передачі, очищену воду відмірюють. Стадія підготовки компонентів стосується виготовлення основ крему, попереднього нагрівання до 60°C, змішування та обробки компонентів майбутнього косметичного засобу, а також підготовки води, яка буде виступати у ролі розчинника. Нерозчинні або тверді компоненти піддаються таким видам обробки як зволоження, подрібнення, сушіння тощо.

В результаті будуть підготовлені попередньо нагріті водна та неводна (дисперсна) основи майбутнього косметичного засобу. Підготовка основ здійснюється в окремому танковому резервуарі, паралельно з цим готується колоїдний розчин наночасток срібла та церію.

Змішування та гомогенізація.

Процес змішування та гомогенізації є власне стадією утворення емульсії шляхом змішування водної та неводної основи (з арамантовою олією), а також додаткових компонентів (в даному випадку – з колоїдним розчином наночасток). Стадія проводиться в асептичних умовах в реакторі-емульгаторі ІКА ULTRA-

TURRAX UTL 2000 (*Німеччина*) в періодичному режимі та постійному перемішуванні при 2000 об/хв. Суцільну масу нагрівають до 70-80°C для забезпечення повного розплавлення компонентів неводної основи, в яку попередньо був включений полоксамер – компонент для основи майбутнього крем-гелю. Гомогенізація суміші дозволяє отримати косметичну основу потрібної текстури; загальний час ретельного змішування та гомогенізації в індустриальних масштабах триває 35 хв.

Охолодження та введення додаткових компонентів.

Крем-гелева основа охолоджується до 40°C при підтримці постійного перемішування на менших швидкостях – 1200 об/хв. Рівень рН регулюється в установці до нейтрального для завершення формування крем-гелю. Охолодження необхідне для додавання додаткових компонентів до суміші, які переважно є термолабільними: БАР, ароматизаторів або консервантів (за необхідністю) перед тим як відправити суміш на стадію контролю.

Контроль якості та стандартизація.

Перед фасуванням відбирають дослідний зразок виготовленого крем-гелю зі штуцера, який відходить від змішувально-гомогенізуючої установки. Результати досліджень сенсорних та фізико-хімічних показників гелів згідно національного стандарту України «Креми косметичні» повинні свідчити, що крем-гелі з наночастинками срібла та церію мають темний колір, за споживчими характеристиками не відповідають вимогам косметичних засобів і повинні мати білий колір або світлі відтінки [153]. Детальніше про контроль готового продукту вказано в підрозділі 3.2.

Фасування та пакування.

Після усіх тестувань утворений продукт відправляється на технологічну лінію пакування Romaco Masofar LF 200 (*Німеччина*) в стерильних умовах. Фасування готового косметичного продукту відбувається під вакуумом за

допомогою стерильних насосів. Процес відбувається автоматично, заповнюючи пластикові флакони круглої форми по 50 мл на одиницю продукту. На паралельній лінії флакони маркуються та збираються в партії по 20 шт на коробку. Основною метою упаковки є захист продукту від усіх небезпек, яким він може піддаватися під час транспортування та обробки. Окрім цього, упаковка повинна бути естетично привабливою для потенційного споживача, спонукаючи його на «імпульсну покупку».

Висновки до розділу 2

Розробка крем-гелю з наночастинками срібла та церію є важливою для косметології для усунення дерматологічних проблем, включаючи лікування акне. Визначення рецептури та підбір якісного гелеутворювача для крему, який буде сумісним з колоїдними розчинами наночасток є вирішальним для виготовлення основи для майбутнього лікувального косметичного засобу.

На сьогоднішній день дослідження в області нанобіотехнології зосереджені на екологічно чистих методах синтезу наночасток з чітко визначеними характеристиками. Дані методи, очевидно, мають на увазі за собою використання біологічних агентів. Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* викликають все більше інтересу в науковців для застосування їх в якості біологічної системи в нанобіотехнологічних дослідженнях та виробництві, оскільки даний вид є одним з найбільш вивчених з точки зору фізіології та генетики. Ці особливості становлять їх особливе промислове значення і, як результат, вважаються одними з найкращих варіантів для синтезу наночасток через високу придатність для швидкої та якісної ферментації.

Було проаналізовано складові ферментаційного процесу та складено технологічну схему для поєднання аспектів виготовлення основи для косметичного засобу та здійснення зеленого синтезу *Saccharomyces cerevisiae* для отримання наночасток шляхом культивування дріжджовому лізаті. Проектування ферментаційного процесу є важливою задачею для дослідника. Зазвичай складання технологічної лінії вимагає знань в декількох областях для повного розуміння особливостей біосинтезу. Оптимізація процесу, а також вибір тієї конструкції ферментера та його складових, які будуть повністю задовольняти потреби культивованого мікроорганізму, це половина успіху для здійснення якісного біосинтезу.

РОЗДІЛ 3

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

3.1 Методики контролю на стадії біосинтезу

Моніторинг процесу біосинтезу відіграє не останню роль через потенційний ризик, пов'язаний з можливими перебоями у роботі системи, що в свою чергу може призвести до контамінації культури або зрушення оптимальних для певного мікроорганізму параметрів, а це несе певну загрозу нормальному зростанню та розвитку клітин організму у ферментері. Щоб цього не допустити, будь-яка технологічна лінія та власне виробництво повинно передбачати наявність критичних точок, які позначаються на схемі після детального аналізу всього процесу виробництва.

Визначення критичних точок може бути різним. Традиційно їх позначають як момент на певному етапі виробництва, де може виникнути ризик порушення норм технології і, як результат, знизити якість кінцевого продукту або навіть підвищити його токсичність для навколишнього середовища та людини. Зазвичай критичні точки стосуються не тільки власне процесу промислової ферментації: їх також прийнято визначати на таких стадіях як зберігання сировини для поживного середовища, змішування сухих чи вологих компонентів, постачання та очищення води, очищення повітря, збирання біомаси, підготовку персоналу, пакування, зберігання продукту, транспортуванні тощо. Виходячи з цього, можна стверджувати, що на виявлення критичних точок впливають усі складові індустріального процесу: персонал, сировина, обладнання, параметри та моніторинг протікання процесу біосинтезу. Також важливим є згадати не менш важливі потенційні ризики, такі як вплив біологічних агентів (патогенних мікроорганізмів, грибків), які призводять до контамінації ферментаційного середовища, а також хімічних агентів, такі як токсини різного походження та залишки миючих речовин після стадії очищення ферментера, які також певним чином можуть впливати на протікання біосинтезу.

Для стабільної роботи підприємства та виробництва якісної продукції необхідний постійний мікробний контроль по відношенню до контамінації на всіх етапах виробничого процесу. Контроль проводиться за допомогою методів мікроскопії, які не дозволяють виявити ступінь зараження і характер мікрофлори, але тільки ними обмежуватися є дуже ризиковано. Головною помилкою є послаблення контролю в періоди стабільних виробничих показників. Практика показує, що зараження не відбувається раптово. Воно поступово зростає за наявності неадекватного мікробного контролю або неадекватних санітарних заходів [154].

При перших ознаках передачі інфекції на виробництві (зниження бродильної активності або резистентності клітин культивованого мікроорганізму, зниження репродуктивної активності, мікроскопічна аглютинація) необхідно підтвердити наявність інфікованих вогнищ повним мікробіологічним дослідженням. По-перше, посів виявляє основні вогнища, включаючи ферментаційне середовище, воду та повітря. Після ліквідації первинних вогнищ інфекції проводиться детальне мікробіологічне дослідження всього виробництва з метою виявлення можливих вторинних вогнищ в обладнанні та комунікаціях. Оскільки існує багато шляхів проникнення сторонніх мікроорганізмів в обладнання під час культивування дріжджів, вогнища інфекції можуть виникнути в будь-якій зоні, де є різні порушення технологічного процесу або роботи обладнання [154]. Серед них найбільш поширеними є такі порушення, що призводять до ризику мікробного зараження виробництва:

- внаслідок несправності автоклава або недотримання правил стерилізації (наприклад, стерилізація без використання пари для видалення повітря із стерилізаційної камери, оскільки в камері не досягнуто необхідної температури);
- обладнання в цеху чистих культур дріжджів недостатньо герметичне, що призводить до надходження в цех нестерильного повітря при охолодженні обладнання після стерилізації середовища;
- всмоктування в ферментер стисненого повітря, недостатньо очищеного від мікроорганізмів;

- стерилізаційний ефект мінеральних поживних речовин для культивування дріжджів на стадії чистої культури є поганим;
- недостатня дезінфекція труб;
- при витоку теплообмінника в обладнання можуть потрапити сторонні мікроорганізми;
- доступ до обладнання, яке використовується для вирощування чистих бродячих рідких культур із комерційного дріжджового обладнання через несправний запірний клапан:
 - чиста культура дріжджів була забруднена середовищем обладнання через несправність запірного клапана;
 - обсіменіння водопровідної води мікроорганізмами у разі витоку;
 - вторинне забруднення стерильного розчину в процесі надходження в ферментер, недостатня очистка обладнання (напливний пристрій живильного середовища, розподільник) і комунікаційного обладнання;
 - пара для обладнання та комунікацій при недостатній температурі або тиску пари;
 - ополіскування апарату після дезінфекції оборотною водою.

У випадку з косметичною промисловістю, мікробіологічний контроль поширюється не тільки на визначення сприйнятливості конкретного продукту до мікробного псування, а й на моніторинг мікробної чистоти сировини в процесі виробництва та в готовому продукті. Це, перш за все, визначення загальної кількості мікроорганізмів, а також класифікація косметичних препаратів і дотримання відповідних стандартів мікробної чистоти [155]

Джерелом зараження більшості косметичних засобів може бути заражена сировина та несприятливі умови виробництва. У зв'язку з цим виробництво косметичних засобів повинно здійснюватися в стерильних умовах, щоб запобігти проникненню мікроорганізмів ззовні.

Створення абсолютно стерильних умов дуже дороге, тому косметична промисловість прагне створити оптимальні умови виробництва шляхом:

- перевірки на вміст мікроорганізмів у всій сировині;

- ємності, які використовуються для приготування косметичних засобів, стерилізують, наприклад, тривалим нагріванням при $+(100...120)^{\circ}$ раз на тиждень або хімічно стерилізують (наприклад, розчинами формальдегіду або іншими консервантами);
- використовувану воду перед використанням стерилізують, наприклад, за допомогою УФ-опромінення або дистиляції;
- підтримувати максимальну чистоту під час виробництва на складі (щоденна зміна спецодягу, використання самогерметизуючої тари тощо);
- у рецептурі косметичного засобу використовуються дуже потужні, затверджені консерванти.

Процес ферментації підпорядковується різним системам управління, які допомагають контролювати більшість технологічних процесів та надають змогу вчасно виявляти порушення на технологічних лініях. Підтримання контролю у таких системах означає пильне слідкування за умовами навколо та всередині ферментера та всіма іншими аспектами, які мають потенціал вплинути на ріст та розвиток культури, а також синтез нею необхідних продуктів. Системи керування біосинтезом зазвичай складаються з елементів, які тісно пов'язані один з одним. До них відносять контрольні-вимірювальні обладнання та операторів у вигляді персоналу [156].

Традиційно моніторинг проводиться із застосуванням спеціальних датчиків, якими обладнаний ферментер незалежно від його типу. Переважно один датчик відповідає за одну конкретну характеристику; окрім цього, вони потребують калібрування та перевірок на справність роботи.

Основне завдання вимірювального елемента закладається в розпізнаванні змінних процесу та виробленні відповідного сигналу, що надходить до контрольні-вимірювального обладнання. Для того, щоб своєчасно та успішно контролювати параметри, які цікавлять оператора, потребується широкий спектр різноманітних датчиків [156].

Проте наразі своєї популярності набирає розробка та включення біосенсорів в процеси біосинтезу, оскільки це є досить перспективним напрямом, який

стосується впровадження нових матеріалів для виготовлення або модернізації вже існуючих датчиків з кращими показниками продуктивності та більш якісною результативністю. Чинником сенсорних досліджень є, очевидно, усвідомлення їх можливостей для широкого практичного застосування. Розвиток біотехнології привів до розробки методів вистежування процесів бродіння, що спровокувало розширення можливостей безперервного контролю даних процесів.

Біосерсори віднайшли свою нішу в контролі та визначенні загального вмісту перетравленого мікроорганізмами цукру протягом усього процесу бродіння. Даний показник є одним з критичних, оскільки він впливає на метаболізм та клітинний ріст. Загальна кількість засвоєваних цукрів оцінюється за поглинанням кисню іммобілізованими мікроорганізмами, які є складовою біосенсору. Причиною поглинання кисню в розчині є додавання аліквоти глюкози. В результаті електродний струм поступово зменшується, поки не досягне певного стабільного значення [157].

Для покращення та полегшення умов моніторингу процесу бродіння були також розроблені комп'ютерні системи, за допомогою яких можна здійснити моделювання процесу ферментації. Комп'ютерне моделювання дає змогу порівнювати, комбінувати та аналізувати інформацію з різних елементів вимірювального пристрою (датчика або датчиків) за допомогою математичних програм.

Виділяють декілька категорії комп'ютеризованого контролю процесу бродіння. Найпростіший тип комп'ютеризованого контролю має на увазі керування клапанами та насосами, подачею середовища та видаленням культури на основі встановленого часу [158].

Найпростіша категорія включає дозування та залежне від часу додавання або видалення поживних речовин до або з культури. Найскладніша категорія контролю включає використання алгоритму зворотного зв'язку, що дає змогу контролювати основні змінні процесу бродіння. У цьому типі керування традиційний контролер замінюється комп'ютером з приєднаним до нього датчиком, який перетворює аналоговий сигнал на цифровий. Після порівняння та

генерації комп'ютером цифрового сигналу із заданим значенням на виході отримуємо аналоговий сигнал для приводу.

Комп'ютеризоване управління процесом бродіння відзначається високою точністю, проте застосовувати його рекомендовано в сукупності з традиційним електричним контролером, оскільки незначний збій першого може призвести до серйозних проблем.

Незалежно від виду ферментаційного процесу, деякі з критичних факторів є загальними для всіх типів біосинтезу, оскільки вони є ключовими для підтримання життєздатності та метаболізму культури клітин. Важливою функцією цих факторів є регуляція процесу бродіння. До них відносять температуру, рівень рН та розчинений кисень в поживному середовищі [159].

Відомо, що для комфортного зростання культури мікроорганізмів необхідно урегулювати ферментаційний процес таким чином, щоб він на усіх стадіях проводився за оптимальних температурних режимів, індивідуального для кожного виду та навіть штамів мікроорганізму. Значення температури полягає у значному впливі на активність ферментів в культуральній рідині та ефективність мікробного метаболізму в ній. Таким чином, уважний контроль діапазону температури під час процесу ферментації є вкрай обов'язковим для позитивного сприяння на ріст культури.

Окрім температури, рівень рН також відіграє ключову роль у стабільності та функціонуванні ферментів, тому очевидно значення також повинне бути контролюватися у межах, оптимальних для конкретного мікроорганізму. Жорсткий контролю рівня рН має вирішальне значення, оскільки у великомасштабному виробництві неправильний вимір може суттєво вплинути на вихід кінцевого продукту та, у деяких випадках, його біоактивності. Саме через це підтримання рівня рН у правильному робочому діапазоні впливає як і на життєздатність клітин, так і на якість самого продукту. Найчастіше дана підтримка здійснюється за рахунок застосування електрохімічних датчиків *in situ*, які подають сигнал при виході за межі попередньо визначеного рівня рН. У більшості сучасних ферментерів після подачі сигналу від електрохімічного

датчика здійснюється автоматичне регулювання за рахунок додавання певної кількості основи або кислоти до культурального середовища.

Контроль рівня розчиненого кисню є критичним при аеробному культивуванні, оскільки власне кисень використовується для клітинного дихання та накопичення біомаси. Проте, не зважаючи на важливість кисню для клітин-аеробів, є цілком допустимим контролювати цей параметр у ширших діапазонах у порівнянні з рівнем рН. Контроль можна здійснювати через моніторинг швидкості аерації ферментаційного середовища, коефіцієнту перемішування та тиску газової фази. Останнє регулюється за рахунок підвищення надлишкового тиску в головному просторі ферментера, що призводить до збільшення перенесення кисню з газової фази в рідку. Типові робочі діапазони розчиненого кисню для аеробних культур може відрізнятися від конкретного виду. Нижчий за робочий діапазон рівень суттєво впливає на життєздатність клітин та обмежує ріст, тоді як надмірний рівень розчиненого кисню може окислити кінцевий продукт. Важливо зазначити, що поряд з параметром розчиненого кисню існує параметр розчиненого вуглекислого газу, перевищення допустимих норм якого призводить до пригнічення росту клітин та зменшення обсягів продукування вторинних метаболітів [156, 159].

На основі комбінування параметрів культивування у роботі Nakkaart та ін. було продемонстровано яким чином клітини *Saccharomyces cerevisiae* відповідають на зміни у вказаних вище критичних параметрах при моніторингу біосинтезу бурштинової кислоти у промислових масштабах. Дріжджові клітини мають тенденцію виявляти екстремальну фізіологічну реакцію під впливом неправильно підібраних рівня рН та концентрації вуглекислого газу, що супроводжувалося масовою загибеллю клітин та виникненню певних транскрипційних перебудов. При цьому автори повідомляють, що вплив низького рівня рН є суттєвішим за надмірну концентрацію вуглекислого газу, який в результаті не викликав значних змін у виході кінцевого продукту у вигляді біомаси клітин по завершенню ферментації. Завдяки цьому можна припускати, що

допустимий діапазон вуглекислого газу справді може бути ширшим за допустимий діапазон рівня рН при моніторингу ферментаційних процесів [160].

Відомо, що більшість ферментаційних реакторів працюють у стерильних умовах протягом значного відрізка часу, тому вчасно повідомляти про будь-які зміни, що відбуваються в процесі, є вкрай необхідним. Окрім цього, біомаса як критичний параметр біосинтезу це ключова змінна для оптимізації всього процесу, яка в свою чергу впливає на можливість досягнення максимальної ефективності при виготовленні конкретного продукту. Саме через це є вкрай важливим, якщо ферментер оснащений пристроєм для відбору проб для взяття оператором зразків культуральної рідини на місці. Відбір проб проводиться для подальшого вимірювання росту клітин мікроорганізмів та моніторингу контамінації культури та ферментаційного середовища.

Методи моніторингу біомаси поділяються на прямі та непрямі. Найбільш універсальними пристроями для моніторингу біомаси на місці вважаються оптичні методи, які дозволяють швидко і дуже точно визначити концентрацію клітин у суспензії або культурі. У додаток до стандартних оптичних методів, застосування оптичних зондів та нефелометричних або турбідометричних датчиків є також досить поширеним. Усі ці методи засновані на вимірі оптичної щільності культур в реальному часі і часто відносяться до категорії фізичних методів. Вимір оптичної щільності базується на абсорбції та розсіюванні світла в поживному середовищі, яке пропорційне концентрації клітин, що надає можливості вимірювати поглинання культури спектрофотометром на певній довжинах хвиль. Варто зауважити, що проведення оптичного методу можливе лише в тих випадках, коли накопичення мікроорганізмів призводить до рівномірного помутніння середовища і не супроводжується значними змінами форми та розміру клітин, утворенням міцелію, плівок чи інших скупчень. Це пов'язано з тим, що величина показника розсіювання залежить від багатьох факторів, таких як форми, розміру клітин, оптичних властивостей середовища, довжини хвилі падаючого тощо [159-161].

Непрямі вимірювання росту клітин базуються на клітинних компонентах, вимірюванні коефіцієнтів дихання та виділення тепла, та хімічних методах, такі як біоломінесценція. Метод біоломінесценції є цілком широко використовуваним методом в біотехнології для контролю біосинтезу за допомогою введення репортерного гена, який кодує кінцевий продукт. Даний метод вважається досить швидким та чутливим методом і до кількісного визначення клітин [162].

Техніка проточної цитометрії є прикладом одночасно фізичного та хімічного типу вимірювання. В основі методу лежить процедура, коли суспензійовані клітини певного мікроорганізму проходять через систему виявлення, яка може бути представлена детектором або групою детекторів, які запрограмовані на вимірювання різних параметрів, наприклад, дисперсію світла або флуоресценцію. Вимірювання ряду параметрів за допомогою датчиків надає можливість для ідентифікації та характеризуванні клітин, відібраних з культуральної рідини. Згідно з цим проточна цитометрія дозволяє швидко зробити оцінку біомаси та додаткові дані про популяцію: вимірювати окремі клітини та визначити розподіл їх популяції в поживному середовищі для кожної з ознак, які цікавлять оператора [163].

Окрім згаданих вище методів, оцінка проб ферментаційного середовища можна здійснити за допомогою технік мікроскопії. Усі доступні на даний час мікроскопічні методи складають єдину групу під назвою методи прямого підрахунку, які мають в основі аналогічні принципи класичної мікроскопії, але відрізняються від неї підходом до обробки клітинних зразків і конструкцією застосовуваних мікроскопів. Мікроскопічні методи переважно використовуються для виміру загальної кількості клітин (живих та нежиттєздатних) та їх диференціації. В деяких випадках методів прямого підрахунку може бути цілком достатньо для проведення моніторингу біомаси, проте треба враховувати важкий процес автоматизації даних процесів та їх трудомісткість, що може призвести до певних помилок у оцінці біомаси.

Прикладом методу прямого підрахунку за допомогою мікроскопії є епіфлуоресцентна мікроскопія *in situ*, принцип якого полягає у застосуванні флуоресцентного барвника для візуалізації зразків при певних довжинах хвиль. Флуорохром та акридиновий оранжевий є прикладами таких барвників, вони застосовуються для маркування біологічних матеріалів. Для візуалізації флуоресцентних барвників використовують лампи різного типу, такі як ртутні дугові та галогено-кварцові, які забезпечують джерелами коротких хвиль світла в ближньому ультрафіолетовому діапазоні. Ці хвилі пропускаються через флюоритну лінзу, яка власне виготовлена з даного матеріалу для пропускання бажаного спектру [164].

Підхід мікроскопії *in situ* використовує у собі комбінований пристрій, який в більшості літератури представлений двома складовими: мікроскопа прямого світла з вимірювальною камерою та комп'ютерної системи, яка здійснює автоматичний аналіз отриманих зображень. Інтеграція мікроскопа в ферментер надає можливість зменшити зовнішні втручання. Окрім вимірювальної камери, мікроскоп містить в своїй конструкції два рамкові захвати та дві CCD-камери. Його зазвичай поміщають у трубку, виготовленої з нержавіючої сталі. В основі програмного забезпечення лежить певна мова програмування, наприклад, Delphi. Сама комп'ютерна система під'єднана до вимірювальної камери через плагін, який дозволяє мові програмування налаштовувати та зчитувати інформацію для створення зображення. Зображення відображає вибірку з обраної зони; в залежності від налаштувань камери воно автоматично оновлюється приблизно 2-15 разів за попередньо заданими параметрами. Тубус об'єктива здатен переміщуватись у певній площині для фокусування на об'єктах, що цікавлять оператора. Параметри можуть відрізнитися залежно від виду мікроорганізмів, клітини яких досліджуються в ферментері [165].

Нанобіотехнологічний підхід у синтезі наночасток металів пов'язаний з власними методами моніторингу та оцінки ефективності їх продукування, а також надання характеристики наночасткам. У переважній більшості цей вид

моніторингу здійснюється у лабораторних умовах до початку введення інокулята та проведення біосинтезу в індустріальних масштабах.

У лабораторних умовах після інкубації при заданих для конкретного мікроорганізму умовах утворення металевих наночастинок можна легко спостерігати візуально за зміною кольору розчину з культурою клітин та доданої до нього солі, як це показано на рисунку 3.1. Інтенсивність зміни кольору розчину наночастинок з прозорого на коричневий прямо пропорційна часу інкубації при заданих умовах. Не зважаючи на час інкубації, контрольний розчин завжди повинен залишатися без змін.

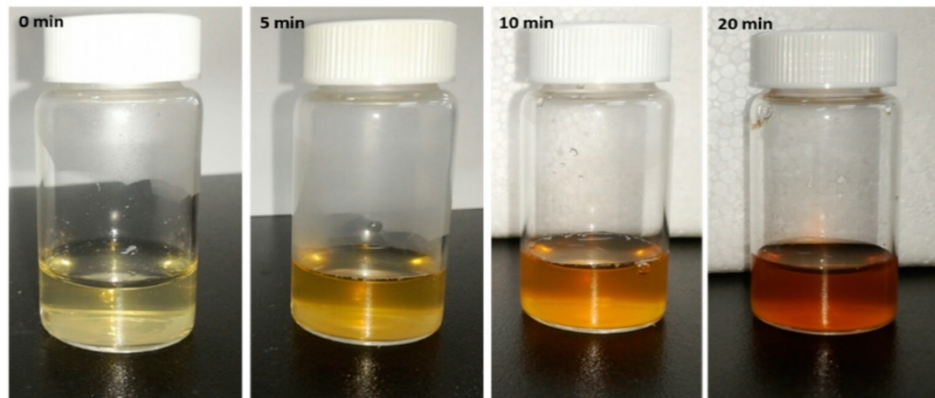


Рис. 3.1 Залежні від часу зміни кольору розчину наночастинок срібла

Krishnaraj та ін. повідомляють, що зміна кольору розчину, яка є характерною ознакою утворення наночастинок, може бути пов'язана зі збудженням поверхневого плазмонного резонансу, визначаючого їх оптичні властивості, та відновленням солі металу. Тести на бактерицидність металевих наночастинок в лабораторних умовах також є одним з методів моніторингу та оцінки синтезованих наночастинок. Синтезовані у тій самій роботі наночастки срібла також були досліджені на ефективність взаємодії з мембраною бактеріальних клітин. Було виявлено, що наночастки срібла збільшують проникність мембрани *E. coli* та *V. cholerae*, відібрані проби яких було піддано впливу синтезованих та виділених до цього наночастинок. Збільшена проникність мембрани свідчила про наслідки серйозного пошкодження її структури і, в результаті, загибелі самої

клітини, що є свідченням про високий рівень антимікробної дії наночасток срібла [166].

Подальший моніторинг та оцінка синтезованих наночасток засновані на застосуванні безлічі методів: скануючої електронної мікроскопії, трансмісійної електронної мікроскопії, атомно-силової мікроскопії, скануючої тунельної мікроскопії, атомно-силової мікроскопії, рентгенівської фотоелектронної спектроскопії, рентгенівської дифракції, інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, спектроскопії Раманівського розсіювання, УФ-видимої спектроскопії тощо. Вибір того чи іншого виду аналізу наночасток залежить від характеристики, в проведенні якої зацікавлений сам оператор.

Оптичні властивості наночасток залежать від розміру та форми, що є свідченням про можливість до налагодження бажаних оптичних характеристик групи синтезованих наночасток при роздільній здатності однієї наночастинки. Це підкреслює важливість моніторингу та характеристики наночасток на місці в реальному часі, оскільки при цьому можна дослідити не тільки власне синтез наночасток, але й розмірів та форм. Спектроскопічні методи, які застосовуються до моніторингу наночасток, допомагають спостерігати за матеріалами на мікронному рівні з прийнятною роздільною здатністю, досліджуючи випромінювання та поглинання світла культуральною рідиною. Звичайні оптичні мікроскопи не володіють достатньою роздільною здатністю, тому у відношенні до наночасток техніка візуалізації була технологічно вдосконалена для кращого виявлення матеріалів нанорозміру, що в результаті призвело до виникнення нових методів, згаданих вище. Ці методи зображують наночастки із значним збільшенням, проте підходи до створення збільшених зображень є дещо різними.

УФ-видима спектроскопія відіграє дуже важливу роль у визначенні оптичних властивостей наночасток. Дослідження повного спектру УФ-видимої спектроскопії може допомогти дізнатися багато про відібраний зразок. Спектроскопія виконується при застосуванні ультрафіолетового випромінювання (185-400 нм) по відношенню до видимого світла (400-700 нм) задля визначення максимуму поглинання при конкретній довжині хвилі. Вона являє собою зручний

інструмент для вимірювання відновлення іонів металу або його солі на основі поверхневого плазмонного резонансу та надає можливість до контролю кількісного утворення наночасток, а також вивчення їх розміру. Метод УФ-видимої спектроскопії базується на використанні закону Бера-Ламберта, який використовують для обчислення концентрації різних культуральних розчинів шляхом вимірювання поглибленого ними світла [167]. Згідно з законом, на певній довжині хвилі поглинання зразка є прямо пропорційним концентрації поглинаючої речовини та довжині шляху, яке пройшло світло. Рідина в кюветі, яка містить наночастки, повинна бути однорідною та не розсіювати випромінювання. Ширина спектральної смуги, яка отримується в результаті, являє собою пік довжини хвилі поверхневого плазмонного резонансу наночасток, що є залежною величиною від таких характеристик, як склад матеріалу, його форми, розміру, а також складу самого середовища.

Banerjee та ін. в своїй роботі використовували метод УФ-видимої спектроскопії для підтвердження утворення та визначення характеристик синтезованих наночасток срібла з індійських лікарських рослин *M. balbisiana*, *A. indica* та *O. tenuiflorum*. Вимірювання проводили зі встановленою періодичністю, після чого був проведений аналіз УФ-видимого спектру після визначення за рахунок поверхневого плазмонного резонансу смуги поглинання наночасток в діапазоні 425-475 нм. На основі отриманих даних дослідники зробили висновок, що серед трьох рослин *M. balbisiana* виявили найшвидше біовідновлення, яке призвело до утворення стабільних наночасток срібла. Окрім того, було встановлено, що синтез наночасток срібла відбувся дуже швидко у порівнянні з загальним часом культивування (у перші 15 хвилин), проте навіть через 24 години після завершення реакції наночастки проявляли високі показники стабільності [168].

Окрім моніторингу та дослідження наночасток, даний метод використовується в біотехнології досить поширено: з його допомогою оцінюється концентрація кінцевого продукту. Окрім цього, він надає можливість оцінити продукт за бажаними характеристиками на будь-якому з етапів біотехнологічного

виробництва. Наприклад, за допомогою УФ-видимої спектроскопії є цілком можливим надати оцінку чистоти певного зразка, який містить у собі певну концентрацію нуклеїнової кислоти. Найпростіше це робиться за оцінкою співвідношення отриманих показників при поглинанні на довжинах хвиль 280 нм та 260 нм (максимум поглинання для нуклеїнових кислот). При поглинанні на більших довжинах хвиль можна стверджувати, що зразок є дуже каламутним через забруднення твердими частками, які спричиняють більше розсіювання світла [169].

Головною перешкодою у забезпеченні якісного та точного моніторингу та характеристики синтезованих наночасток, монодисперсних за розміром та формою, є те, що жодна з окремих наночасток не завжди є ідентичною за своєю атомною роздільною здатністю. Виходячи з цього, важливість оцінки та характеристики оптичних властивостей окремих наночасток в реакційному розчині для визначення оптичних властивостей цілої групи наночасток в тому самому розчині стоїть особливо гостро. Для вирішення даної проблеми застосування адаптованих та модифікованих методів електронної мікроскопії є оптимальним для визначення форм та розмірів окремих наночасток у пробі [170].

Скануюча електронна мікроскопія являє собою один із методів моніторингу та характеристики наночасток, вирішуючи описану вище проблему. Метод скануючої електронної мікроскопії є поверхнево-чутливою процедурою візуалізації, в основу якої покладено застосування електронного променя замість світлового, як це відбувається при методі світлового мікроскопіювання. Проте за своїм принципом роботи та конструкцією він нагадує звичайний оптичний мікроскоп за винятком того, що окрім збільшених зображень, результат його роботи додатково представлений у вигляді інформації про склад атомів разом з топографічною деталізацією аналізованих зразків. Це досягається за рахунок сканування зразка з наночастками за допомогою пучка електронів високої енергії: при взаємодії з поверхнею зразка розділяється на рентгенівське випромінювання та електрони різних типів. Виходячи з цього, застосування скануючої електронної спектроскопії може здійснюватися у трьох режимах: режимі зворотного

розсіювання (первинні зворотно-розсіюванні електрони, режимі вторинних електронів та режимі енергодисперсної спектроскопії рентгенівського випромінювання. Більше того, режим вторинних електронів використовується частіше з погляду на те, що саме вторинні електрони беруть участь у формуванні зображення з високою роздільною здатністю [170-171].

Даний підхід дозволяє вимірювати окремі наночастки, що в свою чергу може дати розуміння того, як фізичні параметри окремих наночасток впливають на їхні спектральні властивості. Єдиною критичною умовою у застосуванні скануючої електронної мікроскопії є правильна підготовка зразків шляхом обробки тонким шаром електропровідного матеріалу, якщо справа стосується наночасток неметалевої природи, оскільки існує ризик заломлення електронного променя і, як результат, отримання неточних даних та зображень.

Подібним до скануючої електронної мікроскопії за типом отриманих даних є метод трансмісійної електронної мікроскопії, який дозволяє отримати зображення кристалографічної структури зразка в наномасштабах. Таким чином, трансмісійна електронна мікроскопія використовується для оцінки наночасток на основі інформації, отриманої з контрастних зображень чітко визначених кристалічних площин про їх розмір, розподіл, форму та агрегатний стан. У літературі зустрічаються згадки про застосування цього методу для характеристики металевих наночасток, отриманих з розчинів срібла [172].

Визначеність кристалічних площин в трансмісійній електронній мікроскопії обумовлена тим, що аналізована площа мікроскопа становить лише декілька квадратних мікрометрів, що вважається суттєвим недоліком методу. Це перешкоджає широкому огляду зразка та вимагає не тільки ретельної підготовки зразка, але й місця для аналізу, при чому схожі вимоги висуваються й до скануючої електронної мікроскопії. Для здійснення кореляції між електронним та оптичним зображенням окремої наночастки застосовують маркерну систему, суть якої полягає у визначенні області подальшого аналізу. Повідомляється, що в якості маркера можуть використовуватися зовнішні елементи, такі як випадкові частинки пилу, або дефекти кристалічних підкладок, такі як незначні подряпини

за умовою, якщо ті знаходяться близько до самих наночасток. В іншому випадку застосовуються більш складні варіанти маркерів, такі як індексовані мідні сітки, прикріплені до підкладок [173].

Застосування технології інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є є досить поширеним в нанобіотехнології для виявлення, характеристики та визначення стабілізації наночасток різноманітної природи. Згідно з цим можна стверджувати, що даний метод використовується не тільки для ідентифікації матеріалів неорганічної природи, але й органічної та полімерної. Спектроскопія з перетворенням Фур'є виконується в середньому інфрачервоному діапазоні, в якому відбувається дослідження зміни в характерній картині смуг поглинання інфрачервоного випромінювання у досліджуваній пробі або зразку. Для кожного виду зразка будь-якої природи існують власні набори спектру поглинання, на основі інформації про зміни складу матеріалу або їх основні характеристики. Схематично класичний спектрофотометр для даного методу можна зобразити як комплекс із джерела світла, комірки для кювет зі зразками, детектора випромінювання, підсилювача, аналого-цифрового перетворювача та комп'ютерною системою з відповідною для вимірювання програмою. Особливо важливу роль в конструкції грають аналого-цифровий перетворювач та підсилювач, які відповідно посилюють та перетворюють цифровий сигнал, який до цього був згенерований детектором випромінювання. Після проходження через підсилювач, сигнал передається до комп'ютера, де здійснюється аналіз та обчислення [174].

У роботі Sadeghi та Gholamhoseinpoor в результаті дослідження спектрів рослинних екстрактів з листя *Z. tenuior* за допомогою інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, було виявлено різницю між спектрами екстрактів до та після біовідновлення й стабілізації наночасток срібла. З подальшого вивчення реакційного середовища, вчені зробили висновки про зв'язування срібних наночасток з білками, які покривають їх поверхню для стабілізації середовища та запобігання агломерації. Зв'язування, скоріш за все, викликано координацією між

іонами срібла та азотом амідної групи в структурі білків, що забезпечують кращу стабілізацію наночастинок в розчині [175].

Подібно до УФ-видимої спектроскопії, інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є має широке застосування у біофармацевтичному виробництві для контролю якості та стабільності препаратів різноманітного походження після їх обробки різними буферними розчинами та допоміжними речовинами або проведення процесу ліофілізації. На даний момент інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є в основному застосовується у якості якісного методу для біофармацевтичного аналізу, однак повідомляється, що він наразі розвивається у напрямку кількісного аналізу для структурних компонентів білків для тієї ж самої індустріальної сфери [169].

Grassi та ін. оцінили придатність інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є в індустріальному масштабі як частину системи критичних точок для моніторингу процесу молочнокислого бродіння *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* в реальному часі. Метою було виявлення молекулярних модифікацій в компонентах культуральної рідини, порівнюючи результати спектроскопії з еталонними показниками якості ферментаційного середовища (рівень рН, концентрація лактози, галактози, молочної кислоти, концентрація біомаси). Для оцінки розвитку сирної маси авторами було проведено класичні, реологічні та спектрофотометричні вимірювання зразків інокульованого знежиреного молока зі встановленим інтервалом протягом усього процесу бродіння. Вимірювання здійснювалося датчиками звичайних, вбудованими до конструкції ферментера, реометром та спектрофотометром, обладнаним зондом, який занурювали безпосередньо в зразки молока. Після проведення якісної та кількісної оцінки отриманих спектрів, було виявлено, що зібрані на початку біосинтезу зразки мали менші показники абсорбції у порівнянні зі спектрами зразків вже згорнутого молока, взятих на фінальних етапах ферментації. Це вказувало на чудову тенденцію позитивного розвитку сирної маси протягом молочнокислим бродіння, що робить інфрачервону спектроскопію з перетворенням Фур'є потенційно корисною

технологією для ефективного моніторингу культуральних рідин на великомасштабних виробництвах в якості альтернативи чи доповнення вже існуючих методів [176].

3.2 Методики контролю готового продукту

Значне збільшення кількості сторонніх мікроорганізмів у готовому продукті свідчить про те, що спалах інфекції може мати кілька причин. У цьому випадку слід проводити мікробіологічний контроль сировини, обладнання та трубопроводів, починаючи з чистокультурного цеху і закінчуючи готовим продуктом.

Переважна більшість косметичних засобів є комплексними емульсійними системами, їх склад включає рідкі та тверді жирові інгредієнти, воду та біологічно активні речовини. Більшість компонентів косметичних емульсій – це ефіри високомолекулярних спиртів і жирних кислот, які слугують субстратами для багатьох видів мікроорганізмів. Розвиток мікроорганізмів в косметиці супроводжується руйнуванням компонентів, що входять до її складу, а також накопиченням в емульсії продуктів розпаду і сполук, синтезованих мікроорганізмами в процесі життєдіяльності. Ці новоутворені речовини можуть негативно впливати на шкіру, оскільки властивості косметичного засобу змінюються [177].

Задля уникнення небажаної контамінації продуктів, в косметичній промисловості нерідко вдаються до застосування консервантів. Вибір того чи іншого типу консерванту залежить від сумісності з допоміжними речовинами та повинен відповідати нормативним вимогам країни, в якій локалізовано виробництво. Важливо відмітити, що важливим показником, який впливає на дію консерванту є рівень рН, оскільки він відіграє головну роль у визначенні антимікробної активності. При надмірному рівні рН існує ризик інактивації консерванту і, як результат, мікробного забруднення. Тому нерідко перевищення в цьому показнику в готовому продукті може вказувати на потенційне зниження якості виробу та терміну придатності [178].

Крем-гель за сенсорними та фізико-хімічними показниками має відповідати усім висунутим вимогам за нормативними протоколами. Перевірки повинні включати в себе наступні етапи:

- 1) Визначення сенсорних показників (зовнішній вигляд, однорідність і колір за допомогою сенсорних методів та здійснення легкого потирання зразка).
- 2) Визначення запаху (використовується сенсорний метод).
- 3) Визначення водневого показника рН (електрохімічні методи дослідження водного шару, виділеного з емульсії).
- 4) Визначення термостабільності (перевірка шляхом випробувань зразка крем-гелю в термостаті).
- 5) Визначення колоїдної стабільності (перевірка шляхом випробувань в термостаті та центрифугування).

У зв'язку з дедалі ширшим розповсюдженням застосування нанотехнологій у виробництвах індустріального масштабу, виникнення потреби у додаткових перевірках на токсичність та стерильність наночасток є цілком логічним з огляду на наявність потенційної шкоди для людини. Токсикологія наноматеріалів є порівняно новим напрямом, тому наразі дослідження на токсичність та стерильність наночасток стикаються з унікальними проблемами, оскільки стандартних біологічних та хімічних тестувань виявилось недостатньо для повного розуміння токсикологічної дії та умов її виникнення. Існуючі дослідження про потенційну токсичну дію наночасток, яка призводить до довгострокового токсичного впливу на біологічні системи та спричинення запалення тканин, є рушійною силою для розвитку токсикології, оскільки ці дані викликають все більшого занепокоєння у дослідників [179].

Було виявлено, що токсичність наночасток напряму залежить від їх характеристик: розміру, форми, складу, рівня дисперсії, властивостей поверхні тощо. Виходячи з цього, оцінка наночасток та їх аналіз на шкідливість йдуть пліч-о-пліч в процесі усього виробництва, оскільки моніторинг повинен здійснюватися зі встановленою періодичністю.

Як було згадано в підрозділі вище, властивості поверхні наночасток (склад, заряд, реакційна здатність тощо), можуть впливати на ступінь та спосіб їх взаємодії з біомолекулами та біологічними системами. Окрім того, розмір наночастинок може потенційно впливати на механізми в клітинах та тканинах, в найгірших випадках проявляючи себе через запускання процесів цитотоксичності, некрозу та мутагенності. Він також має вплив на стан дисперсійної системи наночасток, тобто на ступінь їх агломерації і подальшої проблеми у вигляді седиментації.

Переважно токсикологічний скрінінг – це низка перевірок, яка включає в себе збір існуючих даних про наночастки певного типу з доступної літератури або етикеток виробника (наприклад, порошоків), створення вибірки та власне визначення форми, розміру, дисперсності та властивості поверхні наночасток. Найкращим підходом до виявлення та оцінки цих характеристик є аналіз за допомогою спектроскопічних та мікроскопічних методів, описаних вище в минулому підрозділі. Проте одним з викликів до кількісного вимірювання властивостей наночасток все ще залишається їх схильність до змін з часом та через умови навколишнього середовища, які можуть призвести до агломерації [180].

Незважаючи на зростаючу потенційну шкоду матеріалів наномасштабу та розвиток у сфері якісної оцінки їх характеристик, інформації про їх токсикологічні властивості все ще залишається недостатньо, що перешкоджає моделюванню цілісного розуміння про реальні ризики тих чи інших наночасток та подібних до них структур. У цьому випадку виникає необхідність для запровадження більш точного підходу до моніторингу та аналізу наночасток та їх ефектів, а також готових продуктів, які їх містять. Для досягнення цієї мети є цілком дієвим поєднувати важливі дані, отриманих на основі досліджень поверхневого плазмонного резонансу, та інформацію, отриманих за рахунок застосування систем *in vivo* та *in vitro* [181].

Методи *in vitro* мають на увазі проведення оцінки токсичності наночасток з використанням клітинних ліній. Клітинні лінії піддають різноманітним

біологічним аналізом, такі як оцінка життєдіяльності клітин, цитотоксичність, визначення морфології та клітинної адгезії, метаболічні зрушення, вимір цитокінів, гемоліз, апоптоз, генотоксичність тощо [181-182]. Використання клітинних ліній для досліджень *in vitro* також є розповсюдженим для доклінічних оцінок на стерильність наночастинок та їх забруднення ендотоксинами грампозитивних бактерій. Результати токсикологічних тестів на визначення ендотоксинів є рішучими для здійснення рішення про біосумісність продукту, який містить у собі матеріали нанорозміру [183].

Окрім цього, серед тестів на цитотоксичність металевих наночастинок *in vitro* досить розповсюдженим є застосування МТТ-тесту, ціль якого полягає у вимірюванні активності дихальних ферментів у клітинних лініях. Також клітинні лінії можуть надати цінну інформацію про інтенсивність перенесення наночастинок через клітинну мембрану за рахунок застосування барвників для кращої візуалізації поглинання.

Rujaparun та ін. використовували у своєму дослідженні первинні еритроїдні клітини людини для проведення аналізу токсичної дії наночастинок срібла *in vitro*. Отримані результати продемонстрували значну цитотоксичну дію наночастинок срібла по відношенню до дослідної моделі клітин. Цитотоксична дія проявлялася у вигляді апоптозу значної кількості клітин у лінії та гемолітичного ефекту, а також надмірного вироблення активних форм кисню, що додатково впливало на пошкодження клітинних мембран [184].

Методи *in vivo* дозволяють проводити оцінку токсичності наночастинок у більш ширшому масштабі, переважно аналізуючи негативний вплив на тканини та органи. Проте кількість та різноманіття організмів, які можна включити в експеримент, є досить обмеженим з огляду на біоетичну концепцію 3R (reduction, refinement, replacement). На даний час тестування *in vivo* проводять на ряді організмів, включаючи гризунів (переважно миші), нематод, дрозофіли та деяких водних організмів, такі як рибки *Danio rerio*. Останні використовуються регулярніше за інші доклінічні моделі через достатньо високу гомологічність з геномом людини. Токсикологічні тести включають в себе оцінку життєдіяльності

клітин та структурні деформації тканин та органів після обробки наноматеріалами або препаратами, які містять їх у своєму складі [181, 185].

Упаковка косметичного продукту окрім становлення своєї ринкової привабливості, також несе одну з ключових ролей в підтримання якості продукту. Важливим фактором для забезпечення стабільності та безпечності крему є тестування кінцевого продукту на сумісність з упаковкою. Вона зазвичай перевіряється шляхом проведення тесту на зберігання, який може надати інформацію про як упаковки на продукт, так і продукту на упаковку. Несумісність упаковки з готовим продуктом виражається в ослабленні герметичності упаковки, частковому руйнуванню продукту, небажаних фотохімічних реакцій, сорбції, вилуговування, контамінації тощо. З'ясування всіх аспектів, які можуть вплинути на взаємодію між продуктом та упаковкою, можуть забезпечити відсутністю проблем у майбутньому та зведенню ризику для людини до мінімуму [186].

Оцінка матеріалів для пакування є важливим. В наш час існує широкий спектр пакувальних матеріалів, однак кожні з них мають свої переваги та недоліки. Найважливішим показником, на який перевіряється більшість упаковок, є чутливість до вологи, оскільки вода є одним з найголовніших джерел контамінування продуктів в індустріальній промисловості. Другим важливим показником є чутливість до фізичної деформації. Найкращим рішенням для пакування кремів є пластикові з пляшки або круглі контейнери з гвинтовими кришками. Основними перевагами таких упаковок є їх міцний корпус, доступна ціна та довговічність.

Висновки до розділу 3

Успіх проведення ферментації залежить від грамотного підходу до підбору оптимальних умов середовища для здійснення біосинтезу, тому важливим фактором є розуміння аспектів бродіння та як керувати цим процесом. Виходячи з цього, такі показники, як температура, рівень рН, концентрація кисню в культуральній рідині, щільність біомаси та багато інших факторів, повинні підтримуватися на задовільному для культивованого мікроорганізму рівні постійно аж до закінчення процесу. Забезпечення даною підтримкою здійснюється за рахунок ретельного моніторингу процесу біосинтезу на його контрольних точках. Моніторинг біосинтезу дозволяє уникнути будь-яких відхилень від значень оптимуму та своєчасно виправити ситуацію за рахунок комп'ютерних систем керування, датчиків й роботи операторів.

Контамінація культури клітин в ферментаційному середовищі та готових продуктів є однією з найкритичніших проблем, з якими може стикатися великомасштабне виробництво. Мікроорганізми та грибки є основними біологічними забруднювачами біотехнологічних, фармацевтичних та косметичних виробів. Вони спричинюють негативні ефекти на готовий продукт, які можуть проявлятися у зміні фізико-хімічних властивостей, зниженні якості та ефективності, а також спричиняти токсикологічну дію. Виявлення та моніторинг потенційних джерел контамінації є вирішальним; це досягається за рахунок проведення профілактичних робіт та жорсткому контролю стерильності виробництва відповідно до встановлених вимог.

Чітке розуміння властивостей наночасток при виробництві продуктів з їх вмістом для споживання людиною допомагає запобігти небажаних наслідків. Моніторинг синтезу та оцінка характеристик наночасток дозволяють визначити їх потенціальний токсикологічний ефект на споживача. Тести на взаємодію косметичних засобів з наночастками та наночасток в цілому з клітинами, тканинами та органами, а також на визначення форми, розміру, властивостей поверхні в реальному часі повинні бути введені в виробництво як обов'язкова та

неодмінна складова виробничого процесу перед тим, як продукт буде реалізований для продажу.

ВИСНОВКИ

Найбільший практичний інтерес для біосинтезу наночастинок срібла та церію викликають дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* як один з найбільш досліджених і широко використовуваних у промисловості мікроорганізмів. Біосинтез наночастинок у клітинах дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* пов'язаний зі структурою білків мембрани та ферментами. Таким чином, до переваг використання дріжджового синтезу можна віднести можливість використання безклітинних водних екстрактів, розмір одержуваних наночастинок, статичні умови синтезу, низьку температуру та коротку тривалість біосинтезу. Біотехнологічний синтез наночастинок має великі перспективи до промислового впровадження, адже є економічною та екологічною альтернативою хімічним і фізичним підходам.

1. В роботі проведений аналіз методів зеленого синтезу наночастинок срібла та церію за допомогою біологічних об'єктів, таких як рослинні екстракти, бактерії та дріжджі. Доведено, що саме зелений синтез за допомогою дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* дає змогу отримати наночастки срібла та церію визначеної форми та розміру, а також забезпечити їх ефективну біологічну дію.

2. Проведено обґрунтування вибору методу синтезу наночастинок срібла та церію з використанням штаму *Saccharomyces cerevisiae* УКМ-1995, вибору відповідного обладнання для отримання біомаси дріжджових клітин, отримання лізатів та проведення зеленого синтезу наночастинок срібла та церію, відділення супернатантів, що містять наночастки церію та срібла та методи контролю їх наявності.

3. Розроблено та сформовано блок-схему косметичного отримання крем-гелю з наночастинами срібла та церію із зазначенням всіх важливих стадій.

4. Наведено детальний опис кодної технологічної стадії виробництва із зазначенням відповідного обладнання та режимів проведення етапу, а саме температури, тривалості стадії, тиску, інтенсивності перемішування.

5. Обґрунтовано методи контролю на етапі виробництва та методи контролю готової продукції, що дозволяють максимально ефективно отримати якісну продукцію.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бурлака О. М., Пірко Я. В., Ємець А. І., Блюм Я. Б. «Зелений» синтез наночастинок металів: потенціал біологічних систем та перспективи розвитку. *Наноструктурное материаловедение*. 2012. Вип. 4. С. 89-103.
2. Singh S. H., Bozhilov K., Mulchandani A. et al. Biologically programmed synthesis of core-shell CdSe/ZnS nanocrystals. *Chem. Commun.* 2010. Vol. 46. P. 1473-1475.
3. Dahl J. A., Maddux B. L. S., Hutchison J. E. Toward greener nanosynthesis. *Chem. Rev.* 2007. Vol. 107. P. 2228-2269.
4. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.* 2011. Vol. 13. P. 2638-2650.
5. Mohanpuria P., Rana N., Yadav S. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *J. Nanopart. Res.* 2008. Vol. 10. P. 507-517.
6. Song J. Y., Kim B. S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 2009. Vol. 32. P. 79-84.
7. Lim J. S., Kim S. M., Lee S. Y. et al. Formation of Au/Pd alloy nanoparticles on TMV. *J. Nanomater.* 2010. Vol. 6. P. 620505-620511.
8. Mousavi R. A., Akhavan S. A., Fazeli M. R. Biosynthesis, purification and characterization of cadmium sulfide nanoparticles using *Enterobacteriaceae* and their application. *Nanomater. Appl. Proper.* 2012. Vol. 1, Issue 1. P. 1-5.
9. Ahmad A., Senapati S., Khan M. I. et al. Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora sp.* *Langmuir.* 2003. Vol. 19. P. 3550-3553.
10. Kumar S. A., Ayoobul A. A., Absar A., Khan M. I. Extracellular biosynthesis of CdSe quantum dots by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2007. Vol. 3. P. 190-194.
11. Marchiol L. Synthesis of metal nanoparticles in living plants. *Italian J. Agron.* 2012. Vol. 7, Issue 3. P. 274-282.

12. Anshup A., Venkataraman J. S., Subramaniam C. et al. Growth of gold nanoparticles in human cells. *Langmuir*. 2005. Vol. 21. P. 11562-11567.
13. Satyavani K., Ramanathan T., Gurudeeban S. Plant mediated synthesis of biomedical silver nanoparticles by using leaf extract of *Citrullus colocynthis*. *Res. J. Nanosci. Nanotechnol.* 2011. Vol. 1, Issue 2. P. 95-101.
14. Virkutyte J., Varma R. S. Green synthesis of metal nanoparticles: Biodegradable polymers and enzymes in stabilization and surface functionalization. *Chem. Sci.* 2011. Vol. 2. P. 837-846.
15. Mukherjee P., Senapati S., Mandal D. et al. Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. *Chem. Bio. Chem.* 2002. Vol. 3. P. 461-463.
16. Shahverdi A., Minaeian S., Shahverdi H. R. et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of *Enterobacteria*: a novel biological approach. *Proc. Biochem.* 2007. Vol. 42. P. 919-923.
17. Xie J., Lee J. Y., Wang D. I. C., Ting Y. P. Silver nanoplates: from biological to biomimetic synthesis. *ACS Nano*. 2007. Vol. 1. P. 429-439.
18. Li S., Shen Y., Xie A. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annuum L.* extract. *Green Chem.* 2007. Vol. 9. P. 852-858.
19. Harris A. T., Bali R. *J. Nanoparticle Res.* 2008. Vol. 10. P. 691–695
20. Gardea-Torresdey J. L., Parsons J., Gomez E., Peralta-Videa J., Troiani H., Santiago P., Yacaman M. *Nano Lett.* 2002. Vol. 2. P. 397-401.
21. Manceau A., Nagy K. L., Marcus M. A., Lanson M., Geoffroy N., Jacquet T., Kirpichtchikova T. *Environ. Sci. Technol.* 2008. Vol. 42. Issue 5. P. 1766-1772.
22. Shiv Shankar S., Ahmad A., Sastry M. *Biotechnol. Prog.* 2003. Vol. 19. P. 1627-1631.
23. Shiv Shankar S., Ahmad A., Pasricha R., Sastry M. *J. Mater. Chem.* 2003. Vol. 13. P. 1822-1846.
24. Shiv Shankar S., Rai A., Ahmad A., Sastry M. *J. Colloid. Interface. Sci.* 2004. Vol. 275. P. 496–502.

25. Maensiri S., Laokul P., Klinkaewnarong J., Prokha S., Promark V., Seraphin S. *Optoelectronics Advanced Materials*. 2008. Vol. 2. P. 161-165.
26. Vilchis-Nestor A. R., Sanchez-Mendieta V., Camacho-Lopez M. A., Gomez-Espinosa R. M., Camacho-Lopez M. A., Arenas-Alatorre J. A. *Mater. Lett.* 2008. Vol. 62. P. 3103-3105.
27. Raveendran P., Fu J., Wallen S. L. *Am. Chem. Soc.* 2003. Vol. 125. Issue 46. P. 13940-13941.
28. Fang, X., Wang, Y., Wang, Z., Jiang, Z., & Dong, M. Microorganism assisted synthesized nanoparticles for catalytic applications. *Energies*. 2019. Vol. 12. Issue 1. P. 190-191.
29. Rautela A., Rani J., Das M. D. Green synthesis of silver nanoparticles from *Tectona grandis* seeds extract: characterization and mechanism of antimicrobial action on different microorganisms. *Journal of Analytical Science and Technology*. 2019. Vol 10. Issue 5.
30. Gahlawat G., Choudhury A. R. A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Advances*. 2019. Vol. 9. Issue 23. P. 12944-12967.
31. Selvarajan E., Mohanasrinivasan V. Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Lactobacillus plantarum* VITES07. *Materials Letters*. 2013. Vol. 112. P. 180-182.
32. Fatemi M., Mollania N., Momeni-Moghaddam M., Sadeghifar F. Extracellular biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles by *Bacillus cereus* strain HMH1: Characterization and in vitro cytotoxicity analysis on MCF-7 and 3T3 cell lines. *Journal of Biotechnology*. 2018. Vol. 270. P. 1-11.
33. Schlüter M., Hentzel T., Suarez C., Koch M., Lorenz W. G., Bohm L., During R. A., Koinig K. A., Bunge M. Synthesis of novel palladium (0) 325 nanocatalysts by microorganisms from heavy-metal-influenced high-alpine sites for dehalogenation of polychlorinated dioxins. *Chemosphere*. 2014. Vol. 117. P. 462-470.

34. Tomer A. K., Rahi T., Neelam D. K., Dadheech P. K. Cyanobacterial extract-mediated synthesis of silver nanoparticles and their application in ammonia sensing. *International Microbiology*. 2019. Vol. 22 Issue 1. P. 49-58.
35. Ghiuță I., Cristea D., Croitoru C., Kost J., Wenkert R., Vyrides I., Anayiotos A., Munteanu D. Characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesized using *Bacillus species*. *Applied Surface Science*. 2018. Vol. 438. P. 66-73.
36. Allam N. G., Ismail G. A., El-Gemizy W. M., Salem M. A. Biosynthesis of silver nanoparticles by cell-free extracts from some bacteria species for dye removal from wastewater. *Biotechnology Letters*. 2019. Vol. 41. Issue 3. P. 379-389.
37. Buszewski B., Railean-Plugaru V., Pomastowski P., Rafińska K., Szultka Mlynska M., Golinska P., Dahm H. Antimicrobial activity of biosilver nanoparticles produced by a novel *Streptacidiphilus durhamensis* strain. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2018. Vol. 51. Issue 1. P. 45-54.
38. Gan L., Zhang S., Zhang Y., He S., Tian, Y. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles by a halotolerant *Bacillus endophyticus SCU-L*. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 2018. Vol. 48. Issue 7. P. 582-588.
39. Li J., Tian B., Li T., Dai S., Weng Y., Lu J., Xu X., Jin Y., Pang R., Hua Y. Biosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using protein extracts of *Deinococcus radiodurans* and evaluation of their cytotoxicity. *International Journal of Nanomedicine*. 2018. Vol. 13. P. 1411-1412.
40. Lv Q., Zhang B., Xing X., Zhao Y., Cai R., Wang W., Gu Q. Biosynthesis of copper nanoparticles using *Shewanella loihica PV-4* with antibacterial activity: Novel approach and mechanisms investigation. *Journal of Hazardous Materials*. 2018. Vol. 347. P. 141-149.
41. Taran M., Rad M., Alavi M. Antibacterial activity of copper oxide (CuO) nanoparticles biosynthesized by *Bacillus sp. FU4*: Optimization of experiment design. *Pharmaceutical sciences*. 2017. Vol. 23. Issue 3. P. 198-206.

42. Kimber R. L., Lewis E. A., Parmeggiani F., Smith K., Bagshaw H., Starborg T., Smith K., Joshi N., Pisueroa A. I., Van der Laan G., Cibir G., Gianolio D., Haigh S. J., Patrick R., Turner N. J., Lloyd J. R. Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles using *Shewanella oneidensis*: application for click chemistry. *Small*. 2018. Vol. 14. Issue 10. P. 1703145-1703146.
43. Sharma K. D. Antifungal activity of biogenic platinum nanoparticles: an *in vitro* study. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017. Vol. 6. Issue 4. P. 334-340.
44. Mohanasrinivasan V., Devi C. S., Mehra A., Prakash S., Agarwal A., Selvarajan E., Naine S. J. Biosynthesis of MgO nanoparticles using *Lactobacillus* sp. and its activity against human leukemia cell Lines *HL-60*. *BioNanoScience*. 2018. Vol. 8. Issue 1. P. 249-253.
45. Shakibaie M., Amiri-Moghadam P., Ghazanfari M., Adeli-Sardou M., Jafari M., Forootanfar H. Cytotoxic and antioxidant activity of the biogenic bismuth nanoparticles produced by *Delftia* sp. *SFG. Materials Research Bulletin*. 2018. Vol. 104. P. 155-163.
46. San Diego K. D., Alindayu J. I. A., Baculi R. Q. Biosynthesis of gold nanoparticles by bacteria from hyperalkaline spring and evaluation of their inhibitory activity against pyocyanin production. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2019. Vol. 9. Issue 2. P. 781-787.
47. Bakir E., Younis N., Mohamed M., El Semary N. Cyanobacteria as nanogold factories: chemical and anti-myocardial infarction properties of gold nanoparticles synthesized by *Lyngbya majuscula*. *Marine Drugs*. 2018. Vol. 16. Issue 6. P. 217-218.
48. Gupta R., Padmanabhan P. Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by a novel marine bacterium *Marinobacter algicola*: progression from nanospheres to various geometrical shapes. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2018. Vol. 8. Issue 1. P. 732-734.

49. Yates M. D., Cusick R. D., Logan B. E. Extracellular palladium nanoparticle production using *Geobacter sulfurreducens*. *Acs Sustainable Chemistry and Engineering*. 2013. Vol. 1. Issue 9. P. 1165-1171.
50. Wu R., Tian X., Xiao Y., Ulstrup J., Christensen H. E. M., Zhao F., Zhang J. Selective electrocatalysis of biofuel molecular oxidation using palladium nanoparticles generated on *Shewanella oneidensis MR-1*. *Journal of Materials Chemistry A*. 2018. Vol. 6. Issue 23. P. 10655-10662.
51. Zhang H., Hu X. Rapid production of Pd nanoparticle by a marine electrochemically active bacterium *Shewanella sp. CNZ-1* and its catalytic performance on 4-nitrophenol reduction. *RSC Advances*. 2017. Vol. 7. Issue 65. P. 41182-41189.
52. Wang Z., Li Q., Chen Y., Cui B., Li Y., Besenbacher F., Dong, M. The ambipolar transport behavior of *WSe 2* transistors and its analogue circuits. *NPG Asia Materials*. 2018. Vol. 10. Issue 8. P. 703-712.
53. Zhang H., Hu X. Biosynthesis of Pd and Au as nanoparticles by a marine bacterium *Bacillus sp. GP* and their enhanced catalytic performance using metal oxides for 4-nitrophenol reduction. *Enzyme and Microbial Technology*. 2018. Vol. 113. P. 59-66.
54. Reverberi A. P., Vocciante M., Lunghi E., Pietrelli L., Fabiano B. New trends in the synthesis of nanoparticles by green methods. *Chemical Engineering Transactions*. 2017. Vol. 61. P. 667-672.
55. Singh V. K., Singh A. K. Role of microbially synthesized nanoparticles in sustainable agriculture and environmental management. In *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology*. 2019. Vol. 1. P. 55-73.
56. Presentato A., Piacenza E., Anikovskiy M., Cappelletti M., Zannoni D., Turner R. J. Biosynthesis of selenium-nanoparticles and-nanorods as a product of selenite bioconversion by the aerobic bacterium *Rhodococcus aetherivorans BCPI*. *New biotechnology*. 2018. Vol. 41. P. 1-8.

57. Wadhvani S. A., Shedbalkar U. U., Singh R., Chopade, B. A. Biosynthesis of gold and selenium nanoparticles by purified protein from *Acinetobacter sp. SW 30*. *Enzyme and Microbial Technology*. 2018. Vol. 111. P. 81-86.
58. Zhu Y., Ren B. Li H., Lin Z., Banuelos G., Li L., Zhao G., Guo Y. Biosynthesis of selenium nanoparticles and effects of selenite, selenate, and selenomethionine on cell growth and morphology in *Rahnella aquatilis HX2*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018. Vol. 2. Issue 14. P. 6191-6205.
59. Mesbahi-Nowrouzi M., Mollania N. Purification of selenate reductase from *Alcaligenes sp. CKCr-6A* with the ability to biosynthesis of selenium nanoparticle: Enzymatic behavior study in imidazolium based ionic liquids and organic solvent. *Journal of Molecular Liquids*. 2018. Vol. 249. P. 1254-1262.
60. Skalickova S., Baron M., Sochor J. Nanoparticles biosynthesized by yeast: a review of their application. *KvasnyPnnn*. 2017. Vol. 63. Issue 6. P. 290-292.
61. Shu M., He F., Li Z., Zhu X., Ma Y., Zhou Z., Yang Z., Gao F., Zeng M. Biosynthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using yeast extract as reducing and capping agents. *Nanoscale Res. Lett.* 2020. Vol. 15. Issue 14. P. 1-9.
62. Mehrotra N., Tripathi R. M., Zafar F., Singh M P. Catalytic Degradation of dichlorvos using bio synthesized zero valent iron nanoparticles. *IEEE Trans. Nanobioscience*. 2017. Vol. 16. Issue 4. P. 280-286.
63. Zamani II., Jafari A., Mousavi S. M., Darezereshki E. Biosynthesis of silica nanoparticle using *Saccharomyces cerevisiae* and its application on enhanced oil recovery. *J. Pet. Sci. Eng.* 2020. Vol. 190. P. 107002-107007.
64. Faramarzi S., Anzabi Y., Jafarizadeh-Malmiri H. Nanobiotechnology approach in intracellular selenium nanoparticle synthesis using *Saccharomyces cerevisiae* – fabrication and characterization. *Arch. Microbiol.* 2020. Vol. 202. Issue 5. P. 1203-1209.
65. Lian S., Ейко С. S., Yan Y., Li I., Zhang H., Ma Q., Qu Y. Characterization of biogenic selenium nanoparticles derived from cell-free extracts of a novel yeast *Magnusiomyces ingens*. *3 Biotech.* 2019. Vol. 9. Issue 6. P. 221-222.

66. Vignesh H., Vismu V., Balakumar P., Raguram T., Rajni K. S. Structural and magnetic properties of cobalt ferrite (CoFe₂O₄) nanoparticles by sol-gel technique using yeast. *Materials Science and Engineering*. 2019. Vol. 577. P. 2011-2018.
67. Chauhan R., Reddy A., Abraham J. Biosynthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using *Pichia fermentans* JA2 and their antimicrobial property. *Appl. Nanosci.* 2015. Vol. 5. P. 63-71.
68. Jones K. E., Patel N. G., Levy M. A. Global trends in emerging infectious diseases, *Nature*. 2008. Vol. 451. P. 990-993.
69. Kotsyuba K. R., Voronkova O. S., Vinnikov A. I., Shevchenko T. M. Механізми стійкості до антибіотиків представників родини Enterobacteriaceae. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2014. 5(1), 33-38..
70. Антисептики у профілактиці і лікуванні інфекцій / Г. К. Палій, Т. О. Ковет, В. Г. Палій та ін. ; Київ : Здоров'я, 1997. 201 с.
71. Фещенко Ю. І. Рациональна антибіотикотерапія хворих на інфекції нижніх дихальних шляхів. *Український пульмонологічний журнал*. 2009. Вип. 4. С. 5-8.
72. Ульберг З. Нанотехнології в медицині: роль колоїдно-хімічних процесів. *Вісник НАН України*. 2008. Вип. 8. С. 28-41.
73. Цехмістренко, С. І., Бітюцький, В. С., Цехмістренко, О. С., Демченко, О. А., Тимошок, Н. О., & Мельниченко, О. М. Використання наночастинок. Київ: Наукова думка, 2022. С. 167-249.
74. Rizzello L., Cingolani R., Pompa P. P., Rizzello L. Nanotechnology tools for antibacterial materials. *Nanomedicine (Lond)*. 2013. Vol. 8. Issue 5. P. 807-821.
75. Щербаков О. Б., Корчак Г. І., Сурмашева О. В. Препарати срібла: вчора, сьогодні і завтра. *Фармацевтичний журнал*. 2006. Вип. 5. С. 45-57.
76. Sigma-Aldrich Online Catalog. *Sigma-Aldrich*. URL: www.sigmaaldrich.com/catalog/AdvancedSearchPage.do (дата звернення: 12.08.2022).
77. Щерба А. А., Захарченко С. Н., Лопатько К. Г. Розрядноімпульсні системи виробництва наноколоїдних розчинів біологічно активних металів

методом об'ємного електроіскрового диспергування. *Праці ІЕД НАНУ*. 2010. Вип. 26. С. 152-160.

78. Theivasanthi T., Alagar M. Studies of silver nanoparticles effects on microorganisms. *Ann. Biol. Res.* 2011. Vol. 2. Issue 3. P. 82-87.

79. Martinez-Gutierrez F., Boegli L., Agostinho A. et al. Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *Biofouling*. 2013. Vol. 29. Issue 6. P. 651-660.

80. Сердюк А. М., Міхієнкова А. І., Сурмашева Е. В. Антимікробна активність наночасток срібла в стабілізованих розчинах і в композиційній системі на основі високодисперсного кремнезема. *Профілактична медицина*. 2009. Вип. 4. С. 12-17.

81. Sadeghi B., Jamali M., Kia Sh. et al. Synthesis and characterization of silver nanoparticles for antibacterial activity. *Int. J. Nano. Dim.* 2010. Vol. 1. Issue 2. P. 119-124.

82. Shameli K., Bin Ahmad M., Zargar M. et al. Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bio-nanocomposites by chemical reduction method and their antibacterial activity. *Int. J. Nanomedicine*. 2011. Vol. 6. P. 271-284.

83. E. de Souza, Silva J. M., Pastorello M. Selective synthesis of silver nanoparticles onto potassium hexaniobate: structural organisation with bactericidal properties. *Chemphyschem*. 2013. Vol. 14. Issue 18. P. 4075-4083.

84. Martinez-Gutierrez F., Boegli L., Agostinho A. et al. Selective synthesis of silver nanoparticles onto potassium hexaniobate: structural organisation with bactericidal properties. *Biofouling*. 2013. Vol. 29. Issue 6. P. 651-660.

85. Мовчан Б. А. Электроно-променева нанотехнологія і нові матеріали в медицині – перші кроки. *Вісник фармакології та фармації*. 2007. Вип. 12. С. 5-13.

86. Мовчан Б. О., Чекман І. С., Білоус С. Б. Антибактеріальна активність нового фармацевтичного інгредієнта – наноконпозиції срібла. *Профілактична медицина*. 2014. Вип. 2. С. 7-14.

87. Jain J., Arora S., Rajwade J. M. et al. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. *Mol. Pharm.* 2009. Vol. 66. Issue 5. P. 1388-1401.
88. Arokiyaraj S., Arasu M. V., Vincent S. Rapid green synthesis of silver nanoparticles from *Chrysanthemum indicum L* and its antibacterial and cytotoxic effects: an *in vitro* study. *Int. J. Nanomedicine.* 2014. Vol. 9. P. 379-388.
89. Reddy N. J., Nagoor Vali D., Rani M. Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by *Piper longum* fruit. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* 2014. Vol. 34. P. 115-122.
90. Jain J., Arora S., Rajwade J. M. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. *Mol. Pharm.* 2009. Vol. 66. Issue 5. P. 1388-1401.
91. Di Giulio M., Di Bartolomeo S., Di Campi E. The effect of a silver nanoparticle polysaccharide system on streptococcal and saliva-derived biofilms. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. Issue 7. P. 13615-13625.
92. Seth D., Choudhury S. R., Pradhan S. Nature-inspired novel drug design paradigm using nanosilver: efficacy on multi-drug-resistant clinical isolates of tuberculosis. *Curr. Microbiol.* 2011. Vol. 62. Issue 3. P. 715-726.
93. Mohanty S., Jena P., Mehta R. Cationic antimicrobial peptides and biogenic silver nanoparticles kill mycobacteria without eliciting DNA damage and cytotoxicity in mouse macrophages. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. Vol. 57. Issue 8. P. 3688-3698.
94. Андрейчин М. А., Бігуняк В. В., Дем'яненко В. В. Таємнича хвороба Моргелонів. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* 2010. Вип. 6. С. 5-10.
95. Jain J., Arora S., Rajwade J. M. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. *Mol. Pharm.* 2009. Vol. 66. Issue 5. P. 1388-1401.
96. Wells T. N., Scully P., Paravicini G. Mechanism of irreversible inactivation of phosphomannose isomerases by silver ions and flomoxone. *Biochemistry.* 1995. Vol. 34. Issue 24. P. 7896-7903.

97. Ghosh I. N., Patil S. D., Sharma T. K. Synergistic action of cinnamaldehyde with silver nanoparticles against spore-forming bacteria: a case for judicious use of silver nanoparticles for antibacterial applications. *Int. J. Nanomedicine*. 2013. Vol. 8. P. 4721-4731.
98. Mei L., Lu Z., Zhang W. Bio-conjugated nanoparticles for attachment and penetration into pathogenic bacteria. *Biomaterials*. 2013. Vol. 34. Issue 38. P. 10328-10337.
99. Fayaz A. M., Balaji K., Girilal M. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine*. 2010. Vol. 6. Issue 1. P. 103-109.
100. Theivasanthi T., Alagar M. Theivasanthi T. Studies of silver nanoparticles effects on microorganisms. *Ann. Biol. Res*. 2011. Vol. 2. Issue 3. P. 82-87.
101. Roy R., Hoover M. R., Bhalla A. S. Ultradilute Ag-aquasols with extraordinary bactericidal properties: role of the system Ag-O-H₂O. *Mat. Res. Innovations*. 2007. Vol. 11. Issue 1. P. 3-18.
102. Патон Б. Є., Мовчан Б. О., Курапов Ю. А., Яковчук К. Ю. Пат. 92556 Україна, МПК В82В 3/00, С23С 14/24, С23С 14/54. Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі; опубл. 10.11.10, Бюл. № 21.
103. Chernousova S., Epple M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2013. Vol. 52. Issue 6. P. 1636-1653.
104. Zhao X., Toyooka T., Ibuki Y. Synergistic bactericidal effect by combined exposure to Ag nanoparticles and UVA. *Sci. Total. Environ.* 2013. Vol. 458-460. P. 54-62.
105. Li J., Rong K., Zhao H. Highly selective antibacterial activities of silver nanoparticles against *Bacillus subtilis*. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2013. Vol. 13. Issue 10. P. 6806-6813.
106. Bondarenko O., Ivask A., Kakinen A. Particle-cell contact enhances antibacterial activity of silver nanoparticles. *PLoS One*. 2013. Vol. 8. Issue 5. P. 1-12.

107. Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram- negative bacteria. *J. Colloid Interface Sc.* 2004. Vol. 275. Issue 1. P. 177-182.
108. Hwang I. S., Lee J., Hwang J. H. Silver nanoparticles induce apoptotic cell death in *Candida albicans* through the increase of hydroxyl radicals. *FEBS J.* 2012. Vol. 279. Issue 7. P. 1327-1338.
109. Rai M. K., Deshmukh D., Ingle A. P. Silver nanoparticles: the powerful nano-weapon against multidrug-resistant bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2012. Vol. 112. Issue 5. P. 841-852.
110. Kang F., Alvarez P. J., Zhu D. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 2014. Vol. 48. Issue 1. P. 316-322.
111. Vazirov R., Vazirov S., Ulitko M. Radiomodification of cell cultures of line Hela by cerium oxide nanoparticles to X-ray irradiation. *Radiation and Applications.* 2017. Vol. 2. Issue. 2. P. 139-141.
112. Жолобак, Н. М., Олевінська З. М., Співак Н. Я. та ін. Антивірусна дія наночасток оксиду церію, стабілізованих низькомолекулярною поліакриловою кислотою. *Мікробіологічний журнал.* 2010. Вип. 72. С. 42-47.
113. Щербаков А. Б., Жолобак Н. М., Иванов В. К., Третьяков Ю. Д., Співак Н. Я. Наноматеріали на основі діоксида церія: свойства и перспективы использования в биологии и медицине. *Biotechnologia Acta.* 2011. Вып. 4. С. 9-28.
114. Heckert E.G., Karakoti A. S., Seal S., Self W. T. The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanocerium. *Biomaterials.* 2008. Vol. 29. Issue. 18. P. 2705-2709.
115. Kasemets K., Kaosaar S., Vija H., Fascio U., Mantecca P. Toxicity of differently sized and charged silver nanoparticles to yeast *Saccharomyces cerevisiae* BY4741: a nano-bio interaction perspective. *Nanotoxicology.* 2019. Vol. 10. Issue 6. P. 1-40.

116. Sahib F. H., Aldujaili N. H., Alrufae M. M. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces boulardii* and study their biological activities. *Eur. J. Pharm. Med. Res.* 2017. Vol. 4. Issue 9. P. 65-74.
117. Das R. K., Pachapur V. L., Lonappan L., Naghdi M., Pulicharla R., Maiti S., Brar S. K. Biological synthesis of metallic nanoparticles: plants, animals and microbial aspects. *Nanotechnology for Environmental Engineering.* 2017. Vol. 2. Issue 1. P. 18-19.
118. Tsekhmistrenko S., Bityutskyy V., Tsekhmistrenko O., Merzlov S., Tymoshok N., Melnichenko A., Yakymenko I. Bionanotechnologies: synthesis of metals' nanoparticles with using plants and their applications in the food industry: a review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences.* 2021. Vol. 10. Issue 6. P. 13-15.
119. Makarov V. V., Love A. J., Sinitsyna O. V., Makarova S. S., Yaminsky I. V., Taliansky M. E., Kalinina N. O. "Green" nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae.* 2014. Vol. 6. Issue 20. P. 35-44.
120. Fang X., Wang Y., Wang Z., Jiang Z., Dong M. Microorganism assisted synthesized nanoparticles for catalytic applications. *Energies.* 2019. Vol. 12. Issue 1. P. 190-191.
121. Полова Ж. М., Попович В. П., Глуховський П. В. Використання нанорозмірних мікроелементів як активних складових косметичних препаратів. *Технологія виробництва ліків.* 2012. Вип. 1 С. 74-77.
122. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків. Навчальний посібник / за ред. І. М. Перцева. Вінниця: Нова книга, 2007. 728 с.
123. Shayne Cox Gad. *Pharmaceutical Manufacturing Handbook. Production and Processes: Canada,* 2008. p.1384
124. Yamakoshi T., Makino T., Matsunaga K. Efficacy of chlorhexidini gluconate ointment for experimentally induced comedones. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology.* 2012. Vol. 5. P. 79-83.

125. Huang Z. R., Lin Y. K., Fang J. Y. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*. 2009. Vol. 14. Issue 1. P. 550-554.
126. Gaspar L. R., Camargo F. B., Gianeti M. D., Campos M. Evaluation of dermatological effects of cosmetic formulations containing *Saccharomyces cerevisiae* extract and vitamins. *Food and Chemical Toxicology*. 2008. Vol. 46. Issue 11. P. 3493-3500.
127. Ohya Y., Kimori Y., Okada H., Ohnuki S. Single-cell phenomics in budding yeast. *Molecular Biology of the Cell*. 2017. Vol. 26. Issue 22. P. 3920-3925.
128. Reis V. R., Guarnieri A. P., Gomes da Silva J. C., Ceccato-Antonini S. R. Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* yeast exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation. *Industrial Microbiology*. 2013. Vol. 44. Issue 4. P. 1121-1131.
129. Klis F. M., Boorsma A., De Groot P. W. J. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. 2006. Vol. 23. Issue 3. P. 185-202.
130. Jansen M. L. A. et al. *Saccharomyces cerevisiae* strains for second-generation ethanol production: from academic exploration to industrial implementation. *FEMS Yeast Research*, 2017. Vol. 17. Issue 5. P. 1-20.
131. Etienne-Mesmin L. et al. Effect of a New Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* Strain on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in a Dynamic Gastrointestinal Model. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011. Vol. 77. Issue 3. P. 543-547.
132. Rajkowska K. Probiotic Activity of *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* Against Human Pathogens. *Food Tech. and Biotech.* 2012. Vol. 50. Issue 2. P. 230-236.
133. Czerucka D., Rampal P. Experimental effects of *Saccharomyces bouardii* on diarrheal pathogens. *Microbes and Infection*. 2002. Vol. 4. Issue 7. P. 733-739.
134. Kuila A., Sharma V. Principles and Applications of Fermentation Technology: Hoboken, 2018. p. 459.

135. Stanbury P. F., Whitaker A., Hall S. J. Principles of Fermentation Technology (Third Edition) : London, 2016. p. 803.

136. Ali S., Rafique A., Ahmed M., Sakandar S. Different Types of Industrial Fermenters and Their Associated Operations for the Mass Production of Metabolites. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 2018. Vol. 5. Issue 5. P. 109-119.

137. Boswell C. D., Nierow A. W., Hewitt C. J. Studies on the Effect of Mechanical Agitation on the Performance of Brewing Fermentations: Fermentation Rate, Yeast Physiology, and Development of Flavor Compounds. *J. of the American Society of Brewing Chemists*. 2002. Vol. 60. Issue 3. P. 101-106.

138. Biostat® B-DCU: The Industry Standard Bioreactor for Advanced Process Optimization and Characterization. *Sartorius AG*. URL: <https://www.sartorius.com/en> (дата звернення: 08.10.2022).

139. Dahod S. K., Greasham R., Kennedy M. Raw Materials Selection and Medium Development for Industrial Fermentation Processes. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology (Third Edition)* / Baltz R. H. Washington, 2010. P. 659-668.

140. Guilherme A. A., Pinto G. A. S., Rodrigues S. Optimization of Trace Metals Concentration on Citric Acid Production by *Aspergillus niger* NRRL 2001. *Food and Bioprocess Technology*. 2008. Vol. 1 P. 246-253.

141. Jamir L., Kumar V., Kaur J., Kumar S., Singh H. Composition, valorization and therapeutical potential of molasses: a critical review. *Env. Tech. Rev.* 2021. Vol. 10. Issue 1. P.131-142.

142. Balakumar S., Arasaratnam V. Osmo-, thermo- and ethanol- tolerances of *Saccharomyces cerevisiae* S1. *Industrial Microbiology*. 2012. Vol. 43. Issue 2. P. 157-166.

143. Liofichem Catalog. *Liofichem*. URL: <https://www.liofichem.com/products/liofichem-products.html> (дата звернення: 17.10.2022).

144. Inline-dispersers Products. *IKA*. URL: <https://www.ikaprocess.com/en/Products/Inline-dispersers-Mills-dispersing-machine-high-shear-cph-6/> (дата звернення: 13.11.2022).
145. HOMMAK F-HM20 Homogenizer. *HOMMAK*. URL: <https://www.hommak.com/en/product/hommac-f-hm20-homogenizer/> (дата звернення: 13.11.2022).
146. Romaco Powder and Liquid Filling. *Romaco beyond technology*. URL: <https://www.romaco.com/products/powder-liquid-filling> (дата звернення: 13.11.2022).
147. Vogel H. C., Todaro C. C. Fermentation and Biochemical Engineering Handbook (Third Edition) : Oxford, 2014. p. 434.
148. Flottweg Separators. *Flottweg*. URL: <https://www.flottweg.com/product-lines/separator/> (дата звернення: 14.11.2022).
149. Alfa Laval BTPX. *Alfa Laval*. URL: <https://www.alfalaval.com/products/separation/centrifugal-separators/separators/btpx/> (дата звернення: 14.11.2022).
150. Jacketed Stainless Steel Centrifuge XTC-100. USALab. URL: <https://www.usalab.com/usa-lab-jacketed-stainless-steel-centrifuge-xtc-100/> (дата звернення: 14.11.2022).
151. Kharchenko Y. et al. Antibacterial Activity of Green Synthesised Silver Nanoparticles on *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Sci.* 2022. Vol. 12. Issue 7. P. 1-11.
152. Tribble A. C. Fundamentals of Contamination Control: Washington, 2000. p. 196.
153. Halla N. et al. Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. *Molecules*. 2018. Vol. 23. Issue 7. P. 1571-1576.
154. Alford J. S. Bioprocess control: Advances and challenges. *Comp. & Chem. Engineering*. 2006. Vol. 30. Issue 10. P. 1464-1475.
155. Brooks S. L. et al. Development of an On-line Glucose Sensor for Fermentation Monitoring. *Biosensors*. 1988. Vol. 3. Issue 1. P. 45-56.

156. Cooney C. L., Wang. H. Y., Wang. D. I. C. Computer-aided material balancing for prediction of fermentation parameters. *Biotechnology and Bioengineering*. 2006. Vol. 95. Issue 2. P. 327-332.
157. Wittmann C., Liao J. C. *Industrial Biotechnology: Products and Processes*: Weinheim, 2016. p. 597.
158. Hakkaart X. et. al. Physiological responses of *Saccharomyces cerevisiae* to industrially relevant conditions: Slow growth, low pH, and high CO₂ levels. 2019. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 117. Issue 3. P. 721-735.
159. Hocalar A., Turker M., Karakuzu C., Yuzgec U. Comparison of different estimation techniques for biomass concentration in large scale yeast fermentation. *ISA Transactions*. 2011. Vol. 50. Issue 2. P. 303-314.
160. Roda A. et al. Biotechnological applications of bioluminescence and chemiluminescence, *Trends in Biotechnology*. 2004. Vol. 22. Issue 6. P. 295-303.
161. Hewitt C. J., Nebe-Von-Caron G. The Application of Multi-Parameter Flow Cytometry to Monitor Individual Microbial Cell Physiological State. *Physiological Stress Responses in Bioprocesses*. 2004. Vol. 89. P. 197-223.
162. Belini V. L., Wiedemann P., Sulu H. *In situ* microscopy: A perspective for industrial bioethanol production monitoring. *J. of Microbiological Methods*. 2013. Vol. 93. Issue 3. P. 224-232.
163. Lindner P. et al. Application of *in situ* Microscopy and Digital Image Processing in Yeast Cultivations. *IFAC Proceeding Volumes*. 2007. Vol. 40. Issue 4. P. 249-254.
164. Krishnaraj C. Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010. Vol. 76. Issue 1. P. 50-56.
165. Rocha F. S. et al. Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy – UV-Vis. *The Canadian Journal of Chem. Engineering*. 2018. Vol. 96. Issue 12. P. 2512-2517.
166. Banerjee P., Satapathy M., Mukhopahayay A., Das P. Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants:

synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bioresources and Bioprocessing*. 2014. Vol. 1. Issue 3. P. 32-43.

167. Hills A. E. Spectroscopy in Biotechnology Research and Development. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)* / Lindon J. London, 2017. P. 198-202.

168. Chekli L. et al. Analytical characterisation of nanoscale zero-valent iron: A methodological review. *Analytica Chimica Acta*. 2016. Vol. 903. P. 13-35.

169. Johal M. S. Understanding Nanomaterials: Boca Raton, 2011. p. 45.

170. Lee D. K., Kang Y. S. Synthesis of Silver Nanocrystallites by a New Thermal Decomposition Method and Their Characterization. *ETRI Journal*. 2004. Vol. 26. Issue 3. P. 252-256.

171. Olson J. et al. Optical characterization of single plasmonic nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* 2015. Vol. 44. P. 40-57.

172. Taha M., Hassan M., Essa S., Tartor Y. Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts isolated from human and animals. *Int. J. of Veterinary Science and Medicine*. 2013. Vol. 1. Issue 1. P. 15-20.

173. Sadeghi B., Gholamhoseinpoor F. A study on the stability and green synthesis of silver nanoparticles using *Ziziphora tenuior* (Zt) extract at room temperature. *Spectronomica Acta Part A: Mol. And Biomol. Spectrosc.* 2015. Vol. 134. P. 310-315.

174. Grassi S. et al. Monitoring of lactic acid fermentation process using Fourier transform near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2013. Vol. 21. P. 417-425.

175. Salvador A., Chisvert A. Analysis of Cosmetic Products (Second Edition): Valencia, 2017. p. 606.

176. Orth D. S., Kabara J. J., Denyer S. P., Tan S. K. Cosmetic and Drug Microbiology. Boca Raton, 2006. p. 375.

177. Bussy C., Ali-Boucetta H., Kostarelos K. Safety Considerations for Graphene: Lessons Learnt from Carbon Nanotubes. *Acc. Chem. Res.* 2013. Vol. 46. Issue 3. P. 692-701.
178. Sahu S. C., Casciano D. A. Nanotoxicity: From *In Vivo* and *In Vitro* Models to Health Risks. West Sussex, 2009. p. 609.
179. Kumar V., Sharma N., Maitra S. S. *In vitro* and *in vivo* toxicity assessment of nanoparticles. *Int. Nano Letters.* 2017. Vol. 7. P. 243-256.
180. Hillegass J. M. et al. Assessing nanotoxicity in cells *in vitro*. *WIREs Nanomed. And Nanobiotech.* 2010. Vol. 2. Issue 3. P. 219-231.
181. Crist R. M. et al. Common pitfalls in nanotechnology: lessons learned from NCI's Nanotechnology Characterization Laboratory. *Intergrative Biology.* 2013. Vol. 5. Issue 1. P. 66-73.
182. Rujanapun N. et al. Human primary erythroid cells as a more sensitive alternative *in vitro* hematological model for nanotoxicity studies: Toxicological effects of silver nanoparticles. *Toxicology In Vitro.* 2015. Vol. 29. Issue 8. P. 1982-1992.
183. Ghobadian M. Toxic effects of magnesium oxide nanoparticles on early developmental and larval stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Enviromental Safety.* 2015. Vol. 122. P. 260-267.
184. Ibrahim I. D. et al. Need for Sustainable Packaging: An Overview. *Polymers.* 2022. Vol. 14. Issue 20. P. 4430-4446.

Додаток А

Таблиця 1.

Асортимент поживних середовищ фірми *LIOFILCHEM (Італія)*

№	Назва	Міжнародна назва	Призначення
1.	Агар екстрактом солоду	MALT EXTRACT AGAR	Середовище для виділення та підрахунку грибів та дріжджів
2.	Бульйон екстрактом солоду	MALT EXTRACT BROTH	Бульйон для культивування грибів та дріжджів (АОАС)
3.	Основа окситетрациклін-глюкоза-дріжджовий екстракт агару	O.G.Y.E. AGAR BASE	Основне середовище для селективного підрахунку дріжджів та плісняви (ICO 7954)
4.	Апельсиновий агар	ORANGE SERUM AGAR	Середовище для виділення та підрахунку бактерій та дріжджів у цитрусових фруктах та похідних продуктах (АРНА)
5.	Агар картопляний декстрозою	POTATO DEXTROZE AGAR	Середовище для підрахунку дріжджів та плісняв у харчових та молочних продуктах (Європейська Фармакопея)
6.	Бульйон картопляний декстрозою	POTATO DEXTROZE BROTH	Бульйон для підрахунку дріжджів та плісняв у харчових та молочних продуктах (АРНА)
7.	Агар бенгальським рожевим	ROSE BENGAL AGAR BASE	Основний бульйон для селективного виділення та підрахунку дріжджів та плісняв (АРНА)
8.	Агар САФ бенгальським рожевим	ROSE BENGAL CAF AGAR	Селективне середовище для виділення та підрахунку дріжджів та плісняв (АРНА)
9.	Агар САФ бенгальським рожевим, дихлораном та хлорамфеніколом	DRBC AGAR	Селективне середовище для виділення та підрахунку дріжджів та плісняв
10.	Агар Сабуро декстрозою	SABOURAUD DEXTROSE AGAR	Середовище для виділення дріжджів та плісняв

Продовження додатку А

Продовження Таблиці 1.

11.	Бульйон Сабуро з декстрозою	SABOURAUD DEXTROSE BROTH	Середовище для селективного виділення та культивування дріжджів, цвілевих грибів та ацидофільних мікроорганізмів
12.	Диференціальне середовище Шварца	SCHWARZ DIFFERENTIAL MEDIUM	Середовище для пивоварного виробництва, для диференціації пивних дріжджів від диких видів.
13.	Поживний агар	W.L. WL. NUTRIENT AGAR	Середовище для культивування та підрахунку дріжджів та бактерій при мікробіологічному контролі, що проводиться у пивоварному виробництві та інших виробництвах, що використовують ферментування
14.	Сусло-агар	WORT AGAR	Середовище для культивування, виділення та підрахунку або збагачення грибів, особливо дріжджів
15.	Глюкозо-дріжджовий агар з хлорамфеніколом	YEAST GLUCOSE CHLORAMPHENICOL AGAR	Селективне середовище для виділення та підрахунку дріжджів та плісняв (ICO 7954)
17.	Агар Чапека-Докса	CZAPEK DOX AGAR	Середовище для культивування дріжджів, бактерій та грибів, здатних утилізувати нітрат натрію як єдине джерело азоту
18.	Бульйон Чапека-Докса	CZAPEK DOX BROTH	Рідке середовище для культивування дріжджів, бактерій та грибів, здатних утилізувати нітрат натрію як єдине джерело азоту
19.	Агар Ворта, Сусло-агар (без NaCl)	WORT BROTH w/o NaCl	Основний бульйон для виділення та підрахунку дріжджів та плісняв



Міністерство освіти і науки України
Житомирський державний університет імені Івана Франка

Сертифікат

Цей документ засвідчує, що

**Маліношевська Марія
Олександрівна**

взяла участь

у XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції
«Біологічні дослідження – 2022»

Проректор з наукової
і міжнародної роботи



Тетяна БОЦЯН

10-11 жовтня 2022 року
м. Житомир

вул. Велика Бердичівська, 40 м, Житомир, Україна, 10008
тел./факс: +380 412 43-14-17 e-mail: zu@zu.edu.ua



Міністерство освіти і науки України
Житомирський державний університет імені Івана Франка

Сертифікат

Цей документ засвідчує, що

**Шидловська Ольга
Андріївна**

взяла участь

у XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції
«Біологічні дослідження – 2022»

Проректор з наукової
і міжнародної роботи



Тетяна БОЦЯН

10-11 жовтня 2022 року
м. Житомир

вул. Велика Бердичівська, 40 м, Житомир, Україна, 10008
тел./факс: +380 412 43-14-17 e-mail: zu@zu.edu.ua



Продовження додатку Б

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЖИТОМИРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ ІМ. І. І. ШМАЛЬГАУЗЕНА НАН УКРАЇНИ
ГІДРОЕКОЛОГІЧНЕ ТОВАРИСТВО УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО ПАРАЗИТОЛОГІВ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2022

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

*За матеріалами
XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції
від 10–11 жовтня 2022 р.*

Житомир
Видавець ПП «Євро-Волинь»
2022

УДК 577
Б 63

*Рекомендовано до друку вченою радою Житомирського державного університету
імені Івана Франка (протокол №20 від 28 жовтня 2022 року)*

Рецензенти:

Бордюг Наталія – доктор педагогічних наук, професор, директор комунального закладу позашкільної освіти «Обласний еколого-натуралістичний центр» Житомирської обласної ради
Дунасвська Оксана – доктор біологічних наук, доцент, завідувач фармацевтично-лабораторного відділення Житомирського базового фармацевтичного фахового коледжу Житомирської обласної ради
Шапран Юрій – доктор педагогічних наук, професор, завідувач кафедри біології, методології і методики навчання Університету Григорія Сковороди в Переяславі

Біологічні дослідження – 2022: збірник наукових праць. Житомир :
Б 63 ПП «Євро-Волинь», 2022. – 300 с.
ISBN 978-617-7992-40-9

У збірнику представлено результати теоретичних, прикладних та науково-методичних досліджень з біології та суміжних галузей. Висвітлено широкий спектр біологічних проблем і перспектив наукового пошуку. Видання буде корисним здобувачам освіти, педагогам, науковцям, натуралістам-аматорам.

Редакційна колегія:

Киричук Галина Євгенівна – ректор ЖДУ імені Івана Франка, д. б. н., проф. (голова);
Боцян Тетяна Вікторівна – проректор з наукової і міжнародної роботи ЖДУ імені Івана Франка, к.е.н., доц.;
Корнійчук Наталя Миколаївна – проректор з навчальної роботи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Афанасьєв Сергій Олександрович – директор Інституту гідробіології НАН України, д.б.н., проф.;
Грубінко Василь Васильович – завідувач кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка, д.б.н., проф.;
Жовнерчук Ольга Валентинівна – ст.н.с. відділу акарології Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, к.б.н.;
Корнюшин Вадим Васильович – гол.н.с. відділу паразитології Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, д.б.н., проф.;
Крот Юрій Григорович – в.о. завідувача відділом екологічної фізіології гідробіонтів та біотехнології Інституту гідробіології НАН України, пр.н.с., к.б.н., ст.н.с.;
Романенко Віктор Дмитрович – почесний директор Інституту гідробіології НАН України, академік НАН України, д.б.н. проф.;
Романенко Олександр Вікторович – завідувач кафедри біології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, академік НАН України, д.б.н., проф.;
Харченко Віталій Олександрович – директор Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, д.б.н., ст.н.с.;
Юришинець Володимир Іванович – заступник директора Інституту гідробіології НАН України з наукової роботи, д.б.н.;
Романюк Руслана Костянтинівна – декан природничого факультету ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., д.пед.н., проф. (б.в.з.);
Гарбар Олександр Васильович – завідувач кафедри екології та географії ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Гарлінська Алла Миколаївна – завідувач кафедри медико-біологічних дисциплін ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Константиненко Людмила Анатоліївна – завідувач кафедри ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Павлюченко Олеся Вікторівна – завідувач кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Єрмошина Тетяна Вікторівна – доцент кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Шевчук Світлана Юріївна – доцент кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Печериця Галина Дмитрівна – лаборант кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка.

Матеріали друкуються в авторській редакції. За достовірність фактів, власних імен та інші відомості відповідають автори публікацій. Думка редакції може не збігатися з думкою авторів.

ISBN 978-617-7992-40-9

©Житомирський державний університет імені Івана Франка
© Видавець ПП «Євро-Волинь», 2022

Т. А. Мазуркевич ЛОКАЛІЗАЦІЯ ТА ВМІСТ СУБПОПУЛЯЦІЙ ЛІМФОЦИТІВ У ДИВЕРТИКУЛІ МЕККЕЛЯ КАЧОК	191
А. С. Шкроб'як, І. О. Погоріла ТЯЖКІ КОМБІНОВАНІ ІМУНОДЕФІЦИТИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ	194

СЕКЦІЯ 12. КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

І. З. Твердохліб, О. Б. Абрам, Т. В. Микитин, Г. М. Семчишин, В. І. Луцак ОЦІНЮВАННЯ РИЗИКІВ РОЗВИТКУ НАДМІРНОЇ ВАГИ, ОЖИРІННЯ ТА ДІАБЕТУ СЕРЕД НАСЕЛЕННЯ ІВАНО- ФРАНКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЯК ІНСТРУМЕНТ ПЕРСОНАЛІЗОВАНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ЦИХ ПОРУШЕНЬ	198
---	-----

СЕКЦІЯ 13. БІОТЕХНОЛОГІЯ

А. Р. Баня, І. В. Семенюк, О. В. Карпенко ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ ҐРУНТУ, ЗАБРУДНЕНОГО ДИЗЕЛЬНИМ ПАЛИВОМ, З РОСЛИНАМИ, МІКРОБНИМ ПРЕПАРАТОМ ТА АКТИВАТОРАМИ	200
В. С. Басюк, Ю. В. Максименко СТВОРЕННЯ БІОМАТЕРІАЛІВ ШЛЯХОМ РОЗШИРЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО КОДУ	202
Є. А. Воронов, О. І. Сідашенко, К. І. Тимчий ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ РОДУ <i>LACTOBACILLUS</i> , ВИДІЛЕНИХ З РІЗНИХ ДЖЕРЕЛ	204
М. В. Гордієнко, Ю. В. Максименко ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ У ВИГОТОВЛЕННІ КИСЛОМОЛОЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ	206
А. Г. Комісаренко, С. І. Михальська, В. М. Курчій, В. В. Бурлак ОЦІНКА ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАН У БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.) ЗА ЗМІНАМИ РІВНЯ ПРОЛІНУ	207
Л. С. Кушнір, Ю. В. Максименко ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІЙ-ПРОДУЦЕНТІВ НЕЗАМІННИХ АМІНОКИСЛОТ У БІОТЕХНОЛОГІЇ	210
М. О. Маліношевська, О. А. Шидловська МЕТОДИ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ЦЕРІЮ	213
А. В. Онофрійчук, В. В. Онофрійчук ЕКОЛОГІЧНІ ТА ЕНЕРГЕТИЧНІ АСПЕКТИ ВИРОБНИЦТВА БІОГАЗУ ІЗ ВІДХОДІВ ТА ПОБІЧНИХ ПРОДУКТІВ АГРОПРОМИСЛОВОГО КОМПЛЕКСУ	216
І. О. Першко НАНОМАТЕРІАЛИ НА ОСНОВІ СИНТЕТИЧНИХ ПЕПТИДІВ: ВЛАСТИВОСТІ ТА ШЛЯХИ ЗАСТОСУВАННЯ	218

УДК 546.55/.59+546.655

МЕТОДИ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ЦЕРІЮ

Маліношевська М.О., Шидловська О.А.

Київський Національний Університет Технологій та Дизайну, вул. Немировича-Данченка, 2, Київ, 01011, Україна

Сучасний етап розвитку науки характеризується мініатюризацією технологічних процесів, що призводить до формування абсолютно нового напрямку – нанотехнологій. За останні роки нанотехнології досягли лідерства в галузі хімії, біології, медицини та косметології.

При переході речовин в нанорозмірні структури спостерігаються суттєві зміни їх хімічних, фізичних і фізико-хімічних властивостей. У нанометровому діапазоні змінюватимуться електропровідність, теплостійкість, магнетизм, коефіцієнт оптичної густини, вплив речовин на організм людини тощо [3].

До початку 1980-х рр. науковий та прикладний інтерес до срібних наночастинок був обумовлений лише можливістю їх застосування як високодисперсної підкладки для посилення сигналу молекул в органічних сполуках спектроскопії. Фундаментальні дослідження, проведені 1980-1990 рр. показали, що наночастинок мають рідкісне поєднання цілющих якостей: унікальні оптичні властивості, зумовлені поверхневим плазмонним резонансом, високою питомою масою поверхні, каталічною активністю тощо.

Діоксид церію та матеріали на його основі знаходять широке застосування в промисловості, у тому числі у виробництві паливних елементів, сенсорів, тримаршрутних каталізаторів і т.д. В останнє десятиліття наночастинок CeO_2 привертають увагу дослідників як неорганічний антиоксидант, здатний ефективно захищати живі системи від окислювального стресу [4].

На даний момент існує досить багато методів хімічного синтезу [2] для отримання наночастинок металів: хімічне відновлення (цитратний, борогідридний метод та ін.), синтез у двофазних водо-органічних системах, метод лазерної абляції, радіолітичні методи, синтез у зворотних міцелах, термічний розклад прекурсорів дією розчинника або дією мікрохвиль тощо, серед яких найбільш поширеними є відновлення наночастинок та стабілізація їх з утворенням колоїдів.

Сьогодні існує два основних способи отримання наночастинок [8;1]:

1) «зверху вниз», від макроскопічних об'єктів – подрібнення матеріалу – фізичний метод, що включає термічне випаровування наночастинок під час обробки плазмою, лазером, дугою тощо, конденсацію вихідних матеріалів у вакуумі, механохімічне диспергування, електричне травлення, літографію;

2) «знизу вгору», від мікроскопічних об'єктів, – конденсація атомів, молекул, іонів – хімічні методи: термічне відновлення або радіаційне відновлення металовмісних сполук; розкладання під дією ультрафіолету, ультразвуку, температури; у зворотних міцелах; міжфазний синтез, золь-гель метод.

Продовження додатку Б

Головною засадою хімічного синтезу є ініціювання хімічних реакцій і повний контроль процесів нуклеації і конденсації отриманих продуктів. Під розумінням природи цих процесів і контролю над ними визначають успіх отримання наночасток необхідного складу і форми. Утворення наночасток досягається вибором певних умов для реакції (тип реакції, розчинник, температура), використанням лігандів і поверхнево-активних речовин, які поводяться специфічно на межі розділу фаз, що виникають, і повністю або частково обмежують подальше наростання твердої фази речовини.

Більшість методів хімічного синтезу мають явні недоліки, що полягають у складності проведення реакцій відновлення, розкладання або синтезі вихідних матеріалів, характеризуються багатостадійністю, використанням високотоксичних сполук, використанням поверхнево-активних речовин (ПАР) і стабілізаторів, від яких неможливо повністю очистити поверхню отриманих наночасток.

Більш перспективними здаються фізичні методи синтезу наночасток («зверху вниз»), включаючи інтенсивний термічний або механічний вплив на вихідні речовини, оскільки отримані наночастки характеризуються підвищеним рівнем вільної енергії та більш чистим хімічним складом [1].

Фізичні методи отримання наночасток засновані на використанні макроскопічних об'єктів, які розкладаються на нанооб'єкт за допомогою різних видів механічних процедур подрібнення, диспергаторів або ультразвукових апаратів. На жаль, ці методи непридатні для отримання металевих наночасток через типові механічні властивості матеріалу (ковкість, пластичність). Тому для отримання металевих наночасток перевагу надають різним видам енергії, таким лазерний промінь.

Нещодавно було введено новий метод, який відноситься до методів «зверху вниз». Це метод вакуумного напилення. Цей метод заснований на «бомбардуванні» мішені енергійними іонами газу, що утворюються в результаті зіткнення електронів і газу-носія у вакуумі за допомогою постійного струму (DC), радіочастоти (RF) або магнетронного розпилення [5].

Основною проблемою фізичних методів є отримання наночасток із вузьким розподілом за розміром і формою. Аналіз сучасних промислових методів синтезу наночасток металів показує, що найбільше практичне значення для продуктивного виробництва має новий фізичний процес нанодиспергування провідних матеріалів, заснований переважно на імпульсних процесах з високою швидкістю зміни термодинамічних параметрів і високою густиною енергії концентрацій дисперсного матеріалу[7].

Третій метод синтезу наночасток – біологічний метод синтезу. Для біологічного методу синтезу використовують різноманітні біологічні об'єкти, так як рослини, бактерії, дріжджі тощо. Найбільш широко використовуваним методом є синтез з використанням рослинних екстрактів.

Продовження додатку Б

Синтез з використанням рослин дозволяє отримати металеві наночастки різної морфології з унікальними оптичними, магнітними, тепловими, фізико-хімічними та електричними властивостями. За допомогою цієї методики в основному отримують тригранні, п'ятикутні, гексагональні та сферичні наночастки. Визначення форми та розміру металевих наночасток, які можуть бути отримані, залежить від ряду факторів, важливих для синтезу: концентрація рослинних екстрактів і солей металів, температура, показник кислотності і час реакції.

Безперечно, «зелений» синтез є екологічно чистим, ефективним і безпечним методом синтезу. Не вимагає використання високого тиску і високої температури, токсичних і екологічно шкідливих реагентів і розчинників. Але цей підхід також має певні обмеження. Кристаліти меншого розміру (і, отже, більшої площі поверхні) виявляють вищу антимікробну активність, ніж більш агреговані частинки. На практиці, отримані зеленим синтезом частки зазвичай мають більші за розраховані розміри [6].

«Зелений» синтез металевих наночасток має значний потенціал та ряд суттєвих переваг над традиційними методами синтезу наночасток. Для економічної ефективності «зеленого синтезу» слід правильно масштабувати методи виробництва наночасток з використанням рослинного матеріалу та розробити схеми для зниження витрат при їх синтезі. У разі «зеленого» синтезу основні витрати будуть визначатися лише вартістю солей металів, оскільки відновниками можуть бути рослинні відходи харчової промисловості. Даний факт додатково відзначає екологічні та економічні переваги використання «зеленого» синтезу перед традиційними методами синтезу наночасток.

Література

1. Andrusishina I.N. Metal nanoparticles: production methods, physical and chemical properties, research methods and toxicity assessment // Modern problems of toxicology. - 2011. - No. 3. - S. 5 -14.
2. C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, and M. A. El-Sayed, Chem. Rev., 105, No. 4:1025 (2005)
3. Caruthers S.D., Wickline S.A., Lanza G.M. Nanotechnological applications in medicine. // Curr. Opin. Biotechnol. - 2007. - Vol. 18(1). – P. 26-30.
4. Diegoli S., Manciuola A.L., Begum S. et al. Interaction between manufactured gold nanoparticles and naturally occurring organic macromolecules // Sci. Total Environment. - 2008. - Vol. 402(1). – P. 51-61.
5. Hirsch UM, Teuscher N, Ruhl M, Heilmann A. Plasma-powered magnetron sawing of nanoparticles on reverse osmosis membranes to reduce anti-fouling powers. Surface interface. 2019 rec;16:1-7

6. J. Singh, T. Dutta, K.H. Kim, M. Rawat, P. Samddar, P. Kumar, "Green" synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation, *J. Nanobiotechnology*. 16 (2018) 1–24. doi:10.1186/s12951-018-0408-4.
7. Minko N.I. Obtaining methods and properties of nanoobjects. - М.: Flinta, 2009. - 168 p.
8. Shpak A.P., Ulberg Z.R. Colloidal-chemical foundations of nanoscience. - К.: Akadempriodika, 2005. - 466 p.



II Міжнародна науково-практична
інтернет-конференція

**ПРОБЛЕМИ
ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ
БІОТЕХНОЛОГІЇ**

20 травня 2022 р.
м. Харків, Україна

Продовження додатку В

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**PROBLEMS AND ACHIEVEMENTS
OF MODERN BIOTECHNOLOGY**

**Матеріали
II міжнародної науково-практичної
Інтернет-конференції**

**Materials
of the II International Scientific and Practical
Internet Conference**

**ХАРКІВ
KHARKIV
2022**

УДК 615.1: 615.3: 615.012.6: 57

Електронне видання мережне

Редакційна колегія: проф. Котвіцька А. А., проф. Владимірова І. М., проф. Хохленкова Н.В., доц. Калюжная О.С., доц. Двінських Н.В.

С 89 Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали II міжнародної наук.-практ. інтернет-конф. (20 травня 2022 р., м. Харків). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2022. – 271 с. – Назва з тит. екрана.

Збірка містить матеріали науково-практичної конференції, тематика якої охоплює такі напрями: фармацевтична та медична біотехнологія, перспективні біологічно активні речовини, харчова біотехнологія, продукти здорового харчування, екологічна біотехнологія, природоохоронні технології, біотехнологія у рослинництві, тваринництві та ветеринарії, сучасні біотехнології для народного господарства, розробка, виробництво, забезпечення та контроль якості лікарських засобів, мікробіологічні дослідження на етапах розробки, виробництва та контролю якості харчових продуктів, ветеринарних та лікарських препаратів, організаційно-економічні аспекти діяльності біотехнологічних та фармацевтичних підприємств у сучасних умовах, маркетингові дослідження у біотехнології та фармації, теорія та практика підготовки здобувачів вищої освіти спеціальності «Біотехнології та біоінженерія».

Для широкого кола науковців, магістрантів, аспірантів, докторантів, співробітників біотехнологічних та фармацевтичних підприємств та фірм, викладачів вищих навчальних закладів наукових і практичних працівників фармації та медицини.

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей. Матеріали подаються мовою оригіналу.

УДК 615.1: 615.3: 615.012.6: 57

© НФаУ, 2022

**Деякі аспекти властивостей наночастинок срібла,
отриманих зеленим синтезом
Савчук О.М., Маліношевська М.О., Шидловська О.А.**

Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна
oleksandra.sav2002@gmail.com

Наночастки металів широко застосовуються у різних галузях науки і техніки, в тому числі в біомедичній, харчовій та косметичній. Використання токсичних для навколишнього середовища відновників та стабілізаторів в хімічних та фізичних методах синтезу обмежують спектр використання наночастинок срібла та інших металів (A. Gour & N. K. Jain, 2019). Зелений синтез із використанням бактерій, рослин і рослинних екстрактів, дріжджів тощо можуть стати джерелом біологічно-активних, безпечних, нетоксичних та економічно вигідних у виробництві наночастинок срібла (T. M. Abdelghany et al., 2018). Тому, метою даного дослідження є аналіз відомих даних стосовно властивостей «зелених» наночастинок срібла.

Синтезовані зеленим синтезом наночастки срібла з використанням екстракту *Halimolobos exiguus* мають антибактеріальну активність проти плівкоутворюючих бактерій, що населяють ротову порожнину людини. Інші наночастки срібла, отримані з використанням екстракту *Mentha pulegium* мають антибактеріальну активність проти *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* та *Candida albicans*. Цікаво, що наночастки срібла, синтезовані за допомогою екстракту з *Syzygium cumini* проявляють антибактеріальну дію проти патогенів із множинною лікарською стійкістю, таких як *Salmonella enterica* та *Staphylococcus aureus* (K. S. Hembram et al., 2018).

В якості відновника для зеленого синтезу наночастинок срібла часто використовують саме рослинні екстракти. Так, висушене листя *Datura stramonium*, зібране в період цвітіння рослин з максимальною кількістю фітохімічних речовин, використали для зеленого синтезу наночастинок срібла. Отримані таким способом наночастки срібла володіють високою антиоксидантною активністю та здатністю

Продовження додатку В

інгібувати утворення вільних радикалів. Більше того, вони мають ефективну бактериостатичну дію проти штамів бактерій *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* — мінімальні бактерицидна концентрація дорівнює 1,28 мкг/мл та 2,56 мкг/мл відповідно (M. Mousavi-Khattat et al., 2018).

Наночастки срібла також можна синтезувати і за допомогою бактерій. Проте, для цього використовують стійкі до впливу срібла штами. Так, показаний зелений синтез на штамх *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus licheniformis*, *Proteus mirabilis*, а також з використанням супернатантів *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* та різних бактерій родини *Enterobacteriaceae*. Проте, основним недоліком використання бактеріальних моделей для синтезу наночасток срібла є обмежена кількість розмірів та форм в порівнянні з використанням рослинних та грибних екстрактів, та слабо-виражена антибактеріальна дія (M. Rafique et al., 2017).

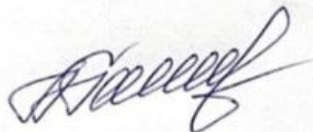
Механізм антибактеріальної дії «зелених» наночасток срібла пов'язаний з їх антиоксидантною активністю, що проявляється у нейтралізації утворених вільних радикалів шляхом окиснення самих наночасток (M. Mousavi-Khattat et al., 2018; A. S. Jain et al., 2021). До речі, можливим механізмом утворення наночасток срібла з використанням рослинних екстрактів є відновлення іонів срібла за допомогою поліфенолів та інших видів флаваноїдів (M. Nasrollahzadeh et al., 2019).

Отже, зелений синтез із використанням рослинних екстрактів має свої переваги перед синтезом наночасток бактеріями. В результаті синтезу наночасток рослинами чи їх екстрактами отримується чистий продукт, який не потребує складної очистки, біологічно безпечний. Також, можна досягти вищої стабільності та ефективності наночасток шляхом регулювання форми та розміру. Більше того, даний метод синтезу легко-доступний, економічний та екологічний. Синтезовані наночастки із використанням рослинних екстрактів володіють антибактеріальною дією проти широкого спектру патогенних бактерій, що дозволяє розглядати їх як перспективні агенти антибактеріальної терапії.

Довідка

Видана М.О. Маліношевській у тому, що статтю М.О. Маліношевська, О.А. Шидловська «МЕТОДИ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ЦЕРІЮ» прийнято до друку у науковий журнал «Біологія та екологія» (Том 8, №1, 2022р.) (ISSN 2414-9810 (Print) ISSN 2616-6720 (Online)), що включено до переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»), публікації яких зараховуються до результатів дисертаційних робіт з біологічних наук (Наказ МОН України №886 від 02.07.2020 року), свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації – серія КВ № 21850-11750 Р від 21 грудня 2015 року.

Відповідальний редактор



Людмила ГОМЛЯ

Людмила Гомля 095 651 70 93

Полтавський національний педагогічний університет
імені В.Г. Короленка

БІОЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ

Науковий журнал

Заснований у 2015 році

Виходить двічі на рік

**Том 8
№ 1 • 2022**

Полтава • 2022

УДК 57 : 502/504(051)

ISSN 2414-9810 (Print)
ISSN 2616-6720 (Online)**БІОЛОГІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ**

Науковий журнал

Засновано 2015 року

Засновник та видавець:

Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації –
серія КВ № 21850-11750 Р від 21 грудня 2015 рокуВключено до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»),
публікації яких зараховуються до результатів дисертаційних робіт з біологічних наук
(Наказ МОН України №886 від 02.07.2020 року)*Журнал «Біологія та екологія» публікує оригінальні матеріали
(експериментальні, теоретичні і методичні статті, а також короткі повідомлення,
огляди і рецензії) за результатами досліджень у різних галузях біології та екології***Редакційна колегія:****Головний редактор:** С.В. Пилипенко, д.б.н., проф., Полтава, Україна**Члени****редакційної колегії:****О.І. Березан**, к.м.н., доц., Полтава, Україна**С.В. Гапон**, д.б.н., проф., Полтава, Україна**Л.М. Гомля**, к.б.н., доц., Полтава, Україна**Р.С. Гриньов**, к. ф.-м. н., Аріель, Ізраїль**Д.В. Дубина**, д.б.н., проф., Київ, Україна**С.Я. Кондратюк**, д.б.н., проф., Київ, Україна**О.В. Лукаш**, д.б.н., проф., Чернігів, Україна**Л.Г. Любінська**, д.б.н., проф., Кам'янець-Подільський, Україна**В.В. Никифоров**, д.б.н., проф., Кременчук, Україна**В.М. Писаренко**, д.с.-г.н., проф., Полтава, Україна**О.В. Севериновська**, д.б.н., проф., Дніпро, Україна**О.В. Харченко**, д.м.н., проф., Полтава, Україна**Л.М. Фельбаба-Клушина**, д.б.н., проф., Ужгород, Україна**Володимир Зав'ялов**, д.м.н., проф., Турку, Фінляндія**Адреса редакції:**кафедра ботаніки, екології та методики навчання біології,
Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка,
вул. Остроградського, 2, Полтава, 36003, Україна*e-mail: biozbirnyk@gmail.com**Друкується за рішенням ученої ради Полтавського національного педагогічного університету
імені В.Г. Короленка (протокол № 14 від 28 червня 2022 року)*

ЗМІСТ

ВІД РЕДАКЦІЙНОЇ КОЛЕГІЇ.....	7
БОТАНІКА	
<i>Бойко Л.І., Данильчук Н.М., Юхименко Ю.С., Шульга О.О.</i> ВИКОРИСТАННЯ МОБІЛЬНИХ ФОРМ В ОЗЕЛЕНЕННІ МЕГАПОЛІСІВ НА ПРИКЛАДІ М. КРИВИЙ РІГ	8
<i>Гапон С.В., Гапон Ю.В., Ханнанова О.Р., Іщенко В.І.</i> РЕГІОНАЛЬНА ФЛОРА ВИЩИХ СПОРОВИХ РОСЛИН ПОЛТАВЩИНИ ТА ЇЇ ОСОБЛИВОСТІ.....	16
<i>Давидов Д.А., Гомля Л. М.</i> ХОРОЛОГІЯ ВИДІВ РОДИНИ RANUNCULACEAE JUSS. З «ЧЕРВОНОЇ КНИГИ УКРАЇНИ» НА ТЕРИТОРІЇ ПОЛТАВСЬКОЇ ОБЛАСТІ	22
<i>Іващенко І. В., Рахметов Д. Б., Котюк Л. А.</i> СЕЗОННІ РИТМИ РОЗВИТКУ РОСЛИН <i>GLEBIONIS</i> <i>CORONARIA</i> (L.) CASS. EX SPACH. В ЦЕНТРАЛЬНОМУ ПОЛІССІ УКРАЇНИ.....	34
<i>Красовський В.В., Гапон С.В., Черняк Т.В., Орловський О.В.</i> ОСОБЛИВІСТЬ ТА СВОЄРІДНІСТЬ КВІТОК СУБТРОПІЧНИХ РОСЛИН КОЛЕКЦІЇ ХОРОЛЬСЬКОГО БОТАНІЧНОГО САДУ	40
<i>Садигов Р.Е., Фельбаба-Клушина Л. М.</i> ГЛЯЦІАЛЬНИЙ РЕЛІКТ <i>TOMENTHYPNUM NITENS</i> (HEDW.) LOESKE (<i>AMBLYSTEGIACEAE</i>) В УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТАХ: ПОШИРЕННЯ ТА ФІТОЦЕНОТИЧНА ПРИУРОЧЕНІСТЬ	48
<i>Суслова О.П.</i> ІНТРОДУКЦІЙНЕ ВИПРОБУВАННЯ СОРТІВ ВИДІВ РОДУ <i>JUNIPERUS L.</i> В ТЕХНОГЕННИХ УМОВАХ ПІВНІЧНО-СТЕПОВОЇ ЗОНИ УКРАЇНИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ВИКОРИСТАННЯ В МІСЬКИХ ЛАНДШАФТНИХ КОМПОЗИЦІЯХ	53
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	
<i>Баранник Н., Дяченко-Богун М.М.</i> ВИРОЩУВАННЯ РОЗСАДИ <i>ZEА MAYS L.</i> У РІЗНИХ СУБСТРАТАХ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ	61
<i>Шевчук О.А., Поливаний С.В., Ходаніцька О.О., Ткачук О.О., Матвійчук О.А., Поливана А.С.</i> ДІЯ БІОСТИМУЛЯТОРІВ НА ЯКІСТЬ НАСІННЯ ТА РОСТОВІ ПРОЦЕСИ БОБОВИХ КУЛЬТУР.....	67
ЕКОЛОГІЯ ТА ОХОРОНА ПРИРОДИ	
<i>Маліношевська М.О., Шидловська О.А.</i> МЕТОДИ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ЦЕРІЮ	73
<i>Тислюк К., Дяченко-Богун М.М.</i> ВИЗНАЧЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ У МІКРОРАЙОНІ РАКІВКА М. КРЕМЕНЧУКА (ПОЛТАВСЬКА ОБЛ.).....	80
БІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН	
<i>Дехтярєва О.О., Трифонова Є.Б.</i> ВИДОВИЙ СКЛАД <i>COCCINELLIDAE</i> ОКОЛИЦЬ СМТ КОЧЕТОК ЧУГУЇВСЬКОГО РАЙОНУ ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ	87
<i>Katsenko A. L., Sherstyuk O. O., Svintsytska N. L., Ustenko R. L., Hryn V. H., Lytovka V. V., Korchan N. O.</i> THE STRUCTURE OF THE HARDERIAN, EXTRAORBITAL AND INFRAORBITAL LACRIMAL GLANDS DUCTS OF THE LABORATORY RATS.....	93
<i>Куйбіда В. В., Некрасова О. Д., Лопатинська В. В., Коханець П. П.</i> ЛІТНІЙ ЗАМОР РИБ У КАНІВСЬКОМУ ВОДОСХОВИЩІ В 2019 ТА 2016 РР: ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ.....	99
<i>Харченко О.В., Харченко Н.В.</i> КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ХВОРОБ ШЛУНКА ТА ПОРОЖНИНИ РОТА.....	105
<i>Шерстюк О. О., Свінцицька Н. Л., Білаш В. П., Гринь В. Г., Устенко Р. Л., Каценко А. Л., Корчан Н. О.</i> ІСТОРІЯ ПИТАННЯ СТАНОВЛЕННЯ МІЖНАРОДНОЇ АНАТОМІЧНОЇ ТЕРМІНОЛОГІЇ	110
ДАНІ ПРО АВТОРІВ.....	116
ВИМОГИ ДО АВТОРІВ.....	118

УДК 546.55/.59+546.655

М.О. Маліношевська, О.А. Шидловська

ORCID 0000-0001-9964-695X, 0000-0002-6926-3672

Київський Національний Університет Технологій та Дизайну

вул. Немировича-Данченка, 2, Київ, 01011, Україна

marimalinoshevska@gmail.com

МЕТОДИ СИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ЦЕРІЮ

Анотація

Дослідження наночастинок в даний час - область інтенсивного наукового інтересу через широкий спектр можливостей застосування в медико-біологічних галузях. Тому національні ініціативи в галузі нанотехнологій та дослідження наночастинок отримують широку державну підтримку в багатьох країнах світу. Методи синтезу наночастинок досить прості і можуть здійснюватись без спеціального лабораторного обладнання. Сам факт простоти процесу синтезу з технічного боку робить синтез і використання наночастинок у медицині, біотехнології та інших галузях діяльності людини вкрай привабливим. Наночастки срібла володіють ярко-вираженою антибактеріальною дією проти широкого спектра бактеріальних збудників інфекцій. Для наночастинок церію описані антиоксидантні властивості, що забезпечують перспективу їх застосування в терапії пухлинних та вірусних захворювань. Саме тому метою роботи є аналіз та порівняння можливих методів синтезу наночастинок срібла та церію та виокремлення найперспективнішого методу. Проведений аналіз відомих методів синтезу наночастинок срібла та церію, а також порівняння їх переваг та недоліків, дозволило зробити висновок, що саме біологічний синтез наночастинок є найперспективнішим, зокрема з використанням рослинних екстрактів. Важливою особливістю біологічного методу синтезу наночастинок є відсутність токсичних відновників та складної багатоступінчатості процесу в порівнянні з хімічним методом синтезу. Також, біологічний метод синтезу дозволяє отримувати наночастки визначеного розміру та форми в широкому діапазоні значень, тоді як фізичний метод є дуже обмеженим. Регулювання розміру та форми наночастинок, отриманих біологічним синтезом забезпечується простою зміною умов синтезу, а саме значення рН, кислотності, концентрації відповідної солі металу і т.д. Зелений синтез є безпечним екологічним та економічно-вигідним методом синтезу наночастинок срібла та церію.

Ключові слова: наночастки, нанотехнології, біотехнологія, методи синтезу, срібло, церій.

Нанорозмірний стан для багатьох речовин істотно відрізняється від масивного стану у макромасштабах. Через велику частку поверхневих атомів, властивої наночасткам, їх фізико-хімічні параметри можуть зазнавати значних змін щодо параметрів, властивих масивному стану. Разом з тим, основу багатьох функціональних матеріалів складають саме наночастки з властивими нанорозмірними ефектами. Так, наноб'єкти срібла, церію та інших благородних металів завдяки високо питомій поверхні, унікальним оптичним та біологічним

Продовження додатку Г

властивостям, таким як поверхнево-плазмонний резонанс, гігантське комбінаційне розсіювання, гасіння або посилення флуоресценції, активно застосовуються в косметології, біології, медицині, оптиці та аналітичній хімії [18]. Фізико-хімічні властивості наночастинок срібла та церію визначаються геометрією та станом поверхні. Залежно від вимог до властивостей цільових наночастинок їх форма і властивості поверхні можуть, як варіювати в широкому діапазоні, так і бути строго заданими. З постановкою все більш складних і комплексних завдань зростають вимоги до колоїдів, що синтезуються, при цьому досить часто виникає потреба в розробці нових методів синтезу.

Успіх наукових досліджень і використання наночастинок металів значною мірою залежить від можливостей методу синтезу – від того, чи дозволяє обраний метод отримати частинки, які відповідають вимогам поставленої наукової чи практичної задачі. При цьому однією з найважливіших проблем є синтез досить стабільних наночастинок заданого розміру, які протягом тривалого часу зберігають високу хімічну або біологічну активність, тому питання отримання наночастинок та процеси їх стабілізації необхідно розглядати в комплексі.

Основною метою обраного дослідження є вивчення методів синтезу наночастинок срібла та церію.

Для реалізації поставленої мети у статті вирішено наступні завдання:

- аналіз хімічних методів синтезу срібла та церію;
- аналіз фізичних методів синтезу срібла та церію;
- аналіз біологічних методів срібла та церію.

В роботі використано методи аналізу, синтезу порівняння, дедукції, узагальнення.

Нині у літературі описані численні методи отримання наночастинок срібла та церію. Найчастіше формуються найбільш стійкі з погляду термодинаміки сферичні частки. Однак з використанням ряду синтетичних підходів вдається одержувати препаративні кількості несферичних частинок паличкоподібної, трикутної,

кубічної форми. Незалежно від геометрії частинок у кінцевому продукті умовно методи одержання можна розбити на три групи:

- 1) Фізичні методи синтезу, засновані на формуванні наночасток шляхом фізичного впливу;
- 2) Хімічні методи синтезу, у яких процес формування наночасток ініціюється хімічним впливом;
- 3) Біотехнологічні методи, засновані на відновленні сполук металів сполуками, які містяться у живих організмах, чи вироблюваних ними у процесі життєдіяльності.

Методи синтезу нанодисперсних систем за фундаментальними принципами одержання можна розділити на методи диспергування макроскопічних об'єктів («зверху-вниз») та конденсаційні методи («знизу-вгору»). Диспергування, як правило, відбувається за рахунок жорсткого фізичного впливу на метал (лазерна абляція та ін). Конденсаційні методи засновані на формуванні нанооб'єктів з металовмісних сполук шляхом фізичної (радіоліз, соноліз та ін.) або хімічної дії (відновлення та ін.). Відповідно, всі диспергаційні та частина конденсаційних методів відносяться до фізичних методів, а більшість конденсаційних методів – до хімічних методів одержання нанооб'єктів.

1. Фізичні методи синтезу наночасток срібла та церію.

Принципово фізичні методи синтезу срібла можна розбити на дві категорії:

- 1) Метод «зверху-вниз» або диспергування масивного металевого срібла (кріохімічний синтез, метод лазерної абляції, електроконденсаційний метод Сведберга);
- 2) Ініціювання процесу відновлення срібла шляхом фізичного впливу на прекурсори (радіоліз, соноліз, фотоліз).

Загальні принципи цієї групи методів синтезу засновані на диспергуванні макроскопічного металу шляхом жорсткого фізичного впливу та стабілізації отриманого диспергованого металу в конденсованому середовищі. З методів

Продовження додатку Г

диспергування найбільш поширений кріохімічний синтез [3], лазерна абляція [12] та електроконденсація [19].

В основі кріохімічного синтезу лежить випаровування металу у вакуумі з його подальшою співконденсацією з парами органічної сполуки на охолодженій рідким азотом поверхні. При співконденсації органічна сполука (стабілізатор) формує тверду матрицю з атомами металу, яка при подальшому нагріванні плавиться з утворенням органозолу. У цілому нині метод досить універсальний використовується для синтезу широкого спектра металевих колоїдів [10]. Також цей метод дозволяє отримувати біметалічні колоїдні системи. Даний метод ефективний для металів, що мають достатню летючість у вакуумі, але практично неприйнятний у разі тугоплавких металів. Для реакційноздатних металів як кріоматриці не підходять спирти та сполуки, що містять галогени, через формування алкоголятів або реактивів Гриньяра. Ще одним обмеженням методу є формування досить високостійких індивідуальних металоорганічних або металокомплексних сполук.

Оптимальними є системи метал – органічна сполука, в яких формуються відносно стійкі інтермедіатні сполуки, що дозволяють контролювати швидкість утворення атомарного металу в рідкому середовищі. Отже, для таких цілей меншою мірою підходить вода, спирти та галогеналкани, а найбільше підходять ароматичні вуглеводні за рахунок оборотного утворення бісаренових комплексів, здатні керовано розкладатися при руйнуванні кріоматриці з формуванням щодо монодисперсного колоїду металу.

Метод лазерної абляції заснований на опроміненні масивного металу пучком висококогерентного випромінювання великої інтенсивності, що призводить до випаровування металу та подальшому осадженні його в конденсованому середовищі.

Продовження додатку Г

В якості конденсованого середовища можуть бути як чисті середовища (метанол, етанол, етиленгліколь, дихлоретан, ацетон та ін), так і розчини, що містять стабілізатори, наприклад, цитрат, ПАР, полімери.

Перевага методу полягає у отриманні колоїдів з мінімальним числом компонентів у середовищі.

Наступним фізичним методом отримання золів металів, основу якого лежить процес конденсації (принцип «згори донизу»), є електроконденсаційний метод Сведберга. Високочастотний струм діапазону 800-900 кГц пропускають через порошок срібла диспергований в органічному розчиннику [11]. При цьому формується атомарний метал, що утворює наночастки, що стабілізуються компонентами докільям.

За підсумками цього методу М.А. Луніна розробили метод синтезу дисперсій металів в органічному середовищі шляхом пропускання імпульсного струму високої частоти [9]. У ряді випадків вдається одержувати високодисперсні колоїди. Так практично незалежно від природи металу у водноацетоновому середовищі середній розмір синтезованих наночастинок становить 1,5 нм. Однак, у процесі синтезу органічне середовище частково піддається деструкції та продукти розпаду забруднюють поверхню наночастинок.

Нанорозмірний оксид церію можна одержати різними синтетичними способами, наприклад, осадженням, гідротермальним:

1) Метод осадження.

Це найпоширеніший спосіб отримання наночастинок оксиду церію завдяки зручності та простоті виконання. На відміну від інших методів одержання, він не потребує дорогої сировини, а сам процес синтезу простий, з апаратним забезпеченням і може бути модифікований. Метод спрямований на одержання кристалографічної структури, є легкокерованим і використовується в промисловості. Суть методу полягає в осадженні солей церію у водному

Продовження додатку Г

середовищі зміною величини рН при кімнатній або підвищеній температурі з подальшою термічною обробкою осадів [7].

Недоліком методу є те, що цей метод потребує ретельно підібраних параметрів синтезу, адже значення рН, концентрація водного розчину, природа осаджуючого агента, температура реакції та час старіння, впливають на морфологію продукту. За допомогою цього методу переважно отримують сферичні частинки, через що важко контролювати морфологію продукту. Крім того, отримані наноматеріали CeO_2 нерівномірно розподіляються за розміром, є слабкодисперсними та легко агрегуються після термічної обробки [20].

2) Гідротермальний метод.

Стандартні методи, такі як преципітація та співосадження, не гарантують високого ступеня морфологічної однорідності. Для контролю форми та розміру частинок під час синтезу застосовують гідротермальний метод. Суть методу полягає у тому, що хімічна реакція відбувається в автоклаві, в якому розчин нагрівається під тиском, а розчинником є вода.

Перевагою цього методу синтезу нанорозмірного оксиду церію є те, що температура реакції нижча за температуру плавлення реагентів. Крім того, можна легко регулювати такі робочі параметри, як температура та тривалість реакції, вибір типу автоклаву допомагає налаштовуватись до змін параметрів синтезу неорганічних твердих речовин. Як і метод осаження, цей метод використовують для одержання переважно кристалічних, а не аморфних структур.

Дотримуючись чітких методологічних рекомендацій, гідротермальним методом можна отримати нанокристали оксиду церію різної форми: стрижні, дроти, трубки, багатогранники, куби.

Але, не зважаючи на простоту процедури гідротермального методу, все ж він є недостатньо керованим для отримання наноструктур CeO_2 з заданою морфологією і геометрією.

2. Хімічні методи синтезу наночастинок срібла та церію.

Хімічні методи синтезу колоїдів срібла більш поширені порівняно з фізичними методами через ширші можливості контролю процесу шляхом використання широкого спектра хімічних сполук (відновників, стабілізаторів), а також варіюванням концентрацій та умов.

Крім того для реалізації хімічних методів синтезу, як правило, не потрібно високотехнологічне обладнання, що суттєво розширює коло дослідників, які використовують їх як основні.

Спочатку цей метод був розроблений Туркевичем для отримання золів золота [17]. Золотохлористоводнева кислота відновлюється при кип'ятінні у водному розчині цитрату натрію з утворенням наночастинок золота із середнім діаметром $20 \pm 1,5$ нм. Пізніше за аналогічною методикою були отримані наночастинок срібла значно більшого діаметра та більшим розкидом за розмірами [6]. Незважаючи на більший розмір частинок та меншу відтворюваність по відношенню до золотих, цей метод активно застосовується при синтезі срібних золів.

Головним недоліком даного методу є одночасне використання цитрат-іону і як відновник і як стабілізатор. З цієї причини неможливо незалежно керувати, як формуванням, зростанням та стабілізацією наночастинок, і швидкістю відновлення.

Золь-гель метод. Метод дуже підходить для виготовлення наноксидів металів [21]. Він легкий і не потребує будь-яких спеціальних умов. Процес передбачає перетворення розчину алкоксиду або хлориду металу в колоїдну суспензію (золю) з наступним гелеутворенням золю. В результаті утворюються дискретні частинки або сітчасті полімери в безперервній рідкій фазі (гель).

Природа попередника металу та розчинника відіграє значну роль у цьому способі синтезу наночастинок оксидів металів. Так, наприклад, у роботі [4] синтезували наночастинок оксиду церію золь-гель методом в желатиновому

Продовження додатку Г

середовищі. Вихідним реагентом слугував нітрат церію $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$, гідроліз проводили розчином аміаку.

Довголанцюговий желатин був використаний для росту наночасток оксиду церію та їх стабілізації. Таким чином був виготовлений нанорозмірний оксид церію з кубічною структурою флюориту з розмірами менше 10 нм.

Мікроемульсійний метод є універсальним на шляху до отримання наночасток оксидів металів. Мікроемульсія – це колоїдний розчин, який складається з двох незмішуваних розчинників. Зазвичай синтез мікроемульсійних наночасток включає хімічну реакцію в водному середовищі, внаслідок якої розчинні прекурсори переходять в нерозчинний продукт. Хоча метод мікроемульсії часто називають шаблонним, досить складно прогнозувати розмір синтезованих частинок, адже склад мікроемульсійної системи досить сильно впливає на процеси зародження та росту кристалітів.

Використання поверхнево-активних речовин дозволяє отримувати монодисперсні частинки. Дуже важливо правильно обрати ПАР, які будуть використовуватися для синтезу нанооксиду церію, так як ці речовини впливають на заряд поверхні, що може зашкодити властивостям кінцевого продукту. Наночасточки оксиду церію, синтезовані цим методом, виявляють каталазоподібну активність, тому його можна використовувати для синтезу наночастинок медичного призначення [15].

3. Синтез наночасток з використанням рослин - біологічний метод.

«Зелений» синтез – метод отримання металевих наночасток різної морфології із солей відповідних металів з використанням як відновлюючих та стабілізуючих агентів екстракти рослин. Метод дозволяє отримувати металеві наночастки розміром від 10 до 500 нм сферичної, тригранної, пентагональної і гексагональної форм. Водне середовище використовується для «зеленого» синтезу замість органічного розчинника [1].

Продовження додатку Г

Термін «зелений» застосовують до екологічно безпечного та нешкідливого використання менш енерговитратних, нетоксичних хімічних речовин біологічного походження для синтезу наночасток. В якості стабілізатора та комплексоутворюючого агента (хелатного) використовують природні органічні матриці, як-от: рослинні екстракти, біополімери, гриби, поживні речовини тваринного походження. Тому цей метод ідеально підходить для синтезу наночасток CeO_2 , призначених для фармацевтичного застосування. Частинки, синтезовані цим методом, зазвичай мають сферичну форму.

В оглядовій роботі [2] зроблено класифікацію методів зеленого синтезу за природою утримуючого та стабілізуючого агента. За цією класифікацією, існує фітосинтез, коли для отримання наночасток оксиду церію використовують рослинні екстракти. Використання рослин дозволяє отримати малотоксичні сферичні частинки, а сам процес є простим та економічно вигідним. Як сировину можна використовувати, наприклад, екстракти: листя Лоху вузьколистого (*Elaeagnus angustifolia*), одержуючи з частинки розміром 30-75 нм, Глоріози розкішної (*Gloriosa superba*) – 5 нм, Акаліфи індійської (*Acalypha indica*) – 25-30 нм, Алоє вера (*Áloë véra*) та Маслини європейської (*Olea europaea*) – 24 нм; з рослинного екстракту лимонної трави (лемонграссу) – від 10 до 40 нм, екстракту насіння Льону звичайного (*Linum usitatissimum*) – 21 нм, екстракту кори Пікрасма (*Picrasma quassioides*) – 24-30 нм, Моринги маслянистої (*Moringa oleifera*) – 40-45 нм. Можливий також так званий мікосинтез – біосинтез частинок з використанням грибів, наприклад, *Humicola sp.* (12- 20 нм), *Curvularia lunata* (5-20 нм), Аспергілл чорний (*Aspergillus niger*) (5-20 нм). Але недоліком є те, що в деяких випадках отримані частинки неоднорідні за морфологією, здатні до агломерації та мають широкий розмірний діапазон.

Використовують в якості стабілізуючого агента й органічні сполуки (біополімери): дубильну кислоту, пектин (40 нм), хітозан (23 нм). Існують спроби

Продовження додатку Г

синтезувати наночастинки «зеленим» методом, використовуючи поживні речовини, такі як свіжий яєчний білок (8-18 нм) або, наприклад, мед (23 нм).

Механізм синтезу металевих наночастинок у рослинних екстрактах включає три основні фази:

- 1) фазу активації, де відбувається відновлення іонів металу;
- 2) зростання, що супроводжується збільшенням термодинамічної стабільності наночастинок;
- 3) фазу термінації процесу, що визначає остаточну форму наночастинок.

Відновлення солей супроводжується зміною кольору розчину від жовтого до фіолетового, темно-коричневого, чорного і темно-зеленого залежно від компонентів, що використовуються. Для отримання високої якості таких наночастинок використовуються різні концентрації екстрактів рослини та солей, рН екстрактів, оптимальні умови проведення синтезу, інтервал температур від 10 до 300°C. Даним методом отримують різні металеві наночастинки, такі як золото, срібло, платина, цинк, мідь, окис титану, магнетит та нікель. Використовують різні частини рослин, такі як стебло, корінь, фрукти, насіння, шкірка, листя та квітка.

Рослинний свіжий екстракт містить різні метаболіти, такі як поліфеноли, флавоноїди, алкалоїди і терпеноїди, фенольні кислоти, цукру і білки, в яких ці складні головним чином відповідальні за відновлення іонів і формування металевих наночастинок. Різноманітність рослинних екстрактів, реакційної суміші та умов проведення реакції шляхом зміни температури, рН реакційної суміші та включення добавок біологічного походження (біоматриць) дозволяють створювати наночастинки різних металів певного розміру та форми.

Безперечно, «зелений» синтез є екологічно чистим, ефективним і безпечним методом синтезу. Він не потребує використання високих тисків та температури, токсичних та екологічно шкідливих реагентів і розчинників. Але і цей метод має певні обмеження. Доведено, що кристаліти з меншими розмірами (а отже, з більшою площею поверхні) виявляють вищу антибактеріальну активність, ніж

більш агреговані частинки. На практиці ж отримані частинки зазвичай більшого розміру, ніж розраховано. Наприклад, в роботі [5] в ролі стабілізуючого агенту використовували екстракт насіння Шавлії довготрубчаної (*Salvia macrosiphon Boiss*). Розмір кристалітів, одержаних у трьох синтезах, розрахований за рівнянням Шеррера по рентгенограмам становив 11, 9 і 10 нм, тоді як з СЕМ знімків – відповідно 40, 20, 20 нм. Вірогідно відбувається агломерація кристалітів. Тому частинки, синтезовані методом зеленого синтезу, мають великі розміри, внаслідок чого падає антибактеріальна активність, через що їхнє використання в біомедичній сфері перестає бути доцільним [8].

Висновки. В даній статті розглянуто більшість відомих методів синтезу наночасток срібла та церію, проаналізовано їх переваги та недоліки. Встановлено, що завдяки своїм унікальним властивостям, нанорозмірний оксид срібла та церію мають широкий спектр застосування. Наночастки оксиду срібла та церію та матеріали на їх основі широко використовуються в екологічній, промисловій, біоаналітичній та біомедичній сферах. Наночастки оксиду церію використовуються для каталізу завдяки їх високій каталітичній ефективності, термічно стабільній структурі та добрій селективності. Саме метод «зеленого синтезу» металічних наночасток є найбільш ефективним, економічно-вигідним та екологічним в порівнянні з класичними методами.

Список використаної літератури

- Annu Ali A., Gadkari R., Sheikh J.N., Ahmed S. *Phytomediated synthesis of cerium oxide nanoparticles and their applications. (Nanomaterials and plant potential, 2019).*
- Charbgo F., Ahmad M.B., Darroudi M. *Cerium oxide nanoparticles: Green synthesis and biological applications. Int. J. Nanomed. 2017. 12: 1401.*

- Chen G., Wang Y., Yang M., Xu J., Goh S. J., Pan M., Chen H. *Measuring Ensemble Averaged Surface-Enhanced Raman Scattering in the Hotspots of Colloidal Nanoparticle Dimers and Trimers.* // J. Am. Chem. Soc., 2010. V. 132. P. 3644–3645.
- Darroudi M., Hakimi M., Sarani M. et al. *Facile synthesis, characterization, and evaluation of neurotoxicity effect of cerium oxide nanoparticles* // Ceram. Int. - 2013. – V. 39, No 6. – P. 6917–6921.
- Elahi B., Mirzaee M., *Darroudi Metal Preparation of cerium oxide nanoparticles in Salvia macrosiphon boiss seeds extract and investigation of their photo-catalytic activities* // Ceram. Intern. - 2018. – V. 45. – P. 4790-4797.
- Jin R., Cao Y.W., Mirkin C.A., Kelly K.L., Schatz G.S., Zheng J.G., *Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms.* // Science. 2001. V.294. P. 1901-1903
- Kitsou I., Roussi E., Tsetsekou A. *Synthesis of aqueous nanodispersed nanocrystalline ceria suspensions by a novel organic/inorganic precipitation method.* Ceram. Internat. 2017. 43(4): 3861.
- Kumar A., Das S., Munusamy P. et al. *Behavior of nanoceria in biologically-relevant environments* // Environ Sci Nano. – 2014. – V. 1, No 6. – P. 516–532.
- Лунина М.А., Новожилов Ю.А. *Электрический конденсационный способ получения органодисперсий металлов.* // Колл. Журн. 1969. Т.31. С. 467-470.
- Moskovits M. *Chemistry and Physics of Matrix Isolated Species.* Eds Andrews L., Amsterdam: North Holland. 1989. 430 P.
- Новожилов Ю.А., Лунина М.А. *Адсорбция жирных кислот и спиртов на высокодисперсном никеле.* // Журн. Физ. Хим. 1968. Т.42. С. 2114-2115.
- Rycenga M., Cogley C. M., Zeng J., Li W., Moran C. H., Zhang Q., Qin D., Xia Y. *Controlling the Synthesis and Assembly of Silver Nanostructures for Plasmonic AP. Lications Chem. Rev., 2011. V. 111. № 6. P. 3669–3712.*

- Sakamoto M., Fujistuka M., Majima T. *Light as a construction tool of metal nanoparticles: Synthesis and mechanism* // J. Photochem. Photobiol., C. 2009. V. 10. № 1. P. 33–56.
- Sergeev B.M., Sergeev G.B. Lee Y.J., Prusov A.N., Polyakov V.A. *Cryochemical synthesis of bimetallic nanoparticles in the silver–lead– methylacrylate system* // Mendeleev Commun. 1998. V. 8. № 1. P. 1–2.
- Shlapa Y., Sarnatskaya V., Timashkov I. et al. *Synthesis of CeO₂ nanoparticles by precipitation in reversal microemulsions and their physical–chemical and biological properties* // Appl. Phys. A. – 2019. – V. 125. – P. 412-452.
- Tsujia T., Thanga D.-H., Okazaki Y., Nakanishib M., Tsuboic Y. Tsujia M. *Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in polyvinylpyrrolidone solutions* // AP. lied Surface Science 2008. V. 254. № 16. P. 5224–5230
- Turkevich J., Stevenson P. C., Hiller J. *A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold.* // Discuss. Faraday Soc. 1951. V.11. P. 55-75.
- Wiley B., Sun Y., Mayers B., Xia Y. *Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: the case of silver* // Chem. Eur. J. 2005. V. 11. № 2. P. 454-463.
- Yao J., Wang Y., Tsai K.-T., Liu Z., Yin X., Bartal G., Stacy A. M., Wang Y.-L., Zhang X. *Design. fabrication and characterization of indefinite metamaterials of nanowires* // Phil. Trans. R. Soc. A. 2011. V. 369. P. 3434–3446.
- Zhang D., Du X., Shi L., Gao R. *Shape-controlled synthesis and catalytic application of ceria nanomaterials.* Dalton Transactions. 2012. 41(48): 14455.
- Zheng K., Boccaccini A.R. *Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: a review* // Adv. Colloid Interface Sci. - 2017. – V. 249. – P. 363–373.

SILVER AND CERIUM NANOPARTICLES SYNTHESIS METHODS

M.O. Malinoshevska, O.A. Shydlovska

Kyiv National University of Technologies and Design

Annotation

The study of nanoparticles is currently an area of intense scientific interest due to a wide range of application possibilities in medical and biological fields. Therefore, national initiatives in the field of nanotechnology and nanoparticle research receive broad government support in many countries of the world. Nanoparticle synthesis methods are simple and can be carried out without special laboratory equipment. The very fact of the simplicity of the synthesis process from the technical side makes the synthesis and use of nanoparticles in medicine, biotechnology and other fields of human activity extremely attractive. Silver nanoparticles have a pronounced antibacterial effect against a wide range of bacterial pathogens. The antioxidant properties of cerium nanoparticles are described, which provide the prospect of their use in the therapy of tumor and viral diseases. That is why the purpose of the work is to analyze and compare possible methods of synthesis of silver and cerium nanoparticles and to single out the most promising method. The analysis of the known methods of synthesis of silver and cerium nanoparticles, as well as a comparison of their advantages and disadvantages, allowed us to conclude that the biological synthesis of nanoparticles is the most promising, in particular with the use of plant extracts. An important feature of the biological method of synthesis of nanoparticles is the absence of toxic reducing agents and the complex multi-stage process in comparison with the chemical method of synthesis. Moreover, the biological method of synthesis allows obtaining nanoparticles of a certain size and shape in a wide range of values, while the physical method is very limited. Regulation of the size and shape of nanoparticles obtained by biological synthesis is provided by a simple change of the synthesis conditions, namely the pH value, acidity, concentration of the corresponding metal salt, etc. Green synthesis is a safe ecological and cost-effective method of synthesis of silver and cerium nanoparticles.

Key words: *nanoparticles, nanotechnology, biotechnology, synthesis methods, silver, cerium.*

References

- Annu Ali A., Gadkari R., Sheikh J.N., Ahmed S. *Phytomediated synthesis of cerium oxide nanoparticles and their applications. (Nanomaterials and plant potential, 2019).*
- Charbgo F., Ahmad M.B., Darroudi M. *Cerium oxide nanoparticles: Green synthesis and biological applications. Int. J. Nanomed. 2017. 12: 1401.*
- Chen G., Wang Y., Yang M., Xu J., Goh S. J., Pan M., Chen H. *Measuring EnsembleAveraged Surface-Enhanced Raman Scattering in the Hotspots of Colloidal Nanoparticle Dimers and Trimers.// J. Am. Chem. Soc., 2010. V. 132. P. 3644–3645.*

- Darroudi M., Hakimi M., Sarani M. et al. *Facile synthesis, characterization, and evaluation of neurotoxicity effect of cerium oxide nanoparticles* // *Ceram. Int.* - 2013. – V. 39, No 6. – P. 6917–6921.
- Elahi B., Mirzaee M., *Darroudi Metal Preparation of cerium oxide nanoparticles in Salvia macrosiphon boiss seeds extract and investigation of their photo-catalytic activities* // *Ceram. Intern.* - 2018. – V. 45. – P. 4790-4797.
- Jin R., Cao Y.W., Mirkin C.A., Kelly K.L., Schatz G.S., Zheng J.G., *Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms.* // *Science.* 2001. V.294. P. 1901-1903
- Kitsou I., Roussi E., Tsetsekou A. *Synthesis of aqueous nanodispersed nanocrystalline ceria suspensions by a novel organic/inorganic precipitation method.* *Ceram. Internat.* 2017. 43(4): 3861.
- Kumar A., Das S., Munusamy P. et al. *Behavior of nanoceria in biologically-relevant environments* // *Environ Sci Nano.* – 2014. – V. 1, No 6. – P. 516–532.
- Lunina M.A., Novozhilov Yu.A. *Elektricheskiy kondensatsionnyy sposob polucheniya organodispersiy metallov.* // *Koll. Zhurn.* 1969. T.31. S. 467- 470. (in Russian)
- Moskovits M. *Chemistry and Physics of Matrix Isolated Species.* Eds Andrews L., Amsterdam: North Holland. 1989. 430 P.
- Novozhilov Yu.A., Lunina M.A. *Adsorbtsiya zhirnykh kislot i spirtov na vysokodispersnom nikel.* // *Zhurn. Fiz. Khim.* 1968. T.42. S. 2114-2115 (in Ukrainian).
- Rycenga M., Cobley C. M., Zeng J., Li W., Moran C. H., Zhang Q., Qin D., Xia Y. *Controlling the Synthesis and Assembly of Silver Nanostructures for Plasmonic AP.* *Lications Chem. Rev.,* 2011. V. 111. № 6. P. 3669–3712.
- Sakamoto M., Fujistuka M., Majima T. *Light as a construction tool of metal nanoparticles: Synthesis and mechanism* // *J. Photochem. Photobiol., C.* 2009. V. 10. № 1. P. 33–56.

- Sergeev B.M., Sergeev G.B. Lee Y.J., Prusov A.N., Polyakov V.A. *Cryochemical synthesis of bimetallic nanoparticles in the silver–lead– methylacrylate system* // Mendeleev Commun.1998. V. 8. № 1. P. 1–2.
- Shlapa Y., Sarnatskaya V., Timashkov I. et al. *Synthesis of CeO₂ nanoparticles by precipitation in reversal microemulsions and their physical–chemical and biological properties* // Appl. Phys. A. – 2019. – V. 125. – P. 412-452.
- Tsujia T., Thanga D.-H., Okazaki Y., Nakanishi M., Tsuboi Y. Tsujia M. *Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in polyvinylpyrrolidone solutions* // Applied Surface Science 2008. V. 254. № 16. P. 5224–5230
- Turkevich J., Stevenson P. C., Hiller J. *A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold.* // Discuss. Faraday Soc. 1951. V.11. P. 55-75.
- Wiley B., Sun Y., Mayers B., Xia Y. *Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: the case of silver* // Chem. Eur. J. 2005. V. 11. № 2. P. 454-463.
- Yao J., Wang Y., Tsai K.-T., Liu Z., Yin X., Bartal G., Stacy A. M., Wang Y.-L., Zhang X. *Design, fabrication and characterization of indefinite metamaterials of nanowires* // Phil. Trans. R. Soc. A. 2011. V. 369. P. 3434–3446.
- Zhang D., Du X., Shi L., Gao R. *Shape-controlled synthesis and catalytic application of ceria nanomaterials.* Dalton Transactions. 2012. 41(48): 14455.
- Zheng K., Boccaccini A.R. *Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: a review* // Adv. Colloid Interface Sci. - 2017. – V. 249. – P. 363–373.