

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:

**Оптимізація біогенного синтезу наночасток
срібла за допомогою *Lactobacillus acidophilus*»**

Рівень вищої освіти другий (магістерський)

Спеціальність 162 біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

Виконала: студентка групи МгБТ-22

Ластовецька Л.О.

Науковий керівник: к.т.н., доц. Волошина І.М.

Рецензент: к.б.н., доц. Юнгін О.С.

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА
« ____ » _____ 2023 р.

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Ластовецькій Людмилі Олегівні**

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Оптимізація біогенного синтезу наночастинок срібла за допомогою *Lactobacillus acidophilus***

Науковий керівник роботи Волошина Ірина Миколаївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «12» вересня 2023 року №210-уч.

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо властивостей наночастинок, характеристики під час роботи з *Lactobacillus acidophilus*; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.

3. Зміст кваліфікаційної роботи: вступ, огляд літератури, методи і матеріали, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.

4. Дата видачі завдання 12.09.2023 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
	Вступ		
	Розділ 1 Огляд літератури		
	Розділ 2 Методи і матеріали дослідження		
	Розділ 3 Експериментальна частина		
	Висновки		
	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)		
	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)		
	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів до захисту)		
	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		
	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений

Студент _____ Людмила ЛАСТОВЕЦЬКА

Науковий керівник роботи _____ Ірина ВОЛОШИНА

АНОТАЦІЯ

Ластовецька Л.О. Оптимізація біогенного синтезу наночасток срібла за допомогою *Lactobacillus acidophilus*. – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 – Біотехнології та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2023 рік.

Кваліфікаційну роботу присвячено підбору оптимальних параметрів рН та температури для отримання біогенних наночасток срібла за допомогою лактобактерій *Lactobacillus acidophilus*. Визначення розмірів наносрібла проводиться методом фотонної кореляційної спектроскопії із використанням аналізатора розміру наночастинок BeNano 90 Zeta.

У кваліфікаційній роботі використані сучасні літературні джерела про біогенний синтез наночасток із використанням лактобактерії *Lactobacillus*

Ключові слова: *Lactobacillus acidophilus*, наночастки срібла, наносрібло, зелений синтез, синтез наночасток.

L

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1.....	11
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Характеристика та властивості наночастинок.....	11
1.2 Наночастки срібла та їх використання.....	13
1.3 Методи синтезу наночасток металів.....	15
1.3.1 Хімічні методи.....	15
1.3.2. Фізичні методи.....	20
1.3.3 Біологічні методи.....	22
Висновки до розділу 1.....	27
РОЗДІЛ 2.....	29
МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ.....	29
2.1 Характеристика біологічного агента <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691.....	29
2.2. Приготування середовища MRS-агару та MRS-бульйону.....	31
Підготовка біологічного агенту.....	33
2.4 Отримання робочого матеріалу для отримання наносрібла.....	33
2.5 Методика біогенного синтезу наночасток срібла.....	33
2.6 Визначення розмірів наночастинок срібла методом фотонної кореляційної спектроскопії.....	34
2.7 Визначення антимікробних властивостей наночасток срібла.....	35
2.8 Статистичний аналіз.....	35
Висновки до розділу 2.....	35
РОЗДІЛ 3.....	36
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	36
3.1 Загальне планування експерименту та візуальний контроль отримання наносрібла.....	36
3.2. Результати накопичення наночасток срібла за температури 5°C.....	37

3.3 Аналіз результатів отримання наночасток срібла відносно двох варіантів дослідження.....	38
3.4 Отримання наночасток срібла на середовищі MRS.....	40
Висновок до розділу 3.....	41
ВИСНОВКИ.....	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	44
ДОДАТОК	

ВСТУП

На сьогоднішній день існують багато фізичних та хімічних методів синтезу наночасток. Однак, через зростання схвильованості через непотрібні та черезмірні викиди виробництва існує загроза для навколишнього середовища. Тому доцільним є використання «зелених» методів виробництва наночастинок металів. Також важливим є оптимізація різноманітних біологічних методів задля досягнення високого відсотку виходу продукту та мінімальних затрат для виробництва.

Ця робота спрямована на дослідження наночасток срібла як перспективного матеріалу і включає в себе вивчення різних методів їхнього отримання, структуризації та характеристики. Додатково, буде розглянуто потенційні застосування наночасток срібла та важливі аспекти безпеки при їхньому використанні. Детальне дослідження матеріалів та методів їхнього створення на наномасштабі відкриває нові горизонти для інновацій та розвитку, допомагаючи перетворити наукові відкриття в реальні технологічні досягнення.

Актуальність теми магістерської роботи полягає у підборі технологічних параметрів (pH, t) для отримання наночасток срібла за допомогою *Lactobacillus acidophilus*.

Наукова новизна роботи полягає у вивченні та отриманні наносрібла біологічним способом за допомогою *Lactobacillus acidophilus*.

Метою роботи є підбирання оптимальних умов синтезу наночастинок срібла з AgNO_3 за допомогою мікроорганізму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691.

Об'єкт дослідження роботи наночастки срібла та бактерії *Lactobacillus*

Предмет дослідження бактерії *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 та їх властивості.

Завданнями для досягнення мети даної роботи є:

провести біогенний синтез наночасток срібла за допомогою культуральної рідини, лізату та супернатанту культуральної рідини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691.

становити оптимальні параметри рН середовища для синтезу наночасток срібла та визначити оптимальну температуру

ослідити формування наночасток з використанням методу спектрофотометрії за допомогою УФ-спектрофотометра ULAB 102 UV та Визначити розмір отриманих металевих наночастинок методом фотонної кореляційної спектроскопії за допомогою аналізатора вимірювання наночастинок BeNano

працювати отримані результати та визначити оптимальні умови синтезу наночасток срібла за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691.

перевірити антимікробні властивості отриманих наночасток срібла на бактеріях та мікроміцетах.

Методи дослідження біотехнологічні, біологічні та спектрофотометричні методи, спостереження, аналіз та характеристика результатів.

Практичне значення отриманих результатів полягає у встановленні оптимальних умов зеленого синтезу наносрібла з подальшим їх використанням.

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 5 робіт: дві статті у журналі Scopus апробовані в трьох збірниках матеріалів науково-практичних міжнародних конференцій:

(Додаток Б)

(Додаток В)

Л

а

с

т

о

в

(Додаток Г), сертифікат учасника (Додаток Д).

Ластовецька Л.О., Давидюк Т.Є., Волошина І.М. Перспективи використання біосинтезованих наночасток ZnO // Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали III міжнародної наук.-практ. інтернет-конф. (24 березня 2023 р., м. Харків). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2023. – С. 246-247 (Додаток Ж), сертифікат учасника (Додаток З).

//The International research and practice conference “Nanotechnology and nanomaterials” (NANO-2022). Abstract Book of participants of the International research and practice conference, 25–27 August 2022, Lviv. Edited by Dr. Olena Fesenko. – Kyiv: LLC APF POLYGRAPH SERVICE, 2022. – P. 286. (Додаток К).

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна науково-дослідницька робота викладена на 58 сторінках, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує представлено вісім додатків, представлені на 14 сторінках.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

арактеристика та властивості наночастинок

Впровадження нанотехнологій у сучасний світ відкриває безмежні можливості для розвитку нових матеріалів і методів з численними застосуваннями у різних галузях науки та техніки. Однією з цікавих та актуальних областей є дослідження наночасток різноманітних металів, які відзначаються унікальними властивостями та можуть мати значущий вплив на такі сфери як медицина, електроніка, біологія та багато інших. Дослідження матеріалів на наномасштабі вимагають глибокого розуміння не лише їхніх потенційних переваг, але й вирішення численних викликів, пов'язаних з їхньою синтезом, характеристикацією та безпекою застосування.

Наночастки металів – це неймовірно малі частинки металічних матеріалів, які мають розміри від декількох до сотень нанометрів. Нанометр – це мільйонна доля метра, і такі маленькі розміри надають матеріалам нові та цікаві властивості, які відрізняються від властивостей того ж матеріалу у більш крупних розмірах, і використовуються в різних галузях науки та технології.

Наночастки металів відрізняються від більших металевих структур численними унікальними властивостями, які виникають завдяки їхньому наномасштабному розміру.

По-перше, поверхневі властивості наночасток металів відіграють велику роль у зміні хімічних та фізичних властивостей матеріалу на поверхні наночастки – чим менший розмір наночасток, тим більше атомів знаходиться на їхній поверхні порівняно з обсягом. Це призводить до збільшення активної поверхні, що може позитивно вплинути на хімічні реакції, каталіз та інші процеси. Наночастки металів часто використовуються як каталізатори, оскільки велика площа поверхні сприяє хімічній реакції між реакційними речовинами. Велика площа поверхні наночасток металів також робить їх відмінними каталізаторами для хімічних реакцій. Це може знайти застосування у виробництві палив та хімічних реакцій [13].

Також в металічних наночастках можуть виникати плазмонні резонанси, які взаємодіють з електромагнітним випромінюванням. Це може призводити до підсилення оптичних властивостей часток та використання їх у сенсорах та інших пристроях. Внаслідок плазмонних резонансів наночастки металів можуть поглинати та розсіювати світло відмінно від більших структур. Це може бути використано для розробки оптичних сенсорів, технологій візуалізації та інших застосувань [3, 10, 11].

Як було доведено, у наночастках металів можуть спостерігатися квантові ефекти, такі як квантова точка, коли властивості матеріалу стають залежними від кількості атомів. Деякі наночастки металів можуть виявляти магнітні властивості, що робить їх корисними для розробки нових матеріалів для магнітної та електронної галузей [4, 12].

Ці особливості наночасток металів роблять їх об'єктом інтенсивних досліджень у різних наукових галузях і сприяють розвитку нових матеріалів та технологій.

Наночастки металів знаходять широке застосування у багатьох сферах, включаючи медицину, електроніку, оптику, каталіз, енергетику та багато інших.

Наприклад, наночастки срібла [1] та цинку [8] використовуються у медичних антимікробних та антисептичних засобах та наночастки золота для покращення доставки ліків, формування зображень в медицині [2], а також діагностики та терапії раку [9]. Деякі наночастки як золото, срібло, титан, платина, мідь та паладій знаходять застосування наночасток металів у виробництві плазмонних сенсорів [3]. Використання наночасток металів золота, паладію, срібла та міді також має місце у виготовленні електронних пристроїв та пластинок для вивчення одномолекулярних процесів [4]. Наночастки платини та паладію часто використовують у каталізі палива [5]. Все більшого поширення знаходять наночастки благородних металів у їх використанні у виробництві сонячних елементів [6]. Також застосовуються наночастки діоксиду титану та оксиду заліза у виробництві літій-іонних

акумуляторів [7]. Наночастки нікелю, заліза та кобальту з магнітними властивостями використовують у системах збереження інформації, магнітних нанопристроях, медичній діагностиці та для створення нанороботів [12].

аночастки срібла та їх використання

Наночастки срібла (AgNPs) представляють собою кластери атомів срібла діаметром від 1 до 100 нм та викликають великий інтерес вчених в якості протимікробних засобів в медичній галузі.

Наночастки срібла отримують різними методами, а саме хімічними, фізичними та біологічними. Зокрема хімічні методи виробництва користуються більшою популярністю, хоча більш небезпечні з точки екології [10]. Також отримання наночастки металів звичайними методами пов'язано з використанням токсичних речовин, що забруднюють навколишнє середовище [10-12]. Найбільш безпечним методом отримання наночасток металів залишається біологічний метод за допомогою різноманітних біологічних агентів.

Наночастки срібла часто використовуються у різних сферах біомедицини завдяки прояву антимікробних властивостей, оскільки існує проблема стійкості різних мікроорганізмів до антибіотиків. Наночастинки срібла мають антимікробні властивості проти різноманіття грамнегативних та грампозитивних бактерій [13]. Крім того показано, що елементарне срібло також виявляє протигрибкову, антибактеріальну та противірусну дію [14].

Біомедичне застосування наночасток срібла може бути ефективним завдяки використанню наночасток синтезованих біологічними методами, які мінімізують такі фактори, як токсичність і виявляються стабільними. Однак використання наночасток срібла не обмежується лише їх антимікробним потенціалом, а й використовується для отримання і розробки нових біомедичних продуктів. Наприклад, AgNPs використовують для доставки лікарських речовин, оптичних зондів, ортопедичних матеріалів, а також в

якості дезінфікуючих спреїв, бинтів, катеторів, тощо [10, 15].

Було встановлено, що зміна розміру, поверхні та форми AgNPs впливає на клітинну мембрану та клітинні органели, тому їх можна використовувати для зниження патогенності та підвищення чутливості до лікарських засобів [10, 16].

Зустрічається багато інформації про те, що наносистеми на основі AgNPs були протестовані як додаткові наноносії різних протизапальних, антиоксидантних, антимікробних та протипухлинних агентів для ефективної доставки лікарських засобів [4, 10].

Також є літературні дані, що для лікування раку використовують багато цитотоксичних агентів, однак їх ефективність ще не до кінця доведена та вивчена [17, 18]. Тому дуже важливо створити інноваційні, доступні та безпечні альтернативні методи лікування ракових пухлин. Є думка, що AgNPs можуть бути дієвими для ефективної терапії раку [17, 18].

Наночастки срібла завдяки своїй формі та властивостям вважаються дуже потенціальними для можливого лікування лейкемії та ракових пухлин молочних залоз, легенів, печінки, простати, шкіри тощо. В багатьох джерелах стверджують, що AgNPs можуть бути застосовані в якості протипухлинних засобів завдяки їхнім антипроліферативним та індукуючим апоптоз властивостям [17, 18]. Було продемонстровано, що правильно підібрані наночастки срібла можуть інтегрувати всередину клітини-мішені та перепрограмувати їх для запуску апоптозу [17, 18].

Також існує проблема забруднення біоплівками та різними бактеріями водопроводних ліній стоматологічних установок, що призводить до забруднення навколишнього середовища [19]. Автори [19] досліджували можливість знезараження таких систем за допомогою дезінфікуючого засобу з наносріблом, які мали сферичну форму та розміри від 3 до 5 нм і були зв'язані зі стабілізуючим полімером. Після обробки стабілізуючого полімеру не було, а розподілення розмірів часток AgNPs варіювало від 50 до 200 нм. Також спостерігали поверхневі перетворення домінуючих часток наночасток

срібла до дезинфекції з AgO у AgCl. Дослідники показали, що AgNPs адсорбуються на поверхні біоплівки і є токсичними для бактерій. Також показано, як трансформуються AgNP в залежності від умов, в яких вони перебувають [19].

Існують дослідження, що використовують AgNPs в якості антибактеріальної добавки до кісткового цементу із поліметилметакрилату [20, 21]. Кістяний цемент використовується для прикріплення суглобних протезів при замінах суглобів [20, 21].

Пов'язки з наночастками срібла значно скорочують час заживлення ран до 3 діб та збільшують показники очищення інфікованих ран. Також цікаво, що побічних ефектів пов'язок з AgNPs не спостерігали [20, 22, 23]. Таким чином, результати вчених однозначно показали переваги пов'язок з наносріблом в загоюванні поверхні опікових ран.

етоди синтезу наночасток металів

Для отримання та стабілізації металевих наночастинок зазвичай використовуються різні фізичні, хімічні та біологічні методи, такі як електрохімічні зміни, хімічне й фотохімічне відновлення та «зелений» синтез наночасток [14,15]. Вибір методу отримання металевих наночастинок є не менш важливим, оскільки під час синтезу наночастинок такі процеси, як кінетика взаємодії іонів металу з відновником, процес адсорбції стабілізатора металевими наночастинами, а також різноманітні експериментальні методики сильно впливають на її морфологію (структуру та розмір) стабільність і фізико-хімічні властивості.

Хімічні методи

Хімічне відновлення. При хімічному методі відновлення іонну сіль відновлюють у відповідному середовищі в присутності поверхнево-активної речовини з використанням різних відновників [16]. Відновник, такий як борогідрид натрію, використовується у водному розчині для отримання

металевих наночастинок. Сформовані металеві наночастинки блокуються за допомогою тринатрійцитрату (TSC) або натрій лаурилсульфату (SLS). Іноді стабілізатор використовується з відновником. Стійкість наночастинок металу в дисперсії контролювали за допомогою аналізу поглинання. Для синтезу наночастинок срібла використовують такі відновники, як борогідрат натрію (NaBH_4), глюкоза, етиленгліколь, етанол, цитрат натрію, гідразингідрат тощо

Найпоширенішим підходом до синтезу НЧ срібла є хімічне відновлення органічними та неорганічними відновниками. Загалом для відновлення використовуються різні відновники, такі як цитрат натрію, аскорбат, борогідрид натрію (NaBH_4), елементарний водень, поліоловий процес, реактив Толленса, N,N-диметилформамід (DMF) і полі (етиленгліколь)-блок-сополімери. іонів срібла (Ag^+) у водних і неводних розчинах. Ці відновники відновлюють Ag^+ і призводять до утворення металевого срібла (Ag^0), яке супроводжується агломерацією в олігомерні кластери. Ці кластери зрештою призводять до утворення металевих колоїдних частинок срібла [18,19]. Важливо використовувати захисні агенти для стабілізації дисперсійних НЧ під час підготовки металевих наночастинок і захисту НЧ, які можуть поглинатися на поверхні наночастинок або зв'язуватися з ними, уникаючи їх агломерації групи (наприклад, тіоли, аміни, кислоти та спирти) для взаємодії з поверхнею частинок, може стабілізувати ріст частинок і захистити частинки від осідання, агломерації або втрати їхніх поверхневих властивостей.

НЧ срібла розміром 17 ± 2 нм отримували при швидкості введення 2,5 мл/с і температурі реакції 100 °С. Ін'єкція розчину прекурсора в гарячий розчин є ефективним засобом індукції швидкого зародження за короткий проміжок часу, забезпечуючи виготовлення наночастинок срібла меншого розміру та вузького розподілу за розміром. НЧ срібла можна отримати при кімнатній температурі простим змішуванням відповідних іонів металу з відновленими поліоксометалатами, які служать відновниками та

стабілізаторами. Поліоксометалати розчинні у воді та мають здатність проходити поетапні багатоелектронні окислювально-відновні реакції без порушення своєї структури.

Даний метод є найпростішим для отримання наночастинок металів [16]. Однак, існують деякі обмеження, пов'язані з відновниками, такі як токсичність, дорога, низька відновна здатність, висока вартість і домішки.

Мікроемульсійні методи. Приготування НЧ у двофазних водно-органічних системах ґрунтується на початковому просторовому розділенні реагентів (попередника металу та відновника) на дві незмішувані фази. Поверхня розділу між двома рідинами та інтенсивність міжфазного транспорту між двома фазами, який опосередковується четвертинною алкіламонієвою сіллю, впливають на швидкість взаємодії між попередниками металів і відновниками. Металеві кластери, утворені на межі розділу, стабілізуються завдяки тому, що їхня поверхня покривається молекулами стабілізатора, що знаходяться в неполярному водному середовищі, і переносяться в органічне середовище за допомогою міжфазного транспортера розчинників. Однорідні НЧ срібла з контрольованим розміром можна синтезувати за допомогою методів мікроемульсії.

Колоїдні наночастинки, виготовлені в неводному середовищі для електропровідних чорнил, добре диспергуються в органічному розчиннику з низьким тиском пари, щоб легко змочити поверхню полімерного субстрату без будь-якої агрегації. Переваги також можна знайти в застосуванні металевих НЧ як каталізаторів для каталізації більшості органічних реакцій, які проводилися в неполярних розчинниках. У практичних застосуваннях дуже важливо переносити металеві НЧ у різні фізико-хімічні середовища [22].

Фотовідновлення, ініційоване ультрафіолетом. Існує простий і ефективний метод, ініційований ультрафіолетовим випромінюванням фотовідновлення, для синтезу НЧ срібла в присутності цитрату, полівінілпіролідону, полі(акрилової кислоти) і колагену. Наприклад, НЧ срібла

були виготовлені за допомогою фотовідновлення нітрату срібла в шаруватих суспензіях неорганічної лапонітової глини, які слугували стабілізуючим агентом для запобігання агрегації НЧ. Досліджено властивості отриманих НЧ як функцію часу УФ-опромінення. Бімодальний розподіл розмірів і відносно великі НЧ срібла були отримані при опроміненні УФ протягом 3 годин. Подальше опромінення розщеплювало наночастинки срібла на менші розміри з одним режимом розподілу, доки не було отримано відносно стабільний розмір і розподіл розмірів [23]. НЧ срібла (наносфера, нанодрот і дендрит) були отримані методом фотовідновлення УФ-опроміненням при кімнатній температурі з використанням полівінілового спирту (як захисного та стабілізуючого агента). Концентрація як полі(вінілового спирту), так і нітрату срібла зіграла значну роль у зростанні нанострижнів і дендритів.

Техніка соноелектрохімії використовує потужність ультразвуку в основному для механічного маніпулювання матеріалом. Імпульсний соноелектрохімічний синтетичний метод передбачає чергування звукових і електричних імпульсів, а склад електроліту відіграє вирішальну роль у формуванні. Повідомлялося, що наносфери срібла можна отримати шляхом соно-електрохімічного відновлення з використанням комплексоутворювача, нітрilotріацетату, щоб уникнути агрегації [24].

Електрохімічне осадження. Для виробництва наноматеріалів використовуються такі методи, як синтез електроосадження або темплатний синтез. Техніка іонного травлення використовується для виробництва пористих глиноземних мембран. Крім того, для виготовлення пористих напівпровідникових структур перевагою є метод електрохімічного осадження, такий як електрохімічні процеси розчинення анода [25].

Металеві наночастинки отримують електрохімічним осадженням (ЕД) з використанням ванн, що містять солі металів. Ванни бувають кислотними та основними, і використовують триполосний потенціостат. У цій техніці необхідний електрод або катод, де осаджуються металеві наночастинки, тоді як інший анодний електрод і Ag/AgCl або каломель є електродом порівняння.

Невелика напруга прикладається протягом відповідного часу в електролітичній ванні, що містить сіль металу. Ця методика широко використовується для різних цілей, таких як циклічна вольтамперометрія, подвійний імпульс і потенційне східчасте осадження [26].

Головною перевагою є те, що наночастинки безпосередньо прикріплюються до підкладки. Також це простий, швидкий і недорогий спосіб. Завдяки цьому методу утворюються наночастинки контрольованого розміру та морфології.

За допомогою даного методу можна проводити синтез наночастинок, нанодротів і нанострижнів, а також виробництво наноматеріалів, таких як нанодрооти з Au, Ag, Co, Ni та Pt [26].

Підготовка наночастинок за допомогою мікрохвиль. В даний час для отримання наночастинок більше пропонуються мікрохвильові методи, ніж термічний нагрів. Застосовується мікрохвильова частота в діапазоні від 300 МГц до 300 ГГц, що призводить до орієнтації полярних молекул, таких як H₂O, за допомогою електричного поля. Переорієнтація дипольних молекул зі змінним електричним полем викликає молекулярне тертя та втрату енергії у вигляді тепла. Нещодавно ця методика була успішно реалізована при отриманні наночастинок срібла, де розчин нітрату срібла опромінюють карбоксиметилхітозаном, який діє як відновник і стабілізатор [27].

Срібні, золоті, платинові та золото-паладієві наноструктури були отримані за допомогою мікрохвильового синтетичного підходу. Морфології та розміри НЧ можна контролювати, змінюючи деякі експериментальні параметри, такі як концентрація металевих прекурсорів, поверхнево-активних полімерів, розчинників і температури. Крім того, монодисперсні наночастинки срібла можна синтезувати у великих кількостях за допомогою мікрохвильового хімічного методу у водній системі. У цьому методі амінокислоти діють як відновники, а розчинний крохмаль діє як захисний агент [29].

Вищеописаний метод вважається високоефективною технологією отримання наночастинок, що включає просте, швидке об'ємне нагрівання і, як наслідок, різке збільшення швидкості реакції. Однорідне нагрівання протягом усього процесу може прискорити швидкість реакції на порядки порівняно зі звичайним нагріванням. Але, існує короткий час кристалізації та однорідне зародження завдяки рівномірному нагріванню мікрохвильової печі [28].

Фізичні методи

Випаровування-конденсація. Випаровування-конденсація та лазерна абляція є найважливішими фізичними підходами. Відсутність забруднення розчинником у виготовлених тонких плівках і рівномірність розподілу НЧ є перевагами фізичних методів синтезу в порівнянні з хімічними процесами. Фізичний синтез НЧ срібла з використанням трубчастої печі при атмосферному тиску має деякі недоліки, наприклад, трубчаста піч займає великий простір, споживає велику кількість енергії, підвищуючи температуру навколишнього середовища навколо вихідного матеріалу, і вимагає багато часу для досягнення термостійкості. Крім того, типова трубчаста піч потребує споживання електроенергії понад кілька кіловат і часу попереднього нагрівання в кілька десятків хвилин для досягнення стабільної робочої температури [30,31]. Було продемонстровано, що НЧ срібла можна синтезувати за допомогою невеликого керамічного нагрівача з локальною площею нагріву [32]. Невеликий керамічний нагрівач використовувався для випаровування вихідних матеріалів. Випарена пара може охолоджуватися з відповідною швидкістю, оскільки температурний градієнт поблизу поверхні нагрівача є дуже крутим порівняно з градієнтом у трубчастій печі.

Це робить можливим утворення малих НЧ у високій концентрації. Генерація частинок є дуже стабільною, оскільки температура поверхні нагрівача не коливається з часом. Цей фізичний метод може бути корисним як генератор наночастинок для тривалих експериментів для досліджень інгаляційної токсичності та як калібрувальний пристрій для обладнання для

вимірювання наночастинок [32]. Результати показали, що середній геометричний діаметр, геометричне стандартне відхилення та загальна чисельна концентрація НЧ збільшуються з температурою поверхні нагрівача. Сферичні НЧ без агломерації спостерігалися навіть при високій концентрації з високою температурою поверхні нагрівача. Середній геометричний діаметр і геометричне стандартне відхилення НЧ срібла були в діапазоні 6,2-21,5 нм і 1,23-1,88 нм відповідно.

Лазерна абляція. НЧ срібла можна синтезувати лазерною абляцією металевих масивних матеріалів у розчині [33-35]. Ефективність абляції та характеристики отриманих частинок нано-срібла залежать від багатьох параметрів, включаючи довжину хвилі лазера, що падає на металеву мішень, тривалість лазерних імпульсів (у фемто-, піко- та наносекундному режимах), лазерний флюенс, тривалість часу абляції та ефективне рідке середовище з присутністю поверхнево-активних речовин або без них [36,37].

Важливою перевагою методу лазерної абляції в порівнянні з іншими методами отримання колоїдів металів є відсутність у розчинах хімічних реагентів. Таким чином, чисті та незабруднені металеві колоїди для подальшого застосування можуть бути виготовлені за допомогою цієї методики. Срібні наносфероїди (20-50 нм) були отримані лазерною абляцією у воді фемтосекундними лазерними імпульсами при 800 нм [38]. Ефективність утворення та розмір колоїдних частинок порівнювали з колоїдними частинками, отриманими наносекундними лазерними імпульсами. У результаті ефективність формування фемтосекундних імпульсів була значно нижчою, ніж наносекундних імпульсів. Розмір колоїдів, отриманих фемтосекундними імпульсами, був менш розсіяним, ніж колоїдів, отриманих наносекундними імпульсами. Крім того, було виявлено, що ефективність абляції для фемтосекундної абляції у воді була нижчою, ніж у повітрі, тоді як у випадку наносекундних імпульсів ефективність абляції була однаковою як у воді, так і в повітрі.

Метод дугового розряду. Тієн і його співробітники [39] використовували метод дугового розряду для виготовлення суспензії наночастинок срібла в деіонізованій воді без додавання поверхнево-активних речовин. У цьому синтезі срібні дроти (Gredmann, 99,99%, 1 мм у діаметрі) були занурені в деіонізовану воду та використані як електроди. Зі швидкістю витрати срібного стрижня 100 мг/хв, утворюючи НЧ металевого срібла розміром 10 нм та іонне срібло, отримане при концентраціях приблизно 11 ppm та 19 ppm відповідно. Сігель та його колеги [40] продемонстрували синтез НЧ срібла шляхом прямого напилення металу в рідке середовище. Метод, що поєднує фізичне осадження металу в пропан-1,2,3-тріол (гліцерин), є цікавою альтернативою трудомістким мокрим методам хімічного синтезу. НЧ срібла мають круглу форму із середнім діаметром близько 3,5 нм зі стандартним відхиленням 2,4 нм. Було помічено, що розподіл наночастинок за розміром і рівномірна дисперсія частинок залишаються незмінними для розбавлених водних розчинів до співвідношення гліцерину до води 1:20.

Біологічні методи

Біологічні методи синтезу наночастинок використовують живі організми або їхні біологічні компоненти для отримання наночастинок. Ці методи набувають все більшої популярності через їхню екологічну безпеку та можливість контролювати розміри та морфологію наночастинок.

Завдяки здатності мікроорганізмів швидко накопичувати біомасу та синтезувати біологічно активні речовини, вони можуть бути кандидатами для отримання наночастинок металів у лабораторних умовах, а згодом й у промисловості.

Біосинтез за допомогою мікроорганізмів. Деякі види бактерій, грибів та водоростей можуть виробляти наночастки металів, наприклад, наночастки срібла, золота цинку, титану, кадмію, заліза та багатьох інших металевих наночастинок з використанням іонів металів у навколишньому середовищі.

Цей процес може бути регульований шляхом контролю концентрації металів та інших параметрів.

Сріблу та золоту приділено значно більше уваги порівняно з іншими. Наночастинки цих металів знайшли застосування в різних галузях і є біосумісними з низькою токсичністю. Це робить їх чудовими системами доставки ліків і матеріалом-носієм для датчиків у діагностичних інструментах [41].

Так, біоносіями для наночасток срібла виступають бактерії родів *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Phaenerochaete*; дріжджі роду *Candida*; та водорості роду *Plectonema* [42].

Перевагами використання даного методу може бути біологічна безпека – мікроорганізми, такі як бактерії та гриби, зазвичай вважаються безпечними для навколишнього середовища та здоров'я людини, що робить цей метод екологічно стійким. Також важливим фактором є ефективність та високий вихід – біологічні методи можуть мати високий рівень виходу, оскільки мікроорганізми можуть швидко реплікувати та активно реагувати на реакційні умови. Генетична інженерія та управління умовами реакції можуть дозволяти контролювати розміри та форму синтезованих наночастинок. Таким же чином, можна інженерно модифікувати мікроорганізми для виробництва наночастинок з різними функціональними групами, що розширює їхнє застосування. І звісно, синтезовані наночастки можуть бути використані у багатьох галузях, включаючи медицину, електроніку, каталіз, енергетику та інші.

Але метод з використанням мікроорганізмів має і свої недоліки, такі як специфічність мікроорганізмів – різні мікроорганізми можуть бути обмежені у своїй здатності синтезувати конкретні металеві наночастинки, що може обмежувати різноманітність синтезованих матеріалів; контроль якості – стабільність та якість синтезованих наночастинок може бути важко

контролювати, оскільки мікроорганізми можуть реагувати на зміни в умовах реакції; та ризик забруднення – існує ризик забруднення синтезованих наночастинок залишками біологічних компонентів, які потрібно видалити.

Використання рослин та біологічних екстрактів. Деякі рослини, такі як вільха, можуть накопичувати металеві іони з ґрунту та конвертувати їх у наночастки металів. Цей процес може бути використаний для видобутку наночастинок із природних джерел. Також, біологічні екстракти, такі як екстракти з рослин або мікроорганізмів, можуть служити як стабілізатори та редуктори під час синтезу наночастинок металів. Ці екстракти містять біологічно активні сполуки такі як білки, амінокислоти, пептиди та кислоти, які взаємодіють із металами та допомагають утворювати наночастки.

Для синтезу наночастинок металів також часто використовують рослини та їх частини. Так, для синтезу AgNPs часто використовуються листки рослин та *Apiin*; фрукти рослин *Emblica officinalis*, *Carica papaya* та *Tanacetum*

т

а

Головною перевагою даного методу можна назвати біологічну безпеку – рослини та біологічні екстракти вважаються біологічно безпечними, що робить цей метод екологічно стійким і безпечним для здоров'я. Також рослини є природними джерелами для вирощування наночастинок, і це може бути економічно вигідно та відповідати принципам зеленої хімії, з чого витікає, що використання рослин та біологічних екстрактів дозволяє зберігати рослинні ресурси та використовувати їх ефективно. Ще однією перевагою може бути формування білкових капсидів – деякі рослини мають здатність накопичувати металеві іони та утворювати білковий каркас навколо них, що сприяє створенню стабільних наночастинок. Також наночастки, синтезовані за допомогою рослин та біологічних екстрактів, можуть мати біологічну сумісність і бути застосовані в медицині та біологічних дослідженнях.

Та, на жаль, не всі рослини мають здатність накопичувати металеві іони та синтезувати наночастинки, тому обмеженість видів може обмежити

різноманітність матеріалів. Також проблемою може стати те, що стабільність та якість синтезованих наночастинок може бути важко контролювати, оскільки рослини реагують на зміни у навколишньому середовищі. Синтез наночастинок за допомогою рослин може бути залежним від умов зростання рослин, їхньої стадії росту та середовища, через що це може бути часо- та ресурсозатратним процесом. І, як у випадку з методом синтезу наночастинок з використанням мікроорганізмів, проблемою може стати чистота продукту.

Використання вірусів та бактеріофагів. Використання вірусів та бактеріофагів для синтезу наночастинок є одним із біологічних методів синтезу, що набуває популярності завдяки своїй унікальній ефективності та можливостям. Віруси та бактеріофаги можуть служити як біологічні трафарети для управління розмірами, формою та властивостями наночастинок.

Наприклад, віруси використовувалися для збирання наночастинок золота та оксиду заліза для формування мікроструктур [48], бактеріофаги також використовувалися для формування складних нанометрових і мікрометрових структур [49-51], а також використовувалися збірки ліпосом на основі фагів у процедурах адресної доставки ліків [52-55].

Використання вірусів у синтезі наноматеріалів є новою технікою, яка дозволяє доставляти неорганічні матеріали. Привабливою особливістю вірусів є їх щільне покриття поверхні капсидними білками, які утворюють високореакційну поверхню, здатну взаємодіяти з іонами металів [58]. Наприклад, типовий рослинний вірус, такий як вірус тютюнової мозаїки (TMV), може мати до 2130 білкових молекул капсиду, що покривають його поверхню. Масив білків може діяти як точки кріплення для осадження матеріалів [60-63] або може використовуватися для створення тривимірних судин для фармацевтичних препаратів [64-66]. У недавньому дослідженні низькі концентрації ВТМ були додані до солей Ag або Au перед додаванням рослинних екстрактів *Nicotiana benthamiana* (круглолистий місцевий тютюн) або *Hordeum vulgare* (ячмінь). Присутність вірусу не тільки зменшила розмір

синтезованих наночастинок, але й різко збільшила їх кількість порівняно з невірусними розчинами [67]. Дослідження також показало, що при вищих концентраціях ВТМ утворюється менше вільних наночастинок, і в той же час ВТМ виступає як біоматриця, яка піддається металізації з утворенням нанодротів. Подібні дослідження також показали потенціал вірусів для використання як шаблону для виготовлення структур нанометрового масштабу, таких як нанодроти та нанотрубки [68,69].

Значною перевагою даного методу є висока специфічність – віруси та бактеріофаги можуть бути специфічними до конкретних клітин або організмів, що дозволяє їм міцно адсорбуватися на поверхні та взаємодіяти із специфічними компонентами для синтезу наночастинок. Однак, специфічність бактеріофагів та вірусів до конкретних господарів може обмежувати їхнє використання та можливість синтезу наночастинок для інших видів. Генетичні модифікації бактеріофагів та вірусів знову ж можуть вимагати складної роботи та ресурсів, що може займати час через їхню реплікацію. Крім того, якість синтезованих наночастинок може бути складно контролювати, оскільки процес залежить від багатьох факторів, включаючи властивості вірусів та бактеріофагів.

Бактеріофаги та віруси можуть швидко реплікуватися в організмах-господарях, що призводить до високої ефективності та виходу наночастинок. Також, генетичні модифікації бактеріофагів та вірусів можуть дозволити точно контролювати розміри та форму синтезованих наночастинок.

Отже, використання «зеленого» методу синтезу наночастинок є вигіднішим через більш економний підхід та менші строки синтезу. Також даний метод не потребує настільки складного та комплексного обладнання у порівнянні з фізичними або хімічними методами синтезу. Та, говорячи про біологічну сумісність, наночастинок, синтезованих за допомогою мікроорганізмів, рослин або вірусів, можуть бути біологічно сумісними та менш імуногенними для організмів, що робить їх ідеальними для медичних застосувань. Зрештою, використання мікроорганізмів може відповідати

принципам зеленої хімії, оскільки цей метод може бути менш вибухонебезпечним та менше вимагати використання шкідливих хімічних реагентів.

Щодо вибору методу продукування саме зі спектру «зеленого синтезу» варто сказати, що синтез за допомогою мікроорганізмів, а саме бактерій, має більше переваг у порівнянні з іншими біологічними методами. Наприклад, бактерії можуть бути генетично модифіковані за менш короткий період для покращення їхньої здатності до синтезу наночасток або для досягнення конкретних характеристик наночастинок, таких як розмір, форма і функціональність. Процес синтезу наночасток за допомогою бактерій може бути легше масштабованим для виробництва на велику кількість, що важливо для промислових та комерційних застосувань. Також бактерії зазвичай реплікуються дуже швидко та ефективно, що може призводити до високого рівня виходу продукту.

Висновки до розділу 1

Властивості наночасток, їх використання та способи отримання мають велике значення в сучасних наукових та промислових дослідженнях. Зокрема, біологічні методи синтезу наночасток відкривають нові горизонти для дослідження та застосувань в багатьох галузях. Звісно, виробництво наночасток металів за допомогою хімічних та фізичних методів також є ефективним, але також воно є енерго- та фінансовозатратним процесом, не кажучи про надмірне забруднення навколишнього середовища.

Біологічні методи, такі як використання мікроорганізмів (бактерій, грибів) і біологічних екстрактів рослин, стають все більш популярними для синтезу наночасток. Вони використовують біологічні молекули, такі як ферменти та метаболіти, для відновлення іонів металів у нанорозмірні частинки.

Наночастинки мають унікальні фізичні та хімічні властивості, залежно від їхнього розміру та форми. Ці властивості можуть бути тільки частково

передбачені та зрозумілі, що робить наночастки цікавими для досліджень та застосувань.

Наночастинки знаходять застосування в різних галузях, включаючи медицину, електроніку, каталіз, енергетику, та багато інших. Вони можуть використовуватися для створення нових матеріалів, лікарських засобів, сенсорів та каталізаторів.

Використання біологічних методів синтезу наночасток може бути сприятливим для навколишнього середовища та безпеки. Вони відповідають принципам "зеленої хімії" та можуть допомогти у зменшенні викидів шкідливих хімічних речовин.

Розуміння механізмів синтезу наночасток та їхніх властивостей є критичним для подальших досліджень та розвитку нових застосувань. Біологічні методи синтезу вимагають глибокого розуміння біологічних процесів та хімії наноматеріалів.

РОЗДІЛ 2.

МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ

Характеристика біологічного агента *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

В роботі використали ліофілізований штам *Lactobacillus acidophilus*, який є гомоферментативним, мікроаерофільним, коротколанцюговим грампозитивним мікроорганізмом з паличкоподібною морфологією розміром приблизно 2-10 мкм, бактеріоцини якого належать до класу II А. Вони виявляють важливі технічні властивості, наприклад, термостабільність і збереження активності в широкому діапазоні рН, а також сильну інгібіторну дію проти псування їжі та патогенних бактерій, що робить їх важливим класом біоконсервантів. Бактерії *Lactobacillus* існують у різноманітних середовищах від молочних продуктів до шлунково-кишкового тракту людини. Вони, як правило, грампозитивні, нерухомі, не утворюють спор, мають круглу або паличкоядерну форму і виробляють молочну кислоту як кінцевий продукт ферментативного метаболізму. *L. acidophilus* — це грампозитивна паличка, яка оптимально росте від 37 до 42°C і може розвиватися при температурах до 45°C. Він досягає свого найвищого зростання при рН між 5,5 і 6,0, і його ріст припиняється при рН 4,0. *L. acidophilus* є облігатним гомоферментативним організмом, який зброджує вуглеводи з утворенням молочної кислоти, і є одним з найменш толерантних LAB до кисню [70].

Хоча більшість штамів досить аеротолерантні, оптимальний ріст досягається в мікроаерофільних або анаеробних умовах. Члени *L. acidophilus* — вибагливі організми, пристосовані до росту на складних органічних субстратах. Як джерело вуглецю вид потребує вуглеводів і нуклеотидів, амінокислот і вітамінів. Незамінними є пантотенат кальцію, фолієва кислота, ніацин і рибофлавін; піридоксаль, тіамін, тимідин і вітамін В₁₂ не потрібні [71].

Таксономічний статус Lactobacillus acidophilus УКМ В-2691

Царство: Бактерій

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Порядок: Lactobacillales

Родина: Lactobacillaceae

Рід: Lactobacillus

Вид: acidophilus

Штам: УКМ В-2691

Колонії на агаризованих середовищах зазвичай невеликі (2–5 мм) з чітко окресленими краями, опуклі, гладкі, блискучі, непрозорі без пігментів. Зростання в рідкому середовищі зазвичай відбувається по всій рідині. Пелікули ніколи не утворюються [72].

LAB виявляє антимікробну дію проти харчових патогенів і патогенів людини, виробляючи різні інгібуючі компоненти, такі як органічні кислоти, перекис водню, етанол, вуглекислий газ, діацетил, аміак і бактеріоцини. Таким чином, LAB мають багато застосувань у харчовій промисловості, в якій вони використовуються як харчові консерванти проти мікробного псування та харчових патогенів [75].

Найважливішими з цих компонентів є бактеріоцини, які є білковими речовинами з бактеріоцидною активністю. Бактеріоцини класифікуються на основі їх основних структур, молекулярної маси, посттрансляційної модифікації та генетичних характеристик.

Повідомлялося, що багато штамів *L.acidophilus* продукують бактеріоцини. Повідомлялося, що лактоцидин, вперше виділений з грамнегативних бактерій, але пізніше було показано, що ця активність зумовлена поєднання перекису водню, органічної кислоти та речовини типу антибіотика. Бактеріоцини, що виробляються штамми *L.acidophilus*, включають лактоцин В, лактацин F, ацидоцин А та ацидоцин В [72].

демонструє протеолітичну активність за рахунок протеаз і пептидаз, прикріплених до клітинної стінки або вивільнених ними, а також слабку ліполітичну активність за рахунок відсутності внутрішньоклітинних ліпаз

Середовище вирощування для *L. acidophilus*

Виділення *L. acidophilus* з будь-якого джерела має брати до уваги його ацидофільну природу, комплексну потребу в харчуванні та перевагу мікроаерофільним умовам. Якщо переважаючими мікроорганізмами у вихідному матеріалі є лактобацили, для виділення можна використовувати неселективне середовище, наприклад агар та бульйон де Ман Рогоза Шарпа (MRS). Однак, якщо *L. acidophilus* є частиною змішаної популяції різних родів мікроорганізмів, для виділення необхідно використовувати селективне середовище. Найбільш часто використовуваним селективним середовищем для цієї мети є ацетатне середовище Рогози. Середовище Рогоза більш вибірково запобігає надмірному росту стрептококів, плісняви та мікроорганізмів, що поширюються [73]. Додавання специфічних факторів росту, таких як ацетат натрію, жовчний оксгалл або томатний сік, сприятиме зростанню *L. acidophilus*. Лактобактерії віддають перевагу анаеробним умовам, і ріст стимулюється в бульйоні або агарі в стандартному анаеробному середовищі з 90% азоту (або водню) і 10% вуглекислого газу.

Приготування середовища MRS-агару та MRS-бульйону

MRS агар – селективне середовище для підтримки росту лактобактерій. Середовище підходить для росту молочнокислих бактерій, включаючи

MRS-бульйон – варіація методу приготування рідкого середовища MRS. Основна різниця полягає у відсутності агару в переліку інгредієнтів для приготування середовища MRS-агару.

Склад поживного середовища MRS:

Склад MRS, г/л:	MRS-агар	MRS-бульйон
Дріжджовий екстракт		
М'ясний екстракт		
Пептон		
Вуглевод	Сахароза – 20,0	Декстроза – 20,0
Твін 80		
K ₂ HPO ₄		
Ацетат натрію		
Діамоній цитрат		
MgSO ₄ x 7H ₂ O		
x H ₂ O		
Агар		
Вода дистильована	до 1000,0 мл	до 1000,0 мл

Натрію цитрат і низький рН інгібують зростання більшості мікроорганізмів, але підтримують ріст лактобактерій. Дикалію фосфат і натрію ацетат є буферними агентами для підтримки низького рН. Пептон та м'ясний екстракт є джерелами азоту, вітамінів, переважно групи В. Бактеріологічний агар у MRS-агарі є ущільнюючим агентом.

Зростання деяких штамів лактобактерій інгібується за рН вище 6,0, тому кислотність дуже важлива для підтримки росту.

Стандарт ISO 15214 рекомендує це середовище для підрахунку колоній на чашках мезофільних молочнокислих бактерій при 30°C. Інокуляція та інкубація при 30°C протягом 72 год.

Зовнішній вигляд порошку: жовтий/світло-коричневий порошок однорідної сипучої форми.

Щільність: відповідає за щільністю 1,2% агарового гелю.

Колір та прозорість: від прозорого до злегка прозорого розчину бурштинового кольору та має властивість опалесценції при формуванні гелю в пробірках або чашках Петрі.

Кислотність: Кінцевий рН (при 25°C) 6.5±0.2.

Для приготування бульйону необхідно зважити 55,15 г MRS-бульйону і розчинити у літрі дистильованої води. Щільне середовище необхідно

приготувати наступним чином. Зважити 67,2 г середовища MRS-агару довести до 1 літру дистильованою водою, помішуючи на водяній бані, довести до кипіння та кип'ятити до розчинення агару. Розлити в колби. Стерилізувати обидва середовища автоклавуванням (1,1 атм, 121°C, 15 хв).

Охолодити до 45-50 °C, перемішати та розлити в чашки Петрі. Готове поживне середовище має бурштиновий колір, зберігається за температури 8–

Підготовка біологічного агенту

Збережену ліофілізовану культуру *L. acidophilus* УКМ В-2691 пересівали на рідке поживне рідке середовище MRS і отримували посівний матеріал I та II генерації (24 год, 37C, 160 об/хв). Паралельно висівали на щільне середовище MRS контролюючи чистоту культури. Після оживлення культури її використовували для накопичення біомаси та метаболітів.

Отримання робочого матеріалу для отримання наносрібла

Культуру II генерації висівали на рідке середовище MRS та культивували упродовж 48 год за температури 37C, 160 об/хв. Потім проводили центрифугування 3500 об/хв упродовж 30 хв. Після проведення центрифугування було відібрано окремо надосад та клітини. До клітин додавали стерильну дистильовану воду у кількості відібраного надосаду та залишали на 24 год для остаточного руйнування клітин.

2.5 Методика біогенного синтезу наночасток срібла

Біосинтез наночасток за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В- та їх надосадової рідини. Також була проведено дослідження впливу зміни рН надосаду та лізату біомаси до та після внесення нітрату срібла (метод 1 та 2).

Варіант 1. Після даних маніпуляцій обидва експериментальні розчини було розлито по 30 мл у стерильні мірні склянки та внесено по 100 мМ розчину

солі AgNO_3 . Після внесення солі був виміряний рівень pH розчину лізату клітин та надосадового розчину та доведений до потрібних рівнів pH. Для експерименту було обрано 3 рівні pH: 3, 7 та 11. Доведення відбувалося за допомогою HNO_3 та NaOH відповідно. Був установлений градієнт температури в рамках 5°C , 25°C та 50°C . Так, для кожної вибраної температури було поставлено 3 різні рівні pH та контрольний розчин.

Варіант 2. Повторення процедури проведення першого методу з модифікацією у послідовності додавання розчину солі AgNO_3 було здійснено для отримання більш точного результату для визначення та корекції даної методики синтезу наночастинок срібла за допомогою *L.acidophilus*. Так, рівень pH кожного з експериментальних розчинів було виміряно та доведено до потрібних значень до внесення солі нітрату срібла. Потім готові розчини лізату та надосадової рідини були розподілені на декілька віал для створення градієнту температур, як було проведено у методі 1.

Упродовж 24 год віали з експериментальними розчинами обидвох варіацій методів перебували у термостатах відповідно до вибраних температур.

Визначення розмірів наночастинок срібла методом фотонної кореляційної спектроскопії

Для визначення розміру наночастинок використовувався метод фотонної кореляційної спектроскопії (ФКС) за допомогою аналізатора розміру наночастинок BeNano 90 Zeta.

Однією з переваг використання приладу при визначенні розміру наночастинок металів є неінвазивність методу для зразків, тобто структура молекул не руйнується під час дослідження. Також для приготування експериментального розчину достатньо 1-2 мл зразка. Даний метод дозволяє отримувати результати з високою повторюваністю, швидкістю та точністю. Процес вимірювання є майже повністю автоматичним, що сприяє зменшенню помилок в процесі роботи.

Обраний метод дає змогу досліджувати якість експериментальних зразків, а отже, максимально підвищити ефективність подальшого використання наночастинок.

2.7 Визначення антимікробних властивостей наночастинок срібла

Наночастки срібла, які були отримані за оптимальних умов перевіряли на вплив різних культур за методом з використанням висіву на чашки Петрі. Тест культури висівали на середовища Nutrient agar (бактерії) та Saburo (мікроміцети). Вносили наночастки срібла у концентрації 10мМ та вирощували за температури 25-28С у термостаті 48-60 год (бактерії) та 72-168 год (мікроміцети). Результатом був візуальний контроль за зоною затримки росту.

Статистичний аналіз

Результати прорахунку середнього розміру наночастинок були обраховані відразу на приладі BeNano 90 Zeta. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2016.

Висновки до розділу 2

В кваліфікаційній роботі використали штам *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, що був наданий для наукових досліджень Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

В даному розділі наведено всі методи які використовували для проведення досліджень. Наведено методику отримання культури I та II генерації, її накопичення культуральної рідини. Отримання дослідних зразків, проведення біогенного синтезу отримання наночастинок срібла за допомогою дослідних зразків для встановлення наявності наночастинок срібла.

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Загальне планування експерименту та візуальний контроль отримання наносрібла

Проводили дослід з використанням лізату клітин *L.acidophilus* та його надосаду для синтезу наночасток срібла. Відомо, що даний вид бактерій має здатність відновлювати іони срібла Ag^+ до елементарного аргентуму Ag^0 завдяки ензимам, метаболітам, білкам та кофакторам.

Насамперед необхідно зазначити, що дослід з використанням надосадової рідини клітин *L.acidophilus* як субстрат для синтезу наночасток срібла не мають широкої розповсюженості, але також дають чудові результати, порівняно із дослідом з лізатом клітин даної культури як головного компоненту синтезу наночасток срібла [78]. Так, враховуючи негативні результати у ході проведеного експерименту з боку розчину лізату клітин *L.acidophilus*, а саме утворення срібного дзеркала та прозорого фінального розчину, та позитивних з використанням надосадового розчину даної культури, можна припустити, що дана методика є ефективною для використання саме надосаду клітин *L.acidophilus* як субстрату для проведення зеленого синтезу наночасток срібла.

Загальна схема експерименту наведена, де можна визначити основні механізми проведення дослідів представлена у табл. 3.1. Змінювали діапазон рН від 3 до 11 та температуру від 5 до 50°C. Перший контроль можливого утворення наночасток срібла фіксували за зміною кольору (рис. 3.1-3.3).

Після проведення синтезу наночасток срібла їх концентрацію було виміряно за допомогою UV-Vis спектрометрії та визначено, що для другої лінії експерименту, де рівні рН доводилися до внесення солі срібла, утворення наночастинок відбувалося швидше та отримані наночастинки мали менші розміри, що робить їх більш привабливими для використання у нанобіотехнології.

Таблиця 3.1

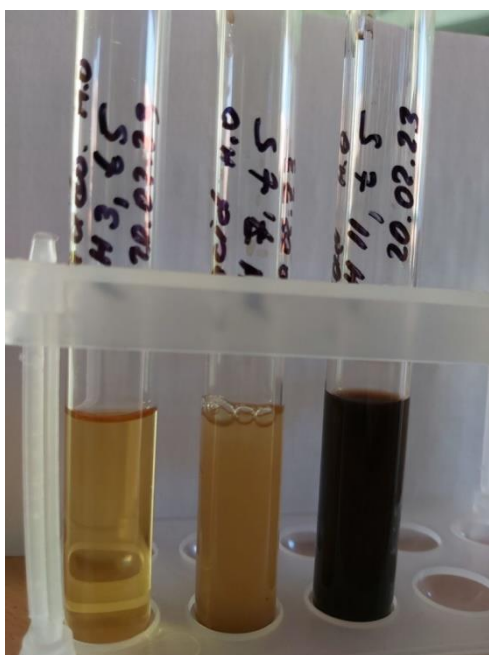
**Результати якісного аналізу синтезу наночастинок срібла
за двома факторами**

№	Фактори оптимізації		Колір, що утворився	
	t, °C		pH (1 варіант)*	pH (2 варіант)**
			Світло-жовтий, є осад	Світло-жовтий, осаду немає
			Темно-коричневий, фіолетовий відтінок	Світло-жовтий, осаду немає
			Темно-коричневий	Темно-коричневий
			Світло-жовтий, є коричневий осад	Насичений жовтий, осаду немає
			Коричневий з червоним	Жовто-сірий, осад коричневий
			Коричнево-червоний	Темно коричнево-червоний
			Насичений жовтий без осаду	Насичений жовтий без осаду
			Коричнево-червоний	Насичений жовтий без осаду
			Коричнево-червоний	Темно коричнево-червоний

Примітки: *pH (1 варіант) доводили після внесення солі, **pH (2 варіант) доводили до внесення солі.

3.2. Результати накопичення наночастинок срібла за температури 5°C

Так, при порівнянні розмірів наночастинок, отриманих під час вирощування при температурі 5 °C (рис. 3.1) та рівні pH 3 видно, що наночастки синтезувалися у вигляді великих кластерів із середніми розмірами у 1375 нм та 1396 нм. При чому різниця у розмірах існує завдяки різній послідовності доведення рівнів pH у досліджуваних розчинах. Завдяки цьому менші розміри мають наночастки у експерименті із корекцією pH після внесення солі нітрату срібла.



а

б

Рис. 3.1 Зразки синтезованих наночасток срібла за температурою 5° С при різному внесенню солі нітрату срібла: а) рН (1 варіант) доводили після внесення солі та б) рН (2 варіант) доводили до внесення солі. 1 – рН 3, 2 – рН 7, 3 – рН 11.

При збільшенні рівня рН до 7 та сталій температурі результати вийшли протилежними: у досліджуваному розчині, рН якого доводили після внесення солі маємо значення більше (970 нм), ніж у розчині, рН якого доводили до внесення солі (196 нм). Це може говорити, що є доречною корекція методики синтезу наночасток залежно від характеристик, що можливо забезпечити.

При рівні рН 11 та знову ж сталому значенні температури значення першого експерименту 127 нм, а другого – 1271 нм.

3.6 Аналіз результатів отримання наночасток срібла відносно двох варіантів дослідження

Щодо порівняння результатів експерименту відповідно до двох варіантів дослідження, що ґрунтуються на послідовності вимірювання рівнів рН (першим варіантом є встановлення рівнів рН після додавання до

експериментальних розчинів солі AgNO_3 , а другим – вирівнювання рН до додавання солі срібла) не є можливим визначення переваг та недоліків обидвох методів, але при порівнянні результатів можна побачити, що при першому методі можна побачити більшу закономірність зменшення розмірів наночастинок в залежності температури від рівнів рН (табл. 3.3). Так, при температурі 5 °С розміри наночастинок становлять 1375 нм при рН 3, 970 нм при рН 7 та 127 нм при рН 11. А також при температурі 50 °С результати першого варіанту досліджу становлять 512 нм при рН 3, 215 нм при рН 7 та 35 нм при рН 11.

Водночас при другому варіанті експерименту прослідковується явний градієнт зменшення середніх розмірів наночастинок при температурі 50 °С: 401 нм при рН 3, 98 нм при рН 7 та 29 нм при рН 11.

Таблиця 3.3

Результати дослідження синтезованих наночастинок срібла відносно рН та температури

°С		Середній розмір отриманих наночастинок срібла, нм	
		1 варіант	2 варіант

Примітки: 1 варіант – рН доводили після внесення солі; 2 варіант – рН доводили до внесення солі нітрату срібла в супернатант культуральної рідини.

Порівнюючи результати експериментів відносно рівнів рН до температури, також можна побачити закономірності зменшення наносрібла при обох варіантах (табл.3.4). Тут результати першого варіанту експерименту, де рівень рН стабілізувався після додавання солі аргентуму, послідовне зменшення було простежено при рН 7 (970 нм при 5 °С, 223 нм при 25 °С та 215 нм при 50 °С). Під час порівняння результатів другого варіанту експерименту при доведенні рН до додавання солі нітрату срібла поступове зменшення розмірів AgNPs прослідковується при рН 11 (1271 нм при 5 °С, 162 нм при 25 °С та 29 нм при 50 °С).

Отримання наночастинок срібла на середовищі MRS

Проаналізувавши вище викладені результати бачимо, що наночастки срібла найменшого розміру синтезуються у супернатанті культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 за температури 50 °С, рН 11. Однак, щоб виключити вплив самого середовища MRS и провели біогенний синтез наночастинок срібла використовуючи тільки його без вирощування культури.

Згідно з попередніми даними при температурі 5°С розміри наночастинок срібла мали найбільші результати, тому було перевірено біосинтез утворення наносрібла при температурі 25°С та 50°С. Результати, що представлені в табл. 3.5 показали, що наночастки розміром менше 100 нм не утворюються.

Таблиця 3.5

Утворення наночастинок срібла за допомогою MPC середовища

№	Дослідна рідина	Значення рН	Температура, °С	Середній розмір часток срібла, нм
	MRS середовище			
	MRS			

	середовище			
	1,5 % МК*			
	5 % МК*			

Примітка: * – МК – молочна кислота

Відповідно до літератури *L. acidophilus* мають здатність синтезувати молочну кислоту, бактеріюцини білкового походження, різні вітаміни та біологічно активні речовини. Було вирішено перевірити вплив молочної кислоти на утворення наночасток срібла. Оскільки найкращі результати отримані у супернатанті культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 при рН 11 та температурі 50°C, було створено два модельних розчини з молочною кислотою концентраціями 1,5% та 5%. рН розчину було доведено до 11 за допомогою NaOH, додано нітрат срібла у концентрації 100мМ та розпочато синтез наночасток за температури 50°C. Отримані результати показали (див. табл. 3.5), що молочна кислота 1,5% та 5% не впливає на утворення срібних наночасток, оскільки розміри утвореного наносрібла становлять 449,9 нм та 5773,90 нм.

Проаналізувавши всі отримані результати можна зробити висновок, що на біогенний синтез утворення наночасток срібла впливають температура та рН середовища. Тому за температури 50°C та рН середовища 11 спостерігали накопичення наночасток з середнім розміром 34,66 нм та 28,97 нм (див. додаток А).

Висновок до розділу 3.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що із підвищенням температури та рівня рН прослідковується поступове зменшення розмірів синтезованих наночасток срібла: отримані результати фотонної кореляційної спектроскопії при умовах 50°C та рН 11 – 35 нм та 29 нм. Також можна встановити, що на утворення наносрібла може впливати обране середовище

живлення, отримуючи в результаті частки понад 100 нм та також прослідковуючи градієнт зменшення розмірів. Наночастки срібла мають здатність до антимікробних властивостей, що було доведено на тест-культурах бактерій (*B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. Aureus*) та мікроміцетів (*Fusarium*) для продовження дослідів із «зеленим» синтезом наночастинок срібла та вивченням їх властивостей.

ВИСНОВКИ

Було показано, що *L.acidophilus* є оптимальним біологічним агентом для синтезу AgNPs зважаючи на його доступність та непатогенність. На додаток, даний бактеріологічний агент відрізняється швидким проведенням синтезу та накопиченням бімаси. За якісним аналізом усіх проб видно, що активніше синтезуються AgNPs при рівні pH 11 та температурі 25°C та 50°C. Завдяки проведеному експерименту вдалося визначити закономірності залежності зміни температури та рівня pH на формування наночасток, їхню форму та розмір. Проби, зроблені на основі лізату, не дали позитивних результатів.

За результатами експерименту були отримані наночастки розміром 29-35 нм. Якщо судити про методику виконання, то більш прийнятним варіантом є доведення рівнів pH перед внесенням солі металу. Отримані також результати синтезу наносрібла із середовищем MPC та встановлення їх антимікробних властивостей. Звісно, дана методика потребує більших модифікацій, подальших досліджень й оптимізації синтезу наночасток срібла. Тому за загальним висновком, можна сказати, що зі збільшенням рівня pH та температури слідує зменшення розміру наночасток, що дозволяє використовувати їх у більших сферах виробництва та людської діяльності, в особливості у медицині та біоінженерії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

-2. P. 83–96. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002>.

ykman L., Khlebtsov N. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. Chem. Soc. Rev. 2012. Vol. 41, no. 6. P. 2256–2282.

ремчук І. Я. Хвилеводний, плазмон-поляритонний і плазмонний резонансні ефекти в мікро- та наноструктурах для сенсорної електроніки : дисертація на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук – фізика твердого тіла. *Міністерство освіти і науки України, Національний університет «Львівська політехніка»*. Львів, 2018. 396 с.

алініченко А.Ю. Нанорозмірні гранульовані системи як елементи мікроелектроніки і сенсоріки : робота на здобуття кваліфікаційного ступеня бакалавра: спец.: 171 – електроніка. *СумДУ*. Суми, 2020. 39 с.

ідиченко Д. В. Технологія впровадження наночастинок благородних металів в структуру кремнієвих сонячних елементів : магістерська дис. : 153 Мікро- та наносистемна техніка. Київ, 2018. 125 с.

2014. Vol. 27, no. 3. P. 527–545. URL: <https://doi.org/10.1002/adma.201402962>

. 2015. Vol. 200. P. 138–157. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.030>

2

0

Вурдода Ю.О. Магнітні властивості металевих наночастинок. «Сучасні проблеми експериментальної, теоретичної фізики та методики навчання фізики»: матеріали II Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених. *СумДПУ*. Суми. 2016. С. 33-40.

2020. Vol. 55, no. 15. P. 6195–6241. URL: <https://doi.org/10.1007/s10853-020->

р

2001. Vol. 238, no. 2. P. 291–295. URL: <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7525>.

0

с

а

т

. 2009. Vol. 2, no. 3. P. 104–111.

e

005. Vol. 292, no. 2. P. 429–435. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.05.068>.

5-6. P. 303–310. URL: <https://doi.org/10.1134/s1995078008050054>.

a2004. Vol. 126, no. 12. P. 3868–3879. URL: <https://doi.org/10.1021/ja0395846>.

l

. 2002. Vol. 18, no. 12. P. 4736–4740. URL: <https://doi.org/10.1021/la015689f>.

2

R

0 2009. Vol. 45, no. 3. P. 171–179. URL:

8

o2010. Vol. 02, no. 05. P. 387–390. URL: <https://doi.org/10.4236/eng.2010.25050>.

x2016. Volume 9. P. 49–67. URL: <https://doi.org/10.2147/nsa.s99986>.

Y2016. Vol. 7, no. 10. P. 551–554. URL: <https://doi.org/10.14299/ijser.2016.10.008>.

o

h

t 2000. Vol. 69-70. P. 329–334. URL: [https://doi.org/10.1016/s0921-](https://doi.org/10.1016/s0921-443-2512006)

443-2512006. Vol. 37, no. 12. P. 1662–1670. URL:

2001. Vol. 105, no. 22. P. 5114–5120. URL: <https://doi.org/10.1021/jp0037091>.

§

§

i 2000. Vol. 104, no. 35. P. 8333–8337. URL: <https://doi.org/10.1021/jp001803b>.

R

o

2010. Vol. 153, no. 4439-4448-URL: <https://doi.org/10.1016/j.apsc.2005.02.004>.

no. 1-2. P. 80–85. URL: [https://doi.org/10.1016/s0169-4332\(02\)00936-4](https://doi.org/10.1016/s0169-4332(02)00936-4).

12012. Vol. 89. P. 47–50. URL: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2012.08.048>.

2

fi

0

R

rochowalska B., Polowczyk I., Koźlecki T. Synthesis of silver nanoparticles using

2

0

12019. Vol. 9, no. 42. P. 24539–24559. URL: <https://doi.org/10.1039/c9ra02225b>.

7

.

. 2014. Vol. 26, no. 21. P. 3398–3404. URL:

V

2018. Vol. 74, no. 627/463501URL: <https://doi.org/10.1002/jemt.21030>.

1

. 2007. Vol. 54, no. 3. P. 433–438. URL: <https://doi.org/10.1109/ted.2006.890234>.

. 2010. Vol. 9, no. 9. P. 2524–2535. URL: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct->

4

32009. Vol. 5, no. 17. P. 1963–1969. URL: <https://doi.org/10.1002/sml.200801902>.

,

Vol. 338, no. 6216. P. 596–597. URL: <https://doi.org/10.1038/338596a0>.

n 2002. Vol. 296, no. 5569. P. 892–895. URL:

o

l 2003. Vol. 100, no. 12. P. 6946–6951. URL:

.

2008. Vol. 124, no. 906–912. URL: <https://doi.org/10.1021/jf701642a>. platinum

no. 8. P. 1295–1300. URL: <https://doi.org/10.1002/adfm.200902196>.

G

P

e

e

h

0

7

34, no. 19. P. 4632–4642. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.03.01>

. Berlin, Heidelberg, 2009. P. 23–58. URL: <https://doi.org/10.1007/978-3-540->

133–139. URL: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.11.002>.

. 2009. Vol. 10, no. 3. P. 246–253. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2009.04.008>.

2013. Vol. 3(2), no. 2. P. 77–87. URL: <https://doi.org/10.1016/j.lact.2013.04.003>.

Lactobacillus spp.: Lactobacillus acidophilus. , (), –. doi:10.1016/b978-0-08-

. 1951. Vol. 62, no. 1. P. 132–133. URL: <https://doi.org/10.1128/jb.62.1.132->

. 2015. Vol. 173. P. 45–53. doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.001.

2

0

0

8 2019. Vol. 21, no. 2. P. 63–76. URL:

. 2014. Vol. 10, no. 15. P. 1143–1152. URL:

V

o

l

.

7

Результати досліджень наночастинок срібла
за допомогою аналізатора BeNano 90 Zeta
Аналіз наночастинок срібла за першим варіантом експерименту

Bettersize
 BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

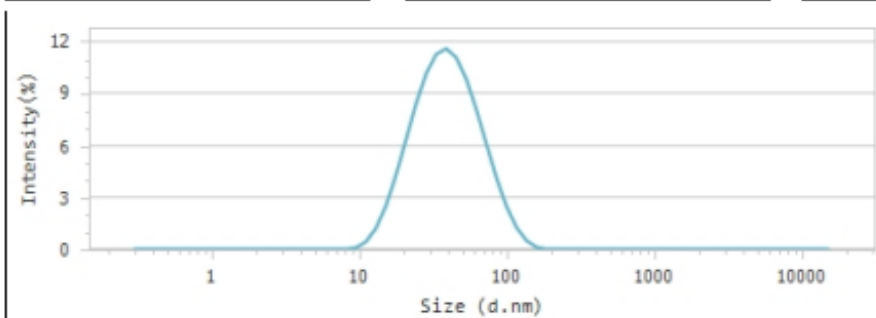
Ver 2.1

Sample Name: Ag-15-1		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 13.03.2023	Measurement Time: 18:43
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 15 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 402.19 kcps	Attenuator Number 8
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%) Std Dev. (nm)
Z-ave: 34.66 nm		Peak 1 43.82	100.00 22.99
PdI: 0.242		Peak 2	
Intercept: 0.87		Peak 3	

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00
0.35	0.00	0.00
0.41	0.00	0.00
0.48	0.00	0.00
0.56	0.00	0.00
0.66	0.00	0.00
0.77	0.00	0.00
0.90	0.00	0.00
1.05	0.00	0.00
1.23	0.00	0.00
1.44	0.00	0.00
1.68	0.00	0.00
1.97	0.00	0.00
2.30	0.00	0.00
2.69	0.00	0.00
3.15	0.00	0.00
3.69	0.00	0.00
4.31	0.00	0.00
5.05	0.00	0.00
5.90	0.00	0.00
6.90	0.00	0.00
8.08	0.00	0.00
9.45	0.00	0.00
11.05	0.43	0.51

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
12.93	1.20	1.71
15.12	2.50	4.21
17.69	4.28	8.49
20.69	6.35	14.85
24.21	8.43	23.27
28.32	10.17	33.44
33.12	11.29	44.73
38.75	11.62	56.35
45.33	11.11	67.46
53.02	9.86	77.32
62.02	8.09	85.42
72.55	6.09	91.51
84.87	4.14	95.65
99.28	2.48	98.13
116.13	1.26	99.39
135.85	0.49	99.88
158.91	0.12	100.00
185.89	0.00	100.00
217.45	0.00	100.00
254.37	0.00	100.00
297.55	0.00	100.00
348.07	0.00	100.00
407.16	0.00	100.00
476.29	0.00	100.00

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
557.15	0.00	100.00
651.73	0.00	100.00
762.38	0.00	100.00
891.81	0.00	100.00
1043.22	0.00	100.00
1220.32	0.00	100.00
1427.50	0.00	100.00
1669.85	0.00	100.00
1953.34	0.00	100.00
2284.96	0.00	100.00
2672.88	0.00	100.00
3126.66	0.00	100.00
3657.48	0.00	100.00
4278.42	0.00	100.00
5004.77	0.00	100.00
5854.44	0.00	100.00
6848.35	0.00	100.00
8011.01	0.00	100.00
9371.85	0.00	100.00
10961.99	0.00	100.00
12823.02	0.00	100.00
15000.00	0.00	100.00



Typical Values	Size (d.nm)
D10	18.40
D20	22.84
D30	26.93
D40	31.11
D50	35.67
D60	40.91
D70	47.31
D80	56.00
D90	69.95
D100	158.91

Аналіз наночасток срібла за другим варіантом експерименту



Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

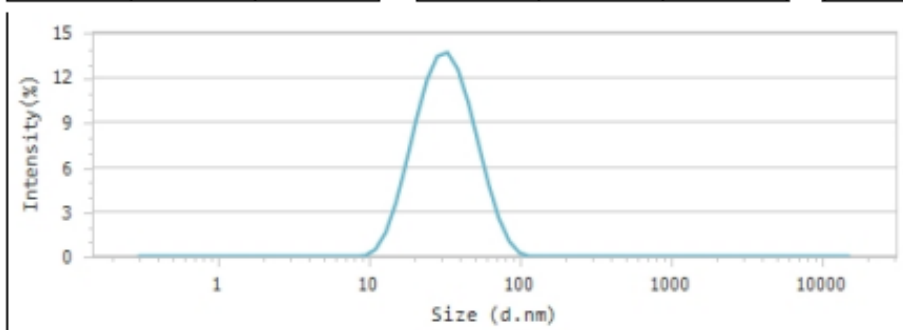
Ver 2.1

Sample Name: Ag-18-1		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 13.03.2023	Measurement Time: 19:00
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 15 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 480.42 kcps	Attenuator Number 9
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%) Std Dev. (nm)
Z-ave: 28.97 nm		Peak 1 34.75	100.00 15.11
PdI: 0.211		Peak 2	
Intercept: 0.83		Peak 3	

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00
0.35	0.00	0.00
0.41	0.00	0.00
0.48	0.00	0.00
0.56	0.00	0.00
0.66	0.00	0.00
0.77	0.00	0.00
0.90	0.00	0.00
1.05	0.00	0.00
1.23	0.00	0.00
1.44	0.00	0.00
1.68	0.00	0.00
1.97	0.00	0.00
2.30	0.00	0.00
2.69	0.00	0.00
3.15	0.00	0.00
3.69	0.00	0.00
4.31	0.00	0.00
5.05	0.00	0.00
5.90	0.00	0.00
6.90	0.00	0.00
8.08	0.00	0.00
9.45	0.05	0.05
11.05	0.48	0.53

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
12.93	1.63	2.16
15.12	3.66	5.82
17.69	6.38	12.20
20.69	9.34	21.54
24.21	11.90	33.44
28.32	13.49	46.93
33.12	13.75	60.68
38.75	12.63	73.31
45.33	10.42	83.73
53.02	7.63	91.35
62.02	4.84	96.19
72.55	2.55	98.74
84.87	1.02	99.76
99.28	0.24	100.00
116.13	0.00	100.00
135.85	0.00	100.00
158.91	0.00	100.00
185.89	0.00	100.00
217.45	0.00	100.00
254.37	0.00	100.00
297.55	0.00	100.00
348.07	0.00	100.00
407.16	0.00	100.00
476.29	0.00	100.00

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
557.15	0.00	100.00
651.73	0.00	100.00
762.38	0.00	100.00
891.81	0.00	100.00
1043.22	0.00	100.00
1220.32	0.00	100.00
1427.50	0.00	100.00
1669.85	0.00	100.00
1953.34	0.00	100.00
2284.96	0.00	100.00
2672.88	0.00	100.00
3126.66	0.00	100.00
3657.48	0.00	100.00
4278.42	0.00	100.00
5004.77	0.00	100.00
5854.44	0.00	100.00
6848.35	0.00	100.00
8011.01	0.00	100.00
9371.05	0.00	100.00
10961.99	0.00	100.00
12823.02	0.00	100.00
15000.00	0.00	100.00



Typical Values	Size (d.nm)
D10	16.81
D20	20.20
D30	23.19
D40	26.21
D50	29.39
D60	32.89
D70	37.27
D80	42.97
D90	51.66
D100	99.28

UDC 606.61:579.864: [579.2/6+612.392.98]

«Green» synthesis of metal nanoparticles. Application and future perspective

I. M. Voloshyna¹, L. O. Lastovetska¹, A. A. Zurnadzhian¹, L. V. Shkotova²

¹ National University of Technologies and Design
 2, Mala Shyianovska (Nemyrovycha-Danchenka) Str, 2., Kyiv, Ukraine 01011

² Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
 150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03143
i_woloschina@yahoo.com

Metal nanoparticles are currently one of the most researched materials in the field of science and technology. These materials are up to one hundred nanometers in size and differ from ordinary metals in their unique physical and chemical properties.

The use of metal nanoparticles in biomedicine is one of the most promising areas of their application. For example, gold nanoparticles can be used to diagnose and treat cancer. Gold nanoparticles can be coated with various molecules that can target and interact with cancer cells, allowing cancer to be detected and staged. Silver nanoparticles can be used as antimicrobial agents, since silver has a high activity against bacteria and fungi. Also, silver nanoparticles can be used to treat wounds, as they promote rapid healing and prevent infections.

Metal nanoparticles are also applied in other industries *e.g.* to produce electronics, improve the properties of materials, manufacture catalysts, and many other things that are used both in everyday life and in the production and improvement of technological processes. This article discusses the use of metal nanoparticles of silver (AgNPs), zinc (ZnNPs), titanium oxide (TiO₂NPs), and gold (AuNPs) in biomedicine and other fields.

Keywords: green biosynthesis, nanoparticles, nanometals, microorganisms.

Introduction

Nanoparticles are currently increasingly capturing scientific spaces with their diverse and practical properties. Their main features are the size and shape, which result in the diver-

sity compared to chemical analogs [1–3]. The technologies for obtaining nanoparticles with physical and chemical methods are very time-consuming but recent discoveries make it pos-

© Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, 2023

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2023

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

Article

Antibacterial Activity of Green Synthesised Silver Nanoparticles on *Saccharomyces cerevisiae*

Yugin Kharchenko ^{1,2}, Liudmyla Lastovetska ³, Valeriia Maslak ³, Marina Sidorenko ⁴, Volodymyr Vasylenko ⁴ 
and Olga Shydlovska ^{3,*} 

¹ R&D Department, JSC "Farmak", 04080 Kyiv, Ukraine; yugin171094@gmail.com

² Department of Biotechnology and Microbiology, National University of Food Technologies, 01033 Kyiv, Ukraine

³ Department of Biotechnology, Kyiv National University of Technologies and Design, Leather and Fur, 01133 Kyiv, Ukraine; liudmyla.last@gmail.com (L.L.); vbelfayr@gmail.com (V.M.)

⁴ Faculty of Natural Science, Vytautas Magnus University, LT-53361 Kaunas, Lithuania; marina.sidorenko@vdu.lt (M.S.); volodymyr.vasylenko@vdu.lt (V.V.)

* Correspondence: olgashydlovska@gmail.com; Tel.: +380-504161846

Abstract: Green synthesis of nanoparticles is a widely researched and popular direction in the development of nanotechnology. It is a simple, cheap and effective method for obtaining nanoparticles with interesting biological properties. In light of the development of antibiotic resistance to important clinical strains of bacteria, this method was used in the present study to obtain silver nanoparticles with antibacterial activity. The aim of this study was to synthesise silver nanoparticles with antibacterial action by yeast in a process known as "green synthesis". We are also considering the prospect of using silver nanoparticles as an antibacterial substance for drug development. The production of nanoparticles was confirmed by UV spectroscopy. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 test strains and *Staphylococcus aureus* 1536 and *Klebsiella pneumoniae* 520 clinical isolates were used to study the antibacterial effect. The effect of synthesised nanoparticles on the metabolic activity of bacterial cells and their ability to adhere, as well as the minimum inhibitory concentrations (MICs) of synthesised nanoparticles for each of the strains, were determined. Following UV spectroscopy, the nanoparticles obtained were found to have a pronounced peak in optical absorption at 400 nm, corresponding to the plasmon resonance of silver nanoparticles, and demonstrated a high antibacterial effect against all the strains studied.

Keywords: silver nanoparticles; *Saccharomyces cerevisiae*; antibacterial activity; clinical isolates; *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae*



Citation: Kharchenko, Y.; Lastovetska, L.; Maslak, V.; Sidorenko, M.; Vasylenko, V.; Shydlovska, O. Antibacterial Activity of Green Synthesised Silver Nanoparticles on *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 3466. <https://doi.org/10.3390/app12073466>

Academic Editors: Satoshi Komasa, Yoshiro Tahara, Tohru Sekino and Joji Okazaki

Received: 15 February 2022

Accepted: 24 March 2022

Published: 29 March 2022

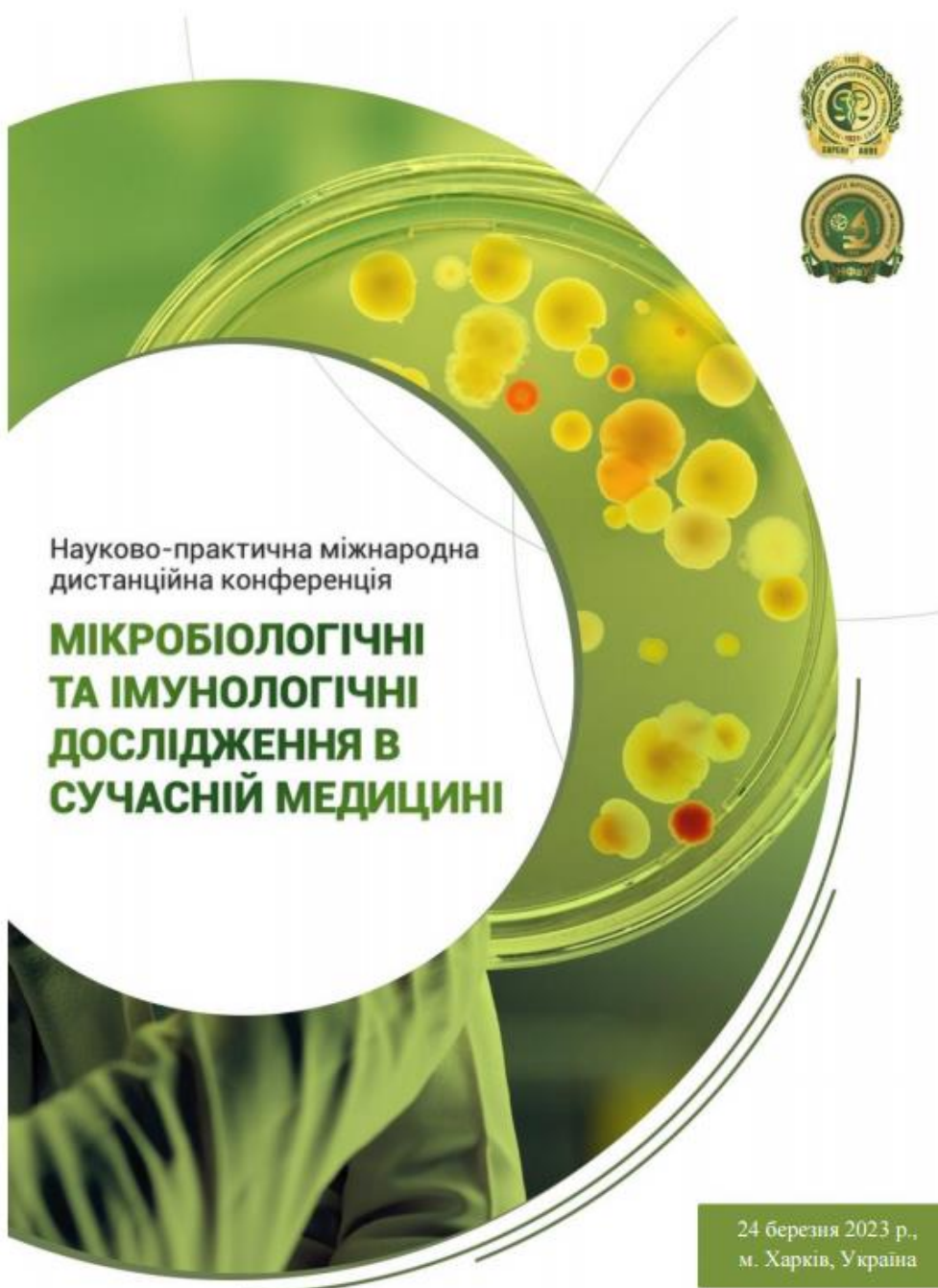
Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Green biosynthesis is a modern and effective method for obtaining nanoparticles. Numerous techniques based on yeast green synthesis have been described in studies. For example, silver nanoparticles 5–30 nm in diameter with antibacterial activity against gram-negative and gram-positive bacteria were synthesised using the exudate of the soil fungus *Macrophomina phaseolina* [1]. In another study, *Penicillium italicum* was used to obtain spherical nanoparticles with a diameter of 32–100 nm that have a pronounced antioxidant, antibacterial, and antitumour effect [2]. Nanoparticles around 16 nm in size, which showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, were synthesised with baking yeast *Saccharomyces cerevisiae* [3]. All these studies point to the prospect of the development of cheap drugs against bacterial infections, which is extremely relevant today. The resistance of bacteria to antibiotics is a huge problem. For example, *Klebsiella pneumoniae* has high resistance to β -lactams caused by carbapenemase, leading to its presence in clinical settings [4]. In addition, *K. pneumoniae* has been shown to have hypervirulent strains that cause complex clinical infections inside and outside healthcare



DEVELOPMENT OF ENZYME BASED ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR FOR DETECTION OF CHROMIUM

Shrishti Sharma ^a, Dr. Shalini Porwal ^b

^{a, b} Amity Institute of Microbial Technology, Amity University Noida Uttar
Pradesh, 201303 India

Contact: Shrishti Sharma, shrishtisharmadks@gmail.com

Abstract: Detection of water contamination is vital for the protection of the climate and avoidance of adverse consequences that it can have on human wellbeing. Heavy metals are especially perilous due to their capacity to collect over the long run into the plants and creatures, just as in water. Biosensors address a straightforward, dependable, and quick answer for observing water and soil contamination brought about by different heavy metals.

Biosensors permit not just decides the presence and in general natural accessible convergences of heavy metals in water and soil yet additionally evaluating their organic impacts. In this regard, detection of pollutants such as heavy metals (Chromium) by using enzymes such as invertase and acid phosphatase as recognition elements in biosensors is a versatile field. By this technology we will be able to use the enzymes which are effective and this could save our time and money to make new treatment.

In this proposed study to be presented in poster the main aim is to construct a biosensor with high sensitivity, short response time, specificity, and relatively low production cost for detection of chromium contaminant in soil and water.

Keywords: Chromium, Biosensor, Bioremediation, pollutants, heavy metals

ЗЕЛЕНИЙ БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТОК СРІБЛА *L. ACIDOPHILUS* ТА ЇХ ВИКОРИСТАННЯ

Ластовецька Л.О., Зурнаджан А.А., Волошина І.М.

Кафедра біотехнології, шкіри та хутра Київського національного
університету технологій та дизайну, м. Київ, Україна

wirn@ukr.net

Вступ. Наночастки срібла (AgNP) були визнані своїми унікальними фізичними та хімічними властивостями. Зелений синтез наночасток срібла з використанням *Lactobacillus acidophilus* передбачає відновлення іонів срібла з утворенням наночасток срібла під дією бактеріальних клітин та їх метаболітів. Процес є екологічно чистим і має потенційне застосування в різних галузях.

Оримувати AgNP за допомогою зеленого біосинтезу можна, як за допомогою клітин *L. acidophilus*, так і їх метаболітів. Відновлення іонів срібла з утворенням наночасток відбувається внаслідок дії ферментів або

метаболітів, що виробляються бактеріальними клітинами. І в результаті наночастки стабілізуються бактеріальними клітинами, які запобігають їх агрегації та стабілізують їх розмір і форму.

Наночастки срібла, синтезовані *L. acidophilus* за рахунок своєї форми та розмірів проявляють свої унікальні властивості. Синтезовані наночастинки срібла (AgNP) за допомогою бактерій мають широкий спектр потенційних застосувань у різних сферах, зокрема: біомедицина, аграрна промисловість, захист та відновлення екологічних ресурсів навколишнього середовища, тощо.

Різноманіття застосування цих біочасток зумовлене їх властивостями, які вони мають. А саме, AgNP здатні проявляти антибактеріальні, протигрибкові та противірусні властивості, що робить їх корисними для розробки медичних пристроїв, ранових пов'язок і систем доставки ліків. Також AgNP можна використовувати як пестицид або фунгіцид, оскільки вони показали позитивний вплив на ріст рослин і можуть пригнічувати ріст шкідливих патогенів у культурах. AgNP також можна використовувати для очищення води шляхом зменшення кількості забруднюючих речовин, що потрапляють у навколишнє середовища при обробці полів різними хімічними речовинами та знищення рівню патогенних мікроорганізмів завдяки їх антибактеріальним властивостям.

Висновки. Зелений синтез наночасток срібла з використанням *L. acidophilus* має ряд переваг перед звичайними хімічними методами як екологічність, завдяки використанню нетоксичних реагентів. Крім того, використання бактеріальних клітин забезпечує можливість для виробництва наночасток контрольованого розміру та форми. Також має ряд властивостей для широкого спектру застосування.

Отже, зелений синтез наночастинок срібла з використанням *L. acidophilus* є багатообіцяючим підходом до виробництва наночасток срібла та має потенційне застосування в різних галузях.

ЗЕЛЕНИЙ БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК TiO_2 ЗА ДОПОМОГОЮ ПРОБІОТИКІВ

Лупан К.О., Волошина І.М.

Кафедра біотехнології, шкіри та хутра Київського національного
університету технологій та дизайну, м. Київ, Україна

wim@ukr.net

Вступ. Сьогодні альтернативою синтезу наночасток без вторинного забруднення є синтез наночасток мікроорганізмами. Бактерії використовують в синтезі, оскільки вони допомагають у відновленні іонів металів до металевих наночасток. Перевагами є екологічність,



Конференція зареєстрована у ДУ
«Український інститут науково-
технічної експертизи та інформації»,
посвідчення № 544 від 19 грудня 2022 року

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
НАЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЇ ФАРМАЦІЇ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

№066

Сертифікат

Цим засвідчується, що

Ластовецька Л.О.

брав(ла) участь у роботі Науково-практичної
міжнародної дистанційної конференції
«Мікробіологічні та імунологічні дослідження
в сучасній медицині»

24 березня 2023 р. м. Харків

Тривалість – 5 годин / 0,15 кредитів ЕКТС

Проректор з науково-педагогічної роботи
(інноваційної та науково-дослідної)
Національного фармацевтичного університету,
доктор фармацевтичних наук, професор

Завідувачка кафедри мікробіології, вірусології та імунології
доктор медичних наук, професор



І.М. Владимирова

Н.І. Філімонова



III Міжнародна науково-практична
інтернет-конференція

ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

24 березня 2023 р.
м. Харків, Україна

лікарнях. Вона є не такою шкідливою, як інші види антимікробних засобів. В косметології вона функціонує в якості хелатуючого агента, рН регулятора або ароматизатора. Кислота здійснює кондиціонування шкіри, тому входить до складу спреїв для волосся, дезодорантів, засобів догляду за ротовою порожниною та тіла. Зараз її часто додають до побутових миючих засобів та засобів для миття посуду як пом'якшувач води або ароматизатор. Також, завдяки хелатним властивостям лимонну кислоту почали застосовувати як заміник фосфатних домішок, які заборонені в США.

Підсумовуючи, лимонна кислота є одним з основних біотехнологічних продуктів серед харчових добавок натурального походження. На сьогодні завдяки її незамінним властивостям, корисній дії на організм людини та відносно невелику ціну речовина має широку сферу застосувань. Попит на продукцію органічного походження постійно зростає, тому вивчення нових можливостей одержання та застосування лимонної кислоти є перспективним напрямком досліджень сучасної науки.

Перспективи використання біосинтезованих наночасток ZnO

Ластовецька Л.О., Давидюк Т.Є., Волошина І.М.

Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна

wim@ukr.net, liudmyla.last@gmail.com

Наночастки оксиду цинку (НЧ ZnO) є одними з розповсюджених наночасток оксиду металу, які мають значне застосування в багатьох галузях промисловості та дослідницьких інститутах. Щоб задовольнити високий попит, у виробництві наночасток ZnO були використані різні методи синтезу. Екологічні та економічні проблеми, пов'язані з більшістю способів синтезу наночасток ZnO, призвели до пошуку інших альтернатив із екологічними та економічними перевагами. Біологічний метод синтезу з використанням мікробних та рослинних джерел був визнаний придатним для виробництва наночасток ZnO через численні переваги для здоров'я, навколишнього середовища, економіки та медицини. З літератури відомо, що НЧ ZnO мають

антимікробні, протизапальні та антиоксидантні властивості, що робить їх корисними для розробки медичних пристроїв, ранових пов'язок і систем доставки ліків. Також наночастки ZnO можна використовувати для відновлення забруднених ґрунтів і води завдяки їх фотокаталітичним властивостям. Вони можуть розкласти органічні забруднювачі та видаляти важкі метали зі стічних вод. Наночастки ZnO знайшли своє застосування при виробництві косметичних засобів в якості компоненту до сонцезахисного крему завдяки властивостям блокування УФ-променів. Вони також використовуються в кремах проти старіння, зволожувачах та інших продуктах по догляду за шкірою через свої антиоксидантні властивості.

Отже, зелений синтез наночасток ZnO має величезний потенціал для застосування в різних галузях завдяки їх унікальним фізичним і хімічним властивостям. Однак їх використання необхідно ретельно регулювати, щоб забезпечити їх безпеку та запобігти будь-якому негативному впливу на здоров'я людини та навколишнє середовище.

Асептична культура звіробою (*Hypericum*) як джерело гіперіцину та інших фармакологічно активних сполук)

Листван К.В., Белокурова В.Б.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, м. Київ, Україна
lystvan@icbge.org.ua

Рід Звіробій *Hypericum* (Hypericaceae) налічує близько 500 видів. Один з найвідоміших представників роду – *H. perforatum* L. (звіробій продірявлений, або звичайний). Він є важливою лікарською рослиною, котра традиційно застосовується для лікування хвороб травного тракту завдяки своїм протиспазматичним, жовчогінним, протизапальним та іншим властивостям. Сумарний екстракт звіробою та його окремі компоненти здатні також виявляти антибактеріальну, протигрибкову, антиоксидантну та інші властивості. Низка інших видів звіробою можуть застосовуватись в різних галузях народного



Bio


МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ


НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ
учасника
№272

Цим засвідчується, що

Ластовецька Л. О.

брав(ла) участь у роботі III Міжнародної
науково-практичної інтернет-конференції

**«ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ»**
(тривалість – 8 год)
24 березня 2023 р., м. Харків, Україна

В.о. ректора НФаУ,
д. фарм. н., проф.

Проректор з НПР,
д. фарм. н., проф.

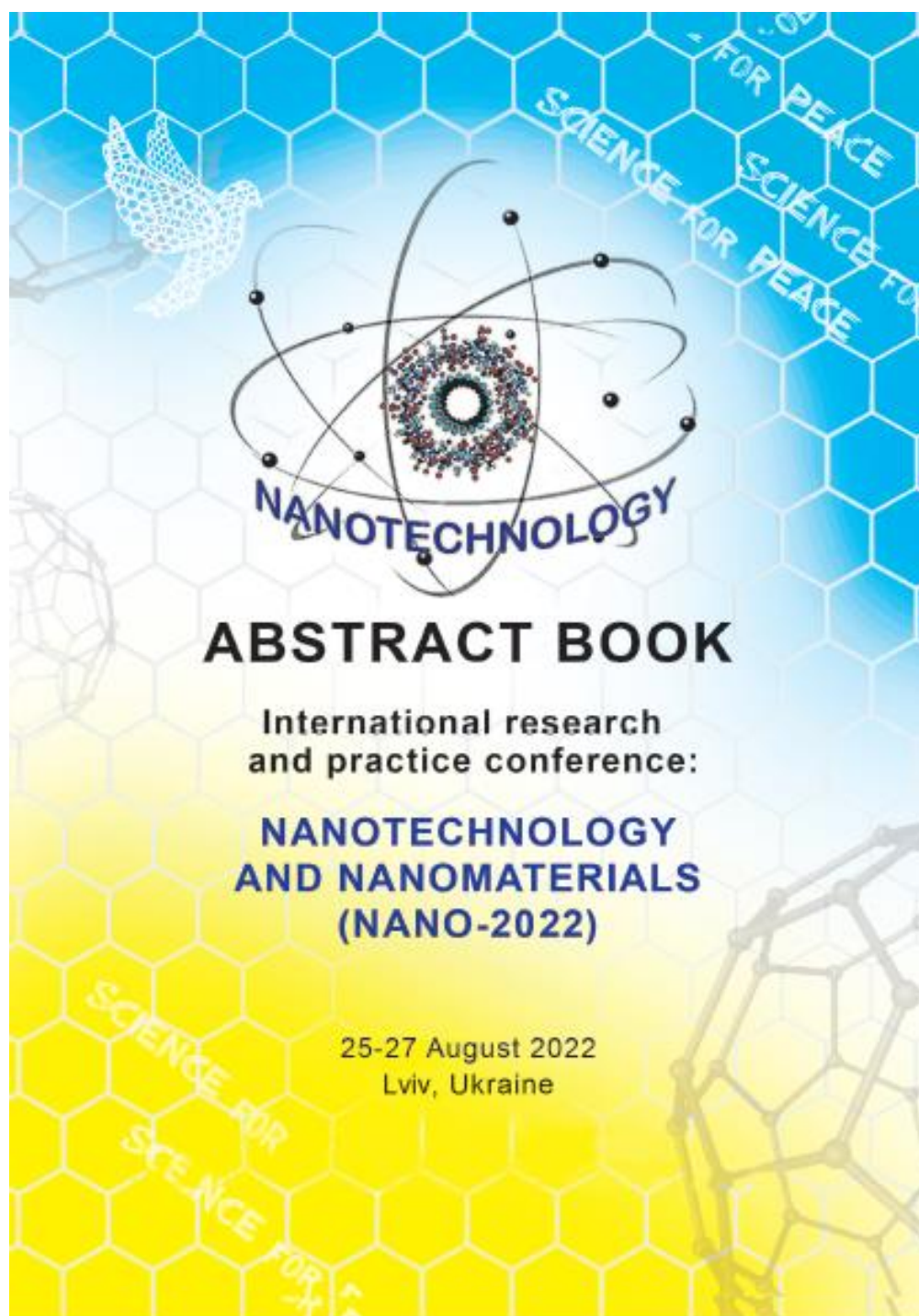
Завідувачка кафедри
біотехнології НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Наталя ХОХЛЕНКОВА



Green biosynthesis of nanoparticles using *Lactobacillus*

Voloshyna I.M.¹, Shkotova L.V.², Netiaha Y.¹, Lastovetska L.¹

¹ Department biotechnology, leather and furs, National University of Technologies and Design, 2 Nemyrovycha-Danchenka Str., Kyiv-01011, Ukraine, E-mail: i_woloschina@yahoo.com.

² Department of Biomolecular Electronics, Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, 150, Zaholotnogo Str., Kyiv-03143, Ukraine.

Among modern various fields, nanoparticles are widely used in the medical and cosmetic industries. There are various ways to synthesize nanoparticles from *Lactobacillus*. Selected strains of microorganisms are effective and environmentally friendly substitutes for the synthesis of nanoparticles. One of the most important examples of the synthesis of nanoparticles is gold, which can be obtained by a simple redox reaction carried out in aqueous solution [1].

Another equally well-known metallic element for the nanoparticle synthesis is titanium oxide (TiO₂). The biosynthesis of TiO₂ is caused by ecological representatives of the human microflora, such as *Lactobacillus* sp. You can also use an alternative mechanism of TiO₂ nanoparticle biosynthesis, in which pH and the partial pressure of hydrogen gas (rH₂) or the redox potential of the culturing solution are one of the important components in the process [2].

One of the vital metals for humanity is silver thanks to its antibacterial properties. Swift and environmentally friendly biosynthesis of silver nanoparticles using lactic acid bacteria is an economical way of finding solution, and any research in this area is promising [3, 4].

Zinc nanoparticles are particularly important for biological applications, as ZnO is listed as a generally accepted safe (GRAS) material [5].

Nanoparticle production is a unique biotechnological practice. This is a complex and multi-stage process. It is important for the development of medicine in the country. Current methods of biosynthesis are truly cost-effective and capable of producing nanoparticles. Optimization of modern methods of nanoparticle production is an urgent task in the field of biotechnology.

1. Lieser K.H., *Nuclear and Radiochemistry: Fundamentals and Applications* // 2nd, rev. ed., -2001. - Wiley-VCH, Berlin; New York.

2. Anal K., Jha K., Kulkarni A.R. Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. -2009. -71, N 2.-P. 226-229.

3. Korbekandi H., Iravanib S., Abbasic S. Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus casei* subsp. *Casei* // *J. of Chem. Tech. Biotech.* -2012.-87, N 7.-932-937.

4. Ranganath E., Rathod V., Banu A. Screening of *Lactobacillus* spp. for mediating the biosynthesis of silver nanoparticles from silver nitrate // *IOSR J. Pharm.* -2019.-2, N 2.-237-241.

5. Selvarajan E., Mohanasrinivasan V. Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Lactobacillus plantarum* VITES07 // *Mat. Let.* -2013.-112.-P. 180-182