Міністерство освіти і науки України
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:

«Антибактеріальні властивості біогенних наночасток металів»

Рівень вищої освіти другий (магістерський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

Виконала: студентка групи МгБТ-22
Зурнаджян А.А.
Науковий керівник: к.т.н., доц. Волошина І.М.
Рецензент: к.б.н., доц. Шидловська О.А.

Київ 2023

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра
Рівень вищої освіти: другий (магістерський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри БШХ
_____ Олена МОКРОУСОВА
«___»_____2023 р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Зурнаджяну Артуру Альбертовичу

1.Тема кваліфікаційної роботи: **«Антибактеріальні властивості біогенних наночасток металів»**
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 кваліфікаційну роботу; наукова література щодо антибактеріальних властивостей біогенних наночасток металів, результати дослідів, отримані у лабораторії, матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.

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

4. Дата видачі завдання 12.09.2023 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Терміни виконанння етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	12.09.2023	
2	Розділ 1 Огляд літератури	16.09.2023	
3	Розділ 2 Методи і матеріали дослідження	24.09.2023	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	03.11.2023	
5	Висновки	09.11.2023	
6	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)	10.11.2023	
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів дозахисту)	10.11.2023	
8	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів дозахисту)		
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7днів до захисту)		

З завданням ознайомлений

Студент _____ Артур ЗУРНАДЖЯН

Науковий керівник роботи _____ Ірина ВОЛОШИНА

АНОТАЦІЯ

Зурнаджян А.А. «Антибактеріальні властивості біогенних наночасток металів». – Рукопис

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

У кваліфікаційній роботі проаналізовано сучасні літературні джерела щодо антибактеріального впливу наночасток різних металів Ag, Cu, Zn, Fe, Mn, отриманих за допомогою «зеленого» синтезу. Також представлено інформацію стосовно застосування наночасток у рослинній біотехнології, сільському гсподарстві, медицині.

Кваліфікаційну роботу присвячено антибактеріальним властивостям наночасток металів (AgNPs, CuNPs, ZnNPs) синтезованих зеленим синтезом використовуючи супернатант культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 та їх солей ($AgNO_3$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$). Антибактеріальні властивості вищезгаданих речовин перевіряли на тест-культурах бактерій за допомогою методу відновлення живих клітин ризазурином. У якості тест-культур використовували Грам-позитивні (*Bacillus subtilis* B-901, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) та Грам-негативні культури (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01). Також за результатами досліджень можна сказати, що наночастки металів можна використовувати у якості антимікробних речовин.

Ключові слова: метали, наночастки, CuNPs, ZnNPs, AgNPs, *Lactobacillus acidophilus*, біогенний синтез.

ABSTRACT

Zurnadzhian A.A. «Antibacterial properties of biogenic metal nanoparticles». – Manuscript

Qualification work on specialty 162 – Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2023.

The qualification work analyzed modern literary sources on the antibacterial effect of nanoparticles of various metals Ag, Cu, Zn, Fe, Mn obtained by "green" synthesis. Information on the use of nanoparticles in plant biotechnology, agriculture, and medicine is also presented.

The qualification work is devoted to the antibacterial properties of metal nanoparticles (AgNPs, CuNPs, ZnNPs) synthesized by green synthesis using the supernatant of the culture liquid of *L. acidophilus* UKM B-2691 and their salts ($AgNO_3$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$). The antibacterial properties of the above-mentioned substances were tested on test cultures of bacteria using the method of restoring living cells with rhizazurin. Gram-positive (*Bacillus subtilis* B-901, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and Gram-negative cultures (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01) were used as test cultures. Also, according to the results of research, it can be said that metal nanoparticles can be used as antimicrobial substances.

Key words: metals, nanoparticles, CuNPs, ZnNPs, AgNPs, *Lactobacillus acidophilus*, biogenic synthesis.

ЗМІСТ

ВСТУП 8
РОЗДІЛ 1. 12
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД 12
1.1 Антибактеріальні речовини 12
1.2.2 ММТ-тест та відновлення ризазурином 16
1.3 Методи отримання наночасток 17
1.4 Механізми біосинтезу наночасток 18
1.5 Антибактеріальна дія наночасток металів та їх солей 19
1.5.1 Антибактеріальна дія срібла 19
1.5.2 Антибактеріальна дія цинку 20
1.5.3 Антибактеріальна дія наночасток заліза 21
1.5.4 Антибактеріальна дія наночасток мангану 22
1.5.5 Антибактеріальна дія наночасток міді 23
1.6 Застосування наночасток металів 23
1.6.1 Наночастки срібла 23
1.6.2 Наночастки цинку 25
1.6.3 Наночастки заліза 26
1.6.4 Наночастки мангану 27
1.6.5 Наночастки міді 29
Висновок до розділу 1 30
РОЗДІЛ 2. 31
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ 31
2.1 Характеристика досліджуваних тест-культур 31
2.1.1 Характеристика *Escherichia coli* 31
2.1.2 Характеристика *Pseudomonas aeruginosa* 32

2.1.3 Характеристика *Staphylococcus aureus* 33
2.1.4 Характеристика *Bacillus subtilis* 34
2.2 Середодовище для вирощування тест культур 35
2.3 Отримання наночасток металів 35
2.4 Визначення чутливості тест-культур до антимікробних речовин 36
2.4 Статистична обробка результатів 36
Висновок до розділу 2 37
РОЗДІЛ 3 39
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ 39
3.1 Антибактеріальна дія наночасток срібла 39
3.1.1 Вплив AgNPs на тест-культури Грам-позитивних бактерій 39
3.1.2 Вплив AgNPs на тест-культури Грам-негативних бактерій 41
Висновок до розділу 3 43
ВИСНОВКИ 45
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ 47
ДОДАТКИ 55

ВСТУП

Антибактеріальні властивості солей металів відомі досить давно, проте показником проти застосування розчинів солей металів в якості антибактеріальних засобів була відсутність вибірковості дії та загальна цитотоксичність даних речовин, що унеможливлює їх використання в ролі антибіотика, оскільки будуть пошкоджені не лише самі бактерії, а й клітини оранізму носія. Дана тенденція звела використання цього методу до, в кращому випадку, попередньої вибіркової обробки матеріалів та поверхонь та змусила майже відмовитись від неї у медичних цілях. Проте з розвитком технологій та науки використання металів у антибактеріальних цілях отримало новий шанс. Новим перспективним методом є використання наночастинок.

Нанотехнології – галузь розвитку технологій дуже малого розміру. Приставка “нано” – означає, в нашому випадку мається на увазі розмір часток металів в діапазоні 1-100 нм. Зміна розміру застосованих часток дає змогу переглянути їх застосування в медичних цілях, оскільки зміна конфігурації та розміру структури дозволяє створити суттєву різницю у їх дії. Першим фактором являється зміна співвідношення кількості атомів на поверхні структури (частинки) до її загальної площі [27, 28, 30].

Оскільки в молекулах солей активний компонент (атом металу) знаходиться у структрі загальної молекули - він не може діяти повністю, а отже ми маємо необхідність збільшувати загальну кількість препарату для підвищення ефективності. З наночастками такого не відбувається через те, що більшість атомів вже знаходяться на поверхні, тому одразу проявляють активність при меншій концентрації, за рахунок чого знижається загальний токсичний вплив на організм носія хвороби. Другим цікавим аспектом є покращення проникності через тканини організму носія, а отже попри безпосередньо антибактеріальний вплив наночастки ще й оптимізують

фармакокінетику препарату, що у випадку використання комбінованих препаратів з різним направленим дій дає змогу використовувати наночастинки у складі як векторну систему для транспортування вторинного активного компоненту локалізовано у тканину(або орган) – мішень [31, 33, 28, 30].

Наступною перевагою використання наночасток є неможливість бактерій адаптуватися до їх дії, на відміну від традиційних антибіотиків, які з часом втрачають свою ефективність дії на мікроорганізми попри збереження побічних дій на організм носія хвороби. Традиційні антибіотики як правило спрямовані на пошкодження структури клітини бактерії, до чого вона може адаптуватися за рахунок мутацій та зміни (навіть, здавалось би, незначної) хімічної структури даного компоненту. Дія ж наночастинки спрямовується на метаболізм бактерії. За рахунок високої проникності наночастинок, вони проникають в цитоплазму бактерії, після чого атоми металу діють на певний ферментний ланцюг або органелу (різні частинки металів діють на різні компоненти та структури), інгібуючи її функцію.

Тож на виході ми маємо технологію з відсутністю втрати ефективності, менш токсичну для людини та більш універсальну у використанні.

Актуальність теми полягає в отриманні альтернативних речовин, що мають антибактеріальні властивості по відношенню до традиційних варіантів заради подолання антибіотикорезистентності. В недалекому майбутньому ця проблема може набути катастрофічних наслідків, оскільки кількість резистентних штамів безперервно росте, а варіабельність нових антибіотиків обмежена факторами чутливості до них збудника та шкідливості їх для людини.

Цікавим рішенням даної проблеми є альтернативні способи боротьби зі збудником, а саме використання наночасток металів.

Наукова новизна роботи полягає у дослідженні антибактеріальних властивостей наночасток металів (AgNPs, CuNPs, ZnNPs), що отримані методом

зеленого синтезу за допомогою супернатанту культуральної рідини *L. acidophillus*.

Метою роботи є дослідження антибактеріального впливу наночасток металів синтезованих за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на тест-культури.

Об'єкт дослідження роботи – наночастки та солі металів (Ag, Cu, Zn).

Предмет дослідження – тест-культури мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Bacillus subtilis* B-901, яки було отримано з Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України для досліджень. Штам належить до Української колекції мікроорганізмів.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання:**

1. Підготувати тест-культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Bacillus subtilis* B-901.

2. Перевірити антимікробну активність наночасток металів (AgNPs CuNPs ZnNPs) та їх солей ($AgNO_3$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$) за допомогою аналізу відновлення резазурину.

3. Оформити результати та зробити висновок щодо можливого використання наночасток металів у якості антибактеріальних речовин.

Методи дослідження: біологічні, мікробіологічні, біотехнологічні, спостереження, спектрофотометричні, аналіз та узагальнення результатів.

Практичне значення отриманих результатів полягає у використанні наночасток металів у якості антимікробних речовин.

Публікації. Результати досліджень опубліковано в журнал *Biopolym. Cell*. (Scopus) та апробовано в двох збірниках матеріалів науково-практичних міжнародних конференцій:

1. Voloshyna I. M., Lastovetska L. O., **Zurnadzhian A. A.**, Shkotova L. V. "Green" synthesis of metal nanoparticles. Application and future perspective. *Biopolym. Cell*. 2023; 39(3):170-188. http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A98. Scopus https://www.biopolymers.org.ua/content/39/3/170/ (Додаток А).

2. Ластовецька Л.О., **Зурнаджан А.А.**, Волошина І.М. Зелений біосинтез наночасток срібла *L. acidophilus* та їх використання // «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині»: матеріали ІІІ науково-практичної міжнародної дистанційної конференції (м. Харків, 24 березня 2023 р., м. Харків) / – Х.: НФаУ, 2023. С. 150-151. (Додаток Б), сертифікат учасника (Додаток В).

3. **Зурнаджян А.А.**, Хоменко В.Г., Волошина І.М. Мікробні паливні елементи – рішення проблеми енергетики та утилізації органічних відходів // Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування [Електронний ресурс]: матеріали Міжнар. наук. конф., 27-28 квітня 2023 р. / Держ. біотехнол. ун-т. – Х., 2023. – Електронні текстові дані. – С. 166-167 – Режим доступу: http://btu.kharkov.ua/nauka/konferentsiyi/ (Додаток Г), сертифікат учасника (Додаток Д).

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Основна частина кваліфікаційної науково-дослідницької роботи викладена на 65 сторінках, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує 48 найменування публікацій вітчизняних та зарубіжних дослідників. В роботі представлено п’ять додатків, що представлені на 9 сторінках.

РОЗДІЛ 1.
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1 Антибактеріальні речовини

Речовини що здатні пригнічувати ріст та розмноження бактерій називаються антибіотиками. За рахунок хімічної дії на поверхню мікроба вони можуть змінювати структуру та функції компонентів клітинної стінки і таким чином призводити до смерті клітини. В деяких випадках вплив спрямований на пригнічення біохімії мікроорганізму.

Проте проблемою постала резистентність бактерій до антибіотиків, за рахунок швидкої зміни поколінь (в середньому 18-22 год) під дією антибіотику з'являються деякі екземпляри, стійкі до їх дії, а дозрілі бактерії при коливаннях концентрації препарату (наприклад людина не витримує час прийому препарату), перетворюються на L-форму (зміна конфігурації поверхні клітини, що унеможливлює дію антибіотика, та являє собою результат дії антибіотику концентрації нижчої за мінімальну ефективну).

Розглянемо шляхи підвищення ефективності існуючих антибіотиків: Власне, їх всього два. Перший – модифікація хімічної структури діючого агенту, що робить набуду резистентність марною. Наприклад коли з'явилась проблема резистентності до міноцикліну, винайшли його модифікацію – тайгециклін, який по суті являє собою ту саму молекулу, але з приєднаним до неї 9-трет-бутил-гліциламідного кільця D у дев'ятому положенні молекули [34].

Другий механізм – інгібування механізмів резистентності бактерії. Ці препарати зазвичай направлені на блокування активності β-лактамаз. Цей бактеріальний фермент відповідає за виникнення стійкості до бета-лактамних антибіотиків, тобто пеніциліну, цефалоспорину, та всіх їх похідних. Інгібітори поділили на дві групи згідно хімічної структури:

- Група діазабіциклооктану (релабактам, авібактам).

- Інгібітори боронатної b-лактамази (ваборбактам).

Проте всі винайдені засоби, що були здатні до пригнічення цього ферменту мали два суттєві недоліки. Для початку вони не пригнічували В форму ферменту, що вже викликало необхідність комбінувати ці інгібітори з іншими речовинами.

Клас А: Включає бета-лактамази розширеного спектра (ESBL), такі як ферменти TEM, SHV, CTX-M і GES. Вони кодуються плазмідами і зустрічаються у видів *Klebsiella, Escherichia coli* та інших *Enterobacterales*. ESBL можуть гідролізувати пеніциліни розширеного спектра, більшість цефалоспоринів та монобактами.

Клас В: Включає метало-бета-лактамази (MBL), такі як NDM, IMP і VIM. Вони використовують іон цинку для гідролізу всіх бета-лактамів, включаючи карбапенеми, за винятком монобактаму азтреонаму.

Клас С: Включає AmpC, які також гідролізують цефалоспорини.

Клас D: Включає оксацилінази (OXA).), що вже викликало необхідність комбінувати ці інгібітори з іншими речовинами. Ну а друга причина похідна від першої – висока цитотоксичність, яка не дозволяє дослідам покинути стіни лабораторії та перейти на етап клінічних дослідів.

Альтернатива підвищенню ефективності існуючих антибіотиків – розробка нових. Нові антибіотики мають бути націлені на нові білкові мішені, проте виявити такі речовини складно, та їх обсяг обмежений. Навіть використовуючи комп’ютерні бази даних та електронні моделі банків білків можливо знайти теоретично ефективні речовини, проте неможливо попередньо спрогнозувати наслідки використання *in vivo*.

Також традиційна модель винайдення антибіотиків як вторинних метаболітів мікроорганізмів все ще має ресурс для відкриття нових версій, за рахунок використання нових джерел мікробіоти (наприклад морські бактерії,

симбіотична міклофлора рослин, людей, тощо). Наприклад лудгінін (макроциклічний тіазолідиновий білковий антибіотик, є циклічним пептидом, який синтезується не рибосомальними пептидними синтетазами в *S. lugdunensis*. Ця молекула складається з тіазолідинового гетероциклу та трьох D-амінокислот), пригнічує ріст *S. aureus*, проте механізм дії не встановлений, лише показана непояснювальна ефективність. Окрім біосинтезу та виділення цільового продукту, можливий хімічний синтез штучного дублікату цієї речовини [12, 34].

Вторинні методи впливу на мікроорганізм. Одним із вторинних механізмів є вплив на патогенність мікроорганізму, замість його життєздатності. Націлювання на специфічні структури патогенності дозволяє виграти час для імунітету, оскільки протікання процесу стає набагато легше, в імунітету більше часу на самостійне знищення патогену. Наступний варіант – вплив на адгезивні властивості. Унеможливлювання закріплення бактерії на поверхі тканин та клітин носія також робить патогенний процес значно складнішим для бактерії, та простішим в плані його усунення для імунітету. Так, детермінант спрямований на молекули фімбрії такі як антагоніст FimH манозиди та антитіло scFv-Fc KP3, націлений на субодиницю фімбріалу показали хороші результати на мишах. В інших варіантах впливали на ліпідні комплекси що також беруть участь у адгезії, також використовували речовини, залучені до імунної модуляції організму-господаря. Інгібітори імунного розпізнавання імунітетом господаря також знижують вірулентність мікроорганізму [12, 34].

Для плівко утворюючих бактерій в якості альтернативного впливу можна використовувати вплив на модуляцію біоплівки, (зміни позаклітинного мактриксу та порушення зрілої біоплівки). Хороші результати показали флавонолігнани, стрепторубін та циклоспорин.

Блокування кворум-сенсорної системи одна з найефективніших стратегій протидії інфекційному процесу, оскільки обмежує можливість бактерій взаємодіяти між собою, за рахунок блокування хімічних медіаторів, необхідних для їх взаємодії, яка є необхідною для інфекційного процесу. Гасіння чутливості кворум-сенсорної системи включає в себе використання ацил-гомосерин лактоні лактонази, що показали ефективність проти *P. aeruginosa* [34].

1.2 Методи аналізу ефективності антимікробної дії

1.2.1 Метод дифузійних дисків

Методи аналізу ефективності спрямовані на виявлення мінімальної інгібуючої концентрації (MIC), яка прямо показує здатність антибіотика пригнічувати ріст та розмноження бактерій.

Таку методику можна реалізувати методом дифузійних дисків на твердому середовищі. Маленькі диски із спеціального стерильного паперу змочені цільовим препаратом у різних концентраціях (серія титрів концентрації) розміщують на твердому агарному середовищі, одразу після виконаного пасажу клітин збудника. При цій методиці посів клітин робиться «газоном», тобто суцільним шаром росту. Після цього зразок інкубується у термостаті, та заміряється зона затримки росту.

В залежності від специфікації препарату, певний діаметр зони затримки рахується ефективним результатом, таким чином встановлюють мінімальну концентрацію, що пригнічує ріст колонії з задовільною інтенсивністю, та порівнюється з референтним препаратом, дослід якого ставиться паралельно із цільовим.

1.2.2 ММТ-тест та відновлення ризазурином

ММТ тесту та відновлення ризазурином дають змогу перевірити цитотоксичність нових препаратів *in vitro*, що є доцільним перед постановою високовартісних тестів *in vivo*, з приводу можливості уникнути зайвих витрат у разі негативних резулттатів на першому етапі.

МТТ-тест – спектрофотометричний спосіб дослідження кількості живих клітин у препараті. Сам МТТ реактив являє собою тетразолію (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію броміду або МТТ). Це сіль жовтого кольору, яка під дією NAD(P)H-залежної оксидоредуктази, продукованої живими клітинами змінює колір на фіолетовий (утворюється формазан).

Утворені кристали формазану нерозчинні, тому перед проведенням спектрометрії необхідно додавання розчину солюбілізації (поверхнево-активні речовини, що розчиняють кристали формазану). Після цього концентрація формазану вимірюється спектрофотометрично при довжині хвилі 500-600нм, вибірка екстенцій спектрометрії контролю клітин без препарату береться за 100% живих клітин, екстенції проб із дослідним препаратом пропорційно розраховуються по відношеню до еталону (100% живих клітин), та інтерпретуються у відсоток живих клітин після дії препарату.

Відновлення резазурину – резозуринат натрію це сіль синього кольору, що є показником окисино-відновних реакцій. При проходженні окисно-відновної реакції в ході метаболітичної активності клітин, ризозурин, підвергнутий окисненню набуває рожевого кольору, який можна зафіксувати фотометрично при довжині хвилі 500-600нм.

Аналогічно до МТТ-тесту, необхідно перерахувати медіану вибірки екстенцій спектрометрій контролю клітин, аби використовувати отримане значення в якості еталону(100% живих клітин), та пропорційно перерахувати екстенції дослідних зразків по відношенню до отриманого значення.

1.3 Методи отримання наночасток

Фізичні методи. Фізичне випаровування розчину солі металу та конденсація. Також використовують ультразвук, електронні бомбардування (дестабілізація кристалічної структури металу, аби "відколоти" маленький шматок), також використовують аерозольні методи (випаровування аерозольного розчину солі металу).

Хімічні методи. Колоїдні розчини золей металів. також хімічним способом отримують частки в ході реакції відновлення, де відновником виступає алюмо- та боро-гідриди, тетраборати та гіпосульфати, та подібні їм речовини.

Проте не дивлячись на різноманітність методів отримання наночасток в них є певні недоліки, починаючи від специфічності та вартості обладнання для їх отримання, закінчуючи вартістю такого синтезу та шкідливістю через дію реактивів, впливу на екологію, не кажучи вже про ціну отриманого продукту, оскільки необхідне обладнання є вузькопрофільним а реактиви мають високу вартість. До того ж, стабільність таких часток не завжди дає задовільний результат, що не може гарантувати стандартизацію якості препарату. Зважаючи на ці речі варто звернути увагу на біологічні методи синтезу.

Біологічні методи. Для початку "зелений синтез" більш екологічний, оскільки більшість відходів виробництва органічні, отже легко утилізуються. Друга причина – даний спосіб не потребує широкого спектру хімічних реактивів та вузько спеціалізованого обладнання (економічно доцільний) при тому що розмір часток та їх якість не поступаються своїм хімічним та фізичним аналогам.

В ході біосинтезу клітина бактерії використовує процеси біоадсорбції, біоакумуляції, та позаклітинного комплексотворення. За рахунок власних метаболічних реакцій мікроорганізми здатні до вилучення та накопичення

наноструктур металів, що дає змогу використовуючи дані властивості м/о отримувати наночастки металів не гірші за якістю від їх хімічно синтезованих аналогів, при більшій економічній доцільності, в силу універсальності процесів біологічного синтезу, що не потребує кожного разу нового специфічного обладнання або реагенту. В придачу до цього, можливо маніпулювати розміром та якісними факторами наночасток за рахунок оптимізації умов синтезу(температура, pH, час, період внесення солі металу і т.д.) без підвищення загальної вартості синтезу.

1.4 Механізми біосинтезу наночасток

Існує два механізми синтезу – внутрішньо та позаклітинний. У першому випадку виділення наночасток відбувається за рахунок лізису клітин, у другому – за рахунок виділення надосаду (супернатант). Сам механізм синтезу власне являє собою реакцію ферментів, що продукуються бактерією, та іонів металів у середовищі, які під дією цих ферментів адгезуються у наночастки.

При внутрішньоклітинному механізмі іони транспортуються в середину клітини та частки синтезуються у цитоплазмі, при позаклітинному – синтез відбувається на поверхні клітин.

Безклітинний механізм синтезу (супернатант). У надосадовій рідині знаходяться ферменти, виділені у середовище під час росту клітин, виділений надосад без біомаси використовують як готову ферментативну систему для синтезу наночасток, таким чином біосинтез відбувається без самої клітини, але за участі її ферментної системи.

Внутрішньоклітинній синтез. При внутрішньоклітинному синтезі сіль металу вноситься у культуральну рідину з біомасою, на відміну від попереднього варіанту. В силу того, що наночастки будуть накопичені всередині клітин, необхідна подальша деструкція клітин для виділення

наночасток, що частково ускладнює загальний процес порівняно з першим варіантом.

Проте в обох випадках буде характерна зміна кольору у разі успішного синтезу наночасток.

Так, для цинку та марганцю це буде білуватий відтінок, для срібла гама кольорів в діапазоні від коричневого до темно-коричневого, для міді зелено-коричневий діапазон, для заліза червонувато-рудий.

1.5 Антибактеріальна дія наночасток металів та їх солей

1.5.1 Антибактеріальна дія срібла

Срібло має яскраво виражені антибактеріальні властивості, при тестуванні на культурах *S. aureus, P. aeruginosa* та *E. coli* наночастки срібла демонструють значну антибактеріальну активність, (при середньому розмірі частинки 28-30нм) [3] фіксація розміру часток та їх загальна характеристика були визначені за допомогою спектрофотометрії, визначення Z-потенціалу та спектрометрії Фур'є (FTIR).

Дослідні культури вирощували на нутрієнт агарі (NA) та інкубували при 37ºC 6 годин (*S. aureus* та *E. coli)* та 30ºC 6 год. (*P. aeruginosa*). використовуючи метод дифузії в агарі було визначено MIC 31,2, 15,6, та 31,2 мг/л для *E. coli, P. aeruginosa* та *S. aureus* відповідно [1, 3, 5, 6].

В аналогічному досліді було перевірено дію проти *E.coli, S.aureus,* проте у ключі синергічного ефекту із традиційними антибіотиками, в цілому заради обмеження можливості збільшення випадків трансформації на мультирезистентний штам, і таким чином, запобігання адаптації патогенну (резистентні форми вбивали наночастки, а не трансформовані у мультирезистентний штам – звичайний антибіотик) [36, 32, 15, 20, 14].

Також позитивні результати отримані у дослідах проти *P.aeruginosa* та

S. aureus, при застосуванні біогенних наночасток срібла розміром 11нм.

В цьому випадку в ході досліду було встановлено MIC – 1 та 2 мМ/мл для *P.aeruginosa* та *S.aureus* відповідно [7, 6, 32, 36, 37].

Це важливо оскільки зазначені штами є представниками патогенів, що завдають великої шкоди в лікарнях, хірургічних відділеннях, травматології та при цьому часто мають антибіотикорезистентність як внутрішньоклінічні штами, що суттєво ускладнює боротьбу з ними та процес лікування заражених пацієнтів.

1.5.2 Антибактеріальна дія цинку

Антибактеріальна дія наночасток та солей цинку зумовлена пригніченням активності метаболізму клітин. Наночастки отримані із оксиду цинку виражають сильну антибактеріальну дію, проти *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*. В рамках цього досліду автори створили поліамідну тканину, на яку й були нанесені наночастки, отримані золь-гельним методом у трьох варіаціях витримування – 1, 3 та 24 год [10, 25, 38].

В залежності від часу інкубації розмір наночасток змінювався, проте в середньому становив 5нм. В ході описаної роботи було встановлено що наночастки оксиду цинку мають яскраво виражені антибактеріальні властивості у розмірах 10нм та менше. При покритті поліамідної тканини, було визначено що антибактеріальні властивості на поверхні тканини залишаються стабільними до 20 циклів прання [8, 32, 39, 38].

В іншому досліді описують антибактеріальну дію нанокаркасів оксиду цинку. Метал-органічні каркаси (Metal-Organic Frameworks (MOFs)), збільшують питому площу поверхні наноконструкції, за рахунок пористої структури, а отже виражають більшу бактерицидну дію, маючи вищу біосумісність з організмом носія бактерії [39]. В цьому випадку для описання та

характеристики фізичних властивостей використовували FTIR, спектрофотометрію, спектрофотометрію ультрафіолетового видимого спектру, та рентгенівські дослідження. Виходячи із отриманих даних автори роботи зазначають що їм вдалось лігувати частки цинку у кристалічну решітку із заліза (MIL-101(Fe)).

В ході цієї роботи було виявлено сильний антибактеріальний ефект сполуки проти *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter junii* та *Staphylococcus epidermidis* [10, 25, 39].

Цей ефект досягнений за рахунок стимуляції клітиною збудника продукції АФК(активні форми кисню), що порушує цілісність клітинної мембрани (грубо кажучи дія подібна до обробки пероксидом водню).

1.5.3 Антибактеріальна дія наночасток заліза

Наночастки заліза отримані зеленим синтезом, проявляють високу антибактеріальну активність. В одному із розглянутих дослідів використовували наночаски синтезовані із екстрактом Punica granatum (гранат звичайний).

Наночастки отримувались у декількох концентраціях екстракту заради оптимізації розміру наночасток (20, 40 та 60мл). Найменший розмір часток був отриманий із експерименту з 40мл. Розмір, морфологія та властивості часток були підтверджені методами спектрофотометрії, фотометрії видимого ультрафіолетового спектру, та FTIR. В ході експерименту було виявлено антибактеріальний вплив за *P. aeruginosa* у концентрації 22мМ [40 – 42].

В іншій статті описуються наночастки гептагідрат сульфату заліза ($FeSO_4 \times 7H_2O$), синтезованих за допомогою екстракту Phoenix dactylifera (фінік їстівний). Фізичні властивості встановлені спектрофотометрією, електронною

мікроскопією, FTIR. Отримані зразки наночасток тестували проти культур *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Micrococcus leutus і Klebsiella pneumoniae* і отримали результати, що підтверджують антибактеріальну дію. Середня ефективна інгібуюча концентрація становила 13мМ [41, 26, 29, 32].

У іншому досліді були встановлені антибактеріальні властивості наночасток заліза по відношенню до *Listeria monocytogenes і Staphylococcus aureus, а також грамнегативних бактерій Escherichia coli (*O157:H7*), E. coli (*ATCC25922*), Salmonella enteritidis і Salmonella typhimurium.* Також наночастки заліза провокують продукцію активних форм кисню [17, 42, 43].

1.5.4 Антибактеріальна дія наночасток мангану

Антибактеріальні властивості мангану зумовлені здібностями впливати на метаболізм бактерії та вивільняти активні форми кисню.

Цікавий варіант використання наночасток марганцю представлений в роботі по виготовленню титанових нанокаркасів, лігованих наночастками марганцю. Дані структури дозволяють боротись із хронічними інфекціями, викликаними утворенням біоплівок при імплантації.

Як вказує джерело [43] покриття імпланту нанокаркасами титану, лігованими марганцем дозволяють знищувати до 90% збудника *S. aureus* та *P. aeruginosa.*

Іншим прикладом є створення гідрогелевих пов’язок із хітин-магнієвим комплексом (конкретно з наночастками отриманими із Mn_3O_4)

В моделюванні зараження рани миші біоплівкою *S.aureus* показано повне знищення останньої та пришвидшений перехід від запалення до рекомпозиції тканин [32, 44].

Також наночастки марганцю мають протигрибкову дію, що знайшло використання у сільському господарстві. Наприклад згідно джерела [45],

наночастки марганцю ліговані паладієм проявляють дію проти *S. sclerotiorum і C. gloeosporioides,* знищуючи 72-92% збудника при концентрації 100 ppm.(Parts per million, тобто 1 мільйонна частинка 1ppm відповідає 0,001 проміле або 0,0001%)

1.5.5 Антибактеріальна дія наночасток міді

Антибактеріальні властивості міді відомі досить давно, проте при переході на нанорозміри виявляються додаткові властивості, в тому числі в пригніченні росту збудників. Так, було встановлено що наночастки міді суттєво пригнічують ріст таких збудників як *B. subtilis, S. aureus, P. vulgaris,* та гриба *C. albicans* [18, 32, 46].

у дослідженні на *S. aureus* метицилін, ампіцилін та пеніцилін показали затримку росту 10, 12, та 11 мм відповідно, в той час як зона інгубування при використанні CuNPss становила 14 мм.

В іншому досліді проти проти *E. coli, K. pneumonia* та *P. typhus* зони інгібування 5, 9, 6 мм для CuNPss і 4,7,4 мм для нікелю відповідно.

Протигрибкова активність також показала хороші результати. Наночастки міді отримані з рослинного екстракту *Falcaria vulgaris* демонструє більшу інгібуючу активність ніж ністатин, флуконазол, ітраконазол, та міконазол. Проти роду *Candida* результати перевершили дію Амфотерецину В [32, 46].

1.6 Застосування наночасток металів

1.6.1 Наночастки срібла

Наночастки срібла використовують у різних сферах, від виготовлення тканин, поверхневого покриття матеріалів заради антибактеріальних властивостей або електропровідності, до застосувань у медицині, фармацевтиці та біоінженерії.

Також наночастки срібла мають яскраво виражені антибактеріальні властивості, використовуються у лікуванні пухлин, [2, 20, 26, 30] інших специфічних трансформаціях тканин, оскільки мають високу проникність щодо біологічних мембран, завдяки маленькому розміру та, як наслідок високому співвідношенню концентрації речовини до її активної площі поверхні. Завдяки високій проникності через мембрани можливе накопичення наночасток в організмі та їх вплив на фізіологію та метаболізм, проте чіткої кореляції між механізмом токсичності та дією наночастки наразі не виявлено, тому не можна бути впевненим повністю в тому, що токсична дія – надбання отримане з металом. Адже був виявлений вплив у вигляді окисного стресу та стресу ендоплазматичного ретикулуму, шо могли бути викликані іншими факторами. Властивості, що знайшли застосування в медицині:

Швидке загоєння ран. Завдяки антибактеріальній дії срібло пришвидшує загоєння рани, оскільки без дії мікробіоти знижується ризик запалення. Проникаючи всередину клітини перетворюється на Ag^+ іон, та може вступати у реакції з білками та ферментами, що у випадку збудників хвороб пригнічує їх життєдіяльність, на користь чого свідчать посіви ексудату ран, взятих у пацієнтів що користувались звичайними перев'язувальними матеріалами та матеріалами з напиленням наночасток [7, 14, 15].

Таким чином використання наночасток срібла зазнало розповсюдження у перев'язувальних матеріалах, а також шовних, стоматологічних (показало ефективність у запобіганні карієсу при імплантуванні) та інших хірургічних матеріалів, включаючи гідрогелеві мембрани з напиленням наночасток срібла для загоєння опіків.

Загоєння переломі кісток. Оскільки під час хірургічного втручання можливе занесення інфекційного агенту у рану, особливо внутрішньо-лікарняних мультирезистентних штамів, необхідно додавати антибактеріальні

компоненти. Проте традиційна дія антибіотиків повільно але впевнено вичерпує свою ефективність, час знаходження в рані антибіотику нижчий за час на який можуть мобілізуватись наночастки, а також відсутність інформації щодо резистентності мікроорганізмів до дії наночасток можна прийти до висновку, що їх застосування матиме вищу результативність по відношенню до традиційних методів. Також підтверджена активна протимікробна дія наночасток срібла на штамах *S.aureus, P. aeruginosa*, які є одними з центральних проблем при загоєнні хірургічних ран [7, 14, 15, 20, 32].

1.6.2 Наночастки цинку

Наночастки цинку привертають увагу своєю біосумістністю, низькою цитотоксичністю та широким сперктром антибактеріальної дії, цинк показує себе одним з найкраших антимікробних агентів із досліджувальних наночасток металів. методом дифузійних дисків на агарі встановлено суттєву антибактеріальну дію проти таких патогенів як *Clostridium difficile, Clostridium perfringens, E. coli, Salmonella typhi, Candida albicans і Aspergillus flavus, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumanii, Klebsiella pneumonia ma Staphylococcus aureus* [8, 9, 10].

У дослідах дії наночасток ZnO також була виявлена висока ефективність проти штаму *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*, що є причиною пікової хвороби листя таких сільськогосподарських культур як рис та інші злакові. Також була виявлена активна протидія вірусу тютюнової мозаїки. З цього можна зробити висновок про доцільність їх використання для профілактики хвороб рослин та, як наслідок втрат урожаю [10, 38, 39].

Також низька цитотоксичність (перевірена на міофібрилах мишацих ембріонів) дозволяє використовувати покриття наночастками як оболонку для проникнення препарату крізь біологічні мембрани звуження цільового спектру

дії препарату за рахунок використання такого вектору, що дозволить знизити дозу ефективну дозу препарату, за рахунок цільової дії.

В інших роботах виявлено здатність наночасток цинку до інгібування руху бактерій, та пригнічення активності ферментів, що призводить до порушення метаболічних ланцюгів і в результаті пригнічення життєдіяльності мікроорганізму. Наприклад ці дані були отримані при постанові експерименту на *P. aeruginosa* виявили пригнічення активності протеаз, еластази, синтезу екзополісахариду та ройової рухливості. Подібне пригнічення наночастки цинку показали у дослідах з *C. violaceum* (зниження синтезу віолацеїну (біс-індольний пігмент з антибіотичними властивостями) та блокування ройової рухливості *C. violaceum* і *Serratia marcescens*.

В іншому випадку виявлено інгібіторну активність продукції продигіозину (71 %) родини бактеріальних червоних пігментів *S. marcescens*. [9, 8, 10, 25, 32].

1.6.3 Наночастки заліза

Наночастки мають сферичну форму та розмір до 100нм, утворені за рахунок відновлення іонів Fe. Дані частинки показали високу антимікробну дію проти *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa ma Candida albicans.* Наночастинки оксиду заліза (FeNPs), представляють великий потенціал у галузях біомедицини для візуалізації, діагностики та терапії завдяки своїй протимікробній та протипухлинній активності, [2, 20, 26, 30] сильній магнітній активності та напівпровідниковим властивостям. Крім того, їх можна використовувати як ефективні покривні агенти для інгібування мікробного забруднення та утворення біоплівки [17, 16].

Також, наночастки заліза здатні до імобілізації з органічними речовинами, такими як фенол, та флаваноїди, має яскраво виражену властивість до зв’язування вільних радикалів за рахунок антиоксидантної дії та у боротьбі з

окисним стресом. При дії ультрафіолетом α- наночастки заліза здатні до вивільнення активного кисню із повітря (процес можливий через дифективні електронно-діркові пари), що дає використовувати нам ці наночастки як каталізатор вивільнення активних форм оксигену, та антимікробної дії при поверхневому застосуванні. Також за рахунок водневих, диполь-диполярних, вандервальсових та гідрофобних взаємодій вони здатні до зміни конфігурації клітинних мембран збудника, не сумісних з його подальшим виживанням [17, 16].

Протиракова активність наночасток використовується у лікуванні онко-захворювань. За рахунок високої проникності через мембрани та фермент-інгібуючої активності наночастки срібла, золота, титану, міді та заліза можуть пошкоджувати ДНК трансформованих клітин, або пригнічувати експресію їх генів та сповільнювати їх ріст при вузькоспрямованій дії, з меншими побічними ефектами ніж при хімічній терапії.

Завдяки високим каталітичним та сорбційним властивостям, а також хорошій кінетиці одним з можливих напрямків експлуатації є очищення вод від забруднень біологічного походження, починаючи з антибактеріальних мембранних фільтрів для води індивідуального або промислового масштабу, закінчуючи очищенням стічних вод та знешкодженням відходів біологічних виробництв.

1.6.4 Наночастки мангану

Манган має яскраво виражений антибактеріальний ефект, проте при переході на нанорозміри виявляє стимулюючу дію найбільш виражену у концентраціяї часток 1,0 мМ, 0,001 мМ. Частки мають розмір до 100 нм. В залежності від валентності вихідного марганцю отримуються різні конфігурації наночасток. Іони оксиду є кубічними; упакований Mn(у положенні

поверхневих електронів 2þ) займає тетраедричну позицію; Mn(у положені поверхневих електронів 3þ) займає октаедричний стан; d4 атомів Mn (III) знаходиться у високоспіновій конфігурації [43, 44].

Інтерес в плані очищення вод становить використання кристалічних наночасток марганцю в якості фотокаталізатора. Структура фотокаталізатора має бути стабільна, оскільки фотокаталітична реакція буде протікати в середовищі з високим ступенем аерації та великою кількістю води. В даному випадку наночастки трьох валентного марганцю є найбільш стабільними в таких умовах.

У випадку отримання змінених просторових конфігурацій наночасток (наприклад нанотрубки) виявляє сильний антибактеріальний ефект, за рахунок високої проникності крізь мембрану бактерії та вивільнення радикалу O_2.

Використання у онколікуванні спрямоване на забезпечення пухлини киснем, необхідним для ефективної O_2-залежної терапії. Як правило атом заліза, присутній у активному центрі каталази розриває O-O зв'язок у H_2O_2 зі звільненням O_2. Проте при онкотрансформації цей процес значно сповільнюється, і, хоча специфічний механізм залишається неясним, наночастки марганцю сприяють посиленню цього типу реакції.

Звільнений O_2 індукує апоптоз трансформованих клітин. Реакція протікає за формулою [2, 20, 26, 30, 44]:

$MnO_2 + H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O + O_2$;

$MnO_2 + 2H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 3H_2O + O_2$;

$Mn_2O_3 + H_2O_2 + 4H^+ \rightarrow 2Mn^{2+} + 3H_2O + O_2$;

$Mn_3O_4 + H_2O_2 + 6H^+ \rightarrow 3Mn^{2+} + 4H_2O + O_2$;

$MnO_2 + H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 2H^2O + x\ /2O_2$.

1.6.5 Наночастки міді

Наночастки міді демонструють сильні антибактеріальні властивості, вищі ніж у деяких традиційних антибіотиків. Так у дослідженні на *S. aureus* метицилін(напівсинеттичний антибіотик групи пеніциліну), ампіцилін та пеніцилін показали затримку росту 10, 12, та 11 мм відповідно, в той час як зона інгубування при використанні CuNPss становила 14 мм [[46]. В іншому дослідженні проти *E. coli, K. pneumonia* та *P. typhus* зони інгібування 5, 9, 6 мм для CuNPss і 4, 7, 4 мм для нікелю відповідно.

Протигрибкова активність також показала хороші результати. Наночастки міді отримані з рослинного екстракту *Falcaria vulgaris* демонструє більшу інгібуючу активність ніж ністатин, флуконазол, ітраконазол, та міконазол. Проти роду *Candida* результати перевершили дію Амфотерецину В. Протигрибкове дослідження біосинтезованих CuNPs проти *F. oxysporum* та *P. capsici* показали, що CuNPs можуть пригнічувати повний ріст *F. oxysporum* при 30 ppm.(Parts per million, тобто 1 мільйонна частинка 1ppm відповідає 0,001 проміле або 0,0001%)

через 3 дні та *P. capsici* при 7,5 ppm через 1 день інкубації, яка показала, що CuNPs мають сильнішу ефективність проти росту *P. capsici*, ніж *F. oxysporum* [18, 32, 46].

Протипухлинна дія наночасток міді показала гарний результат проти клітин меланоми людини, та дає змогу використовувати їх як для запобігання виникнення захворювання, так і для пригнічення розповсюдження метастазів. Також можливе використання наночасток міді як елементу для інгібування експресії генів ракових клітин [2, 20, 26].

Попри це дія не обмежується продемонстрованими механізвами, та виявляє загальну цитотоксичну ді. Проти пухлинних клітин, так у досліді на Цитотоксичність CuNPs, синтезованих з листя *Eclipta prostrata* показали

потенційну клітинну токсичність проти клітинних ліній HepG2 зі збільшенням концентрації. Токсичність наночасток міді по відношеню до культури клітин HepG2 становили 28,5%, 44,5% і 54,5%(вижившихклітин)при концентраціях 100, 250 і 500 мкг/мл відповідно, за рахунок таких впливів та сукупності описаних ефектів наночастки міді індукують апоптоз онко-трансформованих клітин [2, 20, 26, 30].

Висновок до розділу 1

Не дивлячись на широкий спектр антибактеріальних засобів – у своїй основі вони між собою схожі і керуються лише кількома для них можливими способами взаємодії зі збудником. Ефективність класичних антибактеріальних речовин слабшає, в силу адаптаційних механізмів бактерій, пошук альтернативних шляхів стає все більш необхідним і, як один із варіантів, використання наночасток показує себе вельми цікавим.

По літературним даним антибактеріальні властивості наночасток металів досить суттєві, оскільки пригнічували ріст *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*. Варіабельність методів їх використання (у вигляді золю, в якості антибіотиків, для санітарної очистки поверхонь та вод із високим показником біологічного забруднення, як каталізатор виділення активних форм кисню, тощо), а також ареал застосування не може не викликати інтерес до подальших розробок. Не тільки у якості медичних антибіотиків, а й у якості антикорозійних (у випадку створення лігованих нанокаркасів, або покриття тканин напиленням наночасток), протипухлинних та санітарно очисних речовин. У випадку таких металів як срібло, мідь та цинк згідно літературних джерел, доцільно використовувати їх в медичних цілях, особливо для запобігання утворення біоплівок на медичних інструментах, шовних та перев’язувальних матеріалів, а також у випадку необхідності імплантування, заради запобігання виникнення хронічних інфекцій.

РОЗДІЛ 2.
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Характеристика досліджуваних тест-культур

2.1.1 Характеристика *Escherichia coli*

Таксономісний статус *Escherichia coli*

Домен: Бактерії (Bacteria)

Тип: Proteobacteria

Клас: Gamma Proteobacteria

Ряд: Enterobacteriales

Родина: Enterobacteriaceae

Рід: Escherichia

Вид: coli

Штам АТСС 25922

Морфолого-культуральні властивості: грам-негативні поліморфні палички розміром 1-6мкм мають капсулу, спори не утворюють.

Факультативні анаероби, до поживних середовищ невибагливі, можуть утворювати як S- так і R-колонії діаметром приблизно 3-5 мм та хвилястим краєм. У рідких середовищах проявляють дифузний ріст з помутнінням та утворенням осаду. Належать до класу умовно-патогенних бактерій, не дивлячись на те, що є представником нормофлори кишечника.

На ДДС (диференційно-діагностичних середовищах) утворює малинові колонії з легким металевим блиском.

Патогенез зумовлений адгезивними факторами (у діареєгених це пов’язано із будовою білків поверхневої мембрани) факторами інвазії (продукція цитотоксинів та цитотонінів), а також продукцією ендотоксинів у деяких сероваріантів(відрізняють антигенною структурою та біохімічними властовостями). Морфологічно являє собою палички розташовані поодиноко

або парами, розміром 1-3мкм.

Рухомі за рахунок перитрихальних джгутиків, проте є і нерухомі штами. Спори не утворює.

Фізіолого-біохімічні властивості

Температурний оптимум – 35/37˚С, непримхливі до серидовищ, ростуть на МПА, МПБ, Ендо, ферментує лактозу, глюкозу.

2.1.2 Характеристика *Pseudomonas aeruginosa*

Таксономісний статус *Pseudomonas aeruginosa*

Домен: Бактерії (Bacteria)

Тип: Proteobacteria

Клас: Gamma Proteobacteria

Ряд: Pseudomonadales

Родина: Pseudomonadaceae

Рід: Pseudomonas

Вид: aeruginosa

Штам: PA01

Морфолого-культуральні властивості: грам-негативна паличкоподібна бактерія, рухлива за рахунок однополярного джгутика. Утворюють водорозчинні пігменти.

Штами утворюють гладкі колонії, рідше мукоїдні через утворення слизу.

Провокують запальні процеси відкритих ран, можуть провокувати інфекційні хвороби нервової, кровоносної, дихальної системи. Важко піддається лікуванню, ускладнює патогенез і синтез ендо та екзотоксинів.

Фізіолого-біохімічні властивості Метаболізм – дихальний, проте може існувати без кисню, при умові доступу до нітрату (NO_3), використовуючи його як акцептор електронів замість кисню, абсолютно невибаглива до поживних

середовищ, температурний оптимум 37°С, проте може витримувати й вищі температури, проявляє високу стійкість до температурних коливань та фізичних дій, антибіотикорезистентна у більшості випадків (внутрішньолікарняні штами). Деякі протеази розщеплюють еластин, казеїн, фібрин.

2.1.3 Характеристика *Staphylococcus aureus*

Таксономісний статус *Staphylococcus aureus*

Домен: Бактерії (Bacteria)

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Ряд: Bacillales

Родина: Staphylococcaceae

Рід: Staphylococcus

Вид: aureus

Штам ATCC 25923

Морфолого-культуральні властивості: Грам-позитивний штам коків, росте у вигляді грон винограду (вид під мікроскопом), факультативний анаероб. На твердих поживних середовищах утворює жовті колонії (тому і золотистий), нерухливий, не утворює спори, колонії S-форми.

Фізіолого-біохімічні властивості. Температурний оптимум 37˚ С, ферментує глюкозу, лактозу, розщеплює лейцин.

Викликає ряд запальних захворювань з тяжким перебігом, локалізується на слизових оболонках людини, проте довгий час може виживати на поверхнях без прямого сонячного світла та продуктах харчування (особливо молочні продукти та продукти що мають у складі яйця) існують мультирезистентні штами (наприклад MRSA), що чинять величезну шкоду в плані ускладнення лікування та, як наслідок, ускладнення патогенезу. Ростуть на МПБ та МПА (м’ясо-

пептонний бульйон/ агар), потребують високой концентрації NaCL (10-15%), що використовують для виготовлення селективного серидовища ЖСА (жовтково-сольовий агар). Продукує каталазу, коагулазу(фактор патогенності)

2.1.4 Характеристика *Bacillus subtilis*

Таксономісний статус *Bacillus subtilis*

Домен: Бактерії (Bacteria)

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Ряд: Bacillales

Родина: Bacillaceae

Рід: Bacillus

Вид: subtilis

Штам: B-901

Морфолого-культуральні властивості: Грам-позитивна спороутворююча паличка, на твердих середовищах утворює колонії невеликого розміру з хвилястим краєм R- типу.

Використвується як пробіотик, у харчовій промисловості в якості стартової культури. Природні ареали розповсюдження досить великі, це водойми, поля, мікрофлора кишечнику жуйних тварин та людей. Здатні продукувати антибактеріальні речовини.

Розміри в середньому сягають 0.7х2-8мкм. оскільки даний штам здатний до продукції антибіотиків, він є природнім антагоністом для протеїв, стафілококів, стрептококів, сальмонел та дріжджів.

Має джгутики, колонії суховаті та шороховаті, білого кольору, інколи зі слабким жовтим віддтінком. Використовується у промисловості як продуцент антибіотиків та вітамінів.

Фізіолого-біохімічні властивості. Температурний діапазон від +5 до +45 ºС, оптимально 37˚ С. продукують – протеаз, амілаз, ксиланаз, целюлаз і пектиназ . Завдяки синтезу ферментів різних класів аеробні бацили можуть існувати на різних субстратах, а також брати участь у регулюванні та стимуляції травлення, чинити протиалергенну й антитоксичну дію.

2.2 Середодовище для вирощування тест культур

Для дослідження антибактеріальних властивостей використовували тест-культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Bacillus subtilis* B-901, яки було отримано з Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України для досліджень. Штам належить до Української колекції мікроорганізмів.

Тест культури вирощували на поживному середовищі Nutrient broth (NB) г/л:

Пептичний перевар тваринної тканини – 5,0

Мясний екстракт – 1,5

Дріжджовий екстракт – 1,5

Хлорид натрію – 5,0

Вода – 1000

Стерилізувати автоклавуванням при 1,1 атм (121ºС) упродовж 15 хв. Кінцеве значення pH 7,4±0,2

Для дослідження використовували тест-культур вирощені 24 год при температурі 25-28ºС.

2.3 Отримання наночасток металів

Наночастки були отримані на кафедрі біотехнології шкірим та хутра КНУТД за допомогою культуральної рідини молочнокислох бактерій *L.*

acidophilus УКМ В-2691. Наночастки мали наступні середні розміри: AgNPs – 98 нм; CuNPs – 97,5 мн; ZnNPs – 141 нм. Слід зазначити, що частки цинку мали у своєму складі невелику кількість до 50% наночастки розміром 100 нм, тому були використані у даному дослідженні.

2.4 Визначення чутливості тест-культур до антимікробних речовин

Антимікробну активність визначали за допомогою аналізу відновлення резазурину. Вирощені тест-культури (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* PA01, *B. subtilis* B-901) у поживному бульйоні (NB) вносили (10 мкл) у 96-лунковий планшет в якому попередньо було середовище NB (90 мкл). Вирощували 24 год за температури 28С. Потім вносили у трьох повторностях підготовлені наночастки металів (AgNPs CuNPs ZnNPs) та їх солі ($AgNO_3$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$) у концентраціях 10 мМ, 1 мМ, 0,1 мМ, 0,01 мМ, 0,001 мМ. У контроль додавали стерильну дистильовану воду. Плашки закривали і ставили у термостат для вирощування за температури 28С упродовж 24 год. Після інкубації додавали фарбник резазуринат натрію у кожну лунку (100 мкл, 0,025 мг/мл), витримували до 4 год у термостаті за температури 37С. Потім визначали спектрофотометрично при довжені хвилі 570 нм з використанням еталонної довжини хвилі 620 нм на універсальному УФ-рідері для мікропланшетів HIPPO 96 (Biosan, Литва). Далі обчислювали кількість живих клітин в дослідних зразках відносно контролю у відсотках.

2.4 Статистична обробка результатів

Для представлення усереднених значень використовували медіану та інтерквартильний розкид. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакету Microsoft Office Excel. Виходячи із даних отриманих спектрофотометрією, перерахованих у відношенні медіани екстенцій дослідів

(оптичної густини) контролю клітин, усереднений результат вибірки яких був взятий за 100 відсотків живих клітин, після чого в пропорційному співвідношенні було перераховано медіани екстенцій дослідів референсних та дослідних препаратів, у відсоток живих клітин та інтерпритована у вигляді графіків, що будуть наведені у обліку результатів. В описаних графіках наведені показові концентрації що малий стабільно виражений стимулюючий або інгібуючий ефект.

Висновок до розділу 2

В розділі 2 наведена інформація щодо тест-культур та методики постанови експерименту. В якості тест-культур були використані Грам-позитивні (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Bacillus subtilis* B-901) та Грам-негативні (*Escherichia coli* ATCC 25922 та *Pseudomonas aeruginosa* PA01) бактерії з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України для досліджен.

Обрані тест-культури дають нам змогу встановити ефективність дослідного препарату у різних умовах, оскільки вони різні за властивостями (наприклад *Bacillus subtilis* B-901 – спороутворюючий мікроорганізм, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Pseudomonas aeruginosa* PA01 – плівкоутворюючі та досить стійкі у несприятливих умовах).

Оскільки було використано рідке поживне середовище – методом встановлення кількості живих клітин збудника був обраний метод аналізу відновлення резазурину натрію. (Резазуринат натрію яляє собою окисно-відновний індикатор при наявності метаболічної активності клітин реактив окиснюється та набуває рожевого кольору, через перехід речовини у флюоресцентний резоруфін, який можна виміряти фотометрично).

Після чого отримані екстенції спетрометричних дослідів були перераховані у відсоток вижившихклітин, так усереднена вибірка медіан із інтерквартильним розкидом у випадку контролю клітин (без дії препаратів) була взята за 100% живих клітин, і по відношеню до цього значення вираховувалась кількість живих клітин після дії препаратів. Результати подавались у вигляді графіків.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Антибактеріальна дія наночасток срібла

3.1.1 Вплив AgNPs на тест-культури Грам-позитивних бактерій

У якості Грам$^+$ були використані тест-культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Bacillus subtilis* B-901. Їх вирощували разом з AgNPs (98 нм) та $AgNO_3$ в якості референтної речовини. Для проведення досліду були використані планшети на 96 лунок, в яких було вирощено культуру разом з досліджуваним антимікробним агентом різної концентрації (0,001 – 10мМ) (див. розд. 2.4). Результати спетрофотометрії були перераховані у кількість живих клітин (%) та представлені на рис. 3.1 та 3.2.

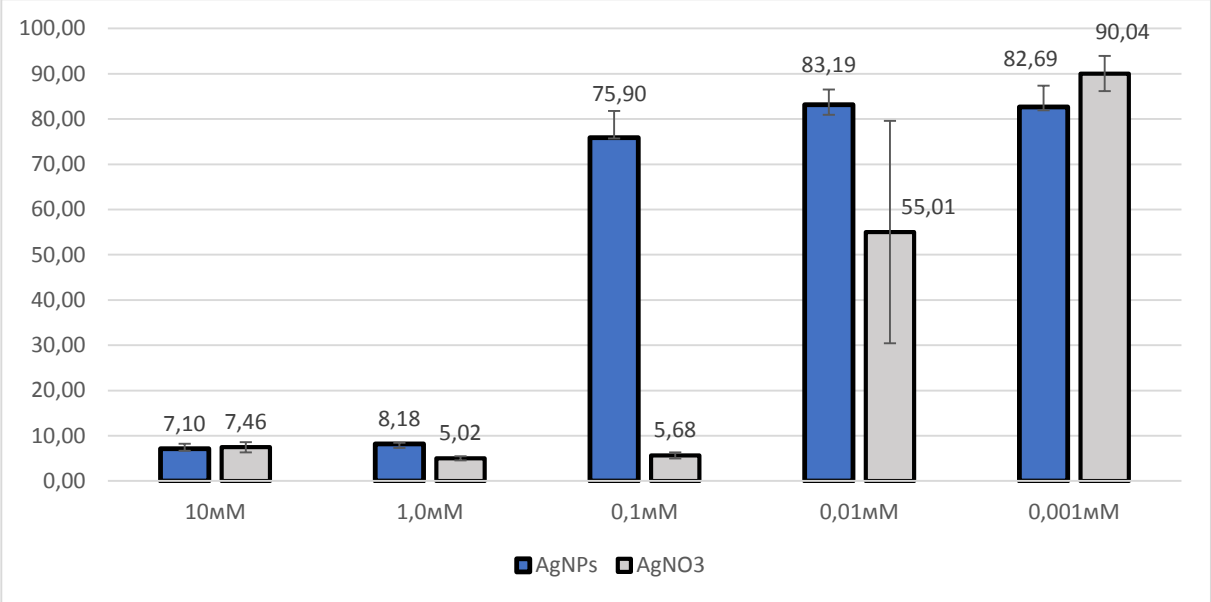

Рис. 3.1 Відсоток вижившх клітин після впливу AgNPs (98нм) та AgNO3 на *B. subtilis* B-901

Як можна побачити на рис. 3.1 AgNPs має антимікробні властивості по відношенню до *Bacillus subtilis* B-901, оскількі кількість живих клітин становила 7,1 та 8,2 % за концентрацій 0,1 та 10 мМ відповідно. Концентрації наносрібла

0,1 0,01 та 0,001 мМ знижують виживання клітин тільки до 20-25%. Нітрат срібла також впливає на розвиток клітин у концентраціях 0,001, 1,0 та 10 мМ. В концентрації 0,1 мМ дія солі перевершує дію наночасток у 13 разів, при концентрації 0,01 мМ сіль спрацьовує краще у 1,52 рази.

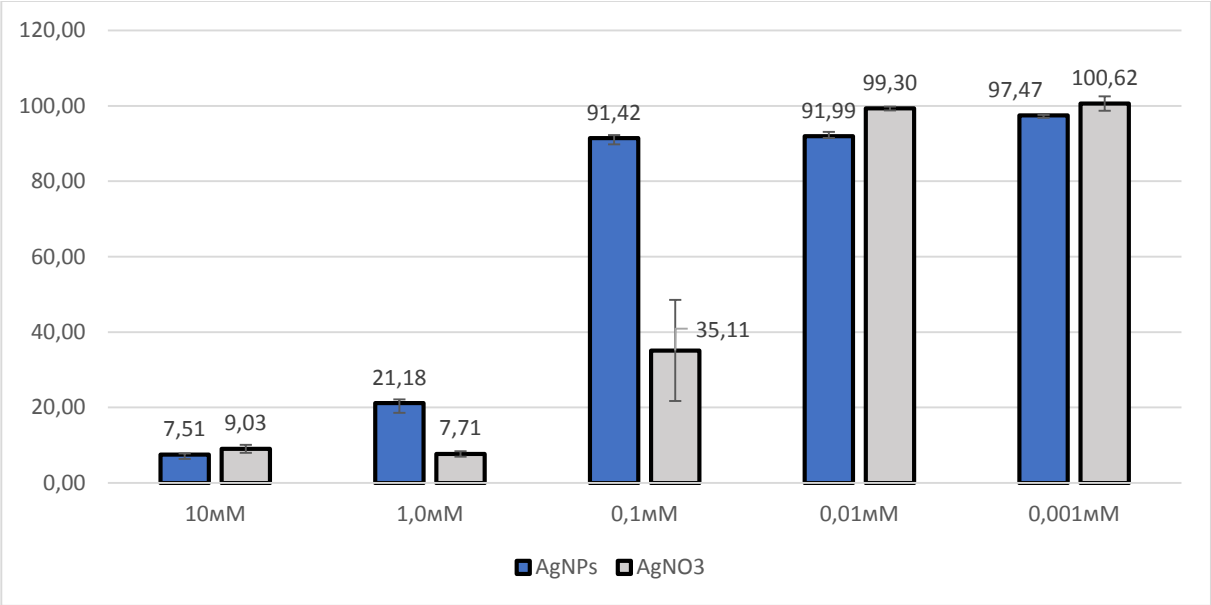

Рис. 3.2 Відсоток вижившихклітин після впливу AgNPs (98 нм) та AgNO3 на *S. aureus* ATCC 25923

Щодо даних, представлених на рис. 3.2 можна побачити, що *S. aureus* ATCC 25923 менш чутливий до наночасток рібла (98 нм) ніж *Bacillus subtilis* B-901. Однак також є позитивні результати, що демонструють антибактеріальний вплив наночасток на тест-культуру. Концентрації наносрібла 0,1 та 0,01 мМ знижують виживання клітин тільки до 10%. Нітрат срібла також впливає на розвиток клітин у концентраціях 0,1, 1,0 та 10 мМ. Наночастки срібла мають вже стабільний патерн рівної антибактеріальної дії концентрацій 1,0 мМ та 10 мМ. Однак, при дії на *S. aureus* ATCC 25923 наночастки трохи менш ефективні ніж сіль, але пригнічення росту клітин все ж вельми суттєве. Різниця між кореляціями впливів концентрацій 0,01 та 0,001мМ також не суттєва. А ось із

концентрацією у 0,1мМ сіль ефективніша у 2,6 рази за наночастки. Проте слід зауважити на загальну цитотоксичність солей срібла, що є причиною як її більш вираженої антибактеріальної дії, так і неможливості застосування її в якості антимікробного препарату для пацієнтів. Вказана проблематика є суттєвою для медичного застосування методики, оскільки критерієм успіху є не лише ефективність антибактеріальної дії, а й вплив на клітини організму-носія. В такому випадку, зважаючи на менший розмір наночасток, та зниження їх токсичності для організму за цей рахунок, а також беручи до уваги при цих плюсах еквівалентну результативність для певних концентрацій в рамках перевірки чутливості обраного збудника, можна прийти до висновку що незважаючи на необхідність подальшої розробки та доопрацювання доцільність розвинення цієї методики та технології її застосування не полишає за собою сумнівів.

3.1.2 Вплив AgNPs на тест-культури Грам-негативних бактерій

У якості Грам$^-$ були використані тест-культури *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Pseudomonas aeruginosa* PA01. Ці культури дуже цікаві ще й тим, що можуть утворювати біоплівки і витривалі за несприятливих умов. Їх вирощували разом з AgNPs (98 нм) та $AgNO_3$ в якості референтної речовини. Результати спектрофотометрії були перераховані у кількість живих клітин (%) та представлені на рис. 3.3 та 3.4.

Із рис. 3.3 видно, що наночастки та сіль срібла добре проявляють свої антибактеріальні властивості, оскільки кількість живих клітин не перевищує 10%. Тобто виживаємість *E. coli* ATCC 25922 при впливі наносрібла становить 5,2 та 3,2 %. Варто зазначити, що виживаємість 3,2% за нижчої у 10 разів концентрації наносрібла.

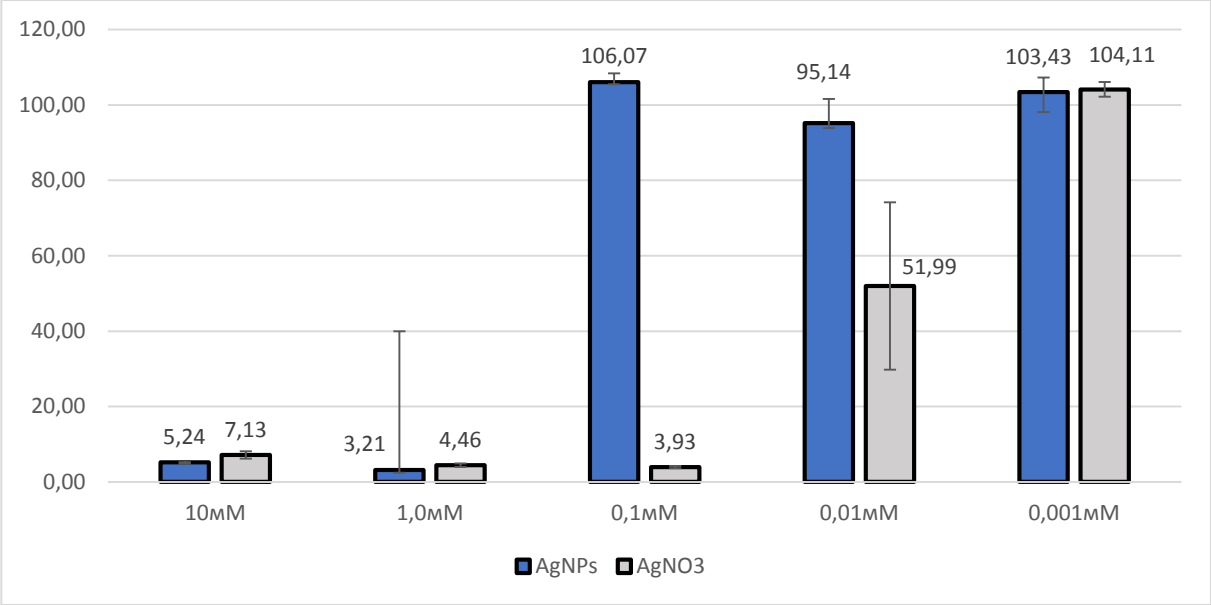

Рис. 3.3 Відсоток вижившихклітин після впливу AgNPs (98 нм) та AgNO3 на *Escherichia coli* ATCC 25922

Однак, як можемо бачити з рис. 3.3 при концентрації 0,1 мМ та 0,001 мМ кількість вижившихклітин зростає більш ніж в контролі до 6 %. Таки ж самі результати по збільшенню кількості вижившихклітин порівняно з контролем, але вже до 27% спостерігаємо і при впливі наночасток та солі срібла на *P. aeruginosa* PA01. Тобто виходячи з графіків можна сказати, що наносрібло у концентраціях 0,1 та 0,001 Мм для *E. coli* ATCC 25922 та 0,1, 0,01, 0,001 Мм для *P. aeruginosa* PA01 є стимулюючими речовинами. Однак, важливо зазначити, що виживаємість клітин перевіряли спектрофотометрично то велика ймовірність, що вижившиклітини почали активно синтезувати захисні речовини, оскільки маємо справу з Грам негативними клітинами. Тому у подальшому потрібно буде дані концентрації висівати на чашки Петрі і перевіряти кількість живих клітин.

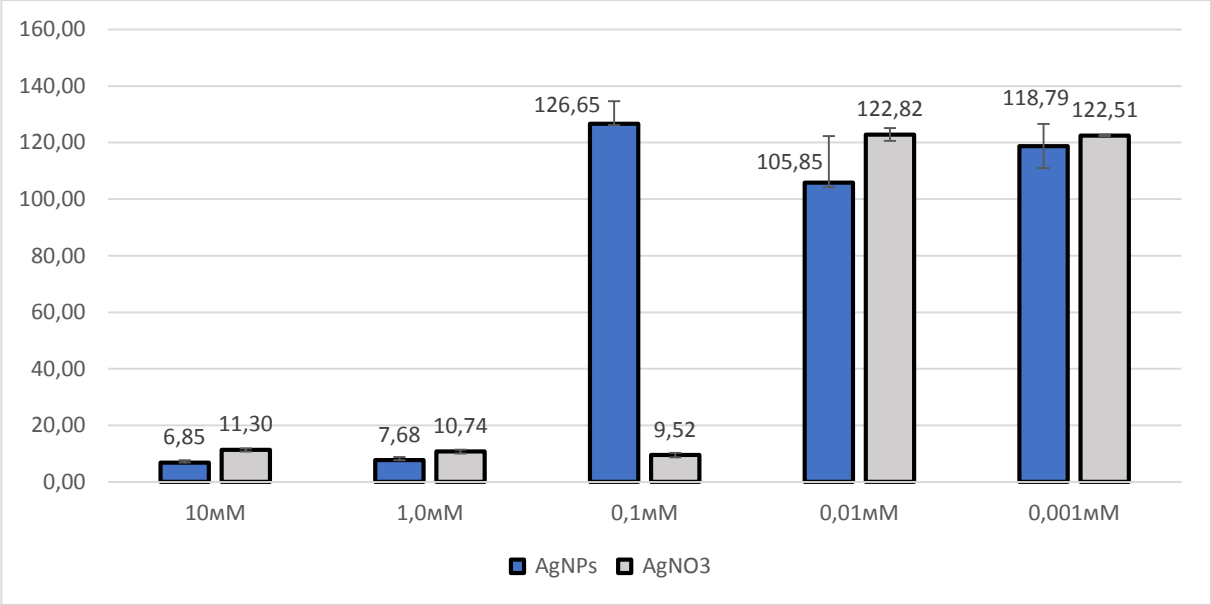

Рис. 3.4 Відсоток вижившихклітин після впливу AgNPs (98 нм) та $AgNO_3$ на *Pseudomonas aeruginosa* PA01

Отже, проаналізувавши вищезазначені результати, можемо сказати, що AgNPs (98нМ) проявляє свої антимікробні властивості у концентрації 0,1Мм та 10Мм на всі досліджувані тест-культури, а саме *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* B-901 *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* PA01. Вплив більш низьких концентрацій таких як 0,1, 0,01 та 0,001 Мм не суттєво впливають на Грам+ бактерії, а Грам– потрібно ще додатково дослідити. Також враховуючи, що наночастки не мають чіткої лінійної залежності на пригнічення росту живих клітин необхідно перевірити і інші концентрації.

Висновок до розділу 3

Отже, проаналізувавши вищезазначені результати, можемо сказати, що ZnNPs (141 нм) майже не проявляє антибактеріального впливу на всі досліджувані тест-культури, а саме *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* B-901 *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* PA01. Помірно ефективною концентрацією виявилась лише концентрація у 10 мМ, тобто найбільша (50-40% вижившихх

клітин). У випадку усіх культур, окрім *P. aeruginosa* PA01 для неї результат становив 92 % живих клітин після дії наночасток. Варто зазначити що антибактеріальна дія солі в цій концентрації була значно більшою: 11-4 % живих клітин у випадках усіх тест-культур.

Менші концентрації (1,0-0,001 мМ) не показали ефективності, за винятком ситуації із *Escherichia coli* ATCC 25922. результати для концентрації 1мМ еквівалентні для наночасток та солі – 72% та 67% живих клітин для наночасток та солі відповідно. В концентраціях 0,1мМ та 0,01мМ пригнічення росту наночастками майже не відбулося (92% та 98% живих клітин відповідно), в той час як сіль виявилась майже в 1- разів ефективнішою (12,5% та 10,5% відповідно). Також відносно ефективною проти *S. aureus* ATCC 25923 виявилась концентрація 1,0мМ – 77% та 40,5% живих клітин після впливу наночасток та солі відповідно. В усіх інших випадках подальші зменшення концентрацій не показали ефективності при використанні обох препаратів. Але у випадку Грам-негативних бактерій не слід виключати можливу продукцію захисних речовин, що могли дати збільшення оптичної густини, а оскільки розрахунок концентрації живих клітин проводився спектрофотометрично – на даному етапі ми не можемо виключити викривлення результативності за рахунок цього фактору. Для його остаточного виключення необхідні подальші тести з генераціями на твердих поживних середовищах.

ВИСНОВКИ

В рамках проведеної кваліфікаційної роботи були розглянуті теоретичні дані та літературні джерела, щодо антибатеріальної активності наночасток металів, після обробки теортичного матеріалу був спланований дизайн експерименту, підібране обладнання та проведено експериментальну роботу.

1. Проаналізувавши результати щодо впливу наночасток срібла на тест-культури, можемо сказати, що AgNPs (98 нм) проявляє свої антимікробні властивості у концентрації 0,1Мм та 10Мм на всі досліджувані тест-культури, а саме *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* B-901 *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* PA01. Вплив більш низьких концентрацій таких як 0,1, 0,01 та 0,001 Мм не суттєво впливають на Грам+ бактерії, а Грам– потрібно ще додатково дослідити. Також враховуючи, що наночастки не мають чіткої лінійної залежності на пригнічення росту живих клітин необхідно перевірити і інші концентрації.

2. В результаті отримані експериментальні дані щодо антибактеріальної дії наночасток міді підтверджують інформацію із літературних джерел. Ефективними виявились концентрації 10 та 1,0 мМ, залишивши пособі у середьому 10-15 % вижившихклітин збудників при застосуванні наночасток міді. Зазначений антибактеріальний впив мав ефект проти всіх 4 тестових культур (*Escherichia coli* ATCC 25922 та *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Bacillus subtilis* B-901).

3. У випадку цинку фактичні результати експерименту протиречать літературним даним. Антибактеріальна дія спостерігалась, проте лише у найвищій концентрації – 10мМ. А саме пригнічення росту було не значним (для всіх тест культур значення вижившихклітин становило приблизно 40% у випадку наночасток). Концентрація 1,0 мМ у випадку цинку помірно спрацювала на *S.aureus* (77 % живих клітин) та на *E.coli* (73 % живих клітин).

4. Наступні зменшення концентрацій не показали ефективності антибактеріальної дії, в деяких випадках спостерігалась помірна стимуляція росту бактерій, проте перш ніж можна буде з упевненістю стверджувати наявність цього ефекту, необхідно провести досліди на твердих поживних середовищах, оскільки методика визначення кількості живих клітин була спектрометричною, можлива похибка у вимірюванні оптичної густини зразку, пов’язана із продукцією грам-негативними збудниками захисних сполук, котрі можуть давати додаткову мутність розчину.

Тож для впевненого виключення цього ефекту необхідні подальші досліди. Проте навіть із отриманих результатів показана антибактеріальна дія наночасток міді та срібла виражає життєздатність ідеї їх використання в якості антибіотиків, оскільки вони діють у тому числі на мультирезистентні форми бактерій і на момент написання даної кваліфікаційної роботи здатності бактерій адаптуватись до дії наночасток, як у випадку із антибіотиками – не виявлено.

Виходячи із всієї наведеної інформації, отримані наночастки, хоча і мають недоліки, але все ж є ефективними і перспективними у використанні в різних напрямках та сферах, починаючи із сфери класичної медицини та дезінфектантів, закінчуючи складними композитами матеріалів, санітарними очисними заходами, протипухлинної терапії та в якості комбінованих із класичними антибіотикми препаратів, що будуть унеможливлювати утворення та розмноження резистентних штамів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Marciniak L, Nowak M, Trojanowska A, Tylkowski B, Jastrzab R. The Effect of pH on the Size of Silver Nanoparticles Obtained in the Reduction Reaction with Citric and Malic Acids. Materials (Basel). 2020; 13(23):5444. doi: 10.3390/ma13235444.

2. Naiyf S. Alharbi, Jamal M., Khaled A., Shine K., Ahmed S. Alobaidi. Biosynthesis of silver nanoparticles (Ag-NPs) using Senna alexandrina grown in Saudi Arabia and their bioactivity against multidrug-resistant pathogens and cancer. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2023; 31: 911-920. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.04.015

3. Zhong C., ShanW. T., Jing F., Yu W. Biosynthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using Flos Sophorae Immaturus extract. *Heliyon.* 2022; e10010. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10010.

4. Jayaprakash, Santhakumar K., An overview of a sustainable approach to the biosynthesis of AgNPs for electrochemical sensors MEENA, *Arabian Journal of Chemistry*. 2022;(15): 104324. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104324

5. Sultan M., Alsharif S., Salem, Mohamed A.R., Amr F., Ahmed M.E., Saad E.D. H., Mohamed A., Asem A.M. Multifunctional properties of spherical silver nanoparticles fabricated by different microbial tax. *Heliyon.* 2020; 6:e03943 https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03943

6. Ranganath E., Rathod V., Banu A. Screening of Lactobacillus spp, for mediating the biosynthesis of silver nanoparticles from silver nitrate. *Journal of Pharmacy*. 2012;2: 237-241. doi:10.9790/3013-0220237241

7. Zhang XF, Liu ZG, Shen W, Gurunathan S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International Journal Of Modern Engineering Research (IJMER).* 2016; 9:1534. doi:

10.3390/ijms17091534

8. Fereshte N. H., Alireza C.K., Seyed A.S., Sameereh H.N. Living Lactobacillus–ZnO nanoparticles hybrids as antimicrobial and antibiofilm coatings for wound dressing application, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021; 130:112457. https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112457

9. Sangeetha G., Rajeshwari S., Venckatesh R. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*. 2012; 22(6):693–700. https://doi.org/10.1016/j.pnsc. 2012.11.015.

10. Samira S.R., Mohamadi S. A., Sharareh M. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from leaf extract of Mentha pulegium (L). *Microbial Pathogenesis*. 2019; 131:239-245. doi: 10.1016/j.micpath. 2019.04.022.

11.Arman J., Armin A.,Hassanajili S. Bioactive antibacterial bilayer PCL/gelatin nanofibrous scaffold promotes full-thickness wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020; 583:119413. doi: 10.1016 /j.ijpharm.2020.119413.15.

12. Homaeigohar S., Boccaccini A.R. Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings. *Acta Biomaterialia*. 2020; 107:25-49. doi: 10.1016/j.actbio.2020.02.022.

13. Khalid A.R., Sabry Y. M., Ahmed M. A., Khalid S.A., Abd El-Zaher M.A., Sherif M. H. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using Rhizopus stolonifer. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2017; 24:208-216 doi: 10.1016/j.sjbs.2016.02.025.

14. Barbhuiya R. I., Singha P., Asaithambi N., Kumar S. S., Ultrasound-assisted rapid biological synthesis and characterization of silver nanoparticles using pomelo peel waste. *Food Chemistry*.2022; 385:132602. https://doi.org/10.1016/j. foodchem.2022.132602

15. Anjali Das C.G., Ganesh Kumar V., Stalin Dhas T., Karthick V. , Govindaraju K., Mary Joselin J., Baalamurugan J. Antibacterial activity of silver nanoparticles (biosynthesis): A short review on recent advances. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* 2020; 27:101593 https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101593.

16. Harandi F. N., Khorasani A. C, Shojaosadati S.A., Hashemi-Najafabadi S., Surface modification of electrospun wound dressing material by Fe_2O_3 nanoparticles incorporating *Lactobacillus* strains for enhanced antimicrobial and antibiofilm activity. *Surfaces and Interfaces*. 2022; 28:101592 https://doi.org/10.1016/j.surfin. 2021.101592.

17. Shrivastava A., Sharma D., Gajendra K.I., Kumar A., Nighojka A. Structural and surface functionalized L-tyrosine Iron Oxide (L-tyr-Fe) nanoparticles for antimicrobial impacts. *Nano-Structures & Nano-Objects*. 2023; 35:101004 https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2023.101004.

18. Sebastian M., Aravind A., Mathew B. Green Silver Nanoparticles Based Multi-Technique Sensor for Environmental Hazardous Cu(II) Ion. *BioNanoScience.* 2019; 9:373–385. https://doi.org/10.1007/s12668-019-0608-x

19. Li Y., Chuanlai X., Zhongxing W., Li S.,Liu L.,Kuang H. Nanoparticle-based sensors for food contaminants. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2019; 113:74-83. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.012

20. Xin L., Jia-Le C., Wen-Yu Y., Yu-Cheng Q., Jing-Yu P., Chen-Nianci Z., Li L., Wen-Bin O., Hong-Xin Z., Dian-Peng Z. Biosynthesis of silver nanoparticles with antimicrobial and anticancer properties using two novel yeasts. *Scientific Reports*. 2021; 11(1):15 doi: 10.1038/s41598-021-95262-6.04.

21. Mallikarjuna K., Veera Manohara Y., Bathinapatla S., Madhavi G., Haekyoung K., Shilpi A., Vinod K.G. Simple synthesis of biogenic Pd Ag bimetallic nanostructures for an ultra-sensitive electrochemical sensor for sensitive

determination of uric acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2018; 822:163-170. https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.05.019

22.Junhua L.,Daizhi K., Yonglan F., Fuxing Z., Zhifeng X., Mengqin L., Deping W. Green synthesis of silver nanoparticles–graphene oxide nanocomposite and its application in electrochemical sensing oftryptophan. *Biosensors and Bioelectronics.* 2013; 42:198-206. https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.10.029

23. Xiangqian L., Huizhong X., Zhe-Sheng C.,Guofang C. Biosynthesis of Nanoparticles by Microorganisms and Their Applications. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials*. 2011; 8:1-16. doi:10.1155/2011/270974

24. Ameni K., Selma H., Abdelhak O., Ahmed L., Siobhan O.,Sheehan D. Novel static magnetic field effects on green chemistry biosynthesis of silver nanoparticles in *Saccharomyces cerevisiae. Scientific Reports.* 2021;11:20078. doi: 10.1038/s41598-021-99487-3.

25. Sarani M., Tosan F., Abaei Hasani S., Barani M., Adeli-Sardou M., Khosravani, Sedigheh N. M., Jadidi Kouhbanani M.A., Beheshtkhoo N. . Study of *in vitro* cytotoxic performance of biosynthesized α-Bi_2O_3 NPs, Mn-doped and Zn-doped Bi_2O_3 NPs against MCF-7 and HUVEC cell lines. *Journal of Materials Research and Technology*. 2022; 19:140-150. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.05.002

26. Yen P. Y., Kamyar S., Mikio M., Nurul B.B.K., Shaza Eva B.M., Takeru N., Kar Xin L. Green biosynthesis of superparamagnetic magnetite Fe_3O_4 nanoparticles and biomedical applications in targeted anticancer drug delivery system: A review. *Arabian J. of Chemistry.* 2020; 13: 2287-2308. doi:10.1016/j.arabjc.2018.04.013.

27. Nermeen Y., Shaden A.M., Zhiming G., Baojun X., Xiaobo Z., Hesham R. El-Seedi. Marine organisms: Pioneer natural sources of polysaccharides/proteins for green synthesis of nanoparticles and their potential applications. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2021; 193:1767-1798. doi: 10.1016 /j.

ijbiomac.2021.10.229

28. Shuaixuan Y., Zhenru G., Polycarp C., Ofoegbu P.C., Cyren R., Feng H., Jie H. Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation.* 2022; 26:102336. doi:https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102336

29. Mostafa F. Al-Hakkani, Gamal A. Gouda, Sedky H.A. A review of green methods for phyto-fabrication of hematite (α-Fe_2O_3) nanoparticles and theircharacterization, properties, and applications. *Heliyon*. 2021; 7:e05806 doi:2021.10.1016/j.heliyon.2020.e05806.

30. Javier B.A., Javier C.F., Jose L. Manganese oxide nano-platforms in cancer therapy: Recent advances on the development of synergistic strategies targeting the tumor microenvironment. *Applied Materials Today.* 2022; 29:101628 https://doi.org/10.1016/j.apmt.2022.101628.

31. Mehran A., Li L., Nokhodchi A. Metal, metal oxide and polymeric nanoformulations for the inhibition of bacterial quorum sensing. *Drug Discovery Today*. 2023; 280:103392. doi: 10.1016/j.drudis.2022.103392.

32. Lisong Y., Xiaojun H., Enoch O., Danyan W., Dongyang Z., Tianxi S., Jianliang S., Rongdang H., Hui D. The CuO and AgO co-modified ZnO nanocomposites for promoting wound healing in *Staphylococcus aureus* infection. *Materials Today Bio*. 2023;18:100552. doi: 10.1016/j.mtbio.2023.100552.

33. Sunday A.A., Abel K.O., Seyifunmi C.O., Dayo F.L. Green chemistry approach towards the synthesis of copper nanoparticles and its potential applications as therapeutic agents and environmental control. *Current Research in Green and Sustainable Chemistryю* 2021; 4:100176. https://doi.org/10.1016/j. crgsc.2021.100176.

34. Vila J., Moreno-Morales J., Ballesté-Delpierre C. Current landscape in the discovery of novel antibacterial agents. *Clinical Microbiology and Infection*. 2020;

26:596-603. doi: 10.1016/j.cmi.2019.09.015

35. Yasir Z., Muhammad Z.I., Khadija W., Muhammad S., Abu B. S., Muhammad I.A., Hira Z., Hayssam M. A., Fariha K., Muhammad A., Muhammad M. Modified physical properties of Ni doped ZnO NPs as potential photocatalyst and antibacterial agents. A*rabian Journal of Chemistry.* 2023; 16:105230. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105230

36. Bruna T., Maldonado-Bravo P.B., Nelson C. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021; 13:7202. doi: 10.3390/ijms22137202

37. Yu-Guo Y.,Qiu-Ling P., Sangiliyandi G. Effects of Silver Nanoparticles on Multiple Drug-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from Mastitis-Infected Goats: An Alternative Approach for Antimicrobial Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017, 18(3):569. doi: 10.3390/ijms18030569

38. GarciaM.M., Lallo da Silva B., Rodrigo S., Rosemeire C. L., Rodrigues P., Chiavacci Sustainable P.L. Antibacterial Activity of Polyamide Fabrics Containing ZnO Nanoparticles. *Bio Mater*. 2022; 5(8):3667–3677. doi: 10.1021/acsabm.2c00104

39. Huiying Z., Biying Z.Q., Wang X.L., Jiehan C., Li L., Tiantian L. ZnO-Doped Metal-Organic Frameworks Nanoparticles: Antibacterial Activity and Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24(15):12238. doi: 10.3390/ijms241512238

40. Rabia I., Kamran T., Baoshan L., Aftab A.N. Antibacterial activity of biochemically capped iron oxide nanoparticles: A view towards green chemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2017; 170:241-246. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.04.020

41. Faryal B.M., Salah-Ud-Din K.J., Bilal A. Q. Biologically synthesized iron

nanoparticles (FeNPs) from Phoenix dactylifera have anti-bacterial activities. Scientific Reports.2021; 11:22132. doi: 10.1038/s41598-021-01374-4

42. Uzunoğlu D., Özer A. Facile Synthesis of Magnetic Iron-Based Nanoparticles from the Leach Solution of Hyperaccumulator Plant *Pinus brutia* for the Antibacterial Activity and Colorimetric Detection of Ascorbic Acid. *Bio Mater*. 2022, 5(11): 5465–5476. doi: 10.1021/acsabm.2c00782.

43. Giovanna C., Giovanna L., Domenico F., Dario M., Giovanna Rizzo M., Bonavita A., Giovanni N.,Enza F., Fortunato B.F., Francesco C., Antonio A.L., Josè L.F. Structural and antibacterial studies of novel ZnO and $Zn_xMn_{(1-x)}O$ nanostructured titanium scaffolds for biomedical applications. *Biomaterials Advances*.2023; 145:213193. https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2022.213193

44 Hongli Z., Mengqing X., Haihua L., Shuangquan W., Qiong W., Huan X.,Yi L. Interfacial assembly of chitin/Mn_3O_4 composite hydrogels as photothermal antibacterial platform for infected wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023; 242:124362. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124362

45. Sagar V.,Yogendra K.G., Ashwani K., Ajay K., Jyoti S., Dharmendra N.S. Bioinspired palladium-doped manganese oxide nanocorns: a remarkable antimicrobial agent targeting phyto/animal pathogens. *Scientific Reports*. 2023; 13:14039. doi: 10.1038/s41598-023-40822-1.

46. Harshad D.S., Archana R Machale A.A.,Habib M. P., Chandrakant D.L., Abhishek C.L., Shoyebmohamad F.S.,Abu Ul Hassan S.R., Marimuthu P. Multifunctional Cu_2SnS_3 Nanoparticles with Enhanced Photocatalytic Dye Degradation and Antibacterial Activity. *Materials (Basel)*. 2022. 15(9):3126. doi:10.3390/ma15093126.

47. Alet van T., Joubert A.M.,Cromarty D.Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Res Notes*. 2015;

8:47. doi: 10.1186/s13104-015-1000-8.

48. Neufeld B.H., Tapia J.B., Lutzke A., Reynolds M.M. Small Molecule Interferences in Resazurin and MTT-Based Metabolic Assays in the Absence of Cells. *Anal Chem.* 2018; 90(11):6867-6876. doi: 10.1021/acs.analchem.8b01043.

ДОДАТОК А

ISSN 1993-6842 (on-line); ISSN 0233-7657 (print)
Biopolymers and Cell. 2023. Vol. 39. N 3. P 170–188
http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A98

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

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

I. M. Voloshyna[1], L. O. Lastovetska[1], A. A. Zurnadzhian[1], L. V. Shkotova[2]

[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 theire 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 (TiO_2NPs), 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 diversity 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

ДОДАТОК Б

Науково-практична міжнародна
дистанційна конференція
МІКРОБІОЛОГІЧНІ
ТА ІМУНОЛОГІЧНІ
ДОСЛІДЖЕННЯ В
СУЧАСНІЙ МЕДИЦИНІ
24 березня 2023 р.,
м. Харків, Україна

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

wirn@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,

ДОДАТОК В

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

№050

Сертифікат

Цим засвідчується, що

Зурнаджан А.А.

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 ЄКТС

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

Проректор з науково-педагогічної роботи
(інноваційної та науково-дослідної)
Національного фармацевтичного університету,
доктор фармацевтичних наук, професор — І.М. Владимирова

Завідувачка кафедри мікробіології, вірусології та імунології
доктор медичних наук, професор — Н.І. Філімонова

ДОДАТОК Г

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Державний біотехнологічний університет
Рейн-Ваальський університет прикладних наук, Німеччина
Університет аграрних наук, м. Уппсала, Швеція
Природничий дослідницький центр, м. Вільнюс, Литва
Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
Національний аерокосмічний університет ім. М.Є. Жуковського
«Харківський авіаційний інститут»
Львівський національній університет ветеринарної
медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького
КЗ «Харківський зоологічний парк»

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ, ЕКОЛОГІЇ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

МАТЕРІАЛИ МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ

27-28 квітня 2023 р.

Харків
ДБТУ
2023

Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування, 2023.

МІКРОБНІ ПАЛИВНІ ЕЛЕМЕНТИ – ВИРІШЕННЯ ПРОБЛЕМИ ЕНЕРГЕТИКИ Й УТИЛІЗАЦІЇ ОРГАНІЧНИХ ВІДХОДІВ

А.А. Зурнаджян, В.Г. Хоменко, І.М. Волошина

Київський національний університет технологій та дизайну
padre1323@gmail.com

У зв'язку із зростанням кількості населення постають дві проблеми: як забезпечити населення достатнім рівнем енергії та як утилізувати відходи органічного походження.

Ці дві, на перший погляд не поєднані між собою проблеми, на даний момент є одними з найактуальніших, адже постійне вироблення електроенергії за рахунок теплових установ (ТЕЦ, генератори, двигуни внутрішнього згорання, тощо), призводить нас до наслідків у вигляді підвищення рівня CO_2 у атмосфері та, як результат, відбувається посилення парникового ефекту, що призводить до сильного розігрівання планети, а також вичерпання запасів вуглеводнів, що не відновлюються у швидкому темпі. Друга проблема витікає з першої – покращення рівня життя населення призводить до експоненційного росту численності населення, а отже й до збільшення кількості органічних відходів від їжі, виробництв, тощо. За останні 50 років ці дві проблеми лише посилювалися. Тому перед вченими постає проблема розробки нових технологій у сфері енергетики та переробки відходів.

Мікробні паливні елементи (МПЕ) – це біоелектрохімічні системи, що використовують мікроорганізми як біокаталізатори для генерування електричного струму шляхом окислення органічних речовин та відновлення окисника завдяки природним метаболічним процесам мікроорганізмів. Данні системи вирішують одразу дві проблеми зазначені вище, і, хоча не мають змоги повністю замінити традиційні шляхи отримання енергії, по причині недостатньої потужності (хоча цю проблему можливо корегувати за рахунок чергування паралельного та послідовного з'єднань елементів у системі), проте мають повне право на існування як альтернативні методи забезпечення зеленою енергією.

Переваги мікробних паливних систем над традиційними шляхами отримання електричної енергії полягають у відновлюваності палива та його доступності, тому що органічні відходи завжди будуть присутні в містах у великій кількості. А екологічність даного методу збільшується за рахунок зниження виділення великої кількості CO_2, в той час як органічні відходи в ході роботи МПЕ знезаражуються та утилізуються.

У роботі проаналізований принцип роботи МПЕ, їх різновиди та будову. Мікробний паливний елемент побудований за принципом двокамерної установки, одна з яких являє собою камеру ферментації, в якій накопичується біомаса цільового мікробу, роль поживного середовища виконує розчин органічних відходів. Тип культивування може бути одичний або безперервний (актуально у випадку використання МПЕ для знезараження стічних вод), в залежності від потреб застосованого мікроорганізму створюються аеробні або анаеробні умови, також залежно від вищезазначених факторів можлива імобілзація мікроорганізмів на поверхні електрода, зануреного в відповідну камеру. Одна камера відокремлюється від іншої протонпроникною мембраною. У другій камері знаходиться катод у розчині електроліту. Таким чином в ході власного метаболізму мікроби виробляють іони, що слугують донорами електронів, акцептором яких слугує анод, після чого, іон-донор набуває позитивного заряду, та у вигляді катіону прямує через протонпроникну мембрану у камеру з катодом та передає позитивний заряд на катод, таким чином отримується різниця потенціалів, а отже електричний струм.

Вищепредставлена схема актуальна для продуцентів кислот або водню, проте існують різновидності МПЕ де використовують бактерії родів *Geobacteraceae* та *Desulfuromonas*, що здатні одразу генерувати електрони. В цьому випадку різниця потенціалів досягається за рахунок окиснення водню на поверхні катоду, в той час як анод з імобілізованими

бактеріями знаходиться в анаеробних умовах, також існують елементи, функціонал яких побудований на використанні культур рослинних клітин та фотосинтезі.

У біопаливному елементі запропоновано використовувати молочнокислі мікроорганізми *Lactobacillus acidophilus*, які мають гомоферментативний тип бродіння та здатні синтезувати молочну кислоту.

Виходячи із вищезазначеної інформації очевидно, що технологія МПЕ хоча й не бездоганна, проте дуже перспективна як метод знезараження стічних вод, утилізації органічних залишків, забезпечення електроенергією віддалених районів. Також МПЕ є економічно доцільним методом утилізації відходів для фармакологічних, харчових та шкіряних виробництв та інших виробництв, що спеціалізуються на органічній сировині. При достатньому рівні розвитку технології МПЕ можлива її широка інтеграція у побутове життя, адже багато житлових споруд сільської місцевості не під'єднані до централізованої каналізації. Особливої уваги потребують комплекси тваринництва, що також зіштовхуються з проблемою утилізації відходів.

ЄВРОПЕЙСЬКІ ПІДХОДИ ДО ВИКОРИСТАННЯ СУЧАСНИХ ЕМ-ТЕХНОЛОГІЙ У БІОКОНВЕРСІЇ ОВОЧЕВИХ ВІДХОДІВ У БІОВОДЕНЬ І ДИГЕСТАТ

В.В. Кускова[1], І.М. Корнієнко[1], К.Г. Гаркава[1], Ю.М. Корнієнко[2]

[1] Національний авіаційний університет
[2]Дніпровський державний технічний університет
valeriiakuskova@gmail.com

Вступ. Актуальною проблемою сьогодення як в Україні, так і в країнах ЄС, за даними Продовольчої і сільськогосподарської організації ООН (Food and Agriculture Organization, FAO), є серйозна деградація земель (майже 76%) в результаті людської діяльності, що пов'язана із масовим використанням агрохімікатів. Цей високий показник багато в чому завдячує історії інтенсивного сільського господарства на цих землях. Державний комітет України оприлюднив щорічні економічні втрати, викликані деградацією земель, котрі оцінено більш ніж на 22 млрд гривень. Таким чином, родючість ґрунту в Україні значно скорочується щороку. Відновлення родючості ґрунту – складний процес, тому потребує наукових підходів із використанням сучасних європейських практик, які відображають використання сучасних біотехнологічних підходів переробки органічних відходів у біогаз та дегістат. За даними Державної служби статистики України, кількість первинних органічних відходів (до яких входять овочеві) становить 21,5 тонн за рік, з них лише 3,2% підлягають переробці. Аналізуючи ситуацію в Україні за даними ООН, кожна людина викидає на смітник близько 76 кг овочевих відходів на рік. Найпоширенішими є відходи коренеплодів, а саме картоплі, моркви та столового буряку. Такі непереробленні відходи, нажаль, самі по собі не стають компостом, тому процеси гниття призводять до погіршення санітарного стану ґрунтів, забруднення підземних вод та появи неприємних запахів. В Європі набули поширення ЕМ-технології в рамках циркуляційної економіки, як в масштабах великих аграрних підприємств, так і в умовах невеличких приватних домогосподарств.

Мета роботи полягала у встановленні оптимального співвідношення овочевих відходів (бурякових, морквяних та картоплях) в технології біоконверсії у біоводень та дигестат за участю ефективних мікроорганізмів біопрепарату «Байкал-ЕМ1»; визначення оптимальної кількості додаткових субстратів – протермінованого хліба та лактулози задля інтенсифікації процесів ферментації.

Методика дослідження полягала у встановленні експериментальних шляхом оптимального співвідношення овочевих відходів (тверда фаза) до рідкої (суміш

ДОДАТОГ Д

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

СЕРТИФІКАТ

засвідчує, що

ЗУРНАДЖАН АРТУР АЛЬБЕРТОВИЧ

брав/ла участь у роботі Міжнародної наукової конференції
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ, ЕКОЛОГІЇ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ»

27–28 квітня 2023 року, м. Харків, Україна

Голова оргкомітету, проректор з наукової роботи, професор — *Валерій МИХАЙЛОВ*

Співголова оргкомітету, декан факультету біотехнологій, професор — *Олена ЩЕРБАК*