

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему:
«Біогенний синтез наноміди на різних біологічних субстратах»

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія

Виконала: студентка групи ББТ-21
Крістіна ГУСЕЙНОВА
Науковий керівник:
к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА
Рецензент: к.б.н., доц. Ольга ЮНГІН

Київ 2025

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет	<u>хімічних та біофармацевтичних технологій</u>
Кафедра	<u>біотехнології, шкіри та хутра</u>
Рівень вищої освіти	<u>перший (бакалаврський)</u>
Спеціальність	<u>162 Біотехнології та біоінженерія</u>
Освітня програма	<u>Біотехнологія</u>

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА

«__» _____ 20__ р.

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Гусейнова Крістіна Ельшан кизи**

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Біогенний синтез наноміді на різних біологічних субстратах**

Науковий керівник роботи Волошина Ірина Миколаївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «05» __ 03 __ 2025 року № 50-уч

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література щодо методів синтезу, властивостей та застосування наночасток міді; дослідні дані щодо біогенного синтезу наноміді на різних біологічних субстратах та її фізико-хімічні й протигрибкові властивості.

3. Зміст кваліфікаційної роботи: вступ, огляд літератури, об'єкт, мета та методи дослідження, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.

4. Дата видачі завдання 05.03.2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ	10.03.2025	
2	Розділ 1 Огляд літератури	28.03.2025	
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження	04.04.2025	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	23.05.2025	
5	Висновки	27.05.2025	
6	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)	05.06.2025	
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)	06.06.2025	
8	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 12 днів до захисту)		
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)		Коефіцієнт подібності ____% Коефіцієнт цитування ____%
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений:

Студент _____ Крістіна ГУСЕЙНОВА

Науковий керівник _____ Ірина ВОЛОШИНА

АНОТАЦІЯ

Гусейнова К.Е. Біогенний синтез наноміді на різних біологічних субстратах. – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 «Біотехнологія та біоінженерія». – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2025 рік.

У кваліфікаційній роботі розглянуто сучасні літературні джерела щодо отримання наночасток міді хімічними, фізичними та біологічними методами. Описано основні фізико-хімічні та біологічні властивості наноміді. Також наведено інформацію стосовно застосування наночасток міді у медицині та сільському господарстві.

У кваліфікаційній роботі представлено біогенний синтез наноміді з використанням різних біологічних субстратів, зокрема бактерій *L. acidophilus* УКМ В-2691, мікробної асоціації SCOBY та продуктів рослинного походження, для визначення найефективнішого з них. Наночастки міді виявлено методом фотонно-кореляційної та ультрафіолетової спектроскопії. До того ж у роботі досліджено протигрибкову дію отриманих наночасток міді на тест-культурах фітопатогенних грибів *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50718.

Ключові слова: наномідь, біогенний синтез, наночастки, протигрибкові властивості, Lactobacillus acidophilus, мікроміцети, біологічні субстрати.

ABSTRACT

Huseinova K.E. Biogenic synthesis of nanocopper using various biological substrates. – Manuscript.

Qualification work in the specialty 162 «Biotechnology and bioengineering». – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2025.

The qualification work reviewed current literature sources on the synthesis of copper nanoparticles using chemical, physical, and biological methods. The main physicochemical and biological properties of copper nanoparticles were described. Additionally, information was provided on the application of copper nanoparticles in medicine and agriculture.

The qualification work presents the biogenic synthesis of copper nanoparticles using various biological substrates, including *L. acidophilus* YKM B-2691, the microbial consortium SCOBY, and plant-based products, to identify the most effective among them. Copper nanoparticles were detected using photon correlation spectroscopy and ultraviolet spectroscopy. In addition, the study investigated the antifungal activity of the synthesized copper nanoparticles against test cultures of the phytopathogenic fungi *Botrytis cinerea* 16884 and *Fusarium solani* 50718.

Keywords: nanocopper, biogenic synthesis, nanoparticles, antifungal properties, Lactobacillus acidophilus, miscomycetes, biological substrates.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Характеристика наноміді	11
1.2 Методи синтезу наноміді	12
1.2.1 Хімічний метод	12
1.2.2 Фізичний метод	13
1.2.3 Біологічний метод	13
1.3 Біогенний синтез наноміді на різних біологічних субстратах	14
1.3.1 Біогенний синтез наноміді за допомогою бактерій.....	14
1.3.2 Біогенний синтез наноміді за допомогою рослинної сировини.....	15
1.4 Біологічні властивості наноміді.....	18
1.4.1 Антибактеріальні властивості	18
1.4.2 Протигрибкові властивості	19
1.5 Застосування наноміді	20
1.5.1 Застосування в медицині.....	20
1.5.2 Застосування в сільському господарстві	22
Висновки до розділу 1	26
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	28
2.1 Загальний опис <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	28
2.2 Загальний опис досліджуваних тест-культур	31
2.3 Підготовка біологічних субстратів для отримання наноміді	34
2.4 Біогенний синтез наноміді за допомогою різних біологічних субстратів .	37
2.5 Характеристика отриманих наночасток міді.....	38
2.5.1 УФ-спектроскопія	38
2.5.2 Фотонно-кореляційна спектроскопія.....	39
2.6 Дослідження протигрибкової активності наноміді на тест-культури	39
2.7 Статистичний аналіз даних	40
Висновки до розділу 2	41

РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	42
3.1 Біогенний синтез наноміді за допомогою супернатанту культуральної рідини <i>L. acidophilus</i> УКМ В-2691 з різними солями міді.....	42
3.2 Біогенний синтез наноміді за допомогою альтернативних біологічних субстратів.....	42
3.3 Біогенний синтез наноміді за допомогою різних екстрактів з макухи соняшнику.....	43
3.3.1 Синтез наноміді при використанні різних типів екстрактів	43
3.3.2 Синтез наноміді за різних співвідношень частин розчину солі міді до екстракту	43
3.4 Протигрибкова активність наноміді на мікроміцети	44
Висновки до розділу 3	44
ВИСНОВКИ.....	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	47
ДОДАТКИ.....	58

ВСТУП

Сільське господарство є важливою галуззю економіки, яка задовольняє потреби невпинно висхідної популяції людства. Однак на заваді цьому стають фітопатогенні гриби, які вражають різноманітні сільськогосподарські культури, завдаючи значних збитків аграрному виробництву. Для боротьби з фітопатогенами, як правило, використовують хімічні фунгіциди, що діють на певну ділянку рослин. Водночас через регулярне застосування цих засобів у грибів може виникати резистентність, що призводить до втрати їх ефективності. Тому зростає потреба у пошуку альтернативних методів захисту від фітопатогенних грибів [1].

Останнім часом для розв'язання сільськогосподарських проблем почали застосовувати розробки у сфері нанотехнологій, зокрема різні наночастки металів. Згідно з літературними даними, CuNPs викликають особливий інтерес завдяки своїй доступності, структурній стабільності та антимікробній ефективності в боротьбі з грибковими хворобами рослин. Проте слід використовувати наночастки міді синтезовані біологічними методами, оскільки фізичні та хімічні способи є високовартісними, тривалими у роботі та шкідливими для навколишнього середовища. Відтак наразі інтенсивно розвивається біогенний синтез як економічно ефективний та екологічно чистий метод виробництва наночасток [2].

Актуальність теми кваліфікаційної роботи полягає в дослідженні можливості біогенного синтезу наночасток міді за допомогою різних біологічних субстратів, а саме бактерій *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, мікробної асоціації SCOBY та продуктів рослинного походження, з подальшим використанням наноміді як протигрибкового засобу.

Мета роботи полягає у визначенні найефективнішого біологічного субстрату для отримання наночасток міді та дослідженні їх протигрибкових властивостей.

Завданнями для досягнення поставленої мети є:

1. Провести біогенний синтез наноміді за допомогою супернатанту культуральної рідини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 з різними солями міді.
2. Перевірити можливість використання альтернативних біологічних субстратів для синтезу наночасток міді.
3. Оцінити ефективність рослинних відходів, на прикладі макухи соняшника, для синтезу наноміді.
4. Дослідити протигрибкові властивості отриманих наночасток міді на тест-культурах *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50718.

Об'єкт дослідження – наночастки міді, отримані за допомогою різних біологічних субстратів.

Предмет дослідження – різні біологічні субстрати, за допомогою яких отримували наночастки міді.

Методи дослідження – спостереження, аналіз, біологічні, біотехнологічні, спектрофотометричні, опис результатів.

Наукова новизна роботи полягає у дослідженні та отриманні наноміді зеленим біосинтезом з використанням різних біологічних субстратів, а саме бактерій *L. acidophilus* УКМ В-2691, мікробної асоціації SCOVY та продуктів рослинного походження.

Практичне значення роботи полягає у встановленні оптимального біологічного субстрату для отримання наночасток міді з подальшим їх використанням як протигрибкового засобу.

Апробація результатів роботи відбулася в рамках чотирьох науково-практичних міжнародних конференцій та однієї конференції молодих учених.

Публікації:

1. Гусейнова К. Е., Косинська Т. В., Федько М. М., Волошина І. М. Синтез наночасток міді за допомогою рослинних екстрактів // *Хімія, біо- і фармтехнології, екологія та економіка в харчовій, косметичній та*

фармацевтичній промисловості : збірник матеріалів XII Міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 18–19 листопада 2024 р. С. 47–48. (Додаток А)

2. **Гусейнова К. Е.**, Косинська Т. В., Писаренко П. О., Волошина І. М. Антибактеріальні властивості наночасток міді // *Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині* : матеріали III науково-практичної Міжнародної дистанційної конференції, м. Харків, 22 березня 2024 р. С. 104–105. (Додаток Б), сертифікат (Додаток В)

3. **Гусейнова К. Е.**, Потупа В. Ю., Шкотова Л. В., Волошина І. М. Фунгіцидні властивості наночастинок міді // *Сучасні проблеми біології, екології та хімії* : збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної конференції, м. Запоріжжя, 25–27 квітня 2024 р. С. 94–95. (Додаток Г), сертифікат (Додаток Д)

4. **Гусейнова К. Е.**, Петрух А. О., Давидюк Д. А., Волошина І. М. Вплив CuNPs на ріст та розвиток зернових культур // *Біологія рослин та біотехнологія* : збірка тез IV конференції молодих учених, м. Київ, 16–18 травня 2024 р. С. 29. (Додаток Ж)

5. Потупа В. Ю., **Гусейнова К. Е.**, Волошина І. М. Антибактеріальні властивості ZnONPs // *Молодь і поступ біології* : збірник тез доповідей XX Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів, м. Львів, 18–20 квітня 2024 р. С. 158–159. (Додаток З), сертифікат (Додаток К)

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційну роботу науково-дослідного характеру представлено на 52 сторінках, які включають вступ, три основні розділи, висновки. Також робота містить 96 наукових літературних джерел та вісім додатків.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика наноміді

На сьогодні, нанотехнології є найперспективнішою науковою галуззю. Нанотехнології спрямовані на використання наноматеріалів, які мають розмір частинок від 1 до 100 нанометрів [3]. Вони бувають різні, зокрема полімерні наночастки, наночастки металів, ліпосоми, міцели, квантові точки, дендримери та нанокompозити [4]. Серед них найактивніше застосовуються наночастки металів через їх унікальні властивості, зокрема велике співвідношення площі поверхні до об'єму, плазмонне збудження, велику поверхневу енергію, квантове обмеження та ближнє впорядкування [5].

Наночастки металів – це наночастки, що походять від металічних елементів (наприклад, срібло, золото, паладій, залізо, платина, нікель, кобальт, мідь тощо) з додатковими властивостями, притаманними іонам металів [6]. Серед них Cu є відносно недорогим та легкодоступним металом, тому синтез наночасток міді економічно вигідніший та перспективніший [7].

Мідь є перехідним металом із такими ступенями окиснення, як Cu^0 , Cu^+ , Cu^{2+} . Вона бере участь у багатьох біохімічних процесах, включаючи метаболізм глюкози, заліза та холестерину. Як дефіцит, так і надлишок впливає на функції організму людини. Наприклад, надлишок спричиняє судоми, діарею, блювання або біль у животі, а дефіцит призводить до проблем із серцево-судинною системою, анемії та патологій кісткової системи [8]. Крім того, що мідь важлива для організму людини, вона також необхідна для росту та розвитку рослин. Cu впливає на регуляцію синтезу білка, транспорт електронів під час фотосинтезу та метаболізм компонентів клітинної стінки. При нестачі міді у рослин спостерігається скручування листя, загинання черешків донизу та зниження тургору у молодому листі. Проте надмірна кількість металу теж негативно впливає на рослину, зокрема пригнічує ріст, порушує фотосинтез та викликає оксидативний стрес [9].

Завдяки вищезазначеним характеристикам міді, синтез CuNPs стає все більш важливим напрямком досліджень [10]. Наночастки міді характеризуються низкою відмінних властивостей, включаючи хімічну реактивність, дифузію, біологічну активність, тепло- і електропровідність, питомий опір і вузький розподіл за розмірами в діапазоні від 1 до 100 нм. У багатьох наукових дослідженнях зазначають важливість CuNPs у пріоритетних для людства сферах, таких як медицина, сільське господарство та застосування у біоремедіації довкілля [11]. Також, слід зазначити, що наночастки міді легко окиснюються, але цю проблему можливо уникнути використовуючи під час синтезу наночастинок стабілізуючі агенти, такі як органічні ліганди або полімери [12].

1.2 Методи синтезу наноміді

Використовують фізичні, хімічні та біологічні методи отримання наночастинок міді. Залежно від методів і умов синтезу CuNPs можуть відрізнятися за розміром, формою та властивостями [13]. Наночастки міді характеризують такими методами, як дифракція рентгенівських променів, спектр поглинання в УФ-видимому діапазоні, аналіз інфрачервоного спектра з перетворенням Фур'є, скануючий електронний мікроскоп, просвічуючий електронний мікроскоп та атомно-силова мікроскопія [14].

1.2.1 Хімічний метод

Для синтезу CuNPs хімічним методом використовують хімічні речовини як джерела електронів для відновлення іонів міді в елементарну форму розміром 1 – 100 нм [15]. До хімічних методів відносять сонохімічне, електрохімічне, хімічне відновлення та гідротермічний синтез. Серед запропонованих методів найчастіше використовується хімічне відновлення. У цьому методі як відновник застосовують борогідрат натрію, сульфат ванадію, гідразин, сульфоксилат тощо, а як стабілізатор – астетраетиленпентамін, цетилтриметиламоній бромід, бромід тетраоктиламонію та поліелектроліти. До того ж розмір, форма та морфологія

синтезованих наночастинок міді залежать від концентрації стабілізатора і відновника [16, 17]. Більшість хімічних методів успішно виробляють чисті та чітко визначені наночастки, проте основними їх недоліками є велике енергоспоживання, забруднення навколишнього середовища, використання високого тиску і температури, дорогі і токсичні хімікати [15].

1.2.2 Фізичний метод

Електричний струм як джерело електронів використовують у фізичному методі для відновлення іонів міді до наночастинок розміром у межах 1 – 100 нм. Лазерна абляція, високоенергетичне кульове фрезерування, випаровування-конденсація належать до фізичного синтезу CuNPs [15, 16]. Проте, найбільше уваги привертає метод імпульсної лазерної абляції. Цей метод здатний виробляти однорідні, чисті та постійні за розміром наночастки. Імпульсна лазерна абляція проводиться у вакуумній камері в присутності інертного газу або рідини. Форма та розмір наночастинок залежить від довжини хвилі та енергії лазера, тривалості імпульсу та типу розчинника [15, 17]. Фізичні методи хоч і мають значні переваги, але активно не застосовуються через високовартісне обладнання, підвищені вимоги до потужності та енергії й високий рівень майстерності в експлуатації техніки [9].

1.2.3 Біологічний метод

Більшість хімічних і фізичних методів виробляють стабільні та чисті наночастки, проте вони є дорогими, трудомісткими та потенційно шкідливими для живих організмів і навколишнього середовища. Як результат, з'являється потреба в альтернативних екологічно чистих, безпечних та економічно ефективних методах виробництва наночастинок. Останнім часом набуває актуальності використання біологічних методів для отримання наночастинок міді [18]. Як джерело електронів для відновлення іонів міді до CuNPs застосовують молекули рослин та мікроорганізмів (наприклад, бактерій,

дріжджів, грибів тощо) [16]. Для зеленого синтезу наночастинок Cu необхідно підготувати такі три елементи, як сіль-попередник, яка забезпечує іони міді, відновник для доставлення електронів та поверхнево-активна речовина, яка агрегує атоми міді, отримані від відновника, у наночастки міді [9]. Морфологія та розмір отриманих наночастинок залежить від різних параметрів синтезу, а саме концентрації солі міді та розчину відновника, температури, pH і часу реакції [14].

1.3 Біогенний синтез наноміді на різних біологічних субстратах

Біогенний синтез використовують для отримання різних наночастинок, в тому числі й наноміді. Ця альтернатива прийшла на зміну хімічному та фізичному синтезу завдяки своїй екологічності, надійності, стійкості та низькому споживанню енергії. Як біологічні субстрати застосовують мікроорганізми (наприклад, бактерії, гриби, дріжджі тощо) та рослинну сировину (наприклад, листя, плоди, стебла, коріння, квіти, насіння, шкірки тощо) [2].

1.3.1 Біогенний синтез наноміді за допомогою бактерій

Бактерії мають великий потенціал для синтезу наночастинок міді. Розрізняють такі способи бактеріального синтезу, як внутрішньоклітинний (ендогенний) і позаклітинний (екзогенний). Під час внутрішньоклітинного методу іони міді проникають у мікробну клітину, де за допомогою ферментів редуктаз відновлюються до CuNPs. У позаклітинному методі іони міді адсорбуються на поверхні клітин, де також із застосуванням цих же ферментів відбувається їх відновлення до наночастинок міді [5, 17]. Згідно з літературними даними, для отримання наночастинок міді використовуються різноманітні бактерії: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptomyces griseus*, *Escherichia coli*, *Morganella morganii*, *Bacillus Euplotes focardii*, *Brevundimonas Euplotes focardii*, *Marinomonas Euplotes focardii*, *Pseudomonas Euplotes focardii*, *Rhodococcus Euplotes focardii*, *Pseudomonas fluorescens* [5]. Однак, застосування

бактеріального методу для синтезу наночастинок Cu може спричинити деякі труднощі через довгий час культивування та постійні стерильні умови [19].

Біосинтез наночасток міді молочнокислими бактеріями. На сьогодні у наукових публікаціях застосування LAB (молочнокислі бактерії) для отримання CuNPs недосить поширено. Проте все ж існує деяка інформація з цього приводу. Як правило, для синтезу наночастинок міді використовують молочнокислі бактерії, які належать до роду *Lactobacillus*. Вони є грампозитивними бактеріями, що містять у своїй клітинній стінці тейхоеві кислоти, які надають їй загального негативного заряду. Загалом, біосинтез CuNPs може здійснюватися з використанням супернатанту культуральної рідини, біомаси або клітинного лізату молочнокислих бактерій [20]. Однак детально досліджено тільки використання біомаси, а саме в одній із наукових праць автори синтезували наночастки міді з використанням біомаси *Lactobacillus casei* як біологічного об'єкта та 1 mM розчину сульфату міді як прекурсора при pH 6,0 та температурі 37°C протягом 48 годин, доки середовище не змінило колір з жовтого на темно-коричневий, що свідчить про утворення наночастинок. Вони були сферичної форми та однорідні з діаметром від 30 до 75 нм [21].

1.3.2 Біогенний синтез наноміді за допомогою рослинної сировини

Синтез наночастинок міді за допомогою рослинної сировини (наприклад, листя, плоди, стебла, коріння, квіти, насіння, шкірки плодів тощо) є більш перспективним у порівнянні з мікробним синтезом та традиційними методами, тому що ці матеріали у вільному доступі, легко переробляються, екологічно чисті та економічно вигідні [10, 22]. До складу рослинної сировини входять різні біологічні сполуки, зокрема білки, амінокислоти, органічні кислоти, вітаміни та вторинні метаболіти, такі як флавоноїди, алкалоїди, поліфеноли, терпеноїди та гетероциклічні сполуки. Вони мають гідроксильні, нітрильні, альдегідні, карбоксильні та аміногрупи, які надають їм можливість виконувати роль як відновника, так і стабілізатора у процесі синтезу CuNPs [23].

Для отримання наноміді рослинним методом спочатку активуються електрони функціональних груп біомолекул для відновлення іонів міді до наночастинок, які надалі агрегуються в різні неправильні форми (нанопризми, нанотрубки тощо). Наприкінці синтезу CuNPs набувають остаточного вигляду та оптимальної енергетичної конформації [14]. До того ж необхідно зважати на такі параметри процесу, як рН, тип рослинного екстракту та його концентрацію, час інкубації, температура, адже від цього залежить форма та розмір частинок [19].

Листя. Екстракти з листя різних видів рослин активно впроваджуються як біологічні субстрати для синтезу нанорозмірних частинок міді зі специфічними властивостями. За літературними даними, для приготування екстрактів використовують листя таких рослин, як *Abies spectabilis*, *Allium saralicum*, *Camellia sinensis*, *Eucalyptus globulus*, *Ficus religiosa*, *Tamarindus indica* тощо [23, 24]. Зокрема, в одному з експериментів науковці синтезували CuNPs із застосуванням екстракту листя *Allium monanthum*. Фітохімічне дослідження виявило у цьому екстракті такі сполуки, як флавоноїди, фенольні кислоти, алкалоїди та цукри, які діють як блокуючі, відновлювальні та стабілізуючі агенти для біосинтезу наночастинок. На формування наночастинок міді вказує зміна забарвлення з блідо-блакитного на блідо-коричневий колір. Як результат, за допомогою спектрофотометричного аналізу та трансмісійної електронної мікроскопії було показано, що CuNPs мають сферичну форму з розмірами в діапазоні від 30 до 80 нм та максимальний пік поглинання на рівні 390 нм [25].

Квіти. Біосинтез наночастинок міді опосередкований квітковими екстрактами має більше переваг, ніж недоліків, адже квіти володіють унікальними хімічними властивостями, які можуть бути корисними для процесу. Для виготовлення екстрактів використовують різноманітні види квітів, зокрема *Millettia pinnata*, *Magnolia champaca*, *Stachys lavandulifolia*, *Bougainvillea glabra*, *Quisqualis indica* тощо [24, 26]. Наприклад, за даними одного з досліджень вчені застосували квітковий екстракт *Quisqualis indica* для виготовлення CuNPs з ацетату міді. Біофізичний аналіз виявив утворення сферичних, монодисперсних,

кристалічних наночастинок міді розміром 39.3 ± 5.45 нм з максимальним піком поглинання 309 нм [27].

Плоди. Екстракти плодів та їх шкірки містять велику кількість фітохімічних сполук. Наприклад, *Malpighia glabra*, *Terminalia bellirica*, *Piper retrofractum* Vahl, *Fragaria ananassa*, *Citrus*, *Terminalia chebula*, *Solanum macrocarpon* мають аскорбінову кислоту, антоціани, фенольні сполуки, флавоноїди, сахариди та інші, які відновлюють іони міді у CuNPs [28]. Зокрема, у дослідженні з використанням екстракту плодів *Malpighia glabra* та $(\text{AcO})_2\text{Cu}$ були сформовані наночастки міді сферичної форми із середнім розміром 22,5 нм [29]. До того ж крім цілих плодів, застосовують їх шкірку. Цей спосіб синтезу наночастинок міді є надзвичайно актуальними, адже плодові шкірки, які зазвичай викидаються як відходи, тепер можна використовувати з користю для людства [30]. Підтвердженням цьому є безліч наукових праць, як приклад у присутності екстракту яблучної шкірки та мікрохвильового опромінення утворюються наночастки міді з попередника $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ розміром у межах 25 – 40 нм [31].

Корені та кореневища. Корені та кореневища різних видів рослин мають високий вміст флавоноїдів, глікозидів, дубильних речовин, фенолів, що вказує на їх потенціал як відновників та стабілізаторів в синтезі наночастинок міді. У дослідженнях використовували корені та кореневища таких рослин, як *Asparagus adscendens*, *Echinops sphaerocephalus*, *Zingiber officinale*, *Cucumis sativus*, *Curcuma longa*, *Zingiber officinale* тощо [5]. Зокрема, в одному з дослідів екстракт кореня *Polyalthia longifolia* та сіль CuSO_4 застосували для отримання наночастинок міді, які мали сферичну форму та діаметр приблизно від 2 до 10 нм [32]. Також, ще в одному дослідженні описується використання екстракту кореневища *Picrorhiza kurroa* та солі CuSO_4 для біосинтезу CuNPs. SEM і TEM підтвердили наявність наночастинок розміром у межах 20 – 40 нм [33].

1.4 Біологічні властивості наноміді

З-поміж інших наноматеріалів, CuNPs виділяються своєю біосумісною природою, легкою функціональністю поверхні та високою стабільністю. Унікальні властивості наночасток міді сприяють їхньому використанню у різних сферах діяльності, зокрема в медицині та сільському господарстві як антибактеріальні та протигрибкові засоби [34].

1.4.1 Антибактеріальні властивості

Ще в давнину мідь та її похідні використовували для стерилізації рідин, поверхонь, матеріалів тощо. На сьогодні, у зв'язку з розвитком антибіотикорезистентності, застосування міді стало особливо актуальним, але у формі CuNPs. На відміну від антибіотиків, наприклад хлорамфенікол, стрептоміцин, ампіцилін тощо, наночастки міді мають кілька унікальних характеристик, включаючи малий розмір, велику площу поверхні, біосумісність та високу біологічну і хімічну реактивність, що сприяє їхній ефективності у знищенні бактеріальних клітин. До того ж наномідь є економічно вигідною та екологічно чистою, оскільки вона виробляється за допомогою біологічних методів [9, 35].

За літературними даними, встановлено, що CuNPs мають потужні антибактеріальні властивості щодо грампозитивних (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) та грамнегативних (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter*) бактерій [24]. Антимікробна дія наночастинок на бактерії зумовлена впливом на рівні клітинної стінки. Грампозитивні бактерії більш стійкі до дії CuNPs, оскільки мають лише товстий шар пептидоглікану, на відміну від грамнегативних бактерій, які, крім тонкого шару пептидоглікану, оточені ліпополісахаридами з негативним зарядом, пов'язаним з позитивними іонами, що виділяються наночастками міді [9].

Токсичність CuNPs пов'язана з утворенням внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК), що призводять до пошкодження ДНК, білків, клітинної мембрани, змін у кількості АТФ, що в кінцевому підсумку веде до дисфункції клітини. Проте, важливо зазначити, що токсична дія наночастинок міді може змінюватися залежно від концентрації та розміру частинок [36].

Для дослідження антибактеріальної активності CuNPs проводяться різноманітні дослідження, наприклад в одному з таких наночастинок міді, синтезованих з екстракту шкірки *Punica granatum*, демонструють високу антимікробну активність проти різних бактеріальних штамів, зокрема *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Micrococcus* та *Enterobacter*. Ці штами виявили значну чутливість, що підтверджується зонами інгібування: $18,67 \pm 1,53$ мм, $19,67 \pm 1,53$ мм, $20,33 \pm 1,53$ мм та 19 ± 1 мм відповідно. Їх антибактеріальна ефективність була вищою, ніж у стандартного антибіотика стрептоміцину [37].

1.4.2 Протигрибкові властивості

У навколишньому середовищі існує безліч шкідників, зокрема фітопатогенні гриби, які негативно впливають на продуктивність сільськогосподарських культур. До того ж вони мають здатність виробляти мікотоксини, які становлять значний ризик для здоров'я людей і тварин [38]. Одним з найбільш поширених способів боротьби зі збудниками хвороб рослин є використання хімічних фунгіцидів. Однак, вони є економічно не вигідними, а також деякі з них є екологічно небезпечними.

Виходячи з усього вищесказаного, став необхідним пошук альтернативних методів боротьби з патогенами рослин. Зокрема, стверджується, що CuNPs можуть бути потужними фунгіцидами, завдяки своїм унікальним фізичним, хімічним та біологічним властивостям [39]. Згідно з дослідженою літературою, встановлено, що CuNPs можна використовувати як протигрибковий агент проти широкого спектра рослинних грибів, таких як *Phoma destructiva*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium*

digitatum, *Rhizoctonia solani* тощо. Протигрибковий механізм CuNPs полягає у внутрішньоклітинному проникненні, яке відбувається шляхом взаємодії іонів міді з мембраною грибової клітини. Як наслідок, утворюються активні форми кисню (АФК), які залежно від виду гриба змінюють морфологію, колір, форму, текстуру та щільність міцелію, а також гальмують проростання грибних спор [5, 9]. До того ж варто зазначити, що токсичність наночастинок міді залежить від поєднання кількох чинників, зокрема концентрації, тривалості впливу, вологості та температури [40].

Для підтвердження протигрибкової активності наночастинок міді проводилися різноманітні дослідження. В одному з таких експериментів науковці оцінювали вплив різної концентрації CuNPs на радіальний ріст міцелію *Fusarium solani*, *Neofusicoccum sp.* та *Fusarium oxysporum*. Встановлено, що високі концентрації наночастинок міді в поживних середовищах сприяють зменшенню площі росту грибів. Наприклад, при концентрації наночастинок Cu 0,75 мг/мл пригнічується ріст *Fusarium solani*, *Neofusicoccum sp.* та *Fusarium oxysporum* на 85%, 98% та 100% відповідно [1].

1.5 Застосування наноміді

Антимікробний потенціал наноміді робить її чудовим компонентом для застосування в різних галузях, зокрема в медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості, очищенні водою тощо [41].

1.5.1 Застосування в медицині

На сьогодні в медичних цілях віддають перевагу наночасткам міді синтезованим біологічними методами. Їх активно застосовують як компоненти для обробки поверхонь, відновлення кісток і хрящів, стоматологічних матеріалів та датчиків визначення рівня глюкози.

Компонент для обробки поверхонь. Наявність мікроорганізмів, які залишаються на поверхнях у вигляді біоплівки, може призвести до значних

витрат і несприятливих наслідків у різних сферах, включаючи медичні установи, системи водного транспорту та інші. Тому для боротьби з біоплівками найчастіше використовували дезінфекційні засоби (на поверхнях) або антибіотики (на біоплівках, пов'язаних зі здоров'ям людини). Однак постійне їх застосування вже не дає бажаного результату, оскільки у мікроорганізмів виникла резистентність до цих хімічних речовин [42].

Відтак для запобігання та контролю біоплівок почали використовувати матеріали просоченні наноміддю, як потенційні поверхні з антимікробною активністю, в покриттях стін, одязі, обладнанні та постільній білизні, щоб допомогти боротися з поширенням інфекцій, особливо проти мікроорганізмів, які виробили стійкість до стандартних антибіотиків і дезінфекційних розчинів [43]. Характерні ознаки наноміді проти біологічного обростання, як правило, пов'язані з вивільненням іонів міді, що спричиняють пошкодження клітин через зміни структури та активності білків [44]. Наночастки міді особливо актуальні у розробці антибіоплівкових поверхонь для застосування в охороні здоров'я та біомедицині [45]. В одному з досліджень, було показано, що CuNPs отримані з екстракту *Cardiospermum halicacabum* в концентрації 0,1 мг/мл зменшували кількість біоплівок *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* на 78%, 72% і 79% відповідно [44].

Компонент для відновлення кісток та хрящів. Дослідження на тваринах *in vivo* показують, що наномідь корисна для відновлення кісток та хрящів, завдяки хімічній стабільності та контрольованому вивільненню іонів міді [46]. Наприклад, в одному з експериментів дослідили вплив наночастинок міді на структуру хрящової тканини і отримали чудові результати, в яких каркаси, що містять наномідь, можуть не тільки посилювати утворення фіброзних тканин і нових хрящів у щурів, але й сприяти виробленню нових гіаліноподібних хрящових тканин у кроликів [46, 47].

Компонент в стоматологічних матеріалах. Наночастки міді використовуються в стоматологічних металах і сплавах, полімерах і смолах, та

цементів [48]. Наприклад, смоли, що використовуються при реставраціях зубів, можуть сприяти утворенню біоплівки і, як наслідок, посилювати появу вторинного карієсу. Тому, в одному з досліджень синтезували нові смоли та композити на основі азид-алкінового циклоприєднання (CuAAC), що каталізуються наноміддью, і виявили, що CuAAC зменшує утворення біоплівки, захищаючи зубні реставрації протягом більш тривалого проміжку часу порівняно з іншими широко використовуваними смолами [49]. Крім того, кілька досліджень *in vitro* показали, що мідний цемент розвиває міцність на стискання, розчинність, антимікробну активність і рекомендується для використання з іншими реставраційними матеріалами [48].

Компонент у датчиках для визначення рівня глюкози. На основі наночастинок міді з властивістю пероксидази, також було розроблено біосенсор, який успішно застосовується у візуальному та кількісному аналізі глюкози в сироватці крові, демонструючи потенційні значення в діагностиці та моніторингу клінічних захворювань [50]. Для підтвердження каталітичної активності отриманих CuNPs, подібної до пероксидази, було досліджено зміну кольору ТМВ (хромогенний субстрат) в результаті окиснення в присутності пероксиду водню (пероксидазний субстрат). Як результат, забарвлення ТМВ стало синім, що вказало на каталітичну активність наноміді [51]. Порівняно з деякими іншими датчиками з наноматеріалів для визначення рівня глюкози, які можуть здійснювати лише аналіз стандартних зразків, запропонований датчик може виявляти глюкозу в 31 зразку сироватки. До того ж ще одною очевидною перевагою CuNPs як пероксидази полягає в простоті їх приготування та низькій вартості [50].

1.5.2 Застосування в сільському господарстві

CuNPs, синтезовані з використанням екологічно чистих методів, мають багато потенційних застосувань у сільському господарстві, зокрема у

тваринництві та рослинництві, для підвищення продуктивності сільськогосподарської продукції.

Тваринництво. Мідь є важливим мікроелементом у тваринництві та птахівництві. Проте постійне використання солей міді, як кормових добавок, становить загрозу для навколишнього середовища. Тому набуває актуальності використання нанотехнологій, щоб мінімізувати цей негативний вплив на довкілля та покращити здоров'я, продуктивність та ефективність худоби та птахів. Очікується, що вплив високих концентрацій неорганічних солей на навколишнє середовище буде зменшено, оскільки дози наночастинок, необхідні для задоволення основних потреб тварин, набагато нижчі, ніж дози сипучих мінералів. Також, CuNPs сприяють кровотворенню, формуванню кісток, зміцненню імунітету, підвищенню стійкості до чужорідних патогенів і антиоксидантній здатності [52, 53].

Ефективність наночастинок міді залежить від їх розміру, потужності дози та методу синтезу [54]. Загалом, вони потрапляють в організм безпосередньо з корму або води, але у випадку з птицею введення наночастинок *in ovo* можна використовувати як метод нанохарчування для забезпечення ембріона додатковими поживними речовинами. Повідомлялося, що годування *in ovo* збільшує швидкість росту, знижує смертність та захворюваність після вилуплення, покращує розвиток м'язів і, як наслідок, збільшує вихід грудного м'яса [53, 55]. Наприклад, в одному з експериментів введення *in ovo* наночастинок міді (50 мг/л) позитивно вплинуло на продуктивність курчат-бройлерів порівняно з контрольною групою. Як результат, група наноміді мала значно нижчу конверсію корму та смертність, а також більшу частку м'язів грудини та ніг у туші [56].

Крім, птахів досліди проводили на інших тваринах, наприклад свинях та кроликах. Було підтверджено позитивний вплив наночастинок міді (50 мг/л) на відлучених поросятах, а саме підвищилась засвоюваність сирого жиру та покращились показники росту [57]. А ось CuNPs, додані до раціону кролів,

покращували кінцеву масу тіла, індекс продуктивності, мікробіоту кишківника та підвищували вміст гемоглобіну [58].

Загалом дані, зібрані в результаті різних досліджень, переконливо показують, що наномідь позитивно впливає на продуктивність та здоров'я (особливо на антиоксидантний статус та імунітет) тварин та птахів. Однак необхідно більш ретельно дослідити токсичність CuNPs для визначення відповідних та безпечних доз харчових добавок для худоби та птиці.

Рослинництво. Наномідь широко використовується як нанофунгіцид, нанобактерицид, наноінсектицид, проявляючи не лише летальну, а й інгібуючу дію. Також вона стимулює ріст рослин та розвиває у них стресостійкість до посухи та солоності. Ці нанопродукти можуть допомогти покращити якість і врожайність сільськогосподарської продукції та навіть захистити рослини від впливу чинників навколишнього середовища [59]. Крім того, ці наночастки сприяють підвищенню стану ґрунту та безпеки для споживання людиною, зменшуючи присутність шкідливих хімічних речовин, сприяючи загалом більш екологічній та стійкій сільськогосподарській системі.

Щоб застосувати CuNPs на рослинах, можна використовувати різні методи обробки, включаючи ґрунтування насіння, позакореневе обприскування, змішування з ґрунтом та гідропоніка культури. Дивно, але метод застосування відіграє важливу роль у визначенні токсичності наноміді на рослини [60]. Наприклад, у салаті, вирощеному на гідропоніці спостерігалися зміни вмісту води, довжини коренів, сухої біомаси та захисних метаболітів у коренях. Проте позакореневе обприскування наночастками міді протягом останніх 4 тижнів перед збором врожаю не мало негативних наслідків і натомість лише збільшило біомасу листя [61]. Це вказує на те, що позакореневе обприскування є відносно кращим методом порівняно з гідропонікою для підвищення якості рослин. Однак слід зазначити, що для нормального росту рослинам необхідна лише невелика кількість CuNPs, оскільки при високих концентраціях спостерігається негативний вплив на рослинність [62].

Нанобактерицид. Наночастки міді застосовуються для боротьби з бактеріальними збудниками. Наприклад, експерименти з вивчення бактеріальної активності показали, що CuNPs, навіть при низьких концентраціях, проявили високу ефективність проти бактерії *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*, які є збудниками бактеріального опіку граната [63].

Нанофунгіцид. Безліч досліджень підтверджують, що CuNPs проявляють протигрибкову дію. Наприклад, наночастки міді отримані з *Streptomyces griseus*, мають фунгіцидну дію на грибки, які викликають червону кореневу гниль на чайних плантаціях. Порівняння наноміді з хімічним фунгіцидом карбендазимом, підтвердило, що стійкість до грибків і врожайність листя були вищими у чайних рослин, оброблених біосинтезованими наночастками, ніж у рослин з карбендазимом. Крім того, вміст макро- та мікроелементів у ґрунті також збільшився після застосування CuNPs [64].

Наноінсектицид. Крім бактерії та грибів, наночастки міді впливають й на комах. Наприклад, токсичну дію наночастинок міді, спостерігали проти двох комах, що пошкоджують зерно пшениці, *Sitophilus granarius* та *Rhyzopertha dominica*. Результати показали, що CuNPs можуть слугувати потужним інсектицидом, однак їх слід використовувати в нижчих концентраціях на сільськогосподарських полях, щоб не пригнічувати ріст пшениці [65].

Біостимулятор росту. Наномідь не тільки застосовується як нанопестицид, але й може стимулювати ріст рослин. В одному з досліджень, наночастки міді збільшили співвідношення довжини пагона до довжини кореня у *Lactuca sativa* при концентрації 0,066% у ґрунті [66]. В іншому експерименті, було вказано, що CuNPs мають потенціал для посилення росту та врожайності пшениці. При використанні CuNPs у ґрунт спостерігався максимальний ріст і врожайність *Triticum vulgare* у горщиках [67].

Біостимулятор стресостійкості. На ріст і продуктивність рослин суттєво впливає зміна клімату, спричиняючи різні абіотичні стреси, зокрема солоність, посуху, екстремальні температури, дисбаланс поживних речовин тощо. Вони є

причиною великомасштабних неврожаїв у різних частинах світу, що призводить до проблем з продовольчою безпекою [68]. Тому необхідно розробити нові підходи для подолання цих проблем і досягнення стійкості. Швидке всмоктування та повільне вивільнення CuNPs роблять їх чудовими кандидатами для розвитку стресостійкості до посухи та солоності. Наприклад, проростки пшениці, оброблені CuNPs за допомогою гідропоніки, показали покращені морфологічні та врожайні показники, порівняно з контролем, в умовах посухи. Також, оброблені рослини, продемонстрували підвищену фотосинтетичну активність зі збільшеним вмістом пігментів хлорофілу а та b, регульовану провідність продохів на рівні 0,3 мг/л, і, як наслідок, полегшувало стрес від посухи [69, 70]. Проте, варто зазначити, що CuNPs сприятливо впливають на рослини й в умовах стресу солоності [71]. Наприклад, в одному з досліджень, виявили, що внесення наночастинок міді у ґрунт зменшує окиснювальний ефект у пшениці та значно підвищує розвиток рослин і врожайність при сольовому стресі [72, 73].

Загалом, застосування нанотехнологій у сільському господарстві демонструє великий потенціал для підвищення виробництва та якості рослин. Однак для можливого застосування наноматеріалів у польових умовах необхідне повне розуміння фітотоксичних ефектів наночастинок міді у рослинах, їх впливу на ґрунт та здоров'я людини [62].

Висновки до розділу 1

Більшість досліджених наукових робіт підкреслюють важливість CuNPs у різних галузях промисловості, завдяки їх унікальним властивостям, зокрема невеликим розмірам, хімічній реакційній здатності, електропровідності, магнетизму та оптичним ефектам. Встановлено, що застосування традиційних фізичних та хімічних методів для отримання CuNPs вимагало використання небезпечних речовин зі значними витратами. Проте, біогенний синтез наночастинок міді є екологічно чистим, нетоксичним, економічно ефективним та

швидким. Біологічний метод синтезу може проводитися за допомогою рослинної сировини (наприклад листя, плоди, коріння, квіти тощо) та мікроорганізмів (наприклад, бактерії, гриби, дріжджі тощо). В літературному огляді узагальнено дані про рослинну сировину та мікроорганізми, що використовуються для отримання наночастинок міді. Також було зазначено, що екологічно синтезовані CuNPs проявляють різноманітні біологічні властивості, зокрема детально розглянуто їх антибактеріальну та протигрибкову дію. Крім того, було проаналізовано застосування наночастинок міді у різних напрямках промисловості, зокрема медицині та сільському господарстві.

РОЗДІЛ 2

ОБ’ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальний опис *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

В науковому дослідженні використовували бактеріальний штам *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, наданий Інститутом мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Він входить до складу Української колекції мікроорганізмів.

Вони є одними з найпоширеніших і добре вивчених видів молочнокислих бактерій, які зазвичай зустрічаються у ротовій порожнині, травному тракті, піхві, а також у різноманітних ферментованих продуктах [74, 75, 76]. Бактерії важливі для здоров’я людини, оскільки підвищують імунітет, покращують мікрофлору кишечника та мають антиоксидантні, протипухлинні та антибактеріальні властивості [77].

Таксономічний статус *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 [78]:

Царство: *Bacteria*

Тип: *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Порядок: *Lactobacillales*

Родина: *Lactobacillaceae*

Рід: *Lactobacillus*

Вид: *acidophilus*

Штам: УКМ В-2691

Морфолого-культуральні властивості *L. acidophilus* УКМ В-2691

Lactobacillus acidophilus – це нерухомі грампозитивні бактерії, які не утворюють спор. Як зображено на рис. 2.1 а, вони представлені тонкими паличками з круглим кінцем довжиною 2–10 мкм, зазвичай розміром 0,6–0,9×1,5–6 мкм. Клітини розміщуються у вигляді окремих клітин або ланцюжків [74]. Через обмежену анаболічну активність ці бактерії культивують в багатих поживними речовинами середовищах, таких як агар або бульйон MRS. На

агаризованих поживних середовищах (див. рис. 2.1 б) створює невеликі з чіткими краями, гладкою текстурою, опуклою та блискучою поверхнею колонії, білого або злегка кремового відтінку. У рідкому середовищі росте у вигляді рівномірної каламуті та дрібнодисперсного осаду на дні [79].

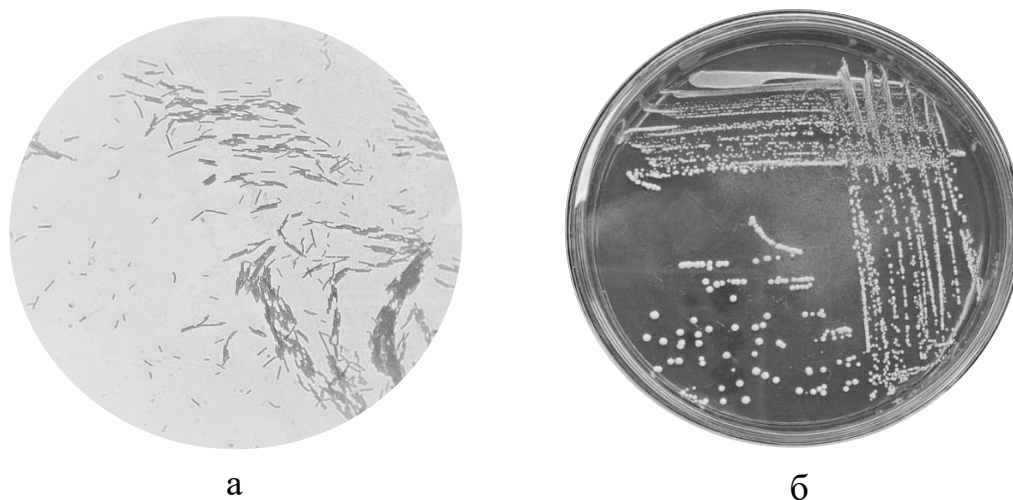


Рис. 2.1 Морфологія *L. acidophilus* УКМ В-2691 (а – мікроскопічне зображення клітин, збільшення $\times 1000$, б – колонії бактерій на поживному середовищі MRS в чашці Петрі)

Фізіолого-біохімічні властивості *L. acidophilus* УКМ В-2691

Lactobacillus acidophilus є факультативним анаеробом. Оптимальна температура культивування зазвичай становить $35 - 38^{\circ}\text{C}$, тоді як за температури нижче 20°C їх ріст переважно не відбувається. Штам найкраще розвивається в діапазоні рН $5,5 - 6,0$. *L. acidophilus* здійснюють гомоферментативне молочнокисле бродіння. Вони мають відмінну стійкість до кислот і жовчі [74]. Бактерії здатні ферментувати амігдалін, целобіозу, глюкозу, лактозу, галактозу, фруктозу, сахарозу, рафінозу, декстрин, саліцин, трегалозу, мальтозу та манозу. Водночас мікроорганізми не ферментують ксилозу, рамнозу, мелібіозу, маніт, арабінозу, рафінозу та гліцерин [79].

Середовище для вирощування *L. acidophilus* УКМ В-2691

Для того, щоб існувати бактерії потребують відповідного культурального середовища. *Lactobacillus acidophilus* є вибагливими бактеріями, яким необхідне

складне середовище культивування для нормальної життєдіяльності, оскільки вони не можуть рости на простих поживних середовищах, доповнених лише джерелом вуглецю та азоту. В основному, стандартним поживним середовищем є MRS (de Man, Rogosa, Sharp), яке використовується для підтримки росту більшості родів молочнокислих бактерій. MRS середовище застосовують у двох варіаціях MRS-бульйон та MRS-агар. Основна різниця полягає у відсутності агар-агару в переліку інгредієнтів для приготування середовища MRS-бульйону [80].

Середовище MRS зазвичай містить джерело вуглецю (декстроза, сахароза, мальтоза або лактоза), джерело азоту (пептон, дріжджовий екстракт, екстракт яловичини або сироватковий білок), мінерали (переважно Mn^{2+} і Mg^{2+}) і буферні агенти (такі як ацетат натрію та гліцерофосфат натрію). Джерела вуглецю та азоту використовують як енергію, мінерали стимулюють ріст та покращують виживання бактерій, буферні розчини підтримують pH на оптимальному рівні. Крім того, до складу середовища входять поверхнево-активні речовини, такі як лецитин або твін 80, які захищають клітини від несприятливих умов, покращують засвоєння поживних речовин і прискорюють ріст [80].

Приготування MRS-бульйону та MRS-агару

Для біосинтезу наночасток міді за допомогою супернатанту культуральної рідини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 використовували MRS-бульйон як основне поживне середовище для росту бактерій, тоді як MRS-агар готували для контролю чистоти культури.

У приготуванні обох середовищ користувалися зневодненим стандартизованим середовищем компанії HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Індія.

Для MRS-бульйону зважили 55,15 г та розвели у 1 л дистильованої води. Потім ретельно перемішали та розподілили по стерильних колбах.

Для MRS-агару в 1 літрі дистильованої води розчинили 67,2 г середовища з агаром. Після цього перемішали та розлили в стерильні колби, які нагрівали на водяній бані до повного розчинення агар-агару.

Обидва середовища стерилізували в автоклаві під тиском 1,1 атм ($121 \pm 1^\circ\text{C}$) протягом 15 хвилин. Після автоклавування агаризоване середовище охолодили до $45 - 50^\circ\text{C}$, обережно перемішали та асептично розлили в стерильні чашки Петрі.

Як результат, кінцеві середовища були бурштинового кольору з рН в межах від 6,2 – 6,4 та зберігалися за температури $8 - 25^\circ\text{C}$ до використання.

2.2 Загальний опис досліджуваних тест-культур

Для оцінки протигрибкової активності отриманих наночасток міді як тест-культури було обрано *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50718, надані відділом фізіології і систематики мікроміцетів Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України. Вони викликають масові ураження різних сільськогосподарських культур, що призводить до втрат урожаю та має негативний вплив на економічну стабільність агровиробництва.

Характеристика *Botrytis cinerea* 16884

Botrytis cinerea, грибок сірої плісняви, є агресивним рослинним патогеном, який вражає понад 500 видів дводольних рослин, переважно їх надземні частини. Гриб вважається найкраще вивченим представником роду *Botrytis* [81]. У більшості випадків *B. cinerea* поводить себе як некротроф, оскільки він убиває рослинну клітину до того, як починає розкладати рослинну тканину для власного живлення та розмноження. Життєвий цикл гриба охоплює декілька морфологічних форм, які забезпечують йому ефективне поширення та виживання. Гриб розвивається у формі вегетативного міцелію, що колонізує тканини рослин. *B. cinerea* утворює макроконідії для розповсюдження в літній період, а також – склероції для тривалого виживання в несприятливих умовах. Також, необхідно зазначити, що він росте в умовах підвищеної вологості та помірних температур (не вище 30°C). На щільних поживних середовищах колонії *B. cinerea* мають світло-попелястий колір з оксамитовою текстурою (рис. 2.2) [82, 83].



Рис. 2.2 Колонія *B. cinerea* 16884 на середовищі Сабуро в чашці Петрі

Через широкий спектр рослин-господарів дуже важко оцінити шкоду від *B. cinerea*, проте вона має бути величезною, оскільки зараження може відбуватися від стадії розсади до дозрівання продукту [81].

Таксономічний статус *Botrytis cinerea* 16884 [84]:

Царство: *Fungi*

Тип: *Ascomycota*

Клас: *Leotiomycetes*

Порядок: *Helotiales*

Родина: *Sclerotiniaceae*

Рід: *Botrytis*

Вид: *cinerea*

Штам: 16884

Характеристика *Fusarium solani* 50718

Fusarium solani є патогеном, який вражає велику кількість рослин-господарів, зокрема овочеві, фруктові та декоративні культури. Він здебільшого пов'язаний з формуванням виразок та гнилі на уражених органах рослин. Крім рослин, він патогенний для людей, оскільки був виділений з очей, нігтів та шкіри людей. Гриб характеризується швидким ростом та найкраще розвивається у вологому середовищі при температурі від 0 до 37 °C. На агаризованому

середовищі колонії *F. solani* мають ватну текстуру з білим або кремовим кольором (рис. 2.3) [85, 86].



Рис. 2.3 Колонії *F. solani* 50718 на середовищі Сабуро в чашці Петрі

У його життєвому циклі формуються три типи спор, включаючи макроконідії (нестатеві багатоклітинні спори), мікроконідії (одноклітинні спори), а також хламідоспори (товстостінні нестатеві спори). *F. solani* виживає у несприятливих умовах, наприклад взимку, завдяки хламідоспорам. Крім того, він здатний утворювати склероції, які зберігають здатність гриба до проростання у абсолютно сухому середовищі. У певних випадках може переходити в ендofітний стан, колонізуючи рослинні тканини без прояву видимих ознак хвороби [85, 86].

Таксономічний статус *Fusarium solani* 50718 [87]:

Царство: *Fungi*

Тип: *Ascomycota*

Клас: *Sordariomycetes*

Порядок: *Hypocreales*

Родина: *Nectriaceae*

Рід: *Fusarium*

Вид: *solani*

Штам: 50718

Середовище для вирощування тест-культур

Для культивування досліджуваних тест-культур *Fusarium solani* 50718 та *Botrytis cinerea* 16884 використовували поживне середовище Сабуро, яке є оптимальним для росту цвілевих грибів та дріжджів. До складу агару Сабуро входить ферментативний пептон, 4%-ва глюкоза та агар-агар. У середовищі не розвивається небажана мікрофлора завдяки слабкокислому значенню рН $5,6 \pm 0,2$.

Приготування середовища Сабуро

Для приготування агару Сабуро використовували сухе поживне середовище ТОВ «Фармлаб». В 1 літрі дистильованої води розчиняли 65 г зневодненого середовища Сабуро та ретельно перемішували. Потім отриманий розчин розливали у стерильні колби та нагрівали на водяній бані до повного розчинення агар-агару. Стерилізацію здійснювали в автоклаві при температурі $121 \pm 1^\circ\text{C}$ (тиск 1,1 атм) протягом 15 хвилин. Після охолодження середовища до температури $45 - 50^\circ\text{C}$ його розлили у стерильні чашки Петрі в асептичних умовах. Готове поживне середовище мало однорідну консистенцію та характерне жовто-брунатне забарвлення. До моменту використання середовище зберігали за температури $8 - 25^\circ\text{C}$.

2.3 Підготовка біологічних субстратів для отримання наноміді

Для проведення біогенного синтезу наночасток міді здійснювали підготовку різних біологічних субстратів, включаючи водний екстракт з гілок смородини, розчин сусла, водний, спиртовий і буферний екстракти з макухи соняшнику, розчин меляси, супернатант культуральної рідини мікробної асоціації SCOVY та *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691.

Приготування супернатанту культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691

Для отримання культурального супернатанту 0,1 г ліофілізованої культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 розчинили в 9 мл фізіологічного розчину. Отриману суспензію перенесли в 9 мл MRS-бульйону та інкубували протягом 48

годин при температурі $37 \pm 1^\circ\text{C}$ з безперервним перемішуванням 160 об/хв. Після цього культуру першого покоління інокулювали у свіжий MRS-бульйон та культивували за аналогічних умов. Цю процедуру повторювали ще раз, щоб отримати культуру третього покоління, яку потім центрифугували при 4000 об/хв упродовж 20 хв для отримання супернатанту.

Приготування розчину сусла

Сусло – стандартне ферментаційне середовище, яке використовується для культивування пивних дріжджів. Воно є джерелом вуглеводів (глюкози, мальтози, сахарози, неферментованих декстринів), азотистих речовин (амінокислот, пептидів, аміаку, білків), вітамінів, мінералів, неорганічних іонів, жирних кислот, мікроелементів та багатьох інших біологічно активних сполук [88].

Для проведення синтезу наноміди ми використовували стерильне сусло, яке надало ПрАТ «Калсберг Україна», без будь-якої додаткової обробки.

Приготування супернатанту культуральної рідини асоціації SCOBY

Супернатант мікробної асоціації SCOBY – надосадова рідина, отримана після відокремлення клітинної біомаси мікробної асоціації симбіотичних культур бактерій і дріжджів. У складі цієї рідини багато біоактивних сполук, що утворилися в процесі життєдіяльності мікробної асоціації SCOBY, включаючи вітаміни, ферменти, органічні кислоти, антимікробні білки, та поліфеноли [89].

Для одержання супернатанту культивували мікробну асоціацію SCOBY у підсолоджену чайному середовищі при $30 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 7 діб. Після періоду інкубації отриману біомасу асоціації SCOBY відокремлювали шляхом центрифугування культуральної рідини при 4000 об/хв упродовж 15 – 20 хв.

Приготування розчину меляси

Меляса – коричнева, густа, сиропоподібна рідина, що залишається після завершення процесу екстракції цукру, коли подальше виділення сахарози шляхом кристалізації вже неможливе. До складу меляси входять такі органічні

сполуки, як моносахариди, олігосахариди, полісахариди, білки, органічні кислоти, а також неорганічні елементи (калій, кальцій, хлор та сірка) [90].

Для синтезу наночасток міді використовували 1%-вий розчин меляси. Для цього зважили 1 г меляси і внесли у 100 мл дистильованої води. Після чого ретельно перемішали за допомогою магнітної мішалки до повного розчинення.

Приготування екстракту з гілок смородини

Екстракт з гілок смородини багатий різноманітними біоактивними сполуками, включаючи поліфеноли, вітаміни, терпени, органічні кислоти та інші дуже важливі фітохімічні речовини [91].

Для одержання екстракту зібрані гілки смородини ретельно очистили та подрібнили. Взяли 10 г подрібненої рослинної сировини та залили 100 мл дистильованої води. Суміш нагрівали на водяній бані при температурі $90\pm 1^{\circ}\text{C}$ упродовж 30 хвилин. Після цього охолодили до температури $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, а потім профільтрували через паперовий фільтр.

Приготування екстрактів з макухи соняшнику

Соняшникова макуха – побічний продукт, що отримується після екстракції олії з насіння соняшника. У складі макухи соняшнику містяться такі сполуки, як незамінні амінокислоти, мінерали та вітаміни, а саме фосфор, тіамін, нікотинова, пантотенова кислоти та рибофлавін [92].

Для приготування екстракту з макухи соняшнику відважували 20 г вихідної сировини та перетирали у ступці до однорідної суміші. У отриманий гомогенат додали 250 мл дистильованої води. Суміш нагрівали на водяній бані при температурі $90\pm 1^{\circ}\text{C}$ упродовж 30 хвилин. Після охолодження до температури $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ розчин профільтрували через фільтрувальний папір.

Окрім водного, у межах наукової роботи готували спиртовий та буферний екстракти для порівняльного аналізу їх впливу на процес синтезу наноміді. Процедура підготовки кожного з екстрактів відповідала раніше описаній методиці з відповідною заміною розчинника (на етиловий спирт або фосфатно-сольовий буфер).

2.4 Біогенний синтез наноміді за допомогою різних біологічних субстратів

У рамках наукової роботи було здійснено біогенний синтез наноміді за допомогою різних біологічних субстратів. Зокрема, для синтезу використовували водний екстракт з гілок смородини, розчин сусла, водний, буферний, спиртовий екстракти з макухи соняшнику, розчин меляси, супернатант культурального середовища *L. acidophilus* УКМ В-2691 та мікробної асоціації SCOBY. У процесі синтезу змінювали тип солі міді, значення рН, тип розчинника екстракту та його об'єм. Такий підхід дозволив дослідити вплив різних чинників на ефективність утворення наноміді та її характеристики.

Синтез наноміді за допомогою супернатанту *L. acidophilus* УКМ В-2691 з різними солями міді

Для синтезу CuNPs використовували попередньо приготовлений супернатант культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 (див. розд. 2.3). Надосадову рідину розподіляли у пробірки та змінювали рН середовища на 9 та 13 за допомогою розчину NaOH. Далі до кожної пробірки з відповідним рівнем рН додали одну з солей міді (CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$) у концентрації 100 мМ. Синтез наноміді проводили при температурі $50 \pm 1^\circ\text{C}$ в термостаті протягом 24 годин.

Синтез наноміді за допомогою альтернативних біологічних субстратів

Для синтезу наноміді використовували попередньо підготовлені біологічні середовища (див. розд. 2.3), зокрема розчин сусла, 1%-вий розчин меляси, супернатант асоціації SCOBY, водні екстракти з макухи соняшника та гілок смородини. Кожне середовище вносили в окрему пробірку та коригували значення рН до 9 за допомогою розчину NaOH. Потім у всі пробірки додали сульфат міді у концентрації 100 мМ. Для забезпечення синтезу наночасток міді зразки інкубували за температури $50 \pm 1^\circ\text{C}$ упродовж 24 годин.

Синтез наночастинок міді при використанні різних типів екстрактів з макухи соняшнику

Для біогенного синтезу наночастинок міді використовували попередньо підготовлені водний, спиртовий, та буферний екстракти з макухи соняшнику (див. розд. 2.3). Екстракти вносили у окремі пробірки та змінювали значення рН до 9 за допомогою розчину NaOH. Потім до кожної пробірки додали сульфат міді у концентрації 100 мМ. Для отримання наноміді реакційні суміші інкубували при температурі $50 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 годин.

Синтез наночастинок міді за різних співвідношень частин розчину солі міді до екстракту

Для проведення синтезу наноміді використовували різні співвідношення частин 100 мМ розчину сульфату міді до водного екстракту з соняшnikової макухи, зокрема 2:3, 3:2, 1:4, 4:1 відповідно. Після змішування компонентів значення рН середовища змінювали до 9. Процес отримання наночастинок міді проводили в термостаті при температурі $50 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 годин.

2.5 Характеристика отриманих наночастинок міді

Після проведення біогенного синтезу наночастинок міді виникла необхідність підтвердити утворення наноміді у всіх дослідних зразках. З цією метою ми застосували кілька доступних методів аналізу, зокрема ультрафіолетову та фотонно-кореляційну спектроскопію.

2.5.1 УФ-спектроскопія

Спектрофотометричний аналіз є ключовим методом для визначення концентрації частинок у розчині за допомогою спектрофотометра. Його принцип заснований на вимірюванні інтенсивності забарвлення розчину досліджуваної речовини шляхом порівняння її з інтенсивністю забарвлення еталону [93].

Усі дослідні зразки аналізували на наявність CuNPs за допомогою УФ-спектрофотометра ULAB 102 UV. Їх оптичну густину вимірювали у межах

довжин хвиль 260 – 500 нм проти дистильованої води, як контролю. Зазначений ультрафіолетовий діапазон було обрано на основі літературних даних, що вказують на характерний максимум поверхневого плазмонного резонансу наночасток міді саме в цьому спектрі. Результати вимірювань використовували для побудови графіків залежності оптичної густини від довжини хвилі.

Необхідно зазначити, що перед вимірюваннями прилад був відкалібрований шляхом застосування функції автоматичного калібрування відповідно до правил експлуатації обладнання.

2.5.2 Фотонно-кореляційна спектроскопія

Динамічне розсіювання світла, також відоме як фотонно-кореляційна спектроскопія, є ефективним методом для визначення гідродинамічного розміру частинок у колоїдних системах. Техніка базується на аналізі броунівського руху частинок у розчині, який виникає внаслідок зіткнення з молекулами розчинника. Швидкість цього руху обернено пропорційна до розміру частинок, зокрема менші частинки рухаються швидше, а більші – повільніше. Відповідно, дослідження змін інтенсивності розсіяного світла у часі дозволяє розрахувати діаметр частинок [94].

Для визначення розміру наночасток міді використовували аналізатор BeNano 90 Zeta. Перед аналізом зразки підігріли в термостаті при $25 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 2 хвилин для досягнення температурної рівноваги. Потім кожен зразок вимірювали тричі, щоб отримати більш перевірені результати. Як наслідок, фіксувалися такі дані, як розмір наночасток (Size, d.nm), площа їх розподілу в розчині (Area, %), коефіцієнт варіації (CV, %) та індекс полідисперсності (PdI).

2.6 Дослідження протигрибкової активності наноміді на тест-культури

Для оцінки протигрибкової активності синтезованих наночасток міді використовували фітопатогенні тест-культури *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50966.

Техніка «отруєної їжі»

Техніка «отруєної їжі» – це антимікробний метод скринінгу, який передбачає змішування досліджуваної сполуки з поживним середовищем, куди потім поміщають певний мікроорганізм. Після цього оцінюють пригнічення росту тест-культур [95].

Досліджені тест-культури *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50966 інокулювали на чашки Петрі з поживним середовищем Сабуро та інкубували при температурі $25\pm 1^\circ\text{C}$ упродовж 7 діб. Після цього отримані наночастки міді (0,78 – 60,52 нм) з концентрацією 100 мМ вносили у стерильне середовище Сабуро для отримання кінцевих концентрацій 0,1, 1 та 10 мМ. Потім міцеліальний диск діаметром 5 мм вирізали із периферії семиденних культур та асептично інокулювали на отруєне наночастками середовище. Як контроль слугували чашки Петрі з середовищем Сабуро інокульовані тест-культурами без додавання наноміді. Для дослідження впливу наночасток міді на мікроміцети *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50966 вимірювали діаметр їх колоній на 2-гу та 6-ту добу інкубації при температурі $25\pm 1^\circ\text{C}$. А також, розраховували відсоток пригнічення міцелію за формулою (2.1):

$$\frac{D_0 - D_1}{D_0} \times 100 \%, \quad (2.1)$$

де D_0 – діаметр росту в контролі, мм;

D_1 – діаметр росту в досліді, мм.

Отримані результати використовували для побудови гістограм, що відображають залежність відсотка інгібування росту грибів від концентрації наночасток міді.

2.7 Статистичний аналіз даних

Значення розміру наночастинок (Size, d.nm), площі їх розподілу в розчині (Area, %), коефіцієнту варіації (CV, %) та індексу полідисперсності (PdI) були визначені відразу за допомогою приладу BeNano 90 Zeta. Статистичну обробку

даних щодо протигрибкової дії наночасток міді на тест-культури *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50966 проводили з використанням програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2016 та представили у вигляді гістограм.

Висновки до розділу 2

У даному розділі представлено характеристику біологічних субстратів, що використовувалися для біогенного синтезу наночасток міді. Зокрема, розглянуто морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості штаму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691. Також наведено методики їх приготування, включаючи, водний екстракт з гілок смородини, розчин сусла, 1%-вий розчин м'яси, водний, спиртовий, буферний екстракти з макухи соняшника, супернатант культурального середовища *L. acidophilus* УКМ В-2691 та мікробної асоціації SCOBY. Крім того, описано варіанти синтезу наночасток міді та методи їх аналізу, а саме ультрафіолетову та фотонно-кореляційну спектроскопію. На додаток до цього було детально викладено методику дослідження протигрибкової активності синтезованих наночастинок міді відносно фітопатогенних тест-культур *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50966.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Біогенний синтез наноміді за допомогою супернатанту культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 з різними солями міді

На MRS-бульйоні вирощували культуру *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 для отримання супернатанту культуральної рідини (див. розд. 2.3). Потім у надосадову рідину вносили солі міді CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ у концентрації 100 мМ. Значення рН змінювали до 9 та 13 за допомогою NaOH , оскільки формування наночасток міді не відбувається за кислого рН. Зразки інкубували за температури $50 \pm 1^\circ\text{C}$ упродовж 24 годин.

Згідно з даними дослідження (у табл. 3.1), усі солі міді перейшли у наночастки та субмікронні частинки міді за зазначених умов синтезу. Отримані колоїдні частинки міді були охарактеризовані за допомогою BeNano 90 Zeta.

Проаналізувавши всі зазначені вище дані, можна зробити висновок, що за правильно підібраних нами параметрів синтезу, зокрема рН, температури, часу інкубації, утворюються CuNPs з різними солями міді. Проте при значенні рН 13 більшість з них об'єднуються в агрегати, що збільшує їх розміри. Тож оптимальні результати ми отримали зі сульфатом та нітратом міді при значенні рН 9, оскільки розміри наночасток у їх колоїдних системах становили 1,06 і 57,08 нм, та 0,78 і 60,52 нм відповідно. Однак у літературних даних використовують найчастіше CuSO_4 , тому в подальших дослідженнях ми застосовували саме її для синтезу наночасток міді.

3.2 Біогенний синтез наноміді за допомогою альтернативних біологічних субстратів

Таким чином, враховуючи всі результати дослідження, встановлено, що на зазначених біологічних субстратах синтезуються колоїдні частинки міді

розміром понад 100 нм. Однак, на екстракті з макухи соняшнику було зафіксовано наночастки міді розміром 18,11 нм в невеликій кількості (4,29%). Тож у подальших дослідженнях ми використовували саме цей екстракт для отримання більш точних даних, які б покращили цей синтез CuNPs. Для формування наночастинок міді на решті біологічних субстратах необхідно провести синтез CuNPs за інших технологічних параметрів процесу, зокрема температури та рН.

3.3 Біогенний синтез наноміді за допомогою різних екстрактів з макухи соняшнику

3.3.1 Синтез наноміді при використанні різних типів екстрактів

Отже, аналізуючи отримані результати, нами було визначено, що водний екстракт з макухи соняшнику виявився найбільш ефективним у синтезі наночастинок міді. У цьому екстракті фіксувалися колоїдні частинки розміром 379,79 нм, а також наночастки розміром 32,54 нм, що займають 5,72% від загальної площі. Проте, попри їх малий розмір, вони мали найгіршу стабільність порівняно з колоїдними частинками більшого розміру на спиртових та буферних екстрактах. Однак, використання спиртових та буферних екстрактів є економічно недоцільним, тому у подальших дослідженнях ми застосовували водний екстракт.

3.3.2 Синтез наноміді за різних співвідношень частин розчину солі міді до екстракту

Таким чином, в результаті нашого дослідження, встановлено, що крім температури та значення рН, утворення наночастинок міді значною мірою залежить від співвідношення частин розчину солі міді до екстракту. Оптимальний результат, ми отримали у четвертому зразку з найменшою

кількістю екстракту, що сприяє утворенню колоїдних частинок малого розміру 19,65 нм в невеликій кількості (1,79%). Проте, якість отриманих наночастинок міді була не задовільною, порівняно з більшими частками в інших зразках, на що вказує значення коефіцієнта варіації (30,75%) та індексу полідисперсності (0,342). Тому для досягнення бажаного результату, а саме стабільних та однорідних наночастинок міді, необхідна подальша оптимізація співвідношення компонентів, можливо зі зміною умов реакції.

3.4 Протигрибкова активність наноміді на мікроміцети

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що *B. cinerea* 16884 є чутливим до дії наноміді при всіх концентраціях, проте найкраще (80% та 44%) при 10 мМ як на 6-ту, так і на 12-ту добу відповідно. Однак для впливу CuNPs на морфологію гриба потрібен певний час, оскільки тільки на дванадцятий день відзначались суттєві зміни в міцелії. Щодо *Fusarium solani* 50718, встановлено, що наночастки міді майже ніяк не впливають на ріст міцелію, так як фіксувалося лише мінімальне інгібування (14%) на шосту добу при 0,1 мМ, а на дванадцятую – 11% при 0,1 мМ та 1 мМ. Проте *F. solani* 50718 мав значні морфологічні зміни при всіх досліджуваних концентраціях наноміді на ранніх і пізніх стадіях культивування.

Висновки до розділу 3

У межах наукової роботи було випробувано декілька варіантів біогенного синтезу CuNPs із використанням різних біологічних субстратів, зокрема водного екстракту з гілок смородини, розчину сусла, 1%-вого розчину меляси, водних, спиртових, буферних екстрактів з макухи соняшнику, супернатанту культурального середовища *L. acidophilus* УКМ В-2691 та асоціації SCOBY. З огляду на візуальні показники, поява характерного темно-зеленого кольору, та отримані результати розмірів колоїдних частинок дозволило визначити найефективніший субстрат. Найменші розміри наночастинок були зафіксовані

саме у зразках з надосадовою рідиною *L. acidophilus* УКМ В-2691. Для інших біологічних субстратів необхідні подальші дослідження для визначення більш оптимальних умов синтезу. Параметри процесу, такі як рН, температура, концентрація солей міді, тип та кількість біосубстрату, суттєво впливають на ефективність формування наночастинок міді та їх фізико-хімічні характеристики.

Також, синтезовані наночастки міді проявили протигрибкову дію щодо фітопатогенних грибів *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50718, про що свідчить зменшення росту міцелію та його морфологічні зміни. Проте, враховуючи отримані результати, визначено, що в залежності від виду мікроміцету спостерігається різний вплив CuNPs. Можливо така поведінка пов'язана з особливістю будови та метаболізму кожного гриба. Тому виникає потреба провести подальші дослідження, щоб краще зрозуміти як наномідь впливає на гриби та наскільки ефективно її можна використовувати як протигрибковий засіб.

ВИСНОВКИ

1. У синтезі CuNPs з різними солями міді (CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$) оптимальні результати було отримано у зразках із сульфатом та нітратом міді при значенні pH 9, оскільки розміри наночастинок у їх колоїдних системах становили 1,06 і 57,08 нм, та 0,78 і 60,52 нм відповідно.

2. Більшість біологічних субстратів забезпечують формування колоїдних частинок міді розміром понад 100 нм. Проте все ж на водному екстракті з макухи соняшнику було зафіксовано CuNPs розміром 18,11 нм в невеликій кількості (4,29%). Надалі використовували саме цей екстракт, як найбільш ефективний. Процес синтезу наноміді з інших біосубстратів потребує подальшої оптимізації.

3. Водний екстракт з макухи соняшнику виявився найбільш ефективним у синтезі CuNPs, оскільки там фіксувалися наночастки розміром 32,54 нм, хоча й у незначній кількості (5,72%). Незважаючи на кращу стабільність колоїдних частинок, отриманих на спиртових і буферних екстрактах, через економічну недоцільність їх використання надалі застосовували водний екстракт.

4. При зміні співвідношення частин розчину сульфату міді до екстракту оптимальний результат було отримано у зразку з найменшою кількістю екстракту, де утворилися CuNPs розміром 19,65 нм у невеликій кількості (1,79%). Однак якість цих наночастинок міді була незадовільною через високий коефіцієнт варіації (30,75%) та індекс полідисперсності (0,342), що вказує на необхідність подальшої оптимізації співвідношення компонентів, можливо зі зміною умов реакції.

5. Синтезовані наночастки міді проявили протигрибкову дію щодо фітопатогенних грибів *Botrytis cinerea* 16884 та *Fusarium solani* 50718, про що свідчить зменшення росту міцелію та його морфологічні зміни. Проте, враховуючи отримані результати, визначено, що в залежності від виду мікроміцету спостерігається різний вплив CuNPs.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens / N. Pariona et al. *RSC advances*. 2019. Vol. 9, no. 33. P. 18835–18843. URL: <https://doi.org/10.1039/c9ra03110c>
2. Biogenic Synthesis of Copper Nanoparticles: A Systematic Review of Their Features and Main Applications / C. M. Luque-Jacobo et al. *Molecules*. 2023. Vol. 28, no. 12. P. 4838. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28124838>
3. Biogenic Synthesis of Copper Nanoparticles Using Bacterial Strains Isolated from an Antarctic Consortium Associated to a Psychrophilic Marine Ciliate: Characterization and Potential Application as Antimicrobial Agents / M. S. John et al. *Marine drugs*. 2021. Vol. 19, no. 5. P. 263. URL: <https://doi.org/10.3390/md19050263>
4. Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery / H. Daraee et al. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. 2014. Vol. 44, no. 1. P. 410–422. URL: <https://doi.org/10.3109/21691401.2014.955107>
5. Biogenic synthesis of copper nanoparticles and their biological applications: an overview / S. K. Raju et al. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2022. P. 8–26. URL: <https://doi.org/10.22159/ijpps.2022v14i3.43842>
6. Advances of Non-iron Metal Nanoparticles in Biomedicine / A. B. Nair et al. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*. 2021. Vol. 24. P. 41–61. URL: <https://doi.org/10.18433/jpps31434>
7. Preparation of copper nanoparticles coated cellulose films with antibacterial properties through one-step reduction / B. Jia et al. *ACS applied materials & interfaces*. 2012. Vol. 4, no. 6. P. 2897–2902. URL: <https://doi.org/10.1021/am3007609>
8. Woźniak-Budych M. J., Staszak K., Staszak M. Copper and Copper-Based Nanoparticles in Medicine—Perspectives and Challenges. *Molecules*. 2023. Vol. 28, no. 18. P. 6687. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28186687>
9. Crisan M. C., Teodora M., Lucian M. Copper Nanoparticles: Synthesis and Characterization, Physiology, Toxicity and Antimicrobial Applications. *Applied sciences*. 2021. Vol. 12, no. 1. P. 141. URL: <https://doi.org/10.3390/app12010141>

10. Biosynthesis of Copper Nanoparticles with Medicinal Plants Extracts: From Extraction Methods to Applications / A. Antonio-Pérez et al. *Micromachines*. 2023. Vol. 14, no. 10. P. 1882. URL: <https://doi.org/10.3390/mi14101882>
11. Copper nanoparticles biosynthesis by *Priestia megaterium* and its application as antibacterial and antitumor agents / S. H. Mohamed et al. *Scientific reports*. 2024. Vol. 14, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72598-3>
12. Synthesis of Copper Nanoparticles Stabilized with Organic Ligands and Their Antimicrobial Properties / N. Jardón-Maximino et al. *Polymers*. 2021. Vol. 13, no. 17. P. 2846. URL: <https://doi.org/10.3390/polym13172846>
13. Green and Traditional Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles—Comparative Study / O. P. Keabadile et al. *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, no. 12. P. 2502. URL: <https://doi.org/10.3390/nano10122502>
14. Green Synthesis and Characterization of Copper Nanoparticles Using *Fortunella margarita* Leaves / R. Amjad et al. *Polymers*. 2021. Vol. 13, no. 24. P. 4364. URL: <https://doi.org/10.3390/polym13244364>
15. Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biomedical application and environmental remediation / S. A. Akintelu et al. *Heliyon*. 2020. Vol. 6, no. 7. P. e04508. URL: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04508>
16. Green chemistry approach towards the synthesis of copper nanoparticles and its potential applications as therapeutic agents and environmental control / S. Adewale Akintelu et al. *Current research in green and sustainable chemistry*. 2021. P. 100176. URL: <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100176>
17. Copper Nanoparticle(CuNP's)Synthesis: A review of the various ways with Photocatalytic and Antibacterial Activity / I. A. Tito et al. *Oriental journal of chemistry*. 2021. Vol. 37, no. 5. P. 1030–1040. URL: <https://doi.org/10.13005/ojc/370503>
18. “Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants / V. V. Makarov et al. *Acta naturae*. 2014. Vol. 6, no. 1. P. 35–44. URL: <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-1-35-44>

19. Devaraji M., Thanikachalam P. V., Elumalai K. The potential of copper oxide nanoparticles in nanomedicine: A comprehensive review. *Biotechnology notes*. 2024. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2024.06.001>

20. Lactic acid bacteria for the synthesis of metals nanoparticles / N. Gregirchak et al. *Ukrainian food journal*. 2023. Vol. 12, no. 4. P. 599–626. URL: <https://doi.org/10.24263/2304-974x-2023-12-4-8>

21. Biosynthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Lactobacillus casei* Subsp. *Casei* and its Anticancer and Antibacterial Activities / M. Kouhkan et al. *Current nanoscience*. 2020. Vol. 16, no. 1. P. 101–111. URL: <https://doi.org/10.2174/1573413715666190318155801>

22. ‘Green’ synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation / J. Singh et al. *Journal of nanobiotechnology*. 2018. Vol. 16, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>

23. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications - An updated report / P. Kuppusamy et al. *Saudi pharmaceutical journal*. 2016. Vol. 24, no. 4. P. 473–484. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.11.013>

24. Plant-Based Biosynthesis of Copper/Copper Oxide Nanoparticles: An Update on Their Applications in Biomedicine, Mechanisms, and Toxicity / D. Letchumanan et al. *Biomolecules*. 2021. Vol. 11, no. 4. P. 564. URL: <https://doi.org/10.3390/biom11040564>

25. Biological Synthesis of Copper Nanoparticles Using Edible Plant *Allium monanthum*: Characterization of Antibacterial, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties Using In Silico Molecular Docking Analysis / H. S. Han et al. *Materials*. 2023. Vol. 16, no. 20. P. 6669. URL: <https://doi.org/10.3390/ma16206669>

26. Flower-Based Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications beyond Fragrance / H. Kumar et al. *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, no. 4. P. 766. URL: <https://doi.org/10.3390/nano10040766>

27. Mukhopadhyay R., Kazi J., Debnath M. C. Synthesis and characterization of copper nanoparticles stabilized with *Quisqualis indica* extract: Evaluation of its cytotoxicity and apoptosis in B16F10 melanoma cells. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2018. Vol. 97. P. 1373–1385. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.167>

28. Fruit Extract Mediated Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: A New Avenue in Pomology Applications / H. Kumar et al. *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, no. 22. P. 8458. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms21228458>

29. Synthesis of copper nanoparticles by a sonication-mediated method using *Malpighia glabra* fruit extract and their applications / T. D. Nguyen et al. *RSC advances*. 2024. Vol. 14, no. 46. P. 34119–34134. URL: <https://doi.org/10.1039/d4ra06087c>

30. Fruit peel bioactives, valorisation into nanoparticles and potential applications: A review / R. Suhag et al. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2022. P. 1–20. URL: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2043237>

31. Novel Microwave Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles and Appraisal of the Antibacterial Application / R. Rajamohan et al. *Micromachines*. 2023. Vol. 14, no. 2. P. 456. URL: <https://doi.org/10.3390/mi14020456>

32. Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using *Polyalthia longifolia* Roots and their Bioactivities Against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* / I. Maulana et al. *Journal of pharmacy and bioallied sciences*. 2024. URL: https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_1219_23

33. Green Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activities of Copper Nanoparticles from the Rhizomes Extract of *Picrorhiza kurroa* / V. Prakash et al. *Pharmaceutical nanotechnology*. 2021. Vol. 09. URL: <https://doi.org/10.2174/2211738509666210910142027>

34. Copper and Copper Nanoparticles Applications and Their Role against Infections: A Minireview / I. A. Ivanova et al. *Processes*. 2024. Vol. 12, no. 2. P. 352. URL: <https://doi.org/10.3390/pr12020352>

35. Green synthesis of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review / N. Chakraborty et al. *Green chemistry letters and reviews*. 2022. Vol. 15, no. 1. P. 187–215. URL: <https://doi.org/10.1080/17518253.2022.2025916>

36. Applications of Green Synthesized Metal Nanoparticles - a Review / S. Vijayaram et al. *Biological trace element research*. 2023. URL: <https://doi.org/10.1007/s12011-023-03645-9>

37. Kaur P., Thakur R., Chaudhury A. Biogenesis of copper nanoparticles using peel extract of *Punica granatum* and their antimicrobial activity against opportunistic pathogens. *Green chemistry letters and reviews*. 2016. Vol. 9, no. 1. P. 33–38. URL: <https://doi.org/10.1080/17518253.2016.1141238>

38. Salvatore M. M., Andolfi A. Phytopathogenic fungi and toxicity. *Toxins*. 2021. Vol. 13, no. 10. P. 689. URL: <https://doi.org/10.3390/toxins13100689>

39. Antifungal Activity of Copper Oxide Nanoparticles against Root Rot Disease in Cucumber / S. M. Kamel et al. *Journal of fungi*. 2022. Vol. 8, no. 9. P. 911. URL: <https://doi.org/10.3390/jof8090911>

40. Antifungal Potential of Nanostructured Crystalline Copper and Its Oxide Forms / A. F. Oussou-Azo et al. *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, no. 5. P. 1003. URL: <https://doi.org/10.3390/nano10051003>

41. Green Synthesis of Copper Nanoparticles, Characterization and Their Applications / S. Pavithran et al. *Journal of applied life sciences international*. 2020. P. 10–24. URL: <https://doi.org/10.9734/jalsi/2020/v23i730172>

42. Gomes I. B., Simões M., Simões L. C. Copper Surfaces in Biofilm Control. *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, no. 12. P. 2491. URL: <https://doi.org/10.3390/nano10122491>

43. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications / G. Ren et al. *International journal of antimicrobial agents*. 2009. Vol. 33, no. 6. P. 587–590. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004>

44. Anti-bacterial and anti-biofilm properties of green synthesized copper nanoparticles from *Cardiospermum halicacabum* leaf extract / P. Punniyakotti et al.

Bioprocess and biosystems engineering. 2020. Vol. 43, no. 9. P. 1649–1657. URL: <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02357-x>

45. Mitra D., Kang E.-T., Neoh K. G. Antimicrobial Copper-Based Materials and Coatings: Potential Multifaceted Biomedical Applications. *ACS applied materials & interfaces*. 2019. Vol. 12, no. 19. P. 21159–21182. URL: <https://doi.org/10.1021/acsami.9b17815>

46. Wang Y., Zhang W., Yao Q. Copper-based biomaterials for bone and cartilage tissue engineering. *Journal of orthopaedic translation*. 2021. Vol. 29. P. 60–71. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jot.2021.03.003>

47. Nano-copper-bearing stainless steel promotes fracture healing by accelerating the callus evolution process / L. Wang et al. *International journal of nanomedicine*. 2017. Vol. 12. P. 8443–8457. URL: <https://doi.org/10.2147/ijn.s146866>

48. Application of Copper Nanoparticles in Dentistry / V. W. Xu et al. *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12, no. 5. P. 805. URL: <https://doi.org/10.3390/nano12050805>

49. Evaluation of biofilm formation on novel copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC)-based resins for dental restoratives / S. Zajdowicz et al. *Dental materials*. 2018. Vol. 34, no. 4. P. 657–666. URL: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.01.011>

50. A Copper-Based Biosensor for Dual-Mode Glucose Detection / K. Li et al. *Frontiers in chemistry*. 2022. Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.861353>

51. A facile strategy for synthesis of porous Cu₂O nanospheres and application as nanozymes in colorimetric biosensing / Y. Zhu et al. *Journal of materials chemistry B*. 2021. Vol. 9, no. 16. P. 3533–3543. URL: <https://doi.org/10.1039/d0tb03005h>

52. Copper nanoparticles as an alternative feed additive in poultry diet: a review / A. Scott et al. *Nanotechnology reviews*. 2018. Vol. 7, no. 1. P. 69–93. URL: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2017-0159>

53. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry / I. Michalak et al. *Veterinary quarterly*. 2022. P. 1–37. URL: <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2073399>

54. Copper Nanoparticles as Growth Promoter, Antioxidant and Anti-Bacterial Agents in Poultry Nutrition: Prospects and Future Implications / M. Sharif et al. *Biological trace element research*. 2020. URL: <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02485-1>

55. Joshua P. P., Valli C., Balakrishnan V. Effect of in ovo supplementation of nanoforms of zinc, copper, and selenium on post-hatch performance of broiler chicken. *Veterinary world*. 2016. Vol. 9, no. 3. P. 287–294. URL: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.287-294>

56. In ovo administration of copper nanoparticles and copper sulfate positively influences chicken performance / N. Mroczek-Sosnowska et al. *Journal of the science of food and agriculture*. 2015. Vol. 96, no. 9. P. 3058–3062. URL: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7477>

57. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets / A. Gonzales-Eguia et al. *Livestock science*. 2009. Vol. 126, no. 1-3. P. 122–129. URL: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.06.009>

58. Nano-copper as a new growth promoter in the diet of growing new zealand white rabbits / A. Refaie et al. *Egyptian journal of rabbit science*. 2015. Vol. 25, no. 1. P. 39–57. URL: <https://doi.org/10.21608/ejrs.2015.46697>

59. Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities / M. Usman et al. *Science of the total environment*. 2020. Vol. 721. P. 137778. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137778>

60. Advancing sustainable agriculture: a critical review of smart and eco-friendly nanomaterial applications / S. R. Balusamy et al. *Journal of nanobiotechnology*. 2023. Vol. 21, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02135-3>

61. Exposure studies of core–shell Fe/Fe₃O₄ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard? / J. Trujillo-Reyes et al. *Journal of hazardous materials*. 2014. Vol. 267. P. 255–263. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.067>

62. Nanofertilizers towards sustainable agriculture and environment / M. R. Al-Mamun et al. *Environmental technology & innovation*. 2021. Vol. 23. P. 101658. URL: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101658>

63. Mondal K. K., Mani C. Investigation of the antibacterial properties of nanocopper against *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae*, the incitant of pomegranate bacterial blight. *Annals of microbiology*. 2011. Vol. 62, no. 2. P. 889–893. URL: <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0382-7>

64. Antifungal activity of biosynthesised copper nanoparticles evaluated against red root-rot disease in tea plants / P. Ponmurugan et al. *Journal of experimental nanoscience*. 2016. Vol. 11, no. 13. P. 1019–1031. URL: <https://doi.org/10.1080/17458080.2016.1184766>

65. Proteomic and physiological analyses of wheat seeds exposed to copper and iron nanoparticles / F. Yasmeen et al. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - proteins and proteomics*. 2017. Vol. 1865, no. 1. P. 28–42. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.10.001>

66. Shah V., Belozeroва I. Influence of Metal Nanoparticles on the Soil Microbial Community and Germination of Lettuce Seeds. *Water, air, and soil pollution*. 2008. Vol. 197, no. 1-4. P. 143–148. URL: <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9797-6>

67. Mahmood T. Potential of Copper Nanoparticles to Increase Growth and Yield of Wheat. *Journal of nanoscience with advanced technology*. 2015. Vol. 1, no. 1. P. 6–11. URL: <https://doi.org/10.24218/jnat.2015.02>

68. Nanoparticles: The Plant Saviour under Abiotic Stresses / M. F. Khalid et al. *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12, no. 21. P. 3915. URL: <https://doi.org/10.3390/nano12213915>

69. Applications of copper and silver nanoparticles on wheat plants to induce drought tolerance and increase yield / F. Ahmed et al. *IET nanobiotechnology*. 2021. Vol. 15, no. 1. P. 68–78. URL: <https://doi.org/10.1049/nbt2.12002>

70. Drought Stress Tolerance in Wheat and Barley: Advances in Physiology, Breeding and Genetics Research / A. Sallam et al. *International journal of molecular sciences*. 2019. Vol. 20, no. 13. P. 3137. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms20133137>

71. Role of Nanoparticles in Enhancing Crop Tolerance to Abiotic Stress: A Comprehensive Review / M. T. El-Saadony et al. *Frontiers in plant science*. 2022. Vol. 13. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.946717>

72. Green copper nanoparticles from a native *Klebsiella pneumoniae* strain alleviated oxidative stress impairment of wheat plants by reducing the chromium bioavailability and increasing the growth / M. Noman et al. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2020. Vol. 192. P. 110303. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110303>

73. Priming with copper-chitosan nanoparticles elicit tolerance against PEG-induced hyperosmotic stress and salinity in wheat / T. Farooq et al. *BMC chemistry*. 2022. Vol. 16, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s13065-022-00813-1>

74. The Functional Roles of *Lactobacillus acidophilus* in Different Physiological and Pathological Processes / H. Gao et al. *Journal of microbiology and biotechnology*. 2022. URL: <https://doi.org/10.4014/jmb.2205.05041>

75. Probiotic significance of *Lactobacillus* strains: a comprehensive review on health impacts, research gaps, and future prospects / A. B. Shah et al. *Gut microbes*. 2024. Vol. 16, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2431643>

76. Comparative Genomics and Specific Functional Characteristics Analysis of *Lactobacillus acidophilus* / Z. Huang et al. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9, no. 9. P. 1992. URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091992>

77. Health-Promoting Effects of *Lactobacillus acidophilus* and Its Technological Applications in Fermented Food Products and Beverages / Y. Liu et al. *Fermentation*. 2024. Vol. 10, no. 8. P. 380. URL: <https://doi.org/10.3390/fermentation10080380>

78. Systematic bacteriology / ed. by W. B. Whitman. New York, NY: Springer New York, 2009. URL: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5>

79. Штам бактерій *Lactobacillus acidophilus*, що використовується у виробництві заквашувальних культур для сичужних сирів : пат. 91417 Україна : МПК С 12 N 1/20, А 23С 19/00, А 23С 19/032 ; заявл. 16.10.2008 ; опубл. 26.07.2008 , Бюл. № 14. 5 с.

80. Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products / S. A. Hayek et al. *Journal of dairy research*. 2019. Vol. 86, no. 4. P. 490–502. URL: <https://doi.org/10.1017/s002202991900075x>

81. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology / R. Dean et al. *Molecular plant pathology*. 2012. Vol. 13, no. 4. P. 414–430. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>

82. Jakobija I., Bankina B. and Klūga A. Morphological variability of *Botrytis cinerea* – causal agent of Japanese quince grey mould. *Agronomy Research*. 2020. Vol. 18, no. 1. P. 127–136. URL: <https://doi.org/10.15159/AR.20.045>

83. Schumacher J. How light affects the life of *Botrytis*. *Fungal genetics and biology*. 2017. Vol. 106. P. 26–41. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2017.06.002>

84. *Botrytis*: biology, pathology and control / ed. by Y. Elad et al. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. URL: <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2626-3>

85. Андрющенко О. В., Страшнова І. В. Характеристика представників роду *Fusarium*, що викликають захворювання зернових культур. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2023. № 3. С 37–59

86. Srivastava S., Kadooka C., Uchida J. Y. *Fusarium species* as pathogen on orchids. *Microbiological research*. 2018. Vol. 207. P. 188–195. URL: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.002>

87. The *Fusarium* laboratory manual / ed. by J. F. Leslie, B. A. Summerell. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing, 2006. URL: <https://doi.org/10.1002/9780470278376>

88. Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer - a review / Y. He et al. *Journal of the institute of brewing*. 2014. Vol. 120, no. 3. P. 157–163. URL: <https://doi.org/10.1002/jib.145>

89. Antolak H., Piechota D., Kucharska A. Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants*. 2021. Vol. 10, no. 10. P. 1541. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>

90. Thermal Conversion Characteristics of Molasses / M. J. Dirbeba et al. *ACS omega*. 2021. Vol. 6, no. 33. P. 21631–21645. URL: <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03024>

91. Biomolecules and Natural Medicine Preparations: Analysis of New Sources of Bioactive Compounds from *Ribes* and *Rubus* spp. Buds / D. Donno et al. *Pharmaceuticals*. 2016. Vol. 9, no. 1. P. 7. URL: <https://doi.org/10.3390/ph9010007>

92. Petraru A., Ursachi F., Amariei S. Nutritional Characteristics Assessment of Sunflower Seeds, Oil and Cake. Perspective of Using Sunflower Oilcakes as a Functional Ingredient. *Plants*. 2021. Vol. 10, no. 11. P. 2487. URL: <https://doi.org/10.3390/plants10112487>

93. Applied spectrophotometry: Analysis of a biochemical mixture / T. A. Trumbo et al. *Biochemistry and molecular biology education*. 2013. Vol. 41, no. 4. P. 242–250. URL: <https://doi.org/10.1002/bmb.20694>

94. Stetefeld J., McKenna S. A., Patel T. R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical reviews*. 2016. Vol. 8, no. 4. P. 409–427. URL: <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>

95. Hossain T. J. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European journal of microbiology and immunology*. 2024. URL: <https://doi.org/10.1556/1886.2024.00035>

96. Antifungal Effect of Copper Nanoparticles against *Fusarium kuroshium*, an Obligate Symbiont of *Euwallacea kuroshio* Ambrosia Beetle / E. Ibarra-Laclette et al. *Journal of fungi*. 2022. Vol. 8, no. 4. P. 347. URL: <https://doi.org/10.3390/jof8040347>

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

**СИНТЕЗ НАНОЧАСТОК МІДІ
ЗА ДОПОМОГОЮ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ**
Гусейнова К.Е.¹, Косинська Т.В.¹, Федько М.М.^{1,2}, Волошина І.М.¹
¹ Київський національний університет технологій та дизайну,
м. Київ, Україна, ² ТОВ «Фармхім», м. Шостка, Україна
wlrn@ukr.net

Науковою революцією цього століття вважаються розробки в галузі нанотехнологій. Особливу роль у цих досягненнях відіграє отримання металевих наночастинок для контролю та виявлення їх можливого застосування й специфічних властивостей. Металеві наночастинок синтезуються за допомогою хімічного, фізичного та біологічного методів. Фізичні та хімічні способи є успішними у виробництві чистих і добре структурованих наночастинок. Однак ці методи вимагають значних витрат та передбачають використання небезпечних матеріалів, включаючи токсичні, корозійні та вибухові речовини. Потреба в пошуку альтернатив для синтезу наночастинок викликала інтерес до біологічних методів, які вважаються безпечними, екологічно чистими та мають особливу здатність виробляти наночастинок широкого спектра форм, розмірів і властивостей [1].

Зелений синтез наночастинок заснований на використанні екстрактів з різних частин рослини, наприклад листя, плоду, стебла, коріння тощо, та мікроорганізмів, таких як дріжджі, бактерії та гриби. Культивування, що потребує багато часу, і постійні стерильні умови, необхідні для створення наночастинок бактеріями, дріжджами або грибами, є суттєвими недоліками порівняно з синтезом наночастинок, опосередкованим рослинами [2]. Рослинні екстракти містять різноманітні сполуки, такі як білки, амінокислоти, органічні кислоти, вітаміни та вторинні метаболіти (флавоноїди, алкалоїди, поліфеноли, терпеноїди та гетероциклічні сполуки), що мають у своїй структурі гідроксильні, нітрильні, альдегідні, карбоксильні та аміногрупи. Ці функціональні групи забезпечують біологічні сполуки окислювально-відновною здатністю, що дозволяє їм виконувати роль відновлювачів та стабілізаторів у процесі біосинтезу наночастинок [3].

Біологічними методами синтезуються різноманітні металеві наночастинок, наприклад мідь, золото, срібло, цинк, платина тощо, проте особливу увагу привертає отримання CuNPs через їхню доступність та невисоку вартість. Згідно дослідженої літератури, утворення CuNPs відбувається із помітною зміною забарвлення екстракту при додаванні мідної солі, яка взаємодіє з біомолекулами рослинних екстрактів, відновлюючи іонні форми до нейтральних атомів, що зрештою призводить до формування наночастинок. Властивості наночастинок міді, такі як форма, розмір і якість, значною мірою залежать від таких параметрів, як рН, типу рослинного екстракту та його концентрації, часу інкубації, а також температури, при якій виникає реакція [2].

Продовження додатку А

CuNPs, біологічно синтезовані з використанням рослинних екстрактів, завдяки своїм інноваційним і регульованим властивостям, таким як висока площа поверхні, відмінна провідність, хімічна реакційна здатність, стабільність і окислення, користуються високим попитом в медицині, косметичній та харчовій промисловості, а також у сільському господарстві [4].

На сьогоднішній день, набуває актуальності застосування CuNPs в упаковці для продуктів харчування завдяки їх антибактеріальним та антифунгіцидним властивостям. Потенціал цих частинок пригнічувати ріст бактерій і грибків робить їх особливо перспективними для захисту свіжозрізаних, готових до вживання фруктів і овочів. Наноупаковка наноситься на продукти шляхом обгортання, занурення, нанесення щіткою або розпилення, щоб забезпечити бар'єр від проникнення газів, вологи та захист від механічних пошкоджень. Крім того, наночастинки міді були випробувані при розробці безпечних поверхонь для контакту з харчовими продуктами. Встановлено, що покриття цих частинок на скляних та нержавіючих поверхнях, які часто використовуються в харчовій промисловості, суттєво знижує бактеріальну адгезію. Однак використання наночастинок міді в харчовій промисловості залишається обмеженим через недостатнє вивчення їхнього токсичного впливу на здоров'я людини при контакті з шкірою, вдиханні або ковтанні [4].

Література:

1. Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., & Bukhari, A. Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 2020. 13(3): 223–245. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>.
2. Devaraji M., Thanikachalam P. V., Elumalai K. The potential of copper oxide nanoparticles in nanomedicine: a comprehensive review. *Biotechnology Notes*. 2024. 5:80-99. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2024.06.001>.
3. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi pharmaceutical J*. 2016. 24(4): 473–484. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.11.013>.
4. Green synthesis of copper nanoparticles, characterization and their applications / S. Pavithran et al. *Journal of applied life sciences international*. 2020. 23 (7):10-24. <https://doi.org/10.9734/jalsi/2020/v23i730172>.

ДОДАТОК Б

Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині,
22 березня 2024 року, Харків

B. atrophacens 08 показало, що вона відмічалася вже з першої доби культивування за всіх досліджених температур, але найвища активність спостерігалась за температури 28 °С незалежно від доби культивування. Максимальною еластична активність була на 2 добу культивування і складала 35.6 од/мл. Фібриногенолітичну активність також спостерігали за всіх досліджених температур протягом всього періоду культивування. Але оптимальною температурою культивування *B. atrophacens* 08 для досягнення максимальної фібриногенолітичної активності була температури 12°С, 3 доба культивування (25.0 од/мл). Вивчення впливу температури культивування на колагеназну активність *B. atrophacens* 08 показало, що вона незначна, максимальний її рівень (0.1 од/мл) досягається на 2 добу культивування за температури 28 °С. Дослідження впливу температури вирощування *B. licheniformis* 043 в динаміці показало, що максимальна еластична активність відмічалася за температури 28°С на четверту добу культивування. Так, найбільша фібриногенолітична активність була за температури 42° С впродовж всього періоду культивування. Зменшення температури вирощування *B. licheniformis* 043 сприяло суттєвому зниженню активності. Вивчення рівня колагеназної активності *B. licheniformis* 043 (7) показало, що найвищі її значення були за температури 28°С.

Таким чином, температура культивування мікроорганізмів відіграє суттєву роль для досягнення максимального синтезу протеолітичних ензимів.

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОЧАСТОК МІДІ

Гусейнова К.Е., Косинська Т.В., Писаренко П.О., Волошина І.М.

Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна
i_woloschina@yahoo.com

Мікроорганізми, які викликають бактеріальні інфекції, є небезпечними для життя патогенами. Тим не менш, можливості лікування для пацієнтів стають все більш обмеженими через підвищення стійкості до антибактеріальних препаратів. В даний час однією із актуальних тем дослідження є створення нових методів боротьби з мікробними агентами. Завдяки низькій вартості, біологічній активності та екологічній безпеці, наночастки міді розглядаються як перспективні антибактеріальні засоби. Встановлено, що наномідь проявляє потужні протимікробні властивості на грампозитивні (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) та грамнегативні (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter*) бактерії.

Антимікробну активність визначали за допомогою аналізу відношення резистентності натрію на тест-культури *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* PA01, *B. subtilis* B-901 з подальшим спектрофотометричним дослідженням при довжині хвилі 570 нм з використанням еталонної довжини хвилі 630 нм на універсальному УФ-рідері для мікропланшетів HPPO 96 (Biosan,

Продовження додатку Б

Науково-практична міжнародна дистанційна конференція,
Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині,
22 березня 2024 року, Харків

Латвія). Далі обчислювали кількість живих клітин в дослідних зразках відносно контролю у відсотках.

Проаналізувавши отримані результати, можемо сказати, що CuNPs (97,5 нм) проявляє свої антимікробні властивості у концентрації 0,1 Мм та 10 Мм на всі досліджувані тест-культури, а саме *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* В-901, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* PA01. Вплив концентрації 0,1 мМ добре пригнічує ріст *P. aeruginosa* PA01, тому що кількість живих клітин становила 6,7% з CuNPs та 25,2% з CuSO₄. При тестуванні *B. subtilis* В-901, *E. coli* ATCC 25922, пригнічення росту в рамках вказаної концентрації (0,1 мМ) помірний – в середньому 75-80% та 50-67% живих клітин відповідно. У ситуації із *S. aureus* ATCC 25923 в цій концентрації ефективно себе показав препарат наночастинок – всього 7,5% живих клітин збудника, тоді як сіль цієї ж концентрації подіяла майже у 10 разів гірше (72% живих клітин). Дослідження показали, що CuNPs мають хороші антибактеріальні властивості. Однак, чутливість бактерій до наноміді залежить від розміру, концентрації частинок та структури стінки бактеріальної клітини. Різні розміри та концентрації наночастинок міді показують успішне пригнічення росту бактерій, проте мінімальний розмір й більша концентрація CuNPs демонструють ширшу зону інгібування. Також, встановлено, що антимікробна дія наночастинок на бактерії зумовлена ефектом, спричиненим на рівні клітинної стінки.

Отже, багато досліджень показали, що наночастини міді мають чудові антимікробні властивості проти різних штамів бактерій. Згідно з цими результатами, антибактеріальні властивості наноміді дають можливість застосовувати її у покритті поверхонь, пов'язках на рани, очищенні води та створенні ліків проти бактерій, які стійкі до антибіотиків.

Етіологічна роль *CANDIDA ALBICANS* у виникненні запальних захворювань ЛОР-органів

Знір Г. І., Понайда К. В.

Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна
galynazvir@ukr.net

Захворювання ЛОР-органів становлять серйозну проблему сучасної клінічної медицини не тільки в Україні, але й у всьому світі. Основними збудниками мікотичних уражень є гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. В останні десятиліття набули важливого значення у клінічному сенсі представники роду *Candida*: *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. famata* тощо. Однак основним збудником запальних процесів залишаються гриби *C. albicans*.

Метою роботи було з'ясувати етіологічну роль *C. albicans* у виникненні запальних захворювань у пацієнтів ЛОР-відділення КНП "Володимирська

ДОДАТОК В

№ 00 611



Науково-практична
міжнародна дистанційна
конференція
«МІКРОБІОЛОГІЧНІ ТА
ІМУНОЛОГІЧНІ
ДОСЛІДЖЕННЯ В
СУЧАСНІЙ МЕДИЦИНІ»

Конференція зареєстрована у ДУ
«Український інститут науково-
технічної експертизи та інформації»,
посвідчення № 544 від 19 грудня 2023 року

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

Сертифікат

Цим засвідчується, що

Гусейнова К.Е.

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

22 березня 2024 р. м. Харків
Тривалість – 5 годин / 0,15 кредитів ЕКТС

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



І.М. Владимирова

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

Н.І. Філімонова

ДОДАТОК Г

свідати. Найменше розмаїття комбінацій кольорів та їх відтінків у отриманих гібридних рослинах.

Використання запропонованої техніки гібридизації у тютюсу розширює спектр модельних об'єктів для наукової роботи та навчальної ілюстрації різноманітних форм успадкування. Отримані результати безумовно є проміжними та потребують аналізу інших гібридних комбінацій.

ФУНГІЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОЧАСТИНОК МІДІ FUNGICIDAL PROPERTIES OF COPPER NANOPARTICLES

Гусейнова К. Е.¹, Потупа В.Ю.¹, Шкотова Л.В.², Волощина І.М.¹
Huseynova K.¹, Potupa V.¹, Shkotova L.², Voloshyna I.¹

¹Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, Україна
i_voloshyna@yahoo.com

Сільське господарство є ключовою галуззю в країнах світу, яке нерідко стикається з численними глобальними викликами. Найбільшою проблемою є шкідники та хвороби, спричинені комахами, бактеріями, грибами та іншими патогенами, присутніми в навколишньому середовищі. Зокрема, ряд мікроміцетів можуть призвести до різних захворювань агрономічних, садових, декоративних і лісових видів рослин. Мікроскопічні гриби мають здатність пристосовуватися до будь-якого середовища і можуть колонізувати різні субстрати навіть в екстремальних або нестабільних умовах довкілля. Крім того, вони діють на різних етапах розвитку культури, починаючи з посіву і закінчуючи післязбиральним періодом. Близько 70% захворювань рослин спричиняються грибами, наприклад *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert, 1834), що викликає захворювання сої, томатів, салату, квасолі та соевих бобів *Fusiclaria oryzae* (Heben, 1977), що викликає захворювання у зернових культур, таких як рис і пшениця, і *Alternaria alternata* (Keissler, 1912), яка є умовно-патогенним грибом, який має широкий ареал господаря, викликаючи плямистість листя та фітофтороз на багатьох частинах рослин [Conzolo et al. 2020]. Таким чином, необхідно контролювати ці мікроорганізми та застосовувати всі можливі способи у боротьбі з ними.

На сьогоднішній день, для захисту від фітопатогенних мікроміцетів використовуються агрохімічні препарати, які є дешевими і легко доступними на ринку. Однак, через нерациональне користування цими засобами, виникають різні проблеми, такі як забруднення навколишнього середовища, захворювання у людей і тварин, а також екологічний дисбаланс. Крім того, патогенні гриби рослин можуть адаптуватися до фунгіцидів шляхом мутацій, що призводить до втрати їх ефективності. Тому, на даний час, набуває популярності застосування наночастинок Си як потужного фунгіцидного агента, завдяки простоті використання та виробництва. Наномідь є екологічною та ефективною альтернативою для пригнічення шкідників рослин, моніторингу або виявлення хвороб рослин, а також для зменшення дози хімічних продуктів як пестицидів. На основі дослідженої літератури, було встановлено, що CuNPs можна використовувати як фунгіцидний засіб проти широкого спектру рослинних

Продовження додатку Г

грибів, таких як *Phoma destructiva* (Plowright, 1881), *Fusarium oxysporum* (Schlechtendal, 1824), *Alternaria alternata* (Keissler, 1912), *Fusarium solani* (Martius, 1831), *Penicillium italicum* (Wehner, 1894), *Penicillium digitatum* (Persoon, 1831) та *Rhizoctonia solani* (Kühn, 1858) [Rafona et al. 2019]. Хоча протигрибкова активність відрізняється для кожного виду гриба, було виявлено, що загалом фунгіциди для CuNPs включали пошкодження міцелію, пригнічення проростання спор гриба та внутрішньоклітинну продукцію АФК. До того ж, необхідно зазначити, що токсичність частинок міді залежить від комбінації декількох факторів, таких як концентрація, тривалість впливу, вологість і температура.

Отже, наночастинки міді мають помітні успіхи у використанні для боротьби з фітопатогенними грибами. Вони є більш ефективними у порівнянні зі значущими хімічними протигрибковими препаратами, завдяки своїм унікальним фізичним та хімічним властивостям, таким як велике співвідношення поверхні до об'єму, структурна стабільність та висока спорідненість до своєї мішені. Крім того, CuNPs мають тривалий токсичний ефект, тому їх не потрібно вносити часто, що ускладнює розвиток резистентності грибових патогенів рослин до них. Як наслідок, фунгіцидні властивості наноміді мають можливість застосовувати її як окремий матеріал у процесі виробництва комерційних фунгіцидів, а також для інтеграції з існуючими антигрибковими засобами.

**ДОСЛІДЖЕННЯ СОЛЕСТІЙКОСТІ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ РОСЛИН
ТЮТЮНУ (*NICOTIANA TABACUM* L.) З ДОДАТКОВОЮ КОПІЄЮ ГЕНА
ОРНИТИН-А-АМИНОТРАНСФЕРАЗИ
RESEARCH OF SALT TOLERANCE OF GENETICALLY MODIFIED TOBACCO
PLANTS (*NICOTIANA TABACUM* L.) WITH AN ADDITIONAL COPY OF THE
ORNITHINE-A-AMINOTRANSFERASE GENE**

Комісаренко А.Г., Михальська С.І., Михальський Л.О.

Komisarenko A.G., Mykhalska S.I., Mykhalskyi L.O.

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, Україна
all.komisarenko2017@gmail.com*

Негативні наслідки впливу кліматичних умов та збільшення населення у світі становлять виклик для рослинництва та продовольчої безпеки. Останнім часом стрімкими темпами для сільського господарства зростає загроза підвищеної засоленості. Причинами соляного стресу є зниження водного потенціалу в клітинах уражених рослин і надлишок іонів натрію, що негативно впливають на ключові шляхи прооксидативних процесів. Абіотичний стрес призводить до змін на фізіологічному та молекулярному рівнях, які впливають на розвиток і ріст рослин, що відображається на врожайності та втратах виробництва [Morgun et al. 2016; Sergusha et al. 2019; Raza et al. 2019].

Сучасні геномні дослідження розширили можливості покращення генетичного потенціалу культур, особливо тих властивостей, які мають відношення до абіотичного стресу. На сьогодні розроблені різні методи трансформації, за допомогою яких передаються гени, що здатні збільшити синтез окремих речовин. Зміни в метаболізмі трансгеновних рослин допомагають їм краще пристосовуватись до стресових умов [Dubrovina et al. 2022]. Так,

ДОДАТОК Д



ДОДАТОК Ж

ВПЛИВ CuNPs НА РІСТ ТА РОЗВИТОК ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР

Гусейнова К.Е., Петрух А.О., Давидюк Д.А., Волощина І.М.

*Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна**e-mail: i_woloschyyna@yahoo.com*

Зміна клімату має великий вплив на ріст і продуктивність рослин, спричиняючи різні біотичні та абіотичні стреси для них. До найбільш розповсюджених абіотичних стресів включають солоність, посуху, екстремально низькі та високі температури тощо. Їхній вплив на сільське господарство є причиною великомасштабних неврожаїв у різних частинах світу, що призводить до проблем з продовольчою безпекою. У зв'язку з цим надзвичайно важливим є пошук нових підходів для подолання цих проблем і досягнення стійкості рослин. Не випадково, останнім часом неабияка увага у наукових дослідженнях приділяється речовинам, які містять поживні елементи у нанорозмірному стані, а саме, наночастинкам металів (Khalid et al., 2022).

Зернові культури є досить чутливими до абіотичних стресів. На різних стадіях розвитку рослини реагують по-різному. Так, наприклад, нестача вологи та сухості у літній період спричиняють пожовтіння листя та засихання стебел, а у ранньовесняний час пригнічується проростання насіння та куціння, сході формуються слабкими, сильно зрідженими. Тому для боротьби з негативними наслідками абіотичного стресу доцільно застосовувати CuNPs, адже мідь є важливим мікроелементом для продовольчих культур. Найбільш інтенсивно вона засвоюється рослинами під час куціння та колосіння, активуючи вуглеводний і білковий обмін та беручи участь у формуванні репродуктивних органів (Матусевич, 2024). Наномідь використовується як нанофунгіцид та нанобактерицид, а також підвищує посухостійкість та солоностійкість зернових рослин. Крім того, було встановлено, що CuNPs мають здатність контактувати з оболонкою насіння, покращуючи його схожість, і як результат ріст розсади рослин. Стимуляція росту зернових культур наночастинками міді відбувається за рахунок утворення ними пор на рослинній клітинній стінці, що покращує поглинання води, запускаючи сприятливе проростання насіння. Однак слід бути обережним, використовуючи CuNPs, оскільки для нормального росту рослинам необхідна незначна кількість міді, так як при високих концентраціях вона може спричинити негативний вплив на рослинність (Kausar et al., 2022).

Таким чином, завдяки легкому розчиненню, невеликим розмірам і ефективному поглинанню рослинами, наномідь використовується для покращення росту та стресостійкості зернових культур, тим самим збільшуючи їх урожайність.

Література:

1. Khalid MF, Iqbal Khan R, Jawaid MZ, Shafqat W, Hussain S, Ahmed T, Rizwan M, Ercisli S, Pop OL, Alina Marc R. Nanoparticles: the plant saviour under abiotic stresses. *Nanomaterials* 2022;12(21):3915.
2. Матусевич Г.Д. Вплив наночастинок цинку та міді на посухостійкість пшениці озимої. У: *Аграрна освіта і наука: досягнення та перспективи розвитку*; 28 берез. 2024; Біла Церква. Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет; 2024. с. 180-182.
3. Kausar H, Mehmood A, Khan RT, Ahmad KS, Hussain S, Nawaz F, Iqbal MS, Nasir M, Ullah TS. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles for investigating their effect on germination and growth of wheat. *Plos One*. 2022;17(6):e0269987.

ДОДАТОК 3

• 158 • “Молодь і поступ біології”, Львів, 18–20 квітня 2024 р.
3•28, 4•10, 4•4, 3•29, 3•8, 6, 20, 4•5, 2•5 було виділено тотальну ДНК та ампліфіковано гени 16S РНК для їх секвенування з метою встановлення родової приналежності та побудови філогенетичних дерев.

Детальний аналіз властивостей штамів молочнокислих бактерій виділених з Карпатського регіону України вказує на суттєвий потенціал їх впровадження у виробництво кисломолочних продуктів. Подальша оцінка пробіотичних властивостей виділених штамів дозволить їхнє використання в якості препаратів для людини чи с/г тварин.

Потупа В., Гусейнова К., Волошина І.

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ZnONPS

*Київський національний університет технологій та дизайну
вул. Мала Шинковська, 2, м.Київ, 01011, Україна
e-mail: vladislav.potupa@gmail.com*

Potupa V., Huseinova K., Voloshyna I. ANTIBACTERIAL PROPERTIES of ZnONPs. ZnO nanoparticles (ZnONPs) possess unique properties such as semiconductivity, a wide spectrum of radiation absorption, antioxidant, antimicrobial, anticancer and anti-inflammatory properties, as well as high catalytic activity. The US Food and Drug Administration has recognized ZnO as a safe material for use in food and medical devices. Interest in ZnONPs has grown due to their small size, which promotes their reactivity, expanding their applications in electronics, optics, biomedicine, and agriculture. Studies show the potential of ZnONPs as antimicrobial agents and their effectiveness in inhibiting the growth of pathogens, indicating their possible use as an alternative to conventional antibiotics and agricultural drugs. In addition, zinc, which is contained in ZnONPs, is an important trace element for the physiological functions of the body.

Останнім часом велика увага була приділена наночасткам оксиду цинку (ZnONPs) через їх унікальні властивості. Дослідження показали, що цинк (Zn) є важливим елементом живих організмів. Тому, як прокаріоти, так і еукаріоти, використовуються для виробництва ZnONPs за допомогою мікробних клітин або ферментів, білків та інших біомолекул. ZnONPs мають антимікробні властивості, проте їх характеристики залежать від розміру та форми, що робить їх унікальними для різних цілей. Оптимальний розмір і форму наночастинок (НЧ) можна досягти шляхом оптимізації умов синтезу. Існують різні хімічні та фізичні методи синтезу ZnONPs, проте вони дорогі та недостатньо екологічні. Тому з'явився зелений синтез ZnONPs за допомогою мікроорганізмів та рослинних екстрактів, що є більш екологічно чистим і безпечним. Із появою мультирезистентних штамів ZnONPs стали потенційними антимікробними агентами, завдяки їх властивостям боротьби з широким спектром патогенних мікроорганізмів.

Металеві наночастки оксиду цинку володіють фотоокислювальною та фотокаталітичною активністю, що робить їх ефективними в

антибактеріальному та протигрибковому застосуванні. Унікальні характеристики НЧ включаючи їх малі розміри, велику поверхню, склад і морфологію, дозволяють їм взаємодіяти з поверхнею бактеріальної клітини і проникати в її ядро, використовуючи бактеріцидні механізми. Відмінною рисою неорганічних антибактеріальних властивостей НЧ є їхня здатність витримувати екстремальні умови та високі температури порівняно з органічними матеріалами. Синтез ZnONPs мікробами може бути перспективним для створення потенційних антимікробних засобів, оскільки деякі бактерії виробляють сполуки, такі як бактеріюцини, які мають антимікробну активність. Бактеріюцини, які синтезують мікроби, можуть використовуватися для синтезу металевих НЧ, а також взаємодіяти з їх поверхнею, що змінює антимікробну дію. Однак досліджень щодо використання біологічно синтезованих ZnONPs у тваринництві досить мало, що може бути пов'язано з обмеженнями на їх масове виробництво для широкого застосування. ZnONPs проявляють ефективність проти широкого спектру бактерій, включаючи як грампозитивні (наприклад, *Staphylococcus aureus*), так і грамнегативні (наприклад, *Klebsiella aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) бактерії. Можливий опосередкований синтез ZnONPs мікроорганізмами, що може використовуватися для створення антимікробних засобів.

Отже, ZnONPs виявили потенціал як ефективні антибактеріальні агенти, особливо в контексті зростання стійкості мікробів до традиційних антибіотиків та інших антимікробних засобів. Використання зеленого синтезу для їх виробництва з рослинних екстрактів може підсилити їх антимікробні властивості порівняно з традиційним хімічним синтезом. Такі наночастки можуть виявити значну активність, перевищуючи дію антибіотиків та бактеріцидів, що робить їх перспективними для боротьби з антибіотикорезистентними мікроорганізмами.

Рибчук А., Тістечок С., Громико О., Федоренко В.

АНАЛІЗ ГЕНОМА ШТАМУ АКТИНОМІЦЕТІВ

***ACTINORECTISPORA* SP. JE 1-571**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: ARTUR.RYBCHUK@lnu.edu.ua

Rybchuk A., Tistechok S., Gromyko O., Fedorenko V. GENOME ANALYSIS OF THE ACTINOMYCETE STRAIN *ACTINORECTISPORA* SP. JE 1-571. The genome of a representative of the genus *Actinorectispora*, namely *Actinorectispora* sp. Je 1-571, was sequenced for the first time. The genome was found to comprise 7,180,096 base pairs with a G+C content of 69.8%. It contains 6,512 protein-coding sequences. Analysis using the antiSMASH tool revealed the presence of 33 gene clusters potentially involved in the biosynthesis of secondary metabolites.

