

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

Дипломна магістерська робота

на тему: «Зелений біосинтез наночасток
Lactobacillus acidophilus»

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

Київ 2022

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри
біотехнології, шкіри та хутра

_____ Олена МОКРОУСОВА
« ___ » _____ 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Роговій Марині Романівні

1. Тема роботи: Зелений біосинтез наночасток *Lactobacillus acidophilus*
Науковий керівник роботи Волошина Ірина Миколаївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом закладу вищої освіти
від «28» вересня 2022 року № 180-уч.
2. Строк подання студентом роботи _____
3. Вихідні дані до роботи: завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо властивостей наночасток, характеристики *Lactobacillus acidophilus*, результати експериментів, які отримані у лабораторії під час роботи з *Lactobacillus acidophilus*; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.
4. Зміст дипломної роботи (перелік питань, які потрібно розробити): вступ, огляд літератури, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел, додатки.

5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Ім'я, прізвище та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	<i>Ірина ВОЛОШИНА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	12.09.2022	07.10.2022
Розділ 2	<i>Ірина ВОЛОШИНА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	12.09.2022	28.10.2022
Розділ 3	<i>Ірина ВОЛОШИНА, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	12.09.2022	01.11.2022

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

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	12.09.2022	
2	Розділ 1 Огляд літератури	07.10.2022	
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження	28.10.2022	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	01.11.2022	
5	Висновки	04.11.2022	
6	Оформлення дипломної магістерської роботи (чистовий варіант)	10.11.2022	
7	Здача дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування	11.11.2022	
8	Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату	15.11.2022	
9	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри		

Студент _____ Марина РОГОВА

Науковий керівник роботи _____ Ірина ВОЛОШИНА

Директор НМЦУПФ _____ Олена ГРИГОРЕВСЬКА

АНОТАЦІЯ

Рогова М.Р. Зелений біосинтез наночасток *Lactobacillus acidophilus*. – Рукопис.

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

Дипломну магістерську роботу присвячено отриманню біогенних наночасток срібла, церію, цинку та титану з використанням лактобактерій *Lactobacillus acidophilus*, при культивуванні на різних поживних середовищах та дослідженню їх спектрофотометричних властивостей. Визначення розмірів наночастинок металів методом фотонної кореляційної спектроскопії за допомогою аналізатора розміру наночастинок BeNano 90 Zeta.

У дипломній роботі проаналізовано сучасні літературні джерела стосовно технології зеленого синтезу наночасток за допомогою лактобактерії *Lactobacillus acidophilus*.

Ключові слова: Lactobacillus acidophilus, наночастки срібла, наночастки церію, наночастки цинку, наночастки титану.

ABSTRACT

Rohova M.R. Green biosynthesis of *Lactobacillus acidophilus* nanoparticles. – Manuscript.

Master's thesis work in specialty 162 – Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2022.

The master's thesis is devoted to the preparation of biogenic nanoparticles of silver, cerium, zinc and titanium using lactobacilli *Lactobacillus acidophilus*, during cultivation on various nutrient media and the study of their spectrophotometric properties. Determination of the size of metal nanoparticles by photon correlation spectroscopy using the BeNano 90 Zeta nanoparticle size analyzer.

The thesis analyzes modern literary sources regarding the technology of green synthesis of nanoparticles using *Lactobacillus acidophilus*.

Keywords: Lactobacillus acidophilus, silver nanoparticles silver, nanoparticles cerium, nanoparticles zinc, nanoparticles titanium.

ЗМІСТ

ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	12
1.1 Наночастинки: характеристика та властивості	12
1.2 Застосування наночастинок	13
1.3. Біологічні методи синтезу наночастинок	15
1.4 Параметри та фактори синтезу наночастинок металів	16
1.5 Внутрішньоклітинний та позаклітинний механізм синтезу наночастинок ...	18
1.6. Біосинтез наночастинок металів з використанням мікроорганізмів	19
1.6.1 Біосинтез наночастинок срібла	20
1.6.2 Біосинтез наночастинок цинку	23
1.6.3 Біосинтез наночастинок церію	26
1.6.4 Біосинтез наночастинок титану	28
Висновки до розділу 1	31
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ	32
2.1 Характеристика біологічного агента <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	32
2.1.1 Таксономічний статус <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	32
2.1.2 Морфолого-культуральні та фізіологічні властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	32
2.2 Поживні середовища, що використовували для культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	35
2.2.1 Середовище ГПС для культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	35
2.2.2 Середовище МРС для культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	36
2.3. Методика синтезу наночастинок металів з використанням культури <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	37
2.4 Спектрофотометричний аналіз зразків біомаси, супернатантів та лізатів на наявність наночастинок металів	38

2.5	Визначення розмірів наночастинок металів методом фотонної кореляційної спектроскопії	39
	Висновки до розділу 2	40
	РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	41
3.1	Біосинтез наночастинок срібла за допомогою культури <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	41
3.1.1	Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла до культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	41
3.1.2	Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла після культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	43
3.1.3	Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла у лізати та супернатант бактерій <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	46
3.2	Біосинтез наночастинок цинку за допомогою культури <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	49
3.2.1	Визначення оптичної густини наночастинок цинку при внесенні оксиду цинку до культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	49
3.2.2	Визначення оптичної густини наночастинок цинку при внесенні оксиду цинку після культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	52
3.2.3	Визначення оптичної густини наночастинок цинку при внесенні оксиду цинку у лізати та супернатант бактерій <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	54
3.3	Біосинтез наночастинок церію за допомогою культури <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	58
3.3.1	Визначення оптичної густини наночастинок церію при внесенні солі церію до культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	58
3.3.2	Визначення оптичної густини наночастинок церію при внесенні солі церію після культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	60

3.3.3 Визначення оптичної густини наночастинок церію при внесенні солі церію у лізати та супернатант бактерій <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	63
3.4 Біосинтез наночасток титану за допомогою культури <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	66
3.4.1 Визначення оптичної густини наночастинок титану при внесенні оксиду титану до культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В -2691....	66
3.4.2 Визначення оптичної густини наночастинок титану при внесенні оксиду титану після культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	69
Висновки до розділу 3	74
ВИСНОВКИ.....	75
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	76
ДОДАТОК А.....	85

ВСТУП

Попри те, що для синтезу металевих наночастинок існують численні хімічні методи, реагенти та відновники, що використовуються в цих реакціях, є високотоксичними для довкілля. Зростаючі екологічні проблеми, пов'язані з хімічними методами отримання наночастинок, призвели до пошуку економічно вигідних біоміметичних підходів. Одним з таких підходів є синтез з використанням мікробної клітинної маси в якості відновників.

В даному дослідженні ми запропонували екологічно чистий та швидкий метод біосинтезу наночастинок срібла, цинку, церію та титану з використанням грампозитивної бактерії *Lactobacillus acidophilus*.

Тому в даній роботі для біосинтезу наночастинок використовували технологію «зеленого синтезу» за допомогою *Lactobacillus acidophilus*, оскільки саме ця технологія є дешевою, швидкою, безпечною та ефективною.

Актуальність теми кваліфікаційної роботи полягає в дослідженні можливості синтезу наночастинок срібла, цинку, церію та титану за допомогою *Lactobacillus acidophilus*.

Наукова новизна роботи полягає в можливості отримання та описі високоефективного та дієвого способу синтезу наночастинок металів біогенним методом з використанням доступного біологічний об'єкта *Lactobacillus acidophilus*.

Метою роботи є аналіз отримання наночастинок металів з солей (AgNO_3 , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$) та оксидів (ZnO , TiO_2) в присутності мікроорганізму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691.

Об'єкт дослідження роботи – біосинтез наночастинок металів бактеріями *Lactobacillus acidophilus*.

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

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

1. Провести культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на

поживному середовищі ГПС з внесенням солей (AgNO_3 , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$) та оксидів (ZnO , TiO_2) до культивування у різних концентраціях (1 мМ та 2 мМ).

2. Провести культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на поживному середовищі ГПС з внесенням солей (AgNO_3 , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$) та оксидів (ZnO , TiO_2) після культивування у різних концентраціях (1 мМ та 2 мМ).

3. Провести культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на поживних середовищах МРС, ГПС з внесенням солей (AgNO_3 , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$) та оксидів (ZnO , TiO_2) у лізат біомаси та супернатант культуральної рідини у концентрації 2 мМ.

4. Дослідити формування наночасток з використанням методу спектрофотометрії за допомогою УФ-спектрофотометра ULAB 102 UV.

5. Визначити розмір отриманих металевих наночастинок методом фотонної кореляційної спектроскопії за допомогою аналізатора вимірювання наночастинок BeNano 90 Zeta .

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

Практичне значення отриманих результатів полягає у встановленні можливості зеленого біосинтезу наночасток металів з подальшим їх використанням.

Публікації. Результати досліджень опубліковано в тезах збірників матеріалів науково-практичної конференції та статті, яка прийнята та буде опублікована на міжнародній конференції з перспективних матеріалів та систем

Бібліографія опублікованих робіт включає:

1. **Rohova M.**, Kovalenko V., Tkachenko V., Lych I., Voloshyna I. Green biosynthesis of zinc nanoparticles //9th edition of the International Conference on Advanced Materials and Systems - ICAMS 2022 (Scopus), (додаток Б).

2. **Рогова М.Р.**, Коваленко В.І., Зурнаджан А., Волошина І.М. Біосинтез наночасток титану за допомогою мікроорганізмів// стаття за результатами VII

Міжнародної науково-практична інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» 24-25 листопада 2022 р., м. Харків (додаток В).

3. **Rohova M.**, Kovalenko V., Shkotova L., Voloshyna I. Main properties of *Lactobacillus fermentum* //Microbiology and Immunology – the Development Outlook in the 21st century. Abstracts book of the IV International Scientific Conference, September 22-23, 2022, Kyiv. – Kyiv, 2022. – P. 78 (додаток Г).

4. **Рогова М.Р.**, Коваленко В.І., Волошина І.М. Використання наночасток оксиду титану та оксиду цинку як сонцезахисних фільтрів // XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біологічні дослідження – 2022», 10–11 жовтня 2022 року, Житомир, ПП «Євро-Волинь», 2022. – P. 226-229 (додаток Д).

5. **Rohova M.**, Kovalenko V., Shkotova L. V., Voloshyna I. M. Main properties of *Lactobacillus fermentum* //Наука, освіта, технології і суспільство: нові дослідження і перспективи: збірник тез доповідей міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 20 вересня 2022 р.): у 2 ч. Полтава: ЦФЕНД, 2022. Ч. 2. С. 37 (додаток Ж).

Структура і обсяг магістерської роботи. Основна частина дипломної магістерської науково-дослідницької роботи викладена на 84 сторінках, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує 87 найменувань публікацій вітчизняних та зарубіжних дослідників. В роботі представлено п'ять додатків, що ілюструють виконання індивідуального плану магістра, представлені на 16 сторінках.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Наночастинки: характеристика та властивості

Нанотехнологія – це галузь науки, орієнтована на розробку, виробництво, характеристику та застосування наноструктурованих матеріалів, частинки яких вимірюються у нанометрах (нм). Оскільки такі частинки за величиною наближені до молекул, наноматеріали здатні виявляти унікальні фізичні та хімічні властивості, близькі властивостям окремих молекул. Нанометровий діапазон вимірювань розмірів 1÷100 нм відкриває нові властивості та галузі застосування речовин та матеріалів [1].

Унікальна властивість наночастинок – розвинена питома поверхня ~ 1000 м²/г, відкрита для дії молекул довкілля. Чим менший розмір наночастки, тим більша частина атомів по відношенню до обсягу знаходиться на поверхні і тим вище її реакційна здатність [2].

Оптичні властивості наночастинок радикально відрізняються від властивостей об'ємного матеріалу. При зміні форми та розміру частинок спектральні характеристики суттєво змінюються практично для всіх наночастинок. Варіюючи геометричні параметри наночастинок, можна досягти необхідних оптичних властивостей. При переході до розгляду ансамблів наночастинок необхідно брати до уваги взаємодію між окремими частинками. Спектральні властивості гібридних наночастинок відрізняються від властивостей компонентів, з яких вони складаються [2, 3].

Наночастинки володіють такими хімічними властивостями як каталітичні та адсорбційні. Фізичні властивості наночастинок виникають за рахунок поверхневих чи квантово-розмірних ефектів. Велике значення для наночастинок мають магнітні характеристики: тут найвиразніше виявлено різницю між компактними магнітними матеріалами і відповідними наночастинками [4].

Однією з основних причин зміни фізичних та хімічних властивостей малих частинок у міру зменшення їх розмірів є зростання відносної частки

«поверхневих» атомів, що знаходяться в інших умовах (координаційне число, симетрія локального оточення тощо), ніж атоми всередині об'ємної фази. З енергетичної точки зору зменшення розмірів частинки призводить до зростання ролі поверхневої енергії [1].

1.2 Застосування наночастинок

Нині зростає використання наночастинок в різних галузях, таких як молекулярна біологія, фізика, органічні та неорганічні хімії, медицина та матеріалознавство. На відміну від матеріалів з великим розміром частинок, нанорозмірні матеріали мають унікальні електричні, оптичні, магнітні властивості. Завдяки цьому наночастинки отримали широке застосування в електроніці, фотоніці, каталізі та фотокаталізі, а також у виробництві різних плазмових приладів, таких як SERS-датчики [5, 6]. Дисперсні наночастинок зазвичай використовуються в нанобіомедицині як флуоресцентні біологічні мітки [7, 8], засоби доставки ліків і генів [9, 10], а також у таких програмах, як біодетектування патогенів [11], тканинна інженерія [12, 13], деструкція пухлини через нагрівання (гіпертермія) [14], МРТ-контрастування [15], а також фагокінетичні дослідження [16].

Наночастинок також активно використовуються в текстильній, гальванічній, паперовій, парфумерній та харчовій промисловостях. Бактерицидні властивості наночастинок застосовують при виробництві антибактеріальних фільтрів для води та повітря, медичного обладнання та багатьох товарів побуту. Взаємодіючи з мембранами бактеріальних клітин, наночастинок проникають усередину цитоплазми, де ушкоджують сірко- і фосфоровмісні сполуки. Перспективним є використання наночастинок в екології та біомедицині [17, 18,].

Використання наночастинок проходить у напрямку діагностики, профілактики, лікування широкого спектру захворювань, синтезу лікарських засобів з контрольованим вивільненням ліків та адресною доставкою ліків, біологічно активних препаратів до патологічних клітин, тканин, органів. Перевагами використання наночастинок металів в лікарських засобах є

зменшення дози лікарського засобу, зменшення побічних ефектів та скорочення періоду лікування [19].

Наночастинки діють на організм субклітинно, тобто на молекулярному рівні з високим ступенем специфічності. Це дозволяє впливати на певні клітини або тканини, досягаючи максимального терапевтичного ефекту з мінімальними побічними ефектами. Наночастинки можуть підвищувати розчинність погано розчинних ліків [20]. Завдяки невеликому розміру наночастинки носіїв ліків можуть обійти гематоенцефалічний і щільний епітеліальний бар'єри, які зазвичай перешкоджають доставці лікарських препаратів. Внаслідок високого відношення площі поверхні до об'єму, наноносії демонструють покращення фармакокінетики та біорозподілу терапевтичних засобів. Таким чином досягається мінімізація токсичності [21]. Наночастинки покращують розчинність гідрофобних сполук і роблять їх придатними для парентерального введення. Крім того, вони збільшують стабільність різноманітних терапевтичних агентів, таких як пептиди та олігонуклеотиди [22]. Поєднання наночастинок металів із антибіотиками дає ефект синергізму при боротьбі з резистентними бактеріями. Відбувається дуже швидка комерціалізація продуктів. Доречним є використання кополімерів, які формують міцели для інкапсуляції антибіотиків. Кополімери можуть зберігати невеликі молекули антибіотиків і транспортувати їх до бажаного місця. Завдяки антимікробним властивостям наночастинки використовується як покриття для медичних інструментів, пристроїв, імплантатів, катетерів та ін [23].

Унікальні властивості наночастинок роблять їх добре придатними для розробки електрохімічних сенсорів і біосенсорів [24]. Завдяки високій специфічній площі поверхні та розміру, наноматеріали можна використовувати як каталізатори, адсорбенти, мембрани, засоби для дезінфекції води та добавки для підвищення каталітичної активності. Таким чином, наноматеріали виявляються перспективними для екологічних технологій [24].

1.3. Біологічні методи синтезу наночастинок

Для синтезу металевих наночастинок можна використовувати різноманітні хімічні та фізичні процедури. Однак ці методи пов'язані з багатьма проблемами, включаючи використання токсичних розчинників, утворення небезпечних побічних продуктів і високе споживання енергії. Більшість методів синтезу знаходяться на стадії розробки: у результаті часто виникають проблеми зі стабільністю наночастинок, контролем росту та агрегацією [25 – 28].

Відповідно, існує суттєва потреба в розробці безпечних для навколишнього середовища процедур для синтезу металевих наночастинок. Нещодавно з'явився новий метод синтезу наноматеріалів за допомогою високоструктурованої біосинтетичної активності мікробної клітини. Мікробний синтез наночастинок є підходом зеленої хімії, яка поєднує нанотехнології та мікробну біотехнологію. Завдяки біорізноманітності мікробів, їх потенціал як біологічних матеріалів для синтезу наночастинок ще не повністю досліджено. Процеси взаємодії між мікроорганізмами і металами вже використовуються в біотехнологічних процесах, таких як біомінералізація, біоремедіація, біовилуговування та мікробна корозія [27, 28].

Механізми, задіяні в мікробному синтезі наночастинок, це біоабсорбція, позаклітинне комплексоутворення або преципітація металів, біоаккумуляція, системи витоку та зміна розчинності та токсичності через відновлення або окислення та відсутність специфічних систем транспортування металів. Багато мікроорганізмів здатні до вилучення та/або накопичення металів, утворення наноструктурованих мінеральних кристалів та металевих наночастинок з властивостями, подібними до властивостей хімічно синтезованих матеріалів. Залежно від видів мікроорганізмів фізичні властивості біологічно отриманих наночастинок можуть відрізнятися. Внаслідок цього виникає необхідність оптимізувати параметри синтезу під час формування наночастинок для покращення їх загальних властивостей [29].

Біологічні методи синтезу наночастинок є безпечними, економічно ефективними, стійкими та екологічно чистими процесами, які також мають

деякі недоліки в культивуванні: тривалість часу та важкість забезпечення контролю розподілу розмірів, форми та кристалічності. Однак, незважаючи на стабільність процесу, біологічні наночастинки не є монодисперсними, а швидкість синтезу повільна. Накопичення металу може залежати від фази росту клітин [29,30].

1.4 Параметри та фактори синтезу наночасток металів

Швидкість утворення наночастинок та їх розмір певною мірою підпорядковується шляхом контролю таких параметрів, як рН, температура, концентрація та час витримки металу. З підвищенням концентрації іонів металу процес синтезу сповільнюється, розмір частинок збільшується. Таким чином, у концентрації 1 мМ розмір наночастинок зменшується завдяки більшій доступності функціональних груп в екстракті. Бактеріальний синтез наночастинок посилюється при вищих температурах. Температура є одним із важливих фізичних параметрів для синтезу наночастинок [31]. Вища швидкість відновлення відбувається при вищій температурі через споживання іонів металів при утворенні ядер, тоді як вторинне відновлення припиняється на поверхневі попередньо сформовані ядра. Пік розширення, отриманий при низькій температурі показує утворення наночастинок великого розміру, а вузький пік, отриманий при високій температурі показує, що синтезовані наночастинки менші за розміром. Як висновок, більш висока температура є оптимальною для синтезу наночастинок. рН є важливим фактором і залежить від мікроорганізму, типу наночастинок та умов культивування. При біосинтезі срібних наночастинок (рН 8,2) виник різкий пік при 460 нм. Різкий пік вказує на утворення сферичної форми наночастинок срібла та максимальне виробництво срібла. Лужний рН є більш доречним для синтезу наночастинок металів за допомогою пробіотичних культур. Тому рН є важливим складовим для контролю форми та розміру наночастинок [32].

Як правило, розмір наночастинок змінюється разом з тривалістю інкубаційного періоду. У дослідженні (Dargoudi та ін. 2011) синтез наночастинок через різні проміжки часу вивчався після реакції протягом 1

години. Отримані срібні наночастинки показали пік поглинання УФ-видимої спектроскопії. Інтенсивність піку зростає зі збільшенням часу реакції, що свідчить про продовження відновлення іонів срібла. Збільшення часу абсорбції вказує на збільшення концентрації наночастинок срібла. Коли час реакції досягав трьох годин, відбувалося зростання абсорбції, а значення довжини хвилі було зрушено. Це явище тривало протягом часу реакції 6–24 год, вказуючи на те, що розмір частинок зменшився. По закінченню реакції, через 48 годин, абсорбція була значно збільшена, і не було значної зміни довжини хвилі (430 нм) порівняно з 24-годинним часом реакції. Результати мікроскопії (ТЕМ) вказують, що зразки отримані протягом більш тривалого часу зберегли більш вузький гранулометричний склад; середній розмір усіх підготовлених наночастинок був 20 нм [33].

Клітини в ранній експоненціальній фазі виробляють дуже високі концентрації ферментів і білків, які беруть активну участь в накопиченні і відновленні іонів металів. Концентрація металів у розчині також впливає на властивості та розмір утворених наночастинок. Існує залежність від контролю розміру, форми, морфології наночастинок та електронних, оптичних властивостей. Частинок, утворені завдяки процесу біосинтезу мають вищу каталітичну реакційну здатність, більшу питому поверхню та покращений контакт між ферментом і сіллю металу, завдяки матриксу бактеріоносія [34, 35]. Здатність розвитку мікроорганізмів у присутності високих концентрацій металів може бути результатом специфічних механізмів опору. До таких механізмів належать: ефлюксні системи; зміна розчинності та токсичності окисно-відновного стану іонів металів; утворення позаклітинних комплексів; відсутність спеціальних систем транспортування металу. Розвиток контрольованого синтезу наночастинок металів потенційно можуть бути використані в біомедичних науках і областях таких як оптика та електроніка [36].

1.5 Внутрішньоклітинний та позаклітинний механізм синтезу наночасток

Мікробний синтез наночастинок може відбуватися зовні або всередині клітини. Класифікується відповідно до місця розташування утворених наночастинок. Більшість бактерій синтезують наночастинки позаклітинно. Наночастинки біосинтезуються, коли мікроорганізми захоплюють цільові іони з навколишнього середовища. Завдяки ферменту, що утворюється в результаті діяльності клітини, мікроорганізми перетворюють іони металу в елемент метал. Внутрішньоклітинний метод характеризується транспортуванням іонів у мікробну клітину для утворення наночастинок за присутністю ферментів. Позаклітинний синтез наночастинок на поверхні клітин включає перетворення іонів металів на поверхні клітини у іони-відновники завдяки наявності ферментів [37].

Позаклітинний механізм

Тестовий бактеріальний штам культивують у відповідному середовищі та інкубують на орбітальному шейкері при 150 об/хв при 37 °С. Після інкубації бульйон центрифугують, а супернатант використовується для синтезу наночастинок. Для розділення реакції, до супернатанту додають сполуки, що містять іони металів у відповідних концентраціях та інкубовані протягом 72 год. Зміна кольору реакційної суміші свідчить про наявність наночастинок у розчині, а біовідновлення іонів металу в розчині контролюється шляхом відбору проби водного розчину та вимірювання спектру поглинання за допомогою УФ-видимого спектрофотометра. Морфологія та однорідність металевих наночастинок досліджуються методами рентгенівської дифракції (XRD) і сканування електронів завдяки мікроскопії (SEM). Для аналізу взаємодії між білком і наночастиною використовується інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR) [38].

Внутрішньоклітинний механізм

Бактеріальну культуру вирощують у відповідному рідкому середовищі, інкубують на шейкері при оптимальній температурі. Після інкубації колбу

зберігають у статичному стані для відстоювання біомаси. Наступним етапом є розділення супернатанту та біомаси, промивання клітин стерильною дистильованою водою. Колбу залишають стабільною протягом 30 хв для осідання біомаси, після чого супернатант знову відділяють. Потім біомасу відокремлюють від стерильної дистильованої води шляхом центрифугування. Вологу біомасу піддають впливу 50 мл стерилізованого водного розчину металів у різних розведеннях та інкубують на шейкері при відповідній температурі до видимості. Помічається зміна кольору. Зміна кольору від блідо-жовтого до коричневого кольору вказує на утворення наночастинок срібла, колір від блідо-жовтого до рожевого вказує на утворення наночастинок золота, а утворення від білувато-жовтого до жовтого кольору вказує на утворення наночастинок марганцю та цинку [39].

1.6. Біосинтез наночасток металів з використанням мікроорганізмів

В останнє десятиліття використання мікробів викликало підвищений інтерес, до якого було проведено багато досліджень з використанням різних моделей мікроорганізмів. Доречним є застосування бактеріальних культур для біосинтезу наночастинок металів, оскільки бактеріям властива здатність відновлювати іони важких металів, пригнічувати їх токсичність та рости при високих концентраціях сполук. Біологічний синтез з використанням бактеріальних мікроорганізмів має перевагу перед рослинами, оскільки бактерії легко розмножуються. Мікроби діють як крихітна нанофабрика у відновленні іонів металів до металевих НЧ із залученням ферментів та інших біомолекулярних сполук, що виділяються або виробляються мікробами. Ці численні органічні компоненти, що виділяються в суспензію або середовище для росту, пов'язані з утворенням різних розмірів, форм із моно- та полідисперсними наночастинками. Білок, що виділяється з мікробів, може діяти як блокуючий агент, який надає стабільність утворенню наночастинок. Ріст усіх бактерій в першу чергу залежить від вуглецю, азоту, неорганічних іонів і органічних матеріалів. Основні види бактерій які використовуються для синтезу металевих наночастинок включають *Acinetobacter sp.*, *Escherichia coli*,

Klebsiella pneumoniae, *Lactobacillus* spp., *Bacillus cereus*, *Corynebacterium* sp. і *Pseudomonas* sp [40,41,42].

1.6.1 Біосинтез наночастинок срібла

Вперше біосинтез наночастинок металу за допомогою бактеріальної культури було здійснено в 2000 році. Joerger та ін. (2000) використовували *Pseudomonas stutzeri* AG259 для синтезу наночастинок Ag з розміром менше 200 нм. Бактерії вирощували на агаровому субстраті Lennox L (LB), що містить 50 ммоль/л AgNO₃, при 30 °C протягом 48 годин у темряві[43].

Молочно-кислі грампозитивні бактерії роду *Lactobacillus* здатні до синтезу срібних та золотих наночастинок за стандартних умов. Для отримання мікроскопічних кристалів золота, срібла та золото-срібного сплаву бактерії роду *Lactobacillus* піддавалися впливу великих концентрацій іонів металів. Синтез відбувався внутрішньоклітинно, а клітини зберігали свою життєздатність навіть після росту кристалів. Висушена біомаса *Lactobacillus* sp можуть відновлювати іони Ag через взаємодію функціональних груп, присутніх на клітинній стінці, для отримання наночастинок срібла [44].

Попередні дослідження УФ-спектроскопії біологічно синтезованих наночастинок срібла з використанням *Bacillus licheniformis* [45], *Aspergillus flavus* [46], *Bacillus subtilis* [47] та *Aeromonas* sp. SH10 [48], вказують: піки поглинання виявляються в області від 400 до 440 нм.

Загальновідомим є синтез наночастинок оксиду срібла за допомогою *Lactobacillus mindensis*. Були отримані наночастинок оксиду срібла в діапазоні 2–20 нм (визнач. за допомогою ПЕМ-аналізу) з використанням *Lactobacillus mindensis*, яку виділяли за допомогою розчину фіксатора з рентгенівської фотолабораторії. Синтез наночастинок срібла досягнуто шляхом впливу водних іонів срібла на біомасу *Lactobacillus mindensis* після інкубації протягом п'яти днів у темних умовах. Зразки з живою біомасою змінили колір з жовтого на коричневий [46], контроль залишився без візуальних змін. Отримані наночастинок охарактеризовані за допомогою УФ-вид спектроскопії, трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) та рентгенівської дифракції (РД).

Спектр УФ-видимості показує максимум поглинання при 430 нм, що є характеристикою поверхневого плазмонного резонансу срібла. Аналітичний метод рентгенівської дифракції вказує на наявність наночастинок срібла у формі оксиду срібла [49].

Деякі грампозитивні та грамнегативні бактерії були використані для неферментативного виробництва наночастинок срібла шляхом взаємодії іонів срібла та органічних сполук, присутніх у бактеріальній клітині. З ряду досліджуваних бакретій лише молочнокислі бактерії *Lactobacillus* spp., *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium* і *Lactococcus garvieae* змогли відновити срібло. Виникає залежність виду бактеріальної культури та таких характеристик, як локалізація частинок усередині клітини, середній розмір частинок і розподіл за розмірами. У результаті роботи *Lactobacillus fermentum* має найменший середній розмір частинок (11,2 нм), найвужчий розподіл розмірів і більшість наночастинок, пов'язаних із зовнішньою частиною клітин. Зі збільшенням рН відбувається збільшення відновлення срібла. Це дослідження показало, що *Lactobacillus* spp. можна використовувати для швидкого та ефективного виробництва наночастинок срібла [50].

У наступному дослідженні продемонстровано безпечний та швидкий метод біогенезу наночастинок срібла з використанням *Lactobacillus acidophilus*. Закваску *L. acidophilus* інкубували у бульйоні Ман-Рогоза-Шарпа. До фільтрату культури додавали розчин нітрату срібла у різних пропорціях. Синтез проводили в темних умовах. Після додавання біомаси до розчину нітрату срібла протягом 24 годин відбувалась зміна кольору розчину на коричневий або жовтувато-коричневий. Це аргументує той факт, що зміну кольору, яка спостерігається в експерименті, можна вважати ознакою утворення наночастинок срібла. Виділені наночастинки срібла використовували для характеристики та антимікробних досліджень. Відновлення іонів срібла до наночастинок срібла спостерігали за допомогою спектроскопії. Спектр УФ-видимого спектру демонструє максимум поглинання при 434 нм, що є характеристикою поверхневого плазмонного резонансу срібла.

Рентгеноструктурний аналіз показав, що наночастинки мали гранецентровану кубічну кристалічну структуру. Присутність стабільних наночастинок срібла сферичної форми розміром 4–50 нм визначено методом трансмісійної електронної мікроскопії. Крім того, ці наночастинки показали ефективну антибактеріальну активність щодо *Klebsiella pneumoniae*. Механізм бактерицидної дії наночастинок срібла обговорюється з точки зору їх взаємодії з клітинною мембраною бактерій, викликаючи цитоліз і витік білків і вуглеводів [51].

Чергове дослідження виявило утворення наночастинок срібла шляхом отримання типових максимумів поглинання плазмонів срібла. Для дослідження використано середовище MRS. В результаті експерименту виявлено, що культуральний фільтрат відновлював іони срібла в наночастинки срібла, про що свідчить зміна кольору від блідо-жовтого до коричневого. Реакційну суміш періодично аналізували за допомогою УФ-видимого спектрофотометра. Пік плазмонного поглинання наночастинок срібла припадає на 430 нм. SEM-мікрофотографія вказує на однорідні сферичні частинки в діапазоні розмірів 45-60 нм [52].

У дослідженні йдеться про позаклітинний біосинтез наночастинок срібла з використанням капсули VIZYLAC, що містить близько 106 лактобактерій. Стрімкий синтез був досягнутий за рахунок лужних умов (рН 8,5). Синтезовані наночастинки срібла показали антибактеріальну активність проти лікарняного ізоляту *Proteus mirabilis* (множинної лікарської стійкості), *Salmonella typhi* та *Klebsiella pneumoniae*. Протигрибкову активність перевіряли проти *Candida albicans* (лікарняний ізолят) і *Aspergillus niger* (NCIM 616). Синтезовані наночастинки срібла були стабільні кілька місяців. Дослід показав ефективність позаклітинного синтезу наночастинок срібла з контрольованою формою з використанням видів *Lactobacillus* [53].

Антиоксидантна та антибактеріальна активність біосинтезованих наночастинок була успішно досліджена. За антибактеріальної активності наночастинки срібла значною мірою пригнічують ріст бактерій. Синергічний

ефект наночастинок у поєднанні з деякими антибіотиками широкого спектру дії продемонстрував значне пригнічення росту досліджуваних бактерій [54].

Синтезовані наночастинки срібла за допомогою *Lactobacillus brevis* мають антибактеріальні, антиоксидантні та протипухлинні властивості. Результати антимікробного аналізу показали, що наночастинки срібла виявляють виняткову антимікробну активність як проти грамнегативних, так і грампозитивних бактерій. Результати антиоксидантів свідчать про те, що наночастинки срібла продемонстрували чудову швидкість поглинання вільних радикалів DPPH ($81,4 \pm 1,2\%$) і вільних радикалів оксиду азоту ($75,06 \pm 0,4\%$). Крім того, результати колориметричного аналізу оцінки метаболічної активності клітин показали цитотоксичний ефект срібних наночастинок на живі клітини колоректальної аденокарциноми людини HT-29 (значно знижується відсоток клітин при вищій концентрації наночастинок срібла) [55].

Наступне дослідження описує біовідновний синтез наночастинок срібла з використанням *L. casei* при кімнатній температурі. У цьому дослідженні та завдяки досвіду оптимізації реакцій біотрансформації умови реакції були успішно оптимізовані для збільшення виходу виробництва наночастинок і продуктивності цього біосинтетичного підходу. Зокрема, присутність ферментів та глюкози у реакційній суміші позитивно вплинула на виробництво наночастинок. Завдяки поступовому збільшенню концентрації AgNO_3 (як субстрату) до 6 ммоль/л було збільшено виробництво наночастинок. Завдяки збільшенню біомаси також збільшилося виробництво наночастинок. Біосинтезовані наночастинки срібла були майже сферичними, поодинокими (25–50 нм) або в агрегатах (100 нм), прикріпленими до поверхні біомаси або перебували всередині та зовні клітин [56].

1.6.2 Біосинтез наночастинок цинку

Наночастинки оксиду цинку (ZnO) привернули увагу завдяки своїм унікальним властивостям, зокрема властивостями боротьби з широким спектром патогенів. Бактеріальні, грибні та дріжджові культури використовуються для внутрішньоклітинного або позаклітинного синтезу

наночастинок ZnO за допомогою мікробних клітин або ферментів, білків та інших біомолекулярних сполук. Численні дослідження свідчать про те, що наночастинки ZnO мають великий потенціал у біологічному застосуванні, зокрема як антимікробні агенти [57].

Біосинтезовані наночастинки цинку завдяки *L. gasseri* були досліджені за допомогою УФ-видимого спектру поглинання в діапазоні довжин хвиль від 345 до 350 нм. Такий діапазон є типовим для довжин хвиль наночастинок цинку. Біосинтезовані наночастинки ZnO відображають смугу поверхневого плазмонного резонансу (SPR) при 377 нм. Крім того, присутність глюкози в середовищі MRS, що використовується для біосинтезу наночастинок цинку має тенденцію до зниження значення окислення-відновлення потенціалу. Білий осад на дні колби вказує на наявність наночастинок цинку. Молекули ZnO розвиваються повільно та утворюють малі сферичні структури та мікрофотографії TEM показують, що біосинтезовані наночастинки кубічної форми [57].

Проведено позаклітинний біосинтез наночастинок TiO₂ і ZnO (середній розмір між 4 і 9 нм) культуральним бульйоном *Lactobacillus johnsonii*. Результат УФ-спектроскопії показує широкий пік смуги поглинання при 406 нм. Фактор часу відіграє важливу роль у біосинтезі: максимальний синтез можна спостерігати через 24 години після інокуляції, але після 48 годин інкубації виробництво знижується. Подібний результат спостерігався при біосинтезі наночастинок TiO₂. УФ-спектроскопія показала, що оптичні властивості наночастинок ZnO вказують на наявність піку поглинання наночастинок ZnO при 392 нм. Крім того, діаграма піків FTIR TiO₂ підтвердила сильнішу здатність білків зв'язувати метал і збільшити можливість покриття наночастинок металу білками для запобігання агломерації частинок. TEM-зображення наночастинок TiO₂ зафіксували неправильну форму, але наночастинки ZnO мають сферичну форму [58].

Подібним чином було отримано ізолят *Lactobacillus paracasei*, здатний виробляти наночастинки ZnO, присутність яких, в свою чергу, підтверджено

білим осадом за допомогою середовища MRS [59]. *L. plantarum* також може бути спрямований на синтез наночастинок ZnO в діапазоні 7–19 нм [59].

Нині достатньо добре вивчено антимікробну дію наночастинок ZnO та AgNO₃ на важливу кишкову бактерію *Lactobacillus acidophilus* через потенційний вплив цих наночастинок на кишкову флору. Під час експерименту спостерігалися клітинні морфологічні зміни, але багато клітин залишалися нормальної форми. Лише невелика кількість внутрішнього клітинного вмісту просочилася через обробку наночастинок, і після впливу наночастинок металів спостерігалось більше живих, ніж мертвих клітин. Згідно з результатами, отриманими в дослідженні, можна зробити висновок, що наночастинки ZnO та AgNO₃ мають легкий інгібуючий вплив на *Lactobacillus acidophilus* [60].

При синтезі наночастинок цинку завдяки *Lactobacillus plantarum* аналіз Фур'є-ІК-спектроскопії виявив наявність білків, карбоксильних і гідроксильних груп на поверхні обох біосинтезованих наночастинок ZnO, які діють як відновники та стабілізатори. Поверхневий плазмонний резонанс для біосинтезованих наночастинок становив 349 нм і 351 нм. Біосинтезовані наночастинки ZnO виявляють антибактеріальну та інгібуючу активність проти патогенних бактерій залежно від концентрації [61].

Методом агарової лунки встановлено ефективну антимікробну активність наночастинок ZnO проти різних грампозитивних і грамнегативних бактеріальних і грибкових патогенів, таких як *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans* і *Aspergillus flavus* [62], *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumonia* та *Staphylococcus aureus* [63].

Молочнокислі бактерії розробили механізми толерантності до іонів цинку. Основний механізм стійкості бактерій штаму *Lactobacillus* до іонів цинку значною мірою залежить від здатності мікроорганізмів взаємодіяти з йонами цинку через процеси біосорбції або біоаккумуляції [64].

Синтез наночастинок ZnO з використанням безклітинного фільтрату гриба *Aspergillus fumigatus* було підтверджено піком 350 нм. Через 48 годин

жовтий колір досліджуваного розчину змінився на білий, порівняно з контролем, у якому немає зміни кольору. Даний висновок свідчить про утворення наночастинок. Зміна кольору зумовлена поверхневим плазмонним резонансом з наступним зниженням іонів цинку білками, присутніми у фільтраті, в результаті чого утворилася білі агрегати наночастинок оксиду цинку. Для оксиду цинку піки поглинання наночастинок повинні бути між 340-385 нм. Серед грампозитивних бактерій діаметр зони інгібування, утвореної наночастинками оксиду цинку проти *S. aureus* показали значне збільшення порівняно з *B. subtilis*. Серед грамнегативних бактерій діаметр зони інгібування, утвореної оксидом цинку наночастинок проти *K. pneumoniae* показали значне збільшення порівняно з *E. coli* та *P. aeruginosa*. Вплив наночастинок оксиду цинку на *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. Aureus* та *B. subtilis* показав сильну антибактеріальна активність щодо *S. aureus* та *K. pneumoniae* [65].

Lactobacillus sporogens також використовується для синтезу наночастинок цинку. Поглинання випромінювання за допомогою УФ-видимої спектроскопії відбувається в діапазоні 315 нм. Рентгеноструктурний аналіз показав, що наночастинки оксиду цинку мають гексагональну коміркову структуру із середнім розміром 145,7 нм. Дослідження інгібуючої активності біологічно синтезованих наночастинок виявило хорошу ефективність проти *Staphylococcus aureus* [66].

1.6.3 Біосинтез наночастинок церію

Наночастинки оксиду церію проявляють окислювально-відновну активність, властивості поглинати вільні радикали, інгібуючи біоплівки тощо. Бактерії та гриби мають потенціал для синтезу наночастинок металів, проте наразі існує невелика кількість досліджень [67].

Екстракт *Aspergillus niger* дав кубічні флюоритові НЧ зі сферичною морфологією та середнім розміром 5 нм. Спектр УФ-видимого діапазону продемонстрував відповідний пік поглинання для НЧ CeO_2 при 296 нм. Методом дискової дифузії досліджено антибактеріальну активність НЧ CeO_2 щодо двох грампозитивних (G+) бактерій (*Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus*

subtilis) та двох грамнегативних (G⁻) бактерій (*Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*). Результати випробувань для НЧ CeO₂ у концентрації 10 мг/мл показали вищу активність у зоні інгібування до $10,67 \pm 0,33$ і $10,33 \pm 0,33$ мм проти *Streptococcus pneumonia* та *Bacillus subtilis* відповідно [67].

Наночастинки CeO₂ сферичної форми розміром від 20–30 нм були виготовлені з використанням екстракту патогенного рослинного гриба *Fusarium solani*, який продемонстрував ефективне пригнічення росту та інгібування утворення біоплівки проти патогенних штамів бактерій, а саме *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* і *Klebsiella pneumoniae*. Антибактеріальну активність наночастинок CeO₂ оцінено методом дискової дифузії. Результати показали найвищу активність щодо *P. aeruginosa*, а також *K. pneumoniae*. Методами рентгеноструктурного аналізу та раманівської спектроскопії підтверджено наявність наночастинок CeO₂ з кубічною структурою флюориту [68].

Позаклітинне утворення наночастинок оксиду церія сферичної форми (12–20 нм) відбувається з використанням термофільного грибка *Humicola carping agent*. Спектр поглинання біосинтезованих наночастинок CeO₂ виявили сильну смугу поглинання та край поглинання при 300 та 400 нм [69].

Наночастинки, синтезовані за допомогою позаклітинного супернатанту *Bacillus subtilis* мають кристалічну природу, сферичну форму та середній розмір приблизно 8,022 нм. Контролюється утворення наночастинок спектрофотометром UV-Vis в діапазоні 200-400 нм через різні інтервали часу. Наноцерій має два ступені окислення. Ce (III) є безбарвним, тоді як Ce (IV) має жовто-червоний колір. Обидва ступені окислення мають два різних піки УФ-адсорбції – Ce (III) в діапазоні 230-260 нм, в той час, як Ce (IV) в діапазоні 300-400 нм. Максимум адсорбції гострого піку, знайденого при 300 нм з жовтим забарвленням вказує на наявність ступенів окиснення Ce (IV). Спектр гострого піку спостерігався протягом 5-годинного інтервалу при 300 нм довжини хвилі. Бактеріально опосередковані наночастинки церія продемонстрували чудовий антиоксидантний потенціал *in vitro*. Біосинтезований наноцерій є

антиоксидантом, отже здатний до уповільнення або запобігання процесу окислення. Інгібуюча здатність наночерію потужніша проти аскорбінової кислоти. Відсоток від інгібування вільних радикалів посилюється зі збільшенням концентрації зразків [70].

Curvularia lunata також використовується для синтезу наночастинок CeO_2 сферичної форми з діапазоном розмірів від 5 до 20 нм. Зміна кольору від білого до жовто-коричневого вказує на початкову реакцію. Тестування наночастинок проти мікробних патогенів видало хороший антибактеріальний потенціал. Бактерицидний потенціал НЧ CeO_2 пояснюється сильними електростатичними властивостями, відмінною морфологією, малим розміром, низькою смуговою енергією. Завдяки сильному електростатичному потенціалу наночастинок CeO_2 взаємодіють з тіоловими групами мембранних білків, що призводить до денатурації білка, а непроникність мембрани зрештою призводить до загибелі мікробів. Зрештою, наночерій має здатність знищувати як грампозитивні, так і грамнегативні бактерії, проте через структурну складність мембран грамнегативних бактерій він більш чутливий до грампозитивних видів [71].

1.6.4 Біосинтез наночастинок титану

Бактеріальні екстракти були використані для створення зеленого виробництва наночастинок TiO_2 . Бактеріальні метаболіти відіграють ключову роль у біовідновленні та стабільності TiO_2 . Наночастинок TiO_2 , які в природі існують у трьох різних кристалічних формах анатазу, рутилу та брукіту, можна отримати за допомогою біологічного агента. Екстракт *Aeromonas hydrophila* використовувався для виготовлення наночастинок титану розміром 28–54 нм. У ході дослідження продемонстровано ефективну пригнічувальну дію проти *Staphylococcus aureus* (інгібування 33 мм зона) і *Staphylococcus pyogenes* (зона інгібування 31 мм) [72].

З одного боку, наночастинок TiO_2 отримані з використанням бактерії *Lactobacillus* під час комбінованої дії ферментів оксидоредуктази та глюкози при помірному рН, тоді як, з іншого боку, їх можлива патогенність і важке

бактеріальне виробництво мають мінімальні можливості для комерціалізації [73].

Екстракти *Aspergillus flavus* здатні відновлювати іони титану до наночастинок оксиду титану. В результаті синтезовано окремі наночастинки, так і нечисленні агрегати розміром 62–74 нм. Ці наночастинки продемонстрували сильні результати антибактеріальну дію проти *E. coli* [74].

Наночастинки діоксиду титану, синтезовані з титану як попередника з використанням бактерії *Bacillus subtilis*. Синтезовані наночастинки були охарактеризовані та підтверджені як наночастинки TiO_2 за допомогою УФ-спектроскопії, XRD, FTIR, AFM та SEM аналізу. Виявлено морфологічні характеристики сферичної, овальної форми, окремих наночастинок, а також окремих агрегатів розміром 66–77 нм. Дослідження в УФ-видимому діапазоні, яке виявило поверхневий плазмонний резонанс при 366 нм. XRD показує кристалографічну площину анатазу наночастинок TiO_2 , вказуючи на те, що структура наночастинок переважно відповідає кристалічному діоксиду титану анатазу [75].

Досліджено вплив діоксиду титану на 100 штамів нативних лактобацил. У зразках штамів, котрі здібні синтезувати наночастинки титану колір розчину змінився зі світло-коричневого на темно-коричневий. Тоді як нездатні до біосинтезу штами продемонстрували відсутність зміни кольору. Позаклітинний опосередкований *Lactobacillus* біосинтез наночастинок титану в MRS-бульйоні показав результати: розмір наночастинок титану становить 150 нм, форма сферична [76].

Є відомості про синтез наночастинок TiO_2 з використанням збудника грибка *Fusarium oxysporium*. *Saccharomyces cerevisiae* і *Lactobacillus sp.* створюють наночастинки TiO_2 розміром 30 і 18 нм відповідно. Для визначення утворення наночастинок TiO_2 виконуються рентгенівський і просвічуючий електронний мікроскопічний аналіз. Виявлено, що джерело енергії, рН і загальний окислювально-відновлювальний потенціал є важливими факторами в

синтезі наночастинок TiO_2 [77]. Встановлено, що наночастинки діоксиду титану, створені завдяки *Lactobacillus crispatus*, зменшують утворення біоплівки, гемолізину та уреазу, які відповідають за розвиток стійкості патогенів до множинних лікарських засобів [78].

Проведено численні дослідження, щоб з'ясувати, як наночастинки TiO_2 , що використовуються для бактерицидних цілей, впливають на клітини бактерій. Такі бактерії як *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterococcus hirae* і *Bacteroides fragilis* були вбиті ефектами наночастинок TiO_2 під дією ультрафіолетового світла [79].

Bacillus amyloliquefaciens застосовується для синтезу кристалітів біосинтезованих наночастинок титану, розмір яких знаходиться в діапазоні 15,23–87,6 нм. Фур'є-спектроскопія встановила переконливі докази наявності білків у некальцинованих наночастинок діоксиду титану для стабілізації та запобігання агломерації частинок [80].

Висновки до розділу 1

Наука та техніка наносистем є однією з них найскладніших та найшвидше розвиваючих галузей нанобіотехнологій. В даний момент зростає потреба в розвитку екологічно чистого процесу синтезу наночастинок, під час якого не використовують токсичні хімікати. Саме тому, важливим напрямком досліджень у нанотехнологіях є синтез металевих наночастинок мікроорганізмами, такими як бактерії та дріжджі (детоксикація часто відбувається шляхом відновлення металу іонів/утворення сульфідів металів). Бактерії є організмом вибору завдяки їх швидкому росту, високій ефективності і невеликій вартості. Наночастинки металів виявляють антимікробні ознаки, однак властивості наночастинок залежать від їх розміру та форми, що робить їх специфічними для різних застосувань. Тим не менш, бажаний розмір і форму наночастинок можна отримати за допомогою оптимізації процесу синтезу шляхом маніпулювання умовами їх реакції. Опосередкований мікробами синтез наночастинок є альтернативою хімічним і фізичним методам, оскільки є нетоксичним та біосумісним. Незважаючи на актуальність застосування методу «зеленого синтезу» у сфері нанотехнологій, біосинтез за рахунок бактеріальних організмів має певні недоліки, такі як висока ймовірність патогенності, трудомістке культивування та проблеми з забрудненням. Зрештою, існує потреба дослідити більше потенційних мікроорганізмів для синтезу наночастинок металів [34].

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ

2.1 Характеристика біологічного агента *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

В роботі використали ліофілізований штам *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 надані для наукових досліджень Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Штами належать до Української колекції мікроорганізмів.

2.1.1 Таксономічний статус *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Царство: Бактерій

Тип: *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Порядок: *Lactobacillales*

Родина: *Lactobacillaceae*

Рід: *Lactobacillus*

Вид: *acidophilus*

2.1.2 Морфолого-культуральні та фізіологічні властивості *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Лактобактерії ацидофільні (лат. *Lactobacillus acidophilus*) – непатогенні грампозитивні факультативні анаеробні неспоротворні бактерії, що відносяться до роду *Lactobacillus*. *Lactobacillus acidophilus* має потенційну антимікробну та імуномодулюючу дію та є однією з найвідоміших культур з лікувально-профілактичного ефекту серед молочнокислих бактерій. Цей штам вирізняється високим рівнем антагонізму до сальмонел, стафілококів та кишкової палички [81].

Lactobacillus acidophilus являє собою нерухомі прямі безспоріві палички довжиною 2–10 мкм, розміром зазвичай 0,6-0,9x1,5-6 мкм, розташовуються поодиноці або у вигляді коротких ланцюжків з 2-4 і більше клітин (рис. 2.1). Джгутиків не утворюють. Хемоорганогетеротрофи, мікроаерофіли [81].

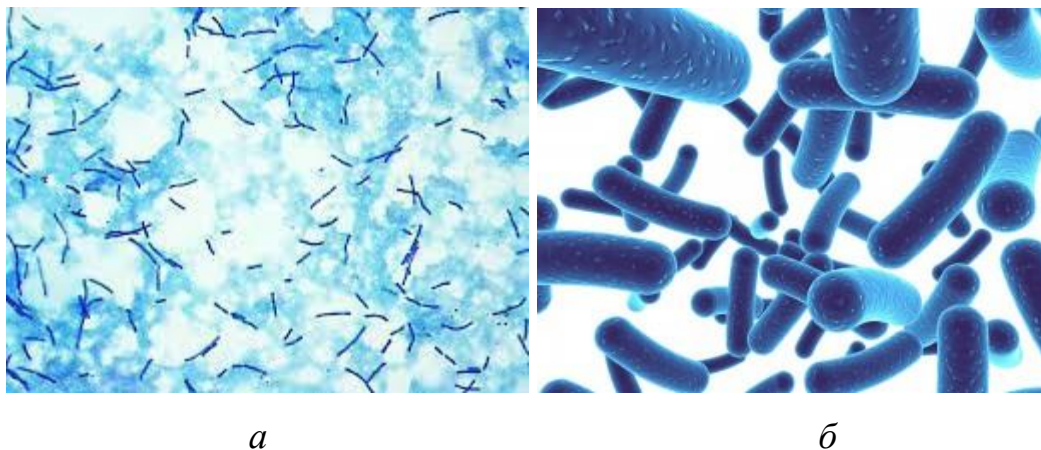


Рис. 2.1. Клітини *Lactobacillus acidophilus* під мікроскопом: світлова (а) та електронна (б) мікроскопії

Lactobacillus acidophilus – мікроаерофільні та облігатні гомоферментативні бактерії, що ростуть у присутності азоту та 5-10% вуглекислого газу в атмосфері, при низькій напрузі кисню. *Lactobacillus acidophilus* не утворюють ендоспор. За Грамом забарвлюються позитивно, стають грамнегативними з віком і при підвищенні кислотності. При фарбуванні за Грамом або метиленовим синім у деяких штамів виявляються біполярні тільця, зернистість або лінійна смугастість цитоплазми. Характеристикою гомоферментативності є здатність бактерій продукувати DL-молочну кислоту як основного продукту метаболізму при ферментації цукрів, витримувати високу кислотність та температуру. Температура 37–42 °С та рН 5,5-6,0 є оптимальними умовами росту цих мікроорганізмів. На відміну від *L. bulgaricus* та *L. lactis* не містять гранул метахроматину. Фізіолого-біохімічними властивостями бактерій є здатність до гідролізу ескуліну [82].

Бактерії роду *L. acidophilus* здатні ферментувати моноцукори (глюкозу, фруктозу, галактозу), лактозу, сахарозу, трегалозу, саліцин, а в результаті вуглеводного обміну можуть синтезувати екзополісахариди. Деякі штами ферментують глікоген (зазвичай слабо). Деякі штами ферментують мелібіозу та/або рафінозу. Ацидофільні палички володіють слабкою протеолітичною активністю, не утворюють індол, каталазу та сірководень, не виробляють ліпази, лецитинази та уреазу [83, 84]. Ще одна властивість, характерна для

ацидофільної палички – здатність пригнічувати ріст ряду представників патогенних, умовно-патогенних та технічно-шкідливих мікроорганізмів [85].

Lactobacillus acidophilus утворює два морфотипи колоній при вирощуванні в стандартних умовах культивування на агарі MRS, які називають шорсткими та гладкими колоніями. Співвідношення морфотипів колоній від шорстких до гладких, які демонструє *L. acidophilus*, залежить від впливу антибіотиків пеніцилінової групи або жовчі. Які, у свою чергу, викликають дозозалежний зсув до гладкого морфотипу. Мікроскопічне дослідження зазвичай виявляє скручені або пухнасті волокнисті виступи з темною волокнистою масою в центрі колонії. Глибинні колонії мають неправильну форму з радіальними чи розгалуженими виступами. Не мають характерного забарвлення. Пептидоглікан клітинної стінки складається з тейхоєвої, ліпотейхоєвої, ліпогліканової, тейкуронової кислот, а також містить вторинний полімерний бар'єрний шар між мікроорганізмом та його екологічною нішою. Досягається синергетичний ефект між білком S-шару і низином, який інгібує ріст і генерує лізис патогенних бактерій, як грампозитивних, так і грам негативних [85].

Клітинні стінки не містять якихось помітних гексоз та пентоз. Крім того, деякі штами мають у своїй клітинній стінці додаткову оболонку, яку називають білком S-шару або поверхневим шаром. Штами виявляють серологічну різноманітність і не дають групових реакцій. Присутність ацетату або мевалонової кислоти, рибофлавіну, пантотенату кальцію, ніацину та фолієвої кислоти сприяє росту бактерій. Зазвичай не потребують ціанкобаламіну, тіаміну, піридоксулю і тимідину [85].

L. acidophilus являється представником нормальної мікрофлори людини, тому використовується як ефективний альтернативний біологічний препарат використанню антибіотиків при лікуванні кишкової інфекції та для зменшення симптомів антибіотикоасоційованої діареї [86, 87]. *Lactobacillus acidophilus* має виражену антагоністичну властивість по відношенню до патогенної мікрофлори, посилює активність макрофагів в організмі, стимулює секрецію

антитіл, цитокінів, продукує нуклеази, посилює фагоцитоз, знижує холестерин. *L. acidophilus* здатний продукувати гліколітичні, протеолітичні та ліполітичні ферменти [87].

2.2 Поживні середовища, що використовували для культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

2.2.1 Середовище ГПС для культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Глюкозо-пептонне середовище (ГПС) – поживне середовище для росту бактерій, яке забезпечує їх всіма необхідними речовинами.

Склад ГПС, г/л:

Глюкоза	10,0
Пептон	5,0
NaCl	5,0
Дистильованої води	до 1000 мл

Зовнішній вигляд суміші сухих компонентів: дрібнодисперсний, гігроскопічний, світлочутливий порошок світло-жовтого кольору, який отримують змішуванням сухих компонентів.

Щільність готового середовища: утворюється середовище, що відповідає за щільністю 1,2% агарового гелю.

Колір та прозорість готового середовища: мікроорганізми, що ферментують глюкозу або лактозу дають дифузне помутніння середовища зі зміною її кольору на жовтий, при газоутворенні в поплавці утворюється повітряна бульбашка. Мікроорганізми, що не ферментують глюкозу або лактозу, дають дифузне помутніння середовища без зміни його кольору і без газоутворення.

Кислотність середовища: кінцеве значення рН(при 25°C) 6,8 – 7,2.

Спосіб приготування

Змішати всі компоненти, кип'ятити протягом 1-2 хв до повного розчинення часточок. Фільтрувати через ватно-марлевий фільтр, розлити по 5 мл у стерильні пробірки з поплавцями і стерилізувати автоклавуванням при 0,5

атм при 110°C протягом 20-30 хв. Остудити до 45-50°C. Готове середовище має цегляно-зелений колір. Можлива опалесценція.

Готове середовище до використання можна зберігати в темному місці не більше 7 діб за температури 2-8°C. Посіви досліджуваних зразків інкубують 18-22 год при температурі 37°C. Для засіву використовувати по 1 мл досліджуваних проб (води, змивів та ін.).

Середовище зберігати за температури від 2°C до 25°C. Заморожування не допускається. Готове глюкозо-пептонне середовище придатне до використання протягом 10 діб за умови його зберігання при температурі 2-8°C.

2.2.2 Середовище МРС для культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

МРС (Ман, Рогоза, Шарп) агар – селективне середовище для підтримки росту лактобактерій. Поживне середовище призначене для культивування, виділення та підрахунку всіх видів *Lactobacillus* з харчових продуктів та інших тестованих матеріалів при проведенні лабораторних досліджень.

Склад МРС, г/л:

Дріжджовий екстракт	5,0
М'ясний екстракт	10,0
Пептон	10,0
Глюкоза	20,0
Твин 80	1,0
K ₂ HPO ₄	2,0
Ацетат натрію	5,0
Діамоній цитрат	2,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,05
Вода дистильована до	1000,0 мл

Зовнішній вигляд порошку: гомогений сипкий жовтий порошок.

Щільність готового середовища: утворюється середовище, що відповідає за щільністю 1,2% агарового гелю.

Колір та прозорість готового середовища: середовище має бурштинове фарбування, прозоре або злегка опалескує, якщо в пробірках або чашках Петрі формується гель.

Кислотність середовища: кінцеве значення рН(при 25°C) 6,2 – 6,5

Спосіб приготування

Розвести 67,2 г середовища на 1 літрі дистильованої води з гліцерином. Добре перемішати та нагріти. Часто помішуючи, довести до кипіння. Кип'ятити протягом хвилини до розчинення агару. Розлити в колби. Стерилізувати автоклавуванням при 1,1 атм при 121°C протягом 15 хв. Охолодити до 45-50 °C, ретельно перемішати та розлити в чашки Петрі. Готове середовище має бурштиновий колір, має зберігатися за температури 8–15°C.

Середовище зберігати за нормальної температури нижче +30°C. Готове середовище зберігати за нормальної температури +2-8°C.

2.3. Методика синтезу наночасток металів з використанням культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Біосинтез наночасток за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 використовували двома варіантами.

Перший варіант біосинтезу. Методика біосинтезу наночастинок металів полягає у синтезі даних сполук в присутності мікроорганізму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691. При культивуванні клітин в наявності солі металу проходять метаболічні процеси, які забезпечують природну стабілізацію наночастинок у водній фазі. Для проведення синтезу використовували клітини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, які заздалегідь виростили на Глюкозо-пептонному середовищі(див. розділ 2.2). Час культивування становить 48 год у термостаті при температурі 37 °C.

У вирощену культуру вносили розчини AgNO_3 , ZnO , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$, TiO_2 в концентраціях 1мМ та 2мМ. При вирощуванні *L. Acidophilus* УКМ В-2691 розчини солей та оксидів металів вносили перед та після культивування. Зразки помістили на шутель-апарат Orbitec (160 об/хв) протягом 48 годин при 37°C. Після культивування на шутель-апараті перевірили оптичну густину (довж. хвилі 540 нм.). Контролем вважаємо флакон поживного середовища з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691. Осадження клітин центрифугуванням відбувалося упродовж 15 хв при 3000 об/хв. Для дослідження використовували окремо зливу надосадову рідину (супернатант) та біомасу (попередньо до осаду додано 20 % розчин глюкози). Проаналізували вплив розчину глюкози на наночастинки. Всі дослідні зразки помістили у темне місце при температурі 20°C для подальшого дослідження.

Другий варіант біосинтезу. Для синтезу частинок нанометалів використали клітини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, які вирощували на ГПС та МРС (див. розділ 2.2) упродовж 48 год на шутель-апараті при температурі 37 °С, 160 об/хв. Після закінчення інкубації, всі дослідні зразки центрифугували при 3000 об/хв упродовж 15 хв. Після чого відділяли супернатант від біомаси. Біомасу лізували за допомогою хімотрипсину (0,01 г/л) та стерильної дистильованої води. У ці зразки (супернатант та лізат біомаси) вносили солі та оксиди металів (AgNO_3 , ZnO , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$, TiO_2) з концентрацією 2 мМ. Інкубували на шутель-апараті 7 діб за температури +28°C і перемішуванні 130 об/хв. Потім всі дослідні зразки центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. Після фільтрували через бактеріальний фільтр з розміром пор 0,22 мкм. Ці розчини та використовували для подальших досліджень.

2.4 Спектрофотометричний аналіз зразків біомаси, супернатантів та лізатів на наявність наночасток металів

Для аналізу отриманих зразків на наявність наночасток срібла використали УФ-спектрофотометр ULAB 102 UV. Оптичну густину зразків

$\text{Ag}(\text{NO})_3$ вимірювали в діапазоні хвиль від 390 нм до 460 нм з кроком в 5-10 нм, а зразків ZnO , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$, TiO_2 від 300 до 420 нм. В якості контролю використовували дистильовану воду. Діапазон хвиль обраний згідно літературного огляду досліджень піку спектру плазмонного резонансу наночасток металів. Отримані результати були використані для побудови графіків залежності оптичної густини зразків від довжини хвилі.

Перед проведенням вимірювання були дотримані правила експлуатації приладу та проведено калібрування приладу за допомогою функції автокалібрування.

2.5 Визначення розмірів наночастинок металів методом фотонної кореляційної спектроскопії

Для визначення розміру наночастинок використовували метод фотонної кореляційної спектроскопії (ФКС), також відомий як динамічне розсіювання світла (ДРС), за допомогою аналізатора розміру наночастинок BeNano 90 Zeta.

Існує ряд переваг використання приладу при визначенні розміру наночастинок металів. По-перше, фотонна кореляційна спектроскопія є неінвазивним для зразків, тобто структура молекул не буде зруйнована під час визначення розміру. Для приготування розведеного розчину достатньо невеликої кількості зразка. Запропонований метод дозволяє отримати результати з високою повторюваністю, швидкістю та точністю. Процес тестування майже повністю автоматичний, що мінімізує помилки в роботі.

Цей метод надає можливість перевіряти якість досліджуваних зразків, відповідно, максимально підвищити ефективність використання наночастинок завдяки перевірці їх розміру.

Висновки до розділу 2

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

Культивували на поживних середовищах ГПС та МРС за температури 37°C упродовж 48 год з різними солями (AgNO_3 , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$) та оксидами (ZnO , TiO_2) нанометалів для отримання наночасток цих металів.

Для зеленого біосинтезу металевих наночасток за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 використовували два різних метода. В першому вносили солі і оксиди до та після культивування, а в другому – у лізати біомаси та супернатант культуральної рідини.

Для дослідження біосинтезу наночасток металів в присутності мікроорганізму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 використали УФ-спектрофотометрію.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

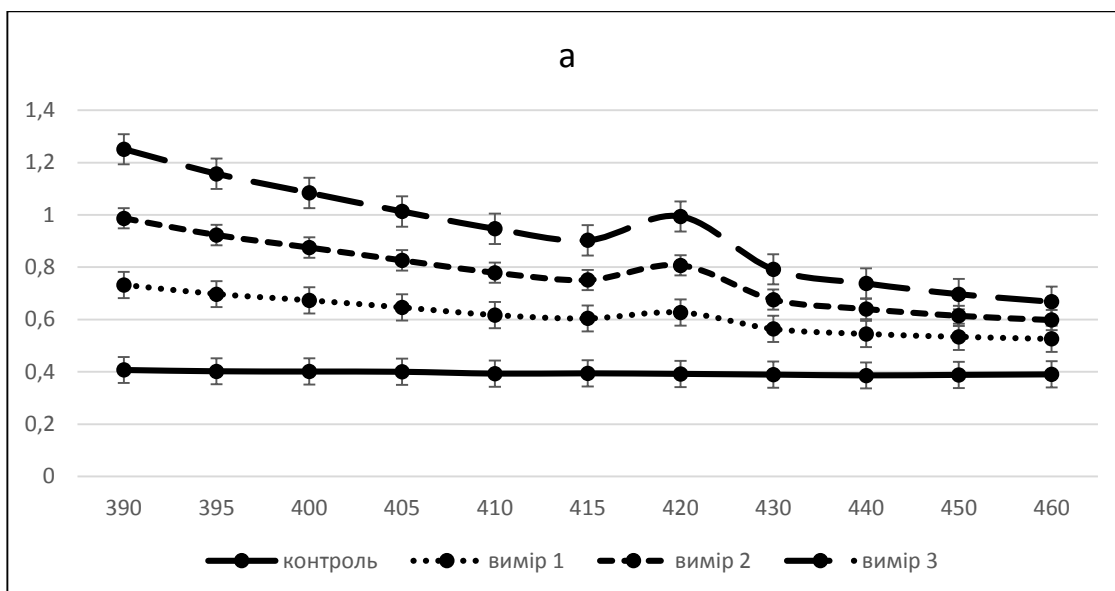
3.1 Біосинтез наночастинок срібла за допомогою культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

3.1.1 Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла до культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

До вирощеного на ГПС *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 (див. розд. 2.2) вносили сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентраціях 1 мМ та 2 мМ. Кожен дослід проводили у трьох повторах. У якості контролю використовували поживне середовище з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 без внесеної солі срібла.

Методом центрифугування розділили надосадову рідину та біомасу. До біомаси додали 20 % розчин глюкози.

Останнім етапом є визначення оптичної густини наночастинок срібла завдяки методу спектрофотометрії (довж.хвилі 390 – 460 нм). Вимір проводили кожні 7 днів.



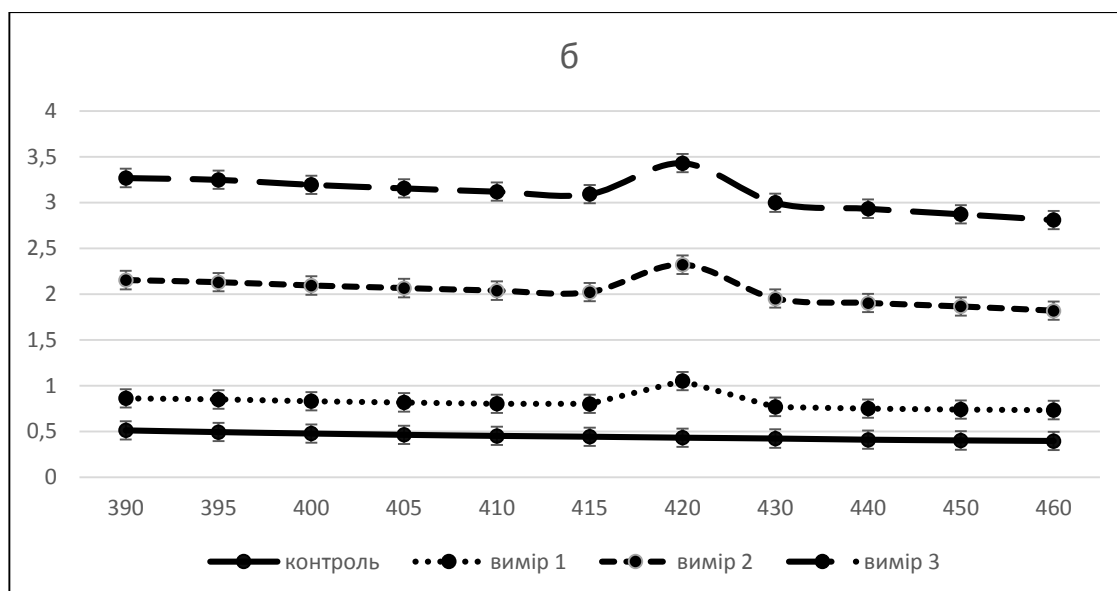
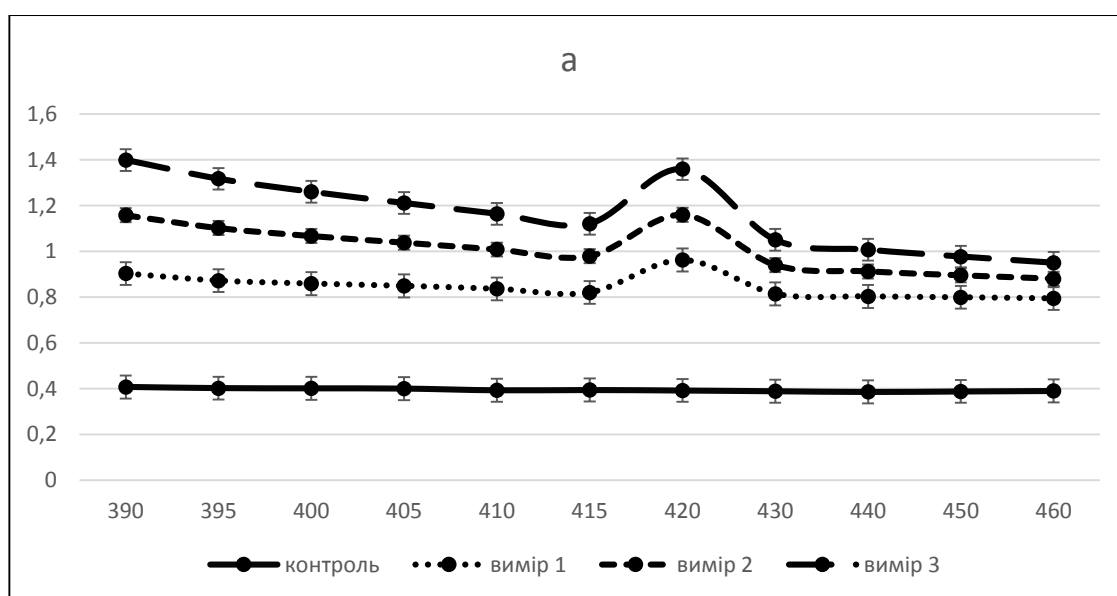


Рис. 3.1.1 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з AgNO_3 у кількості 1мМ перед культивуванням: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.1.1 видно, що значення спектрометрії змінювались залежно від часу вимірювання. Однак пік, що свідчить про наявність наночастинок був присутній у всіх дослідках. Максимальне поглинання наночастинок срібла у діапазоні 420 нм. Контроль не змінний. З плином часу підвищується показник оптичної густини.



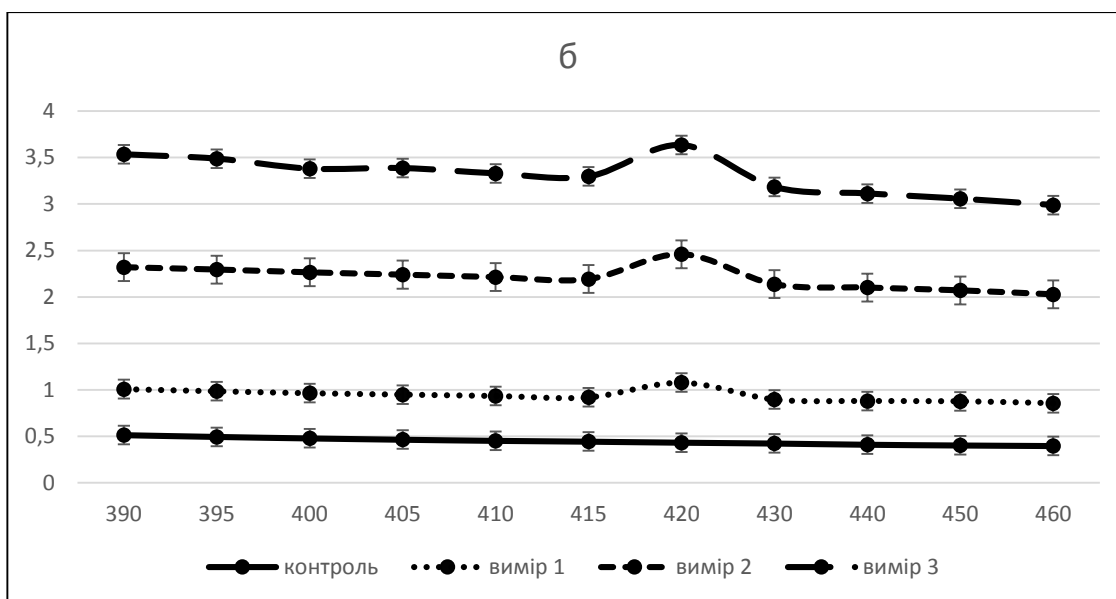


Рис. 3.1.2 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з AgNO_3 у кількості 2мМ перед культивуванням: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Спектрофотометричне вимірювання оптичної густини при внесенні нітрату срібла у концентрації 1мМ і 2 мМ майже однакове. Але значення оптичної густини у зразку з біомасою майже удвічі вище у порівнянні з надосадовою рідиною (рис. 3.1.1 та 3.1.2). Це може свідчити про наявність утворення колоїдних металевих часток, оскільки у всіх варіантах є пік поглинання наночасток срібла у діапазоні 420 нм. Зразок контролю не має піку поглинання.

3.1.2 Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла після культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Lactobacillus acidophilus УКМ В-2691 культивували на ГПС (див. розд. 2.2) упродовж 48 годин при 37°C на шутель-апараті. Після культивування до культури бактерій вносили сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентраціях 1 мМ та 2 мМ. Кожен дослід проводили у трьох повторах. Контролем вважаємо

культуральну рідину *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 без внесеної солі срібла (рис. 3.1.3 та 3.1.4).

Культуральну рідину центрифугували і відокремлювали біомасу від надосадової рідини. Після чого до біомаси додавали 20 % розчин глюкози. Потім вносили у надосадову рідину і біомасу нітрат срібла у концентраціях 1 мМ та 2 мМ. Потім визначали оптичну густину при довжинах хвиль 390 – 460 нм на 7, 14 та 21 день.

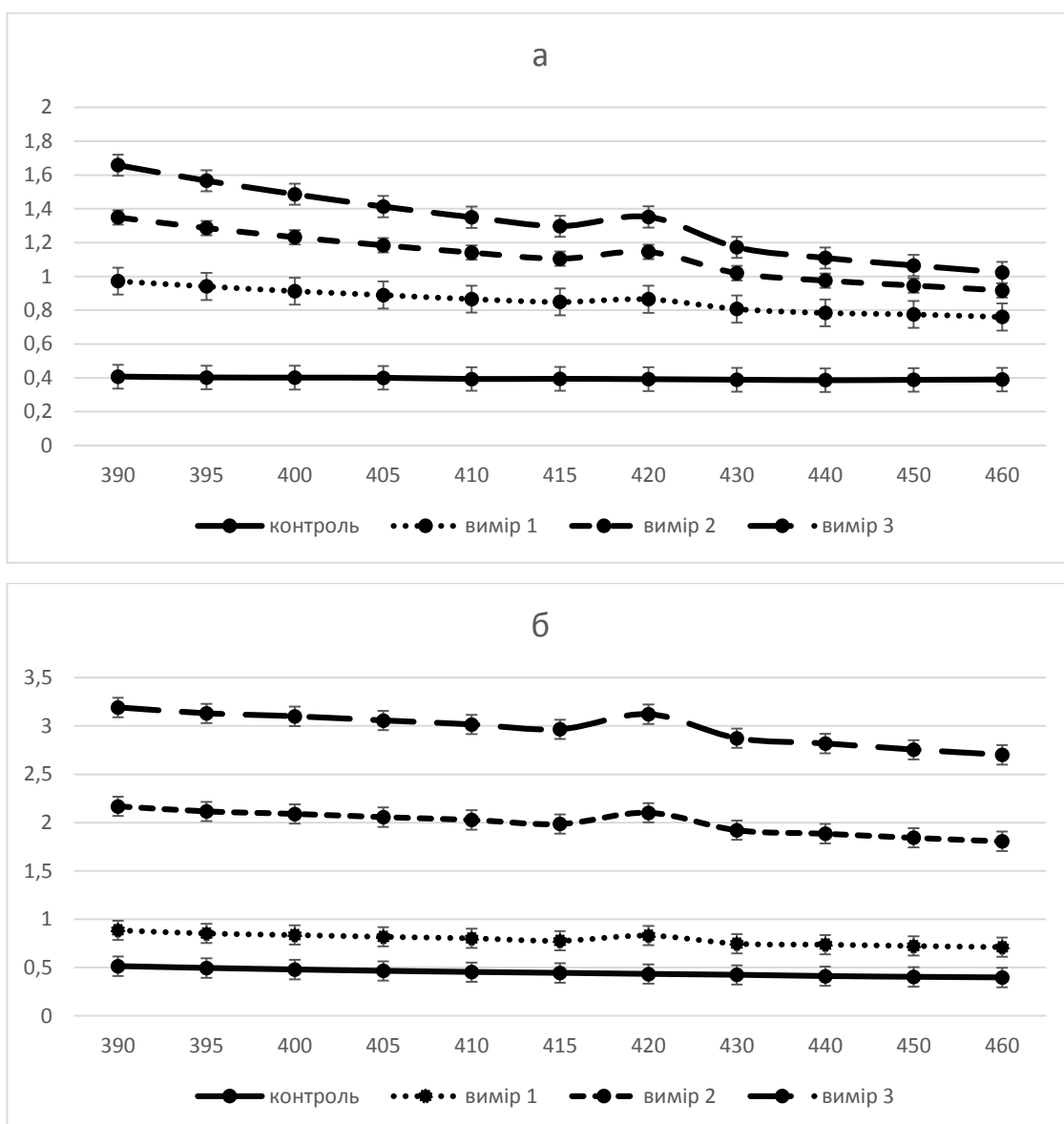


Рис. 3.1.3 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням AgNO_3 після культивування у кількості 1 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

На рис. 3.1.3 показано результати спектрофотометричних вимірів, що свідчать про наявність утворених колоїдних часток металу. Максимальний пік поглинання срібних наночастинок при довжині хвилі 420 нм. Контроль не має піку.

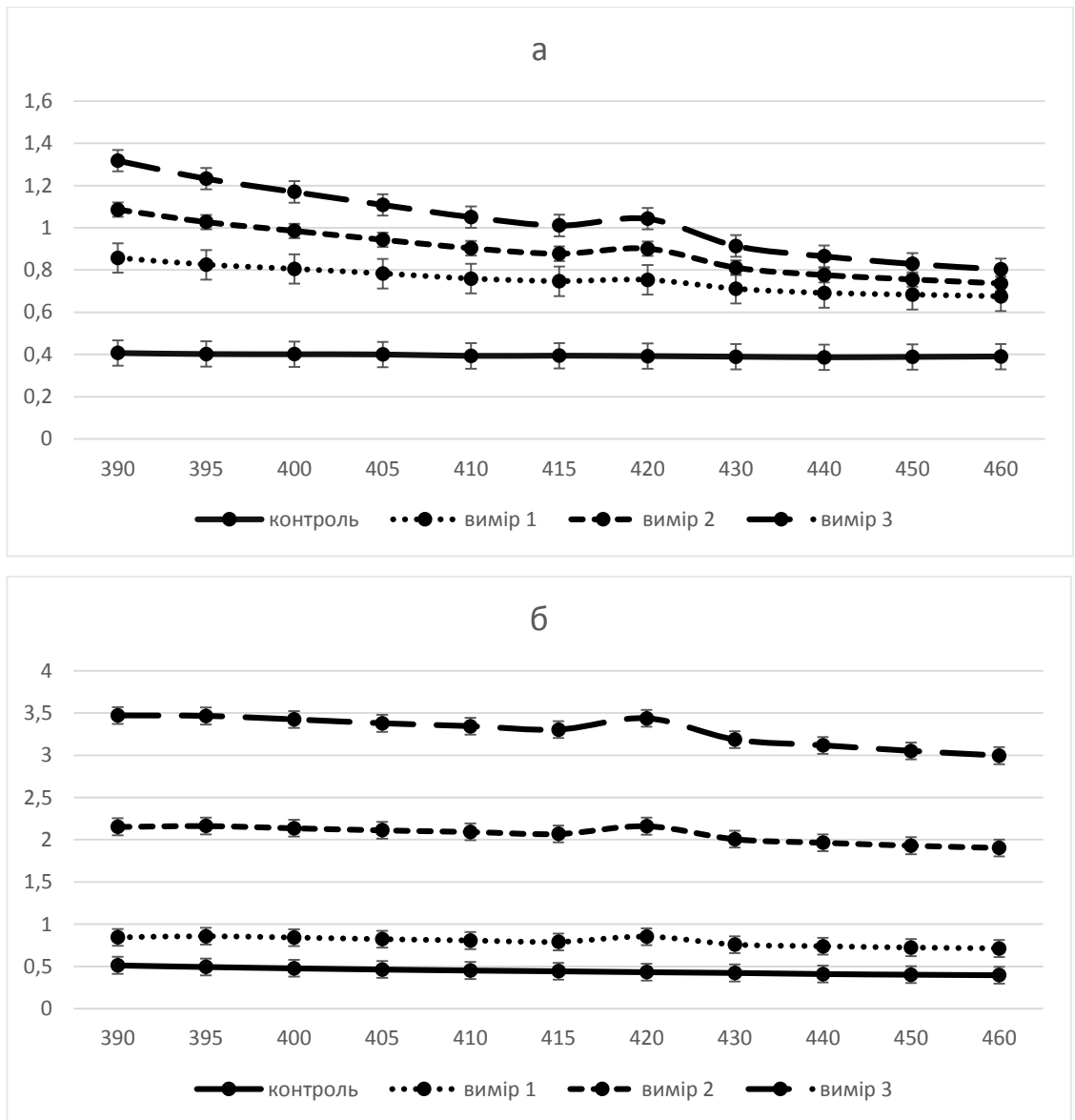
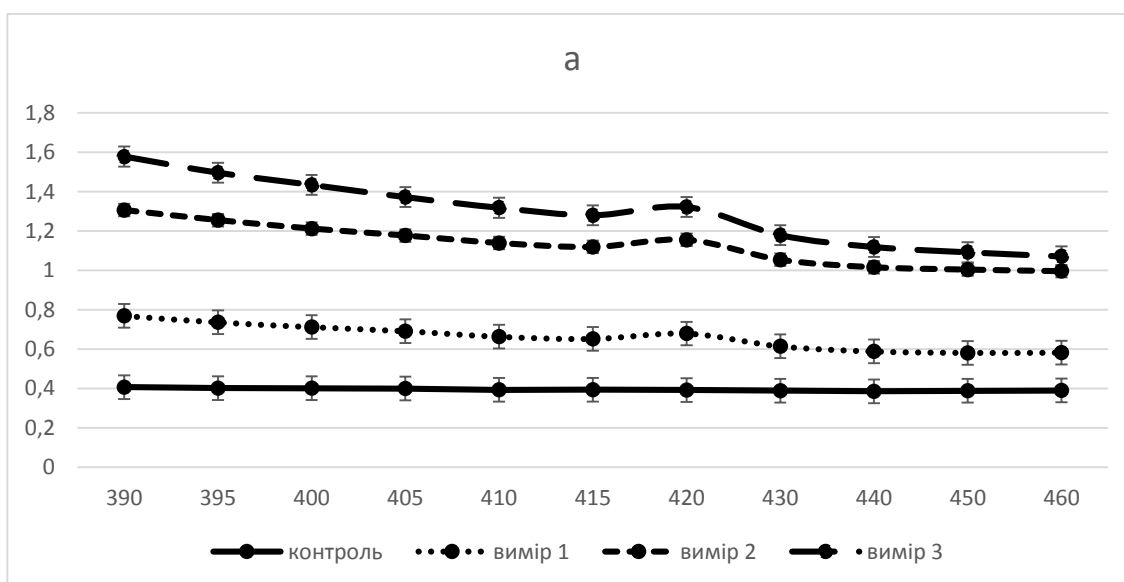


Рис. 3.1.4 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням AgNO_3 після культивування у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Аналізуючи графіки на рис. 3.1.3 та 3.1.4 можна зробити висновок, що результати спектрофотометричних вимірів свідчать про наявність утворених колоїдних часток металу, про що вказує максимальний пік поглинання срібних наночастинок в діапазоні 420 нм в усіх варіантах при двох різних концентраціях внесення нітрату срібла. Також спостерігали, що у дослідах з біомасою показники оптичної густини майже у двічі вищі ніж у супернатанті. Про це свідчать значення графіків на рис. 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3 та 3.1.4.

3.1.3 Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла у лізати та супернатант бактерій *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Згідно другого варіанту біосинтезу (див. розділ 2.3) у супернатант та лізат біомаси вносили сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентрації 2 мМ. Перевіряли оптичну густину наночастинок срібла на 7, 14 та 21 добу за допомогою методу спектрофотометрії при довжинах хвилі 390 – 460 нм.



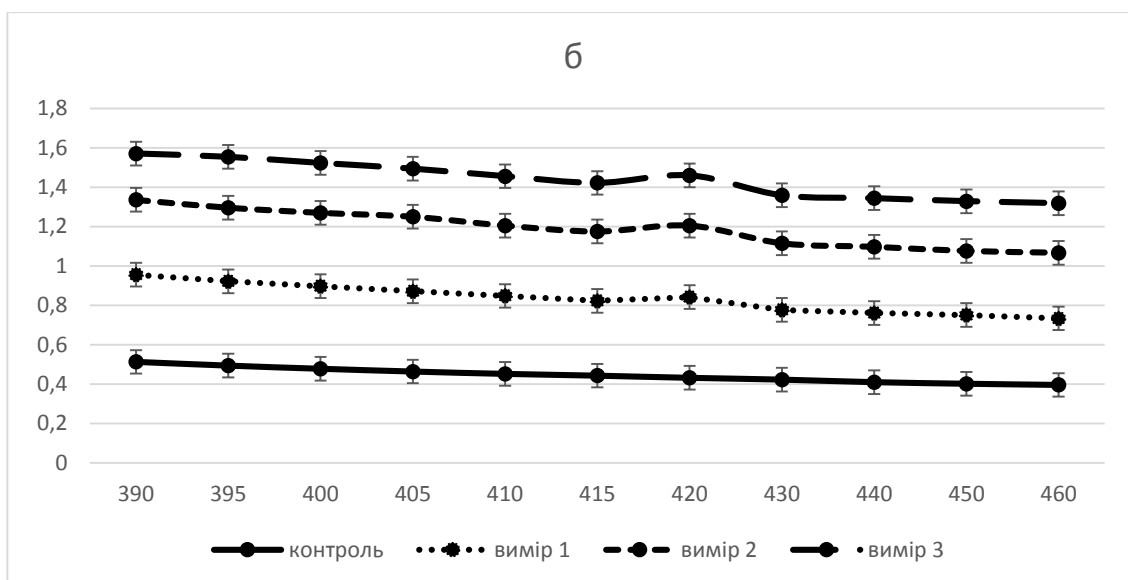
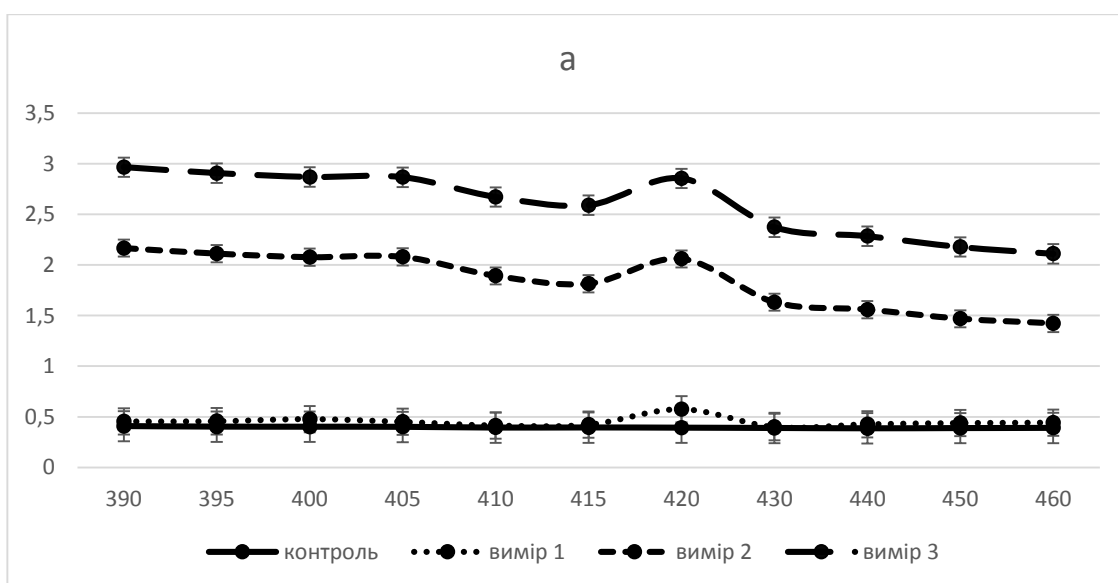


Рис. 3.1.5 Пік *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням AgNO_3 у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), лізат біомаси (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.1.5 видно, що значення спектрометрії змінювались залежно від часу вимірювання. Однак пік, що свідчить про наявність наночастинок був присутній у всіх дослідках. Максимальне поглинання наночастинок срібла при 420 нм спостерігався на зразках вирощених на середовищах ГПС (рис. 3.1.5) та МРС (рис. 3.1.6).



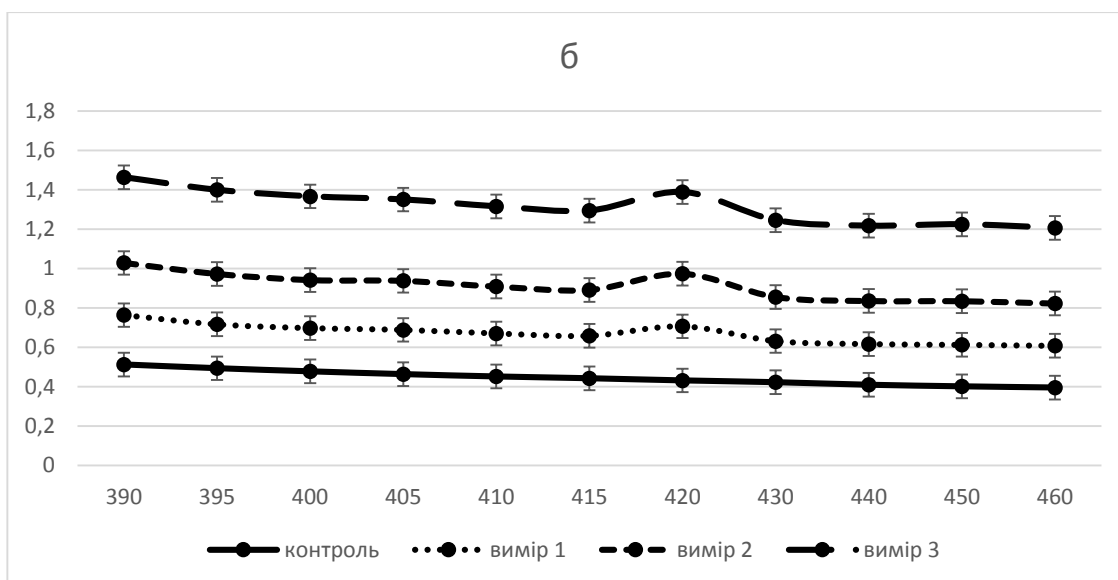


Рис. 3.1.6 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на МРС з внесенням AgNO_3 у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), лізат біомаси (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Отримані результати на спектрофотометрі (рис. 3.1.6) вказують на наявність утворення колоїдних металевих часток, оскільки спостерігаємо пік у діапазоні 420 нм. Ці результати були досліджені за допомогою аналізатора вимірювання наночастинок VeNano 90 Zeta (рис. 3.1.7, 3.1.8 та додаток А і Б).

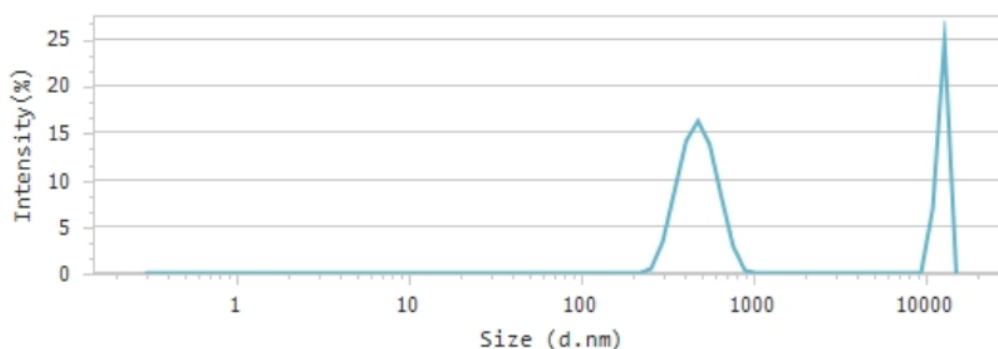


Рис. 3.1.7 Результат вимірювання розміру наночастинок срібла у зразку лізату біомаси (див. додаток А).

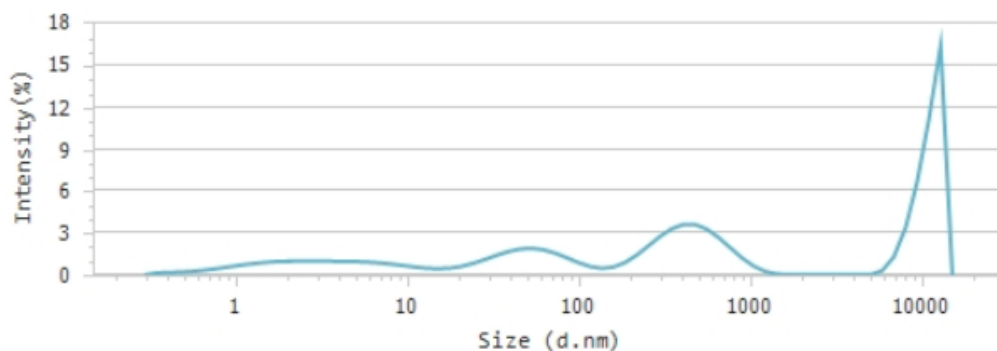


Рис. 3.1.8 Результат вимірювання розміру наночастинок срібла у зразку супернатанту (див. додаток Б).

На аналізаторі підтвержено наявність наночастинок срібла та визначено їх розміри. У зразку лізату біомаси розмір наночастинок становив 486,28 нм, в той час як, наночастинок срібла у зразку супернатанту – 4,23 нм та 56,06 нм (рис. 3.1.7, рис. 3.1.8). Важливо зазначити, що у надосадовій рідині утворюються наночастинок срібла набагато меншого розміру, що збільшує їх переваги у використанні.

3.2 Біосинтез наночастинок цинку за допомогою культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

3.2.1 Визначення оптичної густини наночастинок цинку при внесенні оксиду цинку до культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

До *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, вирощеної на ГПС, додавали оксид цинку в концентраціях 1 мМ та 2 мМ (див. розділ 2.2). Кожен експеримент проводили в триразовій повторності. В якості контролю використовували живильне середовище з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 без оксиду цинку.

Надосадову рідину та біомасу відокремлювали центрифугуванням. Після чого до біомаси додавали 20 % розчин глюкози.

Останній етап – визначення оптичної густини наночастинок срібла методом спектрофотометрії (довжина хвилі 300 – 420 нм). Вимірювання проводили кожні 7 днів.

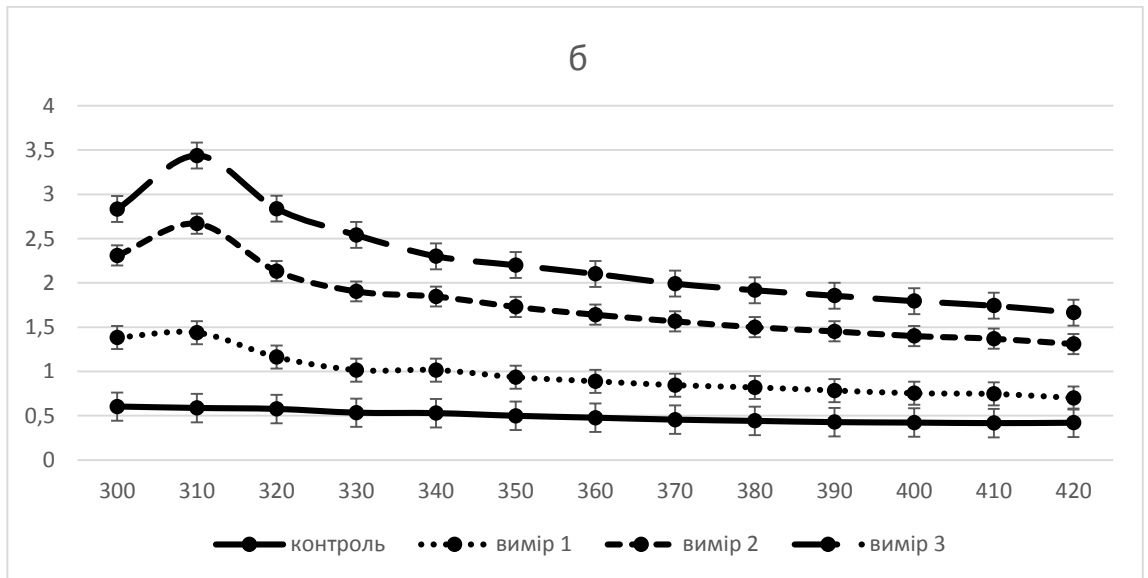
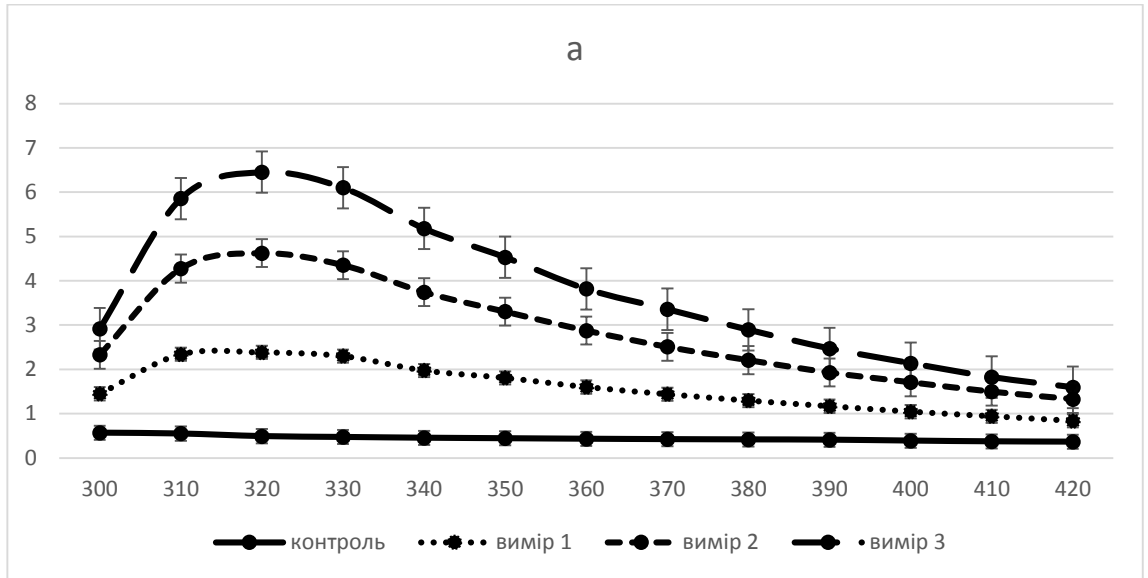


Рис. 3.2.1 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням ZnO у кількості 1 мМ перед культивуванням: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

На рис. 3.2.1 спектрофотометричне вимірювання демонструє формування колоїдних частинок металу. Максимальне поглинання наночастинок цинку у зразках супернатанту та біомаси досягається при довжині хвиль 320 нм та 310 нм, відповідно.

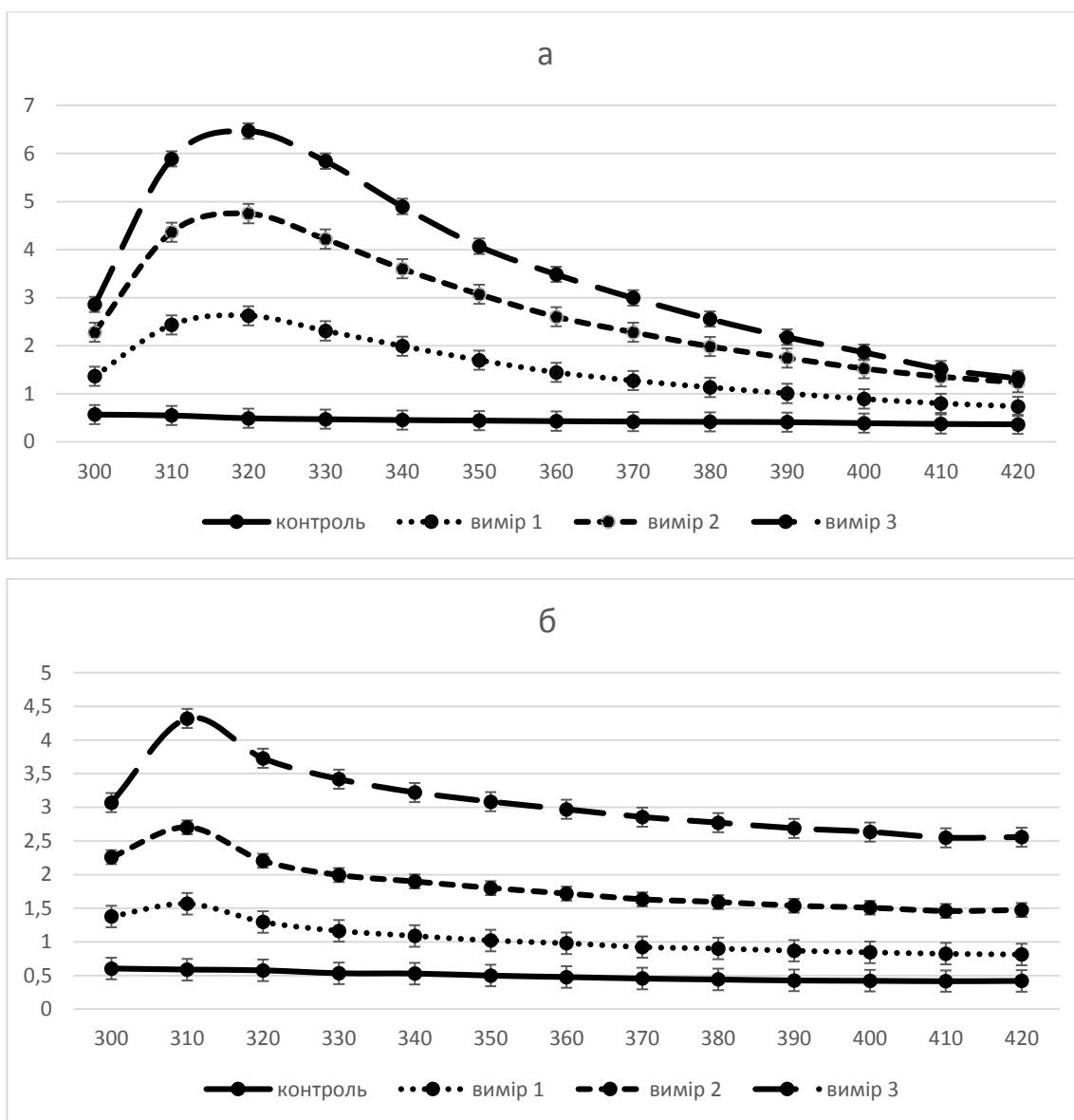


Рис. 3.2.2 Пік *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з ZnO у кількості 2 мМ перед культивуванням: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

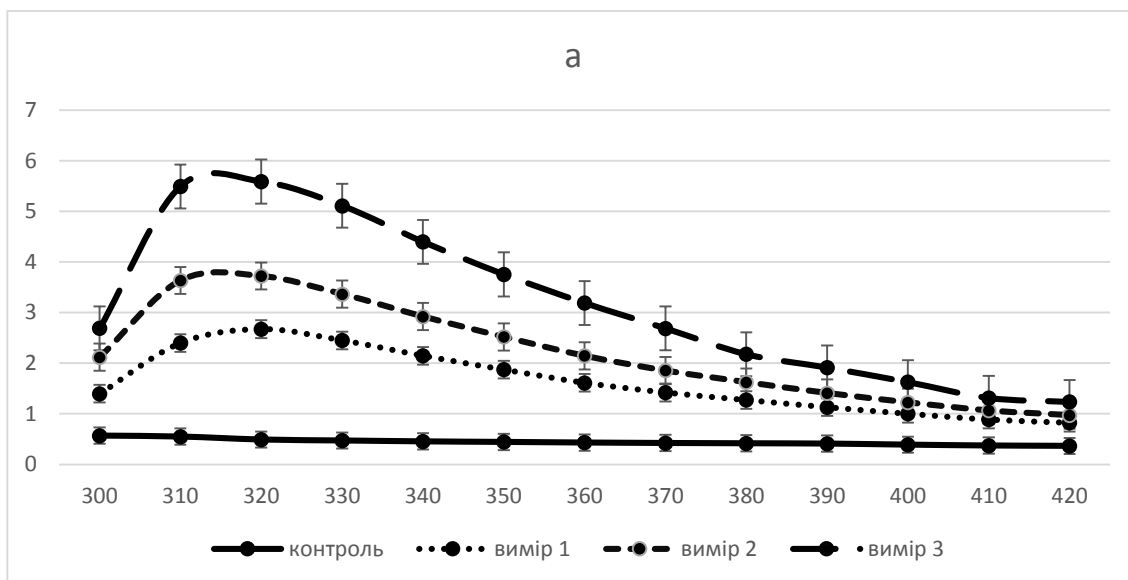
З рис. 3.2.2 видно, що максимальне поглинання наночастинок цинку у зразку супернатанту досягається при довжині хвилі 320 нм, зразку біомаси – 310 нм. У зразку контролю піку поглинання немає. Розмір наночастинок цинку збільшується з плином часу. Спектрофотометричне вимірювання оптичної густини при внесенні оксиду цинку у концентрації 1мМ і 2мМ майже однакове. Але значення оптичної густини у зразку з біомасою вище у порівнянні з надосадовою рідиною (рис. 3.2.2 та 3.2.3)

3.2.2 Визначення оптичної густини наночастинок цинку при внесенні оксиду цинку після культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Lactobacillus acidophilus УКМ В-2691 культивували на ГПС (див. розділ 2.2) упродовж 48 годин при 37°C на шейкерному апараті. Контролем вважали флакон з живильним середовищем з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 без додавання оксиду металу.

Культуральну рідину центрифугували і відокремлювали біомасу від надосадової рідини. Потім до біомаси додавали 20 % розчин глюкози. Після культивування до бактеріальної культури вносили оксид цинку в кількості 1 мМ та 2 мМ. Кожен експеримент проводили в трикратній повторності.

В подальшому досліді визначили оптичну густину наночастинок цинку методом спектрофотометрії при довжинах хвилі 300 – 420 нм.



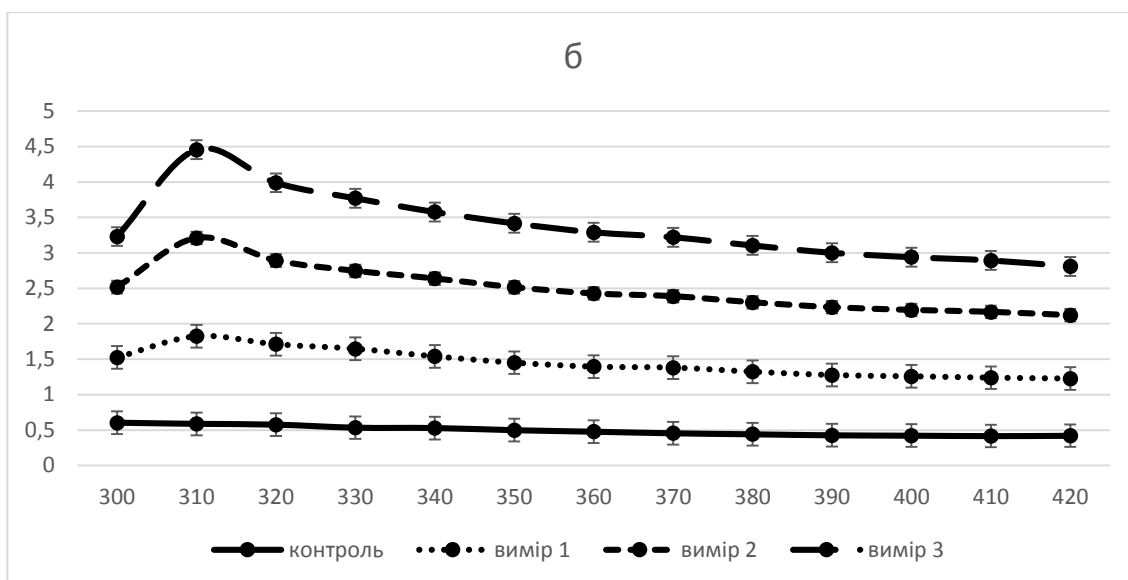
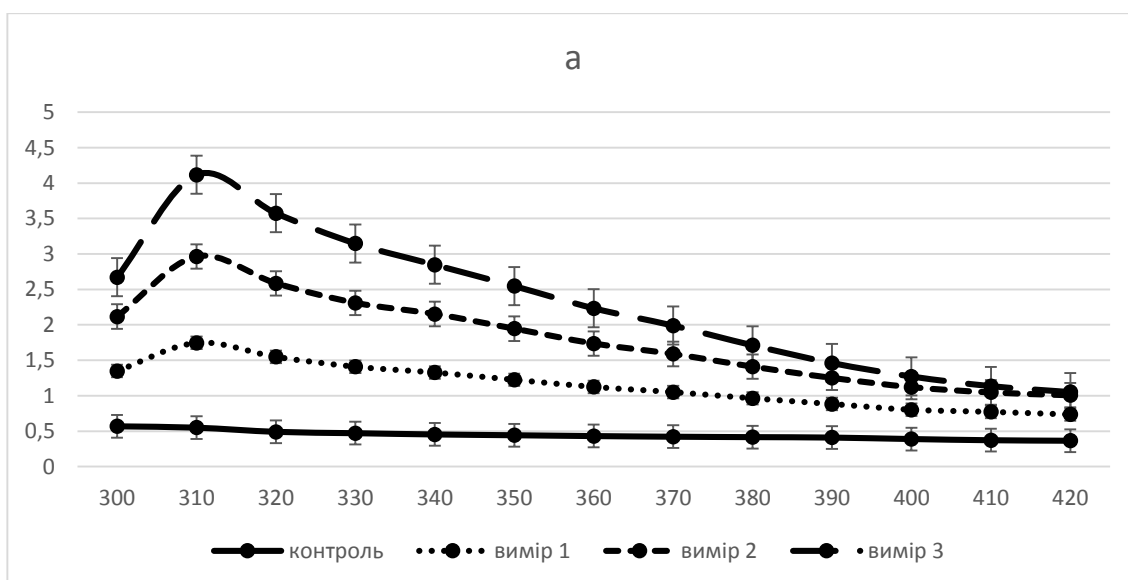


Рис. 3.2.3 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням ZnO після культивування у кількості 1 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

На рис. 3.2.3 графіки показують формування колоїдних частинок металу, максимальне поглинання срібних наночастинок в діапазоні 310 – 315 нм. У зразку контролю пік поглинання відсутній.



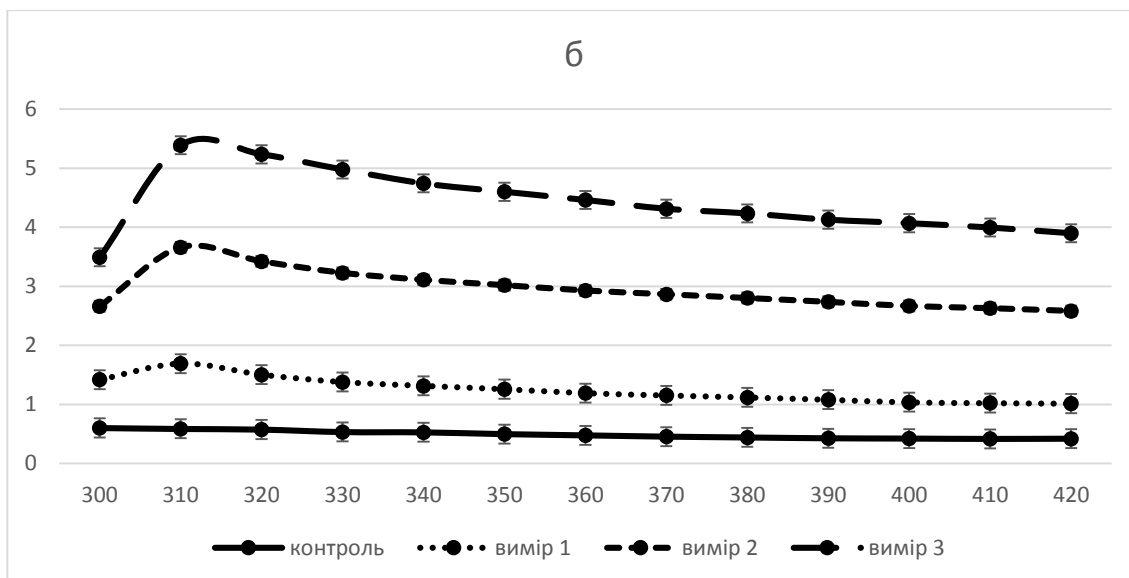


Рис. 3.2.4 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням ZnO після культивування у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

На графіку спектрофотометричного вимірювання (рис. 3.2.4) зображено формування колоїдних частинок цинку. Максимальний пік поглинання наночастинок в діапазоні 310 – 315 нм. Контроль не змінний.

3.2.3 Визначення оптичної густини наночастинок цинку при внесенні оксиду цинку у лізати та супернатант бактерій *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Згідно другого варіанту біосинтезу (див. розділ 2.3) у супернатант та лізат біомаси вносили сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентрації 2 мМ. Перевіряли оптичну густину наночастинок срібла на 7, 14 та 21 добу за допомогою методу спектрофотометрії при довжинах хвилі 300 – 420 нм.

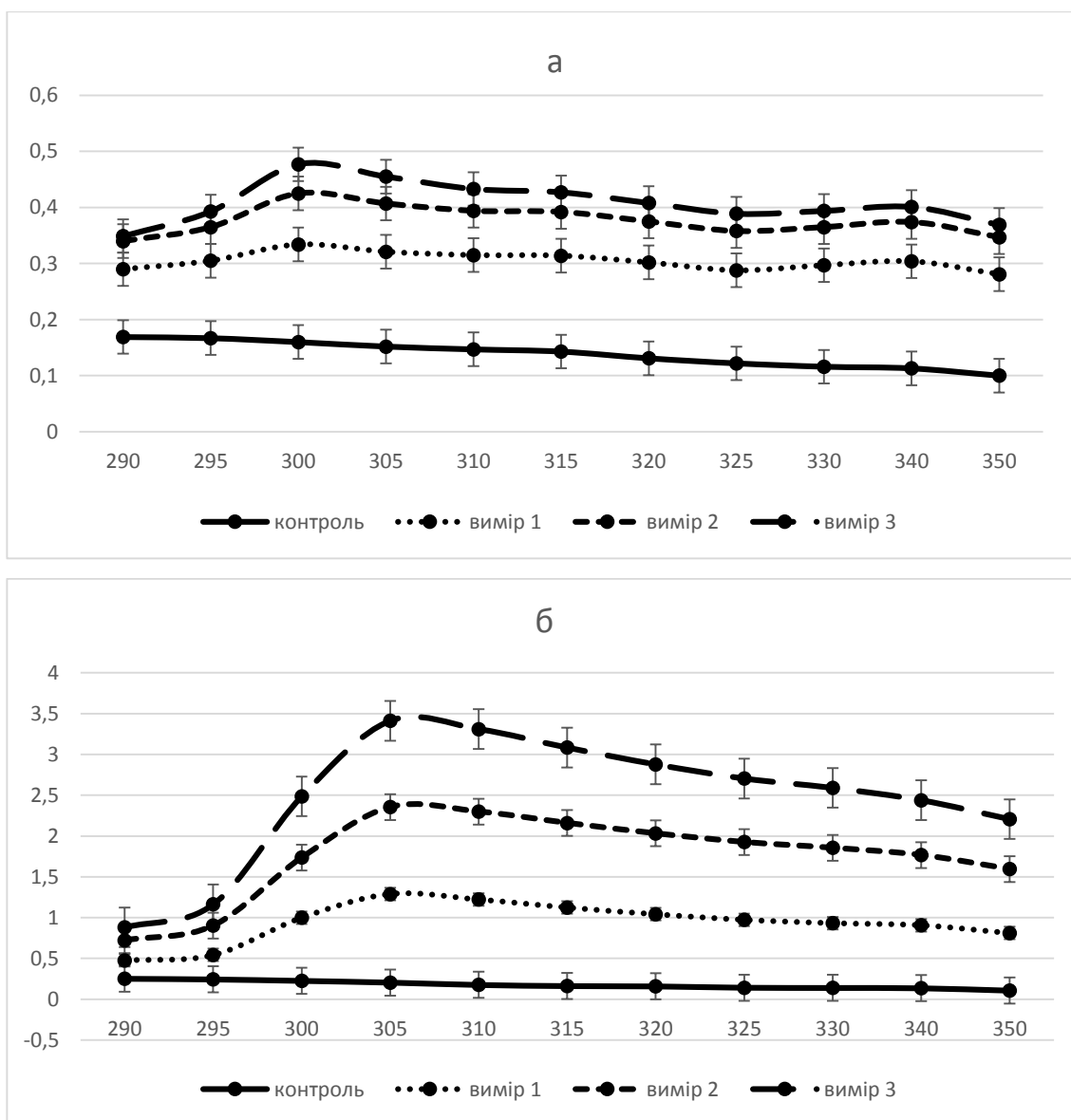


Рис. 3.2.5 Пік *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням ZnO у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.2.5 можна зробити висновок, що значення спектрометрії змінювались під впливом часу вимірювання. Однак пік, що свідчить про наявність наночастинок був присутній у всіх дослідках. Максимальне поглинання наночастинок цинку у зразку супернатанту стостерігається у діапазоні 300 нм, у зразку біомаси – 305 нм. Контроль не змінний.

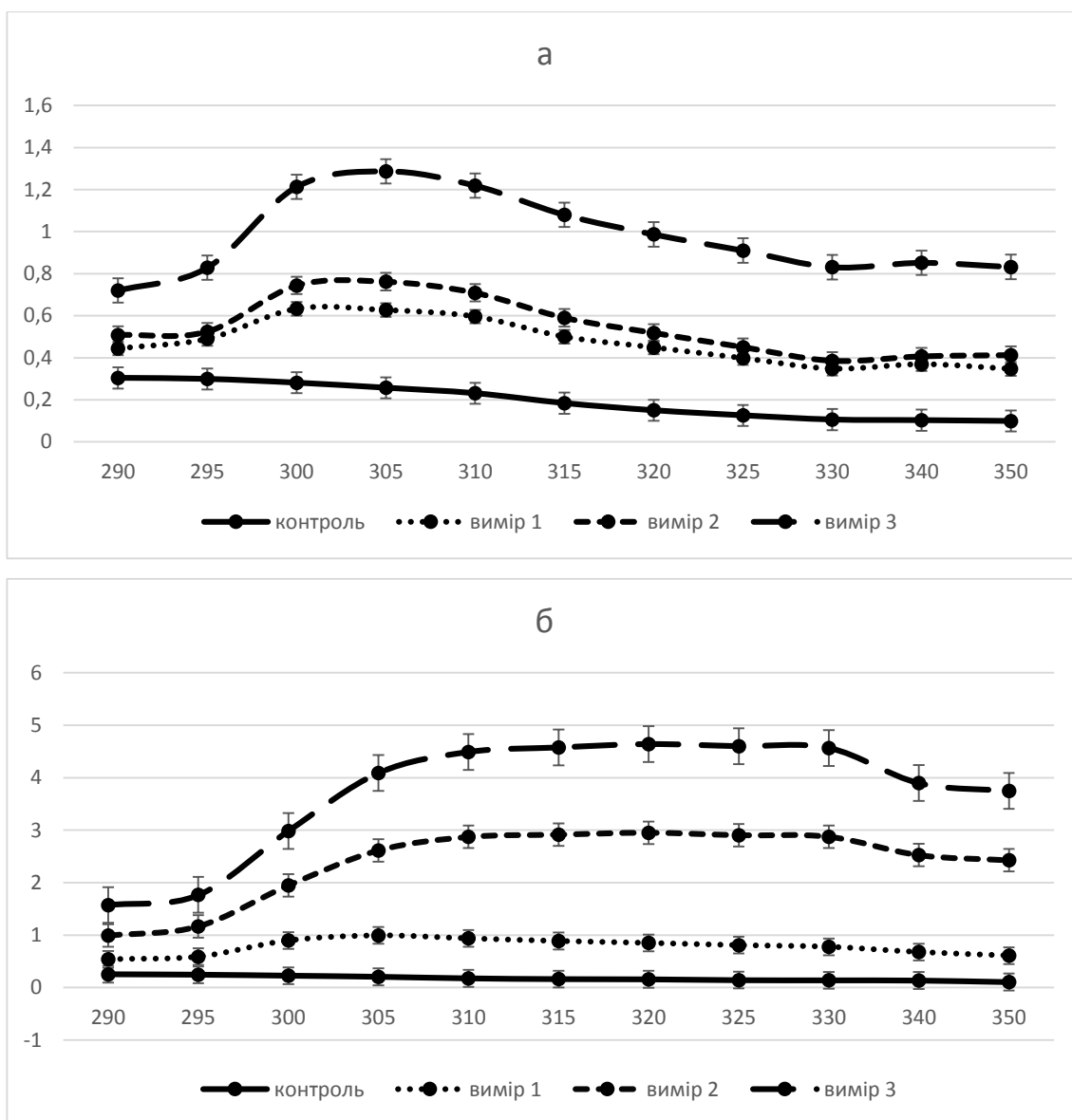


Рис. 3.2.6 Пік *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на МРС з внесенням ZnO у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Дивлячись на рис. 3.2.6, можна зробити висновок, що значення спектрофотометрії змінювались залежно від часу вимірювання. Максимальна величина поглинання наночастинок цинку у зразку супернатанту спостерігається в діапазоні 305 нм. У зразку біомаси пік поглинання не спостерігається, але результати виміру розміру наночастинок за допомогою аналізатора BeNano 90 Zeta (рис. 3.2.7, 3.2.8 та додаток В і Г) підтверджують

наявність наночастинок. Отже, можна зробити висновок про присутність наночастинок цинку у цьому зразку.

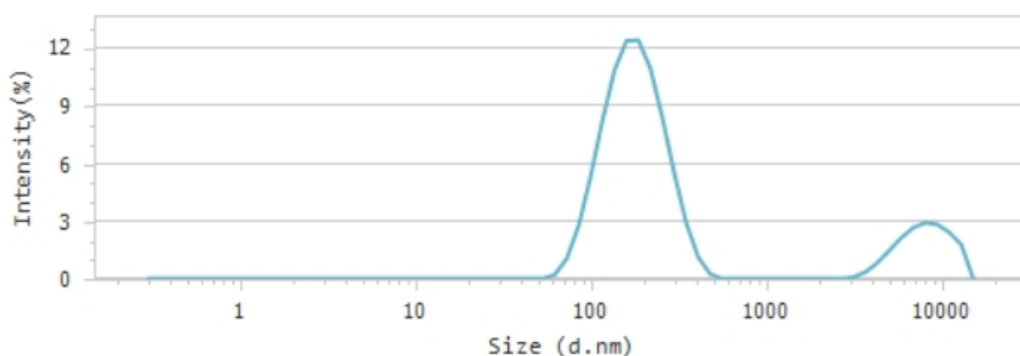


Рис. 3.2.7 Результат вимірювання розміру наночастинок цинку в зразку лізату біомаси (див. Додаток В)

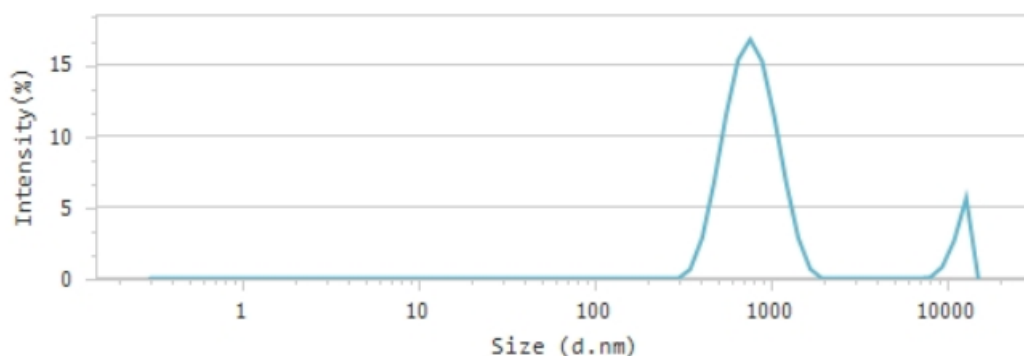


Рис. 3.2.8 Результат вимірювання розміру наночастинок цинку в зразку супернатанту (див. Додаток Г)

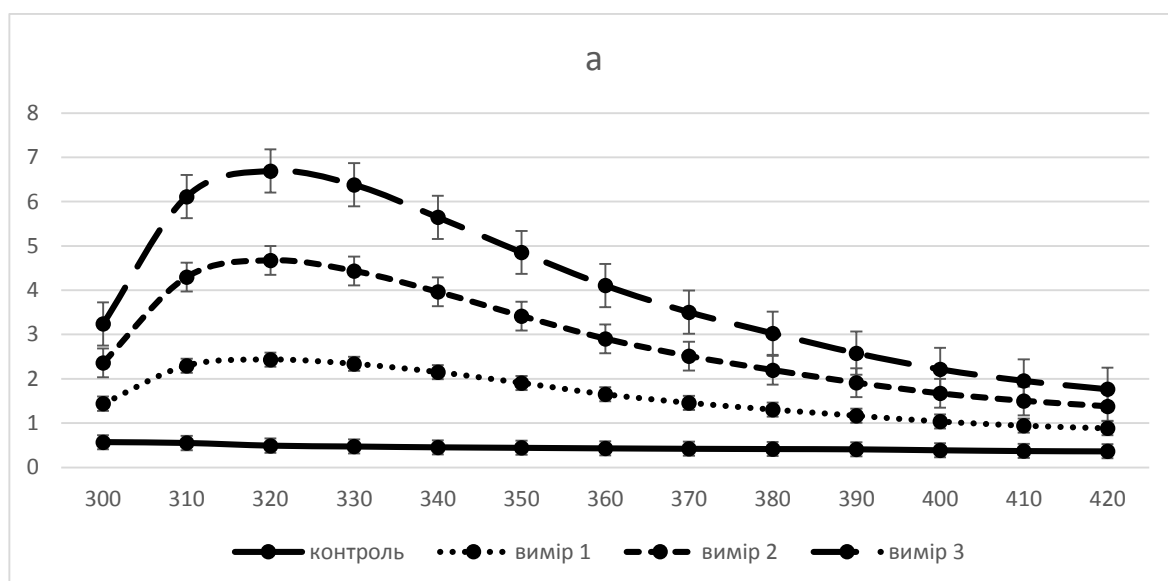
За допомогою аналізатора вимірювання наночастинок BeNano 90 Zeta підтверджено наявність наночастинок цинку та виміряно їх розміри. У зразку лізату біомаси розмір наночастинок 185,60 нм, в той час як, наночастинки цинку у зразку супернатанту – 800,60 нм (рис. 3.2.7; рис.3.2.8). Важливо зазначити, що у лізаті біомаси утворюються наночастинки набагато меншого розміру, що збільшує їх переваги у використанні.

3.3 Біосинтез наночасток церію за допомогою культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

3.3.1 Визначення оптичної густини наночастинок церію при внесенні солі церію до культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

До *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, культивованої на ГПС, додавали сіль церію у кількості 1 мМ та 2 мМ (див. розділ 2.2). Дослід проводили в трьохкратній повторності. Контролем слугувало поживне середовище з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 без солі.

Надосадову рідину та біомасу відокремлювали центрифугуванням. Завершальним етапом є визначення оптичної густини наночастинок срібла спектрофотометричним методом (довжини хвиль 300 – 420 нм). Вимірювання проводили кожні 7 днів.



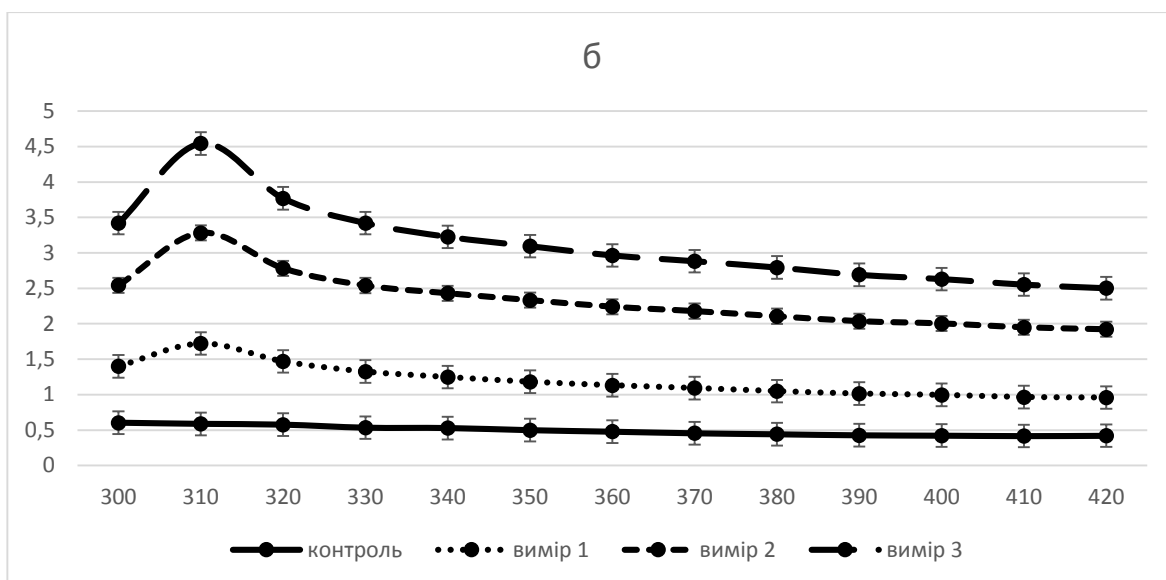
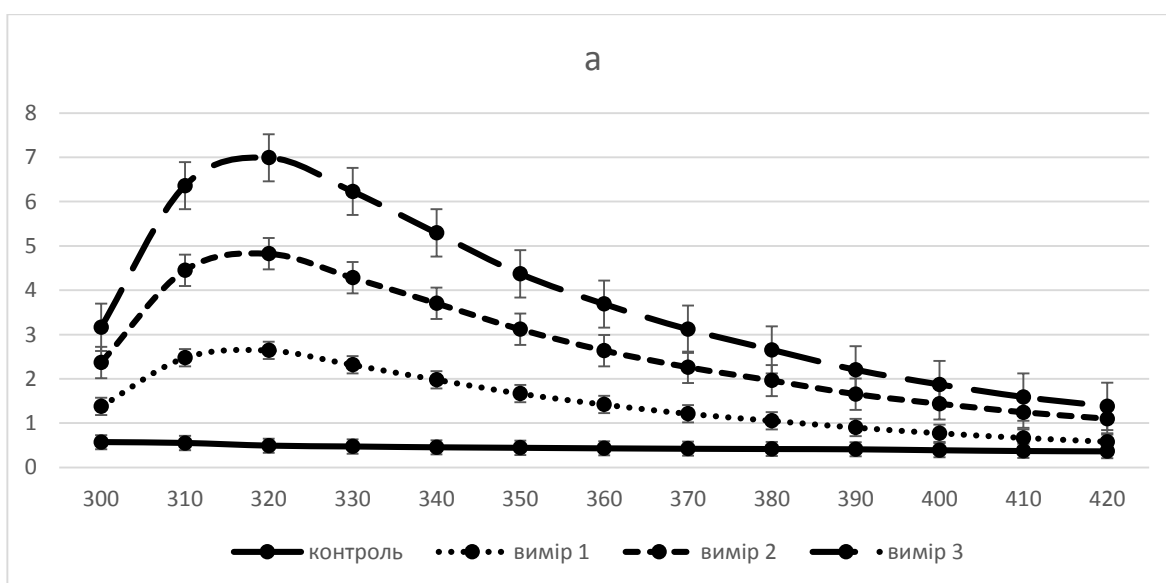


Рис. 3.3.1 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$ після культивування у кількості 1мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.3.1 видно, що значення спектрометрії змінювались залежно від часу вимірювання. Однак пік, що свідчить про наявність наночастинок церію був присутній у всіх дослідках. Максимальне поглинання наночастинок церію у зразку супернатанту стостерігається у діапазоні 320 нм, у зразку біомаси – 310 нм. Контроль не змінний.



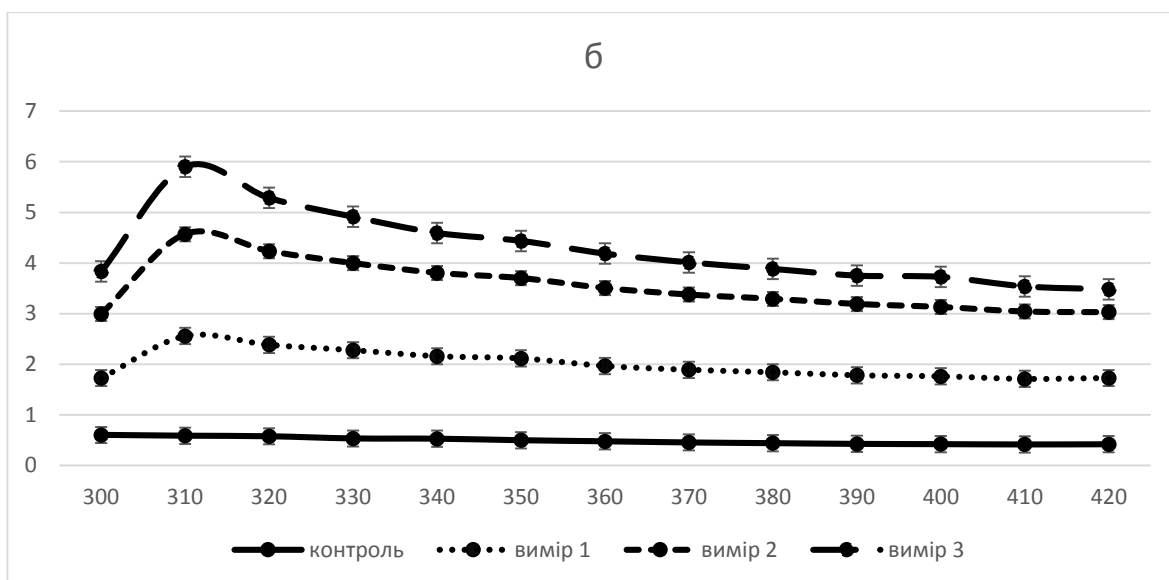


Рис. 3.3.2 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$ у кількості 2 мМ перед культивуванням: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

На рис. 3.3.2 показано результати спектрофотометричних вимірів, що свідчать про наявність утворених колоїдних часток церію. У зразку супернатанту максимальне поглинання наночасток стостерігається у діапазоні 320 нм, а у зразку біомаси – 310 нм. Контроль не має піку. З часом розмір наночастинок збільшується.

3.3.2 Визначення оптичної густини наночастинок церію при внесенні солі церію після культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Для синтезу використовували клітини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, які попередньо вирощували на глюкозо-пептонному середовищі (див. розділ 2.2).

При вирощуванні *L. acidophilus* УКМ В-2691 розчини солей та оксидів металів додавали після культивування. Флакони з живильним середовищем з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 розглядали як контроль. Клітини осаджували центрифугуванням. Для дослідження окремо використовували надосадову рідину та біомасу, у які додавали розчин солі

церію в концентраціях 1мМ та 2мМ. Всі досліджувані зразки оптичної густини наночастинок срібла спектрофотометричним методом.

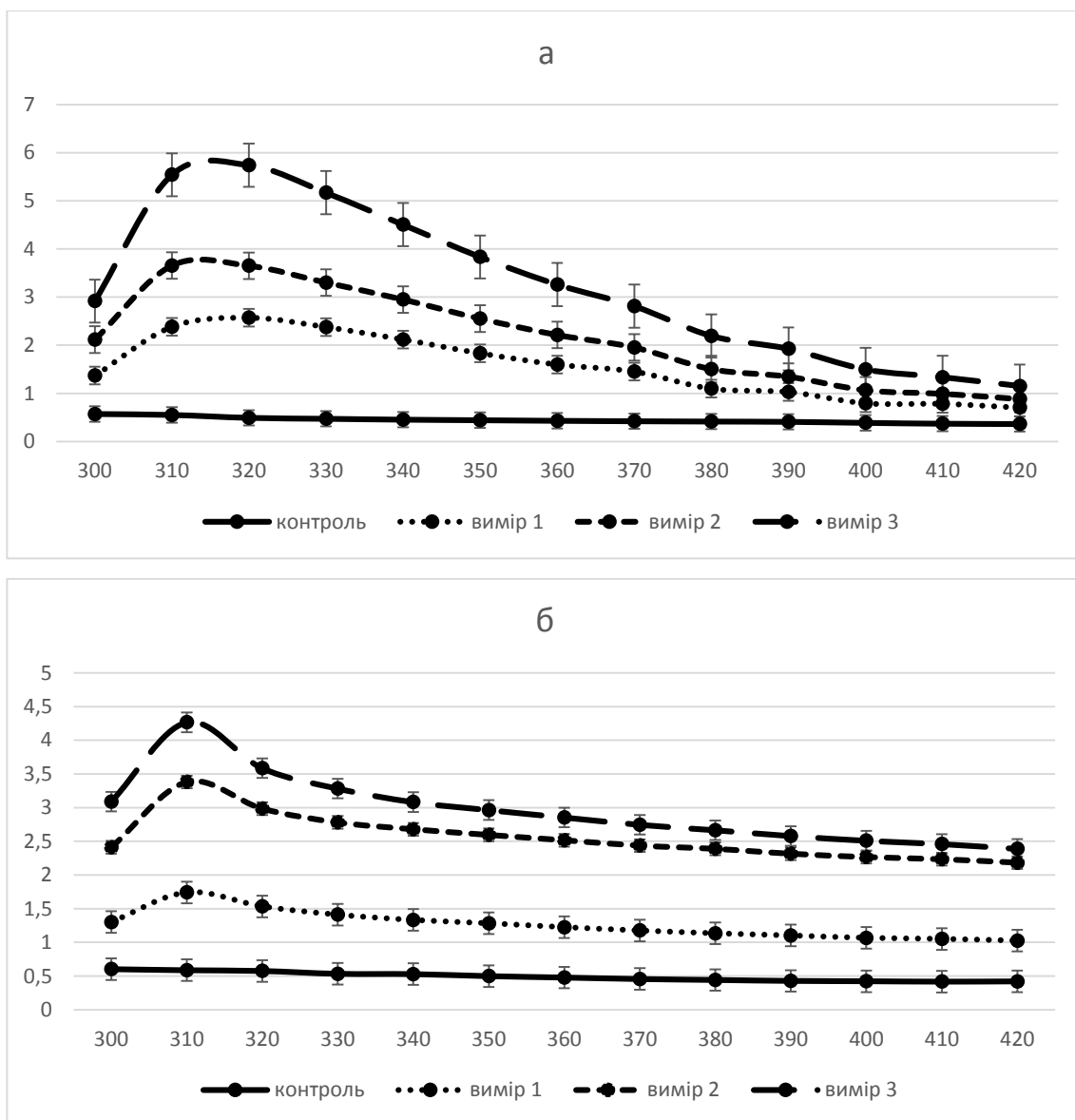


Рис. 3.3.3 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$ після культивування у кількості 1мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.1.1 видно, що значення спектрометрії змінювались залежно від часу вимірювання. У всіх дослідних зразках присутні наночастишки церію. Максимальне поглинання наночастинок церію у супернатанті припадає на діапазон 310 – 320 нм, а у біомасі – 310. Контроль не змінний.

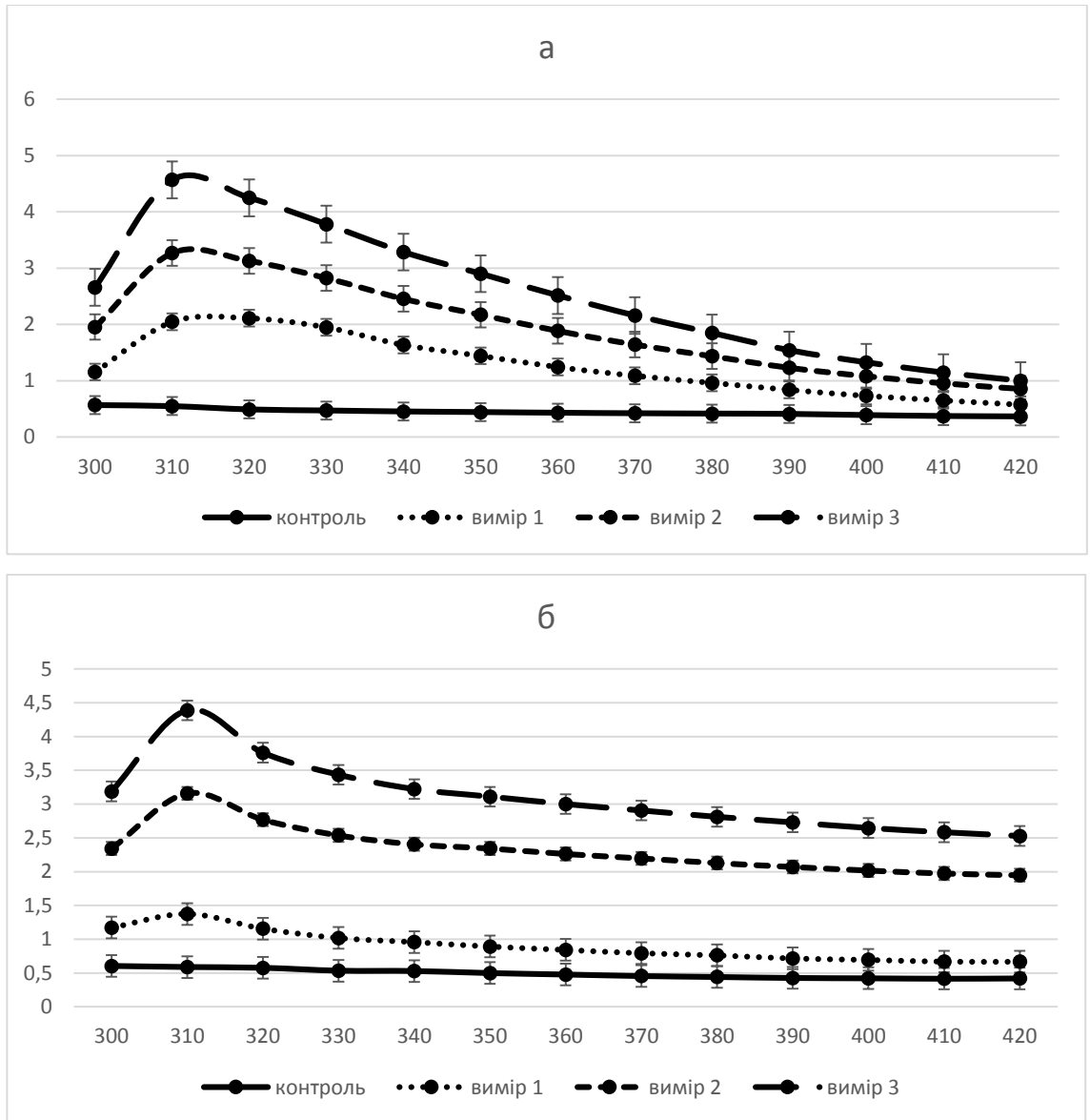


Рис. 3.3.4 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$ після культивування у кількості 2мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – ріст на 7 день, вимір 2 – ріст на 14 день, вимір 3 – ріст на 21 день.

Результати спектрофотометричних вимірювань, які наведені на рис. 3.3.4 свідчать про наявність утворених колоїдних частинок металу. Максимальний пік поглинання наночастинок церію в діапазоні 410 нм. Зразок контролю не має піку поглинання. Спектрофотометричне вимірювання оптичної густини при внесенні нітрата срібла у концентрації 1мМ і 2 мМ майже однакове.

3.3.3 Визначення оптичної густини наночастинок церію при внесенні солі церію у лізати та супернатант бактерій *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Згідно другого варіанту біосинтезу (див. розділ 2.3) у супернатант та лізат біомаси вносили сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентрації 2 мМ. Перевіряли оптичну густину наночастинок срібла на 7, 14 та 21 добу за допомогою методу спектрофотометрії при довжинах хвилі 300 – 420 нм.

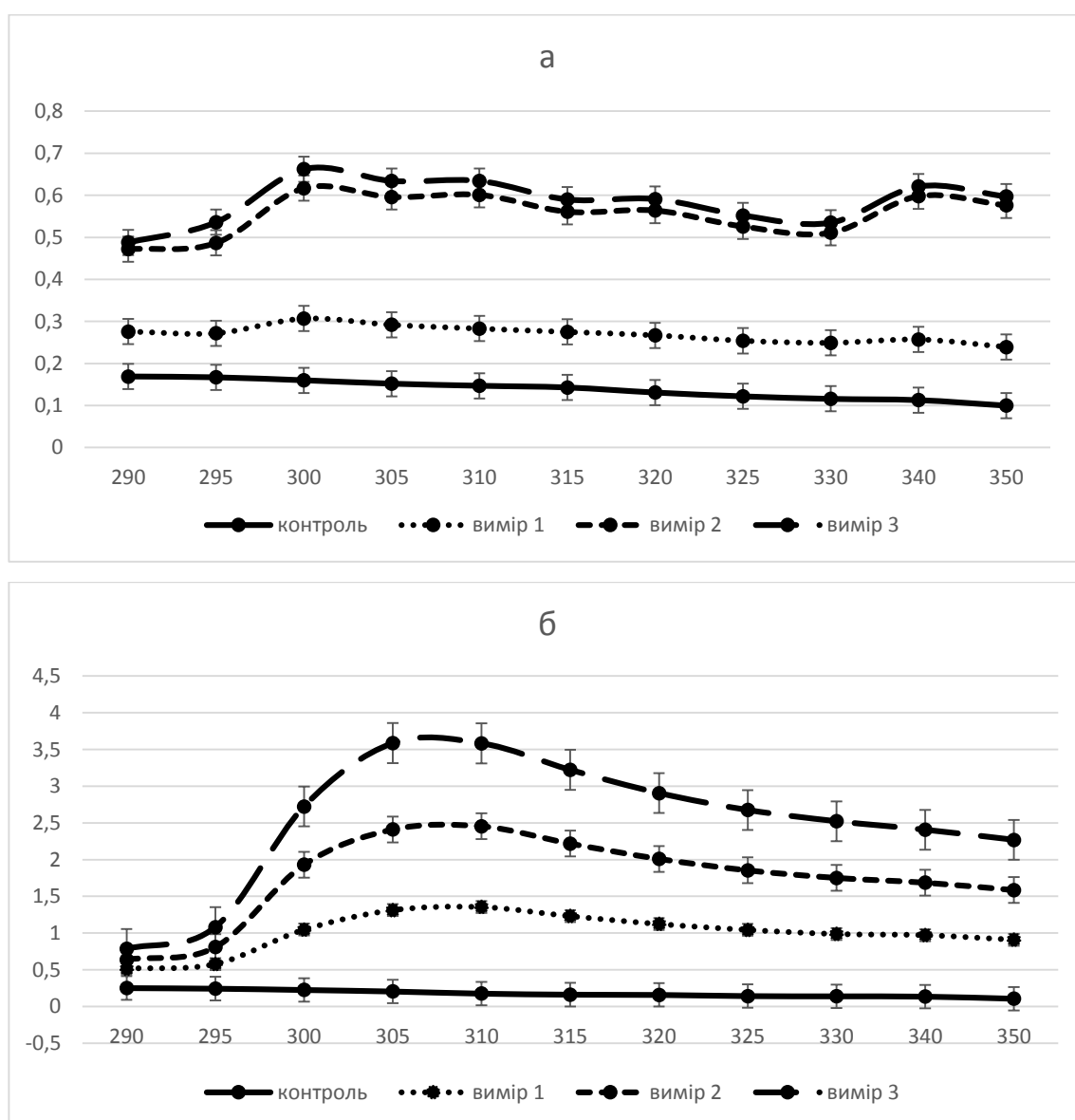


Рис. 3.3.5 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$ у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), лізат біомаси (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Спектрофотометричне вимірювання (рис. 3.3.5) продемонструвало наявність утворення колоїдних металевих часток. Максимум поглинання наночасток церію у зразку супернатанту у двох діапазонах, що свідчить про наявність наночастинок різного розміру. Обидва ступені окислення церію мають два різних піки УФ-адсорбції – Се (III) на довжині хвилі 300 нм, в той час, як Се (IV) на довжині хвилі 340 нм. Максимум поглинання у зразку біомаси спостерігається в діапазоні 305 – 310 нм. Зразок контролю піку поглинання не має.

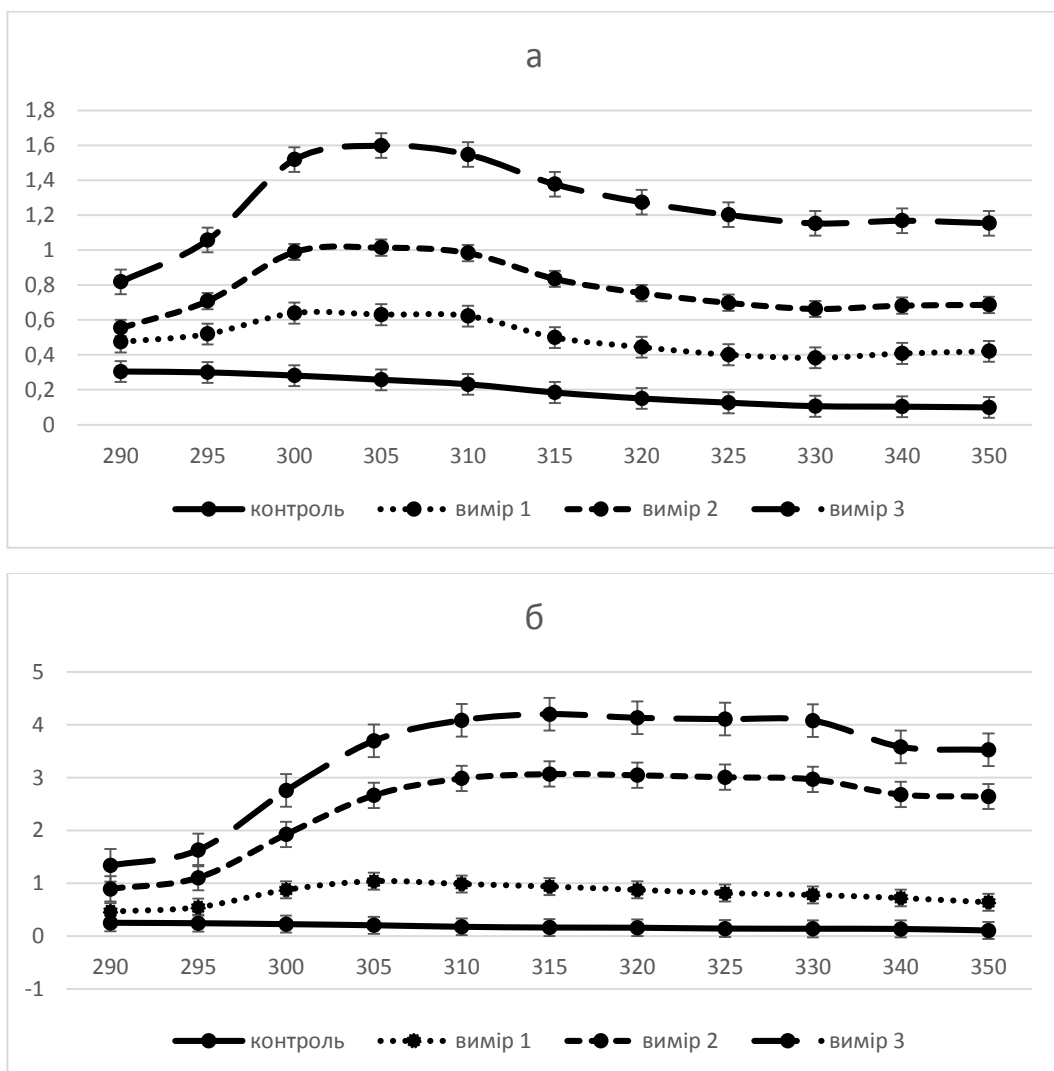


Рис. 3.3.6 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на МРС з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$ у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Дивлячись на рис. 3.3.6, можна зробити наступний висновок. Максимальне поглинання наночасток церію у зразку супернатанту спостерігається у діапазоні 300 – 310 нм, у зразку біомаси піку не спостерігається. Згідно цього, можна припустити, що цьому зразку відсутні наночастинки церію, підтвердженням цього є вимірювання на аналізаторі наночастинок BeNano 90 Zeta (рис. 3.3.7; рис. 3.3.8; додаток Д, Е).

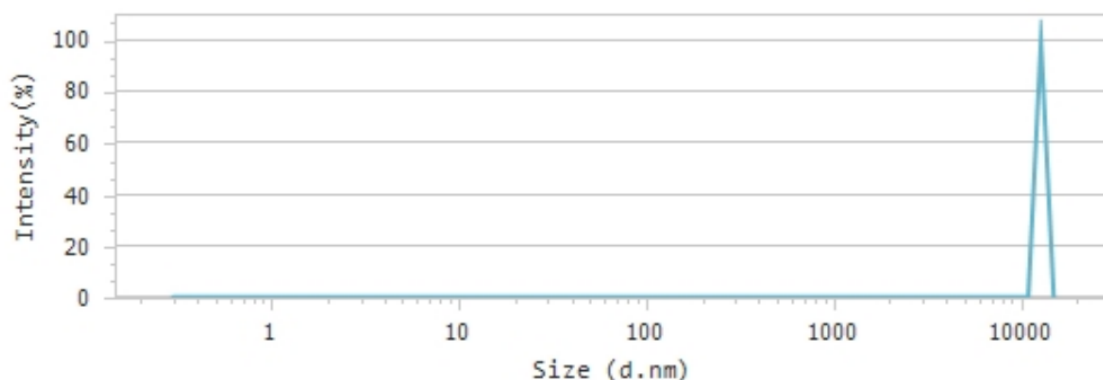


Рис. 3.3.7 Результат вимірювання розміру наночастинок церію у зразку біомаси (див. Додаток Д)

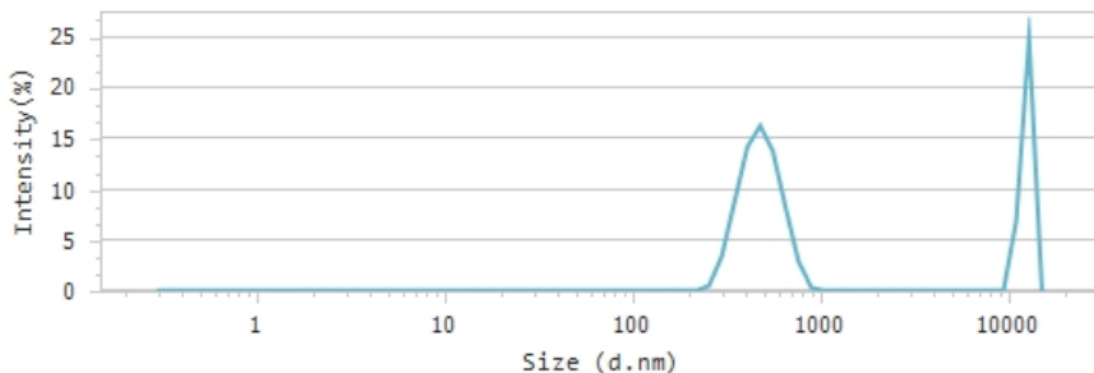


Рис. 3.3.8 Результат вимірювання розміру наночастинок церію у зразку супернатанту (див. Додаток Е)

Наявність утворення наночастинок було підтверджено за допомогою аналізатора для вимірювання наночастинок BeNano 90 Zeta, який продемонстрував їх розмір. У зразку супернатанту розмір наночастинок

становить 497.48 нм, тоді як наночастинки церію відсутні у зразку біомаси (рис. 3.3.7; рис. 3.3.8).

3.4 Біосинтез наночасток титану за допомогою культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

3.4.1 Визначення оптичної густини наночастинок титану при внесенні оксиду титану до культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В - 2691

Для синтезу використовували клітини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, які попередньо вирощували на глюкозо-пептонному середовищі (див. розділ 2.2).

До вирощеної культури додавали розчин TiO_2 в концентраціях 1мМ та 2мМ. При вирощуванні *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 розчин оксиду титану додавали до культивування. Зразки поміщали на шейкер для культивування. Флакони з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 розглядали як контроль. Клітини осаджували центрифугуванням. Для дослідження використовували окремо надосадову рідину та біомасу (до осаду попередньо додавали 20% розчин глюкози). Аналізували вплив розчину глюкози на наночастинки.

Оптичну густину зразків вимірювали в діапазоні хвиль 300 – 420 нм.

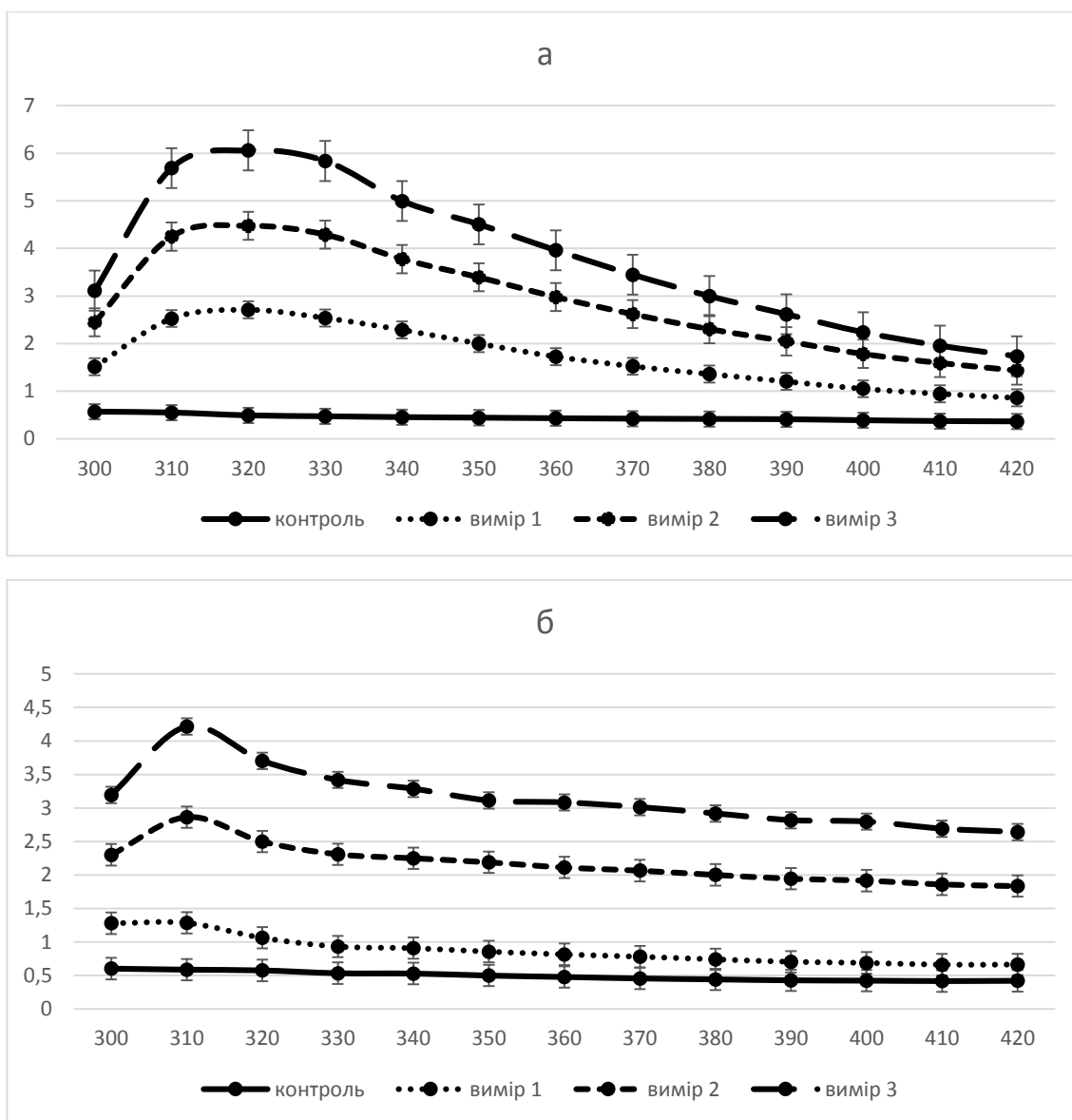


Рис. 3.4.1. Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням TiO_2 після культивування у кількості 1мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

На рис. 3.2.3 наведені графіки утворення колоїдних частинок титану, максимум поглинання наночастинок знаходиться в діапазоні 310–320 нм. У контрольному зразку пік поглинання відсутній.

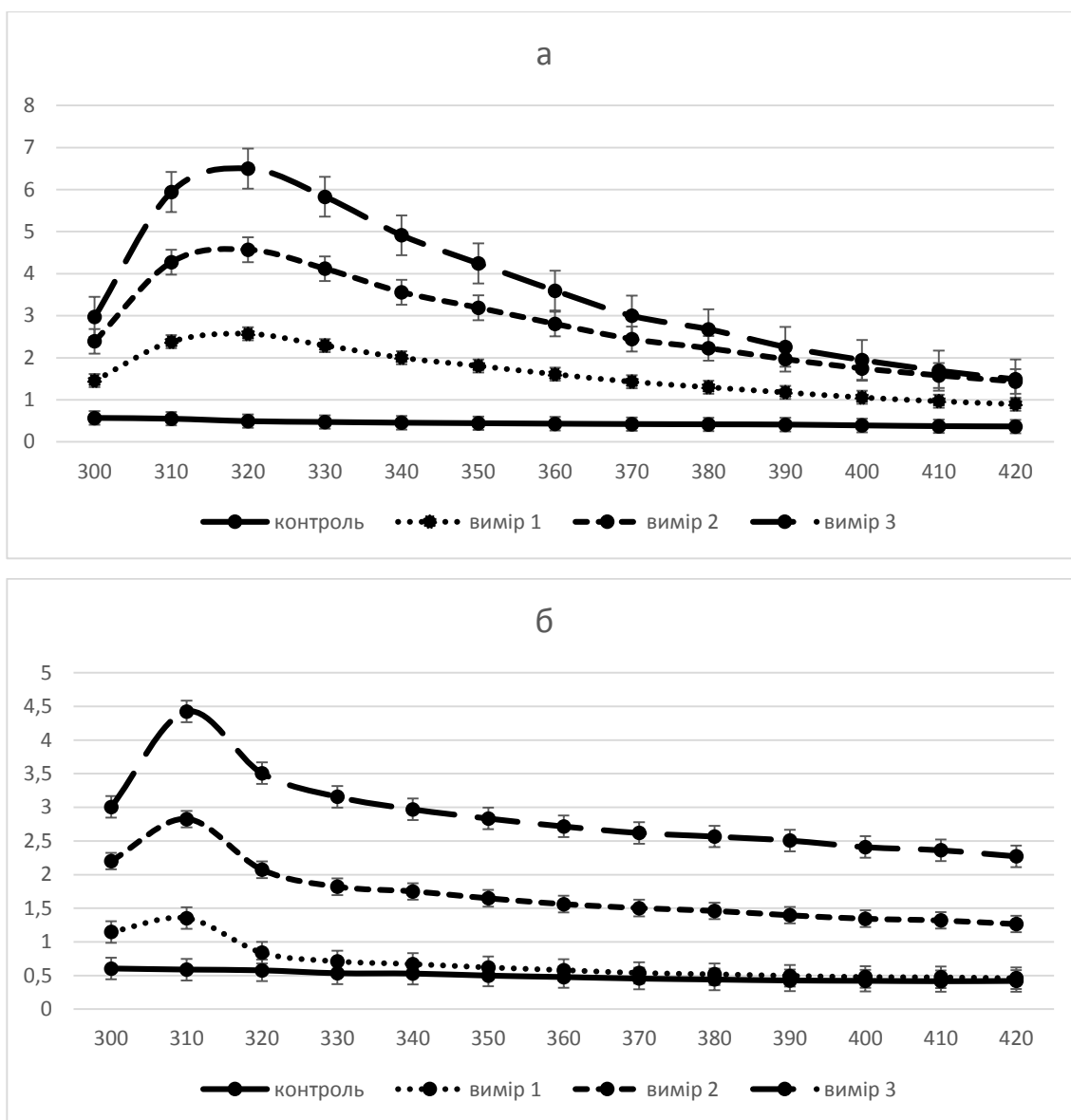


Рис. 3.4.2. Ріст *Lactobacillus acidophilus* UKM B-2691 на ГПС з TiO_2 у кількості 2мМ перед культивуванням: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.4.2 видно, що значення спектрометрії змінювались залежно від часу вимірювання. Проте пік, що свідчить про наявність наночастинок був присутній у всіх дослідях. Максимальне поглинання наночастинок титану в діапазоні 310 – 320 нм. Контроль піку не має. Спектрофотометричне вимірювання оптичної густини при внесенні нітрата срібла у концентрації 1мМ і 2 мМ майже однакове. Але значення оптичної густини у зразку з біомасою майже у двічі вище у порівнянні з надосадовою рідиною (рис. 3.4.1 та 3.4.2).

3.4.2 Визначення оптичної густини наночастинок титану при внесенні оксиду титану після культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Lactobacillus acidophilus УКМ В-2691, вирощеного на ГПС, культивували на шейкер-апараті. Надосадову рідину та біомасу відокремлювали центрифугуванням. Потім у зразки внесли оксид титану в концентраціях 1 мМ та 2 мМ (див. розділ 2.2). В якості контролю використовували середовище з культурою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 без солі срібла.

Оптичну густину зразків вимірювали в діапазоні хвиль 300 – 420 нм. Вимірювання проводили кожні 7 днів.

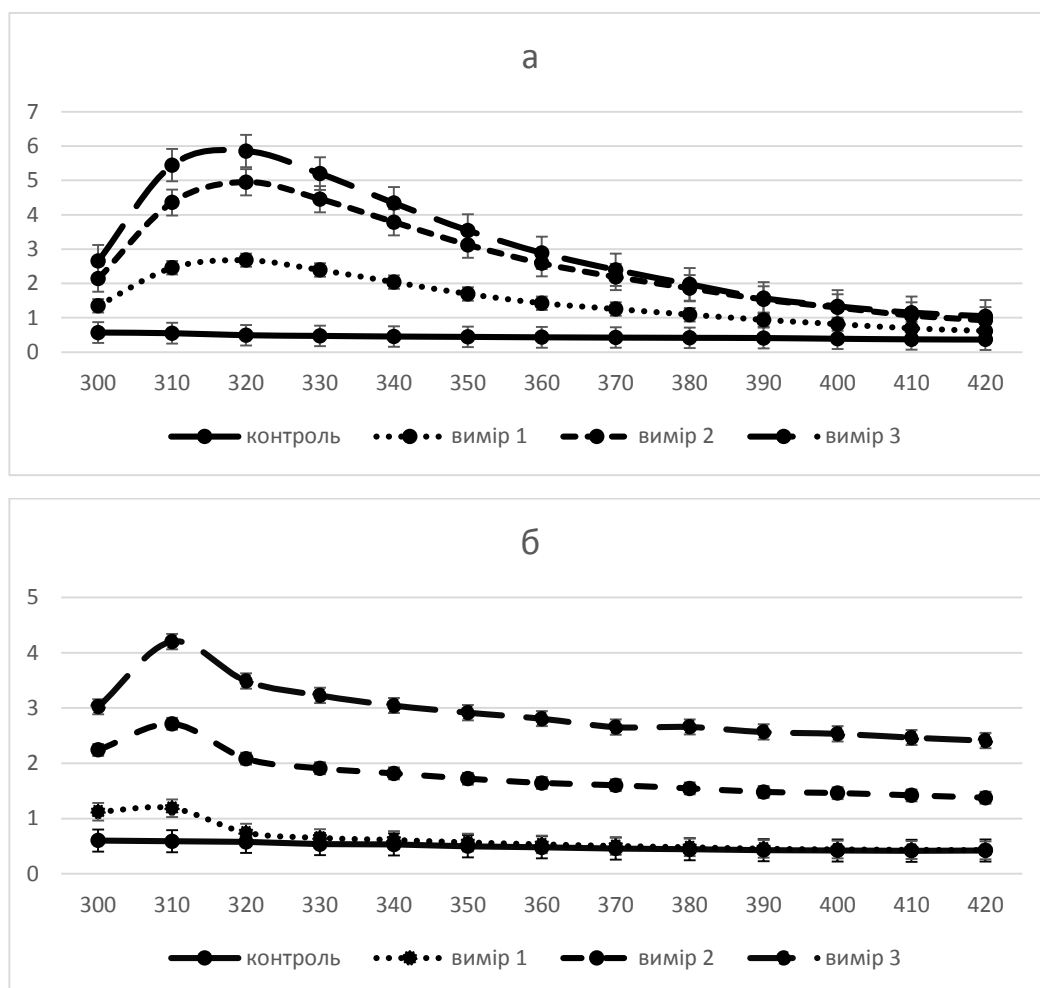


Рис. 3.4.3 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням TiO_2 після культивування у кількості 1 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Рис. 3.4.3 показує наявність наночатинок титану. Пік поглинання у зразку біомаси спостерігається при довжині хвилі 310 нм. У зразку супернатанту пік поглинання у діапазоні 310–320 нм.

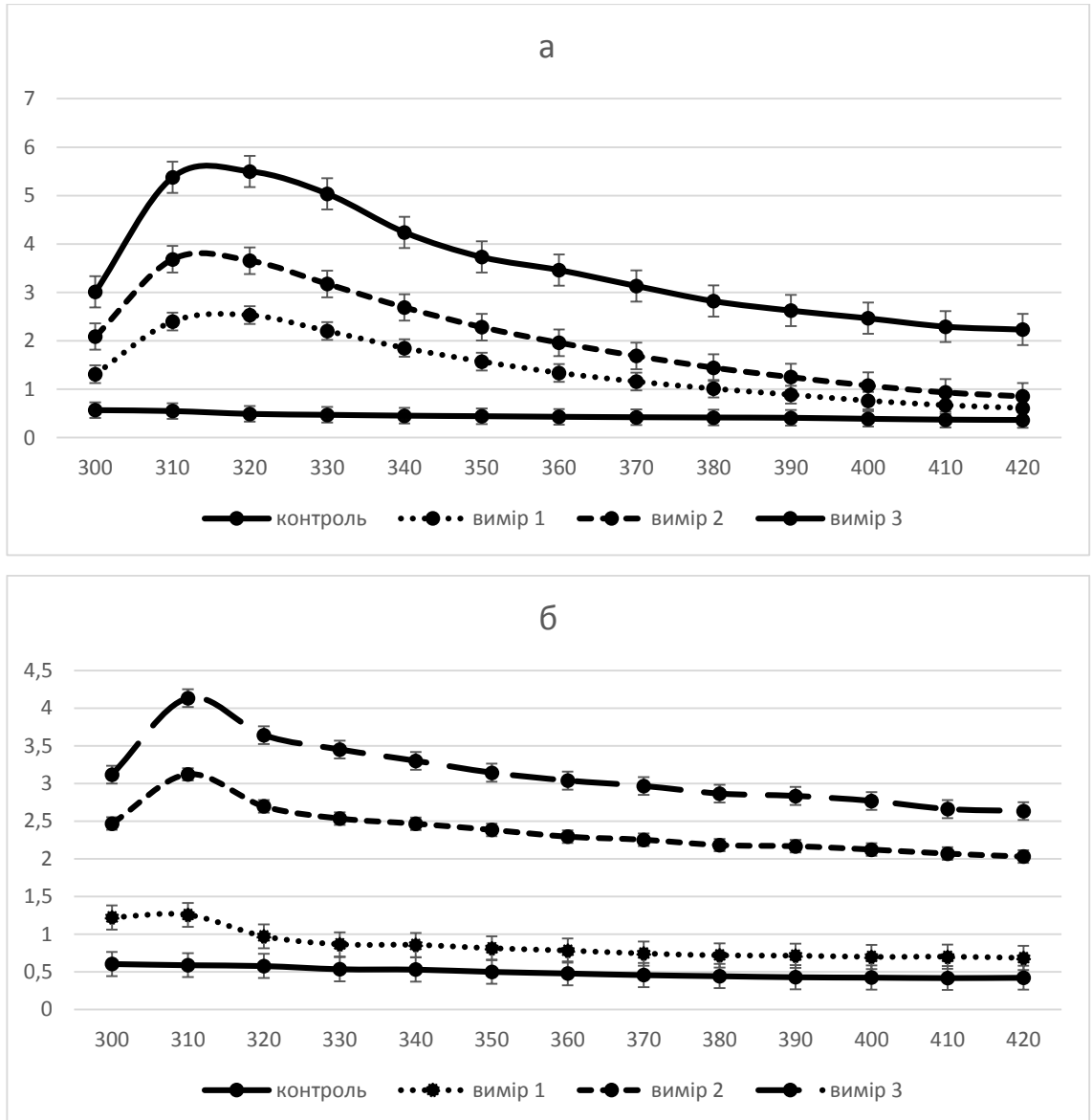


Рис. 3.4.4 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням TiO_2 після культивування у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Рис. 3.4.4 показує наявність наночастинок титану. Пік поглинання у зразку біомаси спостерігається при довжині хвилі 310 нм. У зразку супернатанту пік поглинання у діапазоні 310–320 нм.

3.4.3 Визначення оптичної густини наночастинок титану при внесенні оксиду титану у лізати та супернатант бактерій *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Згідно другого варіанту біосинтезу (див. розділ 2.3) у супернатант та лізат біомаси вносили сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентрації 2 мМ. Перевіряли оптичну густину наночастинок срібла на 7, 14 та 21 добу за допомогою методу спектрофотометрії при довжинах хвилі 300–420 нм.

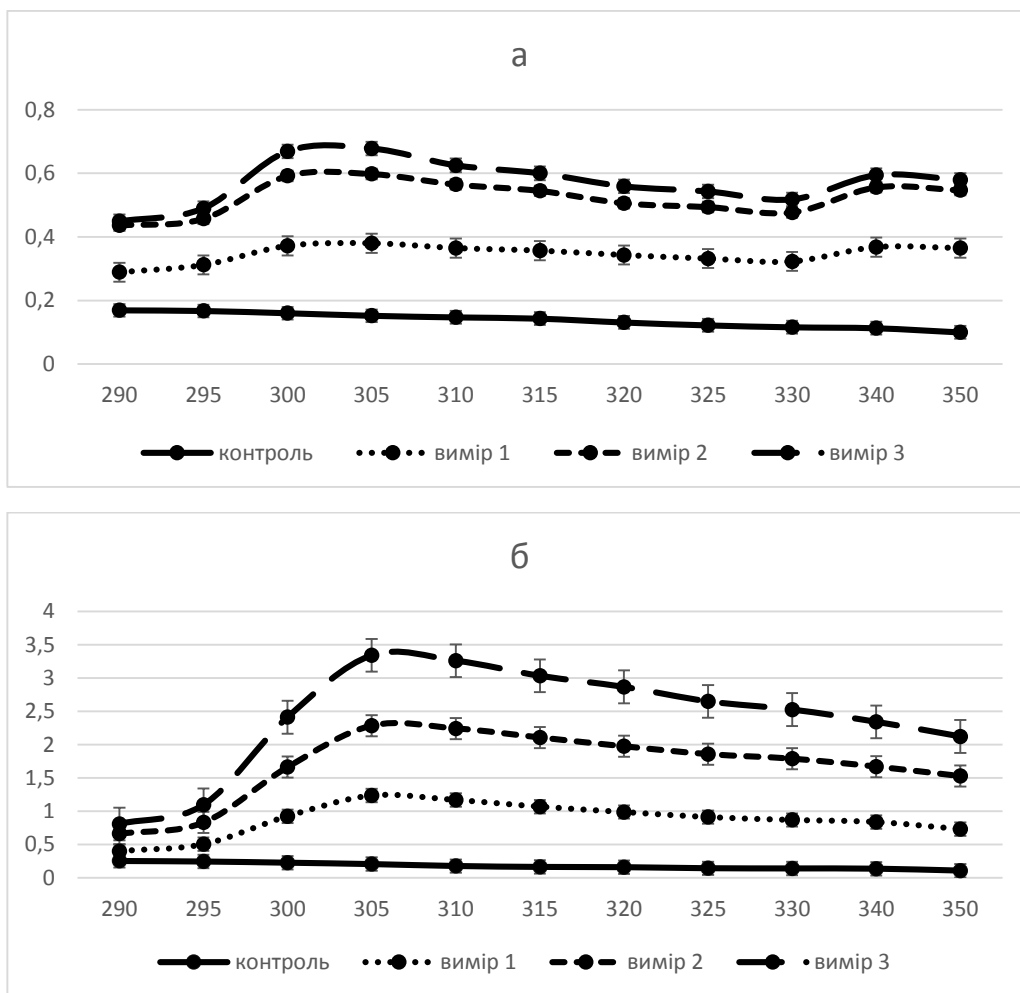


Рис. 3.4.5 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС з внесенням TiO_2 у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

Спектрофотометричне вимірювання (рис. 3.4.5) продемонструвало наявність утворення колоїдних металевих часток титану. Максимум поглинання наночасток у зразку супернатанту у діапазоні 300 – 305 нм. Максимум поглинання у зразку біомаси спостерігається в діапазоні 305 нм. Контрольний зразок піку поглинання не має.

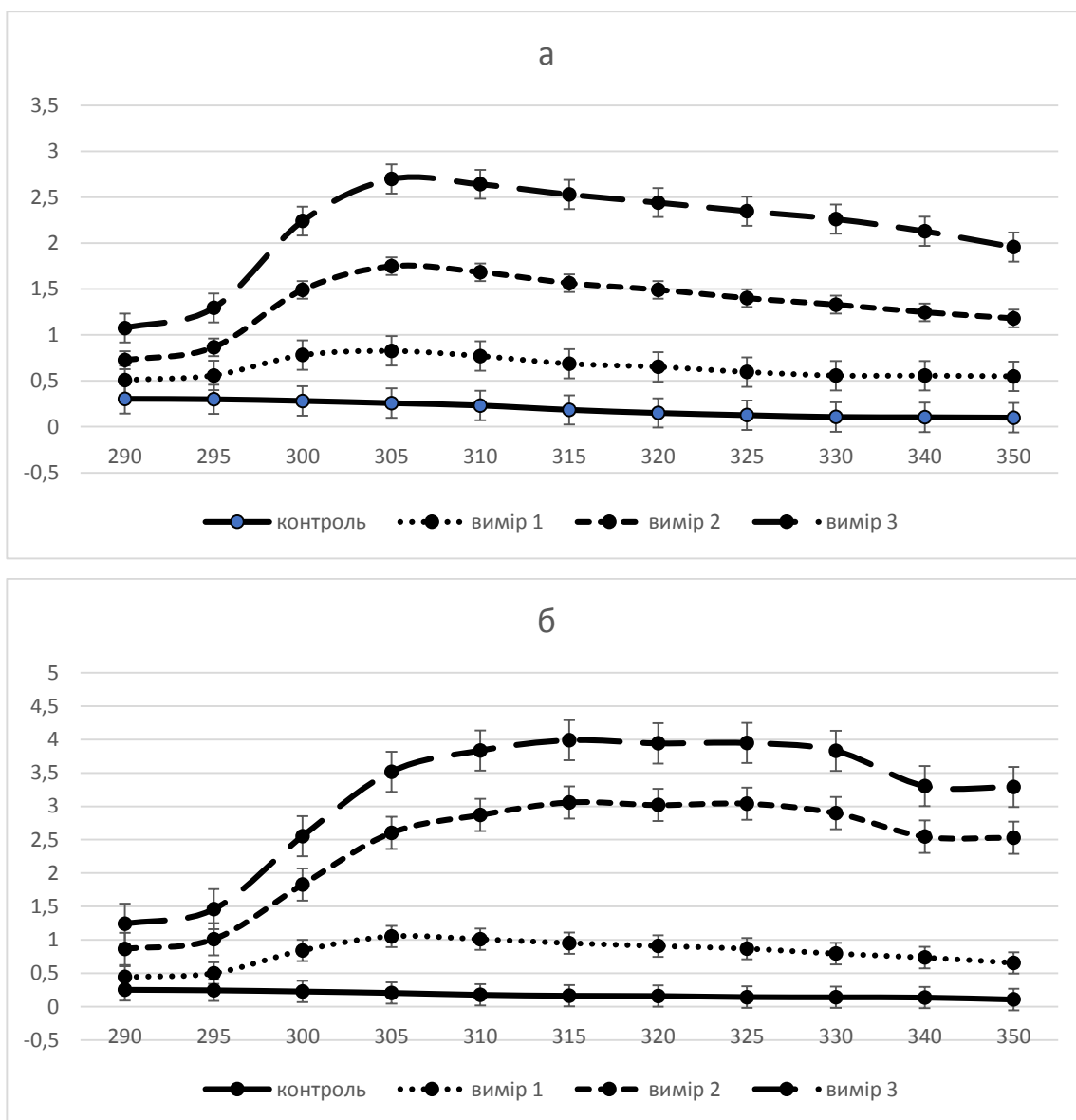


Рис. 3.4.6 Ріст *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на МРС з внесенням TiO₂ у лізат та супернатант у кількості 2 мМ: супернатант (а), біомаса (б). Вимір 1 – на 7 день, вимір 2 – на 14 день, вимір 3 – на 21 день.

З рис. 3.4.6 видно, що значення спектрометрії змінювались залежно від часу вимірювання. Однак пік, що свідчить про наявність наночастинок був присутній у всіх дослідях. Максимальне поглинання наночастинок титану у зразку супернатанту спостерігається у діапазоні 305 – 310 нм. У зразку біомаси пік поглинання не спостерігається, це підтвержують результати вимірювання аналізатора наночастинок BeNano 90 Zeta (рис. 3.4.7; рис.3.4.8; додаток Є, Ж).

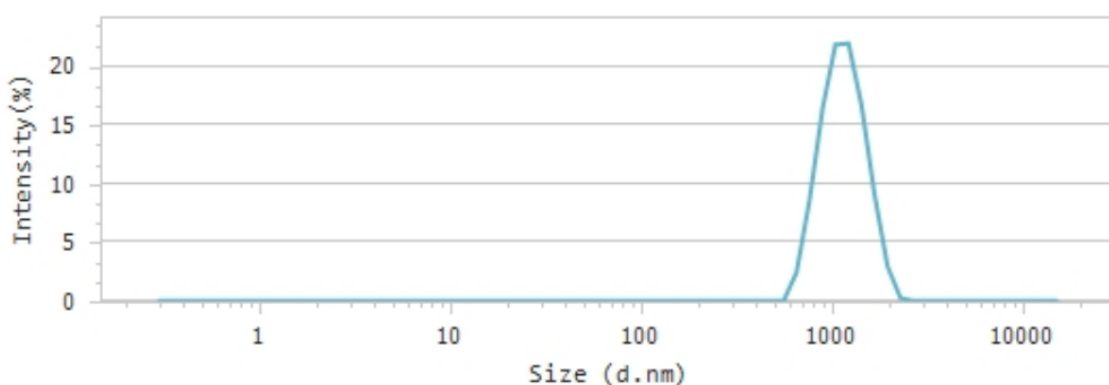


Рис. 3.4.7 Результат вимірювання розміру наночастинок титану в зразку супернатанту (див. Додаток Є)

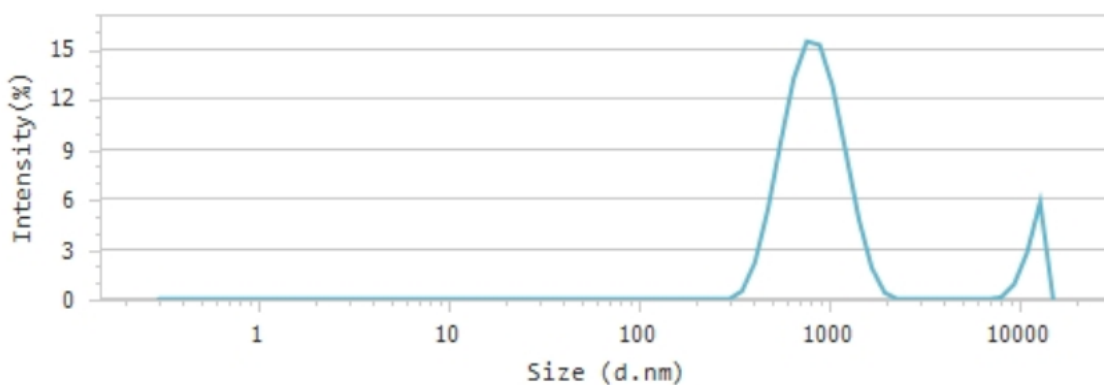


Рис. 3.4.8 Результат вимірювання розміру наночастинок титану в зразку біомаси (див. Додаток Ж)

За допомогою аналізатора вимірювання наночастинок BeNano 90 Zeta підтверджено наявність наночастинок титану у зразку супернатанту та відсутність нанотитану у зразку біомаси. Наночастинок цинку у зразку супернатанту розміру 800.60 нм (рис. 3.4.7; рис.3.4.8).

Висновки до розділу 3

У цьому розділі проведено два варіанти методики «зеленого синтезу» металів з використанням культури *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Результати спектрофотометричних вимірів свідчать про наявність утворених колоїдних часток металу, про що вказує максимальний пік поглинання наночастинок у характерних діапазонах.

Спектрофотометричне вимірювання оптичної густини при внесенні солей та оксидів металів у концентрації 1мМ і 2 мМ майже однакове. Але значення оптичної густини у зразку з біомасою та у зразку з надосадовою рідиною відрізняється.

Наявність наночастинок металів було підтверджено за допомогою аналізатора вимірювання наночастинок BeNano 90 Zeta, який визначив їх розміри методом фотонної кореляційної спектроскопії.

ВИСНОВКИ

Для зеленого синтезу наночастинок металів використовували штам *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, наданий для наукових досліджень Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Для отримання наночастинок металів, бактерії *Lactobacillus acidophilus* культивували на поживних середовищах GPS та MRS при 37°C упродовж 48 год з різними солями (AgNO_3 , $\text{Ce}(\text{NO}_3)_2$) та оксидами (ZnO , TiO_2).

Наявність наночастинок металів підтвердили за допомогою УФ-спектрофотометра ULAB 102 UV. Результати спектрофотометричних вимірювань свідчать про наявність утворених колоїдних частинок металів, на що вказує максимум піку поглинання наночастинок в характерних діапазонах.

Для вимірювання розміру наночастинок використовували аналізатор наночастинок BeNano 90 Zeta. Методом фотонної кореляційної спектроскопії визначили розмір отриманих металевих наночастинок та підтвердили наявність або відсутність їх у досліджуваних зразках.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. M.I. Baraton. *Synthesis, Functionalization, and Surface Treatment of Nanoparticles*. Am. Sci., Los-Angeles, 2002
2. Kreibig U. Systems of small metal particles: Optical properties and their structure dependences. *Zeitschrift for Physik D Atoms, Molecules and Clusters*. 1986. Vol. 3, no. 2-3. P. 239–249.
3. Rodrigo S. G. *Optical Properties of Nanostructured Metallic Systems*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2012.
4. Ozin G. A. *Nanochemistry: Synthesis in diminishing dimensions*. *Advanced Materials*. 1992. Vol. 4, no. 10. P. 612—649.
5. Green synthesis of finely-dispersed highly bactericidal silver nanoparticles via modified Tollens technique / A.-T. Le et al. *Current Applied Physics*. 2010. Vol. 10, no. 3. P. 910—916.
6. Wojtysiak S., Kudelski A. Influence of oxygen on the process of formation of silver nanoparticles during citrate/borohydride synthesis of silver sols. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2012. Vol. 410. P. 45—51.
7. Chan W. C. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science*. 1998. Vol. 281, no. 5385. P. 2016—2018.
8. A novel assay for the quantification of internalized nanoparticles in macrophages / F. Tian et al. *Nanotoxicology*. 2008. Vol. 2, no. 4. P. 232—242.
9. Effects of Antisense-Myc-Conjugated Single-Walled Carbon Nanotubes on HL-60 Cells / D. Cui et al. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2007. Vol. 7, no. 4. P. 1639—1646.
10. Immunization with Peptide-Functionalized Carbon Nanotubes Enhances Virus-Specific Neutralizing Antibody Responses / D. Pantarotto et al. *Chemistry & Biology*. 2003. Vol. 10, no. 10. P. 961—966.

11. EDELSTEIN R. The BARC biosensor applied to the detection of biological warfare agents. *Biosensors and Bioelectronics*. 2000. Vol. 14, no. 10-11. P. 805—813.
12. Nanohybrid scratch resistant coatings for teeth and bone viscoelasticity manifested in tribology / A. de la Isla et al. *Materials Research Innovations*. 2003. Vol. 7, no. 2. P. 110—114.
13. Biomimetic processing of nanocrystallite bioactive apatite coating on titanium / J. Ma ta in. *Nanotechnology*. 2003. T. 14, № 6. P. 619—623.
14. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes / M. Shinkai ta in. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 1999. T. 194, № 1-3. P. 176—184.
15. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: characterization of a new class of contrast agents for MR imaging. / R. Weissleder ta in. *Radiology*. 1990. T. 175, № 2. P. 489—493.
16. Cell Motility and Metastatic Potential Studies Based on Quantum Dot Imaging of Phagokinetic Tracks / W. J. Parak ta in. *Advanced Materials*. 2002. T. 14, № 12. P. 882.
17. Silva G. A. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surgical Neurology*. 2004. Vol. 61, no. 3. P. 216—220.
18. Sharma V. K., Yngard R. A., Lin Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2009. Vol. 145, no. 1-2. P. 83—96.
19. Panyala N. R., Peña-Méndez E. M., Havel J. Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health?. *Journal of Applied Biomedicine*. 2008. Vol. 6, no. 3. P. 117—129.
20. Evanoff D. D., Chumanov G. Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays. *ChemPhysChem*. 2005. Vol. 6, no. 7. P. 1221—1231.
21. Nanosilver – The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis / R. Vaidyanathan et al. *Biotechnology Advances*. 2009. Vol. 27, no. 6. P. 924–937.

22. Emerich D. F., Thanos C. G. The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomolecular Engineering*. 2006. Vol. 23, no. 4. P. 171–184.
23. Main properties of lactobacillus Fermentum / Rohova, M., Kovalenko, V., Shkotova, L. V., & Voloshyna, I. M. *Наука, освіта, технології і суспільство: нові дослідження і перспективи*. 2022. P 71.
24. Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species / C. Carlson et al. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2008. Vol. 112, no. 43. P. 13608–13619.
25. Brust M., Kiely C. J. Some recent advances in nanostructure preparation from gold and silver particles: a short topical review. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2002. Vol. 202, no. 2-3. P. 175–186.
26. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3 / M. Kowshik et al. *Nanotechnology*. 2002. Vol. 14, no. 1. P. 95–100.
27. Huang H., Yang X. One-step, shape control synthesis of gold nanoparticles stabilized by 3-thiopheneacetic acid. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2005. Vol. 255, no. 1-3. P. 11–17.
28. Lens P. N. L. Biosynthesis of selenium nanomaterials by anaerobic bacteria for environmental technologies. *Environmental Technologies to Treat Selenium Pollution*. 2021. P. 353–378.
29. Green synthesis and characterization of gelatin-based and sugar-reduced silver nanoparticles / M. Darroudi et al. *International Journal of Nanomedicine*. 2011. P. 569.
30. Malik A. Metal bioremediation through growing cells. *Environment International*. 2004. Vol. 30, no. 2. P. 261–278.
31. Vanaja M., Annadurai G. *Coleus aromaticus* leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal activity. *Applied Nanoscience*. 2012. Vol. 3, no. 3. P. 217–223.

32. Heinrich. Factors Affecting the Geometry of Silver Nanoparticles Synthesis in *Chrysosporium Tropicum* and *Fusarium Oxysporum*. *American Journal of Nanotechnology*. 2011. Vol. 2, no. 1. P. 112–121.
33. Green synthesis and characterization of gelatin-based and sugar-reduced silver nanoparticles / M. Darroudi et al. *International Journal of Nanomedicine*. 2011. P. 569.
34. Kulkarni N., Muddapur U. Biosynthesis of Metal Nanoparticles: A Review. *Journal of Nanotechnology*. 2014. Vol. 2014. P. 1– 8.
35. Microbial synthesis and the characterization of metal-substituted magnetites / Y. Roh et al. *Solid State Communications*. 2001. Vol. 118, no. 10. P. 529–534.
36. Gericke M., Pinches A. Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*. 2006. Vol. 83, no. 1-4. P. 132–140.
37. Metallic nanoparticles: microbial synthesis and unique properties for biotechnological applications, bioavailability and biotransformation / L. Pereira et al. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2013. Vol. 35, no. 1. P. 114–128.
38. The Implications of the Growth of Port Throughput on the Port Capacity: the Case of Malaysian Major Container Seaports / J. Jeevan et al. *International Journal of e-Navigation and Maritime Economy*. 2015. Vol. 3. P. 84–98.
39. Biosynthesis and characterization of manganese and zinc nanoparticles / Waghmare, S. S., Deshmukh, A. M., Kulkarni, S. W., & Oswaldo. *Univers J Environ Res Technol*. 2011. P. 64–69.
40. Mohanpuria P., Rana N. K., Yadav S. K. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*. 2007. Vol. 10, no. 3. P. 507–517.
41. Iravani S. Bacteria in Nanoparticle Synthesis: Current Status and Future Prospects. *International Scholarly Research Notices*. 2014. Vol. 2014. P. 1–18.
42. N.V.K.V. Prasad T., Subba Rao Kambala V., Naidu R. A Critical Review on Biogenic Silver Nanoparticles and their Antimicrobial Activity. *Current Nanoscience*. 2011. Vol. 7, no. 4. P. 531–544.

43. Joerger R., Klaus T., Granqvist C. G. Biologically Produced Silver-Carbon Composite Materials for Optically Functional Thin-Film Coatings. *Advanced Materials*. 2000.
44. Spectroscopic Characterization on the Biosorption and Bioreduction of Ag(I) by *Lactobacillus* sp.A09 / F. Jin-Zhou et al. *Acta Physico-Chimica Sinica*. 2000. Vol. 16, no. 09. P. 779–782.
45. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis* / K. Kalimuthu et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2008. Vol. 65, no. 1. P. 150–153.
46. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus* / N. Vigneshwaran et al. *Materials Letters*. 2007. Vol. 61, no. 6. P. 1413–1418.
47. Saifuddin N., Wong C. W., Yasumira A. A. N. Rapid Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Culture Supernatant of Bacteria with Microwave Irradiation. *E-Journal of Chemistry*. 2009. Vol. 6, no. 1. P. 61–70.
48. Rapid Preparation Process of Silver Nanoparticles by Bioreduction and Their Characterizations / M. FU et al. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2006. Vol. 14, no. 1. P. 114–117.
49. Dhoondia Z. H., Chakraborty H. *Lactobacillus* Mediated Synthesis of Silver Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials and Nanotechnology*. 2012. Vol. 2. P. 15.
50. Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles / L. Sintubin et al. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2009. Vol. 84, no. 4. P. 741–749.
51. Rajesh S., Dharanishanthi V., Kanna A. V. Antibacterial mechanism of biogenic silver nanoparticles of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Experimental Nanoscience*. 2014. Vol. 10, no. 15. P. 1143–1152.
52. Namasivayam S. K. R., Gnanendra E. K., Reepika R. Synthesis of silver nanoparticles by *Lactobacillus acidophilus* 01 strain and evaluation of its in vitro genomic DNA toxicity. *Nano-Micro Letters*. 2010. Vol. 2, no. 3. P. 160–163.
53. Development of Doctors Search Engine based on ICD-10 / S. Doi et al. 2012 Joint 6th Intl. Conference on Soft Computing and Intelligent Systems (SCIS)

and 13th Intl. Symposium on Advanced Intelligent Systems (ISIS), Kobe, Japan, 20–24 November 2012. 2012.

54. Microbial Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles by *Lactobacillus Plantarum* TA4 and its Antibacterial and Antioxidant Activity / H. Mohd Yusof et al. *Applied Sciences*. 2020. Vol. 10, no. 19. P. 6973.

55. Antibacterial and antioxidant activity of exopolysaccharide mediated silver nanoparticle synthesized by *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese koumiss / M. S. Riaz Rajoka et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2020. Vol. 186. P. 110734.

56. Korbekandi H., Irvani S., Abbasi S. Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2012. Vol. 87, no. 7. P. 932–937.

57. El-Sayed H. S., El-Sayed S. M., Youssef A. M. Novel approach for biosynthesizing of zinc oxide nanoparticles using *Lactobacillus gasserii* and their influence on microbiological, chemical, sensory properties of integrated yogurt. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 365. P. 130–513.

58. Al-Zahrani, H., A. El-Waseif, and D. El-Ghwas. Biosynthesis and evaluation of TiO₂ and ZnO nanoparticles from in vitro stimulation of *Lactobacillus johnsonii*: *J Innov Pharm Biol Sci*. 2018. Vol. 5.1. P.16-20.

59. Mechanism study of intracellular zinc oxide nanocomposites formation / A. Król et al. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2018. Vol. 553. P. 349–358.

60. Selvarajan E., Mohanasrinivasan V. Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Lactobacillus plantarum* VITES07. *Materials Letters*. 2013. Vol. 112. P. 180–182.

61. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties / H. Mohd Yusof et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1.

62. Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a

review / H. Mohd Yusof et al. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2019. Vol. 10, no. 1.

63. Salman, J. A. S., Kadhim, A. A., & Haider, A. J. Biosynthesis, characterization and antibacterial effect of ZnO nanoparticles synthesized by *Lactobacillus Spp*: *J Global Pharma Technol*. 2018. Vol. 10.03. P. 348 –355.

64. Sustainable microbial cell nanofactory for zinc oxide nanoparticles production by zinc-tolerant probiotic *Lactobacillus plantarum* strain TA4 / H. Mohd Yusof et al. *Microbial Cell Factories*. 2020. Vol. 19, no. 1.

65. Rajan, Arya & Cherian, Elsa & Gurunathan, Dr. Baskar. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Aspergillus fumigatus* JCF and its antibacterial activity: *Int J Mod Sci Technol*. 2016. Vol. 1. P. 52-7.

66. Studies on the inhibitory activity of biologically synthesized and characterized ZnO nanoparticles using *L.sporogens* against *Staphylococcus aureus* / Mishra, Mudit, et al. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2013. Vol. 7.2. P. 1263 –1268.

67. Mycogenesis of cerium oxide nanoparticles using *Aspergillus niger* culture filtrate and their applications for antibacterial and larvicidal activities / K. Gopinath et al. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 2015. Vol. 5, no. 3. P. 295–303.

68. Plant pathogenic fungus *F. solani* mediated biosynthesis of nanoceria: antibacterial and antibiofilm activity / K. S. Venkatesh et al. *RSC Advances*. 2016. Vol. 6, no. 48. P. 42720–42729.

69. Khan S. A., Ahmad A. Fungus mediated synthesis of biomedically important cerium oxide nanoparticles. *Materials Research Bulletin*. 2013. Vol. 48, no. 10. P. 4134–4138.

70. Pitchumani Krishnaveni, M., and G. Annadurai. Biosynthesis of nanoceria from *Bacillus subtilis*: characterization and antioxidant potential: *Res J Life Sci*. 2019. Vol. 5.3. P. 644.

71. Green synthesis of Ce³⁺ + rich CeO₂ nanoparticles and its antimicrobial studies / K. M. Kumar et al. *Materials Letters*. 2018. Vol. 214. P. 15–19.

72. Biological approach to synthesize TiO₂ nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and its antibacterial activity / C. Jayaseelan et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013. Vol. 107. P. 82–89.

73. Jha A. K., Prasad K., Kulkarni A. R. Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009. Vol. 71, no. 2. P. 226–229.

74. Fungus-mediated biosynthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria / G. Rajakumar et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2012. Vol. 91. P. 23–29.

75. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using bacterium *Bacillus subtilis* / A. V. Kirthi et al. *Materials Letters*. 2011. Vol. 65, no. 17-18. P. 2745–2747.

76. *Lactobacillus*-mediated biosynthesis of titanium nanoparticles in MRS broth medium / Azhar, A. M. et al. Brno, Czech Republic. EU. 2011. Vol. 9, no.1. P. 21-23.

77. Jha A. K., Prasad K., Kulkarni A. R. Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009. Vol. 71, no. 2. P. 226–229.

78. Effect of titanium nanoparticles biosynthesis by *Lactobacillus crispatus* on urease, hemolysin and biofilm forming by some bacteria causing recurrent UTI in Iraqi women / Ibrahim, K. H., Salman, J. A. S., & Ali, F. A. *European Scientific Journal*. 2014. P. 324–338.

79. Studies of Photokilling of Bacteria Using Titanium Dioxide Nanoparticles / Y.-H. Tsuang et al. *Artificial Organs*. 2008. Vol. 32, no. 2. P. 167–174.

80. Khan R., Fulekar M. H. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Bacillus amyloliquefaciens* culture and enhancement of its photocatalytic activity for the degradation of a sulfonated textile dye Reactive Red 31. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2016. Vol. 475. P. 184–191.

81. The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success / M. Bull et al. *FEMS Microbiology Letters*. 2013. Vol. 349, no. 2. P. 77–87.

82. Hammes W. P., Hertel C. The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. *The Prokaryotes*. New York, NY, 2006. P. 320–403.
83. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM / E. Altermann et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005. Vol. 102, no. 11. P. 3906–3912.
84. Shah N. P. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*. 2007. Vol. 17, no. 11. P. 1262–1277.
85. Similarity and Differences in the *Lactobacillus acidophilus* Group Identified by Polyphasic Analysis and Comparative Genomics / B. Berger et al. *Journal of Bacteriology*. 2006. Vol. 189, no. 4. P. 1311–1321.
86. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics / P. R. Marteau et al. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001. Vol. 73, no. 2. P. 430s–436s.
87. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications / R. A. Rastall et al. *FEMS Microbiology Ecology*. 2005. Vol. 52, no. 2. P. 145–152.

ДОДАТОК А

**Результати досліджень наночастинок
за допомогою аналізатора BeNano 90 Zeta
Аналіз наночастинок срібла у лізаті біомаси**

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

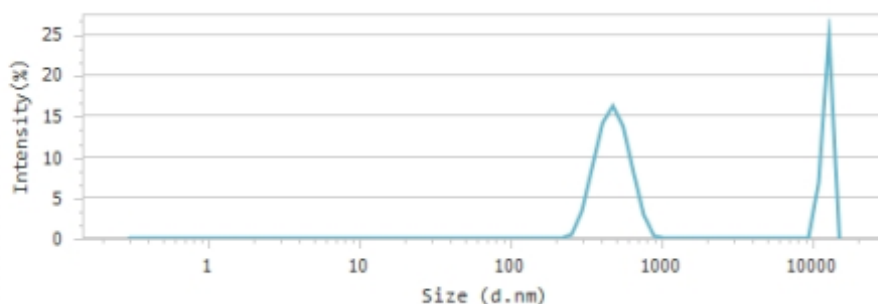
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: biomass + nano-silver		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:20
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 182.20 kcps	Attenuator Number 10
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 3273.07 nm		Peak 1 486.28	68.12
PdI: 0.393		Peak 2 12420.34	31.88
Intercept: 0.95		Peak 3	

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.00	0.00	557.15	13.73	56.78
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00	651.73	8.15	64.93
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	0.00	762.38	2.89	67.82
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	0.00	891.81	0.30	68.12
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	0.00	1043.22	0.00	68.12
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	0.00	1220.32	0.00	68.12
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	0.00	1427.50	0.00	68.12
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	0.00	1669.85	0.00	68.12
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	0.00	1953.34	0.00	68.12
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	0.00	2284.96	0.00	68.12
1.44	0.00	0.00	62.02	0.00	0.00	2672.88	0.00	68.12
1.68	0.00	0.00	72.55	0.00	0.00	3126.66	0.00	68.12
1.97	0.00	0.00	84.87	0.00	0.00	3657.48	0.00	68.12
2.30	0.00	0.00	99.28	0.00	0.00	4278.42	0.00	68.12
2.69	0.00	0.00	116.13	0.00	0.00	5004.77	0.00	68.12
3.15	0.00	0.00	135.85	0.00	0.00	5854.44	0.00	68.12
3.69	0.00	0.00	158.91	0.00	0.00	6848.35	0.00	68.12
4.31	0.00	0.00	185.89	0.00	0.00	8011.01	0.00	68.12
5.05	0.00	0.00	217.45	0.00	0.00	9371.05	0.00	68.12
5.90	0.00	0.00	254.37	0.48	0.48	10961.99	6.90	75.02
6.90	0.00	0.00	297.55	3.36	3.84	12823.02	24.98	100.00
8.08	0.00	0.00	348.07	8.77	12.61	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.00	0.00	407.16	14.17	26.78			
11.05	0.00	0.00	476.29	16.28	43.06			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	333.06
D20	378.90
D30	420.84
D40	463.30
D50	517.18
D60	594.46
D70	9803.85
D80	11332.95
D90	12077.98
D100	12823.02

Аналіз наночасток срібла у супернатанті культуральної рідини

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

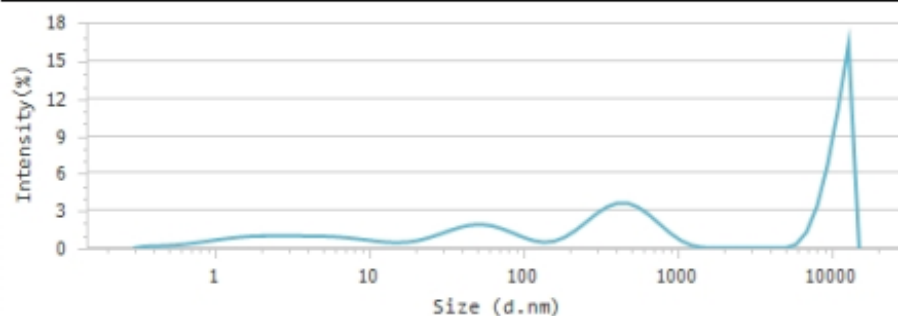
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: supernatant + nano-silver		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 18:03
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 79.30 kcps	Attenuator Number 10
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results			
		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 462.98 nm		Peak 1 4.23	16.61
PdI: 0.978		Peak 2 56.06	16.20
Intercept: 0.26		Peak 3 474.27	28.08

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.47	16.18	557.15	3.26	54.19
0.35	0.13	0.13	15.12	0.43	16.61	651.73	2.67	56.85
0.41	0.15	0.29	17.69	0.47	17.08	762.38	1.93	58.78
0.48	0.19	0.47	20.69	0.60	17.67	891.81	1.21	59.99
0.56	0.24	0.72	24.21	0.81	18.48	1043.22	0.62	60.61
0.66	0.32	1.04	28.32	1.09	19.57	1220.32	0.23	60.84
0.77	0.43	1.47	33.12	1.39	20.95	1427.50	0.05	60.89
0.90	0.55	2.01	38.75	1.66	22.61	1669.85	0.00	60.89
1.05	0.67	2.68	45.33	1.84	24.45	1953.34	0.00	60.89
1.23	0.78	3.46	53.02	1.89	26.33	2284.96	0.00	60.89
1.44	0.86	4.32	62.02	1.79	28.12	2672.88	0.00	60.89
1.68	0.92	5.25	72.55	1.55	29.67	3126.66	0.00	60.89
1.97	0.96	6.21	84.87	1.22	30.89	3657.48	0.00	60.89
2.30	0.97	7.18	99.28	0.87	31.75	4278.42	0.00	60.89
2.69	0.98	8.16	116.13	0.59	32.34	5004.77	0.00	60.89
3.15	0.97	9.13	135.85	0.46	32.80	5854.44	0.29	61.17
3.69	0.97	10.10	158.91	0.55	33.35	6848.35	1.28	62.45
4.31	0.96	11.05	185.89	0.87	34.22	8011.01	3.35	65.80
5.05	0.94	11.99	217.45	1.40	35.62	9371.05	6.67	72.47
5.90	0.90	12.89	254.37	2.07	37.69	10961.99	11.13	83.60
6.90	0.84	13.74	297.55	2.74	40.43	12823.02	16.40	100.00
8.08	0.76	14.50	348.07	3.30	43.73	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.66	15.15	407.16	3.60	47.33			
11.05	0.55	15.71	476.29	3.60	50.93			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	3.63
D20	29.82
D30	75.92
D40	290.78
D50	458.50
D60	894.12
D70	8867.48
D80	10447.14
D90	11688.02
D100	12823.02

Аналіз наночасток цинку у лізаті біомаси

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

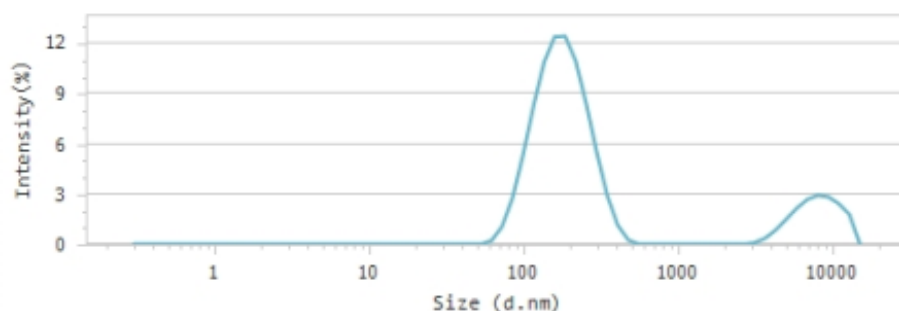
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: biomass + nano-zinc		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:06
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 92.07 kcps	Attenuator Number 10
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 198.41 nm		Peak 1 185.60	82.47
PdI: 0.371		Peak 2 8140.33	17.53
Intercept: 0.91		Peak 3	
			Std Dev. (nm)
			72.36
			2559.87

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.00	0.00	557.15	0.00	82.47
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00	651.73	0.00	82.47
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	0.00	762.38	0.00	82.47
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	0.00	891.81	0.00	82.47
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	0.00	1043.22	0.00	82.47
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	0.00	1220.32	0.00	82.47
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	0.00	1427.50	0.00	82.47
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	0.00	1669.85	0.00	82.47
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	0.00	1953.34	0.00	82.47
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	0.00	2284.96	0.00	82.47
1.44	0.00	0.00	62.02	0.21	0.21	2672.88	0.00	82.47
1.68	0.00	0.00	72.55	1.04	1.26	3126.66	0.09	82.55
1.97	0.00	0.00	84.87	2.78	4.03	3657.48	0.36	82.91
2.30	0.00	0.00	99.28	5.35	9.38	4278.42	0.84	83.75
2.69	0.00	0.00	116.13	8.29	17.67	5004.77	1.48	85.23
3.15	0.00	0.00	135.85	10.88	28.55	5854.44	2.15	87.38
3.69	0.00	0.00	158.91	12.40	40.95	6848.35	2.67	90.05
4.31	0.00	0.00	185.89	12.43	53.37	8011.01	2.92	92.97
5.05	0.00	0.00	217.45	10.95	64.33	9371.05	2.83	95.80
5.90	0.00	0.00	254.37	8.40	72.73	10961.99	2.42	98.21
6.90	0.00	0.00	297.55	5.48	78.21	12823.02	1.79	100.00
8.08	0.00	0.00	348.07	2.89	81.10	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.00	0.00	407.16	1.12	82.22			
11.05	0.00	0.00	476.29	0.24	82.47			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	100.54
D20	120.36
D30	138.55
D40	157.15
D50	178.57
D60	204.99
D70	242.38
D80	328.83
D90	6829.28
D100	12823.02

Аналіз наночасток цинку у супернатанті культуральної рідини

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

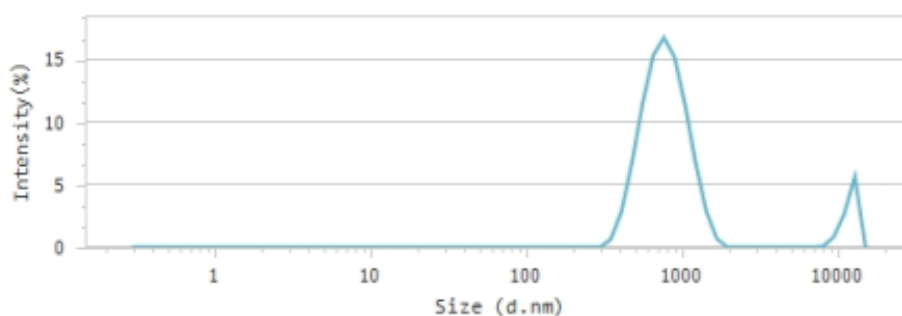
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: supernatant + nano-zinc		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:54
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 430.61 kcps	Attenuator Number 9
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 897.67 nm		Peak 1 800.60	90.78
PdI: 0.231		Peak 2 11932.99	9.22
Intercept: 0.84		Peak 3	

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.00	0.00	557.15	11.52	21.80
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00	651.73	15.35	37.15
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	0.00	762.38	16.77	53.92
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	0.00	891.81	15.23	69.15
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	0.00	1043.22	11.38	80.53
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	0.00	1220.32	6.72	87.25
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	0.00	1427.50	2.86	90.10
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	0.00	1669.85	0.67	90.78
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	0.00	1953.34	0.00	90.78
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	0.00	2284.96	0.00	90.78
1.44	0.00	0.00	62.02	0.00	0.00	2672.88	0.00	90.78
1.68	0.00	0.00	72.55	0.00	0.00	3126.66	0.00	90.78
1.97	0.00	0.00	84.87	0.00	0.00	3657.48	0.00	90.78
2.30	0.00	0.00	99.28	0.00	0.00	4278.42	0.00	90.78
2.69	0.00	0.00	116.13	0.00	0.00	5004.77	0.00	90.78
3.15	0.00	0.00	135.85	0.00	0.00	5854.44	0.00	90.78
3.69	0.00	0.00	158.91	0.00	0.00	6848.35	0.00	90.78
4.31	0.00	0.00	185.89	0.00	0.00	8011.01	0.00	90.86
5.05	0.00	0.00	217.45	0.00	0.00	9371.05	0.82	91.68
5.90	0.00	0.00	254.37	0.00	0.00	10961.99	2.68	94.36
6.90	0.00	0.00	297.55	0.00	0.00	12823.02	5.64	100.00
8.08	0.00	0.00	348.07	0.64	0.64	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.00	0.00	407.16	2.85	3.49			
11.05	0.00	0.00	476.29	6.80	10.28			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	473.39
D20	544.48
D30	607.66
D40	670.53
D50	736.50
D60	814.04
D70	903.11
D80	1036.21
D90	1419.91
D100	12823.02

Аналіз наночастинок церію у лізаті біомаси

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

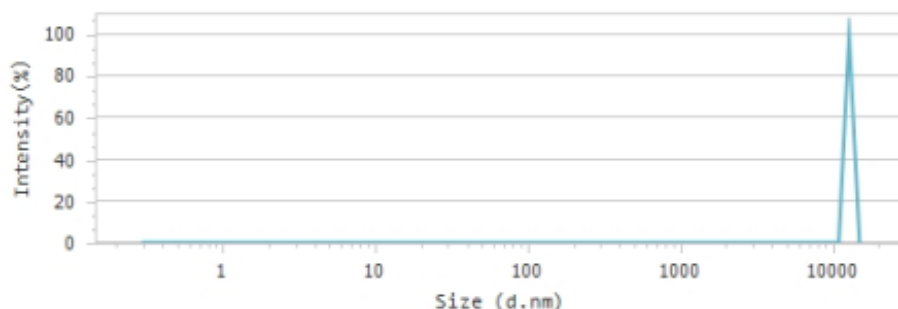
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: biomass + nano-cerium		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:02
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 9.88 kcps	Attenuator Number 10
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 14885.83 nm		Peak 1 12823.02	100.00
PdI: 0.892		Peak 2	0.00
Intercept: 0.58		Peak 3	

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.00	0.00	557.15	0.00	0.00
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00	651.73	0.00	0.00
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	0.00	762.38	0.00	0.00
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	0.00	891.81	0.00	0.00
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	0.00	1043.22	0.00	0.00
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	0.00	1220.32	0.00	0.00
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	0.00	1427.50	0.00	0.00
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	0.00	1669.85	0.00	0.00
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	0.00	1953.34	0.00	0.00
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	0.00	2284.96	0.00	0.00
1.44	0.00	0.00	62.02	0.00	0.00	2672.88	0.00	0.00
1.68	0.00	0.00	72.55	0.00	0.00	3126.66	0.00	0.00
1.97	0.00	0.00	84.87	0.00	0.00	3657.48	0.00	0.00
2.30	0.00	0.00	99.28	0.00	0.00	4278.42	0.00	0.00
2.69	0.00	0.00	116.13	0.00	0.00	5004.77	0.00	0.00
3.15	0.00	0.00	135.85	0.00	0.00	5854.44	0.00	0.00
3.69	0.00	0.00	158.91	0.00	0.00	6848.35	0.00	0.00
4.31	0.00	0.00	185.89	0.00	0.00	8011.01	0.00	0.00
5.05	0.00	0.00	217.45	0.00	0.00	9371.05	0.00	0.00
5.90	0.00	0.00	254.37	0.00	0.00	10961.99	0.00	0.00
6.90	0.00	0.00	297.55	0.00	0.00	12823.02	100.00	100.00
8.08	0.00	0.00	348.07	0.00	0.00	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.00	0.00	407.16	0.00	0.00			
11.05	0.00	0.00	476.29	0.00	0.00			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	11148.09
D20	11334.19
D30	11520.30
D40	11706.40
D50	11892.50
D60	12078.60
D70	12264.71
D80	12450.81
D90	12636.91
D100	12823.02

Аналіз наночасток церію у супернатанті культуральної рідини

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

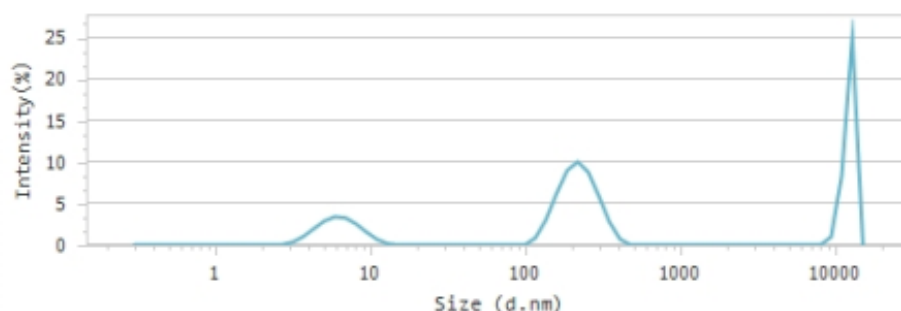
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: supernatant + nano-cerium		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:48
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 84.25 kcps	Attenuator Number 10
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 523.78 nm		Peak 1	6.45
PdI: 0.981		Peak 2	223.82
Intercept: 0.25		Peak 3	12274.17
			Std Dev. (nm)
			1.96
			61.59
			934.45

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.15	17.80	557.15	0.00	65.31
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	17.80	651.73	0.00	65.31
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	17.80	762.38	0.00	65.31
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	17.80	891.81	0.00	65.31
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	17.80	1043.22	0.00	65.31
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	17.80	1220.32	0.00	65.31
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	17.80	1427.50	0.00	65.31
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	17.80	1669.85	0.00	65.31
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	17.80	1953.34	0.00	65.31
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	17.80	2284.96	0.00	65.31
1.44	0.00	0.00	62.02	0.00	17.80	2672.88	0.00	65.31
1.68	0.00	0.00	72.55	0.00	17.80	3126.66	0.00	65.31
1.97	0.00	0.00	84.87	0.00	17.80	3657.48	0.00	65.31
2.30	0.00	0.00	99.28	0.01	17.81	4278.42	0.00	65.31
2.69	0.04	0.04	116.13	0.06	18.66	5004.77	0.00	65.31
3.15	0.33	0.37	135.85	3.09	21.75	5854.44	0.00	65.31
3.69	1.00	1.37	158.91	6.25	28.00	6848.35	0.00	65.31
4.31	1.96	3.33	185.89	9.03	37.03	8011.01	0.00	65.31
5.05	2.90	6.23	217.45	10.07	47.11	9371.05	0.97	66.27
5.90	3.41	9.64	254.37	8.82	55.93	10961.99	8.44	74.71
6.90	3.28	12.91	297.55	5.91	61.84	12823.02	25.29	100.00
8.08	2.55	15.46	348.07	2.77	64.61	15000.00	0.00	100.00
9.45	1.54	17.00	407.16	0.70	65.31			
11.05	0.65	17.65	476.29	0.00	65.31			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	6.01
D20	124.68
D30	164.89
D40	195.19
D50	229.55
D60	284.10
D70	10073.38
D80	11351.08
D90	12087.05
D100	12823.02

Аналіз наночасток титану у лізаті біомаси

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

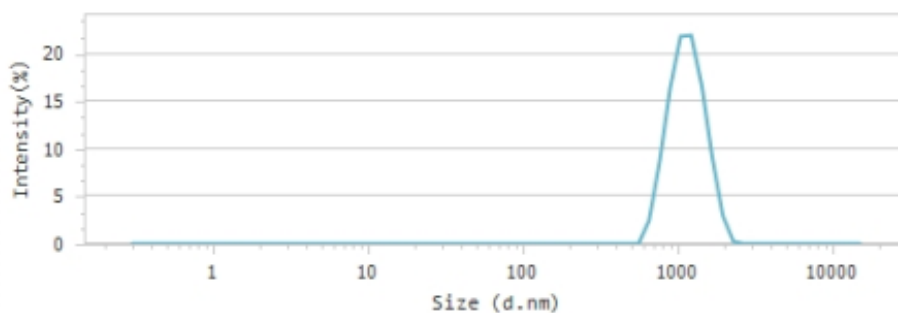
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: biomass + nano-titanium		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:15
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 272.81 kcps	Attenuator Number 7
Viscosity: 1.0062 mPa.s (cp)	Absorption: 0.01	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results		Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)
Z-ave: 1099.25 nm		Peak 1 1174.39	100.00
PdI: 0.108		Peak 2	303.89
Intercept: 0.95		Peak 3	

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.00	0.00	557.15	0.00	0.00
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00	651.73	2.44	2.44
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	0.00	762.38	8.56	11.00
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	0.00	891.81	16.35	27.35
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	0.00	1043.22	21.82	49.17
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	0.00	1220.32	21.91	71.08
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	0.00	1427.50	16.66	87.74
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	0.00	1669.85	9.06	96.81
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	0.00	1953.34	2.94	99.75
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	0.00	2284.96	0.25	100.00
1.44	0.00	0.00	62.02	0.00	0.00	2672.88	0.00	100.00
1.68	0.00	0.00	72.55	0.00	0.00	3126.66	0.00	100.00
1.97	0.00	0.00	84.87	0.00	0.00	3657.48	0.00	100.00
2.30	0.00	0.00	99.28	0.00	0.00	4278.42	0.00	100.00
2.69	0.00	0.00	116.13	0.00	0.00	5004.77	0.00	100.00
3.15	0.00	0.00	135.85	0.00	0.00	5854.44	0.00	100.00
3.69	0.00	0.00	158.91	0.00	0.00	6848.35	0.00	100.00
4.31	0.00	0.00	185.89	0.00	0.00	8011.01	0.00	100.00
5.05	0.00	0.00	217.45	0.00	0.00	9371.05	0.00	100.00
5.90	0.00	0.00	254.37	0.00	0.00	10961.99	0.00	100.00
6.90	0.00	0.00	297.55	0.00	0.00	12823.02	0.00	100.00
8.08	0.00	0.00	348.07	0.00	0.00	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.00	0.00	407.16	0.00	0.00			
11.05	0.00	0.00	476.29	0.00	0.00			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	749.44
D20	833.62
D30	910.19
D40	979.58
D50	1049.93
D60	1130.75
D70	1211.57
D80	1331.20
D90	1487.84
D100	2284.96

Аналіз наночасток титану у супернатанті культуральної рідини

Bettersize
BETTER PARTICLE SIZE SOLUTIONS

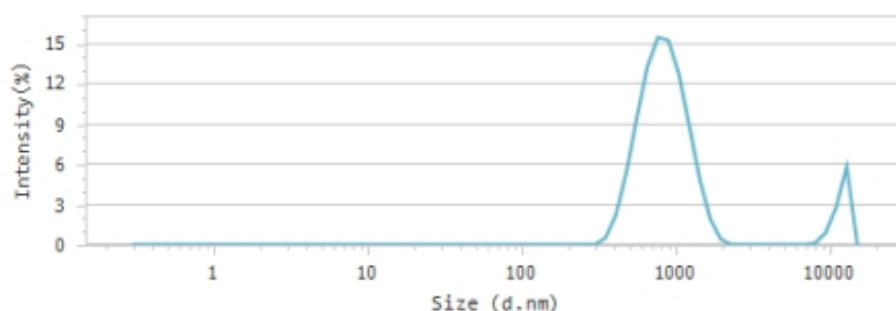
Nanoparticle Size and Zeta Potential Analyzer

Intensity Distribution Report

Ver 2.1

Sample Name: supernatant + nano-titanium		Sample Source:	
Operator: Khomenko		Testing Agency:	
SOP: manual.sop		Date: 20.09.2022	Measurement Time: 17:58
Remark:			
Dispersant: Water	Material: PS latex	Scattering Angle: 90 °	Number of Sub Runs: 20
Temperature: 20 °C	RI: 1.59	Mean Count Rate: 392.02 kcps	Attenuator Number 9
Viscosity: 1.0062 mPa.s	Absorption: 0.01 (cp)	Model: General Mode	Cell Type: PS cuvette
RI: 1.33	Wavelength: 633 nm	Equilibration Time: 0 s	Measurement Position 5 mm
Results			
	Mean Particle Size (d.nm)	Area (%)	Std Dev. (nm)
Z-ave: 935.28 nm	Peak 1 863.08	90.33	294.91
PdI: 0.282	Peak 2 11894.59	9.67	1249.10
Intercept: 0.83	Peak 3		

Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)	Size (d.nm)	Diff (%)	Cum (%)
0.30	0.00	0.00	12.93	0.00	0.00	557.15	9.49	17.59
0.35	0.00	0.00	15.12	0.00	0.00	651.73	13.27	30.86
0.41	0.00	0.00	17.69	0.00	0.00	762.38	15.46	46.31
0.48	0.00	0.00	20.69	0.00	0.00	891.81	15.25	61.57
0.56	0.00	0.00	24.21	0.00	0.00	1043.22	12.75	74.32
0.66	0.00	0.00	28.32	0.00	0.00	1220.32	8.85	83.16
0.77	0.00	0.00	33.12	0.00	0.00	1427.50	4.86	88.02
0.90	0.00	0.00	38.75	0.00	0.00	1669.85	1.91	89.93
1.05	0.00	0.00	45.33	0.00	0.00	1953.34	0.40	90.33
1.23	0.00	0.00	53.02	0.00	0.00	2284.96	0.00	90.33
1.44	0.00	0.00	62.02	0.00	0.00	2672.88	0.00	90.33
1.68	0.00	0.00	72.55	0.00	0.00	3126.66	0.00	90.33
1.97	0.00	0.00	84.87	0.00	0.00	3657.48	0.00	90.33
2.30	0.00	0.00	99.28	0.00	0.00	4278.42	0.00	90.33
2.69	0.00	0.00	116.13	0.00	0.00	5004.77	0.00	90.33
3.15	0.00	0.00	135.85	0.00	0.00	5854.44	0.00	90.33
3.69	0.00	0.00	158.91	0.00	0.00	6848.35	0.00	90.33
4.31	0.00	0.00	185.89	0.00	0.00	8011.01	0.12	90.45
5.05	0.00	0.00	217.45	0.00	0.00	9371.05	0.91	91.36
5.90	0.00	0.00	254.37	0.00	0.00	10961.99	2.82	94.18
6.90	0.00	0.00	297.55	0.00	0.00	12823.02	5.82	100.00
8.08	0.00	0.00	348.07	0.50	0.50	15000.00	0.00	100.00
9.45	0.00	0.00	407.16	2.21	2.70			
11.05	0.00	0.00	476.29	5.40	8.10			



Typical Values	Size (d.nm)
D10	492.48
D20	574.35
D30	645.62
D40	717.17
D50	793.65
D60	878.50
D70	991.95
D80	1157.02
D90	1719.96
D100	12823.02



Bucharest, October 6th, 2022

CONFIRMATION OF PAPER ACCEPTANCE

Dear Maryna Rohova,

We are pleased to inform you that your paper *Green Biosynthesis of Zinc Nanoparticles*, authors **Maryna Rohova, Vladyslav Kovalenko, Volodymyr Tkachenko, Inna Lych, Iryna Voloshyna**, was **accepted** for presentation in the 9th International Conference on Advanced Materials and Systems which will be held online, on October 26th – 28th, 2022.

A tentative program of the Conference will be soon posted on the conference website.

We thank you for making this conference a challenging, interesting and enjoyable event! We look forward to seeing you online, on October 26th – 28th, 2022.

On behalf of the ICAMS 2022 Scientific Committee,

Dr. Laurenția Alexandrescu

Chair - Organizing Committee of the 9th International Conference on Advanced Materials and Systems



Organized by
INCDTP - Division: Leather and Footwear Research Institute
 93 Ion Minulescu St., 030215, Bucharest, Romania
 Phone/Fax: +4021.323.52.80
www.icams.ro www.icpi.ro



ДОДАТОК В

Біосинтез наночасток титану за допомогою мікроорганізмів Рогова М.Р., Коваленко В.І., Зурнаджан А.А., Волошина І.М.

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

Вступ. Оскільки такі частинки за величиною наближені до молекул, наноматеріали здатні виявляти унікальні фізичні та хімічні властивості, близькі властивостям окремих молекул. Нанометровий діапазон вимірювань розмірів 1÷100 нм відкриває нові властивості та галузі застосування речовин та матеріалів [3].

Для синтезу металевих наночасток можна використовувати різноманітні хімічні та фізичні методи. Однак вони пов'язані з багатьма проблемами, включаючи використання токсичних розчинників, утворення небезпечних побічних продуктів і високе споживання енергії. Більшість методів синтезу знаходяться на стадії розробки: у результаті часто виникають проблеми зі стабільністю наночасток, контролем росту та агрегацією [4, 5, 12].

Відповідно, існує суттєва потреба в розробці безпечних для навколишнього середовища процедур для синтезу металевих наночасток. Нещодавно з'явився новий метод синтезу наноматеріалів за допомогою високоструктурованої біосинтетичної активності мікробної клітини. Мікробний синтез наночасток є підходом зеленої хімії, яка поєднує нанотехнології та мікробну біотехнологію. Завдяки біорізноманітності мікробів, їх потенціал як біологічних матеріалів для синтезу наночасток ще не повністю досліджено. Процеси взаємодії між мікроорганізмами і металами вже використовуються в біотехнологічних процесах, таких як біомінералізація, біоремедіація та мікробна корозія [5, 12].

В останнє десятиліття використання мікробів викликало підвищений інтерес, до якого було проведено багато досліджень з використанням різних моделей мікроорганізмів. Доречним є застосування бактеріальних культур для біосинтезу наночасток металів, оскільки бактеріям властива здатність відновлювати іони важких металів, пригнічувати їх токсичність та рости при високих концентраціях сполук. Біологічний синтез з використанням бактеріальних мікроорганізмів має перевагу перед рослинами, оскільки бактерії легко розмножуються. Мікроби діють як крихітна нанофабрика у відновленні іонів металів до металевих НЧ із залученням ферментів та інших біомолекулярних сполук, що виділяються або виробляються мікробами. Ці численні органічні компоненти, що виділяються в суспензію або середовище для росту, пов'язані з утворенням різних розмірів, форм із моно- та полідисперсними наночастками. Білок, що виділяється з мікробів, може діяти як блокуючий агент, який надає стабільність утворенню наночасток. Ріст усіх бактерій в першу чергу залежить від вуглецю, азоту, неорганічних іонів і органічних матеріалів. Основні види бактерій які використовуються для синтезу металевих наночасток включають *Acinetobacter* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus* spp., *Bacillus cereus*, *Corynebacterium* sp. і *Pseudomonas* sp [13, 14, 16].

Мета дослідження. Провести літературний пошук та аналіз досліджень біосинтезу титану з використанням мікроорганізмів.

Методи та об'єкти дослідження. Аналіз масиву наукових досліджень.

Основні результати. Бактеріальні екстракти були використані для створення зеленого виробництва наночасток TiO_2 . Бактеріальні метаболіти відіграють ключову роль у біовідновленні та стабільності TiO_2 . Наночастки TiO_2 , які в природі існують у трьох різних кристалічних формах анатазу, рутилу та брукіту, можна отримати за допомогою біологічного агента. Екстракт *Aeromonas hydrophila* використовувався для отримання наночасток титану розміром 28–54 нм. У ході дослідження продемонстровано ефективну пригнічувальну дію проти *Staphylococcus aureus* (зона інгібування 33 мм) і *S. pyogenes* (зона інгібування 31 мм) [7].

З одного боку, наночастки TiO_2 виготовлені з використанням бактерії *Lactobacillus* під час комбінованої дії ферментів оксидоредуктази та глюкози при помірному рН, тоді як, з

іншого боку, їх можлива патогенність і важке бактеріальне виробництво мають мінімальні можливості для комерціалізації [9].

Екстракти *Aspergillus flavus* здатні відновлювати іони титану до наночастинок оксиду титану. В результаті синтезовано окремі наночастки, так і нечисленні агрегати розміром 62–74 нм. Ці наночастки показали сильні результати антибактеріальну дію проти *E. coli* [15].

Наночастки діоксиду титану, синтезовані з титану як попередника з використанням бактерії *Bacillus subtilis* були охарактеризовані та підтверджені як наночастки TiO_2 за допомогою УФ-спектроскопії, XRD, FTIR, AFM та SEM аналізу. Виявлено морфологічні характеристики сферичної, овальної форми, окремих наночастинок, а також окремих агрегатів розміром 66–77 нм. Дослідження в УФ-видимому діапазоні, яке виявило поверхневий плазмонний резонанс при 366 нм. XRD показує кристалографічну площину анатазу наночастинок TiO_2 , вказуючи на те, що структура наночастинок переважно відповідає кристалічному діоксиду титану [1].

Досліджено вплив діоксиду титану на 100 штамів нативних лактобацил. У зразках штамів, котрі здібні синтезувати наночастки титану колір розчину змінився зі світло-коричневого на темно-коричневий. Тоді як нездатні до біосинтезу штами продемонстрували відсутність зміни кольору. Позаклітинний опосередкований біосинтез наночастинок титану *Lactobacillus* в MRS-бульйоні показав результати: розмір наночастинок титану становить 150 нм, форма сферична [2].

Є відомості про синтез наночастинок TiO_2 з використанням *Fusarium oxysporium*, *Saccharomyces cerevisiae* і *Lactobacillus* sp. Вони синтезують наночастки TiO_2 розміром 30 і 18 нм відповідно. Для визначення утворення наночастинок TiO_2 виконуються рентгенівський і просвічуючий електронний мікроскопічний аналіз. Виявлено, що джерело енергії, рН і загальний окислювально-відновлювальний потенціал є важливими факторами в синтезі наночастинок TiO_2 [8]. Встановлено, що наночастки діоксиду титану, синтезовані завдяки *Lactobacillus crispatus*, зменшують утворення біоплівки, гемолізіну та уреаз, які відповідають за розвиток стійкості патогенів до множинних лікарських засобів [6].

Проведено численні дослідження, щоб з'ясувати, як наночастки TiO_2 , що використовуються для бактерицидних цілей, впливають на клітини бактерій. Такі бактерії як *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterococcus hirae* і *Bacteroides fragilis* були вбиті ефектами наночастинок TiO_2 під дією ультрафіолетового світла [17].

Bacillus amyloliquefaciens застосовується для синтезу кристалітів біосинтезованих наночастинок титану, розмір яких знаходиться в діапазоні 15,23–87,6 нм. Фур'є-спектроскопія встановила переконливі докази наявності білків у некальцинованих наночастинок діоксиду титану для стабілізації та запобігання агломерації частинок [10].

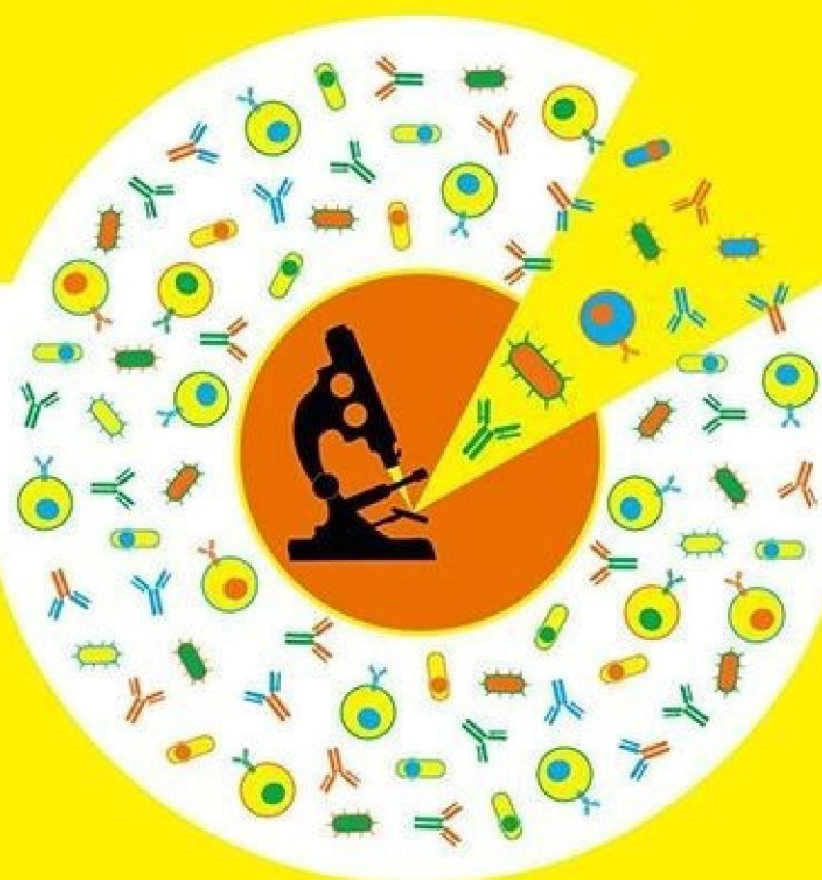
Висновки. Наука та техніка наносистем є однією з них найскладніших та найшвидше розвиваючих галузей нанобіотехнологій. В даний момент зростає потреба в розвитку екологічно чистого процесу синтезу наночастинок, під час якого не використовують токсичні хімікати. Саме тому, важливим напрямком досліджень у нанотехнологіях є синтез металевих наночастинок мікроорганізмами, такими як бактерії та дріжджі (детоксикація часто відбувається шляхом відновлення металу іонів/утворення сульфідів металів). Бактерії є організмом вибору завдяки їх швидкому росту, високій ефективності і невеликій вартості. Наночастки металів виявляють антимікробні ознаки, однак властивості наночастинок залежать від їх розміру та форми, що робить їх специфічними для різних застосувань. Тим не менш, бажаний розмір і форму наночастинок можна отримати за допомогою оптимізації процесу синтезу шляхом маніпулювання умовами їх реакції. Опосередкований мікробами синтез наночастинок є альтернативою хімічним і фізичним методам, оскільки є нетоксичним та біосумісним. Незважаючи на актуальність застосування методу «зеленого синтезу» у сфері нанотехнологій, біосинтез за рахунок бактеріальних організмів має певні недоліки, такі як висока ймовірність патогенності, трудомістке культивування та проблеми з забрудненням.

Зрештою, існує потреба дослідити більше потенційних мікроорганізмів для синтезу наночасток металів [11].

Список літератури

1. Vishnu Kirthi A., Abdul Rahuman A., Rajakumar G., Marimuthu S., Santhoshkumar T., et. al. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using bacterium *Bacillus subtilis*. *Materials Letters*. 2011, 65 (17–18): 2745–2747. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.05.077>.
2. Voloshyna I.M., Shkotova L.V. et.al. *Lactobacillus* bacteria: biological and therapeutic properties. *Mikrobiol. Z.* 2019; 81(6): 131–146. doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.06.131>. (in Ukrainian).
3. Baraton M.-I., et. al. Synthesis, functionalization and surface treatment of nanoparticles. *Amer Scientific Pub*, 2003, 9.
4. Brust M., Kiely C.J., Colloids and Surfaces A. *Physicochemical and Engineering Aspects*, 2002, 202: 175–186.
5. Huang H., Yang X., Colloids and Surfaces A, *Physicochemical and Engineering Aspects*, 2005, 255: 11–17.
6. Kawther Hkeem I., Sattar Salman J. A., Abodi Ali F. Effect of titanium nanoparticles biosynthesis by *Lactobacillus crispatus* on urease, hemolysin & biofilm forming by some bacteria causing recurrent UTI in Iraqi women. *European Scientific Journal*, 2014, 10.9.
7. Jayaseelan C., Rahuman A.A., Roopan S.M., Kirthi A.V., Baraton M.-I., et. al. Biological approach to synthesize TiO₂ nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and its antibacterial activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2013, 107: 82–9. doi: [10.1016/j.saa.2012.12.083](https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.12.083).
8. Jha A, Prasad K, Kulkarni A Synthesis of TiO₂ nanoparticles using microorganisms. *Coll Surf B: Biointerfaces*. 2009, 71: 226–229.
9. Рогова М.Р., Коваленко В.І., Волошина І.М. Використання наночасток оксиду титану та оксиду цинку як сонцезахисних фільтрів // XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біологічні дослідження – 2022», 10–11 жовтня 2022 року, Житомир, ПП «Свро-Волинь», 2022. – Р. 226–229.
10. Khan R, Fulekar M. H. Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Bacillus amyloliquefaciens* culture and enhancement of its photocatalytic activity for the degradation of a sulfonated textile dye Reactive Red 31. *Journal of colloid and interface science*. 2016, 475: 184–191. doi: [10.1016/j.jcis.2016.05.001](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.05.001).
11. Kowshik M., Ashtaputre S., Kharrazi S., Vogel W., Urban J., Kulkarni S.K., Paknikar K.M. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*. 2003, 14: 95–101. doi: [10.1088/0957-4484/14/1/321](https://doi.org/10.1088/0957-4484/14/1/321).
12. Mandal S., Phadtare S., Sastry M. Interfacing biology with nanoparticles. *Current Applied Physics*. 2005, 5: 1127–1218.
13. Mohanpuria Prashant, Nisha K. Rana, Sudesh Kumar Yadav. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of nanoparticle research*. 2008, 10.3: 507–517.
14. Voloshyna I.M., Soloshenko K.I., Krasinko V.O., et.al. Bacteriocins *Lactobacillus* — an alternative to antimicrobial drugs // *Biopolymers and Cell*, 2021, 37(2), PP. 85–97
15. Rajakumar G., Rahuman A.A., Roopan S.M., Khanna V.G., Elango G. et.al. Fungusmediated biosynthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2012, 91: 23–29, <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.01.011>.
16. Siavash Irvani Bacteria in Nanoparticle Synthesis: Current Status and Future Prospects. *International Scholarly Research Notices*. 2014, Article ID 359316, 18 p.
17. Tsuang Y.-H., Sun J.-S., Huang Y.-C., Lu, C.-H., et.al. Studies of Photokilling of Bacteria Using Titanium Dioxide Nanoparticles. *Artif. Organs* 2008, 32: 167–174, <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2007.00530.x>.

IV international scientific conference
**MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY -
THE DEVELOPMENT OUTLOOK
IN THE 21st CENTURY**



ABSTRACT BOOK

Kyiv
2022

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE

TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV
ESC «INSTITUTE OF BIOLOGY AND MEDICINE»
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY

VYNOGRADS'KYJ SOCIETY OF MICROBIOLOGISTS OF UKRAINE

UKRAINIAN SOCIETY OF SPECIALISTS IN IMMUNOLOGY, ALLERGOLOGY AND
IMMUNOREHABILITATION
THE EUROPEAN FEDERATION OF IMMUNOLOGICAL SOCIETIES

IV International Scientific Conference
Microbiology and Immunology –
the development outlook in the 21st century

ABSTRACTS BOOK

(SEPTEMBER 22-23, 2022, KYIV)

KYIV 2022

Kyiv, 22-23 of September, 2022

MAIN PROPERTIES OF *LACTOBACILLUS FERMENTUM*

Rohova M.¹, Kovalenko V.¹, Shkotova L.², Voloshyna I.^{1,3}

¹National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine;

²Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

³National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine.

Lactobacillus fermentum is Gram-positive facultative anaerobic bacteria of the *Lactobacillaceae* family. Bacteria of this species have high biological and functional activity, which determines their practical use as pharmaceuticals and biologically active food supplements.

L. fermentum is used in the industrial food production as an additional culture to enrich the products with probiotic microflora and regulate microbiological processes. In the manufacture of enzymatic cheeses and in industrial baking *L. fermentum* bacteria are used to maintain high organoleptic properties. *L. fermentum* is also used in the making of high-quality silage. Recent studies have shown that *L. fermentum* is able to ferment dietary fiber and release short-chain fatty acids, including propionic, butyric, acetic, and lactic acids, in the intestine. Oral administration of *L. fermentum* can improve glucose metabolism and regulate the generation of innate and adaptive immune cells.

The culture liquid of *L. fermentum* is enriched with B vitamins, biotin, PP, folic acid, tocopherol, ascorbic acid. This contributes to the use of these lactobacilli for the prevention and treatment of dysbiosis, infectious diseases, peptic ulcer disease associated with the presence of *Helicobacter pylori*, campylobacteriosis, anaerobic vaginosis, stomatitis, enterovirus infections.

L. fermentum has been shown to interact with human immune cells and to modulate specific pathways involved in innate and adaptive immunity in various inflammatory diseases. There are the data about its positive effect on the body immune system and metabolism. *L. fermentum* bacteria synthesize amino acids, enzymes, immunoglobulins, stimulate the phagocytic activity of neutrophils, macrophages, interferons, interleukins and tumor necrosis factor on the immune system. *L. fermentum* bacteria are resistant to lysozyme and produce lysozyme, which in combination with lysozyme of the intestinal mucosa contributes to the resistance of the latter to pathogenic microflora. The function of this species is to model the formation of anti-inflammatory cytokine IL-10 and reduction of the level of inflammatory mediators IL-2, -5, -6, as well as tumor necrosis factor TNF- α . *L. fermentum* is actively involved in metabolic and regulatory processes and is used to develop probiotic preparations and food products. The main properties of *L. fermentum* are its pronounced antagonism against pathogenic microorganisms, the ability to suppress the development of bacteria of other species and strains, resistance to a spectrum of antibacterial agents, and direct participation in maintaining homeostasis in humans and animals.

Keywords: *Lactobacillus fermentum*, immune system, industrial food production.



Житомирський
державний
університет
імені Івана Франка



Університет зі столітньою історією та
тисячолітніми традиціями

Міністерство освіти і науки України
Житомирський державний університет імені Івана Франка

Сертифікат

Цей документ засвідчує, що

**Рогова Марина
Романівна**

взяла участь

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

Проректор з наукової
і міжнародної роботи



Тетяна БОЦЯН

10-11 жовтня 2022 року
м. Житомир

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



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

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2022

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

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

Житомир
Видавець ПП «Сяро-Волинь»
2022

носії, наповнені лікарськими засобами, переваги перед вже існуючими або альтернативними системами доставки ліків.

Література

1. Rhamnolipids: production, performance, and application. Consequences of microbial interactions with hydrocarbons, oils, and lipids: production of fuels and chemicals / Tiso T. et al. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Springer, Cham. 2017. P. 1–37. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-31421-1_388-1.

2. Rhamnolipids form drug-loaded nanoparticles for dermal drug delivery / Müller F. et al. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017. 116. P. 31–37.

3. Тіосульфонати – шляхи їх синтезу та перспективи застосування / Н. Я. Монька та ін. *Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія*: зб. тез Міжн. наук.-пр. конф., присв. 90-р. Київського національного університету технологій та дизайну каф. біотехнології, шкіри та хутра, 14–15 травня 2020. Київ : КНУТД, 2020. С. 42.

4. Чекман І. С. Нанофармакологія: погляд на проблему. *Вісник Національної академії наук України*. 2012. № 7. С. 21–25.

5. Шпірінян А. С., Макара В. А. Актуальні проблеми наноматеріалів і нанотехнологій. *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології*. 2010. Т. 8, № 2. С. 223–269.

УДК 601+606:61

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТОК ОКСИДУ ТИТАНУ ТА ОКСИДУ ЦИНКУ ЯК СОНЦЕЗАХИСНИХ ФІЛЬТРІВ

М. Р. Рогова, В. І. Коваленко, І. М. Волошина

Київський національний університет технологій та дизайну, вул. Немировича-Данченка, 2, Київ, 01011, Україна

Мінеральні сонцезахисні засоби виготовляються з діоксиду титану та оксиду цинку, зазвичай у формі наночастинок. Завдяки невеликим розмірам наночастинок краще відбивають і розсіюють УФ-промені. Оптимальні розміри для частинок оксиду цинку – 20–30 нм, діоксиду титану – 60–120 нм. При створенні сонцезахисних засобів використовують наночастинки розміром від 14 нм до мікронів для титану діоксиду та від 30 до 200 нм для цинку оксиду [1].

Різниця між цими двома неорганічними фільтрами полягає в тому, що TiO_2 в основному відображає ультрафіолет спектру В і запобігає сонячному опіку, в той час як ZnO більшою мірою відображає ультрафіолет спектру А, попереджаючи старіння шкіри.

Сполуки оксиду цинку та діоксиду титану можуть викликати подразнення шкіри або алергію. Для того, щоб зменшити побічні ефекти та мінімізувати фотодеградацію, використовується інкапсуляція цих сполук у ліпідні наночастинки. Косметичні засоби на основі наночастинок мають прозору

структуру, слабкий запах, менш слизькі та в'язкі властивості, тому забезпечують рівномірне нанесення та краще проникнення в шкіру [4].

При застосуванні наночастинок металів оксиду титану (TiO_2) та оксиду цинку (ZnO) як фільтрів випромінювання, можна досягти високого рівня захисту від УФ-променів. У літературі описано дослідження оксиду цинку як фізичного блокатора та октокрилену як хімічного поглинача в тверді ліпідні наночастинок та отримано потенціал блокування ультрафіолету сонцезахисного продукту [2]. Підготовлені наночастинок показали хорошу стабільність протягом 360 днів із значеннями рН 5,4 – 5,9, які можуть бути буферизовані шкірою. Тест *Transpore*TM доводить ефективність розроблених формул щодо потенціалу блокування УФ. Таким чином, ліпідні наночастинок мають потенціал для посилення активності хімічних УФ-фільтрів як сонцезахисних продуктів [5].

Необхідно переглянути потенційну шкоду від епідермального застосування наночастинок у сонцезахисних кремах. Потенційна токсичність частинок визначається поверхневою реактивністю. Таким чином, з огляду на їх структуру, наночастинок будуть виявляють більшу шкоду в порівнянні з більшими частинками через їх пропорційно збільшену площу поверхні [6]. Здатність індукувати утворення вільних радикалів, комплексів з білками та можливість ухилення від імунологічних захисних механізмів є потенційною шкодою нанорозмірних частинок. TiO_2 та ZnO є відомими фотокаталізаторами. Під впливом ультрафіолетового світла вони випромінюють електрони. Ці електрони, в свою чергу, індукують утворення перекиси, вільних радикалів та активних форм кисню. Активні форми кисню, утворені під впливом ультрафіолету TiO_2 та ZnO мають потенціал пошкоджувати білки, ліпіди та ДНК, з якими вони контактують [7]. Вагомість поточних доказів полягає в тому, що наночастинок оксиду титану та оксиду цинку залишаються на поверхні шкіри, зокрема зовнішньому мертвому шарі та не проникають у життєздатні клітини шкіри. Однак побоювання щодо токсичності можуть бути тільки реалізовані, якщо наночастинок TiO_2 та ZnO здатні проникати в епідерміс та дерму [8].

Дослідження проникнення між різними видами повинні виконуватися з обережністю, оскільки проникність може сильно змінюються в залежності від природи виду і досліджуваної сполуки [8]. Хоча певні шкірні захворювання можуть впливати на проникнення місцевих засобів, більшість літератури підтверджує, що шкіра з пошкодженим бар'єром не має більшої схильності до проникнення [9]. При псоріазі наночастинок мають меншу проникність, оскільки епідерміс гіперкератотичний. Через порушення рогового шару, при екземі проникнення матеріалів місцевого застосування було виявлено більше. Усі дослідження про проникнення в шкіру були проведені без контролю впливу ультрафіолету. Тому жодне дослідження ще не моделювало реальний життєвий сценарій застосування сонцезахисних кремів [9].

Діоксид титану класифікується як можливий канцероген для людини Міжнародним агентством з дослідження раку (IARC) через можливість впливу через вдихання. З цієї причини занепокоєння викликають порошкоподібні або

спрейові склади, що містять діоксид титану. Висновки IARC базуються на відкритті, що високі концентрації пігментного (порошкоподібного) та надтонкого пилу діоксиду титану спричиняють рак дихальних шляхів у щурів, які зазнали інгаляцій та інтратрахеального закапування. Критикується безпека використання наночастинок титану тому що може проникати в організм і досягати внутрішніх органів [10]. Оксид цинку викликає проблеми з інгаляцією, коли використовується в спреях і порошкових продуктах [11].

На сьогоднішній день існує великий вибір сонцезахисних засобів, склад яких включає наночастинок діоксиду титану (TiO_2) та оксиду цинку (ZnO). Австралійський уряд нещодавно підрахував, що 70 % титанових сонцезахисних кремів і 30 % цинкових сонцезахисних кремів були сформульовані з наноприродних [2]. Загалом, мінеральні сонцезахисні креми, як правило, оцінюються краще, ніж хімічні сонцезахисні креми в базі даних робочої групи з охорони навколишнього середовища – Environmental Working Group (EWG). Однак важливо, щоб виробники використовували форми мінералів, покриті інертними хімічними речовинами, щоб зменшити фотоактивність. Щоб мінімізувати ризики для користувачів сонцезахисних кремів і максимізувати захист цих продуктів від сонця, EWG підтримує жорсткіші рекомендації та обмеження щодо типів цинку та титану, які використовуються в сонцезахисних кремах. Управління з контролю за продуктами і ліками США (FDA) вважає безпечним та ефективним використання наночастинок діоксид титану у складі сонцезахисних кремів. Безпека цинку оксиду і титану діоксиду описана в публікаціях Наукового комітету зі споживчих товарів (Scientific Committee on Consumer Products) [3]. Багаточисельні дослідження показують безпечність та нетоксичність наночастинок діоксиду титану та оксиду цинку, проте відзначено недоліки методів дослідження.

Література

1. Choi M. J. Liposomes and niosomes as topical drug delivery systems. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2005. № 18. P. 209–219. DOI: 10.1159/000086666
2. Berkman M., Yazan Y. Solid lipid nanoparticles: A possible vehicle for zinc oxide and octocrylene. *Pharmazie.* 2012. № 67 (3). P. 202–208.
3. Schreier H. Liposomes and niosomes as topical drug carriers: Dermal and transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.* 1994. № 30. P. 1–15.
4. Dussert A.S. Characterisation of the mineral content of a physical sunscreen emulsion and its distribution on to human stratum corneum. *Int. J. Cosmet. Sci.* 1997. № 19. P. 119–129.
5. Australian Government TGA, OTC Medicines Section. A review of the scientific literature on the safety of nanoparticulate titanium dioxide or zinc oxide in sunscreens. Available from: <http://www.tga.gov.au/npm/meds/sunscreen-zotd.pdf>. 2006. Accessed January 16.
6. Donaldson K., Tran C. Inflammation caused by particles and fibers. *Inhal Toxicol.* 2002. № 14. P. 5–27. DOI: 10.1080/089583701753338613.
7. Yang Y. H., Chen H., Pan G. Particle concentration effect in adsorption/desorption of Zn(II) on anatase type nano TiO_2 . *J Environ Sci (China)*. 2007. № 19. P. 1442–1445. DOI: 10.1016/s1001-0742(07)60235-6.

8. Nohynek G. J., Lademann J., Ribaud C., Roberts M. S. Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Crit Rev. Toxicol.* 2007. № 37. P. 251–277. DOI: 10.1080/10408440601177780.

9. Schafer-Korting M., Korting H. C., Ponce-Poschl E. Liposomal tretinoin for uncomplicated acne vulgaris. *Clin Investig* 1994. № 72. P. 1086–1091.

10. Soni M., Taylor S., Greenberg N., Burdock G. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: A review of the published literature. *Food and Chemical Toxicology.* 2002. № 40(10). P. 1335–1373. DOI:10.1016/s0278–6915(02)00107–2.

11. Borm P. J., Robbins D., Haubold S., Kuhlbusch T., Fissan H., Donaldson K., et al. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Part Fibre Toxicol.* 2006. № 3. P. 11.

УДК 578.81:579.66

ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГУ $\Phi\eta\text{IJB}$, ВИДІЛЕНОГО З *LACTOBACILLUS DELBRUECKII*

Ю. О. Хмельницька, О. А. Шидловська

Київський національний університет технологій та дизайну, вул. Немировича-Данченка, 2, Київ, 01011, Україна

Lactobacillus delbrueckii є однією із найбільш широко використовуваних молочнокислих бактерій в харчовій промисловості для виробництва молочнокислої продукції. Враховуючи економічну значимість, дослідження фагів *L. delbrueckii* мають надзвичайне значення. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SDMCC050201 є одним із комерційних штамів закваски для бродіння йогурту. В даній роботі проведено аналіз властивостей та відомих характеристик профага $\Phi\eta\text{IJB}$ виділеного з *L. delbrueckii* SDMCC050201.

У порівнянні з вірулентними фагами, що інфікують *Lactobacillus delbrueckii* під час процесів бродіння молока, інформація про помірні фаги *Lactobacillus delbrueckii* обмежена. Можлива причина полягає в тому, що більшість постачальників стартових культур перевіряють свої штами на наявність профагів. Зазвичай лізогенні штами, що несуть профаг, який легко індукується, не мають виходу до комерційних продуктів. Проте, недостатня точність методів контролю, випадкова контамінація молочної сировини може призвести до втрати готової молочно-кислої продукції.

Виділений з молочнокислої бактерії *L. delbrueckii* бактеріофаг $\Phi\eta\text{IJB}$ має ікосаедричний капсид і нескоротливий хвіст. За своєю морфологією $\Phi\eta\text{IJB}$ належить до родини *Siphoviridae* за даними Міжнародного комітету з таксономії вірусів. Генوم $\Phi\eta\text{IJB}$ – лінійна дволанцюгова ДНК, розміром 36 969 bp із загальним вмістом GC 47,7 %. Геном $\Phi\eta\text{IJB}$ містить 46 відкриті рамки зчитування (orf), що охоплюють 92,3% усієї довжини геному. 43 з 46 orf орієнтовані в одному напрямку, тоді як orf 12, 13 і 14 розташовані на комплементарному ланцюзі. 89 % початкових кодонів є AUG [2]. У геномі $\Phi\eta\text{IJB}$ не виявлено tРНК. Як і багато фагів молочнокислих бактерій, геном



**МІЖНАРОДНА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ
INTERNATIONAL SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE**

**НАУКА, ОСВІТА, ТЕХНОЛОГІЇ І СУСПІЛЬСТВО:
НОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ**

**SCIENCE, EDUCATION, TECHNOLOGY AND SOCIETY:
NEW RESEARCH AND PERSPECTIVES**

**Збірник тез доповідей
Book of abstracts**

**Частина 2
Part 2**



**20 вересня 2022 р.
September 20, 2022**

**м. Полтава, Україна
Poltava, Ukraine**



UDK 604+612.1./8

Rohova M.

Master student

Department of biotechnology, leather and furs,
National University of Technologies and Design,

Kovalenko V.

Master student

Department of biotechnology, leather and furs,
National University of Technologies and Design,

Shkotova L. V.

PhD, Senior Research

Department of Biomolecular Electronics
Institute of Molecular Biology and Genetics,
National Academy of Sciences of Ukraine;

Voloshyna I. M.

PhD, Associate Professor

Department of biotechnology, leather and furs,
National University of Technologies and Design

MAIN PROPERTIES OF *LACTOBACILLUS FERMENTUM*

Lactobacillus fermentum is Gram-positive facultative anaerobic bacteria of the *Lactobacillaceae* family. Bacteria of this species have high biological and functional activity, which determines their practical use as pharmaceuticals and biologically active food supplements.

Lactobacillus fermentum is used in the industrial food production as an additional culture to enrich the products with probiotic microflora and regulate microbiological processes. In the manufacture of enzymatic cheeses and in industrial baking *L. fermentum* bacteria are used to maintain high organoleptic properties. *L. fermentum* is also used in the making of high-quality silage [1]. Recent studies have shown that *L. fermentum* is able to ferment dietary fiber and release short-chain fatty acids, including propionic, butyric, acetic, and lactic acids, in the intestine. Oral administration of *L. fermentum* can improve glucose metabolism and regulate the generation of innate and adaptive immune cells [1, 2].

L. fermentum has antibacterial effect against many microorganisms, such as *Listeria monocytogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida*, *Salmonella*, etc. The supernatants of *L. fermentum* culture with low pH are known to have higher bacteriostatic ability against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. This information indicates that the inhibitory activity of this strain correlates significantly with the low pH caused by organic acids [2]. The strains of *L. fermentum* are sensitive to antibiotics such as gentamicin, cefazone, penicillin, trimethoprim, sulfamethoxazole, ampicillin, carbenicillin, but they are resistant to tetracycline and erythromycin [1, 3].

L. fermentum binds to dietary cholesterol and helps to break it down. Because of the assimilation to surface cells and incorporation into the cell membranes, it promotes the removal of cholesterol *in vitro*. There is a direct effect of *L. fermentum* on blood vessels: due to the antioxidant effect, it is used as a remedy for atherosclerosis [3, 4].

L. fermentum has been shown to interact with human immune cells and to modulate specific pathways involved in innate and adaptive immunity in various inflammatory diseases [2]. There are the data about its positive effect on the body immune system and metabolism. *L. fermentum* bacteria synthesize amino acids, enzymes, immunoglobulins, stimulate the phagocytic activity of neutrophils, macrophages, interferons, interleukins and tumor necrosis factor on the immune system. *L. fermentum* bacteria are resistant to lysozyme and produce lysozyme, which in combination with lysozyme of the intestinal mucosa contributes to the resistance of the latter to pathogenic microflora [2, 3]. The function of this species is to model the formation of anti-inflammatory cytokine IL-10 and reduction of the level of inflammatory mediators IL-2, -5, -6, as well as tumor necrosis factor TNF- α [4, 5].

enriched with B vitamins, biotin, PP, folic acid, tocopherol, ascorbic acid. This contributes to the use of these lactobacilli for the prevention and treatment of dysbiosis, infectious diseases, peptic ulcer disease associated with the presence of *Helicobacter pylori*, campylobacteriosis, anaerobic vaginosis, stomatitis, enterovirus infections [2].

L. fermentum is actively involved in metabolic and regulatory processes and is used to develop probiotic preparations and food products. The main properties of *L. fermentum* are its pronounced antagonism against pathogenic microorganisms, the ability to suppress the development of bacteria of other species and strains, resistance to a spectrum of antibacterial agents, and direct participation in maintaining homeostasis in humans and animals.

References

1. Voloshyna I.M., Soloshenko K.I., Krasinko V.O., et al. Bacteriocins *Lactobacillus* – an alternative to antimicrobial drugs. *Biopolymers and Cell*. 2021. № 37(2). P. 85-97. [dx.doi.org/10.7124/bc.000A4E](https://doi.org/10.7124/bc.000A4E).
2. Zhaoa Y., Hong K., Zhao J., et al. *Lactobacillus fermentum* and its potential immunomodulatory properties. *J. of Functional Foods*. 2019. № 56, P. 21-32. doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.044.
3. Voloshyna I.M., Shkotova L.V., et al. *Lactobacillus* bacteria: biological and therapeutic properties, *Mikrobiol. Z.* 2019. № 81(6), P. 131-146. doi.org/10.15407/mikrobiolj81.06.131.
4. Zhang L., Ma H., Kulyar M.F., Pan H., Li K., Li A., Mo Q., Wang Y., Dong H., Bao Y., Li J. Complete genome analysis of *Lactobacillus fermentum* YLF016 and its probiotic characteristics. *Microb Pathog.* 2022. № 162, P. 105212. [doi: 10.1016/j.micpath.2021.105212](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105212).
5. Maldonado J., Cañabate F., Sempere L., Vela F., Sánchez A.R., et al. Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012. № 54 (1). P. 55-61. [doi: 10.1097/MPG.0b013e3182333f18](https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182333f18).