

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему

«Біогенний синтез наночасток міді за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* та дослідження їх біологічних властивостей»

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

Виконала: студентка 2 групи МГБТ-22

Лозко С.М.

Науковий керівник: к.б.н., доц. Шидловська О.А.

Рецензент: к.т.н., доц. Волошина І.М.

Київ 2023

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА
«__» _____ 2023 р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Лозко Софії Миколаївні

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Біогенний синтез наночасток міді за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* та дослідження їх біологічних властивостей**

Науковий керівник роботи Шидловська Ольга Андріївна, к.б.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «12» вересня 2023 року №210-уч.

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література щодо властивостей зелених наночасток міді та використання дріжджів для її синтезу, експериментальні дані щодо синтезованих за допомогою *S. cerevisiae* наночасток міді та їх фізико-хімічних та біологічних характеристик; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.

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

4. Дата видачі завдання 12.09.2023 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Огляд літератури		
3	Розділ 2 Матеріали і методи дослідження		
4	Розділ 3 Результати дослідження		
5	Висновки		
6	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)		
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку		
8	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 14 днів до захисту)		
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату та текстових співпадінь (за 10 днів до захисту)		
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)		

З завданням ознайомлений:

Студентка _____ Софія ЛОЗКО

Науковий керівник роботи _____ Ольга ШИДЛОВСЬКА

АНОТАЦІЯ

Лозко С. М. – Біогенний синтез наночасток міді за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* та дослідження їх біологічних властивостей. – Рукопис.

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

Дана кваліфікаційна робота присвячена дослідженню біогенного синтезу наночастинок міді з використанням *Saccharomyces cerevisiae* та їх біологічних властивостей. Вивчення методів отримання наночасток міді набуло особливого значення завдяки швидкому розвитку галузі нанотехнологій та перспективам широкого застосуванню цього металічного елемента в промисловості та медицині. Мідь демонструє унікальні властивості, зокрема антибактеріальну дію, що робить її перспективним наноматеріалом.

У даній роботі пропонується метод біосинтезу наночасток міді за допомогою штамів *Saccharomyces cerevisiae* Y-530 та Y-1995. Оцінка їх біологічних властивостей, зокрема здатності впливати на розвиток на різні бактерії та їх адгезивну здатність вказує на потенційну можливість використання наночасток міді як антибактеріальних агентів. Екологічно чистий підхід біосинтезу наночасток міді з використанням *Saccharomyces cerevisiae* має перспективи для подальшого розвитку, а майбутні дослідження зможуть повністю розкрити потенціал цього інноваційного напрямку.

Ключові слова: нанотехнології, наночастки, мідь, активність, біосинтез, дріжджі, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Lozko S. M. Biogenic synthesis of copper nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* and study of their biological properties. – Manuscript.

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

This qualification work is devoted to the study of the biogenic synthesis of copper nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* and their biological properties. The study of methods for obtaining copper nanoparticles has gained special importance due to the rapid development of nanotechnology field and the prospects for wide application of this metallic element in industry and medicine. Copper exhibits unique properties, in particular antibacterial action, which makes it a promising nanomaterial.

This paper proposes a method of biosynthesis of copper nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* strains Y-530 and Y-1995. Evaluation of their biological properties, in particular, the ability to influence the development of various bacteria and their adhesiveness indicates the potential use of copper nanoparticles as antibacterial agents. The environmentally friendly approach of copper nanoparticles biosynthesis using *Saccharomyces cerevisiae* has prospects for further development, and future research will be able to fully reveal the potential of this innovative direction.

Keywords: nanotechnology, nanoparticles, copper, activity, biosynthesis, yeast, *Saccharomyces cerevisiae*.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Загальна характеристика наночастинок міді та їх властивостей	11
1.2 Аналітичні методики, прийняті для дослідження наночастинок міді.....	13
1.3 Біологічні властивості наночастинок міді	16
1.3.1 Антибактеріальна активність	16
1.3.2 Протигрибкова активність	18
1.3.3 Противірусна активність.....	18
1.3.4 Антиоксидантний ефект.....	19
1.3.5 Антиканцерогенний ефект.....	19
1.3.6 Протидіабетичний ефект.....	21
1.3.7 Антиноцицептивний та ранозагоювальний ефекти	22
1.4 Методи синтезу наночастинок міді.....	23
1.4.1 Фізико-хімічний синтез.....	23
1.4.2. «Зелений синтез» наночастинок.....	24
1.5 Перспективи біосинтезу наночастинок міді з використанням дріжджів <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26
Висновки до розділу 1	28
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	30
2.1 Культивування <i>S. cerevisiae</i> і біосинтез наночастинок міді	30
2.2 Визначення концентрації та розміру наночастинок.....	31
2.4 Визначення розмірів наночастинок.....	32
2.5 Визначення антибактеріальної дії наночастинок міді.....	32
2.6 Визначення антиадгезивної дії наночастинок міді.....	33
2.7 Статистичний аналіз даних.....	33
Висновки до розділу 2	33
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ	35
3.1 Концентрація наночастинок міді.....	35

3.2 Результати УФ-спектроскопічного дослідження	36
3.3 Результати дослідження розмірів наночастинок міді	37
3.3 Результати дослідження антибактеріальної дії	40
3.4 Результати визначення антиадгезивної дії синтезованих наночастинок міді ...	46
Висновки до розділу 3	50
ВИСНОВКИ.....	52
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	54
ДОДАТКИ.....	62

ВСТУП

Актуальність. Нанотехнології – це галузь науки, яка інтенсивно розвивається. Ряд досліджень в галузі нанотехнологій спрямовані на створення нових наноматеріалів, таких як наночастки металів [1, 2]. Застосування наночасток різноманітне і включає, зокрема, виробництво хімічних каталізаторів, ліків, квантових точок, одягу, очисних засобів тощо [3, 4, 5].

Одним із перспективних напрямків для досліджень є розробка технології синтезу наночасток міді, яка є відносно недорогим металом і водночас має широке застосування в промисловості та медицині [6]. Мідь належить до групи необхідних для здоров'я людини хімічних елементів. Мідь є важливим компонентом і каталізатором багатьох ферментів і білків в організмі, а також входить до складу волосся та еластичної тканини, що міститься в шкірі, кістках та інших органах тіла [7]. У зв'язку з цим мідь може впливати на здоров'я людини за допомогою багатьох механізмів. Мідь-вмісні біоматеріали володіють унікальними властивостями для захисту серцево-судинної системи, для сприяння загоєнню ран та переломів кісток і розробки антибактеріальних препаратів [8].

Хоча мідь є одним із найбільш широко використовуваних матеріалів у різних сферах застосування, її синтез у нанорозмірах є складним через високу схильність цього елемента до окислення [9]. Мідні наночастки на сьогодні можуть бути синтезовані як фізико-хімічними методами, так і шляхом біосинтезу. Останній підхід привертає увагу через те, що він є екологічно безпечним. У зв'язку з вищенаведеним практичний інтерес представляє огляд останніх досліджень у напрямках вивчення біологічних властивостей наночасток міді та існуючих підходів для їх біосинтезу.

Мета роботи полягає в дослідженні антибактеріальної та антиадгезивної дії наночасток міді, отриманих за допомогою зеленого синтезу з використанням дріжджів *S. cerevisiae*.

Завдання кваліфікаційної роботи:

- провести зелений синтез наночастинок міді з використанням лізатів і супернатантів дріжджів штамів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530;
- підтвердити наявність наночастинок міді в зразках за допомогою УФ-спектроскопії;
- визначити розміри синтезованих наночастинок методом динамічного розсіювання світла;
- провести дослідження антибактеріальної та антиадгезивної дії синтезованих за допомогою дріжджів наночастинок міді;
- проаналізувати отримані дані та зробити висновки.

Об'єктом роботи є синтезу наночастинок міді за допомогою лізатів і супернатантів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530.

Предмет дослідження – антибактеріальні та антиадгезивні властивості наночастинок міді, синтезованих за допомогою лізатів і супернатантів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530.

Методи дослідження, використані в роботі є загальноприйнятними та вичерпними для виконання даної роботи. Серед використаних методів в роботі: біологічні методи для підготовки біомаси дріжджів та їх надосадів; фізико-хімічні методи для аналізу розміру, форми часток, а також визначення піку поглинання та індексу полідисперсності; мікробіологічні методи для визначення антибактеріальної та антиадгезивної дії синтезованих наночастинок міді.

Наукова новизна роботи полягає у використанні зеленого підходу для синтезу наночастинок міді з антибактеріальною дією. Більше того, в роботі використовується економічний та дешевий спосіб зеленого синтезу наночастинок міді, а саме використання в якості укупорючого агента лізатів та супернатантів дріжджів роду *S. cerevisiae*.

Практичне значення отриманих результатів кваліфікаційної роботи полягає в тому, що синтезовані біогенним способом наночастки міді можуть стати основою для розробки комплексних антибактеріальних препаратів, які характеризуються не

лише ефективною антибактеріальною дією, а й підсилюють дію пробіотичних штамів, таких як *Lactobacillus acidophilus* та *Lactobacillus delbrueckii*.

Апробація кваліфікаційної роботи відбулася на III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 24 березня 2023 року) з доповіддю «Біогенний синтез наночасток міді за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* та дослідження їх біологічних властивостей» (додатки А і Б).

Публікації за темою дипломної роботи:

- тези: Лозко С.М., Шидловська О.А. Біогенний синтез наночасток міді за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* та дослідження їх біологічних властивостей. III Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 24 березня 2023 року). Харків, Національний фармацевтичний університет, кафедра біотехнології, 2023. С. 249-251 (додатки А і Б);

- стаття: Лозко Софія Миколаївна, Шидловська Ольга Андріївна. Біологічні властивості та перспективи біосинтезу наночасток міді. Proceedings of the: VI Correspondence International Scientific and Practical Conference «Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of science». Vinnytsia, Ukraine. Vienna, Austria, 2023. P. 117-129 (додатки В і Д).

Структура роботи: Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел (64 найменування) та додатків. Загальний обсяг магістерської роботи складає 53 сторінки комп'ютерного тексту.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Наночастки міді володіють широким спектром біологічних властивостей, що робить розробку нових методів їх синтезу надзвичайно перспективним та необхідним. В даному розділі буде зроблено огляд основних біологічних властивостей наночастинок срібла та методів їх синтезу.

1.1 Загальна характеристика наночастинок міді та їх властивостей

Ряд досліджень в галузі нанотехнологій спрямовані на створення нових наноматеріалів, таких як наночастки металів [1, 2]. Застосування наночастинок різноманітне і включає, зокрема, виробництво хімічних каталізаторів, ліків, квантових точок, одягу, очисних засобів тощо [3, 4, 5].

Одним із перспективних напрямків для досліджень є розробка технології синтезу наночастинок міді, яка є відносно недорогим металом і водночас має широке застосування в промисловості та медицині [6]. Мідь (Cu) є перехідним металом з чітким червоно-оранжевим кольором і металевим блиском, має атомний номер 29 і атомну масу 63,546. Це відносно більш поширений металевий елемент земної кори (8-й), отже, дешевший у використанні матеріал. Мідь має особливі властивості: високу електропровідність, високу теплопровідність, високу корозійну стійкість, хорошу пластичність і ковкість, а її добра міцність на розрив робить її важливим елементом у функціонуванні суспільства та відіграє кілька важливих ролей у суспільстві протягом тисяч років. Мідь належить до групи необхідних для здоров'я людини хімічних елементів. Мідь є важливим компонентом і каталізатором багатьох ферментів і білків в організмі, а також входить до складу волосся та еластичної тканини, що міститься в шкірі, кістках та інших органах тіла [7]. У зв'язку з цим мідь може впливати на здоров'я людини за допомогою багатьох механізмів. Мідьвмісні біоматеріали володіють унікальними властивостями для захисту серцево-судинної системи, сприяння загоєнню ран та переломів кісток і прояву антибактеріальних ефектів [8].

Завдяки високому відношенню поверхні до об'єму НЧ міді є дуже реактивними; вони можуть легко взаємодіяти з іншими частинками та підвищувати свою антимікробну ефективність.

Хоча мідь є одним із найбільш широко використовуваних матеріалів у різних сферах застосування, її синтез у нанорозмірах є складним через її високу схильність до окислення [10]. На відміну від золота і срібла, мідь надзвичайно чутлива до повітря, а оксидні фази є термодинамічно більш стабільними. Присутність оксидів міді на поверхні НЧ небажана для багатьох галузей промисловості, таких як електроніка, яка розраховує на мідь як на гарну альтернативу іншим дорогим металам. Електропровідність НЧ міді різко знижується, якщо вони змішуються з оксидними фазами [6, 11, 12].

Дисперсія металевих наночастинок має інтенсивні кольори завдяки поглинанню поверхневого плазмонного резонансу. Поверхню таких металів, як мідь, можна розглядати як системи вільних електронів, які називаються плазмою, що містить однакову кількість позитивних іонів (у фіксованому положенні) та електронів провідності (вільних і дуже рухливих). Під впливом електромагнітної хвилі вільні електрони змушені електричним полем когерентно коливатися на плазмовій частоті відносно позитивних іонів. Ці вільні електрони забезпечують негативну реальну діелектричну проникність, яка є важливою властивістю будь-якого плазмонного матеріалу [6].

Кілька методів біосинтезу виявили поглинання поверхневого плазмонного резонансу для НЧ міді, що є унікальною властивістю. Загальні піки поглинання НЧ міді розташовані у діапазоні видимого світла 530-590 нм. Вважалося, що різноманітність піків поглинання є результатом різниці біоактивних молекул, які відповідають за процес відновлення попередників міді. Отже, розмір частинок змінюється залежно від застосованого методу біосинтезу [6, 11, 12].

Однією з провідних і важливих властивостей напівпровідників є їх ширина забороненої зони. Ширина забороненої зони відіграє фундаментальну роль в електричних і оптичних властивостях напівпровідникових матеріалів. Серед різноманітних наночастинок металів НЧ міді є важливим напівпровідником.

Повідомляється, що ширина забороненої зони НЧ міді становить 2,1 еВ (діапазон 1,98 -3,3 еВ). Цей діапазон енергії забороненої зони наночастинок міді пояснюється різноманітністю методів синтезу та розміром частинок як першопричиною. Так, напівпровідникові НЧ демонструють заборонену зону, яка залежить від діаметра частинки: чим менша наночастинка, тим більша заборонена зона [6, 11].

НЧ міді здатні до люмінісценції, що може мати широкий спектр застосувань. Люмінісценція НЧ міді може виникати в різних областях спектру світла: довжини хвилі збудження для НЧ міді були встановлені на 340-360 нм і 480 нм, а спектри випромінювання 515-645 нм і 500-600 нм відповідно.

В останні 20 років НЧ міді використовувалися як альтернативи іншим благородним металам у багатьох сферах застосування, таких як теплопередача та струменевий друк. Мідь в основному є кращою для струменевого друку через її низьку вартість і високу провідність. НЧ міді можна застосовувати як електропровідні чорнила для таких застосувань, як друкована електроніка [6]

НЧ міді мають абсорбційні властивості, зокрема можуть бути ефективним для видалення нітратів та антибіотиків та лікарських засобів із забрудненої води. Оцінені параметри процесу показали, що цей модифікований адсорбент має потенціал для використання в періодичних системах, представляючи себе як екологічно сприятливу альтернативу видаленню забруднень із води [6, 11].

1.2 Аналітичні методики, прийняті для дослідження наночасток міді

Діапазон довжини хвилі, на якій виявляється синтез наночастинок міді, становить 200-800 нм за аналізом методом плазмового резонансу. УФ-видима спектроскопія, скануючи електронна мікроскопія та трансмісивна електронна мікроскопія використовуються для визначення форми, розміру та ширини смуги. Структура кристалічної решітки визначається за допомогою рентгеноструктурний аналізу, а наявність функціональної групи на поверхні наночастинок може бути визначена за допомогою аналізу ІЧ-Фур'є спектроскопії. Це основні методи визначення характеристик для аналізу НЧ міді. Характеристика НЧ показує різні

форми, розміри та зміну біологічної активності наночастинок разом із їх структурою. Розмір частинок наночастинок відіграє важливу роль у багатьох застосуваннях, таких як доставка ліків, і чим менший розмір частинок, тим більша поверхня, на яку можна націлити вивільнення ліків [2].

УФ-видима спектрофотометрія. Цей спектрофотометричний метод широко використовується для кількісного визначення різних прозорих рідин. Відповідно до різних характеристик поглинання аналіту УФ-спектрометр аналізує концентрацію поглинаючих компонентів. Внаслідок різноманітної взаємодії аналіту з оточуючим розчином відносно часу, це може змінити спектри поглинання, що і це спостерігається у випадку аналізу НЧ. Аналітична методика заснована на основному принципі закону Бургера-Ламберта-Бера про поглинання та пропускання світла для визначення концентрації НЧ. Ця методика чутлива до зміни концентрації, розміру та показника заломлення НЧ, оскільки він змінюється через зміну рН та часу взаємодії з розчинником.

Рентгеноструктурний аналіз. Цей метод використовується для визначення структури кристалічної решітки, яка розрізняє молекулу на атомарному рівні за допомогою конструктивної та деструктивної інтерференції, спричиненої атомом у ґратці. Дифрагована картина конструктивної інтерференції кристалічної структури визначається відстанню між площинами атомів d і кутом відбиття, θ , який дає рівняння Брегга:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

Оскільки рентгеноструктурний аналіз дає середнє значення всього об'єму кристала, то видно розширення піку, яке може бути пов'язано з тонкою кристалічною структурою. Тому розмір кристала D можна знайти за допомогою рівняння Дебая-Шеррера:

$$D = K\lambda / \cos\theta$$

Скануюча електронна мікроскопія. Цей метод характеристики НЧ виконує аналіз поверхні, що дозволяє знати морфологію, форму, розмір, хімічний склад і орієнтацію матеріалів. Під час визначення характеристик за допомогою скануючого електронного мікроскопу розчин з НЧ міді перетворюється на форму

сухого порошку, який монтується на тримачі зразка, і тонкий промінь електронів пропускається на зразок, що призводить до вивільнення вторинних електронів/розсіяних електронів, які визначатимуть поверхню зразка. Вивільнення електронів з наноматеріалу змінюється залежно від його поверхні, завдяки чому можна проаналізувати депресію та підйом поверхні, що дозволяє знати морфологію НЧ.

Трансмісивна електронна мікроскопія. Цей метод використовується для аналізу фізичних властивостей, таких як розмір, морфологія та форма НЧ, а також хімічний склад; він забезпечує діапазон просторової роздільної здатності від 1 до 100 нм, що призводить до двовимірних зображень. Роздільна здатність мікроскопії залежить від прискорювальної напруги первинних електронів в діапазоні 100-300 кВ. Цей метод аналізує 2D частинки шляхом оцінки перпендикулярного пучка електронів, але не може оцінити паралельний промінь, але 3-й вимір частинки можна проаналізувати за допомогою трансмісивної електронної мікроскопії з енергетичним фільтром і трансмісійної електронної томографії. Пробопідготовка наноматеріалу для аналізу повинна проводитися точно, для фізико-хімічного аналізу НЧ. При зображенні в світлому полі трансмісивної електронної мікроскопії аналізуються електрони, що пройшли від зразка, тоді як зображення в темному полі відбувається через дифрагований електрон. Для перегляду зображення використовується камера та флуоресцентний екран. Встановлено за допомогою трансмісивної електронної мікроскопії, що сферичні НЧ міді мають середній розмір 15-20 нм

ІЧ-Фур'є спектроскопія. Цей метод спектроскопії дозволяє дослідити функціональні групи, присутні на поверхні наночастинок, шляхом вимірювання частоти коливань зв'язку, присутнього у функціональній групі. Молекули реагують на діапазон інфрачервоного випромінювання 1013-1014 Гц, що дозволяє аналізувати функціональні групи, такі як карбоксилатна група, аміногрупи, фенольні групи тощо. Таким чином, екстракт, який використовується для відновлення НЧ міді, при взаємодії з іонами Си призведе до прикріплення функціональних груп на поверхні НЧ. Це можна виявити за допомогою аналізу ІЧ-

Фур'є спектроскопії. Результати таких досліджень показали роль вільних аміногруп або карбоксилатних груп у відновленні та стабілізації НЧ міді. Ці НЧ володіли цитотоксичною активністю проти пухлинних клітин.

1.3 Біологічні властивості наночасток міді

Наночастки міді мають широке застосування завдяки своїм відновлювальним властивостям, нетоксичності, а також володіють широким спектром біологічних властивостей. Зокрема, наночастки міді можуть діяти як антиоксиданти, мати антиканцерогенний, антибактеріальний, протигрибковий, протидіабетичний, протиноцицептивний та ранозагоюювальний ефекти [13, 14, 15, 16].

1.3.1 Антибактеріальна активність

Наночастки міді, отримані з різних джерел, показують високу активність проти різних патогенів: грампозитивних бактерій (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) та грамнегативних бактерій (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter*). Активність наночасток міді демонструє результати чіткої зони інгібування порівняно з деякими антибіотиками (хлорамфенікол, плантоміцин, стрептоміцин, ампіцилін, цефепіму гідрохлорид моногідрат L-аргінін, офлоксин) [17].

Для досягнення антибактеріального ефекту наночастки міді проникають у середину клітин шляхом взаємодії іонів міді (II) з мембраною бактеріальної клітини [30]. Багато наночасток міді рослинного походження з антибактеріальною дією також мають антиоксидантні властивості. Подібним чином, наночастки міді, що продукуються *C. vitiginea*, мають антиоксидантну активність, яка допомагає обмежити ріст бактерій, які викликають інфекції сечовивідних шляхів [18]. Наночастки міді з екстракту *Allium sativum* і екстракту листя *Allium eriophyllum*, з іншого боку, мають антибактеріальні властивості, які можуть бути наслідком їхніх антиоксидантних властивостей [19, 20].

Наночастки можуть зменшити або зупинити еволюцію стійких бактерій, оскільки наночастки націлені на декілька біомолекул одночасно. Грамнегативні

бактерії мають додаткову зовнішню мембрану вздовж тонкого пептидогліканового шару клітинної стінки, тоді як грампозитивні бактерії представляють лише більш товстий пептидоглікановий шар клітинної стінки. Грампозитивні бактерії мають вищу стійкість до механізму дії наночасток, що можливо пов'язано з відмінностями в будові клітинних стінок, які впливають на стійкість бактерій. Грампозитивні бактерії мають клітинну стінку, яка діє як захисний шар, що робить взаємодію між наночастками та клітинами цих бактерій незначною. Додатковий зовнішній шар грамнегативних бактерій покритий ліпополісахаридом, який має негативний заряд. Іони, які вивільнюються наночастками, мають позитивний заряд, надаючи їм високу спорідненість з негативними молекулами, присутніми в клітинній стінці. Ця взаємодія призводить до накопичення та поглинання іонів, що призводить до внутрішньоклітинного пошкодження. Дослідження *Salmonella typhimurium*, грамнегативної бактерії, показали, що клітинна стінка бактерії заповнена мозаїкою аніонних поверхонь [21]. Це сприяє формуванню ділянок з високою концентрацією наночасток, які зв'язуються з клітинною стінкою, що призводить до підвищення токсичності наночасток.

Крім взаємодії наночасток міді з клітинами бактерій, іони міді можуть взаємодіяти з ДНК, інтеркалювати з ланцюгами нуклеїнових кислот і порушувати біохімічні процеси їх перетворень. Іони міді також можуть утворювати гідроксильні радикали, які пошкоджують клітинні білки. Варто зазначити, що бактерії, які звикли до впливу важких металів, виявляють більш високу стійкість до металевих наночасток.

Таким чином, антибактеріальна дія наночасток міді проявляється як проти грампозитивних, так і проти грамнегативних бактерій. Проте, вища антибактеріальна дія проявляється проти грамнегативних бактерій, що зумовлено взаємодією наночасток міді з ліпополісахаридним шаром. Також, механізм реалізації антибактеріальної дії наночасток міді пов'язаний із впливом на ДНК та продукцією вільних радикалів, що викликають окисний стрес в клітинах бактерій.

1.3.2 Протигрибкова активність

Протягом багатьох років мідь використовувалася як матеріал у процесі виробництва пестицидів, фунгіцидів і добрив. Враховуючи останні технологічні розробки, наночастки міді можна використовувати як ефективний фунгіцид. Дослідження показали, що наночастки міді можна застосовувати як фунгіцид проти широкого спектру збудників рослинних захворювань, таких як *Fusarium sp.*, *Phoma destructiva*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternate*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum* і *Rhizoctonia solani*.

Наприклад, наночастки міді, синтезовані методом, що передбачає хімічне відновлення іонів міді аскорбіновою кислотою, виявляють протигрибкову активність проти *F. solani*, *Neofusicoccum sp.* і *F. oxysporum*. Протигрибкова активність включає пошкодження клітинних мембран гриба та внутрішньоклітинну продукцію активних форм кисню. Отже, цей спосіб проведення синтезу дозволяє отримати наночастки міді з високою протигрибковою активністю. Таким чином, наночастки міді можуть бути використані для контролю та знешкодження грибів, що загрожують сільськогосподарським та лісовим видам рослин.

Для досягнення протигрибкового ефекту наночастки міді проникають у середину клітин шляхом взаємодії іонів міді (II) з мембраною грибової клітини. Викликане пошкодження клітинної стінки та накопичення активних форм кисню у *Aspergillus flavus* під дією наночасток міді демонструє протигрибкову активність. Крім того, наночастки міді, виготовлені з екстракту *Allium sativum*, мають антиоксидантну дію, що може сприяти їх протигрибковим властивостям [22].

Можна зробити висновок, що незалежно від методу отримання наночасток міді, їх антифунгальна активність пов'язана з розвитком стану оксидативного стресу в клітинах та пошкодження їх мембран.

1.3.3 Противірусна активність

Кілька досліджень вказують на багатообіцяючу противірусну активність наночасток міді [23]. Так, було вивчено противірусний потенціал частинок йодиду

міді із середнім розміром 160 нм проти вірусу свинячого грипу (пандемія H1N1 у 2009 році). Повідомляється про дозозалежну активність титру вірусу, а також, що 50% ефективна концентрація становить приблизно 17 г/мл протягом 60-хвилинного часу впливу [24]. Подальший аналіз показав, що вірус неактивний через те, що вірусні білки – гемаглютинін і нейрамінідаза – розщеплюються частинками йодиду міді. Наночастки міді, таким чином, можна використовувати для захисту від деяких вірусів і навіть для виробництва масок для обличчя, кухонних ганчірок або захисних фільтрів.

Звичайно, що дослідження антивірусного потенціалу наночасток міді може бути значно доповнене та розширене, оскільки механізм їх антивірусної дії розкритий лише на моделі вірусу грипу. Можливо, з використанням інших моделей вдасться розкрити інші можливі механізми антивірусної дії наночасток міді.

1.3.4 Антиоксидантний ефект

Антиоксидантна дія наночасток міді полягає у здатності біологічної сполуки пригнічувати реакцію окислення ліпідів і підтримувати функцію і структуру клітин шляхом руйнування вільних радикалів. Наночастки міді, отримані з різних рослинних екстрактів, показали високу активність знешкодження вільних радикалів. Наночастки міді, отримані з екстракту листя *Abutilon indicum*, *Clerodendrum infortunatum* і *Clerodendrum inerme*, показали кращу антиоксидантну активність [25].

Антиоксидантні властивості наночасток міді мають перспективи для використання в протипухлинній терапії, лікуванні ранових поверхонь та ранозагоєнні.

1.3.5 Антикancerогенний ефект

Індукція апоптозу та інгібування проліферації пухлинних клітин є підходами, які застосовуються в лікуванні раку. Протиракові засоби виявляють високу токсичність для пухлинної клітини, а також для нормальних клітин організму, де розвинувся рак. Колоїдні наночастки міді, отримані з різних джерел, виявляють

протиракову активність при раку грудей, шийки матки, товстої кишки, епітелію, печінки, легенів і шкіри [26].

Встановлено, що наночастки міді є токсичними для клітинної лінії карциноми легенів людини (A549), гепатоми печінки людини (HepG2), яєчників китайського хом'яка (CHO), остеосаркоми людини (Saos) і клітин ембріональних фібробластів миші (3T3L1). дозозалежним чином [27]. Показано, що наночастки міді блоковані нетоксичним водним екстрактом латексу можна безпосередньо використовувати для введення/доставки *in vivo* наночасток для терапії раку.

Було вивчено [28] цитотоксичний ефект наночасток міді на клітинній лінії раку молочної залози MCF-7 і виявлено, що зразок із концентрацією наночасток міді 10 мкг/мл не був достатньо активним. Але, значне зменшення кількості ракових клітин та життєздатність у 20% спостерігалися при концентрації 200 мкг/мл. IC₅₀ становила 250 мкг/мл наночасток міді. В іншому дослідженні [29], повідомляється про відмінну життєздатність проти клітин HeLa, A549 і ВНК21 навіть при концентрації наночасток міді 120 мкМ.

Протипухлинні дослідження продемонстрували *in vitro* цитотоксичність наночасток міді проти тестованих клітин раку товстої кишки людини Caco-2, клітин раку печінки людини HepG2 і клітин раку молочної залози людини MCF-7 [30].

Що стосується раку товстої кишки людини Caco2, раку печінки HepG2 і раку молочної залози MCF-7, дослідження показало, що IC₅₀ для наночасток міді становила відповідно 11,21 мкг/мл, 19,88 мкг/мл і 12,21 мкг/мл. Надані результати дають багатообіцяючі прогнози використання наночасток міді як протипухлинних засобів для деяких видів раку людини в найближчому майбутньому [31].

Також, показано, що наночастки міді мають цитотоксичну дію на меланому шкіри людини A-375, рак легенів людини A-549 та гліобластому щурів C6-G. Було встановлено, що доза IC₅₀ проти клітин A-375, A-549 і C6-G становить 1,71 мкг/мл, 1,81 мкг/мл і 1,88 мкг/мл відповідно [32].

Було виявлено, що наночастки альбуміну міді мають високу токсичність проти клітин раку молочної залози людини MDA-MB 231 порівняно з нормальними

клітинами (MCF-10A) та індукцією апоптозу як механізмом загибелі клітин. Такі результати показали, що ці наночастки є хорошим кандидатом для використання в якості хіміотерапевтичного засобу проти інвазивних клітин раку молочної залози [33].

В іншому дослідженні цитотоксичність наночасток проти клітинних ліній HepG2 оцінювалася при 1, 10, 100, 250 і 500 мкг/мл. Було виявлено, що наночастки міді демонструють значення клітинної токсичності 3,0%, 15,5%, 28,5%, 44,5% і 54,5% для того самого порядку концентрації 1, 10, 100, 250 і 500 мкг/мл відповідно [34].

Більшість рослинних екстрактів з наночастками міді індукують апоптоз шляхом утворення активних форм кисню і оксиду азоту. Поглинання синтезованих наночасток міді регулює рівень оксиду азоту в різних лініях ракових клітин. Деякі з екстрактів викликають зупинку клітинного циклу G₂/M і посилення експресії p53, а також інгібують гістондеацетилазу, яка видаляє ацетильну групу на гістонах, утворюючи нетранскрипційну компактну структуру хроматину. Експресія Bax/Bax, Bcl-2, каспази-9 і каспази-7 регулюється при лікуванні наночастками міді. Деякі з екстрактів можуть знижувати рівень різних ферментів і збільшувати експресію генів, що пригнічують пухлину [25].

Таким чином, наночастки міді, синтезовані різними способами, проявили антипухлинну дію проти клітинних ліній раку печінки, легень, яєчників, молочної залози, товстої кишки, шкіри. Такий широкий спектр прояву протипухлинної дії вказує на надзвичайну перспективність наночасток міді в потенційному лікуванні раку, оскільки володіє універсальним для різних типів пухлин механізмом цитотоксичної дії.

1.3.6 Протидіабетичний ефект

α -амілаза та α -глюкозидаза є найбільш чутливими мішенями для профілактики та лікування цукрового діабету 2 типу. Двома найважливішими методами контролю діабету є інгібування α -амілази та α -глюкозидази, а також поглинання вільних радикалів. Наночастки міді, отримані з екстракту листа *Gnidia*

glauca та *Plumbago zeylanica* при аналізі інгібування панкреатичної амілази свиней, показали найбільш багатообіцяюче інгібування, ніж стандартна акарбоза. В іншому дослідженні було проведено аналіз кругового дихроїзму, який виявив природу взаємодії наночасток міді з α -амілазою та α -глюкозидазою свинячої підшлункової залози [35]. Таким чином, наночастки міді як ефективні інгібітори α -амілази та α -глюкозидази можуть бути застосовані в терапії діabetу.

1.3.7 Антиноцицептивний та ранозагоювальний ефекти

Біль являє собою сенсорну та захисну систему, яка попереджає живий організм про небезпеку в навколишньому середовищі та дозволяє йому відповідним чином реагувати. Антиноцицептивний ефект синтезованих наночасток міді з екстракту фруктів *Capparis spinosa* досягається в комбінації з морфіном. Наночасток міді у концентраціях 25, 50 та 75 мг/кг мають потужну антиноцицептивну дозозалежну дію [36].

Шкіра захищає від фізичних пошкоджень, втрати води та шкідливого хімічного вторгнення, а у разі її пошкодження важливим є процес загоєння ран. Було виявлено ранозагоювальну властивість наночасток міді зі значним збільшенням концентрації фіброцитів, що зрештою утворює колаген для відновлення та скорочення рани у дослідженнях *in vivo* на модельних мишах. Загоєння шкірних ран також досліджували *in vivo* шляхом синтезу наночасток міді за допомогою екстрактів *Allium saralicum*, *Allium eriophyllum* і *Falcaria vulgaris* [37], що продемонстрували помітну активність у загоєванні ран на шкірі. Мазь з наночастками міді, отримана з вищевказаних екстрактів, здатна збільшувати концентрацію гідроксипроліну, гексозаміну, гексуранової кислоти, а також рівень фіброцитів.

Важливо зазначити, що на ряду з ефективною антибактеріальною дією, ефективний антиноцицептивний та ранозагоювальний ефект можуть стати основою розробки альтернативного препарату для лікування ран.

1.4 Методи синтезу наночасток міді

Виробництво металевих наночасток повинно здійснюватися за допомогою відповідного методу для отримання певного розміру наночасток для досягнення їх стабілізації. Наночастки міді на сьогодні можуть бути синтезовані за допомогою фізико-хімічних та біологічних (зелений синтез) методів.

1.4.1 Фізико-хімічний синтез

Оскільки мідні наноматеріали є затребуваними через їх доступність і низьку вартість порівняно з золотом і сріблом, то для досягнення обсягів великомасштабного виробництва наночасток міді використовуються різні фізичні (механічне подрібнення, лазерна абляція, напилення) та хімічні методи [38].

Серед методів фізико-хімічного синтезу виділяють дві групи методів: методи «зверху вниз» (“top-down”) та методи «знизу догори» (“bottom-up”) [35, 39].

У методах «зверху вниз» для синтезу наночасток основним матеріалом є об’ємний матеріал, який катаболізується для зменшення розміру частинок. Хоча ці методи прості у виконанні, але непридатні для отримання однорідних за розміром частинок, і через це можуть впливати на їх хімічні властивості [40]. Механо-хімічний метод синтезу наночасток вимагає використання попередника міді, тобто солей для розведення та вихідного матеріалу, які подрібнюють у кульовому млині при температурі навколишнього середовища, в результаті чого утворюються наночастки оксиду міді (II), укладені в сольову матрицю, які далі промиваються дистильованою водою в ультразвуковій ванні [41]. Встановлено, що якщо металеве залізо як відновник із прекурсорами халькоциту (Cu_2S) і ковеліту (CuS) подрібнювати в різний час, то це призведе до отримання наночасток міді з приблизним розміром 16 нм [42]. Відомо, що такий метод, як лазерна абляція міді за допомогою високопотужного імпульсного лазера з енергією 20 мДж, довжиною хвилі 532 нм, шириною імпульсу 4 нс також демонструє ефективний синтез наночасток оксиду міді [43].

Підхід «знизу вгору» для синтезу наночасток досягається шляхом збирання атомів, молекул або малих частинок. Цей підхід є більш сприятливим, оскільки він

пропонує більшу можливість контролювати розмір, форму та морфологію отриманих наночасток [44]. Хімічне відновлення іонів міді борогідридом натрію та стабілізація за допомогою полівінілпіролідону з використанням хлориду міді як попередника дає змогу отримати наночастки міді розміром 7 нм [45]. Наночастки міді розміром від 38 до 50 нм можуть бути отримані методом сольвотермічного відновлення з гліцерином (відновник) і різними поверхнево-активними речовинами для стабілізації частинок [46]. Іншим методом є піроліз із розпиленням полум'я, що перетворює аерозоль на пару для отримання дрібних і чистих наночасток оксиду міді (CuO), розмір яких можна регулювати температурою полум'я, часом перебування та концентрацією рідкого прекурсора [47, 48].

Загалом, фізичний метод синтезу має недоліки в трудоемності процесу та неможливості отримати наночастки однакового та передбачуваного розміру. Хімічний метод, в даному випадку, є більш привабливим, оскільки дозволяє регулювати кінцевий розмір наночасток міді. проте потребує використання складних та токсичних стабілізаторів, а також електроенергії. Саме тому, необхідно розглянути альтернативну можливість синтезу наночасток міді, що є біобезпечною та економічно-вигідною.

1.4.2. «Зелений синтез» наночасток

Альтернативним методом синтезу наночасток є «зелений синтез» – це впровадження, розробка, проектування хімічних продуктів і процесів з використанням біосистем та мінімізацією утворення супутніх небезпечних для навколишнього середовища речовин. Зелений синтез має кілька переваг порівняно з іншими методами, такі як економічна ефективність, простота, використання менш токсичних матеріалів. Цей метод не вимагає високої енергії, тиску, температури або токсичних хімічних речовин. Методи зеленого синтезу використовують для отримання різних металевих наночасток через зростаючу потребу в їх біологічних властивостях.

Виробництво наночасток міді за допомогою «зеленого синтезу» має ряд переваг. Так, використання рослин для біосинтезу має переваги через на те, що

рослини легкодоступні, безпечні в роботі та мають широку варіабельність метаболітів. За допомогою ІЧ-спектроскопічних досліджень було визначено, що до основних фітохімічних речовин, які відповідають за синтез наночасток міді у рослинах, належать терпеноїди та водорозчинні речовини, такі як хінони, флавоноїди та органічні кислоти (процеси відновлення). Повторна таутомеризація відбувається в антрахінонових сполуках, що призводить до утворення наночасток. Стабільність зелених синтезованих наночасток підвищується і, таким чином, збільшується швидкість реакції утворення наночасток шляхом запобігання утворенню агломератів [49, 50]. Частини рослин, такі як лист, плід, квітка, кора, корінь і стебло, а також солі попередників міді, такі як ацетат міді, нітрат міді, сульфат міді та хлорид міді можуть використовуватися для синтезу. Синтез, опосередкований екстрактами з частин рослин починається зі змішування природних екстрактів з розчином солі міді; при біохімічному відновленні солі спостерігається зміна кольору розчину, що свідчить про синтез наночасток [47]. Зміна кольору є самими першим та простим методом підтвердження наявності в розчині наночасток міді.

Для отримання наночасток міді шляхом «зеленого синтезу» ефективніше використовувати рослинні екстракти, ніж мікроорганізми через підвищену складність збереження клітинних культур. Крім того, це зменшує складний процес підтримки клітинних культур, а також підходить для розробки широкомасштабного синтезу наночасток. В той же час, синтез наночасток міді за допомогою мікроорганізмів може мати свої переваги, оскільки на процес синтезу можна впливати змінюючи умови культивування [47].

Мікробіологічний синтез наночасток – галузь нанобіотехнології, що розвивається, та яка включає певні механізми, за допомогою яких мікроорганізми розвиваються разом із металами, що може призвести до синтезу наночасток як побічного продукту метаболізму. Оскільки ці мікроорганізми мають тенденцію виробляти ферменти, які відновлюють метали, то це і забезпечує утворення наночасток [46].

Для біологічного синтезу наночасток міді використовують різні зелені водорості, бактерії, віруси та гриби. Мікроорганізми є хорошим джерелом для

виробництва наночасток міді через їх метаболізм і легкість росту в лабораторних умовах. Пізніше були розроблені технології з використанням грибів, тому що вони легше піддаються культивуванню в лабораторних умовах порівняно з деякими штамми мікроорганізм [51]. За допомогою мікробіологічних методів синтезують наночастки з меншою технологічною швидкістю, ніж при використанні рослин, проте мікробіологічний синтез належить до висококонтрольованих процесів, які можна точно і легко регулювати.

1.5 Перспективи біосинтезу наночасток міді з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*

Оскільки культивування дріжджів легко контролювати в лабораторних умовах, вони мають швидкий ріст і використовують для росту прості поживні речовини, то біосинтез на основі дріжджів має ряд переваг у масовому виробництві металевих наночасток.

Найпоширеніший принцип виробництва наночасток дріжджами можна пояснити наявністю зв'язаних з мембраною (цитозольних) оксидоредуктаз і хінонів. Дріжджі є чутливими до рН, оскільки оксидоредуктази можуть працювати альтернативним чином залежно від значення рН. Підвищений рН у внутрішньому середовищі дріжджів може спричинити активацію редуктаз із зменшенням кількості іонів металу з одночасним утворенням наночасток. Крім того, генерація стресової відповіді на присутність металів у поживному середовищі може ініціалізувати метаболічний каскад реакцій, що призводить до виробництва фітохелатинсинтази та глутатіону, які відповідають за усунення внутрішнього стресу. Обидві сполуки демонструють унікальні окисно-відновні та нуклеофільні властивості, що призводять до біовідновлення іонів металів, які використовуються для утворення наночасток, завдяки своїй здатності зв'язувати іони міді, кадмію, цинку, срібла, селену, золота, нікелю та інших металів [52]. З цих механізмів випливає, що основною метою біосинтезу наночасток є усунення токсичності наночасток через клітинні механізми та забезпечення у таких випадках утворення біоплівки на поверхні наночасток. В той же час, на даний момент відсутні

підтвердження того, що дріжджі використовують для свого метаболізму біосинтетичні наночастки [53, 54].

Завдяки масовому виробництву наночасток, а також легкості контролю над дріжджами в лабораторних умовах, синтезу численних ферментів і швидкому росту з використанням простих поживних речовин, дріжджі мають більше переваг порівняно з бактеріями. Різні дріжджі використовувались для біосинтезу наночасток металів. Наприклад, дріжджові штами *Candida glabrata* та *Saccharomyces pombe* були описані для виробництва внутрішньоклітинних синтезованих наночасток сульфідів кадмію, срібла, селену, титану та золота [50]. Крім того, позаклітинний синтез було досліджено у випадку наночасток срібла та сульфідів кадмію [51, 55].

Що стосується, біосинтезу наночасток міді з використанням дріжджів *S. cerevisiae*, то ця тема є перспективною з огляду на успіхи в отриманні наночасток інших металів. В той же час, використання *S. cerevisiae* для синтезу наночасток міді є ще відносно малодослідженим. Одне із досліджень присвячене оцінці біосинтезу наночасток міді з використанням промислової біомаси дріжджів *S. cerevisiae* Perlage® ВВ [56]. Як джерело іонів міді використовувався сульфат міді (CuSO_4) виробництва Vetec. Штам дріжджів *S. cerevisiae* Perlage® ВВ був виділений на території Шампані та має чудову сукупну ферментативну здатність з низькими потребами в живленні, бродильною активністю та криофільністю. Дослідження біосинтезу проводили з регідратованою біомасою відповідно до пропорції 1 грам біомаси на кожні 10 мілілітрів дистильованої води при максимальній температурі 28 °С, як рекомендовано виробником [10]. Біомасу двічі промивали дистильованим розчином води, потім центрифугували, супернатант відкидали. Щоб отримати наночастки, від 5 до 25 мг біомаси витримували два мілілітри 0,001 молярного розчину міді протягом 24 годин при постійному перемішуванні при температурі 30°C. Аналіз наночасток проводили за допомогою техніки трансмісійної електронної мікроскопії разом із детектором енергетичної дисперсійної рентгенівської спектроскопії, УФ-видимої спектроскопії та динамічного розсіювання світла. Аналіз проводили в супернатанті біомаси після впливу розчину

міді. За результатом дослідження було показано, що промислова біомаса дріжджів *S. cerevisiae* Perlage® ВВ має здатність біосинтезувати наночасток міді з більш ніж 70% розподілом середнього розміру в діапазоні 10-12 нанометрів [53].

Таким чином, дослідження біосинтезу наночасток міді з використанням *S. cerevisiae* проводились у поодиноких випадках. В той же час, відомі випадки використання дріжджових організмів для біосинтезу наночасток інших металів. Тому на сьогоднішній день сформована база наукових даних щодо можливості культивування *S. cerevisiae* та індукції синтезу наночасток. В той же час, конкретні аспекти біосинтезу, визначення потенціалу *S. cerevisiae* до утворення наночасток міді та їх біологічні властивості ще мають бути досліджені.

Висновки до розділу 1

У розділі надається характеристика металевих НЧ як перспективних наноматеріалів з унікальними фізико-хімічними властивостями. Основна увага була зосереджена на низькочастотній міді, яка є одним із найбільш широко використовуваних металів у різних галузях промисловості.

НЧ міді демонструють широкий спектр біологічної активності, включаючи антибактеріальну, противірусну, протигрибкову, антиканцерогенну, антидіабетичну, антиоксидантну, ранозагоювальну, біоремедіаційну та інші ефекти. Отже, застосування мідних наночастинок охоплює різні сфери, і зокрема, медичну.

Синтез НЧ міді можна здійснити як фізико-хімічними методами, так і шляхом біологічного синтезу. Останній включає використання рослин і мікроорганізмів як продуцентів НЧ міді. Зелений синтез вирішує проблеми навколишнього середовища, хоча розробка відповідних технологій для великомасштабного виробництва НЧ залишається в стадії розробки.

Різноманітні біологічні властивості наночасток міді, такі як їх антибактеріальний, протигрибковий, противірусний, антиоксидантний, антиканцерогенний, антидіабетичний, антиноцицептивний і ранозагоювальний ефекти, підкреслюють їхній потенціал для використання в медичному лікуванні,

промислових процесах і споживчих товарах. Широкий спектр дії наночасток міді є багатообіцяючим шляхом для вирішення численних проблем, пов'язаних зі здоров'ям людини.

Синтез наночасток міді з використанням методів «зеленого синтезу» прокладає шлях для екологічно стійких методів. Використання рослинних екстрактів і мікроорганізмів, таких як дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, для біосинтезу забезпечує альтернативу фізико-хімічним методам синтезу, яка є водночас екологічною та масштабованою, зберігаючи потенціал для широкого виробництва при мінімізації впливу на навколишнє середовище.

Біосинтез НЧ міді за допомогою *S. cerevisiae* є відносно маловивченим, але багатообіцяючим напрямком. На даний момент створено фундаментальну наукову базу даних щодо культивування *S. cerevisiae* та індукції синтезу наночастинок. Тим не менш, деякі аспекти біосинтезу, визначення потенціалу *S. cerevisiae* синтезувати НЧ міді, а також їхні біологічні властивості все ще потребують подальших досліджень.

Висновки, представлені в цьому розділі, підкреслюють важливість продовження досліджень і розробок у галузі синтезу та застосування наночасток міді. Майбутні дослідження мають бути зосереджені на оптимізації методів синтезу, розумінні основних механізмів утворення наночасток і з'ясуванні повного спектру біологічних взаємодій і ефектів. Використання міждисциплінарного підходу у подальших дослідженнях має посприяти реалізації повного спектру біологічних властивостей наночасток міді та забезпечити істотні переваги від їх використання.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У якості біологічного агента для синтезу наночасток міді було обрано два штами *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995 та Y-530. Культури штамів були одержані із Української колекції мікроорганізмів. Також, використовували штами бактерій *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*. Джерелом для синтезу наночасток міді виступила сіль CuSO_4 . В роботі проведено: синтез наночасток міді, дослідження їх піків поглинання та розмірів, антибактеріальні та антиадгезивні властивості. В роботі використали методи, які перераховані та описані нижче. До них належить УФ-спектроскопія, метод динамічного розсіювання світла, методи дослідження антибактеріальної та антиадгезивної дії.

2.1 Культивування *S. cerevisiae* і біосинтез наночасток міді

Наночастки (НЧ) міді синтезували з використанням методу зеленого синтезу, заснованому на використанні культур *S. cerevisiae* Y-1995 та Y-530. Цей підхід заснований на метаболічних процесах, які відбуваються при культивуванні клітин у присутності солей міді, що дозволяє природно стабілізувати наночастинки у водних розчинах.

Штами *S. cerevisiae* культивували за однакових умов. У якості культурального середовища використовували бульйон Сабуро. Компонентний склад поживного середовища зазначений у табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Склад поживного середовища Сабуро

Компоненти	Вміст, г/л
Глюкоза	40
Пептон ферментативний	9
Дріжджовий екстракт	1

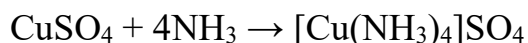
До флаконів з 200 мл бульйону Сабуро вносили по 10 мл зразку відповідного штаму дріжджів, попередньо вирощеного на бульйоні Сабуро при 28°C протягом 5 діб. Флакони поміщали на інкубацію в шейкерний термостат при температурі 28°C протягом 5 днів. Після інкубації, отриману культуральну рідину центрифугували та відділяли біомасу і супернатант.

Наступним етапом було проведення біосинтезу наночасток міді. Для цього, до супернатантів дріжджів *S. cerevisiae* 530 та *S. cerevisiae* 1995 вносили та розчиняли суху сіль сульфату міді для досягнення кінцевої концентрації 100 мМ. Біомасу дріжджів вносили у 100 мМ розчини солі сульфату міді на бідистильовані воді, таким чином отримуючи лізати. Синтез НЧ міді проводили у колбах протягом 5 діб на роторному змішувачі при 28°C і частоті обертання 160 об/хв.

Після інкубації досліджувані зразки відділяли і очищували. Для цього проводили центрифугування при 3000 об/хв протягом 20 хвилин. Після цього проводили стерилізацію отриманих розчинів через бактеріальний фільтр 0,22 мкм. Таким чином, нами було отримано чотири зразки наночасток, отриманих з лізатів та супернатантів двох штамів дріжджів.

2.2 Визначення концентрації наночасток

Для визначення концентрації НЧ проводили реакцію із амоній гідроксидом (утворюється синьо-фіолетове забарвлення):



Аналіз проводили в 96-лункові платі. У лунки вносили по 50 мкл одного із досліджуваних розчинів НЧ міді і 50 мкл NH_3 . Паралельно вносили сіль CuSO_4 у відомих концентраціях для побудови калібрувальної кривої. Для визначення оптичної густини зразків використовували планшетний рідер. Визначення оптичних густин проводили при довжині хвилі 570 нм. За отриманими результатами будували калібрувальну криву, розраховували рівняння залежності оптичної густини від концентрації та проводили розрахунок концентрації іонів міді в дослідних зразках.

2.3 Спектрофотометричне дослідження наночастинок міді

Для підтвердження наявності наночастинок міді в дослідних зразках проводили УФ-спектроскопію зразків для визначення піку поглинання. Пік поглинання наночастинок міді складає приблизно 290-340 нм [57] або 560-570 нм [58]. Дослідження спектроскопії та визначення піків проводили в діапазоні хвиль 280-600 нм з кроком в 10-20 нм.

2.4 Визначення розмірів наночастинок

Розмір НЧ визначався за допомогою BeNano Nanosizer – аналізатору розміру наночастинок нового покоління, що використовує технологію динамічного розсіювання світла (DLS) для виявлення флуктуацій інтенсивності розсіювання, викликаних броунівським рухом частинок. У диспергенті дрібніші частинки рухаються швидше, а більші — повільніше. Лавинний фотодіодний детектор (APD), розташований під кутом 90°, збирає інформацію про інтенсивність розсіювання частинок та реєструє їх за часом. Залежна від часу флуктуація перетворюється на кореляційну функцію за допомогою корелятора. Таким чином, застосовуючи математичний алгоритм, одержують коефіцієнт дифузії D . Після цього приладом визначається гідродинамічний діаметр НЧ та його розподіл, індекс полідисперсності (Pdl), та гармонічно інтенсивно усереднений діаметр частинок (Z-ave).

2.5 Визначення антибактеріальної дії наночастинок міді

Антибактеріальну активність синтезованих наночастинок срібла аналізували для чотирьох штамів бактерій, серед яких *B. subtilis*, *E. coli*, *L. acidophilus* та *L. delbruecki*. Для цього супернатанти та дріжджові лізати від штамів *S. cerevisiae* Y-1995 та Y-530 (50 мкл) вносили в 96-лунковий планшет з подальшим додаванням 100 мкл культур бактерій у рідкому середовищі. Контрольні лунки містили 50 мкл фізіологічного розчину. Інкубацію проводили в термостаті при +37°C протягом однієї доби. Після інкубації проводили фарбування за допомогою резазурину (натрієва сіль) і вимірювали оптичну густину методом спектроскопії при довжинах

хвилі 630 нм та 570 нм. Далі обчислювали кількість живих клітин в дослідних зразках відносно контролю (замість досліджуваних розчинів наночастинок вносили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину).

2.6 Визначення антиадгезивної дії наночастинок міді

Для визначення впливу НЧ на адгезивні властивості бактерій після виконання попереднього пункту (визначення антибактеріальної дії наночастинок міді) з лунок збирали реакційну суміш. Лунки промила водопровідною водою від залишків реакційної сумішшю. До лунок вносили по 100 мкл 30%-го розчину кристалічного фіолетового для фіксації та зафарбовування адгезованих клітин. Після 10-хвилинної інкубації планшети промивали водопровідною водою. Для екстракції фарби використовували 70%-й розчин етанолу, який вносили по 100 мкл в кожен лунку. Після повної екстракції фарбника (5-10 хв) проводили вимірювання оптичної густини зразків при довжині хвилі 570 нм. Значення відсотку адгезованих клітин визначали відповідно до контрольних зразків, куди замість наночастинок міді вносили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

2.7 Статистичний аналіз даних

Для представлення усереднених значень використовували медіану та інтерквартильний розкид. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакету Microsoft Office Excel та STATISTICA. Вміст живих клітин порівнювали з контролем, при цьому значення представлялися як відсоток живих клітин відносно контролю. В роботі оцінювали достовірність отриманих даних за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона. Достовірними вважалися результати за умови виконання умови $p < 0,05$.

Висновки до розділу 2

У якості біологічного агента для синтезу НЧ міді було використано штами *Saccharomyces cerevisiae* Y-533 та Y-1995. Було детально описано методологію культивування *S. cerevisiae* та біосинтезу НЧ, що демонструє екологічно чистий

підхід отримання НЧ. Цей процес передбачає культивування дріжджів у присутності солей міді, що призводить до природної стабілізації НЧ міді у розчині.

В роботі використовували сучасні та доступні методи аналізу фізико-хімічних характеристик синтезованих наночастинок міді. Для підтвердження наявності наночастинок в зразках використовували УФ-спектроскопію. Також, визначали кількість іонів міді в зразках для розуміння повноти реакції. Визначення розміру синтезованих НЧ міді проводили з використанням методу динамічного розсіювання світла. Дослідження антибактеріального та антиадгезивного впливу НЧ міді проводили з використанням чотирьох штамів бактерій *B. subtilis*, *E. coli*, *L. acidophilus* та *L. delbrueckii*. Визначення антибактеріальної дії проводили з використанням тесту з резазуринатом натрію, а визначення антиадгезивної дії проводили з використанням методу з кристалічним фіолетовим.

Всі отримані дані були представлені у вигляді медіан з інтерквартильним розкидом та статистично перевірені із застосуванням непараметричного критерію Вілкоксона. Точність аналізу встановлений на рівні $p < 0.05$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

У ході дослідження було розглянуто властивості НЧ міді, які в залежності від способу отримання та штаму дріжджів можна поділити на чотири групи:

- супернатант штаму *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995;
- супернатант штаму *Saccharomyces cerevisiae* Y-530;
- лізат штаму *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995;
- лізат штаму *Saccharomyces cerevisiae* Y-530.

Кожний вид наночасток досліджувався окремо, а їх біологічні властивості порівнювались.

3.1 Концентрація наночасток міді

В роботі за допомогою якісно-кількісного аналізу з використанням амонію гідроксиду було визначено концентрацію іонів міді в зразках. Результати представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Концентрація іонів міді в досліджуваних зразках

Назва зразку	Медіана концентрації іонів міді, мМ	Інтерквартильний розкид значення концентрації іонів міді, мМ
<i>S. cerevisiae</i> Y-1995 супернатант	94,9	93,9-96,3
<i>S. cerevisiae</i> Y-1995 лізат	86,8	83,8-89,4
<i>S. cerevisiae</i> Y-530 супернатант	98,2	97,7-98,7
<i>S. cerevisiae</i> Y-530 лізат	85,4	84,6-86,4

Важливо відмітити тенденцію, що зразок супернатанту *S. cerevisiae* Y-530 містить концентрацію іонів міді найближче до оригінальної концентрації внесеної солі CuSO_4 – 98,2 мМ. Схожа тенденція зберігається і для зразку, отриманого з супернатанту *S. cerevisiae* Y-1995 – втрата коцентрації іонів міді відбулася на 5,1 мМ. Найменші концентрації іонів міді мають зразки лізатів *S. cerevisiae* Y-530

та *S. cerevisiae* Y-1995 – 85,4 мМ та 86,8 мМ відповідно, що відповідає втраті іонів міді у кількості 14,6 мМ та 13,2 мМ відповідно.

3.2 Результати УФ-спектроскопічного дослідження

У всіх досліджених зразках пік значення оптичної густини дорівнював 310 нм, що відповідає плазмонному резонансу наночасток міді. Проте, піки в зразку, де використовували штам дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 були дещо вищі, ніж у зразку, де використовували штам дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 (рис.3.1).

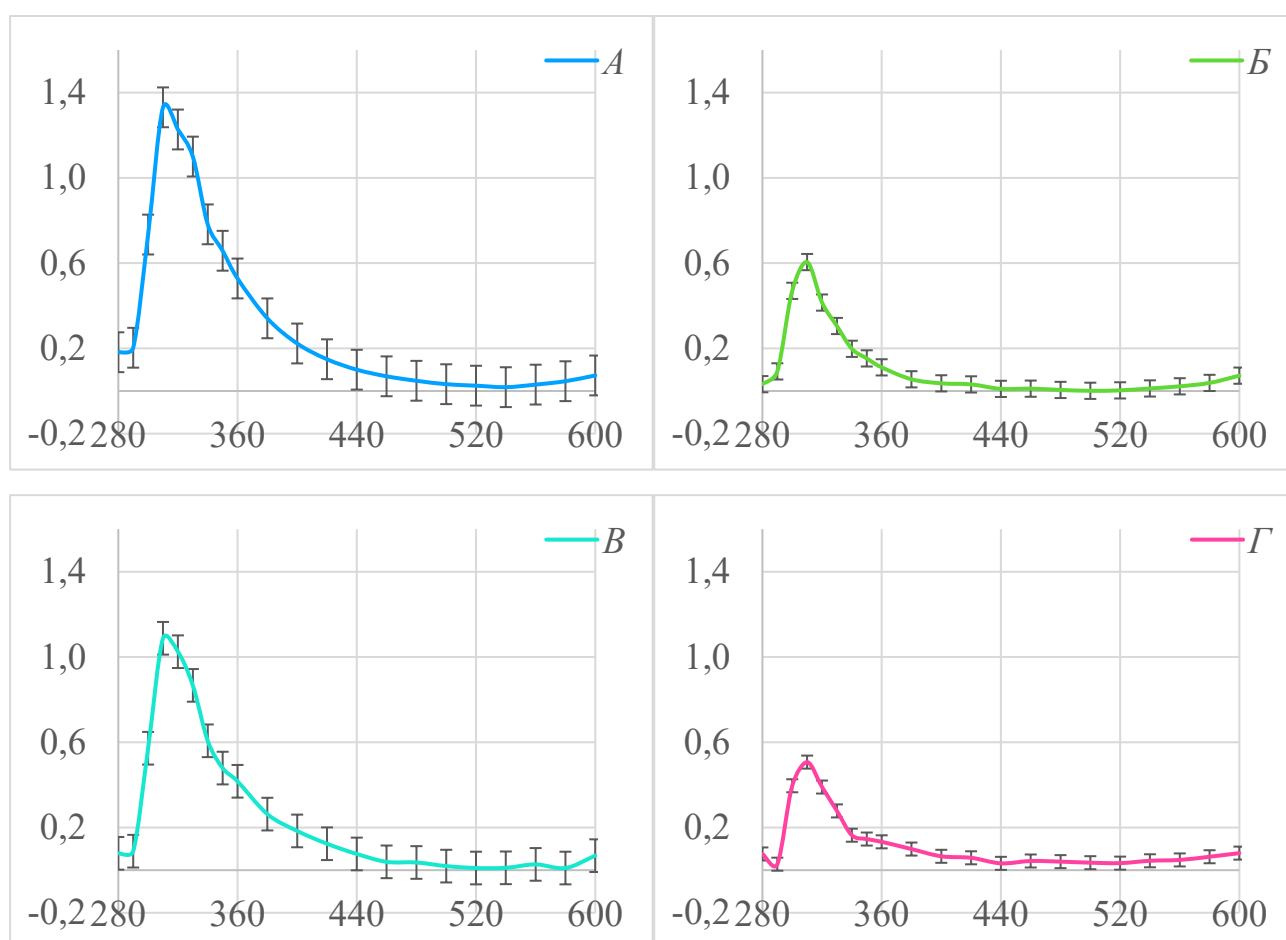


Рис.3.1. Спектри поглинання зразків *S. cerevisiae* Y-1995 супернатанту (А) та лізату (Б), *S. cerevisiae* Y-530 супернатанту (В) та лізату (Г)

Загалом, значення піку зі зразку *S. cerevisiae* Y-1995 супернатанту більше за значення зразку *S. cerevisiae* Y-530 супернатанту на 18,3 %, а значення *S. cerevisiae* Y-1995 лізату більше за значення зразку *S. cerevisiae* Y-530 лізату на 16,2 %.

Значення оптичної густини піку на 310 нм в зразку *S. cerevisiae* Y-1995 супернатанту більше за аналогічне значення лізату на 54,5 %. Для зразку *S. cerevisiae* Y-530 супернатанту значення піку на 53,4% від аналогічного значення лізату. Таким чином, можна сказати, що існує певна закономірність. Значення піків більші в зразках супернатантів, а найбільший пік належить зразку супернатанту, отриманого від штаму дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995.

3.3 Результати дослідження розмірів наночастинок міді

Використовуючи технологію динамічного розсіювання світла було визначено середній розмір кожного із чотирьох видів наночастинок (табл. 3.2), середньоквадратичні відхилення, а також параметр Z-ave, що вказує на інтенсивно усереднений діаметр частинок і може бути використаний для інтерпретації форми частинок.

Таблиця 3.2

Розміри наночастинок міді

Назва зразку	Середній розмір, нм	Середньоквадратичне відхилення, нм
<i>S. cerevisiae</i> Y-1995 супернатант	213,7	95,9
<i>S. cerevisiae</i> Y-1995 лізат	71,8	79,3
<i>S. cerevisiae</i> Y-530 супернатант	154,9	87,3
<i>S. cerevisiae</i> Y-530 лізат	54,2	64,2

Розглядаючи отримані результати, можна прийти до висновку, що наночастки міді отримані із супернатантів є значно більшими, ніж ті, що були отримані із лізатів дріжджових клітин. Вони мають різницю у розмірі приблизно у 3 рази. Тобто, за результатами даного дослідження наночастки найменшого розміру можна отримати, використовуючи як джерело для біогенного синтезу саме лізати дріжджів. Найкраще себе проявив зразок лізату *S. cerevisiae* Y-530.

Наступним етапом аналізу було встановити можливу форму наночастинок за допомогою показника Z-ave. Таким чином, було встановлено, що зразки, отримані

із супернатантів дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530 наближаються до сферичної форми, оскільки значення їх розміру і Z-ave майже співпадають (рис.3.2).

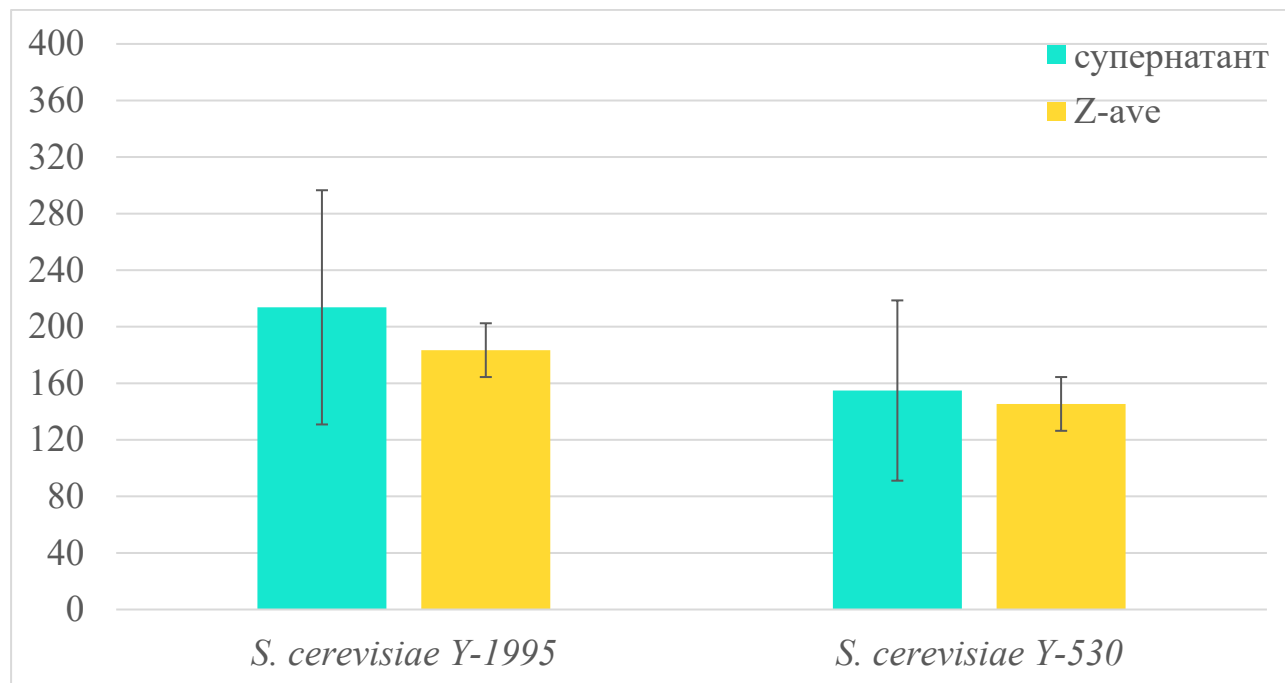


Рис.3.2. Показники розміру наночасток міді та Z-ave, отриманих із супернатантів дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530

При дослідженні зразків, отриманих з лізатів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530 було встановлено, що тільки зразок наночасток міді, отриманий з лізату *S. cerevisiae* Y-1995 наближається за формою до сферичної. Цікаво, що зразок наночасток міді, отриманий з лізату *S. cerevisiae* Y-530 має різницю між значенням розміру наночасток та Z-ave в п'ять разів. Тобто, для даного зразку значення Z-ave в 5 разів більше за значення середнього розміру. Такі результати можуть вказувати на неправильну, ймовірно, видовжену форму наночасток міді (рис.3.3).

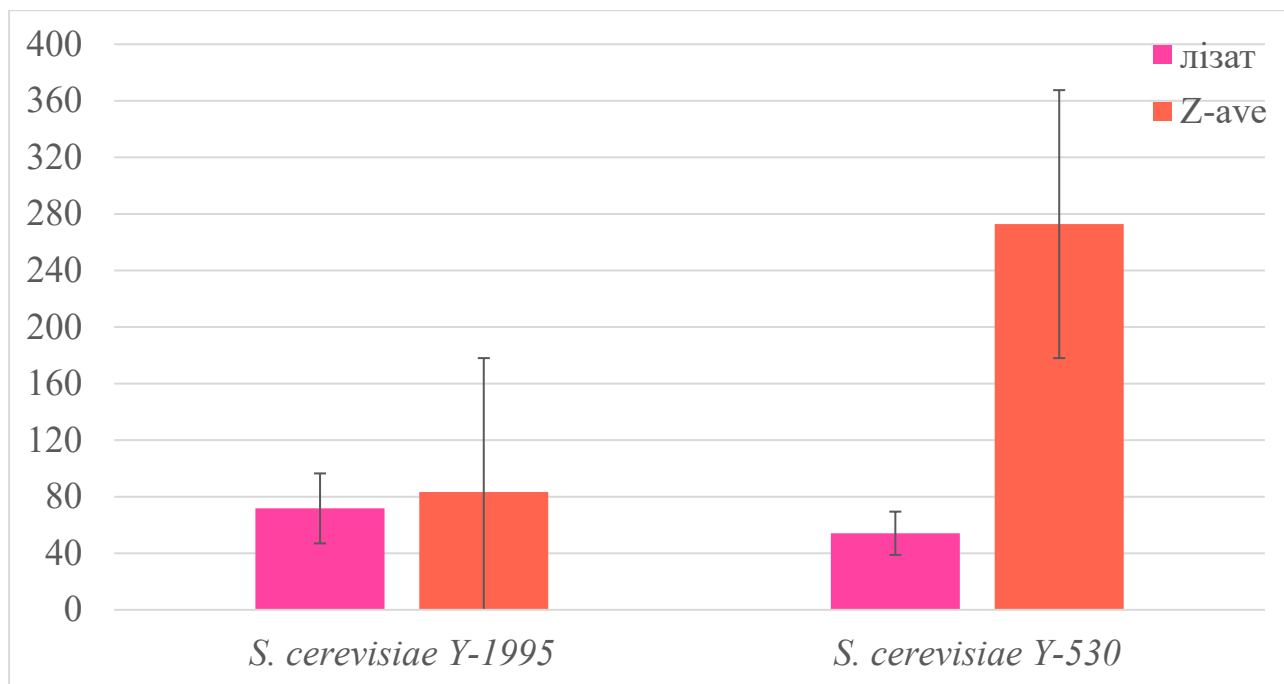


Рис.3.3. Показники розміру наночастинок міді та Z-ave, отриманих із лізатів дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530

Також, важливою оцінкою є визначення індексу полідисперсності. Чим менша полідисперсність, тим одноріднішим є розчин за розміром часток та їх формою [59]. Полідисперсність є низькою, коли її значення менше або дорівнює до 0,3 [60]. Зведені результати значень індексу полідисперсності вказані в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Розміри наночастинок міді

Назва зразку	Z-ave, нм	Індекс полідисперсності
<i>S. cerevisiae</i> Y-1995 супернатант	183,4	0,3
<i>S. cerevisiae</i> Y-1995 лізат	83,3	0,5
<i>S. cerevisiae</i> Y-530 супернатант	145,4	0,3
<i>S. cerevisiae</i> Y-530 лізат	272,8	0,6

Цікаво, що не дивлячись на великі розміри часток в зразках супернатантів, значення індексу полідисперсності в них найменше. Тобто, розподіл часток за розміром є рівномірним в зразках часток міді, отриманих з супернатантів дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530. І, навпаки, зразки лізатів містять полідисперсні зразки наночастинок. Не дивлячись на малі розміри в цих зразках – 71,8

та 54,2 нм для зразку з лізату *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530 відповідно – значення індексу полідисперстності для цих зразків велике – 0,5 та 0,6 відповідно. Це може вказувати на агрегацію наночасток в зразках.

3.3 Результати дослідження антибактеріальної дії

Під час проведення дослідження було визначено антибактеріальну дію НЧ міді. Результати досліджень щодо кількості живих бактеріальних клітин для зручності сприйняття було переведено у відсоткове відношення при порівнянні із контролем. Таким чином, кількість живих клітин, що було виявлено для кожної бактерії була прийнята за 100 %.

Якщо для НЧ міді, отриманих із дріжджових супернатантів та лізатів отримане значення становило менше 100%, то це вважалось антибактеріальною дією по відношенню до певної бактерії. Якщо отримане значення було більше 100 % (що може бути, у разі коли кількість живих клітин була навіть більшою, ніж у контролі), то вважалось, що НЧ сприяють росту бактерії. Для того, щоб оцінити статистичну достовірність відмінностей між отриманими значеннями та контролем, було обраховано p -рівень значущості, а за критеріальне значення приймалося $p < 0,05$. Результати оцінок антибактеріального ефекту (у вигляді медіани декількох вимірювань для кожного випадку з позначеним інтерквартильним розкидом) наведені на гістограмах (рис. 3.4–3.7).

На рис. 3.4 наведені результати оцінок дії НЧ міді, отриманих від супернатантів штаму *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995. Незалежно від концентрації кількість живих клітин *B. subtilis* була достовірно менше за контроль, що свідчить про стійку антибактеріальну дію цього виду НЧ. Щодо *E. coli* дія НЧ була не постійною: при низьких концентраціях кількість клітин була менше контролю, але при концентрації 9,5 мМ – недостовірно збільшувалась. Таким чином, неможливо зробити однозначних висновків про дію цього виду НЧ міді на *E. coli*. Розглядаючи дію НЧ міді, отриманих супернатантів *S. cerevisiae* Y-1995, на пробіотичні лактобактерії *L. acidophilus* та *L. delbrueckii*, можна сказати, що НЧ міді достовірно сприяли збільшенню росту цих бактерій практично в усіх концентраціях. При

цьому кількість живих клітин *L. delbrueckii*, при дії НЧ у концентрації 9,5 мМ збільшувалася більше ніж у 2 рази порівняно з контролем.

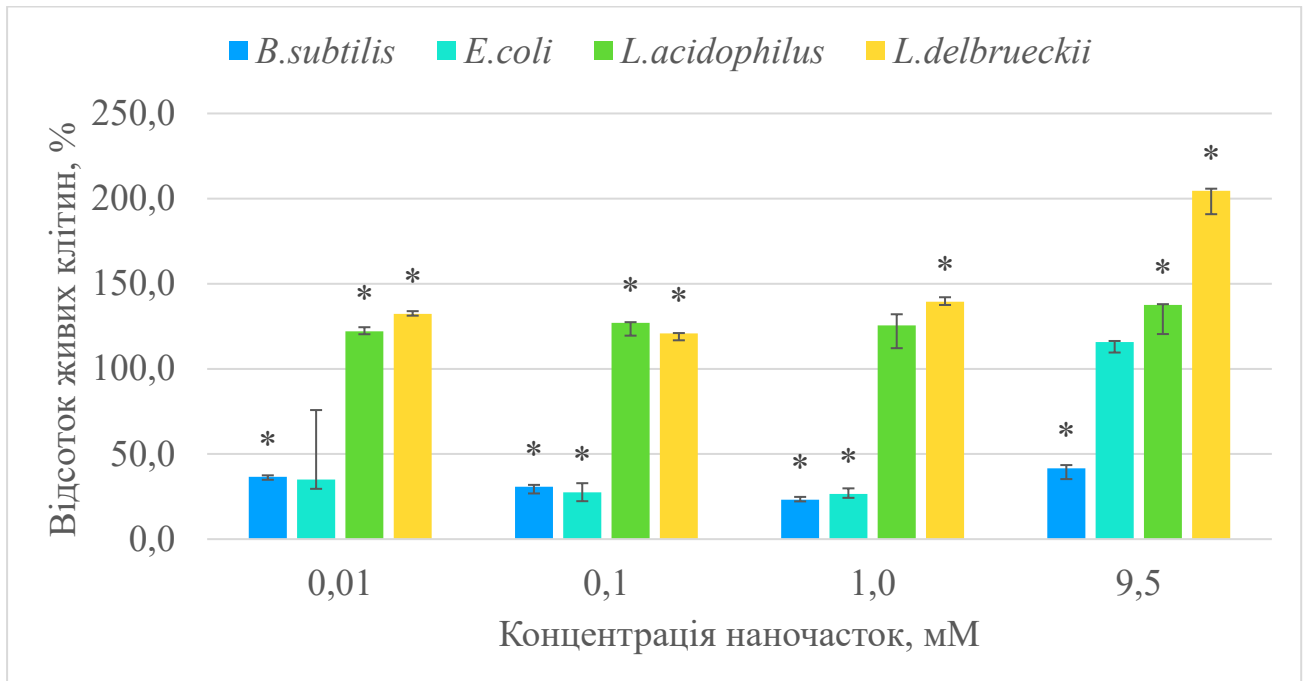


Рис 3.4. Антибактеріальна дія наночастинок міді на основі супернатантів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995

Рис. 3.5 демонструє результати дії НЧ міді, отриманих від супернатантів, але вже іншого штаму – *S. cerevisiae* Y-530. Подібно до НЧ із супернатантів від штаму Y-1995, ці НЧ проявляють достовірно інгібуючу дію на *B. subtilis*, але неоднозначно впливають на *E. coli* (зменшуючи або збільшуючи кількість клітин цієї бактерії залежно від концентрації). Що стосується пробіотичних *L. acidophilus* та *L. delbrueckii*, то НЧ від супернатантів штаму Y-530 сприяють їх росту в усіх концентраціях, маючи виняткову ефективність у високих концентраціях.

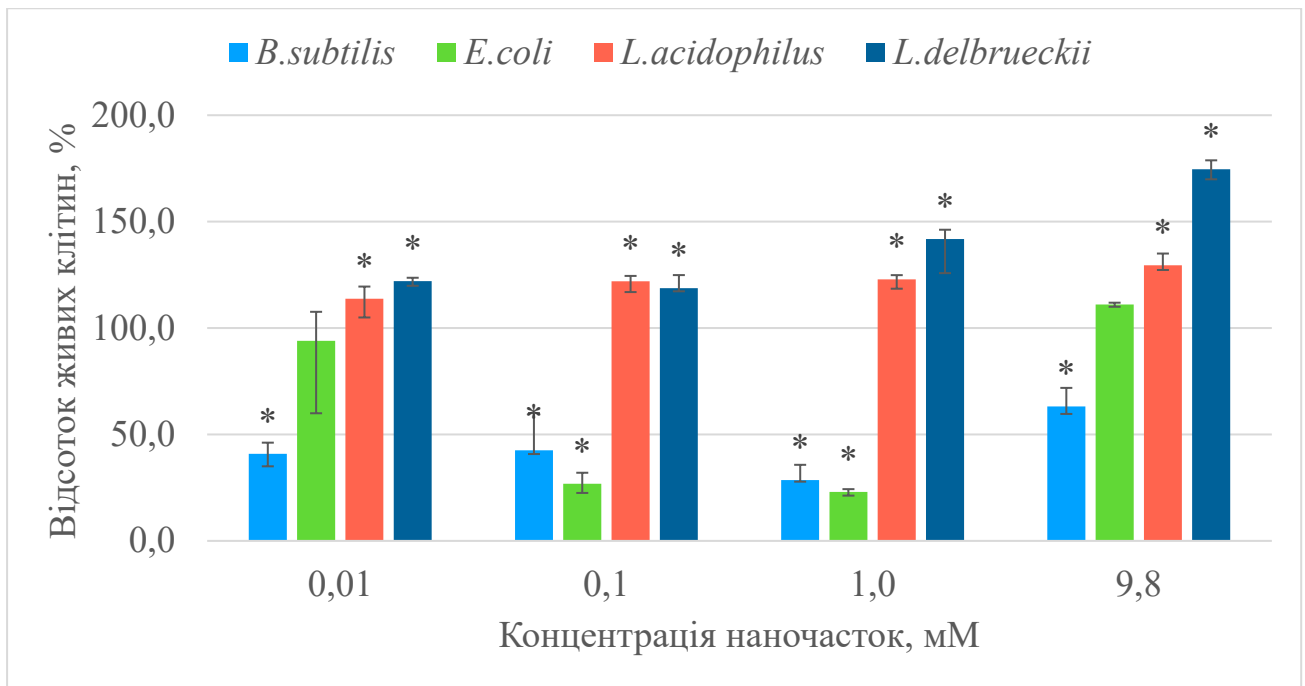


Рис 3.5. Антибактеріальна дія наночастинок міді на основі супернатантів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-530

Таким чином, можна стверджувати, що НЧ міді мають достовірний антибактеріальний ефект щодо *B. subtilis*, мають різносторонній дозозалежний вплив на *E. coli*, і достовірно сприяють росту нормальної мікрофлори кишечника (*L. acidophilus* та *L. delbrueckii*).

Розглянемо дію НЧ із лізатів дріжджів. З рис. 3.6 видно, що НЧ, отримані із лізатів *S. cerevisiae* Y-1995 мають достовірний антибактеріальний ефект проти *B. subtilis* та *E. coli* в усіх концентраціях, знижуючи кількість живих клітин цих бактерій приблизно в 4 рази. Що стосується штамів молочнокислих бактерій, то дія цих НЧ здебільшого сприяє росту цих бактерій. Проте сприятливий ефект є помірним і достовірно проявляється тільки у більш високих концентраціях НЧ.

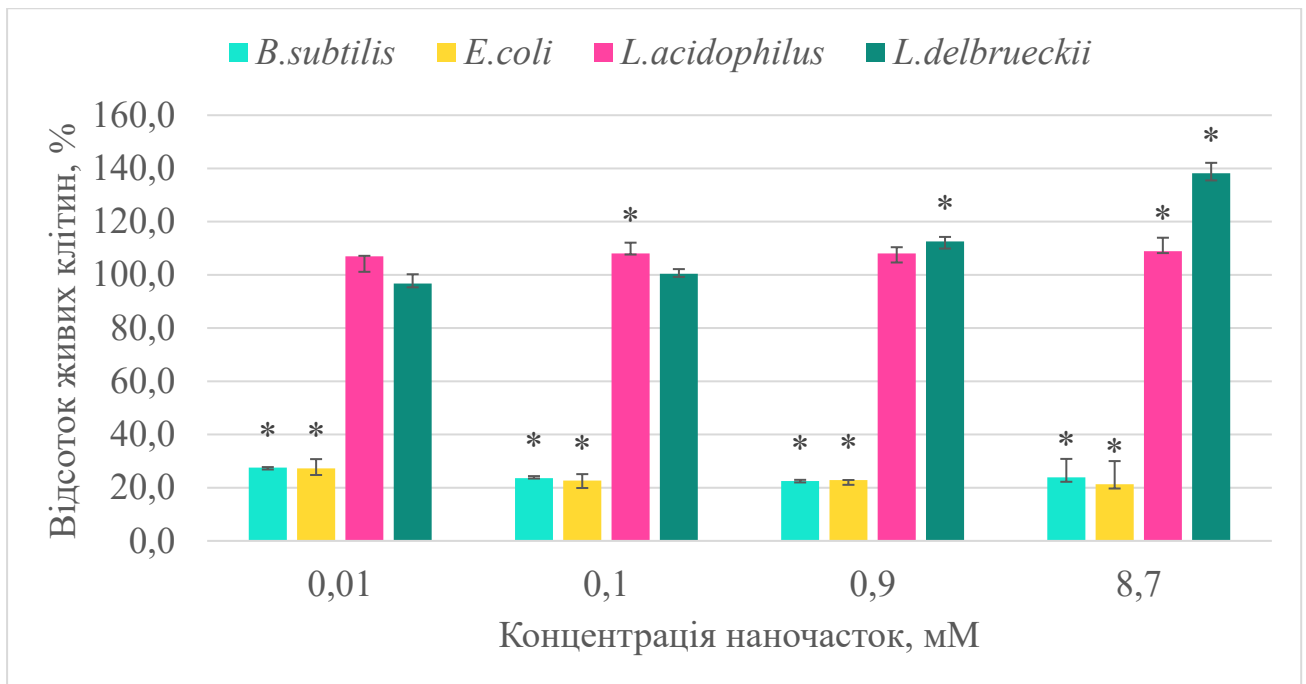


Рис. 3.6. Антибактеріальна дія наночасток міді на основі лізатів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995

НЧ із лізатів *S. cerevisiae* Y-530 (рис. 3.7) мають достовірний антибактеріальний ефект проти *B. subtilis* у більш високих концентраціях, і проти *E. coli* у середніх. В той же час, стимулюючий ефект на лактобактерії є меншим, ніж для інших розглянутих видів НЧ. Достовірно підвищується кількість клітин тільки бактерій *L. delbrueckii* при концентраціях цих НЧ 0,9 та 8,5 мМ. Варто зазначити, що якщо ми не спостерігаємо достовірної зміни в кількості живих клітин, то це означає, що вони знаходяться на рівні контролю клітин. Тобто, тих зразків, до яких в експериментів вносили фізіологічний розчин замість досліджуваних зразків наночасток міді.

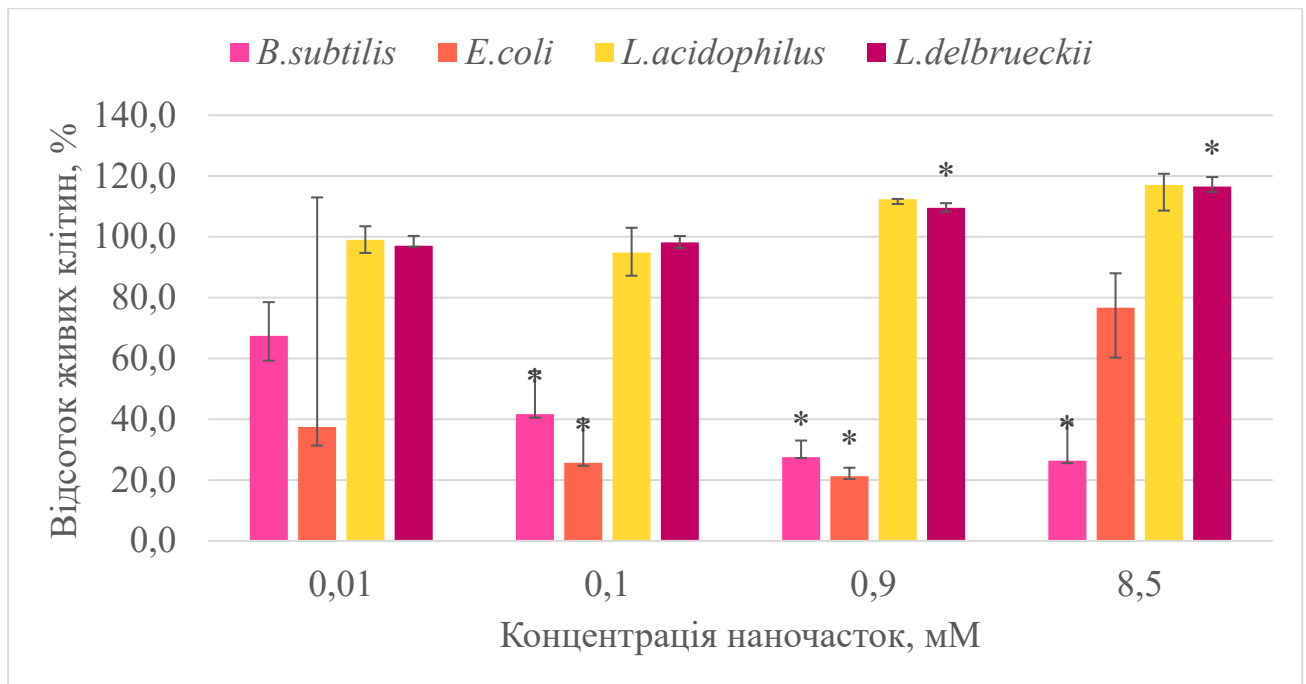


Рис. 3.6. Антибактеріальна дія наночастинок міді на основі лізатів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-530

Розглянувши антибактеріальну дію у розрізі кожного із видів НЧ міді, доцільно провести також інший вид аналізу та розглянути антибактеріальну дію на кожну із бактерій окремо. Так, наприклад, побудовані гістограми для *B. subtilis* показують, що всі види НЧ (незалежно від того, отримані вони від лізатів, чи супернатантів та від якого дріжджового штаму) мають інгібуючий ефект на цей мікроорганізм. При цьому найкращу дію справляють НЧ із лізатів штаму Y-1995, і дещо меншу (але все одно достовірно ефективну) із супернатантів Y-1995. Таким чином, можемо дійти до висновку, що синтез НЧ з використанням штаму *S. cerevisiae* Y-1995 є ефективнішим, ніж із штаму Y-530, якщо мова йде про антибактеріальну дію щодо *B. subtilis*.

Аналогічно за даними гістограм (рис. 3.4–3.7) для *E. coli* можна простежити іншу закономірність. Незалежно, від виду НЧ міді, вони здатні інгібувати розвиток цієї умовно патогенної бактерії тільки у середніх концентраціях близько 0,1 та 1,0 мМ. В менших або більших концентраціях НЧ міді, навпаки, сприяють росту *E. coli*.

Також цікаві закономірності можна простежити за даними гістограм, які співвідносяться із дією НЧ міді на пробіотичні *L. acidophilus* та *L. delbrueckii* (рис.

3.4–3.7). З одного боку, НЧ міді практично завжди покращують ріст цих бактерій, а з іншого більший ефект досягається при використанні супернатантів незалежно від штаму дріжджів.

Підводячи проміжний підсумок щодо антибактеріальної дії НЧ міді можна зазначити, що НЧ здатні чинити антибактеріальну дію щодо *B. subtilis* та *E. coli*, водночас сприяючи росту корисних *L. acidophilus* та *L. delbrueckii*. При цьому найкращий антибактеріальний ефект щодо *B. subtilis* досягається при використанні НЧ від *S. cerevisiae* Y-1995. Антибактеріальний ефект проти *E. coli* наявний при використанні різних видів НЧ у середніх концентраціях. Сприятлива дія щодо молочнокислих лактобактерій є найбільшою при використанні НЧ із супернатантів.

Варто зазначити, що серед тестованих бактерій *B. subtilis* є грампозитивною бактерією, в той час, як *E. coli* – грамнегативною, що вказує на їх потенційну ефективність на бактерії із різною будовою клітинної стінки.

В інших дослідженнях [18] також звертається увага на те, що НЧ міді чинять ефективну антимікробну дію як на грамнегативні (*E. coli*, *Enterococcus sp.*, *Proteus sp.* і *Klebsiella sp.*), так і грампозитивні (*S. aureus*, *B. subtilis* і *S. pyrogenes*). Це дозволяє застосовувати їх у лікуванні широкого кола інфекцій, зокрема респіраторних, дерматологічних, кишкових та інфекцій сечовивідних шляхів. В одному із інших експериментальних досліджень [17] НЧ міді показали антибактеріальну дію проти грамнегативної *E. coli*, а грампозитивного *S. aureus*. Але найбільш цікаве те, що теж саме дослідження [17] підтвердило негативний вплив НЧ міді на дріжджі *S. cerevisiae*, що звертає увагу на необхідність правильної побудови технологічної схеми виробництва НЧ, якщо у якості продуцента використовується *S. cerevisiae*: розчин сульфату міді має додаватися після завершення культивування мікроорганізму до виділеної біомаси, оскільки на більш ранніх стадіях сульфат міді може завчасно інгібувати розвиток дріжджів.

3.4 Результати визначення антиадгезивної дії синтезованих наночастинок міді

Під час визначення впливу НЧ на адгезивну здатність бактерій використовували принцип аналогічний до того, що застосовувався для визначення антибактеріальної дії. За 100 % приймалася кількість клітин, що залишилися прикріпленими до поверхні у контрольному зразку, а проби які містили НЧ співвідносились із контролем. За умови результату більше 100 % робився висновок про сприятливий ефект НЧ на адгезивну здатність бактерій, а за умови результату менше 100 % про антиадгезивну дію НЧ міді. Всі представлені у вигляді гістограм що відображають медіани, інтерквартильний розмах, із зазначенням значущості відмінностей у порівнянні з контролем на рівні $p < 0,05$ (рис. 3.8–3.11).

Розглядаючи вплив на адгезію НЧ міді, отриманих із супернатантів штаму *Y-1995* (рис. 3.8), можна відмітити, що ці НЧ достовірно зменшують адгезію *B. subtilis* та збільшують адгезію *L. delbrueckii*. Із негативних результатів можна відмітити, що у низьких концентраціях ці наночастки достовірно збільшують адгезію *E. coli*, що умовно-патогенною бактерією для людини.

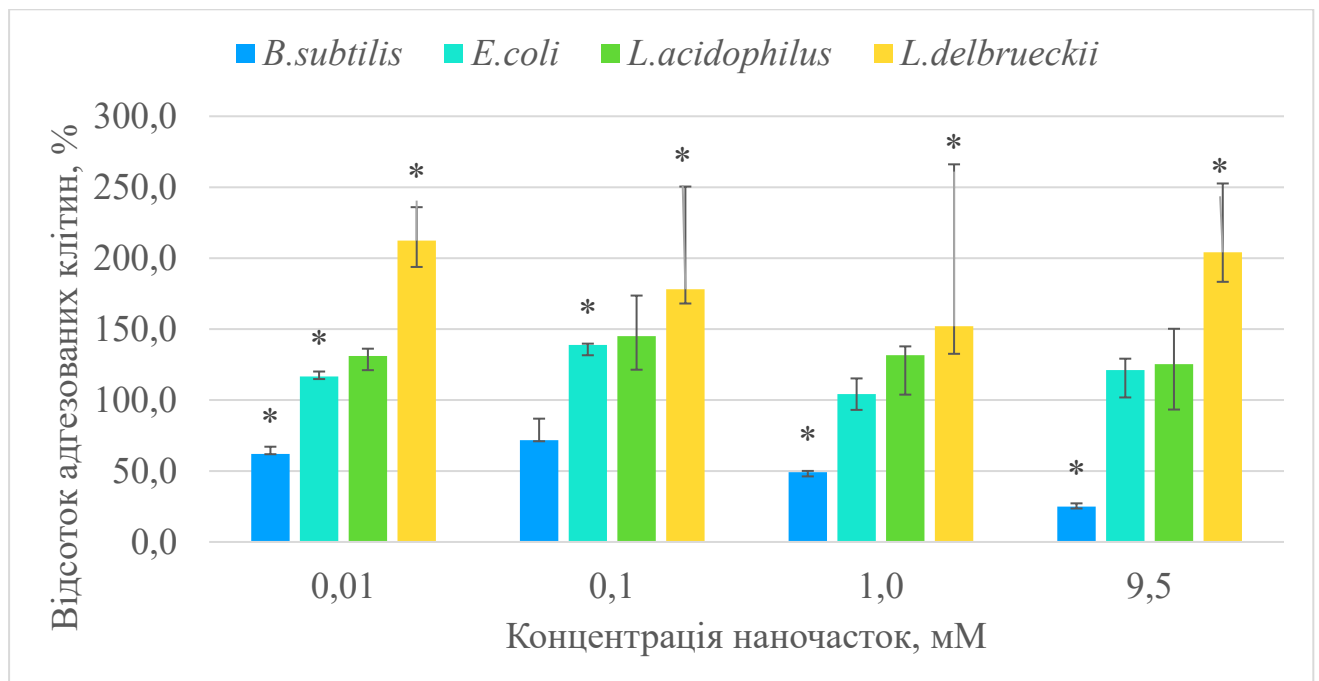


Рис. 3.8. Антиадгезивна дія наночастинок міді на основі супернатантів із *Saccharomyces cerevisiae Y-1995*

НЧ із супернатантів Y-530 (рис. 3.9) достовірно сприяють адгезії *L. delbrueckii*, при чому при концентрації 9,8 мМ збільшення адгезивної здатності цієї бактерії становить понад 175 %. Щодо впливу на інші бактерії він є неоднозначним і схоже, може залежати від концентрації.

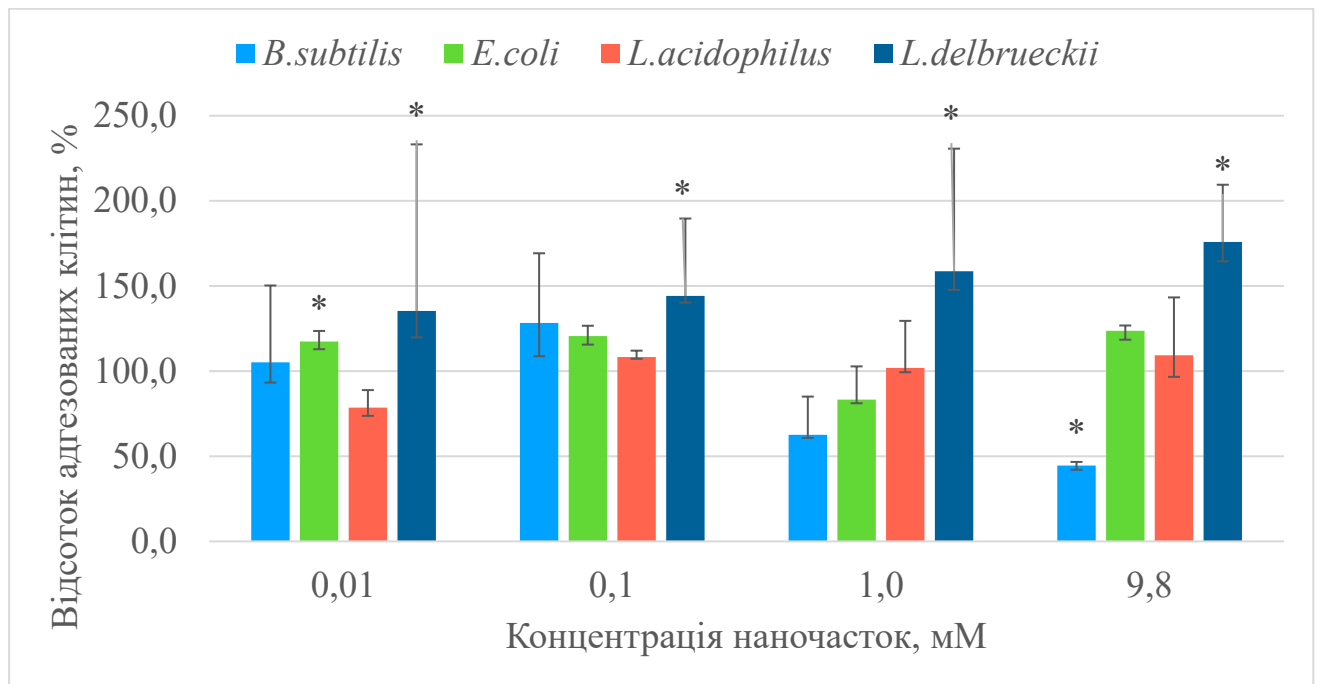


Рис 3.9. Антиадгезивна дія наночасток міді на основі супернатантів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-530

Розглядаючи вплив на адгезію бактерій, який чинять НЧ із лізатів Y-1995 (рис. 3.10) можна загалом простежити тенденцію до зниження адгезивних властивостей у *B. subtilis* та *L. acidophilus*, разом із підвищенням адгезивних властивостей у *E. coli* та *L. delbrueckii*. Хоча в цілому результати не дають можливості зробити однозначні висновки про вплив цих НЧ на адгезію патогенних або пробіотичних бактерій, можна сказати, що у великій концентрації ефект цих НЧ був більш вираженим, про що говорить значущість у відмінностях в порівнянні з контролем.

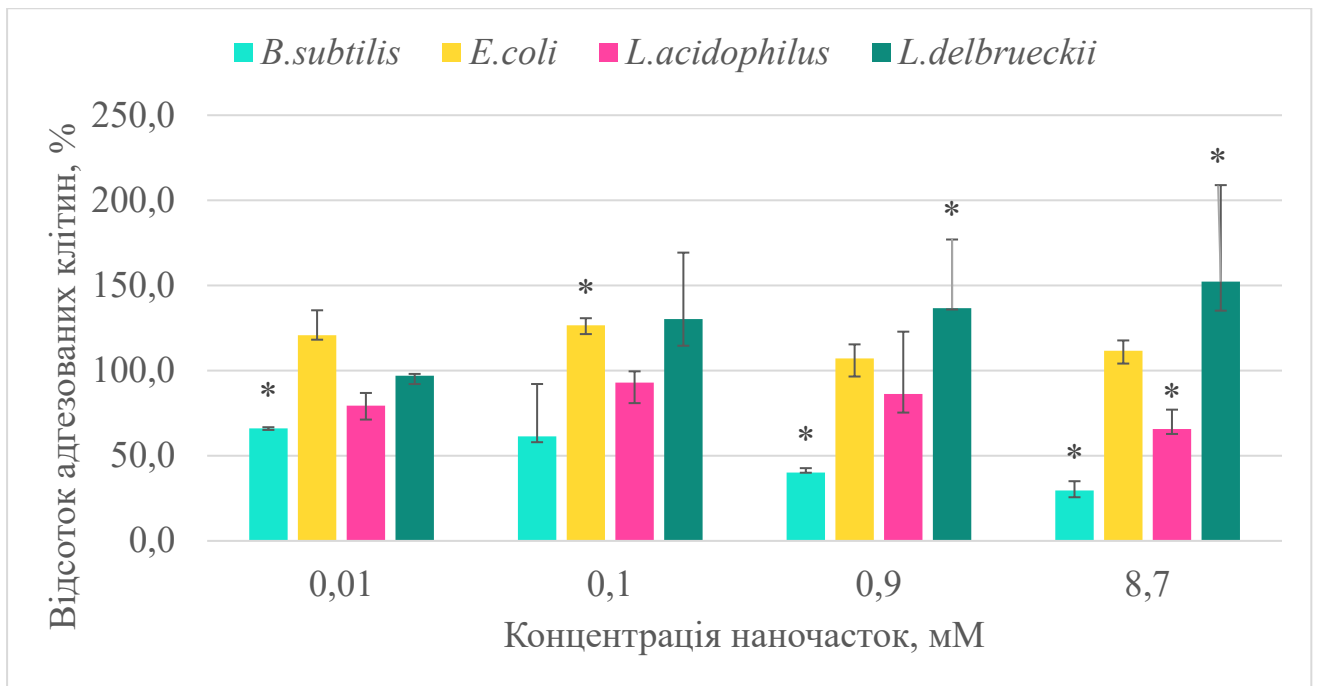


Рис. 3.10. Антиадгезивна дія наночасток міді на основі лізатів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995

НЧ міді отримані із лізатів штаму Y-530 (рис. 3.11) чинять достовірно антиадгезивну дію щодо *B. subtilis*, але тільки у концентрації 8.5 мМ. Щодо *E. coli* – навпаки підвищують адгезію цієї бактерії, але достовірно тільки при концентрації 0,1 мМ. На лактобактерії вплив також неоднозначний: хоча *L. acidophilus* достовірно зменшує адгезію, інша еволюційно близька бактерія *L. delbrueckii* здатна збільшувати адгезію у присутності НЧ із лізатів штаму Y-530. Варто зазначити, що у всіх зразках, де немає достовірної різниці між досліджуваною антиадгезивною дію наночасток міді і контролем, то це означає, що кількість адгезованих клітин знаходиться на тому ж самому рівні, що і в контролі – де замість досліджуваних розчинів наночасток міді додавали еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

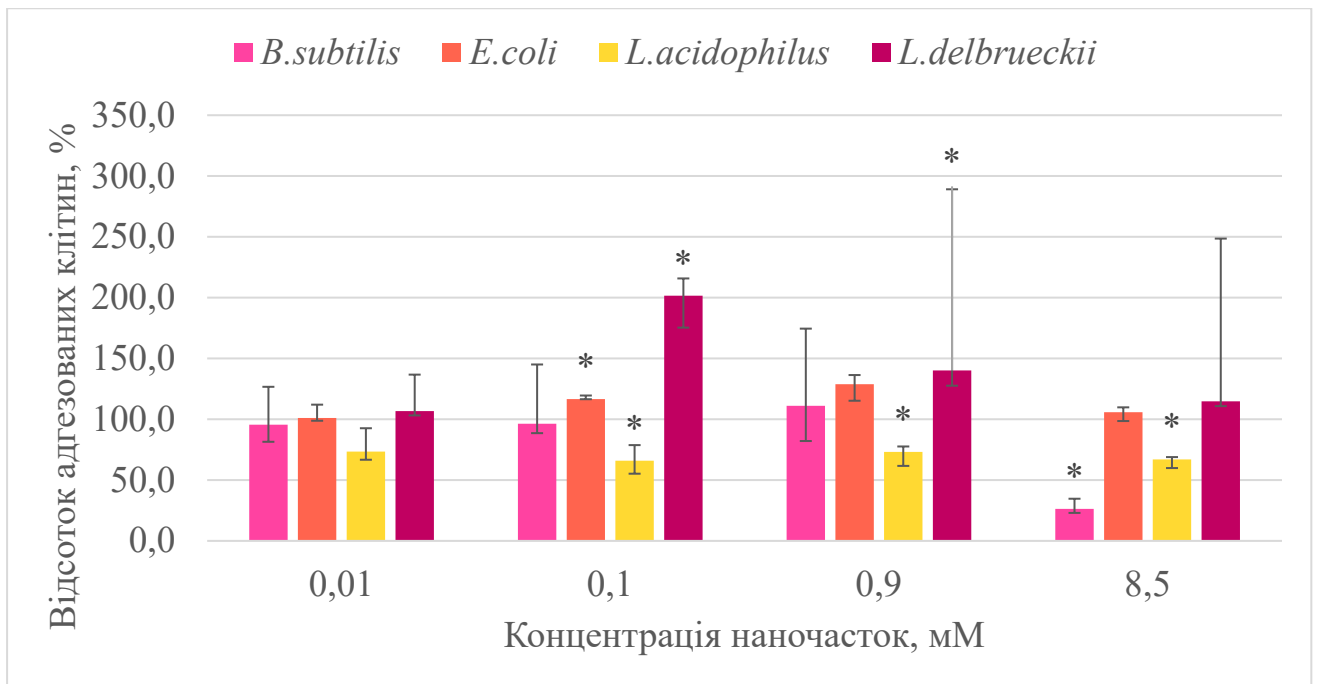


Рис 3.11. Антиадгезивна дія наночастинок міді на основі лізатів із *Saccharomyces cerevisiae* Y-530

Враховуючи, що дані щодо впливу різних НЧ міді на адгезію бактерій є більш суперечливими, ніж отримані до цього щодо антибактеріального ефекту, доцільно провести наступний вид аналізу і розглянути здатність до адгезії для кожної із бактерій, але під впливом різних видів НЧ міді

Що стосується *B. subtilis* (рис. 3.8–3.11) можна звернути увагу, що достовірно антиадгезивною дією володіють ті НЧ міді у високих концентраціях, незалежно від виду самих НЧ. В інших концентраціях результати є або недостовірними, або відрізняються для між штамами дріжджів. Щодо *E. coli*, то НЧ здебільшого сприяють адгезії цієї бактерії, хоча і не завжди досягається рівень значущості. Єдиний випадок, коли медіана знаходиться нижче за лінію у 100 % відповідає НЧ міді, отриманим із супернатантів штаму Y-530 у концентрації 1,0 мМ.

У *L. acidophilus* НЧ, отримані з супернатантів, здебільшого сприяють підвищенню адгезії, а НЧ, отримані із лізатів, навпаки, зменшують адгезивну здатність бактерії порівняно з контролем. Варто відзначити, що достовірно значущого підвищення адгезивною здатності для встановлено не було для жодної із концентрації, в той час як НЧ із лізату штаму Y-530 знижують адгезію достовірно

при більших концентраціях. Напротивагу, інша лактобактерія *L. delbrueckii* здатна підвищувати свою адгезію у присутності НЧ (рис. 3.11), при чому результати здебільшого значущі. Зокрема НЧ із супернатантів достовірно підвищують адгезію цієї бактерії незалежно від концентрації.

Отримані результати свідчать про різноспрямований вплив НЧ міді на адгезію бактерій. Хоча консенсусних висновків з отриманих результатів зробити не можна, варто підкреслити, що НЧ із штаму Y-1995 здебільшого пригнічують адгезію *B. subtilis*, в той час як НЧ, отримані із супернатантів обох штамів, достовірно підвищують адгезію *L. delbrueckii*.

Вважається, що НЧ краще впливають на адгезію грампозитивних бактерій, оскільки вони мають жорстку пептидогліканову мембрану, яку важко згинати та адаптувати до наноструктурованої поверхні [61]. Хоча і проти грамнегативних бактерій НЧ міді істотно впливати на їх адгезивні властивості. Це пояснюється тим, що обидва типи клітинної стінки заряджені негативно клітинні стінки, що провокує притягування НЧ міді до поверхні клітин бактерій, перешкоджаючи їх життєдіяльності та здатності до адгезії [14]. Кілька досліджень, показали їх високу антиадгезійну дію як на грампозитивні, такі і на грамнегативні бактерії. Так, одне із досліджень підтвердило зменшення здатності *P. aeruginosa* та *L. monocytogenes* до утворення біоплівки [62]. В іншій роботі, антиадгезійний ефект проти *E. coli* та *L. monocytogenes* взагалі був вражаючим, оскільки утворення біоплівки цими бактеріями зменшилось на 93,6 та 98,7 % відповідно [63]. Цікавим є і той факт, що НЧ міді здатні перешкоджати адгезії лактобактерій, що зокрема було продемонстровано щодо *L. acidophilus* у одному з досліджень [64]. Для порівняння, у поточній роботі НЧ із супернатантів здебільшого сприяли підвищенню адгезії *L. acidophilus*, в той час, як НЧ із лізатів знижували, при чому НЧ із лізату Y-530 – знижував адгезію достовірно.

Висновки до розділу 3

У даному розділі було охарактеризовано результати вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей НЧ міді. Було досліджено концентрацію та

форму НЧ міді і вивлено, що НЧ, отримані з супернатантів, були втричі більшими, ніж НЧ, отримані з лізатів дріжджових клітин.

Було вивчено антибактеріальну дію НЧ міді. Результати показали, що ГЧ міді мали добре виражену антибактеріальну дію на *B. subtilis* і виявляли дозозалежну дію на *E. coli*. Крім того, наночастинки міді сприяли росту пробіотичних бактерій *L. acidophilus* і *L. delbrueckii*. Найкращий антибактеріальний ефект проти *B. subtilis* досягнуто з наночастинками із *S. cerevisiae* Y-1995. Крім того, було виявлено, що антибактеріальний ефект проти *E. coli* був більш вираженим при середніх концентраціях.

Вивчено вплив НЧ міді на адгезивну здатність бактерій. Результати вказали різноспрямованими: одні наночастинки зменшували адгезію бактерій, а інші їй сприяли. Наночастинки міді з супернатантів Y-1995 достовірно знижували адгезію *B. subtilis* і підвищували адгезію *L. delbrueckii*. Однак вплив на адгезію *E. coli* змінювався залежно від типу та концентрації наночастинок, проявляючи тенденцію до підвищення адгезії *E. coli*. НЧ із лізатів переважно знижували адгезивну здатність *L. acidophilus*. Тим часом *L. delbrueckii* продемонстрував підвищену адгезію в присутності НЧ.

Загалом добре проявили себе НЧ міді отримані із супернатантів обох штамів дріжджів у концентрації 1,0 мМ, оскільки вони здебільшого достовірно сприяли росту та адгезії лактобактерій, інгібкуючи при цьому розвиток *B. subtilis* та *E. coli*.

Таким чином, НЧ виявляли комплексний вплив як на антибактеріальну активність, так і на бактеріальну адгезію. Результати змінювалися залежно від типу наночастинок, їх концентрації та конкретних залучених бактерій. Ці висновки підкреслюють важливість врахування цих факторів при використанні НЧ міді з різною метою.

ВИСНОВКИ

В роботі синтезували наночастки міді за допомогою методу зеленого синтезу з використанням лізатів і супернатантів дріжджів *S. cerevisiae* Y-1995 та *S. cerevisiae* Y-530.

1. Було підтверджено наявність наночастинок міді у всіх досліджених зразках, оскільки пік поглинання відповідає плазмонному резонансу наночастинок міді та складає 310 нм. Найвище значення піку поглинання (1,4 ОД) відповідає зразку наночастинок міді, отриманих з супернатанту *S. cerevisiae* Y-1995.

2. Найменші за розміром наночастки міді можна отримати з використанням лізату *S. cerevisiae* Y-530 (54,2 нм), проте вони полідисперсні. Найнижчий індекс полідисперсності мають зразки наночастинок міді, отримані з супернатантів обох штамів дріжджів *S. cerevisiae* Y-530 та *S. cerevisiae* Y-1995, проте дані зразки містять великі за розміром частки – 154,9 нм та 213,7 нм відповідно. Всі синтезовані наночастки мають форму наближену до сферичної, окрім зразку часто міді, отриманих з лізату *S. cerevisiae* Y-530.

3. Наночастки міді мають ефективну антибактеріальну дію проти *B. subtilis* та *E. coli*, водночас сприяючи росту молочнокислих бактерій *L. acidophilus* та *L. delbrueckii*. Найкращий антибактеріальний ефект проти *B. subtilis* досягається при використанні НЧ міді, отриманих зі зразку *S. cerevisiae* Y-1995 у всіх досліджених концентраціях. Антибактеріальний ефект проти *E. coli* наявний при використанні різних видів наночастки у концентраціях 0,1-1,0 мМ. Сприятлива дія щодо молочнокислих лактобактерій є найбільшою при використанні наночастки із супернатантів.

4. Наночастки, отримані із використанням штаму *S. cerevisiae* Y-1995 здебільшого пригнічують адгезію *B. subtilis*, в той час як наночастки, отримані із супернатантів обох штамів, достовірно підвищують адгезію *L. delbrueckii*. Значного впливу на адгезію клітин *L. acidophilus* синтезовані наночастки міді не мають, окрім зразку, отриманого з лізату *S. cerevisiae* Y-530 – в даному випадку спостерігається зниження адгезії бактеріальних клітин на 36,9-34,1 %, що може

бути пов'язано з тим, що форма даних наночасток відрізняється від всіх інших зразків.

5. Таким чином, в роботі було продемонстровано можливість регуляції розміру, форми та біологічних властивостей наночасток міді шляхом використання різних джерел біологічних агентів для стабілізації, а саме лізатів і супернатантів дріжджів двох штамів *S. cerevisiae* Y-530 та *S. cerevisiae* Y-1995.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

-
- 1 Bhushan B. Springer handbook of nanotechnology: 4th edn. Berlin: Springer, 2017. 1964 p. doi: 10.1007/978-3-642-02525-9.
 - 2 Jeevanandam J., Berhoum A., Chan Y. S. et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations // Beilstein journal of nanotechnology. 2018. Vol. 9. P. 1050–1074. doi: 10.3762/bjnano.9.98.
 - 3 Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine // J Nanobiotechnol. 2004. Vol. 2. P. 3. doi: 10.1186/1477-3155-2-3.
 - 4 Khan Ib., Saeed K., Khan Id. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities // Arab J Chem. 2019. Vol. 12(7). P. 908–931. doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
 - 5 Pleskova S., Mikheeva E., Gornostaeva E. Using of Quantum Dots in Biology and Medicine // Adv Exp Med Biol. 2018. Vol. 1048. P. 323-334. doi: 10.1007/978-3-319-72041-8_19.
 - 6 Al-Hakkani M. F. Biogenic copper nanoparticles and their applications: A review // SN Appl. Sci. 2020. Vol. 2. 505. doi: 10.1007/s42452-020-2279-1.
 - 7 Goyer R. A. Toxic and essential metal interactions // Annu Rev Nutr. 1997. Vol. 17. P. 37-50. doi: 10.1146/annurev.nutr.17.1.37.
 - 8 Wang P., Yuan Y., Xu K. et al. Biological applications of copper-containing materials // Bioact Mater. 2020. Vol. 6(4). P. 916-927. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.017.
 - 9 Pariona N., Mtz-Enriquez A. I., Sánchez-Rangel D. et al. Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens // RSC Adv. 2019. Vol. 9(33). P. 18835-18843. doi: 10.1039/c9ra03110c.
 - 10 Jeong S., Woo K., Kim D. et al. Controlling the thickness of the surface oxide layer on Cu nanoparticles for the fabrication of conductive structures by ink-jet printing // Adv Funct Mater. 2008. Vol. 18. P. 679–686. doi: 10.1002/adfm.200700902.

11 Cu and Cu-Based Nanoparticles: Synthesis and Applications in Catalysis / M. B. Gawande et al. *Chemical reviews*. Vol. 116, no. 6. P. 3722–3811. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00482>.

12 Din M. I., Rehan R. *Synthesis, Characterization, and Applications of Copper Nanoparticles*. *Analytical Letters*. 2017. Vol. 50, no 1. P. 50-62, DOI: <https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1172081>.

13 Raju S. K., Karunakaran A., Kumar S. et al. *Biogenic synthesis of copper nanoparticles and their biological applications: an overview // Int J Pharm Pharm Sci*. 2022. Vol. 14(3). P. 8–26. doi: 10.22159/ijpps.2022v14i3.43842.

14 Crisan M. C., Teodora M., Lucian M. *Copper Nanoparticles: Synthesis and Characterization, Physiology, Toxicity and Antimicrobial Applications // Appl Sci*. 2022. Vol. 12. P. 141. doi: 10.3390/app12010141.

15 Mali S. H., Dhaka A., Sharma S. et al. *Review on biogenic synthesis of copper nanoparticles and its potential applications // Inorg Chem Commun*. 2023. Vol. 149. P. 110448. doi: 10.1016/j.inoche.2023.110448.

16 Chaerun S. K., Prabowo B. A., Winarko R. *Bionanotechnology: The formation of copper nanoparticles assisted by biological agents and their applications as antimicrobial and antiviral agents // Environ Nanotechnol Monit Manag*. 2022. Vol. 18. P. 100703. doi: 10.1016/j.enmm.2022.100703.

17 Longano D., Ditaranto N., Sabbatini L. et al. *Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper Nanomaterials // Nano-Antimicrobials*. 2011. P. 85–117. doi: 10.1007/978-3-642-24428-5_3.

18 Wu S., Rajeshkumar S., Madasamy M. et al. *Green synthesis of copper nanoparticles using Cissus vitifolia and its antioxidant and antibacterial activity against urinary tract infection pathogens // Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2020. Vol. 48(1). P. 1153-1158. doi: 10.1080/21691401.2020.1817053.

19 Tahvilian R., Zangeneh M. M., Falahi H. et al. *Green synthesis and chemical characterization of copper nanoparticles using Allium saralicum leaves and assessment of their cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial, and cutaneous wound healing properties // Appl Organometal Chem*. 2019. Vol. 33. P. e5234. doi: 10.1002/aoc.5234.

20 Zhao H., Su H., Ahmeda A. et al. Biosynthesis of copper nanoparticles using *Allium eriophyllum* Boiss leaf aqueous extract; characterization and analysis of their antimicrobial and cutaneous wound-healing potentials // *Appl Organomet Chem*. 2022. Vol. 36(12). P. e5587. doi: 10.1002/aoc.5587.

21 Slavin Y. N., Asnis J., Häfeli U. O. et al. Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity // *J. Nanobiotechnol*. 2017. Vol. 15. P. 65. doi: 10.1186/s12951-017-0308-z.

22 Letchumanan D., Sok S. P. M., Ibrahim S. et al. Plant-Based Biosynthesis of Copper/Copper Oxide Nanoparticles: An Update on Their Applications in Biomedicine, Mechanisms, and Toxicity // *Biomolecules*. 2021. Vol. 11(4). P. 564. doi: 10.3390/biom11040564.

23 Ingle A. P., Duran N., Rai M. Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review // *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014. Vol. 98(3). P. 1001–1009. doi: 10.1007/s00253-013-5422-8.

24 Fujimori Y., Sato T., Hayata T. et al. Novel antiviral characteristics of nanosized copper(I) iodide particles showing inactivation activity against 2009 pandemic H1N1 influenza virus // *Appl Environ Microbiol*. 2012. Vol. 78(4). P. 951–955. doi: 10.1128/AEM.06284-11.

25 Khan S. A., Noreen F., Kanwal S. et al. Green synthesis of ZnO and Cu-doped ZnO nanoparticles from leaf extracts of *Abutilon indicum*, *Clerodendrum infortunatum*, *Clerodendrum inerme* and investigation of their biological and photocatalytic activities // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018. Vol. 82. P. 46-59. doi: 10.1016/j.msec.2017.08.071.

26 Valodkar M., Jadeja R. N., Thounaojam M. C. et al. Biocompatible synthesis of peptide capped copper nanoparticles and their biological effect on tumor cells // *Mater Chem Phys* 2011. Vol. 128. P. 83–89. doi: 10.1016/j.matchemphys.2011.02.039.

27 Valodkar M., Nagar P. S., Jadeja R. N. et al. Euphorbiaceae latex induced green synthesis of non-cytotoxic metallic nanoparticle solutions: a rational approach to antimicrobial applications. *Colloids Surf A*. 2011. Vol. 384. P. 337–344. doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.04.015.

28 Saranya R., Ali M. M. Synthesis of colloidal copper nanoparticles and its cytotoxicity effect on MCF-7 breast cancer cell lines // *J Chem Pharm Sci.* 2017. Vol. 974. P. 1–5. url: <http://naaccr3.mkce.ac.in/3.7.1.4.770.pdf>.

29 Harne S., Sharma A., Dhaygude M. et al. Novel route for rapid biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of *Calotropis procera* L. latex and their cytotoxicity on tumor cells // *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2012. Vol. 15(95). P. 284-288. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.03.005.

30 Skalickova S., Baron M., Socher J. Nanoparticles Biosynthesized by Yeast: A Review of their application // *Kvasny Prum.* 2017. Vol. 63(6). P. 290-292. doi: 10.18832/kp201727.

31 Hassanien R., Husein D. Z., Al-Hakkani M. F. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous *Tilia* extract: antimicrobial and anticancer activities // *Heliyon.* 2018. Vol. 4(12). P. e01077. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01077.

32 Chakraborty R., Basu T. Metallic copper nanoparticles induce apoptosis in a human skin melanoma A-375 cell line // *Nanotechnology.* 2017. Vol. 28(10). P. 105101. doi: 10.1088/1361-6528/aa57b0.

33 Azizi M., Ghourchian H., Yazdian F. et al. Cytotoxic effect of albumin coated copper nanoparticle on human breast cancer cells of MDA-MB 231 // *PLoS One.* 2017. Vol. 12(11). P. e0188639. doi: 10.1371/journal.pone.0188639.

34 Chung I. M., Abdul Rahuman A., Marimuthu S. et al. Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities // *Exp Ther Med.* 2017. Vol. 14(1). P. 18-24. doi: 10.3892/etm.2017.4466.

35 Jamdade D. A., Rajpali D., Joshi K. A. et al. *Gnidia glauca*- and *Plumbago zeylanica*-Mediated Synthesis of Novel Copper Nanoparticles as Promising Antidiabetic Agents // *Adv Pharmacol Sci.* 2019. Vol. 2019. P. 9080279. doi: 10.1155/2019/9080279.

36 Mahmoudvand H., Khaksarian M., Ebrahimi K. et al. Antinociceptive effects of green synthesized copper nanoparticles alone or in combination with morphine // *Ann Med Surg (Lond).* 2020. Vol. 51. P. 31-36. doi: 10.1016/j.amsu.2019.12.006.

37 Zangeneh M. M., Ghaneialvar H., Akbaribazm M. et al. Novel synthesis of *Falcaria vulgaris* leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity,

antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under in vitro and in vivo condition // *J Photochem Photobiol B*. 2019. Vol. 197. P. 111556. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111556.

38 Harishchandra B. D., Pappuswamy M., PU A. et al. Copper Nanoparticles: A Review on Synthesis, Characterization and Applications / *apjcb*. 2020. Vol. 5(4). P. 201-10. url: <http://waocp.com/journal/index.php/apjcb/article/view/500>.

39 Jamkhande P. G., Ghule N. W., Bamer A. H. et al. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications // *J. Drug Deliv. Sci. Technol*. 2019. Vol. 53. P. 101174. doi: 10.1016/j.jddst.2019.101174.

40 Vaid P., Raizada P., Saini A. K. et al. Biogenic silver, gold and copper nanoparticles - A sustainable green chemistry approach for cancer therapy // *Sustain Chem Pharm*. 2020 Vol. 16. P. 100247. doi: 10.1016/j.scp.2020.100247.

41 Moniri Javadhesari S., Alipour S., Mohammadnejad S. et al. Antibacterial activity of ultra-small copper oxide (II) nanoparticles synthesized by mechanochemical processing against *S. aureus* and *E. coli* // *Mater Sci Eng C*. 2019. Vol. 105. P. 110011. doi: 10.1016/j.msec.2019.110011.

42 Baláž M., Tešínský M., Marquardt J. et al. Synthesis of copper nanoparticles from refractory sulfides using a semi-industrial mechanochemical approach // *Adv Powder Technol*. 2020. Vol. 31(2). P. 782–791. doi: 10.1016/j.apt.2019.11.032.

43 Tiwari P. K., Shweta, Singh A. K. et al. Liquid assisted pulsed laser ablation synthesized copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) and their differential impact on rice seedlings // *Ecotoxicol Environ Saf*. 2019. Vol. 176. P. 321-329. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.120.

44 Thakkar K. N., Mhatre S. S., Parikh R. Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles // *Nanomed Nanotechnol Biol Med*. 2010. Vol. 6(2). P. 257-262. doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002.

45 Aguilar M. S., Esparza R., Rosas G. Synthesis of Cu nanoparticles by chemical reduction method // *Trans Nonferrous Met Soc China*. 2019. Vol. 29(7). P. 1510-1515. doi: 10.1016/S1003-6326(19)65058-2.

46 Dobrovolný K., Ulbrich P., Švecová M. et al. Affordable, Green, and Facile Synthesis of Copper Nanoparticles Stabilized by Environmentally Friendly Surfactants // *Metall Mater Trans B*. 2015;. Vol. 46(6). P. 2529-2533. doi: 10.1007/s11663-015-0424-9.

47 Chiang C., Aroh K., Ehrman S. H. Copper oxide nanoparticle made by flame spray pyrolysis for photoelectrochemical water splitting – Part I. CuO nanoparticle preparation // *Int J Hydrog Energy*. 2012. Vol. 37(6). P. 4871-4879. doi: 10.1016/j.ijhydene.2011.10.033.

48 Chiang C., Aroh K., Franson N. et al. Copper oxide nanoparticle made by flame spray pyrolysis for photoelectrochemical water splitting – Part II. Photoelectrochemical study // *Int J Hydrog Energy*. 2011. Vol. 36(24). P. 15519-15526. doi: 10.1016/j.ijhydene.2011.09.041.

49 Das P. E., Abu-Yousef I. A., Majdalawieh A. F. et al. Green Synthesis of Encapsulated Copper Nanoparticles Using a Hydroalcoholic Extract of *Moringa oleifera* Leaves and Assessment of Their Antioxidant and Antimicrobial Activities // *Molecules*. 2020. Vol. 25(3). P. 555. doi: 10.3390/molecules25030555.

50 Hasheminya S.-M., Dehghannya J. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Eryngium caucasicum* Trautv aqueous extracts and its antioxidant and antimicrobial properties // *Part Sci Technol*. 2020. Vol. 38. P. 1019–1026. doi: 10.1080/02726351.2019.1658664.

51 Wang Z., Fang H., Wang S. Benzoic Acid Interactions Affect Aquatic Properties and Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles // *Bull Environ Contam Toxicol*. 2016. Vol. 97(2). P. 159-165. doi: 10.1007/s00128-016-1804-9.

52 Zhang X. W., Shen W., Wang J. et al. Biogenic synthesis of gold nanoparticles by yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for catalytic reduction of nitrophenols // *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp Colloid Surface Asp*. 2016. Vol. 497. P. 280-285. doi: 10.1016/J.COLSURFA.2016.02.033.

53 Moghaddam A. B. Namvar F., Moniri M. et al. Nanoparticles Biosynthesized by Fungi and Yeast: A Review of Their Preparation, Properties, and Medical Applications // *Molecules*. 2015. Vol. 20(9). P. 16540–16565. doi: 10.3390/molecules200916540.

54 Eugenio M., Müller N., Almeida-Paes R. et al. Yeast-derived biosynthesis of silver/silver chloride nanoparticles and their antiproliferative activity against bacteria // *Rsc Advances*. 2016. Vol. 6(12). P. 9893-9904. doi: 10.1039/C5RA22727E.

55 Kowshik M., Ashtaputre S., Kharrazi S. et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3 // *Nanotechnology*. 2002. Vol. 14(1). P. 95-100. doi : 10.1088/0957-4484/14/1/321.

56 de Nascimento J. M., de Oliveira J. D., de Lima Rizzo A. C. et al. Biogenic Production of Copper Nanoparticles by *Saccharomyces cerevisiae* // *J Bionosci*. 2018. Vol. 12(5). P. 689-693(5). doi: 10.1166/jbns.2018.1583.

57 Athawale A. A., Katre P. P., Kumar M., Majumdar M. B. Synthesis of CTAB–IPA reduced copper nanoparticles // *Materials chemistry and physics*, 2015. Vol. 91(2-3), P. 507-512.

58 Kanninen P., Johans C., Merta J., Kontturi K. Influence of ligand structure on the stability and oxidation of copper nanoparticles // *Journal of colloid and interface science*, 2008. Vol. 318(1), P. 88-95.

59 Hamad, M. T. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungi and their antibacterial activity. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2018. doi:10.1007/s13762-018-1814-8

60 Sawtarie, N., Cai, Y., & Lapitsky, Y. Preparation of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles with highly tunable size and low polydispersity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017. Vol.157, 110–117. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.05.055

61 Fan X., Yahia L., Sacher E. Antimicrobial Properties of the Ag, Cu Nanoparticle // *System. Biology*, 2021. Vol. 10(2), P 137. doi: 10.3390/biology10020137.

62 Ghasemian E., Naghoni A., Rahvar H. et al. Evaluating the Effect of Copper Nanoparticles in Inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* Biofilm Formation // *Jundishapur journal of microbiology*, 2015. Vol. 8(5), P e17430. doi: 10.5812/jjm.8(5)2015.17430.

63 Hashemifard Dehkordi P., Moshtaghi H., Abbasvali M. Effects of magnesium oxide and copper oxide nanoparticles on biofilm formation of *Escherichia coli* and

Listeria monocytogenes // Nanotechnology, 2023. Vol. 34(15). 10.1088/1361-6528/acab6f. doi: 10.1088/1361-6528/acab6f.

64 Seyyed Hajizadeh Y., Babapour E., Harzandi N. et al. The Effect of Cytotoxicity and Antimicrobial of Synthesized CuO NPs from Propolis on HEK-293 Cells and *Lactobacillus acidophilus* // Evidence-based complementary and alternative medicine, 2023. P. eCAM. 1430839. doi: 10.1155/2023/1430839

ДОДАТОК А



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ



НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

учасника

№277

Цим засвідчується, що

Лозко С. М.

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

**«ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ»**

(тривалість - 8 год)

24 березня 2023 р., м. Харків, Україна

В.о. ректора НФаУ,
д. фарм. н., проф.

Проректор з НГР,
д. фарм. н., проф.

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



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Наталія ХОХЛЕНКОВА

ДОДАТОК Б



III Міжнародна науково-практична
інтернет-конференція

**ПРОБЛЕМИ
ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ
БІОТЕХНОЛОГІЇ**

24 березня 2023 р.
м. Харків, Україна

вмісту в рослинах роду різних біологічно-активних речовин, зокрема, антрахінону гіперіцину та флавоноїду гіперозиду; вивчення впливу на їх вміст різних чинників навколишнього середовища, особливостей мікроклонального розмноження та калусоутворення видів роду тощо. Варто зазначити, що в колекції культивуються види звіробою, для котрих ще не було досліджено особливості культивування *in vitro*, а також наявність і вміст однієї з основних біологічно-активних речовин звіробою – гіперіцину, зокрема у *H. frondosum* Michx. та *H. coadunatum* C.Sm. ex Link. Тому співробітниками Інституту проводиться робота по вивченню вмісту цього антрахінону в асептичних рослинах та оцінка їх перспективності для застосування як сировини, збагаченої на гіперіцин та інші біологічно-активні компоненти.

**Біогенний синтез наночасток міді за допомогою *Saccharomyces cerevisiae*
та дослідження їх біологічних властивостей**

Лозко С.М., Шидловська О.А.

Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна
sofiamikolajivna@gmail.com

В останнє десятиліття наночастки металів викликали значний інтерес у галузі біотехнології через їхні унікальні фізико-хімічні властивості та потенційне використання в широкому діапазоні галузей науки. Отримання наночасток традиційно здійснюють за допомогою хімічних та фізичних методів, які мають суттєві недоліки, а саме – використання токсичних речовин та велику енерговитратність.

Сучасний етап отримання металевих наночасток – це біогенний синтез металів з використанням мікроорганізмів (бактерій, водоростей, грибів, вірусів): екологічно чиста, життєздатна науково обґрунтована стратегія, яка стала найкращою альтернативою хімічним та фізичним підходам.

З культурами мікроорганізмів легко працювати, так як обробка біомаси є значно простішою в порівнянні з фізичними та хімічними методами виділення наночасток.

У наукових та науково-популярних виданнях описані біологічні характеристики мікроорганізмів, що здатні до біосинтезу металів у формі локалізованих наночастинок, що можуть утворюватись як внутрішньо, так і позаклітинно. Однак, позаклітинний синтез більш простий і не потребує додаткової стадії очищення отриманих сполук.

Інтерес до розробки методів синтезу та вивчення властивостей наночастинок міді обумовлений її специфічними фізичними та хімічними властивостями, які застосовуються в каталізі, оптичних, сенсорних та електронних пристроях. Крім того, мідь має бактерицидні та антимікробні властивості, що дозволяє використовувати матеріали на її основі в медицині.

Для біогенного синтезу наночастинок міді перспективним є використання дріжджів виду *Saccharomyces cerevisiae*, які менш чутливі до дії токсичних наночастинок та здатні до відновлення іонів металів та стабілізації колоїдних частинок у живильному середовищі.

Клітини *Saccharomyces cerevisiae* діють як один із найважливіших агентів для біоремедіації важких металів. Дріжджі мають здатність адаптуватися до екстремальних умов навколишнього середовища, таких як різка зміна рН поживного середовища, висока температура, концентровані органічні та неорганічні забруднення. Дріжджі мають розвинені механізми детоксикації, такі як мобілізація, іммобілізація або трансформація металів.

Ці біоремедіаційні властивості *Saccharomyces cerevisiae* використовують для біогенного синтезу наночастинок міді шляхом біотрансформації – процесу перетворення хімічної речовини в результаті відповідної хімічної реакції.

Аналіз УФ-видимої спектроскопії, трансмісійної електронної мікроскопії в поєднанні з енергодисперсійною рентгенівською флуоресценцією (EDS) і динамічним розсіювання світла (DLS) виявили, що біомаса *Saccharomyces cerevisiae* здатна біосинтезувати наночастки міді позаклітинно з великою кількістю (більше 70% частинок) розміром 10–12 нм.

Сферичні наночастинки міді розміром від 4 до 18 нм показують інгібуєчий ефект проти *Staphylococcus aureus* (99,6%) та *Pseudomonas*

aeruginosa (100%). Таким чином, наночастки металевої міді мають комерційний потенціал для використання в області охорони здоров'я, для запобігання псуванню харчових продуктів та в сільськогосподарських цілях.

Економічно ефективний та екологічно чистий біогенний синтез наночасток міді за допомогою культур *Saccharomyces cerevisiae* робить їх особливо привабливими для різних новітніх галузей науки: від нанотехнологій до біомедицини.

**Аллогенна кордова кров активує систему
нетрипсиноподібна протеїназа- α -2-макроглобулін
у тканинах старих щурів**

¹ Ломако В.В., ² Самохіна Л.М.

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

²ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України», м. Харків, Україна

victoria0regia@gmail.com

За старіння відбувається поступова деградація частин і систем організму та характерні функціональні зміни на молекулярному і клітинному рівнях. Передчасне старіння супроводжується важкими хронічними захворюваннями та відсутністю розумової та фізичної активності. Відомо, що кордова кров (КК) широко використовується у відновлювальній медицині, оскільки містить велику кількість імуномодуючих і стовбурових клітин, які володіють потенціалом зменшувати наслідки ураження головного мозку, в першу чергу за рахунок протизапальних механізмів і вивільнення нейротрофічних факторів або факторів росту для стимуляції ендogenous нейрогенеза. Протеїнази, активність яких регулюється специфічними і неспецифічними інгібіторами, зокрема α -2-макроглобуліном (α -2-МГ), беруть участь у реалізації багатьох клітинних процесів у організмі. Наприклад, нетрипсиноподібні протеїнази (НТПП), такі як хімаза, тонін і калікреїн гК9, корегують вазоконстрикторні/вазодилаторні ефекти. Розрахунок протеолітичних коефіцієнтів (ПК) дозволяє оцінити функціональну рівновагу в системі протеїназа-інгібітор протеїназ у тканинах

Біогенний синтез наночасток міді за допомогою <i>Saccharomyces cerevisiae</i> та дослідження їх біологічних властивостей	
Лозко С.М., Шидловська О.А.	249
Аллогенна кордова кров активує систему нетрипсиноподібна протеїназа-α-2-макроглобулін у тканинах старих щурів	
Ломако В.В., Самохіна Л.М.	251
Аналіз асортименту дерматологічних лікарських засобів на фармацевтичному ринку України	
Лотфі Юнес, Зуйкіна Є.В.	253
Адгезія мікроорганізмів на поверхні клітин кордової крові після ліофілізації	
Луценко О.Д., Гольцев А.М., Останков М.В., Сокіл Л.В., Чернишенко Л.Г., Гриша І.Г., Степанюк Л.В.	254
Вивчення окислювальної стабільності олійних екстрактів з різною пряно-ароматичною сировиною	
Мазаєва В.С., Ситнік Н.С., Федякіна З.П.	256
Фармакологічні ефекти хмелю в медичній практиці в сучасних реаліях та перспективі	
Макієнко Н.В., Мінухін В.В., Казмірчук В.В., Торяник І.І., Іваннік В.Ю., Довга І.М.	258
Оцінка факторів, що впливають на формування іміджу аптечної установи	
Малий В.В., Нурі Хажар	260
Використання супернатанту дріжджів для біосинтезу наночастинок срібла	
Марченко В.В., Скроцька О.І.	261
Розробка крем-паст на основі ядра з насіння соняшнику зі зниженою кількістю жирів	
Матвеева Т.В., Папченко В.Ю., Федякіна З.П.	262
Цукрозамінники у харчовій промисловості та їх вплив на здоров'я людини	
Матківська А.О., Конечна Р.Т.	264
Перспективи створення дерматологічного гелю для лікування розацеа	
Мацко А.О., Криклива І.О.	266
Дослідження з ідентифікації біологічно активних речовин у емульсійній мазі для лікування хейліту	
Мацюк О.Д., Ковальова Т.М., Вишневська Л.І.	267
Отримання активних рекомбінантних ферментів Таq-полімерази та зворотної транскриптази MMLV	

ДОДАТОК В

Grail of
Science
Periodical scientific journal



№ 32 October
2023

GS 131023-153
dated 13.10.2023



Certificate of state registration of the print media KB24638-14578П issued by the Ministry of Justice of Ukraine on 04.11.2020

DOI 10.36074/grail-of-science.13.10.2023



CERTIFICATE OF PARTICIPATION AND PUBLICATION

Certificate provides at least a 0,3 ECTS credits to awarded participants for being involved.

Sofiia Lozko

participated in the VI Correspondence International Scientific and Practical Conference
GLOBALIZATION OF SCIENTIFIC KNOWLEDGE: INTERNATIONAL
COOPERATION AND INTEGRATION OF SCIENCES

held on October 13th, 2023 by | NGO European Scientific Platform (Vinnytsia, Ukraine)
LLC International Centre Corporate Management (Vienna, Austria)

and published scientific paper

**БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ БІОСИНТЕЗУ
НАНОЧАСТОК МІДІ**

Euro Science Certificate № 22479 dated 10.09.2023

ISSN 2710-3056

UKRISTEI Certificate № 300 dated 16.06.2022

Head of the European Scientific Platform
Chairman of the Organizing committee
HOLDENBLAT MARIIA

Head of Community Outreach
LLC «International Centre Corporate Management»
RACHAEL APARO



ДОДАТОК Д

ISSN 2710-3056

Grail of
Science

Periodical scientific journal

№ 32

October
2023**The issue of journal contains**Proceedings of the VI Correspondence
International Scientific and Practical Conference**GLOBALIZATION OF SCIENTIFIC KNOWLEDGE:
INTERNATIONAL COOPERATION
AND INTEGRATION OF SCIENCES**held on October 13th, 2023 byNGO European Scientific Platform (Vinnytsia, Ukraine)
LLC International Centre Corporate Management (Vienna, Austria)**OUCI**
Open Ukrainian Citation IndexEuro Science Certificate № 22479 dated 10.09.2023
UKRISTEI (Ukraine) Certificate № 300 dated 16.06.2023INDEX  COPERNICUS
INTERNATIONAL

МЕХАНІЗМИ ЗБЕРІГАННЯ ІНФОРМАЦІЇ ПРО БЕНЕФІЦІАРНОГО ВЛАСНИКА Косенкова А.Г., Науковий керівник: Гетманцев Д.О.	82
---	----

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ

КОМПЕНСАЦІЯ МОРАЛЬНОЇ ШКОДИ ЗАВДАНОЇ МАЛОЛІТНИМИ ТА НЕПОВНОЛІТНИМИ ОСОБАМИ: ПИТАННЯ ГАРМОНІЗАЦІЇ ЗАКОНОДАВСТВА УКРАЇНИ Глуценко І.В.	89
ОСОБЛИВОСТІ ПРЕДМЕТУ ДЕКЛАРУВАННЯ НЕДОСТОВІРНОЇ ІНФОРМАЦІЇ Агеєнко А.В.	91

СЕКЦІЯ VII. ВОЄННІ НАУКИ, НАЦІОНАЛЬНА БЕЗПЕКА ТА БЕЗПЕКА ДЕРЖАВНОГО КОРДОНУ

СТАТТІ

МЕТОДИКА ОЦІНЮВАННЯ МАНЕВРЕНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ ВІЙСЬКОВИХ ФОРМУВАНЬ АРТИЛЕРІЇ ПІД ЧАС ПЛАНУВАННЯ ВОГНЕВОЇ ПІДТРИМКИ У БОЮ Ріман О.О., Шевцов Р.В., Лихольот О.В.	93
--	----

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ КОНЦЕПЦІЇ МАКСИМАЛЬНОЇ БЕЗПЕКИ ЯДЕРНОГО ОБ'ЄКТУ ПРИ МІНІМУМІ ВИТРАТ Науково-дослідна група: Азаренко О.В., Гвоздь В.М., Гончаренко Ю.Ю., Дівізінюк М.М., Фаррахов О.В., Сівоха І.М.	101
---	-----

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ

ВІЙНА ТА ЗБРОЙНІ КОНФЛІКТИ СУЧАСНОСТІ Мельник О.М.	110
ПІДХОДИ ДО МОДЕЛЮВАННЯ СИСТЕМИ ВІДНОВЛЕННЯ ОЗБРОЄННЯ ТА ВІЙСЬКОВОЇ ТЕХНІКИ ПІД ЧАС ВЕДЕННЯ БОЙОВИХ ДІЙ Рахманій О.М., Науковий керівник: Майстренко О.В.	113

СЕКЦІЯ VIII. БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

СТАТТІ

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК МІДІ Лозко С.М., Науковий керівник: Шидловська О.А.	117
---	-----


DOI 10.36074/grail-of-science.13.10.2023.021

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТОК МІДІ

Лозко Софія Миколаївна

здобувач вищої освіти факультету хімічних та біофармацевтичних технологій

Київський національний університет технологій та дизайну, Україна

Науковий керівник: Шидловська Ольга Андріївна 

канд. біол. наук, доцент, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра
Київський національний університет технологій та дизайну, Україна

Анотація. Мідь має унікальну роль для здоров'я людини та різноспрямовану біологічну дію. Цей огляд присвячений біологічним властивостям (антибактеріальній, протигрибковій, противірусній, антиоксидантній, антиканцерогенній, антидіабетичній, антиноцицептивній та ранозагоювальній дії) і підходам до отримання наночастинок міді. В огляді дано характеристику методам синтезу наночастинок міді: фізико-хімічним та методам «зеленого» синтезу, акцентуючи на екологічній чистоті та безпеці останніх. Зокрема, обговорюється потенціал дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* для біосинтезу наночастинок міді з акцентом на переваги цього мікроорганізму для виробництва в контрольованих лабораторних умовах. Хоча синтез на основі дріжджів є перспективним, необхідні подальші дослідження для з'ясування конкретних механізмів, оптимізації умов і повної оцінки біологічних властивостей отримуваних наночастинок міді. Цей огляд дає інформацію про перспективи досліджень у напрямку розробки біосинтезу наночастинок міді.

Ключові слова: нанотехнології, наночастки, мідь, активність, біосинтез, дріжджі, *Saccharomyces cerevisiae*.

Вступ. Нанотехнології – це галузь науки, яка інтенсивно розвивається. Ряд досліджень в галузі нанотехнологій спрямовані на створення нових наноматеріалів, таких як наночастки металів [5, 25]. Застосування наночастинок різноманітне і включає, зокрема, виробництво хімічних каталізаторів, ліків, квантових точок, одягу, очисних засобів тощо [39, 27, 37].

Одним із перспективних напрямків для досліджень є розробка технології синтезу наночастинок міді, яка є відносно недорогим металом і водночас має широке застосування в промисловості та медицині [2]. Мідь належить до групи необхідних для здоров'я людини хімічних елементів. Мідь є важливим компонентом і каталізатором багатьох ферментів і білків в організмі, а також входить до складу волосся та еластичної тканини, що міститься в шкірі, кістках та інших органах тіла [17]. У зв'язку з цим мідь може впливати на здоров'я

людини за допомогою багатьох механізмів. Мідь-вмісні біоматеріали володіють унікальними властивостями для захисту серцево-судинної системи, для сприяння загоєнню ран та переломів кісток і розробки антибактеріальних препаратів [49].

Хоча мідь є одним із найбільш широко використовуваних матеріалів у різних сферах застосування, її синтез у нанорозмірах є складним через високу схильність цього елемента до окислення [36]. Мідні наночастки на сьогодні можуть бути синтезовані як фізико-хімічними методами, так і шляхом біосинтезу [2]. Останній підхід привертає увагу через те, що він є екологічно безпечним. У зв'язку з вищенаведеним практичний інтерес представляє огляд останніх досліджень у напрямках вивчення біологічних властивостей наночасток міді та існуючих підходів для їх біосинтезу.

Біологічна активність наночасток міді та сфери їх застосування. Наночастки міді мають широке застосування завдяки своїм відновлювальним властивостям, нетоксичності, а також володіють широким спектром біологічних властивостей. Зокрема, наночастки міді можуть діяти як антиоксиданти, мати антиканцерогенний, антибактеріальний, протигрибковий, протидіабетичний, протиноцицептивний та ранозагоювальний ефекти [38, 11, 33, 6].

Антибактеріальна активність. Наночастки міді, отримані з різних джерел, показують високу активність проти різних патогенів: грамположитивних бактерій (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) та грамнегативних бактерій (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter*). Активність наночасток міді демонструє результати чіткої зони інгібування порівняно з деякими антибіотиками (хлорамфенікол, плантоміцин, стрептоміцин, ампіцилін, цефепіму гідрохлорид моногідрат L-аргінін, офлоксин) [31].

Для досягнення антибактеріального ефекту наночастки міді проникають у середину клітин шляхом взаємодії іонів міді (II) з мембраною бактеріальної клітини [30]. Багато наночасток міді рослинного походження з антибактеріальною дією також мають антиоксидантні властивості [38]. Подібним чином, наночастки міді, що продукуються *C. vitiginea*, мають антиоксидантну активність, яка допомагає обмежити ріст бактерій, які викликають інфекції сечовивідних шляхів [51]. Наночастки міді з екстракту *Allium sativum* і екстракту листа *Allium eriophyllum*, з іншого боку, мають антибактеріальні властивості, які можуть бути наслідком їхніх антиоксидантних властивостей [43, 54].

Наночастки можуть зменшити або зупинити еволюцію стійких бактерій, оскільки наночастки націлені на декілька біомолекул одночасно [11]. Грамнегативні бактерії мають додаткову зовнішню мембрану вздовж тонкого пептидогліканового шару клітинної стінки, тоді як грамположитивні бактерії представляють лише більш товстий пептидоглікановий шар клітинної стінки. Грамположитивні бактерії мають вищу стійкість до механізму дії наночасток, що можливо пов'язано з відмінностями в будові клітинних стінок, які впливають на стійкість бактерій. Грамположитивні бактерії мають клітинну стінку, яка діє як захисний шар, що робить взаємодію між наночастками та клітинами цих бактерій незначною. Додатковий зовнішній шар грамнегативних бактерій

покритий ліпополісахаридом, який має негативний заряд. Іони, які вивільняються наночастками, мають позитивний заряд, надаючи їм високу спорідненість з негативними молекулами, присутніми в клітинній стінці. Ця взаємодія призводить до накопичення та поглинання іонів, що призводить до внутрішньоклітинного пошкодження [11]. Дослідження *Salmonella typhimurium*, грамнегативної бактерії, показали, що клітинна стінка бактерії заповнена мозаїкою аніонних поверхонь [41]. Це сприяє формуванню ділянок з високою концентрацією наночасток, які зв'язуються з клітинною стінкою, що призводить до підвищення токсичності наночасток.

Крім взаємодії наночасток міді з клітинами бактерій, іони міді можуть взаємодіяти з ДНК, інтеркалювати з ланцюгами нуклеїнових кислот і порушувати біохімічні процеси їх перетворень. Іони міді також можуть утворювати гідроксильні радикали, які пошкоджують клітинні білки. Варто зазначити, що бактерії, які звикли до впливу важких металів, виявляють більш високу стійкість до металевих наночасток [11].

Таким чином, антибактеріальна дія наночасток міді проявляється як проти грампозитивних, так і проти грамнегативних бактерій. Проте, вища антибактеріальна дія проявляється проти грамнегативних бактерій, що зумовлено взаємодією наночасток міді з ліпополісахаридним шаром. Також, механізм реалізації антибактеріальної дії наночасток міді пов'язаний із впливом на ДНК та продукцією вільних радикалів, що викликають окисний стрес в клітинах бактерій.

Противіробкова активність. Протягом багатьох років мідь використовувалася як матеріал у процесі виробництва пестицидів, фунгіцидів і добрив [11]. Враховуючи останні технологічні розробки, наночастки міді можна використовувати як ефективний фунгіцид. Дослідження показали, що наночастки міді можна застосовувати як фунгіцид проти широкого спектру збудників рослинних захворювань, таких як *Fusarium sp.*, *Phoma destructiva*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternate*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum* і *Rhizoctonia solani* [38, 11].

Наприклад, наночастки міді, синтезовані методом, що передбачає хімічне відновлення іонів міді аскорбіновою кислотою, виявляють противіробкову активність проти *F. solani*, *Neofusicoccum sp.* і *F. oxysporum*. Противіробкова активність включає пошкодження клітинних мембран гриба та внутрішньоклітинну продукцію активних форм кисню. Отже, цей спосіб проведення синтезу дозволяє отримати наночастки міді з високою противіробковою активністю. Таким чином, наночастки міді можуть бути використані для контролю та знешкодження грибів, що загрожують сільськогосподарським та лісовим видам рослин [11, 36].

Для досягнення противіробкового ефекту наночастки міді проникають у середину клітин шляхом взаємодії іонів міді (II) з мембраною грибової клітини [30]. Викликане пошкодження клітинної стінки та накопичення активних форм кисню у *Aspergillus flavus* під дією наночасток міді демонструє противіробкову активність. Крім того, наночастки міді, виготовлені з екстракту *Allium sativum*, мають антиоксидантну дію, що може сприяти їх противіробковим властивостям [54].

Можна зробити висновок, що незалежно від методу отримання наночасток міді, їх антифунгальна активність пов'язана з розвитком стану оксидативного стресу в клітинах та пошкодження їх мембран.

Противірусна активність. Кілька досліджень вказують на багатообіцяючу противірусну активність наночасток міді [22]. Так, було вивчено противірусний потенціал частинок йодиду міді із середнім розміром 160 нм проти вірусу свинячого грипу (пандемія H1N1 у 2009 році) [16]. Повідомляється про дозозалежну активність титру вірусу, а також, що 50% ефективна концентрація становить приблизно 17 г/мл протягом 60-хвилинного часу впливу [16]. Подальший аналіз показав, що вірус неактивний через те, що вірусні білки – гемаглютинін і нейрамінідаза – розщеплюються частинками йодиду міді. Наночастки міді, таким чином, можна використовувати для захисту від деяких вірусів і навіть для виробництва масок для обличчя, кухонних ганчірок або захисних фільтрів [11].

Звичайно, що дослідження антивірусного потенціалу наночасток міді може бути значно доповнене та розширене, оскільки механізм їх антивірусної дії розкритий лише на моделі вірусу грипу. Можливо, з використанням інших моделей вдасться розкрити інші можливі механізми антивірусної дії наночасток міді.

Антиоксидантний ефект наночасток міді. Антиоксидантна дія наночасток міді полягає у здатності біологічної сполуки пригнічувати реакцію окислення ліпідів і підтримувати функцію і структуру клітин шляхом руйнування вільних радикалів [38]. Наночастки міді, отримані з різних рослинних екстрактів, показали високу активність знешкодження вільних радикалів. Наночастки міді, отримані з екстракту листа *Abutilon indicum*, *Clerodendrum infortunatum* і *Clerodendrum inerme*, показали кращу антиоксидантну активність [28].

Антиоксидантні властивості наночасток міді мають перспективи для використання в протипухлинній терапії, лікуванні ранових поверхонь та ранозагоєнні.

Антиканцерогенний ефект. Індукція апоптозу та інгібування проліферації пухлинних клітин є підходами, які застосовуються в лікуванні раку. Протиракові засоби виявляють високу токсичність для пухлинної клітини, а також для нормальних клітин організму, де розвинувся рак [38]. Колоїдні наночастки міді, отримані з різних джерел, виявляють протиракову активність при раку грудей, шийки матки, товстої кишки, епітелію, печінки, легенів і шкіри [2].

Встановлено, що наночастки міді є токсичними для клітинної лінії карциноми легенів людини (A549), гепатоми печінки людини (HepG2), яєчників китайського хом'яка (CHO), остеосаркоми людини (Saos) і клітин ембріональних фібробластів миші (3T3L1). дозозалежним чином [47, 48]. Показано [48], що наночастки міді блоковані нетоксичним водним екстрактом латексу можна безпосередньо використовувати для введення/доставки *in vivo* наночасток для терапії раку.

Було вивчено [40] цитотоксичний ефект наночасток міді на клітинній лінії раку молочної залози MCF-7 і виявлено, що зразок із концентрацією наночасток міді 10 мкг/мл не був достатньо активним. Але, значне зменшення кількості ракових клітин та життєздатність у 20% спостерігалися при концентрації

200 мкг/мл. IC_{50} становила 250 мкг/мл наночасток міді. В іншому дослідженні [19], повідомляється про відмінну життєздатність проти клітин HeLa, A549 і HNK21 навіть при концентрації наночасток міді 120 мкМ.

Протипухлинні дослідження продемонстрували *in vitro* цитотоксичність наночасток міді проти тестованих клітин раку товстої кишки людини Caco-2, клітин раку печінки людини HepG2 і клітин раку молочної залози людини Mcf-7 [42].

Що стосується раку товстої кишки людини Caco2, раку печінки HepG2 і раку молочної залози Mcf-7, дослідження показало, що IC_{50} для наночасток міді становила відповідно 11,21 мкг/мл, 19,88 мкг/мл і 12,21 мкг/мл. Надані результати дають багатообіцяючі прогнози використання наночасток міді як протипухлинних засобів для деяких видів раку людини в найближчому майбутньому [21].

Також, показано, що наночастки міді мають цитотоксичну дію на меланому шкіри людини A-375, рак легенів людини A-549 та гліобластому щурів C6-G. Було встановлено, що доза IC_{50} проти клітин A-375, A-549 і C6-G становить 1,71 мкг/мл, 1,81 мкг/мл і 1,88 мкг/мл відповідно [7].

Було виявлено, що наночастки альбуміну міді мають високу токсичність проти клітин раку молочної залози людини MDA-MB 231 порівняно з нормальними клітинами (MCF-10A) та індукцією апоптозу як механізмом загибелі клітин. Такі результати показали, що ці наночастки є хорошим кандидатом для використання в якості хіміотерапевтичного засобу проти інвазивних клітин раку молочної залози [3].

В іншому дослідженні цитотоксичність наночасток проти клітинних ліній HepG2 оцінювалася при 1, 10, 100, 250 і 500 мкг/мл. Було виявлено, що наночастки міді демонструють значення клітинної токсичності 3,0%, 15,5%, 28,5%, 44,5% і 54,5% для того самого порядку концентрації 1, 10, 100, 250 і 500 мкг/мл відповідно [10].

Більшість рослинних екстрактів з наночастками міді індукують апоптоз шляхом утворення активних форм кисню і оксиду азоту. Поглинання синтезованих наночасток міді регулює рівень оксиду азоту в різних лініях ракових клітин. Деякі з екстрактів викликають зупинку клітинного циклу G₂/M і посилення експресії p53, а також інгібують гістондеацетилазу, яка видаляє ацетильну групу на гістонах, утворюючи нетранскрипційну компактну структуру хроматину. Експресія Bax/Bax, Bcl-2, каспази-9 і каспази-7 регулюється при лікуванні наночастками міді. Деякі з екстрактів можуть знижувати рівень різних ферментів і збільшувати експресію генів, що пригнічують пухлину [38, 30].

Таким чином, наночастки міді, синтезовані різними способами, проявили антипухлинну дію проти клітинних ліній раку печінки, легень, яєчників, молочної залози, товстої кишки, шкіри. Такий широкий спектр прояву протипухлинної дії вказує на надзвичайну перспективність наночасток міді в потенційному лікуванні раку, оскільки володіє універсальним для різних типів пухлин механізмом цитотоксичної дії.

Протидіабетичний ефект. α -амілаза та α -глюкозидаза є найбільш чутливими мішенями для профілактики та лікування цукрового діабету 2 типу [38]. Двома найважливішими методами контролю діабету є інгібування

α -амілази та α -глюкозидази, а також поглинання вільних радикалів. Наночастки міді, отримані з екстракту листя *Gnidia glauca* та *Plumbago zeylanica* при аналізі інгібування панкреатичної амілази свиней, показали найбільш багатообіцяюче інгібування, ніж стандартна акарбоза [23]. В іншому дослідженні було проведено аналіз кругового дихроїзму, який виявив природу взаємодії наночасток міді з α -амілазою та α -глюкозидазою свинячої підшлункової залози [23]. Таким чином, наночастки міді як ефективні інгібітори α -амілази та α -глюкозидази можуть бути застосовані в терапії діabetу.

Антиноцицептивний та ранозагоювальний ефекти. Біль являє собою сенсорну та захисну систему, яка попереджає живий організм про небезпеку в навколишньому середовищі та дозволяє йому відповідним чином реагувати [38]. Антиноцицептивний ефект синтезованих наночасток міді з екстракту фруктів *Capparis spinosa* досягається в комбінації з морфіном. Наночасток міді у концентраціях 25, 50 та 75 мг/кг мають потужну антиноцицептивну дозозалежну дію [32].

Шкіра захищає від фізичних пошкоджень, втрати води та шкідливого хімічного вторгнення, а у разі її пошкодження важливим є процес загоєння ран [38]. Було виявлено ранозагоювальну властивість наночасток міді зі значним збільшенням концентрації фіброцитів, що зрештою утворює колаген для відновлення та скорочення рани у дослідженнях *in vivo* на модельних мишах [54]. Загоєння шкірних ран також досліджували *in vivo* шляхом синтезу наночасток міді за допомогою екстрактів *Allium saralicum* [43], *Allium eriophyllum* [54] і *Falcaria vulgaris* [52], що продемонстрували помітну активність у загоєнні ран на шкірі. Мазь з наночастками міді, отримана з вищевказаних екстрактів, здатна збільшувати концентрацію гідроксипроліну, гексозаміну, гексуронової кислоти, а також рівень фіброцитів [38].

Важливо зазначити, що на ряду з ефективною антибактеріальною дією, ефективний антиноцицептивний та ранозагоювальний ефект можуть стати основою розробки альтернативного препарату для лікування ран.

Методи синтезу наночасток міді. Виробництво металевих наночасток повинно здійснюватися за допомогою відповідного методу для отримання певного розміру наночасток для досягнення їх стабілізації. Наночастки міді на сьогодні можуть бути синтезовані за допомогою фізико-хімічних та біологічних (зелений синтез) методів [2].

Фізико-хімічний синтез. Оскільки мідні наноматеріали є затребуваними через їх доступність і низьку вартість порівняно з золотом і сріблом, то для досягнення обсягів великомасштабного виробництва наночасток міді використовуються різні фізичні (механічне подрібнення, лазерна абляція, напilenня) та хімічні методи [2, 18].

Серед методів фізико-хімічного синтезу виділяють дві групи методів: методи «зверху вниз» ("top-down") та методи «знизу догори» ("bottom-up") [2, 18, 24].

У методах «зверху вниз» для синтезу наночасток основним матеріалом є об'ємний матеріал, який катаболізується для зменшення розміру частинок. Хоча ці методи прості у виконанні, але непридатні для отримання однорідних за розміром частинок, і через це можуть впливати на їх хімічні властивості [24, 46].

Механо-хімічний метод синтезу наночастинок вимагає використання попередника міді, тобто солей для розведення та вихідного матеріалу, які подрібнюють у кульовому млині при температурі навколишнього середовища, в результаті чого утворюються наночастки оксиду міді (II), укладені в сольову матрицю, які далі промиваються дистильованою водою в ультразвуковій ванні [35]. Встановлено, що якщо металеве залізо як відновник із прекурсорами халькоїту (Cu_2S) і ковеліту (CuS) подрібнювати в різний час, то це призведе до отримання наночастинок міді з приблизним розміром 16 нм [4]. Відомо, що такий метод, як лазерна абляція міді за допомогою високопотужного імпульсного лазера з енергією 20 мДж, довжиною хвилі 532 нм, шириною імпульсу 4 нс також демонструє ефективний синтез наночастинок оксиду міді [45].

Підхід «знизу вгору» для синтезу наночастинок досягається шляхом збирання атомів, молекул або малих частинок. Цей підхід є більш сприятливим, оскільки він пропонує більшу можливість контролювати розмір, форму та морфологію отриманих наночастинок [2, 44]. Хімічне відновлення іонів міді борогідридом натрію та стабілізація за допомогою полівінілпіролідону з використанням хлориду міді як попередника дає змогу отримати наночастки міді розміром 7 нм [1]. Наночастки міді розміром від 38 до 50 нм можуть бути отримані методом сольвотермічного відновлення з гліцерином (відновник) і різними поверхнево-активними речовинами для стабілізації частинок [14]. Іншим методом є піроліз із розпиленням полум'я, що перетворює аерозоль на пару для отримання дрібних і чистих наночастинок оксиду міді (CuO), розмір яких можна регулювати температурою полум'я, часом перебування та концентрацією рідкого прекурсора [8, 9].

Загалом, фізичний метод синтезу має недоліки в трудомісткості процесу та неможливості отримати наночастки однакового та передбачуваного розміру. Хімічний метод, в даному випадку, є більш привабливим, оскільки дозволяє регулювати кінцевий розмір наночастинок міді. проте потребує використання складних та токсичних стабілізаторів, а також електроенергії. Саме тому, необхідно розглянути альтернативну можливість синтезу наночастинок міді, що є біобезпечною та економічно-вигідною.

«Зелений синтез» наночастинок міді. Альтернативним методом синтезу наночастинок є «зелений синтез» – це впровадження, розробка, проектування хімічних продуктів і процесів з використанням біосистем та мінімізацією утворення супутніх небезпечних для навколишнього середовища речовин [18]. Зелений синтез має кілька переваг порівняно з іншими методами, такі як економічна ефективність, простота, використання менш токсичних матеріалів. Цей метод не вимагає високої енергії, тиску, температури або токсичних хімічних речовин. Методи зеленого синтезу використовують для отримання різних металевих наночастинок через зростаючу потребу в їх біологічних властивостях.

Виробництво наночастинок міді за допомогою «зеленого синтезу» має ряд переваг. Так, використання рослин для біосинтезу має переваги через те, що рослини легкодоступні, безпечні в роботі та мають широку варіабельність метаболітів. За допомогою ІЧ-спектроскопічних досліджень було визначено, що до основних фітохімічних речовин, які відповідають за синтез наночастинок міді у

рослинах, належать терпеноїди та водорозчинні речовини, такі як хінони, флавоноїди та органічні кислоти (процеси відновлення). Повторна таутомеризація відбувається в антрахінонових сполуках, що призводить до утворення наночастинок. Стабільність зелених синтезованих наночастинок підвищується і, таким чином, збільшується швидкість реакції утворення наночастинок шляхом запобігання утворенню агрегатів [12, 20]. Частини рослин, такі як лист, плід, квітка, кора, корінь і стебло, а також солі попередників міді, такі як ацетат міді, нітрат міді, сульфат міді та хлорид міді можуть використовуватися для синтезу. Синтез, опосередкований екстрактами з частин рослин починається зі змішування природних екстрактів з розчином солі міді; при біохімічному відновленні солі спостерігається зміна кольору розчину, що свідчить про синтез наночастинок [38]. Зміна кольору є самими першим та простим методом підтвердження наявності в розчині наночастинок міді.

Для отримання наночастинок міді шляхом «зеленого синтезу» ефективніше використовувати рослинні екстракти, ніж мікроорганізми через підвищену складність збереження клітинних культур. Крім того, це зменшує складний процес підтримки клітинних культур, а також підходить для розробки широкомасштабного синтезу наночастинок. В той же час, синтез наночастинок міді за допомогою мікроорганізмів може мати свої переваги, оскільки на процес синтезу можна впливати змінюючи умови культивування [38].

Мікробіологічний синтез наночастинок – галузь нанобіотехнології, що розвивається, та яка включає певні механізми, за допомогою яких мікроорганізми розвиваються разом із металами, що може призвести до синтезу наночастинок як побічного продукту метаболізму. Оскільки ці мікроорганізми мають тенденцію виробляти ферменти, які відновлюють метали, то це і забезпечує утворення наночастинок [18].

Для біологічного синтезу наночастинок міді використовують різні зелені водорості, бактерії, віруси та гриби [38]. Мікроорганізми є хорошим джерелом для виробництва наночастинок міді через їх метаболізм і легкість росту в лабораторних умовах. Пізніше були розроблені технології з використанням грибів, тому що вони легше піддаються культивуванню в лабораторних умовах порівняно з деякими штамми мікроорганізмів [50]. За допомогою мікробіологічних методів синтезують наночастинки з меншою технологічною швидкістю, ніж при використанні рослин, проте мікробіологічний синтез належить до висококонтрольованих процесів, які можна точно і легко регулювати.

Перспективи біосинтезу наночастинок міді з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Оскільки культивування дріжджів легко контролювати в лабораторних умовах, вони мають швидкий ріст і використовують для росту прості поживні речовини, то біосинтез на основі дріжджів має ряд переваг у масовому виробництві металевих наночастинок.

Найпоширеніший принцип виробництва наночастинок дріжджами можна пояснити наявністю зв'язаних з мембраною (цитозольних) оксидоредуктаз і хінонів [42]. Дріжджі є чутливими до рН, оскільки оксидоредуктази можуть працювати альтернативним чином залежно від значення рН. Підвищений рН у внутрішньому середовищі дріжджів може спричинити активацію редуктаз із

зменшення кількості іонів металу з одночасним утворенням наночастинок. Крім того, генерація стресової відповіді на присутність металів у поживному середовищі може ініціалізувати метаболічний каскад реакцій, що призводить до виробництва фітохелатинсинтази та глутатіону, які відповідають за усунення внутрішнього стресу [42]. Обидві сполуки демонструють унікальні окисно-відновні та нуклеофільні властивості, що призводять до біовідновлення іонів металів, які використовуються для утворення наночастинок, завдяки своїй здатності зв'язувати іони міді, кадмію, цинку, срібла, селену, золота, нікелю та інших металів [53]. З цих механізмів випливає, що основною метою біосинтезу наночастинок є усунення токсичності наночастинок через клітинні механізми та забезпечення у таких випадках утворення біоплівки на поверхні наночастинок. В той же час, на даний момент відсутні підтвердження того, що дріжджі використовують для свого метаболізму біосинтетичні наночастки [34, 15].

Завдяки масовому виробництву наночастинок, а також легкості контролю над дріжджами в лабораторних умовах, синтезу численних ферментів і швидкому росту з використанням простих поживних речовин, дріжджі мають більше переваг порівняно з бактеріями. Різні дріжджі використовувались для біосинтезу наночастинок металів. Наприклад, дріжджові штами *Candida glabrata* та *Saccharomyces pombe* були описані для виробництва внутрішньоклітинних синтезованих наночастинок сульфід кадмію, срібла, селену, титану та золота [34]. Крім того, позаклітинний синтез було досліджено у випадку наночастинок срібла та сульфід кадмію [15, 29].

Що стосується, біосинтезу наночастинок міді з використанням дріжджів *S. cerevisiae*, то ця тема є перспективною з огляду на успіхи в отриманні наночастинок інших металів. В той же час, використання *S. cerevisiae* для синтезу наночастинок міді є ще відносно малодослідженим. Одне із досліджень присвячене оцінці біосинтезу наночастинок міді з використанням промислової біомаси дріжджів *S. cerevisiae* Perlage® BB [13]. Як джерело іонів міді використовувався сульфат міді (CuSO_4) виробництва Vetec. Штам дріжджів *S. cerevisiae* Perlage® BB був виділений на території Шампані та має чудову сукупну ферментативну здатність з низькими потребами в живленні, бродильною активністю та криофільністю. Дослідження біосинтезу проводили з регідратованою біомасою відповідно до пропорції 1 грам біомаси на кожні 10 мілілітрів дистильованої води при максимальній температурі 28 °C, як рекомендовано виробником. Біомасу двічі промивали дистильованим розчином води, потім центрифугували, супернатант відкидали. Щоб отримати наночастки, від 5 до 25 мг біомаси витримували два мілілітри 0,001 молярного розчину міді протягом 24 годин при постійному перемішуванні при температурі 30°C. Аналіз наночастинок проводили за допомогою техніки трансмісійної електронної мікроскопії разом із детектором енергетичної дисперсійної рентгенівської спектроскопії, УФ-видимої спектроскопії та динамічного розсіювання світла. Аналіз проводили в супернатанті біомаси після впливу розчину міді. За результатом дослідження було показано, що промислова біомаса дріжджів *S. cerevisiae* Perlage® BB має здатність біосинтезувати наночастки міді з більш ніж 70% розподілом середнього розміру в діапазоні 10-12 нанометрів [13].

Таким чином, дослідження біосинтезу наночастинок міді з використанням *S. cerevisiae* проводились у поодиноких випадках. В той же час, відомі випадки використання дріжджових організмів для біосинтезу наночастинок інших металів. Тому на сьогоднішній день сформована база наукових даних щодо можливості культивування *S. cerevisiae* та індукції синтезу наночастинок. В той же час, конкретні аспекти біосинтезу, визначення потенціалу *S. cerevisiae* до утворення наночастинок міді та їх біологічні властивості ще мають бути досліджені.

Висновки. Різноманітні біологічні властивості наночастинок міді, такі як їх антибактеріальний, протигрибковий, противірусний, антиоксидантний, антиканцерогенний, антидіабетичний, антиноцицептивний і ранозагоювальний ефекти, підкреслюють їхній потенціал для використання в медичному лікуванні, промислових процесах і споживчих товарах. Широкий спектр дії наночастинок міді є багатообіцяючим шляхом для вирішення численних проблем, пов'язаних зі здоров'ям людини.

Синтез наночастинок міді з використанням методів «зеленого синтезу» прокладає шлях для екологічно стійких методів. Використання рослинних екстрактів і мікроорганізмів, таких як дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, для біосинтезу забезпечує альтернативу фізико-хімічним методам синтезу, яка є водночас екологічною та масштабованою, зберігаючи потенціал для широкого виробництва при мінімізації впливу на навколишнє середовище.

Висновки, представлені в цьому огляді, підкреслюють важливість продовження досліджень і розробок у галузі синтезу та застосування наночастинок міді. Майбутні дослідження мають бути зосереджені на оптимізації методів синтезу, розумінні основних механізмів утворення наночастинок і з'ясуванні повного спектру біологічних взаємодій і ефектів. Використання міждисциплінарного підходу у подальших дослідженнях має посприяти реалізації повного спектру біологічних властивостей наночастинок міді та забезпечити істотні переваги від їх використання.

Список використаних джерел:

- [1] Aguilar M. S., Esparza R., Rosas G. Synthesis of Cu nanoparticles by chemical reduction method // Trans Nonferrous Met Soc China. 2019. Vol. 29(7). P. 1510-1515. doi: 10.1016/S1003-6326(19)65058-2.
- [2] Al-Hakkani M. F. Biogenic copper nanoparticles and their applications: A review // SN Appl. Sci. 2020. Vol. 2. 505. doi: 10.1007/s42452-020-2279-1.
- [3] Azizi M., Ghourchian H., Yazdian F. et al. Cytotoxic effect of albumin coated copper nanoparticle on human breast cancer cells of MDA-MB 231 // PLoS One. 2017. Vol. 12(11). P. e0188639. doi: 10.1371/journal.pone.0188639.
- [4] Baláž M., Tešínský M., Marquardt J. et al. Synthesis of copper nanoparticles from refractory sulfides using a semi-industrial mechanochemical approach // Adv Powder Technol. 2020. Vol. 31(2). P. 782–791. doi: 10.1016/j.apt.2019.11.032.
- [5] Bhushan B. Springer handbook of nanotechnology: 4th edn. Berlin: Springer, 2017. 1964 p. doi: 10.1007/978-3-642-02525-9.
- [6] Chaerun S. K., Prabowo B. A., Winarko R. Bionanotechnology: The formation of copper nanoparticles assisted by biological agents and their applications as antimicrobial and antiviral agents // Environ Nanotechnol Monit Manag. 2022. Vol. 18. P. 100703. doi: 10.1016/j.enmm.2022.100703.
- [7] Chakraborty R., Basu T. Metallic copper nanoparticles induce apoptosis in a human skin

- melanoma A-375 cell line // *Nanotechnology*. 2017. Vol. 28(10). P. 105101. doi: 10.1088/1361-6528/aa57b0.
- [8] Chiang C., Aroh K., Ehrman S. H. Copper oxide nanoparticle made by flame spray pyrolysis for photoelectrochemical water splitting – Part I. CuO nanoparticle preparation // *Int J Hydrog Energy*. 2012. Vol. 37(6). P. 4871-4879. doi: 10.1016/j.ijhydene.2011.10.033.
- [9] Chiang C., Aroh K., Franson N. et al. Copper oxide nanoparticle made by flame spray pyrolysis for photoelectrochemical water splitting – Part II. Photoelectrochemical study // *Int J Hydrog Energy*. 2011. Vol. 36(24). P. 15519-15526. doi: 10.1016/j.ijhydene.2011.09.041.
- [10] Chung I. M., Abdul Rahuman A., Marimuthu S. et al. Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities // *Exp Ther Med*. 2017. Vol. 14(1). P. 18-24. doi: 10.3892/etm.2017.4466.
- [11] Crisan M. C., Teodora M., Lucian M. Copper Nanoparticles: Synthesis and Characterization, Physiology, Toxicity and Antimicrobial Applications // *Appl Sci*. 2022. Vol. 12. P. 141. doi: 10.3390/app12010141.
- [12] Das P. E., Abu-Yousef I. A., Majdalawieh A. F. et al. Green Synthesis of Encapsulated Copper Nanoparticles Using a Hydroalcoholic Extract of *Moringa oleifera* Leaves and Assessment of Their Antioxidant and Antimicrobial Activities // *Molecules*. 2020. Vol. 25(3). P. 555. doi: 10.3390/molecules25030555.
- [13] de Nascimento J. M., de Oliveira J. D., de Lima Rizzo A. C. et al. Biogenic Production of Copper Nanoparticles by *Saccharomyces cerevisiae* // *J Bionanosci*. 2018. Vol. 12(5). P. 689-693(5). doi: 10.1166/jbns.2018.1583.
- [14] Dobrovolný K., Ulbrich P., Švecová M. et al. Affordable, Green, and Facile Synthesis of Copper Nanoparticles Stabilized by Environmentally Friendly Surfactants // *Metall Mater Trans B*. 2015;. Vol. 46(6). P. 2529-2533. doi: 10.1007/s11663-015-0424-9.
- [15] Eugenio M., Müller N., Almeida-Paes R. et al. Yeast-derived biosynthesis of silver/silver chloride nanoparticles and their antiproliferative activity against bacteria // *Rsc Advances*. 2016. Vol. 6(12). P. 9893-9904. doi: 10.1039/C5RA22727E.
- [16] Fujimori Y., Sato T., Hayata T. et al. Novel antiviral characteristics of nanosized copper(I) iodide particles showing inactivation activity against 2009 pandemic H1N1 influenza virus // *Appl Environ Microbiol*. 2012. Vol. 78(4). P. 951–955. doi: 10.1128/AEM.06284-11.
- [17] Goyer R. A. Toxic and essential metal interactions // *Annu Rev Nutr*. 1997. Vol. 17. P. 37-50. doi: 10.1146/annurev.nutr.17.1.37.
- [18] Harishchandra B. D., Pappuswamy M., PU A. et al. Copper Nanoparticles: A Review on Synthesis, Characterization and Applications / *apjcb*. 2020. Vol. 5(4). P. 201-10. url: <http://waocp.com/journal/index.php/apjcb/article/view/500>.
- [19] Harne S., Sharma A., Dhaygude M. et al. Novel route for rapid biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of *Calotropis procera* L. latex and their cytotoxicity on tumor cells // *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2012. Vol. 15(95). P. 284-288. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.03.005.
- [20] Hasheminya S.-M., Dehghannya J. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using *Eryngium caucasicum* Trautv aqueous extracts and its antioxidant and antimicrobial properties // *Part Sci Technol*. 2020. Vol. 38. P. 1019–1026. doi: 10.1080/02726351.2019.1658664.
- [21] Hassani R., Husein D. Z., Al-Hakkani M. F. Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous *Tilia* extract: antimicrobial and anticancer activities // *Heliyon*. 2018. Vol. 4(12). P. e01077. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01077.
- [22] Ingle A. P., Duran N., Rai M. Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review // *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014. Vol. 98(3). P. 1001–1009. doi: 10.1007/s00253-013-5422-8.

- [23] Jamdade D. A., Rajpali D., Joshi K. A. et al. *Gnidia glauca*- and *Plumbago zeylanica*-Mediated Synthesis of Novel Copper Nanoparticles as Promising Antidiabetic Agents // *Adv Pharmacol Sci*. 2019. Vol. 2019. P. 9080279. doi: 10.1155/2019/9080279.
- [24] Jamkhande P. G., Ghule N. W., Bamer A. H. et al. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications // *J. Drug Deliv. Sci. Technol*. 2019. Vol. 53. P. 101174. doi: 10.1016/j.jddst.2019.101174.
- [25] Jeevanandam J., Berhoum A., Chan Y. S. et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations // *Beilstein journal of nanotechnology*. 2018. Vol. 9. P. 1050–1074. doi: 10.3762/bjnano.9.98.
- [26] Jeong S., Woo K., Kim D. et al. Controlling the thickness of the surface oxide layer on Cu nanoparticles for the fabrication of conductive structures by ink-jet printing // *Adv Funct Mater*. 2008. Vol. 18. P. 679–686. doi: 10.1002/adfm.200700902.
- [27] Khan Ib., Saeed K., Khan Id. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities // *Arab J Chem*. 2019. Vol. 12(7). P. 908–931. doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
- [28] Khan S. A., Noreen F., Kanwal S. et al. Green synthesis of ZnO and Cu-doped ZnO nanoparticles from leaf extracts of *Abutilon indicum*, *Clerodendrum infortunatum*, *Clerodendrum inerme* and investigation of their biological and photocatalytic activities // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018. Vol. 82. P. 46-59. doi: 10.1016/j.msec.2017.08.071.
- [29] Kowshik M., Ashtaputre S., Kharrazi S. et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3 // *Nanotechnology*. 2002. Vol. 14(1). P. 95-100. doi: 10.1088/0957-4484/14/1/321.
- [30] Letchumanan D., Sok S. P. M., Ibrahim S. et al. Plant-Based Biosynthesis of Copper/Copper Oxide Nanoparticles: An Update on Their Applications in Biomedicine, Mechanisms, and Toxicity // *Biomolecules*. 2021. Vol. 11(4). P. 564. doi: 10.3390/biom11040564.
- [31] Longano D., Ditaranto N., Sabbatini L. et al. Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper Nanomaterials // *Nano-Antimicrobials*. 2011. P. 85–117. doi: 10.1007/978-3-642-24428-5_3.
- [32] Mahmoudvand H., Khaksarian M., Ebrahimi K. et al. Antinociceptive effects of green synthesized copper nanoparticles alone or in combination with morphine // *Ann Med Surg (Lond)*. 2020. Vol. 51. P. 31-36. doi: 10.1016/j.amsu.2019.12.006.
- [33] Mali S. H., Dhaka A., Sharma S. et al. Review on biogenic synthesis of copper nanoparticles and its potential applications // *Inorg Chem Commun*. 2023. Vol. 149. P. 110448. doi: 10.1016/j.inoche.2023.110448.
- [34] Moghaddam A. B. Namvar F., Moniri M. et al. Nanoparticles Biosynthesized by Fungi and Yeast: A Review of Their Preparation, Properties, and Medical Applications // *Molecules*. 2015. Vol. 20(9). P. 16540–16565. doi: 10.3390/molecules200916540.
- [35] Moniri Javadhesari S., Alipour S., Mohammadnejad S. et al. Antibacterial activity of ultra-small copper oxide (II) nanoparticles synthesized by mechanochemical processing against *S. aureus* and *E. coli* // *Mater Sci Eng C*. 2019. Vol. 105. P. 110011. doi: 10.1016/j.msec.2019.110011.
- [36] Pariona N., Mtz-Enriquez A. I., Sánchez-Rangel D. et al. Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens // *RSC Adv*. 2019. Vol. 9(33). P. 18835-18843. doi: 10.1039/c9ra03110c.
- [37] Pleskova S., Mikheeva E., Gornostaeva E. Using of Quantum Dots in Biology and Medicine // *Adv Exp Med Biol*. 2018. Vol. 1048. P. 323-334. doi: 10.1007/978-3-319-72041-8_19.
- [38] Raju S. K., Karunakaran A., Kumar S. et al. Biogenic synthesis of copper nanoparticles and their biological applications: an overview // *Int J Pharm Pharm Sci*. 2022. Vol. 14(3). P. 8–26. doi: 10.22159/ijpps.2022v14i3.43842.
- [39] Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine // *J Nanobiotechnol*. 2004. Vol. 2. P. 3. doi: 10.1186/1477-3155-2-3.

- [40] Saranya R., Ali M. M. Synthesis of colloidal copper nanoparticles and its cytotoxicity effect on MCF-7 breast cancer cell lines // J Chem Pharm Sci. 2017. Vol. 974. P. 1–5. url: <http://naaccr3.mkce.ac.in/3.7.1.4.770.pdf>.
- [41] Slavin Y. N., Asnis J., Häfeli U. O. et al. Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity // J. Nanobiotechnol. 2017. Vol. 15. P. 65. doi: 10.1186/s12951-017-0308-z.
- [42] Skalickova S., Baron M., Socher J. Nanoparticles Biosynthesized by Yeast: A Review of their application // Kvasny Prum. 2017. Vol. 63(6). P. 290-292. doi: 10.18832/kp201727.
- [43] Tahvilian R., Zangeneh M. M., Falahi H. et al. Green synthesis and chemical characterization of copper nanoparticles using *Allium saralicum* leaves and assessment of their cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial, and cutaneous wound healing properties // Appl Organometal Chem. 2019. Vol. 33. P. e5234. doi: 10.1002/aoc.5234.
- [44] Thakkar K. N., Mhatre S. S., Parikh R. Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles // Nanomed Nanotechnol Biol Med. 2010. Vol. 6(2). P. 257-262. doi: 10.1016/j.nano.2009.07.002.
- [45] Tiwari P. K., Shweta, Singh A. K. et al. Liquid assisted pulsed laser ablation synthesized copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) and their differential impact on rice seedlings // Ecotoxicol Environ Saf. 2019. Vol. 176. P. 321-329. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.120.
- [46] Vaid P., Raizada P., Saini A. K. et al. Biogenic silver, gold and copper nanoparticles - A sustainable green chemistry approach for cancer therapy // Sustain Chem Pharm. 2020. Vol. 16. P. 100247. doi: 10.1016/j.scp.2020.100247.
- [47] Valodkar M., Jadeja R. N., Thounaojam M. C. et al. Biocompatible synthesis of peptide capped copper nanoparticles and their biological effect on tumor cells // Mater Chem Phys 2011. Vol. 128. P. 83–89. doi: 10.1016/j.matchemphys.2011.02.039.
- [48] Valodkar M., Nagar P. S., Jadeja R. N. et al. Euphorbiaceae latex induced green synthesis of non-cytotoxic metallic nanoparticle solutions: a rational approach to antimicrobial applications. Colloids Surf A. 2011. Vol. 384. P. 337–344. doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.04.015.
- [49] Wang P., Yuan Y., Xu K. et al. Biological applications of copper-containing materials // Bioact Mater. 2020. Vol. 6(4). P. 916-927. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.017.
- [50] Wang Z., Fang H., Wang S. Benzoic Acid Interactions Affect Aquatic Properties and Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles // Bull Environ Contam Toxicol. 2016. Vol. 97(2). P. 159-165. doi: 10.1007/s00128-016-1804-9.
- [51] Wu S., Rajeshkumar S., Madasamy M. et al. Green synthesis of copper nanoparticles using *Cissus vitiginea* and its antioxidant and antibacterial activity against urinary tract infection pathogens // Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2020. Vol. 48(1). P. 1153-1158. doi: 10.1080/21691401.2020.1817053.
- [52] Zangeneh M. M., Ghaneialvar H., Akbaribazm M. et al. Novel synthesis of *Falcaria vulgaris* leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under in vitro and in vivo condition // J Photochem Photobiol B. 2019. Vol. 197. P. 111556. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111556.
- [53] Zhang X. W., Shen W., Wang J. et al. Biogenic synthesis of gold nanoparticles by yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for catalytic reduction of nitrophenols // Colloids Surf A Physicochem Eng Asp Colloid Surface Asp. 2016. Vol. 497. P. 280-285. doi: 10.1016/j.colsurfa.2016.02.033.
- [54] Zhao H., Su H., Ahmida A. et al. Biosynthesis of copper nanoparticles using *Allium eriophyllum* Boiss leaf aqueous extract; characterization and analysis of their antimicrobial and cutaneous wound-healing potentials // Appl Organomet Chem. 2022. Vol. 36(12). P. e5587. doi: 10.1002/aoc.5587.