

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:

«Отримання наноцинку за допомогою *Lactobacillus acidophilus*»

Рівень вищої освіти перший (бакалаврський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія

Виконала: студентка групи ББТ-21

Владислава ПОТУПА

Науковий керівник:

к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА

Рецензент: к.б.н., доц. Ольга ЮНГІН

Київ 2025

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА
«___» _____ 20__ р.

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Потупі Владиславі Юрїївні**

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Отримання наночинку за допомогою *Lactobacillus acidophilus***

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

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи. Завдання на бакалаврську кваліфікаційну роботу; наукова література щодо властивостей наночинку, методів отримання біогенним синтезом, практичне застосування наночасток цинку, результати експериментальних досліджень біосинтезу наночинку, які отримані під час роботи з *Lactobacillus acidophilus* у лабораторії та їх дія на мікроміцети.

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

4. Дата видачі завдання 05.03.2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

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

З завданням ознайомлений:

Студент _____ Владислава ПОТУПА

Науковий керівник _____ Ірина ВОЛОШИНА

АНОТАЦІЯ

Потупа В. Ю. Отримання наноцинку за допомогою *Lactobacillus acidophilus*. – Рукопис.

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

У кваліфікаційній роботі проаналізовані літературні джерела в яких йдеться про взаємодію наноцинку та рослин. Надана інформація біосинтезу наночасток цинку використовуючи рослинні екстракти та мікроорганізми. Було проаналізовано вплив наночасток на бактерії та мікроміцети. Також надана інформація щодо застосування наноцинку у сільському господарстві, медицині та харчовій індустрії.

Дипломна робота спрямована на дослідження синтезу наночасток цинку, підбору солі цинку, встановленні оптимальних значень температури та рН використовуючи культуру мікроорганізмів *Lactobacillus acidophilus*. Також у ході роботи проводилось дослідження можливості біосинтезу наночасток цинку використовуючи рослинні екстракти. Дослідні зразки для визначення розміру аналізували за допомогою методу динамічного розсіювання світла (фотонної кореляційної спектроскопії), використовуючи пристрій BeNano 90 Zeta. У рамках роботи було експериментально перевірена дія наноцинку на мікроміцети.

Ключові слова: наноцинк, наночастки цинку, біогенний синтез, *Lactobacillus acidophilus*, рослинні екстракти, мікроміцети.

ABSTRACT

Potupa V. Y. Synthesis of zinc nanoplastics using *Lactobacillus acidophilus*. – Manuscript.

Qualification thesis on specialty 162 - Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2025.

The qualification thesis presents an analysis of literary sources describing the interaction between zinc nanoparticles and plants. It provides information on the biosynthesis of zinc nanoparticles using plant extracts and microorganisms. The influence of nanoparticles on bacteria and micromycetes was analyzed. Additionally, the work includes data on the application of zinc nanoparticles in agriculture, medicine, and the food industry.

The thesis focuses on the study of zinc nanoparticle synthesis, selection of zinc salts, and determination of optimal temperature and pH values using the microbial culture *Lactobacillus acidophilus*. The study also explores the possibility of biosynthesizing zinc nanoparticles using plant extracts. Experimental samples were analyzed for particle size using dynamic light scattering (photon correlation spectroscopy) with the BeNano 90 Zeta instrument. The effect of zinc nanoparticles on micromycetes was experimentally tested within the scope of the research.

Keywords: nanozinc, zinc nanoparticles, biogenic synthesis, *Lactobacillus acidophilus*, plant extracts, micromycetes.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Біодоступність цинку та його важливість для рослин	11
1.1.1 Роль цинку для рослини	11
1.1.2 Цинк в різних частинах рослини	12
1.1.3 Дефіцит цинку для рослини	14
1.1.4 Дія та токсичність наночастинок оксиду цинку для рослини	14
1.2 Біогенний синтез наночастинок цинку	15
1.2.1 Отримання наночастинок оксиду цинку за допомогою рослинних екстрактів	17
1.2.2 Отримання наночастинок цинку за допомогою мікроорганізмів	18
1.3 Вплив нанозинку на мікроорганізми	20
1.3.1 Вплив нанозинку на бактерії	21
1.3.2 Вплив нанозинку на мікроміцети	22
1.4 Галузі використання наночастинок оксиду цинку	23
1.4.1 Застосування ZnNPs в агропромисловості	23
1.4.2 Застосування ZnONPs в медичній галузі	25
1.4.3 Застосування ZnONPs в харчовій промисловості	27
Висновки до розділу 1	28
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ	29
2.1 Характеристика біологічного агента <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-2691	29
2.1.1 Таксономічний статус	29
2.1.2 Морфологічні та фізіологічні властивості	29
2.2 Поживні середовища для культивування <i>L. acidophilus</i> УКМ В-269130	31
2.2.1 Середовище MRS	31
2.3 Отримання посівного матеріалу I та II генерації	33
2.4 Проведення біогенного синтезу наночастинок цинку	33
2.4.1 Біогенний синтез за допомогою <i>Lactobacillus acidophilus</i> УКМ В-	

2691	33
2.4.2 Проведення біогенного синтезу наночастинок цинку за допомогою екстракту шроту (макухи) насіння соняшника	34
2.4.3 Проведення біогенного синтезу наночастинок цинку за допомогою екстракту ромашки сухої.....	34
2.5 Визначення наявності наночинку методом спектрофотометричного дослідження	35
2.6 Визначення розмірів наночастинок цинку методом динамічного розсіювання світла	36
2.7 Вплив наночинку на мікроміцети	36
2.8 Статистична обробка результатів.....	38
Висновки до розділу 2	38
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	40
3.1 Отримання наночинку за допомогою культури <i>L. acidophilus</i> УКМ В-2691 з супернатанту культуральної рідини та лізату клітин	40
3.2 Отримання ZnNPs з різних солей цинку за допомогою культури <i>L. acidophilus</i> УКМ В-2691	40
3.3 Отримання наночинку за допомогою культури <i>L. acidophilus</i> УКМ В-2691 за різних рН та температури	40
3.4 Порівняння результатів отримання наночинку за допомогою культури <i>L. acidophilus</i> УКМ В-2691 та екстрактів рослинних субстратів	40
3.5 Результат впливу наночинку на мікроміцети	41
Висновки до розділу 3	41
ВИСНОВКИ.....	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	43
ДОДАТКИ.....	49

ВСТУП

В сучасному науковому світі нанотехнології викликають значний інтерес у науковців з різних галузей. Такий інтерес обумовлений унікальними властивостями наночасток порівнюючи з макромолекулами. Хоча фізичні та хімічні методи синтезу наночасток застосовуються по сьогоднішній день особливу увагу привертають методи синтезу наночасток, які використовують екологічний підхід для їх синтезу. Такі методи передбачають використання для біогенного синтезу мікроорганізми та рослини.

«Зелений» синтез наночасток є безпечним, оскільки не викликає загрози для навколишнього середовища, здоров'я людей та тварин. Біологічні компоненти рослин та мікроорганізмів, такі як біомолекули та метаболіти, діють як відновники та стабілізатори в процесі утворення наночасток. Таким чином такі методи мають високу ефективність та не потребують високих витрат.

Наночастки синтезовані біогеними методами володіють великим спектром властивостей, таким чином сприяють розвитку аграрній та медичній галузям. Такі наночастки володіють антибактеріальними, фунгіцидними та антиоксидантними властивостями, що робить їх перспективними для використання їх в харчовій промисловості, сільському господарстві та медицині (протимікробної терапії, протипухлинного лікування, діагностики та доставлення ліків). Таким чином нові дослідження в цій сфері відкривають багато можливостей для застосування наночасток у різних галузях [9-10].

Актуальність теми базується на дослідженні можливості отримання наночасток цинку використовуючи зелені технології, а саме бактерії *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691.

Наукова новизна полягає в підборі технологічних параметрів (рН, температура) та солі цинку для отримання ZnNPs використовуючи *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 та їх метаболіти.

Метою роботи є отримання наночасток цинку за допомогою біогенного синтезу.

Об'єкт дослідження роботи наноцинк, клітини та метаболіти культури мікроорганізмів *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, екстракт ромашки та екстракт соняшникового шроту.

Предмет дослідження є молочнокислі бактерії *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 та їх здатність до формування наночасток.

Для досягнення мети роботи були поставлені так **завдання**:

1. Дослідити здатність надосаду та лізату культуральної рідини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 до формування наноцинку.
2. Підібрати сіль цинку для отримання наночасток на надосаді культуральної рідини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 та встановити технологічні параметри при яких формуються ZnNPs.
3. Перевірити можливість біогенного синтезу наноцинку використовуючи рослинні екстракти ромашки та соняшникового шроту.
4. Перевірити дію отриманих наночасток цинку на мікроміцети.

Методи дослідження мікробіологічні, технологічні, хімічні, статистичні, методи спостереження.

Практичне значення отриманих результатів полягає у визначенні ефективних умов біогенного синтезу наноцинку використовуючи зелені технології з можливістю використання в аграрному секторі.

Публікації.

1. **Потупа В. Ю.,** Петрух А. О., Шкотова Л. В., Волошина І. М. Отримання наночасток цинку зеленим синтезом // *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 22 березня 2024р. С. 321–322. (Додаток А), сертифікат (Додаток Б).

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

3. Гусейнова К. Е., **Потупа В. Ю.,** Шкотова Л. В., Волошина І. М.

Фунгіцидні властивості наночастинок міді // *Сучасні проблеми біології, екології та хімії*: збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної конференції, м. Запоріжжя, 25-27 квітня 2024 р. С. 94–95. (Додаток Д), сертифікат (Додаток Ж)

4. Петрух А. О., Потупа В. Ю., Морін В. В., Волошина І. М. Використання наночастинок металів у косметичці // *Стан і перспективи розвитку хімічної, харчової та парфумерно-косметичної галузей промисловості*: матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції, м. Хмельницький, 31 травня 2024 р. С. 87–89. (Додаток З), сертифікат (Додаток К)

5. Петрух А. О., Потупа В. Ю., Шкотова Л. В., Волошина І. М. Біогенний синтез FeNPs за допомогою *Lactobacillus* // *Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині*: матеріали III науково-практичної Міжнародної дистанційної конференції, м. Харків, 22 березня 2024 р. С. 142–143. (Додаток Л), сертифікат (Додаток М)

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Загальний обсяг основної частини науково-дослідницької кваліфікаційної роботи складає 51 сторінку. В основну частину роботи входить три основні розділи, висновки, а також наведений список використаних джерел, який налічує 50 найменувань публікацій. В роботі представлено 10 додатків, які представлені на 15 сторінках.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Біодоступність цинку та його важливість для рослин

Цинк (Zn) займає ключову роль в біохімічних та фізіологічних процесах рослин. Підтримання оптимального рівня цього елемента критично важливо для запобігання токсичного впливу та дефіциту. Як кофактор важливих ферментів, Zn активно бере участь в регуляції метаболізму, змінюючи біофізико-хімічні процеси, які пов'язані з цинк-залежними ферментами та білками. Збільшення кількості цинку є однією з причин виникнення окислювального стресу пов'язаного зі збільшенням утворення реактивних радикалів. Тому, контроль рівня цинку та біофізико-хімічні можливості, як необхідні, так і токсичні у взаємодії ґрунт-рослина, є дуже важливо [1-2].

1.1.1 Роль цинку для рослини

Цинк в періодичній системі хімічних елементів Менделєєва відноситься до 12 групи, 4 періоду з повністю заповненою d-орбіталлю (10 електронів) та в іонній формі проявляється у вигляді двовалентного катіона Zn (II). В живих організмах він займає друге місце за поширеністю серед перехідних металів після заліза. Доступність цинку у ґрунтах, так як і у заліза зменшується при вищих значеннях рН. Хімічні властивості цинку відображаються в його функціях у біохімічних процесах, які загалом можна поділити на два основні типи. По перше, маючи властивості сильної кислоти Льюїса зі швидким обміном лігандів та гнучкою геометрією Zn (II) застосовується як каталізатор для гідролітичних і оксидоредуктазних реакцій. Він є унікальним металом, знаходячись в усіх шести основних класах ферментів, включаючи такі ензими, як карбоангідраза та супероксиддисмутаза міді/цинку (Cu/ZnSOD). По друге, не маючи окислювально-відновної активності та здатності до сильного зв'язування, цинк широко застосовується для виконання структурних функцій у білках та білок-білкових взаємодіях або для запобігання окисного пошкодження при взаємодії з нуклеїновими кислотами. До прикладу можна

віднести транскрипційні фактори «цинкового пальця» та інші білки, які взаємодіють з нуклеїновими кислотами, де цинк є структурним лігандом. Встановлено, що менше 10% білків використовують цинк як ліганд, що формує так званий цинковий протеом. Зважаючи на те, що Zn займає велику кількість у протеомі, його участь у багатьох клітинних функціях відіграє важливу роль. Для більшості рослин оптимальна фізіологічна концентрація цинку різниться у межах 30–200 мкг на грам сухої маси рослини [1, 3, 4].

Іони Zn^{2+} вважаються одними з найбільш доступних форм цинку для поглинання рослиною у ґрунтовому середовищі. Після поглинання рослиною, цинк взаємодіє клітинними органелами, як-от рибосоми та мітохондрії, та спроможний індукувати утворення активних форм кисню (АФК) [2, 5].

1.1.2 Цинк в різних частинах рослини

Потрапляючи у ґрунт цинк здатен утворювати нерозчинні сполуки з фосфатами, гідроксидами та карбонатами. Його розчинність на пряму залежить від показника рН середовища. В лужних ґрунтах розчинність цинку зменшується в 100 раз з кожним підвищенням рН на одиницю. Високий рівень рН збільшує негативний заряд частинок ґрунту, таких як карбонати, що призводить до сильної адсорбції позитивно заряджених іонів Zn та гідролізу цинку. Подібно до механізмів поглинання заліза, рослини шляхом закислення ризосфери та виділення цинк-стабілізуючих сполук і хелаторів підвищують здатність засвоювати цинк. Основними стабілізуючими сполуками переважно є органічні кислоти, такі як малат, цитрат і оксалат або фітосидерофори – дезоксимугінова кислота (ДМК), що є особливістю однодольних рослин [4]. Під час радіального транспорту в корені до судинної системи кореня транспорт Zn^{2+} може відбуватися через епідерміс, кору, ентодерміс і перицикл симпластичним шляхом або апопластичним шляхом.

Симпластичний шлях відбувається шляхом поглинання через плазматичну мембрану епідермальних клітин. Після поглинання іон Zn^{2+}

переміщується від клітини до клітини через плазмодесми, які з'єднують всі клітини кореневої системи утворюючи симплазму.

Апопластичний шлях відбувається шляхом позаклітинної дифузії Zn^{2+} або Zn-хелатів у клітинних стінках рослин у напрямку до ентодермісу, де він стикається з непроникною смугою Каспарія. Цей бар'єр перешкоджає дифузії розчинених речовин далі в різні шари кореня. Тому, поглинання клітиною Zn^{2+} або Zn-хелатів відбувається плазматичною мембраною в клітині ентодерми. Окрім представлених вище шляхів транспортування є альтернативні шляхи, такі як сполучений міжклітинний шлях, що включає сполучений міжклітинний шлях, який включає повторне та виведення клітинами іонів цинку та потенційно повністю апопластичний шлях, яким двовалентні катіони досягають ксилеми не проходячи жодну плазматичну мембрану [2, 4].

Проникнувши до клітини Zn^{2+} взаємодіє з низькомолекулярними лігандами або поєднується з білками цитозолу утворює хелатні комплекси. В деяких рослинах цинк може поглинатися вже в комплексі з фітосидерофорами. Кількість специфічних хелаторних молекул у цитозолі або їх розташування в клітинних вакуолях впливають на секвестрацію Zn у вакуолі та симпластичну мобільність Zn до стели. До низькомолекулярних хелаторів цинку в рослинах відносяться глутатіон, натрій (Na), амінокислоти, такі як цистеїн і гістидин, фітохелатини та органічні кислоти цитрат і малат, які містяться у вакуолі. Окрім цього, в присутності цинк-зв'язуючих білків, збагаченими тіолами (наприклад, металотіонеїни) відбувається буферизація Zn^{2+} у цитозолі. Деякі хелатори, в тому числі Na займають важливе місце у довготривалому транспортуванні цинку, внутрішньоклітинному зберіганні та детоксикації Zn разом з іншими металами (Fe, Cu та Ni). Також встановлено їх зв'язок з гіпертолерантністю до Zn та фенотипами гіперакумуляції [4, 6].

Потрапляючи у кореневий перецикл чи клітинну паренхіму ксилеми Zn^{2+} експортується апопласт для подальшого переходу в ксилему з наступним транспортуванням масовим потоком рослиною.

Проникнувши до наземних частин рослини цинк вивантажується з ксилеми зберігається в листках або потрапляє в флоему для повторного надходження в молоде листя та насіння для розвитку. Експерименти, в яких використовувались рослини з розщепленим корінням, показують що цинк здатен переміщатись рослиною з частин де його наявність в ґрунті достатня в частини де є дефіцит елементу [2, 4].

Цинк надходить у насіння рослини не лише для участі у процесі формування, а й для накопичення запасів, які потрібні на етапі проростання насіння в ґрунті. Накопичені резерви поживних речовин забезпечують ріст та розвиток на початковому етапі проростання. Концентрація цинку, яка буде оптимальною в насінні матиме різницю залежно від видів рослин, так само буде залежить і його розподіл між різними частинами насіння [4].

1.1.3 Дефіцит цинку для рослини

Зниження рівня доступного для поглинання цинку в ґрунті для рослин призводить до значних біохімічних та фізіологічних наслідків рослинного метаболізму. Дефіцитом цинку для рослини вважається концентрація цинку в сухому листі яка нижче 15 мг/кг. Показник дефіциту може змінюватися залежно від виду, сорту рослини чи умов вирощування. Хлороз молодого листя рослин є однією з ознак дефіциту цинку в рослинах. Іншими ознаками нестачі цинку у молодих рослин можуть бути зменшення розміру листків або уповільнений ріст та витоншення стебла. Для старого листя характерне бронзування, скручування та в умовах сильного дефіциту цинку зустрічається в'янення листя [4, 6].

1.1.4 Дія та токсичність наночасток оксиду цинку для рослини

Наночастки оксиду цинку (ZnONPs) мають великий інтерес не лише завдяки їхньому широкому спектру застосування в різних галузях, а й завдяки їх унікальним властивостям як регуляторів росту рослин (PGR) в аграрному секторі. Ще однією з властивостей наноцинку є зменшення токсичності різних

важких металів. Водночас тривалий вплив наночасток на рослину спричиняє біоаккумуляцію в рослинах, в результаті чого відбуваються зміни в харчовому ланцюзі. Тому багато досліджень спрямовані на вивчення механізмів токсичності наноцинку для різних видів рослин. Науковцями було встановлено що застосування ZnONPs у високих концентраціях має негативний вплив та викликає токсичну дію у різних видів рослин [5]. Нещодавні роботи вчених виявили що ZnONPs має негативний вплив на накопичення біомаси та вміст хлорофілу, а також провокують окислювальний стрес. В результаті чого відбуваються продихові та ультраструктурові пошкодження у проростках рис [5]. Також дослідники зазначили що наночастки мають властивість до накопичення їх у їстівних частинах рослини та можуть значно вплинути на розвиток і врожайність рослинних культур. Дослідження наноцинку на токсичність у проростках рису продемонстрували, що при дуже високих концентраціях наночасток зменшується біомаса та хлорофіл, а також пригнічують рівень транскриптів мРНК генів, які пов'язані з фотосинтетичними пігментами. Також результати впливу наноцинку на проростках рису показали, що наночастки здатні до активації системи антиоксидантних ферментів шляхом підвищення експресії генів, які кодують антиоксидантні ферменти у дослідних рослинах [5]. У підсумку можна сказати що наноцинк загалом впливає на проростання насіння, утворення кореневої системи, стимулює накопичення активних форм кисню та знижує рівень фотосинтезу.

Генотоксичність і цитотоксичність наноцинку у рослинах має такі ознаки, як аберація хромосом, пошкодження ДНК, руйнуванням клітинної мембрани та зупинкою прогресування клітинного циклу. Дані генотоксичні ознаки спостерігаються в різних рослинах під впливом ZnONPs [5, 7, 8].

1.2 Біогенний синтез наночасток цинку

Для синтезу наночасток, як правило, застосовують два основні методи: хімічні методи (знизу вгору) і фізичні методи (зверху вниз).

Підхід «зверху вниз» базується на розпаданні основної маси матеріалу в межах нанорозмірного діапазону. До прикладу даного способу утворення наночасток можна віднести механічне фрезерування/легування та напилення.

Підхід «знизу вгору» розпочинається шляхом поступового збирання атомів або молекул, з подальшим утворенням нанорозмірних часток. Прикладом даного підходу може бути атомна конденсація, лазерний піроліз та метод золь-гель [9].

Незважаючи на свою розповсюдженість дані методи мають такі недоліки, як високе енергоспоживання, високі витрати та негативний вплив на навколишнє середовище. Такі недоліки перешкоджають використанню наночасток. На відміну від вище представлених методів, біосинтез має значні переваги. Оскільки даний метод синтезу наночасток дозволяє уникнути використання небезпечних хімічних речовин, не потребує великих енергетичних затрат, дороговартісних операцій, тривалих і складних процесів та не потребує спеціальних умов для стабілізації наночасток. В результаті синтезу не відбувається утворення речовин які були б небезпечними.

Біогенний синтез наночасток цинку може відбуватися за допомогою багатьох біологічних джерел, включаючи рослини, бактерії, дріжджі, мікроміцети та морські водорослі. Синтез наночасток за допомогою бактерій та рослин, в порівнянні з іншими ресурсами для отримання наночасток має значні переваги. До переваг можна віднести дешевизну, легкість, безпечність та швидкість отримання наночасток з подальшою можливістю масштабування виробництва [9, 10, 11].

Наночастинки за допомогою рослинних екстрактів відзначаються особливою стабільністю розміру та форми. Синтезовані таким чином металеві наночастки здатні проявляти стабільну антибактеріальну дію, що підтверджують дослідження які проводились протягом останніх кілька років [9]. Під час біосинтезу рослинні екстракти виконують функцію відновника та стабілізатора наночасток. Таким чином ми можемо уникнути використання хімічних речовин, що дозволяє зменшити негативний вплив на навколишнє

середовище та людський організм. На додачу, вміст присутніх в рослинних екстрактах специфічних речовин може мати значну користь для людини. Наприклад, поліфеноли мають антиоксидантну функцію та здатні захоплювати вільні радикали ще до того, як ті зреагують з іншими біомолекулами та спричинять шкоду [9].

1.2.1 Отримання наночасток оксиду цинку за допомогою рослинних екстрактів

Для синтезу наночасток можна використовувати різні частини рослин, такі як коріння, листя, пагон, кора, квітка. Утворення наночасток можна вдосконалити регулюючи рівень рН, час та температуру під час реакції. Існують різні методи екстракції, які використовуються для синтезу наночасток.

У літературі є інформація про біогенний синтез наноцинку з екстракту плодів дуба (*Quercus pedunculata*) [12]. Наночастки синтезувалися з додаванням дигідрату ацетату цинку. Під час проведення науковці контролювали температурний режим, який був в межах 60-80°C. Після проведення синтезу утворився розчин світло-коричневого кольору. В результаті чого ними було синтезовано наночастки цинку розміром 34 нм.

Інші літературні джерела мають інформацію про біосинтез наноцинку за допомогою екстракту з коноплі (*Cannabis sativa*) [13]. Синтез наночасток відбувався з додаванням солі дигідрату ацетату цинку, з контролем температури 40°C та час синтезу 2 години. В результаті чого утворювався білий осад. Отримані наночастинки мали сферичну форму розміром 38 нм.

Одне із досліджень науковців мало інформацію про біогенний синтез наночасток цинку з використанням екстракту лушпиння цибулі (*Allium cepa*) [14]. Для отримання наноцинку науковці використовували гексагідрат нітрату цинку. Експеримент проводили з дотриманням таких умов, як контроль температури 60°C, контроль часу синтезу 60хв та контролем рівня рН 12. Рівень рН доводили до отримання блідо-білого осаду. У висновку були отримані наночастки від 40 до 74 нм, спектр поглинання яких становив 370нм.

У літературних джерелах також є інформація біосинтезу наночасток за допомогою водного екстракту льону звичайного (*Linum Usitatissimum*) [15]. Синтез наноцинку відбувався з додаванням нітрату цинку. Науковці змішували екстракт льоту та сіль нітрату цинку, після чого нагрівали розчин до температури 80°C 12 годин, отримуючи гель. Отриманий гель сушили 24 години при 60°C. В результаті дослідження було отримано середній розмір наноцинку 15 нм [16].

В одному із проаналізованому літературному джерелі також була інформація про біосинтезовані наночатки цинку за допомогою листя зеленого чаю[17]. Для синтезу дослідники брали свіже листя зеленого чаю, яке потім висушували та перетворювали на порошок. Як прекурсор вони використовували дигідрат ацетату цинку. Прореагований розчин екстракту зеленого чаю та дигідрату ацетату цинку сушили протягом ночі при температурі 80°C. В результаті чого отримували блідо-білі наночастки цинку розміром 54 нм, пік поглинання яких сягає 338 нм. Такі речовини як поліфеноли, алкалоїди, сапоніни, феноли, ефірні олії, білки та флавоноїди мають значний вплив на біосинтез наночасток. Такі фітохімічні сполуки, що входять до складу рослинних витяжок здатні до відновлення іонів металів до наночасток на біохімічному рівні та забезпечують стабільність для синтезованих наночасток [9, 18].

1.2.2 Отримання наночасток цинку за допомогою мікроорганізмів

Велика кількість мікроорганізмів, таких як бактерії та гриби здатні до утворення наночасток. Ферменти що синтезуються бактеріями та мікроміцетами діють як відновники під час синтезу наночасток.

До бактеріальних культур, які можуть використовуватись у біосинтезі наноцинку належать *Arthrospira platensis*, *Lactobacillus sporogens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus haynesii*, *Bacillus licheniformis*, *Halomonas elongate*, *Aeromonas hydrophila* та *Bacillus* sp. До грибів, які здатні до синтезу наночасток цинку відносяться *Penicillium chrysogenum*, *Trichoderma harzianum*, морські

дріжджі, Cochliobolus geniculatus, Aspergillus terreus, Phanerochaete chrysosporium, Periconium sp. і *Pichia kudriavzevii* [11, 16, 19].

Кожен мікроорганізм вступає в реакції з іонами металів кількома шляхами. Такі фактори як температура та рН мають вплив на такі характеристики наночасток, як розмір, форма та морфологія. Також важливу роль у творенні наночасток відіграють такі біохімічні сполуки мікроорганізмів, як NADH і NADPH-залежні ферменти, нафтохінони, антрахінони та гідрохінони.

Синтез за допомогою мікроорганізмів дозволяє контролювати та проводити маніпуляції з розміром та формою наночасток, щоб отримувати заплановані наночастки які будуть придатні для певного застосування. Бактерії, які часто дослідники називають фабрикою наночасток, мають велику перевагу завдяки легкому очищенню, легкому способу культивування та високому виходу продукту. Мікроміцети також є фаворитами для біогенного синтезу наночасток завдяки своїм властивостям до високоефективного продукування метаболітів та здатності виробляти велику кількість функціональних протеїнів.

Синтез наночасток відбувається двома механізмами – внутрішньоклітинним або позаклітинним. Внутрішньоклітинний біосинтез відбувається при взаємодії внутрішньоклітинних специфічних ферментів мікроорганізмів, як цистеїн та позитивно зарядженими металевими іонами отриманих з солі-попередника, які були поглинуті під час життєвого циклу клітини. Даний процес відбувається під дією електростатичного притягання між позитивно зарядженим іоном металу та карбоксильною групою, яка має негативний заряд. Після зв'язуванні з клітиною металеві іони відновлюються під дією біовідновлюючого ферменту NADH-залежної редуктази до своєї атомної форми Zn^0 . Утворені атомні частки об'єднуються та утворюють агрегати та піддаються стабілізації амінокислотами (цистеїн, тирозин, триптофан) та набувають стабільну наноформу. Накопичення наночасток відбувається в клітинній стінці або цитоплазмі.

Позаклітинний синтез відбувається за допомогою позаклітинних ферментів, які знаходяться на поверхні клітини або які на синтезовані клітиною у культуральній рідині. В результаті чого відбувається відновлення іонів металів до атомів з подальшою нуклеацією та утворенням наночасток. На стабілізацію синтезованих наночасток як і минулому способі впливають протеїни, але не внутрішньоклітинні, а позаклітинні [11].

Серед мікроорганізмів, що застосовуються для біосинтезу наноцинку пробіотичні молочнокислі бактерії мають великий потенціал для досліджень завдяки своїм непатогенним та корисним властивостям. Молочнокислі бактерії є грампозитивним мікроорганізмом, який формується великою кількістю біоструктур та функціональних груп. Такі функціональні групи діють як ліганди, які сприяють утворенню наноцинку.

В літературі є інформація про біосинтез наноцинку за допомогою *Lactobacillus plantarum* TA4 [20]. Біосинтез проводили як з надосадом культуральної рідини, так і з біомасою. Вирощування проводили за допомогою середовища Ман, Рогоза, Шарп (MRS). В результаті чого дослідники виявили що синтезовані наночастки супернатантом мали середній розмір 291 нм, а синтезовані наночастки за допомогою біомаси мали середній розмір від 49 до 365 нм [20].

Інше дослідження синтезу наночасток за допомогою *Lactiplantibacillus plantarum* GP258 [21]. В результаті експерименту отримали наночастки розміром від 7 до 98 нм з середнім розміром 10 нм, пік поглинання яких становив 392 нм.

1.3 Вплив наноцинку на мікроорганізми

Більшість досліджень дії наноцинку спрямовані на його антибактеріальну та фунгіцидну дію. Але в науковому просторі активно досліджується позитивна дія наночасток та мікроорганізми, оскільки окрім патогенної флори існує і не патогенна, яка не повинна страждати від токсичного впливу наноцинку. Бактерії та мікроміцети є важливою складовою доквілля. Вони займають певне

місце у колообігу речовин, активно беруть участь у формуванні ґрунтової родючості та займають ключове місце в процесах розкладання органічних сполук [22].

1.3.1 Вплив наноцинку на бактерії

Нині бактеріальні інфекції є значною проблемою у всьому світі. Виникнення потреби у створенні нових антимікробних засобів обумовили зміни бактерій, такі як, мутації, антибіотикорезистентність та періодичні спалахи патогенних бактерій. Наявність певних небезпечних мікроорганізмів в харчових продуктах несе велику загрозу для людини та впливає на якість таких продуктів. Для запобігання інфікування їжі виробники часто додають нетоксичні антимікробні речовини, які в свою чергу, пригнічують або сповільнюють ріст мікроорганізмів. Речовини, які застосовуються як антимікробні мають бути нетоксичними, не повинні реагувати з їжею або пакуванням, не повинні мати неприємного запаху.

Наночастки цинку відповідають вище зазначеним вимогам, тому можна з безпечністю застосувати, консервант в пакуванні, лікарський та антибактеріальний засіб [22].

Створення за допомогою зеленого синтезу та використання наноцинку як бактерицидний засіб може бути вигідним з точки зору ефективності та економіки. Наноцинк впливає на метаболізм клітини та викликає оксидативний стрес, в результаті чого відбувається швидка загибель клітини [23].

Окрім негативного впливу на бактерії є дослідження які демонструють стимулюючий ефект наноцинку. В одному із літературних джерел [24] було проведено дослідження впливу концентрацій наночасток цинку на ріст та формування біоплівки *Pseudomonas aeruginosa*. Науковці створювали умови росту для мікроорганізмів при високих і низьких концентраціях наноцинку в поживному середовищі. Проаналізувавши дослідження вони підтвердили, що при низьких концентраціях відбувається стимуляція росту та утворення біоплівки *Pseudomonas aeruginosa*, в той час як при високих концентраціях

наноцинку відбувалось інгібування культури [24].

1.3.2 Вплив наноцинку на мікроміцети

Мікроорганізми, які негативно впливають на врожайність та якість продукцію, можуть призвести до великих економічних втрат. Внаслідок цього виникає потреба у дослідженнях, які спрямовані на боротьбу з грибковими інфекціями, щоб забезпечити суспільство якісною та безпечною їжею. У наш час в аграрній промисловості віддають перевагу використанню фунгіцидні речовини, для зменшення витрат врожайності. Ці речовини включають в себе великий спектр хімічних сполук, які мають різний механізм дії. Однак масове застосування таких засобів може нести негативний вплив на організм людини.

Прикладом фітопатогенного мікроорганізму є *Aspergillus flavus*, який здатен вражати широкий спектр культур, особливо кукурудзу та бавовну. Оскільки кукурудза та бавовна важливі стратегічні сільськогосподарські культури виникає проблема в збереженні врожайності.

В літературних джерелах [25] є інформація що мінімальна інгібуюча концентрація наноцинку становить 25 мг/мл для *Aspergillus flavus*, виділеного з жовтої кукурудзи та 50 мг/мл для *Aspergillus flavus*, виділеного з білої кукурудзи. У ході експерименту розмір наночасток цинку становив 25-30 нм.

Інше дослідження [26] демонструвало вплив наночасток на такі мікроміцети, як *Botrytis cinerea*, виділені із гнилих груш сорту Blanquilla, *Rhizopus stolonifer*, виділені із яблук сорту Red Delicious, та *Alternaria alternata*, виділені із яблук сорту Golden Delicious. Для досліду вони використовували наночастки розміром менше 50 нм. Дослідження показали що значних змін мікроорганізми зазнають при концентрації 6 мМ. Тоді як при збільшенні концентрації *Alternaria alternata* та *Botrytis cinerea* не показували суттєвої зміни в інгібації, а *Rhizopus stolonifer* демонструє найвище інгібування [26].

В одному із досліджень [27] йшла річ про дослідження впливу наноцинку на *Aspergillus niger*. Науковці дійшли висновку що ґрунтові мікроміцети, у тому числі й *Aspergillus niger* здатні накопичувати наноцинк та перетворювати його

на більш стабільні біогенні елементи, як оксалат цинку, який має більшу біодоступність для рослин [27].

1.4 Галузі використання наночасток оксиду цинку

Зелені наночастки синтезовані екологічними методами застосовуються у фізико-хімічних, біологічних галузях. У біомедичному секторі їх застосовують для розпізнавання біомолекул, візуалізації біопроцесів та транспортування лікарських засобів. Через свої біоактивні властивості наночастки можуть застосовуватися в повсякденних для людей речах, таких як зволожувачі повітря, системах очищення води, засобах гігієни (зубна паста, дезодоранти) та різних косметичних засобах. Також вони є перспективними засобами в енергетичному секторі для зберігання енергії в сонячних та оксидних батареях. Особливу роль наночастки відіграють сільськогосподарському секторі. Вони допомагають у боротьбі з рослинними інфекціями та уникнути дефіциту поживних речовин, які впливають на продуктивність рослин. Окремо можна підкреслити важливість застосування наночасток в очищенні води, яка забруднена різними видами речовин, таких як важкі метали, барвники та фармацевтичні відходи [28].

1.4.1 Застосування ZnNPs в агропромисловості

Оскільки рослини не здатні до самостійного переміщення вони не можуть уникнути негативного впливу навколишнього середовища. Це може призвести до серйозних наслідків з врожайністю, вплинути на ріст рослин та безпечність харчових продуктів. На рівень доступного для рослин цинку у ґрунті впливає значна кількість факторів, а саме низький рівень цинку в у ґрунті, рівень значення рН яке буде більше 7, низький окисно-відновний потенціал, тривала затопленість ґрунту, ґрунтова популяція мікроорганізмів, надмірний вміст органічних речовин, високий вміст бікарбонатів, високий вміст оксиду заліза та оксиду мангану, висока доступність фосфору, підвищений вміст натрію, та високе співвідношення магнію до кальцію [6].

З метою пом'якшення фітотоксичної дії нових забрудників у системі

грунт-рослина застосовуються різні методи. Останні дослідження показали великий потенціал застосування наночинку для послаблення абіотичного стресу. Наночастки оксиду цинку (ZnONPs) мають властивість до пом'якшення стресу рослин, стимулюючи різні зміни на морфологічному, фізіологічному, біохімічному та ультраструктурному рівнях під дією факторів абіотичного стресу [5, 29].

В одній із статей [29] розглядалася дія позакореневого внесення ZnONPs щоб зменшити токсичний вплив кадмію в рослинах портулаку шляхом підвищення активності антиоксидантної та гліоксалазної системи. Кадмій (Cd) впливає на важливі метаболічні процеси рослин на фізіологічному, біохімічному та молекулярному рівнях.

У ході дослідження [29] було виявлено токсичний вплив Cd стимулює підвищення рівню перекису водню (H_2O_2), метилгліоксалу (MG) і малонового діальдегіду (MDA). Такий вплив кадмію що призводить до окислювального стресу та індукції витоку електроліту (EL). Також відбувалось накопичення кадмію у листі рослин та відбувалось зниження макро- та мікроелементів, що спричиняло зниження вмісту фотосинтетичних пігментів і росту рослин.

Втім, позакореневе внесення наночинку мало позитивний вплив. Під впливом наночасток цинку відновилася активність антиоксидантних ферментів і гліоксалазної системи, в наслідок чого, відбулося зниження рівнів H_2O_2 , MG, MDA й EL у рослин які були під впливом кадмію. Наночинк сприяв зменшенню вмісту кадмію в листі та відновленню фотосинтезу рослин портулаку.

Підбивши підсумки результатів, можна сказати що, позакореневе внесення наночасток цинку під дією токсичності кадмію покращує рослинний ріст, підтримує гомеостаз рослин та покращує захисні механізми (антиоксидантні ферменти та гліоксалазний цикл). Таким чином, результати дослідження підкреслили значущість застосування наночинку в середовищах з високим рівнем забруднення кадмієм [29-30].

Застосування наночасток цинку у праймуванні насіння може полегшити

вплив абіотичного та біотичного стресу на рослини. Праймування наноцинком призводить до стимуляції росту рослин, впливає на схожість та зменшує час проростання рослин. Нанопраймінг має ключову роль у засвоєнні поживних речовин рослинами, що є дуже важливим у процесі росту та розвитку рослин, в тому числі у формуванні кореневої системи, подальше цвітіння рослини та утворення плодів.

Нанопраймінг є перспективним методом, оскільки традиційні методи внесення добрив не завжди ефективні. Наночастки на етапі обробки впливають на метаболізм рослини, таким чином вони стимулюють виділення регуляторів, в результаті чого зростає ріст та продуктивність рослин.

Існує три механізми проникненості наночасток після оброблення насіння. Перший механізм відбувається шляхом дифузії, оскільки наночастки розглядаються як молекули що проникають у плазматичну мембрану. Ефективність даного методу залежить від розміру, гідрофобності, форми та заряду наночасток.

Другий метод проникності наночасток у клітину відбувається шляхом ендоцитозу. Третій метод відбувається шляхом транспортування за допомогою трансмембранних білків або через канали які регулюють рух речовин по клітині. Існують обмежувальні фактори даного методу, які пов'язані зі специфічністю та наявністю малих пор [31, 32, 33].

1.4.2 Застосування ZnONPs в медичній галузі

Оксид цинку володіє фотокаталітичними та фотоокислювальними властивостями, які допомагають у боротьбі з бактеріальними та грибовими інфекціями. Наноцинк затен боротися з мікроорганізмами які мають розмір від нанометра до мікрметра. Завдяки своїй нанорозмірності наночастки здатні проникнути в бактеріальну клітини та завдати їй шкоди зсередини. Маючи особливі фізико-хімічні властивості вони здатні проявляти антибактеріальні властивості. Наноцинк є особливо ефективним антимікробним засобом проти таких мікроорганізмів як, грампозитивні бактерії *Staphylococcus aureus* та

грамнегативні бактерії *Klebsiella aerogenes*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Потенціал наночастинок цинку як антибактеріального засобу робить їх перспективним засобом як для медичного, так і для харчового сектору, особливо на фоні зростання антибіотикорезистентності. Нещодавні експерименти [34] були спрямовані на дослідження наночастинок, як речовини яка зможе чинити супротив бактеріальним культурам. Для металевих наночастинок характерні два фактори які впливають на їхні антибактеріальні властивості, а саме від матеріалу, що був застосований для утворення та від розміру часток. В літературних джерелах [34] є інформація що наночастки синтезовані зеленим методом мали більший антимікробний ефект ніж наночастки синтезовані хімічними способами. Наноцинк широко застосовується в медичних текстильних виробках, включаючи антимікробні пов'язки, перев'язувальні матеріали та рукавички, який не дозволяє розмножуватись патогенним мікроорганізмам.

Одне з досліджень [35] також показало, що наноцинк має цитотоксичний вплив на ракові клітини. Їх цитотоксичний вплив насамперед проявляється здатністю вивільняти іони цинку в простір клітини, в результаті чого збільшується утворення активних форм кисню та активується апоптоз клітини.

Для дослідження [35] вплину наноцинку науковці застосовували ракові клітини печінки людини (HepG2). Дослідження показали, що ZnONPs збільшують клітинну та генну токсичність у клітинах раку печінки людини, які проявляються мітохондріальною дисфункцією. Під час того як мітохондріальна мембрана втрачає свій потенціал через пори зовнішньої мембрани відбувається вивільнення білків, які спричиняють апоптоз (наприклад, цитохром C) у цитозоль та відбувається активація ферментів каспази.

Ще одне дослідження оцінювало протиракову активність наноцинку до клітин раку молочної залози MCF-7 синтезованих за допомогою штаму дріжджів *Pichia kudriavzevii* GY1 [35]. Результати показали, що наночастками була викликана сильна цитотоксична дія проти пухлинних клітин. Відбулася

експресія протиапоптичних генів, таких як Bcl-2, AKT1 і JERK/2 та генів які викликали апоптоз клітини p21, p53, JNK і Вах. Отже, підсумовуючи можна сказати що значна кількість досліджень вказує на специфічну цитотоксичну дію наноцинку на ріст пухлин [34 – 36].

1.4.3 Застосування ZnONPs в харчовій промисловості

Оксид цинку активно застосовується в харчовому секторі як харчова добавка цинку та збагачувач поживних речовин. Його застосування в агросекторі, як добриво впливає на вироблення білка у рослин які споживає людина.

Оскільки, цинк є важливим елементом для людського організму його добова норма становить для чоловіків 11 мг/день та для жінок 8 мг/день. В середньому добове вживання цинку дорослими знаходиться в межах 8,1-13,5 мг/день, що є достатнім для людини. Але дефіцит цинку часто проявляється у дітей та людей, які мають проблеми із харчуванням або які мають такі захворювання як алкоголізм, захворювання нирок, розлади шлунково-кишкового тракту, запалення та рак. В результаті чого такі люди потребують харчових продуктів з великим вмістом цинку або дієтичних добавок з цинком. Зазвичай як харчові добавки використовують глюконат, сульфат, ацетат, цитрат та оксид цинк, який є нерозчинною речовиною у воді.

У результаті розвитку нанотехнологій зріс попит на виробництво наночасток цинку. Наноцинк, як дієтична добавка проявляє значно вищу ефективність у порівнянні з оксидом цинку. Це було підтверджено дослідями на рибі, бройлерах, відлучених свинях, іншій худобі та моделях тварин які мали дефіцит Zn. Надмірне вживання цинку викликає токсичну дію на організм, включаючи в себе нудоту, діарею, блювоту, головний біль, біль у животі, ослаблення імунної системи та дефіциту міді в організмі. Існує занепокоєність щодо токсичності та можливих біологічних реакцій організму людини на наноцинк, тому виникає потреба подальшого впливу наночасток на людський організм [37].

В харчовій промисловості значну роль відіграє пакування, яке змогло б зберегти їжу тривалий час у свіжому вигляді. Застосування наночасток, як наповнювачів у полімерні матеріали сприяло удосконаленню пакувальних матеріалів. Полімери що містять нанокомпозити можуть включати в себе такі функціональні властивості, як термо- та кріостабільність, гідрофобність та змочуваність поверхні.

Високий рівень інфікувань такими мікроорганізмами, як *Salmonella typhii*, *Clostridium perfringes* і *Pseudomonas aeruginosa* пояснюється споживанням контамінованої їжі. Тому виникнула потреба в пошук антимікробних матеріалів, які не мали токсичної дії на людину.

В одному з досліджень [38] було проведене дослідження в якому порівнювалась антимікробна дія оксиду цинку наночасток цинку. Вони виявили що наноцинк має вищі антибактеріальні властивості у порівнянні з оксидом цинку, завдяки своїй нанорозмірності. Наноцинк активно реагує з поверхнею клітини та ядром викликаючи більшу цитотоксичну дію ніж оксид цинку. В основу антибактеріального впливу наноцинку входить його концентрація та розмір часток. Деякі дослідження зазначили, що зі збільшенням концентрації та зниженням розміру збільшується і бактерицидна дія наночасток. Тому більшість досліджень спрямовано на отримання значень мінімальної концентрації та отримання стабільного розміру наноцинку для застосувань у якості пакувального матеріалу з бактерицидним ефектом [28,38].

Висновки до розділу 1

Було проведено аналіз наукової літератури, в якій описано біодоступність цинку та його важливість для рослин. Надана інформація щодо значення, дефіциту цинку та його наявності в різних частинах рослин. Також було досліджено дію та токсичність наноцинку на рослини. Аналізовано отримання наночасток цинку за допомогою мікроорганізмів і рослинних екстрактів та їх механізми синтезу наночасток. Зробили огляд впливу наноцинку на бактерії та мікроміцети. Дослідили практичне застосування наноцинку в агропромисловості, харчовій промисловості та медицині.

РОЗДІЛ 2.

МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ

2.1 Характеристика *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Для біосинтезу наноцинку у ході роботи застосовувався штам *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, який належить до Української колекції мікроорганізмів. Штам було отримано Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

2.1.1 Таксономічний статус

Царство: Бактерій

Тип: *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Порядок: *Lactobacillales*

Родина: *Lactobacillaceae*

Рід: *Lactobacillus*

Вид: *acidophilus*

Штам: УКМ В-2691

2.1.2 Морфологічні та фізіологічні властивості

Деякі штами лактобактерій привертають значну увагу у харчовій промисловості завдяки своїм біотехнологічним властивостям. Найпоширенішою пробіотичною групою бактерій є молочнокислі бактерії *Lactobacillus acidophilus*. Дані пробіотики відносяться до представників мікрофлори людини та виконують значну роль у підтриманні нормальної роботи травної системи.

В харчовій індустрії молочнокислі бактерії застосовуються у вигляді закваски, для таких молочних продуктів, як сир, йогурт та інші [39].

Lactobacillus acidophilus входять до складу роду *Lactobacillus* родини *Lactobacillaceae* – це неспороутворююча грампозитивна паличка. Даний вид бактерій має форму тонких паличок з заокругленими кінцями розміром від 2 до

10 мкм (див. рис. 2.1). Велика кількість штамів молочнокислих бактерій відносяться до мікроаерофілів, ріст яких здійснюється в умовах пониженого рівня кисню або при вмісті кисню 5–10 %. При великому насиченню кисню зіст даного мікроорганізма знижується. Оптимальна температура вирощування для лактобацил знаходиться у діапазоні 35–38°C. Вони також здатні рости і в екстремальній температурі 45°C. Оптимальний показник рівня рН для них знаходиться в межах 5,5–6,0. Особливістю *Lactobacillus acidophilus* є вміння виживати в закислених середовищах. Ацидофільна паличка здатна розмножуватись на середовищах з різними цукрами, такими як глюкоза, фруктоза, лактоза та сахароза. Шляхом молочнокислого бродіння синтезують DL-молочну кислоту. Лактобацили здатні проявляти антибактеріальні властивості шляхом виділення в середовище бактерицину [40].

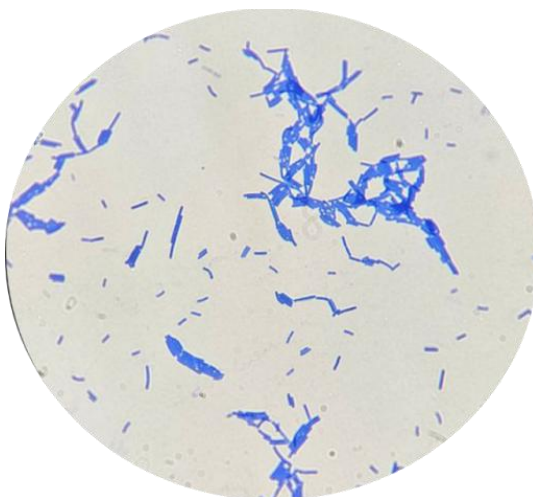


Рис.2.1 Мікроскопічне зображення *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

2.2 Поживні середовища для культивування *L. acidophilus* УКМ В-2691

Для росту мікроорганізмів важливим фактором є склад поживного середовища. Для культивування лактобацил середовище має бути багате на поживні речовини. Основними важливими компонентами середовища культивування мають бути речовини які будуть джерелом вуглецю та азоту. Інші компоненти поживного середовища мають включати в себе такі макроелементи, як кальцій, цинк, натрій, калій, мідь, магній та залізо. В склад

поживного середовища також мають входити такі органічні речовини як жирні кислоти та амінокислоти.

Для культивування *Lactobacillus acidophilus* зазвичай використовують MRS (де Ман, Рогоза та Шарп) агар та бульйон, який є галузевим стандартом для культивування лактобацил. Дане середовище культивування багате на велику кількість поживних речовин, яке здатне підтримати активний ріст бактерій [41].

2.2.1 Середовище MRS

MRS (де Ман, Рогоза та Шарп) – поживне середовище, яке в 1960 році винайдене Де Маном, Рогозою та Шарпом для селективного вирощування бактерій виду *Lactobacillus*.

Основні компоненти середовища включають в себе пептон, який є основним джерелом азоту та амінокислот, потрібних для розмноження бактерій та глюкозу, яка є основним джерелом вуглецю, який легко засвоюється лактобацилами, утворюючи молочну кислоту. Фосфат діє у середовищі, як буфер, що підтримує стабільний рівень рН протягом всього циклу ферментації. Солі магнію та марганцю потрібні для активації ферментної системи клітин та загального метаболізму лактобацил. Твин 80 в середовищі є поверхнево-активною речовиною, яка допомагає мікроорганізмам в емульгації жирів та підтримує ріст окремих, чутливих штамів лактобацил.

Приготування MRS бульйону

Приготоване поживне середовище MRS бульйон використовують для культивування штаму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691. Після культивування отриману культуральну рідину будемо використовувати для подальшого біосинтезу наноцинку.

Склад поживного середовища MRS бульйону, г/л: м'ясний екстракт 10,0, дріжджовий екстракт 5,0, глюкоза 20,0, пептон 10,0, твин 80 1,0, K_2HPO_4 2,0, ацетат натрію 5,0, діамоній цитрат 2,0, $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0,2, $MnSO_4 \times H_2O$ 0,05, вода дистильована до 1000,0 мл.

Поживне середовище стандартизоване від компанії HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Індія. На вигляд порошок сипкий, однорідний та має жовте забарвлення. Готове поживне середовище має бурштиновий або темно-бурштиновий колір без мутності. Щільність поживного середовища відповідає щільності 1,2 % агарового гелю. Кінцеве значення рН при 25°C становить 6,2 – 6,5.

Спосіб приготування MRS бульйону.

На електронних вагах потрібно відважити 55,15 г порошку MRS бульйону (див. табл. 2.1) та залити 1 л дистильованої води. Розчин ретельно змішати та нагріти до стану кипіння. Кип'ятити до повного розчинення порошку. Розлити поживне середовище в сухі та чисті колби об'ємом 300 мл (5 колб) по 200 мл розчину. Стерилізація відбувається за допомогою автоклава при 1,1 атм та температурі 121°C протягом 15 хв.

Готове стерильне середовище має бурштинове забарвлення та зберігається при температурі від 2°C до 25°C. Середовище MRS бульйон можна використовувати протягом 10 днів, якщо зберігалось при температурі від 2°C до 8°C.

Спосіб приготування MRS агару.

Склад поживного середовища наведено вище, але без агаризуючого компонента агар-агар. В склад MRS агару входить агар-агар в кількості 14 г/л.

Готове середовище MRS агар відважуємо у кількості 67,2 г на електронних вагах та заливаємо 1 л дистильованої води. Ретельно перемішуємо та кип'ятимо до повного розчинення. Приготоване поживне середовище розлити в сухі та чисті колби об'ємом 300 мл (5 колб) по 200 мл розчину. Стерилізувати в автоклаві при 1,1 атм та температурі 121°C протягом 15 хв.

Після охолодження середовища до 45-50°C перемішують та розливають по чашках Петрі. Готове поживне середовище має бурштиновий колір та зберігається за температури 8-15°C протягом 10 діб.

2.3 Отримання посівного матеріалу I та II генерації

Колекційну культуру *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, яка була ліофільно висушена поміщали у 1 мл фізіологічного розчину. Ретельно перемішували та переливали стерильно в 9 мл MRS бульйону. Далі культуру для вирощування I генерації переносять на шутель-апарат Orbitec та культивують при температурі 37°C, 160 об/хв протягом 48 год.

Для отримання II генерації культури беруть 1 мл суспензії та пересівають в 9 мл MRS бульйону. Культивування також відбувається на шутель-апарат Orbitec при температурі 37°C, 160 об/хв протягом 48 год. Далі культуру II генерації застосовують для отримання біомаси та культуральної рідини для подальшого використання у якості розчинів для біогенного синтезу наночинку. Для контролю чистоти культури проводиться висівання на чашки Перті з MRS агаром.

2.4 Проведення біогенного синтезу наночасток цинку

2.4.1 Біогенний синтез за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691

Біосинтез наночинку за допомогою *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 проводився двома варіантами.

Для отримання наночинку застосовували інокулят II генерації *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, отримання якого описано в розділі 2.3. Для отримання культуральної рідини проводили культивування на MRS бульйоні на шутель-апараті Orbitec при температурі 37°C, 160 об/хв протягом 48 год.

Після завершення культивування дослідні зразки поміщали до центрифуги MICROmed CM-3M.1 та центрифугували при 4000 об/хв протягом 30 хв для отримання біомаси (лізату клітин) та надосаду культуральної рідини (супернатант). Отриману біомасу використовували в 1 варіанті біосинтезу, а супернатант 2 варіанті біосинтезу наночинку.

Варіант 1. Для проведення синтезу першого варіанту наночинку використовували біомасу клітин. Відділену біомасу змішували з дистильованою водою та витримували 24 год для лізису клітин. Готовий дослідний розчин змішували з сіллю цинку у концентрації 100 мМ.

Варіант 2. Для біосинтезу наночасток цинку використовували супернатант культуральної рідини. До супернатанта додавали сіль цинку у концентрації 100 мМ. Змінювали значення рН до 3, 7 та 10. Та проводили біосинтез за різних температур (від 20°C до 50°C).

Після завершення біосинтезу проводилось дослідження на утворення наночасток цинку допомогою аналізатора BeNano 90 Zeta та спектрофотометрично при довжині хвилі 290-500 нм.

2.4.2 Проведення біогенного синтезу наночасток цинку за допомогою екстракту шроту (макухи) насіння соняшника

Макуха насіння соняшника є побічним продуктом, який залишається після отримання олії. Шрот насіння соняха має великий вміст білка, клітковини, вітамінів та ліпіди. Соняшникова макуха має більший вміст метіоніну ніж лізину. Вміст білків у шроті становить 260–500 г/кг, тоді як клітковина становить 120–350 г/кг. Вміст жирів коливається від 10 до 90 г/кг [42].

Приготування екстракту. Відважували 20 г шроту насіння соняшника та заливали 250 мл дистильованої води на 24 години. Отриманий розчин про центрифугували та відділити надосад від осаду. Отриманий екстракт використовували для подальшого біосинтезу наночасток.

До готового екстракту шроту соняха додавали 50 – 100 мМ солі ZnSO_4 та змінювали значення рН 7 та 9. Розчин нагрівали до 80°C протягом 10 хв. Біосинтез відбувався протягом 24 год за температури 20-25°C.

2.4.3 Проведення біогенного синтезу наночасток цинку за допомогою екстракту ромашки сухої

Ромашку в медицині застосовують як трав'яний протизапальний,

антибактеріальний лікарський засіб. Ромашка насичена різними біологічно активними речовинами, такими як флавоноїди, кумарини, полісахариди та інші. Фіто сполуки які наявні в ромашці діють як відновники таким чином здатні синтезувати наночастки [43].

Приготування екстракту. Відважували 50 г сухої ромашки. Після чого доливали 250 мл дистильованої води та залишали настоюватись екстракт на 24 години. Отриманий розчин про центрифугували та відділити надосад від осаду.

До приготованого екстракту додавали 100 мМ солі $ZnSO_4$ та змінювали значення рН до 7. Біосинтез відбувався протягом 24 год при температурі 20-25°C, після чого проводилось дослідження на утворення наночасток цинку допомогою аналізатора BeNano 90 Zeta та спектрофотометрично при довжині хвилі 290-500 нм.

2.5 Визначення наявності наноцинку методом спектрофотометричного дослідження

Спектрофотометричне дослідження – це метод вимірювання поглинання світла на визначеній довжині хвиль або в межах зазначеного діапазону хвиль. Метод базується на поглинанні верхнього шару рідини та вимірюванні її пропускання або поглинання [44].

Для проведення аналізу дослідних зразків на наявність наночасток цинку використали УФ-спектрофотометр ULAB 102 UV. Оптичну густину дослідних зразків вимірювали при довжині хвиль від 290 нм до 500 нм з кроком від 5 до 20 нм. В якості рідини для контролю застосовували дистильовану воду. Вибір довжин хвиль для аналізу був обраний згідно з проаналізованих літературних джерел, які проводили дослідження щодо піку спектра плазмового резонансу наноцинку. Результати аналізу були застосовані для побудови графіків залежності оптичної густини зразків від довжини хвилі.

До проведення дослідження дотримувались всіх правил експлуатації приладу та проведено автокалібрування.

2.6 Визначення розмірів наночастинок цинку методом динамічного розсіювання світла

Для визначення розміру наночастинок цинку застосовувався метод динамічного розсіювання світла (ДРС) або фотонної кореляційної спектроскопії (ФКС). Для проведення дослідження використовувався пристрій BeNano 90 Zeta.

Динамічне розсіювання світла – це оптичний метод, який застосовується для дослідження дисперсних систем. Метод базується на оцінці високочастотних коливань розсіяного світла, які виникають внаслідок динамічних змін мікроструктурних процесів. Однак, частіше метод використовують для визначення розміру частинок завдяки визначенню броунівського руху окремих частинок в рідині [45].

Метод ДРС має ряд переваг, оскільки не має негативного впливу на структуру дослідних зразків та не потребує великої кількості зразка. Для дослідження як правило використовують 1-2 мл матеріалу. Даний метод вирізняється точністю та швидкістю. За рахунок автоматизації процесу вимірювань відбувається мінімізація помилок під час роботи. Використання методу ФКС надає нам змогу впевнитись в якості досліджуваного матеріалу. В результаті дослідження ми отримували показники розмірів наночастинок, площі, коефіцієнту варіацій та індексу полідисперсності.

2.7 Вплив нанозинку на мікроміцети

Гриби є досить розповсюдженими мікроорганізмами, які здатні до різних способів живлення. Мікроміцети можуть жити, як у симбіозі з іншими організмами, так і бути сапрофітами, які живляться органічними речовинами.

Alternaria alternata – це один із найпоширеніших видів мікроміцетів, які інфікують широкий спектр рослин. *Alternaria alternata* відомі як недосконалі гриби, які відносяться до класу гіфоміцетів, родини дематієвих, роду *Alternaria*. Патогенні штами грибів здатні виділяти специфічні та не специфічні ферменти, такі як тентоксин. Такі штами викликають такі захворювання у

рослин, як гниття серцевини плодів гранату, плямистість листя та плодів яблук, гниль плодів томатів, плодів ківі та чорну плямистість броколі.

Культивування мікроміцети проводиться на таких поживних середовищах, як кукурудзяний агар, картопляний декстрозний агар, агар V8, глюкозно-нітратний агар, сабуро-агар та дріжджовий пептонний агар. Температура культивування для *Alternaria alternata* становить від 25°C до 35°C. Колір утворених колоній на поживному середовищі може бути від сірого до оливкового кольору. Кондії мають овальну або еліптичну форму, яка розділена поперечно та повздовжньо та формує ланцюжок коричневого або коричнево-зеленого кольору [46, 47].

Видовий комплекс *Fusarium solani* – це група нитчастих грибів, до яких належить близько 60 філогенетичних видів, які важко відрізнити відрізняються за морфологією. *Fusarium solani* належать до родини *Nectriaceae*. Мікроміцети даного виду здатні викликати захворювання таких рослин, як горох, квасоля, помідори, картопля, перець та люцерну.

Fusarium solani активно росте на картопляно-декстрозному агарі за температури від 20 до 35°C та утворює колонії білого кольору з синьо-зеленим або блакитно-коричневим відтінком. Утворені колонії мають пухку, ватну текстуру. Під мікроскопом гіфи міцелію мають вигляд розгалуженої павутини. Конідієносці гриба утворюють макроконідії, які в свою чергу формують мікроконідії. Макроконідії злегка вигнуті, гіалінові, які формують пучки. Вони як правило мають 3 перегородки, але інколи їх кількість може досягати 5. Клітини мікроконідії потовщені, базальні, конічної, округлої форми. Мікроконідії зазвичай не мають перегородок, але інколи може утворюватись до 2. За несприятливих умов здатні утворювати хламідоспори, коричневого кольору, круглої форми [48,49].

Підготовка тест культур. Для дослідження впливу наноцинку на мікромікроміцети використовували тест культури фітопатогенних грибів *Alternaria alternata* 3043 та *Fusarium solani* 50718. Дані мікроорганізми були отримані з колекції відділу фізіології і систематики мікроміцетів Інституту

мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України. Отримання чистої тест-культури відбувалось шляхом пересівання міцелію або спор на чашки Петрі з поживним середовищем сабуро-агар. Інкубували протягом 5-7 днів при температурі 25-28°C.

Метод отруєної їжі. Метод отруєної їжі – це метод дослідження протигрибкових препаратів, який зосереджений на оцінці протигрибкової активності. Відмінність даного методу від методу дифузії в агарі полягає в, тому що відбувається змішування дослідної речовини з поживним середовищем, на якому будуть висіяні мікроорганізми [50].

Для дослідження використовували поживне середовище сабуро-агар. Розплавлене поживне середовище змішували з наночастками цинку середнім розміром 55,13 нм у концентраціях 0,1 мМ, 1 мМ та 10 мМ. Розливали по чашках Петрі та засівали культурами грибів *Alternaria alternata* та *Fusarium solani*. Також готували контрольні чашки Петрі, які не містили наночасток цинку та висіювали культури грибів. Після чого зразки інкубували при температурі 25-28°C протягом 6 – 12 днів. Після інкубації порівнювали дослідні зразки з контрольними та спостерігали за змінами, які відбулися.

2.8 Статистична обробка результатів

Результати вирахування середнього розміру, площі, коефіцієнту варіацій та індексу полідисперсності наночасток цинку були прораховані одразу на приладі BeNano 90 Zeta. Для статистичної обробки результатів використовували програмне забезпечення Microsoft Office Excel 2016.

Висновки до розділу 2

В розділі описані морфологічні та фізіологічні властивості штаму *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691, який використовувався для біосинтезу наноцинку. Надані поживні середовища та методика отримання робочої культури I та II генерації. Було описано методика отримання культуральної рідини *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 та проведення біогенного синтезу

наноцинку за допомогою супернатанта культуральної рідини та лізату клітин. Також надані методики отримання екстрактів шроту насіння соняшника та ромашки сухої. Описано методику синтезу наноцинку з використанням рослинних екстрактів. Описано метод отруєної їжі для дослідження впливу отриманих наночасток на мікроміцети. Наведено методики аналізу дослідних проб для встановлення розміру та утворення наночасток цинку.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Отримання наночинку за допомогою культури *L. acidophilus* УКМ В-2691 з супернатанту культуральної рідини та лізату клітин

Отже, утворення наночасток ефективніше відбувається при використанні супернатанту культуральної рідини. В лізаті утворюються однорідніші та стабільніші, але значно більші частки. Тому, слід провести наступні дослідження з використанням супернатанту культуральної рідини та різних видів солі для подальшого отримання більш стабільних та однорідних наночасток.

3.2 Отримання ZnNPs з різних солей цинку за допомогою культури *L. acidophilus* УКМ В-2691

Також ми проводили візуальний аналіз зразків для розуміння залежності утворення наночасток та забарвлення розчинів. Таким чином спостерігаючи за забарвленням (рис. 3.2) ми дійшли висновку, що забарвлення не вказує на наявність наночасток, тому що всі дослідні зразки мали однакове забарвлення. Тому, в подальших дослідженнях візуальний аналіз не проводився.

3.3 Отримання наночинку за допомогою культури *L. acidophilus* УКМ В-2691 за різних рН та температури

Таким чином, низька температура сприяє утворенню частинок, які мають менші розміри і кращу однорідність. Тому найкращий результат синтезу наночасток було отримано при температурі 30°C та рН 7 (41,92 нм та 174,52 нм).

3.4 Порівняння результатів отримання наночинку за допомогою культури *L. acidophilus* УКМ В-2691 та екстрактів рослинних субстратів

Отже, підсумовуючи, ми можемо сказати що за допомогою екстракту соняшникового шроту також можна отримувати наночастки, але для цього треба підбирати технологію отримання екстракту та параметри біогенного

синтезу індивідуально. Тому в даному експерименті надосад культуральної рідини сприяє кращому утворенню наночасток, які мають вищу гомогенність часток та меншу варіабельність.

3.5 Результат впливу наноцинку на мікроміцети

Однак, порівнюючи зразки за концентраціями ми можемо сказати що найбільша стимуляція відбулася при концентрації 0,1мМ діаметр міцелію якого на 6 добу становив 2,1 см та на 12 добу 6,3 см (рис. 3.5 б) ,а найменша стимуляція спостерігається при концентрації 10мМ діаметр міцелію на 6 добу становив 2,0 см та на 12 добу 6,2 см (рис. 3.5 г). Однак, при концентрації 10 мМ спостерігались зміни міцелію: колір міцелію став білішим, в порівнянні з іншими зразками та помітний ріст центру вгору. В зразку з концентрацією 1,0 мМ (рис. 3.5 в) результати росту міцелію були середніми між двома іншими, де діаметр міцелію на 6 добу становив 1,9 см, однак на 12 добу становив 6,3 см.

Висновки до розділу 3

Отримані результати показали, що утворення наноцинку відбувається використовуючи для синтезу надосад культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691. Також дослідили що на утворення наночасток впливає сіль цинку. Встановили, що температура та значення рН має великий вплив під час синтезу наночасток цинку. Наночастки розміром 55,13 нм були отримані при температурі 30°C та значенні рН 7. Також було порівняно синтез наночасток за допомогою надосад культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 та екстрактів шроту насіння соняшника та ромашки сухої.

В розділі також було досліджено вплив отриманих наночасток на мікроміцети *Alternaria alternata* 3043 та *Fusarium solani* 50718. У результаті чого отримали результати того що вплив наноцинку є дозозалежним (великі концентрації 10мМ викликають інгібацію, а маленькі 0,1мМ здатні до стимуляції).

ВИСНОВКИ

1. Встановили, що краще використовувати надосад культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 для біосинтезу наноцинку в наступних дослідженнях. Виявили, що дослідні зразки з надосаду культуральної рідини мали розмір наночасток 0,63 нм 8,06 нм та 145,91 нм (середній розмір 30,61 нм) з індексом полідисперсності 1,665.

2. Використовуючи різні солі цинку ZnSO_4 , ZnO та $\text{Zn(NO}_3)_2$ для синтезу наночасток за допомогою надосаду культуральної рідини *L. acidophilus* УКМ В-2691 отримали результати, що утворення наночасток не відбулось, утім найменший розмір часток утворюється при використанні сульфату цинка (213,04 нм). Тому, в наступних дослідженнях надали перевагу використанню солі ZnSO_4 .

3. При зміні значення рН та температури було визначено, що нейтральне рН та температура 30°C сприяють утворенню менших наночасток. Таким чином при температурі 30°C та рН 7 було отримано наночастки цинку середнього розміру 55,13 нм з індексом полідисперсності 0,219.

4. За результатами дослідження утворення наночасток цинку за допомогою екстракт ромашки сухої, в порівнянні з надосадом культуральної рідини було встановлено, не відбулось. Натомість, утворення наноцинку (54,03 нм) за допомогою екстракту соняшникового шроту можливе, однак для треба підбирати технологію отримання екстракту та параметри біогенного синтезу індивідуально.

5. Провівши дослідження дії наноцинку на мікроміцети *Alternaria alternata* 3043 та *Fusarium solani* 50718, дійшли висновку, що вплив наночасток є дозозалежним, де високі концентрації викликають пригнічення росту, а маленькі концентрації стимулюють ріст. Для *A. alternata* 3043 при концентрації 10мМ діаметр колоній на 6 добу становив 0,9 см, тоді як при концентрації 0,1мМ – 1,6 см при контролі діаметром 1,4 см. Для *F. Solani* 50718 при концентрації 10мМ діаметр колоній на 6 добу – 2,0 см, тоді як при концентрації 0,1мМ – 2,1 см при контролі діаметром міцелію 1,9 см.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. N. Natasha et al. Zinc in soil-plant-human system: A data-analysis review. *Science of The Total Environment*. 2022. Vol. 808. P. 152024. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152024
2. Sturikova H. et al. Zinc, zinc nanoparticles and plants. *J of Hazardous Materials*. 2018, 349:101–110. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.01.040
3. Hanikenne M., Bouché F. Iron and zinc homeostasis in plants: a matter of trade-offs. *J of Experimental Botany*. 2023. Vol. 74, № 18 P. 5426–5430. doi.org/10.1093/jxb/erad304
4. Stanton C. et al. Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. *Molecular Plant*. 2022. Vol. 15, № 1. P. 65–85. doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.008
5. Khan A. R. et al. Efficacy of zinc-based nanoparticles in alleviating the abiotic stress in plants: current knowledge and future perspectives. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023. Vol. 30. P. 110047–110068. doi.org/10.1007/s11356-023-29993-6
6. Zeng H. et al. Molecular regulation of zinc deficiency responses in plants. *Journal of Plant Physiology*. 2021. Vol 261. P. 153419. doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153419
7. Okereafor U. et al. Toxic Metal Implications on Agricultural Soils, Plants, Animals, Aquatic life and Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020. Vol. 17, № 7. P. 2204. doi.org/10.3390/ijerph17072204
8. Liu L., Nian H., Lian T. Plants and rhizospheric environment: Affected by zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs). A review. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2022. Vol. 185. P. 91–100. doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.05.032
9. Yadi M. et al. Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2018. Vol. 46, № 3. P. 336-343. doi.org/10.1080/21691401.2018.1492931

10. Fagier M. A. Plant-Mediated Biosynthesis and Photocatalysis Activities of Zinc Oxide Nanoparticles: A Prospect towards Dyes Mineralization. *Journal of Nanotechnology*. 2021. Vol. 2021. P. 1–15. doi.org/10.1155/2021/6629180
11. Rani S. et al. Biogenic Synthesis of Zinc Nanoparticles, Their Applications, and Toxicity Prospects. *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. P. 8824427. doi.org/10.3389/fmicb.2022.824427
12. Sorbiun, M., Shayegan Mehr, E., Ramazani, A. et al. Green Synthesis of Zinc Oxide and Copper Oxide Nanoparticles Using Aqueous Extract of Oak Fruit Hull (Jaft) and Comparing Their Photocatalytic Degradation of Basic Violet 3. *International Journal of Environmental Research*. 2018. Vol. 12. P. 29–37. doi.org/10.1007/s41742-018-0064-4
13. Chauhan, A., Verma, R., Kumari, S. et al. Photocatalytic dye degradation and antimicrobial activities of Pure and Ag-doped ZnO using Cannabis sativa leaf extract. *Scientific Reports*. 2020. № 7881. doi.org/10.1038/s41598-020-64419-0
14. Krishnasamy S. R., Sridhar A. et al. Facile biofabrication, characterization, evaluation of photocatalytic, antipathogenic activity and in vitro cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 22. P. 101436. doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101436
15. Alkasir M. Samadi N. et al. Evaluation cytotoxicity effects of biosynthesized zinc oxide nanoparticles using aqueous Linum Usitatissimum extract and investigation of their photocatalytic activityackn. *Inorganic Chemistry Communications*. 2020. Vol. 119. P. 108066. doi.org/10.1016/j.inoche.2020.108066
16. Gangwar J., Sebastian J. K. Unlocking the potential of biosynthesized zinc oxide nanoparticles for degradation of synthetic organic dyes as wastewater pollutants. *Water Science and Technology*. 2021. Vol. 84, № 10-11. P. 3286–3310. doi.org/10.2166/wst.2021.430
17. Dhanemozhi Clara A., Rajeswari V., Sathyajothi S. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticle Using Green Tea Leaf Extract for Supercapacitor Application. *Materials today: Proceedings*. 2017. Vol. 4, № 2. P. 660–667. doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.070

18. Chatterjee S., R J., S R. Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Chamomile and Green Tea Extracts and Evaluation of Their Anti-inflammatory and Antioxidant Activity: An In Vitro Study. *Cureus*. 2023. Vol. 15, № 9. P. 46088. doi.org/10.7759/cureus.46088
19. Ashour M. A., Abd-Elhalim B. T. Biosynthesis and biocompatibility evaluation of zinc oxide nanoparticles prepared using *Priestia megaterium* bacteria. *Scientific Reports*. 2024. Vol. 14, № 1. P. 4147. doi.org/10.1038/s41598-024-54460-8
20. Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N., Mohamad, R. et al. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. P. 19996. doi.org/10.1038/s41598-020-76402-w
21. Chakra, P. S.; Banakar, A. et al. Characterization of ZnO nanoparticles synthesized using probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* GP258. *Beilstein journal of nanotechnol.* 2025. Vol. 16, P. 78–89. doi.org/10.3762/bjnano.16.8
22. Siddiqi, K.S., Rahman, A., Tajuddin et al. Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes. *Discover Nano*. 2018. Vol. 13, № 141. doi.org/10.1186/s11671-018-2532-3
23. Cheema A. I., Ahmed T., Abbas, A. et al. Antimicrobial activity of the biologically synthesized zinc oxide nanoparticles against important rice pathogens. *Physiology and molecular biology of plants*. 2022. Vol. 28, № 10. P. 1955–1967. doi.org/10.1007/s12298-022-01251-y
24. Al-Momani, H., Aolymat, I., Ibrahim, L. et al. Low-dose zinc oxide nanoparticles trigger the growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*: a hormetic response. *BMC Microbiology*. 2024. Vol. 24. doi.org/10.1186/s12866-024-03441-y
25. Alhazmi, N.M.; Sharaf, E.M. Fungicidal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against Azole-Resistant *Aspergillus flavus* Isolated from Yellow and White Maize. *Molecules*. 2023. Vol. 28, № 2. P. 711. doi.org/10.3390/molecules28020711

26. Sardella D., Gatt R., Valdramidis V. P. Turbidimetric Assessment of the Growth of Filamentous Fungi and the Antifungal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles. *Journal of Food Protection*. 2018. Vol. 81, № 6, P. 934-941. doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-448

27. Šebesta M., Urík M., Bujdoš M. et al. Fungus *Aspergillus niger* Processes Exogenous Zinc Nanoparticles into a Biogenic Oxalate Mineral. *Journal of Fungi*. 2020. Vol. 6, № 4, P. 210. doi.org/10.3390/jof6040210

28. Alsaiani N. S. et al. Plant and Microbial Approaches as Green Methods for the Synthesis of Nanomaterials: Synthesis, Applications, and Future Perspectives. *Molecules*. 2023. Vol. 28, № 1, P. 463. doi.org/10.3390/molecules28010463

29. Pishkar L., Yousefi S., Iranbakhsh A. Foliar application of Zinc oxide nanoparticles alleviates cadmium toxicity in purslane by maintaining nutrients homeostasis and improving the activity of antioxidant enzymes and glyoxalase system. *Ecotoxicology*. 2022. Vol. 31. P. 667–678. doi.org/10.1007/s10646-022-02533-7

30. Timilsina A., Adhikari K., Chen H. Foliar application of green synthesized ZnO nanoparticles reduced Cd content in shoot of lettuce. *Chemosphere*. 2023. Vol. 338. P. 139589. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139589

31. Donia D. T., Carbone M. Seed Priming with Zinc Oxide Nanoparticles to Enhance Crop Tolerance to Environmental Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 24. P. 17612. doi.org/10.3390/ijms242417612

32. Gupta N., Singh P. M., Sagar V. Seed Priming with ZnO and Fe₃O₄ Nanoparticles Alleviate the Lead Toxicity in *Basella alba* L. through Reduced Lead Uptake and Regulation of ROS. *Plants*. 2022. Vol. 11, № 17. P. 2227. doi.org/10.3390/plants11172227

33. Nile, S.H., Thiruvengadam, M., Wang, Y. et al. Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture—recent developments and future perspectives. *Journal of Nanobiotechnol.* 2022. Vol. 20. P. 254. doi.org/10.1186/s12951-022-01423-8

34. Alhujaily M. et al. Recent Advances in Plant-Mediated Zinc Oxide Nanoparticles with Their Significant Biomedical Properties. *Bioengineering*. 2022. Vol. 9, № 10. P. 541. doi.org/10.3390/bioengineering9100541
35. Wiesmann N. et al. Zinc overload mediated by zinc oxide nanoparticles as innovative anti-tumor agent. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2019. Vol. 51. P. 226–234. doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.08.002
36. Asif N., Amir M., Fatma T. Recent advances in the synthesis, characterization and biomedical applications of zinc oxide nanoparticles. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2023. Vol. 46. P. 1377–1398. doi.org/10.1007/s00449-023-02886-1
37. Youn S.-M., Choi S.-J. Food Additive Zinc Oxide Nanoparticles: Dissolution, Interaction, Fate, Cytotoxicity, and Oral Toxicity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, № 11. P. 6074. doi.org/10.3390/ijms23116074
38. Dash K. K. et al. Applications of Inorganic Nanoparticles in Food Packaging: A Comprehensive Review. *Polymers*. 2022. Vol. 14, № 3. P. 521. doi.org/10.3390/polym14030521
39. Anwar A. A., Thikra A. A., Anwar K. AL-S., et al. Analysis of Probiotic properties of *Lactobacillus acidophilus* from commercial yoghurt. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2015. Vol. 4, № 12. P. 548-554. doi: 10.20546/ijcmas
40. Huijuan Gao, Xin Li, Xiatian Chen et al. The Functional Roles of *Lactobacillus acidophilus* in Different Physiological and Pathological Processes. *Journal of Microbiol Biotechnol*. 2022. Vol. 32, № 10. P. 1226-1233. doi: 10.4014/jmb.2205.05041.
41. Garg A. P, Bamal A, Goley R. A Better and Cheaper Culture Medium for Isolation of Lactic Acid Bacteria from Milk and its Products. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 2025. Vol. 22, № 1. P. 149-155. doi.org/10.13005/bbra/3348

42. Seiler G.J., Gulya T.J. Sunflower: Overview. *Encyclopedia of Food Grains (Second Edition)*. 2016. Vol. 1. P. 247-253. doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00027-9
43. Helal M. H., Badr S. E. A., AbedElaaty S. A. Chemical Characterization, Antioxidant, Anticancer and Hypolipidimic Activities of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Nutrition Research and Food Science Journal*. 2021. Vol. 4, № 2. P. 1–8. doi: 10.31038/nrfsj.2021421
44. Qiu L., Wang S., Ma Y., Li F. Chapter 7 - Nanofluid and nanopowders. *Micro and Nano Thermal Transport Research: Characterization, Measurement and Mechanism*. 2022. P. 247-284. doi.org/10.1016/B978-0-12-823539-3.00008-8
45. Babick F. Chapter 3.2.1 - Dynamic light scattering (DLS). Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles. 2020. P. 137-172. doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00010-9
46. DeMers M. *Alternaria alternata* as endophyte and pathogen. *Microbiology (Reading)*. 2022. Vol. 168, № 3. doi: 10.1099/mic.0.001153.
47. Ramiz M. S. A. *Alternaria alternata*: the most common pathogen on date palm. *Studies in Fungi*. 2024. Vol. 9. P. 1-6. doi/10.48130/sif-0024-0012?u
48. Андрющенко О. В., Страшнова І. В. Характеристика представників роду *fusarium*, що викликають захворювання зернових культур. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2023. Вип. 3. С. 37–59. doi.org/10.18524/2307-4663.2023.3(59).293001
49. Coleman, J.J. *Fusarium solani* species complex. *Molecular Plant Pathology*. 2016. Vol. 17. № 2. P. 146-158. doi.org/10.1111/mpp.12289
50. Hossain J. T. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2024. Vol. 14, № 2. P. 97–115. doi.org/10.1556/1886.2024.00035

Таким чином, можна зробити основний висновок, що *Eva Green* забарвлює лише мертві клітини, що свідчить про його непроникність через цілісну клітинну мембрану та дає змогу застосовувати його для визначення стану клітин. Додаткові висновки: мінімальна кількість клітин для даного дослідження складає 100000 в мл; необхідно проводити процедуру відмивання клітин, що забезпечує елімінацію барвника з розчину.

Робота виконана за підтримки гранту Національного фонду досліджень України (проект № 2021.01/0414).

Отримання наночастинок цинку зеленим синтезом

¹Потупа В.Ю., ¹Петрух А.О., ²Шкотова Л.В., ¹Волошина І.М.

¹Київський національний університет технологій та дизайну,

м. Київ, Україна

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, Україна

i_woloschina@yahoo.com

Нанотехнології представляють собою перспективний напрямок наукових досліджень, здатний перевернути уявлення про науку, техніку та бізнес. Однією з ключових галузей нанотехнологій є використання наночастинок, які можуть бути тривимірними структурами розміром від одного до ста нанометрів. Ці технології відкривають нові горизонти у біомедицині та агропромисловості, дозволяючи створювати нові, вдосконалені продукти з покращеними характеристиками. Зелений синтез, що використовує природні ресурси, такі як рослини та мікроорганізми, стає найбільш безпечним і екологічно чистим методом для виробництва наночастинок. Наночастки оксиду цинку, які виробляються шляхом зеленого синтезу, виявляються корисними в біомедицині та біотехнології завдяки їхній високій антимікробній активності, здатності до фотодеградації та адсорбції іонів металів. Синтез наночастинок оксиду цинку з використанням таких мікроорганізмів, як *Nocardia farcinica*, *Streptomyces viridogens*, *Rhodococcus* spp, *Streptomyces hygroscopicus* i *Thermoactinomyces* spp., мав значні результати. Ми досліджуємо отримання наночастинок цинку за

допомогою *L. acidophilus* та солі ZnSO_4 . У процесі дослідження використовували культуральну рідину та її супернатант. Необхідно зазначити, що на утворення наночасток цинку впливає рН середовища та температура біогенного синтезу, тому що залежно від цих параметрів фіксували значення наночасток у дуже широкому діапазоні від 3 нм до 250 нм і вище. Однак ZnNPs *L. acidophilus* УКМ В-2691 розміром 37-51 нм фіксували у лужному середовищі і температурному діапазоні 30-60°C. Отже, дослідження показали, що екологічно чистий метод виробництва наночасток цинку можливий також і за допомогою молочнокислих бактерій *L. acidophilus* УКМ В-2691.

**Перспективи використання біорозкладних матеріалів
як альтернативи пластику**

Приходько П.С., Калюжная О.С., Хохленкова Н.В.

Кафедра біотехнології Національного фармацевтичного університету,

м. Харків, Україна

polinaprihodko30@gmail.com

Важливою причиною виникнення екологічної кризи є накопичення твердих відходів, серед яких значну частку складають використані полімерні вироби, такі як тара, пакувальні матеріали та предмети побуту. Синтетичні полімери розкладаються у природних умовах дуже повільно, що значно перевищує терміни їх споживання. Через можливість запобігти накопиченню нерозкладаних сполук у природі актуальною стає використання біорозкладних матеріалів.

Біорозкладні матеріали розкладаються завдяки дії живих організмів, зокрема грибів та інших мікроорганізмів. Ці матеріали не накопичуються у ґрунті або в будь-якому середовищі, та не забруднюють навколишнє середовище.

Метою дослідження було обґрунтування переваг використання біорозкладних матеріалів як альтернативи пластику, пошуку інноваційних рішень, які є безпечними для довкілля і суспільства.

ДОДАТОК Б



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ



НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

учасника
№386

Цим засвідчується, що

Потупа В. Ю.

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

**«ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ»**

(тривалість - 8 год)

22 березня 2024 р., м. Харків, Україна

В.о. ректора НФаУ,
д. фарм. н., проф.

Проректор з НПР,
д. фарм. н., проф.

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



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Наталя ХОХЛЕНКОВА

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

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

Потупа В., Гусейнова К., Волошина І.

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ZnONPS

Київський національний університет технологій та дизайну

бул. Мала Шияновська, 2, м.Київ, 01011, Україна

e-mail: vladislavapotupa@gmail.com

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

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

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

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

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

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

АНАЛІЗ ГЕНОМА ШТАМУ АКТИНОМІЦЕТІВ

ACTINORECTISPORA SP. JE 1-571

Львівський національний університет імені Івана Франка

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

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

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



свідчить неймовірне розманіття комбінацій кольорів та їх відтінків у отриманих гібридних рослин.

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

ФУНГІЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОЧАСТИНОК МІДІ FUNGICIDAL PROPERTIES OF COPPER NANOPARTICLES

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

¹Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна

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

Сільське господарство є ключовою галуззю в країнах світу, яке нерідко стикається з численними глобальними викликами. Найбільшою проблемою є шкідники та хвороби, спричинені комахами, бактеріями, грибами та іншими патогенами, присутніми в навколишньому середовищі. Зокрема, ряд мікроміцетів можуть призвести до різних захворювань агрономічних, садових, декоративних і лісових видів рослин. Мікроскопічні гриби мають здатність пристосовуватися до будь-якого середовища і можуть колонізувати різні субстрати навіть в екстремальних або нестабільних умовах довкілля. Крім того, вони діють на різні етапи розвитку культури, починаючи з посіву і закінчуючи післязбиральним періодом. Близько 70 % захворювань рослин спричиняються грибами, наприклад *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert, 1884), що впливає на виробництво сої, томатів, салату, квасолі та соняшнику, *Pyricularia oryzae* (Hebert, 1977), що викликає захворювання у зернових культур, таких як рис і пшениця, і *Alternaria alternata* (Keissler, 1912), яка є умовно-патогенним грибом, який має широкий ареал господаря, викликаючи плямистість листя та фітофтороз на багатьох частинах рослин [Consolo et. al. 2020]. Таким чином, необхідно контролювати ці мікроорганізми та застосовувати всі можливі способи у боротьбі з ними.

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

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

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

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

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

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

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, Україна

allakomisarenko2017@gmail.com

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

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



прогнозовано збільшити прибутки з виробництва пробіотичних препаратів.

Література:

1. Codex Alimentarius Commission (CAC). URL: https://food.ec.europa.eu/horizontal-topics/international-affairs/international-standards/codex-alimentarius_en (дата звернення: 24.02.2024).
2. Gupta V., & Garg R. Probiotics. Indian Journal of Medical Microbiology. 2009. № 27(3). P. 202–209. DOI: 10.4103/0255-0857.53201
3. Yan F., Polk D. B. Probiotics and immune health. Curr Opin Gastroenterol. 2011. Vol. 27, № 6. P. 496–501.
4. Puebla-Barragan S.; Reid G. Probiotics in Cosmetic and Personal Care Products: Trends and Challenges. Molecules. 2021. № 26. 1249. <https://doi.org/10.3390/molecules26051249>
5. Ankita Singh, Sharon Grace Alexander, Sunil Martin. Gut microbiome homeostasis and the future of probiotics in cancer immunotherapy. Front. Immunol. Sec. Cancer Immunity and Immunotherapy. 2023. Vol. 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1114499>
6. Tilg H., Moschen A. R. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. Gut. 2014. Vol. 63, №9. P. 1513–1521.
7. Bifidobacteria Probiotic Market. URL: <https://www.maximizemarketresearch.com/market-report/global-bifidobacteria-probiotic-market/110939/> (дата звернення: 28.05.2024).

УДК: 606:61+ 579.6

ПЕТРУХ А.О., ПОТУПА В.Ю., МОРИН В.В., ВОЛОШИНА І.М.
Київський національний університет технологій та дизайну

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ У КОСМЕТИЦІ

За останні два десятиліття сфера нанотехнологій зазнала значного розвитку, перейшовши від теоретичних до практичних застосувань. Наночастки, завдяки своїм унікальним властивостям, знайшли широке застосування в доставці ліків, діагностиці, косметичній та інших галузях. Однак ці досягнення також викликають питання щодо безпеки наночастинок. Незважаючи на значні зусилля для розуміння їхньої токсичності, багато аспектів досі залишаються не до кінця вивченими. Водночас дослідження дозволили визначити кілька стратегій для мінімізації та запобігання токсичним ефектам наночастинок, сприяючи розвитку безпечніших нанотехнологій [1]. Глобалізація розширила асортимент косметичних продуктів, починаючи від основних продуктів, таких як зубна паста, до продуктів, що використовують технологію модифікованого вивільнення та

нанотехнології, ставши невід'ємною частиною особистого благополуччя. Як і всі дермофармацевтичні продукти, косметика також стикається з механічними бар'єрами шкіри. Роговий шар, щільні з'єднання міжфолікулярного епідермісу та волосяних фолікулів є важливими цьому контексті, і їх слід враховувати при розробці композицій для місцевого застосування. Роговий шар є найбільш зовнішнім механічним бар'єром і вважається першою перешкодою для зовнішньої агресії. Він відіграє важливу роль у поглинанні речовин шляхом пасивної дифузії. Крім того, волосяні фолікули також продемонстрували хорошу абсорбцію і вважаються хорошими потенційними мішенями для доставки ліків [3]. Це пояснюється тим, що наноматеріали мають численні переваги, такі як збільшена площа поверхні, хороша стабільність, висока ефективність інкапсуляції та здатність до завантаження, тривалий час утримання та доставка до конкретного місця [3]. Незважаючи на потенціал для клінічного застосування, деякі дослідження показали, що НЧ можуть бути токсичними. Ці дослідження продемонстрували здатність НЧ накопичуватися в клітинах і викликати органоспецифічну токсичність. Ці дослідження в поєднанні з постійно зростаючим впливом на людину демонструють нагальну потребу в розробці безпечних НЧ і розробці суворих інструкцій для їх розробки щодо тестування на токсичність [1]. Діоксид титану (TiO_2) широко використовується в різних продуктах, включаючи косметику. TiO_2 у формі наночасток (нано- TiO_2) зараз є єдиною формою, яка використовується як ультрафіолетовий (УФ) фільтр у сонцезахисних кремах, а також у деяких денних кремах, основах і бальзамах для губ. Незважаючи на те, що його ефективність як УФ-фільтра доведена в профілактиці раку шкіри та сонячних опіків, висловлюються певні сумніви щодо його безпеки. Дійсно, враховуючи його невеликий розмір, підозрюють, що нано- TiO_2 проникає через дермальний, респіраторний або шлунково-кишковий бар'єри, поширюється в організмі і, отже, становить потенційний ризик для споживача [2]. Неорганічні фільтри ZnO і TiO_2 здатні захищати від UVA і UVB. Як мікронізовані частинки в сонцезахисному кремні, вони мають кілька несприятливих характеристик, у тому числі складність у нанесенні, залишають білі сліди на шкірі, можливо залишають плями на одязі та є комедогенними. Це призвело до розробки менших наночасток, використання яких значно покращує косметику та полегшує нанесення сонцезахисних засобів, зберігаючи при цьому фотозахисні властивості. Наночастки діоксиду кремнію набули значної популярності в косметичній промисловості завдяки своїм гідрофільним властивостям. Вони можуть збільшити термін зберігання, ефективність і текстуру продуктів (косметики). Його чудові властивості поглинання та запобігання злипанню використовуються в косметичних пудрах, а його унікальний розподіл пігменту добре

використовується в помадах. Використання та вплив НЧ діоксиду кремнію все ще обмежені, тому необхідно продовжувати їх дослідження [3]. Однак ці досягнення також викликають питання щодо безпеки наночастинок. Незважаючи на значні зусилля для розуміння їхньої токсичності, багато аспектів залишаються не до кінця вивченими. У косметичній промисловості наночастинок використовуються для покращення властивостей продуктів, таких як сонцезахисні креми, помади та пудри. Проте, існує занепокоєння щодо їхнього потенційного проникнення через шкірний бар'єр і можливих токсичних ефектів. Для забезпечення безпеки нанотехнологій необхідні подальші дослідження, спрямовані на розробку методів мінімізації та запобігання токсичності наночастинок.

Література:

1. Raszewska-Famielec M, Flieger J. Nanoparticles for Topical Application in the Treatment of Skin Dysfunctions-An Overview of Dermo-Cosmetic and Dermatological Products. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(24):15980. doi: 10.3390/ijms232415980.
2. Mascarenhas-Melo F, Mathur A, Murugappan S, Sharma A, Tanwar K, Dua K, Singh SK, Mazzola PG, Yadav DN, Rengan AK, Veiga F, Paiva-Santos AC. Inorganic nanoparticles in dermopharmaceutical and cosmetic products: Properties, formulation development, toxicity, and regulatory issues. *Eur J Pharm Biopharm.* 2023;192:25-40. doi: 10.1016/j.ejpb.2023.09.011.
3. Dréno B, Alexis A, Chuberre B, Marinovich M. Safety of titanium dioxide nanoparticles in cosmetics. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019; 33 Suppl 7:34-46. doi: 10.1111/jdv.15943.

УДК 637.146

РОМАНЧУК І.О., МОІСЄЄВА Л.О.,
МІНОРОВА А.В., КРУШЕЛЬНИЦЬКА Н.Л.
Інститут продовольчих ресурсів НААН

ЗМІНА ПОКАЗНИКІВ ЯКОСТІ ПРОДУКТІВ БЕЗЛАКТОЗНИХ КИСЛОМОЛОЧНИХ ПРОТЯГОМ ТЕРМІНУ ЗБЕРІГАННЯ

В умовах лабораторії молока та продуктів дитячого харчування Інституту продовольчих ресурсів НААН розроблена технологія безлактозних кисломолочних продуктів на основі вторинної молочної сировини з метою забезпечення повноцінними кисломолочними продуктами широкого кола споживачів, які страждають на лактазну недостатність.



МІНІСТЕРСТВО
ОСВІТИ І НАУКИ
УКРАЇНИ



КАФЕДРА ХІМІЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ, ЕКСПЕРТИЗИ ТА БЕЗПЕКИ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

СЕРТИФІКАТ

ПІДТВЕРДЖУЄ УЧАСТЬ

Потупи Владислави Юріївни

В VI ВСЕУКРАЇНСЬКІЙ НАУКОВО-ПРАКТИЧНІЙ КОНФЕРЕНЦІЇ "СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ХІМІЧНОЇ, ХАРЧОВОЇ ТА ПАРФУМЕРНО-КОСМЕТИЧНОЇ ГАЛУЗЕЙ ПРОМИСЛОВОСТІ"

М. ХЕРСОН
М. ХМЕЛЬНИЦЬКИЙ
31 ТРАВНЯ 2024 РОКУ



ректор ХНТУ, д.т.н., професор
Олена ЧЕПЕЛЮК



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

індуктора та супернатанту порівняно з інактивованими клітинами можуть свідчити про те, що індукція потребує не лише хімічної, а і біологічної взаємодії між продуцентом ПАР та індуктором.

Комплекс усіх досліджуваних поверхнево-активних речовин з ефірною олією у концентрації 0,001-0,13 мкг/мл спричиняв підвищення ступеня деструкції двовидових бактеріальних біоплівки порівняно з дією відповідних монопрепаратів ПАР, а також комплексу олії з ПАР, одержаних без індукторів.

За дії комплексу ефірної олії і ПАР, синтезованих за наявності живих клітин індуктора та супернатанту, ступінь деструкції біоплівки *S. aureus* БМС-1 з *B. subtilis* БТ-2 досягав 89-95%, а під впливом суміші олії з поверхнево-активними речовинами, синтезованими без індукторів, ступінь руйнування цієї двовидової біоплівки не перевищував 65%.

Максимальний ступінь деструкції комбінованої бактеріальної біоплівки після обробки комплексом ефірної олії з ПАР, одержаними за наявності інактивованих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1, становив 85%, що на 10-20% вище порівняно з дією відповідного монопрепарату поверхнево-активних речовин та суміші олії з ПАР, синтезованими без індукторів.

Висновки. Отже, у результаті проведеної роботи встановлено можливість суттєвого підвищення ступеня руйнування одновидових бактеріальних біоплівки за дії поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, синтезованих за наявності живих клітин та *S. cerevisiae* БТМ-1 та відповідного супернатанту, порівняно з ПАР, одержаних без індуктора, а також підвищення ступеня деструкції двовидових біоплівки під впливом усіх досліджуваних поверхнево-активних речовин у комплексі з ефірною олією чайного дерева порівняно з впливом на них тільки ПАР або суміші олії з поверхнево-активними речовинами, одержаними без індукторів.

БІОГЕННИЙ СИНТЕЗ FeNPs ЗА ДОПОМОГОЮ *LACTOBACILLUS*

Петрух А.О., Потупа В.Ю., Шкотова Л.В., Волошина І.М.

Київський національний університет технологій та дизайну,

м. Київ, Україна

i_woloschina@yahoo.com

Залізо є одним із найважливіших мікроелементів для рослин, оскільки воно відіграє ключову роль у багатьох фізіологічних процесах, включаючи фотосинтез, дихання та біосинтез клітинних компонентів. Хелатування заліза органічними кислотами, такими як цитрати, малати та ауксини, є одним із механізмів, що забезпечують поглинання заліза рослинами. Отримання наночасток заліза за допомогою біогенного синтезу відкриває широкі перспективи для їх застосування у різних галузях. Наприклад, наночастки заліза можуть бути використані в медицині для доставки лікарських препаратів у

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

організм, в сільському господарстві для підвищення врожайності та захисту від шкідників, а також в електроніці для створення нових матеріалів з покращеними властивостями. Отримання наночастинок заліза за допомогою рослинних екстрактів та мікроорганізмів є досить простим та ефективним процесом. Культуру *L. acidophilus* УКМ В-2691 вирощували на середовищі MRS упродовж 48 год при 160 об/хв і температурі 37°C. Після чого вносили сульфат заліза (II) у концентрації 100мМ у супернатант культуральної рідини та лізовані клітини і витримували при різних діапазонах температури 5, 30 та 50°C. pH середовища синтезу наночастинок змінювали від 3 до 13 за допомогою NaOH або H₂SO₄. Аналіз наявності наночастинок контролювали визначенням розміру наночастинок за методом фотонної кореляційної спектроскопії за допомогою аналізатора BeNano 90 Zeta.

Аналізуючи результати спостерігали, що самі клітини не сприяли утворенню наночастинок, тоді як культуральна рідина мала відповідну зміну кольору, але розміри часток заліза були у діапазоні 200-350 нм. Найкращі результати синтезу наночастинок заліза за допомогою *L. acidophilus* УКМ В-2691 спостерігали при синтезі сульфату заліза (II) у супернатанті культуральної рідини за температури 30 – 50°C і pH середовища 7 – 13. Аналіз розміру наночастинок показав, що за умов нейтрального значення pH та температури 50°C фіксуються наночастки розміром 30-32 нм. Також слід зазначити, що зміна pH до 11-13 призводить до утворення більших часток заліза 140-150 нм. При зміні pH в кислу сторону не залежно від температури фіксували частки заліза розміром 2200-2300 нм, що може свідчити про їх конгломерацію у середовищі або зв'язуванням з біологічно-активними речовинами культуральної рідини. Тому важливо зазначити, що синтез наночастинок заліза залежить від значень температури, pH і часу реакції, отримані частинки можуть відрізнятися за розміром, морфологією та дисперсністю, і як наслідок, матимуть різну фізико-хімічну та біологічну поведінку. Тому необхідно продовжити дослідження та оптимізувати синтез і визначити фактори, які найбільше впливають на отримання стабільних наночастинок заліза середнього розміру.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИМІКРОБНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМБІНАЦІЇ ЕТАНОЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ВЕРБИ БІЛОЇ З ДЕКАМЕТОКСИНОМ

Пономаренко С. В., Осолодченко Т. П., Штикер Л. Г., Лук'яненко Т. В.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна
imi_lbb@ukr.net

Вступ. Верба (*Salix sp*) завжди привертала до себе увагу в якості лікувального засобу, а різноманітність її хімічного складу зумовлює широкий

ДОДАТОК М



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

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

№ 00342

Сертифікат

Цим засвідчується, що

Потуна В.Ю.

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

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

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

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



І.М. Владимірова

Н.І. Філімонова