

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:

«Антимікробні властивості біоматеріалів з нанометалами»

Рівень вищої освіти другий (магістерський)

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

Виконав: студент 2 курсу, групи МгБТ-24

Колесник О.С.

Науковий керівник: к.т.н., доц. Охмат О.А.

Рецензент: к.т.н., доц. Волошина І.М.

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>другий (магістерський)</u>
Спеціальність	<u>162 Біотехнології та біоінженерія</u>
Освітня програма	<u>Біотехнологія високомолекулярних сполук</u>

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА

« ____ » _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Колеснику Олегу Станіславовичу

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Антимікробні властивості біоматеріалів з нанометалами**

Науковий керівник роботи Охмат Олена Анатоліївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «16» вересня 2025 року № 209-уч

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література щодо антимікробних властивостей наночасток металів, матеріали переддипломної практики.

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

4. Дата видачі завдання 16.09.2025 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний термін виконання	Примітка про виконання
1	Вступ		
2	Розділ 1 Огляд літератури		
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження		
4	Розділ 3 Експериментальна частина		
5	Висновки		
6	Оформлення (чистовий варіант)		
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку (за 14 днів до захисту)		
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 _____ Олег КОЛЕСНИК

Науковий керівник роботи _____ Олена ОХМАТ

АНОТАЦІЯ

Колесник О. С. Антимікробні властивості біоматеріалів з нанометалами

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

Кваліфікаційна робота присвячена дослідженню можливості застосування наночасток металів для формування певного рівня антимікробних властивостей на біоматеріалах. В роботі використані наночастки срібла та міді, отримані біологічним та хімічним способами синтезу. Дослідження проводили на біоматеріалах тваринного походження, оброблених сполуками хрому та рослинними екстрактами відповідно до технології виробництва шкіряних матеріалів для взуття. Досліджено вплив різних концентрацій наночасток на рівень набутих матеріалом антимікробних властивостей. Проведений порівняльний аналіз ефективності застосування для протимікробної обробки біоматеріалів індивідуальних наночасток металів та їх суміші.

Ключові слова: наночастки срібла та міді, біоматеріали, культури тест-об'єкти, антимікробні властивості, питома інгібуюча активність, ефективність обробки.

ABSTRACT

Kolesnik O.S. Antimicrobial properties of biomaterials with nanometals

Qualification work in specialty 162 Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2025. – Manuscript.

This thesis explores the potential of using metal nanoparticles to enhance antimicrobial properties in biomaterials. Silver and copper nanoparticles, obtained through biological and chemical synthesis, were used. The study was conducted on animal-based biomaterials treated with chromium compounds and plant extracts, using a process similar to that used in the production of leather footwear. The effect of varying nanoparticle concentrations on the level of antimicrobial properties acquired by the material was examined. A comparative analysis of the effectiveness of individual metal nanoparticles and their mixtures for antimicrobial treatment of biomaterials was conducted.

Key words: silver and copper nanoparticles, biomaterials, test cultures, antimicrobial properties, specific inhibitory activity, treatment efficiency.

ЗМІСТ	Стор.
АНОТАЦІЯ	4
ЗМІСТ	6
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Загальна характеристика наночастинок срібла.....	11
1.1.2 Фізико-хімічні та біологічні характеристики наночастинок срібла..	12
1.1.3 Основні методи отримання наночастинок срібла.....	14
1.1.4 Застосування наночастинок срібла.....	15
1.2 Загальна характеристика наночастинок міді.....	18
1.2.1 Фізико-хімічні та біологічні характеристики наночастинок міді.....	19
1.2.2 Основні методи отримання наночастинок міді.....	20
1.2.3 Застосування наночастинок міді.....	21
Висновки до розділу 1.....	22
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	23
2.1 Мета, об'єкт та предмет дослідження.....	23
2.2 Характеристика матеріалів використаних у дослідженні.....	23
2.2.1 Характеристика біоматеріалів	23
2.2.2 Характеристика наночастинок металів.....	24
2.2.3 Характеристика поживного середовища.....	24
2.3 Характеристика біологічних агентів.....	25
2.3.1 Характеристика <i>Bacillus subtilis</i> B-901.....	25
2.3.2 Характеристика <i>Escherichia coli</i> B-906.....	27
2.3.3 Характеристика <i>Staphylococcus aureus</i> D-904.....	29
2.3.4 Характеристика <i>Staphylococcus epidermidis</i> B-919.....	31
2.3.5 Характеристика <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
2.4 Методика визначення антимікробних властивостей.....	34
2.5 Статистична обробка результатів.....	35
Висновки до розділу 2.....	35
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	36

3.1	Отримання дослідних зразків.....	36
3.2	Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів.....	38
3.3	Дослідження впливу комплексного застосування сполук срібла та міді на антимікробні властивості біоматеріалів.....	48
	Висновки до розділу 3.....	55
	ВИСНОВКИ	56
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	58
	ДОДАТКИ	65

ВСТУП

У сучасній науці та технологіях особливе місце займають наночастки – об'єкти, розміри яких становлять від 1 до 100 нанометрів. Вони володіють унікальними фізико-хімічними властивостями, що відрізняють їх від аналогічних матеріалів у макроскопічному стані. Саме завдяки своїй надзвичайно великій питомій поверхні наночастки здатні суттєво впливати на перебіг хімічних реакцій, підвищувати ефективність матеріалів і відкривати нові можливості у технологіях [1].

Зацікавленість у наночастках полягає в їх широкому застосуванні у всіх галузях промисловості, включаючи галузь охорони здоров'я. Серед наночасток вирізняють наночастки металів, ліпосоми, пептидні наночастки, дендримери, полімерні наночастки, квантові точки, вуглецеві нанотрубки тощо [1,2]. У наш час розвиток і вдосконалення нанотехнологій сприяє розширенню асортименту матеріалів із заданими властивостями, отриманню поліфункціональних матеріалів, покращенню якості товарів широкого вжитку, створенню принципово нових матеріалів та технологій.

Метою дослідження кваліфікаційної роботи є оцінка ефективності застосування наночасток металів для надання біоматеріалам антимікробних властивостей.

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

- проаналізувати та узагальнити інформацію щодо ефективності застосування наночасток металів для надання антимікробних властивостей матеріалам різного призначення,
- обробити зразки біоматеріалів тваринного походження наночастками різної концентрації для створення певного рівня антимікробних властивостей;
- визначити рівень антимікробних властивостей зразків біоматеріалів, оброблених як індивідуально наночастками срібла та міді, так і їх комбінацією;

- здійснити порівняльний аналіз дослідних зразків біоматеріалів та зробити висновки щодо ефективності застосованих обробок.

Об’єктом дослідження є процес надання антимікробних властивостей біоматеріалам шляхом їх обробки наночастками.

Предметом дослідження є рівень антимікробних властивостей біоматеріалів тваринного походження, оброблених наночастками срібла та міді як індивідуально, так і в комбінації.

Для реалізації експерименту у роботі застосовані традиційні мікробіологічні **методи дослідження**, а для аналізу результатів – методи статистики.

Наукова новизна дослідження полягає у тому, що запропоновано застосування наночасток срібла та міді для обробки біоматеріалів тваринного походження з метою створення певного рівня антимікробних властивостей на стадії технологічного циклу виробництва шкіряних матеріалів.

Результати роботи мають **практичне значення** для біотехнологічної галузі у частині розширення асортименту протимікробних засобів (біоцидів) для обробки біоматеріалів тваринного походження.

Апробація результатів роботи. Роботу апробовано у роботі двох конференцій всеукраїнського та міжнародного рівнів:

1. XI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених та здобувачів освіти «Науково-практичні розробки молодих учених в хімічній, харчовій та парфумерно-косметичній галузях промисловості», 22 листопада 2024 р., Хмельницький, Україна.
2. 10th International conference on advanced materials and systems, 30-31 October 2024, Bucharest, Romania.

Перелік публікації:

1. **Колесник О. С., Цуканов І. С., Щербатюк Т. Г.** Використання озонових технологій у шкіряній промисловості: екологічний та ефективний підхід. Науково-практичні розробки молодих учених в хімічній, харчовій та

парфумерно-косметичній галузях промисловості : Матер. XI Всеукр. Наук.-практ. конф. молодих учених і здобувачів освіти. Хмельницький, ХНТУ, 2024. С.31–33 (Додаток А).

2. Tetiana Kolesnyk, Olga Andreyeva, **Oleg Kolesnyk**, Nina Merezko. Improvement of parchment technology. Proceedings of the 10th International conference on advanced materials and systems, 30-31 October 2024, Bucharest, Romania. Sciendo, 2024. pp. 111-118. **Scopus**. DOI: <https://doi.org/10.2478/9788367405805> (Додаток Б).

Структура та обсяг роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел (70 джерел). Загальний обсяг кваліфікаційної роботи 81 сторінка. Робота містить 2 додатка.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Наночастки різних металів у наш час знайшли застосування у майже всіх сферах, зокрема у біології, біотехнології, хімії та хімічній інженерії, оптиці, каталізі, сенсорних технологіях та ін. Особливий інтерес до наночасток металів проявляють науковці у розробці технологій отримання матеріалів з антимікробними властивостями. Особлива увага при цьому спрямована на наночастки срібла та міді.

1.1 Загальна характеристика наночасток срібла

Особливу позицію серед металевих наночасток займають наночастки срібла (Ag), які мають виняткові фізичні, хімічні та біологічні характеристики.

Одна з головних причин широкого використання наночасток срібла полягає в їх невідповідності між об'ємною структурою, складом, формою, кристалічністю та поверхневою організацією. Їхні оптичні та каталітичні властивості, визначені розміром, дозволяють використовувати наночастки у багатьох біологічних напрямках. Наприклад, через те, що вони не проникають крізь шкіру людини, срібні наночастки широко застосовують у виробництві безпечних консервантів для косметичних засобів.

Упродовж останніх 15 років попит на ці наночастки постійно зростає, а прогнозований річний обсяг виробництва наразі перевищує 500 тонн, що задовольняє потреби різноманітних галузей [3, 4]. Дослідження показали, що розміри, морфологія, розподіл та характеристики поверхні наночасток срібла суттєво впливають на їх оптичні, фізичні та каталітичні властивості. Ці параметри можна контролювати за допомогою різних методів синтезу. Морфологічна специфіка наночасток залежить від сфери їх застосування [1-3].

Наночастки срібла можуть набувати різноманітних форм – від круглих і трикутних до стрижневих, октаедричних чи багатогранних – залежно від конкретного призначення та технологічного процесу їх синтезу [3].

Дослідження наночасток срібла мають тривалу історію. У Римській імперії та середньовічні часи використовували колоїдне срібло для очищення води й медичних цілей. Якщо говорити про першопрохідців, які зробили значний внесок у вивчення властивостей срібла, включаючи його колоїдні форми, що близькі за розміром до наночасток, варто згадати кількох видатних науковців. Джеймс Сімс (1813-1883 рр.) був одним із перших, хто застосував тонкий срібний дріт для накладання швів на рани, що стало раннім прикладом медичного використання срібла. Ганс Крістіан Ерстед (1777-1851 рр.), данський фізик і хімік, експериментував із колоїдним золотом і сріблом, хоча й не усвідомлював їхньої наномасштабної природи [4, 5]. Роботи Майкла Фарадея (1791-1867 рр.), який досліджував оптичні властивості колоїдних золота та срібла, заклали основу для подальших відкриттів у цій галузі. Таким чином, розвиток сучасного розуміння наночасток відбувався поступово, ґрунтуючись на багатовіковому досвіді та експериментах учених минулого [5].

З розвитком хімії та фізики у ХХ столітті з'явилися нові методи синтезу та аналізу наноматеріалів. У цьому контексті заслуговує на увагу внесок Миколи Туркевича [6], який запропонував цитратний метод отримання наночасток золота. Цей метод згодом був успішно адаптований для синтезу наночасток срібла. Нині дослідження наночасток срібла активно проводяться в усьому світі [6,7].

1.1.2 Фізико-хімічні та біологічні характеристики наночасток срібла

Срібло – це блискучий, пластичний метал, який вирізняється найкращою електропровідністю серед усіх природних речовин завдяки своїм інертним властивостям, стійкості до корозії та невисокій температурі плавлення [8]. Основні фізичні та хімічні характеристики срібла пояснюються його електронною структурою. Метал має повністю заповнені d-орбіталі та один електрон на s-оболонці. Цей єдиний електрон визначає одновалентність срібла і легко відривається від іонного ядра атома, утворюючи електронний газ у металевій решітці [9]. Срібло розчиняється лише у сильних окисниках, таких як азотна

кислота та гаряча концентрована сірчана кислота. У хімічних сполуках воно переважно має одновалентну форму. При нагріванні срібло вступає в реакцію із сіркою, а при впливі лугів на його солі утворюється гідрат оксиду, який легко втрачає воду, утворюючи оксид срібла Ag_2O [9]. Значну практичну цінність мають галоїдні сполуки срібла, які розпадаються під дією світла, виділяючи металеве срібло - це явище лежить в основі фотографічного процесу. При взаємодії аміаку з нерозчинними солями срібла утворюються водорозчинні комплексні сполуки. Срібло і його сполуки мають токсичний вплив на ряд бактерій, вірусів, водоростей та грибів, що характерно для важких металів, таких як ртуть і свинець. Однак срібло не виявляє притаманної цим металам токсичності для людського організму. Його здатність знищувати мікроби була підтверджена в експериментах *in vitro* [8-10].

Розмір наночасток срібла варіюється в межах від 1 до 100 нанометрів. Форма цих частинок може бути різноманітною: сферичною, трикутною, призматичною, кубічною та іншою. Найпоширенішими серед них є сферичні наночастки срібла.

Колір розчинів, що містять наночастки, залежить від кількох факторів, таких як розмір, форма та концентрація частинок. Як правило, такі розчини мають жовтуватий або коричневий відтінок. Однією з характерних оптичних властивостей наночасток є поверхневий плазмонний резонанс (SPR). Це явище виникає тоді, коли вільні електрони на поверхні частинки починають коливатися під впливом світла, що падає на неї. Даний процес спричиняє інтенсивне поглинання та розсіювання світла в певному діапазоні спектру, що формує характерний колір розчинів із наночастками [9].

Наночастки срібла вирізняються великою питомою площею поверхні. Співвідношення площі поверхні до об'єму значно перевищує показники макроскопічних частинок, що робить наноматеріали надзвичайно активними в хімічних реакціях. Ці частинки мають здатність утримувати негативний або позитивний заряд на поверхні, від чого залежать їх стабільність у розчині та можливості взаємодії з іншими елементами. Завдяки розвиненій площі поверхні

наночастки активно вступають у хімічну та фізичну взаємодію з різноманітними речовинами, зокрема білками, нуклеїновими кислотами та мікроорганізмами. Взаємодія наночасток із навколишнім середовищем сприяє поступовому вивільненню іонів срібла (Ag^+), які демонструють потужний антимікробний ефект [11].

Наночастки мають унікальні біологічні властивості, завдяки чому вони є об'єктом інтенсивних досліджень у різних наукових сферах, особливо в біомедицині. Серед їх основних біологічних характеристик: ефективність проти різних патогенів, включаючи грам-позитивні та грам-негативні бактерії (наприклад, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*), гриби (зокрема *Candida albicans* і *T. mentagrophytes*) та віруси. Крім антимікробних властивостей, наночастки срібла можуть стимулювати генерацію активних форм кисню, які призводять до окислювального стресу.

Іони срібла, що утворюються внаслідок розщеплення наночасток, мають здатність зв'язуватися з ДНК, порушуючи процес її реплікації. Вони також пригнічують активність ферментів і білків, які є критично важливими для нормального функціонування мікроорганізмів.

Наночастки срібла проявляють противірусні властивості щодо широкого спектра вірусів, таких як віруси герпесу, вірус гепатиту В та інші. Механізми їхньої дії включають пряму взаємодію з вірусними частинками, ускладнення їх прикріплення до клітин-господарів, а також блокування процесу реплікації вірусної ДНК або РНК [11-13].

1.1.3 Основні методи отримання наночасток срібла

Великомасштабне та високопродуктивне виробництво наночасток срібла із можливістю варіювати їхню форму й розміри стало ключовим напрямом сучасних досліджень. Проте проблема отримання наночасток із стабільними розмірами, формою та властивостями залишається актуальною [14,15].

З розвитком нанотехнологій було запропоновано декілька підходів до отримання наночасток срібла. Сьогодні існує широкий спектр сучасних

методів, які умовно поділяються на дві основні стратегії синтезу: «згори-донизу» та «знизу-догори» [16].

Підхід «згори-донизу» спрямований на отримання металевих наночастинок із об'ємних матеріалів шляхом застосування фізичних впливів, зокрема механічних процесів, таких як дроблення, подрібнення та помел; електричних методів, включаючи електродуговий розряд і лазерну абляцію; а також термічних методів, наприклад конденсації пари. Наночастки, отримані такими фізичними способами, характеризуються високою чистотою і вирізняються однорідним розміром частинок. Цей метод обходиться без використання потенційно небезпечних хімічних речовин чи стабілізаторів для запобігання агломерації, але вимагає складного обладнання й значних енергозатрат.

Підхід «знизу-вгору», навпаки, передбачає побудову наночастинок шляхом збирання молекулярних компонентів у складні структури через процеси зародження та зростання. В цьому випадку поширеними є методи хімічного та біологічного синтезу з використанням вихідних солей. Хімічний синтез дозволяє підвищувати ефективність завдяки застосуванню світла, електрики, мікрохвиль або звукових хвиль. Такі наночастки можна швидко синтезувати. Однак їх застосування обмежується використанням небезпечних речовин під час процесу синтезу та ресурсозатратністю [17].

Біологічний синтез («зелений» синтез, біосинтез) набув значного розвитку протягом останніх десятиліть завдяки своїм екологічним перевагам. Цей процес базується на використанні екстрактів рослин, флавоноїдів, алкалоїдів, хінінів, терпеноїдів, фенольних сполук, целюлози, ферментів, екзополісахаридів тощо [16-18].

1.1.4 Застосування наночастинок срібла

Завдяки своїм фізичним характеристикам, включаючи розмір, форму, морфологію, площу поверхні, магнітні, електричні та оптичні властивості, наночастки срібла знаходять широке застосування в різних сферах [19].

Наночастки срібла демонструє потужний антимікробний ефект, ефективно бореться з антибіотикорезистентними штамами бактерій, збудниками, що мають ключове значення для медицини з різним ступенем дії: від бактерицидного (здатність знищувати мікроби) до бактеріостатичного (запобігання їх розмноженню). Для золотистого стафілокока та більшості коків ефективність срібла часто переважає вплив антибіотиків. Найпоширенішою серед теорій, що пояснюють механізм впливу срібла на мікроорганізми, є адсорбційна концепція – клітина мікроорганізму втрачає життєздатність через взаємодію електростатичних сил між бактеріями з негативним зарядом і позитивно зарядженими іонами срібла, які адсорбуються бактеріальною клітиною. Механізм впливу срібла на мікробну клітину полягає в адсорбції іонів срібла клітинною оболонкою. Спочатку порушуються деякі функції бактерії, наприклад її здатність до поділу (бактеріостатичний ефект). У подальшому срібло проникає всередину клітини, пригнічує ферменти дихального ланцюга та роз'єднує процеси окислення й окисного фосфорилування, що зрештою призводить до загибелі мікроорганізму [19, 20].

Наночастки срібла характеризуються потужними антибактеріальними властивостями, зокрема, у застосуванні для аналізу дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) [20, 21]. Наночастки срібла демонструють здатність пригнічувати ріст таких патогенів, як *E. coli*, *Salmonella typhi*, *S. aureus* і *Candida albicans* під час синтезу за участю *Cryphonectria sp.* [22]. Крім того, вони мають антагоністичну дію щодо *Candida albicans* [23]. Наночастки срібла відзначаються високою стійкістю до вірусу імунодефіциту людини та вірусу гепатиту В (HBV) [24]. Згідно з дослідженнями, їх токсичність при лікуванні COVID-19 була значно нижчою за інші застосовувані препарати [24, 25]. Це пояснюється механізмом дії наночастинок срібла, які прикріплюються до вірусних глікопротеїнів, ефективно блокуючи їх взаємодію з клітинами. Науковиця Карен М. Сото та її команда здійснили синтез наночастинок срібла за допомогою ліофілізованих екстрактів із відходів винограду й апельсинів, які слугували агентами для відновлення і стабілізації. Отримані наночастки показали схожу

ефективність у пригніченні росту *L. monocytogenes*, досягаючи діаметру зони інгібування 13,5 мм при концентрації 100 мкг/мл. Однак лише наночастки срібла з виноградного екстракту продемонстрували дозозалежну антибактеріальну активність проти *E. coli* O157 з фінальною щільністю 0,42 при 100 мкм [26-28].

Окрім вище переліченого, наночастки срібла можуть використовуватися в складі сонцезахисної косметики, сприяти загоєнню опіків, застосовуватися в стоматологічних апаратах [27]. Вони широко використовуються в діагностиці ракових клітин, а також у їх знищенні шляхом фототермічної обробки [29]. Дослідження показали, що наночастки срібла із цитратним покриттям можуть використовувати як ефективний детектор для колориметричної оцінки креатину в людській сечі. Такий метод має особливе значення для галузі охорони здоров'я, оскільки він дозволяє оцінити функцію нирок і, як наслідок, проводити більш точну медичну діагностику [30]. Відоме також застосовували наночасток срібла для визначення аргініну [31-33].

Наночастки срібла вважаються перспективним засобом у боротьбі з грибковими інфекціями [34-36]. Однією з головних проблем у лікуванні грибкових інфекцій є формування біоплівки, особливо у таких видів, як *Candida albicans*, які спричиняють стійкі інфекції, пов'язані з використанням медичних пристроїв, зубних протезів та катетерів. Традиційні протигрибкові препарати мають обмежену здатність проникати крізь ці біоплівки, що часто призводить до повторного виникнення інфекції та зростання резистентності. Проте наночастки срібла демонструють перспективні результати у руйнуванні грибкових біоплівки і запобіганні їх утворенню, завдяки одночасному впливу на кілька клітинних механізмів [36-38]. Механізм протигрибкової дії наночасток срібла охоплює процес зв'язування часток з мембраною, підвищення її проникності, руйнування мембрани грибкової клітини, генерацію активних форм кисню (АФК), взаємодію з білками та ДНК грибів, а також блокування ключових ферментативних шляхів. На відміну від стандартних протигрибкових препаратів, які зазвичай впливають на одну структуру,

наприклад, ергостерол клітинної мембрани, наночастки срібла діють на кілька клітинних компонентів одночасно, що значно знижує ризик виникнення резистентності [37, 38]. Важливим фактором ефективності є розмір і поверхневий заряд наночастинок: дрібніші наночастки (<20 нм) мають значно вищу проникну здатність та антимікробну активність.

Наночастки срібла впливають на функціональність важливих грибкових ферментів, взаємодіючи із сульфгідрильними (–SH) групами білків, що призводить до порушення їхньої роботи. Значна частина метаболічних процесів грибів залежить від ферментів із тіоловими групами, які виконують ключові функції, зокрема синтез клітинної стінки, регуляцію енергетичного обміну та реакцію на стресові умови. Зокрема, було доведено, що наночастки срібла пригнічують діяльність важливих ферментів, таких як каталаза та супероксиддисмутаза (СОД), які відіграють захисну роль у зменшенні впливу окислювального стресу на грибкові клітини. Таке пригнічення сприяє збільшенню концентрації активних форм кисню (АФК), що прискорює загибель клітин [39-42].

1.2 Загальна характеристика наночастинок міді

Мідь є одним із найбільш розповсюджених хімічних елементів на планеті, який відіграє значну роль в історичному контексті завдяки своїм фізико-хімічним властивостям. Цей метал характеризується високою електричною та тепловою провідністю, стійкістю до корозії, а також підвищеною пластичністю, що дозволило йому знайти широке застосування у різних сферах людської діяльності.

Використання міді для отримання наночастинок має низку переваг, серед яких її невисока вартість та широка доступність, що робить процес отримання наночастинок міді (CuNPs) економічно привабливим. Проте одним із головних недоліків CuNP є їх схильність до окиснення у водних середовищах. У таких умовах мідь може перетворюватися на оксиди CuO і Cu₂O або іони Cu²⁺ під час синтезу, що ускладнює подальше отримання наночастинок. В одному з

досліджень науковці [43] провели аналіз впливу температури на процес окиснення мідних наночастинок і було встановлено, що порогова температура для цього процесу становить 190-200 °C. У рамках експерименту наночастки піддавалися впливу температур 170 і 240 °C упродовж 200 хвилин, після чого їхній хімічний склад ґрунтовно аналізувався. З'ясувалося, що за температур нижчих за пороговий рівень матеріал частіше складався з Cu_2O , тоді як перевищення порогового рівня спершу викликало утворення Cu_2O , який згодом трансформувалося в CuO . Інші науковці [44-46] дослідили отримання водних наночастинок міді (CuNP) розміром 8 нм, використовуючи сульфат міді як вихідну речовину. Вперше було доведено, що за анаеробних умов L-аскорбінова кислота може ефективно відновлювати Cu^{2+} до Cu^+ . Цей процес не лише сприяє стабільності наночастинок, але й уповільнює їхнє подальше окиснення [47].

1.2.1 Фізико-хімічні та біологічні характеристики наночастинок міді

Мідь - це пластичний і ковкий перехідний метал із характерним червонувато-золотистим кольором, який набуває рожевого відтінку за відсутності оксидного шару на поверхні. Вона має високу теплопровідність і електропровідність. З хімічної точки зору, мідь не є активним металом, але при контакті з повітрям її поверхня завжди покрита тонким шаром оксидів або основного карбонату [48]. Мідь належить до групи малоактивних металів і в електрохімічному ряду напруг розташовується праворуч від водню. Вона не вступає в реакції з водою, розчинами лугів, соляною і розведеною сірчаною кислотами. Однак у середовищах сильних кислотних окиснювачів, таких як концентровані сірчана або азотна кислоти, мідь розчиняється [49]. Чиста мідь демонструє високу корозійну стійкість: у звичайних умовах продукти її окислення формують дуже тонкий поверхневий шар: червоний Cu_2O (малопомітним) і чорний CuO (затемнює поверхню матеріалу) [50].

Наночастки міді мають значну площу поверхні та унікальні властивості, такі як каталітична активність, електропровідність і антимікробна дія. Їхні

фізико-хімічні характеристики включають форму, розміри, поверхневий заряд і стабільність, тоді як біологічні особливості визначають їхню взаємодію з живими організмами, зокрема токсичність і біосумісність. Наночастки міді можуть мати різну форму (сферичну, паличкоподібну тощо) та розмір, що суттєво впливає на їхню реакційну здатність та поведінку. Через малий розмір, наночастки мають дуже велику питому поверхневу площу, що робить їх потужними каталізаторами та покращує їхні фізико-хімічні властивості [50].

На поверхні наночасток міді можуть розташовуватися різні ліганди, які впливають на їх стійкість, здатність до розчинення та взаємодію з іншими речовинами. Завдяки високій електропровідності, наночастки міді мають значний потенціал для використання в електроніці та суміжних сферах. Забарвлення наночасток варіюється від жовто-коричневих до червоних відтінків, залежно від їх розміру та форми. Також вони демонструють високу антимікробну активність проти бактерій, грибів і вірусів, що відкриває широкі можливості для їх застосування в галузях охорони здоров'я та харчовій індустрії. Водночас за високих концентрацій наночастки міді можуть виявляти токсичний вплив на живі організми, включно з людськими клітинами [51].

1.2.2 Основні методи отримання наночасток міді

Синтез наночасток на основі міді зазвичай спирається на ті ж принципи, що і синтез наночасток срібла. Основні підходи до цього процесу поділяються на два типи: «знизу вгору» і «зверху вниз». Кожен із цих методів має свої переваги й недоліки, проте метод «знизу вгору» здобув більшу популярність через можливість більш точного контролю над формою та розміром отримуваних наночасток. Важливо зазначити, що через схильність до окислення мідні наночастки часто утворюють більш стабільні форми оксидів міді.

Класифікація методів синтезу цих матеріалів ускладнюється через подібність реакцій, що супроводжують процес. Загалом процес синтезу мідних наночасток і їхніх оксидів базується на чотирьох ключових типах хімічних

реакцій: відновлення, гідролізу, конденсації та окиснення. Застосування тієї чи іншої реакції або їхньої комбінації залежить від вибору вихідних матеріалів. Для синтезу наночасток міді зазвичай використовуються реакції відновлення сполук Cu (I) чи Cu (II) [52-55]. У процес синтезу варіюванням технологічного регламенту можна контролювати стабільність, характеристики і морфологію синтезованих наночасток [56].

1.2.3 Застосування наночасток міді

Наночастки міді та наноматеріали, модифіковані її сполуками, демонструють виражені антибактеріальні властивості проти різноманітних мікроорганізмів, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також гриби.

У дослідженні [57] оцінений вплив наночасток міді на чотири види бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa*), а також на гриби (*Candida guilliermondii*, *Candida albicans* і *Candida glabrata*). Усі протестовані мікроорганізми виявили чутливість до застосованих наночасток, причому їхній антибактеріальний і протигрибковий ефект перевершував активність антибіотиків, зокрема флуконазолу, ністатину й амфотерицину В. Антимікробна дія наночасток міді пояснюється їхньою здатністю індукувати окислювальний стрес через надмірне вироблення активних форм кисню (ROS), що, у свою чергу, спричинює пошкодження ДНК.

Науковці [58] підтвердили антимікробну й протигрибкову активність мідних наночасток, синтезованих за допомогою екстракту з листя *Falcaria vulgaris*. Їхні дослідження показали, що ці наночастки ефективно сприяють загоєнню ран на шкірі щурів. Результати експериментів показали, що сферичні мідні наночастки розміром 20 нм забезпечують ефективну дезінфекцію ран у щурів і прискорюють їхнє загоєння. Виявлено, що модифіковані наночастки міді із застосуванням *F. vulgaris* активували формування фіброцитів і підвищували співвідношення фіброцитів до фібробластів, створюючи таким чином сприятливі умови для регенерації.

Отримані дані відкривають нові перспективи для створення інноваційних методів лікування шкірних ушкоджень і інфекцій із використанням наночасток міді, включаючи матеріали для регенеративної медицини та розробки ефективних і безпечних терапевтичних засобів [59].

Висновки до розділу 1

Огляд наукової літератури показує, що наночастки срібла та міді демонструють значний антимікробний та антифунгіцидний потенціал завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям. Вони ефективно пригнічують ріст широкого спектру бактерій і грибів, включаючи резистентні штами, що робить їх перспективною альтернативою або доповненням до традиційних антибіотиків та фунгіцидів.

Разом із тим, застосування наночасток срібла та міді потребує подальших досліджень щодо безпечності для людини та довкілля, а також оптимізації витрат при виробництві товарів широкого вжитку.

Застосування наночасток срібла та міді відкриває нові шляхи в боротьбі з мікробними та грибковими інфекціями й може стати ключовим елементом сучасних антимікробних технологій.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Мета, об'єкт та предмет дослідження

Метою дослідження кваліфікаційної роботи є оцінка ефективності застосування наночасток металів для надання біоматеріалам антимікробних властивостей.

Об'єктом дослідження є процес надання антимікробних властивостей біоматеріалам шляхом їх обробки наночастками.

Предметом дослідження є оцінка рівня антимікробних властивостей біоматеріалів, оброблених наночастками срібла та міді як індивідуально, так і в комбінації.

2.2 Характеристика матеріалів, використаних у дослідженні

2.2.1 Характеристика біоматеріалів

У роботі досліджувалась ефективність надання біоматеріалам (зразки напівфабрикату натуральної шкіри, виробленої для виготовлення взуття) антимікробних властивостей. Для дослідження використано шкіряні матеріали, отримані зі шкур крупної сировини великої рогатої худоби різними способами дублення.

Характеристика напівфабрикату хромового способу дублення:

- товщина напівфабрикату – 1,40-1,45;
- рН зрізу напівфабрикату – 5,0-5,5;
- вид дублення – мінеральне (хромовий дубитель);
- вміст оксиду хрому, % у перерахунку на абсолютно суху речовину – 3,2;
- колір напівфабрикату – сіро-блакитний.

Характеристика напівфабрикату рослинного способу дублення:

- товщина напівфабрикату – 1,30-1,35;
- рН зрізу напівфабрикату – 5,0-5,5;

- вид дублення – органічне (рослинне із застосуванням екстрактів: квебрахо, мімози, акації);
- колір напівфабрикату – коричнево-червоний.

2.2.2 Характеристика наночасток металів

В дослідженні використані наночастки срібла та міді, отримані шляхом біо– або хімічного синтезу.

Наночастки срібла та міді синтезовані біологічним способом у навчально-науковій лабораторії лабораторії «Перспективні біоматеріали та технології» КНУТД за допомогою *L. acidophilus* УКМ В-2691.

Синтезовані сферичні наночастки срібла мають розмір 29 нм.

Синтезовані сферичні наночастки міді мають розмір 54 нм.

Хімічні наночастки срібла та міді були отримані під дією плазми. Розмір часток складав.

2.2.3 Характеристика поживного середовища

Під час експерименту для культивування та дослідження використовували середовище СПА складу, г/л:

- пептон ферментативний – 10,0;
- агар мікробіологічний – 10,0;
- дріжджовий екстракт – 3,0;
- натрію хлорид – 5,0.

Для приготування брали 28 грам сухого середовища СПА, ретельно перемішували при нагріванні в 1 літрі очищеної води, потім кип'ятили 2-3 хв до повного розплавлення агару, стерилізували під тиском за температури 121 °C, упродовж 15 хв. у паровому стерилізаторі. Після стерилізації середовище охолоджували до температури 45-50 °C, розливали у стерильні чашки Петрі та залишали до повного застигання. рН середовища становив 7,3.

2.3 Характеристика біологічних агентів

У роботі використовували п'ять біологічних агентів певних штамів:

1. *Bacillus subtilis* B-901,
2. *Escherichia coli* – 906,
3. *Staphylococcus aureus* D-904,
4. *Staphylococcus epidermidis* B-919,
5. *Pseudomonas aeruginosa* A01.

2.3.1 Характеристика *Bacillus subtilis* B-901

Штам *Bacillus subtilis* B-901 є грампозитивним, спороутворюючим та переважно аеробним сапрофітом ґрунтів. Він слугує модельним об'єктом для дослідження процесів споруляції та регуляторних механізмів у представників Firmicutes. Цей штам відзначається типовими секреторними властивостями *Bacillus subtilis*, що проявляються у продукуванні амілаз і протеаз. Крім того, організм синтезує низку вторинних метаболітів, зокрема ліпопептиди, серед яких описаний лантібіотик субтилін, характерний для штаму ATCC 6633 [60].

Завдяки цій здатності штам широко використовувався як індикаторний організм у тестуванні активності антибактеріальних сполук. Його таксономічні характеристики описуються таким чином [61-63]:

- Домен: *Bacteria*
- Тип: *Bacillota* (раніше *Firmicutes*)
- Клас: *Bacilli*
- Порядок: *Bacillales*
- Родина: *Bacillaceae*
- Рід: *Bacillus*
- Вид: *Bacillus subtilis*.

Bacillus subtilis є грампозитивною прямою паличковидною бактерією, розміром приблизно $0,7\text{--}0,8 \times 2\text{--}3$ мкм. Вона характеризується здатністю утворювати овальні ендоспори, які розташовуються центрально або субтермінально (рис 2.1). Ці спори демонструють термостійкість, що забезпечує виживання бактерії в умовах теплового впливу та інших абіотичних

стресів. Рухливість *B. subtilis* зазвичай забезпечується перитрихціальними джгутиками.

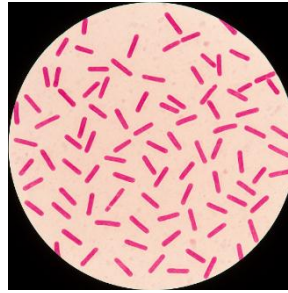


Рисунок 2.1 – *Bacillus subtilis*

Структура клітинної стінки відповідає характерним рисам грампозитивних бактерій: товстий шар пептидоглікану поєднаний із тейхоевими та ліпотейхоевими кислотами. Біохімічно бактерія є каталаза-позитивною, а наявність оксидазної активності залежить від конкретного штаму. Колонії *B. subtilis* мають характерний зовнішній вигляд: вони матові, сухі, непрозорі, з кремовим або світло-бежевим забарвленням. Часто спостерігаються шорсткі краї або бахрома, а після тривалого інкубування можлива поява зморшкуватої поверхні з рифленням. На неспеціалізованих поживних середовищах при аеробних умовах цей вид формує помітний осад і поверхневу плівку. Для *B. subtilis* типовою є гідролітична активність щодо полімерних субстратів, зокрема розщеплення крохмалю та білків, що відповідає амілаза- і протеаза-позитивним фенотипам [61].

Bacillus subtilis є переважно аеробним мезофільним мікроорганізмом, адаптованим до росту в помірному температурному діапазоні при близькому до нейтрального рівні pH. За певних умов організм здатний здійснювати нітратне дихання. Як гетеротроф, *B. subtilis* використовує широкий спектр органічних сполук, зокрема вуглеводи та амінокислоти, і характеризується активною продукцією позаклітинних гідролітичних ферментів, таких як амілази, протеази та ліпази. Ці ферменти сприяють розкладу органічних полімерів у навколишньому середовищі. Вторинний метаболізм цього виду охоплює синтез різноманітних біологічно активних речовин. Зокрема, серед ліпопептидів слід

відзначити сурфактин, ітурини та фенгізини, які характеризуються антагоністичною активністю (переважно антифунгальною) та здатністю до емульгування. Полікетиди, представлені такими сполуками, як бацiliaєн, дифіцидин і макролактин, демонструють значні антибактеріальні властивості та ефективність проти біоплівки. Крім того, у метаболізмі цього виду ідентифіковано дипептид бацилізин і бактеріоцини пептидної природи. Для штаму ATCC 6633 історично зафіксовано здатність до синтезу лантібіотику субтиліну. Разом з тим, у *B. subtilis* загалом описано такі лантібіотики, як субланцин і субтілозин А [61, 62].

Bacillus subtilis утворює біоплівки зі складною архітектурою, де матрикс здебільшого складається з екзополісахаридів і білкових компонентів, серед яких особливу роль відіграє TasA.

З екологічного погляду цей мікроорганізм є звичайним сапрофітом, що заселяє ґрунти, фітосферу та ризосферу, а його спори широко поширені в повітрі й пилу. *Bacillus subtilis* може функціонувати як епіфіт або ендоефіт рослин, сприяючи розщепленню органічної речовини завдяки виділенню гідролітичних ферментів. Завдяки підвищеній стійкості до висушування, ультрафіолетового випромінювання та температурних коливань, спори цього організму зберігають життєздатність у несприятливих умовах тривалий час.

У прикладній мікробіології *B. subtilis* відіграє важливу роль у контрольних тестах; історично штам ATCC 6633 використовувався як індикатор у стандартизованих методах оцінки активності біологічних препаратів [61, 63].

2.3.2 Характеристика *Escherichia coli* B-906

Штам *Escherichia coli* B-906, депонований в Українській колекції мікроорганізмів (УКМ), має відповідності у міжнародних колекціях: ATCC 25922 (в деяких каталогах позначений додатковим внутрішнім кодом «Г-49»), ССМ 3954 та NCIMB 12210. В системі таксономії він належить до:

- Домен – *Bacteria*

- Тип – *Pseudomonadota* (раніше *Proteobacteria*)
- Клас – *Gamma**proteobacteria*
- Порядок – *Enterobacterales*
- Родина – *Enterobacteriaceae*
- Рід – *Escherichia*
- Вид – *E. coli* (рис. 2.2).

Штам є одним із найпоширеніших референтних або контрольних штамів, які використовуються для перевірки чутливості до антимікробних засобів [62,63].

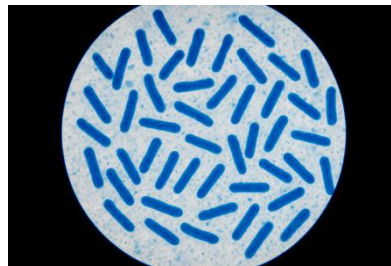


Рисунок 2.2 – *Escherichia coli*

Клітини *E. coli* – грамнегативні палички розмірами приблизно $0,5-0,7 \times 1-3$ мкм, неспороутворюючі. Вони часто демонструють рухливість за рахунок перитрихціальних джгутиків, а наявність капсульного шару варіюється залежно від штамів. У зовнішній мембрані присутній ліпополісахарид, а пептидоглікановий шар залишається тонким, що відповідає типовій структурі грамнегативних бактерій. Біохімічно *E. coli* характеризується як каталаза-позитивний і оксидаза-негативний вид. На простих поживних середовищах колонії зазвичай гладкі, непрозорі, сірувато-білі або кремові, з рівними краями. Характерною особливістю для виду є здатність до ферментації лактози (хоча можливі відмінності між штамми). Багато ізолятів продукують газ під час ферментації глюкози. Класичний біохімічний профіль включає наступні характеристики: індол-позитивність, позитивну реакцію метилового червоного, негативність Voges-Proskauer тесту та нездатність до використання цитрату як єдиного джерела вуглецю [64].

Escherichia coli є факультативним анаеробним організмом, здатним до росту як в умовах наявності кисню, так і без нього. Цей гетеротрофний мікроорганізм може метаболізувати широкий спектр субстратів, зокрема вуглеводи, що супроводжується утворенням кислот і газів. Він має добре розвинені механізми захоплення заліза, включаючи синтез сидерофору ентеробактину, а також здатний експресувати адгезивні структури, такі як фімбрії типу I. Ці характеристики варіюються залежно від штаму. Регуляторні системи відповіді на стрес дозволяють *E. coli* адаптуватися до змін кисневого середовища, осмотичного тиску та температурних перепадів. У клінічному контексті до роду *Escherichia* відносяться як коменсальні, так і патогенні варіанти. Цей штам використовують як стандартний контроль у тестуванні чутливості до антимікробних препаратів і при цьому не належить до специфічних патоварів [65].

2.3.3 Характеристика *Staphylococcus aureus* D-904

Штам *Staphylococcus aureus* D-904 (рис. 2.3) має еквівалентні депозити ATCC 25923 (у деяких каталогах з приміткою «Г-49»), CCM 3953 та NCIMB 12702. Таксономічно належить до:

- Домен – *Bacteria*
- Тип – *Bacillota* (раніше *Firmicutes*)
- Клас – *Bacilli*
- Порядок – *Bacillales*
- Родина – *Staphylococcaceae*
- Рід – *Staphylococcus*
- Вид - *S. aureus* [61-63].

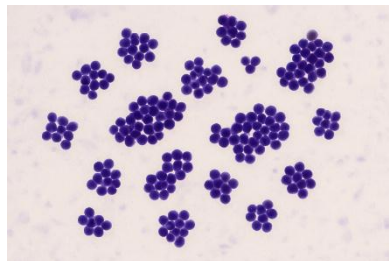


Рисунок 2.3 – *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus є загально визнаним контрольним штамом для внутрішнього контролю якості у випробуваннях чутливості до антимікробних засобів і не належить до MRSA (тобто є метицилін-чутливим варіантом, MSSA).

Клітини *Staphylococcus aureus* – грампозитивні коки діаметром від 0,5 до 1,5 мкм, які зазвичай утворюють характерні скупчення у вигляді «виноградних грон». Вони нерухомі та не мають здатності утворювати ендоспори. Клітинна стінка цього виду містить значний шар пептидоглікану, а також тейхоєві й ліпотейхоєві кислоти; поверхня клітин містить численні білки адгезії, які сприяють прикріпленню до різних субстратів. Часто спостерігається синтез каротиноїдного пігменту стафілоксантину, який надає колоніям золотистого кольору [61].

В біохімічному аспекті для виду характерні каталаза-позитивність, коагулаза-позитивність і DNаза-позитивність, хоча інтенсивність цих властивостей може змінюватися залежно від штамів. На поживних середовищах колонії *Staphylococcus aureus* зазвичай мають гладку опуклу форму з кольором, який варіюється від кремового до золотистого, часто на кров'яному агарі спостерігається β -гемоліз різної вираженості. Ферментація манітолу є типовою ознакою цього виду, але її прояв залежить від конкретного штамів та умов культивування. Різноманіття позаклітинних ферментів, таких як протеази і ліпази, а також інших екзопродуктів значно варіюється між штамів.

Фізіологічно *Staphylococcus aureus* є факультативним анаеробом і мезофілом, який чудово адаптується до значних осмотичних навантажень, маючи характерну для свого роду ознаку гало-толерантності. Цей організм утворює біоплівки, а регуляторна система *agr* у багатьох випадках відіграє ключову роль у визначенні балансу між адгезією та секрецією факторів, що впливають на процеси колонізації та тривалої присутності [66].

До основних факторів вірулентності, характерних для даного виду, належать різні гемолітини (α/β), лейкоцидини, ендо- та екзотоксини із групи

супер-антигенів (зокрема ентеротоксини), а також ензими, такі як протеази, ліпази й нуклеази. Їхня наявність та рівень експресії значною мірою залежать від конкретного штаму та умов середовища. Поверхневі адгезійні фактори, зокрема фібронектин-зв'язувальні білки та клампінг-фактори, забезпечують закріплення на тканинах та штучних матеріалах; білок А (spa) має властивість зв'язувати Fc-фрагмент IgG.

З клінічної точки зору *S. aureus* є одним із найважливіших опортуністичних патогенів як для людей, так і для тварин, викликаючи широкий спектр захворювань. У лабораторній практиці цей штам використовується як стандартний контроль при тестуванні чутливості до антимікробних засобів, що є необхідним для перевірки правильності виконання методів та визначення прийнятних діапазонів [66].

2.3.4 Характеристика *Staphylococcus epidermidis* B-919

Штам *Staphylococcus epidermidis* B-919 має еквівалентні депозитні зразки в таких міжнародних колекціях, як ATCC 12228, CIP 68.21, CCM 4418 та NCIMB 8853, при цьому він депонований також в Українській колекції мікроорганізмів. З таксономічної точки зору цей штам належить до:

- Домен – *Bacteria*
- Тип - *Bacillota* (раніше класифікувався як *Firmicutes*)
- Клас – *Bacilli*
- Порядок – *Bacillales*
- Родина – *Staphylococcaceae*
- Рід – *Staphylococcus*
- Вид – *S. epidermidis* (рис. 2.4).

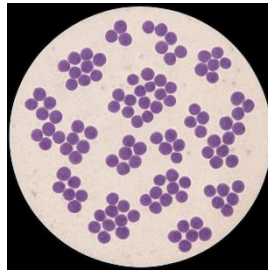


Рисунок 2.4 – *Staphylococcus epidermidis*

Штам широко застосовується як коагулазонегативний контрольний варіант у різноманітних дослідницьких і методичних завданнях. Він не належить до метицилін-резистентних штамів *Staphylococcus aureus* (MRSA) і класифікується як метицилін-чутливий варіант (MSSA) [61-63].

Клітини *S. epidermidis* є грампозитивними кулястими бактеріями діаметром приблизно від 0,5 до 1,5 мкм, які утворюють характерні скупчення у вигляді грона (рис. 2.4). Вони нерухомі й не утворюють ендоспор. Клітинна стінка бактерій має товстий пептидоглікановий шар з наявністю тейхоєвих і ліпотейхоєвих кислот, а на її поверхні розташовані адгезивні білки. Для цього роду мікроорганізмів біохімічно властива каталаза-позитивність і коагулаза-негативний фенотип (CoNS).

На поживних середовищах колонії *S. epidermidis* найчастіше мають білий або сірувато-білий колір, гладку структуру та опуклу форму. Гемоліз на кров'яному агарі зазвичай відсутній або виражений слабо, хоча цей показник може варіюватися залежно від штаму. Формування слизу і матриксу біоплівки значною мірою визначається специфікою штаму та умовами його культивування.

Фізіологічно *Staphylococcus epidermidis* є факультативним анаеробом і мезофілом, добре адаптованим до життя на поверхні шкіри та медичних матеріалів. Він проявляє гало-толерантність, тобто здатність виживати у середовищах з підвищеною солоністю або високою іонною силою. Організм утворює біоплівки, а його система кворум-сенсингу *agr* у певних умовах

регулює баланс між адгезією та секрецією екзопродуктів, що забезпечує стійкість і довготривале існування на інертних поверхнях.

До факторів колонізації та продуктів життєдіяльності входять поверхневі адгезини (MSCRAMMs) і полісахаридно-білковий матрикс біоплівки (PIA/PNAG), рівень яких залежить від конкретного штаму. Додатково описані пептиди PSM, а також протеази та ліпази. У порівнянні з *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* виявляє меншу вираженість токсин-асоційованих фенотипів.

З клінічної точки зору *S. epidermidis* є основним коменсалом на шкірі людини, однак стає опортуністичним патогеном у середовищах з медичними імплантатами або катетерами, де біоплівки сприяють його тривалій персистенції. Цей штам широко застосовується як контрольний або референтний у діагностичних та дослідницьких завданнях [67].

2.3.5 Характеристика *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (рис. 2.5) широко поширена в навколишньому середовищі, грамнегативна рухлива бактерія, яка є збудником багатьох інфекційних захворювань. Спор не утворює, має один джгутик, за допомогою якого пересувається. Називається синьогнійною, так як продукує спеціальний пігмент, який забарвлює живильне середовище в синьо-зелений колір.

Таксономічне положення:

- Домен – *Bacteria*
- Тип – *Proteobacteria*
- Клас – *Gamma proteobacteria*
- Порядок – *Pseudomonadales*
- Родина – *Pseudomonadaceae*
- Рід – *Pseudomonas*
- Вид – *Pseudomonas aeruginosa* [61-63].

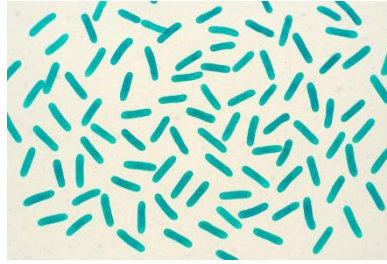


Рисунок 2.5 – *Pseudomonas aeruginosa*

Це грамнегативна паличкоподібна бактерія. Має один або кілька джгутиків, що забезпечують рухливість. Належить до опортуністичних патогенів, викликає інфекції у людей з ослабленим імунітетом. Утворює біоплівки, має високу стійкість до багатьох антибіотиків.

Часто зустрічається у лікарнях та може спричиняти пневмонії, інфекції сечовивідних шляхів, інфекції ран та сепсис.

Виробляє пігменти, найвідоміший – піоціанін, який надає синьо-зеленого кольору колоніям [68-70].

2.4 Методика визначення антимікробних властивостей

В роботі використаний агар-дифузійний метод (диск-дифузійний метод або метод Кірбі-Бауера). В основі методу лежить оцінка чутливості мікроорганізмів до різних антимікробних речовин.

Метод заснований на здатності антимікробних речовин (наночасток металів в експериментів) дифундувати у поживне середовище, яке засіяне обраними біологічними агентами, і спричиняти пригнічення їх росту. Дослідження проводили на чашках Петрі з агаризованим середовищем СПА, на яке засіюють біологічні агенти. На засіяну поверхню СПА розміщують дослідні зразки, оброблені відповідно до плану експерименту. Інкубування чашок зі зразками відбувається у термостаті за температури 36 ± 1 °C упродовж 1, 2, 3, 4 діб. По завершенні інкубування, вимірюють діаметр зони пригнічення росту навкруги дослідного зразка. Якщо біологічний агент чутливий до антимікробної обробки, то у зоні біля зразка його ріст буде пригнічений (зона затримки росту, «чиста» зона, зона інгібування).

2.5 Статистична обробка результатів експерименту

Всі результати в роботі представлені у вигляді фотографій, а також графіків, довірчими інтервалами з середнім і стандартним відхиленням. Для обробки результатів було використано програмне забезпечення Microsoft Office Excel Professional Plus.

Висновки до розділу 2

Для здійснення дослідження обрано біоматеріали тваринного походження – шкіряний напівфабрикат хромового та рослинного способів дублення.

Для надання антимікробних властивості біоматеріалам заплановане використання наночасток срібла та міді, отриманих хімічним та/або біологічним способом.

Для визначення рівня антимікробних властивостей обрано агар-дифузійний метод мікробіологічного аналізу, а для обробки масиву експериментальних даних – редактор Microsoft Office Excel.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Отримання дослідних зразків

Для дослідження використано зразки напівфабрикату шкіряних матеріалів хромового (НПФхсд) та рослинного (НПФрсд) способів дублення. Для надання антимікробних властивостей використано наночастки срібла та міді, отримані біосинтезом, у концентраціях 1, 3, 5 мкм. Для обробки зразків також використані наночастки металів (концентрація 3 мкм), синтезовані хімічним способом.

В якості контролю виступала група зразків шкіряного напівфабрикату без обробки наночастками. План експерименту представлений у табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – План обробки біоматеріалів у експерименті

Варіант	Біоматеріал	Наночастки	
		метал	концентрація, мкм
1 контроль	НПФхсд	–	–
2	НПФхсд	Хімічний Ag	3
3	НПФхсд	Ag	1
4	НПФхсд	Ag	3
5	НПФхсд	Ag	5
6	НПФхсд	Хімічний Cu	3
7	НПФхсд	Cu	1
8	НПФхсд	Cu	3
9	НПФхсд	Cu	5
10 контроль	НПФрсд	–	–
11	НПФрсд	Хімічний Ag	3
12	НПФрсд	Ag	1
13	НПФрсд	Ag	3
14	НПФрсд	Ag	5
15	НПФрсд	Хімічний Cu	3
16	НПФрсд	Cu	1
17	НПФрсд	Cu	3
18	НПФрсд	Cu	5

Обробку зразків з розмірами $1,0 - 1,5 \text{ см}^2$ здійснювали при їх занурюванні у розчини, що містили відповідну фіксовану концентрацію наночасток (див. табл. 3.1). Обробку зразків проводили в орбітальному шейкері у скляних бюксах при перемішуванні за температури $36 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ упродовж 12 годин.

Слід зауважити, що при проведенні досліджень виявили на поверхні НПФхсд, обробленого наночастками срібла у концентрації 5 мкм (варіант 5), рихлий осад темно-коричневого кольору. А через 2 години обробки робочий розчин для вказаного варіанту у бюксі став повністю прозорим (рис. 3.1). Вочевидь, спостерігаємо випадіння осаду з розчину, що містить срібло, при контактуванні з поверхнею матеріалу, обробленого хромовими солями.



Рисунок 3.1 – Утворення осаду при обробці НПФхсд наночастками срібла у концентрації 5 мкм

Випадіння осаду при контакті іонів хрому та срібла можна пояснити двома варіантами:

1. утворенням хромату срібла (Ag_2CrO_4) в результаті реакції іонного обміну між іонами срібла та іонами хрому (VI);
2. осадженням обох катіонів у спільному середовищі, де ключову роль відіграє рівень рН.

Зважаючи на теоретичні основи технології виробництва натуральної шкіри хромового дублення, наявність Cr(VI) у матеріалі малоімовірна. Шкіряні матеріали містять сполуки Cr(III) , які не приймають участі у реакції з

утворенням хромату срібла. Скоріше за все, випадіння осаду пояснюється непрямою реакцією через утворення гідроксид-іонів з подальшим випаданням Ag_2O (коричневий осад) при наявності надлишку іонів Ag^+ . Цей висновок опосередковано підтверджує і те, що осад відсутній у аналогічному варіанті обробки, для якого застосовано напівфабрикат рослинного способу дублення.

3.2 Дослідження антимікробних властивостей біоматеріалів

Як тест-культури в дослідженні використовували ряд штамів мікроорганізмів (див. п. 2.3): *Staphylococcus aureus* D-904, *Pseudomonas aeruginosa* A01, *Staphylococcus epidermidis* B-919, *Escherichia coli* 906, *Bacillus subtilis* B-901.

Підготовленими добовими культурами кожного з біологічних агентів інокулювали методом «газону» за допомогою шпателя Дригальського агаризовану поверхню поживного середовища СПА, попередньо розлитого у чашки Петрі.

Дослідні зразки розташовували у чашках Петрі на агаризованій поверхні, обробленій тест-культурами. Чашки Петрі з розміщеними зразками інкубували у термостаті за температури $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ упродовж 12 годин.

Антимікробні властивості зразків визначали агар-дифузійним методом, що передбачає вимірюванням площі зони затримки росту навколо зразка.

Аналіз затримки росту проводили упродовж 4 діб з періодичністю – 1 доба.

Візуалізацію окремих дослідних варіантів за умови обробки наночастками срібла представлено на рис. 3.2–3.6. Представлені рисунки обрані для надання розуміння вигляду зони інгібування зразків, оброблених наночастками.

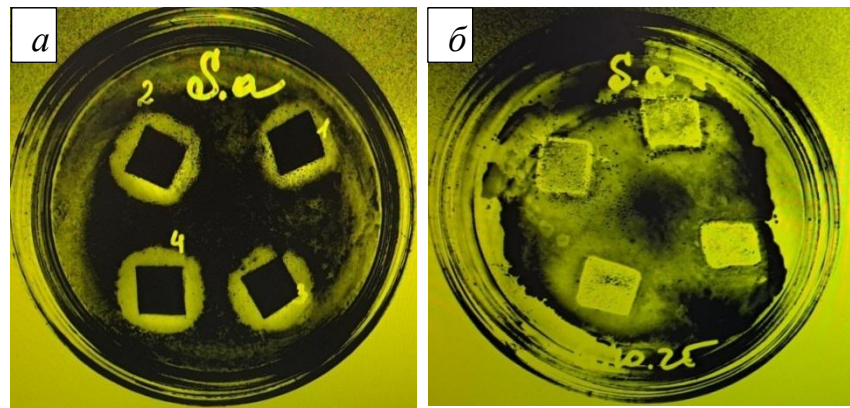


Рисунок 3.2 – Зони інгібування *Staphylococcus aureus* D-904 навколо оброблених наночастками срібла зразків: *а* – НПФхсд, *б* – НПФрсд

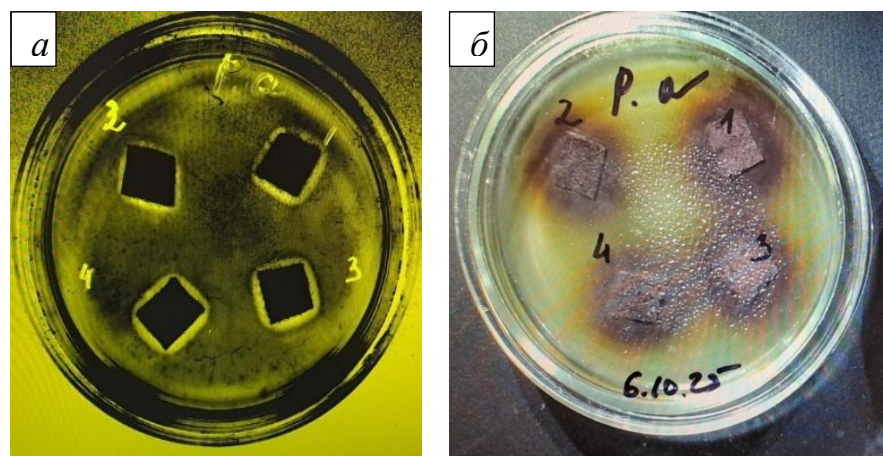


Рисунок 3.3 – Зони інгібування *Pseudomonas aeruginosa* A01 навколо оброблених наночастками срібла зразків: *а* – НПФхсд, *б* – НПФрсд

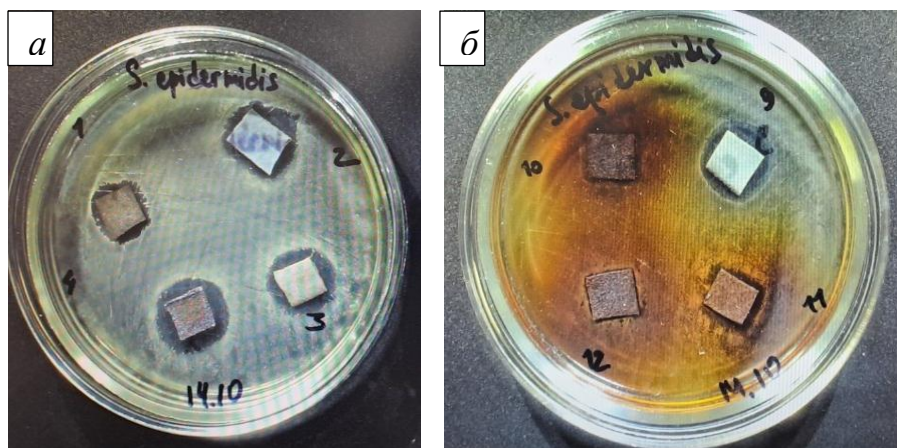


Рисунок 3.4 – Зони інгібування *Staphylococcus epidermidis* B-919 навколо оброблених наночастками срібла зразків: *а* – НПФхсд, *б* – НПФрсд

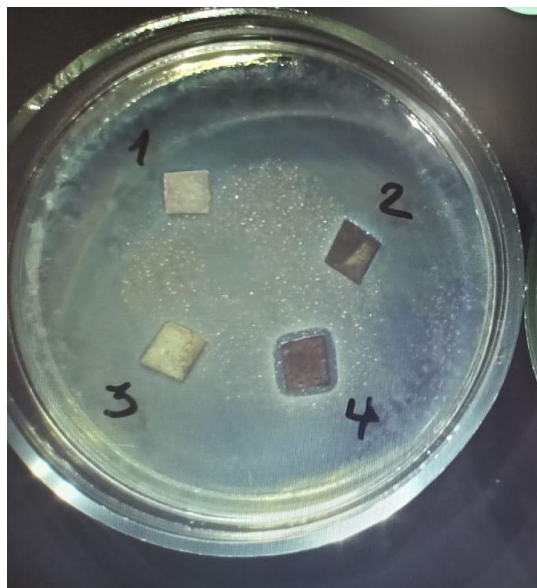


Рисунок 3.5 – Зони інгібування *Escherichia coli* 906 навколо оброблених наночастками срібла зразків НПФхсд

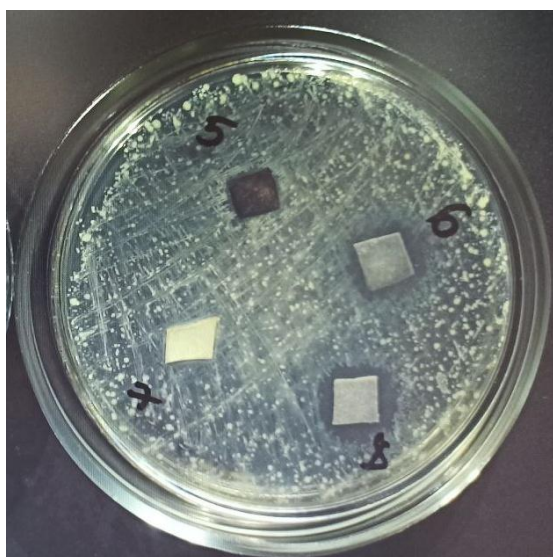


Рисунок 3.6 – Зони інгібування *Bacillus subtilis* B-901 навколо оброблених наночастками срібла зразків НПФхсд

Слід зауважити, що візуальний огляд зразків у чашках Петрі показав кардинальну різницю між зонами затримки росту для зразків, оброблених хромовими солями та рослинними матеріалами. На зразках напівфабрикату хромового способу дублення навіть у контролі спостерігаємо суттєву затримку росту біологічних агентів. Скоріш за все це пов'язано з самою природою дубильних сполук, які містить взятий для експерименту біоматеріал – шкіряний

напівфабрикат хромового способу дублення. Сполуки хрому зазвичай можуть індивідуально демонструвати антимікробні властивості, а у ступені окиснення Cr^{+6} є потужними антимікробними агентами, оскільки вони є сильними окисниками. Сполуки хрому у ступені окиснення Cr^{+3} мають слабшу антимікробну активність, але все ж її мають. Перші спричиняють сильний окиснюваний стрес у мікроорганізмів, другі – здатні до координації з компонентами клітинної стінки або мембрани мікроорганізмів, порушуючи їхню цілісність або функції.

Зони затримки росту бактерій вимірювали лінійкою з мінімальним поділом 1 мм. Оскільки фіксувалася саме величина діаметра зони інгібування, похибка вимірювання приймалася як ± 1 мм у діаметрі.

Для перерахунку похибки діаметра в похибку площі зони інгібування використовували рівняння площі круга:

$$S = \pi \left(\frac{D}{2} \right)^2,$$

де S – площа зони інгібування, а D — її діаметр.

Похибка площі визначалась як диференціал від функції $S(D)$:

$$\Delta S = \frac{dS}{dD} \cdot \Delta D = \pi \cdot \frac{D}{2} \cdot \Delta D,$$

де $\Delta D = 0,1$ см (1 мм).

Підставлення середнього діаметра зони інгібування (експериментально визначена площа $3,629 \text{ см}^2$ у контролі) дозволило оцінити $D \approx 2,15$ см, а відтак похибку площі:

$$\Delta S \approx 0,34 \text{ см}^2$$

Оскільки порівняння інгібуючої активності проводилося у відсотковому відношенні відносно контролю, отриману похибку площі було нормовано відносно площі контрольного зразка:

$$\Delta\% = \frac{\Delta S}{S_{\text{контролю}}} \times 100\%.$$

Підставлення числових значень дало:

$$\Delta\% \approx \frac{0,34}{3,629} \times 100\% \approx 9,3\%.$$

Таким чином, невизначеність вимірювання дифузної зони становила $\pm 9,3\%$, що на графіках позначено як «вуса» похибки. Важливо, що даний показник відображає похибку вимірювання, а не статистичне стандартне відхилення, оскільки визначення проводилися з $n = 1$ для кожного зразка.

У випадку тест-культури *Staphylococcus aureus* D-904 (рис. 3.7) спостерігали зони затримки росту навколо дослідних зразків у всіх дослідних варіантах у порівнянні з контрольною групою.

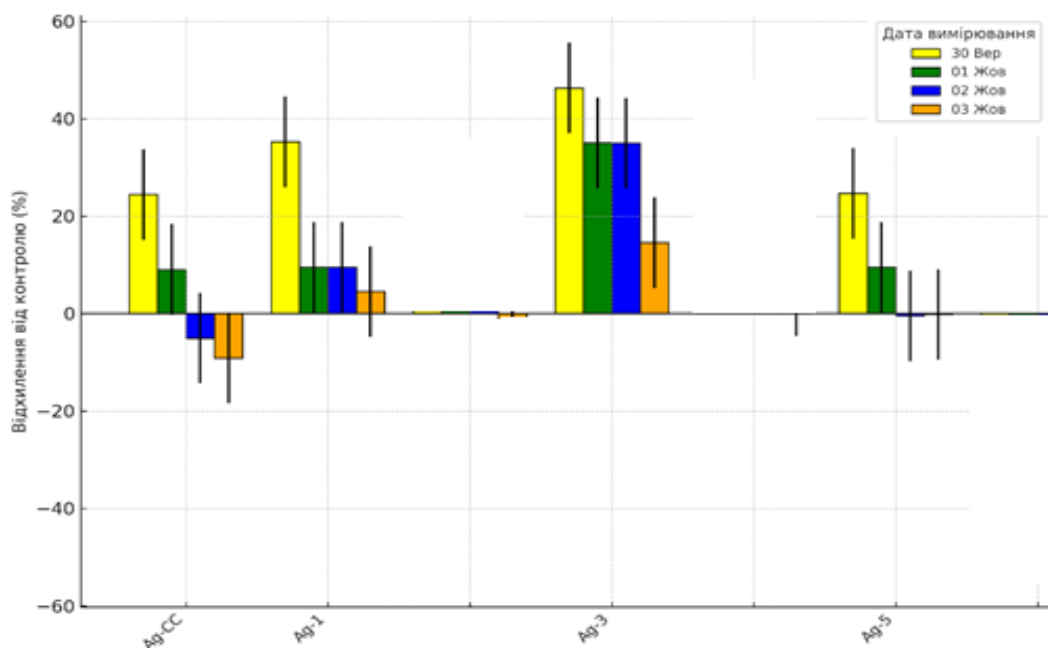


Рисунок 3.7 – Питома інгібуюча активність зразків НПФхсд відносно контрольного зразка, необробленого наночастками срібла, на тест-об'єкті *Staphylococcus aureus* D-904

Всі зразки достовірно перевищують контроль, хоча зразки хромового напівфабрикату, обробленого хімічно синтезованими та біологічно

синтезованими наночастками срібла у концентрації 5 мкм демонструють нижчий рівень інгібування (24,45 % та 24,67 % відповідно) що вказує на зниження антимікробних властивостей. Зменшення рівня антимікробних властивостей зразків при збільшенні для їх обробки концентрації наночасток срібла до 5 мкм вочевидь пов'язаний із випадінням осаду в процесі обробки зразка (див. п. 3.1, рис. 3.1). Найбільший ефект відносно контрольного варіанту (46,31%) демонструє варіант, який передбачав обробку біоматеріалу наночастками срібла в концентрації 3 мкм.

У випадку тест-культури *Pseudomonas aeruginosa* A01 (рис. 3.8) спостерігали зони затримки росту навколо дослідних зразків лише у 2 варіантах. Для зразків, оброблених наночастками срібла у концентрації 3 мкм, питома інгібуюча активність склала лише 1,68 %, а при концентрації наночасток срібла 5 мкм – 19,65 %.

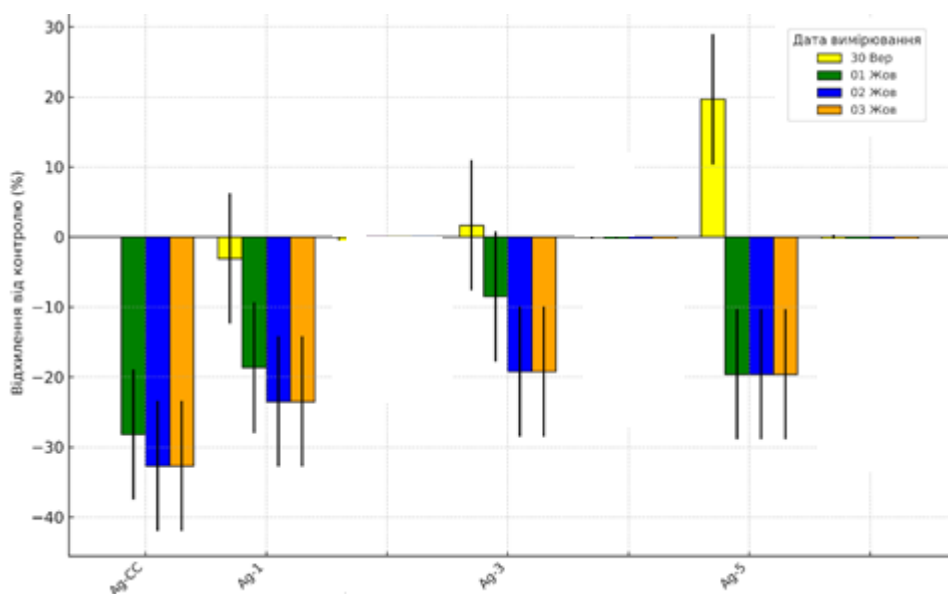


Рисунок 3.8 – Питома інгібуюча активність зразків НПФхсд відносно контрольного зразка, необробленого наночастками срібла, на тест-об'єкті *Pseudomonas aeruginosa* A01

Слід зауважити, що у випадку обробки наночастками срібла НПФред, на тест-об'єктах *Staphylococcus aureus* D-904 та *Pseudomonas aeruginosa* A01

інгібуюча активність була меншою ніж у контрольного варіанту для **всіх** без виключення зразків. Аналогічну картину – **нижчу за контроль** інгібуючу активність на тест-об'єктах *Staphylococcus aureus* D-904 та *Pseudomonas aeruginosa* A01 – спостерігаємо і за умови використання наночасток міді для обробки НПФхсд. Однак, слід зауважити, що під зразками НПФ всіх вказаних дослідних варіантів в зоні контакту з клітинами зберігалася чітка відсутність росту, водночас ріст клітин зберігався на всій іншій площі поживного середовища чашки Петрі. Скоріше за все у випадку з наночастками міді відсутність ефективності пов'язана з трохи іншим механізмом дії на тест-об'єкт ніж у наночасток срібла. Для наночасток міді тут задіяний механізм оксидативного стресу, для наночасток срібла механізм ґрунтовнішого внутрішньоклітинного втручання. У випадку застосування наночасток міді проти *Pseudomonas aeruginosa* A01 в експерименті підтверджена неефективність через відомий механізм захисту від сполук міді.

Різну інгібуючу активність спостерігаємо і у зразків НПФхсд та НПФрсд на тест-об'єкті *Staphylococcus epidermidis* B-919 (рис. 3.9).

Для всіх без винятку дослідних груп НПФхсд питома інгібуюча активність менша за активність у контрольного варіанту (*a*). Тоді як у випадку НПФрсд за умови застосування наночасток срібла питома інгібуюча активність достатньо висока і складає при застосуванні хімічно синтезованих наночасток срібла 78,36 %, для біологічно синтезованих наночасток срібла 179,70 % (3 мкм), 102,05 % (5 мкм) відносно контрольної групи зразків.

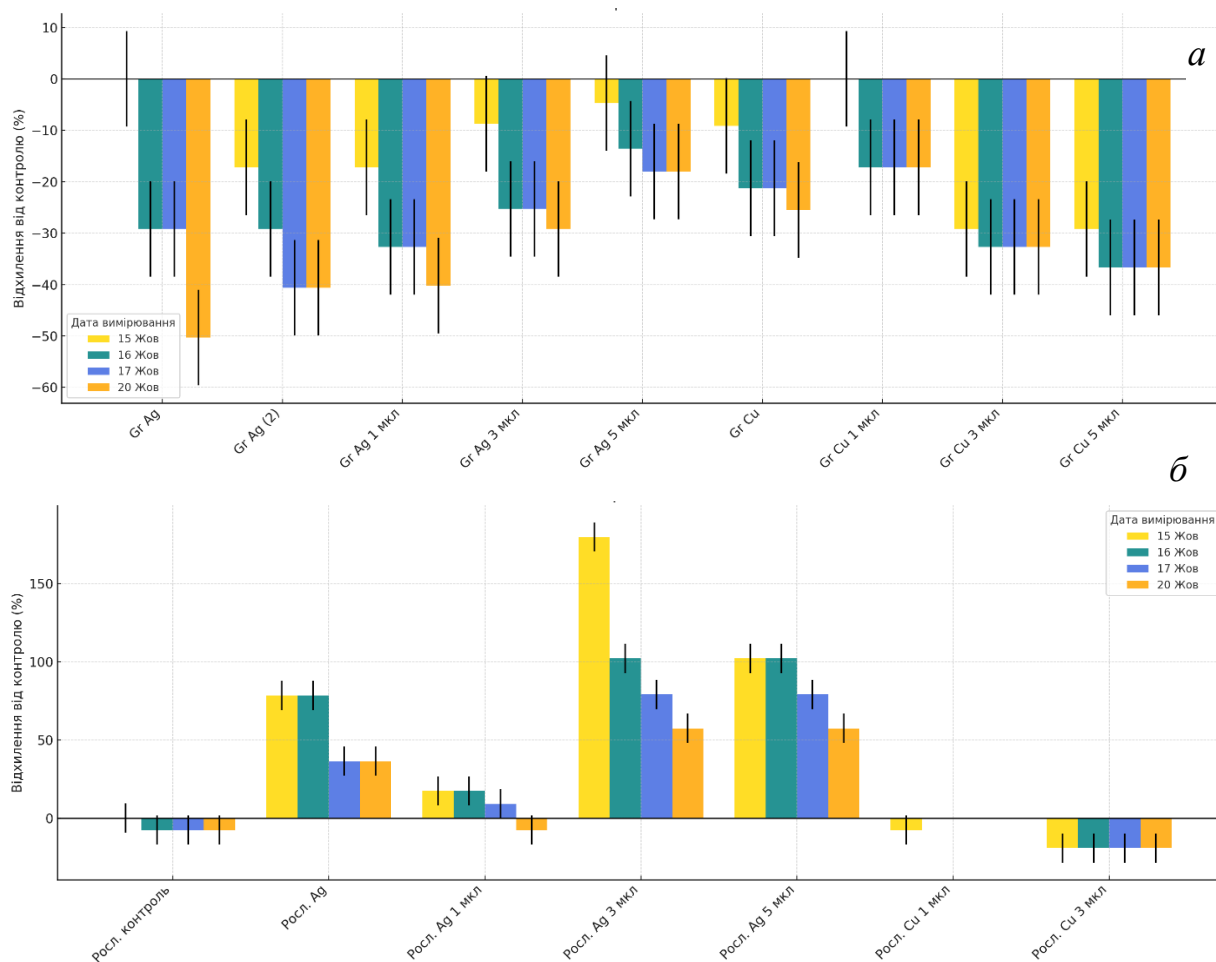


Рисунок 3.9 – Питома інгібуюча активність зразків НПФхсд (а) та НПФрсд (б) відносно контрольних зразків, необроблених наночастками срібла та міді, на тест-об'єкті *Staphylococcus epidermidis* B-919

У випадку застосування тест-об'єкту *Escherichia coli* 906 (рис. 3.10) найбільшу питому інгібуючу активність показали варіанти з обробкою НПФхсд (а) наночастками біологічно синтезованого срібла у концентрації 3 та 5 мкм (77,83 %). Для наночасток міді найбільшої питомої інгібуючої активності для НПФхсд досягнуто у випадку концентрації 5 мкм (10,22 %). Для обробки НПФрсд (б) ефективними виявилися концентрації наночасток срібла 3 мкм (22,20 %) та 5 мкм (77,80 %) відносно контрольних зразків.

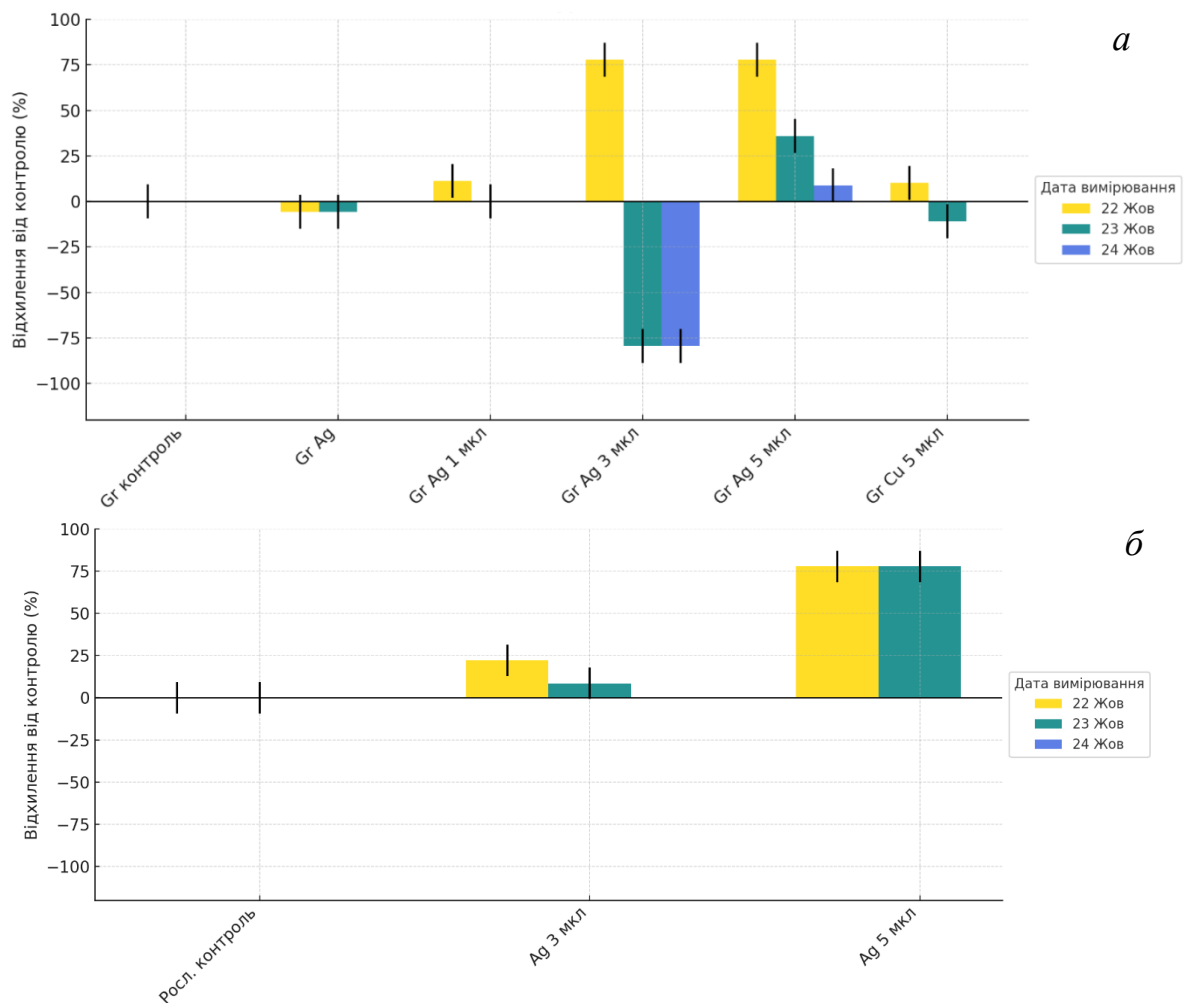


Рисунок 3.10 – Питома інгібуюча активність зразків НПФхсд (а) та НПФрсд (б) відносно контрольних зразків, необроблених наночастками срібла та міді, на тест-об'єкті *Escherichia coli* 906

У випадку застосування тест-об'єкту *Bacillus subtilis* В-901 (рис. 3.11) питома інгібуюча активність теж залежала від виду попередньої обробки НПФ та застосовуваних наночасток. Так, для НПФхсд (рис. 3.11, а) ефективними виявилися наночастки міді, питома інгібуюча активність яких склала: хімічні наночастки – 125,10 %, концентрація біосинтезованих наночасток 3 мкм – 189,20 %, 5 мкм – 82,00 %.

А для НПФрсд (рис. 3.11, б) ефективними виявилися наночастки срібла, питома інгібуюча активність яких склала для концентрацій: біосинтезованих наночасток: 1 мкм – 21,00 %, 3 мкм – 44,10 %, 5 мкм – 125,10 %.

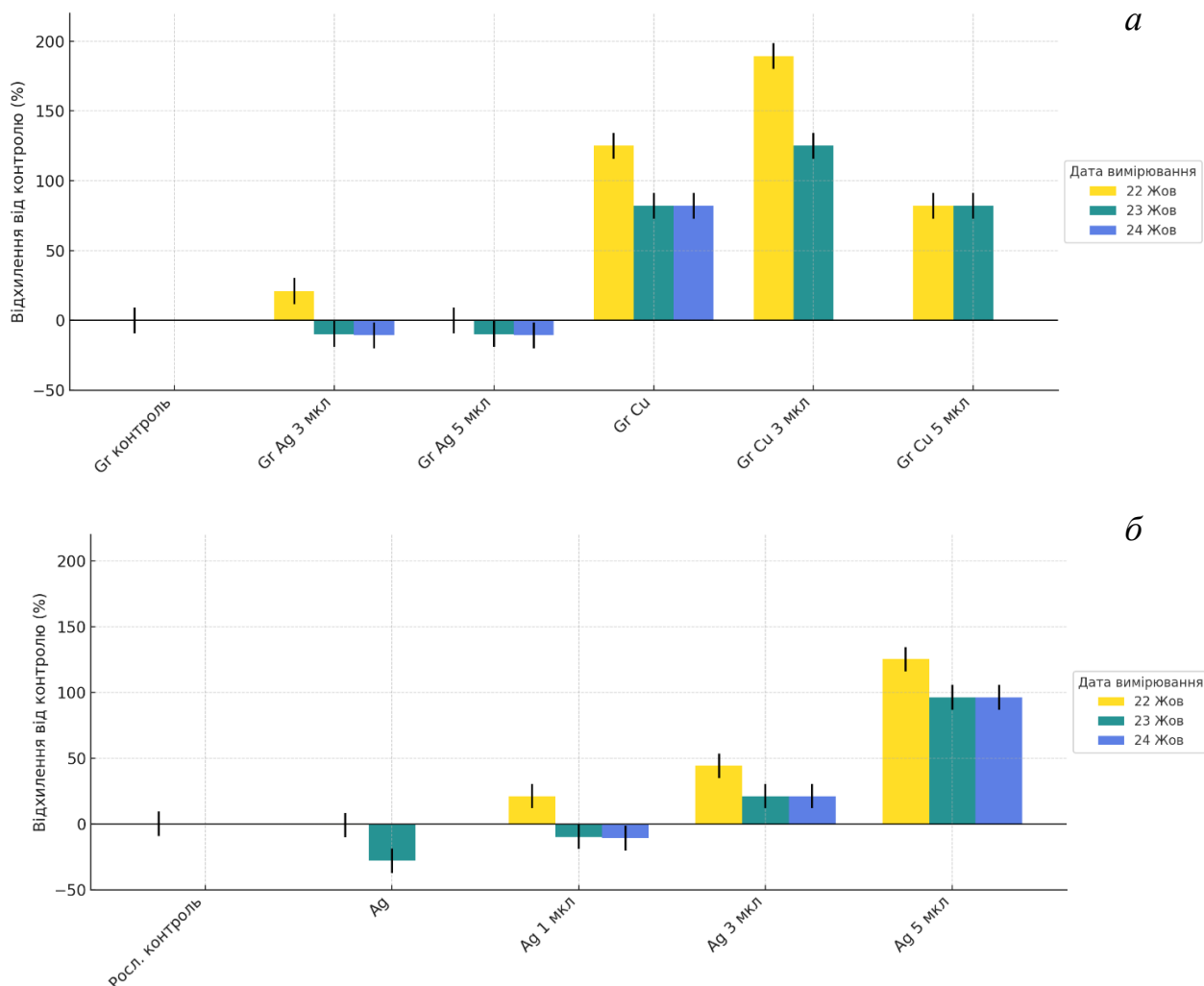


Рисунок 3.11 – Питома інгібуюча активність зразків НПФхсд (а) та НПФрсд (б) відносно контрольних зразків, необроблених наночастками срібла та міді, на тест-об'єкті *Bacillus subtilis* B-901

Отже, дослідження показує, що підвищення рівня антимікробних властивостей до тих чи інших тест-культур залежить не тільки від виду застосовуваних наночастинок і їх концентрації, а і від характеру оброблюваної поверхні. Так, в результаті проведеного експерименту виявлено, що максимальної питомої інгібуючої активності зразків відповідно до контролю досягнуто для тест-об'єктів у випадках:

1. *Staphylococcus aureus* D-904 – найбільш ефективною (46,31 %) є обробка НПФхсд біосинтезованими наночастками срібла у концентрації 3 мкм;

2. *Pseudomonas aeruginosa* A01 – найбільш ефективною (19,65 %) є обробка НПФхсд біосинтезованими наночастками срібла у концентрації 5 мкм;
3. *Staphylococcus epidermidis* B-919 – найбільш ефективними є обробки НПФрсд біосинтезованими наночастками срібла у концентрації 3 мкм (179,73 %) та 5 мкм (102,05 %);
4. *Escherichia coli* 906 – найбільш ефективними є обробки НПФхсд біосинтезованими наночастками срібла у концентрації 3 та 5 мкм (77,83 %) мкм, а НПФрсд біосинтезованими наночастками міді у концентрації 5 мкм (77,80 %);
5. *Bacillus subtilis* B-901 – найбільш ефективними є обробки НПФхсд хімічно синтезованими (125,10 %) та біосинтезованими наночастками міді у концентрації 3 мкм (189,20 %), а НПФрсд біосинтезованими наночастками срібла у концентрації 5 мкм (125,10 %).

3.3 Дослідження впливу комплексного застосування сполук срібла та міді на антимікробні властивості біоматеріалів

В дослідженні також проведено експеримент щодо спільного використання наночасток срібла та міді, яке може сприяти підвищенню антимікробних властивостей біоматеріалів завдяки комплексному (синергічному) ефекту, який може проявитися у:

- появі більш інтенсивного оксидативного стресу, що спричиняє незворотне пошкодження клітинних компонентів тест-об'єктів,
- комбінованому втручанні у клітинні процеси,
- підвищенні стабільності розчинів наночасток.

Останнє твердження підтверджує той факт, що при обробці сумішшю наночасток срібла та міді у концентрації 5 мкм зразків НПФхсд осад у дослідному розчині не випадає, що спостерігали у попередньому експерименті (див. п. 3.1, рис. 3.1).

Отже, для дослідження можливого комплексного впливу на підвищення антимікробних властивостей наночасток різної природи на біоматеріали було досліджено ряд зразків шкіряних матеріалів хромового (НПФхсд) та рослинного (НПФрсд) способів дублення. Для надання антимікробних властивостей використано механічну суміш наночасток срібла та міді, отриманих біосинтезом, у загальних концентраціях 1, 3, 5 мкм та оброблені наночастками (загальна концентрація 3 мкм), синтезованими хімічним способом. План експерименту представлений у табл. 3.2.

Таблиця 3.2 – План обробки біоматеріалів сумішшю наночасток

Варіант	Біоматеріал	Наночастки	
		спосіб отримання, метал	концентрація, мкм
1 контроль	НПФхсд	Хімічний Ag+Cu	3
2	НПФхсд	Біосинтез Ag+Cu	1
3	НПФхсд	Біосинтез Ag+Cu	3
4	НПФхсд	Біосинтез Ag+Cu	5
5 контроль	НПФрсд	Хімічний Ag+Cu	3
6	НПФрсд	Біосинтез Ag+Cu	1
7	НПФрсд	Біосинтез Ag+Cu	3
8	НПФрсд	Біосинтез Ag+Cu	5

Зони інгібування тест-об'єктів навколо зразків НПФ досліджені агар-дифузійним методом представлені на рис. 3.12.

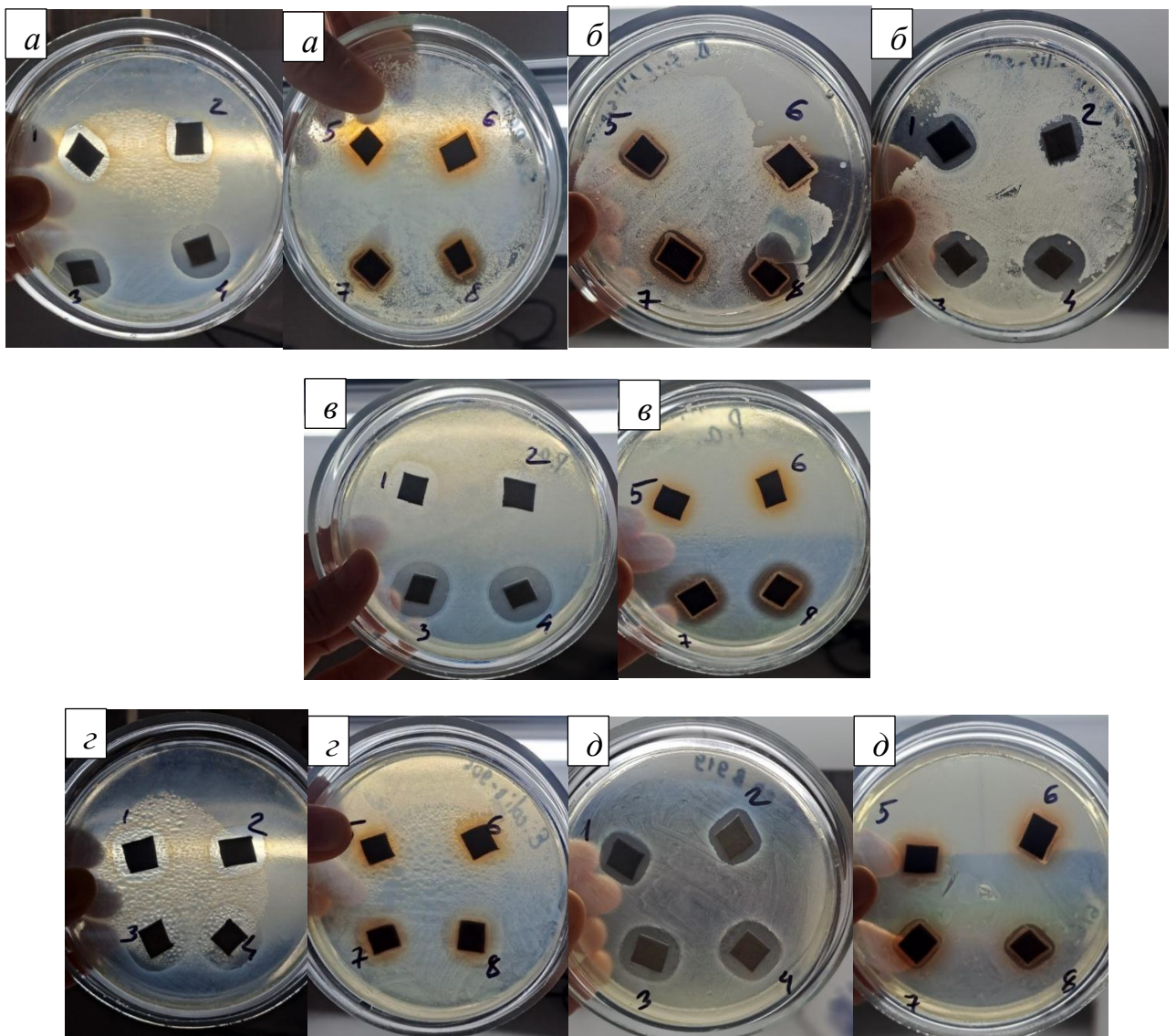


Рисунок 3.12 – Зони інгібування навколо зразків НПФ тест-об'єктами:

a – *Staphylococcus aureus* D-904, *б* – *Pseudomonas aeruginosa* A01,

в – *Staphylococcus epidermidis* B-919, *г* – *Escherichia coli* 906,

д – *Bacillus subtilis* B-901

В експерименті питому інгібуючу активність дослідних зразків визначали відповідно до показників НПФхсд та НПФрсд без обробки їх наночастками. Цікавим є те, що для всіх тест-об'єктів питома інгібуюча активність зразків НПФхсд була нижчою за контроль, згадану активність проявляли лише зразки НПФрсд.

Для тест-культури *Staphylococcus aureus* D-904 (рис. 3.13) у випадку НПФрсд високу активність мала суміш наночасток у концентрації 3 мкм (57,35

%), а найбільшу – концентрація 5 мкм (101,42). Цікавим є те, що антимікробний ефект проявився через 48 годин після інкубування зразків у термостаті. Скоріше за все, це пов'язано також з синергічним ефектом, який передбачає зменшення швидкості окислення міді у присутності срібла, і як результат – уповільнену дію на тест-об'єкт.

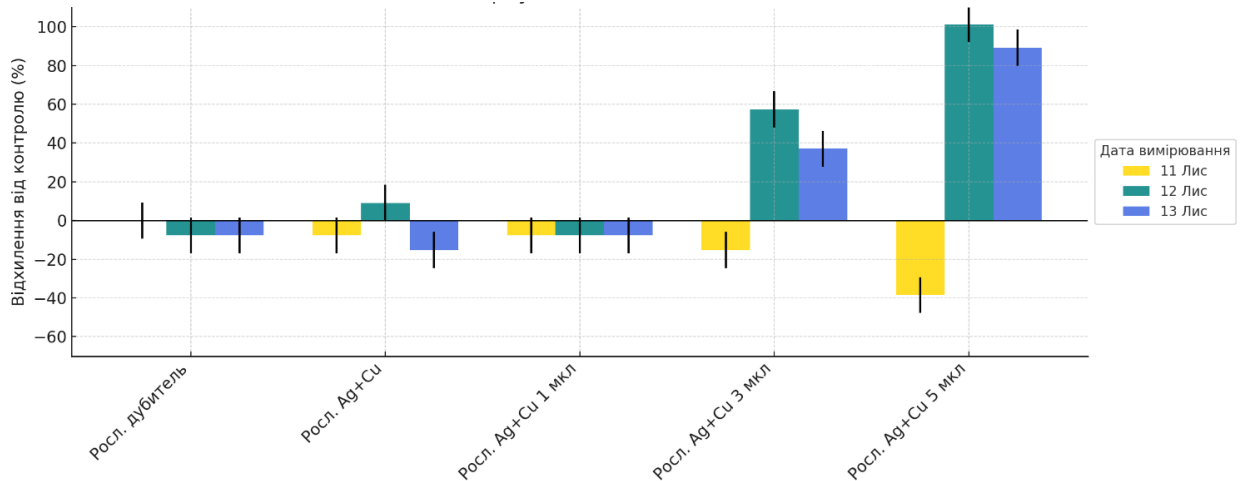


Рисунок 3.13 – Питомі інгібуючі активності зразків НПФрсд відносно контрольного зразка, необробленого сумішшю наночастинок, на тест-об'єкті *Staphylococcus aureus* D-904

Для тест-культури *Pseudomonas aeruginosa* A01 інгібуюча активність більша ніж у контрольного зразка теж спостерігається тільки для НПФрсд (рис. 3.14) і є найбільшою (151,74 %) для концентрації наночастинок 5 мкм.

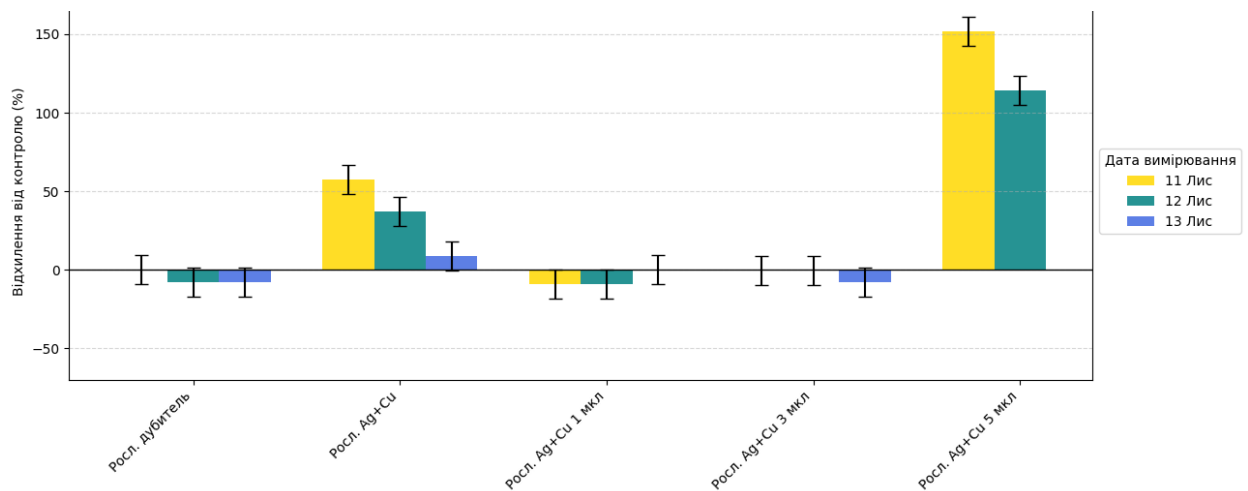


Рисунок 3.14 – Питомі інгібуючі активності зразків НПФрсд відносно контрольного зразка, необробленого сумішшю наночастинок, на тест-об'єкті *Pseudomonas aeruginosa* A01

Зауважимо, що для описаних двох тест-об'єктів у попередньому експерименті (див. п. 3.2) не спостерігалось збільшення антимікробних властивостей відповідно контрольного варіанту. А наявність доволі високих показників антимікробних властивостей у НПФрсд можна пояснити синергічним ефектом.

Для тест-культури *Staphylococcus epidermidis* B-919 інгібуюча активність (рис. 3.15) є найбільшою (57,35 %) для концентрації наночастинок 5 мкм.

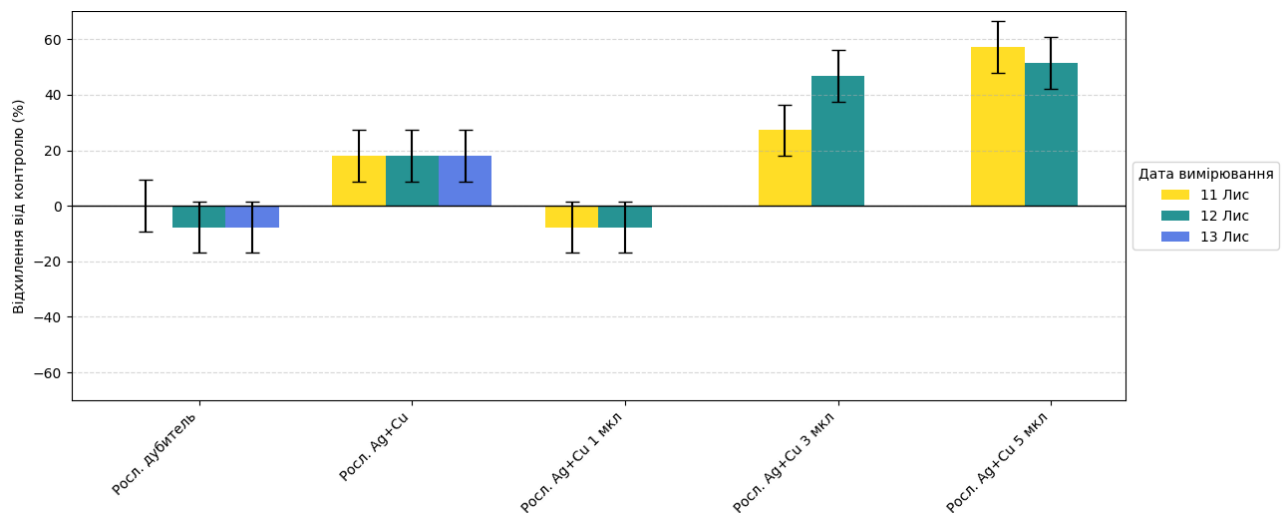


Рисунок 3.15 – Питома інгібуюча активність зразків НПФрсд відносно контрольного зразка, необробленого сумішшю наночастинок, на тест-об'єкті *Staphylococcus epidermidis* B-919

Для тест-культури *Escherichia coli* 906 інгібуюча активність більша ніж у контрольного зразка теж спостерігається тільки для НПФрсд (рис. 3.16) і є найбільшою (46,84 %) для концентрації наночастинок 1 мкм. Для даного тест-об'єкту аналогічно об'єкту *Staphylococcus aureus* D-904 спостерігається уповільнення антимікробної дії, яка проявляється через 48 годин від початку інкубування зразків.

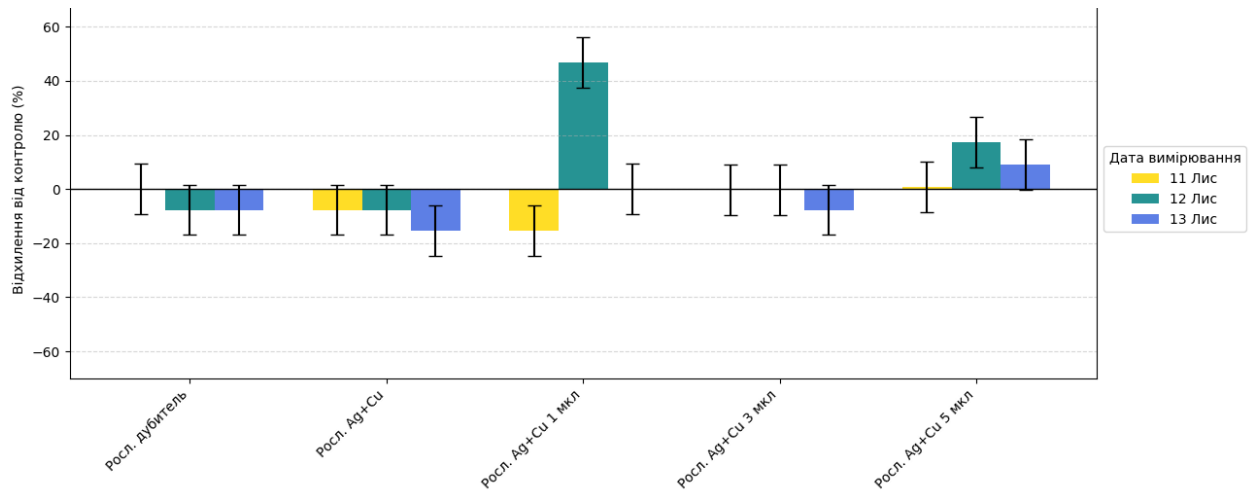


Рисунок 3.16 – Питома інгібуюча активність зразків НПФрсд відносно контрольного зразка, необробленого сумішшю наночастинок, на тест-об'єкті *Escherichia coli* 906

У випадку тест-культури *Bacillus subtilis* B-901 інгібуюча активність (рис. 3.17) спостерігається і для суміші наночастинок з концентрацією 3 мкм (78,36 % через 24 год інкубування), але є найбільшою (152,45 % через 48 год інкубування) для концентрації наночастинок 5 мкм.

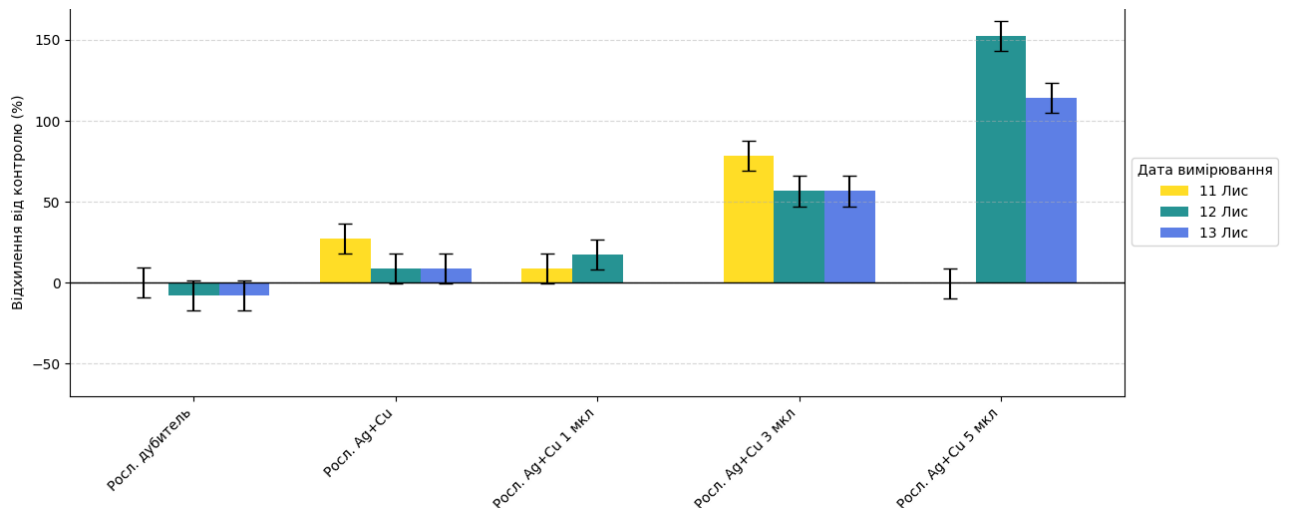


Рисунок 3.17 – Питома інгібуюча активність зразків НПФрсд відносно контрольного зразка, необробленого сумішшю наночастинок, на тест-об'єкті *Bacillus subtilis* B-901

Аналіз отриманих результатів показує, що комплексне використання наночасток срібла та міді не завжди призводить до підсилення антимікробних властивостей біоматеріалів.

Появу антимікробної стійкості зразків НПФрсд у випадку *Staphylococcus aureus* D-904 демонструє зразок, оброблений сумішшю наночасток. При цьому питома інгібуюча активність на тест-об'єкті зростає з «0» за умови застосування наночасток металів індивідуально, до 151,74 % при максимальній витраті (5 мкм) суміші наночасток.

У випадку *Pseudomonas aeruginosa* A01 ефект на зразках НПФрсд ще вищий ніж у попередньо описаної культури. Питома інгібуюча активність на тест-об'єкті зростає з «0» за умови застосування наночасток металів індивідуально, до 101,42 % при максимальній витраті (5 мкм) суміші наночасток.

Для об'єкту *Staphylococcus epidermidis* B-919 дослідження показали навпаки, зменшення інгібуючої активності відносно НПФрсд, обробленого наночастками срібла. Показник інгібуючої активності, які при обробці індивідуально наночастками срібла склали 179,73 % при концентрації 3 мкм та 102,05 % при концентрації 5 мкм; знизився у 3,8 рази до рівня 46,84 % та у 1,8 рази до рівня 57,35 % при відповідних концентраціях суміші наночасток.

Для тест-об'єкту *Escherichia coli* 906 на зразках НПФрсд, оброблених наночастками срібла, у загальному вигляді спостерігається зниження ефективності антимікробної обробки з 77,8 % до 46,84 %. Але тут слід зауважити, що ефективними виявилися в експерименті максимальна концентрація (5 мкм) при застосуванні індивідуально наночасток срібла та мінімальна (1 мкм) при застосуванні суміші наночасток двох металів з наявним ефектом відкладеної дії.

Показники інгібуючої активності зразків НПФрсд для тест-об'єкту *Bacillus subtilis* B-901 при обробці індивідуально наночастками срібла склали 44,10 % при концентрації 3 мкм та 125,10 % при концентрації 5 мкм; а при

суміщеній обробці наночастками збільшилися у 1,8 рази до рівня 78,36 % та у 1,2 рази до рівня 152,41 % при відповідних концентраціях суміші наночасток.

Висновки до розділу 3

Наночастки металів як індивідуально так і в суміші можуть надавати певний рівень антимікробних властивостей біоматеріалам тваринного походження. При цьому, вибір виду наночасток має залежати від природи та властивостей біологічних агентів. Найбільшої ефективності у цілому досягнуто при використанні наночасток металів у концентраціях 3-5 мкм.

В результаті експериментальних досліджень отримати однозначні дані щодо створення антимікробних властивостей у біоматеріалів тваринного походження шляхом їх оброблення наночастками срібла та міді індивідуально або у суміші не вдалось. Дослідження вимагає масштабування для отримання більш ґрунтовних результатів.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз сучасних наукових розробок свідчить про суттєвий антимікробний і антифунгіцидний потенціал наночастинок срібла та міді. Такі властивості роблять їх альтернативними матеріалами традиційним біоцидним і фунгіцидним засобам.

2. Для надання антимікробних властивостей біоматеріалам тваринного походження, попередньо оброблених сполуками хрому та рослинними екстрактами, застосовано наночастки, синтезовані біологічним та хімічним способами.

3. В роботі вивчена ефективність застосування наночастинок срібла та міді індивідуально або у суміші при обробці біоматеріалів проти п'яти тест-об'єктів: *Staphylococcus aureus* D-904, *Pseudomonas aeruginosa* A01, *Staphylococcus epidermidis* B-919, *Escherichia coli* 906, *Bacillus subtilis* B-901. Для визначення кількісних показників антимікробної активності наночастинок використаний метод агар-дифузійного мікробіологічного аналізу.

4. Дослідження показує, що підвищення рівня антимікробних властивостей до тих чи інших тест-культур залежить не тільки від виду застосовуваних наночастинок і їх концентрації, а і від характеру оброблюємої поверхні. В результаті проведеного експерименту виявлено, що максимальної питомої інгібуючої активності зразків, оброблених сполуками хрому, відповідно до контролю досягнуто у випадках застосування наночастинок **срібла** у концентрації **3 мкм** для тест-об'єктів: *Staphylococcus aureus* D-904 (46,31 %), *Staphylococcus epidermidis* B-919 (179,73 %), *Escherichia coli* 906 (77,83 %); та **5 мкм** для тест-об'єктів: *Pseudomonas aeruginosa* A01 (19,65 %), *Bacillus subtilis* B-901 (125,10 %).

Найбільшого значення питомої інгібуючої активності зразків, оброблених рослинними екстрактами, відповідно до контролю досягнуто у випадку застосування наночастинок **міді** у концентрації **3 мкм** для тест-об'єкту *Bacillus subtilis* B-901 (189,20 %).

5. У дослідженні також встановлено, що суміш наночасток має синергічний ефект до окремих тест-культур. Найбільший вплив при цьому спостерігається при обробці сумішшю біоматеріалів, оброблених рослинними екстрактами. Появу антимікробної стійкості (151,74 %) вказаних зразків до тест-культури *Staphylococcus aureus* D-904 демонструє зразок, оброблений сумішшю наночасток у концентрації **5 мкм**. Виявлено, що для суміші наночасток притаманна також затримка прояву антимікробних властивостей на зразках біоматеріалів, що підтверджує теорії про взаємний вплив наночасток у суміші.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Adams F.C., Barbante C. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 2013. № 86. P. 3-13.
2. Rimsha Abbas, Jingjing Luo, Jingjing Luo, Xue Qi, Adeela Naz. *Silver Nanoparticles: Synthesis, Structure, Properties and Applications.* Nanomaterials. 2024. №14 (17). P. 1425.
3. Pinsky D., Ralbag N., Singh R.K., Mann-Lahav M., Shter G.E., Dekel D.R., Grader G.S., Avnir D. Metal nanoparticles entrapped in metal matrices. *Nanoscale Adv.* 2021. № 3. P. 4597-4612.
4. Bruna T., Maldonado-Bravo F., Jara P., Caro N. Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *Int. J. Mol. Sci. Technol.* 2021. P. 7202.
5. Sudarman F., Shiddiq M., Armynah B., Tahir D. Silver nanoparticles (AgNPs) synthesis methods as heavy-metal sensors: A review. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2023. № 20. P. 9351-9368.
6. Ганіткевич Я. Історія української медицини в датах і іменах. *Енциклопедія Львівського університету.* Хімічний факультет. Львів, 200 с.
7. Су та наночастинки на основі Су: синтез та застосування в каталізі. https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.chemrev.5b00482?ref=article_openPDF (дата звернення 14.09.2025).
8. Lansdown A.B. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Current Probl Dermatol.* 2006. № 33. P.17-34.
9. Marambio-Jones C., Hoek E. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res.* 2010. № 12 (5). P. 1531-1551.
10. Слободяник М. С., Улько Н. Б., Бойко К. М., Самійленко В. М. Загальна та неорганічна хімія: практикум. Київ: Либідь, 2004. 336 с.
11. Some S., Sen I.K., Mandal A., Aslan T., Ustun Y., Yilmaz E.Ş., Katı A., Demirbas A., Mandal A.K., Ocsoy I. Biosynthesis of silver nanoparticles and their versatile antimicrobial properties. *Mater. Res. Express.* 2018. № 6. P. 012001.

12. Chernousova S., Epple M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013. P. 1636-1653.
13. Li W.R., Xie X.B., Shi Q.S., Zeng H.Y., Ou-Yang Y.S., Chen Y.B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. P.1115-1122.
14. Mukherjee P., Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar S.R., Khan M.I., Renu P., Ajaykumar P.V., Alam M., Kumar R., et al. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: A novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Lett.* 2001. P. 515-519.
15. Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv. Colloid Interface.* 2009. P. 83-96.
16. Gurunathan S., Kalishwaralal K., Vaidyanathan R., Venkataraman D., Pandian S.R., Muniyandi J., Hariharan N., Eom S.H. Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2009. P. 328-335.
17. Lee S.H., Jun B.-H. Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. P. 865.
18. Magdy G., Aboelkassim E., Abd Elhaleem S.M., Belal F., A comprehensive review on silver nanoparticles: Synthesis approaches, characterization techniques, and recent pharmaceutical, environmental, and antimicrobial applications. *Microchem. J.* 2023. № 196. P. 109615.
19. Albrecht M.A., Evans C.W., Raston C.L.. Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green Chem.* 2006. P. 417-432.
20. Dolgaev S., Simakin A., Voronov V., Shafeev G.A., Bozon-Verduraz F.. Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment. *Appl. Surf. Sci.* 2002. P. 546-551.
21. Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramírez J.T., Yacaman M.J.. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2005. P. 2346.

22. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.-S., Chen G.. Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discov. Today*. 2015. P. 595-601.
23. Panáček A., Kolář M., Večeřová R., Pucek R., Soukupová J., Kryštof V., Hamal P., Zbořil R., Kvítek L. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*. 2009. P. 6333-6340.
24. Mohammed Fayaz A., Ao Z., Girilal M., Chen L., Xiao X., Kalaichelvan P., Yao X. Inactivation of microbial infectiousness by silver nanoparticles-coated condom: A new approach to inhibit HIV-and HSV-transmitted infection. *Int. J. Nanomed*. 2012. P. 5007-5018.
25. Sarkar S. Silver Nanoparticles with Bronchodilators Through Nebulisation to Treat COVID 19 Patients. *J. Curr. Med. Res. Opin*. 2020. P. 449-450.
26. Salleh A., Naomi R., Utami N.D., Mohammad A.W., Mahmoudi E., Mustafa N., Fauzi M.B. The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: A mechanism of action. *Nanomaterials*. 2020. P. 1566.
27. Savitha R., Saraswathi U. A study on the preventive effect of silver nanoparticles synthesized from millingtonia hortensis in isoproterenol induced cardio toxicity in male wistar rats. *World J. Pharm. Pharm. Sci*. 2016. № 5. P. 1442-1450.
28. Soto K.M., Quezada-Cervantes C.T., Hernández-Iturriaga M., Luna-Bárcenas G., Vazquez-Duhalt R., Mendoza S. Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *LWT*. 2019. № 103. P. 293-300.
29. Loo C., Lowery A., Halas N., West J., Drezek R. Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano Lett*. 2005. № 5. P. 709-711.
30. Alula M.T., Karamchand L., Hendricks N.R., Blackburn J.M. Citrate-capped silver nanoparticles as a probe for sensitive and selective colorimetric and spectrophotometric sensing of creatinine in human urine. *Anal. Chim. Acta*. 2018. № 1007. P. 40-49.

31. Balasurya S., Syed A., Thomas A.M., Bahkali A.H., Elgorban A.M., Raju L.L., Khan S.S. Highly sensitive and selective colorimetric detection of arginine by polyvinylpyrrolidone functionalized silver nanoparticles. *J. Mol. Liq.* 2020. P. 112361.
32. Yousefi S., Saraji M. Optical aptasensor based on silver nanoparticles for the colorimetric detection of adenosine. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2019. № 213. P 1-5.
33. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.-S., Chen G. Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discov. Today.* 2015. P. 595-601.
34. Kairdolf BA, Qian X, Nie S. Bioconjugated Nanoparticles for Biosensing, in Vivo Imaging, and Medical Diagnostics. *Analytical Chemistry.* 2017. № 89(2). P. 1015-31.
35. Jangid H, Singh S, Kashyap P, Singh A, Kumar G. Advancing biomedical applications: An in-depth analysis of silver nanoparticles in antimicrobial, anticancer, and wound healing roles. *Frontiers in Pharmacology.* 2024. P. 1438227.
36. Slavin YN, Bach H. Mechanisms of antifungal properties of metal nanoparticles. *Nanomaterials.* 2022. № 12(24). P. 4470.
37. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Retracted: Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2007. № 18(22). P. 225103.
38. Gajbhiye M, Kesharwani J, Ingle A, Gade A, Rai M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* 2009. № 5(4). P. 382.
39. Alavi M, Ashengroph M. Mycosynthesis of AgNPs: mechanisms of nanoparticle formation and antimicrobial activities. *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* 2023. № 21(4). P. 355-63.
40. Lara HH, Romero-Urbina DG, Pierce C, Lopez-Ribot JL, Arellano-Jiménez MJ, Jose-Yacamán M. Effect of silver nanoparticles on *Candida*

albicans biofilms: an ultrastructural study. *Journal of nanobiotechnology*. 2015. P. 1-12.

41. Monteiro D., Gorup L., Silva S., Negri M., De Camargo E., Oliveira R., et al. Silver colloidal nanoparticles: antifungal effect against adhered cells and biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Biofouling*. 2011. P. 711-719.

42. Fan F., Liu Y., Liu Y., Lv R., Sun W., Ding W., et al. *Candida albicans* biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and emerging therapeutic strategies. *International journal of antimicrobial agents*. 2022. P. 106673.

43. Zhang J., Liu J., Peng, Q., Wang X., Li Y. Nearly Monodisperse Cu_2O and CuO Nanospheres: Preparation and Applications for Sensitive Gas Sensors. *Chem. Mater.* 2006. №18. P. 867-871.

44. Pan K., Ming H., Yu H., Liu Y., Kang Z., Zhang H., Lee S. Different Copper Oxide Nanostructures: Synthesis, Characterization, and Application for C-N Cross-Coupling Catalysis. *Cryst. Res. Technol.* 2011. № 46. P. 1167-1174.

45. Shih Z.-Y., Periasamy A. P., Hsu P.-C., Chang H.-T. Synthesis and Catalysis of Copper Sulfide/Carbon Nanodots for Oxygen Reduction in Direct Methanol Fuel Cells. *Appl. Catal.* 2013. P. 132-133.

46. Yin, G., Nishikawa M., Nosaka Y., Srinivasan N., Atarashi D., Sakai E., Miyauchi M. Photocatalytic Carbon Dioxide Reduction by Copper Oxide Nanocluster-Grafted Niobate Nanosheets. *ACS Nano*. 2015. № 9. P. 2111-2119.

47. Zhu Y., Kong X., Li X., Ding G., Zhu Y., Li Y.-W. Cu Nanoparticles Inlaid Mesoporous Al_2O_3 as A High-Performance Bifunctional Catalyst for Ethanol Synthesis via Dimethyl Oxalate Hydrogenation. *ACS Catal.* 2014. №4. P. 3612-3620.

48. Bhanushali S., Ghosh P., Ganesh A., Cheng W. 1D Copper Nanostructures: Progress, Challenges and Opportunities. *Small*. 2015. № 11. P. 1232-1252.

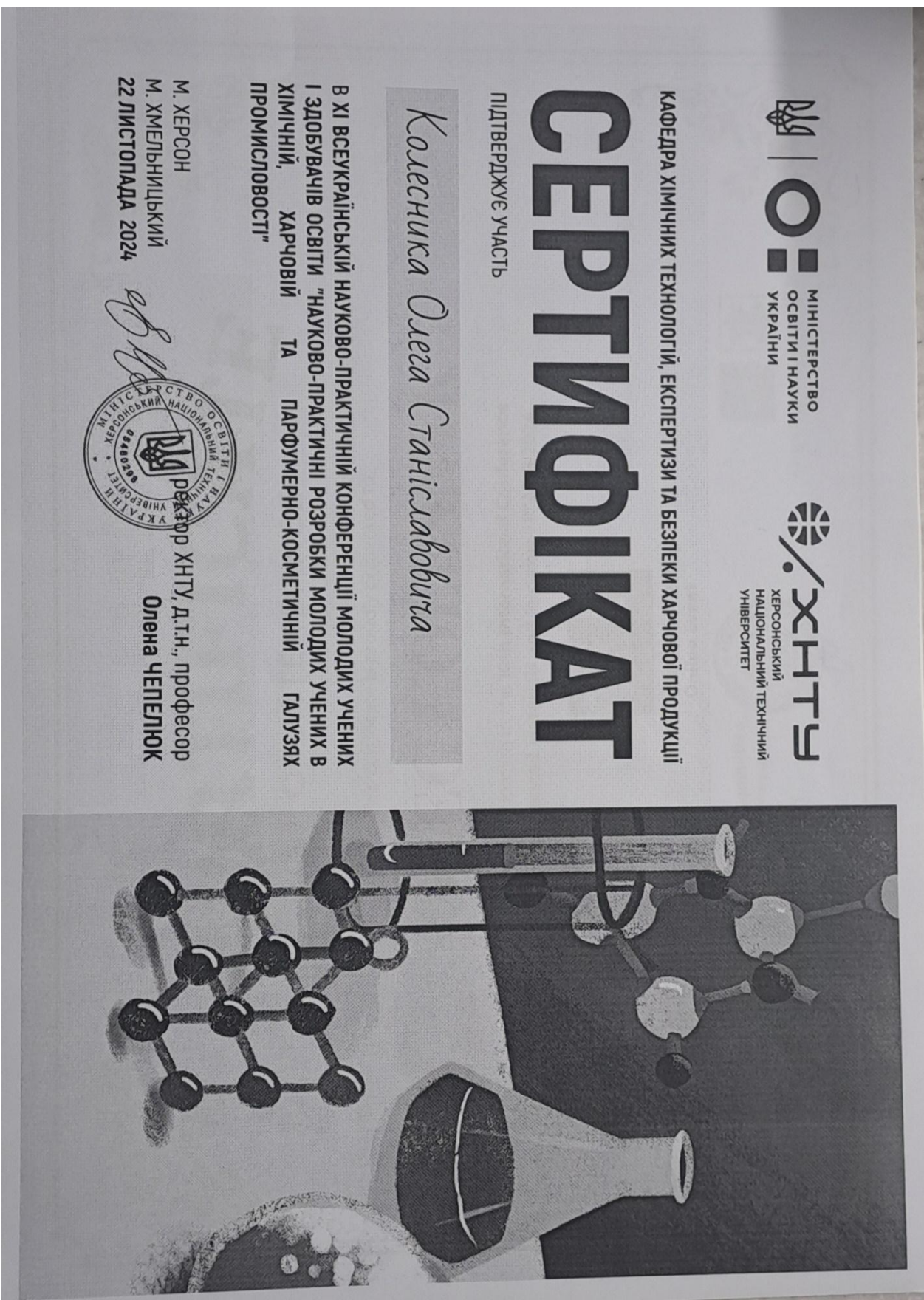
49. Lu W., Lieber C. M. Nanoelectronics from the Bottom Up. *Nat. Mater.* 2007. № 6. P. 841-850.

50. Mott D., Galkowski J., Wang L. Y., Luo J., Zhong C. J. Synthesis of Size-Controlled and Shaped Copper Nanoparticles. *Langmuir*. 2007. № 23. P. 5740-5745.

51. Pan K., Ming H., Yu H., Liu Y., Kang Z., Zhang H., Lee S.-T. Different Copper Oxide Nanostructures: Synthesis, Characterization, and Application for C-N Cross-Coupling Catalysis. *Cryst. Res. Technol.* 2011. № 46. P.1167-1174.
52. Mijatovic D., Eijkel J., C. T. Van Den Berg A. Technologies for Nanofluidic Systems: Top-Down vs Bottom-Up-A Review. *Lab Chip.* 2005. № 5. P. 492-500.
53. Mott D., Galkowski J., Wang L.Y., Luo J., Zhong C. J. Synthesis of Size-Controlled and Shaped Copper Nanoparticles. *Langmuir.* 2007. № 23. P. 5740-5745.
54. Song X., Sun S., Zhang W., Yin Z. A Method for the Synthesis of Spherical Copper Nanoparticles in the Organic Phase. *J. Colloid Interface Sci.* 2004. № 273. P. 463-469
55. Yu W., Xie H. Q., Chen L. F., Li Y., Zhang C. Synthesis and Characterization of Monodispersed Copper Colloids in Polar Solvents. *Nanoscale Res. Lett.* 2009. № 4. P. 465-470.
56. Ananth A., Dharaneedharan S., Heo M.-S., Mok Y. S. Copper Oxide Nanomaterials: Synthesis, Characterization and StructureSpecific Antibacterial Performance. *Chem. Eng. J.* 2015. № 262. P. 179-188.
57. Tang Z., Shahzad A., Kim W.-S., Yu T. Cost-Effective Aqueous-Phase Synthesis of Long Copper Nanowires. *RSC Adv.* 2015. № 5. P. 83880-83884.
58. Venkatakrishnan S., Veerappan G., Elamparuthi E., Veerappan A. Aerobic Synthesis of Biocompatible Copper Nanoparticles: Promising Antibacterial Agent and Catalyst for Nitroaromatic Reduction and C-N Cross Coupling Reaction. *RSC Adv.* 2014. № 4. P. 15003-15006.
59. Abboud Y., Saffaj T., Chagraoui A., El Bouari A., Brouzi, K. Tanane O., Ihssane, B. Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Copper Oxide Nanoparticles (CONPs) Produced using Brown Alga Extract (*Bifurcaria bifurcata*). *Appl. Nanosci.* 2014. № 4. P. 571-576.
60. Stein T. Bacillus subtilis antibiotics: structures and biosynthesis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2005. № 69 (2). P. 292-314.

61. De Vos P, Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K.-H., Whitman W. B. (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., Vol. 3: The Firmicutes. Springer, New York. 2009. P. 961.
62. Таксономічний довідник Національного центру біотехнологічної інформації Національної медичної бібліотеки США. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата звернення 15.09.2025).
63. Українська колекція мікроорганізмів. URL: <http://www.imv.kiev.ua/index.php/uk/katalog> (дата звернення 15.09.2025).
64. Garrity G. M., Brenner D. J., Krieg N. R., Staley J. T. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., Vol. 2: The Proteobacteria, Part B: *The Gammaproteobacteria*. Springer, New York. 2005. P. 364.
65. Blount ZD. The unexhausted potential of *Escherichia coli*. *eLife*. 2015. P.62 doi:10.7554/eLife.05826.
66. Tong S. Y. C., Davis J. S., Eichenberger E., Holland T. L., Fowler V. G. Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*. 2015. № 28 (3). P. 603-661. doi:10.1128/CMR.00134-14.
67. Otto M. *Staphylococcus epidermidis* - the 'accidental' pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2009. № 7 (8). P. 555-567. doi:10.1038/nrmicro2182.
68. Kung V.L., Ozer E.A., Hauser A.R. The accessory genome of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2010. № 74 (4). P. 621-41.
69. May T.B., Shinabarger D., Maharaj R., Kato J., DeVault J.D., Chu L., et al. Alginate synthesis by *Pseudomonas aeruginosa*: a key pathogenic factor in chronic pulmonary infections of cystic fibrosis patients. *Clin microbiol rev*. 1991. № 4(2). P. 191-206.
70. Мікробіологічні аспекти поширення інфекції. Режим доступу: <https://amnu.gov.ua/mikrobiologichni-aspekty-poshyrennya-infekcziyi/> (дата звернення 18.09.2025).

ДОДАТОК А



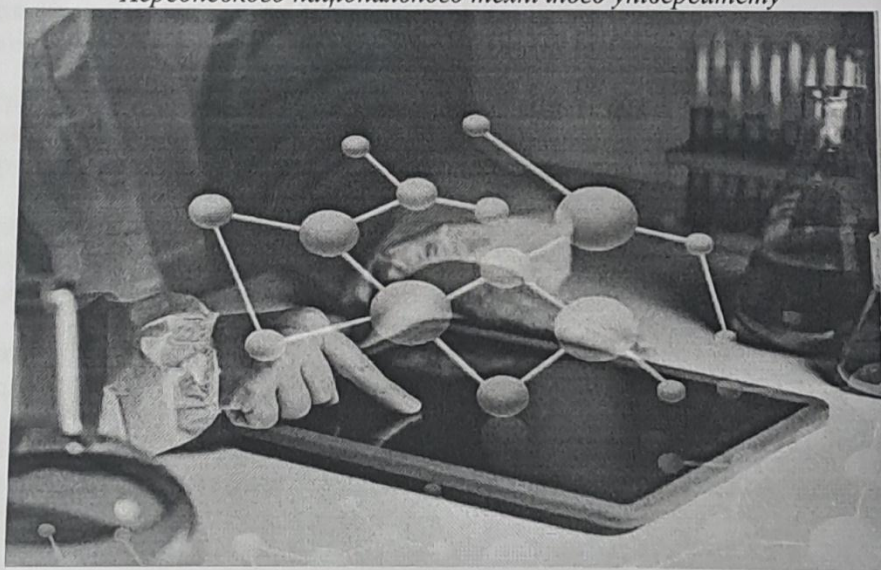
Продовження Додатку А



ХІ Всеукраїнська науково-практична заочна конференція молодих учених і здобувачів освіти

***«Науково-практичні розробки молодих учених
в хімічній, харчовій та парфумерно-косметичній
галузях промисловості»***

*Присвячена 65-річчю
Херсонського національного технічного університету*



*22 листопада 2024 року
м. Хмельницький*

ЗМІСТ	С.
СЕКЦІЯ 1.	
ХІМІЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ	10
Melnyk A.S., Chyhyrnets O.E. Development of the release kinetics of moxifloxacin hydrochloride from encapsulated halloysite nanotubes	11
Obukhovskiy V. M. Usage of cellulose fibre as technological additive in tobacco products	13
Благодир Д.О., Пирог Т.П. Синергічна дія комплексу поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB В-7241 та ефірної олії на двовидові дріжджові біоплівки	15
Благополучна А.Г. Інноваційні біотехнологічні підходи у створенні функціональних харчових продуктів на основі природних антиоксидантів	17
Бойчук А. О., Черненко В. О., Чигиринець О. Е. Визначення молекулярної маси преполімеру молочної кислоти методом капілярної віскозиметрії	19
Воробйова В.І., Дудка М.В. Кількісне визначення вмісту поліфенольних сполук та флаванолів в сорті хмелю «Клон 18- 11Т» в залежності від типу екстрагенту	23
Воробйова В.І., Савостіков Г.Р., Мотронюк Т.І. Використання екстракту таніну мімози як складник водно-дисперсійних лакофарбових покриттів	26
Ковтун А.О., Солодовнік Т.В. Дослідження електропровідності води кондуктометричним методом	30
Колесник О.С., Цуканов І.С., Щербатюк Т.Г. Використання озонових технологій у шкіряній промисловості: екологічний та ефективний підхід	31
Косогін О.В., Загнет О.С., Лінючева О.В., Кушмирук А.І., Букет О.І. Використання медіаторного каталізу для визначення сполук гідразину в повітряному середовищі	33

Продовження Додатку А

Досліджувались 5 зразків природної води, а саме: питна колодязна вода с. Матусів, Звенигородський р-н, Черкаська обл. (зразок №1); питна колодязна вода с. Слобода, Черкаський район (зразок №2); технічна, профільтрована від водоростей вода, відібрана з річки Дніпро в районі річкового порту, м. Черкаси (зразок №3); технічна, профільтрована від водоростей вода, відібрана з річки Дніпро в районі міського пляжу «Живчик», м. Черкаси (зразок №4); технічна вода хімічної лабораторії кафедри ХТВ (зразок №5). Результати експериментального дослідження електропровідності зразків води наведені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Результати електропровідності досліджуваних зразків води

№ зразка	1	2	3	4	5
Електропровідність (χ), мкСм/см	832	700	400	406	383

Література:

1. Солодовнік Т.В. Аналітична хімія: практикум: навч. посіб. [Електронний ресурс] / [Текст] / Т.В.Солодовнік; М-во освіти і науки України, Черкас. держ. технол. ун-т. – Вид. 2-ге, доп. – Черкаси: видавець Гордієнко Є.І, 2020. – 308 с.

УДК 675.023.15

КОЛЕСНИК О.С., ЦУКАНОВ І.С., ЩЕРБАТЮК Т.Г.
Київський національний університет технологій та дизайну

ВИКОРИСТАННЯ ОЗОНОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ШКІРЯНІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ: ЕКОЛОГІЧНИЙ ТА ЕФЕКТИВНИЙ ПІДХІД

Озонові технології останніми роками набувають все більшої популярності у різних галузях промисловості [1, 2], зокрема і у шкіряній. Багато наукових вісників, присвячених шкіряній промисловості та екології, публікують статті про застосування саме озонових технологій. Озон – це високоактивний алотроп кисню, який має сильні окислювальні властивості та входить у реакцію з більшістю органічних і неорганічних сполук, розкладаючи в більш прості речовини. У процесі окислення виділяються: вода, кисень, окису вуглецю, вищі оксиди. Всі ці речовини екологічно безпечні [3, 4]. Тому озонові технології знайшли своє використання і у шкіряній промисловості, наприклад:

- при зберіганні сировини, адже озонотворюючий агент ліквідує утворення плісняви та гнилі, що виникає при зберіганні мокросолених шкур. Крім того, він сприяє стерильному зберіганню сухосоленої пухово-хутряної сировини та готових виробів. Також озон забезпечує повну загибель літаючих видів молі;

- при обробці сировини озон ефективно видаляє забруднення та інші органічні речовини з поверхні шкіри, підготовлюючи її до подальшої обробки, що дозволяє отримати шкіру більш високої якості з меншою кількістю дефектів;
- при вибілюванні: озон окислює природні пігменти, надаючи шкірі більш світлий відтінок. Це особливо актуально для виробництва білої шкіри;
- при знезараженні: озон знищує бактерії, грибки та інші мікроорганізми, що можуть призвести до псування шкіри. Це дозволяє продовжити термін служби готових виробів;
- при модифікації поверхні шкіри: озон може змінювати поверхневі властивості шкіри, наприклад, підвищувати її гідрофобність або стійкість до стирання. Це відкриває можливості для створення шкіри зі спеціальними властивостями, наприклад, для використання в меблевій промисловості.

Також завдяки сильним окислювальним властивостям озон є ефективним засобом для очищення та знезараження стічних вод шкіряного виробництва. Озонування дезактивує мікробні і спорові забруднення у воді та забезпечує знебарвлення води, усуває присмаки і запахи, знезаражує від фенолів, сірководню, поверхнево-активних речовин тощо. Проте цей метод є достатньо коштовний [3].

Застосування озонових технологій у шкіряній промисловості має низку переваг, таких як висока ефективність – озон діє швидше і ефективніше за традиційні хімічні реагенти; екологічність – він розкладається на кисень, не залишаючи шкідливі відходи, що дозволяє знизити навантаження на довкілля і відповідати сучасним екологічним вимогам; універсальність – озон може бути використаний на різних етапах виробництва шкіри; економічність – озонові технології дозволяють знизити витрати на виробництво шкіри за рахунок зменшення споживання води, енергії та хімічних реагентів.

На жаль, на даний момент немає широко відомих виробників, які б публічно оголошували про масове використання озонових технологій у виробництві шкіри і це може бути пов'язано з кількома причинами – озонові технології в шкіряній промисловості є відносно новими і ще не настільки поширеними, як традиційні методи; багато виробників вважають за краще не розголошувати деталі своїх виробничих процесів, щоб зберегти конкурентну перевагу. Однак, це не означає, що такі виробництва відсутні і швидше за все, деякі виробники шкіри вже експериментують з озоновими технологіями або використовують їх на окремих етапах виробництва починаючи з невеликих обсягів.

Використання озонових технологій у шкіряній промисловості є перспективним напрямком розвитку. Воно дозволяє зробити виробництво шкіри більш екологічним, ефективним і безпечним. Завдяки своїм унікальним властивостям озон відкриває нові можливості для створення високоякісних і довговічних шкіряних виробів, а також розробки нових продуктів, таких як екологічно чиста шкіра для меблів, одягу та аксесуарів. Подальші наукові дослідження сприятимуть розширенню застосування озону та створенню нових, інноваційних продуктів.

Література:

1. Emmanuel I. Epelle, Andrew Macfarlane, Michael Cusack, Anthony Burns, et al. Ozone application in different industries: A review of recent developments. Chemical Engineering Journal, 2003. 454 p.
2. Щербатюк Т.Г., Андреева О.А. Застосування озонних технологій у рослинництві. Вісник Хмельницького національного університету. Технічні науки, 2023, Том 1, №5(325), С. 258-262.
3. Ремез Н.С., Дичко А.О., Гребенюк Т.В., Броницький В.О. Екологізація виробництва та зелені технології: навч. посіб. для студ. всіх спеціальностей всіх освітніх програм. Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021. – 209 с.
4. Джигирей В.С. Екологія та охорона навколишнього природного середовища: навчальний посібник. Київ: Знання, 2007. 422 с.

УДК 542.7+544.47

КОСОГІН О.В., ЗАГНЕТ О.С., ЛІНЮЧЕВА О.В., КУШМИРУК А.І., БУКЕТ О.І.
Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

ВИКОРИСТАННЯ МЕДІАТОРНОГО КАТАЛІЗУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СПОЛУК ГІДРАЗИНУ В ПОВІТРЯНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Гідразин у навколишнє середовище може потрапляти в результаті викидів на підприємствах які його виробляють або використовують. Викиди гідразину в атмосферу можуть відбуватися в процесі його зберігання, транспортування або під час виробничих процесів. Гідразин може бути побічним продуктом різних хімічних реакцій, що перебігають у промислових процесах, таких як синтез органічних сполук або окислювальні процеси. Гідразин також використовується у водоохолоджувальних системах електростанцій та промислових підприємств як речовина, яка видаляє розчинений кисень, що зменшує швидкість корозії з кисневою деполяризацією та забезпечує тривале використання котлів і трубопроводів.

Процес розкладання гідразину відбувається з виділенням значної кількості газоподібних продуктів (азот і водень), що робить його ідеальним для використання у ракетних системах, де потрібна висока теплотворність та ефективне розкладання для створення тяги (зокрема, широко поширений 1,1-диметилгідразин, або гептил).

1. Гідразин та його сполуки (гідразин хлорид, гідразин сульфат) становлять значну небезпеку для здоров'я людини, оскільки є дуже токсичними речовинами. Він впливає на дихальні шляхи, нервову систему, печінку та нирки. Гостре отруєння може статися при вдиханні парів гідразину або при контакті з рідиною. Контакт з гідрaziном може спричинити значні опіки шкіри та слизових оболонок людини. Хронічний вплив гідразину призводить до порушень у роботі внутрішніх органів, особливо печінки і нирок, а також





National Research & Development Institute
for Textiles and Leather (INC DTP)

Division: Leather & Footwear Research
Institute (ICPI) Bucharest, Romania

ICAMS 2024

Proceedings of

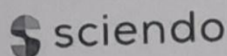
**THE 10th INTERNATIONAL CONFERENCE
ON ADVANCED MATERIALS
AND SYSTEMS**

30-31 October 2024
Bucharest, Romania



Продовження Додатку Б

Olena ISHCENKO, Daria KUCHYNSKA, Viktoriia PLAVAN, Jolita OSTRAUSKAITĖ <i>Wound Dressings Films Based on the Citric Acid Modified Starch</i>	101
Olga IUNGIN, Yevheniia PREKRASNA-KVIATKOVSKA, Oleksandr KALINICHENKO, Yaroslav SAVCHUK, Yuliia KRAINOVA, Marina SIDORENKO, Saulius MICKEVIČIUS <i>Antifungal Activity of Endophytic Bacteria Associated with Antarctic Vascular Plants</i>	107
Tetiana KOLESNYK, Olga ANDREYEVA, Oleg KOLESNYK, Nina MEREZHKO <i>Improvement of Parchment Technology</i>	111
Iryna KOPYTINA, Olga ANDREYEVA, Dmytro DAVYDIUK <i>Effect of Long-Term Storage on the Properties of an Enzyme-Containing Preparation from Fish Waste</i>	119
Mihaela-Cristina LITE, Laura CHIRILĂ, Doina TOMA, Roxana CONSTANTINESCU, Demetra SIMION, Mădălina IGNAT, Alina POPESCU, George-Ovidiu IORDACHE <i>Surfactant Influence on the Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles as Potential Antimicrobial Treatment for Textiles</i>	126
Ioana LUCA, Mădălina Georgiana ALBU KAYA, Cristina-Elena DINU-PÎRVU, Lăcrămioara POPA, Valentina ANUȚA, Răzvan Mihai PRISADA, Elena-Emilia TUDOROIU, Mara Mihaela RĂDUCAN, Elena-Denisa TRANDAFIR, Mihaela Violeta GHICA <i>Collagen/Albumin-Based Matrices Designed for Vaginal Administration of a Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug</i>	134
María Isabel MAESTRE-LÓPEZ, Marcelo BERTAZZO, Irene LIFANTE MARTÍNEZ, Alberto VICO-LÓPEZ, Alejandra MOYANO, Francisca ARÁN AÍS, Elena ORGILÉS-CALPENA <i>Microorganisms Degrading Polyurethane for Footwear Waste Valorisation</i>	142
Olena MOKROUSOVA, Olena OKHMAT, Tatiana SHCHERBATYUK <i>Impact of Educational Popularization of Genetics on the Development of Society</i>	150
Ilie-Dănuț NEAGOE, Dana Corina DESELNICU <i>Procedure for the Circulation of Documents to Support the Digitalization Process in Public Institutions</i>	155
Olena OKHMAT, Olena MOKROUSOVA, Pavlo PYSARENKO <i>Potential of Silver Nanoparticles in Imparting Antimicrobial Properties to Leather</i>	162
Nilay ORK EFENDIOGLU, Dogukan ERGUVEN, Sinem BEKTAS, Huseyin Ata KARAVANA, Behzat Oral BITLİSLİ <i>Production and Performance Enhancement of Transparent and Shadow Puppet Show Leathers</i>	170
Anil ÖZÇELİK, Eser Eke BAYRAMOĞLU, Ali Maruf ALASKAN <i>Review on Soundboard in Rebab-Making. Part I: Rebab, Leather, and Bovine Pericardium Structure</i>	178
Anil ÖZÇELİK, Eser Eke BAYRAMOĞLU, Ali Maruf ALASKAN <i>Review on Soundboard in Rebab-Making. Part II: Mechanical Behavior Relationship between Bovine Pericardium and Sound</i>	186



DOI: 10.2478/9788367405805-016



IMPROVEMENT OF PARCHMENT TECHNOLOGY

TETIANA KOLESNYK¹, OLGA ANDREYEVA¹, OLEG KOLESNYK¹,
NINA MEREZHKO²

¹Kyiv National University of Technologies and Design, Mala Shyianovska (Nemyrovycha-Danchenka) Street, 2, 01011, Kyiv, Ukraine, domanska91@gmail.com, wayfarer14@ukr.net, legaoleg2@gmail.com

²State University of Trade and Economics, Kyoto Street, 19, 02156, Kyiv, Ukraine, n.merezhko@knute.edu.ua

Parchment is a unique biogenic material, which essentially differs from other types of leather in its technology, structure and properties. Despite its ancient origin, and today, due to its strength and durability, it is used in producing musical instruments, interior items, decorations, and restoration of rare items. At the same time, the problems of restoring ancient or developing modern technology for maintaining parchment from animal skins for the past decades have not been cared for by anyone due to the limited number of restoration specialists and technologists. Known parchment technologies involve the use of significant amounts of calcium hydroxide in *beamhouse* processes, which leads to the formation of sludge, as well as sodium sulfide, which pollutes industrial wastewater with sulfur-containing compounds harmful to aquatic organisms. The purpose of the work is to improve the parchment technology by reducing the cost or eliminating the use of these environmentally hazardous materials. To achieve this purpose, traditional physical-chemical and modern instrumental methods of analysis are used. Based on the results of laboratory studies and production tests, the sheep parchment technology has been improved, which provides enzymatic soaking and use of the mineral zeolite during liming. Compared with the known technology, the developed technology completely eliminates sodium sulfide from the *beamhouse* processes, reduces the consumption of calcium hydroxide by a third, ensures more rational use of material and raw material resources, and improves the composition of wastewater.

Keywords: parchment, technology, properties

INTRODUCTION

Cultural heritage represents a national treasure evolving from the culture and spirituality of people. Therefore, it should be constantly restored, protected and developed by all generations as a priceless heritage. A very important category of museum cultural heritage are leather and parchment items, which are a source of valuable historical information: book bindings, manuscripts, charters etc. (Miu *et al.*, 2020). However, like any organic structure, this material is subject to destructive processes through physical and chemical (light, humidity, temperature, pollutants, etc.), biological and microbiological factors, leading to changes in the structure of the polypeptide chain (Plavan *et al.*, 2010). The resistance of parchment to negative influences, including aging, is largely determined by the manufacturing technology (Kolesnyk *et al.*, 2018). Considering that parchment is still in demand today for restoration work, production of unique documents, musical instruments, souvenirs, jewelry, etc., there is a need to restore, and even more likely, improve this technology.

An analysis of the technological features of leather parchment (hereinafter simply "parchment") production has revealed the importance of the hide processing method, the choice of raw materials and chemicals (di Curci, 2003; Dzendzelyuk, 2015; Adakina *et al.*, 2018; Fourneau *et al.*, 2020). Since traditional tanning and post-tanning processes are not required in the manufacture of parchment, special attention should be paid to the soaking and ash processes, which largely determine the properties of the finished leather: its strength, elasticity, density, thickness, and condition of the front surface.

© 2024 T. Kolesnyk *et al.* This is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)
<https://doi.org/10.2478/9788367405805-016>

T. Kolesnyk, O. Andreyeva, O. Kolesnyk, N. Merezko

Known parchment manufacturing technologies involve the use of a significant amount of calcium hydroxide in the preparatory processes, which leads to the formation of lime sludge and sodium sulphide, which, although it helps speed up the process and prepare the hide for further processing, significantly pollutes industrial effluents with sulphur-containing compounds harmful to aquatic life. Therefore, there is an urgent need to reduce the consumption of harmful materials and find more environmentally friendly ones.

The studies of many scientists are devoted to the improvement of beamhouse processes (Zhang *et al.*, 2021; Danylkovych and Lishchuk, 2022; Morera *et al.*, 2022; George *et al.*, 2014; Nazer *et al.*, 2006). A generalized analysis of the literature shows that the most promising areas for improving biotechnological processes in the production of natural leather are associated with enzymatic treatments, which improve the quality of products and production culture, and reduce the environmental impact; due to this, they are traditionally classified as “clean technologies” (Saran *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2022; Nyakundi *et al.*, 2022; Jayakumar *et al.*, 2022). Among the latest developments, the works of Kozar *et al.* (2014), Sepehri *et al.* (2020), Mokrousova *et al.* (2015), Sakalova and Khodanitska (2023) are of interest, devoted to the study of natural minerals in the form of montmorillonite, kaolin, zeolite, which, due to their structural features and high sorption capacity, are successfully used as sorbents, fillers, and various auxiliary materials in the leather, food and other industries.

In previous studies, to expand the range of chemical materials and finished products and increase the level of environmental friendliness of parchment production, the authors have established:

- peculiarities of interaction in the collagen-enzyme preparation system during soaking, which consist in the interaction of the preparation with protein functional groups, which contributes to increased enzyme activity and watering of the hide during soaking (Kolesnyk and Andreyeva, 2020a; Kolesnyk, 2021);
- features of sorption-desorption processes in the calcium hydroxide-zeolite system, which regulate the concentration of calcium hydroxide in the solution, its gradual effect on the skin, resulting in a more uniform distribution and better fixation of reagents in the dermis structure, increased strength and yield of the skin by area (Kolesnyk *et al.*, 2022);
- rational parameters of the preparatory processes: consumption of the proteolytic enzyme preparation Pellvit C during soaking is 0.2-0.8 g/l, and calcium hydroxide and zeolite during ashing is 5.0 and 3.5 g/l, respectively (Kolesnyk and Andreyeva, 2020b).

Taking into account the above, this study aims to improve the sulphide-free technology of parchment production using a modern enzyme preparation and domestic natural mineral zeolite in the preparatory processes in compliance with the principles of environmental protection and resource efficiency while ensuring the quality of this unique type of leather.

MATERIALS AND METHODS

The work used both new and common leather and chemical materials in the tanning industry:

- *model collagen preparation* – high molecular weight fibrous protein preparation “GELIOS 11” (TU U 15.8-13848909-001-2008, TOMIG LLC), obtained from purified untanned shingles from cattle hides; contains about 93 % of purified collagen in dry matter;
- *sheep raw materials* using the wet-salted canning method;
- *finished leather* (parchment);
- *Pellvit C* – proteolytic enzyme preparation (manufacturer TFL Ledertechnik GmbH, Germany). The pH value of a 10% solution is 5,3, the activity by the casein number method is 59.9 units/g. When assessing the ability of the drug to break down certain target substrates

ICAMS 2024 – 10th International Conference on Advanced Materials and Systems

(gelatin, collagen, fibrinogen) using enzyme electrophoresis in polyacrylamide gel, the presence of fragments with a molecular weight MW of 97 units was established. IR spectroscopic studies indicate that the mentioned enzyme preparation has a polyfunctional nature (the presence of hydroxyl, amine, imine, peptide and some other functional groups in the structure), due to which it is able to interact with collagen, the main component of the dermis (Fig. 1, Table 1) (Kolesnyk *et al.*, 2020);

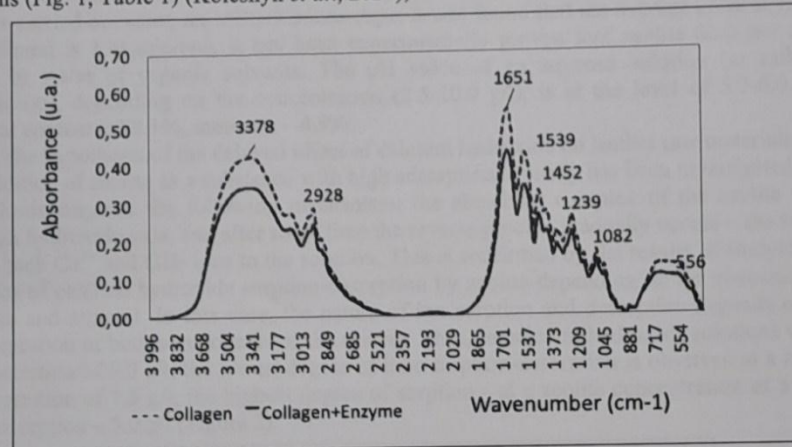


Figure 1. IR spectrograms of collagen preparation before and after treatment with an enzyme preparation

Table 1. Change in relative optical density in IR spectrograms of collagen preparation after treatment with enzyme preparation

Wavenumber (cm^{-1})	Interpretation of absorption bands	Experimental data*	
		collagen	collagen + enzyme
3378	Amide A (ν NH); imines (ν C=N), overlapping inter- and intramolecular hydrogen bonds of the side chains; ν OH	<u>3378</u>	<u>3335</u>
		1,74	2,06
2928	Alkanes (CH ₂); alkenes (ν CH)	<u>2928</u>	<u>2928</u>
		1,00	1,00
1651	Amide I, acids and their derivatives (C=O); alkenes (ν C=C)	<u>1651</u>	<u>1651</u>
		3,45	3,50
1539	Amide II; carboxylic acids (COO ⁻)	<u>1539</u>	<u>1542</u>
		2,28	2,28
1452	Alcohols (δ OH); substituted alkenes (δ CH); alkanes (ν CH ₃)	<u>1452</u>	<u>1452</u>
		1,57	1,25
1336	Alkanes (δ CH ₃)	<u>1336</u>	<u>1336</u>
		1,00	1,77
1239	Amide III; amini second, third (ν CH); ethers (ν SOS); alcohols (δ C=O, ν C=O)	<u>1239</u>	<u>1238</u>
		1,23	1,17
1082	Primary, secondary, tertiary alcohols (ν CO)	<u>1082</u>	<u>1082</u>
		0,76	0,52
556	Amide VI	<u>556</u>	<u>561</u>
		0,57	0,60

*Note: numerator – frequency λ , cm^{-1} ; denominator – relative optical density.

T. Kolesnyk, O. Andreyeva, O. Kolesnyk, N. Merezko

- *zeolite* is a natural mineral of the Sokiritskoye deposit (Ukraine), which belongs to the group of minerals of volcanic sedimentary origin with similar composition, framework aluminosilicates of alkali and alkaline earth metals. According to energy dispersive X-ray fluorescence analysis, the mineral under study contains 65.88% SiO_2 , no less than 8.5% Al_2O_3 , is characterized by an average content of Fe_2O_3 (5.66%), a significant content of alkaline earth (CaO, MgO) and alkaline compounds, 68 and 5.27%. Based on microscopic studies carried out using an MBS-9 microscope, it was found that the average particle size of the mineral is 150 microns. It has been experimentally proven that zeolite does not swell either in water or organic solvents. The pH value of an aqueous solution (or rather a suspension), depending on the concentration (2.5-10.0 g/l), is at the level of 5.7-6.0. The mineral content is 88.1%, moisture – 4.9%.

The hypothesis of the delayed effect of calcium hydroxide on leather raw materials with the addition of zeolite as a substance with high adsorption capacity has been investigated. The hypothesis suggests the following mechanism: the absorbing complex of the zeolite sorbs calcium hydroxide ions, and after some time the reverse process gradually occurs – the zeolite gives back Ca^{2+} and OH^- ions to the solution. This is confirmed by the results of studying the kinetics of calcium hydroxide sorption-desorption by zeolite depending on the concentration of lime and mineral. In this case, the nature of ion sorption and desorption depends on the concentration of both components of the system. Thus, in calcium hydroxide solutions with a concentration of 5.0 g/l, the lowest degree of lime sorption-desorption is observed at a zeolite concentration of 1.5 g/l; the highest degree of sorption – at a zeolite concentration of 3.5 g/l, and desorption – 5.0 g/l (Figure 2).

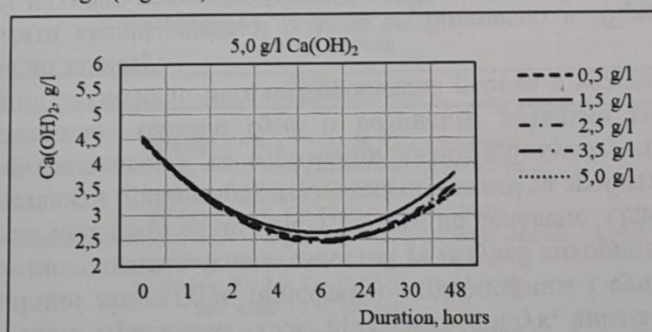


Figure 2. Kinetics of calcium hydroxide sorption-desorption depending on the consumption (concentration) of zeolite

- *other chemical materials common in leather production.*

To achieve these goals, the work uses traditional physicochemical and modern instrumental methods of analysis, including spectroscopic, energy-dispersive X-ray fluorescence (XRF), microscopic, disk electrophoresis in the «enzyme-electrophoresis» modification.

To conduct physical and mechanical tests and chemical analysis, samples of raw materials and finished leather were taken according to the requirements of regulatory documentation: preparation and sampling – ISO 2418:2017; determination of thickness – ISO 2589:2019; determination of tensile strength and relative elongation – ISO 3376:2008; determination of welding temperature (settling) – ISO 3380:2008; determination of the mass fraction of moisture – ISO 4684:2005; determination of the mass part of minerals (ash) – ISO 4047:2006; determination of nitrogen content (mass part of pelt substance – ISO 5397:2006;

determination of the mass part of calcium hydroxide – DSTU 13538-68; determination of the mass part of aluminum oxide – ISO 11885:2007.

RESULTS

Taking into account the results of our research (Kolesnyk *et al.*, 2020; Kolesnyk and Andreyeva, 2020a; Kolesnyk and Andreyeva, 2020b; Kolesnyk, 2021; Kolesnyk *et al.*, 2022), the technology for making parchment from sheep raw materials has been improved (Fig. 3).

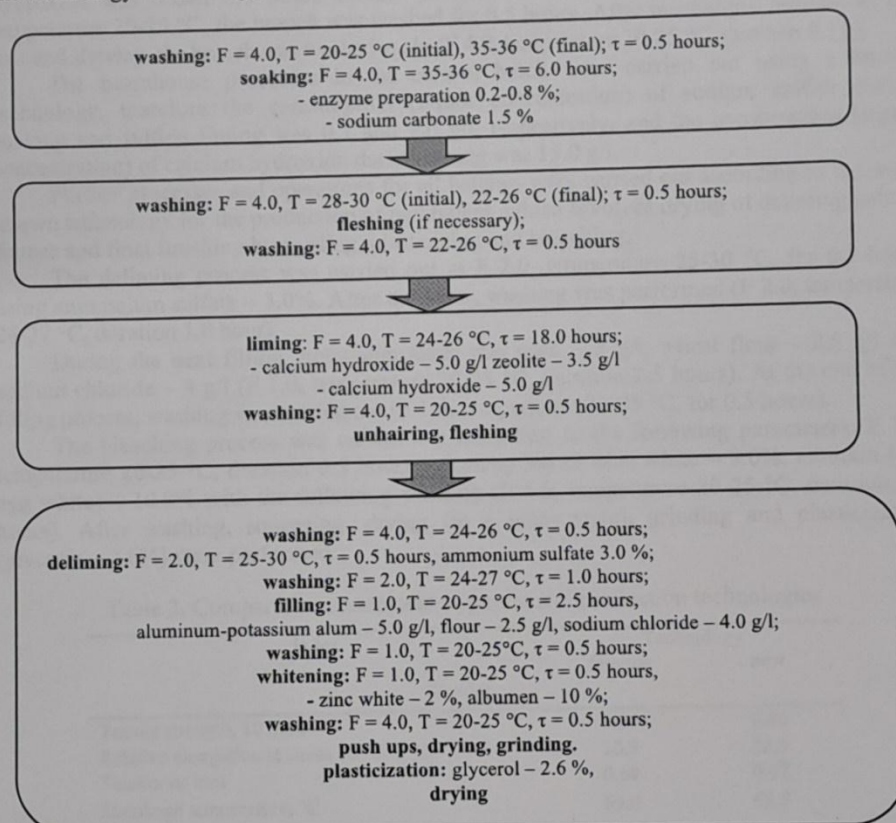


Figure 3. Scheme of improved technology for the production of sheepskin parchment

In the conditions of the Kyiv leather enterprise Chinbar PrJSC, an improved technology for the production of parchment for various purposes (for the manufacture of musical instruments and souvenirs, restoration work) was tested using the wet-salted preservation method of sheepskin as a raw material.

Enzymatic soaking was carried out after washing the raw materials at a float (F) of 4.0 with a gradual increase in temperature to 36 °C for 0.5 hours. First, the enzyme preparation Pellvit C was dosed, and 10 minutes after its dissolution, sodium carbonate; material consumption was determined taking into account the activity of enzyme preparation and the

T. Kolesnyk, O. Andreyeva, O. Kolesnyk, N. Merezko

mass of raw materials. After soaking for 6.0 hours, washing was carried out at F 4.0, temperature 28-30 °C (initial), 22-26 °C (final) for 0.5 hours and fleshing in the raw materials.

The liming-unhairing process was carried out according to the following parameters: F 4.0, temperature 24-26 °C, duration 18.0 hours; consumption of calcium hydroxide 5.0 g/l, natural mineral zeolite – 3.5 g/l; in this case, these materials were previously combined in an aqueous solution for 24.0 hours. In order to increase the degree of the diamond branch and give the parchment the necessary elastic-plastic properties, another 5.0 g/l of calcium hydroxide was dosed 6.0 hours before the end of the liming process. Next, at F 4.0, temperature 20-25 °C, the branch was washed for 0.5 hours. After mechanical removal of the hair and slowing, the branch was washed again (F 4.0, temperature 20-25 °C, duration 0.5 h).

The beamhouse processes in the control batch were carried out using a known technology, therefore the consumption (liquor concentration) of sodium sulfide during soaking and sulfide liming was 0.7 and 9.0 g/l, respectively, and the consumption (liquor concentration) of calcium hydroxide during liming was 15.0 g/l.

Further processes and operations for all batches were carried out according to the well-known technology for the production of parchment, which involves drying of deliming pelt on frames and final finishing by sanding, plasticizing and bleaching.

The deliming process was carried out at F 2.0, temperature 25-30 °C, for 0.5 hours using ammonium sulfate – 3.0%. After the latter, washing was performed (F 2.0, temperature 24-27 °C, duration 1.0 hour).

During the next filling, potassium alum was used – 5 g/l, wheat flour – 2.5 g/l and sodium chloride – 4 g/l (F 1.0, temperature 20-25 °C, duration 2.5 hours). At the end of the filling process, washing was carried out (F 1.0, temperature 20-25 °C, for 0.5 hours).

The bleaching process was carried out according to the following parameters: F 1.0, temperature 20-25 °C, duration 0.5 hours; consumption of zinc white – 2.0%, albumin (dry egg white) – 10.0% with the following washing (F 4.0, temperature 20-25 °C, duration 0.5 hours). After washing, squeezing, drying (in a tense state), grinding and plasticization (glycerin – 2.6%) were performed.

Table 2. Comparative assessment of parchment production technologies

Index	Technology	
	famous	new
<i>Leather:</i>		
Tensile strength, 10 MPa	5.80	6.46
Relative elongation at stress 10 MPa, %	20.7	22.5
Thickness, mm	0.69	0.67
Shrinkage temperature, °C	69.0	69.5
Mass part, %:		
- moisture	13.9	14.1
- pelt substance *	84.6	85.4
- minerals *	8.10	7.49
Output by area, %	92.5	93.0
<i>Spent solution after preparatory processes:</i>		
Sodium sulfide content, g/l	2.90	–
Calcium hydroxide content, g/l	4.18	2.66

Note: * in terms of absolutely dry substance

No complications were identified during the processing of the experimental batch. According to organoleptic assessment, indicators of chemical analysis and physical and mechanical tests, pelt and the finished parchment were not inferior to the control ones: thus, pelt had a clean surface grain without hair residues, signs of pipeness, drawn grain and other

defects; the finished leathers were stronger, had a more uniform clean surface grain and a higher yield in area. For the environmental assessment of the developed technology, an analysis of the spent liming solutions was carried out, which revealed (Table 2) an improvement in their composition in the case of the improved technology.

Thus, the test results confirmed the effectiveness of the improved parchment manufacturing technology, which consists of eliminating sodium sulfide from the technological cycle, reducing consumption and more rational use of raw materials (calcium hydroxide consumption decreases by 30%, and area yield increases by 0.5%), improving the physical and mechanical properties of the skin (increasing tensile strength by 10.2%) and the composition of wastewater (lack of sulfides, reducing the calcium hydroxide content in the waste ash solution by 1.6 times).

The technological efficiency of the new development can be explained, firstly, by the peculiarities of interaction in the collagen-enzyme preparation system during soaking, which consist of the interaction of the enzyme with nitrogen-containing substances, hydroxyl and carboxyl groups of the protein, which contributes to an increase in its activity and hydration of the skin; secondly, by sorption-desorption processes in the calcium hydroxide-zeolite system, due to which the concentration of calcium hydroxide in the solution is regulated, its gradual effect on the skin is carried out, as a result of which a more uniform distribution and better fixation of reagents in the structure of the dermis are ensured, strength indicators, and leather yield by area are increased.

The ecological imperative of the developed technology is based on a decrease in the amount or even complete elimination of environmentally hazardous materials from circulation. The expected economic effect from the introduction of the new technology will be UAH 1.97 per 1 m² due to a more rational use of scarce and expensive today raw leather and chemical materials.

CONCLUSION

The technology for the production of sheep parchment for various purposes (for the manufacture of musical instruments and souvenirs, for restoration work) has been improved. The developed technology was tested in the conditions of an existing tannery. The results of the work have a certain environmental and socio-economic effect since they provide:

- reducing the negative impact on the environment due to the exclusion of sodium sulfide from the technological cycle and reducing the consumption of calcium hydroxide;
- more rational use of raw materials and material resources.

REFERENCES

- Adakina, N.I., Kolesnyk, T.O. & Andreyeva, O.A. (2018). Technological Features of Different Methods of Manufacturing Leather Parchment. *Herald of Khmelnytskyi National University. Technical Sciences*, 1(257), 187-192. http://journals.khnu.km.ua/vestnik/pdf/tech/pdfbase/2018/2018_1/ [in Ukrainian]
- Danylkovych, A. & Lishchuk, V. (2022). Ecological Features of Soaking and Ash Processes in the Production of Leather. *Herald of Khmelnytskyi National University. Technical Sciences*, 4(311), 82-86. <https://doi.org/10.31891/2307-5732-2022-311-4-82-86> [in Ukrainian]
- di Curci, M. (2003). The History and Technology of Parchment Making. Lochac College of Scribes. Retrieved from: <https://scribes.lochac.sca.org/articles/parchment.htm>
- Dzdzdzelyuk, L.S. (2015). Parchment: Production, Properties, Restoration. Vasyl Stefanyk National Scientific Library of Ukraine, Lviv. <https://odnb.odessa.ua/vnn/book/283> [in Ukrainian]
- Fourneau, M., Canon, C., Van Vlaender, D., Collins, M.J., Fiddymont, S., Poumay, Y. & Deparis, O. (2020). Histological Study of Sheep Skin Transformation During the Recreation of Historical Parchment Manufacture. *Heritage Science*, 8(78), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s40494-020-00421-z>

T. Kolesnyk, O. Andreyeva, O. Kolesnyk, N. Merezhko

- George, N., Sondhi, S., Soni, S.K. & Gupta, N. (2014). Lime and Sulphide-Free Dehairing of Animal Skin Using Collagenase-Free Alkaline Protease from *Vibrio metschnikovii* NG155. *Indian Journal of Microbiology*, 54(2), 139-142. <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0434-8>
- Jayakumar, G.C., Karthik, V., Jeyas Kandhan S. & Kanagaraj, J. (2022). Effect of Enzymatic Treatment in Leather Manufacture at Different Processing Stage. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 117(12), 534-541. <https://doi.org/10.34314/jalca.v117i12.6389>
- Kolesnyk, T.O. (2021). Development of Technology for the Production of Leather Parchment. Dissertation of Doctor of Philosophy, Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv [in Ukrainian].
- Kolesnyk, T.O. & Andreyeva, O.A. (2020a). Research of the Process Soaking of Leather Raw Material in the Presence of Enzyme Preparations. *Herald of Khmelnytskyi National University. Technical Sciences*, 2(283), 251-254. <https://doi.org/10.31891/2307-5732-2020-283-2-251-254> [in Ukrainian]
- Kolesnyk, T.O. & Andreyeva, O.A. (2020b). Optimization of Parameters Preparatory Process in the Production of Parchment. *Herald of Khmelnytskyi National University. Technical Sciences*, 6(291), 175-179. <https://doi.org/10.31891/2307-5732-2020-291-6-175-179> [in Ukrainian]
- Kolesnyk, T.O., Andreyeva, O.A. & Davidyuk, D.A. (2022). Research of the Liming-Unhairing of Leather Parchment with the Presence of Natural Mineral Zeolite. *Herald of Khmelnytskyi National University. Technical Sciences*, 4(311), 105-108. <https://doi.org/10.31891/2307-5732-2022-311-4-105-108> [in Ukrainian]
- Kolesnyk, T.O., Andreyeva, O.A. & Fordzhun, Yu.I. (2020). Research on the Properties of the Domestic Natural Mineral. *Promising Materials and Innovative Technologies: Biotechnology, Applied Chemistry and Ecology. Collection of Theses*. Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv [in Ukrainian]
- Kolesnyk, T.O., Andreyeva, O.A., Nikonova, A.V. & Savchuk, O.M. (2018). Investigation of the Perspiration Resistance and Accelerated Ageing of Parchment. *Materials Science and Engineering: IOP Conference Series*, 500, 1-6. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/500/1/012019>
- Kozar, O.P., Mokrousova, O.R., Lishchuk, V.I. & Konoval, V.P. (2014). Cutting Properties of Leather Material, Filled with Naturally Occurring Minerals. *Technology Audit and Production Reserves*, 1/2(15), 13-17. <https://doi.org/10.15587/2312-8372.2014.21248> [in Ukrainian]
- Miu, L., Giurgincă, M., Caniola, I.M., Micu, M.C., Păunescu, S.M., Șendrea, C. & Badea, E. (2020). Chromatic Assessment of Newly Manufactured Leather and Parchment for Museum Purposes. *Proceedings of the 8th International Conference on Advanced Materials and Systems – ICAMS 2020*, 1-3 October 2020, Bucharest, Romania, 519-524. <https://doi.org/10.24264/icams-2020.V.6>
- Mokrousova, O., Palamar, V. & Danylkovych, A. (2015). Resources-saving Chromium Tanning of Leather with the Use of Modified Montmorillonite. *Revista de Chimie*, 66(3), 353-356
- Morera, J.M., Bartolí, E., Cebollada, P. & Cabeza, L.F. (2022). Bibliometric Study of the Unhairing and Liming of the Leather Tanning Process. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 117(11), 465-479. <https://doi.org/10.34314/jalca.v117i11.6293>
- Nazer, D.W., Al-Sa'ed, R.M. & Siebel, M.A. (2006). Reducing the Environmental Impact of the Unhairing-Liming Process in the Leather Tanning Industry. *Journal of Cleaner Production*, 14(1), 65-74. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2005.04.002>
- Nyakundi, J.O., Ombui, J.N., Wanyonyi, W.C. & Mulaa, F.J. (2022). Recovery of Industrially Useful Hair and Fat from Enzymatic Unhairing of Goatskins during Leather Processing. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 117(6), 241-250. <https://doi.org/10.34314/jalca.v117i6.4965>
- Plavan, V., Giurgincă, M., Budrugaec, P., Vilsan, M. & Miu, L. (2010). Evaluation of the Physico-Chemical Characteristics of Leather Samples of Some Historical Objects from Kiev. *Revista de Chimie*, 61(7), 627-631
- Sakalova, H. & Khodanitska, O. (2023). Usage of Spent Clay Sorption Materials in Leather and Fur Production Technologies. *Personality and Environmental Issues*, 3(1), 33-38. [https://doi.org/10.31652/2786-6033-2023-1\(3\)-33-38](https://doi.org/10.31652/2786-6033-2023-1(3)-33-38) [in Ukrainian]
- Saran, S., Mahajan, R.V., Kaushik, R., Isar, J. & Saxena, R.K. (2013). Enzyme Mediated Beam House Operations of Leather Industry: A Needed Step Towards Greener Technology. *Journal of Cleaner Production*, 54, 315-322. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.04.017>
- Sepehri, S., Tehran, M.A. & Zeighami, F. (2020). Improvement of Leather Flame Retardancy through Nano Clay Addition. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 115(11), 418-427. <https://doi.org/10.34314/jalca.v115i11.4181>
- Zhang, Q., Liu, J., Liu, X., Liu, H., Hu, Y. & Tang, K. (2021). Collagen Fiber Opening of Cattle Hides in Urea/Calcium Hydroxide Solutions. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 116(5), 147-154. <https://doi.org/10.34314/jalca.v116i5.4290>
- Zhang, S., Zhang, R., Li, X., Xu, Z. & Tian, Y. (2022). Heterologous Expression of Alkaline Metalloproteinases in *Bacillus subtilis* SCK6 for Eco-Friendly Enzymatic Unhairing of Goatskins. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 117(3), 113-126. <https://doi.org/10.34314/jalca.v117i3.4892>