

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»  
Декан факультету  
Наталія ГРЕГІРЧАК  
(підпис) (ім'я та прізвище)

« 02 » грудня 2024 р.

«До захисту допущено»  
Завідувач кафедри  
Віктор СТАБНИКОВ  
(підпис) (ім'я та прізвище)

« 02 » грудня 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА  
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»  
(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми «Промислова та фармацевтична біотехнологія»

на тему: «Оптимізація умов біосинтезу наночастинок срібла при використанні мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*»

Виконав: здобувач II курсу, групи 1  
КОВАЛЬ Ростислав Віталійович  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти \_\_\_\_\_  
(ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент Софія ЦАПКО  
(ім'я та прізвище) (підпис)

Я, як здобувач(-ка) Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) незарядженої допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач \_\_\_\_\_  
(підпис)

Київ – 2024 р.

# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична

біотехнологія»

(назва)

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і

мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 08 ” жовтня 2024 року

## ЗАВДАННЯ

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КОВАЛЯ Ростислава Віталійовича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи « Оптимізація умов біосинтезу наночастинок срібла при використанні мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*»

керівник роботи СКРОЦЬКА Оксана Ігорівна, к.б.н., доц.,

( прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затвержені наказом закладу вищої освіти від 07 жовтня 2024р. № 875-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 01.12.2024

3. Вихідні дані до роботи: штам мутантних *Saccharomyces cerevisiae* для біосинтезу наночастинок срібла»

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

Реферат, Вступ, РОЗДІЛ 1. Мутантні й рекомбінантні мікроорганізми для біосинтезу наночастинок. РОЗДІЛ 2. Оптимізація біосинтезу наночастинок благородних металів. РОЗДІЛ 3. Оптимізація біосинтезу наночастинок металів та їх сполук. РОЗДІЛ 4. Матеріали та методи дослідження. РОЗДІЛ 5. Вплив складу поживного середовища вирощування мутантних дріжджів та параметрів біосинтезу на утворення наночастинок срібла. РОЗДІЛ 6. Обговорення отриманих результатів.

5. Перелік графічного матеріалу \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## 6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 08 жовтня 2024 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	РОЗДІЛ 1. Мутантні й рекомбінантні мікроорганізми для біосинтезу наночастинок	01.10.24р.- 13.10.24р	
2	РОЗДІЛ 2. Оптимізація біосинтезу наночастинок благородних металів	14.10.24р.- 19.10.24р.	
3	РОЗДІЛ 3. Оптимізація біосинтезу наночастинок металів та їх сполук	20.10.24р.- 25.10.24р.	
4	РОЗДІЛ 4. Матеріали та методи дослідження	26.10.24р.- 27.10.24р.	
5	РОЗДІЛ 5. Вплив складу поживного середовища вирощування мутантних дріжджів та параметрів біосинтезу на утворення наночастинок срібла	29.10.24р.- 12.11.24р.	
6	РОЗДІЛ 6. Обговорення отриманих результатів	13.11.24р.- 19.11.24р.	
7	Оформлення вступу та реферату	20.11.24 р.- 22.11.24р.	

**Здобувач** \_\_\_\_\_  
(підпис)

**Керівник роботи** \_\_\_\_\_  
(підпис)

**Ростислав КОВАЛЬ**  
(ім'я та прізвище)

**Оксана СКРОЦЬКА**  
(ім'я та прізвище)

## ABSTRACT

This diploma is devoted to the optimization of silver nanoparticles biosynthesis using mutant *Saccharomyces cerevisiae* yeast, namely optimal composition of the culture medium for yeast cultivation, as well as the biosynthesis temperature and silver nitrate concentration.

During the study, it was discovered that the number of synthesized nanoparticles increased along with an increase in temperature and reached its maximum at 45°C. It was also established that higher temperatures, namely 50°C, negatively affected the process and led to a decrease in the maximum light absorption over time. While studying the effects of culture medium composition, it was found that biologically mediated synthesis of silver nanoparticles shows best results when using a cell-free extract of mutant yeast obtained after cultivation of *S. cerevisiae* on YPD 1 medium containing glucose (20 g/l), yeast extract (10 g/l) and peptone (10 g/l). At the same time, the use of medium with higher peptone content (20 g/l) resulted in the less intensive synthesis. The optimal concentration of silver nitrate for the biosynthesis of the corresponding nanoparticles was found to be 1.5 mM. The comparison of the obtained data with the results of other researches that are described in scientific works reveal the effectiveness of the designed biosynthesis method.

The results of the research indicate the possibility to use the optimized parameters for more effective ecologically pure biosynthesis of silver nanoparticles using an aqueous cell-free extract of mutant *S. cerevisiae* yeast. This data can be used to maximize the yield of synthesized nanomaterial that can be used in pharmacy as an antibacterial, antifungal and antitumor substance.

## РЕФЕРАТ

Дана кваліфікаційна робота присвячена дослідженню впливу на біосинтез наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* складу поживного середовища для культивування, а також температури процесу та концентрації нітрату срібла.

Встановлено, що біологічно опосередкований синтез наночастинок срібних наночастинок найкраще проходить при застосуванні безклітинного екстракту мутантних дріжджів, отриманого після культивування *S. cerevisiae* на середовищі YPD 1, що містить у своєму складі глюкозу (20 г/л), дріжджовий екстракт (10 г/л) та пептон (10 г/л), а оптимальною концентрацією нітрату срібла для біосинтезу відповідних наночастинок було визнано 1,5 мМ. При цьому також було визначено, що синтез срібних наночастинок покращується з підвищенням температури реакційної суміші, проте за 50 °С спостерігалось зменшення максимуму поглинання світла з часом, що може свідчити про низьку стабільність процесу. Зважаючи на це, найбільш оптимальною температурою для біосинтезу AgNPs з використанням безклітинного водного екстракту мутантних дріжджів є 45 °С.

Робота складається з 6 розділів та списку використаної літератури. Загальний обсяг роботи – 102 сторінки, 12 таблиць, 8 рисунків, 77 посилань на літературні джерела.

**Ключові слова:** наночастинок срібла, *Saccharomyces cerevisiae*, біосинтез, температура, нітрат срібла, поживне середовище

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	5
ВСТУП.....	9
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	11
РОЗДІЛ 1. МУТАНТНІ Й РЕКОМБІНАНТНІ МІКРООРГАНІЗМИ ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК.....	11
РОЗДІЛ 2. ОПТИМІЗАЦІЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ.....	21
2.1. Оптимізація біосинтезу наночастинок срібла.....	21
2.1.1. Оптимальні параметри культивування біологічного агента для біосинтезу наночастинок срібла.....	21
2.1.2. Оптимальні температурні параметри біосинтезу наночастинок срібла.....	24
2.1.3. Оптимальна концентрація вихідної речовини для біосинтезу наночастинок срібла.....	26
2.1.4. Оптимальна тривалість біосинтезу наночастинок срібла.....	29
2.1.5. Оптимальний рівень рН для біосинтезу наночастинок срібла	30
2.1.6. Вплив специфічних факторів на біосинтез наночастинок срібла.....	32
2.2. Оптимізація біосинтезу наночастинок золота.....	42
2.2.1. Оптимальні параметри культивування біологічного агента для біосинтезу наночастинок золота.....	42
2.2.2. Оптимальні температурні параметри біосинтезу наночастинок золота.....	42
2.2.3. Оптимальна концентрація вихідної речовини для біосинтезу наночастинок золота.....	44
2.2.4. Оптимальний рівень рН для біосинтезу наночастинок золота	45
2.3 Оптимізація біосинтезу наночастинок металів платинової групи....	50
2.3.1. Оптимізація біосинтезу наночастинок платини.....	50
2.3.2. Оптимізація біосинтезу наночастинок паладію.....	54

РОЗДІЛ 3. ОПТИМІЗАЦІЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ТА ЇХ СПОЛУК.....	57
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	67
РОЗДІЛ 4. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	67
4.1. Поживні середовища та реактиви.....	67
4.2. Отримання мутантного штаму дріжджів.....	67
4.3. Культивування мутантних <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	68
4.4. Біосинтез наночастинок срібла.....	68
4.4.1. Отримання безклітинного водного екстракту.....	68
4.4.2. Визначення оптимальної концентрації AgNO <sub>3</sub> .....	68
4.4.3. Визначення оптимальної температури.....	69
4.5. УФ-видима спектрофотометрія зразків.....	69
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ВИРОЩУВАННЯ МУТАНТНИХ ДРІЖДЖІВ ТА ПАРАМЕТРІВ БІОСИНТЕЗУ НА УТВОРЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА.....	70
5.1. Вплив складу поживного середовища на біосинтез наночастинок срібла.....	72
5.2. Вплив концентрації нітрату срібла на біосинтез наночастинок срібла.....	72
5.3. Вплив температури на біосинтез наночастинок срібла.....	73
РОЗДІЛ 6. ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	75
6.1. Температурні параметри процесу.....	75
6.1.1. Оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла при використанні бактерій.....	75
6.1.2. Оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла при використанні грибів.....	77
6.1.3. Оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла при використанні дріжджів.....	80
6.2. Концентрація нітрату срібла.....	82

6.2.1. Оптимальна концентрація нітрату срібла для біосинтезу при використанні прокариотів.....	82
6.2.2. Оптимальна концентрація нітрату срібла для біосинтезу при використанні еукаріотів.....	84
6.3. Поживне середовище.....	88
ВИСНОВКИ.....	92
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	93
ДОДАТКИ.....	103

## ВСТУП

Наночастинки срібла (AgNPs) володіють різноманітними фізичними, хімічними та біологічними властивостями, котрі є майже неповторними у своєму роді та зумовлюють широкий спектр застосування даного наноматеріалу. Так, срібні наночастинки можуть бути використані для адресної доставки ліків, наприклад протиракових засобів чи антибіотиків завдяки своїй високій біосумісності або як компоненти косметичних та стоматологічних засобів. Вони також мають виражені протиракові властивості (Zivic, 2018; Gurunathan, 2020).

Найбільшу зацікавленість у AgNPs зумовлюють їх протимікробні та противірусні властивості. Механізм протимікробної дії полягає у пригніченні реплікації ДНК, порушенні роботи електрон-транспортного ланцюга та синтезу АТФ та порушенні структури клітинної стінки шляхом взаємодії з пептидогліканом. Наночастинки срібла можуть також змінювати різницю електрохімічних потенціалів і таким чином нівелювати транспортну функцію цитоплазматичної мембрани (Харченко, Лазюка, Скроцька, & Пенчук, 2021).

Традиційні методи синтезу наносрібла, а саме фізичний та хімічний методи, призводять до забруднення навколишнього середовища та підвищення екологічного навантаження, а фізичний метод вважається енергозатратним. Цю проблему вирішує мікробний синтез AgNPs, який є екологічно чистим порівняно з іншими. Крім того, біосинтез дає змогу виробляти AgNPs визначеної форми та розмірів, від яких залежать їх властивості (Zivic, 2018; Beuene, 2017).

Біологічний синтез наночастинок срібла може бути реалізований з використанням різних біологічних агентів. Варто зазначити, що застосування рослин обмежується потребою у великих площах вирощування та тривалістю росту (Castillo-Henriquez та ін., 2020). Гриби також можуть бути використані для біосинтезу наночастинок, проте існує проблема у тривалому часі культивування (Bahrulolum та ін., 2021).

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>			
<b>Змн.</b>	<b>Арк.</b>	<b>№ докум.</b>	<b>Підпис</b>	<b>Дата</b>				
Розроб.		Коваль Р.В.			<b>ВСТУП</b>	Літ.	Арк.	Акрушіє
Консульт.							9	2
Керівник		Скроцька О.І.				9		
Н. Контр.						<b>Кафедра БТМ</b>		
Зав.каф.		Стабніков В.П.						

Одними з найбільш вигідних біологічних систем для отримання AgNPs є бактерії, але такі наночастинки матимуть низьку біосумісність, адже це прокаріотичні організми без систем поліаденілування й кепування, наявних у еукаріот, і через це наночастинки легше піддаватимуться розкладанню і утворенню токсичних сполук у організмі людини (Liu та ін., 2021). Використання дріжджів має ряд переваг перед іншими організмами зважаючи на швидкість культивування та простоту поживних середовищ (Niknejad, Nabili, Ghazvini, & Moazeni, 2015).

Як уже зазначалося раніше, біологічний синтез наночастинок срібла має велику кількість переваг, проте для кращої його реалізації необхідно підібрати оптимальні умови для процесу. Найчастіше для отримання AgNPs використовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, проте бракує даних щодо використання мутантних дріжджів. При цьому є дані про покращення процесу синтезу наночастинок срібла при використанні мутантних мікроорганізмів, отриманих шляхом ультрафіолетового випромінювання. Так, у роботі Arunkumar зі співавт., штам *Klebsiella pneumoniae* MTCC 3354 двічі піддавали ультрафіолетовому опроміненню. Отриманий мутантний продуцент мав кращу здатність до біоредукції срібла, про що свідчила інтенсивніша зміна забарвлення реакційної суміші після внесення до неї розчину  $\text{AgNO}_3$  та UV-Vis спектроскопічний аналіз зразків реакційної суміші. Даний ефект може бути пов'язаний з підвищенням активності НАДН-залежної нітратредуктази, котра приймає безпосередню участь у відновленні срібла та формуванні наночастинок (Arunkumar, Mahesh, Balakumar, Sivakumar, & Priyadharshni, 2013). Варто зазначити, що даний фермент вважається основною сполукою, відповідальною за біосинтез наночастинок срібла з використанням клітин дріжджів (Shabbir & Mohammad, 2018). Зважаючи на це, є підстави вважати, що використання мутантних дріжджів, отриманих шляхом ультрафіолетового опромінення, для біосинтезу наночастинок срібла може позитивно впливати на кількість синтезованих AgNPs.

Отже, мета даної роботи полягає у дослідженні можливості та оптимальних параметрів синтезу наночастинок срібла з використанням мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

## ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### РОЗДІЛ 1. МУТАНТНІ Й РЕКОМБІНАНТНІ МІКРООРГАНІЗМИ ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК

Мутантні та рекомбінантні мікроорганізми у біосинтезі наночастинок в основному використовуються для визначення механізму утворення наночастинок та сполук, відповідальних за процес. Для цього дослідники в основному здійснюють делецію гену, відповідального за синтез конкретної сполуки, чи навпаки, підвищують експресію цього гену. У наявній літературі є інформація про використання для синтезу наночастинок мутантних штамів таких мікроорганізмів, як *Shewanella oneidensis* (Ng, 2013; Dundas, 2018; Kimber, 2018; Yu, 2020; Xiao, 2016), *Alishewanella* sp. (Xia та ін., 2018), *Escherichia coli* (Lin, Lok, & Che, 2014), *Bacillus licheniformis* (Momin, Rahman, Jha, & Annapure, 2019), *Klebsiella pneumoniae* (Arunkumar, Mahesh, Balakumar, Sivakumar, & Priyadharshni, 2013) та *Pichia pastoris* (Elahian, Reisi, Shahidi, & Mirzaei, 2017).

У праці Kimber та співавт. було досліджено можливість отримання наночастинок міді за допомогою мутантного штаму *Shewanella oneidensis* MR1, що не містить цитохромів C. Метою експерименту було визначення ролі цитохромів у біоредукції металу та утворенні наночастинок. Як показали результати, дані сполуки не мають суттєвого значення для біосинтезу наночастинок, адже дані, отримані з використанням мутантного штаму, не мали суттєвих відмінностей від таких, що були одержані при біосинтезі за допомогою звичайного штаму *Shewanella oneidensis* MR1. Механізм біосинтезу наночастинок з використанням даного продуцента вчені пов'язують з відновленням Cu(II) до Cu(0) за допомогою редуказ різного типу, проте, як зазначають самі автори, даний напрям потребує подальших досліджень. У роботі також було вивчено каталітичні властивості синтезованих наночастинок міді відносно утворення триазолів з бензил азиду і визначено їх ефективність для прискорення процесу (Kimber та ін., 2018).

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коваль Р.В.			<b>РОЗДІЛ 1</b> <i>Мутантні й рекомбінантні мікроорганізми для біосинтезу наночастинок</i>	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							11	10
Керівник		Скороцька О.І.				<b>Кафедра БТМ</b> 11		
Н. Контр.								
Зав.каф.		Стабніков В.П.						

Роль оксидоредуктаз, що кодують субодиниці цитохромів C, у біосинтезу наночастинок срібла, було показано у дослідженні Lin та співавт., котрі для цього видаляли з геному *Escherichia coli* 116AR відповідні гени (NarB, NarC, NrfA, NrfB, NarI, NarV, TorC і TorY). Як було виявлено, у всіх мутантів, крім того, що не мав NarC, спостерігався біосинтез наночастинок срібла. При цьому, після того, як до відповідного мутанту було знову внесено ген, відповідальний за синтез субодиниці NarC, спостерігалася біоредукція срібла. На думку вчених, такий результат вказує на те, що NarC відіграє ключову роль у біосинтезі наночастинок срібла у *Escherichia coli* 116AR (Lin, Lok, & Che, 2014).

У іншому дослідженні було визначено можливість отримання наночастинок срібла (AgNPs) та сульфїду срібла (Ag<sub>2</sub>SNPs) за використання мутантного штаму *Shewanella oneidensis*  $\Delta(mtrC-omcA)$ , що не має зовнішньо мембранних цитохромів C MtrC та OmcA, що мало на меті вивчення впливу даних груп на біоредукцію металу. Також було досліджено каталітичну активність Ag<sub>2</sub>SNPs відносно відновлення метилвіологену та антибактеріальну активність AgNPs відносно *Escherichia coli* ATCC 8739. Було виявлено, що наночастинок, синтезованих за допомогою мутантного штаму *Shewanella oneidensis*  $\Delta(mtrC-omcA)$ , мали менші розміри порівняно з наночастинками, що були синтезовані диким штамом *Shewanella oneidensis* MR1 WT (24,4±0,8 нм проти 40,9±1,0 нм для AgNPs та 27,6±6,4 проти 53,4±12,4 для Ag<sub>2</sub>SNPs). При цьому також наночастинок срібла, отримані за допомогою штаму *Shewanella oneidensis*  $\Delta(mtrC-omcA)$  проявляли більшу бактерицидну активність, ніж наночастинок, синтезовані за допомогою штаму *Shewanella oneidensis* MR1 WT (показник МІК склав 12 мкг/мл для *E. coli* ATCC 8739 проти 16 мкг/мл). Отримані Ag<sub>2</sub>SNPs з використанням мутантного штаму проявляли вищу каталітичну активність, ніж наночастинок, синтезовані диким штамом (швидкість відновлення метилвіологену наночастинками, отриманими з використанням мутантного штаму, склала 0,8 мкМ/с, в той час як при використанні наночастинок, отриманих з використанням дикого штаму – 0,3 мкМ/с). На думку авторів, біосинтез наночастинок у цьому випадку здійснюється за участі цитохромів, зв'язаних з мембраною (Ng та ін., 2013).

Можливість використання *Shewanella oneidensis*  $\Delta mtrC/omcA$  для біосинтезу наночастинок була також показана у робота Yu та співавт., котрим вдалося отримати наночастинки сульфїду залїза (FeSNPs). Автори також дослїдили вплив концентрації тїосульфату натрію на розмір отриманих наночастинок, для чого до культуральної рїдини вводили  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  у концентраціях 1, 5, 10 та 50 мМ. У результаті було виявлено, що чим меншою є концентрація внесеного тїосульфату, тим меншими є і отримані FeSNPs, при цьому наночастинки, синтезовані за допомогою мутантних клітин мали менші розміри порівняно з такими, що були синтезовані звичайним штамом *Shewanella oneidensis* MR-1, що має позитивний ефект на властивості NPs. Дослїдники довели це шляхом проведення експерименту зі знешкодження Cr(VI), котрий є забруднювачем стїчних вод, використовуючи для цього одержані наночастинки сульфїду сїбла. Після аналізу отриманих даних виявилось, що найкращу здатність до відновлення хрому проявляли саме FeSNPs найменших розмірів (403,9 мг/г) (Yu та ін., 2020).

У іншому дослїдженні, в котрому також було використано *Shewanella oneidensis*, було дослїджено вплив виключення інших генів на біосинтез наночастинок сульфїду залїза, зокрема генів, відповідальних за утворення цитохромів C, а саме *mtrA*, *mtrB* та *сумA*. У результаті було визначено, що синтез FeSNPs проходив гірше, порівняно з вихідним штамом *Shewanella oneidensis* MR-1, що мав повний набір генів. Про утворення наночастинок судили за кількістю знебарвленого нафтолу зеленого Б, котрий містить у своєму складі  $\text{Fe}^{3+}$  і додавався в реакційну суміш як попередник FeSNPs разом з тїосульфатом натрію. За даним показником було визначено, що за використання для біосинтезу  $\Delta mtrA$  та  $\Delta mtrB$  спостерїгалось знебарвлення нафтолу на 80%, в той час як для немутантного штаму відсоток знебарвлення склав 95%. В той же час, при використанні штаму  $\Delta сумA$  знебарвлення майже не спостерїгається, що свїдчить про низький рівень синтезу наночастинок сульфїду залїза, а отже і про важливу роль раніше згаданого цитохрому у їх формуванні. Як зазначають автори, це може бути пов'язано з тим, що *сумA* є ключовою сполукою у процесі переносу електронів з хїнону на різні термінальні акцептори у *Shewanella oneidensis*, а також приймає участь у

клітинному диханні. Цитохром *сумА* є першою ланкою у перенесенні електронів на *ΔmtrA* та *ΔmtrB*, котрі в подальшому приймають пряму участь у відновленні заліза (Xiao та ін., 2016).

Також було досліджено синтез наночастинок паладію з використанням *Shewanella oneidensis*, а також вплив гідрогеназ та цитохромів С на процес. З цією метою Dundas зі співавт. створили два штами: перший (*ΔhydAΔhyaB*) не містив генів, відповідальних за синтез гідрогеназ HydA та HydB, та другий (*ΔmtrCΔomcA*). Було отримано наступні результати: при використанні *ΔhydAΔhyaB* мутанту утворювалися великі наночастинки, більшість з яких мала розмір близько 65 нм й розташовувалися переважно на зовнішній частині цитоплазматичної мембрани, в той час як за використання *ΔmtrCΔomcA* формувалися наночастинки переважно 25 нм у діаметрі і в основному знаходилися на внутрішній частині мембрани. При цьому при застосуванні немутантного штаму спостерігався синтез обох типів наночастинок. З цього можна зробити наступний висновок: досліджені гідрогенази відповідальні за синтез наночастинок невеликих розмірів, що розташовуються внутрішньоклітинно, а розглянуті цитохроми відповідають за утворення більших наночастинок, котрі розташовуються на зовні цитоплазматичної мембрани (Dundas, Graham, Romanovicz, & Keitz, 2018).

Також було вивчено можливість синтезу наночастинок срібла з використанням мутантних *Bacillus licheniformis* M09, що здатен до підвищеного синтезу аргінази. Для біосинтезу AgNPs було використано супернатант культуральної рідини, що утворюється як побічний продукт у виробництві аргінази, що, на думку авторів, робить такий синтез дешевим та дозволяє утилізувати відходи біотехнологічної промисловості. Як показав FTIR-аналіз, здійснений дослідниками, відповідальними за біоредукцію срібла у експерименті були сполуки, що мають амінні та карбоксильні групи. Було також встановлено фотокаталітичну активність отриманих наночастинок відносно розкладання метиленового синього. Так, після додавання 20 мг наночастинок срібла до 100 мл водного розчину метиленового синього з концентрацією 10 мг/л, спостерігалось розкладання 94% барвника після 3 годин світлової обробки. На додаток до цього,

було визначено антибактеріальну активність AgNPs відносно таких штамів, як *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145. Також було виявлено цитотоксичність відносно ракових клітин MCF-7. Так, за концентрації наночастинок срібла 5 мкг/мл ріст клітин пригнічувався на 3%, за 10 мкг/мл – на 9%, за 25 мкг/мл – на 20%, за 50 мкг/мл – на 44%, за 75 мкг/мл – на 69%, а за 100 мкг/мл – на 90% (Momin, Rahman, Jha, & Annapure, 2019).

Можливість біосинтезу наночастинок срібла мутантними мікроорганізмами була також продемонстрована Arunkumar зі співавт., які з цієї метою двічі піддавали штам *Klebsiella pneumoniae* MTCC 3354 ультрафіолетовому опроміненню. Отриманий мутантний продуцент мав кращу здатність до біоредукції срібла, про що свідчила інтенсивніша зміна забарвлення реакційної суміші після внесення до неї розчину  $\text{AgNO}_3$  та UV-Vis спектроскопічний аналіз зразків реакційної суміші. Автори також припускають, що безпосередню участь у відновленні  $\text{Ag}^{1+}$  до  $\text{Ag}^0$  приймає фермент НАДН-залежна нітратредуктаза. На додаток до цього, автори показали бактерицидну активність отриманих AgNPs відносно *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* (Arunkumar, Mahesh, Balakumar, Sivakumar, & Priyadharshni, 2013).

Також було виявлено можливість біосинтезу за допомогою мікроорганізмів наночастинок, що містять у своїй основі кілька металів. Так, Wang зі співавт. здійснили біосинтез наночастинок, що містять іони кадмію та селену, з використанням *Pseudomonas stutzeri* TS44. У роботі також було використано штам *Pseudomonas stutzeri* TS44, що не містить гену, відповідального за синтез глутатіон редуктази (*gorA*). Результати дослідження показали, що синтез наночастинок майже не відбувався за використання штаму, нездатного до синтезу глутатіон редуктази, про що свідчив той факт, що концентрація одного з внесених попередників наночастинок (селеніту натрію), залишалася майже незмінною. Це свідчить про важливу функцію раніше згаданого ферменту у формуванні наночастинок, яка, як зазначають автори, полягає у відновленні  $\text{Se}^{4+}$  до  $\text{Se}^0$ , таким чином відіграючи роль селеніт редуктази. Автори також дослідили оптимальні

умови для функціонування ензиму: найвища активність спостерігається при температурі 28°C та pH 7 (Wang, Xia, Wu, Zheng, & Wang, 2019).

Також було отримано наночастинки срібла та селену при використанні штаму рекомбінантних дріжджів *Pichia pastoris*, сконструйованого Elahian зі співавт. Для цього автори внесли до геному дріжджів ген з грибів *Mucor racemosus*, що кодує НАДН-цитохром b5 редуктазу, для надекспресії відповідного ферменту. Як зазначають дослідники, даний ензим вважається відповідальним за знешкодження іонів металів у мікроорганізмах та утворення з них наночастинок. Автори підкреслюють, що за використання створеного рекомбінантного штаму можна відновити більше срібла (163,9 мг/г) та селену (63,71 мг/г) порівняно з природними представниками (2-50 мг/г Ag та 0,016-1,58 мг/г Se) (Elahian, Reisi, Shahidi, & Mirzaei, 2017).

Xia зі співавт. показали можливість біосинтезу наночастинок хрому та селену за допомогою рекомбінантного штаму *Alishewanella sp.* WH16-1. Для цього до геному бактерій було введено ген, що відповідальний за синтез селеніт-редуктази CsrF – ферменту, котрий відновлює Se (IV) до Se (0) та Cr (VI) до Cr (III), унаслідок чого утворюються відповідні наночастинки (Xia та ін., 2018).

Отже, встановлено вплив різних біологічно-активних клітинних метаболітів на утворення наночастинок. Так, виявлено ключову роль оксидоредуктази NapC у формування наночастинок срібла у *Escherichia coli* 116AR (Lin, Lok, & Che, 2014). Також показано позитивний вплив використання мутантів, отриманих шляхом УФ-опромінення клітин *Klebsiella pneumoniae* MTCC 3354, що може пояснюватися збільшенням кількості НАДН-залежна нітратредуктази, що приймає участь у синтезі AgNPs (Arunkumar, Mahesh, Balakumar, Sivakumar, & Priyadharshni, 2013). Покращення синтезу наночастинок срібла та селену також можна досягти шляхом надекспресії у еукаріотичних системах НАДН-цитохром b5 редуктази, що доведено на прикладі *Pichia pastoris* (Elahian, Reisi, Shahidi, & Mirzaei, 2017). Також встановлено значний вплив мембранних цитохромів C MtrC та ОмсА у *Shewanella oneidensis* на властивості синтезованих наночастинок срібла та його сульфідів (Ng та ін., 2013). На додаток до цього, виявлено важливу роль різних типів цитохромів

(Yu, 2020; Xiao, 2016; Dundas, 2018), гідрогеназ (Dundas, Graham, Romanovicz, & Keitz, 2018) та глутатіонредуктаз (Wang, Xia, Wu, Zheng, & Wang, 2018) у біосинтезі наночастинок металів.

Узагальнена інформація щодо використання мутантних мікроорганізмів у синтезі наночастинок наведена у табл. 1.1.

## Використання генно-модифікованих мікроорганізмів у біосинтезі наночастинок

Продуцент	Модифікації	Умови культивування продуцента	Умови біосинтезу наночастинок	Розміри та форма наночастинок	Джерело
<i>Наночастинки срібла</i>					
<i>Escherichia coli</i> 116AR	Видалено ген <i>parC</i> , відповідальний за синтез <i>ParC</i> субодиниці цитохрому С	Середовище з глюкозою (4 г/л) та хлоридом амонію (5 г/л), 18 год	Промита біомаса, 0,3 мМ $\text{AgNO}_3$ , 18 год	5-70 нм, сферичні, локалізуються всередині клітин	Lin, Lok, & Che, 2014
<i>Shewanella oneidensis</i> $\Delta(mtrC-omcA)$	Видалено гени <i>mtrC-omcA</i> , відповідальні за синтез зовнішньо мембранних цитохромів С <i>MtrC</i> та <i>OmcA</i>	Середовище з гліцерином (200 г/л) та пептоном (10 г/л), 16 год, 30°C, 200 об/хв	Промита біомаса, 10 мМ лактату натрію, 1 мМ $\text{AgNO}_3$ , 120 год, 30°C, 200 об/хв	24,4±0,8 нм, сферичні, локалізуються поза клітинами	Ng та ін., 2013
<i>Bacillus licheniformis</i> M09	Ультразвукова обробка продуцента	Середовище з пептоном (5 г/л), 24 год, 37±2°C, 180 об/хв на	Безклітинний супернатант, 1 мМ $\text{AgNO}_3$ , 36 год, 28±2°C	10-30 нм, сферичні	Momin, Rahman, Jha, & Annapure, 2019
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MTCC 3354	Ультрафіолетове опромінення	Середовище з глюкозою (10 г/л), 24 годин, 37°C, 90 об/хв	Безклітинний фільтрат, 1 мМ $\text{AgNO}_3$ , 24 год, 28°C, 90 об/хв, рН 7	2-20 нм, сферичні	Arunkumar, Mahesh, Balakumar, Sivakumar, & Priyadharshni, 2013
<i>Pichia pastoris</i>	Введено ген, що кодує НАДН-цитохром b5 редуктазу	Середовище з глюкозою (20 г/л) та пептоном (20 г/л), 24 год, 30°C	Промита біомаса, 6 мМ $\text{AgNO}_3$ , 96 год	70-180 нм, сферичні	Elahian, Reisi, Shahidi, & Mirzaei, 2017

Продовження табл. 1.1.

<b>Наночастинки сульфїду срібла</b>					
<i>Shewanella oneidensis</i> $\Delta(mtrC-omcA)$	Видалено гени <i>mtrC-omcA</i> , відповідальні за синтез зовнішньо мембранних цитохромів C MtrC та OmcA	Середовище з гліцерином (200 г/л) та пептоном (10 г/л), 16 год, 30°C, 200 об/хв	Промита біомаса, 10 мМ лактату натрію, 1 мМ AgNO <sub>3</sub> , 1 мМ Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , 120 год, 30°C, 200 об/хв	27,6±6,4 нм, сферичні, локалізуються поза клітинами	Ng та ін., 2013
<b>Наночастинки паладію</b>					
<i>Shewanella oneidensis</i> $\Delta hydA\Delta hyaB/\Delta mtrC\Delta omcA$	Видалено гени, відповідальні за синтез гідрогеназ HydA та HydB ( $\Delta hydA\Delta hyaB$ ) Видалено гени, відповідальні за синтез зовнішньо мембранних цитохромів C MtrC та OmcA ( $\Delta mtrC\Delta omcA$ )	Середовище з лактатом натрію (20 мМ), 30°C, 18 год, 250 об/хв	Культуральна рідина, 10 мМ Na <sub>2</sub> PdCl <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O, 24 год, 30°C, 250 об/хв	65 нм, сферичні ( $\Delta hydA\Delta hyaB$ ) 25 нм, сферичні ( $\Delta mtrC\Delta omcA$ )	Dundas, Graham, Romanovicz, & Keitz, 2018
<b>Наночастинки міді</b>					
<i>Shewanella oneidensis</i> MR1	Видалено гени, відповідальні за синтез мембранних цитохромів C	Середовище з лактатом натрію (100 мМ) та сульфатом амонію (9 мМ), 24 год, 30°C	Промита біомаса, 0,05 мМ CuSO <sub>4</sub> , 20°C, pH 7,1, 24 год	20-50 нм, сферичні, локалізуються всередині клітин	Kimber та ін., 2018
<b>Наночастинки селену та кадмію</b>					
<i>Pseudomonas stutzeri</i> TS44	Видалено ген <i>gorA</i> , відповідальний за синтез глутатіон редуктази	Середовище з триптоном (10 г/л), 24 год, 28°C	Промита біомаса, 1 мМ CdCl <sub>2</sub> , 1 мМ Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> , 5 год, 28°C, pH 7	10 нм, сферичні	Wang, Xia, Wu, Zheng, & Wang, 2019

Закінчення табл. 1.1.

<b>Наночастинки селену</b>					
<i>Pichia pastoris</i>	Введено ген, що кодує НАДН-цитохром b5 редуктазу	Середовище з глюкозою та пептоном (20 г/л), 24 год, 30°C	Промита біомаса, 4 мМ SeO <sub>2</sub> , 96 год	70-180 нм, сферичні	Elahian, Reisi, Shahidi, & Mirzaei, 2017
<i>Alishewanella</i> sp. WH16-1	Введено ген, що відповідальний за синтез селеніт-редуктази CsrF	Середовище з триптоном (10 г/л) та дріжджовим екстрактом (5 г/л), 12 год при 37°C, 150 об/хв	Культуральна рідина, 1 мМ Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> , 4 год, 37°C, 150 об/хв	100-220 нм, сферичні, локалізуються всередині клітин	Xia та ін., 2018
<b>Наночастинки сульфідру заліза</b>					
<i>Shewanella oneidensis</i> Δ <i>mtrC/omcA</i>	Видалено гени <i>mtrC-omcA</i> , відповідальні за синтез зовнішньо мембранних цитохромів C MtrC та OmcA	Середовище з пептоном (10 г/л), 24 год, 30°C, 200 об/хв	Культуральна рідина, 1 мМ FeCl <sub>3</sub> , 1 мМ тіосульфату натрію, 24 год, 30°C, 150 об/хв	31,7±5,4 нм, сферичні	Yu та ін., 2020
<i>Shewanella oneidensis</i> MR1	Видалено гени <i>mtrA</i> , <i>mtrB</i> та <i>сумA</i> , відповідальні за синтез цитохромів C MtrA, MtrB та СумA	Середовище з пептоном (10 г/л), 24 год, 30°C	Промита біомаса, 100 мг/л нафтолу зеленого Б, 10 мМ тіосульфату натрію, 70 год, 30°C, 180 об/хв	30 нм, сферичні	Xiao та ін., 2016
<b>Наночастинки хрому</b>					
<i>Alishewanella</i> sp. WH16-1	Введено ген, що відповідальний за синтез селеніт-редуктази CsrF	Середовище з триптоном (10 г/л) та дріжджовим екстрактом (5 г/л), 12 год при 37°C, 150 об/хв	Культуральна рідина, 1 мМ K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub> , 36 год, 37°C, 150 об/хв	100-220 нм, сферичні, локалізуються всередині клітин	Xia та ін., 2018

## РОЗДІЛ 2. ОПТИМІЗАЦІЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ

Завдяки своїм унікальним фізико-хімічним та біологічним властивостям, наночастинки благородних металів можуть бути використані у різних сферах промисловості. Наприклад, антимікробні, противірусні та протиракові властивості наночастинок золота та срібла можуть бути корисними для боротьби з пухлинами чи інфекційними захворюваннями, спричиненими стійкими до антибіотиків штамми мікроорганізмів. Біологічний синтез наночастинок має ряд переваг перед традиційними хімічними та фізичними методами зважаючи на його екологічність та дешевизну. Для біосинтезу наночастинок можуть бути використані різні мікроорганізми, а для досягнення бажаних результатів необхідною є оптимізація параметрів біосинтезу.

### 2.1. Оптимізація біосинтезу наночастинок срібла

У наявній літературі є інформація про оптимізацію біосинтезу наночастинок срібла з використанням грибів (Ma, 2017; Rose, 2018; Xue, 2016; Roy, 2014; Al-Soub, 2022; Cui, 2022; Spagnoletti, 2019; Al-Limoun, 2019), бактерій (El-Saadony, 2019; Iqtedar, 2019; Kashyap, 2019; El-Dein, 2021; Solis-Sandi, 2023; El-Saadony, 2018) та дріжджів (Alamri, 2018; Salvadori, 2017; Volbanabad, 2020).

**2.1.1. Оптимальні параметри культивування біологічного агента для біосинтезу наночастинок срібла.** Склад поживного середовища для культивування біологічного агента, котрий використовується для біосинтезу наночастинок, може значно впливати на процес біосинтезу, кількість синтезованого наноматеріалу та його властивості. Це може бути зумовлено тим, що за різного співвідношення та концентрації деяких компонентів середовища утворюється різна кількість біологічного матеріалу, який далі безпосередньо використовується у процесі утворення наночастинок, а також різна кількість сполук, котрі приймають участь у відновленні срібла.

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Коваль Р.В.</i>				<b>РОЗДІЛ 2 Оптимізація біосинтезу наночастинок благородних металів</b>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Консульт.</i>							21	36
<i>Керівник</i>	<i>Скороцька О.І.</i>					<b>Кафедра БТМ</b> 21		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Зав.каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

Наприклад, El-Saadony зі співавт. визначили, що синтез наночастинок срібла при використанні супернатанту *Bacillus pseudomycoides* MT32 краще проходить після культивування на середовищі NB (Nutrient Broth), порівняно з даними, отриманими після вирощування бактерій на бульйоні Лурія-Бертані. Такий результат можна пояснити наявністю у середовищі NB специфічного компонента – яловичого екстракту – котрий міг сприяти синтезу метаболітів, відповідальних за синтез наночастинок (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). Подібний результат було також отримано при використанні для біосинтезу срібних наночастинок супернатанту *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5, де також більша кількість наночастинок утворювалася після культивування бактерій на середовищі NB, ніж на бульйоні Лурія-Бертані (El-Saadony, El-Wafai, El-Fattah, & Mahgoub, 2018).

Також було визначено оптимальний склад поживного середовища для культивування грибів *Tritirachium oryzae* W5H з метою подальшого біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного екстракту грибів. Автори виявили, що після культивування біологічного агента на середовищі, що містить глюкозу (10 г/л), дріжджовий екстракт (10 г/л) та NaCl (5 г/л), було отримано найбільшу кількість наночастинок (Al-Limoun та ін., 2019). Середовище подібного складу також було визнано найбільш оптимальним для культивування *Rhizopus stolonifer* MR11 з метою отримання безклітинного екстракту для подальшого синтезу AgNPs. Так, Khleifat зі співавт. визначили, що після вирощування на середовищі з крохмалем (10 г/л), дріжджовим екстрактом (10 г/л) та NaCl (5 г/л) було отримано найвищу концентрацію наночастинок срібла, порівняно з результатами, отриманими при використанні інших поживних середовищ (Khleifat та ін., 2022). Також було визначено оптимальний склад поживного середовища для біосинтезу наночастинок срібла за допомогою *Fusarium oxysporum*. Birla за співавт. виявили, що найбільшу кількість білків, відповідальних за відновлення срібла, було отримано після вирощування грибів на середовищі MGYP, що містило глюкозу (10 г/л), пептон (5 г/л), дріжджовий та солодовий екстракти (по 3 г/л). При цьому, за використання середовища даного складу було отримано найбільшу кількість

наночастинок срібла з найменшим розміром – 10-20 нм (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

У іншому дослідженні, Ма зі співавт. встановили оптимальний склад поживного середовища для синтезу AgNPs за допомогою *Penicillium aculeatum* Su1. У даному випадку оптимальним виявилось вирощування грибів на картопляно-декстрозному бульйоні. Зазначається, що за таких умов можна отримати максимальну кількість біомаси, а отже і метаболітів для біосинтезу AgNPs (Ма та ін., 2017). Ефективність використання Картопляно-декстрозного бульйону для отримання наночастинок срібла з використанням грибів також показала група дослідників на чолі з Spagnoletti. Так, після вирощування *Macrophomina phaseolina* на раніше згаданому поживному середовищі (300 г/л картоплі, 20 г/л декстрази) можна було отримати більше наносрібла, ніж після культивування на Мінімальному грибному середовищі (10 г/л глюкози, 0,5 г/л  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,2 г/л  $\text{MgSO}_4$ , 0,3 г/л казеїнового пептону) (Spagnoletti, Spedalieri, Kronberg, & Giacometti, 2019). Схожі висновки зробили також Saxena зі співавт., котрі виявили, що найшвидше біосинтез наночастинок при використанні безклітинного екстракту *Penicillium chrysogenum* BLS1 проходив після культивування грибів саме на Глюкозо-картопляному бульйоні (Saxena, Sharma, & Singh, 2017).

Окрім складу поживного середовища, іншим важливим параметром культивування, який значно впливає на процес біосинтезу наночастинок срібла, є тривалість вирощування біологічного агента. Так, Ма зі співавт. встановили оптимальну тривалість культивування *Penicillium aculeatum* Su1 для використання у біосинтезі срібних наночастинок, для чого гриби культивували впродовж 1, 4, 12, 24, 48 та 72 год. Було виявлено, що чим більшою є тривалість культивування біологічного агента, тим більше наночастинок можна отримати, при цьому максимальна концентрація AgNPs досягалася у зразках з безклітинним екстрактом грибів, котрі вирощували протягом 72 год (Ма та ін., 2017). Проте, у іншому дослідженні, Khleifat зі співавт. визначили, що найбільшу кількість наночастинок срібла за використання *Rhizopus stolonifer* MR11 можливо отримати при мінімальній (18 год) досліджуваній тривалості культивування. У даній праці було

також встановлено оптимальну температуру культивування *Rhizopus stolonifer* MR11 для подальшого синтезу AgNPs, яка становить 33°C (Khleifat та ін., 2022).

**2.1.2. Оптимальні температурні параметри біосинтезу наночастинок срібла.** Одним з ключових факторів, що впливають на утворення наночастинок срібла, є температура біосинтезу. Наприклад, El-Saadony зі співавт. визначили, що оптимальною температурою для біосинтезу AgNPs за допомогою супернатанту *Bacillus pseudomycooides* MT32 є 30°C. За нижчих температур біосинтез проходив повільніше, в той час як вищі температури призводили до руйнування речовин, відповідальних за відновлення срібла (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). Аналогічні результати було отримано при дослідженні оптимальної температури утворення AgNPs для *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5, проте в цьому випадку оптимальне значення знаходилось на рівні 35°C (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018). Схожі висновки зробили El-Dein зі співавт., які встановили, що оптимальним для процесу біосинтезу з використанням *Escherichia coli* D8 MF06257 є підтримання температури на рівні 35°C (El-Dein, Vaka, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021).

Вищою оптимальною температурою біосинтезу срібних наночастинок відрізняється *Bacillus mojavensis* ВТСВ15. Було встановлено, що за 55°C біосинтез відбувався найкраще, в той час як за вищих температур процес пригнічувався (Iqtedar та ін., 2019). В той же час, при біосинтезі наносрібла з використанням супернатанту *Bacillus subtilis* DSM 10, кількість утворених AgNPs збільшувалась з підвищенням температури біосинтезу, і була максимальною при 60°C (Solis-Sandi та ін., 2023). Singh зі співавт. визначили, що оптимальна температура для синтезу наночастинок з використанням безклітинного екстракту *Acinetobacter calcoaceticus* LRVP54 є ще вищою. Збільшення температури позитивно впливає на синтез наночастинок, проте температури вище 70°C пригнічують активність сполук, відповідальний за біоредукції срібла (Singh та ін., 2013).

Подібні закономірності спостерігаються і при використанні грибів у якості біологічних агентів для біосинтезу наночастинок срібла. Як відомо, з підвищенням температури синтезу збільшується його швидкість, проте у випадку біосинтезу

наночастинок срібла температурні параметри процесу можуть бути обмежені термолабільністю сполук, відповідальних за відновлення срібла. Так, Liang зі співавт. визначили оптимальну температуру для отримання AgNPs за допомогою *Penicillium aculeatum* Sul, котра становила 37°C, за вищої ж температури спостерігалася агломерація наночастинок (Ma та ін., 2017). Al-Soub зі співавт. встановили, що найбільша кількість наночастинок при використанні *Aspergillus flavus* утворювалася при 27°C (Al-Soub та ін., 2022). Подібні температурні параметри біосинтезу було встановлено і для іншого представника роду *Aspergillus* – *Aspergillus foetidus* MTCC8876. При використанні безклітинного екстракту даного біологічного агента найбільше наночастинок синтезувалось при 30°C, а зі збільшенням температури кількість отриманих AgNPs зменшувалась (Roy, & Das, 2014). Ідентичне температурне значення є оптимальним також і при використанні для біосинтезу за допомогою *Aspergillus terreus* (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016), в той час як при використанні безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 оптимальним є підтримка температури реакційної суміші на рівні 33°C (Khleifat та ін., 2022).

Вищими температурними параметрами біосинтезу наночастинок срібла відрізняється безклітинний екстракт *Tritirachium oryzae* W5H, з використанням якого найбільшу кількість наночастинок можна отримати при 40°C (Al-Limoun та ін., 2019). Підвищена оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла також спостерігається для метаболітів *Arthroderma fulvum*, котрі утворюють найбільше AgNPs при 55°C (Хуе та ін., 2016). Ідентичне температурне значення (55°C) також є оптимальним для біосинтезу наносрібла при використанні *Trichoderma longibranchiatum* (Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022). Високою термостабільністю також відрізняються метаболіти, що відповідальні за відновлення срібла у *Penicillium oxalicum* GRS-1, котрі найшвидше утворюють наночастинок срібла при 60°C (Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018). Також встановлено, що концентрація AgNPs збільшується з підвищенням температури реакційної суміші за використання безклітинного екстракту *Penicillium chrysogenum* BLS1, і досягає максимуму при 70°C (Saxena, Sharma, & Singh, 2017). Подібна

закономірність спостерігається і при біосинтезі наносрібла за допомогою безклітинного екстракту грибів *Fusarium oxysporum*, проте при використанні метаболітів даного біологічного агента максимальна концентрація наночастинок спостерігалась при 100°C, що свідчить про високу термостабільність сполук, відповідальних за відновлення срібла і утворення AgNPs (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Біосинтез наночастинок срібла при використанні дріжджів не передбачає використання високих температурних значень, адже в основному оптимальними для них є мезофільні умови. Так, при використанні дріжджів *Meuzozyma guilliermondii* KX008616 найбільша концентрація AgNPs в реакційному середовищі спостерігається при 30°C, при цьому вищі температури пригнічували біосинтез (Alamri та ін., 2018). Аналогічна температура є також оптимальною для утворення наночастинок срібла за допомогою інактивованої біомаси дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa*. Так, Salvadori зі співавт. випробували різні температурні параметри біосинтезу AgNPs з використанням *Rhodotorula mucilaginosa* (20-60°C) і встановили, що найшвидше процес відбувається саме при 30°C (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017). Температура 30°C також є оптимальною для біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного екстракту *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 (Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020).

**2.1.3. Оптимальна концентрація вихідної речовини для біосинтезу наночастинок срібла.** Іншим ключовим фактором, який впливає на кількість та властивості наночастинок срібла, є концентрація попередника наночастинок – нітрату срібла. Так, було зафіксовано, що найбільша кількість наночастинок срібла при використанні *Bacillus pseudomycooides* MT32 утворюється після внесення в супернатант AgNO<sub>3</sub> у концентрації 2 мМ (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). В той же час, для отримання максимальної кількості AgNPs за допомогою супернатанту *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5 оптимальним було доведення концентрації нітрату срібла і реакційній суміші до 3 мМ (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018). El-Dein зі співавт. у своїй праці показали, що внесення нітрату аргентуму у концентрації 1,5 мМ є найоптимальнішим для

біосинтезу наночастинок срібла з використанням *Escherichia coli* D8 MF06257 (El-Dein, Вака, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021). Раніше також було встановлено оптимальну концентрацію  $\text{AgNO}_3$  для отримання AgNPs з використанням безклітинного екстракту *Acinetobacter calcoaceticus* LRVP54. За використання даного штаму бактерій найбільше AgNPs утворювалося при 0,7 мМ  $\text{AgNO}_3$  (Singh та ін., 2013). У іншій праці, Kashyap зі співавт. досліджували оптимальну концентрацію нітрату срібла при використанні для біосинтезу *Chlorella* sp. Як показав експеримент, найшвидший біосинтез наночастинок відбувався за 1 мМ  $\text{AgNO}_3$ , проте отримані таким чином NPs були нестабільними, про що свідчить зміщення піків поглинання світла при спектрофотометричному аналізі від довжини хвилі 420 нм. Зважаючи на це, оптимальною концентрацією для біосинтезу було визнано 0,5 мМ нітрату срібла (Kashyap та ін., 2019).

Як і при використанні бактерій, так і при застосуванні грибів для біосинтезу срібних наночастинок оптимальними переважно є невисокі концентрації попередника наночастинок. Так, використовуючи безклітинний екстракт *Penicillium aculeatum* Su1 найбільшу кількість наночастинок можна отримати після додавання 2 мМ нітрату срібла, коли ж вміст  $\text{AgNO}_3$  сягнув 2,5 мМ відбувалося формування AgNPs великих розмірів (Ma та ін., 2017). Якщо ж в якості біологічного агента використовувати *Arthroderma fulvum*, то в даному випадку найвища концентрація срібних наночастинок в реакційній суміші спостерігається при додаванні 1,5 мМ аргентум нітрату, в той час як за вищих концентрацій процес є нестабільним (Хуе та ін., 2016). Внесення 1,5 мМ  $\text{AgNO}_3$  також виявилось оптимальним для біосинтезу з використанням безклітинного екстракту *Penicillium oxalicum* GRS-1. За даної концентрації спостерігалось найвище значення поглинання світла при спектрофотометричному аналізі, в той час як за вищих концентрацій солі спостерігалися ширші піки, що свідчить про високий діапазон розподілу наночастинок за розмірами (Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018). Група авторів на чолі з Cui встановила, що біосинтез наночастинок срібла за допомогою *Trichoderma longibranchiatum* найкраще відбувається при 2 мМ  $\text{AgNO}_3$  в реакційній суміші (Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022). Така ж концентрація попередника солі

срібла була оптимальною також для синтезу наночастинок срібла з використанням *Penicillium chrysogenum* BLS1 (Saxena, Sharma, & Singh, 2017), а також при біосинтезі за допомогою безклітинного екстракту *Fusarium oxysporum* (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Також було встановлено оптимальну концентрацію нітрату аргентуму для отримання наночастинок срібла за допомогою *Tritirachium oryzae* W5H, яка становить 1 мМ  $\text{AgNO}_3$  (Al-Limoun та ін., 2019). При 1 мМ нітрату аргентуму також найкраще проходив біосинтез наночастинок срібла при використанні *Macrophomina phaseolina* (Spagnoletti, Spedalieri, Kronberg, & Giacometti, 2019). Також Khleifat зі співавт. визнали оптимальною концентрацію нітрату срібла 1 мМ  $\text{AgNO}_3$  при біосинтезі з використанням безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 (Khleifat та ін., 2022).

Проте, при використанні деяких грибів для біосинтезу наночастинок срібла оптимальними є вищі концентрації  $\text{AgNO}_3$ . Так, Roy зі співавт. продемонстрували, що при використанні безклітинного екстракту *Aspergillus foetidus* MTCC8876 для отримання AgNPs найбільша кількість наноматеріалу утворюється після доведення концентрації нітрату срібла у реакційній суміші до 4 мМ в той час як вищі концентрації пригнічували діяльність ферментів, відповідальних за відновлення аргентуму (Roy, & Das, 2014). Схожа закономірність спостерігалася і при використанні для біосинтезу срібних наночастинок грибів *Aspergillus terreus*, де оптимальним виявилось внесення 6 мМ  $\text{AgNO}_3$  до безклітинного екстракту (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016).

Також було визначено оптимальну концентрацію нітрату аргентуму для біосинтезу наночастинок срібла за допомогою автоклавованої біомаси дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa*, яка становить 100 мг/л (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017). У іншій праці, Bolbanabad зі співавт. встановили, що найшвидше біосинтез наночастинок срібла з використанням безклітинного екстракту дріжджів *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 відбувається при внесенні до реакційної суміші 2,5 мМ  $\text{AgNO}_3$  (Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020).

**2.1.4. Оптимальна тривалість біосинтезу наночастинок срібла.** Одним з вирішальних факторів впливу на кількість синтезованих наночастинок срібла є тривалість біосинтезу, адже чим довше триває процес, тим більшу кількість наноматеріалу можна отримати. Дану закономірність у своїй роботі підтвердили El-Saadony зі співавт., котрі визначили, що при біосинтезі наночастинок срібла з використанням супернатанту *Bacillus pseudomycooides* MT32 найбільше AgNPs утворювалося за найбільшої тривалості процесу – 40 год (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). Така ж тривалість біосинтезу була оптимальною і при використанні *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5 в якості біологічного агента (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018).

Проте, в деяких випадках, максимальна тривалість не завжди є оптимальною, адже біосинтез наночастинок припиняється з вичерпанням вихідної сполуки. Так, при використанні *Escherichia coli* D8 MF06257 максимальна кількість AgNPs досягалася на 72 годині біосинтезу, після чого процес припинявся (El-Dein, Вака, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021).

При використанні грибів для біосинтезу наночастинок срібла оптимальним є триваліша витримка реакційної суміші. Наприклад, Ма зі співавт. встановили, що при використанні безклітинного екстракту *Penicillium aculeatum* Su1 найбільшу кількість наночастинок срібла можна отримати на 96 годині біосинтезу (Ма та ін., 2017). У іншій праці Roy зі співавт. дослідили оптимальну тривалість біосинтезу наночастинок срібла за допомогою безклітинного екстракту *Aspergillus foetidus* MTCC8876 і визначили, що кількість утворених AgNPs збільшувалась з часом і була максимальною за найвищої досліджуваної тривалості процесу – 72 год (Roy, & Das, 2014). Аналогічна тривалість біосинтезу була оптимальною при використанні безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 (Khleifat та ін., 2022). Також, Al-Soub зі співавт. визначили, що при використанні для отримання наночастинок срібла безклітинного екстракту *Aspergillus flavus* кількість AgNPs збільшувалась з часом і досягала максимуму на 144 год біосинтезу (Al-Soub та ін., 2022).

В той же час, група дослідників на чолі з Хуе встановила, що максимальну кількість наночастинок срібла при використанні *Arthroderma fulvum* можна отримати вже на 10 годину біосинтезу, після чого синтез не спостерігався (Хуе та ін., 2016). Низькою тривалістю біосинтезу наносрібла також відрізняються процеси, в яких в якості біологічних агентів задіяні дріжджі. Так, Bolbanabad зі співавт. встановили, що при використанні безклітинного екстракту *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 максимум отриманих AgNPs спостерігається на 16 годині процесу, після чого синтез припиняється (Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020). У іншому дослідженні, Salvadori зі співавт. визначили, що максимальної кількості наночастинок срібла при використанні дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* можна досягнути всього за одну годину витримки реакційної суміші (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017).

**2.1.5. Оптимальний рівень рН для біосинтезу наночастинок срібла.** На процес біосинтезу наночастинок срібла також може значно впливати рівень рН реакційної суміші, при цьому при використанні різних біологічних агентів найоптимальнішим в основному є доведення рН до нейтральних та лужних значень. Так, El-Saadony зі співавт. показали, що при використанні супернатанту *Bacillus pseudomycoides* MT32 найкраще синтез проходить при рН 6,5 (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). В іншій праці та ж група авторів визначила, що біосинтез AgNPs відбувається найшвидше за рН 7 (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018). Аналогічне рН реакційної суміші було оптимальним і за використання *Escherichia coli* D8 MF06257 (El-Dein, Вака, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021). В той же час, у разі біосинтезу срібних наночастинок *Bacillus mojavensis* ВТСВ15 найбільше AgNPs утворювалося за рН 8 (Iqtedar та ін., 2019). Встановлено, що кількість наночастинок за використання супернатанту *Bacillus subtilis* DSM 10 збільшувалась з підвищенням лужності середовища й була найбільшою за максимального досліджуваного значення рН – 10 (Solis-Sandi та ін., 2023).

Схожі тенденції можна спостерігати і при синтезі за допомогою грибів. Наприклад, Ма зі співавт. визначили, що найшвидший біосинтез за допомогою

безклітинного екстракту *Penicillium aculeatum* Su1 відбувався при рН 8 (Ma та ін., 2017). При використанні *Penicillium oxalicum* GRS-1 найбільше наночастинок утворюється за рН 7 (Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018). За цього значення лужності середовища найкраще відбувається біосинтез і при використанні *Trichoderma longibranchiatum* (Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022), а також *Tritirachium oryzae* W5H (Al-Limoun та ін., 2019).

При використанні для біосинтезу AgNPs деяких грибів оптимальним є підтримання сильно лужного середовища. Так, у своїй праці Birla зі співавт. продемонстрували, що найбільше наночастинок за допомогою безклітинного екстракту *Fusarium oxysporum* синтезується за рН 9 (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013). Аналогічне значення лужності середовища було оптимальним і при використанні *Aspergillus foetidus* MTCC8876 (Roy, & Das, 2014). Підвищення лужності середовища сприяло біосинтезу срібних наночастинок і при використанні *Arthroderma fulvum*, при цьому найбільше AgNPs можна було отримати за найвищого досліджуваного рН – 10 (Хуе та ін., 2016). Ідентичну закономірність спостерігали і Balakumaran зі співавт., які визначили оптимальне рН для біосинтезу за допомогою *Aspergillus terreus* (рН 10) (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016). Група дослідників на чолі з Saxena також встановили, що використовуючи безклітинний екстракт *Penicillium chrysogenum* BLS1 концентрація AgNPs збільшується з підвищенням температури та лужності реакційної суміші (Saxena, Sharma, & Singh, 2017).

Кисле середовище може бути оптимальним при застосуванні окремих штамів грибів, наприклад *Aspergillus flavus*, адже при використанні безклітинного екстракту даного біологічного агента найшвидше біосинтез проходить при рН 4 (Al-Soub та ін., 2022). У іншій праці, Khleifat зі співавт. встановили, що за допомогою безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 найбільше наночастинок срібла можна отримати при рН 5 (Khleifat та ін., 2022).

Використовуючи дріжджі для біосинтезу срібних наночастинок найбільша продуктивність спостерігається за нейтральних та кислих значень рН. Так, за допомогою дріжджів *Meuzozyma guilliermondii* KX008616 найбільше

наночастинок утворюється при рН 7 (Alamri та ін., 2018). Volbanabad зі співавт. встановили, що використовуючи безклітинний екстракт *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 біосинтез найшвидше проходить за рН 6 (Volbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020). В той же час, найкраще синтез AgNPs з використанням інактивованої біомаси *Rhodotorula mucilaginosa* проходив у кислому середовищі (рН 4) (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017).

**2.1.6. Вплив специфічних факторів на біосинтез наночастинок срібла.** Під час біосинтезу наночастинок срібла важливим також є тип біологічного матеріалу, який використовується у процесі. Наприклад, Volbanabad зі співавт. досліджували, яка стратегія буде найбільш оптимальною для отримання макисмальної кількості AgNPs за допомогою *Yarrowia lipolytica* DSM 3286: біосинтез з використанням культуральної рідини, промитої біомаси чи безклітинного екстракту. У результаті автори визначили, що найменші наночастинки утворювалися при використанні промитої біомаси дріжджів ( $12,4 \pm 5,22$  нм), проте найшвидше максимум синтезу наночастинок наставав за використання безклітинного екстракту (на 16 годині біосинтезу), отриманого при концентрації біомаси 7,5 г/л (Volbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020). Solis-Sandi зі співавт. виявили, що за допомогою супернатанту *Bacillus subtilis* DSM 10 синтезується більше AgNPs, ніж за використання біомаси того біологічного агента (Solis-Sandi та ін., 2023).

Важливу роль також можуть мати параметри отримання біологічного матеріалу з біомаси біологічного агента. Так, було доведено, що найбільше срібних наночастинок у процесі біосинтезу за допомогою *Penicillium aculeatum* Su1 утворюється за використання безклітинного екстракту, котрий було приготовано шляхом вистоювання 20 г живої біомаси грибів у 100 мл деіонізованої води (Ma та ін., 2017). В той же час, оптимальна концентрація біомаси *Aspergillus flavus* для приготування безклітинного екстракту з метою подальшого біосинтезу AgNPs, становить 100 г/л (Al-Soub та ін., 2022), а при використанні *Penicillium chrysogenum* BLS1 – 10 г/л (Saxena, Sharma, & Singh, 2017). Salvadori зі співавт. продемонстрували, що для біосинтезу срібних наночастинок оптимальним є використання інактивованої біомаси у концентрації 5 г/л (Salvadori, Ando,

Nascimento, & Correa, 2017). Для отримання максимальної кількості AgNPs з використанням *Rhizopus stolonifer* MR11 необхідно використовувати безклітинний екстракт, котрий витримували 72 год при 30°C та рН 6 після внесення 50 г/л біомаси (Khleifat та ін., 2022). У іншій праці, Birla зі співавт. продемонстрували, що оптимальним при біосинтезі за допомогою *Fusarium oxysporum* є використання безклітинного екстракту, отриманого шляхом вистоювання 60 г/л біомаси при 60°C (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013). Якщо використовувати в якості біологічного агента *Tritirachium oryzae* W5H, то найшвидше біосинтез проходить за допомогою безклітинного екстракту, отриманого після внесення 200 г/л біомаси, котру витримували впродовж 96 год при рН 7 та 40°C (Al-Limoun та ін., 2019).

При використанні факультативно анаеробних мікроорганізмів на біосинтез срібних наночастинок може впливати відсутність чи наявність кисню у процесі культивування. Зважаючи на це, доцільним було дослідження ефекту даного параметру під час культивування подібних мікробів на формування наночастинок срібла. Так, Alamгі зі співавт. використали культуральну рідину дріжджів *Meuzozyma guilliermondii* KX008616, котрі вирощували як в кисневому, так і в безкисневому середовищі. У результаті було виявлено, що за анаеробних умов утворювалося в середньому вдвічі більше наночастинок, аніж за анаеробних умов. До того ж, у присутності кисню наночастинок мали менший розмір ( $16,3 \pm 9,01$  нм) порівняно з AgNPs, отриманими в безкисневому середовищі ( $34,4 \pm 23,39$  нм). Такий ефект може бути зумовлений тим, що аеробні умови є більш сприятливими для розвитку та розмноження дріжджів, за рахунок чого утворюється більша кількість метаболітів, відповідальних за біотрансформацію срібла та утворення наночастинок (Alamгі та ін., 2018).

У більшості випадків, біосинтез срібних наночастинок здійснюють за статичних умов, проте в деякі дослідники намагаються інтенсифікувати процес шляхом перемішування, для чого також здійснюють підбір оптимальної частоти обертів мішалки. Так, El-Saadony зі співавт. встановили, що найбільше AgNPs за використання супернатанту *Bacillus pseudomycolides* MT32 можна отримати при перемішуванні супернатанту з частотою 140 об/хв (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-

Fattah, & Mahgoub, 2019). При використанні мертвої біомаси дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa* оптимальним є перемішування зі швидкістю 150 об/хв (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017), в той час як у процесі біосинтезу наночастинок срібла за допомогою безклітинного екстракту *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 найвища концентрація AgNPs в реакційній суміші спостерігається при 50 об/хв (Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020).

Вплив на кількість отриманих наночастинок також можуть мати різноманітні фактори навколишнього середовища, або ж додавання певних речовин. Так, Iqtedar зі співавт. показали, що за використання *Bacillus mojavensis* ВТСВ15 для біосинтезу AgNPs відзначався позитивний вплив внесення Tween 20, після якого спостерігалось зменшення розмірів наночастинок, що автори пов'язують зі збільшенням активності ферментів, що відновлюють аргентум. Той же ефект спостерігався і при внесенні сульфату калію, за якого також спостерігалось пришвидшення реакції (Iqtedar та ін., 2019). У іншій праці, El-Dein зі співавт. досліджували параметри біосинтезу наночастинок срібла з використанням *Escherichia coli* D8 MF06257 і виявили, що при перебуванні на світлі протягом 6 хв біосинтез проходив швидше, ніж за його відсутності впродовж 84 годин (El-Dein, Вака, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021). У іншій праці було зафіксовано позитивний вплив сонячного освітлення (750×100 люкс) на біосинтез наночастинок з використанням безклітинного екстракту *Fusarium oxysporum* (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013). Використовуючи для біосинтезу безклітинний екстракт *Aspergillus foetidus* МТСС8876, Roy зі співавт. встановили, що оптимальним для утворення наночастинок було незначне розведення екстракту водою (10%). Також встановлено позитивний вплив невеликої концентрації хлориду натрію у середовищі (0,2%), що підвищувало активність ензимів (Roy, & Das, 2014).

Отже, після аналізу праць, присвячених оптимізації біосинтезу наночастинок срібла, можна зробити висновок, що в основному покращенню процесу сприяють високі температурні значення (Iqtedar, 2019; Rose, 2018; Xue, 2016; Solis-Sandi, 2023; Cui, 2022; Singh, 2013; Birla, 2013; Saxena, 2017), проте у більшості випадків існує межа температур, за яких відбувається пригнічення клітинних метаболітів,

відповідальних за синтез, за рахунок чого утворення AgNPs сповільнюється (El-Saadony, 2019; Roy, 2014; Balakumaran, 2016; Singh, 2013; Salvadori, 2017). Також в більшості випадків формуванню наночастинок сприяє підвищення лужності середовища (Xue, 2016; Solis-Sandi, 2013; Roy, 2014; Balakumaran, 2016; Birla, 2013; Saxena, 2017), проте за використання деяких грибів оптимальними є кислі значення рН (Al-Soub, 2022; Salvadori, 2017; Khleifat, 2022). Опрацьовані дані також свідчать про те, що в основному оптимальним є внесення порівняно невисоких концентрацій (0,5-3 мМ) попереднику наночастинок – нітрату аргентуму (Ma, 2017; El-Dein, 2021; Spagnoletti, 2019; Al-Limoun, 2019; Khleifat, 2022; Volbanabad, 2020). На додаток до цього, відзначається значний вплив умов культивування біологічного агента, а саме тривалості, температури та складу поживного середовища. Так, при використанні поживних середовищ, котрі є багатшими на мікроелементи та джерела вуглецевого та азотного живлення, спостерігається утворення більшої кількості наночастинок, що може бути пов'язано з накопиченням більшої кількості метаболітів, відповідальних за відновлення срібла (Ma, 2017; Al-Limoun, 2019; Khleifat, 2022; Birla, 2013; Saxena, 2017). Проте варто зазначити, що виокремлені закономірності не є універсальними для усіх біологічних агентів і є унікальними для кожного окремо взятого штаму мікроорганізмів.

Узагальнена інформація щодо оптимізації біосинтезу наночастинок срібла з використанням мікроорганізмів наведена у табл. 2.1.

## Оптимізація біосинтезу наночастинок срібла

Продуцент (умови культивування)	Показник для оптимізації біосинтезу наночастинок	Оптимальні параметри для біосинтезу наночастинок	Форма та розміри наночастинок	Джерело
<i>Bacillus pseudomycooides</i> MT32 (24 год, 30°C, рН 7, 160 об/хв)	-Поживне середовище для культивування продуцента -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -рН -Співвідношення об'єму фільтрату клітин продуцента до внесеного розчину AgNO <sub>3</sub> -Швидкість перемішування	-Середовище NB  -40 год -30°C -2 мМ -рН 6,5 -2:3  -140 об/хв	25-43 нм, сферичні	El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019
<i>Bacillus subtilis</i> DSM 10, <i>Bacillus megaterium</i> DSM 32, <i>Cupriavidus necator</i> DSM 545 (24 год, 37°C, 120 об/хв)	-Штам біологічного агента -Позаклітинний чи внутрішньоклітинний тип біосинтезу -Температура біосинтезу -рН	- <i>Bacillus subtilis</i> DSM 10 - позаклітинний синтез (використання супернатанту) -60°C -рН 10	20,8 нм, сферичні	Solis-Sandi та ін., 2023
<i>Bacillus mojavensis</i> BTCB15 (72 год, 37°C, 120 об/хв, рН 7)	-Температура біосинтезу -рН -Додавання сурфактантів -Додавання солей металів	-55°C -рН 8 -додавання Твин-20 (10%) -додавання K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (10%)	2,3 нм, сферичні	Iqtedar та ін., 2019
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LRVP54 (24 год, 30°C)	-Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу	-0,7 мМ -70°C	8-12 нм, сферичні	Singh та ін., 2013

Продовження табл. 2.1

<i>Escherichia coli</i> D8 MF06257 (48 год, 37°C, 150 об/хв)	-Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу -рН -Тривалість біосинтезу -Тривалість обробки сонячним світлом	-1,5 мМ -35°C -рН 7 -72 год -6 хв	6-17 нм, сферичні	El-Dein, Baka, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021
<i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>spizizenii</i> MT5 (48 год, 30°C, 160 об/хв)	-Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -рН -Співвідношення об'ємів супернатанту та розчину AgNO <sub>3</sub> -Тип середовища для культивування бактерій	-40 год -35°C -3 мМ -рН 7 -1:4  -Середовище NB	38-49 нм, сферичні	El-Saadony, El-Wafai, El-Fattah, & Mahgoub, 2018
<i>Chlorella</i> sp. (10 днів, 28±5°C з чергуванням темнових та світлових періодів (12:12))	-Концентрація AgNO <sub>3</sub>	-0,5 мМ	10-20 нм, сферичні	Kashyap та ін., 2019
<i>Penicillium oxalicum</i> GRS-1 (96 год, 28°C, 150 об/хв)	-рН -Температура біосинтезу -Концентрація AgNO <sub>3</sub>	-рН 7 -60°C -1,5 мМ	10-40 нм, сферичні	Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018
<i>Penicillium aculeatum</i> Su1 (28°C, 160 об/хв)	-Поживне середовище для культивування продуцента -Тривалість культивування -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -рН -Кількість внесеної біомаси (живої чи мертвої)	-Середовище картопляно-декстрозний бульйон -72 год -96 год -37°C -2 мМ -рН 8 -20 г живої біомаси на 100 мл деіонізованої води	30-40 нм, сферичні	Ma та ін., 2017

Продовження табл. 2.1

<i>Aspergillus flavus</i> (24 год, 33°C, 150 об/хв, рН 7)	-Концентрація біомаси для приготування безклітинного екстракту -Температура біосинтезу -рН -Тривалість біосинтезу	-100 г/л  -27°C -рН 4 -144 год	10-35 нм, сферичні	Al-Soub та ін., 2022
<i>Aspergillus foetidus</i> MTCC8876 (96 год, 28°C, 120 об/хв)	-Концентрація безклітинного екстракту -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу -рН -Тривалість біосинтезу -Концентрація NaCl	-90% -4 мМ -30°C -рН 9 -72 год -0,2%	68 нм	Roy, & Das, 2014
<i>Trichoderma longibranchiatum</i> (72 год, 28°C, 100 об/хв)	-рН -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу	-рН 7 -2 мМ -55°C	20-35 нм, сферичні чи багатогранні	Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022
<i>Tritirachium oryzae</i> W5H (72 год, 33°C, 150 об/хв)	-Тип поживного середовища для вирощування продуцента -Кількість біомаси для приготування безклітинного екстракту -рН безклітинного екстракту -Температура витримки біомаси -Тривалість витримки біомаси -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу -рН	-Середовище з глюкозою, дріжджовим екстрактом і NaCl -200 г/л  -рН безклітинного екстракту 7 -40°C -96 год -1 мМ -40°C -рН 7	7-75 нм, сферичні	Al-Limoun та ін., 2019

## Продовження табл. 2.1

<i>Macrophomina phaseolina</i> (168 год, 28°C, 150 об/хв)	-Тип середовища для культивування -Концентрація AgNO <sub>3</sub>	-Картопляно-декстрозний бульйон -1 мМ	5-30 нм, сферичні	Spagnoletti, Spedalieri, Kronberg, & Giacometti, 2019
<i>Aspergillus terreus</i> (7 діб, 27°C)	-Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу -рН	-6 мМ -30°C -рН 10	8-20 нм, сферичні	Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016
<i>Penicillium chrysogenum</i> BLS1 (120 год, 28°C)	-Тип поживного середовища для культивування грибів -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Концентрація біомаси для отримання безклітинного екстракту -рН -Температура біосинтезу	-Середовище глюкозо-картопляний бульйон -2 мМ  -10 г/л  -рН 11 -70°C	96,8 нм, сферичні	Saxena, Sharma, & Singh, 2017
<i>Fusarium oxysporum</i> (120 год, 25°C)	-Тип поживного середовища для культивування грибів -Концентрація біомаси для отримання безклітинного екстракту -рН -Температура отримання безклітинного екстракту -Температура біосинтезу -Вплив освітлення -Концентрація AgNO <sub>3</sub>	-Середовище MGYР (пептон 5 г/л, глюкоза 10 г/л) -60 г/л  -рН 9 -60°C  -100°C -Сонячне світло -2 мМ	10-20 нм, сферичні	Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013

## Продовження табл. 2.1

<p><i>Rhizopus stolonifer</i> MR11 (18 год, 36°C)</p>	<p>-Тип середовища для культивування грибів -Температура культивування -Тривалість культивування -Рівень рН під час культивування -Температура отримання безклітинного екстракту -Тривалість отримання безклітинного екстракту -Рівень рН під час отримання безклітинного екстракту -Концентрація біомаси для отримання безклітинного екстракту -Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу -Концентрація AgNO<sub>3</sub> -Рівень рН під час біосинтезу</p>	<p>-Середовище з крохмалем та дріжджовим екстрактом -33°C -18 год -рН 5 -30°C  -72 год -рН 6  -50 г/л  -33°C -72 год -1 мМ -рН 5</p>	<p>35 нм, сферичні</p>	<p>Khleifat та ін., 2022</p>
<p><i>Arthroderma fulvum</i> (7 діб, 28°C, 140 об/хв)</p>	<p>-Концентрація AgNO<sub>3</sub> -рН -Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу</p>	<p>-1,5 мМ -рН 10 -55°C -10 год</p>	<p>15,5±2,5 нм, сферичні</p>	<p>Хуе та ін., 2016</p>
<p><i>Meyerozyma guilliermondii</i> КХ008616 (12 год, 25°C, 200 об/хв)</p>	<p>-Присутність кисню при культивуванні -Температура біосинтезу -рН</p>	<p>-Аеробні умови -30°C -рН 7</p>	<p>16,3 нм, сферичні</p>	<p>Аламгі та ін., 2018</p>

Закінчення табл. 2.1

<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (20 год, 27°C, 150 об/хв)	-Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу -pH -Швидкість перемішування -Концентрація внесеної біомаси	-100 мг/л -30°C -1 год -pH 4 -150 об/хв -5 г/л	11 нм, сферичні	Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017
<i>Yarrowia lipolytica</i> DSM 3286 (72 год, 30°C, 150 об/хв)	-Використання культуральної рідини, промиї біомаси чи безклітинного екстракту -Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Концентрація біомаси -Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу -pH -Швидкість перемішування	-Використання безклітинного екстракту -2,5 мМ -7,5 г/л -30°C -16 год -pH 6 -50 об/хв	12,4±5,22 нм, сферичні	Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020

## 2.2. Оптимізація біосинтезу наночастинок золота

У наявній літературі є інформація про оптимізацію біосинтезу наночастинок срібла з використанням грибів (Kumari, 2016; Naimi-Shamel, 2019; Roy, 2016; Abdel-Kareem, 2018; Shakouri, 2016; Balakumaran, 2016), бактерій (Shiwaji, 2014; Desai, 2020; Li, 2016; Wadhvani, 2014) та дріжджів (Zhang та ін., 2016).

**2.2.1. Оптимальні параметри культивування біологічного агента для біосинтезу наночастинок золота.** Тривалість культивування біологічного агента може мати вплив на біосинтез не лише срібних, а і золотих наночастинок. Часто це пов'язано з тим, що за тривалішого вирощування можна отримати більшу кількість біомаси, що далі використовується у процесі біологічного синтезу. Наприклад, Wadhvani зі співавт. показали, що чим довше триває культивування *Acinetobacter* sp. SW 30, тим більше в подальшому можна отримати золотих наночастинок. Такий ефект автори пов'язують зі збільшенням кількості клітин для біосинтезу, котра була максимальною ( $2,4 \times 10^6$  КУО/мл) за найбільшої досліджуваної тривалості культивування – 24 год (Wadhvani, Shedbalkar, Singh, Karve, & Chopade, 2014). Подібні висновки зробила і група дослідників на чолі з Li, які встановили, що чим більшим є значення оптичної густини культуральної рідини *Deinococcus radiodurans* R1, котра збільшується з часом вирощування бактерій, тим більше AuNPs можна отримати. Так, найбільше наночастинок срібла вдалося отримати шляхом культивування бактерій до досягнення значення оптичної густини (OD<sub>600</sub>) 1 (Li, та ін., 2016). Zhang зі співавт. встановили, що найкраще біосинтез золотих наночастинок за допомогою *Magnusiomyces ingens* LH-F1 відбувається при використанні культуральної рідини досліджуваних дріжджів, які вирощували до досягнення значення оптичної густини 2,0 (OD<sub>600</sub>) (Zhang та ін., 2016).

**2.2.2. Оптимальні температурні параметри біосинтезу наночастинок золота.** Як і під час біосинтезу наночастинок срібла, у процесі біосинтезу золотих наночастинок одну з ключових ролей відіграє температура реакції. У своїй праці, Kumari зі співавт. визначили, що за використання безклітинного екстракту *Trichoderma viride* МТСС 5661 найбільше наночастинок синтезується при

температурі 30°C (Kumari та ін., 2016). В той же час, біосинтез AuNPs за допомогою *Trichoderma hamatum* SU136 найкраще проходить при 38°C (Abdel-Kareem, & Zohri, 2018). Naimi-Shamel зі співавт. у ході свого дослідження встановили, що оптимальною температурою для біосинтезу наночастинок золота за допомогою *Fusarium oxysporum* UTMC-5026 є 30°C (Naimi-Shamel, Pourali, & Dolatabadi, 2019). Ідентичні температурні параметри витримки реакційної суміші також виявилися оптимальними і у випадку отримання золотих наночастинок з використанням *Aspergillus terreus* (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016). У іншій праці, Shakouri зі співавт. встановили, що найбільше AuNPs з використанням супернатанту *Aspergillus flavus* найвища концентрація наноматеріалу в реакційній суміші досягається за 28°C (Shakouri, Salouti, Mohammadi, & Zonooz, 2016). При використанні бактерій *Deinococcus radiodurans* R1 для отримання золотих наночастинок оптимальним найшвидше біосинтез відбувається при 32°C (Li, та ін., 2016).

При використанні деяких біологічних агентів оптимальним може бути використання високих температур для витримування реакційної суміші. Наприклад, у своїй праці Waldhwani зі співавт. продемонстрували, що у ході біосинтезу за допомогою біомаси *Acinetobacter* sp. SW 30 спостерігається збільшення кількості синтезованих наночастинок золота з підвищенням температури. Проте процес майже повністю пригнічувався при максимальній досліджуваній температурі (60°C), а отже оптимальним є підігрів реакційної суміші до 50°C (Wadhvani, Shedbalkar, Singh, Karve, & Chopade, 2014). Також, група авторів на чолі з Roy визначили, що використовуючи безклітинний екстракт *Aspergillus foetidus* MTCC8876 максимальну кількість наночастинок срібла можна отримати при 75°C (Roy, Das, Maiti, & Basu, 2016). У іншій роботі Desai зі співавт. встановлювали оптимальні параметри отримання наночастинок золота за допомогою *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2. Отримані дані вказують на те, що кількість AuNPs збільшувалась з часом при підвищенні температури реакційної суміші, та сягала максимуму при 80°C (Desai, Patil, Harke, & Pawar, 2020).

**2.2.3. Оптимальна концентрація вихідної речовини для біосинтезу наночастинок золота.** Не менш важливою у процесі біосинтезу наночастинок золота є концентрація вихідної сировини – хлороауринової кислоти ( $\text{HauCl}_4$ ). Наприклад, Naimi-Shamel зі співавт., продемонстрували, що біосинтез AuNPs за допомогою *Fusarium oxysporum* UTMC-5026 найкраще проходить після доведення концентрації тетрахлораурату в реакційній суміші до 3,5 мМ (Naimi-Shamel, Pourali, & Dolatabadi, 2019). У іншій праці було встановлено, що використовуючи *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 найбільше наноматеріалу утворюється при 3 мМ  $\text{HauCl}_4$  (Desai, Patil, Harke, & Pawar, 2020). В той же час, використовуючи *Aspergillus flavus* найбільше наночастинок золота можна отримати за кінцевої концентрації тетрахлораурату 2,5 мМ (Shakouri, Salouti, Mohammadi, & Zonooz, 2016). Лі зі співавт. визначили, що у процесі біосинтезу за допомогою *Deinococcus radiodurans* R1 кількість синтезованих наночастинок збільшувалась зі збільшенням концентрації внесеного попередника і була максимальною при 5 мМ  $\text{HauCl}_4$  (Li, та ін., 2016).

Низькі концентрації тетрахлораурату також можуть бути оптимальними при використанні деяких біологічних агентів для біосинтезу. Так, Shiwaji зі співавт. показали, що біосинтез наночастинок золота за допомогою *Streptomyces hygroscopicus* найкраще проходить при  $10^{-4}$  мМ  $\text{HauCl}_4$  (Shiwaji, Arvind, & Zygmunt, 2014). Для отримання AuNPs з використанням *Trichoderma hamatum* SU136 оптимальним є внесення 0,5 мМ тетрахлораурату до реакційної суміші (Abdel-Kareem, & Zohri, 2018), як і під час біосинтезу за допомогою *Acinetobacter* sp. SW 30 (Wadhvani, Shedbalkar, Singh, Karve, & Chopade, 2014). Balakumaran зі співавт. встановили, що максимальна кількість наночастинок золота при використанні безклітинного екстракту *Aspergillus terreus* утворювалася за мінімальної кількості внесеного попередника (1 мМ) (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016). Дана концентрація попередника AuNPs також була оптимальною і в процесі біосинтезу за допомогою дріжджів *Magnusiomyces ingens* LH-F1 (Zhang та ін., 2016). У ході отримання наночастинок золота з використанням *Trichoderma viride* МТСС 5661 оптимальним є внесення 250 мг/л

HAuCl<sub>4</sub> (Kumari та ін., 2016). Варто зазначити, що концентрація HAuCl<sub>4</sub> може впливати не лише на кількість отриманих наночастинок, а і на форму та розміри, від яких значно залежать біологічні властивості AuNPs. Наприклад, Roy зі співавт. показали, що найменші наночастинок при використанні безклітинного екстракту *Aspergillus foetidus* MTCC8876 було отримано при 1 мМ тетрахлораурату, за вищих концентрацій утворювалися полідисперсні наночастинок великих розмірів (Roy, Das, Maiti, & Basu, 2016).

В деяких випадках тривалий біосинтез є недоречним, адже біосинтез припиняється у зв'язку з вичерпанням тетрахлораурату – попередника наночастинок. Так, Shakouri зі співавт. встановили, що за використання оптимальних параметрів біосинтезу для супернатанту *Aspergillus flavus*, а саме температури та концентрації HAuCl<sub>4</sub>, максимальна концентрація AuNPs досягається вже на 6 годині реакції, після чого синтез не спостерігається (Shakouri, Salouti, Mohammadi, & Zonooz, 2016). Подібна ситуація спостерігалась і у випадку використання *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2, де біосинтез припинявся вже після 1 год витримки (Desai, Patil, Harke, & Pawar, 2020).

**2.2.4. Оптимальний рівень рН для біосинтезу наночастинок золота.** На процес біосинтезу наночастинок золота також впливає активність іонів водню в реакційній суміші, при цьому в більшості випадків оптимальним є підтримання нейтральних та лужних показників рН. Так, для біосинтезу золотих наночастинок за допомогою *Aspergillus flavus* оптимальним є підтримання рН середовища на рівні рН 6 (Shakouri, Salouti, Mohammadi, & Zonooz, 2016). В той же час, використовуючи *Aspergillus terreus* найбільше наноматеріалу можна отримати при рН 7 (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016), як і в процесі біосинтезу за допомогою *Streptomyces hygroscopicus* (Shiwaji, Arvind, & Zygmunt, 2014). У іншій праці, Kumari зі співавт. встановили, що за біосинтезу з використанням безклітинного екстракту *Trichoderma viride* MTCC 5661 зі збільшенням рН середовища спостерігалась більша швидкість процесу та менші AuNPs. Зважаючи на це, оптимальним було визнано рН 9 (Kumari та ін., 2016), як і у випадку біосинтезу з використанням *Fusarium oxysporum* UTMC-5026, де

спостерігалася ідентична закономірність (Naimi-Shamel, Pourali, & Dolatabadi, 2019). Кількість наночастинок золота збільшувалась при підвищенні лужності реакційної суміші та була максимальною за рН 9 і під час використання *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 (Desai, Patil, Harke, & Pawar, 2020). Підвищення рН також сприяло покращенню синтезу AuNPs за допомогою біомаси *Acinetobacter* sp. SW 30, проте у зразках з рН вище 9 процес майже повністю пригнічувався (Wadhvani, Shedbalkar, Singh, Karve, & Chopade, 2014). В той же час, оптимум лужності середовища для отримання максимальної кількості наночастинок золота за допомогою *Aspergillus foetidus* MTCC8876 лежить в межах рН 10-12 (Roy, Das, Maiti, & Basu, 2016).

Використання біологічного матеріалу деяких біологічних агентів потребує кислих середовищ. Наприклад, під час біосинтезу золотих наночастинок за допомогою *Deinococcus radiodurans* R1 оптимальним є підтримання кислотності середовища на рівні рН 4 (Li, та ін., 2016). У іншій праці, Abdel-Kareem зі співавторами встановили, що за використання безклітинного екстракту *Trichoderma hamatum* SU136 найінтенсивніша зміна забарвлення спостерігалася при рН 3, що свідчить про утворення найбільшої кількості наночастинок саме у даних зразках (Abdel-Kareem, & Zohri, 2018).

Отже, встановлено, що температурний оптимум для біосинтезу наночастинок золота для більшості мікроорганізмів знаходиться в діапазоні 28-38°C (Kumari, 2016; Naimi-Shamel, 2019; Abdel-Kareem, 2018; Shakouri, 2016; Balakumaran, 2016; Li, 2016). Як і для наночастинок срібла, швидкість біосинтезу AuNPs прямо пропорційна лужності середовища: чим вищим є значення рН, тим швидше відбувається біосинтез (Kumari, 2016; Naimi-Shamel, 2019; Roy, 2016; Desai, 2020; Wadhvani, 2014). Концентрація внесеного попередника золотих наночастинок ( $\text{HAuCl}_4$ ) також має вплив на процес і в основному оптимальним є внесення тетрахлораурату у концентраціях 0,5-3,5 мМ (Naimi-Shamel, 2019; Roy, 2016; Abdel-Kareem, 2018; Shakouri, 2016; Balakumaran, 2016; Desai, 2020; Zhang, 2016), проте синтез можливий і за таких низьких концентрацій, як  $10^{-4}$  мМ (Shiwaji, Arvind, & Zygmunt, 2014), і за вищих (5 мМ) (Li, та ін., 2016). Також можна

побачити, що можливо отримати наночастинки золота не лише сферичної, а й інших форм – шестикутної, п'ятикутної, чотирикутної чи трикутної (Naimi-Shamel, 2019; Abdel-Kareem, 2018; Shakouri, 2016; Zhang, 2016; Li, 2016; Wadhvani, 2014).

Узагальнена інформація щодо оптимізації біосинтезу наночастинок золота наведена у табл. 2.2.

## Оптимізація біосинтезу наночастинок золота

Продуцент (умови культивування)	Показник для оптимізації біосинтезу наночастинок	Оптимальні параметри для біосинтезу наночастинок	Форма та розміри наночастинок	Джерело
<i>Trichoderma viride</i> MTCC 5661 (96 год, 28°C, 80 об/хв)	-Концентрація безклітинного екстракту -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-10% -250 мг/л -рН 9 -24 год -30°C	5±0,79 нм, сферичні	Kumari та ін., 2016
<i>Fusarium oxysporum</i> UTMC-5026 (72 год, 30°C, 200 об/хв)	-Температура біосинтезу -рН -Тривалість біосинтезу -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub>	-30°C -рН 9 -48 год -3,5 мМ	22-30 нм, сферичні або шестикутні	Naimi-Shamel, Pourali, & Dolatabadi, 2019
<i>Aspergillus foetidus</i> MTCC8876 (96 год, 28±2°C, 150 об/хв)	-Концентрація безклітинного екстракту -рН -Температура біосинтезу -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub>	-10% -рН 10-12 -75°C -1 мМ	10-40 нм, сферичні	Roy, Das, Maiti, & Basu, 2016
<i>Streptomyces hygroscopicus</i> (96 год, 35°C, 200 об/хв)	-Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -рН	-10 <sup>-4</sup> мМ -рН 7	10-20 нм, сферичні	Shiwaji, Arvind, & Zygmunt, 2014
<i>Trichoderma hamatum</i> SU136 (240 год, 28°C)	-Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -рН	-38°C -72 год -0,5 мМ -рН 3	5-30 нм, сферичні, п'ятикутні, шестикутні	Abdel-Kareem, & Zohri, 2018

Закінчення табл. 2.2

<i>Aspergillus flavus</i> (48 год, 28°C, 200 об/хв)	-Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -рН	-28°C -6 год -2,5 мМ -рН 6	30-50 нм, сферичні, шестикутні та трикутні	Shakouri, Salouti, Mohammadi, & Zonooz, 2016
<i>Aspergillus terreus</i> (7 діб, 27°C)	-Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -Температура біосинтезу -рН	-1 мМ -30°C -рН 7	10-50 нм	Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016
<i>Pseudomonas stutzeri</i> KDP_M2 (72 год, 37°C, 120 об/хв)	-Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -Температура біосинтезу -Тривалість біосинтезу -рН	-3 мМ -80°C -1 год -рН 9	10-20 нм, сферичні	Desai, Patil, Harke, & Pawar, 2020
<i>Magnusiomyces ingens</i> LH-F1 (культивування до кінця лаг-фази, 30°C)	-Тривалість культивування  -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub>	-Культивування до досягнення значення оптичної густини 2,0 (OD <sub>600</sub> ) -1 мМ	10-80 нм, трикутні, шестикутні та п'ятикутні	Zhang та ін., 2016
<i>Deinococcus</i> <i>radiodurans</i> R1 (культивування до досягнення OD <sub>600</sub> =1, 32°C, 220 об/хв)	-Тривалість культивування  -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -рН -Температура біосинтезу	-Культивування до досягнення значення оптичної густини 1,0 (OD <sub>600</sub> ) -5 мМ -рН 4 -32°C	43,75 нм, сферичні, трикутні, неправильної форми	Li, та ін., 2016
<i>Acinetobacter</i> sp. SW 30 (24 год, 30°C, 200 об/хв)	-Тривалість культивування -Кількість клітин для біосинтезу -Концентрація H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> -рН -Температура біосинтезу	-24 год -2,4×10 <sup>6</sup> КУО/мл -0,5 мМ -рН 9 -50°C	10-30 нм, сферичні, трикутні, шестикутні та чотирикутні	Wadhwani, Shedbalkar, Singh, Karve, & Chopade, 2014

## 2.3 Оптимізація біосинтезу наночастинок металів платинової групи

Наночастинки металів платинової групи мають високий потенціал для використання у різних галузях промисловості. Наприклад, наночастинки платини (PtNPs) славляться своїми вираженими каталітичними властивостями, особливо у процесах окиснення та утворення органічних кислот, а також у реакціях гідрогенізації та ізомеризації. До того ж, вони можуть бути використані у якості покриття при виробництві нановолокон та полімерних мембран і, на додаток до цього, проявляють антибактеріальну та антиоксидантну активність (Desai, Patil, & Rawar, 2020). До металів платинової групи також входить паладій, наночастинки якого також проявляють виражені антиоксидантні та каталітичні властивості, що дозволяють використовувати їх, наприклад, для отримання 4-амінофенолу (прекурсор багатьох анальгетичних та антипіретичних лікарських засобів). До того ж, наночастинки паладію (PdNPs) можуть бути використані у якості протиракових агентів (Ha та ін., 2016). Як відомо, біологічний синтез наночастинок металів має ряд переваг перед фізичними та хімічними методами синтезу (Borse, 2015; Gaidhani, 2014; Matsumoto, 2021). Зважаючи на це, доцільним є дослідження оптимальних умов біосинтезу наночастинок металів платинової групи.

Варто зазначити, що у наявній літературі описано лише процес оптимізації біосинтезу наночастинок платини (Borse, 2015; Gaidhani, 2014; Matsumoto, 2021; Desai, 2020) та паладію (Desai, 2020; Ha, 2016; Cui, 2017; Wang, 2018). Тому далі буде розглянуто саме оптимізацію біосинтезу даних металів.

**2.3.1. Оптимізація біосинтезу наночастинок платини.** Ключовим фактором, який впливає на біосинтез наночастинок платини, є концентрація вихідної сировини, в якості якої в основному використовують гексахлороплатинову кислоту ( $H_2PtCl_6$ ). Так, Borse зі співавт. встановили, що у процесі біосинтезу платинових наночастинок з використанням безклітинного екстракту дріжджів *Saccharomyces boulardii* найбільше наноматеріалу утворюється за 0,5 мМ  $H_2PtCl_4$  (Borse, Kaler, & Banerjee, 2015). В той же час, за допомогою *Acinetobacter calcoaceticus* PUCM найбільшої концентрації PtNPs в реакційній суміші можна досягти після доведення кінцевої концентрації гексахлораурату до 1

мМ (Gaidhani, Yeshevkar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014). У іншому дослідженні, проведеному групою вчених на чолі з Matsumoto, було показано, що при використанні *Acidocella aromatica* DSM 27026<sup>T</sup> та *Acidiphilium crytprum* SJH найкраще біосинтез проходив при 2,5 мг/л, при цьому за допомогою *Acidocella aromatica* DSM 27026<sup>T</sup> можна було отримати менші наночастинки (16,1 нм), ніж застосовуючи *Acidiphilium crytprum* SJH (28,9 нм) (Matsumoto, Phann, & Okibe, 2021). Для біосинтезу платинових наночастинок в якості попередника наноматеріалу також може бути використано  $K_2PtCl_4$ , що у своїй праці продемонстрували Desai зі співавт. Дослідники встановили, що оптимальним для відновлення платини за допомогою *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 було внесення 4 мМ  $K_2PtCl_4$  (Desai, Patil, & Pawar, 2020).

Важливою також є температура біосинтезу платинових наночастинок. Для забезпечення оптимальних умов отримання наночастинок платини за допомогою супернатанту *Acinetobacter calcoaceticus* PUCM 1011 необхідно підтримувати температуру реакційної суміші на рівні 30°C (Gaidhani, Yeshevkar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014). При використанні з тією ж метою безклітинного екстракту *Saccharomyces boulardii* найбільше PtNPs синтезується при 35°C, при цьому концентрація біомаси у ході приготування безклітинного екстракту повинна становити 500 мг/мл (Borse, Kaler, & Banerjee, 2015). В іншій праці, Desai зі співавт. встановили, що оптимальною температурою для біосинтезу платинових наночастинок за допомогою *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 є 60°C, при цьому за використання вищих температур процес формування PtNPs пригнічувався (Desai, Patil, & Pawar, 2020).

Також було встановлено, що оптимальний час витримки реакційної суміші відрізняється для кожного біологічного агента. Наприклад, Gaidhani зі співавт. показали, що при використанні супернатанту *Acinetobacter calcoaceticus* PUCM 1011 кількість синтезованих PtNPs зростає з часом і досягає свого максимуму на 72 год біосинтезу (Gaidhani, Yeshevkar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014). Також було продемонстровано, що процес формування платинових наночастинок за допомогою *Saccharomyces boulardii* припинявся вже після 36 год біосинтезу, на що

вказувало вичерпання вихідної сировини – гексахлорплатинової кислоти (Borse, Kaler, & Banerjee, 2015). В той же час, біосинтез PtNPs за використання *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 припинявся вже після 2 год реакцій, коли досягалася максимальна кількість наноматеріалу та повне вичерпання  $K_2PtCl_4$  (Desai, Patil, & Pawar, 2020).

Активність іонів водню була також досліджена як один з факторів, які необхідно оптимізувати для отримання максимальної кількості платинових наночастинок. Було встановлено, що безклітинний екстракт *Saccharomyces boulardii* утворює найбільше PtNPs за pH 7 (Borse, Kaler, & Banerjee, 2015). Ідентичне значення pH також було оптимальним і при використанні *Acinetobacter calcoaceticus* PUCM 1011, що дозволяло отримати не тільки максимальну кількість наночастинок платини, а й наноматеріал найменших розмірів (2-3,5 нм) (Gaidhani, Yeshevkar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014). Було також встановлено, що для біосинтезу PtNPs за допомогою *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 оптимальним є pH 8 (Desai, Patil, & Pawar, 2020).

Отже, було встановлено, що біосинтез наночастинок платини відбувається в нейтральних та слабко лужних середовищах (Desai, 2020; Borse, 2015; Gaidhani, 2014) за невисоких концентрацій  $H_2PtCl_6$  (Borse, 2015; Gaidhani, 2014; Matsumoto, 2021), при цьому використання у якості попередника наночастинок  $K_2PtCl_4$  необхідно доводити концентрацію вихідної сировини до 4 мМ (Desai, Patil, & Pawar, 2020). Такий процес також вимагає вищої температури біосинтезу (60°C) (Desai, Patil, & Pawar, 2020), порівняно з використанням гексахлорплатинової кислоти (Borse, 2015; Gaidhani, 2014).

Узагальнена інформація щодо оптимізації біосинтезу наночастинок платини наведена у табл. 2.3.

## Оптимізація біосинтезу наночастинок платини

Продуцент (умови культивування)	Показник для оптимізації біосинтезу наночастинок	Оптимальні параметри для біосинтезу наночастинок	Форма та розміри наночастинок	Джерело
<i>Pseudomonas stutzeri</i> KDP_M2 (72 год, 37°C, 120 об/хв)	-Концентрація $K_2PtCl_4$ -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-4 мМ -рН 8 -2 год -60°C	2-5 нм, сферичні	Desai, Patil, & Pawar, 2020
<i>Saccharomyces boulardii</i> (48 год, 35°C, 200 об/хв)	-Концентрація біомаси для приготування безклітинного екстракту -Концентрація $H_2PtCl_6$ -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-500 мг/мл  -0,5 мМ -рН 7 -36 год -35°C	80-150 нм, сферичні	Borse, Kaler, & Banerjee, 2015
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> PUCM 1011 (48 год, 35°C, 200 об/хв)	-Концентрація $H_2PtCl_6$ -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-1 мМ -рН 7 -72 год -30°C	2-3,5 нм, кубічні	Gaidhani, Yeshevkar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014
<i>Acidocella aromatica</i> DSM 27026 <sup>T</sup> (24 год, 35°C, 100 об/хв)	-Концентрація $H_2PtCl_6$	-2,5 мг/л	16,1 нм, невизначена форма	Matsumoto, Phann, & Okibe, 2021
<i>Acidiphilium cryptum</i> SJH (24 год, 35°C, 100 об/хв)	-Концентрація $H_2PtCl_6$	-2,5 мг/л	28,9 нм, невизначена форма	Matsumoto, Phann, & Okibe, 2021

**2.3.2. Оптимізація біосинтезу наночастинок паладію.** Для досягнення найкращих показників для біосинтезу наночастинок паладію перш за все необхідно підібрати оптимальну концентрацію вихідної сировини для формування відповідного наноматеріалу. У якості попередника PdNPs в основному використовується хлорид паладію ( $\text{PdCl}_2$ ). У своїй праці, Desai зі співавт. встановили, що для отримання максимальної кількості наночастинок паладію за допомогою *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 необхідно внести до реакційної суміші внести 0,2 мг/л хлориду паладію (Desai, Patil, & Pawar, 2020). В той же час, групою дослідників на чолі з Wang було встановлено, що для біосинтезу PdNPs за допомогою *Shewanella loihica* PV-4 оптимальним є доведення концентрації  $\text{PdCl}_2$  до 210 мг/л (Wang та ін., 2018). Дана концентрація паладій хлориду також виявилась оптимальною і для процесу отримання наночастинок паладію з використанням *Enterococcus faecalis* CCTCC M2012445 (Ha та ін., 2016). Пізніше це також підтвердили Cui зі співавт., котрі використали той же штам мікроорганізмів (Cui та ін., 2017).

Концентрація біомаси біологічного агента, що безпосередньо використовується для отримання наночастинок паладію, також значно впливає на кількість отриманого наноматеріалу. Так, Wang зі співавт. визначили, що найкраще біосинтезу PdNPs відбувався під час використання культуральної рідини з значенням оптичної густини ( $\text{OD}_{600}$ ) 2.0, що дозволяє досягти не лише максимальної кількості наночастинок паладію, а і отримати найменші PdNPs (4-10 нм) (Wang та ін., 2018). Дослідження оптимальних умов біосинтезу наночастинок паладію за допомогою *Enterococcus faecalis* CCTCC M2012445 показало, що у разі використанні даного біологічного агента, оптимальним є використання 1,2 г/л біомаси (Ha, 2016; Cui, 2017).

Для отримання максимальної кількості наночастинок також необхідним є встановлення оптимальних температурних параметрів біосинтезу. Наприклад, Ha зі співавт. встановили, що за використання найвищої концентрації *Enterococcus faecalis* CCTCC M2012445 PdNPs у реакційній суміші можна досягти за витримки при 40°C (Ha та ін., 2016). Пізніше це також підтвердила інша група авторів, котра

також займалась дослідженням оптимальних умов біосинтезу для *Enterococcus faecalis* CCTCC M2012445 (Cui та ін., 2017). В той же час, було встановлено, що при використанні *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 кількість наночастинок паладію збільшувалась з підвищенням температури процесу та досягала максимуму на найвищій досліджуваній температурі (100°C) (Desai, Patil, & Pawar, 2020).

Опрацьовані дані також свідчать про значний вплив рН на біосинтез паладієвих наночастинок. Наприклад, Desai зі співавт. встановили, що найкраще біосинтез паладієвих наночастинок відбувається при рН 6 (Desai, Patil, & Pawar, 2020). У іншій праці, На зі співавт. продемонстрували, що найбільше PdNPs при біосинтезі з використанням *Enterococcus faecalis* CCTCC M2012445 утворюється при рН 3,5, що дозволяє отримати наночастинок з розміром менше 10 нм після 48 год (На та ін., 2016). В той же час, Cui зі співавт. використали ідентичний штам мікроорганізмів для отримання паладієвих наночастинок та визначили, що біосинтез проходить швидше при рН 3 та закінчується вже після 1 год біосинтезу (Cui та ін., 2017). В той же час, за використання *Pseudomonas stutzeri* KDP\_M2 біосинтез паладієвих наночастинок припиняється вже на 7 год процесу (Desai, Patil, & Pawar, 2020).

Отже, було встановлено, що для біосинтезу паладієвих наночастинок оптимальним є використання низьких концентрацій хлориду паладію (Desai, 2020; На, 2016; Cui, 2017; Wang, 2018), а також кислих (На, 2016; Cui, 2017) та нейтральних (Desai, Patil, & Pawar, 2020) значень рН. В той же час, найбільше PdNPs можна отримати при використанні невеликих концентрацій біомаси (На, 2016; Cui, 2016; Wang, 2018).

Узагальнена інформація щодо оптимізації біосинтезу наночастинок паладію наведена у табл. 2.4.

## Оптимізація біосинтезу наночастинок паладію

Продуцент (умови культивування)	Показник для оптимізації біосинтезу наночастинок	Оптимальні параметри для біосинтезу наночастинок	Форма та розміри наночастинок	Джерело
<i>Pseudomonas stutzeri</i> KDP_M2 (72 год, 37°C, 120 об/хв)	-Концентрація PdCl <sub>2</sub> -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-0,2 мг/л -рН 6 -7 год -100°C	5-10 нм, сферичні	Desai, Patil, & Pawar, 2020
<i>Enterococcus faecalis</i> ССТСС М2012445 (72 год, 30°C)	-Концентрація біомаси -Концентрація PdCl <sub>2</sub> -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-1,2 г/л -210 мг/л -рН 3,5 -48 год -40°C	10 нм, сферичні	На та ін., 2016
<i>Enterococcus faecalis</i> ССТСС М2012445 (72 год, 30°C)	-Концентрація біомаси -Концентрація PdCl <sub>2</sub> -рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-1,2 г/л -210 мг/л -рН 3 -1 год -40°C	-	Cui та ін., 2017
<i>Shewanella loihica</i> PV-4 (72 год, 30°C)	-Концентрація біомаси -Концентрація PdCl <sub>2</sub>	-Значення оптичної густини (OD600) 2.0 -210 мг/л	4-10 нм, сферичні	Wang та ін., 2018

### РОЗДІЛ 3. ОПТИМІЗАЦІЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ТА ЇХ СПОЛУК

За допомогою мікроорганізмів можливо синтезувати наночастинки не лише золота та срібла, а і, наприклад, наночастинок селену та інших металів, що можуть застосовуватися у харчовій чи інших сферах промисловості. У наявній літературі є інформація про оптимізацію біосинтезу наночастинок металів та їх сполук з використанням бактерій (Mollania, 2015; Safaei, 2022; Akçay, 2020; Karunagaran, 2017; Taran, 2017; Iqtedar, 2020; Rajendran, 2016; Tadayon, 2016), дріжджів (Faramarazi, 2020; Salvadori, 2014; Mala, 2014; Sur, 2019) та грибів (Adeleye, Kareem, & Kekere-Ekun, 2020).

Так, було досліджено вплив різних умов біосинтезу на процес отримання наночастинок селену за участі *Enterobacter* sp. Так, Mollania та співавт. вивчили оптимальну концентрацію селеніту натрію (0,25, 0,5, 1, 2, 3 та 4 мМ), рН (3, 5, 7, 9 та 11), температуру (4, 20, 25, 37, 45, 55, 65 та 75°C), а також концентрацію глюкози (0,5, 1, 2, 3 та 4 мМ). За концентрації селеніту 3 мМ спостерігався найкращий синтез наночастинок селену, а оптимальною температурою виявилось 37°C, адже за нижчих значень процес проходив повільніше, а за вищих відбувалося руйнування сполук, що приймають участь у відновленні Se. Для біосинтезу наночастинок селену оптимальним виявилось рН 7 (Mollania, Teyebee, & Narenji-Sani, 2015).

Також Акçай зі співавт. оптимізували процес біосинтезу наночастинок селену за використанням *Bacillus* sp. ЕКТ1. Для цього дослідники випробували різні концентрації внесеного оксиду селену (3,8, 4,7, 5,6, 6,4, 7,4, 8,2 та 9 мМ), рН (3, 5, 7, 9 та 11) та температуру (30, 33, 40 та 45°C). У результаті було виявлено, що кількість утворених наночастинок селену зростала зі збільшенням лужності середовища і була максимальною при рН 9, проте за вищих значень рН синтез повністю пригнічувався. При цьому оптимальними були невисокі температури біосинтезу (33°C) й значні концентрації SeO<sub>2</sub> (6,4 мМ) (Акçай, & Avci, 2020).

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>			
<b>Змн.</b>	<b>Арк.</b>	<b>№ докум.</b>	<b>Підпис</b>	<b>Дата</b>				
Розроб.		Коваль Р.В.			<b>РОЗДІЛ 3 Оптимізація біосинтезу наночастинок металів та їх сполук</b>	<b>Літ.</b>	<b>Арк.</b>	<b>Акрушів</b>
Консульт.							57	10
Керівник		Скороцька О.І.				<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.						57		
Зав.каф.		Стабніков В.П.						

Наночастинки селену також отримали Faramarzi зі співавт., для чого було використано пекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*. У ході досліджу автори дослідили оптимальну кількість селеніту натрію (25, 50, 75, 100 та 125 мкг/л), яку необхідно внести до культуральної рідини дріжджів для здійснення біосинтезу. Після аналізу отриманих даних було зроблено висновок, що найбільша кількість наночастинок селену утворювалася при внесенні  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у концентрації 125 мкг/л. Проте отримані таким чином наночастинки мали великі розміри (709 нм), в той час як найменші наночастинки (75 нм) формувалися при внесенні мінімальної кількості селеніту натрію (25 мкг/л). На додаток до цього, було досліджено антиоксидантну активність наночастинок шляхом додавання їх розчину до дифеніл пікрилгідразилу. Було виявлено, що антиоксидантна активність SeNPs зростала зі зменшенням концентрації внесеного попередника біосинтезу і була максимальною (48,5%) при внесенні 25 мкг/л селеніту натрію (Faramarzi, Anzabi, & Jafarizadeh-Malmiri, 2020).

Safaei зі співавт. отримали наночастинки селену з використанням клітин *Halomonas elongate* IBRC-M 10433, у ході чого було також досліджено оптимальну концентрацію глюкози (2,5, 5 та 7,5 г/л) у поживному середовищі для культивування бактерій, котрі далі використовували для біосинтезу SeNPs, а також концентрацію внесеного селеніту натрію (0,2, 0,4 та 0,8 г/л) та тривалість біосинтезу (24, 48 та 72 год). Ефективність біосинтезу оцінювали за протигрибковою активністю наночастинок відносно *Candida albicans*. Було виявлено, що найвища протигрибкова активність спостерігається у реакційній суміші з наночастинками, отриманими після культивування бактерій на середовищі з найбільшою кількістю глюкози. Такий ефект можна пояснити тим, що таке поживне середовище є більш сприятливим для росту та утворення метаболітів, відповідальних за синтез наночастинок, а отже і кількість утворених SeNPs була більшою. Також спостерігалось збільшення кількості наночастинок зі збільшенням концентрації селеніту натрію у реакційній суміші (Safaei та ін., 2022).

Було також розглянуто оптимальні параметри для біосинтезу наночастинок гематиту. Так, Rajendran зі співавт. використали з цією метою *Bacillus cereus* SVK1,

а для оптимізації процесу випробувано різні типи попередників для біосинтезу наночастинок гематиту (цитрат заліза, амонійний цитрат заліза, нітрат заліза, хлорид заліза, сульфат заліза, суміш хлориду заліза та сульфату заліза, суміш ферроціаніду та ферриціаніду калію), концентрацію прекурсора, співвідношення об'ємів внесеного попередника біосинтезу та супернатанту, рН та температури. Дослідники визначили, що найбільш оптимальним попередником для синтезу наночастинок гематиту виявився хлорид заліза, адже за його використання біосинтез проходив швидше (21 день), ніж при застосуванні інших попередників (35 день). При цьому, найбільша кількість наночастинок утворювалася за внесення 1 мМ FeCl<sub>3</sub> у співвідношенні 1:2 до об'єму супернатанту. Варто відзначити, що процес відбувався найшвидше за підтримки температури реакційної суміші на рівні 30°C та рН 9 (Rajendran, & Sen, 2016).

У іншій праці, Iqtedar зі співавт. займалися дослідженням оптимальних параметрів біосинтезу наночастинок оксиду цинку (ZnONPs) з використанням супернатанту *Bacillus cereus* MN181367. У процесі вивчалася оптимальна температура біосинтезу (30, 37, 40, 45 та 50°C), рН (5, 6, 7, 8 та 9), вплив додавання 1 мМ неорганічної солі (MgSO<sub>4</sub>, NaCl, CuSO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 1 мМ поверхнево-активних речовин (натрій додецил сульфат, EDTA, Tween 80, Tween 20 та поліетиленгліколь), концентрації ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (0,005, 0,05, 0,001, 0,01 та 0,1 М), тривалість біосинтезу (0,5, 1, 2, 24 та 48 год), а також наявність чи відсутність світла. Результати свідчать про те, що найбільша концентрація наночастинок у реакційній суміші спостерігалась за температури 37°C, в той час як вищі температури пригнічували синтез, а оптимальною концентрацією внесеного сульфату цинку виявилось 0,01 мМ. При цьому, кількість ZnONPs збільшувалась з підвищенням лужності середовища та тривалості біосинтезу. Також зафіксовано позитивний вплив внесення сульфату амонію в процесі культивування, що призводило до покращення утворення ферментів, відповідальних за синтез наночастинок, а також внесення додецил сульфату натрію під час біосинтезу, що дозволяло отримувати стабільніші наночастинок, що не піддаються злипанню (Iqtedar та ін., 2020).

Можливий також біосинтез наночастинок оксиду срібла за допомогою супернатанту *Bacillus thuringiensis* SSV1, оптимальні параметри для процесу були підібрані у роботі Karunagaran та співавт. Так, було досліджено вплив різних концентрацій  $\text{AgNO}_3$  (0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 та 3 мМ), співвідношення об'ємів супернатанту та розчину  $\text{AgNO}_3$  (1:1, 1:2, 1:4, 2:1 та 2:3), температуру біосинтезу (40, 50, 60, 70, 80 та 90°C) та рН (4, 5, 6, 7, 8 та 9). Було встановлено, що синтезу наночастинок сприяє підвищення лужності та температури реакційної суміші, проте синтез пригнічується температурою вище 80°C. Також виявлено, що оптимальним для біосинтезу є низькі концентрації нітрату срібла (1 мМ), проте для отримання найбільшої кількості наночастинок співвідношення об'ємів супернатанту та попереднику наночастинок повинно бути якомога меншим (Karunagaran, Rajendran, & Sen, 2017).

Також було досліджено можливість отримання наночастинок заліза з використанням грибів *Rhizopus stolonifer*, для чого визначалися оптимальні параметри процесу, такі як рН (4,5, 5, 5,5, 6 та 6,5) та температуру (25, 30, 35 та 40°C). Результати свідчать, що найбільша кількість наночастинок за використання промитої біомаси синтезувалася при рН 6 та температурі 35°C (Adeleye, Kareem, & Kekere-Ekun, 2020).

Можливий також біосинтез наночастинок, що в своїй основі містять кілька металів, як це зробили Tadayon зі співавт., котрі отримали наночастинки, що містять атоми заліза, нікелю та міді, з використанням у якості біологічного агента *Streptococcus equi*. У ході експерименту визначалися оптимальні умови для процесу, а саме рН (5,5, 7,5 та 9,5), тривалість біоредукції металів (24, 48, 72, 96 та 120 год) та температуру для біосинтезу (28, 35 та 42°C). У результаті було визначено, що найбільша кількість наночастинок утворювалася після 72 год біосинтезу, котрий проходив за рН 7,5 та температури 35°C (Tadayon, Jamshidi, & Esmaeili, 2016).

У іншій праці, Sur зі співавт. визначили можливість біосинтезу наночастинок, що містять атоми кадмію та селену за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. Для цього дріжджі вирощували на середовищі, що містить глюкозу (20 г/л),

дріжджовий екстракт (10 г/л) та триптон (20 г/л) впродовж 24 год при 30°C та 600 об/хв. Для біосинтезу до культуральної рідини вносили 4 мМ селеніту натрію, а також 1,3 мМ хлориду кадмію на 6, 8, 12 та 24 год біосинтезу. У процесі було визначено оптимальну концентрацію триптону для біосинтезу наночастинок, для чого його вносили як компонент поживного середовища у концентрації 20, 22,5, 25, 27,5 та 30 г/л. Дослідники визначили, що найбільша кількість наночастинок утворювалася при концентрації триптону 25 г/л, в той час як більші концентрації пригнічували синтез і при 30 г/л триптону синтез припинявся повністю. Це вказує на важливу роль триптону у біосинтезі CdSeNPs, що пояснюється наявністю у ньому негативно заряджених амінокислот, що притягують позитивно заряджені іони кадмію та сприяють нуклеації (Sur та ін., 2019).

Було досліджено і біосинтез наночастинок міді у роботі Salvadori зі співавт., котрі для цього використали автоклавовану біомасу дріжджів *R. mucilaginosa*. При цьому було визначено оптимальні умови для біосинтезу, такі як рН (2-6), температуру (20-60°C) та тривалість біосинтезу (5-360 хв), концентрацію попередника – CuCl<sub>2</sub> (25-600 мг/л), швидкість перемішування реакційної суміші (50-250 об/хв) та кількість внесеної автоклавованої біомаси (0,05 – 0,75 г/100 мл). Паралельно було проведено експеримент за використання живої біомаси. Дослідники визначили, що кращі показники біосинтезу було отримано саме за використання автоклавованої біомаси дріжджів, при цьому оптимальним було використання біомаси у кількості 7,5 г/л. Найвищий рівень біоредукції міді, а отже і утворення наночастинок, було зафіксовано при концентрації хлориду міді 300 мг/л та рН 5 після 1 год біосинтезу. Також зафіксовано позитивний вплив перемішування, що зумовлено покращенням процесів масообміну у реакційній суміші. Так, за швидкості перемішування 150 об/хв відзначається найбільша концентрація наночастинок міді (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2014).

У іншому дослідженні Bukhari зі співавт. визначали оптимальні параметри для утворення наночастинок оксиду міді з використанням *Streptomyces* sp. МНМ38. Для цього біосинтез здійснювали за різних концентрацій CuSO<sub>4</sub> (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 та 8), за різної тривалості (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 та 240 хв), різного

співвідношення об'єму внесеного розчину  $\text{CuSO}_4$  до об'єму супернатанту (1:2, 1:1 та 2:1), а також різних рН (6, 7 та 8). Як показало спектрофотометричне дослідження зразків реакційної суміші, найбільшу кількість наночастинок срібла було отримано при внесенні 5 мМ нітрату срібла й тривалості 60 хв. Також було виявлено, що найкраще формування наночастинок оксиду міді відбувається у нейтральному середовищі за рН 7 (Vukhari та ін., 2021).

Оптимізацією біосинтезу наночастинок оксиду міді також займалися Taran зі співавт. З цією метою було використано супернатант бактерій *Bacillus* sp. FU4, котрі культивували протягом різного часу (48, 72 та 96 год), до якого додавали сульфат міді у різних концентраціях (100, 10 та 1 мМ) та витримували впродовж різних відрізків часу (48, 72 та 96 год). Результати свідчать про те, що кількість утворених наночастинок збільшується зі збільшенням тривалості культивування та біосинтезу, в той час як при дослідженні оптимальних концентрацій внесеного попередника було виявлено, що найбільша кількість наночастинок оксиду міді синтезувалася при 100 мМ  $\text{CuSO}_4$  (Taran, Rad, & Alavi, 2017).

Клітини мікроорганізмів можуть бути використані і для біосинтезу наночастинок оксиду титану, котрі широко використовуються у промисловості як компоненти косметичних засобів чи фарби та чорнил. Так, у роботі Ağçeli та співавт. З цією метою було використано культуру *Streptomyces* sp. HC1, куди вносили метатинову кислоту (0,025 мМ  $\text{TiO}(\text{OH})_2$ ) у різних співвідношеннях до культуральної рідини (30:4, 30:6, 30:10 та 30:15) та витримували за різних температур (25, 30, 37 та 40°C), рН (5, 5,5, 6, 6,5 та 7) і тривалості (24, 48, 72 та 96 год). Отримані результати вказують на те, що найкраще процес проходить при максимальній лужності середовища та найменшого співвідношення розчину метатинової кислоти до культуральної рідини (30:15). При цьому, підвищення температури процесу пригнічувало біосинтез, а максимальна кількість синтезованих наночастинок спостерігалась при 25°C після 72 год реакцій (Ağçeli, Hammachi, Kodai, Cihangir, & Aksu, 2020).

Можливий також біосинтез наночастинок сульфідів цинку за допомогою дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* МТСС 2918, що у своїй роботі довели Mala зі

співавт. У ході дослідження також було випробувано різні умови для біосинтезу, а саме концентрацію розчину сульфату цинку (0,5, 1, 2,5 та 5 мМ), концентрацію внесеної промитої біомаси (0,5, 1, 1,5 та 2%) та тривалість біосинтезу (4, 8, 12, 24 та 30 год). Результати свідчать, що найбільшу кількість наночастинок було отримано після 24 год біосинтезу при концентрації внесеної біомаси 1% та 0,5 мМ сульфату цинку (Mala, & Rose, 2014).

Отже, аналіз літературних джерел свідчить, що з використанням мікроорганізмів можливо отримувати наночастинок не лише благородних металів (золота та срібла), а і, наприклад, селену (Mollania, 2015; Faramarazi, 2020; Safaei, 2022; Акçау, 2020), міді (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2014) та заліза (Adeleye, Kareem, & Kekere-Ekun, 2020). Також можливий біосинтез оксидів металів, наприклад оксиду срібла (Karunakaran, Rajendran, & Sen, 2017), міді (Bukhari, 2021; Taran, 2017), цинку (Iqtedar та ін., 2020), титану (Ağçeli, Hammachi, Kodal, Cihangir, & Aksu, 2020), та навіть наночастинок, котрі мають в своїй основі комплекс двох (Sur та ін., 2019) чи трьох (Tadayon, Jamshidi, & Esmaili, 2016) металів.

Узагальнена інформація щодо оптимізації біосинтезу металевих наночастинок наведена у табл. 3.1.

## Оптимізація біосинтезу металевих наночастинок

<i>Наночастинки селену</i>				
<i>Enterobacter</i> sp. (24 год, 37°C)	-Концентрація Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> -рН -Температура біосинтезу -Концентрація глюкози	-3 мМ -рН 7 -37°C -2 мМ	90-120 нм, стрижеподібні	Mollania, Teyebee, & Narenji-Sani, 2015
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (1 год, 32°C, 120 об/хв)	-Концентрація Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	-125 мкг/л	75 нм, сферичні	Faramarzi, Anzabi, & Jafarizadeh- Malmiri, 2020
<i>Halomonas elongata</i> IBRC-M 10433 (48 год, 37°C)	-Концентрація Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> -Концентрація глюкози -Тривалість біосинтезу	-0,8 мг/мл -7,5 мг/мл -48 год	5-10 нм, сферичні	Safaei та ін., 2022
<i>Bacillus</i> sp. ЕКТ1 (24 год, 33°C, 120 об/хв)	-Концентрація SeO <sub>2</sub> -рН -Температура біосинтезу	-6,4 мМ -рН 9 -33°C	126 нм, сферичні	Акçау, & Авсі, 2020
<i>Наночастинки міді</i>				
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (20 год, 27°C, 150 об/хв)	-Концентрація CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O -Тривалість біосинтезу -рН -Швидкість перемішування -Концентрація внесеної біомаси	-300 мг/л CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O -1 год -рН 5 -150 об/хв -7,5 г/л	10,5 нм, сферичні	Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2014
<i>Наночастинки заліза</i>				
<i>Rhizopus stolonifer</i> (72 год, 25°C, 100 об/хв)	-рН -Температура біосинтезу	-рН 6 -35°C	-	Adeleye, Kareem, & Kekere-Ekun, 2020

Продовження табл. 3.1

<i>Наночастинки оксиду срібла</i>				
<i>Bacillus thuringiensis</i> SSV1 (48 год, 37°C, pH 7)	-Концентрація AgNO <sub>3</sub> -Співвідношення об'ємів супернатанту та розчину AgNO <sub>3</sub> -Температура біосинтезу -pH	-1 мМ -1:4  -80°C -pH 9	30 нм, сферичні	Karunagaran, Rajendran, & Sen, 2017
<i>Наночастинки оксиду міді</i>				
<i>Streptomyces</i> sp. MHM38 (120 год, 30-32°C, 200 об/хв)	-Концентрація CuSO <sub>4</sub> -Тривалість біосинтезу -Співвідношення об'єму внесеного розчину CuSO <sub>4</sub> до об'єму супернатанту -pH	-5 мМ -1 год -1:1  -pH 7	1,72-13,49 нм, сферичні	Bukhari та ін., 2021
<i>Bacillus</i> sp. FU4 (96 год, 37°C)	-Тривалість культивування -Тривалість біосинтезу -Концентрація CuSO <sub>4</sub>	-96 год -96 год -100 мМ	2-41 нм, сферичні	Taran, Rad, & Alavi, 2017
<i>Наночастинки оксиду цинку</i>				
<i>Bacillus cereus</i> MN181367 (24 год, 37°C, 121 об/хв)	-Температура біосинтезу -pH -Вплив додавання солей та сурфактантів  -Концентрація ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O -Тривалість біосинтезу -Відсутність чи наявність освітлення	-37°C -pH 9 -додавання 1 мМ (NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1 мМ натрій додецил сульфату -0,01 М ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O -48 год -Наявність освітлення	58,77-63,3 нм, сферичні	Iqtedar та ін., 2020
<i>Наночастинки оксиду титану</i>				
<i>Streptomyces</i> sp. HC1 (24 год, 37°C, 150 об/хв)	-Співвідношення розчину TiO(OH) <sub>2</sub> до культуральної рідини -Температура біосинтезу -pH -Тривалість біосинтезу	-30:15  -25°C -pH 7 -72 год	30-70 нм, сферичні	Ağçeli, Hammachi, Kodal, Cihangir, & Aksu, 2020

Закінчення табл. 3.1

<b>Наночастинки сульфїду цинку</b>				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MTCC 2918 (48 год, 25°C, 180 об/хв)	-Концентрація ZnSO <sub>4</sub> -Концентрація внесеної біомаси -Тривалість біосинтезу	-0,5 мМ -1% -24 год	30-40 нм, сферичні	Mala, & Rose, 2014
<b>Наночастинки гематиту</b>				
<i>Bacillus cereus</i> SVK1 (48 год, 37°C, 100 об/хв, рН 6,5)	-Тип попередника для біосинтезу -Концентрація попередника -Співвідношення об'ємів супернатанту та доданого попередника -рН -Температура біосинтезу	-Хлорид заліза -1 мМ FeCl <sub>3</sub> -2:1  -рН 9 -30°C	15-40 нм, сферичні	Rajendran, & Sen, 2016
<b>Наночастинки комплексу заліза, нікелю та міді</b>				
<i>Streptococcus equi</i> (48 год, 37°C, 100 об/хв)	-рН -Тривалість біосинтезу -Температура біосинтезу	-рН 7,5 -72 год -35°C	23-89 нм, сферичні	Tadayon, Jamshidi, & Esmaeili, 2016
<b>Наночастинки комплексу кадмію та заліза</b>				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 (24 год, 30°C, 600 об/хв)	-Концентрація триптон у поживному середовищі	-25 г/л	5-9 нм, сферичні	Sur та ін., 2019

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### РОЗДІЛ 4. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 4.1. Поживні середовища та реактиви

*Середовище 1.* Середовище Сабуро (склад, г/л: декстроза – 40, агар бактеріологічний – 15, суміш (1:1) ферментованої тваринної тканини і панкреатичного гідролізату казеїну – 10, рН середовища – 5,6). Середовище даного складу застосовували з метою зберігання та пасивування культури мутантних дріжджів *S. cerevisiae* у пробірках на скошеному агарі.

*Середовище 2.* Середовище YPD 1 (склад, г/л: глюкоза – 20, дріжджовий екстракт – 10, пептон – 10). Середовище даного складу застосовували з метою культивування мутантних дріжджів *S. cerevisiae* для приготування безклітинного водного екстракту для біосинтезу наночастинок срібла.

*Середовище 3.* Середовище YPD 2 (склад, г/л: глюкоза – 20, дріжджовий екстракт – 10, пептон – 20). Середовище даного складу застосовували з метою культивування мутантних дріжджів *S. cerevisiae* для приготування безклітинного водного екстракту для біосинтезу наночастинок срібла.

*Середовище 4.* Середовище Рідера (склад, г/л: глюкоза – 20,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 3,  $\text{MgSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,7,  $\text{NaCl}$  – 0,5,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,1,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1). Середовище даного складу застосовували з метою культивування мутантних дріжджів *S. cerevisiae* для приготування безклітинного водного екстракту для біосинтезу наночастинок срібла.

#### 4.2. Отримання мутантного штаму дріжджів

Мутантний штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* отримували шляхом обробки ультрафіолетовим опроміненням суспензії клітин *S. cerevisiae* M437. З цією метою використовували бактерицидну лампу БУВ-30П (інтенсивність випромінювання  $20 \text{ ерг/мм}^2 \times \text{с}$ ) упродовж 90 с. Після обробки дріжджі пересівали на чашки Петрі із сусло-агаром та культивували 7 діб при  $30^\circ\text{C}$ .

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коваль Р.В.			<b>РОЗДІЛ 4 Матеріали та методи дослідження</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							67	3
Керівник		Скороцька О.І.				<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.						67		
Зав.каф.		Стабніков В.П.						

У результаті культивування утворювалися мутантні колонії *S. cerevisiae* рожевого кольору, які пересівали на щільне поживне середовище з метою депонування.

### **4.3. Культивування мутантних *Saccharomyces cerevisiae***

Культуру мутантних дріжджів *S. cerevisiae* зберігали у пробірках зі скошеним сусло-агаром при 4°C. Для приготування посівного матеріалу робили змив культури з поверхні скошеного агаризованого середовища (вміст інокуляту з концентрацією  $10^4 - 10^5$  клітин/мл становив 5 % від об'єму середовища) та вносили у колби, що містили по 150 мл стерильного середовища Рідера, YPD 1 та YPD 2. Процес культивування проводили у колбах об'ємом 750 мл з 150 мл поживного середовища при 30°C за режиму перемішування 320 об/хв впродовж 24 годин.

### **4.4. Біосинтез наночастинок срібла**

**4.4.1. Отримання безклітинного водного екстракту.** Після вирощування здійснювали центрифугування отриманої культуральної рідини за 3000 об/хв впродовж 30 хвилин. Супернатант відділяли, а осад, що містив клітини мутантних дріжджів, промивали бідистилятом для очищення від залишкових речовин культурального середовища. Операцію повторювали тричі. Отриману біомасу розчиняли у 150 мл стерилізованого бідистиляту та інкубували при температурі 30°C впродовж 72 годин за режиму перемішування 320 об/хв. Далі здійснювали центрифугування при 3000 об/хв впродовж 30 хвилин для відділення залишків клітин. Для наступних операцій використовували надосадову рідину (безклітинний екстракт), котрий відділяли від осаду та пропускали крізь стерильний шприцевий фільтр ( $d=0,22$  мкм) та використовували для подальшого біосинтезу наночастинок срібла.

**4.4.2. Визначення оптимальної концентрації  $AgNO_3$ .** Для визначення оптимальної концентрації нітрату срібла для біосинтезу наночастинок срібла до безклітинного водного екстракту мутантних дріжджів, отриманих після культивування на середовищі Рідера, YPD 1 та YPD 2, додавали розчин аргентум нітрату до отримання кінцевих концентрацій 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 і 3 мМ. Біосинтез здійснювали при 30°C за статичних умов впродовж 15 діб.

**4.4.3. Визначення оптимальної температури.** Після визначення оптимальних концентрацій нітрату срібла для біосинтезу AgNPs досліджували оптимальні температурні параметри синтезу. Для цього до безклітинного екстракту мутантних дріжджів, отриманих шляхом культивування на середовищах Рідера, YPD 1 та YPD 2, додавали AgNO<sub>3</sub> до досягнення раніше визначених кінцевих концентрацій та здійснювали біосинтез за статичних умов при температурі 30, 35, 40, 45 та 50 °C впродовж 15 діб.

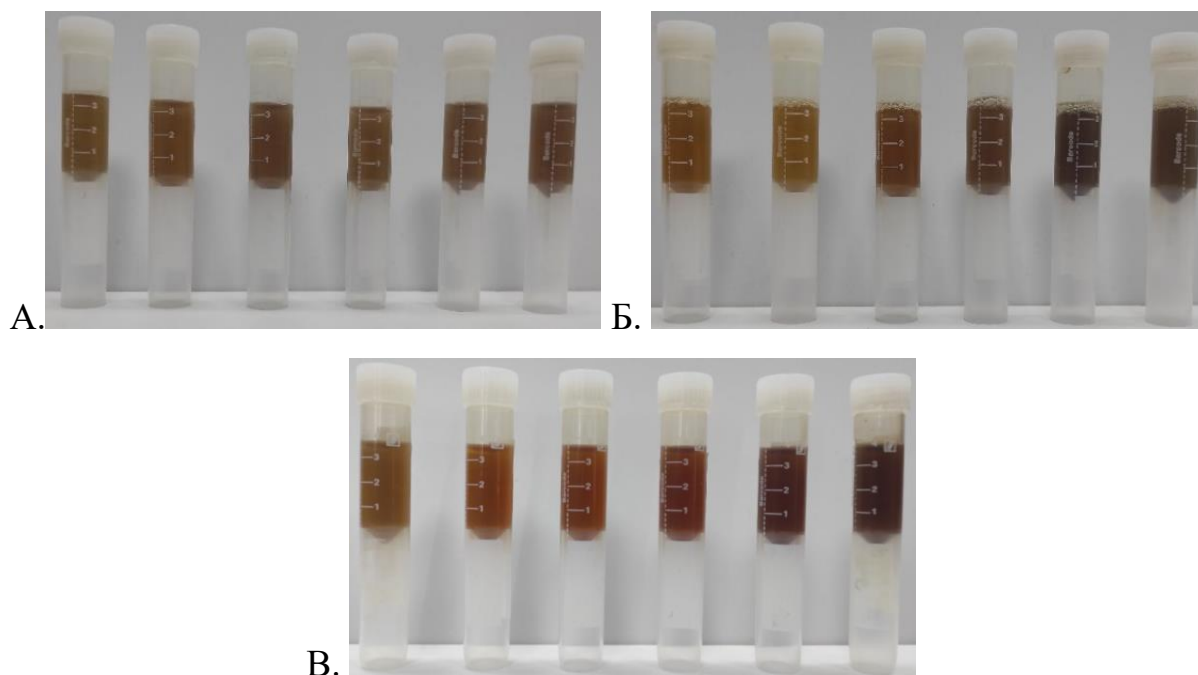
#### **4.5. УФ-видима спектрофотометрія зразків**

Дослідження спектрів поглинання світла зразками здійснювали за допомогою спектрофотометра UV-Vis (Thermo Spectronic UV300, Spectronic Unicam, England) в кварцових кюветах при діапазоні довжин хвиль 350-650 нм (роздільною здатність=2 нм). Характер поглинання світла зразками при визначенні оптимальної температури та концентрації AgNO<sub>3</sub> досліджували після 24, 48, 72, 96, 168, 216, 264 та 360 годин.

## РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ВИРОЩУВАННЯ МУТАНТНИХ ДРІЖДЖІВ ТА ПАРАМЕТРІВ БІОСИНТЕЗУ НА УТВОРЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Нами було здійснено біосинтез наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних *S. cerevisiae*.

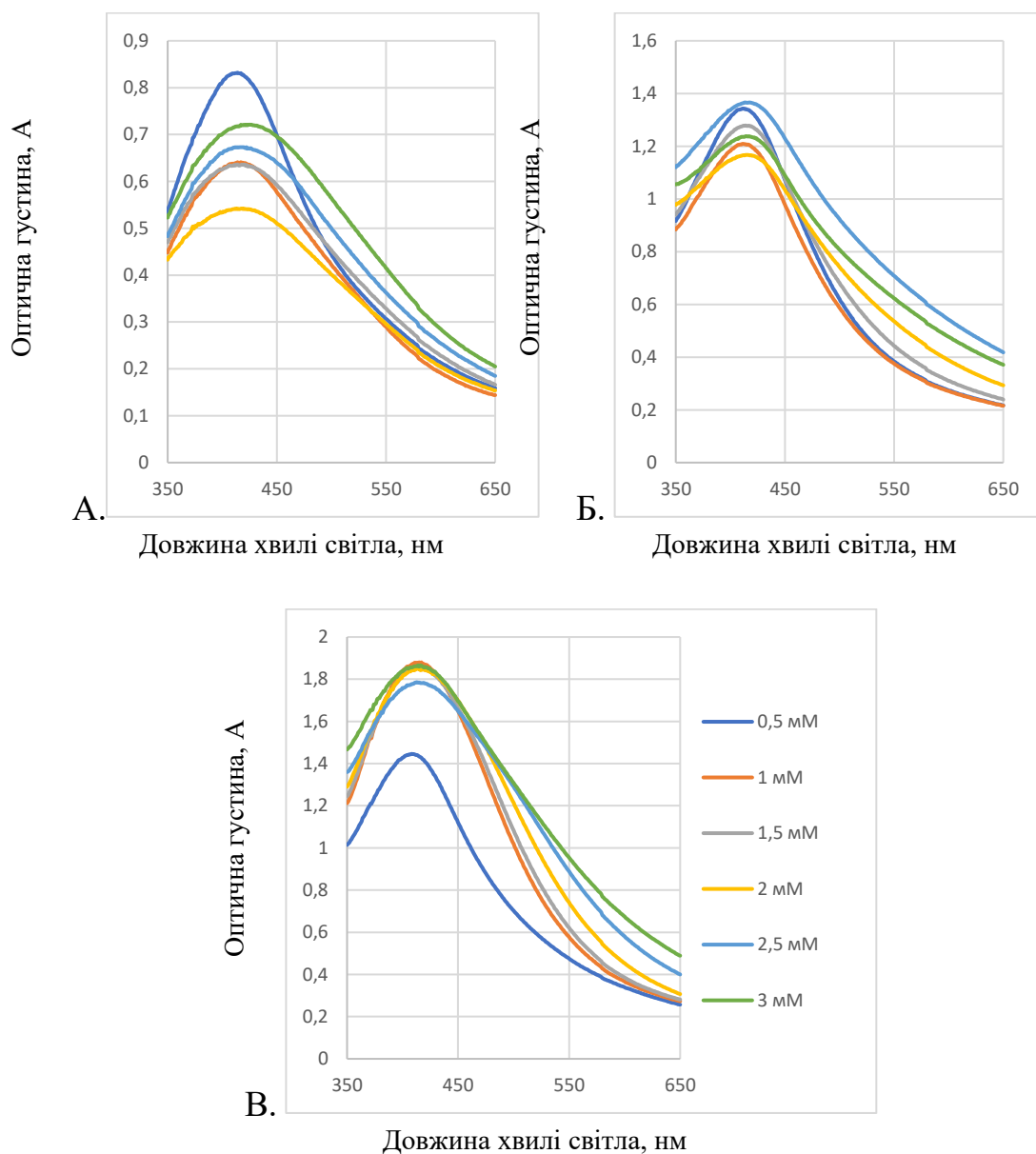
Першим етапом наших досліджень було визначення оптимальної концентрації для біосинтезу наночастинок, для чого до безклітинного екстракту дріжджів, що вирощували на різних поживних середовищах, додавали нітрат срібла у різних концентраціях та витримували при 30°C. У ході дослідження спостерігалася зміна забарвлення зразків з прозорого на початку витримки до темно-коричневого на 15 добу (рис. 5.1). Відповідні зміни забарвлення суміші є ознакою редукції срібних іонів і синтезу AgNPs (Matei, Matei, Matei, Cogălniceanu, & Cornea, 2020).



**Рис. 5.1.** Зразки реакційної суміші з кінцевою концентрацією (зліва направо) 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 і 3 мМ AgNO<sub>3</sub> (безклітинний екстракт отримували при культивуванні дріжджів на середовищі: А – Рідера, Б – YPD 1, В – YPD 2).

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>		
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Коваль Р.В.			Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.						70	5
Керівник		Скороцька О.І.			<b>Кафедра БТМ</b> 70		
Н. Контр.							
Зав.каф.		Стабніков В.П.					
					<b>РОЗДІЛ 5</b> Вплив складу поживного середовища вирощування мутантних дріжджів та параметрів біосинтезу на		

Характер поглинання світла зразками досліджували після 24, 48, 72, 96, 168, 216, 264 та 360 годин з використанням спектрофотометра UV-Vis в діапазоні довжин хвиль 350-650 нм (рис. 5.2).



**Рис. 5.2.** УФ-видимі спектри біосинтезованих AgNPs при використанні безклітинного екстракту мутантних дріжджів (дріжджі вирощували на середовищі: А – Рідера, Б – YPD 1, В – YPD 2).

Здійснивши аналіз спектрів поглинання досліджуваних зразків можна спостерігати виражений пік поглинання у діапазоні довжин хвиль 350-650 нм з середньою довжиною хвилі, за якої фіксувався максимум поглинання, близько 420 нм, що є ознакою наявності наночастинок срібла у реакційній суміші. З часом

значення оптичної густини збільшувалось, що свідчить про збільшення концентрації AgNPs у розчині (Win, Khan, & Fu, 2020).

### **5.1. Вплив складу поживного середовища на біосинтез наночастинок срібла**

Варто зазначити, що склад поживного середовища, на якому вирощували дріжджі, значно впливав на біосинтез наночастинок. Так, при використанні безклітинного екстракту, отриманого при культивуванні мутантних *S. cerevisiae* на синтетичному середовищі Рідера, максимальне значення оптичної густини досягало 0,83 при концентрації 0,5 мМ AgNO<sub>3</sub>, в той час як при використанні середовища YPD 1 за тієї ж концентрації нітрату срібла значення оптичної густини було більш ніж в 1,5 рази вищим. Такий ефект можна пояснити тим, що синтез наночастинок срібла відбувається шляхом відновлення Ag<sup>1+</sup> до Ag<sup>0</sup> за участі біомолекул безклітинного екстракту, в основному ферментів, чий синтез значно залежить від якісного та кількісного складу поживного середовища (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013). Так, середовище YPD містить такі природні компоненти, як пептон та дріжджовий екстракт, які відсутні на середовищі Рідера. В той же час, вища концентрація пептону у середовищі YPD 2 (20 г/л) також мала позитивний ефект на синтез AgNPs, що підтверджують дані, зображені на рисунку 5.2.

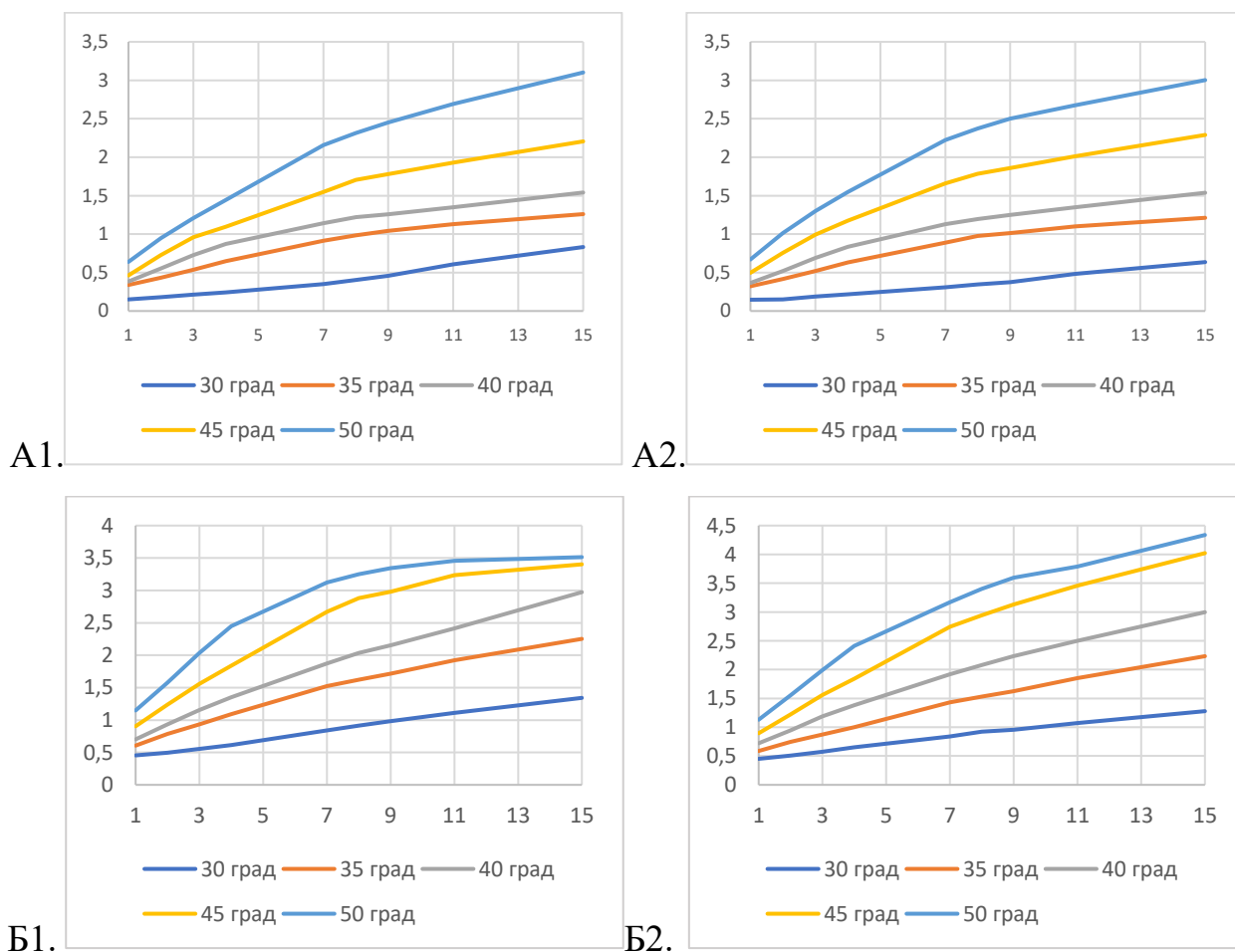
### **5.2. Вплив концентрації нітрату срібла на біосинтез наночастинок срібла**

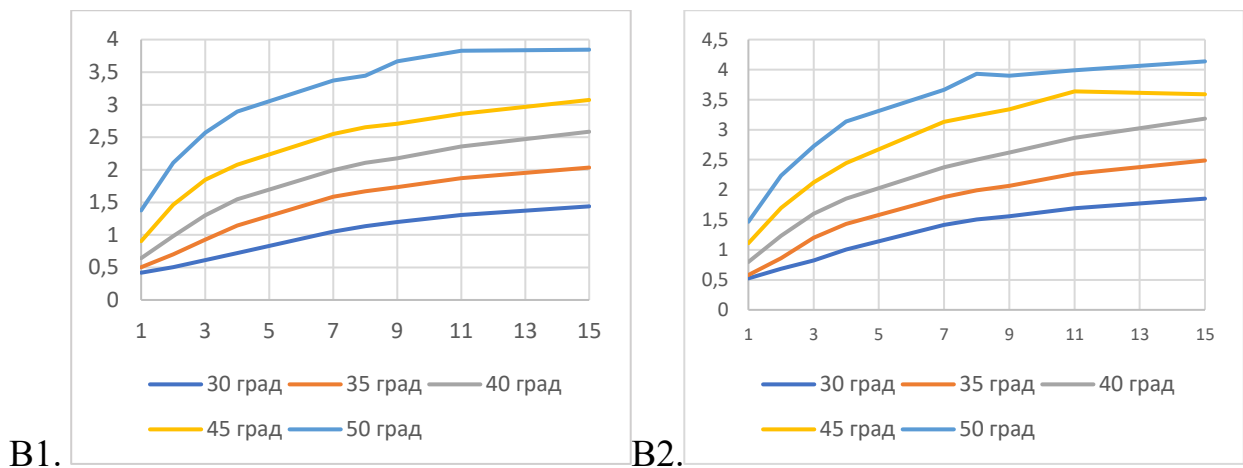
Концентрація нітрату срібла також мала значний вплив на біосинтез наночастинок. Як видно з рисунку 3.2, при використанні безклітинного екстракту дріжджів після їх вирощування на середовищі Рідера найкращі результати спостерігалися у зразках з кінцевою концентрацією 0,5 мМ AgNO<sub>3</sub>. Дещо гірші дані фіксувалися у зразках з 1,5 мМ нітрату срібла. Схожа ситуація спостерігається і у зразках з безклітинним екстрактом, отриманим після культивування на YPD 1. Найбільше значення поглинання світла спостерігається за концентрації 2,5 мМ AgNO<sub>3</sub>, проте отриманий пік є досить широким, що може означати формування наночастинок срібла великих розмірів чи їх агломерацію. Подібні зміни можуть впливати на біологічні властивості наночастинок, а саме на їх антимікробні та противірусні властивості, адже чим меншими є AgNPs, тим більш виражену

бактерицидну, фунгіцидну та віруліцидну дію вони здатні проявляти (Tang, & Zheng, 2018). Таким чином, при використанні YPD 1 для культивування дріжджів найкращі результати також отримували у зразках з кінцевою концентрацією нітрату срібла 0,5 та 1,5 мМ.

### 5.3. Вплив температури на біосинтез наночастинок срібла

Після визначення оптимальної концентрації нітрату срібла визначали оптимальні температурні значення для біосинтезу, для чого до зразків безклітинного екстракту додавали  $\text{AgNO}_3$  до кінцевих концентрацій 0,5 та 1,5 мМ та інкубували за 35, 40, 45 та 50 °С. Характер поглинання світла зразками досліджували так само, як і при визначенні оптимальних концентрацій нітрату срібла. Після вимірювання спектрів поглинання світла досліджуваних зразків було побудовано графіки зміни максимального значення поглинання світла з часом (рис. 5.3).





**Рис. 5.3.** Зміна максимуму поглинання світла у процесі біосинтезу AgNPs (дріжджі вирощували на середовищі: А – Рідера, Б – YPD 1, В – YPD 2; індекси означають концентрацію AgNO<sub>3</sub>: 1 – 0,5 мМ, 2 – 1,5 мМ).

Отже, чим вищою є температура біосинтезу, тим більшим є максимум поглинання зразків, а отже і краще відбувається синтез наночастинок. Так, найбільше значення поглинання фіксується у зразках з температурою біосинтезу 45 та 50 °С. Проте в процесі повного аналізу усіх спектрів поглинання при біосинтезі за температури 50 °С (у роботі не наведено) спостерігалось зменшення максимуму поглинання світла з часом, що може свідчити про низьку стабільність процесу. Зважаючи на це, найбільш оптимальною температурою для біосинтезу AgNPs з використанням безклітинного водного екстракту мутантних дріжджів варто визнати 45 °С.

## РОЗДІЛ 6. ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

### 6.1. Температурні параметри процесу

**6.1.1. Оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла при використанні бактерій.** Температура біосинтезу є одним з ключових факторів, що впливають на утворення наночастинок срібла. Наприклад, El-Saadony зі співавт. визначили, що оптимальною температурою для біосинтезу AgNPs за допомогою супернатанту *Bacillus pseudomycooides* MT32 є 30°C. За нижчих температур біосинтез проходив повільніше, в той час як вищі температури призводили до руйнування речовин, відповідальних за відновлення срібла (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). Аналогічні результати було отримано при дослідженні оптимальної температури утворення AgNPs для *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5, проте в цьому випадку оптимальне значення знаходилось на рівні 35°C (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018). Схожі висновки зробили El-Dein зі співавт., які встановили, що оптимальним для процесу біосинтезу з використанням *Escherichia coli* D8 MF06257 є підтримання температури на рівні 35°C (El-Dein, Вака, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021).

Вищою оптимальною температурою біосинтезу срібних наночастинок відрізняється *Bacillus mojavensis* ВТСВ15. Було встановлено, що за 55°C біосинтез відбувався найкраще, в той час як за вищих температур процес пригнічувався (Iqtedar та ін., 2019). В той же час, при біосинтезі наносрібла з використанням супернатанту *Bacillus subtilis* DSM 10, кількість утворених AgNPs збільшувалась з підвищенням температури біосинтезу, і була максимальною при 60°C (Solis-Sandi та ін., 2023). Singh зі співавт. визначили, що при синтезі наночастинок з використанням безклітинного екстракту *Acinetobacter calcoaceticus* LRVP54 збільшення температури позитивно впливає на синтез AgNPs, проте температура вище 70°C інгібує активність сполук, відповідальних за синтез (Singh та ін., 2013).

					<b>НУХТ БТЕК 02.01.08 КР ПЗ</b>			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Коваль Р.В.			<b>РОЗДІЛ 6</b> <b>Обговорення отриманих</b> <b>результатів</b>	Літ.	Арк.	Акрушів
Консульт.							75	17
Керівник		Скороцька О.І.				<b>Кафедра БТМ</b>		
Н. Контр.						75		
Зав.каф.		Стабніков В.П.						

Для кращого порівняння дослідження оптимальної температури біосинтезу наночастинок срібла з використанням бактерій, проаналізовані дані наведено в табл. 6.1.

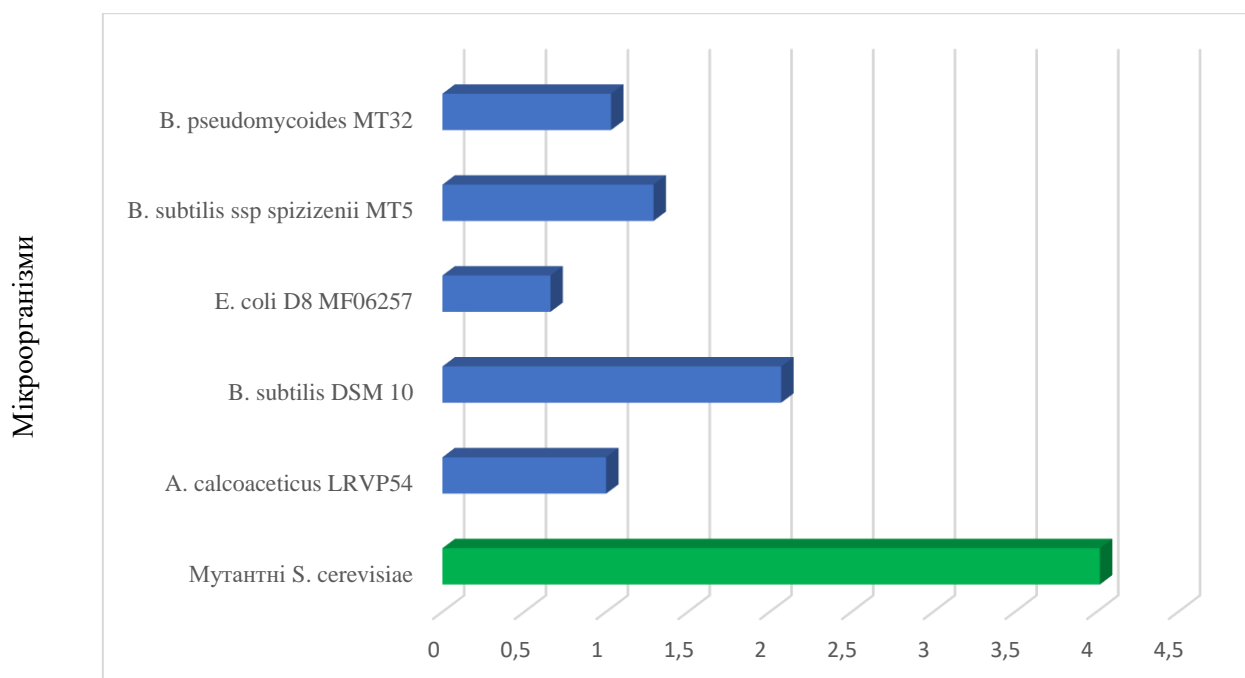
Таблиця 6.1.

**Визначення оптимальних температурних параметрів для біосинтезу наночастинок срібла при використанні бактерій**

Біологічний агент	Досліджуваний діапазон температур, °C	Визначена оптимальна температура, °C	Джерело
<i>Bacillus pseudomycooides</i> MT32	20-40	30	El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019
<i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>spizizenii</i> MT5	20-40	30	El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018
<i>Escherichia coli</i> D8 MF06257	25-45	35	El-Dein, Baka, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021
<i>Bacillus mojavenis</i> BTCB15	25-60	55	Iqtedar та ін., 2019
<i>Bacillus subtilis</i> DSM 10	30, 60	60	Solis-Sandi та ін., 2023
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LRVP54	4-80	70	Singh та ін., 2013

Таким чином, як можна побачити з табл. 6.1., при використанні бактерій для біосинтезу наночастинок срібла оптимальними в деяких випадках є невисокі температури в діапазоні 30-35°C (El-Saadony, 2019; El-Saadony, 2018; El-Dein, 2021), порівняно з використанням безклітинного екстракту мутантних дріжджів, для використання якого найкраще підходить 45°C. При цьому досліджуваний діапазон температур складав 30-50°C, а за найвищого досліджуваного значення біосинтез був нестабільним. В той же час, як показують інші дослідження, кількість біосинтезованих наночастинок може збільшуватися при підвищенні температури витримки реакційної суміші до досягнення певного значення, котре починає пригнічувати активність сполук, відповідальних за утворення AgNPs (Iqtedar, 2019; Solis-Sandi, 2023; Singh, 2013), що підтверджує визначену нами закономірність.

Для кращого порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу та температурних параметрів наведено рис. 6.1.



**Рис. 6.1.** Порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу наночастинок срібла з використанням бактерій.

Як можна побачити з рис. 6.1, запропонований нами метод біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних *S. cerevisiae* за оптимальної температури біосинтезу дозволяє отримати найбільшу кількість наночастинок срібла порівняно з використанням бактерій, що свідчить про його перспективність та високу конкурентоспроможність.

**6.1.2. Оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла при використанні грибів.** Подібні закономірності спостерігаються і при використанні грибів у якості біологічних агентів для біосинтезу наночастинок срібла. Як відомо, з підвищенням температури синтезу збільшується його швидкість, проте у випадку біосинтезу наночастинок срібла температурні параметри процесу можуть бути обмежені термолабільністю сполук, відповідальних за відновлення срібла. Так, Liang зі співавт. визначили оптимальну температуру для отримання AgNPs за допомогою *Penicillium aculeatum* Su1, котра становила 37°C, за вищої ж температури спостерігалася агломерація наночастинок (Ma та ін., 2017). Al-Soub зі співавт. встановили, що найбільша кількість наночастинок при використанні *Aspergillus flavus* утворювалася при 27°C (Al-Soub та ін., 2022). Подібні температурні параметри біосинтезу було встановлено і для іншого представника

роду *Aspergillus* – *Aspergillus foetidus* MTCC8876. При використанні безклітинного екстракту даного біологічного агента найбільше наночастинок синтезувалось при 30°C, а зі збільшенням температури кількість отриманих AgNPs зменшувалась (Roy, & Das, 2014). Ідентичне температурне значення є оптимальним також і при використанні для біосинтезу за допомогою *Aspergillus terreus* (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016), в той час як при використанні безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 оптимальним є підтримка температури реакційної суміші на рівні 33°C (Khleifat та ін., 2022).

Вищими температурними параметрами біосинтезу наночастинок срібла відрізняється безклітинний екстракт *Tritirachium oryzae* W5H, з використанням якого найбільшу кількість наночастинок можна отримати при 40°C (Al-Limoun та ін., 2019). Підвищена оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла також спостерігається для метаболітів *Arthroderma fulvum*, котрі утворюють найбільше AgNPs при 55°C (Хуе та ін., 2016). Ідентичне температурне значення (55°C) також є оптимальним для біосинтезу наносрібла при використанні *Trichoderma longibranchiatum* (Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022). Високою термостабільністю також відрізняються метаболіти, що відповідальні за відновлення срібла у *Penicillium oxalicum* GRS-1, котрі найшвидше утворюють наночастинок срібла при 60°C (Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018). Також встановлено, що концентрація AgNPs збільшується з підвищенням температури реакційної суміші за використання безклітинного екстракту *Penicillium chrysogenum* BLS1, і досягає максимуму при 70°C (Saxena, Sharma, & Singh, 2017). Подібна закономірність спостерігається і при біосинтезі наносрібла за допомогою безклітинного екстракту грибів *Fusarium oxysporum*, проте при використанні метаболітів даного біологічного агента максимальна концентрація наночастинок спостерігалась при 100°C, що свідчить про високу термостабільність сполук, відповідальних за відновлення срібла і утворення AgNPs (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Для кращого порівняння дослідження оптимальної температури біосинтезу наночастинок срібла з використанням грибів, проаналізовані дані наведено в табл. 6.2.

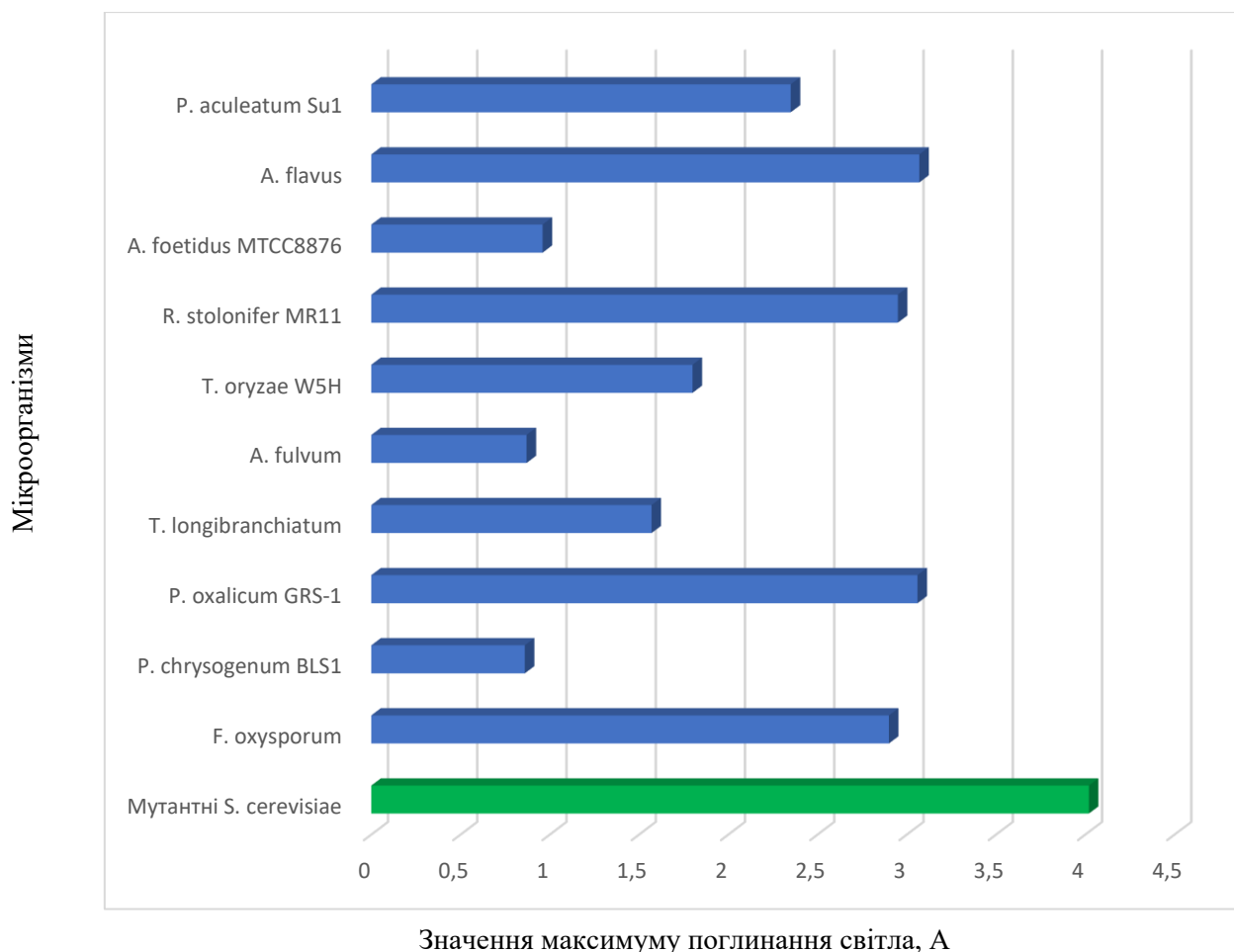
Таблиця 6.2.

**Визначення оптимальних температурних параметрів для біосинтезу наночастинок срібла при використанні грибів**

Біологічний агент	Досліджуваний діапазон температур, °C	Визначена оптимальна температура, °C	Джерело
<i>Penicillium aculeatum</i> Su1	0-45	37	Ma та ін., 2017
<i>Aspergillus flavus</i>	25-33	27	Al-Soub та ін., 2022
<i>Aspergillus foetidus</i> MTCC8876	5-50	30	Roy, & Das, 2014
<i>Aspergillus terreus</i>	30-80	30	Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016
<i>Rhizopus stolonifer</i> MR11	30-36	33	Khleifat та ін., 2022
<i>Tritirachium oryzae</i> W5H	30-45	40	Al-Limoun та ін., 2019
<i>Arthroderma fulvum</i>	15-65	55	Xue та ін., 2016
<i>Trichoderma longibranchiatum</i>	35-55	55	Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022
<i>Penicillium oxalicum</i> GRS-1	20-60	60	Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018
<i>Penicillium chrysogenum</i> BLS1	20-70	70	Saxena, Sharma, & Singh, 2017
<i>Fusarium oxysporum</i>	0-100	100	Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013

Таким чином, як можна побачити з табл. 6.2., при використанні грибів для біосинтезу наночастинок срібла в основному оптимальними є порівняно невисокі (27-37°C) температури, при цьому вищі температури пригнічують процес (Ma, 2017; Al-Soub, 2022; Roy, 2014; Balakumaran, 2016; Khleifat, 2022). В той же час, ряд досліджень підтверджує виявлену нами закономірність до пришвидшення утворення наночастинок з підвищенням температури витримки реакційної суміші (Al-Limoun, 2019; Xue, 2016), проте в даних дослідженнях не було виявлено верхню температурну межу, за якої відбувалося пригнічення синтезу AgNPs (Cui, 2022; Rose, 2018; Saxena, 2017; Birla, 2013), що фіксувалося в нашому дослідженні.

Для кращого порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу та температурних параметрів наведено рис. 6.2.



**Рис. 6.2.** Порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу наночастинок срібла з використанням грибів

Як можна побачити з рис. 6.2. запропонований нами метод біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних *S. cerevisiae* за оптимальної температури біосинтезу дозволяє отримати найбільшу кількість наночастинок срібла порівняно з використанням грибів, що свідчить про його високу конкурентоспроможність.

**6.1.3. Оптимальна температура біосинтезу наночастинок срібла при використанні дріжджів.** Біосинтез наночастинок срібла при використанні дріжджів не передбачає використання високих температурних значень, адже в основному оптимальними для них є мезофільні умови. Так, при використанні дріжджів *Meurozyma guilliermondii* KX008616 найбільша концентрація AgNPs спостерігається при 30°C, при цьому вищі температури пригнічували синтез

(Alamri та ін., 2018). Аналогічна температура оптимальна для утворення наночастинок срібла за допомогою інактивованої біомаси дріжджів *Rhodotorula mucilaginosa*. Так, Salvadori зі співавт. випробували різні температури біосинтезу AgNPs з використанням *Rhodotorula mucilaginosa* і встановили, що найшвидше процес відбувається при 30°C (Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017). Температура 30°C оптимальна і для біосинтезу з використанням *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 (Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020).

Для кращого порівняння дослідження оптимальної температури біосинтезу наночастинок срібла з використанням грибів, проаналізовані дані наведено в табл. 6.3.

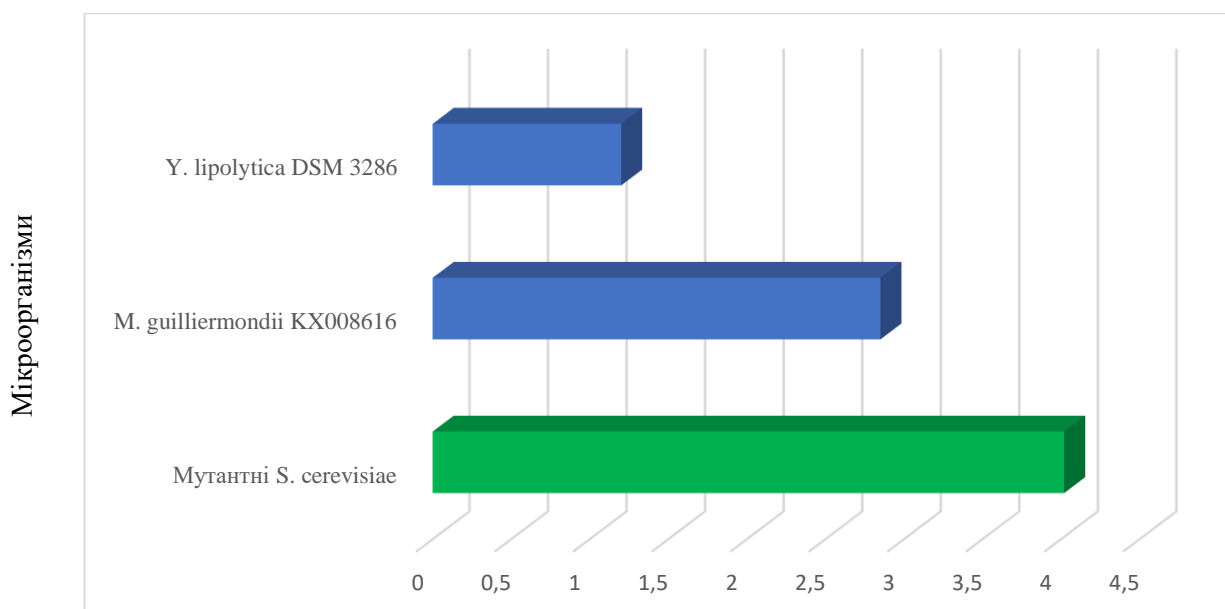
Таблиця 6.3.

**Визначення оптимальних температурних параметрів для біосинтезу наночастинок срібла при використанні дріжджів**

Біологічний агент	Досліджуваний діапазон температур, °C	Визначена оптимальна температура, °C	Джерело
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> KX008616	25-40	30	Alamri та ін., 2018
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	20-60	30	Salvadori, Ando, Nascimento, & Correa, 2017
<i>Yarrowia lipolytica</i> DSM 3286	20-35	30	Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020
Мутантні <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30-50	45	Власні дослідження

Таким чином, як можна побачити з табл. 6.3., використання дріжджів для біосинтезу наночастинок срібла в основному характеризується порівняно низькими оптимальними температурами для отримання AgNPs (Alamri, 2018; Salvadori, 2017; Bolbanabad, 2020), що свідчить про їх термолабільність, порівняно з метаболітами мутантних *S. cerevisiae*, для яких оптимальною є вища температура.

Для кращого порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу та температурних параметрів наведено рис. 6.3.



**Рис. 6.3.** Порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу наночастинок срібла з використанням дріжджів

Як можна побачити з рис. 6.3. запропонований нами метод біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних *S. cerevisiae* за оптимальної температури біосинтезу дозволяє отримати найбільшу кількість наночастинок срібла порівняно з використанням інших дріжджів, що свідчить про його високу конкурентоспроможність.

## 6.2. Концентрація нітрату срібла

### 6.2.1. Оптимальна концентрація нітрату срібла для біосинтезу при використанні прокариотів.

В наукових виданнях наявна значна кількість праць, присвячених вивченню оптимальної концентрації нітрату срібла для біосинтезу наночастинок. Використання бактерій в основному не передбачає застосування високих концентрацій  $\text{AgNO}_3$ . Так, було зафіксовано, що найбільша кількість наночастинок срібла при використанні *Bacillus pseudomycooides* MT32 утворюється після внесення в супернатант  $\text{AgNO}_3$  у концентрації 2 мМ (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019). В той же час, для отримання максимальної кількості AgNPs за допомогою супернатанту *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5 оптимальним було доведення концентрації нітрату срібла і реакційної суміші до 3 мМ (El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018). El-Dein зі співавт. у своїй праці показали, що внесення нітрату аргентуму у концентрації 1,5 мМ є

найоптимальнішим для біосинтезу наночастинок срібла з використанням *Escherichia coli* D8 MF06257 (El-Dein, Baka, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021). Раніше також було встановлено оптимальну концентрацію  $\text{AgNO}_3$  для отримання AgNPs з використанням безклітинного екстракту *Acinetobacter calcoaceticus* LRVP54. За використання даного штаму бактерій найбільше AgNPs утворювалося при 0,7 мМ  $\text{AgNO}_3$  (Singh та ін., 2013).

Для кращого порівняння дослідження оптимальної концентрації нітрату срібла для біосинтезу з використанням прокаріотів, проаналізовані дані наведено в табл. 6.4.

Таблиця 6.4.

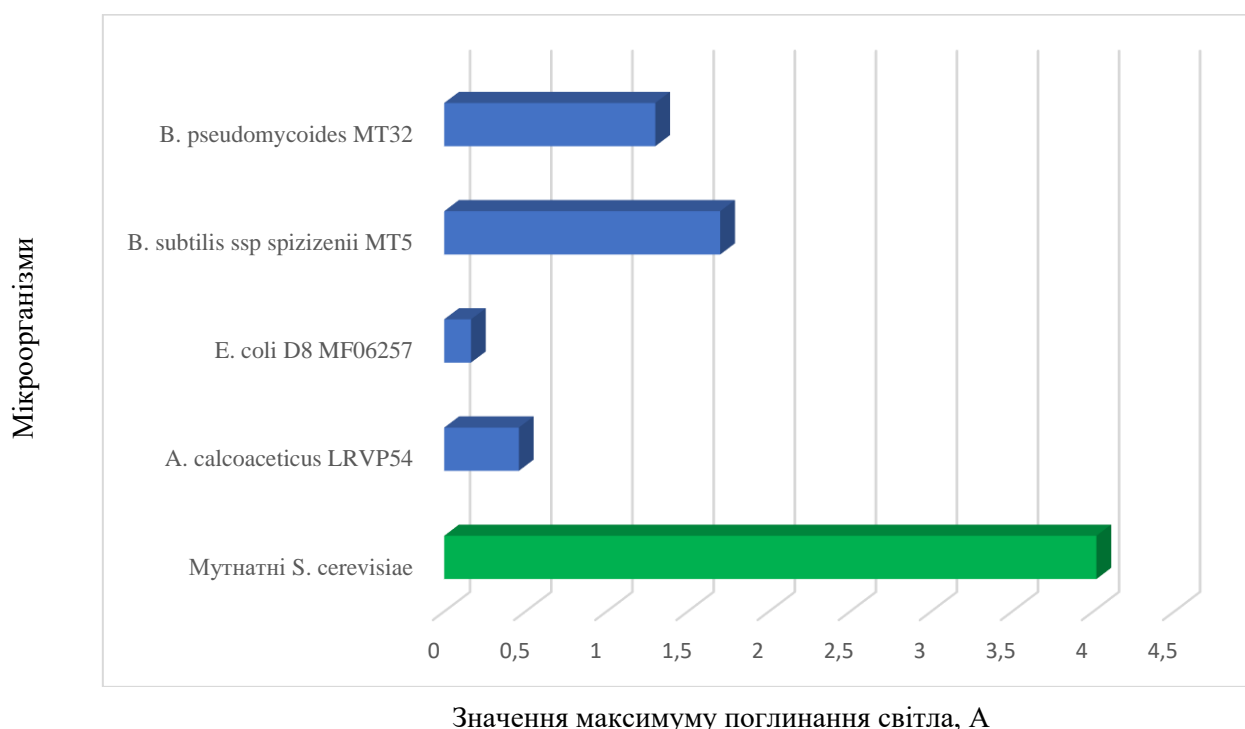
**Визначення оптимальної концентрації аргентум нітрату для біосинтезу наночастинок срібла при використанні прокаріотів**

Біологічний агент	Досліджуваний діапазон концентрацій, мМ	Визначена оптимальна концентрація, мМ	Джерело
<i>Bacillus pseudomycooides</i> MT32	1-5	2	El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2019
<i>Bacillus subtilis ssp spizizenii</i> MT5	1-5	3	El-Saadony, El-Wafai, Abd El-Fattah, & Mahgoub, 2018
<i>Escherichia coli</i> D8 MF06257	0,5-4	1,5	El-Dein, Baka, Abou-Dobara, El-Sayed, & El-Zahed, 2021
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LRVP54	0,5-5	0,7	Singh та ін., 2013

Таким чином, як можна побачити з табл. 6.4., при використанні прокаріотів для біосинтезу наночастинок срібла оптимальними в основному є невисокі концентрації нітрату аргентуму (0,7-3 мМ), при цьому значення оптимальної концентрації  $\text{AgNO}_3$  відрізняється для кожного окремо взятого штаму мікроорганізмів (El-Saadony, 2018; El-Saadony, 2018; El-Dein, 2021; Singh, 2013). Це може пояснюватися тим, що в більшості випадків збільшення концентрації вихідної сировини дає змогу отримати більшу кількість наночастинок, проте у

високих концентраціях нітрат аргентуму є токсичним для більшості мікроорганізмів та їх метаболітів, тому при досягненні певної граничної концентрації  $\text{AgNO}_3$  біосинтез пригнічується, або ж відбувається утворення AgNPs великих розмірів. У порівнянні з бактеріями, безклітинний екстракт мутантних *S. cerevisiae*, для яких було розглянуто можливість біосинтезу при 0,5-3 мМ, показав найкращі результати саме при 1,5 мМ нітрату срібла.

Для кращого порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу та концентрації нітрату срібла наведено рис. 6.4.



**Рис. 6.4.** Порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу наночастинок срібла з використанням прокаріотів.

Як можна побачити з рис. 6.4, запропонований нами метод біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних *S. cerevisiae* за оптимальної концентрації нітрату срібла дозволяє отримати найбільшу кількість наночастинок срібла порівняно з використанням прокаріотів, що свідчить про його перспективність та високу конкурентоспроможність.

**6.2.2. Оптимальна концентрація нітрату срібла для біосинтезу при використанні еукаріотів.** Як і при використанні бактерій, так і при застосуванні грибів для біосинтезу срібних наночастинок оптимальними переважно є невисокі концентрації попередника наночастинок. Так, використовуючи безклітинний

екстракт *Penicillium aculeatum* Su1 найбільшу кількість наночастинок можна отримати після додавання 2 мМ нітрату срібла, коли ж вміст  $\text{AgNO}_3$  сягнув 2,5 мМ відбувалося формування AgNPs великих розмірів (Ma та ін., 2017). Якщо ж в якості біологічного агента використовувати *Arthroderma fulvum*, то в даному випадку найвища концентрація срібних наночастинок в реакційній суміші спостерігається при додаванні 1,5 мМ аргентум нітрату, в той час як за вищих концентрацій процес є нестабільним (Хуе та ін., 2016). Внесення 1,5 мМ  $\text{AgNO}_3$  також виявилось оптимальним для біосинтезу з використанням безклітинного екстракту *Penicillium oxalicum* GRS-1. За даної концентрації спостерігалось найвище значення поглинання світла при спектрофотометричному аналізі, в той час як за вищих концентрацій солі спостерігалися ширші піки, що свідчить про високий діапазон розподілу наночастинок за розмірами (Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018). Група авторів на чолі з Cui встановила, що біосинтез наночастинок срібла за допомогою *Trichoderma longibranchiatum* найкраще відбувається при 2 мМ  $\text{AgNO}_3$  в реакційній суміші (Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022). Така ж концентрація попередника солі срібла була оптимальною також для синтезу наночастинок срібла з використанням *Penicillium chrysogenum* BLS1 (Saxena, Sharma, & Singh, 2017), а також при біосинтезі за допомогою безклітинного екстракту *Fusarium oxysporum* (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Також було встановлено оптимальну концентрацію нітрату аргентуму для отримання наночастинок срібла за допомогою *Tritirachium oryzae* W5H, яка становить 1 мМ  $\text{AgNO}_3$  (Al-Limoun та ін., 2019). При 1 мМ нітрату аргентуму також найкраще проходив біосинтез наночастинок срібла при використанні *Macrophomina phaseolina* (Spagnoletti, Spedalieri, Kronberg, & Giacometti, 2019). Також Khleifat зі співавт. визнали оптимальною концентрацію нітрату срібла 1 мМ  $\text{AgNO}_3$  при біосинтезі з використанням безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 (Khleifat та ін., 2022).

Проте, при використанні деяких грибів для біосинтезу наночастинок срібла оптимальними є вищі концентрації  $\text{AgNO}_3$ . Так, Roy зі співавт. продемонстрували, що при використанні безклітинного екстракту *Aspergillus foetidus* MTCC8876 для

отримання AgNPs найбільша кількість наноматеріалу утворюється після доведення концентрації нітрату срібла у реакційній суміші до 4 мМ в той час як вищі концентрації пригнічували діяльність ферментів, відповідальних за відновлення аргентуму (Roy, & Das, 2014). Схожа закономірність спостерігалася і при використанні для біосинтезу срібних наночастинок грибів *Aspergillus terreus*, де оптимальним виявилось внесення 6 мМ AgNO<sub>3</sub> до безклітинного екстракту (Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016).

Також було визначено оптимальну концентрацію нітрату аргентуму для біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного екстракту дріжджів *Yarrowia lipolytica* DSM 3286 відбувається при внесенні до реакційної суміші 2,5 мМ AgNO<sub>3</sub> (Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020).

Для кращого порівняння дослідження оптимальної концентрації нітрату срібла для біосинтезу з використанням еукаріотів, проаналізовані дані наведено в табл. 6.5.

Таблиця 6.5.

**Визначення оптимальної концентрації аргентум нітрату для біосинтезу наночастинок срібла при використанні еукаріотів**

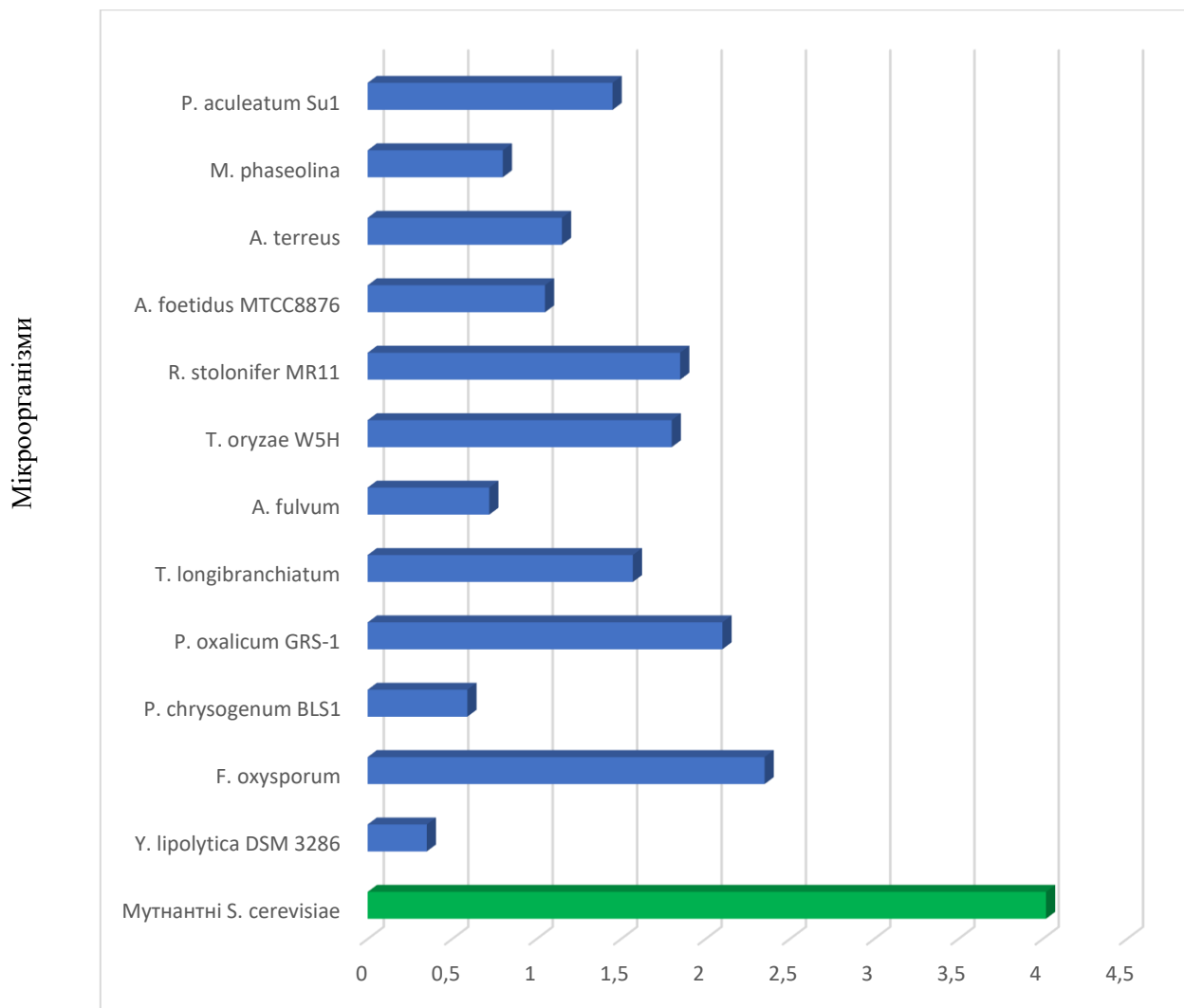
Біологічний агент	Досліджуваний діапазон концентрацій, мМ	Визначена оптимальна концентрація, мМ	Джерело
<i>Penicillium aculeatum</i> Su1	0,5-2,5	2	Ma та ін., 2017
<i>Macrophomina phaseolina</i>	1-3	1	Spagnoletti, Spedalieri, Kronberg, & Giacometti, 2019
<i>Aspergillus foetidus</i> MTCC8876	1-8	4	Roy, & Das, 2014
<i>Aspergillus terreus</i>	1-10	6	Balakumaran, Ramachandran, Balashanmugam, Mukeshkumar, & Kalaichelvan, 2016
<i>Rhizopus stolonifer</i> MR11	0,25-1	1	Khleifat та ін., 2022
<i>Tritirachium oryzae</i> W5H	0,25-1,5	1	Al-Limoun та ін., 2019
<i>Arthroderma fulvum</i>	0,5-2,5	1,5	Xue та ін., 2016
<i>Trichoderma longibranchiatum</i>	1-3	2	Cui, Zhong, Xia, Liu, & Qin, 2022

Закінчення табл. 6.5.

<i>Penicillium oxalicum</i> GRS-1	0,5-2,5	1,5	Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018
<i>Penicillium chrysogenum</i> BLS1	0,2-2,5	2	Saxena, Sharma, & Singh, 2017
<i>Fusarium oxysporum</i>	0,1-2	2	Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013
<i>Yarrowia lipolytica</i> DSM 3286	1-5	2,5	Bolbanabad, Ashengroph, & Darvishi, 2020
Мутантні <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,5-3	1,5	Власні дослідження

Таким чином, як можна побачити з табл. 6.5., при використанні еукаріотів для біосинтезу наночастинок срібла оптимальними в основному є невисокі концентрації нітрату аргентуму (1-2,5 мМ), при цьому значення оптимальної концентрації  $\text{AgNO}_3$  відрізняється для кожного окремо взятого штаму мікроорганізмів (Spagnoletti, 2019; Ma, 2017; Khleifat, 2022; Al-Limoun, 2019; Xue, 2016; Cui, 2022; Rose, 2018; Saxena, 2017; Birla, 2013; Bolbanabad, 2020). Варто відзначити, що в деяких випадках оптимальною визнавалася найвища досліджувана концентрація нітрату аргентуму (Khleifat, 2022; Birla, 2013), тобто дійсне значення концентрації  $\text{AgNO}_3$  може бути більшим. В той же час, за використання деяких грибів для біосинтезу оптимальними є значно вищі концентрації нітрату срібла (4-6 мМ), що може свідчити про високу толерантність даних мікроорганізмів та їх метаболітів до концентрованих розчинів  $\text{AgNO}_3$  (Roy, 2014; Balakumaran, 2016).

Для кращого порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу та концентрації нітрату срібла наведено рис. 6.5.



**Рис. 6.5.** Порівняння ефективності розглянутих способів біосинтезу наночастинок срібла з використанням еукаріотів.

Як можна побачити з рис. 6.5, запропонований нами метод біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних *S. cerevisiae* за оптимальної концентрації нітрату срібла дозволяє отримати найбільшу кількість наночастинок срібла порівняно з використанням прокариотів, що свідчить про його перспективність та високу конкурентоспроможність.

### 6.3. Поживне середовище

Нами було також встановлено пряму залежність між складом поживного середовища, на якому вирощували дріжджі для біосинтезу наночастинок срібла, та перебігом процесу. Так, краще біосинтез AgNPs проходив у зразках з безклітинним екстрактом, отриманим при вирощуванні дріжджів на натуральному середовищі YPD, котрий, на відміну від синтетичного середовища Рідера, містить такі сполуки,

як пептон та дріжджовий екстракт. З цього можна зробити висновок, що чим більша концентрація природних компонентів наявна у складі поживного середовища для культивування біологічного агента, тим краще відбувається біосинтез наночастинок. Дана гіпотеза знаходить своє підтвердження у роботі Spagnoletti зі співавт., котрі для біосинтезу срібних наночастинок за допомогою безклітинного екстракту *Macrophomina phaseolina* W5H здійснювали культивування грибів на трьох різних поживних середовищах: мінімальному середовищі для вирощування грибів (10 г/л глюкози, 0,5 г/л  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,2 г/л  $\text{MgSO}_4$ , 0,3 г/л казеїнового пептону), картопляно-декстрозному бульйоні (300 г/л картоплі, 20 г/л декстрози) чи 50% картопляно-декстрозному бульйоні (150 г/л картоплі, 10 г/л декстрози). Отримані результати показали, що найкраще біосинтез наночастинок відбувався після вирощування грибів на картопляно-декстрозному бульйоні, котрим був кількісно найбільш багатим на поживні елементи, при цьому за використання безклітинного екстракту, отриманого після культивування на 50% картопляно-декстрозному бульйоні, біосинтез проходив дещо повільніше (Spagnoletti, Spedalieri, Kronberg, & Giacometti, 2019). Картопляно-декстрозний бульйон з дещо меншою концентрацією картоплі (200 г/л) було також використано для вирощування *Fusarium oxysporum* з метою подальшого використання у біосинтезі AgNPs. У даному дослідженні було порівняно 10 різних типів поживних середовищ для культивування грибів, з біомаси яких далі отримували безклітинний екстракт, котрий безпосередньо приймав участь у відновленні срібла. Отримані дані вказують на те, що найбільша кількість наночастинок була синтезована після культивування грибів на середовищі MGYR, котре було найбагатшим на сполуки природнього походження (3 г/л солодового екстракту, 3 г/л дріжджового екстракту, 5 г/л пептону, 10 г/л глюкози) (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Варто зазначити, що у більшості проаналізованих працях, найкраще біосинтез наночастинок срібла відбувається після вирощування біологічних агентів на середовищі, що містить у своєму складі дріжджовий екстракт у різних концентраціях (Al-Limoun, 2019; Khleifat, 2022; Birla, 2013). Це може пояснюватися тим, що дріжджовий екстракт може виступати у якості джерела факторів росту,

котрі можуть відігравати важливу роль у синтезі метаболітів, відповідальних за формування та стабілізацію наночастинок срібла. Так, у роботі Khleifat зі співавт. було досліджено процес біосинтезу наночастинок срібла за допомогою безклітинного екстракту *Rhizopus stolonifer* MR11 після культивування грибів на 5 різних поживних середовищах. В результаті було визначено, що біоредукція срібла та формування AgNPs відбувалося лише на середовищі, що містило у своєму складі крохмаль (10 г/л), NaCl (5 г/л) та дріжджовий екстракт (10 г/л) (Khleifat та ін., 2022). У іншому дослідженні, де синтез наночастинок срібла здійснювали за допомогою безклітинного екстракту *Tritirachium oryzae* W5H, при цьому культивування грибів проводили на трьох різних поживних середовищах. Автори зробили висновок, що найбільша кількість наночастинок срібла утворювалася після вирощування грибів на середовищі, що мало у своєму складі дріжджовий екстракт у концентрації 10 г/л, в той час як при використанні середовищ з нижчою концентрацією раніше згаданого компоненту (9 і 3 г/л) кількість синтезованих AgNPs була меншою (Al-Limoun та ін., 2019).

В той же час, нами було з'ясовано, що високі концентрації пептону у поживному середовищі можуть в подальшому пригнічувати синтез наночастинок срібла. Так, при підвищенні концентрації пептону з 10 до 20 г/л при вирощуванні мутантних *S. cerevisiae* з метою подальшого отримання безклітинного екстракту для біосинтезу наночастинок срібла при 45°C після внесення 1,5 мМ нітрату аргентуму спостерігається зменшення максимуму поглинання світла зразками з 4,02 до 3,59 на 15 добу реакцій. Аналогічний результат спостерігається при введенні 0,5 мМ AgNO<sub>3</sub> – при використанні YPD 1 максимум поглинання світла складає 3,4, в той час як за вирощування YPD 2 дане значення становить 3,07. Схожу закономірність можна виділити у роботі Birla та співавт., де показано, що при вирощуванні біологічного агента на середовищі, що містило у своєму складі пептон у концентрації 10 г/л і більше, процес відновлення срібла та формування наночастинок проходив гірше, ніж за використання середовища оптимального складу, що містило 5 г/л пептону (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Узагальнені дані щодо впливу складу поживного середовища вирощування мікроорганізмів на біосинтез срібних наночастинок наведено в табл. 6.6.

Таблиця 6.6.

**Вплив складу поживного середовища для культивування мікроорганізмів на біосинтез наночастинок срібла**

Біологічний агент	Склад визначеного оптимального поживного середовища		Значення максимуму поглинання світла	Джерело
	Компонент	Концентрація, г/л		
<i>Tritirachium oryzae</i> W5H	Глюкоза	10	0,4	Al-Limoun та ін., 2019
	Дріжджовий екстракт	10		
	NaCl	5		
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Свіжа картопля	300	0,8	Spagnoletti, Spedaliere, Kronberg, & Giacometti, 2019
	Декстроза	20		
<i>Rhizopus stolonifer</i> MR11	Крохмаль	10	0,75	Khleifat та ін., 2022
	Дріжджовий екстракт	10		
	NaCl	5		
<i>Fusarium oxysporum</i>	Солодовий екстракт	3	1,75	Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013
	Дріжджовий екстракт	3		
	Пептон	5		
	Глюкоза	10		
Мутантні <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Глюкоза	20	4,02	Власні дослідження
	Пептон	10		
	Дріжджовий екстракт	10		

Таким чином, здійснивши аналіз та порівнявши отримані нами результати з результатами, висвітленими в наукових працях, присвячених дослідженню оптимальних умов для біосинтезу наночастинок срібла, можна стверджувати, що запропонований нами метод вирізняється високою ефективністю та дозволяє отримати найбільшу кількість наноматеріалу, про що свідчить найвище значення максимуму поглинання світла за довжини хвилі 420 нм (4,02), після оптимізації параметрів біосинтезу та складу поживного середовища культивування мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, отриманих шляхом ультрафіолетового опромінення.

## ВИСНОВКИ

1) Встановлено можливість біосинтезу наночастинок срібла з використанням мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, отриманих шляхом ультрафіолетового опромінення.

2) Визначено оптимальний склад поживного середовища (середовище YPD 1: глюкоза – 20 г/л, дріжджовий екстракт – 10 г/л, пептон – 10 г/л) для культивування мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* з метою подальшого отримання безклітинного водного екстракту, який використовували для біосинтезу наночастинок срібла.

3) Досліджено оптимальну концентрацію нітрату срібла для здійснення біосинтезу з використанням безклітинного екстракту мутантних дріжджів (0,5 і 1,5 мМ AgNO<sub>3</sub>).

4) Встановлено оптимальні температурні параметри біосинтезу наночастинок срібла - 45°C.

5) Встановлено тенденцію до пришвидшення біосинтезу та збільшення кількості наночастинок срібла при підвищенні температури біосинтезу від 30 до 45°C.

6) Встановлено негативний вплив температури 50°C на біосинтез наночастинок срібла з використанням безклітинного екстракту мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. За даної температури біосинтезу відбувається зменшення максимуму поглинання світла з часом, що може свідчити про нестабільність системи і формування агрегатів.

7) Встановлено оптимальні параметри біосинтезу наночастинок срібла з використанням безклітинного водного екстракту мутантних дріжджів (культивування дріжджів на середовищі YPD 1, кінцева концентрація нітрату срібла – 1,5 мМ, температура біосинтезу – 45°C).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Abdel-Kareem, M. M., & Zohri, A. A. (2018). Extracellular mycosynthesis of gold nanoparticles using *Trichoderma hamatum*: optimization, characterization and antimicrobial activity. *Lett Appl Microbiol*, 67(5), 465-475. doi: 10.1111/lam.13055.
2. Adeleye, T. M., Kareem, S. O., & Kekere-Ekun, A. A. (2020, March). Optimization studies on biosynthesis of iron nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. In *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* (Vol. 805, No. 1, p. 012037). IOP Publishing. doi: 10.1088/1757-899X/805/1/012037.
3. Agceli, G. K., Hammachi, H., Kodali, S. P., Cihangir, N., & Aksu, Z. (2020). A novel approach to synthesize TiO<sub>2</sub> nanoparticles: biosynthesis by using *Streptomyces* sp. HC1. *JIOPM*, 30(8), 3221-3229. doi: 10.1007/s10904-020-01486-w.
4. Akçay, F. A., & Avcı, A. (2020). Effects of process conditions and yeast extract on the synthesis of selenium nanoparticles by a novel indigenous isolate *Bacillus* sp. EKT1 and characterization of nanoparticles. *Arch. Microbiol.*, 202(8), 2233-2243. doi: 10.1007/s00203-020-01942-8.
5. Alamri, S. A., Hashem, M., Nafady, N. A., Sayed, M. A., Alshehri, A. M., & Alshaboury, G. A. (2018). Controllable biogenic synthesis of intracellular silver/silver chloride nanoparticles by *Meyerozyma guilliermondii* KX008616. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 28(6): 917-930. doi: 10.4014/jmb.1802.02010.
6. Al-Limoun, M., Qaralleh, H. N., Khleifat, K. M., Al-Anber, M., Al-Tarawneh, A., Al-sharafa, K., ... & Al-soub, T. (2020). Culture media composition and reduction potential optimization of mycelia-free filtrate for the biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Tritirachium oryzae* W5H. *Curr. Nanosci.*, 16(5), 757-769. doi: 10.2174/1573413715666190725111956.
7. Al-Soub, A., Khleifat, K., Al-Tarawneh, A., Al-Limoun, M., Alfarrayeh, I., Al Sarayreh, A., ... & Albashaireh, A. (2022). Silver nanoparticles biosynthesis using an airborne fungal isolate, *Aspergillus flavus*: optimization, characterization and antibacterial activity. *Iran. J. Microbiol.*, 14(4), 518. doi: 10.18502/ijm.v14i4.10238.

8. Arunkumar, M., Mahesh, N., Balakumar, S., Sivakumar, R., & Priyadharshni, S. (2013). Antiquorum sensing and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by mutant *Klebsiella pneumoniae* MTCC 3354. *Asian J. Chem.*, 25(17), 9961. doi: 10.14233/ajchem.2013.15754.
9. Bahrulolum, H., Nooraei, S., Javanshir, N., Tarrahimofrad, H., Mirbagheri, V. S., Easton, A. J., & Ahmadian, G. (2021). Green synthesis of metal nanoparticles using microorganisms and their application in the agrifood sector. *J. Nanobiotechnology*, 19, 1-26. doi: 10.1186/s12951-021-00834-3.
10. Balakumaran, M. D., Ramachandran, R., Balashanmugam, P., Mukeshkumar, D. J., & Kalaichelvan, P. T. (2016). Mycosynthesis of silver and gold nanoparticles: optimization, characterization and antimicrobial activity against human pathogens. *Microbiol. Res.*, 182, 8-20. doi: 10.1016/j.micres.2015.09.009.
11. Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *SM&T*, 13, 18-23. doi: 10.1016/j.susmat.2017.08.001.
12. Birla, S. S., Gaikwad, S. C., Gade, A. K., & Rai, M. K. (2013). Rapid synthesis of silver nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by optimizing physiocultural conditions. *Sci. World J.*, 2013. doi: 10.1155/2013/796018.
13. Bolbanabad, E. M., Ashengroph, M., & Darvishi, F. (2020). Development and evaluation of different strategies for the clean synthesis of silver nanoparticles using *Yarrowia lipolytica* and their antibacterial activity. *Process Biochem*, 94, 319-328. doi: 10.1016/j.procbio.2020.03.024.
14. Borse, V., Kaler, A., & Banerjee, U. C. (2015). Microbial synthesis of platinum nanoparticles and evaluation of their anticancer activity. *Int. J. Emerg. Trends Electr. Electron*, 11(2), 2320-9569. doi: 10.13140/RG.2.1.3132.5283.
15. Bukhari, S. I., Hamed, M. M., Al-Agamy, M. H., Gazwi, H. S., Radwan, H. H., & Youssif, A. M. (2021). Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Streptomyces* MHM38 and its biological applications. *J. Nanomater.*, 2021, 1-16. doi: 10.1155/2021/6693302.

16. Castillo-Henríquez, L., Alfaro-Aguilar, K., Ugalde-Álvarez, J., Vega-Fernández, L., Montes de Oca-Vásquez, G., & Vega-Baudrit, J. R. (2020). Green synthesis of gold and silver nanoparticles from plant extracts and their possible applications as antimicrobial agents in the agricultural area. *Nanomaterials*, 10(9), 1763. doi: doi.org/10.3390/nano10091763.
17. Cui, J., Zhu, N., Kang, N., Ha, C., Shi, C., & Wu, P. (2017). Biorecovery mechanism of palladium as nanoparticles by *Enterococcus faecalis*: from biosorption to bioreduction. *J. Chem. Eng.*, 328, 1051-1057. doi: 10.1016/j.cej.2017.07.124.
18. Cui, X., Zhong, Z., Xia, R., Liu, X., & Qin, L. (2022). Biosynthesis optimization of silver nanoparticles (AgNPs) using *Trichoderma longibranchiatum* and biosafety assessment with silkworm (*Bombyx mori*). *Arab. J. Chem.*, 15(10), 104142. doi: 10.1016/j.arabjc.2022.104142.
19. Desai, M. P., Patil, R. V., Harke, S. S., & Pawar, K. D. (2021). Bacterium mediated facile and green method for optimized biosynthesis of gold nanoparticles for simple and visual detection of two metal ions. *J. Clust. Sci*, 32, 341-350. doi: 10.1007/s10876-020-01793-9.
20. Desai, M. P., Patil, R. V., & Pawar, K. D. (2020). Green biogenic approach to optimized biosynthesis of noble metal nanoparticles with potential catalytic, antioxidant and antihaemolytic activities. *Process Biochem.*, 98, 172-182. doi: 10.1016/j.procbio.2020.08.005.
21. Dundas, C. M., Graham, A. J., Romanovicz, D. K., & Keitz, B. K. (2018). Extracellular electron transfer by *Shewanella oneidensis* controls palladium nanoparticle phenotype. *ACS Synth. Biol.*, 7(12), 2726-2736. doi: 10.1021/acssynbio.8b00218.
22. Elahian, F., Reisi, S., Shahidi, A., & Mirzaei, S. A. (2017). High-throughput bioaccumulation, biotransformation, and production of silver and selenium nanoparticles using genetically engineered *Pichia pastoris*. *NDM*, 13(3), 853-861. doi: 10.1016/j.nano.2016.10.009.
23. El-Dein, M. M. N., Baka, Z. A., Abou-Dobara, M. I., El-Sayed, A. K., & El-Zahed, M. M. (2021). Extracellular biosynthesis, optimization, characterization and

antimicrobial potential of *Escherichia coli* D8 silver nanoparticles. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, 10(4), 648-656. doi: 10.15414/jmbfs.2021.10.4.648-656.

24. El-Saadony, M. T., El-Wafai, N. A., El-Fattah, A., & Mahgoub, S. A. (2018). Biosynthesis, optimization and characterization of silver nanoparticles biosynthesized by *Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* MT5 isolated from heavy metals polluted soil. *ZJAR*, 45(6), 2439-2454. doi: 10.21608/zjar.2018.47889.

25. El-Saadony, M. T., El-Wafai, N. A., El-Fattah, H. I. A., & Mahgoub, S. A. (2019). Biosynthesis, optimization and characterization of silver nanoparticles using a soil isolate of *Bacillus pseudomycooides* MT32 and their antifungal activity against some pathogenic fungi. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 7(4), 238-249. doi: 10.17582/journal.aavs/2019/7.4.238.249.

26. Faramarzi, S., Anzabi, Y., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Nanobiotechnology approach in intracellular selenium nanoparticle synthesis using *Saccharomyces cerevisiae*—fabrication and characterization. *Arch. Microbiol.*, 202(5), 1203-1209. doi: 10.1007/s00203-020-01831-0.

27. Gaidhani, S. V., Yeshvekar, R. K., Shedbalkar, U. U., Bellare, J. H., & Chopade, B. A. (2014). Bio-reduction of hexachloroplatinic acid to platinum nanoparticles employing *Acinetobacter calcoaceticus*. *Process Biochem.*, 49(12), 2313-2319. doi: 10.1016/j.procbio.2014.10.002.

28. Gurunathan, S., Qasim, M., Choi, Y., Do, J. T., Park, C., Hong, K., ... & Song, H. Antiviral potential of nanoparticles-Can nanoparticles fight against coronaviruses? *Nanomaterials*. 2020. 10 (9): 1645. doi: 10.3390/nano10091645.

29. Ha, C., Zhu, N., Shang, R., Shi, C., Cui, J., Sohoo, I., ... & Cao, Y. (2016). Biorecovery of palladium as nanoparticles by *Enterococcus faecalis* and its catalysis for chromate reduction. *J. Chem. Eng.*, 288, 246-254. doi: 10.1016/j.cej.2015.12.015.

30. Iqtedar, M., Aslam, M., Akhyar, M., Shehzaad, A., Abdullah, R., & Kaleem, A. (2019). Extracellular biosynthesis, characterization, optimization of silver nanoparticles (AgNPs) using *Bacillus mojavensis* BTCB15 and its antimicrobial activity against multidrug resistant pathogens. *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 49(2), 136-142. doi: 10.1080/10826068.2018.1550654.

31. Iqtedar, M., Riaz, H., Kaleem, A., Abdullah, R., Aihetasham, A., Naz, S., & Sharif, S. (2020). Biosynthesis, optimization and characterization of ZnO nanoparticles using *Bacillus cereus* MN181367 and their antimicrobial activity against multidrug resistant bacteria. *Rev. Mex. Ing. Quim.*, 19(Sup. 1), 253-266. doi: 10.24275/rmiq/Bio1605.
32. Karunagaran, V., Rajendran, K., & Sen, S. (2017). Optimization of biosynthesis of silver oxide nanoparticles and its anticancer activity. *Int. J. Nanosci.*, 16(05n06), 1750018. doi: 10.1142/s0219581x17500181.
33. Kashyap, M., Samadhiya, K., Ghosh, A., Anand, V., Shirage, P. M., & Bala, K. (2019). Screening of microalgae for biosynthesis and optimization of Ag/AgCl nano hybrids having antibacterial effect. *RSC Adv.*, 9(44), 25583-25591. doi: 10.1039/C9RA04451E.
34. Khleifat, K., Alqaraleh, M., Al-limoun, M., Alfarrayeh, I., Khatib, R., Qaralleh, H., ... & Hajleh, M. A. (2022). The ability of *Rhizopus stolonifer* MR11 to biosynthesize silver nanoparticles in response to various culture media components and optimization of process parameters required at each stage of biosynthesis. *J. Ecol. Eng.*, 23(8). doi: 10.12911/22998993/150673.
35. Kimber, R. L., Lewis, E. A., Parmeggiani, F., Smith, K., Bagshaw, H., Starborg, T., ... & Lloyd, J. R. (2018). Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles using *Shewanella oneidensis*: application for click chemistry. *Small*, 14(10), 1703145. doi: 10.1002/smll.201703145.
36. Kumari, M., Mishra, A., Pandey, S., Singh, S. P., Chaudhry, V., Mudiam, M. K. R., ... & Nautiyal, C. S. (2016). Physico-chemical condition optimization during biosynthesis lead to development of improved and catalytically efficient gold nano particles. *Sci. Rep.*, 6(1), 27575. doi: 10.1038/srep27575.
37. Li, J., Li, Q., Ma, X., Tian, B., Li, T., Yu, J., ... & Hua, Y. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles by the extreme bacterium *Deinococcus radiodurans* and an evaluation of their antibacterial properties. *Int J Nanomedicine*, 5931-5944. doi: 10.2147/ijn.s119618.

38. Lin, I. W. S., Lok, C. N., & Che, C. M. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles from silver (I) reduction by the periplasmic nitrate reductase c-type cytochrome subunit NapC in a silver-resistant *E. coli*. *Chem. Sci.*, 5(8), 3144-3150. doi: 10.1039/C4SC00138A.
39. Liu, Q., Kim, Y. J., Im, G. B., Zhu, J., Wu, Y., Liu, Y., & Bhang, S. H. (2021). Inorganic nanoparticles applied as functional therapeutics. *Adv. Funct. Mater.*, 31(12), 2008171. doi: 10.1002/adfm.202008171.
40. Mala, J. G. S., & Rose, C. (2014). Facile production of ZnS quantum dot nanoparticles by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 2918. *J. Biotech.*, 170, 73-78. doi: 10.1016/j.jbiotec.2013.11.017.
41. Ma, L., Su, W., Liu, J. X., Zeng, X. X., Huang, Z., Li, W., ... & Tang, J. X. (2017). Optimization for extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by *Penicillium aculeatum* Su1 and their antimicrobial activity and cytotoxic effect compared with silver ions. *Mater. Sci. Eng.: C*, 77, 963-971. doi: 10.1016/j.msec.2017.03.294.
42. Matei, A., Matei, S., Matei, G. M., Cogălniceanu, G., & Cornea, C. P. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles mediated by culture filtrate of lactic acid bacteria, characterization and antifungal activity. *The EuroBiotech Journal*, 4(2), 97-103. doi: 10.2478/ebtj-2020-0011.
43. Matsumoto, T., Phann, I., & Okibe, N. (2021). Biogenic platinum nanoparticles' production by extremely acidophilic Fe (III)-reducing bacteria. *Minerals*, 11(11), 1175. doi: 10.3390/min11111175.
44. Mollania, N., Tayebee, R., & Narenji-Sani, F. (2016). An environmentally benign method for the biosynthesis of stable selenium nanoparticles. *Res. Chem. Intermed.*, 42, 4253-4271. doi: 10.1007/s11164-015-2272-2.
45. Momin, B., Rahman, S., Jha, N., & Annapure, U. S. (2019). Valorization of mutant *Bacillus licheniformis* M09 supernatant for green synthesis of silver nanoparticles: photocatalytic dye degradation, antibacterial activity, and cytotoxicity. *BIOPROC BIOSYST ENG*, 42, 541-553. doi: 10.1007/s00449-018-2057-2.

46. Naimi-Shamel, N., Pourali, P., & Dolatabadi, S. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles using *Fusarium oxysporum* and antibacterial activity of its tetracycline conjugant. *J MYCOL MED.*, 29(1), 7-13. doi: 10.1016/j.mycmed.2019.01.005.
47. Ng, C. K., Sivakumar, K., Liu, X., Madhaiyan, M., Ji, L., Yang, L., ... & Cao, B. (2013). Influence of outer membrane c-type cytochromes on particle size and activity of extracellular nanoparticles produced by *Shewanella oneidensis*. *BIOTECHNOL BIOENG*, 110(7), 1831-1837. doi: 10.1002/bit.24856.
48. Niknejad, F., Nabili, M., Ghazvini, R. D., & Moazeni, M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles: advantages of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* model. *Curr. Med. Mycol.*, 1(3), 17. doi: 10.18869/acadpub.cmm.1.3.17.
49. Rajendran, K., & Sen, S. (2016). Optimization of process parameters for the rapid biosynthesis of hematite nanoparticles. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol. J PHOTOCH PHOTOBIO B*, 159, 82-87. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.03.023.
50. Rose, G. K., Soni, R., Rishi, P., & Soni, S. K. (2019). Optimization of the biological synthesis of silver nanoparticles using *Penicillium oxalicum* GRS-1 and their antimicrobial effects against common food-borne pathogens. *Green Process. Synth.*, 8(1), 144-156. doi: 10.1515/gps-2018-0042.
51. Roy, S., Das, T. K., Maiti, G. P., & Basu, U. (2016). Microbial biosynthesis of nontoxic gold nanoparticles. *MSEB*, 203, 41-51. doi: 10.1016/j.mseb.2015.10.008.
52. Roy, S., & Das, T. K. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Aspergillus foetidus*: optimization of physicochemical parameters. *NNL*, 6(3), 181-189. doi: 10.1166/nnl.2014.1749.
53. Safaei, M., Mozaffari, H. R., Moradpoor, H., Imani, M. M., Sharifi, R., & Golshah, A. (2022). Optimization of green synthesis of selenium nanoparticles and evaluation of their antifungal activity against oral *Candida albicans* infection. *Adv. Mater. Sci. Eng.*, 2022, 1-8. doi: 10.1155/2022/1376998.
54. Salvadori, M. R., Ando, R. A., Nascimento, C. A. O., & Corrêa, B. (2017). Dead biomass of Amazon yeast: A new insight into bioremediation and recovery of silver by intracellular synthesis of nanoparticles. *J. Environ. Sci. Health A.*, 52(11), 1112-1120. doi: 10.1080/10934529.2017.1340754.

55. Salvadori, M. R., Ando, R. A., Oller do Nascimento, C. A., & Corrêa, B. (2014). Intracellular biosynthesis and removal of copper nanoparticles by dead biomass of yeast isolated from the wastewater of a mine in the Brazilian Amazonia. *PLoS One*, 9(1), e87968. doi: 10.1371/journal.pone.0087968.
56. Saxena, J., Sharma, P., & Singh, A. (2017). Biomimetic synthesis of AgNPs from *Penicillium chrysogenum* strain FGCC/BLS1 by optimising physico-cultural conditions and assessment of their antimicrobial potential. *IET Nanobiotechnol*, 11(5), 576-583. doi: 10.1049/iet-nbt.2016.0097.
57. Shakouri, V., Salouti, M., Mohammadi, B., & Zonooz, N. F. (2016). Procedure optimization for increasing biosynthesis rate of gold nanoparticles by *Aspergillus flavus* supernatant. *Synth. react. Inorg met.*, 46(10), 1468-1472. doi: 10.1080/15533174.2015.1137021.
58. Shabbir, M., & Mohammad, F. (2018). Multifunctional AgNPs@Wool: colored, UV-protective and antioxidant functional textiles. *Appl. Nanosci.*, 8: 545–555. doi: 10.1007/s13204-018-0668-1.
59. Shivaji, S. W., Arvind, M. D., & Zygmunt, S. (2014). Biosynthesis, optimization, purification and characterization of gold nanoparticles. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 8(2), 138-146. doi: 10.5897/AJMR10.143.
60. Singh, R., Wagh, P., Wadhvani, S., Gaidhani, S., Kumbhar, A., Bellare, J., & Chopade, B. A. (2013). Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics. *Int J Nanomedicine*, 4277-4290. doi: 10.2147/IJN.S48913.
61. Solís-Sandí, I., Cordero-Fuentes, S., Pereira-Reyes, R., Vega-Baudrit, J. R., Batista-Menezes, D., & de Oca-Vásquez, G. M. (2023). Optimization of the biosynthesis of silver nanoparticles using bacterial extracts and their antimicrobial potential. *Biotechnol. Rep.*, 40, e00816. doi: 10.1016/j.btre.2023.e00816.
62. Spagnoletti, F. N., Spedalieri, C., Kronberg, F., & Giacometti, R. (2019). Extracellular biosynthesis of bactericidal Ag/AgCl nanoparticles for crop protection

using the fungus *Macrophomina phaseolina*. *J Environ Manage*, 231, 457-466. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.10.081.

63. Sur, V. P., Kominkova, M., Buchtova, Z., Dolezelikova, K., Zitka, O., & Moulick, A. (2019). CdSe QD biosynthesis in yeast using tryptone-enriched media and their conjugation with a peptide hecate for bacterial detection and killing. *Nanomater.*, 9(10), 1463. doi: 10.3390/nano9101463.

64. Tadayon, A., Jamshidi, R., & Esmaeili, A. (2016). Targeted thrombolysis of tissue plasminogen activator and streptokinase with extracellular biosynthesis nanoparticles using optimized *Streptococcus equi* supernatant. *Int. J. Pharm.*, 501(1-2), 300-310. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.02.011.

65. Tang, S., & Zheng, J. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *Adv. Healthc. Mater.*, 7(13), 1701503. doi: 10.1002/adhm.201701503.

66. Taran, M., Rad, M., & Alavi, M. (2017). Antibacterial activity of copper oxide (CuO) nanoparticles biosynthesized by *Bacillus* sp. FU4: optimization of experiment design. *Pharm. Sci.*, 23(3), 198-206. doi: 10.15171/PS.2017.30.

67. Wadhwani, S. A., Shedbalkar, U. U., Singh, R., Karve, M. S., & Chopade, B. A. (2014). Novel polyhedral gold nanoparticles: green synthesis, optimization and characterization by environmental isolate of *Acinetobacter* sp. SW30. *World J Microbiol Biotechnol*, 30, 2723-2731. doi: 10.1007/s11274-014-1696-y.

68. Wang, D., Xia, X., Wu, S., Zheng, S., & Wang, G. (2019). The essentialness of glutathione reductase GorA for biosynthesis of Se (0)-nanoparticles and GSH for CdSe quantum dot formation in *Pseudomonas stutzeri* TS44. *J. Hazard. Mater.*, 366, 301-310. doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.11.092.

69. Wang, W., Zhang, B., Liu, Q., Du, P., Liu, W., & He, Z. (2018). Biosynthesis of palladium nanoparticles using *Shewanella loihica* PV-4 for excellent catalytic reduction of chromium (VI). *Environ. Sci. Nano*, 5(3), 730-739. doi: 10.1039/C7EN01167A.

70. Win, T. T., Khan, S., & Fu, P. (2020). Fungus-(*Alternaria* sp.) Mediated Silver Nanoparticles Synthesis, Characterization, and Screening of Antifungal Activity

against Some Phytopathogens. *J. Nanobiotechnology*, 2020(1), 8828878. doi: 10.1155/2020/8828878.

71. Xia, X., Wu, S., Li, N., Wang, D., Zheng, S., & Wang, G. (2018). Novel bacterial selenite reductase CsrF responsible for Se (IV) and Cr (VI) reduction that produces nanoparticles in *Alishewanella* sp. WH16-1. *J. Hazard. Mater.*, 342, 499-509. doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.08.051.

72. Xiao, X., Zhu, W. W., Yuan, H., Li, W. W., Li, Q., & Yu, H. Q. (2016). Biosynthesis of FeS nanoparticles from contaminant degradation in one single system. *Biochem. Eng. J.*, 105, 214-219. doi: 10.1016/j.bej.2015.09.022.

73. Xue, B., He, D., Gao, S., Wang, D., Yokoyama, K., & Wang, L. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles by the fungus *Arthroderma fulvum* and its antifungal activity against genera of *Candida*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Int J Nanomedicine*, 1899-1906. doi: 10.2147/IJN.S98339.

74. Yu, Y. Y., Cheng, Q. W., Sha, C., Chen, Y. X., Naraginti, S., & Yong, Y. C. (2020). Size-controlled biosynthesis of FeS nanoparticles for efficient removal of aqueous Cr (VI). *J. Chem. Eng.*, 379, 122404. doi: 10.1016/j.cej.2019.122404.

75. Zhang, X., Qu, Y., Shen, W., Wang, J., Li, H., Zhang, Z., ... & Zhou, J. (2016). Biogenic synthesis of gold nanoparticles by yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1 for catalytic reduction of nitrophenols. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng.*, 497, 280-285. doi: 10.1016/j.colsurfa.2016.02.033.

76. Zivic, F., Grujovic, N., Mitrovic, S., Ahad, I. U., & Brabazon, D. (2018). Characteristics and applications of silver nanoparticles. *Commercialization of nanotechnologies—a case study approach*, 227-273. doi: 10.1007/978-3-319-56979-6\_10.

77. Харченко, Є. І., Лазюка, Ю. В., Скроцька, О. І., & Пенчук, Ю. М. (2021). Отримання біогенних наночасток срібла з використанням дріжджів та перспективи їх застосування у протимікробній терапії. *Наукові праці НУХТ*, 27 (3): 32-42. doi: 10.24263/2225-2924-2021-27-3-6.

## Нагороди та публікації

### Нагороди:

1. Переможець конкурсу 18-го конкурсу Стипендіальної програми «Завтра.UA» (сезон 2023/24).
2. Переможець Всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт з «Біотехнології» по секції «Фармацевтична та молекулярна біотехнологія» 2023/2024 навчального року.
3. Подяка ректора Національного університету харчових технологій Олександра Шевченка за активну участь у науково-дослідній роботі, громадському та культурному житті університету, сприяння популяризації та розвитку студентського (2023 р.)

### Статті у фахових журналах:

1. *О. І. Скроцька, В. В. Марченко, Р. В. Коваль* (2023). Біосинтез наночастинок благородних металів. Частина 2. Використання ціанобактерій і водоростей. *Наукові праці НУХТ*, 29(4), 61—85.

### Тези у збірниках вітчизняних конференцій:

1. *Скроцька О.І., Коваль Р.В.* Вплив концентрації нітрату срібла на біосинтез наночастинок при використанні мутантних дріжджів // Програма та тези матеріалів XII Міжнародної науково-технічної конференції "Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції" (7 листопада 2023 р., м. Київ). – К.: НУХТ, 2023. – С. 25-26.
2. *Koval R.V., Skrotska O.I.* Influence of temperature on the biosynthesis of silver nanoparticles // Abstract book of the International Scientific and Practical Conference “Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in wartime and post-war period” (15 -16 november 2023, Kyiv). – Kyiv, 2023. – С. 29-31.
3. *Коваль Р.В., Топіха Т.С., Скроцька О.І.* Можливості використання для потреб ЗСУ наночастинок срібла, отриманих за допомогою мутантних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* за різних температурних параметрів біосинтезу // Програма та тези матеріалів XI Науково-практичної конференції з міжнародною

участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво» (23). – С. 31-34.

4. *Коваль Р.В., Скроцька О.І.* Biosynthesis of silver nanoparticles after cultivating mutant yeast on culture media of different compositions // «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVIII Міжнародної науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених (Київ, 17 травня 2024 року): КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2024. – С. 48-49.

5. *Коваль Р., Скроцька О.* Оптимізація біосинтезу наночастинок срібла з використанням мікроорганізмів // Матеріали 90 Ювілейної Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 11-12 квітня 2024 р.). – Ч. 1. – С. 376.

6. *Valeriia Marchenko, Oksana Skrotska, Rostyslav Koval.* WAYS FOR BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING MICROORGANISMS, ALGAE, AND PLANTS // Proceedings of the VI International Conference on European Dimensions of Sustainable Development, May 15 – 17, 2024. – Kyiv: NUFT, 2024. – P. 35.

#### **Тези у збірниках закордонних конференцій:**

1. *Koval R., Skrotska O.* Synthesis of silver nanoparticles using mutant yeast and its dependence on the silver nitrate concentration // Abstract book: 9th Edition, The International Conference “Biotechnologies, Present and Perspectives” Suceava, Romania 15-th December 2023. – P. 12.

2. *Skrotska O, Koval R, Marchenko V.* Non-toxic biosynthesis of silver nanoparticles using mutant yeast // Abstract book: 4th International Conference Strategies toward Green Deal Implementation Water, Raw Materials & Energy, Cracow (Poland) 14 – 15 December 2023 – P. 176.

# ДИПЛОМ

За перемогу у Конкурсі - 2023/24  
Стипендіальної програми "Завтра.UA"  
Фонду Віктора Пінчука

нагороджується стипендією у 2024 році

**Ростислав Коваль**

студент

**Національного університету харчових технологій**

Науковий напрям

**Хімічна інженерія та біоінженерія**

Тема конкурсної роботи

**Оптимальні параметри позаклітинного  
біосинтезу наночастинок срібла з  
використанням мутантних дріжджів**

Віктор Пінчук  
Засновник Фонду



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ



**Диплом**

**I-ГО СПУТІЕННЯ**

**НАГОРОДЖУЄТЬСЯ**

*студент  
Національного університету  
харчових технологій*

**Коваль Ростислав  
Віталійович**

*автор роботи «Оптимізація параметрів  
біосинтезу наночастинок срібла при  
використанні мутантних дріжджів»*

*переможець*

*Всеукраїнського конкурсу студентських  
наукових робіт з «Біотехнології»  
11 квітня 2024 р.*



**Олександр ШЕВЧЕНКО**

**Київ 2024**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ



# Відома ректора

**НАГОРОДЖУЄТЬСЯ**

здобувач I курсу, ОС «магістр» факультету біотехнології  
та екологічного контролю

**НУХТ**

**КОВАЛЬ**

**Ростислав Віталійович**

За активну участь у науково-дослідній роботі,  
громадському та культурному житті університету,  
сприяння популяризації та розвитку студентського  
самоврядування та з нагоди Дня працівника харчової  
промисловості



**Олександр ШЕВЧЕНКО**

Наказ №823-К від 10.10.2023р



---

---

**2023**

# НАУКОВІ ПРАЦІ

## НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

**Том 29 № 4**

*Журнал  
«Наукові праці Національного університету харчових технологій»  
видається з 1938 року*

КИЇВ ♦ НУХТ ♦ 2023

## ЗМІСТ

## CONTENTS

<b>Автоматизація та інформаційні технології</b>	<b>Automation and information technologies</b>
<i>Чаплінський Ю. П.</i> Використання онтологій в управлінні безпечністю продуктів харчування	7 <i>Chaplinsky Y.</i> Ontology for management of food safety
<i>Ромашчук О. М.</i> Інтелектуалізація прикладних функцій керування технологічним комплексом цукрового заводу	20 <i>Romashchuk O.</i> Intellectualization of the applied functions of management of the technological complex of the sugar enterprise
<i>Дерман В. А., Петрухін С. Ю.</i> Багатовимірна математична модель представлення інформації щодо екологічного стану природно-техногенної геосистеми для автоматизованої системи управління харчовим підприємством в умовах російської агресії	33 <i>Derman V., Petrukhin S.</i> A multidimensional mathematical model of the presentation of information regarding the environmental state of the natural and technological geosystem for the automated system of management of a food enterprise in the conditions of russian aggression
<b>Біотехнології</b>	<b>Biotechnologies</b>
<i>Пирог Т. П., Парфенюк М. А.</i> Вплив конкурентних еукаріотичних мікроорганізмів на синтез і властивості вторинних метаболітів. Частина 2. Дріжджі як регулятори синтезу та біологічної активності вторинних метаболітів	50 <i>Pirog T., Parfeniuk M.</i> Influence of competitive eukaryotic microorganisms on the synthesis and properties of secondary metabolites. Part 2. Yeast as regulators of synthesis and biological activity of secondary metabolites
<i>Скороцька О. І., Марченко В. В., Коваль Р. В.</i> Біосинтез наночастинок благородних металів. Частина 2. Використання сіанобактерій водоростей	61 <i>Skrotska O., Marchenko V., Koval R.</i> Biosynthesis of noble metal nanoparticles. Part 2. Use of cyanobacteria and algae
<b>Економіка, менеджмент і маркетинг</b>	<b>Economy, Management and Marketing</b>
<i>Сімкін Д. О., Петухова О. М.</i> Використання аутсорсингу на підприємствах харчової промисловості: теорія, практика, особливості	85 <i>Simkin, D. Pietukhova O.</i> The usage of outsourcing at food industry enterprises: theory, practice, features
<b>Механічна та електрична інженерія</b>	<b>Mechanical and Electrical Engineering</b>
<i>Цыганкова Г. А.</i> Електромагнітне поле в електродинамічних пристроях складної конструкції	95 <i>Tsygankova G.</i> Electromagnetic field in electrodynamic devices of complex design
<i>Мирончук В. Г., Кривошляк-Володіна Л. О., Герра В. М., Володін С. О.</i> Іновативні запірно-регулювальні пристрої в технологічних потоках виробництва цукру	107 <i>Myronchuk V., Kryvopliak-Volodina L., Hera V., Volodin S.</i> Innovative shut-off and control devices in sugar production process flows
<i>Зінкевич П. О., Балута С. М.</i> Системний аналіз і підходи до розробки автоматизованої системи електрозабезпечення цивільних об'єктів з фотоелектричними станціями та накопичувачами електроенергії	117 <i>Zinkevych P., Baluta S.</i> System analysis and approaches to the development of an automated power supply system for civil objects with photoelectric plants and electricity storage

**BIOSYNTHESIS OF NOBLE METAL NANOPARTICLES.  
PART 2. USE OF CYANOBACTERIA AND ALGAE**

O. Skrotska, V. Marchenko, R. Koval  
*National University of Food Technologies*

**Key words:**

*Nanoparticles*  
*Noble metals*  
*Biosynthesis*  
*Cyanobacteria*  
*Algae*

**Article history:**

Received 13.07.2023  
Received in revised form  
28.07.2023  
Accepted 14.08.2023

**Corresponding author:**

O. Skrotska  
**E-mail:**  
skrotska@ukr.net

**Citation:** O. I. Скроцька, В. В. Марченко, Р. В. Коваль (2023). Біосинтез наночастинок благородних металів. Частина 2. Використання ціанобактерій і водоростей. *Наукові праці НУФТ*, 29(4), 61—85.  
DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-4-7

**ABSTRACT**

The possibilities of using cyanobacteria and algae for the biosynthesis of gold (AuNPs), silver (AgNPs), platinum (PtNPs), palladium (PdNPs), and ruthenium (RuNPs) nanoparticles were characterized in the article.

Cell-free aqueous extract of cyanobacteria, biomass, culture liquid, supernatant, as well as cellular pigments (phycocyanin, phycoerythrin, allophycocyanin) and polysaccharides are used for the biosynthesis of nanoparticles. Various research showed the possibility of biosynthesis of noble metal nanoparticles using cyanobacteria of the genus *Anabaena*, *Cyanothece*, *Desertifilum*, *Lyngbya*, *Nostoc*, *Plectonema*, *Spirulina*, *Synechocystis*, *Trichodesmium* and others. They can be synthesized using bacterial metabolites — proteins, enzymes, polysaccharides. It was shown that aromatic compounds, alkanes, amines and amides, as well as phenolic compounds can participate in the reduction of metal ions and the biosynthesis of nanoparticles, as well as in their stabilization.

Freshwater and marine algae can be used for the biosynthesis of noble metal nanoparticles. *Acutodesmus dimorphus*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris*, *Caulerpa racemosa*, *Dunaliella salina*, *Sargassum muticum* are among them. At the same time, algae extracts, which contain polysaccharides, phenolic compounds, proteins, vitamins, carotenoids, astaxanthins, polyols, terpenoids and sterols were used. The active groups of these compounds are responsible for the recovery, biosynthesis and stabilization of nanoparticles.

Nanoparticles synthesized using cyanobacteria and algae have antibacterial activity against both gram-negative and gram-positive bacteria. The mechanism of their antimicrobial action is that they can denature surface bacterial proteins and block cellular metabolism and respiration processes due to damage to the electron transport system. The antitumor effect of biogenic nanoparticles using different lines of transplanted cancer cells was shown. At the same time, their non-toxicity in relation to normal cell lines has been proven. The antitumor effect of biosynthesized nanoparticles is related to the fact that they cause cellular and subcellular morphological changes, increase oxidative stress and metabolic toxicity, and induce apoptosis of cancer cells by reducing the expression of antiapoptotic proteins and increasing the expression of apoptotic proteins.

DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-4-7

Міністерство освіти і науки України  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

---



**ХІІ МІЖНАРОДНА  
НАУКОВО-ТЕХНІЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ**  
"Наукові проблеми харчових технологій та промислової  
біотехнології в контексті євроінтеграції"

**ПРОГРАМА ТА ТЕЗИ МАТЕРІАЛІВ**

*7 листопада 2023 р.*

**КИЇВ НУХТ 2023**

1

**Секція 1**  
**Промислова біотехнологія, процеси та апарати харчової,**  
**мікробіологічної та фармацевтичної промисловості**

1	<b>О.Ю. Шевченко, К.В. Васильківський</b>	17
	Біосинтез пробіотичних культур для виробництва ковбасних виробів	
2	<b>О.О.Гавва, Л.О.Кривопляс-Володіна</b>	19
	Обґрунтування режимів роботи адаптронних функціональних модулів дозування рідкої продукції ваговим способом	
3	<b>Г.В. Дейниченко, Д.В. Дмитревський, І.А. Мороз</b>	22
	Огляд та аналіз процесів мембранного розділення під час переробки харчових рідин	
4	<b>М.В. Дзюба, О.І. Скроцька, Т.П. Пирог</b>	25
	Використання поверхнево-активних речовин <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241 для біосинтезу наночастинок срібла	
5	<b>В.І. Зав'ялов, Т.Г. Мисюра, Н.В. Попова, Ю.В. Запорожець, В.М. Чорний</b>	27
	Дослідження енерговитрат при безперервному віброекстрагуванні із рослинної сировини	
6	<b>О.І. Скроцька, О.В. Жолобко</b>	29
	Внутрішньоклітинний синтез наночастинок селену за допомогою дріжджів <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> M437	
7	<b>Yu Ivanchenko, T.P. Pirog</b>	31
	Metal nanoparticles, stabilized by microbial biosurfactants, as antimicrobial agents in agriculture	
8	<b>О.І. Скроцька, Р.В. Коваль</b>	33
	Вплив концентрації нітрату срібла на біосинтез наночастинок при використанні мутантних дріжджів	
9	<b>О.І. Бабанова, П.В. П'ятківський, А.О. Шевченко</b>	36
	Обґрунтування модернізації сушильного апарату гребкового типу на фармацевтичних підприємствах	
10	<b>Д.О. Благодир<sup>1</sup>, М.С. Іванов<sup>1</sup>, Т.П. Пирог<sup>1,2</sup></b>	39
	Вплив бактерій роду <i>ENTEROBACTER</i> на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241	
11	<b>І. Д. Ковшар, В. П. Стабніков</b>	41
	Рослинна уреаза для виробництва біоцементу	
12	<b>В.В. Марченко, О.І. Скроцька</b>	44
	Використання рослин для синтезу наночастинок срібла та їх антимікробна дія	
13	<b>А.М. Охмакевич, Є.А. Дон, Л.В. Ключка, Т.П. Пирог</b>	45
	Руйнування двовидових біоплівки за дії комплексу ефірної олії і поверхнево-активних речовин <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> IMB Ac-5017	
14	<b>А. Я. Савич, О. О. Воронцов</b>	47
	Біологічні інсектициди - сучасна альтернатива хімічним пестицидам	
15	<b>М. А. Парфенюк, І. В. Ключка, Л. В. Ключка, Т. П. Пирог</b>	49
	Синергізм антифунгальної активності комплексу ефірних олій і поверхнево-активних речовин <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241, синтезованих за наявності <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> BTM-1	

## 8. ВПЛИВ КОНЦЕНТРАЦІЇ НІТРАТУ СРІБЛА НА БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК ПРИ ВИКОРИСТАННІ МУТАНТНИХ ДРІЖДЖІВ

О.І. Скроцька, Р.В. Коваль

*Національний університет харчових технологій, Київ, Україна*

**Вступ.** Наночастинки срібла (AgNPs) мають широкий спектр властивостей, що зумовлює потребу у розробці дешевих та екологічно безпечних методів їх

33

отримання.

Наразі активно досліджується можливість їх біосинтезу з використанням різних мікроорганізмів, зокрема дріжджів. Проте бракує даних з приводу досліджень використання з тією ж метою мутантних дріжджів.

**Матеріали і методи.** Мутантний штаб дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* отримували шляхом дії ультрафіолетового опромінення на суспензію клітин *Saccharomyces cerevisiae* M437. Для цього використовували бактерицидну лампу БУВ-30П з інтенсивністю випромінювання  $20 \text{ erg/mm}^2 \times \text{с}$  упродовж 90 с. Після чого опромінені дріжджі висівали на чашки Петрі із суцлю-агаром та культивували при  $30^\circ\text{C}$  упродовж 7 діб.

Мутантні колонії *S. cerevisiae* M437 рожевого кольору відбирали і пересівали на рідке синтетичне середовище Рідера та натуральне середовище YPD. На вказаних середовищах мутантні дріжджі культивували при  $30^\circ\text{C}$  упродовж 24 годин. Після чого отримували безклітинний водний екстракт. З цією метою клітини відділяли центрифугуванням, промивали від залишків поживного середовища та витримували у стерильній бідистильованій воді упродовж 72 год при  $30^\circ\text{C}$ .

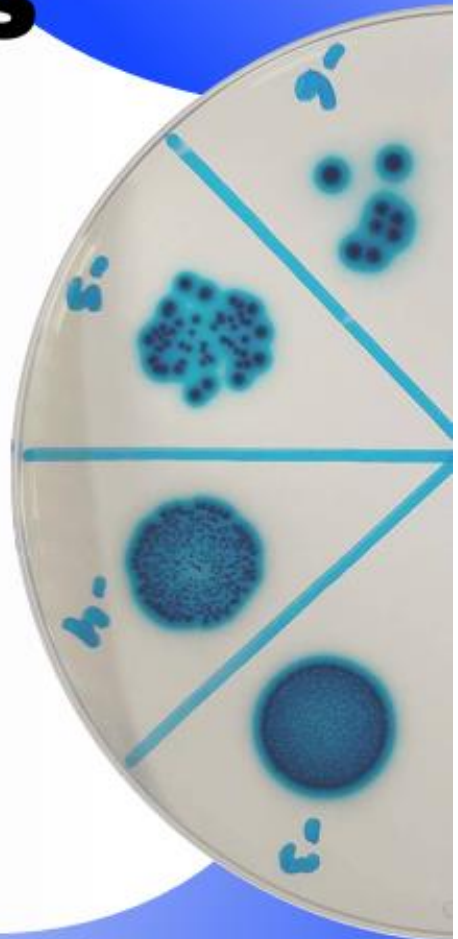
Для біосинтезу наночастинок срібла до безклітинного дріжджового екстракту вносили розчин нітрату срібла ( $\text{AgNO}_3$ ) до кінцевої концентрації 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 та 3 мМ. Зразки витримували за статичних умов при температурі  $30^\circ\text{C}$ . Синтез AgNPs підтверджували шляхом вимірювання спектрів поглинання зразків в діапазоні довжин хвиль 350–650 нм.

**Результати.** Раніше нами було показано можливість використання безклітинного водного екстракту дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437 з метою біосинтезу наночастинок срібла [1].

У цьому дослідженні після внесення розчину  $\text{AgNO}_3$  до безклітинного водного екстракту мутантних дріжджів спостерігали зміну забарвлення реакційної суміші з прозорого на темно-коричневий, що свідчить про утворення

# CONFERENCE MATERIALS

The International Scientific and  
Practical Conference  
**"MODERN ASPECTS OF  
MICROBIOLOGY, VIROLOGY, AND  
BIOTECHNOLOGY IN WARTIME  
AND POST-WAR PERIOD"**  
November 15-16, 2023  
Kyiv, Ukraine



D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology  
of the National Academy of Sciences of Ukraine

<i>Korobkova K.S.</i>	105
<b>FATTY ACID COMPOSITION OF <i>MEDICAGO SATIVA</i> LIPIDS UNDER STRESS CONDITIONS INDUCED BY <i>ACHOLEPLASMA LAIDLAWII</i> VAR. <i>GRANULUM</i> 118</b>	
<i>Kosovska N.A., Matsenko Y.S., Borodai V.V.</i>	107
<b>RATE OF RADIAL GROWTH OF <i>FUSARIUM SOLANI</i> MYCELIUM UNDER THE INFLUENCE OF ROOT EXOMETALOBITES OF SOY PLANTS</b>	
<i>Koval R.V., Skrotska O.I.</i>	108
<b>INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES</b>	
<i>Kozlova S., Likhanov A., Boroday V.</i>	110
<b>CYCLIC LIPOPEPTIDES OF BACTERIA OF THE GENUS <i>BACILLUS</i> FOR PROTECTION AGAINST AGRICULTURAL CROP DISEASES</b>	
<i>Krupodorova T., Kizitska T., Barshteyn V.</i>	112
<b>COMPETITION BETWEEN SELECTED MACROMYCETES AND HARMFUL MICROORGANISMS</b>	
<i>Krutlyo D.V.</i>	114
<b>COMPATIBLE USE OF TWO <i>BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM</i> STRAINS FOR SOYBEAN INOCULATION</b>	
<i>Kulbanska I.M.</i>	117
<b>BACTERIAL WETWOOD OF <i>ULMUS GLABRA</i> HUDS. IN THE RELICT CENOPOPULATION OF THE POKUTSKY CARPATHIANS</b>	
<i>Kurdish I.K.</i>	118
<b>PROSPECTS FOR THE USE OF THE COMPLEX BACTERIAL PREPARATION AZOGRAN IN ORGANIC FARMING</b>	
<i>Kyrylov S.K., Tymoshenko A.D., Bida I.O., Havryliuk O.A., Hovorukha V.M., Tashyrev O.B.</i>	120
<b>ANAEROBIC DEGRADATION OF <i>ARTEMISIA ABSINTHIUM</i> TO PRODUCE BIOMETHANE AND DETOXIFY TOXIC COPPER COMPOUNDS</b>	
<i>Latina N.O.</i>	121
<b>ASSESSMENT OF MICROBIAL CONTAMINATION OF MEDICAL WORKERS' SMARTPHONES</b>	
<i>Latina N.O.</i>	123
<b>MICROBIOLOGICAL MONITORING IN PUREUMATIC-INFLAMMATORY INFECTIONS OF WOUNDS IN WOUNDED AS A RESULT OF COMBAT ACTIONS</b>	
<i>Lazarets P.</i>	126
<b>STUDY OF THE BIOTECHNOLOGICAL PATHWAY OF SYNTHESIS OF RIBOFLAVIN AND ROSE ESSENTIAL OIL BY <i>EREMOTHECIUM ASHBYI</i></b>	
<i>Leonova N.O., Fomenko S.V.</i>	129
<b>STIMULATING PHYTOHORMONAL COMPOUNDS OF NON-DIAZOTROPHIC ENDOPHYTIC SOYBEAN BACTERIA</b>	
<i>Levishko A., Gumeniuk I.</i>	131
<b>CHANGES IN SOIL MICROBIOCENOSIS AFTER THE IMPACT OF ACTIVE WARFARE IN UKRAINE</b>	
<i>Lishchuk A. M., Parfenyk A. I., Karachinska N.V.</i>	133
<b>ENVIRONMENTAL RISKS FOR THE DEVELOPMENT AND SPREAD OF PHYTOPATHOGENIC MICROORGANISMS IN SOYBEAN AGROCENOSSES</b>	
<i>Loboda M.L., Biliavska L.O.</i>	135
<b>PLANT IMMUNITY PROMOTION VIA SALICYLIC AND JASMONIC ACIDS BIOSYNTHESIS INDUCTION BY STREPTOMYCETES' METABOLITES</b>	
<i>Lusta M.V., Vorankova O.S.</i>	137
<b>MONITORING OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> STRAINS AMONG THE ADULT POPULATION OF THE DNIPROPETROVSK REGION</b>	
<i>Makevych N.V., Kutsyk R.V.</i>	139
<b>INFLUENCE OF <i>RUTA GRAVEOLENS</i> L. ETHANOLIC EXTRACTS ON CLINICAL STRAINS OF <i>ESCHERICHIA COLI</i></b>	

## INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES

KOVAL R.V., SKROTSKA O.I.

National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine  
kovalrost119@gmail.com

**Introduction.** Currently the research and application of silver nanoparticles is becoming more and more popular due to the great diversity of their useful properties, which give them an advantage over larger metal particles. Among them special attention is paid to silver nanoparticles

108

(AgNPs), which are determined by their unique physical, chemical and biological properties that allow them to be used as antimicrobial agents. Silver nanoparticles can be obtained using different methods that include chemical, physical and biological techniques. Considering that chemical methods include toxic and highly expensive reagents, coupled with the fact that physical methods use high values of both temperature and pressure [1], biosynthesis of AgNPs is the most promising and ecologically safe of all.

Biological synthesis of silver nanoparticles involves the use of various biological agents, such as plants, bacteria, fungi and yeasts for silver bioreduction and nanoparticle formation [2]. Great interest is in the use of yeasts as the biological agents for AgNPs synthesis, which is confirmed by numerous researches in the area, especially with *Saccharomyces cerevisiae* yeasts. However, there is a notable shortage of works dedicated to studying biosynthesis conditions using mutant yeasts.

Considering this, the aim of our research was to study the conditions of biosynthesis of silver nanoparticles using mutant *Saccharomyces cerevisiae* strain.

**Materials and methods.** Mutant strain of *S. cerevisiae* yeast was obtained using ultraviolet irradiation of the *S. cerevisiae* M437 cell suspension for 1 minute exposition. Yeasts were cultivated on YPD medium at 30°C for 24 hours. After the cultivation process was completed, cell-free aqueous extract was obtained. For this purpose, cells were harvested by centrifugation, washed with bidistilled water to remove the culture medium remnants and put in the Erlenmeyer flask with bidistilled water for 72 hours. Afterwards, cells were harvested using centrifuge and the resulting supernatant was filtered through the syringe filter with a 0.22 µm membrane. To the resulting cell-free extract was added AgNO<sub>3</sub> solution to receive final concentrations of 0.5, 1 and 1.5 mM AgNO<sub>3</sub>. The received samples were incubated in static conditions at temperatures of 30, 35, 40, 45 and 50°C. Biosynthesis of AgNPs was confirmed by measuring the absorption spectra of the samples in the 200-700 nm wavelength range.

**Results and discussion.** After the addition of the AgNO<sub>3</sub> solution to the cell-free yeast extract, the change of color of the reaction mixture from transparent to dark brown was observed, which was an indication of the bioreduction of silver and synthesis of silver nanoparticles. During the analysis of absorption spectra of the samples, a pronounced peak was recorded in the wavelength range of 200-700 nm, while the maximum absorption value was noted at 420 nm. The absorption intensity increased over time, while there was no shift in the wavelength at which the maximum absorption was recorded, which indicates the constant decrease in the number of silver ions and, thereafter, the increase in silver nanoparticles [3].

After analyzing the resulting data it can be assumed that the best biogenic synthesis of AgNPs was observed in the samples with the final concentration 0.5 mM AgNO<sub>3</sub>. The biosynthesis speed was lower in the samples with final concentration 1.5 mM of argentum nitrate. The regularity of the dependence of the absorption maximum on temperature was also recorded: the higher the temperature value was, the greater the absorption maximum value was. Thus, the data demonstrate that the most intense silver nanoparticles biosynthesis took place in the samples that were incubated at the temperatures of 45 and 50°C. However, it is worth noting, that the absorption peak of the samples that were incubated at 50°C were a bit wide, which is evidence of the formation of large AgNPs or their agglomeration. This pattern was observed both for the samples with final AgNO<sub>3</sub> concentration of 0.5 mM, as well as 1 and 1.5 mM. Taking this into

Фармак



**НАУКА В ОСНОВІ ВСІХ ПРОЦЕСІВ**

**ЗБІРНИК МАТЕРІАЛІВ**

**XI НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ  
З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ  
ШКОЛИ МОЛОДИХ НАУКОВЦІВ  
АТ «Фармак»**

**«НАУКА ТА СУЧАСНЕ  
ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ВИРОБНИЦТВО»**

Київ 2023

Матеріали XI Науково-практичної конференції з міжнародною участю  
Школи молодих науковців АТ «Фармак»  
«НАУКА ТА СУЧАСНЕ ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ВИРОБНИЦТВО»

23. **Іванов М. С.** – аспірант, науковий керівник – **Пирог Т. П.**, доктор біологічних наук, професор, Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна, Інститут мікробіології і вірусології НАН України, м. Київ, Україна
24. **Іценко А. А.** – кандидат педагогічних наук, старший викладач кафедри біоорганічної та біологічної хімії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна
25. **Капріор І. О.** – студент, наукові керівники – **Ярних Т. Г.** – доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри технології ліків НФаУ, **Буряк М. В.**, кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри технології ліків НФаУ, Національний фармацевтичний університет м. Харків, Україна.
26. **Кіка Л. С.** – аспірант, науковий керівник – **Саблій Л. А.**, доктор технічних наук, професор кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна.
27. **Ключка І. В.** – здобувач PhD, науковий керівник – д.б.н., проф. **Пирог Т. П.**, Національний університет харчових технологій, Київ, Україна, Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ, Україна.
28. **Ключка Л. В.** – доктор PhD, науковий керівник – д.б.н., проф. **Пирог Т. П.**, Національний університет харчових технологій, Київ, Україна, Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ, Україна.
29. **Коноваленко І. С.** – PhD, асистент кафедри технології ліків, Національний фармацевтичний університет, м. Харків Україна.
30. **Коваленко В. О.** – магістр, науковий керівник – **Гурєєва С. М.** доктор фармацевтичних наук, професор Київський національний університет технологій та дизайну, АТ «Фармак», Київ, Україна.
31. **Коваль Р. В.** – студент, **Топіха Т. С.** – студент, науковий керівник доц., к.б.н. **Скροцька О. І.** Національний університет харчових технологій, Київ, Україною
32. **Кирда М. А.** – інженер-технолог, Відділ якості фармацевтичної розробки, АТ «Фармак», м. Київ, Україна.
33. **Курилко Ю. С.** – аспірант, м.н.с., науковий керівник докт. біол.наук, проф. **Малова Н. Г.**, ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім В. Я. Данилевського НАМН України» м.Харків, Україна

## МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ ПОТРЕБ ЗСУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, ОТРИМАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ МУТАНТНИХ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ЗА РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУРНИХ ПАРАМЕТРІВ БІОСИНТЕЗУ

Коваль Р.В., Тоніха Т.С.

Вступ. Використання наночастинок металів стає все більш популярним зважаючи на їх переваги перед макроаналогами. Одним з найбільш перспективних є наночастинки срібла (AgNPs), які володіють унікальними фізико-хімічними властивостями, що роблять їх незамінними в таких областях як медицина, мікроелектроніка, фотокаталіз та літографія. Наприклад, наночастинки срібла можуть використовуватись для створення антимікробних покриттів на обладнанні та устаткуванні. Вони також можуть бути застосовані в медицині для лікування ран, при цьому найпопулярнішим є їх використання у спеціальних пов'язках та спреях [1].

Ці методи сприяють знищенню патогенних мікроорганізмів, зменшенню запалення та загоєнню. Такі технології стануть особливо корисними для Збройних Сил України. Наприклад, підприємством «РАДІТЕХ» було розроблено медичний виріб «гідробинт», котрий представляє собою медичні пов'язки з наночастинками срібла, котрі використовуються для обробки опіків та інших механічних поранень. Компанія також розробила спрей для дезінфекції ран та опіків. Такі вироби уже застосовуються у ЗСУ для догляду за пораненими. Схожі засоби вже давно використовуються за кордоном, проте їх вартість є досить великою. Зважаючи на це, постає потреба у розробці дешевих методів отримання AgNPs з метою застосування у медичних виробках для використання Збройними Силами України [2].

Методи синтезу наночастинок срібла включають фізичні, хімічні та біологічні, серед яких останній вважається найбільш екологічним, адже не використовує шкідливих для навколишнього середовища речовин чи високого тиску. Крім того, біологічний метод дозволяє отримувати AgNPs з заданими формою та розмірами, від яких значно залежать властивості наночастинок [3]. Він включає використання біологічних систем, серед яких найбільш широко використовуються рослини або їх частини, бактерії, гриби, водорості та дріжджі. Особливо ефективним є використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, котрі є досить безпечними у використанні та не потребують складних методик культивування. Використання *S. cerevisiae* у якості біологічних агентів для біосинтезу наночастинок срібла досить детально описано багатьма дослідниками, проте використання мутантних дріжджів з тією ж метою є малодослідженим.

Фармак



# СЕРТИФІКАТ

учасника XI науково-практичної конференції  
з міжнародною участю  
Школи молодих науковців АТ «Фармак»  
«НАУКА ТА СУЧАСНЕ ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ВИРОБНИЦТВО»

Нагороджується:

**Коваль Ростислав Віталійович**

за успішну усну доповідь на тему:

**«Можливості використання для потреб ЗСУ наночастинок  
срібла, отриманих за допомогою мутантних дріжджів  
*saccharomyces cerevisiae* за різних температурних  
параметрів біосинтезу»**

Виконавчий директор  
АТ «Фармак»

В. Г. Костюк

м. Київ  
2023 р.



UNIVERSITY  
OF HULL

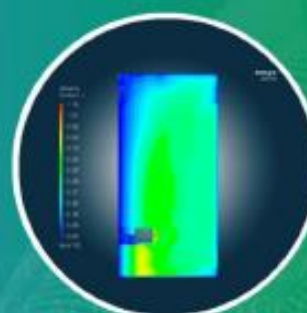
KEY  
PHARMA

Łukasiewicz  
PIAP



XVIII Міжнародна науково-практична конференція  
студентів, аспірантів і молодих вчених

# "Біотехнологія XXI століття"



```
Amino_Acid = mRNA.translate(table=1, cds=False)  
Proteins = Amino_Acid.split("**")  
print(Proteins) # ['n', 'Proteins']  
df = pd.DataFrame(Proteins)  
if df.isnull().any().any():  
print(df) # ['n', 'Proteins']
```



17.05.2024, Київ, КПІ ім. Ігоря Сікорського

Каложний Ю. А. АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ <i>LAETIPORUS SULPHUREUS</i> .....	96
Kyrylenko Y., Klochko V. COMPARATIVE ANALYSIS OF METHODS FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF MYCOPLASMOSIS CAUSED BY <i>MYCOPLASMA HUMANIS</i> .....	99
Кізіцька Т.О., Круподьорова Т.А., Ратушняк В.В., Барштейн В.Ю. ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЇ ШТАМІВ <i>FOMITOPSIS BETULINA</i> НА АГАРИЗОВАНИХ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ.....	102
Klechak I., Zubyk P. CULTIVATION OF TRAMETES SP. ON AGARIFIED PECTIN-CONTAINING MEDIA .....	105
Koval R.V., Skrotska O.I. BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES AFTER CULTIVATING MUTANT YEAST ON CULTURE MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITIONS.....	107
Корочева А. О. <i>PLEUROTUS ERYNGII</i> ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ ПРОДУЦЕНТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ДІЇ.....	109
Кузнецова О.В., Власенко К.М., Павленко Л.М. НАКОПИЧЕННЯ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ ПРОМИСЛОВИМИ ШТАМАМИ <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> .....	113
Лазарець П.С., Поліщук В.Ю. БІОСИНТЕТИЧНА ЗДАТНІСТЬ <i>EREMOTHECIUM ASHBYI</i> ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА ВІДХОДАХ ОЛІЙНО-ЖИРОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ.....	116
Лижнюк Д.В., Гебеш Е.М., Клочко В.В. АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМУ <i>STREPTOMYCES</i> SP. LG23.....	120
Литвин Н.С., Ліновицька В.М. ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ МОНОФЕНОЛМОНООКСИГЕНАЗИ У БАЗИДІЄВОГО ГРИБА <i>GRIFOLA FRONDOSA</i> В ГЛИБИННІЙ КУЛЬТУРІ.....	122
Лук'янець А.С., Даниленко С.Г. ШТАМИ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ЯК ІНОКУЛЯНТИ ПРИ ФЕРМЕНТАЦІЇ СИЛОСУ З ЖИТА .....	124
Матвієнко А.О., Сирчін С.О. ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ШТАМІВ 320 І 1515 МІКРОМІЦЕТУ <i>TRICHODERMA KONINGII</i> .....	126
Olkhovska A.I., Zahorska Y.V., Chopei M.I., Afanasieva K.S., Matvieieva N.A. <i>ARTEMISIA VULGARIS</i> "HAIRY" ROOTS AS A SOURCE OF SAFE ANTIOXIDANT COMPOUNDS .....	130
Орлов В.В. ПРАКТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ КОНТРОЛЮ РОЗЧИНЕНОГО КИСНЮ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ РЕКОМБІНАНТНОГО ШТАМУ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПРИ ВИРОБНИЦТВІ ІНСУЛІНУ ЛЮДИНИ .....	133

---

## BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES AFTER CULTIVATING MUTANT YEAST ON CULTURE MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITIONS

Koval R.V., Skrotska O.I.

National University of Food Technologies, kovalrost119@gmail.com

### Abstract

Current work is devoted to the determination of the optimal parameters of the biosynthesis of silver nanoparticles using a mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Optimal parameters of nanoparticles biosynthesis were established: cultivation of yeast on YPD 1 medium, the use of cell-free aqueous extract of mutant yeast, 1.5 mM AgNO<sub>3</sub>, 45°C.

**Keywords:** silver nanoparticles, *Saccharomyces cerevisiae*, culture media, temperature.

**Introduction.** Nanoparticles of various metals are attracting more and more attention due to the wide range of advantages they have over their macro analogues. Silver nanoparticles (AgNPs) are of the greatest interest because of their unique physicochemical and biological properties, namely anticancer, antiviral and antimicrobial activity. Traditional physical and chemical methods of silver nanoparticles synthesis require high temperatures and use toxic substances, making them expensive and harmful to the environment. These shortcomings are absent in the biological method of obtaining silver nanoparticles, which is based on the use of various biological objects for the formation of AgNPs.

We have already shown the possibility of obtaining silver nanoparticles using a cell-free aqueous extract of mutant *Saccharomyces cerevisiae* yeast and determined the optimal silver nitrate concentration for biosynthesis [1]. Currently, it is expedient to determine the optimal culture medium composition for yeast cultivation and the optimal temperature for the biosynthesis of nanoparticles.

**Materials and methods.** The mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae* yeast was obtained by exposing a suspension of *S. cerevisiae* M437 cells to the ultraviolet irradiation. Mutant cells were cultivated on three different culture media: Reader's medium (glucose – 20 g/l, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 3 g/l, MgSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O – 0,7 g/l, NaCl – 0,5 g/l, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,1 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1 g/l), YPD 1 (glucose – 20 g/l, yeast extract – 10 g/l, peptone – 10 g/l) and YPD 2 (glucose – 20 g/l, yeast extract - 10 g/l, peptone - 20 g/l). Cultivation was carried out under the following parameters: 30°C, 320 rpm, 24 hours. To obtain a cell-free aqueous yeast extract, the biomass was separated by centrifugation and washed three times to get rid of the culture medium remnants with bidistilled water. The resulting biomass was resuspended in sterile bidistilled water for 72 hours. The precipitate was separated by centrifugation, and the resulting cell-free extract was filtered through a sterile syringe filter with a 0.22 μm membrane. The biosynthesis of silver nanoparticles was carried out by adding a solution of silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) to the final concentration of 0.5 mM or 1.5 mM to the cell-free aqueous extract of mutant yeast, after which the samples were kept under static conditions at 30, 35, 40, 45 and 50 °C. The synthesis of silver nanoparticles was confirmed by measuring the absorption spectra of the samples in the 350-650 nm wavelength range.

**Results and discussion.** During the experiment, a shift in color from transparent to dark brown was observed in all samples on the 15th day, which indicates the bioreduction of silver ions and formation of AgNPs. While analyzing the absorption

**Ministry of Education and Science of Ukraine**

**National University of Food Technologies**

---

**90**  
**International scientific conference**  
**of young scientist and students**

**"Youth scientific achievements**  
**to the 21st century nutrition**  
**problem solution"**

**April, 11-12 2024**

**Part 1**

---

**Kyiv, NUFT, 2024**

## 29. Оптимізація біосинтезу наночастинок срібла з використанням мікроорганізмів

Ростислав Коваль, Оксана Скороцька

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

**Вступ.** Сьогодні все більшої популярності набуває синтез наночастинок срібла (AgNPs) з використанням мікроорганізмів завдяки дешевизні та простоті. Це породжує потребу у оптимізації процесу для отримання найкращих показників біосинтезу.

**Матеріали і методи.** Аналіз літературних джерел, присвячених оптимізації біосинтезу наночастинок срібла з використанням мікроорганізмів.

**Результати.** У роботі Cui зі співавторами було визначено оптимальні параметри біосинтезу наночастинок срібла з використанням *Trichoderma longibranchiatum*, для чого було випробувано різні значення pH, концентрацію внесеного нітрату срібла та температуру біосинтезу. Було встановлено оптимальні умови для синтезу наночастинок, а саме: pH 7, 2 mM AgNO<sub>3</sub>, 55°C. За цих умов вдалося отримати сферичні наночастинки з діаметром 20-35 нм [1]. У іншому дослідженні, Al-Soub зі співавт. займалися оптимізацією біосинтезу наночастинок срібла з використанням *Aspergillus flavus*. З цією метою реакційну суміш витримували впродовж різного часу за різних значень температури та pH. Дослідники виявили, що найкращий біосинтез наночастинок відбувався при температурі 27°C, pH 4 впродовж 144 год, при цьому діаметр отриманих сферичних наночастинок знаходився у діапазоні 10-35 нм [2]. Синтез наночастинок срібла з використанням різних біологічних агентів дослідили Solis-Sandí зі співавт. Для цього дослідники порівняли можливості використання різних штамів бактерій – *Bacillus subtilis* DSM 10, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Cupriavidus necator* DSM 545. Для біосинтезу AgNPs використовували різні температурні умови, pH. Була досліджена можливість, як внутрішньоклітинного, так і позаклітинного біосинтезу наночастинок срібла. Встановлено, що найбільша кількість наночастинок утворювалася при використанні супернатанту *B. subtilis* DSM 10, при цьому концентрація AgNPs збільшувалась з підвищенням температури та лужності середовища й була максимальною при 60°C та pH 10. Отримані за таких умов наночастинки мали сферичну форму та діаметр 20,8 нм [3].

**Висновки.** Отже, для кожного конкретного штаму мікроорганізмів необхідно експериментальним шляхом встановлювати оптимальні умови біосинтезу наночастинок срібла.

### Література

1. Cui, X., Zhong, Z., Xia, R., Liu, X., & Qin, L. (2022). Biosynthesis optimization of silver nanoparticles (AgNPs) using *Trichoderma longibranchiatum* and biosafety assessment with silkworm (*Bombyx mori*). *Arab. J. Chem.*, 15(10), 104142. doi: 10.1016/j.arabjc.2022.104142.
2. Al-Soub, A., Khleifat, K., Al-Tarawneh, A., Al-Limoun, M., Alfarrayeh, I., Al Sarayreh, A., ... & Albashaireh, A. (2022). Silver nanoparticles biosynthesis using an airborne fungal isolate, *Aspergillus flavus*: optimization, characterization and antibacterial activity. *Iran. J. Microbiol.*, 14(4), 518. doi: 10.18502/ijm.v14i4.10238.
3. Solis-Sandí, I., Cordero-Fuentes, S., Pereira-Reyes, R., Vega-Baudrit, J. R., Batista-Menezes, D., & de Oca-Vásquez, G. M. (2023). Optimization of the biosynthesis of silver nanoparticles using bacterial extracts and their antimicrobial potential. *Biotechnol. Rep.*, 40, e00816. doi: 10.1016/j.btre.2023.e00816.



MINISTRY OF EDUCATION  
AND SCIENCE OF UKRAINE  
NATIONAL UNIVERSITY  
OF FOOD TECHNOLOGIES  
NATIONAL ERASMUS+ OFFICE IN UKRAINE  
EUROPEAN STUDIES PLATFORM



PROCEEDINGS  
VI INTERNATIONAL CONFERENCE  
EUROPEAN DIMENSIONS OF  
SUSTAINABLE DEVELOPMENT



MAY 15-17, 2024, KYIV

<i>Olena Dotsenko, Viktoriia Krasinko, Margarita Lomborg, Oksana Mykchaylova</i> MUSHROOMS OF THE GENUS <i>HERICIUM</i> AS A TOOL FOR SUSTAINABLE BIORESOURCE MANAGEMENT: ANALYSIS OF GROWTH CONDITIONS .....	91
<i>Valeriia Marchenko, Oksana Skrotska, Rostyslav Koval</i> WAYS FOR BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING MICROORGANISMS, ALGAE, AND PLANTS .....	92
<i>Hanna Bondar, Viktoriia Krasinko</i> PRODUCTION OF IRON ENRICHED <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	93
<i>Mykhailo Tymofiienko, Liudmila Butsenko</i> A DEVELOPMENT OF FAST CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR INDOLEACETIC ACID DETERMINATION IN CELL CULTURES .....	94
<i>Oksana Skrotska, Pavlo Holubiev</i> <i>SACCHAROMYCES</i> GENUS YEAST: BIOSYNTHESIS OF NANOPARTICLES .....	95
<i>Maksym Klymenko, Viktoriia Krasinko</i> KILLER YEAST AS AN IMPORTANT ECOLOGICAL FACTOR FOR BIOCONTROL MICROFUNGII IN THE AGRICULTURE .....	96
<i>Anastasiia Riznyk, Tetiana Sylchuk, Vita Tsyruhnikova, Olha Dulka, Olena Tyshchenko</i> FORMATION OF THE DOMESTIC MARKET OF GLUTEN-FREE PRODUCTS IN THE CONTEXT OF SUSTAINABLE DEVELOPMENT .....	97
<i>Oleh Vysotskyi, Viktoriia Krasinko</i> BACTERIA <i>MESORHIZOBIUM CICERI</i> IS AN ECONOMICALLY AND ECOLOGICALLY BENEFICIAL BIOLOGICAL AGENT FOR GROWING CHICKPEAS .....	98
<i>Roman Tarasenko, Yevhenii Shapovalov, Lydmila Starzhinska, Ievgen Polunkin</i> INNOVATIVE AUTOCATALYTIC PYROLYSIS: TRANSFORMING CHICKEN MANURE INTO VALUABLE RESOURCES .....	99
<i>Iryna Korniienko, Olena Kuznietsova, Victoria Kermash, Larysa Yastremska, Mykhailo Baranovskyi</i> MODERN BIOTECHNOLOGIES IN THE FIELD OF FOOD WASTE PROCESSING WITH REGARD TO THE PRINCIPLES OF CIRCULAR ECONOMY .....	100
<i>Vadym Paziuk, Kateryna Samoilenko, Serhii Biriukov</i> ADVANCED ENERGY-EFFICIENT LOW-TEMPERATURE SEED DRYING TECHNOLOGIES .....	101

---

## WAYS FOR BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING MICROORGANISMS, ALGAE, AND PLANTS

**Valeriia Marchenko, Oksana Skrotska, Rostyslav Koval\***

*National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine*

*\*Speaker: [kovalrost119@gmail.com](mailto:kovalrost119@gmail.com)*

For the biosynthesis of silver nanoparticles, various biological objects are used, including bacteria, cyanobacteria, fungi, yeast, algae, plants. When microorganisms are employed for the biosynthesis of silver nanoparticles, both intracellular and extracellular synthesis pathways are possible. Additionally, the synthesis of nanoparticles using exo- and endogenous cellular metabolites is feasible (Vadakkan, Rumjit, Ngangbam, Vijayanand, & Nedumpillil, 2024). Extracts from algae and plants containing polysaccharides, phenolic compounds, proteins, vitamins, carotenoids, astaxanthins, polyols, terpenoids, and sterols are used for the biosynthesis of silver nanoparticles. The mechanisms of nanoparticles biosynthesis using plants are not fully elucidated at present. However, it is known that hydroxyl, methylene, and carboxyl groups of various biological substances participate in the processes of silver ion reduction, nanoparticles formation, and stabilization (Mustapha, Misni, Ithnin, Daskum, & Unyah, 2022). Depending on the biological object and the biosynthesis method, nanoparticles of various shapes (spherical, cubic, icosahedral, triangular, pentagonal, hexagonal) and sizes are formed, affecting their biological properties. Biogenic nanoparticles exhibit antibacterial activity against both gram-negative and gram-positive bacteria. The mechanism of their antimicrobial action involves denaturation of bacterial surface proteins and inhibition of cell metabolism and respiration by damaging the electron transport system. Additionally, nanoparticles inhibit bacterial protein translation. Antitumor activity of biogenic nanoparticles using various cancer cell lines has been demonstrated, with evidence of their non-toxicity towards normal cell lines. The antitumor effect of biosynthesized nanoparticles is associated with inducing cellular and subcellular morphological changes, enhancing oxidative stress and metabolic toxicity, and inducing apoptosis in cancer cells by reducing the expression of anti-apoptotic proteins and increasing the expression of apoptotic proteins (Koul, 2021; Saravanan, 2021).

### *References:*

- Koul, B., Poonia, A. K., Yadav, D., Jin, J.-O. (2021). Microbe-mediated biosynthesis of nanoparticles: applications and future prospects. *Biomolecules*, 11, 886. DOI: 10.3390/biom11060886
- Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., Daskum, A. M., & Unyah, N. Z. (2022). A review on plants and microorganisms mediated synthesis of silver nanoparticles, role of plants metabolites and applications. *Int. J. Environ. Health Res.*, 19(2), 674. DOI: 10.3390/ijerph19020674
- Saravanan, A., Kumar, P. S., Karishma, S., Vo, D.-V. N., Jeevanantham, S., Yaashikaa, P., & George, C. S. (2021). A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*, 264(2), 128580. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.128580
- Vadakkan, K., Rumjit, N. P., Ngangbam, A. K., Vijayanand, S., & Nedumpillil, N. K. (2024). Novel advancements in the sustainable green synthesis approach of silver nanoparticles (AgNPs) for antibacterial therapeutic applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 499, 215528.

The International Conference  
“Biotechnologies, Present and  
Perspectives”  
Suceava, Romania  
*9<sup>th</sup> Edition,*  
*15<sup>th</sup> December 2023*

# ABSTRACTS

**<https://fiajournal.usv.ro/conference2023/>**

**ISSN 2068 - 0819**

***SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING  
MUTANT YEAST AND ITS DEPENDENCE ON THE SILVER  
NITRATE CONCENTRATION***

Rostyslav KOVAL, \*Oksana SKROTSKA  
Department of Biotechnology and Microbiology,  
National University of Food Technologies, Ukraine  
[\\*skrotskaoi@nuft.edu.ua](mailto:*skrotskaoi@nuft.edu.ua)

**Abstract:**

Silver nanoparticles (AgNPs) are becoming more and more popular due to their valuable properties, especially their antimicrobial activity. Chemical and physical methods are traditional for the synthesis of AgNPs, however biological method is considered to be the cheapest and most eco-friendly. This technique involves the application of different biological agents, including yeasts. Properties of silver nanoparticles depend greatly on the conditions of their biological synthesis, particularly silver nitrate concentration. The biosynthesis of silver nanoparticles was carried out using cell-free aqueous extract of mutant *Saccharomyces cerevisiae* M437 yeast, obtained using the exposure to the ultraviolet light. Argentum nitrate was added to the cell-free extract to reach the final concentrations of 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 mM AgNO<sub>3</sub>. Obtained samples were incubated under static conditions at 30 °C. Synthesis of silver nanoparticles was confirmed by the measurement of the absorption spectra of the samples in 200-700 nm wavelength range using UV-Vis spectrophotometer. Formation of AgNPs at the beginning of the experiment was confirmed by the shift in reaction mixture color from transparent to dark brown. During the spectrophotometric analysis, maximum absorbance value of the samples was noted at 420 nm, which is the evidence of silver nanoparticles presence. It demonstrates that the reduction of silver and formation of AgNPs occurred in all samples with different argentum nitrate concentrations. The fastest synthesis occurred in the samples with final concentrations of 0.5 and 1.5 mM AgNO<sub>3</sub>.

**Key words:** *mutant yeast, silver nanoparticles, ecological method, biosynthesis, Saccharomyces cerevisiae.*

4<sup>th</sup> International Conference  
**Strategies toward**  
**Green Deal Implementation**  
**Water, Raw Materials & Energy**



# **ABSTRACT BOOK**

14 - 15 DECEMBER 2023  
ONLINE



MEERI PAS 2024



Joanna Wyczarska-Kokot, Ewa Zabłocka-Godlewska, Edyta Kudlek, Anna Lempart-Rapacewicz, Mirosława Pawlyta, Anna Marszałek <b>Multiparametric study of a filter bed from a swimming pool water treatment system</b> .....	172
Iwona Zawieja, Ewa Łobos-Moysa, Sylwia Bajkacz, Ewa Dacewicz <b>Ultrasonic support for the removal of selected micropollutants from sewage sludge</b> .....	173
Maciej Życki, Anna Kowalik-Klimczak <b>Technology of thermal valorisation of tanned leather wastes for sorption and energetic valuable materials</b> .....	174
Rafał Rapacewicz, Edyta Kudlek, Katarzyna Brukało <b>Rainwater and stormwater quality in terms of its potential use in swimming pool installations</b> .....	175
Oksana Skrotska, Rostyslav Koval, Valeriia Marchenko <b>Non-toxic biosynthesis of silver nanoparticles using mutant yeast</b> .....	176
Mehdi Sharif Shourjeh, Przemysław Kowal, Hussein E. Al-Hazmi, Bartosz Szelaq, Aleksander Czaplą, Jakub Drewnowski <b>The impact of FA and FNA on the suppression of NOB in nitrification-anammox systems for WWTPS</b> .....	177
Jakub Drewnowski, Jun Xu, Hongyu Mao, Lurui Chen, Jacek Mąkinia, Joanna Szulżyk-Cieplak, Li Xie <b>Strategies toward Green Deal Implementation in the context of the SCG reuse and recovery as a high value-added product in the Circular Economy Model</b> .....	178
Agne Sleiniute, Gintaras Denafas, Ming-Chun Lu <b>Sustainable aluminum recovery from multilayer packaging wastewater: fluidized-bed homogeneous crystallisation innovations</b> .....	179
Mariusz Gusiatin, Natalia Adamska, Michael Biney <b>Application of co-pyrolysis biochar for the removal and immobilisation of lead and zinc</b> .....	180
Jadwiga Dziedzic, Dominika Szoldrowska, Marzena Smol <b>Analysis of economic and social aspects of water reuse</b> .....	181
Wioletta Barszcz, Monika Łożyńska, Jarosław Molenda, Małgorzata Wojtkowska <b>Antibacterial activity of biochar with adsorbed zinc and copper ions</b> .....	182
Karolina Cwynar, Katarzyna Styszko <b>Application of thermogravimetric and FTIR analysis to identify microplastics in environmental samples</b> .....	183
Laura Galas, Dorota Babilas <b>Application of the liquid membranes in the selective nickel and cobalt extraction from wastewater</b> .....	184



Oksana Skrotska\*, Rostyslav Koval, Valeriia Marchenko  
National University of Food Technology, Ukraine

### **Non-toxic biosynthesis of silver nanoparticles using mutant yeast**

Silver nanoparticles (AgNPs) have considerable advantages over their macro analogs due to their unique physico-chemical properties, thanks to which they are used in different fields of chemical, food and pharmaceutical industry. Traditional way of obtaining AgNPs is the chemical method, however it leads to environmental pollution as it includes the use of toxic chemicals like sodium borohydride and polyethylene glycol. Thus, it is safer to use biological methods, which apply microorganisms for silver ion recovery and nanoparticles formation. The application of yeasts as biological agents, particularly yeasts of the genus *Saccharomyces*, attracts increasing attention as they are safe for humans and don't need special biosafety measures. A mutant strain of yeast *Saccharomyces cerevisiae* was produced using ultraviolet irradiation. Yeasts were cultivated on synthetic Reader medium and afterwards cell-free aqueous extract was prepared, to which argentum nitrate was added in 0.5-3 mM concentrations. Biosynthesis of AgNPs was performed at different temperatures (30, 35, 40, 45, and 50 °C). The synthesis of biogenic AgNPs was confirmed through the definition of absorbance spectra at wavelengths ranging from 350 to 650 nm. Pronounced absorption peak of AgNPs synthesized using the cell-free aqueous yeast extract was registered at the wavelengths ranging from 300 to 550 nm with peak at 420 nm. It was shown that the most intense biosynthesis of AgNPs occurred in the samples with the concentration of 0.5 mM AgNO<sub>3</sub> and incubation temperature of 45 °C. The described method of biosynthesis of silver nanoparticles is a promising and environmentally friendly approach to obtaining a material with unique properties.

**Keywords:** biosynthesis; silver nanoparticles; yeasts; ecology

---

\* skrotska@ukr.net